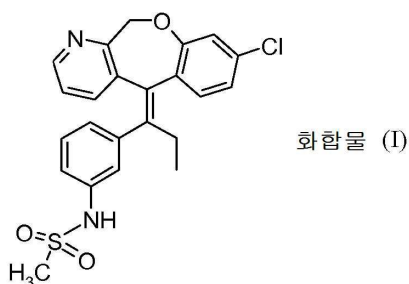
	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2009-0020694 (43) 공개일자 2009년02월26일
<p>(51) Int. Cl.  <i>C07D 491/044</i> (2006.01) <i>A61K 31/4745</i> (2006.01)  <i>A61P 19/02</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2009-7000674  (22) 출원일자 2009년01월13일  심사청구일자 2009년01월13일  번역문제출일자 2009년01월13일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2007/073345  국제출원일자 2007년07월12일</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2008/008882  국제공개일자 2008년01월17일</p> <p>(30) 우선권주장  60/831,166 2006년07월14일 미국(US)</p>		<p>(71) 출원인  <b>일라이 릴리 앤드 캄파니</b>  미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포  레이트 센터</p> <p>(72) 발명자  <b>카슨, 매튜, 윌리엄</b>  미국 46037 인디애나주 피셔스 캐슬스톤 드라이브  11791  <b>코글란, 마이클, 조셉</b>  미국 46038 인디애나주 피셔스 리버 하이랜드스 드  라이브 7467</p> <p>(74) 대리인  <b>김영, 양영준</b></p>

전체 청구항 수 : 총 14 항

#### (54) 글루코코르티코이드 수용체 조절제 및 이의 사용 방법

#### (57) 요약

본 발명은 화합물 (I); 화합물 (I) 또는 이의 약제학적 허용염; 1종 이상의 약제학적 허용 담체, 부형제, 또는 희석제와 함께 화합물 (I)을 포함하는 약제학적 조성물; 및 화합물 (I) 또는 이의 약제학적 허용염의 유효량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 염증성 장애 및 면역 장애의 치료 방법을 제공한다:



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

(E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포아미드인 화합물, 또는 이의 약제학적 허용염.

### 청구항 2

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

### 청구항 3

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

### 청구항 4

제1항에 있어서, (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포아미드 · HBr, (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포아미드 · HCl, 또는 (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포아미드 · H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2:1)인 염.

### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 염의 유효량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 류마티즘성 관절염, 골관절염, 류마티즘 열, 천식, 알레르기성 비염, 전신 홍반성 루푸스, 만성 폐쇄성 폐질환, 크론병, 염증성 장질환, 또는 궤양성 대장염의 치료 방법.

### 청구항 6

제5항에 있어서, 류마티즘성 관절염의 치료 방법.

### 청구항 7

(E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포아미드인 화합물의 유효량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 류마티즘성 관절염의 치료 방법.

### 청구항 8

류마티즘성 관절염, 골관절염, 류마티즘 열, 천식, 알레르기성 비염, 전신 홍반성 루푸스, 만성 폐쇄성 폐질환, 크론병, 염증성 장질환, 또는 궤양성 대장염의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 염의 용도.

### 청구항 9

제8항에 있어서, 류마티즘성 관절염의 치료를 위한 용도.

### 청구항 10

류마티즘성 관절염의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포아미드인 화합물의 용도.

### 청구항 11

1종 이상의 약제학적 허용 담체, 부형제, 또는 희석제와 함께 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 염을 포함하는 약제학적 조성물.

### 청구항 12

1종 이상의 약제학적 허용 담체, 부형제, 또는 희석제와 함께 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 염을 포함하는, 류마티즘성 관절염의 치료를 위한 약제학적 조성물.

### 청구항 13

1종 이상의 약제학적 허용 담체, 부형제, 또는 희석제와 함께 (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설폰아미드인 화합물을 포함하는 약제학적 조성물.

### 청구항 14

치료에 사용하기 위한 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 염.

## 명세서

### 기술분야

- <1> 본 발명은 스테로이드 글루코코르티코이드에 반응성인 염증성 장애 및 면역 장애의 치료에 있어서 치료제로서 유용한 트리시클릭 화합물, 상기 화합물을 포함하는 약제학적 조성물, 환자의 염증성 장애 및 면역 장애를 치료하기 위한 상기 화합물의 사용 방법, 및 상기 화합물의 합성에 유용한 중간체 및 방법에 관한 것이다.

### 배경기술

- <2> 천연 및 합성 스테로이드 글루코코르티코이드 (예를 들어, 코르티솔, 코르티손, 프레드니솔론, 텍사메타손)는 급성 및 만성 염증성 장애 및 면역 장애의 치료를 위하여 50 년에 걸쳐 광범위하게 사용되어 왔다. 특히, 글루코코르티코이드는 류마티즘성 관절염, 골관절염, 류마티즘 열, 천식, 알레르기성 비염, 전신 홍반성 루푸스, 만성 폐쇄성 폐질환, 크론병, 염증성 장질환, 및 궤양성 대장염의 치료에 처방되어 왔다. 그러나, 글루코코르티코이드의 사용은 심한, 때때로 비가역적인 부작용, 예컨대 골 손실/골다공증, 고혈당증, 진성 당뇨병, 고혈압, 녹내장, 근 위축, 쿠싱 증후군, 및 정신병과 종종 관련된다. 따라서, 스테로이드 글루코코르티코이드의 이로인한 효과를 가지나, 부수적인 부작용의 가능성 또는 빈도가 감소된 대안적 치료에 대한 필요성이 존재한다.
- <3> 글루코코르티코이드는 글루코코르티코이드 수용체 (GR)와의 복합체 형성 이후 유전자 전사를 조절함으로써 약리학적인 효과를 나타낸다. 상기 GR-글루코코르티코이드 복합체는 독특한 메커니즘에 의해 유전자 전사에 영향을 미친다. 먼저, 글루코코르티코이드의 결합 이후, 복합체화된 GR은 핵으로 이동하여 거기서 이는 특정 유전자의 프로모터 부위에서 DNA 글루코코르티코이드 호르몬 반응 요소 (GRE)와의 결합에 있어서 2량체로서 작용한다. 그 후 GR-글루코코르티코이드/GRE 복합체는, 이어서, 근접하게 위치한 유전자의 전사를 활성화(트랜스활성; transactivation)하거나 또는 억제한다. 반대로, GR-글루코코르티코이드 복합체는 DNA에 대한 결합을 수반하지 않는 과정에 의해 유전자 전사를 음성적으로 조절할 수 있다. 트랜스억제(transrepression)로 불리는 상기 과정에서, 글루코코르티코이드의 결합 이후, 복합체화된 GR은 핵으로 유입되어 거기서 이는 (단백질-단백질 상호작용을 통해) 다른 전사 인자와 직접적으로 상호 작용하는 단량체로서 작용하여, 유전자 전사를 유도하는 이의 능력과 이에 따른 단백질 발현을 억제한다.
- <4> 스테로이드 글루코코르티코이드에 대한 대체물로서 적절한 GR 리간드에 대한 조사는, 다른 생리학적 과정을 매개하는 다른 스테로이드 호르몬 수용체, 예를 들어, 안드로겐 수용체 (AR), 미네랄로코르티코이드 수용체 (MR), 및 프로게스테론 수용체 (PR)가 GR과 상동성인 리간드-결합 도메인을 갖는다는 사실에 의해 방해된다. 그 결과, GR 리간드는 이들 다른 수용체와의 교차 반응성에 대한 잠재성을 갖는다. 따라서, 스테로이드 글루코코르티코이드에 대한 대체물의 바람직한 특성은 대체물이 다른 스테로이드 호르몬 수용체에 비하여 더 큰 친화성으로 GR에 결합되는 것이다.
- <5> 최근의 연구는 글루코코르티코이드 치료와 관련된 부작용을 유도하는 그의 경향과 대비하여 강력한 항염증 특성을 갖는 GR 리간드를 확인할 기회를 제공하였다. 글루코코르티코이드는 전염증성 단백질, 예컨대 인터루킨-6 (IL-6) 및 종양 괴사 인자-알파 (TNF $\alpha$ )의 내인성 생성을 억제하는 것으로 오랫동안 공지되어 왔다. 중요하게는, GR의 DNA 결합 독립적 작용을 통해 선택적으로 작용하는 리간드는 염증성 질환의 치료를 충족시키는 것으로 보고되었다 (문헌 [Reichardt 등, *EMBO J.*, 20: 7168-7173 (2001)]). 또한, 글루코코르티코이드 치료의 다수의 부작용 (예를 들어, 고혈당증, 진성 당뇨병, 녹내장, 및 근 위축)은 GR이 DNA에 결합된 이후 트랜스활성 메커니즘에 의해 매개되는 것으로 보고되어 있다 (문헌 [Shacke 등, *Pharmacol. & Therap.*, 96(1): 23-43 (2002)]을 참고하라). 따라서, GR 매개의 트랜스억제를 GR 매개의 트랜스활성과 구별할 수 있는 작용제가 특히

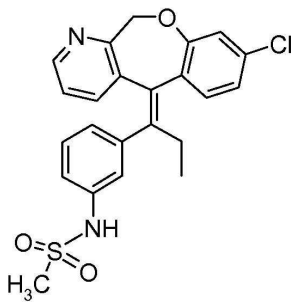
바람직하다. 더 나아가, 다른 스테로이드 호르몬 수용체의 전사 활성을 조절하는 (즉, 효능 작용, 부분적 효능 작용, 부분적 길항 작용, 또는 길항 작용을 하는) 제한된 능력을 나타내는 작용제가 또한 특히 바람직하다.

<6> 따라서, 본 발명의 목적은 다른 스테로이드 호르몬 수용체에 비하여 더 큰 친화성으로 GR에 결합되는 작용제를 제공하는 것이다. 더 구체적으로, 본 발명의 목적은 AR, MR, 및 PR에 비하여 30 배 더 큰 친화성으로 GR에 결합되는 작용제를 제공하는 것이다. 본 발명의 또다른 목적은 글루코코르티코이드 치료와 관련된 부작용을 유도하는 이의 경향과 대비하여 강력한 항염증 특성을 갖는 작용제를 제공하는 것이다. 더 구체적으로, 본 발명의 목적은 골 손실 또는 골다공증을 유도하는 이의 경향과 대비하여 강력한 항염증 특성을 갖는 작용제를 제공하는 것이다. 본 발명의 또다른 목적은 다른 스테로이드 호르몬 수용체의 활성을 조절하는 제한된 능력을 나타내는 작용제를 제공하는 것이다.

<7> 트리시클릭 GR 조절제는 종래 기술에서 공지되어 있다. 예를 들어, WO 04/052847은 미네랄코르티코이드 수용체 또는 글루코코르티코이드 수용체 조절에 영향을 받는 장애의 치료에 유용한 트리시클릭 스테로이드 호르몬 수용체 조절제의 종류를 개시한다. WO 99/33786은 글루코코르티코이드 수용체에 결합되어 항염증 특성을 갖는 트리페닐프로판아미드 유도체 화합물을 개시한다.

<8> [발명의 개요]

<9> 본 명세서에서 하기 화합물 (I)로서 제시된, WO 04/052847의 범위로부터 그에 속하는 화합물을 선택함으로써, 스테로이드 글루코코르티코이드에 반응성인 염증성 장애 및 면역 장애의 치료에 특히 유용한 것임을 나타내는 특정 활성 프로파일을 갖는 신규한 치료제가 확인되었음이 본 발명에 이르러 밝혀졌다. 따라서, 본 발명은 화합물 (I) 또는 이의 약제학적 허용염을 제공한다:



화합물 (I)

<10>

<11> ((E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리텐)-프로필]-페닐}-메탄설포나미드)

<12> 구체적 실시양태로서, 본 발명은 결정형의 화합물 (I)을 제공한다.

<13> 또다른 실시양태에서, 본 발명은 화합물 (I), 또는 이의 약제학적 허용염의 유효량을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 염증성 장애 또는 면역 장애, 특히 류마티즘성 관절염의 치료 방법을 제공한다.

<14> 또다른 실시양태에서, 본 발명은 염증성 장애 또는 면역 장애, 특히 류마티즘성 관절염의 치료를 위한 약제의 제조를 위한, 화합물 (I), 또는 이의 약제학적 허용염의 용도를 제공한다. 또한, 본 발명은 치료에 사용하기 위한 화합물 (I), 또는 이의 약제학적 허용염을 제공한다.

<15> 또다른 실시양태에서, 본 발명은 1종 이상의 약제학적 허용 담체, 부형제, 또는 희석제와 함께, 화합물 (I), 또는 이의 약제학적 허용염을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 바람직한 실시양태로서, 본 발명은 1종 이상의 약제학적 허용 담체, 부형제, 또는 희석제와 함께, 화합물 (I), 또는 이의 약제학적 허용염을 포함하는, 류마티즘성 관절염의 치료를 위한 약제학적 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 또한 화합물 (I)의 합성을 위한 신규한 중간체 및 방법을 제공한다.

### 발명의 상세한 설명

<16> 본 발명은 스테로이드 글루코코르티코이드에 반응성인 염증성 장애 및 면역 장애의 치료에 특히 유용하도록 하는 활성 프로파일을 갖는 화합물 (I)을 제공한다. 시험관내 및 생체내 시험에 의해 증명된 바와 같이, 화합물 (I)은 다른 스테로이드 호르몬 수용체에 비하여 더 큰 친화성으로 GR에 결합하고, 글루코코르티코이드 치료와 관련된 부작용을 유도하는 이의 경향과 대비하여 강력한 항염증 특성을 나타낸다. 또한, 화합물 (I)은 다른 스테로이드 호르몬 수용체 AR, MR, 및 PR의 활성을 조절하는 데는 단지 제한된 능력을 나타낸다. 더욱이, 화합물

(I)은 본원에서 더 기술되는 바와 같이, 또다른 추가의 기술적 효과 또는 유리한 특성을 가져서, 환자 치료 및 약제 개발의 분야에서의 다른 문제점을 해결한다.

<17> 본 발명은 또한 스테로이드 글루코코르티코이드에 반응성인 염증성 장애 및 면역 장애의 치료를 위한 화합물 (I)의 용도를 제공한다. 상기 장애로서, 예를 들어, 류마티즘성 관절염, 골관절염, 류마티즘 열, 천식, 알레르기성 비염, 전신 홍반성 루푸스, 만성 폐쇄성 폐질환, 크론병, 염증성 장질환, 및 궤양성 대장염을 들 수 있다. 화합물 (I)이 유용한 특정 장애는 류마티즘성 관절염이다. 류마티즘성 관절염 (RA)은 발병의 전형적인 연령이 30 내지 50 세 사이인, 지속성 관절 윤활 조직 염증을 특징으로 하는 만성 장애이다. RA는 염증성 관절염의 가장 일반적인 형태이고, 이의 유병률은 전세계 인구의 약 0.8%로 추정되며, 여성은 상기 질환이 발생할 가능성이 남성의 2 배이다 (문헌 [Rindfleisch 등, *Am. Fam. Physician*, 72(6): 1037-1047 (2005)]).

<18> 염증성 장애 및 면역 장애의 치료를 위한 화합물 (I)의 사용은 또한 글루코코르티코이드 치료와 전형적으로 관련된 부작용의 경향, 가능성, 또는 빈도의 감소와 관련되는 것으로 생각된다. 글루코코르티코이드 치료의 하나의 상기 부작용은 골 손실/골다공증 또는 글루코코르티코이드 유도의 골다공증 (GIPO)이다. GIPO는 약물 유도의 골다공증의 가장 일반적인 원인이며, 만성 (즉, 6 개월보다 더 오래 지속되는) 글루코코르티코이드 치료를 받는 환자 중에 50%까지 나타나는 것으로 보고되었다 (문헌 [Feldstein 등, *Osteoporos. Int.*, 16: 2168-2174 (2005)]). 특히, 화합물 (I)의 사용은 골 손실 또는 골다공증의 경향, 가능성, 또는 빈도의 감소와 관련된 것으로 생각된다.

<19> 달리 정의하지 않는 한, 본 발명은 화합물 (I)의 약제학적 허용염 뿐만 아니라 화합물 (I)의 유리 염기 또는 이의 약제학적 허용염의 용매화물도 포함한다. 본원에서 사용된 용어 "약제학적 허용염"은 살아있는 유기체에게 실질적으로 무독성인 화합물 (I)의 염을 일컫는다. 약제학적 허용염 및 이의 제조 방법의 예는 종래 기술에서 통상적이다. 예를 들어, 문헌 [Stahl 등, "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use", VCHA/Wiley-VCH, (2002); [Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs", *International Journal of Pharmaceutics*, 33: 201-217 (1986)]; 및 [Bastin 등 "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities", *Organic Process Research and Development*, 4: 427-435 (2000)]을 참고하라. 염화수소 염, 브롬화수소 염, 및 헤미설페이트 염이 특히 언급되나, 화합물 (I)의 유리 염기가 바람직함이 이해될 것이다.

<20> 본원에서 사용된 용어 "환자"는 인간 또는 비인간 포유동물, 예컨대 개, 고양이, 소, 원숭이, 말, 또는 양을 일컫는다. 더 구체적으로, 용어 "환자"는 인간을 일컫는다. 본원에서 사용된 용어 "치료하는" (또는 "치료한다" 또는 "치료")은 증상 또는 장애의 진행 또는 심각성을 방해, 예방, 억제, 지연, 정지, 또는 역전시키는 것을 포함한다.

<21> 화합물 (I), 또는 이의 약제학적 허용염은 투여를 위해 약제학적 조성물의 일부로서 제형화될 수 있다. 이로써, 1종 이상의 약제학적 허용 염체, 부형제, 또는 희석제와 함께, 화합물 (I), 또는 이의 약제학적 허용염을 포함하는 약제학적 조성물은 본 발명의 중요한 실시양태이다. 약제학적 조성물 및 이의 제조 방법의 예는 종래 기술에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY, A. Gennaro, 등, eds., 19<sup>th</sup> ed., Mack Publishing (1995)]을 참고하라. 화합물 (I)을 포함하는 예시적 조성물로서, 예를 들어, 1% 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 0.25% 폴리소르베이트 80, 및 0.05% 소포제 1510<sup>TM</sup> (다우 코닝 (Dow Corning))을 갖는 현탁액 중의 화합물(I); 1% 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 0.25% 폴리소르베이트 80, 및 0.05% 소포제 1510을 갖는 나노현탁액 중의 화합물 (I); 및 0.01N HCl 중의 0.5% 메틸셀룰로오스, 1% 나트륨 라우릴 설페이트, 및 0.1% 소포제 1510을 갖는 현탁액 중의 화합물 (I)을 들 수 있다. 화합물 (I)을 포함하는 특정 조성물은 하기에 제시되어 있다:

<22>

경구 용액으로 제형화된 화합물 (I)	
성분	농도
화합물 (I)	0.1 mg/mL
HP-β-CD	10% (w/v)
박하 향미제	0.03% (v/v)
물 관류	100% 까지

<23> 예를 들어, 50.0 g의 히드록시프로필-β-시클로덱스트린 (HP-β-CD) (로케트 (Roquette))을 500 mL 비커에 첨가하고, 이어서 대략 400 mL의 관류용 물을 첨가하고, 혼합물을 약 30 분 동안 자기적으로 교반하여 HP-β-CD를



용해시킨다. 50.0 mg의, 특히 미세화된 형태의 화합물 (I)을 HP- $\beta$ -CD 용액에 첨가하고, 혼합물을 덮고 지속적으로 교반하여 (대략 2 시간) 화합물을 용해시킨다. 박하 향미제 (0.15 mL)를 지속적으로 교반하면서 혼합물에 첨가하여 향미제를 분산시킨다. 용액을 부피 플라스크로 옮기고 추가의 관류용 물을 첨가하여 최종 부피 500 mL가 되게 한다.

<24>

경구 현탁 비히클 중에 제형화된 화합물 (I)	
현탁 비히클 성분	농도
메토셀 (Methocel) E5-LV	1.5% (w/v)
소르비톨 액체	10% (w/v)
사카린나트륨	0.08% (w/v)
트윈 (Tween) 80	0.25% (w/v)
소포제 1510	0.05% (v/v)
박하 향미제	0.03% (v/v)
관류용 물	100% 까지

<25>

예를 들어, 1.25 g의 트윈 80 (플루카 (Fluka))을 500 mL 비커에 첨가하고, 이어서 7.5 g의 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 (메토셀 E5-LV, 컬러콘 (Colorcon)) 및 0.4 g의 사카린나트륨 (시그마 (Sigma))을 첨가한다. 대략 300 mL의 관류용 물을 비커에 첨가하고, 혼합물을 덮고 내용물이 완전히 용해될 때까지 자기적으로 교반한다. 50.0 g의 소르비톨 액체 (플루카)를 100 mL 비커로 계량한 후 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 용액에 첨가한다 (100 mL 비커를 물로 세정하고 세정액을 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 용액에 첨가한다). 0.15 mL의 박하 향미제를 교반하면서 혼합물에 첨가하고 이어서 0.25 mL의 소포제 1510 (다우 코닝)을 약 10 분 동안 교반하면서 첨가한다. 그 후 용액을 500 mL 부피 플라스크로 옮기고 추가의 관류용 물을 첨가하여 최종 부피 500 mL가 되게 한다. 그 후 최종 현탁 비히클을 사용할 준비가 될 때까지 스크류 캡의 병 내에 밀봉한다.

<26>

화합물 (I)을 함유하는 현탁액을 제조하기 위해, 요구량의 화합물 (I) (예를 들어, 1 ~ 200 mg, 특히 미세화된 형태)을 먼저 새로운 병에 첨가한다. 벌크 현탁 비히클을 가볍게 진탕한 후 10 mL의 비히클을 화합물 (I)을 함유하는 병에 첨가한다. 그 후 병을 밀봉하고 격렬하게 진탕하여 화합물을 분산시킨 후, 사용 전에 약 1 분 동안 정치시킨다. 대안으로, 요구량의 화합물 (I)을 10 mL의 현탁 비히클을 함유하는 새로운 병에 첨가한 후, 앞서 기술한 바와 같이 병을 밀봉하고 진탕할 수 있다.

<27>

그러나, 본 발명의 바람직한 조성물은 캡슐 또는 정제로 제형화된 화합물 (I), 또는 이의 약제학적 허용염을 포함함이 이해될 것이다.

<28>

화합물 (I), 또는 화합물 (I)을 포함하는 조성물은 화합물 (I)을 생체 이용가능하게 하는 임의의 경로, 예컨대 경구 및 비경구 경로에 의해 투여될 수 있다. 예를 들어, 화합물 (I), 또는 화합물 (I)을 포함하는 조성물은 경구, 피하, 근육내, 정맥내, 경피, 국소, 비내, 직장, 협측 등으로 투여될 수 있다. 대안으로, 화합물은 연속 주입에 의해 투여될 수 있다. 그러나, 경구 투여가 바람직한 투여 경로인 것으로 이해된다.

<29>

본원에서 사용된 용어 "유효량"은, 환자에 대한 단위 또는 복수회 용량의 투여시, 화합물 (I)의 양 또는 용량이 진단 또는 치료를 받은 환자에 있어서 목적하는 효과를 제공함을 일컫는다. 유효량은 당업자, 주치 진단의가 다수의 인자, 예컨대 포유동물의 종; 이의 크기, 연령, 및 일반적 건강; 관련된 특정 질환; 질환의 정도 또는 심각성; 개별 환자의 반응; 투여된 특정 화합물; 투여 방식; 투여된 제제의 생체이용률 특성; 선택된 투여 요법; 및 임의의 부수적 약제의 사용을 고려함으로써 쉽게 결정할 수 있다. 어떠한 방식으로든 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안되나, 1 ~ 200 mg/일이 화합물 (I)의 전형적인 유효량을 대표한다.

<30>

생물학적 활성:

<31>

화합물 (I)은 시험관내 시험에 있어서 이것이 전통적인 글루코코르티코이드에 반응성인 염증성 장애 및 면역 장애의 치료에 특히 적절한 것임을 나타내는 특정 활성 프로파일을 갖는다. 예를 들어, 인간 GR, MR, AR 및 PR을 발현하는 HEK293 세포에서 수행된 방사선 표지된 리간드 결합 연구에 있어서, 화합물 (I)은 약 0.50 nM 미만의  $K_i$ 로 GR에 결합된다. 더욱이, 화합물 (I)은 MR, AR, 및 PR 각각에 비하여 약 30 배 이상 더 큰 친화성으로 GR에 결합된다. 인간 피부 섬유아세포 CCD-39 SK 세포 및 U937 단핵구에서 수행된, 전 세포 글루코코르티코이드 수용체 매개의 트랜스액체 어세이에서, 화합물 (I)은 IL-6 및 TNF $\alpha$ 의 내인성 생성의 강력하고 완전한 트랜스액체제이다 (약 90% 초과와 최대 억제율). 중요하게는, GR 매개의 트랜스활성의 기능적 어세이에서, 화합물 (I)은 GR/GRE 매개의 유전자 전사를 유도하는 데 있어서 단지 부분적 효능제 활성을 나타낸다 (약 50% 미만의 최대

효능). 따라서, 화합물 (I)은 완전한 GR 매개의 트랜스억제를 유도하면서도, GR/GRE 매개의 트랜스활성은 단지 부분적으로 유도함으로써 특수화된 프로파일을 나타낸다. 더욱이, 다른 스테로이드 수용체의 기능적 조절에 대한 효과를 검사하는 어세이에서, 화합물 (I)은 AR, MR, 및 PR에 의해 매개된 유전자 발현을 조절하는 데 있어서 단지 제한된 활성을 나타낸다.

<32> 화합물 (I)의 효과를 스테로이드 글루코코르티코이드와 비교하는, 염증의 급성 및 만성 동물 모델 모두에 있어서, 화합물 (I)은 강력한 항염증 특성을 나타낸다. 예를 들어, 카라기닌 유도의 발 부종 (CPE)의 급성 래트 모델에 있어서, 화합물 (I)은, 경구 투여시, 용량 의존적으로 카라기닌 유도의 발 부종을 억제하고, 염증 반응 동안 생성되는 사이토카인인 인터루킨-1-베타 ( $IL-1\beta$ )의 생성을 억제한다. 상기 결과는 프레드니솔론에 의해 유도된 결과에 필적하며, 프레드니솔론에 의해 유도된 결과는 유사한 조건 하에 약 5 배 덜 강력하였다.

<33> 반대로, 화합물 (I)은, 골 형성의 동물 모델로 검사했을 때, GR 매개의 골 효과를 유도하는 경향이 감소되는 것으로 나타났다. 예를 들어, 화합물 (I)의 효과를 프레드니솔론과 비교하는 마우스 혈청 오스테오칼신 어세이에서 (염증의 동물 모델에서 화합물 (I) 및 프레드니솔론에 대한 각각의 ED50 값에 근사한 투여량으로), 화합물 (I)은 골 형성의 식별된 마커인, 혈청 오스테오칼신의 생성에 있어서 더 적은 감소를 유도한다.

<34> 전문한 시험관내 및 생체내 동물 모델에 대한 전형적인 절차는 하기에 제공된다. 본원에서 사용된 "Kd"는 리간드-수용체 복합체에 대한 평형 해리 상수를 일컬으며; "Ki"는 약물-수용체 복합체에 대한 평형 해리 상수를 일컬고, 이는 평형시 결합 부위의 절반에 결합될 약물의 농도를 나타내고; "IC50"은 작용제에 대하여 가능한 최대 억제 반응의 50%를 일으키는 작용제의 농도, 또는 대안으로, 수용체에 결합되는 리간드의 50%의 치환을 일으키는 작용제의 농도를 일컬고; "EC50"은 작용제에 대하여 가능한 최대 반응의 50%를 일으키는 작용제의 농도를 일컬으며; "ED50"은 작용제에 대한 최대 반응의 50%를 일으키는 투여된 치료제의 용량을 일컫는다.

<35> 핵 호르몬 수용체 결합 어세이:

<36> 인간 GR (글루코코르티코이드 수용체), AR (안드로겐 수용체), MR (미네랄로코르티코이드 수용체), 또는 PR (프로게스테론 수용체)을 과다발현하는 인간 배아 신장 HEK293 세포로부터의 세포 용해물을, Ki 값을 측정하기 위한 수용체-리간드 경쟁 결합 어세이에 이용한다.

<37> 간략히, 스테로이드 수용체 경쟁 결합 어세이를, 20 mM의 Hepes 완충제 (pH = 7.6), 0.2 mM의 EDTA, 75 mM의 NaCl, 1.5 mM의  $MgCl_2$ , 20%의 글리세롤, 20 mM의 나트륨 몰리브데이트, 0.2 mM의 DTT (디티오프레이톨), 20  $\mu$ g/mL의 아프로티닌 및 20  $\mu$ g/mL의 루팍틴을 함유하는 완충제 중에서 수행한다. 전형적으로, 스테로이드 수용체 결합 어세이는 방사선 표지된 리간드, 예컨대 GR 결합의 경우 0.3 nM의 [ $^3H$ ]-텍사메타손, AR 결합의 경우 0.36 nM의 [ $^3H$ ]-메틸트리에놀론, MR 결합의 경우 0.25 nM의 [ $^3H$ ]-알도스테론, 및 PR 결합의 경우 0.29 nM의 [ $^3H$ ]-메틸트리에놀론, 및 웰당 20  $\mu$ g의 293-GR 용해물, 22  $\mu$ g의 293-AR 용해물, 20  $\mu$ g의 293-MR 용해물 또는 40  $\mu$ g의 293-PR 용해물을 포함한다. 어세이는 전형적으로 96 웰 포맷으로 수행된다. 경쟁 시험 화합물을 약 0.01 nM 내지 10  $\mu$ M 범위의 각종 농도로 첨가한다. 비특이적 결합을, GR 결합의 경우 500 nM의 텍사메타손, MR 결합의 경우 500 nM의 알도스테론, 또는 AR 및 PR 결합의 경우 500 nM의 메틸트리에놀론의 존재 하에 측정한다. 결합 반응물 (140  $\mu$ L)을 4°C에서 밤새 인큐베이션한 후, 70  $\mu$ L의 저온 차콜-텍스트란 완충제 (50 mL의 어세이 완충제당, 0.75 g의 차콜 및 0.25 g의 텍스트란을 함유함)를 각 반응물에 첨가한다. 플레이트를 오비탈 진탕기 (orbital shaker)로 4°C에서 8 분 동안 혼합한다. 그 후 플레이트를 3,000 rpm에서 4°C에서 10 분 동안 원심분리한다. 그 후 결합 반응 혼합물의 120  $\mu$ L의 분액을 또다른 96 웰 플레이트로 옮기고 175  $\mu$ L의 왈락 옵티페이스 하이세이프 (Wallac Optiphase Hisafe) 3™ 섬광 유체를 각 웰에 첨가한다. 플레이트를 밀봉하고 오비탈 진탕기로 격렬하게 진탕한다. 2 시간의 인큐베이션 이후, 플레이트를 왈락 마이크로베타 계수기로 관독한다.

<38> 상기 데이터를 이용하여, 추정된 IC50 및 10  $\mu$ M에서의 억제율 (백분율)을 계산한다. GR 결합의 경우 [ $^3H$ ]-텍사메타손, AR 결합의 경우 [ $^3H$ ]-메틸트리에놀론, MR 결합의 경우 [ $^3H$ ]-알도스테론, 또는 PR 결합의 경우 [ $^3H$ ]-메틸트리에놀론에 대한 Kd를 포화 결합에 의해 측정한다. 화합물에 대한 IC50 값을 첵-프루소프 (Cheng-Prusoff) 방정식을 이용하여 Ki로 전환한다.

<39> 상기 기술한 것과 유사한 결합 어세이 프로토콜이 당업자에 의해 쉽게 고안될 수 있다. 본질적으로 상기 기술한 것과 같은 절차 이후, 화합물 (I)은 하기 수용체 결합 프로파일을 나타내었다:

<40>

GR Ki (nM)	AR Ki (nM)	MR Ki (nM)	PR Ki (nM)
0.35	16.20	116.76	31.00
(Ki 값은 5 개의 개별 측정치의 평균치를 나타냄)			

<41>

본 발명의 화합물이 스테로이드 호르몬 수용체의 활성을 조절하는 (즉, 효능 작용, 부분적 효능 작용, 부분적 길항 작용, 또는 길항 작용을 하는) 능력을 증명하기 위하여, 핵 수용체 단백질 및 호르몬 반응 요소-리포터 유전자 구축물로 일시적으로 트랜스펙션된 세포에서 표적 유전자 발현의 기능적 조절을 검출하는 바이오어세이를 수행하였다. 기능적 어세이에 이용되는 용매, 시약, 및 리간드는 상업적 공급원으로부터 쉽게 이용가능하거나, 또는 당업자에 의해 제조될 수 있다.

<42>

핵 호르몬 수용체 기능 조절 어세이:

<43>

인간 배아 신장 HEK293 세포를 퓨진™ (Fugene™) (로쉐 다이그나노스틱스 (Roche Diganostics)) 트랜스펙션 시약을 이용하여 스테로이드 호르몬 수용체 및 리포터 유전자 플라스미드로 트랜스펙션한다. 간략히, 루시페라제 리포터 cDNA의 업스트림에 프로바신 ARE (안드로겐 반응 요소 5'GGTCTTGGAGTACT3' (서열: 1)) 및 TK (티미딘 키나아제) 프로모터의 2 개의 카피를 함유하는 리포터 플라스미드를, 바이러스 CMV (사이토메갈로바이러스) 프로모터를 이용하여 인간 안드로겐 수용체 (AR)를 구성적으로 발현하는 플라스미드를 갖는 HEK293 세포에 트랜스펙션한다. 루시페라제 리포터 cDNA의 업스트림에 GRE (글루코코르티코이드 반응 요소 5'TGTACAGGATGTCT'3 (서열:2)) 및 TK 프로모터의 2 개의 카피를 함유하는 리포터 플라스미드를, 바이러스 CMV 프로모터를 이용하여 인간 글루코코르티코이드 리포터 (GR), 인간 미네랄코르티코이드 리포터 (MR), 또는 인간 프로게스테론 수용체 (PR)를 구성적으로 발현하는 플라스미드로 트랜스펙션한다. 세포를 5% 차콜 스트리핑된 소 태아 혈청 (FBS)을 갖는 DMEM 배지 중의 T150 cm 플라스크 중에서 트랜스펙션한다. 밤새 인큐베이션한 후, 트랜스펙션된 세포를 트립신 처리하고, 5% 차콜 스트리핑된 FBS를 함유하는 DMEM 배지 중의 96 웰 접시에 플레이팅하고, 4 시간 동안 인큐베이션한 후 약 0.01 nM 내지 10 μM 범위의 각종 농도의 시험 화합물에 노출시킨다. 어세이를 위한 길항제 방식에서, 각각의 수용체에 대한 낮은 농도의 효능제를 배지에 첨가하고 (GR의 경우 0.25 nM의 텍사메타손, AR의 경우 0.3 nM의 메틸트리에놀론, PR의 경우 0.05 nM의 프로메게스톤 및 MR의 경우 0.05 nM의 알도스테론), 시험 화합물이 효능제 반응에 길항 작용하는 능력을 측정한다. 시험 화합물과 함께 24 시간 인큐베이션한 후, 세포를 용해하고 표준 기술을 이용하여 루시페라제 활성을 측정한다.

<44>

데이터를 4 개 파라미터-피트 (fit) 로지스틱 피트에 맞추어 EC50 값을 측정한다. 효능 (%) (포화된 최대 반응을 갖는 화합물) 또는 최대 자극 (%) (포화되지 않는 최대 반응을 갖는 화합물)을 하기 기준 효능제에 의해 수득된 최대 자극에 비하여 측정한다: AR 어세이의 경우 100 nM의 메틸트리에놀론, PR 어세이의 경우 30 nM의 프로메게스톤, MR 어세이의 경우 30 nM의 알도스테론 및 GR 어세이의 경우 100 nM의 텍사메타손. 길항제 방식의 어세이 데이터를 이용하여 IC50 값을 유사하게 측정할 수 있다. 억제율 (%)을 또한, 상기 기술한 바와 같이, 효능제 단독의 존재 하의 반응과 비교하여 측정할 수 있다.

<45>

상기 기술한 것과 유사한 핵 호르몬 수용체 조절에 대한 기능 어세이가 당업자에 의해 쉽게 고안될 수 있다. 본질적으로 상기 기술한 바와 같은 절차 이후, 화합물 (I)은 인간 GR, 인간 AR, 인간 MR 및 인간 PR에 의해 매개되는 전사의 활성화에 있어서 하기 프로파일을 나타내었다:

<46>

GR		AR		MR		PR	
EC50 (nM)	효능 (%) *	EC50 (nM)	효능 (%) *	EC50 (nM)	효능 (%) *	EC50 (nM)	효능 (%) *
1.9	45.7	nd	2.4	nd	8.5	nd	40.1
"nd"는 값이 10 μM 초과임을 나타냄							
* 10 μM에서의 효능 (%)							
(EC50 및 효능 (%)은 3 개의 개별 측정치의 평균치를 나타냄)							

<47>

글루코코르티코이드 수용체 매개의 트랜스역제 어세이:

<48>

1. 인간 피부 섬유아세포 CCD-39SK 세포에서 IL-1β 자극에 의한 IL-6의 생성:

<49>

간략히, 미국, 버지니아주, 마나사스 소재의 미국 미생물 보존 센터 (ATCC)로부터 입수한 인간 피부 섬유아세포 CCD-39SK 세포 (20,000 세포/웰) (ATCC 카탈로그 # CRL-1501)를, 10% 소 태아 혈청 (FBS), 100 U/mL의 페니실



린, 100  $\mu\text{g/mL}$ 의 스트렙토마이신 및 2  $\text{mmol/L}$ 의 L-글루타민으로 보충된, SF-GM (MEM) 배지 (ATCC 카탈로그 # 30-20030) 중의 96 웰 플레이트에 접종한다. 세포를 5%의  $\text{CO}_2$ 를 갖는 가슴 챔버 내에서  $37^\circ\text{C}$ 에서 유지한다. 시험 화합물을 최종 농도 약 4.65 pM 내지 4.64  $\mu\text{M}$  범위의 각종 농도로 웰에 첨가한다. 0.1  $\mu\text{M}$ 의 텍사메타손을 양성 대조군으로서 사용한다. 시험 화합물로 처리한지 1 시간 이후, IL-1 $\beta$ 를 최종 농도 1 ng/mL로 첨가하고 반응 혼합물을 밤새 인큐베이션한다. IL-6 농도를 표준 기술을 이용하여 ELISA 키트 (미국, 미네소타주, 미네아폴리스 소재의 R&D 시스템스, 인코포레이티드 (R&D Systems, Inc.))에 의해 측정한다. 간략히, 각 웰로부터 10  $\mu\text{L}$ 의 상청액을 취하고 90  $\mu\text{L}$ 의 어세이 완충제를 첨가한다. 450 nm에서의 흡광도를 판독함으로써 IL-6 농도를 정량한다. IL-6 농도에 대한 흡광도의 표준 곡선을 구축하고 이를 이용하여 실험 샘플 중의 IL-6의 농도를 측정한다.

<50> 2. PMA 분화된 U937 세포에서 LPS 자극에 의한 TNF- $\alpha$ 의 생성:

<51> 인간 U937 전-단핵구 세포 (ATCC 카탈로그 # CRL-1593.2)를 10% 소 태아 혈청 (FBS)을 함유하는 완전 RPMI 1640 배지 (ATCC 카탈로그 # 30-2001) 중에서 증식시킨다. 단핵구가 유착성 대식구로 분화되게 하기 위하여, U937 세포를 PBS (칼슘, 마그네슘 없음)로 세정하고, 20 nM의 포르볼 12-미리스테이트-13-아세테이트 (PMA)를 함유하는 새로운 RPMI 배지에 밤새 재현탁시킨다. 분화 이후, 시험 화합물을 약 4.65 pM 내지 4.64  $\mu\text{M}$  범위의 각종 농도로 96 웰 플레이트 중의 세포에 첨가한다. 시험 화합물로 처리한지 1 시간 이후, LPS를 100 ng/mL의 최종 농도로 첨가하고, 반응 혼합물을 밤새 인큐베이션한다.

<52> TNF- $\alpha$  생성을 표준 기술을 이용하여 ELISA 키트 (미국, 미네소타주, 미네아폴리스 소재의 R&D 시스템스, 인코포레이티드)에 의해 측정한다. 간략히, 25  $\mu\text{L}$ 의 무세포 상청액을 또다른 96 웰 플레이트로 옮기고, 75  $\mu\text{L}$ 의 어세이 완충제를 첨가한다. 450 nm에서의 흡광도를 판독함으로써 TNF- $\alpha$ 를 정량한다. TNF- $\alpha$  농도에 대한 흡광도의 표준 곡선을 구축하고 이를 이용하여 실험 샘플 중의 TNF- $\alpha$ 의 농도를 측정한다.

<53> 본질적으로 상기 기술한 바와 같은 절차 이후, 화합물 (I)은 IL-6 및 TNF- $\alpha$ 의 내인성 발현의 약 90% 이상의 최대 억제율을 유도하며 각각 약 4.8 및 30 nM의  $\text{EC}_{50}$  값을 갖는다 (IL-6 어세이로부터의 데이터는 22 개의 개별 측정치의 평균치를 나타내고; TNF- $\alpha$  어세이로부터의 데이터는 6 개의 개별 측정치의 평균치를 나타냄).

<54> 동물 모델:

<55> 1. 카라기닌 유도의 발 부종 (CPE) 모델

<56> 카라기닌은 동물에서 급성 염증 반응을 유도할 수 있는 다당류의 기이다. 부종, 통각과민 및 홍반을 비롯한 염증의 주요한 징후가 주사 직후 주사 부위에서 나타난다. CPE 모델 (문헌 [Winter 등, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111, 544-547, 1962])이 승인된 염증 모델이고, 이를 이용하여 글루코코르티코이드 수용체 리간드의 항염증 효과를 평가할 수 있다.

<57> 화합물 (I)의 항염증 효과를 평가하기 위하여, 화합물 (I)을 0.5%의 카르복시메틸 셀룰로오스 및 0.25%의 트윈 80을 포함하는 비히클 중에 제형화한 후 위관영양법을 통해 수컷 스프래그-다워리 (Sprague-Dawley) 래트 (180 ~ 200 g) (인디애나주, 인디애나폴리스 소재의 할란 인더스트리스 (Harlan Industries))에게 경구 투여한다. 비교를 위하여, 프레드니솔론을 동일한 비히클로 경구 투여한다. 2 시간 이후, 0.9%의 발열원이 없는 식염수 50  $\mu\text{L}$  중의 1%의 카라기닌을 우측 뒷발의 발바닥 아래 부위에 주사한다. 카라기닌을 주사한지 3 시간 이후  $\text{CO}_2$ 에 의해 래트를 안락사시킨다. 발을 제거한 후 미량 천칭을 이용하여 계량한다. 그 후 발을 즉시 액체 질소 내에 냉동될 때까지 침지시킨다. 발 표면 상에 여러 개의 벤 상처를 만들어 냉동된 발을 절개한 후 원심분리하여 삼출액을 추출한다. 염증 반응 동안 생성되는 사이토카인, IL-1 $\beta$ 의 삼출액 수준을 그 후 표준 기술을 이용하여 ELISA (R&D 시스템스, 인코포레이티드, 카탈로그 번호 RLB00)에 의해 측정한다. 총 발 단백질을 또한 단백질 어세이 키트 (미국, 일리노이주, 록포드 소재의 피어스 바이오테크놀로지, 인코포레이티드 (Pierce Biotechnology, Inc.), 카탈로그 번호 1856210)를 이용하여 측정하고, IL-1 $\beta$ 의 절대적 수준을 정규화하여 총 단백질 mg당 IL-1 $\beta$  ng의 농도 값을 산출한다.

<58> 화합물 (I)은 카라기닌 유도의 발 중량 증가를 약 1.2 mg/kg의  $\text{ED}_{50}$ 으로 억제한다. 화합물 (I)은 또한 IL-1 $\beta$ 의 발 삼출액 수준을 약 0.31 mg/kg의  $\text{ED}_{50}$ 으로 감소시킨다. 반대로, 상기 모델에서 프레드니솔론 처리는 발 중량 증가를 약 6.6 mg/kg의  $\text{ED}_{50}$ 으로 억제하며, IL-1 $\beta$  수준을 약 1 mg/kg 미만의  $\text{ED}_{50}$ 으로 감소시킨다 ( $\text{ED}_{50}$  값은 5 개의 개별 측정치의 평균치를 나타냄).

<59> 2. 혈청 오스테로칼신 어세이

- <60> 골 손실/골다공증 및 그 결과 골절 위험의 증가는 글루코코르티코이드 치료로부터 발생하는 통상의 중대한 부작용이다. 글루코코르티코이드 유도의 골다공증은, 적어도 부분적으로, 골 형성의 억제로부터 발생하는 것으로 생각된다. 골 합성의 생물학적 마커인, 혈청 오스테오칼신의 측정은 골에 대한 글루코코르티코이드 치료의 부작용을 평가하는 승인된 도구이다 (문헌 [Pearce 등, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83: 801-806, (1998)]을 참고하라).
- <61> 화합물 (I)이 골 형성에 미치는 효과를 평가하기 위하여, 화합물 (I)을 5%의 카르복시메틸 셀룰로오스 및 0.25%의 트윈 80을 포함하는 비히클 중에 제형화하고 위관영양법을 통해 16 주령 수컷 스위스-웹 (Swiss-Web) 마우스 (인디애나주, 인디애나폴리스 소재의 할란 인더스트리스)에게 7 일 동안 경구 투여한다. 비교를 위하여, 프레드니솔론을 동일한 비히클로 경구 투여한다. 마지막으로 투여한지 24 시간 이후 혈청을 수집하고, 96 웰 포맷으로 수정된 경쟁적 방사선면역어세이 (RIA) 키트 (매사추세츠주, 스토우톤 소재의 바이오메디컬 테크놀로지스, 인코포레이티드 (Biomedical Technologies, Inc.))를 이용하여 오스테오칼신 수준을 측정한다. 간략히, 2.5  $\mu$ L의 마우스 혈청, 2.5  $\mu$ L의 염소 항-마우스 오스테오칼신, 0.625  $\mu$ L의 정상 염소 혈청, 및 119.375  $\mu$ L의 RIA 완충제 (0.1225 M의 NaCl, 0.01 M의  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 7.4, 0.025 M의 테트라 나트륨 EDTA, 0.1% (w/v) BSA, 및 0.1% (w/v) 트윈-20)를 함유하는 멀티스크린™ (Multiscreen™) 플레이트 (MAHV N45, 매사추세츠주, 베드포드 소재의 밀리포어 (Millipore))의 각 웰을 오비탈 진탕기로 80 rpm에서 18 시간 동안 4°C에서 인큐베이션한다. 각 웰에 25  $\mu$ L의 RIA 완충제 중의 0.2  $\mu$ Ci/mL [ $^{125}$ I]의 마우스 오스테오칼신을 첨가한 후, 플레이트를 오비탈 진탕기로 80 rpm에서 24 시간 동안 4°C에서 인큐베이션한다. 0.2 M의  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 7.4 중의 당나귀 항-염소 IgG (1:30), 5% (w/v)의 폴리에틸렌 글리콜, 125  $\mu$ L/웰을 첨가함으로써 복합체를 25°C에서 2 시간 동안 침전시킨다. 침전물을 진공 여과에 의해 수집하고 100  $\mu$ L/웰의  $\text{dH}_2\text{O}$ 로 1 회 세정한다. 필터를 펀칭하고 (punched) 방사성을 감마 계수기 (코브라 (Cobra) II, 코네티컷주, 메리든 소재의 팩커드 인스트루먼트즈 (Packard Instruments))로 측정한다. 시험 샘플로부터 필터에 대해 검출된 방사성은 혈청 오스테오칼신 농도에 반비례한다. 정제된 마우스 오스테오칼신의 표준 곡선을 이용하여 시험 샘플 중의 혈청 오스테오칼신의 농도를 계산한다.
- <62> 래트 CPE 모델에서 측정된 ED50 값에 근접하는 일일 투여량의 비교시 (1 mg/kg/일의 화합물 (I) 및 10 mg/kg/일의 프레드니솔론), 화합물 (I)은 프레드니솔론보다 혈청 오스테오칼신 수준의 더 적은 감소를 유도하였다 (혈청 오스테오칼신 수준은 6 개의 개별 측정치의 평균치를 나타냄).
- <63> 서술한 바와 같이, 화합물 (I)은 추가의 기술적 효과 또는 이로인한 특성을 가져서, 이는 환자 치료 및 약제 개발 분야에서의 기타 제약을 해결한다. 예를 들어, 화합물 (I)은 시험 동물에 대한 경구 투여 이후 우수한 생체이용률 및 우수한 혈장 노출을 나타낸다. 또한, 화합물 (I)은 시험관내 인간 간세포 배양액과 함께 인큐베이션되는 경우, 단기 약간의 대사 작용을 보여준다. 또한, 화합물 (I)의 생체내 투여 이후, 래트, 개 및 원숭이 혈장의 대사 프로파일링은, 화합물 (I)이 주요 순환 실체이며, 원숭이 혈장 중에서 어떠한 대사 산물도 검출되지 않았음을 보여주었다. 더욱이, 화합물 (I)은, 유전독성 잠재성의 시험관내 어세이 및 생체내 어세이로 검사하는 경우, 비-유전독성인 것으로 보인다. 상기 및 기타 특성을 고려하여, 화합물 (I)은 치료제의 반복 또는 장기간 투여를 종종 필요로 하는 만성 염증성 장애 또는 면역 장애의 치료에 특히 적절한 것으로 생각된다.
- <64> 환자 치료를 이롭게 하는 특성 이외에, 화합물 (I)은 이의 약제 개발을 용이하게 하는 또다른 추가의 이점을 갖는다. 예를 들어, 화합물 (I)은 결정형으로 분리될 수 있다. 목적하는 생물학적 특성을 갖는 것 이외에, 치료제가 특정 물리학적 특징도 갖는 것이 또한 바람직함이 이해될 것이다. 특히, 안정한, 결정질 고체인 화합물이 요구되는데, 왜냐하면 이는 특히 화학적 합성, 정제, 저장 및 제형화 또는 투여형 개발의 통상의 패러다임을 따를 수 있기 때문이다. 본원에서 사용된 "결정형"은 그 고체 형태를 동일한 원소 조성의 다른 형태와 구별짓는 상이한 결정 배열을 갖는 화학 종의 고체 형태를 일컫는다. 본원에서 사용된 "실질적으로 순수한 결정형"은 약 95% 초과와 특정 결정형, 및 바람직하게는 약 98% 초과와 특정 결정형을 포함하는 화학 종의 순수 결정형을 일컫는다.
- <65> 특정 결정형은 통상의 기술, 예컨대 X-선 분말 회절법 (XRPD), 분광법 (예를 들어, 적외선 (IR) 또는 핵 자기 공명 (NMR) 분광법), 및 열 기술 (예를 들어, 시차 주사 열량 측정 (DSC), 열 중량 분석 (TGA), 또는 시차 열 분석 (DTA))의 이용으로 특성화되고 이에 따라 동일한 화학 종의 다른 고체 형태와 구별될 수 있다. XRPD는 화학 종의 결정형을 특징짓는 특히 유용한 수단인 한편, X-선 패턴에서의 실제 피크 강도는 분석되는 샘플 및 기구, 용매, 또는 이용되는 절차에 따라 동일한 결정형의 분석마다 상이할 수 있음이 이해될 것이다. 또한, ° 2

θ로 측정된 주어진 결정형의 분석으로부터 얻어지는 정확한 피크 위치는 분석마다 상이할 수 있는 한편 (예를 들어,  $\pm 0.1^\circ$ ), 피크 위치의 상대적 패턴은 스펙트럼 간에 본질적으로 동일하게 유지됨이 또한 이해될 것이다.

<66> 본 발명은 결정형의 화합물 (I)을 제공한다. 더 구체적으로, 본 발명은  $^\circ 2\theta$ 에서의 특징적 피크가 약 10.9, 18.8, 및 22.9인 결정형의 화합물 (I)의 유리 염기 (본원의 실시예에서 형태 I)를 제공한다. 또한, 본 발명은  $^\circ 2\theta$ 에서의 특징적 피크가 약 4.5, 9.0, 11.5, 및 14.7인 결정형의 화합물 (I)의 유리 염기 (본원의 실시예에서 형태 II)를 제공한다. 더 구체적으로, 본 발명은 실질적으로 순수한 결정형의 화합물 (I)의 형태 I 및 II 각각을 제공한다. 또한, 화합물 (I)은 비-흡습성이고 증가된 온도, 상대 습도, 및 광 노출의 조건 하에 안정하다.

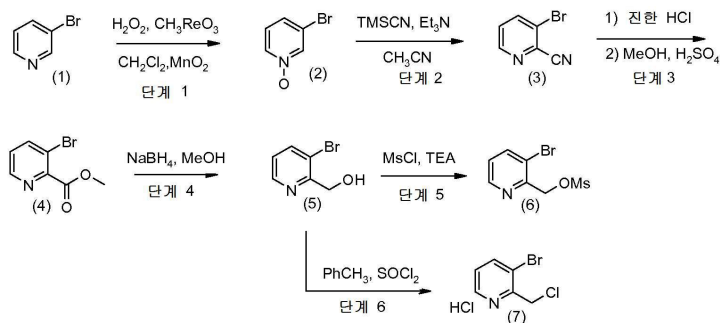
<67> 당업자는 입자 크기가 약제학적 제제의 생체내 용해성에 영향을 미칠 수 있고, 이어서, 제제의 흡수성에 영향을 미칠 수 있음을 또한 이해할 것이다. 본원에서 사용된 "입자 크기"는 통상의 기술, 예컨대 레이저 광 산란법, 레이저 회절법, 미 산란법 (Mie scattering), 침강 장 흐름 분획법, 광자 상관 분광법 등에 의해 측정된 약제학적 제제의 입자의 직경을 일컫는다. 약제학적 제제가 불량한 용해성을 갖는 경우, 작은 또는 감소된 입자 크기가 용해를 도와, 이에 따라 제제의 흡수성을 증가시킬 수 있다 (문헌 [Amidon 등, *Pharm. Research*, 12; 413-420 (1995)]). 입자 크기를 감소시키거나 조절하는 방법 (미세화)은 통상적이고, 이는 볼 밀링 (ball milling), 핀 밀링 (pin milling), 제트 밀링 (jet milling), 습식 연마 등을 포함한다. 입자 크기를 조절하는 또다른 방법은 약제학적 제제를 나노현탁액으로 제조하는 것을 포함한다.

<68> 화합물 (I)의 화학적 제제는 특정 입자 크기의 결정을 제공함이 발견되었다. 특히, 본질적으로 본원에 기술된 실시예 1(a)에 따라 제조되는 경우, 화합물 (I)의 유리 염기의 샘플은 20  $\mu\text{m}$  미만의 평균 입자 크기 및 50  $\mu\text{m}$  미만의  $d_{90}$  입자 크기 (즉, 입자의 90%의 크기가 50  $\mu\text{m}$  이하임)를 제공한다 (입자 크기는 베크만 쿨터 (Beckman Coulter) LS13 320 레이저 산란 입자 크기 분석기의 이용으로 측정됨). 또한, 본질적으로 본원의 실시예 6 및 7에서 기술하는 바와 같이 제조되는 경우, 화합물 (I)의 유리 염기의 미세화된 샘플은 10  $\mu\text{m}$  미만의  $x_{50}$  입자 크기 (즉, 입자의 50%의 크기가 10  $\mu\text{m}$  이하임) 및 20  $\mu\text{m}$  미만의  $x_{90}$  입자 크기 (즉, 입자의 90%의 크기가 20  $\mu\text{m}$  이하임)를 제공한다 (입자 크기는 심파텍 (Sympatec) (HELOS 입자 크기 분석 시스템) 레이저 산란 입자 크기 분석기의 이용으로 측정됨). 이로써, 본 발명의 특정 실시양태는 화합물 (I)이 20  $\mu\text{m}$  미만의 평균 입자 크기 및 50  $\mu\text{m}$  미만의  $d_{90}$  입자 크기를 갖는, 화합물 (I)의 유리 염기, 또는 화합물 (I)의 유리 염기를 포함하는 약제학적 조성물이다. 더 특정한 실시양태는 화합물 (I)이 15  $\mu\text{m}$  미만의 평균 입자 크기 및 40  $\mu\text{m}$  미만의  $d_{90}$  입자 크기를 갖는, 화합물 (I)의 유리 염기, 또는 화합물 (I)의 유리 염기를 포함하는 약제학적 조성물이다. 더욱더 특정한 실시양태는 화합물 (I)이 10  $\mu\text{m}$  미만의  $x_{50}$  입자 크기 및 20  $\mu\text{m}$  미만의  $x_{90}$  입자 크기를 갖는, 화합물 (I)의 유리 염기, 또는 화합물 (I)의 유리 염기를 포함하는 약제학적 조성물이다. 더욱더 특정한 실시양태는 화합물 (I)이 5  $\mu\text{m}$  미만의  $x_{50}$  입자 크기 및 15  $\mu\text{m}$  미만의  $x_{90}$  입자 크기를 갖는, 화합물 (I)의 유리 염기, 또는 화합물 (I)의 유리 염기를 포함하는 약제학적 조성물이다. 또한, 나노현탁액 중의 화합물 (I)의 예가 본원의 실시예에서 제공된다.

<69> 화합물 (I)의 제조 방법은 종래 기술에 공지되어 있다. 예를 들어, W0 04/052847은 이용될 수 있는 일반적 절차를 제공한다. 또한, W0 05/066161은 이용될 수 있는 추가의 일반적 절차를 제공한다. 하기 반응식, 중간체 및 실시예는 본 발명을 더 예시하며 화합물 (I)의 전형적인 합성을 나타낸다. 시약 및 출발 물질은 당업자에게 쉽게 이용가능하거나, 또는 당업자에 의해 쉽게 합성될 수 있다. 반응식, 중간체, 및 실시예는 제한이 아닌 예시로서 제공되며, 당업자에 의해 변형이 가해질 수 있음이 이해되어야 한다.

<70> 본원에서 사용된 "DMSO"는 디메틸 설펍시드를 의미하고; "DIAD"는 디이소프로필 아조디카르복실레이트를 의미하고; "ADDP"는 1,1'-(아조디카르보닐)디피페리딘을 의미하고; "THF"는 테트라히드로퓨란을 의미하고; "DMF"는 디메틸 포름아미드를 의미하고; "TMSCN"은 트리메틸실릴 시아나이드를 의미하고; "TEA" 또는 "Et<sub>3</sub>N"은 트리에틸아민을 의미하고; "DME"는 1,2-디메톡시에탄을 의미하고; "AcOEt"는 에틸 아세테이트를 의미하고; "pyr"은 피리딘을 의미하고; "MsCl"은 메탄설포닐 클로라이드를 의미하고; Et<sub>2</sub>NH"는 디에틸아민을 의미하고; "MeOH"는 메탄올을 의미하고; "PhCH<sub>3</sub>"는 톨루엔을 의미하고; "PhH"는 벤젠을 의미하고; "PBu<sub>3</sub>"은 트리부틸포스핀을 의미하고; "PPh<sub>3</sub>"은 트리페닐포스핀을 의미하고; "dppf"는 1,1'-비스(디페닐포스파닐) 페로센을 의미하고, "NaO-t-Bu"는 나트륨 tert-부톡시드를 의미하며; "MTBE"는 tert-부틸 메틸 에테르를 의미한다.

## 반응식 I

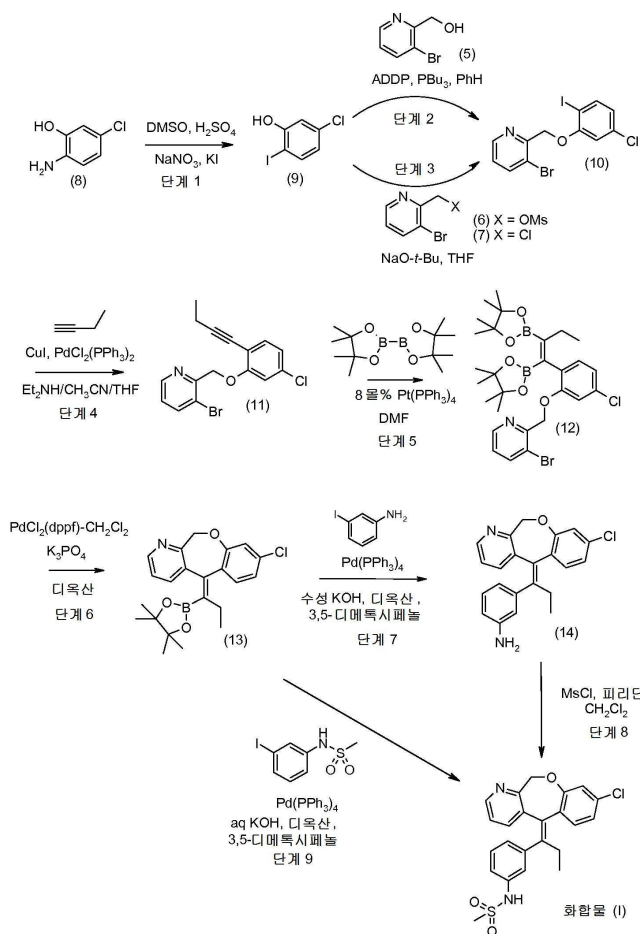


<71>

<72>

반응식 I에는 피리딘 중간체 (5), (6), 및 (7)의 제조가 기술되어 있다. 반응식 I, 단계 1에서, 1,3-브로모피리딘 (1)이 3-브로모-피리딘-N-옥시드 (2)로 산화된다. 반응식 I, 단계 2에서, 시아나이드가 치환되어 3-브로모-피리딘-2-카르보니트릴 (3)을 제공한다. 화학식 (3)의 니트릴은 단계 3에서 카르복실산으로 가수분해되고 산 촉매 작용에 의해 화학식 (4)의 에스테르로 에스테르화된다. 반응식 I, 단계 4에서, 에스테르는 나트륨 보로하이드라이드의 이용으로 화학식 (5)의 피리디닐메탄올로 환원된다. 피리디닐메탄올은 메탄설포닐 클로라이드에 의해 화학식 (6)의 메실레이트로 전환되거나 (단계 5) 또는 티오닐 클로라이드의 이용으로 화학식 (7)의 피리디닐메틸 클로라이드로 전환된다 (단계 6).

## 반응식 II



<73>

<74>

반응식 II에는 화합물 I의 최종 벤조피리달-10-옥세핀의 합성이 기술되어 있다. 반응식 II, 단계 1에서, 화학식 (8)의 아닐린의 변형된 잔트마이어 (Sandmeyer) 반응은 화학식 (9)의 5-클로로-2-요오도페놀을 제공한다.

<75>

반응식 II, 단계 2에서, 5-클로로-2-요오도페놀 및 화학식 (5)의 피리디닐메탄올 간의 미즈노부 (Mitsunobu) 반응은 화학식 (10)의 요오도아릴 에테르를 제공한다. 기타 적절한 시약으로서 THF 중의 DIAD 및 트리페닐포스핀



을 들 수 있다. 대안으로, 단계 3에서, 화학식 (10)의 요오도아릴 에테르는 불활성 용매, 예컨대 THF 또는 아세토니트릴 중의 염기, 예컨대 나트륨 t-부톡사이드, 칼륨 t-부톡사이드, 또는 탄산칼륨의 이용으로 화학식 (6) 또는 (7)의 피리딘메틸 메실레이트 또는 클로라이드와의 알킬화에 의해 수득된다.

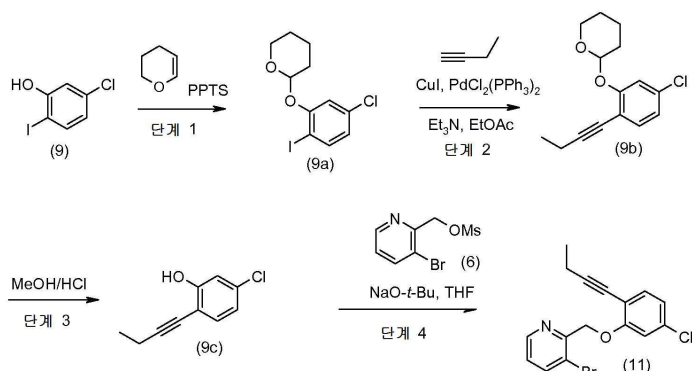
<76> 반응식 II, 단계 4에서, 화학식 (10)의 요오도아릴 에테르는 소나가시라 (Sonagashira) 커플링으로 1-부틴에 의해 처리되어 화학식 (11)의 알키닐아릴 에테르를 제공한다. 반응은 디에틸아민/아세토니트릴/THF의 혼합물의 이용으로 수행되고; 1-부틴은 반응 혼합물에 기포를 생성한다. 대안으로, 반응은 염기로서의 트리에틸아민의 이용으로 수행되고, DMF 중의 1-부틴의 24% wt/wt 용액으로 처리된다.

<77> 반응식 II, 단계 5 및 6에서, 화학식 (11)의 알키닐아릴 에테르의 백금 촉매 작용의 디보론화 (diboronation)는 화학식 (12)의 디보론산 에스테르를 제공하며, 이는 분자내 스즈키 (Suzuki) 커플링시 화학식 (13)의 비닐 보론산 에스테르를 형성한다.

<78> 반응식 II, 단계 7에서, 비닐 보론산 에스테르 (13) 및 3-요오도아닐린 간의 분자내 스즈키 커플링은 화학식 (14)의 아닐린을 제공한다. 화학식 (14)의 아닐린의 정제를 개선하기 위하여, 아닐린을 적절한 산으로 처리하여 염을 형성할 수 있다. 예를 들어, 화학식 (14)의 아닐린을 톨루엔설포산으로 처리하여 디톨루엔설포산 염으로서의 화학식 (14)의 아닐린을 제공할 수 있다.

<79> 반응식 II, 단계 8에서, 아닐린은 메탄설포닐 클로라이드로 설포닐화되어 화합물 (I)의 최종 벤조피리딜-10-옥세핀을 제공한다. 대안으로, 반응식 II, 단계 9에서, 화합물 (I)의 벤조피리딜-10-옥세핀은 N-(3-요오도-페닐)-메탄설포나미드와의 스즈키 커플링의 수행에 의해 직접 수득된다. 화합물 (I)은, 예를 들어, 메탄올로부터의 재결정화에 의해 정제될 수 있다.

### 반응식 IIa



<80>

<81> 반응식 IIa에는 화학식 (11)의 알키닐아릴 에테르의 대안적 합성이 기술되어 있다.

<82> 반응식 IIa, 단계 1에서, 화학식 (9)의 5-클로로-2-요오도페놀은 화학식 (9a)의 테트라히드로피란 (THP) 에테르로서 보호된다. 반응은 산 촉매, 예컨대 피리디늄 p-톨루엔설포네이트의 존재 하에, 불활성 용매, 예컨대 디클로로메탄 중에서 수행된다. 3,4-디히드로-2H-피란이 약 30°C 이하에서 첨가된 후 반응은 대략 실온에서 10 내지 24 시간 동안 수행된다.

<83> 반응식 IIa, 단계 2에서, 화학식 (9a)의 요오도벤젠은 소나가시라 커플링으로 1-부틴에 의해 처리되어 화학식 (9b)의 알키닐 벤젠을 제공한다. 반응은 불활성 용매, 예컨대 에틸 아세테이트, 및 팔라듐 촉매, 예컨대 디클로로비스(트리페닐포스핀)팔라듐 (II), 및 요오드화구리 (I)와 함께 트리에틸아민의 이용으로 수행된다. 1-부틴은 약 0 내지 10°C의 온도에서 첨가되고 반응은 대략 실온에서 약 10 내지 24 시간 동안 수행된다. 후처리 이후, 생성물은 실리카겔 크로마토그래피 및 헵탄/트리에틸아민으로부터 재결정화에 의해 정제될 수 있다.

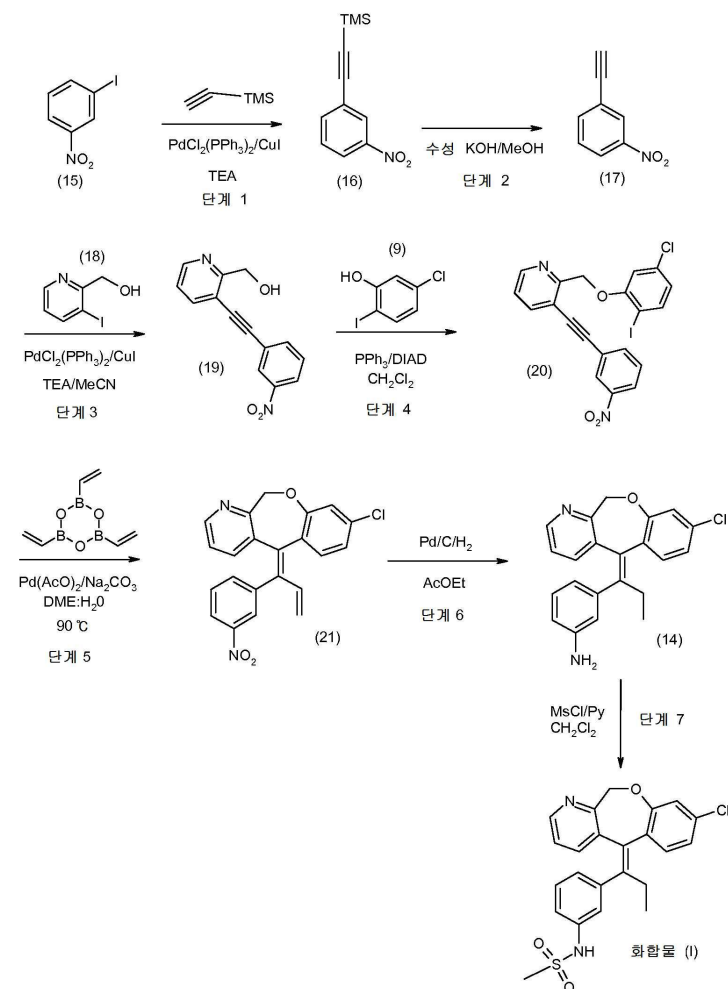
<84> 단계 3에서, 화학식 (9b)의 THP 에테르는 산성 조건의 이용으로 화학식 (9c)의 알키닐페놀로 탈보호된다. 특정 조건은 알콜 용매, 예컨대 메탄올 중의, 무기산, 예컨대 염산의 촉매량을 이용한다. 반응은 0°C 내지 실온에서 30 분 내지 6 시간 동안 수행된다.

<85> 반응식 IIa, 단계 4에서, 화학식 (9c)의 알키닐페놀은 불활성 용매, 예컨대 THF 또는 아세토니트릴 중의 염기, 예컨대 나트륨 t-부톡사이드, 칼륨 t-부톡사이드, 또는 탄산칼륨의 이용으로, 화학식 (6)의 피리딘메틸 메실레이트로 알킬화된다. 특정 조건은 THF 중의 나트륨 t-부톡사이드를 이용하고, 이는 0°C 미만의 온도에서 메실레이트



및 페놀의 용액에 첨가되며, 이어서 실온에서 24 내지 72 시간 동안 교반된다. 추출물 후처리 이후, 생성물은 에탄올로부터 재결정화된다.

### 반응식 III



<86>

<87>

반응식 III에는 화합물 (I)의 최종 벤조피리딜-10-옥세핀의 대안적 합성이 기술되어 있다. 반응식 III, 단계 1에서, 트리메틸실릴-(아세틸렌) 및 화학식 (15)의 3-요오도니트로아닐린 간의 소나가시라 반응은 화학식 (16)의 트리메틸실릴 알킨을 제공하고, 이는 반응식 III, 단계 2에서, 탈실릴화시, 화학식 (17)의 알킨으로 전환된다.

<88>

반응식 III, 단계 3에서, 전형적인 소나가시라 반응 조건의 이용으로, (17)은 화학식 (18)의 피리디닐메탄올과 커플링되어 화학식 (19)의 디아릴 알킨을 제공한다. 반응식 III, 단계 4에서, 디아릴 알킨 (19) 및 화학식 (9)의 5-클로로-2-요오도페놀 간의 미즈노부 반응은 화학식 (20)의 비아릴 알킬닐 요오도아릴 에테르를 제공한다. 전형적인 조건은 메틸렌 클로라이드 중의 트리페닐포스핀 및 DIAD를 포함한다.

<89>

반응식 III, 단계 5에서, 비아릴 알킬닐 요오도아릴 (20)은 3량체 비닐 보론산 무수물의 존재 하에 팔라듐 촉매 작용의 분자내 Heck-스즈키 (Heck-Suzuki) 연속 단계 반응을 통해 화학식 (21)의 피리딜 옥세핀으로 전환된다. 최적화된 조건은 90°C에서 4:1 부피의 DME:물 중의 비아릴 알킬닐 요오도아릴 (20), 2 몰%의 팔라듐 (II) 아세테이트, 2 당량의 탄산나트륨의 혼합물에 대한 보론산 무수물의 느린 첨가를 포함한다.

<90>

반응식 III, 단계 6에서, 피리딜 옥세핀 (21)의 이중 결합 및 니트로기 모두의 Pd/C 상의 단일 용기 (one-pot) 수소 첨가는 화학식 (14)의 아닐린을 제공한다. 반응식 III, 단계 7에서, 아닐린은 피리딘 염기의 이용으로 메탄설포닐 클로라이드로 설포닐화되어 화합물 (I)의 최종 벤조피리딜-10-옥세핀을 제공한다.

<91>

### 기구 분석

<92>

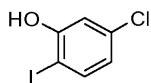
GC-MS 분석을, 온도 프로그래밍 (7.3 분 동안 60 ~ 280°C, 그 후 2 분 동안 280°C)을 이용하는 애질런트 (Agilent) 0.25-mm x 15-m x 0.25  $\mu$ m 모세관 컬럼이 장착된 HP 6890 시리즈 GC-MS (70 eV)로 수행할 수 있다.

LC-MS 분석을, 와터스 엑스테라™ (Waters Xterra™) MS C<sub>18</sub> 4.6-mm x 50-mm 3.5-μm 컬럼 및 대기압 화학적 이온화 (APCI)를 이용하는 애질런트 1100 시리즈 HPLC로 수행할 수 있다. 전형적으로 80% 메탄올:물 내지 100% 메탄올 구배를 이용하여 분석을 수행한다. 대안으로 LC-MS 분석을 와터스 엑스테라 C18 2.1 x 50 mm 3.5 μm 컬럼 및 전기분무 이온화로 수행할 수 있다. 용매계는 0.2%의 NH<sub>4</sub> 포르메이트를 갖는 5 ~ 100% 아세토니트릴/MeOH (50/50)이다. <sup>1</sup>H NMR 스펙트럼을 주위 온도에서 바리안 (Varian) 400 MHz 분광계로 기록할 수 있다. 데이터를 하기와 같이 기록한다: δ 척도로 내부 표준 테트라메틸실란으로부터 ppm 단위의 화학적 이동, 다중도 (b = 광범위함, s = 단일함, d = 이중함, t = 삼중함, q = 사중함, qn = 오중함 및 m = 다중함), 적분, 커플링 상수 (Hz) 및 지정. X-선 분말 회절 (XRPD) 패턴을, 40 kV 및 40 mA에서 작동하는, CuKα 공급원 (λ = 1.54056 Å) 및 전자 고체-상태 검출기가 장착된, 브루커 D8 어드밴스 (Bruker D8 Advance) XRPD 분말 회절 분석기로 취득할 수 있다. 각 샘플을, 2θ 단위로 0.02° 의 스텝 크기, 3 초/스텝의 주사 속도, 제어 변수 (v12) 발산 및 수광 슬릿 및 0.2 mm 검출기 슬릿으로, ° 2θ 단위로 4° 내지 40° 사이에서 주사한다. 대안으로, X-선 분말 회절 분석을, 브루커 D8 어드밴스 회절 분석기를 이용하여 수행할 수 있고, 이때 샘플을 2θ 단위로 0.02° 의 스텝 크기, 5 초/스텝의 주사 속도, 0.6 mm 발산 슬릿, 0.6 mm 산란방지 슬릿, 0.1 mm 수광 슬릿 및 0.6 mm 검출기 슬릿으로, ° 2θ 단위로 2° 내지 45° 사이에서 주사한다. 시차 주사 열량 측정 (DSC) 분석을 메틀러-톨레도 (Mettler-Toledo) DSC 유닛 (모델 822)으로 수행할 수 있다. 샘플을, 편환을 갖는 밀폐된 알루미늄 팬 내에서 질소 퍼지 50 mL/분 으로 5°C/분 으로 30°C로부터 300°C까지 가열한다. 시차 열 분석 (DTA) 및 열중량 분석 (TGA)을 메틀러 톨레도 DTA 및 TGA 유닛 (모델 TGA/SDTA 851)으로 수행할 수 있다. 샘플을, 편환을 갖는 밀봉된 알루미늄 팬 내에서 질소 퍼지 50 mL/분 으로 10°C/분 으로 25°C로부터 300 ~ 350°C 까지 가열한다. TGA 온도를 인듐/알루미늄 표준, m.p. = 156.6°C 및 660.3°C로 보정한다. 중량 보정을 제조업체가 공급한 표준으로 수행하고 나트륨 시트레이트 디하이드레이트 탈용매화에 대하여 입증한다. 본 발명의 화합물의 명칭은 일반적으로 쉐드로 울트라™ (ChemDraw Ultra™), 버전 7.0.1로부터 얻는다.

## 실시예

### <93> 중간체 1

### <94> 5-클로로-2-요오도-페놀



### <95>

<96> 2-아미노-5-클로로페놀 (5.7 g, 40 mmol)을 DMSO/물/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (200/60/140 mL)에 용해시키고 0°C까지 냉각하였다. 상기 용액에 물 (20 mL) 중 아질산나트륨 (4.1 g, 60 mmol)을 첨가하고 혼합물을 0°C에서 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물에 물 (20 mL) 중 요오드화칼륨 (19.9 g, 120 mmol)을 첨가하고 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 물 (20 mL) 중 요오드화칼륨 (19.9 g, 120 mmol)의 또다른 배치를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석하고, 물, 포화 수성 황산나트륨, 및 염수로 세정하였다. 유기 부분을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에 농축하였다. 생성되는 잔류물을 플래시 크로마토그래피 (바이오타지™ (Biotage™) Si65M, 20% 에틸 아세테이트/헥산)에 의해 정제하여 8.09 g (79%)의 표제 화합물을 분홍색 고체로서 제공하였다. GCMS m/e 254 [M]<sup>+</sup>.

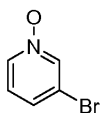
### <97> 대안적 절차:

<98> 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 첨가 깔때기, 질소 유입구, 건조관 및 열전대를 장착하였다. 물 (4.5 L)을 플라스크에 채우고, 교반을 시작하고, 반응물을 0°C까지 냉각하였다. 황산 (3.7 L)을 적가하고, 이때 온도를 30°C 이하로 유지하였다. 2-아미노-5-클로로페놀 (1500 g)을 플라스크에 채우고, 이때 온도를 20 분에 걸쳐 30°C 이하로 유지하였다. DMSO (12 L)를 적가하고, 이때 온도를 1 시간에 걸쳐 30°C 이하로 유지하였다. 반응 혼합물을 -5 내지 0°C까지 냉각하였다. 물 (6 L) 중 아질산나트륨 (1082 g) 용액을 적가하고, 이때 온도를 1 시간 45 분에 걸쳐 0°C 이하로 유지하였다. 첨가가 완료된 후, 반응 혼합물을 0°C 이하의 온도에서 최소 1 시간 동안 교반하였다. 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 가열 맨틀 내에 위치한 기계적 교반기, 첨가 깔때기, 질소 유입구, 및 열전대를 장착하였다. 요오드화칼륨 (6.9 kg) 및 물 (7.5 L)을 플라스크에 채우고, 교반을 시작하고, 반응물을 48 내지 50°C까지 가열하였다. 기체를 내보내는 2 개의 응축기를 이용하여, 2-아미노-5-클로로페놀 디아조화 용액을 플라스크에 조금씩 채우고, 이때 온도를 48 내지 50°C로

유지하였다. 반응 혼합물을 48 내지 50℃에서 2 시간 동안 가열하였다. 상기 시간 이후, 가열을 중지하고 반응물을 주위 온도에서 밤새 교반하였다. 반응의 진행을 TLC (헵탄:EtOAc, 9:1)에 의해 모니터링하였다.  $R_f = 0.3$ 에서 출발 물질이 관측되고  $R_f = 0.6$ 에서 생성물이 관측되었다. 출발 물질이 관측되지 않을 때 반응은 완료된 것으로 생각된다. 일단 반응이 완료되면, 반응 혼합물을 MTBE (16 L)로 희석하고 20 분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 분별 깔때기로 옮기고 유기층을 수성층으로부터 분리하였다. 유기층을  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (3 kg) 및 물 (12 L)의 용액으로 세정하고 5 ~ 10 분 동안 교반하였다. 유기층을 분리하고 동일한 세정 순서를 2 회 더 반복하였다. 유기층을 수성층으로부터 분리하고 모든 수성 세정액을 폐기하였다. 유기층을 포화 중탄산나트륨 수용액 (4 L)으로 세정하였다. 유기층을 수성층으로부터 분리하고 유기층을 염수 (4 L)로 세정하였다. 유기층을 분리하고 황산마그네슘 상에서 건조시키며, 차콜로 처리하고, 여과하며, 농축하였다. 오일 펌프를 이용하여 생성되는 잔류물을 헵탄 (1 L)과 함께 동시 증발시켜 잔류 용매를 제거하였다. 잔류 갈색 오일 (2880 g)을 헵탄 (1 mL/g)에 용해시키고 용액을 냉동 장치 내에 밤새 위치시켰다. 고체를 여과에 의해 수집하고, 저온 헵탄 (2 x 600 mL, 0℃)으로 세정하며, 진공 오븐 내에서 주위 온도에서 밤새 건조시켰다. 황갈색 고체를 수득하였다.

<99> **중간체 2**

<100> **3-브로모-피리딘 1-옥시드**



<101>

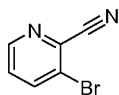
<102> 메틸트리옥소레늄 (100 mg, 0.401 mmol)을 디클로로메탄 (40 mL)에 용해시키고 3-브로모피리딘 (15.8 g, 100 mmol)을 첨가하고, 이어서 30% 수성  $\text{H}_2\text{O}_2$  (22.7 mL)를 첨가하였다. 2 상 혼합물을 실온에서 교반하였다. 18 시간 후  $\text{MnO}_2$  (25 mg, 0.29 mmol)를 첨가하고 혼합물을 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 디클로로메탄으로 추출하고 배합된 추출물을 염수로 세정하고,  $\text{MgSO}_4$  상에서 건조시키고, 여과하며 감압 하에 농축하여 9.52 g (55%)의 표제 화합물을 주황색 오일로서 제공하였다. GCMS  $m/e$  174  $[\text{M}-\text{H}]^+$ .

<103> 대안적 절차:

<104> 22 L 3목 둥근 바닥 플라스크에 기계적 교반기 및 열전대를 장착하였다. 플라스크에 3-브로모피리딘 (3169 g, 20 몰), 디클로로메탄 (8.2 L) 및 메틸트리옥소레늄 (10 g)을 채웠다. 저온 수돗물 바스를 이용하여 반응 혼합물을 18℃까지 냉각하고, 30% 과산화수소 수용액 (3.07 L, 30 몰)을 약 15 분에 걸쳐 조금씩 첨가하였다. 반응은 약간 발열성이고 열을 냉각통에 첨가하여 온도를 20 ~ 25℃로 유지하였다. 반응 혼합물이 바스 내에서 실온에서 밤새 교반되게 하였다 (바스를 비우지 않음). 반응의 진행을 TLC (헵탄:EtOAc, 1:1)에 의해 모니터링하였다. 출발 3-브로모피리딘은  $R_f = 0.6$ 을 갖는 것으로 관측되며 생성물  $R_f = 0.1$ 이다. 밤새 교반한 이후 미량의 출발 물질이 존재할 수 있고, 반응물을 추가의 8 ~ 24 시간 동안 후처리 또는 교반할 수 있다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 이산화망간 (31 g, < 10 마이크로미터)을 발포를 조절하고 온도를 20 ~ 25℃로 유지하는 속도로 조금씩 첨가하였다. 온도가 더 높아지는 경우 열을 냉각 물통에 첨가할 수 있다. 발포가 관측되는 경우, 더 많은 이산화망간을 첨가할 수 있다. 이산화망간의 새로운 분량을 첨가한 이후 더 이상의 발포가 관측되지 않는 경우, 고체 염화나트륨 (860 g)을 첨가하고 반응 혼합물을 실온에서 추가의 30 분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 분별 깔때기로 옮기고 유기층을 분리하였다. 수성층을 디클로로메탄 (3 x 2.5 L)으로 추출하였다. 각 유기층으로부터의 추출을 TLC를 이용하여 모니터링할 수 있다. 마지막 추출 이후 생성물이 존재하는 경우, 수성층을 여과한 후, 추가의 염화나트륨 (500 g)을 첨가할 수 있고, 혼합물을 교반하여 염을 용해시켰다. 그 후 수성층을 디클로로메탄 (3 x 2 L)으로 추출하였다. 배합된 유기 부분을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 농축하였다. 담황색 오일이 플라스크 내에 잔류하였다. 상기 물질을 직접 사용하여 3-브로모피리딘-2-카르보니트릴을 제조할 수 있다.

<105> **중간체 3**

## &lt;106&gt; 3-브로모-피리딘-2-카르보니트릴



## &lt;107&gt;

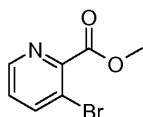
<108> 3-브로모-피리딘 1-옥시드 (9.4 g, 54 mmol)를 아세트니트릴 (60 mL)에 용해시키고 트리에틸아민 (15 mL)을 첨가하고 이어서 트리메틸실릴 시아나이드 (21.7 mL, 163 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 100℃까지 가열하고 16 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 0℃까지 냉각하고, 250 mL의 5 M의 수성 NaOH에 붓고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 배합된 추출물을 염수로 세정하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키며, 여과하고 감압 하에 농축하였다. 플래시 크로마토그래피 (바이오타지® Si65M, 20% 에틸 아세테이트/헥산)를 이용하여 생성되는 물질을 정제하여 7.8 g (79%)의 표제 화합물을 황색 고체로서 제공하였다. GCMS *m/e* 182, 184 [M]<sup>+</sup>.

<109> 대안적 절차:

<110> 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에 기계적 교반기, 열전대, 질소 유입구, 효과적 환류 응축기, 및 건조관을 장착하였다 (트리메틸 실릴시아나이드의 첨가 동안 건조관을 장착하지 않음). 플라스크에 3778 g (약 20 몰)의 조질 3-브로모피리딘-N-옥시드 (예를 들어, 본질적으로 중간체 2에 대한 대안적 절차에서 기술한 바와 같이 제조함), 아세트니트릴 (19 L) 및 트리에틸아민 (6.667 L, 50 몰)을 채웠다. 반응 혼합물을 약 70 ~ 73℃까지 가볍게 가열 환류한 후, 순수한 트리메틸 실릴시아나이드 (6.667 L, 50 몰)를 총 3 시간에 걸쳐 첨가 깔때기를 통해 10 ~ 15 분의 간격으로 첨가하였다. 트리메틸 실릴시아나이드의 각 분량의 첨가 이후, 반응이 강한 환류를 향해 진행된다 (증기가 새어 나가는 경우, 추가의 트리메틸 실릴시아나이드를 첨가하여 반응의 완료를 추진할 필요가 있음). 일단 첨가가 완료되면, 반응 혼합물을 20 시간 동안 환류 하에 교반하고, 이때 필요시 가열 속도를 조절하여 환류를 유지하였다. TLC (헵탄:EtOAc 1:1)에 의해 반응의 진행을 모니터링하였다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 반응 혼합물을 0 ~ 10℃까지 냉각하였다. 물 (9 L) 중 50% 수성 NaOH (7.2 kg)의 용액을 30 분에 걸쳐 스트림에 첨가하고 그 결과 발열이 일어난다. 온도가 20 ~ 25℃까지 상승하며, 반응물을 15 ~ 25℃에서 30 분 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 분별 깔때기로 옮기고 유기층을 분리하였다. 유기층을 염수 (4 L)로 세정하고 배합된 수성층을 EtOAc (3 x 3 L)로 추출하였다. 배합된 유기층을 염수 (3 L)로 세정하고, 차콜로 처리하며, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 농축하였다. 생성되는 고체 (약 3.8 kg)를 EtOAc (25 L, 약간의 열을 이용함)에 용해시키고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 차콜로 처리하고, 여과하며 농축하였다. 생성되는 황갈색/갈색 고체를 가열하면서 에탄올 (7 L)에 용해시켰다. 생성되는 용액을 버킷으로 옮기고 실온에서 밤새 정치되게 하였다. 상기 시간 이후, 고체를 여과에 의해 수집하고 필터 상에서 저온 에탄올로 세정하였다 (2 x 1 L, -20℃). 고체를 EtOAc (20 내지 25 L)에 용해시키고, 용액을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 차콜로 처리하여 색을 제거한 후 여과하였다. 필터 케이크를 EtOAc (2 x 2 L)로 세정하고, 여액을 배합하고 농축 건조시켰다. 잔류 고체 (2.7 kg)를 EtOH (1 L)와 함께 동시 증발시켰다. 그 후 고체를 가열하여 EtOH (6 L)에 용해시켰다. 약 70℃에서 투명한 용액이 형성되고, 그 후 용액을 0 ~ 5℃까지 냉각하고 상기 온도에서 2 시간 동안 교반하였다. 여과에 의해 고체를 수집하고, 저온 에탄올 (2 x 1 L, 0 ~ 50℃), 그 후 헵탄 (1 L, 0 ~ 5℃)으로 세정하며, 진공 오븐 내에서 40℃에서 건조시켰다.

<111> 중간체 4

<112> 3-브로모-1-피리딘-1-카르복실산 메틸 에스테르



## &lt;113&gt;

<114> 3-브로모-피리딘-2-카르보니트릴 (14.7 g, 80.3 mmol)을 진한 HCl (50 mL)에 용해시키고 18 시간 동안 110℃까지 가열하였다. 혼합물을 0℃까지 냉각하고, 여과하며, 소량의 에테르로 행구고, 감압 하에 오븐 내에서 건조시켰다. 생성되는 갈색 고체를 메탄올 (80 mL)에 용해시키고, 진한 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (6.6 mL)을 적가하며, 용액을 16 시간 동안 90℃까지 가열하였다. 메탄올을 감압 하에 제거하고, 포화 수성 중탄산나트륨을 첨가하여 염기성 pH를 달성하고, 혼합물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 배합된 추출물을 염수로 세정하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에 농축하여 12.8 g (74%)의 표제 화합물을 백색 고체로서 제공하였다. GCMS *m/e* 215,



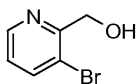
217 [M]<sup>-</sup>.

<115> 대안적 절차:

<116> 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에 기계적 교반기, 열전대, 질소 유입구 및 환류 응축기를 장착하였다. 플라스크에 HCl (20 L) 및 3-브로모피리딘-2-카르보닐트릴 (6790 g, 37.1 몰) (예를 들어, 본질적으로 중간체 3에 대한 대안적 절차에서 기술한 바와 같이 제조함)을 채웠다. 반응 혼합물을 가열 환류하고 출발 물질을 용해시키며 분홍색 현탁액이 형성된다. 반응 혼합물을 환류 하에 20 시간 동안 교반하였다. 반응의 진행을 TLC (헵탄:EtOAc, 1:1)에 의해 모니터링하였다.  $R_f = 0.5$ 에서 출발 물질이 존재하지 않거나 또는  $R_f = 0.15$ 에서 중간체 아미드가 존재하지 않는다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 반응 혼합물을 0 ~ 5°C까지 냉각한 후, 상기 온도에서 3 시간 동안 교반하였다. 상기 시간 이후 고체를 여과에 의해 수집하였다 (세정하지 않고 필터 상에 가압함). 고체 (3-브로모피리딘-2-카르복실산)를 진공 오븐 내에서 50°C에서 건조시키고, 이때 HCl이 습윤 생성물 중에 존재하므로 적절한 트래핑 (trapping)을 이용하였다. 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에 기계적 교반기, 열전대 및 환류 응축기를 장착하였다. 플라스크에 MeOH (25.5 L), 및 3-브로모피리딘-2-카르복실산 (5.098 kg), 이어서 HCl (15 mL)을 채웠다. 반응 혼합물을 약 64 ~ 65°C에서 가열 환류하고 상기 온도에서 9 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 40 내지 50°C까지 냉각되게 한 후 페이스트로 농축하였다. 50 L 분별 깔때기에 물 (12 L) 및 고체 NaHCO<sub>3</sub> (2338 g)을 채우고 혼합물을 10 ~ 15 분 동안 교반하였다. 농축된 페이스트로부터의 잔류물을 교반된 중탄산나트륨 용액에 발포를 조절하는 속도로 조금씩 첨가하였다. 모든 잔류물을 첨가한 이후, EtOAc (10 L)를 깔때기에 채우고 10 ~ 15 분 동안 교반하였다. 수성층을 분리하고 유기층을 포화 중탄산나트륨 수용액 (1 L)으로 세정한 후, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며 농축하였다. 배합된 수성층을 EtOAc (2 x 2 L)로 추출하고 배합된 유기층을 포화 중탄산나트륨 수용액 (1 L)으로 세정한 후, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 첫번째 추출물과 함께 농축하였다. 담황색 오일을 수득하고 이는 냉각시 응고된다. 생성되는 물질을 진공 오븐 내에서 실온에서 밤새 건조시켰다.

<117> 중간체 5

<118> (3-브로모-피리딘-2-일)-메탄올



<119>

<120> 3-브로모-피리딘-2-카르복실산 메틸 에스테르 (12.8 g, 59.2 mmol)를 메탄올 (150 mL)에 용해시키고 0°C까지 냉각하였다. 혼합물에 NaBH<sub>4</sub> (11.2 g, 296 mmol)을 1.0 g의 분량씩 첨가하였다. 혼합물을 실온까지 가온하고 3 시간 동안 교반하였다. 메탄올을 감압 하에 제거하고, 에틸 아세테이트를 첨가하며 용액을 포화, 수성 염화암모늄 및 염수로 세정하였다. 유기 부분을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에 농축하여 6.8 g (62%)의 표제 화합물을 백색 고체로서 제공하였다. GCMS *m/e* 187, 189 [M]<sup>-</sup>.

<121> 대안적 절차:

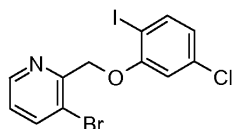
<122> 2 개의 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크 각각에 기계적 교반기, 열전대, 질소 유입구, 및 건조관을 장착하였다. 각 플라스크에 3-브로모-피리딘-2-카르복실산 메틸 에스테르 (1886 g, 8.73 몰) (예를 들어, 본질적으로 중간체 4에 대한 대안적 절차에서 기술한 바와 같이 제조함) 및 MeOH (19 L)를 채웠다. MeOH/건조 열음 바스를 이용하여 반응 혼합물을 -5 내지 5°C까지 냉각하였다 (과다 냉각하지 않도록 주의하면서 건조 열음을 조금씩 첨가함). 나트륨 보로히드라이드 (약 1651 g, 43.64 몰)를 각 플라스크에 100 g의 분량씩 채우고, 이때 온도를 -5 내지 5°C로 유지하고 온도를 안정화시킨 후 각 분량을 첨가하였다. 첨가가 완료된 후, MeOH 바스를 열음물로 대체하였다. 반응 혼합물을 0 ~ 5°C에서 6 ~ 8 시간 동안 교반하고, 이때 필요시 열음을 바스에 첨가하여 온도를 0 ~ 5°C로 유지하도록 주의하였다. 반응의 진행을 TLC (헵탄:EtOAc, 1:1)에 의해 모니터링하였다.  $R_f = 0.6$ 에서 출발 물질이 존재하지 않을 것이고,  $R_f = 0.1 \sim 0.5$ 에서 생성물이 관측된다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 열음물 바스를 열음/MeOH 또는 MeOH/건조 열음 바스로 대체하였다. 아세톤을, 첨가의 처음 절반 동안 10°C 미만의 온도로 유지하고 두번째 부분 동안 10 ~ 20°C의 온도로 유지하도록 하는 속도로 첨가하였다 (각 플라스크에 4.5 L). 일단 아세톤 첨가가 완료되면, 반응물을 열음물 바스 내에서 밤새 교반되도록 놔두거나 또는 후처리를 진행할 수 있다. 각 반응 혼합물을 물로 희석하고 (각 플라스크에 5 L), 반응 혼합물을 농



축하여 거의 건조시켰다. 생성되는 고체 잔류물을 물 (총 15 L) 및 EtOAc (20 L)로 희석하고, 혼합물을 15 갤런 단지로 옮긴다. 50% 수산화나트륨 용액을 혼합물 (2 kg)에 채우고 혼합물/현탁액을 실온에서 20 ~ 30 분 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고 필터 케이크를 EtOAc (2 x 2 L)로 세정하며, 고체를 보존하였다. 배합된 여액을 분별 깔때기로 배합하고 유기층을 분리하며, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며 농축하였다. 수성층을 보존하였다. 여과로부터의 고체 및 수성층을 물 (15 L) 및 EtOAc (15 L)를 갖는 15 갤런 단지에 채웠다. 혼합물을 실온에서 20 ~ 30 분 동안 교반하였다. 상기 시간 이후, 혼합물을 여과하고, 유기층을 분리하며 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 첫번째 추출물과 함께 농축하였다. 추출을 필요시 반복하였다. 배합된 농축 여액 (3.12 kg의 연분홍색 오일)을 저온실 내에서 저장할 수 있거나 또는 바로 정제할 수 있다. 농축 여과된 잔류물 (3.12 kg)을 EtOAc (6 L)에 용해시키고, 필요시 열을 가하였다. 생성되는 연분홍색 용액을 헵탄 (6 L)으로 희석하고, 생성되는 용액을 실리카겔 플러그 (5.5 kg, d = 24 인치, h = 2 인치, 헵탄 (9 L) 및 EtOAc (1 L)의 혼합물에 예비 로딩됨) 상에 로딩하고 헵탄:EtOAc, 8:2 혼합물 (약 30 L) 및 그 후 헵탄:EtOAc, 7:3 혼합물 (약 40 L)로 용출하였다. 분획을 TLC (헵탄:EtOAc, 1:1)에 의해 모니터링하였다. 생성물 분획을 현탁액 상태로 농축하나, 건조시키지 않는다. 현탁액을 0 ~ 5℃까지 냉각하고 상기 온도에서 1 시간 동안 교반하였다. 상기 시간 이후, 고체를 여과에 의해 수집하고, 헵탄 (0 ~ 5℃, 2 L)으로 세정한 후, 진공 오븐 내에서 25℃에서 일정한 중량까지 건조시켰다.

### <123> 중간체 6

### <124> 3-브로모-2-(5-클로로-2-요오도-페녹시메틸)-피리딘



<125>  
<126> (3-브로모-피리딘-2-일)-메탄올 (3.4 g, 18 mmol), 및 2-요오도-5-클로로페놀 (4.5 g, 18 mmol)을 벤젠 (60 mL)에 용해시키고 0℃까지 냉각하였다. 상기 용액에 트리부틸포스핀 (15 mL, 90 mmol), 및 1,1'-(아조디카르보닐)디피페리딘 (ADDP) (6.6 g, 18 mmol)을 첨가하고, 혼합물을 40℃에서 3 시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석하고, 포화 수성 NH<sub>4</sub>Cl 및 염수로 세정하며, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에 농축하였다. 생성되는 잔류물을 플래시 크로마토그래피 (바이오타지® Si65M, 15% 에틸 아세테이트/헥산)에 의해 정제하여 3.77 g (51%)의 표제 화합물을 백색 고체로서 제공하였다. GCMS *m/e* 296, 298 [M-I]<sup>+</sup>.

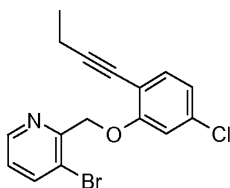
<127> 대안적 알킬화 방법:

<128> (3-브로모-피리딘-2-일)-메탄올 (7.39 g, 39.30 mmol), 및 트리에틸아민 (7.15 mL, 51.3 mmol)을 질소 하에 테트라히드로푸란 (70 mL)에 배합하였다. 용액을 얼음 바스에 의해 0.6℃까지 냉각하였다. 메탄설포닐 클로라이드 (3.35 mL, 43.28 mmol)를 20 분에 걸쳐 적가하고, 발열을 조절하여 내부 온도가 5℃를 초과하지 않게 하였다. 첨가 이후, 반응물을 얼음 바스 위에서 교반하였다. 20 분 후 HPLC 분석은 (3-브로모-피리딘-2-일)-메탄올이 완전히 소모되었음을 나타낸다. 트리에틸아민 히드로클로라이드를 프리트화된 유리 깔때기를 이용하여 여과하고, 저온 THF (50 mL)로 세정하였다. 메실레이트를 함유하는 THF 여액을 질소 하에 위치시키고 얼음 바스 내에서 냉각하였다. 2-요오도-5-클로로페놀 (10.00 g, 39.30 mmol)을 첨가하고, 이어서 나트륨 *t*-부톡사이드 (4.10 g, 41.38 mmol)를 2 회의 동일한 분량으로 첨가하며, 이때 각 첨가 동안 약 5℃의 약간의 발열이 발생하였다. 얼음 바스를 제거하고 반응물을 밤새 교반되게 하였다. 반응물을 물 (50 mL)로 킨칭하고, 하부의 수성층을 서서히 분리되게 하였다. 유기 부분을 염수 (25 mL)로 세정한 후, 염수 및 수성 부분을 THF (10 mL)로 역추출하였다. 유기 부분을 배합하고 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 농축하여 녹색 주황색 고체를 제공하였다. 고체를 디클로로메탄 (25 mL)에 용해시키고, 10 ~ 20% 에틸 아세테이트/헥산 구배를 이용하는 아나로직스 인코포레이티드 (AnaLogix Inc.), 인텔리플래시 (Intelliflash) 180 자동화 크로마토그래피 장치, 버전 1.8.0으로 35 분에 걸쳐 크로마토그래피 분석하여 11.0 g (65%)의 생성물을 황색 고체로서 제공하였다.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 5.31 (2H, s), 6.85 (1H, dd), 7.25 (1H, m), 7.39 (1H, dd), 7.77 (1H, d), 8.17 (1H, d), 8.59 (1H, d).

### <130> 중간체 7

<131> 3-브로모-2-(2-부트-1-이닐-5-클로로-페녹시메틸)-피리딘



<132>

<133> 3-브로모-2-(5-클로로-2-요오도-페녹시메틸)-피리딘 (3.8 g, 8.9 mmol)을 압력 플라스크 내에 위치시키고, 디에틸아민:아세트니트릴:THF (18 mL:4 mL:4 mL)에 용해시키며, 질소로 15 분 동안 탈기시켰다. 용액을 통해 과량의 1-부틴을 기포 생성하고, 이어서 CuI (507 mg, 2.66 mmol), 및 PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (623 mg, 0.888 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 그 후 혼합물을 에테르로 희석하고 포화 수성 염화암모늄 및 염수로 세정하였다. 유기 부분을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에 농축하였다. 잔류물을 플래시 크로마토그래피 (바이오타지® Si65M, 30% 헥산/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 이어서 20% 에틸 아세테이트/헥산)에 의해 정제하여 2.3 g (75%)의 표제 화합물을 연주황색 고체로서 제공하였다. LCMS *m/e* 351 [M]<sup>+</sup>.

<134> 대안적 절차:

<135> 3-브로모-2-(5-클로로-2-요오도-페녹시메틸)-피리딘 (5.00 g, 11.54 mmol)을 트리에틸아민 (60 mL, 430.5 mmol)에 현탁시키고 탈기시켰다. 1-부틴 (2.6 g, 11.54 mmol) (DMF 중 24% wt/wt)을 첨가하고, 이어서 비스(트리페닐포스핀)팔라듐(II) 클로라이드 (410 mg, 0.584 mmol) 및 요오드화구리(I) (220 mg 1.16 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 밤새 교반되게 하였다. 반응물을 tert-부틸 메틸 에테르 (50 mL)로 희석하고 NH<sub>4</sub>Cl 용액 (50 mL)으로 켄칭하며 (이는 3°C의 약간의 발열을 수반함), 30 분 동안 교반하였다. 수성층을 제거하고 유기물을 5N HCl (80 mL)로 세정하여 TEA의 유기층을 제거하였다. 산성층 (pH = 2)을 제거하고 유기층을 염수로 세정하고, 건조시키고, 여과하며 증발시켜 암갈색 오일이 되게 하였다. 상기 오일을 아나로직스 인코포레이티드, 인텔리플래시 180 자동화 크로마토그래피 장치, 버전 1.8.0으로 크로마토그래피 분석하였다 (5 분 동안 헵탄 중 0% 내지 10% 에틸 아세테이트 구배를 이용함, 5 분 동안 정지, 그리고 10 분 동안 헵탄 중 10% 내지 20% 에틸 아세테이트 구배를 이용함). 출발 물질 및 예상된 생성물의 혼합물인 주황색 고체 (4.0 g)를 수득하였다. 물질을 헵탄으로부터 재결정화하여 출발 물질 (HPLC에 의해 6%) 및 표제 생성물의 혼합물 3.1 g을 제공하였다.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO) δ 1.05 (3H, t), 2.33 (2H, q), 5.31 (2H s), 6.96 (1H, dd), 7.22 (1H, m), 7.31 (1H, d), 7.37 (1H, dd), 8.15 (1H, dd), 8.57 (1H, dd).

<136>

<137> 물질은 HPLC (컬럼 - 조르박스 에클립스 (Zorbax Eclipse) XDB-C8; 용매 - 50% 아세트니트릴/물 (0.01%의 TFA를 가짐) 내지 80% 아세트니트릴의 구배)에 의해 평가지 6%의 출발 물질을 함유하였다. 생성물의 T<sub>R</sub> = 6.15 분.

<138> 대안적 합성:

<139> A. 2-(5-클로로-2-요오도-페녹시)-테트라히드로-피란의 제조

<140> 22 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 첨가 깔때기, 질소 유입구, 건조관 및 열전대를 장착하였다. 5-클로로-2-요오도페놀 (2290 g, 9 몰) (예를 들어, 본질적으로 중간체 1에 대한 대안적 절차에서 기술한 바와 같이 제조함), 디클로로메탄 (11.45 L) 및 피리디늄 p-톨루엔-설포네이트 (45.2 g, 0.18 몰)를 플라스크에 채우고, 3,4-디히드로-2H-피란 (1211 g, 14.4 몰)을 대략적으로 1 시간에 걸쳐 플라스크에 적가하였다. 첨가 동안 약간의 발열이 관측되며, 저온 수돗물을 냉각 바스에 첨가하여 온도를 30°C 이하로 유지하였다. 첨가가 완료된 후, 반응 혼합물을 주위 온도에서 최소 12 시간 동안 교반하였다. 반응의 진행을 TLC (헵탄:EtOAc, 9:1)에 의해 모니터링하였다. R<sub>f</sub> = 0.2에서 출발 물질이 관측되며, R<sub>f</sub> = 0.5에서 생성물이 관측된다. 미량보다 많은 출발 물질이 존재하는 경우, 반응물을 추가의 4 시간 동안 교반할 수 있다. 일단 반응이 완료되면, 혼합물을 포화 중탄산나트륨 수용액 (1.5 L)으로 세정하고, 유기층을 수성층으로부터 분리하고, 수성층을 디클로로메탄 (1 L)으로 추출하며, 배합된 유기층을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 차콜로 처리하고,

여과하며, 농축하였다. 생성되는 갈색 오일을 톨루엔과 함께 동시 증발시켜 가능한 잔류 3,4-디히드로-2H-피란을 제거하였다. 생성물을 트리에틸아민 (4.5 L)에 용해시켜 혼탁한 용액을 형성하고, 여과하며, 필터 케이크를 트리에틸아민 (200 mL)으로 세정하였다. 생성물을 이어서 트리에틸아민 중 용액으로서 다음 단계에 이용하였다.

<141> B. 2-(2-부트-1-이닐-5-클로로-페녹시)-테트라히드로-피란의 제조

<142> 상기 앞선 반응으로부터의 트리에틸아민 용액 중의 생성물을, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 질소 유입구, 건조관, 및 열전대가 장착된 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에 채웠다. 트리에틸아민 (4.28 L), 에틸 아세테이트 (8.78 L), 디클로로비스(트리페닐포스핀) 팔라듐 (126.3 g, 0.18 몰), 및 요오드화구리(I) (34.3 g, 0.18 몰)를 플라스크에 채우고 반응 혼합물을 교반하고 질소 블랭킷 하에 0 ~ 10℃까지 냉각하였다 (주: 생성물을 또한 상기 기술한 바와 같은 추가의 트리에틸아민의 후속 첨가 없이 초기에 파트 A의 9 L의 트리에틸아민에 용해시킬 수 있음). 상기 시간 이후, 질소 유량을 중지하고 1-부틴 (681.5 g, 12.6 몰)을 반응 혼합물 표면 아래에 위치한 유리 깊은 통을 이용하여 플라스크에 채우고, 이때 3 시간의 첨가 동안 온도를 10℃ 이하로 유지하였다. 첨가가 완료된 후, 냉각 바스를 제거하고 반응 혼합물을 실온에서 최소 12 시간 동안 교반하였다. 반응을 TLC (헵탄:EtOAc, 9:1)에 의해 모니터링하였다.  $R_f = 0.6$ 에서 출발 물질이 관측되고  $R_f = 0.5$ 에서 생성물이 관측된다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 반응 혼합물을 여과하고, 필터 케이크를 EtOAc (3 x 1 L)로 세정하며, 각 세정시 진공을 방출하였다. 모든 유기 부분을 배합하고 갈색 오일로 농축하였다. 잔류물을 헵탄 (5 L) 및 트리에틸아민 (25 mL)으로 희석하였다. 실리카겔 컬럼 (헵탄 (5 L) 및 트리에틸아민 (60 mL)에 예비 로딩된 3 kg의 실리카겔, d = 8 인치, h = 18 인치)을 이용하여 생성물을 정제하였다. 조 생성물을 용액에 로딩하고, 헵탄 (9 L)/0.2 % EtOAc, 헵탄 (9 L)/3% EtOAc, 및 헵탄 (9 L)/4% EtOAc으로 순차적으로 용출하였다. 적절한 분획을 배합하여 갈색 오일 (2644 g, 순수하지 않음)을 제공하였다. 오일을 헵탄 (1 mL/g) 및 트리에틸아민 (20 mL)에 용해시키고, 용액을 냉동 장치 내에 위치시켰다. 약 12 시간 이후 고체가 분리된다. 상청액을 경사 분리하고, 고체를 계량하고 헵탄 (1 mL/g) 및 트리에틸아민 (20 mL)에 용해시켰다. 결정화를 반복하여 순수한 생성물 (2003 g)을 수득하였다.

<143> 추가의 정제:

<144> 고체를 디클로로메탄 (2 mL/g)에 용해시키고 생성되는 용액을, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 질소 유입구, 및 건조관이 장착된 적절한 3목 둥근 바닥 플라스크에 채웠다. Si-티올 유도체화 실리카겔 (로딩량 1.33 mmol/g)을 첨가하고 생성되는 현탁액을 실온에서 최소 12 시간 동안 교반하였다. 상기 시간 이후, 현탁액을 여과하고, 필터 케이크를 디클로로메탄 (3 x 500 mL)으로 세정하며 배합된 여액을 농축하여 호박색 오일을 제공하였다. 상기 오일을 헵탄 (1 mL/g)에 용해시키고 냉동 장치 내에 밤새 위치시켰다. 고체를 경사 분리한 후 진공 오븐 내에서 주위 온도, 1 mm Hg에서 최소 18 시간 동안 건조시켰다.

<145> C. 2-부트-1-이닐-5-클로로-페놀의 제조

<146> 22 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 첨가 깔때기, 질소 유입구, 열전대 및 건조관을 장착하였다. MeOH (2.3 L) 및 HCl (9 mL)을 플라스크에 채우고, 교반을 시작하고, 반응물을 10 ~ 20℃까지 냉각하였다. 20 L 광구 둥근 바닥 플라스크에, 가열 맨틀 내에 위치한 기계적 교반기를 장착하고, 2-(2-부트-1-이닐-5-클로로-페녹시)-테트라히드로-피란 (2313 g, 8.736 몰) 및 MeOH (3.47 L)를 플라스크에 채웠다. 가벼운 가열을 적용하여 고체를 용해시키고 플라스크를 MeOH (70 mL)로 행켰다. 상기 용액을 첨가 깔때기를 통해 3목 둥근 바닥 플라스크에 채우고, 이때 온도를 45 분에 걸쳐 20℃ 이하로 유지하였다. 냉각을 중지하고 반응 혼합물을 최소 30 분 동안 교반하였다. 반응의 진행을 TLC (헵탄:EtOAc, 9:1)에 의해 모니터링하였다.  $R_f = 0.6$ 에서 출발 물질이 관측되고,  $R_f = 0.5$ 에서 생성물이 관측된다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 반응 혼합물을 포화 중탄산나트륨 수용액 (300 mL)으로 희석하고 실온에서 5 ~ 10 분 동안 교반하였다. 상기 시간 이후 반응 혼합물을 농축하여 MeOH를 제거하였다. 잔류 오일 (2118 g)을 MTBE (4 L)로 희석하고 염수 용액 (1.5 L)으로 세정하였다. 유기층을 분리하고 수성층을 MTBE (2 x 1 L)로 추출하였다. 배합된 유기 부분을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며 농축하였다. 그 후 생성물을 톨루엔 (2 x 800 mL)과 함께 동시 증발시키고 이를 그대로 직접 사용하였다.

<147> D. 3-브로모-2-(2-부트-1-이닐-5-클로로-페녹시메틸)-피리딘 (중간체 7)의 제조

<148> 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 첨가 깔때기, 질소 유입구, 열전대, 및 건조관을 장착하였다. (3-브로모-피리딘-2-일)-메탄올 (예를 들어, 본질적으로 중간체 5에 대한 대안적 절차에서

기술한 바와 같이 제조함), THF (14.7 L) 및 트리에틸아민 (1.53 L, 11.01 몰)을 플라스크에 채우고 반응 혼합물을 -5 내지 5℃까지 냉각하였다. 온도를 5℃ 미만으로 유지하면서 순수한 메탄설폰닐 클로라이드 (1155 g, 10.09)를 1.5 시간에 걸쳐 적가하여 백색 현탁액을 형성하였다. 생성되는 현탁액을 -5 내지 0℃에서 1 시간 동안 교반하고 반응의 진행을 TLC (디클로로메탄:MeOH, 20:1)에 의해 모니터링하였다.  $R_f = 0.5$ 에서 출발 물질이 관측되고  $R_f = 0.95$ 에서 메실레이트 생성물이 관측된다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 반응 혼합물을 여과하고 필터 케이크를 저온 THF (0 ~ 5℃, 3 x 2 L)로 세정하였다.

<149>

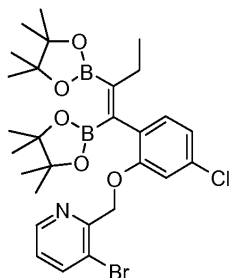
50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 첨가 깔때기, 질소 유입구, 열전대, 및 건조관을 장착하였다. 메탄설폰산 3-브로모-피리딘-2-일메틸 에스테르 및 2-부트-1-이닐-5-클로로-페놀 (8.736 몰, 0.95 당량) (예를 들어, 본질적으로 상기 단계 C에서 기술한 바와 같이 제조함)을 플라스크에 채우고, THF (70 mL)를 이용하여 플라스크를 헹궜다. 교반을 시작하고 반응 혼합물을 -15 내지 0℃까지 냉각하였다. 온도를 0℃ 미만으로 유지하면서 나트륨 tert-부톡시드 (969.7 g, 10.09 몰)를 40 분에 걸쳐 조금씩 첨가하였다. 혼탁한 황갈색/황색 용액이 존재할 때까지 반응물을 최소 48 시간 동안 교반하면서 실온까지 가온되게 하였다. 반응의 진행을 TLC (헵탄:EtOAc, 1:1)에 의해 모니터링하였다.  $R_f = 0.1$ 에서 메실레이트가 관측되고  $R_f = 0.5$ 에서 생성물이 관측된다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 반응 혼합물을 물 (5 L)로 희석하고, 유기층을 수성층으로부터 분리하며, 유기물을 진한 슬러리로 농축하였다. 수성층을 MTBE (2 x 2 L)로 추출하고 유기층을 분리하였다. 농축된 슬러리를 MTBE (12 L)에 용해시키고, 앞선 추출물 (4 L)과 배합하며, 고체가 전부 용해될 때까지 교반하였다. 유기층을 염수 (3 L)로 세정하고, 분리하며, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 차콜로 처리하고, 여과하며, 농축하였다. 그 후 생성물을 EtOH (1 L)와 함께 동시 증발시켜, 회색빛 흰색 고체 (3581 g)를 생성하였다. 상기 고체를 1 시간 동안 교반 및 -5 내지 5℃에서 냉각하면서, EtOH (2.5 L, 0.7 mL/g)로부터 재결정화하였다. 고체를 여과에 의해 수집하고 저온 EtOH (2 x 900 mL, -20 내지 -10℃)에 의해 세정하였다. 오일 펌프를 이용하여 생성물을 진공 오븐 내에서 30℃에서 건조시켰다.

<150>

#### 중간체 8

<151>

(Z)-2-{2-[1,2-비스-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-부트-1-에닐]-5-클로로-페녹시메틸}-3-브로모-피리딘



<152>

<153>

3-브로모-2-(2-부트-1-이닐-5-클로로-페녹시메틸)-피리딘 (2.3 g, 6.6 mmol)을 DMF (65 mL)에 용해시키고 용액을 통해 15 분 동안 질소 기포를 생성함으로써 탈기시켰다. 용액에 비스(피노칼라토)디보론 (1.8 g, 7.2 mmol), 및 Pt(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (653 mg, 0.525 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 24 시간 동안 가열하고, 실온까지 냉각하고, 에틸 아세테이트로 희석하고, 염수로 세정하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에 농축하여 고체를 제공하였다. 상기 고체를 에테르에 용해시키고, 여과하며, 감압 하에 농축하여 3.61 g (91%)의 표제 화합물을 황색 고체로서 제공하고 이를 추가의 정제 없이 사용하였다. LCMS  $m/e$  605 [M]<sup>+</sup>.

<154>

대안적 절차:

<155>

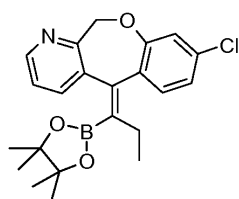
50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 질소 딥 튜브 (dip tube), 열전대, 및 건조관을 장착하였다. DMF (27 L), 3-브로모-2-(2-부트-1-이닐-5-클로로-페녹시메틸)-피리딘 (3381 g, 9.642 몰) (예를 들어, 본질적으로 중간체 7에 대한 대안적 합성에서 기술한 바와 같이 제조함)을 플라스크에 채우고, 강한 질소 기체 유량을 최소 1 시간 동안 기포 생성하면서 생성되는 용액을 실온에서 교반하였다. 상기 시간 이후 비스(피나콜라토디보론) (2522 g, 9.93 몰)을 플라스크에 1 회 분량으로 채우고, 15 분 이상 동안 강한 질소 기체 유량을 기포 생성하면서 생성되는 용액을 실온에서 교반하였다. 테트라키스(트리페닐포스핀) 백금 (0) (24 g, 0.019 mmol)을 플라스크에 채우고, 딥 튜브를 정상 질소 유입구로 대체하였다. 반응 혼합물을 80℃까지



가열하고 상기 온도에서 8 ~ 10 시간 동안 교반하였다. 반응의 진행을 TLC (헵탄:EtOAc)에 의해 모니터링하였다.  $R_f = 0.4$ 에서 출발 물질이 존재하지 않을 것이고,  $R_f = 0.35$ 에서 생성물이 관측된다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 반응 혼합물을 실온까지 냉각하였다. 반응 혼합물을 MTBE (20 L), 이어서 10% NaCl 수용액 (25 L)으로 희석하였다. 유기층을 수성층으로부터 분리하고 10% NaCl 수용액 (10 L)으로 세정하였다. 유기층을 분리하고 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 농축하였다. 수성층을 배합하고 MTBE (5 L)로 추출하였다. MTBE 추출물을 10% NaCl 수용액 (3 L)으로 세정하고, 황산마그네슘으로 건조시키고, 여과하며, 첫번째 추출물과 함께 진한 페이스트로 농축하였다. 이소프로필 알콜 (7 L)을 첨가하고 농축을 지속하여 잔류 MTBE를 제거하였다. 생성되는 현탁액을 냉각 바스 내에서 실온에서 최소 1 시간 동안 교반하였다. 상기 시간 이후 고체를 여과에 의해 수집하고 필터 케이크를 이소프로필 알콜 (2 x 1.5 L)로 세정하였다. 오일 펌프를 이용하여 진공 오븐 내에서 40 ~ 45℃에서 최소 18 시간 동안 고체를 건조시켰다.

<156> **중간체 9**

<157> **(Z)-8-클로로-5-[1-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-프로필리덴]-5,11-디히드로-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵탄**



<158>

<159> (Z)-2-{2-[1,2-비스-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-부트-1-에닐]-5-클로로-페녹시메틸}-3-브로모-피리딘 (3.6 g, 6.0 mmol)을 디옥산 (600 mL)에 용해시키고, 용액을 통해 15 분 동안 질소 기포를 생성함으로써 탈기시켰다. 분쇄된  $K_3PO_4$  (3.8 g, 18 mmol)를 첨가하고, 이어서  $PdCl_2dppf \cdot CH_2Cl_2$  (488 mg, 0.598 mmol)를 첨가하였다. 슬러리를 22 시간 동안 80℃에서 가열하고, 실온까지 냉각하고, 염수로 세정하고,  $MgSO_4$  상에서 건조시키며, 감압 하에 농축하여 고체를 제공하였다. 고체를 에틸 아세테이트에 용해시키고, 중력 여과하며, 감압 하에 농축하여 2.37 g (약 100%)의 표제 화합물을 제공하고, 이를 추가의 정제 없이 사용하였다. LCMS  $m/e$  398  $[M+H]^+$ .

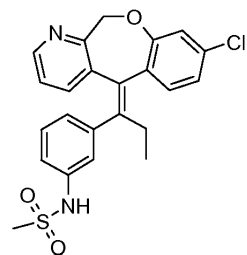
<160> 대안적 합성:

<161> 2 개의 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 가열 맨틀 내에 위치한 기계적 교반기, 질소 덤 튜브, 열전대, 환류 응축기 및 건조관을 장착하였다. 1,4-디옥산 (각각 26 L), (Z)-2-{2-[1,2-비스-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-부트-1-에닐]-5-클로로-페녹시메틸}-3-브로모-피리딘 (예를 들어, 본질적으로 중간체 8의 대안적 절차에서 기술한 바와 같이 제조함) (각각 2610 g) 및 탄산칼륨 분말 (각각 1790 g)을 플라스크에 채웠다. 강한 질소 기체 유량을 2 시간 이상 동안 기포 생성하면서 생성되는 현탁액을 실온에서 교반하였다. 상기 시간 이후 [1,1'-비스(디페닐포스피노)-페로산]디클로로팔라듐 (II), 디클로로메탄과의 복합체 (1:1), (각각 176.3 g)를 플라스크에 채우고 덤 튜브를 정상 질소 유입구로 대체하였다. 반응 혼합물을 80℃까지 가열하고 상기 온도에서 최소 20 시간 동안 교반하였다. 암갈색 현탁액이 관측된다. 반응의 진행을 TLC (헵탄:EtOAc 1:1)에 의해 모니터링하였다.  $R_f = 0.7$ 에서 미량의 출발 물질이 존재하고  $R_f = 0.6$ 에서 생성물이 관측된다. 미량보다 많은 출발 물질이 존재하는 경우 추가의 탄산칼륨 (각각 596.5 g, 총 1193 g)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 80℃에서 4 시간 동안 교반하였다. 일단 반응의 완료된 것으로 생각되면, 반응 혼합물을 60℃까지 냉각하거나 또는 실온까지 교반하였다. 반응 혼합물을 여과하고 필터 케이크를 1,4-디옥산 (3 x 3 L) 및 EtOAc (3 x 3 L)로 세정하였다. 배합된 여액을 고체로 농축하였다. 탁한 고체를 EtOAc (20 L)에 용해시키고, 생성되는 용액을 15% NaCl 수용액 (5 L)으로 세정하였다. 혼합물을 교반하였다 (분별 깔때기를 이용함). 분리가 발생하지 않는다. 혼합물을 버킷에 수집하고 구조토를 첨가하며 (각 버킷에 1 kg), 버킷을 교반하고 전체 혼합물을 여과하여 층분리를 방해하는 고체를 제거하였다. 필터 케이크를 EtOAc (3 x 1 L)로 세정하였다. 여액을 배합하고 유기층을 분리하였다. 유기층을 15% NaCl 수용액 (5 L)으로 세정하였다. 그 후 유기층을 배합하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하며, 농축하였다. 1,4-디옥산 (2 L)과 함께 동시 증발시켜 갈색 고체 잔류물을 수득하였다.



실시예 1

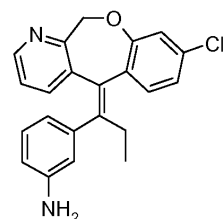
(E)-N-[3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리텐)-프로필]-페닐]-메탄설포아미드



(Z)-8-클로로-5-[1-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-프로필리텐]-5,11-디히드로-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵탄 (2.37 g, 5.96 mmol), N-(3-요오도페닐) 메탄설포아미드 (2.66 g, 8.94 mmol), 3,5-디메톡시페놀 (4.6 g, 30 mmol), 및 KOH (5.0 g, 89 mmol)를 디옥산/물 (40 mL/15 mL)에 용해시키고 용액을 통해 15 분 동안 질소 기포를 생성함으로써 탈기시켰다. 혼합물에 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (689 mg, 0.596 mmol)를 첨가하고, 용액을 80℃에서 18 시간 동안 가열하였다. 용액을 실온까지 냉각하고, 에틸 아세테이트로 희석하고, 물, 포화 수성 염화암모늄, 및 염수로 세정하고, MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하며, 감압 하에 농축하였다. 생성되는 잔류물을 플래시 크로마토그래피 (바이오타지® Si65M, 3% 에탄올/CHCl<sub>3</sub>), 이어서 이온 교환 크로마토그래피 (2 개의 분량으로 분할, 본드엘루트® (BondElut®) SCX, 80/20 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/메탄올로 플러싱, 메탄올 중 80/20 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2.0 M NH<sub>3</sub>로 용출), 및 또다른 플래시 크로마토그래피 정제 (바이오타지® Si40M, 40% 에틸 아세테이트/헥산 내지 80% 에틸 아세테이트 헥산)에 의해 정제하여 1.01 g (38%)의 표제 화합물을 백색 고체로서 제공하였다. LCMS *m/e* 441 [M+H]<sup>+</sup>.

중간체 10

(E)-3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리텐)-프로필]-페닐아민



질소 분위기 하에, 물 (1.50 L) 중 수산화칼륨 (500 g, 8.91 몰) 용액을 기계적 교반기, 환류 응축기, 및 열전대가 장착된 12 L 4목 둥근 바닥 플라스크에 채웠다. 용액에 3-요오도아닐린 (128 g, 585 mmol), (Z)-8-클로로-5-[1-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-프로필리텐]-5,11-디히드로-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵탄 (232 g, 583 mmol), 1,4-디옥산 (2.40 L), 및 3,5-디메톡시페놀 (454 g, 2.92 몰)을 첨가하여 암갈색 혼합물을 생성하였다. 환류 응축기에 있는 3방향 밸브 (three-way valve)를 통해 혼합물을 탈기시켰다. 하우스 진공 (House vacuum)을 3방향 밸브를 통해 대략 3 분 동안 적용하였다. 그 후 질소 퍼지를 비워진 플라스크에 적용하였다. 이를 총 3 회 반복하였다. 고체 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (20.4 g, 17.5 mmol)을 첨가하고 탈기 과정을 반복하였다. 암갈색 혼합물을 2 시간 동안 80℃까지 가열하였다. 반응 혼합물을 40℃까지 냉각하고 15% NaCl 용액 (2.5 L)을 함유하는 22 L 바닥 유출 플라스크 (bottom outlet flask)에 채웠다. 혼합물을 10 분 동안 교반하고 층을 분리하였다. 유기층을 15% NaCl 용액 (2.5 L)으로 2 회 세정하였다. 유기층을 단리하고 진공에서 농축하여 진한 탁한 오일을 제공하였다. 2 L의 헵탄을 첨가하고 진공에서 농축하여 잔류 디옥산을 제거하였다. 생성물을 헵탄으로 습윤된 3 kg의 실리카겔로 충전된 10 인치 (약 25 cm)의 소결된 유리 깔때기를 이용하여 대규모 실리카겔 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 물질을 헵탄 (대략 500 mL)에 용해시키고 실리카에 적용하였다. 약간의 진공을 이용하여, 물질을 용출제로서의 3 L의 헵탄을 갖는 실리카 상에 충전하였다. 이동상을 9:1의 헵탄:EtOAc로 교환하고 1:1의 헵탄:EtOAc로의 구배를 이용하여 3.5 L의 분획을 수집하였다. 분획을 TLC (1:1의 EtOAc:헵탄, SiO<sub>2</sub>, R<sub>f</sub> = 0.45)를 이용하여 모니터링하였다. 목적하는

생성물을 함유하는 분획을 배합하고 진공에서 농축하여 암녹색 오일을 제공하였다. 상기 오일에 헵탄 (2 L)을 첨가한 후 물질을 진공에서 농축하여 201.3 g (95%)의 암녹색 고체를 제공하였다. LC-ES/MS  $m/e$  363.2  $[M+H]^+$ .

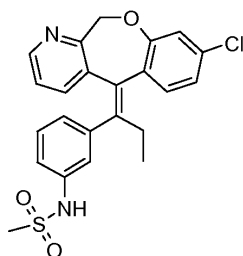
<170> 대안적 절차:

<171> (E)-3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐아민, 디톨루엔설폰산염 (5765 g) (예를 들어, 대안적 합성을 이용하여 본질적으로 하기 중간체 11에 대하여 기술하는 바와 같이 제조함)을 40 L 분별 깔때기를 이용하여 물 (12 L) 및 EtOAc (12 L)에 현탁시켰다. 50% NaOH 용액 (4.8 kg)을 1 회 분량으로 첨가하였다. 모든 고체가 용해될 때까지 현탁액을 교반하였다. 유기층을 분리하고 5% NaOH 수용액 (1 L)으로 세정하였다. 배합된 수성층을 EtOAc (2 x 2 L)로 추출하였다. 유기층을 분리하고 5% NaOH 수용액 (500 mL)으로 세정하였다. 배합된 유기층을 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 차콜로 처리하며, 여과하였다. 여액을 헵탄 (16 L)으로 희석하여 헵탄:EtOAc, 1:1의 용액을 만든다. 실리카겔 플러그 (헵탄:EtOAc, 1:1에 예비 로딩된 6 kg의 실리카겔, (8 L), 직경 = 18 인치, 높이 = 3 인치)를 이용하여 생성물을 정제하였다. 조 생성물을 용액에 로딩하고, 헵탄:EtOAc, 1:1, (약 40 ~ 50 L), 그 후 헵탄:EtOAc, 1:3, (약 20 ~ 30 L) 및 그 후 헵탄:EtOAc, 1:9, (10 ~ 20 L)로 용출하였다. 생성물을 함유하는 분획을 TLC (EtOAc, 100%)에 의해 측정하였다.  $R_f$  = 0.0에서 불순물이 관측된다.  $R_f$  = 0.4에서 생성물이 관측된다. 생성물을 함유하는 분획을 배합하고 농축하여 페이스트를 형성하였다. 생성되는 잔류물을 헵탄 (2 ~ 3 L)으로 희석하였다. 현탁액을 실온에서 30 분 동안 교반하고 고체를 여과에 의해 수집하며, 헵탄 (2 x 1.5 L)으로 세정하였다. 고체를 진공 오븐 내에서 40 ~ 45°C에서 밤새 건조시켰다.

<172> 실시예 1(a)

<173> (중간체 10으로부터)

<174> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설폰아미드



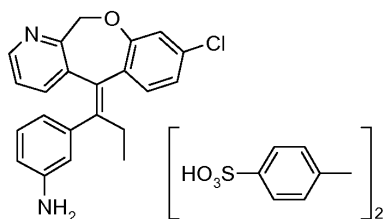
<175>

<176> 질소 분위기 하에, 고체 (E)-3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐아민 (198 g, 545 mmol), 피리딘 (67.0 mL, 828 mmol) 및 디클로로메탄 (1.6 L)을 기계적 교반기 및 열전대가 장착된 5 리터 4목 둥근 바닥 플라스크에 채웠다. 암녹색 반응 혼합물에, 디클로로메탄 (400 mL) 중 메탄설폰아미드 클로라이드 (51.0 mL, 658 mmol)의 용액을 첨가 깔때기로부터 20 분에 걸쳐 적가하였다. 첨가 과정에 걸쳐 6.9°C의 발열이 관측된다. 첨가의 완료시 반응물을 주위 온도에서 16 시간 동안 교반하였다. 혼합물을 10% 시트르산 용액 (2 L)을 함유하는 22 L 바닥 유출 플라스크에 채웠다. 혼합물을 15 분 동안 교반하고, 정치시 층이 분리된다. 유기층을 15% NaCl 용액으로 세정하였다. 유기층을 질소 분위기 하에서 기계적 교반기가 장착된, 5 L 4목 플라스크에 채웠다. 진홍색 용액을 다르코® (DARCO®) 활성탄 (200 g), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (200 g) 및 TMT (트리티오시아누르산 트리나트륨 염 히드레이트) (50 g)로 처리하였다. 혼합물을 주위 온도에서 18 시간 동안 교반한 후 규조토의 2 인치 (약 5 cm) 패드 (하이-플로 슈퍼셀® (Hy-flo Supercel®))를 통해 여과하였다. 여액을 진공에서 농축하여 단단한 백색 폼 (foam)을 제공하였다. 이소프로필 알콜 (1 L, 5 부피)을 폼에 첨가하고 슬러리를 40°C에서 1 시간 동안 교반하였다. 진한 혼합물을 주위 온도까지 냉각하였다. 고체를 뷰흐너 깔때기 (buchner funnel) 내의 프로필렌 패드를 통해 진공 여과하였다. 물질을 하우스 진공 하에 70°C에서 16 시간 동안 건조시켜 171.85 g (71.4%)의 백색 결정질 생성물을 제공하였다. LC-ES/MS  $m/e$  441.2  $[M+H]^+$ , 439.1  $[M-H]^-$ . 분석. C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>ClO<sub>3</sub>S에 대한 이론치: C, 62.65; H, 4.80; N, 6.35. 실측치: C, 62.81; H, 4.82; N, 6.20.

<177> 중간체 11

<178> (E)-3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐아민, 디톨루엔설폰산

면



<179>

<180>

표제 화합물을, 3-요오도아닐린 (13.72 g, 62.64 mmol) 및 (Z)-8-클로로-5-[1-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-프로필리덴]-5,11-디히드로-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헥탄 (24.91 g, 62.64 mmol)을 이용하여 본질적으로 중간체 10에 대하여 기술한 바와 같이 제조하였다. 반응이 완료된 이후 이를 40℃까지 냉각시켰다. 물 (250 mL), 15% 염수 용액 (50 mL) 및 t-부틸 메틸 에테르 (250 mL)를 첨가하였다. 상부 유기층을 분리하고 수성층을 t-부틸 메틸 에테르 (100 mL)로 추출하였다. 유기 용액을 예비 충전된 70 mm 수펠코® (SUPELCO®) 부호너 깔때기 내의 실리카 패드를 통해 통과시켰다. 여액을 농축하여 42.45 g의 오일을 제공하였다. 오일에 EtOAc (200 mL), 이어서 톨루엔설폰산 모노히드레이트 (23.83 g)를 교반하면서 18 시간 동안 첨가하였다. 황갈색 침전물을 여과하고, EtOAc (100 mL), 이어서 헥탄 (50 mL) 및 1:1 EtOAc/헥탄 (50 mL)으로 세정하였다. 물질을 하우스 진공 하에 50℃에서 18 시간 동안 건조시켜 34.43 g (77.7 중량%, 수율)을 제공하였다. LC-ES/MS *m/e* 362 [M+];

<181>

<sup>1</sup>H NMR DMSO (δ) 0.8 (triplet, 3H), 2.22 (s, 6H), 2.6 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 5.1 (d, 1H), 5.88 (d, 1H), 7-7.5 (Ar 및 NH<sub>3</sub>, 21H), 8.2 (d, 1H).

<182>

대안적 합성:

<183>

2 개의 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 질소 유입구, 열전대, 환류 응축기 및 건조관을 장착하였다. 물 (각 플라스크에 8.5 L) 및 수산화칼륨 (각 플라스크에 2422 g)을 플라스크에 채우고 혼합물을 5 ~ 15 분 동안 교반하여 고체가 용해되게 하고 온도를 안정화시켰다 (대략 40℃). 혼합물을 질소 블랭킷 하에 20 ~ 30℃까지 냉각하였다. 상기 시간 이후, 플라스크를 가열 맨틀 내에 위치시키고, 1,4-디옥산 (각 플라스크에 3 L), 3-요오도아닐린 (각 플라스크에 945.5 g, 4.317 몰), 및 1,4-디옥산 (15 L, 각 플라스크에 7.5 L) 중 동일하게 분배된 (Z)-8-클로로-5-[1-(4,4,5,5-테트라메틸-[1,3,2]디옥사보롤란-2-일)-프로필리덴]-5,11-디히드로-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헥탄 (8.634 몰, 1 당량으로 생각됨)의 용액 (본질적으로 중간체 9의 대안적 합성에서 기술한 바와 같이 제조함)을 각 플라스크에 채우고, 이어서 3,5-디메톡시페놀 (각 플라스크에 3328 g, 21.585 몰) 및 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (0) (각 플라스크에 149.58 g, 0.26 몰)을 채웠다. 반응 혼합물을 80℃까지 가열하고 상기 온도에서 2 시간 동안 교반하였다. 탁한 용액이 관측된다. 반응의 진행을 TLC 헥탄:EtOAc, 1:1에 의해 모니터링하였다. R<sub>f</sub> = 0.6에서 출발 물질이 존재하지 않을 것이다. R<sub>f</sub> = 0.2에서 생성물이 관측된다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 반응 혼합물이 실온까지 냉각되게 하였다. 반응 혼합물을 물 및 MTBE (8 L)로 희석하였다. 유기층을 분리하고 수성층을 MTBE (4 x 2 L)로 세정하였다. 배합된 유기층을 염수 용액 (5 L)으로 세정하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 차콜로 처리하고, 여과하며, 농축하였다. EtOAc (1.5 L)와 함께 동시 증발시켜 담갈색 오일 (4080 g)을 수득하였다.

<184>

50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 질소 유입구 및 건조관을 장착하였다. p-톨루엔설폰산 모노히드레이트 (4106 g, 21.585 몰, 2.5 당량) 및 EtOAc (15 L)를 플라스크에 채우고, 교반을 시작하며, 백색 현탁액이 관측된다. 갈색 오일을 EtOAc (16.3 L, 4 mL/g)에 용해시키고 상기 용액을 EtOAc 중 p-톨루엔설폰산 모노히드레이트의 현탁액에 조금씩 첨가하였다 (처음에는 빠르게 그 후 고체가 나타날 때는 느리게). 생성되는 회갈색 현탁액을 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. 상기 시간 이후 고체를 여과에 의해 수집하고 EtOAc (3 x 2 L, 실온)로 세정하였다. 고체를 버킷으로 옮기고 EtOAc (14 L)로 슬러리화한 후 고체를 여과에 의해 수집하였다. 고체를 버킷으로 옮기고 이소프로필 알콜 (14 L)로 다시 한 번 슬러리화한 후 여과에 의해 수집하였다. 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 가열 맨틀 내에 위치한 기계적 교반기, 환류 응축기, 질소 유입구 및 건조관을 장착하였다. 고체 및 이소프로필 알콜 (12 L)을 플라스크에 채웠다. 생성되는 현탁액을 30 분 동안 가열 환류하고, 실온까지 냉각하며, 고체를 여과에 의해 수집하였다. 그 후 고체를 실온의 이소프로필 알콜 (2 x 2 L), EtOAc (2 x 2 L), 및 헥탄 (2 x 2 L)으로 세정한 후 진공 오븐 내에서 40 ~ 45℃에서

밤새 건조시켰다. 회갈색 고체를 수득하였다.

#### <185> 실시예 1(b)

#### <186> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리텐)-프로필]-페닐}-메탄설포아미드

<187> 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 질소 유입구, 열전대 및 건조관을 장착하였다. (E)-3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리텐)-프로필]-페닐아민 (1800 g, 4.96 몰) (대안적 절차를 이용하여 본질적으로 중간체 10에 대하여 기술한 바와 같이 제조함), 디클로로메탄 (18 L) 및 피리딘 (588.5 g, 7.44 몰)을 플라스크에 첨가하였다. 반응 혼합물을 0 내지 5℃까지 냉각시키고 순수한 메탄설포닐 클로라이드 (681.8 g, 5.952 몰)를 약 20 ~ 30 분에 걸쳐 적가하고, 이때 온도를 5℃ 이하로 유지하였다. 첨가가 완료된 후, 반응 혼합물을 0 내지 5℃에서 1 시간 동안 교반하였다. 냉각 바스를 제거하고 반응물을 실온에서 최소 12 시간 동안 교반하였다. 반응의 진행을 TLC (순수 EtOAc)에 의해 모니터링하였다. 일단 반응이 완료된 것으로 생각되면, 40 L 분별 깔때기를 이용하여 반응 혼합물을 10% 시트르산 수용액 (14 L)으로 세정하였다. 수성층을 디클로로메탄 (1.5 L)으로 역추출하였다. 배합된 유기층을 10% 시트르산 수용액 (2 L)으로 세정하였다. 수성층을 디클로로메탄 (1.5 L)으로 역추출하였다. 배합된 유기층을 15% 염화나트륨 수용액 (5 L)으로 세정하고 수성층을 디클로로메탄 (1.5 L)으로 역추출하였다. 배합된 유기층을 반 포화 중탄산나트륨 수용액 (5 L)으로 세정하였다. 중탄산나트륨 세정은 최소 30 분 동안 수행되어야 하였다. 수성층을 디클로로메탄 (1.5 L)으로 역추출하였다. 배합된 유기층을 황산마그네슘 상에서 건조시키고 여과하였다. 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 질소 유입구, 열전대 및 건조관을 장착하였다. 생성물을 함유하는 디클로로메탄 용액을 플라스크에 채우고, 이어서 트리티오시아누르산, 트리나트륨 염 (630 g, 0.35 g/g의 출발 물질), 황산나트륨 (3.6 kg, 2 g/g의 출발 물질) 및 차콜 (180 g, 0.1 g/g의 출발 물질)을 플라스크에 채웠다. 현탁액을 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. 현탁액을 여과하고 필터 케이크를 디클로로메탄 (3 x 3 L)으로 슬러리화하였다. 여액을 배합하고 회색빛 흰색 고체로 농축하였다. 생성물을 진공 오븐 내에서 40℃에서 밤새 건조시켰다.

#### <188> 실시예 1(c)

<189> (중간체 11로부터)

#### <190> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리텐)-프로필]-페닐}-메탄설포아미드

<191> 파트 A.

<192> 자기 교반기가 장착된 250 mL RB 플라스크에 중간체 11 (3.14 g, 5.09 mmol) 및 메틸렌 클로라이드 (70 mL)를 채웠다. 혼합물에 15% 탄산나트륨 용액을 5 분의 기간에 걸쳐 조금씩 첨가하였다. 혼합물을 30 분 동안 교반하였다. 하부 유기층을 분리하고 무수 MgSO<sub>4</sub>로 건조시켰다. 혼합물을 여과하고 케이크를 메틸렌 클로라이드 (10 mL)로 세정하였다. 여액을 회전식 증발기로 50℃의 바스 온도에서 농축하여 1.85 g의 오일을 수득하였다.

<193> 파트 B.

<194> 별개의 250 mL, 3목 반응 용기에, 메틸렌 클로라이드 (65 mL)에 용해된 파트 A로부터의 오일 (1.85 g), 및 피리딘 (0.62 mL, 7.64 mmol) 용액을 첨가하였다. 그 후 반응 용액을 5 분 동안 교반하였다. 메틸렌 클로라이드 (5 mL)에 용해된 메탄설포닐 클로라이드 (0.46 mL, 6.12 mmol)를 5 분의 기간에 걸쳐 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18 시간 동안 교반하였다. 반응을 HPLC에 의해 모니터링하고, 중간체 11이 사라진 이후 10% 시트르산 용액 (10 mL)으로 켄칭하였다. 반응 혼합물을 5 분 동안 교반하였다. 탈이온수 (20 mL)를 첨가하고 20 분의 교반 이후 하부 유기층을 분리하였다. 유기층을 다크코® 활성탄 (2.0 g)으로 20 분 동안 처리하였다. 혼합물을 규조토를 통해 여과하고 케이크를 메틸렌 클로라이드 (20 mL)로 세정하였다. 여액을 회전식 증발기로 농축하여 1.84 g의 표제 화합물을 제공하였다. LC-ES/MS *m/e* 440 [M<sup>+</sup>];

<sup>1</sup>H NMR DMSO (δ) 0.8 (triplet, 3H), 2.45 (m, 1H), 2.55 (m, 4H), 5.0 (d, 1H), 5.85 (d, 1H), 6.9-7.1 (m, 7H), 7.2 (d, 1H), 7.38 (d, 1H), 8.24 (d, 1H), 9.45 (s, 1H).

#### <196> 실시예 2

#### <197> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리텐)-프로필]-페닐}-메탄설포아미드 · H



**<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2:1)**

<198> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포나미드 (251 mg, 0.57 mmol)를 설파광 바이알 내에서 아세톤 (4 mL)과 배합하였다. 샘플을 교반하면서 대략 55℃까지 가열하였다. 1 몰 당량의 황산 (0.25M)을 첨가하였다. 몇 시간의 상승된 가열 및 교반 이후, 샘플을 밤새 교반하면서 대략 25℃까지 냉각되게 하였다. 침전이 일어나지 않고 샘플을 질소 스트림 하에 증발 건조시켰다. 생성되는 잔류물에, 교반 및 대략 55℃에서 가열하면서 아세톤 (2 mL)을 첨가하여 현탁액을 제공하였다. 추가의 아세톤 (1 mL)을 첨가하여 투명한 용액을 생성하였다. 샘플을 질소 스트림 하에 증발 건조시켰다. 교반 및 대략 55℃에서 가열하면서 아세톤 (2 mL)을 생성되는 잔류물에 첨가하여 현탁액을 제공하였다. 샘플을 밤새 교반하면서 대략 25℃까지 냉각되게 하였다. 현탁액을 진공 여과에 의해 분리하고 고체를 공기 건조되게 하였다. 물질의 융점 특성을 시차 열 분석 (DTA)에 의해 측정하였다. 용융 개시 = 139℃; 용융 피크 = 148℃. 물질은 반대이온을 정량하기 위한 ESA 코로나™ (Corona™) 검출기를 갖는, HPLC (와터스 2695 (얼라이언스 (Alliance)) 모델 자동 주입기, 크로모리스 퍼포먼스 (Chromolith Performance) RP-18 컬럼, 5% 아세토니트릴/물 (0.1% TFA를 가짐) 내지 100% 아세토니트릴 (0.1% TFA를 가짐)로 1 mL/분 으로 용출함)에 의해 헤미셀레이트 염으로 측정되고, 56.7%의 이론적 모노-염을 함유하는 것으로 관측된다. 유리 염기를 UV (245 nm, PDA 와터스 996 검출기)에 의해 검출하고, 표준 곡선과 비교시 89.5% 효력으로 관측된다. 이는 2 몰의 유리 염기 : 1 몰의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (헤미셀레이트 염)의 화학량론에 해당하였다.

<199> **실시예 3**

<200> **(E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포나미드 · HBr**

<201> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포나미드 (183 mg, 0.42 mmol)를 설파광 바이알 내에서 에탄올 (5 mL)과 배합하였다. 샘플을 교반하면서 대략 75℃까지 가열하였다. 1 몰 당량의 HBr (0.25 M)을 첨가하였다. 몇 시간의 상승된 가열 및 교반 이후, 샘플을 밤새 교반하면서 대략 25℃까지 냉각되게 하였다. 침전이 발생하지 않고 샘플을 질소 스트림 하에 증발 건조시켰다. 생성되는 잔류물에, 분별 깔때기 내에서 EtOAc를 물로 세정함으로써 제조된 "습윤" EtOAc (6 mL)를 첨가하여 대략 3% 물/EtOAc를 제공하였다. 생성되는 현탁액을 교반하고 수 시간 동안 대략 65℃에서 가열하였다. 샘플을 밤새 교반하면서 대략 25℃까지 냉각되게 하였다. 고체를 진공 여과에 의해 현탁액으로부터 분리하고 공기 건조되게 하였다. 물질의 융점 특징을 시차 열 분석 (DTA)에 의해 측정하였다. 용융 개시 = 227℃; 용융 피크 = 233℃.

<202> **실시예 4**

<203> **(E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포나미드 · HCl**

<204> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포나미드 (218 mg, 0.49 mmol)를 설파광 바이알 내에서 에탄올 (5 mL)과 배합하였다. 샘플을 교반하면서 대략 75℃까지 가열하였다. 1 몰 당량의 HCl (1N)을 첨가하였다. 몇 시간의 상승된 가열 및 교반 이후, 샘플을 밤새 교반하면서 대략 25℃까지 냉각되게 하였다. 침전이 발생하지 않고 샘플을 질소 스트림 하에 증발 건조시켰다. 생성되는 잔류물에, 분별 깔때기 내에서 EtOAc를 물로 세정함으로써 제조된 "습윤" EtOAc (6 mL)를 첨가하여 대략 3% 물/EtOAc를 제공하였다. 생성되는 현탁액을 교반하고 수 시간 동안 대략 65℃에서 가열하였다. 샘플을 밤새 교반하면서 대략 25℃까지 냉각되게 하였다. 고체를 진공 여과에 의해 현탁액으로부터 분리하고 공기 건조되게 하였다. 물질의 융점 특징을 시차 열 분석 (DTA)에 의해 측정하였다. 분해 = 180℃

<205> **실시예 5**

<206> **(E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포나미드 (결정질) (형태 I)**

<207> 초기 분석:

<208> 본질적으로 실시예 1(a)에서 기술한 바와 같이 제조한, (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설포나미드의 샘플을 시차 주사 열량 측정법 및 X-선 분말 회절법에



의해 분석하였다 (라이트 연마 이전 및 이후). DSC: 개시 189.79℃; 피크 109.91℃

<209> 재결정화:

<210> 실시예 1(a)로부터의 메탄설폰아미드의 샘플 (약 50 mg)을, 완전한 용해시까지 실온에서 교반 하에 용매를 단계적으로 첨가함으로써, 이소프로필 알콜, 이소프로필 아세테이트, 아세토니트릴, 메탄올, 에탄올 (무수), 에탄올 (96%), 및 아세톤에 용해시켰다. 미용해된 입자가 남아있는 경우, 용액을 약 50℃까지 가열하였다. 그 후 각 용액을 결정화가 발생할 때까지 (수 시간 내지 밤새) 교반 하에 실온에서 개방된 바이알 내에 둔다. 약 0.5 mL의 용액이 남아있을 때까지 (아세톤 용액의 경우 약 0.2 mL) 증발을 지속하여 충분한 결정이 형성되게 하였다. 일단 충분한 결정이 형성되면, 용액을 여과하고 생성되는 분말을 실온에서 공기 하에 밤새 유리 플레이트 상에서 건조시켰다. 각각의 재결정화로부터 수득한 분말의 샘플을 그 후 X-선 분말 회절법에 의해 분석하였다.

<211> X-선 패턴을 초기 분석에서의 샘플, 뿐만 아니라 재결정화된 샘플에 대하여 얻었고(연마 이전 및 이후), X-선 패턴은 라이트 연마 이후 초기 샘플로부터 얻은 하기와 공통되게 특징적 피크 위치 ( $^{\circ} 2\theta$  값)를 갖는 공통 결정형 (형태 I)을 나타내었다:

피크 #	$^{\circ} 2\theta$	I/I <sub>0</sub>
1	10.9	0.51
2	15.8	0.28
3	16.9	0.43
4	18.8	1.00
5	20.5	0.41
6	22.9	0.96
7	29.7	0.27
8	31.8	0.19

<212> 실시예 6

<213> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설폰아미드 (메탄올 재결정화)

<214> 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에, 기계적 교반기, 환류 응축기, 열전대 및 건조관을 장착하고, 가열 맨틀 내에 위치시켰다. 본질적으로 실시예 1(b)에서 기술한 바와 같이 제조한, 2263 g의 고체 물질, 및 MeOH (30 L)를 플라스크에 채웠다. 교반을 시작하고, 모든 고체가 용해될 때까지 가열을 지속하면서 혼합물을 가열 환류하였다. 일단 투명한 용액이 얻어지면, 차콜 (180 g)을 주의하여 플라스크에 첨가하였다. 혼합물이 뜨거울 때 이를 여과하고, 냉각통 내에 위치한 기계적 교반기, 열전대 및 건조관이 장착된 50 L 3목 둥근 바닥 플라스크에 여액을 채웠다. 생성되는 용액을 먼저 서서히 냉각시킨 후, -10 ~ 0℃까지 냉각시키고, 상기 온도에서 최소 1 시간 동안 교반하였다. 상기 시간 이후 고체를 여과에 의해 수집하고 저온 MeOH (2 x 600 mL, -40℃)에 의해 세정하였다. 생성물을 진공 오븐 내에서 70℃에서 밤새 건조시켜 1942 g을 제공하였다.

<215> 실시예 7

<216> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설폰아미드 (미세화)

<217> 화합물 (I) (예를 들어, 본질적으로 실시예 6에서 기술한 바와 같이 제조함)의 샘플을, 시리즈 0101 제트-0-마 이저 (Jet-0-Mizer) (루프 밀 (loop mill)) (플루이드 에너지 프로세싱 앤드 이큅먼트 컴퍼니 (Fluid Energy Processing and Equipment Company)) 및 압축된 질소 밀링 가스 (milling gas) (이슬점 > 40℃)를 이용하여 그 입자 크기를 감소시켰다 (미세화). 입자 크기 분포를 심파텍 (HELOS 입자 크기 분석 시스템) 레이저 회절 입자 크기 분석기로 측정하고  $x_{50}$  및  $x_{90}$  입자 크기를 측정하였다.  $x_{50} < 5 \mu m$ ;  $x_{90} < 15 \mu m$ .

<218> 실시예 8

<219> (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헵텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설폰아미드 (결정질) (형태 II)

<221> 미세화되지 않은 화합물 (I) (예를 들어, 본질적으로 실시예 6에서 기술한 바와 같이 제조함), 및 미세화된 화합물 (I) (예를 들어, 본질적으로 실시예 7에서 기술한 바와 같이 제조함)의 샘플에 브루커 D8 어드밴스 회절 분석기를 이용하여 X-선 분말 회절 분석을 실시하고, 이때 샘플을,  $2\theta$  단위로  $0.02^\circ$  의 스텝 크기, 5 초/스텝의 주사 속도, 0.6 mm 발산 슬릿, 0.6 mm 산란방지 슬릿, 0.1 mm 수광 슬릿 및 0.6 mm 검출기 슬릿으로,  $^\circ 2\theta$  단위로  $2^\circ$  내지  $45^\circ$  사이에서 주사하였다. 미세화되지 않은 샘플 및 미세화된 샘플에 대한 X-선 패턴은 하기  $^\circ 2\theta$  값에서 특징적 피크 위치를 갖는 공통 결정형 (형태 II)을 나타내었다:

피크 #	$^\circ 2\theta$
1	4.5
2	9.0
3	11.5
4	14.7
5	16.4
6	17.2
7	24.5
8	27.7

<222>

<223> 실시예 9

<224> 나노현탁액 중 (E)-N-{3-[1-(8-클로로-11H-10-옥사-1-아자-디벤조[a,d]시클로헥텐-5-일리덴)-프로필]-페닐}-메탄설폰아미드

<225>  $d_{90}$  입자 크기 = 32  $\mu\text{m}$  (초기 입자 크기를 베크만 쿨터 LS13 320 레이저 회절 입자 크기 분석기를 이용하여 측정함)인 약 579 mg의 화합물 I을, 250 mL 피렉스 (Pyrex) No. 1395 배지 병 중 1% 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 0.25% 폴리소르베이트 80, 및 0.05% 소포제 1510을 포함하는 174 mL의 비히클에 현탁시켰다. 그 후 제형을 브란슨 음파처리기 (Branson Sonifer) 250으로 최대치의 약 86%인 전력 출력에서 0.5 인치 프로브를 이용하여 46 분 동안 초음파 처리하였다. 프로브 초음파 처리된 제형 중의 화합물 I의 입자 크기를 호리바 (Horiba) LA-920 입자 크기 분석기를 이용하여 측정하였다: 평균 입자 크기: 3.8  $\mu\text{m}$ ;  $d_{90}$  입자 크기: 6.5  $\mu\text{m}$ .

<226> 프로브 초음파 처리한 제형을 그 후 JR30, 75 마이크로미터, 상호작용 챔버 및 냉각 코일이 장착된 마이크로플루이딕스 M-110S 마이크로플루다이어 (Microfluidics M-110S Microfluidizer)를 이용하여 균질화하여 나노현탁액을 제공하였다. 냉각 코일을, 최저  $14^\circ\text{C}$  및 최고  $39^\circ\text{C}$ 의 단시간 변화를 제외하고  $20 \sim 30^\circ\text{C}$ 의 온도에서 유지되는 수조 내에서 유지하였다. 압력계를 100 psi (약 6.89 bar)로 설정하고, 이는 제형에 23,000 psi의 압력을 가하였다. 제형을 IL 호퍼에 담고, 호퍼의 바닥으로부터 마이크로플루다이어 내로 따르고, 생성물 배수로 및 실리콘 배관의 길이를 통해 호퍼 내의 액체의 상부에 반환하였다. 제형을 또한 호퍼 내에서 표준 프로펠러 혼합기로 교반하였다. 제형의 전체 부피를 상호작용 챔버를 통해 81 회 통과시켰다. 나노현탁액 제형 중 화합물 I의 최종 입자 크기를 호리바 LA-920 입자 크기 분석기를 이용하여 측정하였다: 평균 입자 크기: 0.430  $\mu\text{m}$ ;  $d_{90}$  입자 크기: 0.594  $\mu\text{m}$ .