(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년03월04일
(11) 등록번호 10-1237296
(24) 등록일자 2013년02월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 491/04 (2006.01) *A61K 31/4353* (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-7015234
(22) 출원일자(국제) 2009년01월08일
심사청구일자 2010년07월09일
(85) 번역문제출일자 2010년07월09일
(65) 공개번호 10-2010-0090808
(43) 공개일자 2010년08월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2009/030374
(87) 국제공개번호 WO 2009/089312
국제공개일자 2009년07월16일
(30) 우선권주장
61/020,520 2008년01월11일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2004052847 A2*
WO2008008882 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

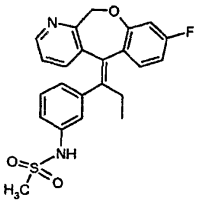
(73) 특허권자
일라이 릴리 앤드 캄파니
미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포레이트 센터
(72) 발명자
카슨, 매튜, 윌리엄
미국 46285 앤디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포레이트 센터 일라이 릴리 앤드 컴퍼니
콜란, 마이클, 조셉
미국 46285 앤디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포레이트 센터 일라이 릴리 앤드 컴퍼니
(74) 대리인
김영, 양영준

전체 청구항 수 : 총 4 항 심사관 : 이예리

(54) 발명의 명칭 **류마티스성 관절염의 치료를 위한 글루코코르티코이드 수용체 조절제로서의 (E)-N-{3-[1-(8-플루오로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄술폰아미드**

(57) 요 약

본 발명은 하기 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염; 및 화합물 (I)을 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 조성물을 제공하고, 염증성 또는 면역성 장애의 치료가 필요한 환자에게 유효량의 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 염증성 또는 면역성 장애의 치료 방법을 개시한다.



(I)

특허청구의 범위

청구항 1

(E)-N-{3-[1-(8-플루오로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄술폰아미드인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 2

제1항에 있어서, (E)-N-{3-[1-(8-플루오로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄술폰아미드인 화합물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 따른 화합물 또는 염을 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제와 함께 포함하는, 류마티스성 관절염, 골관절염, 류마티스성 열, 천식, 알레르기성 비염, 전신성 홍반성 루푸스, 만성 폐쇄성 폐 질환, 크론 질환 (Crohn's disease), 염증성 장 질환 또는 궤양성 대장염의 치료를 위한 제약 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 따른 화합물 또는 염을 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제와 함께 포함하는, 류마티스성 관절염의 치료를 위한 제약 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 스테로이드성 글루코코르티코이드에 반응하는 염증성 및 면역성 장애의 치료 또는 예방을 위한 치료제, 상기 치료제를 포함하는 제약 조성물, 환자에서 염증성 및 면역성 장애를 치료 또는 예방하는 방법, 및 상기 치료제의 합성에 유용한 중간체 및 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 천연 및 합성 스테로이드성 글루코코르티코이드는 급성 및 만성의 염증성 및 면역성 장애, 예컨대 류마티스성 관절염, 골관절염, 류마티스성 열, 천식, 알레르기성 비염, 전신성 홍반성 루푸스, 만성 폐쇄성 폐 질환, 크론 질환 (Crohn's disease), 염증성 장 질환 및 궤양성 대장염의 치료를 위해 50년 이상에 걸쳐 널리 사용되어 왔다. 그러나, 글루코코르티코이드의 사용은 극심하면서 때때로 비가역적인 부작용, 예컨대 골 손실/골다공증, 고혈당증, 당뇨병, 고혈압, 녹내장, 근위축증, 쿠싱 증후군 (Cushing's syndrome) 및 정신병을 종종 수반한다. 따라서, 스테로이드성 글루코코르티코이드의 유익한 효과를 갖되 수반되는 부작용의 가능성 또는 발생률은 감소된 대안 요법의 필요성은 여전하다.

[0003] 글루코코르티코이드는 글루코코르티코이드 수용체 (GR)와의 복합체 형성 후에 유전자 전사를 조절한다. 글루코코르티코이드 결합에 이어, GR-글루코코르티코이드 복합체는 세포 핵으로 전위되며, 이때 상기 복합체는 특정 유전자의 프로모터 부위에서 글루코코르티코이드 호르몬 반응 요소 (GRE)에 결합한다. 이후, GR-글루코코르티

코이드/GRE 복합체는 근접하게 위치한 유전자의 전사를 활성화(전사활성화)시키거나 억제한다. 다르게는, GR-글루코코르티코이드 복합체는 DNA 결합에 관여하지 않는 과정에 의해 유전자 전사를 음성적으로 조절할 수 있다. 전사억제로 지칭되는 이 과정에서, GR-글루코코르티코이드 복합체는 핵으로 유입되어 (단백질-단백질 상호작용을 통해) 다른 전사 인자들과 직접적으로 상호작용하여, 유전자 전사 및 이에 따른 단백질 발현을 유도하는 그들의 능력을 억제한다.

[0004] 스테로이드성 글루코코르티코이드의 대체물로서 적합한 GR 리간드에 대한 조사는, 여타 생리학적 과정을 매개하는 다른 스테로이드 호르몬 수용체, 예를 들어 안드로겐 수용체 (AR), 미네랄로코르티코이드 수용체 (MR) 및 프로게스테론 수용체 (PR)가 GR과 상동성인 리간드 결합 도메인을 갖는다는 점으로부터 방해받는다. 이에 따라, GR 리간드는 그러한 다른 수용체와의 교차 반응성에 대한 잠재성을 갖는다. 따라서, 스테로이드성 글루코코르티코이드의 대체물의 요구되는 특성은, 대체물이 다른 스테로이드 호르몬 수용체에 비해 높은 친화성으로 GR에 결합하는 것이다.

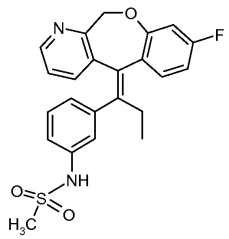
[0005] 최근의 연구는, 글루코코르티코이드의 소염 효과가 DNA로의 GR 결합이 부재하는 경우에 유지될 수 있음을 입증하였다. 따라서, GR 단백질-단백질 상호작용에 의해 주로 매개되는 글루코코르티코이드 작용 (예를 들어, 전사억제)의 메카니즘은 소염성 반응을 유도하기에 충분한 것으로 판단된다. 또한, 글루코코르티코이드 요법의 수많은 부작용 (예를 들어, 고혈당증, 당뇨병, 녹내장 및 근위축증)은, DNA로의 GR 결합에 따른 전사활성화 메카니즘에 의해 주로 매개되는 것으로 판단되고 있다. 따라서, GR-매개 전사활성화로부터 GR-매개 전사억제를 구별할 수 있는 작용물질이 특히 바람직하다. 또한, 다른 스테로이드 호르몬 수용체의 전사 활성을 조절 (즉, 효능 작용, 부분적인 효능 작용, 부분적인 길항 작용 또는 길항 작용)할 수 있는 제한된 능력을 나타내는 작용물질이 특히 바람직하다.

[0006] 따라서, 본 발명의 목적은 다른 스테로이드 호르몬 수용체에 비해 높은 친화성으로 GR에 결합하는 작용물질을 제공하는 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명의 목적은 AR, MR 및 PR에 비해 10배 넘게 높은 친화성으로 GR에 결합하는 작용물질을 제공하는 것이다. 본 발명의 또다른 목적은 글루코코르티코이드 요법과 연관된 부작용을 유도하는 성향에 비해 강력한 소염 특성을 갖는 작용물질을 제공하는 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명의 목적은 골 손실 또는 골다공증을 유도하는 그의 경향에 비해 강력한 소염 특성을 갖는 작용물질을 제공하는 것이다. 본 발명의 또다른 목적은 다른 스테로이드 호르몬 수용체, 즉 AR, MR 및 PR의 활성을 조절하는 제한된 능력을 나타내는 작용물질을 제공하는 것이다.

[0007] GR 조절제는 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, WO 04/052847에는 미네랄로코르티코이드 수용체 또는 글루코코르티코이드 수용체 조절에 민감한 장애의 치료에 유용한 트리시클릭 스테로이드 호르몬 수용체 조절제 부류가 개시되어 있다. 놀랍게도, 본 발명자들은 WO 04/052847의 범주 내에서, 본원에 하기 화합물 (I)로서 제공되는 화합물을 선별함으로써, 스테로이드성 글루코코르티코이드에 반응하는 염증성 및 면역성 장애의 치료에 특히 유용함을 시사하는 예상치 못한 활성 프로파일을 갖는 신규 치료체가 확인되었음을 발견하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0008] 따라서, 본 발명은 하기 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다:



화합물 (I)

[0009]

[0010] ((E)-N-{3-[1-(8-플루오로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄술폰아미드)

[0011] 또다른 실시양태에서, 본 발명은 염증성 또는 면역성 장애, 특히 류마티스성 관절염의 치료 또는 예방이 필요한 환자에게 유효량의 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 장애의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 치료에 사용하기 위한 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다. 또한, 본 발명은 염증성 또는 면역성 장애, 특히 류마티스성 관절염의 치료 또는 예방에 사용하기

위한 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0012] 또다른 실시양태에서, 본 발명은 염증성 또는 면역성 장애, 특히 류마티스성 관절염의 치료용 의약의 제조를 위한 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도를 제공한다.

[0013] 또다른 실시양태에서, 본 발명은 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 바람직한 실시양태로서, 본 발명은 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제와 함께 포함하는, 류마티스성 관절염의 치료 또는 예방을 위한 제약 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 화합물 (I)의 합성을 위한 신규 중간체 및 방법을 제공한다.

[0014] 본 발명은 스테로이드성 글루코코르티코이드에 반응하는 염증성 및 면역성 장애의 치료 또는 예방을 위한 화합물 (I)의 용도를 제공한다. 이러한 장애로는, 예를 들어 류마티스성 관절염, 골관절염, 류마티스성 열, 천식, 알레르기성 비염, 전신성 홍반성 루푸스, 만성 폐쇄성 폐 질환, 크론 질환, 염증성 장 질환 및 궤양성 대장염이 포함된다. 화합물 (I)이 유용한 특정 장애는 류마티스성 관절염이다. 류마티스성 관절염 (RA)은, 전형적인 발명 연령이 30 내지 50세인 지속성 관절 윤활 조직 염증을 특징으로 하는 만성 장애이다. RA는 가장 흔한 형태의 염증성 관절염이며, 여성의 경우 상기 질환이 발생할 가능성이 남성의 2배이다

[0015] 또한, 염증성 및 면역성 장애의 치료 또는 예방을 위한 화합물 (I)의 사용은 글루코코르티코이드 요법과 전형적으로 연관된 부작용의 성향, 가능성 또는 발생률의 감소와 연관되는 것으로 판단된다. 글루코코르티코이드 요법의 한 부작용은 골 손실/골다공증 또는 글루코코르티코이드-유발성 골다공증 (GIOP)이다. GIOP는 약물-유발성 골다공증의 가장 통상적인 원인이며, 만성 (즉, 6개월이 넘도록 지속되는) 글루코코르티코이드 요법을 받는 환자들 중 50% 이하에서 발생하는 것으로 보고되었다. 특히, 화합물 (I)의 사용은 골 손실 또는 골다공증의 성향, 가능성 또는 발생률의 감소와 연관되는 것으로 판단된다.

[0016] 달리 정의되지 않는다면, 본 발명은 화합물 (I)의 제약상 허용되는 염뿐만 아니라 화합물 (I)의 유리 염기 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용매화물도 포함한다. 그러나, 화합물 (I)의 유리 염기가 바람직하다. 본원에서 사용된 용어 "제약상 허용되는 염"은 살아있는 유기체에게 실질적으로 무독성인 화합물 (I)의 염을 의미한다. 제약상 허용되는 염 및 그의 제조 방법의 예는 당업계에서 통상적이다. 예를 들어, 문헌 [Stahl et al., "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use", VCHA/Wiley-VCH, (2002)]; [Gould, P.L., "Salt selection for basic Drugs", International Journal of Pharmaceutics, 33: 201-217 (1986)]; 및 [Bastin et al. "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities", Organic Process Research and Development, 4: 427-435 (2000)]을 참조한다.

[0017] 본원에서 사용된 용어 "환자"는 인간 또는 비-인간 포유동물, 예컨대 개, 고양이, 소, 원숭이, 말 또는 양을 의미한다. 보다 구체적으로, 용어 "환자"는 인간을 의미한다. 본원에서 사용된 용어 "치료하는" (또는 "치료하다" 또는 "치료")은 기존 증상 또는 장애의 진행 또는 심각성을 방해, 예방, 방지, 지연, 중지 또는 역전시키는 것을 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "예방하는" (또는 "예방하다" 또는 "예방")은 증상 또는 장애의 발생 또는 출현을 방해, 방지 또는 억제하는 것을 의미한다.

[0018] 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염은 투여를 위해 제약 조성물의 일부로서 제제화될 수 있다. 따라서, 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제와 함께 포함하는 제약 조성물은 본 발명의 중요한 실시양태이다. 제약 조성물 및 그의 제조 방법의 예는 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌 [REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY, A. Gennaro, et al., eds., 19th ed., Mack Publishing (1995)]를 참조한다. 화합물 (I)을 포함하는 예시적인 조성물은, 예를 들어 1% 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 0.25% 폴리소르베이트 80 및 0.05% 안티폼 (Antifoam) 1510™ (다우 코닝 (Dow Corning))을 포함하는 현탁액 상태의 화합물 (I); 및 0.01 N HCl 중의 0.5% 메틸셀룰로스, 1% 나트륨 라우릴 술페이트 및 0.1% 안티폼 1510을 포함하는 현탁액 상태의 화합물 (I)을 포함한다. 본 발명의 바람직한 조성물은 캡슐제 또는 정제로 제제화된 화합물 (I) 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

[0019] 화합물 (I), 또는 화합물 (I)을 포함하는 조성물은 화합물 (I)을 생체이용가능하게 하는 임의의 경로, 예를 들어 경구 및 비경구 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 화합물 (I), 또는 화합물 (I)을 포함하는 조성물은 경구, 피하, 근육내, 정맥내, 경피, 비내, 직장내, 구강내 등으로 투여될 수 있다. 별법으로, 화합물은 연속 주입에 의해 투여될 수 있다. 그러나, 경구 투여가 바람직한 투여 경로임을 이해한다.

[0020] 본원에서 사용된 용어 "유효량"은, 환자에게 단일 또는 다중 용량 투여시에 진단 또는 치료 중인 환자에서 목적

하는 효과를 제공하는 화합물 (I)의 양 또는 용량을 의미한다. 유효량은, 당업자로서의 담당 진단의가 다수의 인자, 예컨대 포유동물의 종; 그의 크기, 연령 및 생활 건강; 관련된 특정 질환; 질환의 정도 또는 중증도; 개별 환자의 반응; 투여되는 특정 화합물; 투여 방식; 투여되는 제제의 생체이용률 특성; 선택되는 투여 요법; 및 임의의 부수적인 약물의 사용을 고려함으로써 용이하게 결정할 수 있다.

[0021] 생물학적 활성:

[0022] 본원에서 사용된 "Kd"는 리간드-수용체 복합체에 대한 평형 해리 상수를 의미하고, "Ki"는 약물-수용체 복합체에 대한 평형 해리 상수를 의미하며 평형 상태에서 결합 부위의 절반에 결합하는 약물 농도를 나타내고, "IC_{50}"은 작용물질에 대해 가능한 최대 억제 반응의 50%를 생성하는 작용물질 농도 또는 별법으로, 수용체에 결합하는 리간드의 50%의 이탈을 생성하는 작용물질 농도를 의미하고, "EC_{50}"은 작용물질에 대해 가능한 최대 반응의 50%를 생성하는 작용물질 농도를 의미하고, "ED_{50}"은 작용물질에 대한 최대 반응의 50%를 생성하는, 투여된 치료제의 용량을 의미한다.

[0023] 핵 호르몬 수용체 결합 분석:

[0024] 인간 GR (글루코코르티코이드 수용체), AR (안드로겐 수용체), MR (미네랄로코르티코이드 수용체) 또는 PR (프로게스테론 수용체)을 과다발현하는 인간 배아 신장 HEK293 세포로부터의 세포 용해물을, Ki 값을 측정하기 위한 수용체-리간드 경쟁 결합 분석에서 사용한다.

[0025] 간단히 말하면, 스테로이드 수용체 경쟁 결합 분석은 20 mM Hepes 완충액 (pH = 7.6), 0.2 mM EDTA, 75 mM NaCl, 1.5 mM $MgCl_2$, 20% 글리세롤, 20 mM 나트륨 몰리브데이트, 0.2 mM DTT (디티오트레이톨), 20 ㎍/mL 아프로티닌 및 20 ㎍/mL 류펩틴을 함유하는 완충액 중에서 수행한다. 전형적으로, 스테로이드 수용체 결합 분석은 방사성-표지된 리간드, 예컨대 GR 결합의 경우, 0.3 nM [^{3}H]-덱사메타손; AR 결합의 경우, 0.36 nM [^{3}H]-메틸트리에놀론; MR 결합의 경우, 0.25 nM [^{3}H]-알도스테론; 및 PR 결합의 경우, 0.29 nM [^{3}H]-메틸트리에놀론, 및 20 ㎍ 293-GR 용해물, 22 ㎍ 293-AR 용해물, 20 ㎍ 293-MR 용해물 또는 40 ㎍ 293-PR 용해물 (웰 당)을 포함한다. 분석은 전형적으로 96-웰 포맷으로 수행한다. 경쟁 시험 화합물을 약 0.01 nM 내지 10 μM 범위의 다양한 농도로 첨가한다. GR 결합의 경우, 500 nM 덱사메타손; MR 결합의 경우, 500 nM 알도스테론; 또는 AR 및 PR 결합의 경우, 500 nM 메틸트리에놀론의 존재 하에 비-특이적 결합을 측정한다. 결합 반응물 (140 ㎕)을 4 ℃에서 밤새 인큐베이션한 후, 70 ㎕의 저온 목탄-덱스트란 완충액 (50 mL의 분석 완충액 당 0.75 g의 목탄 및 0.25 g의 덱스트란 함유)을 각 반응물에 첨가한다. 플레이트를 오비탈 (orbital) 진탕기 상에서 8분간 4 ℃에서 혼합한다. 이후, 플레이트를 10분간 4 ℃에서 3,000 rpm으로 원심분리한다. 이후, 분취량의 결합 반응 혼합물 (120 ㎕)을 또다른 96-웰 플레이트로 옮기고, 175 ㎕의 왈락 옵티페이즈 하이세이프 (Wallac Optiphase Hisafe) 3™ 섬광액을 각 웰에 첨가한다. 플레이트를 밀봉하고, 오비탈 진탕기 상에서 강력 진탕시킨다. 2시간의 인큐베이션 후, 플레이트를 왈락 (Wallac) 마이크로베타 (Microbeta) 계수기에서 판독한다.

[0026] 상기 데이타를 이용하여, 추정된 IC_{50} 및 10 μM에서의 억제 백분율을 계산한다. GR 결합의 경우, [^{3}H]-덱사메타손; AR 결합의 경우, [^{3}H]-메틸트리에놀론; MR 결합의 경우, [^{3}H]-알도스테론; 또는 PR 결합의 경우, [^{3}H]-메틸트리에놀론에 대한 Kd를 포화 결합에 의해 측정한다. 쳉-프루소프 (Cheng-Prusoff) 방정식을 이용하여 화합물의 IC_{50} 값을 Ki로 전환시킨다.

[0027] 앞서 기재된 것들과 유사한 결합 분석 프로토콜이 당업자에 의해 쉽게 설계될 수 있다. 앞서 기재된 바와 본질적으로 같은 절차 후, 화합물 (I)은 GR 결합 분석에서 약 0.2 nM의 Ki, AR 결합 분석에서 약 6.7 nM의 Ki, MR 결합 분석에서 약 9.2 nM의 Ki, 및 PR 결합 분석에서 약 32 nM의 Ki (n = 7 실험의 평균값으로 보고된 값)을 나타냈다. 따라서, 화합물 (I)은 인간 GR의 강력한 리간드이며, 인간 MR, AR 및 PR 각각에 비해 약 15배 이상 높은 친화성으로 GR에 결합한다.

[0028] 본 발명의 화합물이 스테로이드 호르몬 수용체의 활성을 조절 (즉, 효능 작용, 부분적인 효능 작용, 부분적인 길항 작용 또는 길항 작용)하는 능력을 입증하기 위해, 핵 수용체 단백질 및 호르몬 반응 요소-리포터 유전자 구축물로 일시적으로 형질감염된 세포에서 표적 유전자 발현의 기능적 조절을 검출하는 생체분석을 수행한다. 기능적 분석에 사용되는 용매, 시약 및 리간드는 상업적 공급원으로부터 용이하게 입수할 수 있거나, 당업자에 의해 제조될 수 있다.

[0029] 핵 호르몬 수용체 기능 조절 분석:

[0030] 퓨진™ (Fugene™) 형질감염 시약을 이용하여 인간 배아 신장 HEK293 세포를 스테로이드 호르몬 수용체 및 리포터 유전자 플라스미드로 형질감염시킨다. 간단히 말하면, 바이러스 CMV (사이토메갈로바이러스) 프로모터를 사용하여, 루시퍼라제 리포터 cDNA의 상류에 2개 카피의 프로바신 (probasin) ARE 및 TK (티미딘 키나제) 프로모터를 함유하는 리포터 플라스미드를, 인간 안드로겐 수용체 (AR)를 구성적으로 발현하는 플라스미드를 갖는 HEK293 세포 내로 형질감염시킨다. 바이러스 CMV 프로모터를 사용하여, 루시퍼라제 리포터 cDNA의 상류에 2개 카피의 GRE 및 TK 프로모터를 함유하는 리포터 플라스미드를, 인간 글루코코르티코이드 리포터 (GR), 인간 미네랄로코르티코이드 리포터 (MR) 또는 인간 프로게스테론 수용체 (PR)를 구성적으로 발현하는 플라스미드로 형질감염시킨다. T150 cm 플라스크 내, 5% 목탄-스트리핑된 소 태아 혈청 (FBS)을 갖는 둘베코 개질 이글 배지 (DMEM)에서 세포를 형질감염시킨다. 밤새 인큐베이션 후, 형질감염된 세포를 트립신 처리하고, 96-웰 디쉬 내, 5% 목탄-스트리핑된 FBS를 함유하는 DMEM 배지에 플레이팅하고, 4시간 동안 인큐베이션한 후, 약 0.01 nM 내지 10 μM 범위의 다양한 농도의 시험 화합물에 노출시킨다. 분석을 위한 길항제 방식에서, 각 수용체를 위한 낮은 농도의 효능제를 배지에 첨가한다 (GR의 경우, 0.25 nM 덱사메타손; AR의 경우, 0.3 nM 메틸트리에놀론; PR의 경우, 0.05 nM 프로메게스톤; 및 MR의 경우, 0.05 nM 알도스테론). 시험 화합물과 함께 24시간 인큐베이션 후, 세포를 용해시키고, 표준 기술을 이용하여 루시퍼라제 활성을 측정한다.

[0031] 데이타를 4 파라미터-피트 로지스틱 곡선 피트에 피팅시켜 EC_{50} 값을 측정한다. 하기 기준 효능제에 의해 얻어진 최대 자극을 기준으로, 효능 (%) (포화된 최대 반응을 갖는 화합물) 또는 최대 자극 (%) (포화되지 않은 최대 반응을 갖는 화합물)을 측정한다: AR 분석의 경우, 100 nM 메틸트리에놀론; PR 분석의 경우, 30 nM 프로메게스톤; MR 분석의 경우, 30 nM 알도스테론; 및 GR 분석의 경우, 100 nM 덱사메타손. IC_{50} 값은 길항제 방식 분석 데이타를 이용하여 유사하게 결정할 수 있다. 또한, 억제율 (%)은 앞서 기재된 바와 같이, 효능제 단독의 존재 하에서의 반응을 기준으로 하여 측정할 수 있다.

[0032] 앞서 기재된 바와 본질적으로 같은 절차 후, 화합물 (I)은 다음과 같은 전사 활성화 프로파일을 나타냈다: GR의 경우, 약 1.8 nM의 EC_{50}을 갖는 약 44%의 효능; AR의 경우, 10 μM 초과의 EC_{50}을 갖는 약 4.4%의 효능; MR의 경우, 10 μM 초과의 EC_{50}을 갖는 약 11%의 효능; 및 PR의 경우, 10 μM 초과의 EC_{50}을 갖는 약 54%의 효능 (n = 4 또는 5 실험의 평균값으로 보고된 값).

[0033] 글루코코르티코이드 수용체-매개 전사억제 분석:

[0034] 1. 인간 피부 섬유아세포 CCD-39SK 세포에서 IL-1β-자극된 IL-6 생성:

[0035] 간단히 말하면, ATCC로부터 입수한 인간 피부 섬유아세포 CCD-39SK 세포 (20,000개 세포/웰)를 96-웰 플레이트 내, 10% FBS, 100 U/mL 페니실린, 100 ㎍/mL 스트렙토마이신 및 2 mmol/L L-글루타민이 보충된 무혈청 성장 배지에 시딩한다. 세포를 5% CO_2의 가습 챔버 (37 ℃)에서 유지시킨다. 시험 화합물을 최종 농도 약 4.65 pM 내지 4.64 μM 범위의 다양한 농도로 웰에 첨가한다. 0.1 μM의 덱사메타손을 양성 대조군으로서 사용한다. 시험 화합물 처리로부터 1시간 후, IL-1β를 1 ng/mL의 최종 농도로 첨가하고, 반응 혼합물을 밤새 인큐베이션한다. 각 웰로부터 10 ㎕의 상층액을 분리하고, ELISA 키트를 이용하여 IL-6 농도를 측정한다 (IL-6 농도는 450 nm에서의 흡광도를 판독함으로써 정량함).

[0036] 2. PMA-분화된 U937 세포에서 LPS-자극된 TNF-α 생성:

[0037] 10% FBS를 함유하는 완전 RPMI 1640 배지 중에서 인간 U937 전-단핵구 세포 (ATCC로부터 입수함)를 성장시킨다. 단핵구가 유착성 대식세포로 분화되도록, U937 세포를 칼슘으로 세척하고 (마그네슘 미함유), 20 nM 포르볼 12-미리스테이트-13-아세테이트 (PMA)를 함유하는 새로운 RPMI 배지 중에 밤새 재현탁시킨다. 분화 후, 96-웰 플레이트 내의 세포에 시험 화합물을 약 4.65 pM 내지 4.64 μM 범위의 다양한 농도로 첨가한다. 시험 화합물 처리로부터 1시간 후, LPS를 100 ng/mL의 최종 농도로 첨가하고, 반응 혼합물을 밤새 인큐베이션한다. 각 웰로부터 25 ㎕ 무세포 상층액을 또다른 96-웰 플레이트로 옮기고, ELISA 키트를 이용하여 TNF-α 생성을 측정한다 (TNF-α는 450 nm에서의 흡광도를 판독함으로써 정량함).

[0038] 앞서 기재된 바와 본질적으로 같은 절차 후, 화합물 (I)은 IL-6 및 TNF-α의 내인성 발현의 약 90% 이상의 최대 억제율을 유도한다 (각각, 약 8.5 및 21 nM의 IC_{50} 값을 가짐) (n = 15 실험 (I1-6 분석) 및 n = 4 실험 (TNF-α 분석)의 평균값으로 보고된 값).

[0039] 따라서, 화합물 (I)은 전구-염증성 단백질 IL-6 및 TNF-α의 내인성 생성의 강력하고 완전한 전사억제제이다 (약 90% 이상의 최대 억제율). 또한, 화합물 (I)은 GR/GRE-매개 유전자 전사의 유도에 있어서 단지 부분적인 효능제 활성을 나타낸다 (약 50% 이하의 최대 효능). 따라서, 화합물 (I)은 완전한 GR-매개 전사억제를 유도하면서 GR/GRE-매개 전사활성화를 부분적으로만 유도함으로써 특징적인 프로파일을 나타낸다. 또한, 다른 스테로이드 수용체들의 기능적 조절에 대한 효과를 조사하는 분석에서, 화합물 (I)은 AR, MR 및 PR에 의해 매개된 유전자 발현을 활성화시키는 데 있어서 제한된 활성을 나타낼 뿐이다.

[0040] 동물 모델:

[0041] 1. 카라기난-유도된 발 부종 (CPE) 모델

[0042] 카라기난은 동물에서 급성 염증성 반응을 유도할 수 있는 폴리사카라이드류이다. 부종, 통각과민 및 홍반을 비롯한 염증의 주요 징후는 주사 직후에 주사 부위에서 나타난다. CPE 모델은 알려져 있는 염증 모델이며, 이를 이용하여 글루코코르티코이드 수용체 리간드의 소염 효과를 평가할 수 있다.

[0043] 화합물 (I)의 소염 효과를 평가하기 위해, 0.5% 카르복시메틸 셀룰로스 및 0.25% 트윈 (Tween) 80을 포함하는 비히클로 화합물을 제제화한 후, 수컷 스프래그-돌리 (Sprague-Dawley) 래트 (180-200 g)에게 위관 영양법을 통해 경구 투여한다. 비교를 위해, 프레드니솔론을 동일한 비히클로 경구 투여할 수 있다. 2시간 후, 0.9% 무-발열원 염수 50 ㎕ 중의 1% 카라기난을 우측 뒷발의 발바닥 아래 부위에 주사한다. 카라기난 주사로부터 3시간 후, CO_2에 의해 래트를 안락사시킨다. 발을 분리한 후, 미량 천칭을 사용하여 칭량한다. 이후, 발 표면을 수회 베어 발을 절개한 다음, 냉동될 때까지 바로 액체 질소에 침지시킨다. 이후, 냉동된 발을 원심분리하여 삼출물을 추출한다. 이후, 염증성 반응 동안 생성되는 사이토카인인 IL-1β의 삼출물 수준을 사용설명서에 따라 ELISA를 이용하여 측정한다. 또한, 단백질 분석 키트를 이용하여 총 발 단백질을 측정하고, IL-1β의 절대 수준을 표준화시켜 ng IL-1β/mg 총 단백질의 농도 값을 산출한다.

[0044] 화합물 (I)은 카라기난-유도된 발 중량 증가를 약 2.8 mg/kg의 ED_{50}으로 억제하였다. 화합물 (I)은 또한, IL-1β의 발 삼출물 수준을 약 3.2 mg/kg의 ED_{50}으로 감소시켰다. 반대로, 상기 모델에서 프레드니솔론 처리는 발 중량 증가를 약 6.6 mg/kg의 ED_{50}으로 억제하였고, IL-1β 수준을 약 1 mg/kg 미만의 ED_{50}으로 감소시켰다 (ED_{50} 값은 5개 개별 측정값의 평균값에 해당함).

[0045] 2. 혈청 오스테오칼신 분석

[0046] 골 손실/골다공증 및 그로 인한 증가된 골절 위험은 글루코코르티코이드 요법으로부터 발생하는 통상적이며 유의한 부작용이다. 글루코코르티코이드-유발성 골다공증은, 적어도 부분적으로는 골 형성의 억제로부터 기인하는 것으로 판단된다. 골 합성의 생물학적 마커인 혈청 오스테오칼신의 측정은 골에서의 글루코코르티코이드 요법의 부작용을 평가하기 위한 알려진 도구이다

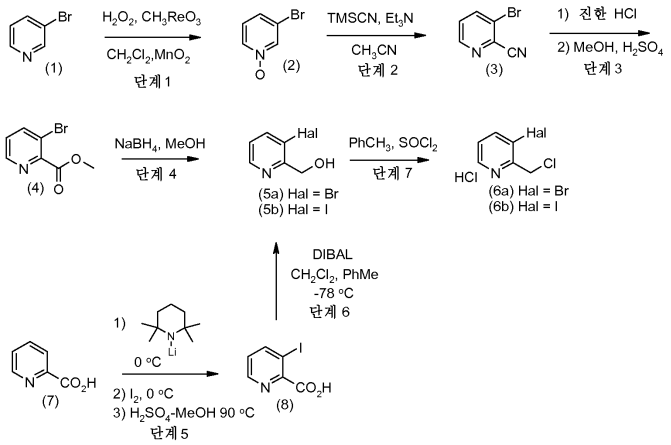
[0047] 골 형성에 대한 화합물 (I)의 효과를 평가하기 위해, 화합물 (I)을 5% 카르복시메틸 셀룰로스 및 0.25% 트윈 80을 포함하는 비히클로 제제화하고, 생후 16주 수컷 스위스-웹스터 (Swiss-Webster) 마우스 (할란 인더스트리즈 (Harlan Industries), 미국 인디애나폴리스)에게 위관 영양법을 통해 7일간 경구 투여한다. 비교를 위해, 프레드니솔론을 동일한 비히클로 경구 투여한다. 최종 투여로부터 24시간 후, 혈청을 수집하고, 96-웰 포맷으로 변형된 경쟁적 방사성면역분석법을 이용하여 오스테오칼신 수준을 측정한다. 간단히 말하면, 2.5 ㎕ 마우스 혈청, 2.5 ㎕ 염소 항-마우스 오스테오칼신, 0.625 ㎕ 정상 염소 혈청 및 119.375 ㎕ RIA 완충액 (0.1225 M NaCl, 0.01 M NaH_2PO_4, pH 7.4, 0.025 M 테트라 나트륨 EDTA, 0.1% (w/v) BSA 및 0.1% (w/v) 트윈-20)을 함유하는 멀티스크린™ (Multiscreen™) 플레이트의 각 웰을 오비탈 진탕기 상에서 18시간 동안 4℃ 에서 80 rpm으로 인큐베이션한다. 각 웰에 25 ㎕ RIA 완충액 중의 0.2 μCi/mL [^{125}I] 마우스 오스테오칼신을 첨가한 후, 플레이트를 오비탈 진탕기 상에서 24시간 동안 4 ℃에서 80 rpm으로 인큐베이션한다. 당나귀 항-염소 IgG (1:30) (0.2 M Na_2HPO_4, pH 7.4, 5% (w/v) 폴리에틸렌 글리콜, 125 ㎕/웰 중)을 첨가함으로써 복합체를 25 ℃에서 2시간 동안 침전시킨다. 침전물을 진공 여과에 의해 수집하고, 100 ㎕/웰 dH_2O로 1회 세척한다. 여과기를 펀칭하고, 감마 계수기 상에서 방사능을 정량한다. 여과기 상에서 시험 샘플로부터 검출된 방사능은 혈청 오스테오칼신 농도에 반비례한다. 정제된 마우스 오스테오칼신의 표준 곡선을 이용하여 시험 샘플 중의 혈청 오스테오칼신의 농도를 계산한다.

[0048] 래트 CPE 모델에서 측정된 ED_{50} 값에 근접하는 일일 투여량들의 비교시 (화합물 (I)의 경우, 3 mg/kg/일; 및 프레드니솔론의 경우, 10 mg/kg/일), 화합물 (I)은 프레드니솔론의 경우보다 더 낮은 혈청 오스테오칼신 수준 감소를 유도하였다.

[0049] 화합물 (I)의 제조 방법은 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, WO 04/052847은 이용될 수 있는 일반 절차를 제공한다. 또한, WO 05/066161은 이용될 수 있는 추가적인 일반 절차를 제공한다. 하기 반응식, 중간체 및 실시예는 본 발명을 추가로 예시하며, 화합물 (I)의 전형적인 합성을 나타낸다. 시약 및 출발 물질은 당업자가 용이하게 입수할 수 있거나, 당업자가 용이하게 합성할 수 있다. 반응식, 중간체 및 실시예는 제한이 아닌 예시를 통해 설명되며, 당업자에 의해 변형이 가해질 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명의 화합물의 명칭은 일반적으로, 켐드로우 울트라™ (ChemDraw Ultra™) 버전 7.0.1로부터 얻어진다.

[0050] 본원에서 사용된 "DMSO"는 디메틸 술폭시드를 의미하고; "DIAD"는 디이소프로필 아조디카르복실레이트를 의미하고; "ADDP"는 1,1'-(아조디카르보닐)디피페리딘을 의미하고; "THF"는 테트라히드로푸란을 의미하고; "DMF"는 디메틸 포름아미드를 의미하고; "TMSCN"은 트리메틸실릴 시아니드를 의미하고; "TEA" 또는 "Et_3N"은 트리에틸 아민을 의미하고; "DME"는 1,2-디메톡시에탄을 의미하고; "AcOEt"는 에틸 아세테이트를 의미하고; "pyr"은 피리딘을 의미하고; "MsCl"은 메탄술포닐 클로라이드를 의미하고; "Et_2NH"는 디에틸 아민을 의미하고; "MeOH"는 메탄올을 의미하고; "$PhCH_3$"은 톨루엔을 의미하고; "PhH"는 벤젠을 의미하고; "PBu_3"은 트리부틸포스핀을 의미하고; "PPh_3"은 트리페닐포스핀을 의미하고; "dppf"는 1,1'-비스(디페닐포스파닐) 페로센을 의미하고; "NaO-t-Bu"은 나트륨 tert-부톡시드를 의미한다.

[0051] <반응식 I>



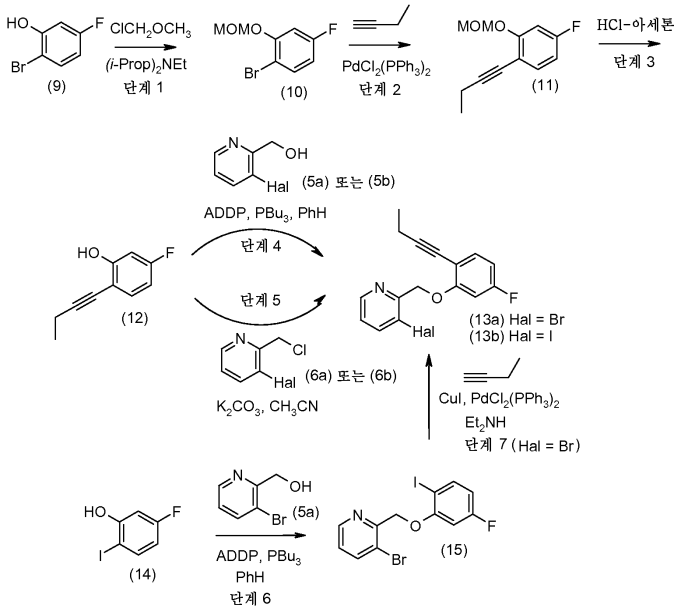
[0052]

[0053] 반응식 I에는 피리딘 중간체 (5) 및 (6)의 제법이 기재되어 있다. 반응식 I의 단계 1에서, 3-브로모피리딘 (1)을 3-브로모-피리딘-N-옥시드 (2)로 산화시킨다. 반응식 I의 단계 2에서, 시아니드 첨가에 의해 3-브로모-피리딘-2-카르보니트릴 (3)이 생성된다. 화학식 (3)의 니트릴을 카르복실산으로 가수분해하고, 산 촉매작용에 의해 화학식 (4)의 에스테르로 에스테르화시킨다. 반응식 I의 단계 4에서, 나트륨 보로하이드라이드를 사용하여 에스테르를 화학식 (5a)의 피리딜메탄올로 환원시킨다.

[0054] Hal = I인 화학식 (5b)의 피리디닐메탄올은 반응식 I의 단계 5에 제시된 바와 같이, 피콜린산 (7)의 2가 음이온을 형성한 후에 요오드에 의한 친전자성 켄칭에 의해 3-요오도피콜린산 (8)을 형성함으로써 얻어진다. 단계 6에서, 디이소부틸알루미늄 하이드라이드를 사용하여 화학식 (8)의 산을 환원시켜 화학식 (5b)의 피리딜메탄올을 얻는다.

[0055] 반응식 I의 단계 7에서, 티오닐 클로라이드를 사용하여 화학식 (5a, b)의 알콜을 화학식 (6a, b)의 피리딜메틸 클로라이드로 정교화한다.

[0056] <반응식 II>



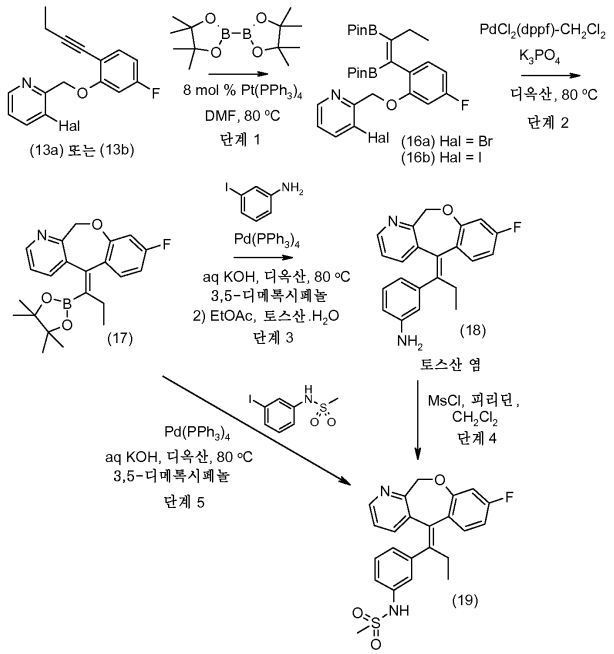
[0057]

[0058] 반응식 II에는 핵심 중간체 (13a, b)를 합성하기 위한 다양한 방법이 기재되어 있다. 반응식 II의 단계 1에서, 5-플루오로-3-브로모-페놀 (9)를 보호 처리하여 화학식 (10)의 메톡시메틸 (MOM) 에테르를 생성한다. 반응식 II의 단계 2에서, 화학식 (10)의 보호된 브로모페놀 및 1-부틴 사이의 소나가시라 (Sonagashira) 커플링에 의해 화학식 (11)의 아릴 알킨이 얻어진다. 디에틸아민 또는 트리에틸아민을 사용하여 반응을 수행할 수 있다. 아릴 브로마이드를 승온에서 (70 ℃) 커플링시키고, 아릴 요오다이드를 실온에서 커플링시킨다. 반응식 I의 단계 3에 제시된 바와 같이, HCl-아세톤을 사용하여 페놀을 탈보호 처리하여 화학식 (12)의 페놀을 생성한다. 별법으로, 페놀을 THP 에테르로서 보호 처리하고, 메탄올 중의 피리디늄 p-톨루엔술포네이트 (PPTS)를 사용하여 탈보호 처리하여 화학식 (12)의 페놀을 생성한다.

[0059] 반응식 II의 단계 4에서, 화학식 (12)의 알키닐 페놀 및 화학식 (5) 또는 (5b)의 피리딘메틸 알콜 사이의 미츠노부 (Mitsunobu) 반응에 의해 화학식 (13a, b)의 할로피리딜 아릴 알킨이 얻어진다. 여타 적합한 시약으로는 DIAD 및 트리페닐포스핀 (THF 중)이 포함된다. 별법으로, 단계 5에서, 아세토니트릴 중의 탄산칼륨을 사용하여 화학식 (12)의 페놀을 화학식 (6a) 또는 (6b)의 피리딘메틸 클로라이드에 의해 알킬화시킴으로써 화학식 (13a, b)의 할로피리딜 아릴 알킨이 얻어진다.

[0060] 화학식 (13a)의 브로모피리딜 아릴 알킨으로의 또다른 경로는 단계 6 및 7에 제시되어 있다. 반응식 II의 단계 6에서, 5-플루오로-2-요오도페놀 (문헌 [Morice, C., et. al. Tetrahedron Lett. 2001, 42, 6499-6502])을 화학식 (5a)의 피리딜메탄올과의 미츠노부 반응에 의해 커플링시켜 화학식 (15)의 요오도아릴 에테르를 생성한다. 반응식 II의 단계 7에서, 요오도아릴 에테르를 1-부틴과 소나가시라 커플링시켜 화학식 (13a)의 할로피리딜 아릴 알킨을 생성한다.

[0061] <반응식 III>

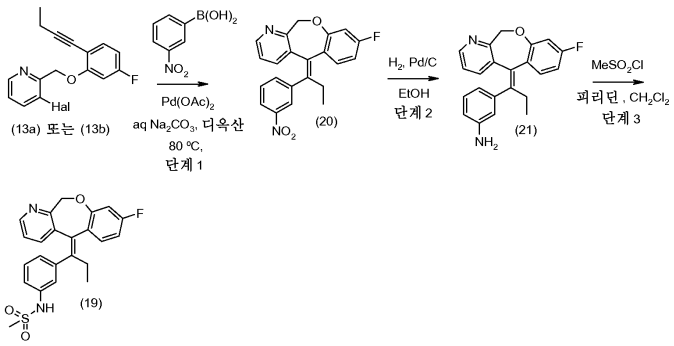


[0062]

[0063] 반응식 III의 단계 1 및 2에서, 화학식 (13a, b)의 할로피리딜 아릴 알킨의 백금-촉매 디보론화에 의해 화학식 (16a, b)의 디보론산이 얻어지고, 이는 희석 조건 (대략 0.01 M) 하에 분자내 스즈키 (Suzuki) 커플링시 화학식 (17)의 비닐 보론산을 형성한다. 디보론화는 Hal = Br인 (13a)에 최적임을 주목해야 한다.

[0064] 반응식 III의 단계 3에서, 비닐 보론산 (17) 및 3-요오도아닐린 사이의 분자간 스즈키 커플링에 의해 화학식 (18)의 아닐린 벤조피리딜-10-옥세핀이 생성된다. 단계 4에서, 화학식 (18)의 아닐린을 메탄술포닐 클로라이드에 의해 술포닐화시켜 화학식 (19)의 최종 벤조피리딜-10-옥세핀을 생성한다. 별법으로, 반응식 III의 단계 5에서, N-(3-요오도-페닐)-메탄술폰아미드와의 스즈키 커플링을 수행함으로써 화학식 (19)의 벤조피리딜-10-옥세핀이 직접 얻어진다.

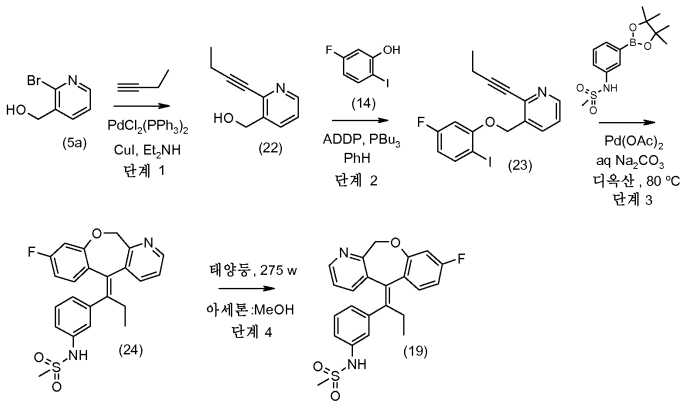
[0065] <반응식 IV>



[0066]

[0067] 반응식 IV에는 화학식 (19)의 벤조피리딜-10-옥세핀을 얻기 위한 또다른 방법이 제공된다. 반응식 IV의 단계 1에서, 화학식 (13a, b)의 할로피리딜 아릴 알킨과 3-니트로벤젠보론산의 순차적인 분자내 헥 (Heck) 반응 및 스즈키 반응을 수행하여 화학식 (20)의 니트로페닐 벤조피리딜옥세핀을 생성한다. Hal = I인 경우에 보론산을 아릴 알킨에 서서히 첨가했을 때 수율이 개선된다. 당업자는 단계 2 및 3에서, 화학식 (20)의 니트로 유사체의 환원에 의해 화학식 (21)의 아닐린을 생성한 후에 술포닐화를 수행함으로써 (19)가 유도됨을 알 것이다.

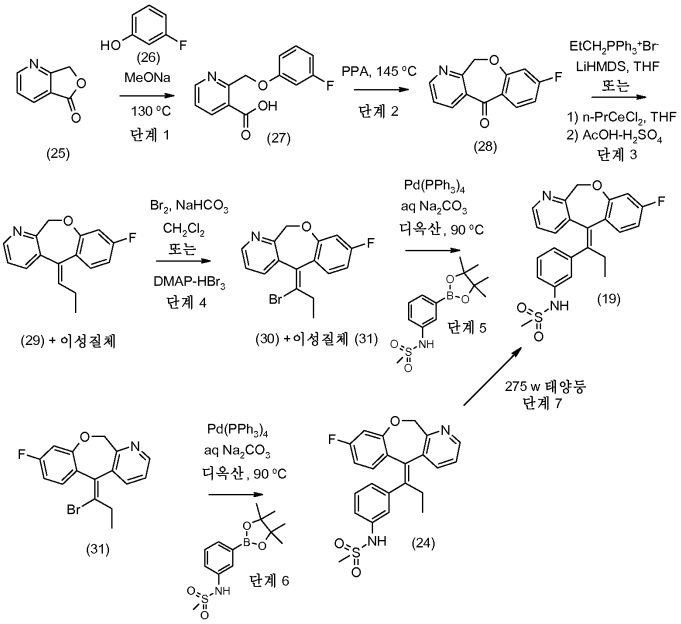
[0068] <반응식 V>



[0069]

[0070] 반응식 V의 단계 1에서, 반응식 2의 단계 2와 유사한 방식으로 소나가시라 커플링이 화학식 (5a)의 2-브로모피리딘 및 1-부틴 사이에서 발생하여 화학식 (22)의 알키닐 피리딜메틸 알콜이 생성된다. 반응식 V의 단계 2에서, 화학식 (22)의 피리딜메틸 알콜 및 화학식 (14)의 5-플루오로-2-요오도페놀 사이의 미츠노부 반응에 의해 화학식 (23)의 피리딘이 생성된다. 단계 3에서, 분자내 헥 반응에 이어 N-[3-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-페닐]-메탄술폰아미드와의 스즈키 교차 커플링에 의해 화학식 (24)의 벤조피리딜-11-옥세핀을 생성하고, 이를 화학식 (19)의 벤조피리딜-10-옥세핀으로 광이성질체화시킨다.

[0071] <반응식 VI>

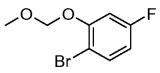


[0072]

[0073] 반응식 VI의 단계 1에서, 화학식 (25)의 락톤을 화학식 (26)의 할로페놀의 나트륨 염과 반응시켜 화학식 (27)의 산을 생성한다. 반응식 VI의 단계 2에서, 화학식 (27)의 벤조산과의 프리델-크래프츠 (Friedel-Crafts) 반응을 수행하여 화학식 (28)의 벤조피리딜옥세피논을 생성한다. 반응식 IV의 단계 3에서, 화학식 (28)의 케톤을 비티히 (Wittig) 올레핀화 또는 알킬세륨 첨가/탈수화 절차를 통해 기하이성질체들의 혼합물로서의 화학식 (29)의 알케닐벤조피리딜옥세핀으로 전환시킨다. 단계 4에서, 화학식 (29)의 알케닐벤조피리딜옥세핀 및 그의 이성질체를 브롬 또는 4-(디메틸아미노)피리디늄 트리브로마이드와 반응시켜 화학식 (30) 및 (31)의 기하이성질체 비닐 브로마이드를 생성한다. 비닐 브로마이드를 분리하고, 단계 5 및 6에 제시된 바와 같이 전형적인 조건 하에 N-[3-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-페닐]-메탄술폰아미드와의 스즈키 교차 커플링을 통해 각각의 술폰아미드 (19) 또는 (24)로 전환시킨다. 반응식 VI의 단계 7에서, 화학식 (24)의 술폰아미드를 화학식 (19)의 벤조피리딜-10-옥세핀으로 광이성질체화시킨다.

[0074] **중간체 1**

[0075] **1-브로모-4-플루오로-2-메톡시메톡시-벤젠**

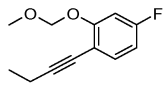


[0076]

[0077] 2-브로모-5-플루오로페놀 (30 g, 0.16 mol)을 디클로로메탄 (170 mL)에 용해시키고, 0 ℃로 냉각시켰다. 이 용액에 디이소프로필에틸아민 (36 mL, 0.20 mol)을 시린지를 통해 첨가한 후에 클로로메틸 메틸 에테르 (16 mL, 0.20 mol)를 적하 깔때기를 통해 첨가하였다. 용액을 교반하고, 실온으로 가온하였다. 2시간 후, 혼합물을 포화 수성 NH_4Cl, 물 및 염수로 세척하였다. 유기성 부분을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (바이오티지® (Biotage®) Si65M, 20% AcOEt/헥산)에 의해 정제하여 26.1 g (71%)의 표제 화합물을 투명한 무색 오일로서 얻었다. ^{1}H NMR 400 MHz ($CDCl_3$) δ 7.46-7.53 (m, 1H), 6.92-6.99 (m, 1H), 6.63-6.70 (m, 1H), 5.26 (s, 2H), 3.55 (s, 3H).

[0078] **중간체 2**

[0079] **1-부트-1-이닐-4-플루오로-2-메톡시메톡시-벤젠**

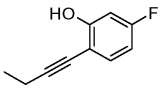


[0080]

[0081] 1-브로모-4-플루오로-2-메톡시메톡시-벤젠 (7.6 g, 32 mmol)을 가압 플라스크에 도입하고, 디에틸아민 (65 mL)에 용해시키고, 15분간 질소로 탈기시켰다. 용액에 과량의 부틴을 버블링하고, CuI (1.9 g, 10 mmol) 및 $PdCl_2(PPh_3)_2$ (2.3 g, 3.3 mmol)를 첨가하고, 플라스크를 44시간 동안 70 ℃로 가열하였다. 혼합물을 에테르로 희석시킨 후, 포화 수성 NH_4Cl 및 염수로 세척하였다. 유기성 부분을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (바이오티지® Si65M, 3% THF/헥산)에 의해 정제하여 6.12 g (91%)의 표제 화합물을 오렌지색 고체로서 얻었다. GCMS m/e 208 $[M]^+$.

[0082] **중간체 3**

[0083] **2-부트-1-이닐-5-플루오로-페놀**



[0084]

[0085] 1-부트-1-이닐-4-플루오로-2-메톡시메톡시-벤젠 (6.1 g, 29 mmol)을 아세톤 중 진한 HCl의 10% 용액 (250 mL)에 용해시켰다. 용액을 5시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응물을 에테르로 희석시키고, 포화 수성 $NaHCO_3$ 및 염수로 세척하였다. 유기성 부분을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (바이오티지® Si65M, 5% AcOEt/헥산)에 의해 정제하여 3.52 g (73%)의 표제 화합물을 오렌지색 오일로서 얻었다. GCMS m/e 164$[M]^+$.

[0086] **중간체 4**

[0087] **3-브로모-피리딘 1-옥시드**



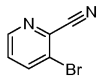
[0088]

[0089] 메틸트리옥소레늄 (100 mg, 0.401 mmol)을 디클로로메탄 (40 mL)에 용해시키고, 3-브로모피리딘 (15.8 g, 100 mmol)을 첨가한 후에 30% 수성 H_2O_2 (22.7 mL)를 첨가하였다. 2상 혼합물을 실온에서 교반하였다. 18시간 후, MnO_2 (25 mg, 0.29 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 디클로로메탄

으로 추출하고, 합한 추출물을 염수로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하여 9.52 g (55%)의 표제 화합물을 오렌지색 오일로서 얻었다. GCMS m/e 174 $[M-H]^-$.

[0090] **중간체 5**

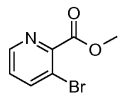
[0091] **3-브로모-피리딘-2-카르보니트릴**

[0092] 

[0093] 3-브로모-피리딘 1-옥시드 (9.4 g, 54 mmol)를 아세토니트릴 (60 mL)에 용해시키고, 트리에틸아민 (15 mL)을 첨가한 후에 트리메틸실릴 시아니드 (21.7 mL, 163 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 100 ℃로 가열하고, 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0 ℃로 냉각시키고, 250 mL의 5 M 수성 NaOH에 붓고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 합한 추출물을 염수로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 생성된 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (바이오티지® Si65M, 20% AcOEt/헥산)를 이용하여 정제하여 7.8 g (79%)의 표제 화합물을 황색 고체로서 얻었다. GCMS m/e 182 $[M-H]^-$.

[0094] **중간체 6**

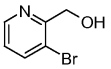
[0095] **3-브로모-피리딘-2-카르복실산 메틸 에스테르**

[0096] 

[0097] 3-브로모-피리딘-2-카르보니트릴 (14.7 g, 80.3 mmol)을 진한 HCl (50 mL)에 용해시키고, 18시간 동안 110 ℃로 가열하였다. 혼합물을 0 ℃로 냉각시키고, 여과하고, 소량의 에테르로 세정하고, 오븐에서 감압 하에 건조시켰다. 생성된 갈색 고체를 메탄올 (80 mL)에 용해시키고, 진한 H_2SO_4 (6.6 mL)를 적가하고, 용액을 16시간 동안 90 ℃로 가열하였다. 메탄올을 감압 하에 제거하고, 포화 수성 중탄산나트륨을 첨가하여 염기성 pH를 달성하고, 혼합물을 AcOEt로 추출하였다. 합한 추출물을 염수로 세척하고, $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하여 12.8 g (74%)의 표제 화합물을 백색 고체로서 얻었다. GCMS m/e 215 $[M-H]^-$.

[0098] **중간체 7**

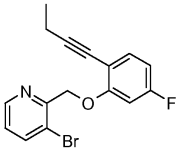
[0099] **(3-브로모-피리딘-2-일)-메탄올**

[0100] 

[0101] 3-브로모-피리딘-2-카르복실산 메틸 에스테르 (12.8 g, 59.2 mmol)를 메탄올 (150 mL)에 용해시키고, 0 ℃로 냉각시켰다. 혼합물에 $NaBH_4$ (11.2 g, 296 mmol)를 1.0 g씩 나누어 첨가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 3시간 동안 교반하였다. 메탄올을 감압 하에 제거하고, AcOEt을 첨가하고, 용액을 포화 수성 암모늄 클로라이드 및 염수로 세척하였다. 유기성 부분을 $MgSO_4$ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하여 6.8 g (62%)의 표제 화합물을 백색 고체로서 얻었다. GCMS m/e 187 $[M-H]^-$.

[0102] **중간체 8**

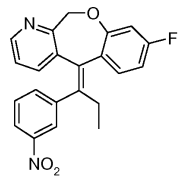
[0103] **3-브로모-2-(2-부트-1-이닐-5-플루오로-페녹시메틸)-피리딘**

[0104] 

[0105] 디클로로메탄 (162 mL) 중 (3-브로모-피리딘-2-일)-메탄올 (3.09 g, 16.43 mmol), 2-부트-1-이닐-5-플루오로-페놀 (2.70 g, 16.43 mmol) 및 트리페닐포스핀 (6.46 g, 24.64 mmol)의 용액을 -5 내지 0 ℃로 냉각시켰다. 디이소프로필 아조디카르복실레이트 (DIAD) (4.85 mL, 24.64 mmol)를 15분에 걸쳐 적가하였다. 1시간 후, 용매를 증발시키고, 조질의 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (SiO_2; 4% 헥산: AcOEt)에 의해 직접 정제하여 3.5 g (64%)의 표제 화합물을 얻었다. LCMS m/e 334 $[M+H]^+$.

[0106] **중간체 9**

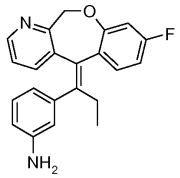
[0107] **8-플루오로-5-[1-(3-니트로-페닐)-프로필리덴]-5,11-디히드로-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐**

[0108] 

[0109] $Pd(OAc)_2$ (0.18 g, 5%) 및 o-톨릴 포스핀 (0.32 g, 1.05 mmol)을 4:1 디옥산:물 (101 mL) 중 3-브로모-2-(2-부트-1-이닐-5-플루오로-페녹시메틸)-피리딘 (3.50 g, 10.5 mmol), 탄산나트륨 (3.39 g, 31.5 mmol) 및 3-니트로벤젠보론산 (2.27 g, 13.6 mmol)의 용액에 첨가하였다. 15분간 혼합물에 질소를 버블링한 후, 반응물을 밤새 75 ℃에서 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 고체를 셀라이트® (Celite®)를 통해 여과하였다. 물 및 AcOEt을 첨가하고, 상을 경사분리하였다. 수성 층을 AcOEt로 추출하고, 합한 유기 층을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하였다. 생성된 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피 (SiO_2, 20% AcOEt:헥산)에 의해 정제하여 1.49 g (38%)의 표제 화합물을 얻었다. LCMS m/e 377 $[M+H]^+$.

[0110] **중간체 10**

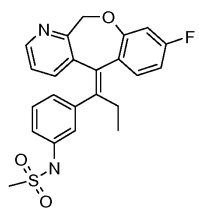
[0111] **3-[1-(8-플루오로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐아민**

[0112] 

[0113] 8-플루오로-5-[1-(3-니트로-페닐)-프로필리덴]-5,11-디히드로-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐 (1.49 g, 3.96 mmol)을 에탄올 (20 mL)에 용해시키고, 질소로 퍼징하였다. Pd/C (0.15 g, 10%)를 첨가하고, 혼합물을 2시간 동안 1 atm의 수소 하에 수소화시켰다. 혼합물을 질소로 퍼징하고, 셀라이트®를 통해 여과하고, 고체를 에탄올로 세척하였다. 여액을 감압 하에 농축하여 1.37 g (99%)의 표제 화합물을 얻었다. LCMS m/e 347 $[M+H]^+$.

[0114] **실시예 1**

[0115] **N-{3-[1-(8-플루오로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄술폰아미드**

[0116] 

[0117] 0 ℃에서 메탄술포닐 클로라이드 (0.34 mL, 4.36 mmol)를 디클로로메탄 (10 mL) 중 3-[1-(8-플루오로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐아민 (1.37 g, 3.96 mmol) 및 피리딘 (0.35 mL, 4.36 mmol)의 용액에 적가하였다. 2시간 후, 7% 수성 중탄산나트륨 (20 mL)을 첨가하고, 혼합물을 30분간 교

반하고, 경사분리하고, 층들을 분리하였다. 수성 상을 디클로로메탄 (2 × 20 mL)으로 세척하였다. 유기 상을 수집하고, 염수로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축하여 1.98 g의 조질의 물질을 얻었다. 물질을 플래쉬 크로마토그래피 (바이오티지®를 사용하고, 헥산:에탄올 (9:1)로 용리시킴)에 의해 정제하여 1.35 g (80%)의 표제 화합물을 얻었다. LCMS m/e 425 $[M+H]^+$.