



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년02월13일

(11) 등록번호 10-2768284

(24) 등록일자 2025년02월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/14 (2006.01) A61K 31/437 (2006.01)(52) CPC특허분류
C07D 471/14 (2013.01)
A61K 31/437 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7000012

(22) 출원일자(국제) 2019년06월14일

심사청구일자 2022년06월02일

(85) 번역문제출일자 2021년01월04일

(65) 공개번호 10-2021-0021342

(43) 공개일자 2021년02월25일

(86) 국제출원번호 PCT/IB2019/055005

(87) 국제공개번호 WO 2019/239387

국제공개일자 2019년12월19일

(30) 우선권주장

62/685,737 2018년06월15일 미국(US)

62/846,290 2019년05월10일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

KR102352462 B1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

얀센 파마슈티카 엔브이

벨기에왕국 베-2340-비어세 투른호우트세베크 30

(72) 발명자

페르난데스, 필리페

벨기에 2340 비어세 투른호우트세베크 30 얀센 리
서치엔 디벨롭먼트 내

티치노르, 마크 에스.

미국 캘리포니아주 92121 샌디에고 메리필드 로우
3210 얀센 리서치엔 디벨롭먼트 내

크라우스주크, 폴 제이.

미국 펜실베이니아주 19477 맥킨 로드 스프링 하우스
1400 얀센 리서치엔 디벨롭먼트 내

(74) 대리인

특허법인한성

전체 청구항 수 : 총 9 항

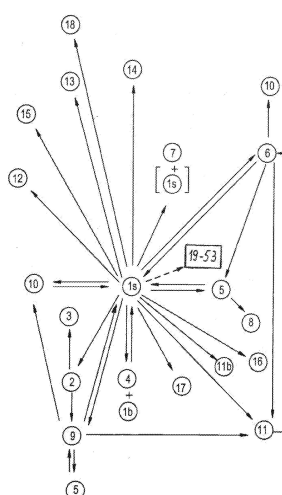
심사관 : 윤은영

(54) 발명의 명칭 JAK 패밀리의 키나제의 소분자 억제제

(57) 요약

2-((1r, 4r)-4-(이미다조[4,5-d]피롤로[2,3-b]피리딘-1(6H)-일)사이클로헥실)아세트니트릴 화합물, 이들을 함유하는 약제학적 조성물, 이들의 제조 방법, 및 JAK에 의해 매개되는 질환 상태, 장애, 및 병태를 치료하는 방법을 포함하는 이들의 사용 방법.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류
C07B 2200/13 (2013.01)

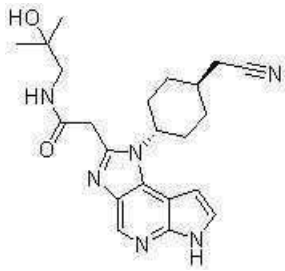
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식의 화합물로서,

수화물/메탄올 용매화물 믹스, 헵탄 용매화물, 에탄올 용매화물, 메탄올 용매화물, 에틸 아세테이트 용매화물, 아이소프로필 아세테이트 용매화물, 2-부타논 용매화물, 및 115.3℃에서 유리전이점(T_g)을 갖는 비정질 중 어느 하나의 형태인 화합물:



청구항 2

제1항에 있어서, 수화물/메탄올 용매화물 믹스 형태인 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, 헵탄 용매화물 형태인 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서, 에탄올 용매화물 형태인 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, 메탄올 용매화물 형태인 화합물.

청구항 6

제1항에 있어서, 에틸 아세테이트 용매화물 형태인 화합물.

청구항 7

제1항에 있어서, 아이소프로필 아세테이트 용매화물 형태인 화합물.

청구항 8

제1항에 있어서, 2-부타논 용매화물 형태인 화합물.

청구항 9

제1항에 있어서, 115.3℃에서 유리전이점(T_g)을 갖는 비정질 형태인 화합물.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 소정의 이미다조피롤로피리딘 화합물, 이들을 함유하는 억제학적 조성물, 이들의 제조 방법, 및 JAK 에 의해 매개되는 질환 상태, 장애, 및 병태의 치료를 위해 JAK 억제제로서 이들을 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 내부 인자, 외부 인자, 또는 둘 모두의 인자의 조합은 신체 내에서 비정상적인 면역 반응의 발생을 촉발하거나 그와 관련될 수 있다. 결과적으로, 신체 내에 정상적으로 존재하는 물질 및 조직과 같은 구성성분들이 그러한 면역 반응을 겪게 되는 병리학적 상태가 발생한다. 이들 상태는 일반적으로 면역계 질환으로 지칭된다. 신체의 면역계가 관여하고 손상이 신체 조직에 영향을 주기 때문에, 그러한 질환은 자가면역 질환으로도 지칭된다.

그러한 시스템 및 조직은 동일한 신체의 일부이기 때문에, 무엇이 변칙적인 면역계 반응을 촉발하는지에 무관하게 용어 "자가면역 질환" 및 "면역계 질환"은 본 명세서에서 상호교환적으로 사용된다. 추가로, 기저의 면역 문제의 실제 또는 기전이 항상 명확한 것은 아니다. 예를 들어, 문헌[D.J. Marks, *et al.*, Crohn's disease: An immune deficiency state, *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 38(1), 20-30 (2010)]; 문헌[J.D. Lalande, *et al.*, Mycobacteria in Crohn's disease: How innate immune deficiency may result in chronic inflammation, *Expert Reviews of Clinical Immunology* 6(4), 633-41 (2010)]; 문헌[J.K. Yamamoto-Furusho, *et al.*, Crohn's disease: Innate immunodeficiency, *World Journal of Gastroenterology*, 12(42), 6751-55 (2006)]을 참조한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "자가면역 질환"은 환경 또는 세균 인자와 같은 외부 인자 또는 제제, 및 유전 감수성과 같은 내부 인자를 포함하는 원인을 가진 병태를 배제하지 않는다. 따라서, 크론병(CD)과 같은 병태는, 그것이 신체 자체에 의해 촉발되는지, 또는 외부 인자에 의해 촉발되는지에 무관하게, 본 명세서에서 자가면역 질환으로 지칭된다. 예를 들어, 문헌[J. L. Casanova, *et al.*, Revisiting Crohn's disease as a primary immunodeficiency of macrophages, *J. Exp. Med.* 206(9), 1839-43 (2009)]을 참조한다.

[0003] 자가면역 질환에 의해 야기되는 다양한 유해 효과 중에서, 하기 중 하나 이상이 전형적으로 관찰된다: 기관 성장 및 기관 기능에 영향을 줄 수 있는 조직의 손상 및 때때로 파괴, 및 기관 변경. 자가면역 질환의 예는 대부분의 주요 기관, 내분비 및 외분비 샘, 혈액 및 근육, 및 소화, 혈관, 결합, 및 신경계와 같은 복수의 시스템에 영향을 준다. 자가면역 질환을 치료하기 위해 면역억제 치료가 종종 채택된다.

[0004] 자가면역 질환이 어떻게 발생하는지를 설명하기 위해 다수의 이론이 공지되어 있으며, 일부는 내인성 인자에 집중하고, 다른 것들은 외인성 인자를 또한 포함한다. 분자 수준에서, Janus 키나제/전사의 신호 전달자 및 활성화 화제(JAK/STAT) 신호전달 경로는 세포의 화학적 신호로부터 세포 핵으로 정보를 전송하는 데 중요한 역할을 하는 것으로 생각되며, 이는 면역과 같은 세포 활성화에 관여하는 유전자의 조절을 유발한다. 사이토카인은 세포 신호전달에서 중요한 역할을 하는 세포의 분자의 예이다. 호중구와 같은 백혈구는 사이토카인 및 케모카인에 의해 동원되어 궁극적으로 만성 염증성 질환에서 조직 손상을 야기한다.

[0005] Janus 키나제(JAK) 패밀리의 단백질은 유형 I 및 유형 II 사이토카인 수용체의 세포내 신호전달에 중심이 되는 4 개의 티로신 키나제, JAK1, JAK2, JAK3, 및 Tyk2로 이루어진다. 용어 JAK는 JAK1, JAK2, JAK3, 또는 Tyk2, 또는 이들의 임의의 조합을 지칭한다. 각각의 JAK는 수용체 서브유닛과 선택적으로 회합하며, 이는 이량체화(또는 다량체화)되어 기능성 수용체를 형성한다. 문헌[J.D. Clark, *et al.*, Discovery and Development of Janus Kinase (JAK) Inhibitors for Inflammatory Diseases, *J. Med. Chem.* 57(12), 5023-38 (2014)]에 따르면, "활성화 단계는 사이토카인이 그의 수용체에 결합하여 수용체 서브유닛의 다량체화(이량체화 또는 더 고차인 복합체)를 유도하는 경우에 일어난다. 이는 각각의 서브유닛과 회합한 JAK가 서로 근접하게 하여, 일련의 인산화 이벤트를 촉발하여 궁극적으로 전사의 신호 전달자 및 활성화 화제(STAT) 단백질의 인산화 및 활성화를 유발한다. 이어서, 인산화된 STAT 이량체는 세포의 핵으로 전위되며, 여기서 그것은 표적 유전자에 결합하여 그의 발현을 조절한다." 일단 핵 내에 들어가면, STAT는 DNA 상의 특이적 인식 부위에 결합함을 통해 염증 과정에서 다수의 매개체의 유전자 전사를 조절한다. 예를 들어, 상기 인용된 문헌[J. Med. Chem. 57(12), 5023-38 (2014)]을 참조한다. 염증, 자가면역 질환, 및 암에서 JAK/STAT 경로에 대한 중요성을 입증하는 상당한 증거가 존재한다. 예를 들어, 문헌[M. Coskun, *et al.*, Involvement of JAK/STAT signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease, *Pharmacological Research* 76, 1-8 (2013)]; 및 문헌[J.J. O'Shea, *et al.*, JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer, *The New England Journal of Medicine* 368, 161-70 (2013)]을 참조한다.

[0006] 크론병 및 궤양성 대장염(UC)을 포함하는 염증성 장질환은 재발성 장 염증, 상피 장벽의 붕괴, 및 미생물 불균형을 특징으로 한다. 위장관에서의 과도한 염증 반응은 TNF α , IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IL-21, 및 IL-23을 포함하는 몇몇 전-염증성 사이토카인에 의해 매개되며, 이는 T 및 B 림프구, 상피 세포, 대식세포, 및 수지상 세포(DC)를 포함하는 선천 및 적응 면역계의 세포에 대해 그들의 효과를 발휘한다. 예를 들어, 상기 인용된 문헌[*Pharmacological Research* 76, 1-8 (2013)]; 문헌[S. Danese, *et al.*, JAK inhibition using tofacitinib for inflammatory bowel disease treatment: A hub for multiple inflammatory cytokines, *American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology* 310, G155-62 (2016)]; 및 문헌[M.F. Neurath, Cytokines in inflammatory bowel disease, *Nature Reviews Immunology* 14, 329-42 (2014)]을 참조한다.

[0007] 이러한 과도한 염증 반응의 예방 및/또는 제어가 바람직하다. 상기 요약된 바와 같은 이러한 반응의 기전에 비

추어, JAK 억제(JAK/STAT 신호전달 경로 및 염증을 공격하는 범용-JAK 억제제를 나타내는 톱니형 화살표(jagged arrow) 형태의 도 1의 예시 참조)는 과도한 염증 반응을 예방하거나 제어할 것으로 예상된다. 복수의 그러한 JAK 단백질을 억제하는 JAK 억제제는 본 명세서에서 범용-JAK 억제제로 지칭된다. 그러한 예방 또는 제어의 치료적 이익의 예는, 류마티스 관절염의 치료를 위해 미국에서 승인되고 현재 궤양성 대장염에 대해 임상 개발 중인 경구용 생체이용가능 범용-JAK 억제제인 토파시티닙에 의해 관찰되었다. 2 상 임상 시험에서, 중등도 내지 중증의 궤양성 대장염을 갖는 194 명의 환자를 임상 효능에 대해 평가하여 보고하였다. 예를 들어, 문헌[W.J. Sandborn, *et al.*, Tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in active ulcerative colitis, *The New England Journal of Medicine* 367, 616-24 (2012)]을 참조한다. 이러한 시험에 대한 공개된 정보는, 위약에서 관찰된 42%에 비교하여 0.5, 3, 10, 및 15 mg의 일일 2 회(BID) 용량을 받는 환자가 각각 32, 48, 61, 및 78%의 임상 반응을 달성하였음을 나타낸다. 임상 관해의 2차 종점(Mayo 점수 ≤ 2)은 위약에서 관찰된 10%에 비교하여 13, 33, 48, 및 41%였음이 추가로 보고되었다. 예를 들어, 상기 인용된 문헌[*The New England Journal of Medicine* 367, 616-24 (2012)]을 참조한다. 3 상 UC 임상 시험에서, 위약 치료를 받는 122 명의 환자 중 10 명에 비교하여 토파시티닙(10 mg BID)에 의한 8 주 치료 후에 476 명의 환자 중 88 명이 임상 관해를 달성한 것으로 보고되었다. 문헌[W.J. Sandborn, *et al.* Efficacy and safety of oral tofacitinib as induction therapy in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis: results from 2 phase 3 randomised controlled trials, *J. Crohns Colitis* 10, S15-S (2016)]을 참조한다. 크론병에 대한 보고는 토파시티닙이 또한 CD의 치료를 위해 개발 중이었음을 나타내며; 중등도 내지 중증의 CD에 대한 4 주/2 상 임상 시험에서 임상 효능을 달성하지 못함으로 인해 중단된 것으로 보고되었다. 문헌[W.J. Sandborn, *et al.*, A phase 2 study of tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in patients with Crohn's disease, *Clinical gastroenterology and hepatology: The official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 12, 1485-93 e2 (2014)]을 참조한다. 참조된 공개적으로 입수가능한 문헌에 기초하면, CD에서의 토파시티닙 실패가 임상 연구 설계, UC와 CD 사이의 기전적 차이, 또는 용량을 제한하는 전신 유해 이벤트에 관련되는지의 여부가 현재 불명확하다. 상기 인용된 문헌[*Pharmacological Research* 76, 1-8 (2013)]; 상기 인용된 문헌[*Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 12, 1485-93 e2 (2014)]; 및 문헌[C.J. Menet, *et al.*, Triazolopyridines as selective JAK1 inhibitors: from hit identification to GLPG0634, *J. Med. Chem.* 57, 9323-42 (2014)]을 참조한다. 이러한 JAK 억제제의 특징에 비추어, 과도한 염증 반응의 예방 및/또는 제어를 위한 추가의 JAK 억제제를 찾는 것이 바람직하다.

[0008] 토파시티닙을 이용하는 2 상 및 3 상 염증성 장질환(IBD) 임상 시험 둘 모두에 대하여 전신 유해 이벤트가 보고되었다. 상기 인용된 문헌[*The New England Journal of Medicine* 367, 616-24 (2012)]; 상기 인용된 문헌[*Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 12, 1485-93 e2 (2014)]; 및 문헌[J. Panes, *et al.* Efficacy and safety of oral tofacitinib for induction therapy in patients with moderate-to-severe Crohn's disease: results of a Phase 2b randomised placebo-controlled trial, *J. Crohns Colitis* 10, S18-S19 (2016)]을 참조한다. 이들 유해 이벤트는 감소된 절대 호중구 계수(ANC), 상승된 총 콜레스테롤(저밀도 및 고밀도 지질), 장 천공, 및 감염을 포함한다. 그러한 유해 이벤트는 류마티스 관절염(RA) 환자에서 토파시티닙 치료 후에 관찰되는 것들과 일치하며(예를 들어, 문헌[J.M. Kremer, *et al.* The safety and efficacy of a JAK inhibitor in patients with active rheumatoid arthritis: Results of a double-blind, placebo-controlled phase IIa trial of three dosage levels of CP-690,550 versus placebo, *Arthritis and Rheumatism* 60, 1895-905 (2009)] 참조), 이들 중 일부는 EPO, TPO, 및 콜로니 자극 인자(csf-2 및 GM-CSF(과립구 대식세포- 콜로니 자극 인자))의 JAK2 의존성 억제 및/또는 I1-6의 JAK1 의존성 억제로부터 유발될 가능성이 있다. 상기 인용된 문헌[*Arthritis and Rheumatism* 60, 1895-905 (2009)]; 및 문헌[O.H. Nielsen, *et al.*, Will novel oral formulations change the management of inflammatory bowel disease? Expert Opinion on Investigational Drugs 25, 709-18 (2016)]을 참조한다.

[0009] 도 1을 참조하면, 경구 투여된 약물은 원칙적으로 입으로부터 식도(1)까지, 위(2)까지, 십이지장(3)을 통해 공장(4)까지, 이어서 회장(5)까지, 그리고 이어서 결장(6)까지 위장관을 따라갈 수 있다. 그러한 다양한 부분에 대한 상대 흡수 면적(relative absorption area)은 공장(4)의 경우에 대략 60%, 회장(5)의 경우에 대략 26%, 및 결장(6)의 경우에 대략 13%이다. 이들 다양한 위장 영역을 통한 흡수는 전신 분포의 개시로 이어질 수 있으며, 이는 결국 바람직하지 않은 부작용으로 이어질 수 있다. 위장관은 표면적이 매우 크다. 예를 들어, 문헌[H.F. Helander, *et al.*, Surface area of the digestive tract - revisited, *Scandinavian Journal of*

Gastroenterology 49(6), 681-89 (2014)]; 및 문헌[K.J. Filipinski, *et al.*, Intestinal Targeting of Drugs: Rational Design Approaches and Challenges Current Topics in Medicinal Chemistry 13, 776-802 (2013)]을 참조한다. 그러한 광범위한 흡수 표면적은 장관의 다양한 부분의 벽을 통해 혈류 내로 이동할 수 있는 물질의 전신 분포를 촉진하며, 결국 전신적으로 분포된 물질의 원치 않는 부작용으로 이어질 가능성을 갖는다. 도 1에서는 단순화된 예시적 목적으로 전신 분포가 결장 벽을 통해 투과하는 것으로 파선 화살표에 의해 나타내지만, 이는 또한 도 1에 나타난 위장관의 다른 부분의 벽, 예컨대 소장의 벽을 통해 일어날 수 있으므로, 그러한 분포는 결장 벽으로 제한되지 않는다. 도 1의 파선 화살표는 위장관을 넘어 전신 분포를 나타내는데, 이는 그러한 전신 분포가 위장관 생리학과 관련하여 일어나는 것으로 공지되어 있기 때문이며, 그러한 파선 화살표는 단순히 그러한 전신 분포를 개략적인 예시적 방식으로 지칭한다는 것이 또한 이해된다. 장 조직의 설명, 이를 가로지르는 수송, 및 대사에 대해서는, 예를 들어, 상기 인용된 문헌[Current Topics in Medicinal Chemistry 13, 777-80 (2013)]을 참조한다.

[0010] 약물 후보에서의 한 가지 주요 탈락 이유는 안전성 및 용인성이다. 예를 들어, 문헌[I. Kola, *et al.*, Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? Nature Reviews Drug Discovery 3, 711-5 (2004)]; 문헌[M.J. Waring, *et al.*, An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. Nature Reviews Drug Discovery 14, 475-86 (2015)]; 문헌[M. Hay, *et al.*, Clinical development success rates for investigational drugs, Nature Biotechnology 32, 40-51 (2014)]; 및 문헌[M.E. Bunnage, Getting pharmaceutical R&D back on target, Nature Chemical Biology 7, 335-9 (2011)]을 참조한다. 다른 조직에 대한 노출을 제한하면서, 의도된 표적 조직에 대한 화합물의 국소 조직 농도를 증가시키는 것은 원치 않는 부작용을 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 문헌[V.P. Torchilin, Drug targeting. European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences 11 Suppl 2, S81-91 (2000)]을 참조한다. 이러한 개념은 소정의 질환 및 조직, 예컨대 눈(예를 들어, 문헌[R. Gaudana, *et al.*, Ocular drug delivery, The AAPS Journal 12, 348-60 (2010)] 참조), 피부(예를 들어, 문헌[R. Folster-Holst, *et al.*, Topical hydrocortisone 17-butyrate 21-propionate in the treatment of inflammatory skin diseases: pharmacological data, clinical efficacy, safety and calculation of the therapeutic index, Die Pharmazie 71, 115-21 (2016)] 참조), 및 폐(예를 들어, 문헌[J.S. Patil, *et al.*, Pulmonary drug delivery strategies: A concise, systematic review, Lung India: official organ of Indian Chest Society 29, 44-9 (2012)] 참조)에 대해 널리 인정되었다. 이러한 조직-표적화 접근법과 유사하게, 다른 조직에서 원치 않는 약물 수준을 제한하면서 장 약물 농도를 증가시키는 것은 안전역을 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 문헌[I.R. Wilding, *et al.*, Targeting of drugs and vaccines to the gut, Pharmacology & Therapeutics 62, 97-124 (1994)]; 문헌[D. Charnot, Non-systemic drugs: a critical review, Current Pharmaceutical Design 18, 1434-45 (2012)]; 및 상기 인용된 문헌[Current Topics in Medicinal Chemistry 13, at 780 (2013)]을 참조한다. 제한된 전신 노출을 달성하는 화합물을 이용하는 위장 조직 내 표적의 조직-선택적 조절은 궤양성 대장염 및 크론병을 포함하는 위장관의 질환의 치료를 위한 그러한 화합물의 치료 지수를 잠재적으로 개선할 수 있다. 예를 들어, 문헌[O. Wolk, *et al.*, New targeting strategies in drug therapy of inflammatory bowel disease: mechanistic approaches and opportunities, Expert Opin. Drug Deliv. 10(9), 1275-86 (2013)]을 참조한다. 용어 "전신 효과"는, 항상 동일한 것은 아니지만, 전신 노출 및 임의의 그러한 전신 노출의 효과를 지칭하기 위해 본 명세서에 사용된다.

[0011] 일부 공지된 JAK 억제제는 그들의 전신 효과와 관련된 유해 효과를 갖기 때문에, 과도한 염증 반응의 예방 및/또는 제어를 위한 활성 물질로서의, 그리고 그의 전신 효과가 제거되거나 감소된, 새로운 JAK 억제제를 찾는 것이 바람직하다. 감소된 전신 효과를 갖는, IBD와 같으나 이로 제한되지 않는 병태의 치료를 위한, 위장 조직에 국소적 효과를 갖는 JAK 억제제를 찾는 것이 추가로 바람직하다. 다양한 JAK 단백질이 담당하는 역할 때문에, 범용-JAK 억제제를 찾는 것이 추가로 바람직하다.

[0012] 장 조직 표적화는 원칙적으로 다수의 전략에 따라 추구될 수 있다. 물리화학적 특성 접근법, 수송-매개 접근법, 전구약물 접근법, 및 제형 및 기술 접근법을 포함하는 접근법에 관하여, 예를 들어, 상기 인용된 문헌[Current Topics in Medicinal Chemistry 13, at 780-95 (2013)]을 참조한다. 그러나, 상기 인용된 문헌[Current Topics in Medicinal Chemistry 13, at 795 (2013)]에 기재된 바와 같이, 특히 장에 표적화된 화합물에, 그리고 "조직 표적화 프로그램에 특유한 다수의 난제 및 함정이 존재한다"는 것이 인정된다.

[0013] IBD 병태는 위장관의 다수의 부분으로 연장될 수 있다. 단순화된 예시적 목적을 위해 도 1에는 단지 결장 질환 부위(10)를 하행 결장에 나타내지만, 염증성 장질환은 크론병에서의 경우와 같이 위장관의 임의의 부분에, 또는

궤양성 대장염에서와 같이 직장 및 결장 내의 임의의 부분에 영향을 줄 수 있다. 예를 들어, 문헌 [NIDDK(National Institute of Diabetes, and Digestive and Kidney Diseases), National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services, <<http://spotidoc.com/doc/71780/crohns-disease---national-digestive-diseases-information>>, accessed Nov. 29, 2016]을 참조한다. IBD 질환 부위는, 예를 들어, 회장성(회장에 위치함), 회결장성(회장 및 결장의 부분에 영향을 줌), 및 결장성(도 1에서 하행 결장에 예시적으로 나타난 바와 같이 결장에 위치함)일 수 있다. 따라서, 소정의 질환 시나리오에서, 장관의 전체 또는 많은 부분을 따라 약물을 전달하는 것이 바람직할 수 있다. 다른 질환 시나리오에서, 위장관의 임의의 주어진 부분에서 국소 농도를 증가시키는 것이 바람직할 수 있다. 또 다른 시나리오에서, 장관 내의 상이한 부위들에서의 이들 2 가지 형태의 전달의 조합이 바람직할 수 있을 것이다.

[0014] 그러한 시나리오 중 하나는, 본 명세서에서 "국소 GI 효과"로 지칭되는 특징인, 위장(GI)관의 광범위한 부분에서 작용하도록 이용가능하지만, 도 1에서 실선 화살표로 예시된 바와 같이 위장관을 통과할 때의 제한된 흡수로 인한 제한된 전신 효과를 갖는 활성 물질의 전달에 집중할 것이다. 감소된 전신 효과로 인해, 그러한 물질에 대해 더 넓은 범위의 투여량이 평가될 수 있을 것이다. 그러한 활성 물질이 낮은 투과성을 가져서, 소량만이 장 벽을 통해 혈류 내로 이동하여 비-표적화된 영역에 그것이 도달할 때 바람직하지 않은 유해 부작용을 제한한다면 추가로 바람직할 것이다.

[0015] 또한, JAK 억제제는 다른 질환에 대한 치료 후보로서 예상된다. 이들은 안구 건조증을 포함하는 안과 병태(문헌[B. Colligris, *et al.*, Recent developments on dry eye disease treatment compounds, Saudi J. Ophthalmol. 28(1), 19-30 (2014)]), 골수증식성 신생물, 골수증식성 질환(문헌[E.J. Baxter, *et al.*, Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders, Lancet 365, 1054-1061 (2005)]; C. James, *et al.*, A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera, Nature 434, 1144-1148 (2005)]; 문헌[R. Kralovics, *et al.*, A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders, N. Engl. J. Med. 352, 1779-1790 (2005)]; 문헌[R.L. Levine, *et al.*, Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis, Cancer Cell 7, 387-397 (2005)]; 문헌[G. Wernig, *et al.*, Efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment of a murine model of JAK2V617F-induced polycythemia vera, Cancer Cell 13, 311-320 (2008)]), 골수증식성 증후군, 급성 골수성 백혈병, 전신 염증 반응 증후군, 전신 발병 소아 류마티스 관절염, 소아 특발성 관절염(문헌[H.W. Li, *et al.*, Effect of miR-19a and miR-21 on the JAK/STAT signaling pathway in the peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic juvenile idiopathic arthritis, Exp. Ther. Med. 11(6), 2531-2536(2016)]), 유형 III 과민증 반응, 유형 IV 과민증, 대동맥의 염증, 홍채섬모체염/포도막염/시신경염, 소아 척수성 근위축증, 당뇨병성 망막증, 당뇨병성 신장병증을 포함하는 당뇨병성 신장 질환(문헌[F.C. Brosius, *et al.*, JAK inhibition in the treatment of diabetic kidney disease, Diabetologia 59(8), 1624-7, (2016)]; 문헌[C.C. Berthier, *et al.*, Enhanced expression of Janus kinase-signal transducer and activator of transcription pathway members in human diabetic nephropathy, Diabetes 58(2), 469-77, (2009)]; 문헌[E.N. Gurzov, *et al.*, The JAK/STAT pathway in obesity and diabetes, FEBS J. 283(16), 3002-15 (2016)]), 미세혈관병증, 염증(문헌[M. Kopf, *et al.*, Averting inflammation by targeting the cytokine environment, Nature Reviews Drug Discovery 9, 703-718 (2010)]; 문헌[J.J. O'Shea, *et al.*, A new modality for immunosuppression: targeting the JAK/STAT pathway, Nature Rev. Drug Discov. 3, 555-564 (2004)]), 만성 염증, 궤양성 대장염(UC) 및 크론병을 포함하는 염증성 장질환(문헌[R.H. Duerr, *et al.*, A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene, Science 314, 1461-1463 (2006)]; 문헌[M. Coskun, *et al.*, Involvement of JAK/STAT signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease, Pharmacol. Res. 76, 1-8 (2013)]; 문헌[M.J. Waldner, *et al.*, Master regulator of intestinal disease: IL-6 in chronic inflammation and cancer development, Semin. Immunol. 26(1), 75-9 (2014)]; 문헌[S. Danese, *et al.*, JAK inhibition using tofacitinib for inflammatory bowel disease treatment: a hub for multiple inflammatory cytokines, Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 310(3), G155-62 (2016)]; 문헌[W. Strober, *et al.*, Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases, Gastroenterology 140, 1756-1767 (2011)]), 알러지성 질환, 백반증, 아토피성 피부염(문헌[R. Bissonnette, *et al.*, Topical tofacitinib for atopic dermatitis: a phase IIa randomized trial, Br. J. Dermatol. 175(5), 902-911 (2016)]; 문헌[W. Amano, *et al.*, JAK inhibitor JTE-052 regulates contact hypersensitivity by downmodulating T cell activation and

differentiation, *J. Dermatol. Sci.* 84, 258-265 (2016)]; 문헌[T. Fukuyama, *et al.*, Topically Administered Janus-Kinase Inhibitors Tofacitinib and Oclacitinib Display Impressive Antipruritic and Anti-Inflammatory Responses in a Model of Allergic Dermatitis, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 354(3), 394-405 (2015)]; 원형 탈모증(문헌[A.K. Alves de Medeiros, *et al.*, JAK3 as an Emerging Target for Topical Treatment of Inflammatory Skin Diseases, *PLoS One* 11(10) (2016)]; 문헌[L. Xing, *et al.*, Alopecia areata is driven by cytotoxic T lymphocytes and is reversed by JAK inhibition, *Nat. Med.* 20(9), 1043-9 (2014)]; 피부염 경피증, 기관 이식과 관련된 급성 또는 만성 면역 질환(문헌[P.S. Changelian, *et al.* Prevention of organ allograft rejection by a specific Janus kinase 3 inhibitor, *Science* 302, 875-878 (2003)]; 문헌[F. Behbod, *et al.* Concomitant inhibition of Janus kinase 3 and calcineurin-dependent signaling pathways synergistically prolongs the survival of rat heart allografts, *J. Immunol.* 166, 3724-3732 (2001)]; 문헌[S. Busque, *et al.*, Calcineurin-inhibitor-free immunosuppression based on the JAK inhibitor CP-690,550: a pilot study in *de novo* kidney allograft recipients, *Am. J. Transplant.* 9, 1936-1945 (2009)]; 건선 관절병증, 궤양성 대장염 관절병증(ulcerative colitic arthropathy), 자가면역 수포성 질환, 자가면역 용혈성 빈혈, 류마티스 관절염(문헌[J.M. Kremer, *et al.*, A randomized, double-blind placebo-controlled trial of 3 dose levels of CP-690,550 versus placebo in the treatment of active rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum.* 54 (annual meeting abstract), L40 (2006)]; 문헌[W. Williams, *et al.*, A randomized placebo-controlled study of INCB018424, a selective Janus kinase1&2 (JAK1&2) inhibitor in rheumatoid arthritis (RA), *Arthritis Rheum.* 58, S431 (2008)]; 문헌[N. Nishimoto, *et al.*, Study of active controlled monotherapy used for rheumatoid arthritis, an IL-6 inhibitor (SAMURAI): evidence of clinical and radiographic benefit from an x ray reader-blinded randomised controlled trial of tocilizumab, *Ann. Rheum. Dis.* 66(9), 1162-7 (2007)]; 류마티스 관절염 관련 간질성 폐 질환, 전신 홍반성 루푸스(문헌[A. Goropevšek, *et al.*, The Role of STAT Signaling Pathways in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* (on-line pre-publication) <<http://www.docguide.com/role-stat-signaling-pathways-pathogenesis-systemic-lupus-erythematosus?tsid=5>> May 23, 2016]; 문헌[M. Kawasaki, *et al.*, Possible role of the JAK/STAT pathways in the regulation of T cell-interferon related genes in systemic lupus erythematosus, *Lupus.* 20(12), 1231-9 (2011)]; 문헌[Y. Furumoto, *et al.*, Tofacitinib ameliorates murine lupus and its associated vascular dysfunction, *Arthritis Rheumatol.*, (on-line pre-publication) <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27429362>> Jul 18, 2016]), 전신 홍반성 루푸스 관련 폐 질환, 피부근염/다발성근염 관련 폐 질환, 천식(문헌[K. Vale, Targeting the JAK/STAT pathway in the treatment of 'Th2-high' severe asthma, *Future Med. Chem.* 8(4), 405-19 (2016)]), 강직성 척추염(AS)(문헌[C. Thompson, *et al.*, Anti cytokine therapy in chronic inflammatory arthritis, *Cytokine* 86, 92-9 (2016)]), AS-관련 폐 질환, 자가면역 간염, 유형-1 자가면역 간염(고전적인 자가면역 또는 루포이드 간염), 유형-2 자가면역 간염(항-LKM 항체 간염), 자가면역 매개 저혈당증, 건선(문헌[C.L. Leonardi, *et al.*, Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1), *Lancet* 371, 1665-1674 (2008)]; 문헌[G. Chan, *et al.*, Dose-dependent reduction in psoriasis severity as evidence of immunosuppressive activity of an oral Jak3 inhibitor in humans, *Am. J. Transplant.* 6, S87 (2006)]; 문헌[K.A. Papp, *et al.*, Efficacy and safety of tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in the treatment of psoriasis: a phase 2b randomized placebo-controlled dose-ranging study, *Br. J. Dermatol.* 167, 668-677 (2012)]; 문헌[M. Cargill, *et al.* A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes, *Am. J. Hum. Genet.* 80, 273-290 (2007)]), 건선 유형 1, 건선 유형 2, 판상 건선, 중등도 내지 중증의 만성 판상 건선, 자가면역 호중구 감소증, 정자 자가면역, 다발성 경화증(모든 아형, 문헌[B.M. Segal, *et al.*, Repeated subcutaneous injections of IL12/23 p40 neutralising antibody, ustekinumab, in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase II, double-blind, placebo-controlled, randomised, dose-ranging study, *Lancet Neurol.* 7, 796-804 (2008)]; 문헌[Z. Yan, *et al.*, Role of the JAK/STAT signaling pathway in regulation of innate immunity in neuroinflammatory diseases, *Clin. Immunol.* (online pre-publication) <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27713030>>, accessed Oct 3, 2016]; 문헌[E.N. Benveniste, *et al.*, Involvement of the janus kinase/signal transducer and activator of transcription signaling pathway in

multiple sclerosis and the animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis, J. Interferon Cytokine Res. 34(8), 577-88 (2014)]; 문헌[Y. Liu, *et al.*, Therapeutic efficacy of suppressing the Jak/STAT pathway in multiple models of experimental autoimmune encephalomyelitis, J. Immunol. 192(1), 59-72 (2014)], 급성 류마티스 열, 쇼그렌 증후군, 쇼그렌 증후군/질환 관련 폐 질환(문헌[T. Fujimura, *et al.*, Significance of Interleukin-6/STAT Pathway for the Gene Expression of REG Ia, a New Autoantigen in Sjögren's Syndrome Patients, in Salivary Duct Epithelial Cells, Clin. Rev. Allergy Immunol. (online pre-publication) <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27339601>> Jun 24, 2016]), 자가면역 혈소판 감소증, 파킨슨병을 포함하는 신경염증(상기 인용된 문헌[Z. Yan, *et al.*, Oct. 3, 2016])의 치료에 사용하기 위한 것으로 예상된다. JAK 억제제는 염증성 질환에 부가하여 암 치료에서 치료적 응용을 갖는 것으로 보고되었다. (문헌[S.J. Thomas, *et al.*, The role of JAK/STAT signaling in the pathogenesis, prognosis and treatment of solid tumors, British J. Cancer 113, 365-71 (2015)]; 문헌[A. Kontzias, *et al.*, Jakinibs: A new class of kinase inhibitors in cancer and autoimmune disease, Current Opinion in Pharmacology, 12(4), 464-70 (Aug. 2012)]; 문헌[M. Pesu, *et al.*, Therapeutic targeting of JANUS kinases, Immunological Reviews, 223, 132-42 (Jun. 2008)]; 문헌[P. Norman, Selective JAK inhibitors in development for rheumatoid arthritis, Expert Opinion on Investigational Drugs, 23(8), 1067-77 (Aug. 2014)]). 또한, 결장의 염증 감소가 그러한 기관에서 암 예방으로 이어질 수 있을 것이므로, JAK 억제제는 결장직장암의 예방에 유용할 수 있을 것이다.

발명의 내용

- [0016] 본 발명은 하기 화합물 및 그러한 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염 및 이들의 조합에 관한 것이다:
- [0017] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(2-하이드록시-2-메틸프로필)아세트아미드;
- [0018] 2-((1*r*, 4*r*)-4-(2-(1*H*-이미다졸-4-일)이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-1(6*H*)-일)사이클로헥실)아세트아미드;
- [0019] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(사이클로프로필메틸)아세트아미드;
- [0020] *N*-(2-시아노에틸)-2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드;
- [0021] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)아세트아미드;
- [0022] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸)아세트아미드;
- [0023] *N*-(2-시아노-2-메틸프로필)-2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드;
- [0024] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1-하이드록시사이클로부틸)메틸)아세트아미드;
- [0025] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1-메틸-1*H*-피라졸-4-일)아세트아미드;
- [0026] *N*-(4-(시아노메틸)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)-2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드;
- [0027] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1*H*-피라졸-3-일)아세트아미드;
- [0028] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1-하이드록시사이클로프로필)메틸)아세트아미드.
- [0029] 용어 "본 발명의 화합물들" 및 "본 발명의 화합물"은, 무용매 형태이든 본 명세서에 예시된 바와 같은 수화된

형태 및/또는 용매화된 형태 중 어느 하나이든, 상기 화합물 군으로부터 선택되는 하나 이상의 화합물을 포함하는 것으로 의도된다.

[0030] 본 발명의 실시 형태는 화합물, 이들을 함유하는 약제학적 조성물, 이들의 제조 및 정제 방법, JAK 억제제로서 이들을 사용하는 방법, 및 JAK에 의해 매개되는 질환 상태, 장애, 및 병태의 치료에서 이들을 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0031] 본 발명의 실시 형태는 국소 GI 효과 및 낮거나 무시해도 될 정도의 전신 효과와 함께 범용-JAK 억제 효과를 나타낸다. 추가로, 그러한 특징을 갖는 본 발명의 실시 형태는 경구 투여될 수 있다.

[0032] 본 발명의 추가의 실시 형태는 본 발명의 화합물 또는 본 발명의 활성 제제를 사용하여 JAK에 의해 매개되는 질환, 장애, 또는 의학적 병태를 앓고 있거나 이로 진단된 대상을 치료하는 방법이다.

[0033] 본 발명의 추가의 실시 형태, 특징 및 이점은 하기 상세한 설명 및 본 발명의 실시를 통해 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1

축척이 아닌 펼친 상태로 나타낸, 인간 위장관의 일부의 개략도. 십이지장(3), 공장(4), 및 회장(5)(모두 개략적으로 나타냄)은 위(2) 및 식도(1) 후에 소장을 형성한다. 대장은 결장(6)을 포함하며, 차례로 맹장(7) 및 충수(나타내지 않음), 상행 결장, 횡행 결장, 하행 결장, S상 결장(그 안의 루프는 나타내지 않음), 및 직장(11)을 포함한다. 횡행 결장은 우측(8)과 좌측(9) 결장 만곡부 사이에 포함된 부분이고, 상행 결장은 맹장(7)로부터 우측 결장 만곡부(8)까지 연장되며, 하행 결장은 좌측 결장 만곡부(9)로부터 직장(11)까지 연장된다. 다양한 분포 패턴이 편의상 결장에 관하여 예시되지만, 이들은 또한 위장관의 다른 부분에 관한 것일 수 있다. 도 1에서는 단순화된 예시적 목적으로 전신 분포가 결장 벽을 통해 투과하는 것으로 파선 화살표에 의해 나타내지만, 이는 또한 도 1에 나타낸 위장관의 다른 부분의 벽, 예컨대 소장의 벽을 통해 일어날 수 있으므로, 그러한 분포는 결장 벽으로 제한되지 않는다. 도 1에서는 단순화된 예시적 목적으로 일부 조직 침투를 갖는 분포가 결장 조직에 침투하는 것으로 실선 화살표에 의해 나타내지만, 이는 또한 도 1에 나타낸 위장관의 다른 부분의 조직, 예컨대 소장의 조직에서 일어날 수 있으므로, 그러한 침투는 결장 조직으로 제한되지 않는다. 본 발명에 따른 JAK 억제제의 실시 형태의 효과는, 그렇지 않으면 크론병 또는 궤양성 대장염과 같은 염증성 장질환("IBD")과 관련된 염증으로 이어질 JAK/STAT 신호전달 경로를 방해하는 것으로 예시적으로 나타내어진다. 제한이 아닌 예로서, 질환 부위는 하행 결장 내의 결장 질환 부위(10)로서 예시적으로 나타내어진다.

도 2

화합물 실시예 1의 실시 형태의 제조/상호전환을 나타내는 개략도. 본 도면에서 파선 화살표 및 그 안에 나타낸 박스에서 범례 "19-53"에 의해 기호화되는 바와 같이, 실시 형태 19 내지 실시 형태 36, 실시 형태 38, 및 실시 형태 39는 실시 형태 1s로부터 얻어졌고, 실시 형태 37 및 실시 형태 40 내지 실시 형태 53은 실시 형태 19로부터 얻어졌다.

도 3

화합물 실시예 1의 하기 실시 형태에 대한 고처리량 X-선 분말 회절(HT-XRPD) 패턴의 오버레이(overlay), 하단으로부터 상단으로: 1s, 2(1,4-다이옥산 중에 실온에서 평형화에 의해 얻어짐), 3b(사이클로헥산 중에 열순환에 의해 얻어짐), 1b+4(메탄올/물(50/50, v/v) 중에 μL 규모로 냉각 결정화에 의해 얻어짐), 5(클로로포름 중에 열순환에 의해 얻어짐), 6(아세트니트릴 중에 mL 규모로 냉각 결정화에 의해 얻어짐), 7(1s+7로 얻어짐, 결국 헵탄 중에 용매 평형화에 의해 얻어짐), 7(1s+7의 탈용매화에 의해 얻어짐, 결국 헵탄 중에 용매 평형화에 의해 얻어짐), 8(시차 주사 열량법을 사이클링함으로써 실시 형태 5의 탈용매화에 의해 얻어짐), 및 9(시차 주사 열량법을 사이클링함으로써 실시 형태 2의 탈용매화에 의해 얻어짐).

도 4

화합물 실시예 1의 하기 실시 형태에 대한 고처리량 X-선 분말 회절(HT-XRPD) 패턴의 오버레이, 하단으로부터 상단으로: 1s(시재료), 1a(실시 형태 1s의 샘플의 몇몇 형태를 가속 노화 조건(AAC)(40°C 및 70% 상대 습도)에 노출시킨 후에 얻어짐), 1b(톨루엔 중에 실온에서 용매 평형화에 의해 얻어짐), 1c(에틸 아세테이트/1,4-다이옥산(50/50, v/v) 중에 μL 규모로 냉각 결정화에 의해 얻어짐), 1d(아세트니트릴/클로로포름(50/50, v/v) 중에 μL 규모로 냉각 결정화에 의해 얻어짐), 1e(에틸 아세테이트/1,4-다이옥산(50/50, v/v) 중에 μL 규모로 냉각

결정화에 의해 얻어짐), 1f(p-자일렌 중에 실온에서 용매 평형화에 의해 얻어짐), 1g(아니솔 중에 50℃에서 용매 평형화에 의해 얻어짐), 1h(p-자일렌 중에 μL 규모로 냉각 결정화에 의해 얻어짐).

도 5

화합물 실시예 1의 하기 실시 형태에 대한 고처리량 X-선 분말 회절(HT-XRPD) 패턴의 오버레이, 하단으로부터 상단으로: 1s, 3b(사이클로헥사논 중에 열순환에 의해 얻어짐), 3c(1,4-다이옥산 중에 μL 규모로 냉각 결정화에 의해 얻어짐), 3d(테트라하이드로푸란 중에 μL 스크린으로 냉각 결정화에 의해 얻어짐), 및 3e(아이소부탄올 중에 열순환에 의해 얻어짐).

도 6

실시 형태 1s의 초기 형태("1s"), 40℃ 및 70% 상대 습도에 4-일 노출 후("1s 70 RH"), 및 25℃ 및 100% 상대 습도에 4-일 노출 후(실시 형태 10 또는 "10")의, 실시 형태 1s의 HR-XRPD 회절도.

도 7a

실시 형태 11의 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴.

도 7b

실시 형태 12의 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴.

도 7c

실시 형태 13의 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴.

도 7d

실시 형태 14의 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴.

도 7e

실시 형태 11b의 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴.

도 8

화합물 실시예 1의 하기 실시 형태에 대한 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴의 오버레이, 하단으로부터 상단으로: 실시 형태 17, 실시 형태 18, 실시 형태 15, 및 실시 형태 16.

도 9

115.3℃에서 유리 전이점(T_g)을 나타내는 실시 형태 19에 대한 변조 DSC("mDSC") 프로파일(세로축 표지에서 "Rev"는 "가역적"을 지칭함).

도 10a

30℃ 내지 170℃에서 6.5% w/w 손실을 나타내는 실시 형태 18의 TGA(열중량 분석).

도 10b

45℃ 내지 90℃에서 52.8 J/g의 흡열, 140.6℃에서 31.0 J/g의 흡열, 168.8℃에서 24.3 J/g의 발열, 및 200.0℃에서 31.3 J/g의 흡열을 나타내는 실시 형태 18의 DSC(시차 주사 열량법).

도 11

화합물 실시예 1의 하기 실시 형태에 대한 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴의 오버레이, 하단으로부터 상단으로: 실시 형태 20 및 실시 형태 21.

도 12a

30℃ 내지 100℃에서 4.2% w/w 손실을 나타내는 실시 형태 17의 TGA.

도 12b

45℃ 내지 100℃에서 90.3 J/g의 흡열, 143.8℃에서 35.5 J/g의 흡열, 168.3℃에서 1.6 J/g의 흡열, 178℃에서

3.8 J/g의 발열, 및 200.0℃에서 9.2 J/g의 흡열을 나타내는 실시 형태 17의 DSC.

도 13

화합물 실시예 1의 하기 실시 형태에 대한 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴의 오버레이, 하단으로부터 상단으로: 실시 형태 31, 실시 형태 30, 실시 형태 17, 실시 형태 29, 실시 형태 16, 실시 형태 26, 실시 형태 25, 실시 형태 18, 실시 형태 24, 실시 형태 23, 실시 형태 27, 및 실시 형태 22.

도 14

화합물 실시예 1의 하기 실시 형태에 대한 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴의 오버레이, 하단으로부터 상단으로: 실시 형태 32, 실시 형태 33, 실시 형태 23, 실시 형태 34, 실시 형태 35, 실시 형태 36, 실시 형태 25, 실시 형태 38, 실시 형태 17, 실시 형태 39, 및 실시 형태 28.

도 15

화합물 실시예 1의 하기 실시 형태에 대한 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴의 오버레이, 하단으로부터 상단으로: 실시 형태 46, 실시 형태 45, 실시 형태 44, 실시 형태 43, 실시 형태 42, 실시 형태 41, 실시 형태 40, 및 실시 형태 37.

도 16

화합물 실시예 1의 하기 실시 형태에 대한 X-선 분말 회절(XRPD) 패턴의 오버레이, 하단으로부터 상단으로: 실시 형태 53, 실시 형태 52, 실시 형태 51, 실시 형태 50, 실시 형태 49, 실시 형태 48, 및 실시 형태 47.

도 17a

155℃ 내지 185℃에서 4.7% w/w 손실을 나타내는 실시 형태 11의 TGA.

도 17b

용매 손실로 인한 167.8℃에서의 57.8 J/g의 제1 흡열 및 샘플 용융으로 인한 194.5℃에서의 90.8 J/g의 제2 흡열을 나타내는 실시 형태 11의 DSC.

도 18

0 내지 90% RH에서 0.66%의 질량 변화를 나타내는 실시 형태 11의 중량측정 증기 수착(GVS: Gravimetric Vapor Sorption) 등은 플롯. 세로축 상의 질량 변화는 출발 샘플의 질량을 참조한다.

도 19a

샘플 분해와 관련된 것으로 해석되는, 260℃ 초과 온도에서의 중량 손실을 나타내는 실시 형태 6의 TGA.

도 19b

샘플 용융으로 인한 194.4℃에서의 95.8 J/g의 흡열을 나타내는 실시 형태 6의 DSC.

도 20a

0.07 mol의 1,4-다이옥산의 손실에 상응하는, 40℃ 내지 240℃에서의 1.4% w/w 손실을 나타내는 실시 형태 8의 TGA.

도 20b

샘플 용융으로 인한 199.7℃에서의 58.6 J/g의 흡열을 나타내는 실시 형태 8의 DSC.

도 21a

75℃ 내지 110℃에서 7.4% w/w 손실, 110℃ 내지 130℃에서 11.9% w/w 손실, 130℃ 내지 165℃에서 2.0% w/w 손실, 및 165℃ 내지 210℃에서 2.5% w/w 손실을 나타내는 실시 형태 2의 TGA.

도 21b

92.8℃에서 86.2 J/g의 흡열, 111.5℃에서 11.1 J/g의 흡열, 149.0℃에서 45.5 J/g의 흡열, 165.2℃에서 20.6 J/g의 발열, 177.1℃에서 3.7 J/g의 흡열, 200.2℃에서 43.0 J/g의 흡열, 및 220.6℃에서 29.3 J/g의 흡열을 나타내는 실시 형태 2의 DSC.

도 22a

실시 형태 9의 TGA.

도 22b

221.8℃에서 104.4 J/g의 흡열을 나타내는 실시 형태 9의 DSC.

도 23a

30℃ 내지 105℃에서 5.2% w/w 손실을 나타내는 실시 형태 16의 TGA.

도 23b

35℃ 내지 90℃에서 48.4 J/g의 흡열, 147.0℃에서 41.8 J/g의 흡열, 166.6℃에서 1.0 J/g의 흡열, 180.7℃에서 4.4 J/g의 발열, 및 201.1℃에서 7.7 J/g의 흡열을 나타내는 실시 형태 16의 DSC.

도 24

실시 형태 11("11"로 표지됨)의 X-선 분말 회절(XRPD) 및 가변 온도(VT)-XRPD 실험 후의 실시 형태 11의 X-선 분말 회절(XRPD)("VT 후의 11"로 표지됨), 및 실시 형태 6의 X-선 분말 회절(XRPD).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035]

본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "포함하여", "함유하는", 및 "포함하는"은 이들의 비제한적인 개방형 의미로 사용된다.

[0036]

본 명세서에 주어진 임의의 화학식은 구조식뿐만 아니라, 특정 변형체 또는 형태로 나타낸 구조를 갖는 화합물을 나타내는 것으로 의도된다. 소정의 구조는 호변 이성질체로서 존재할 수 있다. 부가적으로, 본 발명의 그러한 화합물의 비정질 형태, 수화물, 용매화물, 다형체 및 유사다형체, 및 이들의 혼합물이 또한 본 발명의 일부로서 예상된다. 본 발명의 실시 형태는 무용매 형태 또는 본 명세서에 예시된 바와 같은 수화된 형태 및/또는 용매화된 형태 중 어느 하나이다.

[0037]

본 명세서에서 화합물에 대한 언급은 (a) 이러한 화합물의 실제로 인용된 형태 및 (b) 이러한 화합물이 명명될 때 고려되는 매질 중의 상기 화합물의 임의의 형태 중 어느 하나에 대한 언급을 의미한다. 예를 들어, 본 명세서에서 R-COOH와 같은 화합물에 대한 언급은 예를 들어, R-COOH_(s), R-COOH_(sol) 및 R-COO⁻_(sol) 중 어느 하나에 대한 언급을 포함한다. 본 예에서, R-COOH_(s)는 예를 들어, 정제 또는 일부 다른 고체 약제학적 조성물 또는 제제로 될 수 있기 때문에, 고체 화합물을 말하며; R-COOH_(sol)는 용매 중의 화합물의 해리되지 않은 형태를 말하고; R-COO⁻_(sol)는 해리된 형태가 R-COOH로부터, 이의 염으로부터, 또는 매질에서 해리 시에 R-COO⁻를 생성하는 것으로 간주되고 있는 임의의 다른 실체로부터 유도되든지 간에, 용매 중의 화합물의 해리된 형태, 예컨대 수성 환경에서의 화합물의 해리된 형태를 말한다. 다른 예에서, "실체를 화학식 R-COOH의 화합물에 노출시키는"과 같은 표현은 그러한 노출이 일어나는 매질 중에 존재하는 화합물 R-COOH의 형태 또는 형태들에 대한 그러한 실체의 노출을 말한다. 또 다른 예에서, "실체와 화학식 R-COOH의 화합물을 반응시키는"과 같은 표현은 (a) 그러한 반응이 일어나는 매질에 존재하는 그러한 실체의 화학적으로 관련된 형태 또는 형태들의 그러한 실체와, (b) 그러한 반응이 일어나는 매질에 존재하는 화합물 R-COOH의 화학적으로 관련된 형태 또는 형태들을 반응시키는 것을 말한다. 이와 관련하여, 그러한 실체가, 예를 들어 수성 환경 내에 있다면, 화합물 R-COOH가 그러한 동일한 매질 내에 있으며, 따라서 실체는 R-COOH_(aq) 및/또는 R-COO⁻_(aq) (여기서, 하첨자 "(aq)"는 화학 및 생화학에서의 그의 통상적인 의미에 따라 "수성(aqueous)"을 의미함)와 같은 화학종들에 노출되어 있는 것으로 이해된다. 카르복실산 작용기가 이들 명명법의 예로 선택되었으며; 그러나, 이러한 선택은 단지 예시일 뿐 제한하고자 의도된 것은 아니다. 하이드록실, 염기성 질소 구성원, 예컨대 아민의 그것, 및 화합물을 함유하는 매질에서 공지된 방법에 따라 상호 작용하거나 변환하는 임의의 다른 기를 포함하나 이에 한정되지 않는 다른 작용기에 관하여 유사한 예가 제공될 수 있는 것으로 이해된다. 이러한 상호 작용 및 변환은 해리, 결합, 호변 이성질 현상, 가수분해를 포함한 가수분해, 수화를 포함한 용매화, 양성자화 및 탈양성자화를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 이와 관련하여 추가의 어떤 예도 제공되지 않는데, 이는 주어진 매질에서의 상호 작용과 변환이 당업자에게 알려져 있기 때문이다.

- [0038] 본 명세서에 주어진 임의의 화학식은 화합물의 동위원소 표지 형태뿐만 아니라 비표지 형태를 나타내기 위한 것이다. 동위원소로 표지된 화합물은 하나 이상의 원자가 농축 형태의 선택된 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자로 대체되는 점을 제외하고는, 본 명세서에 주어진 화학식에 의해 도시되는 구조를 갖는다. 천연 존재비를 초과하는 형태로 본 발명의 화합물 내로 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 각각 수소, 탄소, 질소, 및 산소의 동위원소, 예컨대 ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , 및 ^{17}O 를 포함한다. 그러한 동위원소로 표지된 화합물은 대사 연구(바람직하게는 ^{14}C 를 이용함), 반응 동력학적 연구(예를 들어, 중수소(즉, D 또는 ^2H); 또는 삼중수소(즉, T 또는 ^3H)를 이용함), 약물 또는 기질 조직 분포 검정을 포함하는 검출 또는 영상화 기술[예컨대 양전자 방출 단층촬영(PET) 또는 단일 광자 방출 전산화 단층촬영(SPECT)]에, 또는 환자의 방사선 치료에 유용하다. 특히, ^{18}F 또는 ^{11}C 표지된 화합물은 PET 또는 SPECT 연구에 특히 바람직할 수 있다. 추가로, 중수소(즉, ^2H)와 같은 더 무거운 동위원소로 치환하는 것은 더 큰 대사 안정성, 예를 들어 증가된 국소 생체내 반감기 또는 감소된 필요투여량으로부터 유발되는 소정의 치료적 이점을 제공할 수 있다. 동위원소로 표지된 본 발명의 화합물은, 용이하게 입수가능한 동위원소로 표지된 시약으로 동위원소로 표지되지 않은 시약을 치환함으로써 하기 기재된 반응식 또는 실시예 및 제법에 개시된 절차를 실행함으로써 일반적으로 제조될 수 있다.
- [0039] "호변 이성질체"는 상호 교환가능한 형태의 특정 화합물 구조로 되어 있으며, 수소 원자 및 전자의 치환에 따라 변화하는 화합물을 말한다. 따라서, 상이한 위치에 H 구성원을 갖는 2 개의 구조는 원자가 규칙을 만족시키면서 평형 상태에 있을 수 있다. 예를 들어, 에놀 및 케톤은 산 또는 염기와의 처리에 의해 신속하게 상호 전환될 수 있기 때문에, 호변 이성질체이다.
- [0040] 본 명세서에 주어진 임의의 화학식을 언급할 때, 명시된 변수에 대하여 가능한 화학종의 목록으로부터 특정 부분을 선택하는 것은 어떤 다른 곳에서 나타나는 변수에 대하여 동일한 화학종의 선택을 한정하는 것으로 의도되지 않는다. 바꿔 말하면, 변수가 한 번보다 많이 나타나는 경우, 명시된 목록으로부터의 화학종의 선택은 달리 명시되지 않는 한, 그 화학식의 어떤 다른 곳의 동일한 변수에 대한 화학종의 선택과 무관하다.
- [0041] 치환기 용어에 대한 첫 번째 예로서, 치환기 $S^1_{\text{예}}$ 가 S_1 및 S_2 중 하나이고, 치환기 $S^2_{\text{예}}$ 가 S_3 및 S_4 중 하나인 경우, 이들 지정은 $S^1_{\text{예}}$ 가 S_1 이고 $S^2_{\text{예}}$ 가 S_3 인 선택; $S^1_{\text{예}}$ 가 S_1 이고 $S^2_{\text{예}}$ 가 S_4 인 선택; $S^1_{\text{예}}$ 가 S_2 이고 $S^2_{\text{예}}$ 가 S_3 인 선택; $S^1_{\text{예}}$ 가 S_2 이고 $S^2_{\text{예}}$ 가 S_4 인 선택; 및 그러한 선택 중 각각의 하나의 등가물에 따라 주어진 본 발명의 실시 형태를 지칭한다. 따라서, 더 짧은 용어 " $S^1_{\text{예}}$ 는 S_1 및 S_2 중 하나이고, $S^2_{\text{예}}$ 는 S_3 및 S_4 중 하나임"이 간략화를 위해 본 명세서에서 사용되지만, 제한되는 것은 아니다. 일반적인 용어로 언급된 치환기 용어에 관한 상술한 첫 번째 예는 본 명세서에 기재된 다양한 치환기 지정을 설명하기 위한 것이다.
- [0042] 게다가, 임의의 구성원 또는 치환기에 대하여 하나 이상의 지정이 주어지는 경우, 본 발명의 실시 형태는 열거된 지정으로부터 형성될 수 있는, 독립적으로 취해진 다양한 그룹 및 그 등가물을 포함한다. 치환기 용어에 대한 두 번째 예로서, 치환기 $S_{\text{예}}$ 가 S_1 , S_2 및 S_3 중 하나인 것으로 기술된다면, 이러한 목록은 $S_{\text{예}}$ 가 S_1 이고; $S_{\text{예}}$ 가 S_2 이며; $S_{\text{예}}$ 가 S_3 이고; $S_{\text{예}}$ 가 S_1 및 S_2 중 하나이며; $S_{\text{예}}$ 가 S_1 및 S_3 중 하나이고; $S_{\text{예}}$ 가 S_2 및 S_3 중 하나이며; $S_{\text{예}}$ 가 S_1 , S_2 및 S_3 중 하나이고; $S_{\text{예}}$ 가 이러한 선택의 각각의 임의의 등가물인 본 발명의 실시 형태를 지칭한다. 따라서, 더 짧은 용어 " $S_{\text{예}}$ 는 S_1 , S_2 및 S_3 중 하나임"이 간략화를 위해 본 명세서에서 사용되지만, 제한되는 것은 아니다. 일반적인 용어로 언급된 치환기 용어에 관해 상술한 두 번째 예는 본 명세서에 기재된 다양한 치환기 지정을 설명하기 위한 것이다.
- [0043] 하기 JAK 억제제는 본 발명의 예시적인 실시 형태이다:
- [0044] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(2-하이드록시-2-메틸프로필)아세트아미드;
- [0045] 2-((1*r*, 4*r*)-4-(2-(1*H*-이미다졸-4-일)이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-1(6*H*)-일)사이클로헥실)아세트니트릴;
- [0046] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(사이클로프로필메틸)아세트아미드;

- [0047] *N*-(2-시아노에틸)-2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드;
- [0048] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)아세트아미드;
- [0049] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸아세트아미드;
- [0050] *N*-(2-시아노-2-메틸프로필)-2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드;
- [0051] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-((1-하이드록시사이클로부틸)메틸)아세트아미드;
- [0052] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1-메틸-1*H*-피라졸-4-일)아세트아미드;
- [0053] *N*-(4-(시아노메틸)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)-2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드;
- [0054] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1*H*-피라졸-3-일)아세트아미드.
- [0055] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-((1-하이드록시사이클로프로필)메틸)아세트아미드.
- [0056] 본 발명의 추가의 실시 형태는 상기 주어진 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염이다.
- [0057] 본 발명의 추가의 실시 형태는 각각 상기 주어진 화합물 또는 약제학적으로 허용가능한 이의 염 중 하나 이상의 유효량을 포함하는 약제학적 조성물이다.
- [0058] "약제학적으로 허용가능한 염"은 비독성이거나, 생물학적으로 용인가능하거나, 그 밖에 대상에게 투여하기에 생물학적으로 적합한 화합물의 염이다. 일반적으로 문헌[S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66, 1-19 (1977)], 및 문헌[Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, Selection, and Use, Stahl and Wermuth, Eds., Wiley-VCH and VHCA, Zurich, 2002]을 참조한다. 본 발명의 화합물은 충분히 산성인 기, 충분히 염기성인 기, 또는 둘 모두의 유형의 작용기를 보유할 수 있으며, 따라서 다수의 무기 또는 유기 염기, 및 무기 및 유기 산과 반응하여 약제학적으로 허용가능한 염을 형성할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 염의 예에는 황산염, 파이로황산염, 중황산염, 아황산염, 중아황산염, 인산염, 일수소 인산염, 이수소 인산염, 메타인산염, 파이로인산염, 염화물, 브롬화물, 요오드화물, 아세트산염, 프로피온산염, 데칸산염, 카프릴산염, 아크릴산염, 포름산염, 아이소부티르산염, 카프로산염, 헵탄산염, 프로피올산염, 옥살산염, 말론산염, 석신산염, 수베르산염, 세바스산염, 푸마르산염, 말레산염, 부틴-1,4-다이오에이트, 헥신-1,6-다이오에이트, 벤조산염, 클로로벤조산염, 메틸벤조산염, 다이니트로벤조산염, 하이드록시벤조산염, 메톡시벤조산염, 프탈산염, 설펜산염, 자일렌설펜산염, 페닐아세트산염, 페닐프로피온산염, 페닐부티르산염, 시트르산염, 락트산염, γ -하이드록시부티르산염, 글리콜산염, 타르타르산염, 메탄-설펜산염, 프로판설펜산염, 나프탈렌-1-설펜산염, 나프탈렌-2-설펜산염 및 만델산염이 포함된다.
- [0059] 본 발명의 화합물이 하나 이상의 염기성 질소를 함유하는 경우, 원하는 약제학적으로 허용가능한 염은 당업계에서 이용가능한 임의의 적합한 방법에 의해, 예를 들어 유리 염기를 무기 산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 황산, 설펜산, 질산, 붕산, 및 인산으로, 또는 유기 산, 예컨대 아세트산, 페닐아세트산, 프로피온산, 스테아르산, 락트산, 아스코르브산, 말레산, 하이드록시말레산, 이세티온산, 석신산, 발레르산, 푸마르산, 말론산, 피루브산, 옥살산, 글리콜산, 살리실산, 올레산, 팔미트산, 라우르산, 피라노시딜산, 예컨대 글루쿠론산 또는 갈락투론산, 알파-하이드록시산, 예컨대 만델산, 시트르산, 또는 타르타르산, 아미노산, 예컨대 아스파르트산 또는 글루탐산, 방향족 산, 예컨대 벤조산, 2-아세톡시벤조산, 나프토산, 또는 신남산, 설펜산, 예컨대 라우릴설펜산, p-톨루엔설펜산, 메탄설펜산, 에탄설펜산, 본 명세서에 예로서 주어진 것들과 같은 산들의 임의의 상용성 혼합물, 및 당업계의 통상적인 기술 수준에 비추어 등가물 또는 허용가능한 치환물로서 간주되는 임의의 다른 산 및 이들의 혼합물로 처리함에 의해 제조될 수 있다.

- [0060] 충분히 약하게 염기성인 화합물(예를 들어, 약 4의 pK_a)은 개발 목적을 위해 충분히 안정한 염을 형성할 수 없을 것이므로, 본 발명에 따른 화합물의 약제학적으로 허용가능한 염의 모든 실시 형태가 그들의 개발에 동일하게 적합할 수 있는 것은 아니다. 예를 들어, 문헌[G.A. Stephenson, *et al.*, J. Pharm. Sciences **100**(5), 1607-17 (2011) "Physical stability of salts of weak bases in the solid state"]을 참조한다. 본 발명의 일부 실시 형태는 본 발명에 따른 화합물의 공결정화된 형태를 적합한 공결정 형성제와 함께 포함하는 것으로 예상된다. 약제학적 용도를 위한 공결정의 설계 및 특성, 및 이들의 제조 및 특성화 방법은, 예를 들어, 문헌[N. Shan, *et al.*, Drug Discovery Today, **13**(9/10), 440-46 (2008) "The role of cocrystals in pharmaceutical science"]; 문헌[N. Qiao, *et al.*, Intl. J. Pharmaceutics, **419**, 1-11 (2011) "Pharmaceutical cocrystals: An overview"]; 문헌[R. Thakuria, *et al.*, Intl. J. Pharmaceutics, **453**, 101-25 (2013) "Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs"]에 주어진다.
- [0061] 약제학적으로 허용가능한 그들의 염을 포함하는 본 발명의 화합물은, 단독으로든 조합으로든(집합적으로, "활성 제제" 또는 "활성 제제들"), 본 발명의 방법에서 JAK 억제제로서 유용하다. JAK 활성을 조절하기 위한 그러한 방법은 본 발명의 하나 이상의 화학적 화합물의 유효량에 JAK를 노출시키는 단계를 포함한다.
- [0062] 일부 실시 형태에서, JAK 억제제는 JAK 활성을 통해 매개되는 질환, 장애, 또는 의학적 병태, 예컨대 본 명세서에 기재된 것들로 진단되거나 이를 앓고 있는 대상에서 사용된다. 증상 또는 질환 상태는 "질환, 장애, 또는 의학적 병태"의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.
- [0063] 따라서, 본 발명은 JAK를 통해 매개되는 질환, 장애, 또는 의학적 병태로 진단되거나 이를 앓고 있는 대상을 치료하기 위하여 본 명세서에 기재된 활성 제제를 사용하는 방법에 관한 것이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이 용어 "치료하다" 또는 "치료하는"은 JAK의 조절을 통해 치료적 또는 예방적 이익을 발생시킬 목적으로 대상에게 본 발명의 활성 제제 또는 조성물을 투여하는 것을 지칭하도록 의도된다. 치료는 JAK 활성의 조절을 통해 매개되는 질환, 장애, 또는 병태, 또는 그러한 질환, 장애, 또는 병태의 하나 이상의 증상을 역전시키거나, 완화하거나, 경감시키거나, 그의 진행을 억제하거나, 그의 중증도를 줄이거나, 감소시키거나, 예방하는 것을 포함한다. 용어 "대상"은 이러한 치료를 필요로 하는 포유류 환자, 예컨대 인간을 말한다. 용어 "억제제들" 또는 "억제제"는 JAK 발현 또는 활성을 감소시키거나, 예방하거나, 불활성화하거나, 탈감작시키거나, 하향-조절하는 화합물을 지칭한다.
- [0064] 본 발명의 실시 형태는 과도한 염증 반응의 예방 및/또는 제어를 위한 JAK 억제제를 제공한다. 본 발명에 따른 JAK 억제제의 실시 형태는 범용-JAK 억제제이다.
- [0065] 달리 지시되지 않는 한, 용어 "JAK 억제제 물리-화학적 특성"은 하기와 같은 상응하는 명명된 특성을 지칭한다:
- [0066] 물 질량의 경우, 화합물 실시예 1 내지 실시예 12에 대한 설명에 주어진 바와 같음;
- [0067] H 결합 공여자, 수용자, 및 회전가능한 결합의 수의 경우, 각각의 정의에 따라 결정되는 바와 같음; 및
- [0068] 혈장 농도의 경우에는 표 1a, 컬럼 2를 참조하여 측정되는 바와 같고, P-gp 억제제의 존재 하의 A-B 투과 계수, 및 B-A 투과 계수의 경우에는 표 7, 컬럼 3 및 컬럼 4를 참조하여 측정되는 바와 같음.
- [0069] 본 발명의 실시 형태는, 하기 JAK 억제제 물리-화학적 특성을 갖는 것을 특징으로 하는 JAK 억제제에 JAK 수용체를 노출시키는 단계를 포함하는, JAK를 억제하는 방법을 제공한다: 약 0.1 ng/mL 내지 약 60 ng/mL 범위의 혈장 농도, 약 0.1 내지 약 2.8 범위의 $cLog P$, P-gp 억제제의 존재 하에 약 0.1 내지 약 2.5 범위의 A-B 투과 계수, 약 0.5 내지 약 20 범위의 B-A 투과 계수, 약 85 내지 약 120 범위의 tPSA.
- [0070] 본 발명에 따른 JAK를 억제하는 방법의 다른 실시 형태에서, 혈장 농도는 약 10 ng/mL 내지 약 20 ng/mL의 범위이다.
- [0071] 본 발명에 따른 JAK를 억제하는 방법의 다른 실시 형태에서, $cLogP$ 는 약 0.8 내지 약 1.4의 범위이다.
- [0072] 본 발명에 따른 JAK를 억제하는 방법의 다른 실시 형태에서, P-gp 억제제의 존재 하에 A-B 투과 계수는 약 0.6 내지 약 1.5의 범위이다.
- [0073] 본 발명에 따른 JAK를 억제하는 방법의 다른 실시 형태에서, B-A 투과 계수는 약 0.5 내지 약 5의 범위이다.
- [0074] 본 발명에 따른 JAK를 억제하는 방법의 다른 실시 형태에서, tPSA는 약 100 내지 약 120의 범위이다.
- [0075] 본 발명의 추가의 실시 형태는, 하기 JAK 억제제 물리-화학적 특성을 갖는 것을 추가의 특징으로 하는 JAK 억제

제에 JAK 수용체를 노출시키는 단계를 포함하는, JAK를 억제하는 방법을 제공한다: 본 발명에 따른 JAK를 억제하는 방법론에 대해 상기 기재된 혈장 농도, clogP 값, 투과 계수, 및 tPSA 값에 부가하여, 약 300 g mol^{-1} 내지 약 500 g mol^{-1} 범위의 몰 질량, 약 2 내지 약 3 범위의 수소 결합 공여자의 수, 약 4 내지 약 5 범위의 수소 결합 수용자의 수, 및 약 3 내지 약 6 범위의 회전가능한 결합의 수.

[0076] 본 발명에 따른 JAK를 억제하는 방법의 다른 실시 형태에서, 몰 질량은 약 340 g mol^{-1} 내지 약 430 g mol^{-1} 의 범위이다.

[0077] 본 발명에 따른 JAK를 억제하는 방법의 다른 실시 형태에서, 회전가능한 결합의 수는 약 5 내지 약 6의 범위이다.

[0078] 본 발명의 실시 형태는, 하기 JAK 억제제 물리-화학적 특성을 갖는 것을 특징으로 하는 JAK 억제제의 약제학적 유효량을 대상에게 투여하는 단계를 포함하는, 대상의 위장관에서 염증을 치료하는 방법을 제공한다: 약 0.1 ng/mL 내지 약 60 ng/mL 범위의 혈장 농도, 약 0.1 내지 약 2.8 범위의 cLog P, P-gp 억제제의 존재 하에 약 0.1 내지 약 2.5 범위의 A-B 투과 계수, 약 0.5 내지 약 20 범위의 B-A 투과 계수, 약 85 내지 약 120 범위의 tPSA.

[0079] 본 발명에 따른 위장관에서 염증을 치료하는 방법의 다른 실시 형태에서, 혈장 농도는 약 10 ng/mL 내지 약 20 ng/mL 의 범위이다.

[0080] 본 발명에 따른 위장관에서 염증을 치료하는 방법의 다른 실시 형태에서, cLogP는 약 0.8 내지 약 1.4의 범위이다.

[0081] 본 발명에 따른 위장관에서 염증을 치료하는 방법의 다른 실시 형태에서, P-gp 억제제의 존재 하에 A-B 투과 계수는 약 0.6 내지 약 1.5의 범위이다.

[0082] 본 발명에 따른 위장관에서 염증을 치료하는 방법의 다른 실시 형태에서, B-A 투과 계수는 약 0.5 내지 약 5의 범위이다.

[0083] 본 발명에 따른 위장관에서 염증을 치료하는 방법의 다른 실시 형태에서, tPSA는 약 100 내지 약 120의 범위이다.

[0084] 본 발명의 추가의 실시 형태는, JAK 억제제 물리-화학적 특성이 하기 JAK 억제제 물리-화학적 특성을 갖는 것을 추가의 특징으로 하는, 대상의 위장관에서 염증을 치료하는 방법을 제공한다: 본 발명에 따른 염증을 치료하는 방법론에 대해 상기 기재된 혈장 농도, cLogP 값, 투과 계수, 및 tPSA 값에 부가하여, 약 300 g mol^{-1} 내지 약 500 g mol^{-1} 범위의 몰 질량, 약 2 내지 약 3 범위의 수소 결합 공여자의 수, 약 4 내지 약 5 범위의 수소 결합 수용자의 수, 및 약 3 내지 약 6 범위의 회전가능한 결합의 수.

[0085] 본 발명에 따른 위장관에서 염증을 치료하는 방법의 다른 실시 형태에서, 몰 질량은 약 350 g mol^{-1} 내지 약 430 g mol^{-1} 의 범위이다.

[0086] 본 발명에 따른 위장관에서 염증을 치료하는 방법의 다른 실시 형태에서, 회전가능한 결합의 수는 약 5 내지 약 6의 범위이다.

[0087] 본 발명에 따른 JAK 억제제의 실시 형태는 하기 JAK 물리-화학적 특성을 갖는다: 약 0.1 ng/mL 내지 약 60 ng/mL 범위의 혈장 농도, 0.1 내지 약 2.8 범위의 cLogP, P-gp 억제제의 존재 하에 약 0.1 내지 약 2.5 범위의 A-B 투과 계수, 약 0.5 내지 약 20 범위의 B-A 투과 계수, 및 약 85 내지 약 120 범위의 tPSA.

[0088] 본 발명에 따른 JAK 억제제의 추가의 실시 형태는 약 10 ng/mL 내지 약 20 ng/mL 범위의 혈장 농도를 갖는다.

[0089] 본 발명에 따른 JAK 억제제의 추가의 실시 형태는 약 0.8 내지 약 1.4 범위의 cLogP 값을 갖는다.

[0090] 본 발명에 따른 JAK 억제제의 추가의 실시 형태는 P-gp 억제제의 존재 하에 약 0.6 내지 약 1.5 범위의 A-B 투과 계수를 갖는다.

[0091] 본 발명에 따른 JAK 억제제의 추가의 실시 형태는 약 0.5 내지 약 5 범위의 B-A 투과 계수를 갖는다.

[0092] 본 발명에 따른 JAK 억제제의 추가의 실시 형태는 약 100 내지 약 120 범위의 tPSA 값을 갖는다.

- [0093] 본 발명에 따른 JAK 억제제의 다른 실시 형태는 하기 JAK 억제제 물리-화학적 특성을 갖는다: 본 발명에 따른 JAK 억제제에 대해 상기 기재된 혈장 농도, cLogP 값, 투과 계수, 및 tPSA 값에 부가하여, 약 300 g mol^{-1} 내지 약 500 g mol^{-1} 범위의 몰 질량, 약 2 내지 약 3 범위의 수소 결합 공여자의 수, 약 4 내지 약 5 범위의 수소 결합 수용자의 수, 및 약 3 내지 약 6 범위의 회전가능한 결합의 수.
- [0094] 본 발명에 따른 JAK 억제제의 추가의 실시 형태는 약 350 g mol^{-1} 내지 약 430 g mol^{-1} 범위의 몰 질량을 갖는다.
- [0095] 본 발명에 따른 JAK 억제제의 추가의 실시 형태는 약 5 내지 약 6 범위의 회전가능한 결합의 수를 갖는다.
- [0096] 본 발명에 따른 치료 방법에서는, 그러한 질환, 장애, 또는 의학적 병태를 앓고 있거나 이를 갖는 것으로 진단된 대상에게 본 발명에 따른 하나 이상의 활성 제제의 유효량을 투여한다. "유효량"은 지정된 질환, 장애, 또는 의학적 병태에 대한 그러한 치료를 필요로 하는 환자에서 원하는 치료적 또는 예방적 이익을 일반적으로 유발하기에 충분한 양 또는 용량을 의미한다. 모델링, 용량 증량 연구, 또는 임상 시험과 같은 방법에 의해, 그리고 인자, 예를 들어, 약물 전달 또는 투여의 방식 또는 경로, 제제의 약물동태학, 질환, 장애, 또는 병태의 중증도 및 진행, 대상의 이전 또는 현행 요법, 대상의 건강 상태 및 약물에 대한 반응, 및 치료 의사의 판단을 고려함으로써, 본 발명의 활성 제제의 유효량 또는 용량을 확인할 수 있다. 70-kg 인간의 경우, 적합한 투여량에 대한 예시적인 범위는 단일 또는 다중 투여 단위로 약 1 내지 1000 mg/일이다.
- [0097] 본 발명의 실시 형태는 과도한 염증 반응의 예방 및/또는 제어를 위한 활성 물질로서의 새로운 JAK 억제제이며, 그의 전신 효과는 제거되거나 감소된다. 본 발명의 추가의 실시 형태는, 전신 효과를 야기하지 않거나 그러한 전신 효과가 허용가능하게 감소된, IBD와 같으나 이로 제한되지 않는 병태의 치료를 위해 위장 조직에 대한 국소 효과를 갖는 JAK 억제제이다.
- [0098] 본 발명의 실시 형태는 낮은 투과성의 JAK 억제제이다. 본 발명의 추가의 실시 형태는 수용해도를 갖는 JAK 억제제이다.
- [0099] 환자의 질환, 장애, 또한 병태의 개선이 일어났다면, 예방적 치료 또는 유지 치료를 위해 용량을 조절할 수 있다. 예를 들어, 투여 용량 또는 투여 빈도, 또는 이들 둘 다는 증상의 함수로서 원하는 치료 또는 예방 효과가 유지되는 레벨로 감소될 수 있다. 물론, 증상이 적절한 레벨로 경감되었다면, 치료는 중단될 수 있다. 그러나, 환자는 증상의 재발 시에 장기적으로 간헐적 치료를 필요로 할 수 있다.
- [0100] 또한, 본 발명의 화합물은 하기 논의된 병태의 치료에서 단독으로, 본 발명의 다른 화합물 중 하나 이상과 조합하여, 또는 추가의 활성 성분과 조합하여 사용하기 위한 것으로 예상된다. 추가의 활성 성분은 본 발명의 하나 이상의 화합물과 함께, 본 발명의 활성 제제와 함께 별도로 병용-투여되거나, 본 발명에 따른 약제학적 조성물에 그러한 제제와 함께 포함될 수 있다. 예시적인 실시 형태에서, 추가의 활성 성분은 JAK 활성에 의해 매개되는 병태, 장애, 또는 질환의 치료에 효과적인 것으로 공지되거나 발견된 것들, 예컨대 특정 병태, 장애, 또는 질환과 관련된 다른 표적에 대해 활성인 다른 JAK 억제제 또는 화합물이다. 조합은 효능을 증가시키거나(예를 들어, 본 발명에 따른 제제의 효능 또는 유효성을 강화하는 화합물을 조합에 포함시킴으로써), 하나 이상의 부작용을 감소시키거나, 본 발명에 따른 활성 제제의 필요 용량을 감소시키는 작용을 할 수 있다.
- [0101] 표적의 억제를 언급할 때, "유효량"은 JAK 패밀리의 단백질 중 하나 이상의 활성에 영향을 주기에 충분한 양을 의미한다. 표적의 활성을 측정하는 것은 분석 방법에 의해 수행될 수 있다.
- [0102] 본 발명의 활성 제제는 본 발명의 약제학적 조성물을 제형화하기 위해 단독으로 또는 하나 이상의 추가의 활성 성분과 조합하여 사용하기 위한 것으로 예상된다. 본 발명의 약학 조성물은 유효량의 본 발명에 따른 적어도 하나의 활성 제제를 포함한다.
- [0103] 약제학적 조성물에 통상적으로 사용되는 약제학적으로 허용가능한 부형제는, 약제학적 조성물에 첨가되거나, 그 밖에 비히클, 담체, 또는 희석제로서 사용되어 제제의 투여를 용이하게 하고 그 제제와 상용성인, 비독성이고, 생물학적으로 용인가능하며, 그 밖에 대상에게 투여하기에 생물학적으로 적합한 물질, 예컨대 불활성 물질이다. 그러한 부형제의 예는 탄산칼슘, 인산칼슘, 다양한 당 및 전분 유형, 셀룰로스 유도체, 젤라틴, 식물유, 및 폴리에틸렌 글리콜을 포함한다.
- [0104] 당업자에게 이용가능하게 되거나 공지된 컴파운딩 기술 및 약제학적으로 허용가능한 부형제를 사용하여, 활성 제제의 하나 이상의 투여 단위를 함유하는 약제학적 조성물의 전달 형태를 제조할 수 있다. 본 발명의 방법에

서 조성물은 적합한 전달 경로, 예를 들어 경구, 비경구, 직장, 국소, 또는 안구 경로에 의해, 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다.

- [0105] 제제는 정제, 캡슐, 사세 (sachet), 당의정, 분제, 과립, 로젠지 (lozenge), 재구성용 분제, 액체 제제, 또는 좌제의 형태일 수 있다. 조성물은 정맥내 주입, 피하 주사, 국소 투여, 또는 경구 투여와 같은 복수의 투여 경로 중 어느 하나를 위해 제형화될 수 있다. 바람직하게는, 조성물은 경구 투여용으로 제형화될 수 있다.
- [0106] 경구 투여의 경우, 본 발명의 활성 제제는 정제, 캡슐, 또는 비드의 형태로, 또는 용액, 에멀전, 또는 현탁액으로서 제공될 수 있다. 경구 조성물을 제조하기 위하여, 예를 들어, 70-kg 인간의 경우, 예시적인 범위로서 단일 또는 다중 투여 단위로 약 1 내지 1000 mg/일의 투여량을 산출하도록 활성 제제를 제형화할 수 있다.
- [0107] 경구용 정제는, 희석제, 붕해제, 결합제, 윤활제, 감미제, 착향제, 착색제, 및 방부제와 같은 약제학적으로 허용가능한 상용성 부형제와 혼합된 활성 성분(들)을 포함할 수 있다. 적절한 불활성 충전제로는 탄산나트륨 및 탄산칼슘, 인산나트륨 및 인산칼슘, 락토스, 전분, 당, 글루코스, 메틸 셀룰로스, 스테아르산마그네슘, 만니톨, 소르비톨 등을 들 수 있다. 액체 경구 부형제는 에탄올, 글리세롤, 물 등을 포함한다. 전분, 폴리비닐-피롤리돈(PVP), 진분글리콜산나트륨, 미세결정질 셀룰로스, 및 알긴산은 붕해제이다. 결합제로는 전분 및 젤라틴을 들 수 있다. 윤활제는 존재하는 경우, 스테아르산마그네슘, 스테아르산 또는 탈크일 수 있다. 필요에 따라, 정제는 위장관에서의 흡수를 지연시키도록 모노스테아르산글리세릴 또는 다이스테아르산글리세릴과 같은 물질로 코팅되거나, 장용 코팅으로 코팅될 수 있다. 사용될 수 있는 추가의 코팅은 시간, pH, 또는 박테리아 함량의 함수로서 화합물 또는 활성 제제를 방출하도록 설계된 코팅을 포함한다.
- [0108] 경구 투여용 캡슐은 경질 및 연질 젤라틴 또는 (하이드록시프로필)메틸 셀룰로스 캡슐을 포함한다. 경질 젤라틴 캡슐을 제조하기 위하여, 활성 성분(들)을 고체, 반-고체, 또는 액체 희석제와 혼합할 수 있다. 연질 젤라틴 캡슐은 활성 성분을 땅콩유 또는 올리브유와 같은 오일, 액체 파라핀, 단쇄 지방산의 모노- 및 다이글리세라이드의 혼합물, 폴리에틸렌 글리콜 400, 또는 프로필렌 글리콜과 혼합함으로써 제조할 수 있다. 경구 투여용 액체는 현탁액, 용액, 에멀전 또는 시럽의 형태일 수 있거나, 사용 전에 물이나 다른 적절한 비히클과의 재구성을 위한 건조 제품으로서 제공되거나 동결 건조될 수 있다. 이러한 액체 조성물은 약제학적으로 허용가능한 부형제, 예컨대 현탁화제 (예를 들어, 소르비톨, 메틸 셀룰로스, 알긴산나트륨, 젤라틴, 하이드록시에틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 스테아르산알루미늄 겔 등); 비수성 비히클, 예를 들어, 오일 (예를 들어, 아몬드 오일 또는 분별된 코코넛 오일), 프로필렌 글리콜, 에틸 알코올, 또는 물; 방부제 (예를 들어, 메틸 또는 프로필 p-하이드록시벤조에이트 또는 소르브산); 습윤제, 예를 들어 레시틴; 및, 필요에 따라, 향미제 또는 착색제를 임의로 함유할 수 있다.
- [0109] 본 발명의 활성 제제는 또한 비경구 경로로 투여될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 좌제, 관장제, 또는 포말로서 직장 투여용으로 제형화될 수 있다. 정맥내, 근육내, 복강내, 또는 피하 경로를 포함하는 비경구 사용의 경우, 본 발명의 제제는 적절한 pH 및 등장성이 되도록 완충된 멸균 수용액 또는 현탁액 중에, 또는 비경구용으로 허용가능한 오일 중에 제공될 수 있다. 적절한 수성 비히클은 링거액 및 등장 식염수를 포함한다. 그러한 형태는 앰플 또는 일회용 주사 장치와 같은 단위-용량 형태로, 적절한 용량을 인출할 수 있는 바이알과 같은 다회-용량 형태로, 또는 주사용 제형을 제조하기 위해 사용될 수 있는 고체 형태 또는 사전-농축물(pre-concentrate)로 제공될 수 있다. 예시적인 주입 용량은, 수 분 내지 수 일 범위의 기간에 걸쳐 약제학적 담체와 혼합한 제제의 약 1 내지 1000 $\mu\text{g/kg/분}$ 의 범위이다.
- [0110] 국소 투여의 경우, 비히클에 대해 약 0.01% 내지 약 20%의 약물, 바람직하게는 0.1% 내지 10%의 농도로 제제를 약제학적 담체와 혼합할 수 있다. 본 발명의 제제를 투여하는 다른 방식은 경피 전달을 달성하기 위한 패치 제형을 이용할 수 있다.
- [0111] 본 발명의 방법에서는, 예를 들어 적합한 담체를 또한 함유하는 분무 제형으로, 코 또는 경구 경로를 통한 흡입에 의해 활성 제제를 대안적으로 투여할 수 있다.
- [0112] 추가의 실시 형태에서, 본 발명은 JAK에 의해 매개되는 질환, 장애, 또는 의학적 병태의 치료를 필요로 하는 대상에게 활성 제제의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, JAK에 의해 매개되는 질환, 장애, 또는 의학적 병태를 앓고 있거나 이로 진단된 대상을 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0113] 본 발명의 방법의 소정의 실시 형태에서, 질환, 장애, 또는 의학적 병태는 크론병 및 궤양성 대장염과 같은 염증성 장질환이다.
- [0114] 본 발명의 다른 실시 형태는, 본 발명의 화합물로부터 선택된 하나 이상의 화합물의 유효량에 JAK를 노출시키는

단계를 포함하는, JAK 활성을 조절하는 방법(그러한 키나제가 대상 내에 존재하는 경우를 포함함)을 제공한다.

[0115] 본 발명의 화합물은 경구 투여되고 낮은 전신 노출을 유지하면서 장 조직에 특이적으로 분포될 수 있는 JAK 억제제로서 유용하다. 이는 경구 투여되고 그들이 광범위한 전신 노출을 갖는다는 사실로 인해 많은 조직에 분포되는 대부분의 공지된 JAK 억제제와 대조적이다.

[0116] 표 1a 및 표 1b는 생체내 실험의 결과를 나타낸다. 이들 결과는 프로토콜 1, 프로토콜 2, 또는 프로토콜 3에 기재된 바와 같이 마우스에게 투여된 15 개 화합물에 대한 혈장 및 결장 조직 농도를 포함한다. 화합물 (B), 화합물 (C), 및 실시예 6 및 실시예 11에 대한 배측 중족골 정맥 출혈(dorsal metatarsal vein bleed)의 정맥 천자를 사용하여 프로토콜 1에 따라 혈장 및 결장 농도 결과를 얻었다. 실시예 2, 실시예 7 내지 실시예 10, 및 실시예 12에 대해 배측 중족골 정맥의 정맥천자를 사용하여 화합물 (A), 및 실시예 1, 및 실시예 3 내지 실시예 5, 및 프로토콜 2에 대한 후안와 출혈(retro-orbital bleed)을 사용하여 프로토콜 2에 따라 혈장 및 결장 농도 결과를 얻었다. 프로토콜 1 및 프로토콜 2의 결과를 표 1a에 나타낸다. 실시예 1, 실시예 3, 및 실시예 4에 대해 프로토콜 3에 따라 혈장 및 결장 농도 결과를 얻었다. 프로토콜 3의 결과를 표 1b에 나타낸다. 이들 프로토콜은 생체내 연구의 제목 하에 하기에 기재되어 있다.

[0117] [표 1a]

p.o. 투여 후의 생체내 실험의 결과-시험 화합물의 평균 농도

시험 화합물	p.o. 투여 후의 혈장 농도(ng/mL)						p.o. 투여 후의 결장 농도(ng/g)	
	시간 = 0.5 h		시간 = 2 h		시간 = 4 h		시간 = 4 h	
	평균*	표준 편차	평균*	표준 편차	평균*	표준 편차	평균*	표준 편차
A	347.0	78.5	69.1	40.8	84.5	25.5	895.0	260.6
B	352.7	85.7	66.3	26.2	11.3	3.7	6076.7	3125.8
C	547.0	71.4	130.2	63.7	16.7	5.9	7776.7	3500.2
실시예 1	13.4	1.5	6.1	3.7	3.3	1.2	8591.7	10245.7
실시예 2	24.5	3.6	4.2	1.8	1.3	0.1	7600.0	983.6
실시예 3	41.4	15.1	3.9	0.7	1.5**	***	2147.2	1821.6
실시예 4	12.9	1.6	7.5	2.8	3.3	1.5	4448.3	989.3
실시예 5	31.9	5.1	8.8	1.7	6.0	1.2	5328.3	986.0
실시예 6	18.8	20.6	3.0	0.9	1.7 [#]	^{##}	11706. 7	11305.2
실시예 7	47.0	3.8	9.6	4.4	5.0	1.2	12008. 3	9461.1
실시예 8	43.1	8.7	5.4	0.6	2.6	0.6	7396.7	3037.3
실시예 9	15.1	1.8	6.2	4.5	3.9	0.9	7683.3	230.9
실시예 10	26.6	4.0	3.2	1.0	3.1	0.7	3005.0	1347.2
실시예 11	1.6**	***	^	^^	^	^^	4785.0	1059.9
실시예 12	15.6	8.7	4.2	1.4	2.3	1.0	5885.0	3154.1

* 달리 언급되지 않는 한, 3 마리의 마우스로부터 얻어진 값으로부터 평균을 계산하였음.

** 제 3 마우스로부터 얻어진 값이 정량의 하한 미만이었으므로, 2 마리의 마우스로부터 얻어진 값으로 평균을 계산하였음.

*** 평균이 단지 2 개의 값으로부터 계산되었으므로, 표준 편차는 계산되지 않았음.

[#] 제 2 및 제 3 마우스로부터 얻어진 값이 정량의 하한 미만이었으므로, 1 마리의 마우스로부터 얻어진 값으로서 평균이 주어졌음.

^{##} 이 표의 비교 [#]에 비추어 표준 편차는 계산되지 않았음.

^ 3 마리의 마우스 모두에 대한 값이 정량의 하한 미만이었으므로, 평균은 계산되지 않았음.

^^ 이 표의 비교 ^에 비추어 표준 편차는 계산되지 않았음.

[0118]

[0119] [표 1b]

i.c 투여 후의 생체내 실험의 결과 -시험 화합물의 평균 농도

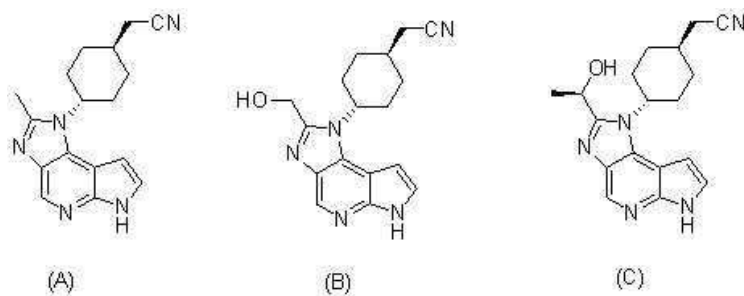
시험 화합물	i.c 투여 후의 혈장 농도 (ng/mL)						i.c 투여 후의 결장 농도 (ng/g)	
	시간 = 0.5 h		시간 = 2 h		시간 = 4 h		시간 = 4 h	
	평균*	표준 편차	평균*	표준 편차	평균*	표준 편차	평균*	표준 편차
실시예 1	2.5 [#]	##	^	^^	^	^^	681.0	437.0
실시예 3	1.5 [#]	##	^	^^	^	^^	227.8	254.1
실시예 4	3.8**	***	2.5 [#]	##	^	^^	26.1 [#]	##

* 달리 언급되지 않는 한, 3 마리의 마우스로부터 얻어진 값으로부터 평균을 계산하였음.
 ** 제 3 마우스로부터 얻어진 값이 정량의 하한 미만이었으므로, 2 마리의 마우스로부터 얻어진 값으로 평균을 계산하였음.
 *** 평균이 단지 2 개의 값으로부터 계산되었으므로, 표준 편차는 계산되지 않았음.
 # 제 2 및 제 3 마우스로부터 얻어진 값이 정량의 하한 미만이었으므로, 1 마리의 마우스로부터 얻어진 값으로서 평균이 주어졌음.
 ## 이 표의 비교 #에 비추어 표준 편차는 계산되지 않았음.
 ^ 3 마리의 마우스 모두에 대한 값이 정량의 하한 미만이었으므로, 평균은 계산되지 않았음.
 ^^ 이 표의 비교 ^에 비추어 표준 편차는 계산되지 않았음.

[0120]

화합물 (A) 내지

화합물 (C)는 Janus 키나제의 억제제로서의 그들의 용도에 대해 제W02013/007765호 또는 제W02011/086053호에 개시된 하기 참조 화합물이며:



[0121]

[0122]

표 1a 및 표 1b의 화합물 실시예 1 내지 실시예 12는 각각의 실시예에 주어진 본 발명의 실시 형태이다.

[0123]

표 1a에 명시된 바와 같이, 화합물 실시예 1 내지 실시예 12에 대한 결장 농도는 각각의 혈장 농도보다 훨씬 더 높은 것으로 밝혀졌으며, [결장(4 h)]:[혈장(0.5 h)] 농도 비는 약 52 내지 약 3,000의 범위이다. 반면에, 화합물 (A) 내지 화합물 (C)의 그러한 비는 약 3 내지 약 17의 범위였다. 표 1b는 또한 실시예 1, 실시예 3, 및 실시예 4가 i.c 투여 후에 낮은 전신 노출을 갖는다는 지지 데이터를 제공한다. 참조 화합물에 대한 본 발명의 실시 형태의 특성 사이의 대조는 비교가 4 h 혈장 농도 값에 관한 것일 때 훨씬 더 강조된다. 이와 관련하여, 화합물 실시예 1 내지 실시예 12에 대한 [결장(4 h)]:[혈장(4 h)] 농도 비는 약 888 내지 약 6886의 범위이다. 반면에, 화합물 (A) 내지 화합물 (C)의 그러한 비는 약 11 내지 약 538의 범위이다. 이들 결장-대-혈장 농도 비는, 화합물 (A) 내지 화합물 (C)가 비교적 높은 전신 효과를 갖는 반면에 화합물 실시예 1 내지 실시예 12는 경구 투여 후 임의의 시간에 낮은 전신 효과를 갖는다는 것을 나타낸다. 이는 화합물 실시예 1 내지 실시예 12에 대한 국소 GI 효과의 예상치 못한 발견이다.

[0124]

표 4에 나타난 바와 같이, 화합물 실시예 1 내지 실시예 12의 효소 활성을 측정하여 각각의 개별 효소에 대한 활성을 결정하였다. 시험된 모든 화합물에 대해, 효소 활성의 억제가 측정되었으며, 이는 이들 화합물이 범용-JAK 억제제임을 입증한다. 화합물 (A) 내지 화합물 (C)에 대해 이 표에 주어진 데이터는 또한 이들 화합물에 의한 모든 JAK 단백질에 대한 효소 활성의 억제를 입증한다.

[0125]

표 5에 나타난 바와 같이, 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에서 자극 IL-2, IFN- α , 및 GM-CSF를 사용하고 각각 STAT5, STAT4, 및 STAT5의 인산화의 억제를 측정하여, 화합물 실시예 1 내지 실시예 12의 세포 활성을 평가하였다. 시험된 모든 화합물에 대해, 3 개의 자극 모두에 의한 STAT 인산화의 억제가 측정되었다.

[0126]

표 6에 나타난 바와 같이, 모의 위액("SGF") 및 모의 장액("SIF")에서 화합물 실시예 1 내지 실시예 12의 용해도를 측정하였다. 시험된 모든 화합물은 SGF에서 400 μ M 초과, 및 SIF에서 81 μ M 내지 400 μ M 초과 범위의 측정가능한 용해도를 나타냈다. 동일한 표에 나타난 바와 같이, 이들 용해도 데이터는 화합물 (A) 내지 화

합물 (C)의 용해도와 유사하였다.

- [0127] 표 7에 나타난 바와 같이, P-gp 억제제인 엘라크리다르의 존재 및 부재 하에 MDCK-MDR1 세포주를 사용하여 화합물 (A) 내지 화합물 (C) 및 실시예 1 내지 실시예 12의 투과성을 측정하였다. 모든 화합물은 P-gp 억제제(엘라크리다르)의 존재 및 부재 하에 첨부-대-기저외측 수송(apical-to-basolateral transport) 측정에 대한 낮은 투과성을 입증하였다. 첨부-대-기저외측 수송의 경우에 화합물 (A) 내지 화합물 (C) 및 실시예 1 내지 실시예 12에 대한 투과 계수 값은, 엘라크리다르의 부재 하에(그러한 화합물 모두에 대해), 그리고 엘라크리다르의 존재 하에(화합물 (B) 내지 화합물 (C) 및 화합물 실시예 1 내지 실시예 12에 대해) 낮고 유사했으나(그러한 표의 컬럼 2 및 컬럼 3), 동일한 표의 컬럼 4에 나타난 바와 같이, 화합물 (A) 내지 화합물 (C)에 대한 기저외측-대-첨부 투과 계수는 대부분의 화합물 실시예 1 내지 실시예 12에 대한 것들보다 더 컸다. 표 7의 컬럼 3 및 컬럼 4를 참조하면, 대부분의 화합물 실시예 1 내지 실시예 12는 엘라크리다르의 존재 하에 측정된 낮은 첨부-대-기저외측 투과 계수(컬럼 3), 및 또한 낮은 기저외측-대-첨부 투과 계수(컬럼 4)를 갖는다. 이들 2 가지 특징은 그러한 화합물을 낮은 투과성의 화합물인 것으로 특성화한다. 화합물 (A) 내지 화합물 (C)에 대해 동일한 특성화가 실행될 수 없으며, 그의 기저외측-대-첨부 투과 계수(컬럼 4)는 대부분의 화합물 실시예 1 내지 실시예 12에 대한 것들보다 더 크다. 화합물 (A) 내지 화합물 (C) 및 실시예 1 내지 실시예 12에 대해 동일한 표에 주어진 유출 비는 이들 화합물 모두가 P-gp 기질임을 나타낸다.
- [0128] 표 4, 표 6, 및 표 7을 참조하여 논의된 것들과 같은 화합물 (A) 내지 화합물 (C)의 구조적 비교 또는 다른 특징에 기초하여, 참조 화합물 (A) 내지 화합물 (C)의 것들과 비교한 본 발명의 실시 형태에 대한 전신 효과의 현저한 결여가 추론되고/되거나 예측될 수 있음을 나타내는 공지된 참조 교시 또는 제안이 없다. 참조 화합물 (A) 내지 화합물 (C)가 본 발명의 실시 형태의 유사한 부분과 소정의 부분의 구조적 유사성을 나타낸다 하더라도 그러하다.
- [0129] 또한, 구조적 비교에 기초하여, 참조 화합물 (A) 내지 화합물 (C)의 것들과 비교한 본 발명의 실시 형태에 대한 낮은 투과성 특징이 추론되고/되거나 예측될 수 있음을 나타내는 공지된 참조 교시 또는 제안이 없다.
- [0130] 하기 특이적 실시예는 본 발명 및 다양한 실시 형태를 추가로 예시하기 위해 제공된다.
- [0131] 하기 실시예에 기재된 화합물 및 상응하는 분석 데이터를 얻는 데 있어서, 달리 지시되지 않는 한, 하기 실험 및 분석 프로토콜을 따랐다.
- [0132] 달리 기재되지 않으면, 반응 혼합물은 실온(rt)에서 자기 교반하였다. 용액을 "건조시키는" 경우, 이들은 일반적으로 Na_2SO_4 또는 MgSO_4 와 같은 건조제 상에서 건조시킨다. 혼합물, 용액 및 추출물을 "농축시키는" 경우에는, 이를 전형적으로 감압 하에서 회전 증발기 상에서 농축시켰다.
- [0133] 박막 크로마토그래피는 Merck 실리카 겔 60 F₂₅₄ 2.5 cm × 7.5 cm, 250 μm 또는 5.0 cm × 10.0 cm, 250 μm 사전-코팅 실리카 겔 플레이트를 사용하여 수행하였다.
- [0134] 달리 언급되지 않는 한, 순상 플래시 컬럼 크로마토그래피(FCC)는 MeOH/DCM 중의 2 M NH_3 으로 용리하는 실리카 겔(SiO_2) 상에서 수행하였다.
- [0135] 질량 스펙트럼(MS)은, 달리 지시되지 않는 한, 양이온 모드에서 전기분무 이온화(ESI)를 사용하여 Agilent 시리즈 1100 MSD 상에서 획득하였다. 계산된(calcd.) 질량은 정확한 질량에 상당한다.
- [0136] 핵 자기 공명(NMR) 스펙트럼은 브루커(Bruker) 모델 DRX 분광계 상에서 획득하였다. 하기 ^1H NMR 데이터의 포맷은:
- [0137] 테트라메틸실란 표준으로부터의 ppm 단위의 다운필드 화학적 이동(다중도, Hz 단위의 커플링 상수 J, 적분)이다.
- [0138] 화학명은 ChemDraw(CambridgeSoft, 매사추세츠주 캠브리지 소재) 또는 ACD/Name Version 9(Advanced Chemistry Development, 캐나다 온타리오주 토론토 소재)에 의해 생성되었다. 예로서, 표기(*Ir*, *Ar*)는 Chemdraw Ultra Pro 14.0의 명명 기능을 사용하여 생성된 바와 같은 사이클로헥실 고리 주위의 트랜스 배향을 지칭한다.
- [0139] 더 간결한 설명을 제공하기 위해서, 본 명세서에 주어진 정량적인 표현들 중 일부는 용어 "약"으로 수식되지 않는다. 용어 "약"이 명시적으로 사용되든 아니든, 본 명세서에서 주어진 모든 양은 실제 주어진 값을 지칭하고자 하는 것이며, 또한 그러한 주어진 값에 대한 실험 및/또는 측정 조건으로 인한 증가값 및 근사값을

포함하는, 본 기술 분야의 통상의 기술에 기초하여 합리적으로 추정되는 그러한 주어진 값에 대한 근사값을 지칭하고자 하는 것임이 이해된다.

- [0140] 수율이 백분율로 주어질 때마다, 그러한 수율은 특정 화학량론적 조건 하에서 얻어질 수 있는 실체의 최대량에 대하여 수율이 주어지는 동일 실체의 질량을 말한다. 상이하게 지시되지 않는 한, 백분율로서 주어지는 시약 농도는 질량 비를 지칭한다.
- [0141] TGA, DSC, GVS와 같은 실험은 전형적으로 분석되는 개별 샘플 및 존재하는 용매의 양 및/또는 수화의 경미한 변동에 기초하여 제시된 데이터에서 경미한 가변성을 나타낸다.
- [0142] 개별 실시 형태에 대한 TGA 플롯은 X-축 상의 °C 단위의 온도 및 Y-축 상의 % 단위의 중량 손실로 나타낸다.
- [0143] 개별 실시 형태에 대한 DSC 플롯은 X-축 상의 °C 단위의 온도 및 Y-축 상의 W/g 단위의 열류량으로 나타낸다. DSC 가열 속도는 10°C/min이었다. 흡열 및 발열 이벤트의 적분은 흡수된 에너지(흡열 이벤트의 경우) 또는 방출된 에너지(발열 이벤트의 경우)를 J/g 단위로 제공한다. 트레이스를 횡단하는 것으로 나타난 파선은 적분된 면적을 나타낸다.
- [0144] 용어 "발열 반응 상향(Exo Up)"이 존재하는 도면에서, 흡열 이벤트는 아래로 내려가는 곡선에 의해 반영되고, 발열 이벤트는 위로 올라가는 곡선에 의해 반영된다.
- [0145] 가시화를 가능하게 하기 위해 간격에 의해 분리된 회절도의 오버레이 배열로 일부 회절도가 제시되어 있다. 회절도 각각은 세로축과 그러한 회절도 각각의 교차점인 0의 상대 강도 또는 그러한 회절도 각각의 최저 상대 강도 판독치를 기준으로 한다.
- [0146] 임의의 단일 실시 형태에 대한 복수의 XPRD 패턴을 나타내는 도면은, 그럼에도 불구하고 상이한 용매 중에 동일한 방법으로 제조된 그러한 실시 형태의 샘플에 대해 얻어진 상이한 패턴을 반영한다.

[0147] 하기 나타낸 바와 같이 본 명세서에 사용되는 약어 및 두문자어는 하기를 포함한다:

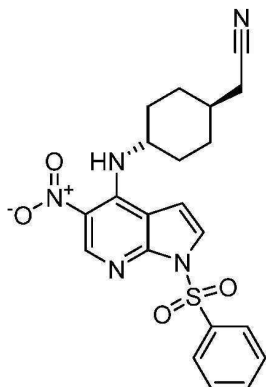
한정된 약어 및 두문자어

두문자어	용어
AAC	가속 노화 조건(40 ° C 및 70% RH)
ACN	아세토니트릴
aq	수성
br	넓은
cLogP	계산된 logP
DCM	다이클로로메탄
DIPEA, DIEA, 또는 후니그 염기(Hunig's base)	다이아이스프로필에틸아민
DMA	다이메틸아세트아미드
DMF	<i>N,N</i> -다이메틸포름아미드
DMPU	1,3-다이메틸-3,4,5,6-테트라하이드로-2(1 <i>H</i>)-피리미딘논
DMSO	다이메틸 설펍사이드
DSC	시차 주사 열량법
EtOAc, 또는 EA	에틸 아세테이트
EtOH	에탄올
ESI	전기분무 이온화(electrospray ionization)
FCC	순상 실리카 겔 플래시 컬럼 크로마토그래피
g	그램(들)
GVS	중량측정 증기 수착
h	시간(들)
HPLC	고압 액체 크로마토그래피
HR-XRPD	고해상도 X-선 분말 회절
HT-XRPD	고처리량 X-선 분말 회절
IPA	아이스프로판올
i. c.	결장내
Hz	헤르츠
LCMS	액체 크로마토그래피 및 질량 분석
M	몰농도
mDSC	변조 시차 주사 열량법
m/z	질량 대 전하 비
MeOH	메탄올
mg	밀리그램(들)
min	분(들)
mL	밀리리터(들)
μL	마이크로리터(들)
mmol	밀리몰(들)
MTBE	메틸 <i>tert</i> -부틸 에테르
MS	질량 분석
NMR	핵자기 공명
p. o.	경구 또는 입으로
ppm	백만분율
PTFE	폴리테트라플루오로에틸렌
PyBOP	벤조트리아아졸-1-일-옥시트라이피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트
PyBroP	브로모트라이피롤리디노포스포늄 헥사플루오로포스페이트
RH	상대 습도
R _t	체류 시간
R _t 또는 RT	실온
TFA	트라이플루오로아세트산
TGA	열중량 분석
THF	테트라하이드로푸란
TLC	박층 크로마토그래피
tPSA	토폴로지 극성 표면적
XRPD	X-선 분말 회절

[0148]

[0149] 중간체 1 합성 및 특성화:

[0150] 2-((1*r*,4*r*)-4-((5-니트로-1-(페닐설폰닐)-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-4-일)아미노)사이클로헥실)아세토니트릴



[0151]

[0152] 단계 A: *tert*-부틸 N-[(1*r*,4*r*)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실]카르바메이트. 질소의 불활성 분위기로 퍼징하고 유지한 20-L 4-구 둥근 바닥 플라스크에 (1*r*,4*r*)-4-[(*tert*-부톡시)카르보닐]아미노]사이클로헥산-1-카르복실산(1066 g, 4.38 mol, 1.00 당량) 및 THF(10 L)를 넣었다. 이어서, -10℃에서 1 h에 걸쳐 BH₃-Me₂S(10 M, 660 mL)를 적가하였다. 생성되는 용액을 3 h 동안 15℃에서 교반하였다. 이 반응을 동시에 3 회 수행하였고, 반응 혼합물을 합하였다. 이어서, 메탄올(2 L)의 첨가에 의해 반응을 켄칭(quenching)하였다. 얻어진 혼합물을 진공 하에 농축시켰다. 이는 *tert*-부틸 N-[(1*r*,4*r*)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실]카르바메이트(3000 g, 99.6%)를 백색 고체로서 생성시켰다. MS (ESI): C₁₂H₂₃NO₃에 대한 질량 계산치, 229.32; m/z 실측치, 215.2 [M-*t*Bu+MeCN+H]⁺; ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃): δ 4.40 (s, 1H), 3.45 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.38 (s, 1H), 2.05-2.02 (m, 2H), 1.84-1.81 (m, 2H), 1.44 (s, 11H), 1.17-1.01 (m, 4H).

[0153]

단계 B: *tert*-부틸 N-[(1*r*,4*r*)-4-(메탄설폰닐옥시)메틸]사이클로헥실]카르바메이트. 질소의 불활성 분위기로 퍼징하고 유지한 20 L 4-구 둥근 바닥 플라스크에 *tert*-부틸 N-[(1*r*,4*r*)-4-(하이드록시메틸)사이클로헥실]카르바메이트(1000 g, 4.36 mol, 1.00 당량), 다이클로로메탄(10 L), 피리딘(1380 g, 17.5 mol, 4.00 당량)을 넣었다. 이어서, -15℃에서 MsCl(1000 g, 8.73 mol, 2.00 당량)을 적가하였다. 생성되는 용액을 25℃에서 하룻밤 동안 교반하였다. 이 반응을 동시에 3 회 수행하였고, 반응 혼합물을 합하였다. 이어서, 2 L의 물을 첨가함으로써 반응을 켄칭하였다. 수상을 에틸 아세테이트(1 × 9 L)로 추출하였다. 유기층을 분리하고 1 M HCl(3 × 10 L), NaHCO₃(포화 수성)(2 × 10 L), 물(1 × 10 L), 및 염수(1 × 10 L)로 세척하였다. 혼합물을 무수 황산 나트륨으로 건조시키고, 여과하여, 진공 하에 농축시켰다. 이는 *tert*-부틸 N-[(1*r*,4*r*)-4-(메탄설폰닐옥시)메틸]사이클로헥실]카르바메이트(3300 g, 82%)를 백색 고체로서 생성시켰다. LC-MS: MS (ESI): C₁₃H₂₅NO₅S에 대한 질량 계산치, 307.15; m/z 실측치 292.1, [M-*t*Bu+MeCN+H]⁺; ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃): δ 4.03 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.38 (s, 1H), 3.00 (s, 3H), 2.07-2.05 (m, 2H), 1.87-1.84 (m, 2H), 1.72-1.69 (m, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.19-1.04 (m, 4H).

[0154]

단계 C: *tert*-부틸 N-[(1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실]카르바메이트. 10 L 4-구 둥근 바닥 플라스크에 *tert*-부틸 N-[(1*r*,4*r*)-4-(메탄설폰닐옥시)메틸]사이클로헥실]카르바메이트(1100 g, 3.58 mol, 1.00 당량), DMSO(5500 mL), 및 NaCN(406 g, 8.29 mol, 2.30 당량)을 넣었다. 생성되는 혼합물을 90℃에서 5 h 동안 교반하였다. 이 반응을 동시에 3 회 수행하였고, 반응 혼합물을 합하였다. 이어서, 15 L의 빙수를 첨가함으로써 반응을 켄칭하였다. 고체를 여과에 의해 수집하였다. 고체를 물(3 × 10 L)로 세척하였다. 이는 *tert*-부틸 N-[(1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실]카르바메이트(2480 g, 97%)를 백색 고체로서 생성시켰다. MS (ESI): C₁₃H₂₂N₂O₂에 대한 질량 계산치, 238.17; m/z 실측치 224 [M-*t*Bu+MeCN+H]⁺; ¹H NMR: (300 MHz, CDCl₃): δ 4.39 (s, 1H), 3.38 (s, 1H), 2.26 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.08-2.04 (m, 2H), 1.92-1.88 (m, 2H), 1.67-1.61 (m, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.26-1.06 (m, 4H).

[0155]

단계 D: 2-[(1*r*,4*r*)-4-아미노사이클로헥실]아세토니트릴 하이드로클로라이드. 10-L 둥근 바닥 플라스크에 *tert*-부틸 N-[(1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실]카르바메이트(620 g, 2.60 mol, 1.00 당량), 및 1,4-다이옥산(2 L)을 넣었다. 이어서, 10℃에서 교반 중에 1,4-다이옥산 중의 HCl 용액(5 L, 4 M)을 적가하였다. 생성되

는 용액을 25℃에서 하룻밤 동안 교반하였다. 이 반응을 4 회 수행하였고, 반응 혼합물을 합하였다. 고체를 여과에 의해 수집하였다. 고체를 1,4-다이옥산(3 × 3 L), 에틸 아세테이트(3 × 3 L), 및 헥산(3 × 3 L)으로 세척하였다. 이는 2-[(1*r*,4*r*)-4-아미노사이클로헥실]아세토니트릴 하이드로클로라이드(1753 g, 96%)를 백색 고체로서 생성시켰다. MS (ESI): C₈H₁₄N₂에 대한 질량 계산치, 138.12; m/z 실측치 139.25, [M+H]⁺; ¹H NMR: (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.14 (s, 3H), 2.96-2.84 (m, 1H), 2.46 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 1.98 (d, *J* = 11.1 Hz, 2H), 1.79 (d, *J* = 12.0 Hz, 2H), 1.64-1.49 (m, 1H), 1.42-1.29 (m, 2H), 1.18-1.04 (m, 2H).

[0156]

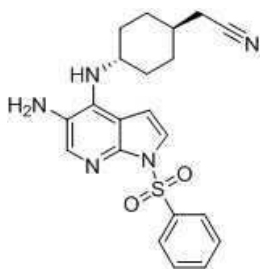
단계 E: 2-((1*r*,4*r*)-4-((5-니트로-1-(페닐설폰닐)-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-4-일)아미노)사이클로헥실)아세토니트릴. 2-[(1*r*,4*r*)-4-아미노사이클로헥실]아세토니트릴 하이드로클로라이드(29.10 g, 166.6 mmol)를 함유하는 1000 mL 둥근 바닥 플라스크에 DMA(400 mL)를 첨가하였다. 생성되는 현탁액을 4-클로로-5-니트로-1-(페닐설폰닐)-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘(51.53 g, 152.6 mmol)에 이어서 DIPEA(63.0 mL, 366 mmol)로 처리하였다. 반응 혼합물을 N₂ 하에 두고 80℃에서 4 h 동안 가열하였다. 조 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 격렬하게 교반되는 1.6 L의 물을 함유하는 2 L 플라스크 내로 천천히 부었다. 생성되는 현탁액을 15 분 동안 실온에서 교반한 후, 여과하고 70℃에서 가열하면서 진공 오븐 내에서 16 h 동안 건조시켜 표제 화합물(63.37 g, 95%)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ESI): C₂₁H₂₁N₅O₄S에 대한 질량 계산치, 439.1; m/z 실측치, 440.1 [M+H]⁺. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 9.10 (s, 1H), 8.99 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.23 - 8.15 (m, 2H), 7.66 - 7.59 (m, 2H), 7.56 - 7.49 (m, 2H), 6.67 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 3.95 - 3.79 (m, 1H), 2.38 (d, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.32 - 2.21 (m, 2H), 2.08 - 1.98 (m, 2H), 1.88 - 1.76 (m, 1H), 1.60 - 1.32 (m, 4H).

[0157]

중간체 2 합성 및 특성화:

[0158]

2-((1*r*,4*r*)-4-((5-아미노-1-(페닐설폰닐)-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-4-일)아미노)사이클로헥실)아세토니트릴



[0159]

[0160]

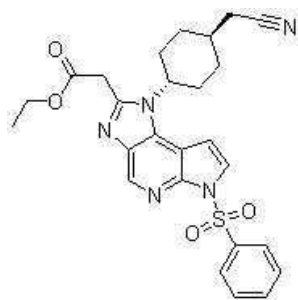
2-((1*r*,4*r*)-4-((5-니트로-1-(페닐설폰닐)-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-4-일)아미노)사이클로헥실)아세토니트릴(중간체 1, 58.60 g, 133.3 mmol)을 THF/MeOH(1:1, 4800 mL)에 용해시켰다. 100% 수소(대기압, 80℃)로 10 mL/min에서 Thales Nano H-Cube®와 같은 연속 유동 수소화 반응기(10% Pd/C)에 혼합물을 통과시킨 후, 용액을 농축하여 생성물을 자주색 고체로서 제공하였다. 고체를 EtOAc(400 mL)로 트리튬레이션한 후, MeOH(200 mL)로 다시 트리튬레이션한 후, 여과하고 진공 하에 건조시켜 표제 화합물(50.2 g, 91.9% 수율)을 제공하였다. MS (ESI): C₂₁H₂₃N₅O₂S에 대한 질량 계산치, 409.2; m/z 실측치, 410.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.10 - 8.03 (m, 2H), 7.76 (s, 1H), 7.51 - 7.43 (m, 1H), 7.43 - 7.34 (m, 3H), 6.44 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 4.61 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.65 - 3.51 (m, 1H), 2.74 (s, 2H), 2.26 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.19 - 2.05 (m, 2H), 1.97 - 1.86 (m, 2H), 1.76 - 1.59 (m, 1H), 1.33 - 1.12 (m, 4H).

[0161]

중간체 3 합성 및 특성화:

[0162]

에틸 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트



[0163]

[0164]

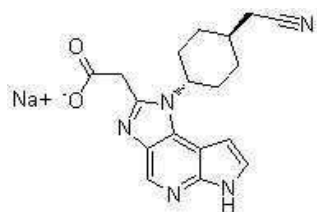
교반 막대 및 2-((1*r*,4*r*)-4-((5-아미노-1-(페닐설폰닐)-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-4-일)아미노)사이클로헥실)아세토니트릴(중간체 2, 58.31 g, 142.4 mmol)을 함유하는 1 L 둥근 바닥 플라스크에 에틸 3-에톡시-3-이미노프로파노에이트(60.51 g, 309.3 mmol)에 이어서 EtOH(600 mL, 3 Å 분자체 상에서 48 h 동안 건조시킴)를 첨가하였다. 환류 응축기를 반응 플라스크에 부착하고, 반응물을 N₂로 퍼징하고, 9 h 동안 90℃에서 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 30 h 동안 정치시켰으며, 여기서 생성물이 갈색 침상으로서 결정화되었다. 고체를 스펙트럼으로 파쇄하고, 반응 혼합물을 2 L 플라스크로 이전하였다. 격렬한 교반 중에 분액 깔때기를 통해 물(1.4 L)을 천천히 첨가하였다. 물의 첨가가 완료된 후, 현탁액을 30 분 동안 교반하였다. 갈색 침상을 여과에 의해 분리한 후, 필터를 통해 1 h 동안 공기를 흡인함으로써 건조시켰다. 생성물을 500 mL 플라스크로 이전하고 EtOAc(200 mL)로 처리하였다. 소량의 시드 결정을 첨가하였으며, 이는 백색 고체 침전물의 형성을 유도하였다. 현탁액을 실온에서 30 분 동안 교반하고, 여과하고, EtOAc(25 mL)로 린스하고, 진공 하에 건조시켜 생성물을 백색 고체(48.65 g, 68% 수율)로서 제공하였다. MS (ESI): C₂₆H₂₇N₅O₄S에 대한 질량 계산치, 505.2; *m/z* 실측치, 506.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.85 (s, 1H), 8.28 - 8.19 (m, 2H), 7.84 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.61 - 7.53 (m, 1H), 7.52 - 7.43 (m, 2H), 6.84 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.32 (s, 1H), 4.20 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.09 (s, 2H), 2.44 (d, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.40 - 2.27 (m, 2H), 2.16 (d, *J* = 13.3 Hz, 2H), 2.12 - 1.96 (m, 3H), 1.54 - 1.38 (m, 2H), 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

[0165]

중간체 4 합성 및 특성화:

[0166]

소듐 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트



[0167]

[0168]

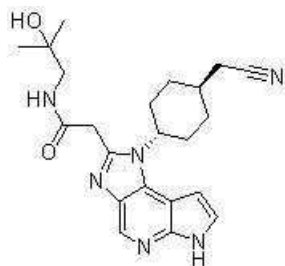
MeOH(30 mL) 및 THF(30 mL) 중의 에틸 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 3, 9.50 g, 18.8 mmol)의 용액에 수성 수산화나트륨(56.4 mL, 56.4 mmol, 1 M)을 첨가하고 실온에서 14 시간 동안 교반하였다. 감압 하에 실온에서 용매를 제거하여 표제 화합물(7 g)을 갈색 고체로서 제공하였으며, 이는 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용되었다. MS (ESI): C₁₈H₁₈N₅NaO₂에 대한 질량 계산치, 359.1; *m/z* 실측치, 337.9 [M+H-Na]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.52 - 8.47 (m, 1H), 7.85 - 7.81 (m, 2H), 7.46 - 7.41 (m, 4H), 6.85 - 6.81 (m, 1H), 4.60 - 4.46 (m, 1H), 3.96 (s, 2H), 2.59 - 2.49 (m, 4H), 2.19 - 2.05 (m, 6H), 1.56 - 1.43 (m, 2H) (표제 화합물과 벤젠설폰산의 1:1 혼합물).

[0169]

실시예 1 합성 및 특성화:

[0170]

2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(2-하이드록시-2-메틸프로필)아세트아미드



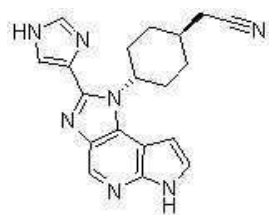
(실시예 1)

[0171] 단계 A: 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(2-하이드록시-2-메틸프로필)아세트아미드. 건조 시재료를 보장하기 위해, 반응 전에 에틸 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 3)를 50℃에서 18 h 동안 진공 하에 가열하였다. 1 L 플라스크 내에서, 에틸 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 3, 52.585 g, 104.01 mmol)를 DMA(50 mL)에 현탁시켰다. 1-아미노-2-메틸프로판-2-올(50 mL)을 첨가하고, 반응물을 110℃로 45 분 동안, 이어서 125℃로 5 시간 동안 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고 EtOAc(800 mL)로 희석하였다. 유기층을 물/염수의 용액으로 3 회 추출하였으며, 여기서 용액은 1 L 물 + 50 mL 염수로 이루어졌다. 수성층을 EtOAc(2 × 600 mL)로 역추출하였다. 유기층을 합하여 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 농축 건조시킨 후, 진공 하에 3 일 동안 건조시켜 표제 화합물(65.9 g, 98% 수율)을 황색 포말로서 제공하였다. 생성물을 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다. MS (ESI): C₂₈H₃₂N₆O₄S 에 대한 질량 계산치, 548.22; *m/z* 실측치, 549.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.76 (s, 1H), 8.26 - 8.19 (m, 2H), 7.84 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.60 - 7.53 (m, 1H), 7.50 - 7.44 (m, 2H), 6.84 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 4.76 - 4.61 (m, 1H), 3.97 (s, 2H), 3.45 (s, 1H), 3.27 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.41 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.38 - 2.25 (m, 2H), 2.23 - 2.12 (m, 2H), 2.09 - 1.94 (m, 4H), 1.48 (qd, *J* = 13.6, 4.0 Hz, 2H), 1.21 (s, 6H).

[0173] 단계 B: 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(2-하이드록시-2-메틸프로필)아세트아미드. 교반 막대를 함유하는 1 L 플라스크에 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(2-하이드록시-2-메틸프로필)아세트아미드(65.90 g, 102.1 mmol)를 첨가하였다. 1,4-다이옥산(300 mL)에 이어서 수성 KOH(3 M, 150 mL)를 첨가하였다. 반응물을 2 h 동안 80℃에서 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 회전식 증발기 상에서 용매 부피를 약 200 mL로 감소시켰다. 잔류물을 물/염수(100 mL/100mL)의 용액으로 처리한 후, CH₂Cl₂ 중의 10% MeOH(2 × 1 L)로 추출하였다. 유기층을 합하고, 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 농축 건조시켜 황색 고체를 제공하였다. 고체를 CH₂Cl₂(200 mL)에 현탁시키고, 30 분 동안 격렬하게 교반한 후, 여과에 의해 수집하였다. 고체를 CH₂Cl₂(100 mL)로 린스하고, 필터를 통해 공기를 흡인함으로써 건조시킨 후, 실온에서 16 h 동안 진공 하에 추가로 건조시켜 표제 화합물(41.59 g, 89% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ESI): C₂₂H₂₈N₆O₂에 대한 질량 계산치, 408.23; *m/z* 실측치, 409.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.85 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.21 - 8.10 (m, 1H), 7.49 - 7.43 (m, 1H), 6.74 - 6.65 (m, 1H), 4.53 - 4.42 (m, 2H), 4.07 (s, 2H), 3.08 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.58 (d, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.41 - 2.28 (m, 2H), 2.09 - 1.92 (m, 5H), 1.42 - 1.31 (m, 2H), 1.09 (s, 6H). 본 발명의 실시 형태 각각의 합성 및 활성 화합물 특성화는 실시예의 형태로 본 명세서에 제공된다. 본 발명의 실시 형태 중 일부의 결정 구조로 인해, 임의의 그러한 화합물의 특이적 형태를 추가로 특성화하기 위해 다형체 스크리닝이 추구될 수 있다. 이는 다형체 스크리닝의 제목 하의 실시예에 의해 화합물 실시예 1에 대해 비제한적인 방식으로 예시된다. 화합물 실시예 1에 관해 본 명세서에 보고된 시험은 하기 다형체 스크리닝 실시예에 기재된 바와 같이 실시 형태 1s에 의해 주어진 형태의 그러한 화합물을 이용하여 수행하였다.

[0174] 실시예 2 합성 및 특성화:

[0175] 2-((1*r*,4*r*)-4-(2-(1*H*이미다졸-4-일)이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-1(6*H*)-일)사이클로헥실)아세트니트릴



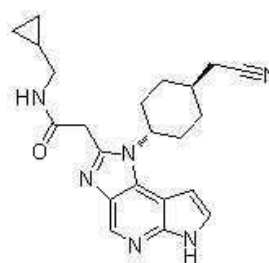
(실시예 2)

[0176] 단계 A: 2-((1*r*, 4*r*)-4-(2-(1*H*-이미다졸-4-일)-6-(페닐설폰닐)이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-1(6*H*)-일)사이클로헥실)아세트니트릴. 자석 교반 막대를 함유하는 1 L 둥근 바닥 플라스크에 2-((1*r*, 4*r*)-4-((5-니트로-1-(페닐설폰닐)-1*H*-피롤로[2,3-*b*]피리딘-4-일)아미노)사이클로헥실)아세트니트릴(중간체 1, 23.3 g, 53.0 mmol)을 첨가한 후, DMSO(200 mL) 및 메탄올(200 mL)을 첨가하였다. 1*H*-이미다졸-4-카르보알데히드(8.56 g, 89.1 mmol)를 고체로서 첨가한 후, 차아황산나트륨(32.7 g, 188 mmol)을 물 중의 용액(100 mL)으로서 첨가하였다. 반응 용기에 환류 응축기를 장착하고 가열 블록에서 15 h 동안 90℃로 가열하였다. 이어서, 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 교반 중에 물(2000 mL)을 함유하는 플라스크에 첨가하였으며, 이는 백색 침전물의 형성을 유발했다. 혼합물을 30 분 동안 교반하고, 여과에 의해 고체를 수집하였다. 6 h 동안 필터를 통해 공기를 흡인함으로써 고체를 건조시킨 후, 60℃에서 가열하는 진공 오븐 내에서 3 일 동안 추가로 건조시켜 표제 화합물(22.7 g, 88% 수율)을 황색 고체로서 제공하였다. MS (ESI): C₂₅H₂₃N₇O₂S에 대한 질량 계산치, 485.16; m/z 실측치, 486.1 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.74 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.20 - 8.11 (m, 2H), 8.04 - 7.96 (m, 2H), 7.76 - 7.68 (m, 1H), 7.68 - 7.60 (m, 2H), 7.19 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 5.56 (s, 1H), 2.58 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 2.38 - 2.24 (m, 2H), 2.07 (s, 1H), 1.98 (d, *J* = 10.8 Hz, 5H), 1.35 (q, *J* = 12.3 Hz, 2H).

[0178] 단계 B: 2-((1*r*, 4*r*)-4-(2-(1*H*-이미다졸-4-일)이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-1(6*H*)-일)사이클로헥실)아세트니트릴. 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(2-하이드록시-2-메틸프로필)아세트아미드 대신에 2-((1*r*, 4*r*)-4-(2-(1*H*-이미다졸-4-일)-6-(페닐설폰닐)이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-1(6*H*)-일)사이클로헥실)아세트니트릴(222 mg, 0.46 mmol)을 사용하여, 실시예 1, 단계 B에 기재된 것들과 유사한 조건을 사용하여 표제 화합물을 제조하고, 잔류물을 플래시 컬럼 크로마토그래피(0 내지 15% 2 N NH₃-MeOH/EA)에 의해 정제하여 표제 화합물(97 mg, 69% 수율)을 제공하였다. MS (ESI): C₁₉H₁₉N₇에 대한 질량 계산치, 345.17; m/z 실측치, 346.0 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.61 (s, 1H), 11.86 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.48 (t, *J* = 3.0 Hz, 1H), 6.76 (dd, *J* = 3.5, 1.8 Hz, 1H), 5.85 (s, 1H), 2.60 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.57 - 2.41 (m, 2H), 2.14 - 1.88 (m, 5H), 1.45 - 1.27 (m, 2H).

[0179] 실시예 3 합성 및 특성화:

[0180] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(사이클로프로필메틸)아세트아미드



(실시예 3)

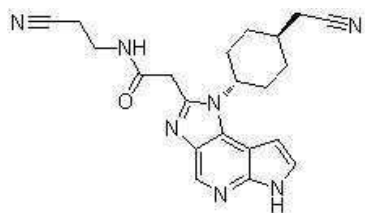
[0182] 단계 A: 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(사이클로프로필메틸)아세트아미드. 에틸 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 3, 555 mg, 1.06 mmol)와 사이클로프로필메틸아민(1.87 mL, 21.1 mmol)의 혼합물을 마이크로파 반응기 내에서 1 h 동안 125℃에서 가열하였다. 잔류물을 물로 처리한 후, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 합하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 실리카 플러그에 통과시키고, 회전식 증발기를 사용하여 농축 건조시켜 표제 화합물(642 mg)을

제공하였다. MS (ESI): $C_{28}H_{30}N_6O_3S$ 에 대한 질량 계산치, 530.21; m/z 실측치, 531.2 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.64 (s, 1H), 8.19 - 8.11 (m, 2H), 7.95 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 7.66 - 7.57 (m, 1H), 7.57 - 7.48 (m, 2H), 7.11 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.53 (s, 1H), 4.08 (s, 2H), 3.07 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.53 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 2.45 - 2.30 (m, 2H), 2.14 - 2.03 (m, 5H), 1.55 - 1.42 (m, 2H), 1.02 - 0.94 (m, 1H), 0.54 - 0.47 (m, 2H), 0.24 - 0.18 (m, 2H).

[0183] 단계 B: 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(사이클로프로필메틸)아세트아미드. 1,4-다이옥산(4.22 mL) 중의 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(사이클로프로필메틸)아세트아미드(560 mg, 1.05 mmol)의 혼합물에 3 N KOH(2.81 mL)를 첨가하였다. 혼합물을 80°C에서 1 hr 동안 가열한 후, 염기성 HPLC: Xbridge Prep OBD C_{18} 50 mm $\times$ 100 mm, 5 μ M 컬럼(용리액 0 내지 100% 수성 NH_4OH/ACN (10 min))으로 정제하여 표제 화합물(187 mg, 46% 수율)을 제공하였다. MS (ESI): $C_{22}H_{26}N_6O$ 에 대한 질량 계산치, 390.22; m/z 실측치, 391.2 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.57 (s, 1H), 7.50 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 4.57 (s, 1H), 4.11 (s, 2H), 3.13 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.67 - 2.52 (m, 4H), 2.20 - 2.03 (m, 5H), 1.58 - 1.44 (m, 2H), 1.12 - 0.97 (m, 1H), 0.60 - 0.48 (m, 2H), 0.31 - 0.22 (m, 2H).

[0184] 실시예 4 합성 및 특성화:

[0185] *N*-(2-시아노에틸)-2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드



[0186] (실시예 4)

[0187] DMF(5 mL) 중의 소듐 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 4, 400 mg, 1.11 mmol) 및 3-아미노프로판니트릴(320 mg, 2.24 mmol)의 용액에 PyBOP(870 mg, 1.67 mmol) 및 DIPEA(0.60 mL, 3.5 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 40 h 동안 교반하였다. 진공 중에 DMF를 제거한 후에, 헵탄 중의 50 내지 100% 에틸 아세테이트를 사용하는 플래시 컬럼 크로마토그래피에 의해 잔류물을 정제하였다. 수집된 분획을 진공 중에 작은 부피로 농축하고, 침전된 백색 고체를 여과하고, CH_2Cl_2 중의 10% MeOH로 세척하고 건조시켜 표제 화합물(75 mg, 17% 수율)을 제공하였다. 여액을 농축 건조시키고 Varian Pursuit XR_s5 Diphenyl 100 mm $\times$ 30 mm 컬럼(용리액 물 중의 10 내지 90% CH_3CN , 0.1% TFA)을 사용하는 역상-HPLC에 의해 정제하여 투명한 오일을 제공하였다. 이 재료를 CH_2Cl_2 중의 10% MeOH에 용해시키고, SILICYCLE SPE-R66030B-03P Carbonate(SiliaBond 산 제거제 고체상 추출 카트리지)의 500 mg 컬럼 3 개에 통과시켜 TFA를 제거하고 CH_2Cl_2 중의 10% MeOH로 용리시켜 표제 화합물의 추가의 분획(88 mg, 20% 수율)을 제공하였다. 2 개의 분획을 합하여 최종 생성물(163 mg, 37% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ESI): $C_{21}H_{23}N_7O$ 에 대한 질량 계산치, 389.20; m/z 실측치, 390.3 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.53 (s, 1H), 7.48 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 4.51 (br s, 1H), 4.12 (s, 2H), 3.50 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.71 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.45 - 2.63 (m, 4H), 2.03 - 2.19 (m, 5H), 1.44 - 1.57 (m, 2H).

[0188] 실시예 5 합성 및 특성화:

[0189] 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)아세트아미드

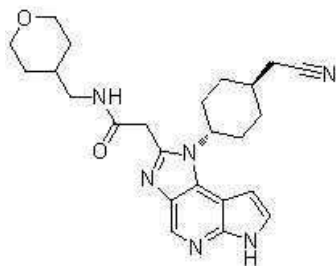


(실시예 5)

1,4-다이옥산(0.5 mL) 중의 에틸 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 3, 309 mg, 0.61 mmol)와 4-아미노테트라하이드로피란(195 mg, 1.93 mmol)의 혼합물을 마이크로파 반응기 내에서 1 hr 동안 180℃에서 가열하였다. 이어서, 반응 혼합물을 1,4-다이옥산(1.5 mL)으로 희석하고, 수성 3 N KOH(2 mL)로 처리하고, 80℃에서 1.5 hr 동안 가열하였다. 이어서, 잔류물을 물(10 mL)로 처리하고 CH₂Cl₂(3 × 50 mL)로 추출하였다. 유기 층을 합하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 진공 중에 농축하였다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(5 내지 10% MeOH / CH₂Cl₂)를 사용하여 조 재료를 정제하여 표제 화합물(146 mg, 57% 수율)을 수득하였다. MS (ESI): C₂₃H₂₈N₆O₂에 대한 질량 계산치, 420.23; *m/z* 실측치, 421.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.84 (s, 1H), 8.49 (s, 1H), 8.36 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.46 (t, *J* = 3.0 Hz, 1H), 6.73 - 6.67 (m, 1H), 4.54 - 4.41 (m, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.86 - 3.81 (m, 2H), 3.81 - 3.74 (m, 1H), 3.40 - 3.34 (m, 2H), 2.60 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.41 - 2.29 (m, 2H), 2.10 - 2.01 (m, 1H), 2.00 - 1.93 (m, 4H), 1.77 - 1.70 (m, 2H), 1.49 - 1.33 (m, 4H).

실시예 6 합성 및 특성화:

2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-((테트라하이드로-2*H*-피란-4-일)메틸)아세트아미드

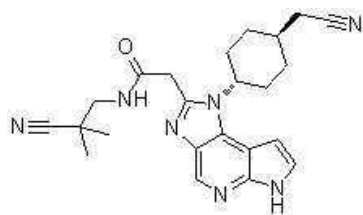


(실시예 6)

마이크로파 바이알에 에틸 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 3, 300 mg, 0.593 mmol) 및 4-아미노메틸테트라하이드로피란(683 mg, 5.93 mmol)을 첨가하였다. 생성되는 용액을 125℃에서 1 h 동안 교반하였다. 그 다음에 다이옥산(2.37 mL) 및 KOH(물 중의 3 M, 1.58 mL, 4.75 mmol)를 첨가하고 마이크로파에서 반응물을 80℃에서 1 h 동안 교반하였다. Waters Xbridge Prep OBD C₁₈ 150 mm × 30 mm, 5 μM 컬럼(용리액 0 내지 100% 물(0.05% NH₄OH)/ACN(10 min))을 사용하는 역상 HPLC 상에서 반응물을 정제하여 표제 화합물(97 mg, 38% 수율)을 제공하였다. MS (ESI): C₂₄H₃₀N₆O₂에 대한 질량 계산치, 434.24; *m/z* 실측치, 435.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8.43 (s, 1H), 7.38 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 6.74 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 4.43 (s, 1H), 4.03 - 3.96 (m, 2H), 3.89 - 3.79 (m, 2H), 3.34 - 3.25 (m, 2H), 3.04 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.54 - 2.38 (m, 4H), 2.08 - 1.96 (m, 5H), 1.74 - 1.63 (m, 1H), 1.59 - 1.54 (m, 2H), 1.46 - 1.33 (m, 2H), 1.25 - 1.14 (m, 2H).

실시예 7 합성 및 특성화:

N-(2-시아노-2-메틸프로필)-2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드

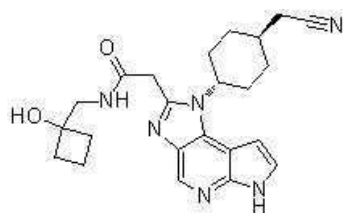


(실시예 7)

소듐 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 4, 300 mg, 0.835 mmol), 3-아미노-2,2-다이메틸프로판니트릴(82.0 mg, 0.835 mmol), DIPEA(216 mg, 1.67 mmol), 및 DMF(5 mL)의 용액을 0℃에서 1 h 동안 교반하였다. 이어서, PyBrOP(467 mg, 1.00 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 혼합물을 10 mL의 물로 켄칭하고 Waters Xbridge Prep OBD C₁₈ 150 mm × 30 mm 5 μM 컬럼(용리액: 28% 물(0.05% 암모니아 하이드록사이드 v/v)-ACN)을 사용하는 분취용 HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물(58 mg, 16% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ESI): C₂₃H₂₇N₇O에 대한 질량 계산치, 417.23; *m/z* 실측치, 418.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.86 (br s, 1H), 8.71 - 8.66 (m, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.48 - 7.45 (m, 1H), 6.73 - 6.69 (m, 1H), 4.53 - 4.42 (m, 1H), 4.10 (s, 2H), 3.33 - 3.31 (m, 1H), 2.57 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.41 - 2.27 (m, 2H), 2.05 - 1.93 (m, 5H), 1.45 - 1.26 (m, 9H).

실시예 8 합성 및 특성화:

2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-((1-하이드록시사이클로부틸)메틸)아세트아미드

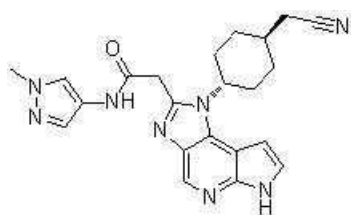


(실시예 8)

소듐 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 4, 300 mg, 0.835 mmol), 1-(아미노메틸)사이클로부탄올(84.4 mg, 0.835 mmol), DIPEA(216 mg, 1.67 mmol), 및 DMF(5 mL)의 용액을 0℃에서 1 h 동안 교반하였다. 그 다음에, PyBrOP(467 mg, 1.00 mmol)를 첨가하고 실온에서 하룻밤 동안 교반한 후, 10 mL의 물로 켄칭하였다. Kromasil 150 mm × 25 mm, 10 μM 컬럼(용리액: 물(0.05% 암모니아 하이드록사이드 v/v)-ACN 9% 내지 39%, v/v)을 사용하는 분취용 염기성 HPLC에 의해 반응물을 정제하여 표제 화합물(90 mg, 26% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ESI): C₂₃H₂₈N₆O₂에 대한 질량 계산치, 420.23; *m/z* 실측치, 421.2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.58 (br s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.94 - 7.85 (m, 1H), 7.46 - 7.40 (m, 1H), 6.75 - 6.70 (m, 1H), 4.89 (br s, 1H), 4.57 - 4.47 (m, 1H), 4.04 (s, 2H), 3.27 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.55 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.45 - 2.31 (m, 2H), 2.10 - 1.88 (m, 9H), 1.71 - 1.60 (m, 1H), 1.54 - 1.35 (m, 3H).

실시예 9 합성 및 특성화:

2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1-메틸-1*H*-피라졸-4-일)아세트아미드



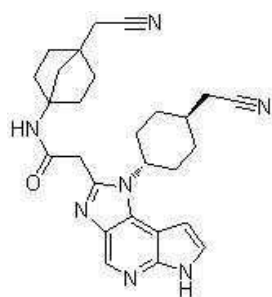
(실시예 9)

DMF(0.8 mL) 중의 소듐 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로

[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 4, 100 mg, 0.278 mmol) 및 1-메틸-1*H*-피라졸-4-아민(54.0 mg, 0.557 mmol)의 용액에 PyBrOP(217 mg, 0.417 mmol) 및 DIPEA(0.144 mL, 0.835 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 감압 하에 DMF를 제거하고, 플래시 컬럼 크로마토그래피(50 내지 100% EtOAc/헥산, 이어서 10% MeOH / DCM)에 의해, 그리고 이어서 Varian Pursuit XR_s5 Diphenyl 100 mm × 30 mm 컬럼(용리액 물 중의 10 내지 90% CH₃CN, 0.1% TFA)을 사용하는 역상 HPLC에 의해 잔류물을 정제하여 생성물을 TFA 염으로서 제공하였다. 이 재료를 CH₂Cl₂ 중의 10% MeOH에 용해시키고 SILICYCLE SPE-R66030B-03P Carbonate(SiliaBond 산 제거제 고체상 추출 카트리지)의 500 mg 컬럼에 통과시켜 TFA를 제거하여 표제 화합물(34 mg, 29% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ESI): C₂₂H₂₄N₈O에 대한 질량 계산치, 416.21; m/z 실측치, 417.3 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 12.77 (br s, 1H), 11.24 (br s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.89 (br s, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.29 - 7.20 (m, 1H), 6.74 (br s, 1H), 4.85 - 4.65 (m, 1H), 4.23 (s, 2H), 3.85 (s, 3H), 2.80 - 2.55 (m, 1H), 2.45 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.32 - 1.98 (m, 6H), 1.62 - 1.44 (m, 2H).

[0208] 실시예 10 합성 및 특성화:

[0209] *N*-(4-(시아노메틸)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)-2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드



(실시예 10)

[0210] 단계 A: 다이메틸 사이클로펜탄-1,3-다이카르복실레이트. 사이클로펜탄-1,3-다이카르복실산(70.0 g, 443 mmol) 및 무수 메탄올(300 mL)의 용액을 빙욕 중에 0°C로 냉각시켰다. 온도를 15°C 미만으로 유지하면서, 진한 황산(14 mL)을 적가하였다. 첨가 후에, 반응물을 90°C로 가열하고 하룻밤 동안 교반하였다. 반응물을 실온으로 냉각시켜, 농축 건조시켰다. 잔류물을 MTBE(500 mL) 및 H₂O(100 mL)로 처리하였다. 수성층을 분리하고 MTBE(2 × 100 mL)로 추출하였다. 유기 추출물을 합하여 포화 중탄산나트륨(2 × 100 mL), 염수(100 mL)로 세척하고, 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켜 표제 화합물(72.5 g, 88%)을 담황색 오일로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.65 (s, 6H), 2.84 - 2.72 (m, 2H), 2.26 - 2.17 (m, 1H), 2.11 - 2.02 (m, 1H), 1.96 - 1.88 (m, 4H).

[0212] 단계 B: 다이메틸 바이사이클로[2.2.1]헵탄-1,4-다이카르복실레이트. *n*-부틸리튬(헥산 중의 2.5 M, 419.0 mL, 1048 mmol)을 다이아이소프로필아민(152 mL, 1090 mmol) 및 무수 THF(1000 mL)의 용액에 -78°C(드라이아이스/아세톤)에서 N₂ 하에 천천히 첨가하였다. 그 다음에, 반응물을 0°C에서 0.5 시간 동안 교반한 후, -78°C로 냉각시켰다. 첨가 깔때기를 통해 DMPU(404 mL, 3350 mmol)를 첨가하였다. 이어서, 첨가 깔때기를 통해 다이메틸 사이클로펜탄-1,3-다이카르복실레이트(78.0 g, 419 mmol) 및 무수 THF(300 mL)의 용액을 천천히 첨가하였다. 반응물을 0°C로 가온하고 30 분 동안 교반한 후, -78°C로 냉각시키고, 1-브로모-2-클로로에탄(59.0 mL, 712 mmol) 및 무수 THF(200 mL)의 용액으로 처리하였다. 반응물을 실온으로 천천히 가온하고 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. 반응물을 포화 수성 암모늄 클로라이드(400 mL)로 토크하였다. 반응물을 에틸 아세테이트(500 mL)로 희석하고, 유기층을 분리하고, 수성층을 에틸 아세테이트(2 × 500 mL)로 추가로 추출하였다. 유기 추출물을 합하여 염수(2 × 300 mL)로 세척하고, 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켰다. 실리카 겔의 패드를 통해 잔류물을 여과하고 에틸 아세테이트(2000 mL)로 세척하였다. 여액을 농축 건조시키고, 플래시 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르/에틸 아세테이트, 30:1 내지 20:1, 구배 용리)에 의해 잔류물을 정제하여 표제 화합물(48.5 g, 54%)을 백색 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3.69 (s, 6H), 2.08 - 1.99 (m, 4H), 1.91 (s, 2H), 1.73 - 1.63 (m, 4H).

- [0213] 단계 C: 4-(메톡시카르보닐)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-카르복실산. 수산화나트륨(5.145 g, 128.6 mmol)의 메탄올(80 mL) 용액을 다이메틸 바이사이클로[2.2.1]헵탄-1,4-다ика르복실레이트(27.3 g, 129 mmol) 및 THF(700 mL)의 용액에 0℃에서 천천히 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 반응물을 농축 건조시키고, 잔류물을 MTBE(15 mL)로 트리투레이션하였다. 침전물을 여과에 의해 수집하고, MTBE(5 mL)로 세척하고, 100 mL의 H₂O에 용해시켰다. 2 M HCl을 이용하여 용액을 pH = 4로 산성화하였다. 침전물을 여과에 의해 수집하고 진공 하에 건조시켜 표제 화합물(13.0 g, 51.0%)을 백색 고체로서 제공하였다. 여액을 에틸 아세테이트(3 × 75 mL)로 추출하고, 유기 추출물을 합하여 염수(50 mL)로 세척하고, 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켜 표제 화합물의 제2 분획(8.0 g, 31%)을 백색 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.21 (br s, 1H), 3.59 (s, 3H), 1.94 - 1.86 (m, 4H), 1.74 (s, 2H), 1.61 - 1.54 (m, 4H).
- [0214] 단계 D: 메틸 4-(((벤질옥시)카르보닐)아미노)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-카르복실레이트. 다이페닐포스포릴 아자이드(17.1 mL, 78.6 mmol)를 4-(메톡시카르보닐)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-카르복실산(13.0 g, 65.6 mmol), DIPEA(22.8 mL, 131 mmol), 및 무수 톨루엔(200 mL)의 용액에 첨가하고, 반응 혼합물을 110℃에서 2 시간 동안 교반하였다. 반응물을 50℃로 냉각시키고, 벤질 알코올(13.6 mL, 131 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 하룻밤 동안 110℃에서 교반하였다. 반응물을 농축 건조시키고, MTBE(250 mL)에 용해시키고, H₂O(150 mL)로 세척하였다. 유기층을 분리하고, 수성층을 MTBE(2 × 100 mL)로 추출하였다. 유기 추출물을 합하여 염수(100 mL)로 세척하고, 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켰다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르/에틸 아세테이트, 10:1 내지 5:1, 구배 용리)에 의해 잔류물을 정제하여, 불순한 생성물(28.5 g)을 담황색 오일로서 제공하였다. Phenomenex Synergi Max-RP 250 × 50 mm × 10 μm 컬럼(용리액: 0.1% TFA를 갖는 38% 내지 68%(v/v) CH₃CN 및 H₂O)을 사용하는 분취용 산성 HPLC에 의해 생성물을 추가로 정제하였다. 순수한 분획을 합해, 휘발성 물질을 진공 하에 제거하였다. 잔류물을 H₂O(80 mL)로 희석하고, 포화 NaHCO₃ 수용액을 이용하여 용액의 pH를 pH = 8로 조정하고, 생성되는 용액을 CH₂Cl₂(3 × 100 mL)로 추출하였다. 유기 추출물을 합하여 염수(75 mL)로 세척하고, 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켜 표제 화합물(17.3 g, 85%)을 무색 오일로서 제공하였다. MS (ESI): C₁₇H₂₁NO₄에 대한 질량 계산치, 303.2; m/z 실측치, 303.9 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.56 (br s, 1H), 7.37 - 7.30 (m, 5H), 4.97 (s, 2H), 3.58 (s, 3H), 1.90 - 1.80 (m, 6H), 1.65 - 1.59 (m, 4H).
- [0215] 단계 E: 메틸 4-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-카르복실레이트. 메틸 4-(((벤질옥시)카르보닐)아미노)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-카르복실레이트(17 g, 56 mmol), 다이-*tert*-부틸 다이카르보네이트(18.35 g, 84.06 mmol), MeOH(200 mL), 및 습윤 Pd/C(4 g, 10 중량%, 50% H₂O)의 혼합물을 수소 풍선(13 psi)을 갖는 500 mL 둥근 바닥 플라스크에 첨가하고 실온에서 72 시간 동안 교반하였다. 촉매를 여과하고, 여액을 농축 건조시켰다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르/에틸 아세테이트, 20:1 내지 1:1, 구배 용리)에 의해 잔류물을 정제하여 표제 화합물(12.0 g, 79.5%)을 백색 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.04 (br s, 1H), 3.57 (s, 3H), 1.93 - 1.78 (m, 4H), 1.77 (s, 2H), 1.63 - 1.53 (m, 4H), 1.35 (s, 9H).
- [0216] 단계 F: 4-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-카르복실산. 메틸 4-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-카르복실레이트(5.0 g, 19 mmol), THF(40 mL), 및 MeOH(20 mL)의 용액에 수성 수산화나트륨(1.0 M, 46.4 mL, 46.4 mmol)을 실온에서 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 24 시간 동안 교반하였다. 반응물을 농축 건조시키고, 잔류물을 H₂O(20 mL)로 희석하고, 2 M HCl을 이용하여 pH = 4 내지 5로 산성화하여 침전물을 제공하였다. 침전물을 150 mL의 에틸 아세테이트에 용해시키고, 염수(45 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켜 표제 화합물(4.74 g, 100% 수율)을 백색 고체로서 제공하였으며, 이를 다음 단계에 직접 사용하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.06 (br s, 1H), 7.00 (br s, 1H), 1.87 - 1.73 (m, 6H), 1.58 - 1.50 (m, 4H), 1.35 (s, 9H).
- [0217] 단계 G: *tert*-부틸 4-(하이드록시메틸)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)카르바메이트. 보란-테트라하이드로푸란

착물(1.0 M, 37.1 mL, 37.1 mmol)의 용액을 4-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-카르복실산(4.74 g, 18.6 mmol) 및 무수 THF(50 mL)의 용액에 0℃에서 질소 분위기 하에 천천히 첨가하였다. 첨가를 완료한 후에, 반응물을 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 혼합물에 물(30 mL)을 천천히 첨가하고, 그것을 추가로 30 분 동안 교반하였다. 반응물을 농축 건조시키고, 잔류물을 에틸 아세테이트(50 mL)로 희석하고, H₂O(15 mL) 및 염수(10 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켰다. 잔류물을 플래시 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르/에틸 아세테이트, 2:1)에 의해 정제하여 표제 화합물(4.0 g, 89% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트, 2:1), R_f= 0.5. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): 6.88 (br s, 1H), 4.38 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 3.36 (d, *J* = 5.4 Hz, 2H), 1.73 (br s, 2H), 1.64 - 1.49 (m, 4H), 1.42 (s, 2H), 1.39 - 1.33 (m, 9H), 1.25 - 1.16 (m, 2H).

[0218] 단계 H: (4-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)메틸 메탄설포네이트. 피리딘(2.7 mL, 33 mmol)을 *tert*-부틸 (4-(하이드록시메틸)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)카르바메이트(2.0 g, 8.3 mmol) 및 무수 CH₂Cl₂(30 mL)의 용액에 첨가하였다. 반응물을 0℃로 냉각시키고, 메탄설포닐 클로라이드(2.0 mL, 25.0 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 반응물을 CH₂Cl₂(50 mL) 및 물(30 mL)로 희석하였다. 유기층을 분리하고, 염수(15 mL)로 세척하고, 무수 MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켰다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르/에틸 아세테이트, 5:1 내지 1:1, 구배 용리)로 잔류물을 정제하여 표제 화합물(2.58 g, 97%)을 백색 고체로서 제공하였다. TLC(석유 에테르/에틸 아세테이트, 1:1), R_f= 0.85. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 4.73 (br s, 1H), 4.21 (s, 2H), 2.98 (s, 3H), 1.93 - 1.90 (m, 2H), 1.78 - 1.62 (m, 6H), 1.53 - 1.34 (m, 11H).

[0219] 단계 I: *tert*-부틸 (4-(시아노메틸)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)카르바메이트. (4-((*tert*-부톡시카르보닐)아미노)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)메틸 메탄설포네이트(2.58 g, 8.07 mmol) 및 DMSO(25 mL)의 용액에 소듐 시아나이드(1.20 g, 24.5 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 100℃로 가열하고 24 시간 동안 교반하였다. 반응물을 50 mL의 물로 희석하고, 에틸 아세테이트(3 × 40 mL)로 추출하였다. 유기 추출물을 합하여 염수(20 mL)로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켰다. 플래시 컬럼 크로마토그래피(석유 에테르/에틸 아세테이트, 5:1)에 의해 잔류물을 정제하여 표제 화합물(1.8 g, 89% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.00 (br s, 1H), 2.67 (s, 2H), 1.82 (br s, 2H), 1.69 - 1.52 (m, 6H), 1.47 - 1.40 (m, 2H), 1.37 (s, 9H).

[0220] 단계 J: 2-(4-아미노바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)아세트니트릴 하이드로클로라이드. *tert*-부틸 (4-(시아노메틸)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)카르바메이트(850 mg, 3.40 mmol) 및 에틸 아세테이트(2 mL)의 현탁액에 0℃에서 에틸 아세테이트 중의 HCl의 용액(4.0 M, 10 mL, 40 mmol)을 첨가하였다. 실온에서 2 시간 동안 교반한 후에, 감압 하에 혼합물을 농축 건조시켰다. 잔류물을 MTBE(5 mL)로 트리투레이션하고, 여과를 통해 현탁액을 분리하였다. 필터 케이크를 MTBE(1 mL)로 세척하고, 감압 하에 건조시켜 표제 화합물(450 mg, 71%)을 백색 고체로서 얻었다. MS (ESI): C₉H₁₄N₂에 대한 질량 계산치 150.12 m/z, 실측치 151.1 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.59 (br.s., 3H), 2.78 (s, 2H), 1.90 - 1.77 (m, 2H), 1.74 - 1.62 (m, 4H), 1.60 (s, 2H), 1.56 - 1.46 (m, 2H).

[0221] 단계 K: *N*-(4-(시아노메틸)바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)-2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세트아미드. 건조 DMF(6 mL) 중의 소듐 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트 (중간체 4, 300 mg, 0.835 mmol), 2-(4-아미노바이사이클로[2.2.1]헵탄-1-일)아세트니트릴 하이드로클로라이드 (138 mg, 0.918 mmol), 및 DIPEA(0.291 mL, 1.67 mmol)의 용액에 PyBrOP(428 mg, 0.918 mmol)를 0℃에서 첨가하였다. 반응물을 실온에서 12 h 동안 교반하였다. 혼합물을 10 mL의 물로 켄칭하고 EtOAc(3 × 20 mL)로 추출하였다. 유기상을 합하여 염수로 세척하고, 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고 농축 건조시켰다. 분취용 HPLC(Xtimate C₁₈ 150 × 25 mm × 5 μm 컬럼(용리액: 10 mM NH₄HCO₃을 갖는 23% 내지 33%(v/v) CH₃CN 및 H₂O)을 사용함)에 의해, 그리고 분취용 TLC(다이클로로메탄: 메탄올=15:1)에 의해 잔류물을 정제하여 표제 화합

물(36.6 mg, 9% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ESI): $C_{27}H_{31}N_7O$ 에 대한 질량 계산치, 469.3; m/z 실측치, 470.2 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8.53 (s, 1H), 7.48 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 4.47 (br s, 1H), 4.07 - 4.02 (m, 2H), 2.63 (s, 2H), 2.61 - 2.50 (m, 4H), 2.18 - 1.98 (m, 7H), 1.94 - 1.84 (m, 2H), 1.82 (s, 2H), 1.79 - 1.68 (m, 2H), 1.62 - 1.43 (m, 4H).

[0222] 실시예 11 합성 및 특성화:

[0223] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1*H*-피라졸-3-일)아세트아미드



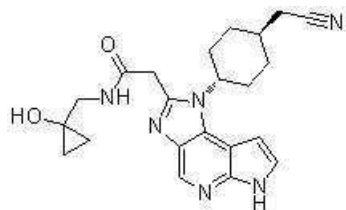
[0224] (실시예 11)

[0225] 단계 A: 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1*H*-피라졸-3-일)아세트아미드. 1-아미노-2-메틸프로판-2-올 대신에 1*H*-피라졸-3-아민(465 mg, 5.48 mmol)을 사용하여, 실시예 1, 단계 A에 기재된 것과 유사한 방식으로 표제 화합물(383 mg, 70%)을 제조하였다. MS (ESI): $C_{27}H_{26}N_8O_3S$ 에 대한 질량 계산치, 542.2; m/z 실측치, 543.2 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ 12.36 (s, 1H), 11.36 (s, 1H), 10.81 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 8.14 - 8.10 (m, 2H), 7.96 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 7.72 - 7.68 (m, 1H), 7.63 - 7.60 (m, 2H), 7.30 (s, 1H), 7.13 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 6.44 - 6.41 (m, 1H), 5.41 (s, 1H), 4.57 (s, 1H), 4.44 (s, 2H), 4.24 (s, 2H), 2.56 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H), 2.23 - 2.13 (m, 2H), 2.02 - 1.95 (m, 1H), 1.41 - 1.32 (m, 2H).

[0226] 단계 B: 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1*H*-피라졸-3-일)아세트아미드. 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(2-하이드록시-2-메틸프로필)아세트아미드 대신에 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-(1*H*-피라졸-3-일)아세트아미드(270 mg, 0.500 mmol)을 사용하여, 실시예 1, 단계 B와 유사한 방식으로 표제 화합물을 제조하고, Xbridge Prep OBD C_{18} 150 mm $\times$ 30 mm, 5 μ M, 용리액 5% ACN/ NH_4OH (aq)(10 min)를 사용하는 역상 HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물(15 mg, 7%)을 제공하였다. MS (ESI): $C_{21}H_{22}N_8O$ 에 대한 질량 계산치, 402.5; m/z 실측치, 403.2 $[M+H]^+$. ^1H NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$): δ 12.35 (s, 1H), 11.85 (s, 1H), 10.84 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 7.58 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.47 - 6.39 (m, 1H), 4.64 - 4.46 (m, 1H), 4.21 (s, 2H), 2.57 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 2.45 - 2.26 (m, 2H), 2.08 - 1.88 (m, 5H), 1.39 (q, $J = 11.7$ Hz, 2H).

[0227] 실시예 12 합성 및 특성화:

[0228] 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)-*N*-((1-하이드록시사이클로프로필)메틸)아세트아미드



[0229] (실시예 12)

[0230] 소듐 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-*d*]피롤로[2,3-*b*]피리딘-2-일)아세테이트(중간체 4, 300 mg, 0.835 mmol), 1-(아미노메틸)사이클로프로판올(72.7 mg, 0.835 mmol), DIPEA(216 mg, 1.67 mmol), 및 DMF(5 mL)의 용액을 0°C에서 1 h 동안 교반하였다. 이어서, PyBrOP(467 mg,

1.00 mmol)를 첨가하고 실온에서 하룻밤 동안 교반하였다. 혼합물을 10 mL의 물로 켄칭하고, Kromasil 150 mm × 25 mm, 10 μM 컬럼(용리액: 물(0.05% 암모니아 하이드록사이드 v/v)-ACN 5% 내지 35%, v/v)을 사용하는 분취용 염기성 HPLC에 의해 정제하여 표제 화합물(84 mg, 25% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. MS (ESI): $C_{22}H_{26}N_6O_2$ 에 대한 질량 계산치, 406.21; m/z 실측치, 407.2 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.53 (br s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.03 - 7.93 (m, 1H), 7.44 - 7.40 (m, 1H), 6.74 - 6.71 (m, 1H), 5.04 (s, 1H), 4.58 - 4.49 (m, 1H), 4.02 (s, 2H), 3.29 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.55 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.45 - 2.31 (m, 2H), 2.10 - 1.97 (m, 5H), 1.50 - 1.37 (m, 2H), 0.62 - 0.55 (m, 2H), 0.55 - 0.48 (m, 2H).

[0231] 다형체 스크리닝 실시예

[0232] 유리 염기로서의 본 발명에 따른 화합물의 일부 실시 형태는 복잡한 고체 상태 거동을 갖는 다수의 결정질 구성을 나타내며, 그 중 일부는 결국 상이한 양의 혼입된 용매로 인해 그들 자체 사이에서 구별되는 특징을 나타낼 수 있다. 본 발명에 따른 화합물의 일부 실시 형태는 유사다형체의 형태이며, 이는 결정 격자 자체 내의 상이한 양의 용매로 인한 결정 격자 조성 차이를 나타내는 동일한 화합물의 실시 형태이다. 또한, 본 발명에 따른 화합물의 일부 결정질 실시 형태에 채널 용매화가 또한 존재할 수 있으며, 여기서 용매는 결정 격자 내에 존재하는 채널 또는 공극 내에 혼입된다. 예를 들어, 표 2에 주어진 것들을 포함하는 다양한 결정질 구성이 화합물 실시예 1에 대해 발견되었다. 표 2에 예시된 바와 같이, 이들 특징 때문에, 비-화학량론적 용매화물이 종종 관찰되었다. 추가로, 본 발명에 따른 일부 실시 형태의 결정 구조 내의 그러한 채널 또는 공극의 존재는 결합 강도의 정도가 변동되는 결정 구조 내에 유지되는 물 및/또는 용매 분자의 존재를 가능하게 한다. 결과적으로, 특이적 주위 조건의 변화는 본 발명에 따른 일부 실시 형태에서 물 및/또는 용매 분자의 일부 손실 또는 이득으로 용이하게 이어질 수 있다. 표 2에 열거된 각각의 실시 형태에 대한 "용매화"(표 2의 제3 컬럼)는 화학식 용매화이며, 화학량론적 수치로서의 그의 실제 결정(표 2의 제4 컬럼)은 그것이 실험적으로 결정될 때의 실제 주위 조건에 따라 화학식 용매화로부터 경미하게 변동될 수 있음이 이해된다. 예를 들어, 일 실시 형태에서 물 분자의 약 절반이 결정 격자 내의 활성 화합물에 수소-결합되어 존재할 수 있고, 한편 물 분자의 다른 약 절반은 결정 격자 내의 채널 또는 공극 내에 존재할 수 있다면, 주위 조건의 변화는 공극 또는 채널 내에 그렇게 느슨하게 함유된 물 분자의 양을 변경할 수 있으며, 따라서, 예를 들어, 단결정 회절에 따라 지정되는 화학식 용매화와, 예를 들어, 질량 분석법과 커플링된 열중량 분석에 의해 결정되는 화학량론 사이의 경미한 차이로 이어진다. 일단 그러한 실시 형태 각각이 제조되면, 단일 결정 회절, 및 질량 분석법과 커플링된 열중량 분석과 같은 기술에 의해 화학식 용매화 및 화학량론과 같은 본 발명에 따른 화합물의 특징이 결정된다.

[0233] [표 2]

화합물 실시예 1의 결정질 형태의 일부 실시 형태

실시 형태	결정화 용매	용매화	화학량론
1s	-	일수화물	0.8 H ₂ O
1a	물	일수화물	1.3 H ₂ O
1b	톨루엔	톨루엔 용매화물	0.4 톨루엔
1c	에틸 아세테이트/1,4-다이옥산	일수화물	1.1 H ₂ O
1d	아세토니트릴/클로로포름	1.7 수화물	1.7 H ₂ O
1e	에틸 아세테이트/1,4-다이옥산	일수화물	1 H ₂ O
1f	p-자일렌	p-자일렌 용매화물	0.3 p-자일렌
1f	쿠멘	쿠멘 용매화물	0.3 쿠멘
1g	아니솔	아니솔 용매화물	0.3 아니솔
1h	p-자일렌	p-자일렌 용매화물	0.2 p-자일렌
2	1,4-다이옥산	1,4-다이옥산 용매화물	1.2 1,4-다이옥산
3b	사이클로헥사논	사이클로헥사논 용매화물	0.3 사이클로헥사논
3c	1,4-다이옥산	1,4-다이옥산 용매화물	0.5 1,4-다이옥산
3d	THF	THF 용매화물	0.4 THF
3e	아이소부탄올	아이소부탄올 용매화물	0.7 아이소부탄올
1b+4	물/메탄올	수화물/메탄올 용매화물 믹스	-
5	클로로포름	클로로포름 용매화물	0.5 클로로포름
6	아세토니트릴	무수	0.2 아세토니트릴
1s+7	헵탄	헵탄 용매화물	0.1 헵탄
7	-	비용매화	-
8	-	비용매화	-
9	-	비용매화	-
10		이수화물	1.8 H ₂ O
11	에탄올	에탄올 용매화물	0.5 에탄올
11b	메탄올	메탄올 용매화물	0.5 메탄올
12	-	무수	-
13	메탄올/물	준안정(metastable) 형태	
14		준안정 수화물	
15	톨루엔	톨루엔 용매화물	0.55 톨루엔
16	에틸 아세테이트	에틸 아세테이트 용매화물	0.09 에틸 아세테이트
17	아이소프로필 아세테이트	아이소프로필 아세테이트 용매화물	0.13 아이소프로필 아세테이트
18	2-부타논	2-부타논 용매화물	0.2 2-부타논

[0234]

[0235]

DCM 중의 슬러리(1:3, 예를 들어 DCM 30 ml 중의 화합물 10 g)를 제조하고, 이를 40℃에서 4 시간 동안 교반하고, 14 시간 동안 25℃에서 추가로 교반한 후, 25℃에서 헵탄을 천천히 첨가하고(1:2, 예를 들어 화합물/DCM 슬러리/용액 내로 20 ml의 헵탄), 40℃에서 4 시간 동안 교반하고, 25℃로 냉각시키고, 추가로 14 시간 동안 25℃에서 교반함으로써, 실시예 1에 기재된 바와 같이 얻어진 화합물을 추가로 결정화하였다. 후속의 여과에 의해 화합물 실시예 1이 미색 고체의 형태로 생성되었으며, 이는 일수화물, 1s 실시 형태로서 확인되었다.

[0236]

화합물 실시예 1의 비정질 형태, 실시 형태 19를 하기와 같이 제조하였다. 실시 형태 1s(1 g)를 *t*-부탄올(40 부피)에 용해시키고, 50℃에서 교반하였다. 사전-건조된 분자체를 용액에 첨가하고 10 분 동안 교반하였다. 용액을 여과하고, HPLC 바이알(1 ml) 내로 분취하고, 이를 드라이아이스-아세톤옥 중에 즉시 동결시켰다. 이어서, 샘플을 48 h 동안 동결 건조기 상에 두었다. 재료는 XRPD에 의해 비정질이었고, ¹H-NMR에 의해 제안된 구조와 일치하였으며, 화합물 실시예 1의 분자당 0.4 mol의 *t*-부탄올이 존재하였다. 이 재료를 150℃로 가열하고 150℃에서 10 min 동안 유지하였다. 최종 샘플을 XRPD 및 ¹H-NMR에 의해 분석하였으며, 그것은 비정질이고 화

합물 실시예 1의 분자당 0.03 mol의 *t*-부탄올이 남아있는 것으로 결정되었다.

[0237] 표 2 및 도 2의 실시 형태 1 내지 실시 형태 18은 결정질이고, 도 2의 실시 형태 19는 비정질이다. 실시 형태 1s 및 실시 형태 1a 내지 실시 형태 1h는 등구조이다. 실시 형태 1s는 중심 대칭 삼사정계 공간군 P-1(centrosymmetrical triclinic space group P-1)으로 결정화된다. 용어 "실시 형태 1"은 등구조 실시 형태 1s 및 실시 형태 1a 내지 실시 형태 1h를 집합적으로 지칭한다. 그러한 실시 형태 1s 및 실시 형태 1a 내지 실시 형태 1h 중 어느 하나는 때때로 실시 형태 1의 등구조 구성원으로, 또는 단지 실시예 1의 구성원으로 지칭된다. 실시 형태 3b, 실시 형태 3c, 실시 형태 3d, 및 실시 형태 3e는 등구조이며, 단사정계 시스템, 공간군 C 2/c로 결정화된다. 용어 "실시 형태 3"은 등구조 실시 형태 3b, 실시 형태 3c, 실시 형태 3d, 및 실시 형태 3e를 집합적으로 지칭한다. 그러한 실시 형태 3b, 실시 형태 3c, 실시 형태 3d, 및 실시 형태 3e 중 어느 하나는 때때로 실시 형태 3의 등구조 구성원으로, 또는 단지 실시 형태 3의 구성원으로 지칭된다. 등구조 실시 형태는 그들이 상이한 화학적 조성(즉, 결정 격자 내에 혼입된 상이한 용매 및/또는 물 분자)을 가지면서 유사한 결정 구조 특성(동일한 대칭성 및 유사한 단위 셀 파라미터 및 결정 패킹)을 보유하도록 하는 것이다. 등구조 실시 형태에서의 단위 셀 파라미터는 상이한 조성(결정 구조 내로 혼입된 용매 또는 물)으로 인해 경미하게 상이할 수 있다. 표 2에 언급된 실시 형태는, 도 2에 개략적으로 나타낸 바와 같이, 그리고 하기와 같이 더욱 상세하게 기재된 바와 같이 제조되고/되거나 상호-전환되었다.

[0238] 이들 제조에 사용된 결정화 프로토콜은 순수 용매 중의 용매 평형화, 증발 결정화, 고온 여과를 이용하는 냉각 결정화, 반-용매(anti-solvent)를 이용하는 충돌-결정화(crash-crystallization), 열순환에 의한 결정화, 저온에서의 인큐베이션, 가열/냉각 성숙(heat/cool maturation), 승온에서의 인큐베이션, 비정질 재료를 사용하는 고온 성숙(실시 형태 19), 및 비정질 재료를 사용하는 열순환(실시 형태 19)을 포함하였다. 고체를 HT-XRPD 또는 XRPD에 의해 분석하였다. 적용가능한 경우, 모액을 완전히 증발시키고 잔류 고체를 또한 HT-XRPD 또는 XRPD로 분석하였다. 일수화물로서 시재료 실시 형태 1s는 우세한 고체 형태였다.

[0239] 25℃ 및 50℃에서의 용매 평형화

[0240] 화합물 실시 형태 1s를 20 가지의 순수 용매에 현탁시키고 실온에서 2 주 동안, 그리고 50℃에서 1 주 동안 교반함으로써 장기 슬러리 실험을 수행하였다. 평형 시간의 완료 시에, 잔류 고체를 모액으로부터 분리하였다. 고체를 주위 조건 하에 건조시키고, 진공(5 mBar)하에 건조시킨 후, HT-XRPD에 의해 분석하였다. 이어서, 고체를 가속 노화 조건(40℃/70% 상대 습도)에 2 일 동안 노출시키고, 다시 HT-XRPD에 의해 분석하였다.

[0241] 대부분의 결정화 용매로부터, 실시형태 1s로서의 시재료가 얻어졌다. 몇몇 결정화 용매로부터, HT-XRPD 패턴은 초기 실시 형태 1s의 것들과 유사한 것으로 밝혀졌다. 이들 회절 패턴의 대부분에서, 피크 이동 및/또는 추가의 피크가 확인되었다. 이들 패턴 각각은, 1a 내지 1h 중 하나로 표지된 실시 형태에 상응하며, 그러한 실시 형태에 대한 HT-XRPD 회절 패턴의 유사성에 기초하여, 이들은 실시 형태 1의 등구조 구성원인 실시 형태로서 제시된다. 실시 형태 1의 모든 등구조 구성원은 40℃ 및 75% RH에 2 일 동안 노출된 후에 실시 형태 1a로 전환되었다.

[0242] 실시 형태 1s는 그것이 25℃에서 100% RH에 노출될 경우에 수화된 실시 형태 10으로 전환되었다. 그럼에도 불구하고, 실시 형태 10은 주위 조건에서 물리적으로 안정하지 않았다. 실시 형태 1s는 삼사정계 시스템, 공간군 P-1로 결정화되는 반면에, 실시 형태 10은 단사정계 시스템, 공간군 C 2/c로 결정화되는 것으로 밝혀졌다. 실시 형태 10은 주위 조건 하에 제한된 물리적 안정성을 가졌으며, 그것은 1s 또는 1a와 같은 다른 실시 형태로 전환되었다. 이러한 거동은 모든 수화/용매화 분자의 동등하지 않은 강한 결합에 기인한다. 이 경우에, 실시 형태 10은 주위 조건 하에 손실될 덜 강하게 결합된 제2 물 분자를 가질 것이다. 더욱 정확하게는, 기후 챔버 내에서 그러한 실시 형태의 20 mg 샘플을 4 일 동안 40℃ 및 70% 상대 습도에 노출시키고, 동일한 실시 형태의 다른 20 mg 샘플을 또한 4 일 동안 25℃ 및 100% 상대 습도에 노출시킴으로써 실시 형태 1s의 물리적 안정성을 조사하였다. 4 일 후에, 다양한 고체 샘플을 HR-XRPD에 의해 분석하고, 결정 셀 파라미터를 결정하고, 회절도를 인덱싱하였다. 회절도는 도 6에 나타낸다. 하단으로부터 상단으로, 도 6의 제1 회절도는 시재료로서의 실시 형태 1s에 상응하고, 제2 회절도는 동일한 도면에서 "1s 70 RH"로 표시된, 40℃ 및 70% 상대 습도에 4-일 노출 후의 동일한 형태에 상응한다. 이러한 분석은, 더 높은 물 함량을 갖는 다른 수화된 실시 형태일 가능성이 있는 소량의 제2 결정질 형태를 갖지만 초기 실시 형태 1s가 회수되었음을 나타냈다. 그러한 형태에 대한 인덱싱은 그것이 존재한 소량으로 인해 가능하지 않았다. 제3 회절도는, 동일한 도면에서 "10"으로 표시된, 25℃ 및 100% 상대 습도에 4-일 노출 후의 실시 형태 1s에 상응한다. 이들 조건은, 초기 실시예 1s의 작은 오염, 및 표 2에 특성화된 바와 같은 용매화를 갖는, 실시 형태 1s의 실시 형태 10으로의 전환으로 이어진다. 탈수

시에, 실시 형태 1s 및 실시 형태 10 둘 모두는 148℃의 용점을 갖는 무수 형태로 재결정화되었다.

[0243] 25 내지 5℃의 온도 사이클링을 이용하여, 물 중의 실시 형태 1s 또는 실시 형태 19의 슬러리 전환에 의해 실시 형태 10을 또한 제조하였다. 1 mL의 물 중에 50 mg의 재료를 현탁시킴으로써 슬러리를 제조하였다. 25 내지 5℃의 온도 사이클링은, 25℃에서 1 시간 동안 혼합물을 가열한 후, 2 시간의 기간에 걸쳐 온도를 5℃로 감소시키는 것이었다. 이어서, 혼합물을 5℃의 온도에서 1 시간 동안 유지하였다. 이어서, 온도를 2 시간의 기간에 걸쳐 25℃로 증가시켰다. 이러한 온도 사이클링 계획을 총 약 24 시간 동안 반복하였다. 진공 여과에 의해 고체를 단리한 후, 10 분 동안 필터 상에서 건조시켰다. 주위 조건 및 진공 하에 건조시키는 중에 실시 형태 10은 실시 형태 1s로 전환되었다.

[0244] 실온에서의 용매 평형화에 의해 결정화 용매로서의 톨루엔으로부터 실시 형태 1b를 수득하였고, 결정화 용매로서의 p-자일렌으로부터 실시 형태 1f를 수득하였다.

[0245] 3 개의 추가의 고체 실시 형태를 확인하고 실시 형태 2, 실시 형태 3, 및 실시 형태 7로 지정하였다. 각각 도 21a 및 도 21b에 그들의 TGA 및 DSC를 나타낸 실시 형태 2는 1,4-다이옥산 중에 실온에서 수행된 용매 평형화 실험으로부터 확인된 반면에, 실시 형태 7은 헵탄으로부터 50℃에서의 단일 용매 평형화 실험에서 실시 형태 1s와의 혼합물로서 확인되었다. 실시 형태 3의 등구조 구성원인 실시 형태 3b, 실시 형태 3c, 실시 형태 3d, 및 실시 형태 3e로 분류된 몇몇 유사하지만 동일하지 않은 회절도를 확인하였다. 실시 형태 3의 등구조 구성원은 실시 형태 1의 구성원들과 혼합된 것으로 밝혀졌다. 실시 형태 3의 구성원을 함유하는 혼합물은, 일부 경우에 실시 형태 1a 또는 실시 형태 1a와 실시 형태 3e의 혼합물로 변환되었다. 실시 형태 7은 물리적으로 안정한 것으로 보였지만, 실시 형태 2는 AAC에 2 일 동안 노출 후에 실시 형태 3e로 전환되었다.

[0246] 증발 결정화

[0247] RT에서 수행된 용매 평형 실험으로부터 저장된 모액을 느린 증발 결정화 실험에 사용하였다. 모액을 여과하여 임의의 미립자 물질을 제거하고 주위 조건 하에 천천히 증발시켰다. 얻어진 고체를 HT-XRPD에 의해 분석하고, AAC에 2 일 동안 노출시킨 후에 다시 분석하였다.

[0248] 일부 용매에서 화합물 실시예 1의 불량한 용해도로 인해, 그러한 용매가 사용될 때 고체가 회수되지 않았다. 고체가 침전된 실험에서는, 실시 형태 1 또는 실시 형태 3의 비정질 잔류물 또는 등구조 구성원이 회수되었다. 안정성 연구 중에, 실시 형태 3의 샘플은 물리적으로 안정한 것으로 보였지만, 실시 형태 1의 상이한 구성원은 실시 형태 1a로 전환되었다. 일부 경우에 비정질 고체는 안정성 연구 후에 비정질로 유지되었으며, 조해성이 되거나 결정성의 일부 징후를 나타냈다.

[0249] 냉각 결정화

[0250] 50℃에서 수행된 용매 평형 실험의 모액을 50℃에서 여과하여 임의의 미립자 물질을 제거하였다. 50℃에서의 현탁액을 0.2 μ m PTFE 필터를 사용하여 여과하고, 용액을 5℃에 두고 72 시간 동안 노화시켰다. 노화 중에 고체가 침전되었을 경우, 이들 고체를 액체로부터 분리하고, 주위 조건 하에, 그리고 진공 하에 건조시키고, HT-XRPD에 의해 분석하였다. 잔류 모액을 천천히 증발시키고, 잔류 고체를 HT-XRPD에 의해 분석하였다. 침전이 일어나지 않은 샘플을 진공 하에 두고, 건조된 고체를 HT-XRPD에 의해 분석하였다. 이어서, 모든 고체를 AAC(40℃/70% RH에서 2 일)에 노출시키고, HT-XRPD에 의해 재분석하였다.

[0251] 일부 용액에서는 냉각 시에 고체가 침전되지 않았으며, 이 경우에는 용액을 주위 조건 하에 증발시켰다. 일부 용매에서는 화합물 실시예 1의 낮은 용해도로 인해 일부 용액으로부터 고체가 얻어지지 않았다.

[0252] 4 가지 용매(2-프로판올, 2-부타논, 아세토니트릴, 및 메탄올)로부터 침전이 일어났다. 800 μ L 아세토니트릴 중의 mL 규모, 25 mg/mL의 농도에서 단일 냉각 결정화 실험의 증발 후에 실시 형태 6이 확인되었다. 실시 형태 6은 2 일의 AAC 후에 안정한 고체 형태인 것으로 보였으며, 그것은 비용매화된 실시 형태로 보였다.

[0253] μ L 규모에서의 냉각/증발 결정화

[0254] 12 가지의 순수 용매 및 12 가지의 용매 혼합물을 사용하고 4 개의 온도 프로파일을 적용하여, 96 웰 플레이트에서 μ L 규모로 냉각/증발 결정화 실험을 수행하였다. 각각의 웰에, 대략 4 mg의 실시 형태 1s를 고체 투여하였다. 이어서, 50 mg/mL의 농도에 도달하도록 결정화 용매(80 μ L) 및 용매 혼합물을 첨가하고, 각각의 웰을 개별적으로 밀봉한 플레이트에, 이어서 4 개의 온도 프로파일 중 하나를 적용하였다. 온도 프로파일의 완료 시에, 낮은 주위 압력에서 용매를 증발시키고(24 시간), 잔류 고체를 2 일 동안 AAC(40℃/70% RH)에 노출시키기

전 및 후에 HT-XRPD에 의해 분석하였다.

- [0255] 대부분의 용매 시스템 및 온도 프로파일로부터 실시 형태 1 및 실시 형태 3의 구성원이 확인되었다. 그러나, 온도 프로파일에 대해 고체 형태의 소정의 경향이 관찰되었다. 실시 형태 1b는 짧은 온도 프로파일(3 시간 노화)로부터 주로 확인되었다. 그럼에도 불구하고, 긴 노화 시간을 갖는 동일한 용매 시스템은 실시 형태 1f, 실시 형태 3의 구성원, 또는 실시 형태 1 및 실시 형태 3의 구성원의 혼합물의 확인으로 이어졌다. 결정화 용매로서의 1,4-다이옥산, 및 초기 온도로서 50℃로 60 min 동안 유지한 후에 1℃/h의 속도로 20℃의 최종 온도까지 냉각시키고 48 h 동안 유지하는 온도 프로파일에 의해 실시 형태 3c가 얻어졌고; 결정화 용매로서의 테트라하이드로푸란, 및 실시 형태 3c에 대해서와 동일한 온도 프로파일에 의해 실시 형태 3d가 얻어졌다.
- [0256] 짧은 노화 조건을 적용할 경우에 메탄올/물(50/50, v/v), THF, 및 DCM/IPA(50/50, v/v)에서 수행된 실험에서 실시 형태 4가 확인되었다. 물과 메탄올의 혼합물(50/50), 및 초기 온도로서 50℃로 60 min 동안 유지한 후에 20℃/h의 속도로 5℃의 최종 온도까지 냉각시키고 3 h 동안 유지하는 온도 프로파일로 실시 형태 1s를 처리함으로써 실시 형태 4가 얻어졌으며, 이에 의해 실시 형태 1b와 함께 실시 형태 4가 수득되었다. 물과 메탄올의 혼합물(50/50), 및 초기 온도로서 50℃로 60 min 동안 유지한 후에 20℃/h의 속도로 20℃의 최종 온도까지 냉각시키고 3 h 동안 유지하는 온도 프로파일로 1s를 처리함으로써 실시 형태 1b와 함께 실시 형태 4가 또한 얻어졌다. 실시 형태 4는 주위 조건 하에 물리적으로 안정한 것으로 보이지 않았다. 냉각 결정화 실험에 의해 결정화 용매로서의 에틸 아세테이트/1,4-다이옥산(50/50, v/v), 및 초기 온도로서 50℃로 60 min 동안 유지한 후에 1℃/h의 속도로 5℃의 최종 온도까지 냉각시키고 48 h 동안 유지하는 온도 프로파일로부터 실시 형태 1c가 수득되었고; 결정화 용매로서의 아세토니트릴/클로로포름(50/50, v/v), 및 초기 온도로서 50℃로 60 min 동안 유지한 후에 1℃/h의 속도로 5℃의 최종 온도까지 냉각시키고 48 h 동안 유지하는 온도 프로파일로부터 실시 형태 1d가 수득되었으며; 결정화 용매로서의 에틸 아세테이트/1,4-다이옥산(50/50, v/v), 및 초기 온도로서 50℃로 60 min 동안 유지한 후에 1℃/h의 속도로 20℃의 최종 온도까지 냉각시키고 48 h 동안 유지하는 온도 프로파일로부터 실시 형태 1e가 수득되었다.
- [0257] 결정화 용매로서의 클로로포름, 및 초기 온도로서 50℃로 60 min 동안 유지한 후에 1℃/h의 속도로 20℃의 최종 온도까지 냉각시키고 48 h 동안 유지하는 온도 프로파일에서 수행된 실험에서 실시 형태 5가 확인되었다.
- [0258] 다른 결정화 방법에서 이전에 관찰된 바와 유사한 전환이 안정성 연구 중에 관찰되었다. 대부분의 경우에, 모든 고체 형태는 실시 형태 1a로, 또는 실시 형태 1a를 함유하는 혼합물로 전환되었다.
- [0259] 고체 혼합물로부터의 증발 결정화
- [0260] 용매/반-용매 혼합물을 사용하는 증발 결정화에서는, 화합물의 투명한 용액이 제조되며, 이로부터 용매가 먼저 증발하여(높은 증기압) 화합물이 결정의 형태로 어느 정도 침전되게 한다. 이어서, 이들 결정은 반-용매(더 낮은 증기압)가 증발할 때 시드로서 작용한다.
- [0261] 화합물 실시예 1은 각각의 용매 시스템에 완전히 용해되지 않았다. 그러한 이유로, 모든 실험이 증발 전에 여과를 포함하였다.
- [0262] HT-XRPD 분석의 결과는, 용매 혼합물의 증발 시에 화합물 실시예 1이 주로 실시 형태 1s로서 결정화됨을 입증하였다. 이는 하기 용매/반-용매 시스템에 대해 관찰되었다: 테트라하이드로푸란/물, 아세토니트릴/물, 클로로포름/에탄올, 메탄올/에틸 아세테이트, 2-부타논/아이스프로판올, 및 헵탄/아세톤. 2 개의 시스템, 아세톤/쿠멘 및 1,4-다이옥산/에틸 포르메이트로부터, 등구조 실시 형태 3b 및 실시 형태 3e가 확인되었으며, 이는 AAC 후에 실시 형태 1a와 실시 형태 3d, 및 실시 형태 1s와 실시 형태 3e의 상이한 혼합물로 각각 전환되었다.
- [0263] 반-용매 결정화
- [0264] 화합물 실시예 1의 포화 용액을 순수 용매 중에 제조하였다. 정방향 및 역방향 첨가로 반-용매 첨가를 수행하였다. 정방향 첨가에서는, 화합물 용액에 반-용매를 3 개의 분취물로 첨가하였다. 역방향 첨가는 과량의 반-용매(20 mL)에 소정 부피의 화합물 용액을 첨가함으로써 수행하였다.
- [0265] 침전 후에, 고체를 액체로부터 분리하고, 주위 조건 하에 건조시키고, 진공(5 mbar) 하에 건조시킨 후, HT-XRPD에 의해 분석하였다. 반-용매 첨가 시에 침전이 일어나지 않는 실험을 48 시간 동안 5℃에서 저장하여 침전을 유도하였다. 침전된 고체를 이후에 분리하고, HT-XRPD에 의해 분석하였다. 고체가 얻어지지 않았을 경우, 용액을 온화한 조건 하에 증발시키고, 잔류 고체를 HT-XRPD에 의해 분석하였다. 모든 고체를 AAC(40℃/70% RH에서 2 일)에 노출시키고, HT-XRPD에 의해 재분석하였다.

- [0266] 정방향 반-용매 결정화는 모든 경우에 침전을 나타냈다. 모든 고체는 실시 형태 1의 등구조 구성원(1s, 1b, 1j, 1f) 또는 실시 형태 3의 등구조 구성원(3b, 3d, 3f)으로 분류될 수 있었다. AAC에 노출된 후에, 실시 형태 1a와 실시 형태 3e의 혼합물로 전환된 1 개를 제외하고는, 모든 고체 샘플이 실시 형태 1a로 전환되었다.
- [0267] 용매로서의 DMSO 중에 수행된 역방향 반-용매 결정화 실험은 사용된 반-용매에 따라 상이한 고체 형태를 제공하였다. 다이클로로메탄 또는 p-자일렌으로 실시 형태 1의 등구조 구성원(1s 및 1b)을 확인한 반면에, MTBE로 비정질 잔류물을 얻었다. 반-용매 첨가 시에 침전되지 않은 헵탄 및 반-용매로서의 물을 이용한 2 가지 용액의 증발은 오일로 이어졌다. AAC 후에 실시 형태 1a로의 전환이 관찰되었고, 비정질 잔류물은 조해성이 되었다.
- [0268] 고온 여과 실험
- [0269] 상이한 용매 혼합물 중에 50℃에서 제조된 화합물 실시예 1의 과포화 용액으로부터 고온 여과를 이용한 냉각 결정화 실험을 수행하였다. 고온 여과된 용액에 48 시간 냉각 프로파일을 적용하였다. 온도 프로파일 후에 고체가 침전된 바이알을 원심분리하고, 고체를 액체로부터 분리하고, HT-XRPD에 의해 분석하였다(진공 하의 건조 후에). 고체가 침전되지 않은 경우, 용액을 진공 하에 증발시키고, HT-XRPD에 의해 고체를 분석하였다. 모든 고체를 AAC(40℃/70% RH에서 2 일)에 노출시키고, HT-XRPD에 의해 재분석하였다. 고온 여과 실험의 절반에서는 침전이 일어나지 않았으며, 용매의 증발 시에, 이들 용매 시스템에서의 화합물 실시예 1의 불량한 용해도로 인해 충분한 고체가 회수되지 않았다. 3 개의 실험에서, 비정질 잔류물을 회수하였으며, 이는 AAC 후에 실시 형태 1(1s 또는 1a) 및 실시 형태 3(3e)의 구성원의 혼합물로 결정화되거나 조해성이 되었다. 실시 형태 5는 아세톤/클로로포름(50/50, v/v)에서의 실험으로부터 확인되었다. AAC 후에 실시 형태 1a로의 전환이 관찰되었으므로, 이 실시 형태는 물리적으로 불안정한 것으로 보였다.
- [0270] 열-순환 실험
- [0271] 약 6 mg의 실시 형태 1s의 현탁액을 실온에서 10 가지의 용매 중에 제조하였다. 현탁액을 5℃ 내지 50℃에서 사이클링하였다. 열-순환의 완료 시에, 원심분리에 의해 고체를 분리하고, 주위 조건 하에, 그리고 진공(5 mbar)하에 건조시킨 후, HT-XRPD에 의해 분석하였다. 이어서, 모든 고체를 2 일 동안 AAC에 노출시키고, 다시 HT-XRPD에 의해 분석하였다. 열-순환 실험은 보통 더 안정한 다형체 형태의 형성을 촉진한다. 사이클로헥사는 중에 수행된 실험을 제외하고는, 모든 바이알이 열 프로파일 후에 고체를 함유하였다. 사이클로헥사는 용액을 온화한 진공 하에 천천히 증발시켰다. 실시 형태 1, 실시 형태 3, 또는 이들의 혼합물의 구성원이 습윤 고체에서 주로 확인되었다. 이들 고체의 건조 시에, 실시 형태 1s로의 전환이 관찰되었다. 실시 형태 3b 및 실시 형태 3e는, 열-순환으로부터 300 μL의 사이클로헥사는 중에 51 mg/mL의 농도로(3b), 그리고 400 μL의 아이소부탄을 중에 37.3 mg/mL의 농도로(3e) 얻어졌다. 실시 형태 5는, 열-순환으로부터 800 μL의 클로로포름 중에 18.6 mg/mL의 농도로 얻어졌다.
- [0272] 도 3, 도 4, 및 도 5는 표 2에 열거되고 또한 상기 기재된 스크리닝에서 언급된 실시 형태 중 일부에 대한 HT-XRPD 패턴의 오버레이를 나타낸다.
- [0273] 실시 형태 1s는 대부분의 결정화 실험으로부터 회수되었다. 그것은 주위 조건에 따라 혼입되는 가변적인 수의 물 분자 및/또는 다른 용매를 갖는 채널 수화물이다. 실시 형태 1a로의 전환이 관찰되었다. 이 형태는 경미하게 더 많은 물(1.3 개의 물 분자)을 함유하였다. 실시 형태 1의 모든 등구조 구성원은 40℃ 및 75% RH에 2 일 동안 노출된 후에 실시 형태 1a로 전환되었다. 실시 형태 1의 구성원에 대한 XRPD 패턴에서의 일부 회절 피크의 이동은 결정 격자 내로 혼입된 상이한 용매 또는 물 분자에 기인할 수 있다. 도 4는 실시 형태 1의 구성원에 대한 HT-XRPD 패턴의 오버레이를 나타낸다. 회절도 1s는 실시 형태 1s의 형태의 시재료로서의 화합물 실시예 1에 상응한다. 회절도 1a는 몇몇 실시 형태 1s 샘플을 AAC에 노출시킨 후에 얻어진 실시 형태 1a에 상응한다. 회절도 1b는 RT에서 톨루엔 중의 용매 평형 실험으로부터 얻어진 실시 형태 1b에 상응한다. 회절도 1c는 에틸 아세테이트/1,4-다이옥산(50/50, v/v) 중의 μL 규모로 냉각 결정화 실험으로부터 얻어진 실시 형태 1c에 상응한다. 회절도 1c는 아세토니트릴/클로로포름(50/50, v/v) 중의 μL 규모로 냉각 결정화 실험으로부터 얻어진 실시 형태 1d에 상응한다. 회절도 1e는 에틸 아세테이트/1,4-다이옥산(50/50, v/v) 중의 μL 규모로 냉각 결정화 실험으로부터 얻어진 실시 형태 1e에 상응한다. 회절도 1f는 RT에서 p-자일렌 중의 용매 평형 실험으로부터 얻어진 실시 형태 1f에 상응한다. 회절도 1g는 50℃에서 아니솔 중의 용매 평형 실험으로부터 얻어진 실시 형태 1g에 상응한다. 회절도 1h는 p-자일렌 중의 μL 규모로 냉각 결정화 실험으로부터 얻어진 실시 형태 1h에 상응한다.
- [0274] 실시 형태 3의 구성원에 대한 회절도를 도 5에 나타낸다. 상이한 HT-XRPD 패턴에서 관찰된 이동은 결정 격자

내로 혼입된 상이한 용매 분자에 기인할 가능성이 가장 높다. 실시 형태 3은 실시 형태 2를 70% RH에서 4 일 동안 40℃로 가열함으로써 얻어졌다. 실시 형태 3b 내지 실시 형태 3e는 결정 구조에 혼입된 용매(0.3 내지 0.7 개의 분자)에 따라 변동되는 비-화학량론적 양의 용매를 함유하는 용매화된 형태였다. 실시 형태 3의 구성 원을 함유하는 혼합물은 AAC에 노출 시에 불안정하였으며, 일부 경우에 그들은 실시 형태 1a로, 또는 실시 형태 1a와 실시 형태 3e의 혼합물로 변환되었다. 실시 형태 1a로의 전환은 높은 상대 습도에 노출 시에 물 분자에 의한 용매 분자의 교환, 및 수화된 실시 형태 1a로의 재결정화에 기인한다.

[0275] 실시 형태 9는 실시 형태 2를 약 200℃의 온도로 가열한 후에 25℃로 냉각시킴으로써, 그리고 또한 주기적 DSC 25-200-25-300℃에 의해 얻어졌다. 또한 추가의 절차에 의해 실시 형태 9를 얻었다. 그러한 절차 중 하나는 2-단계 절차였다: 실시 형태 1s(1.5 g)를 RT에서 1,4-다이옥산(10 부피)으로 처리하였다. 실시 형태 2의 시드(5 mg)를 첨가하고 샘플을 RT에서 24 시간 동안 교반하였다. 생성된 현탁액을 여과하고 샘플을 1.5 시간 동안 공기-건조시켰다. 이 샘플은 XRPD에 의해 실시 형태 2인 것으로 결정되었다. 이러한 2-단계 절차의 제2 단계에서, 실시 형태 2를 10℃/min으로 210℃까지 가열하고, 210℃에서 30 min 동안 유지하였다. 이어서, 샘플을 RT로 냉각시켰다. 생성된 고체는 XRPD 분석에 의해 실시 형태 9인 것으로 결정되었다. 그러한 절차 중 다른 것이 또한 실시 형태 9를 얻기 위한 2-단계 절차였다. 이 절차에서, 실시 형태 1s(1.5 g)를 1,4-다이옥산(10 부피)으로 처리하였다. 실시 형태 2의 시드(5 mg)를 첨가하고 샘플을 RT에서 24 시간 동안 교반하였다. 생성된 현탁액을 여과하고 샘플을 1.5 시간 동안 공기-건조시켰다. 이 샘플은 XRPD에 의해 실시 형태 2인 것으로 결정되었다. 이 절차의 제2 단계에서, 실시 형태 2를 10℃/min으로 150℃까지 가열한 후에, 2℃/min으로 170℃까지 추가로 가열하였다. 이어서, 샘플을 RT로 냉각시켰다. 생성된 고체는 XRPD 분석에 의해 실시 형태 9인 것으로 결정되었다. 실시 형태 9의 TGA 및 DSC를 각각 도 22a 및 도 22b에 나타낸다.

[0276] 실시 형태 9를 하기 용매 중에 50℃에서 6 일 동안 슬러리화함으로써 실시 형태 1s를 얻었다: 2-부타논, 아세톤/물(90/10, v/v), 및 아세토니트릴/물(90/10, v/v). 또한, 동일한 실험을 실온에서 수행했을 경우에도 실시 형태 1s를 얻었다.

[0277] 실시 형태 5를 약 175℃의 온도로 가열함으로써 실시 형태 8을 얻었고, 또한 추가의 절차에 의해서도 실시 형태 8을 얻었다. 그러한 절차 중 하나는 2-단계 절차였다: 실시 형태 1s(1.5 g)를 1,4-다이옥산 10(부피)으로 처리하고 RT에서 72 시간 동안 교반하였다. 얻어진 현탁액을 여과하고, 얻어진 고체를 RT에서 16 시간 동안 진공 오븐 내에서 건조시켰다. 이러한 제1 단계로부터 얻어진 고체는 XRPD에 의해 실시 형태 3c인 것으로 결정되었다. 제2 단계에서는, 실시 형태 3c(100 mg)를 10℃/min으로 150℃까지 가열한 후, 2℃/min의 더 느린 속도로 180℃까지 가열하였다. 이어서, 샘플을 다시 RT로 냉각시켰다. 얻어진 고체는 XRPD에 의해 실시 형태 8인 것으로 결정되었다. 그러한 절차 중 다른 것이 또한 실시 형태 8을 얻기 위한 2 단계 절차였다. 이 절차에서, 실시 형태 19(300 mg)를 1,4-다이옥산(3 부피)으로 처리하고 60℃에서 24 시간 동안 진탕하였다. 생성된 현탁액을 여과하였고, 이러한 제1 단계로부터 얻어진 고체는 XRPD에 의해 실시 형태 3c인 것으로 결정되었다. 제2 단계에서는, 실시 형태 3c(300 mg)를 10℃/min으로 180℃까지 가열하였다. 이어서, 샘플을 다시 RT로 냉각시켰다. 얻어진 고체는 XRPD에 의해 실시 형태 8인 것으로 결정되었다. 실시 형태 8에 대한 TGA 및 DSC를 각각 도 20a 및 도 20b에 나타낸다.

[0278] 상기 기재된 바와 같은 실시 형태 6의 제조에 부가하여, 이 실시 형태는 실시 형태 11(80 내지 100 mg)(그의 제조는 하기 기재됨)을 10℃/min으로 주위 온도로부터 185℃까지 가열하고 3 분 동안 등온으로 유지한 열중량 분석에 의해 가열함으로써 얻어졌다. 이어서, 샘플을 RT로 냉각시켰다. 실시 형태 6은 또한 실시 형태 11로부터 그것에 슬러리 실험을 적용함으로써 얻었다. 슬러리 실험은 하기와 같이 실행하였다: 용매를 실시 형태 11(50 mg)에 첨가하고, 혼합물을 지정된 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 형태 9의 시드 결정(5 mg)을 첨가하고, 혼합물을 지정된 온도에서 하룻밤 교반하였다. 고체를 원심분리에 의해 분리하고, 30℃ 및 50℃ 둘 모두에서 아이소프로필 아세테이트(0.5 mL)를 사용하여 XRPD에 의해 분석하였다. 실시 형태 6의 생성은 XRPD에 의해 확인되었다. 실시 형태 6에 대한 TGA 및 DSC를 각각 도 19a 및 도 19b에 나타낸다.

[0279] 본 발명의 추가의 실시 형태를 하기 기재된 바와 같이 얻었다.

[0280] 실시 형태 5에 슬러리 실험을 적용함으로써 실시 형태 5를 실시 형태 9로 전환하였다. 슬러리 실험은 확인된 온도에서 다양한 용매를 사용하여 하기와 같이 수행하였다: 용매를 실시 형태 5(50 mg)에 첨가하고, 혼합물을 지정된 온도에서 0.5 시간 동안 교반하였다. 형태 9의 시드 결정(5 mg)을 첨가하고, 혼합물을 지정된 온도에서 하룻밤 교반하였다. 고체를 원심분리에 의해 분리하고, XRPD에 의해 분석하였다. 50℃에서 실행된 슬러리 실험은 하기 용매를 사용하여 수행하였다: TBME(0.75 mL) 및 아이소프로필 아세테이트:헵탄의 33:67 혼합물(0.5

mL). 75℃에서 실행된 슬러리 실험은 하기 용매를 사용하여 수행하였다: 아이소프로필 아세테이트(0.5 mL) 및 메틸 에틸 케톤(0.5 mL).

[0281] 실시 형태 11을 하기와 같이 얻었다: 에탄올(무수, 물 함량 <0.1%, 300 mL) 중의 실시 형태 1s(45 g)의 현탁액을 50℃에서 16.5 시간 동안 교반하였다. 이어서, 현탁액을 0.25℃/분으로 5℃까지 냉각시켰다. 이어서, 현탁액을 5℃에서 3 시간 동안 교반하였다. 이어서, 고체를 여과해내고 저온(5℃) 에탄올(무수, 물 함량 <0.1%, 90 mL)로 세척하고, 40℃에서 17 시간 동안 진공 하에 건조시켜 대략 39 g의 실시 형태 11을 수득하였다. 실시 형태 11의 TGA 및 DSC를 각각 도 17a 및 도 17b에 나타낸다.

[0282] 실시 형태 11을 또한 하기와 같이 얻었다: 무수 에탄올(170 mL)을 실시 형태 1s(19 g)에 첨가하고, 용매의 비등점 부근까지 가열하였다. 소량의 고체(5%)가 용해되지 않았으며, 고온 여과에 의해 제거하였다. 여과해낸 고체는 실시 형태 1s인 것으로 결정되었다. 그러므로 고체를 여액 내로 다시 첨가하고, 모든 고체가 용해될 때까지 이 혼합물을 가열하였다. 이러한 고온 용액에 헵탄(535 mL)을 분별 깔때기를 통해 적가하였다. 헵탄의 이러한 적가 중에, 고온 용액을 격렬하게 교반하였다. 헵탄의 첨가가 완료된 후, 고온 용액/헵탄 혼합물을 함유하는 플라스크를 빙수조에 담그고 1 시간 동안 격렬하게 교반하였다. 이어서, 여과에 의해 고체를 수집하고, 15 분 동안 그것을 통해 공기를 흡인함으로써 백색 고체 필터 케이크를 건조시켰다. 그것을 고진공 하에 70℃에서 16 시간 동안 가열한 후, 그것을 80℃에서 18 시간 동안 가열함으로써 그것을 추가로 건조시켜, 16.3 g의 실시 형태 11을 수득하였다. 실시 형태 11에 대한 회절도를 도 7에 나타낸다.

[0283] 실시 형태 11의 흡습성 연구에서, 도 18에 나타낸 바와 같이 GVS 분석에서 0 내지 90% RH에서 0.66%의 질량 변화에 의해 그것은 단지 경미하게 흡습성인 것으로 확인되었다. GVS 분석 후 XRPD 분석은 재료가 물리적으로 안정함을 나타냈다. 가열 시에 실시 형태 11의 안정성을 평가하기 위하여 가변 온도(VT)-XRPD를 수행하였다. 최대 약 175℃의 온도를 재료에 적용했을 경우에 재료는 XRPD 분석에 의해 나타낸 바와 같이 변화하지 않은 채로 남아 있었지만, 180℃ 초과에서는 샘플이 실시 형태 6으로 전환되었다. 실시 형태 6에 대한 회절도와 함께, VT-XRPD 실험 전후의 실시 형태 11의 회절도를 도 24에 나타낸다. 또한 실시 형태 11에 최대 48 일 동안 40℃/75% RH에서 정적 저장 분석을 적용하였다. 2 일, 5 일, 및 48 일 후에 XRPD 및 칼 피셔(KF: Karl Fisher)에 의해 샘플을 분석하였다. 48 일 후에 XRPD 분석에 의해 나타낸 바와 같이 실시 형태 11은 변화하지 않은 채로 남아 있었으며, 총 수분 흡수율은 1.2%였다. 48 일 정적 저장 후 재료의 $^1\text{H-NMR}$ 은 재료가 0.36 mol 당량의 에탄올을 보유함을 나타냈다. 연구 기간 동안 주위 조건 하에 저장된 실시 형태 11은 $^1\text{H-NMR}$ 에 의해 0.46 mol 당량의 에탄올을 함유하는 것으로 나타났다.

[0284] 실시 형태 11b는 하기와 같이 실시 형태 1s로부터 얻어졌다: 10 mL의 건조된 메탄올을 3.3 g의 실시 형태 1s에 첨가하였다. 이 혼합물에 하기 온도 사이클링을 적용하였다: 혼합물을 1 시간 동안 40℃로 가열한 후, 온도를 2 시간의 기간에 걸쳐 60℃로 증가시켰다. 이어서, 혼합물을 60℃로 1시간 동안 가열하였다. 이어서, 온도를 2 시간의 기간에 걸쳐 40℃로 감소시켰다. 이 온도 사이클링 계획을 총 약 20 시간 동안 반복하였다. 그 때에, 혼합물을 2 시간의 기간에 걸쳐 5℃로 냉각시켰다. 고체를 5℃에서 진공 여과에 의해 단리한 후, 진공 하에 주위 온도에서 약 66 시간 동안 건조시켰다. 대안적으로, 실시 형태 11b는 하기 절차를 사용하여 실시 형태 1s로부터 얻어졌다: 1 mL의 건조된 메탄올을 330 mg의 실시 형태 1s에 첨가하였다. 이 혼합물에 하기 온도 사이클링을 적용하였다: 혼합물을 1 시간 동안 40℃로 가열한 후, 온도를 2 시간의 기간에 걸쳐 60℃로 증가시켰다. 이어서, 혼합물을 60℃로 1시간 동안 가열하였다. 이어서, 온도를 2 시간의 기간에 걸쳐 40℃로 감소시켰다. 이 온도 사이클링 계획을 총 약 18 시간 동안 반복하였다. 그 때에, 고체를 원심분리에 의해 단리한 후, 진공 하에 주위 온도에서 약 33 시간 동안 건조시켰다. 상기 실험을 위한 메탄올은 분자체(3 Å, 24 h 이상 동안 진공 하에 100℃에서 활성화됨)를 사용하여 건조시켰다. 실시 형태 11b에 대한 회절도를 도 7e에 나타낸다.

[0285] 실시 형태 12는 실시 형태 1s로부터 얻어졌으며, 이는 25℃에서 10% RH 미만의 습도 조건에 노출되어 실시 형태 12를 제공하였다. 실시 형태 12에 대한 회절도를 도 7b에 나타낸다.

[0286] 실시예 13은 하기와 같이 얻어졌다: 25 ± 5℃에서 250 mL 4-구 플라스크에 실시 형태 1s의 샘플을 첨가하였다. 이어서, 플라스크에 MeOH(4.0 V, 40 mL) 및 정제수(10 mL, 1.0 V)를 투입하고, 모든 고체가 용해될 때까지 교반하였다. N_2 를 혼합물 내로 1 시간 동안 버블링한 후, 혼합물을 0 내지 5℃로 냉각시켰다. 0℃에서 N_2 하에 100 mL의 4-구 플라스크 내로 정제수(40 mL)를 투입한 후, NaBH_4 (1.0 g)를 첨가하고; 모든 NaBH_4 가 용해될 때까지 0℃에서 혼합물을 교반함으로써, 0.225 mL 부피의 NaBH_4 /물(0.006 당량, 2.5% w/w)의 냉각된 용액(0 내지 5℃)을

제조하였다. 그러한 NaBH_4 용액을 250-mL 플라스크 내로 첨가하고, 이를 냉각시키고(0 내지 5℃), 0 내지 5℃에서 교반하였다. 반응 혼합물의 색상이 황색으로 변화하였다. 정제수(40 mL, 4.0 V, 사용 전에 N_2 로 탈기함)를 0 내지 5℃에서 1 시간에 걸쳐 적가하였다. N_2 하에 0 내지 5℃에서 4 시간 동안 반응물을 교반하였다. 추가의 정제수(30 mL, 3.0 V, 탈기함)를 0 내지 5℃에서 1 시간에 걸쳐 적가하고, 추가의 16 시간 동안 N_2 하에 0 내지 5℃에서 반응 혼합물을 교반하였다. 이어서, 글로브 박스 환경에서 N_2 하에(O_2 함량은 200 ppm 임) 반응물을 여과하고, 생성된 고체를 정제수(20 mL, 2 V, 사용 전에 N_2 로 탈기함)로 세척하였다. 고체를 $35 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 가습된 질소로 진공 하에 건조시켜 실시 형태 13을 미색 고체로서 제공하였다. 실시 형태 13에 대한 회절도를 도 7c에 나타낸다.

[0287] 실시예 14는 하기와 같이 제조하였다: 2-(1-((1r,4r)-4-(시아노메틸)사이클로헥실)-6-(페닐설폰닐)-1,6-다이하이드로이미다조[4,5-d]피롤로[2,3-b]피리딘-2-일)-N-(2-하이드록시-2-메틸프로필)아세트아미드(48.15 kg, 실시예 2, 단계 B에서 제조됨), EtOH(공업용 등급, 481 L), 및 KOH(6.613 kg)를 10 내지 20℃에서 9 시간 동안 교반하였다. 이어서, 온도를 10 내지 20℃로 유지하면서 아세트산(6.74 L)으로 반응을 켜었다. 아세트오니트릴(240 L)을 첨가하고 감압 하에 약 240 L의 부피까지 용매를 증발시켰다. 아세트오니트릴의 이러한 첨가 및 증발을 추가로 2 회 반복하였다. 생성된 혼합물을 60 내지 70℃로 5 시간 동안 가열한 후에, 그것을 10 내지 15℃로 냉각시키고 2 h 동안 교반하였다. 이어서, 이 혼합물 중의 고체를 여과해내고, 아세트오니트릴(48 L)로 2 회 세척하였다. 이어서, 고체를 물(240 L)에 첨가하고 반응 혼합물을 45 내지 50℃로 3 내지 5 시간 동안 가열한 후에 4 시간 동안 15 내지 20℃로 냉각시켰다. 남아있는 고체를 여과해내고, 필터 케이크를 물(96 L, 2 회)로 세척하였다. 이 필터 케이크를 45℃에서 건조시켜 실시 형태 14(26.28 kg)를 제공하였다. 실시 형태 14에 대한 회절도를 도 7d에 나타낸다.

[0288] 본 발명의 추가의 실시 형태를 하기 기재된 바와 같이 얻었다.

[0289] 용해도 평가

[0290] 재료가 완전히 용해되었을 때까지 또는 최대 100 mL의 용매가 첨가되었을 때까지, 증가하는 부피의 용매로 실시 형태 1s(15 mg)를 처리하였다. 용매를 하기 증분으로 첨가하였다: 5 mL, 10 mL, 20 mL, 30 mL, 40 mL, 50 mL, 70 mL, 및 100 mL. 각각의 용매의 첨가 후에, 시스템을 부드럽게 교반하면서 50℃에서 5 min 동안 유지하고, 고체의 존재에 대해 시각적으로 평가하였다. 총 100 mL의 용매가 첨가되었을 때까지 이 공정을 계속하였다. 고체가 남아있지 않다면, 추가의 용매를 첨가하지 않았다. 평가를 완료한 후에, 용액을 50℃에서 1 h 동안 유지하고, 이어서 교반하면서 0.1℃/min으로 50℃로부터 5℃까지 냉각시켰다. 고체가 존재한다면, 96 웰 플레이트를 사용하여 진공 하에 혼합물을 여과하고, XRPD에 의해 분석하였다. 투명한 용액이 얻어진 경우, 용액을 RT에서 증발되게 두었다. 5℃ 및 50℃의 온도에서 하기 용매(여기서 첨가된 총량은 용매 바로 뒤에 괄호 안에 표시됨)를 이 절차에 따라 사용하였으며, 여기서 용해 정도는 표시된 실시 형태가 수득된 각각의 온도 뒤의 괄호 내에 주어진다: 5℃(현탁액) 및 50℃(현탁액)에서 물(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 메탄올(10 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 에탄올(30 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 2-프로판올(30 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 1-프로판올(30 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 아세톤(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(혼탁함)에서 에틸 아세테이트(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 아세트오니트릴(100 mL), 실시 형태 6이 수득되었으며 그의 회절도는 도 3에 나타냄; 5℃(부분적으로 용해됨) 및 50℃(혼탁함)에서 톨루엔(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(혼탁함)에서 아이소프로필 아세테이트(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(현탁액)에서 메틸 *t*-부틸 에테르(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 2-부타논(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(부분적으로 용해됨) 및 50℃(용액)에서 THF(70 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(용액, 샘플을 동결시키고 RT에서 증발되게 두었음) 및 50℃(용액)에서 DMSO(5 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(용액, RT에서 증발되게 두었음) 및 50℃(용액)에서 *N*-메틸 피롤리딘(5 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(현탁액)에서 다이에틸 에테르(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(현탁액)에서 메틸 아이소부틸 케톤

(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(현탁액)에서 DCM(100 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(현탁액)에서 헵탄(100 mL), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 5℃(부분적으로 용해됨, 샘플을 동결시키고 RT에서 증발되게 두었음) 및 50℃(현탁액)에서 1-4-다이옥산(100 mL), 실시 형태 3c가 건조된 형태로 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(현탁액)에서 니트로메탄(100 mL), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득됨(회절도는 나타내지 않음); 5℃(용액) 및 50℃(용액)에서 1-메톡시-2-프로판올(20 mL), 실시 형태 20이 건조된 형태로 수득되었으며 그의 회절도는 도 11에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(현탁액)에서 2-메틸-THF(100 mL), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타내고 그의 TGA 및 DSC는 각각 도 10a 및 도 10b에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(혼탁함)에서 테트라린(100 mL), 실시 형태 4 및 실시 형태 1b의 혼합물이 수득되었으며 그의 회절도는 도 3에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 3-메틸-1-부탄올(100 mL), 실시 형태 17이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타내고 그의 TGA 및 DSC는 각각 도 12a 및 도 12b에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(혼탁함)에서 아니솔(100 mL), 실시 형태 4 및 실시 형태 1b의 혼합물이 수득되었으며 그의 회절도는 도 3에 나타냄; 5℃(용액) 및 50℃(용액)에서 t-부탄올/물(1:1, 10 mL), 실시 형태 19가 건조된 형태로 수득되었으며 그의 변조 DSC는 도 9에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(혼탁함)에서 1,2-다이메톡시에탄(100 mL), 실시 형태 4 및 실시 형태 1b의 혼합물이 수득되었으며 그의 회절도는 도 3에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(혼탁함)에서 쿠벤(100 mL), 실시 형태 4 및 실시 형태 1b의 혼합물이 수득되었으며 그의 회절도는 도 3에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(현탁액)에서 다이아이소프로필 에테르(100 mL), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 모르폴린(5 mL), 실시 형태 21이 건조된 형태로 수득되었으며 그의 회절도는 도 11에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 에탄올:물(95:5, 10 mL), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득됨(회절도는 나타내지 않음); 5℃(용액) 및 50℃(용액)에서 에탄올:물(9:1, 5 mL), 실시 형태 1s가 건조된 형태로 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 5℃(현탁액) 및 50℃(용액)에서 아세토니트릴:물(95:5, 30 mL), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득됨(회절도는 나타내지 않음).

[0291] 5℃에서의 인큐베이션

[0292] 실시 형태 1s(30 mg)를 각각의 용매로 처리함으로써 5℃에서의 인큐베이션의 몇몇 실험을 수행하였으며, 혼합물을 5℃에서 48 h 동안 슬러리화하였다. 분취물을 취하고 XRPD에 의해 즉시 분석하였다. 각각의 분취물을 16 h 동안 건조시키고 XRPD에 의해 재분석하였다. 이어서, 공기-건조된 샘플을 진공 오븐(RT)에 24 h 동안 넣은 후, XRPD에 의해 추가로 분석하였다. 하기 용매(여기서 첨가된 총 용매 양은 용매 바로 뒤에 괄호 안에 표시되고 용해 정도가 이어짐)를, 표시된 실시 형태가 수득된 이 절차에 따라 사용하였다: 물(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 메탄올(5 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 에탄올(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 2-프로판올(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 1-프로판올(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 아세톤(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 에틸 아세테이트(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 아세토니트릴(30 mL, 현탁액), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득됨(회절도는 나타내지 않음); 톨루엔(30 mL, 현탁액), 실시 형태 15가 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 아이소프로필 아세테이트(30 mL, 현탁액), 실시 형태 17이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 메틸 t-부틸 에테르(30 mL, 현탁액), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 2-부탄올(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; THF(30 mL, 현탁액), 실시 형태 17이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 다이에틸 에테르(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 메틸 아이소부틸 케톤(30 mL, 현탁액), 실시 형태 17이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; DCM(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 헵탄(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 1,4-다이옥산(30 mL, 현탁액), 실시 형태 3c가 수득되었으며 이 실험으로부터의 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 니트로메탄(30 mL, 현탁액), 불량하게 결정질인 형태의 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 프로필렌 글리콜(30 mL, 현탁액), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득됨(회절도는 나타내지 않음); 2-메틸-테트라하이드로푸란(30 mL, 현탁액), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 테트라린(30 mL, 현탁액), 불량하게 결정질인 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 3-메틸-1-부탄올(30 mL, 현탁액), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 아니솔(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며, 그의 회절도는 그것이 일부 추가의 피크를 나타낸다는 점을 제외하고는 실시 형태 1s의 것(도 5에 나타낸 바와 같음)과 유사함; 1,2-다이메톡시에탄(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며, 그의 회절도는 그것이 일부 추가의 피크를 나타낸다는

점을 제외하고는 실시 형태 1s의 것(도 5에 나타난 바와 같음)과 유사함; 쿠멘(30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며, 그의 회절도는 그것이 일부 추가의 피크를 나타낸다는 점을 제외하고는 실시 형태 1s의 것(도 5에 나타난 바와 같음)과 유사함; 다이아이소프로필 에테르(30 mL, 현탁액), 실시 형태 17이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 에탄올:물(95:5, 30 mL, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 아세트니트릴:물(95:5, 30 mL, 현탁액), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득됨(회절도는 나타내지 않음); 및 폴리에틸렌 글리콜(30 mL, 현탁액), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득됨(회절도는 나타내지 않음).

[0293] 가열/냉각 성숙

[0294] 각각의 용매 중의 실시 형태 1s(30 mg)의 현탁액을 플랫폼 진탕기 인큐베이터에 넣고, 주변 내지 대략 50℃에서 24 h 동안 일련의 가열-냉각 사이클을 적용하였다. 이는 매 4 시간마다 가열을 온 및 오프로 전환함으로써 달성되었다. 전체에 걸쳐 진탕을 유지하였다. 각각의 샘플로부터 분취물을 취하고 2 h 동안 공기-건조시켰다. 공기-건조된 고체를 XRPD에 의해 분석한 후, 진공 오븐(RT, 24 h)을 사용하여 진공 건조시키고, XRPD에 의해 재 분석하였다. 이 실험에서 얻은 각각의 샘플을 진공 건조시키고, 진공 건조 후에 각각의 샘플을 승온에서 XRPD 인큐베이션에 의해 분석하였다. 하기 용매(여기서 첨가된 총 용매 양은 용매 바로 뒤에 괄호 안에 표시됨)를, 표시된 실시 형태가 수득된 이 절차에 따라 사용하였다: 물(20 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 메탄올(5 mL), 실시 형태 22가 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 에탄올(5 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 2-프로판올(10 mL), 실시 형태 27이 수득되었으며 이 실험에 대한 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 1-프로판올(10 mL), 실시 형태 23이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 아세톤(20 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 에틸 아세테이트(20 mL), 실시 형태 1s의 불량하게 결정질인 형태가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 아세트니트릴(20 mL), 불량하게 결정질인 실시 형태 24가 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 톨루엔(20 mL), 불량하게 결정질인 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 아이소프로필 아세테이트(20 mL), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 메틸 *t*-부틸 에테르(20 mL), 불량하게 결정질인 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 2-부타논(20 mL), 실시 형태 26이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; THF(20 mL), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 다이에틸 에테르(20 mL), 불량하게 결정질인 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 메틸 아이소부틸 케톤(20 mL), 실시 형태 25가 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; DCM(20 mL), 실시 형태 1s의 불량하게 결정질인 형태가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 헵탄(20 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 1,4-다이옥산(20 mL), 실시 형태 27이 수득되었으며 이 실험에 대한 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 니트로메탄(20 mL), 불량하게 결정질인 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 프로필렌 글리콜(5 mL), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득되었음(회절도는 나타내지 않음); 2-메틸-테트라하이드로푸란(20 mL), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 테트라린(20 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 3-메틸-부탄올(20 mL), 실시 형태 18이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 아니솔(20 mL), 실시 형태 16이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타내고 그의 TGA 및 DSC는 각각 도 23a 및 도 23b에 나타냄; 1,2-다이메톡시에탄(20 mL), 실시 형태 29가 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 쿠멘(20 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 다이아이소프로필 에테르(20 mL), 실시 형태 17이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 에탄올:물(95:5, 20 mL), 실시 형태 30이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 아세트니트릴:물(95:5, 20 mL), 실시 형태 1s의 불량하게 결정질인 형태가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 및 폴리에틸렌 글리콜(5 mL), 실시 형태 31이 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄;

[0295] 60℃에서의 실시 형태 1s의 인큐베이션

[0296] 실시 형태 1s(30 mg)를 용매로 처리하고, 60℃에서 24 h 동안 진탕하였다. 분취물을 취하고 16 h 동안 공기-건조시켰다. 이어서, 건조된 샘플을 XRPD에 의해 분석하였다. 하기 용매(여기서 첨가된 총 용매 양은 용매 바로 뒤에 괄호 안에 표시됨)를, 표시된 실시 형태가 수득된 이 절차에 따라 사용하였다: 물(10 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 에탄올(10 mL), 실시 형태 32가 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 2-프로판올(10 mL), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 1-프로판올(10 mL), 실시 형태 23이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 아세톤(10 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 에틸 아세테이트(10 mL), 실시 형태 34가 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 아세트니트릴(10 mL), 실시 형태 35가 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 톨루엔(10 mL), 실시 형태 36이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 아이소프로필 아세테이트(10 mL), 실시 형태 25가

수득되었으며 이 실험에 대한 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 메틸 *t*-부틸 에테르(10 mL), 실시 형태 35가 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 2-부탄올(10 mL), 실시 형태 38이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; THF(10 mL), 실시 형태 33이 수득되었으며 이 실험에 대한 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 다이에틸 에테르(10 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 메틸 아이소부틸 케톤(10 mL), 실시 형태 25가 수득되었으며 이 실험에 대한 그의 회절도는 도 14에 나타냄; DCM(10 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 헵탄(10 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 1-4-다이옥산(10 mL), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 니트로메탄(10 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 프로필렌 글리콜(10 mL), 실시 형태 28이 수득되었으며 이 실험에 대한 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 2-메틸-테트라하이드로푸란(10 mL), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 테트라린(10 mL), 실시 형태 1s(그의 회절도는 도 5에 나타냄) 및 실시 형태 19(그의 변조 DSC 프로파일은 도 9에 나타냄)의 혼합물이 수득됨(혼합물의 회절도는 나타내지 않음); 3-메틸-1-부탄올(10 mL), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 아니솔(10 mL), 실시 형태 36이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 1,2-다이메톡시에탄(10 mL), 실시 형태 34가 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 쿠멘(10 mL), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 다이아이소프로필 에테르(10 mL), 실시 형태 17이 수득되었으며 그의 회절도는 도 8에 나타냄; 에탄올:물(95:5, 10 mL), 실시 형태 28이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 및 폴리에틸렌 글리콜(5 mL), 실시 형태 39가 수득되었으며 이 실험에 대한 그의 회절도는 도 14에 나타냄;

[0297] 고온 성숙

[0298] 복수의 실시 형태 19(25 mg) 샘플 각각을 하기 표시된 바와 같이 소정량의 용매로 처리하여, 결과적으로 복수의 샘플을 수득하였으며, 각각을 60℃에서 24 h 동안 교반하였다. 각각의 샘플로부터 고체를 분리하고, 16 h 동안 공기-건조시키고, XRPD에 의해 분석하였다. 하기 용매(여기서 첨가된 총 용매 양은 용매 바로 뒤에 괄호 안에 표시되고 용해 정도가 이어짐)를, 표시된 실시 형태가 수득된 이 절차에 따라 사용하였다: 물(125 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 메탄올(125 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며, 그의 회절도는 그것이 일부 추가의 피크를 나타낸다는 점을 제외하고는 도 5에 나타낸 실시 형태 1s에 대한 회절도와 유사함; 에탄올(125 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 2-프로판올(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 37이 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄; 1-프로판올(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 40이 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄; 아세톤(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 에틸 아세테이트(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 아세토니트릴(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 톨루엔(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 아이소프로필 아세테이트(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 37이 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄; 메틸 *t*-부틸 에테르(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 2-부탄올(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; THF(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 37이 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄; 다이에틸 에테르(150 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 메틸 아이소부틸 케톤(150 μ L, 현탁액), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; DCM(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 헵탄(150 μ L, 현탁액), 실시 형태 41이 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄; 1,4-다이옥산(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 3c가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 니트로메탄(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 42가 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄; 프로필렌 글리콜(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 43이 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄; 2-메틸-테트라하이드로푸란(150 μ L, 현탁액), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 테트라린(150 μ L, 현탁액), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 3-메틸-1-부탄올(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 아니솔(150 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 1,2-다이메톡시에탄(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 쿠멘(150 μ L, 현탁액), 실시 형태 44가 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄; 다이아이소프로필 에테르(150 μ L, 현탁액), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 에탄올:물(95:5, 75 μ L, 현탁액), 실시 형태 45가 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄; 아세토니트릴:물(95:5, 75 μ L, 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타낸 회절도에 비교할 때 셀 팽창을 나타냄; 및 폴리에틸렌 글리콜(75 μ L, 현탁액), 실시 형태 46이 수득되었으며 그의 회절도는 도 15에 나타냄.

[0299] 열순환

[0300] 복수의 실시 형태 19(25 mg) 샘플 각각을 하기 표시된 바와 같이 소정량의 용매로 처리하여, 결과적으로 복수의 샘플을 수득하였으며, 각각의 샘플을 열순환(40℃ 내지 60℃, 4 h 사이클)에 의해 24 h 동안 성숙시켰다. 고체를 단리하고, 16 h 동안 공기-건조시키고, XRPD에 의해 분석하였다. 하기 용매(여기서 첨가된 총 용매 양은 용매 바로 뒤에 괄호 안에 표시되고 24 시간에 관찰된 성상이 이어짐)를, 표시된 실시 형태가 수득된 이 절차에 따라 사용하였다: 물(125 μ L, 녹색을 띄는 고체), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 메탄올(75 μ L, 투명한 고체), 실시 형태 11이 수득되었으며, 그의 회절도는 도 7의 회절도에 비교할 때 높은 각도에서 이동된 피크를 나타냄; 에탄올(100 μ L, 녹색을 띄는 고체), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 2-프로판올(75 μ L, 황색을 띄는 고체), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 1-프로판올(75 μ L, 백색 현탁액), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 아세톤(75 μ L, 녹색을 띄는 고체), 실시 형태 47이 수득되었으며 그의 회절도는 도 16에 나타냄; 에틸 아세테이트(75 μ L, 백색 현탁액), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 아세토니트릴(75 μ L, 백색 현탁액), 불량하게 결정질인 실시 형태 6이 수득되었으며 그의 회절도는 도 3에 나타냄; 톨루엔(75 μ L, 투명한 고체), 실시 형태 36이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 아이소프로필 아세테이트(75 μ L, 백색 고체), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; 메틸 *t*-부틸 에테르(75 μ L, 백색 현탁액), 실시 형태 6이 수득되었으며 그의 회절도는 도 3에 나타냄; 2-부탄올(75 μ L, 미색 고체), 실시 형태 33이 수득되었으며 그의 회절도는 도 14에 나타냄; THF(75 μ L, 미색 고체), 실시 형태 48이 수득되었으며 그의 회절도는 도 16에 나타냄; 다이에틸 에테르(150 μ L, 미색 고체), 실시 형태 49가 수득되었으며 그의 회절도는 도 16에 나타냄; 메틸 아이소부틸 케톤(150 μ L, 미색 고체), 실시 형태 25가 수득되었으며, 그의 회절도는 도 13에 나타낸 실시 형태 25에 대한 회절도와 매우 유사함; DCM(125 L, 백색 현탁액), 실시 형태 1s가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 헵탄(150 μ L, 백색 고체), 실시 형태 19가 수득되었으며 그의 변조 DSC 프로파일은 도 9에 나타냄; 1,4-다이옥산(75 μ L, 백색 고체), 실시 형태 3c가 수득되었으며 그의 회절도는 도 5에 나타냄; 니트로메탄(75 μ L, 백색 현탁액), 실시 형태 50이 수득되었으며 그의 회절도는 도 16에 나타냄; 프로필렌 글리콜(75 μ L, 크림색 현탁액), 실시 형태 10이 수득되었으며, 그의 회절도는 그것이 비정질 할로를 나타낸다는 점을 제외하고는 실시 형태 10에 대한 회절도(도 16에 나타낸 바와 같음)와 매우 유사함; 2-메틸-테트라하이드로푸란(150 μ L, 백색 고체), 실시 형태 48이 수득되었으며 그의 회절도는 도 16에 나타냄; 테트라린(150 μ L, 백색 고체), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 3-메틸-1-부탄올(75 μ L, 백색 현탁액), 실시 형태 25가 수득되었으며 그의 회절도는 도 13에 나타냄; 아니솔(150 μ L, 백색 현탁액), 실시 형태 51이 수득되었으며 그의 회절도는 도 16에 나타냄; 1,2-다이메톡시에탄(75 μ L, 백색 현탁액), 실시 형태 52가 수득되었으며 그의 회절도는 도 16에 나타냄; 쿠멘(150 μ L, 백색 고체), 불량하게 결정질인 실시 형태가 수득되었으며 그의 회절도는 나타내지 않음; 다이아이소프로필 에테르(150 μ L, 백색 고체), 실시 형태 6이 수득되었으며 그의 회절도는 도 3에 나타냄; 에탄올:물(95:5, 75 μ L, 투명한 고체), 실시 형태 11이 수득되었으며 그의 회절도는 도 7에 나타냄; 아세토니트릴:물(95:5, 75 μ L, 투명한 고체), 실시 형태 53이 수득되었으며 그의 회절도는 도 16에 나타냄; 및 프로필렌 글리콜(75 μ L, 연분홍색 현탁액), 실시 형태 31이 수득되었으며, 그의 회절도는 그것이 비정질 할로를 나타낸다는 점을 제외하고는 실시 형태 31에 대한 회절도(도 13에 나타낸 바와 같음)와 매우 유사함.

[0301] 화합물 실시예 1의 실시 형태 11, 11b, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 및 53 중 어느 하나 및 이들의 임의의 조합은 본 발명에 따른 화합물의 실시 형태이다. 본 발명에 따른 화합물의 또 다른 실시 형태는 화합물 실시예 1의 실시 형태 11과 같은 비-흡습성 용매화물로서의 화합물 실시예 1을 포함한다. 본 발명에 따른 화합물의 또 다른 실시 형태는 화합물 실시예 1의 실시 형태 19와 같은 비정질 형태의 화합물 실시예 1을 포함한다. 화합물 실시예 1의 실시 형태 11, 16, 17, 및 18 중 어느 하나 및 이들의 임의의 조합은 본 발명에 따른 화합물의 실시 형태이다. 본 발명의 추가의 실시 형태는 약제학적으로 허용가능한 공결정의 형태인 본 발명에 따른 화합물을 포함한다. 본 발명의 추가의 실시 형태는 약제학적으로 허용가능한 염의 형태인 본 발명에 따른 화합물을 포함한다.

[0302] 실시예 1 내지 실시예 12는 JAK 억제제이며, 효소 및 세포 검정에서 시험되었다. 효소 검정의 결과는 제목이 효소 억제 검정의 결과인 표 4에 제시되어 있다. 실시예 1 내지 실시예 12를 또한 3 가지 세포 검정: IL-2 pSTAT5(JAK1/JAK3), IFN α pSTAT4(JAK1/TYK2), 및 GM-CSF pSTAT5(JAK2/JAK2)에서 시험하였으며, 결과는 제목이 세포-기반 검정 데이터인 표 5에 제시되어 있다. 하기는 검정에 사용된 재료(재료의 제목 하에), 검정을 확립

한 방법(검정 프로토콜의 제목 하에), 및 데이터를 분석하기 위해 사용된 방법(고처리량 질량 분석법(HTMS) 방법의 제목 하에)을 포함하는, 효소 검정을 수행한 방법의 설명이다.

[0303] 효소 억제 분석

[0304] 재료

[0305] 기질(NH₂-KGEEEEYFELVKK-CO₂), 내부 표준 펩티드(NH₂-SWGAIETDKEYYTVKD-CO₂), 및 생성물 펩티드(표준 곡선만을 위한)(NH₂-KGEEEEY-Pi-FELVKK-CO₂)는 AnaSpec(미국 캘리포니아주 프레몬트 소재)으로부터 구매하였다. JAK1-JH1JH2(His-GST Tag 및 C-말단 tev(ENLYFQ-G) 절단 부위를 갖는 574-1154), JAK3-JH1JH2(GST Tag 및 C-말단 tev(ENLYFQ-G) 절단 부위를 갖는 512-1124), 및 Tyk2-JH1JH2(C-말단 tev(ENLYFQ-G) 절단 부위를 갖는 8H_tev_580-1182-C936A-C1142A)는 내부적으로 정제하였다. JAK2-JH1JH2(GST tag 및 C-말단 tev(ENLYFQ-G) 절단 부위를 갖는 532-1132)는 Invitrogen으로부터 구매하였다. LC/MS 등급 물 및 아세토니트릴(ACN)은 HoneyWell, Burdick & Jackson(미국 미시간주 무스키곤 소재)으로부터 구매하였다. 다이메틸설폭사이드 99.8%(DMSO) 및 트라이플루오로아세트산 99.5%(TFA)는 EMD Chemical(미국 뉴저지주 김스타운 소재)로부터 구매하였다. 아데노신 트라이포스페이트(ATP), 4-모르폴린프로판설폰산(MOPS), 염화마그네슘(MgCl₂), 에틸렌다이아민테트라아세트산(EDTA), 다이티오프레이틀(DTT), 포름산 >95%(FA), 및 Tween-20은 Sigma(미국 미주리주 세인트루이스 소재)로부터 구매하였다. 384-웰 폴리프로필렌 플레이트, 카탈로그 번호 781280은 Greiner(미국 노스캐롤라이나주 몬로에 소재), RapidFire™ 카트리지 A C4 컬럼(Agilent Technologies, 미국 캘리포니아주 산타 클라라 소재)으로부터 구입하였다.

[0306] HTMS 실험은 전기분무 이온화 공급원(RF-MS)(캐나다 온타리오주 콩코드 소재)을 갖는 ABSiex QTrap 4000 시스템과 커플링된 RapidFire 300 기기(Agilent Technologies, 미국 캘리포니아주 산타 클라라 소재) 상에서 양성 이온화 모드로 수행하였다. RapidFire 시스템은 3 개의 Agilent 1200 시리즈 등용매 펌프(Agilent Technologies, 미국 캘리포니아주 산타 클라라 소재) 및 Ismatec(독일 베르테임 소재)으로부터의 1 개의 연동 펌프 모델 ISM832C로 구동하였다. 질량 분석기에 대한 Analyst 소프트웨어와 접속된 RapidFire 소프트웨어를 사용하여 전체 시스템을 작동시켰다.

[0307] 검정 프로토콜

[0308] DMSO에 1:3 또는 1:4로 연속적으로 희석함으로써 각각의 화합물에 대해 11-점 투여 시리즈를 제조하였으며, 지점 12는 DMSO 대조군이었다. 연속 희석 플레이트로부터, Labcyte Echo(미국 캘리포니아주 서니베일 소재), 또는 Biosero ATS(미국 캘리포니아주 샌디에고 소재)를 사용하여 384 웰 검정 플레이트(#781280, Greiner, 미국 노스캐롤라이나주 몬로에 소재)에 샘플을 이전하였다. 화합물을 이중실험으로 시험하였다. 컬럼 12를 양성 대조군에 사용하였으며, 컬럼 24는 효소를 첨가하지 않은 음성 대조군을 함유하였다. JAK 동형에 대한 억제 활성을 갖는, 본 발명자들의 내부 수집으로부터의 화합물을 참조 화합물로 사용하였다. DMSO의 최종 농도는 20 μ L 반응에서 0.25% 이하였다. 각각의 단백질에 대한 검정 조건이 표 3에 요약되어 있다. 반응 완충액(50 mM MOPS pH 7.5, 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 0.002% Tween-20) 중에 제조된 10 μ L의 기질 용액에 10 μ L의 효소 및 ATP 혼합물을 첨가함으로써 효소 반응을 개시하였다. Tyk2 효소를 반응 개시 전에 30 min 동안 2 mM ATP와 함께 사전 인큐베이션하였다. 반응 혼합물에 효소를 첨가한 직후에, 플레이트를 1 분 동안 1000 rpm으로 원심분리하고, 25°C에서 JAK3에 대해서는 45 분 동안, 그리고 JAK1, JAK2, 및 Tyk2에 대해서는 90 분 동안 인큐베이션하였다. Multidrop Combi 시약 디스펜서(Thermo Scientific, 미국 매사추세츠주 윌섬 소재)를 사용하여 0.15 μ M의 내부 표준 펩티드를 함유하는 20 μ L의 0.5% TFA를 첨가함으로써 반응을 켜었다. 컬럼 24 내의 몇몇 웰을 전형적으로 생성물 표준 곡선에 사용하였다. 켜기 후에, 검정 플레이트를 3000 rpm에서 3 분 동안 원심분리하고, PlateLoc(Agilent Technologies, 미국 캘리포니아주 산타 클라라 소재)을 사용하여, 천공가능한 알루미늄 포일(카탈로그 번호 06644-001, Agilent)로 밀봉하였다. 이어서, MS 분석을 위해 플레이트를 RapidFire 상으로 이전하였다. 비-억제된 효소 반응에 비교하여 샘플 웰 내의 인산화된 생성물 수준의 감소에 의해 화합물 억제를 평가하였다. 상기 검정에 대한 검정 조건을 표 3에 나타내며, 이들 검정에서 시험한 바와 같은 실시예 1 내지 실시예 12의 결과를 표 4에 나타낸다.

[0309] [표 3]

JAK 패밀러 효소 검정을 위한 검정 조건*

효소	[효소], nM	[ATP], μ M	[기질], μ M	[IS], nM
JAK1-JH1JH2	8.0	12.5	200	100
JAK2-JH1JH2	7.0 또는 3.6	30	40	100
JAK3-JH1JH2	2.0	150	40	100
Tyk2-JH1JH2	25 또는 14.7	50	200	100

*반응 완충액: 50 mM MOPS, pH 7.5 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EDTA, 2 mM DTT, 0.002% Tween-20; "IS" 는 내부 표준 펩티드를 의미하고; "기질"은 펩티드를 의미함.

[0310]

[0311] 고처리량 질량 분석법(HTMS) 방법

[0312] 물/TFA/FA(100:0.01:0.1, v/v/v)로 이루어진 이동상 A1, ACN/물/TFA/FA(80:20:0.01:0.1, v/v/v)로 이루어진 이동상 B1을 사용하여 RapidFire 상에서 샘플 분석을 수행하였다. 하기 구동 파라미터를 사용하였다: 상태 1(흡인), 250 ms; 상태 2(로딩/세척), 3000 ms; 상태 3(용리), 4000 ms; 상태 4(재평형), 1.25 mL/min의 유량으로 1000 ms. 384-웰 검정 플레이트로부터 샘플을 직접 흡인하고, RF-MS 마이크로규모 고체상 C4 추출 카트리지(유형 A)상에 전달하였다. 염, 보조인자, 세제, 및 큰 단백질과 같은 원치 않는 성분을 세척하고, 유지된 분석물(기질, 생성물, 및 IS)을 ABSciex Qtrap 4000 시스템 상으로 직접 동용리시켰다. 펩티드(기질), 포스포-펩티드(생성물), 및 내부 표준 펩티드(IS)의 정량화는 각각 562→136.0, 589.2→215.7, 및 953.2→158.8(또는 974.2→158.8) 이행을 사용하여 MRM에 의해 수행하였다.

[0313] [표 4]

효소 억제 검정의 결과

시험 화합물	JAK1_JH1JH2 IC ₅₀ (nM)	JAK2_I_JH1JH2IC ₅₀ (nM)	JAK3_I_JH1JH2IC ₅₀ (nM)	Tyk2_I_JH1JH2 IC ₅₀ (nM)
A	<0.2	<0.2	12.4	0.9
B	<0.2	<0.2	13.4	<0.2
C	<0.2	0.6	49.7	0.2
실시예 1	0.4	8.6	92.2	7.4
실시예 2	0.2	1.0	33.9	1.5
실시예 3	0.2	6.2	82.8	11.6
실시예 4	0.1	6.6	96.2	2.2
실시예 5	0.3	2.1	23.1	4.1
실시예 6	0.1	1.4	28.2	1.1
실시예 7	0.2	5.6	98.4	4.8
실시예 8	0.4	7.0	75.6	6.6
실시예 9	0.2	6.6	79.9	4.7
실시예 10	1.0	6.5	87.5	9.0
실시예 11	0.4	1.6	30.3	1.5
실시예 12	0.9	9.4	101.3	8.7

[0314]

세포 검정

[0315] IL-2 pSTAT5(JAK1/JAK3) 세포 검정

[0316] IgG(면역글로불린 G)가 없고 프로테아제가 없는 0.1% BSA(소 혈청 알부민)(Jackson ImmunoResearch 카탈로그 번호 001-000-161)를 함유하는 HBSS(Hanks' Balanced Salt Solution) 중에, 새로 해동시킨 PBMC(Biological

Specialty Corporation)를 384-웰 플레이트에 30,000 세포/4 μ L/웰로 먼저 플레이팅함으로써 AlphaLISA 검정(PerkinElmer로부터의 Alpha Technology에 기초함)을 수행하였다. 이어서, 10 μ M의 최고 시험 농도 및 0.5%의 최종 DMSO 농도로, DMSO 중에 하프-로그 적정된 농도로 희석된 2 μ L/웰의 화합물로 37°C에서 30 분 동안 세포를 처리하였다. 그 다음에, 2 μ L/웰의 IL-2(R&D Systems 카탈로그 번호 202-IL-050)로 5 ng/mL에서 30 분 동안 37°C에서 세포를 자극하였다. 2 μ L/웰의 용해 완충액(PerkinElmer 카탈로그 번호 ALSU-PST5-A10K)을 첨가한 후에 실온에서 5 분 동안 인큐베이션함으로써 세포 반응을 종료하였다. 5 μ L/웰의 수용자 믹스(PerkinElmer 카탈로그 번호 ALSU-PST5-A10K)를 세포에 첨가하고 암실에서 1 시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 이어서, 5 μ L/웰의 공여자 믹스(PerkinElmer 카탈로그 번호 ALSU-PST5-A10K)를 세포에 첨가하고 암실에서 하룻밤 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 마지막으로, 시간 분해 형광 신호의 검출을 위해 PerkinElmer EnVision 상에서 플레이트를 판독하였다. 화합물 시험 농도에서 IL-2 의존성 pSTAT5 억제의 백분율을 결정하였으며; 각각의 화합물에 대해 용량 곡선을 생성시키고 IC₅₀을 계산하였다. 화합물 농도 대 알파 신호의 하프-로그 희석 적정 곡선의 비선형 회귀, S 자형 용량 반응 분석에 의해 화합물 IC₅₀을 계산하였다. 두문자어 "알파"는 증폭된 발광 근접 균일 검정을 의미하고; 알파 신호는 발광/형광 신호이다.

[0317] IFN α pSTAT4(JAK1/TYK2) 세포 검정

[0318] 10% FBS(소 태아 혈청) 및 1,000 I.U./mL 페니실린 및 1,000 μ g/mL 스트렙토마이신을 함유하는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium) 중에, 새로 해동시킨 PBMC(Biological Specialty Corporation)를 384-웰 플레이트에 100,000 세포/6 μ L/웰로 먼저 플레이팅함으로써 AlphaLISA 검정(PerkinElmer로부터의 Alpha Technology에 기초함)을 수행하였다. 이어서, 10 μ M의 최고 시험 농도 및 0.5%의 최종 DMSO 농도로, DMSO 중에 하프-로그 적정된 농도로 희석된 2 μ L/웰의 화합물로 37°C에서 30 분 동안 세포를 처리하였다. 그 다음에, 2 μ L/웰의 IFN α (PBL Assay Science 카탈로그 번호 11101-2)로 4 ng/mL에서 30 분 동안 37°C에서 세포를 자극하였다. 2 μ L/웰의 용해 완충액(PerkinElmer 카탈로그 번호 ALSU-PST4-A10K)을 첨가한 후에 실온에서 5 분 동안 인큐베이션함으로써 세포 반응을 종료하였다. 4 μ L/웰의 수용자 믹스(PerkinElmer 카탈로그 번호 ALSU-PST4-A10K)를 세포에 첨가하고 암실에서 1 시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 이어서, 4 μ L/웰의 공여자 믹스(PerkinElmer 카탈로그 번호 ALSU-PST4-A10K)를 세포에 첨가하고 암실에서 하룻밤 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 마지막으로, 시간 분해 형광 신호의 검출을 위해 PerkinElmer EnVision 상에서 플레이트를 판독하였다. 화합물 시험 농도에서 IFN α 의존성 pSTAT4 억제의 백분율을 결정하였으며; 각각의 화합물에 대해 용량 곡선을 생성시키고 IC₅₀을 계산하였다. 화합물 농도 대 알파 신호의 하프-로그 희석 적정 곡선의 비선형 회귀, S 자형 용량 반응 분석에 의해 화합물 IC₅₀을 계산하였다. 용어 "알파"는 직전의 세포 검정 설명에 정의되어 있다.

[0319] GM-CSF pSTAT5(JAK2/JAK2) 세포 검정

[0320] IgG가 없고 프로테아제가 없는 0.1% BSA(Jackson ImmunoResearch 카탈로그 번호 001-000-161)를 함유하는 HBSS 중에, 새로 해동시킨 PBMC(Biological Specialty Corporation)를 384-웰 플레이트에 30,000 세포/4 μ L/웰로 먼저 플레이팅함으로써 AlphaLISA 검정(PerkinElmer로부터의 Alpha Technology에 기초함)을 수행하였다. 이어서, 10 μ M의 최고 시험 농도 및 0.5%의 최종 DMSO 농도로, DMSO 중에 하프-로그 적정된 농도로 희석된 2 μ L/웰의 화합물로 37°C에서 30 분 동안 세포를 처리하였다. 그 다음에, 2 μ L/웰의 GM-CSF(R&D Systems 카탈로그 번호 215-GM-050)로 11 pg/mL에서 15 분 동안 37°C에서 세포를 자극하였다. 2 μ L/웰의 용해 완충액(PerkinElmer 카탈로그 번호 ALSU-PST5-A10K)을 첨가한 후에 실온에서 5 분 동안 인큐베이션함으로써 세포 반응을 종료하였다. 5 μ L/웰의 수용자 믹스(PerkinElmer 카탈로그 번호 ALSU-PST5-A10K)를 세포에 첨가하고 암실에서 1 시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 이어서, 5 μ L/웰의 공여자 믹스(PerkinElmer 카탈로그 번호 ALSU-PST5-A10K)를 세포에 첨가하고 암실에서 하룻밤 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 마지막으로, 시간 분해 형광 신호의 검출을 위해 PerkinElmer EnVision 상에서 플레이트를 판독하였다. 화합물 시험 농도에서 GM-CSF 의존성 pSTAT5 억제의 백분율을 결정하였으며; 각각의 화합물에 대해 용량 곡선을 생성시키고 IC₅₀을 계산하였다. 화합물 농도 대 알파 신호의 하프-로그 희석 적정 곡선의 비선형 회귀, S 자형 용량 반응 분석에 의해 화합물 IC₅₀을 계산하였다. 용어 "알파"는 IL-2 pSTAT5(JAK1/JAK3) 세포 검정 설명에 정의되어 있다.

[0321] [표 5]

세포-기반 검정 데이터

시험 화합물	IL-2 pSTAT5 (JAK1/JAK3) IC ₅₀ (nM)	IFN α pSTAT4 (JAK1/TYK2) IC ₅₀ (nM)	GM-CSF pSTAT5 (JAK2/JAK2) IC ₅₀ (nM)
실시예 1	21.6	59.5	83.9
실시예 2	9.0	20.8	61.0
실시예 3	6.4	10.1	21.9
실시예 4	35.5	64.7	119.4
실시예 5	6.4	38.1	28.9
실시예 6	6.7	39.4	25.1
실시예 7	9.7	38.5	67.3
실시예 8	20.6	42.8	33.8
실시예 9	11.2	35.9	26.9
실시예 10	16.8	40.4	44.6
실시예 11	49.1	96.5	201.5
실시예 12	13.9	81.4	75.4

[0322]

[0323]

실시예 1 내지 실시예 12를 용해도 및 투과성 검정에서 시험하였다. 용해도 검정의 결과는 제목이 용해도 검정 데이터인 표 6에 제시되어 있고, 투과성 검정의 결과는 제목이 MDCK-MDR1 투과성 데이터인 표 7에 제시되어 있다. 이들 용해도 및 투과성 검정은 각각 용해도 검정 및 투과성 검정의 제목 하에 하기 기재되어 있다.

[0324]

용해도 검정

[0325]

하기 용해도 매질에서 용해도 측정을 수행하였다: 모의 위액(34.2 mM의 염화나트륨 및 100 mM의 염산) 또는 모의 장액(공복 상태[pH 6.5]: 3 mM의 소듐 타우로콜레이트, 0.75 mM의 레시틴, 28.4 mM의 일염기성 인산나트륨, 8.7 mM의 수산화나트륨, 및 105.9 mM의 염화나트륨). 시험 화합물을 10 mM의 농도로 DMSO에 용해시켰다. 시험 화합물을 Nunc 1-mL-96-딥-웰 -PP 플레이트 내로 분배하고(20 μL), TurboVap 96으로부터의 질소 블로우 다운(nitrogen blow down)을 통해 6 시간 동안 또는 건조 잔류물이 생성될 때까지 DMSO를 증발시켰다. 이어서, 건조 고체를 함유하는 웰에 400 μL의 용해도 매질을 첨가하였다. 사전-분할 웰 캡(Pre-Slit Well Cap)을 웰 플레이트 블록 위에 단단히 놓고, 주위 온도에서 2 내지 5 일 동안 샘플을 격렬하게 교반하였다. 인큐베이션 기간 후에, AcroPrep 1-mL-96-필터 플레이트를 통해 새로운 2-mL-96-딥-웰-PP 플레이트 내로 샘플을 여과하고, 0.004 내지 0.55 mM 범위의 3-점 보정을 사용하여 UV-HPLC에 의해 상청액을 정량화하였다. 각각의 화합물에 대한 용해도를 하기 수학적식으로부터 계산하였다:

$$\text{용해도} = \frac{\text{샘플 피크 면적}}{\text{3개의 표준으로부터의 평균 반응 인자}}$$

[0326]

[0327]

용해도 값은 4 내지 400 μM의 범위였다. 이 범위 밖의 값을 4 μM 미만 또는 400 μM 초과로 보고하였다. 연구 중인 화합물이 상응하는 용해도 결정을 완료하기에 충분하게 안정한 한 용해도가 보고된다.

[0328] [표 6]

용해도 검정 데이터

시험 화합물	SGF 용해도(μM)	SIF 용해도(μM)
A	>400	>400
B	>400	75
C	>400	>400
실시예 1	>400	387
실시예 2	>400	>400
실시예 3	>400	>400
실시예 4	>400	>400
실시예 5	>400	198
실시예 6	>400	>400
실시예 7	>400	81
실시예 8	>400	>400
실시예 9	>400	>400
실시예 10	>400	359
실시예 11	>400	>400
실시예 12	>400	>400

[0329]

[0330] 투과성 검정

[0331] NIH(미국 메릴랜드주 록빌 소재)로부터 입수한 MDCK-MDR1 세포주를 사용하여 Cyprotex 프로토콜에 따라 투과성 측정을 수행하였다. 계대 번호 6 내지 30의 세포를 3.4×10^5 세포/cm²의 세포 밀도로 Multiscreen plate™ (Millipore) 상에 접종하고, 3 일 동안 배양한 후에 투과성 연구를 수행하였다. 이 검정에서 세포는, 융합성 단층으로 또한 공지된, 배양 접시의 표면적을 채우는 단일 세포 층의 응집 시트를 형성하며, 제4일에 시험 화합물을 막의 침부 측면에 첨가하고 단층을 가로지르는 화합물의 수송을 60 min의 기간에 걸쳐 모니터링하였다.

[0332] 이들 검정에서 종종 사용되는 "A" 및 "B" 용어를 도입하는 단순하고 기본적인 방식에서, 실체의 침부("A") 측면 또는 구획은 내강 또는 외부 환경에 노출되는 그러한 실체의 측면인 반면에, 기저외측("B") 측면 또는 구획은 대향 측면을 둘러싸는, 전형적으로 내부 환경에 노출되는 그러한 실체의 측면 또는 구획이다. 예를 들어, 그러한 실체가 예시적으로 장 상피 세포일 경우, 그러한 장 세포의 침부 측면은 장 내강에 노출되는 세포의 측면일 것인 반면에, 기저외측 측면은 혈액에 노출되는 측면일 것이다.

[0333] 시험 화합물을 10 mM의 농도로 DMSO에 용해시켰다. 검정 완충액(Hanks Balanced Salt Solution), pH 7.4로 시험 화합물을 5 μM의 최종 농도로 희석함으로써 투여 용액을 제조하였다. 침부 대 기저외측("A-B") 투과성의 평가를 위해, 완충액을 침부 구획으로부터 제거하고 투과성 당단백질("PgP", "P-gP", "Pgp", 또는 "P-gp") 억제제 엘라크리다르(2 μM)가 있거나 없는 시험 화합물 투여 용액으로 대체하였다. 기저외측 대 침부("B-A") 투과성의 평가를 위해, 완충액을 동반 플레이트(companion plate)로부터 제거하고 시험 화합물 투여 용액으로 대체하였다. 인큐베이션은 95%의 상대 습도를 갖는 5% CO₂의 분위기 중에 37°C에서 이중실함으로 실행하였다. 각각의 검정은 참조 마커 프로프라놀롤(고투과성) 및 프라조신(PgP 기질)을 포함하였다. 60 분 동안 인큐베이션 한 후에, 침부 및 기저외측 샘플을 희석하고, 샘플의 적절한 희석(수용자 희석 배수 = 1; 공여자 및 C₀ 희석 배수 = 10)으로 0.0039 내지 3 μM 범위의 8-점 보정을 사용하여 LC/MS/MS에 의해 시험 화합물을 정량화하였다. 각각의 화합물에 대한 투과 계수(P_{app})를 하기 수학식으로부터 계산하였다: $P_{app} = (dQ/dt) / (C_0 \times S)$, 상기 식에서 dQ/dt는 세포를 가로지르는 약물의 투과 속도이고, C₀은 0 시간에서의 공여자 구획 농도이며, S는 세포 단층의 면적이다.

[0334] 모든 인큐베이션 조건에 대해 퍼센트 회수율을 측정하였다. 이들 측정은 세포 단층 내의 허용가능하지 않은 화

합물/플레이트 결합 또는 화합물 축적을 나타내지 않았다.

[0335] 표 7의 제2 및 제3 컬럼은, 엘라크리다르인 P-gp 억제제의 존재(제3 컬럼, $P_{app(A-B)}^e$ 로 표시됨) 및 부재(제2 컬럼) 하의 첨부-대-기저외측 화합물 수송에 대한 $P_{app(A-B)}$ 의 값을 나타낸다. 이 검정에서 $P_{app(A-B)}$ 는 세포를 가로지르는 투과 정도의 지표를 제공하며, 이는 Pgp-발현 위장관 세포와 같은 Pgp-발현 세포를 가로지르는 세포횡단 수송을 모델링하는 것으로 예상된다. 화합물 유출에서 P-gp의 역할을 확인하기 위해, 컬럼 3에 주어진 $P_{app(A-B)}^e$ 값(P-gp 억제제의 존재 하의 $P_{app(A-B)}$)을 결정한다. 표 7의 제4 컬럼은 기저외측-대-첨부 화합물 수송에 대한 $P_{app(B-A)}$ 의 값을 나타낸다. 시험 화합물 유출 비는 동일한 표의 제4 및 제2 컬럼으로부터의 상응하는 투과 계수 값을 사용함으로써 $P_{app(B-A)} / P_{app(A-B)}$ 로서 표 7의 제5 컬럼에 주어진다. 화합물 (A) 내지 화합물 (C)에 대해, 그리고 또한 화합물 실시예 1 내지 실시예 12에 대해, 유출 비(제5 컬럼, 표 7)는 일반적으로 2 초과이며, 이는 화합물 유출이 모든 그러한 화합물에 대해 일어남을 나타낸다.

[0336] 참조 화합물 (A) 내지 화합물 (C)에 대해, 그리고 또한 화합물 실시예 1 내지 실시예 12에 대해 컬럼 2의 $P_{app(A-B)}$ 값은 일반적으로 낮고 유사하다. 컬럼 5에 주어진 값이 모두 2 초과임에 의해 나타나는 바와 같이 모든 그러한 화합물이 P-gp 기질이므로, 이들 낮은 값은 모든 그러한 화합물에 대한 낮은 투과성을 나타내며, 이는 P-gp 효과로 인한 것이다. 낮은 투과성을 갖는 것을 특징으로 하기 위해서는, 각각 $P_{app(A-B)}^e$ 및 $P_{app(B-A)}$ 에 대해 제3 및 제4 컬럼에 주어진 값이 낮아야 한다. 그러나, 이들 데이터는 화합물 (A) 내지 화합물 (C)에 대한 $P_{app(B-A)}$ 값이 화합물 실시예 1 내지 실시예 12의 상응하는 값보다 더 크다는 것을 나타낸다.

[0337] 형광 분석에 의한 루시퍼 엘로우의 투과를 검사함으로써 각각의 단층의 완전성을 모니터링하였다. 이러한 검사는 이러한 검정에서의 세포가 만족스러운 융합성 단층을 유지하였음을 나타냈다.

[0338] [표 7]

MDCK-MDR1 투과성 데이터

시험 화합물**	5 (μM)에서의 MDCK-MDR1 $P_{app(A-B)}$ (10^{-6} cm/sec)	5 (μM)에서의 MDCK-MDR1 $P_{app(A-B)}^e$ (10^{-6} cm/sec)	5 (μM)에서의 MDCK-MDR1 $P_{app(B-A)}$ (10^{-6} cm/sec)	$P_{app(B-A)} / P_{app(A-B)}$
A	1.3	22	55.3	43
B	0.4	1.7	23.5	59
C	0.5	2.5	23.1	46
실시예 1	<0.5, 0.4	<0.5, 1.1	0.9, 1.1	>1.9, 3.3
실시예 2*	1.1	1.6	4.8	4.4
실시예 3	<0.4, <0.5	2.3, 1.6	17, 16	>41, >33
실시예 4	0.1	0.5	1.3	8.7
실시예 5	<0.4, <0.5	0.7, 0.5	1.8, 2.1	> 4.8, >4.5
실시예 6	<0.3, <0.3	0.9, 1.1	2.5, 2.6	> 8.4, >8.7
실시예 7	<0.4	1.2	3.6	> 9
실시예 8	0.1	0.5	1.7	11.5
실시예 9	<0.4	0.6	1.8	> 4.2
실시예 10	<0.4	1.1	7.1	> 16.9
실시예 11	<0.4	0.8	1.1	> 2.9
실시예 12	<0.5	0.6	1.1	> 2.2

* 시작 농도는 A 대 B, A 대 B(엘라크리다르의 존재 하에), 및 B 대 A 조건에 대해 7 μM 초과인 것으로 측정되었음.

** 달리 나타내지 않는 한, 화합물 (A) 내지 화합물 (C) 및 실시예 1 내지 실시예 12를 5 μM의 농도에서 시험하였음. 2 개의 데이터 지점을 갖는 세포에서 나타낸 데이터의 경우, 화합물을 2 회 시험하였음.

[0339]

생체내 연구

[0340] 경구 투여-프로토콜 1

[0341] 3 마리의 비-공복 자성 C57BL/6 마우스에 5 mL/kg의 용량 부피로 20% 하이드록시프로필-베타-사이클로덱스트린 (HP β CD) 중의 용액으로서 25 mg/kg p.o.의 용량으로 시험 화합물을 경구 투여하였다. 투여 후 0.5, 2, 및 4 h에 후안와 출혈 또는 배측 중족골 정맥의 정맥천자를 통해 혈액 샘플을 수집하였다. 항응고제(헤파린-Na)를 함유하는 튜브 내로 혈액 샘플을 수집하고 습윤 얼음 상에 놓았다. 원심분리에 의해 혈장 분획을 분리하고, 샘플 수집 직후에 분석하지 않는 한, $\pm 20^{\circ}\text{C}$ 에서 최대 4 h 동안, 그리고 4 h 후에는 $\pm 80^{\circ}\text{C}$ 에서 동결시켰다. 투여 후 4 h에 결장 샘플을 수집하였다. 맹장의 시작점으로부터, 결장의 4 내지 6 cm 샘플을 절개하고, 종축 상에서 절단하여 개방하고, 2 mL의 식염수로 플러싱함으로써 고체 내용물을 제거하였다. 결장을 5 mL의 식염수에 넣고 5 초 동안 진탕함으로써 추가로 세척하였다. 이어서, 결장 샘플을 두드려 건조시키고, 칭량하고, 4 부의 HPLC 등급 물(mL)에 대해 1 부의 조직(g)으로서 균질화하였다. 적격의 액체 크로마토그래피-삼중 사극자 질량 분석법(LC-MS/MS) 방법을 사용하여 혈장 및 결장 균질물 중의 화합물의 농도를 결정하였다. 이 프로토콜을 사용하여 하기 시험 화합물을 평가하였다: 화합물 (B) 및 화합물 (C) 및 실시예 6 및 실시예 11.

[0342] 경구 투여 프로토콜 2

[0343] 3 마리의 비-공복 자성 C57BL/6 마우스에 5 mL/kg의 용량 부피로 20% HP β CD 중의 용액으로서 25 mg/kg p.o.의 용량으로 시험 화합물을 경구 투여하였다. 투여 후 0.5, 2, 및 4 h에 후안와 출혈 또는 배측 중족골 정맥을 통해 혈액 샘플을 수집하였다. 항응고제(헤파린-Na)를 함유하는 튜브 내로 혈액 샘플을 수집하고 습윤 얼음 상에 놓았다. 원심분리에 의해 혈장 분획을 분리하고, 샘플 수집 직후에 분석하지 않는 한, $\pm 20^{\circ}\text{C}$ 에서 최대 4 h 동안, 그리고 4 h 후에는 $\pm 80^{\circ}\text{C}$ 에서 동결시켰다. 투여 후 4 h에 결장 샘플을 수집하였다. 맹장 아래 2 cm로부터, 결장의 4 cm 샘플을 절개하고, 종축 상에서 절단하여 개방하고, 2 mL의 식염수로 플러싱함으로써 고체 내용물을 제거하였다. 결장을 5 mL의 식염수에 넣고 5 초 동안 진탕함으로써 추가로 세척하였다. 이어서, 결장 샘플을 두드려 건조시키고, 칭량하고, 4 부의 HPLC 등급 물(mL)에 대해 1 부의 조직(g)으로서 균질화하였다. 적격의 액체 크로마토그래피-삼중 사극자 질량 분석법(LC-MS/MS) 방법을 사용하여 혈장 및 결장 균질물 중의 화합물의 농도를 결정하였다. 이 프로토콜을 사용하여 하기 시험 화합물을 평가하였다: 화합물 (A) 및 실시예 1 내지 실시예 5, 실시예 7 내지 실시예 10, 및 실시예 12.

[0344] IC 투여-프로토콜 3

[0345] 결장내(IC) 투여군: 흡입에 의해 아이소플루란으로 마취시킨 후, 3 마리의 비-공복 자성 C57BL/6 마우스에 1 mL/kg의 용량 부피로 20% HP β CD 중의 용액으로서 5 mg/kg의 용량으로 주사기 및 바늘을 사용하여 복벽 내의 작은 절개부를 통해 결장내로 화합물을 투여하였다. 투여 후 0.5, 2, 및 4 h에 후안와 출혈을 통해 혈액 샘플을 수집하였다. 항응고제(헤파린-Na)를 함유하는 튜브 내로 혈액 샘플을 수집하고 습윤 얼음 상에 놓았다. 원심분리에 의해 혈장 분획을 분리하고, 샘플 수집 직후에 분석하지 않는 한, $\pm 20^{\circ}\text{C}$ 에서 최대 4 h 동안, 그리고 4 h 후에는 $\pm 80^{\circ}\text{C}$ 에서 동결시켰다. 투여 후 4 h에 결장 샘플을 수집하였다. 맹장 아래 2 cm로부터, 결장의 4 cm 샘플을 절개하고, 종축 상에서 절단하여 개방하고, 2 mL의 식염수로 플러싱함으로써 고체 내용물을 제거하였다. 결장을 5 mL의 식염수에 넣고 5 초 동안 진탕함으로써 추가로 세척하였다. 이어서, 결장 샘플을 두드려 건조시키고, 칭량하고, 4 부의 HPLC 등급 물(mL)에 대해 1 부의 조직(g)으로서 균질화하였다. 적격의 액체 크로마토그래피-삼중 사극자 질량 분석법(LC-MS/MS) 방법을 사용하여 혈장 및 결장 균질물 중의 화합물의 농도를 결정하였다. 이 프로토콜을 사용하여 하기 시험 화합물의 IC 투여를 평가하였다: 실시예 1, 실시예 3, 및 실시예 4.

[0346] 화합물 실시예 1 내지 실시예 12는 표 8에 주어진 물리-화학적 특성을 추가의 특징으로 한다. ChemBioDraw Ultra 14.0을 사용하여 cLogP 및 tPSA 값을 계산하였으며, 여기서 P는 *n*-옥탄올-물 분배 계수이다. 총 극성 표면적(tPSA)은 모든 극성 원자, 주로 산소 및 질소(그들의 부착된 수소를 또한 포함함)에 걸친 표면 합으로서 계산된다.

[0347] [표 8]

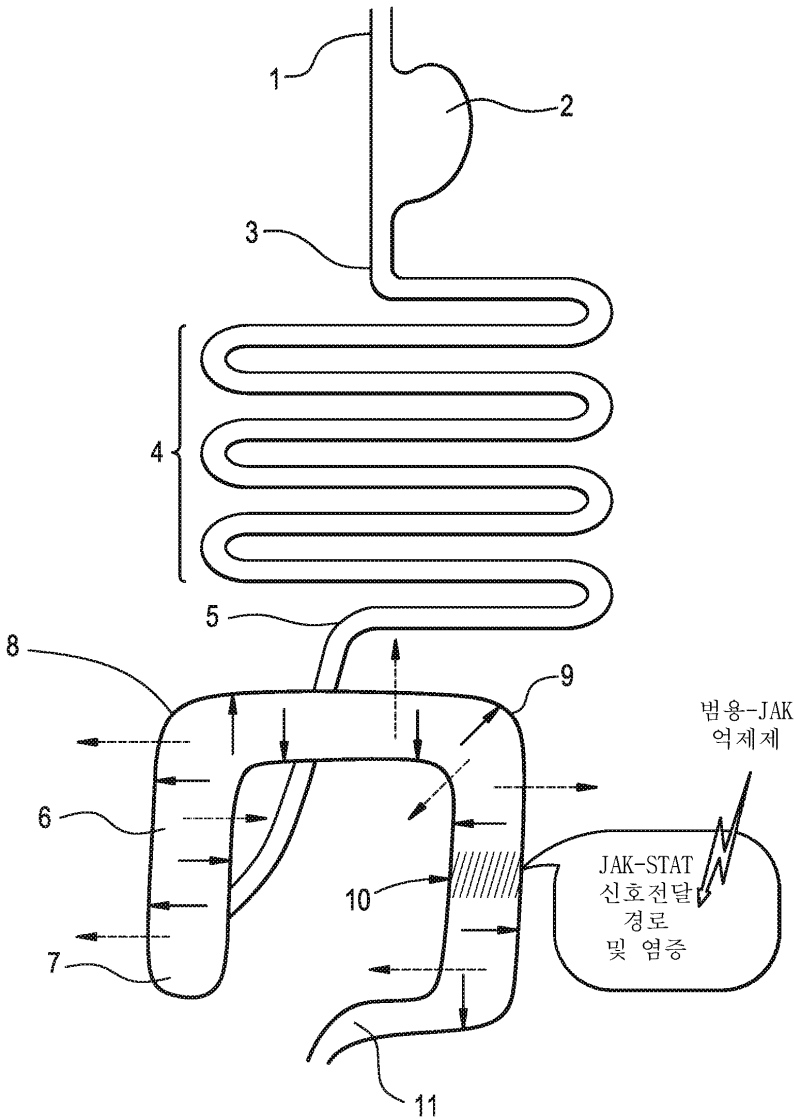
화합물 실시예 1 내지 실시예 12의 일부 물리-화학적 특성

시험 화합물	cLog P	tPSA	H 결합 공여자의 수	H 결합 수용자의 수	회전가능한 결합의 수
실시예 1	0.94	113.11	3	5	6
실시예 2	2.31	88.17	2	4	3
실시예 3	1.58	92.88	2	4	6
실시예 4	0.54	116.67	2	5	6
실시예 5	0.24	102.11	2	5	5
실시예 6	0.86	102.11	2	5	6
실시예 7	1.25	116.67	2	5	6
실시예 8	1.13	113.11	3	5	6
실시예 9	1.14	108.48	2	5	5
실시예 10	1.35	116.67	2	5	6
실시예 11	1.50	117.27	3	5	5
실시예 12	0.57	113.11	3	5	6

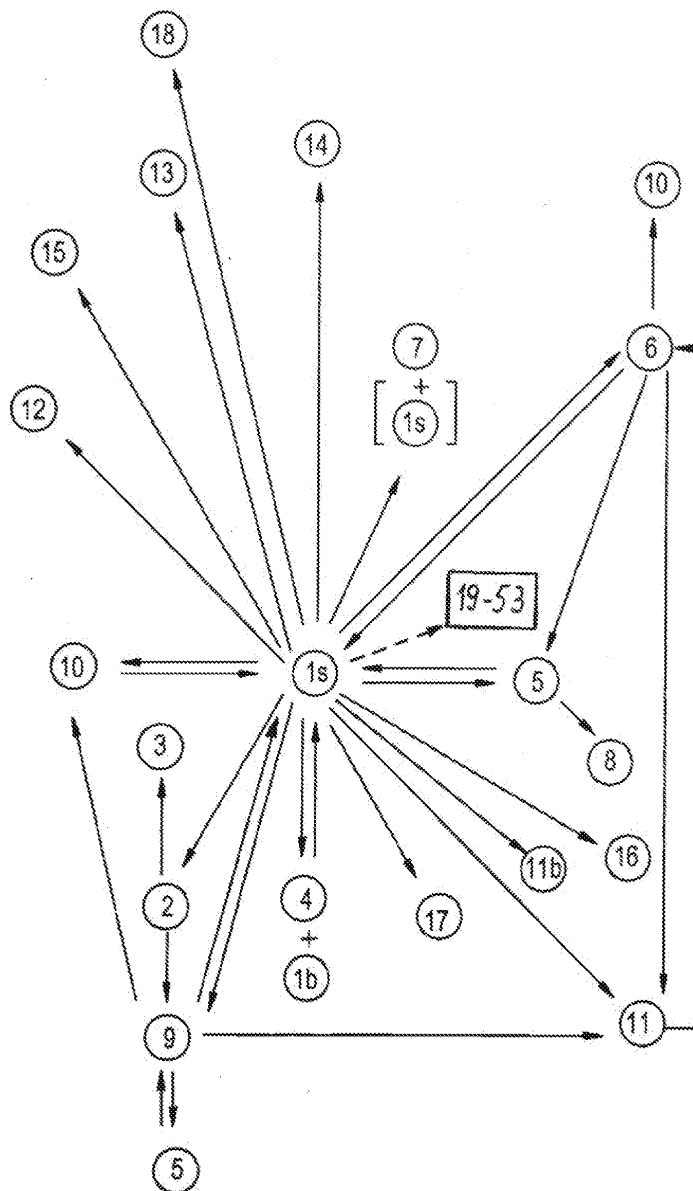
[0348]

도면

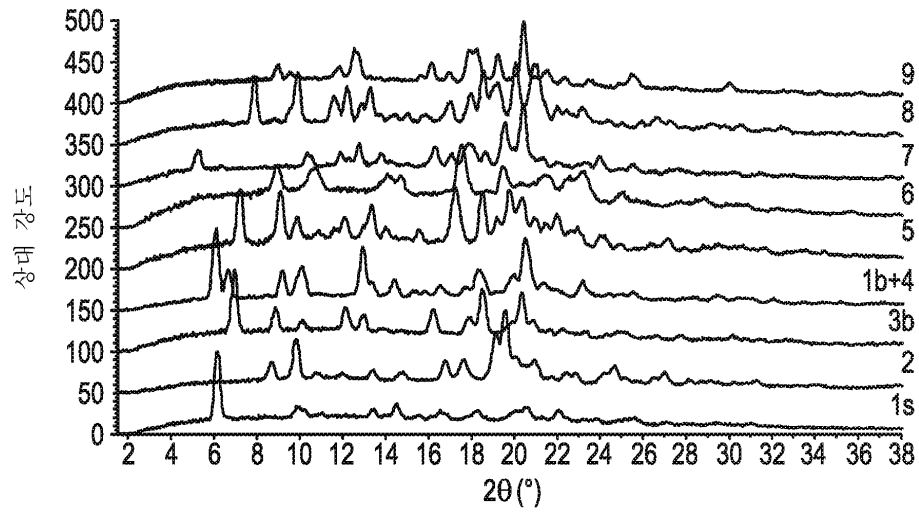
도면1



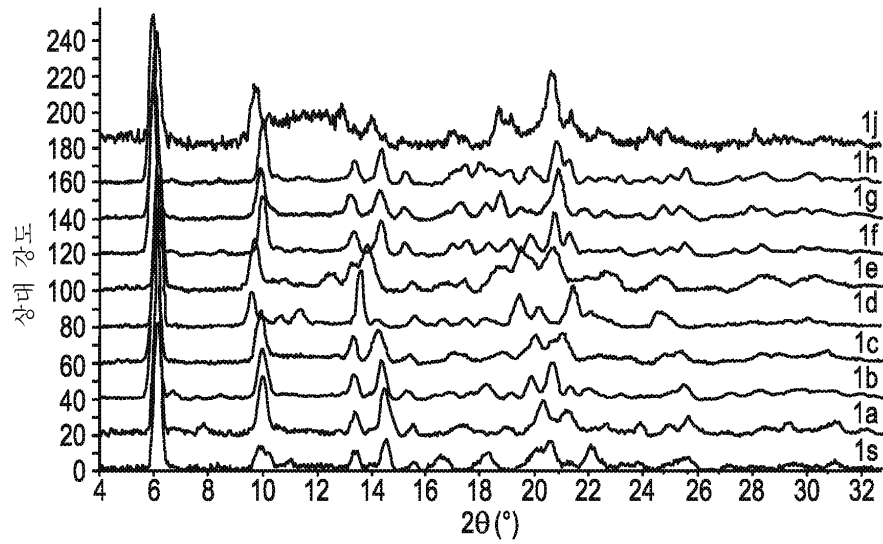
도면2



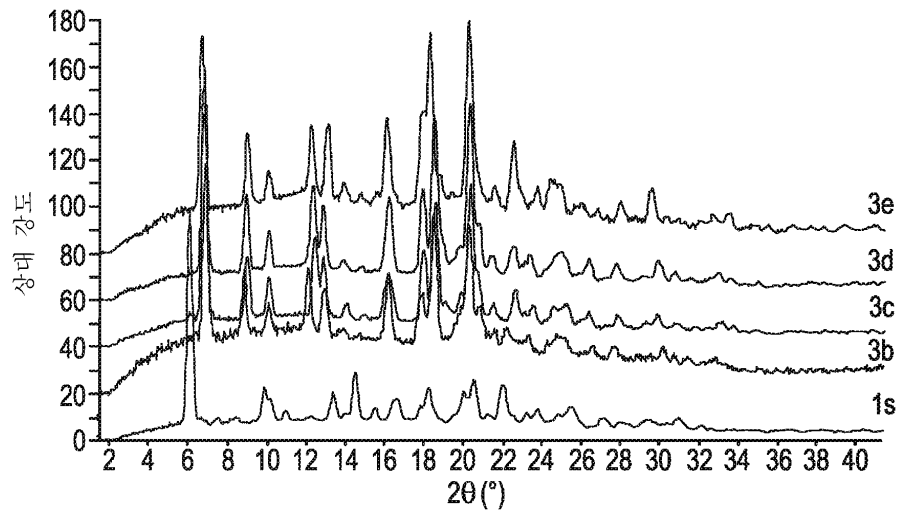
도면3



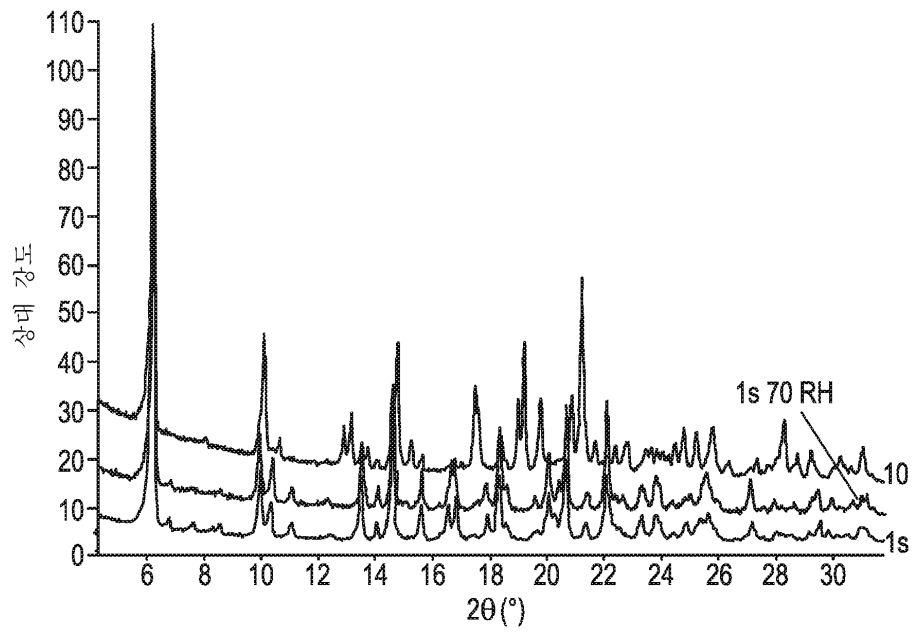
도면4



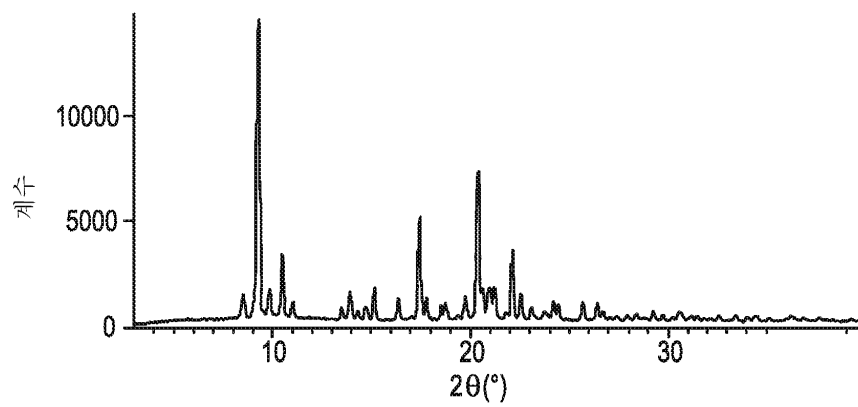
도면5



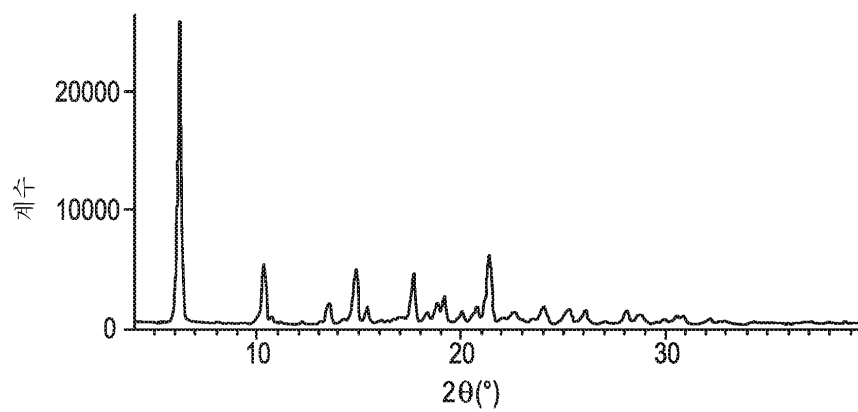
도면6



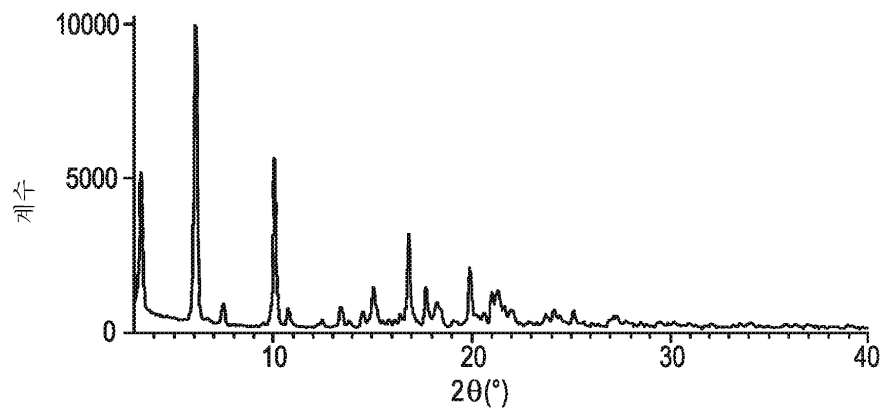
도면7a



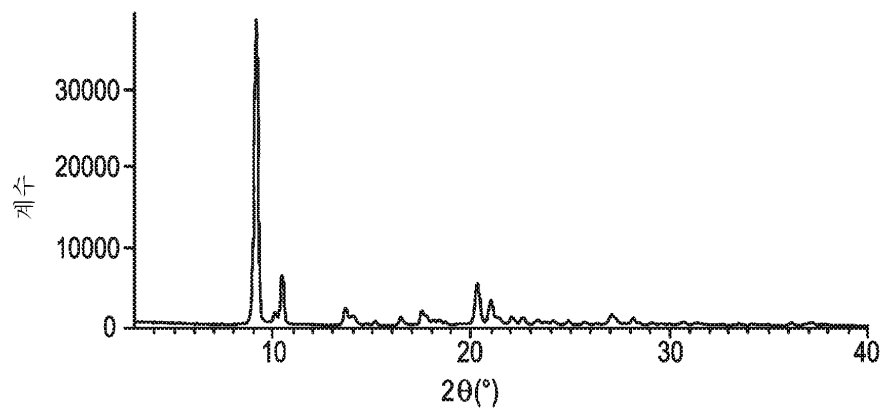
도면7b



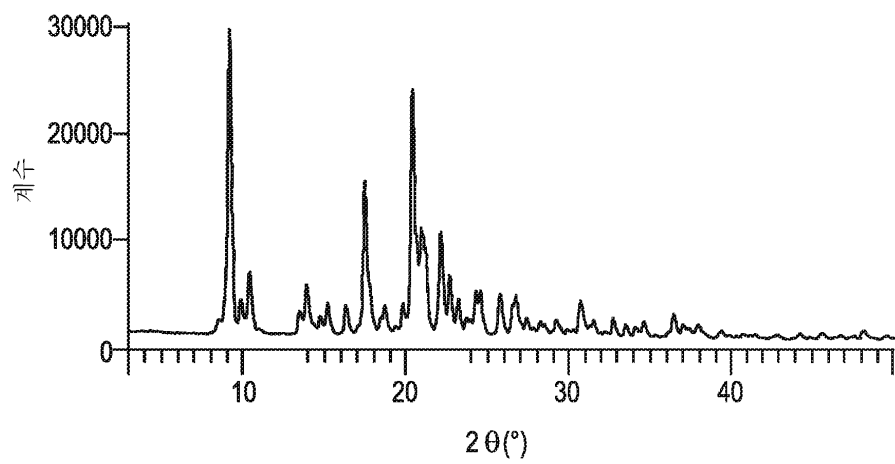
도면7c



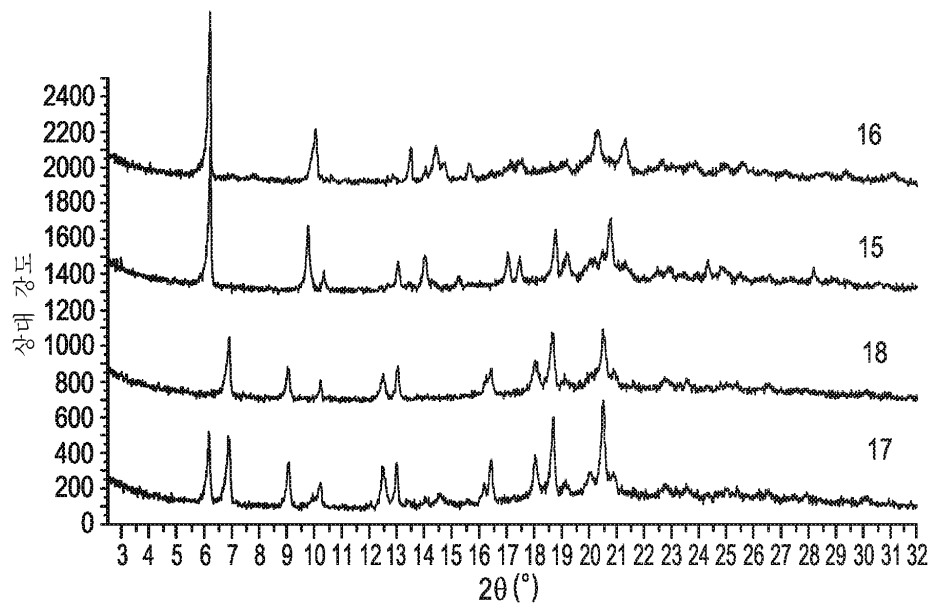
도면7d



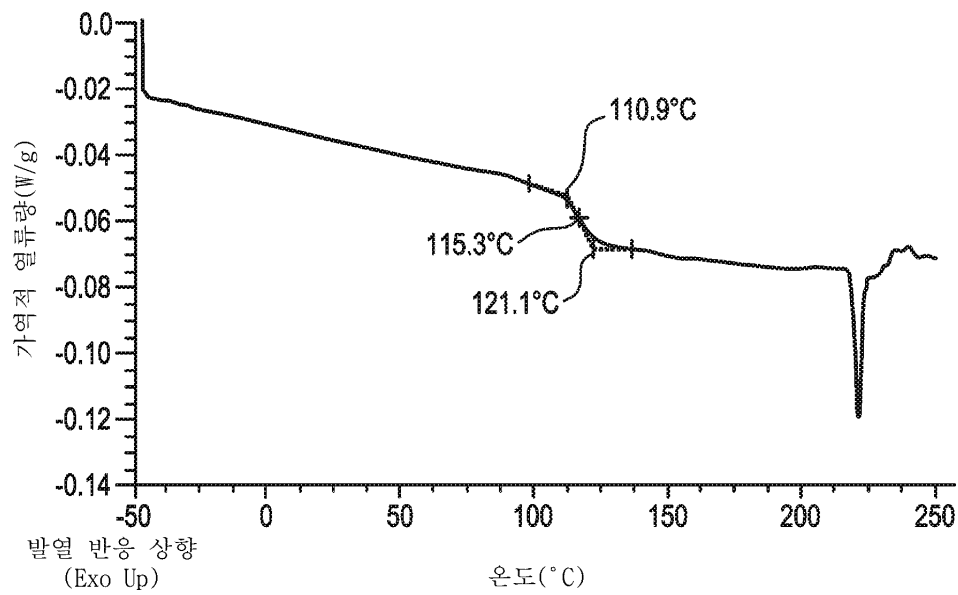
도면7e



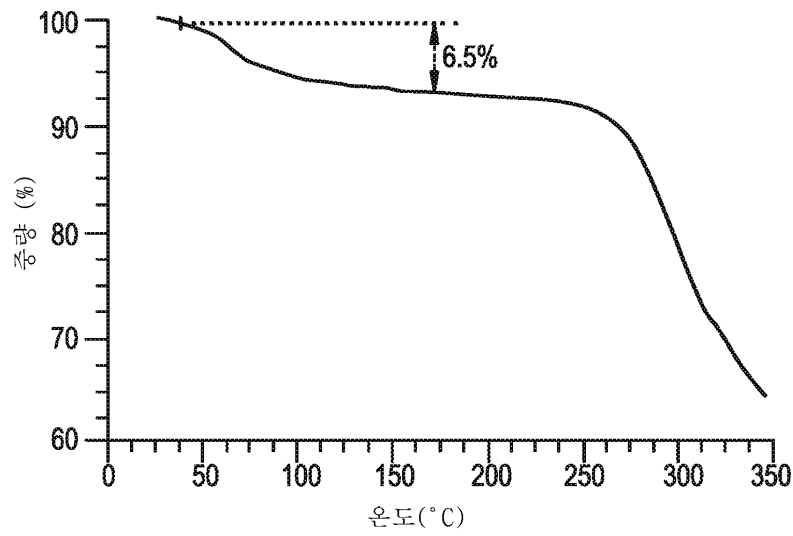
도면8



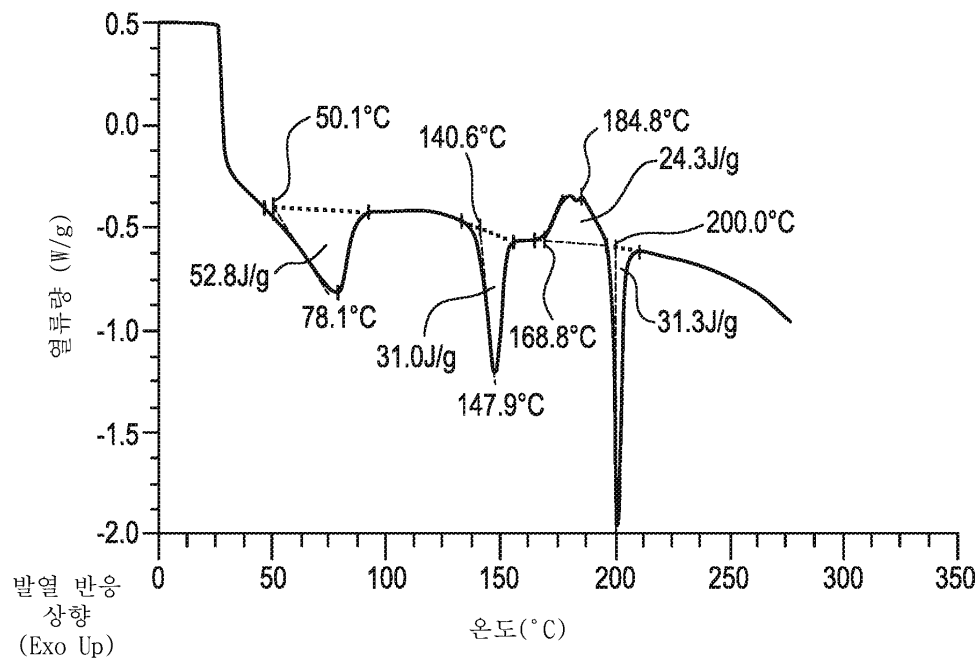
도면9



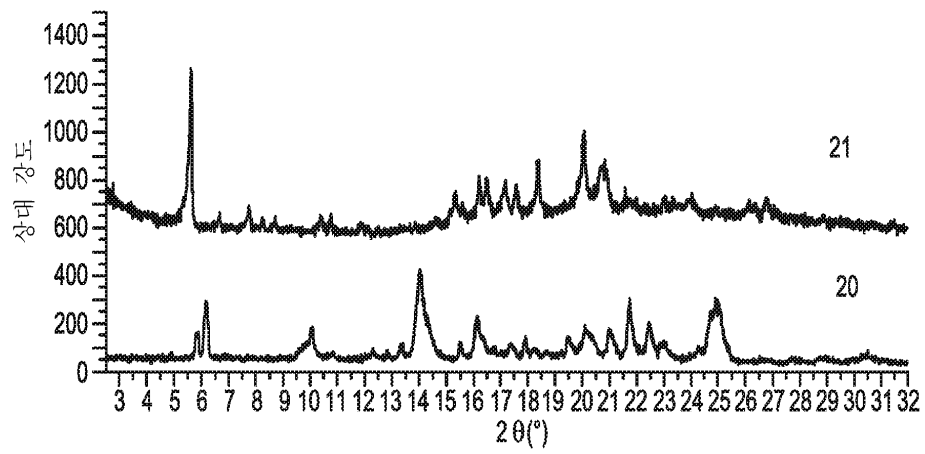
도면10a



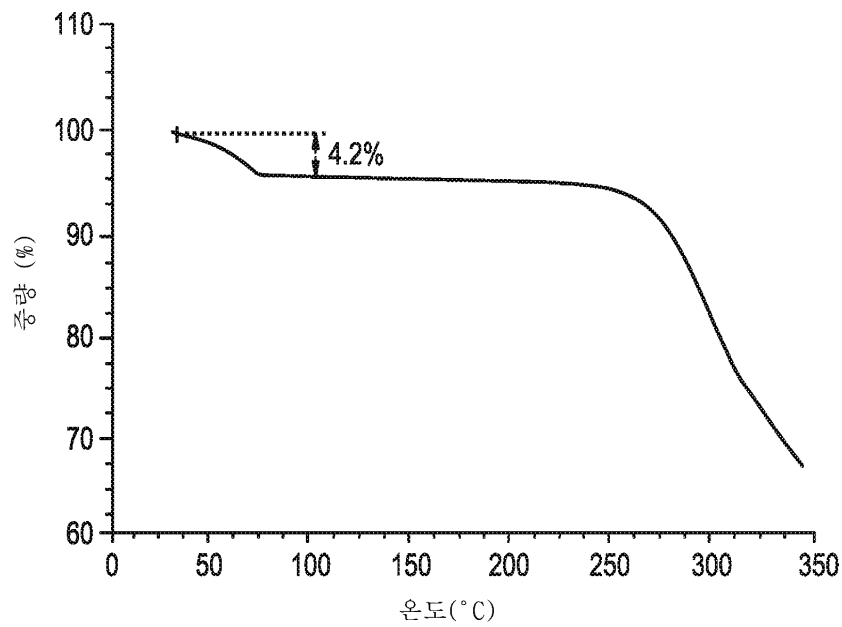
도면10b



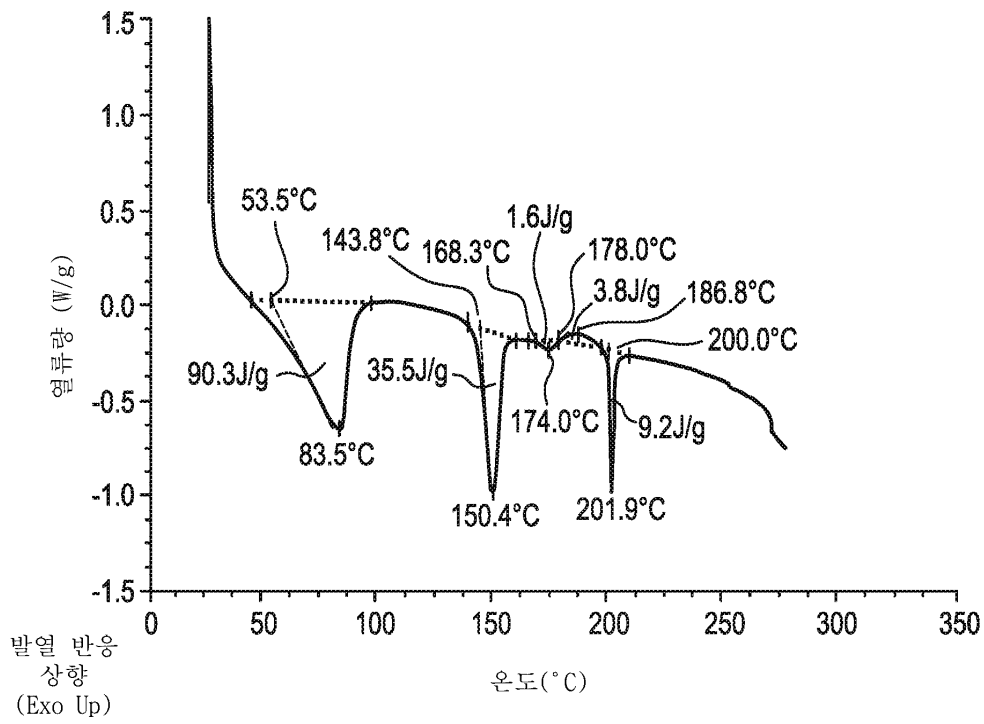
도면11



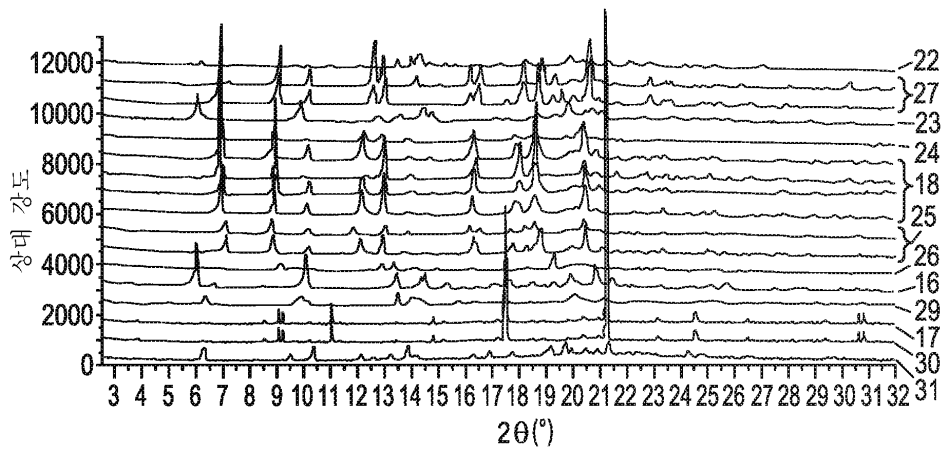
도면12a



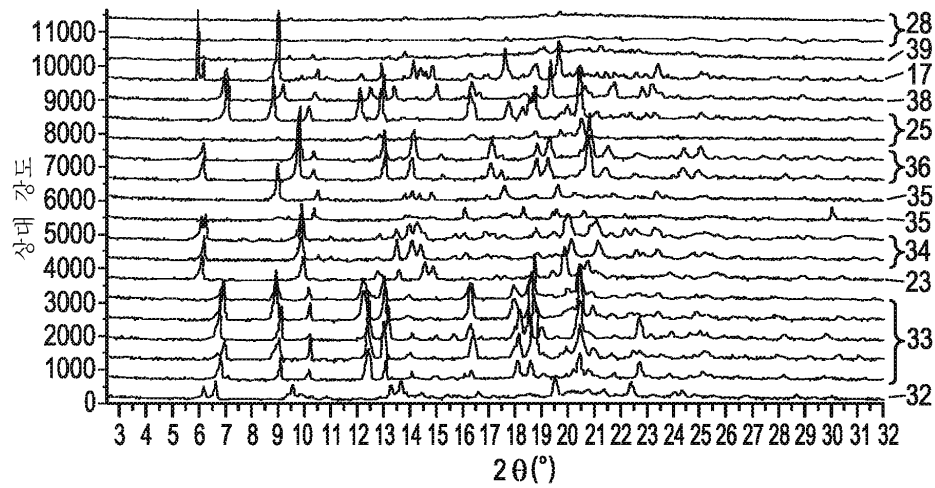
도면12b



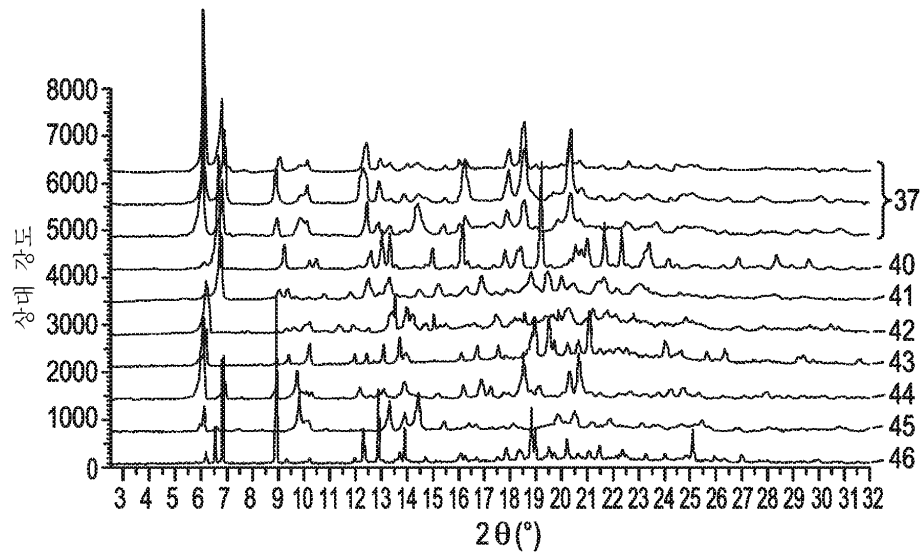
도면13



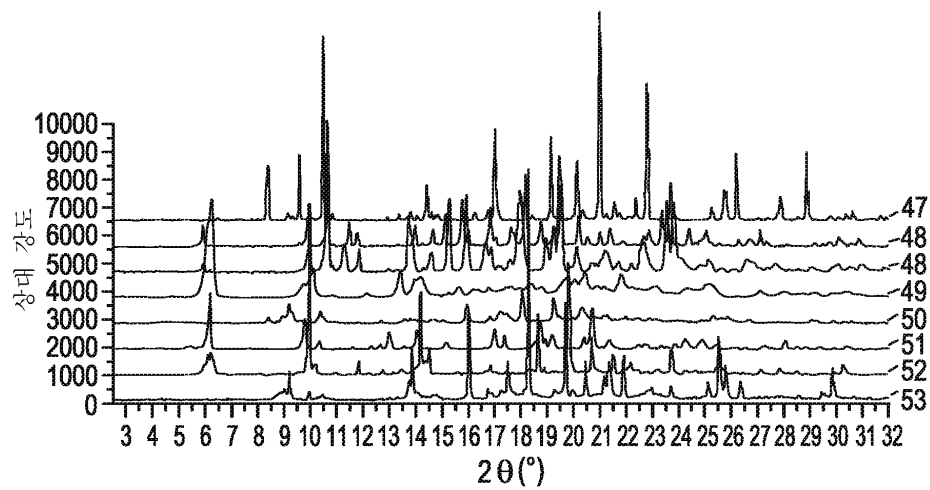
도면14



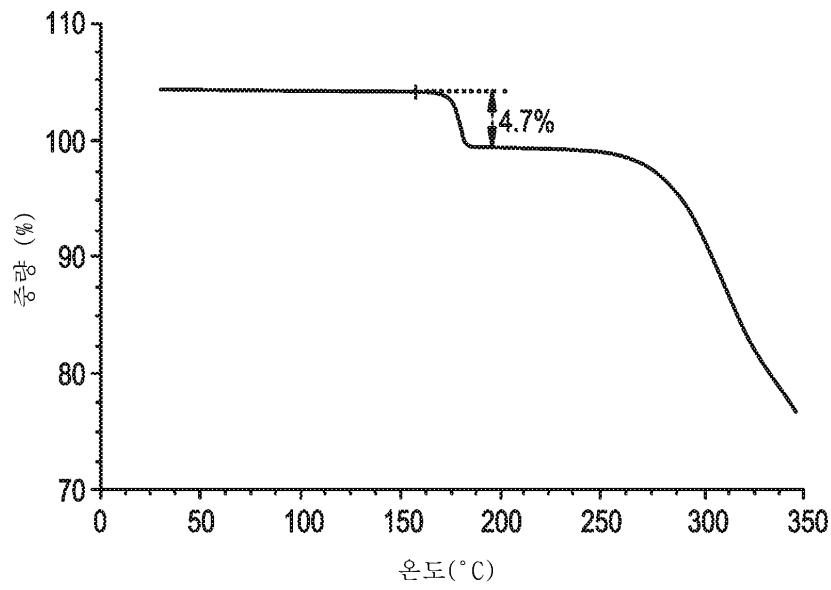
도면15



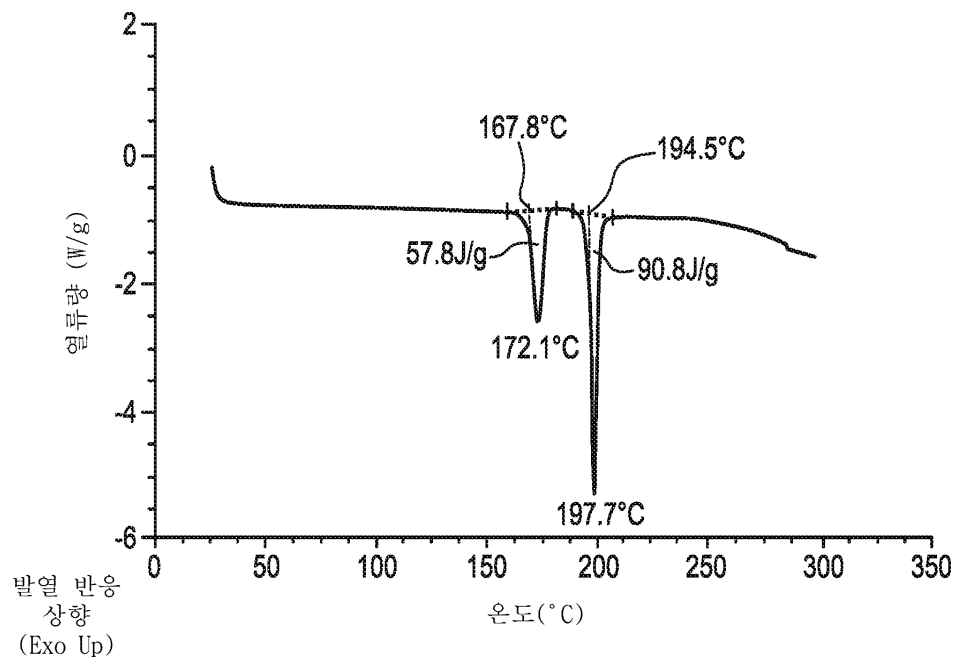
도면16



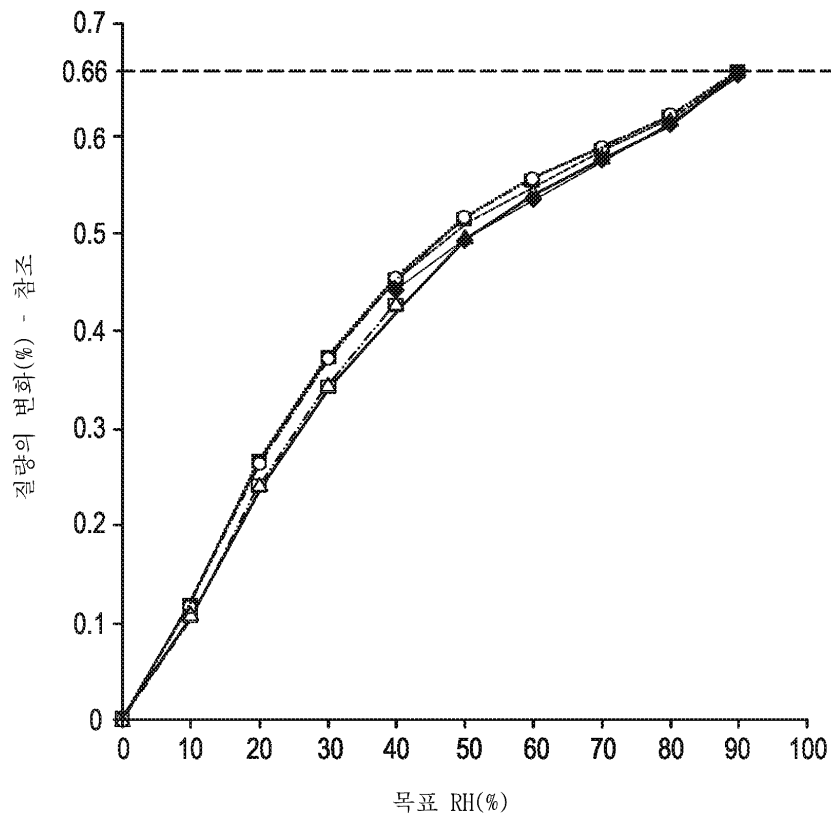
도면17a



도면17b

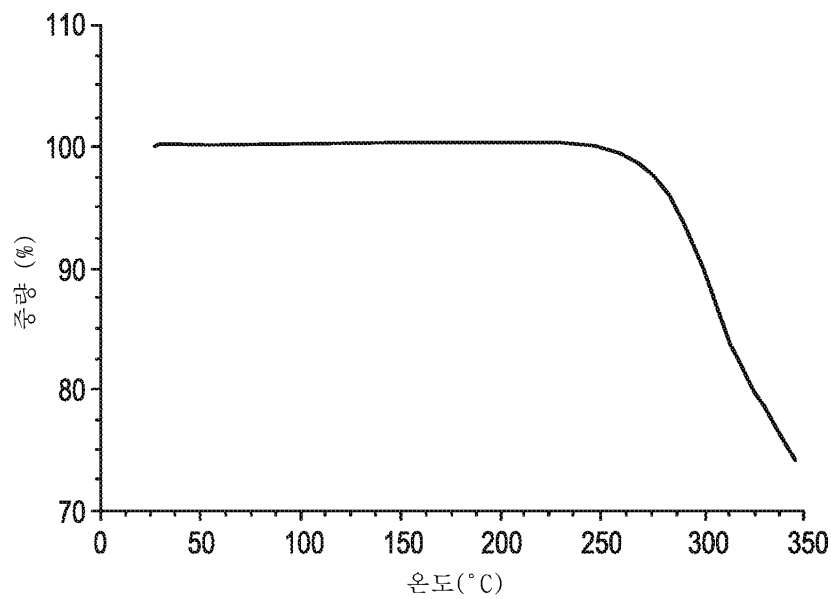


도면18

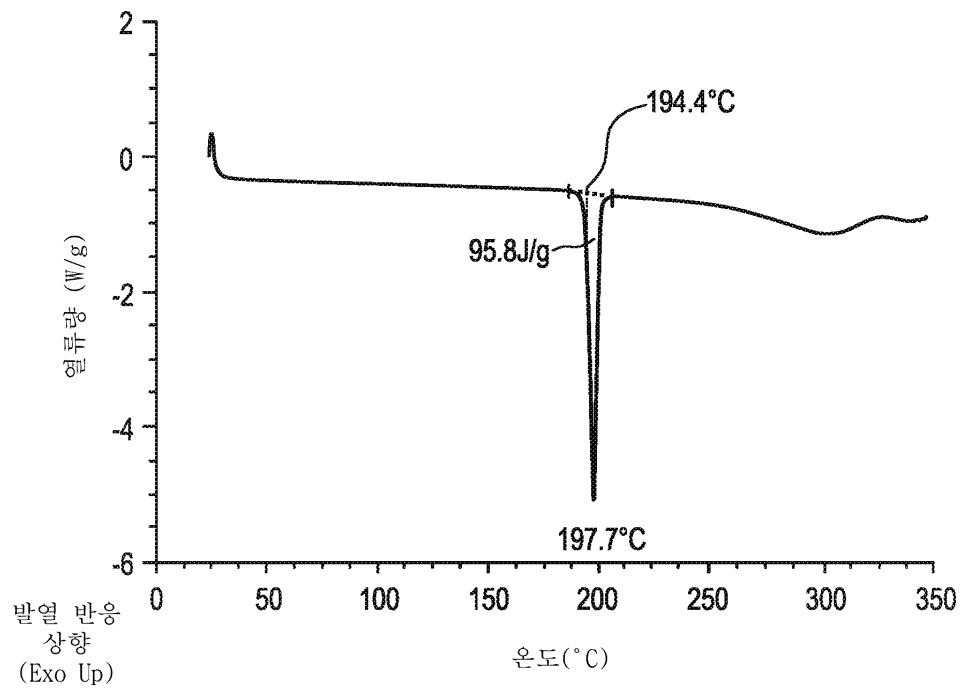


- ◆— 사이클 1 수착
- 사이클 1 탈착
- △— 사이클 2 수착
- 사이클 2 탈착
- - □ - - 사이클 3 수착

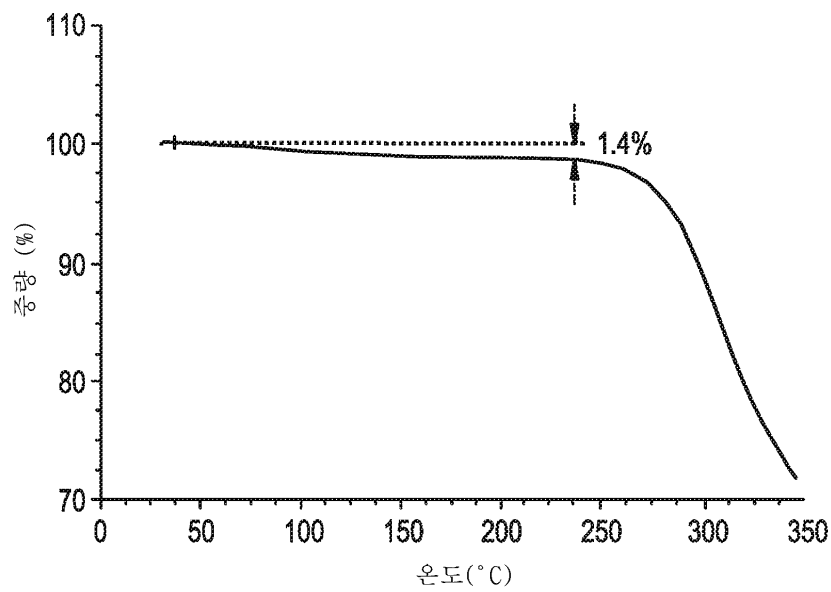
도면19a



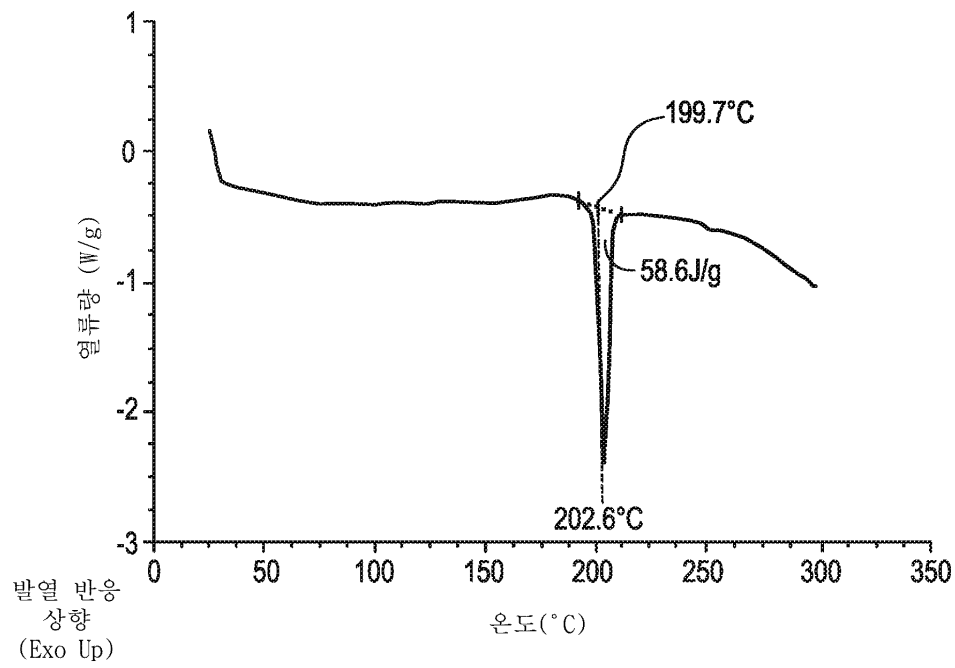
도면19b



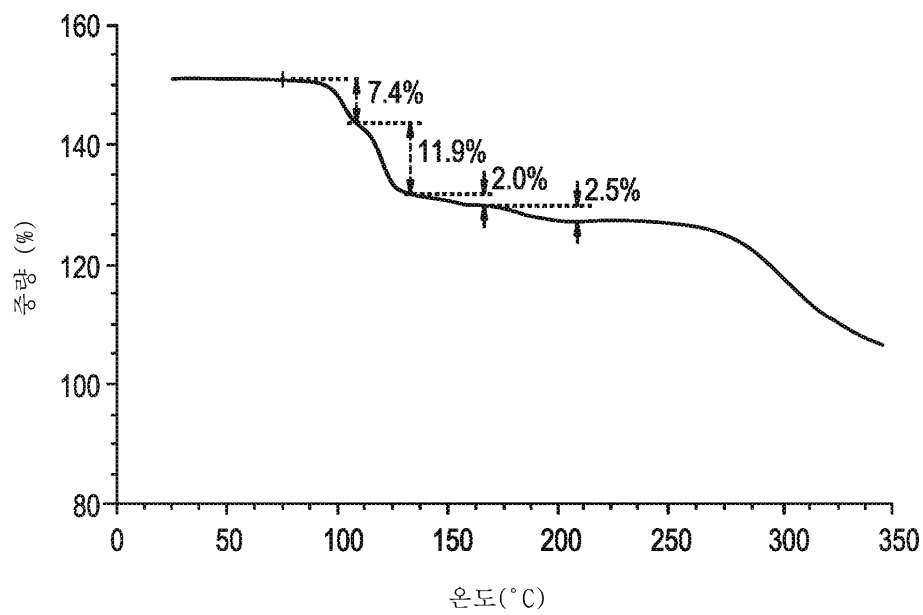
도면20a



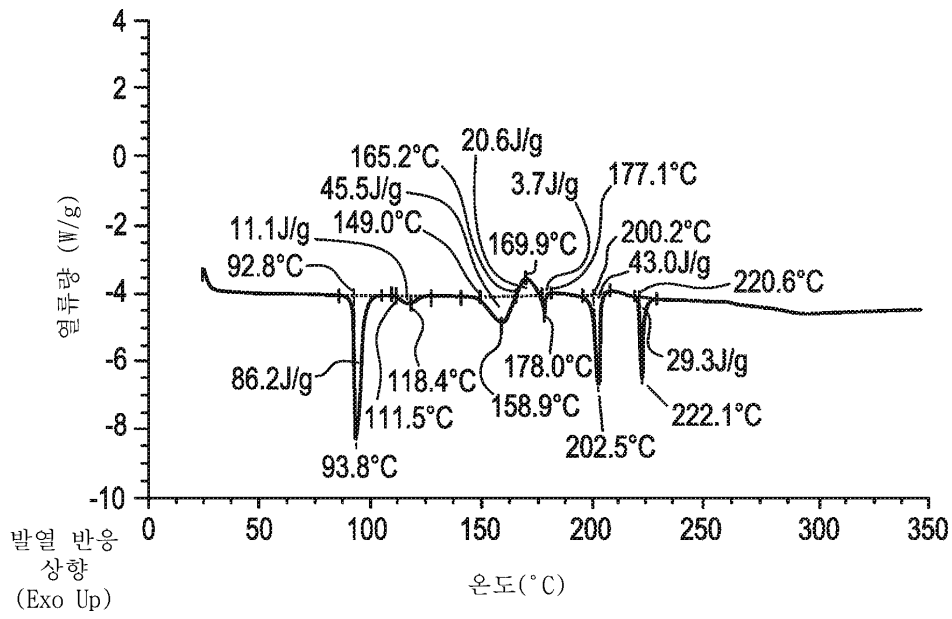
도면20b



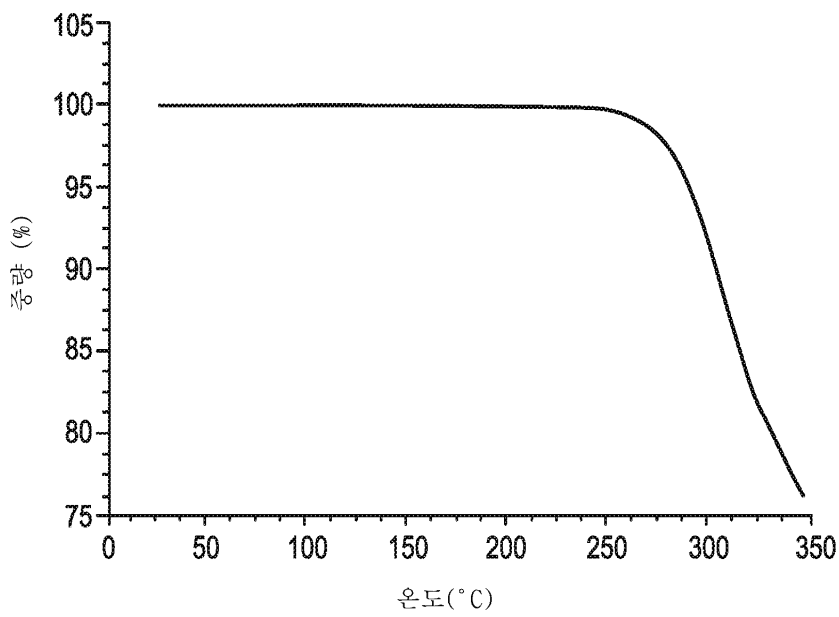
도면21a



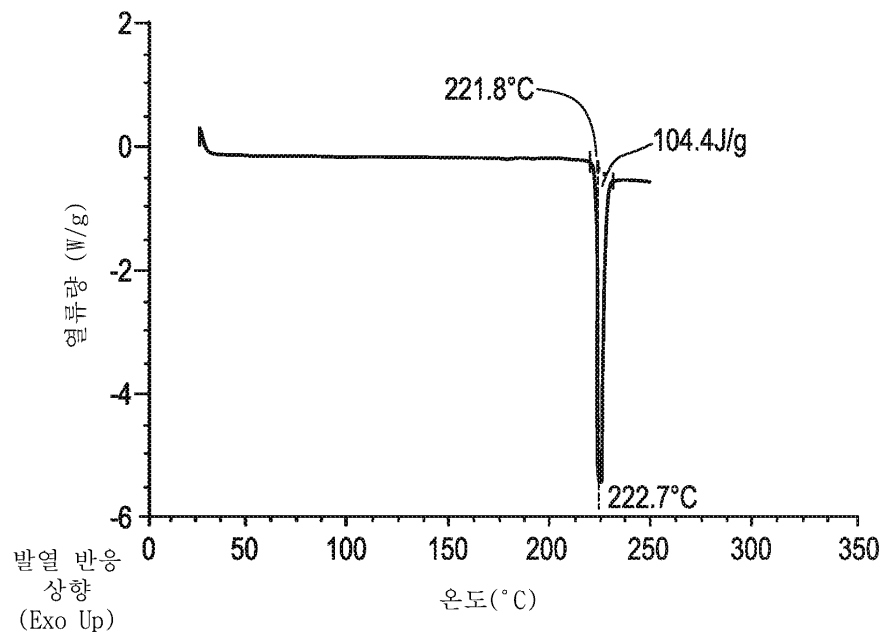
도면21b



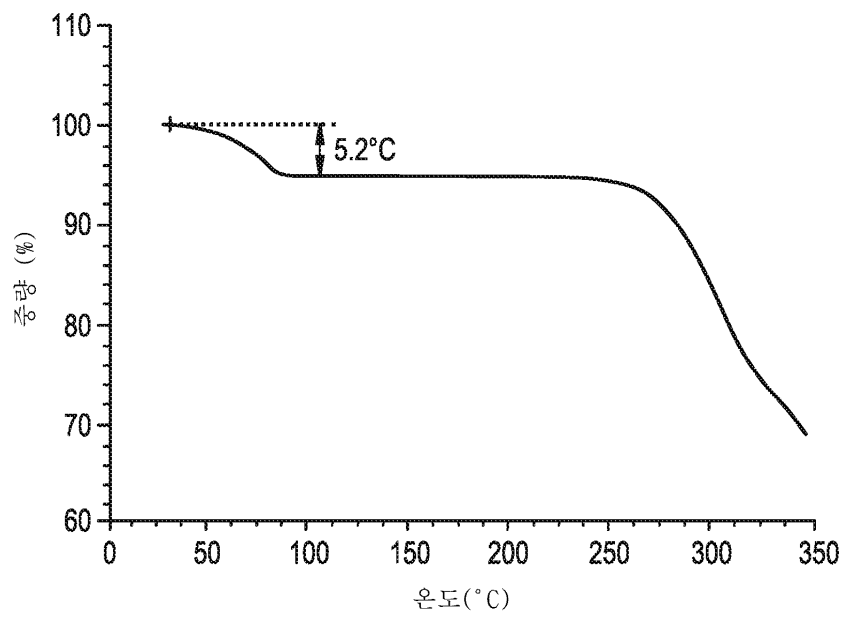
도면22a



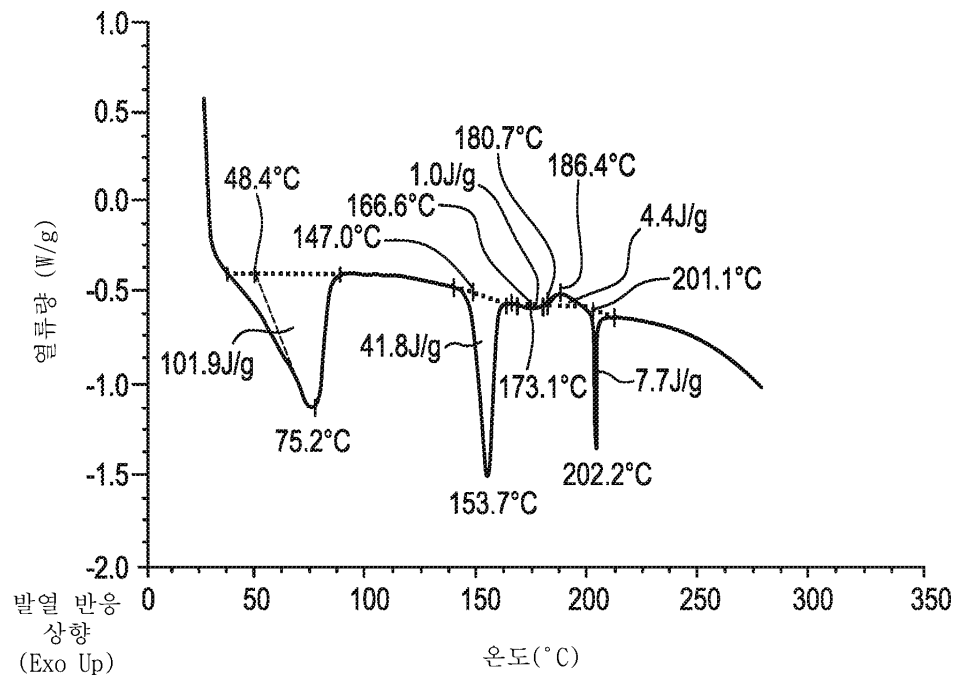
도면22b



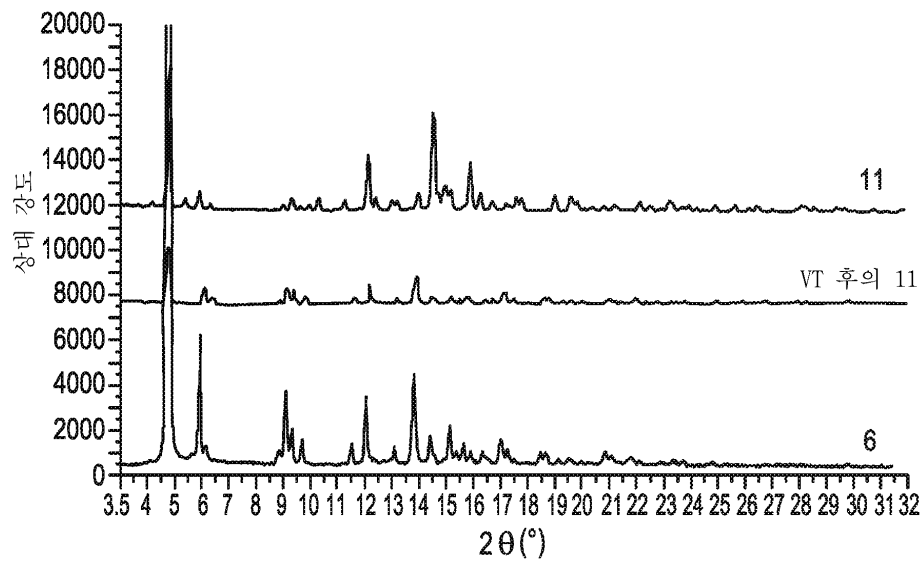
도면23a



도면23b



도면24



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> JANSSEN PHARMACEUTICA NV

<120> SMALL MOLECULE INHIBITORS OF THE JAK FAMILY OF KINASES

<130> PRD3481WOPCT1

<140> PCT/IB2019/055005

<141> 2019-06-14

<150> 62/846,290
 <151> 2019-05-10
 <150> 62/685,737
 <151> 2018-06-15
 <160> 4
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 1
 Lys Gly Gly Glu Glu Glu Glu Tyr Phe Glu Leu Val Lys Lys

1 5 10

<210> 2
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 2
 Ser Trp Gly Ala Ile Glu Thr Asp Lys Glu Tyr Tyr Thr Val Lys Asp

1 5 10 15

<210> 3
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 3

Lys Gly Gly Glu Glu Glu Glu Tyr Phe Glu Leu Val Lys Lys

1 5 10

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> Tobacco etch virus

<400> 4

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly

1 5