(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년02월25일
(11) 등록번호 10-2220969
(24) 등록일자 2021년02월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/04 (2006.01) *A61K 31/437* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 471/04 (2013.01)
A61K 31/437 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7003401(분할)
(22) 출원일자(국제) 2013년02월25일
심사청구일자 2020년03월05일
(85) 번역문제출일자 2020년02월05일
(65) 공개번호 10-2020-0016993
(43) 공개일자 2020년02월17일
(62) 원출원 특허 10-2014-7023856
원출원일자(국제) 2013년02월25일
심사청구일자 2018년02월05일
(86) 국제출원번호 PCT/US2013/027648
(87) 국제공개번호 WO 2013/130402
국제공개일자 2013년09월06일
(30) 우선권주장
61/603,598 2012년02월27일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
VERL. Helvetica Chimica Acta, pp.162-173, 2002
WO2011046997 A1

(73) 특허권자
브리스톨-마이어스 스퀴 컴퍼니
미국 뉴저지 (우편번호 08540-4000) 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 피.오. 박스 4000
(72) 발명자
로버츠, 다니엘 리차드
미국 08903 뉴저지주 뉴브룬스윅 스퀴 드라이브 1 브리스톨-마이어스 스퀴 컴퍼니 내
샤츠맨, 리차드 레이먼드
미국 06492 코네티컷주 월링포드 클리프사이드 드라이브 27
웨이, 첸코우
미국 08903 뉴저지주 뉴브룬스윅 스퀴 드라이브 1 브리스톨-마이어스 스퀴 컴퍼니 내
(74) 대리인
양영준

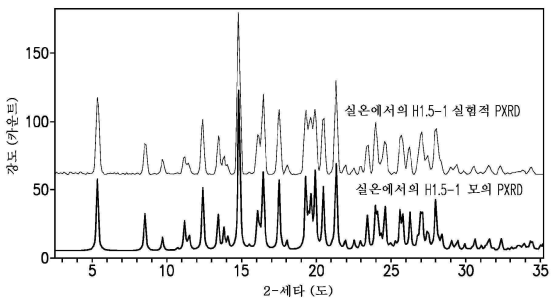
전체 청구항 수 : 총 2 항 심사관 : 신귀임

(54) 발명의 명칭 **N-(5S,6S,9R)-5-아미노-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일-4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트, 헤미술페이트 염**

(57) 요 약

화합물 (I)의 헤미술페이트 염 및 헤미술페이트 염의 결정질 형태가 개시된다. 또한, CGRP 수용체 길항제로서 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 사용하는 방법 및 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 포함하는 제약 조성물이 개시된다. 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 편두통 및 기타 두통, 신경성 혈관확장, 신경성 염증, 열 손상, 순환성 쇼크, 폐경기와 관련된 홍조, 기도 염증성 질환, 예컨대 천식, 및 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD)을 비롯한 장애를 치료, 예방 또는 개선하는데 유용하다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07B 2200/13 (2013.01)

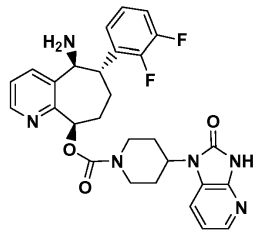
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는, CGRP 관련 장애의 치료가 필요한 대상체에서 CGRP 관련 장애를 치료하기 위한 제약 조성물이며:

<화학식 I>



,

여기서 상기 장애는 편두통성 두통, 신경성 혈관확장, 신경성 염증, 열 손상, 순환성 쇼크, 폐경기와 관련된 홍조, 기도 염증성 질환 또는 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD)이고;

화합물 (I)의 상기 염은

a) 하기와 동일한 단위 셀 파라미터:

셀 치수: a = 10.92 Å

b = 33.04 Å

c = 7.90 Å

α = 90 도

β = 90 도

γ = 90 도

공간군: $P2_12_12$

화합물 (I)의 분자/비대칭 단위: 1

부피 = 2851 $Å^3$

밀도 (계산치) = 1.423 g/cm^3

(여기서 상기 결정질 형태의 측정은 25℃의 온도에서 이루어짐);

b) 하기 패턴 1에 나타낸 패턴에 따르는 관측 분말 X선 회절 패턴;

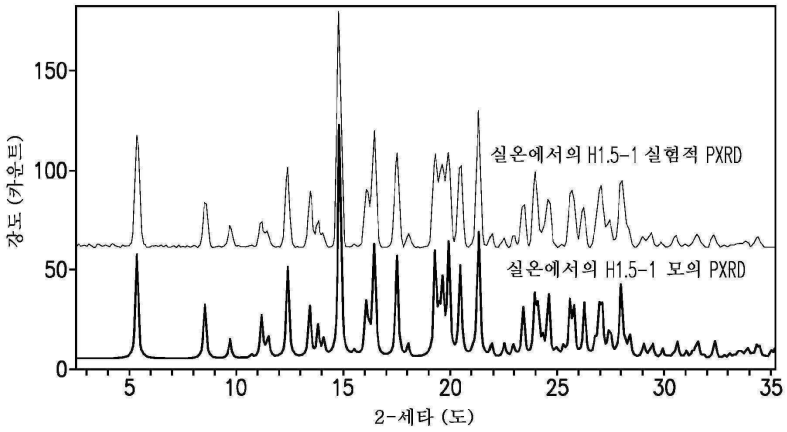
c) 하기 패턴 1에 나타낸 패턴에 따르는 모의 분말 X선 회절 패턴;

d) 5.4±0.1, 8.6±0.1, 9.7±0.1, 12.4±0.1, 14.9±0.1, 17.6±0.1, 18.1±0.1, 20.5±0.1, 21.4±0.1 및 22.0±0.1로부터 선택된 4개 이상의 2Θ 값을 포함하는 분말 X선 회절 패턴 (CuKα λ=1.5418Å) (여기서 결정질 형태의 측정은 25℃의 온도에서 이루어짐); 및/또는

e) 26.6±0.1, 27.1±0.1, 28.3±0.1, 30.7±0.1, 43.1±0.1, 45.9±0.1, 47.1±0.1, 52.0±0.1, 54.2±0.1, 72.5±0.1, 117.0±0.1, 117.7±0.1, 124.2±0.1, 125.2±0.1, 128.3±0.1, 130.3±0.1, 131.4±0.1, 134.1±0.1, 140.8±0.1, 144.7±0.1, 148.7±0.1, 149.8±0.1, 151.2±0.1, 153.4±0.1, 155.1±0.1, 155.6±0.1 및 156.7±0.1로부터 선택된 6개 이상의 피크 (TMS를 참조로 δ (ppm))를 포함하는 고체상 핵 자기 공명 스펙트럼

중 하나 이상을 특징으로 하는 결정질 형태 H1.5-1인 제약 조성물.

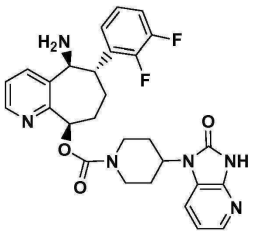
<패턴 1>



청구항 2

하기 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 및 제약상 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는, CGRP 관련 장애의 치료가 필요한 대상체에서 CGRP 관련 장애를 치료하기 위한 제약 조성물이며:

<화학식 I>



,

여기서 상기 장애는 편두통성 두통, 신경성 혈관확장, 신경성 염증, 열 손상, 순환성 쇼크, 폐경기와 관련된 홍조, 기도 염증성 질환 또는 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD)이고;

상기 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 1.5수화물인 제약 조성물.

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본원은 2012년 2월 27일자로 출원된 미국 가출원 일련 번호 61/603,598을 우선권 주장한다.

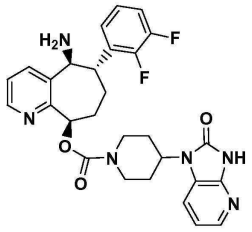
배 경 기 술

[0003] **본 발명의 배경**

[0004] 본원에서는 N-(5S,6S,9R)-5-아미노-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일-4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트의 헤미술페이트 염 및 그의 결정질 형태가 개시된다. 또한, N-(5S,6S,9R)-5-아미노-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일-4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트의 헤미술페이트 염을 포함하는 하나 이상의 제약 조성물 및 N-(5S,6S,9R)-5-아미노-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일-4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트의 헤미술페이트 염을 GRP-관련 장애, 예컨대 편두통성 두통 및 천식의 치료에 사용하는 하나 이상의 방법이 개시된다.

[0005] 화합물, N-(5S,6S,9R)-5-아미노-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일-4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트는 하기 화학식 I의 구조를 가지며:

[0006] <화학식 I>

[0007] 

[0008] 본원에서 "화합물 (I)"로 지칭된다. 화합물 (I), 화합물 (I)의 제조 방법 및 화합물 (I)을 이용한 치료 방법은 미국 특허 공개 2011/0251223 A1에 개시되어 있다. 이 참고문헌은 본 양수인에게 양도되며 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0009] 경구 제제의 유용성은, 특히 활성제가 생체이용가능한 정도 및 환자들 사이에서의 생체이용률의 일관성에 의존한다. 경구 투여된 약물의 생체이용률은 예를 들어 위장관에서의 약물의 용해도, 위장관에서의 약물의 안정성 및 위장관에서의 약물 흡수를 비롯한 다양한 인자에 의해 종종 영향을 받는다. 또한, 이러한 인자는 기타 약물의 공투여 및/또는 식품의 섭취에 의해 영향을 받을 수 있으며, 이는 경구 투여된 약물의 생체이용률의 가변성으로 이어질 수 있다. 또한, 활성제의 신속한 생체내 용해는 편두통성 두통과 같은 상태의 신속한 치료를 제공하는데 요구된다.

[0010] 화합물 (I)의 용해 속도는 수성 매질의 pH에 의존한다. 화합물 (I)은 pH 값 7에서보다 pH 값 1 및 5에서 더 높은 용해 속도를 갖는다. 화합물 (I)의 경구 투여에서, 용해 속도 및 그에 따른 화합물 (I)의 생체이용률은 위 내용물의 pH에 의해 영향을 받을 수 있다. 위의 정상 pH는 문헌 [C.J. Perigard, Clinical Analysis, Chapter 32, in Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Edition, A.R. Gennaro, editor; 2000, Lippinocott Williams & Wilkins, Baltimore, MD]따르면 1.2 내지 1.8 이다. 그러나, 환자는 화합물 (I)의 용해 속도를 늦출 수 있는 제산제, 양성자 펌프 억제제 및 H_2-수용체 길항제, 예컨대 파모티딘을 비롯한, 위의 pH를 증가시킬 수 있는 다른 의약을 종종 복용한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 전형적으로, 제약 조성물 제조하는데 있어서, 예를 들어 용해 속도, 용해도, 생체이용률 및/또는 저장 안정성과 같은 목적하는 특성이 균형을 이루는 활성 성분의 형태가 추구된다. 예를 들어, 활성 성분의 형태는, 제약 조성물의 생산, 제조 및/또는 저장 동안 충분히 가용성이고 생체이용가능한 형태가 바람직하지 않은 용해도 및/또는 생체이용률 프로파일을 갖는 또 다른 형태로 전환되는 것을 방지하기 위해 충분한 안정성, 용해도 및 생체이용률을 가지도록 추구된다. 예를 들어, 안정하고 주위 온도 및 습도 조건에서 낮은 흡습성을 갖는 활성 성분의 형태가 추구된다.

[0012] 또한, 활성 성분이 대규모 제조로 개조될 수 있는 방법에 의해 생산되도록 하는 활성 성분의 형태가 추구될 수

도 있다. 그러한 방법에서, 활성 성분은 예를 들어 여과 및 용이한 건조에 의해 활성 성분의 손쉬운 단리 및/또는 정제를 가능케 하는 형태인 것이 바람직하다.

[0013] 또한, 제조 경제가 중요하므로, 상기 형태의 제조시에 가능한 경우 보다 고가의 물질을 사용하는 것을 피하는 것이 바람직하다.

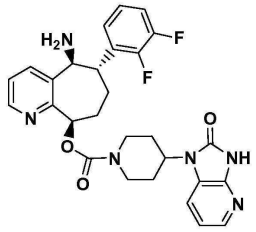
과제의 해결 수단

[0014] 본 출원인은 화합물 (I)의 생체이용률의 가변성을 놀랍게 감소시키는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염이 환자들 사이에서 생체이용률의 일관성을 제공하고/거나 환자에 대한 화합물 (I)의 생체이용률을 증가시킨다는 것을 발견하였다. 또한, 본 출원인은 화합물 (I)의 생체이용률의 가변성을 놀랍게 감소시키는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 결정질 형태가 환자들 사이에서 생체이용률의 일관성을 제공하고/거나 환자에 대한 화합물 (I)의 생체이용률을 증가시킨다는 것도 발견하였다. 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 및 그의 결정질 형태는 놀랍게도 제약 조성물에서 추구되는 특성의 균형을 제공한다. 본 발명은 또한 다른 중요 측면에 관한 것이다.

[0015] **발명의 개요**

[0016] 본 발명의 한 측면은 하기 화합물 (I)의 헤미술페이트 염이다:

[0017] <화학식 I>

[0018] 

[0019] 본 발명은 또한 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 결정질 형태를 제공한다.

[0020] 본 발명은 또한 제약상 허용되는 담체 및/또는 희석제 및 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0021] 본 발명은 또한 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 포유동물 환자에게 투여하는 것을 포함하는, CGRP 수용체의 활성과 관련된 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다.

[0022] 본 발명은 또한 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 및/또는 그의 결정질 형태를 제조하기 위한 방법 및 중간체를 제공한다.

[0023] 본 발명은 또한 요법에서 사용하기 위한 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 제공한다.

[0024] 본 발명은 또한 편두통성 두통, 신경성 혈관확장, 신경성 염증, 열 손상, 순환성 쇼크, 폐경기와 관련된 홍조, 기도 염증성 질환, 예컨대 천식, 및 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD)의 치료용 의약의 제조를 위한 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 제공한다.

[0025] 본 발명의 이들 및 다른 특징은 개시내용이 계속됨에 따라 확장된 형태로 설명될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 실시예 1의 형태 H1.5-1의 실험적 (실온에서의) 및 모의 (실온에서의) PXRD 패턴 (CuKα λ=1.5418Å)을 도시한다.

도 2는 실시예 1의 형태 H1.5-1의 시차 주사 열량측정법 프로파일을 도시한다.

도 3은 실시예 1의 형태 H1.5-1의 열중량 분석 프로파일을 도시한다.

도 4는 실시예 1의 형태 H1.5-1의 전하 분극 매직 앵글 스피닝(charge polarized magic angle spinning, CPMAS) NMR 스펙트럼을 도시한다.

도 5는 25℃에서의 실시예 1에 대한 등온 흡습 곡선을 도시한다. (X) 흡착; (■) 탈착.

도 6은 급식 상태 인공 장액 (FeSSIF)의 대략 5의 pH 값 및 공복 상태 인공 장액 (FaSSIF)의 대략 7의 pH 값에서 유리 염기로서의 화합물 (I) 및 화합물 (I)의 HCl 염에 대한 % 용해 대 시간을 도시한다.

도 7은 대략 1의 pH 값, 급식 상태 인공 장액 (FeSSIF)의 대략 5의 pH 값 및 공복 상태 인공 장액 (FaSSIF)의 대략 7의 pH 값에서 유리 염기로서의 화합물 (I) 및 화합물 (I)의 헤미술페이트 염에 대한 % 용해 대 시간을 도시한다.

도 8은 화합물 (I)의 투여 2시간 전 파모티딘 (40 mg)에 의한 전처리가 존재 및 부재하는, 인간에서의 경구 투여 후 화합물 (I) 유리 염기의 혈장 약동학을 도시한다. 화합물 (I)은 150 mg의 용량으로 투여되었다. (●) 화합물 (I) (nM); (◆) 파모티딘 전처리가 존재하는 화합물 (I) (nM). x-축은 시간(분)이다.

도 9는 개에서의 화합물 (I) 및 실시예 1의 경구 투여 후 화합물 (I)의 혈장 약동학을 도시한다. 화합물 (I) 및 실시예 1은 150 mg (또는 등가) 용량으로 경구 투여되었다. (◆) 화합물 (I) (nM) 및 펜타가스트린 (6 μm/km)에 의한 전처리; (■) 화합물 (I) 및 파모티딘 (40 mg); (▲) 실시예 1 (헤미술페이트 염) 및 파모티딘 (40 mg).

도 10은 실시예 1의 형태 P22C의 실험적 (실온에서의) PXRD 패턴을 도시한다 (CuKα λ=1.5418Å).

도 11은 실시예 1의 형태 P33의 실험적 (실온에서의) PXRD 패턴을 도시한다 (CuKα λ=1.5418Å).

도 12는 실시예 1의 형태 P35의 실험적 (실온에서의) PXRD 패턴을 도시한다 (CuKα λ=1.5418Å).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] **상세한 설명**

[0028] 본 발명의 특징 및 이점은 하기 상세한 설명을 읽음으로써 당업자에 의해 보다 용이하게 이해될 수 있다. 명확성을 위해, 개별 실시양태와 관련하여 상기 및 하기에 기재된 본 발명의 특정 특징이 조합되어 단일 실시양태를 형성할 수도 있음이 인지되어야 한다. 반대로, 간결성을 위해, 단일 실시양태와 관련하여 기재된 본 발명의 다양한 특징이 조합되어 그의 하위조합을 형성할 수도 있다.

[0029] 구체적 형태, 예를 들어 "H1.5-1", "P22C", "P33" 및 "P35"를 특성화하기 위해 본원에서 사용된 명칭은 단지 식별자이며, 이는 본원에 제시된 특성화 정보에 따라 해석되어야 하고, 유사하거나 동일한 물리적 및 화학적 특성을 보유한 임의의 다른 물질을 배제시키도록 제한되어서는 안된다.

[0030] 본원에 기재된 정의는 본원에 참조로 포함된 임의의 특허, 특허 출원 및/또는 특허 출원 공개에 기재된 정의보다 우선한다.

[0031] "약"이라는 단어가 앞에 기재된 성분의 양, 중량 백분율, 온도 등을 표시하는 모든 수는 단지 근사치로서, 명시된 수의 상하로 약간의 변형치를 사용하여 명시된 수와 실질적으로 동일한 결과를 달성할 수 있게 되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 달리 지시되지 않는 한, "약"이라는 단어가 앞에 기재된 수치 파라미터는 수득하고자 하는 목적 특성에 따라 달라질 수 있는 근사치이다. 적어도 특허청구범위의 범주에 대한 균등론의 적용을 제한하지 않으려는 시도로서, 각각의 수치 파라미터는 적어도 기록된 유효 자릿수의 수를 고려하여 일반적인 반올림 기법이 적용된 것으로 해석되어야 한다.

[0032] 모든 측정치는 실험 오차에 적용되고 본 발명의 취지 내에 있다.

[0033] 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 그의 제조에 후속하여 바람직하게는 단리되고 정제되어, 99 중량%, 바람직하게는 99.5 중량%, 보다 바람직하게는 99.9 중량% 이상의 양의 ("실질적으로 순수한") 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 함유하는 조성물이 수득되며, 이어서 본원에 기재된 바와 같이 사용되거나 제제화된다. 이러한 "실질적으로 순수한" 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 또한 본 발명의 일부로서 본원에서 고려된다.

[0034] 본원에 사용된 "다형체"는 화학 구조는 동일하지만 결정을 형성하는 분자 및/또는 이온의 공간 배열이 상이한 결정질 형태를 의미한다.

[0035] 본원에 사용된 "무정형"은 결정질이 아닌 분자 및/또는 이온의 고체 형태를 의미한다. 무정형 고체는 급격한 최대치를 갖는 확정적인 X-선 회절 패턴을 나타내지 않는다.

[0036] 본원에 사용된 용어 "실질적으로 순수한 결정질 형태"는 언급된 화합물 (I) 헤미술페이트 염의 결정질 형태가 화합물 (I) 헤미술페이트 염의 중량을 기준으로 하여 그 형태의 적어도 약 90 중량%를 함유하는 것을 의미한다.

용어 "적어도 약 90 중량%"는, 특허청구범위의 범주에 대한 균등론의 적용가능성을 제한하려 하지 않으면서, 예를 들어 화합물 (I) 헤미술페이트 염의 중량을 기준으로 하여 약 90, 90, 약 91, 91, 약 92, 92, 약 93, 93, 약 94, 94, 약 95, 95, 약 96, 96, 약 97, 97, 약 98, 98, 약 99, 99 및 약 100 중량%를 포함한다. 화합물 (I) 헤미술페이트 염의 나머지는 무정형 화합물 (I) 헤미술페이트 염을 비롯한 화합물 (I) 헤미술페이트 염의 다른 형태(들), 및/또는 예를 들어, 헤미술페이트 염이 제조될 때 및/또는 결정질 형태가 제조될 때 발생한 반응 불순물 및/또는 가공 불순물을 포함할 수 있다.

[0037] 반응 불순물 및/또는 가공 불순물의 존재는, 예를 들어 크로마토그래피, 핵 자기 공명 분광분석법, 질량 분광측정법 및/또는 적외선 분광분석법과 같은 당업계에 공지된 분석 기술에 의해 결정될 수 있다.

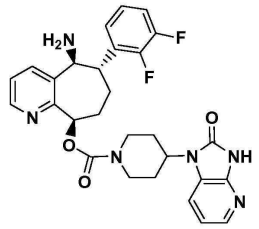
[0038] 본원에 사용된 파라미터 "분자/비대칭 단위"는 비대칭 단위 중 화합물 (I)의 분자의 수를 의미한다.

[0039] 본원에 사용된 단위 셀 파라미터 "분자/단위 셀"은 단위 셀 중 화합물 (I)의 분자의 수를 의미한다.

[0040] 본 발명은 본 발명의 화합물에서 발생하는 원자의 모든 동위원소를 포함하는 것으로 의도된다. 동위원소는 원자 번호는 동일하지만 질량수는 상이한 원자를 포함한다. 일반적 예로서 비제한적으로, 수소의 동위원소는 중수소 및 삼중수소를 포함한다. 탄소의 동위원소는 ^{13}C 및 ^{14}C를 포함한다. 동위원소-표지된 본 발명의 화합물은 일반적으로, 다른 경우에 사용되는 비-표지된 시약 대신에 적절한 동위원소-표지된 시약을 사용하여, 당업자에게 공지된 통상의 기술에 의해 또는 본원에 기재된 것과 유사한 방법에 의해 제조할 수 있다. 이러한 화합물은 다양한 잠재적 용도, 예를 들어 생물학적 활성의 측정에 있어서 표준물 및 시약으로서의 용도를 가질 수 있다. 안정한 동위원소의 경우에, 이러한 화합물은 생물학적, 약리학적 또는 약동학적 특성을 유리하게 변경하는 잠재력을 가질 수 있다.

[0041] 본 발명의 제1 측면은 하기 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 제공한다.

[0042] <화학식 I>

[0043] 

[0044] 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 화합물 (I)의 각 분자에 대해 0.5 H_2SO_4 분자의 비를 갖는 화합물 (I)의 산 염이고, (5S,6S,9R)-5-아미노-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일 4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트, 헤미술페이트 염이라는 명칭을 갖는다.

[0045] 한 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 화합물 (I)의 각 분자에 대해 1.5 물 분자 및 0.5 H_2SO_4 분자의 비를 갖는 1.5수화물로서 제공된다.

[0046] 한 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 결정질 형태로서 제공된다.

[0047] 한 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 형태 H1.5-1인 결정질 형태로서 제공된다. 이 결정질 형태는 화합물 (I)의 각 분자에 대해 1.5 물 분자 및 0.5 H_2SO_4 분자의 비를 갖는다.

[0048] 한 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 하기와 실질적으로 동일한 단위 셀 파라미터를 특징으로 한다:

[0049] 셀 치수: a = 10.92 Å

[0050] b = 33.04 Å

[0051] c = 7.90 Å

[0052] α = 90 도

[0053] β = 90 도

[0054] γ = 90 도

[0055] 공간군: $P2_12_12$

[0056] 화합물 (I)의 분자/비대칭 단위: 1

[0057] 부피 = 2851 $Å^3$

[0058] 밀도 (계산치) = 1.423 g/㎤,

[0059] 여기서 상기 결정질 형태의 측정은 약 25℃의 온도에서 이루어진다.

[0060] 한 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 실질적으로 도 1에 나타낸 패턴에 따르는 관측 분말 X선 회절 패턴을 특징으로 한다.

[0061] 한 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 실질적으로 도 1에 나타낸 패턴에 따르는 모의 분말 X선 회절 패턴을 특징으로 한다.

[0062] 한 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 5.4±0.1, 8.6±0.1, 9.7±0.1, 12.4±0.1, 14.9±0.1, 17.6±0.1, 18.1±0.1, 20.5±0.1, 21.4±0.1 및 22.0±0.1로부터 선택된 4개 이상, 바람직하게는 5개 이상의 2Θ 값을 포함하는 분말 X선 회절 패턴 (CuKα λ=1.5418Å)을 특징으로 하며, 여기서 결정질 형태의 측정은 약 25℃의 온도 에서 이루어진다.

[0063] 또 다른 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 실질적으로 도 4에 나타낸 스펙트럼에 따르는 고체상 핵 자기 공명 스펙트럼 (ssNMR)을 특징으로 한다.

[0064] 한 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 26.6±0.1, 27.1±0.1, 28.3±0.1, 30.7±0.1, 43.1±0.1, 45.9±0.1, 47.1±0.1, 52.0±0.1, 54.2±0.1, 72.5±0.1, 117.0±0.1, 117.7±0.1, 124.2±0.1, 125.2±0.1, 128.3±0.1, 130.3±0.1, 131.4±0.1, 134.1±0.1, 140.8±0.1, 144.7±0.1, 148.7±0.1, 149.8±0.1, 151.2±0.1, 153.4±0.1, 155.1±0.1, 155.6±0.1 및 156.7±0.1로부터 선택된 6개 이상, 바람직하게는 7개 이상의 피크 (TMS를 참조로 δ (ppm))를 포함하는 고체상 핵 자기 공명 스펙트럼을 특징으로 한다.

[0065] 추가 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 실질적으로 하기 표 1에 나열된 분율 원자 좌표를 특징으로 한다.

표 1

25℃에서 계산된 형태 H1.5-1의 분율 원자 좌표, 비-수소 원자의 원자 좌표 (x 10^4) 및 등가 등방성 변위 파라미터 ($Å^2$ x 10^3)

	x	y	z	U(eq)
C(1)	7702(3)	8678(1)	5047(4)	45(1)
C(2)	7665(3)	8376(1)	6299(4)	43(1)
C(3)	9272(3)	8790(1)	6797(4)	44(1)
C(4)	6025(4)	8432(1)	3770(5)	70(1)
C(5)	5920(4)	8128(1)	4927(5)	68(1)
C(6)	6764(3)	8087(1)	6238(5)	58(1)
C(7)	9084(3)	8223(1)	8839(4)	46(1)
C(8)	9695(3)	7827(1)	8327(5)	54(1)
C(9)	10218(3)	7622(1)	9881(5)	63(1)
C(10)	8686(4)	7945(1)	11700(4)	58(1)
C(11)	8134(3)	8159(1)	10190(4)	53(1)
C(12)	8697(3)	7218(1)	11470(4)	45(1)
C(13)	7480(3)	6816(1)	6484(5)	63(1)
C(14)	6737(4)	6498(1)	6034(5)	66(1)
C(15)	6572(3)	6186(1)	7183(5)	56(1)
C(16)	7163(3)	6198(1)	8726(4)	45(1)
C(17)	7940(3)	6527(1)	9039(4)	46(1)
C(18)	7080(3)	5870(1)	10058(4)	47(1)
C(19)	8201(3)	5591(1)	10055(4)	48(1)
C(20)	9403(3)	5815(1)	9660(5)	54(1)
C(21)	9708(3)	6200(1)	10646(5)	54(1)
C(22)	8709(3)	6526(1)	10646(4)	47(1)

[0066]

C(23)	8230(3)	5323(1)	11619(4)	49(1)
C(24)	8222(3)	4904(1)	11444(5)	64(1)
C(25)	8278(3)	4654(2)	12797(7)	85(1)
C(26)	8326(4)	4790(2)	14381(7)	88(1)
C(27)	8409(4)	5198(2)	14617(6)	87(1)
C(28)	8331(4)	5461(1)	13244(5)	72(1)
N(1)	8644(2)	8451(1)	7370(3)	45(1)
N(2)	8677(2)	8920(1)	5375(3)	48(1)
N(3)	6912(3)	8717(1)	3793(4)	60(1)
N(4)	9279(3)	7571(1)	11190(4)	53(1)
N(5)	8091(3)	6835(1)	7965(4)	54(1)
N(6)	5959(2)	5617(1)	9862(4)	53(1)
O(1)	10190(2)	8933(1)	7438(3)	62(1)
O(2)	7746(2)	7179(1)	12241(3)	62(1)
O(3)	9356(2)	6904(1)	10833(3)	51(1)
O(4)	3908(2)	4985(1)	7592(3)	66(1)
O(5)	4930(3)	5364(1)	5467(3)	75(1)
S(1)	5000	5000	6494(1)	46(1)
O(1S)	5000	5000	2134(5)	82(1)
O(2S)	3401(3)	5784(1)	8737(4)	80(1)
F(1)	8437(3)	5844(1)	13581(3)	87(1)
F(2)	8604(4)	5343(1)	16124(4)	108(1)
F(1A)	8206(8)	4781(5)	9853(10)	114(6)
F(2A)	8316(9)	4256(2)	12660(30)	159(8)

* 디플루오로페닐 고리는 0.817(5) 및 0.183(5)의 점유율로

[0067] 두 배향 (F1/F1A, F2/F2A)에 걸쳐 결정에서 무질서한 것으로 발견된다.

표 2

25℃에서 계산된 형태 H1.5-1의 분율 원자 좌표, 수소 원자의 원자 좌표 ($x\ 10^4$) 및 등가 등방성 변위 파라미터 ($Å^2 \times 10^3$)

	x	y	z	U(eq)
H(4)	5448	8444	2906	84
H(5)	5274	7946	4840	82
H(6)	6720	7877	7021	69
H(7)	9727	8389	9355	55
H(8A)	9099	7650	7791	64
H(8B)	10345	7880	7520	64
H(9A)	10543	7359	9569	76
H(9B)	10887	7783	10327	76
H(10A)	9281	8121	12238	70
H(10B)	8047	7886	12517	70
H(11A)	7467	7998	9738	63
H(11B)	7803	8418	10541	63
H(13)	7567	7029	5727	76
H(14)	6353	6493	4984	80
H(15)	6064	5969	6916	67
H(18)	7040	6002	11167	56
H(19)	8075	5406	9102	58
H(20A)	10071	5626	9831	65
H(20B)	9395	5884	8467	65
H(21A)	10450	6316	10175	65
H(21B)	9882	6126	11809	65
H(22)	8173	6486	11626	56
H(24)	8191	4792	10344	77
H(25)	8243	4381	12622	101
H(26)	8303	4613	15296	106
H(2)	8891	9125	4774	57
H(6A)	6054	5449	8992	80
H(6B)	5316	5777	9675	80
H(6C)	5836	5475	10803	80
H(1SA)	4864	5219	2659	123
H(2SA)	3380	5533	8525	120
H(2SB)	2905	5909	8107	120

[0068]

[0069] 추가 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 실질적으로 도 2에 나타낸 것에 따르는 DSC 온도기록도를 특징으로 한다.

[0070] 또 다른 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 형태 H1.5-1이 약 200℃의 온도로 가열될 때 대략 4-5 중량%의 중량 손실을 경험하는 것인 TGA 온도기록도를 특징으로 한다.

[0071] 추가 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 실질적으로 도 3에 나타낸 것과 동일한 TGA 온도기록도를 나타낸다.

[0072] 또 다른 실시양태에서, 형태 H1.5-1은 실질적으로 순수한 결정질 형태로 제공된다.

[0073] 추가 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 헤미술페이트 염의 중량을 기준으로 하여 적어도 약 90 중량%, 바람직하게는 적어도 약 95 중량%, 보다 바람직하게는 적어도 약 99 중량%의 형태 H1.5-1을 함유한다.

[0074] 추가 실시양태에서, 실질적으로 순수한 형태 H1.5-1은 실험적으로 측정된 PXRD 패턴의 총 피크 면적의 약 10% 미만, 바람직하게는 약 5% 미만, 보다 바람직하게는 약 2% 미만이 모의 PXRD 패턴에는 없는 피크로부터 발생된 것인 실질적으로 순수한 상 균질성(phase homogeneity)을 갖는다. 가장 바람직하게는, 실질적으로 순수한 형태

H1.5-1은 실험적으로 측정된 PXRD 패턴의 전체 피크 면적의 약 1% 미만이 모의 PXRD 패턴에는 없는 피크로부터 발생된 것인 실질적으로 순수한 상 균질성을 갖는다.

[0075] 또 다른 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 본질적으로 형태 H1.5-1로 이루어진다. 이러한 실시양태의 결정질 형태는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 중량을 기준으로 하여 적어도 약 90 중량%, 바람직하게는 적어도 약 95 중량%, 보다 바람직하게는 적어도 약 99 중량%를 포함할 수 있다.

[0076] 또 다른 실시양태에서, 제약 조성물은 형태 H1.5-1의 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 및 하나 이상의 제약상 허용되는 담체 및/또는 희석제를 포함한다.

[0077] 한 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 P22C인 결정질 형태로서 제공된다. 이 결정질 형태는 화합물 (I)의 각 분자에 대해 1.5 물 분자 및 0.5 H_2SO_4 분자의 비를 갖는 1.5수화물이다.

[0078] 한 실시양태에서, 형태 P22C는 실질적으로 도 10에 나타낸 패턴에 따르는 관측 분말 X선 회절 패턴을 특징으로 한다.

[0079] 한 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 화합물 (I)의 각 분자에 대해 1 물 분자 및 0.5 H_2SO_4 분자의 비를 갖는 1수화물로서 제공된다.

[0080] 한 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 형태 P33인 결정질 형태로서 제공된다. 이 결정질 형태는 화합물 (I)의 각 분자에 대해 1 물 분자 및 0.5 H_2SO_4 분자의 비를 갖는다.

[0081] 한 실시양태에서, 형태 P33은 실질적으로 도 11에 나타낸 패턴에 따르는 관측 분말 X선 회절 패턴을 특징으로 한다.

[0082] 화합물 (I)은 CGRP 수용체 길항제로서 적합하고, 편두통성 두통, 신경성 혈관확장, 신경성 염증, 열 손상, 순환성 쇼크, 폐경기와 관련된 홍조, 기도 염증성 질환, 예컨대 천식, 및 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD)을 비롯한 CGRP 관련 장애의 치료에 유용하다.

[0083] 칼시토닌 유전자-관련 펩티드 (CGRP)는 1982년에 처음 확인된 자연 발생 37-아미노산 펩티드이다 (문헌 [Amara, S. G. et al., Science 1982, 298, 240-244]). 래트 및 인간에서 각각 1개 및 3개의 아미노산이 상이한 2가지 형태의 펩티드가 발현된다 (αCGRP 및 βCGRP). 상기 펩티드는 말초 신경계 (PNS) 및 중추 신경계 (CNS) 둘 다에 광범위하게 분포되어 있으며, 주로 감각 구심성 뉴런 및 중추 뉴런에 국재화되어, 혈관확장을 비롯한 수많은 생물학적 효과를 나타낸다.

[0084] 세포로부터 방출되는 경우, CGRP는 특이적 세포 표면 G 단백질-커플링된 수용체에 결합하여, 주로 세포내 아데닐레이트 시클라제의 활성화에 의해 그의 생물학적 작용을 발휘한다 (문헌 [Poyner, D. R. et al., Br J Pharmacol 1992, 105, 441-7]; [Van Valen, F. et al., Neurosci Lett 1990, 119, 195-8]). 펩티드 단편 CGRP(8-37)의 길항제 특성 및 CGRP2 수용체를 활성화시키는 CGRP의 선형 유사체의 능력을 기준으로 하여, 2가지 부류의 CGRP 수용체인 CGRP1 및 CGRP2 수용체가 제안된 바 있다 (문헌 [Juaneda, C. et al., TiPS 2000, 21, 432-438]). 그러나, CGRP2 수용체에 대한 분자적인 증거가 결여되어 있다 (문헌 [Brain, S. D. et al., TiPS 2002, 23, 51-53]). CGRP1 수용체는 하기 3가지 구성요소를 갖는다: (i) 7 막횡단 칼시토닌 수용체-유사 수용체 (CRLR); (ii) 단일 막횡단 수용체 활성 조절 단백질 유형 1 (RAMP1); 및 (iii) 세포내 수용체 구성요소 단백질 (RCP) (문헌 [Evans B. N. et al., J Biol Chem. 2000, 275, 31438-43]). RAMP1은 CRLR의 형질 막으로의 수송 및 CGRP-수용체에 대한 리간드 결합에 필요하다 (문헌 [McLatchie, L. M. et al., Nature 1998, 393, 333-339]). RCP는 신호 전달에 필요하다 (문헌 [Evans B. N. et al., J Biol Chem. 2000, 275, 31438-43]). CGRP-수용체에 대한 소분자 길항제의 결합에는 공지된 종-특이적 차이가 존재하며, 다른 종에 대해서보다 인간 수용체의 길항작용에 대해 전형적으로 더 큰 친화성을 나타낸다 (문헌 [Brain, S. D. et al., TiPS 2002, 23, 51-53]). RAMP1의 아미노산 서열은 종 선택성을 결정하고, 특히 아미노산 잔기 Trp74는 인간 수용체의 표현형을 담당한다 (문헌 [Mallee et al., J Biol Chem 2002, 277, 14294-8]).

[0085] CGRP에 대한 수용체 수준에서의 억제제는 과도한 CGRP 수용체 활성화가 발생하는 병리생리학적 상태에서 유용할 것으로 가정된다. 이들 중 일부는 신경성 혈관확장, 신경성 염증, 편두통, 군발성 두통 및 기타 두통, 열 손상, 순환성 쇼크, 폐경기 홍조, 및 천식을 포함한다. CGRP 수용체 활성화는 편두통성 두통의 발병기전과 관련되었다 (문헌 [Edvinsson L. CNS Drugs 2001;15(10):745-53]; [Williamson, D. J. Microsc. Res. Tech. 2001, 53, 167-178]; [Grant, A. D. Brit. J. Pharmacol. 2002, 135, 356-362]). 편두통 동안 CGRP의 혈청

수준이 상승되며 (문헌 [Goadsby PJ, et al., Ann Neurol 1990;28:183-7]), 항-편두통 약물을 사용한 치료는 두통의 완화와 동시에 CGRP의 수준을 정상으로 회복시킨다 (문헌 [Gallai V. et al., Cephalalgia 1995;15: 384-90]). 편두통 환자는 대조군에 비해 상승된 기저 CGRP 수준을 나타낸다 (문헌 [Ashina M, et al., Pain 2000, 86(1-2):133-8.2000]). 정맥내 CGRP 주입은 편두통 환자에서 지속적인 두통을 발생시킨다 (문헌 [Lassen LH, et al., Cephalalgia 2002 Feb;22(1):54-61]). 개 및 래트에서의 전임상 연구는 펩티드 길항제 CGRP(8-37)을 사용한 전신 CGRP 차단이 휴지성 전신 혈류역학 및 국소 혈류를 변경시키지 않는 것으로 보고하고 있다 (문헌 [Shen, Y-T. et al., J Pharmacol Exp Ther 2001, 298, 551-8]). 따라서, CGRP-수용체 길항제는 비-선택적 5-HT1B/1D 효능제인 '트립탄(triptan)' (예컨대 수마트립탄)과 관련된 활성 혈관수축의 심혈관 책임을 피하는 새로운 편두통 치료법을 제공할 수 있다.

[0086] CGRP 길항제는 인간 임상 시험에서 효능을 나타내었다. 문헌 [Davis CD, Xu C. Curr Top Med Chem. 2008 8(16):1468-79]; [Benemei S, Nicoletti P, Capone JG, Geppetti P. Curr Opin Pharmacol. 2009 9(1):9-14. Epub 2009 Jan 20]; [Ho TW, Ferrari MD, Dodick DW, Galet V, Kost J, Fan X, Leibensperger H, Froman S, Assaid C, Lines C, Koppen H, Winner PK. Lancet. 2008 372:2115. Epub 2008 Nov 25]; [Ho TW, Mannix LK, Fan X, Assaid C, Furtek C, Jones CJ, Lines CR, Rapoport AM; Neurology 2008 70:1304. Epub 2007 Oct 3]을 참조한다.

[0087] **제약 조성물 및 치료 방법**

[0088] 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 CGRP 수용체를 억제한다. 이에 따라 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 CGRP의 비정상적 수준과 관련된 상태 또는 장애를 치료하는데, 또는 CGRP 수준을 조절하는 것이 치료 이익을 가질 수 있는 경우에 유용하다.

[0089] 따라서, 본 발명의 또 다른 측면은 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 제약상 허용되는 보조제, 담체 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 조성물이다.

[0090] 한 실시양태는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 1.5수화물을 제약상 허용되는 보조제, 담체 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0091] 한 실시양태는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 결정질 형태를 제약상 허용되는 보조제, 담체 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0092] 한 실시양태는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 1.5수화물의 결정질 형태를 제약상 허용되는 보조제, 담체 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0093] 한 실시양태는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 형태 H1.5-1을 제약상 허용되는 보조제, 담체 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0094] 화합물은 일반적으로 치료 유효량의 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 및 제약상 허용되는 담체로 구성되며 통상적인 부형제를 함유할 수 있는 제약 조성물로서 제공된다. 치료 유효량은 당업계에서 진료의에 의해 결정된 바와 같은 의미있는 환자 이익을 제공하는데 필요한 양이다. 제약상 허용되는 담체는 허용되는 안전성 프로파일을 갖는 통상적으로 공지된 담체이다. 조성물은, 캡슐, 정제, 로젠지 및 분말 뿐만 아니라 액체 현탁액, 시럽, 엘릭시르 및 용액을 비롯한 모든 통상의 고체 및 액체 형태를 포함한다. 고체 조성물은 적시 또는 지속 방출 제제로 형성될 수 있다. 조성물은 통상의 제제화 기술 및 통상의 부형제 (예컨대, 결합제 및 습윤제) 및 비히클 (예컨대, 물 및 알콜)을 사용하여 제조된다.

[0095] 고체 조성물은 보통 용량 당 활성 성분 약 1 내지 약 1000 mg을 제공하는 투여 단위로 제제화된다. 고체 투여 단위의 일부 예는 0.1 mg, 1 mg, 10 mg, 100 mg, 500 mg 및 1000 mg이다. 액체 조성물은 일반적으로 1-100 mg/㎖의 단위 투여 범위를 갖는다. 액체 투여 단위의 일부 예는 0.1 mg/㎖, 1 mg/㎖, 10 mg/㎖, 25 mg/㎖, 50 mg/㎖ 및 100 mg/㎖이다.

[0096] 한 실시양태에서, 경구 투여 형태는 화합물 (I)의 70 내지 750 mg을 화합물 (I)의 헤미술페이트 염으로서 제공한다. 화합물 (I)의 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 500 mg 및 750 mg을 화합물 (I)의 헤미술페이트 염으로서 갖는 경구 투여 형태가 이러한 실시양태에 포함된다.

[0097] 한 실시양태에서, 경구 투여 형태는 화합물 (I)의 70 내지 750 mg을 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 형태 H1.5-1로서 제공한다. 화합물 (I)의 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 500 mg 및 750 mg을 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 형태 H1.5-1로서 갖는 경구 투여 형태가 이러한 실시양태에 포함

된다.

[0098] 한 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 1일 1회 투여된다. 적합한 용량은 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 형태 H1.5-1로서 화합물 (I)의 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 500 mg 및 750 mg을 포함한다.

[0099] 한 실시양태에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 1일 2회 투여된다. 적합한 용량은 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 형태 H1.5-1로서 화합물 (I)의 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 500 mg 및 750 mg을 포함한다.

[0100] 본 발명은 경구, 비경구, 비강내, 설하 및 경피 방법을 비롯한 모든 통상적인 투여 방식을 포함한다. 전형적으로, 1일 용량은 1일 체중 1 kg 당 0.01 내지 100 mg일 것이다. 일반적으로, 경구로 보다 많은 화합물이 요구되며, 비경구로 보다 적은 화합물이 요구된다. 그러나, 구체적인 투여 요법은 의사의 타당한 의학적 판단에 의해 결정되어야 한다.

[0101] CGRP에 대한 수용체 수준에서의 억제제는 과도한 CGRP 수용체 활성화가 발생하는 병리생리학적 상태에서 유용할 것으로 가정된다. 이들 중 일부는 신경성 혈관확장, 신경성 염증, 편두통, 군발성 두통 및 기타 두통, 열 손상, 순환성 쇼크, 폐경기 홍조, 및 천식을 포함한다. CGRP 수용체 활성화는 편두통성 두통의 발병기전과 관련이 있다 (문헌 [Edvinsson L. CNS Drugs 2001, 15(10),745-53]; [Williamson, D. J. Microsc. Res. Tech. 2001, 53, 167-178]; [Grant, A. D. Brit. J. Pharmacol. 2002, 135, 356-362]). 편두통 동안 CGRP의 혈청 수준이 상승되며 (문헌 [Goadsby P. J. et al., Ann. Neurol. 1990, 28, 183-7]), 항-편두통 약물을 사용한 치료는 두통의 완화와 동시에 CGRP의 수준을 정상으로 회복시킨다 (문헌 [Gallai V. et al., Cephalalgia 1995, 15, 384-90]). 편두통 환자는 대조군에 비해 상승된 기저 CGRP 수준을 나타낸다 (문헌 [Ashina M. et al., Pain 2000, 86(1-2), 133-8]). 정맥내 CGRP 주입은 편두통 환자에서 지속적인 두통을 발생시킨다 (문헌 [Lassen L.H. et al., Cephalalgia. 2002, 22(1), 54-61]). 개 및 래트에서의 전임상 연구는 펩티드 길항제 CGRP(8-37)을 사용한 전신 CGRP 차단이 휴지성 전신 혈류역학 및 국소 혈류를 변경시키지 않는 것으로 보고하고 있다 (문헌 [Shen, Y-T. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001, 298, 551-8]). 따라서, CGRP-수용체 길항제는 비-선택적 5-HT1B/1D 효능제인 "트립탄(triptan)" (예컨대 수마트립탄)과 관련된 활성 혈관수축의 심혈관 책임을 피하는 새로운 편두통 치료법을 제공할 수 있다.

[0102] 본 발명의 또 다른 측면은 CGRP 수용체를 화합물 (I)의 헤미술페이트 염과 접촉시키는 것을 포함하는, CGRP 수용체를 억제하는 방법이다.

[0103] 한 실시양태는 CGRP 수용체를 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 1.5수화물과 접촉시키는 것을 포함하는, CGRP 수용체를 억제하는 방법을 제공한다.

[0104] 한 실시양태는 CGRP 수용체를 결정질의 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 1.5 수화물과 접촉시키는 것을 포함하는, CGRP 수용체를 억제하는 방법을 제공한다.

[0105] 한 실시양태는 CGRP 수용체를 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 형태 H1.5-1과 접촉시키는 것을 포함하는, CGRP 수용체를 억제하는 방법을 제공한다.

[0106] 본 발명의 또 다른 측면은 치료 유효량의 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, CGRP의 비정상적 수준과 관련된 상태를 치료하는 방법이다.

[0107] 본 발명의 또 다른 측면은 CGRP의 비정상적 수준과 관련된 상태의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 용도이다.

[0108] 본 발명의 또 다른 측면은 편두통 또는 두통을 치료하는 방법이다.

[0109] 본 발명의 또 다른 측면은 본원에서 정의된 바와 같은 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 포함하는 제약 조성물을 투여함으로써 CGRP 수용체의 길항작용에 의해 치료가 달성될 수 있는 염증 (특히 신경성 염증), 통증, 열 손상, 순환 쇼크, 당뇨병, 레이노 증후군(Reynaud's syndrome), 말초 동맥 부전, 지주막하/두개 출혈, 종양 성장, 폐경기와 관련된 홍조 및 기타 상태를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0110] 본 발명의 또 다른 측면은 (a) 소화관 점막에서의 면역 조절, (b) 심장 아나필락시스성 손상에 대한 보호 효과, (c) 골 재흡수의 인터류킨-1b(IL-1b)-자극의 촉진 또는 방지, (d) 척추 뉴런에서의 NK1 수용체의 발현의 조절 및 (e) 기도 염증성 질환 및 만성 폐쇄성 폐 질환 (천식 포함)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법에 관한

것이다. 하기 문헌을 참조한다:

(a) Calcitonin Receptor-Like Receptor Is Expressed on Gastrointestinal Immune Cells. Hagner, Stefanie; Knauer, Jens; Haberberger, Rainer; Goeke, Burkhard; Voigt, Karlheinz; McGregor, Gerard Patrick. Institute of Physiology, Philipps University, Marburg, Germany. Digestion (2002), 66(4), 197-203; (b) Protective effects of calcitonin gene-related peptide-mediated evodiamine on guinea-pig cardiac anaphylaxis. Rang, Wei-Qing; Du, Yan-Hua; Hu, Chang-Ping; Ye, Feng; Tan, Gui-Shan; Deng, Han-Wu; Li, Yuan-Jian. School of Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmacology, Central South University, Xiang-Ya Road 88, Changsha, Hunan, Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology (2003), 367(3), 306-311; (c) The experimental study on the effect calcitonin gene-related peptide on bone resorption mediated by interleukin-1. Lian, Kai; Du, Jingyuan; Rao, Zhenyu; Luo, Huaican. Department of Orthopedics, Xiehe Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Peop. Rep. China. Journal of Tongji Medical University (2001), 21(4), 304-307, (d) Calcitonin gene-related Peptide regulates expression of neurokinin1 receptors by rat spinal neurons. Seybold VS, McCarson KE, Mermelstein PG, Groth RD, Abrahams LG. J. Neurosci. 2003 23 (5): 1816-1824. Department of Neuroscience, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota 55455, and Department of Pharmacology, Toxicology, and Therapeutics, University of Kansas Medical Center, Kansas City, Kansas 66160 (e) Attenuation of antigen-induced airway hyperresponsiveness in CGRP-deficient mice. Aoki-Nagase, Tomoko; Nagase, Takahide; Oh-Hashi, Yoshio; Shindo, Takayuki; Kurihara, Yukiko; Yamaguchi, Yasuhiro; Yamamoto, Hiroshi; Tomita, Tetsuji; Ohga, Eijiro; Nagai, Ryozo; Kurihara, Hiroki; Ouchi, Yasuyoshi. Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan. American Journal of Physiology (2002), 283(5,Pt. 1), L963-L970; (f) Calcitonin gene-related peptide as inflammatory mediator. Springer, Jochen; Geppetti, Pierangelo; Fischer, Axel; Groneberg, David A. Charite Campus-Virchow, Department of Pediatric Pneumology and Immunology, Division of Allergy Research, Humboldt-University Berlin, Berlin, Germany. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics (2003), 16(3), 121-130; 및 (g) Pharmacological targets for the inhibition of neurogenic inflammation. Helyes, Zsuzsanna; Pinter, Erika; Nemeth, Jozsef; Szolcsanyi, Janos. Department of Pharmacology and Pharmacotherapy, Faculty of Medicine, University of Pecs, Pecs, Hung. Current Medicinal Chemistry: Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents (2003), 2(2), 191-218.

[0111]

[0112] 본 발명의 또 다른 측면은 편두통의 치료를 위한, COX-2 억제제, NSAID, 아스피린, 아세트아미노펜, 트립탄, 에르고타민 및 카페인으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 작용제와 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 조합물을 사용하는 치료 방법에 관한 것이다.

[0113] "편두통", "두통" 및 관련 용어는 진료의에 의해 이해되는 것과 같다. 편두통은 일반, 고전적, 군발성, 전격성, 편마비성, 안근마비성 및 안성을 비롯한 모든 부류의 편두통을 포괄한다.

[0114] "치료 유효량"은 단독으로 또는 추가의 치료제와 조합하여 투여시 질환 및/또는 상태 및/또는 질환 및/또는 상태의 진행을 예방, 억제 및/또는 개선하는데 유효한 양을 의미한다.

[0115] "환자"는 진료의에 의해 결정되는 것과 같이 치료로부터 이익을 얻을 수 있는 사람을 의미한다.

[0116] **실시예**

[0117] 본 발명은 하기 실시예에서 추가로 정의된다. 실시예는 단지 예시의 방식으로 주어지는 것임을 이해해야 한다. 상기 논의 및 실시예로부터, 당업자는 본 발명의 본질적인 특징을 확인할 수 있으며, 본 발명의 취지 및 범주에

서 벗어나지 않으면서, 본 발명을 다양한 용도 및 조건에 적합하도록 다양하게 변화 및 변형시킬 수 있다. 결과적으로, 본 발명은 하기 기재된 예시적인 실시예에 의해 제한되지 않으며, 본원에 첨부된 특허청구범위에 의해 규정된다.

[0118] **약어**

[0119] DMSO 디메틸술폭시드

[0120] EDTA 에틸렌디아민테트라아세트산

[0121] eq 당량

[0122] ESI 전기분무 이온화 질량 분광분석법

[0123] g 그램

[0124] h 시간

[0125] L 리터

[0126] LCMS 액체 크로마토그래피 질량 분광측정법

[0127] M 몰

[0128] mg 밀리그램

[0129] min 분

[0130] mℓ 밀리리터

[0131] mmol 밀리몰

[0132] MS 질량 분광측정법

[0133] N 노르말

[0134] NaHMDS 나트륨 비스(트리메틸실릴)아미드

[0135] NCS N-클로로숙신이미드

[0136] NMR 핵 자기 공명 분광분석법

[0137] RT 체류 시간

[0138] ssNMR 고체상 핵 자기 공명

[0139] TBAF 테트라부틸암모늄 플루오라이드

[0140] TFA 트리플루오로아세트산

[0141] THF 테트라히드로푸란

[0142] TIPSO 트리이소프로필실릴옥시

[0143] TMS 테트라메틸실란

[0144] μℓ 마이크로리터

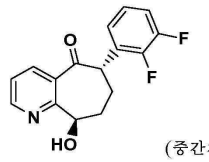
[0145] ℃ 섭씨 온도

[0146] 양성자 자기 공명 (^{1}H NMR) 스펙트럼은 브루커(Bruker) AC 300 또는 AC 500에서 기록하였다. 모든 스펙트럼은 나타낸 용매 중에서 측정하였고, 화학적 이동은 내부 표준 테트라메틸실란 (TMS)으로부터 δ 단위 다운필드로 기록하고, 양성자간 커플링 상수는 헤르츠 (Hz)로 기록하였다. 분할 패턴은 하기와 같이 표기된다: s, 단일선; d, 이중선; t, 삼중선; q, 사중선; m, 다중선; br, 광범위한 피크. 저해상도 질량 스펙트럼 (MS) 및 겉보기 분자 (MH^+) 또는 $(M-H)^+$는 마이크로매스(Micromass) 플랫폼에서 측정하였다. 원소 분석은 중량%로 기록하였다. 생성물은 정제용 HPLC에 의해, 칼럼 YMC S5 ODS (30 x 100 mm)를 사용하여, 40.0 mℓ/분의 유량 및 8.0분의 구배 시간으로, 40% 메탄올-60% 물-0.1% TFA의 용매 조성으로부터 시작하여 95% 메탄올-5% 물-0.1% TFA의 용매 조

성으로 종료하도록 하여 정제하였다. 생성물은 HPLC 기기에 의해, XTERA 칼럼 (3.0 x 50 mm S7)을 사용하여, 2분의 구배 시간에 걸쳐, 용매 A (10% 메탄올-90% 물-0.1% 트리플루오로아세트산 (TFA))로부터 시작하여 용매 B (10% 물-90% 메탄올-0.1% TFA)에 도달하도록 하여 분석하였다. 유량은 5 ml/분이었으며, 생성물의 체류 시간 (Rt)은 220 nm 파장에서 측정하였다.

[0147] **중간체 1**

[0148] (6S,9R)-6-(2,3-디플루오로페닐)-9-히드록시-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-5-온



(중간체 1)

[0149]

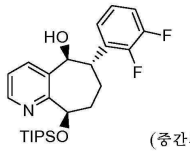
[0150] 250 ml 둥근 바닥 플라스크에서, (9R)-6-(2,3-디플루오로페닐)-9-(트리이소프로필실릴옥시)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-5-온 (0.218 g, 0.49 mmol)을 테트라히드로푸란 (5 ml)에 용해시켜 무색 용액을 수득하였다. 질소 하에 -15℃ (얼음-메탄올 조)로 냉각시킨 후, TBAF (0.490 ml, 0.490 mmol)를 첨가하고, 생성된 담황색 용액을 -15℃에서 1시간 동안 교반하였다. 이를 중탄산나트륨 용액으로 켄칭하고, 에틸 아세테이트로 희석하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수로 세척하고, 건조시키고, 농축시켜 황갈색 오일을 수득하였다. 100% 에틸 아세테이트/헥산까지의 플래쉬 칼럼 크로마토그래피 (25 g 실리카 겔 칼럼)로 목적 생성물 (112 mg, 62%)을 수득하였다.

^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*)
δ ppm 8.53 (dd, *J*=4.91, 1.64 Hz, 1 H) 7.85 (dd, *J*=7.68, 1.64 Hz, 1 H) 7.34 (dd, *J*=7.68, 4.91 Hz, 1 H) 7.00-7.16 (m, 3 H) 5.32 (s, 1 H) 4.94-5.04 (m, 1 H) 4.48 (dd, *J*=11.83, 3.02 Hz, 1 H) 2.14-2.48 (m, 4 H); 19F NMR (376 MHz, 클로로포름-*d*)
δ ppm -138.24--138.07 (m, 1 F) -140.70--140.50 (m, 1 F).

[0151]

[0152] **중간체 2**

[0153] (5S,6S,9R)-6-(2,3-디플루오로페닐)-9-(트리이소프로필실릴옥시)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-5-올



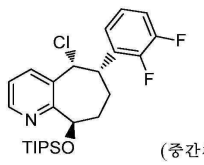
(중간체 2)

[0154]

[0155] 수소화붕소리튬 (0.982 g, 45.1 mmol)을 N_2 하에 0℃에서 (6S,9R)-6-(2,3-디플루오로페닐)-9-(트리이소프로필실릴옥시)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-5-온 (5.0224 g, 11.27 mmol)의 시클로펜틸 메틸 에테르 (30 ml) 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃에서 2시간 동안 교반한 다음, 실온에서 추가 4시간 동안 교반하였다. 반응물을 메탄올을 첨가하여 켄칭하였다. 반응 혼합물을 0.5 시간 동안 교반하였다. 용매를 진공을 통해 대부분 제거하고, 조 물질을 에틸 아세테이트에 녹이고, 이를 물로 3회 세척하였다. 0 내지 10%의 헥산 중 에틸 아세테이트에 의한 플래쉬 칼럼으로 목적 생성물 (3.28 g, 65%)을 수득하였다.

[0156] **중간체 3**

[0157] (5R,6S,9R)-5-클로로-6-(2,3-디플루오로페닐)-9-(트리이소프로필실릴옥시)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘



(중간체 3)

[0158]

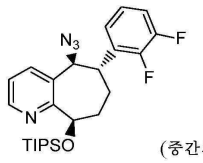
[0159] 오븐-건조된 250 ㎖ 둥근 바닥 플라스크에서, NCS (0.751 g, 5.62 mmol)를 테트라히드로푸란 (15 ㎖)에 현탁시켰다. 트리페닐포스핀 (1.475 g, 5.62 mmol)을 첨가하였다. 질소 하에 5분 동안 교반한 후, (5S,6S,9R)-6-(2,3-디플루오로페닐)-9-(트리이소프로필실릴옥시)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-5-올 (1.007 g, 2.250 mmol)을 회색 현탁액에 한 번에 첨가하였다. 생성된 적색빛 현탁액을 실온에서 교반하였다. 고체를 서서히 용해시켜 황갈색 용액을 수득하였다. 5시간 후, LCMS는 완전한 전환을 나타내었다. 테트라히드로푸란을 진공 하에 제거하고, 나머지 적색 오일을 60% 에틸 아세테이트/헥산까지의 이스코(ISCO) (240 g 실리카 칼럼)에 의해 직접 정제하였다. 순수한 에틸 아세테이트로 비극성 성분을 용리하고, 생성물은 메틸렌 클로라이드 중 10% 메탄올 (2.0 M NH_4OH 포함)에 의해 용리하였다. 생성물 분획을 합하고, 50% 에틸 아세테이트/헥산까지의 FCC에 의해 재-정제하여 목적 생성물을 무색 오일 (869 mg, 83%)로서 수득하였다.

MS(ESI)[M+H$^+$] = 466.22; ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm 8.55 (d, *J*=3.53 Hz, 1 H) 7.63 (br. s., 1 H) 7.20 (dd, *J*=7.68, 4.91 Hz, 1 H) 7.01-7.15 (m, 1 H) 6.90-7.01 (m, 1 H) 6.66-6.90 (m, 1 H) 5.55-5.85 (m, 1 H) 5.40-5.56 (m, 1 H) 3.96-4.33 (m, 1 H) 2.33 (br. s., 3 H) 2.09-2.20 (m, 1 H) 1.14-1.23 (m, 3 H) 1.04-1.14 (m, 9 H) 1.01 (d, *J*=7.30 Hz, 9 H).

[0160]

[0161] **중간체 4**

[0162] (5S,6S,9R)-5-아지도-6-(2,3-디플루오로페닐)-9-(트리이소프로필실릴옥시)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘

[0163] 

(중간체 4)

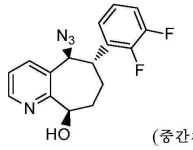
[0164] 100 ㎖ 둥근 바닥 플라스크에서, (5R,6S,9R)-5-클로로-6-(2,3-디플루오로페닐)-9-(트리이소프로필실릴옥시)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘 (566 mg, 1.214 mmol)을 디메틸포름아미드 (5 ㎖)에 용해시켜 무색 용액을 수득하였다. 아지드화나트륨 (474 mg, 7.29 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 질소 하에 실온에서 2.5시간 동안 교반하였다. LCMS는 단지 부분 반응을 나타내었다. 혼합물을 50℃에서 밤새 가열하였다. 15시간 후, LCMS는 약간의 제거 생성물을 포함하는 완전한 전환을 나타내었다. 혼합물을 물 및 에틸 아세테이트로 희석하였다. 층을 분리하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, 건조시키고, 농축시켜 무색 오일을 수득하였다. 조 생성물을 추가 정제 및 특성화 없이 후속 반응에 사용하였다. 보다 작은 규모의 정제로 분석 샘플을 수득하였다.

MS(ESI)[M+H$^+$] = 473.27; ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm 8.52-8.63 (m, 1 H) 7.75 (d, *J*=7.81 Hz, 1 H) 7.23-7.36 (m, 1 H) 6.95-7.17 (m, 2 H) 6.89 (br. s., 1 H) 5.28 (d, *J*=4.03 Hz, 1 H) 4.90 (d, *J*=9.07 Hz, 1 H) 3.79 (t, *J*=9.44 Hz, 1 H) 1.86-2.23 (m, 4 H) 1.16-1.30 (m, 3 H) 0.98-1.15 (m, 18 H); 19F NMR (376 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm -137.68--137.36 (m, 1 F) -141.78--141.54 (m, 1 F).

[0165]

[0166] **중간체 5**

[0167] (5S,6S,9R)-5-아지도-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-올

[0168] 

(중간체 5)

[0169] 100 ㎖ 둥근 바닥 플라스크에서, (5S,6S,9R)-5-아지도-6-(2,3-디플루오로페닐)-9-(트리이소프로필실릴옥시)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘 (0.732 g, 1.549 mmol) (조 물질)을 테트라히드로푸란 (8 ㎖)에 용해시켜 무색 용액을 수득하였다. TBAF (1.859 ㎖, 1.859 mmol)를 첨가하고, 생성된 담황색 용액을 실온에서 1.5시간 동안 교반하였다. LCMS는 완전한 전환을 나타내었다. 테트라히드로푸란을 제거하고, 잔류물을 물 및

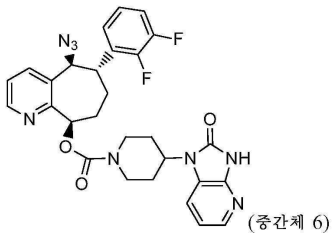
에틸 아세테이트로 희석하였다. 층을 분리하였다. 유기 층을 염수로 세척하고, 건조시키고, 농축시켜 담황색 오일을 수득하였다. 60% 에틸 아세테이트/헥산까지의 FCC에 의해 정제하여 목적 생성물 (조 중량: 480 mg)을 무색 오일로서 수득하였다. 보다 작은 규모의 정제로 분석 샘플을 수득하였다.

MS(ESI)[M+H$^+$] = 317.22; ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm 8.51 (dd, *J*=4.91, 1.38 Hz, 1 H) 7.99 (d, *J*=7.30 Hz, 1 H) 7.35 (dd, *J*=7.81, 5.04 Hz, 1 H) 7.06-7.20 (m, 2 H) 6.94-7.05 (m, 1 H) 5.91 (br. s., 1 H) 5.03 (d, *J*=10.32 Hz, 1 H) 4.92 (dd, *J*=11.21, 2.39 Hz, 1 H) 2.84-3.02 (m, 1 H) 2.37-2.49 (m, 1 H) 2.25-2.36 (m, 1 H) 2.07-2.17 (m, *J*=14.38, 4.94, 3.05, 3.05 Hz, 1 H) 1.40-1.64 (m, 1 H); ^{13}C NMR (101 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm 158.48 (s, 1 C) 152.19-149.87 (dd, *J*=13.10 및 221Hz, 1 C) 149.72-147.42 (dd, *J*=13.87 및 219 Hz, 1 C) 146.16 (s, 3 C) 133.67 (s, 2 C) 133.23 (s, 1 C) 132.66 (d, *J*=10.79 Hz, 1 C) 124.43 (dd, *J*=6.94, 3.85 Hz, 2 C) 123.84 (br. s., 1 C) 122.89 (s, 2 C) 115.98 (d, *J*=17.73 Hz, 2 C) 70.94 (s, 3 C) 65.67 (s, 1 C) 45.43 (br. s., 1 C) 35.71 (s, 3 C) 33.45 (s, 2 C); 19F NMR (376 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm -137.55--137.20 (m, 1 F) -142.28--141.89 (m, 1 F).

[0170]

[0171] **중간체 6**

[0172] (5S,6S,9R)-5-아지도-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일 4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트



(중간체 6)

[0173]

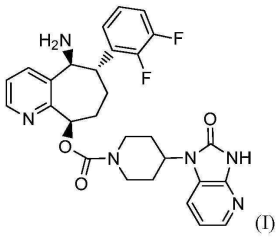
[0174] 100 ㎖ 둥근 바닥 플라스크에서, 질소 하에 (5S,6S,9R)-5-아지도-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-올 (0.490 g, 1.549 mmol) (건조 벤젠과 공비됨) 및 4-니트로페닐 4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트 (0.713 g, 1.859 mmol)를 디메틸포름아미드 (8 ㎖)에 용해시켜 담황색 현탁액을 수득하였다. -15℃ (얼음-메탄올 조)로 냉각시킨 후, NaHMDS (4.18 ㎖, 4.18 mmol)를 적가하였다. 생성된 황갈색 용액을 질소 하에 -10℃ 내지 0℃에서 2시간 동안 교반하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS는 완전한 전환을 나타내었다. 반응물을 중탄산나트륨 용액으로 켄칭하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석하였다. 층을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 합한 유기 층을 물, 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 농축시켜 황갈색 오일을 수득하였다. 8% 메탄올/메틸렌 클로라이드까지의 FCC에 의해 정제하여 목적 생성물 (주 피크, 632 mg, 3 단계에 대해 73%)을 담황색 발포체로서 수득하였다.

MS(ESI)[M+H$^+$] = 561.27; ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm 11.50 (br. s., 1 H) 8.58 (d, *J*=3.78 Hz, 1 H) 8.11 (d, *J*=5.04 Hz, 1 H) 7.91 (d, *J*=7.30 Hz, 1 H) 7.33 (br. s., 2 H) 7.07-7.19 (m, 2 H) 6.92-7.06 (m, 2 H) 6.10 (d, *J*=9.32 Hz, 1 H) 5.23 (d, *J*=10.07 Hz, 1 H) 4.26-4.84 (m, 3 H) 2.46-3.34 (m, 4 H) 2.20-2.43 (m, 3 H) 2.01-2.13 (m, 1 H) 1.94 (d, *J*=12.34 Hz, 3 H); 19F NMR (376 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm -137.30--137.01 (m, 1 F) -142.32--142.03 (m, 1 F).

[0175]

[0176] **화합물 (I)**

[0177] (5S,6S,9R)-5-아미노-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일 4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트



(I)

[0178]

[0179] 100 ㎖ 둥근 바닥 플라스크에서, (5S,6S,9R)-5-아지도-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일 4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일)피페리딘-1-카르복실레이트 (620 mg, 1.106 mmol) (중간체 6)를 테트라히드로푸란 (5 ㎖)에 용해시켜 무색 용액을 수득하였다. 트리메틸포스핀 (3.32 ㎖, 3.32 mmol, 톨루엔 중 1.0 M)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 교반하였다. 2시간 후, LCMS는 출발 물질을 나타내지 않았다. 물 (0.080 ㎖, 4.42 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 또 다른 3시간 동안 교반하였다. LCMS는 목적 생성물로의 완전한 전환을 나타내었다. 휘발성 성분을 진공 하에 제거하고, 잔류물을 메틸렌 클로라이드 중 10% 메탄올까지의 FCC에 의해 직접 정제하여 생성물 (510 mg, 85%)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0180] MS(ESI)[M+H$^+$] = 535.23; ^{1}H NMR (400 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm 10.39 (br. s., 1 H) 8.52 (d, *J*=3.78 Hz, 1 H) 8.09 (d, *J*=5.04 Hz, 2 H) 7.46 (br. s., 1 H) 7.26-7.38 (m, 1 H) 7.06-7.20 (m, 3 H) 6.94-7.05 (m, 1 H) 6.06-6.23 (m, 1 H) 4.31-4.78 (m, 4 H) 4.05 (spt, *J*=6.13 Hz, 1 H) 2.57-3.25 (m, 3 H) 2.17-2.38 (m, 3 H) 1.42-2.04 (m, 6 H); 19F NMR (376 MHz, 클로로포름-*d*) δ ppm -136.90 (br. s., 1 F) -142.48--142.21 (m, 1 F).

[0181] **화합물 (I)의 결정질 염에 대한 고처리량 염 스크리닝**

[0182] 고처리량 결정화를 이용하여 화합물 (I)의 결정질 염의 형성을 스크리닝하였다. 스크리닝은 산 유형, 산 수준 (당량) 및/또는 결정화 용매의 유형을 검사했다. 각각의 플레이트는 96 웰 플레이트 (플레이트 당 12 칼럼의 8 열)를 함유하였다.

[0183] 용액은 화합물 (I) 400 mg을 36 ㎖ THF 및 4 ㎖ H_2O의 혼합물에 용해시켜 제조하였다. 용액 (12.5 ㎖)을 24개의 바이알에 옮겼다. 각각의 바이알에 하기 산의 0.25 M EtOH 원액을 첨가하였다:

[0184]

1 당량 아세트산	1 당량 L-락트산	2 당량 숙신산
1 당량 벤조산	1 당량 말레산	0.5 당량 황산
1 당량 벤젠술폰산	1 당량 L-말산	1 당량 황산
1 당량 시트르산	1 당량 메탄술폰산	1 당량 황산
1 당량 푸마르산	2 당량 메탄술폰산	2 당량 황산
2 당량 푸마르산	1 당량 인산	1 당량 D-타르타르산
1 당량 염산	2 당량 인산	1 당량 L-타르타르산
2 당량 염산	1 당량 숙신산	2 당량 L-타르타르산

[0185] 각각의 바이알의 내용물을 12 결정화 웰로 옮기고, 증발 건조시켰다. 증발시, 각각의 웰에 로봇 액체 취급기를 사용하여 100 ㎕의 용매를 충전하였다. 하기 결정화 용매를 시험하였다: 메틸 이소부틸 케톤 (MIBK), 에틸 아세테이트, 톨루엔, THF, 아세토니트릴, 아세톤, 이소프로판올, 에탄올, 메탄올, 1,2-디클로로에틸렌, 이소프로판올/물 (50:50) 및 물. 다음에, 플레이트를 테플론(Teflon) 격막으로 밀봉하고, 온도 순환에 적용하였다. 플레이트를 50℃에서 10시간 동안 유지한 다음, 14시간의 기간에 걸쳐 실온으로 냉각시켰다. 가열/냉각 주기 후에, 웰의 내용물을 복굴절 영상화에 의해 특성화하였다. 감지된 결정질 히트(hit)를 PXRD 분석에 의해 추가로 특성화하였다.

[0186] 결정질 염 형성은 아세트산, 벤조산, 벤젠술폰산, L-락트산, 말레산, L-말산, 인산 및 숙신산의 존재 하의 화합물 (I)에 대해 관찰되지 않았다. 결정질 염 형성은 적어도 하나의 용매 중 시트르산, 푸마르산, 염산, 메탄술폰산, 황산, D-타르타르산 및 L-타르타르산의 존재 하의 화합물 (I)에 대해 관찰되었다. 화합물 (I)의 결정질 염의 특성은 추가로 특성화되었다.

[0187] 염 스크린 및 결정질 염 특성화의 결과를 하기 표 3에 나타낸다.

표 3

산	당량	관찰
아세트산	1	결정질 염 형성 없음.
벤조산	1	결정질 염 형성 없음.
벤젠술폰산	1	결정질 염 형성 없음.
시트르산	1	결정질 염; 주위 온도 및 상대 습도 조건에서 흡습성. 슬러리 및 건조된 물질의 PXRD 패턴은 일치하지 않음.
푸마르산	1, 2	결정질 염; 주위 온도 및 상대 습도 조건에서 흡습성; 샘플은 >25% 상대 습도에서 약 6 중량% 물을 함유함.
염산	1, 2	결정질 염; 결정은 주위 온도 및 상대 습도 조건에서 흡습성; 결정질 염 샘플은 다중 수화 상태 및 다중 결정질 형태를 포함함. 고체상 NMR은 제조된 샘플이 결정질 상의 혼합물을 함유함을 나타냄.
L-락트산	1	결정질 염 형성 없음.
말레산	1	결정질 염 형성 없음.
L-말산	1	결정질 염 형성 없음.
메탄술폰산	1, 2	염 스크린에서 결정질 염이 수득됨. >40 mg 샘플에 대한 결정질 염의 규모 확대 제조는 불가능함. 규모 확대는 무정형 염 및 유리 염기의 혼합물을 생성함.
인산	1, 2	고처리량 스크리닝에서 결정질 염 형성은 관찰되지 않음. 포스페이트 염이 수동 염 스크리닝 연구에서 단리됨, 그러나 EtOH/물 슬러리 중 유리 염기로 전환됨.

[0188]

숙신산	1, 2	결정질 염 형성 없음.
황산	0.5, 1, 2	결정질 헤미술페이트 염이 0.5, 1, 및 2 당량의 H_2SO_4로 수득됨; 고 순도 및 수율로 재현가능하게 결정화됨; 화학적으로 안정함; 물리적으로 안정함; 주위 온도 및 상대 습도 조건에서 낮은/비-흡습성. 슬러리 및 건조된 물질의 PXRD 패턴은 일치함. 고체상 NMR은 단일 상을 나타냄.
D-타르타르산	1	결정질 염; 비-자연 발생 입체이성질체; 고가의 물질.
L-타르타르산	1, 2	결정질 염; 슬러리 및 건조된 상에 대한 상이한 PXRD 패턴; 슬러리의 가열 건조는 보다 큰 규모의 공정에 대해 효율적으로 용매를 제거하기 위해 필요함; 그러나, 가열은 결정화도의 부분 손실 및 건조 공정의 비-재현성을 초래함.

[0189]

[0190] **실시예 1**

[0191] (5S,6S,9R)-5-아미노-6-(2,3-디플루오로페닐)-6,7,8,9-테트라히드로-5H-시클로헵타[b]피리딘-9-일 4-(2-옥소-2,3-디히드로-1H-이미다조[4,5-b]피리딘-1-일) 피페리딘-1-카르복실레이트, 헤미술페이트 염

[0192] **에탄올/물의 용액으로부터의 제조**

[0193] 화합물 (I) (1 g)을 70℃에서 에탄올 및 물 (3:1) 17 mℓ에 용해시켰다 (용액 A). 별개로, 96% H_2SO_4 (0.5 당량) 52 ㎕를 실온에서 에탄올 및 물 (3:1) 8 mℓ에 용해시켰다 (용액 B). 다음에, 시드(seed) 30 mg을 용액 A에 첨가하였다. 용액 B를 시린지 펌프에 의해 2시간의 기간에 걸쳐 시딩된 용액 A에 첨가하였다. 생성된 슬러리를 70℃에서 1시간 동안 교반하고, 90분에 걸쳐 20℃로 냉각시켰다. 슬러리를 실온에서 밤새 교반하였다. 슬러리를 여과하였다. 습윤 케이크를 EtOH:물 (3:1) 용액 8 mℓ로 세척하고, 밤새 진공 오븐 중 30℃에서 건조시켜 실시예 1 1.01 g (88.4 mol%)을 결정질 고체로서 수득하였다. GADDS는 결정질 고체가 형태 H-1.5임을 보여주었다.

[0194] **테트라히드로푸란/물의 용액으로부터의 제조**

[0195] 화합물 (I) (1 g)을 50℃에서 THF 및 물 (4:1) 10 mℓ에 용해시켰다 (용액 A). 별개로, 96% H_2SO_4 (0.5 당량) 52 ㎕를 실온에서 THF 10 mℓ에 용해시켰다 (용액 B). 다음에, 용액 B 0.5 mℓ를 용액 A에 첨가하고, 이어서 시드 20 mg을 첨가하였다. 용액은 얇은 슬러리로 변했다. 용액 B의 나머지 양을 시린지 펌프에 의해 2시간의 기간에 걸쳐 슬러리에 첨가하였다. 슬러리를 50℃에서 1시간 동안 교반한 다음, 1시간의 기간에 걸쳐 20℃로 냉각시켰다. 슬러리를 실온에서 밤새 교반하였다. 슬러리를 여과하였다. 습윤 케이크를 THF:물=3:1 8 mℓ로 세척하고, 밤새 진공 오븐 중 30℃에서 건조시켜 실시예 1 1.06 g (92.8 mol%)을 결정질 고체로서 수득하였다. GADDS는 결정질 고체가 형태 H-1.5임을 보여주었다.

[0196] **안정성 연구**

[0197] 실시예 1의 고체 상태 안정성은 샘플을 1, 2 및 4주의 기간 동안 다양한 온도 및 상대 습도 조건에 노출시킴으로써 시험하였다. % 효력 (% pot.) 및 % 총 불순물 (% total imp.)을 표 4에 나타낸다. 결과는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 결정질 형태 H1.5-1이 저장 4주 후에 총 불순물 수준의 유의한 증가의 부재 및/또는 효력의 감소의 부재에 의해 나타내어지는 것처럼 시험된 저장 조건 하에서 안정함을 나타냈다.

표 4

헤미술페이트 염, 형태 H1.5-1의 고체 상태 안정성

	초기		1주		2주		4주	
	% pot.	% total imp.	% pot.	% total imp.	% pot.	% total imp.	% pot.	% total imp.
냉장보관됨	98.5	0.27	98.0	0.29	96.5	0.27	105.7	0.27
25 RH/ 60 °C			94.4	0.27	96.8	0.27	96.9	0.27
25 RH/ 60 °C			95.1	0.27	98.5	0.27	97.0	0.27
25 RH/ 60 °C			101.6	0.28	102.6	0.27	110.0	0.27
HIL/UV			100.7	0.27	96.9	0.27	-	-

% pot. = % 효력

% total imp. = % 총 불순물

HIL/UV: 고-강도 광/자외선

[0198]

[0199] 실시예 1에 대한 등온 흡습 곡선을 도 5에 도시한다. 실시예 1은 25% 내지 75% 상대 습도 및 5% 내지 95% 상대 습도에서 각각 0.8 중량% 및 2.8 중량%의 흡습 중량 증가를 가졌다. 이러한 결과는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염이 시험된 조건 하에서 저-흡습성 또는 비-흡습성임을 나타냈다.

[0200] **형태 H1.5-1**

[0201] 표 5는 방사 모세관(spinning capillary)을 갖는 회절계 (CuKα)에 의해 NIST의 기타 적합한 표준물로 보정된 2Θ로 수집된 고품질 패턴을 기준으로 하여, 실시예 1에 대해 약 25℃에서 측정된 특징적인 PXRD 회절 피크 위치 (2Θ±0.1도)를 나타낸다.

표 5

PXRD 피크 위치 (2θ±0.1 도)

5.4	17.6
8.6	18.1
9.7	20.5
12.4	21.4
14.9	22.0

[0202]

[0203] 표 6은 TMS를 참조로 실시예 1에 대한 특징적인 고체상 NMR 피크 위치 δ (ppm)를 나타낸다.

표 6

ssNMR 피크 위치 - δ (ppm)

26.6	72.5	140.8
27.1	117.0	144.7
28.3	117.7	148.7
30.7	124.2	149.8
43.1	125.2	151.2
45.9	128.3	153.4
47.1	130.3	155.1
52.0	131.4	155.6
54.2	134.1	156.7

[0204]

[0205] **실시예 1의 다른 결정질 형태**

[0206] 형태 P22C: 형태 H1.5-1을 2시간 동안 60℃ 또는 5분 동안 75℃에서 가열하여 제조하였다. 형태 H1.5-1과 형태 P22C 사이의 수분 활성 연구는 형태 H1.5-1이 > 23% 상대 습도에서 더 안정함을 보여주었다.

[0207] 형태 P33: 형태 H1.5-1이 가변적 온도 PXRD 실험 중 50℃ 내지 75℃에서 형태 P33으로 전환되었다. 또한, 형태 H1.5-1을 5분 동안 105℃로 가열한 후에 관찰하거나, 건조 분말 형태 H1.5-1을 건조 EtOH 또는 IPAc에 슬러리화하여 제조하였다. 원소 분석은 형태 P33이 헤미술페이트 1수화물임을 나타냈다. 고체상 NMR은 형태 P33이 단일 상임을 나타냈다. 형태 H1.5-1과 형태 P33 사이의 수분 활성 연구는 형태 H1.5-1이 > 23% 상대 습도에서 더 안정함을 보여주었다.

[0208] 형태 P35: 형태 H1.5-1을 분자체 (7% RH) 하에 건조 MeOH에 슬러리화하여 제조하였다. 60℃에서 건조시킬 때 형태 P33으로 전환되었다.

[0209] **물 슬러리에서의 안정성**

[0210] 실시예 1의 수성 슬러리를 실온에서 제조 및 저장하였다. 2일 후에, 유의한 화학적 분해는 없었고; PXRD 패턴의 변화도 없었으며, 이는 결정질 형태 H1.5-1이 수성 슬러리에서 안정함을 나타냈다.

[0211] 열중량 스캔 및 시차 주사 열량측정법 스캔에서 및 PXRD에서 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

[0212] 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 화합물 (I)의 다른 염과 비교되었고, 특히 유리한 것으로 밝혀졌다. 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 화합물 (I)의 다른 염과 비교하여 물리적으로 안정하고 화학적으로 안정한 염을 제공한다는 놀라운 이점을 가졌다. 또한, 헤미술페이트 염은 안정한 결정질 형태인 형태 H1.5-1로 제공된다는 놀라운 이점을 가졌다. 예를 들어, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 결정질 형태로서 재현가능하게 제조되었고, 낮은 흡습성을 가졌으며, 상대 습도 및/또는 온도의 변화에 반응하여 결정질 형태 또는 수화 상태를 용이하게 변화시키지 않았다. 대조적으로, 시트르산 염, 푸마르산 염, 염산 염, 메탄술폰산 염, 인산 염 및 L-타르타르산 염은 주위 온도 및 상대 습도 조건에서 흡습성이었고, 이로 인해 중량 변화, 수화 상태 변화 및/또는 상 변화가 초래되었다. 고처리량 염 스크리닝에서 아세트산, 벤조산, 벤젠술폰산, L-락트산, 말레산, L-말산 및 숙신산의 존재 하의 화합물 (I)에 대해 결정질 염 형성은 관찰되지 않았다. 또한, 헤미술페이트 염의 제조는 고가 재료, 예컨대 D-타르타르산의 사용을 요구하지 않았다.

[0213] **생물학적 방법**

[0214] **시험관내 약리학**

[0215] *조직 배양.* SK-N-MC 세포를 5% CO_2 하에 37℃에서 얼스 염(Earle's salt) 및 L-글루타민 (인비트로젠(Invitrogen))을 함유하는 MEM으로 이루어지며 10% 소 태아 혈청 (인비트로젠)이 보충된 배지에서 단층으로 성장시켰다.

[0216] *막 제조.* CGRP 수용체를 발현하는 SK-N-MC 세포로부터 조 막을 제조하였다. 포스페이트-완충 염수 (155 mM NaCl, 3.3 mM Na_2HPO_4, 1.1 mM $KHPO_4$, pH 7.4)를 사용하여 세포를 2회 세정하고, 10 mM 트리스(Tris) (pH 7.4) 및 5 mM EDTA로 이루어진 저장성 용해 완충제 중 4℃에서 5-10분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트로부터 폴리프로필렌 튜브 (16 x 100 mm)로 세포를 옮기고, 폴리트론을 사용하여 균질화하였다. 균질물을 32,000 x g으로 30분 동안 원심분리하였다. 0.1% 포유동물 프로테아제 억제제 칵테일 (시그마(Sigma))을 함유하는 저온의 저장성 용해 완충제에 펠릿을 재현탁하고, 단백질 농도에 대하여 검정하였다. SK-N-MC 균질물을 분취하여 -80℃에서 저장하였다.

[0217] *방사성리간드 결합 검정.* 화합물 (I)을 가용화하고, 100% DMSO를 사용하여 연속 희석을 수행하였다. 화합물 연속 희석으로부터의 분취액을 검정 완충제 (50 mM 트리스-Cl pH 7.5, 5 mM $MgCl_2$, 0.005% 트리톤(Triton) X-100) 내로 25배 더 희석한 후, 96 웰 검정 플레이트로 옮겼다 (부피 50 ㎕). [^{125}I]-CGRP (지이 헬쓰케어(GE Healthcare) 또는 퍼킨-엘머(Perkin-Elmer))를 검정 완충제에 72 pM으로 희석하고, 50 ㎕의 부피를 각 웰에 첨가하였다. SK-N-MC 막을 해동시키고, 새로운 0.1% 포유동물 프로테아제 억제제 칵테일 (시그마)을 포함하는 검정 완충제에 희석하고, 재-균질화하였다. SK-N-MC 균질물 (7 ㎍/웰)을 100 ㎕의 부피로 첨가하였다. 이어서, 검정 플레이트를 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 과량의 저온 세척 완충제 (50 mM 트리스-Cl pH 7.5, 0.1% BSA)를 첨가함으로써 검정을 중지하고, 이어서 즉시 0.5% PEI에 미리 침지시킨 유리 섬유 필터 (와트만

(Whatman) GF/B) 상에서 여과하였다. 1 μM 베타-CGRP (바켐(Bachem))를 사용하여, 비-특이적 결합을 한정하였다. 감마 또는 섬광 계수기를 사용하여, 단백질 결합 방사능을 측정하였다. 4 파라미터 경쟁 결합 방정식 (XL피트(XLfit) v2.0)을 사용하여 생성 데이터를 분석하고, 방사성리간드 결합의 50%를 대체하는 데에 요구되는 화합물 (I)의 농도로서 IC_{50}을 정의하였다. [^{125}I]-CGRP의 최종 검정 농도는 18 pM이었다. [^{125}I]-CGRP에 있어서의 평균 K_d는 25.4 pM이었다. 화합물 (I)은 적어도 2개의 별개 실험에서 평가하였다. 이 연구에서, 화합물 (I)의 인간 CGRP 수용체 IC_{50} 값은 0.04 nM이었다.

[0218] **생체내 약동학 연구**

[0219] 생체내 연구는 파모티딘 40 mg으로 전처리된 인간과 비-전처리된 인간에서의 유리 염기 화합물 (I)의 약동학을 비교하여 수행하였다.

[0220] 인간 EDTA 혈장 중의 화합물 (I)을 트리플 쿼드(Triple Quad) 5500 질량 분광계 상에서 uHPLC-MS/MS 검출을 수반하는 액체-액체 추출을 사용하여 분석하였다. 상기 방법은 내부 표준물로서 안정한 동위원소 표지된 [$^{13}C_2$, D_4]-화합물 (I)을 이용하였다. MeOH:물 (20/80) 중 100 ng/mℓ [$^{13}C_2$, D_4]-화합물 (I) 50 μℓ 및 4% 아세트산 완충 용액을 함유하는 1 M NH_4OAc 50 μℓ를 0.100 mℓ의 각 연구 샘플, 품질 관리 (QC) 샘플 및 보정 표준물에 첨가한 후, 샘플을 600 μℓ 메틸 tert-부틸 에테르 (MTBE)와 함께 15분 동안 진탕함으로써 추출하였다. 유기 층의 450 μℓ 부분을 제거하고, 증발 건조시켰다. 잔류물을 200 μℓ의 재구성 용액 (0.01% 아세트산을 함유하는 10 mM NH_4OAc 중의 30% 아세토니트릴)에 재구성하였다. 모든 액체 전달 단계는 내부 표준 용액의 첨가를 제외하고 퍼킨 엘머 야누스 미니(Perkin Elmer JANUS Mini)® 액체 취급기를 사용하여 수행하였다. 추출된 샘플의 10 μℓ 분취액을 uHPLC-MS/MS 시스템에 주입하였다. uHPLC를 LEAP HTC PAL 오토샘플러를 구비한 LEAP 4X 울트라 uHPLC 시스템 상에서 수행하였다. 이동상 A는 ACN/물 (10:90) 중 10 mM NH_4OAc 및 0.01% 아세트산을 함유하였고, 이동상 B는 ACN/물 (90:10) 중 10 mM NH_4OAc 및 0.01% 아세트산을 함유하였다. 크로마토그래피 분리는 액퀴티(Acquity)® uHPLC BEH C18 칼럼 (1.7 μm, 2.1 x 50 mm) 상에서, 화합물 (I)의 분석을 위한 28% 이동상 B로 이루어진 0 내지 1.5분의 등용매 용리, 이어서 0.1분간 28% B로부터 100% B까지의 선형 증가로 이루어진 구배 용리, 이어서 칼럼 바깥쪽의 세척을 위한 1.1분 동안의 100% B에서의 유지를 이용하여 달성하였다. 이어서, 구배를 0.1분 이내에 28% B로 되돌리고, 3.7분의 총 실행 시간으로 0.9분 동안 28%에서 유지하였다. 유량은 0.6 mℓ/분이었고, 칼럼 온도는 60℃ 조건에서 유지하였다. 검출은 터보 이온 분무 이온화를 수반하는 양성 ESI에서 AB 사이엑스 트리플 쿼드(AB Sciex Triple Quad) 5500 질량 분광계를 사용하고, 다중 반응 모니터링 (MRM) 모드를 사용하여 달성하였다. MRM 전이는 화합물 (I)의 경우 m/z 535→256이고, [$^{13}C_2$, D_4]-화합물 (I)의 경우 m/z 541→256이었다. 데이터 획득 및 정량은 AB 사이엑스 애널리스트(AB Sciex Analyst)® 1.5.1 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 화합물 (I)에 대해 0.500 내지 500 ng/mℓ의 범위인 표준 곡선을 1/x2 가중 선형 회귀 모델에 핏팅하였다. 샘플 분석 동안, 인간 EDTA 혈장에서 제조된 저농도, 기하-평균 농도, 중간 농도 및 고농도의 화합물 (I)을 나타내는 4 수준의 분석 품질 관리 (QC) 샘플을 각각의 분석 실행을 위해 각각의 농도 수준에서 4회 반복으로 분석하였다. 이러한 QC 샘플로부터의 결과는 인간 EDTA 혈장에서 화합물 (I)의 분석을 위해 연역적으로 확립된 수용 기준을 토대로 하여 연구 샘플을 함유하는 분석 실행을 수용하거나 거부하는데 사용하였다.

[0221] 본 연구의 결과는 표 7 및 도 8에 나타낸다. 비-전처리된 인간과 비교하여 파모티딘 40 mg으로 전처리된 인간에서 화합물 (I)의 AUC 및 C_{max}의 유의한 감소가 관찰되었다.

표 7

용량	150 mg 화합물 (I)	150 mg 화합물 (I) + 40 mg 파모티딘
C_{max} (ng/mL)	991 (85%)	259 (35%)
T_{max} 중앙값	2.5	3
(분-max)	(0.75-3.0)	(2.0-4.0)
AUC inf (ng*hr/mL)	7197 (75%)	3058 (27%)
반감기 (hr)	12.04 (29%)	12.6 (36%)
Cl/F (L/hr)	20.84 (75%)	49 (28%)
F (AUC_{inf})	-	42.5% (96%)
F (C_{max})	-	26.2% (130%)

[0222]

[0223] 생체내 연구는 파모티딘 또는 펜타가스트린으로 전처리된 개에서 유리 염기 화합물 (I) 및 화합물 (I)의 헤미술페이트 염의 약동학을 비교하여 수행하였다.

[0224] 화합물 (I)의 150 mg을 유리 염기로서 또는 화합물 (I)의 헤미술페이트 염으로서 함유하는 캡슐을 제조하였다:

[0225] 1. 화합물 (I) 유리 염기 캡슐: 50 중량% 화합물 (I), 42 중량% 미세결정질 셀룰로스, 3 중량% 크로스카르멜로스 소듐, 4 중량% 클루셀(Klucel) EXF 히드록시프로필셀룰로스, 0.5 중량% 스테아르산마그네슘, 0.5 중량% 콜로이드성 이산화규소

[0226] 2. 화합물 (I) 헤미술페이트 염 캡슐: 57% 실시예 1 (결정질 형태 H1.5-1의 화합물 (I)의 헤미술페이트 염), 40% 미세결정질 셀룰로스, 3% 크로스카르멜로스 소듐.

[0227] 네마리의 수컷 개 (10 kg)를 하기 3단계 처리 프로토콜에 따라 처리하였다:

[0228] 처리 1: 화합물 (I) 유리 염기 캡슐의 경구 투여 수시간 전 펜타가스트린 (6 ㎍/kg, IP)에 의한 전처리.

[0229] 처리 2: 화합물 (I) 유리 염기 캡슐의 경구 투여 3시간 전 40 mg 파모티딘의 경구 투여에 의한 전처리.

[0230] 처리 3: 화합물 (I) 헤미술페이트 염 캡슐의 경구 투여 3시간 전 40 mg 파모티딘의 경구 투여에 의한 전처리.

[0231] 혈액 샘플을 화합물 (I) 유리 염기 캡슐 또는 화합물 (I) 헤미술페이트 염 캡슐의 투여 0, 0.5, 1, 2, 4, 8 및 24시간 후에 수집하고, EDTA 튜브에 저장하였다. 개 EDTA 혈장에서의 화합물 (I)을 트리플 쿼드 5500 질량 분광계 상에서 액체-액체 추출 및 uHPLC-MS/MS 검출을 사용하여 분석하였다. 개 EDTA 혈장의 0.050 ㎖의 분취액을 검정에 사용하였다. 상기 방법은 내부 표준물로서 안정한 동위원소 표지된 [$^{13}C_2$, D_4]-화합물 (I)을 이용하였다. MeOH:물 (20/80) 중 200 ng/㎖ [$^{13}C_2$, D_4]-화합물 (I) 50 ㎕ 및 4% 아세트산 완충 용액을 함유하는 1 M NH_4OAc 50 ㎕를 0.050 ㎖의 각 연구 샘플, 품질 관리 (QC) 샘플 및 보정 표준물에 첨가한 후, 샘플을 600 ㎕ 메틸 tert-부틸 에테르 (MTBE)와 함께 15분 동안 진탕함으로써 추출하였다. 유기 층의 450 ㎕ 부분을 제거하고, 증발 건조시켰다. 잔류물을 300 ㎕의 재구성 용액 (0.01% 아세트산을 함유하는 10 mM NH_4OAc 중의 30% 아세토니트릴)에 재구성하였다. 모든 액체 전달 단계는 내부 표준 용액의 첨가를 제외하고 퍼킨 엘머 야누스 미니® 액체 취급기를 사용하여 수행하였다. 추출된 샘플의 5 ㎕ 분취액을 uHPLC-MS/MS 시스템에 주입하였다. uHPLC를 LEAP HTC PAL 오토샘플러를 구비한 LEAP 4X 울트라 uHPLC 시스템 상에서 수행하였다. 이동상 A는 ACN/물 (10:90) 중 10 mM NH_4OAc 및 0.01% 아세트산을 함유하였고, 이동상 B는 ACN/물 (90:10) 중 10 mM NH_4OAc 및 0.01% 아세트산을 함유하였다. 크로마토그래피 분리는 액퀴티® uHPLC BEH C18 칼럼 (1.7 ㎛, 2.1 x 50 mm) 상에서, 화합물 (I)의 분석을 위한 28% 이동상 B로 이루어진 0 내지 1.5분의 등용매 용리, 이어서 0.1분간 28% B로부터 100% B까지의 선형 증가로 이루어진 구배 용리, 이어서 칼럼 바깥쪽의 세척을 위한 1.1분 동안의 100% B에서의 유지를 이용하여 달성하였다. 이어서, 구배를 0.1분 이내에 28% B로 되돌리고, 3.7분의 총 실행 시간으로 0.9분 동안 28%에서 유지하였다. 유량은 0.6 ㎖/분이었고, 칼럼 온도는 60℃ 조건에서 유지하였다. 검출은 터보 이온 분무 이온화를 수반하는 양성 ESI에서 AB 사이엑스 트리플 쿼드 5500 질량 분광계를 사용하고, 다중

반응 모니터링 (MRM) 모드를 사용하여 달성하였다. MRM 전이는 화합물 (I)의 경우 m/z 535→256이고, [$^{13}C_2$, D_4]-화합물 (I)의 경우 m/z 541→256이었다. 데이터 획득 및 정량은 AB 사이엑스 애널리스트® 1.5.1 소프트웨어를 사용하여 수행하였다. 화합물 (I)에 대해 3.00 내지 3000 ng/mℓ의 범위인 표준 곡선을 1/x2 가중 선형 회귀 모델에 핏팅하였다. 샘플 분석 동안, 개 EDTA 혈장에서 제조된 저농도, 기하-평균 농도, 중간 농도 및 고농도의 화합물 (I)을 나타내는 4 수준의 분석 품질 관리 (QC) 샘플을 각각의 분석 실행을 위해 각각의 농도 수준에서 4회 반복으로 분석하였다. 이러한 QC 샘플로부터의 결과는 개 EDTA 혈장에서 화합물 (I)의 분석을 위해 연역적으로 확립된 수용 기준을 토대로 하여 연구 샘플을 함유하는 분석 실행을 수용하거나 거부하는데 사용하였다.

[0232] 본 연구의 결과는 표 8 및 도 9에 나타낸다. 펜타가스트린 전처리된 개 (낮은 위 pH)와 비교하여 파모티딘 전처리된 개 (높은 위 pH)에서 유리 염기 화합물 (I)로 처리 후 AUC 및 C_{max}의 유의한 감소가 관찰되었다. 파모티딘 전처리된 개에서 실시예 1인 화합물 (I)의 헤미술페이트 염 1.5수화물을 투여하는 것은 AUC 및 C_{max}의 훨씬 더 낮은 감소를 보여주었다. 이러한 특별한 연구에서, 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 파모티딘으로의 전처리 후에 투여되는 경우 C_{max} 값 2596 ng/mℓ, AUC_{0-24hr} 12473 ng·h/mℓ 및 34.73% 생체이용률을 제공하였다. 대조적으로, 유사한 시험에서, 화합물 (I) 유리 염기는 파모티딘으로의 전처리 후에 투여되는 경우 C_{max} 값 245 ng/mℓ, AUC_{0-24hr} 1762 ng·h/mℓ 및 4.54% 생체이용률을 제공하였다.

표 8

헤미술페이트 염 또는 유리 염기로서의 화합물 (I) 150 mg을 개에게 투여한 경우의 약동학 파라미터

	C_{max} (ng/mL)		T_{max} (h)	AUC_{0-24hr} (ng·h/mL)		BA (%)		CV (%)
	평균	표준 편차		평균	표준 편차	평균	표준 편차	
화합물 (I) + 펜타가스트린	8156	4423	0.75	38796	15407	100	-	39.71
화합물 (I) + 파모티딘	245	95	2	1762	392	4.54	1.01	22.23
실시예 1 + 파모티딘	2596	409	1	13473	2098	34.73	5.41	15.57

[0233]

[0234] 화합물 (I)의 헤미술페이트 염을 화합물 (I) 유리 염기와 비교하여, 특히 유리하다는 것을 발견하였다. 화합물 (I)의 헤미술페이트 염은 환자에 대한 화합물 (I)의 생체이용률의 가변성을 감소시키고/거나 화합물 (I)의 생체이용률을 증가시킨다는 놀라운 이점을 가졌다. 이들 시험관내 및 생체내 데이터를 기준으로 하여, 헤미술페이트가 유리 형태보다 환자 사이에서의 생체이용률의 일관성의 주요 이점을 제공할 것임이 예상되었다. 예시로, 헤미술페이트 형태는 놀랍게도 위 산의 pH를 증가시킬 수 있는 의약, 예컨대 제산제, 양성자 펌프 억제제 또는 H_2-수용체 길항제가 투여된 환자 집단에서 증진된 생체이용률을 제공하였다.

[0235] **단결정 데이터 (LVL)**

[0236] 브루커-노니우스(Nonius) CAD4 계열 회절계 상에서 데이터를 수집하였다. 25개의 고-각도 반사의 실험용 회절계 세팅의 최소 제곱 분석을 통해 단위 셀 파라미터를 얻었다. 강도를 Θ-2Θ 가변 스캔 기술로 일정한 온도에서 CuKα 방사선 (λ = 1.5418Å)을 사용하여 측정하고, 단지 로렌츠(Lorentz)-분극 인자에 대해 보정하였다. 스캔 시간의 절반 동안 스캔의 양 극단에서 배경 계수를 수집하였다. 대안적으로, 브루커-노니우스 카파 CCD 2000 시스템 상에서 CuKα 방사선 (λ = 1.5418 Å)을 사용하여 단결정 데이터를 수집하였다. 측정된 강도 데이터의 색인화 및 처리는 콜렉트(Collect) 프로그램 모음 (콜렉트 데이터 수집 및 처리 사용자 인터페이스: 콜렉트: 데이터 수집 소프트웨어, 알. 후프트(R. Hooft), 노니우스 비.브이.(Nonius B.V.), 1998)에서 HKL2000 소프트웨어 패키지 (문헌 [Otwinowski, Z & Minor, W. (1997) in Macromolecular Crystallography, eds. Carter, W.C. Jr. & Sweet, R.M. (Academic, NY), Vol. 276, pp307-326])를 사용하여 수행하였다.

대안적으로, 단결정 데이터를 브루커-AXS APEX2 CCD 시스템 상에서 CuKα 방사선 (λ = 1.5418 Å)을 사용하여 수집하였다. 측정된 강도 데이터의 색인화 및 처리는 APEX2 소프트웨어 패키지/프로그램 모음 (APEX2 데이터 수집 및 처리 사용자 인터페이스: APEX2 사용자 매뉴얼, v1.27; 브루커 AXS, 인크.(BRUKER AXS, Inc.), 미국 위스콘신주 매디슨 소재)을 사용하여 수행하였다.

[0237] 나타낸 경우, 데이터 수집 동안 옥스포트 크리오시스템(Oxford cryosystem)의 냉각 스트림 (문헌 [Oxford Cryosystems Cryostream cooler: J. Cosier and A.M. Glazer, J. Appl. Cryst., 1986, 19, 105])으로 결정을 냉각시켰다.

[0238] 구조는 직접 방법에 의해 해명하고 약간의 국부 변형이 있는 SDP 소프트웨어 패키지 (SDP, 구조 결정 패키지, 엔라프(Enraf)-노니우스, 미국 뉴욕주 보헤미아 소재) 또는 결정학적 패키지 마쿠스(MAXUS) (마쿠스 해명 및 정밀화 소프트웨어 모음: 에스. 맥케이(S. Mackay), 씨.제이. 길모어(C.J. Gilmore), 씨. 에드워즈(C. Edwards), 엠. 트레메인(M. Tremayne), 엔. 스튜어트(N. Stewart), 케이. 샹클란드(K. Shankland). 마쿠스: 회절 데이터로부터의 결정 구조의 해명 및 정밀화를 위한 컴퓨터 프로그램) 또는 셀렉틀(SHELXTL) (쉘드릭, 지엠(Sheldrick, GM). 1997, 셀렉틀. 구조 결정 프로그램. 버전 5.10 이상, 브루커 AXS, 미국 위스콘신 매디슨 소재) 중 어느 하나를 사용하여 관측 반사에 기초하여 정밀화하였다.

[0239] 유도된 원자 파라미터 (좌표 및 온도 인자)를 전체 행렬 최소 제곱법을 통해 정밀화하였다. 정밀화에서 최소화된 함수는 $\Sigma w(|F_o| - |F_c|)^2$ 이었다. R은 $\Sigma ||F_o| - |F_c|| / \Sigma |F_o|$ 로서 정의되고, $R_w = [\Sigma w(|F_o| - |F_c|)^2 / \Sigma w |F_o|^2]^{1/2}$ 이며, 여기서 w는 관측 강도의 오류를 기준으로 하는 적절한 가중 함수이다. 모든 정밀화 단계에서 차등 맵을 검사하였다. 수소를 등방성 온도 인자를 갖는 이상적인 위치에 도입하였지만, 수소 파라미터는 달라지지 않았다.

[0240] **단결정 데이터 (WFD)**

[0241] 흑연-단색화된 CuKα 방사선 (λ = 1.54056 Å)이 장착된 브루커 스마트(SMART) 2K CCD 회절계를 사용하여 실온에서 회절 데이터를 수집하였다. 결정에서 검출기까지의 거리가 4.98 cm로 2Θ 범위에 걸쳐 ω 스캔 모드를 사용하여 전체 데이터 세트를 수집하였다. 실험적 흡수 보정은 회절계와 관련된 SADABS 루틴을 활용하였다 (브루커 AXS. 1998, 스마트 및 세인트플러스(SAINTPLUS). 영역 검출기 제어 및 통합 소프트웨어, 브루커 AXS, 미국 위스콘신주 매디슨 소재). 전체 데이터 세트를 사용하여 최종 단위 셀 파라미터를 결정하였다.

[0242] 모든 구조는 직접 방법에 의해 해명하고, 셀렉틀 소프트웨어 패키지 (쉘드릭, 지엠. 1997, 셀렉틀. 구조 결정 프로그램. 버전 5.10, 브루커 AXS, 미국 위스콘신주 매디슨 소재)를 사용하여 전체 행렬 최소 제곱법에 의해 정밀화하였다. 정밀화에서 최소화된 함수는 $\Sigma w(|F_o| - |F_c|)^2$ 이었다. R은 $\Sigma ||F_o| - |F_c|| / \Sigma |F_o|$ 로서 정의되고, $R_w = [\Sigma w(|F_o| - |F_c|)^2 / \Sigma w |F_o|^2]^{1/2}$ 이며, 여기서 w는 관측 강도의 오류를 기준으로 하는 적절한 가중 함수이다. 모든 정밀화 단계에서 차등 푸리에(Fourier) 맵을 검사하였다. 이방성 열 변위 파라미터로 모든 비-수소 원자를 정밀화하였다. 수소 결합과 관련된 수소 원자를 최종 차등 푸리에 맵에 위치시켰으며, 다른 수소 원자의 위치를 표준 결합 길이 및 각도를 갖는 이상적인 기하학으로부터 계산하였다. 이들은 등방성 온도 인자를 부여받았고, 고정 파라미터와 함께 구조 인자 계산에 포함되었다.

[0243] **PXRD (필립스(Philips))**

[0244] 약 200 mg을 필립스 분말 X선 회절 (PXRD) 샘플 홀더에 채웠다. 샘플을 필립스 MPD 유닛 (45 KV, 40 mA, CuKα)으로 옮겼다. 데이터를 실온에서 2 내지 32의 2-세타 범위에서 수집하였다 (연속 스캐닝 모드, 스캐닝 속도 0.03 도/초, 자동 발산(auto divergence) 및 산란방지(anti scatter) 슬릿, 수신 슬릿: 0.2 mm, 샘플 스피너: ON).

[0245] **PXRD (GADDS-NB)**

[0246] X선 분말 회절 (PXRD) 데이터를 브루커 C2 GADDS를 사용하여 수득하였다. 방사선은 CuKα (40 KV, 40 mA)였다. 샘플-검출기 거리는 15 cm였다. 분말 샘플을 직경 1 mm 이하의 밀봉된 유리 모세관에 넣고; 데이터 수집 동안 모세관을 회전시켰다. 1000초 이상의 샘플 노출 시간으로 3≤2Θ≤35° 에 대해 데이터를 수집하였다. 생성된 2-차원 회절 원호를 적분하여, 3 내지 35° 의 2Θ 범위에서 0.02 도 2Θ의 단계 크기를 갖

는 통상적인 1-차원 PXRD 패턴을 생성하였다.

[0247] **DSC (개방 팬)**

[0248] 시차 주사 열량측정법 (DSC) 실험을 TA 인스트루먼츠(TA Instruments)™ 모델 Q2000, Q1000 또는 2920으로 수행하였다. 샘플 (약 2 내지 6 mg)을 알루미늄 팬에서 칭량하여, 밀리그램의 백분의 일까지 정확하게 기록하고, DSC로 옮겼다. 기기를 50 mℓ/분의 질소 기체로 퍼징하였다. 10℃/분의 가열 속도로 실온 내지 300℃에서 데이터를 수집하였다. 흡열 피크가 아래를 향하는 플롯이 만들어졌다.

[0249] **TGA (개방 팬)**

[0250] 열 중량 분석 (TGA) 실험을 TA 인스트루먼츠™ 모델 Q500 또는 2950으로 수행하였다. 샘플 (약 10 내지 30 mg)을 미리 칭량된 백금 팬에 놓았다. 샘플의 중량을 정확히 측정하고, 밀리그램의 천분의 일까지 기기에 의해 기록하였다. 가열로를 100 mℓ/분의 질소 기체로 퍼징하였다. 10℃/분의 가열 속도로 실온 내지 300℃에서 데이터를 수집하였다.

[0251] **고체상 핵 자기 공명 (SSNMR)**

[0252] 모든 고체상 C-13 NMR 측정을 브루커 AV-400, 400 MHz NMR 분광계로 수행하였다. 고해상도 스펙트럼을 고출력 양성자 디커플링, 및 대략 12 kHz의 매직-앵글 스피닝 (MAS)을 이용한 TPPM 펄스 시퀀스 및 램프 진폭 교차-분극(cross-polarization) (RAMP-CP)을 이용하여 수득하였다 (문헌 [A.E. Bennett et al., J. Chem. Phys., 1995, 103, 6951], [G. Metz, X. Wu and S.O. Smith, J. Magn. Reson. A., 1994, 110, 219-227]). 각각의 실험에서 캐니스터(canister) 디자인의 지르코니아 로터로 패킹된 대략 70 mg의 샘플을 사용하였다. 화학적 이동 (δ)은 38.56 ppm으로 설정된 고주파수 공명으로 외부 아다만탄을 기준으로 하였다 (문헌 [W.L. Earl and D.L. VanderHart, J. Magn. Reson., 1982, 48, 35-54]).

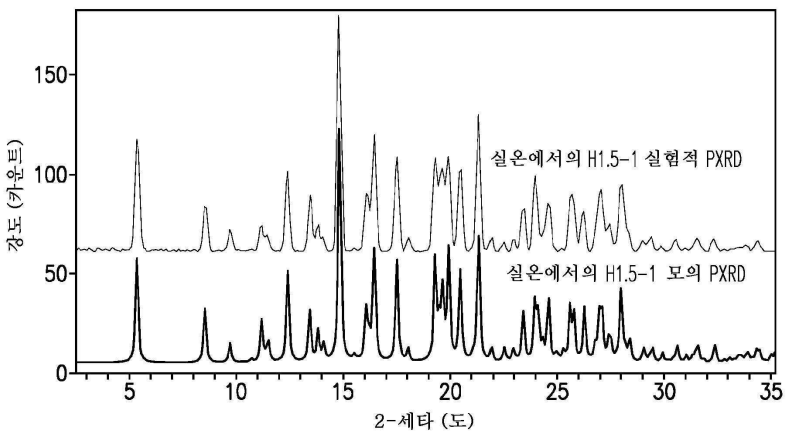
[0253] **VTI (건조)**

[0254] 등온 흡습 곡선을 대략 10 mg의 샘플을 사용하여 VTI SGA-100 대칭적 증기 분석기(Symmetric Vapor Analyzer)에서 수집하였다. 샘플을 10분 동안 손실율 0.0005 중량%/분이 얻어질 때까지 60℃에서 건조시켰다. 샘플을 25℃ 및 3 또는 4, 5, 15, 25, 35, 45, 50, 65, 75, 85 및 95% RH에서 시험하였다. 35분 동안 손실율 0.0003 중량%/분이 달성되었을 때 또는 최대 600분에 각각의 RH에서 평형에 도달하였다.

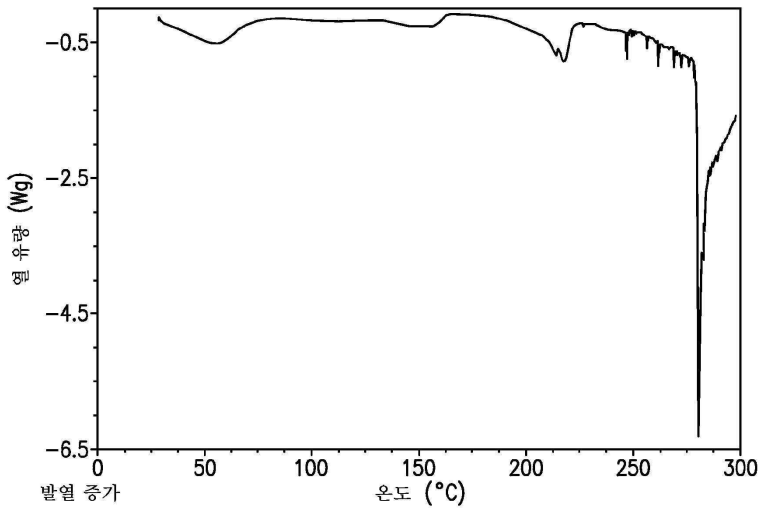
[0255] 본 개시내용은 상기 예시적인 실시예로 제한되지 않고, 그의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 한 다른 구체적인 형태로도 구현될 수 있음이 당업자에게 명백할 것이다. 따라서, 예시로서 모든 측면에서 고려되지만 제한되지는 않는 실시예, 상기 실시예 이외의 첨부된 특허청구범위에서의 언급, 및 특허청구범위와 등가의 의미 및 범위 내에 있는 모든 변형이 그 안에 포괄되는 것으로 의도되는 것이 바람직하다.

도면

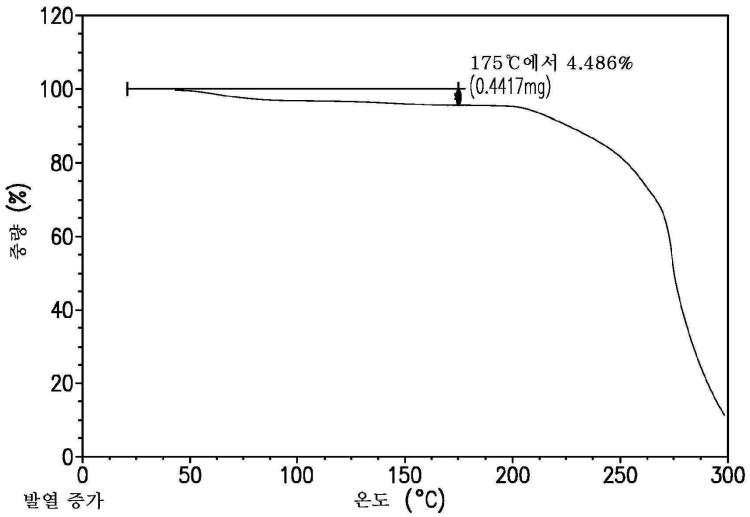
도면1



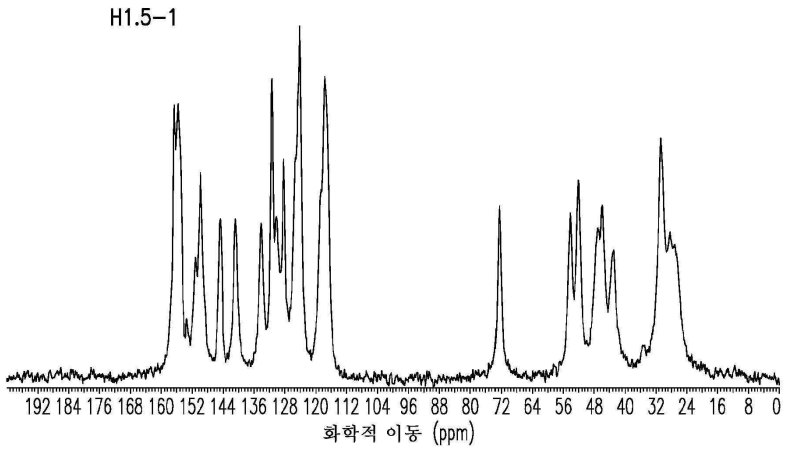
도면2


-0.5
-2.5
-4.5
-6.5
열 유량 (Wg)
0
50
100
150
200
250
300
발열 증가
온도 (°C)

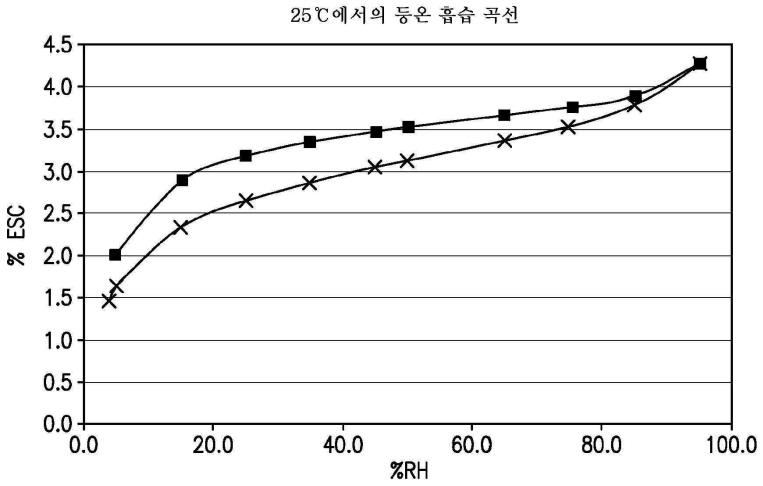
도면3


120
100
80
60
40
20
0
중량 (%)
175℃에서 4.486%
(0.4417mg)
0
50
100
150
200
250
300
발열 증가
온도 (°C)

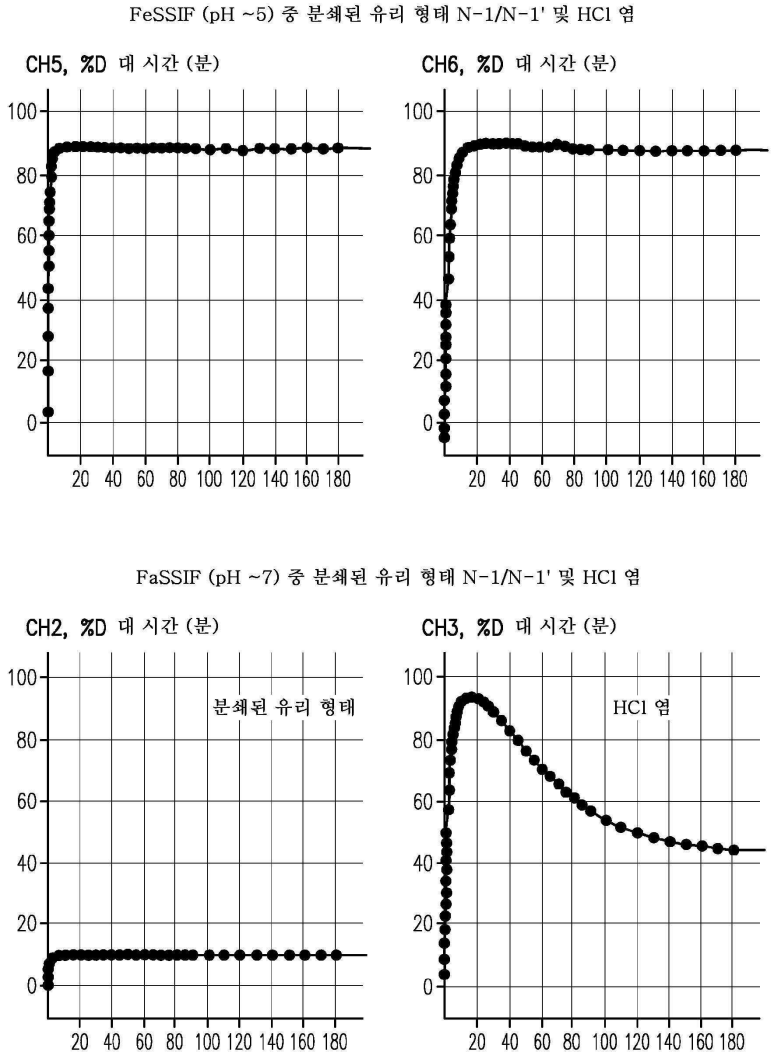
도면4


H1.5-1
192 184 176 168 160 152 144 136 128 120 112 104 96 88 80 72 64 56 48 40 32 24 16 8 0
화학적 이동 (ppm)

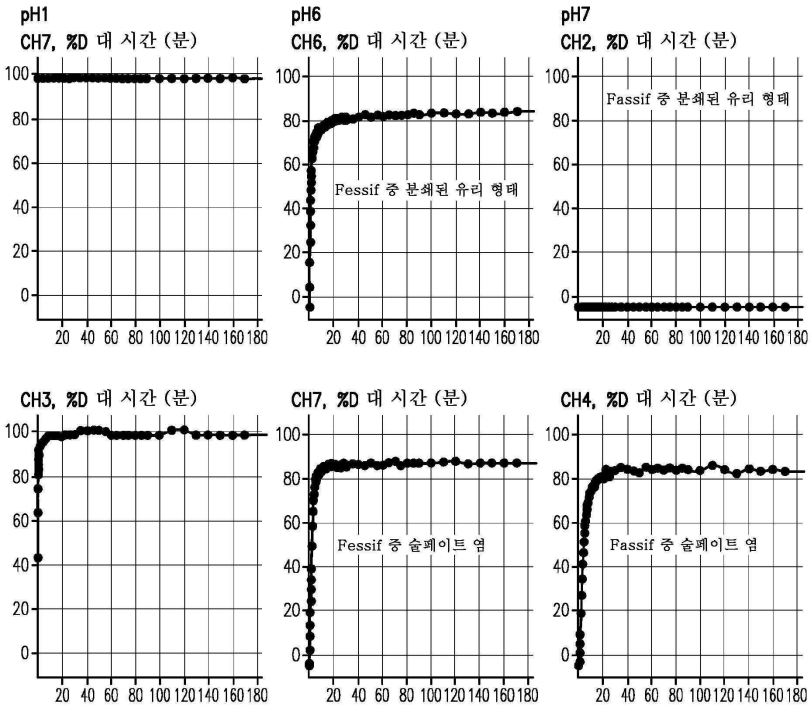
도면5


25℃에서의 등온 흡습 곡선
% ESC
%RH
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0.0
20.0
40.0
60.0
80.0
100.0

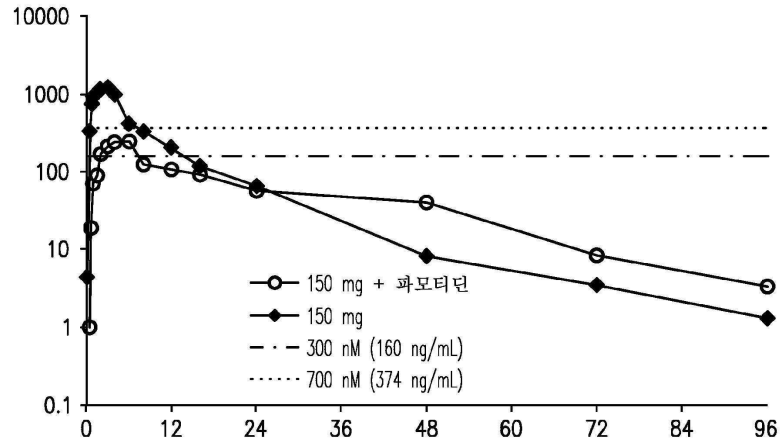
도면6


FeSSIF (pH ~5) 중 분쇄된 유리 형태 N-1/N-1' 및 HCl 염
CH5, %D 대 시간 (분)
CH6, %D 대 시간 (분)
FaSSIF (pH ~7) 중 분쇄된 유리 형태 N-1/N-1' 및 HCl 염
CH2, %D 대 시간 (분)
CH3, %D 대 시간 (분)
분쇄된 유리 형태
HCl 염
100
80
60
40
20
0
20 40 60 80 100 120 140 160 180

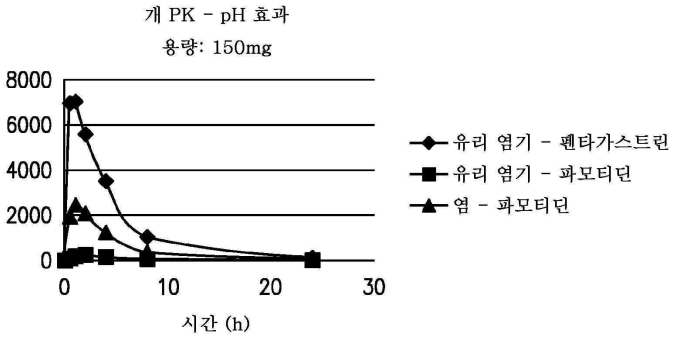
도면7


pH1
CH7, %D 대 시간 (분)
pH6
CH6, %D 대 시간 (분)
Fessif 중 분쇄된 유리 형태
pH7
CH2, %D 대 시간 (분)
Passif 중 분쇄된 유리 형태
CH3, %D 대 시간 (분)
CH7, %D 대 시간 (분)
Fessif 중 슬페이트 염
CH4, %D 대 시간 (분)
Passif 중 슬페이트 염

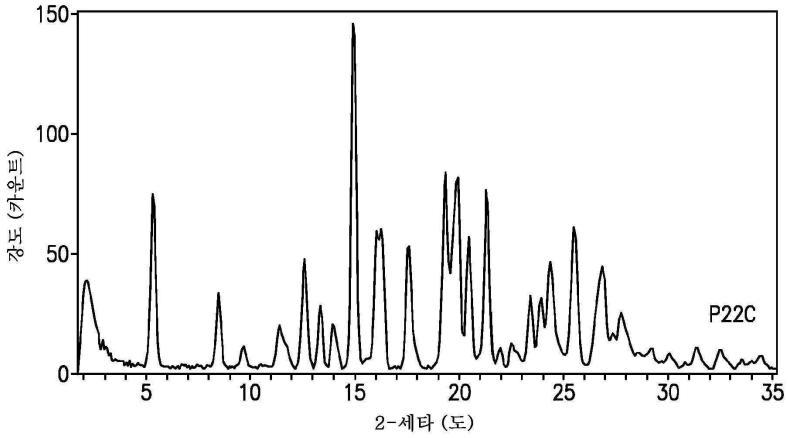
도면8


150 mg + 파모티딘
150 mg
300 nM (160 ng/mL)
700 nM (374 ng/mL)

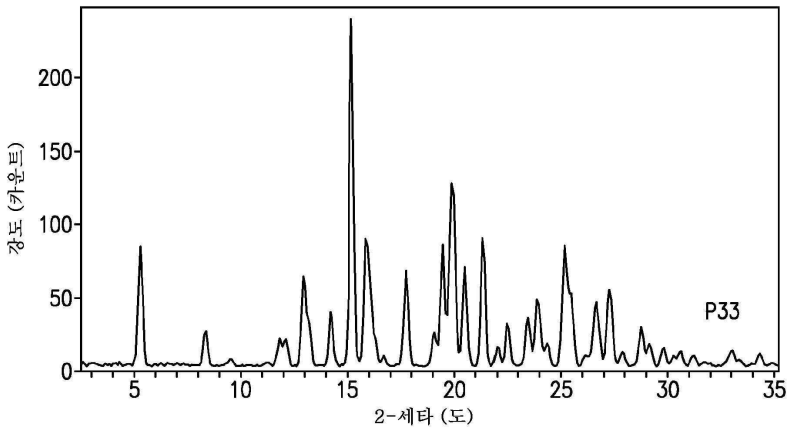
도면9


개 PK - pH 효과
용량: 150mg
유리 염기 - 펜타가스트린
유리 염기 - 파모티딘
염 - 파모티딘
시간 (h)

도면10



도면11



도면12

