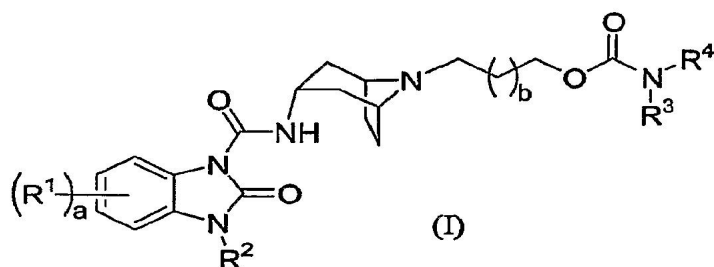
 (19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2008-0072727 (43) 공개일자 2008년08월06일
(51) Int. Cl. <i>C07D 451/04</i> (2006.01) <i>A61K 31/46</i> (2006.01) <i>A61P 1/00</i> (2006.01) (21) 출원번호 10-2008-7014898 (22) 출원일자 2008년06월19일 심사청구일자 없음 번역문제출일자 2008년06월19일 (86) 국제출원번호 PCT/US2006/045099 국제출원일자 2006년11월21일 (87) 국제공개번호 WO 2007/062058 국제공개일자 2007년05월31일 (30) 우선권주장 60/738,702 2005년11월22일 미국(US)	(71) 출원인 세라밴스 인코포레이티드 미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 게이 트웨이 불리바드 901 (72) 발명자 롱 다니엘 미국 캘리포니아 94114 샌프란시스코 23알디 스트리트 4358 최석기 미국 캘리포니아 94301 팔로 알토 엠바카테로 로드 525 (뒷면에 계속) (74) 대리인 리엔목특허법인

전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 5-HT₄ 수용체 아고니스트인 카바메이트 화합물

(57) 요약

본 발명은 하기 식 (I)의 화합물인 신규 벤조이미다졸론-카르복사미드-유래 카바메이트인 5-HT₄ 수용체 아고니스트를 제공한다:



상기에서 R¹, R², R³, R⁴, a 및 b는 본 명세서에서 정의되어 있다. 또한, 본 발명은 상기 화합물을 포함하는 약제학적 조성물, 상기 화합물을 사용하여 5-HT₄ 수용체 활성과 관련된 질병을 치료하는 방법, 및 상기 화합물을 제조하는 방법 및 상기 화합물을 제조하는데 유용한 중간체를 제공한다.

(72) 발명자

파더리 폴 알.

미국 캘리포니아 94107 샌프란시스코 미네소타 스트리트 921

폴드블럼 아담

미국 캘리포니아 94702 버클리 버클리 웨이 1320

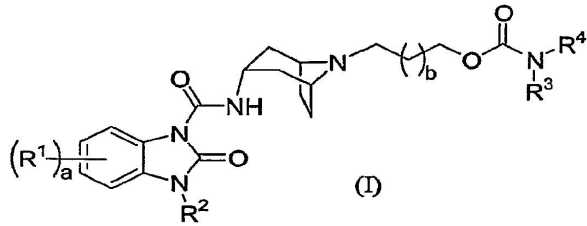
마르퀴스 다니엘

미국 캘리포니아 94019 헬프 문 베이 투어레인 라인 2037

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 약제학적으로-허용가능한 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체이성질체.



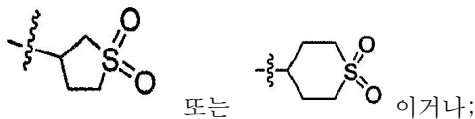
상기에서:

R^1 은 할로 또는 C_{1-3} 알킬이고, 상기 C_{1-3} 알킬은 히드록시 또는 할로로 선택적으로 치환되고;

R^2 은 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고, 상기 C_{1-3} 알킬은 히드록시로 선택적으로 치환되고;

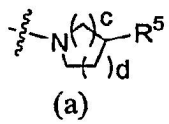
R^3 은 C_{1-3} 알킬 또는 수소이고;

R^4 는 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$,

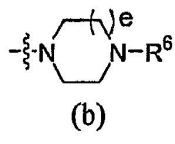


또는 R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께

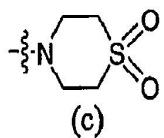
(i) 하기 식 (a)의 모이어티(moiety)



(ii) 하기 식 (b)의 모이어티



(iii) 하기 식 (c)의 모이어티



로부터 선택되는 모이어티를 형성하고;

상기에서:

R^5 는 $-OC(O)NR^aR^b$, $-C(O)NR^aR^b$, $-NR^dS(O)_2C_{1-3}$ 알킬, $-NR^dC(O)R^c$, $-NR^dS(O)_2NR^aR^b$, 또는 $-NR^dC(O)OR^e$ 이고;

R^6 은 $-C(O)R^f$, $-(CH_2)_2OR^g$, $-S(O)_2NR^aR^b$, $-S(O)_2C_{1-3}$ 알킬, 또는 $-S(O)_2(CH_2)_{1-3}S(O)_2C_{1-3}$ 알킬이고;

R^a , R^b , 및 R^c 는 독립적으로 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

R^d 는 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고, 상기 C_{1-3} 알킬은 히드록시로 선택적으로 치환되고;

R^e 는 C_{1-3} 알킬이고;

R^f 는 수소, C_{1-3} 알킬, 테트라히드로푸라닐, 또는 $-NR^aR^b$ 이고;

R^g 는 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

a는 0, 1 또는 2이고;

b는 0, 1, 2 또는 3이고;

c는 0, 1, 또는 2이고;

d는 1 또는 2이고; 및

e는 1 또는 2이고;

c가 0일 때, d는 2이고, R^5 는 $-C(O)NR^aR^b$ 이고; 및 c가 2일 때, d는 1이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 a는 0인 것인 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 R^2 는 에틸 또는 이소프로필인 것인 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 b는 1인 것인 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 식 (b)의 모이어티를 형성하는 것인 화합물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 식 (c)의 모이어티를 형성하는 것인 화합물.

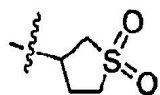
청구항 7

제1항에 있어서,

상기 R^2 가 에틸 또는 이소프로필이고

상기 R^3 이 C_{1-3} 알킬이고; 및

상기 R^4 가 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$ 또는



이거나;

또는 상기 R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 식 (a)의 모이어티, 식 (b)의 모이어티, 및 식 (c)의 모이

어티로부터 선택되는 모이어티를 형성하고;

상기 R^5 는 $-OC(O)NR^aR^b$ 또는 $-C(O)NR^aR^b$ 이고;

상기 R^6 은 $-C(O)R^f$, $-(CH_2)_2OR^g$, 또는 $-S(O)_2NR^aR^b$ 이고;

상기 R^a , R^b , 및 R^g 는 독립적으로 수소 또는 메틸이고;

상기 R^f 는 메틸, 테트라히드로푸라닐, 또는 $-NR^aR^b$ 이고;

a는 0이고;

b는 1이고;

c는 1 또는 2이고;

d는 1이고; 및

e는 1인 것인 화합물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 식 (b)의 모이어티를 형성하고, 상기 R^6 은 $-C(O)R^f$ 인 것인 화합물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 화합물은

4-(테트라히드로푸란-2-카르보닐)피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

4-아세틸-피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로-벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

4-디메틸카바모일옥시피페리딘-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

3-카바모일피페리딘-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로-벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

1,1-디옥소-1λ⁶-티오모르폴린-4-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

(1,1-디옥소테트라히드로-1λ⁶-티오펜-3-일)메틸카르바산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

(R)-2-카바모일피롤리딘-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

4-아세틸-[1,4]디아제판-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로-벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

디메틸카바모일메틸-메틸카르바산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

4-디메틸카바모일피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로-[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르;

4-디메틸sul파모일피페라진-1-카르복시산 3-{(1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르; 및

그의 약제학적으로-허용가능한 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체이성질체로부터 선택되는 것인 화합물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 화합물은 1,1-디옥소-1λ⁶-티오모르폴린-4-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르 또는 그의 약제학적으로-허용가능한 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체이성질체인 것인 화합물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물의 치료적 유효량과 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 12

치료에 사용하기 위한 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물.

청구항 13

포유 동물에서 5-HT₄ 수용체 활성화와 관련된 의학적 상태의 치료용 의약의 제조를 위한 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물의 용도.

청구항 14

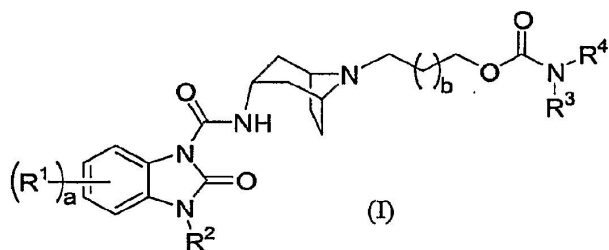
제13항에 있어서, 상기 의학적 상태가 위장관의 감소된 운동성으로 인한 질환인 것인 용도.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 감소된 운동성으로 인한 질환이 만성 변비, 변비-우세형 과민성 장 증후군(constipation-predominant irritable bowel syndrome), 당뇨병성 위마비(diabetic gastroparesis)와 특발성 위마비(idiopathic gastroparesis), 또는 기능성 소화불량인 것인 용도.

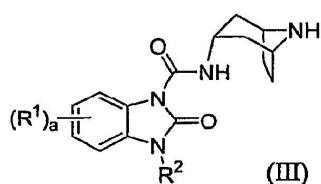
청구항 16

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , a, 및 b가 제1항에서 정의된 바와 같은 하기 식 (I)의 화합물 또는 그의 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체이성질체의 제조 방법으로서,

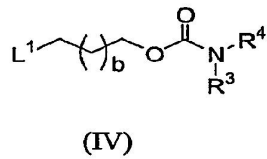


상기 방법은

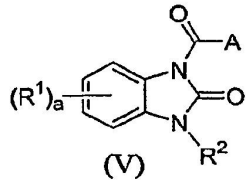
(a) 하기 식 (III)의 화합물을



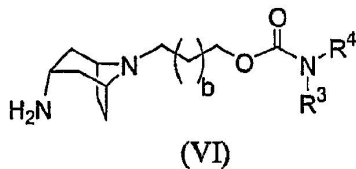
L¹이 이탈기인 하기 식 (IV)의 화합물과 반응시키거나; 또는



(b) A가 이탈기인 하기 식 (V)의 화합물을



하기 식 (VI)의 화합물과 반응시켜



상기 식 (I)의 화합물 또는 그의 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체이성질체를 제공하는 단계를 포함하는 것인 제조 방법.

청구항 17

제16항의 방법에 의해 제조된 생성물.

청구항 18

5-HT₄ 수용체 활성화와 관련된 의학적 상태를 갖는 포유 동물을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 약제학적으로-허용가능한 담체와 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물의 치료적 유효량을 상기 포유 동물에게 투여하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 의학적 상태는 과민성 장 증후군(irritable bowel syndrome), 만성 변비, 기능성 소화 불량, 위 배출 지연증(delayed gastric emptying), 위식도 역류증(gastroesophageal reflux disease), 위마비(gastroparesis), 수술-후 장폐색증(post-operative ileus), 가성 장 폐쇄증(intestinal pseudo-obstruction), 또는 약물-유도된 지연된 통과(drug-induced delayed transit)인 것인 방법.

청구항 20

포유 동물에서 위장관의 감소된 운동성으로 인한 질환을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 약제학적으로-허용가능한 담체와 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물의 치료적 유효량을 상기 포유 동물에게 투여하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 감소된 운동성으로 인한 질환은 만성 변비, 변비-우세형 과민성 장 증후군, 당뇨병성 및 특발성 위마비, 또는 기능성 소화불량인 것인 방법.

청구항 22

5-HT₄ 수용체를 포함하는 생물학적 시스템 또는 시료를 연구하는 방법으로서, 상기 방법은

- (a) 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 화합물과 상기 생물학적 시스템 또는 시료를 접촉시키는 단계; 및
- (b) 상기 생물학적 시스템 또는 시료에서 상기 화합물에 의해 발생된 효과를 결정하는 단계를 포함하는 것인 방법.

명세서

기술 분야

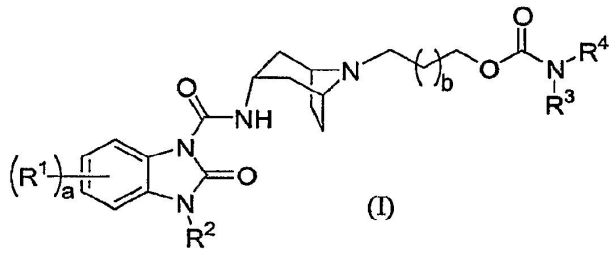
- <1> 본 발명은 5-HT₄ 수용체 아고니스트로 유용한 벤조이미다졸론-카르복사미드-유래 카바메이트 화합물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 화합물을 포함하는 약제학적 조성물, 5-HT₄ 수용체 활성화에 의해 매개되는 의학적 상태를 치료하거나 또는 예방하기 위해 상기 화합물을 사용하는 방법, 및 상기 화합물을 제조하는데 유용한 방법 및 중간체에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 세로토닌(5-히드록시트립타민, 5-HT)은 중추 신경계와 말초 신경계 모두에서 신체 전체를 통해 광범위하게 분포되어 있는 신경전달물질이다. 세로토닌 수용체 7개 이상의 서브타입이 확인되었고, 이러한 다양한 수용체와 세로토닌과의 상호 작용은 다양한 생리학적 기능과 연결되어 있다. 따라서, 특정 5-HT 수용체 서브타입을 표적으로 하는 치료제를 개발함에 있어 실질적인 관심이 있어 왔다.
- <3> 구체적으로, 5-HT₄ 수용체들의 규명, 및 이들과 상호 작용하는 약제학적 물질의 확인이 최근 중요한 활동의 핵심이 되고 있다.(예를 들면, Langlois and Fischmeister, *J. Med. Chem.* 2003, 46, 319-344에 의한 검토를 참고한다). 5-HT₄ 수용체 아고니스트는 위장관의 감소된 운동성으로 인한 질환의 치료를 위해 유용하다. 이러한 질환은 과민성 장 증후군(irritable bowel syndrome, IBS), 만성 변비, 기능성 소화 불량, 위 배출 지연증(delayed gastric emptying), 위식도 역류증(gastroesophageal reflux disease, GERD), 위마비(gastroparesis), 수술-후 장폐색증(post-operative ileus), 가성 장 폐쇄증(intestinal pseudo-obstruction), 및 약물-유도된 지연된 통과(drug-induced delayed transit)를 포함한다. 또한, 일부 5-HT₄ 수용체 아고니스트 화합물은 인지 장애(cognitive disorder), 행동 장애(behavioral disorder), 기분 장애(mood disorder), 및 자율 기능 조절 장애를 포함한 중추 신경계 질환의 치료에 사용될 수 있음이 제안되고 있다.
- <4> 5-HT₄ 수용체 활성을 조절하는 약제학적 제제의 광범위한 유용성에도 불구하고, 현재 임상적으로 사용되는 5-HT₄ 수용체 아고니스트 화합물은 거의 없다.
- <5> 따라서, 최소한의 부작용을 갖고 목표로 하는 효과를 달성하는 신규 5-HT₄ 수용체 아고니스트에 대한 필요성이 있다. 바람직한 제제는 다른 특징들 중에서도, 개선된 선택성, 약효(potency), 약동력학 특징, 및/또는 작용 지속 시간을 가질 수 있다.

발명의 상세한 설명

- <6> **발명의 요약**
- <7> 본 발명은 5-HT₄ 수용체 아고니스트 활성을 갖는 신규 화합물을 제공한다. 다른 특징들 중에서도, 본 발명의 화합물은 강력하고 선택적인 5-HT₄ 수용체 아고니스트인 것으로 밝혀졌다. 또한, 본 발명의 화합물은 경구 투여 후 좋은 생체 이용가능성(bioavailability)의 전조가 되는 좋은 약동력학 특징을 나타내는 것으로 밝혀졌다.
- <8> 따라서, 본 발명은 하기 화학식 (I)의 화합물 또는 그의 약제학적으로-허용가능한 염 또는 그의 용매화물(solvate) 또는 그의 입체이성질체를 제공한다.



<9>

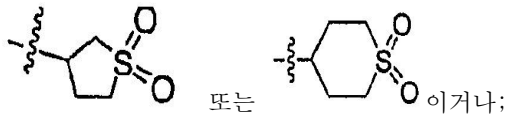
<10> 상기에서:

<11> R^1 은 할로 또는 C_{1-3} 알킬이고 상기 C_{1-3} 알킬은 히드록시 또는 할로로 선택적으로 치환되고;

<12> R^2 은 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고 상기 C_{1-3} 알킬은 히드록시로 선택적으로 치환되고;

<13> R^3 은 C_{1-3} 알킬 또는 수소이고;

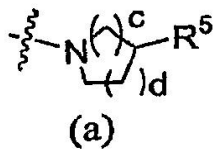
<14> R^4 는 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$,



<15>

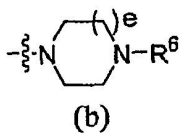
<16> 또는 R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 하기로부터 선택되는 모이어티(moiety)를 생성하고:

<17> (i) 하기 화학식 (a)의 모이어티:



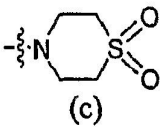
<18>

<19> (ii) 하기 화학식 (b)의 모이어티



<20>

<21> (iii) 하기 화학식 (c)의 모이어티:



<22>

<23> 상기에서:

<24> R^5 는 $-OC(O)NR^aR^b$, $-C(O)NR^aR^b$, $-NR^dS(O)_2C_{1-3}$ 알킬, $-NR^dC(O)OR^c$, $-NR^dS(O)_2NR^aR^b$, 또는 $-NR^dC(O)OR^c$ 이고;

<25> R^6 은 $-C(O)R^f$, $-(CH_2)_2OR^g$, $-S(O)_2NR^aR^b$, $-S(O)_2C_{1-3}$ 알킬, 또는 $-S(O)_2(CH_2)_{1-3}S(O)_2C_{1-3}$ 알킬이고;

<26> R^a , R^b , 및 R^c 는 독립적으로 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;

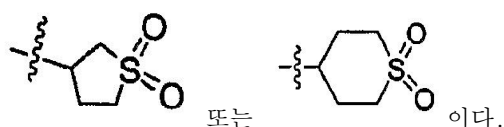
- <27> R^d 는 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고, 상기 C_{1-3} 알킬은 히드록시로 선택적으로 치환되고;
- <28> R^e 는 C_{1-3} 알킬이고;
- <29> R^f 는 수소, C_{1-3} 알킬, 테트라히드로푸라닐, 또는 $-NR^aR^b$ 이고;
- <30> R^g 는 수소 또는 C_{1-3} 알킬이고;
- <31> a는 0, 1 또는 2이고;
- <32> b는 0, 1, 2 또는 3이고;
- <33> c는 0, 1, 또는 2이고;
- <34> d는 1 또는 2이고; 및
- <35> e는 1 또는 2이고;
- <36> c가 0일 때, d는 2이고, 및 R^5 는 $-C(O)NR^aR^b$ 이고; 및 c가 2일 때, d는 1이다.
- <37> 또한, 본 발명은 본 발명의 화합물과 약제학적으로-허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- <38> 또한, 본 발명은 5-HT₄ 수용체 활성화와 관련된 질환 또는 상태 예를 들면 위장관의 감소된 운동성으로 인한 질환을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 본 발명의 화합물 또는 약제학적 조성물의 치료적 유효량을 함유 동물에게 투여하는 단계를 포함한다.
- <39> 또한, 본 발명의 화합물은 연구 도구, 즉 생물학적 시스템 또는 시료를 연구하기 위한 연구 도구로서, 또는 다른 화합물의 활성을 연구하기 위한 연구 도구로서 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명 방법의 또 다른 실시 형태에서, 본 발명은 생물학적 시스템 또는 시료를 연구하기 위한 연구 도구로서 또는 신규 5-HT₄ 수용체 아고니스트를 개발하기 위한 연구 도구로서, 식 (I)의 화합물, 또는 그의 약제학적으로-허용가능한 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체이성질체를 사용하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 생물학적 시스템 또는 시료를 본 발명의 화합물과 접촉시키고 상기 생물학적 시스템 또는 시료에서 화합물에 의해 발생하는 효과를 결정하는 단계를 포함한다.
- <40> 개별적이고 분리된 실시 형태에서, 또한 본 발명은 본 발명의 화합물을 제조하는데 유용한, 본 명세서에서 개시된 합성 방법과 중간체를 제공한다.
- <41> 또한, 본 발명은 포유 동물에서 의학적 치료에서의 용도뿐만 아니라, 5-HT₄ 수용체 활성화와 관련된 질환 또는 상태 예를 들면 위장관의 감소된 운동성으로 인한 질환을 치료하기 위한 제제 또는 의약의 제조에서 본 발명의 화합물의 용도를 위한, 본 명세서에서 개시된 바와 같은 본 발명의 화합물을 제공한다.
- <42> **발명의 상세한 설명**
- <43> 본 발명은 신규한 식 (I)의 벤조이미다졸론-카르복사미드-유래 카바메이트 5-HT₄ 수용체 아고니스트, 또는 그의 약제학적으로-허용가능한 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체이성질체를 제공한다. 하기 치환체들과 수치는 본 발명의 다양한 실시 형태 중 대표적인 예들을 제공하기 위한 것이다. 이들 대표적인 수치들은 이러한 실시 형태를 추가로 규정하기 위함이고, 다른 수치를 제외하거나 또는 본 발명의 범위를 제한하기 위함이 아니다.
- <44> 본 발명의 특정 실시 형태에서, R^1 은 할로 또는 C_{1-3} 알킬이고; 또는 R^1 은 플루오로, 클로로, 브로모 또는 메틸이다.
- <45> 특정 실시 형태에서, R^2 는 수소이다.
- <46> 또 다른 특정 실시 형태에서, R^2 는 C_{1-3} 알킬이고 상기 C_{1-3} 알킬은 히드록시로 선택적으로 치환된다.
- <47> 또 다른 특정 실시 형태에서, R^2 는 수소 또는 C_{1-3} 알킬이다.

<48> 본 발명의 다른 특정 실시 형태에서, R^2 는 메틸, 에틸, 프로필, 또는 이소프로필이고; R^2 는 에틸 또는 이소프로필이고; 또는 R^2 는 이소프로필이다.

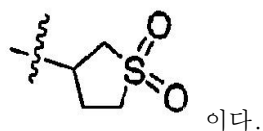
<49> 특정 실시 형태에서, R^3 은 C_{1-3} 알킬이고; R^3 은 메틸 또는 에틸이고; 또는 R^3 은 메틸이다.

<50> 특정 실시 형태에서, R^4 는 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$ 이다.

<51> 또 다른 특정 실시 형태에서, R^4 는



<53> 또 다른 특정 실시 형태에서, R^4 는 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$ 또는



<55> 본 발명의 특정 실시 형태에서, R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 상기 식 (a)의 모이어티, 상기 식 (b)의 모이어티 및 상기 식 (c)의 모이어티로부터 선택되는 모이어티를 형성한다.

<56> 특정 실시 형태에서, R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 상기 식 (a)의 모이어티를 형성한다. 또 다른 특정 실시 형태에서, R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 상기 식 (a)의 모이어티를 형성하고 이때 R^5 는 $-OC(O)NR^aR^b$ 또는 $-C(O)NR^aR^b$ 이다.

<57> 특정 실시 형태에서, R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 식 (b)의 모이어티를 형성한다. 다른 특정 실시 형태에서, R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 상기 식 (b)의 모이어티를 형성하고 이때 R^6 은 $-C(O)R^f$, $-(CH_2)_2OR^g$, 또는 $-S(O)_2NR^aR^b$ 이고; 또는 R^6 은 $-C(O)R^f$ 이고, 및 e는 1이다.

<58> 본 발명의 또 다른 실시 형태에서, R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 상기 식 (c)의 모이어티를 형성한다.

<59> 특정 실시 형태에서, R^a , R^b , R^c , R^d , 및 R^e 는 독립적으로 수소, 메틸, 또는 에틸이고; 또는 R^a , R^b , R^c , R^d , 및 R^e 는 독립적으로 수소 또는 메틸이다.

<60> 특정 실시 형태에서, R^e 는 메틸 또는 에틸이고; 또는 R^e 는 메틸이다.

<61> 특정 실시 형태에서, R^f 는 C_{1-3} 알킬, 테트라히드로푸라닐, 또는 $-NR^aR^b$ 이고; 또는 R^f 는 메틸, 테트라히드로푸라닐, 또는 $-NR^aR^b$ 이다.

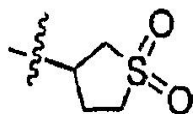
<62> 또 다른 특정 실시 형태에서, R^f 는 테트라히드로푸라닐이다.

<63> 다른 특정 실시 형태에서, R^f 는 C_{1-3} 알킬이고, 또는 R^f 는 메틸이다.

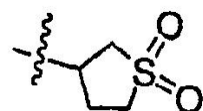
<64> 또 다른 특정 실시 형태에서, R^f 는 $-NR^aR^b$ 이고 이때 R^a 와 R^b 는 본 명세서에서 정의된 바와 같다.

<65> 특정 실시 형태에서, a는 0 또는 1이고; 또는 a는 0 또는 2이다. 또 다른 특정 실시 형태에서, a는 0이다.

- <66> 특정 실시 형태에서, b는 0, 1, 또는 2이고; 또는 b는 1 또는 2이다. 또 다른 특정 실시 형태에서, b는 1이다.
- <67> 특정 실시 형태에서, c는 1 또는 2이다. 또 다른 특정 실시 형태에서, c는 1이다.
- <68> 특정 실시 형태에서, d는 1이다.
- <69> 특정 실시 형태에서, e는 1이다.
- <70> 하나의 실시 형태에서, 본 발명은 c가 1 또는 2이고; d가 1이고; 및 e가 1인 식 (I)의 화합물을 제공한다.
- <71> 또 다른 실시 형태에서, 본 발명은 식 (I)의 화합물을 제공하고 이때
- <72> R^3 은 C_{1-3} 알킬이고; 및
- <73> R^4 는 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$ 또는

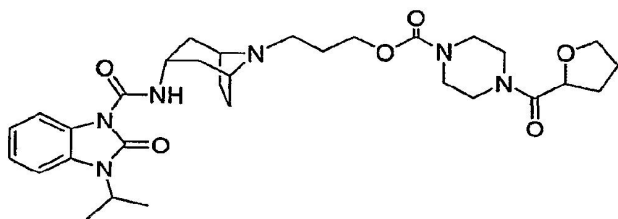


- <74> 이거나;
- <75> 또는 R^3 과 R^4 는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 상기 식 (a)의 모이어티, 상기 식 (b)의 모이어티, 및 상기 식 (c)의 모이어티로부터 선택되는 모이어티를 형성하고;
- <76> 상기에서:
- <77> R^5 는 $-OC(O)NR^aR^b$ 또는 $-C(O)NR^aR^b$ 이고; 및
- <78> R^6 은 $-C(O)R^f$, $-(CH_2)_2OR^g$, 또는 $-S(O)_2NR^aR^b$ 이다.
- <79> 또 다른 실시 형태에서, 본 발명은 R^3 과 R^4 가 그들이 결합된 질소 원자와 함께 상기 식 (a)의 모이어티, 상기 식 (b)의 모이어티, 및 상기 식 (c)의 모이어티로부터 선택되는 모이어티를 형성하는 식 (I)의 화합물을 제공하고;
- <80> 상기에서:
- <81> R^5 는 $-OC(O)NR^aR^b$ 또는 $-C(O)NR^aR^b$ 이고; 및
- <82> R^6 은 $-C(O)R^f$, $-(CH_2)_2OR^g$, 또는 $-S(O)_2NR^aR^b$ 이고;
- <83> R^a , R^b , 및 R^g 는 독립적으로 수소 또는 메틸이고;
- <84> R^f 는 메틸, 테트라히드로푸라닐, 또는 $-NR^aR^b$ 이고;
- <85> c는 1 또는 2이고; d는 1이고; 및 e는 1이다.
- <86> 또 다른 실시 형태에서, 본 발명은 식 (I)의 화합물을 제공하고 상기:
- <87> R^2 는 에틸 또는 이소프로필이고,
- <88> R^3 은 C_{1-3} 알킬이고; 및
- <89> R^4 는 $-(CH_2)_{1-3}C(O)NR^aR^b$ 또는



- <90> 이거나;

- <91> 또는 R³과 R⁴는 그들이 결합된 질소 원자와 함께 상기 식 (a)의 모이어티, 상기 식 (b)의 모이어티, 및 상기 식 (c)의 모이어티로부터 선택되는 모이어티를 형성하고; 상기
- <92> R⁵는 -OC(O)NR^aR^b 또는 -C(O)NR^aR^b이고;
- <93> R⁶은 -C(O)R^f, -(CH₂)₂OR^g, 또는 -S(O)₂NR^aR^b이고;
- <94> R^a, R^b, 및 R^g는 독립적으로 수소 또는 메틸이고;
- <95> R^f는 메틸, 테트라히드로푸라닐, 또는 -NR^aR^b이고;
- <96> a는 0이고; c는 1 또는 2이고; d는 1이고; 및 e는 1이다.
- <97> 본 명세서에서 사용되는 화학 명명 규정이 실시예 1의 화합물에 대해 설명되어 있고:



- <98>
- <99> 이것은 MDL Information Systems, GmbH (프랑크푸르트, 독일)에 의해 제공된 AutoNom software에 따라, 4-(테트라히드로푸란-2-카르보닐)피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르로 명명된다. 상기 표시 (1S,3R,5R)은 굵은 선(solid wedge)과 파선(dashed wedge)으로 표시되는 비시클릭 고리 시스템과 관련된 결합의 상대적인 배열을 나타낸다. 상기 기술된 본 발명의 모든 화합물에서, 벤조이미다졸론-카르복사미드는 아자비시클로옥탄기에 대해 엔도이다.
- <100> 하기 화합물이 특별히 언급될 수 있다:
- <101> 4-(테트라히드로푸란-2-카르보닐)피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;
- <102> 4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;
- <103> 4-아세틸-피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로-벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;
- <104> 4-디메틸카바모일옥시피페리딘-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;
- <105> 3-카바모일피페리딘-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로-벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;
- <106> 1,1-디옥소-1λ⁶-티오모르폴린-4-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;
- <107> (1,1-디옥소테트라히드로-1λ⁶-티오펜-3-일)메틸카르바산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;
- <108> (R)-2-카바모일피롤리딘-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;
- <109> 4-아세틸-[1,4]디아제판-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로-벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;

- <110> 디메틸카바모일메틸-메틸카르바산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르;
- <111> 4-디메틸카바모일피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르; 및
- <112> 4-디메틸솔파모일피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르.
- <113> 상기 기재된 특정 화합물에 의해 예로든 바와 같이, 본 발명의 화합물은 하나 이상의 키랄 센터를 포함할 수 있다. 따라서, 달리 지적되지 않는다면, 본 발명은 라세미체 혼합물, 순수한 입체 이성질체, 및 상기 이성질체의 입체이성질체-풍부한 혼합물을 포함한다. 특정 입체 이성질체가 제시될 때, 전체적으로 조성물의 유용성이 다른 이성질체의 존재에 의해 제거되지 않는다면, 달리 지적되지 않는 한, 상기 다른 입체이성질체 소량이 본 발명의 조성물에 존재할 수 있음은, 당해 분야의 당업자들에게 이해될 것이다.
- <114> 정의
- <115> 본 발명의 화합물, 조성물 및 방법을 기술할 때, 달리 지적되지 않는다면, 하기 용어들은 하기 의미를 갖는다.
- <116> 용어 "알킬"은 선형 또는 분지형 또는 이들의 조합이 될 수 있는 1가의 포화된 탄화수소 기를 의미한다. 대표적인 알킬기는 예를 들면, 메틸, 에틸, n-프로필(n-Pr), 이소프로필(i-Pr), n-부틸(n-Bu), sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, 및 그 등가물을 포함한다.
- <117> 용어 "할로"는 플루오로, 클로로, 브로모, 또는 요오드를 의미한다.
- <118> 용어 "화합물"은 합성법으로 제조되거나 또는 대사와 같은 소정의 방식에 의해 생성된 화합물을 의미한다.
- <119> 용어 "치료적 유효량"은 치료를 필요로 하는 환자에게 투여될 때 치료를 달성하는데 충분한 양을 의미한다.
- <120> 본 명세서에서 사용된 용어 "치료"는
- <121> (a) 질병, 질환, 또는 의료적 상태가 일어나는 것을 막는 것, 즉 환자의 예방 치료;
- <122> (b) 질병, 질환, 또는 의료적 상태를 개선하는 것, 즉 환자에게서 질병, 질환, 또는 의료적 상태를 제거하거나 또는 퇴행시키는 것;
- <123> (c) 질병, 질환, 또는 의료적 상태를 억제하는 것, 즉 환자에게서 질병, 질환, 또는 의료적 상태의 진행을 늦추거나 또는 정지시키는 것; 또는
- <124> (d) 환자에게서 질병, 질환, 또는 의료적 상태의 증상을 경감시키는 것을 포함하는, 포유 동물(특히 인간)과 같은 환자에서 질병, 질환, 또는 의료적 상태의 치료를 의미한다.
- <125> 용어 "약제학적으로-허용가능한 염"은 포유 동물과 같은 환자에게 투여하는데 허용가능한 산 또는 염기로부터 제조된 염을 의미한다. 그와 같은 염은 약제학적으로-허용가능한 무기산 또는 유기산 및 약제학적으로-허용가능한 염기로부터 유래될 수 있다. 통상적으로, 본 발명 화합물의 약제학적으로-허용가능한 염은 산으로부터 제조된다.
- <126> 약제학적으로-허용가능한 산으로부터 유래된 염은 제한되지는 않지만, 아세트산, 아디프산, 벤젠술폰산, 벤조산, 캄포술폰산, 시트르산, 에탄술폰산, 푸마르산, 글루콘산, 글루탐산, 브롬화수소산, 염화수소산, 락트산, 말레산, 말산, 만델산, 메탄술폰산, 점액산, 질산, 판토텐산, 인산, 숙신산, 황산, 타르타르산, p-톨루엔술폰산, 시나포익산(1-히드록시-2-나프토익산), 나프탈렌-1,5-디술폰산 및 그 등가물을 포함한다.
- <127> 용어 "용매화물"은 하나 이상의 용질 분자 즉 본 발명의 화합물 또는 그의 약제학적으로-허용가능한 염, 및 하나 이상의 용매 분자에 의해 형성된 복합체 또는 집합체를 의미한다. 그와 같은 용매화물은 통상적으로 용질과 용매의 실질적으로 고정된 몰 비율을 갖는 결정형 고체이다. 대표적인 용매는 예를 들면, 물, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 아세트산, 및 그 등가물을 포함한다. 용매가 물일 때, 형성된 용매화물은 수화물이다.
- <128> 용어 "또는 그의 약제학적으로-허용가능한 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체 이성질체"는 식 (I)의 화합물의 입체이성질체의 약제학적으로-허용가능한 염의 용매화물과 같은, 염, 용매화물 및 입체이성질체의 모든 변형을 포함하는 것임은 이해될 것이다.
- <129> 용어 "이탈기(leaving group)"는 친핵성 치환 반응과 같은 치환 반응에서 또 다른 작용기 또는 원자에 의해 치

환될 수 있는 작용기 또는 원자를 의미한다. 예를 들면, 대표적인 이탈기는 클로로, 브로모, 및 요오드기; 메실레이트, 토실레이트, 브로실레이트, 노실레이트 및 그 등가물과 같은 술폰 에스테르기; 아세톡시, 트리플루오로아세톡시와 같은 아실옥시기 및 그 등가물을 포함한다. 용어 "이탈기"는 $-OC_6F_5$, $-CCl_3$, 파라- $OC_6H_4NO_2$, 및 이 미다졸릴과 같은 기를 더 포함한다.

<130> 용어 "그의 보호된 유도체"는 보호기 또는 차단기(blocking group)에 의해 화합물의 하나 이상의 작용기가 원하지 않는 반응으로부터 보호된 특정 화합물의 유도체를 의미한다. 보호될 수 있는 작용기는 예를 들면, 카르복시산기, 아미노기, 히드록시, 티올기, 카르보닐기 및 그 등가물을 포함한다. 카르복시산을 위한 대표적인 보호기는 에스테르(p-메톡시벤질 에스테르), 아마이드 및 히드라지드를 포함하고; 아미노기를 위한 대표적인 보호기는 카바메이트(tert-부톡시카르보닐) 및 아마이드를 포함하고; 히드록시기를 위한 대표적인 보호기는 에테르와 에스테르를 포함하고; 티올기를 위한 대표적인 보호기는 티오에테르 및 티오에스테르를 포함하고; 카르보닐기를 위한 대표적인 보호기는 아세탈과 케탈을 포함하고; 상기 보호기들은 그 등가물을 포함한다. 상기 보호기들은 당업자들에게 잘 알려져 있고, 예를 들면 T.W. Greene and G.M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 제3판, Wiley, New York, 1999, 및 본 명세서에서 인용된 참조 문헌에서 기술되어 있다.

<131> 용어 "아미노-보호기"는 아미노 질소에서 원하지 않는 반응을 막기 위해 적절한 보호기를 의미한다. 대표적인 아미노-보호기는 제한되지는 않지만, 포르밀; 아실기 예를 들면 아세틸과 같은 알카노일기; 터트-부톡시카르보닐(Boc)과 같은 알콕시카르보닐기; 벤질옥시카르보닐(Cbz)과 9-플루오레닐메톡시카르보닐(Fmoc)과 같은 아릴메톡시카르보닐기; 벤질(Bn), 트리틸(Tr) 및 1,1-디-(4'-메톡시페닐)메틸과 같은 아릴메틸기; 트리메틸실릴(TMS) 및 터트-부틸디메틸실릴(TBDMS)과 같은 실릴기; 및 그 등가물을 포함한다.

<132> 일반적인 합성 방법

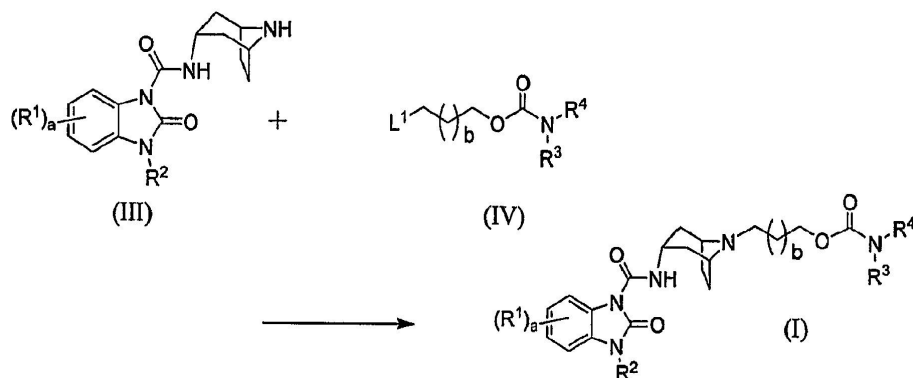
<133> 본 발명의 화합물은 하기 일반적인 방법과 순서를 사용하여, 쉽게 입수가 가능한 출발 물질로부터 제조될 수 있다. 본 발명의 특정 실시 형태가 하기 반응식에서 설명되지만, 당해 분야의 당업자는 본 발명의 모든 실시 형태는 본 명세서에서 기술된 방법을 사용함으로써 또는 당해 분야의 당업자에게 알려진 다른 방법, 시약 및 출발 물질을 사용함으로써 제조될 수 있음을 인식할 것이다. 또한, 통상적이고 또는 바람직한 방법의 조건(즉, 반응 온도, 시간, 시약의 몰 비, 용매, 압력 등)이 제공될 때, 달리 지적되지 않는다면 다른 방법 조건이 또한 사용될 수 있음은 인식될 것이다. 최적의 반응 조건은 사용되는 특정 시약 또는 용매에 따라 변경시킬 수 있지만, 그러한 조건은 통상의 최적화 과정에 의해 당업자에 의해 결정될 수 있다.

<134> 또한, 당해 분야의 당업자에게 명백한 바와 같이, 소정의 작용기가 원하지 않는 반응을 하는 것을 막기 위하여 통상의 보호기가 필요할 수 있다. 특정 작용기를 위한 적절한 보호기의 선택뿐만 아니라 보호 및 탈보호를 위한 적절한 조건은 당해 분야에서 잘 알려져 있다. 예를 들면, 수많은 보호기, 및 이들의 도입과 제거가 T. W. Greene and G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 제3판, Wiley, New York, 1999 및 본 명세서에서 인용된 참조 문헌에서 기술되어 있다.

<135> 하기 반응식에서 도시된 치환체와 변수들은 달리 지적되지 않는다면 본 명세서에서 제공된 정의를 갖는다.

<136> 합성하는 하나의 방법에서, 식 (I)의 화합물은 반응식 A에서 기술된 바와 같이 제조될 수 있다.

<137> 반응식 A



<138>

<139> 벤조이미다졸론-카르복사미드 트로판 중간체(III)는 L^1 이 이탈기인 식 (IV) 화합물과 반응하여 식 (I)의 화합물

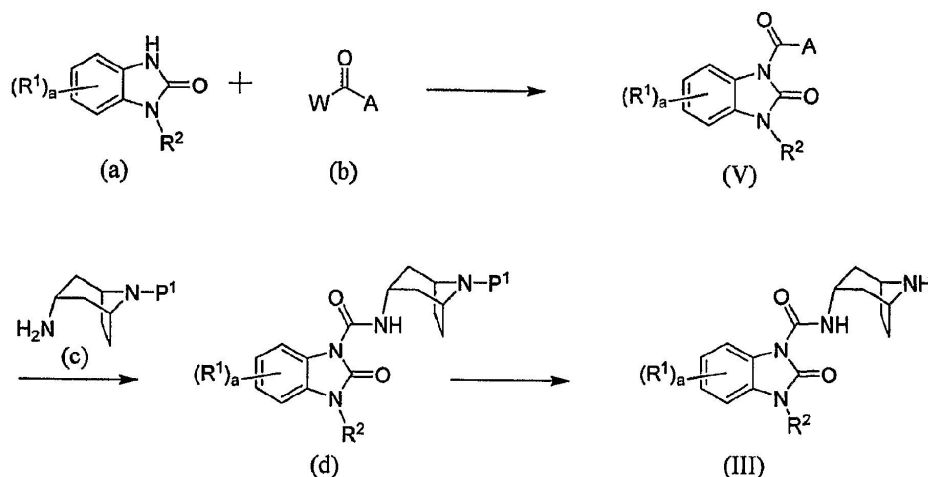
을 제공한다. 통상적으로, L^1 은 클로로, 요오드, 또는 브로모와 같은 S_N2 -종은 이탈기이다. 식 (IV)의 화합물이 비활성 희석제에서, *N,N*-디이소프로필에틸아민(DIPEA)과 같은 염기 존재 하에서, 및 소듐 요오드와 같은 촉매의 존재 하에서, 벤조이미다졸론-카르복사미드 트로판(III) 약 0.25 내지 약 1.5 당량과 접촉된다. 적절한 비활성 희석제는 디메틸포름아미드, 아세토니트릴, 테트라히드로푸란, *N*-메틸-2-피롤리돈, 및 그 등가물을 포함한다. 또한, 적절한 염기는 예를 들면 트리에틸아민, 1,8-디아자비시클로-[5.4.0]운데크-7-엔(DBU), 및 포타슘 카보네이트를 포함한다. 또한, 적절한 촉매는 예를 들면 포타슘 요오드, 및 테트라부틸암모늄 요오드를 포함한다. 상기 반응은 통상적으로 약 40°C 내지 약 100°C의 온도에서 약 2 내지 약 24시간 동안 또는 반응이 실질적으로 완료될 때까지 수행된다.

<140> 식 (I)의 생성물은 통상적인 순서에 의해 분리되고 정제된다. 예를 들면, 생성물은 감압 하에서 건조될 때까지 농축되고, 약산 수용액에서 취해지고 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의해 정제될 수 있다.

<141> 반응식 A의 방법에서 및 식 (III)의 화합물을 사용하는 본 명세서에서 기술된 다른 방법에서, 식 (III)의 화합물은 필요하다면 당해 분야의 당업자에게 알려져 있는 반응 조건의 적절한 조절에 의해 유리 염기의 형태 또는 염 형태로 공급될 수 있음은 이해될 것이다.

<142> 식 (III)의 화합물은 하기 반응식 B에서 도시된 바와 같이 제조될 수 있다.

<143> 반응식 B



<144>

<145> 반응식 B에서, 선택적으로 치환된 1,3-디히드로벤조-이미다졸-2-온인 중간체 (a)는 W가 이탈기(할로 즉 플루오로, 클로로 또는 브로모)이고 A가 W와 다른 조건에서 반응하도록 선택된 이탈기(-OC₆F₅, -CCl₃, 파라-OC₆H₄NO₂, 또는 이미다졸-1-일)이거나; 또는 W와 A가 각각 이미다졸-1-일인 중간체 (b)와 반응하여 식 (V)의 화합물을 제공하고, 식 (V)의 화합물은 P¹이 Boc와 같은 아미노 보호기를 나타내는 중간체 (c)와 반응하여 중간체 (d)를 제공하게 된다. 표준 방법에 의해 중간체 (d)로부터 보호기 P¹이 제거되어 식 (III)의 화합물을 제공하게 된다.

<146> 최적의 반응 조건은 사용되는 특정 시약 또는 용매에 따라 변경될 수 있지만, 상기 조건들은 통상적인 최적화 방법에 의해 당해 분야의 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

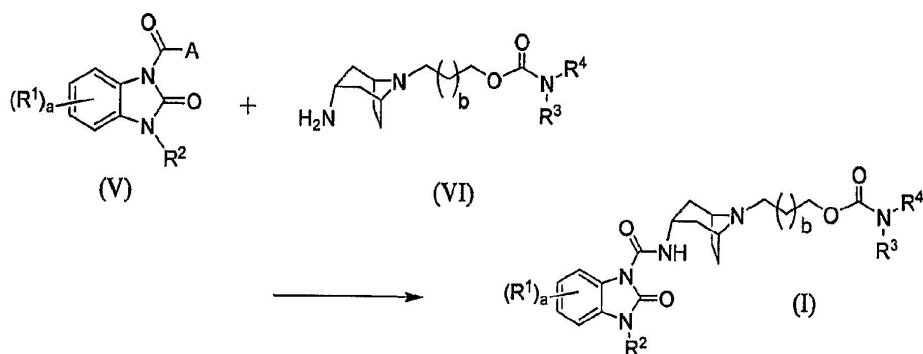
<147> 예를 들면, 중간체 (b)로서 4-니트로페닐 클로로포르메이트를 사용하는 대표적인 방법에서, 벤조이미다졸론 중간체 (a)는 비활성 분위기에서, 테트라히드로푸란, 에테르, DMF, 또는 이들의 조합과 같은 비활성 희석제에서, 소듐 히드라이드, 리튬 디이소프로필아민, 및 *n*-부틸 리튬과 같은 강염기 존재 하에서 용해되고, 4-니트로페닐 클로로포르메이트 약 1 내지 약 1.3 당량과 접촉된다. 얻은 혼합물은 약 0°C 내지 약 40°C에서 약 12시간 내지 약 24시간 동안 또는 반응이 실질적으로 완료될 때까지 교반되어, 활성화된 에스테르인 식 (V)의 화합물을 생성한다. 식 (V)의 화합물은 분리되어 정제되고, 또는 식 (V)의 화합물은 인 시투(in situ)로 테트라히드로푸란과 같은 비활성 희석제 존재 하에서, 약 30°C 내지 약 90°C의 온도에서 약 10시간 내지 약 24시간 동안 보호된 아미노-트로판인 중간체 (c)와 반응하여, 보호된 중간체 (d)를 제공한다.

<148> 아미노-보호기 P¹은 통상적인 방법을 사용하여 중간체 (d)로부터 제거되어, 식 (III)의 화합물인 벤조이미다졸론-카르복사미드 트로판을 제공한다. 중간체 (b)로서 4-니트로페닐 클로로포르메이트를 사용하여 중간체

(III)을 제조하는 상기 방법의 변형이 하기 실시예 13에서 기술되어 있다.

<149> 택일적으로, 식 (I)의 화합물은 하기 반응식 C에서 도시된 바와 같이 제조될 수 있다.

<150> 반응식 C

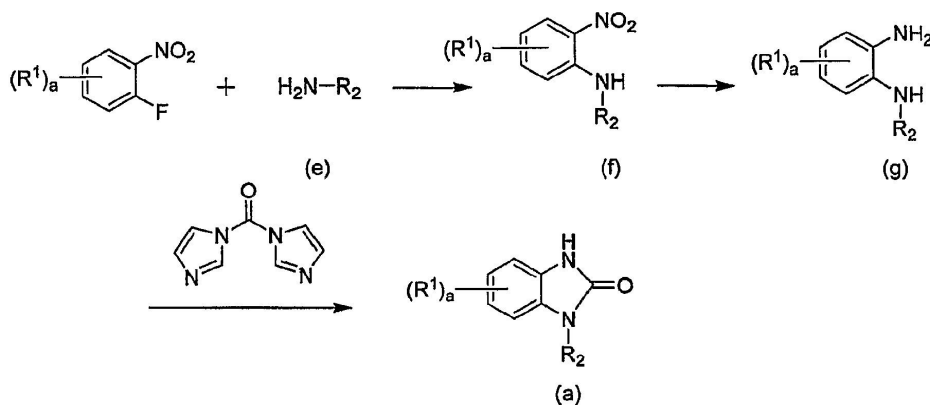


<151>

<152> 벤조이미다졸론-카르복사미드 중간체 (V)는 식 (VI)의 화합물인 트로판-알킬렌-카르복사미드 화합물과 반응하여 식 (I)의 화합물을 제공한다. 반응식 B에서 기술된 합성물인 식 (V)의 화합물은 분리되어 정제되고 또는 인 시 투(in situ)로 테트라히드로푸란과 같은 비활성 희석제 존재 하에서, 약 30℃ 내지 약 90℃의 온도 범위에서 약 10시간 내지 약 24시간 동안, 또는 반응이 완료될 때까지 식 (VI)의 화합물과 반응하여 식 (I)의 화합물을 제공한다.

<153> 벤조이미다졸론 중간체 (a)는 하기 반응식 D에서 도시된 바와 같이 제조될 수 있다.

<154> 반응식 D



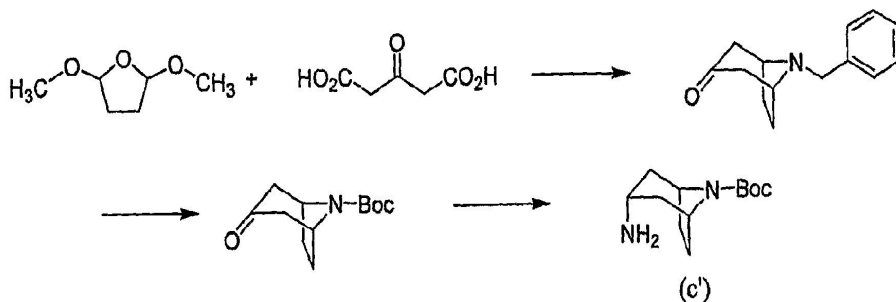
<155>

<156> 반응식 D에서, 선택적으로 치환된 2-플루오로니트로벤젠은 1차 아민인 중간체 (e)와 반응하여, 중간체 (f)를 제공하고, 중간체 (f)는 디아미노페닐인 중간체 (g)로 환원된다. 디아미노페닐은 테트라히드로푸란과 같은 비활성 희석제 존재 하에서 약 20℃ 내지 약 40℃의 온도에서 약 12시간 내지 약 30시간 동안 카르보닐디이미다졸과 반응하여 벤조이미다졸론 중간체 (a)를 제공한다.

<157> 중간체 (a) 화합물의 대표적인 합성이 하기 제조예 1에 기술되어 있다. 또한, 중간체 (a)의 치환된 화합물은 문헌에서 기술된 방법과 유사한 방법에 의해 용이하게 제조될 수 있다. 예를 들면, *The Journal of Chemical Research* (1), 21-22 (2005); *Heteroatom Chemistry*, 5(5/6):437-40 (1994); 및 *Ger. Offen.*, 3839743, 31 May 1990을 참조한다.

<158> 본 출원에서 기술된 반응에 사용된 중간체 (c)인 보호된 아미노트로판은 쉽게 입수가 가능한 출발 물질로부터 용이하게 제조된다. 예를 들면, 아미노-보호기 P¹이 Boc일 때, 보호된 아미노트로판은 하기 반응식 E에서 도시된 바와 같이 제조될 수 있다.

<159> 반응식 E



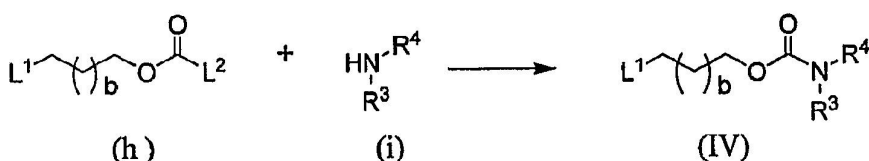
<160>

<161> 하기 제조예 2에서 상세하게 기술된 바와 같이, Boc-보호된 중간체 (c')을 제조하기 위하여, 2,5-디메톡시테트라히드로푸란은 산성 수용액에서 인산 일수소 나트륨과 같은 완충제 존재 하에서 벤질 아민 약 1 내지 2 당량과 1,3-아세톤디카르복시산 약간 초과량 예를 들면 약 1.1 당량과 접촉된다. 얻은 반응 혼합물은 약 60℃ 내지 약 100℃에서 가열되어 카르복실화된 중간체를 탈카르복실화시켜, 통상적으로 N-벤질트로판인 8-벤질-8-아자비시클로-[3.2.1]옥탄-3-온을 생성한다.

<162> N-벤질트로판은 중간체는 통상적으로 수소 분위기 하에서 전이 금속 촉매 존재 하에서 디-터트-부틸 디카보네이트(통상적으로 (Boc)₂O) 약간 초과량 예를 들면 약 1.1 당량과 반응하여 3-옥소-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르를 제공한다. 반응은 통상적으로 실온에서 약 12시간 내지 약 72시간 동안 수행된다. 마지막으로, 3-옥소-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르는 메탄올과 같은 비활성 희석제에서, 전이 금속 촉매 존재 하에서 암모늄 포르메이트 과량 예를 들면 약 25 당량 이상과 접촉하여 생성물인 엔도 배열(configuration)의 중간체 (c)를 높은 입체선택성 예를 들면 엔도 대 엑소 비율이 >99:1로 제공한다. 반응은 통상적으로 실온에서 약 12시간 내지 약 72시간 동안 또는 반응이 실질적으로 완료될 때까지 수행된다. 암모늄 포르메이트 시약을 부분으로 나누어 첨가하는 것이 유리하다. 예를 들면, 3-옥소-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르는 암모늄 포르메이트의 처음 분량 약 15 당량 내지 약 25 당량과 접촉된다. 약 12시간 내지 약 36시간의 간격 후에 암모늄 포르메이트 약 5 당량 내지 약 10 당량의 추가적인 분량이 첨가된다. 연속적인 첨가가 유사한 간격으로 반복될 수 있다. 생성물인 중간체 (c)는 알칼리성 추출(alkaline extraction)과 같은 통상적인 방법에 의해 정제될 수 있다.

<163> 식 (IV)의 화합물은 하기 반응식 F에서 기술된 바와 같이, 통상의 출발 물질로부터 표준 방법에 의해 용이하게 제조될 수 있다.

<164> 반응식 F



<165>

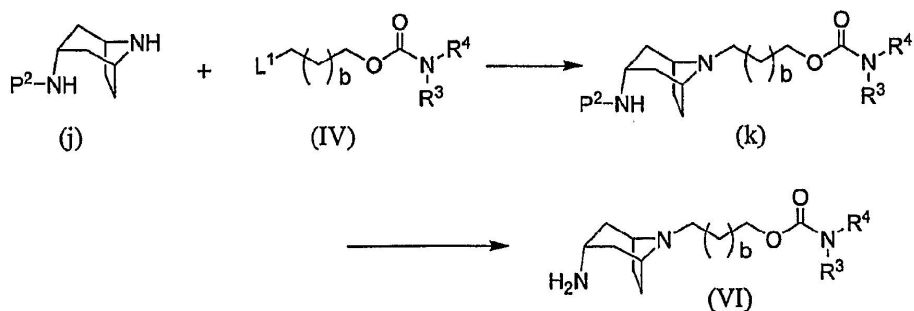
<166> 반응식 F에서, L¹과 L²가 이탈기인 중간체 (h)는 2차 아민인 (i)와 반응하여 식 (IV)의 화합물을 제공한다. 2차 아민인 (i)는 디클로로메탄과 같은 비활성 희석제에서 용해되고, 중간체 (h)가 N,N-디이소프로필에틸 아민과 같은 염기 존재 하에서, 약 0℃ 내지 약 40℃ 범위의 온도에서, 약 30분 내지 약 4시간 동안 첨가된다. 생성물인 식 (IV)의 화합물은 HPLC와 같은 통상적인 방법에 의해 정제될 수 있다.

<167> 통상적으로, L¹과 L²는 클로로, 요오드, 브로모와 같은 할로 이탈기이고; 또한 메실레이트가 이탈기 L¹로 사용될 수 있다. 적절한 염기는 예를 들면 트리에틸아민, DBU, 및 포타슘 카보네이트를 포함할 수 있다. 적절한 비활성 희석제는 아세토니트릴, 테트라히드로푸란, 및 N,N-디메틸포름아미드를 포함할 수 있다.

<168> 식 (h)와 (i)의 중간체 화합물은 상업적으로 입수가능하고 또는 용이하게 입수가 가능한 출발 물질로부터 용이하게 합성될 수 있다. 많은 2차 아민 즉 반응식 F에서 사용될 수 있는 식 (i)의 중간체 화합물의 합성이 본 명세서 실시예 부분에서 기술되어 있다.

<169> 식 (VI)의 화합물은 하기 반응식 G에서 도시된 바와 같이 제조될 수 있다.

<170> 반응식 G



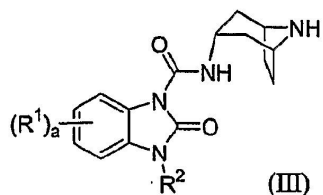
<171>

<172> 반응식 G에서, P²가 아미노-보호기인 중간체 (j)는 식 (IV)의 화합물과 반응하여 보호된 중간체 (k)를 제공하고, 중간체 (k)는 탈보호되어 식 (VI)의 화합물을 제공한다. 반응식 G의 반응은 통상적으로 반응식 A의 반응을 위해 상기에서 기술된 아민 커플링 반응 조건에서 수행된다.

<173> 식 (j)의 화합물은 보호된 아미노트로판 중간체 (c)의 아미노 질소를 아미노-보호기 P²로 보호하고, 그런 다음 아자비시클로옥탄기의 질소로부터 P¹을 제거함으로써 제조될 수 있다. 보호기 P¹과 P²는 이들이 서로 다른 조건에서 제거되도록 선택된다. 예를 들면, P¹이 Boc으로 선택될 때, Cbz가 P²로 사용될 수 있다. 보호기 Boc은 통상적으로 트리플루오로아세트산과 같은 산으로 처리함으로써 제거되어, 중간체의 산 염을 제공한다. 중간체의 산 염은 원한다면 염기를 이용한 통상적인 처리에 의해 유리 염기로 전환될 수 있다. 보호기 Cbz는 탄소 상 팔라듐과 같은 적절한 금속 촉매에서 수소화분해반응에 의해 용이하게 제거된다. 본 발명의 대표적인 화합물 또는 그의 중간체를 제조하기 위한 특정 반응 조건 및 기타 방법에 관한 추가적인 상세부가 하기 실시예에서 기술된다.

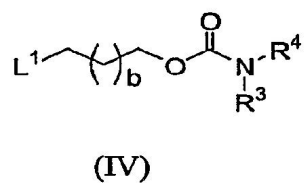
<174> 따라서, 방법 실시 형태에서, 본 발명은 R¹, R², R³, R⁴, a, 및 b가 본 명세서에서 정의된 바와 같은 식 (I)의 화합물 또는 그의 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체이성질체를 제조하는 방법을 제공하고, 상기 방법은

<175> (a) 하기 식 (III)의 화합물을



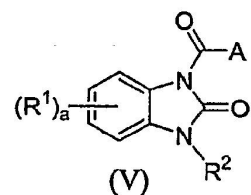
<176>

<177> L¹이 이탈기인 하기 식 (IV)의 화합물과 반응시키거나; 또는



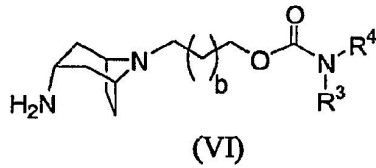
<178>

<179> (b) A가 이탈기인 하기 식 (V)의 화합물을



<180>

<181> 하기 식 (VI)의 화합물과 반응시켜



<182>

<183> 식 (I)의 화합물, 또는 그의 염 또는 그의 용매화물 또는 그의 입체이성질체를 제공하는 단계를 포함한다.

<184> 추가적인 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에서 기술된 다른 방법; 및 본 명세서에서 기술된 방법 중 어느 하나에 의해 제조된 생성물에 관한 것이다.

<185> 약제학적 조성물

<186> 본 발명의 벤조이미다졸론-카르복사미드-유래 카바메이트 화합물은 통상적으로 약제학적 조성물의 형태로 환자에게 투여된다. 그와 같은 약제학적 조성물은 제한되지는 않지만 경구, 직장, 질, 비강, 흡입, 국소(경피를 포함) 및 비경구 투여 방식을 포함하는 소정의 허용가능한 투여 경로에 의해 환자에게 투여될 수 있다.

<187> 따라서, 조성물 실시 형태 중 하나에서, 본 발명은 약제학적으로-허용가능한 담체 또는 부형제 및 식 (I)의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염의 치료적 유효량을 포함하는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 선택적으로, 그와 같은 약제학적 조성물은 원한다면 다른 치료제 및/또는 제제화 제(formulating agent)를 포함할 수 있다.

<188> 본 발명의 약제학적 조성물은 통상적으로 본 발명의 화합물 또는 그의 약제학적으로-허용가능한 염의 치료적 유효량을 포함한다. 통상적으로, 그와 같은 약제학적 조성물은 활성제 약 0.1 내지 약 95 중량%; 바람직하게는 활성제 약 5 내지 약 70 중량%; 및 더 바람직하게는 활성제 약 10 내지 약 60 중량%를 포함할 것이다.

<189> 통상적인 담체 또는 부형제가 본 발명의 약제학적 조성물에서 사용될 수 있다. 특정 담체 또는 부형제, 또는 담체 또는 부형제의 조합의 선택은 특정 환자 또는 의학적 상태의 타입 또는 질병 상태를 치료하기 위해 사용될 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 이러한 면에서, 특정 투여 방식을 위한 적절한 약제학적 조성물의 제조는 약제학 분야의 당업자들의 범위 내에 잘 알려져 있다. 추가로, 상기 조성물을 위한 성분들은 상업적으로 입수가 가능하고 예를 들면 Sigma, P.O. Box 14508, St. Louis, MO 63178로부터 입수가 가능하다. 추가적인 설명으로, 통상적인 제제 기법이 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 제20판, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); 및 H.C. Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 제7판, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999)에 기술되어 있다.

<190> 약제학적으로 허용가능한 담체로 역할할 수 있는 물질의 대표적인 예들은 제한되지 않지만 다음을 포함한다:(1) 락토오즈, 글루코스 및 수크로스와 같은 당; (2) 옥수수 전분 및 감자 전분과 같은 전분; (3) 미세결정형 셀룰로오스와 같은 셀룰로오스, 및 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트와 같은 셀룰로오스 유도체; (4) 분말화된 트래거컨스; (5) 맥아; (6) 젤라틴; (7) 탈크; (8) 코코아 버터 및 좌제용 왁스와 같은 부형제; (9) 땅콩유, 면실유, 홍화씨유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 콩기름과 같은 오일; (10) 프로필렌 글리콜과 같은 글리콜; (11) 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리올; (12) 에틸 올리에이트 및 에틸 라우레이트와 같은 에스테르; (13) 아가; (14) 마그네슘 히드록시드 및 알루미늄 히드록시드와 같은 완충제; (15) 알긴산; (16) 발열물질이 없는(pyrogen-free) 물; (17) 등장성 식염수; (18) 링거 용액; (19) 에틸 알코올; (20) 포스페이트 완충 용액; 및 (21) 약제학적 조성물에서 사용되는 기타 무-독성 양립가능한 물질.

<191> 본 발명의 약제학적 조성물은 통상적으로 본 발명의 화합물과 약제학적으로-허용가능한 담체 및 하나 이상의 선택적 성분들을 완전히 및 직접적으로 혼합하거나 또는 섞음으로써 제조된다. 필요하다면 또는 바람직하다면, 그 결과 생성된 균일하게 혼합된 혼합물을 통상적인 방법과 장비를 사용하여 정제, 캡슐, 알약 및 그 등가물로 성형하거나 또는 집적할 수 있다.

<192> 본 발명의 약제학적 조성물은 바람직하게는 단위 투여 제형(unit dosage form)으로 포장된다. 용어 "단위 투여 제형"은 환자에게 투여하는데 적절한 물리적으로 분리된 단위 즉 단독으로 또는 하나 이상의 추가적인 단위와 배합되어 목표로 하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 예정된 함량의 활성제를 포함하는 각각의 단위를 의미한다. 예를 들면, 이러한 단위 투여 제형은 캡슐, 정제, 알약 및 그 등가물이 될 수 있다.

- <193> 바람직한 실시 형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 경구 투여를 위해 적절하다. 경구 투여를 위해 적절한 약제학적 조성물은 캡슐, 정제, 알약, 로젠지, 교잡(cachet), 당의정(dragee), 분말, 과립의 제형으로; 또는 수성 또는 비-수성 액체에서의 용액 또는 현탁액으로; 또는 수중유(oil-in-water) 또는 유중수(water-in-oil) 액체 에멀전으로; 또는 엘릭시르 또는 시럽으로; 및 그 등가물로 될 수 있고; 각각은 활성 성분으로서 본 발명의 화합물의 예정된 함량을 포함한다.
- <194> 고체 투여 제형(예를 들면, 캡슐, 정제, 알약 및 그 등가물로서)으로 경구 투여를 목적으로 할 때, 본 발명의 약제학적 조성물은 통상적으로 활성 성분으로서 본 발명의 화합물과 소듐 시트레이트 또는 디칼슘 포스페이트와 같은 하나 이상의 약제학적으로-허용가능한 담체를 포함할 것이다. 선택적으로 또는 택일적으로, 상기 고체 투여 제형은 또한 다음을 포함할 수 있다; (1) 전분, 미세결정형 셀룰로오스, 락토오스, 수크로스, 글루코스, 만니톨, 및/또는 규산과 같은 충전제 또는 증량제(extender); (2) 카르복시메틸셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 수크로스 및/또는 아카시아와 같은 결합제; (3) 글리세롤과 같은 보습제(humectant); (4) 아가-아가, 칼슘 카보네이트, 감자 또는 타피오카 전분, 알기산, 소정의 실리케이트, 및/또는 소듐 카보네이트와 같은 붕해제; (5) 과라핀과 같은 용해 지연제(solution retarding agent); (6) 4차 암모늄 화합물과 같은 흡수 촉진제(absorption accelerator); (7) 세틸 알코올 및/또는 글리세롤 모노스테아레이트와 같은 습윤제(wetting agent); (8) 카올린 및/또는 벤토나이트 클레이와 같은 흡수제; (9) 탈크, 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고체형 폴리메틸렌 글리콜, 소듐 라우릴 술페이트, 및/또는 이들의 혼합물과 같은 윤활제; (10) 착색제; 및 (11) 완충제.
- <195> 이형제(release agent), 습윤제, 코팅제, 감미제, 향미제, 및 방향제, 보존제 및 항산화제가 또한 본 발명의 약제학적 조성물에 존재할 수 있다. 약제학적으로-허용가능한 항산화제의 예는 다음을 포함한다: (1) 아스코르브산, 시스테인 히드록로로라이드, 소듐 비술페이트, 소듐 메타비술페이트, 소듐 술파이트 및 그 등가물과 같은 수-가용성 항산화제; (2) 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화된 히드록시아니솔(butylated hydroxyanisole, BHA), 부틸화된 히드록시톨루엔(butylated hydroxytoluene, BHT), 레시친, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤, 및 그 등가물과 같은 유용성(oil-soluble) 항산화제; 및 (3) 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 및 그 등가물과 같은 금속-킬레이트화제. 정제, 캡슐, 알약 및 그 등가물을 위한 코팅제는 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트(cellulose acetate phthalate, CAP), 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트(polyvinyl acetate phthalate, PVAP), 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 프탈레이트, 메타크릴산-메타크릴산 에스테르 공중합체, 셀룰로오스 아세테이트 트리멜리테이트(cellulose acetate trimellitate, CAT), 카르복시메틸 에틸 셀룰로오스(carboxymethyl ethyl cellulose, CMEC), 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트(hydroxypropyl methyl cellulose acetate succinate, HPMCAS), 및 그 등가물과 같은 장용 코팅(enteric coating)을 위한 코팅제를 포함한다.
- <196> 목표로 한다면, 또한 본 발명의 약제학적 조성물은 예를 들면 다양한 비율로 있는 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스; 또는 기타 폴리머 매트릭스, 리포솜 및/또는 미소 구체를 사용하여 활성 성분의 서 방출 또는 제어 방출을 제공하도록 제제화될 수 있다.
- <197> 또한, 본 발명의 약제학적 조성물은 선택적으로 불투명화제(opacifying agent)를 포함할 수 있고 이들 제제는 활성 성분을 위장관의 일부 부분에서만, 또는 위장관의 일부 부분에서 우위로, 선택적으로는 지연된 방식으로 활성 성분을 방출하도록 제제화될 수 있다. 사용될 수 있는 임베딩 조성물(embedding composition)의 예는 폴리머 물질과 왁스를 포함한다. 또한, 활성 성분은 적절하다면, 상기-기술된 부형제 하나 이상과 함께 마이크로 캡슐화된 제형으로 될 수 있다.
- <198> 경구 투여를 위한 적절한 액체 투여 제형은 실례로서 약제학적으로-허용가능한 에멀전, 마이크로에멀전, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르를 포함한다. 상기 액체 투여 제형은 통상적으로 활성 성분과, 예를 들면 물 또는 기타 용매와 같은 비활성 희석제, 에틸 알코올, 이소프로필 알코올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 오일(면실유, 땅콩유, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유 및 참기름과 같은 것), 글리세롤, 테트라히드로퓨릴 알코올, 폴리메틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르, 및 이들의 혼합물과 같은 가용화제 및 유화제를 포함한다. 현탁액은 활성 성분뿐만 아니라, 예를 들면 에톡시화된 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 소르비탄 에스테르, 미세결정형 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가-아가 및 트래거캔스, 및 이들의 혼합물과 같은 현탁제를 포함할 수 있다.
- <199> 택일적으로, 본 발명의 약제학적 조성물은 흡입에 의한 투여를 위해 제제화된다. 흡입에 의한 투여를 위한 적

절한 약제학적 조성물은 통상적으로 에어로졸 또는 분말 제형이 될 것이다. 상기 조성물은 일반적으로 정량-흡입계, 건조 분말 흡입계, 네블라이저 또는 유사 전달 장치와 같은 잘-알려진 전달 장치를 사용하여 투여된다.

<200> 가압된 용기를 사용하여 흡입에 의해 투여할 때, 본 발명의 약제학적 조성물은 통상적으로 활성 성분과, 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 기타 적절한 기체와 같은 적절한 추진체를 포함할 것이다.

<201> 또한, 본 발명의 약제학적 조성물은 본 발명의 화합물과 분말 흡입계에서 사용하는데 적절한 분말을 포함하는 캡슐 또는 카트리지(예를 들면, 젤라틴으로 만들어짐) 제형일 것이다. 적절한 분말 기체는 예를 들면 락토오스 또는 전분을 포함한다.

<202> 본 발명의 화합물은 또한 공지된 경피 전달 시스템과 부형제를 사용하여 경피로 투여될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화합물은 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 모노라우레이트, 아자시클로알칸-2-온 및 그 등가물과 같은 침투 강화제(permeation enhancer)와 혼합될 수 있다. 원한다면, 겔 형성제(gelling agent), 유화제 및 완충제를 포함하는 추가적인 부형제가 상기 경피 조성물에 사용될 수 있다.

<203> 하기 제제에는 본 발명의 대표적인 약제학적 조성물을 설명한다.

<204> 제제 실시예 A

<205> 경구 투여를 위한 경질 젤라틴 캡슐을 하기와 같이 제조한다.

성분	함량
본 발명의 화합물	50 mg
락토오스(분무-건조됨)	200 mg
마그네슘 스테아레이트	10 mg

<207> 대표적인 방법: 성분들을 완전히 혼합하고 그런 다음 경질 젤라틴 캡슐 안에 충전하였다(캡슐 한 개당 조성물 260 mg).

<208> 제제 실시예 B

<209> 경구 투여를 위한 경질 젤라틴 캡슐을 하기와 같이 제조한다.

성분	함량
본 발명의 화합물	20 mg
전분	89 mg
미세결정형 셀룰로오스	89 mg
마그네슘 스테아레이트	2 mg

<211> 대표적인 방법: 성분들을 완전히 혼합하고, 45번 메쉬 U.S.체를 통과시키고, 그런 다음 경질 젤라틴 캡슐 안에 충전하였다(캡슐 한 개당 조성물 200 mg).

<212> 제제 실시예 C

<213> 경구 투여를 위한 캡슐을 하기와 같이 제조한다.

성분	함량
본 발명의 화합물	10 mg
폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올리에이트	50 mg
전분 분말	250 mg

<215> 대표적인 방법: 성분들을 완전히 혼합하고 그런 다음 젤라틴 캡슐 안에 충전하였다(캡슐 한 개당 조성물 310 mg).

<216> 제제 실시예 D

<217> 경구 투여를 위한 정제를 하기와 같이 제조한다:

<218>	성분	함량
	본 발명의 화합물	5 mg
	전분	50 mg
	미세결정형 셀룰로오스	35 mg
	폴리비닐피롤리돈(물에서 10 wt.%)	4 mg
	소듐 카르복시메틸 전분	4.5 mg
	마그네슘 스테아레이트	0.5 mg
	탈크	1 mg

<219> 대표적인 방법: 활성 성분, 전분 및 셀룰로오스를 45번 메쉬 U.S. 체를 통과시키고 완전히 혼합한다. 그 결과 생성된 분말을 폴리비닐피롤리돈 용액과 혼합하고, 그런 다음 얻은 혼합물을 14번 메쉬 U.S. 체를 통과시킨다. 이렇게 생성된 과립을 50-60℃에서 건조시키고 18번 메쉬 U.S. 체를 통과시킨다. 그런 다음, 상기 과립에 소듐 카르복시메틸 전분, 마그네슘 스테아레이트 및 탈크(이미 60번 메쉬 U.S.체를 통과시킨 것)을 첨가한다. 혼합한 후에, 얻은 혼합물을 타정기에서 압착하여 100 mg 중량의 정제를 얻는다.

<220> 제제 실시예 E

<221> 경구 투여를 위한 정제를 하기와 같이 제조한다:

<222>	성분	함량
	본 발명의 화합물	25 mg
	미세결정형 셀룰로오스	400 mg
	흡드 이산화 규소(silicon dioxide fumed)	10 mg
	스테아르산	5 mg

<223> 대표적인 방법: 성분들을 완전히 혼합하고 그런 다음 압착하여 정제를 형성한다(정제 한 개당 조성물 440 mg).

<224> 제제 실시예 F

<225> 경구 투여를 위한 단일-층 정제(Single-scored tablet)를 하기와 같이 제조한다:

<226>	성분	함량
	본 발명의 화합물	15 mg
	옥수수 전분	50 mg
	크로스카르멜로스 소듐	25 mg
	락토오스	120 mg
	마그네슘 스테아레이트	5 mg

<227> 대표적인 방법: 성분들을 완전히 혼합하고 압착하여 단일-층 정제(Single-scored tablet)를 형성한다(정제 한 개당 조성물 215 mg)

<228> 제제 실시예 G

<229> 경구 투여를 위한 현탁액을 하기와 같이 제조한다:

<230>	성분	함량
	본 발명의 화합물	0.1 g
	푸마르산	0.5 g
	소듐 클로라이드	2.0 g
	메틸 파라벤	0.15 g
	프로필 파라벤	0.05 g
	과립화된 설탕	25.5 g

소르비톨(70% 용액)	12.85 g
비검 k(Vanderbilt Co.)	1.0 g
향미제	0.035 ml
착색제	0.5 mg
증류수	100 ml까지 채움

<231> 대표적인 방법: 성분들을 혼합하여 현탁액 10 ml 당 활성 성분 10 mg을 포함하는 현탁액을 형성한다.

<232> 제제 실시예 H

<233> 흡입에 의한 투여를 위한 건조 분말을 하기와 같이 제조한다:

<234>

성분	함량
본 발명의 화합물	1.0 mg
락토오스	25 mg

<235> 대표적인 방법: 활성 성분을 미분화하고 그런 다음 락토오스와 혼합한다. 이렇게 혼합된 혼합물을 젤라틴 흡입 카트리지 안에 충전한다. 카트리지의 내용물을 분말 흡입기를 사용하여 투여한다.

<236> 제제 실시예 I

<237> 정량 흡입계에서 흡입에 의한 투여를 위한 건조 분말을 하기와 같이 제조한다:

<238> 대표적인 방법:

<239> 탈염화된 물 200 mL에 용해시킨 레시친 0.2 g으로부터 생성된 용액에, 10 μ m 미만의 평균 크기를 갖는 미분화된 입자로서 활성 화합물 10 g을 분산시킴으로써, 본 발명의 화합물 5 wt.%와 레시친 0.1 wt.%를 포함하는 현탁액을 제조한다. 얻은 현탁액을 분무 건조하고 그 결과 생성된 물질을 1.5 μ m 미만의 평균 직경을 갖는 입자로 미분화한다. 얻은 입자를 가압된 1,1,1,2-테트라플루오로에탄과 함께 카트리지 안에 충전한다.

<240> 제제 실시예 J

<241> 주사가능한 제제를 하기와 같이 제조한다:

<242>

성분	함량
본 발명의 화합물	0.2 g
소듐 아세테이트 완충 용액(0.4 M)	40 ml
HCl(0.5 N) 또는 NaOH(0.5 N)	pH 4로 맞춤
물(증류됨, 멸균됨)	20 ml까지 채움

<243> 대표적인 방법: 상기 성분들을 혼합하고, 0.5 N HCl 또는 0.5N NaOH를 사용하여 pH를 4 \pm 0.5로 맞춘다.

<244> 제제 실시예 K

<245> 경구 투여를 위한 캡슐을 하기와 같이 제조한다:

<246>

성분	성분
본 발명의 화합물	4.05 mg
미세결정형 셀룰로오스(Avicel PH 103)	259.2 mg
마그네슘 스테아레이트	0.75 mg

<247> 대표적인 방법: 성분들을 완전히 혼합하고 그런 다음 젤라틴 캡슐(Size #1, White, Opaque) 안에 충전한다(캡슐 한 개당 조성물 264 mg).

<248> 제제 실시예 L

<249> 경구 투여를 위한 캡슐을 하기와 같이 제조한다:

성분	함량
본 발명의 화합물	8.2 mg
미세결정형 셀룰로오스(Avicel PH 103)	139.05 mg
마그네슘 스테아레이트	0.75 mg

<251> 대표적인 방법: 성분들을 완전히 혼합하고 그런 다음 젤라틴 캡슐(Size #1, White, Opaque) 안에 충전한다(캡슐 한 개당 조성물 148 mg).

<252> 특정 투여 방식에 적절한 본 발명의 화합물의 소정의 형태(즉, 유리 염기, 약제학적 염, 또는 용매화물)가 상기 논의된 약제학적 조성물에 사용될 수 있음은 이해될 것이다.

<253> 유효성

<254> 본 발명의 벤조이미다졸론-카르복사미드-유래 카바메이트 화합물은 5-HT₄ 수용체 아고니스트이고 따라서 5-HT₄ 수용체에 의해 매개되거나 또는 5-HT₄ 수용체 활성화와 관련되는 의학적 상태 즉 5-HT₄ 수용체 아고니스트에 의한 치료에 의해 개선되는 의학적 상태를 치료하는데 유용할 것으로 기대된다. 그러한 의학적 상태는 제한되지는 않지만 과민성 장 증후군(IRS), 만성 변비, 기능성 소화 불량, 위 배출 지연증, 위식도 역류증(GERD), 위마비, 수술-후 장폐색증, 가성 장 폐쇄증, 및 약물-유도된 지연된 통과를 포함한다. 또한, 일부 5-HT₄ 수용체 아고니스트 화합물은 인지 장애, 행동 장애, 기분 장애, 및 자율 기능 조절 장애를 포함한 중추 신경계 질환의 치료에 사용될 수 있음이 제안되고 있다.

<255> 특히, 본 발명의 화합물은 위장(GI) 관의 운동성을 증가시켜 인간을 포함하는 포유 동물에서 감소된 운동성으로 인해 발생하는 GI 관의 질환을 치료하는데 유용할 것으로 기대된다. 그러한 GI 운동성 질환은 실례로서 만성 변비, 변비-우세형 과민성 장 증후군(constipation-predominant irritable bowel syndrome, C-IRS), 당뇨병성 위마비(diabetic gastroparesis)와 특발성 위마비(idiopathic gastroparesis), 및 기능성 소화불량을 포함한다.

<256> 그러므로, 하나의 실시 형태에서, 본 발명은 포유 동물에서 위장관의 운동성을 증가시키는 방법을 제공하고, 상기 방법은 약제학적으로-허용가능한 담체와 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물의 치료적 유효량을 상기 포유 동물에게 투여하는 단계를 포함한다.

<257> 본 발명의 화합물이 GI 관의 감소된 운동성으로 인한 질환 또는 5-HT₄ 수용체에 의해 매개되는 그 밖의 상태를 치료하기 위해 사용될 때, 본 발명의 화합물은 다른 투여 제형이 사용될 수 있지만, 통상적으로 단일한 하루 투여 또는 하루 당 복수 회 투여로 경구로 투여될 것이다. 투여 당 투여되는 활성제의 함량 또는 하루 당 투여되는 전체 함량은 통상적으로 의사에 의해, 치료될 상태, 선택된 투여 경로, 투여되는 실제 화합물 및 그의 상대적 활성, 개개 환자의 나이, 체중 및 반응, 환자 증상의 심각성, 및 그 등가물을 포함하는 관련된 상황의 관점에서 결정될 것이다.

<258> GI 관의 감소된 운동성으로 인한 질환 또는 5-HT₄ 수용체에 의해 매개되는 그 밖의 질환을 치료하는데 적절한 투여량은 활성제 약 0.0007 내지 약 1 mg/kg/일을 포함하여, 활성제 약 0.0007 내지 약 20 mg/kg/일 범위가 될 것이다. 평균 70 kg인 사람의 경우, 이것은 하루 당 활성제 약 0.05 내지 약 70 mg의 함량이 될 것이다.

<259> 본 발명의 하나의 실시 형태에서, 본 발명의 화합물은 만성 변비를 치료하는데 사용된다. 본 발명의 화합물이 만성 변비를 치료하는데 사용될 때, 본 발명의 화합물은 통상적으로 단일한 하루 투여 또는 하루 당 복수 회 투여로 경구로 투여될 것이다. 바람직하게는, 만성 변비를 치료하기 위한 투여량은 하루 당 약 0.05 내지 약 70 mg 범위가 될 것이다.

<260> 본 발명의 또 다른 실시 형태에서, 본 발명의 화합물은 과민성 장 증후군을 치료하는데 사용된다. 본 발명의 화합물이 변비-우세형 과민성 장 증후군을 치료하는데 사용될 때, 본 발명의 화합물은 단일한 하루 투여 또는 하루 당 복수 회 투여로 경구로 투여될 것이다. 바람직하게는, 변비-우세형 과민성 장 증후군을 치료하기 위한 투여량은 하루 당 약 0.05 내지 약 70 mg 범위가 될 것이다.

<261> 본 발명의 또 다른 실시 형태에서, 본 발명의 화합물은 당뇨병성 위마비를 치료하는데 사용된다. 본 발명의 화

합물이 당뇨병성 위마비를 치료하는데 사용될 때, 본 발명의 화합물은 단일한 하루 투여 또는 하루 당 복수 회 투여로 경구로 투여될 것이다. 바람직하게는, 당뇨병성 위마비를 치료하기 위한 투여량은 하루 당 약 0.05 내지 약 70 mg 범위가 될 것이다.

<262> 본 발명의 또 다른 실시 형태에서, 본 발명의 화합물은 기능성 소화불량을 치료하는데 사용된다. 본 발명의 화합물이 기능성 소화불량을 치료하는데 사용될 때, 본 발명의 화합물은 단일한 하루 투여 또는 하루 당 복수 회 투여로 경구로 투여될 것이다. 바람직하게는, 기능성 소화불량을 치료하기 위한 투여량은 하루 당 약 0.05 내지 약 70 mg 범위가 될 것이다.

<263> 또한, 본 발명은 5-HT₄ 수용체 활성화와 관련된 질환 또는 상태를 갖는 포유 동물을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 본 발명의 화합물 또는 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물의 치료적 유효량을 포유 동물에게 투여하는 단계를 포함한다.

<264> 본 발명의 화합물은 5-HT₄ 수용체 아고니스트이므로, 상기 화합물은 또한 5-HT₄ 수용체를 갖는 생물학적 시스템 또는 시료를 조사하거나 또는 연구하기 위한 연구 도구로서, 또는 신규한 5-HT₄ 수용체 아고니스트를 개발하기 위한 연구 도구로서 유용하다. 또한, 본 발명의 화합물은 다른 5-HT 서브타입의 수용체, 특히 5-HT₃ 수용체에 대한 결합과 비교할 때 5-HT₄ 수용체에 대한 결합 선택성을 나타내므로, 본 발명의 화합물은 생물학적 시스템 또는 시료에서 5-HT₄ 수용체의 선택적 아고니즘의 효과를 연구하는데 특히 유용하다. 5-HT₄ 수용체를 갖는 소정의 적절한 생물학적 시스템 또는 시료는 인 비트로(in vitro) 또는 인 비보(in vivo)에서 수행될 수 있는 연구에서 사용될 수 있다. 그와 같은 연구에 적절한 대표적인 생물학적 시스템 또는 시료는 제한되지는 않지만, 세포, 세포 추출물, 원형질막, 조직 시료, 포유 동물(마우스, 랫트, 기니아 피그, 토끼, 개, 피그 등과 같은 것), 및 그 등가물을 포함한다.

<265> 본 발명의 이러한 실시 형태에서, 5-HT₄ 수용체를 포함하는 생물학적 시스템 또는 시료는 본 발명 화합물의 5-HT₄ 수용체-작용하는(agonizing) 함량과 접촉된다. 그런 다음, 5-HT₄ 수용체에 작용하는 효과는 방사성리간드 결합 분석(radioligand binding assay) 및 기능성 분석(functional assay)과 같은 통상적인 방법과 장비를 사용하여 결정된다. 그러한 기능성 분석은 세포내 시클릭 아데노신 모노포스페이트(cAMP)에서 리간드-매개된 변화, 효소 아데닐일 시클라제(cAMP를 합성함)의 활성화에서 리간드-매개된 변화, GTP 유사체의 GDP 유사체로의 교환을 측정하는 수용체를 통한 [³⁵S]GTP γS (구아노신 5'-0-(γ-티오)트리포스페이트) 또는 GTP-Eu와 같은 구아노신 트리포스페이트(GTP)의 유사체의 통합에서 리간드-매개된 변화, 유리 세포내 칼슘 이온(예를 들면, 형광-연결된 이미징 플레이트 판독기(fluorescence-linked imaging plate reader) 또는 FLIPR®(Molecular Devices, Inc.)로 측정됨)의 리간드-매개된 변화, 및 마이토젠 활성화 단백질 키나제(mitogen activated protein kinase, MAPK) 활성화의 측정을 포함한다. 본 발명의 화합물은 상기 열거된 기능성 분석 중 하나에서 또는 유사한 성질의 분석에서 5-HT₄ 수용체의 활성화에 작용하거나 또는 활성을 증가시킬 수 있다. 본 발명 화합물의 5-HT₄ 수용체-작용하는 함량은 통상적으로 약 1 나노몰 내지 약 500 나노몰의 범위가 될 것이다.

<266> 또한, 본 발명의 화합물은 신규 5-HT₄ 수용체 아고니스트를 개발하기 위한 연구 도구로서 사용될 수 있다. 이러한 실시 형태에서는, 테스트할 화합물 또는 테스트할 화합물의 군의 5-HT₄ 수용체 결합 또는 기능성 데이터를 본 발명 화합물의 5-HT₄ 수용체 결합 또는 기능성 데이터와 비교하여, 만약 존재한다면 테스트 화합물이 더 나은 결합 또는 기능적 활성이 있는지 확인하게 된다. 본 발명의 이러한 실시 형태는 별개의 실시 형태로서, 비교 데이터의 생성(적절한 분석을 사용함) 및 관심이 가는 테스트 화합물을 확인하기 위한 테스트 결과의 분석 모두를 포함한다.

<267> 다른 특징들 중에서, 본 발명의 화합물은 5-HT₄ 수용체의 강력한 아고니스트인 것으로 밝혀졌고, 방사성리간드 결합 분석에서 5-HT₃ 수용체 서브타입에 비하여 5-HT₄ 수용체에 대해 실질적인 선택성을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 또한, 본 발명의 대표적인 화합물은 랫트 모델에서 더 나은 약동력학 특징을 보여주었다. 따라서, 본 발명의 화합물은 경구 투여 후 좋은 생체이용가능성을 나타낼 것으로 기대된다. 또한, hERG 심장 포타슘 채널을 발현하는 분리된 전 세포(whole cell)를 사용한 인 비트로(in vitro) 볼타지-클램프 모델(voltage-clamp model)에서 테스트된 대표적인 화합물은 포타슘 이온 전류 억제제의 허용가능하지 않은 수준을 나타내지 않는 것으로 나타났다. 상기 볼타지-클램프 분석은 약제학적 물질이 심장 재분극의 패턴을 변화시키는 포텐셜

(potential), 특히 심장 부정맥과 관련되는 소위 QT 연장(QT prolongation)을 발생시키는 포텐셜을 평가하기 위한 용인된 전-임상 방법이다 (Cavero et al., Opinion on Pharmacotherapy, 2000, 1, 947-73, Fermini et al., Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2, 439-447). 따라서, 본 발명의 화합물을 포함하는 억제학적 조성물은 용인가능한 심장 프로파일(cardiac profile)을 가질 것으로 기대된다.

<268> 본 발명 화합물의 유용성뿐만 아니라 이러한 특징이 당해 분야의 당업자에게 잘 알려진 다양한 인 비트로 및 인 비보 분석을 사용하여 입증될 수 있다. 대표적인 분석이 하기 실시예에서 보다 상세하게 기술된다.

실시예

<269> 하기의 합성 실시예와 생물학적 실시예가 본 발명을 설명하기 위해 제공되고, 본 발명의 범위를 제한하기 위한 어떠한 방식으로 해석되어져서는 안 된다. 하기 실시예에서는, 하기의 줄임말은 달리 지적되지 않는다면 하기의 의미를 갖는다. 하기에서 규정되지 않은 줄임말은 일반적으로 용인된 의미를 갖는다.

<270> Boc = 터트-부톡시카르보닐

<271> (Boc)₂O = 디-터트-부틸 디카보네이트

<272> DCM = 디클로로메탄

<273> DMF = N,N-디메틸포름아미드

<274> DMSO = 디메틸 술폭시드

<275> EtOAc = 에틸 아세테이트

<276> mCPBA = m-클로로벤조산

<277> MeCN = 아세토니트릴

<278> MTBE = 터트-부틸 메틸 에테르

<279> PyBop = 벤조트리아졸-1-일옥시트리피롤리디노-포스포늄 헥사플루오로포스페이트

<280> R_f = 보류 인자(retention factor)

<281> RT = 실온

<282> TFA = 트리플루오로아세트산

<283> THF = 테트라히드로푸란

<284> 시약(2차 아민을 포함함)과 용매는 상업적 공급자(Aldrich, Fluka, Sigma, 등)로부터 구입하였고, 추가로 정제하지 않고 사용되었다. 달리 지적되지 않는다면, 반응은 질소 분위기에서 진행되었다. 반응 혼합물의 진행은 얇은 막 크로마토그래피(TLC), 분석용 고성능 액체 크로마토그래피(anal. HPLC), 및 질량 분광기로 모니터되었고, 그 상세부를 하기 특정 반응 실시예에서 별개로 제공한다. 반응 혼합물을 각각의 반응에서 특히 기술된 바와 같이 워크 업하였고; 통상적으로 상기 혼합물은 추출 및 온도-의존적 및 용매-의존적 결정화, 및 침전과 같은 그 밖의 정제 방법에 의해 정제되었다. 또한, 반응 혼합물을 제조용 HPLC(preparative HPLC)에 의해 통상적으로 정제하였고: 일반적인 프로토콜을 하기에서 기술하였다. 반응 생성물의 규명은 질량 분석과 ¹H-NMR 분광으로 통상적으로 수행되었다. NMR 측정을 위하여, 시료를 중수소화된 용매(CD₃OD, CDCl₃, 또는 DMSO-d₆)에 용해시켰고, 표준 관찰 조건 하에서 Varian Gemini 2000 instrument (300 MHz)로 ¹H-NMR 스펙트럼을 얻었다. 달리 지적되지 않는다면, 화합물의 질량 분광 확인은 Applied Biosystems (Foster City, CA) 모델 API 150 EX 장치 또는 Agilent (Palo Alto, CA) 모델 1100 LC/MSD 장치로 전자분무 이온화 방법(electrospray ionization method, ESMS)에 의해 수행되었다.

<285> 분석용 HPLC의 일반적인 프로토콜: 정제되지 않은 각각의 혼합물을 0.5-1.0 mg/mL 농도로 50% MeCN/H₂O (0.1% TFA를 포함)에 용해시켰고, anal. HPLC를 사용하여 분석하였다: 1) 역상 분석 컬럼: Zorbax Bonus-RP (입자 크기 3.5 μm, 2.1 x 50 mm); 2) 유속: 0.5 mL/분; 3) 0.1% TFA를 포함하는 5% MeCN/H₂O(일정한 용매로(isocratic); 0 - 0.5 분); 0.1 % TFA를 포함하는 5% MeCN/H₂O에서 0.1% TFA를 포함하는 75% MeCN/H₂O(선형 농

도 구매; 0.5 - 4 분); 4) 검출: 214, 254, 및 280 nm. 사용된 다른 조건을 필요할 때마다 기재하였다.

<286> 제조용 HPLC 정제를 위한 일반적인 프로토콜: 정제되지 않은 혼합물을 물에 넣은 50% 아세트산에서 50-100 mg/mL 농도로 용해시켰고, 여과하였고, 제조용 HPLC를 사용하여 분배하였다: 1) 컬럼: YMC Pack-Pro C18 (50a x 20 mm; ID = 5 μ m); 2) 선형 농도 구매: 30분에 걸쳐 10% A/90% B에서 50% A/50% B; 3) 유속: 40 mL/분; 4) 검출: 214 nm.

<287> 2차 아민의 제조

<288> 식 (I)의 화합물의 합성에서 중간체로 사용된 다양한 2차 아민의 제조가 하기에서 기술된다.

<289> N-Boc 피페라진을 각각의 술포닐 클로라이드와 반응시키고(i Pr₂NEt, CH₂Cl₂, 0°C) N-Boc 기를 탈보호함으로써 (CF₃CO₂H, CH₂Cl₂), 피페라진의 N-술포닐 유도체를 제조하였다. 1-메탄술포닐피페라진: ¹H-NMR (CDCl₃; neutral): δ (ppm) 3.1 (t, 4H), 2.9 (t, 4H), 2.7 (s, 3H). 또한, 메탄술포닐클로라이드와 초과량의 피페라진(>2 당량)을 물에서 반응시킴으로써 메탄술포닐피페라진을 제조하였다.

<290> 피페라진을 디메틸아미노클로로포르메이트, 또는 디메틸아미노술포모일 클로라이드 각각과 반응시킴으로써, 1-(디메틸아미노카르보닐)피페라진, 및 1-(디메틸아미노술포닐)피페라진과 같은 피페라진의 N-유도체를 제조하였다.

<291> N¹-Boc-3-아미노피롤리딘(라세미체, 3R, 또는 3S)을 아세틸 클로라이드를 처리하고(i Pr₂NEt, CH₂Cl₂, 0°C) N-Boc 기를 탈보호함으로써(CF₃CO₂H, CH₂Cl₂), 3-아세틸아미노피롤리딘의 라세미체 또는 단일한 키랄 이성질체 형태를 제조하였다. 3-(아세트아미도)피롤리딘: ¹H-NMR (DMSO-d₆ TFA 염): δ (ppm) 4.2 (quin, 1H), 3.3- 3.1 (m, 3H), 2.9 (m, 1H), 2.0 (m, 1H), 1.8 (br s, 4H).

<292> N¹-Boc-(3R)-아미노피롤리딘을 프로피오닐술포닐 클로라이드 또는 시클로헥실메틸술포닐 클로라이드로 처리하고 (i -Pr₂NEt, CH₂Cl₂, 0°C), N-Boc 기를 탈보호시킴으로써(CF₃CO₂H, CH₂Cl₂), (3R)-아미노피롤리딘의 N³-알칸술포닐 유도체를 얻었다.

<293> 3-술포렌(sulfolene)과 필요한 1차 아민을 메탄올에서 반응시킴으로써(cat. KOH, rt), Loev, B. J. Org, Chem. 1961, 26, 4394-9에 따른 프로토콜에 따라, 테트라히드로-3-티오펜아민-1,1-디옥시드의 유도체를 제조하였다. N-메틸-3-테트라히드로티오펜-아민-1,1-디옥시드(TFA 염): ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ (ppm) 9.4 (br s, 2H), 4.0-3.8 (quin, 1H), 3.6-3.5 (dd, 1H), 3.4-3.3 (m, 1H), 3.2-3.1 (m, 2H), 2.5 (s, 3H), 2.4 (m, 1H), 2.1 (m, 1H).

<294> (S)-1,1-디옥소-테트라히드로-1 λ ⁶-티오펜-3-일아민을 하기와 같이 제조하였다:

<295> 1) 메탄올에서 실온에서 약 12시간 동안 (Boc)₂O로 처리함으로써 (S)-3-테트라히드로티오펜아민의 N-Boc 보호 (Dehmlow, E. V.; Westerheide, R. Synthesis 1992, 10, 947-9); 2) 디클로로메탄에서 0°C에서 약 5시간 동안 m-CPBA로 처리함으로써 N-Boc 보호된 (S)-1,1-디옥소-테트라히드로-1 λ ⁶-티오펜-3-일아민으로 산화; 및 3) 디클로로메탄에서 실온에서 1 시간 동안 TFA로 상기 술포 유도체의 N-Boc 탈보호는 유리 아민을 생성하였고, 이것은 TFA 염으로 분리되었다. (S)-테트라히드로티오펜아민을 (R)-3-테트라히드로티오펜아민으로 대체한 것을 제외하고는, 같은 방법을 사용하여 (R)-1,1-디옥소-테트라히드로-1 λ ⁶-티오펜-3-일아민을 제조하였다.

<296> 테트라히드로-4H-티오피란-4-온으로부터 N-메틸-테트라히드로-2H-티오피란-4-아민-1,1-디옥시드를 제조하였다; i) MeNH₂, NaBH₄; 2) (Boc)₂O, MeOH; iii) mCPBA, CH₂Cl₂, 0°C; iv) CF₃CO₂H, CH₂Cl₂. (m/z): [M+H] C₆H₁₃NO₂S 계 산값, 164.07; 164.9 측정값. ¹H-NMR (CD₃OD; TFA 염): δ (ppm) 3.4-3.1 (m, 5H), 2.7 (s, 3H), 2.4 (br d, 2H), 2.1 (br m, 2H).

<297> 프롤린 디메틸아미드, 이소니페코타미드(피페리딘-4-카르복사미드), 및 1-(테트라히드로-2-푸로일)피페라진은 상업적으로 입수가 가능하였고, 상업적 공급원으로부터 구입하였다.

<298> 4-피페리디놀-디메틸카바메이트를 디메틸아미노클로로포르메이트와 N-Boc 보호된 4-피페리디놀과 반응시킴으로써 제조하였다.

<299> **제조예 1**

<300> **1-이소프로필-1,3-디히드로-2H-벤즈이미다졸-2-온의 제조**

<301> a. N-이소프로필-N-(2-니트로페닐)아민의 제조

<302> 얼음 배스에서 냉각시킨 에탄올(300 mL)에 넣은 2-플루오로-니트로벤젠(31.8 g, 0.225 mol)의 차가운 용액에, 이소프로필아민(54.0 mL, 0.634 mol)을 첨가하였고, 그 다음에 물(120 mL)에 넣은 포타슘 카보네이트(31.1 g, 0.225 mol) 용액을 첨가하였다. 얻은 혼합물을 0℃에서 1 시간 동안 교반하였고, 그런 다음 6시간 동안 환류시켰다. 얻은 혼합물을 실온까지 냉각시킴으로써 반응을 종료시켰고, 감압 하에서 용매를 증발시켜 오렌지색 잔여물을 얻었다. 얻은 잔여물을 에틸 에테르(800 mL)와 브라인 용액(brine solution)(300 mL)으로 분배시켰다. 오렌지색 층에서 물을 제거하였고 여과시켜, 오렌지색 액체로서 표제 중간체(39 g)를 얻었다. ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 8.06 (d, 1H), 7.30 (t, 1H), 6.74 (d, 1H), 6.48 (t, 1H), 3.73 (hept, 1H), 1.20 (d, 6H).

<303> b. N-(2-아미노페닐)-N-이소프로필아민의 제조

<304> 얼음 배스에서 냉각시킨 에탄올(600 mL)과 2 M 소듐 히드록시드 용액(320 mL)의 혼합물에 Zn 입자(59.5 g)를 천천히 첨가하였다. 얻은 Zn 슬러리를 교반하는 동안, 에탄올(50 mL)에 용해시킨 N-이소프로필-N-(2-니트로페닐)아민(41 g, 0.228 mol)을 첨가하였다. 얻은 혼합물을 0℃에서 30분 동안 교반하였고, 그런 다음 85℃까지 가열하였다. 혼합물의 환류 상태의 용액이 무색 용액이 될 때까지 얻은 혼합물을 85℃에서 약 12시간 동안 교반시켰다. 그런 다음, 얻은 혼합물을 0℃까지 냉각시켰고 여과하였다. 포집된 고체를 EtOAc (200 mL)로 수세하였다. 얻은 여과액과 수세하여 얻은 용액을 합하고, 진공에서 용매를 증발시켜 초과량의 휘발성 용매를 제거하였다. 농축시키는 동안, 혼합물은 옅은 갈색/노란색이 되었다. 수성 농축액을 EtOAc (800 mL)로 추출하였다. 얻은 유기 용액을 건조상태가 될 때까지 농축시켜, 갈색-분홍색 오일로서 표제 중간체(33 g)를 얻었고, 이것은 추가로 처리하지 않고 다음 단계에서 사용하였다. ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 6.73-6.5 (m, 4H), 3.58-3.55 (hept, 1H), 1.2 (d, 6H).

<305> c. 1-이소프로필-1,3-디히드로-2H-벤즈이미다졸-2-온의 제조

<306> 테트라히드로푸란(500 mL)에 넣은 단계 (b)의 생성물인 N-(2-아미노페닐)-N-이소프로필아민(34 g, 0.226 mol) 용액에, 카르보닐디이미다졸(36.7 g, 0.226 mol)을 고체 상태로 첨가하였다. 얻은 혼합물을 질소 기체 분위기 하에서 실온에서 약 24시간 동안 교반하였다. 얻은 혼합물을 진공에서 농축시켰고, 그 결과 생성된 어두운 갈색 잔여물을 EtOAc (700 mL)와 브라인 용액 (300 mL)로 분배시켰다. 그런 다음, 유기층의 색깔이 어두운 갈색에서 옅은 갈색으로 변화될 때까지, 유기층을 1 M 인산으로 복수 회(~3 x 300 mL) 수세하였다. 유기층 용액을 건조상태가 될 때까지 용매를 증발시켜 옅은 노란색 오일로서 표제 화합물(34 g)을 얻었고, 이것은 정치시킨 후 고체화되었다. 얻은 물질의 순도를 ¹H-NMR로 평가하였고, 이것은 어떠한 검출가능한 불순물을 나타내지 않았다. ¹H-NMR (CD₃OD, 300 MHz): δ (ppm) 7.2 (m, 1H), 7.0 (m, 3H), 4.6 (hept, 1H), 1.46 (d, 6H). (m/z): [M+H]⁺ 계산값 C₁₀H₁₂N₂O 177.09; 측정값 177.2.

<307> Anal. HPLC: 잔류 시간 = 2.7 분 (99% 순도): 1) 컬럼: Zorbax, Bonus-RP, 입자 크기 3.5 μm, 2.1 x 50 mm; 2) 유속: 0.5 mL/분; 3) 0 내지 0.5 분 동안 일정한 용매 조건(10% 용매 B/90% 용매 A); 그런 다음 5 분 동안 50% 용매 B/50% 용매 A 선형 농도 구배 (용매 A = 98% 물/2% MeCN/0.1% TFA; 용매 B = 90% MeCN/10% 물/0.1% TFA). TLC 분석 (실리카 겔 플레이트): R_f = 0.5 (CH₂Cl₂). 액체 크로마토그래피 질량 분광기(Liquid chromatography mass spectrometry, LCMS) (m/z): [M+H]⁺ C₁₀H₁₂N₂O 계산값 177.09; 측정값 177.3.

<308> **제조예 2**

<309> **(1S,3R,5R)-3-아미노-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르의 제조**

<310> a. 8-벤질-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-3-온의 제조

<311> 물(170 mL)에 넣은 2,5-디메톡시 테트라히드로푸란(82.2 g, 0.622 mol)의 불균일한 용액에 농축 염산(30 mL)을 교반하면서 첨가하였다. 0℃까지 냉각시킨(얼음 배쓰) 분별 플라스크에서 물(350 mL)에 넣은 벤질 아민(100 g, 0.933 mol) 용액에 농축 염산(92 mL)을 천천히 첨가하였다. 2,5-디메톡시테트라히드로푸란 용액을 약 20분 동안 교반하였고, 물(250 mL)로 희석하였고, 그런 다음 벤질 아민 용액을 첨가하였고, 그 다음 물(400 mL)에 넣은 1,3-아세톤디카르복시산(100 g, 0.684 mol) 용액을 첨가하였고, 그 다음에 물(200 mL)에 넣은 인산 일수소나트륨(44 g, 0.31 mol)을 첨가하였다. 40% NaOH를 사용하여 pH를 pH 1에서 pH ~ 4.5로 맞추었다. 그 결과 생성된 용액을 밤새 교반하였다. 그런 다음 얻은 용액을 50% 염산을 사용하여 pH 7.5에서 pH 3으로 산성화시켰고, 85℃까지 가열하였고, 2 시간 동안 교반하였다. 얻은 용액을 실온까지 냉각시켰고, 40% NaOH를 사용하여 pH 12로 염기성으로 만들었고, DCM (3 x 500 mL)로 추출하였다. 합한 유기층을 브라인으로 수세하였고, 건조시켰고, 여과하였고, 감압 하에서 농축시켜 점액성인 갈색 오일로서 미정제된 표제 중간체(52 g)를 생성하였다.

<312> 메탄올(1000 mL)에 넣은 상기 미정제된 중간체 용액에 디-터트-부틸 디카보네이트(74.6 g, 0.342 mol)를 0℃에서 첨가하였다. 얻은 용액을 실온까지 가온시켰고, 밤새 교반하였다. 감압 하에서 메탄올을 제거하였고, 그 결과 생성된 오일을 디클로로메탄(1000 mL)에 용해시켰다. 중간체를 1 M H₃PO₄ (1000 mL)로 추출하였고, 디클로로메탄(3 x 250 mL)으로 수세하였다. 얻은 수용액 층을 NaOH 수용액을 사용하여 pH 12로 염기성으로 만들었고, 디클로로메탄(3 x 500 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층에서 물을 제거하였고, 여과하였고, 감압 하에서 농축하여 점액성인 밝은 갈색 오일로서 표제 중간체를 얻었다. ¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm) 7.5-7.2 (m, 5H, C₆H₅), 3.7 (s, 2H, CH₂Ph), 3.45 (broad s, 2H, CH-NBn), 2.7-2.6 (dd, 2H, CH₂CO), 2.2-2.1 (dd, 2H, CH₂CO), 2.1-2.0 (m, 2H, CH₂CH₂), 1.6 (m, 2H, CH₂CH₂). (m/z): [M+H]⁺ C₁₄H₁₇NO 계산값 216.14; 측정값, 216.0.

<313> b. 3-옥소-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르의 제조

<314> EtOAc(300 mL)에 넣은 8-벤질-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-3-온(75 g, 0.348 mol) 용액에, EtOAc(300 mL)에 넣은 디-터트-부틸 디카보네이트(83.6 g, 0.383 mol, 1.1 당량) 용액을 첨가하였다. 그 결과 얻은 용액과 헥스 용액(100 mL EtOAc)을 질소 흐름 하에서 팔라듐 히드록시드 23 g을 포함하는 1 L Parr 수소화반응 용기(탄소 상에서 20 wt.% Pd, 건조량 기준, 물과 함께 ~50% 습함; 예를 들면 Pearlman's catalyst)에 첨가하였다. 반응 용기에서 기체를 제거하였고(진공과 N₂를 교체시킴, 5회), 60 psi의 H₂ 가스로 가압시켰다. 반응 용액을 2일 동안 교반시켰고, 실리카 얇은 막 크로마토그래피로 모니터링하였을 때 반응이 완료될 때까지, H₂ 압력을 60 psi로 유지할 필요가 있을 때까지 H₂로 재충전시켰다. 그런 다음 얻은 검은 색 용액을 Celite® 패드를 통해 여과시켰고, 감압 하에서 농축시켜, 점액성인 노란색 내지 오렌지색 오일로서 표제 중간체를 얻었다. 이것을 추가로 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다. ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 4.5 (broad, 2H, CH-NBoc), 2.7 (broad, 2H, CH₂CO), 2.4-2.3 (dd, 2H, CH₂CH₂), 2.1 (broad m, 2H, CH₂CO), 1.7-1.6 (dd, 2H, CH₂CH₂), 1.5 (s, 9H, (CH₃)₃COCON)).

<315> c. (1S,3R,5R)-3-아미노-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르의 제조

<316> 메탄올(1 L)에 넣은 이전 단계의 생성물(75.4 g, 0.335 mol) 용액에, 암모늄 포르메이트(422.5 g, 6.7 mol), 물(115 mL) 및 활성탄 상의 팔라듐(건조량 기준 10%, 물과 함께 ~50% 습함; 대구사 타입(Degussa type) E101NE/W)을 N₂ 흐름 하에서, 기계적 교반기를 통해 교반하면서 첨가하였다. 24시간과 48시간 후에, 암모늄포르메이트 추가 분량(132g, 2.1 mol)을 각각의 시간에 첨가하였다. anal. HPLC로 모니터링 하였을 때, 반응 진행이 일단 중지되면, Celite® (>500g)을 첨가하였고, 그 결과 생성된 탁한 현탁액을 여과하였고, 그런 다음 포집된 고체를 메탄올(-500 mL)로 수세하였다. 그 결과 얻은 여과액을 합하였고, 감압 하에서 농축하였다. 그 결과 얻은 흐리고, 이상인(biphasic) 용액을 1M 인산으로 희석하여 pH 2 최종 부피가 -1.5 내지 2.0 L로 만들었고 디클로로메탄(3 x 700 mL)으로 수세하였다. 얻은 수용액 층을 40% NaOH 수용액을 사용하여 pH 12로 염기성으로 만들었고, 디클로로메탄(3 x 700 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층에서 물을 제거하였고, 여과하였고, 회진식 증발에 의해 농축시켰고, 고-진공하에서 농축시켜, 흰색 내지 옅은 노란색 고체로서 통상적으로 N-Boc-엔도-3-아미노트로판인 표제 중간체(52 g)를 얻었다. 생성물의 엔도 대비 엑소 아민의 이성질체 비율은 ¹H-NMR 분석에 기초할 때 >99:1이었다(분석용 HPLC에 의한 때 >96% 순도). ¹H NMR (CDCl₃) δ (ppm) 4.2-4.0 (broad d,

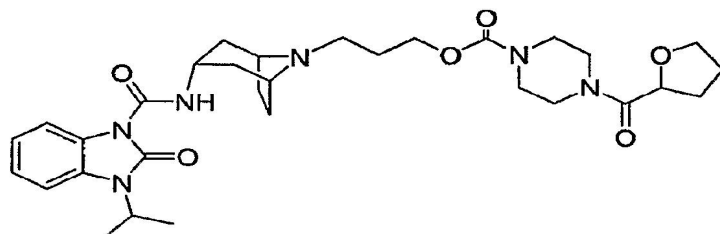
2H, CHNBoc), 3.25 (t, 1H, CHNH₂), 2.1-2.05 (m, 4H), 1.9 (m, 2H), 1.4 (ss 9H, (CH₃)₃OCN), 1.2-1.1 (broad, 2H). (m/z): [M+H]⁺ C₁₂H₂₂N₂O₂ 계산값 227.18; 측정값, 227.2. 분석용 HPLC (일정 용매에 의한 용리 방법; 5분 동안 2:98 (A:B) 내지 90:10 (A:B)): 잔류 시간 = 3.68 분.

<317>

실시예 1

<318>

4-(테트라히드로푸란-2-카르보닐)피페라진-1-카르복시산 3-[(1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-8-일}프로필 에스테르의 합성



<319>

<320>

a. (1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르의 제조

<321>

얼음 배스에서 물이 제거된 THF(1000 L)에 넣은 소듐 히드라이드(9.25 g; 231.4 mmol; 광유에서 60 % 분산액)의 차가운 현탁액에, THF(50 mL)에 넣은 제조예 1의 생성물인 1-이소프로필-1,3-디히드로-2H-벤조이미다졸-2-온(27.2 g, 154.2 mmol)을 질소 분위기 하에서 첨가하였다. 얻은 혼합물을 ~0-5℃에서 30분 동안 교반하였고, 그런 다음 THF(50 mL)에 넣은 4-니트로페닐 클로로포름레이트(34.2 g, 170 mmol)를 첨가하였다. 얻은 혼합물을 밤새 교반하여, 혼합물이 점차적으로 실온까지 데워지도록 하였다. 그런 다음 생성된 활성화된 에스테르에, THF(50 mL)에 넣은 (1S,3R,5R)-3-아미노-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르(36.7 g, 162 mmol)를 첨가하였다. 얻은 혼합물을 실온에서 약 12시간 동안 교반하였고, 약 75℃에서 약 3 시간 동안 교반하였고, 이때 반응 시료의 LCMS는 커플링 반응이 종료하였음을 나타내었다. 얻은 혼합물을 진공에서 농축시켰고, 디클로로메탄(1 L)에서 용해시켰고, 먼저 1M H₃PO₄로 수세하였고 그 다음에 포화된 NaHCO₃ 용액으로 수세하였다. 건조시킨 후, 얻은 유기 용액에서 용매를 증발시켜, 옅은 노란색 잔여물로서 표제 중간체를 얻었고, 이것은 추가로 처리하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

<322>

b. N-[(1S,3R,5R)-3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르복시산 (8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드]를 트리플루오로아세트이트 염으로 제조

<323>

얼음 배스에서 디클로로메탄(200 mL)에 넣은 (1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르(이전 단계의 생성물)의 차가운 용액에, 트리플루오로아세트산(200 mL)을 첨가하였다. 얻은 혼합물을 약 30분 동안 ~5℃에서 교반하였고, 실온에서 약 1 시간 동안 교반하였다. 얻은 혼합물에서 용매를 증발시킨 후에, 얻은 오일성 잔여물에 에틸 에테르(~500 mL)를 첨가하여, 잔여물의 고체화가 일어나도록 하였다. 얻은 침전물을 포집하였고, 다량의 에틸 에테르로 수세하였고, 진공에서 건조시켜, TFA 염으로서 표제 중간체(47 g)를 얻었다. 표제 중간체는 또한 통상적으로 엔도-N-(8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)-3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르복사미드로 칭해진다.

<324>

c. N-[(1S,3R,5R)-3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르복시산(8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드(유리 염기)의 제조

<325>

디클로로메탄(500 mL)에 넣은 이전 단계의 생성물(15 g, 33.9 mmol)의 현탁액에, 물(500 mL)을 첨가하였다. 얻은 반응 혼합물에 N,N-디이소프로필에틸아민(-20 mL)을 첨가하여 수용액 층을 pH 8-9로 만들었다. 층 분리를 하였고, 유기층을 취하였다. 얻은 수용액 층을 디클로로메탄(100 mL)으로 2회 추출하였다. 그 결과로 얻은 추출액을 합하였고, 그런 다음 브라인으로 수세하였다. Na₂SO₄로 물을 제거하고 여과한 후에, 용매를 제거하여, 노란색 분말로서 유리 염기로서 표제 화합물(9.7 g)을 얻었다. ¹H NMR DMSO-d₆): 1.48 (d, 6H), 1.40-2.00 (m, 8H), 3.53 (m, 2H), 4.07 (m, 1H), 4.69 (septet, 1H), 7.21 (m, 2H), 7.45 (d, 1H), 8.08 (d, 1H), 9.31 (d, 1H). (m/z): [M+H]⁺ C₁₈H₂₄N₄O₂ 측정값, 329.20; 계산값, 329.2. Analytical HPLC: (6분에 걸쳐 2-50% MeCN/H₂O)

잔류 시간 = 3.67 분.

<326> d. 3-클로로프로필-4-(테트라히드로푸란-2-일카르보닐)피페라진-1-카르복시레이트의 제조

<327> 디클로로메탄(5 mL)에 넣은 1-(테트라히드로푸란-2-일카르보닐)피페라진(202 mg, 1.1 mmol)의 0℃ 용액에, 3-클로로프로필 클로로포르메이트(133 μl, 1.1 mmol)를 첨가하였고, 그 다음에 N,N-디이소프로필에틸아민(192 μl, 1.1 mmol)을 첨가하였다. 반응을 2 시간에 걸쳐 실온까지 도달하였고, 이때 반응에서 용매를 증발시켜, 밀 색깔의 오일로서 표제 화합물을 얻었고, 이것은 추가로 정제하지 않고 사용하였다.

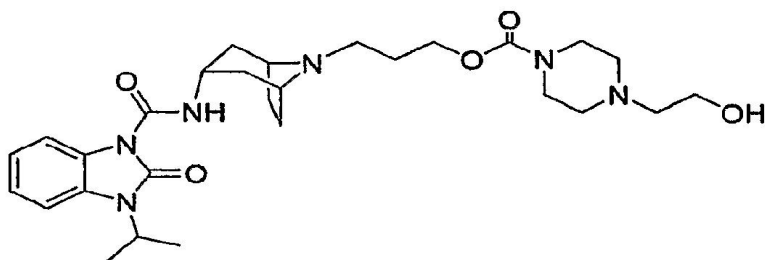
<328> e. 4-(테트라히드로푸란-2-일카르보닐)피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-일카르보닐)아미노]-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르의 합성

<329> 3-클로로프로필-4-(테트라히드로푸란-2-일카르보닐)피페라진-1-카르복시레이트(335 mg, 1.1 mmol)를 디메틸포름아미드(5.0 mL)에 용해시켰고, 단계 (c)의 고체형 유리 염기의 생성물(118 mg, 0.36 mmol)과 NaI(164 mg, 0.72 mmol)에 첨가하였다.

<330> N,N-디이소프로필에틸아민(64 μl, 0.36 mmol)을 첨가하였고, 얻은 혼합물을 90℃에서 밤새 교반하였다. 휘발성 물질을 제거하였고, prep HPLC(역상)를 통해 50분에 걸쳐 15-45% 농도 구배 상에서; 유속 20 mL/분으로 정제를 수행하여, 흰색 고체로서 TFA 염으로서 표제 화합물(45 mg)을 얻었다. (m/z): [M+H]⁺ C₃₁H₄₄N₆O₆ 계산값 597.33; 측정값 597.1. Analytical HPLC: (4분에 걸쳐 5-65% MeCN/H₂O) 잔류 시간 = 2.58.

<331> 실시예 2

<332> 4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-일카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르의 합성

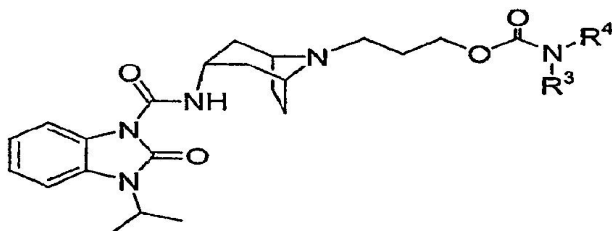


<333>

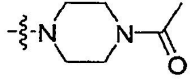
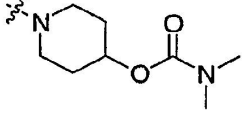
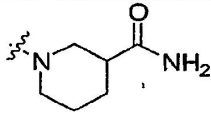
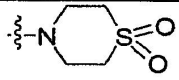
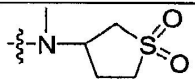
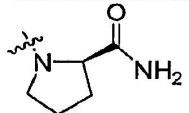
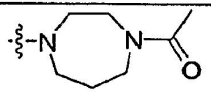
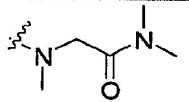
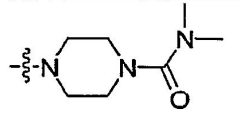
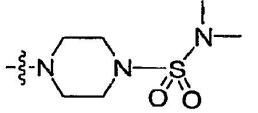
<334> 단계 (d)에서 1-(테트라히드로푸란-2-일카르보닐)피페라진을 2-피페라진-1-일에탄올로 대체하고 실시예 1에서 기술된 방법을 사용하여, 표제 화합물(13.8 mg)을 TFA 염으로서 제조하였다. (m/z): [M+H]⁺ C₂₈H₄₂N₆O₅ 계산값, 543.32; 측정값 543.5.

<335> 실시예 3-12

<336> 단계 (d)에서 1-(테트라히드로푸란-2-일카르보닐)피페라진을 적절한 시약으로 대체하고 실시예 1에서 기술된 방법을 사용하여, 하기 실시예 3-12의 화합물을 제조하였다.



<337>

실시예	$-NR^3R^4$	식	계산값 [M+H] ⁺	측정값 [M+H] ⁺
3		C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₅	541.31	541.2
4		C ₃₀ H ₄₄ N ₆ O ₆	585.33	585.2
5		C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₅	541.31	541.2
6		C ₂₆ H ₃₇ N ₅ O ₆ S	548.25	548.2
7		C ₂₇ H ₃₉ N ₅ O ₆ S	562.26	562.2
8		C ₂₇ H ₃₈ N ₆ O ₅	527.29	527.2
9		C ₂₉ H ₄₂ N ₆ O ₅	555.32	555.2
10		C ₂₇ H ₄₀ N ₆ O ₅	529.31	529.2
11		C ₂₉ H ₄₃ N ₇ O ₅	570.30	570.4
12		C ₂₈ H ₄₃ N ₇ O ₆ S	606.30	606.2

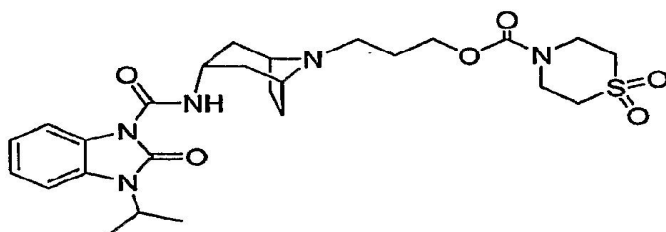
<338>

<339>

실시예 13

<340>

1,1-디옥소-1λ⁶-티오모르폴린-4-카르복시산 3-((1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르의 또 다른 합성



<341>

- <342> a. (1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르의 제조
- <343> 1-이소프로필-1,3-디히드로-2H-벤조이미다졸-2-온(17.6 g, 100 mmol)과 4-니트로페닐 클로로포르메이트(20.2 g, 100 mmol)를 포함하는 500 mL 반응 플라스크에 질소 분위기 하에서, 디클로로메탄(350 mL)을 첨가하였고 그 다음에 트리에틸아민(30.5 mL, 220 mmol)을 천천히 첨가하였다. 얻은 용액을 15분 동안 교반하였고, 그 다음에 (1S,3R,5R)-3-아미노-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르(22.6 g, 100 mmol)를 첨가하였다. 얻은 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반시켰다. 얻은 반응 혼합물을 포화된 소듐 바이카보네이트 수용액(2 x 200 mL)으로 수세하였다. 증류에 의해 디클로로메탄을 제거하였고, MTBE (350 mL)를 첨가하였다. 얻은 MTBE 용액을 1N 인산(2 x 200 mL)으로 수세하였고, 포화된 소듐 바이카보네이트(200 mL)로 수세하였고, 물(200 mL)로 수세하였다. 유기층을 무수 소듐 술페이트(40 g)로 물을 제거하였고, 여과하였고, 그런 다음 용매를 증류로 제거하여 황갈색 고체로서 표제 중간체(35.7 g, 83% 수득률)를 얻었다.
- <344> b. N-[(1S,3R,5R)-3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르복시산 (8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드 트리플루오로아세테이트 염의 제조
- <345> 500 mL 플라스크에, (1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복시산 터트-부틸 에스테르(21.4 g, 50 mmol)를 디클로로메탄(200 mL)에 용해시켰다. 트리플루오로아세트산(37 mL, 500 mmol)을 첨가하였고, 얻은 반응 혼합물을 실온에서 3 시간 동안 교반하였다. 얻은 반응 혼합물을 물로 수세하였다(2 x 100 mL). 유기층에 있는 용매를 증류로 제거하였고, 얻은 미정제된 생성물 잔여물을 MTBE (200 mL)로 부수었다. 실온에서 1시간 동안 교반한 후에, 여과하여 고체를 분리시켰고, MTBE (2 x 25 mL)로 수세하였고, 진공에서 건조시켜 표제 중간체(21.0 g, 97% 수득률)를 얻었다.
- <346> c. 1,1-디옥소-1λ⁶-티오모르폴린-4-카르복시산 3-클로로프로필 에스테르의 제조
- <347> 500 mL 플라스크에, 티오모르폴린 디옥사이드(13.5 g, 100 mmol)를 디클로로메탄(150 mL)에서 실온에 용해시켰고, N,N-디이소프로필에틸아민(19.2 mL, 110 mmol)을 첨가하였다. 실온에서 10분 동안 교반한 후에, 얻은 반응 혼합물을 얼음 베스에서 약 5℃까지 냉각시켰다. 얻은 반응 혼합물에, 반응 온도를 10℃ 미만으로 유지하는 속도에서 첨가용 깔때기(addition funnel)를 통해 1-클로로-3-클로로메톡시프로판(11.8 mL, 100 mmol)을 첨가하였다. 첨가를 완료하였을 때, 얻은 반응 혼합물이 실온까지 데워지도록 하였다. 얻은 반응 혼합물을 물(2 x 100 mL)로 수세하였고, 유기 층을 무수 소듐 술페이트(25 g)를 사용하여 물을 제거하였다. 여과한 후에, 증류로 용매를 제거하여 오일형 고체로서 표제 화합물을 얻었고, 이것은 정지된 후 고체화하였다(24.0 g, 94 % 수득률).
- <348> e. 1,1-디옥소-1λ⁶-티오모르폴린-4-카르복시산 3-[(1S,3R,5R)-3-[(3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-8-일)프로필 에스테르의 합성
- <349> 디클로로메탄(100 mL)에 넣은 N-[(1S,3R,5R)-3-이소프로필-2-옥소-2,3-디히드로벤조이미다졸-1-카르복시산 (8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드 트리플루오로아세테이트 염(8.8 g, 20 mmol) 용액에 물(100 mL)을 첨가하였다. 수용액 층의 pH를 ~12로 맞추어 염의 유리 염기를 얻었다. 유기층을 분리하였고, 소듐 술페이트로 물을 제거하였고, 용매를 증류로 제거하였다. 유리 염기를 N-메틸-2-피롤리돈(100 mL)에 용해시켰고, 얻은 용액을 1,1-디옥소-1λ⁶-티오모르폴린-4-카르복시산 3-클로로프로필 에스테르(7.2 g, 28 mmol)와 NaI(3.0 g, 20 mmol)를 포함하는 250 mL 플라스크로 옮겨 놓았다. N,N-디이소프로필에틸아민(4.2 mL, 24 mmol)을 첨가하였고, 얻은 반응 혼합물을 18시간 동안 50℃까지 가열하였다. 용매를 증류로 제거하였다. 미정제된 생성물 잔여물을 EtOAc (200 mL)에 용해시켰고, 물(2 x 50 mL)로 수세하였고, 소듐 술페이트(10 g)로 물을 제거하였다. 증류로 용매를 제거하여, 미정제된 생성물 잔여물(-12 g)을 얻었다.
- <350> 미정제된 생성물 잔여물을 2" 컬럼에서 제조용 HPLC로 정제하였다; 컬럼 충전: 염기-비활성화된 실리카(base-deactivated silica, BDS), 유속: 200 mL/분; 용리액 A: 물에서의 0.1 % TFA; 용리액 B: 90 % 아세트오니트릴 / 물에 넣은 10 % 0.1 % TFA; 농도 구배(시간, % B): (0, 5); (25, 30); (35, 80); (45, 80); (50, 5); (60, 5). 정제된 분획의 동결 건조에 의해 생성물을 분리하여, 표제 화합물(3.4 g, 26 % 수득률)을 얻었다. ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ(ppm): 9.35 (d, 1H), 8.07 (d, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.22 (t, 1H), 7.16 (t, 1H), 4.69 (septet, 1H), 4.20-4.00 (m, 3H), 4.12 (t, 2H), 3.90-3.70 (m, 4H), 3.70 (t, 2H), 3.25-3.05 (m, 4H), 2.5-2.0 (m,

8H), 2.15 (dt, 2H), 1.49 (d, 6H). (m/z): [M+H]⁺ C₂₆H₃₇N₅O₆S 계산값 548.2; 측정값, 548.4

<351> **분석 1: 5-HT_{4(C)} 인간 수용체에서 방사성리간드 결합 분석**

<352> a. 막 제조 5-HT_{4(C)}

<353> 인간 5-HT_{4(C)} 수용체 cDNA(Bmax = ~ 6.0 pmol/단백질 mg, [³H]-GR113808 막 방사성리간드 결합 분석을 사용하여 결정함)로 안정하게-감염시킨(transfected) HEK-293(human embryonic kidney) 세포를 10% 소 태아 혈청(FBS) (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10437), 2 mM L-글루타민 및 (100 단위) 페니실린-(100 µg)스트렙토마이신 /ml(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140)을 보충하고 4,500 mg/L D-글루코스와 피리독신 히드로클로라이드(G-BCO-Invitrogen Corp., Carlsbad CA: Cat #11965)를 포함하는 Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM)에서 T-225 플라스크에서, 5% CO₂ 습윤 배양기에서 37°C에서 길렀다. 상기 배지에 800 µg/mL 제니티신(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10131)을 첨가함으로써 연속적인 선택 압력 하에서 세포들을 길렀다.

<354> 세포들을 대충 60-80% 컨플루언시(confluency)로 길렀다(< 35 세대 배양). 수확하기 전 20-22 시간이 될 때, 세포들을 1회 수세하였고 무-혈청(serum-free) DMEM으로 길렀다. 막 제조의 모든 단계를 얼음 위에서 수행하였다. 세포 단일층을 약한 기계적 교반으로 들어올렸고, 25 mL 피펫으로 부수었다. 1000 rpm에서 원심분리하여 (5 분) 세포들을 포집하였다.

<355> 막 제조를 위하여, 세포 펠렛을 얼음으로-냉각시킨 pH 7.4의 50 mM 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산 (HEPES)(막 제조용 완충용액)(30-40개 T225 플라스크로부터의 수득물 40 mL/전체 세포)에 재현탁시켰고, 얼음 위에서 폴리트론 분쇄기(polytron disrupter)(19로 고정, 2 x 10초)를 사용하여 균일하게 만들었다. 그 결과 얻은 균일한 액을 1200 g에서 5분 동안 4°C에서 원심분리시켰다. 얻은 펠렛을 버렸고, 상층액을 40,000 g에서 원심분리시켰다(20 분). 얻은 펠렛을 막 제조용 완충용액으로 재현탁시킴으로써 1회 수세하였고, 40,000 g에서 원심분리하였다(20 분). 얻은 최종 펠렛을 pH 7.4의 50 mM HEPES(분석용 완충용액)에 재현탁시켰다(당량 1 T225 플라스크/1 mL). Bradford 방법(Bradford, 1976)에 의해 막 현탁액의 단백질 농도를 결정하였다. 막을 분량으로 나누어 -80°C에서 동결 상태로 보관하였다.

<356> b. 방사성리간드 결합 분석

<357> 0.025% 소 혈청 알부민(BSA)을 포함하는 pH 7.4의 50 mM HEPES에서 2 µg 막 단백질을 포함하는 400 µL의 전체 분석 용량에서, 1.1 mL 96-딥 웰(96-deep well) 폴리프로필렌 분석 플레이트(Axygen)에서, 방사성리간드 결합 분석을 수행하였다. 방사성리간드의 K_d 값 결정을 위한 포화 결합 연구는 0.001 nM - 5.0 nM 범위의 8-12개 서로 다른 농도에서 [³H]-GR113808(Amersham Inc., Bucks, UK: Cat #TRK944;비활성(specific activity) ~82 Ci/mmol)을 사용하여 수행하였다. 화합물의 pK_i 값 결정을 위한 치환 분석(displacement assay)은 0.15 nM의 [³H]-GR113808에서 및 10 pM - 100 uM 범위의 11개의 서로 다른 화합물 농도에서 수행하였다.

<358> DMSO에서 10 mM 스톡 용액(stock solution)으로 테스트 화합물을 제공하였고, 0.1% BSA를 포함하는 pH 7.4의 50 mM HEPES로 400 µM까지 희석하였고, 그런 다음 동일한 완충용액에서 연속적으로 희석하였다(1 :5). 비-특이적 결합은 1 µM의 비표지화된 GR113808 존재 하에서 결정되었다. 분석물(assay)을 60분 동안 실온에서 배양시켰고, 그런 다음 0.3% 폴리에틸렌이민에서 미리 침지시킨 96-웰 GF/B 유리 섬유 필터 플레이트(Packard BioScience Co., Meriden, CT)에서 급속 여과시켜 결합 반응을 종결시켰다. 필터 플레이트를 여과용 완충용액(얼음으로-냉각시킨 50mM HEPES, pH 7.4)으로 3회 수세하여, 결합되지 않은 방사성활성을 제거하였다. 플레이트를 건조시켰고, 각각의 웰에 Microscint-20 액체 신타레이션 유액(liquid scintillation fluid)(Packard BioScience Co., Meriden, CT) 35 µL를 첨가하였고, Packard Topcount liquid scintillation counter (Packard BioScience Co., Meriden, CT)에서 플레이트를 계수하였다.

<359> 1-부위 경쟁(one-site competition)에 대해 3개-파라미터 모델을 사용하는 GraphPad Prism Software package (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)로 비선형 회귀 분석에 의해 결합 데이터를 분석하였다. 1 µM GR113808 존재 하에서 결정된 바와 같이, 비특이적 결합에 대한 값으로 BOTTOM(곡선 최소값)을 고정시켰다. 테스트 화합물의 K_i 값은 Prism에서, 최적으로-맞추어진 IC₅₀ 값으로부터 계산하였고, 방사성리간드의 K_d 값은 Cheng - 프루소프 식(Cheng-Prusoff equation)(Cheng and Prusoff, Biochemical Pharmacology, 1973, 22, 3099-

108): $[L]$ 이 $[^3H]$ -GR1 13808인 $K_i = IC_{50} / (1 + [L]/K_d)$ 을 사용하여 계산하였다. 그 결과를 K_i 의 음의 십진 로그 값인 pK_i 로 나타내었다.

<360> 이 분석에서 보다 높은 pK_i 값을 갖는 테스트 화합물은 5-HT₄ 수용체에 대해 더 높은 결합 친화도를 갖는다. 본 테스트에서 테스트된 본 발명의 화합물은 약 7.0 내지 약 9.0 범위, 통상적으로 약 7.5 내지 약 8.5 범위의 pK_i 값을 가졌다. 예를 들면, 실시예 1의 화합물은 본 분석에서 pK_i 값 7.9를 나타내었다.

<361> **분석 2: 5-HT_{3A} 인간 수용체에서 방사성리간드 결합 분석: 수용체 서브타입 선택성의 결정**

<362> a. 막 제조 5-HT_{3A}

<363> 인간 5-HT_{3A} 수용체 cDNA로 안정하게-감염시킨 HEK-293 (human embryonic kidney) 세포를 마이클 브루스 (Michael Bruess)(University of Bonn, GDR) 박사로부터 얻었다($[^3H]$ -GR65630 막 방사성리간드 결합 분석을 사용하여 결정될 때, $B_{max} = \sim 9.0$ pmol/단백질 mg). 10% 열로 비활성화시킨 소 태아 혈청(FBS)(Hyclone, Logan, UT: Cat #SH30070.03) 및 (50 단위) 페니실린-(50- μ g)스트렙토마이신/ml(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140)을 보충한 50% Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) (GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad, CA: Cat #11965)와 50% Ham's F12 (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11765)에서 T-225 플라스크 또는 세포 제조소 (cell factory)에서 5% CO₂ 습윤 배양기에서 37°C에서 세포들을 길렀다.

<364> 세포들을 대충 70-80% 컨플루언시로 길렀다(< 35 계대 배양). 막 제조하는 모든 단계를 얼음 위에서 수행하였다. 세포들을 수확하기 위하여, 배지를 흡인여과하였고, 세포들을 Ca²⁺, Mg²⁺ 없는 Dulbecco's phosphate buffered saline (dPBS)으로 수세하였다. 약한 기계적 교반에 의해 세포 단일층을 들어올렸다. 1000 rpm에서 원심분리하여(5 분), 세포들을 포집하였다. 막 제조하는 이후 단계는 5-HT_{4(C)} 수용체를 발현하는 막을 위해 상기에서 기술한 프로토콜에 따라 수행하였다.

<365> b. 방사성리간드 결합 분석

<366> 0.025% BSA 분석용 완충용액을 포함하는 pH 7.4의 50 mM HEPES에서 1.5-2 μ g 막 단백질을 포함하는 200 μ l 전체 분석 용량에서 96-웰 폴리프로필렌 분석 플레이트에서, 방사성리간드 결합 분석을 수행하였다. 방사성리간드의 K_d 값을 결정하기 위한 포화 결합 연구는 0.005 nM 내지 20 nM 범위에서 12 개의 서로 다른 농도의 $[^3H]$ -GR65630 (PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA: Cat #NET1011, 비활성 ~ 85 Ci/mmol)을 사용하여 수행하였다. 화합물의 pK_i 값을 결정하기 위한 치환 분석은 0.50 nM의 $[^3H]$ -GR65630와 10 pM 내지 100 μ M 범위의 11개의 서로 다른 농도의 화합물에서 수행하였다. DMSO에서 10 mM 스톱 용액으로 화합물을 제공하였고(3.1 부분을 참조), 0.1% BSA를 포함하는 pH 7.4의 50 mM HEPES로 25°C에서 400 μ M까지 희석하였고, 그 다음에 동일한 완충용액에서 연속적으로 희석하였다(1 :5). 10 μ M 비표지화된 MDL72222 존재 하에서 비-특이적 결합을 결정하였다. 분석물을 60분 동안 실온에서 배양하였고, 그런 다음 0.3% 폴리에틸렌이민으로 미리 침지시킨 96-웰 GF/B 유리 섬유 필터 플레이트(Packard BioScience Co., Meriden, CT)에서 급속 여과시켜 결합 반응을 종결시켰다. 필터 플레이트를 여과용 완충용액(얼음으로-냉각시킨 50 mM HEPES, pH 7.4)으로 3회 수세하여, 결합되지 않은 방사성활성을 제거하였다. 플레이트를 건조시켰고, 각각의 웰에 Microscint-20 액체 신타레이션 유액(Packard BioScience Co., Meriden, CT) 35 μ l를 첨가하였고, Packard Topcount liquid scintillation counter (Packard BioScience Co., Meriden, CT)에서 플레이트를 계수하였다.

<367> K_i 값을 결정하기 위해 상기에서 기술한 비-선형 회귀 방법을 사용하여, 결합 데이터를 분석하였다. 10 μ M MDL72222 존재 하에서 결정된 바와 같이, 비특이적 결합에 대한 값으로 BOTTOM(곡선 최소값)을 고정시켰다. 헹 - 프루소프 식에서 함량 $[L]$ 은 $[^3H]$ -GR65630 농도로서 정의하였다. 5-HT₃ 수용체 서브타입에 대한 5-HT₄ 수용체 서브타입의 선택성은 $K_i(5-HT_{3A})/K_i(5-HT_{4(C)})$ 비율로 계산되었다. 본 테스트에서 테스트된 본 발명의 화합물은 약 10 내지 약 950 범위, 통상적으로 약 50 내지 약 500 범위의 5-HT₄/5-HT₃ 수용체 서브타입 선택성을 가졌다. 예를 들면, 실시예 1의 화합물은 서브타입 선택성 160을 나타내었다.

- <368> **분석 3: 인간 5-HT_{4(c)} 수용체를 발현하는 HEK-293 세포로 전-세포 cAMP 축적 플래쉬플레이트 분석(Whole-cell cAMP Accumulation Flashplate Assay)**
- <369> 본 분석에서는, 5-HT₄ 수용체를 발현하는 HEK-293 세포를 서로 다른 농도의 테스트 화합물과 접촉시켰을 때 생성되는 시클릭 AMP의 함량을 측정함으로써, 테스트 화합물의 기능성 역가(functional potency)를 결정하였다.
- <370> a. 세포 배양
- <371> 클로닝된 인간 5-HT_{4(C)} 수용체 cDNA로 안정하게-감염시킨 HEK-293 (human embryonic kidney) 세포를 하기 두 개의 서로 다른 밀도에서 수용체를 발현하도록 제조하였다: (1) [³H]-GR113808 막 방사성리간드 결합 분석을 사용하여 결정하였을 때 약 0.5-0.6 pmol/단백질 mg의 밀도에서; 및 (2) 약 6.0 pmol/단백질 mg의 밀도에서. 10% 소 태아 혈청(FBS) (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10437) 및 (100 단위) 페니실린-(100 µg) 스트렙토마이신/ml(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140)을 보충하고 4,500 mg/L D-글루코스 (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11965)를 포함하는 Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM)에서 T-225 플라스크에서 5% CO₂, 습윤 배양기에서 37°C에서 세포들을 길렀다. 상기 배지에 제네티신(800 µg/mL: GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10131)을 첨가함으로써, 세포들을 연속적 선택 압력 하에서 길렀다.
- <372> b. 세포 제조
- <373> 세포들을 대충 60-80% 컨플루언스로 길렀다. 분석하기 20시간 내지 24시간 전에, 세포들을 2회 수세하였고, 4,500 mg/L D-글루코스(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11965)를 포함하는 무-혈청 DMEM으로 길렀다. 세포들을 수확하기 위하여, 배지를 흡인 여과하였고, 각각의 T-225 플라스크에 10 mL Versene (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15040)를 첨가하였다. 세포들을 5분 동안 RT에서 배양하였고, 그런 다음 기계적 교반에 의해 세포들을 플라스크로부터 떼어내었다. 얻은 세포 현탁액을, 미리-가온시킨(37°C) 동량의 dPBS를 포함하는 원심분리용 튜브에 옮겨 놓았고, 1000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 얻은 상층액을 버렸고, 얻은 펠렛을 미리-가온시킨(37°C) 촉진용 완충용액(stimulation buffer)에서 재현탁시켰다(2-3개 T-225 플라스크 당 10 ml 당량). 이 시간을 기록하였고 시간 0(zero)으로 표시하였다. Coulter counter로 세포들을 계수하였다(상기 계수 8 µm, 플라스크 수득률은 1-2 x 10⁷ 개 세포/플라스크이었다). 미리-가온시킨(37°C) 촉진용 완충용액(플래쉬플레이트 키트에서 제공됨)에서 5 x 10⁵ 개 세포/ml의 농도에서 세포들을 재현탁시켰고, 37°C에서 10분 동안 미리 배양시켰다.
- <374> cAMP 분석은 125I-cAMP가 있는 Flashplate Adenylyl Cyclase Activation Assay System(SMP004B, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA)을 사용하고 제조자의 지시사항에 따라, 방사성면역분석 포맷(radioimmunoassay format)에서 수행하였다.
- <375> 상기에서 기술한 바와 같이 세포들을 길렀고 준비하였다. 분석에서 세포의 최종 농도는 25 x 10³ 개 세포/웰이었고, 최종 분석 부피는 100 µl이었다. DMSO에서 10 mM 스톱 용액으로 테스트 화합물을 제공하였고, 0.1% BSA를 포함하는 pH 7.4의 50 mM HEPES로 25°C에서 400 µM로 희석하였고, 동일한 완충용액에서 연속적으로 희석하였다(1:5). 시클릭 AMP 축적 분석은 0 pM 내지 100 µM (최종 분석 농도) 범위의 11개의 서로 다른 화합물 농도에서 수행하였다. 모든 플레이트에 대하여, 5-HT 농도-반응성 곡선(10 pM 내지 100 µM)을 포함시켰다. 세포들을 37°C에서 15분 동안 흔들어주면서 배양하였고, 각각의 웰에 얼음으로-냉각시킨 검출용 완충용액(detection buffer)(플래쉬플레이트 키트에서 제공됨) 100 µl를 첨가함으로써 반응을 종결시켰다. 플레이트를 밀봉하였고, 4°C에서 밤새 배양시켰다. Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT)를 사용하는 신틸레이션 근접 분광기(proximity spectroscopy)에 의해, 결합된 방사성활성을 정량하였다. 반응 1 ml 당 생성된 cAMP의 양은 제조자의 사용자 지침서에서 제공된 지시사항에 따라, cAMP 표준 곡선으로부터 외삽되었다. 3개-파라미터 S자형(sigmoidal) 용량-반응성 모델을 사용하는 GraphPad Prism Software package에 의한 비선형 회귀 분석(기울기는 1로 제한됨)에 의해 데이터를 분석하였다. EC₅₀이 50% 최고 반응에 대한 유효 농도인 EC₅₀ 값의 음의 십진 로그값인 pEC₅₀ 값으로 역가 데이터를 기록한다.
- <376> 본 분석에서 보다 높은 pEC₅₀ 값을 나타내는 테스트 화합물은 5-HT₄ 수용체에 작용하기(agonizing) 위한 보다 높은 역가를 갖는다. (1) 약 0.5-0.6 pmol/단백질 mg의 밀도를 갖는 세포주를 사용한 본 분석에서 테스트된 본

발명의 화합물들은 약 7.5 내지 약 9.0 범위, 통상적으로 약 8.0 내지 약 9.0 범위로 pEC_{50} 값을 가졌다. 예를 들면, 실시예 1의 화합물은 pEC_{50} 값 8.4를 가졌다.

<377> **분석 4: hERG 심장 포타슘 채널을 발현하는 전 세포에서 포타슘 이온 전류 억제제의 인 비트로 볼타지 클램프 분석**

<378> hERG cDNA로 안정하게 감염시킨 CHO-K1 세포를 위스콘신 대학의 Gail Robertson로부터 얻었다. 필요할 때까지 세포들을 극저온 보관소에서 유지하였다. 10 % 소 태아 혈청과 200 μ g/ml 제네티신을 보충한 Dulbecco's Modified Eagles Medium/F12에서 세포들을 불렀고 계대하였다. 분리된 세포들이 전 세포 볼타지-클램프 연구를 위해 선택될 수 있는 밀도로, 35 mm^2 디쉬(2 mL 배지를 포함)에서, 폴리-D-리신(100 μ g/mL)으로 코팅된 유리 커버 글라스 위에, 세포들을 접종하였다. 디쉬들을 습윤한, 5% CO_2 조건에서 37°C에서 유지하였다.

<379> 세포외 용액(extracellular solution)을 적어도 7일마다 제조하였고, 사용하지 않을 때에는 4°C에서 보관하였다. 세포외 용액은 NaCl(137), KCl(4), $CaCl_2$ (1.8), $MgCl_2$ (1), 글루코스(10), 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산(HEPES) (10)을 포함하고 있고(단위는 mM), NaOH로 pH 7.4이었다. 테스트 화합물 부재 하에서 또는 존재 하에서 세포외 용액을 약 0.5 mL/분에서 기록 챔버(recording chamber)로 흐를 때부터 레저버(reservoir) 안에 포함시켰다. 세포내 용액(intracellular solution)을 제조하였고, 분량으로 나누었고, 사용할 때까지 -20°C에서 보관하였다. 세포내 용액은 KCl(130), $MgCl_2$ (1), 에틸렌 글리콜-비스(베타-아미노에틸 에테르) N,N,N',N'-테트라아세트산 염(EGTA)(5), MgATP(5), 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산(HEPES)(10)을 포함하고 있고(단위는 mM), KOH로 pH 7.2이었다. 모든 실험을 실온(20-22°C)에서 수행하였다.

<380> 세포가 접종된 커버 글라스를 기록 챔버로 옮겼고 연속적으로 뿌렸다. 기금 실(Gigaohm seal)을 세포와 패치 전극(patch electrode) 사이에 형성하였다. 일단 안정한 패치가 얻어지면, -80 mV의 최초 유지 포텐셜(holding potential)로 볼타지 클램프 모델에서 기록을 개시하였다. 안정한 전-세포를 얻은 후에, 세포들을 테스트 화합물에 노출시켰다. 표준 볼타지 프로토콜은 다음과 같다: 4.8초 동안 -80 mV 내지 +20 mV의 유지 포텐셜로부터 시작하고, 5초 동안 -50 mV로 재분극이 되도록 하고 그런 다음 원래 유지 포텐셜(-80 mV)로 돌아옴. 이 볼타지 프로토콜은 15초에 1회(0.067 Hz) 진행하였다. 재분극 상태 동안 피크 전류 진폭(current amplitude)은 pClamp 소프트웨어를 사용하여 결정하였다. 3 μ M 농도의 테스트 화합물을 5분 동안 세포에 뿌렸고, 그 다음에 화합물 부재 하에서 5-분 동안 수세(washout) 기간을 거쳤다. 마지막으로, 세포의 기능을 테스트하기 위하여, 상기 뿌려진 액에 양성 대조군(시사프리드, 20 nM)을 첨가하였다. -80 mV에서 +20 mV로의 단계는 hERG 채널을 활성화시키고, 이것은 외향 전류(outward current)를 생성시킨다. -50 mV로 복귀하는 단계는 채널이 비활성 상태로부터 회복하여 활성이 없어지기 때문에, 외향 꼬리 전류(outward tail current)를 생성시킨다.

<381> 재분극 상태 동안 피크 전류 진폭은 pCLAMP 소프트웨어를 사용하여 결정하였다. 개별적인 전류 진폭이 화합물 부재 하에서 초기 전류 진폭으로 정상화되는 곳에서, 대조군과 테스트 시료 데이터가 Origin® (OriginLab Corp., Northampton MA)으로 이출되었다. 각각의 조건에서 정상화된 전류의 평균값과 표준 오차를 계산하였고, 실험 코스 시간 대비로 플로팅하였다.

<382> 테스트 시료 또는 비히클(vehicle) 대조군(보통 0.3 % DMSO) 중 하나에 5분동안 노출시킨 후에, 관찰된 K^+ 전류 억제(current inhibition) 간에 비교를 하였다. 실험 군간의 통계학적 비교는 2-집단, 독립적 t-테스트(Microcal Origin v. 6.0)를 사용하여 수행하였다. $p < 0.05$ 에서 차이가 유의성 있는 것으로 간주되었다.

<383> 본 분석에서는 포타슘 이온 전류의 억제 퍼센트(percentage inhibition)가 더 작을수록, 테스트 화합물이 치료제로 사용될 때 심장 재분극의 패턴을 변화시키는 포텐셜이 더 작아진다. 본 분석에서 3 μ M 농도로 테스트된 본 발명의 화합물은 통상적으로 약 40% 미만의 포타슘 이온 전류의 억제를 나타내었고, 보다 통상적으로는 약 25% 미만의 포타슘 이온 전류의 억제를 나타내었다. 예를 들면, 실시예 1의 화합물은 본 분석에서 약 9%의 억제를 나타내었다.

<384> **분석 5: 경구 생체이용가능성의 인 비트로 모델: Caco-2 침투 분석(Permeation Assay)**

<385> Caco-2 침투 분석은 테스트 화합물이 경구 투여 이후에 소장을 통과하여 혈류로 들어가는 능력을 나타내기 위하여 수행되었다. 인간 소장 단일층의 치밀 이음새(tight junction)를 모방하도록 설계된 세포 단일층을 용액 상태의 테스트 화합물이 투과하는 속도를 결정하였다.

<386> Caco-2(결장, 선암; 인간) 세포를 ATCC (American Type Culture Collection; Rockville, MD)로부터 얻었다.

투과 연구를 위하여, 미리-습윤하게 한 트랜스웰(transwell) 폴리카보네이트 필터(Costar; Cambridge, MA)에서 63,000개 세포/cm² 밀도로, 세포들을 접종하였다. 배양에서 21일 후에, 세포 단일층이 형성되었다. 트랜스웰 플레이트에서 세포 배양한 다음, 세포 단일층을 포함하는 막을 트랜스웰 플레이트로부터 떼어내었고, 확산 챔버(diffusion chamber)(Costar; Cambridge, MA)에 주입하였다. 온도 조절을 위하여 외부에서 자동 온도 조절로 37℃로 조절되는 순화하는 물이 장착된 히팅 블록(heating block)에 상기 확산 챔버를 주입하였다. 에어 매니폴드(air manifold)는 확산 챔버 중 반에 95% O₂/5% CO₂를 전해주었고, 세포 단일층을 관통하여 라미나 흐름 패턴(laminar flow pattern)을 생성하였는데, 이것은 교반되지 않은 경계층(boundary layer)을 줄이는데 효과적이다.

<387> 100 μM 농도의 테스트 화합물과 ¹⁴C-만니톨로 침투 연구를 수행하여, 단일층의 결합(integrity)을 모니터링하였다. 모든 실험은 37℃에서 60분 동안 수행되었다. 챔버의 제공자 측(donor side)과 수용자 측(receiver side) 모두로부터 시료를 1분, 30분 및 60분에 취하였다. 테스트 화합물과 만니톨 농도를 위하여, 시료를 HPLC 또는 액체 신타레이션 계수(liquid scintillation counting)로 분석하였다. cm/sec로 침투 계수(permeation coefficient, K_p)를 계산하였다.

<388> 본 분석에서, 약 10 x 10⁻⁶ cm/sec보다 더 큰 K_p 값은 양호한 생체이용가능성을 나타내는 것으로 간주된다. 본 분석에서 테스트된 본 발명의 화합물은 통상적으로 약 20 x 10⁻⁶ cm/sec 내지 약 60 x 10⁻⁶ cm/sec의 K_p 값을 나타내었고, 보다 통상적으로는 약 30 x 10⁻⁶ cm/sec 내지 약 60 x 10⁻⁶ cm/sec의 K_p 값을 나타내었다. 예를 들면, 실시예 1의 화합물은 60 x 10⁻⁶ cm/sec의 K_p 값을 나타내었다.

<389> 분석 6: 랫트에서 약동력학 연구

<390> pH 약 5 내지 약 6의 0.1% 젖산에서, 테스트 화합물의 수용액 제제를 제조하였다. 수컷 Sprague-Dawley 랫트(CD strain, Charles River Laboratories, Wilmington, MA)에게 테스트 화합물을 2.5 mg/kg의 투여량으로 정맥 투여에 의하여 또는 5 mg/kg의 투여량으로 구강 관(oral gavage)(PO)으로 투여하였다. 투여 용량은 IV의 경우 1 mL/kg이었고 PO 투여의 경우 2 mL/kg이었다. 동물에게 투여-전, 및 투여-후 2분((IV 투여에서만), 5분, 15분 및 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간 및 24시간이 될 때 연속적 혈액 시료를 포집하였다. 혈장에 있는 테스트 화합물의 농도는 1 ng/mL의 최저 정량 한계로 액체 크로마토그래피-질량 분광기 분석(LC-MS/MS) (MDS SCIEX, API 4000, Applied Biosystems, Foster City, CA)으로 결정하였다.

<391> WinNonlin (Version 4.0.1, Pharsight, Mountain View, CA)을 사용하는 비-분획성 분석(non-compartmental analysis)(IV를 위해서는 Model 201 및 PO를 위해서는 Model 200)으로 표준 약동력학 파라미터를 평가하였다. 시간 대비 혈장에 있는 테스트 화합물 농도 곡선의 최고값을 C_{max}로 나타낸다. 투여 시간부터 가장 마지막으로 측정가능한 농도까지의 시간 대비 농도 곡선 하의 면적(AUC(0-t))은 선형 수치적분 규칙에 의해 계산하였다. 경구 생체이용가능성 (F(%)), 즉 PO 투여시 AUC(0-t) 대비 IV 투여시 AUC(0-t)의 투여량-정상화된 비율(dose-normalized ratio)은 다음과 같이 계산할 수 있다:

<392>
$$F(\%) = \frac{AUC_{PO}}{AUC_{IV}} \times \frac{Dose_{IV}}{Dose_{PO}} \times 100\%$$

<393> 본 분석에서 파라미터 C_{max}, AUC(0-t), 및 F(%)에 대해 보다 큰 값을 나타낸 테스트 화합물은 경구 투여되었을 때 더 큰 생체이용가능성을 가질 것으로 기대된다. 본 분석에서 테스트된 본 발명의 화합물은 약 0.15 내지 약 0.35 μg/mL의 C_{max} 값과 약 0.5 내지 약 1.1 μg·hr/mL의 AUC(0-t)를 나타내었다. 특히, 실시예 1의 화합물은 하기의 값을 가졌다: 0.32 μg/mL의 C_{max}; 0.97 μg·hr/mL의 AUC(0-t); 및 55%의 생체 이용가능성 F(%)

<394> 본 발명이 특정 실시예를 참조로 하여 기술되었으나, 본 발명의 실제 정신과 범위로부터 벗어나지 않는다면 다양한 변화가 가해질 수 있고 등가물을 치환시킬 수 있다. 또한, 본 발명의 목적, 정신 및 범위에 특정 상태, 물질, 물질의 조성, 공정, 공정 단계 또는 단계들을 적용하기 위한 다수의 변형이 가해질 수 있다. 그러한 모든 변형이 첨부된 청구항의 범위 내에 포함된다. 추가로, 상기 인용된 모든 공개특허, 특허 및 특허 서류는 참조로서 개별적으로 통합되어 있는 것처럼, 본 명세서에서 전문으로 통합되어 있다.