



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년05월02일

(11) 등록번호 10-1617050

(24) 등록일자 2016년04월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07D 487/04 (2006.01) A61K 31/519 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01) C07D 403/12 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7002541

(22) 출원일자(국제) 2008년07월11일

심사청구일자 2013년06월26일

(85) 번역문제출일자 2010년02월04일

(65) 공개번호 10-2010-0050499

(43) 공개일자 2010년05월13일

(86) 국제출원번호 PCT/US2008/069813

(87) 국제공개번호 WO 2009/009740

국제공개일자 2009년01월15일

(30) 우선권주장

60/949,328 2007년07월12일 미국(US)

(56) 선행기술조사문현

US20070037794 A1

(73) 특허권자

케모센트릭스, 인크.

미국, 캘리포니아 94043, 마운틴 뷰, 모드 애버뉴  
850

(72) 발명자

크라신스키, 안토니

미국, 캘리포니아 94043, 마운틴 뷰, 웨스트 미들  
필드 로드 #192 777

풀나, 스레니바스

미국, 캘리포니아 94086, 서니베일, 빈센트 드라  
이브 1240, 아파트먼트 #이

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

강명구, 이경민

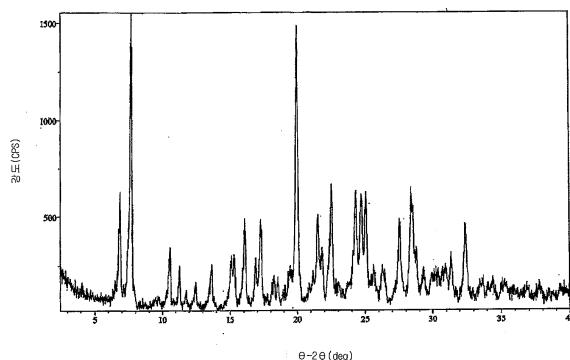
전체 청구항 수 : 총 2 항

심사관 : 김병숙

(54) 발명의 명칭 염증의 치료를 위한 CCR2 조절물질로서 융합된 헤테로아릴 피리딜과 폐닐 벤젠슬론아마이드

**(57) 요 약**

CCR2 수용체의 강력한 길항물질로서 기능하는 화합물이 제시된다. 일반적으로, 이들 화합물은 아릴 술폰아마이드 유도체이고, CCR2 길항물질의 확인을 위한 검사에서 대조로서, CCR2-매개된 질환의 치료를 위한 제약학적 조성물과 방법에 유용하다.

**대 표 도**

(72) 발명자

**윤가쉬, 솔로몬**

미국, 캘리포니아 94536, 프레몬트, 레이놀즈 드라  
이브 36641

**왕, 퀴양**

미국, 캘리포니아 94086, 서니베일, 부에나 비스타  
애버뉴 243, 아파트먼트 1903

**젱, 이빈**

미국, 캘리포니아 94403, 산 마테오, 맥렐란 애버  
뉴 144

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

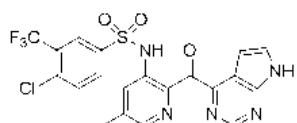
청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12



화합물 .

5

또는 이의 제약학적으로 허용되는 염.

청구항 13

청구항 12항에 있어서, 나트륨 염인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 관련된 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에, 2007년 7월 12일에 제출된 미국 가출원 번호 60/949,328에 우선권으로 주장하며, 상기 우선권 출원은 본 발명에서 참조로서 편입된다.

[0003] 연방 정부로부터 연구 지원을 받은 연구에 관한 진술

[0004] 본 발명은 국립보건원(National Institutes of Health)(U19-AI056690-01)에 의해 최소한 부분적으로 연구 지원을 받았다. 미국 정부는 본 발명에 일정한 권리를 갖는다.

[0005] 본 발명의 기술 분야

[0006] 본 발명에서는 케모킨 수용체(chemokine receptor)에 대한 다양한 케모킨(chemokine)의 결합 또는 기능을 저해하는데 효과적인 화합물, 이를 화합물 또는 이들의 제약학적으로 허용되는 염 중에서 하나이상을 함유하는 제약학적 조성물을 제시한다. 케모킨 수용체의 길항물질(antagonist) 또는 조절물질(modulator)로서, 이를 화합물과 조성물은 다양한 면역 장애와 질환을 치료하는데 유용하다.

## 배경 기술

[0007] 화학주성 사이토킨(chemotactic cytokine)으로 알려져 있는 케모킨은 다양한 세포에 의해 방출되고 다양한 생물

학적 활성을 갖는 일군의 소분자량 단백질(small molecular-weight protein)이다. 케모킨은 다양한 유형의 면역계(immune system) 세포, 예를 들면, 대식세포(macrophage), T 세포, 호산구(eosinophil), 호염기구(basophil)와 호중구(neutrophil)를 유인하고, 이들이 혈액으로부터 다양한 림프(lymphoid) 조직과 비-림프 조직으로 이동하도록 유도한다. 이들은 염증 부위로 염증 세포(inflammatory cell)의 침윤(infiltration)을 매개하고, 많은 염증 질환의 개시와 영속화(perpetuation)를 주도한다(Schall, Cytokine, 3:165-183 (1991), Schall et al., Curr. Opin. Immunol., 6:865-873 (1994)에서 검토).

[0008] 케모킨은 화학주성(chemotaxis)을 촉진할 뿐만 아니라 세포 형태에서 변화, 과립 토세포작용(granule exocytosis), 인테그린 상향-조절(integrin up-regulation), 생물활성 지질(가령, 류코트리엔)의 형성, 백혈구 활성화와 연관된 호흡 폭발(respiratory burst), 세포 증식(cell proliferation), 아폽토시스(apoptosis) 유도에 저항 및 혈관신생(angiogenesis)을 비롯한 반응 세포(responsive cell)에서 다른 변화를 유도할 수 있다. 따라서 케모킨은 염증 반응의 조기 유도인자로서, 염증 매개인자 방출, 화학주성 및 감염이나 염증 부위로의 혈관 외유출(extravastation)을 유발한다. 이들은 또한, 중요한 생리학적 기능과 병리학적 결과를 수반하는 다수의 세포 과정의 자극인자(stimulator)이다.

[0009] 케모킨은 반응 세포에 의해 발현되는 케모킨 수용체를 활성화시킴으로써 그들의 효과를 나타낸다. 케모킨 수용체는 다양한 세포 유형, 예를 들면, 백혈구, 내피 세포(endothelial cell), 평활근 세포(smooth muscle cell)와 종양 세포(tumor cell)의 표면에서 관찰되는 7개-막통과(transmembrane) 수용체로 알려져 있는 일종의 G-단백질 결합된 수용체이다.

[0010] 케모킨과 케모킨 수용체는 신염증(renal inflammation) 동안 고유 신장 세포와 침윤 세포에 의해 발현된다 (Segerer et al., J. Am. Soc. Nephrol., 11: 152-76 (2000); Morii et al., J. Diabetes Complications, 17:11-5 (2003); Lloyd et al. J. Exp. Med., 185:1371-80 (1997); Gonzalez-Cuadrado et al. Clin. Exp. Immunol., 106:518-22 (1996); Eddy & Giachelli, Kidney Int., 47:1546-57 (1995); Diamond et al., Am. J. Physiol., 266:F926-33 (1994)). 인간에서, CCR2와 리간드 MCP-1은 신장 섬유증에서 발현되는 단백질에 포함되고, 간질조직(interstitium) 내로 대식세포 침윤(macrophage infiltration)의 정도와 상관한다(Yang et al., Zhonghua Yi Xue Za ZN, 81 :73-7 (2001); Stephan et al., J. Urol., 167:1497-502 (2002); Amann et al., Diabetes Care, 26:2421-5 (2003); Dai et al., Chin. Med. J. (Engl), 114:864-8 (2001)). 신장 섬유증의 동물 모형에서, CCR2 또는 MCP-1의 차단은 신염증의 심각도(severity)에서 현저한 감소를 유도한다(Kitagawa et al., Am. J. Pathol., 165:237-46 (2004); Wada et al., Am. J. Pathol., 165:237-46 (2004); Shimizu et al., J. Am. Soc. Nephrol., 14:1496-505 (2003)).

[0011] 류머티스성 관절염은 연골과 뼈의 파괴를 유발하는 활막 염증(synovial inflammation)으로 특징되는 관절의 만성 질환이다. 상기 질환의 근원적인 원인(underlying cause)은 아직 분명하지 않지만, 대식세포와 Th-1형 T 세포가 이러한 만성 염증 과정의 개시와 영속화에서 핵심적인 역할을 하는 것으로 생각된다(Vervoordeldonk et al., Curr. Rheumatol. Rep., 4:208-17 (2002)).

[0012] MCP-1은 류머티스성 활막(rheumatoid synovium) 내에서 확인되는, MIP-1 $\alpha$ 와 IL-8을 비롯한 여러 케모킨 중의 하나이다(Villiger et al., J. Immunol., 149:722-7 (1992); Scaife et al., Rheumatology (Oxford), 43:1346-52 (2004); Shadidi et al., Scand. J. Immunol., 57:192-8 (2003); Taylor et al., Arthritis Rheum., 43:38-47 (2000); Tucci et al., Biomed. Sci. Instrum., 34:169-74 (1997)). 케모킨 수용체 CCR1, CCR2, CCR3과 CCR5는 관절염 생쥐로부터 관절에서 상향-조절된다(Plater-Zyberk et al., Immunol. Lett., 57:117-20 (1997)). CCR2 길항물질, 또는 MCP-1에 대한 항체를 이용한 MCP-1 활성의 차단은 류머티스성 관절염의 실험 모형에서 관절 염증을 감소시키는데 효과적인 것으로 밝혀졌다(Gong et al., J. Exp. Med., 186:131-7 (1997); Ogata et al., J. Pathol., 182:106-14 (1997)).

[0013] 지방 조직(fat tissue) 내에서 대식세포의 케모킨 수용체-매개된 침윤은 체내에 지방의 과도한 축적에 기인하는 장애인 비만으로부터 발생하는 합병증에도 기여한다. 비만한 개체는 비-인슐린 의존성 당뇨병(non-insulin-dependent diabetes), 고혈압(hypertension), 뇌졸중(stroke)과 관상 동맥 질환(coronary artery disease)과 같은 여러 질환에 걸리기 쉽다. 비만에서, 지방 조직(adipose tissue)은 물질대사(metabolic)와 내분비(endocrine) 기능을 변화시키는데, 이는 지방산(fatty acid), 호르몬(hormone)과 친-염증성 분자(pro-inflammatory molecule)의 증가된 방출을 유발한다. 지방 조직 대식세포는 TNF-알파, iNOS와 IL-6을 비롯한 친염증성 사이토kin의 핵심 공급원인 것으로 생각된다(Weisberg et al., J. Clin. Invest., 112:1796-808 (2003)). 지방 조직으로 대식세포의 동원은 지방 세포(adipocyte)에 의해 생산된 MCP-1에 의해 매개될 가능성이 높다

(Christiansen T, et al., *Int. J. Obes. (Lond)*. 2005 Jan;29(1):146-50; Sartipy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100:7265-70 (2003)).

[0014] 상승된 MCP-1은 지방 조직 분화와 인슐린 내성(insulin resistance)을 유도하고, 고인슐린혈증(hyperinsulinemia)과 비만과 연관된 병리의 원인이 될 수 있다. MCP-1은 야원 대조와 비교하여 비만한 생쥐의 혈장(plasma)에서 과다-발현되고, 백색 지방 세포(white adipose)가 주요 공급원이다. MCP-1은 또한, 상처 치유(wound healing)를 가속화시키고, 내피 세포에서 직접적인 혈관신생 효과(angiogenic effect)를 나타내고, 비만에서 지방 조직의 재형성(remodeling)에서 직접적인 역할을 할 수도 있다(Sartipy P, Loskutoff DJ., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100:7265 (2003)).

[0015] MCP-1 혈장 수준은 식이 유도된 비만(Diet Induced Obesity, DIO) 생쥐에서 실질적으로 증가하고, 혈장 MCP-1 수준과 체중 사이에 강한 상관관계가 확인되었다. 게다가, 고지방 식이(high fat diet)에 의해 유도된 MCP-1의 상승은 DIO 생쥐 내에서 CD11b 양성 단핵구 집단의 변화를 유발한다(Takahashi K, et al., *J. Biol. Chem.*, 46654 (2003)).

[0016] 더 나아가, 지방에서 만성 염증은 비만-관련된 인슐린-내성의 발생에서 결정적인 역할을 하는 것으로 생각된다(Xu H, et al., *J. Clin. Invest.* 2003 Dec; 112(12): 1821-30). 비만 관련된 인슐린 내성은 최소한 부분적으로, 지방 조직에서 시작된 만성 염증 질환인 것으로 제안되었다. 많은 염증과 대식세포 특이적 유전자는 유전적 비만과 고지방식이-유도된 비만(DIO)의 생쥐 모형에서 백색 지방 조직에서 극적으로 상향-조절되는데, 이러한 상향 조절은 순환 인슐린(circulating insulin)에서 급격한 증가를 선행한다.

[0017] 당뇨병 환자들과 관련된 한 연구에서, 당뇨병(diabetic mellitus) 환자에서 단핵구 CCR2와 단핵구 화학주성 단백질-1의 증가된 발현 수준이 밝혀졌다(Biochemical and Biophysical Research Communications, 344(3):780-5 (2006)). 당뇨병 환자에서 혈청 MCP-1 농도 및 단핵구 상에서 CCR2의 표면 발현(surface expression)은 비-당뇨병 개체에서보다 훨씬 높았고, 이러한 혈청 MCP-1 수준은 HbA1c, 트리글리세리드(triglyceride), BMI, hs-CRP와 상관하였다. 단핵구 상에서 CD36과 CD68의 표면 발현 수준은 당뇨병 환자에서 현저하게 증가하고, 당뇨병에서 MCP-1에 의해 더욱 통제되지 않고, ox-LDL의 흡수를 증폭시키고, 따라서 세포 형질전환(cell transformation)을 잠재적으로 형성한다. 상승된 혈청 MCP-1 및 상승된 단핵구 CCR2, CD36, CD68 발현은 불량한 혈당 통제(blood glucose control)와 상관하고, 증가된 혈관벽 단핵구 동원(vessel wall monocyte recruitment)과 잠재적으로 상관한다.

[0018] MCP-1은 지방 조직과 골격근(skeletal muscle) 사이에 부정적인 혼선(negative cross talk)에서 잠재적인 참여자이다(Bianco JJ, et al., *Endocrinology*, 2458 (2006)). MCP-1은 인슐린-촉진된 글루코오스 흡수를 현저하게 감소시킬 수 있고, 인간 골격근 세포 내에서 인슐린 내성의 강격한 유도인자이다. 지방 조직은 에너지 물질대사(energy metabolism)와 인슐린 감도(insulin sensitivity)를 제어하는 생물활성 단백질(bioactive protein)을 생산하는 주요한 분비와 내분비 활성 기관이다.

[0019] CCR2는 고지방 사양(high-fat feeding)의 염증과 물질대사 효과를 조절한다 (Weisberg SP, et al., *J. Clin. Invest.*, 115 (2006)). CCR2에서 유전적 결함은 식품 섭취(food intake)를 감소시키고, 고지방 식이가 공급된 생쥐에서 비만의 발생을 완화시켰다. 지방과다(adiposity)에 대응하는 비만한 생쥐에서, CCR2 결핍은 대식세포 함량 및 지방 조직의 염증 프로필(inflammatory profile)을 감소시키고, 아디포넥틴(adiponectin) 발현을 증가시키고, 혈당 항상성(glucose homeostasis)과 인슐린 감도(insulin sensitivity)를 향상시켰다. 야원 동물에서, 물질대사 형질(metabolic trait)에 대한 CCR2 유전형(genotype)의 효과는 관찰되지 않았다. 고지방 식이 생쥐에서, CCR2 유전형은 사양(feeding), 비만 발생 및 지방 조직 염증을 조절하였다. 일단 확립되면, 단기 길항활성(antagonism)은 지방 조직에서 대식세포 축적 및 인슐린 내성을 완화시키는 것으로 밝혀졌다.

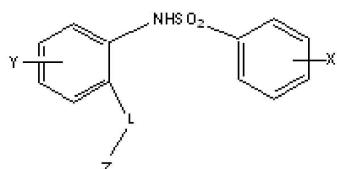
[0020] 케모킨과 케모킨 수용체는 면역 세포 밀입(immune cell trafficking)의 핵심 조절인자이다. MCP-1은 단핵구와 T 세포의 강력한 화학주성인자이다; 이의 발현은 친염증성 사이토킨 자극과 저산소증(hypoxia)을 비롯한 염증 상태 하에서 유도된다. MCP-1과 CCR2 사이에 상호작용은 단핵구, 대식세포 및 활성화된 T 세포의 이동을 매개하고, 많은 염증 질환의 병인에서 핵심적인 역할을 한다. 본 명세서에 기술된 소형 분자 길항물질을 이용한 CCR2 기능의 저해는 염증 질환의 치료를 위한 새로운 접근법을 대표한다.

[0021] 건선(psoriasis)은 각화세포(keratinocyte)의 과다증식(hyperproliferation) 및 현저한 백혈구 침윤(leukocyte infiltration)으로 특징되는 만성 염증 질환이다. 건선 병소로부터 각화세포는 특히, TNF- $\alpha$ 와 같은 친염증성 사이토킨에 의해 자극될 때, 과량의 CCR2 리간드 MCP-1을 발현하는 것으로 알려져 있다(Vestergaard et al.,

Acta. Derm. Venereol., 84(5):353-8 (2004); Gillitzer et al., J. Invest. Dermatol., 101 (2): 127-31 (1993); Deleuran et al., J. Dermatol. Sci., 13(3):228-36 (1996)). MCP-1이 CCR2를 발현하는 대식세포와 수상돌기 세포(dendritic cell)의 이동을 유인할 수 있기 때문에, 이러한 수용체와 리간드 쌍은 건선의 발병 동안 증식성 각화세포와 피부 대식세포 사이에 상호작용을 조절하는데 중요할 것으로 생각된다. 따라서 소형 분자 길항물질이 건선의 치료에 유용할 수 있다.

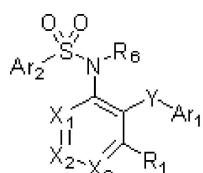
[0022] 케모킨과 케모킨 수용체는 염증 질환 이외에, 암에도 관련된다(Broek et al., Br. J. Cancer, 88(6):855-62 (2003)). 종양 세포는 성장 인자(growth factor), 사이토킨과 프로테아제(protease)를 비롯하여 종양 성장에 중요한 다양한 매개인자를 분비하는 기질(stroma)의 형성을 촉진한다. MCP-1의 수준은 종양-연관된 대식세포 축적과 현저하게 연관되는 것으로 알려져 있고, 예후 분석에서 MCP-1의 높은 발현은 유방암에서 조기 재발의 유의한 지표인 것으로 밝혀졌다(Ueno et al., Clin. Cancer Res., 6(8):3282-9 (2001)). 따라서 케모킨의 소형 분자 길항물질은 종양 형성 부위에서 대식세포의 축적을 차단함으로써 성장-촉진 사이토킨(growth-stimulating cytokine)의 방출을 감소시킬 수 있다.

[0023] US 6,939,885(ChemoCentryx, Inc.)에서는 아래 화학식의 CCR9 케모킨 활성을 조절하는데 유용한 화합물을 개시한다:



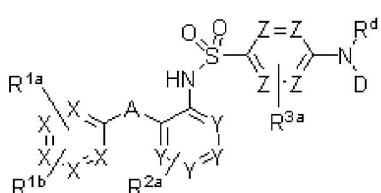
[0024]

[0025] PCT Application WO 2003/099773(Millennium Pharmaceuticals, Inc.)에서는 아래 화학식의 CCR9 수용체에 결합할 수 있는 화합물을 개시한다:



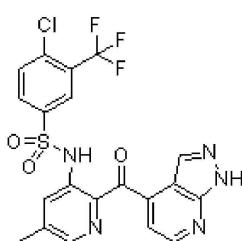
[0026]

[0027] PCT Application WO 2005/004810(Merck & Co., Inc.)에서는 아래 화학식의 브랜디ки닌(bradykinin) B1 길항물질(antagonist) 또는 역작용물질(inverse agonist)을 개시한다:



[0028]

[0029] US Patent Application 2007/0037794 A1(ChemoCentryx, Inc.)에서는 아래 화합물을 비롯한 CCR2 조절물질을 개시한다:



[0030]

[0031] 안타깝게도, 상기 화합물은 생체내에서 급속히 제거된다. 이런 약물은 종종, 유의미한 기간 동안 치료 효과적

혈당 수준을 달성하기 위하여 이들의 복수 투여를 필요로 한다. 서방(sustained release) 제제(formulation)과 장치(device)를 비롯한 다른 방법 역시 가용하다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

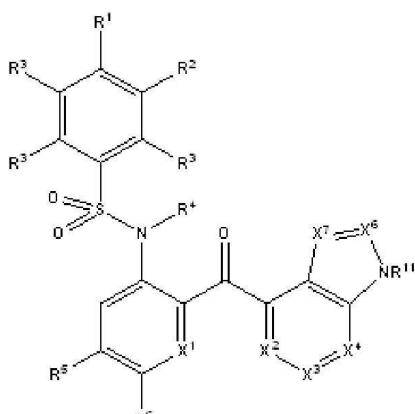
[0032] 간단한 요약

본 발명은 케모킨 활성을 조절하는데 유용한 화합물과 이들의 제약학적으로 허용되는 염, 조성물 및 방법에 관계한다. 본 발명에 따른 화합물과 이들의 염, 조성물 및 방법은 특정의 염증 질환과 면역조절 장애와 질환을 비롯한 케모킨-매개된 장애 또는 질환을 치료 또는 예방하는데 유용하다.

[0034] 본 발명의 화합물은 CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CXCR3, CXCR4, CXCR5와 CX3CR1 중에서 하나이상을 조절하는 것으로 밝혀졌다. 특히, 본 발명의 다양한 화합물은 실시예에 확인되는 바와 같이, CCR2를 조절한다.

[0035] 특정 구체예에서, 본 발명의 화합물은 화학식 (I) 화합물 또는 이의 염에 관계한다:

[0036] [화학식 I]



[0037]

[0038] 여기서:

[0039] R<sup>1</sup>과 R<sup>2</sup>는 각각 독립적으로, 수소, 할로겐, C<sub>1-8</sub>알킬, -CN, 또는 C<sub>1-8</sub>할로알킬이고, 단서로써 R<sup>1</sup> 또는 R<sup>2</sup> 중에서 최소한 하나는 수소가 아니고;

[0040] 각 R<sup>3</sup>은 독립적으로 수소이고;

[0041] R<sup>4</sup>는 수소이고;

[0042] R<sup>5</sup>는 할로겐 또는 C<sub>1-8</sub>알킬이고;

[0043] R<sup>6</sup>은 수소이고;

[0044] X<sup>1</sup>은 CR<sup>7</sup>, N 또는 NO<sup>6</sup>이고;

[0045] X<sup>2</sup>와 X<sup>4</sup>는 N 또는 NO<sup>6</sup>이고;

[0046] X<sup>3</sup>은 CR<sup>7</sup>이고;

[0047] X<sup>6</sup>과 X<sup>7</sup>은 각각 독립적으로, CR<sup>7</sup>, N과 NO에서 선택되고;

[0048] 각 R<sup>7</sup>은 독립적으로, 수소, 할로겐, 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>1-8</sub>알킬, 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>2-8</sub>알케닐,

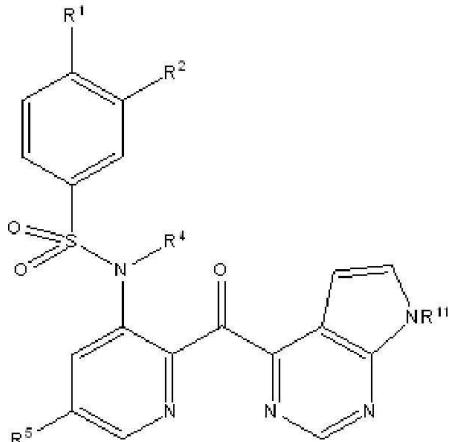
치환되거나 치환되지 않은  $C_{2-8}$ 알키닐,  $-CN$ ,  $=O$ ,  $-NO_2$ ,  $-OR^8$ ,  $-OC(O)R^8$ ,  $-CO_2R^8$ ,  $-C(O)R^8$ ,  $-C(O)NR^9R^8$ ,  $-OC(O)NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}C(O)R^8$ ,  $-NR^{10}C(O)NR^9R^8$ ,  $-NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}CO_2R^8$ ,  $-SR^8$ ,  $-S(O)R^8$ ,  $-S(O)_2R^8$ ,  $-S(O)_2NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}S(O)_2R^8$ , 치환되거나 치환되지 않은  $C_{6-10}$ 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 5- 내지 10-원 헤테로아릴, 그리고 치환되거나 치환되지 않은 3- 내지 10-원 헤테로사이클로 구성된 군에서 선택되고;

[0049] 각 경우에,  $R^8$ ,  $R^9$ 와  $R^{10}$ 은 독립적으로, 수소,  $C_{1-8}$ 알킬,  $C_{2-8}$ 알케닐,  $C_{2-8}$ 알키닐, 아릴, 또는 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택되거나; 또는  $R^9$ 와  $R^8$  또는  $R^{10}$ 과  $R^8$ 은 그들이 부착된 원자와 함께, 치환되거나 치환되지 않은 5-, 6-, 또는 7-원 고리를 형성하고;

[0050]  $R^{11}$ 은 수소,  $C_{1-8}$ 알킬,  $C_{2-8}$ 알케닐,  $C_{2-8}$ 알키닐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{6-10}$ 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 5- 내지 10-원 헤�테로아릴, 그리고 치환되거나 치환되지 않은 3- 내지 10-원 헤�테로사이클로 구성된 군에서 선택된다.

[0051] 특정 구체예에서, 화학식 I 화합물 또는 이들의 염은 화학식 (II) 화합물 또는 이들의 염이다:

[화학식 II]



[0053]

[0054] 화학식 I 화합물에 대한 특정 구체예에서, 각  $R^3$ 과  $R^4$ 와  $R^6$ 은 수소이다.

[0055] 화학식 I 화합물에 대한 특정 구체예에서,  $X^1$ 은 N이다.

[0056] 화학식 I 화합물에 대한 특정 구체예에서,  $X^2$ 와  $X^4$ 는 N이고,  $X^6$ 과  $X^7$ 은  $CR^7$ 이다.

[0057] 화학식 I 화합물에 대한 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 Cl이다.

[0058] 화학식 I 화합물에 대한 특정 구체예에서,  $R^2$ 는  $-CF_3$ 이다.

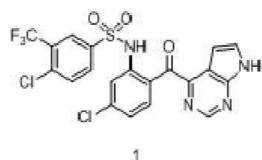
[0059] 화학식 I 화합물에 대한 특정 구체예에서,  $R^4$ 는 H이다.

[0060] 화학식 I 화합물에 대한 특정 구체예에서,  $R^5$ 는 Cl 또는 메틸이다.

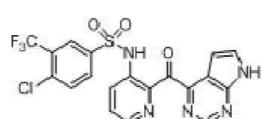
[0061] 화학식 I 화합물에 대한 특정 구체예에서,  $R^5$ 는 메틸이다.

[0062] 화학식 I 화합물에 대한 특정 구체예에서,  $R^1$ 은 Cl이고,  $R^2$ 는  $CF_3$ 이고, 각  $R^3$ 은 H이고,  $R^5$ 는 Cl이고,  $R^6$ 은 H이다.

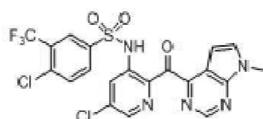
[0063] 특정 측면에서, 본 발명은 아래와 같이 구성된 군에서 선택되는 화합물에 관계한다:



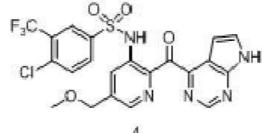
1



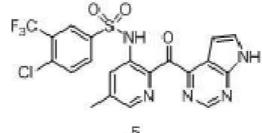
2



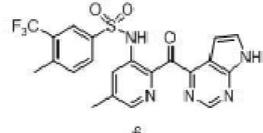
3



4

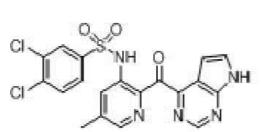


5

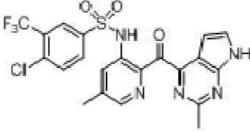


6

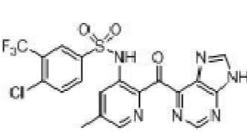
[0064]



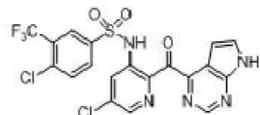
7



8



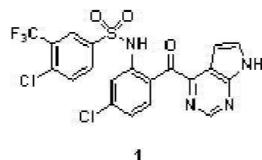
9



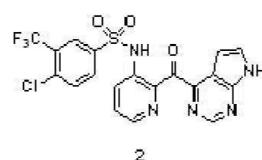
10

[0065]

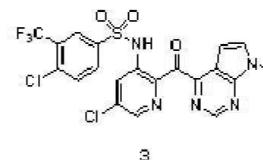
다른 특정 측면에서, 본 발명은 아래와 같이 구성된 군에서 선택되는 화합물, 또는 이의 제약학적으로 허용되는 염에 관계한다:



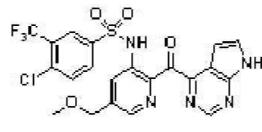
1



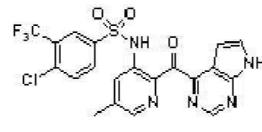
2



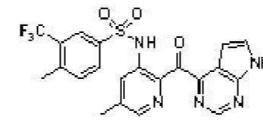
3



4

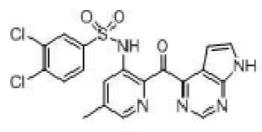


5

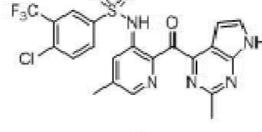


6

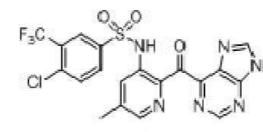
[0067]



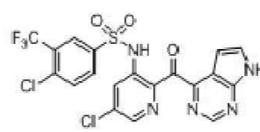
7



8



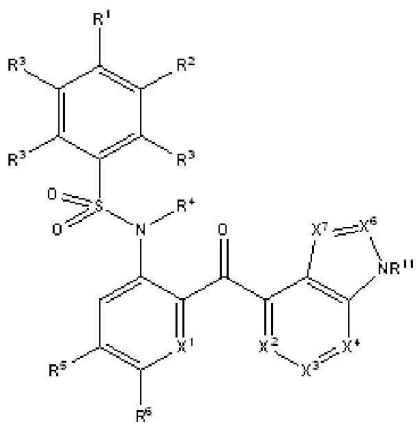
9



10

[0068]

한 구체예에서, 본 발명의 화합물은 화학식 (I) 또는 (III) 화합물 또는 이의 염으로 대표된다:

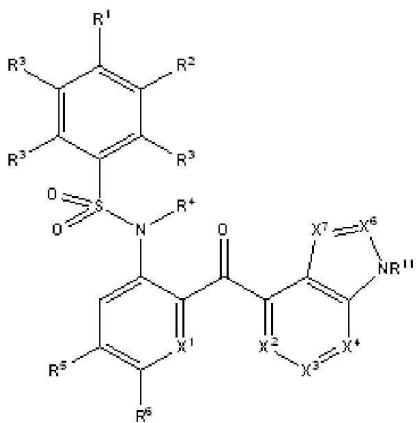


[0070]

[0071] 여기서  $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^{11}, X^1, X^2, X^3, X^4, X^6$ 과  $X^7$ 은 아래에 정의된다.

[0072] 특정 구체예에서, 본 발명은 화학식 (III) 화합물 또는 이의 염에 관계한다:

[0073] [화학식 III]



[0074]

[0075]

[0076]  $R^1$ 과  $R^2$ 는 각각 독립적으로, 수소, 할로겐,  $C_{1-8}$ 알킬,  $-CN$ , 또는  $C_{1-8}$ 할로알킬이고, 단서로써  $R^1$  또는  $R^2$  중에서 최소한 하나는 수소가 아니고;

[0077] 각  $\mathbb{R}^3$  을 돌립적으로 수소, 할로제, 또는  $C_{1-4}$  알킬이고;

[0078]  $\mathbb{R}^4$  는 숙소 또는  $C_1$  앤 킴이고:

[0079]  $\text{P}^5$ 는 홀로계 또는  $C_1$  앤 키오고:

[0080]  $P^6$ 은 속수 또는 6 완주인가?

[0081]  $\text{V}^1 \otimes \text{CP}^7 = \text{N} \oplus \text{N} \oplus \text{N}$  :

[0082]  $\text{Y}^3$  은 N 또는 NO<sub>2</sub>로:

[0083]  $X^2$ ,  $X^4$ ,  $X^6$ 과  $X^7$ 은 각각 독립적으로,  $CR^7$ 이고, 여기서 각  $R^7$ 은 독립적으로, 수소, 할로겐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{1-8}$ 알킬, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{2-8}$ 알케닐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{2-8}$ 알키닐,  $-CN$ ,  $=O$ ,  $-NO_2$ ,  $-OR^8$ ,  $-OC(O)R^8$ ,  $-CO_2R^8$ ,  $-C(O)R^8$ ,  $-C(O)NR^9R^8$ ,  $-OC(O)NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}C(O)R^8$ ,  $-NR^{10}C(O)NR^9R^8$ ,  $-NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}CO_2R^8$ ,

$-SR^8$ ,  $-S(O)R^8$ ,  $-S(O)_2R^8$ ,  $-S(O)_2NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}S(O)_2R^8$ , 치환되거나 치환되지 않은  $C_{6-10}$ 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 5- 내지 10-원 헤테로아릴, 그리고 치환되거나 치환되지 않은 3- 내지 10-원 헤테로사이클릴로 구성된 군에서 선택되고;

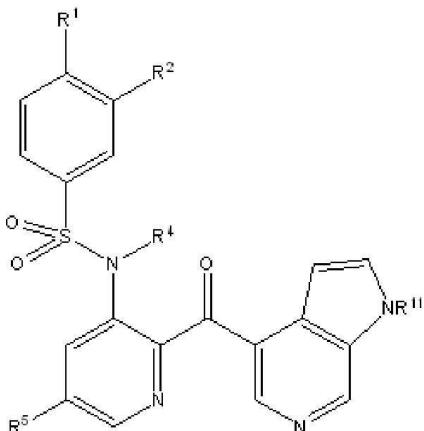
[0084] 각 경우에,  $R^8$ ,  $R^9$ 와  $R^{10}$ 은 독립적으로, 수소,  $C_{1-8}$ 알킬,  $C_{2-8}$ 알케닐,  $C_{2-8}$ 알키닐, 아릴, 또는 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택되거나; 또는  $R^9$ 와  $R^8$  또는  $R^{10}$ 과  $R^8$ 은, 그들이 부착된 원자와 함께, 치환되거나 치환되지 않은 5-, 6-, 또는 7-원 고리를 형성하고;

[0085]  $X^5$ 는 0, S, 또는  $NR^{11}$ 이고,

[0086] 여기서  $R^{11}$ 은 수소,  $C_{1-8}$ 알킬,  $C_{2-8}$ 알케닐,  $C_{2-8}$ 알키닐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{6-10}$ 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 5- 내지 10-원 헤테로아릴, 그리고 치환되거나 치환되지 않은 3- 내지 10-원 헤테로사이클로 구성된 군에서 선택된다.

[0087] 특정 구체예에서, 화학식 III 화합물은 화학식 (IV)을 갖는다:

[0088] [화학식 IV]



[0089]

[0090]

[0091] 다른 측면에서, 본 발명은 케모킨 활성을 조절하는데 유용한 조성물을 제시한다. 한 구체예에서, 본 발명에 따른 조성물은 본 발명에 따른 화합물 및 제약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 함유한다.

[0092]

또 다른 측면에서, 본 발명은 세포 내에서 케모킨 기능의 조절 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 치료 효과량과 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0093]

또 다른 측면에서, 본 발명은 케모킨 기능의 조절 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 치료 효과량을 케모킨 수용체와 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0094]

또 다른 측면에서, 본 발명은 케모킨-매개된 장애 또는 질환의 치료 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 포함한다.

[0095]

특정 측면에서, 본 발명은 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법에 관계하는데, 상기 방법은 화학식 I 화합물 또는 이의 제약학적으로 허용되는 염의 치료 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구체예에서, CCR2-매개된 장애 또는 질환은 죽상동맥경화증이다. 특정 구체예에서, CCR2-매개된 장애 또는 질환은 재협착증이다. 특정 구체예에서, CCR2-매개된 장애 또는 질환은 다발성 경화증이다. 특정 구체예에서, CCR2-매개된 장애 또는 질환은 염증성 장 질환, 신장 섬유증, 류머티스성 관절염, 비만, 또는 비-인슐린-의존성 당뇨병에서 선택된다. 특정 구체예에서, CCR2-매개된 장애 또는 질환은 2형 당뇨병이다. 특정 구체예에서, CCR2-매개된 장애 또는 질환은 만성 폐쇄성 폐 질환, 특발성 폐 섬유증, 또는 특발성 폐렴 증후군에서 선택된다.

[0096]

본 발명에 개시된 화합물 이외에, 본 발명에서는 이들 화합물 중에서 한 가지 이상을 함유하는 제약학적 조성물, 그리고 일차적으로, 케모킨 신호전달 활성(chemokine signaling activity)과 연관된 질환을 치료하기

위한 치료 방법에서 이들 화합물의 용도를 더욱 제시한다.

[0097] 다른 측면에서, 본 발명에서는 4-클로로-N-[5-메틸-2-(7H-페롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드 나트륨 염의 결정성 형태를 제시한다. 특정 구체예에서, 결정성 형태 4-클로로-N-[5-메틸-2-(7H-페롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드 나트륨 염은 CuK $\alpha$  방사를 이용하여 측정된 아래의 2-세타(theta) 수치 ± 0.2: 6.9, 7.7, 20.0, 24.3, 24.7과 25.1을 포함하는 분말 X-선 회절(X-ray powder diffraction)을 갖는다. 다른 구체예에서, 상기 결정성 형태는 CuK $\alpha$  방사를 이용하여 측정된 아래의 2-세타(theta) 수치 ± 0.2: 6.9, 7.7, 10.6, 11.3, 11.8, 12.5, 13.7, 15.1, 15.3, 16.1, 16.9, 17.3, 18.2, 18.5, 19.5, 20.0, 21.6, 21.8, 22.6, 24.3, 24.7, 25.1, 25.6, 26.3, 27.5, 28.5, 28.8, 29.3, 31.4와 32.4를 포함하는 분말 X-선 회절(X-ray powder diffraction)을 갖는다.

### 과제의 해결 수단

[0098] 상세한 설명

[0099] **총론**

[0100] 본 발명은 케모킨 수용체 기능, 특히 CCR2 기능의 조절에 유용한 화합물과 이들의 염, 조성물 및 방법에 관계한다. 본 명세서에서, 다양한 형태로 케모킨 수용체 활성의 조절은 특정 케모킨 수용체, 바람직하게는, CCR2 수용체와 연관된 활성의 길향활성, 촉진활성, 부분적 길향활성, 역전적 촉진활성 및/또는 부분적 촉진활성을 포함한다. 따라서 본 발명의 화합물은 포유류 CCR2, 예를 들면, 인간 CCR2 단백질의 최소한 한 가지 기능이나 특징을 조절하는 화합물이다. CCR2의 기능을 조절하는 화합물의 능력은 결합 분석(가령, 리간드 결합 또는 작용물질 결합), 이동 분석, 신호 분석(가령, 포유류 G 단백질의 활성화, 세포질 유리 칼슘의 농도에서 급속하고 일시적인 증가의 유도) 및/또는 세포 반응 분석(가령, 화학주성의 자극, 토세포작용(exocytosis) 또는 백혈구에 의한 염증성 매개인자 방출)에서 입증될 수 있다.

[0101] **약어와 정의**

[0102] 본 발명의 화합물, 조성물, 방법 및 공정을 기술함에 있어, 아래의 용어는 달리 명시하지 않는 경우에 아래와 같은 의미를 갖는다.

[0103] “알킬”은 자체로서 또는 다른 치환기의 일부로서, 지정된 탄소 원자수(즉, C<sub>1-8</sub>은 1개 내지 8개 탄소 원자를 의미한다)를 보유하는 선형, 고리형, 가지형 또는 이들의 조합인 탄화수소 작용기를 의미한다. 알킬기의 실례는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, t-부틸, 이소부틸, sec-부틸, 사이클로헥실, 사이클로펜틸, (사이클로헥실)메틸, 사이클로프로필메틸, 비사이클로[2.2.1]헵탄, 비사이클로[2.2.2]옥탄 등이다. 알킬기는 달리 명시하지 않는 경우에, 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 치환된 알킬의 실례는 할로알킬, 티오알킬, 아미노알킬 등이다.

[0104] “알콕시”는 -O-알킬을 의미한다. 알콕시기의 실례는 메톡시, 에톡시, n-프로록시 등이다.

[0105] “알케닐”은 선형, 고리형, 가지형 또는 이들의 조합인 불포화 탄화수소 작용기를 의미한다. 2-8개 탄소 원자를 보유하는 알케닐기가 바람직하다. 알케닐기는 1, 2 또는 3개 탄소-탄소 이중 결합을 보유할 수 있다. 알케닐기의 실례는 에테닐, n-프로페닐, 이소프로페닐, n-부트-2-에닐, n-헥스-3-에닐, 사이클로헥세닐, 사이클로펜테닐 등이다. 알케닐기는 달리 명시하지 않는 경우에, 치환되거나 치환되지 않을 수 있다.

[0106] “알키닐”은 선형, 고리형, 가지형 또는 이들의 조합인 불포화 탄화수소 작용기를 의미한다. 2-8개 탄소 원자를 보유하는 알키닐기가 바람직하다. 알키닐기는 1, 2 또는 3개 탄소-탄소 삼중 결합을 보유할 수 있다. 알키닐기의 실례는 에티닐, n-프로파닐, n-부트-2-이닐, n-헥스-3-이닐 등이다. 알키닐기는 달리 명시하지 않는 경우에, 치환되거나 치환되지 않을 수 있다.

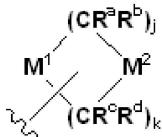
[0107] “아릴”은 함께 융합되거나 공유 결합될 수 있는 단일 고리(단일환형) 또는 다중 고리(이중환형)를 보유하는 다중불포화 방향족 탄화수소 작용기를 의미한다. 6-10개 탄소 원자를 보유하는 아릴기가 바람직한데, 여기서 이러한 탄소 원자수는 예로써, C<sub>6-10</sub>으로 표시될 수 있다. 아릴기의 실례는 페닐과 나프탈렌-1-일, 나프탈렌-2-일, 비페닐 등이다. 아릴기는 달리 명시하지 않는 경우에, 치환되거나 치환되지 않을 수 있다.

[0108] “할로” 또는 “할로겐”은 자체로서 또는 다른 치환기의 일부로서 염소, 브롬, 요오드 또는 불소 원자를 의미한다.

[0109] “할로알킬”은 치환된 알킬기로서, 1-3개 할로겐 원자로 전형적으로 치환된 모노할로알킬 또는 폴리할로알킬 작용기를 의미한다. 할로알킬의 실례는 1-클로로에틸, 3-브로모프로필, 트리플루오르메틸 등이다.

[0110] “헤테로사이클릴”은 질소, 산소 또는 황에서 선택되는 최소한 하나의 헤테로원자(전형적으로, 1개 내지 5개 헤테로원자)를 보유하는 포화되거나 불포화된 비-방향족 고리를 의미한다. 헤테로사이클릴 고리는 단일환형 또는 이중환형일 수 있다. 적절하게는, 이들 기는 0-5개 질소 원자, 0-2개 황 원자 및 0-2개 산소 원자를 보유한다. 더욱 적절하게는, 이들 기는 0-3개 질소 원자, 0-1개 황 원자 및 0-1개 산소 원자를 보유한다. 헤테로사이클릴기의 실례는 피롤리딘, 피페리딘, 이미다졸리딘, 피라졸리딘, 부티롤락탐, 발레롤락탐, 이미다졸리디논, 히단토인, 디옥솔란, 프틸리미드, 피페리딘, 1,4-디옥산, 모르폴린, 티오모르폴린, 티오모르폴린-S-옥사이드, 티오모르폴린-S,S-디옥사이드, 피페라진, 피란, 피리돈, 3-피롤린, 티오피란, 피론, 테트라하이드로푸란, 테트라하이드로티오펜, 퀴누클리딘 등이다. 바람직한 헤테로환형기는 단일환형이지만, 이들은 아릴 또는 헤테로아릴 고리 체계에 융합되거나 공유 연결될 수도 있다.

[0111] 바람직한 구체예에서, 헤테로환형기는 하기 화학식 (AA)로 대표된다:



AA

[0113] 여기서 화학식 (AA)는  $M^1$  또는  $M^2$ 에서 자유원자가(free valence)를 통하여 부착되고;  $M^1$ 은 0,  $NR^e$ , 또는  $S(O)_1$ 이고;  $M^2$ 는  $CR^fR^g$ , 0,  $S(O)_1$ , 또는  $NR^e$ 이고;  $I$ 는 0, 1 또는 2이고;  $j$ 는 1, 2 또는 3이고;  $k$ 는 1, 2 또는 3이고, 단서로써,  $j + k$ 는 3, 4, 또는 5이고;  $R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f$ 와  $R^g$ 는 독립적으로, 수소, 할로겐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{1-8}$ 알킬, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{2-8}$ 알케닐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{2-8}$ 알카닐,  $-COR^h$ ,  $-CO_2R^h$ ,  $-CONR^hR^i$ ,  $-NR^hCOR^i$ ,  $-SO_2R^h$ ,  $-SO_2NR^hR^i$ ,  $-NSO_2R^hR^i$ ,  $-NR^hR^i$ ,  $-OR^h$ ,  $-Q^1COR^h$ ,  $-Q^1CO_2R^h$ ,  $-Q^1CONR^hR^i$ ,  $-Q^1NR^hCOR^i$ ,  $-Q^1SO_2R^{28}$ ,  $-Q^1SO_2NR^hR^i$ ,  $-Q^1NSO_2R^hR^i$ ,  $-Q^1NR^hR^i$ , 또는  $-Q^1OR^h$ 에서 선택되고,  $Q^1$ 은  $C_{1-4}$  알킬렌,  $C_{2-4}$  알케닐렌 또는  $C_{2-4}$  알카닐렌에서 선택되는 구성원이고,  $R^h$ 와  $R^i$ 는 독립적으로, 수소 또는  $C_{1-8}$  알킬에서 선택되고,  $R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f, R^g$ 와  $R^h$  치환기 각각의 지방족 부분은 선택적으로, 할로겐,  $-OH$ ,  $-OR^n$ ,  $-OC(O)NHR^n$ ,  $-OC(O)NR^nR^o$ ,  $-SH$ ,  $-SR^n$ ,  $-S(O)R^n$ ,  $-S(O)_2R^n$ ,  $-SO_2NH_2$ ,  $-S(O)_2NHR^n$ ,  $-S(O)_2NR^nR^o$ ,  $-NHS(O)_2R^n$ ,  $-NR^nS(O)_2R^o$ ,  $-C(O)NH_2$ ,  $-C(O)NHR^n$ ,  $-C(O)NR^nR^o$ ,  $-C(O)R^n$ ,  $-NHC(O)R^o$ ,  $-NR^nC(O)R^o$ ,  $-NHC(O)NH_2$ ,  $-NR^nC(O)NH_2$ ,  $-NR^nC(O)NHR^n$ ,  $-NHC(O)NHR^n$ ,  $-NR^nC(O)NR^oR^p$ ,  $-NHC(O)NR^nR^o$ ,  $-CO_2H$ ,  $-CO_2R^h$ ,  $-NHCO_2R^h$ ,  $-NR^nCO_2R^o$ ,  $-CN$ ,  $-NO_2$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHR^n$ ,  $-NR^nR^o$ ,  $-NR^nS(O)NH_2$ , 또는  $-NR^nS(O)_2NHR^o$ 에서 선택되는 1개 내지 3개의 구성원으로 치환되고, 여기서  $R^n, R^o$ 와  $R^p$ 는 독립적으로, 치환되지 않은  $C_{1-8}$  알킬이다. 부가적으로,  $R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f$ 와  $R^g$  중에서 임의의 2개는 결합하여 가교된 또는 스피로환형(spirocyclic) 고리 체계를 형성할 수 있다.

[0114] 바람직한 구체예에서, 수소가 아닌  $R^a + R^b + R^c + R^d$  기의 총수는 0, 1 또는 2이다. 더욱 바람직한 구체예에서,  $R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f$ 와  $R^g$ 는 독립적으로, 수소, 할로겐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{1-8}$ 알킬,  $-COR^h$ ,  $-CO_2R^h$ ,  $-CONR^hR^h$ ,  $-NR^hCOR^h$ ,  $-SO_2R^h$ ,  $-SO_2NR^hR^i$ ,  $-NSO_2R^hR^i$ ,  $-NR^hR^i$ , 또는  $-OR^h$ 에서 선택되고,  $R^h$ 와  $R^i$ 는 독립적으로, 수소 또는 치환되지 않은  $C_{1-8}$ 알킬에서 선택되고,  $R^a, R^b, R^c, R^d, R^e, R^f$ 와  $R^g$  치환기 각각의 지방족 부분은 선택적으

로, 할로겐,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{OR}^n$ ,  $-\text{OC(O)NHR}^n$ ,  $-\text{OC(O)NR}^n\text{R}^o$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{SR}^n$ ,  $-\text{S(O)}_2\text{R}^o$ ,  $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{S(O)}_2\text{NHR}^n$ ,  $-\text{S(O)}_2\text{NR}^n\text{R}^o$ ,  $-\text{NHS(O)}_2\text{R}^n$ ,  $-\text{NR}^n\text{S(O)}_2\text{R}^o$ ,  $-\text{C(O)NH}_2$ ,  $-\text{C(O)NHR}^n$ ,  $-\text{C(O)NR}^n\text{R}^o$ ,  $-\text{C(O)R}^n$ ,  $-\text{NHC(O)R}^n$ ,  $-\text{NR}^n\text{C(O)R}^o$ ,  $-\text{NHC(O)NH}_2$ ,  $-\text{NR}^n\text{C(O)NH}_2$ ,  $-\text{NR}^n\text{C(O)NHR}^n$ ,  $-\text{NHC(O)NHR}^n$ ,  $-\text{NR}^n\text{C(O)NR}^o\text{R}^p$ ,  $-\text{NHC(O)NR}^n\text{R}^o$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^n$ ,  $-\text{NHCO}_2\text{R}^n$ ,  $-\text{NR}^n\text{CO}_2\text{R}^o$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHR}^n$ ,  $-\text{NR}^n\text{R}^o$ ,  $-\text{NR}^n\text{S(O)NH}_2$ , 또는  $-\text{NR}^n\text{S(O)}_2\text{NHR}^o$ 에서 선택되는 1개 내지 3개의 구성 원으로 치환되고, 여기서  $\text{R}^n$ ,  $\text{R}^o$ 와  $\text{R}^p$ 는 독립적으로, 치환되지 않은  $\text{C}_{1-8}$ 알킬이다.

[0115] 더욱 바람직한 구체예에서,  $\text{R}^a$ ,  $\text{R}^b$ ,  $\text{R}^c$ ,  $\text{R}^d$ ,  $\text{R}^e$ ,  $\text{R}^f$ 와  $\text{R}^g$ 는 독립적으로, 수소 또는  $\text{C}_{1-4}$ 알킬이다. 다른 바람직한 구체예에서,  $\text{R}^a$ ,  $\text{R}^b$ ,  $\text{R}^c$ ,  $\text{R}^d$ ,  $\text{R}^e$ ,  $\text{R}^f$ 와  $\text{R}^g$  중에서 최소한 3개는 수소이다.

[0116] “헤테로아릴”은 최소한 하나의 헤테로원자를 보유하는 방향족 작용기를 의미하는데, 여기서 헤테로아릴기는 단일환형 또는 이중환형일 수 있다. 실례는 피리딜, 피리다지닐, 피라지닐, 피리미디닐, 트리아지닐, 퀴놀리닐, 퀴녹살리닐, 퀴나졸리닐, 신놀리닐, 프탈라지닐, 벤조트리아지닐, 푸리닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조피라졸릴, 벤조트리아졸릴, 벤즈이속사졸릴, 이소벤조푸릴, 이소인돌릴, 인돌리지닐, 벤조트리아지닐, 티에노피리디닐, 티에노피리미디닐, 피라졸로피리미디닐, 이미다조피리딘, 벤조티아졸릴, 벤조푸라닐, 벤조티에닐, 인돌릴, 아자인돌릴, 아지인다졸릴, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴, 피라졸릴, 인다졸릴, 프테리디닐, 이미다졸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 피롤릴, 티아졸릴, 푸릴, 티에닐 등이다. 바람직한 헤�테로아릴기는 최소한 하나의 아릴 고리 질소 원자를 보유하는 것들, 예를 들면, 퀴놀리닐, 퀴녹살리닐, 푸리닐, 벤즈이미다졸릴, 벤조피라졸릴, 벤조트리아졸릴, 벤조티아졸릴, 인돌릴, 퀴놀릴, 이소퀴놀릴 등이다. 바람직한 6-고리 헤�테로아릴 체계에는 피리딜, 피리다지닐, 피라지닐, 피리미디닐, 트리아지닐 등이 포함된다. 바람직한 5-고리 헤�테로아릴 체계에는 이소티아졸릴, 피라졸릴, 이미다졸릴, 티에닐, 푸릴, 트리아졸릴, 테트라졸릴, 옥사졸릴, 이속사졸릴, 옥사디아졸릴, 티아디아졸릴, 피롤릴, 티아졸릴 등이 포함된다.

[0117] 헤테로사이클릴과 헤�테로아릴은 임의의 접근가능한 고리 탄소 또는 헤테로원자에 부착될 수 있다. 각각 헤테로사이클릴과 헤�테로아릴은 하나 이상의 고리를 보유할 수 있다. 다중 고리가 존재하는 경우에, 이들은 함께 융합되거나 공유 결합될 수 있다. 각각 헤�테로사이클릴과 헤�테로아릴은 질소, 산소 또는 황에서 선택되는 최소한 하나의 헤�테로원자(전형적으로, 1개 내지 5개의 헤�테로원자)를 보유해야 한다. 적절하게는, 이들 작용기는 0-5개 질소 원자, 0-2개 황 원자 및 0-2개 산소 원자를 보유한다. 더욱 적절하게는, 이들 작용기는 0-3개 질소 원자, 0-1개 황 원자 및 0-1개 산소 원자를 보유한다. 헤�테로사이클릴과 헤�테로아릴 작용기는 달리 명시하지 않는 경우에, 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 치환된 작용기의 경우, 치환은 탄소 또는 헤�테로원자에서 진행될 수 있다. 가령, 치환된 옥소( $=\text{O}$  또는  $-\text{O}^-$ )인 경우, 생성된 작용기는 카르보닐( $-\text{C(O)}-$ ) 또는  $\text{N-옥사이드}(-\text{N}^+-\text{O}^-)$ 이다.

[0118] 치환된 알킬, 치환된 알케닐과 치환된 알키닐에 적합한 치환기는 할로겐,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{C(O)R}^1$ ,  $-\text{C(O)NR}^1\text{R}^2$ , 옥소( $=\text{O}$  또는  $-\text{O}^-$ ),  $-\text{OR}^1$ ,  $-\text{OC(O)R}^1$ ,  $-\text{OC(O)NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NR}^1\text{C(O)R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{C(O)NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{CO}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{S(O)R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{S(O)}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{S(O)NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{S(O)}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{SR}^1$ ,  $-\text{S(O)}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{S(O)}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{S(O)}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{C(NHR)}=\text{NR}^1$ ,  $-\text{SiR}^1\text{R}^2\text{R}^3$ ,  $-\text{N}_3$ , 치환되거나 치환되지 않은  $\text{C}_{6-10}$ 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 5- 내지 10-원 헤�테로아릴, 치환되거나 치환되지 않은 3- 내지 10-원 헤�테로사이클릴 등이다. 가능한 치환기의 숫자는 0 내지  $(2m'+1)$  범위인데, 여기서  $m'$ 은 이런 라디칼 내에서 탄소 원자의 총수이다.

[0119] 치환된 아릴, 치환된 헤�테로아릴과 치환된 헤�테로사이클릴에 적합한 치환기는 할로겐,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{C(O)R}^1$ ,  $-\text{C(O)NR}^1\text{R}^2$ , 옥소( $=\text{O}$  또는  $-\text{O}^-$ ),  $-\text{OR}^1$ ,  $-\text{OC(O)R}^1$ ,  $-\text{OC(O)NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NR}^1\text{C(O)R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{C(O)NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{CO}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{S(O)R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{S(O)}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{S(O)NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{S(O)}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{SR}^1$ ,  $-\text{S(O)}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{S(O)}_2\text{R}^1$ ,  $-\text{S(O)}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{C(NHR)}=\text{NR}^1$ ,  $-\text{SiR}^1\text{R}^2\text{R}^3$ ,  $-\text{N}_3$ , 치환되거나 치환되지 않은  $\text{C}_{1-8}$ 알킬, 치환되거나 치환되지 않은  $\text{C}_{2-8}$ 알케닐, 치환되거나 치환되지 않은  $\text{C}_{6-10}$ 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 5- 내지 10-원 헤�테로아릴, 치환되거나 치환되지 않은 3- 내지 10-원 헤�테로사이클릴 등이다. 가능한

치환기의 숫자는 0 내지 방향족 고리 체계에서 개방 원자가(open valency)의 총수 범위이다.

[0120] 상기한 바와 같이, R', R"와 R'"은 각각 독립적으로 수소, 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>1-8</sub>알킬, 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>2-8</sub>알케닐, 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>2-8</sub>알키닐, 치환되거나 치환되지 않은 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 헤테로아릴, 치환되거나 치환되지 않은 헤테로사이클릴, 치환되거나 치환되지 않은 아릴알킬, 치환되거나 치환되지 않은 아릴옥시알킬을 비롯한 다양한 작용기를 의미한다. R'와 R"가 동일한 질소 원자에 부착되는 경우에, 이들은 질소 원자와 결합하여 3-, 4-, 5-, 6-, 또는 7-원 고리(가령, -NR'R"에는 1-피롤리디닐과 4-모르폴리닐이 포함된다)를 형성할 수 있다. 더 나아가, R'과 R", R"와 R'", 또는 R'과 R'"은 그들이 부착된 원자와 함께, 치환되거나 치환되지 않은 5-, 6- 또는 7-원 고리를 형성할 수 있다.

[0121] 아릴 또는 헤�테로아릴 고리의 인접한 원자에서 2개의 치환기가 화학식 -T-C(O)-(CH<sub>2</sub>)q-U-의 치환기로 선택적으로 대체될 수 있는데, 여기서 T와 U는 독립적으로 -NR'''-, -O-, -CH<sub>2</sub>- 또는 단일 결합이고, q는 0 내지 2의 정수이다. 대안으로, 아릴 또는 헤�테로아릴 고리의 인접한 원자에서 2개의 치환기가 화학식 -A'-(CH<sub>2</sub>)r-B'-의 치환기로 선택적으로 대체될 수 있는데, 여기서 A'와 B'는 독립적으로 -CH<sub>2</sub>-,-O-, -NR'''-, -S-, -S(O)-, -S(O)<sub>2</sub>-,-S(O)<sub>2</sub>NR'''- 또는 단일 결합이고, r은 1 내지 3의 정수이다. 이렇게 형성된 새로운 고리의 단일 결합중 하나는 이중 결합으로 선택적으로 대체될 수 있다. 대안으로, 아릴 또는 헤�테로아릴 고리의 인접한 원자에서 2개의 치환기가 화학식 -(CH<sub>2</sub>)s-X-(CH<sub>2</sub>)t-의 치환기로 선택적으로 대체될 수 있는데, 여기서 s와 t는 독립적으로 0 내지 3의 정수이고, X는 -O-, -NR'''-, -S-, -S(O)-, -S(O)<sub>2</sub>-,-S(O)<sub>2</sub>NR'-이다. -NR'''-와 -S(O)<sub>2</sub>NR'''-에서 치환기 R'''은 수소 또는 치환되지 않은 C<sub>1-8</sub>알킬이다.

[0122] “헤테로원자”는 산소(O), 질소(N), 황(S)과 실리콘(Si)을 의미한다.

[0123] “제약학적으로 허용되는” 담체, 희석제 또는 부형제는 제제의 다른 성분에 적합하고 이의 수용자에게 유해하지 않은 담체, 희석제 또는 부형제를 의미한다.

[0124] “제약학적으로-허용되는 염”은 환자, 예를 들면, 포유류에 투여하기 적합한 염(가령, 일정한 투약 섭생에서 허용되는 포유류 안전성을 보유하는 염)을 의미한다. 이런 염은 본 발명에 개시된 화합물에서 발견되는 특정 치환기에 기초하여, 제약학적으로-허용되는 무기 또는 유기 염기 및 제약학적으로-허용되는 무기 또는 유기 산으로부터 유래될 수 있다. 본 발명의 화합물이 상대적으로 산성인 기능기를 보유하는 경우에, 순수하게 또는 적절한 불활성 용매에서 이런 화합물의 중성 형태를 충분한 양의 적절한 염기와 접촉시켜 염기 부가염을 수득할 수 있다. 제약학적으로 허용되는 무기 염기로부터 유래된 염은 알루미늄, 암모늄, 칼슘, 구리, 철, 제1철, 리튬, 마그네슘, 땅간, 제1땅간, 칼륨, 칼슘, 아연 등이다. 제약학적으로-허용되는 유기 염기로부터 유래된 염은 치환된 아민, 고리형 아민, 자연-발생 아민 등을 비롯한 일차, 이차, 삼차, 사차 아민의 염, 예를 들면, 아르기닌, 베타인, 카페인, 콜린, N,N'-디벤질에틸렌디아민, 디에틸아민, 2-디에틸아미노에탄올, 2-디메틸아미노에탄올, 에탄올아민, 에틸렌디아민, N-에틸모르폴린, N-에틸페페리딘, 글루카민, 글루코사민, 히스티딘, 하이드라바민, 이소프로필아민, 리신, 메틸글루카민, 모르폴린, 피페라진, 피페리딘, 폴리아민 수지, 프로카인, 퓨린, 테오브로민, 트리에틸아민, 트리메틸아민, 트리프로필아민, 트로메타민 등이다. 본 발명의 화합물이 상대적으로 염기 성 기능기를 보유하는 경우에, 순수하게 또는 적절한 불활성 용매에서 이런 화합물의 중성 형태를 충분한 양의 적절한 산과 접촉시켜 산 부가염을 수득할 수 있다. 제약학적으로 허용되는 산으로부터 유래된 염은 아세틱, 아스코르빅, 벤젠술포닉, 벤조익, 캠포술포닉, 시트릭, 에탄술포닉, 푸마릭, 글루코닉, 글루코로닉, 글루타믹, 히푸릭, 하이드로브로믹, 하이드로클로릭, 이세치오닉, 락틱, 락토바이오닉, 말레이, 말릭, 만델릭, 메탄술포닉, 무식, 나프탈렌술포닉, 니코티닉, 니트릭, 과모익, 판토테닉, 포스포릭, 숙시닉, 술퍼릭, 타르타릭, p-톨루엔술포닉 등이다.

[0125] 또한, 알긴산염 등과 같은 아미노산의 염 및 글루쿠론산 또는 갈락투론산 등과 같은 유기산의 염 역시 포함된다 (참조: Berge, S. M., et al, "Pharmaceutical Salts", J. Pharmaceutical Science, 1977, 66 : 1-19). 본 발명의 특정 화합물은 이들 화합물이 염기 부가염 또는 산 부가염으로 전환될 수 있도록 하는 염기성과 산성 기능기를 모두 보유한다.

[0126] 화합물의 중성 형태는 염을 염기 또는 산과 접촉시키고 통상적인 방법으로 부모 화합물을 분리함으로써 재생할 수 있다. 화합물의 부모 형태는 특정 물리적 특성, 예를 들면, 극성 용매에서 용해도에서 다양한 염 형태와 구별되지만, 이들 염은 본 발명의 목적에서 부모 화합물 형태와 동등하다.

- [0127] “이들의 염”은 산의 수소가 양이온, 예를 들면, 금속 양이온(cation) 또는 유기 양이온 등으로 대체될 때 형성되는 화합물을 의미한다. 적절하게는, 염은 제약학적으로 허용되는 염이지만, 환자에 투여되지 않는 중간물질 화합물의 염은 제약학적으로 허용가능할 필요가 없다.
- [0128] 염 형태에 더하여, 본 발명은 프로드러그(prodrug) 형태의 화합물을 제시한다. 본 발명에 개시된 화합물의 프로드러그는 생리 조건하에 화학적 변화가 용이하고 본 발명의 화합물을 제공하는 화합물이다. 부가적으로, 프로드러그는 탈체 환경에서 화학적 또는 생화학적 방법에 의해 본 발명의 화합물로 전환될 수 있다. 가령, 프로드러그는 적절한 효소 또는 화학 시약이 존재하는 경피 패치 저장소에 포함되는 경우에 본 발명의 화합물로 서서히 전환될 수 있다.
- [0129] 프로드러그는 변형체가 통상적인 조작에서 또는 생체내에서 부모 화합물로 절단되도록 하는 방식으로 화합물 내에 존재하는 기능기(functional group)를 변형함으로써 제조될 수 있다. 프로드러그에는 포유동물 개체에 투여되면 절단되어 각각, 유리 하이드록실, 아미노, 설피드릴, 또는 카르복실기를 형성하는 임의의 기에 하이드록실, 아미노, 설피드릴, 또는 카르복실기가 결합되는 화합물이 포함된다. 프로드러그의 실례에는 본 발명의 화합물에서 알코올과 아민 기능기의 아세트산염, 포름산염과 벤조산염 유도체가 포함되지만 이들에 국한되지 않는다. 프로드러그의 제조, 선택과 용도는 T. Higuchi and V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series; "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985 및 Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987에서 언급되는데, 이를 각각은 본 발명에서 참조로서 편입된다.
- [0130] 본 발명의 화합물은 이들의 제약학적으로 허용되는 대사산물(metabolite) 형태로 존재할 수 있다. “대사산물”은 본 발명의 화합물(또는 이들의 염)의 물질대사 유도체의 제약학적으로 허용되는 형태를 의미한다. 일부 측면에서, 이들 대사산물은 생체내에서 활성 화합물로 용이하게 전환되는 화합물의 기능성 유도체일 수 있다. 다른 측면에서, 대사산물은 활성 화합물일 수 있다.
- [0131] “치료 효과량”은 치료를 요하는 환자에 투여되는 경우에 치료 효과를 발휘하는데 충분한 양을 의미한다.
- [0132] 본 명세서에서 “치료”는 환자, 예를 들면, 포유류(특히, 인간이나 반려 동물(companion animal))에서 질환이나 의학적 장애(가령, 바이러스, 세균 또는 진균 감염 또는 다른 감염성 질환, 그리고 자가면역 질환 또는 염증 질환)의 치료를 의미하는데, 여기에는 환자에서 이런 질환이나 의학적 장애의 개선, 다시 말하면, 이런 질환이나 의학적 장애의 제거 또는 감소; 환자에서 이런 질환이나 의학적 장애의 억제, 다시 말하면, 이런 질환이나 의학적 장애의 발생의 지연이나 중지; 또는 환자에서 이런 질환이나 의학적 장애의 증상의 경감이 포함된다.
- [0133] 본 발명의 특정 화합물은 수화된 형태를 비롯하여, 용매화된 형태와 비용매화된 형태로 존재할 수 있다. 전반적으로, 용매화된 형태와 비용매화된 형태 둘 모두 본 발명의 범위 내에 속한다. 본 발명의 특정 화합물은 다중 결정성 또는 무정형 형태(가령, 동질이상)로 존재할 수도 있다. 전반적으로, 모든 물리적 형태는 본 발명에서 이용이 고려되고, 본 발명의 범위 내에 속한다.
- [0134] 당업자가 인지하는 바와 같이, 본 발명의 특정 화합물은 호변이성 형태(tautomeric form)로 존재할 수 있는데, 이들 화합물의 이와 같은 모든 호변이성 형태는 본 발명의 범위 내에 속한다. 본 발명의 특정 화합물은 비대칭 탄소 원자(광학 중심) 또는 이중 결합을 보유한다; 라셈체, 부분입체이성질체, 기하학적 이성질체와 개별 이성 질체(가령, 분리된 거울상이성질체) 모두 본 발명의 범위 내에 속한다. 본 발명의 화합물은 이런 화합물을 구성하는 하나이상의 원자에서 비자연적 비율의 원자 동위원소를 보유할 수도 있다. 가령, 이들 화합물은 방사성 동위원소, 예를 들면, 트리튬( $^3\text{H}$ ), 요오드-125( $^{125}\text{I}$ ) 또는 탄소-14( $^{14}\text{C}$ )로 방사성표지될 수 있다. 본 발명에 따른 화합물의 모든 동위원소 변이는 방사성 여부에 관계없이, 본 발명의 범위 내에 속한다.
- [0135] 본 발명의 화합물은 검출가능 라벨을 보유할 수 있다. 검출가능 라벨은 낮은 농도에서, 통상적으로, 마이크로몰(micromolar) 미만, 가능하게는, 나노몰(nanomolar) 미만에서 검출가능하고, 분자 특성(가령, 분자량(molecular weight), 질량 대 전하 비율(mass to charge ratio), 방사성(radioactivity), 산화 환원 전위(redox potential), 발광(luminescence), 형광(fluorescence), 전자기성(electromagnetic property), 결합 특성(binding property) 등)에서 차이로 인하여 다른 분자로부터 용이하게 식별될 수 있는 기이다. 검출가능 라벨은 분광분석(spectroscopic), 광화학(photochemical), 생화학(biochemical), 면역화학(immunochemical), 전기(electrical), 자기(magnetic), 전자기(electromagnetic), 광학(optical) 또는 화학(chemical) 수단 등에 의해 검출될 수 있다.
- [0136] 합텐(hapten) 라벨(가령, 비오틴(biotin), 또는 양고추냉이 과산화효소(horseradish peroxidase) 항체와 같은

검출가능 항체와 병용되는 라벨); 질량 태그(mass tag) 라벨(가령, 안정한 동위원소 라벨); 방사성동위원소 라벨( $^3\text{H}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{14}\text{C}$ , 또는  $^{32}\text{P}$ ); 금속 칠레이트(metal chelate) 라벨; 전형적으로 0.1 초파의 양자 수율(quantum yield)을 갖는, 형광 라벨(가령, 플루오레세인(fluorescein), 이소티오시아네이트(isothiocyanate), Texas red, 로다민(rhodamine), 녹색 형광 단백질(green fluorescent protein) 등), 인광(phosphorescent) 라벨과 화학발광 라벨을 비롯한 발광 라벨; 전기활성(electroactive)과 전자 전달(electron transfer) 라벨; 조효소(coenzyme), 유기금속 촉매(organometallic catalyst), 양고추냉이 과산화효소(horseradish peroxidase), 알칼리성 인산분해효소(alkaline phosphatase)와 ELISA에 통상적으로 이용되는 다른 것들을 비롯한 효소 조절물질 라벨; 광감작화(photosensitizer) 라벨; Dynabead를 비롯한 자성 비드(magnetic bead) 라벨; 콜로이드성(colloidal) 금, 은, 셀레늄, 또는 다른 금속과 금속 콜(metal sol) 라벨과 같은 비색(colorimetric) 라벨(참조: U. S. Patent No. 5,120,643), 또는 착색된 유리 또는 플라스틱(가령, 폴리스티렌, 폴리프로필렌, 라텍스 등) 비드 라벨; 카본 블랙(carbon black) 라벨을 비롯한 다양한 검출가능 라벨이 본 발명의 범위 내에 속한다. 이런 검출가능 라벨의 이용을 교시하는 특허는 U.S. Pat. No. 3,817,837; 3,850,752; 3,939,350; 3,996,345; 4,277,437; 4,275,149; 4,366,241; 6,312,914; 5,990,479; 6,207,392; 6,423,551; 6,251,303; 6,306,610; 6,322,901; 6,319,426; 6,326,144와 6,444,143인데, 이들은 본 발명에서 참조로서 편입된다.

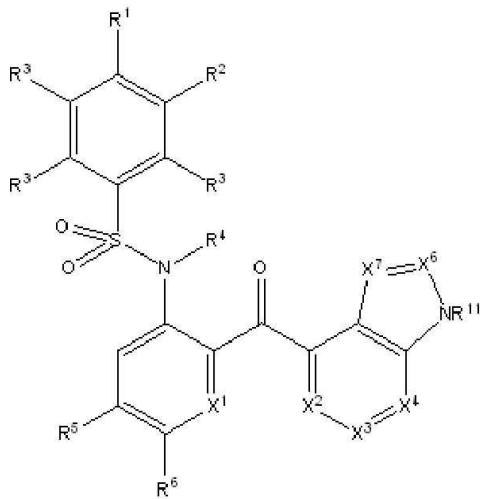
[0137] 검출가능 라벨은 상업적으로 구입가능하거나, 또는 당업자에게 공지된 바와 같이 제조될 수 있다. 검출가능 라벨은 임의의 적절한 장소에 위치할 수 있는 반응성 기능기(reactive functional group)를 이용하여 화합물에 공유 부착될 수 있다. 검출가능 라벨을 부착하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 반응성 기는 알킬, 또는 아릴 핵(nucleus)에 구속된 치환된 알킬 사슬에 부착되면, 알킬 사슬의 말단 장소(terminal position)에 위치될 수 있다.

#### 화합물

[0139] 특정 구체예에서, 본 발명의 화합물은 화학식 (I) 화합물, 또는 이들의 염으로 대표된다:

[0140] [화학식 I]

[0141]



(I)

[0143] 여기서:

[0144]  $\text{R}^1$ 과  $\text{R}^2$ 는 각각 독립적으로, 수소, 할로겐,  $\text{C}_{1-8}$ 알킬,  $-\text{CN}$ , 또는  $\text{C}_{1-8}$ 할로알킬이고, 단서로써  $\text{R}^1$  또는  $\text{R}^2$  중에서 최소한 하나는 수소가 아니고;

[0145] 각  $\text{R}^3$ 은 독립적으로 수소, 할로겐, 또는  $\text{C}_{1-4}$ 알킬이고;

[0146]  $\text{R}^4$ 는 수소 또는  $\text{C}_{1-8}$ 알킬이고;

[0147]  $\text{R}^5$ 는 할로겐 또는  $\text{C}_{1-8}$ 알킬이고;

[0148]  $R^6$ 은 수소 또는  $C_{1-4}$ 알킬이고;

[0149]  $R^{11}$ 은 수소,  $C_{1-8}$ 알킬,  $C_{2-8}$ 알케닐,  $C_{2-8}$ 알키닐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{6-10}$ 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 5-내지 10-원 헤테로아릴, 그리고 치환되거나 치환되지 않은 3-내지 10-원 헤테로사이클로 구성된 군에서 선택되고;

[0150]  $X^1$ 은  $CR^7$ , N 또는 NO이고;

[0151]  $X^2$ 와  $X^4$ 는 각각 독립적으로, N 또는 NO이고;

[0152]  $X^3$ 은  $CR^7$ 이고;

[0153]  $X^6$ 과  $X^7$ 은 각각 독립적으로,  $CR^7$ , N과 NO에서 선택되고;

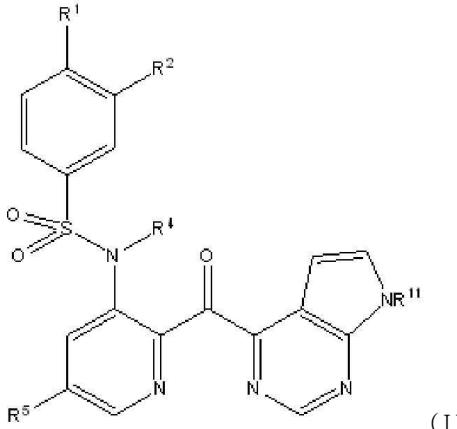
[0154] 각  $R^7$ 은 독립적으로, 수소, 할로겐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{1-8}$ 알킬, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{2-8}$ 알케닐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{2-8}$ 알키닐,  $-CN$ ,  $-NO_2$ ,  $-OR^8$ ,  $-OC(O)R^8$ ,  $-CO_2R^8$ ,  $-C(O)R^8$ ,  $-C(O)NR^9R^8$ ,  $-OC(O)NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}C(O)R^8$ ,  $-NR^{10}C(O)NR^9R^8$ ,  $-NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}CO_2R^8$ ,  $-SR^8$ ,  $-S(O)R^8$ ,  $-S(O)_2R^8$ ,  $-S(O)_2NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}S(O)_2R^8$ , 치환되거나 치환되지 않은  $C_{6-10}$ 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 5-내지 10-원 헤�테로아릴, 그리고 치환되거나 치환되지 않은 3-내지 10-원 헤�테로사이클로 구성된 군에서 선택되고;

[0155] 각 경우에,  $R^8$ ,  $R^9$ 와  $R^{10}$ 은 독립적으로, 수소,  $C_{1-8}$ 알킬,  $C_{2-8}$ 알케닐,  $C_{2-8}$ 알키닐, 아릴, 또는 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택되거나; 또는  $R^9$ 와  $R^8$  또는  $R^{10}$ 과  $R^8$ 은 그들이 부착된 원자와 함께, 치환되거나 치환되지 않은 5-, 6-, 또는 7-원 고리를 형성한다.

[0156] 적절하게는,  $R^3$ ,  $R^4$ 와  $R^6$ 은 각각 수소이다.

[0157] 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물은 화학식 (II) 화합물, 또는 이들의 염으로 대표된다:

[화학식 II]

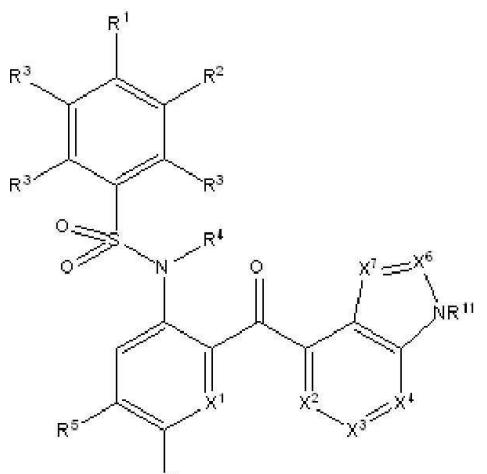


(II)

[0159] 여기서  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ 와  $R^{11}$ 은 화학식 (I)에서 앞서 정의된 바와 동일하다.

[0160] 다른 구체예에서, 본 발명의 화합물은 화학식 (III) 화합물, 또는 이들의 염으로 대표된다:

[화학식 III]



[0163]

( III )

[0164]

여기서  $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6$ 과  $R^{11}$ 은 화학식 (I)에서 앞서 정의된 바와 동일하고;

[0165]

$X^1 \cong CR^7$ ,  $N$  또는  $N0$ 이고;

[0166]

$X^3$ 은 N 또는 NO이고;

E01673

$X^2$ ,  $X^4$ ,  $X^6$ 과  $X^7$ 은 각각 독립적으로,  $CR^7$ 이고, 여기서 각  $R^7$ 은 독립적으로, 수소, 할로겐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{1-8}$ 알킬, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{2-8}$ 알케닐, 치환되거나 치환되지 않은  $C_{2-8}$ 알키닐,  $=O$ ,  $-NO_2$ ,  $-OR^8$ ,  $-OC(O)R^8$ ,  $-CO_2R^8$ ,  $-C(O)R^8$ ,  $-C(O)NR^9R^8$ ,  $-OC(O)NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}C(O)R^8$ ,  $-NR^{10}C(O)NR^9R^8$ ,  $-NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}CO_2R^8$ ,  $-SR^8$ ,  $-S(O)R^8$ ,  $-S(O)_2R^8$ ,  $-S(O)_2NR^9R^8$ ,  $-NR^{10}S(O)_2R^8$ , 치환되거나 치환되지 않은  $C_{6-10}$ 아릴, 치환되거나 치환되지 않은 5- 내지 10-원 헤테로아릴, 그리고 치환되거나 치환되지 않은 3- 내지 10-원 헤테로사이클릴로 구성된 군에서 선택되고;

[0168]

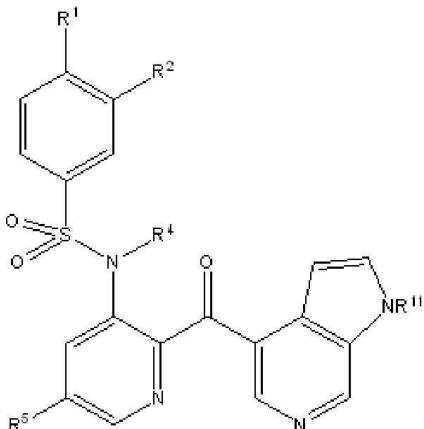
각 경우에,  $R^8$ ,  $R^9$ 와  $R^{10}$ 은 독립적으로, 수소,  $C_{1-8}$ 알킬,  $C_{2-8}$ 알케닐,  $C_{2-8}$ 알키닐, 아릴, 또는 헤테로아릴로 구성된 군에서 선택되거나; 또는  $R^9$ 와  $R^8$  또는  $R^{10}$ 과  $R^8$ 은, 그들이 부착된 원자와 함께, 치환되거나 치환되지 않은 5-, 6-, 7-위 고리를 형성한다.

[0169]

다른 구체예에서, 본 발명의 화합물은 화학식 (IV) 화합물, 또는 이들의 염으로 대표된다:

[0170]

## [화학식 IV]



[0171]

여기서  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  와  $R^{11}$  은 화학식 (III)에서 알 수 정의된 바와 동일하다.

[0173]

### 바람직한 구체 예

- [0174] 화학식 I, II, III, 또는 IV 중에서 임의의 하나에서,  $R^1$ 은 할로겐이다.
- [0175] 화학식 I, II, III, 또는 IV 중에서 임의의 하나에서,  $R^2$ 는  $C_{1-8}$ 할로알킬이다.
- [0176] 화학식 I, II, III, 또는 IV의 일부 구체예에서,  $R^1$ 은 Cl이고  $R^2$ 는  $CF_3$ 이다.
- [0177] 화학식 I, II, III, 또는 IV의 일부 구체예에서,  $R^1$ 은 메틸이고  $R^2$ 는  $CF_3$ 이다.
- [0178] 화학식 I 또는 III 중에서 임의의 하나에서,  $R^3$ 은 수소이다.
- [0179] 화학식 I, II, III, 또는 IV 중에서 임의의 하나에서,  $R^5$ 는 할로겐이다.
- [0180] 화학식 I, II, III, 또는 IV 중에서 임의의 하나에서,  $R^5$ 는 염소이다.
- [0181] 화학식 I, II, III, 또는 IV 중에서 임의의 하나에서,  $R^5$ 는  $C_{1-8}$ 알킬이다.
- [0182] 화학식 I, II, III, 또는 IV 중에서 임의의 하나에서,  $R^5$ 는 메틸이다.
- [0183] 화학식 I 또는 III 중에서 임의의 하나에서,  $R^6$ 은 수소이다.
- [0184] 화학식 I 또는 III 중에서 임의의 하나에서,  $X^1$ 은 N이다.
- [0185] 화학식 I 또는 III 중에서 임의의 하나에서,  $X^1$ 은 NO이다.
- [0186] 화학식 I 또는 III 중에서 임의의 하나에서,  $X^1$ 은 CR<sup>7</sup>이다.
- [0187] 화학식 I 또는 III의 일부 구체예에서,  $X^1$ 은 CR<sup>7</sup>이고,  $R^7$ 은 H이다.
- [0188] 화학식 I의 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 N이다.
- [0189] 화학식 I의 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 NO이다.
- [0190] 화학식 I의 일부 구체예에서,  $X^3$ 은 CR<sup>7</sup>이고, 여기서  $R^7$ 은 H 또는  $C_{1-4}$ 알킬이다.
- [0191] 화학식 I의 일부 구체예에서,  $X^4$ 는 N이다.
- [0192] 화학식 I의 일부 구체예에서,  $X^4$ 는 NO이다.
- [0193] 화학식 III의 일부 구체예에서,  $X^2$ 는 CR<sup>7</sup>이고, 여기서  $R^7$ 은 H 또는  $C_{1-4}$ 알콕시이다.
- [0194] 화학식 III의 일부 구체예에서,  $X^3$ 은 N이다.
- [0195] 화학식 III의 일부 구체예에서,  $X^3$ 은 NO이다.
- [0196] 화학식 I의 일부 구체예에서,  $X^4$ 는 CR<sup>7</sup>이고, 여기서  $R^7$ 은 H 또는  $C_{1-4}$ 알킬이다.
- [0197] 화학식 I, II, III, 또는 IV의 일부 구체예에서,  $R^{11}$ 은 H 또는  $C_{1-4}$ 알킬, 가장 바람직하게는, H이다.
- [0198] 화학식 I 또는 III의 일부 구체예에서,  $X^6$ 은 CR<sup>7</sup>이다.
- [0199] 화학식 I 또는 III의 일부 구체예에서,  $X^6$ 은 CR<sup>7</sup>이고, 여기서  $R^7$ 은 H 또는  $C_{1-4}$ 알킬, 가장 바람직하게는, H이다.
- [0200] 화학식 I 또는 III의 일부 구체예에서,  $X^6$ 은 N이다.

[0201] 화학식 I 또는 III의 일부 구체예에서, X<sup>6</sup>은 NO이다.

[0202] 화학식 I 또는 III의 일부 구체예에서, X<sup>7</sup>은 CR<sup>7</sup>이다.

[0203] 화학식 I 또는 III의 일부 구체예에서, X<sup>7</sup>은 CR<sup>7</sup>이고, 여기서 R<sup>7</sup>은 H 또는 C<sub>1-4</sub>알킬, 가장 바람직하게는, H이다.

[0204] 화학식 I 또는 III의 일부 구체예에서, X<sup>7</sup>은 N이다.

[0205] 화학식 I 또는 III의 일부 구체예에서, X<sup>7</sup>은 NO이다.

#### CCR2 활성을 조절하는 화합물

[0207] 본 발명은 최소한 하나의 CCR2 활성을 조절하는 화합물을 제시한다. 케모킨 수용체는 세포외 리간드, 예를 들면, 케모킨과 상호작용하고 상기 리간드에 대한 세포 반응, 예를 들면, 화학주성, 증가된 세포내 칼슘 이온 농축 등을 매개하는 내재성 막 단백질(integral membrane protein)이다. 이런 이유로, 케모킨 수용체 기능의 조절, 예를 들면, 케모킨 수용체 리간드 상호작용의 간섭은 케모킨 수용체 매개된 반응을 조절하고, 케모킨 수용체 매개된 질환이나 장애를 치료 또는 예방할 것이다. 케모킨 수용체 기능의 조절은 이런 기능의 유도와 저해를 포괄한다. 달성되는 조절 유형은 화합물의 특성, 다시 말하면, 길항물질 또는 완전, 부분적 또는 역전적 작용물질에 좌우될 것이다.

[0208] 특정 이론에 한정됨 없이, 본 발명의 화합물은 케모킨 수용체와 하나 이상의 동족 리간드 사이의 상호작용을 간섭하는 것으로 생각된다. 특히, 이들 화합물은 CCR2와 CCR2 리간드, 예를 들면, MCP-1 사이의 상호작용을 간섭하는 것으로 생각된다. 본 발명에서 고려되는 화합물에는 본 명세서에 기술된 전형적인 화합물과 이들의 염이 포함되지만 이들에 국한되지 않는다.

[0209] 가령, 본 발명의 화합물은 강력한 CCR2 길항물질로서 기능하는데, 이런 길항 활성은 CCR2의 특징적인 질병 상태 중 하나인 염증에 대한 동물 검사에서 더욱 확증되었다. 따라서 본 발명에 개시된 화합물은 제약학적 조성물, CCR2-매개된 질환의 치료 방법 및 경쟁 CCR2 길항물질의 확인을 위한 분석에서 대조로서 이용된다.

#### 케모킨 활성을 조절하는 조성물

[0211] 다른 측면에서, 본 발명은 케모킨 활성, 구체적으로, CCR2 활성을 조절하는 조성물을 제시한다. 일반적으로, 인간과 동물에서 케모킨 수용체 활성을 조절하는 조성물은 제약학적으로 허용되는 부형제 또는 희석제 및 화학식(I) 화합물을 함유한다.

[0212] 본 명세서에서, “조성물”은 특정된 양으로 특정 성분을 함유하는 생성물, 그리고 특정된 양으로 특정 성분의 조합으로부터 직접적으로 또는 간접적으로 유래된 임의의 생성물을 포괄한다. “제약학적으로 허용되는” 담체, 희석제 또는 부형제는 제제의 다른 성분에 적합하고 이의 수용자에게 유해하지 않은 담체, 희석제 또는 부형제를 의미한다.

[0213] 본 발명에 따른 화합물의 투여를 위한 제약학적 조성물은 단위 제형(unit dosage form)으로 간편하게 제공되고, 약학 분야에 공지된 임의의 방법으로 제조될 수 있다. 모든 방법은 하나이상의 보조 성분을 구성하는 담체와 활성 성분을 결합시키는 단계를 수반한다. 일반적으로, 제약학적 조성물은 활성 성분을 액체 담체 또는 미세하게 갈라진 고체 담체, 또는 둘 모두와 균일하고 손상되지 않게 결합시키고, 이후 필요한 경우, 산물을 원하는 제형으로 성형함으로써 제조된다. 제약학적 조성물에서, 활성 목적 화합물은 질환의 과정 또는 상태에 목적 효과를 유도할 만큼 충분한 양으로 포함된다.

[0214] 활성 성분을 함유하는 제약학적 조성물은 경구 투여에 적합한 형태, 예를 들면, 정제, 트로치, 마름모꼴 정제, 수성이나 유성 혼탁액, 분산가능 분말이나 과립, 에멀젼과 자기 유화제((U. S. Patent 6,451,339), 경성이나 연성 캡슐, 또는 시럽이나 엘리시르이다. 경구 투여용 조성물은 제약학적 조성물의 제조를 위한 당분야에 공지된 임의의 방법에 따라 제조할 수 있다. 이런 조성물은 제약학적으로 세련되고 풍미있는 제제를 제공하기 위하여 감미료, 향미제, 착색제, 보존제에서 선택되는 하나이상의 약품을 함유할 수 있다. 정제는 정제의 제조에 적합한 다른 비-독성의 제약학적으로 허용되는 부형제와 혼합된 활성 성분을 함유한다. 가령, 이들 부형제는 불활성 희석제, 예를 들면, 셀룰로오스, 실리콘 다이옥사이드, 알루미늄 옥사이드, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 글루코오스, 만니톨, 소르비톨, 락토오스, 인산칼슘 또는 인산나트륨; 과립화제와 봉해제, 예를 들면, 옥수수 전분 또는 알긴산; 접합제, 예를 들면, PVP, 셀룰로오스, PEG, 전분, 젤라틴 또는 아카시아; 윤활제, 예를 들면, 스테아르산

마그네슘, 스테아르산 또는 활석이다. 정제는 피복하지 않거나 더욱 오랜 기간 동안 지속적인 작용을 제공하기 위하여 위장관에서 분해와 흡수를 지연시키는 장용 또는 다른 공지된 기술로 피복할 수 있다. 가령, 시간 지연 재료, 예를 들면, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트를 이용할 수 있다. 이들은 U.S. 특허 번호 4,256,108, 4,166,452와 4,265,874에 개시된 기술로 피복하여 서방용 삼투압 치료 정제를 형성할 수도 있다.

[0215] 또한, 경구 투여용 제제는 경성 젤라틴 캡슐로서 제공되고, 여기서 활성 성분은 불활성 고형 희석제, 예를 들면, 탄산칼슘, 인산칼슘 또는 고령토와 혼합되고; 또는 연성 젤라틴 캡슐로서 제공되는데, 여기서 활성 성분은 물이나 유성 매체, 예를 들면, 땅콩기름, 액체 파라핀, 또는 올리브기름과 혼합된다. 부가적으로, 오일과 같은 비-물 혼합가능 성분으로 에멀젼을 제조하고 모노-디글리세리드, PEG 에스테르 등과 같은 계면활성제로 안정화시킬 수 있다.

[0216] 수성 혼탁액은 수성 혼탁액의 제조에 적합한 부형제와 혼합된 활성 성분을 함유한다. 이런 부형제는 혼탁제, 예를 들면, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 하이드록시프로필메틸셀룰로오스, 나트륨 알기네이트, 폴리비닐-파롤리돈, 겸 트래거캔스와 겸 아카시아이다; 분산제 또는 습윤제는 자연-발생 포스파티드, 예를 들면, 레시틴; 지방산과 산화알킬렌의 응축 산물, 예를 들면, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트; 산화에틸렌과 장쇄지방족 알코올의 응축 산물, 예를 들면, 헵타데카에틸렌옥시에탄올; 지방산과 헥시톨로부터 유래된 부분 에스테르와 산화에틸렌의 응축 산물, 예를 들면, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레이트; 또는 지방산과 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분 에스테르와 산화에틸렌의 응축 산물, 예를 들면, 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레이트이다. 수성 혼탁액은 한가지이상의 보존제, 예를 들면, 에틸, n-프로필 또는 p-하이드록시벤조에이트, 한가지이상의 착색제, 한가지이상의 향미제, 한가지이상의 감미료, 예를 들면, 수크로오스 또는 사카린 등을 함유할 수도 있다.

[0217] 유성 혼탁액은 활성 성분을 식물성 오일, 예를 들면, 낙화생유, 올리브기름, 참기름 또는 코코넛기름; 또는 미네랄오일(mineral oil), 예를 들면, 액체 파라핀에 부유시킴으로써 제조할 수 있다. 유성 혼탁액은 농후제(thickening agent), 예를 들면, 밀랍, 경성 파라핀 또는 세틸 알코올을 함유할 수 있다. 상기한 감미료 및 향미제를 첨가하여 풍미있는 경구 제제를 제공할 수 있다. 이들 조성물은 항-산화제, 예를 들면, 아스코르브산의 첨가에 의해 보존될 수 있다.

[0218] 물의 첨가에 의한 수성 혼탁액의 제조에 적합한 분산가능 분말과 과립은 분산제 또는 습윤제, 혼탁제 및 한가지 이상의 보존제와의 혼합물로 활성 성분을 제공한다. 적합한 분산제 또는 습윤제 및 혼탁제는 앞서 언급된 것들에 의해 예시된다. 추가의 부형제, 예를 들면, 감미료, 향미제, 착색제 역시 존재할 수 있다.

[0219] 본 발명의 제약학적 조성물은 수중유(oil-in-물) 에멀젼 형태일 수도 있다. 유상은 식물성 오일, 예를 들면, 낙화생유 또는 올리브기름; 미네랄오일, 예를 들면, 액체 파라핀; 또는 이들의 혼합물이다. 적합한 유화제는 자연-발생 겸, 예를 들면, 겸 아카시아 또는 겸 트래거캔스; 자연-발생 포스파티드, 예를 들면, 콩 또는 레시틴; 지방산과 헥시톨 무수물로부터 유래된 에스테르 또는 부분 에스테르, 예를 들면, 소르비탄 모노올레이트; 또는 상기 부분 에스테르와 산화에틸렌의 응축 산물, 예를 들면, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트이다. 에멀젼은 감미료와 향미제를 함유할 수도 있다.

[0220] 시럽과 엘릭시르는 감미료, 예를 들면, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨 또는 수크로오스로 제조할 수 있다. 이런 제제는 점활제(demulcent), 보존제, 향미제와 착색제를 함유할 수도 있다. 경구 용액은 예로써, 사이클로텍스트린, PEG와 계면활성제의 조합으로 제조할 수 있다.

[0221] 제약학적 조성물은 무균 주사가능 수성이나 유지성 혼탁액 형태일 수도 있다. 이런 혼탁액은 앞서 기술된 적합한 분산제 또는 습윤제 및 혼탁제를 이용하여 공지된 기술에 따라 제조할 수 있다. 무균 주사가능 제제는 비-독성의 비경구 허용되는 희석제 또는 용매에 녹인 무균 주사가능 용액이나 혼탁액, 예를 들면, 1,3-부탄 디올에 녹인 용액일 수도 있다. 이용가능한 운반제와 용매에는 물, 링거액, 등장성 염화나트륨 용액 등이 포함된다. 이에 더하여, 무균의 불휘발성 오일이 용매 또는 혼탁 매체로서 통상적으로 이용된다. 이런 목적으로, 합성 모노- 또는 디글리세리드를 비롯한 임의의 안정한 불휘발성 오일이 이용될 수 있다. 이에 더하여, 올레산과 같은 지방산이 주사제의 제조에 이용된다.

[0222] 본 발명의 화합물은 약물의 직장 투여용 죄약 형태로 투여될 수도 있다. 이들 조성물은 통상의 온도에서 고체이지만 직장 온도에서 액체로 변하고, 따라서 직장에서 용해되고 약물을 방출하는 적절한 비-자극성 부형제와 약물을 혼합함으로써 제조할 수 있다. 이런 재료는 코코아 버터와 폴리에틸렌 글리콜이다. 부가적으로, 이들 화합

물은 용액이나 연고의 앙구내 전달로 투여될 수 있다. 또한, 이들 목적 화합물은 전극약물 패치(iontophoretic patch) 등으로 경피 전달될 수 있다.

[0223] 본 발명의 화합물을 함유하는 국소 투여용 크림, 연고, 젤리, 용액 또는 혼탁액 등이 이용된다. 본 명세서에서, 국소 적용은 구강세정제와 가글의 이용 역시 포함한다.

[0224] 본 발명의 제약학적 조성물과 방법은 앞서 기술된 병리학적 장애의 치료에 적용되는 것들과 같은, 본 명세서에 기술된 다른 치료 활성 화합물을 추가로 함유할 수 있다.

[0225] 한 구체예에서, 본 발명에서는 제약학적으로 허용되는 담체 및 본 발명의 화합물로 구성되는 조성물을 제시한다.

#### 케모킨 조절물질의 효능 측정

##### 시험관내 분석

[0228] 신호전달 검사(signaling assay), 이동 검사(migration assay), 리간드 결합 검사(ligand binding assay) 및 다른 세포 반응 검사를 비롯한 다양한 검사법이 본 발명에 개시된 화합물을 평가하는데 이용될 수 있다. 케모킨 수용체 신호전달 검사는 화합물의 능력, 예를 들면, 잠재적 CCR2 길항물질이 CCR2 리간드-(가령, MCP-1)-유도된 신호전달을 차단하는 능력을 측정하는데 이용될 수 있다. 이동 검사는 목적 화합물, 예를 들면, 가능한 케모킨 길항물질이 시험관내에서 케모킨-매개된 세포 이동(cell migration)을 차단하는 능력을 측정하는데 이용될 수 있다. 후자는 생체내에서 케모킨-유도된 세포 이동과 유사한 것으로 생각된다. 리간드 결합 검사는 화합물의 능력, 예를 들면, 잠재적 CCR2 길항물질이 MCP-1과 이의 수용체의 상호작용을 차단하는 능력을 측정하는데 이용될 수 있다.

[0229] 적절한 검사에서, 포유동물 케모킨 단백질의 최소한 한 가지 특성, 활성, 또는 기능적 특성을 갖는 케모킨 단백질(분리 또는 재조합 여부에 상관없이)이 이용된다. 상기 특성은 결합 특성(예로써, 리간드 또는 저해물질에 대한), 신호전달 활성(가령, 포유동물 G 단백질의 활성화, 세포질 유리 칼슘 이온(cytosolic free calcium ion)의 농도에서 급속하고 일시적인 증가의 유도), 세포 반응 기능(가령, 화학주성(chemotaxis)의 촉진 또는 백혈구(leukocyte)에 의한 염증 매개인자(inflammatory mediator) 방출) 등일 수 있다.

[0230] 이러한 검사는 케모킨 수용체를 인코딩하는 핵산 서열(nucleic acid sequence)을 포함하는 벡터(vector) 또는 발현 카세트(expression cassette)로 안정적으로 또는 일시적으로 형질감염된 세포를 이용하는 세포-기초된 검사(cell-based assay)일 수 있다. 케모킨을 자연적으로 발현하는 세포주(cell line) 역시 이용될 수 있다. 이들 세포는 수용체의 발현에 적합한 조건 하에 유지되고, 결합이 발생하는데 적합한 조건 하에 추정 작용제(putative agent)와 접촉된다. 결합은 표준 기술을 이용하여 검출할 수 있다. 가령, 결합의 정도는 적절한 대조와 비교하여(예를 들면, 추정 작용제의 부재에서 배경과 비교하여, 또는 공지된 리간드와 비교하여) 결정될 수 있다. 선택적으로, 이러한 수용체를 보유하는 세포 분취물(cellular fraction), 예를 들면, 막 분취물(membrane fraction)이 완전 세포를 대신하여 이용될 수 있다.

[0231] 결합 또는 복합체 형성은 직접적으로 또는 간접적으로 검출될 수 있다. 가령, 추정 작용제는 적절한 라벨(가령, 형광 라벨, 화학발광 라벨, 동위원소 라벨, 효소 라벨 등)로 표지될 수 있고, 결합은 이러한 라벨의 검출로 결정될 수 있다. 특이적(specific) 및/또는 경쟁적(competitive) 결합은 경쟁상대(competitor)로서 표지되지 않은 약물(agent) 또는 리간드(가령, MCP-1)를 이용한 경쟁 또는 치환 연구로 조사될 수 있다.

[0232] 본 발명의 화합물을 평가하는데 경쟁 저해 검사가 이용될 수 있다. 이들 검사에서, 화합물은 예로써, MCP-1을 이용한 리간드 결합의 저해물질로서 평가된다. 한 구체예에서, CCR2 수용체는 MCP-1과 같은 리간드와 접촉되고, 리간드 결합의 측정이 수행된다. 상기 수용체는 이후, 리간드(가령, MCP-1)의 존재에서 시험 물질(test agent)과 접촉되고, 결합의 2차 측정이 수행된다. 리간드 결합의 정도에서 감소는 검사 약물에 의한 결합의 저해를 시시한다. 결합 저해 검사는 케모킨을 발현하는 완전 세포, 또는 케모킨을 발현하는 세포로부터 막 분취물을 이용하여 수행될 수 있다.

[0233] 예로써, 작용물질에 의한 G 단백질 결합된 수용체의 결합은 상기 수용체에 의한 신호전달 현상(signaling event)을 결과할 수 있다. 따라서 신호전달 검사 역시, 본 발명의 화합물을 평가하는데 이용될 수 있고, 임의의 작용제에 의한 신호전달 기능의 유도는 임의의 적절한 방법을 이용하여 모니터링될 수 있다. 가령, G 단백질 활성, 예를 들면, GTP의 GDP로의 가수분해(hydrolysis), 또는 수용체 결합에 의해 유인된 후기 신호전달 현상은 공지된 방법으로 검사될 수 있다(참조: PCT/US97/15915; Neote et al., Cell, 72:415425 (1993); Van Riper et

al., J. Exp. Med., 177:851-856 (1993); Dahinden et al., J. Exp. Med., 179:751-756 (1994)).

[0234] 화학주성 검사 역시, 수용체 기능을 조사하고 본 명세서에 제시된 화합물을 평가하는데 이용될 수 있다. 이들 검사는 임의의 작용제에 의해 유도된 시험관내에서 또는 생체내에서 세포의 기능적 이동(functional migration)에 기초하고, 리간드, 저해물질, 또는 작용물질의 결합 및/또는 화학주성에 대한 효과를 평가하는데 이용될 수 있다. 다양한 화학주성 검사법이 당분야에 공지되어 있는데, 임의의 적절한 검사법이 본 발명의 화합물을 평가하는데 이용될 수 있다. 적절한 검사의 실례에는 PCT/US97/15915; Springer et al., WO 94/20142; Berman et al., Immunol. Invest., 17:625-677 (1988); 및 Kavanaugh et al., J. Immunol., 146:4149-4156 (1991)에 기술된 것들이 포함된다.

[0235] 칼슘 신호전달 검사에서는 시간의 추이에서, 바람직하게는, 수용체 결합 전후에 칼슘 농도(calcium concentration)를 측정한다. 이들 검사는 수용체 결합(또는 이의 부재) 이후에, 수용체-신호전달 매개인자,  $Ca^{++}$ 의 발생을 정량하는데 이용될 수 있다. 이들 검사는 화합물, 예를 들면, 본 발명의 화합물이 목적 수용체에 결합함으로써 수용체 신호전달 매개인자를 산출하는 능력을 결정하는데 유용하다. 또한, 이들 검사는 화합물, 예를 들면, 본 발명의 화합물이 목적 수용체와 리간드 사이에 결합을 간섭함으로써 수용체 신호전달 매개인자의 발생을 저해하는 능력을 결정하는데 유용하다.

[0236] 케모킨 수용체와 공지된 케모킨 리간드 사이에 결합을 간섭하는 화합물의 능력을 결정하는데 이용되는 칼슘 신호전달 검사에서, 케모킨 수용체-발현 세포(THP-1 세포와 같은 CCR2-발현 세포)는 증가하는 농도에서, 목적 화합물, 예를 들면, 잠재적 케모킨 길항물질과 함께 먼저 배양된다. 세포 수(cell number)는 96-웰 마이크로역가 평판(microtiter plate)에서  $10^5$  내지  $5 \times 10^5$  개 세포/웰일 수 있다. 조사되는 화합물의 농도는 0 내지  $100 \mu M$  범위이다. 배양 기간(5분 내지 60분 범위일 수 있다) 이후, 처리된 세포는 제조업체의 이용설명서에 따라, Fluorometric Imaging Plate Reader(FLIPR®)(Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA)에 위치된다. 상기 FLIPR® 장치는 검사를 수행하는 표준 방법으로서 당업자에게 널리 공지되어 있다. 이들 세포는 이후, 5-100 nM 최종 농도(final concentration)에서 적당량의 케모킨 리간드(CCR2의 경우에 MCP-1)로 자극되고, 세포내 칼슘 증가(intracellular calcium increase)(또는, 칼슘 유입(calcium flux))의 신호가 기록된다. 케모킨과 리간드 사이에 결합의 저해물질로서 화합물의 효능은  $IC_{50}$ (신호전달에서 50% 저해를 유도하는데 필요한 농도) 또는  $IC_{90}$ (신호전달에서 90% 저해를 유도하는데 필요한 농도)으로서 산정될 수 있다.

[0237] 시험관내 세포 이동 검사는 96-웰 마이크로챔버(microchamber)(ChemoTX™)를 이용하여 수행될 수 있다(하지만, 이러한 형식에 국한되지 않는다). ChemoTX™ 장치는 화학주성/세포 이동 장치의 한 유형으로서 당업자에게 널리 공지되어 있다. 이러한 검사에서, CCR2-발현 세포(가령, THP-1)는 증가하는 농도에서, 목적 화합물, 예를 들면, 가능한 CCR2 길항물질과 함께 먼저 배양된다. 전형적으로, 5만개 세포/웰이 이용되지만, 이러한 양은  $10^3$ - $10^6$  개 세포/웰 범위일 수 있다. 케모킨 리간드(가령, 전형적으로 0.1 nM(하지만, 5-100 nM 범위일 수 있다)에서 CCR2 리간드 MCP-1)는 하부 챔버(lower chamber)에 위치되고, 이동 장치(migration apparatus)가 조립된다. 이후, 20  $\mu l$ 의 시험 화합물-처리된 세포가 막 위에 위치된다. 이동은 37°C에서 일정한 시간, 전형적으로, CCR2의 경우에 1.5시간 동안 진행된다. 배양의 종결 시점에, 막을 통과하여 하부 챔버로 이동하는 세포의 수가 정량된다. 케모킨-매개된 세포 이동의 저해물질로서 화합물의 효능은  $IC_{50}$ (세포 이동을 50% 감소시키는데 필요한 농도) 또는  $IC_{90}$ (세포 이동을 90% 감소시키는데 필요한 농도)으로서 산정된다.

### 0238] BiRAM 검사

[0239] 케모킨 길항물질을 확인하는 일차 선별의 실례에는 BiRAM 검사(WO 02101350, US2004023286)가 포함되는데, 이는 저해 케모킨 농도 하에 세포 이동을 활성화시키는 능력으로 잠재적 히트(hit)를 검출한다. 이런 검사를 시작하기 위하여, 케모킨 발현 세포(가령, CCR2 검사의 경우에 THP-1 세포)를 GS-6R Beckman 원심분리기에서 1000 RPM으로 세포 혼탁액의 원심분리(centrifugation)로 수확한다. 세포 펠렛(cell pellet)은 CCR2 검사의 경우에  $10 \times 10^6$  개 세포/ml로 화학주성 완충액(HBSS/0.1% BSA)에 재현탁시킨다. 25  $\mu l$ 의 세포는 동일한 완충액 내에서 20  $\mu M$ 로 회석된 동등 부피의 시험 화합물과 혼합한다. 이후, 20  $\mu l$ 의 혼합물을 상부 화학주성 챔버에서 필터로 이전하는데, 케모킨 리간드(CCR2 검사의 경우에 100 nM 케모킨 MCP-1과 MIP-1a 단백질)를 포함하는 29  $\mu l$ 의 케모킨 용액이 하부 챔버에 위치된다. 37°C에서 배양(CCR2의 경우에 90분) 이후, 상기 검사는 필터 정상부로부터 세포 액적(cell drop)을 제거함으로써 종결된다. 막을 통하여 이동된 세포를 정량하기 위하여, 5  $\mu l$ 의 7X CyQUANT® 용액을 하부 챔버 내에 각 웰(well)에 첨가하고, 형광 신호(fluorescence signal)를 Spectrafluor

Plus 형광 플레이트 판독기(fluorescence plate reader)(TECAN, Durham, NC)에서 측정한다.

[0240] 잠재적 히트의 선별을 위하여, RAM 지수(index) - 특정 웰의 신호와 전체 플레이트의 정중 신호(median signal) 사이에 비율로서 이동 활성의 수준을 산정한다. CCR2 검사의 경우에 1.5 이상의 RAM 지수를 갖는 화합물은 RAM 양성으로 간주되고, 통상적인 기능 검사에서 IC<sub>50</sub> 결정을 위하여 선별된다.

### 칼슘 유입 검사

[0242] 칼슘 유입 검사는 리간드-유도된 수용체 활성화 이후에 세포내 칼슘에서 증가를 측정하고, 일차 스크리닝 이후에 이차 검사로서 이용될 수 있다. 이런 검사는 예로써, FLIPR® 기계(Molecular Devices, Mountain View, CA)에서 수행될 수 있다. 검사를 시작하기 위하여, 케모킨 발현 세포(가령, CCR2 검사의 경우에 THP-1 세포)를 세포 혼탁액의 원심분리(centrifugation)로 수확하고, HBSS(1% 소 태아 혈청 포함)에서  $1.5 \times 10^6$  개 세포/ml로 재현탁시킨다. 이후, 세포는 부드럽게 교반하면서, 37°C에서 45분 동안 칼슘 인디케이터 염료 Fluo-4 AM으로 표지한다. 배양후, 세포는 작은 덩어리로 뭉치고, HBSS로 1회 세척하고, 동일한 완충액 내에서  $1.6 \times 10^6$  개 세포/ml의 밀도로 재현탁시킨다. 100 μl의 표지된 세포는 검사 플레이트 상에서 적절한 농도로 10 μl의 시험 화합물과 혼합한다. 수용체를 활성화시키기 위하여 케모킨 단백질(CCR2 검사의 경우에 0.1 nM의 최종 농도에서 MCP-1)을 첨가한다. 저해 정도는 화합물-처리된 세포와 처리되지 않은 세포 사이에 칼슘 신호(calciun signal)를 비교함으로써 결정한다. IC<sub>50</sub> 산정은 Graphpad Prism(Graphpad Software, San Diego, CA)을 이용한 비-선형 제곱회귀(non-linear squares regression) 분석으로 더욱 수행한다.

### 리간드 결합 검사

[0244] 리간드 결합 검사는 CCR2와 이의 리간드 MCP-1 사이에 상호작용을 차단하는 잠재적 CCR2 길항물질의 능력을 결정하는데 이용될 수 있다. CCR2 발현 THP-1 세포는 원심분리하고,  $2.2 \times 10^5$  개 세포/ml의 농도까지 검사 완충액(20 mM HEPES pH 7.1, 140 mM NaCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM MgCl<sub>2</sub> 및 0.2% 소 혈청 알부민(bovine serum albumin))에 재현탁시킨다. 결합 검사는 아래와 같이 설정된다. 먼저, 0.09 ml의 세포( $1 \times 10^5$  개 THP-1 세포/웰)는 이들 화합물을 포함하는 검사 플레이트에 첨가하고, 각 화합물에 대하여 선별(또는 화합물 IC<sub>50</sub> 결정을 위한 용량 반응의 일부)을 위한 ~2-10 μM의 최종 농도를 제공한다. 이후, 검사 완충액 내에서 ~50 pM의 최종 농도로 희석되고 ~30,000 cpm/웰을 산출하는 0.09 ml의 <sup>125</sup>I 표지된 MCP-1(Amersham; Piscataway, NJ)을 첨가하고, 플레이트는 밀봉하고 교반기 플랫폼(shaker platform) 위에서 4°C에서 대략 3시간 동안 배양한다. 반응물은 진공 세포 수확기(Packard Instruments; Meriden, CT) 위에서, 0.3% 폴리에틸렌이민(PEI) 용액에 미리 적셔진 GF/B 유리 필터로 흡입시킨다. 신틸레이션 액(scintillation fluid)(50 μl; Microscint 20, Packard Instruments)을 각 웰에 첨가하고, 플레이트는 밀봉하고 Top Count 신틸레이션 카운터(scintillation counter)(Packard Instruments)에서 방사성(radioactivity)을 측정한다. 희석제 단독(총계를 위하여) 또는 과량의 MCP-1(1 μg/ml, 비-특이적 결합을 위하여)을 포함하는 대조 웰(control well)은 화합물의 완전 저해(total inhibition)의 비율을 산정하는데 이용된다. 컴퓨터 프로그램 Prism(GraphPad, Inc., San Diego, Ca)을 이용하여 IC<sub>50</sub> 수치를 산정한다. IC<sub>50</sub> 수치는 수용체에 대한 표지된 MCP-1의 결합을 50% 감소시키는데 필요한 농도이다.

### 치료 방법

[0246] 치료되는 질환 및 치료 대상의 상태에 따라, 본 발명의 화합물과 조성물은 경구, 비경구(가령, 근육내, 복강내, 정맥내, ICV, 뇌실내 주사 또는 주입, 피하 주사, 또는 임플란트), 흡입, 비강, 질, 직장, 설하, 또는 국소 경로로 투여될 수 있고, 각 투여 경로에 적합한 통상적인 비-독성의 제약학적으로 허용되는 담체, 어쥬번트와 운반제를 함유하는 적절한 용량 단위 제제로 단독으로 또는 공동으로 제조될 수 있다. 또한, 본 발명에서는 저장소 제제(depot formulation)로 본 발명에 따른 화합물과 조성물의 투여를 고려한다.

[0247] 일반적으로, 케모킨 수용체 조절을 요하는 질환의 치료 또는 예방에 적합한 용량 수준은 단일 또는 다중 분량으로 투여될 수 있는 환자 체중 kg당 대략 0.001 내지 100 mg/day이다. 적절하게는, 용량 수준은 대략 0.01 내지 25 mg/kg/day; 바람직하게는, 대략 0.05 내지 10 mg/kg/day이다. 적합한 용량 수준은 대략 0.01 내지 25 mg/kg/day, 대략 0.05 내지 10 mg/kg/day, 또는 대략 0.1 내지 5 mg/kg/day이다. 이런 범위 내에 용량은 0.005 내지 0.05, 0.05 내지 0.5, 0.5 내지 5.0, 또는 5.0 내지 50 mg/kg/day이다. 적절하게는, 경구 투여용 조성물은 치료받는 환자에 대한 용량의 증상 조절을 위하여 1.0 내지 1000 mg, 특히, 1.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0,

25.0, 50.0, 75.0, 100.0, 150.0, 200.0, 250.0, 300.0, 400.0, 500.0, 600.0, 750.0, 800.0, 900.0, 1000.0 mg의 활성 성분을 함유하는 정제 형태로 제공된다. 이들 화합물은 일일 1회 내지 4회, 바람직하게는, 일일 1-2회 섭생으로 투여된다.

[0248] 하지만, 특정 환자에 특이적인 용량 수준과 투약 빈도는 이용된 특정 화합물의 활성, 상기 화합물의 대사 안정성과 작용 기간, 연령, 체중, 유전적 특성, 전반적인 건강, 성별, 식이, 투여 양식과 투여 기간, 배출 속도, 약물 조합, 특정 질환의 심각도, 치료를 받는 대상을 비롯한 다양한 인자에 좌우될 것이다.

#### CCR2 화합물과 병용되는 약제

[0249] CCR2 화합물과 병용되는 약제

[0250] 본 발명의 CCR2 길항물질과 병용될 수 있는 약학적 작용제(pharmacological agent)에는 죽상동맥경화증, 재협착증, 다발성 경화증, 폐 섬유증, 염증성 장 질환, 류머티스성 관절염, 이식편-대-숙주 질환, 신장 섬유증, 건선, 이식 거부반응, 비만, 당뇨병, 고콜레스테롤혈증과 암의 치료에 이용되는 것들이 포함된다.

[0251] 또 다른 구체예에서, 본 발명의 방법은 알레르기 질환의 치료를 목적하는데, 여기서 본 발명의 화합물이나 조성물은 단독으로 또는 제 2 치료제와 공동으로 투여되고, 여기서 제 2 치료제는 항히스타민제이다. 병용의 경우에, 전문의는 본 발명의 화합물이나 조성물 및 제 2 치료제의 조합을 투여할 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물이나 조성물 및 제 2 치료제는 임의의 순서로 순차적으로 투여할 수 있다.

[0252] 본 발명의 화합물과 조성물은 목적 질환이나 장애, 예를 들면, 염증성 장 질환을 비롯한 염증 장애와 질환, 알레르기 질환, 건선, 아토피성 피부염과 천식 및 상기한 병리를 예방하고 치료하는데 유용한 다른 화합물이나 조성물과 혼합할 수 있다. 당업자는 병용 요법에 적합한 약제를 선택할 수 있다. 치료제의 조합은 다양한 질환의 치료 또는 예방에서 상승적으로 작용할 수 있다. 이런 접근법을 이용하여, 각 약제의 더욱 감소된 용량으로 치료 효능을 달성하고 잠재적 부작용을 줄일 수 있다.

[0253] 염증의 위험을 치료, 예방, 경감, 통제 또는 감소시키는데 있어, 본 발명의 화합물은 소염제 또는 진통제(가령, 아편제(opiate) 작용물질, 리폭시게나아제 저해물질(lipoxygenase inhibitor)(가령, 5-리폭시게나아제 저해물질), 사이클로옥시게나제 저해물질(cyclooxygenase inhibitor)(가령, 사이클로옥시게나제-2 저해물질), 인터루킨 저해물질(intertekin inhibitor)(가령, 인터루킨-1 저해물질), NMDA 길항물질, 산화질소(nitric oxide) 저해물질 또는 산화질소 핵성의 저해물질, 비-스테로이드성 소염제(non-steroidal anti-inflammatory agent), 또는 사이토킨-억제 소염제(cytokine-suppressing anti-inflammatory agent)와 공동으로, 예를 들면, 아세트아미노펜(acetaminophen), 아스피린(aspirin), 코데인(codeine), 생물학적 TNF 격리제(sequestrant), 펜타닐(fentanyl), 이부프로펜(ibuprofen), 인도메타신(indomethacin), 케토롤락(ketorolac), 모르핀(morphine), 나프록센(naproxen), 폐나세틴(phenacetin), 피록시캄(piroxicam), 스테로이드성 진통제(steroiod analgesic), 수펜타닐(sufentanyl), 수닐린닥(sunlindac), 테니답(tenidap) 등과 같은 화합물과 공동으로 이용될 수 있다.

[0254] 유사하게, 본 발명의 화합물은 통증 완화제(pain reliever); 증강제(potentiator), 예를 들면, 카페인(caffeine), H2-길항물질, 시메티콘(simethicone), 또는 수산화알루미늄 또는 수산화마그네슘; 충혈완화제(decongestant), 예를 들면, 슈도페드린(pseudophedrine); 진해제(antitussive), 예를 들면, 코데인(codeine); 이뇨제(diuretic); 진정성(sedating) 또는 비-진정성(non-sedating) 항히스타민(antihistamine); 극후기 항원(very late antigen, VLA-4) 길항물질; 면역억제제(immunosuppressant), 예를 들면, 사이클로스포린(cyclosporin), 타크롤리무스(tacrolimus), 라파마이신(rapamycin), EDG 수용체 작용물질, 또는 다른 FK-506 타입 면역억제제; 스테로이드(steroiod); 비-스테로이드성 천식치료제(non-steroidal anti-asthmatic agent), 예를 들면,  $\beta$ 2-작용물질, 루코트리엔(leukotriene) 길항물질, 또는 루코트리엔 생합성 저해물질(leukotriene biosynthesis inhibitor); 포스포디에스테라제 4형(phosphodiesterase type IV, PDE-IV)의 저해물질; 콜레스테롤 강하제(cholesterol lowering agent), 예를 들면, HMG-CoA 환원효소 저해물질(reductase inhibitor), 격리제(sequestrant), 또는 콜레스테롤 흡수 저해물질(cholesterol absorption inhibitor); 당뇨병치료제(anti-diabetic agent), 예를 들면, 인슐린(insulin),  $\alpha$ -글루코시다아제 저해물질, 또는 글리타존(glitazone)과 함께 투여될 수 있다.

[0255] 본 발명의 화합물 : 제 2 활성 성분의 중량 비율은 각 성분의 효과량에 따라 달라질 것이다. 일반적으로, 각각의 효과량이 이용된다. 가령, 본 발명의 화합물을 NSAID와 병용하는 경우에, 본 발명의 화합물 : NSAID의 중량 비율 범위는 일반적으로, 대략 1000:1 내지 대략 1:1000, 바람직하게는, 대략 200:1 내지 대략 1:200이다. 본 발명의 화합물과 다른 활성 성분의 조합 역시 일반적으로 상기한 범위 내에 속하지만, 각 경우에 각 활성 성분

의 효과량이 이용되어야 한다.

**[0256] CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법**

또 다른 측면에서, 본 발명은 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료 또는 예방하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 화학식 (I) 화합물의 치료 효과량을 이런 장애 또는 질환을 앓는 개체에 투여하는 단계를 포함한다. 본 발명에 이용되는 화합물은 화학식 (I)에 따른 화합물, 구체예로서 앞서 제시된 화합물, 아래의 실시예에서 구체적으로 예시된 화합물 및 본 명세서에 특정 구조가 제시된 화합물을 포함한다. 본 명세서에서, “치료 대상(또는 개체)”은 동물, 예를 들면, 영장류(가령, 인간), 소, 양, 염소, 말, 개, 고양이, 토끼, 쥐, 생쥐 등이 포함되지만 이들에 국한되지 않는 동물을 의미한다. 바람직한 구체예에서, 치료 대상은 인간이다.

본 명세서에서, “CCR2-매개된 장애 또는 질환” 및 관련된 용어는 부적절한, 다시 말하면, 정상적인 CCR2 기능 활성보다 높거나 낮은 CCR2 기능 활성으로 특징되는 장애 또는 질환을 의미한다. 부적절한 CCR2 기능 활성은 정상 상태에서 CCR2를 발현하지 않는 세포에서 CCR2 발현, 증가된 CCR2 발현(예로써, 염증 질환 및 면역조절 장애와 질환을 초래함) 또는 감소된 CCR2 발현의 결과로서 발생할 수 있다. 부적절한 CCR2 기능 활성은 정상 상태에서 MCP-1을 분비하지 않는 세포에 의한 MCP-1 분비, 증가된 MCP-1 발현(예로써, 염증 질환 및 면역조절 장애와 질환을 초래함) 또는 감소된 MCP-1 발현의 결과로서 발생할 수도 있다. CCR2-매개된 장애 또는 질환은 부적절한 CCR2 기능 활성에 의해 완전히 또는 부분적으로 매개된다. 하지만, CCR2-매개된 장애 또는 질환은 CCR2의 조절이 기초 장애 또는 질환에 상당한 영향을 주는 질환이다(가령, CCR2 길항물질은 최소한 일부 환자에서 환자 복지의 상당한 개선을 결과한다). 게다가, MCP-2, 3과 4 역시 CCR2 리간드이다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반한다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 CCR2-매개된 장애 또는 질환은 죽상동맥경화증이다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 CCR2-매개된 장애 또는 질환은 재협착증이다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 CCR2-매개된 장애 또는 질환은 다발성 경화증이다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 CCR2-매개된 장애 또는 질환은 염증성 장 질환, 신장 섬유증, 류머티스성 관절염, 비만, 또는 비-인슐린-의존성 당뇨병에서 선택된다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 CCR2-매개된 장애 또는 질환은 2형 당뇨병이다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 CCR2-매개된 장애 또는 질환은 만성 폐쇄성 폐 질환, 특발성 폐 섬유증, 또는 특발성 폐렴 증후군에서 선택된다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 투여는 경구, 비경구, 직장, 경피, 설하, 비강 또는 국소 투여이다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 화합물은 소염제 또는 진통제와 공동으로 투여된다.

한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발

명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 소염제 또는 진통제 역시 투여된다.

[0269] 한 구체예에서, 본 발명에서는 세포 내에서 CCR2 기능을 조절하는 방법을 제시하는데, 여기서 세포 내에서 CCR2 기능은 본 발명에 따른 화합물의 CCR2 조절량을 상기 세포와 접촉시킴으로써 조절된다.

[0270] 한 구체예에서, 본 발명에서는 CCR2-매개된 장애 또는 질환을 치료하는 방법을 제시하는데, 상기 방법은 본 발명에 따른 화합물이나 조성물의 안전한 효과량을 치료 대상에 투여하는 단계를 수반하고, 여기서 질환은 폐 섬유증, 이식 거부반응, 이식편-대-숙주 질환, 또는 암에서 선택된다.

[0271] 또 다른 구체예에서, 본 발명의 방법은 건선의 치료를 목적하는데, 여기서 본 발명의 화합물이나 조성물은 단독으로 또는 제 2 치료제와 공동으로 투여되고, 여기서 제 2 치료제는 코르티코스테로이드, 윤활제, 각질분해제 (keratolytic agent), 비타민 D<sub>3</sub> 유도체, PUVA와 안트랄린이다.

[0272] 다른 구체예에서, 본 발명의 방법은 아토피성 피부염의 치료를 목적하는데, 여기서 본 발명의 화합물이나 조성물은 단독으로 또는 제 2 치료제와 공동으로 투여되고, 여기서 제 2 치료제는 윤활제와 코르티코스테로이드이다.

[0273] 또 다른 구체예에서, 본 발명의 방법은 천식의 치료를 목적하는데, 여기서 본 발명의 화합물이나 조성물은 단독으로 또는 제 2 치료제와 공동으로 투여되고, 여기서 제 2 치료제는  $\beta$ 2-작용물질과 코르티코스테로이드이다.

#### 조절물질의 제조

[0275] 아래의 실시예는 본 발명을 설명할 뿐 이를 한정하지 않는다.

[0276] 또한, 당업자가 인지하는 바와 같이, 본 발명에서 청구된 분자는 다양한 표준 유기 화학 변환 방법을 이용하여 합성할 수 있다.

[0277] 본 발명에서 목적 화합물을 합성하는데 광범위하게 이용되는 일반적인 반응 유형은 실시예에 요약된다. 구체적으로, Friedel-Crafts 방식을 통한 술폰아마이드 형성, 피리딘 N-옥사이드 형성 및 2-아미노페닐-아릴메타논 합성을 위한 일반적 절차를 제시하지만, 다양한 다른 표준 화학 작용이 통상적으로 이용될 수 있다.

[0278] 본 발명의 화합물을 제조하는데 이용할 수 있는 대표적인 합성 유기 변환 방법을 아래에 제시하지만, 이를 방법은 본 발명을 한정하지 않는다.

[0279] 대표적인 변환 방법은 아래와 같다: 표준 기능기 조작; 니트로의 아미노로의 환원; 알코올과 피리딘을 비롯한 기능기의 산화; 니트릴, 메틸과 할로겐을 비롯한 다양한 작용기의 도입을 위한 IPSO 또는 다른 기전을 통한 아릴 치환; 보호기 도입과 제거; Grignard 형성과 친전자체와의 반응; Buckvald, Suzuki와 Sonigashira 반응을 비롯한 금속-매개된 가교 결합; 할로겐화 반응 및 다른 친전자성 방향족 치환 반응; 디아조늄 염 형성과 이들 화학종의 반응; 에테르화 반응; 헤테로아릴기를 유도하는 고리 축합(cyclative condensation), 탈수, 산화와 환원; 아릴 금속화 반응과 트랜스메틸레이션(transmetalation) 및 산성 클로라이드 또는 Weinreb 아마이드와 같은 친전자체와 아릴-금속 화학종의 반응; 아마이드화 반응; 에스테르화 반응; 친핵성 치환 반응; 알킬화 반응; 아실화 반응; 술폰아마이드 형성; 클로로술포닐화 반응; 에스테르 및 관련된 가수분해물 등.

[0280] 본 발명에서 청구된 특정 분자는 상이한 거울상이성체(enantiomeric)와 부분입체성체(diastereomeric) 형태로 존재할 수 있는데, 이들 화합물의 이와 같은 모든 변이체는 본 발명의 범위 내에 속한다.

[0281] 아래의 합성물의 설명에서, 일부 전구체(precursor)는 상업적 공급원으로부터 구입하였다. 이들 상업적 공급원에는 Aldrich Chemical Co., Acros Organics, Ryan Scientific Incorporated, Oakwood Products Incorporated, Lancaster Chemicals, Sigma Chemical Co., Lancaster Chemical Co., TCI-America, Alfa Aesar, Davos Chemicals, GFS Chemicals 등이 포함된다.

[0282] 활성에 관련된 표에서 열거된 것들을 비롯하여 본 발명의 화합물은 아래의 실험 섹션에서 기술된 방법과 접근법으로, 그리고 당업자에게 널리 공지된 표준 유기 화학 변환 방법의 이용으로 제조될 수 있다.

#### 발명의 효과

[0283] 본 발명에 따른 화합물과 조성물은 다양한 면역 장애와 질환을 치료하는데 효과적이다.

## 도면의 간단한 설명

### [0284] 도면의 간단한 설명

도 1에서는 실시예 14에 기술된 바와 같은, 4-클로로-N-[5-메틸-2-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-카르보닐)-피리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드 나트륨 염의 XPRD (분말 X-선 회절) 스펙트럼을 도시한다.

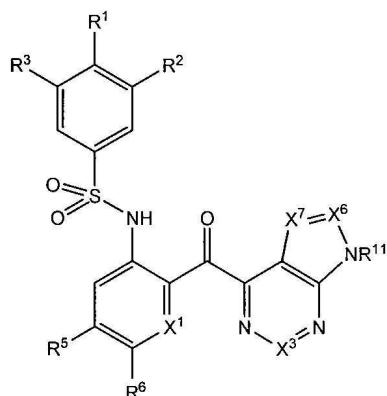
## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

### [0285] 실시예

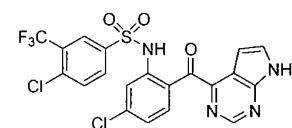
[0286] 아래의 화합물을 본 발명의 범위 내에 속한다:

표 1

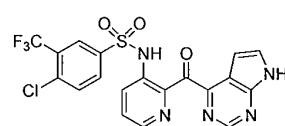
### 아래 화학식에 따른 화합물:



### [0287]



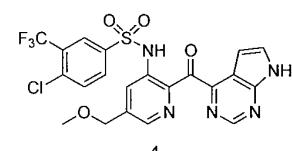
1



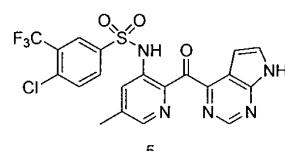
2



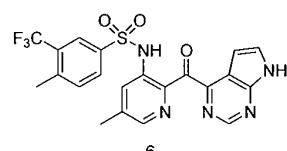
3



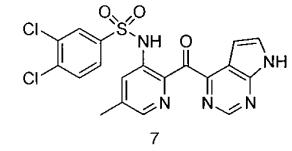
4



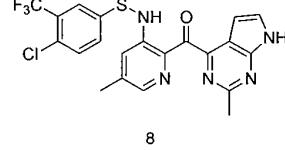
5



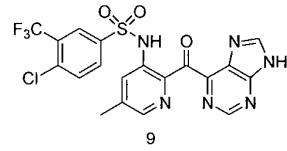
6



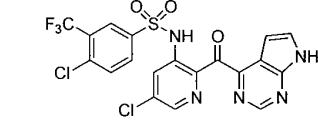
7



8



9



10

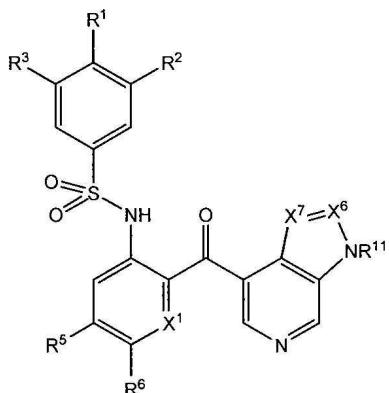
### [0288]

### [0289]

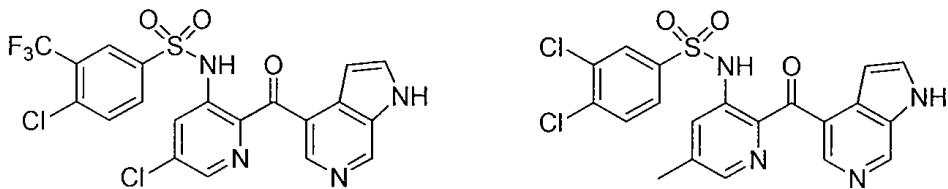
[0290] 화합물 1-10은 CCR2 화학주성 검사에서 1000 nM 이하의 IC<sub>50</sub>을 갖는다.

## 표 2

## 아래 화학식에 따른 화합물:



[0291]



[0292]

11

12

[0293]

화합물 11과 12는 CCR2 화학주성 검사에서 1000 nM 이하의 IC<sub>50</sub>을 갖는다.

[0294]

상기 화합물 및 본 발명의 범위 내에 속하는 다른 화합물은 아래의 절차를 이용하여 제조하고 활성 CCR2 길항물질인 지를 조사할 수 있다.

[0295]

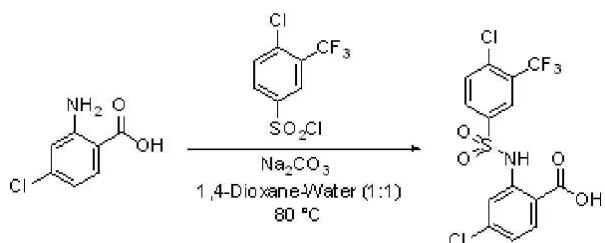
아래에 이용된 시약과 용매는 Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, Wisconsin, USA)와 같은 상업적 공급업체로부터 구입할 수 있다. <sup>1</sup>H-NMR은 Varian Mercury 400 MHz NMR 분광계에 기록하였다. 유의한 피크는 순차적으로 표로 작성한다: 다중성(br, 폭이 넓음; s, 단일항; d, 이중항; t, 삼중항; q, 사중항; m, 다중항) 및 양자수. 질량 분광분석 결과는 질량 대 전하의 비율, 이후 각 이온의 상대적 존재비(팔호)로 기록한다. 표에서, 단일 m/e 수치는 가장 일반적인 원자 동위원소를 보유하는 M+H(또는, M-H) 이온에서 보고된다. 모든 경우에 동위원소 패턴은 예상 화학식에 상응한다. 전자분사 이온화(electrospray ionization, ESI) 질량 분광분석법은 시료 전달을 위한 HP1100 HPLC를 이용한 Hewlett-Packard MSD 전자분사 질량 분광계에서 실행하였다. 일반적으로, 분석물은 0.1 mg/ml로 메탄올에 용해시키고, 전달 용매(delivery solvent)로 1 μl를 질량 분광계에 주입하였는데, 상기 분광계는 100 내지 1500 달톤 범위를 주사(scan)하였다. 모든 화합물은 1% 포름산을 포함하는 아세토니트릴/물을 전달 용매로 이용하는 양성 ESI 양식에서 분석할 수 있다. 아래에 제공된 화합물은 아세토니트릴/물에 녹인 2mM NH<sub>4</sub>OAc를 전달 시스템으로 이용하는 음성 ESI 양식에서 분석할 수도 있다.

[0296]

중간물질의 제조

[0297]

중간물질 1: 4-클로로-2-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-벤조산

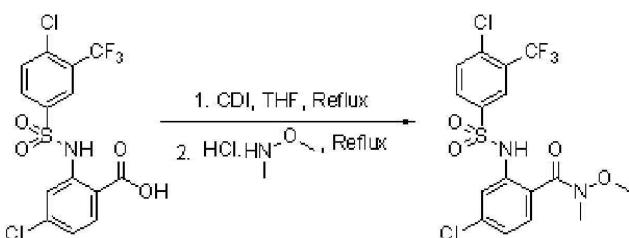


[0298]

[0299] 물(50 mL)과 1,4-디옥산(50 mL)에 녹인  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (11.7 g, 110.7 mmol) 용액에 60 °C에서, 2-아미노-4-클로로-벤조산(5.0 g, 29.14 mmol)과 4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐 염화물(20.15 g, 72.48 mmol)을 3회 분할량으로 순차적으로 첨가하고, 반응 혼합물은 80°C에서 4시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물이 산성( $\text{pH} = \sim 2$ )이 될 때까지 2N  $\text{HCl}$ 을 첨가하고, 획득된 백색 고체는 여과하고, 물로 세척하고, 높은 진공 하에 건조시켜 표제 화합물(7.8 g)을 65% 수율로 수득한다. MS(ES)  $\text{M}+\text{Na}$  예측됨 436.0, 관찰됨 435.8.

[0300]

중간물질 2: 4-클로로-2-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-N-메톡시-N-메틸-벤즈아마이드

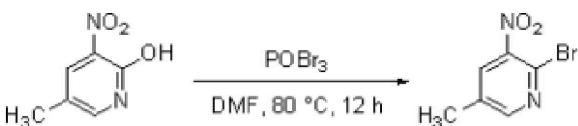


[0301]

[0302] THF(20 mL)에 녹인 4-클로로-2-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-벤조산(5.0 g, 12.1 mmol) 용액에  $\text{N},\text{N}'$ -카르보닐디이미다졸(CDI, 2.45 g, 15.13 mmol)을 분할량으로 첨가하였다(주의!:  $\text{CO}_2 \uparrow$ ). 반응 혼합물은 환류에서 가열하였다. 4 시간후, 반응 혼합물은 실온으로 냉각하고,  $\text{N},\text{O}$ -디메틸하이드록실아민 염산염(1.3 g, 13.31 mmol)으로 채우고, 환류에서 1시간 동안 가열하였다. 교반하면서 물(100 mL)과  $\text{EtOAc}$ (100 mL)를 순차적으로 첨가하였다.  $\text{EtOAc}$  층은 분리하고, 수층은  $\text{EtOAc}$ (2x50 mL)로 더욱 추출하였다. 모아진  $\text{EtOAc}$  층은 aq. 2N  $\text{HCl}$ (50 mL), 포화된  $\text{NaHCO}_3$  용액(50 mL)과 염수(50 mL)로 세척하고, 건조시키고( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 증발시켰다. 획득된 정제되지 않은 산물은 자동화 정상 크로마토그래피(automated normal-phase chromatography)(헥산에서 50%  $\text{EtOAc}$ )로 정제하여 표제 화합물(4.0 g)을 73% 수율로 수득하였다. MS(ES)  $\text{M}+\text{H}$  예측됨 457.0, 관찰됨 456.9.

[0303]

중간물질 3: 2-브로모-5-메틸-3-니트로페리딘:

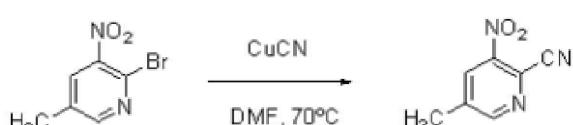


[0304]

[0305] 교반하면서 0-10°C에서 DMF(500 mL)에 녹인 2-하이드록시-5-메틸-3-니트로페리딘(100 g, 0.65 mol)에  $\text{POBr}_3$ (222.8 g, 0.78 mol)을 분할량으로 첨가하고, 이후 반응 혼합물은 질소 하에 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물은 냉각하고 으깨진 얼음(1 kg)에 부어넣고, 획득된 고체는 여과하고, 차가운 물(2x500 mL)로 충분히 세척하고, 높은 진공 하에 건조기에서 하루 동안 건조시켜 2-브로모-5-메틸-3-니트로페리딘을 황색 고체(121 g)로서 86% 수율로 수득하였다.( $\text{M}+\text{H}$ ) 예측됨: 217; 관찰됨 216.9.

[0306]

중간물질 4: 2-시아노-5-메틸-3-니트로페리딘:



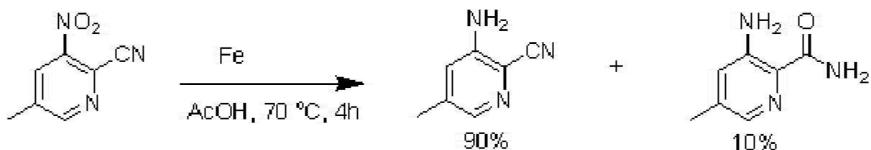
[0307]

[0308]

원형 바닥 플라스크를 2-브로모-5-메틸-3-니트로피리딘(60.53 g, 278.9 mmol)과 CuCN(27.52 g, 307.3 mmol)으로 채웠다. 상기 플라스크는 비우고 질소로 도로 채웠다. 캐뉼러를 통하여 DMF(150 mL)를 첨가하였다. 생성된 용액은 1.5시간 동안 70°C로 가열하였다. 실온으로 냉각후, 반응 혼합물은 EtOAc(500 mL)와 물(250 mL)에 부어 넣었다. 양쪽 상은 셀리트(celite)의 1 cm 베드(bed)를 통하여 여과하였다. 층은 분리하고, 유기상은 물(2×100 mL)과 1:1 sat. aq. NH<sub>4</sub>Cl/NH<sub>4</sub>OH 용액(2×100 mL)으로 순차적으로 세척하였다. 모아진 수층은 EtOAc(2×200 mL)로 추출하였다. 모아진 유기층은 MgSO<sub>4</sub>에서 건조시키고 진공에서 농축하여 표제 화합물(36.10 g, 79% 수율)을 수득하였다.

[0309]

중간물질 5: 3-아미노-2-시아노-5-메틸피리딘:



[0310]

[0311]

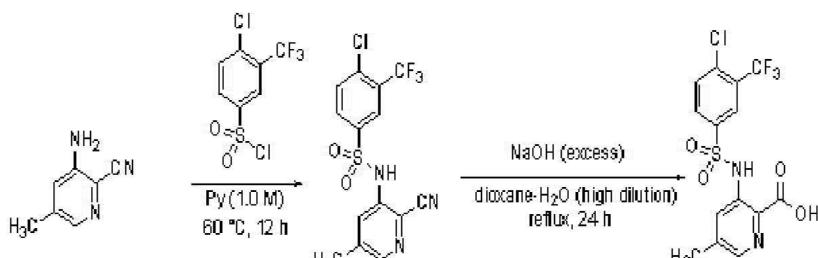
교반하면서 60°C에서, 기계식 교반기와 온도계(thermometer)가 구비된 3-구(neck) 2 ℥ 원형 바닥 플라스크에서 아세트산(300 mL)에 Fe 분말(99.6 g, 1.78 mol)을 첨가하였다. 부드럽게 가온하면서 2-시아노-5-메틸-3-니트로피리딘(97 g, 0.59 mol)을 아세트산(400 mL)에 용해시키고, 반응 온도가 3.5시간 동안 80°C 미만으로 유지되도록 효과적으로 교반하면서 상기 반응 혼합물에 방울방울 첨가하였다. 반응 혼합물은 추가로 30분 동안 더욱 교반하고, 냉각하고, EtOAc(750 mL)로 희석하고, 셀리트를 통하여 여과하고 EtOAc(1x500 mL, 3x250 mL)로 세척하였다. 모아진 EtOAc 층은 증발 건조시켜 짙은 갈색 고체를 획득하고, 이는 포화된 NaHCO<sub>3</sub> 용액(850 mL)으로 중화시키고, 물(250 mL)의 첨가후 균질물을 획득하고, 수층은 EtOAc(1x750 mL, 2x500 mL)로 추출하였다. 모아진 EtOAc 층은 여과하고, 실리카 겔의 소형 패드(소결된 깔때기(sintered funnel)에서 모래-SiO<sub>2</sub>-모래)를 통하여 여과하고, 건조시키고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 증발시켜 ~10% 상응하는 아마이드를 비롯하여 3-아미노-2-시아노-5-메틸피리딘(60g)을 황색 고체로서 76% 수율로 수득하였다.

[0312]

정제되지 않은 3-아미노-2-시아노-5-메틸피리딘(~10% 카르복사마이드 포함)(49 g)에 EtOAc(441 mL, 아닐린에 9:1 부피 비율(volume ratio))를 첨가하고, 생성된 혼탁액은 환류로 가열하여 투명한 용액을 형성하였다. 실온으로 냉각후, 생성된 결정은 여과로 회수하고, 소량의 차가운 EtOAc(44 mL(1/10 최초 부피) X 2)로 세척하고, 진공에서 건조시켜 순수한 3-아미노-2-시아노-5-메틸피리딘(35 g)을 연한 황색 침상 결정체로서 획득한다. 모액은 감압 하에 농축하고, 생성된 황색 고체는 EtOAc(136 mL)를 첨가하고 상기 과정을 반복하여 4 g의 순수한 3-아미노-2-시아노-5-메틸피리딘을 추가로 수득하였다; 전체 회수율 79.5%. <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.89(1H, s), 6.90(1H, s), 4.39(2H, br), 2.30(3H, s). MS(ES) M+H 예측됨 134.0, 관찰됨 134.0.

[0313]

중간물질 6: 3-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠솔포닐아미노)-5-메틸-피리딘-2 카르복실산:



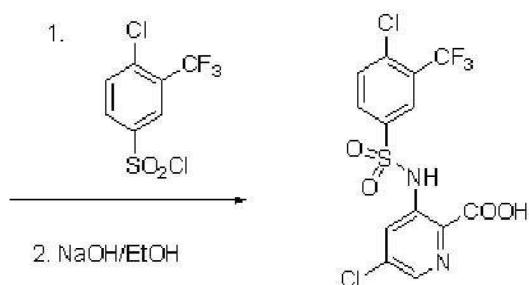
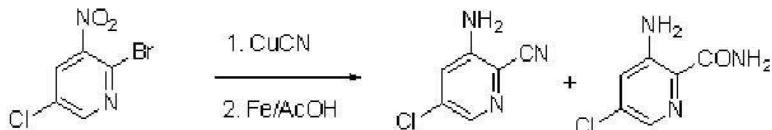
[0314]

[0315]

피리딘(63 mL)에 녹인 3-아미노-5-메틸피콜리노니트릴(9.6 g, 72 mmol)에 4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠솔포닐 염화물(19.6 g, 80 mmol)을 1회 분할량으로 첨가하고, 반응 혼합물은 하룻밤동안 60°C에서 교반하였다. 피리딘은 진공에서 제거하고, 2N HCl(100 mL)을 첨가하고, EtOAc(3x300 mL; 주의: 아마이드 존재로 인하여, EtOAc에서 용해도가 느리다)로 추출하였다. 모아진 EtOAc 층은 건조시키고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 증발시켜 26.3 g의 정제되지 않은 산물을 획득하는데, 상기 산물은 소량의 비스-술폰아마이드를 포함하고, 이는 실온에서 2시간 동안 2N NaOH(100 mL)와 함께 THF(200 mL)에서 가수분해시켰다. 2N HCl(100 mL)을 첨가하고, EtOAc(1x700 mL, 1x250 mL)로 추출하고, 모아진 EtOAc 층은 포화된 NaHCO<sub>3</sub> 용액(2x250 mL)으로 세척하고, 건조시키고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 증발시켜 22 g의 모노

술폰아마이드를 획득한다. 이러한 디옥산(350 mL)에, 물(450 mL)(주의: 신속한 반응을 위한 높은 희석도를 필요로 한다)과 그 이후에, NaOH(30 g, 0.75 mol)를 첨가하고 환류 하에 24시간 동안 교반하였다. 디옥산은 진공에서 제거하고, 냉각하면서 conc. HCl(75 mL)을 천천히 첨가하였다. 생성된 고체는 여과하고, 물로 세척하고, 진공에서 건조시켜 표제 화합물(22 g, 2 단계 동안 88%)을 밝은 황색 고체로서 수득하였다. (M+H)<sup>+</sup> 예측됨: 395.0; 관찰됨 394.9.

[0316] 중간물질 7: 5-클로로-3-(4-클로로-3-(트리플루오르메틸)페닐-술폰아미도)페놀린산



[0317]

[0318] 단계 1: 건조 250 mL 플라스크를 2-브로모-5-클로로-3-니트로페리딘(24 g, 101 mmol), CuCN(19 g, 212 mmol)과 DMF(100 mL)으로 채웠다. 혼합물은 110°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물은 감압 하에 농축하였다. 물(100 mL)을 첨가하고 EtOAc(3x250 mL)로 추출하였다. 모아진 유기층은 염수로 세척하고, 건조시키고(MgSO<sub>4</sub>), 여과하였다. 상기 용매를 진공에서 증발시켜 밝은 황색 고체(15 g)를 수득하였는데, 이는 다음 단계에 직접 이용하였다.

[0319]

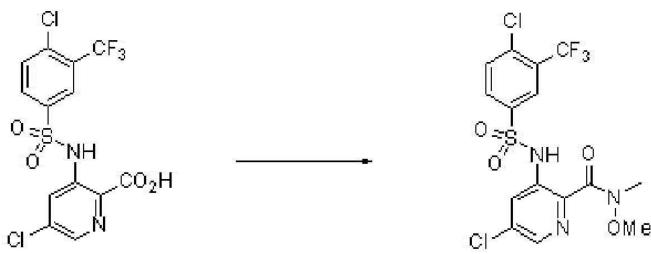
단계 2: 자석 교반 막대가 들어있는 250 mL 원형-바닥 플라스크를 아세트산(80 mL)에 담긴 철 분말(15.6 g, 0.3 mol)로 채우고 N<sub>2</sub> 하에 80°C로 가열하였다(항온 유조(oil bath)). 혼합물에 15분 동안 적하 깔때기(dropping funnel)를 통하여, 아세트산(80 mL)에 담긴 단계 1로부터 상기 니트로시아노페리딘(10 g, 55 mmol)을 천천히 첨가하였다. 혼합물은 첨가 이후에 추가로 30분 동안 80°C에서 교반하였다. 냉각후, 반응 혼합물은 EtOAc로 희석하고, 셀리트를 통하여 여과하고, 상기 용매를 진공에서 증발시켰다. 잔류물은 EtOAc에 용해시키고 3N NaOH와 염수로 세척하고, MgSO<sub>4</sub>에서 건조시키고, 진공에서 농축하여 3-아미노-2-시아노-5-클로로페리딘(다량)과 2-아마이드의 4:1 혼합물(7.7 g)을 수득하였다. 상기 혼합물은 다음 단계에 직접 이용하였다: MS(ES)(M+H)<sup>+</sup> 예측됨 154.0, 관찰됨 154.0.

[0320]

단계 3: 100 mL 원형-바닥 플라스크를 상기 3-아미노-2-시아노-5-클로로페리딘 혼합물(7.7 g, 50 mmol), 4-클로로-3-(트리플루오르메틸)벤젠술포닐 염화물(28 g, 100 mmol)과 페리딘(50 mL)으로 채웠다. 생성된 용액은 70°C로 가열하고 5시간 동안 교반하였다. 페리딘은 진공에서 제거하고 80% aq. EtOH(260 mL)과 NaOH(30 g, 0.75 mol)를 순차적으로 첨가하였다. 혼합물은 환류 하에 12시간 동안 교반하였다. 이후, 상기 용매를 진공에서 제거하고 얼음(100 g)을 첨가하였다. conc. HCl로 pH를 2-3으로 조정하였다. 생성된 수용액은 EtOAc로 추출하고, 염수로 세척하고, MgSO<sub>4</sub>에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 생성된 밝은 황색 고체는 EtOAc/헥산(1:1)으로부터 재결정화시켜 원하는 산을 백색 침상 결정체(10 g, 44% 전체 수율)로서 수득하였다: <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 10.80(s, 1H), 8.23(m, 3H), 8.00(d, 1H), 7.63(d, 1H); MS(ES)(M+H)<sup>+</sup> 예측됨 415.0, 관찰됨 415.0.

[0321]

중간물질 8: 5-클로로-3-(4-클로로-3-(트리플루오르메틸)-벤젠술포닐아미노)-페리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드

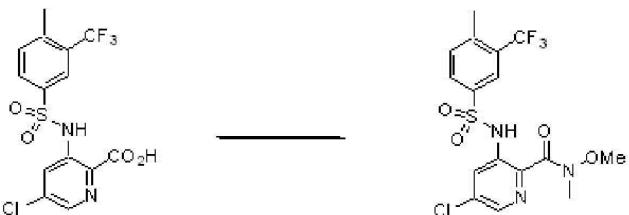


[0322]

[0323] 5-클로로-3-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-페리딘-2-카르복실산(15.8g, 38 mmol), *N,O*-디메틸하이드록실아민 염산염(11.1 g, 114 mmol), DIEA(41 mL, 228 mmol)과 BOP(69 g, 156 mmol)은 80 mL DMF에서 혼탁시키고 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 반응 혼합물은 1(M) HCl(100 mL)로 회석하고 EtOAc로 추출하고, 유기 부분은 1(M) 수성 HCl, NaHCO<sub>3</sub>과 염수로 세척하였다. 모아진 유기 추출물은 건조시키고(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 생성된 잔류물은 플래시 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 5-클로로-3-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-페리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드를 수득하였다: MS *m/z*: (M<sup>+</sup>H) 458.0.

[0324]

중간물질 9: 5-클로로-3-(4-메틸-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-페리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드

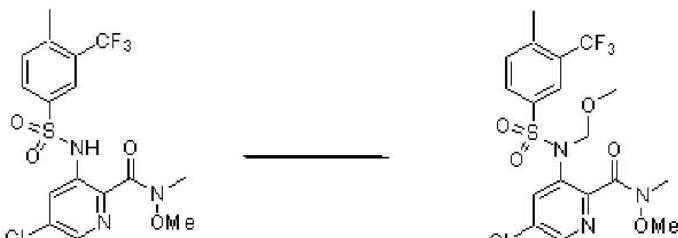


[0325]

[0326] 중간물질 10: 5-클로로-3-(4-메틸-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-페리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드는 선행 실시예에 기술된 절차에 따라, 5-클로로-3-(4-메틸-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-페리딘-2-카르복실산으로부터 제조하였다.

[0327]

중간물질 11: 5-클로로-3-[메톡시메틸-(4-메틸-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐)-아미노]-페리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드

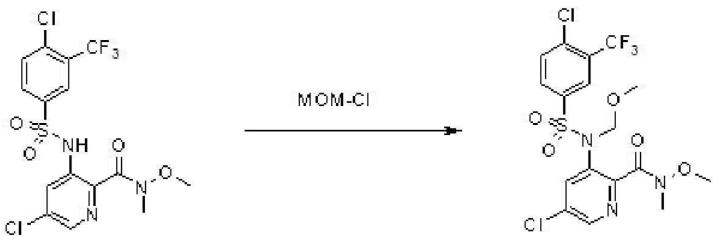


[0328]

[0329] 5 mL의 THF에 녹인 수소화나트륨(164 mg, 4.10 mmol) 혼합물에, 5 mL의 THF에 녹인 5-클로로-3-(4-메틸-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-페리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드(1.50 g, 3.42 mmol)와 클로로메틸 메틸 에테르(0.388 mL, 5.13 mmol)의 혼합물을 첨가하였다. 생성된 혼합물은 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 용매의 제거후, 잔류물은 플래시 칼럼(헥산에서 20% 에틸 아세테이트)으로 정제하여 1.50 g의 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다: (M<sup>+</sup>H) 예측됨 482.0, 관찰됨 482.0.

[0330]

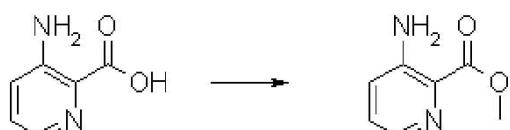
중간물질 12: 5-클로로-3-[메톡시메틸-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐)-아미노]-페리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드



[0331]

8 mL의 THF에 녹인 수소화나트륨(314 mg, 7.86 mmol) 혼탁액에, 8 mL의 THF에 녹인 5-클로로-3-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-피리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드(3.0 g, 6.55 mmol)와 클로로메틸 메틸 에테르(0.741 mL, 9.825 mmol)의 혼합물을 첨가하였다. 생성된 혼합물은 실온에서 하룻밤동안 교반하였다. 용매의 제거후, 잔류물은 플래시 칼럼(헥산에서 20% 에틸 아세테이트)으로 정제하여 2.70 g의 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다.  $(M+H)^+$  예측됨 502.0, 관찰됨 502.0.

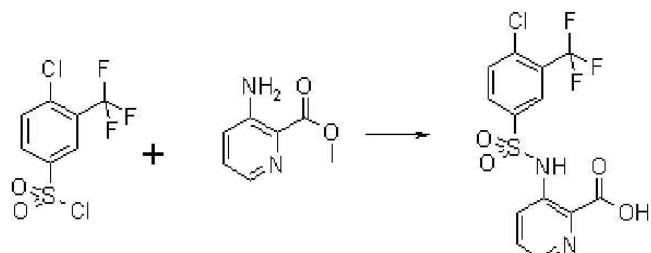
[0333] 중간물질 13: 3-아미노-피리딘-2-카르복실산 메틸 에스테르



[0334]

400 mg(2.9 mmol)의 3-아미노-피리딘-2-카르복실산을 3 mL의 메탄올에 용해시켰다. 생성된 용액에, 디에틸 에테르에 녹인 1.6 mL의 2M (트리메틸실릴)디아조메탄 용액을 0°C에서 방울방울 첨가하고, 혼합물은 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 생성된 용액은 에틸 아세테이트로 희석하고 수성 탄산나트륨 용액으로 세척하였다. 플래시 크로마토그래피로 에스테르 산물을 수득하였다. LC-MSD,  $C_7H_8N_2O_2$ 에 대한  $m/z [M+H]^+$  = 153.0; HPLC 체류 시간: 0.2 분.

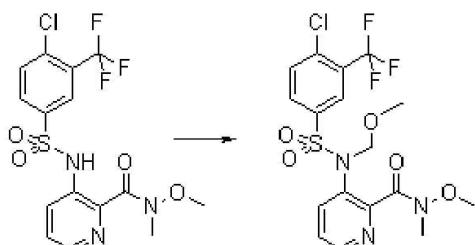
[0336] 중간물질 14: 3-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-피리딘-2-카르복실산



[0337]

중간물질 6의 제조에서 4-클로로-N-(2-시아노-5-메틸피리딘-3-일)-3-(트리플루오르메틸)벤젠술폰아마이드를 제조하는데 이용된 절차를 이용하여, 3 mL 피리딘에 녹인 0.60 g(2.17 mmol)의 4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐 염화물과 0.30 g(1.97 mmol)의 3-아미노-피리딘-2-카르복실산 메틸 에스테르로부터 제조됨. 상기 용매를 THF로 전환하고, 그 이후에 1 M 수성 LiOH를 첨가하고, 혼합물은 1시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물의 pH를 중성으로 조정하고, 산물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. LC-MSD,  $C_{13}H_8ClF_3N_2O_4S$ 에 대한  $m/z [M+H]^+$  = 380.9, 383.0; HPLC 체류 시간: 1.8 분.

[0339] 중간물질 15: 3-[(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤zen술포닐)-메톡시메틸-아미노]-피리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드

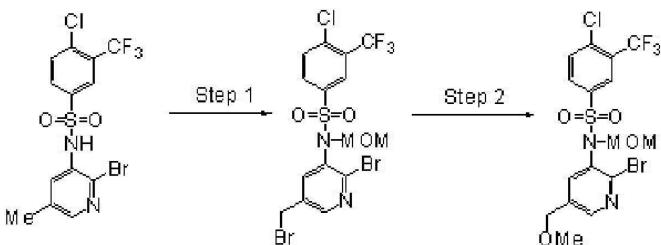


[0340]

[0341] 중간물질 12의 제조에 이용된 절차를 이용하여, 7 mL THF에 녹인 1.05 g(2.48 mmol)의 3-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-피리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드, 1.71 g의 탄산칼륨과 566  $\mu$ L의 메톡시메틸 염화물로부터 제조됨. 수율: 420 mg의 백색 고체. LC-MSD,  $C_{17}H_{17}ClF_3N_3O_5S$ 에 대한  $m/z$   $[M+Na]^+$  = 490.0, 491.9; HPLC 체류 시간: 2.5 분.

[0342]

중간물질 16: 4-클로로-N-(2-(5-메톡시-1H-피롤로[2,3-b]피리딘-4-카르보닐)-5-(메톡시메틸)피리딘-3-일)-3-(트리플루오르메틸)벤젠술포닐아마이드



[0343]

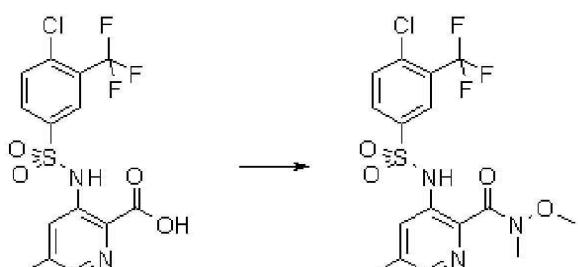
[0344] 단계 1: 탄소 테트라염화물(4 mL)에 녹인 브로모피리딘(132 mg, 0.28 mmol) 용액에 *N*-브로모모숙시니미드(60 mg, 1.2 equiv.)와 2,2'-아조비스이소부티로니트릴(AIBN, 4.6 mg, 0.1 equiv.)을 순차적으로 첨가하였다. 반응 혼합물은 60°C에서 하룻밤동안 가열하였다. 실온으로 냉각한 이후, 과량의 탄소 테트라염화물은 제거하고, 잔류물은 실리카 젤(33% EtOAc/헥산)에서 플래시 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 산물은 백색 고체(107 mg, 70%)로서 수득되었다. MS:  $(M+H)/z$  = 551.

[0345]

[0345] 단계 2: 상기 단계 1로부터 획득된 산물(51 mg, 0.093 mmol)은 3 mL의 메탄올에 용해시켰다. 생성된 용액에 나트륨 메톡사이드(10 mg, 2.0 equiv.)를 첨가하였다. 반응 혼합물은 50°C에서 하룻밤동안 가열하였다. 실온으로 냉각후, 반응은 포화된 염화암모늄 용액으로 진정시키고, 혼합물은 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물은 염수로 세척하고,  $MgSO_4$ 에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 정제되지 않은 물질은 실리카 젤(33% EtOAc/헥산)에서 플래시 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 산물은 백색 고체(42 mg, 90%)로서 수득되었다. MS:  $(M+H)/z$  = 503.

[0346]

중간물질 17: 3-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤zen술포닐아미노)-5-메틸-피리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드

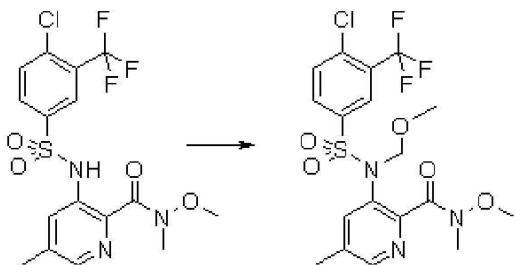


[0347]

[0348] 10.49 g(26.6 mmol)의 3-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤zen술포닐아미노)-5-메틸-피리딘-2-카르복실산은 40 mL의 환류 THF에 녹인 5.40 g(33.2 mmol)의 *N,N'*-카르보닐디이미다졸과 3시간 동안 반응시켰다. 온도를 50°C로 낮추고, 2.86 g(29.3 mmol)의 *O,N*-디메틸-하이드록실아민 염산염을 첨가하고, 반응물은 50°C에서 하룻밤동안 교반하였다. 상기 용매의 절반을 감압 하에 제거하고, 반응 혼합물은 200 mL의 차가운 물로 희석하였다. 고체는

여과하고, 100 mL의 물로 세척하고, 건조시켜 9.8 g(84%)의 산물을 황갈색 분말로서 수득하였다.

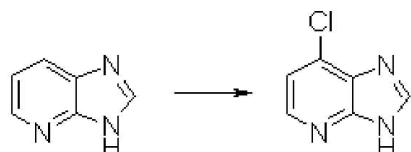
[0349] 중간물질 18: 3-[(4-클로로-3-트리플루오로메틸-벤젠술포닐)-메톡시메틸-아미노]-5-메틸-피리딘-2-카르복실산  
메톡시-메틸-아마이드



[0350]

[0351] 중간물질 12를 제조하는데 이용된 절차를 이용하여, 1 mL THF에 녹인 223 mg(0.51 mmol)의 3-(4-클로로-3-트리플루오로메틸-벤젠술포닐아미노)-5-메틸-피리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드, 352 mg의 탄산칼륨과 116  $\mu$ L의 메톡시메틸 염화물로부터 제조됨. 수율: 200 mg의 백색 고체. LC-MSD,  $C_{18}H_{19}ClF_3N_3O_5S$ 에 대한 m/z [M+H]<sup>+</sup> = 482.0, 484.0; HPLC 체류 시간: 2.5 분.

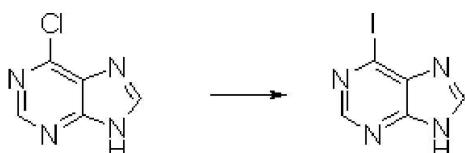
[0352] 중간물질 19: 7-클로로-3H-이미다조[4,5-b]피리딘



[0353]

[0354] 상기 산물은 *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 3165-3168로부터 절차에 따라서 제조하였다.

[0355] 중간물질 20: 6-요오드-9H-푸린

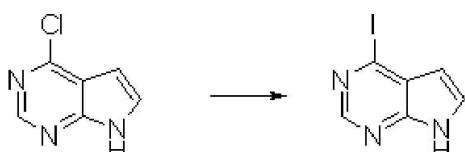


[0356]

[0357] 6-클로로-9H-푸린(684 mg, 4.46 mmol)과 6 mL의 57% 요오드화수소산의 혼합물은 0°C에서 1.5시간 동안 교반하였다. 이러한 반응으로 840 mg의 산물을 백색 분말로서 획득하였다. 상기 고체는 여과하고, 5 mL의 물에 혼탁시키고, 수성 암모니아 용액으로 pH=8로 조정하였다. 생성된 혼탁액은 0°C로 냉각하고, 생성된 고체는 여과하고, 차가운 물로 세척하고, 건조시켜 상기 산물을 수득하였다.

[0358]

중간물질 21: 4-요오드-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘

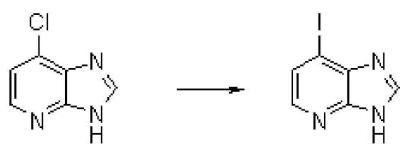


[0359]

[0360] 4-클로로-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘(673 mg, 4.41 mmol)과 7 mL의 57% 요오드화수소산의 혼합물은 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 생성된 고체는 여과하고, 5 mL의 물에 혼탁시키고, 수성 암모니아 용액으로 pH=8로 조정하였다. 생성된 혼탁액은 0°C로 냉각하고, 생성된 고체는 여과하고, 차가운 물로 세척하고, 건조시켜 970 mg의 산물을 백색 분말로서 수득하였다. 상기 산물은 출발 물질의 대략 10%를 내포한다.

[0361]

중간물질 22: 7-요오드-3H-이미다조[4,5-b]피리딘



[0362]

[0363] 7-클로로-3H-이미다조[4,5-b]피리딘(1.47 g, 9.64 mmol)과 15 mL의 57% 요오드화수소산의 혼합물은 80°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 생성된 고체는 여과한 이후, 10 mL의 새로운 57% 요오드화 수소산과 다시 반응시켰다. 이러한 반응으로 1.3 g의 산물을 흑색 분말(90% 순도)을 수득하였다.

[0364]

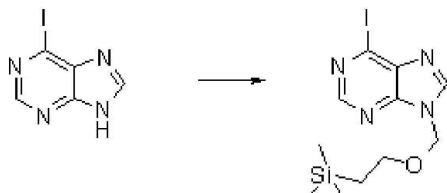
#### 요오드헤테로사이클의 *N*-보호를 위한 일반적인 절차

[0365]

1.65 mmol의 요오드헤테로사이클을 2 mL DMF에 용해시키고 0°C로 냉각하였다. 생성된 용액에 1.81 mmol의 60% 수소화나트륨을 첨가하고, 그 이후에 5분 동안 1.81 mmol의 트리메틸실릴에톡시메틸 염화물을 방울방울 첨가하였다. 용액은 0°C에서 0.5시간 동안, 그 이후에 실온에서 0.5시간 동안 교반하였다. 생성된 용액에 10 mL의 물을 첨가하고, 혼합물은 10 mL의 디에틸에테르로 2회 추출하였다. 유기층은 10 mL의 물로 세척하고, 무수성 황산 마그네슘에서 건조시키고, 감압 하에 증발시키고 헥산에서 에틸 아세테이트를 이용한 실리카에서 정제하였다.

[0366]

중간물질 23: 6-요오드-9-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-9H-푸린

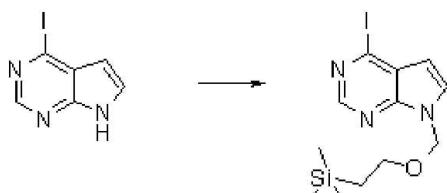


[0367]

[0368] 405 mg(1.65 mmol)의 6-요오드-9H-푸린을 2 mL DMF에 용해시켰다. 72 mg(1.81 mmol)의 60% 수소화나트륨을 첨가하고, 그 이후에 320 μL(1.81 mmol)의 트리메틸실릴에톡시메틸 염화물을 첨가하였다. 수율: 343 mg의 지성 산물.

[0369]

중간물질 24: 4-요오드-7-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘

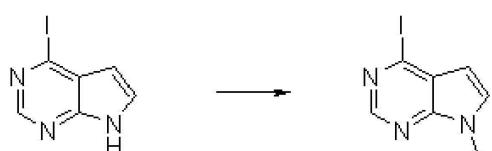


[0370]

[0371] 610 mg(2.49 mmol)의 4-요오드-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘을 2.5 mL DMF에 용해시켰다. 110 mg(2.74 mmol)의 60% 수소화나트륨을 첨가하고, 그 이후에 480 μL(2.74 mmol)의 트리메틸실릴에톡시메틸 염화물을 첨가하였다. 수율: 750 mg의 지성 산물, 90% 순도.

[0372]

중간물질 25: 4-요오드-7-메틸-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘

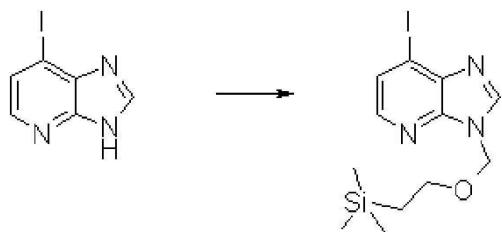


[0373]

[0374] 206 mg(0.84 mmol)의 4-요오드-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘을 1 mL DMF에 용해시켰다. 37 mg(0.92 mmol)의 60% 수소화나트륨을 첨가하고, 그 이후에 58 μL(0.92 mmol)의 요오드메탄을 첨가하였다. 반응은 10 mL의 물을 첨가함으로써 진정시키고, 생성된 고체는 여과하고, 10 mL의 물과 10 mL의 헥산으로 순차적으로 세척하고, 건조시켰다. 수율: 142 mg의 황갈색 분말, 90% 순도.

[0375]

중간물질 26: 7-요오드-3-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘

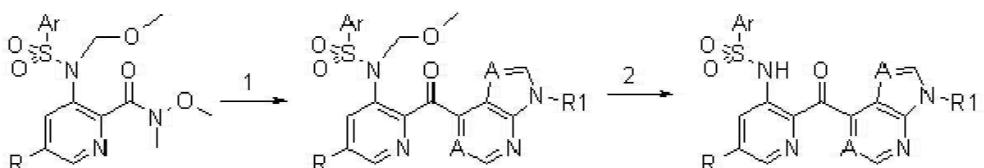


[0376]

[0377] 850 mg(3.47 mmol)의 7-요오드-3H-이미다조[4,5-b]피리딘을 3.5 ml DMF에 용해시켰다. 153 mg(3.82 mmol)의 60% 수소화나트륨을 첨가하고, 그 이후에 670  $\mu$ l(3.82 mmol)의 트리메틸실릴에톡시메틸 염화물을 첨가하였다. 수율: 424 mg의 지성 산물, 90% 순도.

[0378]

일반적인 절차 A: Weinreb 아마이드로부터 케톤의 제조



[0379]

[0380] 단계 1: Grignard 시약의 첨가

[0381]

1 mmol의 요오드헤테로사이클을 질소 공기 하에 4 ml THF에 용해시키고, -30°C로 냉각시켰다. THF에 녹인 0.50 ml의 이소프로필마그네슘 염화물 용액의 2M 용액을 방울방울 첨가하였다. 혼합물은 -10°C로 가온하고 10분 동안 교반하여 완전한 요오드-마그네슘 교환을 달성하였다. 생성된 용액은 -20°C로 냉각하고 1.0 mmol의 고형 Weinreb 아마이드를 첨가하였다. 5분후, 혼합물은 실온이 되도록 하고 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 수성 염화암모늄 용액을 첨가하고, 혼합물은 DCM으로 추출하였다. 유기층은 감압 하에 증발시켰다. 헥산에서 에틸 아세테이트를 이용한 실리카에서 플래시 크로마토그래피로 산물을 수득하였다.

[0382]

단계 2: 탈보호

[0383]

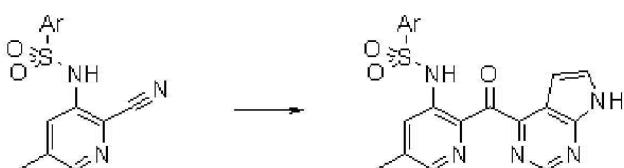
1 mmol의 보호된 케톤 중간물질을 20 ml의 메탄올과 20 ml의 6N 염화수소산의 혼합물에 용해시켰다. 생성된 용액은 밀봉된 튜브 내에서 95°C에서 8시간 동안 가열하고, 이후 냉각하고 증발시켰다. 잔류물은 메탄올성 암모ニア에 용해시키고 감압 하에 실리카 젤에서 증발시켰다. 헥산에서 에틸 아세테이트를 이용한 실리카에서 플래시 크로마토그래피로 산물을 황색 고체로서 수득하였다. 일부 사례에서, 순수한 산물을 획득하기 위하여 추가적인 역상 HPLC 정제 단계가 필요하였다.

[0384]

일반적인 절차 B:

[0385]

니트릴로부터 케톤의 제조를 위한 일반적인 절차



[0386]

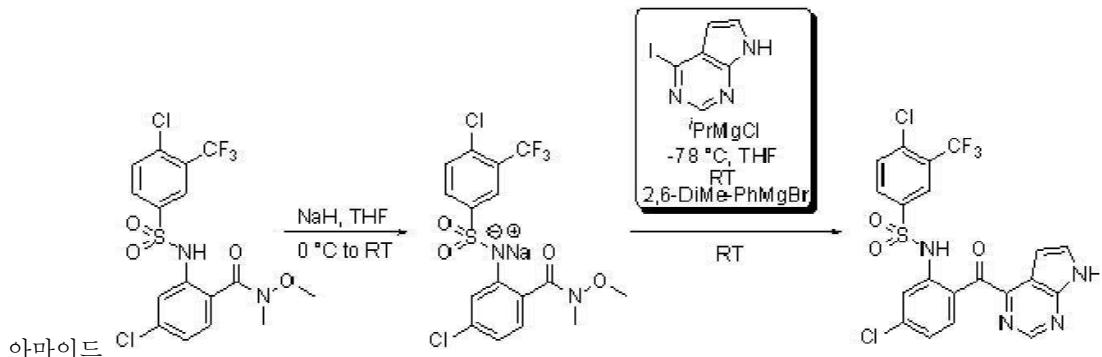
[0387] 1 mmol의 4-요오드-7H-피롤로[2,3-d]파리미딘을 질소 공기 하에 2.8 ml THF에 용해시키고 -10°C로 냉각하였다. THF에 녹인 0.50 ml의 페닐마그네슘 염화물 용액의 2M 용액, 그 이후에 THF에 녹인 0.50 ml의 이소프로필마그네슘 염화물 용액의 2M 용액을 방울방울 첨가하였다. 혼합물은 실온이 되도록 하고 1시간 동안 교반하여 완전한 요오드-마그네슘 교환을 달성하였다. 1 ml THF에 녹인 0.77 mmol의 상응하는 니트릴의 별도의 용액을 준비하고 여기에 0.96 mmol의 60% 수소화나트륨을 첨가하였다. 생성된 용액은 모으고, 혼합물은 45°C에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물은 실온으로 냉각하고 0.52 ml의 농축된 염화수소산을 첨가하고, 혼합물은 50°C에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 고체는 여과하고 3회 10ml 분할량의 THF, 그 이후에 10 ml의 디에틸에테르와 4회 분할량

의 1N 염화수소산으로 세척하였다. 고체는 수성 탄산나트륨과 에틸 아세테이트의 혼합물에 집어 넣었다. 유기층은 실리카 젤의 패드를 통과시키고 감압 하에 증발시켜 산물을 수득하였다.

[0388]

[0389]

실시예 1: 4-클로로-N-[5-클로로-2-(7H-페롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페닐]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰

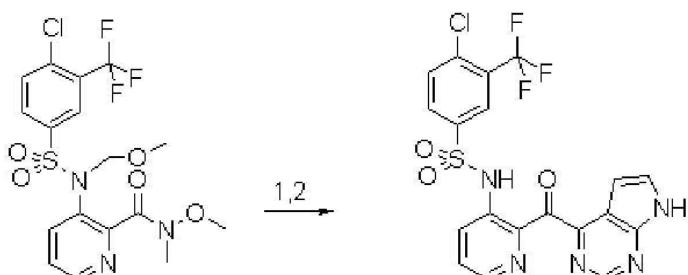


[0390]

*iPrMgCl*(3.84 mL, 7.56 mmol; THF에서 1.97 M 용액)을 -78°C에서, THF(5 mL)에 담긴 요오드-페롤로페리미딘(0.882 g, 3.6 mmol)에 첨가하였다. 15분후, 이는 실온으로 가온하고 2,6-디메틸페닐마그네슘 브롬화물(2.4 mL, 2.4 mmol; 디에틸 에테르에서 1.0 M 용액)을 첨가하였다. 생성된 반응 혼합물은 실온에서 4-클로로-2-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐아미노)-N-메톡시-N-메틸-벤즈아마이드의 나트륨 염 THF 용액[THF(5 mL)에 담긴 60% NaH(0.144 g, 3.6 mmol)를 첨가함으로써 별도로 제조됨]을 첨가하고 하룻밤동안 교반하였다. 포화된 NH<sub>4</sub>Cl 용액(5 mL)을 첨가하고 EtOAc(2x50 mL)로 추출하였다. EtOAc 층은 염수(25 mL)로 세척하고, 건조시키고 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 증발시켰다. 정제되지 않은 산물은 칼럼 정제(실리카 젤, 헥산에서 60% EtOAc)로 정제하고, 그 이후에 CH<sub>3</sub>CN으로부터 재결정화시켜 표제 화합물(1 g)을 결정성 황색 고체로서 67% 수율로 수득하였다. MS(ES) M+H 예측됨 515.0, 관찰됨 514.9. <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 10.75(s, 1H), 9.92(brs., 1H), 8.92(d, 1H), 8.05(s, 1H), 7.92(dd, 1H), 7.81(m, 2H), 7.58(m, 1H), 7.45(dd, 1H), 7.3(d, 1H), 6.9(m, 1H).

[0391]

실시예 2: 4-클로로-N-[2-(7H-페롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드



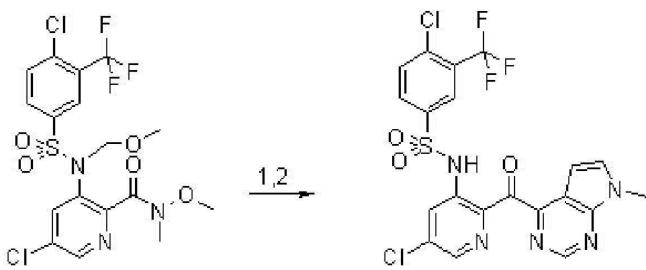
[0392]

[0393]

2 mL THF에 용해되고 THF에 녹인 0.32 mL의 2 M 이소프로필마그네슘 염화물 용액이 첨가된 248 mg(0.53 mmol)의 3-[(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐)-메톡시메틸-아미노]-페리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드와 239 mg(0.58 mmol)의 90% 4-요오드-7-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-7H-페롤로[2,3-d]페리미딘으로부터 제조됨. 모든 생성된 중간물질 케톤은 4 mL 메탄올과 4 mL 6N 염화수소산 혼합물과 함께 이차 단계에 이용하여 정제후, 29 mg의 최종 산물을 황색 고체로서 수득하였다.

[0394]

실시예 3: 4-클로로-N-[5-클로로-2-(7-메틸-7H-페롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드

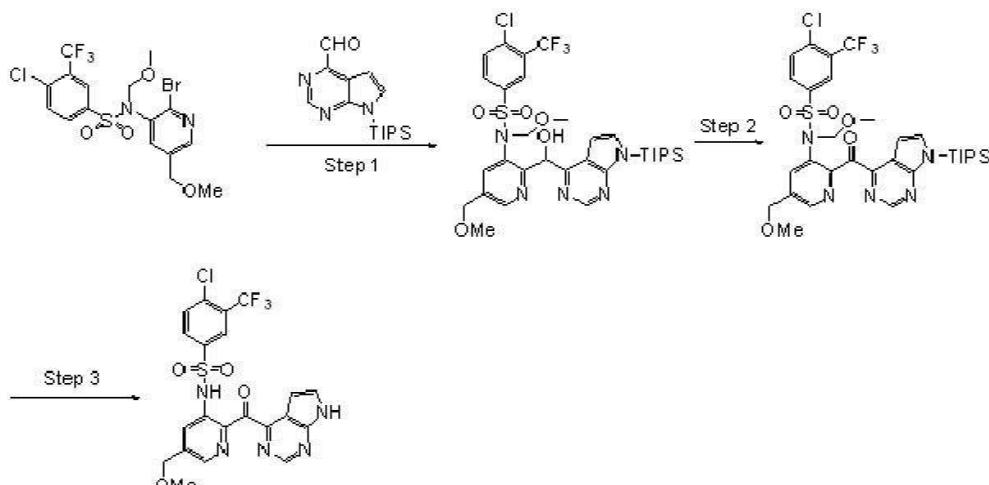


[0395]

2 mL THF에 용해되고 THF에 녹인 0.23 mL의 2 M 이소프로필마그네슘 염화물 용액이 첨가된 227 mg(0.45 mmol)의 5-클로로-3-[(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠슬포닐)-메톡시메틸-아미노]-페리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드와 129 mg(0.45 mmol)의 90% 4-요오드-7-메틸-7H-페롤로[2,3-d]페리미딘으로부터 제조됨. 모든 생성된 중간물질 케톤(80 mg)은 2 mL 에탄올과 2 mL 6N 염화수소산 혼합물과 함께 이차 단계에 이용하여 정제후, 45 mg의 최종 사물을 황색 고체로서 수득하였다.

[0397]

실시 예 4: 4-클로로-N-(5-(메톡시메틸)-2-(7H-페롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)페리딘-3-일)-3-(트리플루오로메틸)벤제술폰아마이드의 제조



[0398]

단계 1: THF(1 mL)에 녹인 실시예 13(단계 2)로부터 획득된 브로모페리딘(74 mg, 0.15 mmol) 용액에 0°C에서, 이소프로필마그네슘 염화물(147  $\mu$ L, THF에서 2.0M)을 방울방울 첨가하였다. 45분후, THF에 녹인 7-(트리이소프로필실릴)-7*H*-파리를로[2,3-*d*]페리미딘-4-카브알데하이드(67 mg, 0.22 mmol) 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온이 되도록 하고 하룻밤동안 교반하였다. 반응은 포화된 염화암모늄 용액으로 진정시키고, 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물은 염수로 세척하고,  $MgSO_4$ 에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 정제되지 않은 물질은 실리카 겔(33% EtOAc/헥산)에서 플래시 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 산물은 기포형성 황색 고체(45 mg, 42%)로서 수득되었다. MS: (M+H) $^+$  = 728.

〔0400〕

단계 2: 상기 단계 1로부터 획득된 산물(45 mg, 0.062 mmol)을 3 mL의 디클로로메탄에 용해시켰다. 생성된 용액에 Dess-Martin 폐리오디난(42 mg, 1.6 equiv.)을 첨가하고 하룻밤동안 실온에서 교반하였다. 반응은 10%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 으로 진정시키고, 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물은 포화된  $\text{NaHCO}_3$ 과 염수로 세척하고,  $\text{MgSO}_4$ 에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 정제되지 않은 물질은 실리카겔(33%  $\text{EtOAc}$ /헥산)에서 플래시 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 산물은 기포형성 황색 고체(35 mg, 78%)로서 수득되었다. MS: ( $\text{M}+\text{H})/\text{z} = 726$ .

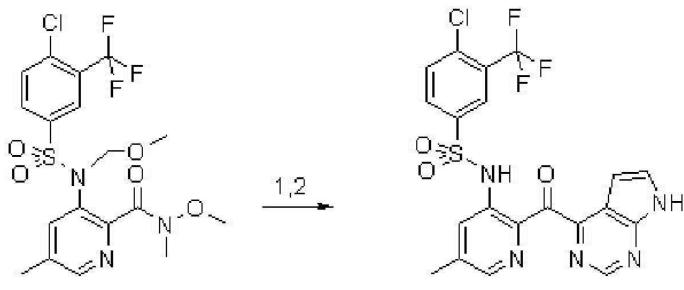
[0401]

단계 3: 상기 단계 2로부터 획득된 산물(35 mg, 0.048 mmol)을 4 mL의 HCl-디옥산(4.0 M)과 1 mL의 물에 용해시켰다. 혼합물을 85°C에서 30분 동안 가열하고 포화된 NaHCO<sub>3</sub>으로 진정시켰다. 혼합물은 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물은 염수로 세척하고, MgSO<sub>4</sub>에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 정제되지 않은 물질은 실리카겔(10% 메탄올/DCM)에서 플래시 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 산물은 황색 고체(15 mg, 60%)로서 수득되었다. MS: (M+H)<sup>+</sup> / z = 526.

[0402]

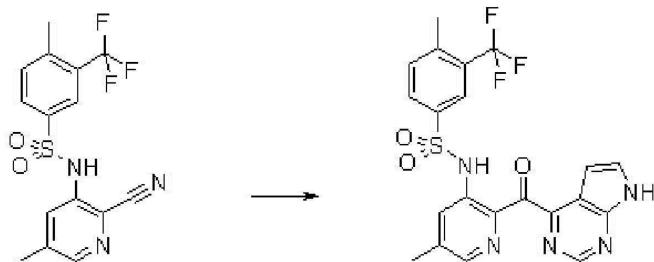
실시예 5: 4-클로로-N-[5-메틸-2-(7H-페롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤

## 젠술폰아마이드



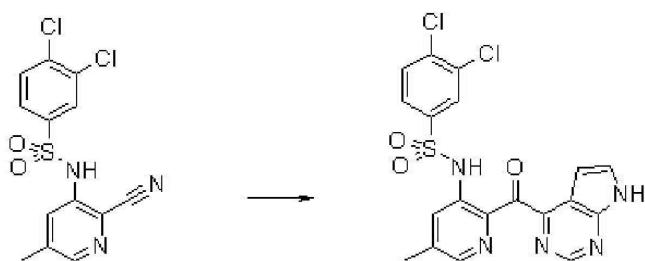
[0404] 2 ml THF에 용해되고 THF에 녹인 0.25 ml의 2M 이소프로필마그네슘 염화물 용액이 첨가된 200 mg(0.42 mmol)의 3-[(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐)-메톡시메틸-아미노]-5-메틸-피리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드와 202 mg(0.50 mmol)의 90% 4-요오드-7-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘으로부터 제조됨. 모든 생성된 중간물질 케톤은 2 ml 메탄올과 2 ml 6N 염화수소산 혼합물과 함께 이차 단계에 이용하여 정제후, 29 mg의 최종 산물을 황색 고체로서 수득하였다.

[0405] 실시예 6: 4-메틸-N-[5-메틸-2-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-카르보닐)-피리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드



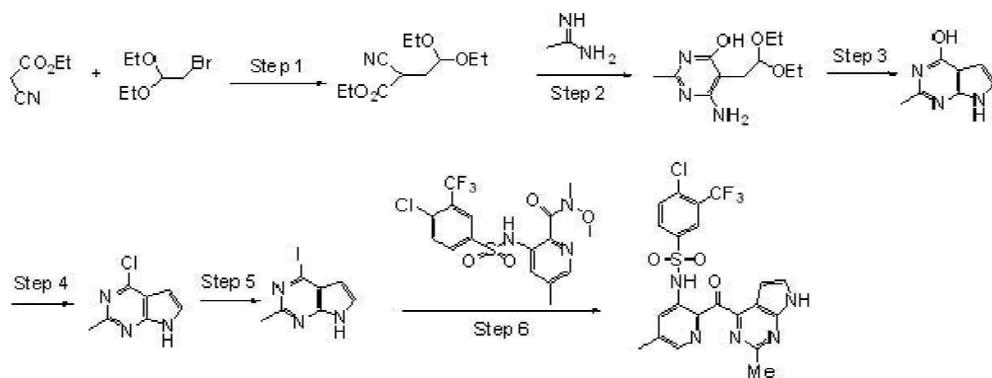
[0407] 496 mg(1.40 mmol)의 N-(2-시아노-5-메틸-피리딘-3-일)-4-메틸-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드와 2ml THF에서 70 mg(1.75 mmol)의 60% 수소화나트륨으로부터 제조됨. Grignard 용액은 5 ml THF에 용해되고 THF에 녹인 0.98 ml의 2M 페닐마그네슘 염화물 용액과 THF에 녹인 0.98 ml의 2M 이소프로필마그네슘 염화물 용액이 첨가된 467 mg(1.82 mmol)의 95% 4-요오드-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘으로부터 제조하였다. 이러한 반응으로 340 mg의 최종 산물을 황색 고체로서 수득하였다.

[0408] 실시예 7: 3,4-디클로로-N-[5-메틸-2-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-카르보닐)-피리딘-3-일]-벤젠술폰아마이드



[0410] 6 ml THF에 용해되고 THF에 녹인 1.16 ml의 1.8M 페닐마그네슘 염화물 용액과 THF에 녹인 1.06 ml의 2M 이소프로필마그네슘 염화물 용액이 첨가된 563 mg(1.55 mmol)의 3,4-디클로로-N-(2-시아노-5-메틸-피리딘-3-일)-벤젠술폰아마이드 나트륨 염과 506 mg(2.01 mmol)의 97% 4-요오드-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘으로부터 제조됨. 이러한 반응으로 471 mg의 최종 산물을 황색 고체로서 수득하였다.

[0411] 실시예 8: 4-클로로-N-(5-메틸-2-(2-메틸-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-카르보닐)피리딘-3-일)-3-(트리플루오르메틸)벤젠술폰아마이드의 제조



[0412]

[0413]

단계 1: DMF(35 mL)와 벤젠(12 mL)에 녹인 NaH(광유에서 60% 분산, 1.62 g, 40.5 mmol)의 혼탁액에 -10°C에서 에틸 시아노아세테이트(4.7 mL, 44.2 mmol)를 방울방울 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 교반후, 2-브로모-1,1-디에톡시에탄(5.6 mL, 0.82 equiv.)을 첨가하고, 반응 혼합물을 100°C에서 2시간 동안 가열하였다. 이후, 반응 혼합물은 실온으로 냉각하고 여과하였다. 여과액은 농축하고 물을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 에테르로 추출하였다. 추출물은 염수로 세척하고,  $MgSO_4$ 에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 정제되지 않은 물질은 실리카겔(20% EtOAc/헥산)에서 플래시 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 산물은 무색 오일(5 g, 60%)로서 수득되었다. MS:  $(M+Na)/z = 252$ .

[0414]

단계 2: 아세트아미딘 염산염(413 mg, 4.4 mmol)을 에탄올(8 mL)에 녹인 나트륨 에톡시드(594 mg, 2.0 equiv.) 용액에 첨가하였다. 실온에서 30분 동안 교반후, 생성된 나트륨 염화물은 여과로 제거하였다. 여과액은 에틸 2-시아노-4,4-디에톡시부타노에이트(1.0 g, 4.4 mmol)에 첨가하고, 혼합물을 5시간 동안 환류시켰다. 대부분의 용매를 제거하고, 남아있는 슬러리는 얼음물에 용해시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물은 염수로 세척하고,  $MgSO_4$ 에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 정제되지 않은 물질은 실리카겔(100% 메탄올)에서 플래시 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 산물은 적색 고체(421 mg, 40%)로서 수득되었다. MS:  $(M+H)/z = 242$ .

[0415]

단계 3: 50 mL의 에탄올에 녹인 황산(0.9 mL) 용액에 상기 피리미딘(2.0 g, 8.30 mmol)을 첨가하고 2시간 동안 환류시켰다. 실온으로 냉각후, 혼합물은 진공에서 농축하였다. 정제되지 않은 물질(물에 용해성)은 다음 단계에 직접 이용하였다. MS:  $(M+H)/z = 150$ .

[0416]

단계 4: 2 mL의 옥시염화인에 녹인 90 mg(0.60 mmol)의 상기 하이드록시피롤로피리미딘 혼탁액을 2시간 동안 환류시켰다. 과량의 옥시염화인은 제거하고, 잔류물은 얼음으로 조심스럽게 진정시켰다. 혼합물은 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물은 염수로 세척하고,  $MgSO_4$ 에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 정제되지 않은 물질은 실리카겔(10% 메탄올/DCM)에서 플래시 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 산물은 무색 고체(86 mg, 85%)로서 수득되었다. MS:  $(M+H)/z = 168$ .

[0417]

단계 5: 상기 클로로피롤로피리미딘(40 mg, 0.24 mmol)을 요오드화수소산(물에서 57 wt., 1.5 mL) 수용액에 첨가하고, 혼합물은 35°C에서 하룻밤동안 가열하였다. 실온으로 냉각한 이후, 하이드록실아민 용액을 첨가하고, 혼합물은 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물은 염수로 세척하고,  $MgSO_4$ 에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 원하는 산물은 갈색 고체(50 mg, 80%)로서 수득되었다. MS:  $(M+H)/z = 260$ .

[0418]

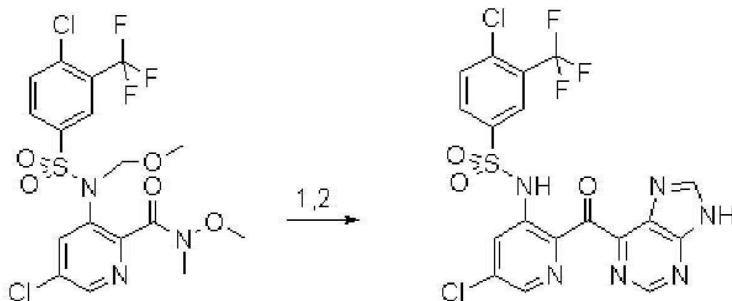
단계 6: THF(1 mL)에 녹인 3-(4-클로로-3-(트리플루오로메틸)페닐술폰아미도)-N-메톡시-N,5-디메틸피콜린아마이드(56 mg, 0.13 mmol) 용액에 0°C에서, NaH(광유에서 60% 분산, 6 mg, 1.2 equiv.)를 첨가하고. 반응물을 실온이 되도록 하고 0.5시간 동안 교반하였다.

[0419]

0.5 mL의 THF에 녹인 상기 요오드피롤로피리미딘(40 mg, 1.2 equiv.)을 별도의 플라스크에 채웠다. 상기 용액은 -78°C로 냉각하고, THF에 녹인 이소프로필마그네슘 염화물(2.0 M, 167  $\mu$ L) 용액을 방울방울 첨가하였다. 반응 혼합물은 실온이 되도록 하고 THF에 녹인 2,6-디메틸페닐마그네슘 브롬화물(1.0 M, 167  $\mu$ L, 1.3 equiv.) 용액을 첨가하였다. 30분 동안 교반한 이후, 혼합물은 상기 Weinreb 아마이드 용액에 첨가하고, 반응물을 포화된 염화암모늄 용액으로 진정시키기에 앞서 추가로 1시간 동안 교반하였다. 혼합물은 에틸 아세테이트로 추출하였다. 추출물은 염수로 세척하고,  $MgSO_4$ 에서 건조시키고, 진공에서 농축하였다. 정제되지 않은 물질은 실리카겔(33% EtOAc/헥산)에서 플래시 크로마토그래피로 정제하였다. 원하는 산물은 황색 고체(31 mg, 40%)로서 수득되었다. MS:  $(M+H)/z = 510$ .

[0420]

실시예 9: 4-클로로-N-[5-클로로-2-(9H-푸린-6-카르보닐)-피리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드



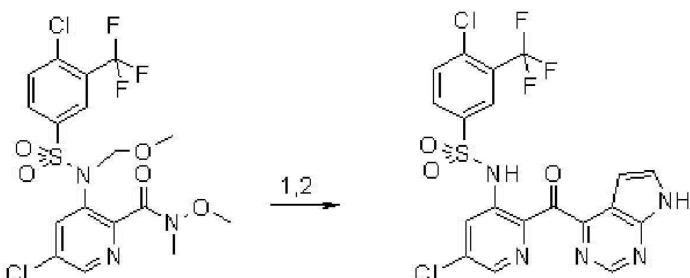
[0421]

[0422]

2 mL THF에 용해되고 THF에 녹인 0.25 mL의 2 M 이소프로필마그네슘 염화물 용액이 첨가된 256 mg(0.51 mmol)의 5-클로로-3-[(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐)-메톡시메틸-아미노]-피리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드와 191 mg(0.51 mmol)의 6-요오드-9-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-9H-푸린으로부터 제조됨. 모든 생성된 중간물질 케톤은 1 mL 메탄올과 1 mL 6N 염화수소산 혼합물과 함께 이차 단계에 이용하여 정제후, 2.05 mg의 최종 산물을 황색 고체로서 수득하였다.

[0423]

실시예 10: 4-클로로-N-[5-클로로-2-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-카르보닐)-피리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드



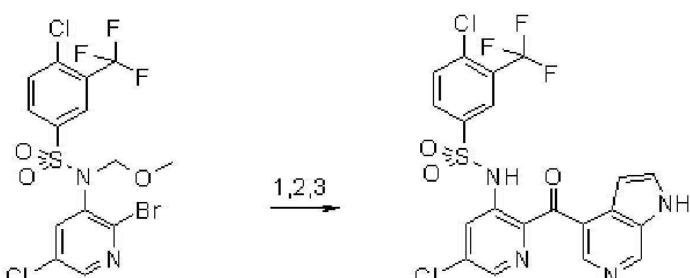
[0424]

[0425]

2 mL THF에 용해되고 THF에 녹인 0.26 mL의 2 M 이소프로필마그네슘 염화물 용액이 첨가된 259 mg(0.52 mmol)의 5-클로로-3-[(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠술포닐)-메톡시메틸-아미노]-피리딘-2-카르복실산 메톡시-메틸-아마이드와 213 mg(0.52 mmol)의 90% 4-요오드-7-(2-트리메틸실라닐-에톡시메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘으로부터 제조됨. 모든 생성된 중간물질 케톤은 2 mL 메탄올과 2 mL 6N 염화수소산 혼합물과 함께 이차 단계에 이용하여 정제후, 40 mg의 최종 산물을 황색 고체로서 수득하였다.

[0426]

실시예 11: 4-클로로-N-[5-클로로-2-(1H-피롤로[2,3-c]피리딘-4-카르보닐)-피리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드



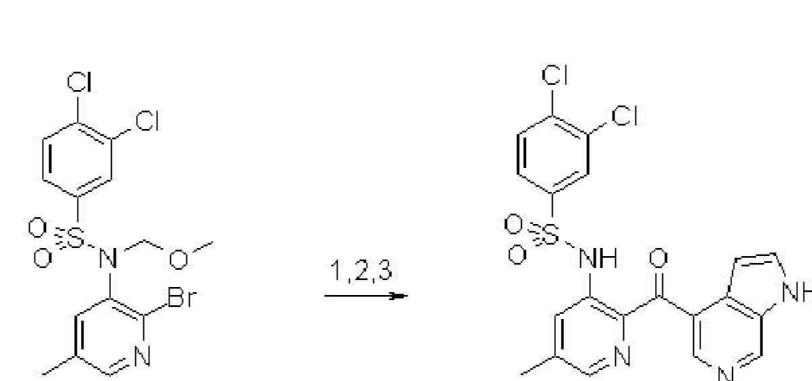
[0427]

[0428]

2 mL THF에 용해되고, THF에 녹인 1.05 mL의 2M 이소프로필마그네슘 염화물 용액이 첨가된 494 mg(1.00 mmol)의 N-(2-브로모-5-클로로-피리딘-3-일)-4-클로로-N-메톡시메틸-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드로부터 제조됨. 146 mg(1.00 mmol)의 1H-피롤로[2,3-c]피리딘-4-카브알데하이드는 1 mL THF에 용해시키고, 이후 Grignard 시약 용액에 첨가해 앞서 실온에서 44 mg(1.1 mmol)의 60% 수소화나트륨과 177  $\mu$ L(1 mmol)의 트리메틸실릴에톡시메틸 염화물로 처리하였다. 수용: 40 mg의 중간물질 알코올. 1 mL의 DCM에 용해된 74 mg의 Dess-

Martin 페리오디난과 함께 상기 알코올 전부를 이차 단계에 이용하였다. 31 mg의 생성된 보호된 케톤은 100°C에서 2 ml 메탄올과 2 ml 6N 염화수소산 혼합물에서 단계 3을 수행하여 정제후, 17 mg의 최종 산물을 황색 고체로서 수득하였다. LC-MSD, C<sub>20</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S에 대한 m/z [M+H]<sup>+</sup> = 514.9, 516.9; HPLC 체류 시간: 2.3 분.

[0429] 실시예 12: 3,4-디클로로-N-[5-메틸-2-(1H-피롤로[2,3-c]페리딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-벤젠술폰아마이드



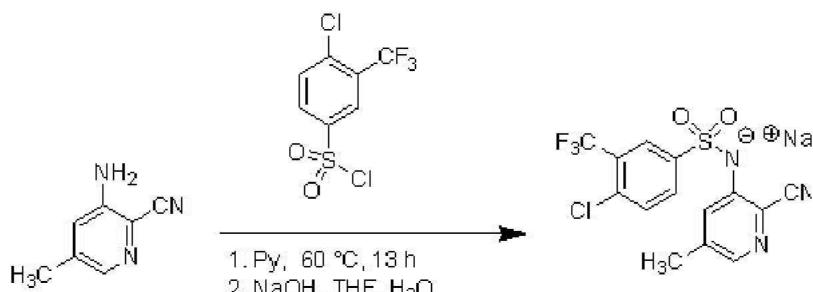
[0431]

[0432] 1 ml THF에 용해되고 THF에 녹인 0.49 ml의 2M 이소프로필마그네슘 염화물 용액이 첨가된 204 mg(0.464 mmol)의 N-(2-브로모-5-메틸-페리딘-3-일)-3,4-디클로로-N-메톡시메틸-벤젠술폰아마이드로부터 제조됨.

[0433] 75 mg(0.510 mmol)의 1H-피롤로[2,3-c]페리딘-4-카브알데하이드를 1 ml THF에 용해시키고 Grignard 시약 용액에 첨가해 앞서 실온에서 22 mg(0.557 mmol)의 60% 수소화나트륨으로 처리하였다. 2 ml의 DCM에 용해된 300 mg의 Dess-Martin 페리오디난과 함께 중간물질 알코올 전부를 이차 단계에 이용하였다. 생성된 보호된 케톤은 90°C에서 6 ml 메탄올과 6 ml 6N 염화수소산 혼합물에서 단계 3을 수행하여 정제후, 22 mg의 최종 산물을 황색 고체로서 수득하였다. LC-MSD, C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S에 대한 m/z [M+H]<sup>+</sup> = 460.9, 462.9; HPLC 체류 시간: 2.3 분.

[0434] 실시예 13: 4-클로로-N-[5-메틸-2-(7H-피롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드 나트륨 염

[0435] (a) 3-(4-클로로-3-트리플루오르메틸-벤젠포닐아미노)-5-메틸-페리딘-2-카르보니트릴 나트륨 염의 합성:



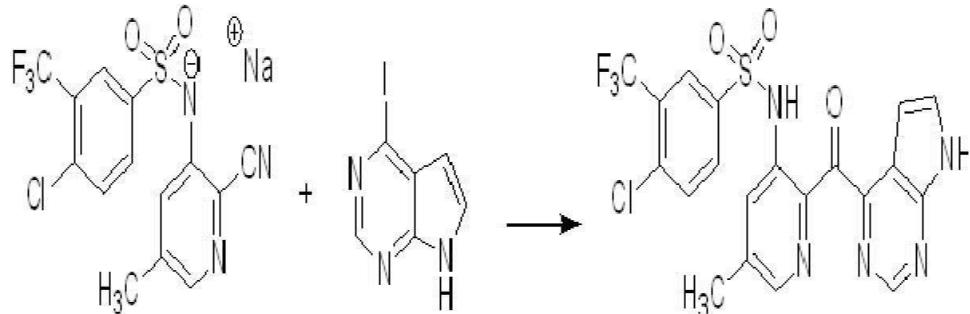
[0436]

[0437] 페리딘(625 ml)에 녹인 3-아미노-2-시아노-5-메틸페리딘(83 g, 0.619 mol) 용액에 1회 분할량으로 4-클로로-3-트리플루오르메틸벤젠포닐 염화물(207 g, 0.742 mol)을 첨가하고, 생성된 반응 혼합물은 60°C에서 하룻밤동안(13시간 동안) 교반하였다. 페리딘을 진공에서 제거하고, THF(350 ml)를 첨가하고 진공에서 제거하였다. 획득된 흑갈색 고체에 0°C에서 20분 동안 THF(650 ml), H<sub>2</sub>O(550ml), 그 이후에 NaOH(75 g, 1.88 mol)(5회 분할량으로)를 천천히 첨가하였다. 생성된 용액은 0°C에서 추가로 30분 동안 교반하였다. 진공에서 THF(~650 ml)를 제거한 이후, H<sub>2</sub>O(50 ml)를 첨가하고, 혼탁액은 가열하여 모든 고체를 용해시켰다. 얼음조(ice bath)에서 2시간 동안 냉각한 이후, 생성된 고체는 여과로 회수하고, 엘음물(100 ml X 3)로 세척하고, 110°C 진공 오븐(vacuum oven)에서 24시간 동안 건조시켜 표제 화합물(190 g, 77%)을 백색 침상 결정체로서 수득하였다: mp. 287.0 - 288.5°C. <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, d6-DMSO) δ 8.05(1H, s), 7.96(d, 1H), 7.76(dd, 1H), 7.63(s, 1H), 7.40(s, 1H), 2.12(s, 3H). MS(ES) M+H 예측됨 375.9, 관찰됨 375.9. 모액은 진공에서 농축(~2/3 부피)하여 세척과 건조후,

추가로 30 g의 표제 화합물을 수득하였다, 전체 수율 89%.

[0438] (b) 4-클로로-N-[5-메틸-2-(7H-피롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드

[0439]



[0440]

[0441] 기계식 교반기와 온도계가 구비된 3-구 2 ℓ 원형 바닥 플라스크에서 질소 공기 하에, 4-요오드피롤로[2,3-d]페리미딘(2b, 50.3 g, 95.5% 순도, 196 mmol)을 0.64 ℓ의 무수성 THF에 용해/현탁시켰다. 생성된 용액은 드라이 아이스-아세톤 중탕(dry ice-acetone bath)에서 -15°C로 냉각하고, 내부 온도(internal temperature)가 -10°C를 초과하지 않도록 206 mL의 1.0 M o-톨릴마그네슘 염화물 THF 용액(1.05 equiv.)을 천천히 첨가하였다. 첨가 동안 모든 고체가 용해되었다. 냉각 중탕(cooling bath)을 제거하고, 104 mL의 1.95 M 이소프로필마그네슘 염화물 THF 용액(1.03 equiv.)을 3분 동안 첨가하였다. 첨가 동안 황갈색 고체가 침전된다; 교반은 응괴(clumping)를 예방하기 위하여 활발해야 한다. 생성된 용액은 따뜻한 수조를 이용하여 실온으로 급속하게 가온하였다. 생성된 혼탁액에, 120 mL 건성 THF에 담긴 59.9 g의 니트릴 나트륨 염(19, 0.77 equiv.)을 첨가하고, 혼합물은 45°C에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물은 열음조에서 냉각하고, 활발하게 교반하면서 내부 온도가 30°C를 초과하지 않도록 101 mL의 36% 수성 HCl을 방울방울 첨가하였다. 황색 고체가 침전되고, 진한 혼탁액 전체는 50°C에서 30분 동안 기계적으로 교반하고(황색 고체가 오렌지색으로 변한다), 실온으로 냉각하고, 이후 여과한다. 생성된 고체는 700 mL의 THF, 700 mL의 디에틸 에테르, 그 이후에 2회 1 ℓ 분할량의 1 M 수성 HCl로 세척하였다. 생성된 축축한 오렌지색 고체는 0.9 ℓ 에틸 아세테이트, 0.5 ℓ 물과 50 g의 중탄산나트륨의 혼합물에 집어넣고, 완전히 용해될 때까지 교반하였다. 생성된 용액은 CELITE®의 패드를 통하여 여과하고, 층을 분리하였다. 수층은 50 mL의 에틸 아세테이트로 추출하였다. 모아진 유기층은 200 g의 실리카 겔의 패드를 통하여 여과하고, 그 이후에 추가로 0.8 ℓ의 에틸 아세테이트로 실리카를 세척하였다. 생성된 용액은 진공에서 농축하여 56.5 g의 산물을 황색 고체(2 wt%의 에틸 아세테이트 포함, 수율 74 %)를 수득한다.

[0442] (c) 4-클로로-N-[5-메틸-2-(7H-피롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드 나트륨 염

[0443] 4-클로로-N-[5-메틸-2-(7H-피롤로[2,3-d]페리미딘-4-카르보닐)-페리딘-3-일]-3-트리플루오르메틸-벤젠술폰아마이드(6.85 g, 13.8 mmol)를 103 mL의 *iso*-프로필알코올에 현탁시키고 질소 공기 하에 환류시켰다. 혼탁액은 교반하면서 1.30 mL의 10.6N 수성 수산화나트륨(1 equiv.)으로 방울방울 처리하고, 이때 모든 고체가 용해된다. 혼합물은 실온으로 냉각하고 뿌리고, 이후 열음조에서 더욱 냉각하였다. 생성된 고체는 여과하고 35 mL *iso*-프로필알코올로 세척하고, 그 이후에 진공 하에 80°C에서 하룻밤동안 건조시켰다. 수율: 6.12 g(86%). IPA 함량은 800 ppm(<sup>1</sup>H NMR에 의해 측정됨)이다.

[0444] 실시예 14 - 실시예 13의 화합물의 XPRD

[0445] 실시예 13으로부터 물질은 분말 X-선 회절(XRPD) 분석이 진행되었다. 상기 분석은 Cu K $\alpha$  방사를 이용한 Shimadzu XRD-6000 X-선 분말 회절장치(diffractometer)를 이용하여 수행하였다. 상기 장치는 롱 파인 포커스(long fine focus) X-선 투브가 구비된다. 투브 전압(voltage)과 전류량(amperage)은 각각, 40 kV와 40 mA로 설정되었다. 발산(divergence)과 산란(scattering) 슬릿(slit)은 1°로 설정되고, 수용 슬릿(receiving slit)은 0.15 mm로 설정되었다. 회절된 방사는 NaI 신틸레이션 검출기(scintillation detector)로 검출하였다. 2.5에서부터 40° 2θ 수치까지 3°/min(0.4 sec/0.02° 단계)로 θ-2θ 연속 스캔(continuous scan)이 이용되었다. 기구

정렬(instrument alignment)을 조사하기 위하여 실리콘 표준(silicon standard)을 분석하였다. 데이터는 수집하고 XRD-6100/7000 v.5.0을 이용하여 분석하였다. XPRD 스캔은 도 1에 도시된다. 2-세타(theta) 수치는 표 3에 보고된다. 실시예 13의 화합물의 결정성 형태는 형태 A로 지칭된다.

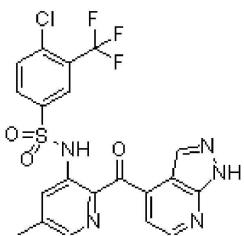
[0446] 실시예 13의 결정성 화합물의 XRPD에서 관찰된 피크 목록( $2\theta^\circ$ )과 강도(CPS). 피크 강도는 입자 크기와 형태에 따라 달라질 수 있다.

### 표 3

각도 $2\theta^\circ$	강도(CPS)
6.9	635
7.7	1555
10.6	340
11.3	250
11.8	125
12.5	165
13.7	255
15.1	300
15.3	305
16.1	490
16.9	290
17.3	485
18.2	195
18.5	190
19.5	250
20.0	1485
21.6	510
21.8	340
22.6	680
24.3	635
24.7	615
25.1	630
25.6	255
26.3	255
27.5	490
28.5	605
28.8	345
29.3	240
31.4	315
32.4	465

[0448]

[0449] 비교 실시예 1: 4-클로로-N-(5-메틸-2-(1H-피라졸로[3,4-b]페리딘-4-카르보닐)페리딘-3-일)-3-(트리플루오르메틸)벤젠슬론아마이드



[0450]

[0451] 상기 화합물은 US Publication No. 2007-0037794A1에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0452]

실시예 1-12의 화합물은 각각, 아래의 CCR2 화학주성 검사에서 1000 nM 이하의 IC<sub>50</sub>을 갖는다. 화합물 5는 이러

한 검사에서 대략 5 nM의 평균  $IC_{50}$ 을 갖는다.

[0453] **시험관내 검사의 실례**

[0454] **반응물**

THP-1 세포는 American Type Culture Collection(Manassas, VA)으로부터 입수하고, 37°C에서 가습된 5%  $CO_2$  배양기 내에서 10% 소 태아 혈청(fetal calf serum, FCS)으로 보충된 RPMI 조직 배양 배지(tissue culture medium)에서 배양하였다. 재조합 인간 케모킨 단백질 MCP-1은 R&D Systems(Minneapolis, MN)로부터 구입하였다.  $^{125}I$ -표지된 MCP-1 단백질은 Amersham(Piscataway, NJ)으로부터 구입하였다. ChemoTX® 화학주성 마이크로챔버는 Neuro Probe(Gaithersburg, MD)로부터 구입하였다. CyQUANT® 세포 증식 키트는 Molecular Probes(Eugene, Oregon)로부터 구입하였다. 칼슘 인디케이터 염료(calculm indicator dye) Fluo-4 AM은 Molecular Devices(Mountain View, CA)로부터 구입하였다.

[0456] **통상적인 이동 검사**

통상적인 이동 검사는 케모킨(가령, CCR2)을 통하여 매개된 이동의 차단에서 잠재적 수용체 길항물질의 효능을 결정하는데 이용되었다. 이러한 검사는 통상적으로, 5- $\mu m$  구멍-크기 폴리카보네이트(polycarbonate) 막이 구비된 ChemoTX® 마이크로챔버 시스템을 이용하여 수행되었다. 이런 검사를 시작하기 위하여, 케모킨 발현 세포(가령, CCR2 검사의 경우에 THP-1 세포)를 GS-6R Beckman 원심분리기에서 1000 RPM으로 세포 혼탁액의 원심분리(centrifugation)로 수확하였다. 세포 펠렛(cell pellet)은 CCR2 검사의 경우에  $10 \times 10^6$ 개 세포/ $ml$ 로 화학주성 완충액(0.1% BSA를 포함하는 HBSS)에 재현탁시켰다. 소요의 농도에서 시험 화합물은 화학주성 완충액 내에서 연속 희석(serial dilution)으로 10 mM 저장 용액(stock solution)으로부터 제조하였다. 동등 부피의 세포와 화합물을 혼합하고 실온에서 15분 동안 배양하였다. 이후, 20  $\mu l$ 의 혼합물을 이동 마이크로챔버의 다공성 막(porous membrane)으로 이전하였는데, 29  $\mu l$ 의 케모킨 리간드(CCR2 검사의 경우에 0.1 nM 케모킨 MCP-1 단백질)가 하부 챔버에 위치되었다. 세포가 케모킨 변화도(chemokine gradient)에 반하여 이동하는, 37°C에서 배양(CCR2의 경우에 90분) 이후, 상기 검사는 필터 정상부로부터 세포 액적(cell drop)을 제거함으로써 종결하였다. 막을 통하여 이동된 세포를 정량하기 위하여, 5  $\mu l$ 의 7X CyQUANT® 용액을 하부 챔버 내에 각 웰에 첨가하고, 형광 신호(fluorescence signal)를 Spectrafluor Plus 형광 플레이트 판독기(fluorescence plate reader)(TECAN, Durham, NC)에서 측정하였다. 저해 정도는 화합물-처리된 세포와 처리되지 않은 세포 사이에 이동 신호(migration signal)를 비교함으로써 결정하였다.  $IC_{50}$  산정은 Graphpad Prism(Graphpad Software, San Diego, CA)을 이용한 비-선형 제곱 회귀(non-linear squares regression) 분석으로 수행하였다.

[0458] **약물동력학**

실시예 5의 화합물의 약물동력학(PK)과 경구 생체이용효율(oral bioavailability)을 비글(beagle) 개에서 측정하였다.

31.6% N,N 디메틸아세트아마이드 / 36.8% 물 / 31.6% 프로필렌 글리콜에서 1 mg/kg 화합물 5(유리 염기(free base))의 수컷 비글 개(n=2)에 i.v. 일시주사(bolus) 투여 이후에, 아래의 시점에서 혈액 시료를 수집하였다: 투약전(predose), 그리고 투약후(post dosing) 2분, 5분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간과 24시간. 1% 메토셀(methocel)에서 실시예 5의 화합물의 5 mg/kg의 수컷 비글 개(n=2)에 경구 투여 이후에, 아래의 시점에서 혈액 시료를 수집하였다: 투약전, 그리고 투약후 5분, 15분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간과 24시간.

실시예 5의 본래 화합물은 3% 포름산/아세토니트릴을 이용하여 혈장 시료로부터 추출하고 LC-MS/MS 방법을 이용하여 측정하였다. PK 파라미터는 비-구획 분석(non-compartmental analysis)으로 측정하였다. 동물은 나쁜 건강의 징후와 폐사(mortality)에 대하여 관찰하였다. 실시예 5의 화합물은 비글 개에 의해 충분히 관용되었고, 나쁜 건강의 심한 징후 또는 폐사가 전혀 관찰되지 않았다.

실시예 5의 화합물의 i.v. 투여 이후에, 본래 화합물 5의 혈장 농도가 단일-지수적으로 감소하고, 평균 말기 제거 반감기(mean terminal elimination half-life)  $t_{1/2}$ 가 4.7시간이다. 실시예 5의 화합물은 0.2  $ml/min/kg$ (<1%의 개 간 혈액 흐름)으로 혈장으로부터 매우 느리게 제거되고, 0.1  $l/kg$ 의 매우 낮은 분포 용적(volume of distribution)( $V_{ss}$ )을 보였다. 평균 체류 시간(mean residence time)( $MRT_{iv}$ )은 7.2시간인 것으로 산정되었다. 경

구 투여 이후에, 실시예 5의 화합물은 1.5 시간( $T_{max}$ )후에 달성된  $44.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ (대략  $59.5 \mu\text{M}$ )의 평균 피크 혈장 농도(mean peak plasma concentration)( $C_{max}$ )로 신속하게 흡수되었다. 상기 화합물은 대략 100%의 경구 생체이용효율로 충분히 흡수되었다.

[0463] 실시예 5의 화합물은 우수한 i.v.와 경구 PK 프로필(profile)을 나타냈다. i.v. 투약 이후에, 이는 비글 개에서 매우 낮은 제거율(clearance)(1% 이하의 간 혈액 흐름)과 긴 평균 체류 시간(대략 7시간 동안)을 보였다. 화합물 5는 또한, 대략 100% 생체이용효율로 신속하고 충분하게 경구 흡수되었다.

#### CYP2C9와 CYP3A4 저해 검사

[0465] 시험 화합물은 NADPH, 그리고 CYP2C9와 3A4에 특이적인 적절한 농도의 기질(substrate)의 존재에서 혼주 인간 간 마이크로솜(microsome)과 함께 37°C에서 항온처리(incubation)하였다. 인간 간 마이크로솜과 기질의 최종 검사 농도, DMSO에서 최초 기질 저장 용액 농도, 그리고 다양한 아이소자임(isozyme) 항온처리에 이용된 시간은 표 4에 요약된다. 각 아이소자임 검사에서 양성 저해물질 대조의 최종 검사 농도는 표 5에 열거된다.

표 4

#### 항온처리 농도

CYP450	단백질 농도 [mg/ml]	기질	기질 농도 [ $\mu\text{M}$ ]	항온처리 시간 [min]
2C9	0.05	디클로페낙	10	10
3A4	0.05	미다졸람	3	10
	0.05	테스토스테론	100	30

표 5

#### 대조에 대한 조건

CYP450	기질	대조	최종 항온처리 대조 농도 [ $\mu\text{M}$ ]						
2C9	디클로페낙	술파페나졸	50	17	5.6	1.9	0.62	0.2	0.069
3A4	미다졸람	케토코나졸	1	0.33	0.11	0.037	0.012	0.0041	0.0014
	테스토스테론	케토코나졸	1	0.33	0.11	0.037	0.012	0.0041	0.0014

#### 항온처리

[0469] 50 mM 인산칼륨 / 5 mM MgCl<sub>2</sub> 완충액에서 인간 간 마이크로솜(HLM)의 120  $\mu\text{l}$ 의 혼합물을 96-웰 평판에서 열 A의 모든 웰 내로 첨가하였다. 마이크로솜 단백질의 농도는 표 4에 기록된 특정 아이소자임 검사를 위한 의도된 단백질 농도의 2-배이다. 이에 더하여, 1% DMSO가 첨가된 80  $\mu\text{l}$ 의 상기 인간 간 마이크로솜 제조물을 열 B 내지 H의 모든 웰 내로 분배하였다.

[0470] DMSO(10 mM)에서 1.2  $\mu\text{l}$ 의 각 개별 검사 화합물을 열 A의 첫 번째 10개 웰에 첨가하였다(각각 이중으로 5개의 상이한 검사 화합물). 부가적으로, 연구 중인 아이소자임에 대한 1.2  $\mu\text{l}$ 의 상기 대조 저해물질의 DMSO 원액을 열 A의 최종 2개 웰 내로 첨가하여 상기 최대 최종 농도의 2배 초과 농도를 제공하였다(최종 대조 저해물질 농도에 관하여 표 5를 참조한다).

[0471] 열 A의 웰(웰 1-12, 화합물과 대조 둘 모두)에서 각 용액으로부터 40  $\mu\text{l}$ 를 채취하고 열 B의 웰 내로 희석함으로써 3배 연속 희석(serial dilution)을 수행하였다. 완전한 혼합후, 열 B의 웰에서 각 용액으로부터 40  $\mu\text{l}$ 를 복수 채널 피펫(multichannel pipette)(12개 채널)으로 열 C의 웰 내로 분배하고, 이들 대조와 검사 화합물을 더욱 희석하였다. 이러한 과정은 열 D 내지 G에서 반복하였다. 혼합후, 40  $\mu\text{l}$ 를 이전하고 열 G의 웰로부터 폐기하였다.

[0472] 이러한 절차는 모든 열 A 내지 H의 모든 웰에서 80  $\mu\text{l}$  용액의 존재를 결과하였는데, 단백질 농도가 이들 열의 모든 웰에서 최종 의도된 농도의 2배이고, 검사 화합물과 대조 농도가 열 A 내지 G에서 최종 의도된 농도의 2배 이었다. 열 H는 검사 화합물 또는 양성 대조(positive control)가 첨가되지 않았다.

[0473] 평판은 덮어 가리고 37°C 인큐베이터에서 10분 동안 사전-항온처리하였다. 반응은 복수채널 피펫을 이용하여, 의도된 최종 기질 농도의 2배의 기질 농도로, 4mM NADPH가 존재하는 50 mM 인산칼륨 / 5 mM MgCl<sub>2</sub> 완충액 용액에서 조사 중인 아이소자임에 대한 80 μl의 기질 용액을 첨가함으로써 개시하였다. 기질 용액은 웰 95와 96(마이크로솜 블랭크(microsomal blank))을 제외하고 열 A 내지 H에서 모든 웰에 첨가하였다. 이들 기질 용액은 표 4에 제시된 농도에서 제조된 다양한 DMSO 기질 저장 용액으로부터 제조되었다.

[0474] 이러한 절차는 표 4에 제시된 최종 단백질과 기질 농도, 표 5에 제시된 최종 대조 농도, 그리고 각 개별 검사 화합물에 대한 50 μM, 16.7 μM, 5.6 μM, 1.9 μM, 618 nM, 206 nM과 69 nM의 검사 화합물 농도를 산출하였다.

[0475] 평판은 덮어 가리고 조사 중인 동등형(isoform)에 대하여 표 4에 제시된 시간 동안 37°C에서 항온처리하였다. 반응은 모든 웰에 아세토니트릴에서 120 μl의 내부 표준(internal standard)(200 ng/ml CCX915-6A)을 분배함으로써 중단시켰다. 반응 중단후, 블랭크(blank)를 제공하기 위하여 앞서 기술된 80 μl의 특이적 기질/NADPH 용액을 웰 95와 96 내로 첨가하였다. 평판은 10분 동안 와동시키고 4°C에서 10분 동안 원심분리기에서 4,450rpm으로 회전시켰다. 복수채널 피펫으로, 80 μl의 상층액을 80 μl의 0.1% 포름산/물을 내포하는 시료 평판 웰 내로 이전하고 섹션 E와 F에서 기술된 바와 같이 LC-MS/MS에서 분석을 위하여 충분히 혼합하였다.

[0476] 시료는 LC-MS/MS 방법으로 분석하였다. 각 상이한 CYP450 동등형에 대한 특정 기질로부터 유래된 각 대사물질(표 6)을 모니터링하였다.

[0477] 기질에 대한 HPLC 조건

[0478] 기구: 액체 크로마토그래피(liquid chromatography) 시스템 LC-10AD VP가 구비된 Shimadzu.

[0479] CYP2C9와 CYP3A4(미다졸람) 저해

[0480] 칼럼: Waters Sunfire C18, 3 u, 2.1x50 mm

[0481] 이동상: A: 물에서 0.1% 포름산, B: 아세토니트릴에서 0.1% 포름산

[0482]

[0483] CYP2C9와 CYP3A4(미다졸람)에 대한 변화도 프로그램(gradient program)

시간[min]	용매 A	용매 B
0.0 - 0.2	95	5
0.3 - 1.0	5	95
1.0 - 3.0	95	5

[0484]

[0485] 유속: 300 μl /min

[0486] 주입 부피: 10 μl

[0487] 동작 시간(run time): CYP2C9, 3A4(미다졸람)의 경우에 3분. 분석물(analyte)에 대한 체류 시간은 2C9(4'-하이드록시-디클로페낙)의 경우에 1.03분과 3A4(1'-하이드록실 미다졸람)의 경우에 0.87분이다.

[0488] CYP3A4 저해(테스토스테론)

[0489] 칼럼: Waters Sunfire C18, 3 u, 2.1x50 mm

[0490] 이동상: A: 물에서 0.1% 포름산, B: 아세토니트릴에서 0.1% 포름산

[0491] CYP3A4(테스토스테론)에 대한 변화도 프로그램:

시간[min]	용매 A	용매 B
0.0 - 1.5	95	5
1.5 - 3.0	5	95
3.0 - 4.0	95	5

[0492]

- [0493] 유속: 300  $\mu\text{l} / \text{min}$
- [0494] 주입 부피: 20  $\mu\text{l}$
- [0495] 동작 시간: CYP3A4(테스토스테론)의 경우에 4.0분. 분석물(6- $\beta$ -하이드록시 테스토스테론)에 대한 체류 시간은 3A4(테스토스테론)의 경우에 1.35분이다.
- [0496] 질량 분광계 조건
- [0497] 기구: Applied Biosystems(Foster City, CA) API3000과 4000 Q-TRAP 질량 분광계
- [0498] 인터페이스(interface): 전자분무(electrospray)( “Turbo Ion Spray” ), 양성 이온화(positive ionization)
- [0499] 양식(mode): 복수 반응 모니터링(Multiple Reaction Monitoring, MRM)

## 표 6

[0500] 대사물질에 대한 질량 변화(mass transition)와 HPLC 체류 시간

CYP450 동등형	기질	대사물질	변화	RT 시간 [min] 기질
2C9	디클로페낙	4' -하이드록시-디클로페낙	312.10/230.97	2.2
3A4	미다졸람	1' -하이드록실 미다졸람	341.98/323.92	2.23
	테스토스테론	6- $\beta$ -하이드록시 테스토스테론	305.13/269.28	2.1

[0501] \*API4000 Q-TRAP 질량 분광계에서 분석됨

[0502] IC<sub>50</sub>의 계산

[0503] 이들 대사물질의 피크 영역(peak area)은 Analyst® 1.4.1 소프트웨어(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용한 크로마토그램(chromatogram)의 자동 통합(automatic integration)으로 획득하였다.

$$\text{저해} = 100 - ((\text{AUC}_{\text{검사}} - \text{AUC}_{\text{블랭크}}) / (\text{AUC}_{\text{대조}} - \text{AUC}_{\text{블랭크}})) \times 100 \quad \text{공식 1}$$

[0505] AUC<sub>검사</sub>, AUC<sub>대조</sub>와 AUC<sub>블랭크</sub>는 각각, 검사 물질 또는 양성 저해물질의 존재에서 대조의 대사물질에 대한 피크 영역 카운트(peak area count), 검사 물질의 부재에서 대조의 대사물질에 대한 피크 영역 카운트, 그리고 마이크로솜 블랭크에서 관찰된 피크 영역 카운트이다. 저해 비율(percent inhibition)은 Excel(Microsoft)을 이용하여 검사 물질 농도에 대하여 도면에 기입하였다. IC<sub>50</sub> 수치는 XLFit™(IDBSLtd, Guildford, UK)에서 4-파라미터 풋(parameter fit)을 이용하여 계산하였다. 선택된 화합물의 IC<sub>50</sub> 수치는 아래에 제시된다.

[0506] SPRAGUE-DAWLEY 쥐에서 선택된 화합물의 약물동력학적 평가

[0507] 선택된 화합물로 정맥내/경구 약물동력학적 연구는 0.24 내지 0.36 kg 체중의 수컷 Sprague-Dawley 쥐에서 수행하였다. 혈액 시료는 미리 결정된 시점에서 수집하고, 이들 동물로부터 상응하는 혈장 시료는 LC-MS/MS 방법을 이용하여 검사 화합물 농도에 대하여 분석하였다. 이들 약물동력학적 파라미터는 혈장 농도 vs. 시간 곡선으로부터 도출하였다.

[0508] LC-MS/MS 분석을 위하여, 아세토니트릴에서 검사 화합물의 1 mg/ml 저장 용액을 제조하고, 50% 메탄올/물에서 제조된 작업 저장 용액(working stock solution)을 이용하여 분석 표준(analytical standard)과 QC 시료를 제조하였다.

[0509] 항응혈제(anticoagulant)로서 나트륨 EDTA가 포함된 혈소판-불량 수컷 Sprague-Dawley 쥐 혈장은

Bioreclamation, Inc.(East Meadow, NY)로부터 구입하고, 분석 표준의 제조 및 선택된 시료의 연속 희석에 이용하였다.

[0510] 동물

[0511] 0.24 내지 0.36 kg 체중의 각 동물이 본 연구에 이용되었다. 2마리 동물은 i.v. 투약에 이용된 반면, 나머지 6마리는 경구 투약에 이용되었다.

[0512] 투약과 채혈

[0513] i.v. 투약을 위하여, 프로필렌 글리콜/N,N-디메틸아세트아마이드/EtOH(31.6/31.6/36.8)에서 1 mg/ml로 검사 화합물의 용액 제제를 제조하고, 각 동물에 1 ml/kg을 투여하였다. 경구 투약을 위하여, 검사 화합물을 1% HPMC에서 0.5 mg/ml로 혼탁시키고 각 동물에 10 ml/kg을 투여하였다.

[0514] 동물은 하룻밤동안 굶기고 투약 이전과 연구의 종결 시점에서 검사하였다. 정맥내 투약의 경우에, 투약전, 그리고 투약후 2분, 5분, 10분, 15분과 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간과 8시간 시점에 혈액(0.2 ml)을 채혈하였다. 경구 투약의 경우에, 투약전, 그리고 투약후 5분, 15분과 30분, 1시간, 1.5시간, 2시간, 4시간, 6시간, 8시간과 24시간 시점에 혈액(0.2 ml)을 채혈하였다. 혈액은 캐뉼러가 삽입된 동물로부터 시료를 뽑고, 이후 항응혈제로서 나트륨 EDTA를 내포하는 냉각된 폴리프로필렌 튜브(polypropylene tube)에 위치시키고 원심분리 때까지 얼음 위에 유지시켰다. 혈장은 4°C에서 6분 동안 12000 rpm으로 원심분리(Eppendorf Centriguge 5417R)를 통하여 수집하고 분석 때까지 -20°C에서 보관하였다.

[0515] 분석 방법

[0516] 혈장 시료(50  $\mu$ l)는 선형 교반기(linear shaker)에서 10분 동안, 내부 표준(internal standard)을 내포하는 150  $\mu$ l 아세토니트릴로 추출하였다. 시료는 4°C에서 10분 동안 4450 RPM으로 원심분리(Allegra X-15R 원심분리기, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA)하였다. 80  $\mu$ l의 생성된 상층액은 물에서 80  $\mu$ l 0.1% 포름산을 내포하는 새로운 평판 웰로 이전하고 완전하게 혼합하였다.

[0517] 상기 절차를 이용하여 준비된 추출 시료는 2개의 LC-10 AD 펌프와 C-18 칼럼(Waters Sunfire, 2 x 30 mm, 3.5  $\mu$ m; 10  $\mu$ l 주입)이 구비된 Shimadzu(Kyoto, Japan) 시스템을 이용하고, 0.35 ml/min의 유속(flow rate)에서 (A) 물에서 0.1% 포름산과 (B) 아세토니트릴에서 0.1% 포름산으로 구성된 이동상(mobile phase)을 이용한 고성능 액체 크로마토그래피(high-performance liquid chromatography)로 분리하였다. 변화도(gradients)는 0-1.5분 5% B, 1.5 - 2.5분 5 - 95% B, 2.5 - 2.7분 95% 내지 5% B, 그리고 2.7 - 4.0분 5% B이었다. HPLC 용리는 분석을 위한 Turbo Ionspray 양성 이온화(positive ionization) MS/MS 양식으로 작동하는 Applied Biosystems(Foster City, CA) Sciex API 3000 삼중 사중극자(triple quadrupole) 질량 분광계 내로 돌렸다. 포착(acquisition)과 통합(integration)은 Applied Biosystems-Sciex Analyst 소프트웨어(버전 1.4.1)로 수행하였다. 보정 곡선(calibration curve)은 2차(i.v.) 또는 선형(p.o.) 희귀를 통하여 획득하고, i.v.와 p.o. 연구를 위한 보정 범위(calibration range)는 각각, 4 - 5000 ng/ml와 2 - 5000 ng/ml이었다.

[0518] LC-MS/MS 보정 기준(calibration standard)의 제조

[0519] 쥐 혈장 시료 내에서 검사 화합물의 농도를 측정하기 위하여, Bioreclamation Inc.(Lot #RATBREC.47491M)로부터 구입한 쥐 혈장으로, 5000, 1000, 500, 100, 50, 20, 10, 4, 2와 1 ng/ml의 화합물을 내포하는 표준을 제조하였다. 혈장 표준은 동일한 방식으로 혈장 시료와 동시에 제조하였다. 3가지 수준의 표준 저장 용액(1000, 100과 10 ng/ml)을 수컷 Sprague-Dawley 쥐 혈장에 개별적으로 첨가하고 QC 시료로서 이용하였다.

[0520]

[0521] 약동학적 분석

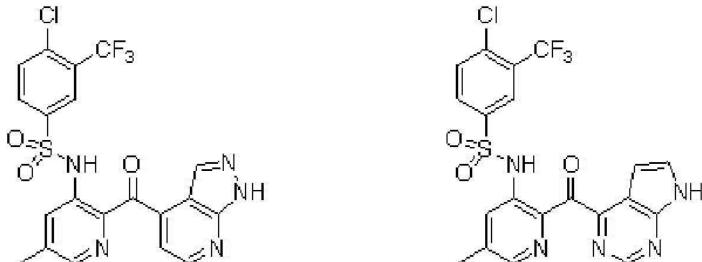
[0522] 혈액 수집 기간 동안 각 투여 경로에 대하여 총 11가지 시점을 획득하였다. 기술적 약물동력학 파라미터(descriptive pharmacokinetic parameter)는 각 동물과 투여 경로로부터 표준 비-구획 분석(standard non-compartmental analysis)(Wagner, 1993)에 의한 혈장 농도-시간 곡선(plasma concentration-time curve)으로부터 측정하였다.

[0523] - 반감기( $T_{1/2}$ ): 말기 반감기(terminal half-life).

[0524] -  $C_{max}$ : 최대 혈장 농도(maximum plasma concentration)

- [0525] -  $AUC_{0-\infty}$ : 투약 시점에서부터 무한대로 외삽된 혈장 농도-시간 곡선(plasma concentration-time curve) 아래 영역.
- [0526] - CL: 전신 제거율(total body clearance).
- [0527] -  $MRT_{0-\infty}$ : 투약 시점에서부터 무한대로 외삽된 평균 체류 시간(mean residence time).
- [0528] -  $Vd_{ss}$ : 안정 상태(steady state)에서 분포 용적(volume of distribution).
- [0529] - F: 생체 이용효율(bioavailability).

[0530] 약동학적 분석은 XLFit®v.4.1(ID Business Solution Inc., Alameda, CA)을 이용함으로써 수행하였다.



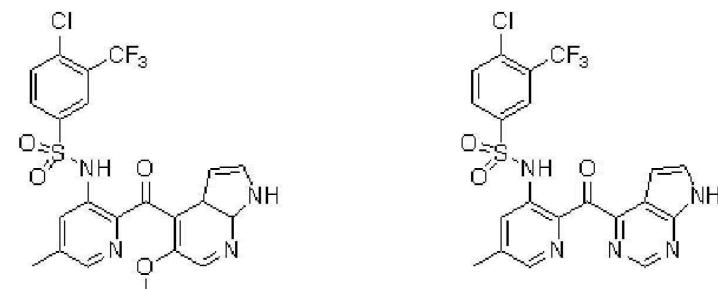
[0531]

즉 PK MRT  
CYP 3A4 저해 IC<sub>50</sub> 35 min  
3 μM

[0532]

135 min  
20 μM

[0533]

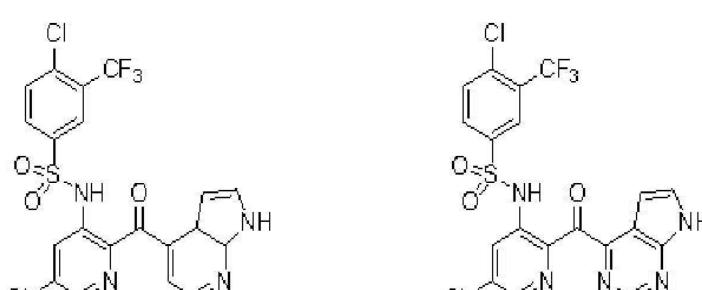


[0534]

즉 PK MRT  
즉 PK T<sub>1/2</sub>  
CYP 3A4 저해 IC<sub>50</sub> 22 min  
19 min  
3 μM

[0535]

135 min  
161 min  
20 μM



[0536]

즉 PK MRT  
즉 PK T<sub>1/2</sub>  
CYP 2C9 저해 IC<sub>50</sub> 21 min  
42 min  
3 μM

68 min  
127 min  
15 μM

[0537]

[0538] 이런 이유로, 상기한 상세한 설명은 예시일 뿐이고 본 발명을 한정하지 않으며, 본 발명의 기술적 사상과 범위

는 모든 등가물을 비롯한 아래의 특허청구범위에 의해 정의된다.

도면

도면1

