



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2008-0004554  
 (43) 공개일자 2008년01월09일

- |   |   |
|---|---|
| <p>(51) Int. Cl.<br/> <i>C07D 401/12</i> (2006.01) <i>C07D 401/14</i> (2006.01)<br/> <i>C07D 213/89</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2007-7025219<br/>             (22) 출원일자 2007년10월31일<br/>             심사청구일자 없음<br/>             번역문제출일자 2007년10월31일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2006/010581<br/>             국제출원일자 2006년03월21일<br/>             (87) 국제공개번호 WO 2006/115652<br/>             국제공개일자 2006년11월02일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>             60/673,131 2005년04월20일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/>             얀센 파마슈티카 엔.브이.<br/>             벨기에왕국 베-2340-비어세 투른호우트세베크 30</p> <p>(72) 발명자<br/>             크레우터 케빈<br/>             미국 08536 뉴저지 플레인즈보로 소레우 드라이브 71<br/>             루 티안바오<br/>             미국 08966 펜실베니아 처치빌 리버리 드라이브 42<br/>             (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/>             이은선, 최규팔</p> |
|---|---|

전체 청구항 수 : 총 29 항

**(54) 불소화 피리딘 N-옥사이드 트롬빈 모듈레이터 및 질소를 함유하는 헤테로아릴의 N-산화 방법**

**(57) 요약**

본 발명은 포유류에서 트롬빈 활성화와 관련된 질병 및 증상을 예방, 또는 치료를 위한 화학식 I의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용되는 염에 관한 것이다. 본 발명은 또한 질소를 함유하는 헤테로아릴의 신규한 N-산화 방법에 관한 것이다.

(72) 발명자

**리 유 카이**

미국 19341 펜실베니아 엑스톤 스티플체이스 드라이브 329

**텔레하 크리스토퍼**

미국 19034 펜실베니아 포트 와싱턴 드레셔타운 로드 542

**플레이어 마크**

미국 19460 펜실베니아 피닉스빌 페이지 레인 80

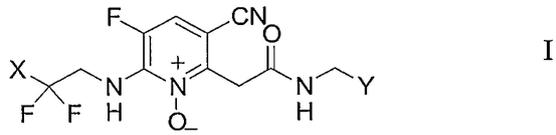
**주 크시첸**

미국 08512 뉴저지 크랜부리 프린스톤 암스 노스 아이 53

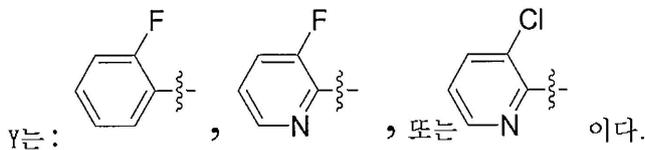
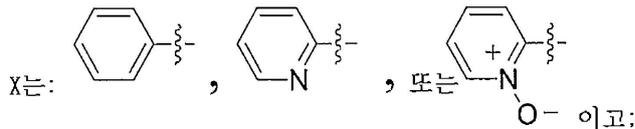
**특허청구의 범위**

**청구항 1**

하기의 화학식 I의 화합물 및 그의 약제학적으로 허용되는 염:



상기 식에서,



**청구항 2**

제 1항의 화합물 및 약제학적으로-허용되는 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

**청구항 3**

제 2항에 있어서, 항응고제, 항혈소판제 또는 혈전용해제의 적어도 하나를 추가로 포함하는 약제학적 조성물.

**청구항 4**

제 2항에 있어서, 화합물이 약 0.1 내지 약 0.5 mg의 양으로 존재하는 약제학적 조성물.

**청구항 5**

제 1항의 화합물의 유효량을 이를 필요로 하는 포유류에 투여하는 것을 포함하여, 심정맥 혈전증, 과중성 혈관 내응고증, 눈의 피브린 형성, 심근 경색증, 발작, 또는 혈전 용해 치료 또는 경피적 경혈관 관상동맥 확장술로부터 기인한 혈전 생성을 저해 또는 치료하는 방법.

**청구항 6**

심장동맥성형술, 관상동맥우회 및 관절 대치술의 전 또는 후의 인간의 치료 방법.

**청구항 7**

제 2항의 조성물을 포유류에 투여하는 것을 포함하여, 포유류에서 트롬빈 생산 또는 작용과 관련 있는 비정상적 정맥 또는 동맥 혈전에 의해 특징지어지는 상태를 치료 또는 예방하는 방법.

**청구항 8**

제 2항의 조성물의 유효량을 포유류에 투여하여, 포유류에서 혈소판 응고의 형성을 저해하거나, 피브린의 형성을 저해하거나, 혈전증을 저해하거나, 색전 형성을 저해하는 방법.

**청구항 9**

의료 장치에 제 1항의 화합물이 끼워져 있거나 물리적으로 부착된 채혈, 혈액 저장 또는 혈액 순환에 이용하기 위한 의료 장치.

**청구항 10**

의료 장치에 제 1항의 화합물이 끼워져 있거나 물리적으로 부착된 카테터, 스텐트, 혈액 회석 기구, 채혈 시린지 또는 튜브, 또는 혈액 관인 의료 장치.

**청구항 11**

제 2항의 조성물의 유효량을 포유류에 투여하는 것을 포함하여, 포유류에서 화학요법 동안 불안정한 협심증, 재협착, 성인 호흡 장애 증후군, 내독소성 또는 과응고성을 치료하는 방법.

**청구항 12**

제 2항의 조성물의 유효량을 인간에게 투여하여, 인간에서 파킨슨 병 또는 알츠하이머 병을 치료하는 방법.

**청구항 13**

제 12항에 있어서, 효소가 트롬빈인 방법.

**청구항 14**

방사성동위원소와 함께 화학식 I의 화합물을 이용하는 것을 포함하여, 포유류에서 생체 내 혈전을 이미징하는 방법.

**청구항 15**

피리딘을 용매에서 약 -50°C 내지 약 40°C의 온도로, 각각의 약 반에 상응하는 양 내지 약 10배에 상응하는 양으로, 과탄산 나트륨 및 트리플릭 안하이라이드와 반응시키는 것을 포함하는, 피리딘 N-옥사이드의 합성 방법.

**청구항 16**

제 15항에 있어서, 온도가 -10°C 내지 10°C인 방법.

**청구항 17**

피리미딘을 용매에서 약 -50°C 내지 약 40°C의 온도로, 각각의 약 반에 상응하는 양 내지 약 10배에 상응하는 양으로, 과탄산 나트륨 및 트리플릭 안하이라이드와 반응시키는 것을 포함하는, 피리미딘 N-옥사이드의 합성 방법.

**청구항 18**

퀴놀린을 용매에서 약 -50°C 내지 약 40°C의 온도로, 각각의 약 반에 상응하는 양 내지 약 10배에 상응하는 양으로, 과탄산 나트륨 및 트리플릭 안하이라이드와 반응시키는 것을 포함하는, 퀴놀린 N-옥사이드의 합성 방법.

**청구항 19**

피라진을 용매에서 약 -50°C 내지 약 40°C의 온도로, 각각의 약 반에 상응하는 양 내지 약 10배에 상응하는 양으로, 과탄산 나트륨 및 트리플릭 안하이라이드와 반응시키는 것을 포함하는, 피라진 N-옥사이드의 합성 방법.

**청구항 20**

제 19항에 있어서, 피라진 출발 물질이 2-위치에서 전자 끄는 그룹 및 5-위치에서 메틸 그룹으로 치환된 것인 방법.

**청구항 21**

제 20항에 있어서, 전자 끄는 그룹이 -CONH인 방법.

**청구항 22**

피리딘을 용매에서 약 -50°C 내지 약 40°C의 온도로, 각각의 약 반에 상응하는 양 내지 약 10배에 상응하는 양으로, 하이드로젠 페록사이드 및 트리플릭 안하이라이드와 반응시키는 것을 포함하는, 피리딘 N-옥사이드의 합

성 방법.

**청구항 23**

제 22항에 있어서, 온도가 -10℃ 내지 10℃인 방법.

**청구항 24**

피리미딘을 용매에서 약 -50℃ 내지 약 40℃의 온도로, 각각의 약 반에 상응하는 양 내지 약 10배에 상응하는 양으로, 하이드로젠 페록사이드 및 트리플릭 안하이라이드와 반응시키는 것을 포함하는, 피리미딘 N-옥사이드의 합성 방법.

**청구항 25**

퀴놀린을 용매에서 약 -50℃ 내지 약 40℃의 온도로, 각각의 약 반에 상응하는 양 내지 약 10배에 상응하는 양으로, 하이드로젠 페록사이드 및 트리플릭 안하이라이드와 반응시키는 것을 포함하는, 퀴놀린 N-옥사이드의 합성 방법.

**청구항 26**

피라진을 용매에서 약 -50℃ 내지 약 40℃의 온도로, 각각의 약 반에 상응하는 양 내지 약 10배에 상응하는 양으로, 하이드로젠 페록사이드 및 트리플릭 안하이라이드와 반응시키는 것을 포함하는, 피라진 N-옥사이드의 합성 방법.

**청구항 27**

제 26항에 있어서, 피라진 출발 물질이 2-위치에서 전자 끄는 그룹 및 5-위치에서 메틸 그룹으로 치환된 것인 방법.

**청구항 28**

제 27항에 있어서, 전자 끄는 그룹이 -CONH인 방법.

**청구항 29**

2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 화합물 및 그의 약제학적으로 허용되는 염.

**명세서**

**기술분야**

<1> 본 발명은 트롬빈 저해제로서 작용하는 신규한 화합물에 관한 것이다; 본 발명은 또한 질소를 함유하는 헤테로아릴의 신규한 N-산화 방법에 관한 것이다.

**배경기술**

<2> 세린 포스파타아제 트롬빈은 다인성 단백질로서 지혈 및 혈전증에서 중요한 역할을 차지하며, 혈소판, 내피세포, 평활근 세포, 백혈구, 심장, 및 뉴런에서 많은 효과를 유도한다. 내재성 경로(접촉 활성화) 또는 외인성 경로(비-내피 표면에 플라즈마의 노출, 혈관 벽 또는 조직 인자 방출에 대한 손상에 의한 활성화)를 통한 응고 연속단계의 활성화는 트롬빈에서 수렴되는 생화학 사건의 시리트를 유도한다. 트롬빈은 궁극적으로는 지혈전(덩어리 형성)을 유도하는 피브리노겐을 절단하고, 세포 표면 트롬빈 수용체의 독특한 단백질 가수분해의 절단을 통하여 혈소판을 강하게 활성화시키고, 피드백 기전을 통하여 그 자신의 생산을 자가증폭한다. 따라서, 트롬빈 기능의 저해제는 심장 혈관 및 비-심장혈관 질병의 숙주에서 치료적 잠재성을 갖는다.

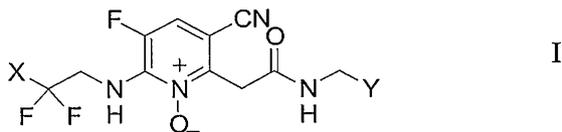
<3> 정맥 내 혈전을 위한 생체 내 진단용 이미지화 방법은 앞서 보고되었다. 이들 이미지화 방법은 방사성 또는 상자성 원자로 검출가능하게 표지된 화합물을 이용한다. 예를 들어, 감마 방사체, In-111로 표지된 혈소판이 혈전을 검출하기 위한 이미지화 시약으로서 이용될 수 있다. 또한, 급성 심근 경색증에 대한 혈전용해에 의해 치료된 환자의 자기 공명 이미지화에서 상자성 대조 시약, 가돌리늄 디에틸렌트리아민펜타아세트산이 보고되었다.

<4> 현재 이용가능한 프로테아제 저해제보다 더 나은 생물학적 이용 가능성 및 낮은 부작용을 지닌, 강력하고 선택적인 프로테아제 저해제, 비-펩티드성 화합물의 필요성은 계속된다. 따라서, 강력한 저해 능력 및 낮은 포유류 독성으로 특징지어지는 새로운 프로테아제 저해제는 포유류의 많은 단백질 가수분해 질병 상태를 포함하는, 다양한 증상을 위하여 잠재적으로 가치있는 치료 약제이다.

<5> 피리딘 및 피리미딘, 퀴놀린, 피라진, 벤조옥사디아졸, 및 피리다지노퀴놀린과 같은 다른 N-함유 헤테로아릴의 그들의 N-옥사이드로의 산화는 때때로 약제 탐색 프로그램에 이용된다. 많은 방법들이 이 변형에 영향을 주기 위하여 개발되어 왔다. 많은 경우, 이 변형은 과산, 이를 테면, 메타-클로로퍼벤조익 애시드, 마그네슘 모노퍼프탈레이트, 또는 동일계 형태에서 형성된 과산, 예를 들면, 30% 수용성 과산화수소 및 트리플루오로아세트 안하이드라이드 또는 아세트 안하이드라이드를 이용하여 이루어질 수 있다. 몇몇의 전자 결손 피리딘은 공-산화물로서 촉매  $\text{MTO}(\text{MeReO}_3)$ 와 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 또는 트리플루오로아세트 안하이드라이드와 페록사이드-우레아 혼합물 (*Tet. Lett.* 41:2299, 2000), 또는 Oxone<sup>®</sup> 및 황산(*J. Org. Chem.* 42:1869, 1977)으로부터 동일계에서 형성된 과산화황산을 이용하여 산화될 수 있다. 상기 방법들을 이용하여 고 전자 결손 피리딘을 N-옥사이드로 변형시킬 때 어려움을 겪는 것은 드문 일이 아니다; 예를 들어, *Tet. Lett.* 41 :2299, 2000 참조. 헤테로아릴을 함유하는 고 전자 결손 질소의 그들의 N-옥사이드로의 산화를 위한 실제적인 방법이 요망된다.

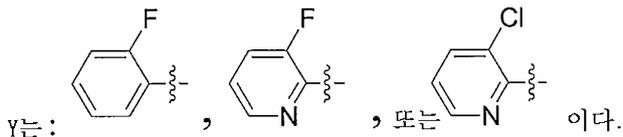
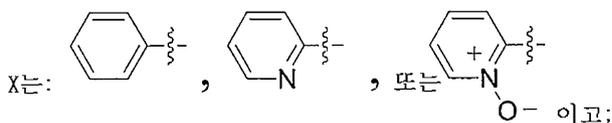
<6> **발명의 요약**

<7> 본 발명은 화학식 I(하기)의 신규한 화합물에 관한 것이다. 또한 화학식 I의 화합물을 제조하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 신규한 화합물은 트롬빈의 강력한 저해제이다. 또한 화학식 I의 화합물의 유효량을 투여함으로써 포유류에서 혈전증을 치료하는 방법을 제공한다.



<8>

<9> 상기 식에서,



<10>

<11> 본 발명은 또한 그들의 N-옥사이드에 상응하는 헤테로아릴을 함유하는 질소를 산화하는 통상적인 방법을 포함한다. 시약계는 상대적으로 안정하고 상업적으로 입수가 가능한 것으로 제조될 수 있다. 더 나아가, 반응은 중성에서 산성 조건 즉 예를 들어, 다소 산성에 민감한 메틸 에스테르 및 니트릴 그룹에서 일어난다.

<12> 본 발명은 포유류에서 혈소판 응고의 형성을 저해, 피브린의 형성을 저해, 혈전 생성을 저해, 및 색전 형성을 저해하기 위한, 약제학적으로 허용되는 담체에 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물을 포함한다. 이들 조성물은 임의로 항응고제, 항혈소판제, 및 혈전용해제를 포함할 수 있다. 조성물은 원하는 저해의 효과를 위하여 혈액, 혈액 제제, 또는 포유류 기관에 첨가될 수 있다.

<13> 또한 심근 경색증; 불안정협심증; 발작; 재협착; 심정맥 혈전증; 외상, 또는 패혈증성의 혈액 투석에 의한 과중성 혈관내용고증; 심폐바이패스 수술; 성인 호흡 장애 증후군; 내독소성 발작; 화학요법동안의 과응고성; 알츠하이머 병; 및 눈에서 피브린 형성을 치료하기 위한 방법을 제공한다. 본 발명의 화합물의 다른 용도는 채혈, 혈액 순환, 및 혈액 저장에 이용하기 위한 장치, 이를 테면, 카테터, 혈액 회석 기구, 채혈 시린지 및 튜브, 혈액 관 및 스텐트의 제작에 이용되는 물질에 끼워져 있거나 물리적으로 결합되는 항응고제이다.

<14> 본 발명은 또한 본 발명의 화합물 표면에 공유결합적 또는 비공유결합적으로 부착함으로써 포유류에서 표면의

혈전 발생성을 감소시키는 방법을 포함한다.

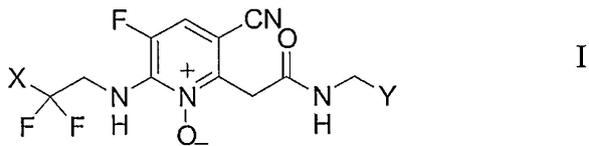
<15> 다른 관점에서, 본 발명은 포유류에서 생체 내 혈전을 이미지화하기에 유용한, 체 외에서 검출가능한 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물을 포함한다. 본 발명의 화합물 및 검출가능한 표지, 예를 들면, 방사성 또는 상자성 원자를 포함하는 조성물이 바람직하다.

<16> 다른 관점에서, 본 발명은 포유류에서 생체 내 혈전을 이미지화하기에 유용한, 약제학적으로 허용가능한 담체 및 본 발명의 화합물 또는 조성물의 진단상 유효량을 포함하는 진단용 조성물을 제공한다.

<17> 다른 관점에서, 본 발명은 포유류에서 생체 내 혈전을 이미지화하기에 유용한 방법을 포함한다.

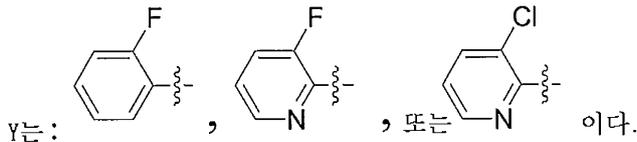
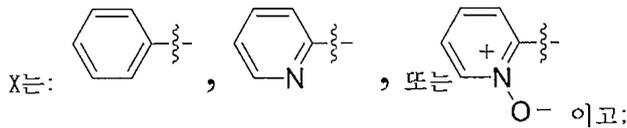
**발명의 상세한 설명**

<18> 본 발명은 화학식 I의 화합물에 관한 것이다.



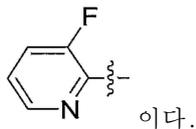
<19>

<20> 상기 식에서,



<21>

<22> 본 발명의 바람직한 구체적인 예에서 X는 이며; 본 발명의 다른 바람직한 구체적인 예에서 Y는



<23> 본 발명의 바람직한 예는: 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 및 그의 약제학적으로 허용되는 염이다.

<24> 본 발명의 바람직한 예는: 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 디하이드로클로라이드이다.

<25> 본 발명의 바람직한 예는: 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 모노하이드로브로마이드이다.

<26> 본 발명의 바람직한 예는: 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 설펜네이트이다.

<27> 본 발명의 바람직한 예는: 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 나프탈렌-1,5-디설펜네이트이다.

<28> 본 발명의 화합물은 또한 본 발명에 포함되는 모든 다형성 결정형과 함께 다형성 결정형을 가질 수 있다.

<29> 화학식 I의 화합물은 또한 용해, 특히 수화될 수 있다. 수화는 화합물 또는 화합물을 포함하는 조성물을 제조하는 동안 발생할 수 있거나, 화합물의 습기를 흡수하는 성질에 기인하여 시간이 경과함에 따라 발생할 수

있다.

- <30> 다른 관점에서, 본 발명은 포유류에서 생체 내 혈전을 이미지화하기에 유용한, 체 외에서 검출가능한 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물을 포함한다. 본 발명의 화합물 및 검출가능한 표지, 예를 들면, 방사성 또는 상자성 원자를 포함하는 조성물이 바람직하다.
- <31> 다른 관점에서, 본 발명은 포유류에서 생체 내 혈전을 이미지화하기에 유용한, 약제학적으로 허용가능한 담체 및 본 발명의 화합물 또는 조성물의 진단상 유효량을 포함하는 진단용 조성물을 제공한다.
- <32> 다른 관점에서, 본 발명은 포유류에서 생체 내 혈전을 이미지화하기에 유용한 방법을 포함한다.
- <33> 바람직한 관점에 따라, 유용한 화합물은 디플루오로메틸렌에 인접한 피리딘 치환체가 검출가능한 표지, 예를 들면, 방사성 요오드 원자, 이를 테면, I-125, I-131 또는 I-123으로 치환된 것이다. 검출 가능한 표지는, 적절한 리간드(L) 에 직접적 또는 2가 결합 그룹 A"를 통하여 상기 피리딘 치환체에 부착되는, 방사성 또는 상자성 킬레이트일 수 있다. 적절한 리간드는 방사성 또는 상자성 금속 이온을 킬레이팅할 수 있는 유기성 부분들을 의미한다.
- <34> 이들 화합물에서, 2가 결합 그룹 A"는 피리딘 및 킬레이트 수단 모두와 공유결합할 수 있는 그룹을 포함한다. 예를 들어, A"는  $-C(=S)-$ ,  $-C(=O)-$ ,  $-C(=NH)-(CH_2)_6-C(=NH)-$ ,  $-C(=O)-(CH_2)_6-C(=O)-$  등 일 수 있다.
- <35> 또한, 화학식 I으로 나타내어지는 화합물에서, 킬레이팅 리간드, L은 방사성 또는 상자성 원자에 공유결합 또는 비공유결합될 수 있는 그룹을 포함한다. 킬레이팅은 통상적으로 방사성 또는 상자성 원자를 복합화하기 위한 이용을 의미한다. 이들은 질소 원자에 결합되는, 3 내지 12, 바람직하게는 3 내지 8의 메틸렌 포스포산 그룹, 메틸렌 카보하이드록사민산 그룹, 카복시에틸렌 그룹, 또는 특히 카복시메틸렌 그룹을 포함하는 킬레이팅 수단을 포함한다. 단지 한 개 또는 두 개의 산 그룹이 질소 원자에 결합된다면, 상기 질소는 임의로 치환된 에틸렌 그룹 또는 질소 또는 산소 또는 황 원자에 의해 4 개 이하로 분리된 에틸렌 구조와 같은 그룹을 갖는 다른 질소 원자에 결합된다. 바람직한 킬레이팅 수단은 디에틸렌트리마인-N,N,N',N',N"-펜타아세트산 (diethylenetriamine-N,N,N',N',N"-pentaacetic acid; DTPA)이다. DTPA는 방사성 원자 요오드-111(In-111), 테크네튬-99m(Tc-99m), 및 상자성 원자 가돌리늄(gadolinium; Gd)에 대한 킬레이팅 수단으로 당업계에 공지되어 있다. Khaw, *et al.*, *Science* 209:295(1980); Paik C. H. *et al.*, U.S. Pat. No. 4,652,440 (1987); Gries, H. *et al.*, U.S. Pat. No. 4,957,939 (1990). 바람직한 킬레이팅 리간드, L은 1-(파라-아미노벤질)-디에틸렌트리아민펜타아세트산이다. 또한, 킬레이팅 수단은 임의로 조합하여 총 적어도 4 개로 설프하이드릴 또는 아민 부분을 함유하는 화합물을 포함한다. 이들 설프하이드릴 또는 아민 부분은 탄소, 질소, 산소 또는 황일 수 있는, 적어도 두 개의 원자에 의해 서로 분리된다. 킬레이팅 수단, L로서 특히 바람직한 것은 Tc-99m에 대한 킬레이팅 수단으로 당업계에 공지된 메탈로티오네인이다.
- <36> 화학식 I의 화합물은 교환 반응을 이용한 방사성 요오드로 표지될 수 있다. 뜨거운 요오드를 차가운 요오드로 교환하는 것은 당업계에 공지되어 있다. 대안적으로, 방사성 요오드로 표지된 화합물은 트리부틸스타닐 중재물을 통하여 브로모 화합물에 상응하는 것으로부터 제조될 수 있다. 참조로서 본원에 통합되는 미국 특허 번호 제 5,122,361호를 참조할 수 있다.
- <37> 본 발명은 또한 포유류에서 생체 내 혈전을 이미지화하기에 유용한 조성물을 포함하며, 여기에서 상기 조성물은 방사성 원자와 혼합된 화학식 I의 화합물로 구성된다; 적절한 방사성 원자는 Co-57, Cu-67, Ga-67, Ga-68, Ru-97, Tc-99m, In-111, In-113m, Hg-197, Au-198, 및 Pb-203을 포함한다. 몇몇의 방사성 원자는 방사화학 이미지화 기술에 이용하기에 우수한 성질을 갖는다. 특히, 테크네튬-99m(Tc-99m)이 그의 핵 성질 때문에 이미지화를 위한 이상적인 방사성 원자이다. 레늄-186 및 -188은 또한 이미지화를 가능하게 하는 감마 방사를 갖는다. 바람직한 조성물은 방사성 원자, Tc-99m을 함유한다.
- <38> 화학식 I의 화합물은 본 발명의 조성물을 제공하기 위하여, 당업계에 공지된 많은 기술 중의 임의의 것으로 표지될 수 있다. 예를 들어, 화합물은 화학식 I의 화합물에 공유결합적으로 부착될 수 있는, 디에틸렌트리마인펜타아세트산(DTPA) 또는 메탈로티오네인과 같은 킬레이팅제를 통하여 표지될 수 있다.
- <39> 통상, 테크네튬-99m을 함유하는 본 발명의 조성물은 테크네튬-99m 및 환원제 및 물-용해성 리간드의 수용성 혼합물을 형성한 다음, 혼합물을 화학식 I로 나타내어지는 본 발명의 화합물과 접촉시킴으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 이미지화 화합물은 테크네튬-99m(산화된 상태에서)을 환원된 상태(IV 또는 V 균형 상태)에서 테크네튬-99m사이에서 안정적 복합물을 형성하기 위하여 환원제 존재 하에 킬레이팅 수단을 갖는 본 발명

의 화합물과 반응시킴으로써 제조될 수 있다.

- <40> 테크네튬-99m을 지닌 DTPA 킬레이팅 수단을 갖는 화학식 I의 화합물을 표지함으로써 제조되는 것이 본 발명의 조성물의 한 구체적인 예이다. 이는 본 발명의 화합물의 미리 계산된 양(5  $\mu$ g 내지 0.5 mg으로서)을 구연산 완충액 및 주석을 함유한 환원제를 포함하는 수용성 용액과 결합시킨 다음, 방사능(15 mCi로서)의 미리 계산된 수준을 함유하는 신선하게 용출된 과테크네튬산 나트륨의 첨가로 수행될 수 있다. 상온에서 혼합물을 배양한 후, 반응 혼합물을 멸균 필터(0.2-0.22 마이크론)를 통하여 차폐된 시린지로 로딩한 다음, 필요에 따라, 0.9% 주사용 살린에 분배된다.
- <41> 테크네튬-99m으로 메탈로티오네인 킬레이팅 수단을 갖는 화학식 I의 화합물을 표지함으로써 제조되는 것이 본 발명의 조성물의 다른 구체적인 예이다. 이는 수용성 과테크네튬산 나트륨-99m을 수용성 글루코헵토네이트화 주석과 결합시켜 두 개의 글루코헵토네이트 분자와 테크네튬-99m(환원된 상태에서)의 가용성 혼합물을 형성시킨 다음, 이 용액을 그들에 부착되는 메탈로티오네인을 갖는 화학식 I의 화합물과 결합시킴으로써 수행될 수 있다. 일정 기간 및 화학식 I의 화합물의 메탈로티오네인으로 글루코헵토네이트 혼합물로부터의 테크네튬-99m의 교환이 가능한 상황 하에 혼합물을 배양한 후, 본 발명의 테크네튬-표지 조성물이 형성된다.
- <42> 방법에서 이용되는 환원제는 그의 산화된 상태에서 IV 또는 V 원자가 상태로 테크네튬-99m을 환원시키는데 또는 그의 산화된 상태에서 레늄을 환원시키는데 물리적으로 허용가능하다. 이용될 수 있는 환원제는 염화 주석, 플루오라이드화 주석, 글루코헵토네이트화 주석, 타르타레이트화 주석, 및 차아황산소이다. 바람직한 시약은 주석을 함유한 환원제, 특히 클로라이드화 주석 또는 글루코헵토네이트이화 주석이다. 환원제의 양은 이 방사성동위원소의 환원된 상태에서 화학식 I의 화합물의 킬레이팅 수단에 결합하기 위하여 제공되는 테크네튬-99m을 환원시키는데 필요한 양이다. 예를 들어, 염화 주석( $\text{SnCl}_2$ )은 상기 환원제이며, 1-1,000  $\mu$ g/mL 범위에서 이용될 수 있다.
- <43> 시트르산을 테크네튬-99m과 재빨리 혼합시켜 안정한 테크네튬-99m 복합물을 형성시킨다. 화학식 I의 화합물과 접촉 하 및 적절한 조건 하에, 그의 시트레이트 복합물로부터 화학식 I의 화합물의 킬레이팅 수단으로 테크네튬-99m의 실재 정량 이동이 빠르게 달성된다. 시트르산(구연산나트륨으로서)의 양은 매체에서 약 0.5 mg/mL 내지 최대 가용성 양 이하의 범위일 수 있다. 바람직한 시트르산의 양은 15 내지 30  $\mu$ g/mL의 범위이다.
- <44> 킬레이팅 수단을 갖는 화학식 I의 화합물의 양은 0.001 내지 약 3 mg/mL, 바람직하게는 약 0.017 내지 약 0.15 mg/mL 범위일 수 있다. 최종적으로 과테크네튬산의 형태에서 테크네튬-99m은 바람직하게는 약 1-50 mCi의 양으로 이용될 수 있다. 본 발명의 화합물의 mg 당 mCi의 양은 약 30-150인 것이 바람직하다.
- <45> 화학식 I의 화합물과 금속 이온-이전 리간드 복합물 사이의 반응은 바람직하게는 화학식 I의 화합물이 안정한 pH의 수용성 용액에서 수행된다. "안정한"은 화합물이 여전히 가용성이며,  $\alpha$ -트롬빈에 대한 그의 저해 활성을 유지하는 것을 의미한다. 통상, 반응을 위한 pH는 약 5 내지 9, 바람직하게는 6-8 초과일 수 있다. 테크네튬-99m-시트레이트 복합물 및 화학식 I의 화합물은 바람직하게는 약 20°C 내지 약 60°C, 가장 바람직하게는 약 20°C 내지 약 37°C에서, 시트레이트 복합물로부터 화학식 I의 화합물의 킬레이팅 수단으로 금속 이온의 이전이 가능한 시간의 충분한 양을 위하여 배양된다. 통상, 이들 상황 하에, 완전한 이전 반응에 충분한 시간은 1 시간 이하이다.
- <46> 본 발명의 대안적 조성물은 본 발명의 In-111로 표지된 화합물을 포함한다.
- <47> 본 발명은 또한 포유류에서 생체 내 혈전을 이미지화하기에 유용한, 상자성 원자에 혼합된 화학식 I에 의해 나타내어지는 화합물로 구성된 본 발명의 화합물의 조성물을 포함한다.
- <48> 바람직한 상자성 원자는 21 내지 29, 42, 44 및 58 내지 70의 원자 수를 갖는 요소의 2가 또는 3가 이온이다. 적절한 이온은 크롬(III), 망간(II), 철(III), 철(II), 코발트(II), 니켈(II), 구리(II), 프라세오디뮴(III), 네오디뮴(III), 사마륨(III) 및 이테르븀(III)을 포함한다. 그들의 강한 자기 모멘트 때문에, 가돌리늄(III), 테르븀(III), 디소프로슘(III), 홀뮴(III), 및 에르븀(III)이 바람직하다. 특히, 상자성 원자는 가돌리늄(III)이 바람직하다.
- <49> 본 발명의 조성물은 화학식 I의 화합물을 상자성 원자와 결합함으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 적절한 상자성 원자의 금속 산화물 또는 금속 염(예를 들어, 니트레이트, 클로라이드 또는 설페이트)은 물 및 알코올, 이를 데면, 메틸, 에틸 또는 이소프로필 알코올로 구성된 매체에서 용해되고 현탁된다. 이 혼합물은 유사한 수용성 매체에서 화학식 I의 화합물의 등분자 양의 용액이 첨가되고 교반된다. 반응 혼합물은 반응이 완결될 때까지

지 적당히 가열될 수 있다. 형성된 불용해성 조성물은 여과로 분리될 수 있는 반면, 용해성 조성물은 용액의 증발로 분리될 수 있다. 본 발명의 조성물에 킬레이팅 수단에서 여전히 산 그룹이 존재할 경우, 무기 또는 유기 염기 및 아미노산이 첨가되어 균일한 조성물의 분리 또는 정제를 용이하게 하기 위하여 산성 복합물에서 중성 복합물로 전환시킬 수 있다. 수산화물과 같은 무기 염기, 나트륨의 카보네이트 또는 비카보네이트, 칼륨 또는 리튬뿐만 아니라, 유기 염기 또는 기본 아미노산이 중화제로서 이용될 수 있다.

- <50> 본 발명은 또한 포유류에서 생체 내 혈전을 이미지화하기에 유용한, 약제학적으로 허용가능한 담체 및 화학식 I의 화합물로부터 유래한 조성물의 진단상 유효량을 포함하는 진단용 조성물을 제공한다.
- <51> 용량으로서 요구되는 조성물의 "진단상 유효량"은 투여 경로, 처리되는 포유류의 타입, 및 고려 중인 특정 포유류의 물리적 특성에 달려있을 수 있다. 이들 인자와 이 농도를 결정하는 그들의 관계는 의학 진단 업계의 해당업자에게 공지되어 있다. 또한, 진단상 유효량 및 투여의 방법은 최적의 효율을 달성하기 위하여 맞게 할 수 있으나, 체중, 식이 요법, 현행 약제 및 의료 업계의 해당업자들에게 인지될 수 있는 다른 요소들과 같은 인자에 달려있을 수 있다. 이미지화를 위한 농도는 문제의 혈전의 자리에서 이미지화 시약의 존재를 검출하는데 충분해야 된다. 전형적으로, 방사성물질 이미지화는 본 발명의 약제학적으로 허용되는 조성물 상태에 의해 제공되는 농도가 약 5 내지 20  $\mu\text{Ci}$ , 바람직하게는 약 10  $\mu\text{Ci}$ 인 것이 요구될 것이다. 자기 공명 이미지화는 제공되는 농도가 상자성 원자로 복합된 화학식 I의 화합물의 약 0.001 내지 5 mmole/kg, 바람직하게는 약 0.005 내지 0.5 mmole/kg인 것이 요구될 것이다. 이들 경우에, 실제적 농도는 혈전의 위치에 달려있을 것이라는 것은 당업계에 공지되어 있다.
- <52> 생체 내 이용을 위한 "약제학적으로 허용되는 담체"는 약제학 업계에 공지되어 있으며, 예를 들어, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co.(A. R. Gennaro edit. 1985)에 기재되어 있다. 본 발명의 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용되는 담체로 제제화되어 멸균 용액 또는 주사 가능한 투여를 위한 현탁액을 제공할 수 있다. 특히, 주사 가능 물질은 수용성 용액 또는 현탁액, 주사하기 전의 액체에서 용액 또는 현탁액을 위해 적절한 고체 형태, 또는 유체로서 전형적인 형태로 제조될 수 있다. 적절한 부형제는 예를 들어, 물, 살린, 텍스트로스, 만니톨, 락토오스, 렉틴, 알부민, 글루타민산나트륨, 시스테인 하이드로클로라이드 등이 있다. 게다가, 원한다면, 주사 가능한 약제학적 조성물은 비독성 보조 물질, 이를 테면, 습윤제, pH 버퍼링제 등을 함유할 수 있다. 원한다면, 흡수 증진 제형(예: 리포솜)이 이용될 수 있다.
- <53> 본 발명은 또한 저장 또는 투여를 위하여 제조된 진단용 조성물을 포함한다. 이들은 임의로 보존제, 안정제 및 염료를 함유할 수 있다. 예를 들어, 벤조산나트륨, 소르브산 및 파라-하이드록시벤조산의 에스테르가 보존제로서 첨가될 수 있다. 1449 같은 책에서. 게다가, 항산화제 및 현탁제가 이용될 수 있다.
- <54> 본 발명의 생체 내 이미지화 방법은 또한 혈전의 존재, 크기, 퇴화 또는 증가의 검출 또는 모니터링에 대하여 앞선 이미지화 기술에 비해 몇몇의 잇점을 제공한다. 특히, 본 발명은 혈전과 관련된 트롬빈에 단단하게 결합함으로써 결합하지 않은 이미지화 시약으로부터 방사성 또는 상자성 부산물의 순환으로 기인하는 "백그라운드"를 감소시키는 화합물, 조성물 및 진단용 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명의 화합물, 조성물 또는 진단용 조성물의 동맥 내 주사에 의한 생체 내 이미지화는 이들 이미지화 시약이 혈전 주위의 트롬빈을 즉시 용해시킬 수 있으므로 거의 동시에 일어날 것이라고 예상된다.
- <55> 결론적으로, 본 발명은 또한 포유류에서 생체 내 혈전의 이미지화를 위한: (1) 포유류에 본 발명의 화합물, 조성물, 또는 진단용 조성물의 진단상 허용되는 양을 투여하는 단계 및 (2) 혈관에서 혈전을 검출하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다.
- <56> 본원에 이용된 "생체 내 이미지화"는 포유류에서 혈전의 크기, 위치 및 수의 모니터링뿐만 아니라, 혈전의 용해 또는 성장, 포유류에서 혈전을 검출하는 방법에 관한 것이다.
- <57> 본 방법에 의한 생체 내 화합물, 조성물 또는 진단용 조성물의 이용에서, "투여"는 전신 또는 국소 표적의 방식으로 비경구적으로 이루어진다. 전신적 투여는 편리하고 접근가능한 정맥 또는 동맥으로 본 발명의 진단용 조성물에 의한 화합물, 조성물을 주사함으로써 이루어진다. 이것은 제한하는 것은 아니지만 주정중피 정맥으로 투여하는 것을 포함한다. 국소적 표적의 투여는 본 발명의 화합물, 조성물 또는 진단용 조성물을 혈전 말단을 함유한다고 의심되어지는 정맥 또는 동맥에서 인접한 주사 자리에 주사함으로써 이루어진다. 이것은 제한하는 것은 아니지만, 관상 혈전을 이미지화하기 위하여 관상 동맥의 맥관구조에 직접적으로 주사, 대뇌 맥관구조에서 혈전을 이미지화하기 위하여 목동맥으로 주사, 또는 다리의 심정맥 혈전증을 이미지화하기 위하여 다리 정맥으로 주사하는 것을 포함한다.

- <58> 또한, 혈전의 자리에 본 발명의 조성물을 전달하는 방식은 "투여"의 관점 이내에서 고려된다. 예를 들어, 그들에 부착되는 킬레이팅 수단을 갖는 화학식 I에 의해 나타내어지는 화합물은 포유류로 주사된 후, 방사성 원자에 의해 방사성 원자로 복합된 화학식 I의 화합물을 포함하는 조성물을 생체 내 혈전 자리에서 형성할 수 있다. 대안적으로, 방사성 원자로 복합된 화학식 I의 화합물을 포함하는 조성물은 포유류로 주사될 수 있다.
- <59> 본 발명의 방법에서 이용되는 화합물, 조성물 또는 진단용 조성물의 "진단상 유효량"은 상술한 바와 같이, 투여 경로, 처리되는 포유류의 타입, 및 처리 중인 특정 포유류의 물리적 특성에 달려있을 수 있다. 이들 인자와 이 농도를 결정하는 그들의 관계는 진단 업계의 해당업자들에게 공지되어 있다. 생체 내 이미지화를 위한 농도는 문체의 혈전의 자리에서 이미지화 시약의 존재를 검출하는데에 충분해야 된다. 전형적으로, 방사성물질 이미지화는 본 발명의 진단용 조성물에 의해 제공되는 농도가 약 5 내지 20  $\mu\text{Ci}$ , 바람직하게는 약 10  $\mu\text{Ci}$ 인 것이 요구될 것이다. 자기 공명 이미지화는 진단용 조성물에 의해 제공되는 농도가 상자성 원자로 복합된 화학식 I의 화합물의 약 0.001 내지 5 mmole/kg, 바람직하게는 약 0.005 내지 0.5 mmole/kg인 것이 요구될 것이다. 이들 경우에, 실제적 농도는 혈전의 위치에 달려있을 것이라는 것은 당업계에 공지되어 있다.
- <60> 이미지화에 의한 혈전의 검출은 이러한 혈전에 위치한 방사성 또는 상자성 원자의 존재에 의해 가능해진다.
- <61> 본 발명의 조성물 및 진단용 조성물과 관련 있는 방사성 원자는 바람직하게는, 이를 테면 감마 카메라 등의 감마선 검출이 가능한 방사선 검출 수단을 이용하여 이미지화된다. 전형적으로, 방사선 이미지화 카메라는 변환 매체(여기에서 고 에너지의 감마선은, 기저상태로 되돌아가서 광자를 방사하는 전자를 대체하면서 흡수된다), 검출 챔버에 배열된 광전자 탐지기(방사된 광자의 위치를 측정하기 위하여), 및 챔버에서 검출된 광자를 분석하기 위한 회로를 이용하여 이미지를 제공한다.
- <62> 본 발명의 조성물 및 진단용 조성물과 관련 있는 상자성 원자는 공명 자기 이미지화(magnetic resonance imaging; MRI) 시스템으로 검출된다. 이러한 시스템에서, 강한 자기장은 환자의 신체에서 원자의 핵 스핀 벡터를 정렬하기 위하여 이용된다. 이 장은 혈전에 위치한 상자성 원자의 존재에 의해 방해되고, 환자의 이미지는 그들의 평형 배열로 되돌아간 핵으로 읽혀진다.
- <63> **정의**
- <64> 본원에 이용된 "약"이 이용된 시약의 정량을 수정하는 경우, 평균 +/- 15%를 의미한다; 예를 들어 "약 1 mmol"은 0.85 mmol 내지 1.15 mmol의 범위를 의미한다. 본원에서 이용된 "약"이 온도를 언급하는 경우, 평균 +/- 5  $^{\circ}\text{C}$ 를 의미한다; 예를 들어 "약 40 $^{\circ}\text{C}$ "는 35 $^{\circ}\text{C}$  내지 45 $^{\circ}\text{C}$  범위의 온도를 의미한다.
- <65> 그 자체 또는 다른 그룹의 부분으로서 본원에 이용된 "알킬"은 탄소 원자 수가 12 이하인 직쇄 및 분지쇄 라디칼, 예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, *t*-부틸, 이소부틸, 펜틸, 헥실, 이소헥실, 헵틸 4,4-디메틸펜틸, 옥틸, 2,2,4-트리메틸펜틸, 노닐, 데실, 언데실, 도데실을 의미한다. 바람직하게, 알킬은 1 내지 6 개의 탄소 원자이다.
- <66> "알케닐"은 쇠 길이가 이들에 한정되지는 않지만, 2-20 개의 탄소 원자의 직쇄 또는 분지쇄 라디칼을 의미하기 위하여 본원에 이용되며, 이들에 한정되지는 않지만, 에테닐, 1-프로페닐, 2-프로페닐, 2-메틸-1-프로페닐, 1-부테닐, 2-부테닐 등을 포함한다. 바람직하게, 알케닐 쇠는 2 내지 10 개의 탄소 원자 길이이며, 더욱 바람직하게, 2 내지 8개의 탄소 원자 길이, 가장 바람직하게 2 내지 4 개의 탄소 원자 길이이다.
- <67> "알키닐"은 쇠 길이가 이들에 한정되지는 않지만, 2-20 개의 탄소 원자의 직쇄 또는 분지쇄 라디칼을 의미하기 위하여 본원에 이용되며, 여기에서 쇠에서 탄소 원자의 두 개 사이에 적어도 하나의 삼중 결합이 있으며, 이들에 한정되지는 않지만, 아세틸렌, 1-프로필렌, 2-프로필렌 등을 포함한다. 바람직하게, 알키닐 쇠는 2 내지 10 개의 탄소 원자 길이이며, 더욱 바람직하게, 2 내지 8 개의 탄소 원자 길이, 가장 바람직하게 2 내지 4 개의 탄소 원자 길이이다.
- <68> 본원에서 치환 그룹, 불포화 결합, 예를 들어, 비닐렌 또는 아세틸렌 결합으로서 알케닐 또는 알키닐 부분의 모든 경우에 질소, 산소 또는 황 부분에 직접적으로 부착되지 않는 것이 바람직하다.
- <69> "전자 끄는 그룹"은 그 자체로 전자 강도를 가져오고 다른 구역으로 떨어지는 치환체를 의미한다. 전자 끄는 그룹의 예는: 페닐, 헤테로아릴, 할로젠,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{CN}$ , 술폰, 술폰시드, 에스테르, 술폰아마이드, 카복시마이드, 알콕시, 알콕시에테르, 알케닐, 알키닐,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{알킬}$ ,  $-\text{C}\equiv\text{N}$ ,  $-\text{O}$ 페닐,  $-\text{O}$ 헤테로아릴, 및  $-\text{CF}_3$ 이다.
- <70> 본원에 이용된 "헤테로아릴"은 5 내지 14 개의 환식 원자를 갖는 그룹을 의미한다; 환식 정렬에서 분배된 6, 10

또는 14  $\pi$  전자; 및 탄소 원자 및 1, 2 또는 3 개의 산소, 질소 또는 황 헤테로원자(여기에서 헤테로아릴 그룹의 예는: 티에닐, 벤조[b]티에닐, 나프토[2,3-b]티에닐, 티안트레닐, 푸릴, 피라닐, 이소벤조푸라닐, 벤족사졸릴, 크로메닐, 크산테닐, 페녹사티닐, 2H-피롤릴, 피롤릴, 이미다졸릴, 피라졸릴, 피리디닐, 피라지닐, 피리미디닐, 피리다지닐, 인돌리지닐, 이소인돌릴, 3H-인돌릴, 인돌릴, 인다졸릴, 푸리닐, 4H-퀴놀리지닐, 이소퀴놀릴, 퀴놀릴, 프탈라지닐, 나프티리디닐, 퀴나졸리닐, 시놀리닐, 프테리디닐, 4aH-카바졸일, 카바졸일,  $\beta$ -카볼이닐, 페난트리디닐, 아크리디닐, 페리미디닐, 페난트롤리닐, 페나지닐, 이소티아졸릴, 페노티아지닐, 이속사졸릴, 푸라자닐 및 페녹사지닐 그룹 이다)를 포함한다.

<71> "헤테로원자"는 산소 원자("O"), 황 원자("S") 또는 질소 원자("N")를 의미하기 위하여 본원에 이용된다. 헤테로원자가 질소일 경우, 그것은  $NR^aR^b$  부분을 형성할 수 있으며, 여기에서,  $R^a$  및  $R^b$ 는 독립적으로 각각, 수소 또는  $C_1$  내지  $C_8$  알킬이거나, 또는 그들이 질소와 함께 결합되어, 포화 또는 불포화 5-, 6-, 또는 7-원 환을 형성할 수 있다.

<72> "트리플레이트"는 음이온 트리플루오로메탄 술포네이트,  $CF_3SO_3^-$ , 약칭으로  $OTf^-$ 를 의미한다. "트리플레이트"의 형용사 형태는 "트리플릭"이다. 예를 들어, 트리플릭 무수물은 트리플루오로메탄 술포네이트 무수물,  $(CF_3SO_2)_2O$ , 약칭으로  $Tf_2O$ 를 의미한다.

<73> **약제학적으로 허용되는 염**

<74> 화학식 I의 화합물의 약제학적으로 허용되는 염(물- 또는 오일-가용성 또는 분산성 제품에서)은 통상의 비독성 염 또는 예를 들어, 무기 또는 유기 산 또는 염기로부터 형성된 사차 암모늄 염을 포함한다. 이러한 산성 첨가 염의 예는 아세테이트, 아디페이트, 알지네이트, 아스파테이트, 벤조에이트, 벤젠술포네이트, 비셀페이트, 뷰티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포술포네이트, 사이클로펜타네프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실술포네이트, 에탄술포네이트, 푸마레이트, 글루코헵타네이트, 글리세로포스페이트, 헤미셀페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 하이드로클로라이드, 하이드로브로마이드, 하이드로아이도다이드, 2-하이드록시에탄술포네이트, 락테이트, 말레이트, 메탄술포네이트, 2-나프탈렌술포네이트, 니코틴에이트, 니트레이트, 옥살레이트, 과모에이트, 펙테네이트, 피셀페이트, 3-페닐프로피오네이트, 픽레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 숙신에이트, 셀페이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 토실레이트, 트리플루오로아세테이트 및 운데카노에이트를 포함한다. 염기성 염은 암모늄 염, 나트륨 및 칼륨 염과 같은 알칼리 금속염, 칼슘 및 마그네슘 염과 같은 알칼리 토금속염, 디사이클로헥실아민 염, N-메틸-D-글루카민과 같은 유기 염기를 갖는 염, 알기닌, 라이신 등의 아미노산을 갖는 염, 및 구아니딜 부분을 갖는 염을 포함한다. 또한 염기성 질소-함유 그룹은 할로젠화 알킬, 이를테면, 메틸, 에틸, 프로필, 및 부틸 클로라이드, 브로마이드 및 이오다이드; 디메틸, 디에틸, 디부틸, 및 디아릴 셀페이트와 같은 디알킬 셀페이트; 데실, 라우릴, 미리스틸 및 스테아릴 클로라이드와 같은 긴쇄 할로젠화물, 브로마이드 및 이오다이드; 벤질 및 페넬릴 브로마이드와 같은 할로젠화 알킬 등을 낫추는 이러한 시약으로 4급화될 수 있다. 추가 산성 염을 형성하기에 바람직한 산성은 HCl, HBr, 황산 및 나프탈렌-1,5-황산을 포함한다.

<75> **적용**

<76> 그들의 최종-용도를 위하여, 본 발명은 다수의 치료적 목적으로 이용될 수 있다. 본 발명은 트롬빈을 저해한다. 그러므로 이들 화합물은 트롬빈 생산 또는 작용과 관련 있는 비정상적 정맥 또는 동맥 혈전에 의해 특징지어지는 상태를 치료 또는 예방하는데 유용하다. 이러한 상태는 한정하는 것은 아니지만, 심정맥 혈전증; 폐색전; 동맥 혈전; 보통 심방세동 동안의 심방으로부터 또는 경벽성 심근경색증 후에 남겨진 뇌실의 전신색전; 불안정 협심증; 재협착; 성인 호흡 장애 증후군; 내독소성 발작; 화학요법 또는 방사성요법 동안 또는 후의 과응고성; 패혈성 발작, 바이러스 감염 및 암에서 발생하는 파종성 혈관내응고증; 심근경색증; 발작; 관상동맥우회; 눈의 피브린 형성; 관절 대치술과 같은 정형외과 수술; 혈전용해요법 또는 경피적 경혈관 관상동맥 확장술(percutaneous transluminal coronary angioplasty; PCTA)에 의한 혈전 형성을 포함한다. 본 발명의 바람직한 용도는 심정맥 혈전증의 예방 또는 치료이다.

<77> 본 발명의 화합물은 박테리아, 다발성 외상, 및 중독을 포함하는 임의의 기작에 의해 기인한 파종성 혈관내응고를 치료 및 예방하는데 유용성을 가질 것으로 예상된다.

<78> 본 발명의 화합물은 알츠하이머 병 및 채장염과 같이, 과응고성의 신호 없이 트롬빈의 수준이 증가하는 상태에 유용할 것으로 예상된다.

- <79> 다른 용도는 채혈, 혈액 순환, 및 혈액 저장에 이용하기 위한 장치, 이를 테면, 카테터, 혈액 회석 기구, 채혈 시린지 및 튜브, 및 혈액 관의 제작에 이용되는 물질에 끼워져 있거나 물리적으로 결합되는 항응고제로서 상기 트롬빈 저해제의 용도를 포함한다. 본 발명의 화합물은 또한 체외 혈액 관류로에서 항응고제로서 이용된다.
- <80> 스텐트는 재협착을 감소시키지만 혈전성이 있다. 스텐트의 혈전성을 감소시키기 위한 전략에는 스텐트 표면으로 트롬빈-저해제를 코팅, 삽입, 흡수 또는 공유적으로 부착하는 것이 있다. 본 발명의 화합물은 이 목적으로 이용될 수 있다. 본 발명의 화합물은 스텐트 물질로 코팅된 후 가용성 및/또는 생물저해성 중합체 이내에 부착 또는 삽입될 수 있다. 이러한 중합체는 폴리비닐피롤리돈, 폴리하이드록시-프로필메타크릴아미드-페놀, 폴리하이드록시에틸-아스파타미드-페놀, 또는 팔미토일 잔기, 폴리카르산, 폴리글리콜릭산, 폴리카르산 및 폴리글리콜릭산의 공중합체, 폴리엡실론 카프롤아세톤, 폴리하이드록시 부틸산, 폴리오르토에스테르, 폴리아세탈, 폴리디하이드로피렌, 폴리시아노아크릴레이트로 치환된 폴리에틸렌옥사이드-폴리아이신 및 히드로겔의 교차 결합 또는 양친매성 차단 공중합체를 포함할 수 있다. 유럽 특허 761 251, 유럽 특허 604,022, 캐나다 특허 번호 2,164,684 및 PCT 공개 특허 번호 WO 96/11668, WO 96/32143 및 WO 96/38136 참조.
- <81> 세포 타입, 이를 테면, 평활근 세포, 내피세포 및 호중성 백혈구의 숙주에서 트롬빈의 효과로 인해, 본 발명의 화합물은 성인 호흡 장애 증후군; 염증성 반응; 상처 치료; 재관류 손상; 아테롬성 동맥 경화증; 및 기구 혈관 형성, 죽종절제술과 같은 상처에 따른 재협착, 및 동맥의 스텐트 대체술의 치료 및 예방에서 추가의 용도를 찾았다.
- <82> 본 발명의 화합물은 신경발생성 질환, 이를 테면, 알츠하이머 병 및 파킨슨 병을 치료하는데 유용할 수 있다.
- <83> 본 발명의 화합물은 단회 투여 처방 또는 2-4 나누어진 1일 용량에서, 약 0.1 내지 500 mg/kg의 용량 범위 내에서, 바람직하게는 체중 1 kg 당 0.1 내지 10 mg 사이에서, 유효한 양으로 투여될 수 있다.
- <84> 본 발명의 화합물은 조직 플라스미노겐 활성화제, 스트렙토키나아제, 및 유로키나아제와 같은 혈전용해제와 결합되어 이용될 수 있다. 추가로, 본 발명의 화합물은 제한하는 것은 아니지만, 피브리노겐 길항제 및 트롬복산 수용체 길항제와 같은 다른 항혈전 또는 항응고 약제와 결합되어 이용될 수 있다.
- <85> 본 발명의 화합물은 또한 표적하는 약제 담체로서 가용성 중합체와 커플될 수 있다. 이러한 중합체는 폴리비닐 피롤리돈, 피란 중합체, 폴리하이드록시-프로필메타크릴아미드-페놀, 폴리하이드록시에틸-아스파타미드-페놀, 또는 팔미토일 잔기로 치환된 폴리에틸렌옥사이드-폴리아이신을 포함할 수 있다. 더욱이, 본 발명의 화합물은 약제의 조절된 방출을 달성하는데 유용한 생물저해성 중합체의 클래스, 예를 들어, 폴리카르산, 폴리글리콜릭산, 폴리카르산 및 폴리글리콜릭산의 공중합체, 폴리엡실론 카프롤아세톤, 폴리하이드록시 부틸산, 폴리오르토에스테르, 폴리아세탈, 폴리디하이드로피렌, 폴리시아노아크릴레이트 및 히드로겔의 교차 결합 또는 양친매성 차단 공중합체에 커플될 수 있다.
- <86> 본 발명의 약제학적 조성물은 본 발명의 화합물의 이익의 효과를 체험할 수 있는 임의의 동물에 투여될 수 있다. 본 발명을 제한하는 것은 아니지만, 이러한 동물 중 최상은 인간이다.
- <87> 본 발명의 약제학적 조성물 그들의 의도한 목적을 달성하는 수단에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 투여는 비경구, 피하, 정맥내, 근육내, 복강내, 경피, 구강, 또는 눈의 경로에 의해 투여될 수 있다. 대안적으로, 또는 동시에, 경구 경로로 투여될 수 있다. 투여되는 용량은 수령자의 연령, 건강, 및 체중, 현행 처리의 종류, 임의의, 처리의 빈도, 및 원하는 효과의 성질에 달려 있을 수 있다.
- <88> 또한, 약제학적으로 활성 화합물, 신규한 약제학적 제제는 활성 화합물을 약제학적으로 이용될 수 있는 제제로 프로세싱하는데 이용하는 첨가제 및 보조제를 포함하는 약제학적으로 허용되는 적절한 담체를 포함할 수 있다.
- <89> 본 발명의 약제학적 제제는 공지된 그 자체, 예를 들어, 종래의 혼합, 과립화, 당-제조, 용해, 또는 동결건조 방법 방식으로 제조될 수 있다. 따라서, 경구용 약제학적 제제는 활성 화합물을 고체 첨가제와 결합하고, 임의로 생성 혼합물을 갖고 과립의 혼합을 프로세싱함으로써 수득될 수 있으며, 원하거나 필요하다면, 적절한 보조제 첨가 후에, 정제 또는 당 코어를 수득할 수 있다.
- <90> 인간에 투여를 위하여 적절한 본 발명의 조성물에 있어서, "첨가제"는 그에 의해 제한되는 것은 아니지만, 그의 전체로 참조에 의해 본원에 통합되는 *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, American Pharmaceutical Association, 2nd Ed. (1994)에 기재된 첨가제를 포함하는 것을 의미한다. 적절한 첨가제는, 특히, 바인더, 이를 테면, 예를 들어, 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 트래거캔스, 메틸 셀룰로오스, 하이드록시-프로필메틸셀룰로오스, 나트륨 카복시메틸셀룰로오스, 및/또는 폴리비닐 피롤리돈을 이용하는 전분 페이

스트뿐만 아니라, 당과 같은 충전제, 예를 들어, 락토오스 또는 수크로오스, 만니톨 또는 소르비톨, 셀룰로오스 제제 및/또는 칼슘 포스페이트, 예를 들어, 트리칼슘 포스페이트 또는 칼슘 수소 포스페이트이다. 원한다면, 봉해제, 이를 테면, 상기-언급한 전분 및 또한 카복시메틸-전분, 교차-결합된 폴리비닐 피롤리돈, 아가, 또는 알긴산 또는 그의 염, 이를 테면, 나트륨 알지네이트가 첨가될 수 있다. 보조제는 상기의 모든, 유량-조절제 및 윤활제, 예를 들어, 실리카, 활석, 스테아르산, 또는 그의 염, 이를 테면, 마그네슘 스테아르산염 또는 칼슘 스테아르산염, 및/또는 폴리에틸렌 글리콜이다. 당 코어는 원한다면, 위액에 내성인 적절한 코팅제로 제공된다. 이 목적을 위하여, 농축된 당 용액이 이용될 수 있으며, 이는 임의로 아라비아 고무, 활석, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리에틸렌 글리콜, 및/또는 티타늄 다이옥사이드, 래커 용액 및 적절한 유기 용매 또는 용매 혼합물을 포함할 수 있다. 위액에 내성인 코팅제를 생산하기 위하여, 적절한 셀룰로오스 제제의 용액은, 이를 테면, 아세틸셀룰로오스 프탈레이트 또는 하이드록시프로필메틸-셀룰로오스 프탈레이트가 이용된다. 색소 또는 염료는 정제 또는 당 코팅제, 예를 들어, 활성 화합물 농도의 결함을 확인 또는 특정화하기 위하여 첨가될 수 있다.

<91> 경구적으로 이용될 수 있는 다른 약제학적 제제는 젤라틴 및 가소제, 이를 테면, 글리세롤 또는 소르비톨로 제조된 연질, 봉입 캡슐뿐만 아니라, 젤라틴으로 제조된 푸쉬-핏(push-fit) 캡슐을 포함한다. 푸쉬-핏 캡슐은 락토오스와 같은 충전제, 전분과 같은 바인더, 및/또는 활석 또는 마그네슘 스테아르산염과 같은 윤활제 및, 임의의 안정제와 혼합될 수 있는 과립 형태의 활성 화합물을 포함할 수 있다. 연질 캡슐에서, 활성 화합물은 적절한 액체, 이를 테면, 지방유 또는 액상 파라핀에서 바람직하게 용해 또는 현탁될 수 있다. 또한 안정제가 첨가될 수 있다.

<92> 비경구 투여를 위한 적절한 제형은 수용성 형태, 예를 들어, 수용성 염, 알칼리성 용액 및 사이클로덱스트린 포함 복합물에서 활성 화합물의 수용성 용액을 포함한다. 특히 바람직한 알칼리성 염은 예를 들어, 트리스, 콜린 하이드록사이드, 비스-트리스 프로판, N-메틸글루카민, 또는 알기닌으로 제조되는 암모늄 염이다. 하나 이상의 변형 또는 변형되지 않은 사이클로덱스트린은 본 발명의 화합물의 물 가용성을 안정화시키고 증가시키는데 이용될 수 있다. 이 목적에 유용한 사이클로덱스트린은 미국 특허 번호 4,727,064, 4,764,604, 및 5,024,998에 기재되어 있다.

<93> 또한, 적절한 유성의 주사 현탁액으로서 활성 화합물의 현탁액이 투여될 수 있다. 적절한 지방친화성 용매 또는 비히클은 지방유, 예를 들면, 참기름, 또는 합성 지방산 에스테르, 예를 들면, 에틸 올리에이트 또는 트리글리세리드 또는 폴리에틸렌 글리콜-400(화합물은 PEG-400에서 가용성이다)을 포함한다. 수용성 주사 현탁액은 현탁액의 점성을 증가시키는 물질, 예를 들어, 카복시메틸 셀룰로오스 나트륨, 소르비톨, 및/또는 텍스트란을 포함할 수 있다. 임의로, 현탁액은 안정제를 포함할 수 있다.

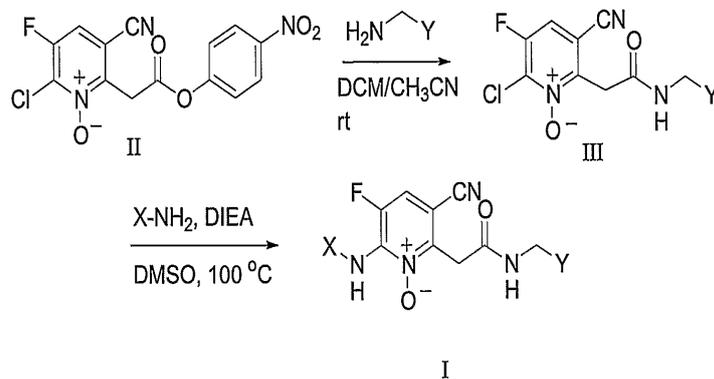
<94> 하기 예시는 제한하는 것은 아니지만, 본 발명의 방법 및 조성물을 설명한다. 당업자에게 통상 이해되고 명백한 다른 적절한 변형 및 다양한 조건의 적용 및 변수는 본 발명의 범위 및 관점 이내에 있다.

<95> **일반적인 합성 방법**

<96> 본 발명의 화합물은 도식 I에 따라 합성될 수 있다.

<97>

도식 I



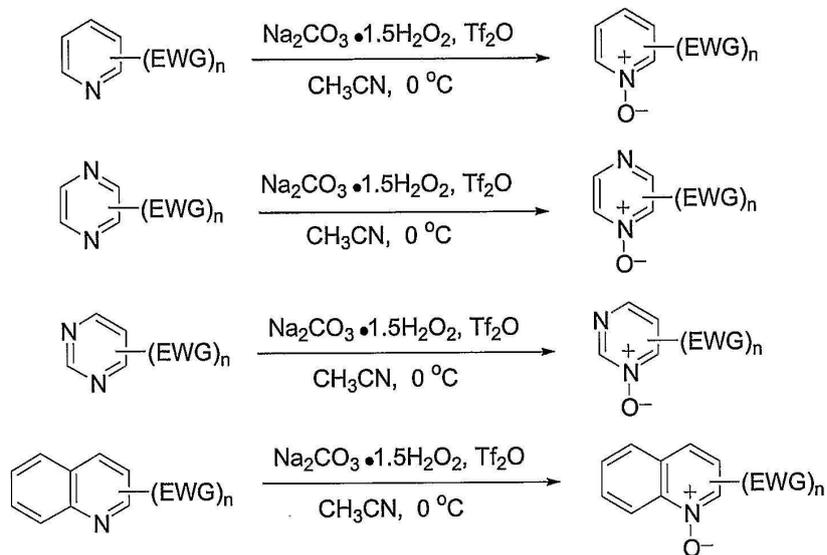
<98>

<99> DCM 또는 CH<sub>3</sub>CN과 같은 용매에서 H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>-Y 용액을, 대기 하에, -40°C 내지 150°C, 바람직하게는 상온에서,

CHCl<sub>3</sub>와 같은 용매에, 실시예 1i에서 제조한 바와 같은 (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일)-아세트산 4-니트로-페닐 에스테르의 혼합물에 첨가하여 화합물 III을 제공한다. 제형 H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>-Y의 화합물은 상업적으로 입수 가능하거나 공지된 방법에 따라 합성될 수 있다; 참조: *Org. Process Res. Dev.* Vol 8, p. 192, 2004, 및 *J. Med. Chem.* Vol 46, p. 461, 2003. 다음으로, 화합물 III, X-NH<sub>2</sub>, 디이소프로필에틸아민 (diisopropylethylamine; DIEA)과 같은 염기, 및 DMSO와 같은 용매의 혼합물은 rt 내지 150°C, 바람직하게는 100°C의 온도에서 대기 하에 교반하여 화합물 I을 제공한다. 제형 X-NH<sub>2</sub>의 화합물은 공지의 방법으로 제조될 수 있다; *Org. Process Res. Dev.* Vol 8, p.192, 2004, *J. Org. Chem.* Vol 68, p.8838, 2003, WO 9911267, WO 2004091613, *J. Med. Chem.* 46:461, 2003, 및 *Chem. Pharm. Bull.* 48:982, 2000 참조.

<100> 이 적용은 또한 본 발명의 신규한 화합물을 제조하기 위한 실제적 방법뿐만 아니라 고 전자 결합 피리딘 및 다른 N-함유 헤테로아릴 화합물의 그들의 N-옥사이드로 산화를 위하여 일반적으로 널리 적용할 수 있는 방법을 제공한다. 바람직한 N-함유 헤테로아릴은 피리딘, 피리미딘, 파라진, 및 퀴놀린이다. 반응은 중성에서 임의의 산성 민감성 작용 그룹에 의해 내성이 있는 산성 조건으로 일어난다. 반응은 CH<sub>3</sub>CN 또는 CH<sub>3</sub>CN과 DCM(디클로로메탄)의 혼합물에서 진행된다. 반응은 또한 전자 결합 피리미딘 및 전자 결합 퀴놀린에 적용될 수 있다. 일반적 반응 조건은 도식 2에 나타낸다.

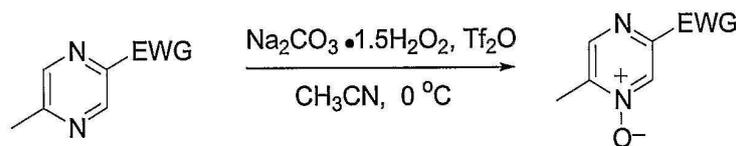
<101> 도식 2



<102> <103> 상기 도식에서, EWG는 전자 끄는 그룹이며, 바람직하게는 할로젠, -CF<sub>3</sub>, 에스테르, 또는 -CN이며; n은 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

<104> 당업자들은 알킬 그룹이 전자 끄는 그룹(들)의 첨가로 헤테로아릴에서 나타날 수 있음을 인지할 수 있을 것이다. 바람직한 예는 도식 3에 나타내며, 특히 바람직한 예는 EWG가 -C(알킬)인 것이다.

<105> 도식 3



<106> <107> 반응의 가장 중요한 관점은 과탄산 나트륨과 트리플릭 안하이라이드의 결합이다. 당업자들은 비록 3.5 시간 또는 16 시간 후에 반응이 정지하더라도, 반응은 약 30분 내지 주의 임의의 시간 코스를 이용하여 성공적으로 진행시킬 수 있음을 인지할 수 있을 것이다. TLC로 출발 물질의 손실을 검사하는 것은 반응 종말점의 가장 믿을 만한 확인이다. 또한 온도는 0°C 이상에서 상온의 범위가 이용될 수 있는 것이 인지될 수 있을 것이다. 본 발

명자들은 반응은 약 -50°C 내지 약 40°C의 온도 범위에서 성공적으로 수행될 수 있다고 예상한다. 당업자들은 또한 아세토니트릴이 아닌 용매, 특히 아세토니트릴과 염화 메틸렌과 같은 용매의 혼합물이 이용(주의: 본 발명자들은 안전한 반응을 위하여 강한 산화물 존재 하에 에테르 용매를 이용하는 것을 추천하지 않는다.)될 수 있다는 것을 인지할 수 있을 것이다. 최종적으로 반응의 퀘칭 단계(반응을 분쇄된 얼음과 탄산수소 나트륨의 혼합물로 부음), 염화 메틸렌으로 추출, 메타중아황산 나트륨으로 과도한 과산화 수소의 파괴, 및 ISOLUTE® 실리카 카트리지를 이용한 생성물 분리는 본 발명의 결정적인 관점은 아니며, 당업자라면 이 반응의 퀘칭 및 대안적인 방법에 의한 생성물의 분리가 가능할 것이다.

<108> 일반적인 절차: 오븐-건조 4-드랩 바이알에 피리딘(1.0 mmol), 과탄산 나트륨(157 mg, 1.0 eq.) 및 무수물 CH<sub>3</sub>CN(5.0 mL)을 첨가한다. 얼음 베스에서 냉각시킨 현탁액에 트리플릭 안하이라이드를 한 방울씩 첨가한다 (339 μL, 2.0 eq.). 트리플릭 안하이라이드를 첨가하는 동안 버블이 형성된다. 혼합물을 0°C에서 3.5 시간 동안 계속해서 교반한다. 대부분의 과탄산 나트륨은 3 시간 후에 사라진다. 반응은 출발 물질의 소비를 모니터링하기 위하여 습득된 분취물의 TLC(또는 NMR 스펙트럼)를 이용하여 모니터링 될 수 있으며, 반응은 TLC 또는 NMR 스펙트럼이 더 이상의 반응이 일어나지 않음을 가르킬 경우에 퀘칭될 수 있다. 다음으로 반응 혼합물을 분쇄된 얼음(10 g)과 탄산수소 나트륨(40 mL)의 혼합물에 붓는다. 30분 동안 교반한 후, 혼합물을 DCM(3 x 20 mL)으로 추출한다. 결합된 DCM 용액을 브라인(20 mL)으로 세척하고 황산 나트륨을 통하여 건조시킨다. 수용성 용액을 10% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 용액으로 처리한다. 농축 후, DCM 용액을 20 g ISOLUTE® 실리카 카트리지에 로딩하고 헥산/EtOAc로 용출한다. 표 1은 전자 결손 피리딘의 대표적인 산화를 나타낸다.

<109> 표 1. 0°C 내지 상온(room temperature; RT)에서 Tf<sub>2</sub>O/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-1.5H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 피리딘의 산화

번호	생성물	용매	시간(hr)	수득율(%)
1		CH <sub>3</sub> CN	3.5	67
2		CH <sub>3</sub> CN	3.5	65
3		CH <sub>3</sub> CN	3.5	70
4		CH <sub>3</sub> CN	3.5	41
5		CH <sub>3</sub> CN	3.5	11
6		CH <sub>3</sub> CN	하룻밤 동안	79*
7		CH <sub>3</sub> CN	하룻밤 동안	46*
8		CH <sub>3</sub> CN	하룻밤 동안	45*
9		CH <sub>3</sub> CN	하룻밤 동안	66*
10		CH <sub>3</sub> CN	하룻밤 동안	7*
11		CH <sub>3</sub> CN/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	하룻밤 동안	25*
12		CH <sub>3</sub> CN	3.5	42
13		CH <sub>3</sub> CN	3.5	14

<110>

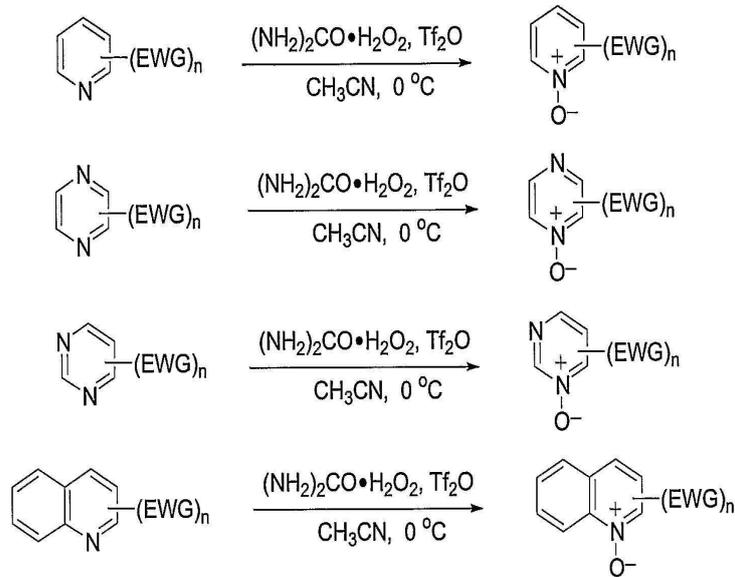
<111> \*: 하룻밤 동안의 반응은 2 내지 3 시간 동안 따뜻한 온도 내지 상온을 허용하였다.

<112> 대안적으로, 전자 손실 피리딘, 피리미딘, 퀴놀린, 또는 피리다진의 바람직한 산화는 과탄산 나트륨의 존재 하

에 우레아 하이드로젠 페록사이드를 이용하여 수행될 수 있다. 바람직한 반응 조건은 도식 4에 나타낸다.

<113>

도식 4



<114>

<115>

상기 도식에서, EWG는 전자 끄는 그룹이며, 바람직하게는 할로젠, -CF<sub>3</sub>, 에스테르, 또는 -CN이며; n은 1, 2, 3, 4, 또는 5이다.

<116>

반응의 가장 중요한 관점은 우레아 하이드로젠 페록사이드와 트리플릭 안하이라이드의 결합이다.

**실시예**

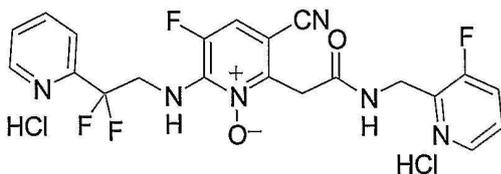
<117>

**실시예 1**

<118>

2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 디하이드로클로라이드

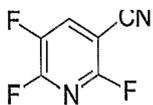
<119>



<120>

a. 2,5,6-트리플루오로-니코티노니트릴

<121>



<122>

2,6-디클로로-5-플루오로-니코티노니트릴(25.67 g, 134 mmol) 및 분무-건조KF(23.6 g, 406 mmol)(Aldrich) 둘을 모두, 클럼프를 제거하기 위하여 대기 하에 신선하게 분말화시켰으며, 건조 DMSO(30 mL)를 첨가하기 전에 완전한 혼합을 확인하기 위하여 함께 흔들었다. 혼합물을 1-2분 동안 아르곤 하에 rt에서 효과적으로 교반한 다음, 100°C 오일 배스에 두었고 5분 동안 교반하였다. 다음으로 온도를 10분의 코스를 통하여 130°C로 올렸으며, 혼합물을 40분 동안 이 온도에서 교반하였다. 반응 분취물의 NMR 스펙트럼은 130°C에서 10분 후 86% 변환을 나타내었으며, 40분 후 95% 이상의 변환을 나타내었다. 다음으로 두꺼운 자주색 혼합물을 rt로 냉각시켰고, 아이스 배스에 DCM(30 mL)으로 교반한 다음, DCM으로 전-평형화된 신선한 실리카 컬럼(1.0 kg 실리카 겔; 120 mm x 6")으로 직접 로딩하였다. DCM 용리액(140 mL 분획; 결합된 10-19 분획)은 선명하고 밝은 호박색 오일 20.65 g을 산출하였다. NMR 스펙트럼은 표제 화합물:DMSO(16.0 g 표제 화합물; 76%)의 1:0.58 mol 비율을 나타내었다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.99(m, 1H). LC/MS(ESI): 중량 계산치 158.0, 실측치 159.5(MH)<sup>+</sup>.

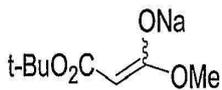
<123> b. 6-*t*-부톡시-2,5-디플루오로-니코티노니트릴



<124>

<125> THF(20 mL)로 전-혼합된 *t*-BuOH(110 mL, 114 mmol) 중의 1.04 M KO*t*Bu의 용액을 앞선 단계에서 *t*-BuOH(80 mL) 및 THF(15 mL; 냉동을 방지하기 위하여)에 제조된, 추가의 4.6 g DMSO로 오염된 2,5,6-트리플루오로-니코티노니트릴(16.0 g, 101 mmol)의 섞여진 0°C 용액에 15분에 걸쳐 한방울씩 떨어뜨렸다. 산출된 균질한 붉은색-호박색 용액을 0°C에서 추가로 5분 동안 교반한 후, 아이스 배스를 제거하고, 용액을 rt에서 추가로 20분 동안 교반하였다. 다음으로 반응을 5 M NH<sub>4</sub>Cl(100 mL)로 퀀칭시키고 에테르(2 x 100 mL)로 추출하였다. 결합된 유기 층을 물(1 x 100 mL), 1 M NaCl(1 x 150 mL), 및 4 M NaCl(1 x 100 mL)로 세척하고, 선명한 자주색 유기 층을 건조(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)하고, 감압 하에 농축하고, 에테르(50 mL)로 흡수하고, 규조토의 패드를 통하여 필터하였다. 여과 케이크를 에테르로 세척(3 x 50 mL)하고, 결합된 여과액을 감압 하에 50-60°C에서 농축하여 선명한 자주색 오일 20.89 g을 수득하였다. NMR은 표제 화합물과 2,6-디-*t*-부톡시-5-플루오로-니코티노니트릴(18.22 g 표제 화합물; 85%)의 89:11 mol 비율을 나타내었다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.60(dd, 1H), 1.67(s, 9H).

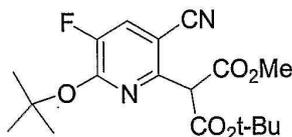
<126> c. 말론산 *t*-부틸 에스테르 메틸 에스테르, 나트륨 염



<127>

<128> 에테르(50 mL) 중의 NaH(1.50 g, 59.4 mmol)의 상온 혼합물을 -78°C 배스에 둔 다음, 즉시 간헐적인 소용돌이의 대기 하에 말론산 *t*-부틸 에스테르 메틸 에스테르(10.33 g, 59.4 mmol)의 대략 5 개 부분의 2 mL로 처리하였다. 버블 또는 엑소섬이 발생하지 않았다. 말론에이트의 추가의 완료 후 즉시, 느슨하게 뚜껑을 닫은 플라스크를 1-2분 동안 0°C 배스에서 소용돌이(버블 없음) 치게 한 다음, 간헐적인 헛 건 위밍으로 10분 동안 rt에 조심스럽게 두었다. 적절한 버블이 발생한 후, 반응을 두꺼운 페이스트가 생기는 시점에서 때때로 소용돌이 치게 하면서 1 시간 동안 rt에 두었다. 다음으로 휘발성을 40°C, 회전 증발로 제거하였고, 40°C에서 고진공에 의해 표제 화합물을 본질적으로 비-습윤성 백색 분말(11.37 g, 98%)로서 손쉽게 수득하였다.

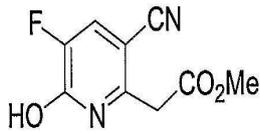
<129> d. 2-(6-*t*-부톡시-3-시아노-5-플루오로-피리딘-2-일)-말론산 *t*-부틸 에스테르 메틸 에스테르



<130>

<131> 실시예 1b에서 제조한 바와 같은 6-*t*-부톡시-2,5-디플루오로-니코티노니트릴(18.22 g, 85.9 mmol)의 두꺼운 혼합물, 앞선 단계에서 제조한 바와 같은 말론산 *t*-부틸 에스테르 메틸 에스테르 나트륨 염(34.49 g, 176 mmol), 및 디옥산(110 mL)을 14 시간 동안 95°C(오일 배스)로 아르곤 하에 교반하였다. 생성된 균질의 어두운 호박색 용액을 rt로 냉각시키고, 에테르(150 mL)로 희석하고, 시트르산(40 mL) 2.0 M을 함유하는 1.0 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(200 mL)의 용액으로 세척하였다. 수용성 층을 에테르(1 x 100 mL)로 백-추출(back-extract)하고, 유기 층을 결합시키고, 4 M NaCl(1 x 100 mL)로 세척하고, 건조(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)시키고, 감압 하에 농축시켰다. 말론산 *t*-부틸 에스테르 메틸 에스테르를 1 시간 동안 95°C로 고 진공에 의해 잔여물로부터 대량으로 제거하여 선명하고, 어두운 갈색의 점성 오일(32.37 g, 대략 100% 그대로의 수득율)로서 표제 화합물을 수득하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.48(d, 1H), 5.06(s, 1H), 3.80(s, 3H), 1.62(s, 9H), 1.47(s, 9H).

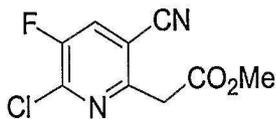
<132> e. (3-시아노-5-플루오로-6-하이드록시-피리딘-2-일)-아세트산 메틸 에스테르



<133>

<134> 아니솔(6 mL, 55 mmol) 및 TFA(58 mL, 750 mmol)를 앞선 단계에서 제조한 바와 같은 2-(6-t-부톡시-3-시아노-5-플루오로-피리딘-2-일)-말론산 t-부틸 에스테르 메틸 에스테르(31.87 g, 87 mmol)에 첨가하고, 균질 용액을 1.5 시간 동안 40°C로 교반하였다. 다음으로 반응물을 40°C에서 회전 증기 하에 농축시키고, TFA(130 mL, 1.74 mol)를 재첨가하고, 반응물을 rt에서 하룻밤 동안 교반하였다. 반응물을 40°C 이상에서 회전 증기 하에 재농축하고, 산출된 두꺼운 오일을 CHCl<sub>3</sub>(100 mL)에 용해시켰다. 다음으로, 2.0 M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(100 mL)을 0°C로 5-10분을 통하여 5-10 mL 부분에서 교반을 하면서 수용성 층이 pH 9가 될 때까지 첨가하였다. 2.0 M 시트르산(30 mL)을 0°C로 교반하면서 부분방식으로 첨가하여 pH 4가 되게 하고, CHCl<sub>3</sub>(100 mL) 및 물(100 mL)을 첨가하였다. 수용성 층을 CHCl<sub>3</sub>(2 x 100 mL)로 추출하여, 유기 층이 결합되었고, 건조(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)시켰으며, 농축하여 점성의, 어두운 오일(16.6 g)을 수득하였다. 잔류물의 속성 실리카 크로마토그래피(9:1 → 7:3 DCM/아세톤)는 노란색 용액(9.10 g, 51%)으로서 표제 화합물을 제공하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12.73(br s, 1H), 7.30(d, 1H), 3.92(s, 2H), 3.82(s, 3H).

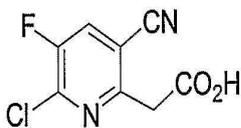
<135> f. (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-피리딘-2-일)-아세트산 메틸 에스테르



<136>

<137> 앞선 단계에서 제조된 바와 같은 (3-시아노-5-플루오로-6-하이드록시-피리딘-2-일)-아세트산 메틸 에스테르(9.10 g, 43.3 mmol)와 POCl<sub>3</sub>(40 mL, 433 mmol)의 혼합물을 7 시간 동안 95°C로 교반하였다. 다음으로 균질한 갈색의 용액을 감압 하에 농축하였고, 잔여물을 아이스 배스에 두었고, 에테르(200 mL)로 희석한 다음, 얼음물(100 mL)로 흔들었다. 수용성 층을 에테르(1 x 100 mL)로 추출하여, 유기 층이 결합되었고, 건조(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)시켰으며, 감압 하에 40°C로 농축하여 선명하고 어두운 호박색 오일(9.45 g, 96%)로서 표제 화합물을 수득하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.75(d, 1H), 4.06(s, 2H), 3.77(s, 3H).

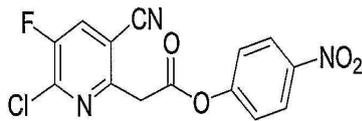
<138> g. (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-피리딘-2-일)-아세트산



<139>

<140> 상기 단계에서 제조된 바와 같은 (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-피리딘-2-일)-아세트산메틸 에스테르(9.36 g, 40.9 mmol), 4.0 M HCl(aq)(256 mL) 및 디옥산(51 mL)의 혼합물을 2 시간 동안 65°C로 강하게 교반하였다. 다음으로 균질한 호박색의 용액을 rt로 냉각시켰고, DCM(3 x 100 mL)으로 추출하고, 건조(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)시켰으며, 감압 하에 45°C로 농축하여 선명하고 어두운 호박색 오일(7.40 g, 84%)로서 표제 화합물을 제공하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.75(d, 1H), 4.11(s, 2H).

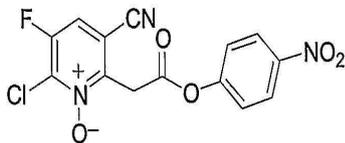
<141> h. (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-피리딘-2-일)-아세트산 4-니트로-페닐 에스테르



<142>

<143> 상기 단계에서 제조된 바와 같은 (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-피리딘-2-일)-아세트산의 균질한 갈색 용액 (2.37 g, 11.0 mmol), 4-니트로페놀(1.84 g, 13.2 mmol), 및 DCM(11 mL)을, 1,3-디이소프로필카보디이미드 (diisopropylcarbodiimide; DIC)(1.90 mL, 12.1 mmol)를 3분을 통하여 교반하면서 한방울씩 떨어뜨리면서 첨가하는 동안에 0°C로 아르곤 하에 교반하였다. DIC 추가의 완성 후 즉시 아이스 베스를 제거하였고, 노르스름한 색의 침전물과 함께 갈색의 혼합물을 1 시간 40분 동안 rt에서 교반하였다. 다음으로 정제하지 않은 반응물을 직접 급속 실리카 컬럼에 로딩하고 96:4 톨루엔/CH<sub>3</sub>CN로 용출하여 흐린 노란색의 반투명한 오일(3.11 g, 84%)로서 표제 화합물을 수득하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.29(m, 2H), 7.80(d, 1H), 7.35(m, 2H), 4.35(d, 0.7 Hz, 2H).

<144> i. (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일)-아세트산 4-니트로-페닐 에스테르



<145>

<146> 절차 A

<147> [주의: 하기 절차로 기재된 반응은 언급이 없더라도, 커다란 플렉시 유리 칸막이 뒤에서 수행한 것이다.] 고체 과탄산 나트륨(4.54 g, (~25% wt%(~43 mmol) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 함유), Aldrich)을 앞선 단계에서 제조된 바와 같은 CH<sub>3</sub>CN(110 mL) 중의 (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-피리딘-2-일)-아세트산 4-니트로-페닐 에스테르(4.85 g, 14.5 mmol)의 희미한 노란색 용액 0°C로 교반하면서 대기 하에 한 부분에서 첨가하였다. 다음으로 트리플릭 무수물(7.58 g, 26.9 mmol)을 11분을 통하여 0°C로 교반하면서 한 방울씩 떨어뜨리면서 첨가한 후 즉시 과탄산 나트륨을 추가하여 산출한 반투명한 노란색의 용액을 3 시간 동안 0°C로 교반하였다. 다음으로 반응물을 냉각시킨 DCM(150 mL)으로 희석하고, 냉각시킨 1 M NaHCO<sub>3</sub>(150 mL)로 켄칭하고, 이중 층을 7분 동안 0°C로 교반하였다. 다음으로 유기 층을 회수하였다; DCM(2 x 100 mL)으로 추출하고, 결합된 유기 층을 건조(2 x Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)시키고, 감압 하에 rt에서 농축하여 정제하지 않은 표제 화합물 4.89 g을 제공(NMR은 68 mol % 표제 화합물, 25 mol % 출발 물질, 및 7 mol % 니트로페놀을 나타낸다)하였다. 이 물질을 5분 동안 rt에서 건조 에테르의 교반으로 분쇄하였다(1 x 50 mL; 1 x 25 mL). NMR은 84 mol % 표제 화합물, 16 mol % 출발 물질, 및 니트로페놀의 완전한 제거를 나타내었다. rt에서 교반에 의한 20분 이상 4 개 각각의 분쇄(1 x 50 mL 에테르, 1 x 55 mL 10:1 에테르/DCM, 1 x 50 mL 1:1 에테르/DCM, 및 1 x 50 mL DCM) 후, 명백한 상등액의 제거로 희석이 되는 흰색으로서 표제 화합물을 수득하였다(2.96 g, 58%). NMR은 96 mol % 표제 화합물 및 4 mol % 시발 물질로 나타났다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.29(m, 2H), 7.46(d, 1H), 7.36(m, 2H), 4.37(d, 0.7 Hz, 2H).

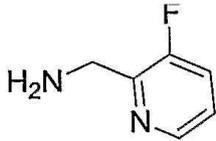
<148> 절차 B

<149> (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-피리딘-2-일)-아세트산 4-니트로-페닐 에스테르(35.90g, 106.95 mmol)를 아세트 니트릴(179.50 mL)에 용해하고 얼음/물 베스를 이용하여 0°C로 냉각시켰다. 우레아 하이드로젠 페록사이드 (23.14 g, 245.98 mmol)를 혼합물에 첨가하고 5분 동안 교반하였다. 다음으로 트리플루오로메탄술폰산 무수물 (66.38 g, 235.28 mmol)을 3.5°C 미만의 온도를 유지하면서 0°C의 반응 혼합물에 2.25 시간을 통하여 한 방울씩 떨어뜨려 첨가하였다. 첨가 후, 혼합물을 같은 온도로 2 시간 동안 지속적으로 교반하였다. 추가의 우레아 하이드로젠 페록사이드(2.3 g, 24.4 mmol), 트리플루오로메탄술폰산 무수물(4 mL, 23.8 mmol)을 혼합물에 첨가한 다음 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반하였다. 우레아 하이드로젠 페록사이드(2.3 g, 24.4 mmol) 및 트리플루오로메탄술폰산 무수물(4 mL, 23.8 mmol)의 다른 분취물을 혼합물에 첨가하였다. 혼합물을 0°C에서 15분 동안

교반하였고, HPLC는 반응물이 96% 완성되었음을 나타냈다. 산성아황산 나트륨 용액(5%, 1000 mL)을 0°C 미만의 온도를 유지하면서 조심스럽게 혼합물에 첨가하였다. 혼합물은 얼음/물 배스의 0°C에서 5분 동안 교반한 다음 냉장고에 하룻밤 동안 저장하였다. 슬러리를 여과하고 물(2 x 100 mL 및 50 mL)로 세척하였다. 고체를 60°C에서 6 시간 동안 진공 하에 건조시켜 갈색의 고체를 수득하였다(31.7 g, 84%). <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, d3-아세트니트릴): 8.32(m, 2H), 7.75(m, 1H), 7.37(m, 2H), 4.32(s, 2H). <sup>19</sup>F-NMR(376 MHz, d3-아세트니트릴): -115 ppm. C<sub>14</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>ClF에 대한 원소 분석: 계산치: C 47.81, H 2.00, N 11.95, F 5.40, Cl 10.08. 실측치: C 47.66, H 1.70, N 11.82, F 5.84, Cl 10.16. m.p. = 171.9-173.6 °C.

<150>

j. (3-플루오로-피리딘-2-일)-메틸아민



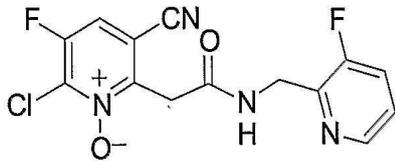
<151>

<152>

(3-플루오로-피리딘-2-일)-메틸아민 디하이드로클로라이드(1.313 g, 6.60 mmol)(WO 00/75134 A1; *Chem. Pharm. Bull.* 33:565, 1985)는 에테르(6 mL)와 2.5 M NaOH(5 mL; 12.5 mmol) 사이에서 분리시켰다. 수용성 층(대략 pH 8)을 DCM(4 x 20 mL)으로 추출하였다. 다음으로 수용성 층을 2.5 M NaOH로 pH ~12가 되도록 하고 DCM(2 x 20 mL)으로 추출하여, DCM과 에테르 층을 결합시키고, 건조(2 x Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)시키고, 30°C 이상에서 회전 증발 하에 농축하여 선명하고 어두운 갈색 오일(780 mg, 94%)로서 표제 화합물의 유리 염기를 수득하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.38(dt, 1H), 7.39-7.32(m, 1H), 7.24-7.17(m, 1H), 4.06(d, 2H), 1.83(br s, 2H).

<153>

k. 2-(6-클로로-3-시아노-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일)-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드



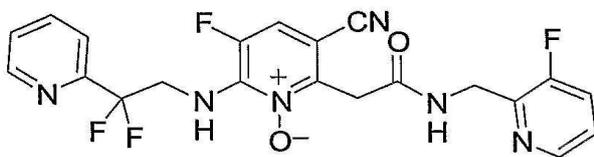
<154>

<155>

상기 단계에서 준비한 바와 같은 DCM(35 mL) 및 CH<sub>3</sub>CN(5 mL) 중의 (3-플루오로-피리딘-2-일)-메틸아민(698 mg, 5.53 mmol)의 균질한 용액을 실시예 1i에서 제조한 바와 같은 대기 하의 rt에서 CHCl<sub>3</sub>(10 mL) 중의 (6-클로로-3-시아노-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일)-아세트산 4-니트로-페닐 에스테르(1.801 g, 5.12 mmol)의 혼합물에 첨가하였다. 다음으로 반투명한 호박색의 용액이 되는 시점에서 플라스크에 뚜껑을 덮어, 혼합물을 10시간 동안 rt에서 교반하였다. [NMR은 (3-플루오로-피리딘-2-일)-메틸아민 남김 없이 표제 화합물로 85% 변환을 나타내었다.] 10 시간 반응 후, 추가의 (3-플루오로-피리딘-2-일)-메틸아민(68 mg, 0.53 mmol)을 첨가하고, 반응을 추가의 12 시간 동안 교반한 다음 회전 증기에 의해 농축시키고 EtOAc로 전-평형화된 실리카 속성 컬럼에 직접 로딩하기에 적절한 반투명한 호박색의 용액(~15 mL)을 수득하였다. EtOAc에 의한 용리는 회색이 도는 흰색의 고체(1.29 g, 74%)로서 표제 화합물을 제공하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.36(dt, 1H), 7.55(br s, 1H), 7.44-7.36(m, 1H), 7.41(d, 1H), 7.30-7.23(m, 1H), 4.66(dd, 2H), 4.20(s, 2H).

<156>

l. 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드



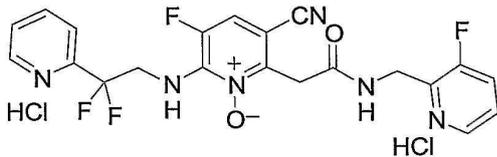
<157>

<158>

상기 단계에서 준비한 바와 같은 2-(6-클로로-3-시아노-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일)-N-(3-플루오로-피리딘-

2-일메틸)-아세트아미드(1.156 g, 3.42 mmol), 2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아민(651mg, 4.12 mmol)(*J. Med. Chem.* 46:461, 2003; *Chem. Pharm. Bull.* 48:982, 2000), DIPEA(622  $\mu$ L, 3.76 mmol), 및 DMSO-d<sub>6</sub>(2.8 mL)의 혼합물을 2 시간 동안 100°C에서 대기 하에 교반하였다. 이번에는 정제하지 않은 반응물의 NMR은 ~95% 변환을 보였다. 다음으로 정제하지 않은 반응물을 4:1 EtOAc/아세톤으로 전-평형화된 실리카 속성 컬럼(600 mL 건조 실리카 겔)으로 로딩하고, 4:1 → 3:1 EtOAc/아세톤으로 용출하여 베이지 색의 고체(935 mg, 59%)로서 표제 화합물을 수득하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.65 (m, 1H), 8.31(dt, 1H), 7.99(m, 2H), 7.83(td, 1H), 7.67(m, 1H), 7.42(m, 1H), 7.36(m, 1H), 7.31-7.20(m, 2H), 4.63(dd, 2H), 4.55(dt, 2H), 4.15(s, 2H).

<159> m. 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 디하이드로클로라이드



<160>

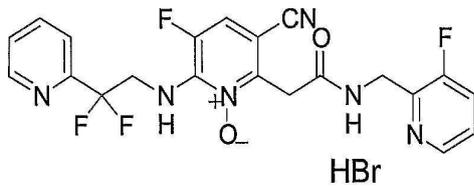
<161> 절차 A

<162> 상기 단계에서 준비한 바와 같은 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드(920 mg, 2.00 mmol)를 적절한 열을 가해 건조 CH<sub>3</sub>CN(42 mL)에 용해시켰다. 이 따뜻한 균질한 용액에 0.202 M HCl/CH<sub>3</sub>CN(21 mL; 4.24 mmol HCl)의 용액을 교반하면서 대기 하에 한 부분에서 첨가하였다. (0.202 M HCl/CH<sub>3</sub>CN 용액은 최종 부피 47.7 mL로 건조 CH<sub>3</sub>CN을 함유하는 용기의 중량 눈금 실린더로 건조 HCl 가스의 쉬운 버블링에 의해 형성된다.) 30분 이내에 형성하기 시작하는 결정체를 갖는 균질한 용액을 뚜껑을 덮어 rt에 하룻밤 동안 두었다. 결정체 형성이 완성된 후, 호박색의 상등액을 버리고, 결정체를 건조 CH<sub>3</sub>CN(20 mL)으로 교반하고 용액을 버린 다음, 결정체를 CH<sub>3</sub>CN(20 mL) 준제 하에 플라스크로부터 발취하고 여과하였다. 다음으로 결정체를 진공 하에 잠시 건조시키고, 모르타르 및 막자로 분말화하고, 하룻밤 동안 진공 하에 건조시켜, 하나의 수확물에서 밝은 분홍색 결정형의 모노하이드레이트(612.3 mg, 57%)로서 표제 화합물을 제공하였다. <sup>1</sup>H-NMR(300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  8.82(d, 1H), 8.65(m, 1H), 8.51(dt, 1H), 8.10-8.00(m, 2H), 7.80(d, 1H), 7.77(td, 1H), 7.60(m, 1H), 4.89(d, 2H), 4.57(dt, 2H), 4.15(s, 2H). LC/MS(ESI): 중량 계산치 유리 염기 460.1, 실측치 461.1(MH)<sup>+</sup>. Elem. Anal. Calc. 유리 염기에 대해서 · 2.04 HCl · 1.07 H<sub>2</sub>O · 0.045 CH<sub>3</sub>CN: C, 45.57; H, 3.68; N, 15.23; Cl, 13.02. 실측치: C, 45.47; H, 3.40; N, 15.1; Cl, 13.02. Karl Fischer 수분 %: 3.46.

<163> 절차 B

<164> 8.0 mL 아세토니트릴 중의 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드의 400 mg 현탁액을 오일 베스에서 교반하면서 75°C로 가열시켰다. 고체는 72°C에서 녹기 시작하였고, 75°C에서 완전하게 용해되어 노란색의 용액을 형성하였다. 혼합물을 오일 베스에서 약 53°C로 천천히 냉각시켰다. 아세토니트릴 0.3 mL 중의 염산(37%, ACS 시약, ca. 9.8 M) 용액 0.2 mL을 혼합물에 교반하면서 한방울씩 떨어뜨렸다. 침전은 거의 즉시 형성되었다. 혼합물을 강하게 교반하면서 상온으로 냉각시켰다. 혼합물을 상온으로 냉각시켰다. 혼합물을 하룻밤 동안 냉동고에 두었다. 생성 슬러리를 여과하고 냉각된 아세토니트릴의 최소량으로 세정하였다. 수득된 고체를 모르타르 및 막자로 갈고 하룻밤 동안 25°C에서 진공 건조시켜 흰색의 결정형(0.45 g, 94%)을 수득하였다: <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  8.78(dd, J=1.14, 5.77 Hz, 1H), 8.60(dm, J=4.18 Hz, 1H), 8.46(dt, J=1.16, 8.70 Hz, 1H), 8.02(m, 1H), 7.97(dt, J=1.68, 7.81 Hz, 1H), 7.77(d, J=11.98 Hz, 1H), 7.71(td, J=7.95, 0.99 Hz, 1H), 7.53(dd, J=4.91, 7.59 Hz, 1H), 4.86(d, J=0.94 Hz, 2H), 4.54(t, J=13.90 Hz, 2H), 4.12(s, 2H). LC/MS(APCI): 중량 계산치 유리 염기 460.1, 실측치 460.9(MH)<sup>+</sup>. 유리 염기 · 2HCl · H<sub>2</sub>O에 대한 원소 분석: 계산치: C, 45.75; H, 3.66; N, 15.24; Cl, 12.86; H<sub>2</sub>O, 3.27. 실측치: C, 45.63; H, 3.34; N, 15.11; Cl, 13.06. Karl Fischer 수분 %: 3.15.

<165> n. 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 모노하이드로브로마이드



<166>

<167> 40 mL 아세트니트릴 중의 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드의 2.0 g 현탁액을 오일 베스에서 교반하면서 75°C로 가열시켰다. 고체는 72°C에서 녹기 시작하였고, 75°C에서 완전하게 용해되어 노란색의 용액을 형성하였다. 혼합물을 오일 베스에서 약 53°C로 천천히 냉각시켰다. 아세트니트릴 2 mL 중의 브롬화수소산(48%, ACS 시약, ca. 8.84 M) 용액 0.59 mL을 혼합물에 교반하면서 한방울씩 떨어뜨렸다. 침전은 거의 즉시 형성되었다. 혼합물을 강하게 교반하면서 상온으로 냉각시켰다. 혼합물을 하룻밤 동안 냉동고에 두었다. 생성 혼합물을 여과하고 냉각된 아세트니트릴의 최소량으로 세정하였다. 수득된 고체를 모르타르 및 막자로 갈고 2 시간 동안 78°C에서 진공 건조시켜 희미한 노란색의 결정형(2.11 g, 86%)을 수득하였다: <sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.76(dd, J=1.12, 5.71 Hz, 1H), 8.60(dm, J=4.73 Hz, 1H), 8.42(dt, J=1.11, 8.72 Hz, 1H), 8.00(m, 1H), 7.96(dt, J=1.64, 7.79 Hz, 1H), 7.77(d, J=11.97 Hz, 1H), 7.70(td, J=7.93, 0.87 Hz, 1H), 7.52(dd, J=4.98, 7.45 Hz, 1H), 4.85(s, 2H), 4.54(t, J=14.05 Hz, 2H), 4.12(s, 2H). LC/MS(APCI): 중량 계산치 유리 염기 460.1, 실측치 461.0(MH)<sup>+</sup>. 유리 염기 · 1.2HBr · 0.6H<sub>2</sub>O에 대한 원소 분석: 계산치: C, 44.38; H, 3.26; N, 14.79; Br, 16.87; H<sub>2</sub>O, 1.90. 실측치: C, 44.48; H, 3.08; N, 14.71; Br, 17.21. Karl Fischer 수분 %:1.99.

<168> 실시예 2

<169> 정제 제조

<170> 활성 화합물, 2-[3-시아노-6-(2,2-디플루오로-2-피리딘-2-일-에틸아미노)-5-플루오로-1-옥시-피리딘-2-일]-N-(3-플루오로-피리딘-2-일메틸)-아세트아미드 디하이드로클로라이드를 각각 25.0, 50.0, 및 100.0 mg을 함유하는 정제를 하기와 같이 제조된다:

<171> 활성 화합물 25-100 mg을 함유하는 용량을 위한 정제

<172> 활성 화합물, 셀룰로오스, 및 옥수수 전분의 부분 모두를 혼합하고 10% 옥수수 전분 페이스트로 과립화한다. 생성 과립을 체로 치고, 건조하고 옥수수 전분의 잔여물 및 스테아린산 마그네슘으로 간다. 다음으로 생성 과립을 정제 당 활성 성분을 각각 25.0, 50.0, 및 100.0 mg 함유하는 정제로 압축시킨다.

<173> 실시예 3

<174> 정맥용 용액 제조

<175> 상기-기재한 실시예 1의 활성 화합물의 정맥용 제형은 하기와 같이 제조된다:

<176>	활성 화합물	0.5-10.0 mg
<177>	구연산 나트륨	5-50 mg
<178>	시트르산	1-15 mg
<179>	염화 나트륨	1-8 mg
<180>	주사용 수(USP)	1 mL가 되기에 충분량

<181> 상기 양을 이용하여, 활성 화합물을 상온에서 앞서 준비된 주사용 수(USP) 중의 염화나트륨, 시트르산, 및 구연산 나트륨의 용액에 용해시켰다(참조: United States Pharmacopeia/National Formulary for 1995, published by United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Maryland (1994)의 1636 페이지).

<182> 실시예 4

<183> 정제된 효소의 생체 내 저해

<184> 시약: 모든 염 버퍼는 시그마 화학 회사(St. Louis, MO)에서 구입하였고, 입수 가능한 최상의 순도를 이용하였다.

<185> 인간  $\alpha$ -트롬빈은 효소 연구 공장(South Bend, Indiana)에서 구입하였다.

<186> 색원체 기질에 의한 동역학 분석

<187> 화합물을 405 nm에서 모니터링되는 파라-니트로아닐린을 이용하는 동역학 분석으로 트롬빈에 대한 그들의 저해 활성을 측정하였다. 이용된 분석 버퍼는 50 mM HEPES, pH 7.5, 200 mM NaCl, 및 신선한 0.05% n-옥틸  $\beta$ -d-글루코피라노사이드이다. DMSO는 최종 농도 4%로 존재하였고, 기질 및 저해 화합물 저장 용액으로부터 제거되었다. 96-웰의 낮은 결합 폴리스티렌 플레이트에, 분석 용액 중의 기질 280  $\mu$ L를 37°C에서 15분 동안 DMSO 중의 10  $\mu$ L 테스트 화합물과 함께 전배양하여,  $K_i$ 로 일괄되는 최종 테스트 화합물 농축을 수득하였다. 반응을 10  $\mu$ L 프로테아제의 추가로 시작하고, 기질의 단백질 가수 분해의 절단에 기인한 흡수의 증가를 Molecular Devices Spectramax 340 플레이트리더기로 37°C, 405 nm에서 역동학적으로 모니터링하였다. 최초의 속도를 반응의 최초의 선 부분의 분석으로 측정하였다.  $v_o$  = 저해제가 없는 속도이며,  $v_i$  = 시작된 속도라 할 경우,  $v_o/v_i$  대 저해제 농축의 플랏을 선형회귀 분석선에 맞추고,  $IC_{50}$ 을 기울기의 역수로부터 측정하였다.  $K_i$ 를 분석을 위하여: S는 분석에서 기질 농도이며,  $K_m$ 은 기질에 대한 미카엘리스 상수(Michaelis constant)를 나타내는,  $K_i = IC_{50} \times K_i$  인자, 또는  $K_i = IC_{50} \times (1/(1 + [S]/K_m))$ (Cheng Y and Prusoff WH (1973) *Biochem Pharmacol* 22: 3099-3108)의 특정한  $K_i$  인자를 이용하는  $IG_{50}$ 으로부터 계산하였다.

<188> 트롬빈 분석은 기질 SucAAPR pNA(Bacliem L- 1720, [S] = 최종 100  $\mu$ M,  $K_m$  = 320  $\mu$ M,  $K_i$  인자 = 0.76)를 통합하였다. DMSO(10.7 mM) 중의 기질을 분석 버퍼 100-배로 희석하여 최종 100  $\mu$ M이 되게 하였다. 인간  $\alpha$ -트롬빈(효소 연구 공장 HT1002a)을 분석 버퍼로 1500-배 희석하여 최종 분석 농도 1.1 nMD이 되게 하였다.

<189> 결과는 실시예 1의 화합물이 9.8 내지 1.1 nM의 인간 트롬빈에 대한  $K_i$  값을 갖는다는 것을 가르킨다.

<190> 본 발명에 기재된 전체 내용은 조건, 제형, 및 본 발명 또는 그의 임의의 구체적인 예의 관점에 영향을 미치지 않는 다른 파라미터의 광범위하고 동등한 범위 이내에서 동일하게 수행될 수 있다는 것은 당업자들에게 이해될 것이다. 본원에 기재된 모든 특허 및 공개는 그들의 전체로서 본원에 참조로서 완전히 통합된다.