(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0004275
(43) 공개일자 2024년01월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C07D 209/52* (2006.01) *A61K 31/403* (2006.01)
*A61P 31/14* (2006.01) *C07D 403/12* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*C07D 209/52* (2013.01)
*A61K 31/403* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7033735
(22) 출원일자(국제) 2022년04월01일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2023년10월04일
(86) 국제출원번호 PCT/GB2022/050836
(87) 국제공개번호 WO 2022/208113
국제공개일자 2022년10월06일
(30) 우선권주장
2104742.8 2021년04월01일 영국(GB)
2107026.3 2021년05월17일 영국(GB)

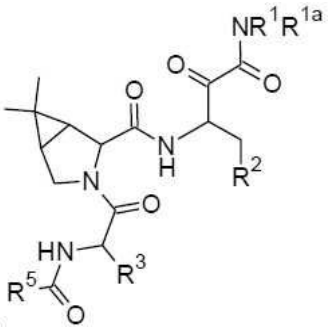
(71) 출원인
**헵테얼즈 테라퓨틱스 리미티드**
영국 씨비21 6디지 캠브리지쉬어 캠브리지 그레이트 아빙톤 그란타 파크
(72) 발명자
**콘그리브 마일즈 스튜어트**
영국 씨비21 6디지, 캠브리지 캠브리지쉬어, 그레이트 아빙돈, 그란타 파크, 헵테얼즈 테라퓨틱스 리미티드 내
**크로스토퍼 존 앤드류**
영국 씨비21 6디지, 캠브리지 캠브리지쉬어, 그레이트 아빙돈, 그란타 파크, 헵테얼즈 테라퓨틱스 리미티드 내
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**강명구**

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **SARS-COV-2 MPRO 억제제 화합물**

## (57) 요 약

식 (1b) 의 화합물:



(1b);

또는 이의 염, 여기서 $R^1$, $R^{1a}$, $R^2$, $R^3$ 및 $R^5$는 본원에 정의됨, 및 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스 및 SARS-CoV-2와 관련된 장애의 치료에서의 용도에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
*A61P 31/14* (2018.01)
*C07D 403/12* (2013.01)
(72) 발명자
**픽워쓰 마크**
영국 씨비21 6디지, 캠브리지 캠브리지쉬어, 그레이트 아빙돈, 그란타 파크, 헵테얼즈 테라퓨틱스 리미티드 내
**데 크라프 크리스**
영국 씨비21 6디지, 캠브리지 캠브리지쉬어, 그레이트 아빙돈, 그란타 파크, 헵테얼즈 테라퓨틱스 리미티드 내
**히구에루엘로 알리시아 페레즈**
영국 씨비21 6디지, 캠브리지 캠브리지쉬어, 그레이트 아빙돈, 그란타 파크, 헵테얼즈 테라퓨틱스 리미티드 내
**메이슨 조나단 스테판**
영국 씨비21 6디지, 캠브리지 캠브리지쉬어, 그레이트 아빙돈, 그란타 파크, 헵테얼즈 테라퓨틱스 리미티드 내

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

식 (1b) 의 화합물:

(1b);

또는 이의 염, 여기서:

$R^1$ 및 $R^{1a}$는 독립적으로 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이거나 또는 $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 부가적 헤테로원자를 임의로 함유하는 포화 고리를 형성하고;

$R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이고;

$R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기이거나, 또는 $R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴이고; 그리고

$R^5$는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기로부터 선택된 하나 이상의 기로 임의로 치환된 $C_{2-8}$ 탄화수소 기임.

### 청구항 2

제 1항에 있어서, $R^1$는 H, $CH_3$, 벤질, 시클로프로필 또는 인 화합물.

### 청구항 3

제 1 또는 2항에 있어서, $R^{1a}$는 H인 화합물.

### 청구항 4

제 1항에 있어서, $R^1$ 및 $R^{1a}$는 둘 다 H인 화합물.

### 청구항 5

제 1항에 있어서, $R^1$ 및 $R^{1a}$는 둘 다 $-CH_3$인 화합물.

**청구항 6**

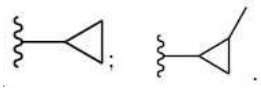
제 1항에 있어서, $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 3 내지 6 원자의 포화 고리를 형성하는 화합물.

**청구항 7**

제 1항에 있어서, $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 아제티딘 또는 아지리딘 고리를 형성하는 화합물.

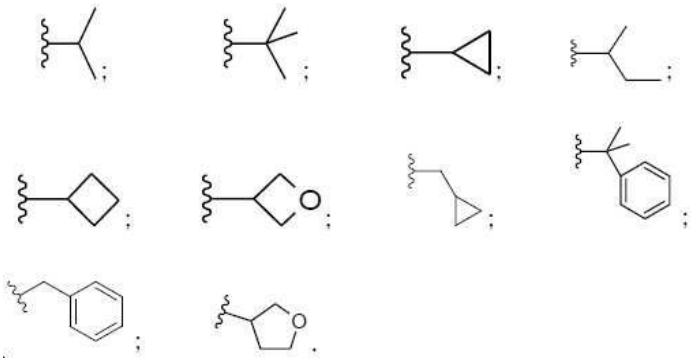
**청구항 8**

제 1 내지 7항 중 어느 한 항에 있어서, $R^2$는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물:



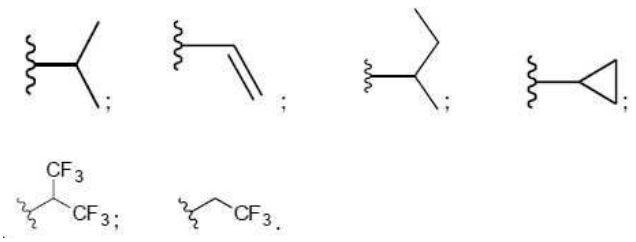
**청구항 9**

제 1 내지 8항 중 어느 한 항에 있어서, $R^3$는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물:



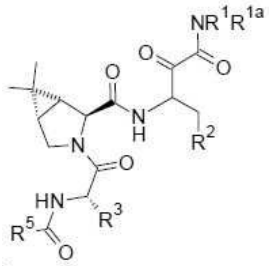
**청구항 10**

제 1 내지 9항 중 어느 한 항에 있어서, $R^5$는 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물:




**청구항 11**

제 1항에 있어서, 식 (3b) 의 화합물인 화합물:




(3b);

또는 이의 염.

**청구항 12**

제 1항에 있어서, 다음으로 이루어진 군으로부터 선택되는 화합물:

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2,3-디옥소-프로필]-3-[(2*S*)-2-(시클로프로판카르보닐아미노)-3-메틸부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-알로이소류실)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-3-(아크릴로일-*L*-발릴)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-((1R,2S)-2-메틸시클로프로필)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3-시클로프로필-2-이소부티르아미도프로파노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-(((*S*)-2-메틸부타노일)-*L*-발릴)-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((S)-2-(시클로프로판카복사미도)-2-시클로프로필아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-시클로프로필-2-이소부티르아미도아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(2-이소부티르아미도-2-(옥세탄-3-일)아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-(시클로프로판카복사미도)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아크릴아미도-3,3-디메틸부타노일)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아크릴아미도-3,3-디메틸부타노일)-*N*-(4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-(시클로프로판카복사미도)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-(시클로프로판카복사미도)-3,3-디메틸부타노일)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아크릴아미도-3,3-디메틸부타노일)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥

소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(메틸아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(디메틸아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아지리딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-시클로부틸-2-이소부티르아미도아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3-메틸-3-페닐부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-3-((시클로프로판카르보닐)-*L*-발릴)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(2-이소부티르아미도-2-(테트라히드로푸란-3-일)아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(((*S*)-2,2-디메틸시클로프로필)아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-페닐알라닐)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(3,3,3-트리플루오로-2-(트리플루오로메틸)프로판아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

또는 이의 염.

**청구항 13**

제 1 내지 12항 중 어느 한 항에 있어서 SARS-CoV-2 Mpro 억제제 활성을 갖는 화합물.

**청구항 14**

제1 내지 13 항 중 어느 한 항에서 정의된 화합물 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

**청구항 15**

제1 내지 14항 중 어느 한 항에 있어서 SARS-CoV-2의 치료에서 또는 SARS-CoV-2 와 연관된 장애의 치료에서의 사용을 위한 화합물 또는 조성물.

## *발명의 설명*

## 기 술 분 야

[0001] 이 출원은 신규 화합물 및 SARS-CoV-2 주요 프로테아제(Mpro) 억제제로서의 용도에 관한 것이다. 본원에 기술된 화합물은 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스 및 SARS-CoV-2: Mpro와 관련된 장애의 치료에 유용할 수 있다. 본 출원은 또한 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스 및 SARS-CoV-2: Mpro와 관련된 장애의 치료에서 이러한 화합물 및 조성물의 제조 및 용도에 관한 것이다. 화합물 및 조성물은 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스에 감염된 환자의 만성 기저 질환 또는 동반 질환으로 인해 발생하는 사망 또는 합병증을 예방하는 데 유용할 수 있다.

## 배 경 기 술

[0002] 코로나바이러스는 자연계에 오랫동안 존재해 왔으며 인간에게 인수공통전염을 일으켜 일반적으로 감염 시 감기와 같은 가벼운 호흡기 질환을 일으킨다. 그러나 지난 20년 동안 심각한 호흡기 질환을 유발하는 새로운 인간 코로나바이러스 감염의 발생은 전 세계적으로 주요 건강 문제를 제기했다. 여기에는 2002-2004년 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스(SARS-CoV) 발병, 2012-2015년 중동호흡기증후군 코로나바이러스(MERS-CoV) 발병, 및 2019년 중국 우한에서 확인되었으며 2019년 코로나바이러스 질병(COVID-19)의 2019-2020년 바이러스성 폐렴 발발의 원인이 되는 병인학적 인자인 가장 최근에 등장한 코로나바이러스 변종인 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2) 발병이 포함된다. 이러한 갑작스러운 발생의 비극적이고 광범위한 영향과 새로운 인간 코로나바이러스의 주기적인 출현이 미래의 발병 가능성을 증가시키고 있음에도 불구하고 우리는 아직 코로나바이러스 감염을 표적으로 하는 검증된 항바이러스 치료법이 없다.

[0003] SARS-CoV-2는 ~30kb의 큰 RNA 게놈을 패키징하며, 이중 2/3는 2개의 다단백질 pp1a 및 pp1b를 암호화한다(Hegyi et al. *Journal of General Virology* 83 (3): 595-99). 이러한 다단백질은 2개의 바이러스 시스테인 프로테아제인 파파인 유사 프로테아제(nsp3) 및 3C 유사 프로테아제(nsp5)에 의해 긴 폴리펩타이드 사슬에서 발생되는 16개의 비구조 단백질(nsps)로 처리된다. 주요 프로테아제(Mpro)라고도 불리는 후자의 종은 11개 부위에서 바이러스 다단백질을 절단하여 12개의 비구조 단백질(nsp5-16)을 생성한다. 이러한 nsp에는 RNA 의존성 RNA 폴리머라제(nsp12) 및 헬리카제(nsp13)와 같은 복제 및 전사 기계에 관련된 것들이 포함된다. 바이러스 복제에서 Mpro의 필수적인 역할은 돌연변이 유발 실험에서 입증되었고(Kim et al. *Virology* 208 (1): 1-8; Stobart et al. *Journal of Virology* 86 (9): 4801-10), 이로 인해 코로나바이러스 감염을 치료하기 위한 억제제 설계를 위한 매력적인 표적이 된다. 또한, 유사한 절단 특이성을 가진 인간 프로테아제가 없기 때문에 Mpro의 선택적 억제제는 무독성일 가능성이 높다(Anand et al. 2003. *Science* 300 (5626): 1763-67).

[0004] 바이러스성 질환 치료를 위한 프로테아제 억제제의 사용은 선례가 많으며(Bacon et al. *The New England Journal of Medicine* 364(13): 1207-17), 다른 바이러스 프로테아제에 대한 SARS-CoV-2 Mpro 활성 부위의 유사성으로 인해 COVID-19 치료를 위해 용도 변경될 수 있는 임상적으로 승인된 약물을 식별하기 위한 노력이 행해졌다(Riva et al. *Nature*, 586: 113-119). 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 및 C형 간염 바이러스(HCV) 치료를 위해 설계된 18가지 바이러스 프로테아제 억제제 선별 검사에서 항HCV 약물 보세프레비르와 SARS-CoV-2 Mpro의 억제제로서 고양이 감염성 복막염 바이러스(FIPV) GC376에 대한 전임상 억제제가 확인되었다 (Fu et al. Nature *Communications* 11(1): 4417). GC376은 보세프레비르($IC_{50}$ = 8 μM)보다 재조합 프로테아제 활성에 대해 더 강력한 억제 효능($IC_{50}$ = 0.15 μM)을 보인 반면, GC376은 고양이에서 수행된 시험에서 부작용을 보여서 잠재적인 안전성 문제를 야기했다 (Pedersen et al. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 20 (4): 378-92). 보세프레비르는 또한 다른 연구에서 텔라프레비르와 함께 SARS-CoV-2 Mpro의 억제제로 확인되었지만 두 약물 모두 >1 μM의 $IC_{50}$ 값으로 SARS-CoV-2 Mpro를 억제했다(Anson et al. 2020. doi:10.21203/rs.3.rs-26344/v1). SARS-CoV-2 Mpro 외에도 SARS, MERS, HKU1, HKU4, HKU5, NL63, FIPV 및 IBV를 포함한 8개의 다른 코로나바이러스의 Mpro 프로테아제에서 보세프레비르 및 텔라프레비르의 억제 효능도 평가되었다. 이 선택 내에서 보세프레비르는 NL63을 제외하고 테스트된 모든 코로나바이러스 프로테아제를 억제할 수 있었고 텔라프레비르에 대해서도 유사하게 광범위한 활성 스펙트럼이 나타나서, SARS, HKU4, HKU5, NL63 및 IBV에서 억제 활성을 보였다. SARS-CoV-2 Mpro에서 이들 약물의 항바이러스 활성은 임상 개발에 충분하지 않지만 광범위한 프로테아제를 억제하는 능력은 SARS-CoV-2 감염뿐만 아니라 미래에 나타날 수 있는 다른 인간 코로나바이러스 및 잠재적으로 새로운 코로나바이러스도 치료가능한 광범위-스펙트럼 항바이러스 약물에 대한 설계 가능성을 더욱 증가시킨다.

[0005] SARS-CoV와 SARS-CoV-2 Mpro 활성 부위 사이의 유사한 서열은 원래 SARS-CoV 치료용으로 설계된 PF 00835231의 인산염 전구약물인 SARS-CoV-2 Mpro 억제제 PF-07304814를 확인하는 데에도 활용되었다 (Boras et al.

BioRxiv, 2020.09.12.293498). PF 00835231은 0.27nM의 $K_i$로 SARS-CoV-2 Mpro를 억제하고 0.03-4nM의 $K_i$ 값으로 10개의 추가 코로나바이러스 균주에 대해 광범위한 억제 활성을 나타냈다. 이것은 세포-기초 생바이러스 분석에서 ~1 μM 활성으로 변환되었다. 뉴클레오사이드 RNA 의존성 RNA 폴리머라제 억제제인 렘데시비르와 조합된 PF-00835231의 활성은 또한 바이러스 복제 과정의 다양한 측면을 표적으로 하는 항바이러스제가 조합 시 시너지 효과를 낼 수 있는 것으로 평가되었다. 실제로 PF-00835231과 렘데시비르는 세포-기초 항바이러스 분석에서 상승적 또는 부가적 효과를 나타냈으며, 이는 Mpro 억제제와 다른 작용 방식을 갖는 항바이러스제와 병용하면 임상적 이점을 나타낼 수 있음을 시사한다.

[0006] 2020년에 N3(Michael 수용체 억제제)와 복합체를 이루는 SARS-CoV-2 Mpro의 결정 구조가 발표되어(Jin et al. *Nature* 582 (7811): 289-93) SARS-CoV-2 Mpro 억제제를 위한 가상 스크리닝 및 구조-기초 약물 설계(SBDD)가 가능해졌다. 이러한 SBDD 노력에는 코로나바이러스 및 엔테로바이러스의 광범위한 스펙트럼 억제제로서 펩티도미메틱 α-케토아미드의 설계가 포함되며, 가장 유망한 두 억제제는 엔테로바이러스 EV-A71 및 CVB3 및 코로나바이러스 SARS-CoV 및 NL63로부터의 프로테아제에 대한 재조합 억제 분석에서 0.71-12.27 μM $IC_{50}$ 값을 나타낸다. (Zhang et al. 2020. *Journal of Medicinal Chemistry* 63(9): 4562-4578). 재조합 프로테아제 분석에서 관찰된 활성은 두 시스템 모두에서 $IC_{50}$ 값이 10배 이내인 세포-기초 생 바이러스 분석에서 항바이러스 활성과 광범위하게 일치했으며, 이는 프로테아제 억제 분석에서 우수한 활성이 항바이러스 활성의 좋은 지표임을 시사한다.

[0007] 현재 COVID-19 치료를 위한 표적 치료제가 없으며 효과적인 치료 옵션이 매우 제한적이다. 진행 중인 많은 연구 활동과 수많은 임상 시험에도 불구하고 일부 국가에서는 렘데시비르 및 파비피라비르만이 SARS-CoV-2 감염 치료에 제한적으로 사용하도록 승인되었지만 효과는 미미하다(Zhou et al. ACS *Pharmacology & Translational Science* 3 (5): 813-834). SARS-CoV-2 감염 치료를 위한 표적 치료제가 필요하며 위에서 설명한 이유로 SARS-CoV-2 Mpro는 SARS-CoV-2에 대한 매력적인 약물 표적을 나타낸다. 본원에 개시된 화합물은 SARS-CoV-2 Mpro의 억제제인 것으로 나타나며 따라서 코로나바이러스 감염 및 COVID-19를 포함하나 이에 제한되지 않는 관련 장애의 치료를 위한 잠재적 후보를 나타낸다.

## *발명의 내용*

[0008] 본 발명은 SARS-CoV-2: Mpro 억제제로서의 활성을 갖는 화합물을 제공한다.

[0009] 본발명은 식 (1b)의 화합물:

[0010] (1b);

[0011] 또는 이의 염을 제공하고, 여기서:

[0012] $R^1$ 및 $R^{1a}$는 독립적으로 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이거나 또는 $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 부가적 헤테로원자를 임의로 함유하는 포화 고리를 형성하고;

[0013] $R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이고;

[0014] $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기이거나, 또는

$R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴이고; 그리고

[0015] $R^5$는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기로부터 선택된 하나 이상의 기로 임의로 치환된 $C_{2-8}$ 탄화수소 기이다.

[0016] 본발명의 화합물은 SARS-CoV-2: Mpro 억제제로서 사용될 수 있다. 본발명의 화합물은 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스 또는 SARS-CoV-2와 연관된 질병 또는 장애의 치료에서 사용될 수 있다. 본발명의 화합물은 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스에 감염된 환자의 만성 기저 질환 또는 동반 질환으로 인해 발생하는 사망 또는 합병증을 예방하는 데 유용할 수 있다. 이러한 만성 기저 질환 또는 동반 질환은 예를 들어 고혈압, 비만, 만성 폐 상태(TB, 천식 및 낭포성 섬유증), 당뇨병 및 심혈관 상태(관상동맥 심장병, 선천성 심장병 및 심부전)를 포함할 수 있다. 본발명의 화합물은 약제의 제조에 사용될 수 있다. 화합물 또는 약제는 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스 및 SARS-CoV-2: Mpro가 관련된 질병 또는 장애의 위험을 치료, 예방, 개선, 제어 또는 감소시키는 데 사용하기 위한 것일 수 있다. 화합물 또는 약제는 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스에 감염된 환자의 만성 기저 질환 또는 동반 질환의 위험을 치료, 예방, 개선, 제어 또는 감소시키는 데 사용하기 위한 것일 수 있다.

[0017] 본발명의 화합물은 단일 물질로서 또는 하나 이상의 추가 약제학적 물질과 함께 사용하기 위한 것일 수 있다. 본 발명의 화합물은 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스 또는 이와 관련된 병태 또는 증상의 치료에 유용할 수 있다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0018] 본 발명은 신규 화합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 SARS-CoV-2: Mpro의 억제제로서의 신규 화합물의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 SARS-CoV-2:Mpro 억제제로서 사용하기 위한 약제 제조에서의 신규 화합물의 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 SARS-CoV-2 및 관련 바이러스 또는 이와 관련된 병태 또는 증상의 치료에 유용할 수 있는 화합물, 조성물 및 약제에 관한 것이다.

[0019] 본발명은 식 (1b)의 화합물:

[0020] (1b);

[0021] 또는 이의 염을 제공하고, 여기서:

[0022] $R^1$ 및 $R^{1a}$는 독립적으로 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이거나 또는 $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 부가적 헤테로원자를 임의로 함유하는 포화 고리를 형성하고;

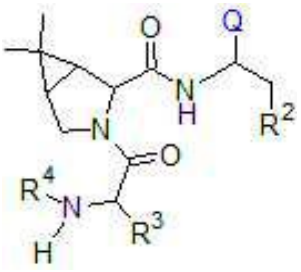
[0023] $R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이고;

[0024] $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기이거나, 또는 $R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴이고; 그리고

[0025] $R^5$는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기로부터 선택된 하나 이상의 기로 임의로

치환된 $C_{2-8}$ 탄화수소 기이다.

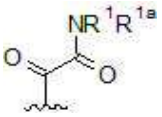
[0026] 또한 제공된 것은 화학식 (1a)의 화합물:



[0027] (1a);

[0028] 또는 이의 염이고, 여기서;

[0029] Q는 CN 또는 다음 식의 기이고:



[0030] ;

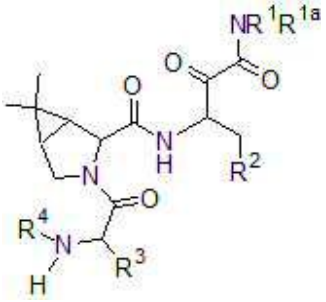
[0031] $R^1$ 및 $R^{1a}$는 독립적으로 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이거나 또는 $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 부가적 헤테로원자를 임의로 함유하는 포화 고리를 형성하고;

[0032] $R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이거나, 또는 $R^2$는 불소, 메틸 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 산소 헤테로원자를 함유하는 포화 고리이고;

[0033] $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기이거나, 또는 $R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴이고; 그리고

[0034] $R^4$는 H 또는 CO-$R^5$이고 여기서 $R^5$는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기로부터 선택된 하나 이상의 기로 임의로 치환된 $C_{2-8}$ 탄화수소 기이다.

[0035] 또한 제공된 것은 화학식 (1)의 화합물:



[0036] (1);

[0037] 또는 이의 염이고, 여기서;

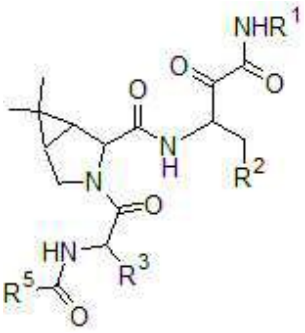
[0038] $R^1$ 및 $R^{1a}$는 독립적으로 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이거나 또는 $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 부가적 헤테로원자를 임의로 함유하는 포화 고리를 형성하고;

[0039] $R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이거나, 또는 $R^2$는 불소, 메틸 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 산소 헤테로원자를 함유하는 포화 고리이고;

[0040] $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기이거나, 또는 $R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴이고; 그리고

[0041] $R^4$는 H 또는 CO-$R^5$이고 여기서 $R^5$는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기로부터 선택된 하나 이상의 기로 임의로 치환된 $C_{2-8}$ 탄화수소 기이다.

[0042] 제공된 것은 화학식 (2)의 화합물:

[0043]  (2);

[0044] 또는 이의 염이고, 여기서;

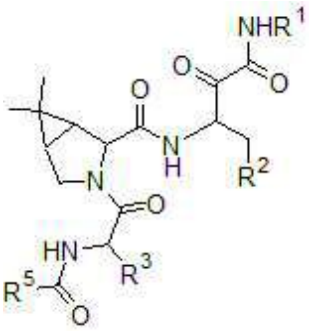
[0045] $R^1$는 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이고;

[0046] $R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이거나, 또는 $R^2$는 불소, 메틸 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 산소 헤테로원자를 함유하는 포화 고리이고;

[0047] $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기이거나, 또는 $R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴이고; 그리고

[0048] $R^5$는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기로부터 선택된 하나 이상의 기로 임의로 치환된 $C_{2-8}$ 탄화수소 기이다.

[0049] 제공된 것은 화학식 (2)의 화합물:



[0050] (2);

[0051] 또는 이의 염이고, 여기서;

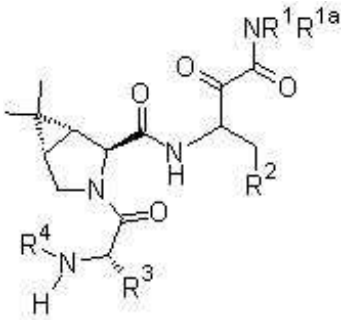
[0052] $R^1$는 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이고;

[0053] $R^2$는 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이고;

[0054] $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하는 포화 기이고; 그리고

[0055] $R^4$는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 및 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하는 $C_{2-8}$ 탄화수소 기이다.

[0056] 제공된 것은 화학식 (3)의 화합물:



[0057] (3);

[0058] 또는 이의 염이고, 여기서;

[0059] $R^1$ 및 $R^{1a}$는 독립적으로 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이거나 또는 $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 부가적 헤테로원자를 임의로 함유하는 포화 고리를 형성하고;

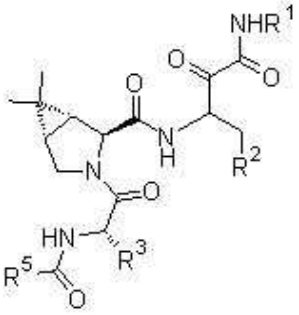
[0060] $R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이거나, 또는 $R^2$는 불소, 메틸 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 산소 헤테로원자를 함유하는 포화 고리이고;

[0061] $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기이거나, 또는 $R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴이고; 그리고

[0062] $R^4$는 H 또는 CO-$R^5$이고 여기서 $R^5$는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기로부터 선택된

하나 이상의 기로 임의로 치환된 $C_{2-8}$ 탄화수소 기이다.

[0063] 제공된 것은 화학식 (2b)의 화합물:



[0064] (2b);

[0065] 또는 이의 염이고, 여기서;

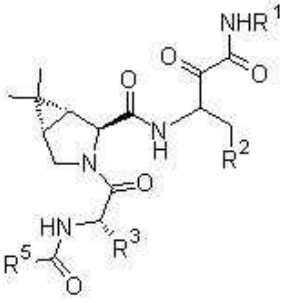
[0066] $R^1$는 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이고;

[0067] $R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이거나, 또는 $R^2$는 불소, 메틸 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 산소 헤테로원자를 함유하는 포화 고리이고;

[0068] $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기이거나, 또는 $R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴이고; 그리고

[0069] $R^5$는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환되고 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기 로부터 선택된 하나 이상의 기로 임의로 치환된 $C_{2-8}$ 탄화수소 기이다.

[0070] 제공된 것은 화학식 (2b)의 화합물:



[0071] (2b);

[0072] 또는 이의 염이고, 여기서;

[0073] $R^1$는 H, 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기 또는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기이고;

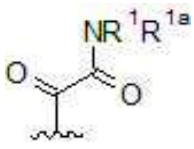
[0074] $R^2$는 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기이고;

[0075] $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하는 포화 기이고; 그리고

[0076] $R^5$는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 및 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하는 $C_{2-}$

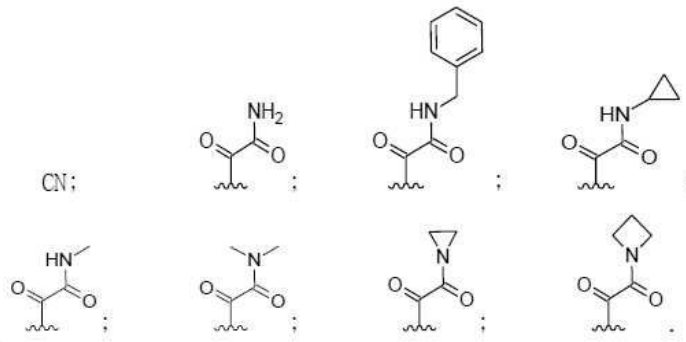
$_8$ 탄화수소 기이다.

[0077] 본 화합물에서, Q는 CN일 수 있다. Q는 다음 식의 기일 수 있다:

[0078] 

.

[0079] Q는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다:

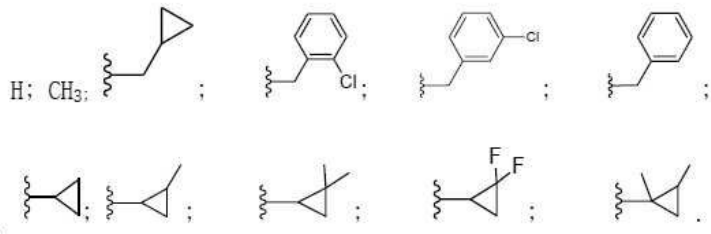
[0080] 

.

[0081] 본 화합물에서, $R^{1a}$는 H일 수 있다. $R^{1a}$는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기일 수 있다. $R^{1a}$는 메틸일 수 있다. $R^{1a}$는 시클로프로필일 수 있다. $R^{1a}$는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기일 수 있다. $R^{1a}$는 $-CH_2$-시클로프로필, $-CH_2$-클로로페닐, $-CH_2$-페닐, 메틸시클로프로필, 1,1-디메틸시클로프로필, 1,2-디메틸시클로프로필, 디플루오로시클로프로필로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.

[0082] 본 화합물에서, $R^1$는 H일 수 있다. $R^1$는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 $C_{1-6}$ 포화 탄화수소 기일 수 있다. $R^1$는 메틸일 수 있다. $R^1$은 시클로프로필일 수 있다. $R^1$는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환된 벤질 기일 수 있다. $R^1$는 $-CH_2$-시클로프로필, $-CH_2$-클로로페닐, $-CH_2$-페닐, 메틸시클로프로필, 1,1-디메틸시클로프로필, 1,2-디메틸시클로프로필, 디플루오로시클로프로필로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.

[0083] $R^1$는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다:

[0084] 

.

[0085] $R^1$는 H, $CH_3$, 벤질, 시클로프로필 또는 일 수 있다.

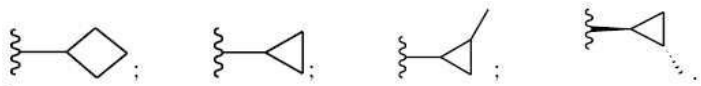
[0086] $R^{1a}$는 H 및 메틸로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. $R^{1a}$는 H일 수 있다. $R^1$ 및 $R^{1a}$는 둘 다 H일 수 있다. $R^1$ 및 $R^{1a}$는 둘 다일 수 있다 $-CH_3$.

[0087] $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 부가적 헤테로원자를 임의로 함유하는 포화 고리를 형성할 수 있다. 고리는 3 내지 6 원자를 함유할 수 있다. 헤테로원자는 O 또는 N일 수 있다. 헤테로원자는 O일 수 있다. 고리는 알킬 사슬

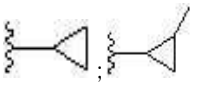
$(CH_2)n$일 수 있고 여기서 n은 2 내지 5이다. n는 2, 3, 4 또는 5일 수 있다. $R^1$ 및 $R^{1a}$는 결합되어 3 내지 6-원 고리를 형성할 수 있다. $R^1$ 및 $R^{1a}$는 결합되어 아지리딘 고리, 아제티딘 고리, 피롤리딘 고리, 피페리딘 고리 또는 모르폴린 고리를 형성할 수 있다. $R^1$ 및 $R^{1a}$는 결합되어 아제티딘 고리를 형성할 수 있다. $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 아제티딘 또는 아지리딘 고리를 형성할 수 있다.

[0088] 본 화합물에서, $R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기일 수 있거나, 또는 $R^2$는 불소, 메틸 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된산소 헤테로원자를 함유하는 포화 고리일 수 있다. $R^2$는 불소 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기일 수 있다. $R^2$는 시클로알킬 기를 함유하는 $C_{3-5}$ 포화 탄화수소 기일 수 있다. $R^2$는 산소 헤테로원자를 함유하는 포화 고리일 수 있다. 고리는 3 내지 6 원자를 함유할 수 있고, 그 중 하나는 O이다. 고리는일 수 있다 불소, 메틸 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환될 수 있다. $R^2$는 시클로부틸, 시클로프로필, 메틸시클로프로필로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.

[0089] $R^2$는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다:

[0090] 

[0091] $R^2$는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다:

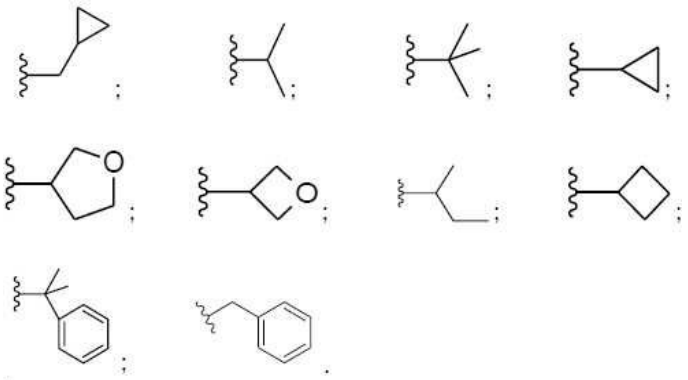
[0092] 

[0093] $R^2$는 다음일 수 있다:

[0094]

[0095] 본 화합물에서, $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기일 수 있거나 또는 $R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴일 수 있다. $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 임의로 함유하는 또는 산소 헤테로원자를 함유하고 불소, 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기로 임의로 치환된 포화 고리를 임의로 함유하는 포화 기일 수 있다. $R^3$는 3-5 탄소 원자를 함유하고 시클로알킬 기를 함유하는 포화 기일 수 있다. $R^3$는 산소 헤테로원자를 함유하는 포화 고리를 함유하는 포화 기일 수 있다. 고리는 3 내지 6 원자를 함유할 수 있고, 그 중 하나는 O이다. 고리는 불소, 메틸 또는 히드록실로부터 선택된 하나 이상의 치환기를 함유할 수 있다. $R^3$는 $CH_2$아릴, $CH(CH_3)$아릴 또는 $C(CH_3)_2$아릴일 수 있다. 아릴 기는 페닐일 수 있다. $R^3$는 $-CH_2$-시클로프로필, $-CH(CH_3)_2$, $-C(CH_3)_3$, 시클로프로필, 옥솔란, 옥세탄, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$, 시클로부틸, $C(CH_3)_2Ph$, $CH_2Ph$로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.

[0096] $R^3$는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다:



[0097]

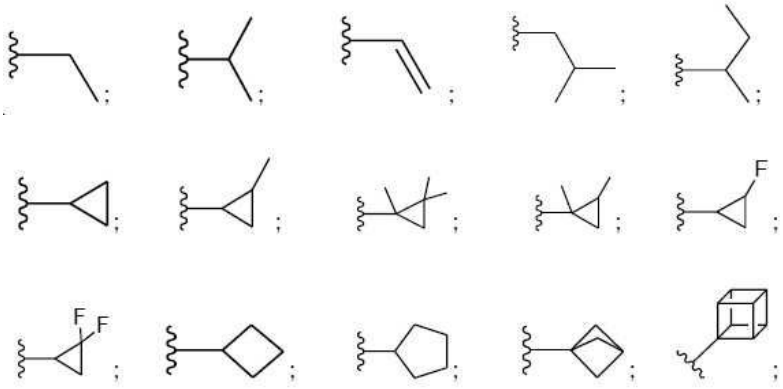
[0098] 본 화합물에서, $R^4$는 H 또는 CO-$R^5$일 수 있고 여기서 $R^5$는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기로부터 선택된 하나 이상의 기로 임의로 치환된 $C_{2-8}$ 탄화수소 기이다.

[0099] 본 화합물에서, $R^5$는 1 내지 6 불소 또는 염소 원자로 임의로 치환되고 불소; 염소; 브롬; 시아노; 히드록시; 메톡시; 아미노; 또는 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴 또는 헤테로아릴 기로부터 선택된 하나 이상의 기로 임의로 치환된 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합를 임의로 함유하는 $C_{2-8}$ 탄화수소 기일 수 있다.

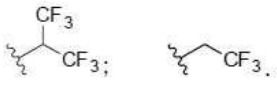
[0100] $R^5$는 하나 이상의 고리 또는 이중 결합을 임의로 함유하는 $C_{2-8}$ 탄화수소 기일 수 있다. $R^5$는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 에틸, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2(CH_3)_2$ $-CH(CH_3)CH_2CH_3$, $-CH_2CF_3$, $CH(CF_3)_2$, 메틸시클로프로필, 비닐($-CH=CH_2$), 비시클로(1,1,1)펜탄 및 쿠반으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다.

[0101] $R^5$는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다:

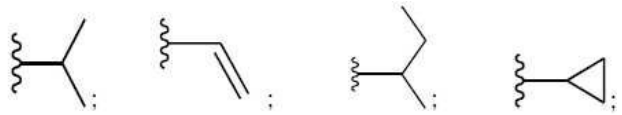
[0102]

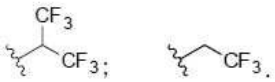


[0103]

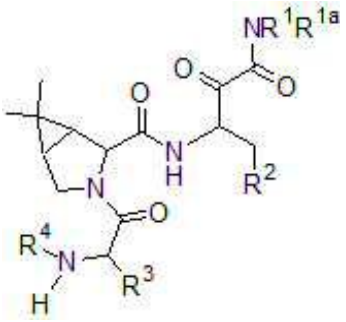


[0104] $R^5$는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다:



[0105] 

[0106] 제공된 것은 화학식 (1)의 화합물:

[0107]  (1);

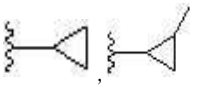
[0108] 또는 이의 염이고, 여기서;

[0109] $R^{1a}$는 H 또는 메틸;

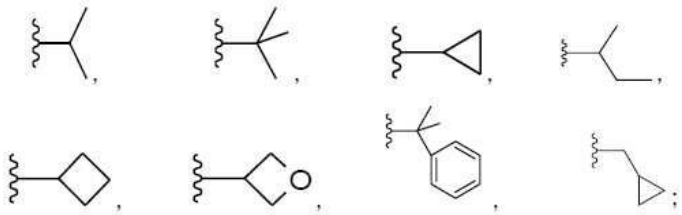
[0110] $R^1$는 H, 메틸, 벤질 또는 시클로프로필;

[0111] 또는 $R^1$ 및 $R^{1a}$는 함께 연결되어 3 내지 6 원자의 포화 고리를 형성하고;

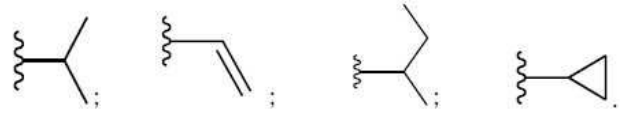
[0112] $R^2$는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고:

[0113]  ;

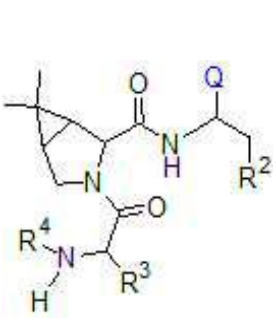
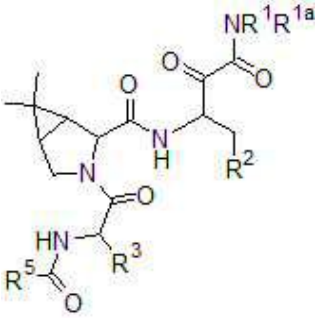
[0114] $R^3$는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고:

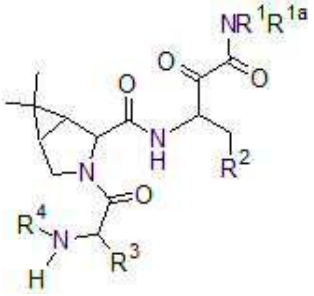
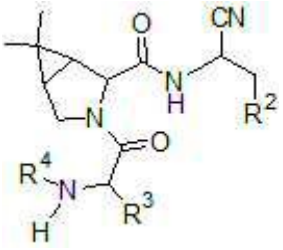
[0115]  ; 그리고

[0116] $R^4$는 CO-$R^5$이고 여기서 $R^5$는 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택되고:

[0117] 

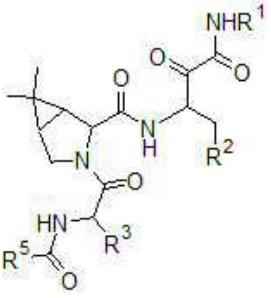
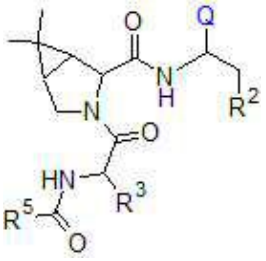
[0118] 화합물은 식 (1a), (1b), (1) 또는 (1i)의 화합물:

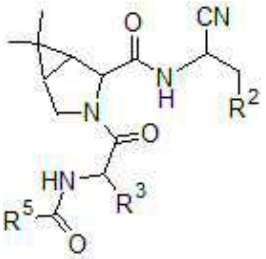
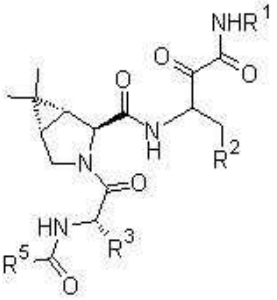
[0119]  (1a);  (1b);

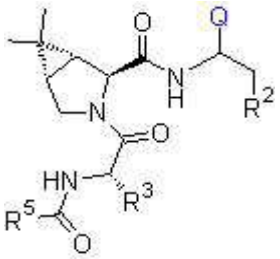
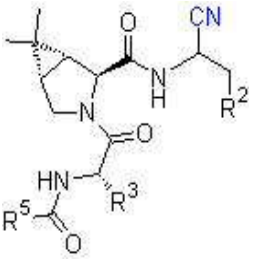
[0120]  (1);  (1i);

[0121] 또는 이의 염일 수 있고, 여기서 Q, $R^1$, $R^{1a}$, $R^2$, $R^3$, $R^4$ 및 $R^5$는 여기서 정의된 바와 같다.

[0122] 화합물은 식 (2), (2a), (2i), (2b), (2ba) 또는 (2bi)의 화합물:

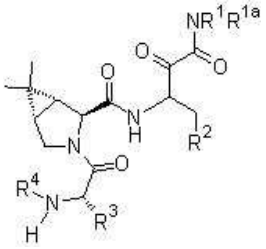
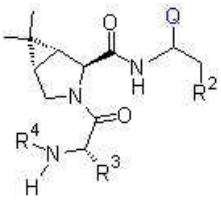
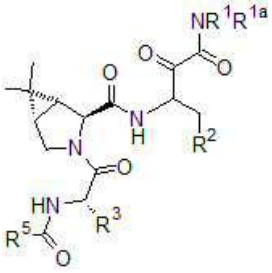
[0123]  (2);  (2a);

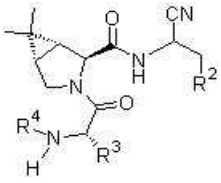
[0124]  (2i);  (2b);

[0125]  (2ba);  (2bi);

[0126] 또는 이의 염일 수 있고, 여기서 Q, $R^1$, $R^2$, $R^3$ 및 $R^5$는 여기서 정의된 바와 같다.

[0127] 화합물은 식 (3), (3a), (3b) 또는 (3i)의 화합물:

[0128]  (3);  (3a);  (3b);

[0129]  (3i);

[0130] 또는 이의 염일 수 있고, 여기서 Q, $R^1$, $R^{1a}$, $R^2$, $R^3$, $R^4$ 및 $R^5$는 여기서 정의된 바와 같다.

[0131] 화합물은 표 1에 나타낸 실시예 1 내지 35 중 어느 하나 또는 이의 이성질체 또는 염으로부터 선택될 수 있다.

[0132] 화합물은 다음으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다:

[0133] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0134] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2,3-디옥소-프로필]-3-[(2*S*)-2-(시클로프로판카르보닐아미노)-3-메틸부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0135] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-알로이소류실)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0136] (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(아크릴로일-*L*-발릴)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0137] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-((1R,2S)-2-메틸시클로프로필)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0138] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3-시클로프로필-2-이소부티르아미도프로파노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0139] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0140] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-(((*S*)-2-메틸부타노일)-*L*-발릴)-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0141] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((S)-2-(시클로프로판카복사미도)-2-시클로프로필아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0142] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-시클로프로필-2-이소부티르아미도아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0143] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0144] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0145] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(2-이소부티르아미도-2-(옥세탄-3-일)아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0146] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-(시클로프로판카복사미도)-3,3-디메

틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0147] (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아크릴아미도-3,3-디메틸부타노일)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0148] (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아크릴아미도-3,3-디메틸부타노일)-*N*-(4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0149] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0150] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-(시클로프로판카복사미도)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0151] (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-(시클로프로판카복사미도)-3,3-디메틸부타노일)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0152] (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아크릴아미도-3,3-디메틸부타노일)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0153] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0154] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(메틸아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0155] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(디메틸아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0156] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아지리딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0157] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-시클로부틸-2-이소부티르아미도아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0158] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3-메틸-3-페닐부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0159] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시아노-2-시클로프로필에틸)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0160] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0161] (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((시클로프로판카르보닐)-*L*-발릴)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0162] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(2-이소부티르아미도-2-(테트라히드로푸란-3-일)아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0163] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(((*S*)-2,2-디메틸시클로프로필)아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0164] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-페닐알라닐)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0165] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(3,3,3-트리플루오로-2-(트리플루오로메틸)프로판아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0166] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0167] (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플

루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드;

[0168] 또는 이의 염.

[0169] 추가 구체예는 SARS-CoV-2:Mpro 억제제로서 본 발명의 화합물 또는 그의 염 또는 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물의 용도를 포함한다. 본발명의 화합물은 SARS-CoV-2: Mpro 억제제로서 사용될 수 있다. 본발명의 화합물은 SARS-CoV-2 또는 SARS-CoV-2 와 연관된 질병 또는 장애의 치료에서 사용될 수 있다. 본발명의 화합물은 SARS-CoV-2에 감염된 환자의 만성 기저 질환 또는 동반 질환으로 인해 발생하는 사망 또는 합병증을 예방하는 데 유용할 수 있다. 이러한 만성 기저 질환 또는 동반 질환은 예를 들어 고혈압, 비만, 만성 폐 상태(TB, 천식 및 낭포성 섬유증), 당뇨병 및 심혈관 상태(관상동맥 심장병, 선천성 심장병 및 심부전)를 포함할 수 있다. 본발명의 화합물은 약제의 제조에 사용될 수 있다. 화합물 또는 약제는 SARS-CoV-2 및 SARS-CoV-2: Mpro가 관련된 질병 또는 장애의 위험을 치료, 예방, 개선, 제어 또는 감소시키는 데 사용하기 위한 것일 수 있다. 화합물 또는 약제는 SARS-CoV-2에 감염된 환자의 만성 기저 질환 또는 동반 질환의 위험을 치료, 예방, 개선, 제어 또는 감소시키는 데 사용하기 위한 것일 수 있다.

[0170] 본발명의 화합물은 단일 물질로서 또는 하나 이상의 추가 약제학적 물질과 함께 사용하기 위한 것일 수 있다. 본 발명의 화합물은 SARS-CoV-2 또는 이와 관련된 병태 또는 증상의 치료에 유용할 수 있다.

[0171] 본원에 제공된 바와 같이, 본원에 기재된 화합물 또는 그의 염 및 본원에 기재된 조성물은 본원에 기재된 임의의 질환 및 장애를 치료하기 위한 물질과 함께 투여될 수 있다.

[0172]

[0173] 본 발명의 화합물은 전구약물의 형태로 제공될 수 있다. "전구약물"은 예를 들어 생체내에서 본 발명의 생물학적 활성 화합물로 전환되는 임의의 화합물을 의미한다. 예를 들어, 일부 전구약물은 활성 화합물의 에스테르 또는 포스페이트 에스테르(예: 생리학적으로 허용되는 대사적으로 불안정한 에스테르)이다. 대사 과정에서 에스테르 그룹(-C(=O)OR) 또는 인산 에스테르 그룹($P(=O)(OH)_2$-OR)이 절단되어 활성 약물을 생성한다. 그러한 에스테르는, 예를 들어 모 화합물에 존재하는 하이드록실 기의 에스테르화에 의해 형성될 수 있으며, 적절한 경우 모 화합물에 존재하는 임의의 다른 반응성 기를 사전에 보호하고, 이어서 필요한 경우 탈보호화할 수 있다. 활성 화합물에 존재하는 다른 작용기, 예를 들어 아미드 기 또는 아미노 기를 사용하여 전구약물을 형성할 수 있다. 또한 일부 전구약물은 효소에 의해 활성화되어 활성 화합물 또는 추가 화학 반응 시 활성 화합물을 생성하는 화합물(예: ADEPT, GDEPT, LIDEPT 등)을 생성한다. 예를 들어, 전구약물은 당 유도체 또는 다른 글리코시드 접합체일 수 있거나, 아미노산 에스테르 유도체일 수 있다.

[0174] 따라서, 생리학적 조건 하에서 하이드록실 기, 아미드 기 또는 아미노 기를 형성하도록 전환될 수 있는 작용기를 함유하는 본원에 정의된 바와 같은 화합물의 전구약물이 제공된다.

[0175] **정의**

[0176] 본 출원에서는 달리 명시되지 않는 한 다음 정의가 적용된다.

[0177] 본원에 사용된 용어 "SARS-CoV-2: Mpro 억제제"는 SARS-CoV-2: Mpro에 결합하고 그 기능을 조절하는 임의의 화합물을 지칭한다.

[0178]

[0179] 화학식 (1b)의 화합물을 포함하여 본원에 기재된 화합물 중 어느 것의 용도와 관련하여 용어 "치료"는 화합물이 문제의 질병이나 장애를 앓거나 앓을 위험이 있거나, 또는 잠재적으로 앓을 위험이 있는 대상체에게 투여되는 임의의 형태의 개입을 설명하는 데 사용된다. 따라서 "치료"라는 용어는 예방(예방) 치료와 질병 또는 장애의 측정 가능하거나 감지 가능한 증상이 나타나는 치료를 모두 포함한다.

[0180] 용어 "유효 치료량"(예를 들어, 질병 또는 상태의 치료 방법과 관련하여)은 원하는 치료 효과를 생성하는 데 효과적인 화합물의 양을 지칭한다. 예를 들어, 병태가 통증인 경우 유효 치료량은 원하는 수준의 통증 완화를 제공하기에 충분한 양이다. 원하는 수준의 통증 완화는 예를 들어 통증의 완전한 제거 또는 통증의 중증도 감소일 수 있다.

[0181] "벤질","바이사이클릭", "탄화수소", "헤테로사이클릭", "카보사이클릭", "알킬", "아릴", "아미노" "헤테로아릴", "시클로알킬" 및 "할로"와 같은 용어는 달리 표시되지 않는 한 모두 통상적인 의미로 사용된다(예: IUPAC Gold Book에 정의된 대로). 임의의 기에 적용되는 "임의로 치환된"은 상기 기가 경우에 따라 동일하거나 상이할

수 있는 하나 이상의 치환기로 치환될 수 있음을 의미한다.

[0182] "$C_{1-4}$포화 탄화수소기"에서 "포화탄화수소기"는 탄소-탄소 이중결합 또는 삼중결합을 포함하지 않는 탄화수소기를 의미한다. 따라서 포화 탄화수소 기는 알킬 기, 시클로알킬 기, 시클로알킬알킬 기, 알킬시클로알킬 그룹 또는 알킬시클로알킬알킬 기일 수 있다. $C_{1-4}$ 포화 탄화수소 기의 예는 $C_{1-4}$ 알킬 기, 시클로프로필, 시클로부틸 및 시클로프로필메틸을 포함한다.

[0183] 명시된 탄소 원자 수가 허용하는 경우, 본원에서 사용된 용어 "시클로알킬"은 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실 및 시클로헵틸과 같은 모노사이클릭 시클로알킬 기, 및 바이사이클릭 및 트리사이클릭 그룹을 모두 포함한다. 바이사이클릭 시클로알킬 기는 바이시클로헵탄, 바이시클로옥탄 및 아다만탄과 같은 가교된 고리 시스템을 포함한다.

[0184] 기술된 화합물 중 임의의 것이 키랄 중심을 갖는 정도까지, 본 발명은 라세미체 형태이든 분해된 거울상이성질체든 이러한 화합물의 모든 광학 이성질체로 확장된다. 본원에 기술된 본 발명은 그러나 그렇게 제조된 임의의 개시된 화합물의 모든 결정 형태, 용매화물 및 수화물에 관한 것이다. 본원에 개시된 화합물 중 임의의 것이 카르복실레이트 또는 아미노 기와 같은 산 또는 염기 중심을 갖는 정도로, 상기 화합물의 모든 염 형태가 본원에 포함된다. 약제학적 용도의 경우 염은 약제학적으로 허용가능한 염으로 간주되어야 한다.

[0185] 언급될 수 있는 염 또는 약제학적으로 허용가능한 염은 산 부가 염 및 염기 부가 염을 포함한다. 이러한 염은 통상적인 수단에 의해, 예를 들어 임의로 용매 중에서, 또는 염이 불용성인 매질 중에서 유리 산 또는 유리 염기 형태의 화합물을 적절한 산 또는 염기의 하나 이상의 당량과 반응시키고, 이후 표준 기술(예를 들어 진공, 동결 건조 또는 여과)을 사용하여 상기 용매 또는 상기 매질을 제거하여 형성될 수 있다. 염은 또한 예를 들어 적합한 이온 교환 수지를 사용하여 염 형태의 화합물의 반대 이온을 다른 반대 이온과 교환함으로써 제조될 수 있다.

[0186] 약제학적으로 허용가능한 염의 예는 무기산 및 유기산으로부터 유도된 산 부가염, 및 나트륨, 마그네슘, 칼륨 및 칼슘과 같은 금속으로부터 유도된 염을 포함한다.

[0187] 산 부가 염의 예는 아세트산, 2,2-디클로로아세트산, 아디프산, 알긴산, 아릴 설폰산(예를 들어 벤젠설폰산, 나프탈렌-2-설폰산, 나프탈렌-1,5-디설폰산 및 p-톨루엔설폰산), 아스코르브산 (예를 들어 L-아스코르브산), L-아스파르트산, 벤조산, 4-아세트아미도벤조산, 부탄산, (+) 캠퍼산, 캠퍼-술폰산, (+)-(1S)-캠퍼-10-술폰산, 카프르산, 카프로산, 카프릴산, 신남산, 시트르산, 시클람산, 도데실황산, 에탄-1,2-디설폰산, 에탄설폰산, 2-히드록시에탄설폰산, 포름산, 푸마르산, 갈락타르산, 겐티신산, 글루코헵톤산, 글루콘(예를 들어 D-글루콘산), 글루쿠론산 (예를 들어 D-글루쿠론산), 글루탐산(예를 들어 L-글루탐산), α-옥소글루타르산, 글리콜산, 히푸르산, 브롬화수소산, 염산, 하이드로요오드산, 이세티온산, 젖산(예를 들어 (+)-L-젖산 및 (±)-DL-젖산), 락토비오닉산, 말레산, 말산(예를 들어 (-) -L-말산), 말론산, (±)-DL-만델산, 메타인산, 메탄설폰산, 1-히드록시-2-나프트산, 니코틴산, 질산, 올레산, 오로트산, 옥살산, 팔미트산, 팜산, 인산, 프로피온산, L- 피로글루탐산, 살리실산, 4-아미노 살리실산, 세바스산, 스테아르산, 숙신산, 황산, 탄닌산, 타르타르산(예를 들어(+)-L-타르타르산), 티오시안산, 운데실렌산 및 발레르산과 형성된 산 부가 염을 포함한다.

[0188] 또한, 화합물 및 이의 염의 임의의 용매화물이 포함된다. 바람직한 용매화물은 본 발명의 화합물의 고체 상태 구조(예를 들어 결정 구조)에 비독성 약제학적으로 허용가능한 용매 분자(이하에서 용매화 용매로 지칭됨)의 함입에 의해 형성된 용매화물이다. 그러한 용매의 예시는 물, 알코올(예를 들어 에탄올, 이소프로판올 및 부탄올) 및 디메틸술폭시드를 포함한다. 용매화물은 용매화 용매를 함유하는 용매 또는 용매 혼합물로 본 발명의 화합물을 재결정화함으로써 제조될 수 있다. 주어진 경우에 용매화물이 형성되었는이지 여부는 열중량 분석(TGA), 시차 주사 열량계(DSC) 및 X선 결정학과 같은 잘 알려진 표준 기술을 사용하여 화합물의 결정을 분석하여 결정할 수 있다.

[0189] 용매화물은 화학량론적 또는 비화학량론적 용매화물일 수 있다. 특정 용매화물은 수화물일 수 있고, 수화물의 예는 반수화물, 일수화물 및 이수화물을 포함한다. 용매화물과 용매화물을 제조하고 특성화하는 데 사용되는 방법에 대한 자세한 내용은 Bryn et al, 고체-State Chemistry of Drugs, Second Edition, 발행, SSCI, Inc of West Lafayette, IN, USA, 1999, ISBN 0-967-06710-3 참조.

[0190] 본 발명의 맥락에서 용어 "약제학적 조성물"은 활성제를 포함하고 추가로 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 조성물을 의미한다. 조성물은 예를 들어 투여 방식 및 제형의 특성에 따라 희석제, 보조제, 부형

제, 비히클, 보존제, 충전제, 붕해제, 습윤제, 유화제, 현탁제, 감미제, 향미제, 방향제, 항균제, 항진균제, 윤활제 및 분산제로부터 선택된 성분을 추가로 함유할 수 있다. 조성물은 예를 들어 정제, 당의정, 분말, 엘릭시르, 시럽, 현탁액을 비롯한 액체 제제, 스프레이, 흡입제, 정제, 로젠지, 에멀젼, 용액, 카셰, 과립, 캡슐 및 좌제, 뿐만 아니라 리포솜 제제를 포함한 주사 제제용 액체의 형태를 취할 수 있다.

[0191] 본 발명의 화합물은 하나 이상의 동위원소 치환을 함유할 수 있고, 특정 원소에 대한 언급은 그 범위 내에서 원소의 모든 동위원소를 포함한다. 예를 들어, 수소에 대한 언급은 그 범위 내에 $^{1}H$, $^{2}H$ (D), 및 $^{3}H$ (T)를 포함한다. 유사하게, 탄소 및 산소에 대한 언급은 각각 $^{12}C$, $^{13}C$ 및 $^{14}C$ 및 $^{16}O$ 및 $^{18}O$를 그들의 범위 내에 포함한다. 유사한 방식으로, 특정 작용기에 대한 언급은 문맥에서 달리 나타내지 않는 한 그 범위 내에 동위원소 변형을 포함한다. 예를 들어, 에틸 기 같은 알킬 기 또는 메톡시 기와 같은 알콕시 기에 대한 언급은 5개의 수소 원자가 모두 중수소 동위원소 형태인 에틸 기(과중수소에틸 기) 또는 3개의 수소 원자가 모두 중수소 동위원소 형태인 메톡시기(삼중수소메톡시 기)에서와 같이, 기의 수소 원자 중 하나 이상이 중수소 또는 삼중수소 동위원소 형태인 변형도 포함한다. 동위원소는 방사성 또는 비방사성일 수 있다.

[0192] 치료 용량은 환자의 요구 사항, 치료되는 상태의 중증도 및 사용되는 화합물에 따라 달라질 수 있다. 특정 상황에 대한 적절한 투여량의 결정은 당업계의 기술 범위 내에 있다. 일반적으로, 치료는 화합물의 최적 투여량보다 적은 더 적은 투여량으로 시작된다. 그 후 상황에서 최적의 효과에 도달할 때까지 용량을 조금씩 증량한다. 편의상 필요에 따라 1일 총 투여량을 나누어 하루에 나누어 투여할 수 있다.

[0193] 물론, 화합물의 유효 용량의 크기는 치료될 상태의 중증도의 성질과 특정 화합물 및 그의 투여 경로에 따라 달라질 것이다. 적절한 투여량의 선택은 과도한 부담 없이 당업자의 능력 범위 내이다. 일반적으로, 1일 용량 범위는 인간 및 비인간 동물의 체중 kg당 약 10㎍ 내지 약 30mg, 바람직하게는 인간 및 비인간 동물의 체중 kg당 약 50㎍ 내지 약 30mg, 예를 들어 인간 및 비인간 동물의 체중 kg당 약 50 ㎍ 내지 약 10 mg, 예를 들어 인간 및 비인간 동물의 체중 kg당 약 100 ㎍ 내지 약 30 mg, 예를 들어 인간 및 비인간 동물의 체중 kg당 약 100㎍ 내지 약 10mg, 가장 바람직하게는 인간 및 비인간 동물의 체중 kg당 약 100㎍ 내지 약 1mg일 수 있다.

[0194] **약제학적 제제**

[0195] 활성 화합물을 단독으로 투여하는 것이 가능하지만, 이를 약제학적 조성물(예를 들어 제형)로 제공하는 것이 바람직하다.

[0196] 따라서, 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 제약상 허용되는 부형제와 함께 하나 이상의 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0197] 약제학적으로 허용가능한 부형제(들)는 예를 들어 담체(예를 들어 고체, 액체 또는 반고체 담체), 보조제, 희석제(예를 들어 충전제 또는 증량제와 같은 고체 희석제, 및 용매 및 공용매), 과립화제, 결합제, 유동 보조제, 코팅제, 방출 조절제(예를 들어 방출 지연 또는 지연 중합체 또는 왁스), 결합제, 붕해제, 완충제, 윤활제, 방부제, 항진균제 및 항균제, 항산화제, 완충제, 등장성 조절제, 증점제, 향미제, 감미료, 안료, 가소제, 맛 차폐제, 안정제 또는 약제학적 조성물에 통상적으로 사용되는 임의의 기타 부형제로부터 선택될 수 있다.

[0198] 본원에 사용된 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 적절한 의학적 판단의 범위 내에서 합리적인 이점/위험 비율에 상응하면서, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 또는 기타 문제 또는 합병증 없이 대상(예를 들어 인간 대상)의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 의미한다. 각 부형제는 또한 제형의 다른 성분과 양립할 수 있다는 의미에서 "허용가능"해야 한다.

[0199] 본발명의 화합물을 함유하는 약제학적 조성물은 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있으며, 예를 들어 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, USA 참조. 약제학적 조성물은 경구, 비경구, 정맥내, 근육내, 척수강내, 피하, 국소, 비강내, 기관지내, 설하, 구강, 안과, 귀, 직장, 질내 또는 경피 투여에 적합한 임의의 형태일 수 있다.

[0200] 경구 투여에 적합한 약제학적 투여 형태는 정제(코팅 또는 비코팅), 캡슐(경질 또는 연질 쉘), 캐플릿, 환제, 로젠지, 시럽, 용액, 분말, 과립, 엘릭시르 및 현탁액, 설하 정제, 웨이퍼 또는 구강 패치와 같은 패치를 포함한다.

[0201] 조성물은 정제 조성물 또는 캡슐 조성물일 수 있다. 정제 조성물은 불활성 희석제 또는 담체, 예를 들어 당 또는 당 알코올, 예를 들어 락토스, 수크로스, 소르비톨 또는 만니톨; 그리고/또는 탄산나트륨, 인산칼슘, 탄산칼

슘과 같은 비당 유래 희석제, 또는 미세결정질 셀룰로오스(MCC), 메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸 셀룰로오스와 같은 셀룰로오스 또는 이들의 유도체, 및 옥수수 전분과 같은 전분과 함께 활성 화합물의 단위 투여량을 함유할 수 있다. 정제는 또한 폴리비닐피롤리돈과 같은 결합제 및 과립제, 붕해제(예를 들어 가교 카르복시메틸셀룰로오스와 같은 팽윤성 가교 중합체), 윤활제(예를 들어 스테아레이트), 보존제(예를 들어 파라벤), 산화 방지제(예를 들어 BHT), 완충제(예를 들어 포스페이트 또는 시트레이트 완충제), 및 시트레이트/바이카보네이트 혼합물과 같은 발포제와 같은 표준 성분을 함유할 수 있다. 이러한 부형제는 잘 알려져 있으므로 여기에서 자세히 논의할 필요가 없다.

[0202] 정제는 위액과 접촉 시 약물을 방출(즉시 방출 정제)하거나 장기간에 걸쳐 또는 GI 관의 특정 영역과 함께 제어된 방식으로 방출(제어 방출 정제)하도록 설계될 수 있다.

[0203] 약제학적 조성물은 전형적으로 약 1%(w/w) 내지 약 95%, 바람직하게는 %(w/w) 활성 성분 및 99%(w/w) 내지 5%(w/w)의 약제학적으로 허용되는 부형제(예를 들어 위에 정의된 바와 같이) 또는 그러한 부형제의 조합을 포함한다. 바람직하게는, 조성물은 약 20%(w/w) 내지 약 90%(w/w) 활성 성분 및 80%(w/w) 내지 10%의 약학적 부형제 또는 부형제의 조합을 포함한다. 약제학적 조성물은 약 1% 내지 약 95%, 바람직하게는 약 20% 내지 약 90%의 활성 성분을 포함한다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 예를 들어 앰플, 바이알, 좌약, 미리 충전된 주사기, 당의정, 분말, 정제 또는 캡슐과 같은 단위 용량 형태일 수 있다.

[0204] 정제 및 캡슐은 예를 들어 0-20% 붕해제, 0-5% 윤활제, 0-5% 유동 보조제 및/또는 0-99%(w/w) 충전제/또는 증량제(약물 용량에 따라 다름)를 함유할 수 있다. 정제 및 캡슐은 그들은 또한 0-10%(w/w) 폴리머 결합제, 0-5%(w/w) 산화 방지제, 0-5%(w/w) 안료를 포함할 수 있다. 서방성 정제는 또한 일반적으로 0-99%(w/w) 방출 제어(예를 들어 지연) 중합체(용량에 따라 다름)를 포함한다. 정제 또는 캡슐의 필름 코팅은 일반적으로 0-10%(w/w) 중합체, 0-3%(w/w) 안료 및/또는 0-2%(w/w) 가소제를 함유한다.

[0205] 조성물은 비경구 조성물일 수 있다. 비경구 제형은 일반적으로 0-20%(w/w) 완충제, 0-50%(w/w) 공용매 및/또는 0-99%(w/w) 주사용수(WFI)(용량 및 동결 건조 여부에 따라 다름)를 포함한다. 근육 내 저장소용 제형은 또한 0-99%(w/w) 오일을 함유할 수 있다.

[0206] 약제학적 제형은 단일 패키지, 일반적으로 블리스터 팩에 전체 치료 과정을 포함하는 "환자 팩"으로 환자에게 제공될 수 있다.

[0207] 본발명의 화합물은 일반적으로 단위 투여 형태로 제공될 것이며, 그 자체로 일반적으로 원하는 수준의 생물학적 활성을 제공하기에 충분한 화합물을 함유할 것이다. 예를 들어, 제형은 1 나노그램 내지 2 그램의 활성 성분, 예를 들어, 1나노그램에서 2밀리그램의 활성 성분을 함유할 수 있다. 이러한 범위 내에서, 화합물의 특정 하위 범위는 0.1밀리그램 내지 2그램의 활성 성분(더 일반적으로 10밀리그램 내지 1그램, 예를 들어 50밀리그램 내지 500밀리그램), 또는 1마이크로그램 내지 20밀리그램(예를 들어, 1마이크로그램 내지 10밀리그램, 예를 들어 0.1밀리그램에서 2밀리그램의 활성 성분)이다.

[0208]

[0209] 경구 조성물의 경우, 단위 투여 형태는 1 밀리그램 내지 2 그램, 보다 전형적으로 10 밀리그램 내지 1 그램, 예를 들어 50 밀리그램 내지 1 그램, 예를 들어 100 밀리그램 ~ 1 그램 활성 화합물을 함유할 수 있다.

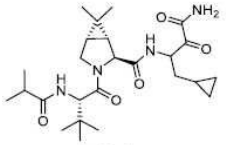
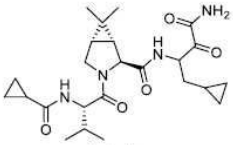
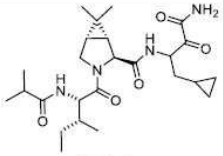
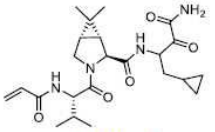
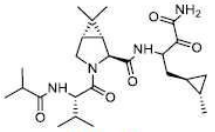
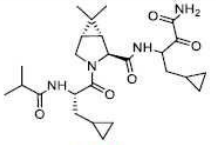
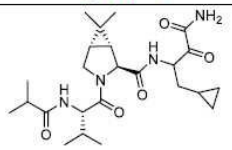
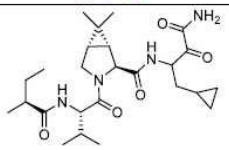
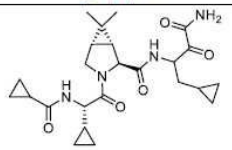
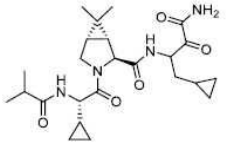
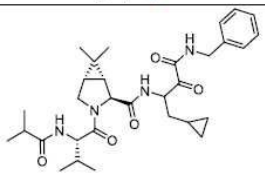
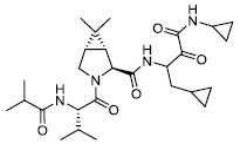
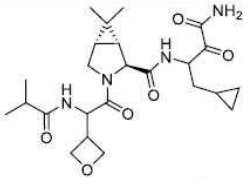
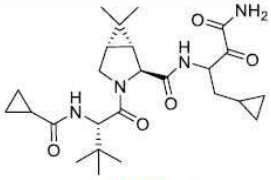
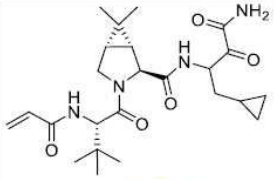
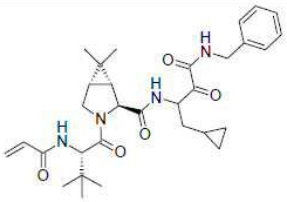
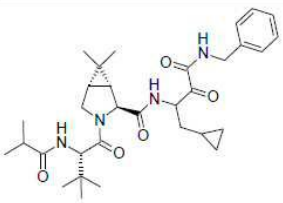
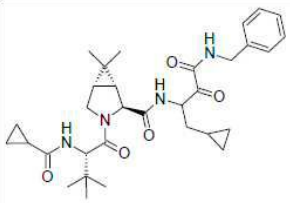
[0210] 활성 화합물은 원하는 치료 효과를 달성하기에 충분한 양(유효량)으로 이를 필요로 하는 환자(예를 들어, 인간 또는 동물 환자)에게 투여될 것이다. 투여되는 화합물의 정확한 양은 표준 절차에 따라 감독하는 의사에 의해 결정될 수 있다.

[0211] 화합물은 다른 물질, 예를 들어 SARS-CoV-2에 걸린 대상체를 치료하는 데 사용되는 다른 물질과 함께 투여될 수 있다. 화합물은 리토나비르 또는 로피나비르/리토나비르의 조합과 같은 cyp450 매개 대사를 차단하는 것으로 알려진 HIV 약물과 병용투여될 수 있다.

[0212] **실시예**

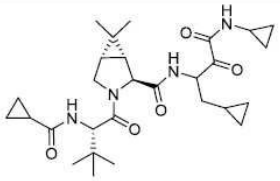
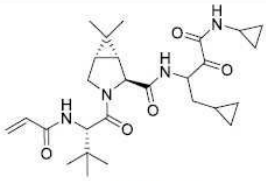
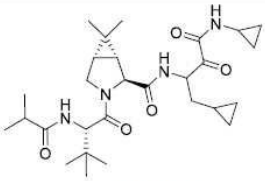
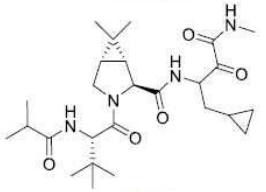
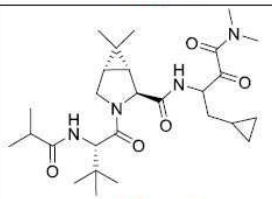
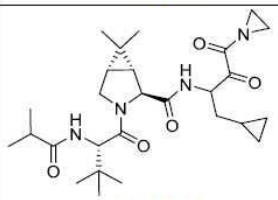
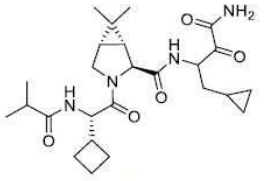
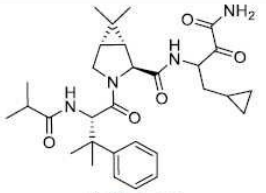
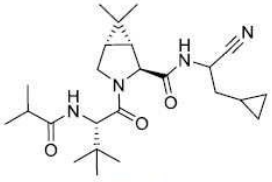
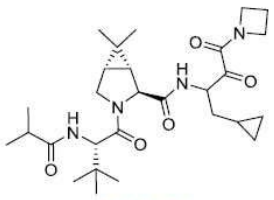
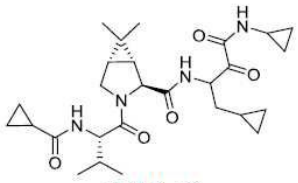
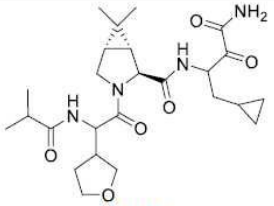
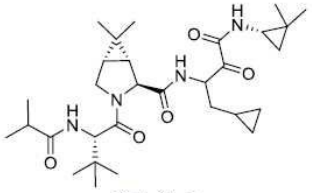
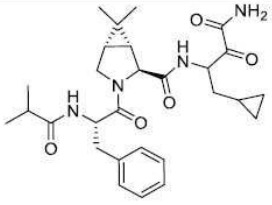
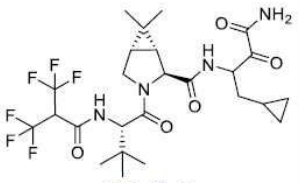
[0213] 이제 본 발명이 표 1에 나타낸 하기 실시예를 참조하여 예시될 것이지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0214] 표 1

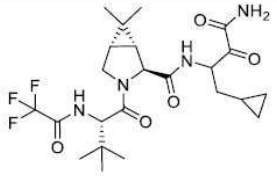
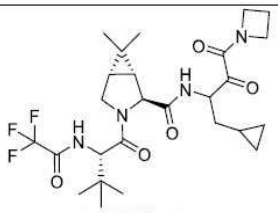
| | | |
|---|---|---|
|  실시예 1 |  실시예 2 |  실시예 3 |
|  실시예 4 |  실시예 5 |  실시예 6 |
|  실시예 7 |  실시예 8 |  실시예 9 |
|  실시예 10 |  실시예 11 |  실시예 12 |
|  실시예 13 |  실시예 14 |  실시예 15 |
|  실시예 16 |  실시예 17 |  실시예 18 |

[0215]

[0216]

| | | |
|---|---|---|
|  실시예 19 |  실시예 20 |  실시예 21 |
|  실시예 22 |  실시예 23 |  실시예 24 |
|  실시예 25 |  실시예 26 |  실시예 27 |
|  실시예 28 |  실시예 29 |  실시예 30 |
|  실시예 31 |  실시예 32 |  실시예 33 |

[0217]

| | | |
|---|---|---|
|  실시예 34 |  실시예 35 | |

[0218] **본발명의 화합물의 제조**

[0219] 본 발명의 화합물은 반응식 1에 상세히 기술된 경로를 포함하나 이에 제한되지 않는 경로에 의해 제조될 수 있다. 아래 경로 및 동일한 변환을 수행하는 데 사용될 수 있는 다른 경로와 같은 많은 표준 변환의 세부사항을 "Organic Synthesis", M. B. Smith, McGraw-Hill (1994), "Advanced Organic Chemistry", 4th edition, J. March, John Wiley & Sons (1992) or "Protective 기 in Organic Synthesis", 3rd edition, T. W. Greene, John Wiley & Sons (1999)와 같은 표준 참고 교과서에서 찾을 수 있다.

[0220] α-아미노산의 질소 보호된 유도체, 예를 들어 Boc 또는 Fmoc 유도체는 시판되거나, 하기 중간체의 합성 및 실시예 섹션에서 상세히 설명되는 변환을 포함하여 당업자에게 공지될 표준 변환에 의해 제조될 수 있다. 유사하게, α-아미노산의 에스테르 유도체, 예를 들어 메틸 또는 에틸 에스테르는 시판되거나, 하기 중간체 합성 및

실시예 섹션에서 상세히 설명되는 변환을 포함하여 당업자에게 공지된 표준 변환에 의해 제조될 수 있다.

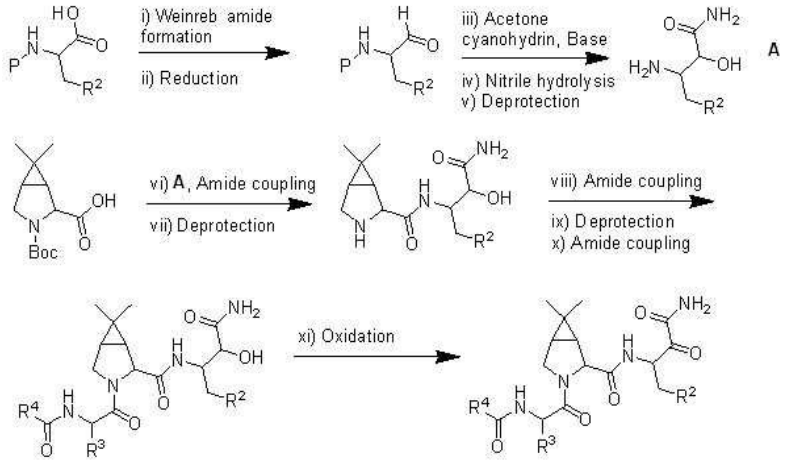
[0221] α-아미노산의 질소 보호된 유도체의 산 작용기는 아민과 결합하여 상응하는 아미드 유도체를 생성할 수 있다(예: 경로 1, 단계 vi; 경로 2 및 3, 단계 ix; 경로 4, 단계 iv). 카르복실산(예: 경로 3, 단계 xi; 경로 4, 단계 viii). 아미드 작용기는 또한 다른 수단, 예를 들어 일반적으로 실온에서 MeOH와 같은 용매에서 $Et_3N$과 같은 염기의 존재 하에 아민과 에틸 2,2,2-트리플루오로아세테이트의 반응을 통해 도입될 수 있다(예: 경로 4, vii 단계). α-아미노산의 유도체는 카르복실산과 결합하여 상응하는 아미드 유도체를 생성할 수 있다(예: 경로 1, 단계 viii, x; 경로 2, 단계 v, vii; 경로 3, 단계 v, vii; 경로 4, 단계 ii). α-아미노산 유도체 또는 예를 들어 α-아미노산 유도체와의 아미드 커플링 생성물에 존재하는 에스테르 작용기는 산성 또는 염기성 조건 하에서 예를 들어 THF, MeOH 또는 H2O, 또는 이들 용매의 혼합물 내에서, 일반적으로 0° C 또는 rt(예: 경로 2, 단계 viii; 경로 4, 단계 iii, vi)에서 수산화리튬 일수화물을 사용하여 가수분해될 수 있다. 가수분해는 위에서 설명한 것과 같은 아미드 커플링 조건 하에서 아민 또는 α-아미노산 유도체와 반응할 수 있는 카르복실산을 생성한다(예: 경로 1, 단계 vi; 경로 2 또는 3, 단계 ix; 경로 3, xi 단계, 경로 4, viii 단계).

[0222] α-아미노산 유도체 또는 α-아미노산 유도체와의 아미드 커플링 생성물에 존재하는 질소 보호는 당업자에게 공지된 조건 하에서 제거될 수 있다. Boc 기는 산성 조건 하에서, 예를 들어 실온에서 EtOAc 중 HCl 용액, 실온에서 DCM과 같은 용매 중 TFA, 실온에서 1,4-디옥산/DCM과 같은 용매 혼합물 중 HCl을 사용하여, 또는 60° C와 같은 고온에서 MeOH 내 TMSCl의 존재 하에서 니트릴 기의 메틸 에스테르로의 가수분해와 같은 또 다른 변형과 동시에, 제거될 수 있다. Fmoc 기는 기본 조건, 예를 들어 실온에서 DMF 중 20% 피페리딘 하에서 제거될 수 있다. 탈보호 반응은 후속 아미드 커플링 반응에 사용될 수 있는 아민 작용기를 생성한다.

[0223] 아미드 커플링 반응 조건은 일반적으로 실온에서 DCM 또는 DMF와 같은 용매에서 DIPEA, NMM 또는 Et3N와 같은 적합한 염기가 있거나 없는 커플링제, 예를 들어 T3P, HATU, 또는 EDCI(종종 염산염)와 HOBt와 같은 커플링제의 조합을 일반적으로 사용할 것이다. 대안적으로, α-아미노산의 유도체는 전형적으로 실온에서 DCM과 같은 용매 중에서 적합한 염기, 예컨대 DIPEA를 사용하여 산 클로라이드, 예를 들어 시클로프로판카르보닐 클로라이드와 커플링되어 아미드 유도체를 형성할 수 있다.

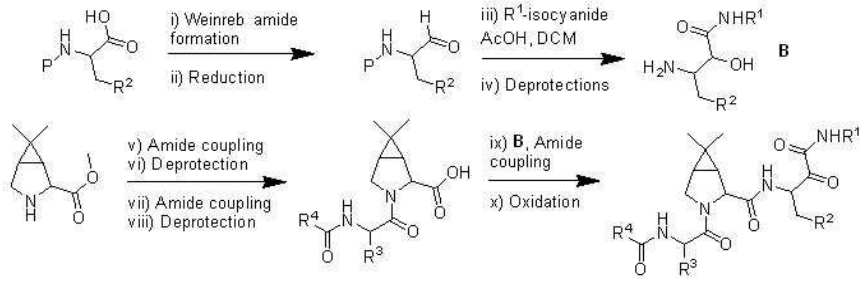
[0224] α-아미노산 유도체에 존재하는 산 작용기는 *N*-메톡시-*N*-메틸아미드 유도체(일반적으로 Weinreb 아미드로 알려짐)의 형성 및 후속적으로 일반적으로 0° C에서 THF와 같은 용매 내 리튬 알루미늄 수소화물 사용(예: 경로 1, 2 및 3, 단계 i 및 ii)과 같은 조건을 사용하여 알데히드로의 환원을 포함하는 방법에 의해 알데히드로 변환될 수 있다. 알데히드는 치환되거나 치환되지 않은 케토아미드 작용기를 형성하기 위해 일련의 단계에서 사용될 수 있다. 예를 들어, 그러한 반응 중 하나에서, $Et_3N$과 같은 염기의 존재하에 DCM과 같은 용매에서 일반적으로 0° C 또는 실온에서 아세톤 시아노히드린과 반응하면(예: 경로 1 및 3, 단계 iii) 1-시아노, 1-하이드록시 유도체가 생성된다. 1-시아노, 1-하이드록시 유도체의 시아노(니트릴이라고도 알려짐) 작용기는 일반적으로 0° C 또는 실온에서, 예를 들어 DMSO와 같은 용매에서 탄산칼륨과 같은 염기의 존재 하에 과산화수소를 사용하여 1차 아미드로 가수분해될 수 있다(예: 경로 1 및 3, 단계 iv). 대안적으로, 시아노 작용기는 산성 조건, 예를 들어 TMSCl의 존재 하에 60℃와 같은 승온에서 메탄올과의 반응에 의해 메틸 에스테르로 변환될 수 있다(예를 들어 경로 3, 단계 iv). 에틸 에스테르로의 유사한 변형은 65° C와 같은 승온에서 1차 아미드 그룹과 에탄올 및 염화티오닐의 반응에 의해 이루어질 수 있다(예: 경로 4, 단계 i). 알데히드의 두 번째 변환에서, 일반적으로 실온에서 DCM과 같은 용매 중에서 AcOH의 존재 하에 이소시아나이드, 예를 들어 알킬 또는 벤질 이소시아나이드와의 반응에 의해 알킬아미노 또는 벤질아미노 치환된 1-옥소-2-일 아세테이트 유도체(예: 경로 2, 단계 iii)를 생성한다. 아세테이트 치환은 실온에서 MeOH 중 $Et_3N$과 같은 조건 하에 제거되어 치환된 하이드록시 케토아미드 유도체를 생성할 수 있다(예: 경로 2, 단계 iv). 위의 방법에 의해 알데히드로부터 유도된 히드록시기는 이 단계에서 또는 추가 변환 후에 DMSO와 같은 적합한 용매에서 IBX 또는 DMP와 같은 산화제를 사용하여 일반적으로 0 ºC 또는 실온에서 케톤으로 산화될 수 있다. rt(예: 경로 1, 2, 3, 각각 xi, x, xii 단계).

Route 1 (P = protecting group)



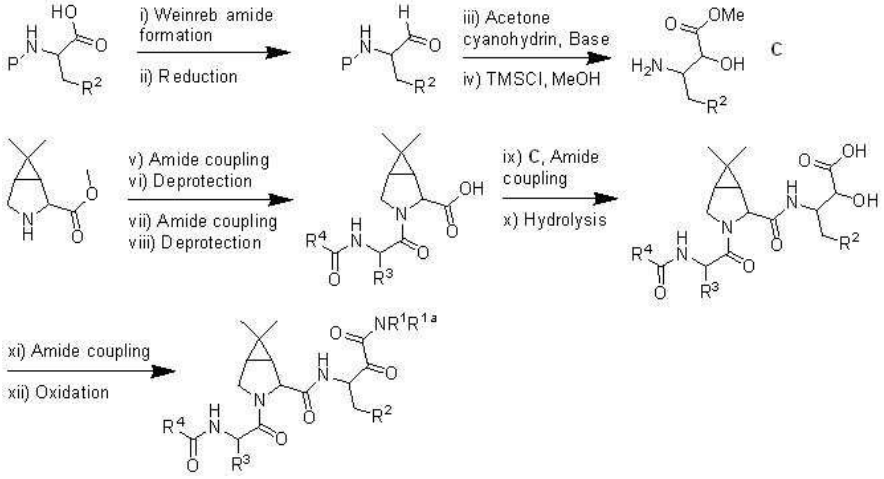

[0225]

Route 2 (P = protecting group)



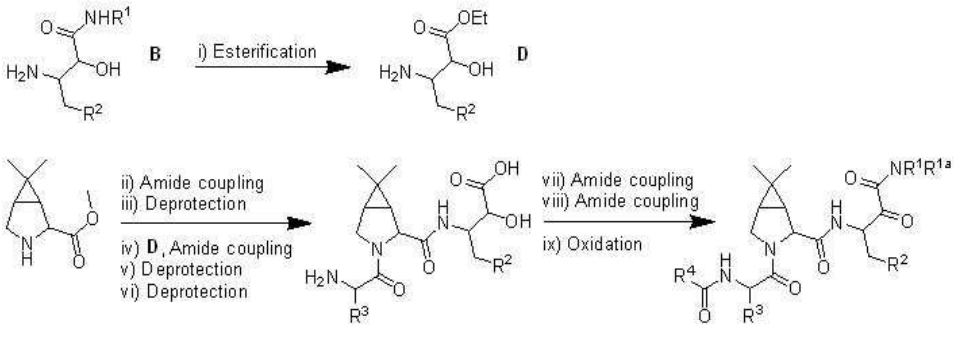

[0226]

Route 3 (P = protecting group)




[0227]

Route 4 (P = protecting group)




[0228]

[0229] 반응식 1

[0230] **일반 절차**

[0231] 제조 경로가 포함되지 않은 경우 관련 중간체는 상업적으로 입수가능한다. 상용 시약은 추가 정제 없이 사용되었다. 실온(RT)은 약 20-27 °C를 나타낸다. $^1$H NMR 스펙트럼을 Bruker 분광기 (400 또는 400 MHz에서) 상에서 기록했다. 화학적 이동 값은 백만분율(ppm), 즉 (δ) 값으로 표시된다. NMR 신호의 다중성에 대해 다음 약어가 사용된다: s=단일선, br=광대역, d=이중선, t=삼중선, q=사중선, quint=오중선, h=육중선, dd=이중선의 이중선 dt=삼중선의 이중선, m=다중선. 커플링 상수는 Hz로 측정된 *J* 값으로 나열된다. NMR 및 질량 분광법 결과는 배경 피크를 설명하도록 수정되었다. 반응 모니터링을 위한 TLC는 실리카겔을 고정상으로 사용하는 TLC를 지칭한다.

[0232] LCMS 실험을 다음 조건하에서 수행했고, LCMS 데이터가 다음 형식으로 제공된다: 질량 이온, 체류 시간.

[0233] 방법 A. 장비: Shimadzu LCMS-2020; 칼럼: Chromolith@Flash RP-18E 25-2 MM 또는 Kinetex EVO C18 2.1X30mm, 5umKinetex EVO C18 2.1x30 mm, 5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/5, 0.8/95, 1.2/95, 1.21/5, 1.55/5 (용매 A = 0.0375% 물 내 TFA (v/v), B = 0.01875% MeCN 내 TFA (v/v)); UV 검출 220 및 254 nm; 칼럼 온도 50 °C; 유속 1.5 mL/min

[0234] 방법 A2. 장비: Agilent 6110 MSD를 갖춘 Agilent 1200 LC; 칼럼: Agilent ZORBAX SB-Aq, 2.1*50mm, 5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/1, 0.4/1, 3.4/90, 3.91/1, 4.5/1 (용매 A = 0.0375% 물 내 TFA (v/v), B = 0.01875% MeCN 내 TFA (v/v)); UV 검출 220 및 254 nm; 칼럼 온도 50 °C; 유속 0.8 mL/min

[0235] 방법 B. 장비: Shimadzu LCMS-2020; 칼럼: Kinetex EVO C18 2.1x30 mm, 5 μm; 방법 B 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/0, 0.8/60, 1.2/60, 1.21/0, 1.55/0 (용매 A = 물 내 0.025% $NH_3 \cdot H_2O$ (25%, w/w) in water (v/v)(25%, w/w) (v/v), B = MeCN); UV 검출 210-254 nm; 칼럼 온도 40°C 또는 50 °C; 유속 0.8 또는 1.5 mL/min

[0236] 방법 C. 장비: Shimadzu LCMS-2020; 칼럼: Chromolith Flash RP-18e 25x2.0 mm 또는 Kinetex EVO C18 2.1X30mm, 5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/0, 0.8/60, 1.2/60, 1.21/0, 1.55/0 (용매 A = 0.0375% 물 내 TFA (v/v), B = 0.01875% MeCN 내 TFA (v/v)); UV 검출 210-254 nm; 칼럼 온도 50 °C; 유속 0.8 mL/min

[0237] 방법 D 및 D2. 장비: Agilent G1956A; Agilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956A칼럼: XBridge C18, 2.1*50 mm, 5 μm; 방법 D 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/5, 0.4/5, 3.4/90, 3.90/100, 3.91/5 (용매 A = 0.05% $NH_3 \cdot H_2O$ (25%, w/w) 물 내 (v/v), B = MeCN); 방법 D2 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/5, 0.4/5, 3.4/90, 4.00/100, 4.01/5 (용매 A = 0.05% $NH_3 \cdot H_2O$ (25%, w/w) 물 내 (v/v), B = MeCN); UV 검출 220, 254 nm; 칼럼 온도 40 °C; 유속 0.8 mL/min

[0238] Column: Waters XBridge C18 5 μm, 2.1*50mm

[0239] 방법 E. 장비: Agilent G1956A; Agilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956A칼럼: XBridge C18, 2.1*50 mm, 5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/1, 0.4/1, 3.4/90, 4.00/100, 4.01/1 (용매 A = 0.05% $NH_3 \cdot H_2O$ (25%, w/w) 물 내 (v/v), B = MeCN); UV 검출 220, 254 nm; 칼럼 온도 40 °C; 유속 0.8 mL/min

[0240] 방법 F 및 F2. 장비: 방법 F, PDA 및 QDA 검출기를 갖춘 Acquity UPLC; 방법 F2; PDA 및 QDA 검출기를 갖춘 Acquity H-Class; Agilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956A 칼럼: C18, 50*2.1mm, 1.6 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/3, 0.2/3, 2.7/98, 3.00/100, 3.50/100, 3.51/3 (용매 A = 0.1 % 물 내 $HCO_2H$, B = 0.1% 물 내 $HCO_2H$: 아세토니트릴 (10:90)); 칼럼 온도 35 °C; 유속 0.8 mL/min

[0241] 방법 F3. 장비: PDA & QDA 검출기를 갖춘 Acquity UPLC; Agilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956A칼럼: C18, 50*2.1mm, 2.5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/3, 0.2/3, 2.7/98, 3.00/100, 3.50/100, 3.51/3 (용매 A = 0.1 % 물 내 HCO2H, B = 0.1% 물 내 HCO2H: 아

세토니트릴 (10:90)); 칼럼 온도 30 °C; 유속 0.8 mL/min

[0242] 방법 G. 장비: PDA & QDA 검출기를 갖춘 Acquity UPLC; Agilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956A칼럼: C18, 50*2.1 mm, 2.5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/3, 0.2/3, 2.7/98, 3.0/100, 3.5/100, 3.51/3 (용매 A = 5mM $(NH_4)HCO_3$ 물 내, B = MeCN); 칼럼 온도 35 °C; 유속 1.0 mL/min

[0243] 방법 H. 장비: Micromass ZQ를 갖춘 Waters Alliance 2690 및 996 PDA 검출기; Agilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956AAgilent G1956A칼럼: C18, 150*4.6 mm, 3.5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/10, 7.0/90, 9.0/100, 14.0/100, 14.01/10 (용매 A = 0.1% 물 내 TFA, B = MeCN); 칼럼 온도 ambient; 유속 1.0 mL/min

[0244] 방법 I. 장비: PDA & QDA 검출기를 갖춘 Acquity UPLC; 칼럼: C18, 50*2.1 mm, 2.5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/3, 0.2/3, 2.7/98, 3/100, 3.5/100, 3.51/3 (용매 A = 0.1 % 물 내 HCO2H, B = 0.1% 물 내 HCO2H: 아세토니트릴 (10:90)); 칼럼 온도 30ºC; 유속 0.8 mL/min

[0245] 방법 J. 장비: Agilent G1956A를 갖춘 Agilent 1100 LC; 칼럼: Waters XBridge C18 2.1*50mm, 5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/1, 0.4/1, 3.4/90, 4.0/100, 4.01/1, 4.5/1 (용매 A = 0.05% 물 내 $NH_3 \cdot H_2O$ (25%, w/w) (v/v), B = MeCN; UV 검출 220 및 254 nm; 칼럼 온도 40 °C; 유속 0.8 mL/min

[0246] 방법 K. 장비: Agilent Infinity II G6125C; 칼럼: C18, 150*4.6 mm, 3.5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/10, 7.0/90, 9.0/100, 14.0/100, 14.01/10, 17.0/10 (용매 A = 0.1% 물 내 $NH_3$ (v/v), B = MeCN); 칼럼 온도 25 °C; 유속 1.0 mL/min

[0247] 방법 L. 장비: Agilent 1290 Infinity II Series LC/6125 Quadrupole MSD SL; 칼럼: Waters XBridge C8 50*4.6 mm, 3.5 μm; 구배 [시간 (min)/용매 A 내 B (%)]: 0.0/5, 2.5/95, 4.0/95, 4.5/5, 6.0/5. (용매 A= 0.1% TFA in $H_2O$:MeCN (95:5), B = 0.1% MeCN 내 TFA); UV 검출 210 내지 400 nm; 칼럼 온도 25° C; 유속 1.5 mL/min.

[0248] 이동상 A: 0.05% 물 (v/v) 내 $NH_3 \cdot H_2O$ (25%, w/w)

[0249] 이동상 B: 100% 아세토니트릴

[0250] **약어**

[0251] AcOH = 아세트산

[0252] Boc = *tert*-부톡시카보닐

[0253] CDI = *N*,*N*-카르보닐디이미다졸

[0254] DCM = 디클로로메탄

[0255] DMF = *N*,*N*-디메틸포름아미드

[0256] DMP = Dess-Martin 퍼아이오디난

[0257] DIPEA = *N*,*N*-디이소프로필에틸아민

[0258] DMSO = 디메틸설폭사이드

[0259] EDCI 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드

[0260] EtOAc = 에틸 아세테이트

[0261] Fmoc = 플루오레닐메톡시카르보닐 또는 (((9*H*-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)

[0262] h = 시간(들)

[0263] HATU = 1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-1*H*-1,2,3-트리아졸로[4,5-*b*]피리디늄 3-옥사이드 헥사플루오로포스페이

트

[0264] HOBt = 1-히드록시벤조트리아졸

[0265] HPLC = 고성능 액체 크로마토그래피

[0266] IBX = 2-아이오독시벤조산

[0267] L = 리터

[0268] LC = 액체 크로마토그래피

[0269] MeCN = 아세토니트릴

[0270] min = 분(s)

[0271] MS = 질량 분광계

[0272] NMM = *N*-메틸 모르폴린

[0273] NMR = 핵자기공명

[0274] MTBE = 메틸 *tert*-부틸 에테르

[0275] RT = 실온

[0276] T3P = 프로필포스폰산 무수물

[0277] TFA = 트리플루오로아세트산

[0278] TFAA = 트리플루오로아세트산 무수물

[0279] THF = 테트라히드로푸란

[0280] TLC = 박층 크로마토그래피

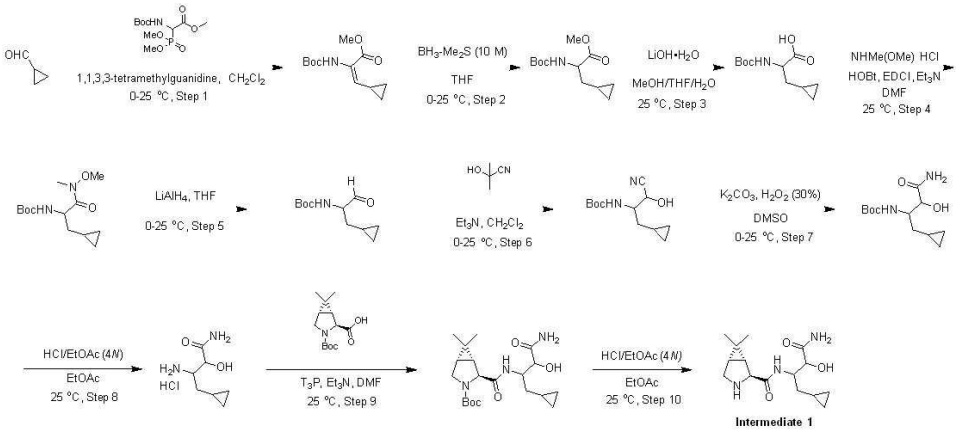
[0281] TMSCl = 트리메틸실릴 클로라이드

[0282] UPLC = 초성능 액체 크로마토그래피

[0283] 접두사 *n*-, *s*-, *i*-, *t*- 및 *tert*-는 일반적인 의미: 노멀, 2차, 이소 및 3차를 갖는이다.

[0284] **중간체의 합성**

[0285] 중간체 1: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드

[0286] 


[0287] 단계 1: DCM (2.5 L) 내 메틸 2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-2-디메톡시포스포릴 아세테이트 (551 g, 1.85 mol)의 혼합물에 1,1,3,3-테트라메틸구아니딘 (214 g, 1.85 mol, 233 mL)을 천천히 0° C에서 부가했다. 0° C에서 30분 동안 교반 후, 시클로프로판카브알데히드 (100 g, 1.43 mol, 107 mL)을 반응 혼합물에 0° C에서 부가하고, 생성된 혼합물을 25° C에서 12 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. $H_2O$ (2 L)을 부가하고, 생성된 혼합물을 DCM

(800 mL x 3)로 추출하고, 합한 유기 층을 염수 (1 L)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 구배 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제에 의해 (석유 에테르: EtOAc 1:0 내지 10:1) 메틸 (*E*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-시클로프로필-프로프-2-에노에이트 (374 g, 1.55 mol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0288] **LCMS (방법 A):** m/z 142.2 (M-100+H), 0.79 min에서.

[0289] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 0.59-0.64 (2H, m), 0.87-0.93 (2H, m), 1.38 (9H, br s), 1.59-1.71 (1H, m), 3.62 (3H, s), 5.61-5.98 (1H, m), 8.37 (1H, br s).

[0290] 단계 2: THF (2.5 L) 내 메틸 (*E*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-시클로프로필-프로프-2-에노에이트 (374 g, 1.55 mol)의 용액에 0 ° C에서 $N_2$ 하에서 한방울씩 $BH_3$-$Me_2S$ ($Me_2S$ 내 10 M, 620 mL)을 천천히 부가했다. 반응 혼합물을 25° C에서 24 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 반응 혼합물을 MeOH (2 L)의 적가로 0° C에서 급냉하고, 생성된 혼합물을 25° C에서 1 h 동안 $N_2$ 하에서 교반하고, 이후 진공에서 농축했다. 구배 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제에 의해 (석유 에테르: EtOAc 1:0 내지 10:1) 메틸 2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-시클로프로필-프로파노에이트 (213 g, 미정제)를 무색 오일로서 얻었다.

[0291] **LCMS (방법 A):** m/z 144.2 (M-100+H), 0.83 min에서.

[0292] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.05-0.01 (1H, m), 0.07-0.13 (1H, m), 0.35-0.41 (2H, m), 0.73-0.79 (1H, m), 1.33 (1H, br s), 1.38 (9H, s), 1.57-1.64 (1H, m), 3.61 (3H, s), 3.96-4.05 (1H, m), 7.26 (1H, br d, *J*=7.6 Hz).

[0293] 단계 3: MeOH (600 mL) 내 메틸 2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-시클로프로필-프로파노에이트 (213 g, 875 mmol), THF (600 mL) 및 $H_2O$ (600 mL)의 혼합물에 LiOH·$H_2O$ (73.5 g, 1.75 mol)을 25° C에서 부가했다. 생성된 혼합물을 진공에서 농축 전에 25° C에서 2 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 수성 HCl (1N)을 부가하여 pH를 대략 7로 조정하고, 생성된 혼합물을 에틸 아세테이트 (600 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수 (800 mL)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축하여 2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-시클로프로필-프로판산 (197 g, 미정제)을 무색 오일로서 얻었다.

[0294] **LCMS (방법 A):** m/z 130.2 (M-100+H), 0.73 min에서.

[0295] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.01 (1H, br s), 0.07 (1H, br s), 0.35 (2H, br s), 0.73 (1H, br s), 1.37 (9H, br s), 1.42-1.46 (1H, m), 1.54 (1H, br s), 3.81 (1H, br s), 6.64 (1H, br s).

[0296] 단계 4: DMF (800 mL) 내 2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-시클로프로필-프로판산 (197 g, 859 mmol)의 혼합물에 HOBt (139 g, 1.03 mol) 및 EDCI·HCl (198 g, 1.03 mol)을 천천히 25° C에서 부가했다. 25° C에서 대략 12 min동안 교반 후, *N*-메톡시메탄아민 염산 (101 g, 1.03 mol) 및 $Et_3N$ (104 g, 1.03 mol, 144 mL)을 부가하고 생성된 혼합물을 25° C에서 2 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. $H_2O$ (1.5 L)을 부가하고 생성된 혼합물을 EtOAc (800 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수 (500 mL x 3)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 구배 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제에 의해 (석유 에테르: EtOAc 1:0 내지 10:1) *tert*-부틸-*N*-[1-(시클로프로필메틸)-2-[메톡시(메틸)아미노]-2-옥소-에틸]카바메이트 (209 g, 0.77 mol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0297] **LCMS (방법 A):** m/z 173.2 (M-100+H), 0.81 min에서.

[0298] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.06-0.01 (1H, m), 0.07-0.13 (1H, m), 0.35-0.41 (2H, m), 0.74-0.78 (1H, m), 1.14-1.22 (1H, m), 1.37 (9H, s), 1.58-1.66 (1H, m), 3.09 (3H, s), 3.73 (3H, s), 4.44 (1H, br d, *J*=3.2 Hz), 7.01 (1H, br d, *J*=8.4 Hz).

[0299] 단계 5: THF (1.5 L) 내 *tert*-부틸 *N*-[1-(시클로프로필메틸)-2-[메톡시(메틸)아미노]-2-옥소-에틸]카바메이트 (189 g, 659 mmol)의 혼합물에 $LiAlH_4$ (25.0 g, 659 mmol)을 천천히 0° C에서 부가하고, 반응 혼합물을 25° C에

서 1 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. $H_2O$ (25 mL)을 한방울씩 0° C에서 부가하고, 생성된 혼합물을 여과하고 잔사를 THF (1 L)로 세척했다. 여액을 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 잔사를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 (석유 에테르: EtOAc 1:0 내지 5:1) *tert*-부틸 *N*-[1-(시클로프로필메틸)-2-옥소-에틸]카바메이트 (105 g, 미정제)을 옅은 황색 오일로서 얻었다.

[0300] **LCMS (방법 A):** m/z 114.2 (M-100+H), 0.75 min에서.

[0301] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 0.06-0.08 (2H, m), 0.38-0.40 (2H, m), 0.76-0.78 (1H, m), 1.40 (9H, s), 1.44-1.48 (2H, m), 3.86-3.92 (1H, m), 7.31 (1H, br d, *J*=7.2 Hz), 9.45 (1H, s).

[0302] 단계 6: DCM (1 L) 내 *tert*-부틸 *N*-[1-(시클로프로필메틸)-2-옥소-에틸]카바메이트 (121 g, 567 mmol)의 혼합물에 $Et_3N$ (86.1 g, 851 mmol, 118 mL) 및 2-히드록시-2-메틸-프로판니트릴 (74.7 g, 878 mmol, 80.2 mL)을 천천히 0° C에서 부가했다. 반응 혼합물을 25° C에서 12 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 반응 혼합물을 포화 수성 $NaHCO_3$ (500 mL) 용액의 부가로 0° C에서 급냉하고, 생성된 혼합물을 DCM (300 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수 (500 mL)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 구배 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제에 의해 (석유 에테르: EtOAc 1:0 내지 5:1) *tert*-부틸 *N*-[2-시아노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-에틸]카바메이트 (69.2 g, 미정제)를 옅은 황색 오일로서 얻었다.

[0303] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.06-0.01 (1H, m), 0.09-0.15 (1H, m), 0.35-0.41 (2H, m), 0.66-0.75 (1H, m), 1.33-1.35 (1H, m), 1.39 (9H, s), 1.48-1.56 (1H, m), 3.60-3.71 (1H, m), 6.49-6.60 (1H, m), 6.93-7.07 (1H, m).

[0304] 단계 7: DMSO (500 mL) 내 *tert*-부틸 *N*-[2-시아노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-에틸]카바메이트 (71.0 g, 295 mmol) 및 $K_2CO_3$ (81.7 g, 591 mmol)의 혼합물에 $H_2O_2$ (449 g, 3.96 mol, 380 mL, 30% 순도, w/w)을 천천히 한방울씩 0° C에서 부가했다. 반응 혼합물을 0-25° C 에서 12 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 반응 혼합물을 $H_2O$ (1 L)로 희석하고 천천히 포화 수성 $Na_2S_2O_3$ (1 L) 용액의 부가로 0° C에서 급냉했다. 생성된 혼합물을 대략 pH 8로 수성 1N HCl 용액으로 선성화하고, 이후 DCM (500 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수 (500 mL), 및 포화 수성 $Na_2S_2O_3$ (500 mL) 용액으로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 구배 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제에 의해 (석유 에테르: EtOAc 10:1 내지 0:1) *tert*-부틸 *N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]카바메이트 (35.6 g, 0.14 mol)를 얻었다.

[0305] **LCMS (방법 A):** m/z 159.2 (M-100+H), 0.70 min에서.

[0306] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 0.01-0.05 (2H, m), 0.37 (2H, br d, *J*=7.6 Hz), 0.63-0.67 (1H, m), 1.36 (9H, s), 1.39 (2H, s), 3.77-3.82 (1H, m), 3.88-3.91 (1H, m), 5.44 (1H, d, *J*=6.4 Hz), 5.95 (1H, br d, *J*=9.2 Hz), 7.20 (2H, br d, *J*=10.8 Hz).

[0307] 단계 8: HCl/EtOAc (4 N, 34 mL)을 EtOAc (30 mL) 내 *tert*-부틸 *N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]카바메이트 (5.60 g, 21.7 mmol)의 혼합물에 25° C에서 부가했다. 생성된 혼합물을 25° C에서 1 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 분취용 HPLC (첨가제로서 HCl)에 의한 진공에서 농축 정제 후 3-아미노-4-시클로프로필-2-히드록시-부탄아미드 염산 (3.30 g, 20.9 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0308] **LCMS (방법 B):** m/z 158.9 (M+H), 0.38 min에서.

[0309] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.06-0.13 (2H, m), 0.37-0.46 (2H, m), 0.74-0.85 (1H, m), 1.21-1.51 (2H, m), 3.45-3.47 (1H, m), 4.11-4.28 (1H, m), 6.18-6.57 (1H, m), 7.42-7.55 (2H, m), 7.95 (1H, br s), 8.25 (1H, br s).

[0310]

[0311] 단계 8의 정제를 위한 분취용 HPLC (HCl) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Phenomenex luna C18 250 x 80 mm x 10 μm; 이동상: A = 물 내 0.05% HCl (v/v), B = MeCN; 구배: 15 min에 걸쳐 A 내 0-10% B; 유속 150

mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0312] 단계 9: DMF (30 mL) 내 3-아미노-4-시클로프로필-2-히드록시-부탄아미드 (2.00 g, 12.6 mmol) 및 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-*tert*-부톡시카르보닐-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실산 (2.97 g, 11.6 mmol)의 혼합물에 $Et_3N$ (2.56 g, 25.3 mmol, 3.52 mL) 및 T3P (12.1 g, 19.0 mmol, 11.3 mL, EtOAc 내 50% 순도)을 천천히 25° C에서 부가했다. 생성된 혼합물을 $H_2O$ (50 mL)의 부가 및 EtOAc (50 mL x 3)로 추출 전에 25° C에서 2 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 합한 유기 층을 염수 (50 mL)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 구배 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제 (석유 에테르: EtOAc 10:1 내지 1:1), 이후 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 *tert*-부틸(1*R*,2*S*,5*S*)-2-[[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]카바모일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-3-카복실레이트 (1.43 g, 3.62 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0313] **LCMS (방법 C):** m/z 396.2 (M+H), 0.99 min에서.

[0314] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.15-0.11 (2H, m), 0.23-0.41 (2H, m), 0.62-0.76 (1H, m), 0.83-0.87 (1H, m), 0.87-1.03 (6H, m), 1.27-1.36 (9H, m), 1.36-1.40 (2H, m), 1.42-1.62 (1H, m), 3.23-3.31 (1H, m), 3.43-3.58 (1H, m), 3.83-4.02 (2H, m), 4.03-4.23 (1H, m), 5.43-5.88 (1H, m), 7.12-7.29 (2H, m), 7.39-8.06 (1H, m).

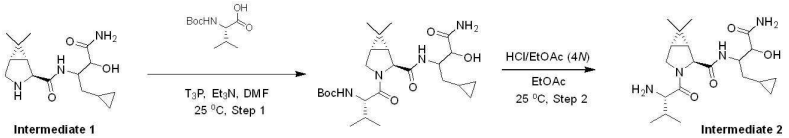
[0315] 단계 9의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Kromasil Eternity XT 250 x 80 mm x 10 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 37-67% B; 유속: 140 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0316] 단계 10: EtOAc (5 mL) 내 *tert*-부틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-2-[[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]카바모일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-3-카복실레이트 (1.40 g, 3.24 mmol)의 혼합물에 HCl/EtOAc (4 N, 15.3 mL)을 25° C에서 부가하고, 생성된 혼합물을 25° C에서 1 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 진공에서 농축으로 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (중간체 1, 1.15 g, 3.89 mmol)를 옅은 황색 고체로서 얻었다.

[0317] **LCMS (방법 C):** m/z 296.1 (M+H), 0.66 min에서.

[0318] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.16-0.17 (2H, m), 0.27-0.44 (2H, m), 0.60-0.72 (1H, m), 1.02-1.09 (6H, m), 1.29-1.64 (2H, m), 1.65-1.89 (2H, m), 3.02-3.07 (1H, m), 3.60 (2H, br s), 3.89-3.98 (1H, m), 4.18-4.29 (1H, m), 7.08-7.38 (2H, m), 8.35-8.72 (1H, m), 8.72-8.94 (1H, m), 9.87-10.23 (1H, m).

[0319] **중간체 2:** (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-3-[(2*S*)-2-아미노-3-메틸-부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드

[0320] 


[0321] 단계 1: DMF (3 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 중간체 1 (280 mg, 0.95 mmol) 및 (*tert*-부톡시카르보닐)-*L*-발린 (309 mg, 1.42 mmol)의 혼합물에 $Et_3N$ (192 mg, 1.90 mmol, 0.26 mL) 및 T3P (905 mg, 1.42 mmol, 0.85 mL, 50% 순도, w/w)을 천천히 25° C에서 부가했다. 생성된 혼합물을 25° C에서 12 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. $H_2O$ (50 mL)을 부가하고 생성된 혼합물을 EtOAc (20 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 층을 염수 (30 mL)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 잔사를 분취용 HPLC (첨가제로서 포름산)에 의해 정제하여 *tert*-부틸 *N*-[(1*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-[[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]카바모일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-3-카르보닐]-2-메틸-프로필]카바메이트 (183 mg, 0.37 mmol)을 백색 고체로서 얻었다.

[0322] **LCMS (방법 C):** m/z 495.2 (M+H), 1.04 min에서.

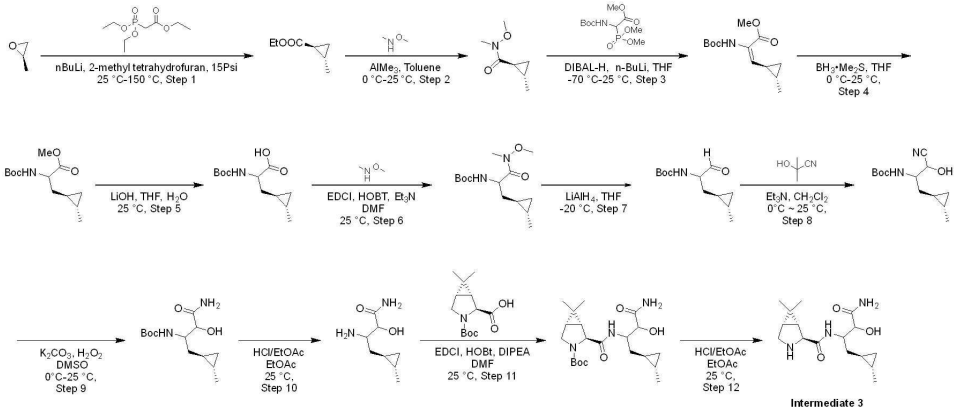
[0323] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.15-0.08 (2H, m), 0.26-0.41 (2H, m), 0.63-0.72 (1H, m), 0.76-0.99 (12H, m), 1.00 (2H, br s), 1.14-1.30 (1H, m), 1.30-1.39 (9H, m), 1.40-1.45 (1H, m), 1.77-1.95 (1H, m), 3.70-3.84 (2H, m), 3.85-3.97 (2H, m), 4.04-4.29 (2H, m), 4.98-5.96 (1H, m), 6.88-7.00 (1H, m), 7.12-7.28 (2H, m), 7.37-7.81 (1H, m).

[0324] 단계 1의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 33-63% B; 유속: 60 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0325] 단계 2: HCl/EtOAc (4 N, 3 mL)을 EtOAc (3 mL) 내 *tert*-부틸 *N*-[(1*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-[[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]카바모일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-3-카르보닐]-2-메틸-프로필]카바메이트 (150 mg, 0.30 mmol)의 혼합물에 25° C에서 부가하고, 및 생성된 혼합물을 25° C에서 1 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 반응 혼합물을 진공에서 농축하여 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-3-[(2*S*)-2-아미노-3-메틸-부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (125 mg, 미정제)을 옅은 황색 고체로서 얻었다.

[0326] **LCMS (방법 C):** m/z 395.2 (M+H), 0.73 min에서.

[0327] **중간체 3:** (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-3-히드록시-1-((1*R*,2*S*)-2-메틸시클로프로필)-4-옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드

[0328] 


[0329] 단계 1: n-BuLi n-헥산 내 (2.5M, 344 mL)을 2-메틸 테트라히드로푸란 (1 L) 내 에틸 2-디에톡시포스포릴아세테이트 (193 g, 861 mmol, 171 mL)의 용액에 25° C에서 $N_2$ 하에서 한방울씩 부가했다. 생성된 혼합물을 25° C에서 30분 동안 교반후 (2*R*)-2-메틸옥시란 (50.0 g, 861 mmol, 60.3 mL)을 25° C에서 부가했다. 생성된 혼합물을 150° C에서 12 h 동안 5L 오토클레이브 내 15 Psi의 압력에서 교반했다. 반응 혼합물을 25° C로 냉각하고 100° C에서 감압 하에서 (대략 0.03 bar) 증류하여 단계 1 생성물, (2*S*)-2-메틸시클로프로판카복실레이트 (91.0 g, 710 mmol)를 무색 오일로서 얻었다.

[0330] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.63-0.69 (1H, m), 1.11 (3H, d, *J*=6.0 Hz), 1.13-1.18 (1H, m), 1.24-1.28 (3H, m), 1.34-1.44 (2H, m), 4.07-4.15 (2H, m).

[0331] 단계 2: $AlMe_3$ (PhMe 내 2M, 78.0 mL, 156.0 mmol)을 PhMe (100 mL) 내 *N*-메톡시메탄아민 염산 (15.2 g, 156 mmol)의 혼합물에 0° C에서 $N_2$ 하에서 적가했다. 생성된 혼합물을 25° C에서 30분 동안 교반하고, 이후 PhMe (150 mL) 내 에틸 (2*S*)-2-메틸시클로프로판카복실레이트 (10.0 g, 78.0 mmol)의 용액을 0° C에서 부가했다. 생성된 혼합물을 $H_2O$ (100 mL)의 부가 전에 25° C에서 12 h 동안 교반했다. 수성 상을 에틸 아세테이트 (100 mL x 3)로 추출하고 합한 유기 상을 염수 (100 mL x 3)로 세척하고, 건조하고 ($Na_2SO_4$), 여과하고 진공에서 농축했다. 잔사를 석유 에테르: 에틸 아세테이트 20:1 내지 5:1로 용리하여 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여, (1*S*,2*S*)-*N*-메톡시-*N*,2-디메틸-시클로프로판카복사미드 (3.00 g, 21.0 mmol)을 황색 오일로서 얻었

다.

[0332] **LCMS (방법 A):** m/z 144.2 (M+H), 0.60 min에서.

[0333] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.61-0.68 (1H, m), 1.13 (3H, d, *J*=6.0 Hz), 1.16-1.21 (1H, m), 1.31-1.41 (1H, m), 1.78-1.90 (1H, m), 3.20 (3H, s), 3.75 (3H, s).

[0334] 단계 3: THF (30 mL) 내 (1*S*,2*S*)-*N*-메톡시-*N*,2-디메틸-시클로프로판카복사미드 (3.00 g, 21.0 mmol)의 혼합물에 DIBAL-H (내 1M PhMe, 23.1 mL, 23.1 mmol)을 한방울씩 -70° C에서 $N_2$ 하에서 부가했다. 생성된 혼합물을 -70° C에서 30분 동안 교반했다. 분리로, n-BuLi (n-헥산 내 2.5M, 17.6 mL, 35.2 mmol)을 THF (70 mL) 내 메틸 2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-2-디메톡시포스포릴 아세테이트 (6.85 g, 23.1 mmol)의 용액에 -70° C에서 $N_2$ 하에서 적가하고, 및 생성된 혼합물을 -70° C에서 제1 반응 혼합물에 부가 전에 -70° C에서 30분 동안 교반했다. 25° C에서 12 h 동안 교반 후 물 (100 mL)을 0° C에서 부가하고 생성된 혼합물을 EtOAc (100 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 층을 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 석유 에테르/에틸 아세테이트 10:1 내지 5:1로 용리하여 구배 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제에 의해, 메틸 (*E*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-[(1*S*,2*S*)-2-메틸시클로프로필]프로프-2-에노에이트 (3.40 g, 13.3 mmol)를 황색 오일로서 얻었다.

[0335] **LCMS (방법 A):** m/z 200.1 (M-56+H), 0.85 min에서.

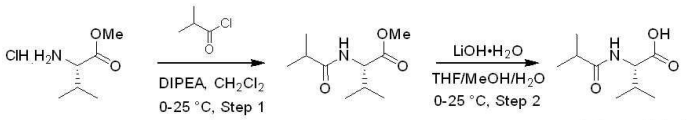
[0336] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.77-0.85 (2H, m), 1.04-1.11 (1H, m), 1.12-1.17 (3H, m), 1.35-1.42 (1H, m), 1.48 (9H, s), 3.75 (3H, s), 5.74-5.96 (1H, m), 6.06 (1H, d, *J*=10.8 Hz).

[0337] 단계 4-12: 중간체 1 (단계 2-10)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-3-히드록시-1-((1*R*,2*S*)-2-메틸시클로프로필)-4-옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 염산 (중간체 3, 0.39 g, 1.26 mmol, 옅은 황색 고체)을 메틸 (*E*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-[(1*S*,2*S*)-2-메틸시클로프로필]프로프-2-에노에이트 (23.5 g, 92.1 mmol)로부터 형성했다.

[0338] **LCMS (방법 B):** m/z 310.2 (M+H), 1.00 min에서.

[0339] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CD_3OD$) δ 0.10-0.61 (4H, m), 0.94-1.05 (3H, m), 1.11-1.19 (6H, m), 1.21-1.49 (2H, m), 1.52-1.70 (1H, m), 1.78-1.85 (1H, m), 3.21-3.30 (1H, m), 3.71-3.79 (1H, m), 4.08-4.20 (2H, m), 4.29-4.48 (1H, m).

[0340] **중간체 4:** 이소부티릴-*L*-발린

[0341] 

Intermediate 4

[0342] 단계 1: DCM (50 mL) 내 메틸 (2*S*)-2-아미노-3-메틸-부아노에이트 염산 (5.00 g, 29.8 mmol)의 혼합물에 DIPEA (11.6 g, 89.5 mmol, 15.6 mL) 및 2-메틸프로파노일 클로라이드 (3.81 g, 35.8 mmol)을 0° C에서 부가했다. 생성된 혼합물을 DCM (100 mL) 및 물 (80 mL)의 부가 전에 25° C에서 12 h 동안 교반했다. 유기 상을 물 (2 x 80 mL)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축하여 메틸 (2*S*)-3-메틸-2-(2-메틸프로파노일아미노)부아노에이트 (6.00 g, 29.8 mmol)을 황색 오일로서 얻었다.

[0343] **LCMS (방법 A):** m/z 202.2 (M+H), 0.35 min에서.

[0344] 단계 2: $LiOH·H_2O$ (2.50 g, 59.6 mmol)을 THF (20 mL), MeOH (6 mL) 및 $H_2O$ (6 mL) 내 메틸 (2*S*)-3-메틸-2-(2-메틸프로파노일아미노)부아노에이트 (4.00 g, 19.9 mmol)의 혼합물에 0° C에서 부가하고, 생성된 혼합물을 25° C에서 1 h 동안 교반했다. 수성 2N HCl 용액 이후 EtOAc (100 mL)을 부가하여 대략 pH 7로 조정했다. 상을 분리하고, 유기 상을 물 (80 mL x 3)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 분취용 HPLC에 의한 정제 (첨가제로서 포름산) (2*S*)-3-메틸-2-(2-메틸프로파노일아미노)부탄산 (중간체 4, 1.60 g,

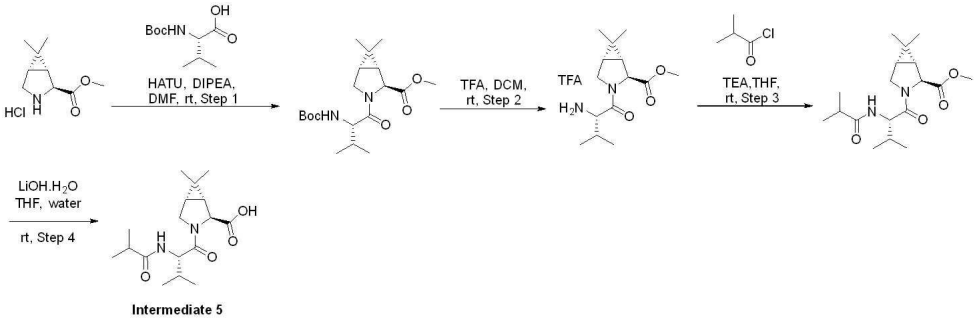
8.55 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0345] **LCMS (방법 A):** m/z 188.2 (M+H), 0.37 min에서.

[0346] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 0.96-0.99 (6H, m), 1.11-1.14 (6H, m), 2.12-2.20 (1H, m), 2.56-2.64 (1H, m), 4.00 (1H, d, *J*=6.0 Hz).

[0347] 중간체 4의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Phenomenex Synergi Max-RP C18 250 x 50 mm x 10 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 1-30% B; 유속: 150 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0348] **중간체 5:** (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실산

[0349] 

Intermediate 5

[0350] 단계 1: HATU (10.5 g, 27.7 mmol)을 DMF (30 mL) 내 (*tert*-부톡시카르보닐)-*L*-발린 (5.00 g, 23.0 mmol)의 용액에 부가하고 혼합물을 rt에서 10 min 동안 교반했다. 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 염산 (5.66 g, 27.7 mmol) 및 DIPEA (11.9 mL, 69.1 mmol)을 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 2 h 동안 교반했다. 반응 혼합물을 냉수 (250 mL) 및 EtOAc (100 mL) 사이에서 분배시키고, 수성 상을 EtOAc (2 x 70 mL)로 추출하고 합한 유기 상을 건조했다 ($Na_2SO_4$). 물 내 0-50% MeCN로 용리하여 C18 실리카 상 역상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피에 의한 진공에서 농축 정제 후, 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*tert*-부톡시카르보닐)-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 (5.90 g, 16.0 mmol)를 황색 점착성 고체로서 얻었다.

[0351] **LCMS (방법 F):** m/z 269.3 (M-100), 2.24 min에서.

[0352] 단계 2: TFA (6 mL)을 DCM (50 mL) 내 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*tert*-부톡시카르보닐)-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 (5.90 g, 16.0 mmol)의 용액에 0° C에서 적가했다. rt에서 2 h 동안 교반 후, 진공에서 농축으로 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 트리플루오로아세테이트 (6.50 g)를 황색 점착성 고체로서 얻었다.

[0353] **LCMS (방법 F):** m/z 269.3 (M+H), 0.93 min에서.

[0354]

[0355] 단계 3: $Et_3N$ (7.17 mL, 51.0 mmol)을 THF (100 mL) 내 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 트리플루오로아세테이트 (6.50 g, 17.0 mmol)의 용액에 0 ºC에서 적가하고 반응 혼합물을 0° C에서 10 min 동안 교반했다. 이소부티릴 클로라이드 (1.80 mL, 17.0 mmol)을 부가하고, rt에서 1 h 동안 교반 후 물 (250 mL) 및 EtOAc (100 mL)을 부가하고 상을 분리했다. 수성 층을 EtOAc (2 x 100 mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 건조하고 ($Na_2SO_4$) 진공에서 농축했다. C18 실리카 상 물 내 0-40% MeCN로 용리하여 역상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제로, 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 (4.10 g, 12.1 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

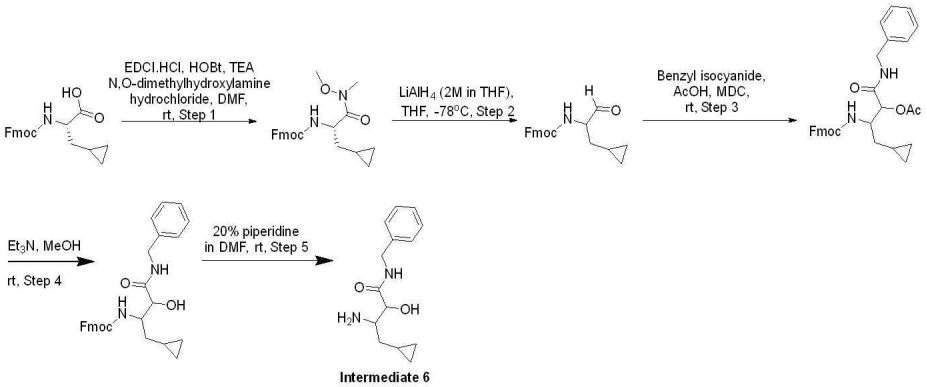
[0356] **LCMS (방법 F):** m/z 339.3 (M+H), 1.79 min에서.

[0357] 단계 4: $LiOH \cdot H_2O$ (2.48 g, 60.6 mmol)을 THF (20 mL) 및 물 (10 mL) 내 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 (4.10 g, 12.1 mmol)의 용액에 부가하고 혼합물을 rt에서 2 h 동안 교반했다. 물 (50 mL)을 부가하고 혼합물 빙 AcOH (20 mL)로 대략 pH 5로 산성화했다. 수성 층

을 10% DCM 내 MeOH (3 x 200 mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 건조하고 ($Na_2SO_4$) 진공에서 농축하여 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실산 (중간체 5, 3.30 g, 10.2 mmol)을 백색 고체로서 얻었고 이를 추가 정제 없이 사용했다.

[0358] **LCMS (방법 F):** m/z 325.3 (M+H), 1.49 min에서.

[0359] **중간체 6:** 3-아미노-*N*-벤질-4-시클로프로필-2-히드록시부탄아미드

[0360] 


[0361] 단계 1: (*S*)-2-((((9*H*-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-3-시클로프로필프로판산 (12.0 g, 34.2 mmol), EDCI·HCl (7.20 g, 37.5 mmol) 및 HOBt (5.06 g, 37.5 mmol)을 DMF (20 mL) 내에 rt에서 용해하고 20 mins 동안 교반했다. *N,O*-디메틸히드록실아민 염산 (3.65 g, 37.5 mmol) 및 $Et_3N$ (5.26 mL, 37.5 mmol)을 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 2 h 동안 교반했다. 물 (200 mL) 및 EtOAc (100 mL) 사이에서 분배 후 수성 층을 EtOAc (2 x 70 mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 건조하고 ($Na_2SO_4$) 진공에서 농축했다. n-헥산으로 분쇄로 (9*H*-플루오렌-9-일)메틸 (*S*)-(3-시클로프로필-1-(메톡시(메틸)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트 (12.0 g, 30.4 mmol))를 옅은 갈색 오일로서 얻었다.

[0362] **LCMS (방법 F):** m/z 417.1 (M+Na), 2.28 min에서.

[0363] 단계 2: 리튬 알루미늄 하이드리드 (2M 내 THF, 15.0 mL, 30.0 mmol)을 -78° C에서 건조 THF (50 mL) 내 (9*H*-플루오렌-9-일)메틸 (S)-(3-시클로프로필-1-(메톡시(메틸)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트 (12.0 g, 30.5 mmol)의 용액에 $N_2$ 하에서 적가했다. -78ºC에서 2 h 동안 $N_2$ 하에서 교반 후 포화 수성 $NH_4Cl$ 용액 (70 mL)을 부가했다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고 잔사를 EtOAc (100 mL)로 세척했다. 여액을 진공에서 농축하여 미정제 (9*H*-플루오렌-9-일)메틸 (*S*)-(1-시클로프로필-3-옥소프로판-2-일)카바메이트 (9.20 g)을 옅은 황색 고체로서 얻었고 이를 다음 단계에 대해 정제 없이 사용했다.

[0364] **LCMS (방법 G):** m/z 336.6 (M+H), 2.33 및 2.70 min에서.

[0365] 단계 3: 벤질 이소시아니드 (3.56 g, 30.2 mmol) 및 빙 AcOH (4.71 mL, 82.4 mmol)을 DCM (30 mL) 내 (9*H*-플루오렌-9-일)메틸 (*S*)-(1-시클로프로필-3-옥소프로판-2-일)카바메이트 (9.20 g, 27.5 mmol)의 용액에 0ºC에서 부가했다. rt에서 2 h 동안 교반 후 1N 수성 HCl (20 mL), 물 (70 mL) 및 DCM (100 mL)을 부가했다. 상을 분리하고 수성 상을 DCM (2 x 100 mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 포화 수성 $NaHCO_3$ 용액 (100 mL)로 세척하고 건조했다 ($Na_2SO_4$). 여과 및 진공에서 농축 후 n-헥산으로 분쇄로 (3*S*)-3-((((9*H*-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-1-(벤질아미노)-4-시클로프로필-1-옥소부탄-2-일 아세테이트 (14.0 g, 2.73 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0366] **LCMS (방법 F):** m/z 513.0 (M+H), 2.50 및 2.53 min에서.

[0367] 단계 4: $Et_3N$ (8.00 mL, 54.6 mmol)을 MeOH (200 mL) 내 (3*S*)-3-((((9*H*-플루오렌-9-일)메톡시)카르보닐)아미노)-1-(벤질아미노)-4-시클로프로필-1-옥소부탄-2-일 아세테이트 (14.0 g, 27.3 mmol)의 용액에 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 2 h 동안 교반했다. 얻어진 고체를 진공에서 농축 후 물 (100 mL) 내 현탁시키고 이후 여과했다. 건조 후, n-헥산으로 분쇄로 (9*H*-플루오렌-9-일)메틸 ((2*S*)-4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)카바메이트 (10.0 g, 21.3 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0368] **LCMS (방법 F):** m/z 471.3 (M+H), 2.43 및 2.46 min에서.

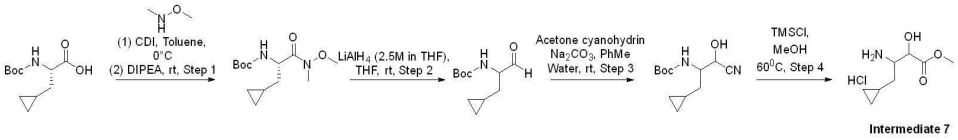
[0369] 단계 5: (9*H*-플루오렌-9-일)메틸((2*S*)-4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)카바메이트 (10.0 g, 21.3 mmol)을 20% DMF 내 피페리딘 (100 mL) 내에 용해하고 rt에서 40 min 동안 교반했다. 냉수 (500 mL)로 희석 후 생성된 현탁액을 셀라이트를 통해 여과했다. 여액을 진공에서 농축하고 MeCN (70 mL)로 분쇄하여 (3*S*)-3-아미노-*N*-벤질-4-시클로프로필-2-히드록시부탄아미드 (중간체 6, 3.00 g, 7.01 mmol)을 백색 고체로서 얻었다.

[0370] **LCMS (방법 F):** m/z 249.3 (M+H), 0.83 및 0.91 min에서.

[0371] **$^1$H NMR:** (400MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.14 - -0.19 (m, 1H), -0.03 - -0.06 (m, 1H), 0.28-0.33 (m, 1H), 0.35-0.39 (m, 1H), 0.77-0.81 (q, 1H, *J*=5.2Hz), 0.91-0.97 (m, 1H), 1.24-1.31 (m, 1H), 1.53 (br s, 2H), 2.93-2.95 (t, 1H, *J*=4.4Hz), 3.83 (s, 1H), 4.21-4.32 (m, 2H), 5.56 (s, 1H), 7.22-7.319 (m, 5H), 8.29-8.32 (t, 1H, *J*=6.0Hz).

[0372] _

[0373] **중간체 7:** 메틸 3-아미노-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 염산

[0374] 

Intermediate 7

[0375] 단계 1: (*S*)-2-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)-3-시클로프로필프로판산 (2.42 g, 10.6 mmol)을 PhMe (25 mL) 내에 0 ºC에서 $N_2$ 하에서 용해했다. CDI (1.75 g, 10.8 mmol)을 0° C에서 부가하고 반응 혼합물을 0° C에서 2 h 동안 교반했다. *N*,*O*-디메틸히드록실아민 염산 (1.34 g, 13.7 mmol) 및 DIPEA (1.86 mL, 10.8 mmol)을 0° C에서 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 16 h 동안 교반했다. 물 (50 mL) 및 EtOAc (50 mL) 사이에서 수성 상을 분배 후 EtOAc (2 x 50 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$), 여과하고 진공에서 농축하여 *tert*-부틸 (*S*)-(3-시클로프로필-1-(메톡시(메틸)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트 (2.00 g, 7.35 mmol)을 회-백색 고체로서 얻었다.

[0376] **LCMS (방법 F2):** m/z 273.1 (M+H), 2.04 min에서.

[0377] 단계 2: $LiAlH_4$ (2.5M 내 THF, 2.95 mL, 7.35 mmol)을 THF (20 mL) 내 *tert*-부틸 (*S*)-(3-시클로프로필-1-(메톡시(메틸)아미노)-1-옥소프로판-2-일)카바메이트 (2.00 g, 7.35 mmol)의 용액에 0 ºC에서 $N_2$ 하에서 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 1 h 동안 교반했다. 포화 수성 $NH_4Cl$ 용액 (50 mL) 및 EtOAc (60 mL) 사이에서 분배후 수성 상을 EtOAc (2 x 60 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$) 진공에서 농축하여 *tert*-부틸 (1-시클로프로필-3-옥소프로판-2일)카바메이트 (1.30 g, 6.10 mmol)을 황색 점착성 물질로서 얻었고 이를 추가 정제 없이 사용했다.

[0378] **TLC:** Rf 0.6 (EtOAc/헥산, 3:7).

[0379] 단계 3: 소듐 카보네이트 (1.94 g, 18.3 mmol)을 PhMe (5 mL) 및 물 (2 mL) 내 *tert*-부틸 (1-시클로프로필-3-옥소프로판-2-일)카바메이트 (1.30 g, 6.09 mmol)의 용액에 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 15 min 동안 교반했다. 아세톤 시아노히드린 (0.84 mL, 9.14 mmol)을 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 1 h 동안 교반했다. 물 (20 mL)로 희석 및 2N HCl (8 mL)로 대략 pH 5로 산성화 후 혼합물을 EtOAc (3 x 60 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$) 진공에서 농축했다. n-헥산 내 0-20% EtOAc로 용리하여 실리카 상 정상 상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제로, *tert*-부틸 (1-시아노-3-시클로프로필-1-히드록시프로판-2-일)카바메이트 (1.00 g, 4.16 mmol)를 갈색 점착성 물질로서 얻었다.

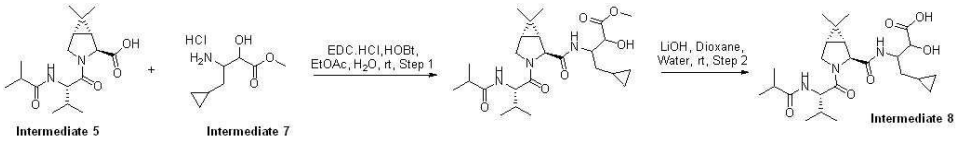
[0380] **LCMS (방법 F2):** m/z 185.2 (M-56), 1.68 min에서.

[0381] 단계 4: 트리메틸실릴 클로라이드 (2 mL, 15.7 mmol)을 MeOH (15 mL) 내 *tert*-부틸 (1-시아노-3-시클로프로필-1-히드록시프로판-2-일)카바메이트 (1.00 g, 4.16 mmol)의 용액에 부가하고 혼합물을 60 ºC에서 3 h 동안 교반했다. 진공에서 농축 및 물 내 0-12% MeCN로 용리하여 역상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제 (실

리카 C18) 후, 메틸 3-아미노-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 염산 (0.80 g, 3.81 mmol)를 황색 점착성 물질로서 얻었다.

[0382] **LCMS (방법 F2):** m/z 174.0 (M+H), 0.36 min에서, 대략 69% 순도.

[0383] **중간체 8:** 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)부탄산

[0384] 


[0385] 단계 1: EDCI·HCl (0.35 g, 1.85 mmol) 및 HOBt (0.21 g, 1.54 mmol)을 EtOAc (5 mL) 및 물 (0.5 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실산 (중간체 5, 0.50 g, 1.54 mmol) 및 메틸 3-아미노-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 염산 (중간체 7, 0.35 g, 1.70 mmol)의 용액에 부가했다. rt에서 16 h 동안 교반 후 반응 혼합물을 물 (30 mL) 및 EtOAc (50 mL)사이에서 분배시키고. 상을 분리하고 수성 상을 EtOAc (2 x 50 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$), 여과하고 진공에서 농축했다. 0-40% 물 내 MeCN로 용리하여 역상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 (실리카 C18)에 의한 정제로, 메틸 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)부아노에이트 (0.40 g, 0.83 mmol)를 회-백색 고체로서 얻었다.

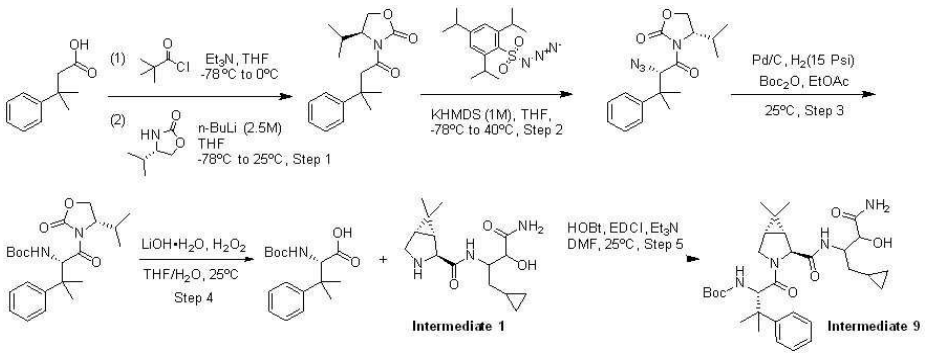
[0386] **LCMS (방법 F):** m/z 480.3 (M+H), 1.56 min에서.

[0387]

[0388] 단계 2: LiOH 일수화물 (89 mg, 2.18 mmol)을 1,4-디옥산 (1 mL) 및 물 (1 mL) 내 메틸 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)부아노에이트 (0.21 g, 0.43 mmol)의 용액에 부가했다. rt에서 3 h 동안 교반 후, 물 (50 mL)을 부가하고, 반응 혼합물을 EtOAc (2 x 30 mL)로 추출했다. 수성 상을 1N HCl (1.5 mL)로 대략 pH 2로 산성화하고 EtOAc (3 x 30 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$) 진공에서 농축하여 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)부탄산 (0.18 g, 0.39 mmol)을 갈색 점착성 물질로서 얻었다.

[0389] **LCMS (방법 F2):** m/z 466.1 (M+H), 1.69, 1.77 및 1.83 min에서.

[0390] **중간체 9:** *tert*-부틸 *N*-((1*S*)-1-((1*R*,2*S*,5*S*)-2-((3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필)카바모일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-3-카르보닐)-2-메틸-2-페닐-프로필)카바메이트

[0391] 


[0392] 단계 1: THF (60 mL) 내 3-메틸-3-페닐-부탄산 (4.50 g, 25.3 mmol)의 혼합물에 $Et_3N$ (3.83 g, 37.9 mmol, 5.27 mL) 및 2,2-디메틸프로파노일 클로라이드 (3.35 g, 27.8 mmol, 3.42 mL)을 한방울씩 -78° C에서 $N_2$ 하에서 부가했다. 반응 혼합물을 백색 고체가 형성될 때까지 -78° C에서 교반했다. 반응 혼합물을 0° C까지 데우고 -78° C로 냉각 (혼합물 A) 전에 1 h 동안 교반했다. THF (80 mL) 내 (4*S*)-4-이소프로필옥사졸리딘-2-온 (6.52 g, 50.5 mmol)의 용액에 *n*-BuLi (n-헥산 내 2.5 M, 20.2 mL)을 한방울씩 -78° C에서 $N_2$ 하에서 부가했다 (혼합물 B). 혼합물 B을 혼합물 A에 -78 ° C에서 부가하고 반응 혼합물을 -78° C에서 2 h 동안, 이후 25° C 12 h 동안

교반했다. 반응 혼합물을 포화 수성 $NH_4Cl$ 용액 (100 mL)으로 0° C에서 천천히 급냉하고 이후 25° C에서 1 h 동안 교반했다. 혼합물을 에틸 아세테이트 (50 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 상을 염수 (100 mL)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 잔사를 석유 에테르 내지 석유 에테르/에틸 아세테이트 5/1로 용리하여 실리카 상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 겔, 이후 분취용 역상 HPLC (첨가제로서 포름산)에 의해 정제하여 (4*S*)-4-이소프로필-3-(3-메틸-3-페닐-부타노일)옥사졸리딘-2-온 (6.15 g, 21.3 mmol)을 황색 오일로서 얻었다.

[0393] **LCMS (방법 A):** m/z 290.2 (M+H), 0.91 min에서.

[0394] **$^1$H NMR:** (400MHz, $CDCl_3$) δ 0.74 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 0.81 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 1.50 (6H, d, *J*=1.6 Hz), 2.12-2.20 (1H, m), 3.36 (2H, d, *J*=4.0 Hz), 4.01-4.09 (2H, m), 4.20-4.24 (1H, m), 7.15-7.21 (1H, m), 7.27-7.33 (2H, m), 7.37-7.42 (2H, m).

[0395] 중간체 9, 단계 1의 정제를 위한 분취용 역상 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Phenomenex Luna C18 250 x 80 mm x 15 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 35 min에 걸쳐 A 내 55-85% B; 유속: 140 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0396] 단계 2: THF (50 mL) 내 (4*S*)-4-이소프로필-3-(3-메틸-3-페닐-부타노일)옥사졸리딘-2-온 (6.00 g, 20.7 mmol)의 혼합물에 KHMDS (THF 내 1M, 22.8 mL)을 한방울씩 -78° C에서 $N_2$ 하에서 부가했다. 반응 혼합물을 -78° C에서 1 h 동안 교반했다. THF (30 mL) 내 *N*-디아조-2,4,6-트리이소프로필-벤젠설폰아미드 (8.02 g, 25.9 mmol)의 용액을 이후 -78° C에서 적가했다. 반응 혼합물을 -78° C에서 HOAc (5.73 g, 95.4 mmol, 5.46 mL)의 부가 전에 -78° C에서 0.5 h 동안 교반했다. 반응 혼합물을 0° C에서 포화 수성 $NH_4Cl$ 용액 (100 mL)으로 급냉 및 에틸 아세테이트 (50 mL x 3)로 추출 전에 40° C에서 2 h 동안 교반했다. 합한 유기 상을 염수 (50 mL), 포화 수성 $NaHCO_3$ 용액 (50 mL)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 석유 에테르 내지 석유 에테르/에틸 아세테이트 20/1로 용리하여 실리카 상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 겔에 의한 정제로 (4*S*)-3-[(2*S*)-2-아지도-3-메틸-3-페닐-부타노일]-4-이소프로필-옥사졸리딘-2-온 (5.92 g, 17.9 mmol)를 옅은 황색 오일로서 얻었다.

[0397] **LCMS (방법 A):** m/z 303.2 $(M+H-28)^+$, 0.94 min에서.

[0398] **$^1$H NMR:** (400MHz, $CDCl_3$) δ 0.83 (6H, dd, *J*=15.6, 7.2 Hz), 1.54-1.56 (6H, m), 2.28-2.34 (1H, m), 3.57 (1H, t, *J*=8.4 Hz), 3.87-3.91 (1H, m), 3.97 (1H, dd, *J*=8.8, 2.0 Hz), 5.66 (1H, s), 7.25-7.28 (1H, m), 7.30-7.36 (2H, m), 7.38-7.43 (2H, m).

[0399] 단계 3: EtOAc (50 mL) 내 (4*S*)-3-[(2*S*)-2-아지도-3-메틸-3-페닐-부타노일]-4-이소프로필-옥사졸리딘-2-온 (5.70 g, 17.3 mmol), $Boc_2O$ (8.28 g, 38.0 mmol, 8.72 mL) 및 Pd/C (500 mg, 10% 순도, w/w)의 혼합물을 25° C에서 12 h 동안 $H_2$ (15 PSI) 하에서 교반했다. 반응 혼합물을 여과하고 여액을 진공에서 농축했다. 생성된 잔사를 석유 에테르 내지 석유 에테르/에틸 아세테이트 10/1로 용리하여 실리카 상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 겔, 이후 분취용 HPLC (첨가제로서 포름산) 및 이후 정상 상 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_3 \cdot H_2O$)에 의해 정제하여 *tert*-부틸 *N*-[(1*S*)-1-[(4*S*)-4-이소프로필-2-옥소-옥사졸리딘-3-카르보닐]-2-메틸-2-페닐-프로필]카바메이트 (6.50 g, 16.1 mmol)을 옅은 황색 오일로서 얻었다.

[0400] **LCMS (방법 A):** m/z 405.2 (M+H), 0.95 min에서.

[0401] **$^1$H NMR:** (400MHz, $CDCl_3$) δ 0.76-0.83 (6H, m), 1.41 (3H, s), 1.43 (9H, s), 1.48 (3H, s), 2.21-2.29 (1H, m), 3.45 (1H, t, *J*=8.4 Hz), 3.79-3.83 (1H, m), 3.90 (1H, dd, *J*=8.8, 2.0 Hz), 4.86-5.32 (1H, m), 6.13 (1H, d, *J*=10.0 Hz), 7.20-7.26 (1H, m), 7.28-7.34 (2H, m), 7.41 (2H, d, *J*=7.6 Hz).

[0402] 중간체 9, 단계 3의 정제를 위한 분취용 역상 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Phenomenex Luna C18 250 x 80 mm x 10 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 48-78% B; 유속: 100 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0403] 중간체 9, 단계 3의 정제를 위한 분취용 정상 상 HPLC ($NH_3 \cdot H_2O$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Welch Ultimate XB-SiOH 250 x 50 mm x 10 μm; 이동상: A = 헥산, B = 0.1% EtOH 내 $NH_3 \cdot H_2O$ (v/v), 15 min에 걸쳐 A 내 2% B; 유속: 100 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0404] 단계 4: THF (80 mL) 및 $H_2O$ (20 mL) 내 *tert*-부틸 *N*-[(1*S*)-1-[(4*S*)-4-이소프로필-2-옥소-옥사졸리딘-3-카르보닐]-2-메틸-2-페닐-프로필]카바메이트 (3.00 g, 7.42 mmol) 및 1 N 수성 LiOH 용액 (22.3 mL)의 혼합물에 30% 수성 $H_2O_2$ 용액 (10.1 g, 89.0 mmol, 8.60 mL)을 0° C에서 $N_2$ 하에서 적가했다. 반응 혼합물을 0° C에서 $H_2O$ (100 mL) 및 포화 수성 $Na_2SO_3$ 용액 (300 mL)의 부가 전에 25° C에서 12 h 동안 교반했다. 혼합물을 25° C에서 1 h 동안 교반하고 이후 pH을 1 N 수성 HCl의 부가로 대략 7로 조정하고 혼합물을 $CH_2Cl_2$ (50 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 상을 염수 (100 mL) 및 포화 수성 $Na_2SO_3$ 용액 (100 mL)으로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 석유 에테르/에틸 아세테이트 (10/1 내지 1/1)로 용리하여 실리카 상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 겔, 이후 분취용 HPLC (첨가제로서 포름산) 및 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의한 정제로 (2*S*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-메틸-3-페닐-부탄산 (1.53 g, 5.22 mmol)를 옅은 황색 고체로서 얻었다.

[0405] **LCMS (방법 A2):** m/z 194.1 $(M+H-100)^+$, 2.87 min에서.

[0406] **$^1$H NMR:** (400MHz, DMSO-$d_6$) δ 1.28 (9H, s), 1.30 (6H, d, *J*=5.6 Hz), 4.01 (1H, d, *J*=8.8 Hz), 5.86 (1H, d, *J*=9.2 Hz), 7.07-7.13 (1H, m), 7.22 (2H, t, *J*=7.6 Hz), 7.32 (2H, d, *J*=7.6 Hz).

[0407] 중간체 9, 단계 4의 정제를 위한 분취용 역상 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Phenomenex Luna C18 250 x 70 mm x 10 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 30-60% B; 유속: 140 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0408] 중간체 9, 단계 4의 정제를 위한 분취용 역상 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 14-44% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0409] 단계 5: DMF (5 mL) 내 (2*S*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-메틸-3-페닐-부탄산 (중간체 9, 단계 4 생성물, 669 mg, 2.28 mmol), HOBt (308 mg, 2.28 mmol) 및 EDCI (437 mg, 2.28 mmol)의 혼합물을 25° C에서 0.2 h동안 교반했다. (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (중간체 1, 450 mg, 1.52 mmol) 및 $Et_3N$ (308 mg, 3.04 mmol, 0.42 mL)을 부가하고 반응 혼합물을 25° C에서 2 h 동안 교반했다. 반응 혼합물을 $H_2O$ (50 mL)로 희석하고 혼합물을 EtOAc (30 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 상을 염수 (30 mL)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 잔사를 분취용 HPLC (첨가제로서 포름산) 이후 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 정제하여 *tert*-부틸 *N*-((1*S*)-1-((1*R*,2*S*,5*S*)-2-((3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필)카바모일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-3-카르보닐)-2-메틸-2-페닐-프로필)카바메이트 (중간체 9, 42.0 mg, 0.07 mmol)을 옅은 황색 고체로서 얻었다.

[0410] **LCMS (방법 A):** m/z 571.2 $(M+H)^+$, 0.90 min에서.

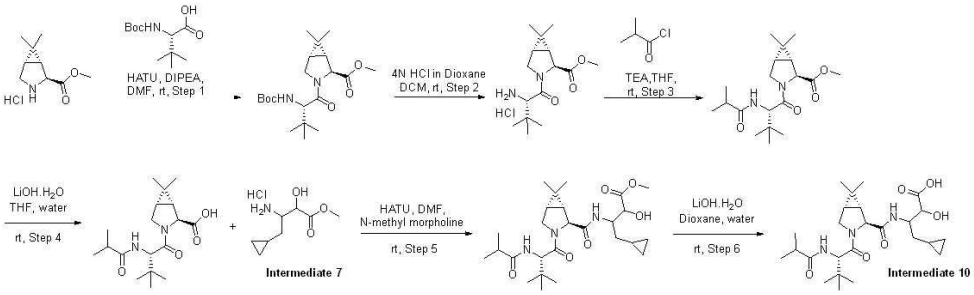
[0411] **$^1$H NMR:** (400MHz, $CDCl_3$) δ 0.06-0.22 (2H, m), 0.40-0.58 (2H, m), 0.66-0.76 (1H, m), 0.76-0.89 (3H, m), 0.96-0.99 (3H, m), 1.22-1.37 (2H, m), 1.38-1.43 (15H, m), 1.44-1.48 (2H, m), 3.69-3.86 (1H, m), 4.20-4.33 (2H, m), 4.61-4.76 (1H, m), 4.92-5.28 (1H, m), 5.46-5.71 (1H, m), 7.29-7.43 (5H, m).

[0412] 중간체 9, 단계 5의 정제를 위한 분취용 역상 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Phenomenex Luna C18 75 x 30 mm x 3 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 7 min에 걸쳐 A 내 45-75% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0413] 중간체 9, 단계 5의 정제를 위한 분취용 역상 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters

Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 32-62% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0414] **중간체 10:** 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)부탄산

[0415] 


[0416] 단계 1: (*S*)-2-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)-3,3-디메틸부탄산 (5.00 g, 21.6 mmol) 및 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 염산 (5.34 g, 26.0 mmol)을 DMF (30 mL) 내에 rt에서 용해했다. HATU (9.89 g, 26.0 mmol)을 부가하고 반응 혼합물을 DIPEA (11.3 mL, 64.9 mmol)의 부가 전에 rt에서 30분 동안 교반하고 반응 혼합물을 rt에서 3 h 동안 교반했다. 냉수 (100 mL)을 부가하고 생성된 침전물을 여과로 수집하여 미정제 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 (9.30 g)을 갈색 점착성 고체로서 얻었다.

[0417] **LCMS (방법 F3):** m/z 327.4 (M-56), 2.35 및 2.37 min에서.

[0418] 단계 2: 1,4-디옥산 (90 mL) 내 4N HCl을 DCM (30 mL) 내 메틸 (1R,2S,5S)-3-((S)-2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 (9.30 g)의 용액에 $N_2$ 하에서 부가하고. rt에서 2 h 동안 교반 후 반응 혼합물을 진공에서 농축하고 디에틸 에테르 (3 x 10 mL)로 분쇄에 의해 정제하여 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아미노-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 염산 (6.70 g, 21.0 mmol)을 백색 고체로서 얻었다.

[0419] **LCMS (방법 F3):** m/z 283.5 (M+H), 1.14 및 1.28 min에서.

[0420] 단계 3: $Et_3N$ (8.80 mL, 63.2 mmol)을 0 ºC에서 THF (40 mL) 내 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아미노-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 염산 (6.70 g, 21.0 mmol)의 용액에 적가하고 반응 혼합물을 15 min 동안 교반했다. 이소부티릴 클로라이드 (2.23 g, 21.1 mmol)을 부가하고 반응 혼합물을 물 (200 mL) 부가 및 EtOAc (3 x 100 mL)로 추출 전에 rt에서 30분 동안 교반했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$), 진공에서 농축하고 0% 내지 42% 물 내 MeCN로 용리하여 역상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 (실리카 C18)에 의한 정제로, 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 (4.90 g, 13.9 mmol)를 갈색 점착성 고체로서 얻었다.

[0421] **LCMS (방법 F3):** m/z 353.5 (M+H), 1.88 및 1.96 min에서.

[0422] 단계 4: LiOH 일수화물 (2.92 g, 69.6 mmol)을 1,4-디옥산 (20 mL) 및 물 (15 mL) 내 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 (4.90 g, 13.9 mmol)의 용액에 부가하고 반응 혼합물을 물 (200 mL) 및 EtOAc (100 mL)의 부가 전에 rt에서 4 h 동안 교반했다. 상을 분리하고, 수성 상을 1N HCl (15 mL)로로 대략 pH 2로 산성화하고 EtOAc (2 x 100 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$) 진공에서 농축하여 미정제 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((S)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실산 (4.80 g)을 백색 고체로서 얻었다.

[0423] **LCMS (방법 F3):** m/z 339.5 (M+H), 1.59 및 1.74 min에서.

[0424] 단계 5: HATU (3.37 g, 8.86 mmol)을 DMF (15 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실산 (1.50 g, 4.43 mmol) 및 메틸 3-아미노-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 염산 (1.11 g, 5.32 mmol)의 용액에 부가하고 반응 혼합물을 15 min 동안 rt에서 교반했다. *N*-메틸 모르폴린 (1.95 mL, 17.7 mmol)을 부가하고 반응 혼합물을 진공에서 농축전에 rt에서 30분 동안 교반했다. 0% 내지 46% 물 내 MeCN로 용리하여 역상 구배 플래시 칼로 크로마토그래피 (실리카 C18)에 의한 정

제로, 메틸 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)부아노에이트 (1.70 g, 3.44 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

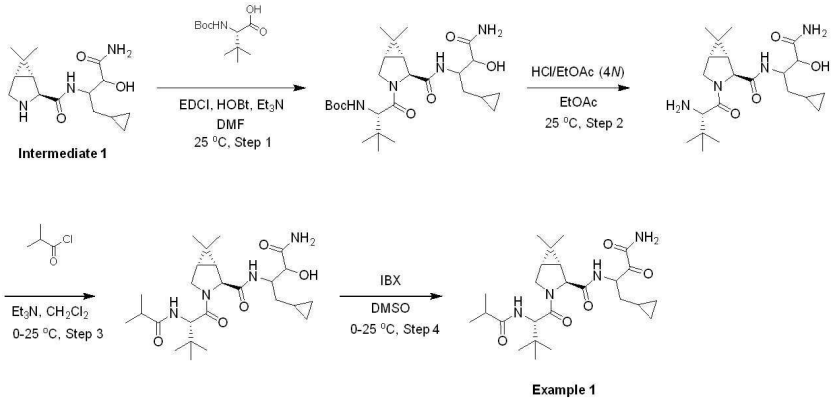
[0425] **LCMS (방법 F3):** m/z 494.5 (M+H), 1.69 및 1.75 min에서.

[0426] 단계 6: LiOH 일수화물 (0.11 g, 2.53 mmol)을 1,4-디옥산 (2 mL) 및 물 (2 mL) 내 메틸 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)부아노에이트 (0.25 g, 0.51 mmol)의 용액에 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 2 h 동안 교반했다. 물 (70 mL) 및 EtOAc (50 mL)을 부가하고 수성 층을 1N HCl (3 mL)로 대략 pH 2로 산성화하고 EtOAc (2 x 50 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$) 진공에서 농축하여 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)부탄산 (중간체 10, 0.20 g, 0.39 mmol)을 백색 고체로서 얻었다.

[0427] **LCMS (방법 F3):** m/z 480.5 (M+H), 1.55 및 1.58 min에서.

[0428] **실시예의 합성**

[0429] **실시예 1**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0430]

[0431] 단계 1: DMF (5 mL) 내 (2*S*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3,3-디메틸-부탄산 (305 mg, 1.32 mmol)의 혼합물에 HOBt (178 mg, 1.32 mmol) 및 EDCI.HCl (253 mg, 1.32 mmol)을 천천히 25° C에서 부가하고 혼합물을 대략 12 min 동안 교반하고, 이후 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (중간체 1, 300 mg, 1.02 mmol) 및 $Et_3N$ (206 mg, 2.03 mmol, 0.28 mL)을 부가했다. 반응 혼합물을 25° C에서 2 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. $H_2O$ (50 mL)을 부가하고, 혼합물을 EtOAc (20 mL x 3)로 추출했다. 합한 유기 상을로 세척하고 염수 (30 mL), 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 잔사를 분취용 HPLC (첨가제로서 포름산)에 의해 정제하여 *tert*-부틸 *N*-[(1*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-[[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]카바모일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-3-카르보닐]-2,2-디메틸-프로필]카바메이트 (251 mg, 0.49 mmol)을 백색 고체로서 얻었다.

[0432] **LCMS (방법 A):** m/z 509.2 (M+H), 1.08 min에서.

[0433] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.05-0.27 (2H, m), 0.41-0.53 (2H, m), 0.68-0.81 (1H, m), 0.86-0.88 (3H, m), 0.97 (3H, d, *J*=3.6 Hz), 0.98-1.06 (9H, m), 1.39 (9H, s), 1.43 (2H, br d, *J*=6.8 Hz), 1.52-1.57 (1H, m), 1.66-1.89 (1H, m), 3.78-4.19 (3H, m), 4.19-4.34 (2H, m), 4.34-4.48 (1H, m), 6.78-7.20 (1H, m).

[0434] 단계 1의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Phenomenex luna C18 150 x 40 mm x 15 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 40-70% B; 유속: 60 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0435] 단계 2: EtOAc 내 HCl (4N, 5 mL)을 EtOAc (5 mL) 내 *tert*-부틸 *N*-[(1*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-[[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]카바모일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-3-카르보닐]-2,2-디메틸-프로필]카바메이트 (220 mg, 0.43 mmol)의 혼합물에 25° C에서 부가하고, 생성된 혼합물을 25° C에서 1

h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 반응 혼합물을 진공에서 농축하여 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-3-[(2*S*)-2-아미노-3,3-디메틸-부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (185 mg)을 백색 고체로서 얻었고 이를 미정제로 정제 없이 사용했다.

[0436] **LCMS (방법 A):** m/z 409.2 (M+H), 0.68 min에서.

[0437] 단계 3: DCM (5 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-3-[(2*S*)-2-아미노-3,3-디메틸부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (180 mg, 미정제) 및 $Et_3N$ (0.12 mL, 0.88 mmol,)의 혼합물에 2-메틸프로파노일 클로라이드 (0.06 mL, 0.57 mmol)을 0° C에서 부가하고, 생성된 혼합물을 25° C에서 1 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. 반응 혼합물을 진공에서 농축하고 분취용 HPLC (첨가제로서 포름산)에 의해 정제하여 소정의 단계 3 생성물 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-3-[(2*S*)-3,3-디메틸-2-(2-메틸프로파노일아미노)부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (121 mg, 0.25 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0438] **LCMS (방법 A):** m/z 479.2 (M+H), 0.77 min에서.

[0439] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.05-0.26 (2H, m), 0.39-0.53 (2H, m), 0.68-0.81 (1H, m), 0.81-0.88 (3H, m), 0.92-0.99 (6H, m), 0.99-1.07 (9H, m), 1.13 (3H, d, *J*=7.2 Hz), 1.17-1.39 (1H, m), 1.41-1.60 (2H, m), 1.70-1.82 (1H, m), 2.32-2.44 (1H, m), 3.81-4.21 (3H, m), 4.25-4.32 (1H, m), 4.38-4.52 (1H, m), 4.54-4.66 (1H, m), 6.10-6.27 (1H, m), 6.76-7.00 (1H, m).

[0440] 단계 3의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 x 25 mm x 3 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 30-60% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

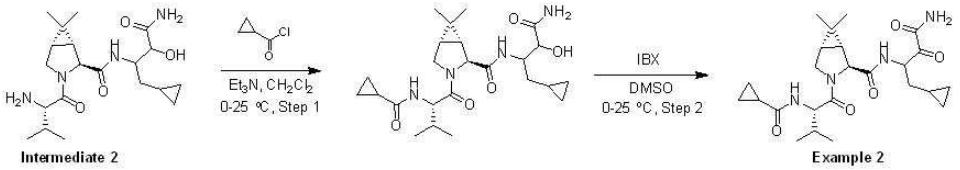
[0441] 단계 4: DMSO (3 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-3-[(2*S*)-3,3-디메틸-2-(2-메틸프로파노일아미노)부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (110 mg, 0.23 mmol)의 혼합물에 2-아이오딜벤조산 (161 mg, 0.57 mmol)을 0° C에서 부가하고, 생성된 혼합물을 25° C에서 12 h 동안 $N_2$ 하에서 교반했다. $H_2O$ (0.5 mL)을 부가하고 생성된 혼합물을 여과하고 진공에서 농축했다. 잔사를 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 정제하여 실시예 1, (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2,3-디옥소-프로필]-3-[(2*S*)-3,3-디메틸-2-(2-메틸프로파노일아미노)부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (55.5 mg, 0.12 mmol)을 백색 고체로서 얻었다.

[0442] **LCMS (방법 D):** m/z 477.3 (M+H), 2.69 min에서.

[0443] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.00-0.16 (2H, m), 0.39-0.50 (2H, m), 0.69-0.76 (1H, m), 0.81 (2H, d, *J*=2.4 Hz), 0.95-1.01 (9H, m), 1.03 (2H, s), 1.08 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 1.14 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 1.46-1.81 (6H, m), 2.33-2.40 (1H, m), 3.76-3.86 (1H, m), 4.01 (1H, br d, *J*=10.8 Hz), 4.46 (1H, d, *J*=13.6 Hz), 4.60-4.69 (1H, m), 5.35-5.40 (1H, m), 5.74 (1H, br s), 6.08-6.16 (1H, m), 6.79 (1H, br d, *J*=10.8 Hz), 7.27-7.53 (1H, m).

[0444] 실시예 1의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM $NH_4HCO_3$ 수성 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 25-55% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0445] **실시예 2**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2,3-디옥소-프로필]-3-[(2*S*)-2-(시클로프로판카르보닐아미노)-3-메틸부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드

[0446] 


[0447] 단계 1 및 2: 표제 화합물 (34.3 mg, 0.07 mmol, 백색 고체)을 실시예 1 (단계 3 및 4)에 대해 설명된 것과 유

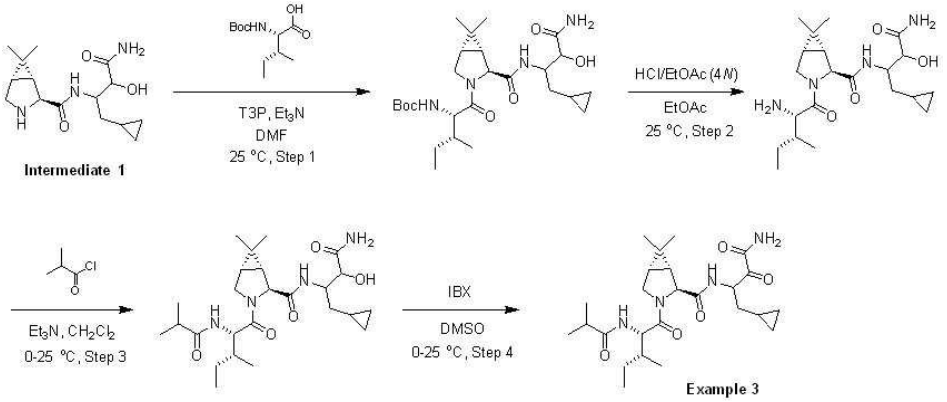
사한 절차를 사용하여 중간체 2 (125 mg, 0.32 mmol) 및 시클로프로판카르보닐 클로라이드 (39.8 mg, 0.38 mmol, 0.03 mL)로부터 제조했다. 실시예 2을 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 정제했다.

[0448] **LCMS (방법 D):** m/z 461.3 (M+H), 2.41 min에서.

[0449] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.03-0.13 (2H, m), 0.45-0.49 (2H, m), 0.67-0.77 (4H, m), 0.86 (3H, s), 0.93-0.96 (6H, m), 1.03 (3H, s), 1.05 (1H, br d, *J*=3.6 Hz), 1.37-1.41 (1H, m), 1.48-1.51 (1H, m), 1.62-1.68 (1H, m), 1.75-1.83 (2H, m), 2.00-2.06 (1H, m), 3.77-3.84 (1H, m), 3.97 (1H, br d, *J*=10.4 Hz), 4.44-4.55 (2H, m), 5.26-5.43 (1H, m), 5.69-5.91 (1H, m), 6.33-6.44 (1H, m), 6.75-6.85 (1H, m), 7.26-7.49 (1H, m).

[0450] 실시예 2의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 48-78% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0451] **실시예 3**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-알로이소류실)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0452]

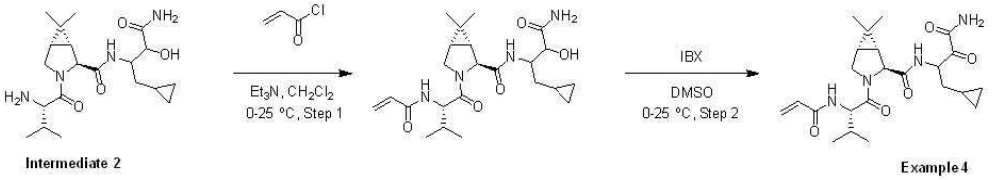
[0453] 표제 화합물 (50.0 mg, 0.10 mmol, 백색 고체)을 중간체 1 (단계 90) 및 실시예 1 (단계 2-4)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 중간체 1 (380 mg, 1.29 mmol) 및 (2*S*,3*R*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-메틸-펜탄산 (372 mg, 1.61 mmol)로부터 제조했다. 실시예 3을 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 정제했다.

[0454] **LCMS (방법 D):** m/z 477.3 (M+H), 2.59 min에서.

[0455] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.00-0.16 (2H, m), 0.41-0.52 (2H, m), 0.66-0.77 (1H, m), 0.84 (3H, s), 0.85-0.88 (3H, m), 0.89-0.96 (3H, m), 1.03 (3H, s), 1.06-1.10 (3H, m), 1.13 (3H, m), 1.45-1.56 (2H, m), 1.63-1.70 (1H, m), 1.71-1.90 (4H, m), 2.30-2.42 (1H, m), 3.77-3.84 (1H, m), 4.04 (1H, d, *J*=10.8 Hz), 4.44 (1H, d, *J*=9.6 Hz), 4.51-4.58 (1H, m), 5.35-5.40 (1H, m), 5.96 (1H, br s), 6.15 (1H, br t, *J*=9.8 Hz), 6.80 (1H, br d, *J*=11.2 Hz), 7.27-7.47 (1H, m).

[0456] 실시예 3의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 22-52% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40 ° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0457] **실시예 4**: (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(아크릴로일-*L*-발릴)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드

[0458] 


[0459] 표제 화합물 (32.4 mg, 0.07 mmol, 백색 고체)을 실시예 1 (단계 3 및 4)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 중간체 2 (130 mg, 0.33 mmol) 및 프로프-2-에노일 클로라이드 (38.8 mg, 0.43 mmol, 0.03 mL)로부터 제조했다. 실시예 4을 2회 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$, 이후 첨가제로서 포름산)로 정제했다.

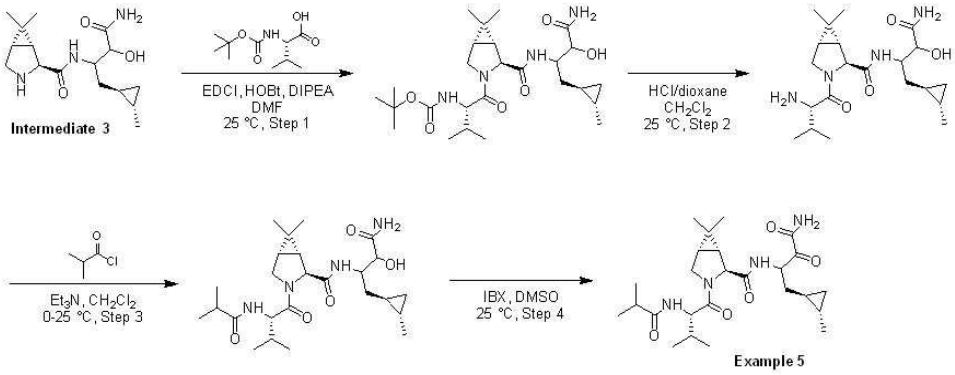
[0460] **LCMS (방법 D):** m/z 447.0 (M+H), 2.21 min에서.

[0461] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.00-0.14 (2H, m), 0.40-0.51 (2H, m), 0.68-0.74 (1H, m), 0.84-0.89 (3H, m), 0.89-0.93 (3H, m), 0.95-1.00 (3H, m), 1.02-1.07 (3H, m), 1.48-1.56 (1H, m), 1.61-1.67 (1H, m), 1.73-1.81 (1H, m), 1.86-2.09 (2H, m), 3.80-3.88 (1H, m), 3.96 (1H, br d, *J*=10.4 Hz), 4.40-4.49 (1H, m), 4.56-4.66 (1H, m), 5.25-5.43 (1H, m), 5.64 (1H, br d, *J*=10.4 Hz), 5.81-6.01 (1H, m), 6.08-6.17 (1H, m), 6.24-6.31 (1H, m), 6.36-6.62 (1H, m), 6.77-6.88 (1H, m), 7.26-7.45 (1H, m).

[0462] 실시예 4의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 48-78% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0463] 실시예 4의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Shim-pack C18 150 x 25 mm x 10 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 12-42% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0464] **실시예 5**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-((1*R*,2*S*)-2-메틸시클로프로필)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드

[0465] 

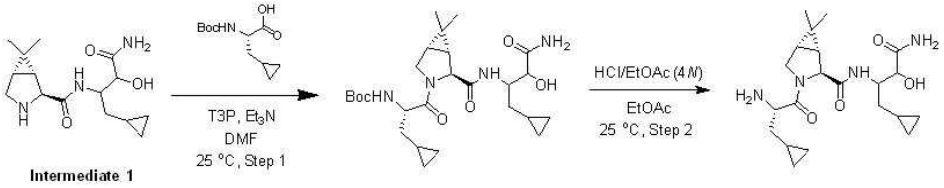

[0466] 표제 화합물 (16.0 mg, 0.03 mmol, 황색 고체)을 실시예 1 (단계 1-4)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-3-히드록시-1-((1*R*,2*S*)-2-메틸시클로프로필)-4-옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 염산 (중간체 3, 0.37 g, 1.07 mmol) 및 (2*S*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-메틸-부탄산 (232 mg, 1.07 mmol)로부터 제조했다. 실시예 5을 분취용 HPLC (첨가제로서 포름산)에 의해 정제했다.

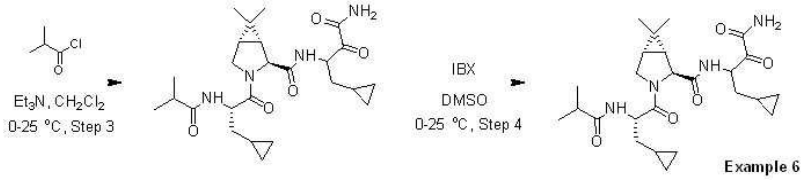
[0467] **LCMS (방법 D2):** m/z 477.3 (M+H), 2.59 min에서.

[0468] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CD_3OD$) δ 0.10-0.30 (2H, m), 0.34-0.62 (2H, m), 0.88-1.14 (23H, m), 1.40-1.59 (2H, m), 1.94-2.17 (1H, m), 2.43-2.57 (1H, m), 3.89-4.09 (2H, m), 4.10-4.53 (3H, m).

[0469] 실시예 5의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Shim-pack C18 150 x 25 mm x 10 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 25-55% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 25° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0470] **실시예 6**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3-시클로프로필-2-이소부티르아미도프로파노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0471]

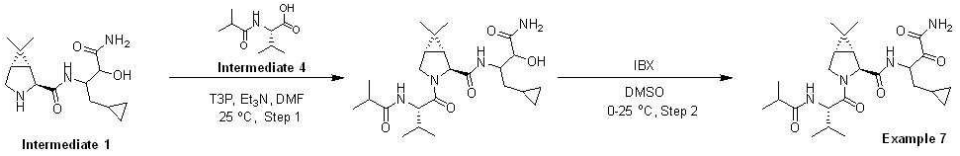
[0472] 표제 화합물 (76.6 mg, 0.16 mmol, 백색 고체)을 중간체 1 (단계 9) 및 실시예 1 (단계 2-4)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (중간체 1, 380 mg, 1.29 mmol) 및 (2*S*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-3-시클로프로필프로판산 (383 mg, 1.67 mmol)로부터 제조했다. 실시예 6을 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 정제했다.

[0473] **LCMS (방법 D):** m/z 475.6 (M+H), 2.51 min에서.

[0474] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ -0.02-0.14 (4H, m), 0.39-0.50 (4H, m), 0.62-0.77 (2H, m), 0.85-0.95 (3H, m), 1.03 (3H, s), 1.06-1.10 (3H, m), 1.11-1.13 (3H, m), 1.39-1.53 (2H, m), 1.56-1.64 (1H, m), 1.64-1.77 (2H, m), 1.77-1.89 (1H, m), 2.31-2.41 (1H, m), 3.80-3.86 (1H, m), 3.91-4.00 (1H, m), 4.43 (1H, d, *J*=11.2 Hz), 4.70-4.80 (1H, m), 5.29-5.43 (1H, m), 6.27-6.42 (1H, m), 6.48 (1H, br dd, *J*=18.8, 8.0 Hz), 6.85 (1H, br d, *J*=9.6 Hz), 7.19-7.38 (1H, m).

[0475] 실시예 6의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 18-48% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0476] **실시예 7**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0477]

[0478] 표제 화합물 (16.1 mg, 0.03 mmol, 백색 고체)을 중간체 1 (단계 1) 및 실시예 1 (단계 4)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (중간체 1, 180 mg, 0.61 mmol) 및 (2*S*)-3-메틸-2-(2-메틸프로파노일아미노)부탄산 (중간체 4, 114 mg, 0.61 mmol)로부터 제조했다. 실시예 7을 2회 분취용 HPLC (첨가제로서 포름산, 이후 첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 정제했다.

[0479] **LCMS (방법 E):** m/z 463.3 (M+H), 2.73 min에서.

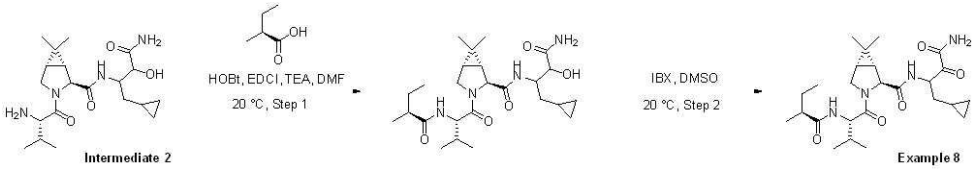
[0480] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.05-0.08 (1H, m), 0.11-0.13 (1H, m), 0.47-0.50 (2H, m), 0.70-0.75 (1H, m), 0.87 (3H, s), 0.92-0.96 (6H, m), 1.05 (3H, s), 1.12-1.16 (6H, m), 1.52 (1H, br s), 1.68-1.72 (1H, m), 1.76-1.88 (2H, m), 2.01-2.08 (1H, m), 2.36-2.41 (1H, m), 3.80-3.85 (1H, m), 3.98 (1H, br d, *J*=10.8 Hz), 4.47 (1H, d, *J*=12.0 Hz), 4.50-4.58 (1H, m), 5.35-5.43 (1H, m), 5.45-5.53 (1H, m), 5.98-6.06 (1H,

m), 6.75-6.78 (1H, m), 7.21-7.44 (1H, m).

[0481] 실시예 7의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 x 50 mm x 3 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 25-55% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0482] 실시예 7의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 9 min에 걸쳐 A 내 21-51% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0483] **실시예 8**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-6,6-디메틸-3-(((*S*)-2-메틸부타노일)-*L*-발릴)-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드



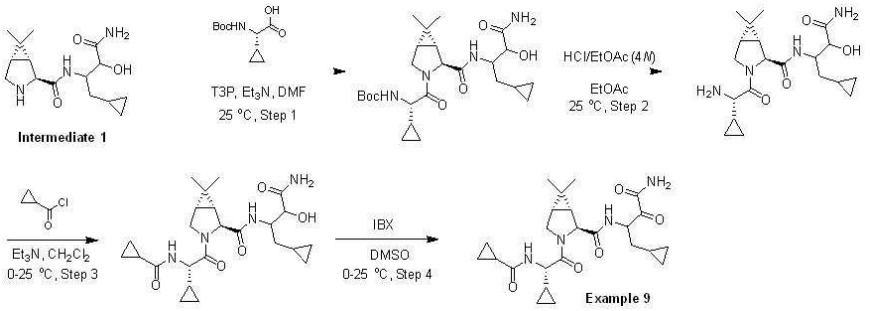

[0484] 표제 화합물 (41.5 mg, 0.06 mmol, 백색 고체)을 실시예 1 (단계 1 및 4)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-3-[(2*S*)-2-아미노-3-메틸-부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (중간체 2, 120 mg, 0.28 mmol)) 및 (2*S*)-2-메틸부탄산 (28.4 mg, 0.28 mmol)로부터 제조했다. 실시예 8을 분취용 HPLC (첨가제로서 포름산)에 의해 정제했다.

[0485] **LCMS (방법 D2):** m/z 477.0 (M+H), 2.60 min에서.

[0486] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.00-0.20 (2H, m), 0.42-0.55 (2H, m), 0.68-0.76 (1H, m), 0.82-0.88 (6H, m), 0.91-0.99 (6H, m), 1.05 (3H, s), 1.14 (3H, d, *J*=6.8 Hz), 1.36-1.42 (1H, m), 1.48-1.54 (1H, m), 1.56-1.72 (2H, m), 1.75-1.89 (2H, m), 1.95-2.09 (1H, m), 2.11-2.22 (1H, m), 3.75-3.90 (1H, m), 4.01-4.04 (1H, m), 4.41-4.65 (2H, m), 5.39 (1H, br s), 5.60-5.83 (1H, m), 6.04-6.25 (1H, m), 6.78 (1H, br d, *J*=11.6 Hz), 7.42 (1 H, br d, *J*=7.2 Hz).

[0487] 실시예 8의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Phenomenex luna C18 150 x 25 mm, 10 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 20 min에 걸쳐 A 내 32-62% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0488] **실시예 9**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-(시클로프로판카복사미도)-2-시클로프로필아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0489]

[0490] 표제 화합물 (10.9 mg, 0.02 mmol, 백색 고체)을 중간체 1 (단계 1) 및 실시예 1 (단계 2-4)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 중간체 1 (560 mg, 1.90 mmol) 및 (2*S*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-2-시클로프로필아세트산 (612 mg, 2.84 mmol)로부터 제조했다. 실시예 9을 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 정제했다.

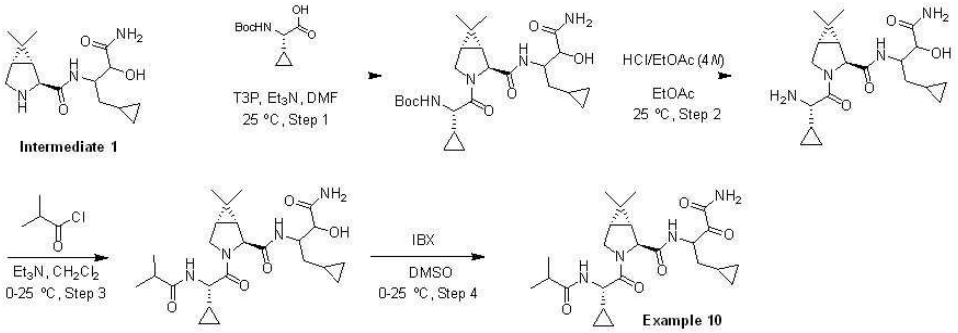
[0491] **LCMS (방법 D2):** m/z 459.3 (M+H), 2.44 min에서.

[0492] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.01-0.19 (2H, m), 0.40-0.61 (6H, m), 0.67-0.81 (3H, m), 0.86-0.94 (3H, m),

0.94-1.03 (2H, m), 1.03-1.10 (3H, m), 1.10-1.23 (1H, m), 1.36-1.42 (1H, m), 1.46-1.53 (1H, m), 1.66-1.71 (1H, m), 1.72-1.89 (2H, m), 3.76-3.99 (2H, m), 4.22-4.45 (1H, m), 4.45-4.66 (1H, m), 5.36-5.64 (1H, m), 6.34-6.59 (1H, m), 6.66-6.83 (1H, m).

[0493] 실시예 9의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 48-78% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0494] **실시예 10**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-시클로프로필-2-이소부티르아미도아세틸)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0495]

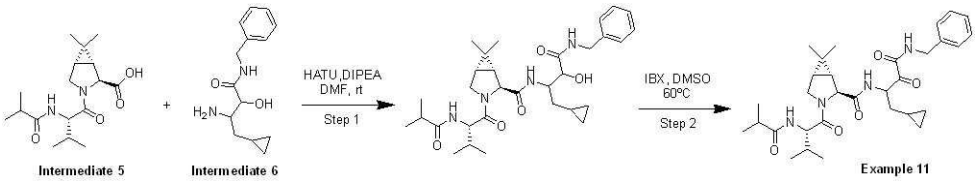
[0496] 표제 화합물 (20.2 mg, 0.04 mmol, 백색 고체)을 중간체 1 (단계 1) 및 실시예 1 (단계 2-4)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 중간체 1 (560 mg, 1.90 mmol) 및 (2*S*)-2-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)-2-시클로프로필아세트산 (612 mg, 2.84 mmol)로부터 제조했다. 실시예 10을 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 정제했다.

[0497] **LCMS (방법 D2):** m/z 461.5 (M+H), 2.48 min에서.

[0498] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.01-0.06 (1H, m), 0.09-0.14 (1H, m), 0.40-0.52 (6H, m), 0.68-0.73 (1H, m), 0.89 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.13 (6H, dd, *J*=15.6, 6.8 Hz), 1.47-1.53 (1H, m), 1.68 (1H, dd, *J*=7.6, 2.0 Hz), 1.78-1.83 (2H, m), 1.84-1.90 (1H, m), 2.34-2.42 (1H, m), 3.82-3.90 (2H, m), 4.36 (1H, br t, *J*=7.8 Hz), 4.46 (1H, d, *J*=16.8 Hz), 5.36-5.45 (1H, m), 5.77-5.91 (1H, m), 6.32-6.34 (1H, m), 6.75-6.87 (1H, m), 7.22-7.34 (1H, m).

[0499] 실시예 10의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 48-78% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0500] **실시예 11**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0501]

[0502] 단계 1: HATU (1.23 g, 3.23 mmol)을 DMF (10 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실산 (중간체 5, 0.70 g, 2.16 mmol)의 용액에 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 10 min 동안 교반했다. 3-아미노-*N*-벤질-4-시클로프로필-2-히드록시부탄아미드 (중간체 6, 0.53 g, 2.16 mmol) 및 DIPEA (1.11 mL, 6.47 mmol)을 부가하고 rt에서 18 h 동안 교반 후 반응 혼합물을 냉수 (150 mL) 및 EtOAc (70 mL) 사이에서 분배시키고. 상을 분리하고 수성 층을 EtOAc (3 x 70 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$), 여과하고 진공에서 농축했다. 0-60% 물 내 MeCN로 용리하여 역상 구배 칼럼 크로마토그래피 (C18 실리카)에 의한 정제로, (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-((2*S*)-4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-(이

소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (0.59 g, 1.06 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

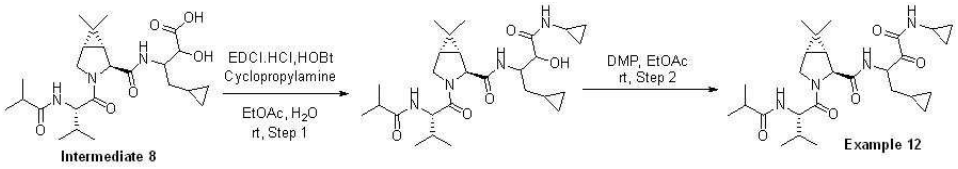
[0503] **LCMS (방법 G):** m/z 555.9 (M+H), 2.20, 2.25, 2.38 min에서.

[0504] 단계 2: IBX (0.40 g, 1.44 mmol)을 DMSO (5 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-((2*S*)-4-(벤질아미노)-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (0.40 g, 0.72 mmol)의 용액에 rt에서 부가하고 반응 혼합물을 60° C에서 2 h 동안 교반했다. 물 (50 mL) 및 EtOAc (30 mL)을 부가하고, 상을 분리하고 수성 상을 EtOAc (2 x 50 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 건조하고 ($Na_2SO_4$), 여과하고 진공에서 농축했다. 0-60% 물 내 MeCN로 용리하여 역상 구배 칼럼 크로마토그래피 (C18 실리카)에 의한 정제로 실시예 11 (0.22 g, 0.40 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0505] **LCMS (방법 H):** m/z 553.3 (M+H), 7.70, 7.95 및 8.29 min에서.

[0506] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 0.08-0.07 (m, 2H), 0.41-0.35 (m, 2H), 0.77-0.69 (m, 9H), 1.01-0.83 (m, 10H), 1.32 (d, 1H, *J*=7.6 Hz), 1.49-1.40 (m, 2H), 1.79-1.69 (m, 1H), 1.91-1.90 (m, 1H), 2.45-2.41 (m, 1H), 3.75-3.72 (m, 1H), 3.89 (d, 1H, *J*=10.4 Hz), 4.11 (t, 1H, *J*=9.2 Hz), 4.43-4.25 (m, 3H), 5.10-5.05 (m, 1H), 7.33-7.24 (m, 5H), 7.97 (d, 1H, *J*=8.4 Hz), 8.50 (d, 1H, *J*=6.4 Hz), 9.26 (t, 1H, *J*=6.0 Hz).

[0507] **실시예 12**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드

[0508] 


[0509] 단계 1: EDCI·HCl (0.19 g, 1.03 mmol) 및 HOBt (0.11 g, 0.86 mmol)을에 부가하고의 용액 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로

[0510] EtOAc (4 mL) 및 $H_2O$ (1 mL) 내 [3.1.0]헥산-2-카복사미도)부탄산 (중간체 8, 0.40 g, 0.86 mmol) 및 시클로프로필아민 (59 mg, 1.03 mmol) 0° C에서 및 반응 혼합물을 rt에서 3 h 동안 진공에서 농축 전에 교반했다. 0-46% 물 내 MeCN로 용리하여 역상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 (C18 실리카)에 의한 정제로, (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (0.25 g, 0.50 mmol)를 회-백색 고체로서 얻었다.

[0511] **LCMS (방법 I):** m/z 505.6 (M+H), 1.51, 1.57, 1.66 min에서

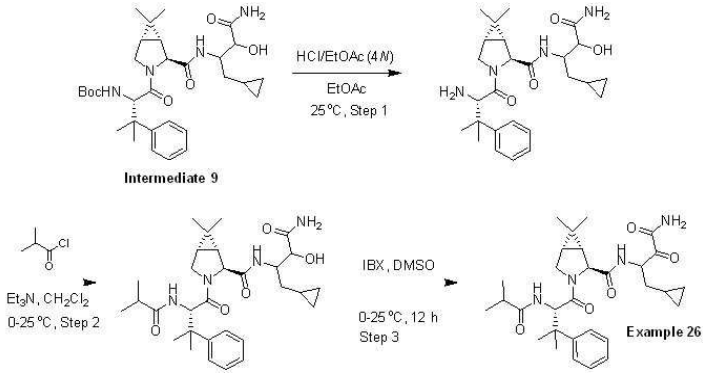
[0512]

[0513] 단계 2: DMP (0.31 g, 0.74 mmol)을 EtOAc (3 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(1-시클로프로필-4-(시클로프로필아미노)-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-(이소부티릴-*L*-발릴)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (0.25 g, 0.49 mmol)의 용액에 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 48 h 동안 교반했다. 셀라이트를 통해 여과 및 EtOAc (50 mL)로 세척 후 여액을 진공에서 농축했다. 개질제로서 0.1% 포름산을 포함하는 0-65% 물 내 MeCN로 용리하여 역상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 (C18 실리카)에 의한 정제로, 실시예 12 (31 mg, 0.06 mmol)를 회-백색 고체로서 얻었다.

[0514] **LCMS (방법 I):** m/z 503.5 (M+H), 1.48, 1.75 min에서

[0515] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 0.08-0.03 (m, 2H), 0.42-0.37 (m, 2H), 0.56 (s, 2H), 0.65-0.63 (d, 2H, *J*=7.2Hz), 0.75-0.74 (m, 9H), 1.11-0.82 (m, 10H), 1.48-1.23 (m, 3H), 1.89-1.69 (m, 1H), 1.92-1.90 (m, 1H), 2.50-2.33 (m, 1H), 2.74-2.60 (m, 1H), 3.74-3.70 (m, 1H), 3.91-3.88 (m, 1H), 4.12-4.07 (m, 1H), 4.29 (s, 1H), 5.05-5.01 (m, 1H), 7.98-7.96 (d, 1H, *J*=8.4Hz), 8.47-8.46 (d, 1H, *J*=6.4Hz), 8.75-8.74 (d, 1H, *J*=4.8 Hz).

[0516] **실시예 26**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3-메틸-3-페닐부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0517]

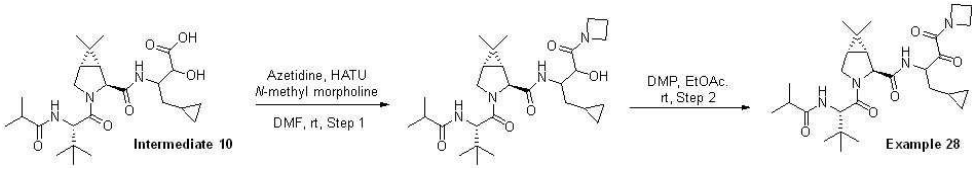
[0518] 표제 화합물 (18.2 mg, 0.03 mmol 백색 고체)을 실시예 1 (단계 2-4)에 대해 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 중간체 9 (31.0 mg, 0.05 mmol)로부터 제조했다. 실시예 26을 분취용 HPLC (첨가제로서 $NH_4HCO_3$)에 의해 정제했다.

[0519] **LCMS (방법 J):** m/z 539.3 (M+H), 2.80 min에서.

[0520] **$^1$H NMR:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.03-0.22 (2H, m), 0.43-0.57 (2H, m), 0.71-0.78 (3H, m), 0.78-0.89 (1H, m), 0.94-0.98 (3H, m), 1.02-1.08 (6H, m), 1.27-1.32 (1H, m), 1.40-1.48 (6H, m), 1.52-1.62 (1H, m), 1.80-1.91 (2H, m), 2.27-2.35 (1H, m), 2.83-2.89 (1H, m), 3.69-3.72 (1H, m), 4.32-4.36 (1H, m), 4.97-5.01 (1H, m), 5.27-5.43 (1H, m), 5.72-5.88 (1H, m), 6.09-6.20 (1H, m), 6.81 (1H, brs), 7.17-7.23 (1H, m), 7.26-7.34 (2H, m), 7.38 (2H, d, *J*=7.6 Hz), 7.41-7.52 (1H, m).

[0521] 실시예 26의 정제를 위한 분취용 HPLC ($NH_4HCO_3$) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Waters Xbridge 150 x 25 mm x 5 μm; 이동상: A = 10 mM 수성 $NH_4HCO_3$ 용액 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 30-60% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0522] **실시예 28**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0523]

[0524] 단계 1: *N*-메틸 모르폴린 (0.17 mL, 1.59 mmol)을 DMF (2.8 mL) 내 4-시클로프로필-2-히드록시-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)부탄산 (중간체 10, 0.19 g, 0.40 mmol) 및 아제티딘 (32 mg, 0.48 mmol)의 용액에 0° C에서 부가하고 반응 혼합물을 이후 rt에서 4 h 동안 교반했다. 물 (80 mL)을 부가하고 혼합물을 EtOAc (3 x 25 mL)로 추출했다. 합한 유기 층을 건조하고 ($Na_2SO_4$) 진공에서 농축했다. 0% 내지 60% 물 내 MeCN로 용리하여 역상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 (실리카 C18)에 의한 정제로, (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (0.15 g, 0.29 mmol)를 갈색 고체로서 얻었다.

[0525] **LCMS (방법 F3):** m/z 519.4 (M+H), 에서 1.58, 1.65 및 1.70 min.

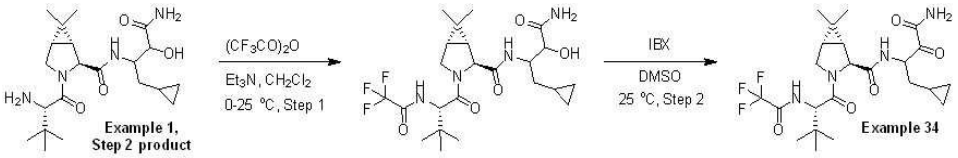
[0526] 단계 2: Dess-Martin 퍼아이오디난 (0.17 g, 0.41 mmol)을 EtOAc (3 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-((S)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (0.14 g, 0.27 mmol)의 용액에 부가하고및 반응 혼합물을 rt에서 16 h 동안 교반하고 이후 셀라이트 층를 통해 여과하고 EtOAc (100 mL)로 세척했다. 여액을 진공에서 농축하고, (물 + 0.1% 포름산) 내 0% 내지 90% MeCN로 용리하여 역상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피 (실리카 C18)에 의한

정제로 실시예 28, (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-2-이소부티르아미도-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (57 mg, 0.11 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0527] **LCMS (방법 K):** m/z 517.0 (M+H), 7.49 min에서.

[0528] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 0.03-0.11 (m, 2H), 0.35-0.43 (m, 2H), 0.80-1.03 (m, 22H), 1.29-1.31 (m, 1H), 1.43-1.50 (m, 2H), 1.69-1.71 (m, 1H), 2.23-2.27 (t, 2H, *J*=7.8 Hz), 2.54-2.59 (m, 1H), 3.77-3.85 (m, 2H), 3.88-4.00 (m, 2H), 4.20-4.33 (m, 3H), 4.39-4.41 (d, 1H, *J*=9.6 Hz), 4.72-4.77 (m, 1H), 7.74-7.76 (d, 1H, *J*=9.2 Hz), 8.52-8.53 (d, 1H, *J*=6.4 Hz).

[0529] **실시예 34**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드

[0530] 


[0531] 단계 1: $CH_2Cl_2$ (5 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-[3-아미노-1-(시클로프로필메틸)-2-히드록시-3-옥소-프로필]-3-[(2*S*)-2-아미노-3,3-디메틸부타노일]-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (실시예 1, 단계 2 생성물, 400 mg, 0.98 mmol)의 혼합물에 $Et_3N$ (0.20 mL, 1.47 mmol,) 및 $CH_2Cl_2$ (2 mL) 내 TFAA (0.20 mL, 1.47 mmol, 0.20 mL)의 용액을 한방울씩 0° C에서 부가했다. 반응 혼합물을 $H_2O$ (40 mL)의 부가 전에 25° C에서 2 h 동안 교반했다. 에틸 아세테이트 (20 mL x 3)로 추출 후 합한 유기 상을 염수 (30 mL x 3)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 분취용 HPLC에 의한 정제 (첨가제로서 포름산)로 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (170 mg, 0.34 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0532] **LCMS (방법 A):** m/z 505.2 (M+H), 0.81 min에서.

[0533] **$^1$H NMR:** (400 MHz, MeOD-$d_4$) δ -0.08-0.21 (2H, m), 0.26-0.53 (2H, m), 0.64-1.14 (16H, m), 1.16-2.32 (4H, m), 3.60-4.73 (6H, m).

[0534] 단계 1의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Unisil 3-100 C18 Ultra 150 x 50 mm x 3 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 30-60% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0535] 단계 2: IBX (305 mg, 1.09 mmol)을 DMSO (3 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (220 mg, 0.44 mmol)의 용액에 부가하고 반응 혼합물을 $H_2O$ (20 mL)의 부가 및 에틸 아세테이트 (20 mL x 3)로 추출 전에 25° C에서 2 h 동안 교반했다. 합한 유기 상을 염수 (30 mL x 3)로 세척하고, 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고, 여과하고 진공에서 농축했다. 분취용 HPLC에 의한 정제 (첨가제로서 포름산)로 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-아미노-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (195 mg, 0.39 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

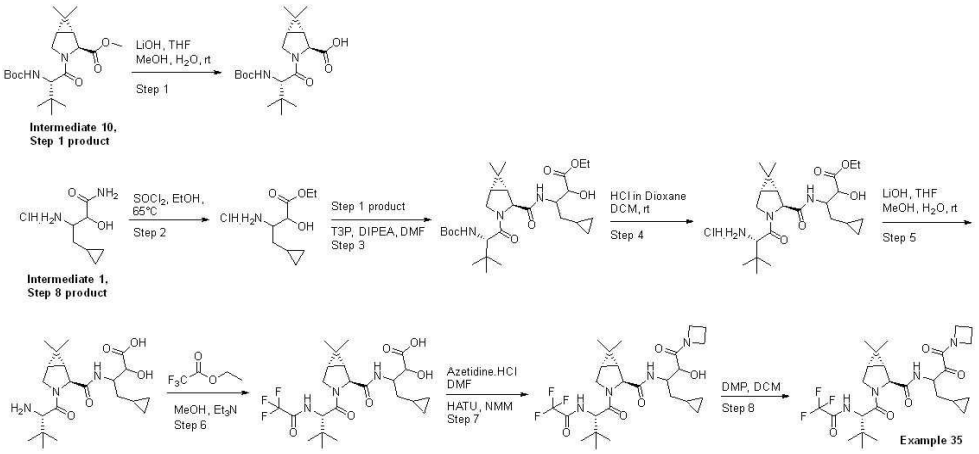
[0536] **LCMS (방법 J):** m/z 503.3 (M+H), 3.04 min에서.

[0537] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ -0.14-0.16 (2H, m), 0.24-0.49 (2H, m), 0.56-1.20 (16H, m), 1.34-1.77 (4H, m), 3.47-3.99 (2H, m), 4.17-4.64 (2H, m), 4.74-5.38 (1H, m), 7.66-7.85 (1H, m), 7.86-8.11 (1H, m), 8.26-8.74 (1H, m), 9.15-9.59 (1H, m).

[0538] 단계 1의 정제를 위한 분취용 HPLC (포름산) 방법. 장비: Shimadzu LC-20AP; 칼럼: Unisil 3-100 C18 Ultra

150 x 50 mm x 3 μm; 이동상: A = 물 내 0.225% 포름산 (v/v), B = MeCN; 구배: 10 min에 걸쳐 A 내 33-63% B; 유속: 25 mL/min; 칼럼 온도: 40° C; 파장: 220 nm, 254 nm.

[0539] **실시예 35**: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((S)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드




[0540]

[0541] 단계 1: LiOH (154 mg, 6.37 mmol)을 THF/MeOH/$H_2O$ (32 mL, 10:3:3) 내 메틸 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실레이트 (중간체 10, 단계 1 생성물, 2.50 g, 6.37 mmol)의 현탁액에 부가하고 혼합물을 rt에서 3 h 동안 교반했다. 물 (10 mL) 및 MTBE (10 mL)을 부가하고 상을 분리했다. 수성 층을 1.5 N HCl 로 대략 pH 2-3로 산성화하고 DCM (2 x 30 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고 진공에서 농축하여 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실산 (2.12 g, 5.60 mmol)을 백색 고체로서 얻었고 이를 다음 단계에서 추가 정제 없이 사용했다.

[0542] **LCMS (방법 L):** m/z 369.3 (M+H), 2.26 min에서.

[0543] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 12.53 (br s, 1H), 6.68 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 4.13 (s, 1H), 4.05 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 3.91 (d, *J*=10.4 Hz, 1H), 3.79-3.74 (m, 1H), 1.51-1.47 (m, 1H), 1.41-1.37 (m, 1H), 1.35 (s, 9H), 1.01 (s, 3H), 0.94 (s, 9H), 0.84 (s, 3H).

[0544] 단계 2: $SOCl_2$ (1.15 mL, 15.6 mmol)을 EtOH (20 mL) 내 3-아미노-4-시클로프로필-2-히드록시부탄아미드 (2.50 g, 15.6 mmol)의 교반 용액에 0 ºC에서 부가하고 반응 혼합물을 이후 65° C에서 15 h 동안 교반했다. 진공에서 농축 및 톨루엔 (2 x 20 mL)으로 공비증류하여 미정제 에틸 3-아미노-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 (2.10 g)를 갈색 반-고체로서 얻었고 이를 다음 단계에서 추가 정제 없이 사용했다.

[0545] **LCMS (방법 L):** m/z 188.3 (M+H), 1.03 min에서.

[0546] 단계 3: DCM (20 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복실산 (2.45 g, 6.25 mmol) 및 에틸 3-아미노-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 (1.65 g, 7.50 mmol)의 현탁액에 DIPEA (3.37 mL, 18.8 mmol)을 rt에서 부가하고 이후 T3P (EtOAc 내 50%) (5.58 mL, 9.38 mmol)을 0° C에서 부가했다. 생성된 반응 혼합물을 rt에서 3 h 동안 교반하고, 10% 수성 $NaHCO_3$을 rt에서 부가하고 혼합물을 DCM (2 x 25 mL)로 추출했다. 합한 유기 상을 무수 $Na_2SO_4$로 건조하고 진공에서 농축했다. 석유 에테르 내 0-50% EtOAc로 용리하여 실리카 상 구배 플래시 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제, 에틸 3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 (2.30 g, 4.19 mmol)를 옅은 황색 검으로서 얻었다.

[0547] **LCMS (방법 L):** m/z 538.4(M+H), 2.43-2.47 min에서.

[0548] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 7.90 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 6.57 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 5.57-5.50 (m, 1H), 4.27 (d, *J*=2.8 Hz, 1H), 4.11-4.09 (m, 1H), 4.04-4.00 (m, 4H), 3.95-3.85 (m, 1H), 3.82-3.71 (m, 1H), 1.40

(s, 9H), 1.18-1.13 (m, 6H), 1.05-0.95 (m, 4H), 0.93-0.83 (m, 10H), 0.72-0.61 (m, 1H), 0.35-0.09 (m, 2H), 0.15--0.15 (m, 2H).

[0549] 단계 4: 4M 1,4-디옥산 내 HCl (5 mL, 20 mmol)을 DCM (10 mL) 내 에틸 3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 (2.20 g, 4.01 mmol)의 용액에 0ºC에서 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 3 h 동안 교반했다. 상청액 층을 반응 혼합물로부터 따라내고, 고체 검 잔사를 MTBE (10 mL)로 분쇄했다. MTBE 층을 따라내고 잔사를 *진공에서* 건조하고 미정제 에틸 3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아미노-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 염산 (1.80 g)을 회백색 고체로서 얻었고, 이를 다음 단계에서 추가 정제 없이 사용했다.

[0550] **LCMS (방법 L):** m/z 438.4(M+H), 1.42-1.79 min에서.

[0551] 단계 5: LiOH (296 mg, 12.2 mmol)을 THF/MeOH/$H_2O$ (16 mL, 10:3:3) 내 에틸 3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아미노-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)-4-시클로프로필-2-히드록시부아노에이트 염산 (1.45 g, 2.45 mmol)의 현탁액에 rt에서 부가했다. rt에서 3 h 동안 교반 후 물 (5 mL)을 부가하고 혼합물을 1.5 N 수성 HCl로 대략 pH 2-3로 산성화하고 반응 혼합물을 진공에서 농축하고 톨루엔 (3 x 20 mL)으로 공비증류하여 미정제 3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아미노-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)-4-시클로프로필-2-히드록시부탄산 염산 (2.2 g)을 옅은 갈색 고체로서 얻었고 이를 다음 단계에서 추가 정제 없이 사용했다.

[0552] **LCMS (방법 L):** m/z 410.3 (M+H), 1.05-1.53 min에서.

[0553] 단계 6: 트리메틸아민 (1.04 mL, 7.38 mmol) 및 에틸 2,2,2-트리플루오로아세테이트 (0.48 mL, 4.92 mmol)을 MeOH (20 mL) 내 3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-2-아미노-3,3-디메틸부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)-4-시클로프로필-2-히드록시부탄산 염산 (2.4 g, 2.46 mmol)의 용액에 0ºC에서 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 16 h 동안 교반했다. 반응 혼합물을 이후 4M 1,4-디옥산 내 HCl (3 mL, 12 mmol)로 산성화하고 물 (10 mL)의 부가 및 EtOAc (2 x 25 mL)로 추출 전에 진공에서 농축했다. 합한 유기 상을 무수 소듐 설페이트 상에서 건조하고, 여과하고, 진공에서 농축하고 톨루엔 (3 x 20 mL)으로 공비증류하여 미정제 4-시클로프로필-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)-2-히드록시부탄산 (1.20 g)을 회백색 고체로서 얻었고, 이를 다음 단계에서 추가 정제 없이 사용했다.

[0554] **LCMS (방법 L):** m/z 506.4 (M+H), 2.03-2.09 min에서.

[0555] 단계 7: *N*-메틸모르폴린 (NMM, 1.37 mL, 12.4 mmol)을 DMF (5 mL) 내 아제티딘 염산 (467 mg, 4.94 mmol) 및 4-시클로프로필-3-((1*R*,2*S*,5*S*)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미도)-2-히드록시부탄산 (1.42 g, 2.47 mmol)의 교반 용액에 부가하고 반응 혼합물을 5 min 동안 rt에서 교반했다. HATU (1.42 g, 3.71 mmol)을 부가하고 0ºC에서 및 반응 혼합물을 물 (2 mL)의 부가 및 진공에서 농축전에 rt에서 2 h 동안 교반했다. 0% 내지 70% 물 내 MeCN로 용리하여 구배 역상 플래시 칼럼 크로마토그래피 실리카 상 C18에 의한 정제로, (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (0.75 g, 1.18 mmol)를 회백색 고체로서 얻었다.

[0556] **LCMS (방법 L):** m/z 545.3 (M+H), 2.06-2.14 min에서.

[0557] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 9.43-9.31 (m, 1H), 7.94-7.71 (m, 1H), 5.22-5.01 (m, 1H), 4.43-4.31 (m, 1H), 4.30-4.17 (m, 3H), 4.15-3.70 (m, 4H), 2.28-2.18 (m, 2H), 1.57-1.48 (m, 2H), 1.31-1.22 (m, 2H), 1.21-0.82 (m, 17H), 0.76-0.65 (m, 1H), 0.39-0.17 (m, 2H), 0.15--0.19 (m, 2H).

[0558] 단계 8: Dess-Martin 퍼아이오디난 (1.17 g, 2.75 mmol)을 EtOAc (10 mL) 내 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (0.50 g, 0.92 mmol)의 용액에 rt에서 부가하고 반응 혼합물을 rt에서 2 h 동안 교반 후 EtOAc (10 mL)을 부가했다. 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고 잔사를 EtOAc (50 mL)로 헹궜다. 여액을 진공에서 농축하고 0.25 g의 (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3-히드록시-4-옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-

3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드)로부터 제조된 다른 배치로부터의 미정제 여액과 합했다. 0% 내지 80% ($H_2O$ + 0.1% TFA) 내 MeCN로 용리하여 실리카 C18 상 구배 역상 플래시 칼럼 크로마토그래피에 의한 정제로, (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-(4-(아제티딘-1-일)-1-시클로프로필-3,4-디옥소부탄-2-일)-3-((*S*)-3,3-디메틸-2-(2,2,2-트리플루오로아세트아미도)부타노일)-6,6-디메틸-3-아자비시클로[3.1.0]헥산-2-카복사미드 (실시예 35, 185 mg, 0.33 mmol)를 백색 고체로서 얻었다.

[0559] **LCMS (방법 L):** m/z 543.3 (M+H), 2.34 min에서.

[0560] **$^1$H NMR:** (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 9.40-9.35 (m, 1H), 8.73-8.58 (m, 1H), 4.81-4.51 (m, 1H), 4.44-4.18 (m, 2H), 3.97-3.69 (m, 4H), 2.34-2.22 (m, 2H), 1.73-1.34 (m, 3H), 1,34-1.28 (m, 1H), 1.06-0.76 (m, 18H), 0.42-0.36 (m, 2H), 0.18--0.05 (m, 2H).

[0561] 상기 설명된 것과 유사한 절차를 사용하여 실시예 13-25, 27, 29-33을 합성했다.

[0562] **생물학적 활성**

[0563] **SARS-CoV-2 Mpro의 구축 설계**

[0564] 자가절단 경계까지 포함하는 SARS CoV-2-Mpro(Main Protease/3C-유사 프로테아제, UniProt ID: P0DTD1) 단백질 서열, 또한 P1 글루타민 잔기를 포함하는 선행하는 N-말단 5개 아미노산 잔기를 뿐만 아니라, 대장균 발현에 대해 코돈 최적화시키고 *Bam*HI 및 *Xho*I 부위를 사용하여 pET26b(Merck, #US169862-3) 또는 pGEX6P1(Fisher Scientific, #10350355) 벡터에 클로닝시켰다. 따라서 발현 구축물은 천연 바이러스 N-말단 서열 및 P2' 위치에 대안적인 라이신 잔기가 있고 이어서 폴리히스티딘(His-8) 태그가 있는 C-말단 변형 3C-프로테아제 절단 부위(LEVLFQGK)를 특징으로 한다.

[0565] **단백질 발현 및 단백질 정제**

[0566] 화학적으로 적격인 BL21(DE3)-RIL 대장균(Agilent, #230240) 세포를 관련 코로나바이러스 Mpro 구축물로 형질전환하고 적절한 항생제가 보충된 LB 한천 플레이트에서 37° C에서 밤새 성장시켰다. 달리 명시되지 않는 한 모든 배양 단계는 37° C에서 수행되었다. 600nm에서 분광 광도계에서 측정했을 때 광학 밀도(OD) 밀도가 2.0을 초과하지 않도록 주의하면서 약 2시간 동안 항생제가 보충된 LB 배지 15mL에서 콜로니 스크래핑을 성장시켰다. 이 전배양물을 500mL 발현 배양을 접종하는 데 사용했다: IPTG 유도 발현을 위한 LB 배지 또는 자가유도 수퍼브로스 배지(Formedium, #AIMSB0210). LB 배지에서 IPTG를 최종 농도 0.5 mM로 첨가하여 0.7-1.0의 OD에서 발현을 유도했다. 그런 다음 배양물을 밤새 18° C에서 성장시켰다. 자가유도 발현에서, 0.7-1.0의 OD가 관찰되면 온도를 18° C로 떨어뜨린 다음 밤새 성장시켰다. 세포를 원심분리에 의해 수확하고 사용할 때까지 동결시켰다.

[0567] 해동된 세포를 재현탁 완충액: 20mM Tris-HCl pH 8.0, 150mM NaCl 및 DNase I(Merck #4716728001)에 재현탁하고 초음파 처리로 용해했다. 용해물을 4° C에서 15분 동안 23,000rcf에서 원심분리하여 정화했다. 상청액을 0.5mL/분의 유속으로 5mL의 NiNTA 수지(Cytiva, #17-5248-02)에 로딩했다. 수지를 20mM 이미다졸을 함유하는 상기와 동일한 완충액으로 세척했다. Mpro 단백질을 250mM 이미다졸을 포함하는 동일한 완충액을 사용하여 용리시켰다. 재현탁 완충액에서 Superdex S75 16/60 pg(GE, #GE28-9893-33) 컬럼을 사용하여 표적 단백질을 추가로 정제했다. 단백질 순도는 SDS-PAGE에 의해 평가되었고 동일성은 질량 분석법에 의해 확인되었다. 정제된 단백질을 나중에 사용할 때까지 농축하고 냉동했다.

[0568] **SARS-CoV-2 Mpro 효소 분석**

[0569] SARS-Cov-2 Mpro의 활성은 FRET 기질 Dabcyl-KTSAVLQSGFRKM-E(Edans)-Amide를 사용하는 FRET(형광 공명 에너지 전달) 기반 효소 분석으로 측정되었다. 간단히 말해서, 100nL의 테스트 화합물(10 μM ~ 0.00051 μM 범위의 농도)을 20mM Tris(pH 7.5), 100mM NaCl 및 1mM EDTA 가 포함된 분석 완충액에서 실온에서 20분 동안 5nM(최종 농도) Mpro 효소 5 μL와 함께 사전 배양했다. FRET 기질(Dabcyl-KTSAVLQSGFRKM-E(Edans)-Amide) 25 μM(최종 농도) 5 μL를 첨가하여 반응을 시작했다. Ex=360 nm/Em=490 nm에서 생성된 형광 강도는 PHERAstar 플레이트 판독기(BMG Labtech)를 사용하여 실온에서 60분 동안 90초마다 측정되었다. MARS 소프트웨어(BMG Labtech)를 사용하여 반응의 선형 부분을 선택하고 분당 RFU 단위의 속도를 계산했다. 보세프레비르를 참조 표준 화합물로 사용했다. 4PL GraphPad Prism을 사용하여 pIC50 및 pKi을 결정하고 데이터는 평균 n=2±SD로 표시되었다. 본 발명의 화합물의 pKi 값을 표 2에 나타내었다.

[0570] 표 2

| 실시예 번호 | SARS-CoV-2 Mpro 효소 분석<br>pKi |
|---|---|
| 1 | 7.8 |
| 2 | 7.3 |
| 3 | 7.1 |
| 4 | 7.3 |
| 5 | 6.8 |
| 6 | 6.7 |
| 7 | 6.7 |
| 8 | 6.5 |
| 9 | 6.5 |
| 10 | 6.5 |
| 11 | 7.2 |
| 12 | 6.5 |
| 13 | 6.5 |
| 14 | 7.8 |
| 15 | 8.4 |
| 16 | 7.3 |
| 17 | 6.9 |
| 18 | 7.3 |
| 19 | 7.3 |
| 20 | 7.2 |
| 21 | 6.8 |
| 22 | 7.8 |
| 23 | < 5.3 |
| 24 | Not tested |
| 25 | 6.6 |
| 26 | 7.4 |
| 27 | < 5.3 |
| 28 | 8.2 |
| 29 | 6.6 |
| 30 | 6.8 |
| 31 | 7.0 |
| 32 | 7.2 |
| 33 | 6.8 |
| 34 | 8.4 |
| 35 | 7.4 |

[0571]