(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.
C07D 451/04 (2006.01)
A61K 31/46 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2006-0132727
(43) 공개일자 2006년12월21일

(21) 출원번호 10-2006-7019088
(22) 출원일자 2006년09월15일
심사청구일자 없음
번역문 제출일자 2006년09월15일
(86) 국제출원번호 PCT/US2005/005070
국제출원일자 2005년02월17일
(87) 국제공개번호 WO 2005/080389
국제공개일자 2005년09월01일

(30) 우선권주장 60/545,702 2004년02월18일 미국(US)

(71) 출원인 세라맵스 인코포레이티드
미국 캘리포니아 94080 사우쓰 샌프란시스코 게이트웨이 불러바드 901

(72) 발명자 마퀴스 다니엘
미국 캘리포니아 94019 하프 문 베이 투렌 래인 2037
최석기
미국 캘리포니아 94301 팔로 알토 엠바카데로 로드 525
파더리 폴 알.
미국 캘리포니아 94107 샌프란시스코 미네소타 스트리트 921
젠드론 롤란드
미국 캘리포니아 94110 샌프란시스코 프란코니아 스트리트 345
골드블럼 아담 에이.
미국 캘리포니아 94127 샌프란시스코 몰리모 드라이브 505
롱 다니엘 디.
미국 캘리포니아 94114 샌프란시스코 21st 스트리트 3837
터너 에스. 데릭
미국 캘리포니아 94131 샌프란시스코 워렌 드라이브 193비
리우 잔웨이
미국 캘리포니아 94087 서니베일 엔디코트 드라이브 681

(74) 대리인 리앤목특허법인

전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 5-HT4 수용체 작용물질로서 인다졸-카르복스아미드화합물

(57) 요약

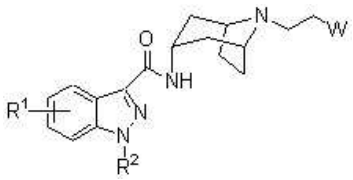
본 발명은 신규의 인다졸-카르복스아미드 5-HT_4 수용체 작용 화합물을 제공한다. 또한 본 발명은 그러한 화합물을 포함하는 약제학적 조성물, 5-HT_4 수용체 활성과 관련된 질병을 치료하기 위하여 그러한 화합물을 사용하는 방법, 및 그러한 화합물을 제조하기 위하여 유용한 제조 방법 및 중간체를 제공한다.

특허청구의 범위

청구항 1.

화학식 I의 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물(solvate) 또는 입체 이성질체(steroisomer):

[화학식 I]



여기서:

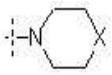
R^1은 수소, 할로(halo), 히드록시, C_{1-4}알킬, 또는 C_{1-4}알콕시이며;

R^2는 C_{3-4}알킬, 또는 C_{3-6}시클로알킬이며; 및

W는 하기 화학식 군에서 선택되며:

(i) 화학식 Ⅱ의 군:

[화학식 Ⅱ]



여기서 X는:

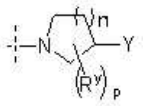
$NC(O)R^a$(여기서 R^a는 C_{1-3}알킬 또는 테트라히드로푸라닐이고, 상기 C_{1-3}알킬은 선택적으로 -OH 또는 C_{1-3}알콕시로 치환되며);

$S(O)_2$; 또는

$NS(O)_2R^b$(여기서 R^b는 선택적으로 -OH, C_{1-3}알콕시, C_{5-6}시클로알킬, 또는 $-S(O)_2-C_{1-3}$알킬로 치환된 메틸이며);

(ii) 화학식 Ⅲ의 군:

[화학식 Ⅲ]



여기서:

R^y는 -OH 또는 C_{1-3}알콕시이며;

p는 0 또는 1이며;

n은 1 또는 2이며; 및

Y는:

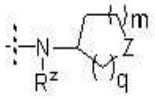
$NR^cC(O)R^d$(여기서 R^c는 수소 또는 C_{1-3}알킬이고 R^d는 선택적으로 -OH 또는 C_{1-3}알콕시로 치환된 C_{1-3}알킬이며), 또는

$NR^eS(O)_2R^f$이며(여기서 R^e는 수소이고 R^f는 선택적으로 -OH, C_{1-3}알콕시, C_{5-6}시클로알킬, 또는 $-S(O)_2-C_1-_3$알킬로 치환된 C_{1-3}알킬이며);

및

(iii) 화학식 Ⅳ의 군:

[화학식 Ⅳ]



여기서:

R^z는 수소, C_{1-3}알킬, 또는 -OH 또는 C_{1-3}알콕시로 치환된 C_{2-3}알킬이며;

m은 1 또는 2이며;

q는 1 또는 2이되, 단 m 및 q의 합은 4가 아니며; 및

Z 는:

$NC(O)R^g$(여기서 R^g는 선택적으로 -OH 또는 C_{1-3}알콕시로 치환된 C_{1-3}알킬이며);

$S(O)_2$; 또는

$NS(O)_2R^h$이다(여기서 R^h는 선택적으로 -OH, C_{1-3}알콕시, C_{5-6}시클로알킬, 또는 $-S(O)_2-C_{1-3}$알킬로 치환된 메틸이다).

청구항 2.

제1항에 있어서, R^1은 수소 또는 할로인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 3.

제1항에 있어서, R^2는 이소프로필 또는 C_{4-5}시클로알킬인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 4.

제1항에 있어서, W는 화학식 Ⅱ의 군인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 5.

제4항에 있어서, R^a는 C_{1-3}알킬이고 R^b는 메틸인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 6.

제1항에 있어서, W는 화학식 Ⅲ의 군인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 7.

제6항에 있어서, p는 0인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 8.

제6항에 있어서, n은 1인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 9.

제1항에 있어서, W는 화학식 Ⅳ의 군인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 10.

제1항에 있어서, m은 1이고 q은 1인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 11.

제1항에 있어서,

R^1은 수소 또는 할로이며;

R^2는 C_{3-4}알킬 또는 C_{4-5}시클로알킬이며; 및

W는:

(i) X가 $NC(O)CH_3$, $S(O)_2$, 또는 $NS(O)_2CH_3$인 화학식 Ⅱ의 군;

(ii) p가 0, n이 1, 및 Y가 $NCH_3C(O)CH_3$인 화학식 Ⅲ의 군; 및

(iii) R^z가 메틸이고, m이 1, q가 1, 및 Z가 $NC(O)CH_3$, $S(O)_2$, 또는 $NS(O)_2CH_3$인 화학식 Ⅳ의 군으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 12.

제11항에 있어서, W는 X가 $NC(O)CH_3$, $S(O)_2$, 또는 $NS(O)_2CH_3$인 화학식 Ⅱ의 군인 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 13.

제1항에 있어서, 상기 화합물은:

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)-에틸]8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-(테트라히드로푸란-2-카르보닐)피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(1,1-디옥소-1λ^6-티오모르폴린-4-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-메탄설포닐-피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-시클로헥실메탄설포닐피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-메탄설포닐메탄설포닐피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-(아세틸-메틸아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-(아세틸-아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-(아세틸-아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-(아세틸-아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[3-((*S*)-2-히드록시프로피오닐아미노)피롤리딘-1-일]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(3*S*,4*S*)-3-(아세틸메틸아미노)-4-히드록시피롤리딘-1-일]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-에탄설포닐아미노피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-시클로헥실메탄설포닐아미노피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[3-(아세틸-메틸아미노)피페리딘-1-일]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-아세틸아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-메탄설포닐아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-메탄설포닐아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-에탄설포닐아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-메탄설포닐메탄설포닐아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-아세틸피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*R*)-1-아세틸피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*S*)-1-아세틸피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-메탄설포닐피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*R*)-1-메탄설포닐피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)-(2-히드록시에틸)아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-아세틸피페리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1,1-디옥소-헥사히드로-1λ^6-티오피란-4-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-메탄설포닐피페리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

5-플루오로-1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-부틸-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-*시클로*부틸-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-*시클로*펜틸-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-(아세틸-메틸아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((S)-3-(아세틸-메틸아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*S*)-1-메탄설포닐피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(*R*)-(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(*S*)-(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; 및

이들의 약제학적으로 허용가능한 염 및 용매화물 및 입체 이성질체로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 14.

제1항에 있어서, 상기 화합물은:

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)-에틸]8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(1,1-디옥소-1λ^6-티오모르폴린-4-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-메탄설포닐-피페라진-1-일)-에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-(아세틸메틸-아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-(아세틸-메틸-아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-(아세틸-메틸아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-[(1-아세틸피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-[((*R*)-1-아세틸-피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-[((*S*)-1-아세틸-피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-메탄설포닐-피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*R*)-1-메탄설포닐-피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*S*)-1-메탄설포닐-피롤리딘-3-일)메틸아미노)에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}-아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; 및

이들의 약제학적으로 허용가능한 염 및 용매화물 및 입체 이성질체로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 화합물.

청구항 15.

제1항에 있어서, 화학명이 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물인 것을 특징으로 하는 화학식 I의 화합물.

청구항 16.

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 화합물의 치료학적 유효량 및 약제학적으로 허용가능한 담체(carrier)를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 17.

치료 용도로 사용하는 제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 화합물.

청구항 18.

약제를 제조하기 위한 제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 화합물의 용도.

청구항 19.

제18항에 있어서, 상기 약제는 5-HT_4 수용체 활성과 관련된 포유류의 의학적 상태를 치료하기 위한 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 20.

제19항에 있어서, 상기 질병 또는 상태는 위장관의 운동성 감소의 질환인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 21.

5-HT_4 수용체 활성과 관련된 의학적 상태를 지니고 있는 포유류를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 포유류에게 약제학적으로 허용가능한 담체 및 제1항 내지 제15항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을 치료학적 유효량 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22.

포유류에 있어서 위장관의 운동성 감소의 질환을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 포유류에게 약제학적으로 허용가능한 담체 및 제1항 내지 제15항 중 어느 한 항의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을 치료학적 유효량 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

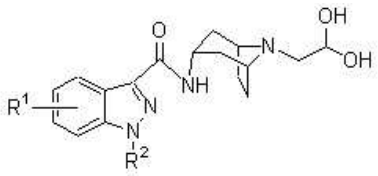
청구항 23.

제22항에 있어서, 상기 운동성 감소의 질환은 만성 변비, 변비형 과민성 대장증후군(constipation-predominant irritable bowel syndrom), 당뇨성 및 특발성 위병증(diabetic and idiopathic gastroparesis), 및 기능성 소화불량에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24.

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 화합물을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 화학식 5의 화합물:

[화학식 5]



5

또는 그 염 또는 입체 이성질체 또는 보호된 유도체를 환원제의 존재하에 화학식 H-W의 아민과 반응시킴으로써 화학식 I의 화합물 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물 또는 입체 이성질체를 제조하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

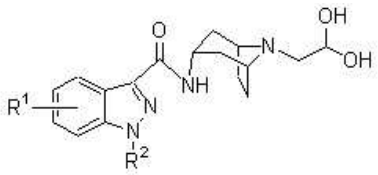
청구항 25.

제24항의 제조 방법에 따라 제조된 생성물.

청구항 26.

화학식 5의 화합물 또는 이들의 염 또는 입체이성질체 또는 보호된 유도체:

[화학식 5]



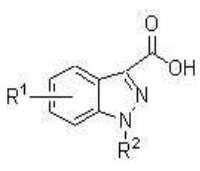
5

여기서, R^1은 수소, 할로, 히드록시, C_{1-4}알킬, 또는 C_{1-4}알콕시이며, R^2는 C_{3-4}알킬, 또는 C_{3-6}시클로알킬이다.

청구항 27.

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항의 화합물을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 화학식 2의 화합물을:

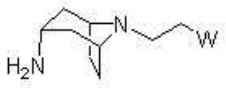
[화학식 2]



2

화학식 10의 화합물과:

[화학식 10]



10

아미드 커플링 조건하에서 반응시킴으로써 화학식 I의 화합물 또는 그의 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물 또는 입체이성질체를 제조하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

청구항 28.

(1*S*,3*R*,5*R*)-3-아미노-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르를 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 3-옥소-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르를 전이금속 촉매 존재하에서 적어도 25 당량의 암모늄 포르메이트와 반응시킴으로써 (1*S*,3*R*,5*R*)-3-아미노-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르를 제조하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 제조 방법.

청구항 29.

5-HT_4 수용체를 포함하는 생물학적 시스템 또는 샘플을 연구하는 방법으로서, 상기 방법은:

(a) 상기 생물학적 시스템 또는 샘플을 제1항 내지 제15항 중 어느 한 항의 화합물과 접촉시키는 단계; 및

(b) 상기 화합물에 의하여 상기 생물학적 시스템 또는 샘플에 야기된 효과를 측정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 연구 방법.

명세서

기술분야

본 발명은 5-HT_4 수용체 작용물질로서 유용한 인다졸-카르복스아미드 화합물에 관한 것이다. 또한 본 발명은 그러한 화합물을 포함하는 약제학적 조성물, 5-HT_4 수용체 활성에 의하여 매개된 의학적 상태를 치료하기 위하여 그러한 화합물을 사용하는 방법, 및 그러한 화합물을 제조하기 위하여 유용한 제조 방법 및 중간체에 관한 것이다.

배경기술

세로토닌(serotonin; 5-히드록시트립타민(5-hydroxytryptamine), 5-HT)은 중추 신경계 및 말초 신경계 모두에 있어서, 신체 전체로 폭넓게 분포되는 신경전달물질이다. 적어도 일곱 가지 서브타입의 세로토닌 수용체가 확인되었으며 세로토닌과 이러한 서로 다른 수용체 간의 상호작용은 각종 생리학적 작용과 연결된다. 따라서, 특정의 5-HT 수용체 서브타입을 목표로 하는 치료제를 개발하는 데 상당한 관심이 있어 왔다.

특히, 5-HT_4 수용체의 특성 및 그들과 상호작용하는 약제학적 물질의 확인이 최근 중요한 활동의 초점이 되어왔다. (예를 들면 review by Langlois and Fischmeister, *J. Med. Chem.* 2003, *46*, 319-344 참조.) 5-HT_4 수용체 작용물질은 위장관(gastrointestinal tract)의 운동성 감소 질환을 치료하는데 유용하다. 그러한 질환은 과민성 장증후군(IBS; irritable bowel syndrome), 만성 변비, 기능성 소화불량(functional dyspepsia), 위내용물 배출시간 지연(delayed gastric emptying), 위식도 역류성 질환(GERD; gastroesophageal reflux disease), 위마비(gastroparesis), 수술 후 장폐색

(post-operative ileus), 가성 장 폐쇄(intestinal pseudo-obstruction), 및 약물-유발 통과 지연(drug-induced delayed transit)를 포함한다. 그외에, 일부 5-HT_4 수용체 작용 화합물은 인지 장애, 행동 장애, 기분 장애, 및 자율신경 기능 조절 장애를 포함하는 중추 신경계 질환의 치료에 있어서 사용될 수 있다고 제안되고 있다.

5-HT_4 수용체 활성을 조절하는 약제학적 물질의 폭넓은 사용에 불구하고, 소수의 5-HT_4 수용체 작용 화합물만이 현재 의료용으로 사용되고 있다. 위장관 운동성 질환의 치료에 광범위하게 이용되었던 하나의 치료제, 시사프라이드(cisapride)는 시장으로부터 회수되으며, 이는 심장의 부작용에 기인한 것으로 보고된다. 다른 작용물질, 프루칼로프라이드(prucalopride)의 말기 단계 임상 실험은 지연되고 있다.

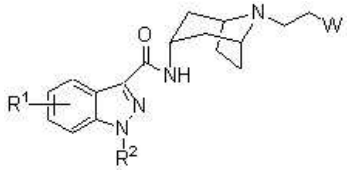
이에 따라서, 최소한의 부작용을 가지며 그들의 소망되는 효과를 달성하는 신규의 5-HT_4 수용체 작용물질에 대한 요구가 존재한다. 바람직한 물질은, 다른 특성보다도, 개선된 선택성, 효능, 약동학적 특성, 및/또는 작용기간을 가질 수 있다.

발명의 상세한 설명

본 발명은 5-HT_4 수용체 작용 활성을 가지는 신규의 화합물을 제공한다. 다른 특성 중에서도, 본 발명의 화합물은 효능 및 선택성이 우수한 5-HT_4 수용체 작용물질임이 밝혀졌다. 또한, 본 발명의 화합물은 경구 투여에 대해 우수한 생체이용률을 예측할 수 있는 약동학적 특성을 나타내는 것으로 밝혀졌다.

이에 따라서, 본 발명은 화학식 I의 화합물 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물(solvate) 또는 입체 이성질체(stereoisomer)를 제공한다:

[화학식 I]



여기서:

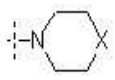
R^1은 수소, 할로, 히드록시, C_{1-4}알킬, 또는 C_{1-4}알콕시이며;

R^2는 C_{3-4}알킬, 또는 C_{3-6}시클로알킬이며; 및

W는 하기 화학식 군에서 선택된다:

(i) 화학식 Ⅱ의 군:

[화학식 Ⅱ]



여기서 X는:

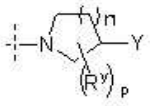
NC(O)R^a(여기서 R^a는 C_{1-3}알킬 또는 테트라히드로푸라닐(tetrahydrofunayl)이고, C_{1-3}알킬은 선택적으로 -OH 또는 C_{1-3} 알콕시로 치환되며);

$S(O)_2$; 또는

$NS(O)_2R^b$(여기서 R^b은 선택적으로 -OH, C_{1-3}알콕시, C_{5-6}시클로알킬, 또는 $-S(O)_2-C_{1-3}$알킬로 치환된 메틸이다);

(ii) 화학식 Ⅲ의 군:

[화학식 Ⅲ]



여기서:

R^y 는 -OH 또는 C_{1-3}알콕시이며;

p는 0 또는 1이며;

n는 1 또는 2이며; 및

Y는:

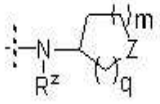
$N(R^c)C(O)R^d$(여기서 R^c는 수소 또는 C_{1-3}알킬이고 R^d는 선택적으로 -OH 또는 C_{1-3}알콕시로 치환된 C_{1-3} 알킬이며), 또는

$N(R^e)S(O)_2R^f$이며(여기서 R^e는 수소이고 R^f는 선택적으로 -OH, C_{1-3} 알콕시, C_{5-6}시클로알킬 또는 $-S(O)_2-C_{1-3}$알킬로 치환된 C_{1-3}d알킬이다);

및

(iii) 화학식 Ⅳ의 군:

[화학식 Ⅳ]



여기서:

R^z는 수소, C_{1-3}알킬, 또는 -OH 또는 C_{1-3}알콕시로 치환된 C_{2-3}알킬이고;

m은 1 또는 2이고;

q는 1 또는 2이고, 단 m 및 q의 합은 4가 아니며; 및

Z 는:

$NC(O)R^g$(여기서 R^g은 선택적으로 -OH 또는 C_{1-3} 알콕시로 치환된 C_{1-3} 알킬이며);

$S(O)_2$; 또는

$NS(O)_2R^h$이다(여기서 R^h은 선택적으로 -OH, C_{1-3}알콕시, C_{5-6}시클로알킬, 또는 $-S(O)_2-C_{1-3}$알킬로 치환된 메틸이다).

본 발명은 또한 본 발명의 화합물 및 약제학적으로 허용가능한 담체(carrier)를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

본 발명은 또한 5-HT_4 수용체 활성과 관련된 질병 또는 상태, 예를 들면, 위장관의 운동성 감소 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 포유류에게, 본 발명의 화합물을 치료학적 유효량 투여하는 단계를 포함한다.

또한, 본 발명은 포유류에 있어서 5-HT_4 수용체 활성과 관련된 질환 또는 상태를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 포유류에게, 본 발명의 조성물을 치료학적 유효량 투여하는 단계를 포함한다

본 발명의 화합물은 또한 연구 수단으로서, 즉, 생물학적 시스템 또는 샘플을 연구하기 위하여, 또는 다른 화학적 화합물의 활성을 연구하기 위하여 사용될 수 있다. 이에 따라, 본 발명의 방법의 다른 측면은, 화학식 I의 화합물, 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물 또는 입체 이성질체를, 생물학적 시스템 또는 샘플을 연구하거나 또는 신규의 5-HT_4 수용체 작용물질을 발견하기 위한 연구 수단으로서 사용하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 생물학적 시스템 또는 샘플을 본 발명의 화합물과 접촉하는 단계 및 상기 화합물에 의하여 상기 생물학적 시스템 또는 샘플에 야기된 효과를 측정하는 단계를 포함한다.

또한 본 발명의 독립적이고 별개의 측면은, 본 명세서에서 개시된 합성 방법 및 중간체를 제공하며, 이는 본 발명의 화합물을 제조하는데 유용하다.

또한 본 발명은 의학 치료적 용도를 위하여 본 명세서에서 기술된 바와 같은 본 발명의 화합물을 제공하며, 또한 포유류에서, 5-HT_4 수용체 활성과 관련된 질환 또는 상태, 예를 들면, 위장관의 운동성 감소 질환을 치료하기 위한 조성물 또는 약제를 제조하는 데 있어서의 본 발명의 화합물의 사용을 제공한다.

이하 본 발명을 상세히 기술한다.

본 발명은 신규의 인다졸-카르복스아미드(indazole-carboxamide) 5-HT_4 수용체인 화학식 I, 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물 또는 입체 이성질체를 제공한다. 하기 치환체 및 값은 본 발명의 다양한 측면에 대한 대표적인 예를 제공하기 위한 목적이다. 이러한 대표적인 값은 그러한 측면을 더욱 잘 정의하기 위함이며 다른 값을 배제하거나 본 발명의 범위를 제한하기 위함이 아니다.

본 발명의 특정 측면에 있어서, R^1은 수소, 할로(halo), C_{1-4}알킬, 또는 C_{1-4}알콕시이다.

다른 특정 측면에 있어서, R^1은 수소, 할로, 또는 C_{1-4}알킬이고; 또는 R^1은 수소 또는 할로이고; 또는 R^1는 플루오로(fluoro)이다.

또 다른 특정 측면에 있어서, R^1은 수소이다.

특정 측면에 있어서, R^2은 C_{3-4}알킬 또는 C_{3-6}시클로알킬이다.

다른 특정 측면에 있어서, R^2은 C_{3-4}알킬이다. 대표적인 R^2 군은 *n*-프로필, 이소프로필, *n*-부틸, *sec*-부틸, 및 *tert*-부틸을 포함한다.

다른 특정 측면에 있어서, R^2은 이소프로필이다.

또 다른 특정 측면에 있어서, R^2은 시클로부틸 또는 시클로펜틸이다.

특정 측면에 있어서, W는 화학식 Ⅱ의 군으로, 여기서 모든 변수는 화학식 Ⅱ와 같이 정의된다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 화학식 Ⅱ의 군으로, 여기서 R^a은 C_{1-3}알킬이고 R^b는 메틸이다.

다른 특정측면에 있어서, W는 X가 $NC(O)R^a$인 화학식 Ⅱ의 군으로, 여기서 R^a은 화학식 Ⅱ와 같이 정의된다. 다른 특정 측면에 있어서, W는 X가 $NC(O)R^a$인 화학식 Ⅱ의 군으로, 여기서 R^a는 C_{1-3}알킬, 특히 메틸, 에틸, *n*-프로필, 또는 이소프로필이거나 테트라히드로푸란-2-일 또는 테트라히드로푸란-3-일이며; 또는 R^a은 C_{1-3}알킬이다.

또 다른 특정 측면에 있어서, W는 X가 $NC(O)CH_3$인 화학식 Ⅱ의 군으로, 이는 4-아세틸-피페라진-1-일 값을 가지는 W를 형성한다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 X가 $S(O)_2$인 화학식 Ⅱ의 군이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 X가 $NS(O)_2R^b$인 화학식 Ⅱ의 군으로, 여기서 R^b는 화학식 Ⅱ와 같이 정의된다. 다른 특정 측면에 있어서, W는 X가 $NS(O)_2R^b$인 화학식 Ⅱ의 군으로, 여기서 R^b은 선택적으로 C_{5-6}시클로알킬 또는 $-S(O)_2-C_{1-3}$알킬로 치환된 CH_3이다. 이러한 측면의 대표적인 R^b 값은, $-CH_2$시클로펜틸, $-CH_2$시클로헥실, $-CH_2SO_2CH_3$, 및 $-CH_2SO_2C_2H_5$을 포함한다.

또 다른 특정 측면에 있어서, W는 X가 $NS(O)_2CH_3$인 화학식 Ⅱ의 군으로, 이는 4-메탄설포닐-피페라진-1-일 값을 가지는 W를 형성한다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 $\underline{R}^y$가 -OH인 화학식 Ⅲ의 군이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 화학식 Ⅲ의 군으로, 여기서 R^y는 C_{1-3}알콕시로, 예를 들면, R^y는 $-OCH_3$, $-OC_2H_5$, 또는 $-OC_3H_7$이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 화학식 Ⅲ의 군으로, 여기서 p는 0이며, 또는 여기서 p는 1이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 화학식 Ⅲ의 군으로, 여기서 *n*은 1, 즉, W는 선택적으로 치환된 피롤리닐 고리이며; 또는 여기서 중 *n*은 2, 즉, W는 선택적으로 치환된 피페리디닐 고리이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 Y가 $N(R^c)C(O)R^d$인 화학식 Ⅲ의 군으로, 여기서 R^d는 화학식 Ⅲ와 같이 정의된다. 다른 특정 측면에 있어서, W는 Y가 $N(R^c)C(O)R^d$인 화학식Ⅲ의 군으로, 여기서 R^c는 수소이며; 및 R^c는 C_{1-3}알킬이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 Y가 $N(R^c)C(O)R^d$인 화학식 Ⅲ의 군으로, 여기서 R^d는 선택적으로 -OH 또는 C_{1-3}알콕시로 치환된 C_{1-3}알킬이다. 본 측면의 대표적인 R^d 값은 메틸, 에틸, $-CH_2OH$, 및 $-CH(OH)CH_3$를 포함한다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 Y가 $NCH_3C(O)CH_3$인 화학식 Ⅲ의 군이다.

또 다른 특정 측면에 있어서, W는 Y가 $NHC(O)CH_3$인 화학식 Ⅲ의 군이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 Y가 $N(R^e)S(O)_2R^f$인 화학식 Ⅲ의 군으로, 여기서 R^e 및 R^f는 화학식 Ⅲ와 같이 정의된다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 Y가 $N(R^e)S(O)_2R^f$인 화학식 Ⅲ의 군으로, 여기서 R^f는 선택적으로 C_{5-6}시클로알킬 또는 $-S(O)_2-C_{1-3}$알킬로 치환된 C_{1-3}알킬이다. 본 측면에 있어서 대표적인 R^f 값은 메틸, $-CH_2$시클로펜틸, $-CH_2$시클로헥실, $-CH_2SO_2CH_3$,및 $-CH_2SO_2C_2H_5$을 포함한다.

다른 특정 측면에 있어서, 화학식 I의 화합물은, W가 화학식 Ⅲ의 군으로 p가 0이고 n이 1인 화합물이다. 또 다른 특정 측면에 있어서, 화학식 I의 화합물은, W가 화학식 Ⅲ의 군으로 p는 0, n은 1, 및 Y는 $N(R^c)C(O)R^d$인 화합물이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 R^z가 수소인 화학식 Ⅳ의 군이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 화학식 Ⅳ의 군으로, 여기서 R^z는 C_{1-3}알킬로서, 예를 들면, 메틸, 에틸 등이다. 다른 특정 측면에 있어서, W는 화학식 Ⅳ의 군으로, 여기서 R^z는 선택적으로 -OH 또는 C_{1-3}알콕시로 치환된 C_{2-3}알킬로서, 예를 들면, R^z은 히드록시에틸, 메톡시에틸 등이다. 다른 특정 측면에 있어서, W는 R^z가 메틸인 화학식 Ⅳ의 군이다.

일 특정 측면에 있어서, W는 m이 1인 화학식 Ⅳ의 군이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 m이 2인 화학식 Ⅳ의 군이다.

일 특정 측면에 있어서, W는 q가 1인 화학식 Ⅳ의 군이다.

다른 특정 측면에 있어서, W는 q가 2인 화학식 Ⅳ의 군이다.

일 특정 측면에 있어서, W는 Z가 $NC(O)R^g$인 화학식 Ⅳ의 군으로, 여기서 R^g는 화학식 Ⅳ와 같이 정의된다. 다른 특정 측면에 있어서, W는 Z가 $NC(O)R^g$인 화학식 Ⅳ의 군으로, 여기서, R^g는 선택적으로 -OH로 치환된 C_{1-3}알킬; 또는 R^g은 메틸이다.

일 측면에 있어서, W는 Z가 $S(O)_2$인 화학식 Ⅳ의 군이다.

일 측면에 있어서, W는 Z가 $NS(O)_2R^h$인 화학식 Ⅳ의 군으로, 여기서 R^h는 화학식 Ⅳ와 같이 정의된다. 다른 특정 측면에 있어서, W는 Z가 $NS(O)_2R^h$인 화학식 Ⅳ의 군으로, 여기서 R^h는 선택적으로 C_{5-6}시클로알킬로 치환된 또는 $-S(O)_2-C1-3$알킬로 치환된 메틸이다. R^h의 대표적인 값은 메틸, $-CH_2$시클로펜틸, $-CH_2$시클로헥실, $-CH_2SO_2CH_3$, 및 $-CH_2SO_2C_2H_5$을 포함한다. 또 다른 특정 측면에 있어서, W는 Z가 $NS(O)_2CH_3$인 화학식 Ⅳ의 군이다.

다른 특정 측면에 있어서, 화학식 I의 화합물은, W는 화학식 Ⅳ의 군이며 m은 1이고 q는 1인 화합물이다. 또 다른 특정 측면에 있어서, 화학식 I의 화합물은, W가 화학식 Ⅳ의 군이며, m는 1, q는 1, 및 R^z은 메틸인 화합물이다.

본 발명의 일 측면은, 화학식 I의 화합물을 제공하며, 상기 식 중 R^1은 수소 또는 할로이며; R^2은 이소프로필 또는 C_{4-5}시클로알킬이며; 및 W는 화학식 I와 같이 정의된다.

본 발명의 다른 측면은, 화학식 I의 화합물을 제공하며, 여기서:

R^1은 수소 또는 할로이며;

R^2는 C_{3-4}알킬 또는 C_{4-5}시클로알킬이며; 및

W는 하기 군에서 선택된다:

(i) 화학식 Ⅱ의 군(여기서 X는 $NC(O)CH_3$, $S(O)_2$, 또는 $NS(O)_2CH_3$이며);

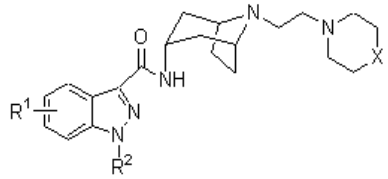
(ii) 화학식 Ⅲ의 군(여기서 p는 0, n은 1, 및 Y는 $NCH_3C(O)CH_3$이며); 및

(iii) 화학식 Ⅳ의 군(여기서 R^z 는 메틸, m는 1, q는 1, 및 Z는 $NC(O)CH_3$, $S(O)_2$, 또는 $NS(O)_2CH_3$이다).

본 발명의 다른 측면은, 화학식 I의 화합물을 제공하며 여기서 R^1은 수소 또는 할로이며; R^2는 C_{3-4}알킬 또는 C_{4-5}시클로알킬이고; 및 W는 화학식 Ⅱ의 군으로 여기서 X는 $NC(O)CH_3$; $S(O)_2$; 또는 $NS(O)_2CH_3$이다.

본 발명의 다른 측면은 화학식 V의 화합물인 화학식 I의 화합물을 제공한다:

[화학식 V]

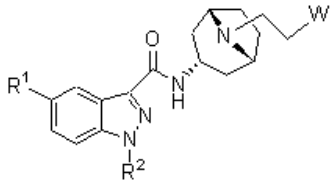


여기서:

R^1, R^2, 및 X는 일반적인, 특정의, 또는 상기 예의 값을 취할 수 있다.

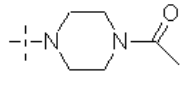
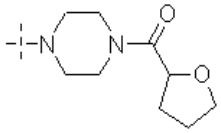
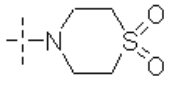
본 발명의 다른 측면은 화학식 VI의 화합물의 군을 제공한다:

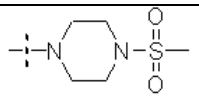
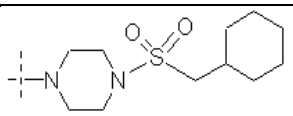
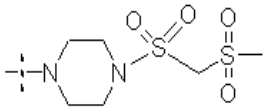
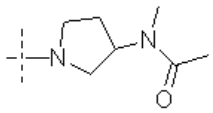
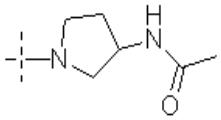
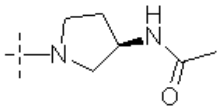
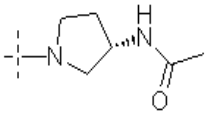
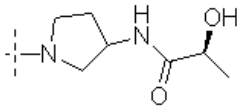
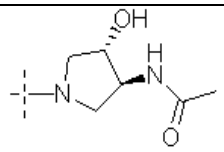
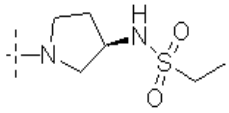
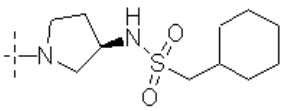
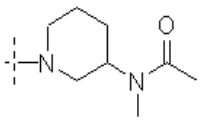
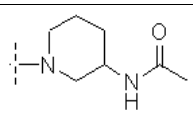
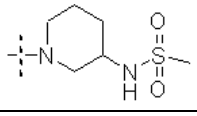
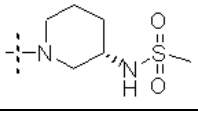
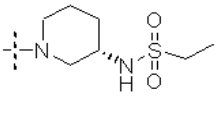
[화학식 VI]

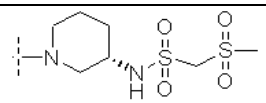
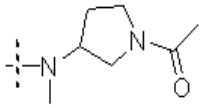
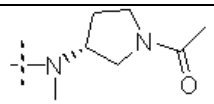
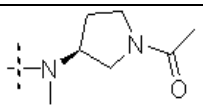
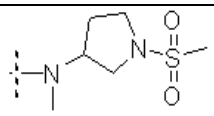
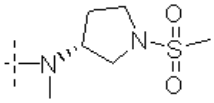
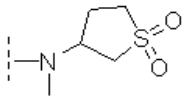
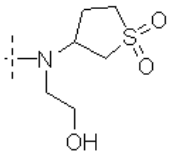
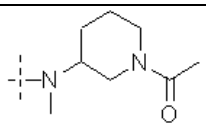
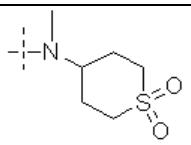
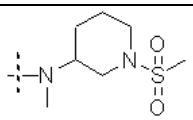
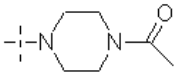
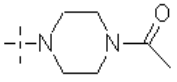
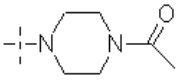
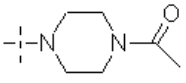
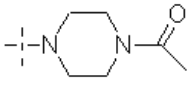
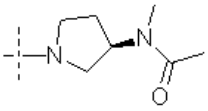


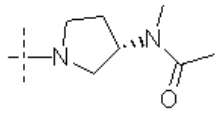
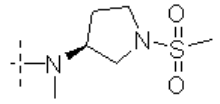
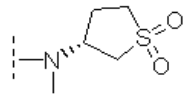
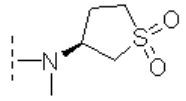
여기서 R^1, R^2, 및 W는 표 1에 나타낸 값을 취한다.

[표 I]

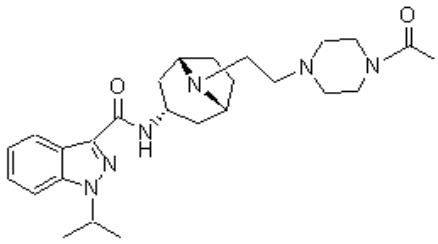
예	R^1	R^2	W
1	H	i-Pr	
2	H	i-Pr	
3	H	i-Pr	

4	H	i-Pr	
5	H	i-Pr	
6	H	i-Pr	
7	H	i-Pr	
8	H	i-Pr	
9	H	i-Pr	
10	H	i-Pr	
11	H	i-Pr	
12	H	i-Pr	
13	H	i-Pr	
14	H	i-Pr	
15	H	i-Pr	
16	H	i-Pr	
17	H	i-Pr	
18	H	i-Pr	
19	H	i-Pr	

20	H	i-Pr	
21	H	i-Pr	
22	H	i-Pr	
23	H	i-Pr	
24	H	i-Pr	
25	H	i-Pr	
26	H	i-Pr	
27	H	i-Pr	
28	H	i-Pr	
29	H	i-Pr	
30	H	i-Pr	
31	F	i-Pr	
32	H	n-Pr	
33	H	n-Bu	
34	H	시클로-부틸	
35	H	시클로-펜틸	
36	H	i-Pr	

37	H	i-Pr	
38	H	i-Pr	
39	H	i-Pr	
40	H	i-Pr	

예 1의 화합물에 대하여 본 명세서에서 사용된 화학 명명법을 나타낸다:



상기 화합물은, MDL 인포메이션 시스템 게엠베하 (MDL Ifromation Systems, GmbH, 프랑크프루트, 독일)에서 공급되는 AutoNom 소프트웨어에 따라서, 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸-피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드로 표기된다. 상기 표기 (1*S*,3*R*,5*R*)는 쐐기 모양의 실선(solid wedge) 및 쐐기 모양의 파선(dashed wedge)으로서 표기된 비시클로 고리계와 관련된 상대적 방향을 나타낸다. 상기 화합물은 대안으로 *N*-[(3-*엔도*)-8-[2-(4-아세틸-피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일]-1-(1-메틸에틸)-1*H*-인다졸-3-카르복스아미드로 표기된다. 표 I의 모든 화합물에 있어서, 상기 인다졸 카르복스아미드는 아자비시클로옥틸기에 대하여 엔도이다.

하기 화합물에 대해서는 특별히 언급할 수 있다:

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(1,1-디옥소-1λ^{6}-티오모르폴린-4-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-메탄설포닐-피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-(아세틸-메틸-아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-(아세틸-메틸아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-(아세틸-메틸아미노)피롤리딘-1-일)-에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-[(1-아세틸-피롤리딘-3-일)-메틸아미노]에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-[((*R*)-1-아세틸-피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-[((*S*)-1-아세틸-피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸]-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-메탄설포닐-피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*R*)-1-메탄설포닐피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*S*)-1-메탄설포닐피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; 및

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드;

상기 나타낸 바와 같이, 본 발명의 화합물은 키랄 중심(chiral center)을 함유할 수 있다. 이에 따라서, 본 발명은, 다르게 표기되지 않는다면, 라세믹 혼합물, 순수 입체 이성질체, 및 그러한 이성질체의 입체 이성질체-다량함유 혼합물을 포함한다. 특정한 입체 이성질체가 나타나는 경우, 그러한 다른 이성질체의 존재에 의하여 조성물 전체로서의 유용성이 없어지지 않는다는 전제하에, 소수 양의 다른 입체이성질체들도 존재할 수 있다는 점은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 이해될 것이다.

정의

본 발명의 화합물, 조성물 및 방법을 기술하는 경우, 하기 용어는, 특별히 다르게 표기되지 않는다면, 하기 의미를 지닌다.

용어 '알킬'은 1가의 포화 탄화수소기를 의미하며, 이는 선형 또는 분지형 또는 그 조합일 수 있다. 다르게 정의되지 않는다면, 그러한 알킬기는 전형적으로 1 내지 10개의 탄소 원자를 함유한다. 대표적인 알킬기는, 예를 들면, 메틸, 에틸, *n*-프로필(*n*-Pr), 이소프로필(*i*-Pr), *n*-부틸 (*n*-Bu), *sec*-부틸, 이소부틸, *tert*-부틸, *n*-펜틸, *n*-헥실, *n*-헵틸, *n*-옥틸, *n*-노닐, *n*-데실 등을 포함한다.

용어 "알콕시"는 1가의 기 -O-알킬(-O-alkyl)을 의미하며, 여기서 알킬은 상기와 같이 정의된다. 대표적인 알콕시기는, 예를 들면, 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시 등을 포함한다.

용어 "시클로알킬"은 1가의 포화 카보시클릭기(carbocyclic group)을 의미하며, 이는 단일환(monocyclic) 또는 (multicyclic)일 수 있다. 다르게 정의되지 않는다면, 그러한 시클로알킬기는 통상적으로 3 내지 10개의 탄소 원자를 함유한다. 대표적인 시클로알킬기는, 예를 들면, 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 시클로옥틸 등을 포함한다.

용어 "할로(halo)"는 플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오도를 의미한다.

용어 "치료학적 유효량(therapeutically effective amount)"는 치료가 필요한 환자에게 투여된 경우 효과적인 치료에 충분한 양을 의미한다.

본 명세서에서 사용된 용어 "치료"는 포유류(특히 인간)와 같은 환자의 질병(disease), 질환(disorder), 또는 의학적 상태(medical condition)의 치료를 의미하며, 이는:

(a) 질병, 질환, 또는 의학적 상태가 발생하는 것을 예방하는 것, 즉, 환자의 예방적 치료;

(b) 질병, 질환, 또는 의학적 상태를 개선시키는 것, 즉, 환자에 있어서 질병, 질환, 또는 의학적 상태을 제거하거나 그 복귀를 야기하는 것;

(c) 질병, 질환, 또는 의학적 상태를 억제하는 것, 즉, 환자에게 있어서 질병, 질환, 또는 의학적 상태를 늦추거나 그 발전을 저지하는 것; 또는

(d) 환자에게 있어서 질병, 질환, 또는 의학적 상태의 증후를 경감시키는 것을 포함한다.

용어 "약제학적으로 허용가능한 염"은 포유류와 같은 환자에게 투여하기 위하여 허용가능한 산 또는 염기로부터 제조된 염을 의미한다. 그러한 염은 염 약제학적으로 허용가능한 무기 또는 유기산으로부터 또는 약제학적으로 허용가능한 염기로부터 유도될 수 있다. 통상적으로, 본 발명의 약제학적으로 허용가능한 화합물의 염은 산으로부터 제조된다.

약제학적으로 허용가능한 산으로부터 유도된 염은 아세트산, 아디프산, 벤젠설폰산, 벤조산, 캠포설폰산, 시트르산, 에탄설폰산, 푸마르산, 글루콘산, 글루타민산, 브롬화수소산, 염산, 락트산, 말레산, 말산, 만델산(mandelic acid), 메탄설폰산, 무스산(mucic acid), 질산, 판토텐산(pantothenic), 인산, 프로피온산, 살리실산, 숙신산, 황산, 타르타르산, p-톨루엔설폰산, 크시나포산(xinafoic acid; 1-히드록시-2-나프토산), 나프탈렌-1,5-디설폰산 등을 포함하나, 그들에 국한되지 않는다.

용어 "용매화물(solvate)"은 하나 이상의 용질 분자, 즉 본 발명의 화합물 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염과, 하나 이상의 용매 분자에 의하여 형성된 복합체 또는 집합체를 의미한다. 그러한 용매화물은 통상적으로 실질적으로 고정된 용질 및 용매의 몰 비율을 가지는 결정상 고체이다. 대표적인 용매는 예를 들면, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 아세트산 등을 포함한다. 용매가 물인 경우, 형성된 용매화물은 수화물이다.

용어 "또는 그 약제학적으로 허용가능한 염 또는 용매화물"은 화학식 I의 화합물의 입체 이성질체의 약제학적으로 허용가능한 염의 용매화물과 같은, 염, 용매화물 및 입체 이성질체의 모든 변경을 포함함은 인식될 것이다.

용어 "아미노-보호기"는 아민의 질소에서 바람직하지 않은 반응이 일어나지 않게 하기 위한 적절한 보호기를 의미한다. 대표적인 아미노-보호기는 포르밀; 아실기, 예를 들면 아세틸과 같은 알카노일기; *tert*-부톡시카르보닐(Boc)과 같은 알콕시카르보닐기; 벤질옥시카르보닐(Cbz) 및 9-플루오레닐메톡시카르보닐(Fmoc)과 같은 아릴메톡시카르보닐기; 벤질((Bn), 트리틸(Tr), 및 1,1-디-(4'-메톡시페닐)메틸과 같은 아릴메틸기; 트리메틸실릴(TMS) 및 *tert*-부틸디메틸실릴(TBDMS)과 같은 실릴기; 등을 포함하나, 그들에 국한되지 않는다.

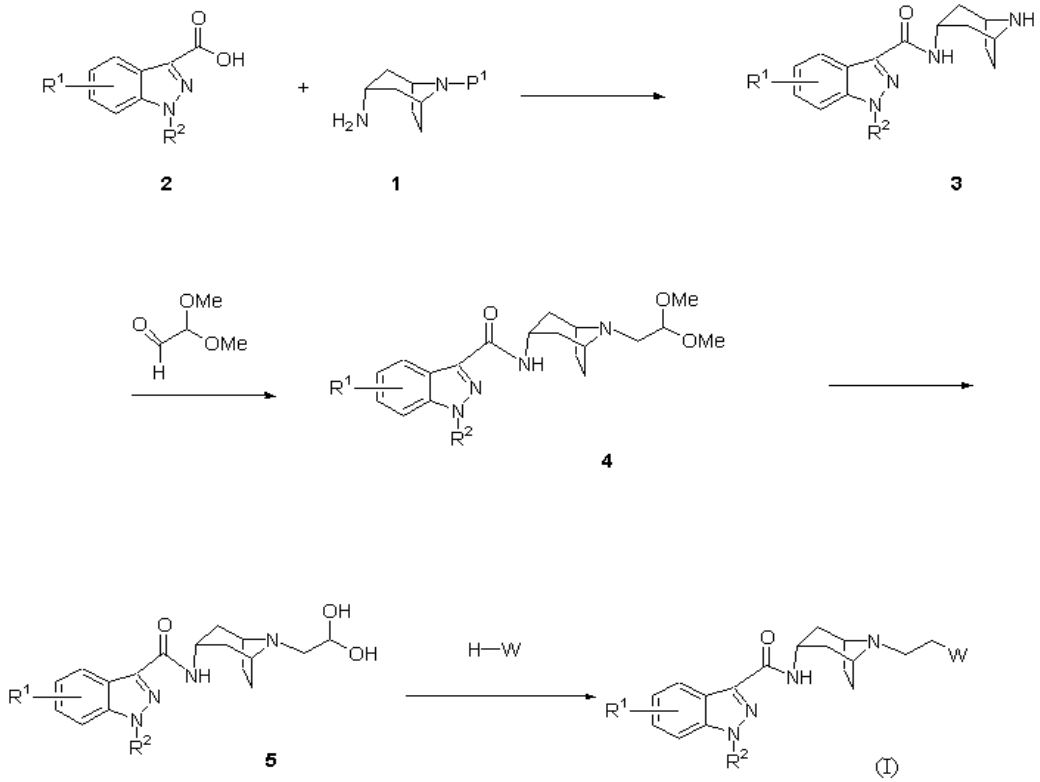
<u>일반적인 합성 방법</u>

본 발명의 화합물은 쉽게 구입가능한 출발 물질로부터 하기 일반적인 방법과 과정을 사용하여 제조될 수 있다. 본 발명의 특정 측면이 하기 반응식에서 도시되지만, 당업자라면 본 발명의 모든 측면이 본 명세서에서 기재되어 있는 방법을 사용하여 또는 당업자에게 익히 공지된 다른 방법, 시약 및 출발 물질을 사용하여 제조될 수 있음을 인식할 것이다. 또한 통상적인 또는 바람직한 반응 조건(즉, 반응 온도, 시간, 반응물 몰 비, 용매, 압력 등)이 주어지는 경우, 다르게 기술되지 않는다면 다른 반응 조건도 또한 사용될 수 있다는 점도 인식할 것이다. 최적의 반응 조건은 사용되는 특정 반응물 또는 용매에 따라 달라질 수 있으나, 그러한 조건은 통상적인 최적화 과정에 의하여 당업자가 결정할 수 있다.

또한, 당업자에게 명백하듯이, 특정 작용기가 바람직하지않은 반응을 수행하는 것을 방지하기 위하여 종래의 보호기가 필요할 수 있다. 특정 작용기를 위한 적절한 보호기 및 보호와 탈보호를 위한 적절한 조건의 선택은 당해 기술 분야에 익히 공지되어 있다. 예를 들면, 수많은 보호기, 및 그들의 도입과 제거는 T.W. Greene and G.M. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, Third Edition, Wiley, New York, 1999 및 거기에 인용된 참고문헌에 기술되어 있다.

한가지 합성 방법에 있어서, 화학식 I의 화합물은 반응식 A에 도시된 바와 같이 제조된다. (하기 방법에 나타난 치환체 및 변수는 다르게 표기되지 않는다면 앞에서 기술된 정의를 가진다.)

반응식 A



여기서 P^1는 *tert*-부톡시카르보닐(Boc) 또는 벤질옥시카르보닐(Cbz)과 같은 아미노-보호기를 나타낸다.

반응식 A에 나타나듯이, 보호된 아미노아자비시클로옥탄, 또는 일반적으로, 아미노트로판 (1)이 치환된 1*H*-인다졸 카르복실산 (2)와 최초로 반응한다. 전형적으로, 상기 반응은 (2)를 톨루엔, 벤젠, 자일렌 등과 같은 방향족 희석제 중에서 티오닐 클로라이드 또는 옥살릴 클로라이드와 같은 활성제(activating agent) 1 당량 이상, 대체로 약 1 내지 약 2 당량과 접촉시켜 (2)를 산염화물(acid chloride)로 전환함으로써 이루어진다. 상기 반응은 전형적으로 약 80 ℃ 내지 약 120 ℃의 온도에서 약 15 분 내지 2 시간 동안, 또는 반응이 실질적으로 완료될 때까지 수행된다.

상기 산염화물 용액은 전형적으로 상기 1 당량의 아미노트로판 (1)의 2상의 혼합물에 첨가되어 보호된 중간체를 형성하며, 이는 표준 방법에 의하여 추출된다. 상기 2상의 혼합물 (1)은 일반적으로 (1)을 위에서 사용된 것과 같은 방향족 희석제 중에 용해시키고, 과량의 수산화나트륨 또는 수산화칼륨과 같은 염기를, 예를 들면 약 2 내지 5 당량의 염기를 함유한 수용액을 첨가함으로써 제조된다.

대안으로서, 중간체 (1)과 카르복실산 (2)의 아미드 커플링은 (2)를 *N*-히드록시 숙신이미드(NHS) 에스테르 또는 *p*-니트로페닐 에스테르, 또는 산 이미다졸 (acid imidazole)과 같은 활성화된 에스테르로 전환하여 아미노트로판 (1)과 반응시킴으로써 이루어진다. 또 다른 대안으로서, 상기 카르복실산 (2)은, 선택적으로 1-히드록시-7-아자벤조트리아졸(HOAt)과 조합된 1,3 디시클로헥실카르보디이미드 (DCC), 1-(3-디메틸아미노프로필)-3-에틸카르보디이미드(EDC), 또는 벤조트리아졸-1-일옥시트리피롤리디노-포스포늄 헥사플루오로포스페이트(PyBop)과 같은 커플링제(coupling agent)의 존재하에 중간체 (1)과 반응한다.

표준 방법에 의하여 보호기 P^1가 제거되어 화학식 (3)의 중간체가 제공된다. 예를 들어, 보호기 Boc는, 전형적으로 트리플루오로아세트산과 같은 산으로 처리되어 제거된다. 보호기 Cbz는, 예를 들면, 통상적으로 탄소상 팔라듐(palladium on carbon)과 같은 적절한 금속 촉매로 가수소분해(hydrogenolysis)에 의하여 제거된다.

중간체 (3)은 이어서 디메톡시아세트알데히드와의 반응으로 환원성 *N*-알킬화되어 화학식 (4)의 중간체를 제공한다. 상기 반응은 전형적으로 (3)과 약 1 내지 약 4 당량의 디메톡시아세트알데히드가 약 1 내지 약 2 당량의 환원제의 존재 하에서 비활성 희석제 중에서 접촉함으로써 이루어진다. 상기 반응은 전형적으로 상온에서 약 1 시간 내지 2 시간 동안, 또는 상기 반응이 실질적으로 완료될 때까지 수행된다. 적절한 비활성 희석제는 디클로로메탄, 트리클로로메탄, 1,1,2,2-테트라클로로에탄 등을 포함한다. 전형적인 환원제는 소듐 트리아세톡시보로히드라이드, 소듐 보로히드라이드, 및 소듐 시아노보로히드라이드를 포함한다. 생성물 (4)는 표준 방법에 의하여 분리된다.

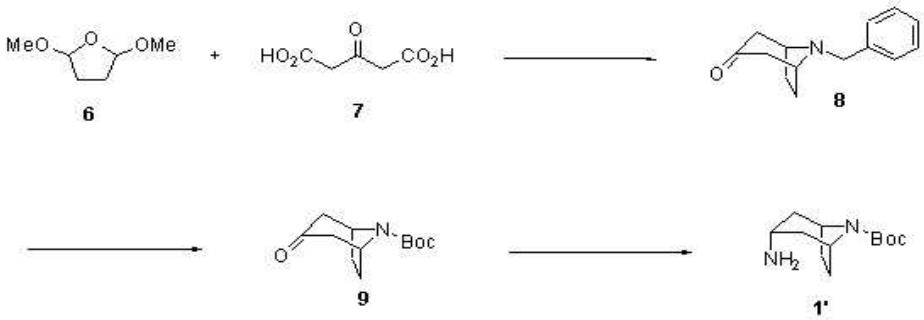
다음으로, 상기 디메톡시에틸 중간체(4)는 강산, 예를 들면 3N 또는 6N HCl의 수용액 중에서 가수분해되어 디히드록시에틸 중간체 (5)를 제공한다. 중간체 (5)가 반응식 A에 알데히드 수화물의 형태로 도시되어 있지만, 중간체 (5)가 동등하게 알데히드 형태로 도시될 수 있음은 이해될 것이다. 반응은 전형적으로 약 50 ℃ 내지 약 100 ℃ 범위의 온도에서 약 15 분 내지 약 2 시간 동안, 또는 실질적으로 반응이 종료될 때까지 수행된다. 생성물 (5)는 염 형태, 예를 들면 HCl 염으로서, 또는 알칼리성 추출 후 중성 형태로서 분리된다. 대안으로서, 조 중간체(crude intermediate) (5)는 더 이상의 처리 없이 최종 단계에서 사용될 수 있다.

최종적으로 상기 중간체 (5)는 H-W 형태의 1차 또는 2차 아민과 환원성 커플링으로 화학식 I의 생성물을 제공한다. 전형적으로, 디클로로메탄과 같은 비활성 희석제 중의, 1 내지 3 당량 사이, 예를 들면 약 2 당량의 아민 및 환원제, 예를 들면, 소듐 트리아세톡시보로히드라이드의 용액이 제조된다. 중간체 (5)가 상기 아민 혼합물에 첨가된다. 반응은 전형적으로 실온에서 약 15 분 내지 2 시간 동안, 또는 반응이 실질적으로 완료될 때까지 수행된다. 화학식 I의 조 생성물(crude product)은 통상적인 방법에 의하여 추출된다. 상기 생성물은 비활성 희석제, 에탄올, 이소프로필 알콜, 메탄올, 아세토니트릴, 디클로로에탄, 또는 그 혼합물로부터 재결정에 의하여 염 형태로 정제된다.

대안으로서, 화학식 I의 화합물은, 반응식 A에 의하여 제조될 수 있는, R^2가 수소인 화학식 I의 화합물을 *N*-알킬화하여 제조될 수 있다. *N*-알킬화 반응은 전형적으로 R^2가 수소인 화학식 I의 화합물을 화학식 L-R^2의 화합물(여기서 L은 요오드 또는 브로모와 같은 이탈기이다) 약 1 내지 약 4 당량과 접촉시킴으로써 이루어진다. 상기 반응은 전형적으로 디메틸포름아미드와 같은 극성 비양자성 용매 중에서 약 2 내지 약 4 당량의 포타슘 *tert*-부톡사이드와 같은 강염기 존재 하에 수행된다. 전형적으로, 상기 반응은 약 60 내지 약 100 ℃의 온도에서 약 6 내지 약 24 시간 동안, 또는 반응이 실질적으로 완료될 때까지 수행된다.

본 명세서에 기재된 반응에 있어서 상기 보호된 아미노트로판 (1)은 쉽게 입수가능한 출발 물질로부터 제조된다. 예를 들면, 보호기 P^1가 Boc인 경우, 보호된 엔도 아미노트로판 (1')는 반응식 B에 도시된 방법에 의하여 제조된다.

반응식 B



하기 실시예 1a에 자세히 기술한 바와 같이, 보호된 중간체 (1')를 제조하기 위하여, 먼저, 2,5-디메톡시 테트라히드로푸란 (6)을 산성 수용액 중에서 인산 수소 나트륨(sodium hyddrogen phosphate)과 같은 완충제의 존재하에 약 1 내지 약 2 당량, 바람직하게는 약 1.5 당량의 벤질 아민 및 약간 과량, 예를 들면 1.1 당량의 1,3-아세톤디카르복실산 (7)과 접촉시킨다. 상기 반응 혼합물을 약 60 내지 약 100 ℃로 가열하여 생성물, 8-벤질-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-3-온 (8), 일반적으로 *N*-벤질트로파논(benzyltropanone)에서의 임의의 카르복실화된 중간체의 탈카르복실화(decarboxylation)를 확보한다.

상기 중간체 (8)은 전형적으로, 수소 분위기 하에서 전이금속의 존재 하에 , 약간 과량, 예를 들면 1.1 당량의 디-*tert*-부틸 디카보네이트(일반적으로 $(Boc)_2O$)와 반응하여 Boc으로 보호된 중간체 (9), 3-옥소-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르를 제공한다. 상기 반응은 전형적으로 상온에서 약 12 내지 약 72 시간 동안 수행된다. 최종적으로, 중간체 (9)는 메탄올과 같은 비활성 희석제 중에서 전이금속 촉매의 존재 하에, 과량, 예를 들면 적어도 약 25 당량의 암모늄 포르메이트와 접촉하여 엔도 배향의 생성물 (1')을 높은 입체선택성으로, 예를 들면 >99의 엔도와 엑소의 비율로 제공한다. 상기 반응은 전형적으로 상온에서 약 12 내지 약 72 시간 동안 또는 반응이 실질적으로 완료될 때까지 수행된다. 암모늄 포르메이트 물질을 분획하여 첨가하는 것이 유리하다. 예를 들면, 중간체 (9)는 약 15 내지 약 25 당량의 암모늄 포르메이트 초기 분획과 접촉된다. 약 12 내지 약 36 시간의 간격 후에, 약 5 내지 약 10 당량의 암모늄 포르메이트 추가 분획이 첨가된다. 연속한 첨가가 유사한 간격 후에 반복될 수 있다. 생성물 (1')은 알칼리성 추출과 같은 통상적인 방법에 의하여 정제된다.

1*H*-인다졸 카르복실산 (2)는 공지 기술의 방법에 의하여 쉽게 제조되며, 예를 들면, 문헌 Harada *et al. Chem. and Pharm Bull.* 1995, *43,* 1912-30 및 하기 예에서 기술된다.

아민 H-W는 상업적으로 쉽게 입수가능하며 또는 통상적인 출발 물질로부터 표준 방법에 의하여 쉽게 제조된다.

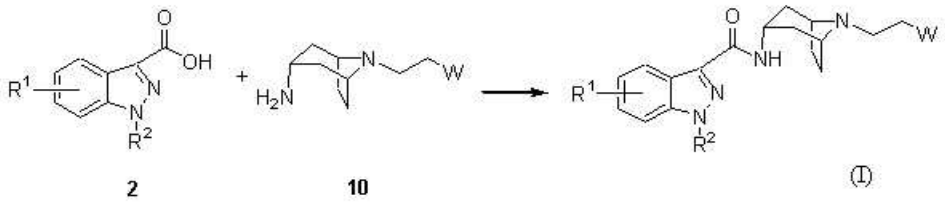
대표적인 본 발명의 화합물 또는 그 중간체를 제조하기 위한 특정 반응 조건 및 다른 방법에 관한 더욱 상세한 사항은 하기 예에 기술된다.

이에 따라서, 방법의 측면에 있어서, 본 발명은 화학식 I의 화합물, 또는 그 염 또는 입체 이성질체 또는 보호된 유도체를 제조하기 위한 방법을 제공하며, 상기 방법은 화학식 (5)의 화합물을 화학식 H-W의 아민과 반응하여 화학식 I의 화합물, 또는 그 염 또는 입체 이성질체 또는 보호된 유도체를 제공하는 단계로 이루어진다.

본 발명은 또한 화학식 (5)의 화합물, 또는 그 염 또는 입체 이성질체 또는 보호된 유도체을 제공하며, 여기서 R^1 및 R^2은 화학식 I와 같이 정의 된다.

대안의 합성 방법에 있어서, 화학식 I의 화합물은 반응식 C에 도시된 바와 같이 치환된 1*H*-인다졸 카르복실산을 화학식 (10)의 중간체와 커플링하여 제조된다.

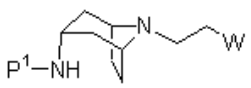
반응식 C



2 10

반응식 C의 반응은 전형적으로 상기 카르복실산 (2)와 중간체 (1)의 반응을 위한 아미드 커플링 조건 하에서 이루어진다.

화학식 (10)의 중간체는 화학식 (11)의 중간체를 탈보호화(deprotecting)함으로써 제조될 수 있다.

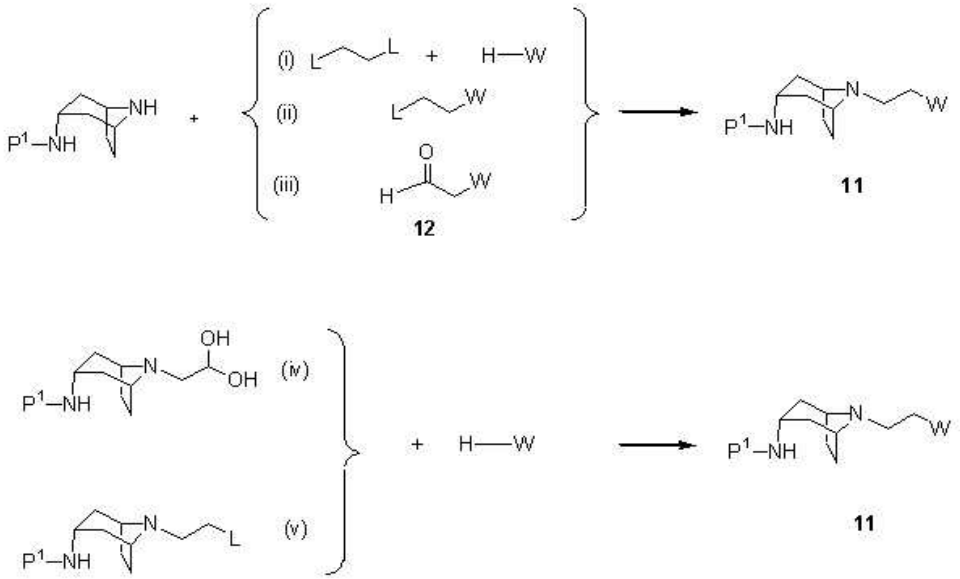


11

여기서 P^1는 아미노-보호기를 나타낸다.

화학식 (11)의 중간체는 쉽게 입수가능한 출발 물질로부터 알킬화, 환원성 아민화, 및 위에서 기술된 다른 반응과 유사한 방법을 사용하여 및/또는 당업자에게 공지된 대안의 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 중간체 (11)을 제조하기 위한 (i)에서 (v)까지의 예시적인 반응 경로는 반응식 D에 도시되어 있다.

반응식 D



여기서 L은 브로모 또는 요오도와 같은 이탈기를 표시한다.

또 다른 대안의 합성 방법에 있어서, 화학식 I의 화합물은 반응식 A에 도시된 화학식 (3)의 중간체를 화학식 (12)의 중간체와 커플링함으로써 제조된다. 중간체 (12)가 반응식 D에 알데히드의 형태로 도시되어 있지만, 중간체 (12)는 동등하게 알데히드 수화물의 형태로 표기될 수 있음은 인식될 수 있을 것이다.

약제학적 조성물

본 발명의 인다졸-카르복스아미드 화합물은 전형적으로 약제학적 조성물의 형태로 환자에게 투여된다. 그러한 약제학적 조성물은 허용가능한 투여 경로에 의하여 환자에게 투여될 수 있으며, 이는 경구, 직장, 질, 경비(nasal), 흡입, 국부(경피를 포함한다) 및 장관외(parenteral) 투여 형태를 포함하나, 그들에 국한되지 않는다.

따라서, 조성물의 일 측면에 있어서, 본 발명은 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제 및 치료학적 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 약제학적 조성물과 관련된다. 선택적으로, 그러한 약제학적 조성물은 필요하다면 다른 치료제 및/또는 제제화제(formulating agent)를 함유할 수 있다.

본 발명의 약제학적 조성물은 전형적으로 치료학적 유효량의 본 발명의 화합물 또는 그 약제학적으로 허용가능한 염을 함유한다. 전형적으로, 그러한 약제학적 조성물은 활성 물질(active agent)을 약 0.1 내지 약 95 중량%; 바람직하게는 약 1 내지 약 70 중량%; 더욱 바람직하게는 약 5 내지 약 60 중량%와 같은 활성물질을 함유할 것이다.

임의의 통상적인 담체 또는 부형제가 본 발명의 약제학적 조성물에 사용될 수 있다. 특정한 담체 또는 부형제, 또는 담체 또는 부형제들의 조합의 선택은 특정 환자를 치료하기 위하여 사용되는 투여 방식 또는 의학적 상태 또는 질병의 형태에 따라 다를 것이다. 이와 관련하여, 특정 투여 방식을 위한 적절한 약제학적 조성물의 제조는 익히 약제학 기술 분야의 통상의 지식을 갖은 자의 범위 내이다. 추가적으로, 그러한 조성물의 성분은, 예를 들면, 시그마(Sigma, P.O. Box 14508, St. Lou는, MO 63178)로부터 상업적-입수가능하다. 더욱 설명하자면, 통상적인 제제화 기술은 *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); 및 H.C. Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999)에 기술되어 있다.

약제학적으로 허용 가능한 담체가 될 수 있는 대표적인 재료의 예: (1) 락토오스, 글루코오스 및 수크로오스와 같은 당; (2) 옥수수 전분 및 감자 전분과 같은 전분; (3) 미세결정성 셀룰로오스와 같은 셀룰로오스, 및 소듐 카르복시메틸 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스 및 셀룰로오스 아세테이트와 같은 그 유도체; (4) 분말상 트래거캔스(tragacanth) (5) 맥아; (6) 젤라틴; (7) 탈크(talc); (8) 코코아 버터 및 좌제형(suppository) 왁스와 같은 부형제; (9) 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유와 같은 기름; (10) 프로필렌 글리콜과 같은 글리콜; (11) 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리올; (12) 에틸 올레이트 및 에틸 라우레이트와 같은 에스테르; (13) 아가 (14) 수산화마그네슘 및 수산화알루미늄과 같은 완충화제; (15) 알긴산; (16) 발열성 물질이 제거된 물(pyrogen-free water); (17) 등장 식염수; (18) 링거 용액; (19) 에틸 알콜; (20) 포스페이트 완충 용액; 및 (21) 기타 약제학적 조성물에 사용되는 무독성의 친화성(compatible) 물질을 포함하나 그들에 국한되지 않는다.

본 발명의 약제학적 조성물은 전형적으로 본 발명의 화합물을 약제학적으로 허용 가능한 담체 및 하나 이상의 추가적인 성분과 완전하게 또는 긴밀하게 혼합 또는 블렌딩함으로써 제조된다. 필요하거나 바람직하다면, 결과의 균일하게 블렌딩된 혼합물은 이어서 통상적인 방법 및 장치를 사용하여 정제(tablet), 캡슐, 환제 등으로 성형되거나 거기에 로딩된다.

본 발명의 약제학적 조성물은 바람직하게는 단위 투여형(unit dosage form)으로 패키지화된다. 상기 용어 "단위 투여형"는 환자들에게 투여하기 위하여 물리적으로 단절된 단위, 즉, 단독으로 또는 하나 이상의 추가적 단위와 조합하여 소망하는 치료적 효과가 나타나도록 계산된 소정량의 활성 물질을 함유한 각각의 단위를 나타낸다. 예를 들면, 그러한 단위 투여형은 캡슐, 정제, 환제 등일 수 있다.

본 발명의 약제학적 조성물의 바람직한 구현예는 경구 투여용으로 적합하다. 경구 투여에 적합한 약제학적 조성물은 캡슐, 정제, 환제, 로젠지(lozenges), 교갑(cachets), 당의정(dragees), 분말, 과립의 형태로서; 또는 수성 또는 비수성 액체 중의 용액 또는 현탁액으로서; 또는 수중-유(oil-in-water) 또는 유중-수(water-in-oil) 액체 에멀젼으로서; 엘릭시르(elixir) 또는 시럽제로서; 등으로서 가능하며, 각각은 활성 성분으로서 본 발명의 화합물을 소정량 함유한다.

고체 투여형으로(즉, 캡슐, 정제, 환제 등으로서) 경구 투여 목적인 경우, 본 발명의 약제학적 조성물은 전형적으로 활성 성분으로서 본 발명의 화합물 및 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 소듐 시트레이트 또는 디칼슘 포스페이트와 같은 담체를 포함할 수 있다. 선택적으로 또는 대안으로, 그러한 고체 제형은 또한: (1) 전분, 미세결정성 셀룰로오스, 락토오스, 수크로오스, 글루코오스, 만니톨, 및/또는 규산(silicic acid)과 같은 충전제(filler) 또는 증량제(extender); (2) 카르복시메틸셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐 피롤리돈, 수크로오스 및/또는 아카시아와 같은 결합제(binder); (3) 글리세롤과 같은 보습제 (humectant); (4) 아가-아가, 칼슘 카보네이트, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 몇몇 실리케이트, 및/또는 소듐 카보네이트와 같은 붕괴제(disintegrating agent); (5) 파라핀과 같은 용액 지연제(solution retarding agents); (6) 4차 암모늄 화합물과 같은 흡수 촉진제(absorption accelerators); (7) 세틸 알콜 및/또는 글리세롤 모노스테아레이트와 같은 습윤제(wetting agents); (8) 카올린(kaolin) 및/또는 벤토나이트 클레이와 같은 흡수제(absorbents); (9) 탈크(talc), 칼슘 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 고형 폴리에틸렌 글리콜, 소듐 라우릴 설페이트, 및/또는 그 혼합물과 같은 윤활제; (10) 착색제; 및 (11) 완충화제를 포함할 수 있다.

이형제(Release agents), 습윤제, 감미제, 향미제 및 향료, 방부제 및 항산화제도 본 발명의 약제학적 조성물에 존재할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 항산화제의 예는 (1) 아스코르브산, 시스테인 히드로클로라이드, 소듐 바이설페이트, 소듐 메타바이설페이트, 소듐 설파이트 등과 같은 수용성 항산화제; (2) 아스코빌 팔미테이트, 부틸 히드록시아니솔(BHA; butylated hydroxyanisole), 부틸 히드록시톨루엔(BHT; butylated hydroxytoluene), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등과 같은 유용성(oil-soluble) 항산화제; 및 (3) 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 등과 같은 금속-킬레이팅제를 포함한다. 정제, 캡슐, 환제 등을 위한 코팅제(coating agent)는 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트(CAP), 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트(PVAP), 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 프탈레이트, 메타아크릴산-메타아크릴산 에스테르 공중합체, 셀룰로오스 아세테이트 트리멜리테이트(CAT), 카르복시메틸 에틸 셀룰로오스(CMEC), 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스 아세테이트 숙시네이트(HPMCAS) 등과 같이, 장 코팅(enteric coatings)을 위하여 사용되는 것을 포함한다.

필요하다면, 본 발명의 약제학적 조성물은 또한, 예를 들면, 다양한 비율의 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스; 또는 다른 고분자 매트릭스, 리포좀 및/또는 소구체(microsphere)를 사용하여 활성 성분의 완만하고 제어된 방출을 제공하기 위하여 제제화될 수 있다.

또한, 본 발명의 약제학적 조성물은 선택적으로 유백제(opacifying agent)를 함유할 수 있으며, 활성 성분만, 또는 우선적으로, 위장관의 특정 부분, 또는 임의로, 지연된 방식으로 방출하도록 제제화될 수 있다. 사용되는 조성물의 구현예는 고분자 물질 및 왁스를 포함한다. 활성 성분은 또한, 적절하다면, 하나 이상의 상기 부형제를 가지는 마이크로-캡슐화된 형태일 수 있다.

경구 투여를 위한 적절한 액체 투여형은, 예를 들면, 약제학적으로 허용 가능한 에멀젼, 마이크로에멀젼, 액제, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르를 포함한다. 그러한 액체 투여형은 전형적으로 활성 성분 및, 예를 들면, 물 또는 다른 용매와 같은 비활성 희석제, 에틸 알콜, 이소프로필 알콜, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알콜, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 오일류(특히, 면실유, 땅콩유, 옥수수유, 점오일(germ oil), 올리브유, 피마자유 및 참기름), 글리세롤, 테트라히드로푸릴알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 소르비탄의 지방산 에스테르, 및 그 그 혼합물과 같은 가용화제 및 유화제를 포함한다. 현탁액은, 활성 성분 이외에, 예를 들면, 에톡시화 이소스테아릴 알콜, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 및 소르비탄 에스테르류, 미세결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록사이드, 벤토나이트, 아가-아가 및 트래거캔스, 및 그 혼합물과 같은 현탁제(suspending agent)를 포함할 수 있다.

대안으로서, 본 발명의 약제학적 조성물은 흡입 투여를 위하여 제제화된다. 흡입 투여를 위한 적절한 약제학적 조성물 전형적으로 에어로졸 또는 분말의 형태일 수 있다. 그러한 조성물은 계량-투여 흡입기(metered-dose inhaler), 건조 분말 흡입기, 네불라이저(nebulizer) 또는 유사한 전달 장치와 같은 익히 알려진 전달 장치를 이용하여 투여된다.

가압 용기를 사용한 흡입에 의하여 투여되는 경우, 본 발명으 약제학적 조성물은 전형적으로 활성 성분 및 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적절한 기체와 같은 적절한 추진제(propellant)를 포함할 수 있다.

또한, 상기 약제학적 조성물은 본 발명의 화합물 및 분말 흡입기에 사용하기 적절한 분말을 포함하는 캡슐 또는 카트리지(예를 들면, 젤라틴으로 제조된다)의 형태일 수 있다. 적절한 분말 베이스는, 예를 들면, 락토오스 또는 전분을 포함한다.

본 발명의 화합물은 또한 공지의 경피성(transdermal) 전달 시스템 및 부형제를 사용하여 피부를 통하여 투여될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 화합물은 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 모노라우레이트, 아자시클로알칸-2-온 등과 같은 투과 촉진제(permeation enhancer)와 함께 혼합될 수 있으며, 패치 또는 유사한 전달 시스템에 혼입될 수 있다. 필요하다면, 겔화제, 유화제 및 버퍼를 포함하는 추가적인 부형제가 그러한 경피 조성물에 사용될 수 있다.

하기 제제는 대표적인 본 발명의 대표적인 약제학적 조성물을 나타낸다:

제제화 예 A

경구 투여용 경질 젤라틴 캡슐을 다음과 같이 제조한다:

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

대표적인 방법: 상기 성분을 완전히 혼합한 다음, 경질 젤라틴 캡슐에 로딩한다(캡슐당 조성물 260 mg).

제제화 예 B

경구 투여용 경질 젤라틴 캡슐을 다음과 같이 제조한다:

성분	양
본 발명의 화합물	20 mg
전분	89 mg
미세결정성 셀룰로오스	89 mg
마그네슘 스테아레이트	2 mg

대표적인 방법: 상기 성분을 완전히 혼합한 다음, No. 45 메쉬 U.S 체에 통과시키고 경질 젤라틴 캡슐에 로딩한다(캡슐당 조성물 200 mg).

제제화 예 C

경구 투여용 캡슐을 다음과 같이 제조한다:

성분	양
본 발명의 화합물	10 mg
폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트	50 mg
마그네슘 스테아레이트	250 mg

대표적인 방법: 상기 성분을 완전히 혼합한 다음, 경질 젤라틴 캡슐에 로딩한다(캡슐당 조성물 310 mg).

제제화 예 D

경구 투여용 정제를 다음과 같이 제조한다:

성분	양
본 발명의 화합물	5 mg
전분	50 mg
미세결정성 셀룰로오스	35 mg
폴리비닐피롤리돈(물 중 10 중량%)	4 mg
소듐 카르복시메틸 전분	4.5 mg
마그네슘 스테아레이트	0.5 mg
탈크	1 mg

대표적인 방법: 상기 활성 성분, 전분 및 셀룰로오스를 No. 45 메쉬 U.S. 체에 통과시키고 완전히 혼합한다. 폴리비닐피롤리돈 용액을 생성된 분말과 혼합하고, 이어서 그 혼합물을 No. 14 메쉬 U.S. 체에 통과시킨다. 이와 같이 생성된 과립을 50-60 EC에서 건조하고 No. 18 메쉬 U.S. 체에 통과시킨다. 이어서 소듐 카르복시메틸 전분, 마그네슘 스테아레이트 및 탈크(미리 No. 60 메쉬 U.S. 체에 통과시킴)를 상기 과립에 첨가한다. 혼합한 후, 혼합물을 타정기(tablet machine) 상에서 압축하여 중량이 100 mg인 정제를 제조한다.

제제화 예 E

경구 투여용 정제를 다음과 같이 제조한다:

성분	양
본 발명의 화합물	25 mg
미세결정성 셀룰로오스	400 mg
퓸드(fumed) 실리콘 디옥사이드	10 mg
스테아르산	5 mg

대표적인 방법: 상기 성분들을 완전히 혼합한 다음, 압축하여 정제를 형성한다(정제당 조성물 440 mg).

제제화 예 F

경구 투여용 단일 정제(single-scored tablet)를 다음과 같이 제조한다:

성분	양
본 발명의 화합물	15 mg
옥수수 전분	50 mg
크로스카르멜로오스 소듐	25 mg
락토오스	120 mg

마그네슘 스테아레이트	5 mg

대표적인 방법: 상기 성분들을 완전히 혼합하고 압축하여 단일 정제를 형성한다(캡슐당 조성물 215 mg).

제제화 예 G

경구 투여용 현탁액을 다음과 같이 제조한다:

성분	양
본 발명의 화합물	0.1 g
푸마르산	0.5 g
염화 나트륨	2.0 g
메틸 파라벤(methyl paraben)	0.15 g
프로필 파라벤	0.05 g
과립화 당(granulated sugar)	25.5 g
소르비톨(70% 용액)	12.85 g
비검 K(Veegum K, 반데르빌트(Vorerbilt)사)	1.0 g
향미제	0.035 mL
착색제	0.5 mg
증류수	100 mL까지 적량

대표적인 방법: 상기 성분들을 혼합하여 현탁액 10 mL당 활성 성분 10 mg을 함유하는 현탁액을 제조한다.

제제화 예 H

흡입 투여용 건조 분말을 다음과 같이 제조한다:

성분	양
본 발명의 화합물	1.0 mg
락토오스	25 mg

대표적인 방법: 활성 성분을 미분화한 다음, 락토오스와 함께 혼합한다. 이러한 혼합물을 젤라틴 흡입 카트리지에 로딩한다. 카트리지의 내용물을 분말 흡입기를 이용하여 투여한다.

제제화 예 I

계량 투여 흡입기에서 흡입에 의해 투여하기 위한 건조 분말을 다음과 같이 제조한다:

대표적인 방법: 본 발명의 화합물 5 중량% 및 레시틴 0.1 중량%를 함유하는 현탁액을 평균 크기가 10 ㎛ 미만인 미분화 입자로서 본 발명의 화합물 10 g을 탈이온수 200 mL중에 용해된 레시틴 0.2 g 용액 중에 분산시킴으로써 제조한다. 그 현탁제를 분무 건조하고, 생성된 물질을 평균 직경 1.5 ㎛ 미만을 가지는 입자로 미분화한다. 그 입자를 가압된 1,1,1,2-트리플루오로에탄과 함께 카트리지에 로딩한다.

제제화 예 J

주사가능한 제제를 다음과 같이 제조한다:

성분	양
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 4까지 적량
물 (증류수, 무균)	20 mL까지 적량

대표적인 방법: 상기 성분들을 0.5 N HCl 또는 0.5 N NaOH를 이용하여 pH를 4±0.5로 조정한다.

제제화 예 K

경구 투여용 캡슐을 다음과 같이 제조한다:

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

대표적인 방법: 상기 성분들을 완전히 혼합한 다음, 젤라틴 캡슐(크기 #1, 흰색, 불투명)에 로딩한다(캡슐당 조성물 264 mg).

제제화 예 L

경구 투여용 캡슐을 다음과 같이 제조한다:

성분	양
본 발명의 화합물	8.2 mg
미세결정성 셀룰로오스 (아비셀 PH 103)	139.05 mg
마그네슘 스테아레이트	0.75 mg

대표적인 방법: 상기 성분들을 완전히 혼합한 다음, 젤라틴 캡슐(크기 #1, 흰색, 불투명)에 로딩한다(캡슐당 조성물 148 mg).

특정 투여 방식에 적합한 본 발명의 임의의 형태(즉, 유리 염기(free base), 약제학적 염, 또는 용매화물)는, 위에서 논의된 약제학적 조성물에 사용될 수 있다는 점은 인식될 것이다.

유용성

본 발명의 인다졸-카르복스아미드 화합물은 5-HT_4 수용체 작용물질이며, 따라서 5-HT_4 수용체에 의해서 매개되는, 또는 5-HT_4 수용체 활성과 관련된 의학적 상태, 즉 5-HT_4 수용체 작용물질을 사용한 치료에 의하여 완화되는 의학적 상태를 치료하는 데 유용한 것으로 기대된다. 그러한 의학적 상태는, 과민성 대장증후군(IBS), 만성 변비, 기능성 소화불량, 위내용물 배출 지연, 위식도 역류성 질환(GERD), 위마비, 당뇨성 및 특발성 위병증(diabetic and idiopathic gastropathy), 수술 후 장폐색, 가성 장 폐쇄, 및 약물-유발 통과 지연을 포함하나, 그들에 국한되지 않는다. 그외에, 일부 5-HT_4 수용체 작용 화합물은 인지 장애, 행동 장애, 기분 장애, 및 자율신경 기능 조절 장애를 포함하는 중추 신경계 질환의 치료에 있어서 사용될 수 있다고 제안되고 있다.

특히, 본 발명의 화합물은 위장관(gastrointestinal(GI) tract)의 운동성을 증가시키며, 따라서 인간을 포함한 포유류에 있어서 운동성 감소로 야기된 위장관 질환을 치료하는데 유용할 것으로 기대된다. 그러한 GI 운동성 질환은, 예를 들면, 만성 변비, 변비형 과민성 대장증후군(C-IBS; constipation-predominant irritable bowel syndrome), 당뇨성 및 특발성 위병증, 및 기능성 소화불량을 포함한다.

따라서, 본 발명의 다른 측면은 포유류에 있어서 위장관의 운동성을 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 포유류에게 약제학적으로 허용가능한 담체 및 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을 치료학적 유효량 투여하는 것을 포함한다.

5-HT_4 수용체에 의하여 매개된 위장관(GI tract)의 운동성 감소의 질환 또는 다른 상태를 치료하기 위하여 사용되는 경우, 본 발명의 화합물은, 다른 투여 형태가 사용될 수 있지만, 전형적으로 경구에 의해 하루에 한번 또는 하루에 여러 번 투여될 것이다. 1회 투여 당 투여되는 활성 성분의 양 또는 하루당 투여되는 총 양은 전형적으로 내과의사에 의하여, 처리되는 조건, 선택된 투여 경로, 실제적으로 투여된 화합물 및 개개 환자의 그 상대적 활성, 나이, 몸무게 및 반응, 및 환자 증후의 심각성 등을 포함하는 관련된 상황의 관점에 따라 정해질 것이다.

위장관의 운동성 감소의 질환 또는 5-HT_4 수용체에 의하여 매개된 질환을 치료하기 위한 적합한 투여량은 활성 성분 약 0.0007 내지 약 20 mg/kg/일의 범위, 예컨대 약 약 0.0007 내지 약 1 mg/kg/일의 범위일 것이다. 평균적인 70 kg의 인간에 대하여, 이는 하루당 활성 성분 약 0.05 내지 약 70 mg의 양이 될 것이다.

본 발명의 일 측면에 있어서, 본 발명의 화합물은 만성 변비를 치료하기 위하여 사용된다. 만성 변비를 치료하기 위하여 사용되는 경우, 본 발명의 화합물은 전형적으로 하루에 한번 또는 하루에 여러 번 경구 투여될 것이다. 만성 변비를 위한 투여량은 하루에 약 0.05 내지 약 70 mg의 범위일 것이다.

본 발명의 다른 측면에 있어서, 본 발명의 화합물은 과민성 대장증후군을 치료하기 위하여 사용된다. 변비형 과민성 대장증후군을 치료하기 위하여 사용되는 경우, 본 발명의 화합물은 전형적으로 하루에 한번 또는 하루에 여러 번 경구 투여될 것이다. 변비형 과민성 대장증후군을 위한 투여량은 하루에 약 0.05 내지 약 70 mg의 범위일 것으로 예상된다.

본 발명의 다른 측면에 있어서, 본 발명의 화합물은 당뇨성 위마비(diabetic gastropares는)를 치료하기 위하여 사용된다. 당뇨성 위마비를 치료하기 위하여 사용되는 경우, 본 발명의 화합물은 전형적으로 하루에 한번 또는 하루에 여러 번 경구 투여될 것이다. 당뇨성 위마비를 위한 투여량은 하루에 약 0.05 내지 약 70 mg의 범위일 것으로 예상된다.

본 발명의 다른 측면에 있어서, 본 발명의 화합물은 기능성 소화불량을 치료하기 위하여 사용된다. 기능성 소화불량을 치료하기 위하여 사용되는 경우, 본 발명의 화합물은 전형적으로 하루에 한번 또는 하루에 여러 번 경구 투여될 것이다. 기능성 소화불량을 위한 투여량은 하루에 약 0.05 내지 약 70 mg의 범위일 것으로 예상된다.

본 발명은 또한 5-HT_4 수용체 활성과 관련된 질병 또는 상태를 지니고 있는 포유류를 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 상기 포유류에게 치료학적 유효량의 본 발명의 화합물, 또는 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다.

상기와 같이, 본 발명의 화합물은 5-HT_4 수용체 작용물질이다. 본 발명은 , 따라서, 포유류에 있어서 5-HT_4 수용체를 작용시키는(agonizing) 방법을 제공하며, 상기 방법은 본 발명의 화합물을 포유류에게 투여하는 단계를 포함한다. 그 외에, 본 발명의 화합물은 또한 생물학적 시스템 또는 5-HT_4 수용체를 지니는 샘플을 조사하거나, 신규의 5-HT_4 수용체 작용물질을 발견하기 위한 연구 수단으로서 유용하다. 또한, 본 발명의 화합물은 다른 5-HT 서브타입의 수용체, 특히 5-HT_3 수용체에 결합하는 것과 비교하여 5-HT_4 수용체에 대한 결합 선택성을 나타내기 때문에, 그러한 화합물은 특히 생물학적 시스템 및 샘플에 있어서 5-HT_4 수용체의 선택적 작용 효과를 연구하는 데 유용하다. 5-HT_4 수용체를 갖는 임의의 적절한 생물학적 시스템 또는 샘플은 *in vitro* 또는 *in vivo* 중 어느 하나에서 수행될 수 있는 그러한 연구에 이용될 수 있다. 그러한 연구에 적합한 대표적인 생물학적 시스템 또는 샘플은 세포, 세포 추출물, 세포막, 조직 샘플, 포유류(예: 마우스, 랫트, 기니 피그, 토끼, 개, 돼지 등) 등이 있으나, 그에 한정되는 것은 아니다.

본 발명의 이러한 측면에 있어서, 5-HT_4 수용체를 포함하는 생물학적 시스템 또는 샘플은 5-HT_4 수용체를 작용시키는 양의 본 발명의 화합물과 접촉된다. 이어서 5-HT_4 수용체를 작용시키는 효과가 통상의 방법 및 방사리간드 결합 어세이(radioligand binding assays) 및 기능성 어세이(functional assay)와 같은 장치를 사용하여 결정된다. 그러한 기능성 어세이로는 세포내 시클릭 아데노신 모노포스페이트(cAMP)의 리간드-매개 변화, 효소 아데닐일 사이클라제(이는 cAMP를 합성함) 활성의 리간드-매개 변화, GTP 유사체를 GDP 유사체로의 수용체 촉매 교환을 경유하여, [^{35}S]GTPγS(구아노신 5'-O-(γ-티오)트리포스페이트) 또는 GTP-Eu와 같은 구아노신 트리포스페이트(GTP) 유사체를 분리된 막으로 통합함에 있어서의 리간드 매개 변화, 세포내 유리 칼슘 이온의 리간드-매개 변화(예를 들어, 형광-연결 영상 플레이트 판독기, 즉 Molecular Devices사의 FLIPR®를 이용하여 측정된다) 및 미토젠 활성 단백질 카나제(MAPK; mitogen activated protein kinase) 활성의 측정을 포함한다. 본 발명의 화합물은 상기 열거된 기능성 에서이, 또는 유사한 특성의 어세이의 5-HT_4 수용체의 활성을 작용시키거나 증가시킬 수 있다. 5-HT_4 수용체를 작용시키는 본 발명의 화합물의 양은 전형적으로 약 1 나노몰 내지 약 500 나노몰 범위이다.

또한, 본 발명의 화합물은 신규의 5-HT_4 수용체 작용물질을 발견하기 위한 연구 수단으로서 사용될 수 있다. 이러한 구현예에 있어서,테스트 화합물 또는 테스트 화합물 군에 대한 5-HT_4 수용체 결합 또는 기능성 데이터를 본 발명의 화합물에

대한 5-HT_4 수용체 결합 또는 기능성 데이터와 비교하여, 존재한다면, 우수한 결합 또는 기능성 활성을 가지는 테스트 화합물을 식별한다. 본 발명의 이러한 측면은, 독립적인 구현예로서, 비교 데이터의 생성(적절한 어세이를 이용한다) 및 관심이 있는 테스트 화합물을 식별하기 위한 테스트 데이터의 분석을 모두 포함한다.

다른 특징 중에서도, 본 발명의 화합물은 5-HT_4 수용체의 강력한 작용물질인 것으로 밝혀졌으며, 방사리간드 결합 어세이에 있어서 5-HT_3 수용체 서브타입에 비하여 5-HT_4 수용체 서브타입에 대해 상당한 선택도를 나타내는 것으로 밝혀졌다. 또한, 본 발명의 화합물은 랫트(rat) 모델에 있어서 우수한 약동학적 특성을 나타내었다. 본 발명의 화합물은 이와 같이 경구 투여에 대하여 생체 이용율이 높은 것으로 기대된다. 또한, 이러한 화합물은 hERG 심장 칼륨 채널을 나타내는 고립된 전체 세포를 이용한 *in vitro* 전압-클램프 모델에서 칼륨 이온 전류를 억제하지 않는 것으로 나타났다. 상기 전압-클램프 어세이는 약제학적 물질에 대하여, 특히, 심장 부정맥과 관련된, 소위, QT 지연(QT prolongation)을 야기하는 심장의 재분극 패턴을 변화시키는 잠재성을 검사하는 허용된 전-임상 방법이다. (Cavero *et al.*, *Opinion on Pharmacotherapy*, 2000, *1*, 947-73, Fermini *et al.*, *Nature Reviews Drug D는covery*, 2003, *2,* 439-447) 이에 따라서, 본 발명의 화합물을 포함하는 약제학적 조성물은 그러한 심장성 부작용이 없는 것으로 기대된다.

본 발명의 이러한 특성 및 유용성은, 당해 기술분야의 통상의 지식을 갖은 자에게 잘 알려진 각종 *in vitro* 및 *in vivo* 어세이를 사용하여 입증될 수 있다. 대표적인 어세이는 하기 실시예에서 더욱 상세하게 설명한다.

실시예

하기 합성 및 생물학적 실시예는 본 발명을 설명하기 위하여 제공되며, 본 발명의 범위를 제한하는 방식으로 해석될 수는 없다. 하기 실시예에 있어서, 다음의 약어는 다르게 표시되지 않는다면 하기 의미를 지닌다. 하기에서 정의되지 않는 약어는 일반적으로 인정되는 의미를 지닌다.

Boc = *tert*-부톡시카르보닐

$(Boc)_2O$ = 디-*tert*-부틸 디카보네이트

DCM = 디클로로메탄

DMF = *N,N*-디메틸포름아미드

DMSO = 디메틸 설폭사이드

EtOAc = 에틸 아세테이트

mCPBA = *m*-클로로벤조산

MeCN = 아세토니트릴

MTBE = *tert*-부틸 메틸 에테르

PyBop = 벤조트리아졸-1-일옥시트리피롤리디노-포스포늄 헥사플루오로포스페이트

R_f = 반응 인자

RT = 실온

TFA = 트리플루오로아세트산

THF = 테트라히드로푸란

시약(2차 아민류를 포함) 및 용매는 상업적 공급원(Aldrich, Fluka, Sigma 등)으로부터 구입하고, 추가의 정제 없이 사용하였다. 다르게 기재되지 않았다면, 반응은 질소 분위기 하에서 수행하였다. 반응 혼합물의 진행 정도는 박층 크로마토그래피(TLC), 분석용 고성능 액체 크로마토그래피(anal. HPLC), 및 질량 분석기에 의하여 파악하였으며, 그 자세한 사항은 특정 반응 실시예에서 개별적으로 기술하였다. 반응 혼합물은 각 반응에서 특별히 기술한 바와 같이 후처리(work-up)하였다; 일반적으로 반응 혼합물을 추출 및 온도-, 및 용매-의존 재결정, 및 침전과 같은 정제 방법에 의하여 분리하였다. 또한, 반응 혼합물은 통상적으로 분취용 HPLC에 의하여 정제하였다: 일반적인 프로토콜은 하기에 기술하였다. 반응 생성물의 확인은 통상적으로 질량 분석법 및 ^{1}H-NMR 분광법에 의하여 수행되었다. NMR 측정을 위하여, 샘플을 중수소화된 용매(CD_3OD, $CDCl_3$, 또는 DMSO-d_6) 중에 용해시켰고, ^{1}H-NMR 스펙트럼은 표준 관측 조건에서 Varian Gemini 2000 인스트루먼트(300 MHz)를 사용하여 얻었다. 화합물의 질량 분석 확인은 Applied Biosystems(Foster City, CA)의 모델 API 150 EX 인스트루먼트 또는 Agilent(Palo Alto, CA) model 1100 LC/MSD 인스트루먼트에 의하여 전자분무 이온화 방법(ESMS; electrospray ionization method)을 이용하여 수행하였다.

분석용 HPLC를 위한 일반적인 프로토콜

조 화합물(crude compound)을 50% MeCN/H_2O (0.1% TFA 함유) 중에 0.5-1.0 mg/mL의 농도로 용해시키고, 하기 조건을 이용하여 분석하였다:

칼럼: Zorbax Bonus-RP (입자크기 3.5 mm, 2.1 x 50 mm)

유속: 0.5 mL/min

검출기 파장: 214, 254, 및 280 nm.

분취용 HPLC를 위한 일반적인 프로토콜

조 화합물을 물 중 50% 아세트산 중에 50-100 mg/mL의 농도로 용해시키고, 여과한 후, 하기 방법을 이용하여 분획하였다:

칼럼: YMC Pack-Pro C18 (50a × 20 mm; ID = 5 mm)

유속: 40 mL/min

이동상: A = 90% MeCN/10% H_2O/0.1% TFA

B = 98% H_2O/2% MeCN/0.1% TFA

기울기(gradient): 30분 동안 10% A/90% B에서 50% A/50% B (선형)

검출기 파장: 214 nm.

이차 아민의 제조

티오모르폴린으로부터 이차 아민을 *N*-Boc 티오모르폴린($(Boc)_2O$, MeOH)으로 보호하고, 설폰으로 산화한 후(*m*CPBA, CH_2Cl_2, 0℃), *N*-Boc기를 제거하여 유리 아민을 제공(CF_3CO_2H, CH_2Cl_2)함으로써 티오모르폴린-1,1-디옥사이드를 제조하였다. (*m/z*): $C_4H_9NO_2S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 136.04; 관측값, 135.9.

N-Boc 피페라진으로부터 각각의 설포닐 클로라이드와 반응시키고(iPr_2NEt, CH_2Cl_2, 0°C), *N*-Boc기를 제거하여(CF_3CO_2H, CH_2Cl_2), 피페라진의 *N*-설포닐 유도체를 제조하였다. 1-메탄설포닐-피페라진: ^{1}H-NMR ($CDCl_3$; 중성): δ (ppm) 3.1 (t, 4H), 2.9 (t, 4H), 2.7 (s, 3H). 1-(메틸설포닐)메탄설포닐-피페라진: ^{1}H-NMR (CD_3OD): δ (ppm) 2.90 (s, 3H), 3.02 (m, 4H), 3.38 (m, 4H), 4.61 (s, 2H).

N^1-Boc-3-아미노피롤리딘(라세미체, 3R, 또는 3S)을 아세틸 클로라이드로 처리하고(iPr_2NEt, CH_2Cl_2, 0 ℃), *N*-Boc기를 제거하여(CF_3CO_2H, CH_2Cl_2) 라세믹 또는 단일의 키랄 이성질체 형태의 3-아세틸아미노피롤리딘을 제조하였다. 3-(아세트아미도)피롤리딘: ^{1}H-NMR (DMSO-d_6; 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).

N^1-Boc-3-아미노피롤리딘을 아미드화하고(L-락트산, PyBOP, DMF, RT), *N*-Boc기를 제거하여(CF_3CO_2H, CH_2Cl_2) 3-((*R*)-2-히드록시프로피온아미도)피롤리딘을 제조하였다. (*m/z*): $C_7H_{14}N_2O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 159.11; 관측값, 159.0. ^{1}H-NMR (CD_3OD; TFA 염): δ (ppm) 4.4 (quin, 1H), 4.1 (q, 1H), 3.5-3.4 (m, 2H), 3.3-3.2 (m, 2H), 2.3 (m, 1H), 2.0 (m, 1H), 1.3 (d, 3H).

N^1-Boc-(3R)-아미노피롤리딘을 프로피오닐설포닐 클로라이드 또는 시클로헥실메틸설포닐 클로라이드로 처리하여(iPr_2NEt, CH_2Cl_2, 0°C), (3R)-아미노피롤리딘의 N^3-알칸설포닐 유도체를 얻었다.

N^3-Cbz로 보호된 3-아미노-피페리딘-1-카르복실산 *t*-부틸 에스테르로부터 네 단계: i) MeI, n-BuLi, THF, -78℃ 내지 rt; ii) H_2 (1 atm), 10% Pd/C, EtOH; iii) AcCl, iPr_2NEt, CH_2Cl_2; iv) CF_3CO_2H, CH_2Cl_2를 거쳐 3-(*N*-아세틸-*N*-메틸아미도)피페리딘을 제조하였다(De Costa, B., *et al. J. Med. Chem.* 1992, *35,* 4334-43). *m/z*: $C_8H_{16}N_2O$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값: 157.13; 관측값, 157.2. ^{1}H-NMR (CD_3OD; TFA 염): δ (ppm) 4.6 (m, 1H), 3.3 (m, 1H), 3.2 (m, 1H), 3.0 (m, 1H), 2.9 (s, 3H), 2.8 (m, 1H), 2.0 (s, 3H), 1.9-1.7 (m, 4H).

3-아미노-피페리딘-1-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르를 *N*-아세틸화 및 *N*-Boc기 탈보호화한 후 3-(*N*-아세틸-아미도)피페리딘을 제조하였다: i) AcCl, iPr_2NEt, CH_2Cl_2; ii) CF_3CO_2H, CH_2Cl_2. ^{1}H-NMR (CD_3OD; TFA 염): δ (ppm) 3.9 (m, 1H), 3.3 (dd, 1H), 3.2 (m, 1H), 2.9 (dt, 1H), 2.75 (dt, 1H), 2.0-1.9 (m, 2H), 1.9 (s, 3H), 1.8-1.4 (m, 2H).

키랄 또는 라세믹 형태의 3-아미노-피페리딘-1-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르를 각각의 알칸설포닐 클로라이드와 반응시키고(iPr_2NEt, CH_2Cl_2), *N*-Boc기를 탈보호화하여(CF_3CO_2H, CH_2Cl_2) 3-아미노피페리딘의 3-아미노피페리딘의 N^3-알칸설포닐 유도체를 제조하였다. (3S)-3-(에탄설포닐아미도)피페리딘: ^{1}H-NMR (CD_3OD): δ (ppm) 1.29(t, 3H, J_1 = 7.4 Hz),1.50-1.80 (m, 2H), 1.90-2.10 (m, 2H), 2.89 (m, 2H), 3.05 (q, 2H, J_1 = 7.4 Hz), 3.27 (m, 2H), 3.40 (d of d(br), 1H), 3.52 (m, 1H). 3S-메틸설포닐메탄설포닐아미도-피페리딘: ^{1}H-NMR (CD_3OD): δ (ppm) 2.13-2.30 (m, 2H), 2.40-2.57 (m, 2H), 2.98 (m, 2H), 3.15 (s, 3H), 3.21 (m, 2H), 3.30 (br d, 1H), 3.74 (m, 1H).

3-(메틸아미노)-1-벤질피롤리딘(TCI America)으로부터 네 단계를 거쳐 3-(메틸아미노)-1-아세틸피롤리딘을 제조하였다: i) $(Boc)_2O$, MeOH, rt; ii) H_2 (1 atm), 10% Pd/C, EtOH; iii) AcCl, iPr_2NEt, CH_2Cl_2; iv) CF_3CO_2H, CH_2Cl_2. (*m/z*): $C_7H_{14}N_2O$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값: 143.12; 측정값, 143.0.

3-(메틸아미노)-1-벤질피롤리딘로부터 네 단계를 거쳐 3-(메틸아미노)-1-(메탄설포닐)피롤리딘를 제조하였다: i) $(Boc)_2O$, MeOH, rt; ii) H_2 (1 atm), 10% Pd/C, EtOH; iii) CH_3SO_2Cl, i-Pr_2NEt, CH_2Cl_2; iv) CF_3CO_2H, CH_2Cl_2. $C_6H_{14}N_2O_2S$에 대한 (*m/z*): $[M+H]^+$ 계산값: 179.08; 측정값, 179.2. (3R)-(메틸아미노)-1-벤질피롤리딘로부터 유사한 방법으로 3R-메틸아미노-1-(메탄설포닐)피롤리딘을 제조하였다.

Loev, B. *J. org. Chem.* 1961, *26,* 4394-9의 프로토콜에 따라서 3-설포렌을 메탄올 중에서 필요한 일차 아민과 반응시켜(cat. KOH, rt) 테트라히드로-3-티오펜아민-1,1-디옥사이드 유도체를 제조하였다. *N*-메틸-3-테트라히드로티오펜아민-1,1-디옥사이드 (TFA 염): ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): 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). *N*-2-(1-히드록시)에틸-3-테트라히드로티오펜아민-1,1-디옥사이드: (*m/z*): $C_6H_{13}NO_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값: 180.07; 측정값, 180.2.

테트라히드로-4*H*-티오피란-4-온으로부터 *N*-메틸-테트라히드로-2*H*-티오피란-4-아민-1,1-디옥사이드을 제조하였다: i) $MeNH_2$, $NaBH_4$; ii) $(Boc)_2O$, MeOH; iii) *m*CPBA, CH_2Cl_2, 0°C; iv) CF_3CO_2H, CH_2Cl_2. (*m/z*): $C_6H_{13}NO_2S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 164.07; 측정값, 164.9. ^{1}H-NMR (CD_3OD; TFA 염): δ (ppm) 3.4-3.1 (m, 5H), 2.7 (s, 3H), 2.4 (br d, 2H), 2.1 (br m, 2H).

N^3-Cbz로 보호된 3-메틸아미노-피페리딘으로부터 1-아세틸-3-(메틸아미노)피페리딘을 제조하였다: i) AcCl, i-Pr_2NEt, CH_2Cl_2; ii) H_2 (1 atm), 10% Pd/C, EtOH. ^{1}H-NMR (CD_3OD): δ (ppm) 4.0 (m, 1H), 3.6 (m, 1H), 3.4-3.2 (m, 2H), 3.0 (m, 1H), 2.6 (s, 3H), 2.1 (s, 3H), 1.8-1.6 (m, 4H).

N^3-Cbz로 보호된 3-메틸아미노-피페리딘으로부터 1-(메탄설포닐)-3-(메틸아미노)피페리딘을 제조하였다: i) CH_3SO_2Cl, i-Pr_2NEt, CH_2Cl_2; ii) H_2 (1 atm), 10% Pd/C, EtOH. (*m/z*): $C_7H_{16}N_2O_2S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 193.10; 측정값, 193.0. ^{1}H-NMR (DMSO-d_6; TFA 염): δ (ppm) 3.4 (dd, 1H), 3.2 (m, 2H), 3.10 (s, 3H), 3.0-2.9 (m, 2H), 2.8 (s, 3H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.6-1.4 (m, 2H).

(실시예 1) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 합성

a. 8-벤질-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-3-온의 제조

물(170 mL) 중의 2,5-디메톡시 테트라히드로푸란(82.2 g, 0.622 mol) 불균질 용액을 교반하면서 여기에 진한 염산(30 mL)을 첨가하였다. 0 ℃로 냉각한(얼음 배쓰) 별개의 플라스크 안에서 물(350 mL) 중의 벤질 아민(100 g, 0.933 mol) 용액에 진한 염산(92 mL)을 서서히 첨가하였다. 상기 2,5-디메톡시테트라히드로푸란 용액을 약 20 분 동안 교반하고, 물(250 mL)로 희석한 후, 상기 벤질 아민 용액을 첨가하고, 물(400 mL) 중의 1,3-아세톤디카르복실산 (100 g, 0.684 mol) 용액을 첨가한 후 물(200 mL) 중의 인산 수소 나트륨(44 g, 0.31 mol)을 첨가하였다. 40% NaOH를 사용하여 pH를 pH 1 내지 pH ~ 4.5로 맞추었다. 생성된 흐린 담황색 용액을 밤새 교반하였다. 50% 염산을 사용하여 상기 용액을 pH 3 내지 pH 7.5로 산성화하고, 85 ℃로 가열한 후 2 시간 동안 교반하였다. 그 용액을 실온으로 냉각하고, 40% NaOH를 사용하여 염기화한 후, 디클로로메탄(3 x 500 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 염수(brine)로 세척하고, 건조한 후 ($MgSO_4$), 여과하고 감압 하에서 농축하여 표제의 조 중간체를 점성의 갈색 오일로 얻었다(52 g).

메탄올(1000 mL) 중의 조 중간체를 0 ℃의 디-*tert*-부틸 디카보네이트 (74.6 g, 0.342 mol)에 첨가하였다. 상기 용액을 실온으로 데우고 밤새 교반하였다. 메탄올을 감압하에서 제거하고 그 결과의 오일을 디클로메탄(1000 mL) 중에 용해시켰다. 그 중간체를 1 M H_3PO_4(1000 mL)에서 추출하고 디클로로메탄(3 x 250 mL)으로 세척하였다. 그 물 층을 수성 NaOH를 사용하여 pH 12로 염기화하고, 디클로로메탄(3 x 500 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 건조하고($MgSO_4$), 여과하고 감압하에서 농축하여 표제의 중간체를 점성의 담황색 오일로 얻었다(54 g). ^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 7.5-

7.2 (m, 5H, C_6H_5), 3.7 (s, 2H, CH_2Ph), 3.45 (broad s, 2H, CH-NBn), 2.7-2.6 (dd, 2H, CH_2CO), 2.2-2.1 (dd, 2H, CH_2CO), 2.1-2.0 (m, 2H, CH_2CH_2), 1.6 (m, 2H, CH_2CH_2). (*m/z*): $C_{14}H_{17}NO$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 216.14; 측정값, 216.0.

b. 3-옥소-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르의 제조

EtOAc(300 mL) 중의 8-벤질-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-3-온(75 g, 0.348 mol) 용액을 EtOAc(300 mL) 중의 디-*tert*-부틸 디카보네이트(83.6 g, 0.383 mol, 1.1 eq) 용액에 첨가하였다. 질소 스팀 하에서 팔라듐 수산화물(Pd 20 중량%, 건조 기준, 탄소 상, 물로 ~50% 습윤; 예를 들면. Pearlman's 촉매) 23g을 함유한 1L 파르 수소화(Parr hydrogenation) 용기에 그 결과의 용액 및 세척액(100 mL EtOAc)을 첨가하였다. 상기 반응 용기에서 가스를 제거하였다(진공 및 질소를 5 회 교체). 상기 용액을 2일 동안 교반하고, H_2 압력을 60 psi로 유지하도록 필요한 H_2를 다시 투입한 후, 실리카 박층 크로마토그래피로 분석하여 반응을 완결하였다. 검은 용액을 셀라이트(celite®) 패드를 통해 여과하고 감압하에서 농축하여, 표제의 중간체를 점성의 황색 내지 오렌지색의 오일로서 정량적으로 얻었다(51 g). 더 이상의 처리 없이 다음 단계에 사용되었다. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ(ppm) 4.5 (broad, 2H, CH-NBoc), 2.7 (broad, 2H, CH_2CO), 2.4-2.3 (dd, 2H, CH_2CH_2), 2.1 (broad m, 2H, CH_2CO), 1.7-1.6 (dd, 2H, CH_2CH_2), 1.5 (s, 9H, $(CH_3)_3COCON$)).

c. (1*S*,3*R*,5*R*)-3-아미노-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르의 제조

기계식 교반기로 교반하면서 N_2 스팀 하에서, 메탄올(1L) 중의 전 단계의 생성물(75.4 g, 0.335 mol)에 암모늄 포르메이트(422.5 g, 6.7 mol), 물(115 mL) 및 활성 탄소 상 팔라듐 65 g(건조 기초 10%, 물로 ~50% 습윤; Degussa E101NE/W 타입)을 첨가하였다. 24 및 48 시간 후, 추가 분획의 암모늄 포르메이트(132g, 2.1 mol)를 각 시간에 첨가하였다. anal. HPLC로 분석하여 반응 진척이 멈추면, Celite®(>500g)을 첨가하고, 그 결과의 짙은 현탁액을 여과하여 수집된 고체를 메탄올(~500 mL)로 헹구었다. 여과액을 합하고 감압하에서 농축하여 메탄올을 제거하였다. 1M 인산을 사용하여 결과의 흐린 2상의 용액을 희석하여 pH 2 및 최종 부피가 ~1.5 내지 2.0 L가 되도록 한 후, 디클로로메탄(3 x 700 mL)으로 세척하였다. 40% aq. NaOH을 사용하여 물 층을 염기화하고, 디클로로메탄(3 x 700 mL)으로 추출하였다. 합한 유기층을 $MgSO_4$ 위에서 건조하고, 여과 및 회전 증류에 의하여 농축한 후, 고-진공으로 표제의 중간체, 일반적으로 *N*-Boc-*엔도*-3-아미노트로판, 52 g(70%)을 흰색 내지 담황색 고체로서 얻었다. 생성물의 엔도와 엑소 아민의 이성질체 비율은 ^1H-NMR 분석(>96% purity by analytical HPLC)에 기초하여 >99이었다. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 4.2-4.0 (broad d, 2H, CHNBoc), 3.25 (t, 1H, $CHNH_2$), 2.1-2.05 (m, 4H), 1.9 (m, 2H), 1.4 (s, 9H, $(CH_3)_3OCON$), 1.2-1.1 (broad, 2H). (*m/z*): $C_{12}H_{22}N_2O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 227.18; 측정값, 227.2. 분석용 HPLC (등용매(isocratic)법; 5분에 걸쳐 2:98 (A:B)에서 90:10 (A:B): 머무름(retention) 시간 = 2.14 분.

d. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산의 제조

혼합물을 교반하면서, 메탄올 (700 mL) 중에 현탁된 인다졸-3-카르복실산(40 g, 247 mmol)에 진한 H_2SO_4(10 mL)을 서서히 첨가하였다. 상기 혼합물을 교반하고 80 ℃에서 환류하였다. 상기 혼합물을 냉각하고, 여과한 후, 감압하에서 농축하여 담황색 고체를 얻었다. 상기 고체를 물(700 mL) 중에 현탁한 후, 미세 분발로 분쇄하고, 여과하여 수집한 뒤, 물(~400 mL)로 헹구었다. 그 생성물을 톨루엔 중에 현탁하고, 감압하에서 증류하여 건조함으로써, 인다졸-3-카르복실산 메틸 에스테르를 담황색 고체로서 얻었다(45 g, 순도 >95%). (*m/z*) : $C_9H_8N_2O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 177.07; 측정값, 177.0. ^1H-NMR (CD_3OD, 300 MHz): δ (ppm) 8.0 (1H, d), 7.5 (1H, d), 7.4 (1H, t), 7.2 (1H, t), 3.9 (3H, s).

얼음 배쓰 중에서 냉각된 가수(hydrous) 테트라히드로푸란(700 mL) 중의 인다졸-3-카르복실산 메틸 에스테르(40.7 g, 231 mmol) 용액에 포타슘 *tert*-부톡사이드(28.3 g, 252 mmol)를 서서히 첨가하였다. 상기 혼합물을 동일 온도에서 1 시간 동안 교반하고 2-요오도도프로판(34.4 mL, 367 mmol)을 첨가하였다. 최종 혼합물을 상온에서 12 시간 동안 교반하고, 12 시간 동안 환류하였다. 실온으로 냉각한 후, 그 혼합물을 여과하고, 수집된 고체를 테트라히드로푸란(100 mL)으로 헹구었다. 여과액을 합하고, 감압하에서 농축 건조하여, 조(crude) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 메틸 에스테르(49.7 g)을 담황색 오일로서 얻었다. 헥산/에틸 아세테이트 (9/1 내지 3/1)로 용출한 실리카 겔 크로마토그래피에 의하

여 조 물질을 정제함으로써 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 메틸 에스테르(43 g, 197 mmol, 순도 >99%)을 얻었다. ^{1}H-NMR (CD_3OD, 300 MHz): δ (ppm) 8.1-8.0 (1H, d), 7.6 (1H, d), 7.4 (1H, t), 7.2 (1H, t), 5.0 (1H, quin), 3.9 (s, 3H), 1.5 (6H, d).

테트라히드로푸란(400 mL) 중에 용해된 메틸 에스테르 용액에 1M NaOH(400 mL)을 첨가하였다. 혼합물을 상온에서 24 시간 동안 교반하였다. 에틸 아세테이트 (2 x 400 mL)로 세척하여 반응을 종결하고, 물 층은 남겨두었다. 물 층을 얼음 배쓰 중에서 HCl (~40 mL)을 서서히 첨가함으로써 산성화하여, 담황색의 오일상 생성물을 분리한다. 생성물을 에틸 아세테이트(1000 mL)로 추출한 후, 유기층을 $MgSO_4$위에서 건조하고 감압하에서 증류하여 표제의 중간체를 담황색 내지 흰색 고체로서 얻은 후(34 g, 순도 >98%), 에틸 아세테이트에서 결정화함으로써 더욱 정제하여 무색의 바늘상으로서 표제의 중간체를 제조하였다. (*m/z*): $C_{11}H_{12}N_2O_2$에 대한 $[M+Na]^+$ 계산값 226.07; 측정값, 226.6. ^{1}H-NMR (CD_3OD, 300 MHz) :): δ (ppm) 8.1-8.0 (1H, d), 7.6 (1H, d), 7.4 (1H, t), 7.2 (1H, t), 5.0 (1H, quin), 1.5 (6H, d).

e. (1*S*,3*R*,5*R*)-3-[1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르의 제조

톨루엔(500 mL) 중의 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산(56.35 g; 0.276 mol) 현탁액을 교반하고 5 분간 가열한 뒤, 티오닐 클로라이드(30.2 mL; 0.414 mol)를 첨가하였다. 15 분 동안 100 ℃로 가열한 후, 그 혼합물을 균질한 용액이 되게 하였고, 이를 추가로 90 분 동안 동일한 온도에서 계속 교반하였다. 별개의 반응 플라스크 중에서, c 단계에서 제조한 (1*S*,3*R*,5*R*)-3-아미노-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르(62.43 g; 0.276 mol)를 톨루엔 250 mL 중에 용해시킨 후, 물 250 mL 중에 용해된 NaOH(66.3 g)을 첨가하였다. 이 2상의 혼합물을 얼음 배쓰 중에서 냉각하였다. 위에서 제조한 인다졸 산염화물 용액을 실온으로 냉각하고, 15 분에 걸쳐서 2상의 용액에 첨가하여, 얼음 배쓰 중에서 격렬하게 교반하였다. 1.5 시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 분별 깔대기로 옮겼다. 먼저, 물 층을 톨루엔층(모아둠)으로부터 분리하고, EtOAc(2 x 500 mL)로 추출하였다. 톨루엔층을 감압하에서 농축하고, 이어서 얻어진 잔류물을 상기 유기 추출액(1 L; EtOAc)에 용해시켰다. 용액을 1 M H_3PO_4(400 mL), sat. $NaHCO_3$ (400 mL), 및 염수 용액(400 mL)으로 세척하였다. $MgSO_4$ 위에서 건조한 후, 유기 용액을 감압하에서 증류 건조하여, 표제의 중간체 119.2 g을 얻었다. ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ (ppm) 1.41 (s, 9H), 1.51 (d, 6H), 1.82 (m, 2H), 1.97 (bs, 4H), 2.09 (m, 2H), 4.10 (m, 3H), 5.10 (sept, 1H), 7.23 (t, 1H), 7.42 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.82 (d, 1H), 8.18 (d, 1H). (*m/z*): $C_{23}H_{32}N_4O_3$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 413.26; 측정값, 413.1. 머무름 시간(anal. HPLC: 2-95% MeCN/H_2O로 6 분 동안) = 4.85 분.

f. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 제조

전 단계의 생성물을 디클로로메탄(200 mL) 중에서 용해시키고, 얼음 배쓰 중에서 냉각한 후, 트리플루오로아세트산 200 mL와 함께 혼합하였다. 반응 혼합물을 상온에서 1 시간 동안 교반하였다. 이어서 플라스크 중의 에틸 에테르(2 L)를 교반하면서 여기에 방울로 첨가하여, 표제의 중간체를 모노(트리플루오로아세트산) 염으로서 얻었다(건조 후 102.7 g, 두 단계에 걸쳐 수율 87%). ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ (ppm) 1.54 (d, 6H), 2.05 (m, 2H), 2.24 (m, 6H), 4.03 (s, 2H), 4.12 (q, 1H), 5.09 (sept, 1H), 7.28 (t, 1H), 7.45 (t, 1H), 7.81 (d, 1H), 8.00 (d, 1H), 8.11 (d, 1H), 8.54 (bd, 2H). (*m/z*): $C_{18}H_{24}N_4O$에 대한 $[M+H]^+$계산값, 313.20; 측정값, 313.1. 머무름 시간(anal. HPLC: 6분에 걸쳐 2-95% MeCN/H_2O) = 2.65 분.

g. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-(2,2-디메톡시에틸)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 제조

디클로로메탄 500 mL 중에 용해된 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드(52.7 g; 0.124 mol)에 디이소프로필에틸아민(43.1 mL) 및 *tert*-부틸 메틸 에테르 중의 디메톡시 아세트알데히드(농도 45 %; 44.5 mL, 0.173 mmol)를 첨가하였다. 상온에서 35 분 교반한 후,소듐 트리아세톡시보로히드라이드(36.7 g; 0.173 mol)를 이 혼합물에 첨가하였다. 얼음 배쓰 중에서 물(50 mL) 및 포화 $NaHCO_3$ 용액(100 mL)을 서서히 첨가함으로써 반응을 퀀칭(quenching)하였다. 혼합물을 디클로로메탄 500 mL로 희석하고, 분별 깔대기로 옮겼다. 유기층을 수집하여, 포화 $NaHCO_3$(250 mL) 및 염수 용액(350 mL)으로 세척하였다. 이를 $MgSO_4$ 위에서 건조하고, 감압하에

서 증류하여 표제의 중간체를 얻었다(58.8 g). ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) 1.60 (d, 6H), 1.77 (m, 2H), 1.96-2.09 (m, 4H), 2.29 (m, 2H), 2.55 (m, 2H), 3.33 (m, 2H), 3.41 (s, 6H), 4.33 (q, 1H), 4.47 (m, 1H), 4.87 (sept, 1H), 7.26 (t, 1H), 7.37-7.46 (m, 2H), 7.56 (d, 1H), 8.36 (d, 1H). (*m/z*): $C_{22}H_{32}N_4O_3$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 401.26; 측정값, 401.3. 머무름 시간(anal. HPLC: 6 분에 걸쳐 2-50% MeCN/H_2O) = 4.20 분.

h. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-(2,2-di히드록시에틸)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 제조

전 단계의 생성물(55.2 g)을 6 M 염산 500 mL에 현탁하고 1 시간 동안 70 °C로 가열하였다. 반응 혼합물을 0 ℃로 냉각하고, 디클로로메탄(500 mL)으로 희석한 후, 6M NaOH(800 mL)을 서서히 첨가함으로써 염기화하였다. 디클로로메탄 800 mL으로 더 혼합하고, 분별 깔대기로 옮겼다. 유기층을 모아 염수로 세척한 후, $MgSO_4$ 위에서 건조하고 감압하에서 증류 건조하여 표제의 중간체를 얻었다(45.1 g). (*m/z*): $C_{20}H_{28}N_4O_3$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 373.22; 측정값,. 373.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 6분에 걸쳐 2-50% MeCN/H_2O) = 3.77 분.

i. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸-피페라진-1-일)에틸]-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드, 또는, *N*-[(3-엔도)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일]-1-(1-메틸에틸)-1*H*-인다졸-3-카르복스아미드의 합성

디클로로메탄 450 mL를 함유한 플라스크에 1-아세틸피페라진(19.3 g; 0.151 mol), 소듐 트리아세톡시보로히드라이드(34.4 g)를 첨가하였다. 5 분 동안 교반한 후, 전 단계의 생성물(45.1 g)을 첨가하였다. 최종 혼합물을 1 시간 동안 교반하고, 그동안 질량 분석 방법에 근거하여 반응을 완료하였다. 물(200 mL)을 서서히 첨가하고 상기 혼합물을 디클로로메탄 600 mL로 희석한 후, 깔대기에서 흔들고 유기층을 모았다. 이를 1M NaOH(400 mL) 및 염수(brine, 500 mL)로 세척하였다. $MgSO_4$ 위에서 건조하고 증류하여 표제의 화합물을 무색 고체로서 얻었다(47.6 g). 조 생성물을 에탄올로부터 재결정하여 HCl 염으로서 정제하였다(>30 g; 순도 >98%). ^{1}H-NMR (DMSO-d_6; 유리 염기): δ (ppm) 1.52 (d, 6H), 1.69 (m, 2H), 1.83 (m, 2H), 1.97 (s, 3H), 1.92-2.10 (m, 4H), 2.33 (t, 2H), 2.42 (m, 6H), 2.50 (m, 2H), 3.21 (bs, 2H), 3.38 (m, 4H), 4.09 (q, 1H), 5.07 (sept, 1H), 7.26 (t, 1H), 7.43 (t, 1H), 7.79 (d, 1H), 8.12 (d, 1H). (*m/z*): $C_{26}H_{38}N_6O_2$에 대한$[M+H]^+$ 계산값, 467.31; 측정값, 467.5. 머무름 시간(anal. HPLC: 6분에 걸쳐 2-50% MeCN/H_2O) = 3.52 분.

(실시예 2) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-(테트라히드로푸란-2-카르보닐)피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 합성

디클로로메탄 (1.5 mL) 중의 *N*-[2-테트라히드로푸로일]피페라진 히드로브로마이드(40 mg, 0.15 mmol) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민(12 μL, 0.3 mmol) 용액에 소듐 트리아세톡시보로히드라이드(64 mg, 0.3 mmol) 및 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산{(1*S*,3*R*,5*R*)-8-(2,2-디히드록시에틸)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드(HCl 염)(39 mg, 0.1 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 상온에서 15 분 동안 흔들었다. 감압하에서 농축한 후, 상기 반응 혼합물을 50% 수성 아세트산에 용해시키고, 분취용 HPLC로 정제하여, 표제 화합물의 트리플루오로아세트산염을 얻었다(순도 97%).(*m/z*): $C_{29}H_{42}N_6O_3$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 523.34; 측정값 523.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.7 분.

(실시예 3-20)

N-[2-테트라히드로푸로일]피페라진 히드로브로마이드를 적절한 이차 아민으로 대체한 것을 제외하고, 실시예 2와 유사한 과정을 사용하여, 실시예 3-20의 화합물을 제조하였다.

(실시예 3) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(1,1-디옥소-1λ^6-티오모르폴린-4-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{24}H_{35}N_5O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 474.25; 측정값 474.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.20 분.

(실시예 4) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-메탄설포닐피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{25}H_{38}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 503.28; 측정값 503.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 4 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.12 분.

(실시예 5) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-시클로헥실메탄설포닐피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{31}H_{48}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 585.35; 측정값 585.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.67 분.

(실시예 6) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-메탄설포닐메탄설포닐피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{40}N_6O_5S_2$에 대한$[M+H]^+$ 계산값, 581.26; 측정값 581.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O over 5 분) = 2.22 분.

(실시예 7) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-(아세틸-메틸아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{40}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 481.32; 측정값 481.3. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.07 분.

(실시예 8) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-(아세틸-아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{38}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 467.31; 측정값 467.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 1.89 분.

(실시예 9) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-(아세틸-아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{38}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 467.31; 측정값 467.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.04 분.

(실시예 10) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-(아세틸-아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{38}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 467.31; 측정값 467.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.07 분.

(실시예 11) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[3-((*S*)-2-히드록시프로피오닐아미노)피롤리딘-1-일]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{40}N_6O_3$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 497.32; 측정값 497.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.07 분.

(실시예 12) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(3*S*,4*S*)-3-(아세틸메틸아미노)-4-히드록시피롤리딘-1-일]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{40}N_6O_3$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 497.32; 측정값 497.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O over 5 분) = 2.15 분.

(실시예 13) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-에탄설포닐아미노피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{40}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 517.30; 측정값 517.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.12 분.

(실시예 14) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-시클로헥실메탄설포닐아미노피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{31}H_{48}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 585.36; 측정값 585.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.52 분.

(실시예 15) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[3-(아세틸-메틸아미노)피페리딘-1-일]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{28}H_{42}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 495.34; 측정값 495.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 1.94 분.

(실시예 16) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-아세틸아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{40}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 481.33; 측정값 481.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.01 분.

(실시예 17) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(3-메탄설포닐아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{40}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 517.30; 측정값 517.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 1.97 분.

(실시예 18) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-메탄설포닐아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{40}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 517.30; 측정값 517.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 1.99 분.

(실시예 19) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-에탄설포닐아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{42}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 531.31; 측정값 531.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 대한 5-75% MeCN/H_2O) = 2.04 분.

(실시예 20) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-메탄설포닐메탄설포닐아미노피페리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{42}N_6O_5S_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 595.27; 측정값 595.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.07 분.

(실시예 21) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-아세틸피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드의 합성

디클로로메탄(1.5 mL) 중의 3-(메틸아미노)-1-아세틸피롤리딘(43 mg, 0.3 mmol) 및 *N,N*-디이소프로필에틸아민(12 μL, 0.3 mmol) 용액에 소듐 트리아세톡시보로히드라이드(128 mg, 0.6 mmol)를 첨가하고, 이어서 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-(2,2-디히드록시에틸)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드(HCl 염)(78 mg, 0.2 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 상온에서 15 분 동안 흔들었다. 감압하에서 농축한 후, 반응 혼합물을 50% 수성 아세트산 중에 용해시키고, 분취용 HPLC로 정제하여 표제의 트리플루오로아세트산염(56 mg, 순도 99 %)을 얻었다. (*m/z*): $C_{27}H_{40}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 481.33; 측정값 481.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.00 분.

(실시예 22-30)

상기 3-(메틸아미노)-1-아세틸피롤리딘을 적합한 이차 아민으로 교체한 것을 제외하고, 실시예 21과 유사한 과정을 이용하여, 실시예 22-30의 화합물을 제조하였다.

(실시예 22) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*R*)-1-아세틸피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{40}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 481.33; 측정값 481.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 10-50% MeCN/H_2O) = 2.52 분.

(실시예 23) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*S*)-1-아세틸피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{40}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 481.33; 측정값 481.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 10-50% MeCN/H_2O) = 2.52 분.

(실시예 24) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-메탄설포닐피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{40}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 517.30; 측정값 517.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.04 분.

(실시예 25) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*R*)-1-메탄설포닐피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{40}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 517.30; 측정값 517.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.20 분.

(실시예 26) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{25}H_{37}N_5O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 488.27; 측정값 488.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.22 분.

(실시예 27) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)-(2-히드록시에틸)아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{39}N_5O_4S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 518.28; 측정값 518.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.25 분.

(실시예 28) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-아세틸-피페리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{38}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 495.34; 측정값 495.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 1.95 분.

(실시예 29) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1,1-디옥소-헥사히드로-1λ^6-티오피란-4-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{26}H_{39}N_5O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 502.29, 측정값 502.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.12 분.

(실시예 30) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(1-메탄설포닐피페리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{42}N_6O_3S$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 531.31; 측정값 531.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 5 분에 걸쳐 5-75% MeCN/H_2O) = 2.07 분.

(실시예 31) 5-플루오로-1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 합성

a. 5-플루오로-1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산의 제조

5-플루오로-1*H*-인다졸-3-카르복실산 메틸 에스테르를 (Buu-Hoi, N. P., *et al. J. Hetereocyclic Chem.* **1964,** *1,* 239-41)에 기술된 프로토콜에 따라서 제조하였다. ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ (ppm) 7.8 (dd, 2H), 7.35 (dt, 1H), 3.8 (s, 3H). 환류하는 THF 중에서 포타슘 *tert*-부톡사이드의 존재하에 상기 메틸 에스테르를 이소프로필 요오다이드로 N^1 위치에서 알킬화하였다. ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) 7.8 (dd, 1H), 7.6 (dd, 1H), 7.1 (dt, 1H), 4.8 (hept, 1H), 1.6 (d, 6H). 이어서 상기 이소프로필 메틸 에스테르를 가수분해하여(1 M NaOH/THF, RT), 표제의 중간체를 생성하였다.

b. 5-플루오로-1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 제조

1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 대신 전 단계의 중간체를 사용하여 실시예 1 부분 e 및 f의 과정에 따라 표제의 화합물을 제조하였다. ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ (ppm) 7.9 (br, 1H), 7.7 (dd, 1H), 7.6 (dd, 1H), 7.2 (dt, 1H), 4.9 (m, 1H), 4.2 (br, 1H), 4.0 (br, 2H), 2.3-2.1 (br m, 8H), 1.5 (d, 6H). (*m/z*): $C_{18}H_{23}FN_4O$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 331.19; 측정값, 331.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 6 분에 걸쳐 10-40% MeCN/H_2O) = 3.43 분.

c. 5-플루오로-1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-(2,2-디메톡시에틸)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 제조

실시예 1의 단계 g의 과정을 따라서 전 단계의 생성물을 디메톡시 아세트알데히드와 반응하여 표제의 중간체를 제조하였다. (*m/z*): $C_{22}H_{31}FN_4O_3$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 419.25; 측정값, 419.3.

d. 5-플루오로-1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-(2,2-디히드록시에틸)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 제조

전 단계의 중간체(1.0 g)를 6 M 염산 10 mL 중에 현탁하고 70 ℃로 1 시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 냉각하고, 감압하에서 증류 건조하여 표제의 중간체의 염산염을 얻었다. (*m/z*): $C_{20}H_{27}FN_4O_3$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 391.21; 측정값, 391.4.

e. 5-플루오로-1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 합성

디클로로메탄 40 mL를 함유한 플라스크 중에 1-아세틸피페라진(613 mg; 4.78 mmol) 및 소듐 트리아세톡시보로히드라이드(1.01 g)를 첨가하였다. 5 분 동안 교반한 후 전 단계의 생성물(~1 g)을 첨가하였다. 최종 혼합물을 1 시간 동안 교반하고, HPLC 및 질량 분석 방법에 기초하여 상기 반응을 완료하였다. 물(20 mL)을 서서히 첨가하고 상기 혼합물을 디클로로메탄 300 mL로 희석한 후, 깔대기에서 흔들고 유기층을 모았다. 1M NaOH(100 mL) 및 염수(100 mL)로 세척하였다. $MgSO_4$ 위에서 건조하고 증류하여 얻은 표제의 화합물을 분취용 HPLC에 의하여 정제함으로써 순수한 생성물을 TFA 염으로서 얻었다. ^{1}H-NMR (DMSO-d_6; 유리 염기): δ (ppm) 8.0 (br, 1H), 7.8 (dd, 1H), 7.6 (dd, 1H), 7.23 (dt, 1H), 5.0 (hept, 1H), 4.0-3.9 (br, 3H), 3.5 (br, 2H), 3.2-2.8 (br, 10H), 2.2 (br m, 8H), 1.9 (s, 3H), 1.4 (d, 6H). (*m/z*): $C_{26}H_{37}FN_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 485.30; 측정값, 485.5. 머무름 시간(anal. HPLC: 6 분에 걸쳐 10-70% MeCN/H_2O) = 2.28 분.

(실시예 32) 1-프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 합성

a. 1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 제조

단계 e의 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 대신 1*H*-인다졸-3-카르복실산을 사용하여 실시예 1의 과정에 따라 표제의 중간체를 제조하였다. (*m/z*): $C_{23}H_{32}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$, 425.27; 측정값, 425.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 6 분에 걸쳐 10-40% MeCN/H_2O) = 1.47 분.

b. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 다른 합성 방법

전 단계의 중간체의 TFA 염(80 mg, 0.123 mmol)을 함유한 무수 DMF(2 mL) 용액에 포타슘 *tert*-부톡사이드(48 mg, 0.43 mmol) 및 이소프로필 요오다이드(37 μL, 0.368 mmol)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 85 ℃에서 12 시간 동안 흔들고, 이어서 증류 건조하여, 담갈색 잔류물을 얻고, 이를 50% 수성 아세트산 중에 용해시키고, 분취용 HPLC에 의하여 분획하여 표제의 화합물을 얻었다. (*m/z*): $C_{26}H_{38}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 467.31; 관측값 467.2 $[M+H]^+$. 머무름 시간(anal. HPLC: 6 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.09 분.

c. 1-프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 합성

이소프로필 요오다이드를 *n*-프로필 요오다이드로 교체한 점을 제외하고, 단계 b와 유사한 과정에 따라, 표제의 화합물을 제조하였다. (*m/z*): $C_{26}H_{38}N_6O_2$,에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 467.31; 관측값 467.4 $[M+H]^+$. 머무름 시간(anal. HPLC: 6 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.05 분.

(실시예) 33-35

이소프로필 요오다이드를 적절한 알킬 할라이드로 교체한 점을 제외하고, 실시예 32와 유사한 과정에 따라, 실시예 33-35의 화합물을 제조하였다.

(실시예 33) 1-부틸-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{40}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값 481.33; 관측값 481.4. 머무름 시간(anal.HPLC: 6 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.26 분.

(실시예 34) 1-*시클로*부틸-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{27}H_{38}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 479.31; 측정값 479.4. 머무름 시간(anal. HPLC: 6 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.20 분.

(실시예 35) 1-*시클로*펜틸-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드; (*m/z*): $C_{28}H_{40}N_6O_2$에 대한 $[M+H]^+$ 계산값, 493.33; 측정값 493.2. 머무름 시간(anal. HPLC: 6 분에 걸쳐 5-65% MeCN/H_2O) = 2.34 분.

(실시예 36-40)

상기 과정과 유사한 과정에 따라, 실시예 36-40의 화합물을 제조하였다.

(실시예 36) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*R*)-3-(아세틸-메틸아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드.

(실시예 37) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-((*S*)-3-(아세틸-메틸아미노)피롤리딘-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드.

(실시예 38) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[((*S*)-1-메탄설포닐피롤리딘-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드.

(실시예 39) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(*R*)-(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드.

(실시예 40) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 ((1*S*,3*R*,5*R*)-8-{2-[(*S*)-(1,1-디옥소-테트라히드로-1λ^6-티오펜-3-일)메틸아미노]에틸}-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일)아미드.

(실시예 41) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드 디히드로클로라이드의 합성

a. (1*S*,3*R*,5*R*)-3-[1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르보닐)아미노]-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르의 제조

자기식 교반기, 환류 응축기, 적가 깔대기, 질소 주입구 및 온도계가 장착된 5 L 3-구 둥근 바닥 플라스크에 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산(250 g, 1.224 mol, 1.1 eq) 및 톨루엔 2.5 L를 주입하였다. 그 결과의 현탁액을 교반하고 70-80 ℃로 가열하였다. 이 현탁액에 티오닐 클로라이드(218.4 g, 1.836 mol, 1.65 eq)를 40 분 간격에 걸쳐서 주입하였다. 혼합물을 90-100 ℃에서 1 시간 동안 가열하고 25 ℃로 냉각하였다.

기계식 교반기, 적가 깔대기, 질소 주입구 및 온도계가 증착된 별개의 12 L 3-구 둥근 바닥 플라스크에 톨루엔 2.5 L 및 3 N NaOH(50% NaOH 356 g을 물로 1.48 L까지 희석하여 제조), 및 (1*S*,3*R*,5*R*)-3-아미노-8-아자비시클로[3.2.1]옥탄-8-카르복실산 *tert*-부틸 에스테르(251.9 g, 1.113 mol, 1 당량)를 투입하였다. 그 결과의 현탁액을 23 ℃에서 10 분 동안 교반하고 5 ℃로 냉각하였다. 이 현탁액에 톨루엔 중의 산염화물 용액을 90 분에 걸쳐 첨가하되, 첨가 기간에 걸쳐 내부 온도를 ~ 5 ℃로 유지하였다. 상기 혼합물을 30 분 동안 교반하였다. 반응물을 25℃로 데웠다; 물 층을 제거하였다 (1.58 L, pH > 13). 유기층을 20 wt % 염수 1 L로 세척하였다; 물 층을 제거하였다(1.005 L, ~pH 8). 유기층을 모으고 (5.3 L) 부피를 반으로(~2.6 L) 농축하여, 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

b. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 제조

기계식 교반기, 적가 깔대기, 질소 주입구 및 온도계가 장착된 12 L 3-구 둥근 바닥 플라스크에 전 단계의 생성물을 투입하였다. 이 용액에 트리플루오로아세트산(0.65 L)을 10 분의 기간에 걸쳐 주입하였다. 그 결과의 혼합물을 1 시간 동안 상온에서 교반하였다.

물(3.3 L)를 상기 반응 혼합물에 첨가하였다. 그 결과의 현탁액을 23 ℃에서 10 분 동안 교반하고 정치하여 3상의 혼합물이 되도록 하였다. 상부의 두 층을 제거하고 아래층(820 mL)을 모아 90 분 동안 MTBE(6560 mL)에 첨가하였다. 그 결과의 현탁액을 5 ℃로 냉각하고 1 시간 동안 교반하였다. 상기 현탁액을 여과하였다; 젖은 덩어리를 MTBE(500 mL)로 세척하고, 감압하에서(80 mm Hg) 60 시간 동안 건조하여 표제의 중간체(386 g, 수율 81%, HPLC 순도 99.2 %)를 회색이 도는 흰색의 모래상 고체를 얻었다.

c. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-(2,2-디메톡시에틸)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일} 아미드의 제조

자기식 교반기, 질소 주입구 및 온도계가 장착된 3 L 3-구 둥근 바닥 플라스크에 전 단계의 중간체(84 g, 0.197 mol), 디클로로메탄 (840 mL), 및 소듐 트리아세톡시보로히드라이드 (62.6 g, 0.295 mol)를 투입하였다. 그 결과의 현탁액을 10 분 동안 교반하고, 10 ℃로 냉각하고 60 wt % 수성 디메톡시아세트알데히드(51.3 g, 0.295 mol)를 첨가하였다. 이 용액을 30 분 동안 교반하고, 25 ℃로 데운 후, 1 시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 셀라이트를 통하여 여과하고, 디클로로메탄 (150 mL) 및 5 wt % 염수 용액(400 g)을 세척하였다. 물층 및 유기층을 분리하고, 상기 유기층을 농축하여 어두운 오일(~150 mL)로 얻었으며, 이를 정제 없이 다음의 단계에 사용하였다.

d. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-(2,2-디히드록시에틸)-8-아자-비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 제조

자기식 교반기, 질소 주입구 및 온도계가 장착된 1 L 3-구 둥근 바닥 플라스크에 전 단계의 생성물 및 물(250 mL)을 투입하고 50-55 ℃로 가열하였다. 이 용액에 3N HCl(82 mL, 0.985 mol)을 첨가하였다. 그 결과의 혼합물을 75 ℃에서 1 h 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 25 ℃로 냉각하고, 25 중량% NaOH(159 g, 0.99 mol)를 사용하여 pH 3.51로 중화하였다. 약 20 분 후, 하층을 모아(~120 mL) 표제의 중간체를 얻었으며, 이를 정제 없이 다음의 단계에 사용하였다.

e. 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드 디히드로클로라이드의 합성

자기식 교반기, 질소 주입구 및 온도계가 장착된 3 L 3-구 둥근 바닥 플라스크에 소듐 트리아세톡시보로히드라이드(84 g, 0.349 mol) 및 디클로로메탄(800 mL)을 투입하였다. 그 결과의 혼합물을 25℃에서 교반하고, 1-아세틸피페라진(51 g, 0.394 mol)을 투입하였다. 적가 장치를 디클로로메탄(20 mL)으로 헹구었다. 상기 혼합물을 5 분 동안 교반하고, 내부 온도를 25 ℃ 미만으로 유지하면서 전 단계의 생성물(~120 mL)을 15 분 동안 투입하였다. 상기 혼합물을 15 분 동안 교반한 후, 셀라이트를 통하여 여과하고 디클로로메탄(2 x 100 mL)으로 세척하였다. 여과액을 1N NaOH(500 mL)으로 세척하였다. 층을 분리하여 하부의 유기층을 모아 ~150 mL로 농축하였다.

무수 에탄올(250 mL)을 첨가하고 그 혼합물을 ~200 mL로 농축하였다. 이 혼합물에, 무수 에탄올(800 mL)을 첨가하고 그 혼합물을 40 ℃로 가열하였다. 이 혼합물에, 3 N HCl(33 mL, 0.396 mol)를 3 분 동안 첨가하였다. 상기 혼합물을 10 분 동안 교반하여 재결정을 시작하였다. 그 결과의 현탁액을 55 ℃에서 2 시간 동안 교반하고 25 ℃로 냉각하였다. 상기 혼합물을 와트만(Whatman) #2 여과지를 통하여 여과하고 젖은 덩어리를 무수 에탄(2 x 100 mL)로 세척하였다. 생성물을 질소 하에서 30 분 동안 및 진공 하에서 40-50 ℃로 24 시간 동안 건조하여, 표제의 화합물을 얻었다(82 g).

(실시예 42) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드 디히드로브로마이드의 합성

자기식 교반기, 질소 주입구 및 온도계가 장착된 500 mL 3-구 둥근 바닥 플라스크에 물(120 mL) 및 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드 디히드로클로라이드(12 g, 22.2 mmol)를 투입하였다. 그 결과의 혼합물을 교반하여 투명한 담황색 용액을 얻었다. 이 용액에 25 wt % NaOH(7.83 g, 24.4 mmol)를 2 분 동안 첨가하여 흰색의 우유와 같은 현탁액을 얻었다. 디클로로메탄(120 mL)을 첨가하고 그 혼합물을 30 분 동안 교반하여 투명한 2-상의 용액을 얻었다. 층을 분리하여 물층(113 mL) 및 유기층(125 mL)을 얻고, 이를 10 % 수성 NaBr(120 mL)로 세척하였다. 층을 분리하여 유기층(120 mL)을 얻고 이를 1/4 부피로 농축하였다. 무수 에탄올(250 mL)을 첨가하고 그 혼합물을 증류하여 총 부피가 ~200 mL이 되었다. 용액을 58 ℃에서 교반하고 48 중량 % 수성 HBr(8.2 g, 49 mmol)을 2 분 동안 첨가하였다. 침전을 관찰하고 상기 HBr의 반 이상을 첨가하였다. 그 혼합물을 55 ℃ 내지 62 ℃에서 1 시간 동안 교반한 후, 상온으로 냉각하고 여과하였다. 여과액을 무수 에탄올(40 mL)로 세척한 다음, 질소 하에서 20 분 동안 건조하고 진공 하에서 45 ℃로 48 시간 동안 건조하여 표제의 화합물(13.42 g)을 흰색 고체로서 얻었다.

(실시예 43) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 푸마르산 염의 합성

50% 아세토니트릴/물 (1 mL) 중의 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드(0.1 g, 0.21 mmol) 용액에 에탄올의 1M 푸마르산 용액(0.44 mL 0.42 mmol). 그 결과의 용액을 밤새 감압하에 동결건조하고 에틸 아세테이트(1 mL)와 혼합하였다. 뜨거운 에탄올을 이 혼합물에 첨가하고 가열하여 균질한 용액을 얻었다(0.4 mL). 그 결과의 투명한 용액을 실온에서 재결정되도록 하였다. 그 결과의 고체를 여과하여, 에탄올로 세척하고, 진공 하에서 건조하여 표제의 화합물을 고체로서 얻었다(0.13 g).

(실시예 44) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 인산 염의 합성

메탄올(3 mL) 중의 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드(0.2 g, 0.43 mmol) 용액에 에탄올의 1M 인산 용액(0.43 mL, 0.43 mmol)을 첨가하였다. 그 결과의 균질한 용액을 가열하여 용해시키고, 여과한 후, 밤새 냉각하였다. 그 결과의 고체를 여과한 후, 메탄올로 세척하고 진공 하에서 건조하여 표제의 화합물을 고체로서 얻었다(0.08 g).

(실시예 45) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 *p*-톨루엔 설폰산 염의 합성

이소프로판올(2 mL) 중의 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드(38.7 mg, 0.08 mmol) 용액을 75 ℃ 물중탕 중에서 가열하고 고체의 *p*-톨루엔설폰산 일수화물(32.3 mg, 0.17 mmol)을 첨가하였다. 그 결과의 용액을 가열하여 고체를 용해시킨 후, 실온으로 냉각하였다. 표제의 화합물 결정이 밤새 형성되었다.

(실시예 46) 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 산 염의 합성

실시예 43-45와 유사한 과정으로, 1-이소프로필-1*H*-인다졸-3-카르복실산 {(1*S*,3*R*,5*R*)-8-[2-(4-아세틸피페라진-1-일)에틸]-8-아자비시클로[3.2.1]옥트-3-일}아미드의 하기 산 염을 괄호 안에 표시된 당량 수의 산을 사용하여 고체 형태로 제조하였다: 아세테이트(2); 벤조에이트(2); 질산(2); 프로피오네이트(1); 타르트레이트(2); 인산(0.5).

(실시예 47) 5-$HT_{4(c)}$ 인간의 수용체에 대한 방사리간드 결합 어세이

a. 막 제조 5-$HT_{4(c)}$

인간의 5-$HT_{4(c)}$ 수용체 cDNA(Bmax = ~ 6.0 pmol/mg 단백질, [^{3}H]-GR113808 막 방사리간드 결합 어세이를 사용하여 결정)로 안정적으로-형질전환된 HEK-293(Human embryonic kidney) 세포를, 5% CO_2, 37℃의 가습 배양기에서 T-225 플라스크 중, 4,500 mg/L D-글루코오스 및 피리독신 히드로클로라이드(GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad CA: Cat #11965)를 함유하며 10% 소 태아 혈청(FBS: fetal bovine serum) (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10437), 2 mM L-글루타민 및 (100 유닛) 페니실린-(100 μg) 스트렙토마이신/ml (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140)이 보충된 둘베코 변형 이글 배지(DMEM: Dulbecco's Modified Eagles Medium) 중에서 성장시켰다. 배지에 800 μg/mL 제네틱신 (geneticin; GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10131)를 첨가함으로써 세포는 연속된 선택 압력 하에서 배양하였다.

세포는 약 60-80% 컨플루언시(confluency) (< 35 계대배양 횟수(subculture passes))로 배양하였다. 채취하기 20-22 시간 전에, 세포를 두 번 세척하고 무혈청 DMEM으로 세척하였다. 막 제조의 모든 단계는 얼음 상에서 수행하였다. 천천히 기계적 교반하고 25 mL 피펫으로 분쇄하여 세포 단층을 걷어올렸다. 1000 rpm에서 (5 분) 원심분리하여 세포를 수집하였다.

막 제조를 위하여, 세포 펠렛을 얼음으로 냉각한 50 mM 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄설폰산(HEPES), pH 7.4 (막 제조 버퍼)(30-40 T225 플라스크로부터 40 mL/총 세포 생산)에서 재현탁하고, 얼음 위에서 폴리트론 조직 분해기(세팅 19, 2 x 10 초)를 이용하여 균질화하였다. 그 결과의 균질액을 1200 g로 5 분 동안 4 ℃에서 원심분리하였다. 펠렛을 버리고 현탁액을 40,000 g로 원심분리하였다(20 분). 펠렛을 막제조 버퍼로 재현탁하여 일 회 세척하였다. 최종 펠렛을 50 mM HEPES, pH 7.4 (어세이 버퍼)로 재현탁하였다(1 T225 플라스크/1 mL 상당). 막 현탁액의 단백질 농도는 브래드포드 방법(Bradford, 1976)에 의하여 결정하였다. 막은 분취(aliquots)하여 -80 ℃에서 보관하였다.

b. 방사리간드 결합 어세이

방사리간드 결합 어세이는 1.1 mL 96-딥 웰(deep well) 폴리프로필렌 어세이 플레이트(Axygen)에서, 총 어세이 부피 400 μL(50 mM HEPES pH 7.4 중의 막 단백질 2 μg 함유, 0.025% 소 혈청 알부민(BSA: bovine serum albumin) 함유)로 수행되었다. 방사리간드의 K_d 값 결정을 위한 포화 결합 실험은 0.001 nM 내지 5.0 nM 범위에서 서로 다른 8-12 개 농도의 [^{3}H]-GR113808(Amersham Inc., Bucks, UK: Cat #TRK944; 비활성도(specific activity) ~82 Ci/mmol)를 사용하여 수행하였다. pK_i 값 측정을 위한 치환 분석(Displacement assays)은 0.15 nM의 [^{3}H]-GR113808 및 10 pM - 100 nM 범위의 상이한 농도의 화합물을 사용하여 수행하였다.

테스트 화합물은 DMSO 중 10 mM 스톡 용액으로서 얻었으며, 0.1% BSA를 함유한 pH 7.4, 25℃ 50 mM HEPES 용액으로 희석하여 400 μM가 되게 하였으며, 동일한 버퍼 중에서 계열 희석(1:5)하였다. 비특정 결합은 1 μM 비표지된 GR113808의 존재 하에서 결정되었다. 어세이는 실온에서 60 분 동안 배양되었으며, 이어서 0.3% 폴리에틸렌이민 중에 미리 담가진 96-웰 GF/B 유리섬유 여과 플레이트(Packard BioScience Co., Meriden, CT) 위에서 급속 여과하여 결합 반응을 결정하였다. 여과 플레이트를 여과 버퍼(얼음-냉각된 50mM HEPES, pH7.4)로 세 번 세척하여 부착되지 않은 방사능을 제거하였다. 여과 플레이트를 건조하고, 35 μL 마이크로신트-20 액체 신틸레이션 유체(Packard BioScience Co., Meriden, CT)를 각 웰 에 첨가하고 플레이트를 팩커드 탑카운트 액체 신틸레이션 계수기(Packard BioScience Co., Meriden, CT)에서 계수하였다.

결합 데이터를 일-위치 경쟁에 대한 3-파라미터 모델을 이용하여 그래프패드 프리즘 소프트웨어 패키지(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)로 비선형 회귀 분석에 의해 분석하였다. BOTTOM(커브 최소)는 1 μM GR113808의 존재 하에서 측정된 비특이적 결합에 대한 값으로 고정되었다. 테스트 화합물에 대한 K_i 값은, 쳉-프루스오프 식(Cheng-Prusoff equation)을 이용하여, 프리즘(Prism)에서, 최적 IC_{50} 값 및 방사 배위의 K_d 값으로부터 계산되었다(Cheng and Prusoff, *Biochemical Pharmacology,* 1973, *22,* 3099-108): $K_i = IC_{50} / (1 + [L]/K_d)$, 상기 식 중 [L] = [^{3}H]-GR113808 농도. 결과는 K_i 값의 음의 상용 로그로서 표현되었다.

본 어세이에 있어서, 높은 pK_i 값을 가지는 테스트 화합물은 5-HT_4 수용체에 대하여 높은 결합 친화력을 가진다. 본 어세이에서 시험된 본 발명의 화합물은 약 6.3 내지 약 9.0 범위, 전형적으로 약 7.0 내지 약 8.6 범위의 pK_i 값을 가졌다.

(실시예 48) 5-HT_{3A} 인간 수용체에 대한 방사리간드 결합 어세이: 수용체 서브타입 선택도의 결정

a. 막 제조 5-HT_{3A}

인간 5-HT_{3A} 수용체 cDNA로 안정적으로 형질전환된 HEK-293(Human embryonic kidney) 세포를 Dr. Michael Bruess(University of Bonn, GDR)로부터 얻었다(Bmax = ~ 9.0 pmol/mg 단백질, [^{3}H]-GR65630 막 방사리간드 결합 어세이로 결정됨). 5% CO_2, 37 ℃의 가습 배양기에서, T-225 플라스크 또는 셀 팩토리(cell factories) 중, 열처리로 비활성된 10% 소 태아 혈청(10% heat inactivated FBS)(Hyclone, Logan, UT: Cat #SH30070.03) 및 (50 유니트) 페니실린-(50 μg) 스트렙토마이신/ml (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140)가 보충된 50 % 둘베코 변형 이글 배지(DMEM) (GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad, CA: Cat #11965) 및 Ham's F12(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11765) 중에서 세포를 배양하였다.

세포는 약 70-80% 컨플루언시(< 35 계대배양 횟수)로 배양하였다. 막 제조의 모든 단계는 얼음 상에서 수행되었다. 세포를 채취하기 위하여, 배지를 아스피레이션하고 세포를 Ca^{2+}, Mg^{2+}-무함유 둘베코 포스페이트 버퍼 식염수(dPBS)로 헹구었다. 세포 단층을 천천히 기계 교반하여 걷어올렸다. 1000 rpm에서 (5 분) 세포들을 수집하였다. 5-$HT_{4(c)}$ 수용체를 발현하는 막을 위하여 상기 프로토콜을 따라 막 제조의 연속된 단계를 수행하였다.

b. 방사리간드 결합 어세이

방사리간드 결합 어세이는 96-웰 폴리프로필렌 어세이 플레이트에서, 0.025% BSA 어세이 버퍼를 함유한, 50 mM HEPES pH 7.4 중의 1.5-2 μg 막 단백질을 함유한 총 어세이 부피 400 μL 중에서 수행되었다. 포화 결합 실험을 수행하여 방사리간드의 K_d 값을 결정하기 위한 포화 결합 실험은 0.005 nM to 20 nM 범위의 12개의 상이한 농도의 [^{3}H]-GR65630(PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA: Cat #NET1011, 비활성도(specific activity) ~85 Ci/mmol)를 사용하여 수행되었다. 화합물의 pK_i 값을 결정하기 위한 치환 분석은 0.50 nM의 [^{3}H]-GR65630 및 10 pM 내지 100 nM 범위의 11개 상이한 농도의 화합물을 사용하여 수행하였다. 화합물은 DMSO 중 10 mM 스톡 용액으로서 얻었으며(섹션 3.1 참조), 0.1% BSA를 함유한 pH 7.4, 25℃ 50 mM HEPES으로 희석하여 400 μM가 되게 하였으며, 그리고 동일한 버퍼 중에서 계열 (1:5) 희석하였다. 비특정 결합은 1 μM 비표지된 MDL72222의 존재 하에서 결정되었다. 어세이를 실온에서 60 분 동안 인큐베이션하였으며, 이어서 0.3% 폴리에틸렌이민 중에 미리 담가진 96-웰 GF/B 유리섬유 여과 플레이트(Packard BioScience Co., Meriden, CT) 위에서 급속 여과하여 결합 반응을 결정하였다. 여과 플레이트를 여과 플레이트를 여과 버퍼(얼음-냉각된 50mM HEPES, pH7.4)로 세 번 세척하여 부착되지 않은 방사능을 제거하였다. 플레이트를 건조하고, 35 μL 마이크로신트-20 액체 신틸레이션 유체(Packard BioScience Co., Meriden, CT)를 각 웰 에 첨가하고 플레이트를 팩커드 탑카운트 액체 신틸레이션 계수기(Packard BioScience Co., Meriden, CT)에서 계수하였다.

K_i 값을 결정하기 위하여 상기 비선형 회귀 방법을 사용하여 결합 데이터를 분석하였다. BOTTOM(곡선 최소)는 10 μM MDL72222의 존재 하에서 측정된 비특이적 결합에 대한 값으로 고정되었다.

$5\text{-}HT_3$ 수용체 서브타입에 대하여 $5\text{-}HT_4$ 수용체 서브타입에 대한 선택도는 $K_i(5\text{-}HT_{3A})/K_i(5\text{-}HT_{4(c)})$의 비율로서 계산되었다. 본 어세이에서 시험된 본 발명의 화합물은 약 25 내지 약 4000 범위, 전형적으로 약 100 내지 약 4000 범위의 $5\text{-}HT_4/5\text{-}HT_3$ 수용체 서브타입 선택도를 가졌다.

(실시예 49) 인간 $5\text{-}HT_{4(c)}$ 수용체를 발현하는 HEK-293 세포를 사용한 전-세포(whole-cell) cAMP 증폭 Flashplate 어세이

본 어세이에서, 테스트 화합물의 기능적 효능은, $5\text{-}HT_4$ 수용체를 발현하는 HEK-293 세포가 상이한 농도의 테스트 화합물과 접촉하는 경우 제조되는 cyclic AMP의 총량을 측정하여 결정되었다.

a. 세포 배양

클론된 인간 $5\text{-}HT_{4(c)}$ 수용체 cDNA로 안정적으로 형질변환된 HEK-293(human embryonic kidney) 세포를 제조하여 두 상이한 밀도에서 수용체를 발현하도록 하였다: (1) 약 0.5-0.6 pmol/mg 단백질의 농도, [^{3}H]-GR113808 막 방사리간드 결합 어세이로서 측정됨, 및 (2) 약 6.0 pmol/mg 단백질의 농도. 세포를, 5% $C0_2$, 37℃의 가습 배양기에서 T-225 플라스크 중, 10% 소 태아 혈청(FBS) (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10437) 또는 (100 units) 페니실린-(100 μg) 스트렙토마이신/ml(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140)이 보충되고, 4,500 mg/L D-글루코오스(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11965)를 함유한 둘베코 변형 이글 배지(DMEM: Dulbecco's Modified Eagles Medium) 중에서 증식시켰다. 세포는 연속된 선택 압력 하에서 제네틱신(800 mg/mL: GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10131)을 상기 배지에 첨가함으로써 증식되었다.

b. 세포 제조

세포는 약 60-80% 컨플루언시로 증식시켰다. 어세이를 수행하기 20 내지 24 시간 전에, 세포를 두 번 세척하고, 4,500 mg/L D-글루코오스(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11965)를 함유한 혈청-무함유 DMEM을 공급하였다. 세포를 채취하기 위하여, 상기 배지를 아스피레이션하고, 10 mL Versene(GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15040)를 각 T-225 플라스크에 첨가하였다. 세포를 약 5 분 동안 실온에서 배양하고, 기계적 교반에 의하여 플라스크로부터 꺼냈다. 세포 현탁액을 동일 부피의 예열된(37℃) dPBS를 담고 있는 원심분리 튜브로 옮기고, 5 분 동안 1000 rpm으로 원심분리하였다. 그 현탁액을 버리고, 펠렛은 예열된(37℃) 자극 버퍼에서(2-3 T-225 플라스크당 10mL 상당) 재-현탁하였다. 이 시간을 0 시간으로 표기하였다. 세포를 쿨터 계수기(Coulter counter)로 계수하였다(8 mm 이상 계수, 플라스크 수율은 1-2 x 10^7 세포/플라스크이었다). 세포를 예열된(37℃) 자극 버퍼(flashplate 키트에서 공급) 중에서 5 x 10^5 세포s/ml 농도로 재현탁하고, 37℃에서 10 분 동안 미리 배양하였다.

cAMP 어세이를, ^{125}I-cAMP가 구비된 Flashplate Adenylyl Cyclase Activation Assay System(SMP004B, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA)을 이용하여, 제조사의 지시를 따라 방사면역측정법 포맷에서 수행하였다.

세포들을 위에 기재한 바와 같이 증식하여 제조하였다. 각 어세이에서 최종 세포 농도는 25 x 10^3 세포/웰이었고 최종 어세이 부피는 100 μL이었다. 테스트 화합물은 DMSO 중 10 mM 스톡용액으로서 얻었으며, 0.1% BSA를 함유한 pH 7.4 25℃ 50 mM HEPES로 희석하여 400 μM가 되게 하고, 동일한 버퍼에서 계열 (1:5) 희석하였다. 사이클릭 AMP 축적 어세이는 10 pM 내지 100 μM(최종 농도) 범위의 11 개의 서로 다른 농도의 화합물을 사용하여 수행하였다. 5-HT 농도-반응 곡선(10 pM 내지 100 μM)은 모든 플레이트 상에 포함되었다. 세포를 흔들어 주면서 37℃ for 15 분에서 배양하고, 100 μM의 얼음-냉각된 검출 버퍼(flashplate 키트에서 공급)를 첨가하여 반응을 종결하였다. 플레이트를 밀봉하고 4℃에서 밤새 배양하였다. 부착된 방사능을 Topcount(Packard BioScience Co., Meriden, CT)를 사용하여 신틸레이션 근접 분광학(scintillation proximity spectroscopy)에 의하여 정량하였다.

반응 mL 당 생성된 cAMP 총량을, 제조사의 사용자 매뉴얼에서 제공된 지시를 따라, cAMP 표준 커브로부터 외삽법에 의해 추정하였다. 데이터를 일-위치 경쟁에 대한 3-파라미터 모델을 이용하여 그래프패드 프리즘 소프트웨어 패키지로 선형 회귀 분석에 의해 분석하였다(기울기는 단위로 하였다). 효능 데이터는 $ppEC_{50}$ 값, EC_{50} 값의 음의 상용 로그값으로서 보고하고, 여기서 EC_{50}는 50 % 최대 반응에 대한 유효 농도이다.

본 어세이에서 높은 pEC_{50} 값을 나타내는 테스트 화합물은 $5\text{-}HT_4$ 수용체를 작용시키는 데 있어서 높은 효능을 가진다. 본 어세이에서 시험된 본 발명의 화합물은, 예를 들면, 약 0.5-0.6 pmol/mg 단백질의 밀도를 가지는 세포 라인 (1)에 있어서, 약 6.3 내지 약 9.0 범위의, 전형적으로 약 7.5 내지 약 8.5 범위의 pEC_{50} 값을 가졌다.

(실시예 50) hERG 심장 칼륨 채널을 발현하는 전 세포(whole cell)에 있어서 칼륨 이온 전류의 억제에 대한 *In vitro* 전압 클램프 어세이

hERG cDNA로 안정적으로 형질전환된 CHO-K1 세포를 위스콘신(Wisconsin) 대학의 Gail Robertson으로부터 얻었다. 세포들은 필요할 때까지 극저온 저장에서 보관하였다. 세포를 10 % 소 태아 혈청 및 200 μg/mL 제네틱신이 보충된 둘베코 변형 이글 배지/F12에서 확장 배양하였다. 세포를 35 mm^2 디쉬(2 mL 배지 함유)에서 분리된 세포가 전 세포 전압-클램프 실험을 위하여 분리된 세포가 선택될 수 있는 농도로, 폴리-D-라이신(100 mg/mL)이 코팅된 유리 커버슬립 위에서 접종(seed)하였다. 디쉬를 가습, 5% CO_2 분위기에서 37℃로 유지하였다.

세포외 용액을 적어도 7일 마다 제조하고, 사용하지 않는 경우에는 4℃로 보관하였다. 세포외 용액은 이하(mM) : NaCl (137), KCl (4), $CaCl_2$ (1.8), $MgCl_2$ (1), 글루코오스 (10), 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄설폰산 (HEPES) (10)을 함유하며, NaOH를 사용하여 pH는 7.4이다. 세포외 용액은, 테스트 화합물의 부존재 또는 존재 하에, 레저버에 보관하고, 이로부터 약 0.5 mL/min로 레코딩 챔버로 흘렸다. 세포내 용액을 제조하여, 분취하여 사용하는 날까지 -20℃에서 보관하였다. 세포내 용액은 이하(mM): 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-피페라진에탄설폰산(HEPES) (10)를 포함하며, KOH을 사용하여 pH는 7.2이었다. 모든 실험은 실온(20-22℃)에서 수행되었다.

세포들이 접종된 상기 커버슬립을 레코딩 챔버에 옮기고 연속적으로 관류(perfuse)시켰다. 기가옴 밀봉(Gigaohm seal)을 세포와 패치 전극 사이에 형성시켰다. 안정된 패치가 이루어지면, 전극 클램프 모드로 초기 유지 전압이 -80 mV에서 기록을 시작하였다. 안정한 전-세포 전류가 이루어지면, 세포를 테스트 화합물에 노출시켰다. 표준 전압 프로토콜은: 유지 전압 -80 mV으로부터 4.8초 동안 + 20 mV에 이르는 단계, 5초 동안 -50 mV로 재분극 및 초기 유지 전압으로의 회복이다. 이러한 전압 프로토콜은 매 15 초마다(0.067 Hz) 수행된다. 재분극 상 동안의 피크 전류 증폭은 pClamp 소프트웨어를 사용하여 결정된다. 3 mM 농도의 테스트 화합물을 세포 위에 5 분 동안 관류시키고, 이어서 화합물 없이 5 분간 세척하였다. 최종적으로 양성 대조(시사프라이드(cisapride), 20 nM)를 관류액(perfusate)에 첨가하여 세포의 기능을 테스트하였다. -80 mV로부터 + 20 mV의 단계는 hERG 채널을 활성화하여, 외향 전류를 야기하였다. 다시 -50 mV로의 단계는, 채널이 비활성으로부터 회복하고 비활성화됨에 따라, 외향 테일 전류(outward tail current)를 야기하였다

재분극상 동안의 피크 전류 증폭은 pCLAMP 소프트웨어를 사용하여 결정된다. 대조 및 테스트 항목 데이터는 Origin® (OriginLab Corp., Northampton MA)으로 이출하고, 거기서 개개의 전류 진폭을 화합물 부존재하의 초기 전류 진폭에 대하여 정규화하였다. 각 상태에 대한 정규화된 전류 및 표준 편차는 실험 시간 경과에 대하여 계산되고 플롯 되었다.

테스트 항목 또는 비히클(vehicle) 대조(보통 0.3 % DMSO) 중 하나에 5-분 노출 후에 관측된 K^+ 전류 억제 간 비교를 하였다. 실험 군 사이의 통계 비교는 두-모집단, 독립적인 t-테스트(Microcal Origin v. 6.0) 을 이용하여 수행되었다. $p < 0.05$에서 차이는 현저한 것으로 인식되었다.

본 어세이에서 칼륨 이온 전류의 억제의 백분율이 작을수록, 치료제로서 사용되는 경우 심장 제분극의 패턴을 변화시키기 위한 테스트 화합물에 대한 전압이 작다. 본 어세이에서 3 mM의 농도에서 시험된 본 발명의 화합물은 칼륨 이온 전류 억제가 20 % 미만, 전형적으로 15 % 미만인 것으로 나타났다.

(실시예 51) 경구 생체이용률에 대한 *In vitro* 모델 : Caco-2 투과 어세이

경구 투여 후에 장을 통과하여 혈류에 이를 수 있는 테스트 화합물의 이용률에 대한 모델을 세우기 위하여 The Caco-2 투과 어세이를 수행하였다. 용액 중의 테스트 화합물이 인간의 소장 단층을 모방하기 위해 디자인된 세포 단층으로 투과하는 속도를 측정하였다.

Caco-2(클론, 선암(adenocarcinoma); 인간) 세포는 ATCC(American Type Culture Collection; Rockville, MD)로부터 얻었다. 투과 연구를 위하여, 세포를 미리-습윤된 트랜스웰 폴리카보네이트 필터(Costar; Cambridge, MA) 위에 63,000 세포s/cm^2의 밀도로 접종하였다. 세포 단층이 배양 중 21일 후에 형성되었다. 트랜스웰 플레이트 중 세포 배양 이후에, 세포 단층을 함유한 막을 트랜스웰 플레이트로부터 떼어내고 확산 챔버(Costar; Cambridge, MA)에 삽입하였다. 상기 확산 챔버를 온도 조절을 위하여 순환식 외부의 항온-조절된 37℃ 물이 구비된 가열 블럭에 삽입하였다. 에어 매니폴드(air manifold)로 각 확산 챔버 중의 반에 95% O_2/5% CO_2를 공급하였고, 세포 단층에 걸쳐 층류 흐름(laminar flow) 패턴을 생성시켰으며, 이는 교반되지 않은 주변 층을 감소시키는데 유효하다.

상기 투과 연구는 농도 100 mM의 화합물 및 단층의 집적도를 측정하기 위한 을 ^{14}C-만니톨을 사용하여 수행되었다. 모든 실험은 37 ℃에서 60 분 동안 수행되었다. 샘플은 0.30 및 60 분에 상기 챔버의 공여측과 수용측 모두에서 취하였다. 테스트 화합물 및 만니톨 농도를 위하여 샘플을 HPLC 또는 액체 신틸레이션 계수에 의하여 분석하였다. cm/sec의 투과 계수(K_p)를 계산하였다.

본 에세이에서, 약 10×10^{-6} cm/sec보다 큰 K_p 값은 유리한 생체이용률을 나타내는 것으로 인식된다. 본 에세이에서 시험된 본 발명의 화합물은 약 15×10^{-6} cm/sec 내지 약 50×10^{-6} cm/sec, 전형적으로 약 20×10^{-6} cm/sec 내지 약 40×10^{-6} cm/sec의 K_p 값을 나타냈다.

(실시예 52) 랫트에 대한 약동학적 연구

테스트 화합물의 수용액 제제를 pH 5 내지 6의 0.1 % 락트산 중에서 제조하였다. 수컷의 Sprague-Dawley 랫트(CD 종, Charles River Laboratories, Wilmington, MA)에 2.5 mg/kg 투여량의 정맥 투여 (Ⅳ)를 통하여 또는 5 mg/kg의 경구 가비지(oral garvage)(PO)에 의하여 테스트 화합물을 투여하였다. 투여 부피는 Ⅳ에 대하여 1 mL/kg 및 PO 투여에 대하여 2 mL/kg이었다. 동물로부터 투여 전(pre-dose) 및 2 (Ⅳ만), 5, 15, 및 30 분, 및 1, 2, 4, 8, 및 24 시간 투여-후(post-dose)에 동물로부터 계열 혈액 샘플을 수집하였다. 혈장 중 테스트 화합물의 농도를 액체 크로마토그래피-질량 분광 분석(LC-MS/MS)(MDS SCIEX, API 4000, Applied Biosystems, Foster City, CA)에 의하여 정량 하한 1 ng/mL로 측정하였다.

표준 약동학적 파라미터를 WinNonlin(Version 4.0.1, Pharsight, Mountain View, CA)을 사용하여 비-구획 분석(non-compartmental analysis, Ⅳ에 대하여 모델 201 및 PO 에 대하여 모델 200)에 의하여 평가하였다. 시간대 혈장 중 테스트 화합물 농도에 대한 커브에서 최대값을 C_{max}로 표기하였다. 마지막으로 측정가능한 농도에 대한 투여 시간으로부터 시간대 농도 아래 면적 커브(AUC(0-t))를 선형 사다리꼴 법칙(linear trapezoidal rule)에 의하여 계산하였다. 경구 생체이용률(F(%)), 즉, Ⅳ 투여 경우 AUC(0-t)에 대하여 PO 투여 경우 AUC(0-t)의 투여-정규화된 비율을 다음과 같이 계산하였다:

$$F(\%) = AUC_{PO}/AUC_{IV} \times Dose_{IV}/Dose_{PO} \times 100\%$$

본 어세이에 서 큰 값의 파라미터 C_{max}, AUC(0-t), 및 F(%)를 나타내는 테스트 화합물은 경구 투여 경우 높은 생체이용률을 가지는 것으로 예상된다. 본 어세이에서 시험된 본 발명의 화합물은 C_{max} 값이 약 0.05 내지 약 0.35 ㎍/mL 범위, 전형적으로 약 0.1 내지 약 0.35 ㎍/mL 범위이고, AUC(0-t) 값이 약 0.15 내지 약 0.8 ㎍·시간/mL 범위, 전형적으로 0.25 내지 약 0.8 ㎍·시간/mL 범위이다. 실시예에 있어서, 실시예 1의 화합물은 C_{max} 값이 0.25 ㎍/mL, AUC(0-t)값이 0.73 ㎍·시간/mL 및 랫트 모델에 있어서 경구 생체이용률(F(%)이 약 100 %이다.

본 발명은 그 특정 구현예를 참조하여 기술되었지만, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 취지 및 범위를 이탈하지 않은 채 다양한 변화가 가능하며 또한 등가물로 치환될 수 있다는 점을 이해되어야 한다. 또한, 특정 상황, 재

료, 재료의 조성물, 프로세스, 프로세스 단계, 단계에 맞추기 위하여 본 발명의 대상, 취지 및 범위에 대한 많은 변용이 이루어질 수 있다. 그러한 변용은 모두 본 명세서에 첨부된 청구범위 범위 내에 있도록 의도된다. 또한 참고로서 개별적으로 통합되었지만, 상기 본 명세서에서 인용된 모든 간행물, 특허, 및 특허 문서는 본 명세서에 참고로 전문이 통합되어 있다.