



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0122396
(43) 공개일자 2009년11월27일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) Int. Cl.
C07D 403/04 (2006.01) C07D 401/04 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2009-7021940
(22) 출원일자 2008년03월19일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2009년10월21일
(86) 국제출원번호 PCT/GB2008/000946
(87) 국제공개번호 WO 2008/114002
국제공개일자 2008년09월25일</p> <p>(30) 우선권주장
60/896,298 2007년03월22일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인
아스트라제네카 아베
스웨덴 에스이-151 85 쇠더탈제</p> <p>(72) 발명자
구일, 시몬, 데이비드
영국 엘리11 5알에이치 레스터셔 러프버로우 베이 크웰 로드 아스트라제네카 알 앤드 디 찬우드
에브덴, 마크
영국 엘리11 5알에이치 레스터셔 러프버로우 베이 크웰 로드 아스트라제네카 알 앤드 디 찬우드</p> <p>(74) 대리인
양영준, 위혜숙</p> |
|---|--|

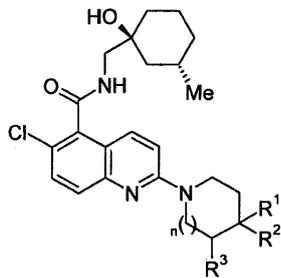
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 염증성 질환 치료용 퀴놀린 유도체

(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 I의 화합물, 그의 제조 방법, 그를 함유하는 제약 조성물, 제약 조성물의 제조 방법, 및 요법에서의 그의 용도를 제공한다.

<화학식 I>



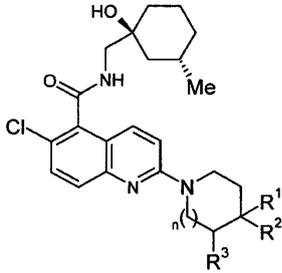
상기 식에서, R¹, R², R³ 및 n은 본 명세서에 정의된 바와 같다.

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염:

<화학식 I>



상기 식에서,

n은 0 또는 1이고;

n이 0인 경우, R¹은 수소 또는 메틸을 나타내고, R²는 히드록실을 나타내고, R³은 수소를 나타내고;

n이 1인 경우, R¹은 수소를 나타내고, R² 및 R³ 중 하나는 히드록실을 나타내고, R² 및 R³ 중 다른 하나는 수소를 나타낸다.

청구항 2

제1항에 있어서, n이 0이고, R¹이 수소 또는 메틸을 나타내고, R²가 히드록실을 나타내고, R³이 수소를 나타내는 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 3

제2항에 있어서, R¹이 수소를 나타내는 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 4

제2항에 있어서, R¹이 메틸을 나타내는 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 5

제1항에 있어서, n이 1이고, R¹이 수소를 나타내고, R² 및 R³ 중 하나가 히드록실을 나타내고, R² 및 R³ 중 다른 하나가 수소를 나타내는 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 6

제5항에 있어서, R²가 히드록실을 나타내고, R³이 수소를 나타내는 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 7

제5항에 있어서, R²가 수소를 나타내고, R³이 히드록실을 나타내는 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 8

6-클로로-N-[[(1S, 3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸]-2-[(3S)-3-히드록시피롤리딘-1-일]퀴놀린-5-카르복스아미드,

6-클로로-N-[[(1S, 3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸]-2-[(3R)-3-히드록시피롤리딘-1-일]퀴놀린-5-카르복

스아미드,

6-클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}-2-(4-히드록시피페리딘-1-일)퀴놀린-5-카르복스아미드, 및

6-클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}-2-(3-히드록시-3-메틸피롤리딘-1-일)퀴놀린-5-카르복스아미드

로부터 선택되는 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제약상 허용되는 보조제, 희석제 또는 담체와 함께 포함하는 제약 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 제약상 허용되는 보조제, 희석제 또는 담체를 혼합하는 것을 포함하는, 제9항에 따른 제약 조성물의 제조 방법.

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 요법에 사용하기 위한 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

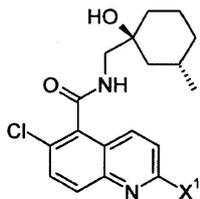
청구항 12

류마티스성 관절염의 치료에 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도.

청구항 13

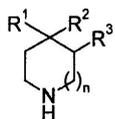
하기 화학식 II의 화합물을 하기 화학식 III의 화합물과 반응시키는 단계 및 임의로 화합물의 제약상 허용되는 염을 형성하는 단계를 포함하는, 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 화학식 I의 화합물의 제조 방법.

<화학식 II>



상기 식에서, X¹은 적합한 이탈기를 나타낸다.

<화학식 III>



상기 식에서, R¹, R², R³ 및 n은 화학식 I에 정의된 바와 같다.

청구항 14

(1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로헥산올인 화합물 또는 그의 염.

청구항 15

2,6-디클로로-5-요오도퀴놀린인 화합물.

명세서

기술분야

<1> 본 발명은 퀴놀린 유도체, 그의 제조 방법, 그를 함유하는 제약 조성물, 제약 조성물의 제조 방법, 및 요법에서의 그의 용도에 관한 것이다.

배경기술

<2> 리간드-작동 이온 채널인 P2X₇ 수용체 (P2Z 수용체로서 사전 공지됨)는 다양한 세포 유형, 대부분 염증/면역 과정에 관여하는 것으로 공지된 것, 주로 대식세포, 비만세포 및 림프구 (T 및 B) 상에 존재한다. 세포의 뉴클레오티드, 특히 아데노신 트리포스페이트에 의한 P2X₇ 수용체의 활성화는 인터류킨-1β (IL-1β)의 방출 및 거대세포 형성 (대식세포/소교세포), 탈과립화 (비만세포) 및 증식 (T 세포) 및 아팍토시스 및 L-셀렉틴 shedding (shedding) (림프구)을 유도한다. P2X₇ 수용체는 또한 항원-제시 세포 (APC), 케라틴형성세포, 타액선 선방 세포 (파로티드 세포), 간세포 및 혈관간세포 상에 위치한다. P2X₇ 수용체가 그 역할을 수행할 수 있는 병인학에서, 염증성 질환, 면역 질환 또는 심혈관 질환의 치료에 사용하기 위한 P2X₇ 수용체 길항제로서 효과적인 화합물을 제조하는 것이 바람직할 것이다.

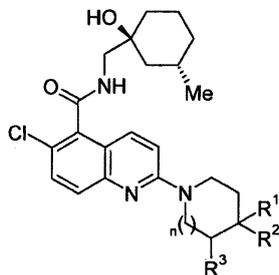
<3> P2X₇ 수용체 길항제로서 작용하는 약물에 대한 중요한 성질은 고효능을 갖는다는 것이다. 또한, 상기 약물은 약물 효력을 더 증진시키기 위해 양호한 선택성 및 약역학 성질을 갖는 것이 바람직하다. 한 예로서, 상기 약물은 hERG (human ether-a-go-go-related gene)-코딩 칼륨 채널에 대해 저활성을 나타내는 것이 유리할 수 있다. 이와 관련하여, 시험관내 hERG 결합에 대한 저활성은 생체내 저활성을 나타낸다.

<4> 퀴놀리닐기를 포함하는 P2X₇ 길항제가 WO 2003/080579, WO 2004/106305, WO 2005/009968 및 WO 2006/059945에 공지되어 있다. 본 발명에 이르러 놀랍게도, WO 2004/106305에 일반적으로 개시된 소수 부류의 화합물이 유리한 제약 성질을 나타낸다는 것이 밝혀졌다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 고효능을 갖는다는 것 이외에 hERG 결합에 대한 매우 낮은 활성을 나타내어 약제로서 사용하기 위한 그의 적합성을 증진시킨다.

발명의 상세한 설명

<5> 따라서, 본 발명에 따라, 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 제공된다.

화학식 I



- <6>
- <7> 상기 식에서,
- <8> n은 0 또는 1이고;
- <9> n이 0인 경우, R¹은 수소 또는 메틸을 나타내고, R²는 히드록실을 나타내고, R³은 수소를 나타내고;
- <10> n이 1인 경우, R¹은 수소를 나타내고, R² 및 R³ 중 하나는 히드록실을 나타내고, R² 및 R³ 중 다른 하나는 수소를 나타낸다.

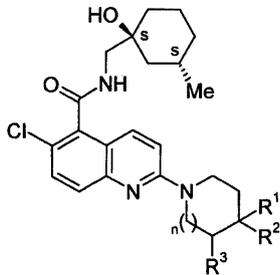
<11> 본 발명의 특정 화합물은 용매화, 예를 들어 수화 형태 및 비용매화 형태로 존재할 수 있다. 본 발명은 이러한 모든 용매화 형태를 포함하는 것으로 이해될 것이다.

<12> 본 발명의 화합물은 매우 높은 P2X₇ 길항제 활성을 나타낸다. 또한, hERG-코딩 칼륨 채널에 대해 특히 낮은 친화성을 나타내므로 안정성 한계와 관련하여 유리하다.

<13> 화학식 I의 화합물의 제약상 허용되는 염에는 산 부가염, 예컨대 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 포스페이트, 아세테이트, 푸마레이트, 말레이트, 타르트레이트, 시트레이트, 옥살레이트, 메탄술포네이트 또는 p-톨루엔술포네이트 염이 포함되지만, 이에 한정되지는 않는다. 본 발명의 한 실시양태에서, 화학식 I의 화합물의 제약상 허용되는 염은 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 포스페이트, 타르트레이트, 시트레이트, 옥살레이트, 메탄술포네이트 또는 p-톨루엔술포네이트 염으로부터 선택된다.

<14> 본 발명의 화합물은 화학식 I 내 시클로헥실 고리 상에 위치하는 2개의 키랄 중심을 함유한다. 키랄 중심 중 하나는 히드록실 치환기가 직접 부착되는 시클로헥실 고리 원자에 위치하고 (제1 위치), 다른 하나는 메틸 치환기가 직접 부착되는 시클로헥실 고리 원자에 위치한다 (제3 위치). 본 발명에서, 이들 키랄 중심 둘 다에서의 입체화학 배열은 칸-인골드-프레로그(Cahn-Ingold-Prelog) 시스템에 의해 지정된 바와 같이 및 하기 화학식 I의 구조에 도시된 바와 같이 S ((1S,3S) 입체이성질체)이다.

<15> <화학식 I>



<16>

<17> 본 발명의 실시양태에서, n이 0인 경우, 화학식 I의 화합물은 R¹ 및 R² 둘 다 직접 부착되는 탄소 원자에 추가의 키랄 중심을 함유한다. 본 발명은 이 위치에서의 모든 입체화학 배열의 화합물 (이의 혼합물 포함)을 포함한다.

<18> 본 발명의 한 실시양태에서, n이 0인 경우, R¹은 수소 또는 메틸을 나타내고, R²는 히드록실을 나타내고, R³은 수소를 나타낸다.

<19> 본 발명의 한 실시양태에서, n이 0인 경우, R¹은 수소를 나타내고, R²는 히드록실을 나타내고, R³은 수소를 나타낸다. 이 실시양태의 한 측면에서, R¹ 및 R²가 직접 부착되는 탄소 원자에서의 키랄 중심은 S 배열을 갖는다. 이 실시양태의 또다른 측면에서, R¹ 및 R²가 직접 부착되는 탄소 원자에서의 키랄 중심은 R 배열을 갖는다.

<20> 본 발명의 한 실시양태에서, n이 0인 경우, R¹은 메틸을 나타내고, R²는 히드록실을 나타내고, R³은 수소를 나타낸다. 이 실시양태의 한 측면에서, R¹ 및 R²가 직접 부착되는 탄소 원자에서의 키랄 중심은 S 배열을 갖는다. 이 실시양태의 또다른 측면에서, R¹ 및 R²가 직접 부착되는 탄소 원자에서의 키랄 중심은 R 배열을 갖는다.

<21> 본 발명의 한 실시양태에서, n이 1인 경우, R¹은 수소를 나타내고, R² 및 R³ 중 하나는 히드록실을 나타내고, R² 및 R³ 중 다른 하나는 수소를 나타낸다.

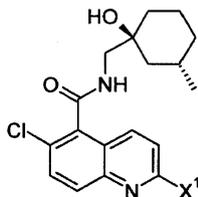
<22> 본 발명의 한 실시양태에서, n이 1인 경우, R¹은 수소를 나타내고, R²는 히드록실을 나타내고, R³은 수소를 나타낸다.

<23> 본 발명의 한 실시양태에서, n이 1인 경우, R¹은 수소를 나타내고, R²는 수소를 나타내고, R³은 히드록실을 나타낸다. 이 실시양태에 따른 화합물은 R³이 직접 부착되는 탄소 원자에서 추가의 키랄 중심을 함유한다. 본 발명은 이 위치에서의 모든 입체화학 배열의 화합물 (이의 혼합물 포함)을 포함한다. 이 실시양태의 한 측면에서,

R³이 직접 부착되는 탄소 원자에서의 키랄 중심은 S 배열을 갖는다. 이 실시양태의 또다른 측면에서, R³이 직접 부착되는 탄소 원자에서의 키랄 중심은 R 배열을 갖는다.

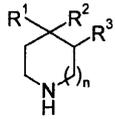
- <24> 본 발명의 화합물은 화학식 I 내 시클로헥실 고리 상에 위치하는 2개의 키랄 중심을 함유한다. 이들 키랄 중심들 다에서의 입체화학 배열이 S이면, 본 발명의 화합물은 (1S,3S) 입체이성질체이다. 확실히 해주자면, 본 발명의 (1S,3S) 입체이성질체는 이들 키랄 중심에서 하나 이상의 다른 가능한 입체이성질체, 즉 (1R,3R), (1R,3S) 및 (1S,3R) 입체이성질체와의 혼합물로서 존재할 수 있다. 예를 들어, (1S,3S) 입체이성질체는 (1R,3R) 입체이성질체와 1:1 혼합물로 존재할 수 있다.
- <25> 한 실시양태에서, 본 발명은 (1S,3S) 키랄 중심에서 광학적으로 순수한 화학식 I의 화합물을 제공한다. 추가 실시양태에서, 본 발명은 모든 키랄 중심에서 광학적으로 순수한 화학식 I의 화합물을 제공한다.
- <26> 본 명세서의 문맥에서, 용어 "광학적으로 순수한"은 존재하는 각 거울상이성질체/부분입체이성질체의 양과 이들 양의 총합 간 차이의 비로부터 계산되며 백분율로서 표현되는 거울상이성질체 잉여 (e.e.) 및 부분입체이성질체 잉여 (d.e.)의 견지에서 정의된다. 예시하자면, 하나의 거울상이성질체 95% 및 또다른 거울상이성질체 5%를 함유하는 제제는 거울상이성질체 잉여 (e.e.)가 90% [즉, (95-5)/(95+5)×100]이다. 부분입체이성질체 잉여는 거울상이성질체 잉여와 유사하게 정의된다. 본 발명에 따른 광학적으로 순수한 화합물의 e.e.는 90% 이상이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 광학적으로 순수한 화합물의 e.e.는 95% 이상이다. 본 발명의 추가 실시양태에서, 광학적으로 순수한 화합물의 e.e.는 98% 이상이다. 화합물이 부분입체이성질체를 갖는 경우, 광학적으로 순수한 화합물의 e.e.는 90% 이상이고 부분입체이성질체 잉여 (d.e.)는 90% 이상이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 광학적으로 순수한 화합물의 e.e.는 95% 이상이고 d.e.는 95% 이상이다. 본 발명의 추가 실시양태에서, 광학적으로 순수한 화합물의 e.e.는 98% 이상이고 d.e.는 98% 이상이다.
- <27> 본 발명의 한 실시양태에서, 화학식 I의 화합물은
- <28> 6-클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}-2-[(3S)-3-히드록시피롤리딘-1-일]퀴놀린-5-카르복스아미드,
- <29> 6-클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}-2-[(3R)-3-히드록시피롤리딘-1-일]퀴놀린-5-카르복스아미드,
- <30> 6-클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}-2-(4-히드록시피페리딘-1-일)퀴놀린-5-카르복스아미드, 및
- <31> 6-클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}-2-(3-히드록시-3-메틸피롤리딘-1-일)퀴놀린-5-카르복스아미드
- <32> 또는 이들의 제약상 허용되는 염으로부터 선택된다.
- <33> 본 발명은 하기 화학식 II의 화합물을 하기 화학식 III의 화합물과 반응시키는 단계 및 임의로 화합물의 제약상 허용되는 염을 형성하는 단계를 포함하는, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 제조 방법을 추가로 제공한다.

화학식 II



- <34>
- <35> 상기 식에서, X¹은 적합한 이탈기 (예를 들어 할로겐, 파라톨루엔 술포네이트, 메탄 술포네이트 또는 트리플루오로메탄 술포네이트)를 나타낸다.

화학식 III



<36>

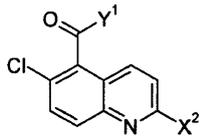
<37> 상기 식에서, R¹, R², R³ 및 n은 화학식 I에 정의된 바와 같다.

<38> II와 III의 반응은 유기 용매, 예컨대 메탄올, 아세트니트릴, N,N-디메틸포름아미드, 디메틸 술폰시드 또는 1-메틸-2-피롤리디논에서 적합한 염기, 예컨대 수소화나트륨, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민 또는 탄산칼륨의 존재 하에 온도 50°C 내지 150°C, 특히 80°C 내지 120°C에서 마이크로파 또는 통상적인 열 조건으로 수행될 수 있다.

<39> 유리 염기 또는 염으로서의 화학식 III의 화합물 (화학식 III의 화합물의 허용되는 염에는 산 부가염, 예컨대 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 포스페이트, 아세테이트, 푸마레이트, 말레에이트, 타르트레이트, 시트레이트, 옥살레이트, 메탄술포네이트 또는 p-톨루엔술포네이트 염이 포함되지만, 이에 한정되지는 않음)은 시판되거나, 문헌에 공지되어 있거나, 당업자가 공지된 기술을 사용하여 제조할 수 있다.

<40> 화학식 II의 화합물은 하기 화학식 IV의 화합물을 하기 (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로hex산올 (화합물 (V))과 반응시켜 제조할 수 있다.

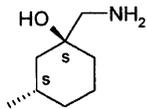
화학식 IV



<41>

<42> 상기 식에서, X²는 이탈기 (예를 들어 할로젠, 과라톨루엔 술포네이트, 메탄 술포네이트 또는 트리플루오로메탄 술포네이트)를 나타내고, Y¹은 적합한 이탈기 (예를 들어 히드록실 또는 클로로)를 나타낸다.

화학식 V



<43>

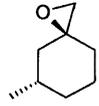
<44> Y¹이 염소 라디칼을 나타내는 것인 IV와 V의 반응에서, 반응은 통상적으로 유기 용매, 예컨대 아세톤, 디클로로메탄, N,N-디메틸포름아미드 또는 1-메틸-2-피롤리디논에서 적합한 염기, 예컨대 탄산칼륨, 디이소프로필에틸아민 또는 트리에틸아민으로 수행될 수 있다. Y¹이 히드록실기를 나타내는 경우, 커플링제, 예컨대 브로모-트리스-피롤리디노-포스포늄 헥사플루오로포스페이트 (PyBroP), 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보다이미드 (EDCI) 또는 0-(벤조트리아졸-1-일)-N,N,N',N'-테트라메틸우로늄 테트라플루오로보레이트 (TBTU)를 사용하는 것이 필요하거나 바람직할 수 있다. Y¹이 염소 라디칼인 경우, 상기 화합물은 통상적으로 표준 조건 (예컨대 디클로로메탄 중 티오닐 클로라이드 또는 옥살릴 클로라이드) 하에 상응하는 카르복실산 유도체의 처리에 의해 제조할 수 있다.

<45> 화학식 V의 화합물은 신규 화합물이며 본 발명의 추가 측면을 형성한다. 따라서, 본 발명의 추가 측면은 (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로hex산올인 화합물 또는 그의 염을 제공한다. 이러한 측면의 한 실시양태에서, 화합물 (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로hex산올은 광학적으로 순수하다 (광학적으로 순수하다는 것은 화학식 I의 광학적으로 순수한 화합물에 대해 정의된 바와 같음). (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로hex산올의 염에는 산 부가염, 예컨대 히드로클로라이드 또는 히드로브로마이드가 포함된다.

<46> (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로hex산올 (V)은 화학식 VI의 화합물을 적합한 보호 암모니아 동등물과 반응

시켜, 예컨대 프탈이미드와 반응 (이어서 히드라진으로 처리), 디-tert-부틸 이미도디카르보네이트와 반응 (이어서 산, 예를 들어 염화수소로 처리), 벤질아민류, 예를 들어 4-메톡시벤질아민과 반응 (이어서 2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논 (DDQ)으로 처리) 또는 다르게는 벤질아민과 반응, N-벤질-1-메탄아민 또는 1,1-디페닐메탄아민과 반응 (이어서 적합한 금속 촉매의 존재 하에 수소로 탈보호)시켜 제조할 수 있다.

화학식 VI

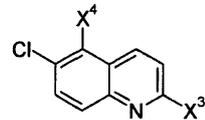


<47>

<48> 화학식 VI의 화합물과 벤질아민 간의 반응은 통상적으로 양성자성 용매, 예컨대 메탄올 또는 에탄올 (임의로 톨루엔과의 혼합 용매계로서) 또는 비양성자성 용매, 예컨대 아세트니트릴, 테트라히드로푸란 또는 N,N-디메틸포름아미드에서 온도 25℃ 내지 140℃, 특히 65℃ 내지 100℃에서 마이크로파 또는 통상적인 열 조건 하에 수행될 수 있다. 이후 벤질 보호기의 제거는 통상적으로 수소첨가분해 조건 하에 양성자성 용매, 예컨대 메탄올, 에탄올 또는 아세트산 또는 비양성자성 용매, 예컨대 에틸 아세테이트에서 온도 25℃ 내지 100℃, 바람직하게는 25℃에서 수소 분위기 1 내지 5 bar, 바람직하게는 4 bar 하에 촉매, 예컨대 탄소 상의 팔라듐, 산화백금 또는 탄소 상의 로듐, 바람직하게는 탄소 상의 팔라듐의 존재 하에 수행될 수 있다. 화합물 VI은 문헌 [Alexakis, A. et al., Synlett 2001, No.9, 1375]에 공지되어 있다. (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로헥산올의 상세한 제조예가 이하 실시예에서 제공된다.

<49> X²가 이탈기 (예를 들어 할로젠, 파라톨루엔 술포네이트, 메탄 술포네이트 또는 트리플루오로메탄 술포네이트)를 나타내고 Y¹이 히드록실을 나타내는 것인 화학식 IV의 화합물은 하기 화학식 VII의 화합물로부터 제조할 수 있다.

화학식 VII



<50>

<51> 상기 식에서, X³은 이탈기 (예를 들어 할로젠, 파라톨루엔 술포네이트, 메탄 술포네이트 또는 트리플루오로메탄 술포네이트)를 나타내고, X⁴는 요오드 또는 브롬 라디칼을 나타낸다.

<52> VII로부터 IV로의 전환에서, 반응은 통상적으로 금속/할로젠 교환에 이어서 이산화탄소를 이용한 친전자성 켄칭에 의해 수행될 수 있다. 반응은 유기 용매, 예컨대 테트라히드로푸란, 디에틸 에테르, 디글림 또는 헥산에서 유기금속성 시약, 예컨대 부틸리튬, sec-부틸리튬, tert-부틸리튬 또는 이소프로필마그네슘 클로라이드를 이용하여 온도 -78℃ 내지 25℃ (예를 들어 금속/할로젠 교환의 경우 25℃ 및 이산화탄소와의 반응의 경우 0℃)에서 수행될 수 있다.

<53> VII은 또한 카르보닐화 조건 하에 용매로서의 물에서 온도 25℃ 내지 120℃에서 일산화탄소 분위기 1 내지 8 bar 하에 금속 촉매 (예를 들어 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센디클로로 팔라듐 (II) 또는 1,1'-비스(디-tert-부틸포스피노)페로센디클로로 팔라듐 (II) (Pd-118)) 및 아민 염기 (예를 들어 트리에틸아민 또는 디이소프로필에틸아민)의 존재 하에 반응시켜 IV로 전환할 수 있다.

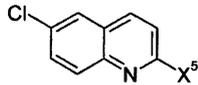
<54> X¹이 적합한 이탈기 (예를 들어 할로젠, 파라톨루엔 술포네이트, 메탄 술포네이트 또는 트리플루오로메탄 술포네이트)를 나타내는 것인 화학식 II의 화합물은 X³이 이탈기 (예를 들어 할로젠, 파라톨루엔 술포네이트, 메탄 술포네이트 또는 트리플루오로메탄 술포네이트)를 나타내고 X⁴가 요오드 또는 브롬 라디칼을 나타내는 것인 화학식 VII의 화합물로부터 제조할 수 있다.

<55> VII로부터 II로의 전환에서, 반응은 통상적으로 유기 용매, 예컨대 N-메틸피롤리딘, N,N-디메틸포름아미드, N,N-디메틸아세트아미드, 테트라히드로푸란 또는 아세트니트릴에서 아민 (V)의 존재 하에 온도 25℃ 내지 120℃에서 일산화탄소 분위기 1 내지 8 bar 하에 금속 촉매 (예를 들어 1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센디클로로 팔

라듐 (II) 또는 1,1'-비스(디-tert-부틸포스포노)페로센디클로로 팔라듐 (II) (Pd-118)) 및 아민 염기 (예를 들어 트리에틸아민 또는 디이소프로필에틸아민)의 존재 하에 수행될 수 있다.

<56> X^3 이 이탈기 (예를 들어 할로젠, 파라톨루엔 술포네이트, 메탄 술포네이트 또는 트리플루오로메탄 술포네이트)를 나타내고 X^4 가 요오드 또는 브롬 라디칼을 나타내는 것인 화학식 VII의 화합물은 하기 화학식 VIII의 화합물로부터 제조할 수 있다.

화학식 VIII



<57> <58> 상기 식에서, X^5 는 이탈기 (예를 들어 할로젠, 파라톨루엔 술포네이트, 메탄 술포네이트 또는 트리플루오로메탄 술포네이트)를 나타낸다.

<59> X^3 이 요오드 라디칼을 나타내는 것인 VIII로부터 VII로의 전환에서, 반응은 통상적으로 산, 예컨대 발연 황산 또는 트리플산에서 요오드 공급원, 예컨대 요오드 (I_2), N-요오도숙신이미드 (NIS) 또는 요오드 모노클로라이드 (ICl)의 존재 하에 금속 염 (예를 들어 은 트리플루오로메탄 술포네이트 또는 은 술포이트)의 존재 또는 부재 하에 수행될 수 있다.

<60> 화학식 VIII의 화합물은 시판되거나, 문헌에 공지되어 있거나, 당업자가 공지된 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 예를 들어, X^5 가 염소 라디칼인 화학식 VIII의 화합물은 문헌 [Inglis, S.R., et al., J. Med. Chem., 2004, 47, 5405]에 공지되어 있다.

<61> X^3 이 염소 라디칼이고 X^4 가 요오드 라디칼인 화학식 VII의 화합물은 신규 화합물이며 본 발명의 추가 측면을 형성한다. 따라서, 본 발명의 추가 측면은 2,6-디클로로-5-요오도퀴놀린인 화합물을 제공한다.

<62> 화학식 II의 화합물은 신규 화합물이며 본 발명의 추가 측면을 형성한다. 본 발명의 한 실시양태는 X^1 이 할로젠, 파라톨루엔 술포네이트, 메탄 술포네이트 및 트리플루오로메탄 술포네이트로부터 선택되는 것인 화학식 II의 화합물을 제공한다.

<63> 본 발명의 또다른 실시양태는 X^1 이 염소 라디칼인 화학식 II의 화합물을 제공한다. 따라서, 본 발명의 추가 측면은 2,6-디클로로-N-[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}퀴놀린-5-카르복사미드인 화합물을 제공한다.

<64> 당업자는 본 발명의 방법에서 출발 시약 또는 중간체 화합물의 특정 관능기, 예컨대 히드록시기, 카르복실기 또는 아미노기가 보호기에 의해 보호될 필요가 있을 수 있다는 것을 이해할 것이다. 따라서, 화학식 I의 화합물의 제조는 특정 단계에서 하나 이상의 보호기에 의한 보호 및/또는 그의 제거를 포함할 수 있다. 관능기의 보호 및 탈보호는 문헌 ['Protective Groups in Organic Synthesis', 2nd edition, T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience (1991) and 'Protecting Groups', P.J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (1994)]에 기재되어 있다. 상기 화학식 I의 화합물은 통상적인 방법을 사용하여 제약상 허용되는 염으로 전환할 수 있다.

<65> 본 발명의 화합물은 유의한 효능, 선택성 및/또는 약역학 성질을 갖는다. 예를 들어, 본 발명의 화합물은 hERG-코딩 칼륨 채널에 대한 낮은 친화성을 갖는다. 이와 관련하여, hERG-코딩 칼륨 채널과 상호작용하는 약물 및 이에 따라 K^+ 유출에 의한 (-) 세포 전위의 회복은 QT 간격을 연장시켜 후천성 장기 QT 증후군 (LQT)을 유도할 수 있다 (문헌 [M. C. Sanguinetti, C Jiang, M. E. Curran, M. T. Keating, Cell 1995, 81, 299-307; and K. Finlayson et al., Eur. J. Pharm. 2004, 500, 129-142] 참조). 결과적으로, 이는 토르사드 드 포인츠 (torsade de points) (TdP)로서 알려져 있는 잠재적으로 치명적인 부정맥을 유발할 수 있다 (문헌 [W. Haferkamp et al., Eur. Heart J. 2000, 21, 1216-1331] 참조). 따라서, 심장 채널, 특히 hERG 채널에 대한 효과가 결핍되어 있는 신규 화학체는 심장혈관 용도로 의도되지 않는다면, 개선된 안정성 프로파일을 제공할 것이고, 이에 따라 QT 연장 효과를 갖는 약물에 대해 치료 및 조절 이점을 얻을 것이다. 키스 등(Kiss et al.)의 문헌 [Assay Drug Dev. Technol. 2003, 1,127-135]에는 화합물을 hERG와 같은 이온 채널 활성 억제능에 대해 분석하는 방법이 기재되어 있다. 스프링토르프(Springthorpe) 및 스트란드룬드(Strandlund) (WO 2005037052)

에는 화합물을 IKr 칼륨 (hERG)에의 결합능에 대해 분석하는 방법이 기재되어 있다.

- <66> 본 발명에 따른 화합물은 또한 약역학 파라미터에 의해 측정된 바와 같이 양호한 생체이용률을 보여준다. 예를 들어, 본 발명에 따른 화합물은 낮은 혈장 단백질 결합을 보여줄 수 있다. 본 발명에 따른 화합물은 또한 시험 관내 인지질증 스크린에서 낮은 활성을 보여줄 수 있다.
- <67> 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염은 하기의 치료에 유익할 수 있다:
- <68> 1. 호흡기도: 기도의 폐쇄성 질환, 예를 들어 천식, 예컨대 기관지 천식, 알레르기성 천식, 내인성 천식, 외인성 천식, 운동-유발된 천식, 약물-유발된 천식 (아스피린 및 NSAID-유발된 천식 포함) 및 먼지-유발된 천식 (간혈성 및 지속성 천식 및 모든 중증도의 천식 모두), 및 기타 원인의 기도 과민반응; 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD); 기관지염, 예컨대 감염성 및 호산구성 기관지염; 기종; 기관지확장증; 낭포성 섬유증; 유육종증; 농부 폐 및 관련 질환; 과민성 폐렴; 폐 섬유증, 예컨대 원인불명의 섬유성 폐포염, 특발성 간질성 폐렴, 항-신생물 요법의 합병증으로 나타나는 섬유증, 및 만성 감염, 예컨대 결핵 및 국균증, 및 기타 진균성 감염; 폐 이식의 합병증; 폐 혈관의 혈관염성 및 혈전성 장애, 및 폐 고혈압; 진해 활성, 예컨대 기도의 염증성 및 분비성 상태와 관련된 만성 기침, 및 의인성 기침의 치료; 급성 및 만성 비염, 예컨대 약물성 비염 및 혈관운동성 비염; 다년성 및 계절성 알레르기성 비염, 예컨대 신경성 비염 (건초열); 비측 폴립증; 급성 바이러스 감염, 예컨대 감기, 및 호흡기 합포체 바이러스, 인플루엔자, 코로나바이러스 (SARS 포함) 및 아데노바이러스에 의한 감염;
- <69> 2. 골 및 관절: 골관절염/골관절증과 관련되거나 이를 포함하는 관절염 (원발성 및 속발성 모두), 예를 들어 신천성 고관절 이형성증; 자궁경부 및 요추 척추염, 및 요통 및 경부통; 류마티스성 관절염 및 스틸병; 혈청반응 음성 척추관절증, 예컨대 강직성 척추염, 건선성 관절염, 반응성 관절염 및 미분화된 척추관절증; 패혈성 관절염 및 기타 감염-관련 관절증, 및 골 장애, 예를 들어 결핵, 예컨대 포츠병 및 폰셋 증후군; 급성 및 만성 결정-유발된 활막염, 예컨대 요산염 통풍, 칼슘 피로포스페이트 침착 질환, 및 칼슘 아파타이트 관련 힘줄, 점액낭 및 활액 염증; 베체트병; 원발성 및 속발성 쇼그렌 증후군; 전신성 경화증 및 제한성 경피증; 전신성 홍반성 루푸스, 혼합 결합 조직 질환, 및 미분화된 결합 조직 질환; 염증성 근증, 예컨대 피부근염 및 다발성 근염; 측두관절염; 소아 관절염, 예컨대 특발성 염증성 관절염 (관절 분포 및 관련 증후군에 상관없음), 및 류마티스열 및 그의 전신 합병증; 혈관염, 예컨대 거대 세포 동맥염, 다카야수 동맥염, 치크-스트라우스 증후군, 결절성 다발동맥염, 미세 다발동맥염, 및 바이러스 감염, 과민성 반응, 한성글로불린 및 파라프로테인과 관련된 혈관염; 요통; 가족성 지중해열, 머클-웰즈 증후군, 및 가족성 아일랜드 열, 키쿠치병; 약물-유발된 관절통, 건염 및 근증;
- <70> 3. 손상 [예를 들어, 운동 손상] 또는 질환으로 인한 근골격 장애의 통증 및 결합 조직 재형성: 관절염 (예를 들어, 류마티스성 관절염, 골관절염, 통풍 또는 결정성 관절병증), 기타 관절 질환 (예컨대, 추간관 변성 또는 측두하악 관절 변성), 뼈 재형성 질환 (예컨대, 골다공증, 파렛병 또는 골괴사), 다발연골염, 경피증, 혼합 결합 조직 장애, 척추관절증 또는 치주 질환 (예컨대, 치주염);
- <71> 4. 피부: 건선, 아토피성 피부염, 접촉성 피부염 또는 기타 습진성 피부병, 및 지연형 과민성 반응; 식물성피부염 및 광선피부염; 지루성 피부염, 포진상 피부염, 편평태선, 위축성 경화 태선, 괴저성 농피증, 피부 유육종, 원관상 홍반성 루푸스, 천포창, 유천포창, 수포성 표피박리증, 두드러기, 혈관부종, 혈관염, 독성 홍반, 피부 호산구증다증, 원형 탈모증, 남성형 탈모, 스위트 증후군, 웨버-크리스찬 증후군, 다형 홍반; 봉와직염 (감염성 및 비-감염성 둘다); 지방층염; 피부 림프종, 비-흑색종 피부암 및 기타 이형성 병소; 약물-유발된 장애, 예컨대 고정 약진;
- <72> 5. 눈: 안검염; 결막염, 예컨대 다년성 및 춘계 알레르기성 결막염; 홍채염; 전포도막염 및 후포도막염; 맥락막염; 자가면역; 망막에 영향을 미치는 퇴행성 또는 염증성 장애; 안염, 예컨대 교감성 안염; 유육종증; 감염, 예컨대 바이러스, 진균 및 세균 감염;
- <73> 6. 위장관: 설염, 치은염, 치주염; 식도염, 예컨대 역류성 식도염; 호산구성 위장염, 비만세포증, 크론병, 대장염, 예컨대 궤양성 대장염, 직장염, 항문 소양증; 복강질환, 과민성 장 증후군, 및 장으로부터 멀리 떨어져 영향을 미칠 수 있는 음식물-관련 알레르기 (예를 들어, 편두통, 비염 또는 습진);
- <74> 7. 복부: 간염, 예컨대 자가면역 간염, 알콜성 간염 및 바이러스성 간염; 간의 섬유증 및 경변증; 담낭염; 췌장염 (급성 및 만성 둘다);
- <75> 8. 비뇨생식기: 신염, 예컨대 간질성 및 사구체 신염; 신장 증후군; 방광염, 예컨대 급성 및 만성 (간질성) 방광염 및 휴너(Hunner) 궤양; 급성 및 만성 요도염, 전립선염, 부고환염, 난소염 및 난관염; 외음질염; 페이로니

병; 발기 부전 (남성 및 여성 모두);

- <76> 9. 동종이식 거부반응: 예를 들어 신장, 심장, 간, 폐, 골수, 피부 또는 각막의 이식 또는 수혈에 따른 급성 및 만성 거부반응; 또는 숙주 질환에 대한 만성 이식편 거부반응;
- <77> 10. CNS: 알츠하이머병 및 기타 치매 장애, 예컨대 CJD 및 nvCJD; 아밀로이드증; 다발성 경화증 및 기타 탈수초성 증후군; 뇌 아테롬성경화증 및 혈관염; 측두 동맥염; 중증 근무력증; 급성 및 만성 통증 (중추 또는 말초 기원에 상관없이 급성, 간헐성 또는 지속성 통증 모두), 예컨대 내장통, 두통, 편두통, 삼차 신경통, 비전형적 안면통, 관절통 및 골통, 암 및 종양 침윤으로 인한 통증, 신경병성 통증 증후군, 예컨대 당뇨병성, 포진후 및 HN-관련 신경병증; 신경유육종증; 악성, 감염성 또는 자가면역 과정의 중추 신경계 및 말초 신경계 합병증;
- <78> 11. 기타 자가면역 및 알레르기성 장애, 예컨대 하시모토 갑상선염, 그레이브스병, 애디슨병, 당뇨병, 특발성 혈소판감소 자반병, 호산구성 근막염, 과다-IgE 증후군, 항인지질 증후군;
- <79> 12. 염증성 또는 면역학적 성분과 관련된 기타 장애, 예컨대 후천성 면역 결핍 증후군 (AIDS), 나병, 세자리 증후군 및 방증양성 증후군;
- <80> 13. 심혈관: 관상 및 말초 순환에 영향을 미치는 아테롬성경화증; 심막염; 심근염, 염증성 및 자가면역 심근증, 예컨대 심근성 유육종; 허혈성 재관류 손상; 심내막염, 판막염 및 대동맥염, 예를 들어 감염성 (예컨대 매독성); 혈관염; 정맥염 및 혈전증을 비롯한 근위 정맥 및 말초 정맥의 장애, 예컨대 심정맥 혈전증, 및 정맥류의 합병증;
- <81> 14. 종양: 전립선, 유방, 폐, 난소, 췌장, 장 및 결장, 위, 피부 및 뇌 종양 등을 비롯한 통상적인 암, 및 골수 (백혈병 포함) 및 림프계 증식 계통에 영향을 미치는 악성 종양, 예컨대 호지킨 림프종 및 비-호지킨 림프종의 치료; 전이성 질환 및 종양 재발 및 방증양성 증후군의 예방 및 치료 포함; 및
- <82> 15. 위장관: 복강질환, 직장염, 호산구성 위장염, 비만세포증, 크론병, 궤양성 대장염, 현미경적 대장염, 불확정 대장염, 과민성 장 장애, 과민성 장 증후군, 비-염증성 설사, 장으로부터 멀리 떨어져 영향을 미칠 수 있는 음식물-관련 알레르기, 예를 들어 편두통, 비염 및 습진.
- <83> 따라서, 본 발명은 요법에서 사용하기 위한, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.
- <84> 또다른 측면에서, 본 발명은 요법에서 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도를 제공한다.
- <85> 본 명세서의 문맥에서, 용어 "요법"은 또한 달리 구체적으로 나타내지 않는다면 "예방"을 포함한다. 용어 "치료적" 및 "치료적으로"도 이와 마찬가지로 해석되어야 한다.
- <86> 또다른 측면에서, 본 발명은 류마티스성 관절염의 치료를 위한, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.
- <87> 또다른 측면에서, 본 발명은 염증성 장 질환의 치료를 위한, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.
- <88> 또다른 측면에서, 본 발명은 크론병의 치료를 위한, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.
- <89> 또다른 측면에서, 본 발명은 류마티스성 관절염의 치료에 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도를 제공한다.
- <90> 또다른 측면에서, 본 발명은 천식 또는 만성 폐쇄성 폐질환의 치료에 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도를 제공한다.
- <91> 또다른 측면에서, 본 발명은 염증성 장 질환의 치료에 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도를 제공한다.
- <92> 또다른 측면에서, 본 발명은 크론병의 치료에 사용하기 위한 약제의 제조에 있어서, 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도를 제공한다.
- <93> 본 발명은 또한 류마티스성 관절염의 치료를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 상기 정의된 바와 같은 화학

식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 류마티스성 관절염의 치료 방법을 제공한다.

- <94> 본 발명은 또한 염증성 장 질환의 치료를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 염증성 장 질환의 치료 방법을 제공한다.
- <95> 본 발명은 또한 크론병의 치료를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 크론병의 치료 방법을 제공한다.
- <96> 본 발명은 또한 폐쇄성 기도 질환 (예를 들어 천식 또는 COPD)의 치료를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 상기 정의된 바와 같은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 폐쇄성 기도 질환의 치료 방법을 제공한다.
- <97> 온혈 동물, 예컨대 인간의 치료에 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 사용하기 위해서, 상기 성분은 통상적으로 표준 제약 관행에 따라 제약 조성물로서 제제화된다.
- <98> 따라서, 또다른 측면에서 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 (활성 성분), 및 제약상 허용되는 보조제, 희석제 또는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 추가 측면에서, 본 발명은 활성 성분을 제약상 허용되는 보조제, 희석제 또는 담체와 혼합하는 것을 포함하는, 상기 조성물의 제조 방법을 제공한다. 투여 방식에 따라, 제약 조성물은 전체 조성물을 기준으로 예를 들어 0.05 내지 99 중량%, 예컨대 0.05 내지 80 중량%, 예를 들어 0.10 내지 70 중량%, 예컨대 0.10 내지 50 중량%의 활성 성분을 포함할 것이다.
- <99> 본 발명의 제약 조성물은 치료하고자 하는 질환 상태에 대해 표준 방식으로, 예를 들어 국소 (예컨대 폐 및/또는 기도 또는 피부에), 경구, 직장 또는 비경구 투여에 의해 투여될 수 있다. 이러한 목적을 위해, 본 발명의 화합물은 당업계에 공지된 수단에 의해 예를 들어 에어로졸, 건조 분말 제제, 정제, 캡슐, 시럽, 분말, 과립, 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액, (액체) 에멀전, 분산성 분말, 좌제, 연고, 크림, 드롭 및 멸균 주사가 가능한 수성 또는 유성 용액 또는 현탁액의 형태로 제제화될 수 있다.
- <100> 본 발명의 적합한 제약 조성물은 단위 투여 형태로 경구 투여에 적합한 것, 예를 들어 0.1 mg 내지 1 g의 활성 성분을 함유하는 정제 또는 캡슐이다.
- <101> 또다른 측면에서, 본 발명의 제약 조성물은 정맥내, 피하 또는 근육내 주사에 적합한 것이다. 각 환자는 예를 들어 화합물 0.01 mgkg⁻¹ 내지 100 mgkg⁻¹, 예를 들어 본 발명의 화합물 0.1 mgkg⁻¹ 내지 20 mgkg⁻¹의 정맥내, 피하 또는 근육내 투여량을 받을 수 있으며, 상기 조성물은 하루에 1 내지 4회 투여된다. 정맥내, 피하 또는 근육내 투여량은 볼투스 주사에 의해 제공될 수 있다. 별법으로, 정맥내 투여량은 일정 시간에 걸친 연속 주입에 의해 제공될 수 있다. 별법으로, 각 환자는 매일의 비경구 투여량에 거의 동일한 매일의 경구 투여량을 받을 것이며, 상기 조성물은 하루에 1 내지 4회 투여된다.
- <102> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 또는 본 발명의 화합물을 포함하는 제약 조성물 또는 제제가 동시에 또는 순차적으로 투여되거나, 또는 열거된 상태들 중 하나 이상을 치료하기 위한 또다른 치료제(들)과의 조합 제제로서 투여되는 조합 요법에 관한 것이다.
- <103> 특히, 염증성 질환, 예컨대 류마티스성 관절염, 골관절염, 천식, 알레르기성 비염, 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD), 건선 및 염증성 장 질환 (이에 한정되지는 않음)의 치료를 위해, 본 발명의 화합물은 하기 열거된 작용제와 조합될 수 있다:
- <104> 비-스테로이드성 소염제 (이하, NSAID), 예컨대 비-선택적 시클로-옥시게나제 COX-1/COX-2 억제제 (국소 또는 전신 적용됨) (예를 들어, 피록시감, 디클로페낙, 프로피온산, 예컨대 나프록센, 플루르비프로펜, 페노프로펜, 케토프로펜 및 이부프로펜, 페나메이트, 예컨대 메페남산, 인도메타신, 숄린다, 아자프로파존, 피라졸론, 예컨대 페닐부타존, 살리실레이트, 예컨대 아스피린); 선택적 COX-2 억제제 (예컨대, 멜록시감, 셀레콕시브, 로페콕시브, 발데콕시브, 루마로콕시브, 파레콕시브 및 에토리콕시브); 시클로-옥시게나제 억제 산화질소 공여자 (CINOD); 글루코코르티코스테로이드 (국소, 경구, 근육내, 정맥내 또는 관절내 경로로 투여됨); 메토티렉세이트; 레플루노미드; 히드록시클로로퀸; d-페니실라민; 아우라노핀 또는 다른 비경구 또는 경구 금제제; 진통제; 디아세레인; 관절내 요법제, 예컨대 히알루론산 유도체; 및 영양 보충제, 예컨대 글루코사민. 시클로-옥시게나제 억제 산화질소 공여자 (CINOD); 글루코코르티코스테로이드 (국소, 경구, 근육내, 정맥내 또는 관절내 경로로 투여됨); 메토티렉세이트; 레플루노미드; 히드록시클로로퀸; d-페니실라민; 아우라노핀 또는

다른 비경구 또는 경구 금 제제; 진통제; 디아세레인; 관절내 요법제, 예컨대 히알루론산 유도제; 및 영양 보충제, 예컨대 글루코사민.

- <105> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 시토킨 또는 시토킨 기능의 효능제 또는 길항제 (SOCS 시스템의 조절제와 같이 시토킨 신호전달 경로에 작용하는 작용제 포함), 예컨대 알파-인터페론, 베타-인터페론 및 감마-인터페론; 인슐린-유사 성장 인자 제I형 (IGF-1); 인터류킨 (IL), 예컨대 IL1 내지 IL17, 및 인터류킨 길항제 또는 억제제, 예컨대 아나킨라; 종양 괴사 인자 알파 (TNF- α) 억제제, 예컨대 항-TNF 모노클로날 항체 (예를 들어, 인플릭시맙, 아달리무맙 및 CDP-870) 및 TNF 수용체 길항제, 예컨대 이뮤노글로불린 분자 (예컨대, 에타너셉트) 및 저분자량 작용제, 예컨대 헵톡시필린과의 조합물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 본 발명의 화합물과 B-림프구를 표적으로 하는 모노클로날 항체 (예컨대, CD20 (리툭시맙), MRA-aIL16R 및 T-림프구, CTLA4-Ig, HuMax I1-15)와의 조합물에 관한 것이다.
- <106> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 케모킨 수용체 기능 조절제, 예컨대 CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 및 CCR11 (C-C 부류의 경우); CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4 및 CXCR5 (C-X-C 부류의 경우) 및 CX₃CR1 (C-X₃-C 부류의 경우)의 길항제와의 조합물에 관한 것이다.
- <107> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 매트릭스 메탈로프로테아제 (MMP)의 억제제, 즉 스트로멜리신, 콜라게나제 및 젤라티나제 뿐만 아니라 아그레카나제; 특히 콜라게나제-1 (MMP-1), 콜라게나제-2 (MMP-8), 콜라게나제-3 (MMP-13), 스트로멜리신-1 (MMP-3), 스트로멜리신-2 (MMP-10) 및 스트로멜리신-3 (MMP-11) 및 MMP-9 및 MMP-12의 억제제 (독시사이클린과 같은 작용제 포함)와의 조합물에 관한 것이다.
- <108> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 류코트리엔 생합성 억제제, 5-리폭시게나제 (5-LO) 억제제 또는 5-리폭시게나제 활성화 단백질 (FLAP) 길항제, 예컨대 질류톤; ABT-761; 펜류톤; 테폭살린; 애보트(Abbott)-79175; 애보트-85761; N-(5-치환된)-티오펜-2-알킬술폰아미드; 2,6-디-tert-부틸페놀히드라존; 메톡시테트라히드로피란, 예컨대 제네카(Zeneca) ZD-2138; 화합물 SB-210661; 피리디닐-치환된 2-시아노나프탈렌 화합물, 예컨대 L-739,010; 2-시아노퀴놀린 화합물, 예컨대 L-746,530; 또는 인돌 또는 퀴놀린 화합물, 예컨대 MK-591, MK-886 및 BAYx1005와의 조합물에 관한 것이다.
- <109> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 페노티아진-3-1s, 예컨대 L-651,392; 아미디노 화합물, 예컨대 CGS-25019c; 벤족살아민, 예컨대 온타졸라스트; 벤젠카르복시미다미드, 예컨대 BIIL 284/260; 및 자피를루카스트, 아블루카스트, 몬테루카스트, 프란루카스트, 베를루카스트 (MK-679), RG-12525, Ro-245913, 이라루카스트 (CGP 45715A) 및 BAYx7195와 같은 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 류코트리엔 (LT) B4, LTC4, LTD4 및 LTE4에 대한 수용체 길항제와의 조합물에 관한 것이다.
- <110> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 포스포디에스테라제 (PDE) 억제제, 예컨대 테오필린 및 아미노필린을 비롯한 메틸кс안타닌; 선택적 PDE 동위효소 억제제, 예컨대 PDE4 억제제 (이소형 PDE4D의 억제제) 또는 PDE5 억제제와의 조합물에 관한 것이다.
- <111> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 히스타민 제1형 수용체 길항제, 예컨대 세티리진, 로라타딘, 데슬로라타딘, 펙소페나딘, 아크리바스틴, 테르페나딘, 아스테미졸, 아젤라스틴, 레보카바스틴, 클로르페니라민, 프로메타진, 시클리진 또는 미졸라스틴과의 조합물에 관한 것이다 (경구, 국소 또는 비경구 적용됨).
- <112> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 양성자 펌프 억제제 (예컨대 오메프라졸) 또는 위보호성 히스타민 제2형 수용체 길항제와의 조합물에 관한 것이다.
- <113> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 히스타민 제4형 수용체 길항제와의 조합물에 관한 것이다.
- <114> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 알파-1/알파-2 아드레날린 수용체 효능제, 혈관수축 교감신경흥분제, 예컨대 프로필렉세드린, 페닐에프린, 페닐프로판올아민, 에페드린, 슈도에페드린, 나파졸린 히드로클로라이드, 옥시메타졸린 히드로클로라이드, 테트라히드로졸린 히드로클로라이드, 크실로메타졸린 히드로클로라이드, 트라마졸린 히드로클로라이드 또는 에틸노르에피네프린 히드로클로라이드와의 조합물에 관한 것이다.

- <115> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 콜린작용 차단제, 예컨대 무스카린성 수용체 (M1, M2 및 M3) 길항제, 예컨대 아트로핀, 히오신, 글리코피롤레이트, 이프라트로프 브로마이드, 티오토로프 브로마이드, 옥시트로프 브로마이드, 피렌제핀 또는 텔렌제핀과의 조합물에 관한 것이다.
- <116> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 베타-아드레날린 수용체 효능제 (베타 수용체 아형 1-4 포함), 예컨대 이소프레날린, 살부타몰, 포르모테롤, 살메테롤, 테르부탈린, 오르시프레날린, 비톨데롤 메실레이트 또는 피르부테롤, 또는 이들의 키랄 거울상이성질체와의 조합물에 관한 것이다.
- <117> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 크로몬, 예컨대 나트륨 크로모글리케이트 또는 네도크로밀 나트륨과의 조합물에 관한 것이다.
- <118> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 글루코코르티코이드, 예컨대 플루니솔리드, 트리암시놀론 아세토니드, 베클로메타손 디프로피오네이트, 부데소니드, 플루티카손 프로피오네이트, 시클레소니드 또는 모메타손 푸로에이트와의 조합물에 관한 것이다.
- <119> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 핵 호르몬 수용체, 예컨대 PPAR을 조절하는 작용제와의 조합물에 관한 것이다.
- <120> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 이뮤노글로불린 (Ig) 또는 Ig 제제, 또는 Ig 기능을 조절하는 길항제 또는 항체, 예컨대 항-IgE (예를 들어, 오말리주맵)와의 조합물에 관한 것이다.
- <121> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 또다른 전신 또는 국소-적용 소염제, 예컨대 탈리도미드 또는 이의 유도체, 레티노이드, 디트라놀 또는 칼시포트리올과의 조합물에 관한 것이다.
- <122> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 아미노살리실레이트 및 술폰피리딘, 예컨대 술폰살라진, 메살라진, 발살라지드 및 울살라진; 및 면역조절제, 예컨대 티오피린, 및 코르티코스테로이드, 예컨대 부데소니드와의 조합물에 관한 것이다.
- <123> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 항균제, 예컨대 페니실린 유도체, 테트라사이클린, 마크롤리드, 베타-락탐, 플루오로퀴놀론, 메트로니다졸, 흡입용 아미노글리코시드; 항바이러스제, 예컨대 아시클로비르, 팜시클로비르, 발라시클로비르, 간시클로비르, 시도포비르, 아만타딘, 리만타딘, 리바비린, 자나마비르 및 오셀타마비르; 프로테아제 억제제, 예컨대 인디나비르, 넬피나비르, 리토나비르 및 사퀴나비르; 뉴클레오시드 역전사효소 억제제, 예컨대 디다노신, 라미부딘, 스타부딘, 잘시타빈 또는 지도부딘; 또는 비-뉴클레오시드 역전사효소 억제제, 예컨대 네비라핀 또는 에파비렌즈와의 조합물에 관한 것이다.
- <124> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 심혈관 작용제, 예컨대 칼슘 채널 차단제, 베타-아드레날린 수용체 차단제, 안지오텐신-전환 효소 (ACE) 억제제, 안지오텐신-2 수용체 길항제; 지질 저하제, 예컨대 스타틴 또는 피브레이트; 혈액 세포 형태 조절제, 예컨대 펜톡시필린; 혈전용해제 또는 항응고제, 예컨대 혈소판 응집 억제제와의 조합물에 관한 것이다.
- <125> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, CNS 작용제, 예컨대 항우울제 (예컨대, 세르트랄린), 항-파킨슨병 약물 (예컨대, 데프레닐, L-도파, 로피니롤, 프라미펙솔, MAOB 억제제, 예컨대 셀레진 및 라사질린, comP 억제제, 예컨대 타스마르, A-2 억제제, 도파민 재흡수 억제제, NMDA 길항제, 니코틴 효능제, 도파민 효능제 또는 뉴런성 산화질소 신타제의 억제제), 또는 항-알츠하이머 약물, 예컨대 도네페질, 리바스티그민, 타크린, COX-2 억제제, 프로펜토피린 또는 메트리포네이트와의 조합물에 관한 것이다.
- <126> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 급성 또는 만성 통증 치료제, 예컨대 중추 또는 말초-작용 진통제 (예를 들어, 아편양제제 또는 이의 유도체), 카르바마제핀, 페니토인, 나트륨 발프로에이트, 아미트립틸린 또는 다른 항우울제, 파라세타몰 또는 비-스테로이드성 소염제와의 조합물에 관한 것이다.
- <127> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, 비경구 또는 국소-적용되는 (흡입 포함) 국부 마취제, 예컨대 리그노카인 또는 이의 유도체와의 조합물에 관한 것이다.
- <128> 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염은 탈록시펜과 같은 호르몬제 또는 알렌드로네이트와 같은 바이포스포네이트를 비롯한 항-골다공증제와 조합되어 사용될 수도 있다.
- <129> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과, (i) 트립타제 억제제; (ii) 혈소판 활성화 인자 (PAF) 길항제; (iii) 인터류킨 전환 효소 (ICE) 억제제; (iv) IMPDH 억제제; (v) 부착 분자 억제제, 예컨대 VLA-4 길항제; (vi) 카텡신; (vii) 키나제 억제제, 예컨대 티로신 키나제 (예컨대, Btk, Itk, Jak3 또는

MAP)의 억제제 (예를 들어, 게피티닙(Gefitinib) 또는 이마티닙(Imatinib) 메실레이트), 세린/트레오닌 키나제의 억제제 (예컨대, MAP 키나제의 억제제, 예컨대 p38, JNK, 단백질 키나제 A, B 또는 C, 또는 IKK), 또는 세포 주기 조절에 관여하는 키나제 (예컨대, 실린 의존성 키나제)의 억제제; (viii) 글루코스-6 포스페이트 데히드로게나제 억제제; (ix) 키닌-B₁- 또는 B₂-수용체 길항제; (x) 항-통풍제, 예를 들어 콜키친; (xi) 크산틴 옥시다제 억제제, 예를 들어 알로푸리놀; (xii) 요산 배설제, 예를 들어 프로베네시드, 숄핀피라존 또는 벤즈브로마론; (xiii) 성장 호르몬 분비촉진제; (xiv) 형질전환 성장 인자 (TGFβ); (xv) 혈소판-유래 성장 인자 (PDGF); (xvi) 섬유아세포 성장 인자, 예를 들어 염기성 섬유아세포 성장 인자 (bFGF); (xvii) 캡사이신 크림; (xviii) 타치키닌 NK₁ 또는 NK₃ 수용체 길항제, 예컨대 NKP-608C, SB-233412 (탈네타트) 또는 D-4418; (xix) 엘라스타제 억제제, 예컨대 UT-77 또는 ZD-0892; (xx) 유발된 산화질소 신타제 (iNOS) 억제제; (xxi) TH2 세포에서 발견되는 화학주성인자 수용체-상동성 분자 (예컨대, CRTH2 길항제); (xxii) P38의 억제제; (xxiii) Toll-유사 수용체 (TLR)의 기능 조절제; (xxiv) 또다른 퓨린 작용성 수용체의 활성 조절제; 또는 (xxv) NFκB, API 또는 STATS와 같은 전사 인자 활성화 억제제와의 조합물에 관한 것이다.

- <130> 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염은 또한 기존의 암 치료용 치료제와 조합되어 사용될 수 있으며, 예를 들어 적합한 치료제에는 하기가 포함된다:
- <131> (i) 의학적 암연구에 사용되는 것과 같은 항증식/항신생물성 약물 또는 이의 조합물, 예컨대 알킬화제 (예를 들어, 시스-플라틴, 카르보플라틴, 시클로포스파미드, 질소 머스타드, 멜팔란, 클로람부실, 부술판 또는 니트로소우레아); 항대사물질 (예를 들어, 안티폴레이트, 예컨대 5-플루오로우라실 또는 테가푸르와 같은 플루오로피리미딘, 라티트렉세드, 메토틱렉세이트, 시토신 아라비노시드, 히드록시우레아, 겐시타빈 또는 파클리탁셀); 항종양 항생제 (예를 들어, 안트라사이클린, 예컨대 아드리아마이신, 블레오마이신, 독소루비신, 다우노마이신, 에피루비신, 이다루비신, 미토마이신-C, 닥티노마이신 또는 미트라마이신); 항유사분열제 (예를 들어, 빈카 알칼로이드, 예컨대 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈데신 또는 비노렐빈, 또는 탁소이드, 예컨대 탁솔 또는 탁소테레); 또는 토포이소머라제 억제제 (예를 들어, 에피도도필로톡신, 예컨대 에토포시드, 테니포시드, 암사크린, 토포테칸 또는 캄프토테신);
- <132> (ii) 세포 증식 억제제, 예컨대 항에스트로겐 (예를 들어, 타목시펜, 토레미펜, 랄록시펜, 드롤록시펜 또는 요오드옥시펜), 에스트로겐 수용체 하향 조절제 (예를 들어, 폴베스트란트), 항안드로겐 (예를 들어, 비칼루타미드, 플루타미드, 닐루타미드 또는 시프로테론 아세테이트), LHRH 길항제 또는 LHRH 효능제 (예를 들어, 고세렐린, 류프로렐린 또는 부세렐린), 프로게스토겐 (예를 들어, 메게스트롤 아세테이트), 아로마타제 억제제 (예를 들어, 아나스트로졸, 레트로졸, 보라졸 또는 엑세메스탄) 또는 5α-리덕타제의 억제제, 예컨대 피나스테리드;
- <133> (iii) 암 세포 침윤을 억제하는 작용제 (예를 들어, 마리마스타트와 같은 메탈로프로테이나제 억제제 또는 유로키나제 플라스미노겐 활성화인자 수용체 기능 억제제);
- <134> (iv) 성장 인자 기능 억제제, 예를 들어 성장 인자 항체 (예를 들어, 항-erbB2 항체 트라스투주맙, 또는 항-erbB1 항체 세툽시맙 [C225]), 파르네실 트랜스퍼라제 억제제, 티로신 키나제 억제제 또는 세린/트레오닌 키나제 억제제, 상피 성장 인자류의 억제제 (예를 들어, EGFR류 티로신 키나제 억제제, 예컨대 N-(3-클로로-4-플루오로페닐)-7-메톡시-6-(3-모르폴리노프로폭시)퀴나졸린-4-아민 (게피티닙, AZD1839), N-(3-에틸닐페닐)-6,7-비스(2-메톡시에톡시)퀴나졸린-4-아민 (에를로티닙, OSI-774) 또는 6-아크릴아미도-N-(3-클로로-4-플루오로페닐)-7-(3-모르폴리노프로폭시)퀴나졸린-4-아민 (CI 1033)), 혈소판-유래 성장 인자류의 억제제 또는 간세포 성장 인자류의 억제제;
- <135> (v) 항혈관신생제, 예컨대 혈관 내피 성장 인자의 효과를 억제하는 작용제 (예를 들어, 항-혈관 내피 세포 성장 인자 항체 베바시주맙, WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 또는 WO 98/13354에 개시된 화합물), 또는 또 다른 메카니즘으로 작용하는 화합물 (예를 들어, 리노미드, 인테그린 αvβ3 기능 억제제 또는 안지오스타틴);
- <136> (vi) 혈관 손상제, 예컨대 콤프레타스타틴 A4, 또는 WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 또는 WO 02/08213에 개시된 화합물;
- <137> (vii) 안티센스 요법에 사용되는 작용제, 예를 들어 상기 열거된 표적 중 어느 하나에 대해 지시된 것, 예컨대 ISIS 2503, 항-ras 안티센스;
- <138> (viii) 유전자 요법에 사용되는 작용제, 예를 들어 비정상적인 유전자, 예컨대 비정상적인 p53 또는 비정상적인 BRCA1 또는 BRCA2를 대체하기 위한 방법, GDEPT (유전자-지시된 효소 전구약물 요법) 방법, 예컨대 시토신 테아

미나제, 티미딘 키나제 또는 박테리아 니트로리덕타제 효소를 사용하는 방법, 및 화학요법 또는 방사선요법에 대한 환자 내성을 증가시키는 방법, 예컨대 다중-약물 내성 유전자 요법에 사용되는 작용제; 또는

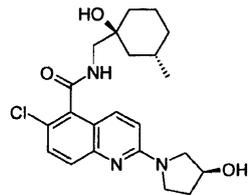
<139> (ix) 면역치료 방법에 사용되는 작용제, 예를 들어 환자 종양 세포의 면역원성을 증가시키는 생체의 및 생체내 방법, 예컨대 인터류킨 2, 인터류킨 4 또는 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자와 같은 시토킨에 의한 형질감염, T-세포 무반응을 감소시키기 위한 방법, 시토킨-형질감염된 수상돌기 세포와 같은 형질감염된 면역 세포를 사용하는 방법, 시토킨-형질감염된 종양 세포주를 사용하는 방법 및 항-이디오타입(idiotype) 항체를 사용하는 방법에 사용되는 작용제.

<140> 본 발명은 지금부터 하기 예시적인 실시예를 참조로 추가 설명될 것이다. 실시예에서, NMR 스펙트럼은 바리안 유니티(Varian Unity) 분광계에서 양성자 주파수 300 또는 400 MHz로 측정하였다. MS 스펙트럼은 애질런트(Agilent) 1100 MSD G1946D 분광계 또는 휴렛 팩커드(Hewlett Packard) HP1100 MSD G1946A 분광계에서 측정하였다. 정제용 HPLC 분리는 워터스 시메트리(Waters Symmetry)[®] 또는 엑스테라(Xterra)[®] 컬럼을 사용하며 용리액으로서 0.1% 수성 트리플루오로아세트산:아세트오닐트릴, 0.1% 수성 암모니아:아세트오닐트릴 또는 0.1% 암모늄 아세테이트:아세트오닐트릴을 사용하여 수행하였다. 마이크로파 반응은 CEM 디스커버(CEM Discover) 단일 모드 마이크로파에서 수행하였다. 화합물 및 중간체는 캐나다 토론토 소재 ACD 랩스(ACD Labs)에서 제공한 IUPAC 명명 패키지에 의해 명명하였다.

실시예

실시예 1

<141> <142> 6-클로로-N-[[[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸]-2-[(3S)-3-히드록시피롤리딘-1-일]퀴놀린-5-카르복스아미드



<143> <144> a) (3S,5S)-5-메틸-1-옥사스피로[2.5]옥탄

<145> 표제 화합물을 문헌 절차 [Weijers, C.A.G.M. et al., JOC. 2005, 70, 6639-6646]에 따라 디메틸술폭시드 (200 ml) 중 칼륨 tert-부톡시드 (7.84 g)의 용액을 디메틸술폭시드 (100 ml) 중 (3S)-3-메틸시클로헥산온 (4.0 g, 98% ee 초과) (문헌 [Alexakis, A. et al., Synlett 2001, No.9, 1375 and Hiemstra, H and Wynberg, H., Tetrahedron Lett., 1977, 2183] 참조)과 트리메틸술폭소늄 요오다이드 (15.4 g)의 혼합물과 반응시켜 제조하여 표제 화합물 (3.5 g)을 수득하였다.

<146> ¹H NMR δ(CDC₃) 2.62 (2H, m), 1.86 - 1.56 (5H, m), 1.26 (2H, m), 0.99 (1H, m), 0.92 (3H, d), 0.86 (1H, m).

<147> b) (1S,3S)-1-[(벤질아미노)메틸]-3-메틸시클로헥산올

<148> 벤질아민 (5.9 g)과 (3S,5S)-5-메틸-1-옥사스피로[2.5]옥탄 (3.5 g)의 메탄올 (1 ml) 용액을 마이크로파 (100 W) 내 100°C에서 30분 동안 가열한 다음, 진공 하에 농축시키고, 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (SiO₂, 용리액으로서 20% 에틸 아세테이트/이소-헥산)에 의해 정제하여 무색 오일로서의 표제 화합물 (4.5 g)을 수득하였다.

<149> m/z 234 (M+H, 100%).

<150> c) (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로헥산올. HCl

<151> 메탄올 (40 ml) 중 (1S,3S)-1-[(벤질아미노)메틸]-3-메틸시클로헥산올 (4.5 g)과 탄소 상의 5% 팔라듐 (500 mg)의 혼합물을 수소 분위기 4 bar 하에 72시간 동안 교반하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 메탄올로 세척하고 (2회), 진공 하에 농축시켜 무색 오일로서의 (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로헥산올 (2.5 g)을 수득하였다.

¹H NMR δ_(CDCl₃) 2.53 (2H, d), 1.50-1.90 (6H, cm), 1.06 (2H, m), 0.87 (3H, d) and 0.81 (2H, m).

<152>

(1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로헥산을 디에틸 에테르 중의 용액으로서 1,4-디옥산 중 4 M HCl의 1 몰당 량에 의해 처리하여 표제 화합물로 용이하게 전환하였다.

<154>

d) 2,6-디클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}퀴놀린-5-카르복스아미드

<155>

디클로로메탄 (100 ml) 중 2,6-디클로로-퀴놀린-5-카르복실산 (2.40 g) (WO 2004/106305, 실시예 76, 단계 b)의 교반 현탁액에 옥살릴 클로라이드 (3.15 g, 2.16 ml) 및 한 방울의 N,N-디메틸포름아미드를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 2시간 동안 교반한 후, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하고, 잔류물을 디클로로메탄 (100 ml)에 희석하였다. 이 용액에 (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로헥산올.HCl (1.78 g) 및 디이소프로필에틸아민 (6.70 ml)을 첨가하고, 반응물을 20시간 동안 교반한 후, 물로 세척하였다. 유기층을 건조시키고 (MgSO₄), 여과하고, 휘발성 물질을 증발시켜 조 고체를 수득하였다. 물질을 톨루엔으로부터 재결정화하여 베이지색 고체로서의 표제 화합물 (2.5 g)을 수득하였다.

¹H NMR δ_(CDCl₃) 8.24 (1H, d), 7.99 (1H, d), 7.71 (1H, t), 7.46 (1H, d), 6.34 (1H, s), 3.56 (2H, d), 1.82 - 1.52 (7H, m), 1.35 (1H, td), 1.07 (1H, t), 0.93 (3H, d), 0.88 (1H, dd).

<156>

e) 6-클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}-2-[(3S)-3-히드록시-피롤리딘-1-일]퀴놀린-5-카르복스아미드

<158>

(S)-3-히드록시피롤리딘 (80 mg)을 아세토니트릴 (3 ml) 중 단계 d)의 생성물 (0.2 g)과 디이소프로필에틸아민 (300 μl)의 현탁액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 마이크로파 (100 W) 내 120°C에서 30분 동안 가열한 후, 진공 하에 농축시켰다. 물 (15 ml)을 첨가하고, 현탁액을 10분 동안 초음파 처리하였다. 고체를 여과하고, 밤새 진공 하에 건조시켜, 크림색 고체로서의 표제 화합물 (180 mg)을 수득하였다. m.p. 222°C (아세토니트릴).

<159>

m/z 418 (M+H, 100%), 416 (M-H, 100%)

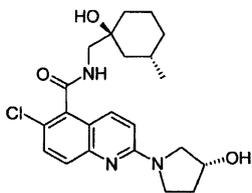
¹H NMR δ_(DMSO) 8.49 (1H, t), 7.81 (1H, d), 7.54 (1H, d), 7.49 (1H, d), 6.95 (1H, d), 4.99 (1H, d), 4.42 (1H, s), 4.15 (1H, s), 3.59 (3H, m), 3.47 (1H, s), 3.28 (2H, d), 2.04 (1H, m), 1.92 (1H, m), 1.73 (1H, m), 1.64 - 1.41 (5H, m), 1.29 (1H, m), 1.04 (1H, t), 0.84 (3H, d), 0.75 (1H, m).

<160>

실시예 2

<162>

6-클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}-2-[(3R)-3-히드록시피롤리딘-1-일]퀴놀린-5-카르복스아미드



<163>

표제 화합물을 실시예 1, 단계 e)의 방법에 따라 ((S)-3-히드록시피롤리딘 대신) (R)-3-히드록시피롤리딘 (80 mg)을 아세토니트릴 (3 ml) 중 실시예 1, 단계 d)의 생성물 (0.2 g) 및 디이소프로필에틸아민 (300 μl)과 반응시켜 제조하여 크림색 고체로서의 표제 화합물 (190 mg)을 수득하였다. m.p. 222-223°C (아세토니트릴).

<165>

m/z 418 (M+H, 100%).

¹H NMR δ_(CD₃OD) 7.92 (1H, d), 7.65 (1H, d), 7.49 (1H, d), 6.94 (1H, d), 4.54 (1H, d), 3.69 (3H, m), 3.62 (1H, m), 3.41 (2H, s), 2.15 (1H, m), 2.10 (1H, m), 1.86-1.53 (6H, br. m), 1.40 (1H, m), 1.12 (1H, t), 0.89 (3H, d), 0.85 (1H, q).

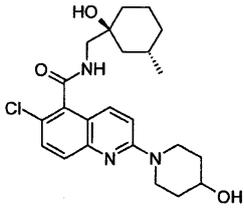
<166>

실시예 3

<168>

6-클로로-N-{[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸}-2-(4-히드록시피페리딘-1-일)퀴놀린-5-카르복스아미드

드



<169>

<170>

표제 화합물을 실시예 1, 단계 e)의 방법에 따라 ((S)-3-히드록시피롤리딘 대신) 피페리딘-4-올 (28 mg)을 아세트니트릴 (2 ml) 중 실시예 1, 단계 d)의 생성물 (0.10 g) 및 디이소프로필에틸아민 (0.11 g)과 반응시켜 제조하여 백색 고체로서의 표제 화합물 (99 mg)을 수득하였다. m.p. 120°C dec.

<171>

m/z 432 (M+H, 100%), 430 (M-H, 100%)

¹H NMR δ_(DMSO) 8.46 (1H, t), 7.79 (1H, d), 7.52 (1H, d), 7.49 (1H, d), 7.32 (1H, d), 4.71 (1H, d), 4.18 (2H, m), 4.13 (1H, s), 3.73 (1H, m), 3.37 - 3.20 (4H, m), 1.84 - 1.21 (11H, m), 1.02 (1H, t), 0.82 (3H, d), 0.73 (1H, m)

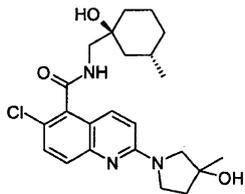
<172>

<173>

실시예 4

<174>

6-클로로-N-[[[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸]-2-(3-히드록시-3-메틸피롤리딘-1-일)퀴놀린-5-카르복사미드



<175>

<176>

a) 1-벤질-3-메틸피롤리딘-3-올

<177>

메틸마그네슘 브로마이드 (디에틸 에테르 중의 3 M 용액 4 ml)를 0°C에서 테트라히드로푸란 (50 ml) 중 1-벤질피롤리딘-3-올 (1.75 g)의 용액에 적가하였다. 혼합물을 0°C에서 1시간 동안 교반한 후, 물 및 디에틸 에테르를 첨가하고, 층을 분리하였다. 유기층을 염수로 세척하고, 건조시키고 (MgSO₄), 여과하고, 진공 하에 농축시켰다. 조 물질을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (SiO₂, 용리액으로서 5% 메탄올/디클로로메탄)에 의해 정제하여 담갈색 오일로서의 표제 화합물 (0.8 g)을 수득하였다.

¹H NMR δ_(CDCl₃) 7.34-7.20 (5H, m), 3.63 (2H, s), 3.00-2.92 (1H, m), 2.71 (1H, d), 2.37-2.28 (1H, m), 2.22 (1H, d), 1.92-1.84 (2H, m), 1.33 (3H, s).

<178>

<179>

b) 3-메틸피롤리딘-3-올

<180>

에탄올 (1 ml) 중 탄소 상의 5% 팔라듐의 슬러리를 메탄올 (10 ml) 중 1-벤질-3-메틸피롤리딘-3-올 (0.8 g)의 용액에 첨가하고, 반응물을 5 bar 압력의 수소 분위기 하에 4일 동안 교반한 후, 셀라이트를 통해 여과하고, 에탄올 (100 ml)로 세척하였다. 휘발성 물질을 진공 하에 제거하여 황색 오일로서의 표제 생성물 (0.42 g)을 수득하였다.

¹H NMR δ_(CDCl₃) 3.18 (1H, m), 2.96 (1H, m), 2.90 (1H, d), 2.68 (1H, d), 1.82 (2H, m), 1.41 (3H, s).

<181>

<182>

c) 6-클로로-N-[[[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸]-2-(3-히드록시-3-메틸피롤리딘-1-일)퀴놀린-5-카르복사미드

<183>

표제 화합물을 실시예 1, 단계 e)의 방법에 따라 ((S)-3-히드록시피롤리딘 대신) 3-메틸피롤리딘-3-올 (0.42 g)을 아세트니트릴 (1 ml) 중 2,6-디클로로-퀴놀린-5-카르복실산 (1-히드록시-3-메틸-시클로헥실메틸)-아미드 (0.10 g) 및 (디이소프로필에틸아민 대신) 트리에틸아민 (0.38 ml)과 반응시켜 제조하여 부분입체이성질체의

1:1 혼합물로서 조 표제 화합물을 수득하였다. 반응물을 진공 하에 농축시키고, 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피 (SiO₂, 용리액으로서 4% 메탄올/디클로로메탄)에 의해 무색 고체로서 단리하였다 (70 mg). 부분입체 이성질체를 초임계 유체 크로마토그래피 (SFC)에 의해 OJ 다이셀(DaiceI) 컬럼에서 용리액으로서 25% 에탄올/이산화탄소를 사용하여 분리하여 무색 고체로서의 이성질체 1 (18 mg)을 수득하고,

<184> m.p. 195-200°C dec,

<185> m/z 432 (M+H, 100%),

¹H NMR δ_(DMSO) 8.48 (1H, t), 7.80 (1H, d), 7.55-7.46 (2H, m), 6.92 (1H, d), 4.82 (1H, s), 4.14 (1H, s), 3.70-3.49 (2H, m), 3.38 (1H, d), 3.27 (1H, d), 2.54-2.46 (2H, m), 1.99-1.42 (8H, m), 1.37 (3H, s), 1.34-1.22 (1H, m), 1.04 (1H, t), 0.84 (3H, d), 0.81-0.68 (1H, m),

<187> 무색 고체로서의 이성질체 2 (17 mg)를 수득하였다.

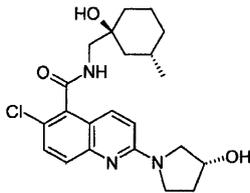
<188> m.p. 200-202°C,

<189> m/z 432 (M+H, 100%),

¹H NMR δ_(DMSO) 8.48 (1H, t), 7.80 (1H, d), 7.54-7.48 (2H, m), 6.83 (1H, d), 4.82 (1H, s), 4.14 (1H, s), 3.70-3.48 (2H, m), 3.38 (1H, d), 3.28 (1H, d), 2.53-2.48 (2H, m), 2.02-1.42 (8H, m), 1.37 (3H, s), 1.33-1.21 (1H, m), 1.04 (1H, t), 0.84 (3H, d), 0.80-0.68 (1H, m).

<191> **실시예 5**

<192> 6-클로로-N-[[[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸]-2-[(3R)-3-히드록시피롤리딘-1-일]퀴놀린-5-카복스아미드 (실시예 2에 대한 다른 제법)



<193> 실시예 5에 대한 일반 조건: NMR 스펙트럼은 브루커 어드밴스(Bruker Avance) 360 MHz, 브루커 어드밴스 400 MHz 또는 브루커 DPX250 250 MHz 분광계에서 측정하였다. 분석 입체화학 HPLC 측정은 ACE 3 페닐, 150×3 mm 컬럼 및 키랄팩(Chirapak) AD-H 150×4.6 mm 컬럼을 사용하며 용리액으로서 각각 0.1% 수성 암모늄 아세테이트:아세트오닐트릴 구배 용리 및 19.9:80:0.1 이소프로판올:이소헥산:트리에틸아민 등용매 용리를 사용하여 수행하였다.

<195> **a) 2,6-디클로로퀴놀린**

<196> 인 옥시클로라이드 (16.72 kg)를 70°C에서 6-클로로퀴놀린-2(1H)-온 (12.50 kg) (문헌 [Johnston K.M. et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1972, 1648] 및 이 내부의 참고문헌의 방법에 따라 제조됨), 벤질트리메틸암모늄 클로라이드 (1.575 kg) 및 1,2-디메톡시에탄 (87.8 kg)을 함유하는 용기에 충전시켰다. 1,2-디메톡시에탄 (22.5 kg)을 관 행금제로서 충전시켰다. 반응물을 70°C 내지 75°C에서 약 6시간 동안 교반한 후, 배치를 진공 증류 (40°C 미만)에 의해 약 44 L로 농축시켰다. 농축물을 디클로로메탄 (253.1 kg)으로 희석시키고, 38°C 내지 45°C로 조정하고, 38°C 내지 45°C에서 온도를 유지하면서 물 (37.5 kg)을 첨가하여 켄칭하였다. 70분 후, 배치를 25°C 내지 30°C로 냉각시키고, 셀라이트 (1.30 kg)로 40분 동안 처리하였다. 슬러리를 1 μm 여과막을 통해 가압 여과하고, 여과물을 디클로로메탄 (87.5 kg)으로 희석하였다. 상을 분리하고, 수성상을 디클로로메탄 (82 kg)으로 2회 추출하였다. 합한 유기 추출물을 5% w/w 탄산수소나트륨 용액 (37 L), 물 (37 kg)로 순차적으로 세척한 다음, 25°C 내지 40°C에서 약 75 L로 농축시켰다. 이소프로판올 (96.5 kg)을 충전시킨 다음, 배치를 25°C 내지 40°C에서 약 75 L로 농축시켰다. 이소프로판올 (95.4 kg)을 충전시킨 다음, 배치를 25°C 내지 40°C에서 약 75 L로 농축시켰다. 생성된 슬러리를 16°C 내지 18°C에서 2시간 동안 교반한 다음, 여과하였다. 여과 케이크를 약 20°C에서 이소프로판올 (19.7 kg)로 세척한 다음, 진공 하에 50°C 이하에서 건조시켜 회백색 고체로서의 표제 화합물 (12.04 kg)을 수득하였다.

<197> ¹H NMR δ_(DMSO) 8.45 (1H, d), 8.22 (1H, d), 7.99 (1H, d), 7.86 (1H, dd), 7.68 (1H, d).

<198> b) 2,6-디클로로-5-요오도퀴놀린

<199> 2,6-디클로로퀴놀린 (12.04 kg)을 15℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하도록 거의 동일한 10 부분으로 나누어 트리플루오로메탄술폰산 (80.6 kg)에 충전시켰다. 이어서, N-요오도숙신이미드 (13.74 kg)를 15℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하도록 거의 동일한 5 부분으로 나누어 충전시켰다. 반응물을 20℃ 내지 25℃에서 약 36시간 동안 교반하였다. 온도를 15℃ 내지 20℃로 조정하고, 디클로로메탄 (159.4 kg)으로 희석하고, 5℃ 내지 10℃로 조정하고, 5℃ 내지 23℃에서 온도를 유지하면서 물 (96.5 kg)을 첨가하여 켄칭하였다. 슬러리를 1 μm 여과막을 통해 정화하고, 디클로로메탄 (16.1 kg)으로 관을 행구었다. 상을 분리하고, 수성상을 디클로로메탄 (48.2 kg)으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 5% w/w 탄산수소나트륨 용액 (48 L)으로 세척하였다. 탄산수소나트륨 상을 다시 디클로로메탄 (15.4 kg)으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 20% w/w 티오황산나트륨 용액 (48 L)으로 세척하였다. 티오황산나트륨 상을 다시 디클로로메탄 (16.3 kg)으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 물 (47 L)로 세척하였다. 물 상을 다시 디클로로메탄 (16.4 kg)으로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 용기에 재충전시키고, 디클로로메탄 (31.3 kg)으로 관을 행구고, 대기압에서 약 48 L로 농축시켰다. 디클로로메탄 (63 kg)을 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 48 L로 농축시켰다. 디클로로메탄 (66 kg)을 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 48 L로 농축시켰다. 디클로로메탄 (63.6 kg)을 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 48 L로 농축시켰다. 디클로로메탄 (63.8 kg)을 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 48 L로 농축시켰다. 디클로로메탄 (77.8 kg)을 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 48 L로 농축시켰다. 아세토니트릴 (47.7 kg)을 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 96 L로 농축시켰다. 아세토니트릴 (46.4 kg)을 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 96 L로 농축시켰다. 배치를 18℃ 내지 23℃로 냉각시키고, 2.5시간 동안 교반한 다음, 여과하였다. 여과 케이크를 약 20℃에서 아세토니트릴 (19.6 kg)로 2회 세척한 다음, 진공 하에 55℃ 이하에서 건조시켜 담황색 고체로서의 표제 화합물 (16.74 kg)을 수득하였다.

<200> ¹H NMR δ_(DMSO) 8.51 (1H, d), 8.01-7.94 (2H, m), 7.72 (1H, d).

<201> c) 2,6-디클로로-퀴놀린-5-카르복실산

<202> 2.09 M 이소프로필 마그네슘 클로라이드 (27.0 L)를 2,6-디클로로-5-요오도퀴놀린 (15.0 kg)을 함유하는 용기에 충전시키고, 18℃ 내지 25℃에서 테트라히드로푸란 (103.4 kg)을 탈기시켰다. 테트라히드로푸란 (13.9 kg)을 관 행굼제로서 충전시켰다. 반응물을 18℃ 내지 25℃에서 15분 동안 교반하고, 10℃ 내지 15℃로 냉각시키고, 5℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하면서 약 6시간 동안 기체 이산화탄소로 살포하였다. 메탄올 (12.3 kg)을 15℃ 내지 20℃에서 용기에 충전시키고, 약 30분 동안 교반한 다음, 물 (134.0 kg)로 추가 희석하였다. 배치를 진공 증류 (40℃ 미만)에 의해 약 135 L로 농축시켰다. 농축물을 물 (121 kg), 에틸 아세테이트 (40.7 kg)로 희석하고, 20℃ 내지 25℃로 조정하였다. 상을 분리하고, 수성상을 에틸 아세테이트 (3×40.8 kg)로 세척하였다. 수성상의 pH를 1 M 염산 (3.97 L)에 의해 pH 5.09로 조정하고, tert-부틸메틸에테르 (23.4 kg)로 2회 세척하였다. 수성상의 pH를 2 M 염산 (25.5 L)에 의해 pH 1.35로 조정하고, 22℃에서 약 1시간 동안 교반하고, 여과하였다. 여과 케이크를 약 20℃에서 물 (약 60 L)로 4회 세척한 다음, 진공 하에 55℃ 이하에서 건조시켜 담황색 고체로서의 표제 화합물 (8.74 kg)을 수득하였다.

<203> ¹H NMR δ_(DMSO) 14.41 (1H, br s), 8.32 (1H, d), 8.10 (1H, dd), 7.97 (1H, d), 7.77 (1H, d).

<204> d) 0,0'-(S)-(1,1'-디나프틸-2,2'-디일)-N,N'-디-(R,R)-1-페닐에틸포스포르아미디트

<205> (R-(R,R))-(+)-비스(알파-메틸벤질)아민 (0.35 kg)을 18℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하면서 삼염화인 (0.1365 kg), 톨루엔 (3.15 L) 및 트리에틸아민 (0.714 L)을 함유하는 용기에 충전시켰다. 톨루엔 (0.35 L)을 관 행굼제로서 충전시켰다. 3.5시간 후, (S)-(-)-1,1'-비(2-나프틸) 용액 (0.445 kg)을 20℃ 내지 26℃에서 온도를 유지하면서 테트라히드로푸란 (0.70 L) 중의 용액으로서 충전시켰다. 테트라히드로푸란 (0.35 L)을 관 행굼제로서 충전시켰다. 반응 혼합물을 주변 온도에서 18시간 동안 교반한 다음, 실리카 [9 cm (높이)×19 cm (폭)]를 통해 여과하였다. 생성물을 톨루엔 (10×1.75 L)으로 용리시켰다. 합한 여과물을 진공 하에 35℃ 미만에서 약 1 L로 농축시킨 다음, 아세토니트릴 (5.6 L)로 희석하였다. 생성된 슬러리를 0℃ 내지 5℃로 냉각시키고, 약 1시간 동안 교반한 다음, 여과하였다. 여과 케이크를 아세토니트릴 (2×0.70 L)로 세척하고, 여과기 상에서 진공 하에 건조시켜 무색 고체로서의 표제 화합물 (0.65 kg)을 수득하였다.

¹H NMR δ_(CDCl₃) 7.95-7.87 (4H, m), 7.59 (1H, s), 7.47-7.36 (4H, m), 7.29-7.20 (3H, m), 7.18-7.03 (10H, m), 4.58-4.44 (2H, m), 1.72 (6H, d).

e) (S)-3-메틸시클로헥산온

톨루엔 (38.1 kg)을 0,0'-(S)-(1,1'-디나프틸-2,2'-디일)-N,N'-디-(R,R)-1-페닐에틸포스포르아미디트 (0.448 kg) 및 구리(II)트리플루오로메탄술포네이트 (0.132 kg)를 함유하는 용기에 충전시키고, 21℃에서 약 90분 동안 교반하였다. 용기를 아르곤으로 퍼징하고, -25℃ 내지 -30℃로 냉각시키고, -25℃ 내지 -30℃에서 온도를 유지하면서 시클로헥스-2-엔-1-온 (14.0 kg)으로 충전시켰다. 톨루엔 (12.1 kg)을 관/용기 행굼제로서 충전시켰다. -20℃ 내지 -30℃에서 온도를 유지하면서 약 4.5시간에 걸쳐 톨루엔 (약 84.5 L) 중 2 M 디메틸아연을 충전시켰다. 루엔 (12.5 kg)을 관/용기 행굼제로서 충전시켰다. 반응물을 -20℃ 내지 -30℃에서 약 10시간 동안 교반한 후, 배치를 10℃ 미만에서 온도를 유지하면서 약 45분에 걸쳐 냉각 메탄올 (54.5 kg) 상에 켄칭하였다. 배치를 톨루엔 (5.5 kg)으로 희석하고, 7℃에서 1시간 동안 교반하고, 180℃에서 가온한 다음, 추가 6시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 100 μm 및 1 μm 여과막을 사용하여 여과하고, 여과 케이크를 약 20℃에서 톨루엔 (13 kg)으로 2회 세척하였다. 반응 혼합물을 대기압에서 70 L로 농축시킨 다음, 와이프드 필름(wiped film) 증류에 의해 정제하여 톨루엔 중의 용액으로서 표제 화합물 (13.13 kg)을 수득하였다.

¹H NMR δ_(CDCl₃) 2.45-2.15 (3H, m), 2.10-1.80 (4H, m), 1.75-1.55 (1H, m), 1.40-1.25 (1H, m), 1.05 (3H, d).

f) (3S,5S)-5-메틸-1-옥사-스피로[2.5]옥탄

디메틸술폭시드 (36 kg) 중 칼륨 tert-부톡시드 (11.6 kg)의 용액을 15℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하면서 디메틸술폭시드 (36.2 kg) 중 트리메틸술폭소늄 요오다이드 (22.68 kg)의 혼합물에 충전시켰다. 디메틸술폭시드 (11.5 kg)를 관/용기 행굼제로서 충전시키고, 배치를 15℃ 내지 25℃에서 90분 동안 교반하였다. 3-메틸-시클로헥산온 (10.50 kg)을 함유하는 톨루엔 용액 (61.02 kg)을 15℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하면서 반응물에 충전시켰다. 톨루엔 (9.9 kg)을 관/용기 행굼제로서 충전시켰다. 배치를 2시간 동안 교반하고, 15℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하면서 물 (94.5 kg)을 첨가하여 켄칭한 다음, 여과하였다. 물 (11.0 kg)을 관/용기 행굼제로서 충전시켰다. 상을 분리하였으며, 유기상은 톨루엔 중 표제 화합물 (11.1 kg)의 용액으로서 존속하였다.

¹H NMR δ_(CDCl₃) 2.61 (2H, dd), 2.00-1.36 (6H, m), 1.32-1.16 (2H, m), 1.05-0.80 (4H, m).

g) (1S,3S)-1-[(벤질아미노)메틸]-3-메틸-시클로헥산올. HCl

벤질아민 (20.4 kg)을 15℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하면서 (3S,5S)-5-메틸-1-옥사-스피로[2.5]옥탄 (9.69 kg) 및 이소프로판올 (22.2 kg)의 톨루엔 용액 (72.3 kg)에 충전시켰다. 이소프로판올 (15.6 kg)을 관/용기 행굼제로서 충전시키고, 배치를 68℃ 내지 72℃로 조정하였다. 약 5.5 시간 후, 배치를 6℃로 냉각시키고, 0℃ 내지 20℃에서 온도를 유지하도록 이소프로판올 중의 염산 [아세틸 클로라이드 (24.4 kg) 및 이소프로판올 (26.7 kg)로 제조됨]으로 충전시켰다. 0℃ 내지 20℃에서 온도를 유지하면서 냉각 tert-부틸메틸-에테르 (35.9 kg)를 충전시킨 다음, 약 10℃에서 90분 동안 교반하였다. 생성된 슬러리를 여과하고, 여과 케이크를 약 10℃에서 tert-부틸메틸에테르 (약 35 kg)로 2회 세척한 다음, 진공 하에 여과기 상에서 약 10시간 동안 건조시켜 무색 오일로서의 표제 화합물 (20.29 kg)을 수득하였다.

¹H NMR δ_(CDCl₃) 9.40 (1H, br s), 7.63-7.60 (2H, m), 7.44-7.36 (3H, m), 4.31 (1H, s), 4.23 (2H, s), 2.74 (2H, s), 2.10-1.45 (7H, m), 1.11 (1H, dt), 0.83 (3H, d), 0.87-0.68 (1H, m).

h) (1S,3S)-1-아미노메틸-3-메틸-시클로헥산올. HCl

20% w/v 수산화나트륨 (50 L)을 18℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하면서 (1S,3S)-1-[(벤질아미노)메틸]-3-메틸시클로헥산올. HCl (25 kg, 13.93 kg 함유) 및 tert-부틸메틸에테르 (88.6 kg)를 함유하는 용기에 충전시켰다. 상을 분리하고, 수성상을 tert-부틸메틸에테르 (37.2 kg)로 2회 추출하였다. 합한 유기 추출물을 용기에 재충전시키고, tert-부틸메틸에테르 (20.2 kg)로 관을 행구고, 대기압에서 약 75 L로 농축시켰다. tert-부틸 메틸에테르 (52.6 kg)를 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 75 L로 농축시켰다. 무수 에탄올 (118.6 kg)을 충전시키고, 배치를 30℃ 내지 45℃에서 약 75 L로 농축시켰다. 온도를 약 20℃로 조정한 다음, 탄소 상의 5% 팔라듐 (5.00 kg)을 함유하는 질소-퍼징 용기에 충전시켰다. 무수 에탄올 (63.0 kg)을 용기/관 행굼제로서 충전시

켰다. 용기를 수소 분위기 하에 놓고, 58℃ 내지 62℃로 조정하고, 12시간 동안 교반하였다. 반응물을 18℃ 내지 25℃로 냉각시키고, 질소로 퍼징하고, 여과하였다. 무수 에탄올 (20.8 kg)을 용기/관을 통해/그 주위에 재순환시켜 여과 케이크를 생성물로 회수하였다. 무수 에탄올 (19.7 kg)을 용기/관을 통해/그 주위에 재순환시켜 여과 케이크를 생성물로 회수하였다. 합한 여과물을 30℃ 내지 45℃에서 약 75 L로 농축시킨 다음, 디이소프로필에테르 (132.3 kg)로 희석하였다. 반응 혼합물을 환류로 가열하고, 대기압에서 약 75 L로 농축시켰다. 디이소프로필에테르 (124.6 kg)를 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 75 L로 농축시켰다. 디이소프로필에테르 (123 kg)를 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 75 L로 농축시켰다. 혼합물을 5℃ 내지 10℃로 냉각시키고, 5℃ 내지 20℃에서 온도를 유지하도록 에탄올 중의 HCl [아세트 클로라이드 (7.68 kg) 및 에탄올 (49.9 kg)로 제조됨]로 충전시켰다. 5℃ 내지 20℃에서 온도를 유지하면서 냉각 디이소프로필에테르 (73.2 kg)를 충전시킨 다음, 약 7℃에서 1시간 동안 교반하였다. 생성된 슬러리를 여과하고, 여과 케이크를 약 20℃에서 디이소프로필에테르 (약 38 kg)로 2회 세척한 다음, 진공 하에 여과기 상에서 약 10시간 동안 건조시켜 무색 고체로서의 표제 화합물 (8.02 kg)을 수득하였다.

¹H NMR δ_(D₂O) 3.06 (2H, s), 1.84-1.60 (7H, m), 1.44-1.30 (1H, m), 1.10 (1H, t), 1.02-0.87 (4H, m).

<218>

i) 2,6-디클로로-N-[[[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸]-퀴놀린-5-카르복사미드

<219>

티오닐 클로라이드 (7.2 kg)를 2,6-디클로로-퀴놀린-5-카르복실산 (5.00 kg) 및 톨루엔 (43.0 kg)을 함유하는 용기에 충전시켰다. 톨루엔 (13.1 kg)을 관 행금제로서 충전시켰다. 반응물을 82℃ 내지 84℃로 조정하고, 약 7시간 동안 교반하였다. 배치를 40℃ 미만으로 냉각시키고, 30℃ 내지 40℃에서 진공 증류에 의해 약 25 L로 농축시켰다. 톨루엔 (43.5 kg)을 충전시키고, 배치를 30℃ 내지 40℃에서 약 25 L로 농축시켰다. 톨루엔 (22.0 kg)을 충전시키고, 온도를 20℃ 내지 25℃로 조정하였다. 이어서, 이 톨루엔 용액을 5℃ 내지 10℃에서 온도를 유지하도록 (1S,3S)-1-(아미노메틸)-3-메틸시클로헥산을 히드로클로라이드 (3.70 kg), 테트라히드로푸란 (43.5 kg) 및 트리에틸아민 (6.26 kg)의 냉각 혼합물에 충전시켰다. 톨루엔 (4.6 kg)을 관 행금제로서 충전시켰다. 4시간 후, 온도를 20℃ 내지 25℃로 조정하고, 20℃ 내지 25℃에서 온도를 유지하면서 물 (25 kg)을 첨가하여 켄칭하였다. 온도를 20분 동안 40℃ 내지 45℃로 조정된 후, 상을 분리하였다. 유기상을 40℃ 내지 45℃에서 물 (25 L)로 세척한 다음, 25℃ 내지 40℃에서 45 L로 농축시켰다. 톨루엔 (42.7 kg)을 충전시키고, 배치를 25℃ 내지 40℃에서 약 45 L로 농축시켰다. 톨루엔 (43.2 kg)을 충전시키고, 배치를 25℃ 내지 40℃에서 약 45 L로 농축시켰다. 이어서, 반응 혼합물을 환류로 가열하여 완전한 분해를 달성하고, 2.5시간에 걸쳐 20℃ 내지 25℃로 냉각시킨 다음, 20℃ 내지 25℃에서 2.5시간 동안 교반하였다. 생성된 슬러리를 여과하고, 여과 케이크를 약 20℃에서 톨루엔 (약 9 kg)으로 2회 세척한 다음, 진공 하에 55℃ 이하에서 건조시켜 무색 고체로서의 표제 화합물 (5.88 kg)을 수득하였다.

¹H NMR δ_(DMSO) 8.66 (1H, t), 8.25 (1H, d), 8.04 (1H, d), 7.91 (1H, d), 7.76 (1H, d), 4.24 (1H, s), 3.35-3.25 (2H, d일 것이라고 예상되지만, 시그널은 물 시그널에 의해 가려짐), 1.85-1.45 (6H, m), 1.32 (1H, dt), 1.05 (1H, t), 0.92-0.71 (4H, m).

<221>

j) 6-클로로-N-[[[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸]-2-[(3R)-3-히드록시피롤리딘-1-일]퀴놀린-5-카르복사미드

<222>

메탄올 (36.9 kg)을 2,6-디클로로-N-[[[(1S,3S)-1-히드록시-3-메틸시클로헥실]메틸]-퀴놀린-5-카르복사미드 (5.85 kg), (R)-3-히드록시피롤리딘 히드로클로라이드 (4.15 kg), 아세트니트릴 (32.5 kg) 및 트리에틸아민 (9.8 kg)을 함유하는 용기에 충전시켰다. 용기를 환류로 가열하였다. 약 70시간 후, 배치를 40℃ 내지 45℃로 냉각시키고, 1 μm 여과막을 통해 정화하였다. 메탄올 (4.7 L)을 용기/관 행금제로서 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 29 L로 농축시켰다. 아세트니트릴 (46.8 kg)을 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 29 L로 농축시켰다. 아세트니트릴 (46.8 kg)을 충전시키고, 배치를 대기압에서 약 29 L로 농축시켰다. 배치를 18℃ 내지 25℃로 냉각시키고, 물 (56.5 kg)로 희석하고, 1시간 동안 교반하였다. 생성된 슬러리를 여과하고, 여과 케이크를 물 (약 30 kg)로 2회 세척한 다음, 진공 하에 45℃ 이하에서 건조시켜 무색 고체로서의 표제 화합물 [5.6 kg, 100% ee, 98.5% de (분석 입체화학 HPLC에 의해 측정된 모든 가능한 입체이성질체에 대한 잉여)]을 수득하였다.

<223>

¹H NMR δ_(DMSO) 8.53 (1H, t), 7.84 (1H, d), 7.59-7.51 (2H, 2 x d), 6.99 (1H, d), 5.03 (1H, d), 4.45 (1H, br s), 4.19 (1H, s), 3.79-3.41 (4H, m), 3.31 (2H, d), 2.13-1.29 (9H, m), 1.08 (1H, t), 0.94-0.73 (4H, m).

<224>

<225> **약물학적 분석**

<226> **P2X₇ 검정**

<227> 벤조일벤조일 아데노신 트리포스페이트 (bbATP)와 같은 특정 화합물은 원형질막에 기공을 형성하는 작용을 하는 P2X₇ 수용체의 효능제로 알려져 있다 (문헌 [Drug Development Research (1996), 37(3), p.126] 참조). 결과적으로, 수용체가 에티뉼 브로마이드 (형광 DNA 프로브)의 존재 하에 bbATP를 사용하여 활성화되는 경우, 세포 내 DNA-결합된 에티뉼 브로마이드 형광의 증가가 관찰된다. 형광의 증가는 P2X₇ 수용체 활성화의 척도로서 사용될 수 있으므로, P2X₇ 수용체에 대한 화합물의 효과를 정량화할 수 있다.

<228> 이러한 방식으로, 실시예의 각 표제 화합물을 P2X₇ 수용체에서의 길항제 활성화에 대해 시험하였다. 따라서, 편평한 바닥의 96-웰 마이크로티터 플레이트에서 시험을 수행하였으며, 상기 웰은 10⁻⁴ M 에티뉼 브로마이드를 함유하는 THP-1 세포 (2.5 x 10⁶ 세포/ml)의 현탁액 200 μl, 10⁻⁵ M bbATP를 함유하는 고 칼륨 완충 용액 25 μl, 및 전형적으로 30 μM 내지 0.001 μM 농도의 시험 화합물을 함유하는 고 칼륨 완충 용액 25 μl를 포함하는 시험 용액 250 μl로 채웠다. 플레이트를 플라스틱 시트로 덮고, 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 플레이트를 퍼킨-엘머(Perkin-Elmer) 형광 플레이트 판독기, 여기 520 nm, 방출 595 nm, 슬릿 폭: Ex 15 nm, Em 20 nm에서 판독하였다. 비교를 위해, bbATP (P2X₇ 수용체 효능제) 및 피리독살 5-포스페이트 (P2X₇ 수용체 길항제)를 대조군으로서 시험에 별도로 사용하였다. 획득한 판독으로부터, pIC₅₀ 값을 각 시험 화합물에 대해 계산하였으며, 상기 값은 bbATP 효능제 활성을 50%로 감소시키는데 필요한 시험 화합물의 농도의 (-) 로그값이다.

<229> **hERG 결합 프로토콜**

<230> hERG 검정을 WO 2005/037052에 기재된 절차에 따라 수행하였다. hERG 유전자에 의해 코딩된 이온 채널 서브유닛에 대한 화합물의 친환성 (pIC₅₀)을 여과기 세척 형식으로, hERG를 발현하는 HEK (인간 배아 신장) 세포막에 대한 방사성리간드 3,7-비스[2-(4-니트로[3,5-³H]페닐)에틸]-3,7-디아자비시클로[3.3.1]노난의 경쟁 결합에 의해 측정하였다.

<231> 막을 시험 화합물의 일련의 희석물, 최종 농도 1 nM의 방사성리간드 3,7-비스[2-(4-니트로[3,5-³H]페닐)에틸]-3,7-디아자비시클로[3.3.1]노난, 및 검정 완충액 (10 mM HEPES, 130 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM EGTA, 0.8 mM MgCl₂, pH 7.4)과 함께 실온에서 3시간 동안 인큐베이션하였다. 검정을 최종 부피 200 μl에서 1% (v/v) 디메틸 술폭시드의 존재 하에 수행하였다. 비-특이적 결합을 10 μM 아스테미졸의 존재 하에 3,7-비스[2-(4-니트로[3,5-³H]페닐)에틸]-3,7-디아자비시클로[3.3.1]노난의 결합을 측정하여 결정하였다. 이 인큐베이션 동안, GF/B 여과 플레이트를 0.3% (v/v) 폴리에틸렌이민 및 0.2% (w/v) BSA를 함유하는 코팅 용액에 함침시켰다. 인큐베이션 후, 검정 플레이트를 톰테크(Tomtec) 수확기를 사용하여 사전코팅된 GF/B 여과 플레이트 상에 수확하였다.

<232> 3,7-비스[2-(4-니트로[3,5-³H]페닐)에틸]-3,7-디아자비시클로[3.3.1]노난 결합의 50% 감소에 필요한 화합물 농도의 (-) 로그값으로서 정의된 pIC₅₀을 측정하였다. '미만' 값은 인용된 농도에서 50% 미만의 억제력을 나타내며, 이는 시험된 최고 농도이다.

<233> **결과**

<234> 실시예의 각 화합물은 8.0 이상의 pIC₅₀ 값을 갖는 매우 높은 P2X₇ 길항제 활성을 입증하였다. 또한, 각 화합물은 시험된 최고 농도에서 50% 미만의 억제로 특히 낮은 hERG 활성을 보여주었다. 하기 표 1은 실시예 1 내지 실시예 4 (이성질체 2) 및 WO 2004/106305 (실시예 29, 36, 44 및 50)에 예시된 비교 화합물에 대한 P2X₇ pIC₅₀ 값 및 hERG pIC₅₀ 값을 나타낸다.

표 1

실시에 번호	P2X ₇ pIC ₅₀	hERG pIC ₅₀	P2X ₇ : hERG 비
1	8.1	<4	>10,000
2	8.1	<4	>10,000
3	8.1	<4	>10,000
4 - 이성질체 2	8.0	<4	>10,000
29 WO 2004/106305	7.2	4.5	502
44 WO 2004/106305	7.9	4.9	1000
36 WO 2004/106305	8.2	5.1	1258
50 WO 2004/106305	7.5	4.9	398

<235>

<236>

본 발명에 따른 화합물은 10 nM 이하의 농도에서 P2X₇ IC₅₀ 값을 기록하였다. 또한, 100 μM의 농도에서 hERG에 대한 IC₅₀을 기록하는데 충분한 활성을 보여주지 않았다. 따라서, 본 발명의 화합물은 10,000 초과의 P2X₇:hERG 친화성 비를 갖는다. 비교 화합물인 WO 2004/106305의 실시예 29, 36, 44 및 50은 각각 32 μM, 8 μM, 13 μM 및 13 μM의 농도에서 hERG IC₅₀을 기록하였고, P2X₇ IC₅₀을 기록하기 위해 63 nM, 6 nM, 13 nM 및 32 nM의 농도를 필요로 하였다. 따라서, 그의 P2X₇:hERG 친화성 비는 단지 각각 502, 1258, 1000 및 398이었다.

<237>

생체이용률 - 래트 PK

<238>

약역학 파라미터 및 개념을 DMPK에 사용하여 체내 화합물의 운명을 설명하였다. 화합물의 분포 및 배출은 혈장 농도 - 시간 프로파일에 반영된다. 적절한 투여에 의해, 샘플링 및 분석의 중요 파라미터 (제거율, 부피, 반감기, 생체이용률 등)를 결정할 수 있다.

<239>

시험 화합물을 전형적으로 수컷 스프래그 돌리(Sprague Dawley) 래트의 우측 꼬리 정맥에 DMA:물 (40:60 v/v) 중 3 mg/kg (1 ml/kg)의 투여량으로 정맥내 투여하였다. 래트를 0.5% 히드록시프로필메틸셀룰로스 (물 중 HPMC (w/v)/0.1% 트윈 80 (v/v)) 중 5 mg/kg (2 ml/kg)의 투여량으로 경구 투여하였다. 정맥내 투여 후, 일련의 혈액 샘플 (200 μl)을 좌측 꼬리 정맥으로부터 2, 4, 8, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 420, 720 및 1440분에 취하고, 경구 투여 후 0, 20, 40, 60, 120, 180, 300, 420, 720 및 1440분에 취하였다. 혈장을 원심분리에 의해 제조하였다.

<240>

시험 화합물의 혈장 수준을 결정하기 위해, 메탄올 50 μl를 각 시험 샘플 50 μl에 첨가하고, 이때 메탄올 40 μl를 교정 선 및 QC를 생성하는데 사용된 10 μl 스파이크의 인증 표준물을 함유하는 대조군 혈장 50 μl 등분물에 첨가하였다. 마지막으로, 화학적으로 유사한 내부 표준물을 함유하는 메탄올 100 μl를 각 샘플에 첨가하였으며, 표준 및 QC는 최종 부피 200 μl를 제공하였다. 이어서, 모든 혈장 샘플을 완전히 혼합하고, 원심분리 전 1시간 이상 동안 -20°C에 놓았다. 큰 전압 및 충돌 에너지 둘 다를 최적화하여 적절한 선택적 민감 방법을 만들어낸 후, 생성된 상청액을 HPLC-MSMS에 의해 분석하였다.

<241>

약역학 파라미터는 윈논린(WinNonLin)[®]에서 비-구획 분석을 사용하여 농도-시간으로부터 유도하였다. 생체이용률은 하기 식 $F = AUC_{po} \cdot Dose_{iv} / AUC_{iv} \cdot Dose_{po}$ 을 사용하여 계산하였다.

<242>

실시예 2에 대한 래트 po 생체이용률 = 59%

<243>

시험관내 인지질중 프로토크

<244>

인지질증을 유발하는 화합물 잠재력의 평가를 주요 래트 간세포에서 인지질의 축적을 기록하는 시험관내 형광 검정에 의해 결정하였다. 간세포를 한 위스타(Han Wistar) 래트로부터 2-단계 콜라게나제 소화 방법에 의해 분리하였다. 이어서, 간세포를 콜라겐 코팅된 96-웰 플레이트 상에 윌리엄(William) E 배지에 도말하였다. 세포

를 1시간 동안 부착하도록 방치시킨 다음, 배지를 헤파토자임(Hepatozyme) 세포 배양 배지에서 250 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 콜라겐의 용액으로 대체하였다.

- <245> 이어서, 세포를 48시간 동안 배양하였으며, 배지를 24시간에 교체하였다. 단리 후 48시간에, 배지를 형광 인지질 N-(6-테트라메틸로다민티오카르바모일)-1,2-디헥사데카노일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DHPE-TRITC) ($5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)으로 보충된 헤파토자임으로 교체하였다. 이때, 시험 화합물을 최종 농도 0.4% 디메틸술폰(DMSO) (시험 화합물을 위한 용매로서 사용됨)를 이용하여 일련의 희석액의 농도의 범위에서 간세포에 첨가하였다.
- <246> 세포를 추가 24시간 동안 인큐베이션한 다음, 핵 염색 Hoechst 33342 (최종 농도 2 μM) 및 파라포름알데히드 용액 (최종 농도 4%)을 함유하는 포스페이트 완충 식염수 (PBS) 용액을 첨가하여 고정시켰다. 플레이트를 실온에서 30분 동안 유지시킨 다음, PBS 용액으로 3회 세척하였다.
- <247> 이어서, 간세포의 영상을 자동화 현미경 플랫폼 (GE 인 셀 애널리저(GE In Cell Analyser) 3000)을 사용하여 얻었다. 이어서, 영상 분석 알고리즘을 사용하여 세포 생존률 및 생존하는 간세포 내의 DHPE-TRITC 표지 축적을 평가하였다. 이어서, 시험 화합물로 관찰된 정량화된 축적을 0 (단지 비히클에 노출된 세포에서 관찰된 축적을 나타냄) 및 1 (10 μM 아미오다론에 노출된 세포를 나타냄)의 범위로 표준화하였다. 시험 화합물의 투여량 반응에서 최대 축적 (여기서 세포 생존률은 50% 초과임)이 기록되었으며, 이 최대치에서 관찰된 투여량도 기록되었다. 50% 초과인 세포 독성을 일으키는 최저 투여량이 또한 기록되었다. 개별 세포에서의 독성은 응축된 작은 반점 형태의 핵 표지 변화로서 확인하였다.
- <248> 인지질증이 관찰된 투여량은 인지질증의 생체내 발병률과 역 상관관계가 있는 것으로 공지되어 있다 (문헌 [David K Monteith, Ryan E Morgan & Bartley Halstead (2006) "In vitro assays and biomarkers for drug-induced phospholipidosis". Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, vol.2 (5), pp687-696] 참조)
- <249> 본 발명에 따른 실시예 2는 250 μM 의 최대 시험 농도에서조차 측정가능한 축적을 기록하지 않았다. 또한, 250 μM 초과인 최소 독성 농도를 기록하였다.
- <250> **혈장 단백질 결합의 측정**
- <251> 혈장 단백질 결합의 정도를 37°C에서 인간 혈장과 수성 완충액 간의 화합물 평형 투석을 통해 측정하고, 혈장 및 완충액에서 화합물의 농도를 HPLC-MS/MS에 의해 측정하였다.
- <252> 투석 세포 (분자량 컷-오프 5000)를 물로 헹군 다음 투석 완충액 중에 최소 1시간 동안 침액시켜 제조하였다. 투석 완충액은 pH 7.4의 등장성 완충 식염수였다. 디메틸술폰(DMSO) 중 화합물의 원액을 0.5 mM의 농도로 제조하였다.
- <253> 화합물의 DMSO 원액을 혈장에 혈장 각 ml 당 DMSO 10 μl 의 비로 첨가하였다. 이로써 5 μM 농도의 각 화합물을 갖는 혈장 용액 중의 1% DMSO를 제공하였다.
- <254> 이어서 투석 세포를 제조하고, 세포의 절반을 투석 완충액 750 μl 로 채우고, 세포의 다른 절반을 화합물의 혈장 용액 750 μl 로 채웠다. 제조시, 세포를 밀봉하고, 37°C의 인큐베이터 박스에 넣었다. 이어서 이들 세포를 최소 4시간 동안 회전시켜 평형화하였다.
- <255> 평형화 후, 완충액 샘플 500 μl 를 제거하고, 혈장 100 μl 와 함께 HPLC 바이알에 첨가하고 (6배 희석된 혈장 중의 샘플), 혈장 샘플 100 μl 를 제거하고, 투석 완충액 500 μl 와 함께 HPLC 바이알에 첨가하였다 (6배 희석된 혈장 중의 샘플).
- <256> 이어서 HPLC-MS/MS를 사용하여 샘플을 분석하였다. 원액을 6배 희석된 혈장에 의해 0.013 μM , 0.05 μM , 0.25 μM 및 1.25 μM 의 농도로 희석하여 4 지점 교정 곡선을 획득하고, 상기 순서대로, 그다음 완충액 샘플, 이어서 혈장 샘플을 주사하였다.
- <257> **계산**
- <258> 교정 곡선을 자동으로 계산하여 분석물 중 화합물의 농도를 외삽하는 매스링스(MassLynx) 버전 4.1 소프트웨어 (워터스/마이크로매스(Waters/Micromass) 제조)를 사용하여 샘플 중 화합물의 농도를 측정하였다. 혈장 단백질 결합을 하기 식을 사용하여 상기 측정된 농도로부터 혈장 중 결합된 화합물의 백분율 (%결합률)로서 결정하였다.

$$\% \text{결합률} = 100 - 100 \left(\frac{1.05(6 * \text{혈장 농도} - 1.2 * \text{완충액 농도})}{1.05(6 * \text{혈장 농도} - 1.2 * \text{완충액 농도}) + 1.2 * \text{완충액 농도}} \right)$$

<259>

<260>

실시예 2의 인간 혈장 단백질 결합 (%결합률) = 88%.