

イミダゾキノリノン誘導体の高効率合成法に基づく 新規DPP-4阻害糖尿病治療薬の創製

| | |
|--------|---|
| 著者 | 井熊 洋平 |
| 発行年 | 2015-09-18 |
| 学位授与機関 | 関西大学 |
| 学位授与番号 | 34416乙第486号 |
| URL | http://doi.org/10.32286/00000150 |

学位授与年月 平成 27 年 9 月

関西大学審査学位論文

イミダゾキノリノン誘導体の高効率合成法に
基づく新規 DPP-4 阻害糖尿病治療薬の創製

井熊 洋平

イミダゾキノリノン誘導体の高効率合成法に基づく新規 DPP-4 阻害糖尿病治療薬の創製

概要

2 型糖尿病は世界的に有病者が増え続け、2035 年には 5 億 9200 万人に達すると予想されている。現在使用されている抗糖尿病薬の多くは、インスリン分泌を促進し、グルコースの吸収を抑えることにより薬効を示すが、低血糖、体重増加あるいは膵β細胞疲弊のリスクを有する。食事による刺激により glucagon-like peptide 1 (GLP-1) が小腸から分泌されると、すい臓のβ細胞からのインスリン分泌を促進する。GLP-1 のこの作用は、血糖値が上昇しているときにのみ発揮され、血糖値が正常値にコントロールされているときには働かないため血糖依存的な作用である。しかし、血中の GLP-1 はセリンプロテアーゼである dipeptidyl peptidase IV (DPP-4) により速やかに分解される。従って、DPP-4 を阻害することにより GLP-1 濃度が上昇し血糖降下作用が得られると考えられている。また、血糖依存的にインスリン分泌を促進するため低血糖の可能性は少なく、血糖コントロール改善に際して体重が増加しにくいことから副作用の少ない魅力的な治療法として期待されている。

High throughput screening により得られた化合物から合成展開を開始し、リード化合物としてイミダゾキノリノン誘導体 **3** を見出した。**3** から構造最適化を行うにあたり、既存の合成法では置換基導入を合成初期に行わなければならない、また、**2** 位にアミノ基を有する合成法は報告されていない。したがって、イミダゾキノリノン誘導体の効率的な新規合成法の開発に着手した。その結果、パラジウム触媒と炭酸銀を用い、150 °C で反応を行うことにより高い化学収率でイミダゾキノリノン骨格が構築できることを見出した。

リード化合物 **3** に対してドッキングシュミレーション、及び開発した新規イミダゾキノリノン骨格構築法を駆使し構造最適化を行った結果、DPP-4 阻害活性が飛躍的に向上した化合物群を見出した。これら化合物は DPP-4 類縁酵素に阻害活性を示さず、in vitro 評価において高い安全性を示した。しかしながら、膜透過性が低く経口吸収性が乏しいことが大きな課題であった。これら化合物を血中に暴露することができれば有力な開発候補化合物になりえると考え、この課題を解決するためにカルボキシ基のプロドラッグ化を計画した。その探索では、腸管吸収後、血中での速やかな活性代謝体生成を念頭に in vitro 代謝特性に焦点をあて最適化を実施した。その結果、(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl) methyl (Dox) 基を有する化合物 **151g** を見出した。化合物 **151g** は良好な経口吸収性、強力な in vivo DPP-4 阻害活性、そして、経口ブドウ糖負荷試験 (OGTT) において有意な血中グルコース濃度の低下を示したことから有望な DPP-4 阻害薬として期待される。

各章の要旨

・第1章は、イミダゾキノリノン骨格の新規合成法の開発について述べた。2位にアミノ基を有するイミダゾキノリノン骨格の合成法は報告されておらず、リード化合物 **3**、及び6~9位に置換基を有する化合物の合成は困難であった。そのため、効率的な新規合成法開発の検討を行った。その結果、パラジウム触媒を用いた分子内ビアリールカップリング反応を見出した。本反応における重要な要素は塩基として炭酸銀を用いたこと、高い反応温度であり、それらを適用すると高収率で分子内カップリング反応が進行することを明らかにした。6~9位に置換基を有する化合物の合成に関しては、容易に入手可能なアニリン誘導体を合成後期に導入しカップリング反応を行うことにより達成された。様々な置換基の存在下、カップリング反応は良好な収率で進行し、その基質適用範囲が広いことを示した。

・第2章は、リード化合物 **3** の最適化について述べた。化合物 **3** に対して、ドッキングシミュレーションを駆使し最適化を行った結果、7位、もしくは8位へ親水性置換基を導入することにより DPP-4 阻害活性が向上することを見出した。特に、カルボキシ基を導入することにより阻害活性が飛躍的に向上した化合物 **79**, **140**, **91**, **144** を見出した。7位近傍には Lys554 側鎖が存在することから酸性官能基が強力な阻害活性を与えることを、また、8位近傍には親水性領域が存在し、酸性官能基と Arg560 が水分子を介し相互作用することを明らかにした。化合物 **79**, **140**, **91**, **144** は DPP-4 類縁酵素に阻害活性を示さず、*in vitro* 評価において高い安全性を示した。加えて、第1章で見出したパラジウムカップリング反応において、7位、9位位置選択的な合成法を見出した。*tert*-ブチルエステルを用いることにより、7位にカルボキシ基を有する化合物の高い選択性、及び良好な収率で得た。

・第3章は、プロドラッグ化による経口吸収性の改善、及び優れた抗糖尿病効果を示す化合物の創出について述べた。第2章で見出した化合物 **79**, **140**, **91**, **144** は膜透過性が低く経口吸収性が乏しいことが大きな課題であった。これら化合物を血中に暴露することができれば有力な開発候補化合物になりえると考え、この課題を解決するためにカルボキシ基のプロドラッグ化を計画した。安全性の観点から、経口投与後、血中に残存しないエステルを得ることを目標とし、*in vitro* 代謝特性に焦点をあて最適化を実施した結果、血清、肝 S9 中で速やかに活性代謝体へ変換されることが重要であることを明らかにした。最適化の結果、Dox 基を有する化合物 **151g** を見出した。化合物 **151g** は良好な経口吸収性、強力な *in vivo* DPP-4 阻害活性、そして、経口ブドウ糖負荷試験において有意な血中グルコース濃度の低下を示した。

・第4章は、本研究の要点・研究成果を総括し、化合物 **151g** が2型糖尿病治療薬の開発候補化合物となりえることを示し、DPP-4阻害薬の新たな選択肢の可能性に繋がる成果であることを述べた。

以上

目次

| | |
|---|----|
| 序論 | 1 |
| 本論 | 12 |
| 第1章 パラジウム触媒を用いた分子内ビアリールカップリング反応によるイミダゾキノ リノン骨格の合成法開発 | 12 |
| 第1節 リード化合物の創出 | 12 |
| 第2節 新規 DPP-4 阻害薬の合成上の課題 | 13 |
| 第3節 イミダゾキノリノン骨格の合成法開発 | 14 |
| 第2章 強力な阻害活性、優れた酵素選択性を有する DPP-4 阻害薬イミダゾキノリノン誘 導体の創出 | 27 |
| 第1節 化合物のデザインと合成方針 | 27 |
| 第2節 イミダゾキノリノン誘導体の合成 | 29 |
| 第3節 イミダゾキノリノン誘導体の生物活性及び考察 | 43 |
| 第3章 新規イミダゾキノリノン誘導体の最適化研究：プロドラッグ化による経口吸収性 の改善及び優れた抗糖尿病効果を示す化合物の創出 | 51 |
| 第1節 経口吸収性改善に向けた方策 | 51 |
| 第2節 エステルプロドラッグの合成 | 52 |
| 第3節 エステルプロドラッグの最適化と考察及び化合物 151g の創製 | 53 |
| 第4節 重要中間体 71 の新規合成法の開発 | 62 |
| 第4章 総括 | 66 |

| | |
|--------|-----|
| 実験の部 | 68 |
| 引用文献 | 128 |
| 謝辞 | 132 |
| 発表論文一覧 | 133 |

序論

・糖尿病

糖尿病とは、インスリン作用不足による慢性的な高血糖状態を代表的な病態とする代謝疾患の1つである。厚生労働省が2012年に発表した国民健康・栄養調査によると、日本国内において糖尿病が強く疑われる人が約950万人、可能性を否定できない人が1100万人に上ることが報告されている¹。2014年現在、世界の糖尿病有病者数は約3億8670万人に達し、2035年までにこの数は5億9200万人に増加すると予測されている²。

糖尿病は大きく分けて1型と2型に分けられる。1型糖尿病は生活習慣に関係せず、膵臓のβ細胞が何らかの理由により破壊され、インスリンが枯渇する病態であり、生命維持のためインスリン治療が不可欠である。1型糖尿病の糖尿病全体に対する比率は2~5%であり、発症年齢は小児から思春期に多く、中高年でも認められる。その治療方法としてインスリンを注射により補充する強化インスリン療法、食事療法、運動療法が挙げられる。一方、2型糖尿病はインスリンの分泌低下やインスリン抵抗性をきたす複数の遺伝因子に肥満、運動不足、過食（特に高脂肪食）、飲酒、喫煙、ストレスなどの環境要因や加齢などが組み合わさってインスリン作用不足を生じて発症する。インスリンの絶対的欠乏はないが、相対的に不足している状態であり、糖尿病患者の約90~95%を占める。その初期症状はのどが渇く、水分を多くとる、多尿、体重が減る、疲れやすいなどが挙げられ、それ以外の場合は自覚症状に乏しく病識を持たないことが多い。40歳以上に多く認められ、また、若年発症も増加している。肥満または肥満の既往が多いことも特徴の1つである。その初期治療方法としては食事療法や運動療法が用いられるが、血糖コントロールが達成されない場合は経口糖尿病治療薬が用いられる。2型糖尿病治療者の約42%は目標とする血糖値に到達できていないと言われている³。血糖値が高いまま放っておくと、全身の動脈硬化が進み、合併症によりQOL (quality of life; 生活の質)が著しく低下する。代表的な合併症として、壊疽、失明、腎不全、脳梗塞、狭心症、心筋梗塞、認知症、神経障害などが挙げられ、これらを併発すると健康を取り戻すことが困難になり医療費が増加する。従って、社会的にも医療経済的にも糖尿病治療は意義が大きい。

・インスリン分泌メカニズムと血糖降下作用

インスリンは血糖値を下げる唯一のホルモンである。血糖値が高くなると、膵β細胞上の GLUT2 (glucose transporter 2)によりグルコースが膵臓に取り込まれ、クエン酸回路により代謝されアデノシン 3 リン酸 (ATP)を産生する (Figure 1)。ATP が ATP 感受性カリウムチャンネルに作用し、このチャンネルを閉口するが Na^+ は細胞内に流入し脱分極が起こる。これが刺激となり、電位依存性カルシウムチャンネルが活性化して Ca^{2+} が細胞内に流入することで、分泌小胞からエキソサイトーシスによってインスリンが分泌される。

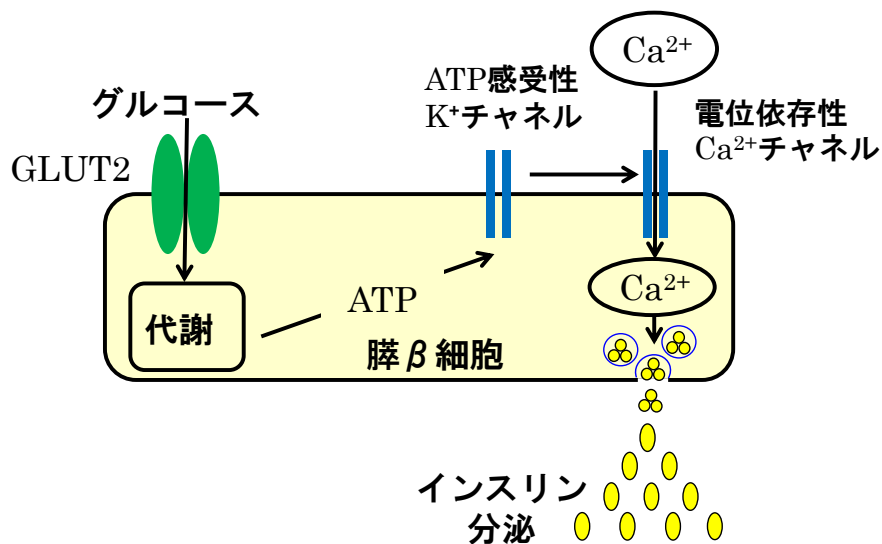


Figure 1.

膵臓から分泌されたインスリンは門脈を通り肝臓へ運ばれ、肝臓での糖新生を抑制し、グルコースをグリコーゲンに変換し肝臓の内部に蓄えることにより肝静脈へのグルコース放出を抑制し血糖降下作用を示す (Figure 2)。次に、インスリンは肝臓から全身血中に運ばれ、さらに筋肉や脂肪細胞へ移行し、インスリン受容体を刺激する。その結果、GLUT4を介したこれら組織への血中グルコース取り込みが促進され血糖降下作用を示す。このように、インスリンはグルコースの細胞内への取り込み、エネルギー利用や貯蔵、タンパク質合成、細胞の増殖などを促進する。何らかの原因でインスリンの分泌が遅れたり、分泌そのものが衰えたり、分泌されても作用が低下するとグルコースが細胞に取り込まれなくなり、その結果、空腹時でも高血糖状態となる。

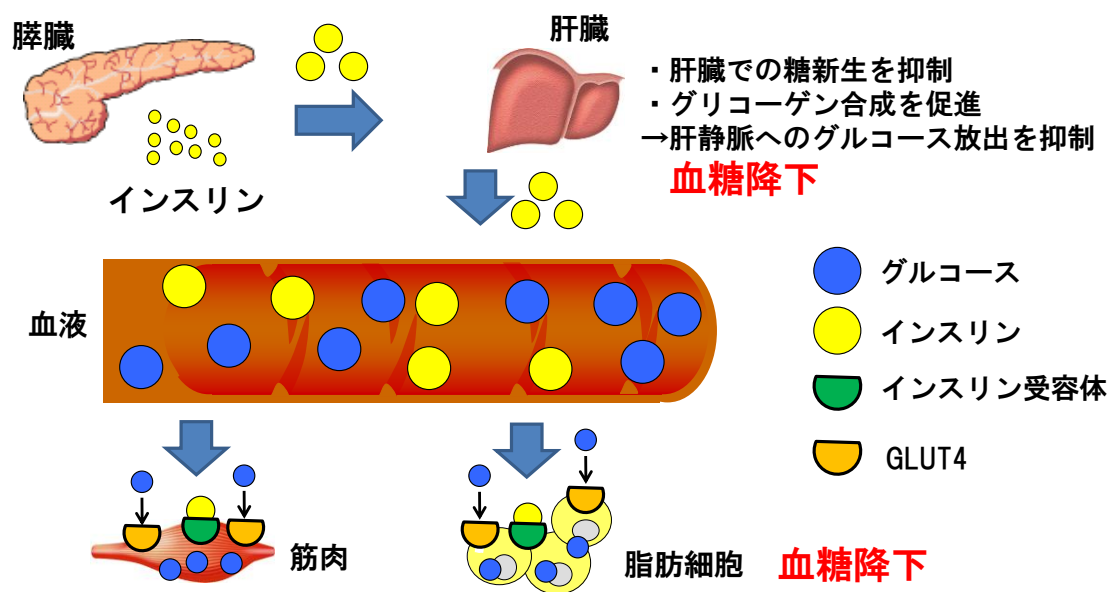


Figure 2.

・既存の経口糖尿病治療薬とその副作用

スルホニルウレア (SU) 剤、速効型インスリン分泌促進剤は ATP 感受性カリウムチャネルの一部を構成するスルホニルウレア受容体に作用しこのチャネルを閉口することにより電位依存性カルシウムチャネルが活性化する。その結果、 Ca^{2+} が細胞内に流入することで、分泌小胞からエキソサイトーシスによってインスリン分泌を促進する (Figure 3)。ビッグアナイド薬は AMP カイネースを活性化することで、インスリン抵抗性改善薬は $\text{PPAR}\gamma$ を活性化することで肝臓での糖新生を抑制し、筋肉、脂肪細胞における糖の取り込みを促進することでインスリン抵抗性を改善する。また、 α -グルコシダーゼ阻害薬は小腸からの糖の吸収を遅らせることで食後の急激な血糖値上昇を抑制する。これら薬剤は効果的に血糖値を下げる事が知られている。

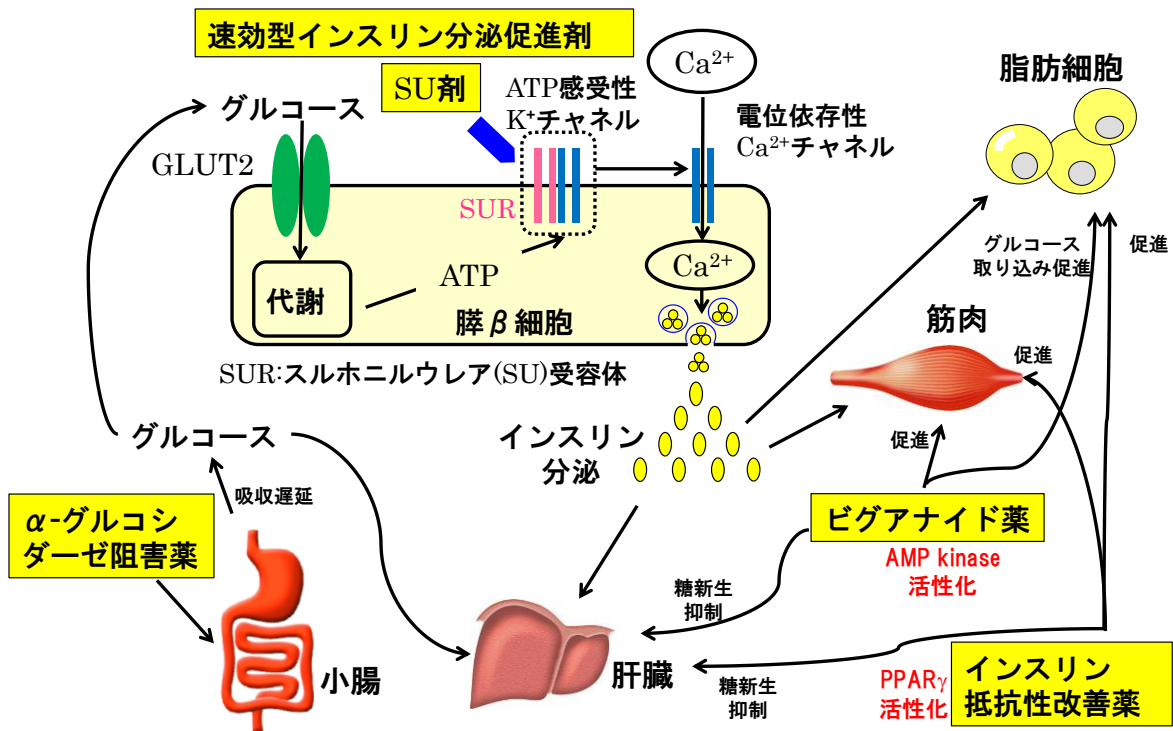


Figure 3.

しかしながら、これら治療薬には副作用が報告されており、2型糖尿病患者のQOLを低下させることが知られている。広く使用されている抗糖尿病薬であるピオグリタゾンでさえも、直接的な原因は明らかになっていないが、膀胱がんのリスク上昇に関連があるという報告があり、臨床上の課題とされている^{4,5}。また、インスリン分泌促進薬では低血糖の副作用が報告されている。低血糖の症状はあくび、不快感、冷や汗、意識障害、昏睡であり、最悪の場合死亡することもあることから非常に重篤な副作用と考えられている。その原因は血糖値が低くてもスルホニルウレア受容体に直接作用しインスリン分泌を促進するためである (Figure 4)。また、体重増加の副作用も報告されている。インスリン感受性は脂肪細胞、骨格筋、肝臓の順に強くなり、一方、血糖値を下げるためには肝臓での糖放出抑制、骨格筋での糖取り込みができるくらいまでインスリンが上昇する必要がある。したがって、必然的に脂肪細胞でのグルコース取り込みが多くなり、体重が増加する。その他の薬剤においてもいくつかの副作用が認められている。速効型インスリン分泌促進薬はSU剤と同様の作用機序のため低血糖と体重増加が、インスリン分泌促進薬では、浮腫、貧血、心不全、体重増加、ビッグアナイド薬では胃腸障害、乳酸アシドーシス、 α -グルコシダーゼ阻害薬では、放屁、下痢、重篤な肝障害が報告されている。各薬剤の特徴と副作用を Table 1 にまとめた。従って、安全性の高い糖尿病治療薬が強く求められている。

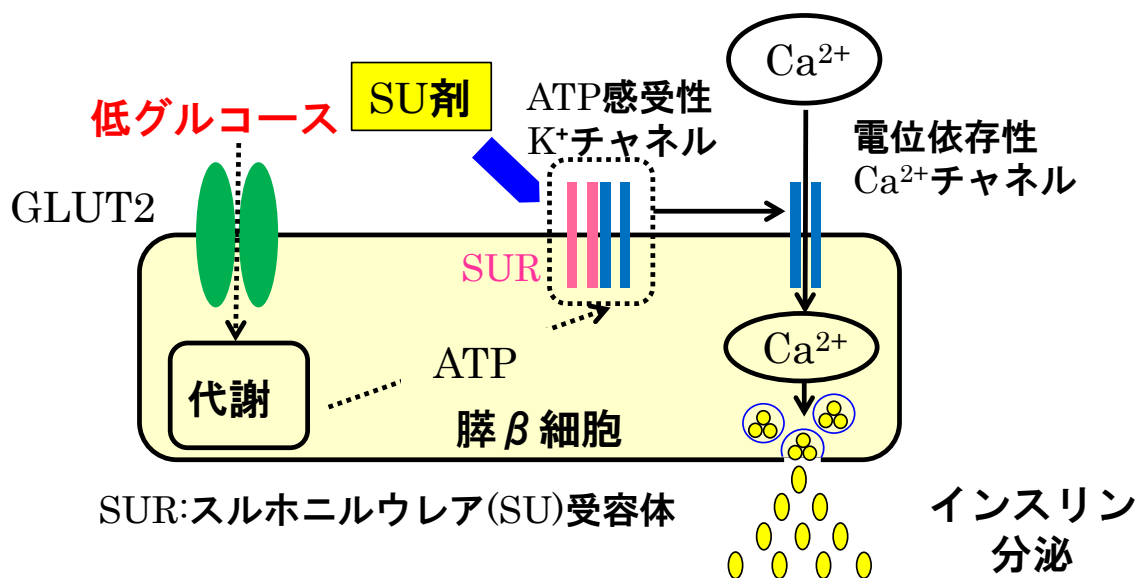


Figure 4.

Table 1. 経口糖尿病治療薬

| 分類 | 特徴 | 副作用 |
|----------------------|--|--------------------|
| スルホニル尿素(SU)薬 | インスリン分泌を促進する。膵β細胞のSU受容体に結合しATP感受性K ⁺ チャンネルを閉鎖させ、Ca ²⁺ チャンネルを開口することによりインスリン分泌を促進させる。長期間臨床の場で使用されており、年齢、体重問わず有用である。長期間使用していると血糖値は次第に上昇して行くことがある(二次無効)。 | 低血糖 体重増加 |
| 速効型インスリン分泌促進薬 | SU薬と同様の機序でインスリン分泌を促進するが、効果がより速やかに起こり、また短時間で消失する。血糖改善効果はSU薬ほど大きくないが、低血糖はSU薬より頻度が少ない。 | 低血糖 体重増加 |
| ビッグアナイド薬 | 肝臓からのグルコース放出の抑制及び筋肉を中心とした末梢組織でのインスリン感受性を高める。欧米では第一選択薬として推奨されている。 | 胃腸障害 乳酸アシドーシス |
| PPAR γ アゴニスト | 主として抹消組織でのインスリンの感受性を高め、肝臓からのグルコース放出を抑制する。 | 浮腫、貧血 心不全、体重増加 |
| α -グルコシダーゼ阻害薬 | 腸管での糖の分解を抑制して吸収を遅らせ、食後の高血糖・高インスリン血症を抑える効果がある。 | 放屁、下痢 重篤な肝障害 |
| SGLT2阻害薬 | 腎臓の近位尿細管に発現するSGLT2は尿中の糖を認識して取り込み、血液中に放出する。SGLT2を阻害することにより尿中に過剰の糖を排泄しインスリンに関係なく血糖値を下げる。 | 脱水、低血糖 尿路、性器感染症 |

・インクレチン

グルコースを経口投与するとインスリン分泌が促進され、その血糖上昇は同量のグルコースを静脈内投与したときよりも軽度であることが知られている。栄養素の吸収に応答して消化管より分泌されインスリン産生を促す内因性ホルモンはインクレチンホルモン、その効果はインクレチン効果と呼ばれており、血糖値に依存した新たな糖尿病治療薬として有効と考えられている (Figure 5)。インクレチンとは膵β細胞のインスリン分泌を促すホルモンの総称であり、消化管 (主に小腸) から分泌される。小腸上部の K 細胞からは GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide)が、小腸下部の L 細胞からは GLP-1 (glucagon-like peptide-1)が摂食量に応じて分泌される。2型糖尿病患者への継続的なインクレチン投与において、GLP-1 によるインスリン分泌促進は認められたが、GIP によるそれは認められなかった⁶。

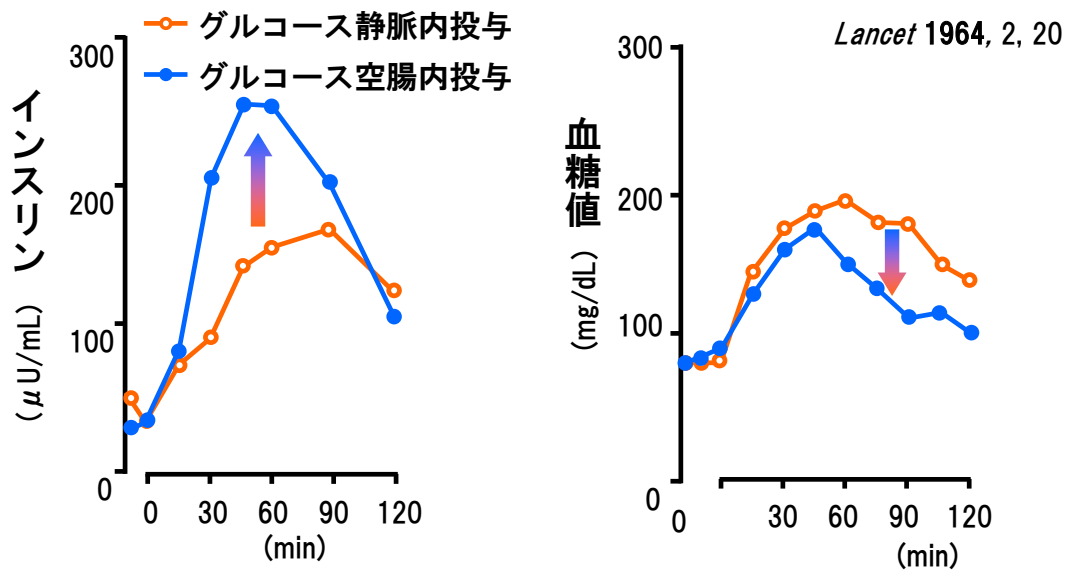


Figure 5.

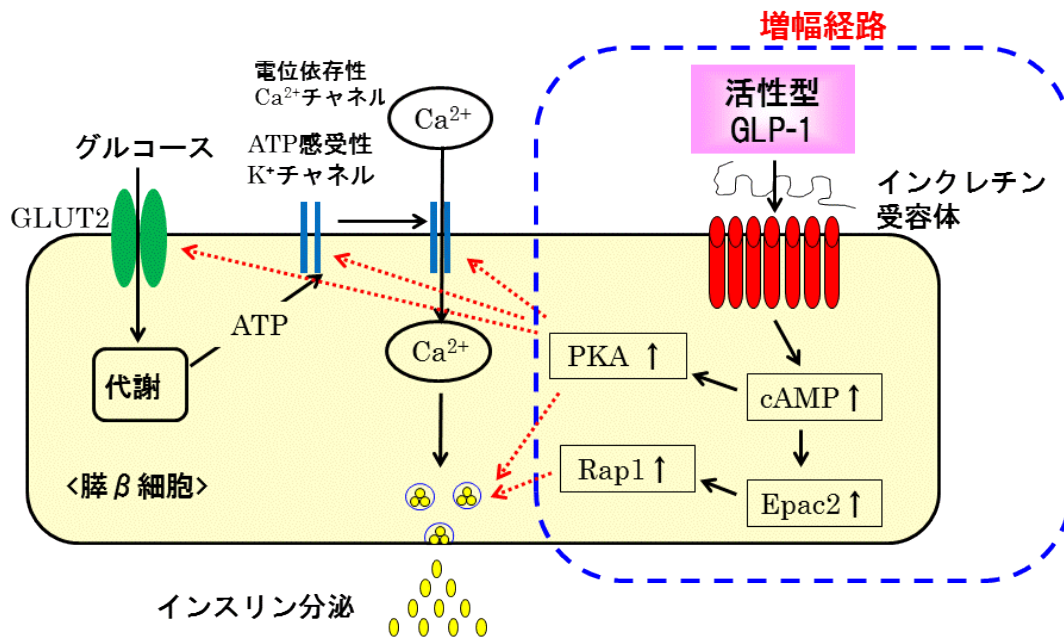


Figure 6. 膵β細胞におけるインクレチンのインスリン分泌促進作用

消化管から分泌された GLP-1 は膵臓β細胞膜上のインクレチン受容体に作用して、膵臓β細胞内の cAMP (cyclic adenosine 3',5'-monophosphate)濃度を高め、プロテインキナーゼ A や Epac2 を活性化し、分泌小胞からのエキソサイトーシスによるインスリン分泌を含むいくつかの経路を活性化することによりグルコース依存性インスリン分泌を増幅させる (Figure 6)。また、GLP-1 は血糖値が 4 mM 以下になるとこのようなインスリン分泌を促進しないことから、高血糖のときのみインスリン分泌を促進する。このように、インクレチン、特に GLP-1 は上記グルコース依存性インスリン分泌経路の増幅に関与することから、GLP-1 関連薬は低血糖を起こしにくく、食後の血糖コントロールに貢献する新たな 2 型糖尿病治療薬として高い注目を浴びている^{7,8}。

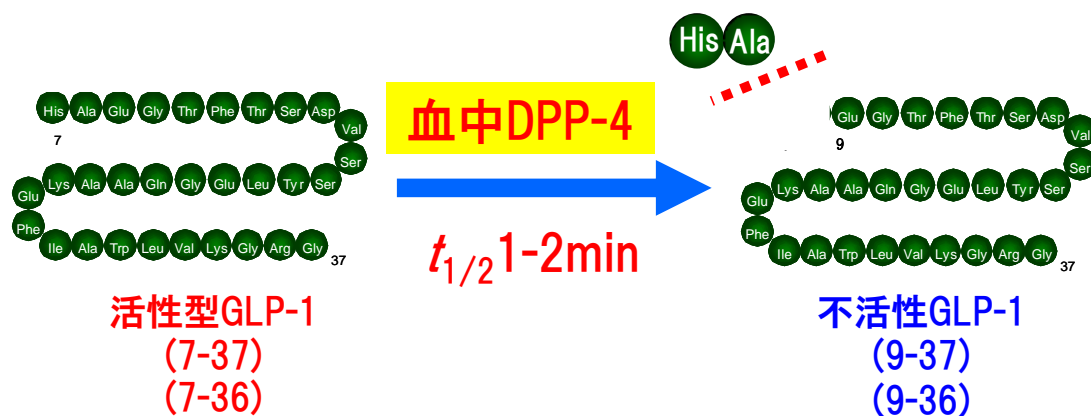


Figure 7.

GLP-1 は、GLP-1(7-37)と GLP-1(7-36)amide を活性型とするポリペプチドである。しかしながら、GLP-1 は血中に存在するセリンプロテアーゼである dipeptidyl peptidase IV (DPP-4) により N 末端の HisAla と Glu の間が切断され、不活性型の GLP-1(9-37)及び GLP-1(9-36)へ変換され腎臓より排泄される⁹⁻¹⁴。その血中半減期はわずか 1~2 分と報告されている (Figure 7)。このため、GLP-1 作用増強に基づく 2 型糖尿病治療薬として、構造変換により血中での安定性を高めた GLP-1 作動薬及び GLP-1 の分解を抑制する DPP-4 阻害薬の 2 つが候補として考えられる。GLP-1 作動薬は HbA1c の低下や体重減少 (抗肥満) などの点で有用性が明らかにされている。しかし、ペプチド製剤であるので、その投与経路は皮下あるいは静脈内投与に限定されるほか、作用機序不明の急性毒性などの問題が指摘されている。一方、DPP-4 阻害薬は食事摂取により分泌される GLP-1 作用の増強に基づいたグルコース濃度依存的なインスリン分泌を亢進する。そのため、低血糖などの副作用を引き起こすリスクも低く、服薬コンプライアンスの向上が期待される^{15,16}。また、DPP-4 をノックアウトしたマウスやラットは健康に生存し、活性型 GLP-1 の有意な血中濃度上昇、耐糖能の改善、インスリン分泌促進、高脂肪食負荷におけるインスリン抵抗性と肥満の進展抑制が確認されている^{17,18,19}。DPP-4 阻害薬を用いた研究から、 β 細胞の保護、新生作用、糖新生抑制、摂食抑制の知見も報告されている^{20,21,22}。以上から、DPP-4 阻害薬は 2 型糖尿病治療薬として安全性の高い魅力的な創薬ターゲットであると考えられる。

・市販のDPP-4阻害薬と望む化合物プロファイル

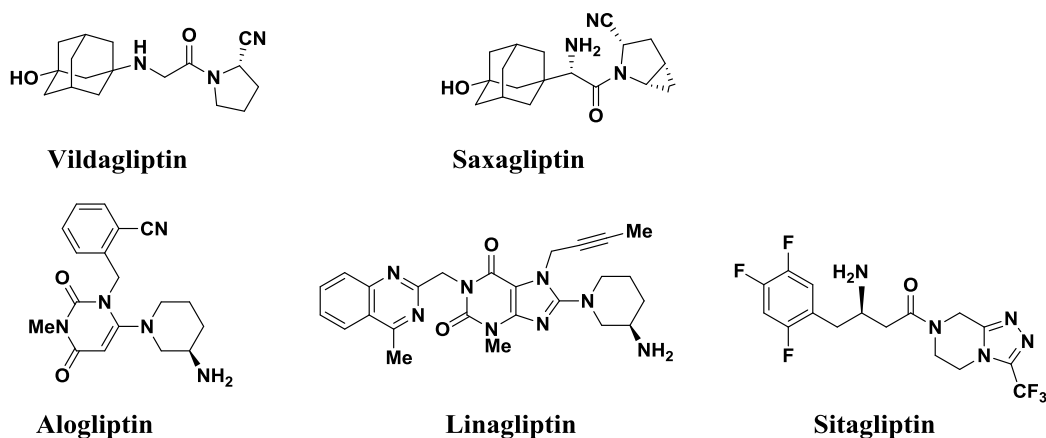


Figure 8. 市販のDPP-4阻害薬

臨床試験において、DPP-4阻害薬は他の抗糖尿病治療薬と比較して、有効性、安全性が優れていることが示されており^{23,24}、それに基づき、Vildagliptin²⁵, Saxagliptin²⁶, Alogliptin²⁷, Linagliptin²⁸, Sitagliptin²⁹ を含むDPP-4阻害薬が既に2型糖尿病治療薬として上市されている (Figure 8)。2型糖尿病は慢性的な治療が必要であることから、DPP-8³⁰、DPP-9³¹、FAP- α (fibroblast activation protein, α)³²、DPP-2³³などのDPP-4類縁酵素に対して高い選択性を有するDPP-4阻害薬が安全性上望まれる。類縁酵素の中でも、DPP-8とDPP-9はDPP-4に対する構造の相同性が高いだけでなく、阻害することによる副作用の懸念があり、それら酵素に対する選択性は近年、議論の的になっている。DPP-8やDPP-9を阻害するとラットにおける脱毛症、血小板減少症、網状赤血球減少症、脾腫、多臓器組織病理変化、死亡率の上昇を引き起こし、イヌにおける消化管毒性と関連していると報告されている³⁴。一方、それらの毒性はDPP-8やDPP-9ではなく他のメカニズムにより引き起こされている可能性を示唆する報告もあるが³⁵、ヒトにおけるDPP-8とDPP-9の生理的な役割は完全に解明されていない。FAP- α の詳細な生理機能は不明であるが、正常細胞では通常発現せず、線維症、癌、創傷治療などの組織の再生及びリモデリング過程で発現することが知られている。

VildagliptinはDPP-8とDPP-9をそれぞれKi値810 nM、95 nM で、Saxagliptin はそれぞれIC₅₀値244 nM、104 nMで阻害する (Table 2)³⁶。さらに、LinagliptinはFAP- α を阻害することが報告されている (IC₅₀ 89 nM)³⁶。一方、Sitagliptin、Alogliptinは優れた酵素選択性を有することが知られている (FAP- α , DPP-8, DPP-9; IC₅₀ >48 μ M)。

このような状況において、著者は市販のDPP-4阻害薬よりも次の点において優れたプロファイルを有する新規DPP-4阻害薬の創出を目的として合成研究を開始した。すなわち、安全性の観点から、Vildagliptin、Saxagliptin、Linagliptinより優れた酵素選択性を有する化合物を得ることを、また、より優れた薬効が得られることを期待し、Sitagliptin、Alogliptinより優れたin vitro DPP-4阻害活性を有する化合物を見出すことをめざした。

Table 2. DPP-4 inhibitory activity of selected marketed drugs (IC₅₀ nM)

| IC ₅₀ (nM) | DPP-4 | FAP- α | DPP-8 | DPP-9 |
|-----------------------|--------|---------------|----------|----------|
| Vildagliptin | Ki = 3 | NA | Ki = 810 | Ki = 95 |
| Saxagliptin | 3.37 | NA | 244 | 104 |
| Linagliptin | 1.0 | 89 | >40,000 | >10,000 |
| Alogliptin | 4 | >100,000 | >100,000 | >100,000 |
| Sitagliptin | 18 | >100,000 | 48,000 | >10,000 |

Curr. Drug Targets **2009**, *10*, 71.

Note: NA, Not available

本論

第1章 パラジウム触媒を用いた分子内ビアリールカップリング反応によるイミダゾキノリノン骨格の合成法開発

第1節 リード化合物の創出

High throughput screening (HTS)により見出されたヒット化合物**1**がIC₅₀値 676 nM のDPP-4阻害活性を示したことに着目し、**1**から合成展開を開始した (Figure 9)。化合物**1**におけるピペラジン環は、既知のDPP-4阻害薬で用いられている3-アミノピペリジンと類似していることも合成展開を容易にすると考えた。Alogliptinや他の抗糖尿病薬の報告によると、(R)-3-アミノピペリジン部位のアミノ基はDPP-4タンパクのGlu205/Glu206と相互作用することによりDPP-4阻害活性の向上に大きく寄与する。したがって、**1**のピペラジンを(R)-3-アミノピペリジンに置き換えた。さらに、DPP-4タンパクと阻害剤の既知の共結晶構造情報³⁷に基づいたドッキング解析の結果、化合物**1**の2位及び3位はTyr547の脂溶性側鎖と重なる位置に配置されると推測し、2位、3位に縮環した芳香環を導入することにより、化合物とDPP-4タンパクとの間にπスタッキングによる相互作用を形成することができると期待した。S1ポケットを占有する7位窒素原子上の置換基を変換したところ、2-クロロベンジル基が良好な阻害活性を与えた。以上から、キサンチン環を変換し、新規で多様な置換パターンが可能なイミダゾキノリノン骨格をデザインし、**1**を上回るDPP-4阻害活性を有する化合物**2**を得た (IC₅₀ 418 nM)。さらに、化合物**2**の5位をメチル化することにより、IC₅₀値 103 nMの阻害活性を有するリード化合物**3**を見出した。

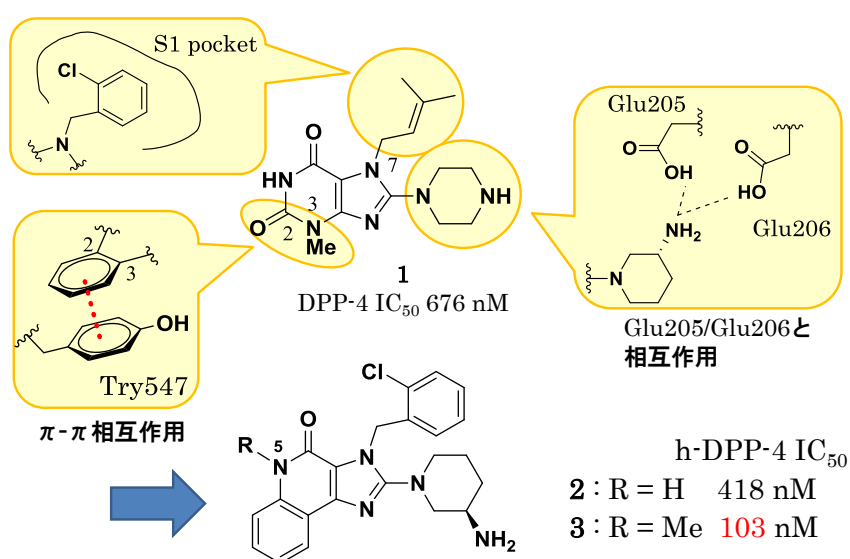


Figure 9. Synthesis of the DPP-4 inhibitor **2** and **3** from the HTS hit **1**

第2節 新規DPP-4阻害薬の合成上の課題

リード化合物**3**の構造最適化を行うにあたり、2, 3, 5位の最適化はほぼ完了していることから6-9位に様々な置換基を導入し置換基効果を検証することを計画した。イミダゾキノリノン誘導体**4**は気管支拡張薬として知られており、その合成法が報告されている³⁸ (Figure 10)。しかしながら、この合成法では6-9位置置換基を含む部分構造を合成初期段階から用いる必要があり、6-9位に種々の置換基を有する化合物を効率的に合成するには適さない。さらに、2位にアミノ基を有する化合物の合成法は報告されていない。そこで、私は2位にアミノ基を有するイミダゾキノリノン誘導体の簡便で効率的な合成法の開発に着手した。

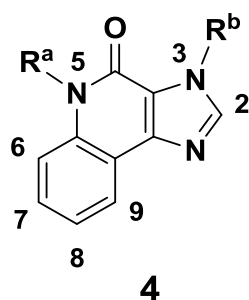
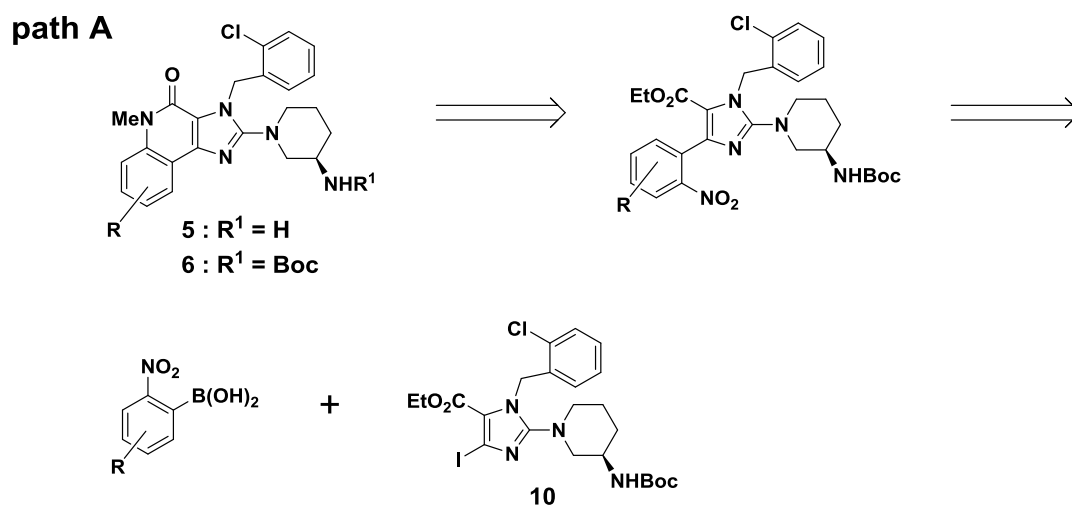


Figure 10.

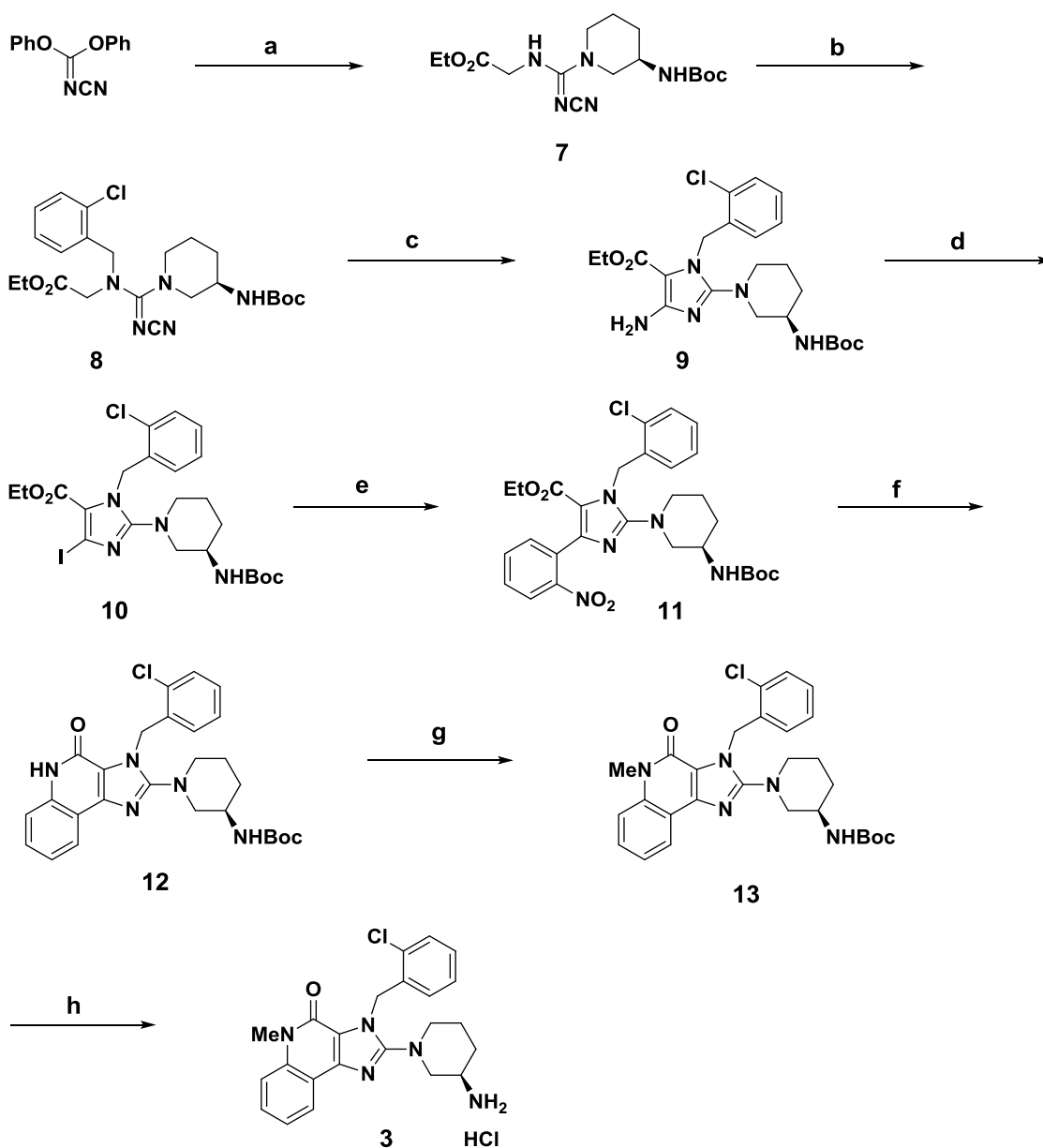
第3節 イミダゾキノリノン骨格の合成法開発

はじめに、2-アミノ-イミダゾキノリノン骨格の合成について鈴木-宮浦クロスカップリング反応³⁹、続く分子内アミド化反応を用いたpath Aを考え、本合成ルートの検討を行った (Scheme 1)。予測される反応工程数は8工程であり、本法であれば置換基Rは対応するアリアルボロン酸から派生するため導入が容易である。



Scheme 1.

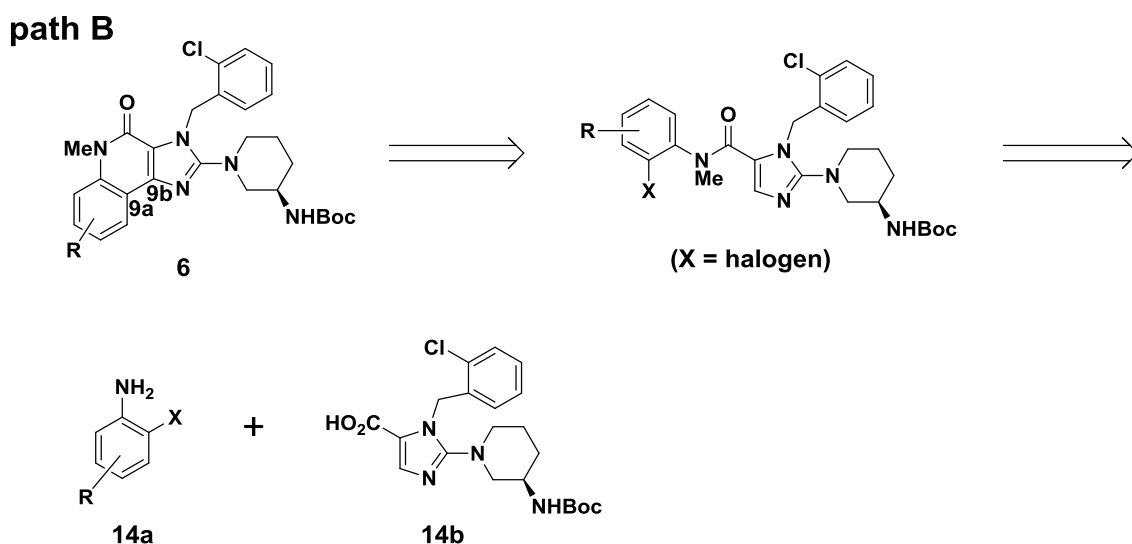
化合物3の合成をScheme 2に示す。出発原料*N*-シアノカルボンイミド酸ジフェニルのフェノキシ基の1つを(*R*)-3-アミノピペリジンにより置換し、続いて80 °Cにて5当量のグリシンエチルエステルで処理することにより、92%の収率で7を得た⁴⁰。2-クロロベンジルブロミドを用いて7の*N*-アルキル化を実施した後、THF溶媒中、水素化ナトリウムで処理することにより環化反応が進行し9を得た。化合物9をトルエン溶媒中、亜硝酸イソアミルとジヨードメタンで処理しSandmeyer反応を行うことにより化合物10を得た。次に、鍵工程である2-ニトロフェニルボロン酸と10の鈴木-宮浦クロスカップリング反応を検討したところ、低収率ながら所望のビアリアル化合物11を得た (収率24%)。本反応において、ボロン酸ピナコールエステルを用いることによりわずかに収率が向上した (収率40%)。酢酸溶媒中、80 °Cにて化合物11のニトロ基を還元鉄でアミノ基に変換すると引き続いて分子内アミド化が進行し2-アミノ-イミダゾキノリノン12を92%の高収率で得た。化合物12の*N*-メチル化は定量的に進行し化合物13が得られた。最後に、塩酸を用いて*tert*-ブトキシカルボニル基を脱保護することで目的の化合物3を得た。



Scheme 2. Reagents and Conditions: a) (*R*)-3-*tert*-butoxycarbonylamino-piperidine (1.0 eq), *i*PrOH then EtO₂CCH₂NH₂ (5.0 eq), Et₃N (5.0 eq), 80 °C, 92%; b) 2-chlorobenzyl bromide (1.5 eq), K₂CO₃ (3.0 eq), MeCN, 40 °C, 74%; c) NaH (1.5 eq), THF, 15 °C, quant.; d) isoamyl nitrite (5.0 eq), CH₂I₂ (10 eq), toluene, 80 °C, 53%; e) Pd(PPh₃)₄ (10 mol%), Na₂CO₃ (2.0 eq), 2-nitrophenylboronic acid or 2-nitrophenylboronic acid pinacol ester (1.1 eq), DME-H₂O (1:1), reflux, 24% or 40%; f) Fe (6.0 eq), AcOH, 80 °C, 92%; g) K₂CO₃ (2.0 eq), MeI (1.5 eq), DMF, quant.; h) HCl, dioxane, quant.

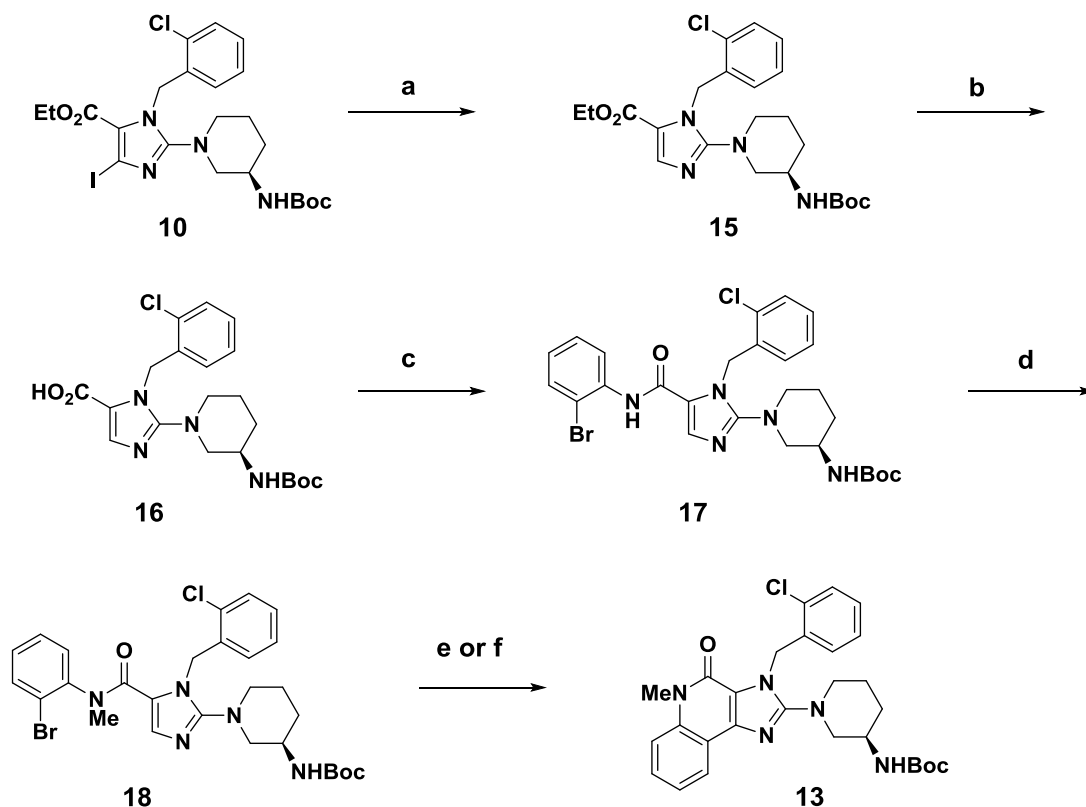
鈴木-宮浦クロスカップリング反応において、いくつかの条件を検討したが、これ以上の良好な収率は得られなかった。これは基質のヨウ素原子に隣接するエチルエステルとボロン酸試薬におけるホウ素原子が結合した炭素原子のオルト位に存在するニトロ基の間の立体障害により、トランスメタル化工程が阻害されていることが原因であり、この立体障害を解消しない限り良好な収率で**13**を得ることは困難であると考えた。加えて、多置換のアリールボロン酸やアリールボロン酸ピナコールエステルを入手することが困難であること、本合成ルートを用いて合成することのできる化合物には限りがあることが推察された。以上より、**path A**の検討を断念した。

幅広い合成展開を可能にし、更に化学収率の向上が期待できる新たな合成ルート**path B**をデザインした (Scheme 3)。**path B**の**6**における**9a**位と**9b**位間の炭素-炭素結合形成は、**path A**における2-ニトロフェニルボロン酸の導入のように反応点の近傍に嵩高い置換基を有する基質を用いた分子間反応よりも5位を固定軸とする分子内反応のほうが好ましい。そして基質として多様な置換パターンの2-ハロアニリン類を入手することは**path A**のアリールボロン酸の場合よりも容易であると考えた。したがって、**path B**では、最初に**14a**と**14b**を用いてアミド化し、続いて分子内ラジカル環化反応、もしくはパラジウム触媒を用いるカップリング反応を行うこととした。



Scheme 3. Proposed path B using intramolecular key reaction

Scheme 2で合成した化合物**10**を用いて、脱ハロゲン化反応、続くアルカリ加水分解反応を行い2工程92%の高収率で**16**を得た (Scheme 4)。化合物**16**と2-ブロモアニリンの縮合反応により**17**へ導き、そして**17**をヨードメタンと炭酸カリウムで処理することにより、2工程28%の収率で**18**を得た。化合物**18**、水素化トリブチルスズとAIBN (アゾビスイソブチロニトリル)のトルエン溶液を加熱還流下撹拌したが⁴¹、目的の環化体は生成しなかった。一方、パラジウム触媒を用いたカップリング反応は進行した⁴²。しかしながら、環化体**13**は得られたものの複数の副生成物が生じ低収率であった (収率13%)。



Scheme 4. Reagents and Conditions: a) Pd-C, H₂, MeOH, quant.; b) 1M NaOH, THF-EtOH (1:1), 92%; c) 1) (COCl)₂ (1.5 eq), DMF (*cat.*), CH₂Cl₂ 2) DIPEA (3.0 eq), 2-bromoaniline (1.0 eq), toluene, 100 °C, 43%; d) K₂CO₃ (1.5 eq), MeI (1.5 eq), DMF, 66%; e) Bu₃SnH (1.3 eq), AIBN (0.05 eq), toluene, reflux, gave no product; f) Pd(OAc)₂ (10 mol%), NaHCO₃ (2.5 eq), DMA, 170 °C, 13%.

13%と低収率ではあるが目的の環化体**13**が得られたことから、パラジウム触媒を用いたカップリング反応の最適化を行った。最初に、基質**18**から生成物**13**が生成する過程において低収率の原因を考察した (Figure 11)。0価パラジウムが**18**へ酸化的付加した後、安定化するために近傍の酸素原子とキレートを形成し6員環の中間体**19**を形成する。このため、イミダゾール上の反応点と遠くなり、加えて中間体**20**のパラダサイクルは容易に加水分解されることも予想される (A)。これらのことが低収率を引き起こした原因と考えられる。これらの現象を防ぐために、**21**を経由する合成ルートBをデザインした。この場合、遷移状態**22a**が形成され、脱プロトンの炭素-メタル化、続いて還元的脱離が進行する⁴³。一方、近傍の置換基により生じる立体障害が影響し、反応性が低下した5員環中間体**22b**は形成することができないと予想した。

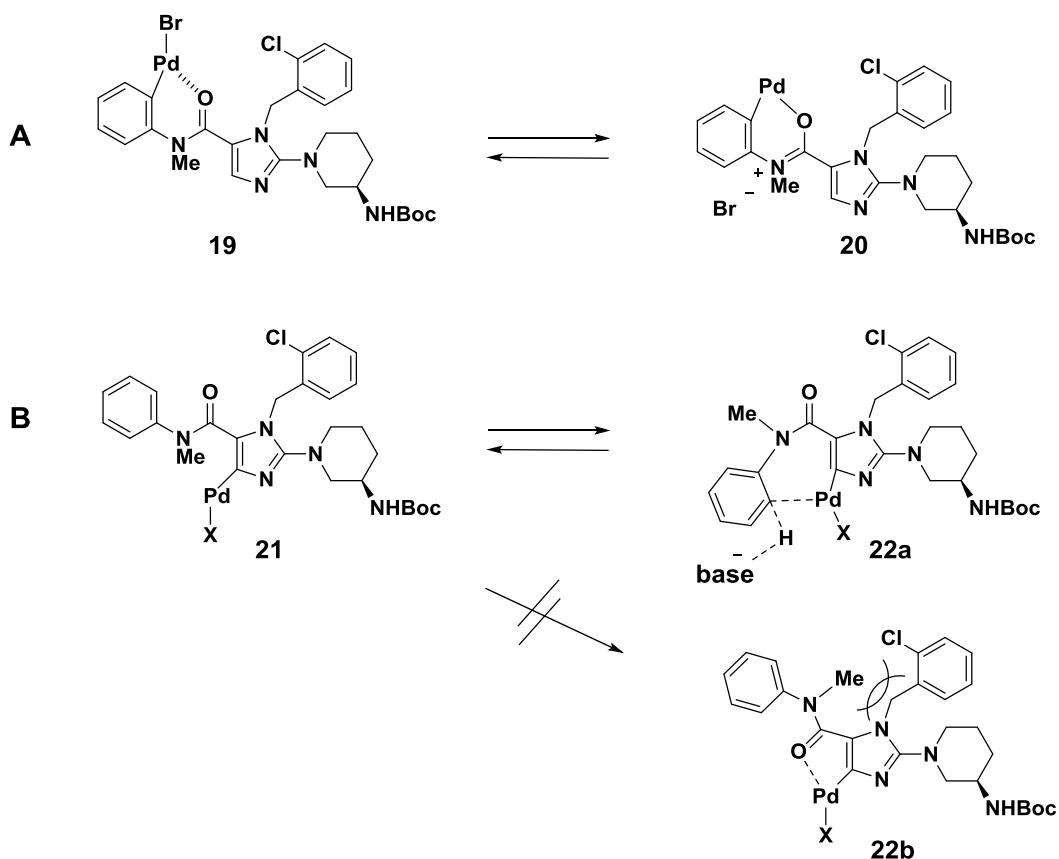
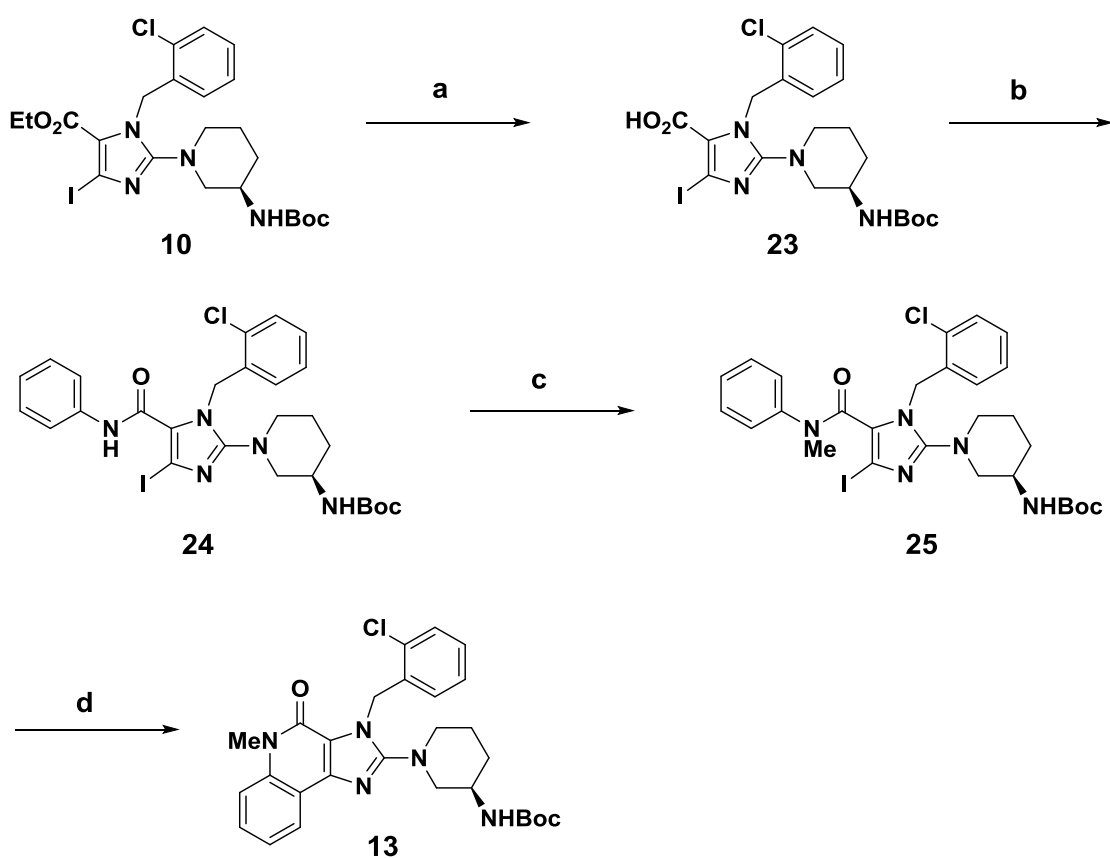


Figure 11.

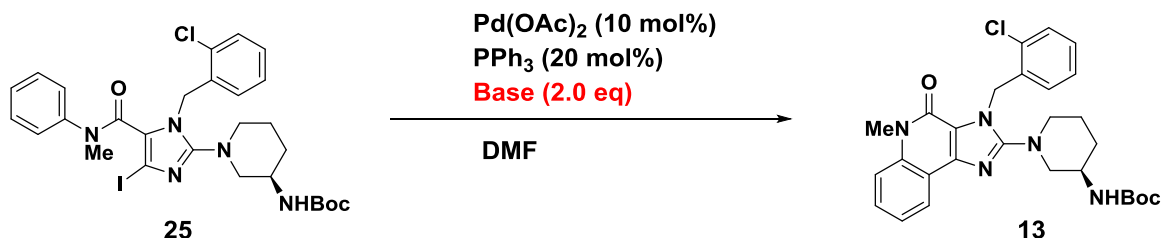
本仮説に基づき、**25**を用いた分子内カップリング反応を試みた^{44,45} (Scheme 5)。化合物**10**のアルカリ加水分解反応、アニリンを用いたアミド化、続いて*N*-メチル化反応を行い、3工程74%と良好な収率で環化前駆体**25**へと導いた。THFもしくはDMF溶媒中、酢酸パラジウム、トリフェニルホスフィン、炭酸カリウムを用いて60 °Cでカップリング反応を行ったところ、目的の**13**をそれぞれ39%、31%の収率で得ることができた。化合物**18**を用いた分子内カップリング反応とは異なり、反応系は副生成物が少なく多くの基質**25**が残存したことから、本反応における化学収率のさらなる向上は可能であると考えた。



Scheme 5. Reagents and Conditions: a) 1M NaOH (1.5 eq), EtOH, 80 °C, quant.; b) 1) (COCl)₂ (1.3 eq), DMF (*cat.*), CH₂Cl₂ 2) DIPEA (3.0 eq), aniline (1.3 eq), toluene, 86%; c) K₂CO₃ (4.0 eq), MeI (4.0 eq), DMF, 86%; d) Pd(OAc)₂ (10 mol%), PPh₃ (20 mol%), K₂CO₃ (2.0 eq), THF, 39% or DMF, 31%.

次に、塩基を変えることにより反応が加速されるか検討した。すなわち、60 °Cで反応を行い、0.5時間後と4時間後に反応の転換率を評価した (Table 3)。炭酸カリウムを用いた場合、0.5時間後、約25%の**25**が**13**へ変換され、その後反応が進行せず、また、この温度では基質及び生成物の分解がないことを確認した。炭酸ナトリウムを用いた場合も同様の結果が得られた。炭酸銀を用いた際、**25**の消費量は少なかった。反応をさらに加速させるために、反応温度を100 °Cへ上げて検討を行った。炭酸カリウムや炭酸ナトリウムの場合、4時間後、残存している**25**の量は約35%まで減少したが、その後その割合に変化は無かった。一方、炭酸銀の場合、60 °Cとは異なり、炭酸カリウム、炭酸ナトリウムより**25**は多く消費され、**13**の生成量が著しく増加した (70.6%)。高温で炭酸銀を塩基として用いることにより、良好な結果が得られることが示唆された。銀イオンがアリールパラジウム複合体からヨウ素原子を引き抜くことによって、より反応性の高いパラジウムカチオン種が生じるために、高温における炭酸銀の正の効果が生じたと考えられる⁴⁶。

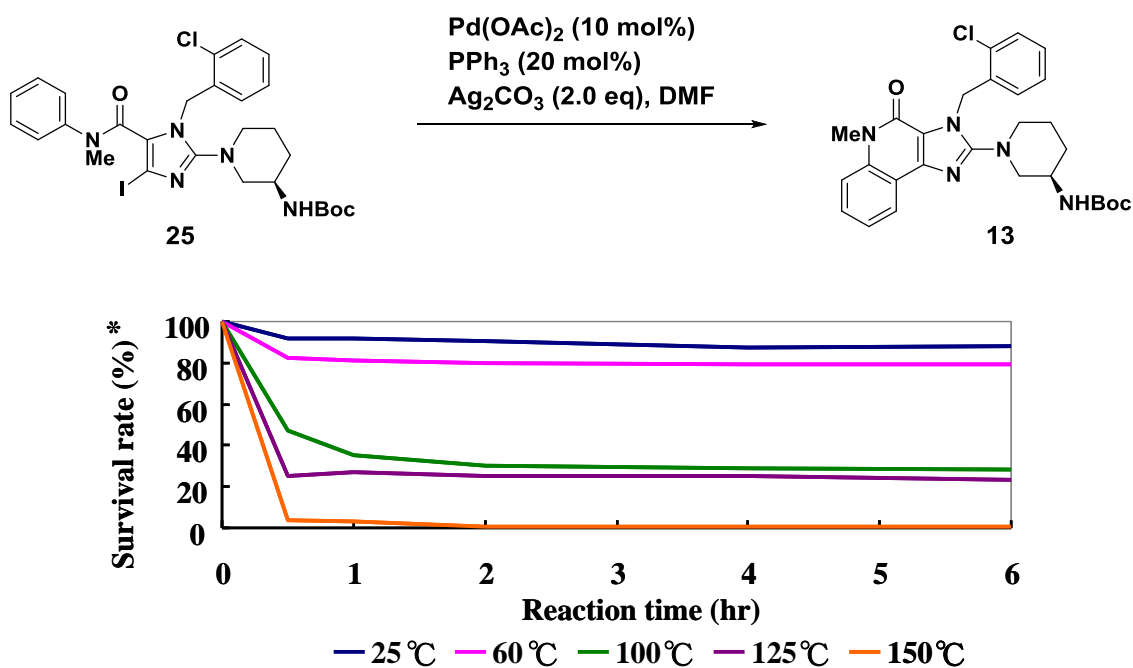
Table 3. Time course consumption of **25** and production of **13** with various base at 60 °C and 100 °C in palladium coupling reaction. (**25** / **13**) (%)



| Entry | Base | 60 °C (25 / 13) | | 100 °C (25 / 13) | |
|-------|---------------------------------|---------------------------------|-------------|----------------------------------|-------------|
| | | 0.5 hr | 4 hr | 0.5 h | 4.0 hr |
| 1 | K ₂ CO ₃ | 76.8 / 23.2 | 76.1 / 23.9 | 69.9 / 30.1 | 34.6 / 58.9 |
| 2 | Na ₂ CO ₃ | 82.1 / 17.9 | 72.5 / 27.6 | 70.8 / 27.7 | 39.8 / 59.0 |
| 3 | Ag ₂ CO ₃ | 82.2 / 3.5 | 81.2 / 10.3 | 47.2 / 51.3 | 28.8 / 70.6 |

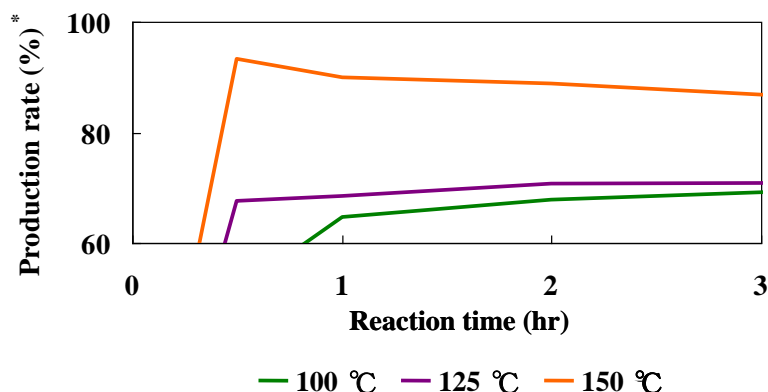
*The reaction was monitored by HPLC at 203 nm

反応温度の効果を検証するために、塩基として炭酸銀を用い、各反応温度における**25**の消費量を測定した (Figure 12)。25 °Cでは**25**はほとんど消費されず、60 °Cでも反応速度は非常に遅かった。100 °Cにおいて2時間後、**25**は約30%残存したが、その後、変化は無かった。125 °Cにおいて0.5時間後、**25**は約25%まで減少したが、その後、その割合は変わらなかった。対照的に、150 °Cにおいて、**25**は速やかに、そして完全に消費された。したがって、本反応では炭酸銀を用いることと高い反応温度が重要な役割を果たすことがわかった。特に、反応を完結するためには150 °Cの反応温度が重要であることを見出した。しかしながら、高い温度で長時間反応を行った場合、**13**の生成量は徐々に減少し、副生成物の割合が増加した (Figure 13)。よって、目的物の安定性に影響を与えない条件 (反応温度・時間) を考慮することが重要である。



*The reaction was monitored by HPLC at 203 nm

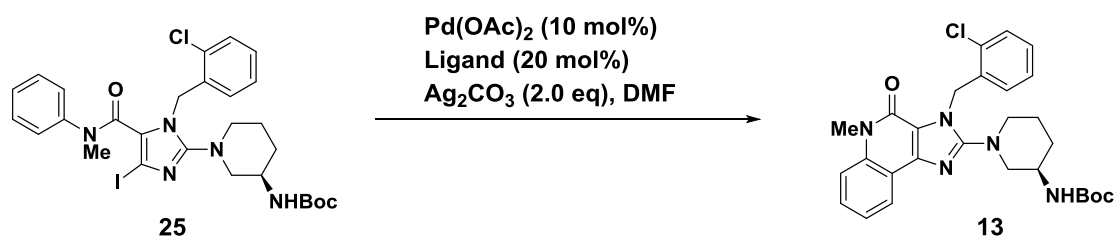
Figure 12. Survival rate of **25** in the palladium coupling reaction



*The reaction was monitored by HPLC at 203 nm

Figure 13. Production rate of **13** in palladium coupling reaction

最後に、緩和な条件下、配位子を変換することにより反応を加速することができるか検証した (Table 4)。電子リッチな $P(\sigma\text{-tol})_3$ と $Pn\text{Bu}_3$ を用いたところ、 $P\text{Ph}_3$ と比較して**25**の残存率に大きな違いはなかった。したがって、配位子の種類は反応の進行に影響を与えない。以上から、本反応の進行に正の影響を与える最も重要な要因は塩基として炭酸銀を用いることと高い反応温度である。最適化された条件を用い反応を行ったところ、**13**の化学収率は90%へ飛躍的に向上した (Entry 4)。



| Entry | Temp. (°C) | Ligand | Time (hr) | 25 / 13 (%) | Yield (%) ^a |
|-------|------------|--------------------------|-----------|---------------------------|------------------------|
| 1 | 60 | $P\text{Ph}_3$ | 10 | 78.3 / 14.8 | |
| 2 | 60 | $P(\sigma\text{-tol})_3$ | 10 | 82.8 / 9.1 | |
| 3 | 60 | $Pn\text{Bu}_3$ | 10 | 77.1 / 15.7 | |
| 4 | 150 | $P\text{Ph}_3$ | 0.5 | | 90 |

*The reaction was monitored by HPLC at 203 nm

^a isolated yield.

Table 4. Ligand effect in the optimization of palladium coupling reaction of **25**

見出したパラジウム触媒を用いたカップリング反応のメカニズムについて考察した (Figure 14)。0価パラジウムがアリールヨードに酸化的付加し、続いて炭酸銀がヨウ素原子を引き抜くことによりカチオン性中間体**26A**と**26B**へ導かれる。遷移状態**27**はカチオン性中間体**26A**から速やかに生じる。協奏的な脱プロトンを伴う**27**の炭素-メタル化は中間体**28**を与え、続いて、還元的脱離により目的の**13**が得られる。本反応において、0価パラジウムのアリールヨードに対する酸化的付加が律速段階であると考えた。なぜなら、脱ハロゲン体を含む副生成物が得られないからである。加えて、5位の置換基の影響により4位は立体的に込み合っており、そして2位にアミノ基を有することからイミダゾール環は電子過剰であるため、ヨウ素原子に対する0価パラジウムの挿入は起こりにくいと考えられる。したがって、高い反応温度は酸化的付加工程に重要な役割を果たすと考えている。高い反応温度により促進された酸化的付加後、カチオン性中間体が速やかに生じる。アミドの幾何異性である**26A**と**26B**は平衡状態にあり、立体障害のために平衡は**26B**へ偏っているものの、**26A**から**27**への反応が速いためカチオン性中間体は速やかに消費され遷移状態**27**へ導かれる。したがって、高い反応温度は0価パラジウムの酸化的付加工程において重要な役割を果たす。

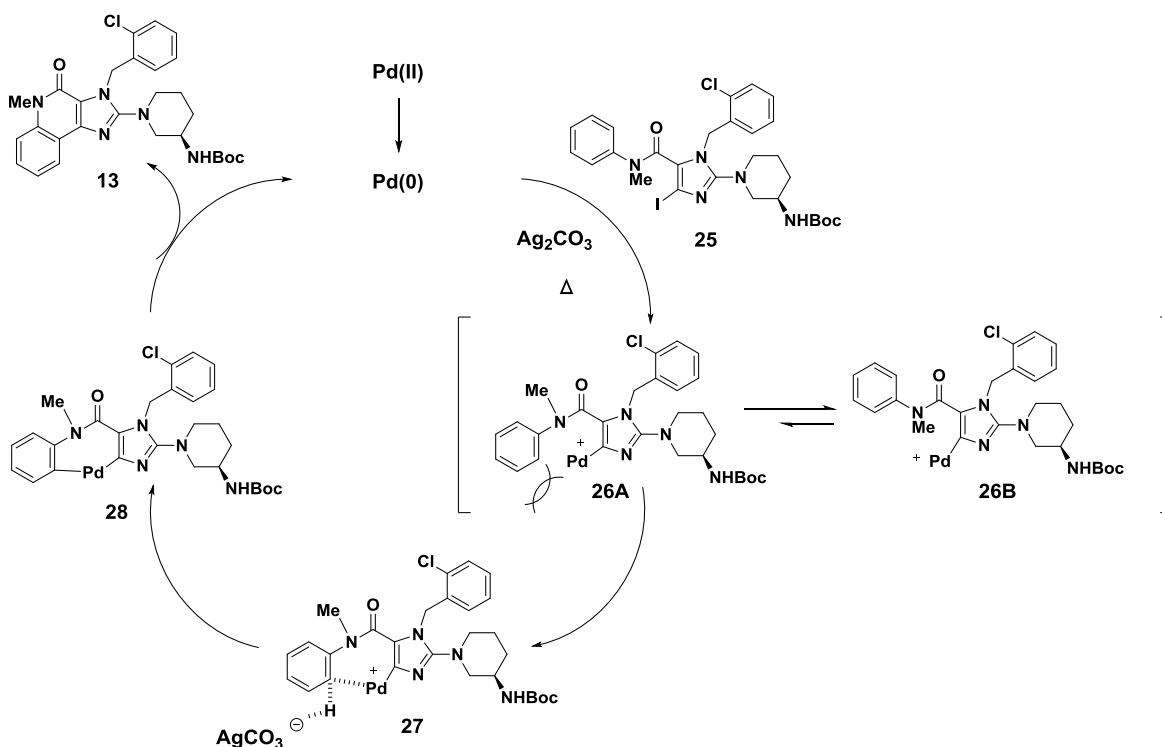
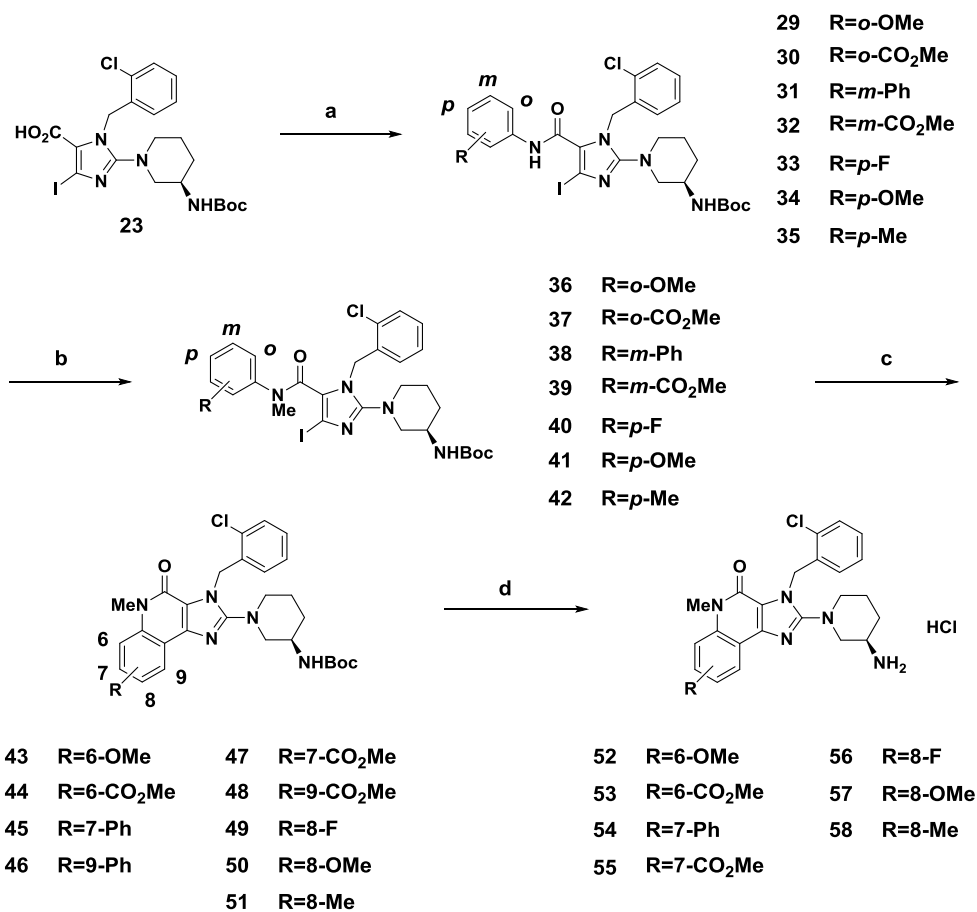


Figure 14. Mechanism of the palladium coupling reaction.

種々の置換基を有する**36 - 42**を基質として用い、見出したパラジウム触媒を用いた分子内ビアリールカップリング反応の基質適応性を評価した (Scheme 6)。Scheme 5と同様に、化合物**23**と種々のアニリン誘導体をアミド化し、続いて*N*-メチル化反応を行うことにより、良好な収率で環化前駆体**36 - 42**を合成した。電子吸引基もしくは電子供与基を有する**36 - 42**のカップリング反応は良好な収率で進行し、**43 - 51**を得た。メタ位に置換基を有する場合、7位または9位に置換基を有する化合物が混合物として得られた。生成比率は9位置換体よりも7位置換体に偏っていた。このことは、パラジウムとメタ位置換基間の立体障害の影響を考えると合理的に説明できる (Figure 15)。メタ位置換基がフェニル基の場合、7位置換体と9位置換体の混合物はシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離することが可能であり、**45**を72%の収率で得た。メタ位置換基がメチルエステルの場合、7位置換体と9位置換体の混合物はシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離することができず、**47**と**48**の混合物として得られた。上記に示すように、本反応は高い基質適応性を有し、様々な置換基を有する化合物を合成することが可能である。7位置換体と9位置換体の位置選択的合成法については第2章で述べる。*tert*-ブトキシカルボニル基を塩酸で除去することにより、所望の**52 - 54**、**56 - 58**を得た。

Scheme 6. Palladium coupling reaction of **36-42** with different substituents.



Reagents and Conditions: (a) 1) (COCl)₂ (1.3 eq), DMF (*cat.*), CH₂Cl₂ 2) DIPEA (3.0 eq), R-substituted aniline (1.3 eq), toluene, **29** 76%, **30** 55%, **31** 59%, **32** 65%, **33** 82%, **34** 78%, **35** 80%; (b) K₂CO₃ (4.0 eq), MeI (4.0 eq), DMF, **36** 81%, **37** 87%, **38** 87%, **39** 88%, **40** 83%, **41** 82%, **42** 91%; (c) Pd(OAc)₂ (10 mol%), PPh₃ (20 mol%), Ag₂CO₃ (2.0 eq), DMF, 150 °C, **43** 70%, **44** 64%, **45** 72%^a (**45/46** 11.8/1^b), **47+48** 76%^c (**47/48** 4/1^b), **49** 76%, **50** 60%, **51** 78%; (d) HCl, dioxane, **52** quant., **53** 59%, **54** 92%, **56** 97%, **57** 90%, **58** quant.

^a isolated yield ^b the rate was determined by HPLC ^c combined yield due to the inseparable mixture of **47** and **48**

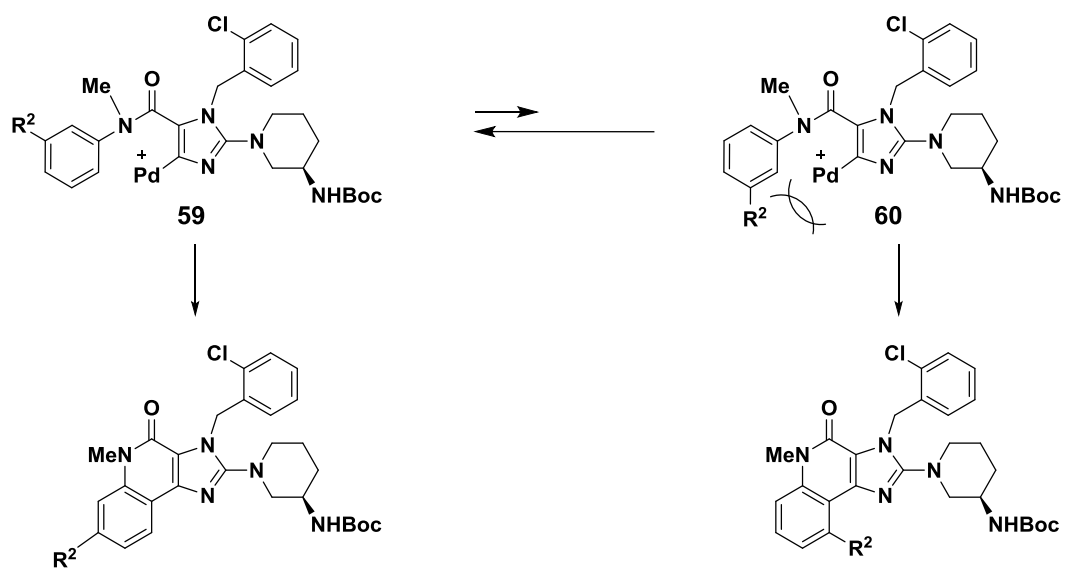


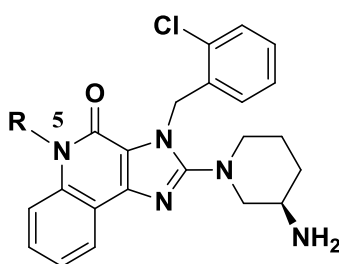
Figure 15.

以上のように、パラジウム触媒を用いた分子内ビアリールカップリング反応による2位がアミノ基で置換されたイミダゾキノリノン誘導体の効率的な合成法を見出した。本反応における最も重要な要素は塩基として炭酸銀を用いることと高い反応温度（150 °C）であることが示された。

第2章 強力な阻害活性、優れた酵素選択性を有するDPP-4阻害薬イミダゾキノリノン誘導体の創出

第1節 化合物のデザインと合成方針

第1章で述べたイミダゾキノリノン誘導体の効率的な新規合成法を用いて、化合物**2**の構造最適化を行った。DPP-4阻害活性評価はヒト血漿DPP-4を用い⁴⁷、化合物**2**の5位置換基の効果について検証した (Table 5)。化合物**2**に対してメチル基を導入することにより、阻害活性が4倍向上した (化合物**3**, IC₅₀ 103 nM)。一方、メチル基よりも立体的に大きい置換基、例えばエチル基 (化合物**61**)、プロピル基 (化合物**62**)、もしくはベンジル基 (化合物**63**) を導入したところ阻害活性は低下した。したがって、5位置換基はメチル基が最もふさわしいと考えた。103 nMのIC₅₀値を示すリード化合物**3**を得た。



| Compound | R | h-DPP-4 IC ₅₀ (nM) |
|-----------|-------------|-------------------------------|
| 2 | H | 418 |
| 3 | Me | 103 |
| 61 | Et | 400 |
| 62 | <i>n</i> Pr | 3400 |
| 63 | Bn | >10000 |

Table 5. DPP-4 inhibitory activity of **2** derivatives with different substituents at the 5-position

次に、更なる構造最適化を行うにあたりドッキング解析を実施し探索方針を立案した (Figure 16)。化合物**3**におけるピペリジン環の1級アミノ基とGlu205、Glu206との距離はそれぞれ2.92, 2.78 Åであることから、これらはイオン結合を形成することができる。3位のクロロベンジル基はS1ポケットを占有すると考えた。4位のカルボニル基はTyr631の主鎖NHと水素結合を形成することが期待される。イミダゾキノリノン部位はTyr547のフェニル基を覆いπスタッキングを形成できる位置にあった。さらに、Lys554⁴⁸の側鎖がイミダゾキノリノン骨格のベンゼン環近傍に位置していることに着目した。このLys554側鎖と**3**のベンゼン環上に導入した親水性置換基が相互作用することができれば、著しくDPP-4阻害活性を向上することができるかと推察した。具体的には、7位にカルボキシ基などの酸性官能基を導入することによりLys554側鎖とイオン結合を形成するため、最も効果的にDPP-4タンパクとの親和性が向上すると仮説を立てた。

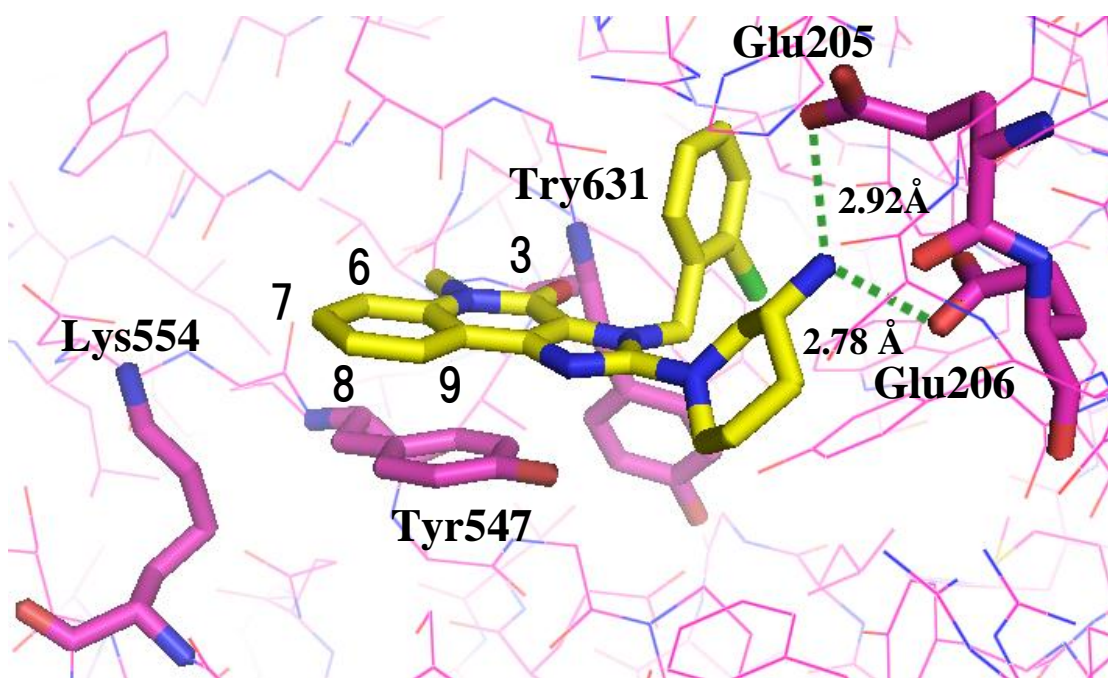
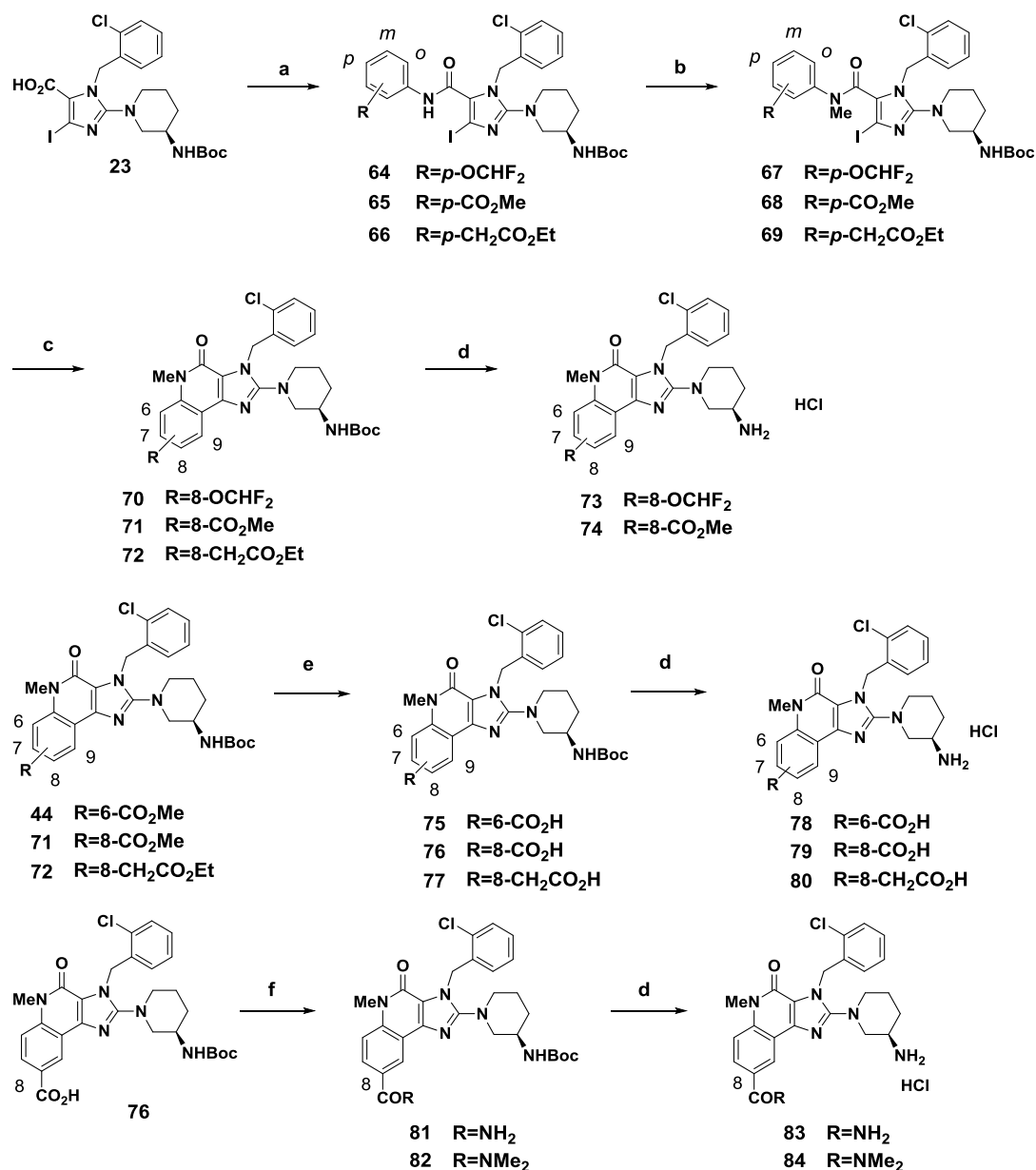


Figure 16. Docking structure of **3** in the active site of DPP-4 (2RGU)

(黄・紫：炭素原子、赤：酸素原子、青：窒素原子、緑：塩素原子)

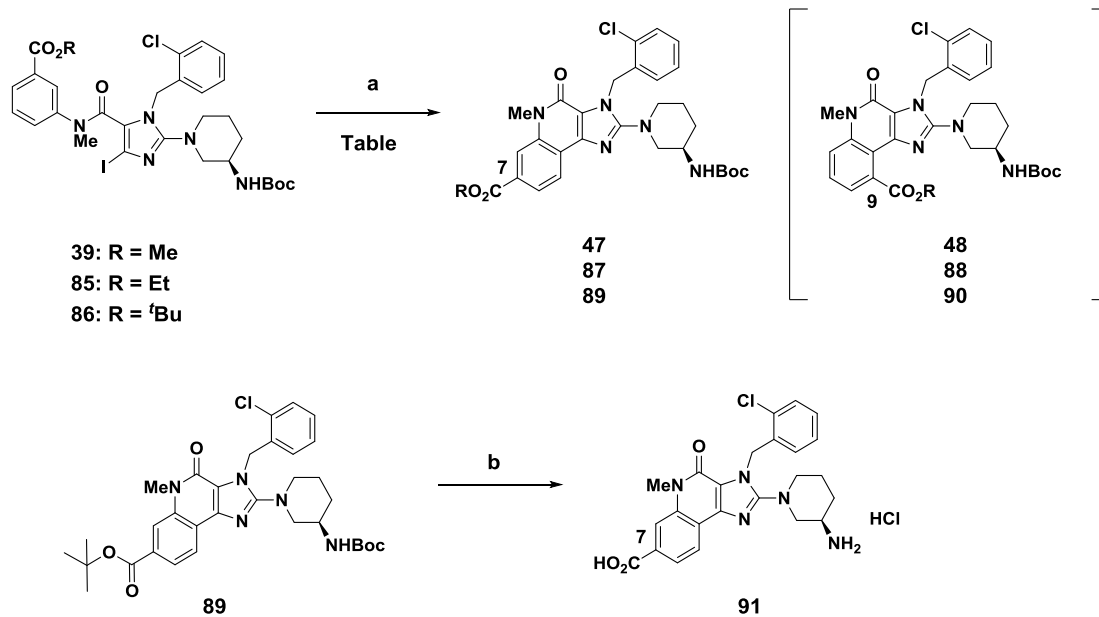
第2節 イミダゾキノリノン誘導体の合成

化合物**73**, **74**, **78**, **79**, **80**, **83**及び**84**はScheme 7に示す方法により合成した。カルボン酸**23**と種々のアニリン類を縮合し、続いて*N*-メチル化を行うことで**67**, **68**, **69**を合成した。これら化合物を用いてパラジウムを触媒とするカップリング反応を行い、良好な収率で**70**, **71**, **72**へ導いた。Boc基を塩酸で脱保護することにより**73**, **74**を得た。化合物**44**, **71**, **72**のエステル基をアルカリ加水分解し、続いてBoc基を除去することで**78**, **79**, **80**を得た。アンモニアもしくはジメチルアミンを用いたカルボン酸**76**のアミド化を行い、Boc基を除去することにより**83**, **84**を合成した。



Scheme 7. Reagents and Conditions: (a) (1) $(\text{COCl})_2$ (1.3 eq), DMF (*cat.*), CH_2Cl_2 , rt (2) DIPEA (3.0 eq), R-substituted aniline (1.3 eq), toluene, rt, **64** 48%, **65** 79%, **66** 56%; (b) K_2CO_3 (4.0 eq), MeI (4.0 eq), DMF, rt, **67** quant., **68** 82%; (c) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (10 mol%), PPh_3 (20 mol%), Ag_2CO_3 (2.0 eq), DMF, 150 °C, **70** 86%, **71** 85%, **72** 86% for 2 steps; (d) HCl, dioxane, rt., **73** 68%, **74** quant., **78** quant., **79** quant., **80** quant. for 2 steps, **83** 83%, **84** 92%; (e) 1M NaOH/MeOH/THF (1/1/1), 80 °C, **75** 81%, **76** 58%; (f) WSC·HCl (1.5 eq), HOBT (1.5 eq), TEA (1.5-3.0 eq), NH_4OH (1.5 eq), **81** 73% or $\text{NHMe}_2\cdot\text{HCl}$ (2.0 eq), DMF, rt., **82** quant.

Scheme 8. Regioselective synthesis of **91** with carboxy group at the 7-position



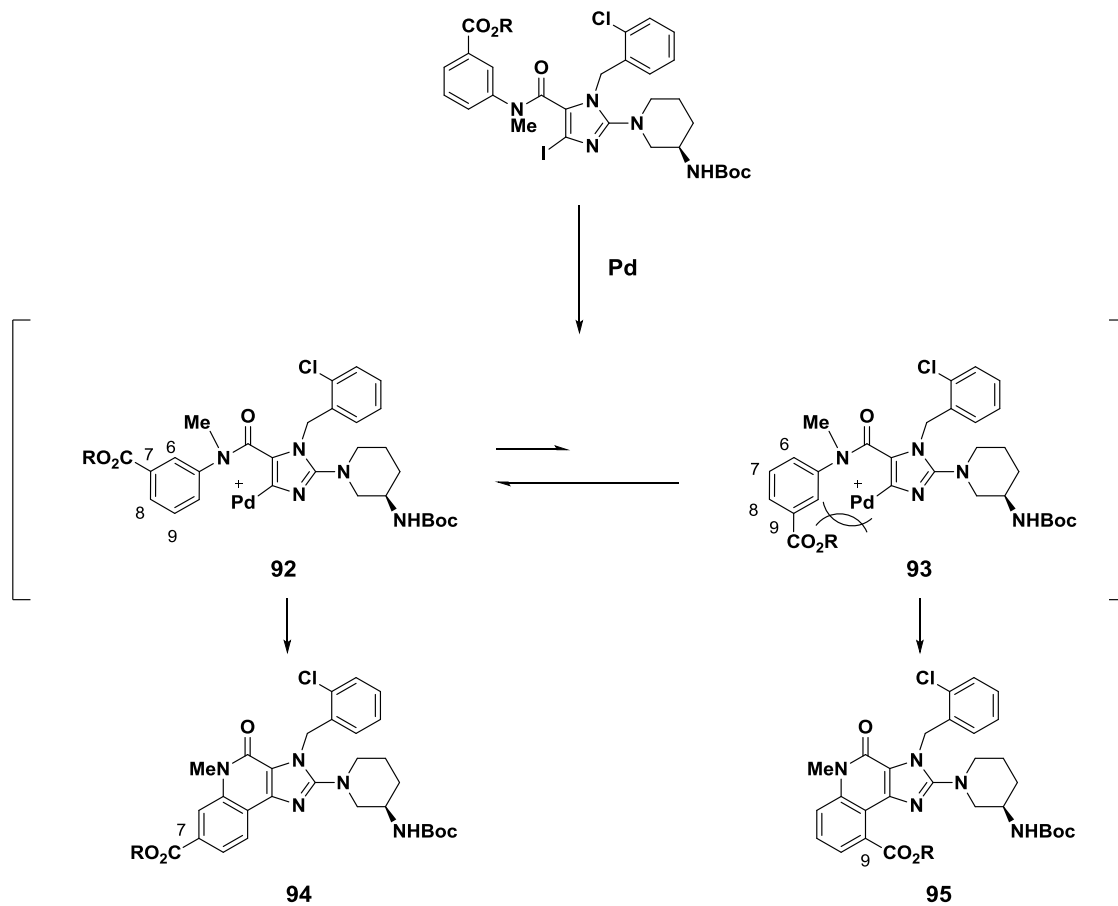
Reagents and Conditions: (a) Pd(OAc)₂ (10 mol%), PPh₃ (20 mol%), Ag₂CO₃ (2.0 eq), DMF, 150 °C; (b) HCl, dioxane, 80 °C, quant.

| Entry | Substrate | R | Product ratio ^a | Yield |
|-------|-----------|-----------------|----------------------------|------------------------------|
| 1 | 39 | Me | 47/48 4/1 | 76% (47+48) |
| 2 | 85 | Et | 87/88 14/1 | not determined |
| 3 | 86 | ^t Bu | 89/90 28/1 | 89 : 73% ^b |

^a The ratio was determined by HPLC. ^b Isolated yield.

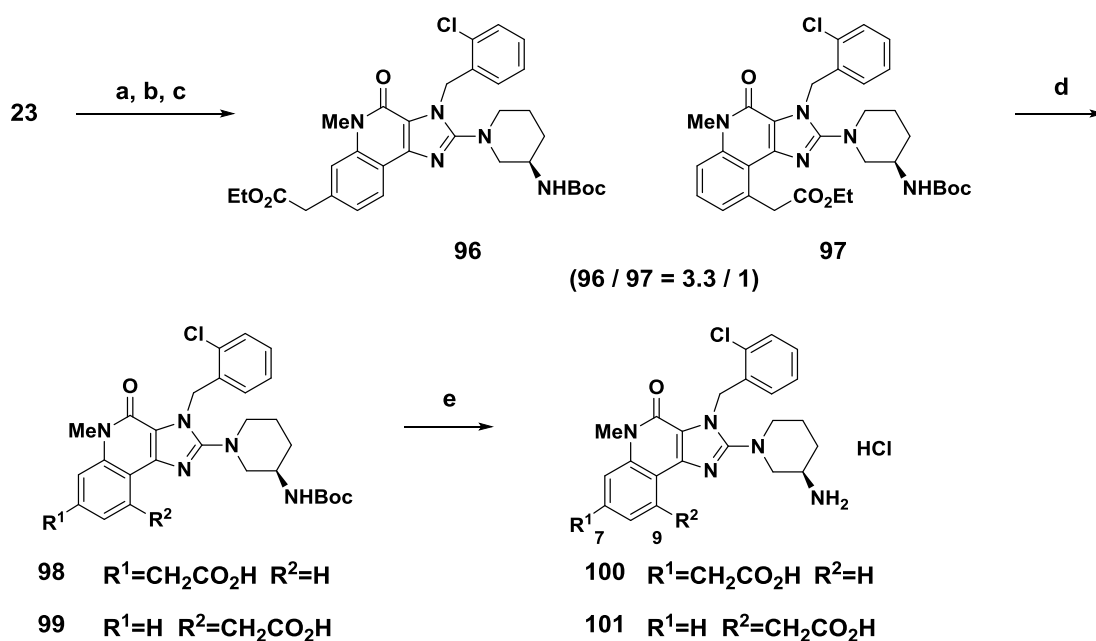
前記のように、7位に酸性官能基、特にカルボキシ基を導入することによりDPP-4阻害活性を向上させる戦略を立てた。しかしながら、メチルエステル基を有する**39**を用いたカップリング反応では**47**と**48**の混合物が得られ、これらはシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離することができなかった (**47/48** 4:1)。したがって、7-カルボン酸**91**を得るために、位置選択的合成法の確立が必要となった (Scheme 8)。反応メカニズムを考えると、アリールヨードが0価パラジウムへ酸化的付加し、続いて炭酸銀がヨウ素原子を引き抜くことで生じたカチオン性中間体**92**と**93**から環化反応は進行する (Figure 17)。7位置換体が生成するためには中間体**92**を経由するので、高い位置選択性を得るためには平衡が**92**に偏ることが必要である。パラジウムとR基の立体障害を増すことにより平衡が**92**に偏ると考え、メチルエステルよりも立体的に嵩高いエステルを用いることとした。エチルエステル**85**を用いたところ位置選択性は予想通り向上した (**87/88** 14/1, entry 2)。さらなる選択性の向上を目指し、より嵩高い*t*Buエステルを用いた。その結果、**86**を用いた分子内カップリング反応は優れた位置選択性を与えた (**89/90** 28/1, entry 3)。さらに、*t*Buエステルの混合物**89**と**90**は対応するメチルエステル (**47**, **48**)の場合と異なりシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離することができ、73%と良好な収率で**89**を単離することに成功した。**89**を80 °Cにおいて塩酸で処理することにより**91**を得た。

Figure 17. Proposed mechanism for predominantly producing 7-ester derivatives



Scheme 7, 8と同様の手法により酢酸誘導体**100**, **101**を合成した (Scheme 9)。 **23**から3工程で**96**と**97**の混合物を得た。パラジウム触媒を用いたカップリング反応の生成比は**96/97** **3.3/1**であり、それぞれをシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離可能であった。得られた**96**、**97**をアルカリ加水分解反応、続いて脱Boc化反応に付し、**100**、**101**を合成した。

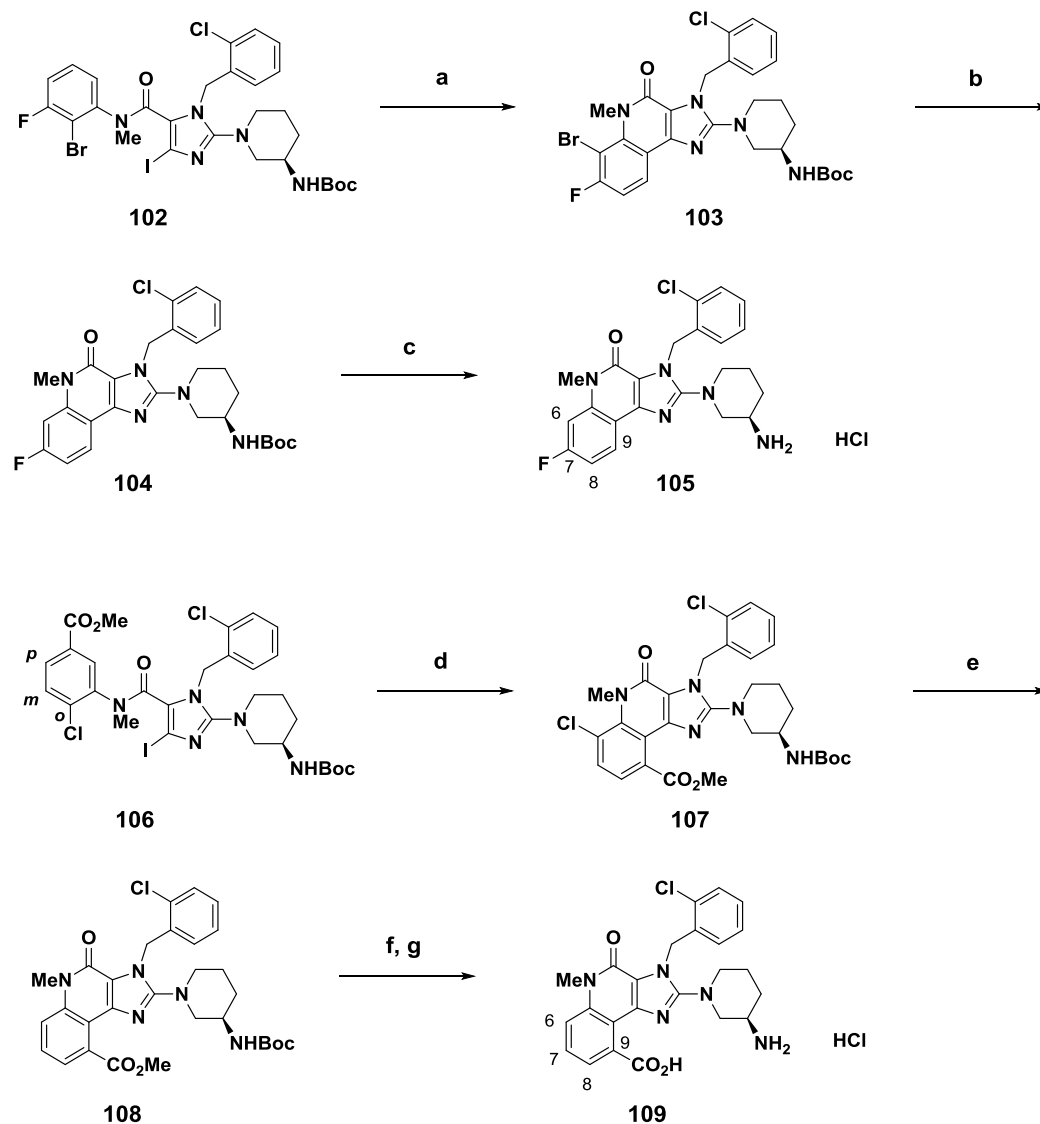
Scheme 9. Synthesis of **100** and **101**



Reagents and Conditions: (a) (1) $(COCl)_2$ (1.3 eq), DMF (*cat.*), CH_2Cl_2 , rt (2) DIPEA (3.0 eq), ethyl 2-(3-aminophenyl)acetate (1.3 eq), toluene, rt, 62%; (b) K_2CO_3 (4.0 eq), MeI (4.0 eq), DMF, rt; (c) $Pd(OAc)_2$ (10 mol%), PPh_3 (20 mol%), Ag_2CO_3 (2.0 eq), DMF, 150 °C, **96** 43% for 2 steps, **97** 13% for 2 steps; (d) 1M NaOH/MeOH/THF (1/1/1), rt; (e) HCl, dioxane, rt, **100** 88% for 2 steps, **101** 53% for 2 steps

立体的に小さい置換基を7位に有する化合物を合成する際、パラジウム触媒を用いたカップリング反応の7位/9位置換体の位置選択性に差が生じにくいこと及びシリカゲルカラムクロマトグラフィーでそれらを分離することが難しいことが予想される。したがって、次に示すようなパラジウム触媒を用いたカップリング反応の改良を行った。7位にフッ素原子を有する化合物**105**は補助基としてオルト位に臭素原子を有する**102**から合成することが可能である (Scheme 10)。すなわち、**102**を用いた分子内カップリング反応を行い**103**を単一の生成物として得て、続いて接触水素添加反応により脱臭素化を行うことで**104**を得た。塩酸を用いてBoc基を除去することにより**105**へ導くことに成功した。このハロゲン補助基を用いた改良合成法により、もう1つの課題である位置選択的な9位置換化合物の合成が達成された。すなわちオルト位に塩素原子を有する**106**を用いたカップリング反応を行い、続いて接触水素添加反応により選択的な脱塩素化が進行し**108**を得た。アルカリ加水分解反応、続く脱Boc化反応により9位置換体**109**を合成した。この選択的な脱ハロゲン化反応は、6位の臭素原子もしくは塩素原子と*N*-メチル基との間の高い立体障害を解消するために進めたと考えている。

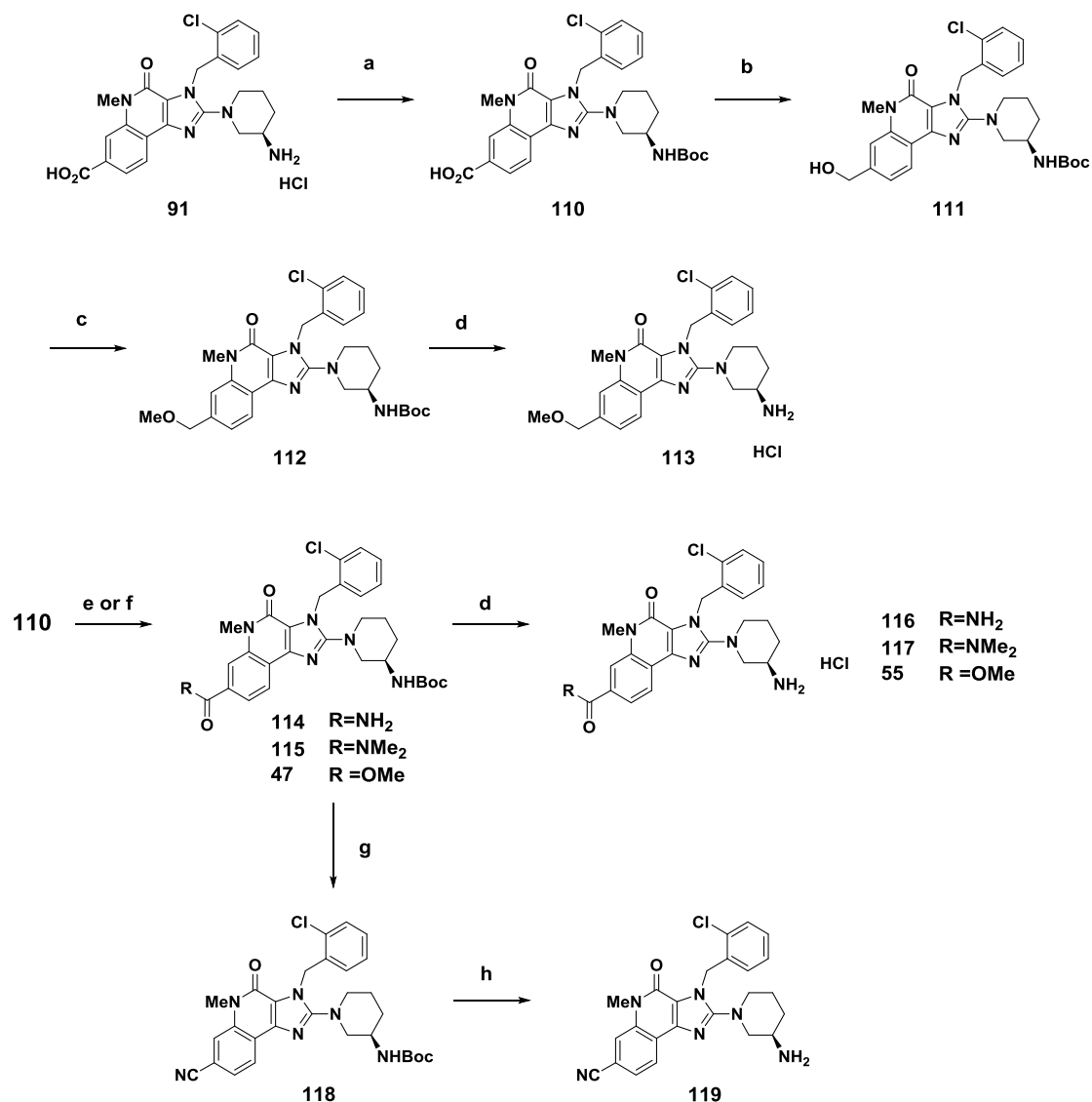
Scheme 10. Regioselective synthesis of **105** and **109**



Reagents and Conditions: (a) Pd(OAc)₂ (10 mol%), PPh₃ (20 mol%), Ag₂CO₃ (2.0 eq), DMF, 150 °C, 21%; (b) Pd/C, H₂, MeOH, rt, quant.; (c) HCl, dioxane, rt, quant.; (d) Pd(OAc)₂ (10 mol%), PPh₃ (20 mol%), Ag₂CO₃ (2.0 eq), DMF, 150 °C, 57%; (e) Pd/C, H₂, MeOH, rt, 97%; (f) 1M NaOH, THF/MeOH (1/1), rt; (g) HCl, dioxane, rt, quant. for 2 steps

Scheme 11に示すように、7位に様々な置換基を有する誘導体の合成を行った。化合物**91**のアミノ基をBoc基で保護し**110**へ導いた。化合物**110**をエチルクロロホルメート、続いて水素化ホウ素ナトリウムで処理することでヒドロキシメチル**111**を得た。**111**の水酸基をメチル化することによりメチルエーテル**112**を合成した。化合物**110**をアンモニアまたはジメチルアミンと縮合、もしくはヨードメタンを用いてメチル化を行いそれぞれ**114**、**115**、**47**へ変換した。続いて塩酸を用いてBoc基を脱保護することにより**113**、**116**、**117**、**55**を合成した。一方、**114**はトリフルオロ酢酸無水物を用いて脱水された後、トリフルオロ酢酸を用いてBoc基を脱保護することでニトリル**119**に導いた。

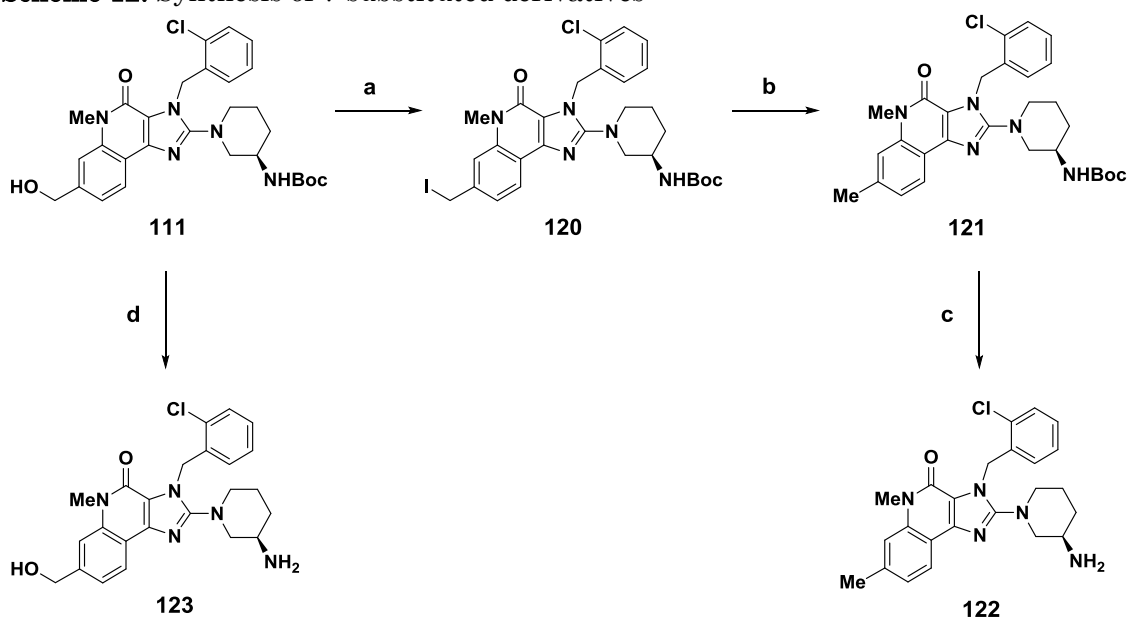
Scheme 11. Synthesis of 7-substituted derivatives



Reagents and Conditions: (a) $(\text{Boc})_2\text{O}$ (1.3 eq), *sat.* NaHCO_3 *aq.*/THF (1/1), rt, 60%; (b) ClCO_2Et (1.5 eq), TEA (2.0 eq), THF, 0 °C then NaBH_4 (3.0 eq), H_2O , rt, 57%; (c) NaH (1.2 eq), MeI (1.2 eq), DMF, rt, 86%; (d) HCl, dioxane, rt, **113**, **116**, **117**, **55** quant.; (e) WSC·HCl (1.5 eq), HOBT (1.5 eq), TEA (1.5 eq), NH_4OH (1.5 eq) or $\text{NHMe}_2\cdot\text{HCl}$ (2.0 eq), DMF, rt, **114** 80%, **115** quant.; (f) MeI (2.0 eq), K_2CO_3 (3.0 eq), DMF, rt, **47** quant.; (g) TFAA (4.5 eq), THF, 65 °C then K_2CO_3 (4.0 eq), MeOH, rt, 44%; (h) TFA, CHCl_3 , rt, then *sat.* NaHCO_3 *aq.*, 88%

また、化合物**111**のヒドロキシル基をヨウ素化し、水素化ホウ素ナトリウムでヨウ素原子を還元することにより7位メチル体**121**を得た (Scheme 12)。最後に酸を用いてBoc基を除去することにより**122**、**123**を合成した。

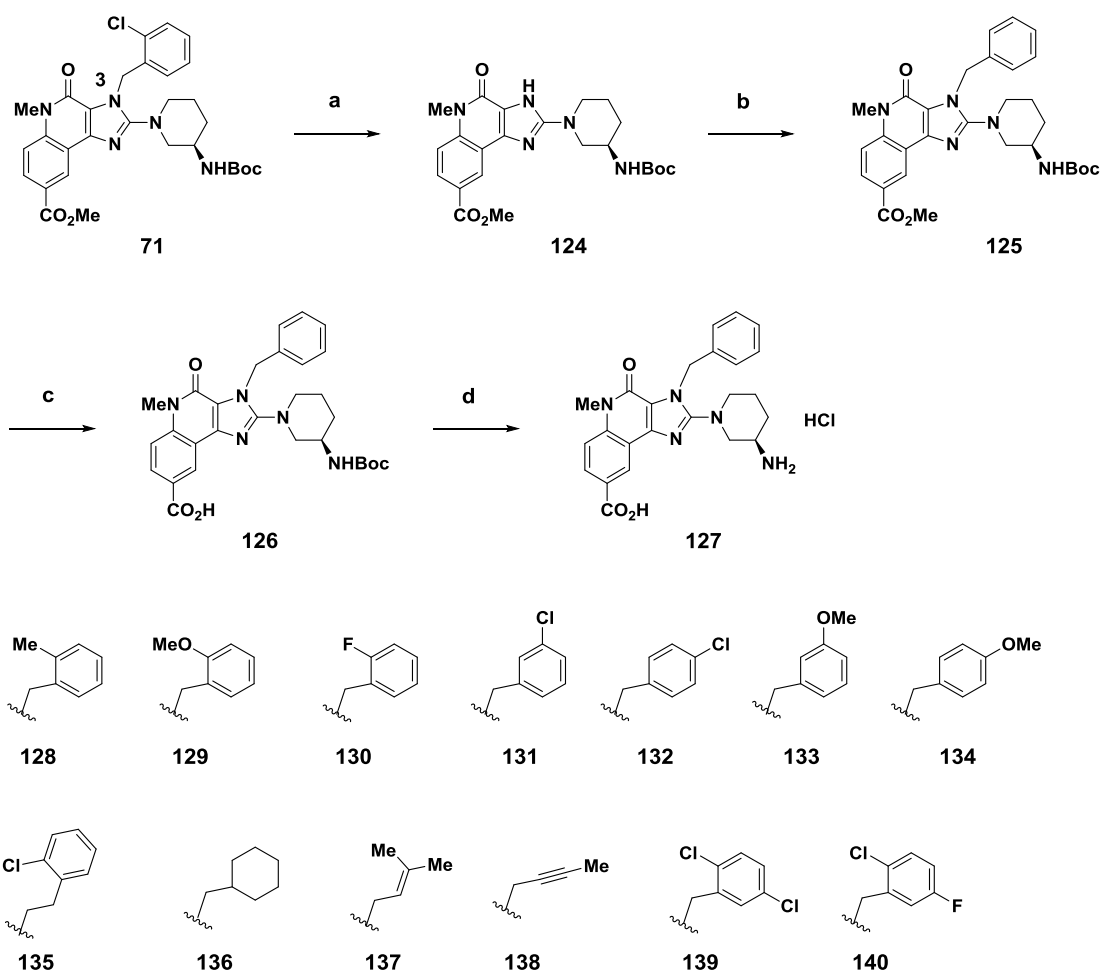
Scheme 12. Synthesis of 7-substituted derivatives



Reagents and Conditions: (a) I₂ (2.0 eq), imidazole (2.5 eq), PPh₃ (1.5 eq), THF, rt, 25%; (b) NaBH₄ (3.0 eq), DMSO, 50 °C, 91%; (c) HCl, dioxane, rt then *sat.*NaHCO₃ *aq.*, quant.; (d) (1) TFA, CHCl₃, rt (2) K₂CO₃ (3.0 eq), MeOH, rt, 75%

3位の置換基変換をScheme 13に示す。中量合成法が確立していたこと及び短工程で目的物を合成することができることから71を用いて置換基変換を行った。化合物71をメタノール溶媒中、パラジウム-炭素、ギ酸アンモニウムを用いて加熱還流下、加水素分解反応を行うことにより高収率で124を得た。ベンジルブロミドを用いて3位のベンジル化を行い、エステル基をアルカリ加水分解し、続いてBoc基を除去することにより化合物127を得た。127の合成法と同様に、化合物124と種々のアリールメチルハライドから化合物128-140を合成した。

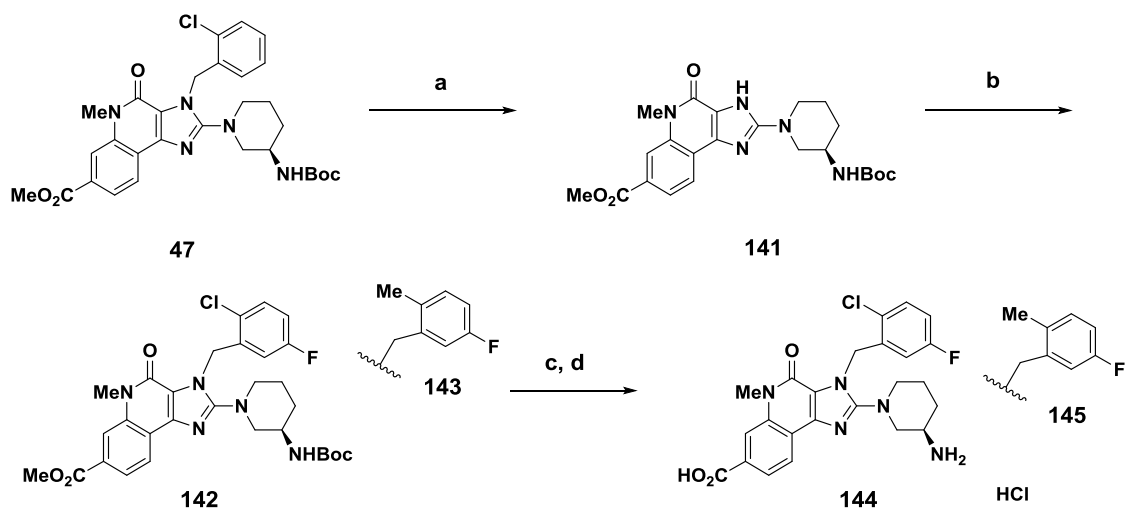
Scheme 13. Conversion of substituents at the 3-position in 8-carboxy derivatives



Reagents and Conditions: (a) Pd/C, HCO₂NH₄ (10 eq), MeOH, reflux, 83%; (b) benzyl bromide or R-halide (2.0 eq), K₂CO₃ (3.0 eq), DMF, 60 °C, 99%; (c) 1M NaOH/THF/MeOH (1/1/1), rt, 54%; (d) HCl, dioxane, rt, **127** quant., **128** 70%, **129** 11%, **130** 55%, **131** 54%, **132** 86%, **133** 78%, **134** 54%, **135** 25%, **136** 60%, **137** 17%, **138** 41%, **139** 40%, **140** 75% for 3 steps

Scheme 13と同様の手法により、化合物**47**を脱ベンジル化、アルキル化、脱Boc化反応に付すことにより**144**、**145**へ導いた (Scheme 14)。

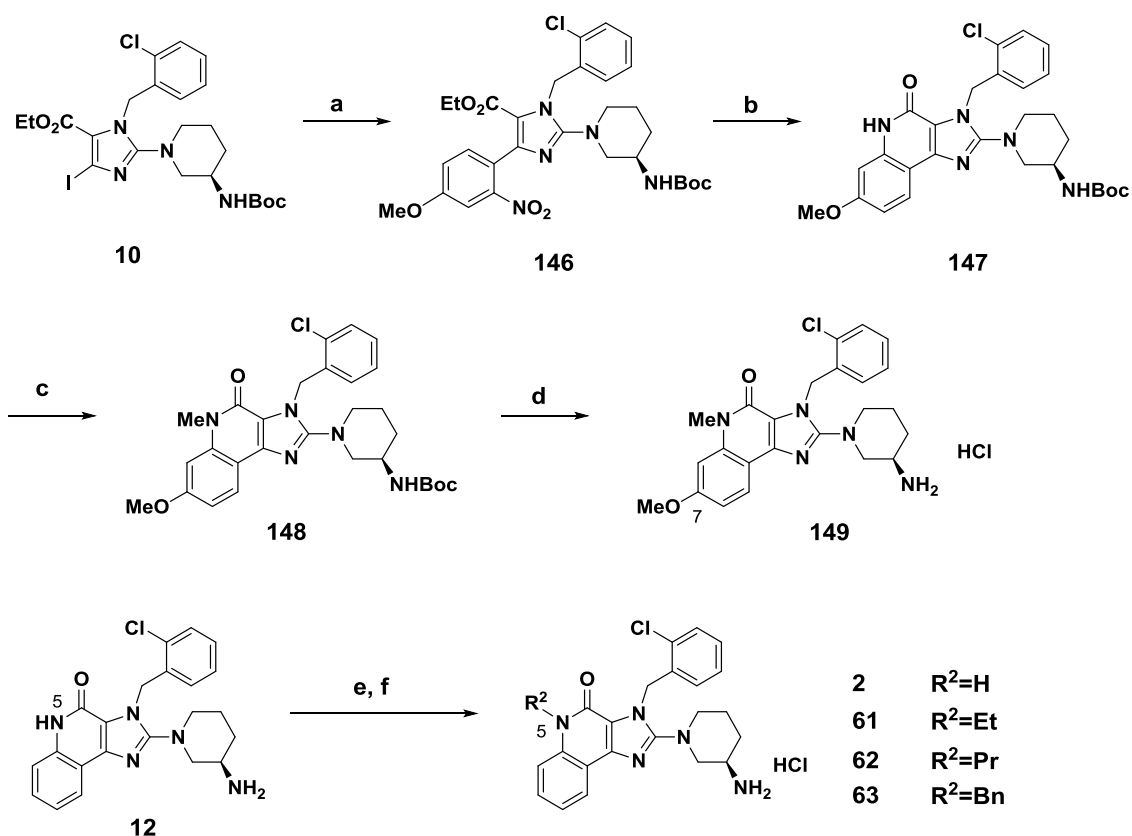
Scheme 14. Synthesis of 144 and 145



Reagents and Conditions: (a) Pd/C, HCO₂NH₄ (10 eq), MeOH, reflux, 54%;
(b) 2-chloro-5-fluorobenzyl bromide or 5-fluoro-2-methylbenzyl bromide (2.0 eq), K₂CO₃ (3.0 eq), DMF, 60 °C, **142** 71%, **143** 66%; (c) 1M NaOH/THF/MeOH (1/1/1), rt; (d) HCl, dioxane, rt, **144** 90%, **145** 84%

5位へ種々のアルキル基を導入、もしくは7位にメトキシ基を導入するための合成ルートをScheme 15に示す。化合物**10**と2-(4-メトキシ-2-ニトロフェニル)-4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロランを用いた鈴木-宮浦クロスカップリング反応により**146**へ導き、還元鉄を用いてニトロ基をアミノ基に変換、その後速やかに生じる分子内アミド化反応により**147**を得た。化合物**147**をDMF溶媒中、炭酸カリウムとヨードメタンで処理することにより**148**へ導いた。塩酸を用いてBoc基を脱保護することにより、化合物**2**、**149**を合成した。種々のアルキルハライドを用いて、**12**の*N*-アルキル化を行い、Boc基を除去することにより**61**、**62**、**63**を得た。

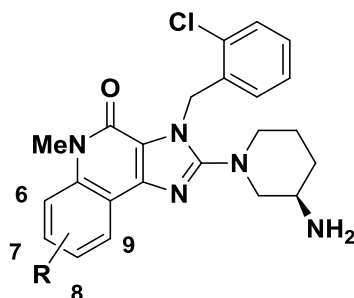
Scheme 15. Alternative synthetic route to **2**, **61-63** and **149**



Reagents and Conditions: (a) Pd(PPh₃)₄ (10 mol%), Na₂CO₃ (2.0 eq), 2-(4-methoxy-2-nitrophenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (1.5 eq), DME-H₂O (1/1), reflux, 89% ; (b) Fe (6.0 eq), AcOH, 80 °C; (c) K₂CO₃ (2.0 eq), MeI (2.0 eq), DMF, 74% for 2 steps (d) HCl, dioxane, rt, **2** 83%, **149** 89%; (e) (1) R²-halide (3.0 eq), K₂CO₃ (3.0 eq), DMF, rt; (f) HCl, dioxane, rt, **61** 73%, **62** 60%, **63** 69% for 2 steps

第3節 イミダゾキノリノン誘導体の生物活性及び考察

7位にカルボキシ基などの酸性官能基を導入することにより、Lys554側鎖とイオン結合を形成するため、最も効果的にDPP-4タンパクとの親和性が向上するという仮説（第2章第1節）を検証するために、Table 6に示した化合物のDPP-4阻害活性を評価した。カルボン酸**78**は化合物**3**と比較してわずかに阻害活性が向上したものの、6位置換基の阻害活性に対する効果はほとんど認められなかった。7位置換基において、疎水性のフッ素基（**105**）やフェニル基（**54**）はわずかに活性が向上したが、メチル基（**122**）は化合物**3**に対して、約3倍阻害活性が減弱した。このように、疎水性置換基は阻害活性向上に寄与しなかった。続いて、親水性置換基について評価を行った。メトキシ基を有する**149**は**3**と比較して、約2倍阻害活性が向上し、**149**にメチレンリンカーを導入した**113**やヒドロキシメチル基を有する**123**はさらに**149**よりも約3倍阻害活性が向上した。メチルエステル（**55**）、カルバモイル（**116**）、ジメチルアミド（**117**）は、IC₅₀がそれぞれ16, 12, 10 nMと良好な活性を有していた。加えて、シアノ基を導入したところ、さらなる阻害活性の向上が認められた（**119**, IC₅₀ 6.3 nM）。特に、カルボキシ基は劇的に阻害活性が向上し、そのIC₅₀値は**3**より64倍向上し1.6 nMに達した（**91**）。もう1つの酸性置換基である酢酸基もまた阻害活性が向上した（**100**, 3.8 nM）。次に8位置換基のSARについて述べる。メトキシ基（**57**）やメチル基（**58**）を導入したところ、DPP-4阻害活性は向上しなかった。フッ素原子（**56**）、ジフルオロメトキシ基（**73**）はわずかに阻害活性が向上したのに対して、メチルエステル（**74**）、アミド（**83**, **84**）は良好なDPP-4阻害活性を示した。興味深いことに、7位置換基の場合と同様、カルボキシ基（**79**）は著しく阻害活性を向上した。また、酢酸誘導体**80**ではさらに阻害活性が向上した。9位酢酸誘導体（**101**）は17 nMの阻害活性を示したが、9位におけるカルボン酸の効果は7位や8位の場合より大きくなかった。以上より、7位、8位に親水性官能基、特にカルボキシ基を導入することにより阻害活性は著しく向上した。

Table 6. *In vitro* activity of the synthesized DPP-4 inhibitors

| Compound | R | h-DPP-4 IC ₅₀ (nM) | Compounds | R | h-DPP-4 IC ₅₀ (nM) |
|------------|-----------------------|----------------------------------|------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| 52 | 6-OMe | 660 | 91 | 7-CO ₂ H | 1.6 |
| 53 | 6-CO ₂ Me | 271 | 100 | 7-CH ₂ CO ₂ H | 3.8 |
| 78 | 6-CO ₂ H | 72 | 57 | 8-OMe | 90 |
| 105 | 7-F | 66 | 58 | 8-Me | 94 |
| 54 | 7-Ph | 72 | 56 | 8-F | 56 |
| 122 | 7-Me | 340 | 73 | 8-OCHF ₂ | 60 |
| 149 | 7-OMe | 66 | 74 | 8-CO ₂ Me | 21 |
| 113 | 7-CH ₂ OMe | 17 | 83 | 8-CONH ₂ | 14 |
| 123 | 7-CH ₂ OH | 22 | 84 | 8-CONMe ₂ | 13 |
| 55 | 7-CO ₂ Me | 16 | 79 | 8-CO ₂ H | 5.8 |
| 116 | 7-CONH ₂ | 12 | 80 | 8-CH ₂ CO ₂ H | 3.5 |
| 117 | 7-CONMe ₂ | 10 | 109 | 9-CO ₂ H | 54 |
| 119 | 7-CN | 6.3 | 101 | 9-CH ₂ CO ₂ H | 17 |

強力な阻害活性を示した化合物**91**とDPP-4タンパクの相互作用を推定し更なる構造最適化を進めるために、ドッキング解析を試みた (Figure 18)。化合物**91**は化合物**3**と同様の結合様式を示し、7位カルボキシ基とLys554側鎖の距離は2.78 Åであった。したがって、7位カルボキシ基がLys554側鎖とイオン結合を形成することが示唆された。この相互作用が著しい阻害活性の向上に寄与したとすると酢酸基を有する化合物**100**もまた同様の相互作用を形成すると考えられる。メトキシメチル基 (**113**)、またはヒドロキシメチル基 (**123**) の酸素原子とLys554側鎖の水素結合は阻害活性を向上させた。親水性置換基は許容されたが、イオン結合と比較してLys554側鎖との相互作用が弱いと考えると、カルボキシ基や酢酸基よりも阻害活性が低下する理由が説明できる。続いて、8位カルボン酸とDPP-4タンパクとの相互作用を検証するために、化合物**80**を用いてドッキング解析を行った (Figure 19)。8位近傍において、カルボキシ基や酢酸基と直接相互作用をする位置にアミノ酸側鎖は存在していないが、Lys554, Arg560, Asp556, Tyr456, Arg429, そしてTyr585の側鎖により囲まれた親水性領域が存在している。したがって、親水性置換基が許容されたと考えている。特に、カルボキシ基や酢酸基を導入することにより、著しい阻害活性の向上が達成された。このシュミレーションでは8位酢酸基はArg560の近くに位置しているが、その距離は4.71 Åであり、直接相互作用をするには距離が離れている。**80**の酢酸基は水分子を介してArg560と相互作用を形成し、それにより阻害活性が向上した可能性がある。このように、イミダゾキノリン誘導体において7位もしくは8位にカルボキシ基を導入することで特徴的な相互作用が形成され著しい阻害活性向上が実現されたと考えられる。

Figure 18. Docking structure of **91** in the active site from 2RGU of DPP-4.

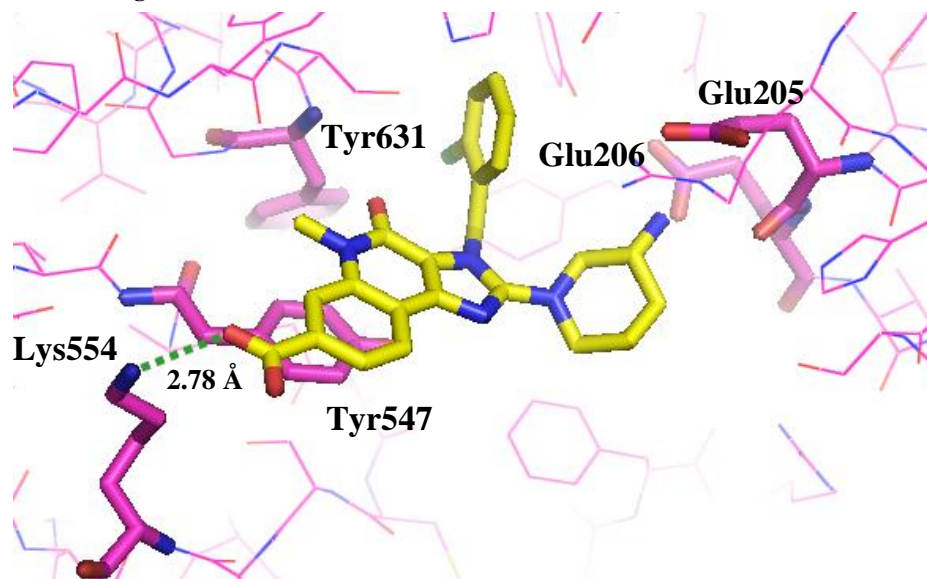
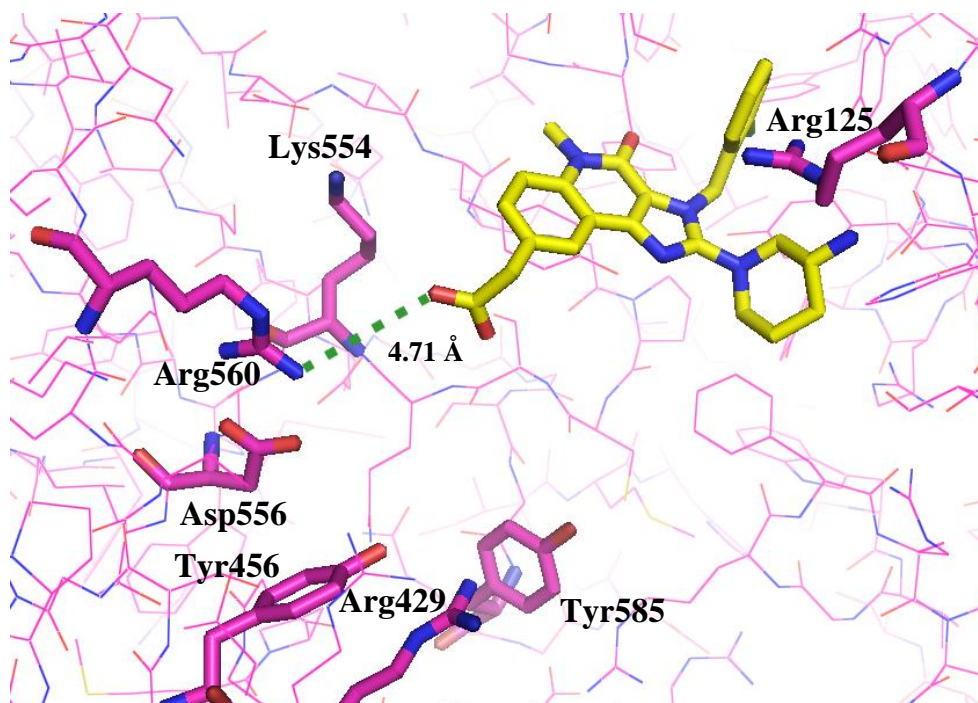
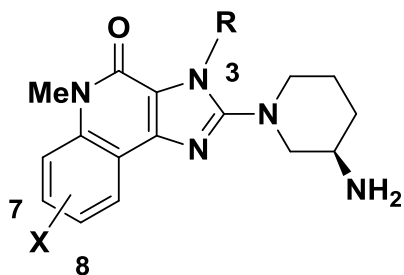


Figure 19. Docking structure of **80** in the active site from 2RGU of DPP-4.



最後に、さらなる阻害活性の向上を目指し、7位もしくは8位にカルボキシ基を有する化合物を用いて、S1ポケットを占有する3位置換基の最適化を実施した (Table 7)。まず、ベンジル基上の置換基効果を検証した。化合物**79**のオルト位クロロ基は水素原子 (**127**) と比べて約10倍阻害活性を向上させた。次に、オルト位の置換基効果を検証した。メチル基 (**128**) はクロロ基と同程度の阻害活性を示したのに対して、メトキシ基 (**129**)、フッ素原子 (**130**) は許容されなかった。このことから、S1ポケットにおける置換基のサイズはDPP-4阻害活性に重要であり、塩素原子もしくはメチル基程度の大きさが好まれた。加えて、望ましい置換位置は、オルト (**79, 128**) >メタ (**131, 133**) >パラ (**132, 134**) であった。ベンジル基を他の置換基へ変換したところ、2-クロロフェネチル基 (**135**) やシクロヘキシルメチル基 (**136**) で著しく阻害活性が低減した。Linagliptinや他のDPP-4阻害薬でS1ポケットを占有すると考えられている置換基を導入したが、**137**や**138**の阻害活性は著しく減弱した。上記知見に基づき、例えば2-クロロまたは2-メチルベンジル基のような2位に置換基を有するベンジル基上に新たに置換基を導入し、S1ポケットの占有を更に高めることにより、DPP-4阻害活性は向上すると考えた。2位に置換基を有するベンジル基によりS1ポケットはほとんど占有されているものの入口に空間がわずかに残っていることをドッキング解析は示唆したこと、ベンジル基の5位へ置換基を導入することが可能であると推測した。2,5-ジクロロベンジル基 (**139**) は**79**と比べてわずかに阻害活性を低減させたが、このことは塩素原子がその入口の空間よりもわずかに大きいためであり、次により小さなフッ素原子を導入することを試みた。5-フルオロ-2-クロロベンジル基を導入したところ、**79**と比較して**140**はわずかに阻害活性が向上した (IC₅₀ 4.8 nM)。したがって、3位の最もふさわしい置換基は5-フルオロ-2-クロロベンジル基であると結論付けた。さらに阻害活性を向上するために、5-フルオロ-2-クロロベンジル基を7位にカルボキシ基を有する化合物、例えば**91**に導入した。その結果、イミダゾキノリノン誘導体において最も強力な阻害活性を示す**144**を見出した (IC₅₀ 0.48 nM)。また、5-フルオロ-2-メチルクロロベンジル基を有する**145**もIC₅₀ 値0.55 nMと強力な阻害活性を示した。ドッキング解析において、導入したフッ素原子の効果はArg125側鎖と水素結合による相互作用及びS1ポケットを完全に占有した結果、疎水性相互作用の向上に寄与したものであることが示唆された。

Table 7. *In vitro* activity of DPP-4 inhibitors with various moiety at the 3-position.



| Compound | X | R | h-DPP-4 IC ₅₀ (nM) |
|----------|---------------------|-------------------------|----------------------------------|
| 79 | 8-CO ₂ H | 2-chlorobenzyl | 5.8 |
| 127 | - | benzyl | 64 |
| 128 | - | 2-methylbenzyl | 11 |
| 129 | - | 2-methoxybenzyl | 38 |
| 130 | - | 2-fluorobenzyl | 160 |
| 131 | - | 3-chlorobenzyl | 110 |
| 132 | - | 4-chlorobenzyl | >10000 |
| 133 | - | 3-methoxybenzyl | 150 |
| 134 | - | 4-methoxybenzyl | 6900 |
| 135 | - | 2-chlorophenethyl | 3500 |
| 136 | - | cyclohexylmethyl | 8900 |
| 137 | - | methylbut-2-enyl | 51 |
| 138 | - | but-2-ynyl | 90 |
| 139 | - | 2,5-dichlorobenzyl | 25 |
| 140 | - | 2-chloro-5-fluorobenzyl | 4.8 |
| 144 | 7-CO ₂ H | 2-chloro-5-fluorobenzyl | 0.48 |
| 145 | - | 5-fluoro-2-methylbenzyl | 0.55 |

強力なDPP-4阻害活性を示した有望化合物**79**, **140**, **91**, **144**のDPP-2, DPP-8, DPP-9, そしてFAP α を含むDPP-4類縁酵素に対する選択性について評価を行い、その結果を市販のDPP-4阻害薬の値と比較した (Table 8)^{35,36}。VildagliptinとSaxagliptinは、DPP-8, DPP-9に対しても阻害活性を示し、DPP-4に対する選択比は約30倍であった。一方、著者らが見出した化合物**79**, **140**, **91**, **144**はDPP-8, DPP-9に対して100 μ Mでも阻害活性を示さなかった。Linagliptinは、FAP α を阻害し、そのIC₅₀は89 nMであったのに対して、化合物**79**, **140**, **91**, **144**はFAP α に対して非常に弱く阻害活性を示すものの、そのDPP-4に対する選択比はLinagliptinをはるかに上回る結果であった (6250倍以上)。DPP-2に対しても化合物**79**, **140**, **91**, **144**は阻害活性を示さなかった。以上のように、化合物**79**, **140**, **91**, **144**はDPP-4類縁酵素に対して優れた選択性を有する。加えて、8位にカルボキシ基を有する化合物**79**, **140**は優れた選択性を有するAlogliptinと同程度の強力なDPP-4阻害活性を有し、Sitagliptinよりも3倍以上の強力な活性を示した。また、化合物**91**, **144**はAlogliptinよりもそれぞれ8倍、2.5倍以上の強力な阻害活性を示した。

Table 8. DPP-4 inhibitory activity of **79**, **140**, **91** and **144** and other marketed drugs (IC₅₀ nM)

| Compound | DPP-4 | FAP α | DPP-2 | DPP-8 | DPP-9 |
|--------------|-------|--------------|----------|----------|----------|
| 79 | 5.8 | >100,000 | >10,000 | >100,000 | >100,000 |
| 140 | 4.8 | 30,000 | >10,000 | >100,000 | >100,000 |
| 91 | 1.6 | 20,400 | >10,000 | >100,000 | >100,000 |
| 144 | 0.48 | 30,600 | >10,000 | >100,000 | >100,000 |
| Vildagliptin | Ki=3 | NA | >500,000 | Ki=810 | Ki=95 |
| Saxagliptin | 3.37 | NA | >30,000 | 244 | 104 |
| Linagliptin | 1.0 | 89 | >100,000 | >40,000 | >10,000 |
| Alogliptin | 4 | >100,000 | >100,000 | >100,000 | >100,000 |
| Sitagliptin | 18 | >100,000 | >100,000 | 48,000 | >10,000 |

Note: NA, Not available

次に、心毒性リスクを評価するために、化合物**79**, **140**, **91**, **144**のhERGチャネル阻害の評価を行った (Table 9)⁴⁹。メトキシメチル基やシアノ基を有する化合物**113**, **119**はhERGチャネルを阻害し、そのIC₅₀値はそれぞれ1.81, 1.20 μMであった。一方、化合物**79**, **140**, **91**, **144**では問題となるhERGチャネル阻害活性は認められなかった (IC₅₀>10 μM)。薬物誘発リン脂質症はリン脂質が細胞内に蓄積する現象であり、様々な器官に生じ炎症反応などの組織学的変化を示し、化合物の脂溶性と塩基性に関連した毒性である⁵⁰。陰性対照 (DMSO; ジメチルスルホキシド)のリン脂質取り込みに対して陽性対照 (Propranolol, 30 μM)のリン脂質取り込みの比率を算出し、陽性対照のリン脂質取り込みに対する化合物**79**, **140**, **91**, **144**のリン脂質取り込みの比率を算出した。その値が50%以上を陽性、25~50%を擬陽性、25%以下を陰性とし判定を行った⁵¹。化合物**113**, **119**は3 μMの濃度で取り込み比率が33%、37%をそれぞれ示したが、化合物**79**, **140**, **91**, **144**は30 μMの濃度でさえも、その値は低値であり、リン脂質症を誘発するリスクを示さなかった。また、これら化合物は酵素誘導やCYP (Cytochrome P450)阻害 (IC₅₀>50 μM; 1A2, 2A6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4)を示さなかった。化合物**79**, **140**, **91**, **144**はカルボキシ基とアミノ基を有し、双性イオン⁵²を形成するため親水性が高い (cLogD(7.4) 1.6-1.9)。したがって、高いin vitro安全性プロファイルを達成するには脂溶性を低減することが可能なカルボキシ基の導入が必須と考えられる。以上より、強力なDPP-4阻害活性、類縁酵素に対する優れた選択性及び高いin vitro安全性プロファイルを有する化合物**79**, **140**, **91**, **144**を見出した。

Table 9. in vitro safety profiles

| Compound | hERG | Phospholipidosis | CYP inhibition | cLogD(7.4) |
|------------|-----------------------|--|---|------------|
| | IC ₅₀ (μM) | %Ratio To Positive Control (propranolol) Mean (3, 30μM) | IC ₅₀ (nM) (1A2, 2A6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4) | |
| 113 | 1.81 | 33%, * | NA | 3.6 |
| 119 | 1.20 | 37%, * | NA | 3.1 |
| 79 | >10 | 0.13%, 0.07% | >50 | 1.6 |
| 140 | >10 | 0.18%, 0.13% | >50 | 1.7 |
| 91 | >10 | 0.2%, 0.1% | >50 | 1.9 |
| 144 | >10 | 0.14%, 0.08% | >50 | 1.9 |

Note: NA, Not available * 細胞毒性

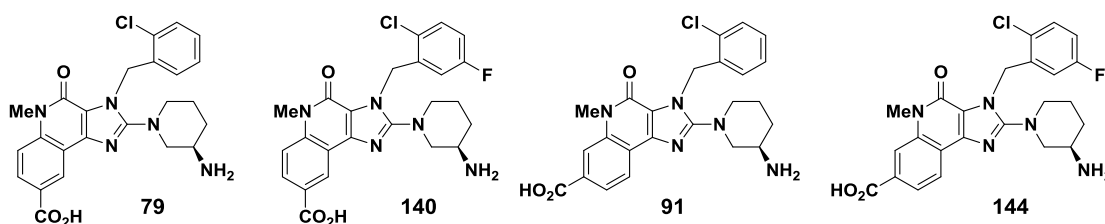
第3章 新規イミダゾキノリノン誘導体の最適化研究：プロドラッグ化による経口吸収性の改善及び優れた抗糖尿病効果を示す化合物の創出

第1節 経口吸収性改善に向けた方策

第2章で見出した化合物**79**, **140**, **91**, **144**には経口吸収性が乏しいという大きな課題があった。おそらくカルボキシ基とアミノ基が分子内で双性イオンを形成しているため、膜透過性が低いことが原因と推測している。実際、ラットPK試験において、化合物**79**と**91**はそれぞれ<0.1%, 2.7%の生物学的利用能 (bioavailability ; BA) であった (Table 10)。しかしながら、これら化合物は非常に強力なDPP-4阻害活性、類縁酵素に対する優れた選択性と高いin vitro安全性プロファイルを有していることから、血中に暴露することができれば魅力的な化合物であり、開発候補化合物になりえると考えられた。加えて、ヒト及びラット肝ミクロソーム中で安定性であり、そのクリアランス値はそれぞれ<0.01, <0.01 (mL/min/mg protein)であり肝代謝による消失ではないと考えた。これらのことから、何らかの手法により膜透過性を改善することができれば、経口吸収性が向上することが期待される。そこで、化合物**79**, **140**, **91**, **144**に対して、消化管では安定だが肝臓、もしくは血中で速やかに分解する官能基でカルボン酸をエステル化するプロドラッグ戦略によりこの課題を解決することを試みた。

Table 10. Compounds **79**, **140**, **91** and **144** membrane permeability ,metabolic property and BA in rat

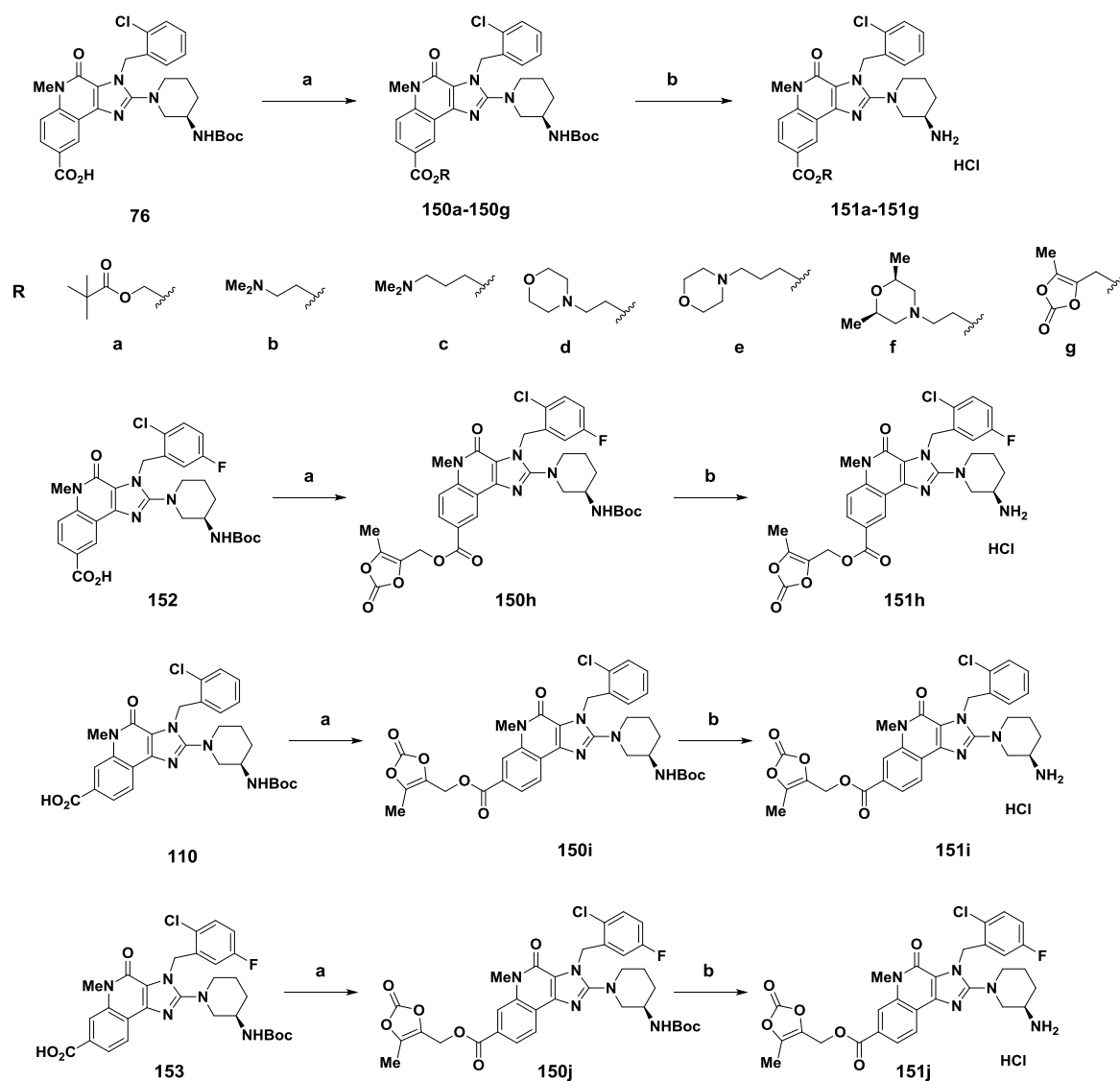
| Compound | PAMPA | Rat PK BA (%) | MS |
|------------|---|------------------|----------------------------------|
| | Pe(10 ⁻⁶ cm/s) pH 5.0 / 7.4 | | mL/min/mg protein human / rat |
| 79 | <0.1 / <0.1 | <0.1 | <0.01 / <0.01 |
| 140 | <0.1 / <0.1 | not determined | <0.01 / <0.01 |
| 91 | <0.1 / <0.1 | 2.7 | <0.01 / <0.01 |
| 144 | 0.6 / <0.1 | not determined | <0.01 / <0.01 |



第2節 エステルプロドラッグの合成

*in vitro*代謝安定性試験においてヒト肝S9、もしくは血清中で速やかにカルボン酸へ代謝されるエステルに焦点を当て、化合物**79**, **140**, **91**, **144**のエステルプロドラッグ**151a–151j**を合成した (Scheme 16)。中間体**76**, **152**, **110**, **153**と種々のアルキルハライドを用いてアルキル化を行い化合物**150a–150j**を合成した。塩酸を用いてBoc基を除去することによりエステルプロドラッグ**151a–151j**を得た。

Scheme 16. Preparation of the prodrugs **151a - 151j**^a.



^aReagents and conditions: (a) R-halide, K_2CO_3 , DMF, 34%-quant.; (b) HCl, 1,4-dioxane, 70%-quant.

第3節 エステルプロドラッグの最適化と考察及び化合物**151g**の創製

一般的に、投与された薬物が体内で代謝を受けることにより薬理活性を持つ化合物（活性代謝体）に変換され、薬理効果を発揮するように化学的に修飾された薬がプロドラッグである。その利点としては、経口吸収性の向上、副作用の低減、作用の持続化などが挙げられる。初めに、化合物**79**、**140**、**91**、**144**を活性代謝体とするエステルプロドラッグ戦略のコンセプトを確認した。すなわち、異なった位置にカルボキシ基を有する**79**と**91**を活性代謝体として用い、メチルエステル**74**と**55**の*in vitro*代謝特性について評価した (Table 11)。

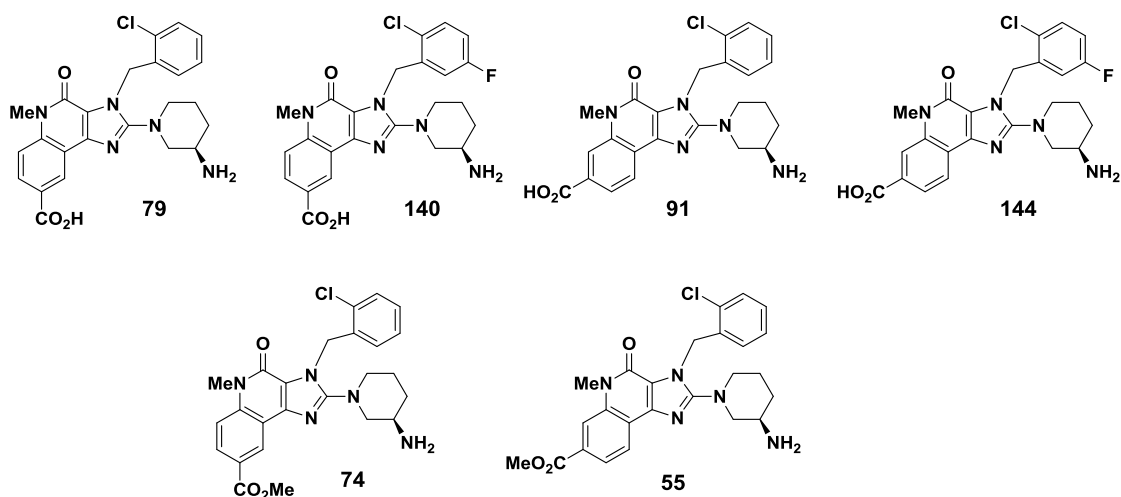


Figure 20

化合物**74**はラット血清中で安定性な傾向を示したが、肝S9中で速やかに代謝され活性代謝体**79**を生じた。一方、**55**はラット肝S9中で安定であったが、血清中では不安定であった。どちらの場合も、それぞれ活性代謝体**79**または**91**のみが生成し、他の副生成物は確認されなかった。**74**と**55**は異なった代謝特性を示したが、その代謝特性からラットに経口投与後、両化合物はともに血漿中に残存しないことが期待された。**79**と**91**の膜透過性をparallel artificial membrane permeability assay (PAMPA, pH 5.0/7.4, 10^{-6} cm/s)で評価したところ、それぞれ<0.1, <0.1と低値であったのに対して、**74**と**55**の膜透過性はエステル化することにより著しく増加し、その値はそれぞれ34.1/47.4, 36.2/41.4であった。

Table 11. Compounds **74** and **55** membrane permeability and metabolic properties in the rat (r-) and human (h-) sera and liver S9 fractions

| Prodrug | Active metabolite | Remaining ratio (%) ^a | | | | PAMPA Pe (10^{-6} cm/s) | |
|-----------|-------------------|----------------------------------|------------|------------|-----------|----------------------------|--|
| | | r-liver S9 | r-serum | h-liver S9 | h-serum | pH 5.0/7.4 | |
| 74 | 79 | <0.5 | 72 | >99 | 80 | 34.1/47.4 | |
| 55 | 91 | 70 | 8.4 | >99 | 92 | 36.2/41.4 | |

^aCompounds were incubated at 37 °C for 30 min.

次に、活性代謝体**79**と**91**と対応するプロドラッグ**74**と**55**の経口吸収性と血漿中濃度をラットを用いて評価した (Figure 21)。化合物**74**を経口投与したところ、**79**のBAはわずか2.4%であった。予想外に、血漿中にエステル体**74**が残存し、そのAUCは**79**のそれと比較して6.3倍大きかった。一方、**55**を経口投与したとき、**91**は高い血漿中濃度は示し、そのBAは90%であった。血漿中にエステル体**55**はごくわずかに残存したが、6時間後以降は定量限界未満であり (LOQ; 1.0 ng/mL)、そのAUCは**91**と比べて0.1倍であった。アミノ基を有し、脂溶性の高いエステルが血漿中に暴露することは、好ましくないと考えている。なぜなら、そのような化合物はヒトにおいてhERGチャネル阻害、Mechanism based inhibition (MBI)、薬剤誘発リン脂質症、そして肝毒性を引き起こす可能性がある⁵³。本実験からエステルが血漿中から速やかに消失するためには、血清中で速やかに活性代謝体へ変換されることに加えて、肝S9中でも十分に代謝されるin vitro代謝特性を有することが重要であると考えた。

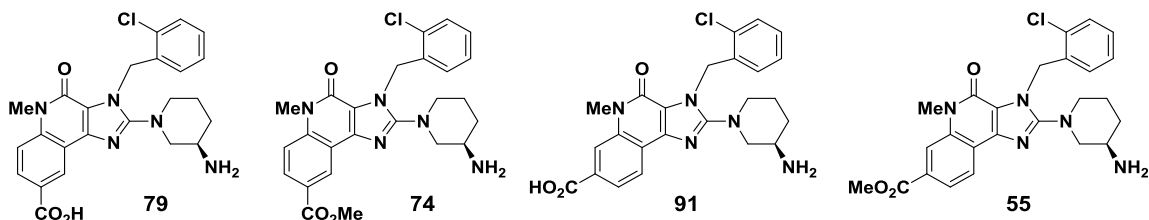
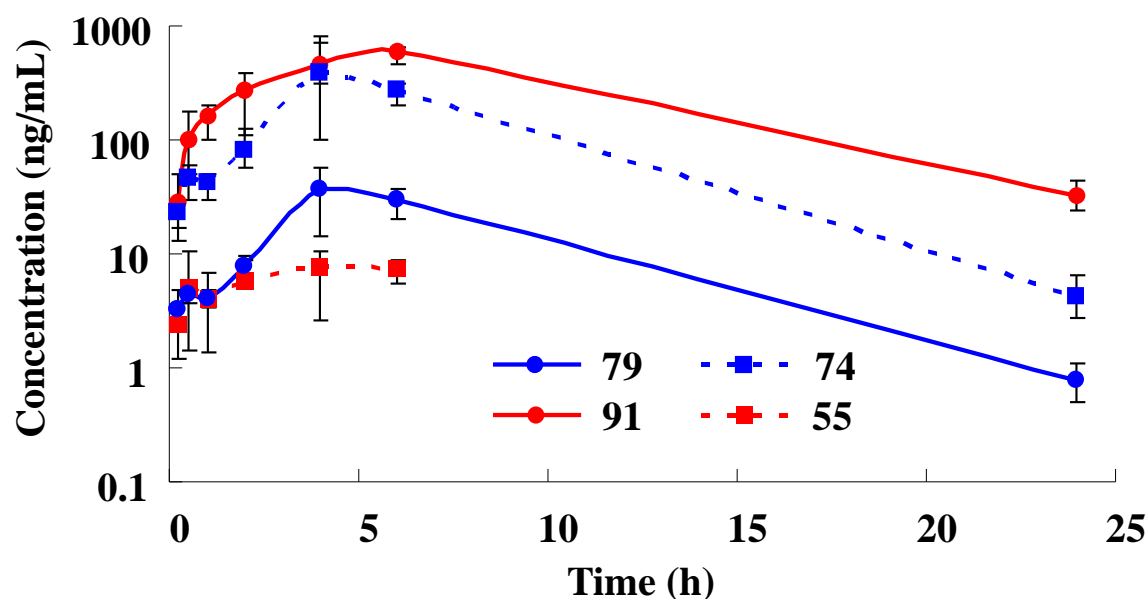


Figure 21. Time-dependent concentrations of **79** and **74** after oral administration of **74**, and **91** and **55** after oral administration of **55** in the plasma of rats (10 mg/kg)

その代謝プロファイルからヒトに経口投与した際、**74**と**55**は血漿中に残存することが予想されるため、ヒトへの外挿性を考慮し種差なく *in vitro* 血清及び肝S9中の両方でカルボン酸へ速やかに変換されるプロドラッグの探索を行った。活性代謝体を**79**とする様々なエステルを合成し、*in vitro* 代謝特性を評価した (Table 12)。ピバロイルオキシメチル (POM) エステルを有する**151a**はヒト肝S9中で速やかに活性代謝体へ変換されたが、ヒト血清中でその変換は不十分であった⁵⁴。アルキルアミノアルキルエステルはヒト血漿中で不安定であると報告されているので⁵⁵、ジメチルアミノエチルエステル**151b**、ジメチルアミノプロピルエステル**151c**を導入した。化合物**151b**、**151c**はヒト血清中で完全に活性代謝体へ変換されたが、これらエステルはヒト肝S9中でほとんど代謝されず、加えて膜透過性がきわめて低い値であった。次に膜透過性の向上を期待しモルホリノアルキルエステルの合成を行った。モルホリノエチルエステル⁵⁶を有する**151d**はヒト血清中で速やかに**79**へ代謝され、肝S9中でも代謝される傾向を示したものの、膜透過性が乏しかった。エステル**151e**⁵⁷、**151f**の両化合物はヒト血清中で速やかにカルボン酸に変換された。化合物**151f**は**151d**よりもヒト肝S9中で代謝されたのみならず、良好な膜透過性を示した。しかしながら、ヒト肝S9中で活性代謝体**79**はほとんど確認されず、構造未同定の代謝物が生成した。以上のように、望ましい代謝プロファイルを有するアルキルアミノアルキルエステル、もしくはモルホリノアルキルエステルを得ることはできなかった。5-メチル-2-オキソ-1,3-ジオキサール-4-イルメチル (Dox) エステルはヒト血漿中で不安定、すなわち速やかにカルボン酸を放出することが報告されている⁵⁸。Doxエステルを有する**151g**を合成したところ、ヒト血清及びヒト肝S9中で不安定であり、良好な膜透過性を有していた。したがって、**151g**はヒト血漿中に残存せず、活性代謝体**79**へ効果的に代謝され、十分な経口吸収性を示すことが期待された。活性代謝体**140**、**91**、**144**にDoxエステルを導入した化合物**151h**、**151i**、**151j**は**151g**と同様のプロファイルを示し、対応する活性代謝体へ容易に変換された。加えて、**151g**、**151h**、**151i**、**151j**のラットにおける*in vitro* 代謝特性がヒトと類似していたことから、ラットの経口吸収性を含めた薬物動態プロファイルを明らかにすることはヒトの経口吸収性を外挿し評価することに貢献すると考えられる。望ましいプロファイルを示すDoxエステル**151g**、**151h**、**151i**、**151j**をさらに評価することとした。

Table 12. Ester membrane permeability and metabolic properties in the human (h-) and rat (r-) serum and liver S9 fractions

| Prodrug | Active metabolite | Remaining ratio (%) ^a | | | | PAMPA |
|---------|-------------------|----------------------------------|---------|------------|---------|---|
| | | h-liver S9 | h-serum | r-liver S9 | r-serum | Pe(10 ⁻⁶ cm/s) pH 5.0/7.4 |
| 151a | 79 | <0.5 | 73 | <0.5 | 0.6 | 6.5/6.3 |
| 151b | 79 | >99 | <0.5 | >99 | 97 | <0.1/0.6 |
| 151c | 79 | >99 | <0.5 | >99 | 38 | <0.1/<0.1 |
| 151d | 79 | 37 | 6.8 | >99 | 50 | 0.9/7.1 |
| 151e | 79 | 48 | 7.0 | 78 | 76 | <0.1/3.4 |
| 151f | 79 | 22 | <0.5 | 30 | 92 | 10.1/18.0 |
| 151g | 79 | 7.8 | <0.5 | <0.5 | <0.5 | 10.3/12.1 |
| 151h | 140 | 3.5 | <0.5 | 1.0 | <0.5 | 11.0/8.4 |
| 151i | 91 | 17 | <0.5 | 1.0 | <0.5 | 12.5/14.2 |
| 151j | 144 | 13 | <0.5 | 3.6 | <0.5 | 15.8/15.9 |

^aCompounds were incubated at 37 °C for 30 min.

プロドラッグと対応する活性代謝体の血中濃度を評価するために、ラットを用いてPK試験を実施した。初めに、活性代謝体**79**, **140**, **91**, **144**のPKプロファイルを経口投与により求めた (Table 13)。化合物**79**, **140**, **91**, **144**はいずれも肝血流量を超える非常に高いクリアランス値を有していた。そして、化合物**91**は0.6 hという短い半減期を示した。続いて**79**と**144**は活性代謝体候補の中でより良い暴露 (AUC) と半減期を示した。ラットにプロドラッグを経口投与したときの活性代謝体の血中濃度を評価した (Table 14)。期待したように、**151g**を経口投与した後の**79**の血漿中濃度は著しく向上し、そのBAは35%であった。そして、全ての測定時点において**151g**の濃度は定量限界未満 (LOQ: 1.0 ng/mL) であり、血漿中にほぼ存在しなかった。一方、**151h**, **151i**, **151j**を経口投与したときの**140**, **91**, **144**のBAはそれぞれ11.7, 4.0, 4.8%であり、これら3化合物に関しては満足な経口吸収性を示さず、プロドラッグの顕著な効果は認められなかった。pH2.5における溶解度は他のプロドラッグよりも**151g**がきわだって良好であったため、**79**は最も良い経口吸収性を示したと考えることもできる。**151g**のヒトにおける代謝特性はラットと同様であることから、ヒトにおいて、**151g**を経口投与したとき、**79**は十分な血中濃度を示し、エステルが血漿中に残存しないことが期待される。したがって、**151g**をさらなる高次評価へ進めることとした。

Table 13. Pharmacokinetic parameters of the active metabolites **79**, **140**, **91** and **144** after i.v. administration in rats

| Active metabolite | Dose (mg/kg) | AUC (ng·hr/mL) | CL (mL/min/kg) | Vd (L/kg) | T _{1/2} (h) |
|-------------------|--------------|----------------|----------------|-----------|----------------------|
| 79 | 1.5 | 188 | 132 | 2.9 | 1.0 |
| 140 | 1 | 75.3 | 222 | 7.1 | 1.3 |
| 91 | 3 | 276 | 181 | 4.5 | 0.6 |
| 144 | 1 | 99.9 | 167 | 31.5 | 8.3 |

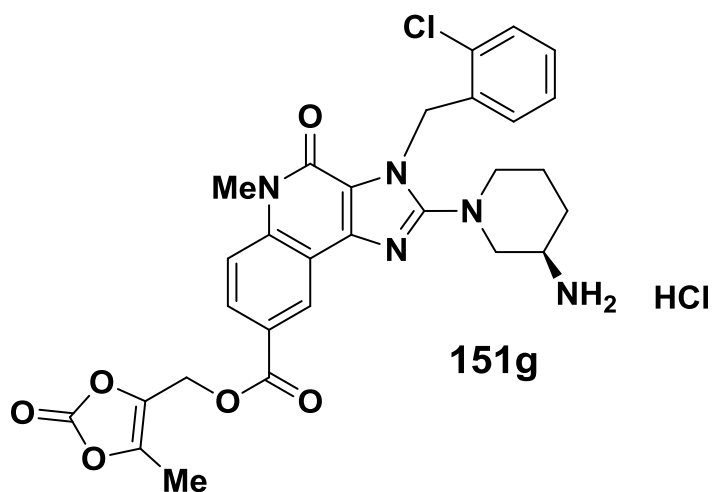
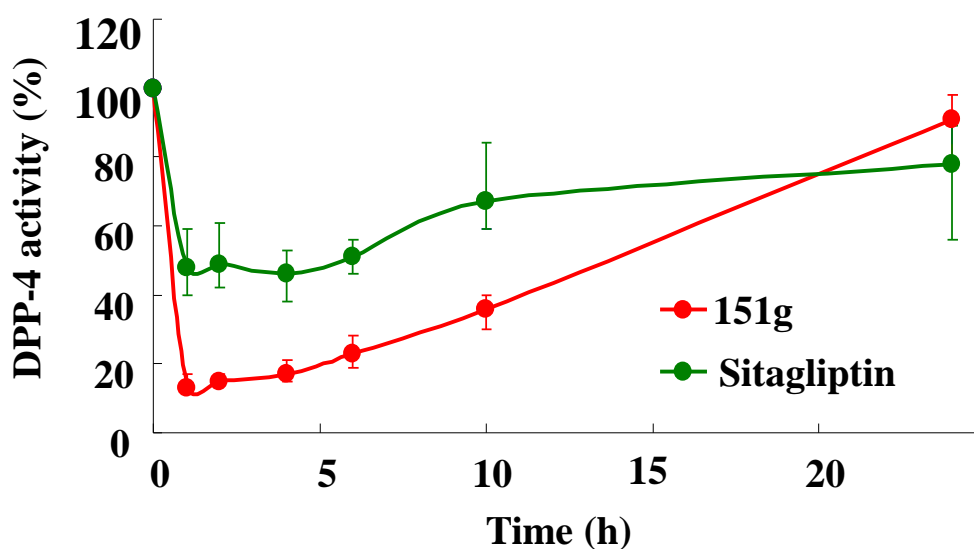
Table 14. In vitro activity of DPP-4 and pharmacokinetic parameters after oral administration in rats and solubility of the prodrugs **151g**, **151h**, **151i**, and **151j**

| Prodrug | h-DPP-4 | Active metabolite | Dose (mg/kg) | C _{max} (ng/mL) | T _{max} (h) | AUC (ng·hr/mL) | BA (%) | Solubility (mg/mL) |
|-------------|-----------------------|-------------------|--------------|--------------------------|----------------------|----------------|--------|------------------------|
| | IC ₅₀ (nM) | | | | | | | pH 7.4/5.5/2.5 |
| 151g | 6.0 | 79 | 20 | 94.1 | 2 | 728 | 35 | <0.001 / 0.003 / 0.210 |
| 151h | 4.7 | 140 | 10 | 14.8 | 2 | 72.7 | 11.7 | <0.001 / 0.002 / 0.025 |
| 151i | 1.4 | 91 | 20 | 81.7 | 0.25 | 61.9 | 4.0 | 0.002 / 0.002 / 0.054 |
| 151j | 3.4 | 144 | 10 | nd ^a | nd ^a | 43.9 | 4.8 | <0.001 / 0.001 / 0.047 |

^a Not determined.

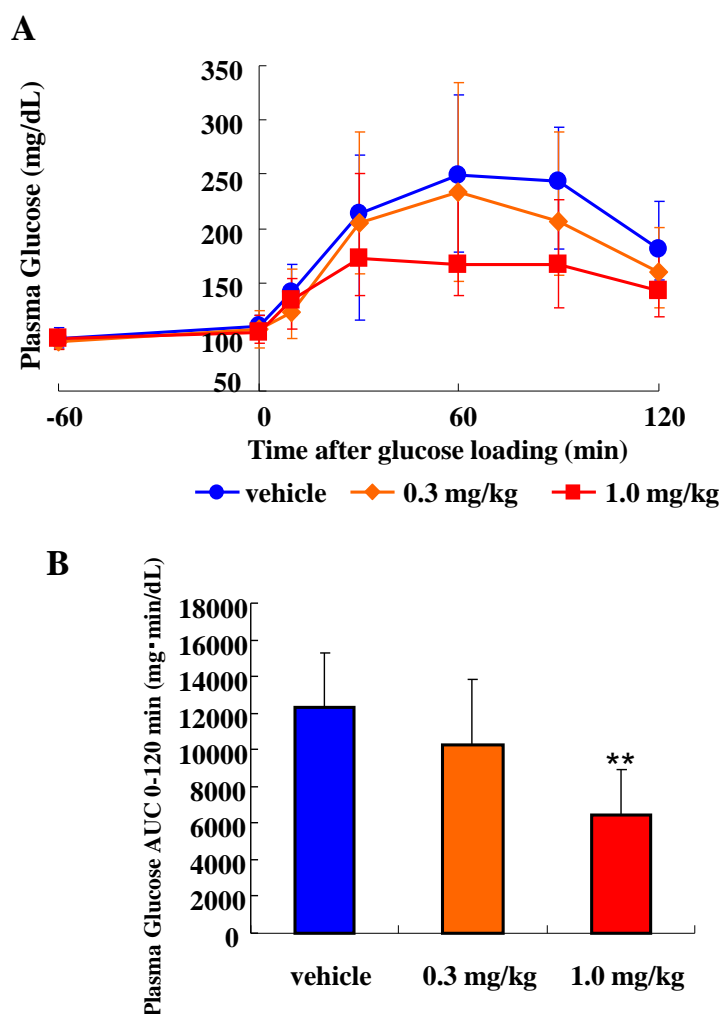
151gの単回経口投与における有効性を評価するためにSDラットにおけるDPP-4阻害活性を0-24時間の期間で評価した (3 mg/kg, Figure 22)。期待した通り、化合物**151g**は強力なDPP-4阻害活性を示し、1時間後と10時間後の血漿中DPP-4阻害率はそれぞれ87%, 64%であった。この効果は、同じ投与量 (3 mg/kg) におけるSitagliptinを上回るものであった。

Figure 22. Time-dependent plasma DPP-4 activity after oral administration of **151g** (3 mg/kg) and sitagliptin (3 mg/kg) in SD rats



経口糖負荷試験 (OGTT : oral glucose tolerance test) において11週齢のZFラットを終夜絶食し、異なった投与量 (0.3, 1.0 mg/kg) で**151g**、もしくはビークルとしてメチルセルロースを経口投与した (Figure 23)。1時間後 (t=0)、ラットにグルコースを経口投与し (2 g/kg)、血中グルコース濃度を測定した。その結果、化合物**151g**は投与量依存的な血中グルコース濃度の低下を示し、1 mg/kgにおいて著しいグルコース濃度の低下作用を示した。これらの知見は、化合物**151g**の治療効果はDPP-4を阻害することに基づくGLP-1の濃度向上を介するものであることを示唆した。以上より、2型糖尿病治療薬の開発候補化合物として化合物**151g**を見出した。

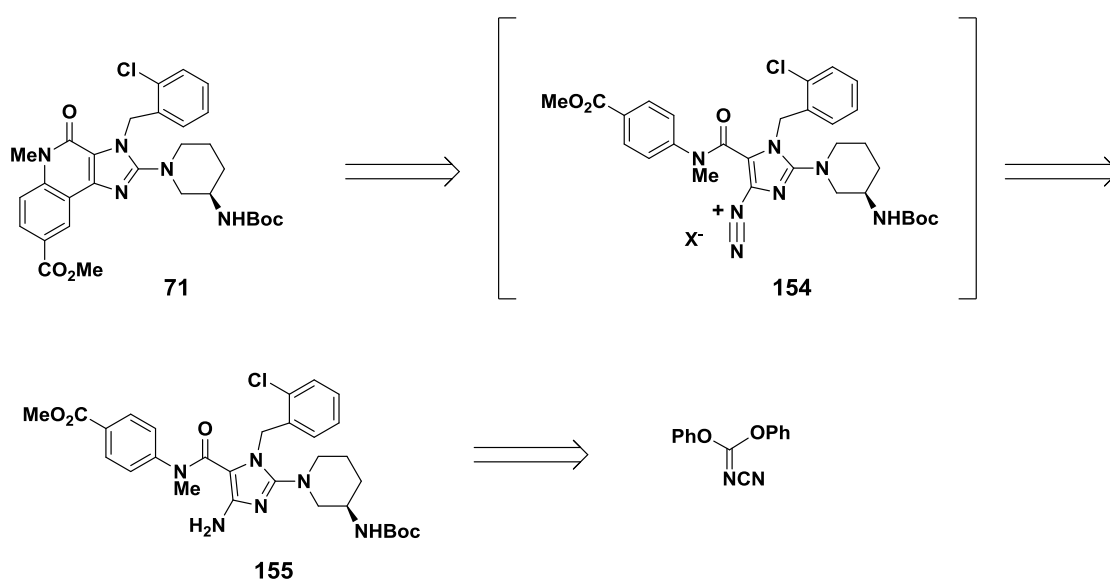
Figure 23. (A) Effect of **151g** on plasma glucose concentration in OGTT in male Zucker fatty rats. (B) changes in AUC of plasma glucose from 0 min to 120 min. Each value represents the mean and SEM, n=10 rats in each group. **P<0.0125 versus vehicle control.



第4節 重要中間体**71**の新規合成法の開発

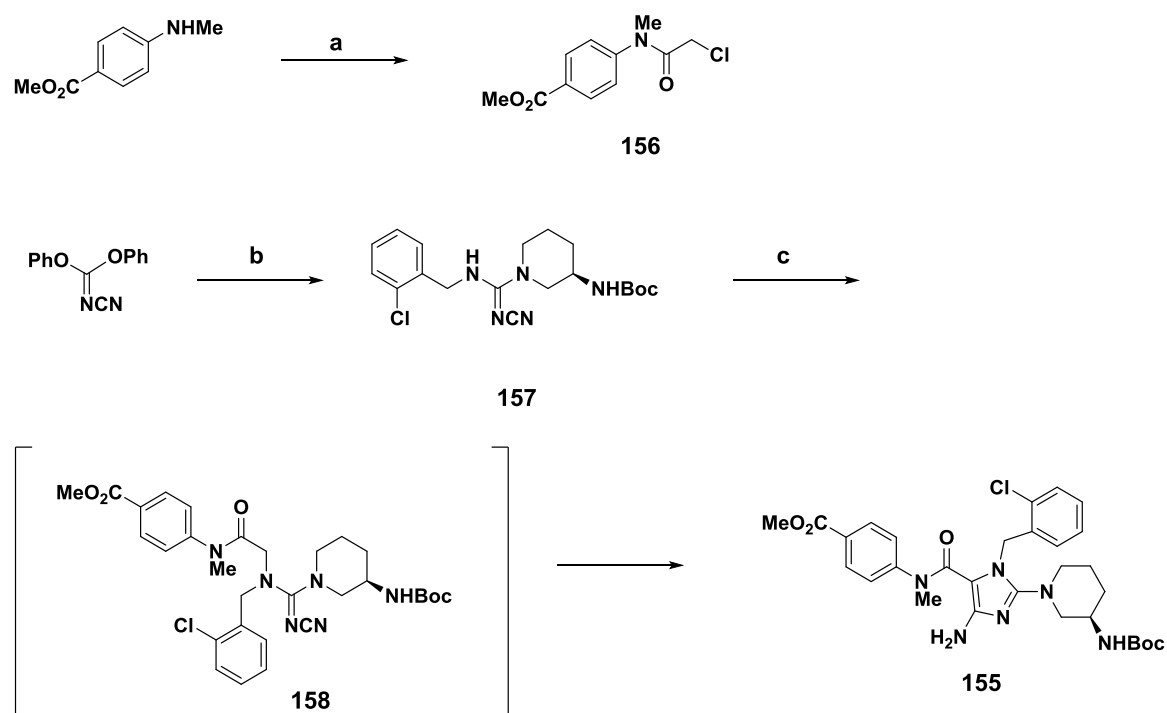
経口DPP-4阻害活性を有する有望化合物**151g**は**71**を経由して合成されるため、化合物**71**は重要中間体であると考えている。**71**は出発原料*N*-シアノカルボンイミド酸ジフェニルから合成できることを第2章で述べたが、その合成法は8工程を要し、全収率は19.9%と満足のものではない。したがって、化合物**71**の効率的な合成法の開発が必要である。そこで、ジアゾニウム塩**154**⁵⁹⁻⁶¹を経由した分子内ラジカル環化反応を用い、化合物**155**からイミダゾキノリン骨格を構築する新しい合成ルートをデザインした (Scheme 17)。

Scheme 17. New synthetic route for the preparation of 3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4(5*H*)-ones by intramolecular radical cyclization



クロロアセチルクロライドを用いてメチル 4-メチルアミノベンゾエートのアミノ基をアシル化することで定量的にメチル4-メチルアミノベンゾエート**156**へ変換した (Scheme 18)。*N*-シアノカルボンイミド酸ジフェニルの1つのフェノキシ基を(*R*)-3-アミノピペリジンにより置換し、続いて80 °Cにて1.5当量の2-クロロベンジルアミンで処理することにより、高収率で**157**を得た。化合物**156**を用いて**157**の*N*-アルキル化を40 °Cで行ったところ、**158**と**155**の混合物が生成した。続いて反応溶液を60 °Cに加熱することにより環化反応が促進し、ワンポットで**155**を75%の収率で得た。

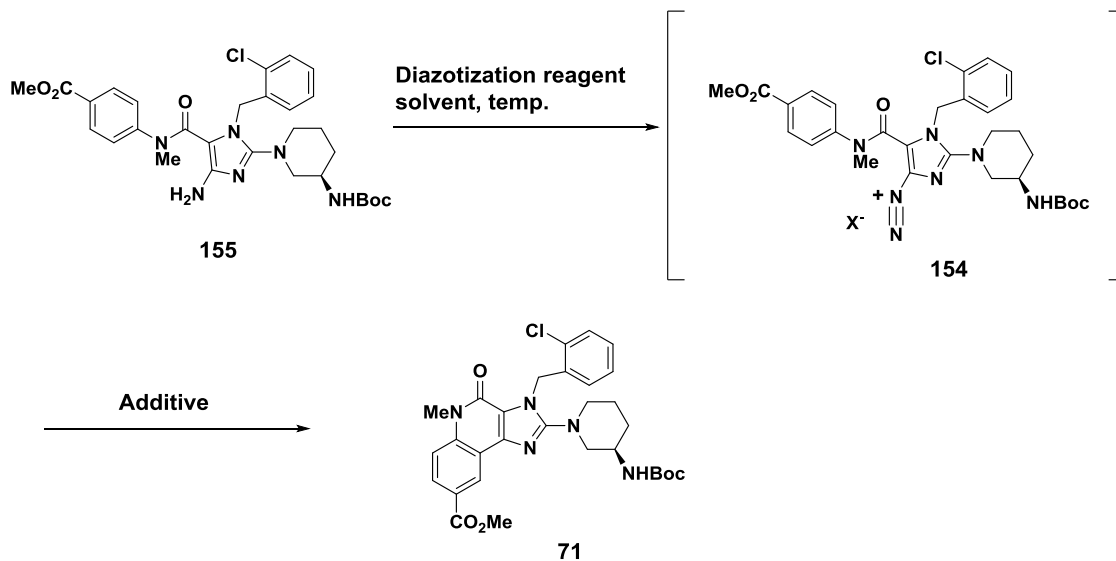
Scheme 18. Synthesis of **155**



^aReagents and conditions: (a) chloroacetyl chloride (1.2 eq), pyridine (1.0 eq), THF, 0 °C, quant.; (b) (*R*)-3-*tert*-butoxycarbonylaminopiperidine (1.0 eq), *i*PrOH then 2-chlorobenzylamine (1.5 eq), 80 °C, 95%; (c) **156** (1.1 eq), Cs₂CO₃ (2.0 eq), MeCN, 40 °C then 60 °C, 75%

次に、化合物**155**を用いて分子内ラジカル環化反応を試みた (Scheme 19)。酢酸溶媒中、室温で**155**と亜硝酸ナトリウムを反応させることで基質**155**は全て消費されジアゾニウム塩**154**が生成した。生じたジアゾニウム塩を含んだ混合物に金属銅を加えることで、51%の収率で化合物**71**を得た (entry 1)。金属銅の代わりに一価の塩化銅 (I) を用いたところ、**71**の収率に違いはみられなかったものの反応速度は遅くなった (entry 2)。添加物として二価の塩化銅 (II) を加えたところ、金属銅や塩化銅 (I) の場合よりも低収率であった (entry 3)。酢酸溶媒中、亜硝酸ナトリウム、金属銅を用いて80 °Cで反応を行ったが、室温の場合と比較して収率に差は見られなかった (entry 4)。次に、ジアゾ化試薬として亜硝酸イソアミルを用いることとした。引き続き溶媒として酢酸を用いて反応を行ったところ、亜硝酸ナトリウムの場合と比較してわずかに**71**の収率は低下した (entry 5)。続いて、溶媒にトルエンを用いたところ、ジアゾニウム塩**154**は検出されず、金属銅を加えることなく室温で**71**の生成が確認された (entry 6)。酢酸はジアゾニウム塩**154**の安定化に寄与する一方、トルエンはそのような効果を示さなかった。このことから、トルエンを用いた場合、ジアゾニウム塩中間体の熱的ホモリシスによりラジカルが生じ、続いて環化反応が進行し**71**が得られたと考えた⁶²。さらに、酢酸の場合と比較して、トルエン溶媒で反応を行ったとき、副生成物が少ないという特徴を示した。次に、トルエンを溶媒として用いて、反応温度の効果について検証した。80 °Cで反応を行ったところ、**71**の収率は大きく向上した (entry 7)。亜硝酸イソアミルを用いて反応温度80 °Cの条件で反応溶媒の最適化を行った。THF溶媒中、反応を行ったところ、トルエンの場合と同様の収率で**71**が得られたが、キシレン、ピリジン、もしくはアセトニトリルを用いた場合、**71**は生成するものの満足のいく収率ではなかった (entry 8-11)。検討の結果、1,4-ジオキサソルを用いたところ、最も良好な収率で**71**が得られた (y. 73%, entry 12)。以上より、分子内ラジカル環化反応を用いた新規で効率的なイミダゾキノリノン骨格構築法を開発し、反応条件の最適化を終了した (4工程全収率52%)。

Scheme 19. Intramolecular radical cyclization of **155**



| Entry | Diazotization reagent (eq.) | Additive (eq.) | Solvent | Temp. | Time (h) | Yield (%) |
|-------|-----------------------------|-------------------------|--------------|-------|----------|-----------------|
| 1 | NaNO ₂ (3.0) | Cu (1.0) | AcOH | rt | 5 | 51 |
| 2 | NaNO ₂ (3.0) | CuCl (1.0) | AcOH | rt | 26 | 43 |
| 3 | NaNO ₂ (3.0) | CuCl ₂ (1.0) | AcOH | rt | 26 | 29 |
| 4 | NaNO ₂ (3.0) | Cu (1.0) | AcOH | 80 °C | 3 | 53 |
| 5 | isoamyl nitrite (2.0) | Cu (1.0) | AcOH | rt | 1.5 | 36 |
| 6 | isoamyl nitrite (3.0) | none | toluene | rt | 22 | 33 ^a |
| 7 | isoamyl nitrite (5.0) | none | toluene | 80 °C | 3 | 71 |
| 8 | isoamyl nitrite (5.0) | none | xylene | 80 °C | 3 | 59 |
| 9 | isoamyl nitrite (5.0) | none | pyridine | 80 °C | 3 | 34 |
| 10 | isoamyl nitrite (5.0) | none | acetonitrile | 80 °C | 3 | 51 |
| 11 | isoamyl nitrite (5.0) | none | THF | 80 °C | 3 | 64 |
| 12 | isoamyl nitrite (5.0) | none | 1,4-dioxane | 80 °C | 3 | 73 |

^a The yield was determined by HPLC using an external standard method after quenching the reaction

第4章 総括

安全性の高い抗糖尿病薬を創製することを目的に、プロテアーゼ選択性が高い新規DPP-4阻害薬の探索研究を開始した。合成展開の結果、優れた類縁酵素選択性及び強力なin vitro DPP-4阻害活性を有するイミダゾキノリノン誘導体を見出し、以下の研究成果を得た。

1. パラジウム触媒を用いたイミダゾキノリノン誘導体の新規合成法を開発した。塩基として炭酸銀、高い反応温度を用いることにより6-9位に種々の置換基を導入できる新規合成法を確立した。環化前駆体のメタ位に嵩高い置換基を導入することで高い位置選択性で7位置換化合物を、またオルト位に補助基を導入することにより、選択的に7位、9位置換化合物を得た。本反応は基質適応範囲が広く、高い化学収率でイミダゾキノリノン誘導体を合成することができることを実証した。
2. ドッキングシミュレーションを駆使し、化合物**1**から合成展開を行った結果、リード化合物としてイミダゾキノリノン誘導体**3**を見出した。3-アミノピペリジンのアミノ基はGlu205/Glu206とイオン結合を形成し、2-3位に導入した縮環フェニル基はTyr547側鎖とπスタッキングを形成すると推定され、予想通り阻害活性が向上した。
3. 7位、8位に親水性置換基を導入することにより阻害活性が向上することを見出した。特に、カルボキシ基などの酸性置換基を導入した結果、飛躍的にDPP-4阻害活性が向上した。7位置換基はLys554の側鎖と相互作用を形成すると考えられ、また8位置換基は水分子を介して親水性のアミノ酸側鎖と相互作用をしていると想定される。
4. 強力なin vitro DPP-4阻害活性、優れたDPP-4類縁酵素選択性、高いin vitro安全性プロファイルを有する**79, 140, 91, 144**を見出した。
5. 化合物**79, 140, 91, 144**のエステルプロドラッグ化により経口吸収性の改善を試みた。脂溶性の高い塩基性化合物であるプロドラッグが経口投与後、血中に暴露しないことを念頭に置き、in vitro代謝特性の最適化を実施した。その結果、血清及び肝S9中で速やかに活性代謝体へ変換されるin vitro代謝特性を有することにより経口投与後、速やかに分解され血漿中にエステル体が残存しないことを見出した。

6. Doxエステルがプロドラッグとしてふさわしいプロファイルを有することを見出し、強力なin vivo DPP-4阻害活性、OGTTモデルにおいて抗糖尿病効果を有する**151g**を創製した。

これらの知見は、化合物**151g**が2型糖尿病治療薬の開発候補化合物となりえることを示し、DPP-4阻害薬の新たな選択肢の可能性に繋がる成果であると考ええる。

実験の部

Chemistry

Melting Points were determined on an electrothermal apparatus without correction. ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were recorded on a JEOL JNM-LA300 spectrometer and a Bruker AVANCE 400 spectrometer in the stated solvents using tetramethylsilane as an internal standard. Chemical shift (δ) are expressed in ppm. IR spectra were recorded on a JEOL JIR-SPX60 spectrometer as ATR. High resolution MS spectra were recorded on a Thermo Fisher Scientific LTQ orbitrap Discovery MS equipment. Elemental analysis was conducted at Sumitomo Analytical Center Inc. Reactions were followed by TLC on silica gel 60F 254 using precoated TLC plates (E. Merck). Column chromatography was carried out on a Yamazen W-prep system using prepacked silica-gel or amino silica-gel or performed on silica gel 60 (230-400 or 70-230 mesh, Merck). HPLC was performed on a Shimadzu Corporation system. Samples were applied onto a YMC-Pack Ph column (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) and eluted at 1 mL/min with a 40 min isocratic flow (42.5% B), where solvent A is water (0.1% TFA solution) and solvent B is acetonitrile (0.1% TFA solution). Unless otherwise noted, all materials were obtained from commercial suppliers and used without further purification. All solvents were of the commercially available grade. Reactions requiring anhydrous conditions were performed under nitrogen atmosphere.

Ethyl *N*[(*E*)-{(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl}(cyanoimino)methyl] glycinate (7).

To solution of (*R*)-3-*tert*-butoxycarbonylaminopiperidine (154.0 g, 0.769 mol) in *i*PrOH (3.0 L) was added diphenyl cyanocarbonimidate (183.2 g, 0.769 mol). The mixture was stirred at room temperature for 2.5 h. To the reaction mixture was added glycine ethyl ester hydrochloride (536.7 g, 3.85 mol) at 0 $^{\circ}\text{C}$, and the mixture was stirred at 80 $^{\circ}\text{C}$ for 6 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was diluted with AcOEt (1.4 L) and the precipitate was removed by filtration through a Celite pad. The filtrate was concentrated in vacuo, and the residue was diluted with 5% sodium carbonate solution and extracted with CHCl_3 three times. The combined organic layers were dried over Na_2SO_4 , and concentrated in vacuo. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **7** (249.2 g, y. 92%) as a pale yellow oil. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 5.68 (brs, 1H), 4.66 (brs, 1H), 4.28-4.19 (m, 4H), 3.81-3.34 (m, 5H), 2.05-1.51 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 169.6, 160.0, 155.5, 117.1, 80.1, 61.8, 51.2, 47.3, 45.4, 44.6, 29.8, 28.3, 22.8, 14.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$

calcd for C₁₆H₂₈N₅O₄ 354.2136, found 354.2128; IR (ATR): 1743, 1685, 1575, 1531, 1440, 1390, 1365, 1309, 1243, 1197, 1162, 1051, 1031, 1018 cm⁻¹.

Ethyl *N*[(*Z*)-{(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino] piperidin-1-yl}(cyanoimino)methyl]-*N*-(2-chlorobenzyl) glycinate (8).

A mixture of **7** (249.2 g, 0.705 mol), 2-chlorobenzylbromide (225 g, 1.09 mol) and potassium carbonate (292 g, 2.11 mol) in MeCN (1.5 L) was stirred at 40 °C for 3 days. After cooling to room temperature, the mixture was filtered through a Celite pad. The filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **8** (249.5 g, y. 74%) as a pale brown oil. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.42-7.38 (m, 1H), 7.31-7.16 (m, 3H), 4.87 (brs, 1H), 4.62 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 15.0 Hz, 1H), 4.22 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.98-3.89 (m, 2H), 3.77-3.69 (m, 2H), 3.54-3.25 (m, 3H), 1.94-1.83 (m, 2H), 1.72-1.63 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.29 (q, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 168.9, 166.2, 155.0, 134.2, 132.5, 130.3, 130.2, 129.8, 127.3, 116.3, 79.6, 61.6, 60.4, 53.4, 52.6, 49.0, 46.7, 29.8, 28.3, 23.0, 14.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₃₃ClN₅O₄ 478.2216, found 478.2209; IR (ATR): 1741, 1700, 1535, 1496, 1442, 1390, 1365, 1164 cm⁻¹.

Ethyl 4-amino-2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino] piperidin-1-yl]-1-(2-chlorobenzyl)-1*H*-imidazole-5-carboxylate (9).

To a solution of sodium hydride (60% in oil, 15.94 g, 0.399 mol) in THF (1.8 L) was added **8** in THF (1.2 L) dropwise at 0 °C, and the mixture was stirred for 2.5 h at 15 °C. The reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl solution and water. The mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was extracted with AcOEt, washed with 10% sodium carbonate solution and brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to give **9** (132.57 g, quant.) as a pale brown amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.35 (m, 1H), 7.27-7.14 (m, 2H), 6.78-6.75 (m, 1H), 5.25 (brs, 2H), 5.01-4.78 (m, 3H), 4.11-4.07 (m, 2H), 3.73-3.71 (m, 1H), 3.31-3.25 (m, 1H), 2.96-2.85 (m, 3H), 1.75-1.51 (m, 4H), 1.42 (s, 9H), 1.34 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 154.9, 154.4, 135.7, 131.6, 129.6, 129.1, 128.0, 126.9, 126.5, 99.3, 79.1, 59.1, 55.3, 51.4, 46.8, 45.9, 29.5, 28.2, 22.3, 13.9; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₃₃ClN₅O₄ 478.2216, found 478.2210; IR (ATR): 2360, 1710, 1645, 1606, 1515, 1436, 1392, 1369, 1342, 1311, 1166, 1120, 1051 cm⁻¹.

Ethyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino] piperidin-1-yl)-1-(2-chlorobenzyl)-4-iodo-1*H*-imidazole-5-carboxylate (10).

A mixture of **9** (261.7 g, 0.548 mol), Isoamylnitrite (368 ml, 2.74 mol) and CH₂I₂ (440 ml, 5.46 mol) in Toluene (2.6 L) was stirred at 80 °C for 4 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **10** (170.8 g, y. 53%) as a pale yellow amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.38 (m, 1H), 7.37-7.13 (m, 2H), 6.60-6.57 (dd, *J* = 1.8, 6.6 Hz, 1H), 5.49 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H), 5.42 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H), 4.92 (brd, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.18 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.75 (brs, 1H), 3.29 (dd, *J* = 3.6, 12.3 Hz, 1H), 2.94-2.82 (m, 3H), 1.81-1.65 (m, 2H), 1.60-1.46 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.19 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 159.1, 157.2, 154.9, 134.8, 131.8, 129.5, 128.5, 127.1, 126.2, 122.7, 92.3, 79.3, 60.7, 55.9, 51.8, 47.4, 46.1, 29.5, 28.3, 22.4, 13.8; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₃₁ClIN₄O₄ 589.1073, found 589.1078; IR (ATR): 1697, 1673, 1521, 1517, 1488, 1475, 1438, 1313, 1297, 1238, 1224, 1176, 1149, 1066, 1056, 1049, 1033, 1016 cm⁻¹.

Ethyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-piperidin-1-yl)-1-(2-chlorobenzyl)-4-(2-nitrophenyl)-1*H*-imidazole-5-carboxylate (11).

A mixture of **10** (589.0 mg, 1.00 mmol), 2-Nitrophenylboronic acid pinacol ester (274 mg, 1.10 mmol), Pd(PPh₃)₄ (116 mg, 0.10 mmol) and Na₂CO₃ (212 mg, 2.00 mmol) was stirred under reflux for 10 h. After cooling to room temperature, the mixture was diluted with AcOEt and filtered through a Celite pad. The filtrate was washed with saturated NaHCO₃ solution. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **11** (235.8 mg, y. 40%) as a pale yellow amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (dd, *J* = 0.9, 8.1 Hz, 1H), 7.63-7.61 (m, 2H), 7.55-7.49 (m, 1H), 7.42-7.39 (m, 1H), 7.26-7.22 (m, 2H), 6.70-6.68 (m, 1H), 5.55 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.49 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.11-5.09 (m, 1H), 3.92 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.79 (brs, 1H), 3.34 (dd, *J* = 3.3, 12.0 Hz, 1H), 2.99-2.93 (m, 3H), 1.77-1.74 (m, 2H), 1.60-1.55 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 0.96 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 159.4, 155.8, 155.0, 154.8, 149.2, 143.3, 135.0, 132.5, 131.7, 130.6, 129.3, 128.9, 128.4, 127.4, 126.2, 124.0, 117.9, 79.2, 60.4, 55.8, 51.9, 46.9, 46.0, 31.5, 29.5, 28.4, 22.2, 13.3; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₅ClN₅O₆ 584.2270, found 584.2273; IR (ATR): 1700, 1525, 1477, 1442, 1349, 1240, 1170, 1081, 1064, 1039, 1024 cm⁻¹; *Anal.* Calcd for C₂₉H₃₄ClN₅O₆: C, 59.64; H, 5.87; N, 11.99, found: C, 59.69; H, 5.93, N, 11.69.

***tert*-Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}-carbamate (12).**

A mixture of Fe (87.8 mg, 1.57 mmol) in acetic acid (4 ml) was stirred at 80 °C for 30 min. To this suspension was added **11** (91.8 mg, 0.157 mmol) in acetic acid (2 ml) dropwise, and the mixture was stirred at 80 °C for 4 h. After cooling to room temperature, the mixture was diluted with AcOEt and filtered through a Celite pad. The filtrate was washed with water, saturated NaHCO₃ solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated in vacuo. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **12** (71.5 mg, y. 90%) as a white powder. Mp 241-243 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.87 (brs, 1H), 8.21 (dd, *J* = 1.2, 7.8 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 1.5, 7.8 Hz, 1H), 7.40-7.34 (m, 1H), 7.30-7.18 (m, 2H), 7.14-7.09 (m, 2H), 6.73 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.31 (brs, 1H), 5.80 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.68 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 3.83 (brs, 1H), 3.45 (dd, *J* = 3.6, 12.9 Hz, 1H), 3.32-3.27 (m, 1H), 3.12-3.11 (m, 2H), 1.75 (m, 2H), 1.63-1.50 (m, 2H), 1.47 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 157.7, 154.9, 154.8, 142.7, 136.4, 135.3, 131.1, 129.3, 128.9, 127.9, 127.7, 127.0, 122.0, 121.6, 119.2, 116.0, 115.8, 77.8, 55.0, 50.6, 46.5, 46.0, 29.8, 28.4, 23.3; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₃₁ClN₅O₃ 508.2110, found 508.2096; IR (ATR): 1679, 1658, 1533, 1498, 1444, 1419, 1386, 1365, 1340, 1311, 1243, 1170, 1051, 1033, 1014 cm⁻¹.

***tert*-Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (13).**

To a solution of **12** (50.3 mg, 99.9 μmol) and K₂CO₃ (27.3 mg, 0.198 mmol) in DMF (2 ml) was added MeI (9.2 μl, 0.148 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 12 h and quenched with saturated NH₄Cl solution, extracted with AcOEt. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **13** (55.0 mg, quant.) as a yellow amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.32 (dd, *J* = 1.5, 7.8 Hz, 1H), 7.56-7.51 (m, 1H), 7.45-7.40 (m, 2H), 7.36-7.29 (m, 1H), 7.22-7.10 (m, 2H), 6.67 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.37-6.35 (m, 1H), 5.78 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 3.82-3.79 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.43 (dd, *J* = 3.0, 12.9 Hz, 1H), 3.27 (dd, *J* = 3.6, 13.5 Hz, 1H), 3.08 (brs, 2H), 1.74-1.51 (m, 4H), 1.48 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 157.9, 155.2, 155.0, 141.8, 137.4, 135.1, 131.8, 129.4, 128.4, 128.2, 127.1, 126.4, 122.7, 122.1, 119.1, 116.9, 114.7, 78.8, 54.6, 51.4, 46.1, 45.6, 29.3, 28.8, 28.4, 21.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₃₃ClN₅O₃ 522.2266,

found 522.2260; IR (ATR): 1707, 1645, 1521, 1502, 1465, 1444, 1388, 1362, 1319, 1240, 1224, 1166, 1114, 1049, 1039 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one (3).

To a solution of **13** (240.5 mg, 0.461 mmol) in 1,4-dioxane (5 ml) was added 4*N* HCl-1,4-dioxane (5 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 5 h and concentrated under reduced pressure to give **3** (215.2 mg, quant.) as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.38 (brs, 3H), 8.21 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.62-7.56 (m, 2H), 7.52 (dd, $J = 1.1, 7.9$ Hz, 1H), 7.39-7.35 (m, 1H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.25-7.21 (m, 1H), 6.71 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.66 (d, $J = 17.6$ Hz, 1H), 5.61 (d, $J = 17.6$ Hz, 1H), 3.69-3.66 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.38-3.24 (m, 2H), 3.11-3.08 (m, 1H), 2.89-2.84 (m, 1H), 1.96 (m, 1H), 1.79-1.76 (m, 1H), 1.62-1.49 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156.9, 154.1, 140.3, 137.5, 135.3, 131.1, 129.5, 129.1, 129.0, 127.9, 127.1, 122.6, 122.4, 118.7, 115.9, 115.8, 52.4, 51.1, 46.6, 46.3, 29.0, 27.3, 22.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for C₂₃H₂₅ClN₅O 422.1742, found 422.1734; IR (ATR): 2657, 1672, 1591, 1477, 1444, 1330, 1249, 1114, 1052, 1033, 1016 cm^{-1} .

Ethyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-1-(2-chlorobenzyl)-1*H*-imidazole-5-carboxylate (15).

A mixture of **10** (1.66 g, 2.82 mmol) and 10% Pd-C (50% wet, 2.22 g) in MeOH (15 ml) was stirred at room temperature under H₂ atmosphere for 4 h. The reaction mixture was filtered through a Celite pad, and the filtrate was concentrated under reduced pressure to give **15** (1.66 g, quant.) as a white amorphous. ^1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.76 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.25-7.18 (m, 2H), 6.68 (m, 1H), 5.53 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.46 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 4.76 (brd, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.21 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.74-3.72 (m, 2H), 3.49-3.46 (m, 1H), 3.19-2.97 (m, 2H), 1.87-1.77 (m, 2H), 1.67-1.44 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 1.18 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 159.6, 155.6, 155.1, 134.6, 133.6, 131.9, 129.5, 128.6, 127.2, 126.4, 121.2, 79.5, 60.6, 55.7, 51.7, 46.7, 46.1, 29.5, 28.4, 22.6, 14.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for C₂₃H₃₂ClN₄O₄ 463.2107, found 463.2104; IR (ATR): 1702, 1685, 1506, 1444, 1392, 1365, 1307, 1238, 1168, 1066, 1049, 1039, 1024 cm^{-1} .

2-((3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-1-(2-chlorobenzyl)-1*H*-imidazole-5-carboxylic acid (16).

A mixture of **15** (1.31 g, 2.82 mmol) and 1M NaOH (5.54 ml) in EtOH (10 ml) was stirred at 80 °C for 5 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was acidified with 10% KHSO₄ solution and extracted with AcOEt. The organic layer was washed with brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure to give **16** (1.20 g, y. 92%) as a pale brown amorphous. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.49 (brs, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.47-7.44 (m, 1H), 7.26-7.23 (m, 2H), 6.78 (m, 1H), 6.48-6.45 (m, 1H), 5.36 (s, 2H), 3.43-3.30 (m, 1H), 3.21-3.08 (m, 1H), 2.96-2.92 (m, 1H), 2.65-2.50 (m, 2H), 1.74-1.45 (m, 3H), 1.37-1.11 (m, 10H); ¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ 162.5, 157.5, 157.1, 136.4, 134.1, 133.2, 130.6, 129.8, 128.3, 127.8, 123.1, 80.1, 56.8, 52.4, 48.1, 47.4, 30.8, 28.7, 24.6; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₂₈ClN₄O₄ 435.1794, found 435.1789; IR (ATR): 1691, 1502, 1444, 1411, 1365, 1305, 1243, 1168 cm⁻¹.

***tert*-Butyl [(3*R*)-1-{5-[(2-bromophenyl)carbamoyl]-1-(2-chlorobenzyl)-1*H*-imidazol-2-yl}piperidin-3-yl]carbamate (17).**

To a solution of **16** (783.1 mg, 1.80 mmol) in CH₂Cl₂ (6 ml) was added (COCl)₂ (240 μl, 2.75 mmol) and DMF (5 μl). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved toluene (6 ml), added DIPEA (943 μl, 5.4 mmol) and 2-Bromoaniline (237 μl, 2.16 mmol). The reaction mixture was stirred at 100 °C for 4 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl solution. The mixture was extracted with AcOEt, washed with brine, dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **17** (454.4 mg, y. 43%) as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.26 (dd, *J* = 1.2, 8.1 Hz, 1H), 8.11 (brs, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.54 (dd, *J* = 1.5, 6.6 Hz, 1H), 7.40-7.37 (m, 1H), 7.29-7.13 (m, 3H), 6.96 (m, 1H), 6.70-6.67 (m, 1H), 5.62 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 5.53 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 4.98-4.95 (m, 1H), 3.79 (brs, 1H), 3.28 (dd, *J* = 3.6, 12.0 Hz, 1H), 2.91-2.85 (m, 3H), 1.72-1.56 (m, 4H), 1.43 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 157.8, 156.7, 155.0, 135.4, 135.0, 132.2, 132.1, 130.3, 129.5, 128.5, 128.4, 127.1, 126.8, 125.1, 124.2, 121.7, 113.4, 79.2, 55.8, 51.9, 46.1, 45.9, 29.4, 28.4, 22.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₃₂ClBrN₅O₃ 588.1372, found 588.1365; IR (ATR): 1679, 1577, 1506, 1430, 1388, 1368, 1309, 1280, 1236, 1168 cm⁻¹.

***tert*-Butyl [(3*R*)-1-{5-[(2-bromophenyl)(methyl) carbamoyl]-1-(2-chlorobenzyl)-1*H*-imidazol-2-yl}piperidin-3-yl]carbamate (**18**).**

A mixture of **17** (418.5 mg, 0.711 mmol), K₂CO₃ (147.0 mg, 1.06 mmol) and MeI (66.4 μ l, 1.07 mmol) in DMF (2 ml) was stirred at 40 °C for 12 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl solution and extracted with AcOEt. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **18** (284.0 mg, y. 66%) as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.63 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 1.5, 7.5 Hz, 1H), 7.29-7.16 (m, 4H), 6.96-6.90 (m, 1H), 6.81-6.76 (m, 1H), 6.15 (brs, 1H), 5.55-5.42 (m, 2H), 4.93-4.82 (m, 1H), 3.74 (brs, 1H), 3.22-3.16 (m, 4H), 2.84-2.74 (m, 3H), 1.63-1.50 (m, 4H), 1.41 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 155.4, 155.3, 155.0, 143.1, 135.5, 134.0, 132.7, 132.3, 130.0, 129.7, 129.4, 128.8, 128.7, 128.6, 126.7, 123.5, 123.2, 79.2, 55.9, 51.9, 46.6, 45.9, 31.6, 29.4, 28.4, 22.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₃₄ClBrN₅O₃ 602.1528, found 602.1528; IR (ATR): 1700, 1635, 1477, 1440, 1363, 1309, 1241, 1168, 1051, 1033, 1016 cm⁻¹.

Palladium coupling reaction of **18** to give **13**.

A mixture of **18** (85.5 mg, 0.142 mmol), Pd(OAc)₂ (3.5 mg, 15.6 μ mol) and NaHCO₃ (29.8 mg, 0.355 mmol) in DMA (2 ml) was stirred at 170 °C for 12 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was diluted with AcOEt and filtered through a Celite pad. The filtrate was washed with saturated NH₄Cl solution twice, saturated NaHCO₃ solution and brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **13** (9.3 mg, y. 13%) as a pale yellow amorphous.

General procedure for the synthesis of **13** from **25**.

2-[(3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-1-(2-chlorobenzyl)-4-iodo-1*H*-imidazole-5-carboxylic acid (23**).**

A mixture of **10** (170.8 g, 0.29 mol) and 1M NaOH (435 ml, 0.435 mol) in EtOH (2.3 L) was stirred at 80 °C for 6 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was acidified with 5% KHSO₄ solution and extracted with AcOEt. The organic layer was dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure to give **23** (168.1 g, quant.) as a pale yellow

amorphous. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.31 (s, 1H), 7.46-7.43 (m, 1H), 7.27-7.24 (m, 2H), 6.82 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.56-6.53 (m, 1H), 5.37 (s, 2H), 3.38-3.33 (m, 2H), 3.15-3.08 (m, 1H), 2.96-2.92 (m, 1H), 2.66-2.54 (m, 1H), 1.90-1.60 (m, 2H), 1.54-1.45 (m, 1H), 1.33 (s, 9H), 1.22-0.95 (m, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ 161.9, 158.6, 157.6, 136.4, 133.2, 130.6, 129.8, 128.3, 127.9, 124.9, 92.0, 80.1, 66.9, 56.9, 52.5, 30.8, 28.8, 24.6, 15.5; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₂₇ClIN₄O₄ 561.0760, found 561.0754; IR (ATR): 1683, 1496, 1490, 1473, 1442, 1409, 1392, 1365, 1349, 1240, 1222, 1162, 1066, 1051, 1033, 1020 cm⁻¹.

***tert*-Butyl [(3*R*)-1-[1-(2-chlorobenzyl)-4-iodo-5-(phenylcarbamoyl)-1*H*imidazol-2-yl]piperidin-3-yl]carbamate (24).**

To a solution of **23** (1.96 g, 3.49 mmol) in CH₂Cl₂ (11 ml) was added (COCl)₂ (396 μ l, 4.54 mmol) and DMF (5 μ l) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved toluene (11 ml), added DIPEA (1.83 ml, 10.5 mmol) and Aniline (414 μ l, 4.53 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 12 h. The reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl solution, extracted with AcOEt, washed with brine, dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **24** (1.91 g, y. 86%) as a white solid. Mp 161-163 °C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (brs, 1H), 7.54-7.51 (m, 2H), 7.38-7.30 (m, 3H), 7.22-7.10 (m, 3H), 6.83-6.79 (m, 1H), 5.58 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 5.51 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 4.94-4.91 (m, 1H), 3.77 (brs, 1H), 3.29 (dd, $J = 3.3, 12.0$ Hz, 1H), 2.92-2.83 (m, 3H), 1.76-1.64 (m, 2H), 1.58-1.49 (m, 2H), 1.43 (s, 9H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 157.1, 157.0, 154.9, 137.1, 134.6, 132.4, 129.5, 129.0, 128.7, 127.7, 127.0, 126.5, 125.1, 124.7, 120.0, 85.3, 55.8, 51.9, 47.1, 45.9, 29.4, 28.4, 22.3; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₇H₃₂ClIN₅O₃ 636.1233, found 636.1230; IR (ATR): 1679, 1643, 1529, 1510, 1479, 1442, 1434, 1315, 1307, 1236, 1220, 1176, 1066, 1041 cm⁻¹.

***tert*-Butyl [(3*R*)-1-{1-(2-chlorobenzyl)-4-iodo-5-[methyl(phenyl)carbamoyl]-1*H*imidazol-2-yl}piperidin-3-yl]carbamate (25).**

A mixture of **24** (213.0 mg, 0.335 mmol), K₂CO₃ (185.0 mg, 1.34 mmol) and MeI (83.4 μ l, 1.34 mmol) in DMF (2 ml) was stirred at room temperature for 15 h. The reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl solution and extracted with AcOEt. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl solution twice and brine, dried over

Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **25** (187.6 mg, y. 86%) as a pale yellow amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.41 (dd, *J* = 1.8, 7.8 Hz, 1H), 7.33-7.11 (m, 7H), 6.85 (brd, *J* = 6.9 Hz, 2H), 5.16 (brs, 2H), 3.78 (brs, 1H), 3.28-3.24 (m, 1H), 3.21 (s, 3H), 2.94-2.81 (m, 3H), 1.79-1.75 (m, 2H), 1.65-1.51 (m, 2H), 1.42 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 161.9, 155.5, 155.0, 142.7, 133.9, 133.6, 130.8, 129.8, 129.7, 128.9, 128.0, 127.0, 126.7, 125.8, 125.1, 84.0, 56.2, 51.9, 46.4, 46.1, 38.6, 29.5, 28.4, 22.5; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₃₄ClIN₅O₃ 650.1389, found 650.1385; IR (ATR): 1700, 1635, 1506, 1492, 1473, 1442, 1417, 1363, 1307, 1238, 1209, 1166, 1106, 1049, 1041, 1025, 1006 cm⁻¹.

Palladium coupling reaction of **25** to give **13** (Table 4. Entry 4).

A mixture of **25** (72.4 mg, 0.111 mmol), Pd(OAc)₂ (2.50 mg, 11.1 μmol), PPh₃ (5.84 mg, 22.3 μmol) and Ag₂CO₃ (61.4 mg, 0.223 mmol) in DMF (2 ml) was stirred at 150 °C for 30 min. After cooling to room temperature, the reaction mixture was diluted with AcOEt and filtered through a Celite pad. The filtrate was washed with saturated NH₄Cl solution twice and brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **13** (52.6 mg, y. 90%) as a pale yellow amorphous.

***tert* Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-6-methoxy-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (**43**).**

Compound **43** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **13** with a yield of 43% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.87 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.19-7.01 (m, 3H), 6.96 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.38 (brs, 1H), 5.71 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H), 5.57 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.75 (brs, 1H), 3.34 (dd, *J* = 3.1, 13.2 Hz, 1H), 3.21 (dd, *J* = 4.1, 12.8 Hz, 1H), 3.00 (brs, 2H), 1.66-1.56 (m, 4H), 1.40 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 158.0, 156.2, 155.2, 149.1, 141.8, 135.1, 131.8, 129.4, 128.9, 128.4, 127.0, 126.5, 123.0, 119.3, 119.2, 115.5, 111.8, 78.8, 56.4, 54.5, 51.4, 46.1, 45.6, 31.5, 29.3, 28.4, 21.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₅ClN₅O₄ 552.2372, found 552.2372; IR (ATR): 1706, 1648, 1492, 1469, 1442, 1386, 1363, 1309, 1241, 1168, 1074, 1049, 1039 cm⁻¹.

Methyl 2-{(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl}-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*imidazo[4,5-*c*]quinoline-6-carboxylate (44**).**

Compound **44** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **13** with a yield of 31% for 3 steps as a white amorphous. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.40 (dd, $J = 0.9, 7.7$ Hz, 1H), 7.66 (dd, $J = 0.9, 7.5$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.32-7.27 (m, 1H), 7.21-7.12 (m, 2H), 6.69 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 6.24 (brs, 1H), 5.74 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H), 5.61 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.80 (brs, 1H), 3.55 (s, 3H), 3.41 (dd, $J = 3.3, 13.0$ Hz, 1H), 3.25 (dd, $J = 3.8, 12.6$ Hz, 1H), 3.06 (m, 2H), 1.71-1.50 (m, 4H), 1.48 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.5, 158.3, 155.9, 155.2, 142.0, 136.4, 134.8, 131.9, 129.8, 129.5, 128.6, 127.2, 126.6, 125.6, 122.0, 121.6, 119.3, 118.6, 78.9, 54.6, 52.7, 51.5, 46.3, 45.7, 31.5, 29.4, 28.4, 21.3; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{ClN}_5\text{O}_5$ 580.2321, found 580.2316; IR (ATR): 1716, 1683, 1654, 1490, 1386, 1263, 1201, 1166, 1130, 1066 cm^{-1} .

***tert* Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-7-phenyl-4,5-dihydro-3*H*imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (45).**

Compound **45** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **13** with a yield of 37% for 3 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.70-7.68 (m, 2H), 7.61 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.52-7.48 (m, 2H), 7.42-7.39 (m, 2H), 7.21-7.18 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.69 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.29 (brs, 1H), 5.79 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.67 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.81 (brs, 1H), 3.44 (dd, $J = 3.1, 9.6$ Hz, 1H), 3.30-3.26 (m, 1H), 3.09 (brs, 2H), 1.74-1.68 (m, 3H), 1.53-1.51 (m, 1H), 1.48 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 158.1, 155.2, 155.1, 141.8, 141.4, 140.9, 137.9, 135.2, 131.9, 129.4, 128.9, 128.4, 127.7, 127.4, 127.1, 126.5, 123.2, 121.4, 119.2, 116.0, 113.3, 78.9, 54.7, 51.5, 46.2, 45.7, 29.4, 29.0, 28.4, 21.3; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{ClN}_5\text{O}_3$ 598.2579, found 598.2583; IR (ATR): 1706, 1646, 1581, 1508, 1363, 1315, 1224, 1164, 1049, 981 cm^{-1} .

***tert* Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-8-fluoro-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (49).**

Compound **49** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **13** with a yield of 52% for 3 steps as a white amorphous. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.99-7.95 (m, 1H), 7.42-7.37 (m, 2H), 7.25-7.10 (m, 3H), 6.68 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.36-6.35 (m, 1H), 5.77 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H), 5.64 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H), 3.82 (brs, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.42 (dd, $J = 3.3, 13.0$ Hz, 1H), 3.27 (dd, $J = 4.0, 12.6$ Hz, 1H), 3.09-3.08 (m, 2H), 1.74-1.64 (m, 4H), 1.48 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 158.4 ($^1J(\text{C},\text{F}) = 240$ Hz),

158.2, 155.3, 154.8, 141.3, 135.1, 134.1, 132.0, 129.6, 128.6, 127.2, 126.5, 119.8, 118.2 (3J (C,F) = 8.8 Hz), 116.4 (3J (C,F) = 8.8 Hz), 115.8 (2J (C,F) = 24 Hz), 108.3 (2J (C,F) = 24 Hz), 79.1, 54.7, 51.5, 46.4, 45.7, 29.4, 29.3, 28.5, 21.3; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₃₂ClFN₅O₃ 540.2172, found 540.2156; IR (ATR): 1706, 1652, 1506, 1434, 1363, 1307, 1241, 1166, 1106, 1049, 995 cm⁻¹.

***tert* Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-8-methoxy-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (50).**

Compound **50** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **13** with a yield of 38% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.74 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 7.42-7.35 (m, 2H), 7.19-7.11 (m, 3H), 6.67 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 5.83 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 5.67 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 5.34-5.31 (m, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.83 (brs, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.43 (dd, J = 2.7, 12.3 Hz, 1H), 3.17 (dd, J = 5.3, 11.9 Hz, 1H), 3.06-3.05 (m, 2H), 1.73-1.59 (m, 4H), 1.44 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 158.0, 155.1, 155.1, 154.8, 141.9, 135.2, 132.0, 131.9, 129.5, 128.5, 127.2, 126.6, 119.7, 117.9, 117.0, 116.2, 104.6, 79.2, 55.9, 55.2, 51.6, 46.2, 45.9, 29.5, 29.1, 28.4, 21.9; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₅ClN₅O₄ 552.2372, found 552.2355; IR (ATR): 1706, 1648, 1506, 1423, 1363, 1307, 1214, 1166, 1116, 1039 cm⁻¹.

***tert* Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-5,8-dimethyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (51).**

Compound **51** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **13** with a yield of 57% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (s, 1H), 7.40 (dd, J = 1.1, 7.7 Hz, 1H), 7.33 (s, 2H), 7.22-7.09 (m, 2H), 6.67 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 5.81 (brs, 1H), 5.80 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 5.65 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 3.83 (brs, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.42 (dd, J = 2.9, 12.5 Hz, 1H), 3.23 (dd, J = 4.6, 13.2 Hz, 1H), 3.07-3.05 (m, 2H), 2.49 (s, 3H), 1.72-1.49 (m, 4H), 1.49 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 158.1, 155.2, 155.1, 142.0, 135.6, 135.3, 131.9, 131.9, 129.5, 128.5, 127.2, 126.6, 122.5, 119.4, 117.0, 114.7, 114.7, 79.1, 54.9, 51.6, 46.2, 45.8, 29.4, 29.0, 28.5, 28.0, 21.6; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₅ClN₅O₃ 536.2423, found 536.2410; IR (ATR): 1689, 1646, 1521, 1498, 1388, 1353, 1309, 1234, 1176, 1116, 1068, 1039 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-6-methoxy-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (52).

Compound **52** was prepared from **43** in a manner similar to that described for compound **3** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.43 (brs, 3H), 7.85 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 2H), 7.22-7.19 (m, 2H), 6.74 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.63 (d, *J* = 18.0 Hz, 1H), 5.58 (d, *J* = 18.0 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.69-3.67 (m, 1H), 3.32-3.24 (m, 2H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.89-2.84 (m, 1H), 1.95 (brs, 1H), 1.75 (brs, 1H), 1.62-1.49 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.0, 155.2, 149.1, 140.4, 135.2, 131.1, 129.5, 129.1, 128.6, 127.8, 127.2, 123.7, 118.7, 118.0, 115.1, 113.0, 56.9, 52.4, 51.1, 46.5, 46.3, 34.8, 27.3, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₇ClN₅O₂ 452.1848, found 452.1835; IR (ATR): 1673, 1594, 1483, 1444, 1247, 1074, 1051, 1041, 977 cm⁻¹; *Anal.* Calcd for C₂₄H₂₆ClN₅O₂·2.75 HCl: C, 52.20; H, 5.25; N, 12.68, found: C, 52.25; H, 5.56, N, 12.30.

Methyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chloro-benzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-6-carboxylate hydrochloride (53**).**

Compound **53** was prepared from **44** in a manner similar to that described for compound **3** with a yield of 59% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.37 (brs, 3H), 8.30 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.43-7.39 (m, 1H), 7.32-7.29 (m, 1H), 7.25-7.21 (m, 1H), 6.73 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 5.63 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.58 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.72-3.58 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.27-3.22 (m, 1H), 3.09-3.06 (m, 1H), 2.87-2.82 (m, 1H), 1.95 (brs, 1H), 1.76 (brs, 1H), 1.61-1.49 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.0, 157.9, 155.1, 141.6, 135.8, 135.2, 131.2, 129.8, 129.5, 129.1, 127.9, 127.2, 125.1, 122.2, 122.2, 119.0, 118.2, 53.1, 52.3, 51.1, 46.4, 46.3, 34.8, 27.4, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₇ClN₅O₃ 480.1797, found 480.1783; IR (ATR): 1722, 1658, 1577, 1527, 1496, 1471, 1267 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-7-phenyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (54**).**

Compound **54** was prepared from **45** in a manner similar to that described for compound **3** with a yield of 92% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.47 (brs, 3H), 8.33-8.31 (m, 1H), 7.82 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.76 (s, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.53-7.49 (m, 3H), 7.43-7.39 (m, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.25-7.21 (m, 1H), 6.75 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.63 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.58 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 3.69-3.64 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.38-3.29 (m, 2H), 3.12-3.09 (m, 1H), 2.91-2.86 (m, 1H), 1.97 (brs, 1H), 1.76 (brs, 1H), 1.64-1.50 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156.9, 154.2, 140.7, 140.0, 139.8, 138.0, 135.2, 131.1, 129.5, 129.2, 129.1, 128.1, 127.8, 127.4, 127.1, 123.1, 121.3,

118.7, 114.8, 113.9, 52.4, 51.1, 46.7, 46.3, 29.0, 27.3, 21.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₂₉ClN₅O 498.2055, found 498.2040; IR (ATR): 1668, 1596, 1444, 1419, 1324, 1051, 1033, 1016 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-8-fluoro-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (56).

Compound **56** was prepared from **49** in a manner similar to that described for compound **3** with a yield of 97% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.14 (brs, 3H), 7.80 (dd, *J* = 3.0, 8.7 Hz, 1H), 7.65 (dd, *J* = 4.5, 9.3 Hz, 1H), 7.52 (dd, *J* = 1.1, 7.9 Hz, 1H), 7.47-7.42 (m, 1H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.25-7.21 (m, 1H), 6.66 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 5.63 (s, 2H), 3.62 (s, 3H), 3.61-3.56 (m, 1H), 3.38-3.36 (m, 1H), 3.23-3.18 (m, 1H), 3.09-3.06 (m, 1H), 2.85-2.82 (m, 1H), 1.98-1.90 (m, 1H), 1.77-1.75 (m, 1H), 1.58-1.49 (m, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 158.3, 157.7 (¹*J*(C,F) = 240 Hz), 154.0, 140.9 (⁴*J*(C,F) = 3.1 Hz), 135.4, 134.0, 131.0, 129.4, 128.9, 127.7, 126.9, 119.4, 117.8 (³*J*(C,F) = 8.7 Hz), 117.8 (³*J*(C,F) = 8.7 Hz), 115.7 (²*J*(C,F) = 31 Hz), 107.1 (²*J*(C,F) = 31 Hz), 58.6, 50.7, 47.4, 46.1, 33.2, 29.1, 23.5; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₂₄ClFN₅O 440.1648, found 440.1639; IR (ATR): 1672, 1604, 1525, 1463, 1313, 1245, 1213, 1110, 1051, 1000 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-8-methoxy-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (57).

Compound **57** was prepared from **50** in a manner similar to that described for compound **3** with a yield of 90% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.27 (brs, 3H), 7.63 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.56-7.51 (m, 2H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.23 (dd, *J* = 1.1, 7.7 Hz, 1H), 7.21-7.18 (m, 1H), 6.67 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.72-3.63 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.50-3.46 (m, 1H), 3.28-3.25 (m, 1H), 3.11-3.07 (m, 1H), 2.88-2.83 (m, 1H), 1.99-1.94 (m, 1H), 1.79-1.76 (m, 1H), 1.60-1.49 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156.9, 154.9, 153.7, 140.1, 135.3, 131.9, 130.3, 129.5, 129.1, 127.8, 127.0, 119.1, 117.4, 117.3, 116.4, 104.1, 55.8, 52.4, 51.2, 46.4, 46.3, 29.0, 27.3, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₇ClN₅O₂ 452.1848, found 452.1834; IR (ATR): 1670, 1508, 1471, 1423, 1230, 1051, 1033 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5,8-dimethyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (58).

Compound **58** was prepared from **51** in a manner similar to that described for compound **3** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.29

(brs, 3H), 7.99 (s, 1H), 7.52-7.48 (m, 2H), 7.40-7.38 (m, 1H), 7.34-7.02 (m, 2H), 6.67 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 5.58 (s, 2H), 3.59 (s, 3H), 3.48-3.44 (m, 1H), 3.37-3.33 (m, 1H), 3.25-3.22 (m, 1H), 3.10-3.06 (m, 1H), 2.87-2.85 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.57-1.51 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 158.4, 155.1, 142.3, 135.6, 135.5, 131.9, 131.8, 129.4, 129.3, 128.4, 127.2, 126.7, 122.5, 119.4, 117.0, 114.7, 59.1, 51.1, 47.4, 46.2, 33.3, 28.9, 23.3, 20.7; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{ClN}_5\text{O}$ 436.1899, found 436.1890; IR (ATR): 1666, 1575, 1506, 1471, 1444, 1052, 1033 cm^{-1} .

Methyl 4-([2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-1-(2-chlorobenzyl)-4-iodo-1*H*-imidazol-5-yl]carbonyl)amino)benzoate (65)

To a solution of **23** (56.08 g, 100 mmol) in CH_2Cl_2 (1.3 L) were added $(\text{COCl})_2$ (16.5 g, 130 mmol) and DMF (5 ml) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 4 h and concentrated under reduced pressure. The residue was azeotroped with toluene and redissolved in toluene (1.3 L). To this solution was added DIPEA (38.8 g, 300 mmol) followed by methyl 4-aminobenzoate (19.7 g, 130 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 12 h. The reaction mixture was then quenched with saturated NH_4Cl aqueous solution, extracted with EtOAc, washed with brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **64** (54.63 g, yield 79%) as a white amorphous. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.30 (brs, 1H), 8.01 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.62 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.39-7.36 (m, 1H), 7.22-7.13 (m, 2H), 6.82-6.78 (m, 1H), 5.58 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 5.50 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 4.93-4.90 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.77 (brs, 1H), 3.31 (dd, $J = 3.3, 12.0$ Hz, 1H), 2.93-2.84 (m, 3H), 1.78-1.54 (m, 4H), 1.49 (s, 9H); HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}$ 694.1288, found 694.1272; IR (ATR): 1714, 1675, 1591, 1513, 1434, 1405, 1311, 1280, 1243, 1222, 1172, 1110, 1060 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}$: C, 50.19; H, 4.79; N, 10.09, found: C, 50.52; H, 4.95; N, 9.92.

Methyl 4-([2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-1-(2-chlorobenzyl)-4-iodo-1*H*-imidazol-5-yl]carbonyl)(methyl)amino]benzoate (68)

A mixture of **65** (109 mg, 0.157 mmol), K_2CO_3 (86.8 mg, 0.628 mmol), and MeI (39.1 μl , 0.63 mmol) in DMF (2 ml) was stirred at room temperature for 12 h. The reaction mixture was quenched with saturated NH_4Cl aqueous solution and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with saturated NH_4Cl aqueous solution twice and brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **68** (91.6 mg, yield 82%) as a pale

yellow amorphous. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.87 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.46-7.43 (m, 1H), 7.34-7.18 (m, 3H), 6.79 (brs, 2H), 5.24 (brs, 2H), 4.99-4.97 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.82 (brs, 1H), 3.32 (brs, 1H), 3.23 (s, 3H), 3.00 (brs, 2H), 2.92-2.86 (m, 1H), 1.80-1.79 (m, 2H), 1.64 (m, 2H), 1.42 (s, 9H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 166.2, 161.9, 155.9, 155.0, 147.0, 146.9, 134.2, 133.4, 131.4, 130.1, 130.0, 129.9, 129.9, 127.6, 126.9, 125.1, 79.2, 56.2, 52.2, 51.9, 46.4, 46.1, 38.1, 29.5, 28.3, 22.5; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}$ 708.1444, found 708.1428; IR (ATR): 1716, 1704, 1699, 1652, 1646, 1635, 1506, 1488, 1473, 1456, 1436, 1363, 1276, 1241, 1170, 1105, 1049 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}\cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$: C, 49.32; H, 5.17; N, 9.59, found: C, 49.17; H, 4.87; N, 9.33.

Methyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (71)

A mixture of **68** (172 mg, 0.243 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (5.46 mg, 0.0234 mmol), PPh_3 (12.7 mg, 0.0484 mmol), and Ag_2CO_3 (133.9 mg, 0.486 mmol) in DMF (2 ml) was stirred at 150 $^\circ\text{C}$ for 1 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was diluted with EtOAc and filtered through a Celite pad. The filtrate was washed with saturated NH_4Cl aqueous solution twice and brine. The organic layer was dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **71** (119.8 mg, yield 85%) as a pale yellow solids. Mp 186-188 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.95 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.18 (dd, J = 2.1, 9.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.27-7.12 (m, 2H), 6.70 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 5.78 (d, J = 17.4 Hz, 1H), 5.63 (d, J = 17.4 Hz, 1H), 5.40-5.37 (m, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.84 (brs, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.48-3.31 (m, 1H), 3.24-3.18 (m, 1H), 3.10 (m, 2H), 1.78 (m, 4H), 1.44 (s, 9H); HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}$ 580.2321, found 580.2314; IR (ATR): 1718, 1689, 1652, 1569, 1500, 1446, 1429, 1388, 1353, 1313, 1274, 1234, 1174, 1124, 1110, 1066, 1039 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{ClN}_5\text{O}_5$: C, 62.12; H, 5.91; N, 12.09, found: C, 62.11; H, 5.88; N, 12.07.

Methyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate hydrochloride (74)

To a solution of **71** (22.1 mg, 0.0381 mmol) in 1,4-dioxane (1 ml) was added 4N HCl-1,4-dioxane (1 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h and concentrated under reduced pressure to give **74** (21.9 mg, quantitative yield) as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.69 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.37 (brs,

3H), 8.09 (dd, $J = 2.1, 8.9$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.51 (dd, $J = 1.1, 7.9$ Hz, 1H), 7.33-7.28 (m, 1H), 7.25-7.21 (m, 1H), 6.71 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 5.62 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.56 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 3.73-3.69 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.38-3.36 (m, 1H), 3.28-3.23 (m, 1H), 3.11-3.08 (m, 1H), 2.88-2.83 (m, 1H), 1.99-1.97 (m, 1H), 1.78-1.75 (m, 1H), 1.63-1.49 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 166.0, 157.8, 154.2, 141.2, 140.4, 135.2, 131.1, 129.5, 129.1, 128.9, 127.8, 127.1, 123.5, 123.3, 119.3, 116.2, 116.1, 52.4, 52.3, 51.0, 46.4, 46.3, 29.2, 27.5, 22.2; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{N}_5\text{Cl}$ 480.1797, found 480.1787; IR (ATR): 1710, 1670, 1652, 1646, 1594, 1558, 1521, 1506, 1473, 1288, 1261, 1112, 1004 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{N}_5\text{Cl}\cdot 2.75\text{HCl}$: C, 51.75; H, 4.99; N, 12.07, found: C, 51.69; H, 5.36; N, 11.69.

2-((3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid (76)

A mixture of **71** (3.77 g, 6.49 mmol) and 1M NaOH (16 ml) aqueous solution in THF (16 ml) and MeOH (16 ml) was stirred at room temperature for 12 h. The mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was acidified with 10% KHSO_4 aqueous solution and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure to give **76** (2.13 g, yield 58%). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.67 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.05 (dd, $J = 2.1, 8.7$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.48 (dd, $J = 0.9, 7.8$ Hz, 1H), 7.30-7.17 (m, 2H), 6.90 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.57 (d, $J = 18.0$ Hz, 1H), 5.51 (d, $J = 18.0$ Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.52-3.25 (m, 3H), 2.86-2.70 (m, 2H), 1.80-1.67 (m, 2H), 1.59-1.51 (m, 1H), 1.39-1.27 (m, 10H); HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}$ 566.2165, found 566.2162; IR (ATR): 1700, 1685, 1654, 1508, 1457, 1388, 1309, 1238, 1168, 1116 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{ClN}_5\text{O}_5$: C, 61.53; H, 5.70; N, 12.37, found: C, 61.63; H, 5.73; N, 12.07.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (79)

To a solution of **76** (39.9 mg, 0.0705 mmol) in 1,4-dioxane (1 ml) was added 4N HCl-1,4-dioxane (1 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h and concentrated under reduced pressure to give **79** (40.2 mg, quantitative yield) as a white amorphous. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8.96 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.25 (dd, $J = 2.0, 9.0$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.49 (dd, $J = 1.1, 7.7$ Hz, 1H), 7.35-7.23 (m, 2H),

6.98 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.71 (s, 2H), 3.93 (brd, $J = 11.3$ Hz, 1H), 3.74-3.37 (m, 3H), 3.64 (s, 3H), 3.21-3.06 (m, 1H), 2.16 (m, 1H), 1.87-1.72 (m, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 166.8, 157.6, 154.0, 141.2, 140.0, 135.1, 130.9, 129.3, 128.9, 128.9, 127.7, 126.8, 124.3, 123.5, 119.1, 116.0, 115.9, 52.3, 50.9, 46.4, 46.1, 29.2, 27.5, 22.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{N}_5\text{Cl}$ 466.1640, found 466.1636; IR(ATR): 2886, 1668, 1645, 1216, 1118 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{N}_5\text{Cl}\cdot 5\text{HCl}\cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 43.27; H, 4.69; N, 10.51, found: C, 43.33; H, 4.59; N, 10.47.

***tert* Butyl $\{(3R)$ -1-[8-carbamoyl-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (81)**

A mixture of **76** (233.4 mg, 0.412 mmol), WSC·HCl (119 mg, 0.62 mmol), HOBT (94.7 mg, 0.62 mmol), TEA (86.2 μL , 0.62 mmol), and 28% NH_4OH (37.6 μL , 0.62 mmol) in DMF (2 ml) was stirred at room temperature for 3 h. The reaction mixture was quenched with saturated NH_4Cl aqueous solution and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with saturated NH_4Cl aqueous solution twice, saturated NaHCO_3 aqueous solution and brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **81** (170.6 mg, yield 73%) as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.64 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.18 (brs, 1H), 8.04 (dd, $J = 2.0, 9.0$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.48 (dd, $J = 1.0, 8.2$ Hz, 1H), 7.40 (brs, 1H), 7.29-7.25 (m, 1H), 7.22-7.18 (m, 1H), 6.87 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 5.59 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.54 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.49-3.38 (m, 2H), 3.26-3.23 (m, 1H), 2.84-2.71 (m, 2H), 1.78-1.68 (m, 2H), 1.57-1.54 (m, 1H), 1.38-1.22 (m, 10H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 167.5, 158.1, 155.0, 154.3, 141.8, 139.1, 135.4, 131.2, 129.4, 128.9, 128.1, 127.7, 127.4, 126.9, 122.0, 119.1, 116.1, 115.5, 77.9, 55.2, 50.7, 46.7, 46.3, 29.8, 29.1, 28.4, 23.5; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{N}_6\text{Cl}$ 565.2330, found 565.2328; IR(ATR): 1677, 1662, 1618, 1527, 1508, 1457, 1434, 1388, 1349, 1309, 1238, 1170, 1114, 1051 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxamide hydrochloride (83)

To a solution of **81** (98.3 mg, 0.174 mmol) in 1,4-dioxane (2 ml) was added 4*N* HCl-1,4-dioxane (2 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 4 h and concentrated under reduced pressure to give **83** (72.5 mg, yield 83%) as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , free form) δ 8.66 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.21 (brs,

1H), 8.05 (dd, $J = 2.1, 8.9$ Hz, 1H), 7.89-7.87 (m, 1H), 7.61 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.50 (dd, $J = 1.1, 7.9$ Hz, 1H), 7.41 (brs, 1H), 7.31-7.27 (m, 1H), 7.23-7.19 (m, 1H), 6.64 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 5.58 (s, 2H), 3.63 (s, 3H), 3.55-3.52 (m, 1H), 3.17-3.14 (m, 1H), 3.07-3.03 (m, 1H), 2.95-2.82 (m, 2H), 1.89-1.86 (m, 1H), 1.71-1.67 (m, 1H), 1.51-1.34 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , free form) δ 167.5, 158.1, 154.3, 141.8, 139.2, 135.4, 131.1, 129.5, 129.0, 128.0, 127.8, 127.4, 127.0, 122.1, 119.1, 116.1, 115.5, 55.8, 50.9, 46.9, 46.2, 30.7, 29.1, 22.9; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{N}_6\text{Cl}$ 465.1800, found 465.1795; IR (ATR): 1652, 1610, 1558, 1506, 1471, 1444, 1388, 1313, 1124 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-8-(difluoromethoxy)-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (73)

Compound **73** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **74** with total yield of 41% for 4 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.32 (brs, 3H), 7.85 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.53-7.49 (m, 1H), 7.40 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 7.34 (t, $J(\text{H}, \text{F}) = 74$ Hz, 1H), 7.31-7.27 (m, 1H), 7.23-7.19 (m, 1H), 6.66 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 5.63 (s, 2H), 3.63-3.56 (m, 4H), 3.38-3.31 (m, 1H), 3.25-3.20 (m, 1H), 3.10-3.06 (m, 1H), 2.86-2.82 (m, 1H), 1.96-1.93 (m, 1H), 1.78-1.74 (m, 1H), 1.62-1.48 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 157.6, 154.0, 145.9, 140.5, 135.3, 134.8, 131.1, 129.5, 129.1, 127.8, 127.0, 120.3, 119.5, 117.8, 117.2, 117.1, 116.7 (t, $J(\text{C}-\text{F}) = 257$ Hz), 52.4, 51.1, 46.3, 34.3, 29.1, 27.4, 22.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{N}_5\text{ClF}_2$ 488.1659, found 488.1643; IR(ATR): 1675, 1635, 1508, 1465, 1444, 1396, 1216, 1108, 1049, 1002 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-6-carboxylic acid hydrochloride (78)

Compound **78** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **79** with total yield of 23% for 5 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.38 (brs, 3H), 8.29 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.42-7.38 (m, 1H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.26-7.22 (m, 1H), 6.74 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.58 (s, 2H), 3.73-3.56 (m, 1H), 3.48 (s, 3H), 3.38-3.16 (m, 2H), 3.07 (m, 1H), 2.88-2.84 (m, 1H), 1.96 (m, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.62-1.50 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 170.2, 157.8, 155.1, 141.5, 135.7, 135.2, 131.2, 129.5, 129.4, 129.1, 127.9, 127.2, 124.5, 124.1, 122.1, 118.9, 118.0, 52.3, 51.4, 46.4, 46.3, 34.9, 27.4, 22.1; HRMS

(ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₅O₃N₅Cl 466.1640, found 466.1627; IR(ATR): 1704, 1664, 1557, 1490, 1471, 1367, 1220, 1199, 1124, 1095, 1066, 1049, 1018 cm⁻¹.

{2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-8-yl}acetic acid hydrochloride (80)

Compound **80** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **79** with a yield of 48% for 5 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.33 (brs, 3H), 8.06 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.55-7.50 (m, 2H), 7.45 (dd, *J* = 2.0, 8.7 Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.64 (dd, *J* = 1.1, 6.6 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.67-3.64 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.32 (m, 1H), 3.25-3.20 (m, 1H), 3.11-3.08 (m, 1H), 2.87-2.81 (m, 1H), 1.97-1.95 (m, 1H), 1.78-1.76 (m, 1H), 1.61-1.44 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 173.0, 157.4, 154.2, 141.0, 136.3, 135.4, 131.1, 130.1, 129.5, 129.4, 129.0, 127.8, 127.0, 122.7, 119.0, 116.1, 115.8, 52.4, 51.2, 46.3, 46.3, 28.9, 27.4, 27.4, 22.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₇O₃N₅Cl 480.1797, found 480.1785; IR(ATR): 2867, 1733, 1670, 1621, 1575, 1508, 1448, 1417, 1378, 1245, 1157, 1047 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₂₅H₂₆O₃N₅Cl·2.50HCl: C, 52.58; H, 5.03; N, 12.26, found: C, 52.61; H, 5.11; N, 12.09.

***tert*-Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-8-(dimethylcarbamoyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (82)**

A mixture of **76** (264.6 mg, 0.467 mmol), WSC·HCl (134 mg, 0.699 mmol), HOBt (107 mg, 0.699 mmol), TEA (195 μL, 1.40 mmol), and NHMe₂·HCl (76.2 mg, 0.934 mmol) in DMF (2 ml) was stirred at room temperature for 2 h. The reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl aqueous solution twice, saturated NaHCO₃ aqueous solution and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **82** (303 mg, quantitative yield) as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.37 (brs, 1H), 7.61 (dd, *J* = 1.5, 8.6 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 1.0, 8.8 Hz, 1H), 7.22-7.18 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.68 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.77 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 3.81 (brs, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.43 (dd, *J* = 2.8, 12.5 Hz, 1H), 3.20-3.09 (m, 9H), 1.77-1.55 (m, 4H), 1.43 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.9, 158.2, 155.1, 155.0, 141.8, 138.0, 135.0, 131.9, 130.1, 129.5, 128.5, 127.3, 127.1, 126.4, 121.6, 119.5, 116.6, 114.8, 79.0, 54.9, 51.4, 46.3, 45.8, 39.7, 35.4, 29.4, 29.0, 28.3, 21.7;

HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₁H₃₈O₄N₆Cl 593.2643, found 593.2642; IR(ATR): 1700, 1683, 1652, 1506, 1496, 1473, 1457, 1388, 1363, 1307, 1270, 1243, 1168, 1114, 1089, 1049 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-*N,N*,5-trimethyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxamide hydrochloride (84)

Compound **84** was prepared from **82** in a manner similar to that described for compound **83** with a yield of 92% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.41 (brs, 3H), 8.20 (s, 1H), 7.65-7.60 (m, 2H), 7.51 (dd, *J* = 1.1, 7.9 Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.71 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.64 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.59 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 3.70-3.66 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.37-3.35 (m, 1H), 3.29-3.23 (m, 1H), 3.10-3.08 (m, 1H), 3.01 (s, 6H), 2.90-2.85 (m, 1H), 1.97-1.94 (m, 1H), 1.77-1.74 (m, 1H), 1.63-1.58 (m, 1H), 1.53-1.48 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.7, 156.6, 153.9, 139.3, 137.9, 135.0, 131.1, 130.4, 129.6, 129.2, 128.0, 127.8, 127.2, 121.5, 118.9, 115.9, 114.8, 59.4, 52.3, 50.9, 46.8, 46.2, 43.8, 29.2, 27.3, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₃₀O₂N₆Cl 493.2113, found 493.2114; IR(ATR): 1672, 1618, 1506, 1471, 1444, 1394, 1319, 1243, 1118, 1051 cm⁻¹.

Methyl 3-[[[2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-1-(2-chlorobenzyl)-4-iodo-1*H*-imidazol-5-yl]carbonyl](methyl)amino]benzoate (39)

Compound **39** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **68** with total yield of 57% for 2 steps as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.97 (dd, *J* = 1.3, 8.1 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 1.5, 7.9 Hz, 1H), 7.36-7.25 (m, 2H), 7.20-7.18 (m, 1H), 6.93 (brs, 1H), 5.25-4.95 (m, 3H), 4.10 (s, 3H), 3.80 (brs, 1H), 3.32 (dd, *J* = 3.3, 11.9 Hz, 1H), 3.18 (s, 3H), 2.99-2.91 (m, 3H), 1.83-1.53 (m, 4H), 1.42 (s, 9H).

Ethyl 3-[[[2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-1-(2-chlorobenzyl)-4-iodo-1*H*-imidazol-5-yl]carbonyl](methyl)amino]benzoate (85)

Compound **85** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **68** with total yield of 17% for 2 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.86 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.70 (brs, 1H), 7.42 (dd, *J* = 1.1, 7.9 Hz, 1H), 7.34-7.28 (m, 3H), 7.18 (m, 1H), 6.95 (m, 1H), 5.25 (brs, 1H), 5.08 (brs, 1H), 4.89 (brs, 1H), 4.47 (q, *J* = 7.2

Hz, 2H), 3.79 (brs, 1H), 3.32-3.29 (m, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.98-2.87 (m, 3H), 1.77 (m, 2H), 1.64-1.63 (m, 1H), 1.56-1.49 (m, 1H), 1.42-1.25 (m, 13H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 165.7, 162.0, 155.6, 155.0, 142.7, 134.0, 133.5, 131.4, 131.2, 130.3, 129.9, 129.8, 128.9, 127.8, 127.5, 127.0, 126.8, 83.9, 79.2, 61.2, 56.2, 51.9, 46.6, 46.1, 38.8, 31.6, 28.4, 22.6, 14.3; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd. for $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}$ 722.1601, found 722.1591; IR(ATR): 1716, 1635, 1538, 1506, 1488, 1473, 1444, 1417, 1363, 1280, 1236, 1168, 1103, 1049, 1008 cm^{-1} .

***tert* Butyl 3-[[2-{{(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl}-1-(2-chlorobenzyl)-4-iodo-1*H*-imidazol-5-yl]carbonyl](methyl)amino]benzoate (86)**

Compound **86** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **68** with total yield of 50% for 2 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.81 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.42 (dd, $J = 1.3, 7.6$ Hz, 1H), 7.34-7.28 (m, 4H), 7.16 (brs, 1H), 5.26 (brs, 1H), 5.05 (brs, 1H), 4.85-4.59 (m, 1H), 3.79 (brs, 1H), 3.29 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.16 (s, 3H), 2.96 (m, 3H), 1.76 (m, 2H), 1.59 (s, 9H), 1.54-1.50 (m, 2H), 1.41 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 164.6, 161.9, 155.5, 154.9, 142.5, 133.7, 133.4, 132.8, 130.8, 129.8, 129.7, 129.7, 128.7, 127.6, 127.5, 126.9, 126.6, 83.9, 81.3, 79.0, 56.2, 51.8, 46.4, 46.0, 38.6, 29.4, 28.3, 28.1, 22.4; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{42}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}$ 750.1914, found 750.1892; IR(ATR): 1700, 1652, 1646, 1635, 1506, 1488, 1363, 1303, 1243, 1160, 1128, 1079, 1049, 1008 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 51.60; H, 5.64; N, 9.12, found: C, 51.41; H, 5.40; N, 8.93.

***tert* Butyl 2-{{(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl}-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylate (89)**

Compound **89** was prepared from **86** in a manner similar to that described for compound **71** with a yield of 73% as a white amorphous. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.31 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 1.2, 8.4$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $J = 1.5, 7.8$ Hz, 1H), 7.27-7.11 (m, 2H), 6.70 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 6.10-6.08 (m, 1H), 5.79 (d, $J = 17.1$ Hz, 1H), 5.65 (d, $J = 17.1$ Hz, 1H), 3.83 (brs, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.45 (dd, $J = 3.3, 12.6$ Hz, 1H), 3.24 (dd, $J = 5.4, 12.6$ Hz, 1H), 3.10-3.08 (m, 2H), 1.73-1.54 (m, 13H), 1.44 (s, 9H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 165.6, 158.4, 155.2, 155.1, 141.3, 137.1, 134.9, 132.0, 131.3, 129.6, 128.6, 127.2, 126.5, 122.9, 122.6, 120.5, 120.2, 116.2, 81.6, 79.1, 54.8, 51.5, 46.4, 45.7, 29.4, 29.1, 28.5, 28.2, 21.5; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{41}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}$ 622.2791,

found 622.2780; IR (ATR): 1706, 1652, 1506, 1473, 1390, 1365, 1307, 1240, 1224, 1160, 1108, 1039 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylic acid hydrochloride (91)

To a solution of **89** (337.5 mg, 0.542 mmol) in 1,4-dioxane (4 ml) was added 4*N* HCl-1,4-dioxane (4 ml). The reaction mixture was stirred at 80 °C for 4 h and concentrated under reduced pressure to give **91** (283 mg, quantitative yield) as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.33 (s, 3H), 8.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.89 (dd, *J* = 1.5, 8.1 Hz, 1H), 7.50 (dd, *J* = 1.2, 7.8 Hz, 1H), 7.31-7.27 (m, 1H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.69 (dd, *J* = 1.4, 7.6 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H), 5.59 (d, *J* = 17.1 Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.66-3.64 (m, 1H), 3.30 (brs, 1H), 3.26-3.21 (m, 1H), 3.09-3.06 (m, 1H), 2.86-2.82 (m, 1H), 1.96 (m, 1H), 1.77-1.75 (m, 1H), 1.60-1.51 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.0, 157.5, 154.0, 140.3, 136.8, 135.0, 130.9, 130.1, 129.3, 128.9, 127.6, 126.8, 122.8, 122.2, 120.1, 119.5, 116.5, 52.3, 51.1, 46.4, 46.3, 28.9, 27.4, 22.2; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for C₂₄H₂₅O₃N₅Cl 466.1640, found 466.1637; IR(ATR): 2869, 1716, 1679, 1652, 1623, 1508, 1473, 1457, 1444, 1419, 1394, 1326, 1245, 1222, 1178, 1130, 1052, 1041 cm^{-1} . Anal. Calcd for C₂₄H₂₄O₃N₅Cl·2HCl·2H₂O: C, 50.14; H, 5.26; N, 12.18, found: C, 50.15; H, 5.29; N, 12.06.

{2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-7-yl}acetic acid hydrochloride (100)

Compound **100** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **74** with total yield of 23% for 5 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.36 (brs, 3H), 8.16 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.54-7.50 (m, 2H), 7.33-7.27 (m, 2H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.71 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.63 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.70-3.64 (m, 2H), 3.60 (s, 3H), 3.33-3.24 (m, 1H), 3.12-3.09 (m, 1H), 2.89-2.85 (m, 1H), 1.97-1.94 (m, 1H), 1.78-1.75 (m, 1H), 1.62-1.49 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 172.7, 157.1, 154.2, 140.8, 137.4, 136.1, 135.3, 131.1, 129.5, 129.1, 127.8, 127.1, 124.0, 122.2, 118.6, 116.7, 114.5, 52.4, 51.1, 46.5, 46.3, 41.2, 29.0, 27.3, 22.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for C₂₅H₂₇O₃N₅Cl 480.1797, found 480.1786; IR(ATR): 1683, 1670, 1652, 1635, 1589, 1558, 1540, 1506, 1473 cm^{-1} ; Anal. Calcd for C₂₅H₂₆O₃N₅Cl·2.25HCl·1.75H₂O: C, 50.59; H, 5.39; N, 11.80, found: C, 50.73; H, 45.47; N, 11.67.

{2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-9-yl}acetic acid hydrochloride (101)

Compound **101** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **74** with total yield of 4.3% for 5 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.38 (brs, 3H), 8.16 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.52-7.50 (m, 2H), 7.32-7.27 (m, 2H), 7.24-7.21 (m, 1H), 6.71 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.63 (s, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.72-3.67 (m, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.33-3.25 (m, 2H), 3.12-3.09 (m, 1H), 2.90-2.85 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.78-1.76 (m, 1H), 1.62-1.47 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 172.6, 157.1, 154.2, 140.5, 137.5, 136.1, 135.3, 131.1, 129.5, 129.1, 127.8, 127.1, 124.0, 122.2, 118.6, 116.7, 114.5, 52.4, 51.1, 46.5, 46.2, 40.5, 28.9, 27.3, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₇O₃N₅Cl 480.1797, found 480.1783; IR(ATR): 2867, 1718, 1670, 1625, 1604, 1513, 1475, 1444, 1326, 1245, 1162, 1122, 1051, 1000 cm⁻¹.

Methyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-9-carboxylate (108)

A mixture of compound **107** (16.9 mg, 0.0275 mmol) which was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **71** with total yield of 11% in 3 steps, and 10% Pd/C (50% wet, 40.0 mg) in MeOH (5 ml) was stirred at room temperature under H₂ atmosphere for 4 h. The reaction mixture was filtered through a Celite pad, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **108** (15.5 mg, yield 97%) as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.56-7.49 (m, 2H), 7.40 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.32 (dd, *J* = 2.4, 5.9 Hz, 1H), 7.23-7.11 (m, 2H), 6.71 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.80 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 4.69 (brd, *J* = 7.7 Hz, 1H), 4.03 (s, 3H), 3.81-3.79 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.39 (dd, *J* = 3.1, 12.1 Hz, 1H), 3.04-2.96 (m, 3H), 1.74-1.49 (m, 4H), 1.42 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 157.6, 154.9, 154.8, 140.6, 137.7, 134.9, 131.9, 129.9, 129.5, 128.6, 127.6, 127.2, 126.7, 120.7, 120.2, 116.2, 113.6, 79.4, 60.4, 55.5, 52.8, 51.5, 46.3, 29.3, 28.3, 22.3, 14.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₃₅O₅N₅Cl 580.2321, found 580.2305; IR(ATR): 1733, 1716, 1652, 1506, 1496, 1471, 1457, 1311, 1278, 1213, 1168 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-9-carboxylic acid hydrochloride (109)

Compound **109** was prepared from **108** in a manner similar to that described for compound **79** with total yield of 99% for 2 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.27 (brs, 3H), 7.69 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.61-7.57 (m, 1H), 7.52 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.35-7.28 (m, 1H), 7.24-7.21 (m, 1H), 6.66 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.49-3.37 (m, 2H), 3.23-3.15 (m, 1H), 3.07-3.04 (m, 1H), 2.92-2.87 (m, 1H), 1.93 (brs, 1H), 1.72-1.62 (m, 2H), 1.48-1.46 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 169.8, 156.2, 153.7, 139.4, 137.5, 135.1, 130.9, 130.8, 129.3, 128.9, 127.9, 127.6, 126.7, 121.2, 119.3, 116.7, 112.1, 51.9, 50.6, 46.1, 45.6, 29.1, 27.1, 21.3; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{N}_5\text{Cl}$ 466.1640, found 466.1630; IR(ATR): 2915, 1652, 1575, 1558, 1540, 1508, 1456, 1444, 1419, 1375, 1319, 1245, 1095, 1039 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-7-fluoro-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (105)

Compound **105** was prepared from **23** in a manner similar to that described for compound **109** with total yield of 14% for 5 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.19-8.13 (m, 4H), 7.52-7.46 (m, 2H), 7.32-7.20 (m, 3H), 6.65 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.60 (s, 2H), 3.58 (s, 3H), 3.49-3.46 (m, 1H), 3.37-3.33 (m, 1H), 3.23-3.18 (m, 1H), 3.08-3.05 (m, 1H), 2.86-2.82 (m, 1H), 1.98-1.93 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.58-1.49 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 159.9, 156.5, 153.2, 138.9 (d, $^1J(\text{C}, \text{F}) = 238$ Hz), 137.8, 134.2, 129.9, 128.2 (d, $^2J(\text{C}, \text{F}) = 44$ Hz), 128.1 (d, $^2J(\text{C}, \text{F}) = 44$ Hz), 126.7 (d, $^3J(\text{C}, \text{F}) = 8.8$ Hz), 125.8, 122.9 (d, $^3J(\text{C}, \text{F}) = 8.8$ Hz), 117.1 (d, $^4J(\text{C}, \text{F}) = 4.0$ Hz), 112.1, 109.1, 108.9, 51.2, 50.0, 45.2, 42.7, 28.1, 26.3, 20.9; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{ON}_5\text{ClF}$ 440.1648, found 440.1638; IR(ATR): 2921, 1673, 1652, 1577, 1523, 1508, 1473, 1415, 1394, 1353, 1309, 1243, 1224, 1149, 1128, 1106, 1051 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylic acid (110)

A mixture of **91** (1.53 g, 3.05 mmol), $(\text{Boc})_2\text{O}$ (864 mg, 3.97 mmol) in THF (10 ml) and saturated NaHCO_3 aqueous solution (10 ml) was stirred at room temperature for 3 h. The reaction mixture was quenched with 5% KHSO_4 aqueous solution and extracted with CHCl_3 . The organic layer was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residual solid was triturated with hexane to afford **110** (1.04 g, yield 60%) as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.18 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 7.88 (dd, J = 1.1, 8.1 Hz, 1H), 7.48 (dd, J

= 1.0, 7.9 Hz, 1H), 7.29-7.25 (m, 1H), 7.22-7.17 (m, 1H), 6.93 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.66 (m, 1H), 5.57 (d, $J = 17.6$ Hz, 1H), 5.53 (d, $J = 17.6$ Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.48-3.22 (m, 3H), 2.84-2.71 (m, 2H), 1.78-1.76 (m, 1H), 1.69-1.66 (m, 1H), 1.55-1.50 (m, 1H), 1.39-1.29 (m, 10H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 167.4, 158.1, 155.0, 154.2, 140.8, 136.9, 135.3, 131.2, 130.1, 129.4, 128.9, 127.7, 126.9, 122.8, 122.3, 120.0, 119.8, 116.5, 77.9, 55.1, 50.6, 46.6, 40.3, 29.8, 28.8, 28.4, 23.4; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{O}_5\text{N}_5\text{Cl}$ 566.2165, found 566.2155; IR(ATR): 2935, 1685, 1646, 1621, 1585, 1558, 1508, 1473, 1446, 1409, 1365, 1349, 1307, 1241, 1222, 1168, 1122, 1070, 1049, 1039, 1024 cm^{-1} .

***tert*-Butyl $\{(3R)$ -1-[7-carbamoyl-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (114)**

Compound **114** was prepared from **110** in a manner similar to that described for compound **81** with a yield of 80% as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.31 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.63 (dd, $J = 1.0, 8.1$ Hz, 1H), 7.40 (dd, $J = 0.9, 7.9$ Hz, 1H), 7.21-7.18 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.68 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 6.02 (brs, 1H), 5.77 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.64 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 3.82 (brs, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.44 (dd, $J = 3.2, 12.7$ Hz, 1H), 3.22 (dd, $J = 4.9, 12.6$ Hz, 1H), 3.08-3.06 (m, 2H), 1.83-1.65 (m, 4H), 1.46 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 168.9, 158.4, 155.2, 155.1, 141.2, 137.5, 134.9, 132.5, 132.0, 129.6, 128.6, 127.2, 126.5, 122.9, 120.4, 120.1, 119.8, 115.0, 79.1, 54.9, 51.5, 46.4, 45.8, 29.2, 28.5, 28.2, 21.6; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{N}_6\text{Cl}$ 565.2325, found 565.2309; IR(ATR): 1716, 1699, 1683, 1652, 1646, 1635, 1558, 1540, 1521, 1506, 1473, 1457, 1386, 1363, 1319, 1224, 1164, 1039 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxamide hydrochloride (116)

Compound **116** was prepared from **114** in a manner similar to that described for compound **83** with a quantitative yield as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.37 (brs, 3H), 8.28 (brs, 1H), 8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.87 (dd, $J = 1.0, 8.1$ Hz, 1H), 7.58-7.49 (m, 2H), 7.32-7.29 (m, 1H), 7.25-7.16 (m, 1H), 6.71 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.65 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.59 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.50-3.45 (m, 1H), 3.34 (brs, 1H), 3.28-3.25 (m, 1H), 3.09-3.06 (m, 1H), 2.87-2.82 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.78-1.75 (m, 1H), 1.61-1.49 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 167.6, 157.5, 154.3, 140.5, 137.1, 135.3, 134.0, 131.1, 129.5, 129.1, 127.9, 127.1, 122.0, 121.6, 119.8,

118.3, 115.1, 52.3, 51.1, 46.4, 43.8, 29.1, 27.4, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₆O₂N₆Cl 465.1800, found 465.1790; IR(ATR): 1672, 1598, 1444, 1122, 1041 cm⁻¹.

***tert* Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-7-(dimethylcarbamoyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (115)**

Compound **115** was prepared from **110** in a manner similar to that described for compound **82** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.31 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.53 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 1.1, 7.9 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.22-7.18 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.68 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.25 (brs, 1H), 5.77 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 3.82 (brs, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.43 (dd, *J* = 3.2, 12.9 Hz, 1H), 3.25 (dd, *J* = 4.3, 12.9 Hz, 1H), 3.17 (s, 3H), 3.09-3.07 (m, 2H), 3.03 (s, 3H), 1.73-1.50 (m, 4H), 1.46 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 171.2, 158.3, 155.2, 155.1, 141.5, 137.5, 136.0, 135.0, 132.0, 129.6, 128.6, 127.2, 126.5, 122.7, 120.7, 119.9, 117.8, 114.0, 79.0, 54.7, 51.5, 46.4, 45.7, 39.7, 35.5, 29.4, 29.1, 28.4, 21.4; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₁H₃₈O₄N₆Cl 593.2638, found 593.2621; IR(ATR): 1700, 1635, 1583, 1508, 1467, 1444, 1405, 1388, 1363, 1315, 1241, 1162, 1122, 1087, 1068, 1049, 1039 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-*N,N*,5-trimethyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxamide hydrochloride (117)

Compound **117** was prepared from **115** in a manner similar to that described for compound **84** with a yield of 95% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.41 (brs, 3H), 8.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.51 (dd, *J* = 0.6, 7.9 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.32-7.29 (m, 1H), 7.24-7.21 (m, 1H), 6.71 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.66 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 5.61 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 3.71-3.66 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.38-3.24 (m, 2H), 3.11-3.03 (m, 1H), 3.03 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.89-2.84 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 1.78-1.76 (m, 1H), 1.62-1.49 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 169.9, 157.5, 154.2, 140.5, 137.1, 136.6, 135.2, 131.1, 129.5, 129.1, 127.8, 127.1, 122.2, 121.0, 119.4, 116.7, 114.4, 52.3, 51.1, 46.4, 46.3, 43.8, 35.0, 29.0, 27.4, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₆H₃₀O₂N₆Cl 493.2113, found 493.2101; IR(ATR): 1677, 1639, 1602, 1498, 1475, 1442, 1409, 1398, 1321, 1245, 1205, 1122, 1051, 1039 cm⁻¹.

Methyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylate (47)

A mixture of **109** (1.02 g, 1.80 mmol), K₂CO₃ (746 mg, 5.40 mmol), and MeI (224 μ l, 3.60 mmol) in DMF (5 ml) was stirred at 45 °C for 4 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl solution and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl aqueous solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **47** (1.12 g, quantitative yield) as a pale yellow amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.33 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.15 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.41 (dd, J = 1.0, 7.9 Hz, 1H), 7.22-7.18 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.68 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.16 (brs, 1H), 5.77 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 5.65 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.81 (brs, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.43 (dd, J = 3.3, 12.8 Hz, 1H), 3.24 (dd, J = 4.2, 12.5 Hz, 1H), 3.09-3.08 (m, 2H), 1.74-1.62 (m, 3H), 1.54-1.52 (m, 1H), 1.46 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 167.5, 159.0, 155.9, 155.6, 141.7, 137.8, 135.6, 132.6, 130.2, 129.9, 129.2, 127.8, 127.1, 123.6, 123.4, 121.2, 121.1, 117.0, 79.7, 55.4, 53.0, 52.1, 47.0, 46.4, 30.0, 29.8, 29.1, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₃₅O₅N₅Cl 580.2321, found 580.2314; IR (ATR): 1716, 1652, 1646, 1508, 1307, 1257, 1238, 1220, 1164, 1108, 1049, 1033 cm⁻¹.

Methyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylate hydrochloride (55**)**

Compound **55** was prepared from **47** in a manner similar to that described for compound **74** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, free form) δ 8.18 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.87 (dd, J = 1.2, 8.2 Hz, 1H), 7.46 (dd, J = 1.1, 8.0 Hz, 1H), 7.28-7.24 (m, 1H), 7.19-7.15 (m, 1H), 6.67 (dd, J = 1.1, 7.7 Hz, 1H), 5.62 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 5.53 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 3.52 (dd, J = 3.5, 11.6 Hz, 1H), 3.20-3.17 (m, 1H), 2.97-2.80 (m, 3H), 1.98-1.94 (m, 1H), 1.75-1.61 (m, 2H), 1.43-1.28 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166.2, 158.4, 154.1, 140.8, 136.8, 135.2, 131.0, 129.4, 129.0, 128.6, 127.8, 127.4, 127.0, 122.6, 122.4, 120.1, 116.2, 58.6, 52.6, 50.6, 47.4, 46.2, 33.3, 28.8, 23.5; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₇O₃N₅Cl 480.1797, found 480.1792; IR(ATR): 1718, 1652, 1623, 1525, 1506, 1471, 1436, 1405, 1309, 1259, 1240, 1222, 1108, 1049, 1039, 1033, 1000 cm⁻¹.

***tert* Butyl {[(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-7-cyano-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (**118**)**

To a solution of **114** (255.8 mg, 0.410 mmol) in THF (3 ml) was added trifluoroacetic acid anhydride (256 μ l, 1.84 mmol) at room temperature. The reaction mixture was stirred at 65 °C for 3 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was supplemented with K₂CO₃ (226 mg, 1.64 mmol) and MeOH (3 ml), and the whole was stirred at room temperature for 3 h. The reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution, extracted with EtOAc, washed with brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **118** (99.6 mg, yield 44%) as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.35 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.42 (dd, J = 1.2, 7.9 Hz, 1H), 7.23-7.19 (m, 1H), 7.16-7.12 (m, 1H), 6.67 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 5.99 (brs, 1H), 5.76 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 5.64 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 3.82-3.78 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.45 (dd, J = 3.2, 12.7 Hz, 1H), 3.22 (dd, J = 4.7, 12.9 Hz, 1H), 3.08 (m, 2H), 1.78-1.70 (m, 3H), 1.61-1.51 (m, 1H), 1.46 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 158.6, 155.1, 154.7, 140.8, 137.2, 134.6, 132.0, 129.6, 128.7, 127.2, 126.4, 124.9, 123.6, 120.8, 120.3, 119.0, 118.6, 111.1, 79.1, 54.8, 51.4, 46.5, 45.8, 31.5, 29.1, 28.4, 21.6; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₂O₃N₆Cl 547.2219, found 547.2206; IR(ATR): 1700, 1652, 1581, 1508, 1471, 1444, 1409, 1390, 1365, 1315, 1240, 1162, 1124, 1070, 1049, 1041 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carbonitrile (119**)**

To a solution of **118** (99.6 mg, 0.182 mmol) in CHCl₃ (2 ml) was added trifluoroacetic acid (0.5 ml, 6.49 mmol) at room temperature. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, and concentrated under reduced pressure. To the residue was added saturated NaHCO₃ aqueous solution, and the whole was extracted with CHCl₃, washed with brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure to give **119** (72.0 mg, yield 88%) as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.33 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.55 (dd, J = 1.3, 8.1 Hz, 1H), 7.40 (dd, J = 1.3, 7.9 Hz, 1H), 7.23-7.10 (m, 2H), 6.70 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 5.71 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 5.64 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.39-3.36 (m, 1H), 3.27-3.23 (m, 1H), 2.98-2.91 (m, 2H), 2.77-2.70 (m, 1H), 1.92-1.87 (m, 1H), 1.76-1.55 (m, 2H), 1.31-1.20 (m, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 159.5, 155.4, 141.9, 137.9, 135.6, 132.5, 130.2, 129.3, 127.9, 127.3, 125.6, 124.3, 121.6, 121.2, 119.7, 119.3, 111.6, 59.5, 51.5, 48.0, 47.3, 33.4, 29.7, 24.0; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₄ON₆Cl 447.1695, found 447.1694; IR(ATR): 1646, 1619, 1504, 1463, 1444, 1407, 1392, 1349, 1319, 1243, 1226, 1159, 1122, 1049 cm⁻¹.

***tert*-Butyl ((3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-7-(hydroxymethyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl)carbamate (111)**

To a solution of **110** (471.5 mg, 0.833 mmol) and TEA (232 μ l, 1.67 mmol) in THF (4 ml) was added ethyl chloroformate (119 μ l, 1.25 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 1.5 h. To this reaction mixture was added sodium borohydride (94.5 mg, 2.50 mmol) in H₂O (1 ml) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 5 h and then quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution, extracted with EtOAc, washed with brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **111** (261 mg, yield 57%) as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.24 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.44 (brs, 1H), 7.41 (dd, *J* = 1.0, 7.9 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.21-7.19 (m, 1H), 7.14-7.10 (m, 1H), 6.68 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.76 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.64 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 4.85 (brs, 2H), 3.82 (brs, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.43 (dd, *J* = 3.1, 12.9 Hz, 1H), 3.25 (dd, *J* = 4.1, 12.7 Hz, 1H), 3.08-3.07 (m, 2H), 1.73-1.51 (m, 4H), 1.47 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 158.1, 155.3, 155.2, 141.9, 141.4, 137.7, 135.1, 131.9, 129.5, 128.5, 127.2, 126.5, 123.0, 120.9, 119.2, 116.3, 113.0, 79.0, 65.3, 54.7, 51.6, 46.3, 45.7, 29.5, 29.0, 28.5, 21.4; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₅O₄N₅Cl 552.2372, found 552.2354; IR(ATR): 1685, 1637, 1581, 1508, 1473, 1444, 1413, 1388, 1363, 1317, 1241, 1160, 1122, 1068, 1049, 1039 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-7-(hydroxymethyl)-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one (123)

To a solution of **111** (40.3 mg, 0.073 mmol) in CHCl₃ (2 ml) was added trifluoroacetic acid (112 μ l, 1.45 mmol) at room temperature. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h, and concentrated under reduced pressure. The residue was azeotroped with toluene and dissolved in MeOH (3 ml). To this solution was added K₂CO₃ (30.3 mg, 0.219 mmol) and the reaction mixture was stirred at room temperature for 3 h, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **123** (24.7 mg, yield 75%) as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.14 (brs, 1H), 7.36 (m, 2H), 7.24-7.14 (m, 3H), 6.72 (brs, 1H), 5.67 (brs, 2H), 4.78 (brs, 2H), 3.64 (s, 3H), 3.37-3.33 (m, 1H), 3.18 (m, 1H), 2.93 (m, 2H), 2.76-2.73 (m, 1H), 1.87-1.62 (m, 4H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 158.4, 155.2, 142.3, 141.5, 137.5, 135.4, 131.8, 129.4, 128.5, 127.2, 126.7, 122.8, 120.8, 119.2, 116.2, 112.9, 65.0, 58.9, 51.0, 47.4, 46.3, 33.2, 29.0, 23.3; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₇O₂N₅Cl

452.1848, found 452.1848; IR(ATR): 1641, 1581, 1508, 1471, 1444, 1413, 1392, 1353, 1319, 1214, 1159, 1120, 1049, 1039 cm^{-1} .

***tert*-Butyl $\{(3R)$ -1-[3-(2-chlorobenzyl)-7-(methoxymethyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (112)**

To a solution of **111** (147.4 mg, 0.267 mmol) in THF (2 ml) was added sodium hydride (60% in oil, 12.8 mg, 0.32 mmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 10 min. To this reaction mixture was added MeI (19.9 μl , 0.32 mmol) at 0 °C, and the whole was stirred at room temperature for 3 h. The reaction mixture was quenched with saturated NH_4Cl aqueous solution, extracted with EtOAc, washed with brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **112** (129.6 mg, yield 86%) as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.28 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 7.40 (dd, J = 1.1, 8.0 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.21-7.17 (m, 1H), 7.14-7.10 (m, 1H), 6.67 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.26 (brs, 1H), 5.77 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 5.65 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 4.62 (s, 2H), 3.81 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.46 (s, 3H), 3.42 (dd, J = 3.2, 12.9 Hz, 1H), 3.28-3.23 (m, 1H), 3.08-3.07 (m, 2H), 1.73-1.62 (m, 4H), 1.46 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 158.7, 155.9, 155.8, 142.5, 139.3, 138.3, 135.8, 132.5, 130.1, 129.1, 127.8, 127.2, 123.5, 122.2, 119.8, 117.0, 114.4, 79.6, 75.3, 58.9, 55.4, 52.2, 46.8, 46.4, 30.0, 29.6, 29.1, 22.0; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{O}_4\text{N}_5\text{Cl}$ 566.2529, found 566.2525; IR(ATR): 1700, 1652, 1646, 1583, 1508, 1473, 1457, 1444, 1417, 1388, 1363, 1315, 1241, 1159, 1101, 1070, 1049, 1039 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-7-(methoxymethyl)-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (113)

Compound **113** was prepared from **112** in a manner similar to that described for compound **74** with a quantitative yield as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.41 (brs, 3H), 8.20 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.52-7.50 (m, 2H), 7.33-7.28 (m, 2H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.73 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 5.62 (s, 2H), 4.57 (s, 2H), 3.70-3.66 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.34 (s, 3H), 3.30-3.25 (m, 2H), 3.11-3.08 (m, 1H), 2.89-2.87 (m, 1H), 1.96-1.94 (m, 1H), 1.76-1.74 (m, 1H), 1.62-1.51 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 156.6, 154.1, 139.6, 139.6, 137.5, 135.1, 131.1, 129.5, 129.1, 127.8, 127.2, 122.6, 121.8, 118.5, 114.6, 114.5, 73.8, 57.9, 52.3, 51.0, 46.7, 46.3, 29.0, 27.3, 22.1; HRMS (ESI)

[M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₉O₂N₅Cl 466.2004, found 466.2003; IR(ATR): 1670, 1637, 1602, 1473, 1444, 1417, 1386, 1326, 1249, 1199, 1159, 1108, 1051, 1039, 1033 cm⁻¹.

***tert*-Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-7-(iodomethyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (120)**

A mixture of **111** (274.3 mg, 0.497 mmol), I₂ (252 mg, 0.99 mmol), imidazole (84.6 mg, 1.25 mmol), and PPh₃ (196 mg, 0.75 mmol) in THF (2 ml) was stirred at room temperature for 16 h. The reaction mixture was quenched with saturated Na₂S₂O₃ aqueous solution, extracted with EtOAc, washed with saturated NH₄Cl aqueous solution, saturated NaHCO₃ aqueous solution and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **120** (81.5 mg, yield 25%) as a pale yellow amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.22 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 1.1, 7.9 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.21-7.17 (m, 1H), 7.13-7.09 (m, 1H), 6.64 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.23 (brs, 1H), 5.75 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 5.64 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 4.63 (s, 2H), 3.82 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.42 (dd, *J* = 3.2, 12.9 Hz, 1H), 3.24 (dd, *J* = 4.4, 12.8 Hz, 1H), 3.08-3.07 (m, 2H), 1.73 (m, 2H), 1.62-1.58 (m, 1H), 1.53-1.47 (m, 1H), 1.47 (s, 9H); HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₄O₃N₅ClI 662.1389, found 662.1375. IR(ATR): 1700, 1683, 1652, 1583, 1508, 1473, 1446, 1417, 1394, 1363, 1319, 1243, 1164, 1049 cm⁻¹.

***tert*-Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-5,7-dimethyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (121)**

A mixture of **120** (81.5 mg, 0.123 mmol) and NaBH₄ (14.0 mg, 0.369 mmol) in DMSO (2 ml) was stirred at 50 °C for 3 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution, extracted with EtOAc, washed with saturated NH₄Cl aqueous solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **121** (59.7 mg, yield 91%) as a pale yellow powder. Mp 207-209 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.20 (brs, 1H), 7.40 (dd, *J* = 0.8, 7.8 Hz, 1H), 7.24 (brs, 1H), 7.21-7.10 (m, 3H), 6.67 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.76 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 3.82-3.78 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.44-3.41 (m, 1H), 3.28-3.26 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 1.73-1.51 (m, 4H), 1.47 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 158.6, 155.9, 155.9, 142.8, 139.2, 138.3, 135.9, 132.5, 130.1, 129.1, 127.8, 127.2, 124.1, 123.3, 119.3, 115.7, 115.3, 79.6, 55.3, 52.2, 46.8, 46.4, 30.1, 29.5, 29.1, 22.8, 22.0; HRMS (ESI)

[M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₅O₃N₅Cl 536.2423, found 536.2420; IR(ATR): 1700, 1646, 1583, 1508, 1473, 1411, 1390, 1363, 1317, 1243, 1164, 1049 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5,7-dimethyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one (122)

To a solution of **121** (54.0 mg, 0.10 mmol) in 1,4-dioxane (2 ml) was added 4*N* HCl-1,4-dioxane (2 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 4 h, and concentrated under reduced pressure. To the residue was added saturated NaHCO₃ aqueous solution, and the whole was extracted with CHCl₃, washed with brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure to give **122** (50.7 mg, quantitative yield) as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.16 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.23-7.12 (m, 4H), 6.71 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 5.72 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.40-3.37 (m, 1H), 3.23-3.19 (m, 1H), 2.98-2.92 (m, 2H), 2.79 (dd, *J* = 8.4, 11.9 Hz, 1H), 2.53 (s, 3H), 1.72-1.60 (m, 2H), 1.30-1.26 (m, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 158.9, 155.9, 143.2, 139.1, 138.3, 136.2, 132.4, 130.0, 129.1, 127.9, 127.4, 124.2, 123.2, 119.4, 115.8, 115.5, 59.3, 51.7, 48.0, 46.9, 33.6, 29.6, 23.9, 22.8; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₇ON₅Cl 436.1899, found 436.1897; IR(ATR): 1645, 1581, 1508, 1471, 1444, 1409, 1390, 1319, 1243, 1226, 1160, 1122, 1068, 1049, 1039 cm⁻¹.

Methyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)aminopiperidin-1-yl]-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (124)

A mixture of **71** (1.90 g, 3.28 mmol), 10% Pd/C (50% wet, 0.95 g), HCO₂NH₄ (2.07 g, 32.8 mmol) in MeOH (15 ml) was stirred under reflux for 2 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was filtered through a Celite pad. To the filtrate was added H₂O, and the whole was extracted with CHCl₃, washed with brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure to give **124** (1.23 g, yield 83%) as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.13 (brs, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.97 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.12-4.02 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.45 (brs, 1H), 2.99-2.91 (m, 1H), 2.87-2.79 (m, 1H), 1.85-1.74 (m, 2H), 1.55-1.52 (m, 2H), 1.40 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.5, 156.0, 154.4, 152.9, 142.1, 139.6, 127.3, 122.9, 121.9, 117.9, 115.6, 115.1, 78.7, 51.6, 50.4, 45.7, 45.4, 29.7, 28.5, 27.8, 22.6; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₃₀O₅N₅ 456.2241, found 456.2229; IR(ATR): 1716, 1683, 1652, 1558, 1515, 1456, 1311, 1253, 1168, 1105, 1052

cm⁻¹. Anal. Calcd for C₂₃H₂₉O₅N₅·0.75H₂O: C, 58.90; H, 6.55; N, 14.93, found: C, 58.93; H, 6.32; N, 14.69.

Methyl 3-benzyl-2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)aminol]piperidin-1-yl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (125)

A mixture of **124** (82.4 mg, 0.181 mmol), K₂CO₃ (75.0 mg, 0.543 mmol), and BnBr (43.1 μl, 0.362 mmol) in DMF (2 ml) was stirred at 65 °C for 3 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution, and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl aqueous solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **125** (97.8 mg, yield 99%) as a white powder. Mp 205-207 °C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.93 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.16 (dd, *J* = 2.0, 9.0 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.33-7.21 (m, 2H), 7.19-7.17 (m, 2H), 5.77 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 5.55 (d, *J* = 15.4 Hz, 1H), 5.21-5.19 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.87-3.80 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.46 (dd, *J* = 2.9, 12.2 Hz, 1H), 3.16-3.11 (m, 3H), 1.86-1.71 (m, 2H), 1.65-1.58 (m, 2H), 1.41 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 166.6, 158.4, 155.2, 155.0, 142.2, 140.3, 137.2, 128.9, 128.7, 127.5, 126.5, 124.7, 123.8, 119.3, 116.7, 114.6, 79.2, 55.5, 52.0, 51.3, 48.3, 46.2, 29.6, 29.2, 28.3, 22.3; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₃₆O₅N₅ 546.2711, found 546.2699; IR (ATR): 1714, 1652, 1569, 1496, 1465, 1456, 1436, 1427, 1390, 1365, 1309, 1276, 1240, 1166, 1126, 1112, 1064 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₃₀H₃₅O₅N₅: C, 66.04; H, 6.47; N, 12.84, found: C, 65.84; H, 6.53; N, 12.77.

2-((3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)aminol]piperidin-1-yl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid (126)

A mixture of **125** (85.8 mg, 0.157 mmol) and 1M NaOH aqueous solution (1 ml) in THF (1 ml) and MeOH (1 ml) was stirred at room temperature for 6 h. The mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was supplemented with 10% KHSO₄ aqueous solution until the pH reached at 2~3. The resulting solids were filtered, washed sequentially with water, Et₂O and hexane, and dried in vacuo to give **126** (44.8 mg, yield 54%) as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.66 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.31-7.24 (m, 2H), 7.24-7.17 (m, 3H), 6.93 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.57 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.53 (brs, 1H), 3.42-3.39 (m, 1H), 3.30-3.27 (m, 1H), 2.88-2.74 (m, 2H), 1.79-1.71 (m, 2H), 1.61-1.58 (m, 1H), 1.37 (m, 1H), 1.37 (s, 9H); ¹³C

NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 166.9, 157.6, 154.4, 153.9, 141.2, 138.7, 137.2, 128.4, 128.0, 126.7, 126.1, 122.8, 122.8, 118.2, 115.5, 114.8, 77.3, 54.6, 50.1, 47.3, 46.1, 29.1, 28.4, 27.7, 22.8; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₄O₅N₅ 532.2554, found 532.2537; IR(ATR): 1700, 1652, 1506, 1496, 1456, 1386, 1307, 1240, 1166, 1116 cm⁻¹.

2-((3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-3-benzyl-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (127)

Compound **127** was prepared from **126** in a manner similar to that described for compound **74** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.68 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.43 (brs, 3H), 8.05 (dd, *J* = 2.0, 8.9 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 2H), 7.25-7.22 (m, 1H), 7.17 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 5.68 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 5.62 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 3.74-3.70 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.37-3.35 (m, 1H), 3.22-3.15 (m, 2H), 2.87-2.82 (m, 1H), 1.99-1.97 (m, 1H), 1.82-1.79 (m, 1H), 1.62-1.49 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.1, 157.7, 154.5, 141.1, 140.2, 137.8, 129.1, 128.8, 127.6, 126.7, 124.5, 123.7, 119.1, 116.0, 115.9, 52.5, 51.1, 48.1, 46.4, 29.3, 27.5, 21.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₆O₃N₅ 432.2030, found 432.2015; IR (ATR): 1700, 1670, 1652, 1594, 1506, 1496, 1456, 1375, 1305, 1216, 1114, 1049 cm⁻¹.

2-((3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-5-methyl-3-(2-methylbenzyl)-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (128)

Compound **128** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 70% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.71 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.35 (brs, 3H), 8.06 (dd, *J* = 2.0, 8.8 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.23-7.21 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 7.06-7.02 (m, 1H), 6.47 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.58 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.51 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 3.74-3.66 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.40-3.38 (m, 1H), 3.28-3.23 (m, 1H), 3.13-3.10 (m, 1H), 2.90-2.85 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 1.94 (m, 1H), 1.76-1.75 (m, 1H), 1.61-1.57 (m, 1H), 1.51-1.46 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.1, 157.8, 154.2, 141.1, 140.2, 136.1, 134.6, 130.2, 129.0, 127.0, 126.3, 124.5, 124.4, 123.7, 119.3, 116.0, 116.0, 52.3, 50.9, 46.4, 46.2, 29.1, 27.4, 22.0, 18.9; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₈O₃N₅ 446.2187, found 446.2173; IR (ATR): 1700, 1670, 1623, 1596, 1506, 1457, 1386, 1317, 1245, 1220, 1106, 1051 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-methoxybenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (129)

Compound **129** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 11% for 3 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.69 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.28 (brs, 3H), 8.05 (dd, J = 2.0, 8.8 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.25-7.21 (m, 1H), 7.03 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.82-6.78 (m, 1H), 6.53 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 5.52 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.74-3.69 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.43-3.38 (m, 1H), 3.22-3.19 (m, 1H), 3.15-3.12 (m, 1H), 2.87-2.82 (m, 1H), 1.98-1.96 (m, 1H), 1.72-1.69 (m, 1H), 1.59-1.45 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 167.1, 157.9, 156.1, 154.3, 141.3, 140.2, 129.0, 128.5, 125.9, 125.7, 124.4, 123.7, 120.7, 119.4, 116.1, 116.0, 110.8, 55.7, 52.3, 50.7, 46.2, 43.9, 29.1, 27.6, 22.2; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_5$ 462.2136, found 462.2136; IR (ATR): 1714, 1652, 1569, 1506, 1463, 1436, 1386, 1309, 1245, 1108, 1051, 1024 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (130)

Compound **130** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 55% for 3 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.69 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.43 (brs, 3H), 8.05 (dd, J = 2.0, 9.0 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.34-7.29 (m, 1H), 7.25-7.20 (m, 1H), 7.10-7.07 (m, 1H), 6.89-6.86 (m, 1H), 5.68 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 5.62 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 3.73-3.68 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.38-3.36 (m, 1H), 3.25-3.15 (m, 2H), 2.94-2.89 (m, 1H), 1.98 (m, 1H), 1.82-1.79 (m, 1H), 1.66-1.51 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 167.0, 159.6 (d, $^1J(\text{C}, \text{F}) = 243$ Hz), 157.8, 154.3, 141.1, 140.2, 129.5 (d, $^3J(\text{C}, \text{F}) = 7.9$ Hz), 129.1, 128.0 (d, $^4J(\text{C}, \text{F}) = 3.9$ Hz), 124.8 (d, $^2J(\text{C}, \text{F}) = 25$ Hz), 124.8 (d, $^3J(\text{C}, \text{F}) = 8.0$ Hz), 124.5, 123.7, 119.1, 116.0, 115.8, 115.4 (d, $^2J(\text{C}, \text{F}) = 21$ Hz), 52.4, 51.0, 46.3, 43.8, 29.2, 27.4, 22.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{N}_5\text{F}$ 450.1936, found 450.1925; IR (ATR): 1716, 1673, 1596, 1508, 1456, 1375, 1317, 1218, 1126 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(3-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (131)

Compound **131** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 54% for 3 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.68 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.42 (brs, 3H), 8.06 (dd, J = 2.0, 8.8 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.37-7.32 (m, 3H), 7.17-7.10 (m, 1H), 5.69 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 5.61 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 3.72-3.66 (m, 4H), 3.38 (m, 1H), 3.24-3.13 (m, 2H), 2.88-2.84 (m,

1H), 1.98 (m, 1H), 1.85-1.82 (m, 1H), 1.64-1.51 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.0, 157.8, 154.5, 142.2, 140.3, 140.2, 133.4, 130.8, 129.1, 127.6, 126.7, 125.4, 124.5, 123.7, 119.0, 116.1, 116.0, 52.4, 51.2, 47.5, 46.3, 29.3, 27.4, 22.0; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₅O₃N₅Cl 466.1640, found 466.1627; IR (ATR): 1700, 1670, 1594, 1508, 1473, 1457, 1419, 1375, 1313, 1216, 1110 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(4-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (132)

Compound **132** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 86% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.67 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.42 (brs, 3H), 8.04 (dd, *J* = 1.9, 8.8 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.21 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 5.66 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 5.60 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 3.71-3.65 (m, 4H), 3.37 (m, 1H), 3.23-3.14 (m, 2H), 2.89-2.84 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.85-1.82 (m, 1H), 1.63-1.52 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.0, 157.7, 154.5, 141.1, 140.1, 136.8, 132.1, 129.1, 128.8, 128.7, 124.5, 123.7, 119.0, 116.0, 115.9, 52.4, 51.2, 47.5, 46.3, 29.3, 27.4, 22.0; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₅O₃N₅Cl 466.1640, found 466.1624; IR (ATR): 1700, 1670, 1596, 1506, 1490, 1471, 1317, 1218 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(3-methoxybenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (133)

Compound **133** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 78% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.68 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.40 (brs, 3H), 8.05 (dd, *J* = 2.0, 8.9 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.23-7.19 (m, 1H), 6.82-6.78 (m, 2H), 6.70 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 5.64 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 5.57 (d, *J* = 16.4 Hz, 1H), 3.74-3.64 (m, 7H), 3.37-3.36 (m, 1H), 3.22-3.17 (m, 2H), 2.88-2.83 (m, 1H), 2.00-1.97 (m, 1H), 1.83-1.80 (m, 1H), 1.62-1.51 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.0, 159.5, 157.7, 154.5, 141.0, 140.1, 139.4, 130.0, 129.1, 124.5, 123.7, 119.1, 118.7, 116.0, 116.0, 115.9, 112.7, 55.2, 52.4, 51.0, 48.0, 46.4, 29.3, 27.5, 22.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₈O₄N₅ 462.2136, found 462.2120; IR (ATR): 1700, 1670, 1652, 1594, 1558, 1506, 1456, 1375, 1218, 1049 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(4-methoxybenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (134)

Compound **134** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 54% for 3 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.67 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 8.47 (brs, 3H), 8.04 (dd, J = 1.9, 8.8 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.86 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 5.60 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 5.53 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 3.72-3.65 (m, 7H), 3.39-3.38 (m, 1H), 3.23-3.18 (m, 2H), 2.91-2.85 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 1.84-1.83 (m, 1H), 1.64-1.55 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 167.0, 158.7, 157.5, 154.5, 140.8, 140.1, 129.6, 129.1, 128.3, 124.4, 123.7, 118.9, 116.0, 115.7, 114.1, 55.2, 52.5, 51.1, 47.6, 46.4, 29.3, 27.5, 22.2; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_5$ 462.2136, found 462.2119; IR (ATR): 1700, 1670, 1596, 1511, 1457, 1378, 1309, 1243, 1176, 1110, 1025 cm^{-1} ; Anal. Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}_5 \cdot 3\text{HCl} \cdot 2.25\text{H}_2\text{O}$: C, 49.11; H, 5.69; N, 11.45, found: C, 49.31; H, 5.63; N, 11.23.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-[2-(2-chlorophenyl)ethyl]-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (135)

Compound **135** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 25% for 3 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.62 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.31 (brs, 3H), 8.05 (dd, J = 1.6, 8.8 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.41 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.24-7.21 (m, 1H), 7.16-7.12 (m, 1H), 6.99 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 4.53 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.69-3.65 (m, 1H), 3.39-3.36 (m, 1H), 3.21 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.10-3.06 (m, 1H), 2.94-2.91 (m, 1H), 2.83-2.78 (m, 1H), 2.06-2.03 (m, 1H), 1.77 (m, 1H), 1.57-1.49 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 167.0, 157.7, 154.6, 141.3, 140.2, 135.4, 133.4, 131.4, 129.3, 129.0, 129.0, 128.9, 127.4, 124.4, 123.7, 118.9, 116.0, 52.8, 51.0, 46.6, 44.6, 34.4, 29.4, 27.9, 22.8; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{N}_5\text{Cl}$ 480.1797, found 480.1782; IR (ATR): 1699, 1646, 1569, 1498, 1437, 1386, 1303, 1255, 1238, 1114, 1049, 1033 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(cyclohexylmethyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (136)

Compound **136** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 60% for 3 steps as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.68 (brs, 1H), 8.44 (brs, 3H), 8.04 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 4.19 (brs, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.48-3.38 (m, 3H), 3.12-3.07 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 2.11 (brs, 1H), 1.88-1.61 (m, 7H), 1.33-0.84 (m, 7H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 167.0, 157.8, 154.5, 140.7, 140.2, 129.0, 124.4, 123.8, 118.9, 116.0, 115.7, 52.8, 51.0, 50.9,

46.7, 43.8, 29.8, 29.3, 27.8, 26.0, 25.3, 22.8; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₃₂O₃N₅ 438.2500, found 438.2484; IR (ATR): 1699, 1670, 1592, 1521, 1508, 1465, 1457, 1419, 1375, 1305, 1253, 1230, 1112, 1043 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-5-methyl-3-(3-methylbut-2-en-1-yl)-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (137)

Compound **137** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 17% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.68 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 8.47 (brs, 3H), 8.03 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.66 (dd, *J* = 1.3, 8.8 Hz, 1H), 5.39 (m, 1H), 5.00-4.95 (m, 1H), 4.90-4.83 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.48-3.38 (m, 2H), 3.32-3.20 (m, 1H), 3.09-3.02 (m, 1H), 2.08-1.99 (m, 1H), 1.93 (brs, 2H), 1.78-1.66 (m, 1H), 1.19 (s, 3H), 1.18 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.0, 156.7, 154.2, 140.1, 136.4, 129.0, 124.4, 123.7, 123.7, 120.8, 118.9, 115.9, 115.5, 52.8, 51.0, 46.5, 43.5, 29.4, 29.4, 29.3, 27.6, 22.4; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₂₈O₃N₅ 410.2187, found 410.2176; IR (ATR): 1716, 1683, 1635, 1508, 1473, 1456, 1375, 1311, 1216 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(but-2-yn-1-yl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (138)

Compound **138** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 41% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.63 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.25 (brs, 3H), 8.05 (dd, *J* = 2.0, 8.8 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 5.18 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 5.12 (d, *J* = 19.2 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.60-3.48 (m, 3H), 3.31-3.19 (m, 2H), 2.04-2.01 (m, 1H), 1.94-1.90 (m, 1H), 1.79 (s, 3H), 1.76-1.67 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.1, 157.2, 154.3, 141.1, 140.2, 129.0, 124.4, 123.6, 118.6, 116.0, 116.0, 81.0, 74.6, 52.1, 50.8, 46.2, 35.3, 27.5, 25.0, 22.0, 3.3; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₁H₂₄O₃N₅ 394.1874, found 394.1874; IR (ATR): 1699, 1652, 1569, 1538, 1506, 1457, 1375, 1309, 1241, 1110 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2,5-dichlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (139)

Compound **139** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 40% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400

MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.70 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.42 (brs, 3H), 8.06 (dd, *J* = 2.0, 8.9 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.56 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 2.2, 8.5 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 5.58 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 5.52 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 3.72-3.69 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.37 (m, 1H), 3.30-3.24 (m, 1H), 3.15-3.10 (m, 1H), 2.93-2.88 (m, 1H), 1.98-1.97 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.64-1.47 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.0, 157.7, 154.2, 141.1, 140.2, 137.4, 132.4, 131.3, 130.0, 129.2, 129.1, 127.1, 124.5, 123.8, 119.1, 116.1, 115.8, 52.2, 50.9, 46.5, 46.2, 29.2, 27.4, 22.0; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₄O₃N₅Cl₂ 500.1251, found 500.1240; IR (ATR): 1652, 1646, 1623, 1558, 1506, 1457, 1419, 1386, 1313, 1216, 1101, 1049 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid hydrochloride (140)

Compound **140** was prepared from **124** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 75% for 3 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.71 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.40 (brs, 3H), 8.06 (dd, *J* = 2.0, 8.8 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.59-7.56 (m, 1H), 7.22-7.17 (m, 1H), 6.64 (dd, *J* = 2.8, 9.4 Hz, 1H), 5.57 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 5.52 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 3.72-3.67 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.41-3.37 (m, 1H), 3.29-3.24 (m, 1H), 3.12-3.09 (m, 1H), 2.93-2.88 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.80-1.77 (m, 1H), 1.63-1.51 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.0, 161.3 (d, ¹*J*(C, F) = 243 Hz), 157.5, 154.2, 140.9, 140.2, 137.8 (d, ³*J*(C, F) = 7.4 Hz), 131.4 (d, ³*J*(C, F) = 8.4 Hz), 129.2, 126.4 (d, ⁴*J*(C, F) = 2.6 Hz), 124.5, 123.8, 119.1, 116.1 (d, ²*J*(C, F) = 24 Hz), 116.0, 115.7, 114.5 (d, ²*J*(C, F) = 25 Hz), 52.2, 51.0, 46.7, 46.1, 46.1, 29.2, 27.4, 22.0; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₄O₃N₅ClF 484.1546, found 484.1533; IR (ATR): 1714, 1670, 1627, 1594, 1471, 1425, 1251, 1224, 1112 cm⁻¹.

Methyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)aminopiperidin-1-yl]-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylate (141)

Compound **141** was prepared from **47** in a manner similar to that described for compound **124** with a yield of 54% as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.31 (brs, 1H), 8.10 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.04 (d, *J* = 1.1 Hz, 1H), 7.83 (dd, *J* = 1.1, 8.2 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.18-4.14 (m, 1H), 4.05-4.01 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.43 (brs, 1H), 2.97-2.90 (m, 1H), 2.83-2.76 (m, 1H), 1.85-1.74 (m, 2H), 1.55-1.51 (m, 1H), 1.40-1.32 (m, 10H); HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₃H₃₀O₅N₅ 456.2241, found

456.2241; IR(ATR): 1716, 1683, 1646, 1618, 1594, 1515, 1307, 1267, 1224, 1168, 1108 cm^{-1} .

Methyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylate (142)

Compound **142** was prepared from **141** in a manner similar to that described for compound **125** with a yield of 71% as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.35 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.40-7.36 (m, 1H), 6.94-6.89 (m, 1H), 6.44-6.41 (m, 1H), 6.09 (brs, 1H), 5.70 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.61 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.82 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.45 (dd, $J = 3.2, 12.8$ Hz, 1H), 3.24-3.09 (m, 3H), 1.77-1.46 (m, 4H), 1.46 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.6, 161.5 (d, $^1J(\text{C}, \text{F}) = 245$ Hz), 158.0, 155.1, 154.7, 141.0, 137.2 (d, $^3J(\text{C}, \text{F}) = 7.3$ Hz), 137.0, 130.7 (d, $^3J(\text{C}, \text{F}) = 8.2$ Hz), 129.2, 126.6 (d, $^4J(\text{C}, \text{F}) = 2.9$ Hz), 122.8, 122.6, 120.2, 120.1, 116.3, 115.6 (d, $^2J(\text{C}, \text{F}) = 23$ Hz), 113.7 (d, $^2J(\text{C}, \text{F}) = 25$ Hz), 78.9, 54.8, 52.3, 51.4, 46.1, 45.7, 29.3, 29.0, 28.3, 21.6; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{O}_5\text{N}_5\text{ClF}$ 598.2227, found 598.2227; IR(ATR): 1716, 1652, 1506, 1471, 1309, 1240, 1220, 1168, 1110 cm^{-1} .

Methyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-3-(5-fluoro-2-methylbenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylate (143)

Compound **143** was prepared from **141** in a manner similar to that described for compound **125** with a yield of 66% as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.35 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.15 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.16-7.12 (m, 1H), 6.85-6.80 (m, 1H), 6.24 (dd, $J = 2.3, 9.8$ Hz, 1H), 6.03 (brs, 1H), 5.62 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 5.48 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.84-3.82 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.44 (dd, $J = 3.3, 12.8$ Hz, 1H), 3.19-3.10 (m, 3H), 1.80-1.67 (m, 3H), 1.56-1.46 (m, 1H), 1.46 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.8, 161.5 (d, $^1J(\text{C}, \text{F}) = 242$ Hz), 158.0, 155.1, 154.9, 141.0, 137.6 (d, $^3J(\text{C}, \text{F}) = 6.8$ Hz), 137.1, 131.6 (d, $^3J(\text{C}, \text{F}) = 7.8$ Hz), 129.9 (d, $^4J(\text{C}, \text{F}) = 2.9$ Hz), 129.2, 122.8, 122.7, 120.4, 120.3, 116.3, 113.7 (d, $^2J(\text{C}, \text{F}) = 21$ Hz), 111.4 (d, $^2J(\text{C}, \text{F}) = 23$ Hz), 79.0, 55.0, 52.3, 51.2, 46.2, 45.9, 29.5, 29.0, 28.3, 21.7, 18.3; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{O}_5\text{N}_5\text{F}$ 578.2773, found 578.2766; IR(ATR): 1716, 1652, 1506, 1307, 1259, 1220, 1164, 1108 cm^{-1} .

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylic acid hydrochloride (144)

Compound **144** was prepared from **142** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 90% for 2 steps as a white powder. All of the following equipment data is methane sulfonic acid salt of **144**. Mp 208-211 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.20 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.98 (brs, 3H), 7.90 (dd, *J* = 1.3, 8.2 Hz, 1H), 7.60-7.57 (m, 1H), 7.22-7.17 (m, 1H), 6.60 (dd, *J* = 3.0, 9.4 Hz, 1H), 5.57 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.62 (dd, *J* = 2.8, 12.4 Hz, 1H), 3.38 (brs, 1H), 3.23-3.18 (m, 1H), 3.11-3.08 (m, 1H), 2.89-2.88 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.95 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.57-1.55 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.3, 161.3 (d, ¹*J*(C, F) = 243 Hz), 157.8, 154.3, 140.7, 137.9 (d, ³*J*(C, F) = 7.5 Hz), 137.1, 131.4 (d, ³*J*(C, F) = 8.7 Hz), 130.4, 126.4 (d, ⁴*J*(C, F) = 2.7 Hz), 123.0, 122.4, 120.2, 119.7, 116.7, 116.2 (d, ²*J*(C, F) = 22.7 Hz), 114.4 (d, ²*J*(C, F) = 24.6 Hz), 52.3, 51.2, 46.6, 46.3, 29.0, 27.5, 22.0; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₄O₃N₅ClF 484.1546, found 484.1547; IR(ATR): 1673, 1639, 1467, 1151, 1124, 1041 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(5-fluoro-2-methylbenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylic acid hydrochloric acid (145)

Compound **145** was prepared from **143** in a manner similar to that described for compound **127** with total yield of 84% for 2 steps as a white powder. Mp 231-234 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, MeSO₃H salt) δ 8.20 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.98 (brs, 3H), 7.90 (dd, *J* = 1.2, 8.2 Hz, 1H), 7.28-7.24 (m, 1H), 7.01-6.96 (m, 1H), 6.28 (dd, *J* = 2.8, 10.0 Hz, 1H), 5.51 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.63-3.62 (m, 1H), 3.39-3.38 (brs, 1H), 3.24-3.19 (m, 1H), 3.12-3.09 (m, 1H), 2.89-2.85 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 1.94-1.90 (m, 1H), 1.76-1.75 (m, 1H), 1.56-1.50 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, HCl salt) δ 167.4, 161.1 (d, ¹*J*(C, F) = 239 Hz), 157.8, 154.2, 140.6, 138.7 (d, ³*J*(C, F) = 7.9 Hz), 137.1, 132.0 (d, ³*J*(C, F) = 8.0 Hz), 130.7 (d, ⁴*J*(C, F) = 2.9 Hz), 130.3, 123.0, 122.3, 120.3, 119.7, 116.7, 113.7 (d, ²*J*(C, F) = 23.0 Hz), 111.7 (d, ²*J*(C, F) = 22.8 Hz), 52.3, 51.7, 46.4, 46.3, 28.9, 27.5, 22.0, 18.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₇O₃N₅F 464.2092, found 464.2076; IR (ATR): 1716, 1683, 1635, 1506, 1473, 1456, 1230 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₂₅H₂₆O₃N₅F·2.25MeSO₃H·2.5H₂O: C, 45.16; H, 5.56; N, 9.66, found: C, 45.06; H, 5.63; N, 9.76.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one (2)

Compound **2** was prepared from **12** in a manner similar to that described for compound **74** with a yield of 83% as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.60 (s, 1H), 8.28 (brs, 3H), 7.50-7.26 (m, 7H), 6.69 (m, 1H), 5.63 (s, 2H), 3.65-3.62 (m, 1H), 3.24-3.07 (m, 2H), 2.94 (m, 1H), 2.81 (m, 1H), 1.93 (m, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.52 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.1, 154.8, 142.2, 136.6, 135.3, 131.1, 129.5, 129.1, 128.3, 127.8, 127.1, 122.2, 121.7, 119.4, 116.1, 115.5, 52.4, 51.1, 46.4, 46.2, 27.5, 22.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₂H₂₃ON₅Cl 408.1586, found 408.1576; IR (ATR): 1652, 1616, 1506, 1473, 1444, 1419, 1386, 1214, 1049 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-ethyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (61)

To a solution of **12** (61.3 mg, 0.121 mmol) and K₂CO₃ (50.0 mg, 0.363 mmol) in DMF (2 ml) was added EtI (29.0 μl, 0.363 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 12 h, quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution, and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl aqueous solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give *tert*-Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-5-ethyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (58.9 mg, yield 91%). To a solution of the *tert*-Butyl {(3*R*)-1-[3-(2-chlorobenzyl)-5-ethyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-2-yl]piperidin-3-yl}carbamate (58.9 mg, 0.11 mmol) in 1,4-dioxane (0.5 ml) was added 4N HCl-1,4-dioxane (2 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h and concentrated under reduced pressure to give **61** (41.8 mg, yield 80%) as a white powder. Mp 207-210 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.30 (brs, 3H), 8.19 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.59-7.55 (m, 1H), 7.51 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.36-7.28 (m, 2H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.68 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.64 (s, 2H), 3.70-3.58 (m, 2H), 3.49-3.45 (m, 1H), 3.31 (brs, 1H), 3.24-3.19 (m, 1H), 3.11-3.08 (m, 1H), 2.87-2.82 (m, 1H), 1.98-1.94 (m, 1H), 1.75 (brs, 1H), 1.59-1.51 (m, 2H), 1.16 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156.7, 153.2, 140.4, 135.5, 134.7, 130.4, 128.8, 128.4, 128.2, 127.1, 126.3, 121.8, 121.6, 118.1, 115.8, 114.9, 51.7, 50.4, 45.6, 43.1, 35.5, 26.7, 21.4, 12.6; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₇ON₅Cl 436.1899, found 436.1887; IR (ATR): 1670, 1637, 1592, 1477, 1442, 1240, 1199, 1160, 1122, 1085, 1051, 1041, 1027 cm⁻¹.

**2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-propyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo
[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (62)**

Compound **62** was prepared from **12** in a manner similar to that described for compound **61** with total yield of 60% for 2 steps as a white powder. Mp 197-200 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.32 (brs, 3H), 8.19 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.58-7.54 (m, 1H), 7.56 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.36-7.28 (m, 2H), 7.23-7.19 (m, 1H), 6.68 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.63 (s, 2H), 4.22-4.18 (m, 2H), 3.71-3.64 (m, 1H), 3.26-3.21 (m, 2H), 3.11-3.08 (m, 1H), 2.88-2.83 (m, 1H), 1.97-1.95 (m, 1H), 1.75 (brs, 1H), 1.61-1.48 (m, 4H), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 156.7, 153.4, 140.3, 135.8, 134.6, 130.4, 128.8, 128.4, 128.2, 127.1, 126.3, 121.8, 121.6, 118.0, 115.7, 115.1, 51.7, 50.4, 45.7, 45.6, 41.8, 26.7, 21.4, 20.3, 10.5; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₅H₂₉ON₅Cl 450.2055, found 450.2044; IR (ATR): 1670, 1637, 1592, 1473, 1442, 1355, 1128, 1051, 1039 cm⁻¹.

**2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-5-benzyl-3-(2-chlorobenzyl)-3,5-dihydro-4*H*-imidazo
[4,5-*c*]quinolin-4-one hydrochloride (63)**

Compound **63** was prepared from **12** in a manner similar to that described for compound **61** with total yield of 69% for 2 steps as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.40 (brs, 3H), 8.21 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.32-7.16 (m, 6H), 7.10 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 6.76 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.67 (s, 2H), 5.52 (brs, 2H), 3.69-3.64 (m, 1H), 3.37-3.25 (m, 2H), 3.16-3.13 (m, 1H), 2.92-2.87 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.63-1.52 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 157.0, 153.8, 140.7, 136.6, 135.9, 134.6, 130.5, 128.8, 128.4, 128.1, 128.0, 127.1, 126.5, 126.4, 125.9, 121.9, 121.8, 118.0, 115.8, 115.6, 51.7, 50.5, 45.9, 45.6, 43.5, 26.7, 21.4; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₂₉ON₅Cl 498.2055, found 498.2042; IR (ATR): 1670, 1646, 1637, 1610, 1575, 1540, 1515, 1508, 1442, 1396, 1353, 1326, 1176, 1153 cm⁻¹; Anal. Calcd for C₂₉H₂₈ON₅Cl·2HCl·1.75H₂O: C, 57.81; H, 5.60; N, 11.62, found: C, 58.15; H, 5.51; N, 11.28.

{2-[2-[(3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)aminol]piperidin-1-yl]-1-(2-chlorobenzyl)-5-(ethoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-4-yl]-5-methoxyphenyl}(hydroxy)oxoammonium (146)

A mixture of **10** (353 mg, 0.599 mmol), 2-(4-methoxy-2-nitrophenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolane (251 mg, 0.90 mmol), Pd(PPh₃)₄ (69.2 mg, 0.060 mmol) and Na₂CO₃ (127 mg, 1.20 mmol) was stirred under reflux for 10 h. After cooling to room

temperature, the mixture was diluted with EtOAc and filtered through a Celite pad. The filtrate was washed with saturated NaHCO₃ aqueous solution, and the organic layer was dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **146** (329.0 mg, yield 89%) as a pale yellow amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.57 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.41-7.38 (m, 1H), 7.25-7.20 (m, 2H), 7.17 (dd, *J* = 2.6, 8.4 Hz, 1H), 6.68 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 5.50 (s, 2H), 5.16-5.13 (m, 1H), 3.93 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.77 (brs, 1H), 3.34 (dd, *J* = 3.3, 12.1 Hz, 1H), 2.98-2.94 (m, 3H), 1.74 (m, 2H), 1.63-1.55 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 0.89 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 159.7, 159.5, 155.6, 155.0, 149.8, 143.3, 135.1, 133.3, 131.7, 129.3, 128.4, 127.4, 126.2, 122.7, 118.7, 116.8, 109.0, 79.2, 60.3, 55.9, 55.7, 51.9, 46.9, 46.0, 29.5, 28.3, 24.8, 22.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₃₇O₇N₅Cl 614.2376, found 614.2360; IR (ATR): 1699, 1527, 1506, 1490, 1456, 1444, 1363, 1353, 1330, 1297, 1276, 1232, 1170, 1072, 1049, 1039 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-7-methoxy-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one (148)

A mixture of Fe (253 mg, 4.53 mmol) in acetic acid (5 ml) was stirred at 80 °C for 30 min. To this suspension was added **146** (278.3 mg, 0.453 mmol) in acetic acid (3 ml) dropwise, and the mixture was stirred at 80 °C for 4 h. After cooling to room temperature, the mixture was diluted with EtOAc and filtered through a Celite pad. The filtrate was washed with water, saturated NaHCO₃ aqueous solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated in vacuo. To a mixture of the residue and K₂CO₃ (125 mg, 0.906 mmol) in DMF (3 ml) was added MeI (56.4 μl, 0.906 mmol). The reaction mixture was stirred at 65 °C for 7 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution, and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl aqueous solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **148** (184.2 mg, yield 74% for 2 steps) as a pale yellow amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.20 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.20-7.09 (m, 2H), 6.93-6.88 (m, 2H), 6.68 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 6.34 (brs, 1H), 5.73 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 5.61 (d, *J* = 17.0 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.81 (brs, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.41 (dd, *J* = 3.1, 13.0 Hz, 1H), 3.25 (dd, *J* = 4.6, 12.5 Hz, 1H), 3.06 (brs, 2H), 1.79-1.72 (m, 4H), 1.46 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 160.8, 158.8, 156.1, 143.1, 139.8, 136.0, 132.6, 130.2, 129.1, 127.8, 127.2, 127.2, 124.7, 118.2, 111.6, 110.0, 100.5, 79.6, 56.2, 55.4, 52.3, 46.9, 46.4, 30.2, 29.7, 29.1, 22.0; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for

C₂₉H₃₅O₄N₅Cl 552.2372, found 552.2371; IR (ATR): 1700, 1646, 1577, 1508, 1473, 1417, 1388, 1363, 1315, 1236, 1164, 1066, 1039 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-Aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-7-methoxy-5-methyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4-one (149)

Compound **149** was prepared from **148** in a manner similar to that described for compound **74** with a yield of 89% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.41 (brs, 3H), 8.21 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.25-7.21 (m, 1H), 7.02-7.00 (m, 2H), 6.77 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.59 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.70 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 3.37-3.27 (m, 2H), 3.12-3.09 (m, 1H), 2.92-2.87 (m, 1H), 1.97-1.94 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.62-1.49 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 160.3, 156.4, 154.2, 139.1, 135.2, 131.0, 129.5, 129.1, 128.4, 127.8, 127.1, 123.9, 116.9, 110.2, 109.0, 100.4, 55.8, 52.3, 51.0, 46.6, 46.3, 29.0, 27.2, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₄H₂₇O₂N₅Cl 452.1848, found 452.1838; IR (ATR): 1675, 1652, 1635, 1604, 1558, 1508, 1473, 1457, 1436, 1419, 1251, 1047 cm⁻¹.

2-[(3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylic acid (152)

A mixture of Methyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (312.5 mg, 0.686 mmol), K₂CO₃ (284 mg, 2.05 mmol), and 2-Chloro-5-fluorobenzyl bromide (185 μl, 1.37 mmol) in DMF (3 ml) was stirred at 60 °C for 3 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution, and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl aqueous solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give Methyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (306.0 mg, yield 75%) as a white powder. A mixture of above-product (216.5 mg, 0.362 mmol) and 1M NaOH (1 ml) aqueous solution in THF (1 ml) and MeOH (1 ml) was stirred at room temperature for 6 h. The mixture was acidified with 5% KHSO₄ aqueous solution and extracted with CHCl₃. The organic layer was washed with brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure to give **152** (165.7 mg, yield 78%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.65 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.04 (dd, *J* = 2.0, 9.0 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.56-7.52 (m, 1H), 7.18-7.13 (m, 1H), 6.88 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.59 (dd, *J* = 2.5, 9.3

Hz, 1H), 5.48 (d, $J = 18.0$ Hz, 1H), 5.42 (d, $J = 18.0$ Hz, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.48-3.44 (m, 1H), 3.38-3.27 (m, 2H), 2.89-2.84 (m, 1H), 2.75-2.70 (m, 1H), 1.79-1.71 (m, 2H), 1.61-1.58 (m, 1H), 1.38-1.32 (m, 10H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 166.9, 161.0 (d, $^1\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 243$ Hz), 158.0, 154.7, 154.0, 141.5, 140.0, 137.7 (d, $^3\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 7.2$ Hz), 131.0 (d, $^3\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 7.9$ Hz), 128.7, 126.2 (d, $^4\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 3.0$ Hz), 124.1, 123.5, 118.8, 116.0, 115.7 (d, $^2\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 23.0$ Hz), 115.7, 114.0 (d, $^2\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 25.0$ Hz), 79.1, 54.9, 50.2, 46.5, 46.3, 30.5, 28.9, 28.1, 23.2; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{N}_5\text{ClF}$ 584.2071, found 584.2068; IR (ATR): 1700, 1652, 1648, 1569, 1533, 1500, 1469, 1429, 1388, 1365, 1309, 1267, 1241, 1222, 1164, 1112 cm^{-1} .

2-((3*R*)-3-[(*tert*-Butoxycarbonyl)aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylic acid (153)

A mixture of **142** (195 mg, 0.326 mmol) and 1M NaOH (2 ml) aqueous solution in THF (2 ml) and MeOH (2 ml) was stirred at 50 °C for 4 h. The mixture was acidified with 5% KHSO_4 aqueous solution and extracted with CHCl_3 . The organic layer was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure to give **153** (171.7 mg, yield 90%) as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.18 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 7.88 (dd, $J = 1.1, 8.1$ Hz, 1H), 7.56-7.53 (m, 1H), 7.18-7.13 (m, 1H), 6.93 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.59 (dd, $J = 2.5, 9.4$ Hz, 1H), 5.52 (d, $J = 17.6$ Hz, 1H), 5.46 (d, $J = 17.6$ Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.48-3.25 (m, 3H), 2.87-2.82 (m, 1H), 2.76-2.71 (m, 1H), 1.79-1.69 (m, 2H), 1.60-1.57 (m, 1H), 1.40-1.35 (m, 1H), 1.33 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 167.3, 161.2 (d, $^1\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 243$ Hz), 158.2, 154.9, 154.3, 141.0, 137.9 (d, $^3\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 7.4$ Hz), 137.0, 131.2 (d, $^3\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 8.3$ Hz), 130.3, 126.4 (d, $^4\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 2.8$ Hz), 122.9, 122.3, 120.1, 119.9, 116.6, 116.0 (d, $^2\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 23.0$ Hz), 114.3 (d, $^2\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 25.0$ Hz), 77.9, 55.1, 50.5, 46.7, 46.6, 29.7, 28.8, 28.4, 23.4; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{N}_5\text{ClF}$ 584.2071, found 584.2071; IR (ATR): 1712, 1660, 1646, 1623, 1508, 1473, 1456, 1423, 1400, 1365, 1349, 1313, 1290, 1251, 1240, 1220, 1149, 1122, 1112, 1068, 1049, 1027 cm^{-1} .

[(2,2-Dimethylpropanoyl)oxy]methyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (150a)

A mixture of **76** (217.3 mg, 0.384 mmol), K_2CO_3 (159.2 mg, 1.15 mmol), and chloromethyl pivalate (112 μl , 0.766 mmol) in DMF (2 ml) was stirred at room

temperature for 12 h. The reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution, and extracted with EtOAc. The organic layer was washed with saturated NH₄Cl aqueous solution twice and brine, dried over Na₂SO₄, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **150a** (89.0 mg, yield 34%) as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.99 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.17 (dd, *J* = 2.1, 9.0 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.40-7.38 (m, 1H), 7.18-7.09 (m, 2H), 6.66 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 6.04 (s, 2H), 5.76 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.63 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.12 (brs, 1H), 3.79 (brs, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.45 (dd, *J* = 3.1, 12.3 Hz, 1H), 3.16-3.08 (m, 3H), 1.79-1.61 (m, 4H), 1.41 (s, 9H), 1.22 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 177.2, 164.7, 158.5, 155.0, 142.1, 140.9, 134.9, 131.9, 129.5, 129.4, 128.6, 127.1, 126.5, 125.4, 125.4, 122.7, 119.5, 116.8, 114.8, 79.9, 79.2, 55.3, 51.4, 46.4, 46.0, 31.5, 29.2, 28.3, 26.8, 22.6; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₅H₄₃O₇N₅Cl 680.2846, found 680.2845; IR (ATR): 1733, 1716, 1683, 1652, 1558, 1540, 1508, 1473, 1457, 1363, 1270, 1218, 1157, 1078, 1033 cm⁻¹.

2-(Dimethylamino)ethyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)aminol]piperidin-1-yl)-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (150b)

Compound **150b** was prepared from **76** in a manner similar to that described for compound **150a** with a yield of 85% as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.93 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.15 (dd, *J* = 2.0, 9.0 Hz, 1H), 7.43 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.40-7.37 (m, 1H), 7.20-7.09 (m, 2H), 6.66 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.76 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.61 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 5.14-5.11 (m, 1H), 4.51 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.81 (brs, 1H), 3.73 (s, 3H), 3.42 (dd, *J* = 3.3, 12.5 Hz, 1H), 3.15-3.06 (m, 3H), 2.82 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.40 (s, 6H), 1.80-1.58 (m, 3H), 1.41 (m, 10H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.1, 158.5, 155.1, 155.0, 142.3, 140.5, 134.9, 131.9, 129.5, 129.2, 128.6, 127.1, 126.5, 124.9, 124.0, 119.5, 116.8, 114.7, 79.2, 62.9, 57.8, 55.2, 51.4, 46.4, 46.0, 45.8, 29.5, 29.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₃H₄₂O₅N₆Cl 637.2900, found 637.2892; IR (ATR): 1712, 1652, 1569, 1506, 1457, 1388, 1363, 1311, 1272, 1234, 1166, 1112, 1066, 1049 cm⁻¹.

3-(Dimethylamino)propyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)aminol]piperidin-1-yl)-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (150c)

Compound **150c** was prepared from **76** in a manner similar to that described for compound **150a** with a yield of 70% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.94 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.16 (dd, *J* = 2.1, 9.0 Hz, 1H), 7.45 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 1.1, 7.9 Hz, 1H), 7.22-7.18 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.68 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.79 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.13 (brs, 1H), 4.44 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.82 (brs, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.45 (dd, *J* = 3.2, 12.3 Hz, 1H), 3.17-3.08 (m, 3H), 2.54 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.33 (s, 6H), 2.08-2.01 (m, 2H), 1.79-1.72 (m, 2H), 1.62-1.60 (m, 2H), 1.43 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.0, 158.3, 154.9, 154.9, 142.2, 140.3, 134.9, 131.8, 129.4, 129.0, 128.5, 127.1, 126.4, 124.6, 124.1, 119.3, 116.7, 114.6, 79.1, 63.3, 56.2, 55.2, 51.3, 46.3, 46.0, 45.4, 29.5, 29.1, 28.3, 27.0, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₄H₄₄O₅N₆Cl 651.3056, found 651.3051; IR (ATR): 1716, 1654, 1508, 1457, 1272, 1220, 1166, 1112, 1033 cm⁻¹.

2-(Morpholin-4-yl)ethyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (150d)

Compound **150d** was prepared from **76** in a manner similar to that described for compound **150a** with a yield of 73% as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.94 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.15 (dd, *J* = 2.0, 8.9 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J* = 1.1, 7.9 Hz, 1H), 7.20-7.18 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.68 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.78 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.12-5.10 (m, 1H), 4.55 (brs, 2H), 3.80-3.75 (m, 6H), 3.72-3.68 (m, 1H), 3.46 (dd, *J* = 3.2, 12.3 Hz, 1H), 3.15-3.08 (m, 3H), 2.88 (m, 2H), 2.66-2.57 (m, 5H), 1.82-1.72 (m, 2H), 1.62-1.60 (m, 2H), 1.43 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.0, 158.4, 155.0, 155.0, 142.2, 140.4, 134.9, 131.9, 129.5, 129.1, 128.5, 127.1, 126.5, 124.8, 123.9, 119.5, 116.8, 114.7, 79.2, 66.9, 62.2, 57.1, 55.2, 53.8, 51.4, 46.4, 46.0, 29.5, 29.2, 28.3, 22.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₅H₄₄O₆N₆Cl 679.3005, found 679.3003; IR (ATR): 1708, 1691, 1654, 1569, 1498, 1465, 1430, 1388, 1351, 1309, 1274, 1218, 1164, 1116, 1066, 1039 cm⁻¹.

3-(Morpholin-4-yl)propyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (150e)

Compound **150e** was prepared from **76** in a manner similar to that described for compound **150a** with a yield of 86% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ

8.92 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.15 (dd, $J = 2.0, 8.9$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.42-7.40 (m, 1H), 7.22-7.18 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.68 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.64 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.13-5.11 (m, 1H), 4.56 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.79 (brs, 5H), 3.75 (s, 3H), 3.46 (dd, $J = 3.2, 12.3$ Hz, 1H), 3.16-3.07 (m, 3H), 2.59 (brs, 6H), 2.10 (brs, 2H), 1.81-1.71 (m, 2H), 1.61-1.59 (m, 2H), 1.42 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.1, 158.4, 155.0, 155.0, 142.2, 140.4, 134.9, 131.9, 129.5, 129.0, 128.5, 127.1, 126.5, 124.6, 124.0, 119.4, 116.7, 114.7, 79.1, 66.7, 63.3, 55.5, 55.2, 53.6, 51.4, 46.3, 46.0, 29.5, 29.2, 28.3, 25.8, 22.2; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{O}_6\text{N}_6\text{Cl}$ 693.3167, found 693.3155; IR (ATR): 1716, 1652, 1558, 1506, 1457, 1363, 1272, 1220, 1166, 1112, 1066 cm^{-1} .

2-[(2*R*,6*S*)-2,6-Dimethylmorpholin-4-yl]ethyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*d*]quinoline-8-carboxylate (150f)

Compound **150f** was prepared from **76** in a manner similar to that described for compound **150a** with a yield of 49% as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.92 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.15 (dd, $J = 2.0, 9.0$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.21-7.17 (m, 1H), 7.14-7.10 (m, 1H), 6.67 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.63 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.12-5.10 (m, 1H), 4.53 (m, 2H), 3.81-3.75 (m, 6H), 3.44 (dd, $J = 3.0, 12.3$ Hz, 1H), 3.14-3.07 (m, 3H), 2.90-2.82 (m, 4H), 1.94 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.79-1.71 (m, 2H), 1.61-1.59 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.17 (d, $J = 6.3$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 166.0, 158.5, 155.1, 155.0, 142.3, 140.5, 134.9, 132.0, 129.6, 129.2, 128.6, 127.2, 126.5, 124.8, 123.9, 119.6, 116.8, 114.8, 79.3, 62.2, 59.6, 56.7, 55.3, 51.5, 46.4, 46.0, 31.5, 29.2, 28.4, 22.6, 22.2, 19.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{37}\text{H}_{48}\text{O}_6\text{N}_6\text{Cl}$ 707.3318, found 707.3308; IR (ATR): 1716, 1654, 1569, 1558, 1506, 1457, 1363, 1309, 1272, 1236, 1220, 1166, 1114, 1066 cm^{-1} .

(5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*d*]quinoline-8-carboxylate (150g)

Compound **150g** was prepared from **76** in a manner similar to that described for compound **150a** with a yield of 96% as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.96 (brs, 1H), 8.15 (dd, $J = 2.1, 8.9$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $J = 1.0, 7.9$ Hz, 1H), 7.22-7.18 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.69 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 17.2$

Hz, 1H), 5.64 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.14 (s, 2H), 5.11 (brs, 1H), 3.82 (brs, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.47 (dd, $J = 3.3, 12.3$ Hz, 1H), 3.16-3.09 (m, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.81-1.72 (m, 2H), 1.61-1.60 (m, 2H), 1.43 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 165.1, 158.1, 154.9, 154.0, 152.1, 141.3, 140.6, 140.5, 135.2, 133.7, 131.2, 129.4, 128.9, 128.8, 127.7, 126.9, 123.5, 122.3, 119.0, 116.2, 116.0, 77.9, 55.1, 54.7, 50.6, 46.7, 46.2, 29.9, 29.0, 28.4, 23.5, 9.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{O}_8\text{N}_5\text{Cl}$ 678.2325, found 678.2325; IR (ATR): 1822, 1716, 1673, 1654, 1506, 1434, 1394, 1315, 1270, 1216, 1160, 1105, 1093, 1066, 1049 cm^{-1} .

(5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate (150h)

Compound **150h** was prepared from **152** in a manner similar to that described for compound **150a** with a yield of 87% as a white amorphous. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.95 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.16 (dd, $J = 2.2, 9.0$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.40-7.36 (m, 1H), 6.95-6.88 (m, 1H), 6.44-6.42 (m, 1H), 5.70 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.60 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.14 (s, 2H), 5.10 (brs, 1H), 3.81 (brs, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.48 (dd, $J = 2.9, 12.1$ Hz, 1H), 3.12-3.06 (m, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.85-1.75 (m, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.27-1.15 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.2, 162.3 (d, $^1\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 245$ Hz), 159.2, 155.7, 155.7, 152.9, 143.0, 141.6, 141.0, 138.0 (d, $^3\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 7.1$ Hz), 134.4, 131.6 (d, $^3\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 8.2$ Hz), 130.1, 127.5 (d, $^4\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 3.2$ Hz), 125.9, 123.5, 120.1, 117.5, 116.4 (d, $^2\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 22.8$ Hz), 115.6, 114.6 (d, $^2\mathcal{J}(\text{C}, \text{F}) = 24.5$ Hz), 80.3, 56.2, 54.9, 52.1, 47.1, 46.9, 30.3, 30.0, 29.0, 23.2, 10.2; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{O}_8\text{N}_5\text{ClF}$ 696.2231, found 696.2231; IR (ATR): 1818, 1716, 1652, 1569, 1506, 1473, 1386, 1305, 1272, 1218, 1166, 1091, 1049 cm^{-1} .

(5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl 2-((3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl)-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylate (150i)

Compound **150i** was prepared from **110** in a manner similar to that described for compound **150a** with a yield of 73% as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.35 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 7.96 (dd, $J = 1.1, 8.2$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $J = 1.0, 7.9$ Hz, 1H), 7.22-7.19 (m, 1H), 7.15-7.11 (m, 1H), 6.69 (brd, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.00 (brs, 1H), 5.78 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.65 (d, $J = 17.4$ Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 3.81 (brs, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.44 (dd, $J = 3.3, 12.6$ Hz, 1H), 3.25-3.21 (m, 1H), 3.08 (m, 2H), 2.28 (s, 3H),

1.77-1.72 (m, 3H), 1.56-1.51 (m, 1H), 1.46 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.4, 159.0, 155.8, 155.5, 152.7, 141.6, 141.0, 137.8, 135.4, 134.1, 132.5, 130.2, 129.2, 128.7, 127.8, 127.1, 123.6, 123.5, 121.6, 121.4, 117.2, 79.7, 55.4, 55.1, 52.1, 47.0, 46.4, 30.1, 29.8, 29.1, 22.2, 10.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{O}_8\text{N}_5\text{Cl}$ 678.2325, found 678.2325; IR (ATR): 1824, 1716, 1652, 1558, 1508, 1473, 1307, 1216, 1166, 1097, 1049, 1033 cm^{-1} .

(5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl 2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-7-carboxylate (150j)

Compound **150j** was prepared from **153** in a manner similar to that described for compound **150a** with a quantitative yield as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.38 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.99 (dd, $J = 1.2, 8.2$ Hz, 1H), 7.40-7.36 (m, 1H), 6.95-6.90 (m, 1H), 6.45-6.42 (m, 1H), 5.90 (s, 1H), 5.71 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H), 5.62 (d, $J = 17.0$ Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 3.82 (brs, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.47 (dd, $J = 3.2, 12.4$ Hz, 1H), 3.21-3.10 (m, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.84-1.56 (m, 4H), 1.46 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 166.5, 162.3 ($d, {}^1J(\text{C}, \text{F}) = 245$ Hz), 159.0, 155.8, 155.6, 152.7, 141.9, 141.1, 137.9, 137.9 ($d, {}^3J(\text{C}, \text{F}) = 6.8$ Hz), 134.1, 131.6 ($d, {}^3J(\text{C}, \text{F}) = 8.2$ Hz), 129.0, 127.4 ($d, {}^4J(\text{C}, \text{F}) = 2.7$ Hz), 123.8, 123.7, 121.6, 121.2, 117.3, 116.4 ($d, {}^2J(\text{C}, \text{F}) = 22.8$ Hz), 114.5 ($d, {}^2J(\text{C}, \text{F}) = 24.6$ Hz), 79.8, 55.7, 55.2, 52.2, 47.0, 46.6, 32.2, 29.9, 29.1, 23.3, 10.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{O}_8\text{N}_5\text{ClF}$ 696.2231, found 696.2238; IR (ATR): 1824, 1716, 1652, 1558, 1540, 1508, 1473, 1457, 1363, 1307, 1216, 1164, 1103, 1049, 1033 cm^{-1} .

[(2,2-Dimethylpropanoyl)oxyl)methyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate hydrochloride (151a)

To a solution of **150a** (80.0 mg, 0.118 mmol) in 1,4-dioxane (2 ml) was added 4*N* HCl-1,4-dioxane (2 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h and concentrated under reduced pressure to give **151a** (76.3 mg, quantitative yield) as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.68 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.41 (brs, 3H), 8.07 (dd, $J = 2.1, 8.9$ Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.23-7.19 (m, 1H), 6.69 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.01 (s, 2H), 5.61 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 5.55 (d, $J = 17.2$ Hz, 1H), 3.73-3.65 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.49-3.45 (m, 1H), 3.33-3.23 (m, 1H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.89-2.82 (m, 1H), 1.97-1.96 (m, 1H), 1.78-1.76 (m, 1H), 1.62-1.48 (m, 2H), 1.16 (s, 9H); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 176.5, 164.1, 157.6,

154.0, 140.7, 140.6, 134.9, 130.9, 129.4, 129.0, 128.9, 127.6, 126.9, 123.7, 121.8, 119.1, 116.3, 115.8, 80.0, 59.2, 52.1, 50.9, 46.3, 46.1, 29.1, 27.2, 26.5, 22.0; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₃₅O₅N₅Cl 580.2319, found 580.2312; IR (ATR): 1704, 1672, 1616, 1594, 1508, 1442, 1375, 1317, 1245, 1218, 1114, 1049 cm⁻¹.

2-(Dimethylamino)ethyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate dihydrochloride (151b)

Compound **151b** was prepared from **150b** in a manner similar to that described for compound **151a** with a yield of 98% as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.98 (s, 1H), 8.78 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.51 (brs, 3H), 8.23 (dd, *J* = 1.8, 8.8 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.73 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.64 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.58 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 4.63 (brs, 2H), 3.75-3.72 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.61-3.50 (m, 3H), 3.37-3.27 (m, 2H), 3.12-3.09 (m, 1H), 2.88 (s, 6H), 1.97 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.64-1.62 (m, 1H), 1.51-1.48 (m, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.0, 157.1, 153.9, 140.4, 140.1, 134.8, 130.9, 129.4, 129.4, 129.0, 127.7, 127.0, 123.9, 122.7, 118.9, 116.0, 115.3, 59.4, 54.8, 52.1, 50.8, 46.5, 46.0, 42.5, 29.1, 27.1, 21.9; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₈H₃₄O₃N₆Cl 537.2375, found 537.2372; IR (ATR): 1718, 1670, 1627, 1608, 1592, 1558, 1515, 1457, 1446, 1371, 1321, 1276, 1261, 1241, 1218, 1126, 1114, 1066, 1051, 1039 cm⁻¹.

3-(Dimethylamino)propyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate dihydrochloride (151c)

Compound **151c** was prepared from **150c** in a manner similar to that described for compound **151a** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.88 (brs, 1H), 8.72 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.52 (brs, 3H), 8.10 (dd, *J* = 2.2, 9.0 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.51 (dd, *J* = 1.1, 7.9 Hz, 1H), 7.32-7.27 (m, 1H), 7.24-7.19 (m, 1H), 6.72 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 5.63 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.55 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 4.41 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 3.77-3.73 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.33-3.21 (m, 4H), 3.11-3.07 (m, 1H), 2.90-2.83 (m, 1H), 2.78 (s, 6H), 2.24-2.19 (m, 2H), 1.97 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.65-1.61 (m, 1H), 1.51 (m, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 165.5, 157.5, 154.2, 140.6, 140.5, 135.1, 131.1, 129.6, 129.2, 129.2, 127.9, 127.1, 123.7, 123.2, 119.2, 116.2, 115.8, 62.3, 53.8, 52.3, 51.1, 46.6, 46.3, 42.2, 29.3, 27.4, 23.7, 22.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₃₆O₃N₆Cl 551.2532, found 551.2531; IR (ATR): 3355, 1697, 1670, 1652, 1616, 1508, 1465, 1442, 1386, 1322, 1274, 1241, 1218, 1108, 1052, 1039 cm⁻¹.

2-(Morpholin-4-yl)ethyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate dihydrochloride (151d)

Compound **151d** was prepared from **150d** in a manner similar to that described for compound **151a** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.77 (brs, 1H), 8.76 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 8.47 (brs, 3H), 8.21 (dd, *J* = 2.0, 9.0 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.51 (dd, *J* = 1.3, 7.9 Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.25-7.20 (m, 1H), 6.73 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 5.64 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.57 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 4.75-4.74 (m, 2H), 4.00-3.88 (m, 4H), 3.75-3.64 (m, 6H), 3.54-3.50 (m, 2H), 3.32-3.28 (m, 4H), 3.08 (m, 1H), 2.91-2.85 (m, 1H), 1.97 (m, 1H), 1.76 (m, 1H), 1.61-1.52 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.1, 157.1, 154.0, 140.6, 139.8, 135.0, 131.1, 129.6, 129.5, 129.2, 127.9, 127.2, 124.1, 122.9, 119.0, 116.2, 115.3, 63.4, 59.4, 54.6, 52.3, 51.5, 51.0, 46.8, 46.2, 29.4, 27.3, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₃₆O₄N₆Cl 579.2481, found 579.2464; IR (ATR): 1718, 1668, 1592, 1521, 1508, 1473, 1317, 1251, 1130, 1110, 1049, 1033 cm⁻¹.

3-(Morpholin-4-yl)propyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate dihydrochloride (151e)

Compound **151e** was prepared from **150e** in a manner similar to that described for compound **151a** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.51 (brs, 1H), 8.72 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.47 (brs, 3H), 8.11 (dd, *J* = 2.1, 8.9 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.51 (dd, *J* = 0.9, 7.9 Hz, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 7.24-7.20 (m, 1H), 6.71 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.63 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.57 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 4.20 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.97-3.93 (m, 2H), 3.86-3.82 (m, 2H), 3.75-3.69 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.47-3.44 (m, 2H), 3.37-3.26 (m, 4H), 3.12-3.04 (m, 3H), 2.31-2.24 (m, 2H), 1.98-1.96 (m, 1H), 1.78-1.75 (m, 1H), 1.64-1.51 (m, 1H), 1.50-1.48 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.4, 156.6, 153.9, 140.4, 139.2, 134.9, 131.1, 129.6, 129.3, 129.2, 127.9, 127.2, 123.9, 123.3, 118.7, 116.1, 114.8, 63.4, 62.5, 53.4, 52.3, 51.1, 51.0, 46.8, 46.2, 29.4, 27.2, 22.9, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₁H₃₈O₄N₆Cl 593.2643, found 593.2637; IR (ATR): 1704, 1670, 1635, 1596, 1508, 1457, 1442, 1322, 1263, 1218, 1106, 1051 cm⁻¹.

2-[(2*R*,6*S*)-2,6-Dimethylmorpholin-4-yl]ethyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate dihydrochloride (151f)

Compound **151f** was prepared from **150f** in a manner similar to that described for compound **151a** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.87 (brs, 1H), 8.72 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.41 (brs, 3H), 8.21 (dd, *J* = 2.2, 9.0 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.51 (dd, *J* = 1.3, 7.9 Hz, 1H), 7.32-7.19 (m, 2H), 6.70 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 5.65 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 5.58 (d, *J* = 17.2 Hz, 1H), 4.74 (m, 2H), 4.08-4.04 (m, 3H), 3.69-3.55 (m, 7H), 3.37-3.21 (m, 2H), 3.10-3.05 (m, 1H), 2.89-2.75 (m, 3H), 1.95 (m, 1H), 1.76 (m, 1H), 1.63-1.48 (m, 2H), 1.15 (d, *J* = 6.2 Hz, 6H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.2, 157.7, 154.2, 140.8, 140.6, 135.2, 131.1, 129.6, 129.4, 129.2, 127.9, 127.1, 123.8, 122.9, 119.2, 116.2, 115.9, 68.6, 59.2, 55.5, 54.7, 52.3, 51.2, 46.5, 46.3, 29.3, 27.4, 22.1, 18.5; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₂H₄₀O₄N₆Cl 607.2794, found 607.2794; IR (ATR): 1718, 1673, 1652, 1635, 1558, 1540, 1508, 1457, 1324, 1272, 1220, 1132, 1060, 1033 cm⁻¹.

(5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate hydrochloride (151g)

Compound **151g** was prepared from **150g** in a manner similar to that described for compound **151a** with a quantitative yield as a white amorphous. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.67 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 8.40 (brs, 3H), 8.07 (dd, *J* = 1.8, 9.0 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.32-7.27 (m, 1H), 7.23-7.19 (m, 1H), 6.69 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.60 (d, *J* = 17.4 Hz, 1H), 5.53 (d, *J* = 17.4 Hz, 1H), 5.29 (s, 2H), 3.73-3.69 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.41-3.23 (m, 2H), 3.08-3.05 (m, 1H), 2.87-2.81 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 1.97-1.89 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.62-1.51 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.1, 157.8, 154.2, 152.1, 141.0, 140.7, 140.6, 135.1, 133.7, 131.1, 129.6, 129.1, 129.1, 127.8, 127.1, 123.6, 122.6, 119.3, 116.3, 116.0, 54.7, 52.3, 51.1, 46.4, 46.3, 29.3, 27.4, 22.2, 9.2; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₂₉O₆N₅Cl 578.1801, found 578.1782; IR (ATR): 1830, 1716, 1670, 1592, 1558, 1540, 1508, 1473, 1230, 1130, 1033 cm⁻¹.

(5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinoline-8-carboxylate hydrochloride (151h)

Compound **151h** was prepared from **150h** in a manner similar to that described for compound **151a** with a quantitative yield as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.68 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.39 (brs, 3H), 8.08 (dd, J = 2.1, 8.9 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.59-7.55 (m, 1H), 7.21-7.16 (m, 1H), 6.65-6.62 (m, 1H), 5.58 (d, J = 17.4 Hz, 1H), 5.52 (d, J = 17.4 Hz, 1H), 5.29 (s, 2H), 3.70-3.67 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.49-3.48 (m, 1H), 3.29-3.24 (m, 1H), 3.15-3.08 (m, 1H), 2.91-2.86 (m, 1H), 2.24 (s, 3H), 1.97 (m, 1H), 1.81-1.79 (m, 1H), 1.64-1.51 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 165.0, 161.2 (d, $^1\mathcal{J}(\text{C}, \text{F})$ = 243 Hz), 157.8, 154.2, 152.1, 141.1, 140.7, 140.6, 137.7 (d, $^3\mathcal{J}(\text{C}, \text{F})$ = 7.4 Hz), 133.6, 131.3 (d, $^3\mathcal{J}(\text{C}, \text{F})$ = 8.6 Hz), 129.1, 126.4 (d, $^4\mathcal{J}(\text{C}, \text{F})$ = 2.6 Hz), 123.6, 122.6, 119.3, 116.3, 116.3 (d, $^2\mathcal{J}(\text{C}, \text{F})$ = 24.7 Hz), 116.2, 114.4 (d, $^2\mathcal{J}(\text{C}, \text{F})$ = 24.6 Hz), 54.7, 52.3, 51.2, 46.5, 46.3, 29.3, 27.4, 22.1, 9.1; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{N}_5\text{ClF}$ 596.1707, found 596.1708; IR (ATR): 1816, 1716, 1668, 1592, 1558, 1540, 1521, 1508, 1457, 1429, 1373, 1303, 1255, 1224, 1191, 1110, 1049, 1033 cm^{-1} .

(5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chlorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*d*]quinoline-7-carboxylate hydrochloride (151i)

Compound **151i** was prepared from **150i** in a manner similar to that described for compound **151a** with a yield of 95% as a white amorphous. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.42 (brs, 3H), 8.25 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.91 (dd, J = 1.3, 8.3 Hz, 1H), 7.50 (dd, J = 1.1, 7.7 Hz, 1H), 7.32-7.27 (m, 1H), 7.24-7.21 (m, 1H), 6.71 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 5.62 (d, J = 17.4 Hz, 1H), 5.54 (d, J = 17.4 Hz, 1H), 5.28 (s, 2H), 3.69 (brs, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.27-3.21 (m, 2H), 3.03 (m, 1H), 2.82-2.79 (m, 1H), 2.24 (s, 3H), 1.97 (m, 1H), 1.90 (m, 1H), 1.74-1.55 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 165.3, 157.7, 154.1, 152.1, 140.7, 140.1, 137.1, 135.1, 133.6, 131.1, 129.5, 129.1, 128.3, 127.9, 127.1, 122.9, 122.7, 120.5, 120.2, 116.7, 55.0, 52.3, 51.1, 46.5, 46.4, 29.0, 27.4, 22.2, 9.2; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{O}_6\text{N}_5\text{Cl}$ 578.1801, found 578.1786; IR (ATR): 1810, 1733, 1681, 1621, 1560, 1508, 1473, 1448, 1309, 1224, 1122, 1052, 1033 cm^{-1} .

(5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl 2-[(3*R*)-3-aminopiperidin-1-yl]-3-(2-chloro-5-fluorobenzyl)-5-methyl-4-oxo-4,5-dihydro-3*H*-imidazo[4,5-*d*]quinoline-7-carboxylate hydrochloride (151j)

Compound **151j** was prepared from **150j** in a manner similar to that described for compound **151a** with a yield of 70% as a white amorphous. ^1H NMR (400 MHz,

DMSO-*d*₆) δ 8.31 (brs, 3H), 8.26 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.93 (dd, *J* = 1.3, 8.2 Hz, 1H), 7.59-7.56 (m, 1H), 7.22-7.17 (m, 1H), 6.68-6.63 (m, 1H), 5.60 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 5.55 (d, *J* = 17.6 Hz, 1H), 5.28 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.59-3.47 (m, 1H), 3.38-3.22 (m, 2H), 3.10-3.07 (m, 1H), 2.90-2.85 (m, 1H), 2.24 (s, 3H), 1.97-1.96 (m, 1H), 1.79-1.78 (m, 1H), 1.61-1.53 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.1, 161.0 (d, ¹*J*(C, F) = 243 Hz), 157.5, 154.0, 151.9, 140.4, 140.0, 137.5 (d, ³*J*(C, F) = 8.2 Hz), 136.9, 133.3, 131.1 (d, ³*J*(C, F) = 9.9 Hz), 128.2, 126.2 (d, ⁴*J*(C, F) = 4.9 Hz), 122.7, 122.6, 122.5, 120.3, 116.5, 115.9 (d, ²*J*(C, F) = 23.6 Hz), 114.3 (d, ²*J*(C, F) = 25.6 Hz), 54.8, 52.0, 50.9, 46.4, 46.1, 28.8, 27.1, 21.8, 8.9; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₂₉H₂₈O₆N₅ClF 596.1707, found 596.1707; IR (ATR): 1810, 1718, 1683, 1635, 1508, 1473, 1307, 1218, 1112, 1051, 1033, 1008 cm⁻¹.

Methyl 4-[[[4-amino-2-[(3*R*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]piperidin-1-yl]-1-(2-chloro benzyl)-1*H*imidazol-5-yl]carbonyl](methyl)amino]benzoate (155)

A mixture of **157** (3.72 g, 9.50 mmol), **156** (2.53 g, 10.47 mmol) and cesium carbonate (6.19 g, 19.00 mmol) in MeCN (10 ml) was stirred at 40 °C for 4 h, and stirred at 60 °C for 3 h. After cooling to room temperature, the mixture was filtered through a Celite pad. The filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **155** (4.27 g, yield 75%) as a pale yellow solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.39-7.37 (m, 1H), 7.25-7.21 (m, 2H), 6.91 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 5.03 (brs, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.12 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.76-3.73 (m, 1H), 3.29 (s, 3H), 3.27-3.25 (m, 1H), 2.97-2.94 (m, 3H), 1.73-1.56 (m, 4H), 1.41 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.0, 163.0, 154.8, 148.8, 134.4, 133.2, 130.2, 130.0, 129.4, 129.3, 128.9, 126.8, 126.4, 125.5, 122.6, 103.8, 78.8, 54.8, 51.8, 51.2, 47.0, 45.7, 36.5, 29.3, 28.1, 22.1; HRMS (ESI) [M+H]⁺ calcd for C₃₀H₃₈ClN₆O₅ 597.2587, found 597.2579; IR (ATR): 1705, 1600, 1512, 1473, 1435, 1404, 1346, 1311, 1276, 1246, 1165, 1107, 1049, 1014, 991 cm⁻¹.

Methyl 4-[(chloroacetyl)(methyl)amino]benzoate (156)

To a solution of chloroacetyl chloride (1.23 g, 10.89 mmol) in THF (5 ml) were added methyl 4-methylaminobenzoate (1.50 g, 9.08 mmol) and pyridine (718 mg, 9.08 mmol) in THF (10 ml) solution dropwise at 0 °C, and the mixture was stirred at 0 °C for 3 h. The reaction mixture was quenched with saturated NH₄Cl aqueous solution, extracted with EtOAc, washed with saturated NaHCO₃ aqueous solution, brine, dried over Na₂SO₄,

and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **156** (2.19 g, quantitative yield) as a white solid. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.10 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.85 (brs, 2H), 3.32 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 165.8, 165.7, 146.5, 131.1, 129.8, 126.7, 52.2, 41.2, 37.6; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{NCl}$ 242.0578, found 242.0585; IR (ATR): 1716, 1674, 1600, 1504, 1435, 1408, 1373, 1257, 1188, 1172, 1095, 1045, 1014, 952 cm^{-1} .

***tert* Butyl {(3*R*)-1-[*N*-(2-chlorobenzyl)-*N*-cyanocarbamimidoyl]piperidin-3-yl}carbamate (157)**

To solution of (*R*)-3-*tert*-butoxycarbonylaminopiperidine (1.63 g, 8.14 mmol) in *i*PrOH (60 ml) was added diphenyl cyanocarbonimidate (2.00 g, 8.14 mmol) at 0 °C. The mixture was stirred at room temperature for 1 h. To the reaction mixture was added 2-chlorobenzyl amine (1.73 g, 12.22 mmol) at room temperature, and the mixture was stirred at 80 °C for 2 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was concentrated in vacuo. The residue was diluted with 5% potassium hydrogensulfate aqueous solution, and extracted with AcOEt, washed with 5% potassium hydrogensulfate aqueous solution, 1N NaOH aqueous solution twice, brine, dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **157** (3.04 g, yield 95%) as a white solid. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.46-7.44 (m, 1H), 7.38-7.36 (m, 1H), 7.28-7.25 (m, 2H), 5.78 (brs, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.65 (s, 1H), 3.75-3.70 (m, 1H), 3.62-3.57 (m, 2H), 3.45 (brs, 1H), 3.27 (brs, 1H), 1.90-1.88 (m, 1H), 1.78-1.74 (m, 2H), 1.63-1.59 (m, 2H), 1.41 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 160.3, 155.5, 134.8, 133.3, 129.9, 129.4, 129.0, 126.9, 117.5, 79.8, 51.3, 47.4, 46.8, 45.0, 29.6, 28.1, 22.9; HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_5\text{Cl}$ 392.1848, found 392.1853; IR (ATR): 2164, 1685, 1570, 1531, 1438, 1388, 1365, 1311, 1284, 1242, 1165, 1080, 1049, 1022, 948 cm^{-1} .

Synthesis of 71 using intramolecular radical cyclization of 155

A mixture of **155** (119 mg, 0.199 mmol), isoamylnitrite (0.134 ml, 1.00 mmol) in 1-4 dioxane (2 ml) was stirred at 80 °C for 3 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to give **71** (84.7 mg, yield 73%).

Biological experiments

PD test in SD rats

SD rats (male, 11 weeks old) were fasted for 24 h prior to pre-dose blood sampling (-0.5 h) and kept fasted until the end of blood sampling performed 12 h after dosing. The rats received the test-compound (or test-drug) solution orally by gavage. Blood samples were collected 0.5 h before (-0.5 h), and 1, 2, 4, 6, 10 and 24 h after dosing (0 h). Time-course changes in plasma DPP-4 activity after administration of **151g** (3 mg/kg) or sitagliptin (3 mg/kg) were determined. DPP-4 activity in plasma samples was measured by the following procedure. Plasma dilution buffer (5 μ L containing 80 mmol/L $MgCl_2$, 140 mmol/L NaCl, 25 mmol/L HEPES, and 1% (w/v%) BAS, pH 7.8) was placed into each well of a 96-well plate and a 96 well Half Area Black with Clear Flat Bottom 3881 (Corning Incorporated), and 5 μ L of each plasma sample or distilled water (for measurement of background reaction) was added to each individual well, mixed and left to stand for at least 5 min. To initiate the reaction, 10 μ L of 100 μ mol/L Gly-Pro-MCA solution diluted with substrate dilution buffer (140 mmol/L NaCl, 25 mmol/L HEPES, 1% (w/v%) BAS, pH 7.8) was added to each well containing a plasma sample or distilled water. Twenty minutes later, 5% acetic acid was added to stop the reaction. Fluorescence intensity in RFUs (excitation wavelength 360 nm/emission wavelength 460 nm) was continuously monitored using a fluorescence microplate reader (SpectraMax[®] Gemini EM). Next, 20 μ L of standard AMC solution (1.28, 2.52, 5, 10, 20, 40 μ mol/L; diluted with plasma dilution buffer, substrate dilution buffer, rat plasma and DMSO) was placed into each of the wells with no plasma sample or distilled water, and fluorescence intensity in RFUs (excitation wavelength 360 nm/emission wavelength 460 nm) of the standard AMC solution was measured to construct a calibration curve of RFU against AMC per well. The curve was constructed on an arithmetic scale using unweighed linear regression in SoftMax[®]Pro version 4.3.1 (Molecular Devices Corporation), within the fluorescence microplate reader. The rates of AMC production in the samples and background wells were calculated using the constructed calibration curve. The net rate of AMC production (nmol/min) in a given sample well was determined by subtraction of mean background rate from the rate for the sample well. DPP-4 activity (mU/mL) per plasma unit was calculated by dividing the rate of AMC production by the volume of plasma sample used for the measurement. Duplicate measurements were performed for the standard AMC solution and for each plasma sample.

Oral glucose tolerance test (OGTT) in Zucker fatty rats

Zucker fatty rats (male, 11 weeks) were fasted overnight before each OGTT. Glucose (0.2 g/mL D-glucose solution) was orally loaded by gavage in a volume of 10 mL/kg (2 g of D-glucose/kg). Each concentration of **151g** (0.3, 1.0 mg/kg) suspension or 0.5% Methyl cellulose (MC) solution used as a control was administered once 1 h prior to glucose loading. Blood samples for determination of blood glucose concentration were taken just before administration of the test-substance or 0.5% MC solution (-1 h relative to the time of glucose loading), just before glucose loading (taken as 0 min), and 10, 30, 60, 120 min after glucose loading. Blood glucose concentration was measured for all the blood samples collected. A 10 μ L blood sample taken from the tail vein of each rat was immediately mixed with 100 μ L of 0.62 mol/L perchloric acid solution. Potassium carbonate solution (50 μ L, 0.37 mol/L) was then added and mixed. The deproteinized samples were stored in a refrigerator set at 4 °C until measurement of blood glucose concentration. Blood glucose concentration was measured using a commercially available kit, Glucose CII test Wako (Wako pure Chemical Industries, Ltd.). The deproteinized samples were centrifuged at 2,000 rpm for 10 min, and 15 μ L of the supernatant of each test sample and glucose standard solution (100, 250, 500, 750 mg/dL) were added to 96-well plates, followed by addition of 200 μ L of a coloring reagent to each well and mixing. Color reaction was allowed to develop for 18 to 35 min at room temperature, and absorbance was measured using a microplate reader (SpectraMax®190) at a main wavelength of 505 nm and a sub-wavelength of 700 nm. A linear calibration curve was constructed from differences in absorbance ($A_{505}-A_{700}$, Y-axis) of the glucose standard solution (mg/dL, X-axis), using a software provided with the microplate reader (SoftMax®Pro version 4.3.1). Glucose concentration of each test sample was determined by interpolation of its absorbance ($A_{505}-A_{700}$) on the standard curve. Samples and standard solution glucose concentrations were determined in duplicate.

Metabolic stability test

Materials

Human serum was purchased from COSMO BIO Co., Ltd (Tokyo, Japan). Pooled liver S9 fractions from male Sprague-Dawley (SD) rats and humans were purchased from

Xenotech, LLC (Lenexa, KS). Rat intestinal S9 fraction prepared without protease inhibitor was purchased from Biopredic international (Rennes, France). β -NADPH was purchased from Oriental Yeast Co., Ltd (Tokyo, Japan).

Hydrolysis Experiments

Hydrolysis experiments were performed in serum and in tissue S9 fractions from rats and humans. Test-compounds were incubated at 37 °C for 30 min in 100 μ L of serum or in an S9 reaction mixture consisting of 50 mM potassium phosphate buffer (pH7.4), 3 mM NADPH and 1 mg protein/mL S9 fraction. The final concentration of each test-compound was set to 1 μ M. After preincubation at 37 °C for 5 min, the hydrolysis reaction was initiated by addition of the test-compound dissolved in acetonitrile–water (1:1, v/v) and terminated by addition of 300 μ L of ice-cold acetnitrile. The reaction mixture was then centrifuged at 4500 rpm for 10 min to remove precipitated proteins, and the supernatant was filtrated using a 0.45 μ m 96-well filter plate (Varian Inc., Palo Alto, CA). The filtrate was next injected onto a high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry (HPLC/MS/MS) system.

Analytical procedure

The concentrations of test-compounds and their sample hydrolysates were measured using an HPLC-MS/MS system consisting of a TSQ 7000 mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA) with a Shimadzu 10A series HPLC system (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). Chromatography was performed using a Symmetry C18 column (5mm particle size, 2.1 x 150 mm, Waters Corporation, Milford MA) warmed to 40 °C. The mobile phase consisted of 10 mM ammonium acetate (pH 4.0, solvent A) and acetonitrile (solvent B). Elution gradient conditions were as follows: [min, B%] = [0, 20]-[6.5, 80]-[8.5, 80]-[8.6, 20]-[12, 20], and flow rate was 0.2 mL/min. Mass spectrometric detection was performed using positive ionization electrospray. The selective reaction monitoring mode (m/z: precursor ion→product ion) was used to monitor ions.

引用文献

1. 平成24年「国民健康・栄養調査」(厚生労働省) please see the website at <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000032074.html>
2. IDF DIABETES ATLAS Sixth edition. For latest information, please see the website at <http://www.idf.org/diabetesatlas>
3. Jonathan, B. B.; Christopher, C.; Gregory, A. N. *Diabetes Care* **2010**, *33*, 3, 501-506.
4. Lewis, J. D.; Ferrara, A.; Peng, T.; Hedderson, M.; Bilker, W. B.; Quesenberry, Jr. C. P.; Vaughn, D. J.; Nessel, L.; Selby, J.; Strom, B. L. *Diabetes Care* **2011**, *34*, 4, 916-922.
5. Ferrara, A.; Lewis, J. D.; Quesenberry, Jr. C. P.; Peng, T.; Strom, B. L.; Van Den Eeden, S. K.; Ehrlich, S. F.; Habel, L. A. *Diabetes Care* **2011**, *34*, 4, 923-929.
6. Nauck, M.; Heimesaat, M.; Orskov, C.; Holst, J.; Ebert, R.; Creutzfeldt, W. *J Clin Invest.* **1993**, *91*, 301-307.
7. Arulmozhi, D. K.; Portha, B. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2006**, *28*, 96-108.
8. Knudsen, L. B. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 4128-4134.
9. Kieffer, T. J.; McIntosh, C. H. S.; Pederson, R. A. *Endocrinology* **1995**, *136*, 3585-3596;
10. Deacon, C. F.; Nauck, M. A.; Toft-Nielson, M.; Pridal, L.; Willms, B.; Holst, J. J. *Diabetes* **1995**, *44*, 1126-1131.
11. For recent reviews see (a) Havale, S. H.; Pal, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1783-1802.
12. Mest, H.-J.; Mentlein, R. *Diabetologia* **2005**, *48*, 616-620.
13. Weber, A. E. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 4135-4141.
14. Augustyns, K.; Van der Veken, P.; Senten, K.; Haemers, A. *Expert Opin. Ther. Patents* **2003**, *13*, 499-510.
15. Drucker, D. J.; Nauck, M. A. *Lancet* **2006**, *368*, 1696-1705.
16. Ahren, B. *Expert Opin. Emerg. Drugs* **2008**, *13*, 593-607.
17. Nagakura, T.; Yasuda, N.; Yamazaki, K.; Ikuta, H.; Yoshikawa, S.; Asano, O.; Tanaka, I. *Biochem Biophys Res Commun.* **2001**, *284*, 501-506.
18. Yasuda, N.; Nagakura, T.; Yamazaki, K.; Inoue, T.; Tanaka, I. *Life Sci.* **2002**, *31*, 227-238.
19. Conarello, S. L.; Li, Z.; Ronan, J.; Roy, R. S.; Zhu, L.; Jiang, G.; Liu, F.; Woods, J.; Zycband, E.; Moller, D. E.; Thornberry, N. A.; Zhang, B. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2003**, *100*, 6825-6830.
20. Farilla, L.; Hui, H.; Bertolotto, C.; Kang, E.; Bulotta, A.; Di Mario, U.; Perfetti, R.

- Endocrinology* **2002**, *143*, 4397-408.
21. Reimer, M. K.; Holst, J. J.; Ahrén, B. *Eur J Endocrinol.* **2002**, *146*, 717-27.
 22. Pospisilik, J. A.; Martin, J.; Doty, T.; Ehses, J. A.; Pamir, N.; Lynn, F. C.; Piteau, S.; Demuth, H. U.; McIntosh, C. H.; Pederson, R. A. *Diabetes* **2003**, *52*, 741-750.
 23. Pei, Z. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* **2008**, *11*, 512-532.
 24. Gwaltney, S. L., II *Curr. Top. Med. Chem.* **2008**, *8*, 1545-1552.
 25. Pratley, R. E.; Jauffret-Kamel, S.; Galbreath, E.; Holmes, D. *Horm. Metab. Res.* **2006**, *38*, 423-428.
 26. Sebokova, E.; Christ, A. D.; Boehringer, M.; Mizrahi, J. *Curr. Top. Med. Chem.* **2007**, *7*, 547-555.
 27. Capuano, A.; Sportiello, L.; Maiorino, M. I.; Rossi, F.; Giugliano, D.; Esposito, K. *Drug Des. Devel. Ther.* **2013**, *7*, 989-1001.
 28. Eckhardt, M.; Lanqkopf, E.; Mark, M.; Tadayyon, M.; Thomas, L.; Nar, H.; Pfrengle, W.; Guth, B.; Lotz, R.; Sieger, P.; Fuchs, H.; Himmelsbach, F. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6450-6453.
 29. Thornberry, N. A.; Weber, A. E. *Curr. Top. Med. Chem.* **2007**, *7*, 557-568.
 30. Abbott, C. A.; Yu, D. M.; Woollatt, E.; Sutherland, G. R.; McCaughan, G. W.; Gorrell, M. D. *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 6140-6150.
 31. (a) Olsen, C.; Wagtmann, N. *Gene* **2002**, *299*, 185-193; (b) Ajami, K.; Abbott, C. A.; McCaughan, G. W.; Gorrell, M. D. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1679*, 18-28.
 32. Scallan, M. J.; Raj, B. K. M.; Calvo, B.; Garin-Chesa, P.; Sanz-Moncasi, M. P.; Healey, J. H.; Old, L. J.; Rettig, W. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1994**, *91*, 5657-5661.
 33. Leiting, B.; Pryor, K. D.; Wu, J. K.; Marsilio, F.; Patel, R. A.; Craik, C. S.; Ellman, J. A.; Cummings, R. T.; Thornberry, N. A. *Biochem. J.* **2003**, *371*, 525-532.
 34. Lankas, G. R.; Leiting, B.; Roy, R. S.; Eiermann, G. J.; Beconi, M. G.; Biftu, T.; Chan, C. C.; Edmondson, S.; Feeney, W. P.; He, H.; Ippolito, D. E.; Kim, D.; Lyons, K. A.; Ok, H. O.; Patel, R. A.; Petrov, A. N.; Pryor, K. A.; Qian, X.; Reigle, L.; Woods, A.; Wu, J. K.; Zaller, D.; Zhang, X.; Zhu, L.; Weber, A. E.; Thornberry, N. A. *Diabetes* **2005**, *54*, 2988-2994.
 35. Burkey, B. F.; Hoffmann, P. K.; Hassiepen, U.; Trappe, J.; Juedes, M.; Foley, J. E. *Diabetes, Obesity and Metabolism* **2008**, *10*, 1057-1061.
 36. Rajesh, G.; Sameer, S. W.; Ranjeet, K. T.; Kishore, V. L. P.; Santosh, K. S.; Manojit, P. *Curr. Drug Targets* **2009**, *10*, 71-87.
 37. Published structures of DPP-4 with bound inhibitors include: (a) Kim, D.; Wang, L.; Beconi, M.; Eiermann, G. J.; Fisher, M. H.; He, H.; Hickey, G. J.; Kowalchick, J. E.; Leiting, B.; Lyons, K.; Marsilio, F.; McCann, M. E.; Patel, R. A.; Petrov, A.; Scapin,

- G.; Patel, S. B.; Roy, R. S.; Wu, J. K.; Wyvratt, M. J.; Zhang, B. B.; Zhu, L.; Thornberry, N. A.; Weber, A. E. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 141; (b) Hiramatsu, H.; Yamamoto, A.; Kyono, K.; Higashiyama, Y.; Fukushima, C.; Shima, H.; Sugiyama, S.; Inaka, K.; Shimizu, R. *Biol. Chem.* **2004**, *385*, 561; (c) Oefner, C.; D'Arcy, A.; MacSweeney, A.; Pierau, S.; Gardiner, R.; Dale, G. E. *Acta Crystallogr. Sect. D: Biol. Crystallogr.* **2003**, *D59*, 1206; (d) Rasmussen, H. B.; Branner, S.; Wiberg, F. C.; Wagtmann, N. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2003**, *10*, 19.
38. Suzuki, F.; Kuroda, T.; Hayashi, H.; Nakasato, Y.; Manabe, H.; Ohmori, K. *Chem. Pharma. Bull.* **1992**, *40*, 3245-3252.
39. Alonso, F.; Beletskaya, I. P.; Yus, M. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3047-3101.
40. Richard, B.; Peter, J. G.; Christopher, J. H.; Helen, M. R.; A. Mannan, S. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 7803-7810; (b) Peter, J. G.; Srmon, N. T. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 691-695.
41. Suzuki, F.; Kuroda, T. *J. Heterocyclic Chem.* **1993**, *30*, 811-813.
42. Kuroda, T.; Suzuki, F. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 47, 6915-6918.
43. (a) Domingo, G. C.; Paula, M.; Atualpa, A. C. B.; Feliu, M.; Antonio, M. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6880-6886; (b) Lutz, A. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1315-1345.
44. Beccalli, E. M.; Brogini, G.; Marchesini, A.; Rossi, E. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6673-6678.
45. (a) Harayama, T.; Akiyama, T.; Akamatsu, H.; Abe, Hitoshi; Takeuchi, Y. *Synthesis* **2001**, *3*, 444-447; (b) Harayama, T.; Akiyama, T.; Nakano, Y.; Shibaike, K.; Akamatsu, H.; Hori, A.; Abe, H.; Takeuchi, Y. *Synthesis* **2002**, *2*, 237-246.
46. (a) Rozhkov, R. V.; Larock, R. C. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 797-800; (b) Kotora, M.; Matsumuia, H.; Gao, G.; Takahashi, T. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3467-3470.
47. The standard assay was modified from a previously published method [ref.33, 37(a)]. Briefly, human plasma and test compounds were incubated with surrogate substrate (Gly-Pro-AMC), and, after adding 5% acetic acid to stop the reaction, amount of free AMC generated in proportion to DPP-4 activity was measured fluorometrically. A typical reaction contains 50% human plasma, 50 μ M Gly-Pro-AMC and buffer (100 mM HEPES, pH 7.5, 0.1 mg/mL BSA).
48. Miyamoto, Y.; Banno, Y.; Yamashita, T.; Fujimoto, T.; Oi, S.; Moritoh, Y.; Asakawa, T.; Kataoka, O.; Yashiro, H.; Takeuchi, K.; Suzuki, N.; Ikedo, K.; Kosaka, T.; Tsubotani, S.; Tani, A.; Sasaki, M.; Funami, M.; Amano, M.; Yamamoto, Y.; Aertgeerts, K.; Yano, J.; Maezaki, H. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 831-850.
49. Gum, R. J.; Hickman, D.; Fagerland, J. A.; Heindel, M. A.; Gagne, G. D.; Schmidt, J. M.; Michaelides, M. R.; Davidsen, S. K.; Ulrich, R. G. *Biochem. Pharmacol.* **2001**, *62*,

- 1661-1673.
50. Redfern, W.S.; Carlsson, L.; Davis, A.S.; Lynch, W.G.; MacKenzie, I.; Palethorpe, S.; Sieglf, P.K.S.; Stranga, I.; Sullivang, A.T.; Wallish, R.; Cammi, A.J.; Hammonda, T.G. *Cardiovascular Research* **2003**, *58*, 32–45.
 51. Mortuza, G. B.; Neville, W. A.; Delaney, J.; Waterfield, C. J.; Camilleri, P. *Biochim. Biophys.Acta* **2003**, *1631*, 136-146.
 52. Craig, J.; Elizabeth, M. M.; Zoran, R.; Grant, W. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5029-5046.
 53. Waring, M. J.; *Expert Opin. Drug Discov.* **2010**, *5*, 235-248.
 54. Jusko, W. J.; Lewis, G. P. *J. Pharm. Sci.* **1973**, *62*(1), 69-76.
 55. Angst, D.; Janser, P.; Quancard, J.; Buehlmayer, P.; Berst, F.; Oberer, L.; Beerli, C.; Streiff, M.; Pally, C.; Hersperger, R.; Bruns, C.; Bassilana, F.; Bollbuck, B. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9722-9734.
 56. Bullingham, R. E.; Nicholls, A. J.; Kamm, B. R. *Clinical Clin. Pharmacokinet.* **1998**, *34*(6), 429-455.
 57. Zhang, Y.; Clark, J. A.; Connelly, M. C.; Zhu, F.; Min, J.; Guiguemde, W. A.; Pradhan, A.; Iyer, L.; Furimsky, A.; Gow, J.; Parman T, El, M. F.; Phillips, M. A.; Kyle, D. E.; Mirsalis, J.; Guy, R. K. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 4205-4219.
 58. Sakamoto, F.; Ikeda, S.; Tsukamoto, G. *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 2241. Parman T, El, M. F.; Phillips, M. A.; Kyle, D. E.; Mirsalis, J.; Guy, R. K. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 420-431.
 59. Duclos, R. I.; Tung, J. S.; Rapoport, H. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 5243-5243.
 60. Wassmundt, F. W.; Kiesmad, W. F. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 196-201.
 61. Williams, W.; Sun, X.; Jebaratnam, D. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4364-4369.
 62. Nair, V.; Richardson, S. G. *Synthesis* **1982**, 670-672.

謝辞

本論文提出の機会をお与えいただき、御指導、御高配を賜りました関西大学化学生命工学部 長岡 康夫教授に衷心より感謝の意を表します。

本論文の診査にあたり有益なご助言を賜りました、関西大学化学生命工学部 及川 典夫教授、西山 豊教授、住吉 孝明准教授に厚く御礼申し上げます。

本研究の機会を与えていただきました大日本住友製薬株式会社、また発表の機会を与えていただきました副社長 野口 浩博士、研究本部 副本部長 西中 重行博士、創薬開発研究所 所長 志水 勇夫博士に厚く御礼申し上げます。

また、入社以来直接御指導を頂き、数多くの有益な御助言を頂きました大日本住友製薬株式会社 研究本部長付 中平 博之博士に深く御礼申し上げます。

本研究に際し、共同研究者として種々の御協力いただきました大日本住友製薬株式会社 営業人材開発部 人材育成グループ 方違 均氏、創薬開発化学研究所 木村 英憲博士、臨床推進部CNSグループ 沼波 倫古氏、分析研究所 開発分析研究グループ 小林 友則氏、プロセス化学研究所 プロセス化学研究第1グループ 内山 勝也博士、調達部 原材料グループ 梅染 卓志氏、鈴鹿工場業務管理部 業務管理グループ 櫻井 悌満氏、薬理実験を実施していただいた大日本住友製薬株式会社 古田 雄大氏、中川 勉博士、ゲノム科学研究所オミックスグループ 酒井 睦子氏、先端創薬研究所 先端薬理第2グループGM 堀口 昌邦博士、がん創薬研究所 創薬第2グループ 須軽 英仁博士、先端創薬研究所 先端薬理第3グループ 小野 道子博士、人事部 人事グループ 増井 佑美氏、薬物動態試験をしていただいた前臨床研究所 薬物動態第1グループGM 澤田 尚之博士、同薬物動態第3グループ只野 純氏、ドッキングシュミレーションをしていただいたゲノム科学研究 インシリコ創薬グループ岡崎 一彦氏、ゲノム科学研究所 蛋白科学グループ 佐藤 康裕氏に深く御礼申し上げます。

本論文作成にあたり、有益な御助言と御指導を賜りました大日本住友製薬株式会社 創薬開発研究所 創薬開発化学第1G GM 田中 大輔博士に深く感謝いたします。

また、数々のご助言をいただきました大日本住友製薬株式会社 創薬開発研究所 創薬開発化学第2グループ GM 福田 展久博士、先端創薬研究所 スペシャリスト磯部 義明博士に御礼を申し上げます。

本研究に御協力いただいた全ての方に感謝いたします。

最後に、精神的に支えて頂きました家族と妻 香に感謝いたします。

発表論文一覧 [主論文]

1. Preparation of 2-aminosubstituted 3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4(5*H*)-ones by Palladium-Assisted Internal Biaryl Coupling Reaction.

Ikuma, Y.; Nakahira, H. *Tetrahedron* **2011**, 67(49), 9509-9517.

2. Discovery of 3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4(5*H*)-ones as potent and selective Dipeptidyl Peptidase IV (DPP-4) inhibitors.

Ikuma, Y.; Hochigai, H.; Kimura, H.; Nunami, N.; Kobayashi, T.; Uchiyama, K.; Furuta, Y.; Sakai, M.; Horiguchi, M.; Masui, Y.; Okazaki, K.; Sato, Y.; Nakahira, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20(19), 5864-5883.

3. Discovery of 3*H*-imidazo[4,5-*c*]quinolin-4(5*H*)-ones as potent and selective dipeptidyl peptidase IV (DPP-4) inhibitors: Use of a Carboxylate Prodrug to Improve Bioavailability.

Ikuma, Y.; Hochigai, H.; Kimura, H.; Nunami, N.; Kobayashi, T.; Uchiyama, K.; Umezome, T.; Sakurai, Y.; Sawada, N.; Tadano, J.; Sugaru, E.; Ono, M.; Hirose, Y.; Nakahira, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23(3), 779-790.