



(19) 대한민국특허청(KR)  
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0104554  
 (43) 공개일자 2012년09월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C07D 487/08* (2006.01) *C07D 401/12* (2006.01)  
*A61K 31/407* (2006.01) *A61P 1/00* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-7013136  
 (22) 출원일자(국제) 2010년10월21일  
 심사청구일자 없음  
 (85) 번역문제출일자 2012년05월22일  
 (86) 국제출원번호 PCT/US2010/053628  
 (87) 국제공개번호 WO 2011/050215  
 국제공개일자 2011년04월28일  
 (30) 우선권주장  
 61/254,634 2009년10월23일 미국(US)

(71) 출원인  
**버텍스 파마슈티칼스 인코포레이티드**  
 미국 매사추세츠주 02139-4242 캠브리지 웨이밸리  
 스트리트 130  
 (72) 발명자  
**암바이카르, 나렌드라, 발찬드라**  
 인도 500 084 히데라바드 콘다푸르 화이트 필즈  
 스리 사이 리트비 엘클라브 404  
**휴즈, 로버트**  
 미국 92126 캘리포니아 샌 디에고 애로우 락 애비뉴 10235  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**김영, 양영준**

전체 청구항 수 : 총 69 항

(54) 발명의 명칭 낭성 섬유증 막횡단 전도도 조절자의 제조 방법

### (57) 요약

본 발명은 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HC1, 화합물 1 형태 B 및 화합물 1 형태 B-HC1, 이들 형태의 임의의 조합을 비롯한 N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드의 고체 상태 형태의 제조 방법, 그의 제약 조성을 및 그를 사용하는 치료 방법에 관한 것이다.

(72) 발명자

헬리, 레니스, 제임스

미국 92078 캘리포니아 샌 마르코스 블랙 월넛 드  
라이브 1513

리, 엘라인, 총민

미국 02474 매사추세츠 알링تون 월도 로드 14

리틀러, 벤자민

미국 92011 캘리포니아 칼스배드 아이비 스트리트  
7016

누마, 메디

미국 92117 캘리포니아 샌 디에고 제메즈 드라이브  
3106

뢰퍼, 스테파니

미국 02155 매사추세츠 매드포드 더들리 스트리트  
101

쉐트, 우르비

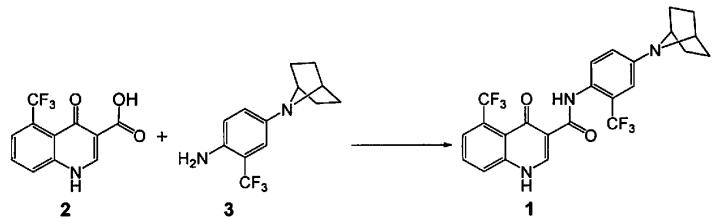
미국 92129 캘리포니아 샌 디에고 유닛 넘버71 바  
바우타 로드 9316

---

## 특허청구의 범위

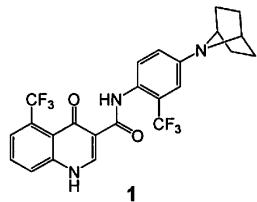
### 청구항 1

(a) 화합물 2를 커플링제의 존재하에 화합물 3과 반응시키는 것을 포함하며,



여기서, 상기 커플링제는 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P<sup>®</sup>로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인,

화합물 1의 실질적으로 결정질인 형태의 제조 방법.



### 청구항 2

제1항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을  $K_2CO_3$ ,  $Et_3N$ , N-메틸모르폴린 (NMM), 피리딘 또는 디이소프로필에틸 아닐린 (DIEA)과 같은 염기의 존재하에 수행하는 방법.

### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 피리딘 또는 DIEA의 존재하에 수행하는 방법.

### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 피리딘의 존재하에 수행하는 방법.

### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 극성 비양성자성 용매의 존재하에 수행하는 방법.

### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 극성 비양성자성 용매가 에틸 아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 테트라하이드로푸란, 메틸에틸 캐톤, N-메틸-2-피롤리돈, 아세토니트릴, N,N-디메틸 포름아미드 또는 2-메틸테트라하이드로푸란으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 2-메틸테트라하이드로푸란의 존재하에 수행하는 방법.

### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 30°C 내지 80°C에서 유지된 반응온도에서 수행하는 방법.

**청구항 9**

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 1이 고체 형태 A인 방법.

**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을  $K_2CO_3$ ,  $Et_3N$ , N-메틸모르폴린(NMM), 피리딘 또는 디이소프로필에틸 아닐린(DIEA)과 같은 염기의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 11**

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 피리딘 또는 DIEA의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 피리딘의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 13**

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 극성 비양성자성 용매의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 14**

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 극성 비양성자성 용매가 에틸 아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 테트라히드로푸란, 메틸에틸 캐톤, N-메틸-2-피롤리돈, 아세토니트릴, N,N-디메틸 포름아미드 또는 2-메틸테트라히드로푸란으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

**청구항 15**

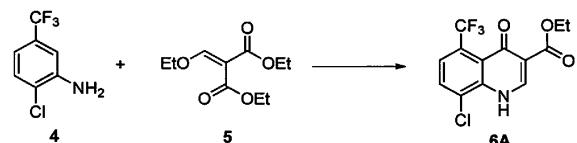
제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 2-메틸테트라히드로푸란의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 16**

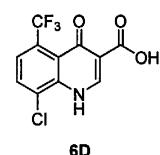
제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링을 30°C 내지 80°C에서 유지된 반응온도에서 수행하는 방법.

**청구항 17**

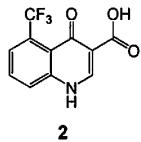
(a) 화합물 4를 디에틸 2-(에톡시메틸렌)말로네이트 5와 반응시켜 에스테르 6A를 생성하고;



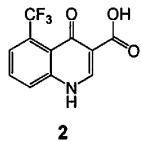
(b) 에스테르 6A를 염기로 처리하여 화합물 6D를 생성하고;



(c) 화합물 6D를 촉매의 존재하에 수소 원자 공급원으로 처리하여 화합물 2를 생성하는 것



을 포함하는, 화합물 2의 제조 방법.



### 청구항 18

제17항에 있어서, 수소 원자 공급원이 수소 기체를 포함하는 것인 방법.

### 청구항 19

제17항 또는 제18항에 있어서, 수소 원자 공급원이 포르메이트를 포함하는 것인 방법.

### 청구항 20

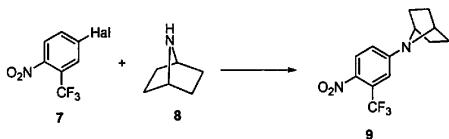
제17항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 촉매가 팔라듐 촉매를 포함하는 것인 방법.

### 청구항 21

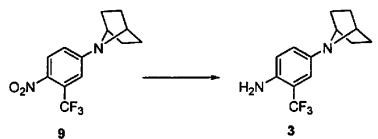
제17항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 염기가 수성 수산화나트륨 또는 수성 수산화칼륨을 포함하는 것인 방법.

### 청구항 22

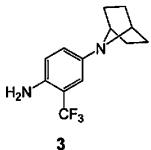
(a) 화합물 7 (여기서, Hal은 F, Cl, Br 또는 I임)을 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 8 또는 그의 염과 반응시켜 화합물 9를 생성하고;



(b) 화합물 9 중의 니트로 잔기를 환원시켜 아닐린 3을 제공하는 것



을 포함하는, 화합물 3의 제조 방법.



### 청구항 23

제22항에 있어서, 단계 (a)를 염기의 존재하에 극성 비양성자성 용매 중에서 수행하는 방법.

**청구항 24**

제22항 또는 제23항에 있어서, 염기가 트리에틸 아민 또는 디이소프로필에틸 아민이고, 용매가 아세토니트릴인 방법.

**청구항 25**

제22항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)를 알콜계 용매 중에서 전이 금속 촉매 및 수소 기체를 사용하여 수행하는 방법.

**청구항 26**

제22항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 촉매가 Pt, Pd 또는 Ni로부터 선택된 9족 또는 10족 전이 금속을 포함하는 것인 방법.

**청구항 27**

제22항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 촉매가 Pd를 포함하는 것인 방법.

**청구항 28**

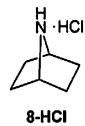
제22항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 용매가 이소프로판올, 에탄올 또는 메탄올을 포함하는 것인 방법.

**청구항 29**

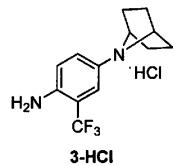
제22항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 용매가 에탄올을 포함하는 것인 방법.

**청구항 30**

제22항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 8이 염 형태, 화합물 8-HCl인 방법.

**청구항 31**

제22항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 3을 HCl과 접촉시켜 히드로클로라이드 염 3-HCl을 제공하는 것을 더 포함하는 방법.

**청구항 32**

제22항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)를 탄산나트륨과 같은 무기 탄산염 염기 및 DMSO와 같은 극성 비양성자성 용매의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 33**

제22항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (b)를 알콜계 용매 중에서 전이 금속 촉매 및 수소 기체를 사용하여 수행하는 방법.

**청구항 34**

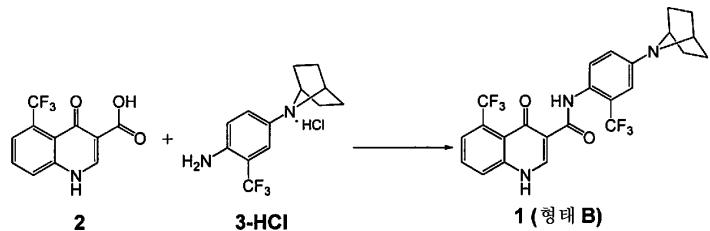
제22항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 촉매가 Pt, Pd 또는 Ni 유래의 9족 또는 10족 전이 금속 촉매를 포함하고, 용매가 이소프로판올, 에탄올 또는 메탄올을 포함하는 것인 방법.

**청구항 35**

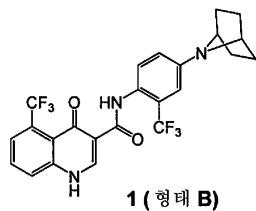
제22항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 촉매가 Pd를 포함하고, 용매가 에탄올을 포함하는 것인 방법.

**청구항 36**

(a) 화합물 2를 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P<sup>®</sup>로 이루어진 군으로부터 선택된 커플링제의 존재하에 화합물 3의 히드로클로라이드 염 (3-HCl)과 반응시키는 것



을 포함하는, 고체 형태 B를 갖는 화합물 1의 제조 방법.

**청구항 37**

제36항에 있어서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링을 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N, N-메틸모르폴린 (NMM), 피리딘 또는 DIEA와 같은 염기의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 38**

제36항 또는 제37항에 있어서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링을 피리딘 또는 DIEA의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 39**

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링을 피리딘의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 40**

제36항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링을 EtOAc, IPAc, THF, MEK, NMP, 아세토니트릴, DMF 또는 2-메틸테트라하이드로푸란과 같은 용매의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 41**

제36항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링을 2-메틸테트라히드로푸란의 존재하에 수행하는 방법.

**청구항 42**

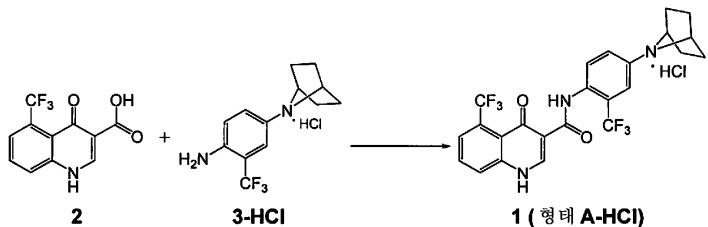
제36항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링을 15°C 내지 70°C에서 유지된 반응 온도에서 수행하는 방법.

**청구항 43**

제36항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 커플링 반응물을 약 1.5시간 내지 약 10시간 동안 교반하는 방법.

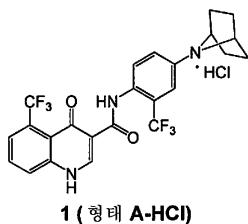
#### 청구항 44

(a) 화합물 2를 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P<sup>®</sup>로 이루어진 군으로부터 선택된 커플링제의 존재하에 화학식 3의 히드로클로라이드 염 (3-HCl)과 반응시키고;



(b) 단계 (a)의 생성물을 HCl로 처리하는 것

을 포함하는, 고체 형태 A-HCl을 갖는 화합물 1의 히드로클로라이드 염의 제조 방법.



#### 청구항 45

제44항에 있어서, 단계 (a)를 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N, N-메틸모르폴린 (NMM), 피리딘 또는 디이소프로필에틸 아닐린 (DIEA)과 같은 염기의 존재하에 수행하는 방법.

#### 청구항 46

제44항 또는 제45항에 있어서, 단계 (a)를 피리딘 또는 DIEA의 존재하에 수행하는 방법.

#### 청구항 47

제44항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)를 피리딘의 존재하에 수행하는 방법.

#### 청구항 48

제44항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)를 극성 비양성자성 용매의 존재하에 수행하는 방법.

#### 청구항 49

제44항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 극성 비양성자성 용매가 에틸 아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 테트라히드로푸란, 메틸에틸 케톤, N-메틸-2-피롤리돈, 아세토니트릴, N,N-디메틸 포름아미드 또는 2-메틸테트라히드로푸란으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

#### 청구항 50

제44항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 2와 3-HCl의 커플링을 2-메틸테트라히드로푸란의 존재하에 수행하는 방법.

#### 청구항 51

제44항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)를 10℃ 내지 80℃에서 유지된 반응 온도에서 수행하는 방법.

**청구항 52**

제44항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)를 15°C 내지 70°C에서 유지된 반응 온도에서 수행하는 방법.

**청구항 53**

제44항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 단계 (a)의 시간이 약 1.5시간 내지 약 72시간인 방법.

**청구항 54**

제44항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, HCl 기체를 단계 (b)에서 사용하는 방법.

**청구항 55**

제44항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, HCl 기체를 단계 (a)의 생성물 및 극성 비양성자성 용매를 포함하는 혼합물내로 베블링하는 방법.

**청구항 56**

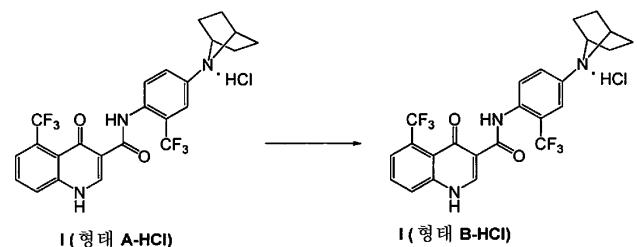
제44항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 극성 비양성자성 용매가 2-메틸테트라히드로푸란인 방법.

**청구항 57**

제44항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, HCl 기체를 단계 (a)의 생성물 및 극성 비양성자성 용매의 혼합물로 약 0.5시간 내지 약 5시간의 기간 동안 베블링하는 방법.

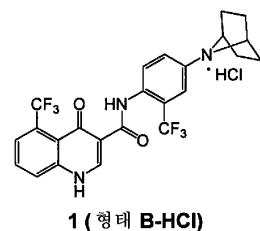
**청구항 58**

(a) 화합물 1 형태 A-HCl의 히드로클로라이드 염을 유기 용매 및 물과 혼합하여 혼합물을 생성하고;



(b) 혼합물을 가열하는 것

을 포함하는, 고체 형태 B-HCl을 갖는 화합물 1의 히드로클로라이드 염의 제조 방법.

**청구항 59**

제58항에 있어서, 유기 용매가 디메틸 술폴시드, 디메틸포름아미드, 디옥산, 헥사메틸포스포로트리아미드, 테트라히드로푸란, EtOAc, IPAc, THF, MEK, NMP, 아세토니트릴, DMF, EtOH, MeOH, 이소프로필 알콜 또는 2-메틸테트라히드로푸란을 포함하는 것인 방법.

**청구항 60**

제58항 또는 제59항에 있어서, 비양성자성 용매가 2-메틸테트라히드로푸란을 포함하는 것인 방법.

**청구항 61**

제58항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 온도를 약 30°C 내지 약 80°C에서 유지하는 방법.

**청구항 62**

제58항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 혼합물을 약 30°C 내지 약 80°C의 온도에서 약 12시간 내지 약 72시간의 기간 동안 유지하는 방법.

**청구항 63**

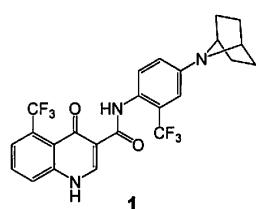
제58항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 혼합물을 여과하여 필터 케이크를 생성하는 방법.

**청구항 64**

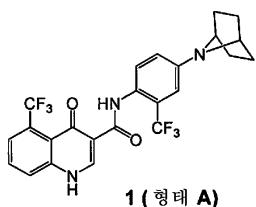
제58항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 여과한 후에 필터 케이크를 비양성자성 용매로 세척하는 방법.

**청구항 65**

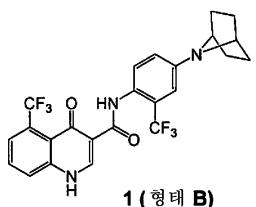
제1항의 방법에 의해 제조된 화합물 1.

**청구항 66**

제9항의 방법에 의해 제조된 화합물 1 형태 A.

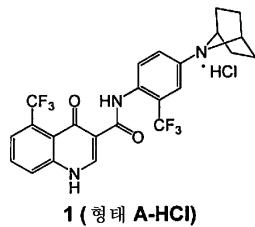
**청구항 67**

제36항의 방법에 의해 제조된 화합물 1 형태 B.



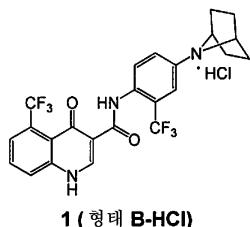
## 청구항 68

제44항의 방법에 의해 제조된 화합물 1 형태 A-HCl.



## 청구항 69

제58항의 방법에 의해 제조된 화합물 1 형태 B-HCl.



## 명세서

## 기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 출원은 2009년 10월 23일에 출원된 미국 가출원 제61/254,634호를 우선권 주장한다. 상기 가출원의 내용은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

[0003]

발명의 기술 분야

[0004]

본 발명은 낭성 섬유증 막횡단 전도도 조절자 ("CFTR")의 조정자의 제조 방법에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0005]

낭성 섬유증 (CF)은 미국에서 소아 및 성인 대략 30,000명, 또한 유럽에서 소아 및 성인 대략 30,000명이 걸리는 열성 유전 질환이다. CF 치료의 발전에도 불구하고 치유법은 없다.

[0006]

CF는 다양한 조직에서 염 및 물 흡수 및 분비의 조절을 돋는 역할을 하는 상피 클로라이드 이온 채널을 코딩하는 낭성 섬유증 막횡단 전도도 조절자 (CFTR) 유전자의 돌연변이에 의해 유발된다. CFTR 채널 개방의 가능성을 증가시키는 강화제로서 공지된 소분자 약물이 CF 치료를 위한 하나의 잠재적 치료학적 전략을 대표한다.

[0007]

구체적으로, CFTR은 흡수성 상피 세포 및 분비성 상피 세포를 포함하는 각종 세포 유형에서 발현되는 cAMP/ATP-매개 음이온 채널이며, 이는 막을 통과하는 음이온 플럭스 뿐만 아니라, 다른 이온 채널 및 단백질의 활성을 조절한다. 상피 세포에서, CFTR의 정상적인 기능은 호흡기 및 소화 조직을 비롯한, 체내 전체에서 전해질 운반의 유지에 있어서 중요하다. CFTR은, 각각 6개의 막횡단 나선체를 함유하는 직렬로 반복되는 막횡단 도메인 및 뉴클레오티드 결합 도메인으로 이루어진 단백질을 코딩하는 대략 1480개의 아미노산으로 구성된다. 2개의 막횡단 도메인은 채널 활성 및 세포 트래픽킹(trafficking)을 조절하는 다중 인산화 부위를 갖는 커다란 극성 조절 (R)-도메인에 의해 연결된다.

[0008]

CFTR을 코딩하는 유전자가 확인되고 서열분석되었다 (문헌 [Gregory, R. J. et al., (1990) Nature 347:382-386], [Rich, D. P. et al., (1990) Nature 347:358-362], [Riordan, J. R. et al., (1989) Science 245:1066-1073] 참조). 이들 유전자에서의 결함은, 인간에게서 가장 흔한 치명적인 유전 질환인 낭성 섬유증 ("CF")을 초래하는 CFTR의 돌연변이를 야기한다. 미국에서는 유아 2,500명 당 대략 1명 꼴로 낭성 섬유증에 걸린다. 전체 미국 인구 중에서, 최대 1000만명의 사람들이 명백한 발병 징후를 나타내지 않으면서 단일 카페

(copy)의 결합 유전자를 갖고 있다. 이와 달리, CF 관련 유전자의 카페 2개를 갖는 개체는 만성 폐 질환을 비롯하여, CF의 악화 및 치명적인 영향을 받는다.

[0009] CF 환자에서, 호흡기 상피에서 내인성 발현된 CFTR의 돌연변이는 첨단부 음이온 분비의 감소를 야기하여, 이온 및 채액 운반의 불균형을 초래한다. 이로 인한 음이온 운반의 감소는 폐에서의 점액 축적 및 이에 수반되는 미생물 감염의 증대에 기여하고, 이것은 결국 CF 환자의 사망을 초래한다. 호흡기 질환 이외에도, CF 환자는 통상적으로 위장 문제 및 혀장 기능부전으로 고통을 받고, 치료받지 않으면 사망에 이르게 된다. 또한, 낭성 섬유증에 걸린 남성의 대다수가 불임이고, 낭성 섬유증에 걸린 여성은 생식 능력이 감소한다. 2개 카페의 CF 관련 유전자의 심각한 영향과는 대조적으로, 단일 카페의 CF 관련 유전자를 갖는 개체는 콜레라 및 설사로 인한 탈수에 대한 내성 증가를 나타내는데, 이는 아마도 집단 내에서 CF 유전자의 빈도가 상대적으로 높은 것을 설명해준다.

[0010] CF 염색체의 CFTR 유전자의 서열 분석은 다양한 질환 유발 돌연변이를 밝혀냈다 (문헌 [Cutting, G. R. et al., (1990) Nature 346:366-369]; [Dean, M. et al., (1990) Cell 61:863:870]; 및 [Kerem, B-S. et al., (1989) Science 245:1073-1080]; [Kerem, B-S et al., (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8447-8451]). 현재까지, CF 유전자에서의 1000가지가 넘는 질환 유발 돌연변이가 확인되었다 (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>). 가장 보편적인 돌연변이는 CFTR 아미노산 서열의 508 위치의 페닐알라닌의 결실이고, 통상적으로 ΔF508-CFTR이라 한다. 상기 돌연변이는 낭성 섬유증 사례의 대략 70%에서 발생하고, 중증 질환과 관련이 있다.

[0011] ΔF508-CFTR에서의 508 잔기의 결실은 신생 단백질이 올바르게 폴딩되는 것을 방해한다. 이것은 돌연변이 단백질이 ER을 빠져나가지 못하게 하고 원형질 막으로 트래픽킹되지 못하게 한다. 그 결과, 막에 존재하는 채널의 개수가 야생형 CFTR을 발현하는 세포에서 관찰되는 것보다 훨씬 더 적다. 트래픽킹 저하 이외에도, 상기 돌연변이는 결함이 있는 채널 게이팅(gating)을 야기한다. 막의 채널 개수의 감소와 결함이 있는 게이팅은 함께 상피를 통과하는 음이온 운반의 감소를 초래하여, 결함이 있는 이온 및 채액 운반을 초래한다 (문헌 [Quinton, P. M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727]). 그러나, 막에서 감소된 개수의 ΔF508-CFTR은 야생형 CFTR보다 적긴 하지만 기능적임이 연구를 통해 확인되었다 (문헌 [Dalemans et al., (1991), Nature Lond. 354: 526-528]; [Denning et al., supra]; [Pasyk and Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50]). ΔF508-CFTR에 추가하여, 트래픽킹, 합성 및/또는 채널 게이팅에서의 결함을 야기하는 CFTR의 다른 질환 유발 돌연변이가 상향 또는 하향 조절되어 음이온 분비를 변경시키고 질환 진행 및/또는 중증도를 변형시킬 수 있다.

[0012] CFTR이 음이온 뿐만 아니라 다양한 분자를 운반하지만, 이러한 역할 (음이온 운반)이 상피를 통과하는 이온 및 물을 운반하는 중요한 메카니즘의 한 요소임은 명백하다. 다른 요소는 클로라이드의 세포로의 흡수에 관여하는, 상피  $\text{Na}^+$  채널, ENaC,  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-/\text{K}^+$  공동운반체,  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATP아제 펌프 및 기저막  $\text{K}^+$  채널을 포함한다.

[0013] 이들 요소는 함께 작동하여, 이들의 선택적 발현 및 세포내 국소화를 통해 상피를 획단하는 방향성 운반을 달성한다. 클로라이드 흡수는 첨단막 상에 존재하는 ENaC 및 CFTR과 세포의 기저측부 표면 상에서 발현된  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATP아제 펌프 및  $\text{Cl}^-$  이온 채널의 공동작용 활성에 의해 발생한다. 내강 측으로부터의 클로라이드의 2차 능동 운반은 세포내 클로라이드의 축적을 야기하고, 이것은 이후에  $\text{Cl}^-$  채널을 통해 세포에서 수동적으로 방출되어 백터성 운반을 초래할 수 있다. 기저측부 표면에서의  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-/\text{K}^+$  공동운반체,  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ -ATP아제 펌프 및 기저막  $\text{K}^+$  채널 및 내강 측에서의 CFTR의 배치는 내강 측의 CFTR을 통한 클로라이드 분비의 균형을 맞춘다. 물은 아마도 그 자체로서는 능동 운반되지 않기 때문에, 상피를 통과하는 이것의 유동은 나트륨 및 클로라이드의 대량 유동에 의해 발생되는 미소한 상피횡단 삼투 구배에 의존한다.

[0014] 상기 논의된 바와 같이, ΔF508-CFTR의 508 잔기의 결실은 신생 단백질이 올바르게 폴딩되는 것을 방해하여 이러한 돌연변이 단백질이 ER을 빠져나가지 못하게 하고 원형질 막으로 트래픽킹되지 못하게 하는 것으로 생각된다. 그 결과, 성숙 단백질이 원형질 막에 불충분한 양으로 존재하고 상피 조직 내에서의 클로라이드 운반이 유의하게 감소된다. 사실, ER 기구에 의한 ABC 운반체의 결함이 있는 ER 프로세싱의 이러한 세포 현상은, CF 질환만이 아니라 광범위한 다른 단독 및 유전성 질환의 근본적인 이유인 것으로 밝혀졌다.

[0015] 따라서, 인간 CFTR의 야생형 및 돌연변이체 형태의 효과적이고 선택적인 CFTR 강화제가 요구된다. 이러한 돌연변이체 CFTR 형태에는 ΔF508del, G551D, R117H, 2789+5G->A가 포함되나, 이들로 제한되지는 않는다.

[0016] 또한, 포유동물의 세포막에서 CFTR의 활성을 조정하는데 사용될 수 있는 CFTR 활성 조정자 및 그의 조성물이 요

구된다.

[0017] 상기 CFTR 활성 조정자를 사용하여 CFTR에서의 돌연변이에 의해 유발되는 질환을 치료하는 방법이 요구된다.

[0018] 포유동물의 생체외 세포막에서 CFTR 활성을 조정하는 방법이 요구된다.

[0019] 또한, 치료제로서 사용하기에 적합한 제약 조성물에 용이하게 사용될 수 있는 상기 화합물의 안정한 고체 형태가 요구된다.

## 발명의 내용

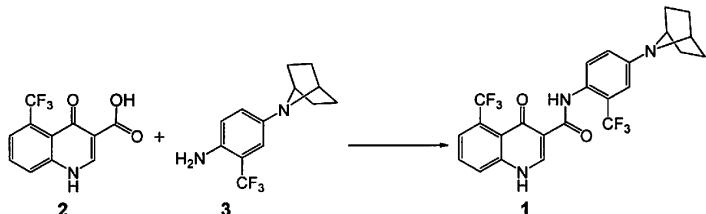
### 해결하려는 과제

[0020] 발명의 개요

[0021] 본 발명은 CFTR 조정자로서 유용한 화합물의 합성 방법에 관한 것이다.

[0022] 한 측면에서, 본 발명은

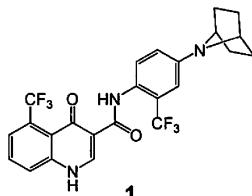
[0023] (a) 화합물 2를 커플링제의 존재하에 화합물 3과 반응시키는 것을 포함하며,



[0024]

[0025] 여기서 커플링제는 2-클로로-1,3-디메틸-2-아미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P®로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인,

[0026] 화합물 1의 결정질 형태의 제조 방법 A를 제공한다.



[0027]

[0028] 화학식 I의 화합물 및 그의 제약상 허용되는 조성물은 낭성 섬유증, 천식, 흡연 유발 COPD, 만성 기관지염, 비부비동염, 변비, 췌장염, 췌장 기능부전, 선천성 양측 정관 결손증 (CBAVD)에 의해 유발되는 남성 불임증, 경증 폐 질환, 특발성 췌장염, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증 (ABPA), 간 질환, 유전성 폐기종, 유전성 혈색소침착증, 응고-섬유소용해 결핍, 예컨대 단백질 C 결핍, 제1형 유전성 혈관부종, 지질 프로세싱 결핍, 예컨대 가족성 고콜레스테롤혈증, 제1형 킬로미크론혈증, 무베타지단백혈증, 리소솜 축적 질환, 예컨대 I 세포병/가성 후를러병(pseudo-Hurler), 점액다당류증, 샌드호프/테이-삭스병(Sandhof/Tay-Sachs), 제II형 크리글러-나자르 병(Crigler-Najjar type II), 다발성내분비병증/고인슐린혈증, 당뇨병, 라론 왜소증(Laron dwarfism), 미엘로 퍼옥시다제 결핍, 원발성 부갑상선기능저하증, 흑색종, 제1형 글리카노시스 CDG, 선천성 갑상선기능항진증, 골 형성 부전, 유전성 저섬유소원혈증, ACT 결핍, 요붕증 (DI), 신경성 DI, 신성 DI, 샤르코-마리 투스 증후군 (Charcot-Marie Tooth syndrome), 펠리체우스-메르츠바허병(Perlizaeus-Merzbacher disease), 신경변성 질환, 예컨대 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 파킨슨병(Parkinson's disease), 근위축성 측삭 경화증, 진행성 핵상마비, 픽병(Pick's disease), 여러 폴리글루타민 신경계 장애, 예컨대 헌팅تون병(Huntington's), 제I형 척수 소뇌성 운동실조, 척수 및 연수 근육 위축, 치상핵적핵 담창구시상하핵 질환 및 근긴장성 이영양증 뿐만 아니라, 해면상 뇌병증, 예컨대 유전성 크라이츠펠트-아콥병(Creutzfeldt-Jakob disease) (프리온 단백질 프로세싱 결함으로 인함), 파브리병(Fabry disease), 스트라우슬러-샤잉커 증후군(Straussler-Scheinker syndrome), COPD, 안구건조증, 또는 쇼그렌병(Sjogren's disease), 골다공증, 골감소증, 골 치유 및 골 성장 (예를 들어, 골 복구, 골 재생, 골 재흡수 감소 및 골 침착 증가), 고램 증후군(Gorham's Syndrome), 클로라이드 채널병증, 예컨대 선천성 근긴장증 (톰슨(Thomson) 및 베커(Becker) 형태), 제III형 바터 증후군(Bartter's

syndrome type III), 덴트병(Dent's disease), 과도놀람증, 간질, 과도놀람증, 리소솜 축적 질환, 안겔만 증후군(Angelman syndrome), 및 원발성 섬모 운동이상증 (PCD) [내장역위증 동반 PCD (카르타게너 증후군(Kartagener syndrome)이라고도 알려짐), 내장역위증 비동반 PCD 및 섬모 무형성을 비롯한, 섬모의 구조 및/또는 기능의 유전성 장애에 대한 용어]을 포함하나, 이들로 제한되지는 않는 다양한 질환, 장애 또는 상태를 치료하거나 또는 이들의 중증도를 감소시키는데 유용하다.

[0029] 한 측면에서, 화합물 1은 형태 A라고 언급되는 결정질 형태이다.

[0030] 또 다른 측면에서, 화합물 1은 형태 B라고 언급되는 결정질 형태이다.

[0031] 추가의 측면에서, 화합물 1은 형태 A-HCl이라고 언급되는 결정질 형태이다.

[0032] 추가의 측면에서, 화합물 1은 형태 B-HCl이라고 언급되는 결정질 형태이다.

[0033] 본원에 기재된 방법을 사용하여 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들 형태의 임의의 조합을 포함하는 본 발명의 조성물을 제조할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 화합물 1 형태 A의 대표 샘플의 X선 분말 회절 패턴이다.

도 2는 화합물 1 형태 A의 대표 샘플의 FTIR 스펙트럼이다.

도 3은 단일 X선 분석법에 근거한 화합물 1 형태 A의 입체형태적 구조를 도시한 것이다.

도 4는 화합물 1 형태 A-HCl의 예시 샘플의 X선 분말 회절 패턴이다.

도 5는 화합물 1 형태 A-HCl의 대표 샘플의 DSC 곡선이다.

도 6은 온도에 대한 함수로서 샘플 중량을 나타내는, 화합물 1 형태 A-HCl의 대표 샘플의 열중량 분석법에 의한 곡선이다.

도 7은 화합물 1 형태 A-HCl의 대표 샘플의 FTIR 스펙트럼이다.

도 8은 화합물 1 형태 A-HCl의 대표 샘플의 고체상  $^{13}\text{C}$  NMR 스펙트럼이다.

도 9는 화합물 1 형태 A-HCl의 대표 샘플의 고체상  $^{19}\text{F}$  NMR 스펙트럼이다.

도 10a는 기구 1에 의해 기록된, 화합물 1 형태 B의 대표 샘플의 X선 분말 회절 패턴이다.

도 10b는 기구 2에 의해 기록된, 화합물 1 형태 B의 대표 샘플의 X선 분말 회절 패턴이다.

도 11은 화합물 1 형태 B의 대표 샘플의 DSC 곡선이다.

도 12는 온도에 대한 함수로서 샘플 중량을 나타내는, 화합물 1 형태 B의 대표 샘플의 열중량 분석법에 의한 곡선이다.

도 13은 화합물 1 형태 B의 대표 샘플의 FTIR 스펙트럼이다.

도 14는 화합물 1 형태 B의 대표 샘플의 고체상  $^{13}\text{C}$  NMR 스펙트럼이다.

도 15는 화합물 1 형태 B의 대표 샘플의 고체상  $^{19}\text{F}$  NMR 스펙트럼이다.

도 16은 화합물 1 형태 B-HCl의 X선 분말 회절 패턴이다.

도 17은 화합물 1 형태 B-HCl의 대표 샘플의 DSC 곡선이다.

도 18은 온도에 대한 함수로서 샘플 중량을 나타내는, 화합물 1 형태 B-HCl의 대표 샘플의 열중량 분석법에 의한 곡선이다.

도 19는 화합물 1 형태 B-HCl의 대표 샘플의 FTIR 스펙트럼이다.

도 20은 화합물 1 형태 B-HCl의 대표 샘플의 고체상  $^{13}\text{C}$  NMR 스펙트럼이다.

도 21은 화합물 1 형태 B-HCl의 대표 샘플의 고체상  $^{19}\text{F}$  NMR 스펙트럼이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0035] 발명의 상세한 설명
- [0036] 정의
- [0037] 본원에서 사용되는 바와 같이, 달리 나타내지 않는 한, 하기 정의들이 적용될 것이다.
- [0038] 본원에서 사용된 용어 "ABC-운반체"는 ABC-운반체 단백질 또는 적어도 하나의 결합 도메인을 포함하는 그의 단편을 의미하고, 여기서 상기 단백질 또는 그의 단편은 생체내 또는 시험관내 존재한다. 본원에서 사용된 용어 "결합 도메인"은 조절자에 결합할 수 있는 ABC-운반체의 도메인을 의미한다. 예를 들어, 문헌 [Hwang, T. C. et al., J. Gen. Physiol. (1998): 111(3), 477-90]을 참조로 한다.
- [0039] 본원에서 사용된 용어 "CFTR"은 낭성 섬유증 막횡단 전도도 조절자 또는 조절자 활성을 가질 수 있는 그의 돌연변이, 예를 들어 (이들로 제한되지는 않음)  $\Delta\text{F}508$  CFTR, R117H CFTR 및 G551D CFTR을 의미한다 (CFTR 돌연변이에 대해서는 예를 들어 <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app> 참조).
- [0040] 본원에서 사용된 용어 "조정"은 측정가능한 정도로의 증가 또는 감소를 의미한다.
- [0041] 본원에서 사용된 용어 "정상 CFTR" 또는 "정상적인 CFTR 기능"은 흡연, 오염 또는 폐에서 염증을 유발하는 임의의 것과 같은 환경 인자에 의한 손상이 일어나지 않은 야생형 유사 CFTR을 의미한다.
- [0042] 본원에서 사용된 용어 "감소된 CFTR" 또는 "감소된 CFTR 기능"은 정상 CFTR보다 적은 것 또는 정상적인 CFTR 기능보다 약화된 것을 의미한다.
- [0043] 용어 "결정질"은 구조 단위가 고정된 기하학적 패턴 또는 격자로 배열되어, 결정질 고체가 엄격한 장거리질서를 갖는 화합물 또는 조성물을 말한다. 결정 구조를 구성하는 구조 단위는 원자, 분자 또는 이온일 수 있다. 결정질 고체는 뚜렷한 융점을 나타낸다.
- [0044] 용어 "실질적으로 결정질"이란 엄격한 장거리질서를 갖는 고정된 기하학적 패턴 또는 격자로 대체적으로 배열된 고체 물질을 말한다. 예를 들어, 실질적으로 결정질인 물질은 약 85% 초과의 결정도 (예를 들면, 약 90% 초과의 결정도, 약 95% 초과의 결정도, 또는 약 99% 초과의 결정도)를 갖는다. 또한, "실질적으로 결정질"이란 용어는 상기 단락에서 정의된 기술어 "결정질"을 포함함을 알아야 한다.
- [0045] 본 발명의 목적을 위해, 화학 원소는 문헌 [Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed.]에 따라 확인된다. 추가로, 유기 화학의 일반 원리는 문헌 ["Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999] 및 ["March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001]에 개시되어 있으며, 상기 문헌의 전문이 본원에 참고로 포함된다.
- [0046] 본원에서 사용된 용어 "안정한"은, 화합물의 제조, 검출 및 바람직하게는 그의 회수, 정제, 및 본원에 개시된 목적 중 하나 이상을 위한 사용을 가능하게 하는 조건에 적용되었을 때 실질적으로 변경되지 않는 화합물을 말한다. 일부 실시양태에서, 안정한 화합물 또는 화학적으로 가능한 화합물은 40°C 이하의 온도에서, 수분 또는 다른 화학적 반응성 조건 부재하에, 적어도 1주일 동안 유지될 경우에 실질적으로 변경되지 않는 화합물이다.
- [0047] 본 발명에서 사용가능한 적합한 용매의 예로는 물, 메탄올, 디클로로메탄 (DCM), 아세토니트릴, 디메틸포름아미드 (DMF), 메틸 아세테이트 (MeOAc), 에틸 아세테이트 (EtOAc), 이소프로필 아세테이트 (IPAc), t-부틸 아세테이트 (t-BuOAc), 이소프로필 알콜 (IPA), 테트라하이드로푸란 (THF), 메틸 에틸 케톤 (MEK), t-부탄올, 디에틸 에테르 ( $\text{Et}_2\text{O}$ ), 메틸-t-부틸 에테르 (MTBE), 1,4-디옥산 및 N-메틸 피롤리돈 (NMP)이 있으나, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0048] 본 발명에서 사용가능한 적합한 커플링제의 예로는 1-(3-(디메틸아미노)프로필)-3-에틸-카르보디이미드 히드로클로라이드 (EDCI), 2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 혼사플루오로포스페이트 (HBTU), 1-히드록시벤조트리아졸 (HOBT), 2-(1H-7-아자벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸 우로늄 혼사플루오로포스페이트 (HATU), 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, 1-H-벤조트리아졸륨-1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-5-클로로헥사플루오로포스페이트 (HCTU), 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 및 2-프로판 포

스폰산 무수물 (T3P®)이 있으나, 이들로 제한되지는 않는다.

[0049] 본 발명에서 사용가능한 적합한 염기의 예로는 탄산칼륨 ( $K_2CO_3$ ), N-메틸모르폴린 (NMM), 트리에틸아민 ( $Et_3N$ ; TEA), 디이소프로필-에틸 아민 ( $i-Pr_2EtN$ ; DIEA), 피리딘, 수산화칼륨 (KOH), 수산화나트륨 (NaOH) 및 나트륨 메톡시드 (NaOMe; NaOCH<sub>3</sub>)가 있으나, 이들로 제한되지는 않는다.

[0050] 추가로, 달리 명시하지 않는 한, 본원에서 나타낸 구조는 또한 1개 이상의 동위원소 풍부화된 원자의 존재 여부에서만 상이한 화합물도 포함하고자 한다. 예를 들어, 수소의 둘레 또는 트리튬에 의한 대체, 또는 탄소의 <sup>13</sup>C 또는 <sup>14</sup>C에 의한 대체를 제외하고는 본 발명의 구조를 갖는 화합물은 본 발명의 범주내에 포함된다. 이러한 화합물은, 예를 들어 생물학적 분석에서 분석학적 도구 또는 탐침으로서 유용하다.

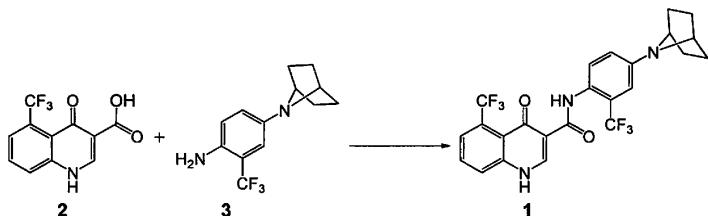
[0051] 본 발명의 방법

[0052] 일반적으로, 본 발명은 CFTR의 조정자로서 유용한 화합물의 합성 방법을 제공한다.

[0053] 화합물 1의 제조

[0054] 일부 실시양태에서, 본 발명은

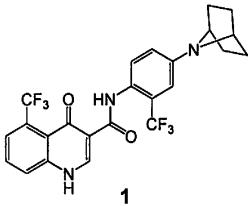
[0055] (a) 화합물 2를 커플링제의 존재하에 화합물 3과 반응시키는 것을 포함하며,



[0056]

[0057] 여기서 상기 커플링제는 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P®로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인,

[0058] 화합물 1의 결정질 형태의 제조 방법을 제공한다.



[0059]

[0060] 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 3은 HCl 염일 수 있다.

[0061] 상기 실시양태의 한 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은  $K_2CO_3$ ,  $Et_3N$ , N-메틸모르폴린 (NMM), 피리딘 또는 디이소프로필에틸 아민 (DIEA)과 같은 염기의 존재하에 수행한다.

[0062] 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 피리딘 또는 DIEA의 존재하에 수행한다.

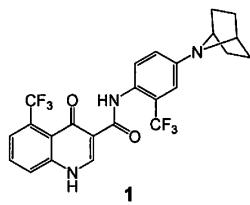
[0063] 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 피리딘의 존재하에 수행한다.

[0064] 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 용매의 존재하에 수행한다. 한 측면에서, 용매는 극성 비양성자성 용매이다. 예를 들어, 용매는 에틸 아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 테트라히드로푸란, 메틸에틸 케톤, N-메틸-2-파롤리돈, 아세토니트릴, N,N-디메틸 포름아미드 또는 2-메틸테트라히드로푸란으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 보다 특히는, 용매는 2-메틸테트라히드로푸란이다.

[0065] 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 30°C 내지 80°C에서 유지된 반응 온도에서 수행한다. 추가의 측면에서, 화합물 2와 화학식 3의 아닐린의 커플링은 30°C 내지 80°C (예를 들어, 약 40°C 내지 78°C, 약 45°C 내지 75°C, 약 50°C 내지 70°C, 약 62°C 내지 68°C, 또는 약 65°C)에서 유지된 반응 온도에서 수행한다. 예를 들어, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 약 65°C에서 유지된 반응 온도에서 수행한다.

[0066] 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 1은 고체 형태 A이다.

[0067] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 단락에 기재된 방법에 의해 제조된 화합물 1을 제공한다.



[0068]

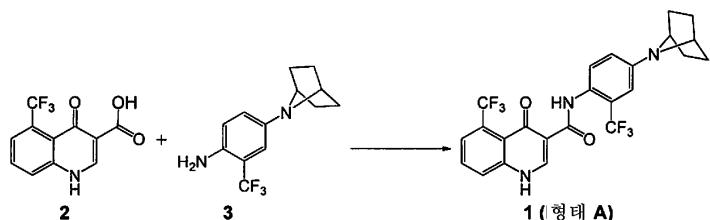
[0069] 화합물 1 형태 A의 제조

[0070]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은

[0071]

화합물 2를 커플링제의 존재하에 화합물 3과 반응시키며,

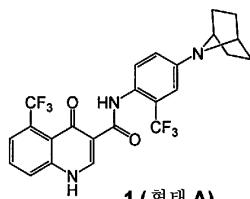


[0072]

[0073] 여기서 상기 커플링제는 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P®로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인,

[0074]

고체 형태 A를 갖는 화합물 1의 제조 방법을 제공한다.



[0075]

[0076] 상기 실시양태의 일부 다른 측면에서, 화합물 3은 HCl 염일 수 있다.

[0077]

상기 실시양태의 한 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은  $K_2CO_3$ ,  $Et_3N$ , N-메틸모르폴린 (NMM), 피리딘 또는 디이소프로필에틸 아민 (DIEA)과 같은 염기의 존재하에 수행한다.

[0078]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 피리딘 또는 DIEA의 존재하에 수행한다.

[0079]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 피리딘의 존재하에 수행한다.

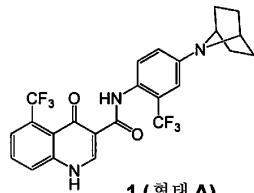
[0080]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 극성 비양성자성 용매의 존재하에 수행한다. 예를 들어, 극성 비양성자성 용매는 에틸 아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 테트라히드로푸란, 메틸에틸 케톤, N-메틸-2-피롤리돈, 아세토니트릴, N,N-디메틸 포름아미드 또는 2-메틸테트라히드로푸란으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 보다 특히는, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 2-메틸테트라히드로푸란의 존재하에 수행한다.

[0081]

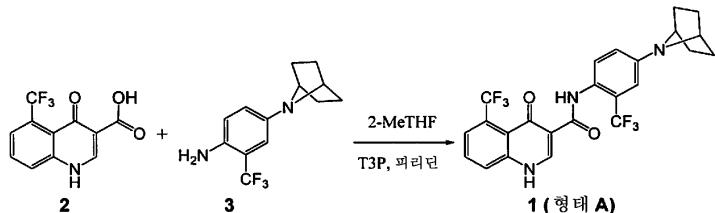
상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 30°C 내지 80°C에서 유지된 반응 온도에서 수행한다. 추가의 측면에서, 화합물 2와 화학식 3의 아닐린의 커플링은 30°C 내지 80°C (예를 들어, 약 40°C 내지 78°C, 약 45°C 내지 75°C, 약 50°C 내지 70°C, 약 62°C 내지 68°C, 또는 약 65°C)에서 유지된 반응 온도에서 수행한다. 예를 들어, 화합물 2와 화합물 3의 커플링은 약 65°C에서 유지된 반응 온도에서 수행한다.

[0082] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 단락에 개시된 방법에 의해 제조된 화합물 1 형태 A를 제공한다.



[0083]

[0084] 한 실시양태에서, 본 발명은 화합물 2를 T3P® 및 피리딘의 존재하에, 약 65°C의 온도에서, 약 10시간 동안, 용매 2-MeTHF 중에서, 화합물 3과 반응시키는 것을 포함하는, 화합물 1 형태 A의 제조 방법을 제공한다.



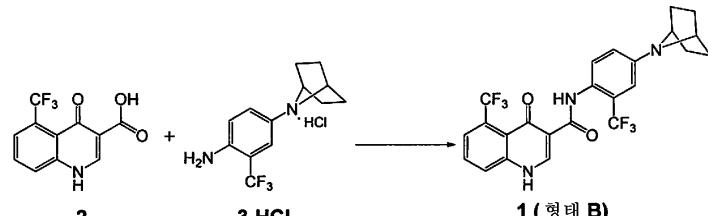
[0085]

[0086] 화합물 1 형태 B의 제조

[0087]

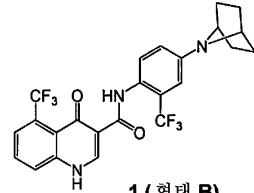
또 다른 실시양태에서, 본 발명은

[0088] (a) 화합물 2를 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P®로 이루어진 군으로부터 선택된 커플링제의 존재하에 화합물 3의 히드로클로라이드 염 (3-HCl)과 반응시키는 것을 포함하는,



[0089]

[0090] 형태 B의 고체 형태를 갖는 화합물 1의 제조 방법을 제공한다.



[0091]

[0092] 상기 실시양태의 한 측면에서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링은 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N, N-메틸모르폴린 (NMM), 피리딘 또는 DIEA와 같은 염기의 존재하에 수행한다.

[0093]

상기 실시양태의 일부 다른 측면에서, 히드로클로라이드 염 3-HCl은 화합물 3일 수 있다.

[0094]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링은 피리딘 또는 DIEA의 존재하에 수행한다.

[0095]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링은 피리딘의 존재하에 수행한다.

[0096]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링은 EtOAc, IPAc, THF, MEK, NMP, 아세토니트릴, DMF 또는 2-메틸테트라하이드로푸란과 같은 용매의 존재하에 수행한다. 보다 특히는, 화합물

2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링은 2-메틸테트라히드로푸란의 존재하에 수행한다.

[0097]

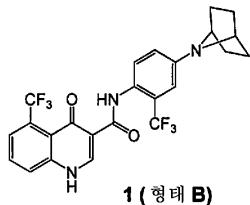
상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링은 15°C 내지 70°C에서 유지된 반응 온도에서 수행한다. 추가의 측면에서, 화합물 2와 히드로클로라이드 염 3-HCl의 커플링은 15°C 내지 70°C (예를 들어, 약 20°C 내지 65°C, 약 25°C 내지 60°C, 약 30°C 내지 55°C, 약 35°C 내지 50°C, 또는 약 45°C)에서 유지된 반응 온도에서 수행한다. 상기 실시양태의 바람직한 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 HCl 염의 커플링은 약 45°C에서 유지된 반응 온도에서 수행한다.

[0098]

또 다른 측면에서, 커플링 반응물은 약 1.5시간 내지 약 10시간 동안 교반된다. 추가의 측면에서, 커플링 반응물은 약 1.5시간 내지 약 10시간 (예를 들어, 약 2시간 내지 약 7시간, 약 3시간 내지 약 6시간, 약 4시간 내지 약 5.5시간, 또는 약 5시간) 동안 교반된다.

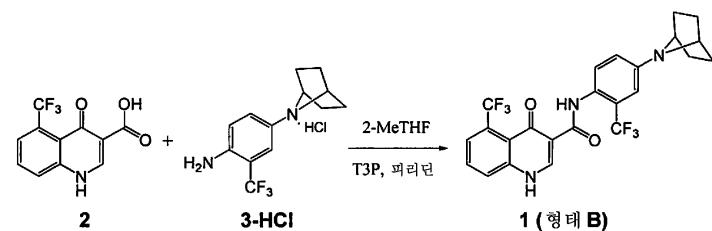
[0099]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 단락에 기재된 방법에 의해 제조된 화합물 1 형태 B를 제공한다.



[0100]

한 실시양태에서, 본 발명은 화합물 2를 T3P® 및 피리딘의 존재하에, 약 45°C의 온도에서, 약 5-6시간 동안, 용매 2-MeTHF 중에서, 화합물 3-HCl과 반응시키는 것을 포함하는, 화합물 1 형태 B의 제조 방법을 제공한다.



[0102]

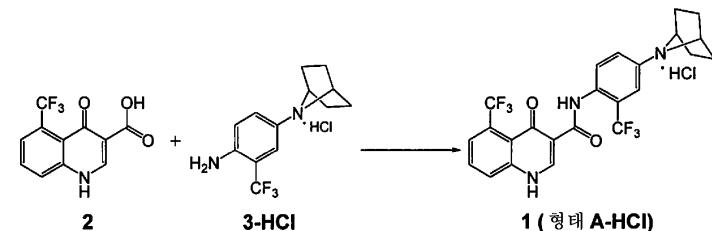
화합물 1 형태 A-HCl의 제조

[0103]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은

[0104]

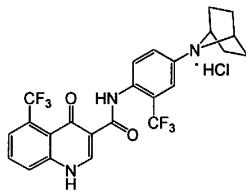
(a) 화합물 2를 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P®로 이루어진 군으로부터 선택된 커플링제의 존재하에 화합물 3의 히드로클로라이드 염 (3-HCl)과 반응시키고:



[0105]

(b) 단계 (a)의 생성물의 혼합물을 HCl로 처리하는 것

[0108] 을 포함하는, 고체 형태 A-HCl을 갖는 화합물 1의 히드로클로라이드 염의 제조 방법을 제공한다.



1 (형태 A-HCl)

[0109]

[0110] 상기 실시양태의 한 측면에서, 단계 (a)는  $K_2CO_3$ ,  $Et_3N$ , N-메틸모르폴린 (NMM), 피리딘 또는 디이소프로필에틸아민 (DIEA)과 같은 염기의 존재하에 수행한다.

[0111]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 단계 (a)는 피리딘 또는 DIEA의 존재하에 수행한다.

[0112]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 단계 (a)는 피리딘의 존재하에 수행한다.

[0113]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 단계 (a)는 극성 비양성자성 용매의 존재하에 수행한다. 예를 들어, 극성 비양성자성 용매는 에틸 아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 테트라하이드로푸란, 메틸에틸 케톤, N-메틸-2-피롤리돈, 아세토니트릴, N,N-디메틸 포름아미드 또는 2-메틸테트라하이드로푸란으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 보다 특히는, 화합물 2와 3-HCl의 커플링은 2-메틸테트라하이드로푸란의 존재하에 수행한다.

[0114]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 단계 (a)는 10°C 내지 80°C에서 유지된 반응 온도에서 수행한다. 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 단계 (a)는 15°C 내지 70°C에서 유지된 반응 온도에서 수행한다. 추가의 측면에서, 화합물 2와 화합물 3의 HCl 염의 커플링은 15°C 내지 70°C (예를 들어, 약 20°C 내지 65°C, 약 25°C 내지 60°C, 약 30°C 내지 55°C, 약 35°C 내지 50°C, 또는 약 45°C)에서 유지된 반응 온도에서 수행한다. 예를 들어, 화합물 2와 3-HCl의 커플링은 약 45°C에서 유지된 반응 온도에서 수행한다.

[0115]

상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 단계 (a)의 시간은 약 1.5시간 내지 약 72시간이다. 추가의 측면에서, 커플링 반응물은 약 1.5시간 내지 약 72시간 또는 그 초파의 시간 (예를 들어, 약 2시간 내지 약 48시간, 약 3시간 내지 약 24시간, 약 5시간 내지 약 20시간, 또는 약 12시간 내지 약 15시간) 동안 교반된다.

[0116]

상기 실시양태의 추가의 측면에서, 단계 (a)에서의 커플링 생성물은 단계 (b)에서 염화수소 (HCl)로 처리된다. 예를 들어, HCl 기체는 단계 (a)의 커플링 반응 생성물 및 비극성 비양성자성 용매, 예컨대 2-메틸테트라하이드로푸란을 포함하는 혼합물내로 베블링된다.

[0117]

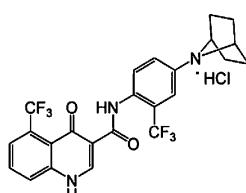
통상적으로, 약 1 당량 이상의 HCl 기체 내지 약 50 당량 이하의 HCl 기체가 혼합물내로 베블링된다. 보다 통상적으로, 약 2 당량 (eq.) 내지 약 20 당량 (약 5 eq. 내지 약 15 eq., 약 8 eq. 내지 약 12 eq., 또는 약 10 eq.)의 HCl 기체가 단계 (a)의 커플링 생성물을 포함하는 반응 혼합물내로 베블링된다.

[0118]

통상적으로, HCl 기체는 단계 (a)의 생성물 및 용매, 예컨대 비양성자성 용매의 혼합물로, 약 0.5시간 내지 약 5시간의 기간 동안, 보다 통상적으로는 약 0.5시간 내지 약 5시간 (예를 들어, 약 0.75시간 내지 약 3시간, 또는 약 2시간)의 기간 동안 베블링된다.

[0119]

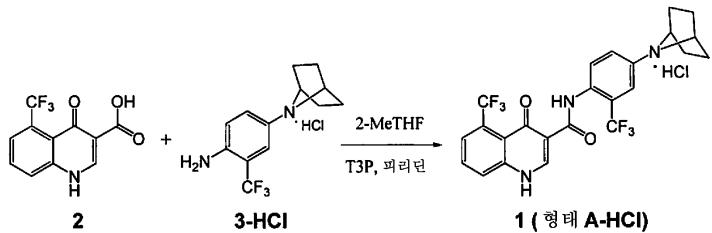
또 다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 단락에 기재된 방법에 의해 제조된 화합물 1 형태 A-HCl을 제공한다.



1 (형태 A-HCl)

[0120]

[0121] 한 실시양태에서, 본 발명은 화합물 2를 T3P<sup>®</sup> 및 피리딘의 존재하에, 약 45°C의 온도에서, 약 12-15시간 동안, 용매 2-MeTHF 중에서, 화합물 3-HCl과 반응시킨 후에, 기체 HCl로 처리하는 것을 포함하는, 화합물 1 형태 A-HCl의 제조 방법을 제공한다.



[0122]

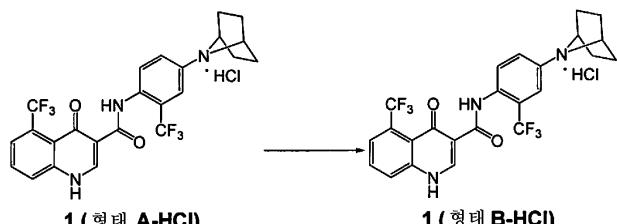
화합물 1 형태 B-HCl의 제조

[0124]

또 다른 측면에서, 본 발명은

[0125]

(a) 본원에 기재된, 화합물 1 형태 A-HCl의 히드로클로라이드 염을 유기 용매 및 물과 혼합하여 혼합물을 생성하고:

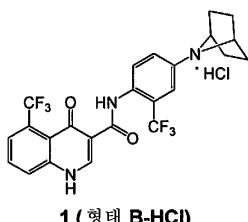


[0126]

(b) 혼합물을 가열하는 것

[0128]

을 포함하는, 형태 B-HCl의 고체 형태를 갖는 화합물 1의 히드로클로라이드 염의 제조 방법을 제공한다.



[0129]

상기 실시양태의 한 측면에서, 유기 용매는 디메틸 술폴시드, 디메틸포름아미드, 디옥산, 헥사메틸포스포로트리아미드, 테트라하이드로푸란, EtOAc, IPAc, THF, MEK, NMP, 아세토니트릴, DMF, EtOH, MeOH, 이소프로필 알콜 또는 2-메틸테트라하이드로푸란을 포함한다. 보다 특히는, 비양성자성 용매는 2-메틸테트라하이드로푸란을 포함한다.

[0131]

또 다른 측면에서, 단계 (a)에서의 혼합 이후에, 혼합물을 약 30°C 내지 약 80°C (예를 들어, 약 40°C 내지 약 70°C, 약 50°C 내지 약 65°C, 또는 약 60°C)의 온도에서 유지하면서 단계 (b)가 이어진다. 청구항 제40항 내지 제43항의 방법에서, 혼합물은 30°C 내지 약 80°C의 온도에서 약 12시간 내지 약 72시간의 기간 동안 유지된다.

[0132]

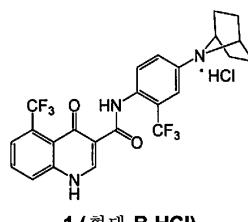
또 다른 측면에서, 단계 (b)에서의 가열 후에, 혼합물을 여과하여 필터 케이크를 생성한다.

[0133]

또 다른 측면에서, 여과한 후에, 필터 케이크를 비양성자성 용매, 예컨대 2-메틸테트라하이드로푸란으로 세척한다.

[0134]

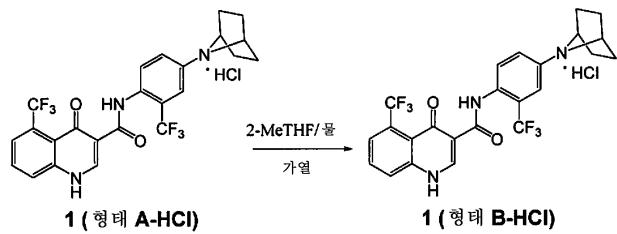
또 다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 단락에 기재된 방법에 의해 제조된 화합물 1 형태 B-HCl을 제공한다.



[0135]

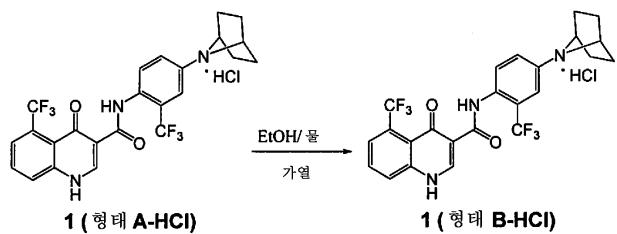
한 실시양태에서, 본 발명은 2-MeTHF와 물의 혼합물 중에서 화합물 1 형태 A-HCl을 60°C의 온도에서 48시간 동

안 가열하고; 실온으로 냉각시키고 침전 생성물을 여과한 다음; 생성물을 진공하에 60°C의 온도에서 건조시키는 것을 포함하는, 화합물 1 형태 B-HCl의 제조 방법을 제공한다.



[0137]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 EtOH와 물의 혼합물 중에서 화합물 1 형태 A-HCl을 환류 온도로 가열하고; 20 °C로 냉각시키고 3시간 동안 교반하고; 침전 생성물을 여과한 다음; 생성물을 진공하에 45°C의 온도에서 건조시키는 것을 포함하는, 화합물 1 형태 B-HCl의 제조 방법을 제공한다.



[0139]

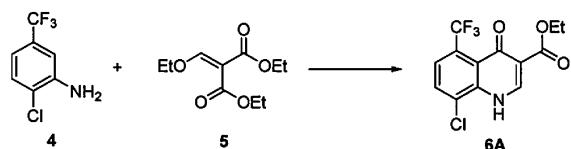
화합물 2, 3 및 3-HCl의 제조

[0141]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은

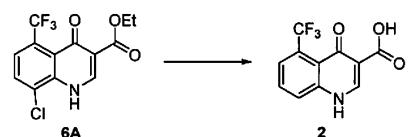
[0142]

(a) 화합물 4를 디에틸 2-(에톡시메틸렌)말로네이트 5와 반응시켜 에스테르 6A를 생성하고;



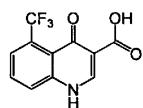
[0143]

(b) 에스테르 6A를 별개의 단계에서 촉매의 존재하에 수소 원자 공급원, 예컨대 수소 기체 또는 포르메이트 및 염기로 처리하여 화합물 2를 생성하는 것



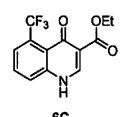
[0145]

을 포함하는, 화합물 2의 제조 방법을 제공한다.



[0147]

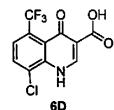
한 측면에서, 화합물 6A를 촉매의 존재하에 수소 원자 공급원, 예컨대 수소 기체 또는 포르메이트로 처리하여 화합물 6C를 생성하고, 이어서 이를 염기로 처리하여 화합물 2를 생성한다.



[0149]

또 다른 측면에서, 화합물 6A를 염기로 처리하여 화합물 6D를 생성하고, 이어서 이를 촉매의 존재하에 수소 원

자 공급원, 예컨대 수소 기체 또는 포르메이트로 처리하여 화합물 2를 생성한다.



[0151]

[0152] 일부 측면에서, 수소의 공급원은 수소 기체이다. 다른 측면에서, 수소의 공급원은 포르메이트이다.

[0153] 일부 측면에서, 촉매는 팔라듐 촉매이다.

[0154] 일부 측면에서, 염기는 수성 수산화나트륨 또는 수성 수산화칼륨이다. 예를 들어, 염기는 수성 수산화나트륨이다.

[0155] 한 실시양태에서, 본 발명은

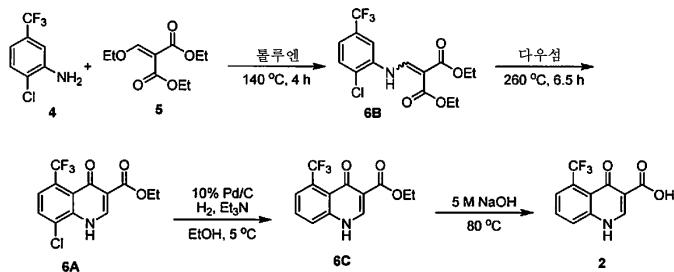
[0156] a) 딘-스타크(Dean-Stark) 장치에서의 톨루엔 중에서 화합물 4를 화합물 5와 환류 온도에서 반응시켜 화합물 6B를 형성하고;

[0157] b) 다우섬(Dowtherm) 중에서 화합물 6B를 약 260°C의 온도에서 가열하여 시클릭형 생성물 화합물 6A를 생성하고;

[0158] c) EtOH 중에서 화합물 6A를 수소 기체 및 트리에틸아민의 존재하에 촉매로서 Pd/C를 사용하여 수소화시켜 화합물 6C를 생성한 다음;

[0159] d) 5 M NaOH를 사용하여 화합물 6C를 가수분해시켜 화합물 2를 생성하는 단계

[0160] 를 포함하는, 화합물 2의 제조 방법을 제공한다.



[0161]

[0162] 한 실시양태에서, 본 발명은

[0163] a) 딘-스타크 장치에서의 톨루엔 중에서 화합물 4를 화합물 5와 환류 온도에서 반응시켜 화합물 6B를 형성하고;

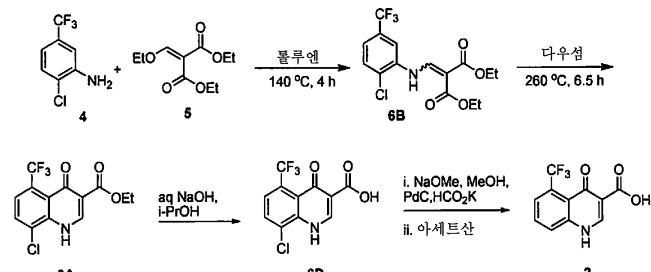
[0164] b) 다우섬 중에서 화합물 6B를 약 260°C의 온도에서 가열하여 시클릭형 생성물 화합물 6A를 생성하고;

[0165] c) 이소프로판올과 물의 혼합물 중에서 화합물 6A를 NaOH를 사용하여 가수분해시켜 화합물 6D를 생성하고;

[0166] d) EtOH 중에서 화합물 6D를 포르메이트, 나트륨 메톡시드 및 메탄올의 존재하에 촉매로서 Pd/C를 사용하여 수소화시킨 다음;

[0167] e) 용액을 아세트산으로 산성화시켜 화합물 2를 생성하는 단계

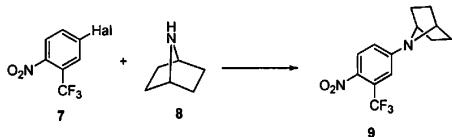
[0168] 를 포함하는, 화합물 2의 제조 방법을 제공한다.



[0169]

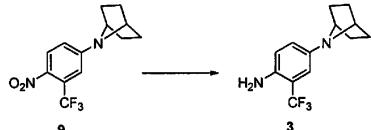
[0170] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은

[0171] (a) 화합물 7 (여기서, Hal은 F, Cl, Br 또는 I임)을 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 8 또는 그의 염과 반응시켜 화합물 9를 생성하고;



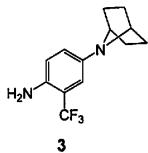
[0172]

[0173] (b) 화합물 9 중의 니트로 잔기를 환원시켜 아닐린 3을 제공하는 것



[0174]

[0175] 을 포함하는, 화합물 3의 제조 방법을 제공한다.



[0176]

[0177] 상기 실시양태의 한 측면에서, 단계 (a)는 염기의 존재하에 극성 비양성자성 용매 중에서 수행한다. 예를 들어, 염기는 3급 아민 염기, 예컨대 트리에틸 아민 또는 디이소프로필에틸 아민 등이고, 용매는 예를 들면 아세토니트릴이다.

[0178]

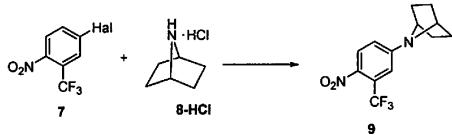
[0178] 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 단계 (b)는 알콜계 용매 중에서 전이 금속 촉매 및 수소 기체를 사용하여 수행한다. 예를 들어, 촉매는 Pt, Pd 또는 Ni 유래의 9족 또는 10족 전이 금속 촉매를 포함한다. 보다 특히는, 촉매는 Pd를 포함한다. 알콜계 용매는 알콜, 예컨대 이소프로판올, 에탄올, 메탄올 등을 포함한다. 예를 들어, 용매는 에탄올을 포함한다.

[0179]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은

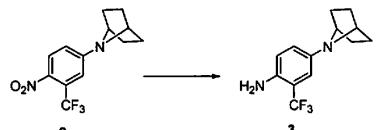
[0180]

(a) 화합물 7 (여기서, Hal은 F, Cl, Br 또는 I임)을 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄의 히드로클로라이드 염 (8-HCl)과 반응시켜 화합물 9를 생성하고;



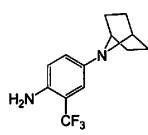
[0181]

[0182] (b) 화합물 9 중의 니트로 잔기를 환원시켜 화합물 3을 제공하는 것



[0183]

[0184] 을 포함하는, 화합물 3의 제조 방법을 제공한다.



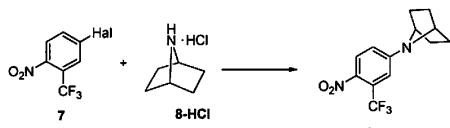
[0185]

[0186] 상기 실시양태의 한 측면에서, 단계 (a)는 무기 탄산염 염기, 예컨대 탄산나트륨 및 극성 비양성자성 용매, 예컨대 DMSO의 존재하에 수행한다.

[0187] 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 단계 (b)는 알콜계 용매 중에서 전이 금속 촉매 및 수소 기체를 사용하여 수행한다. 예를 들어, 촉매는 Pt, Pd 또는 Ni 유래의 9족 또는 10족 전이 금속 촉매를 포함한다. 보다 특히는, 촉매는 Pd를 포함한다. 알콜계 용매는 알콜, 예컨대 이소프로판올, 에탄올, 메탄올 등을 포함한다. 예를 들어, 용매는 에탄올을 포함한다.

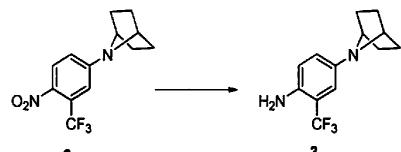
[0188] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은

[0189] (a) 화합물 7 (여기서, Hal은 F, Cl, Br 또는 I임)을 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 히드로클로라이드 염 8-HCl과 반응시켜 화합물 9를 생성하고;



[0190]

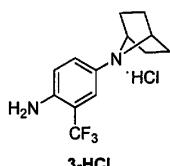
[0191] (b) 화합물 9 중의 니트로 잔기를 환원시켜 아닐린 3을 제공한 다음;



[0192]

[0193] (c) 단계 (c)의 생성물을 HCl 기체로 처리하여 3-HCl을 제공하는 것

[0194] 을 포함하는, 히드로클로라이드 염 3-HCl의 제조 방법을 제공한다.



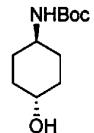
[0195]

[0196] 상기 실시양태의 한 측면에서, 단계 (a)는 무기 탄산염 염기, 예컨대 탄산나트륨 및 극성 비양성자성 용매, 예컨대 DMSO의 존재하에 수행한다.

[0197] 상기 실시양태의 또 다른 측면에서, 단계 (b)는 알콜계 용매 중에서 전이 금속 촉매 및 수소 기체를 사용하여 수행한다. 예를 들어, 촉매는 Pt, Pd 또는 Ni 유래의 9족 또는 10족 전이 금속 촉매를 포함한다. 보다 특히는, 촉매는 Pd를 포함한다. 알콜계 용매는 알콜, 예컨대 이소프로판올, 에탄올, 메탄올 등을 포함한다. 예를 들어, 용매는 에탄올을 포함한다.

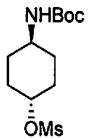
[0198] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은

[0199] 트랜스-4-아미노시클로헥산올을 Boc 무수물과 접촉시켜 화학식 A의 화합물을 생성하고;



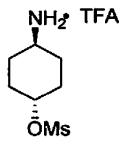
[0200]

[0201] 화학식 A의 화합물을 메탄술론산과 접촉시켜 화학식 B의 화합물을 생성하고;

**B**

[0202]

화학식 B의 화합물을 트리플루오로아세트산과 접촉시켜 화학식 C의 화합물을 생성한 다음;



[0204]

화학식 C의 화합물을 히드록시드와 접촉시켜 화학식 8의 화합물을 생성하는 것

[0206]

을 포함하는, 화합물 8 또는 그의 제약상 허용되는 염의 제조 방법을 포함한다.

**8**

[0207]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은

[0209]

화학식 8의 화합물을 염산과 접촉시키는 것

[0210]

을 포함하는, 화학식 8-HCl의 화합물의 제조 방법을 포함한다.

**8-HCl**

[0211]

한 실시양태에서, 본 발명은

[0213]

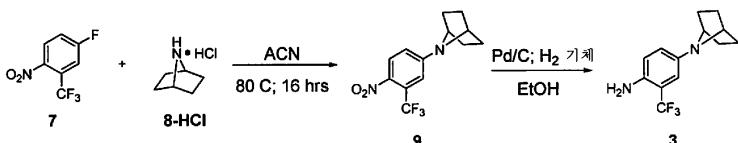
a) 화합물 7을 아세토니트릴 중에서, 트리에틸아민의 존재하에, 약 80°C에서, 약 16시간 동안, 화합물 8-HCl과 반응시켜 화합물 9를 생성한 다음;

[0214]

b) 에탄올 중에서 화합물 9를 수소 기체의 존재하에 촉매로서 Pd/C를 사용하여 수소화시키는 단계

[0215]

를 포함하는, 화합물 3의 제조 방법을 제공한다.



[0216]

한 실시양태에서, 본 발명은

[0218]

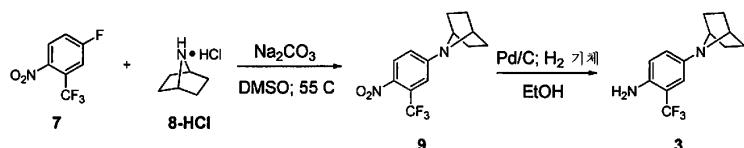
a) 화합물 7을 DMSO 중에서, 탄산나트륨의 존재하에, 약 55°C에서, 화합물 8-HCl과 반응시켜 화합물 9를 생성한 다음;

[0219]

b) 에탄올 중에서 화합물 9를 수소 기체의 존재하에 촉매로서 Pd/C를 사용하여 수소화시키는 단계

[0220]

를 포함하는, 화합물 3의 제조 방법을 제공한다.



[0221]

[0222]

한 실시양태에서, 본 발명은

[0223]

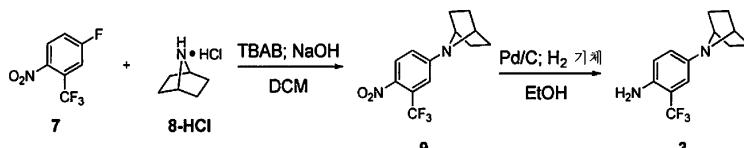
a) 화합물 7을 디클로로메탄 중에서, 수산화나트륨 및 테트라부틸암모늄 브로마이드의 존재하에, 화합물 8-HCl과 반응시켜 화합물 9를 생성한 다음;

[0224]

b) 에탄올 중에서 화합물 9를 수소 기체의 존재하에 촉매로서 Pd/C를 사용하여 수소화시키는 단계

[0225]

를 포함하는, 화합물 3의 제조 방법을 제공한다.



[0226]

[0227]

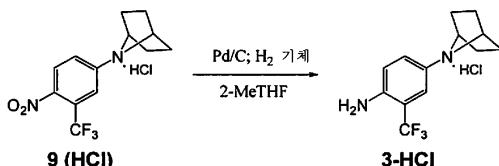
한 실시양태에서, 본 발명은

[0228]

2-MeTHF 중에서 화합물 9의 히드로클로라이드 염을 수소 기체의 존재하에 촉매로서 Pd/C를 사용하여 수소화시키는 것

[0229]

을 포함하는, 화합물 3-HCl의 제조 방법을 제공한다.



[0230]

본 발명의 다른 측면

[0232]

한 측면에서, 본 발명은 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합, 및 제약상 허용되는 아주반트 또는 담체를 포함하는 제약 조성물을 특징으로 한다.

[0233]

한 측면에서, 본 발명은 유효량의 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합을 인간에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 인간에서의 CFTR 매개 질환의 치료 방법을 특징으로 한다.

[0234]

일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 추가의 치료제를 투여하는 것을 포함한다.

[0235]

특정 실시양태에서, 본 발명은 CFTR을 코딩하는 유전자에서의 돌연변이 또는 환경 인자 (예를 들어, 흡연)로 인한 CFTR 기능 감소와 관련있는 질환의 치료 방법을 제공한다. 이러한 질환에는 낭성 섶유증, 천식, 흡연 유발 COPD, 만성 기관지염, 비부비동염, 변비, 췌장염, 췌장 기능부전, 선천성 양측 정관 결손증 (CBAVD)에 의해 유발되는 남성 불임증, 경증 폐 질환, 특발성 췌장염, 알레르기성 기관지폐 아스페르길리우스증 (ABPA), 간 질환, 유전성 폐기증, 유전성 혈색소침착증, 응고-섬유소용해 결핍, 예컨대 단백질 C 결핍, 제1형 유전성 혈관부종, 지질 프로세싱 결핍, 예컨대 가족성 고콜레스테롤혈증, 제1형 킬로미크론혈증, 무베타지단백혈증, 리소솜 축적 질환, 예컨대 I 세포병/가성 후를러병, 점액다당류증, 샌드호프/테이-삭스병, 제II형 크리글러-나자르병, 다발성내분비병증/고인슐린혈증, 당뇨병, 라론 왜소증, 미엘로퍼옥시다제 결핍, 원발성 부갑상선기능저하증, 흑색종, 제1형 글리카노시스 CDG, 선천성 갑상선기능항진증, 골형성 부전, 유전성 저섬유소원혈증, ACT 결핍, 요통증 (DI), 신경성 DI, 신성 DI, 샤크코-마리 투스 증후군, 펠리체우스-메르츠바허병, 신경변성 질환, 예컨대 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축성 측삭 경화증, 진행성 핵상마비, 괴병, 여러 폴리글루타민 신경계 장애, 예컨대 헌팅تون병, 제I형 척수소뇌성 운동실조, 척수 및 연수 근육 위축, 치상핵적핵 담창구시상하핵 질환 및 근긴장성 이영양증 뿐만 아니라, 해면상 뇌병증, 예컨대 유전성 크라이초펠트-야콥병 (프리온 단백질 프로세싱 결함으

로 인함), 파브리병, 스트라우슬러-샤잉커 증후군, COPD, 안구건조증, 또는 쇼그렌병, 골다공증, 골감소증, 골 치유 및 골 성장 (예를 들어, 골 복구, 골 재생, 골 재흡수 감소 및 골 침착 증가), 고랩 증후군, 클로라이드 채널병증, 예컨대 선천성 근긴장증 (톰슨 및 베커 형태), 제III형 바터 증후군, 텐트병, 과도놀람증, 간질, 과도놀람증, 리소솜 축적 질환, 안겔만 증후군, 및 원발성 섬모 운동이상증 (PCD) [내장역위증 동반 PCD (카르타게너 증후군이라고도 알려짐), 내장역위증 비동반 PCD 및 섬모 무형성을 비롯한, 섬모의 구조 및/또는 기능의 유전성 장애에 대한 용어]이 포함된다.

[0236]

일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 환자는 인간 CFTR의 돌연변이 형태를 갖는다. 다른 실시양태에서, 환자는 인간 CFTR의 다음 돌연변이  $\Delta F508$ , R117H 및 G551D 중 하나 이상을 갖는다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 인간 CFTR의  $\Delta F508$  돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 적어도 하나의 대립유전자에서의 인간 CFTR의  $\Delta F508$  돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 두 대립유전자 모두에서의 인간 CFTR의  $\Delta F508$  돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 적어도 하나의 대립유전자에서의 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 두 대립유전자 모두에서의 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다.

[0237]

일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 환자는 인간 CFTR의 돌연변이 형태를 갖는다. 다른 실시양태에서, 환자는 인간 CFTR의 다음 돌연변이  $\Delta F508$ , R117H 및 G551D 중 하나 이상을 갖는다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 인간 CFTR의  $\Delta F508$  돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 적어도 하나의 대립유전자에서의 인간 CFTR의  $\Delta F508$  돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 두 대립유전자 모두에서의 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 적어도 하나의 대립유전자에서의 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 두 대립유전자 모두에서의 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 갖는 환자에게 본원에서 한정된 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다.

[0238]

일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 본원에 기재된 화합물 1을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 골다공증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.

[0239]

특정 실시양태에서, 환자에서 골다공증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

[0240]

일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 본원에 기재된 화합물 1을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 골감소증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.

[0241]

특정 실시양태에서, 환자에서 골감소증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

- [0242] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 본원에 기재된 화합물 1을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 골 치유 및/또는 골 복구 방법을 제공한다.
- [0243] 특정 실시양태에서, 환자에서의 골 치유 및/또는 골 복구 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0244] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 본원에 기재된 화합물 1을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 골 재흡수 감소 방법을 제공한다.
- [0245] 특정 실시양태에서, 환자에서의 골 재흡수 감소 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0246] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 본원에 기재된 화합물 1을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 골 침착 증가 방법을 제공한다.
- [0247] 특정 실시양태에서, 환자에서의 골 침착 증가 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0248] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 본원에 기재된 화합물 1을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 COPD를 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0249] 특정 실시양태에서, 환자에서의 COPD를 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0250] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 본원에 기재된 화합물 1을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 흡연 유발 COPD를 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0251] 특정 실시양태에서, 환자에서의 흡연 유발 COPD를 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0252] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 본원에 기재된 화합물 1을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 만성 기관지염을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0253] 특정 실시양태에서, 환자에서의 만성 기관지염을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0254] 한 실시양태에서, 본 발명은 인간에게 유효량의 화합물 1 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합을 투여하는 것을 포함하는, 상기 인간에서의 낭성 섬유증의 치료 방법을 제공한다.
- [0255] 한 측면에서, 본 발명은 화합물 1 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들 형태의 임의의 조합, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 팩 또는 키트를 특징으로 한다.
- [0256] 한 측면에서, 본 발명은 삼방 결정계, R-3 공간군, 및 하기 단위 셀 치수를 갖는, N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드의 결정 형태를 특징으로 한다:  $a = 19.1670(4)$  Å,  $b = 19.1670(4)$  Å,  $c = 33.6572(12)$  Å,  $\alpha = 90^\circ$ ,  $\beta = 90^\circ$  및  $\gamma = 120^\circ$ .
- [0257] 한 실시양태에서, 본 발명은 단사 결정계, P21/c 공간군, 및 하기 단위 셀 치수를 갖는, 형태 B의 N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드의 결정을 제공한다:  $a = 13.5429(4)$  Å,  $b = 13.4557(4)$  Å,  $c = 12.0592(4)$  Å,  $\alpha = 90^\circ$ ,  $\beta = 101.193^\circ$  및  $\gamma = 90^\circ$ .
- [0258] 용도, 제제 및 투여
- [0259] 본 발명의 한 측면에서, 제약상 허용되는 조성물이 제공되며, 상기 조성물은 본원에 기재된 형태 A를 포함하고, 제약상 허용되는 담체, 아주반트 또는 비히클을 임의로 포함한다. 특정 실시양태에서, 이들 조성물은 1종 이상의 추가의 치료제를 임의로 더 포함한다.
- [0260] 상기 기재된 바와 같이, 본 발명의 제약상 허용되는 조성물은 제약상 허용되는 담체, 아주반트 또는 비히클을 추가로 포함하고, 본원에서 사용된 이들은 목적하는 특정한 투여 형태에 적합한, 임의의 및 모든 용매, 희석제, 또는 기타 액체 비히클, 분산 또는 혼탁 보조제, 표면 활성제, 등장화제, 증점제 또는 유화제, 보존제, 고체 결

합제, 윤활제 등을 포함한다. 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980)]에 제약상 허용되는 조성물을 제제화하는데 사용되는 다양한 담체 및 그의 공지된 제조 기법이 개시되어 있다. 임의의 통상적인 담체 매질이, 예를 들어 임의의 바람직하지 않은 생물학적 효과를 일으키거나 또는 제약상 허용되는 조성물의 임의의 다른 성분(들)과 해로운 방식으로 상호작용함으로써, 본 발명의 화합물과 상용가능하지 않는 경우를 제외하면, 그의 사용은 본 발명의 범주내에 포함되는 것으로 고려된다. 제약상 허용되는 담체로서 사용될 수 있는 물질의 일부 예로는 이온 교환체, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민, 완충 물질, 예컨대 인산염, 글리신, 소르브산 또는 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방산의 부분 글리세리드 혼합물, 물, 염 또는 전해질, 예컨대 프로타민 슬레이트, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연염, 콜로이드성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌 블록 중합체, 양모 지방, 당, 예컨대 락토스, 글루코스 및 수크로스; 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; 셀룰로스 및 그의 유도체, 예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; 분말화 트라가칸트; 맥아; 젤라틴; 활석; 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 쟈제 왁스; 오일, 예컨대 낙화생유, 면실유, 흥화유, 참깨유, 올리브유, 옥수수유 및 대두유; 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜; 에스테르, 예컨대 에틸 올레아이트 및 에틸 라우레이트; 한천; 완충제, 예컨대 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄; 알진산; 발열원 무함유 물; 등장성 식염수; 링거액; 에틸 알콜 및 인산염 완충 용액 뿐만 아니라, 기타 비독성 상용성 윤활제, 예컨대 나트륨 라우릴 슬레이트 및 마그네슘 스테아레이트가 포함되나, 이들로 제한되지는 않으며, 또한 착색제, 이형제, 코팅제, 감미제, 향미제 및 향료, 보존제 및 산화방지제도 제조자의 판단에 따라 조성물 중에 존재할 수 있다.

#### [0261] 화합물 및 제약상 허용되는 조성물의 용도

[0262] 또 다른 측면에서, 본 발명은 CFTR 돌연변이가 원인인 것으로 생각되는 상태, 질환 또는 장애를 치료하거나 또는 이들의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 CFTR 활성의 결핍이 원인인 것으로 생각되는 상태, 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체, 바람직하게는 포유동물에 화합물 1 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들 형태의 임의의 조합을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, CFTR 활성의 결핍이 원인인 것으로 생각되는 상태, 질환 또는 장애의 치료 방법을 제공한다.

[0263] 특정 실시양태에서, 본 발명은 CFTR을 코딩하는 유전자에서의 돌연변이 또는 환경 인자 (예를 들어, 흡연)로 인한 CFTR 기능 감소와 관련있는 질환의 치료 방법을 제공한다. 이들 질환에는 낭성 섬유증, 만성 기관지염, 재발성 기관지염, 급성 기관지염, 선천성 양측 정관 결손증 (CBAVD)에 의해 유발되는 남성 불임증, 선천성 자궁 및 질 결손증 (CAUV)에 의해 유발되는 여성 불임증, 특발성 만성 췌장염 (ICP), 특발성 재발성 췌장염, 특발성 급성 췌장염, 만성 비부비동염, 원발성 경화성 담관염, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증, 당뇨병, 건성안, 변비, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증 (ABPA), 골 질환 (예를 들어, 골다공증) 및 천식이 포함된다.

[0264] 특정 실시양태에서, 본 발명은 정상적인 CFTR 기능과 관련있는 질환의 치료 방법을 제공한다. 이들 질환에는 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD), 만성 기관지염, 재발성 기관지염, 급성 기관지염, 비부비동염, 변비, 췌장염, 예를 들어 만성 췌장염, 재발성 췌장염 및 급성 췌장염, 췌장 기능부전, 선천성 양측 정관 결손증 (CBAVD)에 의해 유발되는 남성 불임증, 경증 폐 질환, 특발성 췌장염, 간 질환, 유전성 폐기종, 담석, 위식도 역류 질환, 위장 악성종양, 염증성 장 질환, 변비, 당뇨병, 관절염, 골다공증 및 골감소증이 포함된다.

[0265] 특정 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 또는 이들 형태의 임의의 조합을 포함하는 조성물 유효량을 포유동물에 투여하는 단계를 포함하는, 유전성 혈색소침착증, 응고-섬유소용해 결핍, 예컨대 단백질 C 결핍, 제1형 유전성 혈관부종, 지질 프로세싱 결핍, 예컨대 가족성 고콜레스테롤혈증, 제1형 킬로미크론혈증, 무베타지단백혈증, 리소솜 축적 질환, 예컨대 I 세포병/가성 후를리병, 점액다당류증, 샌드호프/테이-삭스병, 제II형 크리글러-나자르병, 다발성내분비병 증/고인슐린혈증, 당뇨병, 라론 왜소증, 미엘로퍼옥시다제 결핍, 원발성 부갑상선기능저하증, 흑색증, 제1형 글리카노시스 CDG, 선천성 갑상선기능항진증, 골형성 부전, 유전성 저섬유소원혈증, ACT 결핍, 요붕증 (DI), 신경성 DI, 신성 DI, 샤르코-마리 투스 증후군, 펠리체우스-메르츠바허병, 신경변성 질환, 예컨대 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축성 측삭 경화증, 진행성 핵상마비, 꾹병, 여러 폴리글루타민 신경계 장애, 예컨대 헌팅تون병, 제I형 척수소뇌성 운동실조, 척수 및 연수 근육 위축, 치상핵적핵 담창구시상하핵 질환 및 근긴장성 이영양증 뿐만 아니라, 해면상 뇌병증, 예컨대 유전성 크라이츠펠트-야콥병 (프리온 단백질 프로세싱 결함으로 인함), 파브리병, 스트라우슬러-샤잉커 증후군, 고랩 증후군, 클로라이드 채널병증, 선천성 근긴장증 (톰슨 및 베커 형태),

제III형 바터 증후군, 텐트병, 과도놀람증, 간질, 과도놀람증, 리소솜 축적 질환, 안젤만 증후군, 원발성 섬모 운동이상증 (PCD), 내장역위증 동반 PCD (카르타게너 증후군이라고도 알려짐), 내장역위증 비동반 PCD 및 섬모 무형성, 또는 쇼그伦병을 비롯한 정상적인 CFTR 기능과 관련있는 질환의 치료 방법을 제공한다.

- [0266] 대안의 바람직한 실시양태에 따라서, 본 발명은 본원에 기재된 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 또는 이들 형태의 임의의 조합을 포함하는 조성물을 유효량을 포유동물에 투여하는 단계를 포함하는, 낭성 섬유증의 치료 방법을 제공한다.
- [0267] 본 발명에 따르면, 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 이들 형태의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물은 "유효량"은 상기 인용된 질환, 장애 또는 상태 중 하나 이상을 치료하거나 또는 이들의 중증도를 감소시키는데 효과적인 양이다.
- [0268] 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 또는 이들 형태의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물은 상기 인용된 질환, 장애 또는 상태 중 하나 이상을 치료하거나 또는 이들의 중증도를 감소시키는데 효과적인 임의의 양 및 임의의 투여 경로를 사용하여 투여할 수 있다.
- [0269] 특정 실시양태에서, 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 이들 형태의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물은 호흡기 및 비호흡기 상피의 첨단막(apical membrane)에서의 잔여 CFTR 활성을 나타내는 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는데 유용하다. 상피 표면에 잔여 CFTR 활성의 존재는 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 표준 전기생리학적, 생화학적 또는 조직화학적 기법을 사용하여 용이하게 검출할 수 있다. 이러한 방법은 생체내 또는 생체외 전기생리학적 기법, 땀 또는 타액의 Cl<sup>-</sup> 농도 측정, 또는 세포 표면 밀도를 모니터링하기 위한 생체외 생화학적 또는 조직화학적 기법을 사용하여 CFTR 활성을 확인한다. 이러한 방법을 사용하여, 잔여 CFTR 활성을 가장 일반적인 돌연변이인 ΔF508에 대하여 동형접합적 또는 이형접합적인 환자를 비롯하여, 여러 다양한 돌연변이에 대하여 이형접합적 또는 동형접합적인 환자에서 용이하게 검출할 수 있다.
- [0270] 또 다른 실시양태에서, 본원에 기재된 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 또는 이들 형태의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물은 약리학적 방법 또는 유전자 요법을 사용하여 유도되거나 또는 증강된 잔여 CFTR 활성을 갖는 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는데 유용하다. 이러한 방법은 세포 표면에 존재하는 CFTR의 양을 증가시킴으로써, 환자에게 이전에는 존재하지 않았던 CFTR 활성을 유도하거나 또는 환자에서의 잔여 CFTR 활성의 원래 수준을 증강시킨다.
- [0271] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 또는 이들 형태의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물은 잔여 CFTR 활성을 나타내는 특정한 유전자형, 예를 들어 제III 부류 돌연변이 (불완전한 조절 또는 게이팅), 제IV 부류 돌연변이 (전도도 변경) 또는 제V 부류 돌연변이 (합성 감소)를 갖는 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는데 유용하다 (문헌 [Lee R. Choo-Kang, Pamela L., Zeitlin, Type I, II, III, IV, and V cystic fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Defects and Opportunities of Therapy; Current Opinion in Pulmonary Medicine 6:521-529, 2000]). 잔여 CFTR 활성을 나타내는 다른 환자 유전자형은 상기 부류 중 하나에 대하여 동형접합적인 환자 또는 제I 부류 돌연변이, 제II 부류 돌연변이 또는 비분류 돌연변이를 비롯한, 임의의 다른 부류의 돌연변이를 갖는 이형접합적인 환자를 포함한다.
- [0272] 한 실시양태에서, 본원에 기재된 화합물 1 형태 A, 화합물 1 형태 A-HCl, 화합물 1 형태 B, 화합물 1 형태 B-HCl, 또는 이들 형태의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물은, 통상적으로 상피의 첨단막에서의 잔여 CFTR 활성도와 상관관계가 있는 특정한 임상학적 표현형, 예를 들어 중등도 내지 경도의 임상학적 표현형을 갖는 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 또는 그의 중증도를 감소시키는데 유용하다. 이러한 표현형은 췌장 기능부전 환자 또는 특발성 췌장염 및 선천성 양측 정관 결손증, 또는 경증 폐 질환을 진단받은 환자를 포함한다.
- [0273] 정확한 필요량은 대상체의 종, 연령 및 일반적 상태, 감염의 중증도, 특정 작용제, 그의 투여 방식 등에 따라 대상체마다 달라질 것이다. 본 발명의 화합물은 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제제화되는 것이 바람직하다. 본원에 사용된 표현 "투여 단위 형태"는 치료할 환자에게 적절한, 물리적으로 분리된 단위의 작용제를 말한다. 그러나, 본 발명의 화합물 및 조성물의 총 1일 사용량은 분별있는 의학적 판단의 범주 내에서 담당 의사가 결정할 일임을 알 것이다. 임의의 특정 환자 또는 유기체를 위한 구체적인 유효 용량 수준은 치료할 장애 및 상기 장애의 중증도; 사용되는 특정 화합물의 활성; 사용되는 특정 조성물; 환자의

연령, 체중, 일반적 건강상태, 성별 및 식단; 사용되는 특정 화합물의 투여 시간, 투여 경로 및 배출 속도; 치료 기간; 사용되는 특정 화합물과 조합되어 또는 동시에 사용되는 약물, 및 의료 업계에 널리 공지되어 있는 유사한 인자들을 비롯한 다양한 인자에 따라 달라질 것이다. 본원에 사용된 용어 "환자"는 동물, 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 인간을 의미한다.

[0274] 본 발명의 제약상 허용되는 조성물은 치료할 감염의 중증도에 따라, 경구로, 직장으로, 비경구로, 낭내로, 복강내로, 국소적으로 (분말제, 연고, 점액제 또는 패치에 의해), 협측으로, 구강 또는 비강 분무 등으로 인간 및 다른 동물에 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 목적하는 치료 효과를 얻기 위해, 대상체의 체중에 대하여 1일 약 0.01 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 약 0.5 mg/kg 내지 약 25 mg/kg의 투여량 수준으로 1일 1회 이상 경구 또는 비경구 투여될 수 있다.

[0275] 경구 투여를 위한 액체 투여 형태에는 제약상 허용되는 에멀젼, 마이크로에멀젼, 용액, 혼탁액, 시럽 및 엘릭시르가 포함되나, 이들로 제한되지는 않는다. 액체 투여 형태는, 활성 화합물 이외에도, 당업계에서 통상 사용되는 비활성 희석제, 예를 들어 물 또는 기타 용매, 가용화제 및 유화제, 예컨대 에틸 알콜, 이소프로필 알콜, 에틸 카르보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알콜, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸 포름아미드, 오일 (특히, 면실유, 땅콩유, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유 및 참깨유), 글리세롤, 테트라히드로푸르푸릴 알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르, 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다. 경구 조성물은 비활성 희석제 이외에도 또한 아주반트, 예컨대 습윤제, 유화제 및 혼탁화제, 감미제, 향미제 및 향료를 포함할 수 있다.

[0276] 주사가능한 제제, 예를 들어 주사가능한 수성 또는 유성 멸균 혼탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 혼탁화제를 사용하여 공지된 기술에 따라 제제화될 수 있다. 주사가능한 멸균 제제는 또한 예를 들어 1,3-부탄디올 중의 용액과 같이, 비독성의 비경구로 허용되는 희석제 또는 용매 중의 주사가능한 멸균 용액, 혼탁액 또는 에멀젼일 수 있다. 사용가능한 허용되는 비히클 및 용매 중에는, 물, 링거액, U.S.P. 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 멸균 고정유가 통상적으로 용매 또는 혼탁 매질로서 사용된다. 상기 목적을 위해, 합성 모노글리세리드 또는 디글리세리드를 비롯한 임의의 순한 고정유가 사용될 수 있다. 추가로, 올레산과 같은 지방산이 주사제의 제조에 사용된다.

[0277] 주사가능한 제제는, 예를 들어 박테리아-보유 필터를 통한 여과에 의해, 또는 사용 전에 멸균수 또는 다른 주사 가능한 멸균 매질 중에 용해 또는 분산될 수 있는 멸균 고체 조성물 형태로 멸균제를 혼입시킴으로써 멸균될 수 있다.

[0278] 본 발명의 화합물의 효과를 연장시키기 위해서, 피하 또는 근육내 주사된 화합물의 흡수를 저속화하는 것이 종종 바람직하다. 이것은 수용해도가 불량한 결정질 또는 무정형 물질의 액체 혼탁액을 사용함으로써 달성될 수 있다. 이후, 화합물의 흡수 속도는 용해 속도에 따라 달라지고, 이것은 다시 결정 크기 및 결정질 형태에 따라 달라질 수 있다. 별법으로, 비경구 투여된 화합물 형태의 흡수 지연은 화합물을 오일 비히클 중에 용해 또는 혼탁시킴으로써 달성된다. 주사가능한 데포 형태는 생분해성 중합체, 예컨대 폴리락티드-폴리글리콜리드 중에 화합물의 마이크로캡슐 매트릭스를 형성함으로써 제조된다. 화합물 대 중합체의 비율, 및 사용되는 특정 중합체의 특성에 따라, 화합물 방출 속도가 제어될 수 있다. 다른 생분해성 중합체의 예로는 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(무수물)이 포함된다. 또한, 주사가능한 데포 제제는 화합물을 신체 조직과 상용성인 리포좀 또는 마이크로에멀젼 중에 포획시킴으로써 제조된다.

[0279] 직장 또는 질 투여를 위한 조성물은 바람직하게는 본 발명의 화합물을 적합한 비자극성 부형제 또는 담체, 예컨대 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌제 왁스와 혼합하여 제조할 수 있는 좌제이며, 이것은 주위 온도에서는 고체이지만 체온에서는 액체여서 직장강 또는 질강에서 용융되어 활성 화합물을 방출한다.

[0280] 경구 투여를 위한 고체 투여 형태에는 캡슐, 정제, 환제, 분말제 및 과립제가 포함된다. 이러한 고체 투여 형태에서, 활성 화합물은 1종 이상의 비활성의 제약상 허용되는 부형제 또는 담체, 예컨대 시트르산나트륨 또는 인산이칼슘 및/또는 a) 충전제 또는 증량제, 예컨대 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨 및 규산, b) 결합제, 예를 들어 카르복시메틸셀룰로스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리дин, 수크로스 및 아카시아, c) 보습제, 예컨대 글리세롤, d) 봉해제, 예컨대 한천-한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 실리케이트 및 탄산나트륨, e) 용해 지연제, 예컨대 파라핀, f) 흡수 촉진제, 예컨대 4급 암모늄 화합물, g) 습윤제, 예를 들어 세틸 알콜 및 글리세롤 모노스테아레이트, h) 흡수제, 예컨대 카올린 및 벤토나이트 점토, 및 i) 윤활제, 예컨대 활석, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 라우릴 술레이트, 및 이들의 혼합물과 혼합된다. 캡슐, 정제 및 환제의 경우에, 투여 형태는 또한 완충제를 포함할 수

있다.

[0281] 또한, 유사한 유형의 고체 조성물이 부형제, 예컨대 락토스 또는 유당 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등을 사용하여 연질 및 경질-충전 젤라틴 캡슐 중에서 충전제로서 사용될 수 있다. 정제, 당의정, 캡슐, 환제 및 과립제의 고체 투여 형태는 제약 제제화 업계에 널리 공지되어 있는 코팅물 및 쉘, 예컨대 장용 코팅물 및 다른 코팅물을 사용하여 제조될 수 있다. 이들은 임의로 유백화제를 함유할 수 있고, 또한 장관의 특정 부위에서, 임의로는 지연된 방식으로 활성 성분(들)만을 방출하거나 또는 활성 성분(들)을 우선적으로 방출하는 조성물일 수도 있다. 사용될 수 있는 포매 조성물의 예로는 중합체 물질 및 왁스가 포함된다. 또한, 유사한 유형의 고체 조성물이 부형제, 예컨대 락토스 또는 유당 및 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등을 사용하여 연질 및 경질-충전 젤라틴 캡슐 중에서 충전제로서 사용될 수 있다.

[0282] 활성 화합물은 또한 상기한 바와 같은 1종 이상의 부형제와 함께 마이크로캡슐화된 형태일 수도 있다. 정제, 당의정, 캡슐, 환제 및 과립제의 고체 투여 형태는 제약 제제화 업계에 널리 공지되어 있는 코팅물 및 쉘, 예컨대 장용 코팅물, 방출 제어 코팅물 및 다른 코팅물을 사용하여 제조될 수 있다. 이러한 고체 투여 형태에서, 활성 화합물은 1종 이상의 비활성 희석제, 예컨대 수크로스, 락토스 또는 전분과 혼합될 수 있다. 이러한 투여 형태는 또한 통상의 관행에 따라 비활성 희석제 이외의 추가의 물질, 예를 들어 정제화 윤활제 및 기타 정제화 보조제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트 및 미세결정질 셀룰로스를 포함할 수 있다. 캡슐, 정제 및 환제의 경우에, 투여 형태는 또한 완충제를 포함할 수 있다. 이들은 임의로 유백화제를 함유할 수 있고, 또한 장관의 특정 부위에서, 임의로는 지연된 방식으로 활성 성분(들)만을 방출하거나 또는 활성 성분(들)을 우선적으로 방출하는 조성물일 수도 있다. 사용될 수 있는 포매 조성물의 예로는 중합체 물질 및 왁스가 포함된다.

[0283] 본 발명의 화합물의 국소 또는 경피 투여를 위한 투여 형태에는 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 분말제, 용액, 스프레이, 흡입제 또는 패치가 포함된다. 활성 성분은 멸균 조건하에 제약상 허용되는 담체, 및 필요에 따라 임의의 필요한 보존제 또는 완충제와 혼합된다. 안과용 제제, 점이제 및 점안제도 또한 본 발명의 범주내에 포함되는 것으로 고려된다. 추가로, 본 발명은 신체로의 화합물의 제어 전달을 제공하는 부가의 이점을 갖는 경피 패치의 사용을 고려한다. 이러한 투여 형태는 상기 화합물을 적절한 매질 중에 용해 또는 분산시킴으로써 제조된다. 피부를 통과하는 화합물의 풀러스를 증가시키기 위해 흡수 증진제를 사용할 수도 있다. 속도는 속도 제어 막을 제공하거나 또는 화합물을 중합체 매트릭스 또는 젤 중에 분산시킴으로써 제어할 수 있다.

[0284] 또한, 본원에 기재된 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물은 조합 요법에서 사용될 수 있는데, 즉 본원에 기재된 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물은 하나 이상의 다른 목적하는 치료제 또는 의료 절차와 동시에, 그 이전에 또는 그 이후에 투여될 수 있음을 알 것이다. 조합 요법에 사용되는 요법 (치료제 또는 절차)의 특정한 조합은 목적하는 치료제 및/또는 절차의 상용가능성 및 달성할 목적하는 치료 효과를 고려할 것이다. 또한, 사용되는 요법은 동일한 장애에 대하여 목적하는 효과를 달성할 수 있거나 (예를 들어, 본 발명의 화합물은 동일한 장애의 치료에 사용되는 또 다른 작용제와 동시에 투여될 수 있음), 또는 상이한 효과 (예를 들어, 임의의 부작용의 통제)를 달성할 수 있음을 알 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 특정 질환 또는 상태를 치료 또는 예방하기 위해 통상 투여되는 추가의 치료제는 "치료할 질환 또는 상태에 적절하다"고 공지되어 있다.

[0285] 한 실시양태에서, 추가의 작용제는 점액용해제, 기관지확장제, 항생제, 항감염제, 항염증제, 본 발명의 화합물 이외의 CFTR 조정자 또는 영양제로부터 선택된다.

[0286] 한 실시양태에서, 추가의 작용제는 항생제이다. 본원에서 유용한 예시적인 항생제에는 토브라마이신 (토브라마이신 흡입형 분말제 (TIP) 포함), 아지트로마이신, 아즈트레오남 (아즈트레오남의 에어로졸화 형태 포함), 아미카신 (그의 리포좀 제제 포함), 시프로플록사신 (흡입에 의한 투여에 적합한 그의 제제 포함), 레보플락사신 (그의 에어로졸화 제제 포함) 및 항생제 2종, 예를 들어 포스포마이신과 토브라마이신의 조합물이 포함된다.

[0287] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 점액용해제이다. 본원에서 유용한 예시적인 점액용해제에는 풀모자임 (Pulmozyme)®이 포함된다.

[0288] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 기관지확장제이다. 예시적인 기관지확장제에는 알부테롤, 메타프로테네롤 술페이트, 피르부테롤 아세테이트, 살메테롤 또는 테트라불린 술페이트가 포함된다.

[0289] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 폐 기도 표면 액체를 복원시키는데 효과적이다. 이러한 작용제는 세포 내부에서의, 또한 세포 외부로의 염의 이동을 향상시켜, 폐 기도에서의 점액이 더욱 수화되어 보다 용이하게 청

소되도록 한다. 예시적인 이러한 작용제에는 고장성 식염수, 데누포솔 테트라나트륨 [[[3S,5R)-5-(4-아미노-2-옥소파리미딘-1-일)-3-히드록시옥솔란-2-일]메톡시-히드록시포스포릴][[[2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-디옥소파리미딘-1-일)-3,4-디히드록시옥솔란-2-일]메톡시-히드록시포스포릴]옥시-히드록시포스포릴]히드로겐 포스페이트) 또는 브론키톨(만니톨의 흡입형 제제)이 포함된다.

[0290] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 항염증제, 즉 폐 염증을 감소시킬 수 있는 작용제이다. 본원에서 유용한 예시적인 이러한 작용제에는 이부프로펜, 도코사헥산산(DHA), 실데나필, 흡입형 글루타티온, 피오글리타존, 히드록시클로로퀸 또는 시마바스타틴이 포함된다.

[0291] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 채널을 차단함으로써 직접적으로 또는 상피 나트륨 채널 차단제(ENaC) 활성을 증가를 유도하는 프로테아제(예를 들어, 세린 프로테아제, 채널 활성화 프로테아제)의 조정에 의해 간접적으로 ENaC의 활성을 감소시킨다. 이러한 작용제의 예로는 카모스타트(트립신 유사 프로테아제 억제제), QAU145, 552-02, GS-9411, INO-4995, 에어로라이틱(Aerolytic) 및 아밀로라이드가 포함된다. 상피 나트륨 채널 차단제(ENaC)의 활성을 감소시키는 추가의 작용제는, 예를 들어 PCT 공보 제W02009/074575호에서 찾아볼 수 있으며, 상기 공보의 내용은 그 전문이 본원에 포함된다.

[0292] 본원에 기재된 다른 질환들 중에서, CFTR 조정자, 예컨대 본원에 기재된 것들과 ENaC의 활성을 감소시키는 작용제의 조합은 리들 증후군(Liddle's syndrome), 염증성 또는 알레르기성 상태, 예를 들어 낭성 섬유증, 원발성 섬모 운동이상증, 만성 기관지염, 만성 폐쇄성 폐 질환, 천식, 기도 감염증, 폐 암종, 구강건조증 및 건성 각결막염, 기도 감염증(급성 및 만성; 바이러스성 및 박테리아성) 및 폐 암종을 치료하는데 유용하다.

[0293] 또한, CFTR 조정자, 예컨대 본원에 기재된 것들과 ENaC의 활성을 감소시키는 작용제의 조합은 그의 표면 상에서의 보호막 액체의 비정상적인 생리가 연관되어 보이는, 상피를 통과하는 비정상적인 체액 조절과 관련있는, 호흡기 질환 이외의 질환을 또한 포함하는 상피 나트륨 채널의 차단에 의해 매개되는 질환, 예를 들어 구강건조증(건조 구강) 또는 건성 각결막염(건성안)의 치료에 유용하다. 추가로, 신장에서의 상피 나트륨 채널의 차단은 이뇨를 촉진시킴으로써 혈압강하 효과를 유도하기 위해 사용될 수 있다.

[0294] 천식은 내인성(비알레르기성) 천식 및 외인성(알레르기성) 천식, 경증 천식, 중등증 천식, 중증 천식, 기관지 천식, 운동 유도성 천식, 직업성 천식 및 박테리아 감염 이후에 유발된 천식을 포함한다. 천식의 치료는 또한 천명 증상을 보이고, 주요한 의학적 문제를 갖는 환자 카테고리로 확립되었고 현재 종종 초기 또는 초반 천식 환자로서 확인되는 "유아 천명"으로 진단받거나 또는 진단받을 가능성이 있는, 예를 들어 4세 또는 5세 미만의 대상체의 치료를 포괄하는 것으로 이해되어야 한다(편의상 이러한 특정 천식 상태는 "유아 천명 증후군"이라 함). 천식의 치료에서 예방 효능은 증상성 발작, 예를 들어 급성 천식성 또는 기관지수축성 발작의 빈도 또는 중증도의 감소, 폐 기능의 향상 또는 기도 과민반응의 개선에 의해 입증될 것이다. 이는 또한 다른 대증 요법, 즉 증상성 발작이 발생하였을 때 이를 제한하거나 또는 중단시키기 위한 또는 그러한 효과를 목적으로 하는 요법, 예를 들어 항염증제(예를 들어, 코르티코-스테로이드) 또는 기관지확장제를 덜 필요로 한다는 사실에 의해 입증될 수 있다. 천식에서의 예방학적 이점은, 특히 "아침에 악화되는(morning dipping)" 경향이 있는 대상체에서 분명히 드러날 수 있다. "아침에 악화되는 경향"은 천식 환자의 상당수에게 공통적이고, 예를 들어 대략 오전 4시-6시 사이, 즉 임의의 이전에 실시되었던 천식 대증 요법 이후에 보통은 상당한 시간이 지난 후의 천식 발작을 특징으로 하는, 인지된 천식 증상이다.

[0295] 만성 폐쇄성 폐 질환은 만성 기관지염 또는 그와 관련있는 호흡장애, 폐기종 뿐만 아니라, 다른 약물 요법, 특히 다른 흡입형 약물 요법으로 인한 기도 과민반응의 악화를 포함한다. 일부 실시양태에서, CFTR 조정자, 예컨대 본원에 기재된 것들과 ENaC의 활성을 감소시키는 작용제의 조합은, 예를 들어 급성, 아라키드성(arachidic), 카타르성(catarrhal), 크루프성(croupus), 만성 또는 프티노이드성(phthinoïd) 기관지염을 비롯한 모든 유형 또는 기원의 기관지염의 치료에 유용하다.

[0296] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 형태 A, 형태 B, 형태 B-HCl 및 형태 A-HCl 이외의 CFTR 조정자, 즉 CFTR 활성을 조정하는 효과를 갖는 작용제이다. 예시적인 이러한 작용제에는 아탈루렌("PTC124®"; 3-[5-(2-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-3-일]벤조산), 시나풀티드, 란코부티드, 데펠레스타트(인간 재조합 호중구 엘라스타제 억제제), 코비프로스톤(7-((2R,4aR,5R,7aR)-2-[(3S)-1,1-디플루오로-3-메틸펜틸]-2-히드록시-6-옥소옥타하드로시클로펜타[b]페란-5-일)헵탄산), 또는 (3-(6-(1-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)시클로프로판카르복사미도)-3-메틸페리딘-2-일)벤조산이 포함된다. 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 3-(6-(1-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)시클로프로판카르복사미도)-3-메틸페리딘-2-일)벤조산이다.

- [0297] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 영양제이다. 예시적인 이러한 작용제에는 판크레리파제 (췌장 효소 대체제), 예를 들어 판크레아제(Pancrease)®, 판크레아카르브(Pancreacarb)®, 울트라제(Ultrase)® 또는 크레온(Creton)®, 리프로토마제(Liprotomase)® (기존의 트리지텍(Trizytek)®), 아쿠아덱스(Aquadeks)® 또는 글루타티온 흡입제가 포함된다. 한 실시양태에서, 추가의 영양제는 판크레리파제이다.
- [0298] 한 실시양태에서, 추가의 작용제는 본 발명의 화합물 이외의 CFTR 조정자이다.
- [0299] 본 발명의 조성물에 존재하는 추가의 치료제의 양은 상기 치료제를 유일한 활성제로서 포함하는 조성물로 통상적으로 투여될 양보다 많지 않을 것이다. 바람직하게는, 본원에 개시된 조성물 중의 추가의 치료제의 양은 상기 작용제를 유일한 치료 활성제로서 포함하는 조성물에 통상적으로 존재하는 양의 약 50% 내지 100%의 범위일 것이다.
- [0300] 본원에 기재된 화합물 1 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물은 또한 이식가능한 의료 장치, 예컨대 보철물, 인공 관막, 혈관 이식편, 스텐트 및 카테터를 코팅하기 위한 조성물에 혼입될 수도 있다. 따라서, 본 발명은 또 다른 측면에서 전반적으로 상기 기재된 바와 같고 본원에서의 부류 및 하위부류에 속하는 본 발명의 화합물, 및 이식가능한 장치의 코팅에 적합한 담체를 포함하는, 상기 이식가능한 장치를 코팅하기 위한 조성물을 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 전반적으로 상기 기재된 바와 같고 본원에서의 부류 및 하위부류에 속하는 본 발명의 화합물, 및 이식가능한 장치의 코팅에 적합한 담체를 포함하는 조성물로 코팅된 이식가능한 장치를 포함한다. 적합한 코팅물 및 코팅된 이식 가능한 장치의 일반적인 제작은 미국 특허 제6,099,562호, 제5,886,026호 및 제5,304,121호에 개시되어 있다. 코팅물은 통상적으로 생체적합성 중합체 물질, 예컨대 히드로겔 중합체, 폴리메틸디실록산, 폴리카프로락톤, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리락트산, 에틸렌 비닐 아세테이트 및 이들의 혼합물이다. 코팅물은 임의로 플루오로실리콘, 다당류, 폴리에틸렌 글리콜, 인지질 또는 이들의 조합물의 적합한 탑코드로 추가로 피복되어 조성물에 제어 방출 특징을 부여할 수 있다.
- [0301] 본 발명의 또 다른 측면은 본원에 기재된 화합물 20 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물을 환자에게 투여하거나 또는 생물학적 샘플과 접촉시키는 것을 포함하는, 상기 생물학적 샘플 또는 환자 (예를 들어, 시험관내 또는 생체내)에서 CFTR 활성을 조정하는 것에 관한 것이다. 본원에서 사용된 용어 "생물학적 샘플"은 비계한적으로 세포 배양물 또는 그의 추출물; 포유동물로부터 수득된 생검 물질 또는 그의 추출물; 및 혈액, 타액, 소변, 대변, 정액, 눈물, 또는 기타 체액 또는 이들의 추출물을 포함한다.
- [0302] 생물학적 샘플에서의 CFTR의 조정은 당업자에게 공지된 다양한 목적에 유용하다. 그러한 목적의 예로는, 생물학적 및 병리학적 현상에서의 CFTR의 연구 및 CFTR의 신규 조정자의 비교 평가가 포함되나, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0303] 또 다른 실시양태에서, 음이온 채널을 본원에 기재된 화합물 20 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 시험관내 또는 생체내에서 상기 채널의 활성을 조정하는 방법이 제공된다. 바람직한 실시양태에서, 음이온 채널은 클로라이드 채널 또는 중탄산염 채널이다. 다른 바람직한 실시양태에서, 음이온 채널은 클로라이드 채널이다.
- [0304] 대안의 실시양태에 따라서, 본 발명은 세포를 본원에 기재된 화합물 20 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합, 또는 이들의 제약상 허용되는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 상기 세포의 막에서 기능성 CFTR의 개수를 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0305] 또 다른 바람직한 실시양태에 따라서, CFTR의 활성을 막횡단 전압 전위의 측정에 의해 측정된다. 생물학적 샘플에서 막을 교차하는 전압 전위를 측정하는 수단은 당업계에 공지된 임의의 방법, 예컨대 광학 막 전위 분석법 또는 다른 전기생리학적 방법을 이용할 수 있다.
- [0306] 광학 막 전위 분석법은 곤잘레즈(Gonzalez) 및 치엔(Tsien)에 의해 개시된 전압 감수성 FRET 센서 (문헌 [Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells." Biophys J 69(4): 1272-80] 및 [Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien (1997) "Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" Chem Biol 4(4): 269-77] 참조)를 형광 변화 측정 기기, 예컨대 전압/이온 탐침 판독기 (VIPR) (문헌 [Gonzalez, J. E., K. Oades, et al., (1999) "Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets" Drug

Discov Today 4(9): 431-439] 참조)와 함께 이용한다.

[0307] 이러한 전압 감수성 분석법은 막 가용성의, 전압 감수성 염료인 DiSBAC<sub>2</sub>(3)과 형광성 인지질인 CC2-DMPE (원형 질 막의 바깥쪽 소엽에 부착되어 있으며 FRET 공여체로서 작용함) 사이에서의 형광 공명 에너지 전이 (FRET)의 변화를 기반으로 한다. 막 전위 ( $V_m$ )의 변화는 음으로 하전된 DiSBAC<sub>2</sub>(3)이 원형질 막을 교차하여 재분포되도록 하고, 이에 따라 CC2-DMPE로부터의 에너지 전이량이 변화한다. 형광 방사의 변화는, 96웰 또는 384웰 마이크로 타이터 플레이트에서 세포 기반의 스크리닝을 수행하도록 디자인된 통합된 액체 핸들러 및 형광 검출기인 VIPR™ II를 사용하여 모니터링할 수 있다.

[0308] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (i) 화합물 20 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합, 또는 상기 실시양태 중 어느 하나를 포함하는 조성물; 및 (ii) a) 상기 조성물을 생물학적 샘플과 접촉시키는 것 및 b) CFTR 또는 그의 단편의 활성을 측정하는 것에 대한 지침서를 포함하는, 시험관내 또는 생체내 생물학적 샘플에서 CFTR 또는 그의 단편의 활성을 측정하는데 사용하기 위한 키트를 제공한다. 한 실시양태에서, 키트는 a) 추가의 조성물을 생물학적 샘플과 접촉시키는 것; b) 추가의 화합물의 존재하에서의 CFTR 또는 그의 단편의 활성을 측정하는 것; 및 c) 추가의 화합물의 존재하에서의 CFTR의 활성을 본원에 기재된 형태 A, 형태 A-HCl, 형태 B, 형태 B-HCl, 또는 이들의 임의의 조합의 존재하에서의 CFTR의 밀도와 비교하는 것에 대한 지침서를 추가로 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 키트는 CFTR의 밀도를 측정하는데 사용된다.

[0309] 본원에 기재된 발명이 보다 잘 이해될 수 있도록 하기 위해, 하기 실시예가 설명된다. 이들 실시예는 단지 설명을 위한 것으로서, 어떠한 방식으로도 본 발명을 제한하는 것으로 해석되지 않음을 알아야 한다.

#### 실시예

[0311] 방법 및 물질

[0312] XRPD (X선 분말 회절법)

[0313] 기구 1

[0314] X선 분말 회절법 (XRPD) 데이터를 리가쿠/MSC 미니플렉스(MiniFlex) 데스크탑 분말 X선 회절계 (미국 텍사주 더 우드랜즈 소재의 리가쿠(Rigaku))를 사용하여 실온에서 기록하였다. X선은 K $\beta$  억제 필터가 장착된 30 kV 및 15 mA에서 작동되는 Cu 투브를 사용하여 발생시켰다. 발산 슬릿은 각각 4.2° 및 슬릿 0.3 mm로 설정된 산란 및 수광 슬릿에 따라 가변성이었다. 스캔 모드는 0.02° 단계 폭 및 2.0초의 카운트 시간으로 고정 시간 (FT) 방식이었다. 분말 X선 회절계는 75% 소달라이트 ( $Na_3Al_4Si_4O_{12}Cl$ ) 및 25% 규소 (리가쿠, Cat# 2100/ALS)의 표준 시료를 사용하여 보정하였다. 6개 샘플단을 제로 백그라운드 샘플 홀더 (SH-LBSI511-RNDB)와 함께 사용하였다. 분말 샘플을 요철부에 넣고 유리 슬라이드로 평탄화시켰다.

[0315] 기구 2

[0316] 별법으로, X선 분말 회절 측정을 구리 방사선 (1.54060 Å)과 함께 파날리티컬(PANalytical) 제조의 X-pert Pro 회절계를 사용하여 실온에서 수행하였다. 광학 입사 빔은 샘플 및 회절 빔 사이드 상에서의 일정한 조사 길이를 보장하도록 하는 가변성 발산 슬릿으로 이루어졌다. 스캐닝 모드에서 2.12° 2θ의 활성 길이가 측정되는 급속 선형 고체 상태 검출기를 사용하였다. 분말 샘플을 제로 백그라운드 규소 홀더의 요철부에 팩킹하고 스피닝을 수행하여 우수한 통계자료를 얻었다. 대칭 스캔은 0.017° 의 단계 크기 및 15.5초의 스캔 단계 시간으로 4-40° 2θ에서 측정하였다.

[0317] 기구 3

[0318] 별법으로, 고분해능의 데이터를 범라인 ID31 (프랑스 그르노블 소재의 유럽 싱크로트론 방사광 시설(European Synchrotron Radiation Facility))을 사용하여 실온에서 수집하였다. X선은 3개의 11 mm 간극의 엑스-바륨 언듈레이터(ex-vacuum undulator)에 의해 발생시켰다. 빔은 극저온 냉각된 쌍결정 단색화장치 (Si(111) 결정)에 의해 단색화시켰다. 물에 의해 냉각된 슬릿은 단색화장치 상의 입사 빔, 및 샘플로 전달된 단색 빔의 크기를 0.5 내지 2.5 mm (수평) x 0.1 내지 1.5 mm (수직) 빔위로 한정하였다. 실험에 사용된 과장은 1.29984 (3) Å였다. 회절계는 2θ에 대한 함수로서 회절선 강도를 측정하기 위해 수직으로 스캐닝되는 9개의 검출기 층으로 이루어져 있다. 각각의 검출기 앞에 Si(111) 겹광자 결정이 있으며, 검출기 채널은 대략 2° 떨어져 있다. 상기 회절계는 0.003° 만큼 좁은 피크폭으로 매우 정확한 고분해능의 회절 패턴을 제공할 수 있으며, 피크 위치의 정확성은 0.0001° 정도이다. 분말 회절법 데이터를 프로세싱하여 머티리얼즈 스튜디오(Materials Studio)

를 사용하여 색인화하였다 (리플렉스(Reflex) 모듈). 구조는 머티리얼즈 스튜디오의 파우더솔브(PowderSolve) 모듈을 사용하여 규명하였다. 획득한 솔루션을 구조적 타당성에 대해서 평가한 후에 리트벨트(Rietveld) 정밀화 절차를 사용하여 정밀화하였다.

[0319] 형태 A 및 형태 B에 대하여 실시예에서 기재된 XRPD 스펙트럼은 상기 기재된 설정으로 기구 1 (도 10a) 또는 기구 2 (도 10b)를 사용하여 기록한 것이다. 형태 B-HCl 및 형태 A-HCl에 대하여 실시예에서 기재된 XRPD 스펙트럼은 상기 기재된 설정으로 기구 2를 사용하여 기록한 것이다. 형태 A-HCl 및 형태 B-HCl의 결정계, 공간군 및 단위 셀 치수는 기구 3을 사용하여 측정하였다.

#### 시차 주사 열량측정법 (DSC)

[0321] 시차 주사 열량측정법 (DSC)은 TA DSC Q2000 시차 주사 열량계 (미국 델라웨어주 뉴캐슬 소재의 TA 인스트루먼츠(TA Instruments))를 사용하여 수행하였다. 상기 기구는 인듐으로 보정하였다. 대략 2 내지 3 mg의 샘플을 1개의 구멍이 있는 뚜껑을 사용하여 크림핑(crimped)된 밀폐 팬으로 칭량하여 넣었다. DSC 샘플을 10°C/분의 가열 속도로 25°C 내지 315°C에서 스캐닝하였다. 씨말 어드밴티지 Q 써리즈(Thermal Advantage Q Series)<sup>TM</sup> 소프트웨어를 사용하여 데이터를 수집하고, 유니버설 어낼리시스(Universal Analysis) 소프트웨어 (미국 델라웨어주 뉴캐슬 소재의 TA 인스트루먼츠)를 사용하여 분석하였다.

#### 열중량 분석법 (TGA)

[0323] 열중량 분석법 (TGA) 데이터를 TA Q500 열중량 분석기 (미국 델라웨어주 뉴캐슬 소재의 TA 인스트루먼츠)에서 수집하였다. 대략 3 내지 5 mg의 중량을 갖는 샘플을 10°C/분의 가열 속도로 25°C 내지 350°C에서 스캐닝하였다. 씨말 어드밴티지 Q 써리즈<sup>TM</sup> 소프트웨어를 사용하여 데이터를 수집하고, 유니버설 어낼리시스 소프트웨어 (미국 델라웨어주 뉴캐슬 소재의 TA 인스트루먼츠)를 사용하여 분석하였다.

#### FTIR 분광분석법

[0325] FTIR 스펙트럼을 지능형 공전운동 샘플링 장착부 (다중반사 감쇠 전반사 부속품), 45°에서의 다이아몬드창을 갖는, 씨모 사이언티픽(Thermo Scientific) 제조의 니콜렛(Nicolet) 6700 FT-IR 분광기로부터 수집하였다. 데이터 수집 및 분석에 사용된 소프트웨어는 옴닉(Omnic) 7.4였다. 수집 설정은 하기와 같다.

[0326] 검출기: DTGS KBr;

[0327] 빔스플릿터(beamsplitter): KBr 상의 Ge;

[0328] 광원: 에버글로(EverGlo) IR;

[0329] 스캔 범위: 4000 – 400 cm<sup>-1</sup>;

[0330] 증폭도: 8.0;

[0331] 광학 속도: 0.6329 cm/초;

[0332] 애퍼처(Aperture): 100;

[0333] 스캔 횟수: 32; 및

[0334] 분해능: 4 cm<sup>-1</sup>

[0335] 분말 샘플을 다이아몬드 결정 상에 직접 놓고 압력을 가하여 샘플의 표면을 다이아몬드 결정의 표면에 맞추었다. 백그라운드 스펙트럼을 수집한 후에 샘플 스펙트럼을 수집하였다.

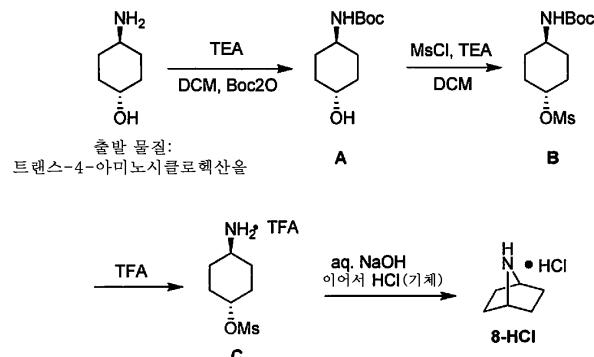
#### 고체 상태 핵 자기 분광분석법

[0337] 고체 상태 핵 자기 분광분석법 (SSNMR) 스펙트럼을 브루커(Bruker) 400 MHz 양성자 주파수 광구경 분광기에서 얻었다. 양성자 검출된, 양성자 포화 회복 데이터를 지수 함수에 맞춤으로써 양성자 이완 총축 이완 시간 (<sup>1</sup>H T<sub>1</sub>)을 얻었다. 이를 값을 사용하여 탄소 교차 편광 매직 앵글 스피닝 실험 (<sup>13</sup>C CPMAS)의 최적의 재순환 지연을 설정하였고, 이는 통상적으로 1.2 x <sup>1</sup>H T<sub>1</sub> 내지 1.5 x <sup>1</sup>H T<sub>1</sub>로 설정되었다. 양성자 채널에 대한 선형 진폭 경사 (50% → 100%) 및 100 kHz TPPM 디커플링(decoupling)을 사용하여 2 ms의 접촉 시간으로 탄소 스펙트럼을 얻었

다. 전형적인 매직 앵글 스피닝 (MAS) 속도는 15.0 kHz였다. 양성자 디커플링된, 비교차 편광 MAS 실험을 사용하여 플루오린 스펙트럼을 얻었다. 100 kHz TPPM 디커플링을 사용하였다. 재순환 지연은  $\geq 5 \times ^{19}\text{F T}_1$ 로 설정하였다. 플루오린 검출된, 양성자 디커플링된 포화 회복 데이터를 지수 함수에 맞춤으로써 플루오린 종축 이완 시간 ( $^{19}\text{F T}_1$ )을 얻었다. 탄소 및 플루오린 스펙트럼은 29.5 ppm으로 설정된, 고체상 애더만탄의 중첩 공명을 외부 참조하였다. 상기 절차를 사용하여, 탄소 스펙트럼은 0 ppm에서 테트라메틸 실란을 간접 참조하였고, 플루오린 스펙트럼은 0 ppm에서 니트로메탄을 간접 참조하였다.

[0338] 합성 실시예

[0339] 제조 실시예: 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 히드로클로라이드 (8-HCl)



[0340]

[0341] 트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥산을 (A)의 제조, 방법 1.

[0342]

탄산나트륨 (920.2 g, 8.682 mol, 2 eq.)을 반응 용기에 첨가한 후에, 물 (3.000 L, 6 vol)을 첨가하고 교반하였다. 디클로로메탄 (DCM, 4.000 L, 4 vol)을 첨가한 후에, 트랜스-4-아미노시클로헥산을 (500.0 g, 4.341 mol)을 첨가하여 2상의 반응 혼합물을 생성하고, 이를 실온에서 격렬하게 교반하였다. 이어서 DCM (2 vol) 중의 Boc<sub>2</sub>O (947.4 g, 997.3 mL, 4.341 mol, 1 eq.)의 용액을 용기에 신속히 적가하고, 생성된 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 이어서 반응 혼합물을 여과하고 필터 케이크를 물 (2 x 8 vol)로 세척하였다. 생성물을 압축 케이크가 될 때까지 흡인 건조시켰다. 이어서 케이크를 35°C 진공 오븐에서 24시간 동안 건조시켜, 트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥산을 (A) 830 g을 결정질 고형물로서 제공하였다.

[0343]

트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥산을 (A)의 제조, 방법 2.

[0344]

2개의 50 L 들이 3목 등근 바닥 플라스크에 각각 기계식 교반기 및 열전대를 설치하였다. 플라스크를 냉각조에 넣은 후에, 각각의 플라스크에 물 (8.87 L) 및 트랜스-4-아미노시클로헥산을 (1479 g)을 충전하였다. 약 10 내지 30분 후에, 트랜스-4-아미노시클로헥산이 용해되었고, 탄산칼륨 (1774.6 g)을 각각의 플라스크에 첨가하였다. 약 10 내지 20분 후에, 탄산칼륨이 용해되었고, DCM (2.96 L)을 각각의 플라스크에 충전하였다. 이어서 DCM (1479 mL) 중의 Boc 무수물 (3082.6 g)을 20 내지 30°C에서 온도를 유지하는 속도로 각각의 플라스크에 첨가하였다. 얼음/물 조를 사용하여 발열을 제어하고 대략 1 내지 2시간이 소요되는 첨가를 가속하였다. 첨가하는 동안에 혼탁물이 형성되었고, Boc 무수물이 사라지는 것에 기초하여 반응이 완료될 때까지, 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 밤새 교반하였다. 이어서 헵탄 (6 L)을 각각의 플라스크에 충전하고, 혼합물을 대략 0 내지 5°C로 냉각시켰다. 고형물을 동일한 필터를 사용하여 여과함으로써 각각의 플라스크로부터 수집하였다. 합친 고형물을 헵탄 (6 L), 이어서 물 (8 L)로 세척하였다. 고형물을 기계식 교반기가 설치된, 적절한 크기의 크록 (crock)에 충전하였다. 물 (12 L) 및 헵탄 (6 L)을 첨가하고, 생성된 혼탁물을 30 내지 60분 동안 기계식으로 교반하였다. 고형물을 여과에 의해 수집한 후에, 필터 상에서 물 (8 L) 및 헵탄 (8 L)으로 세척하고, 필터 상에서 3일 동안 공기 건조시킨 후에, 진공하에 30 내지 35°C에서 일정한 중량까지 건조시켜, 생성물을 백색 고형물로서 제공하였다.

[0345]

트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥실메탄술포네이트 (B)의 제조, 방법 1.

[0346]

12 L 들이 플라스크에 질소 유동장치 및 기계식 교반기를 설치하였다. 트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥산을 (750 g, 3.484 mol), 이어서 테트라히드로푸란 (THF, 6.000 L, 8 vol)을 혼입하고, 혼합물을 교반하였다. 트리에틸아민 (370.2 g, 509.9 mL, 3.658 mol, 1.05 eq.)을 첨가하고 혼합물을 0°C로 냉각시켰다.

메탄술포닐 클로라이드 (419.0 g, 283.1 mL, 3.658 mol, 1.05 eq.)를 주의하여 적가하고, 이때 혼합물을 온도를 5°C 미만으로 유지하였다. 첨가한 후에, 혼합물을 0°C에서 3시간 동안 교반한 후에, 실온 (17°C)으로 서서히 가온하고 밤새 (약 15시간) 교반하였다. 혼합물을 물 (6 vol)로 켄칭시키고 15분 동안 교반하였다. 에틸 아세테이트 (EtOAc, 9.000 L, 12 vol)를 첨가하고 15분 동안 계속해서 교반하였다. 교반을 중단하고 혼합물을 10분 동안 정치하고, 수성상을 제거하였다. 1 N HCl (6 vol, 4.5 L)을 첨가하고 15분 동안 계속해서 교반하였다. 교반을 중단하고 수성상을 제거하였다. 10 w/v% NaHCO<sub>3</sub> (4.5 L, 6 vol)를 첨가하고 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 교반을 중단하고 수성상을 제거하였다. 물 (6 vol, 4.5 L)을 첨가하고 혼합물을 10분 동안 교반하였다. 수성층을 제거하고, 유기층을 연마 여과한 다음, 4 vol로 농축시켰다. 햅탄 (5.5 vol, 4 L)을 첨가하고 혼합물을 다시 농축 건조시켜, 트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥실메탄술포네이트 988 g을 생성하였다.

[0347] 트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥실메탄술포네이트 (B)의 제조, 방법 2.

기계식 교반기, 첨가 깔때기, 질소 유입구, 열전대 및 건조튜브를 갖춘 3목 등근 바닥 플라스크를 냉각조에 넣었다. 트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥산을 (2599 g, 12.07 mol, 1.0 eq.), 테트라하이드로푸란 (THF) (20.8 L) 및 트리에틸아민 (1466 g, 14.49 mol, 1.2 eq.)을 플라스크에 첨가하였다. 혼합물을 빙수조로 냉각시키고 교반하였다. 메탄술포닐 클로라이드 (1466 g, 12.80 mol, 1.06 eq.)를 첨가 깔때기에 의해 1시간에 걸쳐서 적가하였다. 첨가하는 것이 완료되면, 냉각조를 제거하고, 출발 물질이 소진되었음을 TLC에 의해 확인할 때까지 (약 30분) 반응 혼합물을 교반하였다. 이어서 반응 혼합물을 염산 수용액 (물 6.7 L 중의 HCl 223 mL) 및 EtOAc (10.4 L)로 켄칭시켰다. 혼합물을 주위 온도에서 대략 10 내지 20분 동안 교반한 후에, 분별 깔때기로 옮겼다. 층을 분리하고, 수성층을 버렸다. 유기층을 물 (2 x 4.5 L), 포화 중탄산나트륨 수용액 (1 x 4.5 L)으로 세척하고, 5 내지 10분 동안 교반하면서 무수 황산마그네슘 상에서 건조시켰다. 혼합물을 여과하고 필터 케이크를 EtOAc (2 x 600 mL)로 세척하였다. 합친 세척물 및 여과물을 감압하에 40°C에서 농축시켜, 백색 고형물을 남겼다. 고형물을 햅탄 (3 L)에 녹이고 열음/메탄을 냉각조에서 냉각시켰다. 추가의 햅탄 (5 L)을 첨가하고, 혼합물을 0 내지 5°C에서 1시간 이상의 시간 동안 교반하였다. 이어서 고형물을 여과에 의해 수집하고, 냉각된 햅탄 (0 내지 5°C, 2 x 1.3 L)으로 세척한 다음, 진공하에 40°C에서 일정한 중량까지 건조시켜, 표제 화합물을 제공하였다.

[0349] 주: 냉각조 및 열음조와 함께 등근 바닥 플라스크를 사용하는 대신에 재킷형 반응기를 사용할 수 있다.

[0350] 트랜스-4-아미노시클로헥실메탄술포네이트 (C)의 제조, 방법 1.

트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥실메탄술포네이트 (985 g, 3.357 mol)를 질소 분위기하에 교반기 및 개방 통기구를 갖춘 12 L 들이 3목 플라스크에 혼입하였다. DCM (1.970 L, 2 vol)을 실온에서 첨가하고, 교반을 개시하였다. 트리플루오로아세트산 (TFA) (2.844 kg, 1.922 L, 24.94 mol, 2 vol)을 각각 1 L씩 2회분의 배치로 혼합물에 서서히 첨가하였다. 첫번째 첨가 후에, 혼합물을 30분 동안 교반한 다음, 두번째 첨가를 수행하였다. 혼합물을 밤새 (15시간) 실온에서 교반하여 투명 용액을 생성하였다. 이어서 2-메틸테트라하이드로푸란 (4 vol)을 반응 혼합물에 첨가하고, 이것을 1시간 동안 교반하였다. 이어서 혼합물을 주의하여 품 후드에서 여과한 다음 흡인 건조시켜, 과량의 TFA가 함유된 트랜스-4-아미노시클로헥실메탄술포네이트의 TFA 염 1100 g을 생성하였다.

[0352] 트랜스-4-아미노시클로헥실메탄술포네이트 (C)의 제조, 방법 2.

50 L 들이 3목 등근 바닥 플라스크에 기계식 교반기, 첨가 깔때기 및 열전대를 설치하고 냉각조에 넣었다. 플라스크에 트랜스-4-(*tert*-부톡시카르보닐아미노)시클로헥실메탄술포네이트 (3474 g, 1.0 eq.) 및 DCM (5.9 L)을 첨가하였다. 생성된 혼탁물을 5 내지 10분 동안 주위 온도에서 교반한 후에, 트리플루오로아세트산 (TFA, 5.9 L)을 첨가 깔때기를 통해 2.5시간에 걸쳐서 서서히 첨가하여 그에 의한 발열 및 기체 방출의 속도를 제어하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반한 후에, 빙수조를 사용하여 15°C 내지 20°C로 냉각시켰다. 이어서 2-메틸 테트라하이드로푸란 (2-MeTHF, 11.8 L)을 첨가 깔때기를 통해 25°C 미만으로 내부 온도를 유지하는 속도로 (대략 1.5시간) 첨가하였다. 처음 4-5 L의 2-MeTHF의 첨가는 발열성이었다. 생성된 혼탁물을 1시간 동안 교반하였다. 고형물을 여과에 의해 수집한 후에, 2-MeTHF (2 x 2.2 L)로 세척하고, 이어서 진공하에 주위 온도에서 일정한 중량까지 건조시켜, 표제 화합물을 백색 고형물로서 제공하였다.

[0354] 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 히드로클로라이드 (8-HCl)의 제조, 방법 1.

[0355] 트랜스-4-아미노시클로헥실메탄술포네이트의 TFA 염 (200 g, 650.9 mmol)을 3목 플라스크에 혼입하고, 이어서

물 (2.200 L, 11 vol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 온도를 25°C 미만으로 유지하면서, NaOH (78.11 g, 1.953 mol, 3 eq.)를 서서히 첨가하고, 혼합물을 밤새 교반하였다. 이어서 DCM (1.4 L, 7 vol)을 첨가하고 혼합물을 교반한 다음, 유기층을 분리하였다. 이어서 수성층을 DCM (1.4 L, 7 vol)으로 2회 추출하고, DCM층을 합쳤다. 이어서 HCl (108.5 mL, 12 M, 1.3020 mol, 2 eq.)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반한 후에, 회전식 증발기에서 농축 건조시켰다. 아세토니트릴 (10 vol)을 첨가하고 혼합물을 농축시켰다. 미량의 물이 모두 공비 제거될 때까지 이를 3회 반복하여, 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 히드로클로라이드를 제공하였다. 조질 생성물을 아세토니트릴 (10 vol)로부터 재결정하여, 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 히드로클로라이드 8-HCl을 무색 결정질 고형물로서 제공하였다.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) ppm 8.02-8.04 (d); 7.23-7.31

[0356] (m); 4.59 (s); 3.31 (s); 2.51-3.3 (m); 1.63-1.75 (m); 1.45-1.62 (m).

[0357] 참고로, 추출을 위해 DCM을 첨가하는 대신에, 조질 생성물을 또한 약 95°C 내지 97°C에서 증류시킨 다음 추가로 재결정화할 수 있다.

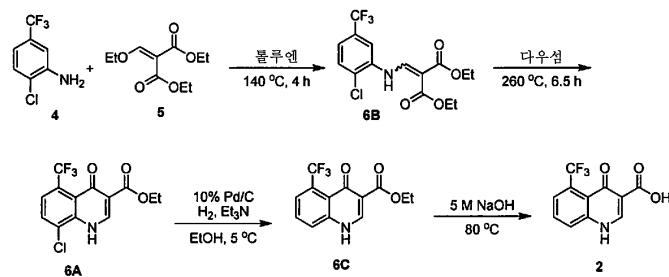
[0358] 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 히드로클로라이드 (8-HCl)의 제조, 방법 2.

[0359] 50 L 들이 3목 등근 바닥 플라스크에 기계식 교반기, 첨가 깔때기 및 열전대를 설치하고 가열 맨틀에 넣었다. 트랜스-4-아미노시클로헥실메탄솔포네이트 트리플루오로아세테이트 (3000 g, 1 eq.) 및 물 (30 L)을 플라스크에 첨가하였다. 50% NaOH (2343 g, 29.29 mol, 3 eq.)를, 이의 첨가는 약간의 발열성이므로 온도를 25°C 미만으로 유지하는 속도로 첨가 깔때기에 의해 첨가하면서, 혼합물을 교반하였다. NaOH 첨가를 완료하면, 반응 혼합물을 밤새 실온에서 교반하였다. 생성물을 환류 온도 (대략 100°C)에서 분별 중류함으로써 회수하며, 이때 헤드 온도는 95°C 내지 98°C였다. 각각의 분획의 pH는 HCl을 첨가함으로써 2로 조정하고, 김압하에 55°C에서 농축시켜, 점성 페이스트를 남겼다. 아세토니트릴 (ACN 1.5 L)을 첨가하고 생성된 혼탁물을 30분 동안 교반한 후에, 1시간 동안 0°C 내지 5°C로 냉각시켰다. 고형물을 여과에 의해 수집하고, 냉각된 (0 내지 5°C) ACN (2 x 600 mL)으로 세척하고, 진공하에 50°C에서 일정한 중량까지 건조시켰다.

[0360] 22 L 들이 3목 등근 바닥 플라스크에 기계식 교반기, 열전대 및 응축기를 설치하고 가열 맨틀에 넣었다. 수집한 고형물 (2382 g), 메탄올 (4.7 L) 및 2-MeTHF (4.7 L)를 플라스크에 첨가하였다. 생성된 혼탁물을 교반하고 환류 온도 (대략 65°C)로 가열하였다. 반응 플라스크를 냉각조로 옮기고, 혼합물을 교반하였다. 이어서 2-MeTHF (4.7 L)를 30분에 걸쳐서 첨가 깔때기를 통해 첨가하였다. 생성된 혼탁물을 0 내지 5°C로 냉각시키고 이 온도에서 30분 동안 교반하였다. 고형물을 여과에 의해 수집하고, 냉각된 (0 내지 5°C) 2-MeTHF (2 x 600 mL)으로 세척한 후에, 진공하에 55°C에서 일정한 중량까지 건조시켰다.

[0361] 기계식 교반기, 열전대, 질소 유입구 및 응축기를 갖춘 12 L 들이 3목 등근 바닥 플라스크를 가열 맨틀에 넣었다. 조질 생성물 (2079 g) 및 ACN (6.2 L)을 플라스크에 첨가하였다. 생성된 혼탁물을 교반하고 30분 동안 환류 온도 (대략 82°C)로 가열하였다. 플라스크를 냉각조로 옮기고 혼탁물을 0 내지 5°C로 서서히 냉각시키고, 이 온도에서 1시간 동안 유지하였다. 고형물을 여과에 의해 수집하고, 냉각된 (0 내지 5°C) ACN (3 x 600 mL)으로 세척하고, 진공하에 55°C에서 일정한 중량까지 건조시켜, 표제 생성물을 제공하였다.

[0362] 실시예 1A: 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (2)의 제조



[0363]

[0364] 디에틸 2-((2-클로로-5-(트리플루오로메틸)페닐아미노)메틸렌) 말로네이트 (6B)의 제조

[0365] 2-클로로-5-(트리플루오로메틸)아닐린 4 (200 g, 1.023 mol), 디에틸 2-(에톡시메틸렌)말로네이트 (5) (276 g, 1.3 mol) 및 톨루엔 (100 mL)을 딘-스타크 응축기를 갖춘, 1 L 들이 3목 등근 바닥 플라스크에서 질소 분위기 하에 합쳤다. 용액을 교반하면서 140°C로 가열하고 이 온도를 4시간 동안 유지하였다. 반응 혼합물을 70°C로 냉각시키고 헥산 (600 mL)을 서서히 첨가하였다. 생성된 슬러리를 교반하고 실온으로 냉각시켰다. 고형물을 여

과에 의해 수집하고, 헥산 중의 10% 에틸 아세테이트 ( $2 \times 400 \text{ mL}$ )로 세척한 후에, 진공하에 건조시켜, 목적하는 응축 생성물 디에틸 2-((2-클로로-5-(트리플루오로메틸)페닐아미노)메틸렌) 말로네이트 (6B)로서 백색 고형물 (350 g, 94% 수율)을 제공하였다.

[0366]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.28 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 8.63 (d, J = 13.0 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.80 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.50 (dd, J = 1.5, 8.4 Hz, 1H), 4.24 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 4.17 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.27 (m, 6H).

[0367] 에틸 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실레이트 (6A)의 제조, 방법 1.

[0368] 1 L 들이 3목 플라스크에 다우섬® (200 mL, 8 mL/g)을 충전하고, 이를 200°C에서 1시간 동안 탈기시켰다. 용매를 260°C로 가열하고, 디에틸 2-((2-클로로-5-(트리플루오로메틸)페닐아미노)메틸렌)말로네이트 (6B) (25 g, 0.07 mol)를 10분에 걸쳐서 나누어 충전하였다. 생성된 혼합물을 260°C에서 6.5시간 (h) 동안 교반하고, 생성된 에탄올 부산물을 중류에 의해 제거하였다. 혼합물을 80°C로 서서히 냉각시켰다. 헥산 (150 mL)을 30분 (min)에 걸쳐서 서서히 첨가한 후에, 추가의 헥산 200 mL를 한 번에 첨가하였다. 실온에 도달할 때까지 슬러리를 교반하였다. 고형물을 여과하고, 헥산 ( $3 \times 150 \text{ mL}$ )으로 세척한 후에, 진공하에 건조시켜, 에틸 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실레이트 (6A)를 황갈색 고형물로서 제공하였다.

[0369]  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.91 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.06 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.24 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.29 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

[0370] 에틸 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실레이트 (6A)의 제조, 방법 2.

[0371] 화합물 6B (2000 g, 5.468 mol)를 반응기에 혼입하였다. 다우섬 (4.000 L)을 반응기에 충전하고, 질소를 펴징하면서 밤새 실온에서 탈기시켰다. 이어서 교반한 다음 260°C로 가온하였다. 생성된 EtOH를 중류 제거하였다. 반응을 모니터링하였고 5.5시간 후에 반응은 실질적으로 완료되었다. 열원을 제거하고 반응 혼합물을 80°C로 냉각시키고 햅탄 (2.000 L)을 충전하였다. 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 햅탄 (6.000 L)을 교반 혼합물에 충전하고 밤새 계속해서 교반하였다. 고형물을 여과하고 햅탄 (4.000 L)으로 세척한 다음 진공 오븐에서 50°C에서 건조시켜 화합물 6A를 제공하였다.

[0372] 에틸 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1H-퀴놀린-3-카르복실레이트 (6C)의 제조

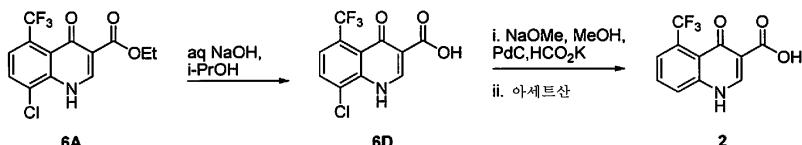
[0373] 5 L 들이 3목 플라스크에 에틸 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실레이트 (6A) (100 g, 0.3 mol), 에탄올 (1250 mL, 12.5 mL/g) 및 트리에틸아민 (220 mL, 1.6 mol)을 충전하였다. 이어서 용기에 5°C에서 10% Pd/C (50% 습윤화) 10 g을 충전하였다. 반응물을 수소 분위기하에 20시간 동안 5°C에서 격렬하게 교반하고, 그 후에 반응 혼합물을 대략 150 mL의 부피로 농축시켰다. Pd/C가 함유된 슬러리로서, 생성물 에틸 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1H-퀴놀린-3-카르복실레이트 (6C)를 그대로 다음 단계에 적용하였다.

[0374] 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (2)의 제조

[0375] 에틸 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1H-퀴놀린-3-카르복실레이트 (6C) (58 g, 0.2 mol, Pd/C를 함유하는 조질 반응물 슬러리)를, 환류 응축기를 갖춘 1 L 들이 플라스크에서 NaOH (5 M, 814 mL, 4.1 mol) 중에 혼탁시키고 80°C에서 18시간 동안 가열한 후에, 추가로 100°C에서 5시간 동안 가열하였다. 반응물을 팩킹 셀라이트(Celite)를 통해 가온 여과하여 Pd/C를 제거하고, 셀라이트를 1 N NaOH로 세정하였다. 여과물을 약 pH 1로 산성화시켜 점성의 백색 침전물을 수득하였다. 침전물을 여과한 후에 물 및 냉각된 아세토니트릴로 세정하였다. 이어서 고형물을 진공하에 건조시켜 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (2)을 백색 고형물로서 제공하였다.

[0376]  $^1\text{H NMR}$  (400.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 15.26 (s, 1H), 13.66 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.13 (dd, J = 1.6, 7.8 Hz, 1H), 8.06 - 7.99 (m, 2H).

## [0377] 실시예 1B: 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (2)의 별법의 제조



[0378]

## [0379] 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (6D)의 제조

[0380]

에틸 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실레이트 (6B) (1200 g, 3.754 mol)를 용기에 충전한 후에, 2-프로판올 (1.200 L) 및 물 (7.200 L)을 첨가하고 교반하였다. NaOH (600.6 g, 7.508 mol) 및 물 (1.200 L)을 혼합하고 실온으로 냉각시켰다. 생성된 NaOH 용액을 반응 용기에 충전하였다. 반응 혼합물을 80°C로 가열하고 3.5시간 동안 교반하여 암색의 균일 혼합물을 생성하였다. 추가의 시간 후에, 아세트산 (9.599 L [20 w/v% 용액], 31.97 mol)을 적당히 깔때기를 통해 45분에 걸쳐서 첨가하였다. 반응 혼합물을 교반하면서 6°C/시간의 속도로 22°C로 냉각시켰다. 생성된 고형물을 여과하고, 물 (3 L)로 세척하여, 습윤 캐이크 1436 g을 생성하였다. 여과물을 진공 오븐에서 질소 흐름하에 드라이에어라이트(drierite)® 상에서 건조시켜, 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산을 갈색 고형물로서 생성하였다. 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산을, 교반하면서 6시간 동안 메탄올 1.5 L 중에서 슬러리화함으로써 정제하였다. 이어서 이것을 여과하고 건조시켜, 정제된 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (6D) 968.8 g을 제공하였다.

[0381]

## 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (2)의 제조

[0382]

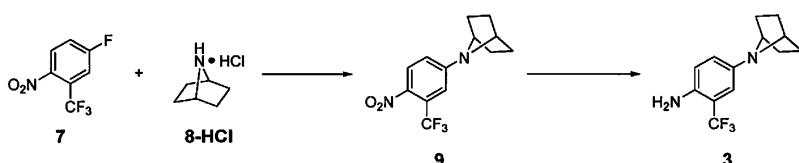
8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (6D) (18.5 g, 1.00 eq., 제한 반응물)을 반응 용기에 충전하고 MeOH (118 mL, 6.4 vol)를 비활성 분위기하에 교반하면서 첨가하였다. 반응기에 NaOMe (3.53 g, 1.00 eq.)를 10분에 걸쳐서 나누어 첨가하였다. 모든 고형물이 용액이 될 때까지 (5 내지 10분) 혼합물을 교반하였다. 이어서 탄소 상의 팔라듐 (2.7 g, 0.03 eq.)을 반응 혼합물에 첨가하였다. MeOH (67 mL, 3.6 vol)에 용해된 칼륨 포르메이트 (10.78 g, 2 eq.)를 30분에 걸쳐서 반응 혼합물에 첨가하였다. 이어서 주위 온도에서 약 4.5시간 동안 교반하였다. 8-클로로-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산이 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산에 대하여 1.0% 이하일 때 반응이 완료된 것으로 판단하였다. 반응이 완료되었을 때, 혼합물을 셀라이트 패드 (37 g [출발 물질 6D 질량의 대략 2배])를 통해 여과하여 고형물을 제거하였다. 셀라이트 케이크를 MeOH (37 mL, 2 vol)로 세척하였다. 여과물을 깨끗한 반응 용기에 충전하고 교반하였다. 아세트산 (7.22 mL, 2 eq.)을 교반 용액에 적어도 45분에 걸쳐서 연속적으로 충전하고 생성된 슬러리를 5 내지 16시간 동안 교반하였다. 고형물을 여과하고 케이크를 MeOH (56 mL, 3 vol)로 세척하고, 흡인 건조시킨 후에, 진공 건조시켜 표제 카르복실산 2를 제공하였다.

[0383]

별법으로, 칼륨 포르메이트 반응물은 수소 기체로 대체할 수 있다.

[0384]

## 실시예 2A: 4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)아닐린 (3)의 제조



[0385]

## [0386] 7-[4-니트로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 (9)의 제조, 방법 1.

[0387]

7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 히드로클로라이드 (8-HCl) (4.6 g, 34.43 mmol)를 함유하는 플라스크에 질소 분위기 하에 아세토니트릴 (50 mL) 중의 4-플루오로-1-니트로-2-(트리플루오로메틸)벤젠 (7) (6.0 g, 28.69 mmol) 및 트리에틸아민 (8.7 g, 12.00 mL, 86.07 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 플라스크를 질소 분위기하에 16시간 동안 80°C에서 가열하였다. 반응 혼합물을 냉각시킨 후에, 물과 디클로로메탄 사이에 분배하였다. 유기층을 1 M HCl로 세척하고, Na2SO4 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축 건조시켰다. 실리카겔 크로마토그래피 (헥산 중의 0~10% 에틸 아세테이트)에 의한 정제로 7-[4-니트로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 (9)을 황색 고형물로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H NMR (400.0

[0388] MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8.03 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.25 (dd, J = 2.6, 9.1 Hz, 1H), 4.59 (s, 2H), 1.69 - 1.67 (m, 4H), 1.50 (d, J = 7.0 Hz, 4H).

[0389] 7-[4-니트로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 (9)의 제조, 방법 2.

[0390] 4-플루오로-1-니트로-2-(트리플루오로메틸)벤젠 (7) (901 g, 4.309 mol)을 30 L 들이 재킷형 용기에 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (959.1 g, 9.049 mol) 및 DMSO (5 L, 5.5 vol)와 함께 질소 분위기하에 교반하면서 혼입하였다. 이어서 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 히드로클로라이드 (8-HCl) (633.4 g, 4.740 mol)를 용기에 나누어 첨가하였다. 온도를 서서히 55°C로 상승시켰다. 반응이 실질적으로 완료되었을 때, 혼합물을 10 vol의 EtOAc로 희석시키고 물 (5.5 vol)로 3회 또는 수성층 중의 DMSO가 사라질 때까지 (HPLC) 세척하였다. 유기층을 4 vol로 농축시킨 후에, 모든 EtOAc가 제거될 때까지 용매를 시클로헥산으로 교체하였고, 플라스크 내의 전체 부피는 시클로헥산이 함유되어 있는 약 4 vol이었다. 반응 혼합물을 회전식 증발기에서 30분 동안 60°C로 가열하였다. 이어서 용액을 교반하거나 또는 회전시키면서 3시간 동안 실온으로 냉각시켰다. 모든 고형물이 결정화되었을 때, 용액을 농축 건조시켜, 7-[4-니트로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 (9)을 제공하였다.

[0391] 7-[4-니트로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 (9)의 제조, 방법 3.

[0392] 4-플루오로-1-니트로-2-(트리플루오로메틸)벤젠을 3 vol의 DCM에 용해시켰다. 테트라부틸암모늄브로마이드 (0.05 eq.) 및 KOH (50 중량%, 3.6 eq.)를 첨가하였다. 이어서 7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 히드로클로라이드 (8-HCl)를 0 내지 5°C에서 첨가하였다. 반응물을 주위 온도까지 가온하고 HPLC에 의해 모니터링하였다. 실질적으로 완료되면, 층을 분리하고 유기층을 1 M HCl로 세척하였다. 층을 분리하고 수성층을 버렸다. 유기층을 물로 1회, 염수로 1회 세척한 후에, 중류시켰다. 생성 물질을 환류 온도에서 시클로헥산으로부터 재결정하였다. 고형물을 여과하고, 시클로헥산으로 세척한 다음, 진공 오븐에서 N<sub>2</sub> 기체 흐름하에 45°C에서 건조시켜, 7-[4-니트로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 (9)을 제공하였다.

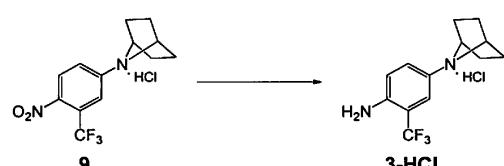
[0393] 4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)아닐린 (3)의 제조

[0394] 7-[4-니트로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 (26) (7.07 g, 24.70 mmol) 및 10% Pd/C (0.71 g, 6.64 mmol)를 충전한 플라스크를 배기시킨 후에 질소로 풀러싱하였다. 에탄올 (22 ml)을 첨가하고 반응 플라스크에 수소 벌룬을 장착하였다. 12시간 동안 격렬하게 교반한 후에, 반응 혼합물에 질소를 퍼징하고 Pd/C를 여과에 의해 제거하였다. 여과물을 감압하에 암색의 오일로 농축시키고, 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피 (헥산 중의 0-15% 에틸 아세테이트)로 정제하여, 4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)아닐린 (3)을 보라색 고형물 (5.76 g, 91% 수율)로서 제공하였다.

<sup>1</sup>H NMR (400.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 6.95 (dd, J = 2.3, 8.8

[0395] Hz, 1H), 6.79 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.89 (s, 2H), 4.09 (s, 2H), 1.61 – 1.59 (m, 4H) 및 1.35 (d, J = 6.8 Hz, 4H).

[0396] 실시 예 2B: 4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)아닐린의 히드로클로라이드 염 (3-HCl)의 제조



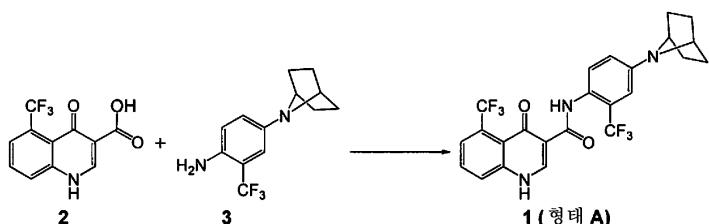
[0397] [0398] 4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)아닐린의 히드로클로라이드 염 (3-HCl)의 제조, 방법 1.

[0399] 탄소 상의 팔라듐 (150 g, 5 w/w%)을 뷔히 수소화장치 (Buechi Hydrogenator; 20 L 용량)에 질소 분위기하에 충전한 후에, 7-[4-니트로-3-(트리플루오로메틸)페닐]-7-아자비시클로[2.2.1]헵탄 (9)의 히드로클로라이드 염 (1500 g) 및 2-메틸테트라하이드로푸란 (10.5 L, 7 vol)을 첨가하였다. 수소 기체를 대기압보다 +0.5 bar 높은 압력까지 밀폐된 용기에 충전하였다. 진공을 약 2분 동안 적용한 후에, 수소 기체를 0.5 bar의 압력까지 혼입하였다. 이 과정을 2회 반복하였다. 이어서 수소 기체를 대기압보다 +0.5 bar 높은 압력에서 연속적으로 충전

하였다. 혼합물을 교반하고, 용기의 재킷을 냉각시킴으로써 온도를 18°C 내지 23°C에서 유지하였다. 반응이 수소를 더 이상 사용하지 않고 열이 더 이상 방출되지 않으면, 진공을 다시 적용하였다. 질소 기체를 0.5 bar에서 용기에 충전하고 진공을 재적용한 후에, 질소 기체를 0.5 bar까지 2차 충전하였다. 반응이 실질적으로 완료되었을 때, 반응 혼합물을 질소 분위기하에 셀라이트 필터를 사용하는 필터 깔때기를 통해 시료받이 플라스크로 옮겼다. 셀라이트 필터 케이크를 2-메틸테트라히드로푸란 (3 L, 2 vol)으로 세척하였다. 세척물 및 여과물을, 교반하고 온도를 제어하면서 질소 분위기하에 용기에 충전하였다. 1,4-디옥산 (1 vol) 중의 4 M HCl을 용기에 20°C에서 1시간에 걸쳐서 연속적으로 첨가하였다. 혼합물을 추가로 10시간 동안 (또는 밤새) 교반하고, 여과한 다음, 2-메틸테트라히드로푸란 (2 vol)으로 세척하고, 건조시켜, 4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)아닐린 히드로클로라이드 (3-HCl) 1519 g을 백색 결정질 고형물로서 생성하였다.

[0400] 본 실시예에서 대체 용매로 교체될 수도 있다. 예를 들면, MeOH 및/또는 EtOH가 2-MeTHF 대신에 사용될 수 있다.

[0401] 실시예 3A: 형태 A로서의 N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (화합물 1 형태 A)의 제조



[0402]

[0403] 2-메틸테트라히드로푸란 (91.00 mL) 중의 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1H-퀴놀린-3-카르복실산 (2) (9.1 g, 35.39 mmol) 및 4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)아닐린 (3) (9.2 g, 35.74 mmol)의 용액에 프로필 포스폰산 시클릭 무수물 (에틸 아세테이트 중의 50% 용액, 52.68 mL, 88.48 mmol) 및 피리딘 (5.6 g, 5.73 mL, 70.78 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 반응 플라스크를 10시간 동안 질소 분위기하에 65°C에서 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후에, 반응물을 에틸 아세테이트로 회색시키고 포화 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 (50 mL)으로 켄칭시켰다. 층을 분리하고, 수성층을 에틸 아세테이트로 2회 더 추출하였다. 합친 유기층을 물로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 황갈색 고형물로 농축시켰다. 조절 고형 생성물을 에틸 아세테이트/디에틸 에테르 (2:1) 중에서 슬러리화하고, 진공 여과에 의해 수집한 다음, 에틸 아세테이트/디에틸 에테르 (2:1)로 2회 더 세척하여, 조절 생성물을 연황색 결정질 분말로서 제공하였다. 분말을 가온된 에틸 아세테이트에 용해시키고 셀라이트 상으로 흡수시켰다. 실리카겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중의 0-50% 에틸 아세테이트)에 의한 정제로 N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드의 형태 A (화합물 1 형태 A)을 백색 결정질 고형물로서 제공하였다. LC/MS m/z 496.0 [M+H]<sup>+</sup>, 체류 시간 1.48분 (RP-C<sub>18</sub>, 3분에 걸쳐서 10-99% CH<sub>3</sub>CN/0.05% TFA).

<sup>1</sup>H NMR (400.0 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13.08 (s, 1H), 12.16 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.04

(dd, J = 2.1, 7.4 Hz, 1H), 7.95 - 7.88 (m, 3H), 7.22 (dd, 2.5, 8.9 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 2.5 Hz,

1H), 4.33 (s, 2H), 1.67 (d, J = 6.9 Hz, 4H), 1.44 (d, J = 6.9 Hz, 4H).

[0404]

[0405] 화합물 1 형태 A의 분말 회절도를 도 1에 나타냈다.

[0406] 표 1은 화합물 1 형태 A의 대표 XRPD 피크 리스트를 제공한다.

[0407]

&lt;표 1&gt;

화합물 1 형태 A의 대표 XRPD 패크.

θ(°)	상대적 강도(%)
7.9	100.0
9.3	10.8
11.9	12.8
14.4	35.2
15.1	12.6
15.8	34.1
17.0	25.2
17.7	13.8
19.3	39.4
20.1	20.2
21.4	14.5
21.8	94.2
23.4	30.0
23.8	92.0
25.6	8.9
26.8	6.4
29.4	8.1
29.7	18.1
30.1	14.2
31.2	9.9

[0408]

[0409] 화합물 1 형태 A의 대표 샘플은 도 2에 제공된 FTIR 스펙트럼을 제공하였다.

[0410]

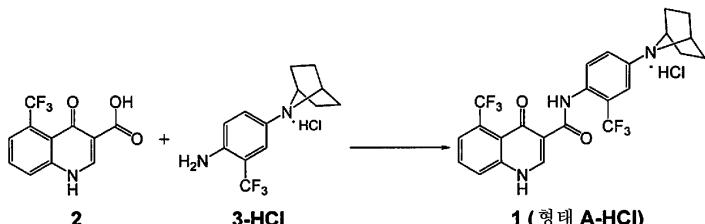
단일 X선 분석법에 근거한 화합물 1 형태 A의 입체형태 사진은 도 3에 도시되어 있다. 회절 데이터는 밀봉된 투브 CuK-알파 방사선원 및 아펙스 II CCD 검출기를 갖춘 브루커 아펙스(Bruker Apex) II 회절계에서 입수하였다. 구조를 규명하고 SHELLX 프로그램을 사용하여 정밀화하였다 (문헌 [Sheldrick, G. M., Acta Cryst. A64, pp. 112-122 (2008)]). 강도, 통계자료 및 대칭성에 근거하여, 구조를 삼방 결정계 및 R-3 공간군으로 규명하고 정밀화하였다. 화합물 1 형태 A는 하기 단위 셀 치수를 갖는다:

[0411]

 $a = 19.1670(4) \text{ \AA}$ ,  $b = 19.1670(4) \text{ \AA}$ ,  $c = 33.6572(12) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 90^\circ$ ,  $\beta = 90^\circ$  및  $\gamma = 120^\circ$ .

[0412]

실시예 3B: 형태 A-HCl로서의 N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (화합물 1 형태 A-HCl)의 제조



[0413]

2-메틸테트라하이드로푸란 (0.57 L, 1.0 vol)을 30 L 들이 채킷형 반응 용기에 충전한 후에, 4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)아닐린의 히드로클로라이드 염 (3-HCl) (791 g, 2.674 mol) 및 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (2) (573 g, 2.2278 mol) 및 추가의 2-메틸테트라하이드로푸란 5.2 L (9.0 vol)를 첨가하였다. 교반을 개시하고 2-메틸테트라하이드로푸란 중의 T3P (2.836 kg, 4.456 mol)를 15분에 걸쳐서 반응 혼합물에 첨가하였다. 이어서, 페리딘 (534.0 g, 546.0 mL, 6.684 mol)을 30분에 걸쳐서 첨가 깥때기를 통해 적가하였다. 혼합물을 약 30분에 걸쳐서 45°C로 가온하고 12 내지 15시간 동안 교반하였다. HPLC 분석은 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산이 2% 미만의 양으로 존재함을 나타냈다. 이어서 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 온도를 30°C 미만으로 유지하면서, 2-메틸테트라하이드로푸란 (4 vol, 2.292 L), 이어서 물 (6.9 vol, 4 L)을 첨가하였다. 수성충을 제거하고 유기층을 주의하여 NaHCO<sub>3</sub> 포화 수용액으로 2회 세척하였다. 이어서 유기층을 10 w/w% 시트르산 (5 vol), 또한 최종적으로 물 (7 vol)로 세척하였다. 혼합물을 연마 여과하고 또 다른 건조 용기로 옮겼다. N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 히드로클로라이드의 형태 A-HCl (화합물 1 형태 A-HCl)의 시드 결정 (3.281 g, 5.570 mmol)을 첨가하였다. HCl (g) (10 eq.)을 2시간에 걸쳐서 버블링하고 혼합물을 밤새 교반하였다. 생성된 혼탁물을 여과하고, 2-메틸테트라하이드로푸란 (4 vol)으로 세척하고, 흡인 건조시킨 다음, 일정한 중량까지 60°C에서 오븐 건조시켜 화합물 1 형태 A-HCl로 정리하였다.

HC1을 제공하였다.

[0415] 화합물 1 형태 A-HC1의 분말 회절도를 도 4에 나타냈다.

[0416] 표 2는 화합물 1 형태 A-HC1의 대표 XRPD 피크를 제공한다.

[0417] <표 2>

화합물 1 형태 A-HC1의 대표 XRPD 피크.

2θ(°)	상대적 강도 (%)
7.1	44.3
8.2	33.3
10.8	1.5
11.7	1.5
12.1	5.8
13.7	3.3
14.1	32.1
14.7	16.9
15.0	5.7
16.1	3.0
16.4	16.9
16.6	3.7
16.8	1.9
17.6	0.6
18.7	12.4
18.9	1.9
19.7	5.4
19.8	6.9
20.3	1.5
21.2	100.0
21.7	10.6
21.9	12.3
22.2	4.0
22.8	21.9
23.4	9.8
24.6	34.3
25.0	17.9
25.2	8.6
25.9	3.6
26.5	1.5
26.9	7.0
27.5	8.3
28.0	5.3
28.3	1.6
28.7	3.5
29.0	4.8
29.2	7.5
29.8	1.40
30.1	1.8
31.0	5.4
31.3	2.6
31.9	1.7
32.3	4.6
32.4	3.7
32.8	2.3
33.3	3.9
34.3	1.8

[0418]

2θ(°)	상대적 강도 (%)
34.5	3.6
34.7	8.7
35.3	3.0
35.6	12.7
35.6	18.9
36.1	3.2
36.8	3.3
37.2	1.7
37.8	3.1
38.5	2.8
39.1	3.1
39.7	2.3

[0419]

[0420] 화합물 1 형태 A-HC1의 단결정은 단사 결정계, P2<sub>1</sub>/c 공간군, 및 하기 단위 셀 치수를 갖는 것으로 결정되었다:

$a = 13.6175(4) \text{ \AA}$ ,  $b = 21.614(3) \text{ \AA}$ ,  $c = 8.3941(4) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 90^\circ$ ,  $\beta = 112.303^\circ$  및  $\gamma = 90^\circ$ .

[0421] 화합물 1 형태 A-HC1의 샘플을 또한 현미경을 사용하여 평가하였다.

[0422] 화합물 1 형태 A-HCl의 샘플의 DSC 곡선은 도 5에 제공되었고 화합물 1 형태 A-HCl 대표 샘플의 TGA 곡선은 도 6에 제공되었다.

[0423] 화합물 1 형태 A-HCl의 대표 샘플은 도 7에 제공된 FTIR 스펙트럼을 나타냈다.

[0424] 화합물 1 형태 A-HCl을 또한 고체 상태  $^{13}\text{C}$  및  $^{19}\text{F}$  NMR을 사용하여 분석하였다. 각각의 NMR 스펙트럼은 도 8 및 도 9에 제공되었다.  $^{13}\text{C}$  SSNMR 및  $^{19}\text{F}$  SSNMR 스펙트럼에서 확인되는 여러 개의 피크는 표 3 및 표 4에 기재되어 있다.

[0425] <표 3>

화합물 1 형태 A-HCl의  $^{13}\text{C}$  SSNMR 피크.

피크 번호	F1 (ppm)
1	175.7
2	163.7
3	142.6
4	140.8
5	137.2
6	131.5
7	129.0
8	126.0
9	124.8
10	123.8
11	121.5
12	117.8
13	112.4
14	65.7
15	29.2
16	28.3
17	26.1

[0426]

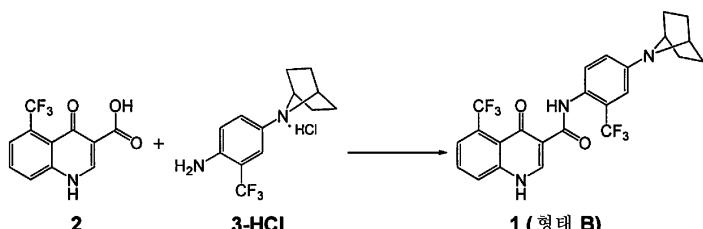
[0427] <표 4>

화합물 1 형태 A-HCl의  $^{19}\text{F}$  SSNMR 피크.

피크 번호	F1 (ppm)
1	-57.0
2	-60.5

[0428]

[0429] 실시예 4A: 형태 B로서의 N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (화합물 1 형태 B)의 제조



[0430]

[0431] 2-메틸테트라하이드로푸란 (1 vol)을 30 L 들이 채킷형 반응 용기에 충전한 후에, 4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵탄-7-일)-2-(트리플루오로메틸)아닐린의 히드로클로라이드 염 (3-HCl) (1.2 eq.) 및 4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (2) (573 g, 2.228 mol)을 첨가하였다. 추가의 2-메틸테트라하이드로푸란 (9 vol)을 용기에 충전하고 교반을 개시하였다. 2-메틸테트라하이드로푸란 (2 eq.) 중의 T3P를 15분의 기간에 걸쳐서 반응 혼합물을 첨가하였다. 피리딘 (3 eq.)을 첨가 깔때기를 사용하여 신속히 적가하였다. 이어서 교반하면서, 혼합물을 약 30분의 기간에 걸쳐서 45°C로 가열하고 이 온도를 약 5시간 동안 유지하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 2-메틸테트라하이드로푸란 (4 vol)을 첨가한 후에, 물 (6.9 vol)을 서서히 첨가하고, 반응물의 온도를 30°C 미만으로 유지하였다. 수성충을 제거하고 유기층을  $\text{NaHCO}_3$  포화 수용액으로 2회 세척하였다. 이어서 유기층을 주의하여 10 w/w% 시트르산 (5 vol)으로 세척하고 물 (7 vol)로 세척한 다음, 연마 여과하여 또 다른 건조 용기로 옮겼다. 2-메틸테트라하이드로푸란 (10 vol)을 첨가하고 교반을 개시하였다. 헵탄 (10 vol)을 교반하면서 신속히 적가하였다. 혼합물을 약 12시간의 기간 동안 교반한 후에, 진공 여과하였다. 고형 필터 케이크를 또 다른 용기에 혼입하였다. 물 (15 vol)을 용기에 충전하고 혼탁물을 48시간 동안 격렬하게 교

반한 후에, 여과하였다. 고형 케이크를 물 (5 vol)로 세척하고 일정 중량까지 45°C에서 건조시켜, 화합물 1 형태 B를 생성하였다.

[0432] 기구 1 및 기구 2를 사용하여 기록한 화합물 1 형태 B의 분말 회절도를 각각 도 10a 및 도 10b에 나타냈다.

[0433] 표 5는 화합물 1 형태 B의 대표 XRPD 피크를 포함한다.

[0434] <표 5>

화합물 1 형태 B의 대표 XRPD 피크

2θ(°)	상대적 강도 (%)
6.7	36.6
9.4	37.2
10.0	29.5
11.2	35.3
13.4	70.6
14.8	18.1
15.2	88.8
15.4	16.6
17.2	49.5
17.8	48.0
18.1	83.8
18.8	13.6
19.2	47.6
20.1	68.9
21.2	71.8
22.0	42.6
22.6	7.6
23.5	18.1
24.0	100.0
25.0	9.6
25.9	9.7
26.3	44.8
26.9	26.3
27.2	86.7
27.7	37.8
28.2	7.4
28.9	49.0
29.6	21.3
30.3	8.6
30.6	5.5
31.2	19.3
32.3	5.5
33.7	11.4
34.2	8.9
34.7	12.4
35.1	8.0
36.7	6.5
38.1	4.7
39.3	5.3

[0435]

[0436] 화합물 1 형태 B 샘플의 DSC 곡선은 도 11에 제공되었고, 화합물 1 형태 B의 대표 샘플의 TGA 곡선은 도 12에 제공되었다.

[0437] 화합물 1 형태 B의 대표 샘플은 도 13에 제공된 FTIR 스펙트럼을 나타냈다.

[0438] 화합물 1 형태 B를 또한 고체 상태  $^{13}\text{C}$  및  $^{19}\text{F}$  NMR을 사용하여 분석하였다. 각각의 NMR 스펙트럼은 도 14 및 도 15에 제공되었다.  $^{13}\text{C}$  SSNMR 및  $^{19}\text{F}$  SSNMR 스펙트럼에서 확인된 여러 개의 피크가 표 6 및 표 7에 기재되어 있다.

[0439]

&lt;표 6&gt;

화합물 1 형태 B의  $^{13}\text{C}$  SSNMR 피크.

피크 번호	F1 (ppm)
1	175.3
2	165.3
3	145.9
4	141.4
5	132.9
6	126.8
7	123.5
8	117.4
9	113.4
10	58.3
11	29.2
12	26.9

[0440]

[0441] &lt;표 7&gt;

화합물 1 형태 B의  $^{19}\text{F}$  SSNMR 피크.

피크 번호	F1 (ppm)
1	-56.1
2	-62.1

[0442]

[0443]

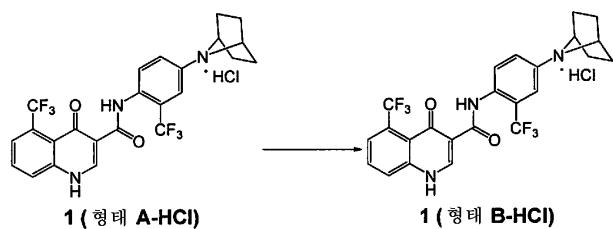
화합물 1 형태 B의 단결정을 마이크로마운트(MicroMount) 루프 상에 고정시키고, 밀봉된 구리 X선 튜브 및 아페스 II CCD 검출기가 설치된 브루커 아페스 II 회절계에 맞추었다. 초기에, 40개 프레임으로 구성된 3개의 세트를 수집하여 예비 단위 셀을 결정하였다. 이 후에 15개의 스캔 및 6084개의 프레임으로 이루어진 완전한 데이터 세트를 입수하였다. 데이터 수집은 실온에서 수행하였다. 데이터를 브루커 AXS로부터의 아페스 II 소프트웨어를 사용하여 통합하고 스케일링(scaled)하였다. 통합 및 스케일링은 6176개의 상을 생성하였고, 이들 중 2250개는 특이하였다. 구조는 SHELLXTL 소프트웨어를 사용하여 공간군 P21/c에서의 직접적인 방법으로 규명하였다. 정밀화 역시 SHELLXTL 소프트웨어를 사용하여 F2에 대한 풀 매트릭스(full matrix) 최소자승법으로 수행하였다. 모두 392개의 파라미터가 정밀화에 사용되어, 상 대 파라미터의 비율은 5.74였다. 최종 정밀화 인덱스는  $wR2 = 0.0962^\circ$ 이고  $R1 = 0.0682$ 였다 ( $I > 2 \sigma(I)$ 를 갖는 상의 경우에는  $wR2 = 0.0850$ 이고  $R1 = 0.0412$ 임).

[0444]

화합물 1 형태 B의 N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵坦-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드의 단결정은 단사 결정계, P21/c 공간군, 및 하기 단위 셀 치수를 갖는 것으로 결정되었다:  $a = 13.5429(4) \text{ \AA}$ ,  $b = 13.4557(4) \text{ \AA}$ ,  $c = 12.0592(4) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 90^\circ$ ,  $\beta = 101.193^\circ$  및  $\gamma = 90^\circ$ .

[0445]

실시예 4B: 형태 B-HCl로서의 N-(4-(7-아자비시클로[2.2.1]헵坦-7-일)-2-(트리플루오로메틸)페닐)-4-옥소-5-(트리플루오로메틸)-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (화합물 1 형태 B-HCl)의 제조



[0446]

방법 1

[0448]

2-메틸테트라하이드로푸란 100 mL를 교반기를 갖추고 있으며 질소 분위기를 갖는 3목 플라스크에 충전하였다. 화합물 1 형태 A-HCl (55 g, 0.103 mol), 이어서 2-메틸테트라하이드로푸란 349 mL를 플라스크에 첨가하고, 교반을 개시하였다. 물 28 mL를 플라스크에 첨가하고 플라스크를 60°C의 내부 온도로 가온하고 48시간 동안 교반하였다. 플라스크를 실온으로 냉각시키고 1시간 동안 교반하였다. 필터 케이크가 건조될 때까지 반응 혼합물을 진공 여과하였다. 고형 필터 케이크를 2-메틸테트라하이드로푸란 (4 vol)으로 2회 세척하였다. 고형 필터 케이크를 진공 흡인하에 약 30분의 기간 동안 둔 다음 건조 트레이로 옮겼다. 필터 케이크를 진공하에 60°C에서 일정한 중량까지 건조시켰다. 이로써 백색 결정질 고형물로서 화합물 1 형태 B-HCl이 생성되었다.

[0449] 방법 2

[0450] 화합물 1 형태 A-HCl (14.638 g, 27.52 mmol)을 100 mL 들이 등근 바닥 플라스크에 충전하였다. EtOH (248.9 mL) 및 물 (27.82 mL)을 첨가하였다. 백색 슬러리를 환류 온도로 가열하였다. 투명 용액이 77°C에서 수득되었다. 반응물을 45°C로 냉각시키고, 30분 동안 교반한 후에, 20°C로 냉각시켰다. 혼합물을 20°C에서 추가로 3시간 동안 교반하였다. 생성물을 여과하고 케이크를 EtOH로 세척하였다. 고형물을 진공 오븐에서 질소 흐름하에 45°C에서 건조시켜, 화합물 1 형태 B-HCl을 백색 고형물로서 제공하였다.

[0451] 참고로, MeOH/H<sub>2</sub>O 및 IPA/H<sub>2</sub>O 등과 같은 기타 용매 조합을 본 실시예에서 기재된 EtOH/H<sub>2</sub>O 대신에 사용할 수 있다.

[0452] 대체 용매 조합의 예가 표 8에 제공되었다.

[0453] <표 8>

형태 B-HCl의 제조에 사용가능한 기타 용매.

용매	용매 부피	T [°C]
MeOH	10	60
MeOH : H <sub>2</sub> O	10 : 0.2	60
MeOH : H <sub>2</sub> O	10 : 0.5	60
MeOH : H <sub>2</sub> O	10 : 1	60
MeOH : H <sub>2</sub> O	10 : 1.5	60
IPA : H <sub>2</sub> O	10 : 1	75
IPA : H <sub>2</sub> O	10 : 1.5	75
MeOH : H <sub>2</sub> O	10 : 1	65
EtOH	10	70
EtOH : H <sub>2</sub> O	10 : 0.2	70
EtOH : H <sub>2</sub> O	10 : 0.5	70
EtOH : H <sub>2</sub> O	10 : 1	70
EtOH : H <sub>2</sub> O	10 : 1.5	70

[0454]

[0455] 화합물 1 형태 B-HCl의 분말 회절도를 도 16에 나타냈다.

[0456] <표 9>

화합물 1 형태 B-HCl의 대표 XRPD 피크.

2θ(°)	상대적 강도(%)
8.3	93.7
9.0	8.4
10.9	0.8
11.4	1.4
13.0	4.9
14.1	19.8
14.8	32.7
15.2	12.6
16.7	23.8
17.8	37.8
18.0	90.0
18.2	28.6
19.3	19.0

[0457]

2θ(°)	상대적 강도(%)
19.5	17.5
19.9	2.7
20.4	9.4
20.6	6.2
21.7	41.2
22.0	22.2
23.0	100.0
23.6	20.5
23.9	4.0
24.1	3.9
24.5	9.2
24.7	13.0
24.9	31.9
25.2	22.6
25.7	12.6
26.1	3.3
26.7	4.5
27.1	21.3
27.9	10.6
28.1	18.7
28.5	4.3
28.7	5.8
29.7	11.1
29.8	14.2
30.1	4.0
30.5	8.2
31.1	30.2
31.5	9.1
32.3	11.4
32.8	3.8
33.1	9.2
33.4	11.3
33.8	11.1
33.9	10.1
34.1	5.6
34.6	8.5
34.9	6.4
35.2	10.8
36.0	4.1
36.2	13.2
36.4	4.7
37.2	5.9
37.6	3.7
37.9	2.2
38.2	7.5
38.5	22.3
38.6	13.8
39.9	10.7

[0458]

[0459] 화합물 1 형태 B-HCl의 단결정은 단사 결정계, P2<sub>1</sub>/a 공간군, 및 하기 단위 셀 치수를 갖는 것으로 결정되었다:

$a = 12.57334(5) \text{ \AA}$ ,  $b = 19.68634(5) \text{ \AA}$ ,  $c = 8.39399(5) \text{ \AA}$ ,  $\alpha = 90^\circ$ ,  $\beta = 90.0554^\circ$  및  $\gamma = 90^\circ$ .

[0460] 화합물 형태 B-HCl의 샘플을 또한 현미경을 사용하여 평가하였다.

[0461] 화합물 1 형태 B-HCl의 DSC 곡선은 도 17에 제공되었고, 화합물 1 형태 B-HCl의 대표 샘플의 TGA 곡선은 도 18에 제공되었다.

[0462] 화합물 1 형태 B-HCl의 대표 샘플은 도 19에 제공된 FTIR 스펙트럼을 나타냈다.

[0463] 화합물 1 형태 B-HCl을 또한 고체 상태 <sup>13</sup>C 및 <sup>19</sup>F NMR을 사용하여 분석하였다. 각각의 NMR 스펙트럼은 도 20 및 도 21에 제공되었다. <sup>13</sup>C SSNMR 및 <sup>19</sup>F SSNMR 스펙트럼에서 확인된 여러 개의 피크가 표 10 및 표 11에 기재되어 있다.

[0464]

&lt;표 10&gt;

화합물 1 형태 B-HCl의  $^{13}\text{C}$  SSNMR 피크.

피크 번호	F1 (ppm)
1	176.3
2	168.2
3	148.7
4	143.2
5	138.8
6	131.6
7	129.6
8	129.1
9	126.7
10	125.8
11	122.7
12	119.8
13	112.3
14	69.0
15	66.9
16	28.3
17	23.9

[0465]

&lt;표 11&gt;

화합물 1 형태 B-HCl의  $^{19}\text{F}$  SSNMR 피크.

피크 번호	F1 (ppm)
1	-55.6
2	-62.0

[0467]

참고로, 실시예 3A, 3B 및 4A-4C에서, 용매로서 2-MeTHF 대신에 EtOAc를 사용할 수 있다.

[0469]

화합물의  $\Delta\text{F508-CFTR}$  강화 성질의 검출 및 측정을 위한 분석법

[0470]

화합물의  $\Delta\text{F508-CFTR}$  조정 성질을 분석하기 위한 막 전위 광학법

[0471]

본 분석법은 형광성 전압 감수성 염료를 사용하여, 형광 플레이트 판독기 (예를 들어, 몰레큘라 디바이시즈, 인크.(Molecular Devices, Inc.) 제조의 FLIPR III)를 통해 NIH 3T3 세포에서의 기능적  $\Delta\text{F508-CFTR}$ 의 증가에 대한 판독치로서 막 전위의 변화를 측정한다. 반응을 위한 구동력은 세포를 화합물로 미리 처리하고 나서 전압 감수성 염료를 로딩한 후에 단일 액체 첨가 단계에 의한 채널 활성화와 더불어 형성되는 클로라이드 이온 구배이다.

[0472]

강화제 화합물의 확인

[0473]

$\Delta\text{F508-CFTR}$ 의 강화제를 확인하기 위해, 이중 첨가 HTS 분석 포맷을 개발하였다. 이 HTS 분석법은 형광성 전압 감수성 염료를 사용하여, FLIPR III을 통해 온도 보정된  $\Delta\text{F508 CFTR NIH 3T3 세포에서의 } \Delta\text{F508 CFTR의 } \text{케이팅 (전도도) 증가에 대한 척도로서 막 전위의 변화를 측정한다. 반응을 위한 구동력은 세포를 강화제 화합물 (또는 DMSO 비히클 대조군)로 미리 처리하고 나서 재분포 염료를 로딩한 후에 형광 플레이트 판독기, 예컨대 FLIPR III을 사용하는 단일 액체 첨가 단계에서의 포르스콜린에 의한 채널 활성화와 더불어 형성되는 } \text{Cl}^- \text{ 이온 구배이다.}$

[0474]

용액

[0475]

조(bath) 용액 #1: (mM) NaCl 160, KCl 4.5, CaCl<sub>2</sub> 2, MgCl<sub>2</sub> 1, HEPES 10, pH 7.4 (NaOH 사용).

[0476]

조 용액 #1의 대체 용액은 클로라이드염이 글루코네이트염으로 교체된 조 용액을 포함한다.

[0477]

세포 배양

[0478]

$\Delta\text{F508-CFTR}$ 을 안정적으로 발현하는 NIH3T3 마우스 섬유모세포를 막 전위의 광학 측정을 위해 사용하였다. 세포를 5% CO<sub>2</sub> 및 90% 습도에서 175 cm<sup>2</sup> 배양 플라스크 내의 2 mM 글루타민, 10% 태아 소 혈청, 1X NEAA,  $\beta$ -ME, 1X pen/strep 및 25 mM HEPES가 보충된 둘베코 변형 이글 배지(Dulbecco's modified Eagle's medium) 중에서 37°C에서 유지하였다. 모든 광학 분석법을 위해, 세포를 384웰 매트리겔 코팅된 플레이트에 약 20,000개/웰로 시팅하고 37°C에서 2시간 동안 배양한 후에, 강화제 분석을 위해 27°C에서 24시간 동안 배양하였다. 보정 분석

법에서, 세포를 화합물의 존재 및 부재하에 16 내지 24시간 동안 27°C 또는 37°C에서 배양하였다.

[0479] 화합물의 ΔF508-CFTR 조정 성질을 분석하기 위한 전기생리학적 분석법

[0480] 1. 유성 챔버(Ussing Chamber) 분석법

[0481] 유성 챔버 실험을 ΔF508-CFTR을 발현하는 분극화 기도 상피 세포에서 수행하여 광학 분석법에서 확인된 ΔF508-CFTR 조정자를 추가로 특징화하였다. 비-CF 및 CF 기도 상피를 기관지 조직으로부터 단리하여 이미 개시된 바와 같이 배양하고 (문헌 [Galietta, L.J.V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, G.A., & Zegarra-Moran, O. (1998) In Vitro Cell. Dev. Biol. 34, 478-481]), NIH3T3 컨디셔닝된 배지로 예비코팅된 코스타(Costar)® 스냅웰(Snapwell)™ 필터 상에 플레이팅하였다. 4일 후에 첨단 배지를 제거하고, 세포를 공기 액체 계면에서 >14일 동안 성장시킨 후에 사용하였다. 이로써, 기도 상피의 특징인 섬모를 갖는 완전 분화된 원주 세포의 단층이 생성되었다. 비-CF HBE를 임의의 알고 있는 폐 질환이 없는 비흡연자로부터 단리하였다. CF-HBE를 ΔF508-CFTR에 대하여 동형접합적인 환자로부터 단리하였다.

[0482] 코스타® 스냅웰™ 세포 배양 삽입물 상에서 성장시킨 HBE를 유성 챔버 (미국 캘리포니아주 샌디에고 소재의 피지올로직 인스트루먼츠, 잉크.(Physiologic Instruments, Inc.))에 놓고, 기저측부에서 첨단부까지의 Cl<sup>-</sup> 구배 존재 하의 단락 전류 ( $I_{sc}$ ) 및 상피횡단 저항을 전압 클램프 시스템 (미국 아이오와주 소재의 아이오와 대학 생명공학부)을 사용하여 측정하였다. 간략하게 설명하면, HBE를 전압 클램프 기록 조건 ( $V_{hold} = 0$  mV)하에 37°C에서 조사하였다. 기저측부 용액은 145 NaCl, 0.83 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.3 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2 MgCl<sub>2</sub>, 1.2 CaCl<sub>2</sub>, 10 글루코스, 10 HEPES (NaOH를 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였고 (mM), 첨단부 용액은 145 Na글루코네이트, 1.2 MgCl<sub>2</sub>, 1.2 CaCl<sub>2</sub>, 10 글루코스, 10 HEPES (NaOH를 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM).

[0483] 강화제 화합물의 확인

[0484] 전형적인 프로토콜은 기저막에서 첨단막까지의 Cl<sup>-</sup> 농도 구배를 이용하였다. 이러한 구배를 설정하기 위해, 기저막에는 통상의 링거를 사용하고 첨단부 NaCl은 동물량의 나트륨 글루코네이트 (NaOH를 사용하여 pH 7.4로 적정함)로 대체하여, 상피를 교차하는 큰 Cl<sup>-</sup> 농도 구배를 제공하였다. 포르스콜린 (10 μM) 및 모든 시험 화합물을 세포 배양 삽입물의 첨단 쪽에 첨가하였다. 추정 ΔF508-CFTR 강화제의 효능을 공지된 강화제인 제니스테인의 효능과 비교하였다.

[0485] 패치 클램프 기록

[0486] ΔF508-NIH3T3 세포에서의 총 Cl<sup>-</sup> 전류를 이미 개시된 바와 같이 천공형 패치 기록 장치를 사용하여 모니터링하였다 (문헌 [Rae, J., Cooper, K., Gates, P., & Watsky, M. (1991) J. Neurosci. Methods 37, 15-26]). 전압 클램프 기록은 악소패치(Axopatch) 200B 패치 클램프 증폭기 (미국 캘리포니아주 포스터 시티 소재의 악손인스트루먼츠 잉크.(Axon Instruments Inc.))를 사용하여 22°C에서 수행하였다. 피펫 용액은 150 N-메틸-D-글루카민 (NMDG)-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 EGTA, 10 HEPES 및 240 μg/mL 암포테리신-B (HCl을 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM). 세포외 배지는 150 NMDG-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES (HCl을 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM). 펠스 발생, 데이터 입수 및 분석은 디지데이터(Digidata) 1320 A/D 인터페이스 및 클램페克斯(Clampex) 8 (악손 인스트루먼츠 잉크.)이 설치된 PC를 사용하여 수행하였다. ΔF508-CFTR을 활성화시키기 위해, 10 μM 포르스콜린 및 20 μM 제니스테인을 조에 첨가하고, 전류-전압 관계를 30초마다 모니터링하였다.

[0487] 강화제 화합물의 확인

[0488] ΔF508-CFTR 강화제가 ΔF508-CFTR을 안정적으로 발현하는 NIH3T3 세포에서 거시적 ΔF508-CFTR Cl<sup>-</sup> 전류 ( $I_{ΔF508}$ )를 증가시키는 능력 또한 천공형 패치 기록 기법을 사용하여 조사하였다. 광학 분석법에서 확인된 강화제는 광학 분석법에서 관찰된 것과 유사한 효력 및 효능으로  $I_{ΔF508}$ 의 용량 의존성 증가를 야기하였다. 조사한 모든 세포에서, 강화제 적용 이전 및 적용 동안의 역전위는 약 -30 mV로,  $E_{Cl}$  계산치 (-28 mV)에 해당하였다.

[0489] 세포 배양

[0490]  $\Delta F508-CFTR$ 을 안정적으로 발현하는 NIH3T3 마우스 섬유모세포를 전세포 기록을 위해 사용하였다. 세포를 5%  $CO_2$  및 90% 습도에서  $175\text{ cm}^2$  배양 플라스크 내의 2 mM 글루타민, 10% 태아 소 혈청, 1X NEAA,  $\beta$ -ME, 1X pen/strep 및 25 mM HEPES가 보충된 둘베코 변형 이글 배지 중에서 37°C에서 유지하였다. 전세포 기록을 위해, 2,500 내지 5,000개의 세포를 폴리-L-리신 코팅된 유리 커버슬립에 시딩하고 24 내지 48시간 동안 27°C에서 배양한 후에 이것을 사용하여 강화제의 활성을 시험하였고, 보정 화합물의 존재 또는 부재하에 37°C에서 인큐ベ이션하여 보정제의 활성을 측정하였다.

[0491] 단일-채널 기록

[0492] NIH3T3 세포에서 발현된 wt-CFTR 및 온도 보정된  $\Delta F508-CFTR$ 의 게이팅 활성을 악소페치 200B 패치-클램프 증폭기 (악손 인스트루먼츠 인크.)를 사용하여 이미 개시된 바와 같이 절개된 내부-외부 막 패치 기록으로 관찰하였다 (문헌 [Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R.G., Pavirani, A., Lecocq, J-P., Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526-528]). 피펫은 150 NMDG, 150 아스파르트산, 5  $CaCl_2$ , 2  $MgCl_2$  및 10 HEPES (트리스 염기를 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM). 조는 150 NMDG-Cl, 2  $MgCl_2$ , 5 EGTA, 10 TES 및 14 트리스 염기 (HCl을 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM). 절개 후에, wt- 및  $\Delta F508-CFTR$ 은 둘다 1 mM Mg-ATP, 75 nM cAMP 의존성 단백질 키나제 (PKA; 미국 위스콘신주 매디슨 소재의 프로메가 코포레이션(Promega Corp.))의 촉매 서브유닛, 및 10 mM NaF 첨가에 의해 활성화되어 단백질 포스파타제를 억제하였고, 이것은 전류 감소를 저해하였다. 피펫 전위는 80 mV로 유지시켰다. 채널 활성을 2개 이하의 활성 채널을 함유하는 막 패치로부터 분석하였다. 동시에 개방된 최대 개수로 실험 동안의 활성 채널의 개수를 결정하였다. 단일 채널 전류 크기를 측정하기 위해서, 120초의  $\Delta F508-CFTR$  활성으로부터 기록된 데이터를 100 Hz에서 "오프-라인(off-line)" 필터링한 후에 이것을 사용하여 바이오-패치(Bio-Patch) 분석 소프트웨어 (프랑스 소재의 바이오-로직 컴파니(Bio-Logic Comp.))를 사용하여 멀티가우시안 (multigaussian) 함수로 맞춘 모든 지점 크기 히스토그램을 제작하였다. 총 미시적 전류 및 개방 확률(open probability;  $P_o$ )을 120초의 채널 활성으로부터 측정하였다.  $P_o$ 는 바이오-패치 소프트웨어를 사용하여 결정하거나, 또는 관계식  $P_o = I/i(N)$  (여기서,  $I$  = 평균 전류,  $i$  = 단일 채널 전류 크기, 및  $N$  = 패치내 활성 채널의 개수)으로부터 결정하였다.

[0493] 세포 배양

[0494]  $\Delta F508-CFTR$ 을 안정적으로 발현하는 NIH3T3 마우스 섬유모세포를 절개된 막 패치-클램프 기록을 위해 사용하였다. 세포를 5%  $CO_2$  및 90% 습도에서  $175\text{ cm}^2$  배양 플라스크 내의 2 mM 글루타민, 10% 태아 소 혈청, 1X NEAA,  $\beta$ -ME, 1X pen/strep 및 25 mM HEPES가 보충된 둘베코 변형 이글 배지 중에서 37°C에서 유지하였다. 단일 채널 기록을 위해, 2,500 내지 5,000개의 세포를 폴리-L-리신 코팅된 유리 커버슬립에 시딩하고 24 내지 48시간 동안 27°C에서 배양한 후에 사용하였다.

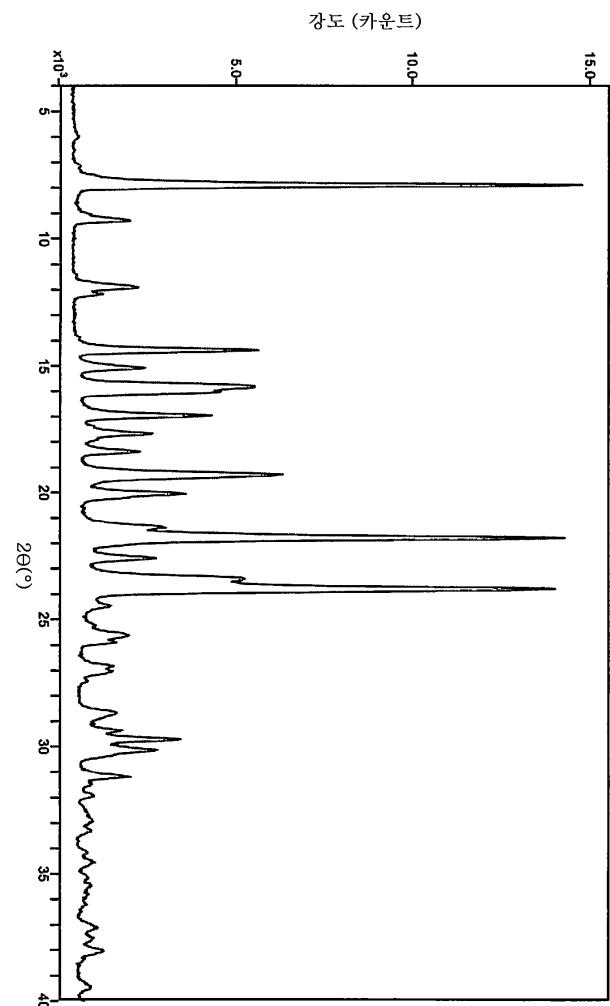
[0495] 화합물 1은 ATP 결합 카세트 운반체의 조정자로서 유용하다. 화합물 1 형태 A의  $EC_{50}$  ( $\mu\text{M}$ )은 2.0  $\mu\text{M}$  미만인 것으로 측정되었다. 화합물 1 형태 A의 효능은 100% 내지 25%인 것으로 계산되었다. 100% 효능은 4-메틸-2-(5-페닐-1H-피리졸-3-일)페놀에 의해 달성되는 최대 반응임을 알아야 한다.

[0496] 다른 실시양태

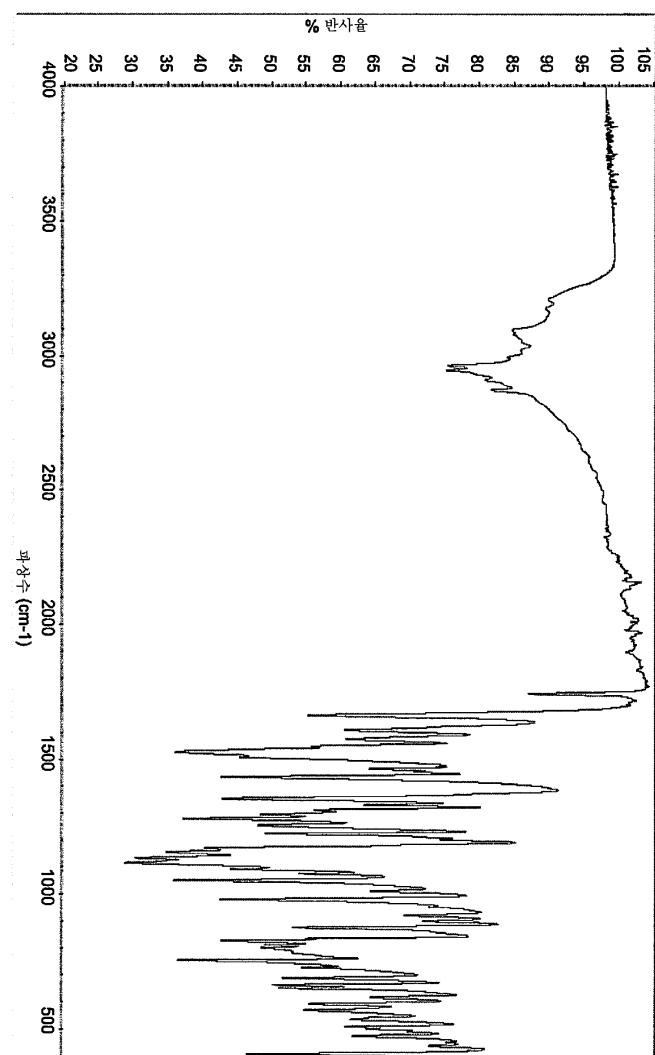
[0497] 본 개시내용에서 언급된 모든 공보 및 특허는, 각각의 개개의 공보 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 참고로 포함되는 것으로 지시된 것처럼 그와 동등한 정도로 본원에 참고로 포함된다. 참고로 포함된 임의의 특허 또는 공보의 용어의 의미가 본 개시내용에서 사용된 용어의 의미와 상충되는 경우에, 본 개시내용에서의 용어의 의미가 우선하도록 한다. 또한, 상기의 논의는 본 발명의 단지 예시적인 실시양태를 개시 및 기재한다. 당업자라면 상기의 논의로부터, 또한 첨부된 도면 및 특허청구범위로부터, 다양한 변화, 변형 및 변동이 하기의 특허청구범위에서 한정된 본 발명의 취지 및 범주를 벗어나지 않으면서 있을 수 있음을 쉽게 알 것이다.

도면

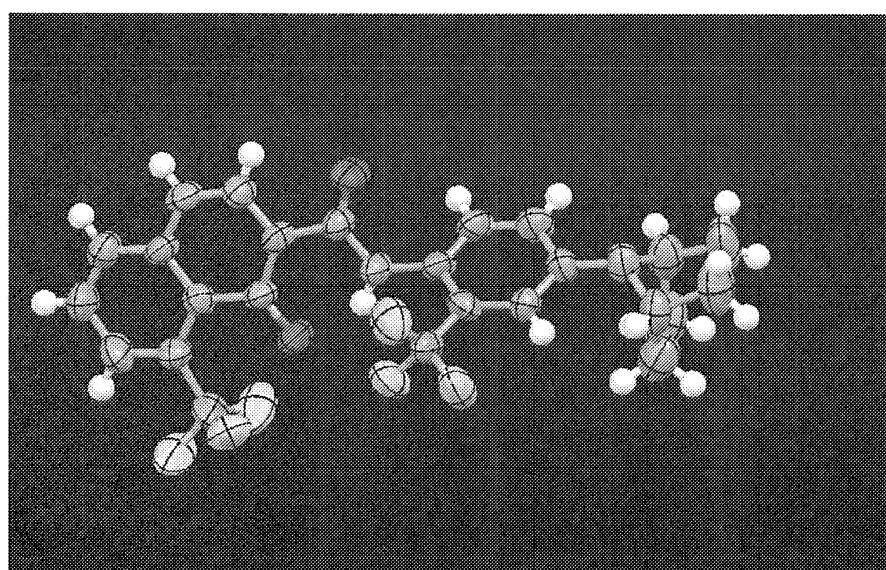
도면1



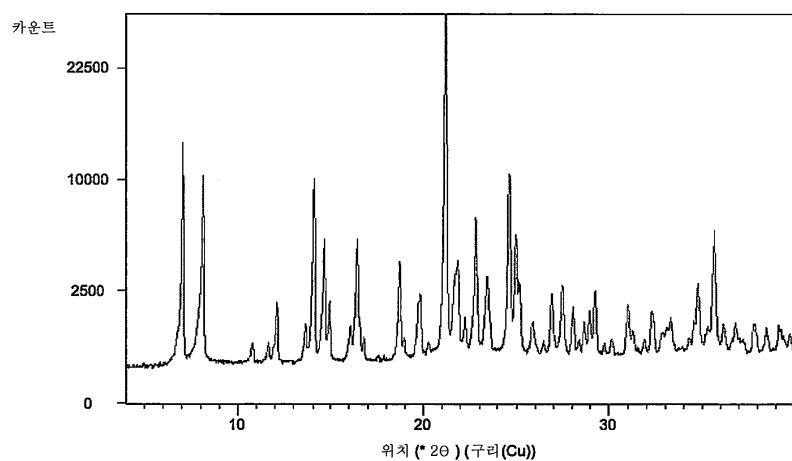
도면2



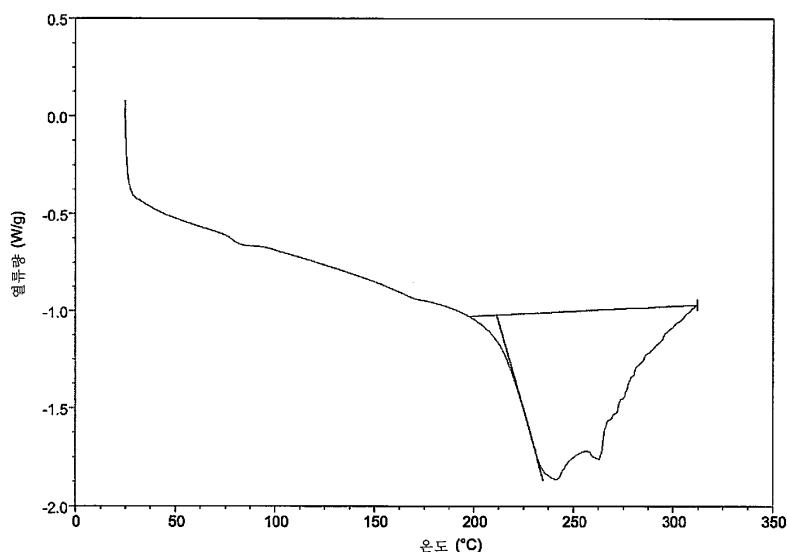
도면3



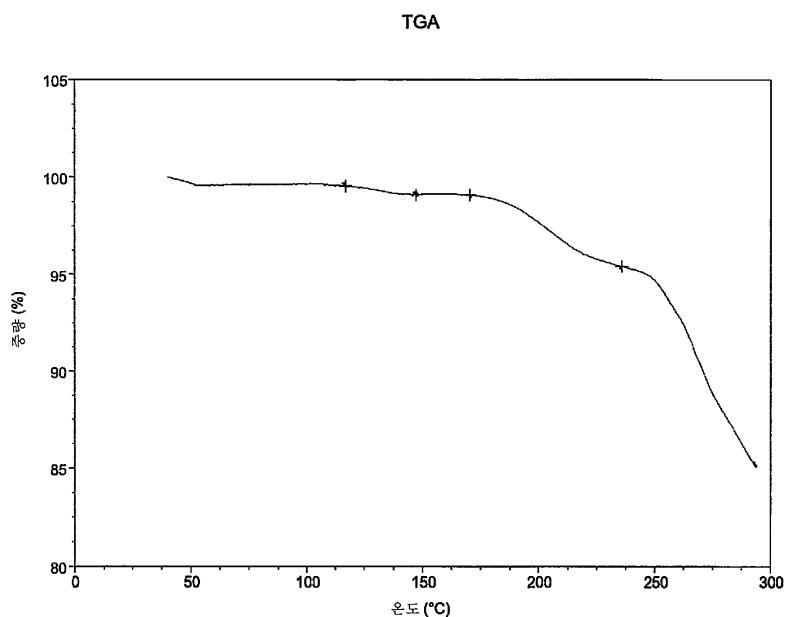
도면4



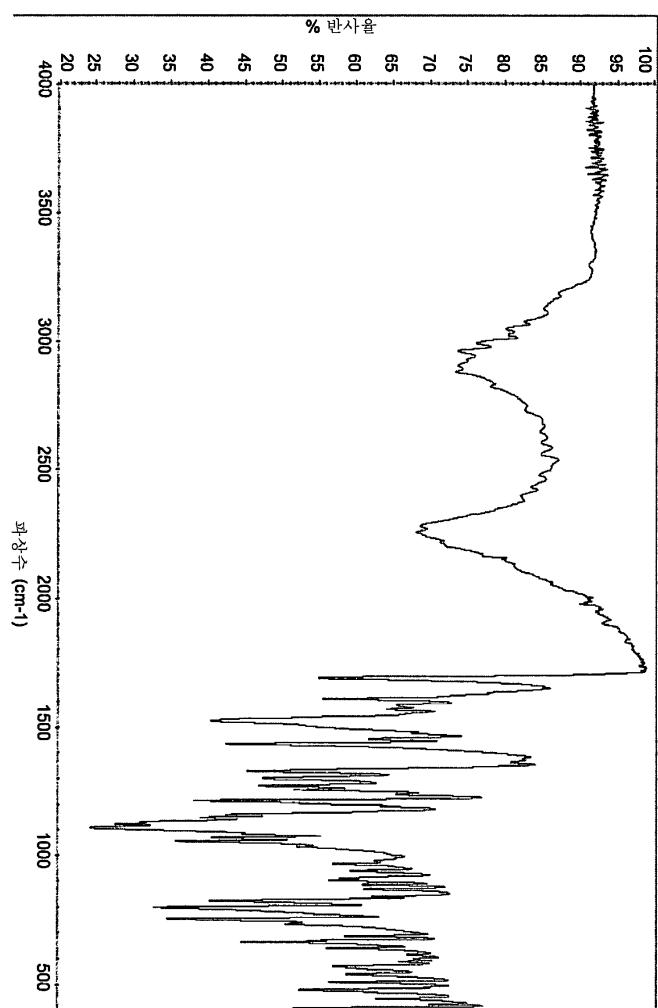
도면5



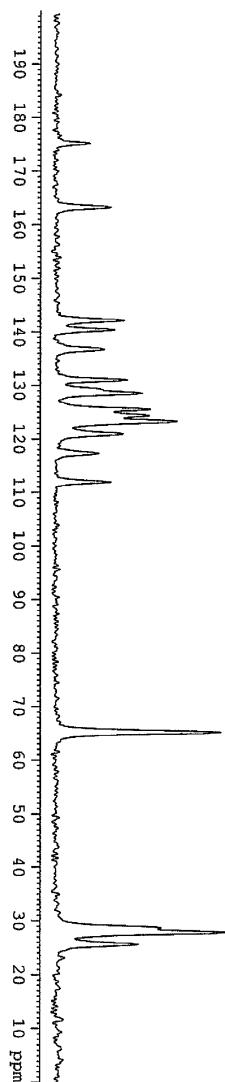
도면6



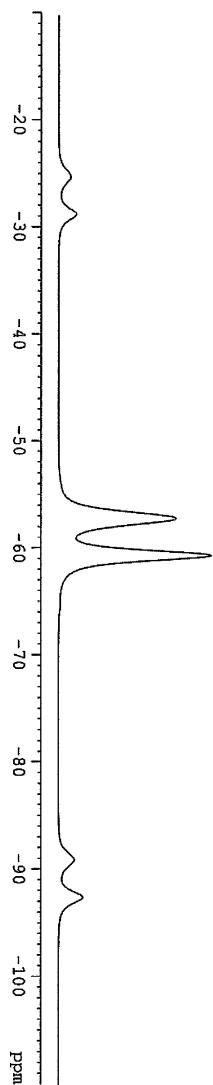
도면7



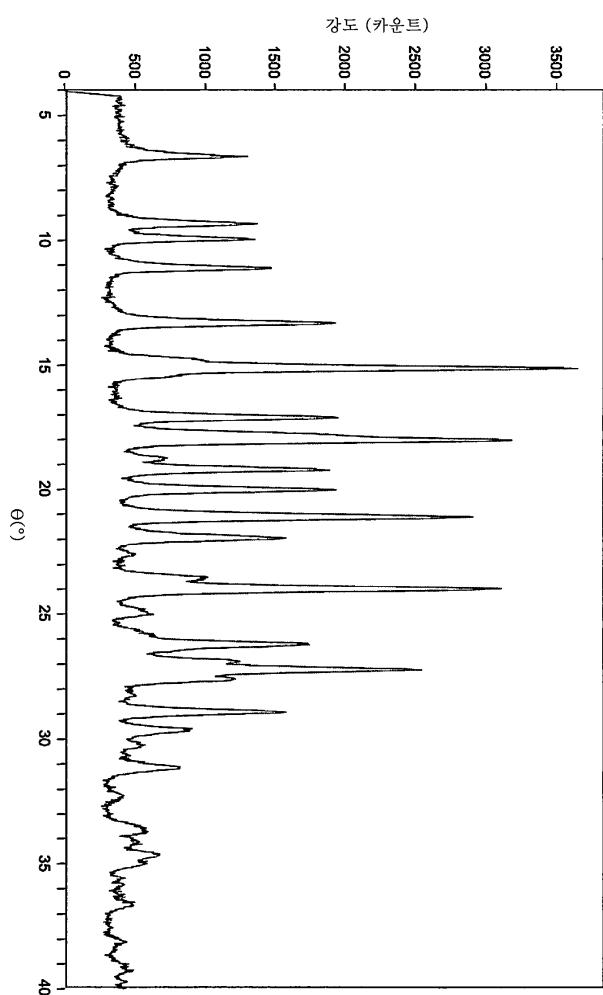
도면8



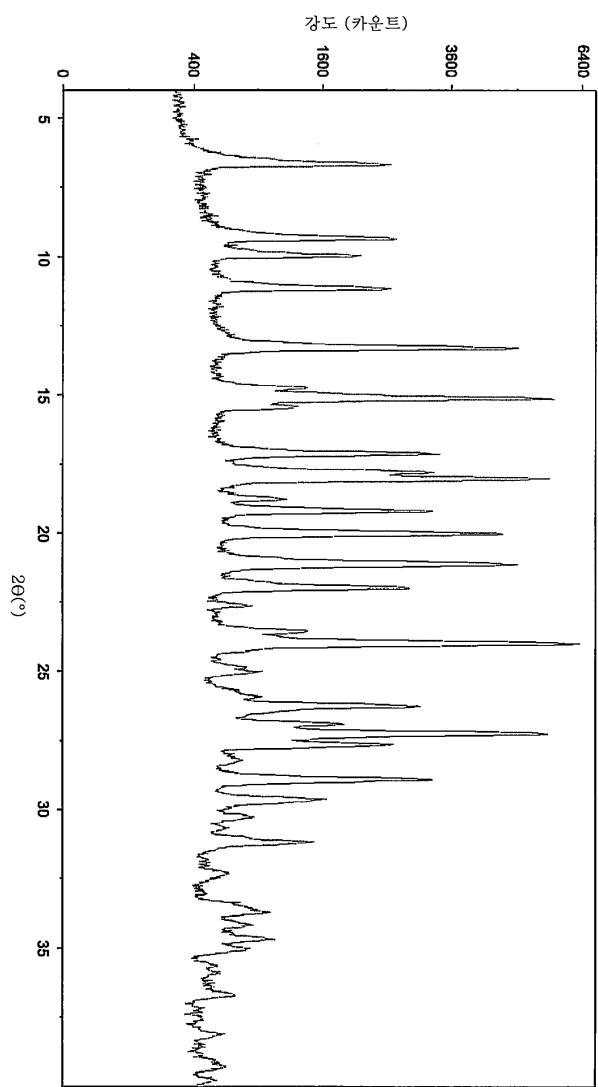
도면9



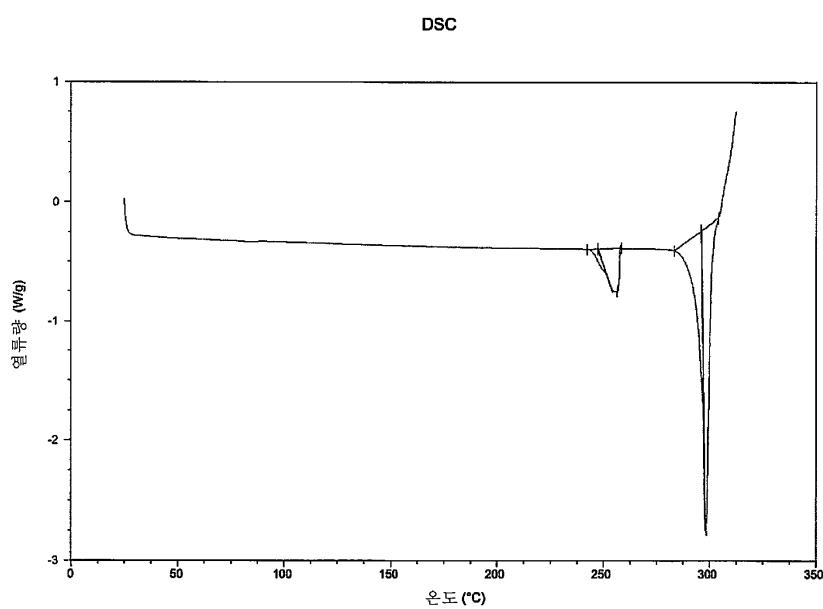
도면10a



도면10b

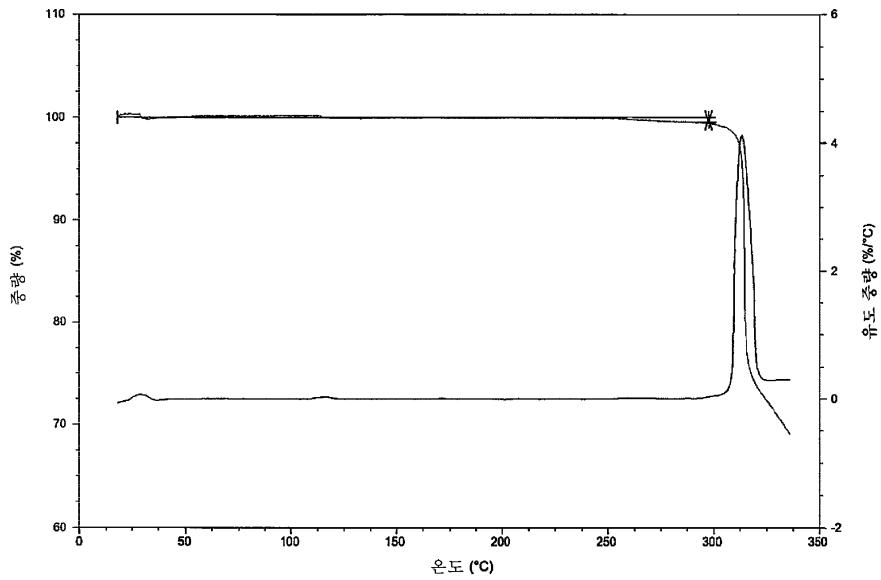


도면11

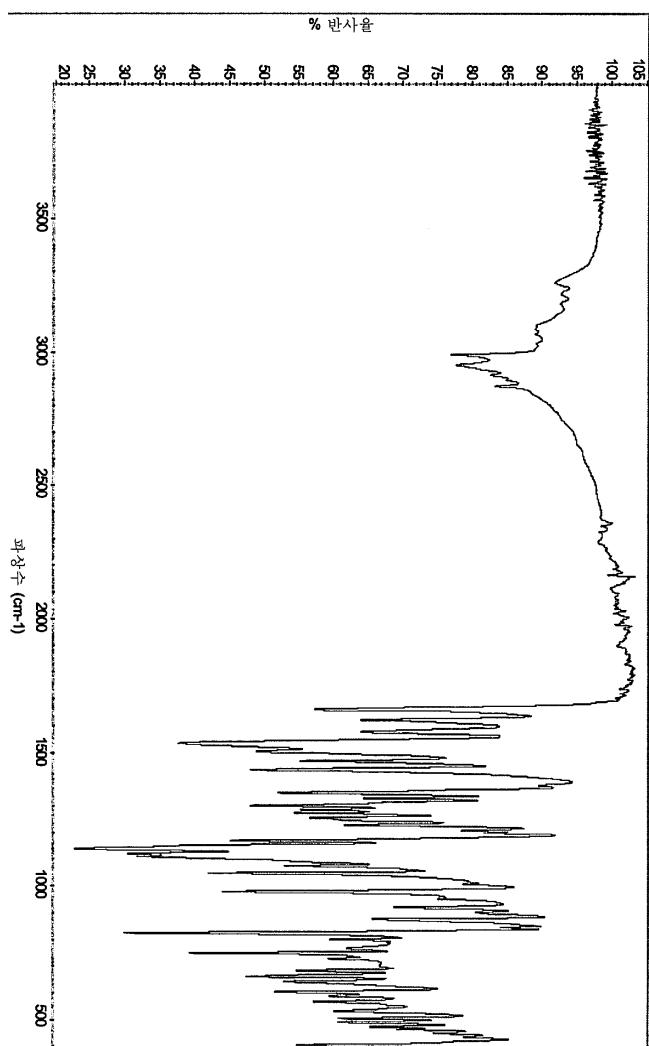


도면12

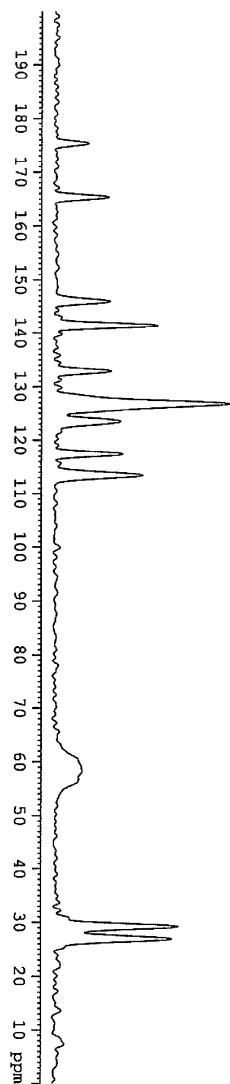
TGA



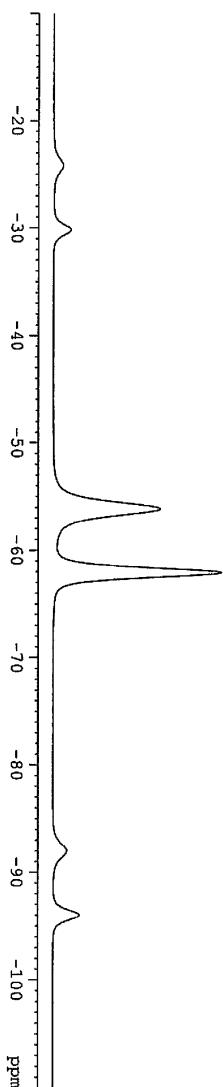
도면13



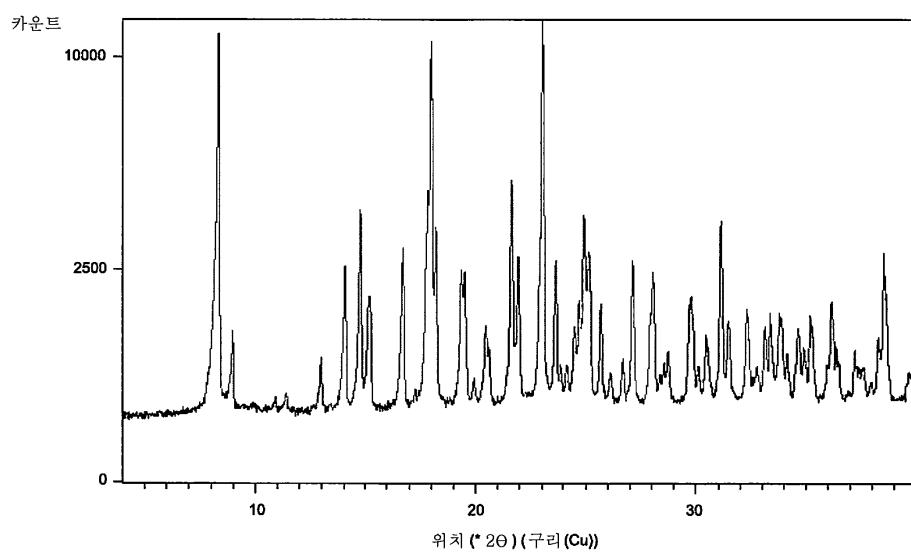
도면14



도면15

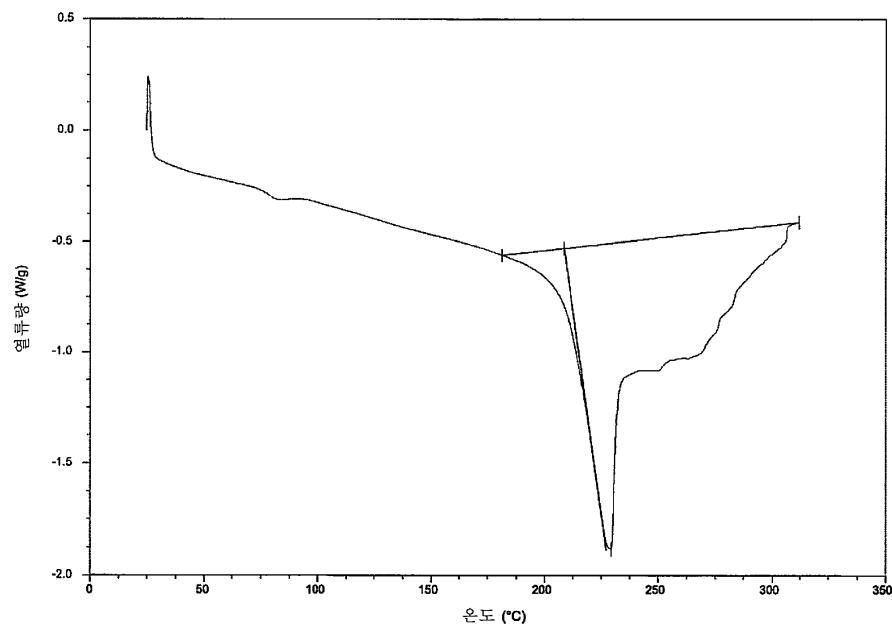


도면16



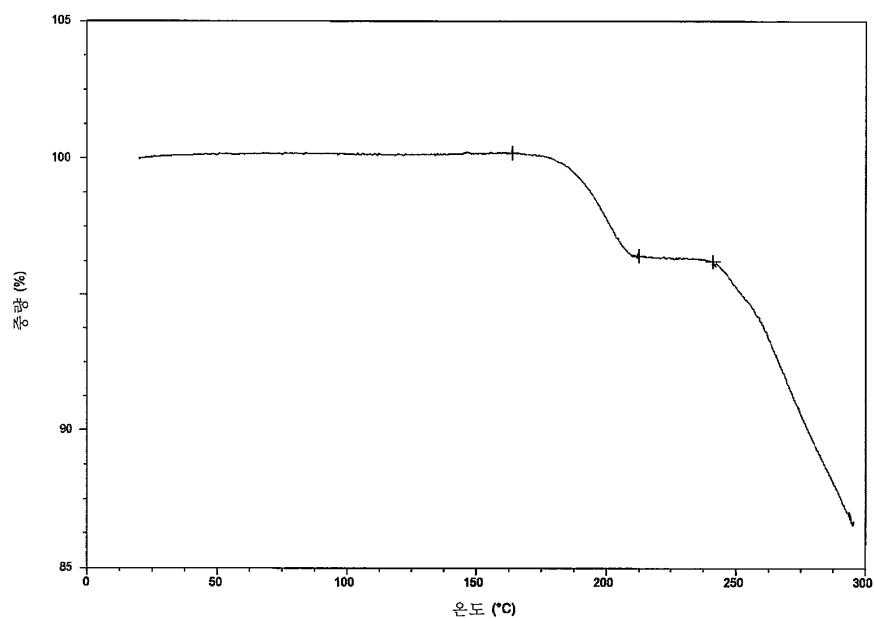
도면17

DSC

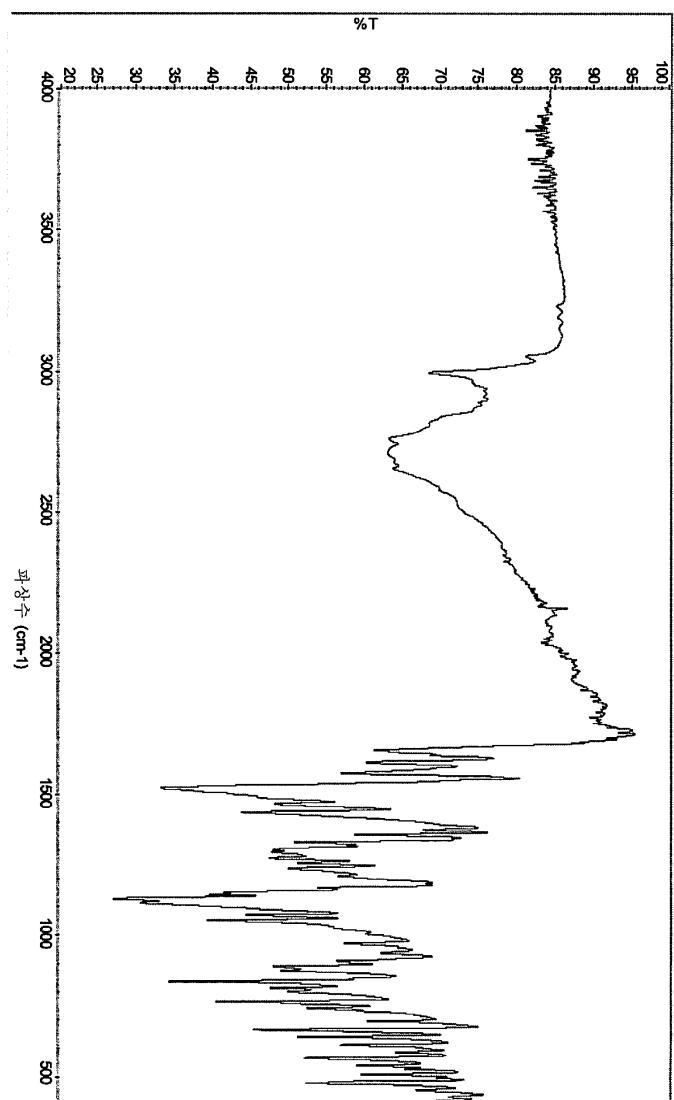


도면18

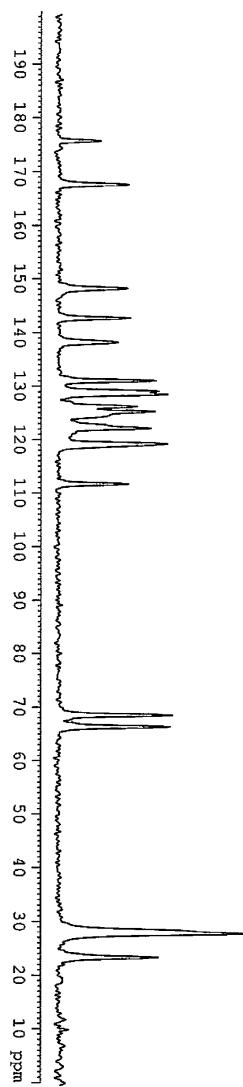
TGA



도면19



도면20



도면21

