



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년04월10일  
(11) 등록번호 10-1383239  
(24) 등록일자 2014년04월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 403/12 (2006.01) C07D 235/14 (2006.01)  
A61K 31/4178 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2012-0045621  
(22) 출원일자 2012년04월30일  
심사청구일자 2012년04월30일  
(65) 공개번호 10-2013-0122361  
(43) 공개일자 2013년11월07일  
(56) 선행기술조사문헌  
KR1020060095156 A  
KR1020020097484 A  
KR1020110124772 A  
JP2008502684 A

(73) 특허권자  
한국화학연구원  
대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)  
(72) 발명자  
임희중  
대전 유성구 가정로 43, 101동 901호 (신성동, 삼성한울아파트)  
이계형  
대전 유성구 어은로 57, 119동 1104호 (어은동, 한빛아파트)  
(74) 대리인  
박창희, 권오식

전체 청구항 수 : 총 6 항

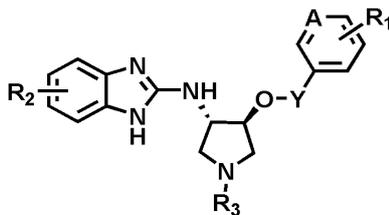
심사관 : 신창훈

(54) 발명의 명칭 **베타-세크리테아제 활성을 억제하는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 약제학적 조성물**

(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이를 유효성분으로 함유하는 신경퇴행성 질환의 예방 및 치료용 약제학적 조성물 및 이를 유효성분으로 함유하는 베타-세크리테아제(BACE)의 활성 억제제 조성물에 관한 것이다.

[화학식 1]



본 발명에 따른 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체는 베타-세크리테아제(BACE)의 활성을 억제하여 신경세포를 손상시키는 베타-아밀로이드 단백질의 생성을 억제함으로써 알츠하이머, 다운증후군 등의 신경퇴행성 질환을 치료하거나 예방하는데 효과적으로 사용될 수 있다.

(72) 발명자

**박우규**

충청북도 청주시 흥덕구 분평동 현대-대우아파트  
803동 803호

**조희영**

대전 유성구 엑스포로 448, 208동 1103호 (전민동,  
엑스포아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20110018336

부처명 교육과학기술부

연구사업명 미래기반기술개발사업

연구과제명 BACE1을 저해하는 알츠하이머병 치료제 신약후보물질 개발

기여율 1/1

주관기관 한국화학연구원

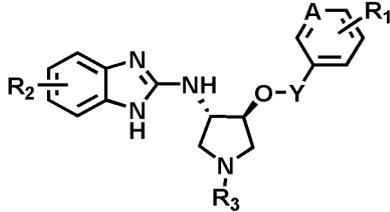
연구기간 2011.05.01 ~ 2012.05.31

---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

하기 화학식 1로 표시되는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:  
[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

A는 CH 또는 N이고;

Y는 결합, -CH<sub>2</sub>- 또는 -C(=O)-이고;

R<sub>1</sub>는 할로젠, (C1-C10)알킬, (C1-C10)알콕시, (C6-C12)아릴, (C3-C12)헤테로아릴, (C6-C12)아릴옥시, NR<sub>11</sub>R<sub>12</sub>, 5원 내지 7원의 사이클릭아미노 또는 질소, 산소 및 황으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하는 5원 내지 7원의 헤테로사이클릭아미노이고;

R<sub>11</sub> 및 R<sub>12</sub>는 각각 독립적으로 (C1-C10)알킬 또는 (C6-C12)아릴이고;

R<sub>2</sub>는 (C1-C10)알킬, (C1-C10)알콕시 또는 할로젠이고;

R<sub>3</sub>은 수소, (C1-C10)알킬, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-COR<sub>4</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-COOR<sub>4</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> 또는 -SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>이고;

R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 각각 독립적으로 수소, (C1-C10)알킬 또는 (C6-C12)아릴이고;

m은 0 내지 5의 정수이고;

상기 R<sub>1</sub>의 알킬, 알콕시, 아릴, 헤테로아릴 또는 아릴옥시, R<sub>2</sub>의 알킬 또는 알콕시, R<sub>3</sub>의 알킬 및 R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>11</sub> 및 R<sub>12</sub>의 알킬 또는 아릴은 할로젠 및 히드록시로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환체로 더 치환될 수 있다.

**청구항 2**

제 1항에 있어서,

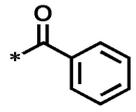
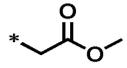
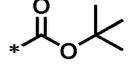
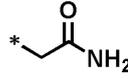
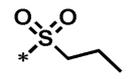
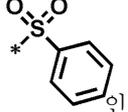
상기 R<sub>1</sub>는 (C1-C10)알킬, (C6-C12)아릴, 할로젠이 치환된 (C6-C12)아릴, (C6-C12)아릴옥시, 다이(C1-C10)알킬아미노, 5원 내지 7원의 사이클릭아미노 또는 5원 내지 7원의 헤테로사이클릭아미노이고; R<sub>2</sub>는 (C1-C10)알킬, (C1-C10)알콕시 또는 할로젠이고; R<sub>3</sub>은 수소, 히드록시(C1-C10)알킬, -COR<sub>4</sub>, -CH<sub>2</sub>COOR<sub>4</sub>, -COOR<sub>4</sub>, -CH<sub>2</sub>CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> 또는 -SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>이고; R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 각각 독립적으로 수소, (C1-C10)알킬 또는 (C6-C12)아릴인 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 3**

제 2항에 있어서,

상기 R<sub>1</sub>는 메틸, n-프로필, i-프로필, 페닐, 플루오르가 치환된 페닐, 페녹시, 다이메틸아미노, 피페리디노 또

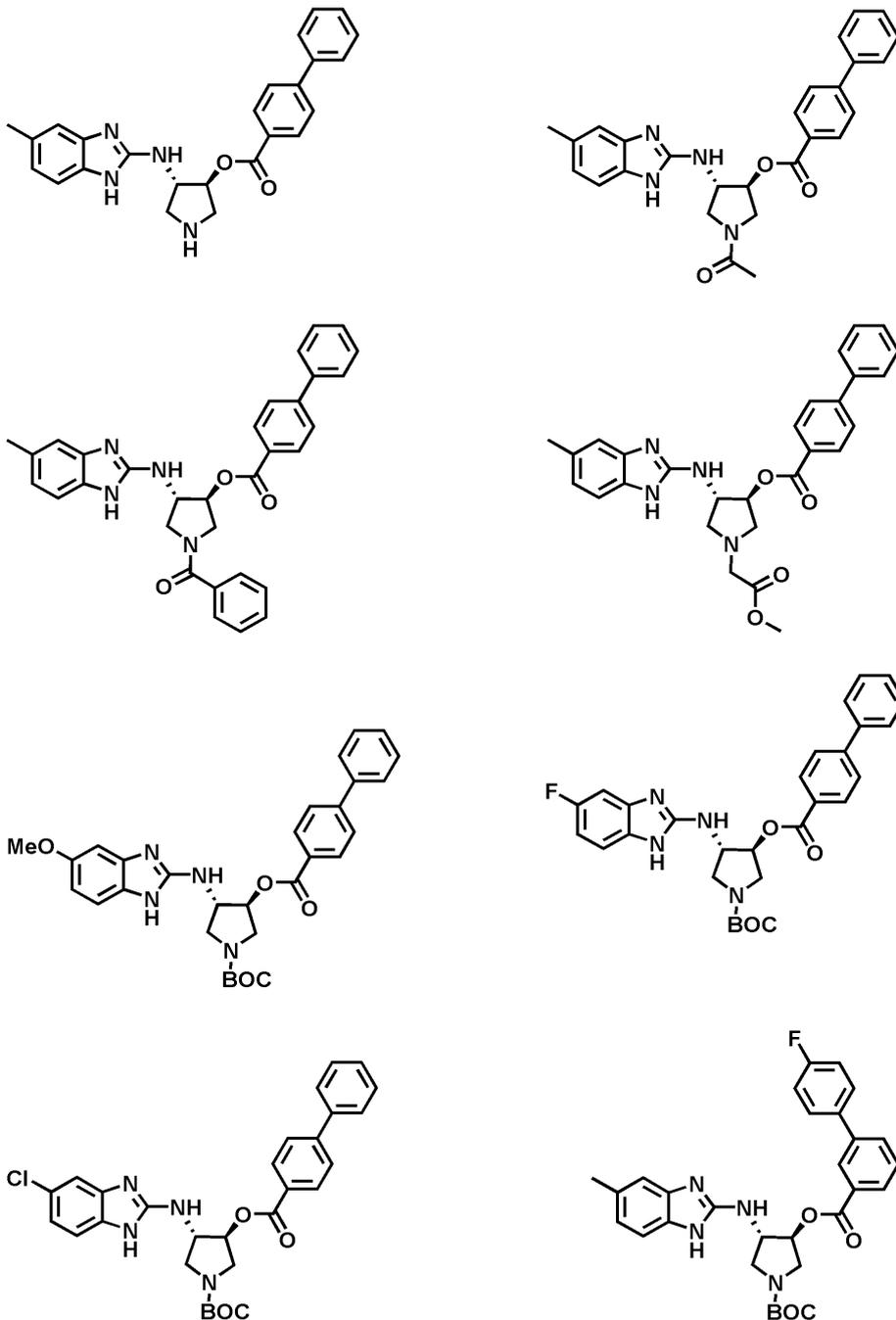
는 모폴리노이고; R<sub>2</sub>는 메틸, 메톡시, 클로로 또는 플루오르이고; R<sub>3</sub>은 수소, 히드록시에틸, ,

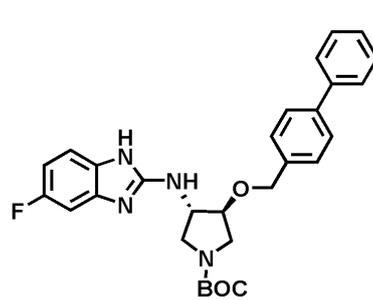
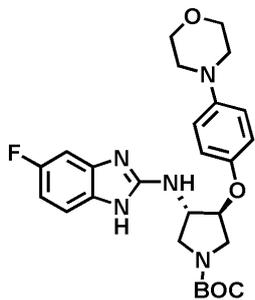
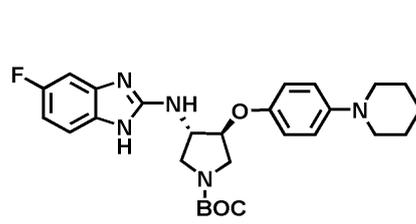
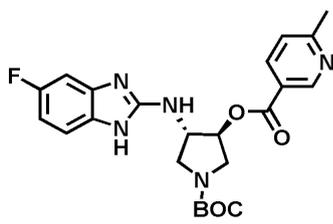
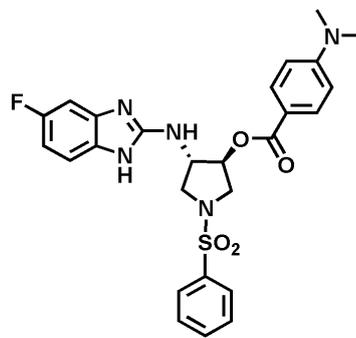
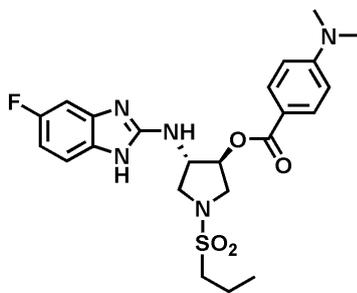
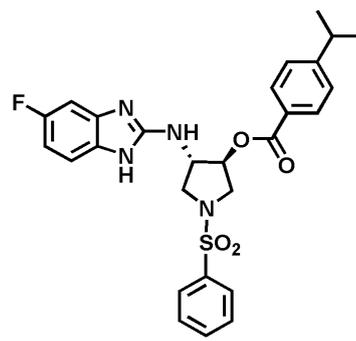
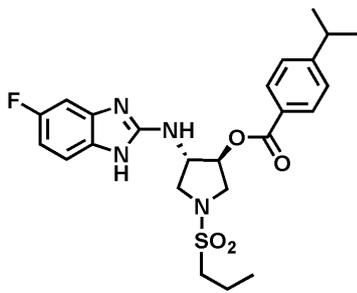
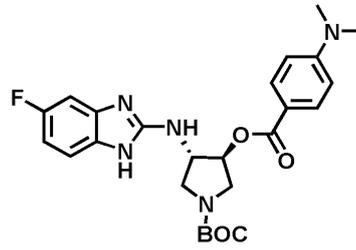
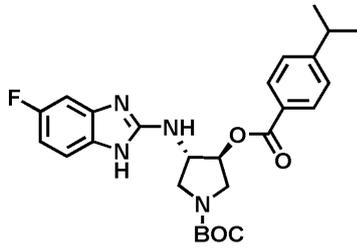
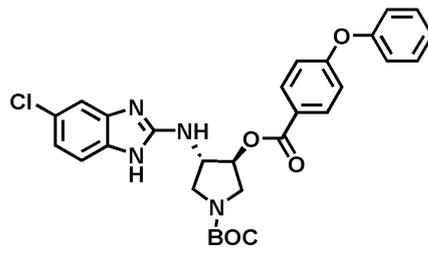
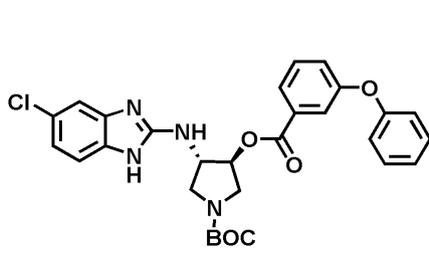
, , , ,  또는 인 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

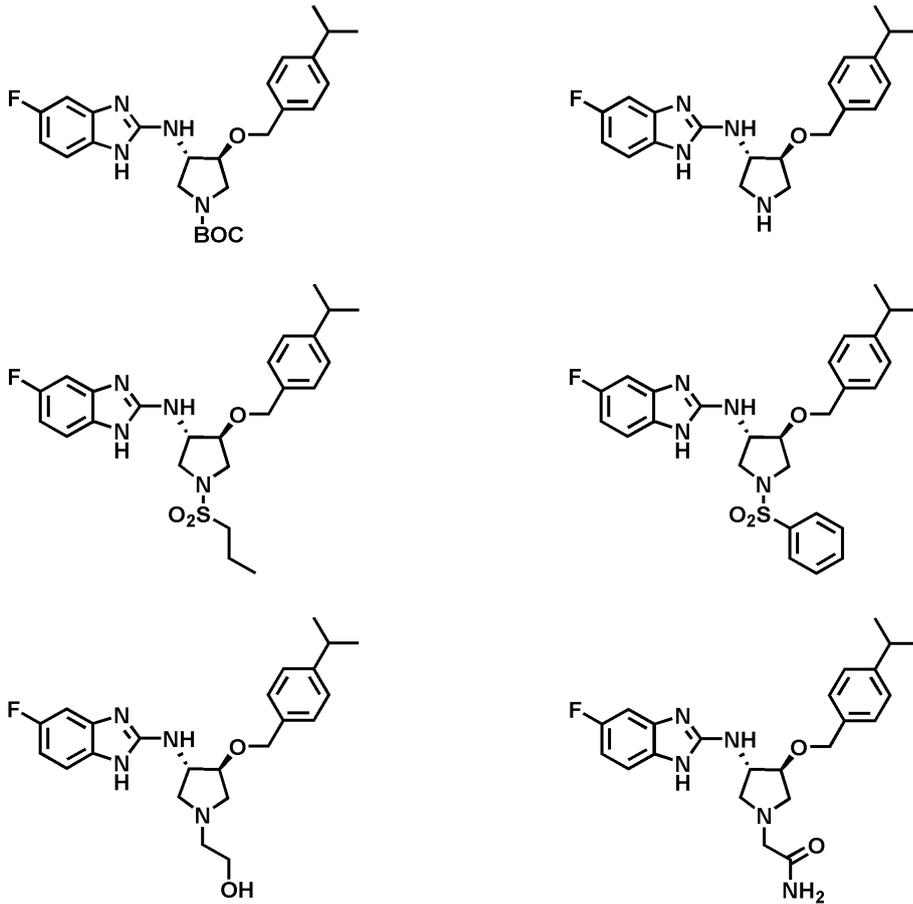
**청구항 4**

제 1항에 있어서,

상기 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체는 하기 구조의 화합물로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.







청구항 5

삭제

청구항 6

제 1항 내지 제 4항에서 선택되는 어느 한 항에 따른 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 신경퇴행성 질환의 예방 및 치료용 약제학적 조성물.

청구항 7

제 6항에 있어서,

상기 신경퇴행성 질환은 알츠하이머 또는 다운증후군인 약제학적 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 베타-세크리테아제( $\beta$ -secretase, 이하, BACE라 함)의 활성을 억제하는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이를 유효성분으로 함유하는 신경퇴행성 질환의 예방 및 치료용 약제학적 조성물 및 이를 유효성분으로 함유하는 베타-세크리테아제(BACE)의 활성 억제제 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 알츠하이머병(AD)은 신경세포 손상으로 인해 기억력, 인지력, 추론력, 판단력 및 지남력의 상실을 특징으로 하

는 노화와 밀접한 관련이 있는 퇴행성 뇌질환이다. 알츠하이머병의 병리학적 특징으로 뇌의 인지활동과 관련된 영역에서 신경섬유다발의 세포내 축적과, A $\beta$  단백질이 주요성분으로 구성된 노인반점(senile plaque)의 세포외 침착을 나타낸다. 39-43개의 아미노산으로 구성된 A $\beta$  단백질은 신경세포 독성을 나타내는 것이 공지되어 있다. 다수의 보고에 의하면 A $\beta$ 는 알츠하이머병의 병리적 특징이며, 병의 발생의 주요원인으로 인식되고 있다. A $\beta$  펩티드는 아밀로이드 전구체 단백질(Amyloid precursor protein, 이하, APP라 함)의 가수분해에 의해 생성되며, 39-43개의 아미노산으로 이루어진 다수의 A $\beta$ 가 알려져 있다. APP가 먼저 BACE에 의해 아밀로이드 전구체 단백질(APP)의 N-말단에서 절단된 후 감마-세크레타아제에 의해 C-말단에서 절단되는 경로에 의해 A $\beta$ 가 생성된다.

[0003] 따라서, BACE, Asp 또는 메맵신(Memapsin)으로도 명명되고 있는 베타-세크레타아제 효소((a) Tang, J. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2000**, *97*, 1456. (b) Hussain, I. et al., *Mol. Cell Neurosci.* **1999**, *14*, 419. (c) Yan, R. et al., *Nature* **1999**, *402*, 533. (d) Sinha, S, et al., *Nature* **1999**, *402*, 537. (e) Vassar, R. et al., *Science* **1999**, *286*, 735.)의 활성을 억제하는 저해제는 알츠하이머 질환의 예방 및 근본적인 발병원인이나 증상을 치료할 수 있는 약물로 사용가능하므로, 현재 수많은 제약회사에서 새로운 저해제를 개발하기 위하여 노력하고 있다.

[0004] 그러나, 현재까지 피롤리딘 골격을 가지면서 베타-세크리테아제의 활성을 저해하는 능력이 뛰어난 베타-세크리테아제 저해제를 개발하였다는 보고는 없다.

### 선행기술문헌

#### 비특허문헌

- [0005] (비특허문헌 0001) Tang, J. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2000, *97*, 1456.
- (비특허문헌 0002) Hussain, I. et al., *Mol. Cell Neurosci.* 1999, *14*, 419.
- (비특허문헌 0003) Yan, R. et al., *Nature* 1999, *402*, 533.
- (비특허문헌 0004) Sinha, S, et al., *Nature* 1999, *402*, 537.
- (비특허문헌 0005) Vassar, R. et al., *Science* 1999, *286*, 735.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 베타-세크리테아제(BACE)의 활성을 억제하는 신규의 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는데 있다.

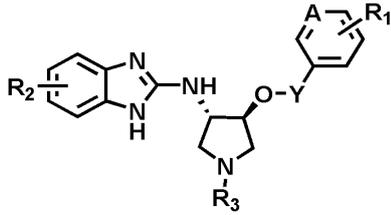
[0007] 본 발명의 다른 목적은 상기 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 신경퇴행성 질환의 예방 및 치료용 약제학적 조성물을 제공하는데 있다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은 상기 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 베타-세크리테아제(BACE)의 활성 억제제 조성물을 제공하는데 있다.

#### 과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 이를 유효성분으로 함유하는 신경퇴행성 질환의 예방 및 치료용 약제학적 조성물 및 이를 유효성분으로 함유하는 베타-세크리테아제(BACE)의 활성 억제제 조성물에 관한 것이다.

[0010] [화학식 1]

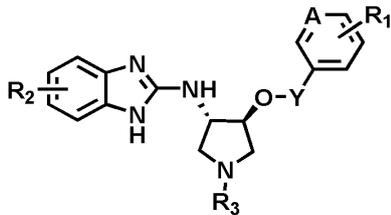


[0011]

[0012] 이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0013] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 신규한 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0014] [화학식 1]



[0015]

[0016] 상기 화학식 1에서,

[0017] A는 CH 또는 N이고;

[0018] Y는 결합, -CH<sub>2</sub>- 또는 -C(=O)-이고;

[0019] R<sub>1</sub>는 할로젠, (C1-C10)알킬, (C1-C10)알콕시, (C6-C12)아릴, (C3-C12)헤테로아릴, (C6-C12)아릴옥시, NR<sub>11</sub>R<sub>12</sub>, 5원 내지 7원의 사이클릭아미노 또는 질소, 산소 및 황으로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하는 5원 내지 7원의 헤테로사이클릭아미노이고;

[0020] R<sub>11</sub> 및 R<sub>12</sub>는 각각 독립적으로 (C1-C10)알킬 또는 (C6-C12)아릴이고;

[0021] R<sub>2</sub>는 (C1-C10)알킬, (C1-C10)알콕시 또는 할로젠이고;

[0022] R<sub>3</sub>은 수소, (C1-C10)알킬, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-COR<sub>4</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-COOR<sub>4</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> 또는 -SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>이고;

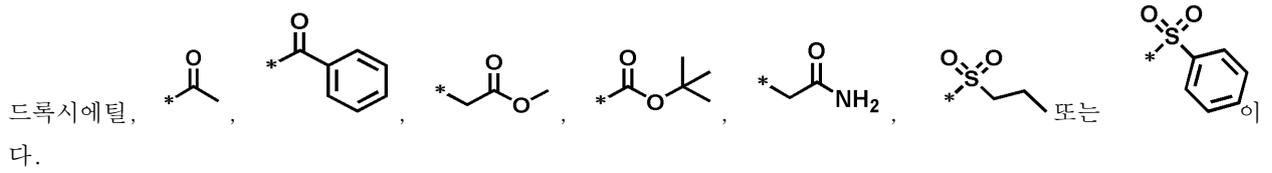
[0023] R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 각각 독립적으로 수소, (C1-C10)알킬 또는 (C6-C12)아릴이고;

[0024] m은 0 내지 5의 정수이고;

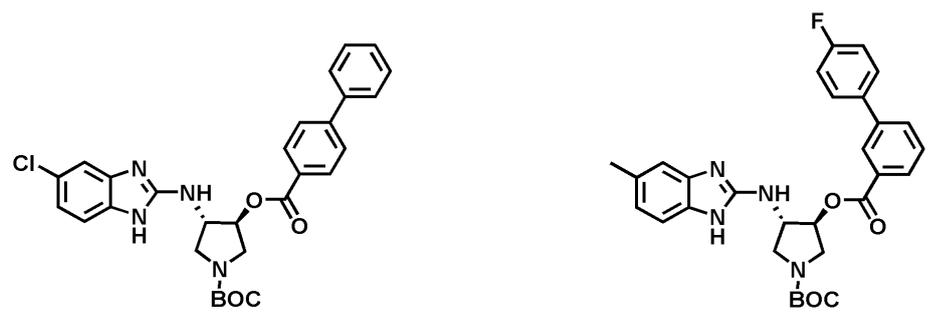
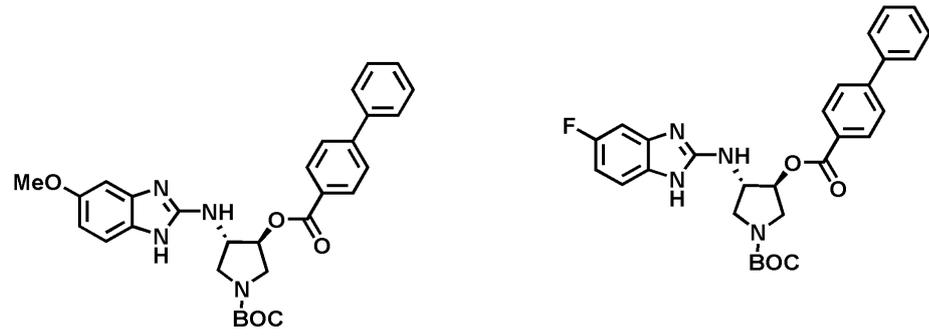
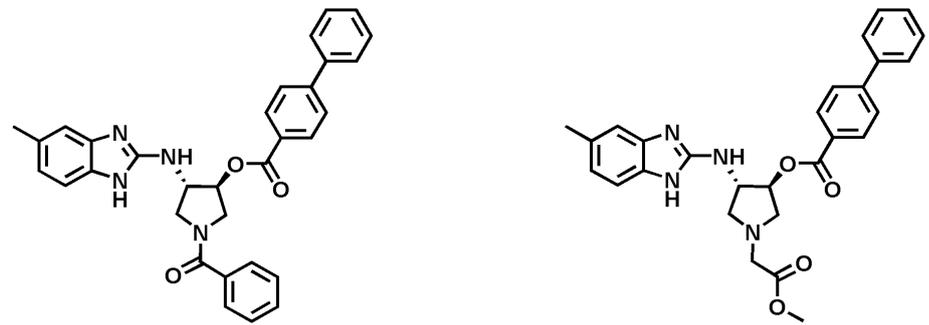
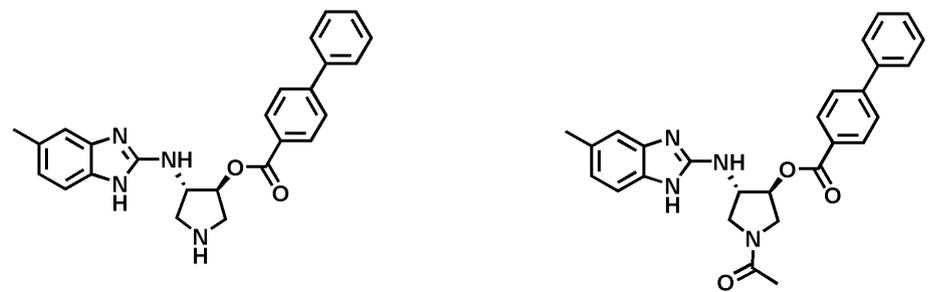
[0025] 상기 R<sub>1</sub>의 알킬, 알콕시, 아릴, 헤테로아릴 또는 아릴옥시, R<sub>2</sub>의 알킬 또는 알콕시, R<sub>3</sub>의 알킬 및 R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>11</sub> 및 R<sub>12</sub>의 알킬 또는 아릴은 할로젠, 알킬, 아릴 및 히드록시로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 치환체로 더 치환될 수 있다.

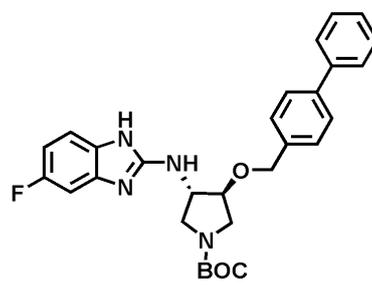
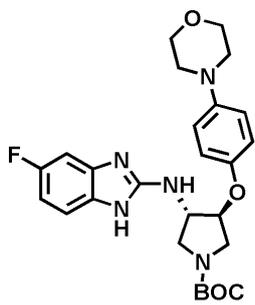
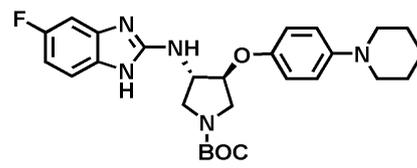
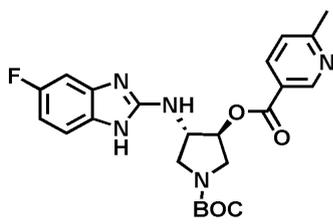
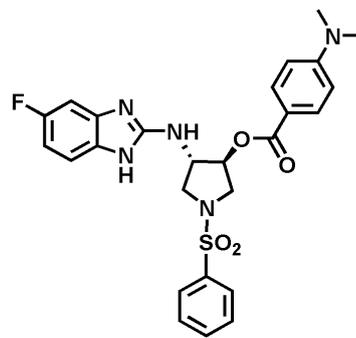
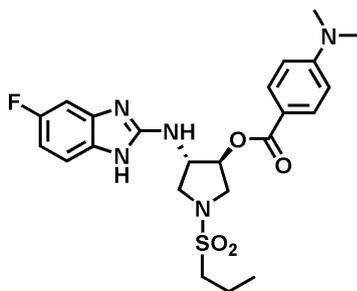
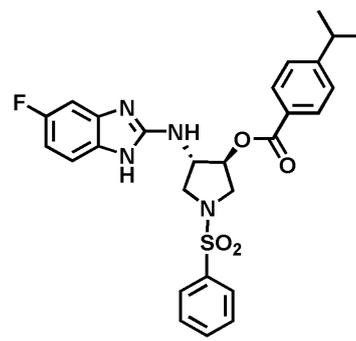
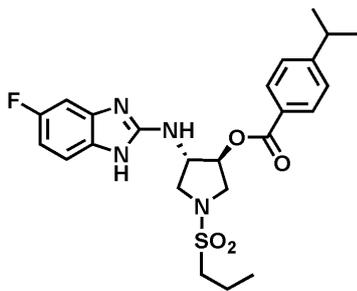
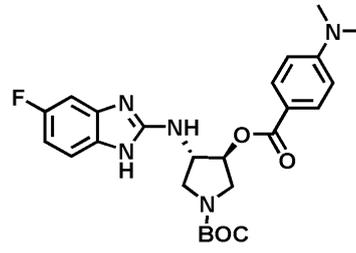
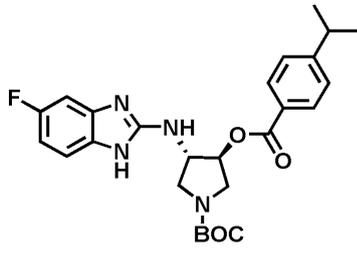
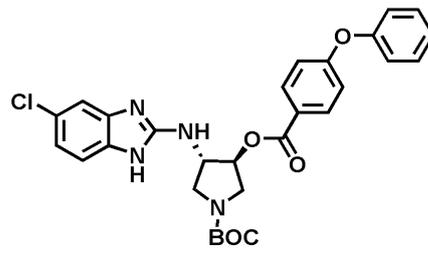
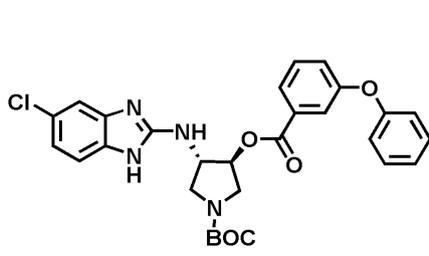
[0026] 상기 화학식 1에서, 바람직하게 R<sub>1</sub>는 (C1-C10)알킬, (C6-C12)아릴, 할로젠이 치환된 (C6-C12)아릴, (C6-C12)아릴옥시, 다이(C1-C10)알킬아미노, 5원 내지 7원의 사이클릭아미노 또는 5원 내지 7원의 헤테로사이클릭아미노이고; R<sub>2</sub>는 (C1-C10)알킬, (C1-C10)알콕시 또는 할로젠이고; R<sub>3</sub>은 수소, 히드록시(C1-C10)알킬, -COR<sub>4</sub>, -CH<sub>2</sub>COOR<sub>4</sub>, -COOR<sub>4</sub>, -CH<sub>2</sub>CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> 또는 -SO<sub>2</sub>R<sub>4</sub>이고; R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 각각 독립적으로 수소, (C1-C10)알킬 또는 (C6-C12)아릴이다.

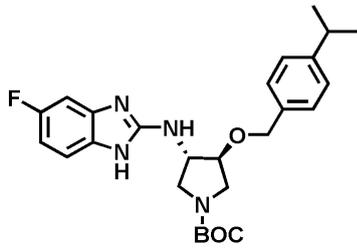
[0027] 상기 화학식 1에서, 보다 바람직하게 R<sub>1</sub>는 메틸, n-프로필, i-프로필, 페닐, 플루오르가 치환된 페닐, 페녹시, 다이메틸아미노, 피페리디노 또는 모폴리노이고; R<sub>2</sub>는 메틸, 메톡시, 클로로 또는 플루오르이고; R<sub>3</sub>은 수소, 히



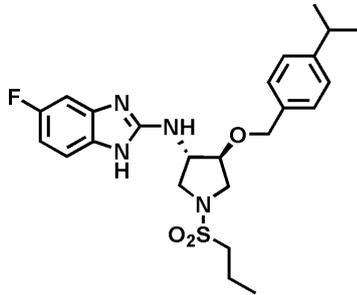
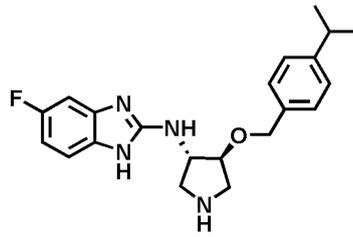
[0028] 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체를 보다 구체적으로 예시하면 다음과 같다.



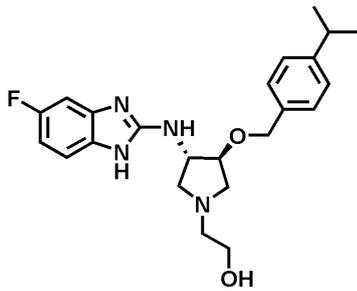
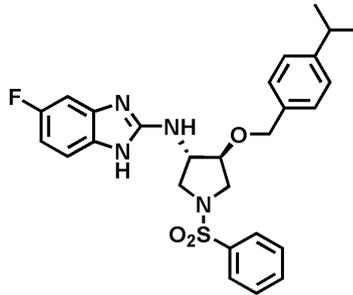




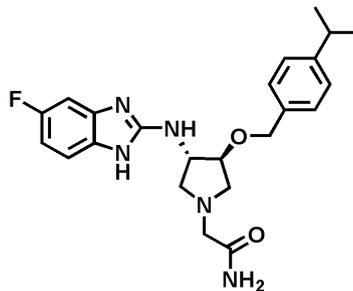
[0039]



[0040]



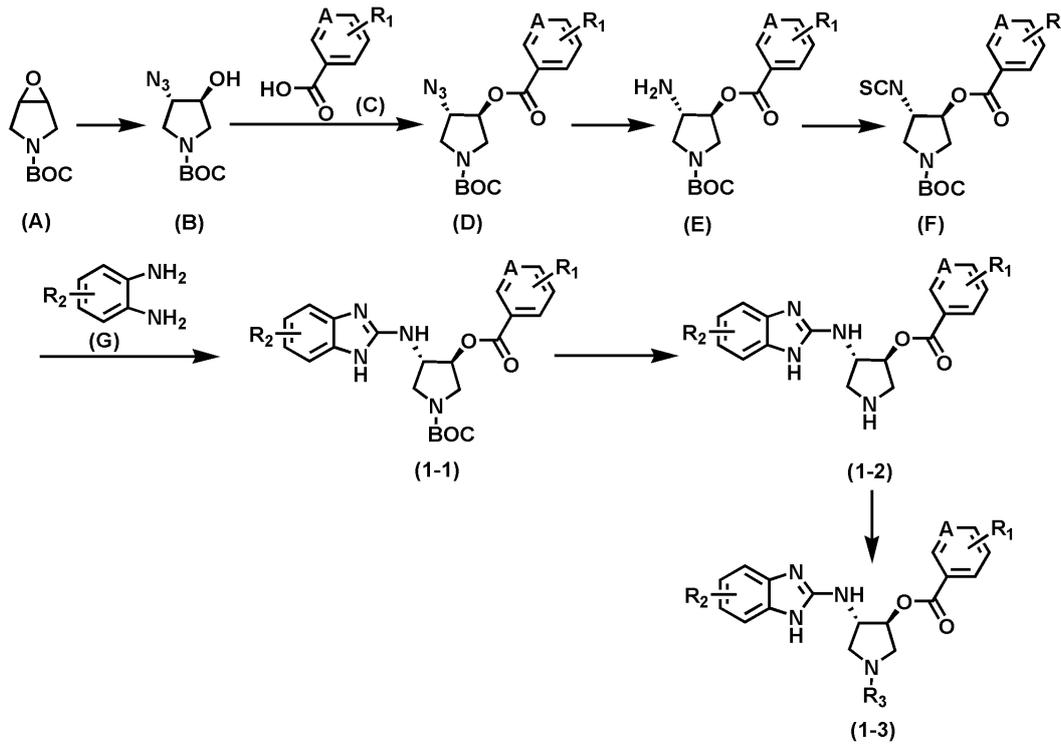
[0041]



[0042]

본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 및 그의 약제학적으로 허용 가능한 염의 제조방법을 간단히 나타내면 다음 반응식 1, 2 및 3과 같으며, 하기 반응식 1은 화학식 1의 Y가 -C(=O)-인 경우이고, 반응식 2는 화학식 1의 Y가 결합인 경우이고, 반응식 3은 화학식 1의 Y가 -CH<sub>2</sub>-인 경우에 해당된다. 하기 반응식 1 내지 3에서, BOC는 t-부톡시카보닐이고, A, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>은 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

[0043] [반응식 1]

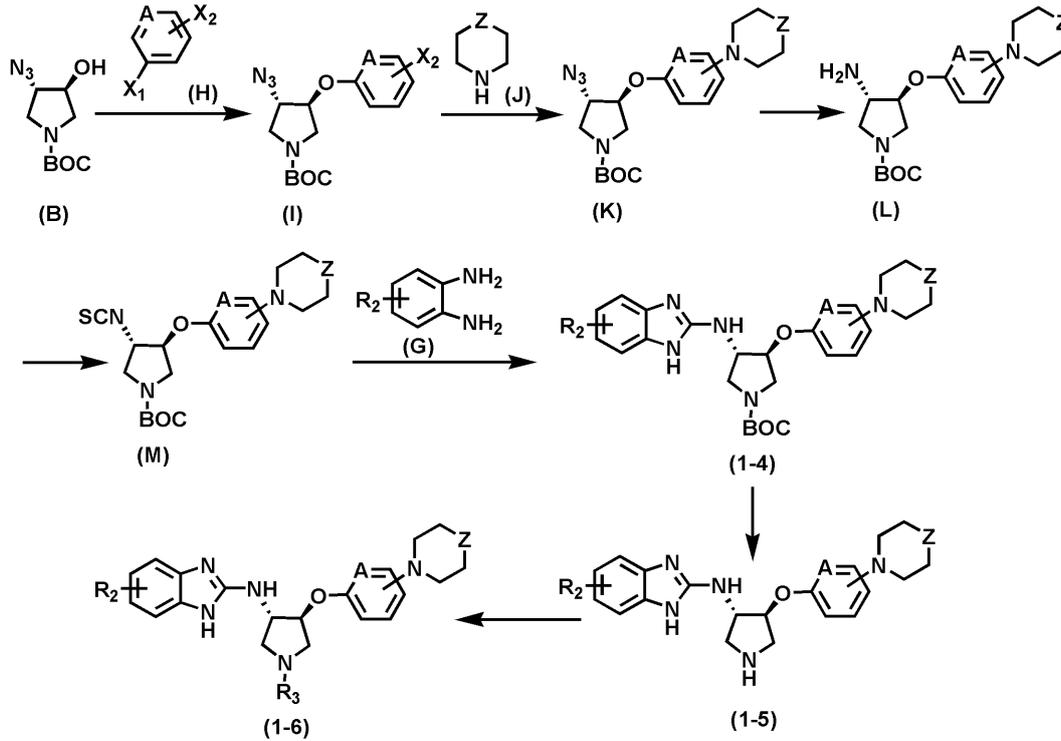


[0044]

[0045] 상기 반응식 1에 나타난 바와 같이, Y가 -C(=O)-인 경우 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체의 제조방법은 하기의 5 내지 7단계 과정을 포함하여 이루어진다:

- [0046] 1) 상기 화합물(A)를 공지된 방법으로 입체선택적으로 에폭사이드 고리(epoxide ring)을 개환하여 아지도 알코올 화합물(B)를 제조하는 단계;
- [0047] 2) 공지된 방법을 이용하여 상기 아지도 알코올 화합물(B)의 히드록시기를 카복실산 화합물(C)과 반응시켜 아지도 카복실레이트 화합물(D)를 제조하는 단계;
- [0048] 3) 공지된 방법을 이용하여 상기 아지도 카복실레이트 화합물(D)의 아지도기를 환원시켜 아미노 화합물(E)를 제조하는 단계;
- [0049] 4) 공지된 방법으로 상기 아미노 화합물(E)의 아미노기를 이소티오시아네이트기로 전환하여 이소티오시아네이트 화합물(F)을 제조하는 단계;
- [0050] 5) 상기 이소티오시아네이트 화합물(F)의 이소티오시아네이트기를 1,2-페닐렌디아민 화합물(G)과 반응시켜 벤즈이미다졸기로 전환시켜 화합물(1-1)를 제조하는 단계;
- [0051] 6) 상기 화합물(1-1)의 Boc (t-butoxycarbonyl)기를 트리플루오로아세트산으로 제거하여 화합물(1-2)을 얻는 단계; 및
- [0052] 7) 공지된 방법으로 상기 화합물(1-2)과 할로알킬, 할로아릴, 할로알콜, 산무수물, 카복실산, 카복실산 염화물, 술폰산 염화물 등을 반응시켜 화합물(1-3) (R<sub>3</sub>≠수소)을 얻는 단계.

[0053] [반응식 2]



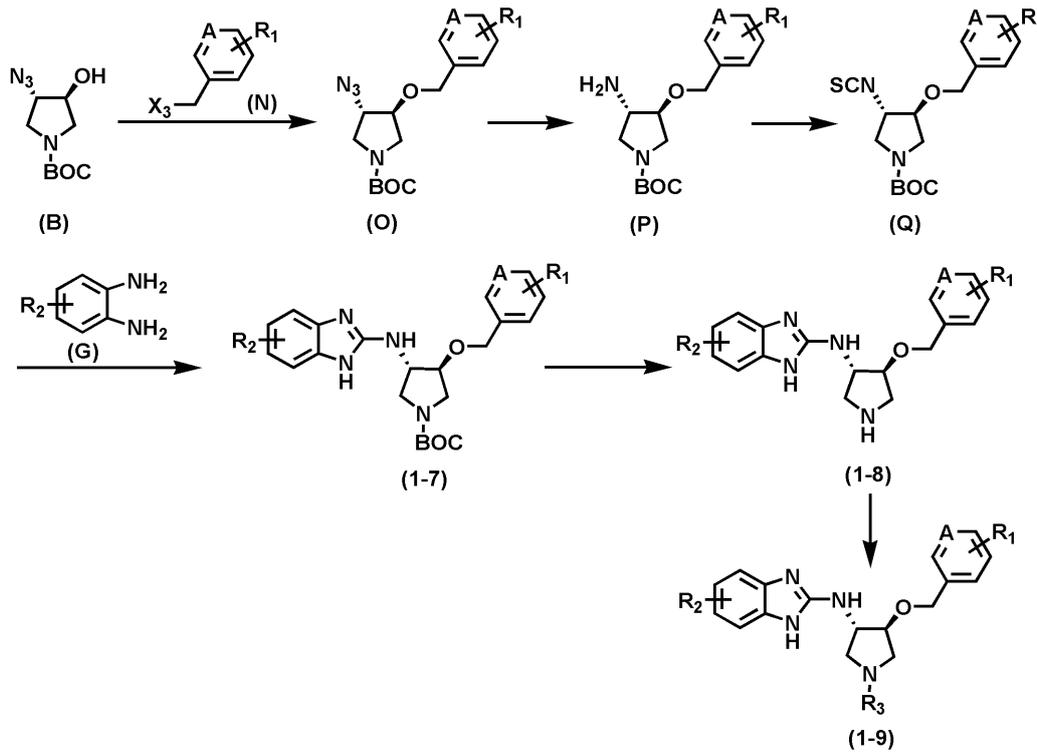
[0054]

[0055] [상기 반응식 2에서, X<sub>1</sub> 및 X<sub>2</sub>는 각각 독립적으로 할로젠이고; Z는 질소, 산소 또는 황이다.]

[0056] 상기 반응식 2에 나타난 바와 같이, Y가 결합인 경우 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체의 제조방법은 하기의 5 내지 7단계 과정을 포함하여 이루어진다:

- [0057] 1) 공지의 방법을 이용하여 상기 아지도 알코올 화합물(B)의 히드록시기를 다이할로 화합물(H)과 반응시켜 아지도 화합물(I)를 제조하는 단계;
- [0058] 2) 공지의 방법을 이용하여 상기 아지도 화합물(I)의 할로젠기를 고리형아민화합물(J)과 반응시켜 화합물(K)를 제조하는 단계;
- [0059] 3) 상기 화합물(K)의 아지도기를 공지의 방법으로 환원시켜 아미노 화합물(L)를 제조하는 단계;
- [0060] 4) 공지의 방법으로 상기 아미노 화합물(L)의 아미노기를 이소티오시아네이트기로 전환하여 이소티오시아네이트 화합물(M)을 제조하는 단계;
- [0061] 5) 상기 이소티오시아네이트 화합물(M)의 이소티오시아네이트기를 1,2-페닐렌디아민 화합물(G)과 반응시켜 벤즈이미다졸기로 전환시켜 화합물(1-4)를 제조하는 단계;
- [0062] 6) 상기 화합물(1-4)의 Boc (t-butoxycarbonyl)기를 트리플루오로아세트산으로 제거하여 화합물(1-5)을 얻는 단계; 및
- [0063] 7) 공지된 방법으로 상기 화합물(1-5)과 할로알킬, 할로아릴, 할로알콜, 산무수물, 카복실산, 카복실산 염화물, 술폰산 염화물 등을 반응시켜 화합물(1-6) (R<sub>3</sub>≠수소)을 얻는 단계.

[0064] [반응식 3]



[0065]

[0066] [상기 반응식 3에서, X<sub>3</sub>는 할로젠이다.]

[0067] 상기 반응식 3에 나타난 바와 같이, Y가 -CH<sub>2</sub>-인 경우 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체의 제조방법은 하기의 4 내지 6단계 과정을 포함하여 이루어진다:

[0068] 1) 공지된 방법을 이용하여 상기 아지도 알코올 화합물(B)의 히드록시기를 할로메틸화합물(N)과 반응시켜 화합물(O)를 제조하는 단계;

[0069] 2) 공지된 방법을 이용하여 상기 화합물(O)의 아지도기를 환원시켜 아미노 화합물(P)를 제조하는 단계;

[0070] 3) 공지된 방법으로 상기 아미노 화합물(P)의 아미노기를 이소티오시아네이트기로 전환하여 이소티오시아네이트 화합물(Q)을 제조하는 단계;

[0071] 4) 상기 이소티오시아네이트 화합물(Q)의 이소티오시아네이트기를 1,2-페닐렌디아민 화합물(G)과 반응시켜 벤즈이미다졸기로 전환시켜 화합물(1-7)를 제조하는 단계;

[0072] 5) 상기 화합물(1-7)의 Boc (t-butoxycarbonyl)기를 트리플루오로아세트산으로 제거하여 화합물(1-8)을 얻는 단계; 및

[0073] 6) 공지된 방법으로 상기 화합물(1-8)과 할로알킬, 할로아릴, 할로알콜, 산무수물, 카복실산, 카복실산 염화물, 술폰산 염화물 등을 반응시켜 화합물(1-9) (R<sub>3</sub>≠수소)을 얻는 단계.

[0074] 본 발명의 화학식 1의 유도체는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염을 포함한다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 아질산 또는 아인산과 같은 무기산류와 지방족 모노 및 디카복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류와 같은 무독성 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설페이트, 바이설페이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 테카노에이트, 카프릴레이트, 아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-

1,4-디오에이트, 핵산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트 또는 만델레이트를 포함한다.

[0075] 한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체는 BACE 활성을 억제하는 효능을 지니고 있어 베타-아밀로이드 단백질의 생성을 저해하는 효과를 갖는다. 따라서 본 발명은 베타-아밀로이드 단백질로 인해 유발되는 알츠하이머 질환 또는 그와 유사한 다운증후군 질환의 치료 및 예방에 효과적이다. 이에 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이 유효성분으로 함유되어 있는 신경퇴행성 질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.

[0076] 또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 유효 성분으로 함유하는 베타-세크리타아제(BACE)의 활성 억제제 조성물을 제공한다.

[0077] 본 발명에 따른 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염의 인체에 대한 투여용량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환정도에 따라 달라질 수 있으며, 몸무게가 70 kg인 성인환자를 기준으로 할 때 일반적으로 0.01 ~ 1000 mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

[0078] 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 상기 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염에 통상의 무독성 약제학적으로 허용 가능한 담체, 보강제 및 부형제 등을 첨가하여 약제학적 분야에서 통상적인 제제, 예를 들면 정제, 캡슐제, 트로키제, 액제, 현탁제 등의 경구투여용 제제 또는 정맥내, 피하 또는 복강내 주사제, 국소 투여를 위한 크림제, 연고제 또는 패치제, 또는 시각 경로 등의 비경구투여용 제제로 제제화 할 수 있다.

[0079] 본 발명에 따른 약제학적 조성물의 경구투여 경우 기존의 모든 다양한 형태로 제조가능하며, 예를 들어 정제, 분말제, 건조시럽, 씹을 수 있는 정제, 과립제, 츄잉정, 캡슐제, 연질캡슐제, 환제, 드링크제, 설하정 등의 여러 가지 형태로 존재할 수 있다. 분말제인 경우는 유효성분의 양이 0.01 내지 99.9중량% 등으로 본 조성물의 제형에 따라 합리적인 방법으로 함량을 적용하는 것이 바람직하다. 본 발명에 따른 약제학적 조성물은 각각의 제형에 따라 본 발명에 따른 피페리딘 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용되는 염의 양이 최대의 총중량을 초과하면 물리적 특성을 유지하기 힘들 수 있고, 최소중량보다 적으면 활성성분에 의한 약리효과가 충분히 나타나지 않을 수도 있다.

[0080] 본 발명에 따른 정제는 유효량으로 생체이용성이 있는 임의의 형태 또는 방식, 즉, 경구경로로 환자에게 투여될 수 있으며, 치료하려는 질병 상태의 특성, 질병의 단계, 및 그 밖의 관련 사정에 따라 적합한 투여 형태 또는 방식을 용이하게 선택할 수 있으며, 본 발명에 따른 조성물이 정제인 경우 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함 할 수 있으며, 이러한 부형제의 비율 및 성질은 선택된 정제의 용해도 및 화학적 특성, 선택된 투여경로 및 표준 약제 실무에 의해 결정된다.

[0081] 더욱 상세하게는, 본 발명에 따른 조성물은 치료적 유효량의 상기 기술된 활성성분을 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제와 함께 필수 성분으로 포함할 수 있다. 부형제 물질은 활성성분의 비히클 또는 매체로서 기능할 수 있는 고형 또는 반고형 물질일 수 있으며, 적합한 부형제는 당 분야에 널리 공지되어 있다. 부형제 물질은 의도된 투여 형태와 관련하여 선택될 수 있으며, 구체적으로는 정제, 분말제, 씹을 수 있는 정제, 과립제, 츄잉정, 캡슐제, 연질캡슐제, 환제, 설하정 또는 시럽형태의 경우, 치료학적 활성 약물 성분은 락토오스 또는 진분과 같은 임의의 경구 비독성의 약제학적으로 허용되는 비활성 부형제와 배합될 수 있다. 임의로, 본 발명의 약제학적 정제는 비정질 셀룰로오즈, 검 트라가칸트 또는 젤라틴과 같은 결합제, 알긴산과 같은 붕해제, 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제, 콜로이드성 실리콘 디옥사이드와 같은 글라이던트(glidant), 수크로오즈 또는 사카린과 같은 감미제, 페퍼민트 또는 메틸 살리실레이트와 같은 착색제 또는 착향제를 또한 함유할 수 있다.

[0082] 투여가 용이하기 때문에 정제는 가장 유리한 경구용 단위 제형이 될 수 있으며, 필요에 따라 정제는 표준 수성 또는 비수성 기술에 의해 당, 셀락(shellac) 또는 그 밖의 장용 코팅제로 코팅될 수 있으며, 각각의 정제 또는 캡슐은 약 0.1 mg 내지 100 mg의 유효성분을 함유하는 것이 바람직하다.

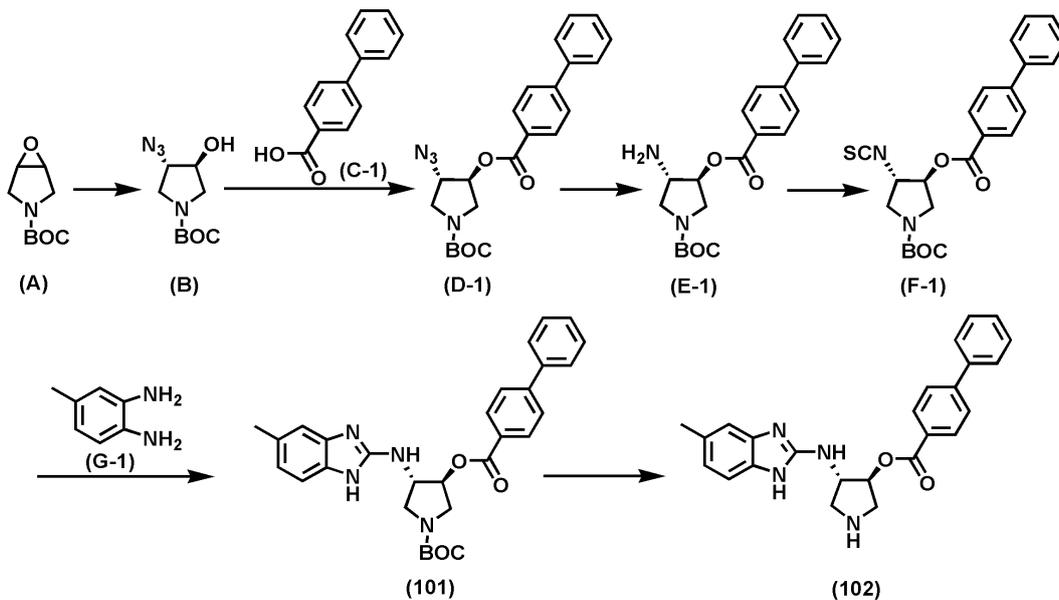
**발명의 효과**

[0083] 이상에서 설명한 바와 같이, 본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체는 BACE 억제 활성이 우수하므로 이와 관련된 각종 질환의 예방 및 치료에 유효하며, BACE 억제 활성과 관련된 것으로 알려진 알츠하이머, 다운증후군 등의 신경퇴행성 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0084] 이하, 실시예 및 실험예를 통해 본 발명을 상세히 설명한다. 단, 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0085] [실시예 1] (3S,4S)-4-(5-methyl-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidin-3-yl biphenyl-4-carboxylate (화합물 102)의 제조



[0086]

**단계1: 화합물 B의 제조**

[0088] 공지 방법 (WO 2009/ 153554)으로 화합물 A (3.0 g, 16.2 mmol)를 에테르(10 mL)에 녹이고 (R,R)-N,N'-비스(3,5-비스-tert-부틸살리실리덴)-1,2-사이클로hex산디아미노코롬(III) 클로라이드 (0.2 g, 0.3 mmol)를 가한다. 반응 혼합물을 30분간 교반 후 아지도트리메틸실란 (3.2 mL, 24.2 mmol)를 가하고 24시간 실온에서 교반한다. 반응물을 감압농축 후 메탄올 (50 mL)에 녹이고 p-톨루엔술폰산 (1 g)를 넣고 30분 동안 교반한다. 반응물에 포화 탄산수소나트륨 수용액 (50 mL)을 가하고 에틸 아세테이트 (2 X 50 mL)로 추출 후 황산나트륨으로 수분을 제거하고 농축한다. 잔류물을 실리카 겔 판 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=2:1)로 분리하여 노란색 고체상의 아지도 알코올 화합물 B을 얻었다(3.0 g, 81 %).

[0089] <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDC13) δ 4.25 (br s, 1H), 3.93 (br s, 1H), 3.55-3.75 (m, 2H), 3.30-3.50 (m, 2H), 2.05 (br s, 1H), 1.46 (s, 9H).

**단계2: 화합물 D-1의 제조**

[0091] 아지도 알코올 화합물 B (221 mg, 0.97 mmol)을 디메틸포름아미드 (6 mL)에 녹인 후, 비페닐-4-카복실산(화합물 C-1, 230 mg, 1.16 mmol), 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드(EDC; 223 mg, 1.16 mmol), 4-N,N-디메틸아미노피리딘(DMAP; 118 mg, 0.97 mmol)을 넣고 상온에서 24시간 교반시킨다. 포화 탄산수소나트륨 수용액 (20 mL)를 가한 후 에틸 아세테이트(2 x 20 mL)로 추출한다. 유기층을 0.5N 염산 수용액 (20 mL), 증류수

(20 mL)로 세척 후 황산나트륨으로 수분을 제거하고 감압 농축한다. 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=5:1)로 정제하여 화합물 **D-1**를 얻었다(360 mg, 91 %).

[0092]  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.49 (s, 9H), 3.53-3.87 (m, 4H), 4.23 (m, 1H), 5.36 (m, 1H), 7.27-7.51 (m, 4H) 7.61-7.70 (m, 4H) 8.08 (d,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 2H).

[0093] **단계3: 화합물 E-1의 제조**

[0094] 화합물 **D-1** (350 mg, 0.86 mmol)을 에탄올 (10 mL)에 녹이고 10% Pd-C (25 mg)을 가한 후 수소풍선 하에서 12시간 교반한다. 셀라이트 패드로 여과하고, 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=2:1)로 정제하여 화합물 **E-1**를 얻었다(279 mg, 85%).

[0095]  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.49 (s, 9H), 1.50 (br s, 2H), 3.20-3.30 (m, 1H), 3.41-3.50 (m, 1H), 3.52-3.69 (m, 2H), 3.87 (dd,  $J = 12.6, 5.3\text{ Hz}$ , 1H), 5.14 (m, 1H), 7.40-7.51 (m, 4H) 7.61-7.70 (m, 4H) 8.09 (d,  $J = 8.4\text{Hz}$ , 2H).

[0096] **단계4: 화합물 F-1의 제조**

[0097] 화합물 **E-1** (270 mg, 0.71 mmol)을 디클로로메탄 (10 mL)에 녹인 후 디(2-피리딜)싸이오카보네이트(di(2-pyridyl)thiocarbonate, DPT; 163 mg, 0.85 mmol)을 넣고 상온에서 5시간 교반한다. 반응 혼합물을 농축하고 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=8:1)로 정제하여 화합물 **F-1**를 (255 mg, 85 %) 얻었다.

[0098]  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.49 (s, 9H), 3.21-3.32 (m, 1H), 3.42-3.53 (m, 1H), 3.54-3.69 (m, 2H), 3.90 (m, 1H), 5.14 (m, 1H), 7.41-7.52 (m, 4H) 7.60-7.72 (m, 4H) 8.09 (d,  $J = 8.4\text{ Hz}$ , 2H).

[0099] **단계5: 화합물 101의 제조**

[0100] 화합물 **F-1** (250 mg, 0.59 mmol)을 테트라하이드로퓨란 (4 mL)에 녹인 용액에 4-메틸-페닐렌-1,2-디아민 (화합물 **G-1**, 87 mg, 0.71 mmol)과, 산화수은 (HgO; 367 mg, 0.86 mmol)을 넣고 60 °C에서 12시간 교반한다. 반응 혼합물을 셀라이트 패드로 여과하고, 증류수 (10 mL)를 가한 후 에틸 아세테이트 (10 mL)로 추출하고 황산나트륨으로 수분을 제거 후 감압 농축한다. 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=1:1)로 정제하여 화합물 **101**를 얻었다(205 mg, 70 %).

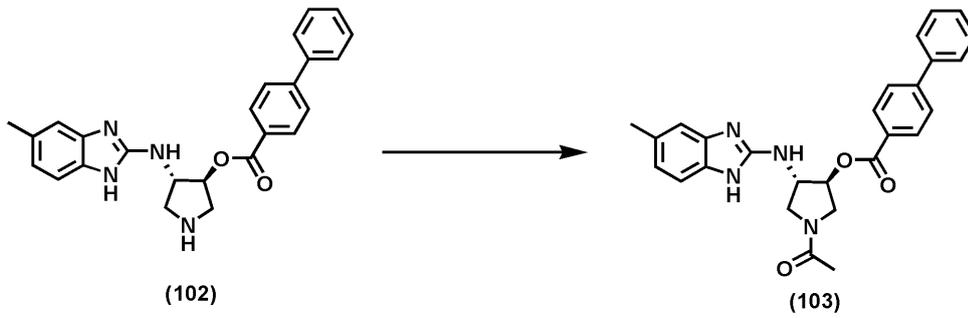
[0101]  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.15 (d,  $J = 6.9\text{ Hz}$ , 2H), 7.67 (d,  $J = 8.4\text{ Hz}$ , 2H), 7.53 (m, 3H), 7.27 (m, 1H), 6.90 (d,  $J = 7.8\text{ Hz}$ , 1H), 5.32 (s, 1H), 4.26 (s, 1H), 3.92-3.61 (m, 4H), 2.43 (s, 3H), 1.49 (m, 9H).

[0102] **단계6: 화합물 102의 제조**

[0103] 화합물 **101** (90 mg, 0.18 mmol)을 디클로로메탄 (3 mL)에 녹인 후 트리플로오로아세트산 (6 mL)을 넣고 상온에서 2시간 교반한다. 반응 혼합물을 감압하에서 농축 후 1N 수산화나트륨 수용액으로 중화시키고, 에틸 아세테이트(15 mL) 추출 후, 증류수 (20 mL)로 세척하고 황산나트륨으로 수분을 제거하고 감압 농축한다. 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (디클로로메탄:메탄올=12:1)으로 정제하여 화합물 **102**를 얻었다(70 mg, 95 %).

[0104]  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.15(m, 2H), 7.72-7.65(m, 4H), 7.63-7.42(m,3H), 7.31-7.22(m, 1H), 6.90(m, 1H), 5.25(m,1H), 4.07(m,1H), 3.55-3.33(m,2H), 3.30-3.26(m, 2H), 2.43(s, 3H).

[0105] [실시예 2] (3S,4S)-1-acetyl-4-(5-methyl-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidin-3-yl biphenyl-4-carboxylate (화합물 103)의 제조



[0106]

[0107]

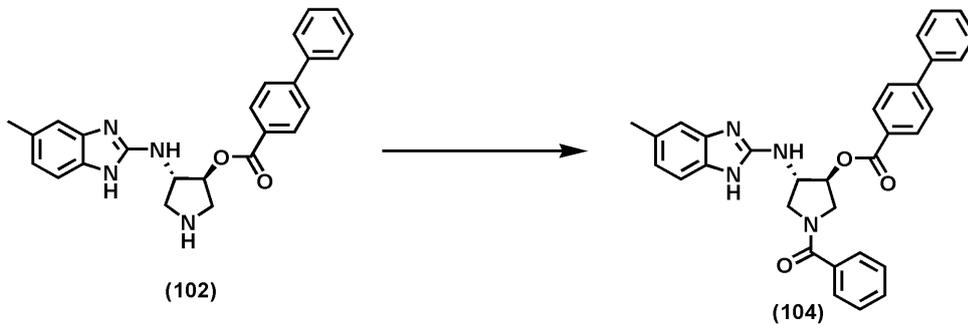
상기 실시예 1의 단계6에서 얻은 화합물 **102** (13 mg, 31.5 mmol)과 트리에틸아민 (6 mL, 43 mmol)을 무수 디클로로메탄 (2 mL)에 녹인 용액에 초산 무수물 (4 mg, 39 mmol)을 가하고 실온에서 2시간 교반한다. 반응물을 감압 농축하고 실리카 겔 관 크로마토그래피 (디클로로메탄:메탄올=30:1)로 정제하여 화합물 **103**을 얻었다(13 mg, 95 %).

[0108]

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.19-8.09 (m, 3H), 7.69-7.62 (m, 4H), 7.50-7.41 (m, 3H), 7.32-7.23 (m, 2H), 6.91-6.90 (m, 1H), 5.67-5.62 (m, 1H), 4.82-4.79 (m, 1H), 4.23-4.01 (m, 2H), 3.87-3.82 (m, 1H), 3.73-3.69 (m, 1H), 2.77(s, 3H), 2.41(s, 3H).

[0109]

[실시예 3] (3S,4S)-1-benzoyl-4-(5-methyl-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidin-3-yl biphenyl-4-carboxylate (화합물 **104**)의 제조



[0110]

[0111]

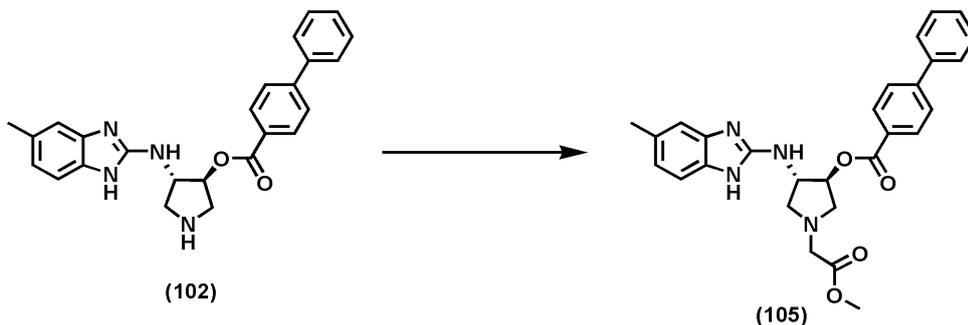
상기 실시예 1의 단계6에서 얻은 화합물 **102** (13 mg, 31.5 mmol)과 벤조일 클로라이드를 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 **104**를 얻었다(14 mg, 89 %).

[0112]

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.0 (brs, 1H), 8.14 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 8.09-8.06 (m 2H), 8.03-7.42 (m, 11H), 7.22-6.95 (m, 2H), 6.58-6.53 (m, 1H), 5.70-5.68 (m, 1H), 4.88-4.66 (m, 1H), 4.22-4.01 (m, 2H), 3.82-3.56 (m, 2H), 3.27 (s, 3H).

[0113]

[실시예 4] (3S,4S)-1-(2-methoxy-2-oxoethyl)-4-(5-methyl-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidin-3-yl biphenyl-4-carboxylate (화합물 **105**)의 제조

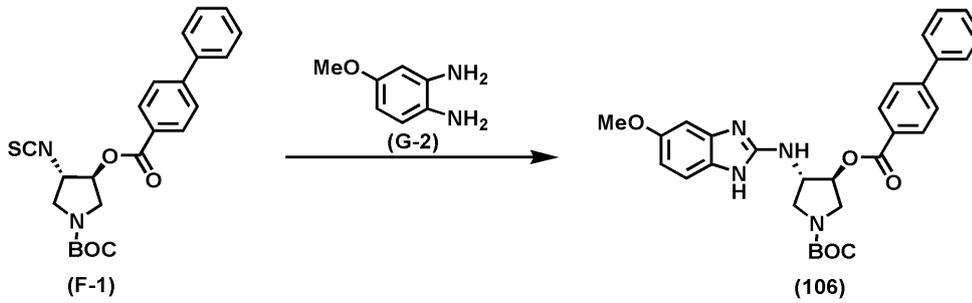


[0114]

[0115] 상기 실시예 1의 단계6에서 얻은 화합물 **102** (13 mg, 31.5 mmol)과 메틸 브로모아세테이트를 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 **105**를 얻었다(11 mg, 75 %).

[0116] <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.17 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 7.72 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 7.66-7.26 (m, 1H), 7.52-7.51 (m, 3H), 7.43-7.42 (m, 1H), 7.28-7.26 (m, 1H), 6.92-6.91 (m, 1H), 5.30-5.28 (m, 1H), 4.22-4.20 (m, 1H), 3.81-3.79 (m, 3H), 3.79-3.74 (m, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.35-3.32 (m, 1H), 3.15-3.13 (m, 1H), 2.97-2.95 (m, 1H), 2.44 (s, 3H).

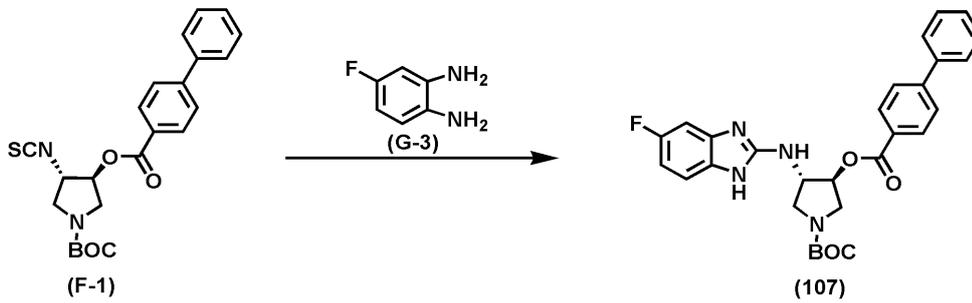
[0117] [실시예 5] (3*S*,4*S*)-*tert*-butyl 3-(biphenylcarbonyloxy)-4-(5-methoxy-1*H*-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 **106**)의 제조



[0118] 상기 실시예 1의 단계4로부터 얻은 화합물 **F-1**과 4-메톡시-1,2-페닐렌디아민(화합물 **G-2**)를 상기 실시예 1의 단계5와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 **106**를 얻었다.

[0120] <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.17 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.52-7.43 (m, 3H), 7.27-7.26 (m, 1H), 6.97 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.34 (s, 1H), 4.22 (s, 1H), 3.93-3.58 (m, 7H), 3.84 (s, 3H), 1.52 (m, 9H).

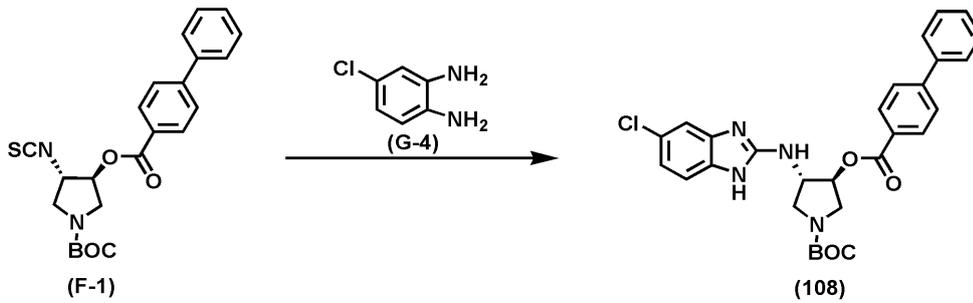
[0121] [실시예 6] (3*S*,4*S*)-*tert*-butyl 3-(biphenylcarbonyloxy)-4-(5-fluoro-1*H*-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 **107**)의 제조



[0122] 상기 실시예 1의 단계4로부터 얻은 화합물 **F-1**과 4-플루오로벤젠-1,2-디아민(화합물 **G-3**)를 상기 실시예 1의 단계5와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 **107**를 얻었다.

[0124] <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.62 (bs, 1H), 8.18-8.18 (m, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.65 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.52-7.43 (m, 3H), 7.29-7.28 (m, 1H), 7.10 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.80 (bs, 1H), 6.80-6.78 (m, 1H), 5.32 (s, 1H), 4.24 (s, 1H), 3.95-3.81 (m, 3H), 3.70-3.68 (m, 1H), 1.46 (m, 9H).

[0125] [실시예 7] (3*S*,4*S*)-*tert*-butyl 3-(biphenylcarbonyloxy)-4-(5-chloro-1*H*-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 **108**)의 제조



[0126]

[0127]

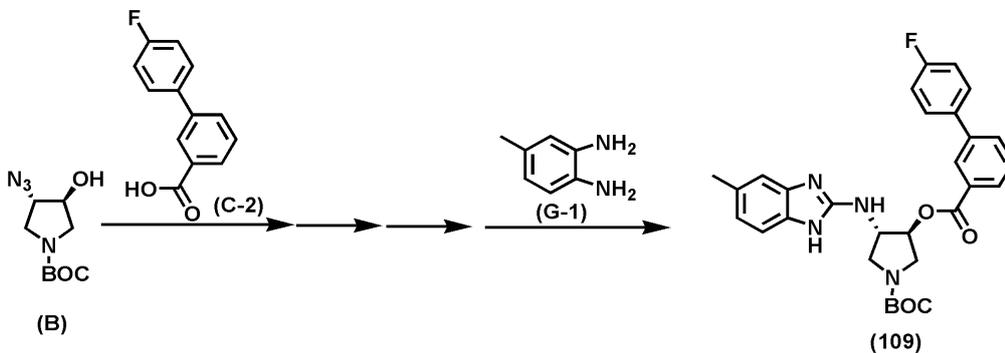
상기 실시예 1의 단계4로부터 얻은 화합물 F-1과 4-클로로-1,2-페닐렌디아민(화합물 G-4)를 상기 실시예 1의 단계5와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 108를 얻었다.

[0128]

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.56 (s, 1H), 8.18 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.66 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.54-7.38 (m, 3H), 7.31 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.14-7.01 (m, 1H), 5.33 (s, 1H), 4.21 (s, 1H), 3.98-3.56 (m, 4H), 1.52 (m, 9H).

[0129]

[실시예 8] (3S,4S)-*tert*-butyl 3-(4'-fluorobiphenylcarbonyloxy)-4-(5-methyl-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 109)의 제조



[0130]

[0131]

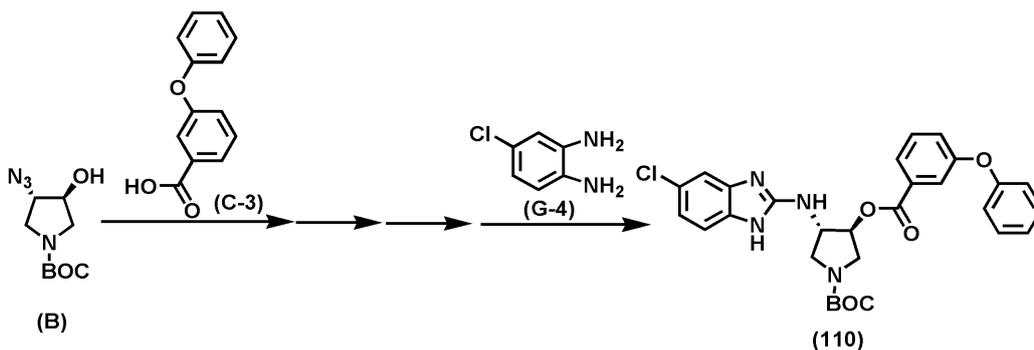
상기 실시예 1의 단계1로부터 얻은 아지도 알코올 화합물 B과 4'-플루오로바이페닐-3-벤조산(화합물 C-2)으로부터 상기 실시예 1의 단계2 내지 단계5와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 109를 얻었다.

[0132]

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.26 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 7.8, 1H), 7.64-7.52 (m, 3H), 7.29-7.23 (m, 1H), 7.23-7.13 (m, 3H), 6.70-6.80 (m, 1H), 5.33 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.94-3.63 (m, 4H), 2.43 (s, 3H), 1.49 (d, *J* = 14.1 Hz, 9H).

[0133]

[실시예 9] (3S,4S)-*tert*-butyl 3-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(3-phenoxybenzoyloxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 110)의 제조



[0134]

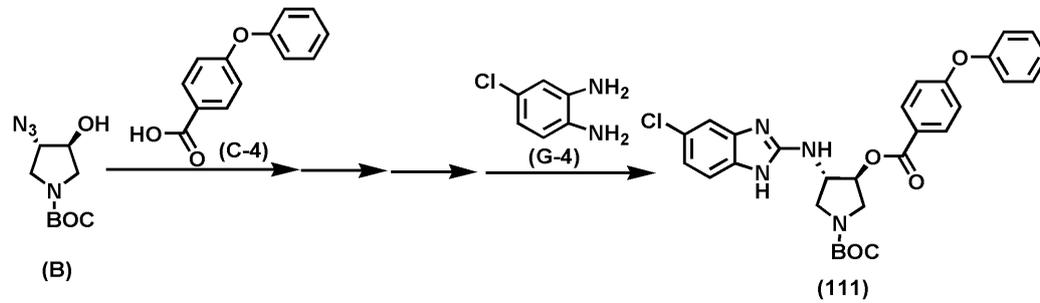
[0135]

상기 실시예 1의 단계1로부터 얻은 아지도 알코올 화합물 B과 3-페녹시벤조산(화합물 C-3)으로부터 상기 실시예

1의 단계2 내지 단계4와 동일한 방법으로 반응시키고, 4-클로로-1,2-페닐렌디아민(화합물 G-4)을 사용하여 상기 실시예 1의 단계5와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 110를 얻었다.

[0136]  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.37 (s, 1H), 7.83(d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.51-7.34 (m, 3H), 7.52-7.34 (m, 4H), 7.33-7.15 (m, 3H), 7.11-6.97 (m, 3H), 5.32-5.25 (m, 1H), 4.21-4.11 (m, 1H), 3.95-3.55 (m, 4H) 1.50 (m, 9H).

[0137] [실시예 10] (3S,4S)-*tert*-butyl 3-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(3-phenoxybenzoyloxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 111)의 제조

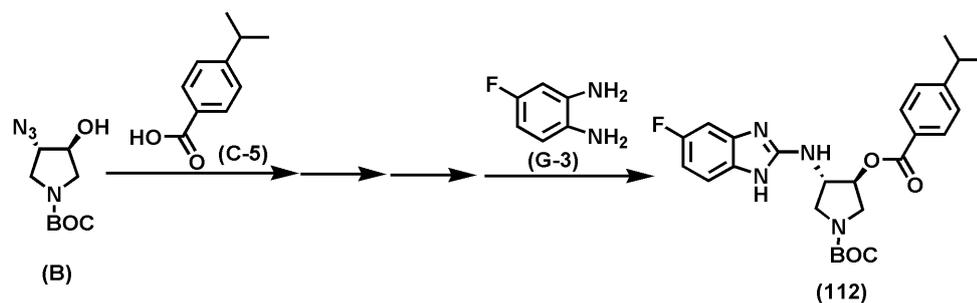


[0138]

[0139] 상기 실시예 1의 단계1로부터 얻은 아지도 알코올 화합물 B과 4-페녹시벤조산(화합물 C-4)으로부터 상기 실시예 1의 단계2 내지 단계4와 동일한 방법으로 반응시키고, 4-클로로-1,2-페닐렌디아민(화합물 G-4)을 사용하여 상기 실시예 1의 단계5와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 111를 얻었다.

[0140]  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.60 (s, 1H), 8.06 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.43 (t,  $J = 7.87$  Hz, 1H), 7.31-7.20 (m, 2H) 7.13-7.00 (m, 5H), 5.27 (s, 1H), 4.19 (s, 1H), 3.94-3.58 (m, 4H), 1.49 (m, 9H).

[0141] [실시예 11] (3S,4S)-*tert*-butyl 3-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(3-isopropoxybenzoyloxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 112)의 제조

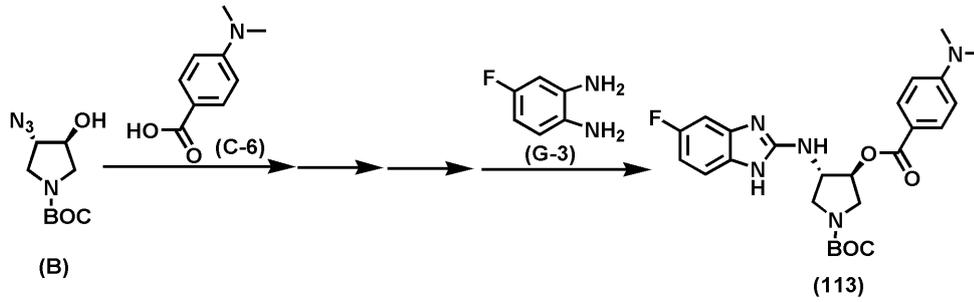


[0142]

[0143] 상기 실시예 1의 단계1로부터 얻은 아지도 알코올 화합물 B과 4-이소프로필벤조산(화합물 C-5)으로부터 상기 실시예 1의 단계2 내지 단계4와 동일한 방법으로 반응시키고, 4-플루오로-1,2-페닐렌디아민(화합물 G-3)을 사용하여 상기 실시예 1의 단계5와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 112를 얻었다.

[0144]  $^1\text{H NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.62-10.51 (m, 1H) 8.03 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 7.36 (d,  $J=8.2$  Hz, 2H), 7.28-7.23 (m, 1H), 7.08 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 6.83-6.76 (m, 1H), 5.28-5.27 (s, 1H), 4.21-4.17 (m, 1H), 3.92-3.86 (m, 3H), 3.69-3.63 (m, 1H), 3.05-2.96 (m, 1H), 1.50 (m, 9H), 1.29 (d,  $J = 6.9$  Hz, 6H).

[0145] [실시예 12] (3S,4S)-*tert*-butyl 3-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(3-phenoxybenzoyloxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 113)의 제조



[0146]

[0147]

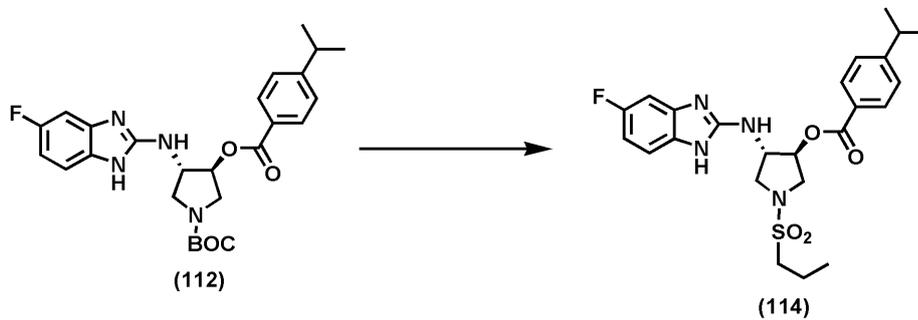
상기 실시예 1의 단계1로부터 얻은 아지도 알코올 화합물 B과 4-(디메틸아미노)벤조산(화합물 C-6)으로부터 상기 실시예 1의 단계2 내지 단계4와 동일한 방법으로 반응시키고, 4-플루오로-1,2-페닐렌디아민(화합물 G-3)을 사용하여 상기 실시예 1의 단계5와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 113를 얻었다.

[0148]

<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.86 (brs, 1H), 7.95 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.30-7.27 (m, 1H), 7.11-7.08 (m, 1H), 6.82-6.76 (brs, 1H), 6.67 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 5.22 (s, 1H), 4.17-4.11 (m, 1H), 3.89-3.57 (m, 4H), 3.09 (s, 6H), 1.50 (m, 9H).

[0149]

[실시예 13] (3S,4S)-tert-butyl 3-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(3-phenoxybenzoyloxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 114)의 제조



[0150]

[0151]

상기 실시예 11에서 얻은 화합물 112 (140 mg, 0.28 mmol)을 디클로로메탄 (2 mL)에 녹인 용액에 트리플루오로아세트산 (10 mL)를 가하고 상온에서 2시간 교반한다. 반응물을 농축하고 포화 탄산수소나트륨 수용액으로 중화 후 에틸 아세테이트 (20 mL)로 추출 후, 증류수 (20 mL)로 세척하고 황산나트륨으로 수분을 제거하고 감압 농축하여 고체 화합물을 얻었으며, 상기 고체 화합물을 분리정제 과정없이 다음 반응에 사용하였다.

[0152]

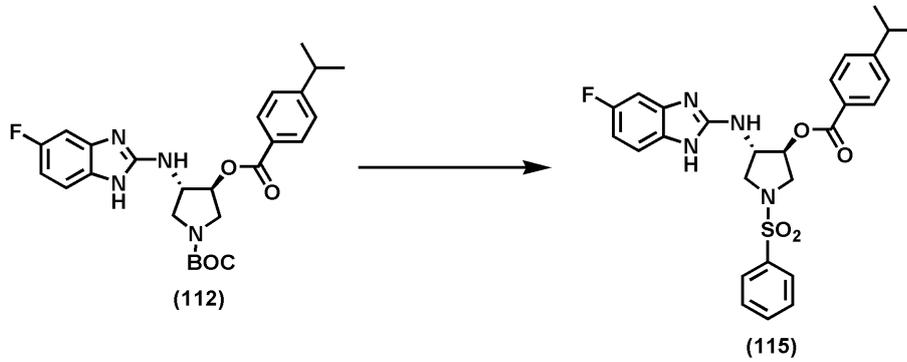
상기의 고체 화합물 (25 mg, 65 μmol)을 디클로로메탄 (5 mL)에 녹인 후 0℃에서 디이소프로필에틸아민 (12 mL)과 프로판술폰일 클로라이드 (0.1 M 디클로로메탄용액, 0.75 mL, 75 μmol)를 가하고 2시간 교반한다. 반응 용액을 감압 농축 후 실리카 겔 판 크로마토그래피 (디클로로메탄:메탄올=9:1)로 정제하여 화합물 114를 얻었다(32 mg, 63 %).

[0153]

<sup>1</sup>H NMR(300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.01 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.35 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.27-7.22 (m, 1H), 7.09-7.06 (m, 1H), 6.83-6.72 (m, 1H), 5.32-5.31 (m, 1H), 4.33 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 3.99-3.85 (m, 3H), 3.65 (m, J = 11.4 Hz, 1H), 3.06-2.95 (m, 3H), 1.91-1.83 (m, 2H), 1.28 (d, J = 6.9 Hz, 6H), 1.03 (t, J = 7.4Hz, 3H)

[0154]

[실시예 14] (3S,4S)-tert-butyl 3-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(3-phenoxybenzoyloxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 115)의 제조

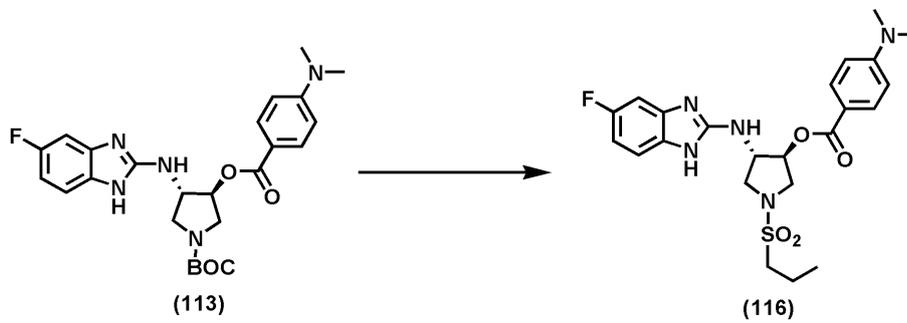


[0155]

[0156] 상기 실시예 11에서 얻은 화합물 112 (48 mg, 0.10 mmol)으로부터 프로판술포닐 클로라이드 대신 벤젠술포닐 클로라이드를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 13에서와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 115을 얻었다(43 mg, 84 %).

[0157]  $^1\text{H}$  NMR(300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.90 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.67-7.54 (m, 5H), 7.26-7.23 (m, 3H), 7.09-7.05 (m, 1H), 6.82-6.76 (m, 1H), 5.23 (d,  $J = 3.9$  Hz, 1H), 4.20 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H), 3.91-3.85 (m, 1H), 3.70-3.57 (m, 3H), 3.03-2.94 (m, 1H), 1.29-1.25 (m, 6H)

[0158] [실시예 15] (3S,4S)-*tert*-butyl 3-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(3-phenoxybenzoyloxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 116)의 제조

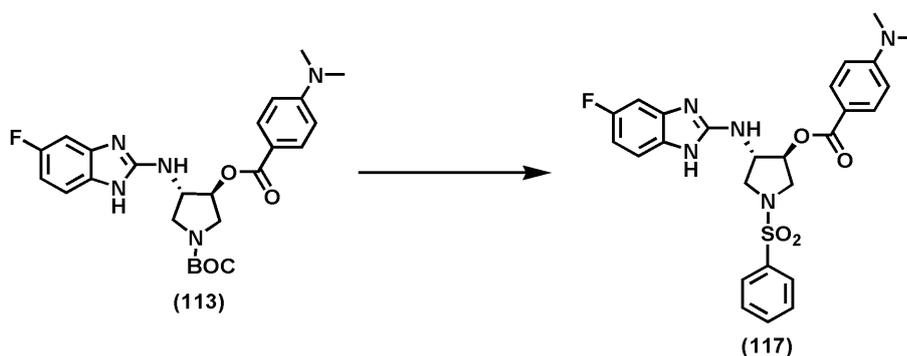


[0159]

[0160] 상기 실시예 12에서 얻은 화합물 113 (24 mg, 0.05 mmol)로부터 상기 실시예 13에서와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 116을 얻었다(8 mg, 31 %).

[0161]  $^1\text{H}$  NMR(300MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  7.81 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.34-7.29 (m, 1H), 7.14-7.10 (m, 1H), 7.00-6.96 (m, 1H), 6.74-6.68 (m, 3H), 5.39 (brs, 1H), 4.42 (brs, 1H), 3.88-3.80 (m, 2H), 3.48-3.42 (m, 2H), 3.23-3.03 (m, 2H), 3.0 (s, 6H), 1.73-1.65 (m, 2H), 0.92 (t,  $J = 7.4$ Hz, 3H)

[0162] [실시예 16] (3S,4S)-*tert*-butyl 3-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(3-phenoxybenzoyloxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 117)의 제조

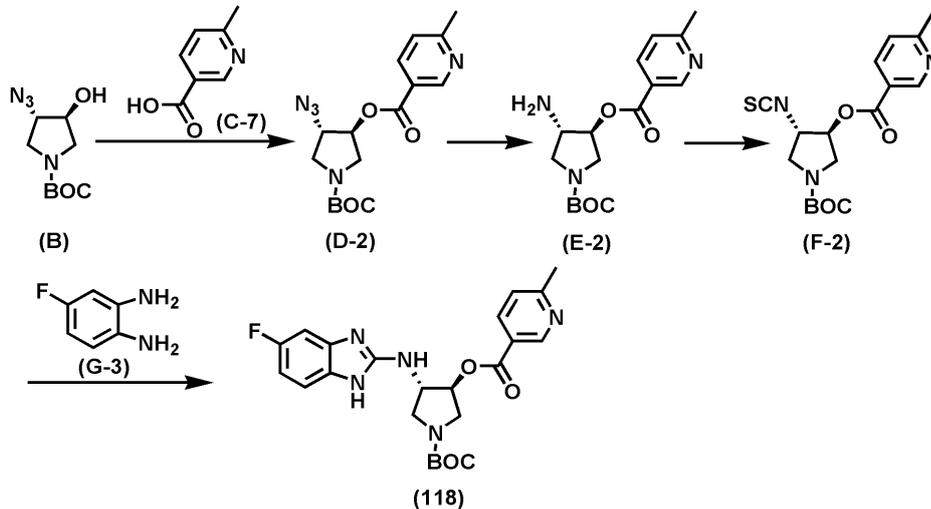


[0163]

[0164] 상기 실시예 12에서 얻은 화합물 **113** (25 mg, 51.8 mmol)로부터 상기 실시예 13에서와 동일한 방법으로 반응시켜 화합물 **117**을 얻었다(6mg, 22 %).

[0165]  $^1\text{H}$  NMR(300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.91 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 7.70-7.65 (m, 1H), 7.61-7.55 (m, 4H), 7.25-7.22 (m, 1H), 7.07 (dd,  $J$  = 2.3 Hz, 9.28Hz, 1H), 6.82-6.76 (m, 1H), 6.57 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 2H), 5.16 (d,  $J$  = 4.3 Hz, 1H), 4.13 (d,  $J$  = 5.3 Hz, 1H), 3.87-3.82 (m, 1H), 3.73-3.66 (m, 2H), 3.57-3.53 (m, 1H), 3.09 (s, 6H).

[0166] [실시예 17] (3S,4S)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-(5-fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidin-3-yl 6-methylnicotinate (화합물 **118**)의 제조



[0167]

[0168] **단계1: 화합물 D-2의 제조**

[0169] 상기 실시예 1의 단계1로부터 얻은 아지도 알코올 화합물 **B** (221 mg, 0.97 mmol)을 디메틸포름아미드 (6 mL)에 녹인 용액에, 6-메틸니코틴 산(화합물 **C-7**) (159 mg, 1.16 mmol), 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이미드 (EDC; 223 mg, 1.16 mmol), 4-*N,N*-디메틸아미노피리딘 (DMAP; 118 mg, 0.97 mmol)을 가하고 상온에서 24시간 교반시킨다. 반응물에 포화 탄산수소나트륨 수용액 (20 mL)를 가한 후 에틸 아세테이트 (2 x 20 mL)로 추출한다. 유기층을 0.5N 염산 수용액 (20 mL), 증류수 (20 mL)로 세척 후 황산나트륨으로 수분을 제거하고 감압 농축한다. 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=5:1)로 정제하여 화합물 **D-2**를 (330 mg, 98 %) 얻었다.

[0170]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.48(9, 9H), 2.64(s, 3H), 3.55-3.86(m, 4H), 4.22(m, 1H), 5.34(m, 1H), 7.24-7.27(m, 1H), 8.14(dd,  $J$  = 8.1, 2.1 Hz, 1H), 9.07(s, 1H).

[0171] **단계2: 화합물 E-2의 제조**

[0172] 화합물 **D-2** (320 mg, 0.92 mmol)을 에탄올 (10 mL)에 녹이고 Pd-C (10%, 30 mg)을 가한 후 수소풍선 하에서 12시간 교반한다. 셀라이트 패드로 여과하고, 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=2:1)로 정제하여 화합물 **E-2** (193 mg, 65 %)를 얻었다.

[0173]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.17(br s, 2H), 1.48(9, 9H), 2.64(s, 3H), 3.29-3.34 (m, 1H), 3.48-3.50(m, 1H), 3.65-3.73(m, 2H), 3.91(dd,  $J$  = 12.6, 5.1 Hz, 1H), 7.23-7.27(m, 1H), 8.14(dd,  $J$  = 8.1, 2.1 Hz, 1H), 9.07(s, 1H).

[0174] **단계3: 화합물 F-2의 제조**

[0175] 화합물 **E-2** (190 mg, 0.59 mmol)을 디클로로메탄(10 mL)에 녹인후 디(2-피리딜)싸이오카보네이트 (di(2-pyridyl)thiocarbonate, DPT; 136 mg, 0.71 mmol)을 넣고 상온에서 5시간 교반한다. 반응 혼합물을 농축하고 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=6:1)로 정제하여 화합물 **F-2** (167 mg, 78 %)를 얻었다.

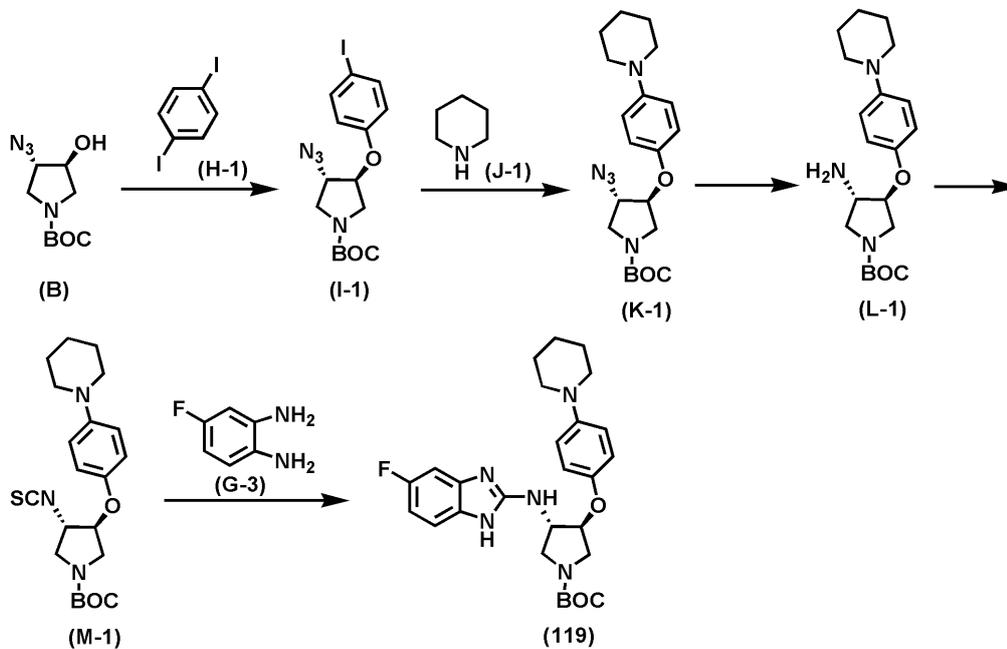
[0176]  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.48(9, 9H), 2.64(s, 3H), 3.29-3.34 (m, 1H), 3.48-3.50(m, 1H), 3.65-3.73(m, 2H), 4.30(s, 1H) 5.48(m, 1H), 7.25-7.27(m, 1H), 8.12(d  $J$  = 8.1Hz, 1H), 9.05(s, 1H).

[0177] **단계4: 화합물 118의 제조**

[0178] 화합물 **F-2** (120 mg, 0.33 mmol)을 테트라하이드로퓨란 (2 mL)에 녹인 용액에 4-플루오로-1,2-페닐렌디아민(화합물 **G-3**) (50 mg, 0.39 mmol)과, 산화수은 (HgO; 153 mg, 0.36 mmol)을 넣고 60 °C에서 12시간 교반한다. 반응 혼합물을 셀라이트 패드로 여과하고, 증류수 (10 mL)를 가한후 EtOAc (10 mL)로 추출한다. 황산나트륨으로 수분을 제거하고 감압 농축한다. 잔류물을 실리카 겔 판 크로마토그래피(헥산:에틸 아세테이트=1:1)로 정제하여 화합물 **118** (107 mg, 71 %)를 얻었다.

[0179]  $^1\text{H NMR}$ (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.3(brs, 1H), 9.17(s, 1H), 8.23(d,  $J$  = 7.9Hz, 2H), 7.31(d,  $J$  = 8.2Hz, 1H), 7.26(t, 1H), 7.08(d,  $J$  =9.5 Hz, 1H) 6.80(brs, 1H), 5.33(s, 1H), 4.24(s, 1H), 3.92-3.63(m, 4H), 2.68(s, 3H), 1.49(s, 9H)

[0180] [실시예 18] (3S,4S)-*tert*-butyl 3-(5-fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(4-(piperidin-1-yl)phenoxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 119)의 제조



[0181]

[0182] **단계1: 화합물 I-1의 제조**

[0183] 상기 실시예 1의 단계1로부터 얻은 아지도 알코올 화합물 **B** (1.0 g, 4.38 mmol)을 톨루엔( 6 mL) 용액에 세슘 카보네이트 (1.7 g, 5.25 mmol), 1,10-페난트롤린 (240 mg, 1.31mmol), 1,4-디요오도벤젠(화합물 **H-1**) (1.7 g, 5.25 mmol)을 가하고 아르곤으로 잔여기체를 제거 후 구리 요오드화물 (CuI; 167 mg, 0.88 mmol)를 첨가하고 하루 동안 110 °C로 가열한다. 반응물을 셀라이트 패드로 여과하고 에틸 아세테이트 (20 mL)로 씻어준다. 유기층을 증류수 (2 x 20mL)로 세척하고, 황산나트륨으로 수분을 제거하고 감압 농축한다. 잔류물을 실리카 겔 판 크로마토그래피(헥산:에틸 아세테이트=7:1)로 정제하여 화합물 **I-1**를 얻었다(1.2 g, 64 %).

[0184]  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.47 (s, 9H), 3.48-3.78 (m, 2H), 4.13-4.15 (m, 1H), 4.62 (m, 1H), 6.66 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.58 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H).

[0185] **단계2: 화합물 K-1의 제조**

[0186] 화합물 **I-1** (500 mg, 1.16 mmol)을 DMSO (1.5 mL)에 녹인 후 피페리딘 (화합물 **J-1**, 175 mL, 1.74 mmol), L-프롤린 (272 mg, 0.23 mmol), 탄산칼륨 (320 mg, 2.23 mmol)를 넣고 잔여기체를 제거 후 구리 요오드화물 (CuI; 22.2mg, 0.12 mmol)를 가하고 80°C에서 24시간 교반한다. 반응물을 셀라이트 패드로 여과하고 에틸 아세테이트

(20 mL)로 씻어준다. 유기층을 증류수 (3 x 20 mL)로 세척하고, 황산 나트륨으로 수분을 제거하고 감압 농축한다. 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피(헥산:에틸 아세테이트=5:1)로 분리하여 화합물 **K-1** (220 mg, 49%)를 얻었다.

[0187] <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.47 (s, 9H), 1.46-1.57 (m 2H), 1.59-2.04 (m, 4H), 3.03-3.06 (m, 4H), 3.51-3.74 (m, 4H), 4.11-4.15 (m, 1H), 4.59(m, 1H), 6.78-6.81 (m, 2H), 6.82-6.91(m, 2H).

[0188] **단계3: 화합물 L-1의 제조**

[0189] 화합물 **K-1** (220 mg)를 메탄올 (20 mL)에 녹인 용액에 팔라듐 (Pd-C; 10 %, 50 mg)를 가하고 수소풍선하에서 24시간 교반한다. 반응물을 셀라이트 패드로 여과하고 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피(에틸 아세테이트:메탄올=9:1)로 분리하여 화합물 **L-1** (170 mg, 82%)를 얻었다.

[0190] <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.25 (br s, 2H), 1.467 (s, 9H), 1.38-1.58(m, 2H), 1.67-1.75 (m, 4H), 3.01-3.03 (m, 4H), 3.18-3.23 (m, 1H), 3.47 (m, 1H), 3.06-3.78 (m, 3H), 4.37 (m, 1H), 6.77-6.80 (m, 2H), 6.88-6.91 (m, 2H).

[0191] **단계4: 화합물 M-1의 제조**

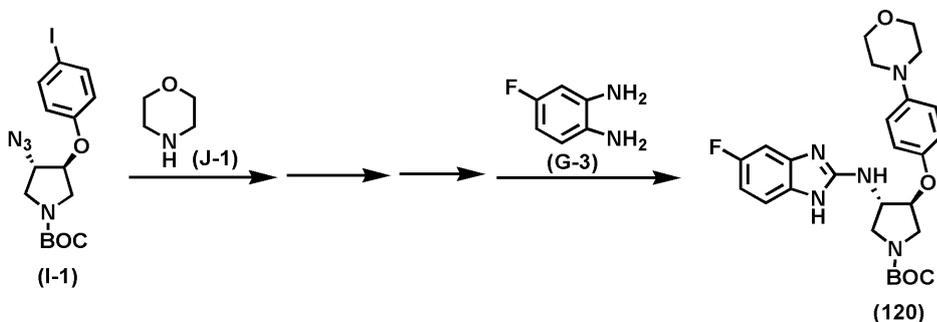
[0192] 화합물 **L-1** (170 mg, 0.47 mmol)를 디클로로메탄 (10 mL)에 녹인 용액에 디(2-피리딜)싸이오카보네이트 (di(2-pyridyl)thiocarbonate, DPT; 133 mg, 0.56 mmol)를 가하고 1시간 교반한다. 반응물을 농축하고 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피(EtOAc:Hexane==1:5)로 정제하여 화합물 **M-1** (20mg, 52%)을 얻었다.

[0193] **단계5: 화합물 119의 제조**

[0194] 이소티오시아네이트 화합물 **M-1** (31mg, 0.076mmol)을 THF (10 mL)에 녹인 용액에 4-플루오로-1,2-페닐렌디아민 (화합물 **G-3**, 12 mg, 0.091 mmol)과 산화 수은 (31 mg, 0.152 mmol)을 넣고 60°C에서 12시간 교반한다. 반응혼합물을 셀라이트 패드로 여과하고, 증류수 (10 mL)를 가한 후 EtOAc (10 mL)로 추출하고 황산나트륨으로 수분을 제거 후 감압 농축한다. 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=1:1)로 정제하여 화합물 **119** (20 mg, 52%)를 얻었다.

[0195] <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.13-6.85 (m, 5H), 6.76 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H), 5.70 (brs, 1H), 4.98-4.78 (m, 1H), 4.58-4.41 (m, 1H), 3.85 (dd, *J* = 11.7, 5.2 Hz, 1H), 3.69-3.41 (m, 4H), 3.04 (d, *J* = 4.3 Hz, 4H), 1.77-1.66 (m, 4H), 1.60-1.30 (m, 11H).

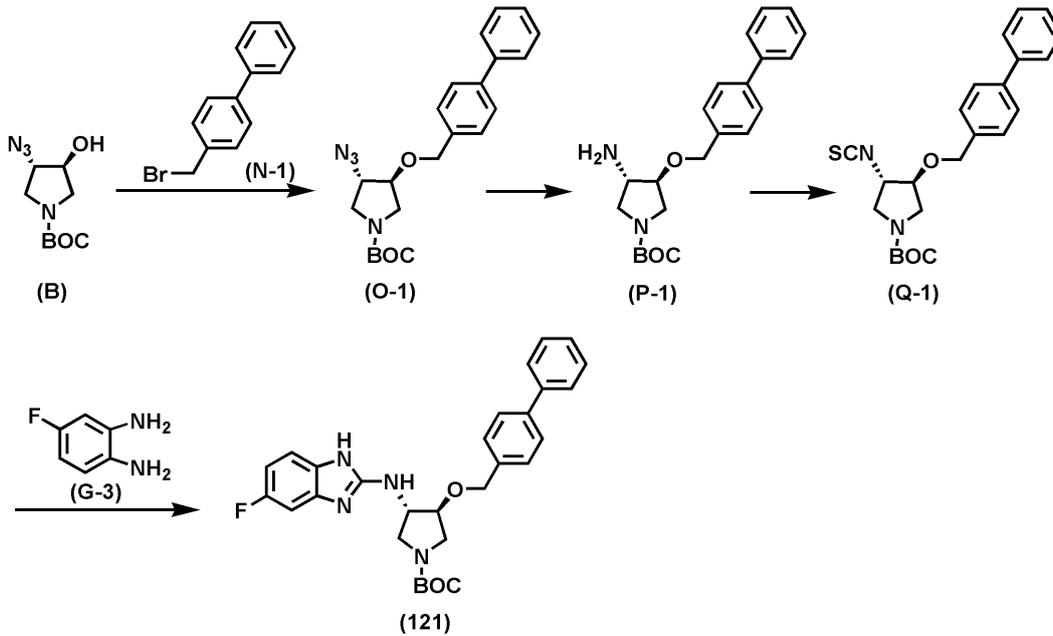
[0196] [실시예 19] (3S,4S)-tert-butyl 3-(5-fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(4-morpholinophenoxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 120)의 제조



[0197] [0198] 상기 실시예 18의 단계1에서 얻은 화합물 **112** (48 mg, 0.10 mmol)으로부터 피페리딘 (화합물 **J-1**) 대신 모폴린 (화합물 **J-2**)를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 18에서와 동일한 방법으로 화합물 **120**를 얻었다.

[0199] <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.21-6.69 (m, 7H), 5.74 (brs, 1H), 5.03-4.77 (m, 1H), 4.60-4.41 (m, 1H), 3.92-3.70 (m, 5H), 3.70-3.42 (m, 3H), 3.13-3.01 (m, 4H), 1.51 (s, 9H).

[0200] [실시예 20] (3S,4S)-*tert*-butyl 3-(biphenyl-4-ylmethoxy)-4-(5-fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 121)의 제조



[0201]

[0202] **단계1: 화합물 0-1의 제조**

[0203] 상기 실시예 1의 단계1로부터 얻은 아지도 알코올 화합물 B (500 mg, 2.19 mmol)을 N,N-디메틸포름아미드 (10 mL)에 녹인 용액에 수소화나트륨 (92 mg, 2.30 mmol)을 0℃에서 가하고 10분 동안 교반한다. 4-브로모메틸바이페닐(화합물 N-1, 541 mg, 2.19 mmol)를 무수 N,N-디메틸포름아미드 (2 mL)에 녹여, 위의 반응물에 적가 한 뒤 실온에서 5시간 교반한다. 반응물에 얼음물 (20 mL)을 가한 후 에틸 아세테이트 (2 x 20 mL)로 추출하고 황산 마그네슘으로 수분을 제거한다. 감압 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트:디클로로메탄=10:1:2)로 분리하여 화합물 O-1를 얻었다(357 mg, 41 %).

[0204] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.46 (s, 9H), 3.36-3.68 (m, 4H), 3.99-4.05 (m, 2H), 4.60 (m, 2H), 7.32-7.46 (m, 5H), 7.59 (m, 4H).

[0205] **단계2: 화합물 P-1의 제조**

[0206] 화합물 O-1 (357 mg, 0.90 mmol)를 무수 테트라하이드로퓨란 (15 mL)에 녹인 후, 트리페닐포스핀 (285 mg, 1.08 mmol)를 넣고 실온에서 4시간 교반한다. 반응물에 증류수 (5 mL)를 가하고 실온에서 24시간 교반 후 에틸 아세테이트 (2 x 15 mL)로 추출하고 황산마그네슘으로 수분을 제거한다. 감압 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (에틸 아세테이트)로 분리하여 화합물 P-1를 얻었다(311 mg, 93 %).

[0207] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.46 (s, 9H), 3.14 (m, 1H), 3.36-3.50 (m, 2H), 3.60-3.75 (m, 3H), 4.52-4.65 (m, 2H), 7.32-7.48 (m, 5H), 7.58 (m, 4H).

[0208] **단계3: 화합물 Q-1의 제조**

[0209] 상기 실시예1의 단계4와 동일한 방법으로 화합물 P-1 (100mg, 0.27mmol)로부터 화합물 Q-1를 얻었다(111 mg, 100 %).

[0210] <sup>1</sup>H NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.47 (s, 9H), 3.47-3.68 (m, 4H), 4.14 (br s, 2H), 4.63 (m, 2H), 7.33-7.47 (m, 5H), 7.57-7.60 (m, 4H).

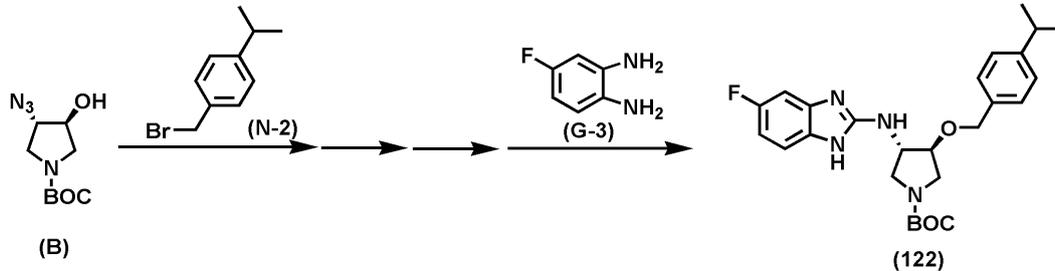
[0211] **단계4: 화합물 121의 제조**

[0212] 화합물 Q-1 (111 mg, 0.27 mmol)를 무수 N,N-디메틸포름아미드 (5 mL)에 녹인 후, 4-플루오로-1,2-페닐렌디아민(화합물 G-3, 39 mg, 0.29 mmol)을 넣고 70℃에서 2시간 교반 후, 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카보디이

미드 (57 mg, 0.29 mmol)를 가하고 70°C에서 15시간 더 교반한다. 반응물을 에틸 아세테이트 (50 mL)로 묶힌 후 포화 탄산수소나트륨 용액 (50 mL), 1N 염산 수용액 (50 mL), 소금물 (20 mL)로 세척 후 황산마그네슘으로 수분을 제거한다. 감압 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트:디클로로메탄=1:6:2)을 통하여 화합물 **121**를 얻었다(97 mg, 71 %).

[0213]  $^1\text{H NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.48 (s, 9H), 3.42 (m, 2H), 3.65-3.91 (m, 2H), 4.13-4.35 (m, 2H), 4.71 (m, 2H), 6.74 (m, 1H), 7.01 (m, 2H), 7.33-7.47 (m, 5H), 7.58 (m, 4H).

[0214] [실시예 21] *tert*-butyl 3-(5-fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(4-isopropylbenzyloxy)pyrrolidine-1-carboxylate (화합물 **122**)의 제조

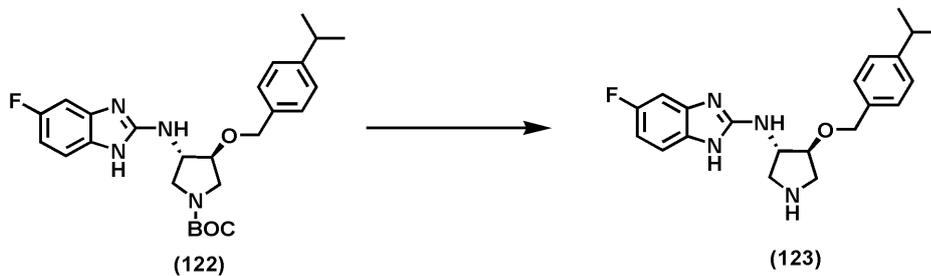


[0215]

[0216] 상기 실시예 1의 단계1로부터 얻은 아지도 알코올 화합물 **B**으로부터 4-이소프로필벤질 브로마이드(화합물 **N-2**)를 사용하여 상기 실시예 20와 동일한 방법으로 화합물 **122**를 제조하였다.

[0217]  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.26 (d,  $J = 7.1$  Hz, 6H), 1.48 (s, 9H), 2.86-3.00 (m, 1H), 3.30-3.46 (m, 1H), 3.63-3.87 (m, 2H), 4.07-4.31 (m, 3 H), 4.51-4.71 (m, 2H), 6.60-6.86 (brs, 2H), 7.20-7.38 (m, 5H).

[0218] [실시예 22] 5-fluoro-N-(4-(4-isopropylbenzyloxy)pyrrolidin-3-yl)-1H-benzo[d]imidazol-2-amine (화합물 **123**)의 제조

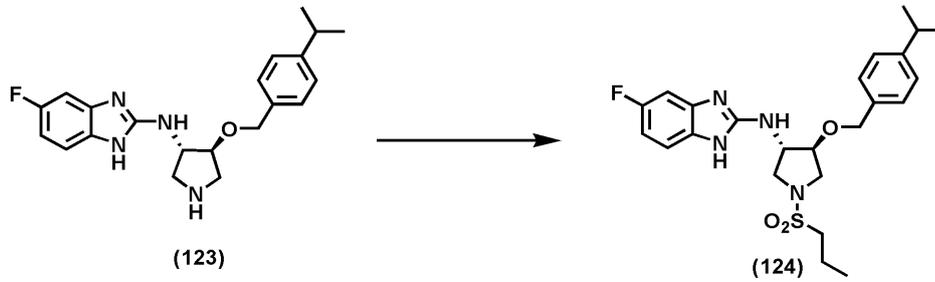


[0219]

[0220] 상기 실시예 21에서 얻은 화합물 **122** (270 mg, 0.58 mmol)을 0°C에서 트리플루오로아세트산:디클로로메탄:물 (70:30:2.5혼합용액, 10 mL)에 녹인 후 상온에서 2시간 교반한다. 반응물을 포화 탄산수소나트륨 수용액으로 중화 후 에틸 아세테이트 (50 mL)로 추출하고 황산마그네슘으로 수분을 제거한다. 감압 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (디클로로메탄:메탄올=10:1)로 정제하여 화합물 **123**를 얻었다(200 mg, 94 %).

[0221]  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.12 (d,  $J = 7.1$  Hz, 6H), 2.84-2.96 (m, 1H), 3.10(dd,  $J = 11.3, 4.4$  Hz, 1H), 3.21-3.29 (m, 1H), 3.49 (s, 1H), 3.50-3.62 (m, 2H), 4.19-4.29 (m, 2H), 4.60 (s, 2H), 6.78-6.89 (m, 1H), 6.93 (dd,  $J = 8.4, 2.1$  Hz, 1H), 7.05-7.13 (m, 1H), 7.18-7.31 (m, 4H).

[0222] [실시예 23] 5-fluoro-N-((3S,4S)-4-(4-isopropylbenzyloxy)-1-(propylsulfonyl)pyrrolidin-3-yl)-1H-benzo[d]imidazol-2-amine (화합물 **124**)의 제조



[0223]

[0224]

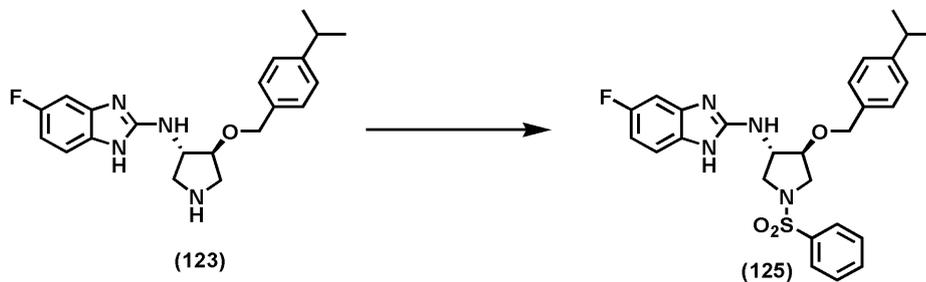
상기 실시예 22에서 얻은 화합물 **123** (20.0 mg, 0.05 mmol)과 디이소프로필에틸아민 (9.50 mL, 50 mmol)을 디클로로메탄 (10 mL)에 녹인 용액에 0℃에서 프로판술폰닐 클로라이드 (0.1M 디클로로메탄 용액; 6.00 mL, 60 mmol)을 가한 후, 상온에서 2시간 교반한다. 반응물을 감압 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트=5:1)로 정제하여 화합물 **124**를 얻었다(20 mg, 84 %).

[0225]

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.01 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.23 (d,  $J = 7.0$  Hz, 6H), 1.76-1.90 (m, 2H), 2.84-3.02 (m, 3H), 3.36 (dd,  $J = 2.1, 11.5$  Hz, 1H), 3.55 (dd,  $J = 2.16, 10.1$  Hz, 1H), 3.66-3.82 (m, 3H), 4.19-4.25 (m, 1H), 4.44-4.52 (m, 1H), 4.53-4.69 (m, 2H), 6.69-6.79 (m, 1H), 6.94 (dd,  $J = 2.1, 8.6$  Hz, 1H), 7.01-7.10 (m, 1H), 7.16-7.29 (m, 4H).

[0226]

[실시예 24] 5-fluoro-N-((3S,4S)-4-(4-isopropylbenzyloxy)-1-(phenylsulfonyl)pyrrolidin-3-yl)-1H-benzo[d]imidazol-2-amine (화합물 **125**)의 제조



[0227]

[0228]

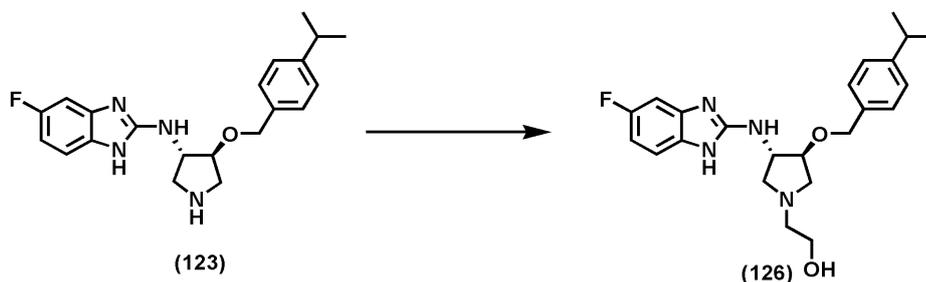
상기 실시예 22에서 얻은 화합물 **123** (20.0 mg, 0.05 mmol)로부터 프로판술폰닐 클로라이드 대신 페닐프로판술폰닐 클로라이드를 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 23와 동일한 방법으로 화합물 **125**를 얻었다(20 mg, 79 %).

[0229]

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.23 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 2.83-2.95 (m, 1H), 3.11-3.21 (m, 1H), 3.42-3.54 (m, 2H), 3.65-3.75 (m, 1H), 4.05-4.12 (m, 1H), 4.27-4.36 (m, 1H), 4.37-4.48 (m, 2H), 6.73 (t,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 6.86-6.97 (m, 1H), 6.97-7.07 (m, 3H), 7.14 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.26 (s, 2H), 7.51 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.60 (t,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 7.80 (d,  $J = 7.4$  Hz, 2H).

[0230]

[실시예 25] 2-((3S,4S)-3-(5-fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(4-isopropyl benzyloxy)pyrrolidin-1-yl)ethanol (화합물 **126**)의 제조

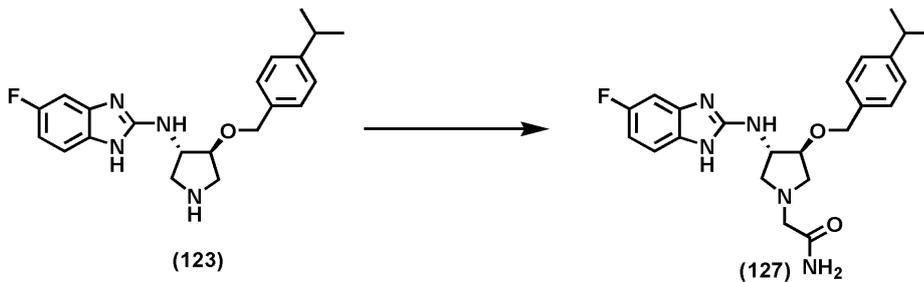


[0231]

[0232] 상기 실시예 22에서 얻은 화합물 **123** (20.0 mg, 0.05 mmol)을 N,N-디메틸포름아미드 (2 mL)에 녹인 후, 탄산나트륨 (9 mg, 0.10 mmol)과 2-요오드에탄올(4 mL, 0.05 mmol)을 넣고 50℃에서 16시간 교반한다. 반응물에 증류수 (5 mL)를 가하고 에틸 아세테이트 (10 mL)로 추출 후 황산나트륨으로 수분을 제거한다. 감압농축 후 반응물을 감압 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (디클로로메탄:메탄올=10:1)로 정제하여 화합물 **126** (14 mg, 63 %)를 얻었다.

[0233] <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.23 (d, J = 7.0 Hz, 6H), 2.50-2.60 (m, 1H), 2.66-2.99 (m, 5H), 3.76 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.97-4.06 (m, 1H), 4.09-4.19 (m, 1H), 4.44-4.59 (m, 2H), 6.66-6.77 (m, 1H), 6.92 (dd, J = 2.2, 9.3 Hz, 1H), 6.97-7.05 (m, 1H), 7.17-7.29 (m, 4H).

[0234] [실시예 26] 2-((3S,4S)-3-(5-fluoro-1H-benzo[d]imidazol-2-ylamino)-4-(4-isopropyl benzyloxy)pyrrolidin-1-yl)acetamide (화합물 **127**)의 제조



[0235] 상기 실시예 22에서 얻은 화합물 **123** (20.0 mg, 0.05 mmol)을 N,N-디메틸포름아미드 (2 mL)에 녹인 후, 탄산칼륨 (9 mg, 60 mmol)과 2-클로로아세트아마이드 (5 mg, 50 mmol)을 가하고 상온에서 16시간 교반한다. 반응물에 증류수 (5 mL)를 가하고 에틸 아세테이트 (10 mL)로 추출 후 황산나트륨으로 수분을 제거한다. 감압농축 후 반응물을 감압 농축 후 잔류물을 실리카 겔 관 크로마토그래피 (디클로로메탄:메탄올=10:1)로 정제하여 화합물 **127**를 얻었다(12 mg, 52 %).

[0237] <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.25 (d, J = 6.7 hz, 6H), 2.77-2.98 (m, 3H), 3.08-3.33 (m, 4H), 4.00-4.05 (m, 2H), 4.45 (d, J = 10.8 hz, 1H), 4.60 (d, J = 10.8 hz, 1H), 5.94-6.07 (brs, 1H), 6.60-6.68 (brs, 1H), 6.68-6.78 (m, 1H), 6.85-7.03 (m, 2H), 7.21-7.31 (m, 3H).

[0238] 한편, 본 발명에 따른 상기 화학식 I로 표시되는 피페리딘 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다.

[0239] [시험예 1] BACE 억제 효능시험

[0240] 본 발명의 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체에 의한 베타-세크리테아제 활성 억제 효과를 알아보기 위해, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0241] BACE1 기질(substrate) 용액 (Rh-EVNLDAEFK-Quencher, 750 nM in assay buffer)에 원하는 농도의 시험 약물 10 μl를 가하고 가볍게 혼합한 다음, 정제된 바쿨로바이러스에서 발현된(baculovirus-expressed) BACE1 효소 (1.0 unit/mL in assay buffer) 용액 10 μl를 첨가하여 반응을 유도한 후 실온에서 60분간 배양(incubation) 하였다. 배양완료 후 즉시 반응액에 10 μl의 종결 용액(stop solution)을 가하여 반응을 정지시킨 후 FlexStation을 이용하여 545 nm (excitation) 및 585 nm (emission)에서 그 형광을 측정하여 효소 활성도를 측정하였다. 위의 실험의 총 부피는 40 μl이며 384-블랙 마이크로웰 플레이트(384-black microwell plate) 상에서 실시하였다. 시험에 사용된 효소, 기질, 종결 용액(stop solution), 어세이 버퍼(assay buffer) 등의 자세한 조성은 하기 표 1과 같다.

표 1

[0242]

항목(Description)	조성(Composition)
BACE1 효소 (BACE1 enzyme)	1 U/mL in 50 mM 트리스(Tris) (ph 7.5), 10% 글리세롤(glycerol)
BACE1 기질 (BACE1 substrate)	Rh-EVNLDAEFK-퀸처(Rh-EVNLDAEFK-Quencher) (750 nM)
BACE1 종결 용액 (BACE1 stop solution)	2.5 M 소듐아세테이트(sodium acetate)
BACE1 어세이 버퍼 (BACE1 assay buffer)	50 mM 소듐아세테이트(sodium acetate) (pH 4.5)

[0243]

상기 시험결과는 하기 표 2에 나타내었으며, 본 발명에 따른 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체는 BACE 활성을 저해하는 효능이 뛰어난 것으로 판단된다.

표 2

[0244]

화합물 번호	BACE Inhibition Assay (IC <sub>50</sub> = μM)	화합물 번호	BACE Inhibition Assay (IC <sub>50</sub> = μM)
화합물 101	0.21	화합물 114	0.67
화합물 106	0.45	화합물 115	0.72
화합물 107	0.05	화합물 116	3.15
화합물 108	0.44	화합물 119	0.70
화합물 109	0.19	화합물 120	3.15
화합물 110	0.36	화합물 121	0.12
화합물 112	0.07	화합물 122	0.73
화합물 113	1.35	화합물 123	>5.0
화합물 118	4.44	화합물 124	0.64
화합물 102	0.66	화합물 125	0.48
화합물 103	0.72	화합물 126	>5.0
화합물 104	0.39	화합물 127	>5.0
화합물 105	0.57		

[0245]

[시험예 2] PC12 PC12tet-off pTRE2puro-APPsw stable 이용한 BACE 억제 효능시험

[0246]

본 발명의 4-(벤즈이미다졸-2-일아미노)피롤리딘 유도체에 의한 베타-세크리테아제 활성 억제 효과를 알아보기 위해, 세포를 기준으로 한 하기와 같은 실험을 Invitrogen 회사의 엘라이지 어세이 키트 (ELISA assay kit, KHB3482)를 이용하여 수행하였다.

[0247]

PC12tet-off pTRE2puro-APPsw stable cell line을 RPMI 1640 (10% FBS, 5% HS, 1% Penicillin/Streptomycin)에서 전체 부피당 100μg/ml의 G418 (Clontech), 1μg/ml의 Doxycyclin (Clontech), 3μg/ml Puromycin (Clontech)이 되게 넣어주고 5% CO<sub>2</sub>, 37°C로 배양하였다. 배양된 세포를 0.05% PEI-coated 6-웰 플레이트에 4×10<sup>4</sup> 세포/웰로 나누고 24시간 후에 condition media (5% HS, 1% FBS, 0.5% P/S) 2ml로 교환하여 24시간 배양하였다. 상기 표 2의 화합물을 1 μM 농도로 처리하고 24시간동안 반응시킨 뒤 상층액 50μl를 마이크로웰 플레이트에 옮기고 50μl의 베타아밀로이드 항체 (anti-hu-Aβ40)를 가하고 3시간 배양 후 세척한 후 항체를 다시 가하고 30분간 배양하였다. 항체와 반응시킨 플레이트에 크로모젠(chromogen)과 종결 용액(stop solution)을 가하여 반응을 정지시킨 후 FlexStation을 이용하여 450 nm에서 흡광도(absorbance)를 측정하여 베타 아밀로이드의 양을 측정하였다.

[0248]

그 결과, 본 발명의 화합물 106, 112 및 102의 화합물이 1mM이하의 농도에서 50%이상의 BACE 활성을 저해하는 효능이 있는 것으로 나타났다.