



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2011년01월18일  
(11) 등록번호 10-1009554  
(24) 등록일자 2011년01월12일

(51) Int. Cl.  
C07D 239/80 (2006.01) A61K 31/522 (2006.01)  
A61P 25/00 (2006.01) A61P 25/02 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2008-7013205  
(22) 출원일자(국제출원일자) 2006년11월23일  
심사청구일자 2008년05월30일  
(85) 번역문제출일자 2008년05월30일  
(65) 공개번호 10-2008-0059338  
(43) 공개일자 2008년06월26일  
(86) 국제출원번호 PCT/IB2006/003388  
(87) 국제공개번호 WO 2007/063391  
국제공개일자 2007년06월07일  
(30) 우선권주장  
60/741,854 2005년12월02일 미국(US)  
60/791,186 2006년04월10일 미국(US)  
(56) 선행기술조사문헌  
W02002074754 A1  
Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters  
14(18), 2004, Pages 4627-4631

(73) 특허권자  
화이자 리미티드  
영국 씨티13 9엔제이 켄트 샌드위치 램스케이프 로드  
(72) 발명자  
로손, 데이비드, 제임스  
영국 씨티13 9엔제이 켄트 샌드위치 램스케이프 로드 화이자센트럴 리서치 앤드 디벨롭먼트  
스웨인, 나이젤, 알란  
영국 씨티13 9엔제이 켄트 샌드위치 램스케이프 로드 화이자센트럴 리서치 앤드 디벨롭먼트  
(74) 대리인  
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 2 항

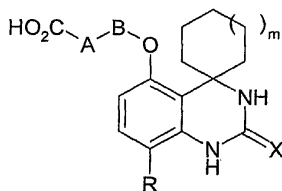
심사관 : 정다원

(54) PDE 7 억제제로서 스피로시클릭 퀴나졸린 유도체

(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 다형체 또는 프로드러그를 제공한다.

<화학식 I>



상기 식에서,

m은 0, 1 또는 2이고;

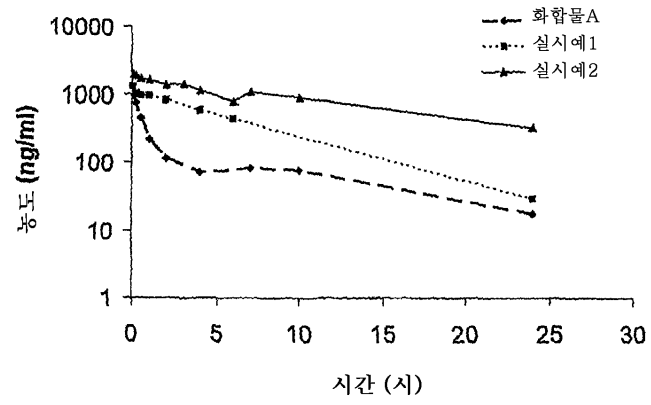
X는 O, S 또는 N-CN이며;

R은 F, Cl 또는 CN이고;

A는 경우에 따라 C<sub>1-4</sub> 알킬기로 치환되는 C<sub>3-6</sub> 시클로알킬렌기이며;

B는 단일 결합 또는 C<sub>1-2</sub> 알킬렌기이다. 상기 화합물은 PDE7 억제제이며, 특히 통증 치료, 구체적으로는 신경 통증 치료에 있어서 다수의 치료상 적용 분야를 가진다.

대표도 - 도1



**특허청구의 범위**

**청구항 1**

트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄 카르복실산, 또는 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 다형체.

**청구항 2**

제1항에 따른 화합물 및 1종 이상의 제약상 허용가능한 부형제를 포함하는 통증 치료용 제약 조성물.

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

삭제

**청구항 8**

삭제

**청구항 9**

삭제

**청구항 10**

삭제

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

삭제

**청구항 14**

삭제

**청구항 15**

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

명세서

기술분야

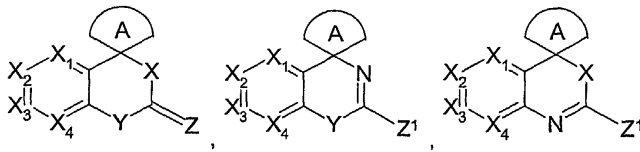
- [0001] 본 발명은 스피로시클릭 유도체, 및 상기 유도체의 제조 방법, 그의 제조에 이용되는 중간체, 상기 유도체를 함유하는 조성물 및 상기 유도체의 용도에 관한 것이다.
- [0002] 본 발명의 스피로시클릭 유도체는 PDE7 억제제이며, 특히 통증 치료, 구체적으로는 신경 통증 치료에 있어서 다수의 치료상 적용 분야를 가진다.

배경기술

- [0003] 포스포디에스테라제(PDE)는 2차 전령 분자 cAMP 및 cGMP를 대응하는 불활성 5'-모노포스페이트 뉴클레오티드 가수 분해함으로써 그들의 생리적 수치를 조절하는 과정에 의해 다양한 세포 신호전달 과정에 영향을 미치는 효소의 파이다. 2차 전령자 cAMP 및 cGMP는 다수의 세포내 과정 조절을 담당한다. 적어도 11개 과의 PDE가 존재하고, 그 중 일부는 cAMP 특이적이며(PDE3,4,7,8), 다른 일부는 cGMP 특이적이다(PDE5,6 및 9).
- [0004] PDE7은 PDE 과의 한 일원으로, 2개의 아강(subclass) 일원 PDE7 A 및 B를 포함한다. PDE7의 mRNA는 다양한 조직, 및 T-세포 관련 질병과 같은 몇몇 질환의 발병에 중요한 것으로 알려진 세포 유형에서 발현된다. 특히, PDE7A 및 그의 접목 변이체(splice variant)는 활성화된 T-세포(문헌 [L. Li, C. Yee and J.A. Beavo, Science(1999), 283, 848-851]), 및 B-림프구(문헌 [R. Lee, S. Wolda, E. Moon, J. Esselstyn, C. Hertel] 및 [A. Lerner, Cell. Signal(2002), 14, 277-284]), 자가 면역 질환(L. Li 등의 상기 문헌), 및 기도 질환(문헌 [S.J. Smith et al, Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.(2003), 284, L279-L289])에서 상향 조절된다. 그 결과, PDE7의 선택적 억제제는 호흡기 병태, 예를 들면 만성 폐쇄성 폐질환 및 천식에 대한 면역 억제제 및 치료제 모두로서 넓은 적용 분야를 가질 것으로 기대된다(문헌 [N.A. Glavas, C. Ostenson, J.B. Schaefer, V. Vasta] 및 [J.A. Beavo. PNAS(2001), 98, 6319-6324]).
- [0005] 래트에서의 연구는 PDE7A mRNA가 신경 세포군 및 비-신경 세포군 모두에서 래트의 뇌 중에 넓게 분포되어 있음을 보여준다. 가장 높은 수치는 후 신경구, 후 결절, 해마, 소뇌, 안쪽 고삐 핵(medial habenula nucleus), 송과선, 최하 구역(area postrema), 및 맥락층에서 관찰된다. PDE7A mRNA는 또한 뇌 조직이 아닌 다른 곳에서도 넓게 검출된다. 이러한 결과는 PDE7A가 많은 뇌 기능 중 cAMP 신호전달의 조절에 관여한다는 것과 일치하며, PDE7A가 기억, 우울, 및 구토에 영향을 미칠 수 있음을 제시한다(문헌 [X. Miro, S. Perez-Torres, J.M. Palacios, P. Puigdomenech, G. Mengod, Synapse(2001), 40, 201-214]). 또한, 알츠하이머병과의 관련성도 제시한다(문헌 [S. Perez Torres et al, Experimental Neurology, (2003) 182, 322-334]). 또한, PDE7는 생식 장애(WO 01/83772) 및 백혈병(문헌 [R. Lee et al., Cell Signalling(2002) 14, 277-284])에도 관련이 있다.
- [0006] PDE7A는 효모(문헌 [T. Michaeli et al, J. Biol. Chem.(1993) 268, 12925-12932]), 인간(문헌 [P. Han, Z. Xiaoyan 및, M. Tamar, J. Biol. Chem.(1997) 272, 16152-16157]), 마우스(문헌 [T. Bloom 및 J.A. Beavo, Proc. Natl. Acad. Sci. USA(1996), 93, 14188-14192])에서 단리되어 왔고, PDE7A 수치의 상향 조절은 인간 T 림프구에서 관찰된다(문헌 [M. Ichimura 및 H. Kase. Biochem. Biophys. Res. Commun.(1993), 193, 985-990]).

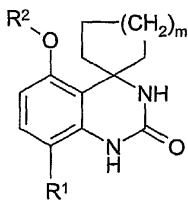
[0007] PDE7 과의 두 번째 일원인 PDE7B는 PDE7A와 C-말단 촉매 도메인에서 70%의 아미노산 상동성을 공유한다(N-말단 도메인은 PDE 과에 걸쳐 보존된 인산화 부위를 함유하는 조절 도메인이다). PDE7B는 cAMP 특이적이고, 마우스 (기탁 번호-AJ251858) 및 인간(기탁 번호-AJ251860) 공급원으로부터 클로닝된다(문헌 [C. Gardner, N. Robas, D. Cawkill] 및 [M. Fidock, Biochem. Biophys. Res. Commun.(2000), 272, 186-192]). 그것은 매우 다양한 조직, 즉 뇌의 미상핵, 조가비핵 및 후두엽, 및 심장 주변, 난소 및 뇌하수체, 신장 및 간, 소장 및 흉선뿐만 아니라, 골격근, 결장, 방광, 자궁, 전립선, 위, 부신 및 갑상선에서도 발견되는 것으로 보인다. 또한, PDE7B 는 몇몇 일반적인 PDE 억제제 중 구별되는 것으로 보인다(문헌 [J.M. Hetman, S.H. Soderling, N.A. Glavas] 및 [J.A. Beavo, PNAS(2000), 97, 472-476]). 그러나, 많은 표준 PDE 억제제, 예를 들면 자프리너스트 (zaprinast), 롤리프람(rolipram) 및 밀리논(milrinone)은 PDE7B를 특이적으로 억제하지 않는다.

[0008] PDE7 억제제는 다양한 PDE7 관련 질환의 치료에 있어서의 그들의 용도가 알려져 있다. 예를 들면, WO 02/074754는 식:



[0009] 의 화합물, 및 PDE7-관련 질병, 예컨대 T-세포-관련 질환, 자가면역 질환, 골 관절염, 다발성 경화증, 골다공증, 만성 폐쇄성 폐질환, 천식, 암, 후천성 면역 결핍 증후군, 알러지 또는 염증성 장 질환 치료에 있어서의 그들의 용도를 개시한다.

[0011] WO 2004/026818는 식:



[0012] 의 화합물, 및 PDE7-관련 질병의 치료에 있어서의 그들의 용도를 개시한다.

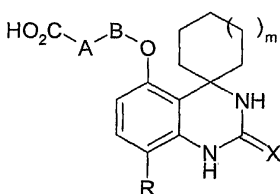
[0014] WO 2006/092691는 신경 통증의 치료에 있어서의 PDE7 억제제의 용도를 개시한다.

[0015] 놀랍게도 본 발명자들은, WO 02/074754의 일반적인 기재 범위 내에는 속하지만 구체적으로 개시되거나 예시되지 않은 화합물 계열이, WO 02/074754에 예시된 근접 화합물과 비교했을 때 예상외의 우수한 약물 동태학적 특성을 나타냄을 발견하였다. 하루에 한 번 투여할 경우, 이들 화합물은 신체로부터 감소된 클리어런스를 나타내고, 치료적 효과를 달성하는 잠재력을 가진 것으로 기대된다.

[0016] 발명의 개요

[0017] 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 다형체 또는 프로드러그를 제공한다.

**화학식 I**



[0018] 상기 식에서,  
 [0019] m은 0, 1 또는 2이고;

- [0021] X는 O, S 또는 N-CN이며;
- [0022] R은 F, Cl 또는 CN이고;
- [0023] A는 경우에 따라 C<sub>1-4</sub> 알킬기로 치환된 C<sub>3-6</sub> 시클로알킬렌기이며;
- [0024] B는 단일 결합 또는 C<sub>1-2</sub> 알킬렌기이다.

**발명의 상세한 설명**

- [0039] 본 발명의 내용 중, 용어 "알킬렌"은 1 또는 2개의 탄소 원자를 가지는 2가의 포화 탄화수소쇄를 말한다. 알킬렌기의 예에는 메틸렌, 에틸렌 및 메틸메틸렌이 포함되며, 그 중 메틸렌이 바람직하다.
- [0040] 용어 "시클로알킬렌"은 3 내지 6개의 탄소 원자를 가지는 2가의 포화 카르보시클릭 고리를 말한다. 시클로알킬렌기의 예에는 시클로프로필렌(예를 들면, 1,1-시클로프로필렌, 및 시스- 및 트랜스-1,2-시클로프로필렌), 시클로부틸렌(예를 들면, 1,1-시클로부틸렌, 시스- 및 트랜스-1,2-시클로부틸렌, 및 시스- 및 트랜스-1,3-시클로부틸렌), 시클로펜틸렌(예를 들면, 1,1-시클로펜틸렌, 시스- 및 트랜스-1,2-시클로펜틸렌, 및 시스- 및 트랜스-1,3-시클로펜틸렌) 및 시클로헥실렌(예를 들면, 1,1-시클로헥실렌, 시스- 및 트랜스-1,2-시클로헥실렌, 시스- 및 트랜스-1,3-시클로헥실렌 및 시스- 및 트랜스-1,4-시클로헥실렌)이 포함된다. 바람직한 예에는 시클로부틸렌 및 시클로헥실렌이 포함되며, 보다 바람직한 것은 시클로부틸렌, 보다 더 바람직한 것은 1,3-시클로부틸렌, 그리고 가장 바람직한 것은 트랜스-1,3-시클로부틸렌이다.
- [0041] 용어 "알킬"은 1 내지 4개의 탄소 원자를 함유하는, 1가의 선형 또는 분지형 포화 탄화수소쇄를 말한다. 알킬기의 일례에는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸 및 tert-부틸이 포함된다. 바람직한 일례에는 메틸 및 에틸, 특히 메틸이 포함된다.
- [0042] 시클로알킬렌기는 경우에 따라 C<sub>1-4</sub> 알킬기로 치환된다. 알킬 치환체가 존재할 경우, 바람직한 것은 메틸 또는 에틸기이고, 보다 바람직한 것은 메틸기이다. 알킬 치환체가 존재할 경우, 그것은 고리 상의 임의의 위치에 존재할 수 있지만, 1-위치에 존재하는 것이 바람직하다(즉, 카르복실산기와 같은 위치).
- [0043] 바람직하게는 m이 1 또는 2이고, 보다 바람직하게는 1이다.
- [0044] 바람직하게는 X가 O 또는 N-CN이고, 보다 바람직하게는 O이다.
- [0045] 바람직하게는 R이 F 또는 Cl이고, 보다 바람직하게는 Cl이다.
- [0046] 바람직하게는 A가 경우에 따라 메틸기로 치환되는 시클로부틸렌 또는 시클로헥실렌기이다. 보다 바람직하게는, A가 시클로부틸렌기이다. 보다 더 바람직하게는, A가 1,3-시클로부틸렌기이고, 특히 트랜스-1,3-시클로부틸렌기이다.
- [0047] 바람직하게는 B가 단일 결합 또는 메틸렌기이다. 보다 바람직하게는 B가 단일 결합이다.
- [0048] 본 발명의 특히 바람직한 화합물에는 화학식 I의 각 가변기가 각 가변기에 대해 적합하고/거나 바람직한 기로부터 선택된 것이 포함된다. 본 발명의 보다 더 바람직한 화합물에는 화학식 I의 각 가변기가 각 가변기에 대해 보다 바람직하거나 가장 바람직한 기로부터 선택된 것이 포함된다.
- [0049] 이하의 화합물들이 특히 바람직하다:
- [0050] 시스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산;
- [0051] 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산;
- [0052] 3-[(8'-플루오로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]메틸시클로부탄카르복실산;
- [0053] 트랜스-3-[(8'-시아노-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산;
- [0054] 1-[(8'-플루오로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]메틸시클로부탄카

르복실산;

- [0055] 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헵탈-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄 카르복실산;
- [0056] 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헵탈-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄 카르복실산;
- [0057] 및 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 및 프로드러그.
- [0058] 이하의 화합물들이 특히 바람직하다:
- [0059] 시스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헵탈-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산;
- [0060] 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헵탈-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄 카르복실산;
- [0061] 및 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 다형체 및 프로드러그.
- [0062] 화합물 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헵탈-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산, 및 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 다형체 및 프로드러그, 특히 이하에 기재하는 탈용매화 결정 형태(형태 A) 및 아세트산 용매화물이 가장 바람직하다.
- [0063] 일 실시양태에서, 본 발명은 Cu K $\alpha$  방사선(파장 = 1.5406Å)을 이용하여 측정할 경우 6.3, 17.8, 21.5, 22.1, 22.4, 26.3의 분말 X-선 회절 피크( $2\theta$ ,  $\pm 0.1^\circ$  차이)를 특징으로 하는, 탈용매화 결정 형태(형태 A)인 화합물 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헵탈-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]-시클로부탄 카르복실산을 포함한다.
- [0064] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 Cu K $\alpha$  방사선(파장 = 1.5406Å)을 이용하여 측정할 경우 8.3, 10.8, 16.6, 17.1, 19.5, 20.5, 23.7의 분말 X-선 회절 피크( $2\theta$ ,  $\pm 0.1^\circ$  차이)를 특징으로 하는, 아세트산 용매화물로서의 화합물 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헵탈-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]-시클로부탄카르복실산을 포함한다.
- [0065] 또한, 본 발명은 가장 넓은 관점 또는 바람직한 관점에서, 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 다형체 또는 프로드러그, 및 제약상 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 제약 조성물을 포함한다.
- [0066] 또한, 본 발명은 가장 넓은 관점 또는 바람직한 관점에서, 약제로 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 다형체 또는 프로드러그를 포함한다.
- [0067] 또한, 본 발명은 가장 넓은 관점 또는 바람직한 관점에서, PDE7 억제제에 의한 요법이 적절한 질환 또는 병태의 치료를 위한 약제의 제조에 있어서의 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 다형체 또는 프로드러그의 용도를 포함한다.
- [0068] 또한, 본 발명은 가장 넓은 관점 또는 바람직한 관점에서, 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물, 다형체 또는 프로드러그의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, PDE7 억제제에 의한 요법이 적절한 질환 또는 병태의 치료 방법을 포함한다.
- [0069] PDE7 억제제인 화학식 I의 화합물은 광범위한 질병의 치료에 잠재적으로 유용하다. 통증, 특히 신경 통증 치료에 바람직하게 사용된다.
- [0070] 생리적 통증은 외부 환경으로부터의 잠재적으로 유해한 자극으로부터 위험을 경고하기 위한 중요한 방어 기작이다. 이 시스템은 1차 감각 뉴런의 특정한 세트를 통해 작동하고, 말초 변환 기작(peripheral transducing mechanisms)을 통한 유해 자극에 의해 활성화된다(검토용으로 문헌 [Millan, Prog. Neurobiol., (1999), 57, 1-164] 참조). 이들 감각 섬유는 침해 수용체(nociceptors)로 알려져 있고, 느린 전도 속도를 가진 특징적으로 작은 직경의 액손이다. 침해 수용체는 유해한 자극의 강도, 지속기간 및 특색과, 척수에 대한 그들의 국소해부적으로 조직화된 돌기에 의해 자극의 위치를 암호화한다. 침해 수용체는 통각 신경 섬유에서 발견되며, 그에는 두 가지의 주요 유형, A-델타 섬유(수초화) 및 C 섬유(무-수초화)가 있다. 침해 수용체 입력에 의해 발생된 활성화는 직접적으로, 또는 뇌간 중계핵을 통해, 후각(dorsal horn)에서의 복합적인 프로세싱 이후에, 복기저 시상

에 이어서 피질로 전달되어, 여기서 통증이 지각된다.

[0071] 통증은 일반적으로 급성 또는 만성으로 분류할 수 있다. 급성 통증은 갑자기 시작되며, 일시적이다(보통 12주 이하). 그것은 보통 특정한 상해와 같이 특정한 원인과 관련되어 있고, 종종 날카로우며 격심하다. 그것은 수술, 치과 치료, 좌상 또는 염좌로부터 야기되는 특정한 상해 후에 일어날 수 있는 종류의 통증이다. 일반적으로 급성 통증은 임의의 지속적인 심리적 반응을 야기하지 않는다. 이와 반대로, 만성 통증은 전형적으로 3달 이상 지속되며, 현저한 심리적, 감정적 문제를 야기하는 장기간의 통증이다. 만성 통증의 통상적인 예가 신경 통증(예를 들면, 통증성 당뇨병 신경병증, 포진 후 동통), 손저림 증후군, 요통, 두통, 암 통증, 관절통 및 만성 수술-후 통증이다.

[0072] 질환 또는 외상으로 인한 실질적인 손상이 신체 조직에 가해졌을 때, 침해 수용체 활성화의 특성이 변화되고, 손상 주위에 국소적으로 그리고 침해 수용체가 종료하는 곳을 중심으로 말초에서의 감각이 있다. 이들 효과는 고조된 통증 감각을 야기한다. 급성 통증에 있어서의 이들 기작은 복구 프로세스가 더 잘 일어날 수 있는 방어 행동을 촉진하는데 유용할 수 있다. 정상적인 기대는 손상이 치유되면 감도도 정상으로 돌아오는 것이다. 그러나, 많은 만성 통증 상태에서, 과민증이 치유 프로세스에서 매우 오래 지속되고, 이는 종종 신경계의 손상으로 인한 것이다. 이 손상은 종종 부적응 및 비정상적 활성화와 관련이 있는 감각 신경 섬유에서의 이상을 야기한다(문헌 [Woolf & Salter, Science, (2000), 288, 1765-1768]).

[0073] 임상 통증은 불편 및 이상 감도가 환자의 증상들 사이에 특징이 될 때 존재한다. 환자들은 서로 매우 다르며, 다양한 통증 증상이 존재할 수 있다. 그러한 통증에는: 1) 둔하거나, 강렬하거나, 또는 찌르는 듯한 자발통; 2) 유해 자극에 대해 악화된 통증(통각 과민); 및 3) 정상적인 무해한 자극에 의한 통증(이질통 - 문헌 [Meyer et al., 1994, Textbook of Pain, 13-44])이 포함된다. 비록 급성 또는 만성 통증의 다양한 형태로 고통받는 환자가 유사한 증상을 가질 수 있다 하더라도, 기반이 되는 기작은 다를 수 있고, 따라서 다른 치료 전략이 요구될 수 있다. 따라서, 통증은 침해성, 염증성 및 신경 통증을 포함하는 각기 다른 병리 생리학에 따라 다수의 서로 다른 아형으로 또한 분류될 수 있다.

[0074] 침해성 통증은 조직 손상에 의해 또는 손상을 야기할 수 있는 잠재적인 강한 자극에 의해 유발된다. 통증의 중심 신경은 손상 위치에서의 침해 수용체에 의한 자극의 변환으로 인해 활성화되고, 그 종료 수준으로 척수 내 뉴런들을 활성화시킨다. 이어서 이것은 척수로(spinal tracts)에서 통증을 감지하는 뇌로 연결된다(문헌 [Meyer et al., 1994, Textbook of Pain, 13-44]). 침해 수용체의 활성화는 두가지 유형의 구심성 신경 섬유를 활성화한다. 수초화 A-델타 섬유는 신속하게 전달하고, 날카롭고 찌르는 듯한 통증 감각과 관련이 있는 반면, 무수초화 C 섬유는 보다 느린 속도로 전달하고, 둔하거나 아리는 통증을 전달한다. 경미한 급성 침해성 통증은 중추 신경계 외상, 좌상/염좌, 화상, 심근 경색 및 급성 췌장염, 수술-후 통증(임의의 수술 과정에 따른 통증), 외상 후 통증, 신상통, 암 통증 및 요통으로부터의 통증의 두드러진 특징이다. 암 통증은 종양 관련 통증(예를 들면, 골 통증, 두통, 안면 통 또는 내장 통증) 또는 암 요법 관련 통증(예를 들면, 화학요법 후 증후군, 만성 수술 후 통증 증후군 또는 방사선 치료 후 증후군)과 같은 만성 통증일 수 있다. 암 통증은 또한 화학 요법, 면역 요법, 호르몬 요법 또는 방사선 요법에 대응하여 일어날 수 있다. 요통은 추간판 탈출증 또는 과열, 또는 요부 후관절(lumber facet joints), 천장 관절, 척추 주위 근육 또는 후궁 인대의 이상으로 인한 것일 수 있다. 요통은 자연적으로 해소될 수 있으나, 12주 넘게 지속되는 일부 환자에게는 특히 쇠약해질 수 있는 만성 병태로 된다.

[0075] 신경 통증은 신경계에서의 1차 상해 또는 기능 장애로 인해 시작되거나 유발되는 통증으로 최근 정의되었다. 신경 손상은 외상 및 질환에 의해 유발될 수 있으므로, 용어 '신경 통증'에는 다양한 병인으로 인한 많은 질병이 포함된다. 여기에는 말초 신경염, 당뇨병 신경병증, 포진 후 신경통, 삼차 신경통, 요통, 암 신경장애, HIV 신경 장애, 환지통, 손저림 증후군, 중추성 뇌졸중 후통증(central post-stroke pain), 및 만성 알코올 중독, 갑상선 기능 저하증, 요독증, 다발성 경화증, 척수 손상, 파킨슨씨 병, 간질 및 비타민 결핍증 관련 통증이 포함되지만, 이것으로 제한되는 것은 아니다. 신경 통증은 어떤 보호 역할도 가지지 않는 병리학적인 것이다. 그것은 종종 근본적인 원인이 사라진 후에 존재하며, 통상 수 년간 지속되고, 환자의 삶의 질을 현저하게 떨어뜨린다(문헌 [Woolf 및 Mannion, Lancet, (1999) 353, 1959-1964]). 신경 통증의 증상은 동일한 질병을 가진 환자들 사이에서도 종종 다를 수 있기 때문에 치료하기 어렵다(문헌 [Woolf & Decosterd, Pain Supp., (1999), 6, S141-S147]; 상기의 Woolf 및 Mannion의 문헌). 그것에는 연속될 수 있는 자발통, 및 발작성 또는 이상 유발 통증, 예컨대, 통각과민(유해 자극에 대해 증가된 감도) 및 이질통(정상적으로 무해한 자극에 대한 감도)이 포함된다.



- [0076] 염증 프로세스는 생화학적 및 세포적 사건의 복합 시리즈로, 조직 손상에 대한 반응 또는 외래 물질의 존재로 인해 활성화되고, 팽윤 및 통증을 야기한다(문헌 [Levine and Taiwo, 1994, Textbook of Pain, 45-56]). 관절염 통증은 가장 일반적인 염증성 통증이다. 류마티즘 질환은 선진국에서의 가장 일반적인 만성 염증성 병태 중 하나이고, 류마티즘 관절염은 장애의 일반적인 원인이다. 류마티즘 관절염의 정확한 병인은 알려져 있지 않지만, 최근의 가정들은 유전적 및 미생물학적 인자 모두가 중요할 수 있다고 제안한다(문헌 [Grennan & Jayson, 1994, Textbook of Pain, 397-407]). 대략 1600만 명의 미국인들이 골 관절염(OA) 또는 퇴행성 관절 질환의 증상을 가지고 있는 것으로 추정되며, 그들 중 대부분이 60세를 넘었고, 인구의 연령이 높아짐에 따라 4000만으로 증가하여, 이것이 엄청난 공중 보건 문제화될 것으로 예상된다(문헌 [Houge & Mersfelder, Ann Pharmacother., (2002), 36, 679-686]; [McCarthy et al., 1994, Textbook of Pain, 387-395]). 대부분의 골 관절염 환자는 관련 통증으로 인해 병원 치료를 고려한다. 관절염은 심리사회적 및 신체적 기능에 현저한 영향을 미치고, 이후의 삶에서의 장애 유발 원인으로 알려져 있다. 강직성 척추염 또한 척추와 천장 관절의 관절염을 유발하는 류마티즘 질환이다. 그것은 일생에 걸쳐 척추, 말초 관절 및 그 밖의 신체 기관을 공격하는 격심한 만성 질환을 일으키는 요통의 간헐적 에피소드와는 다르다.
- [0077] 또 다른 유형의 염증성 통증은 염증성 장 질환(IBD) 관련 통증을 포함하는 내장 통증이다. 내장 통증은 내장에 관련된 통증으로, 내장에는 복강의 기관들이 포함된다. 이들 기관에는 생식 기관, 비장, 및 소화계 일부가 포함된다. 내장 관련 통증은 소화 내장 통증과 비-소화 내장 통증으로 분류될 수 있다. 일반적으로 겪는 통증 유발 위장(GI) 질병에는 기능성 장 장애(FBD) 및 염증성 장 질환(IBD)이 포함된다. 이들 GI 질병에는 최근에서야 적절하게 조절되고 있는 넓은 범위의 질환 상태가 포함되며, FBD에 관해서는 위-식도 역류, 소화불량, 과민성 대장 증후군(IRS) 및 기능성 복통 증후군(FAPS), IBD에 관해서는 크론병, 회장염 및 궤양 대장염이 포함되고, 이들은 모두 정기적으로 내장 통증을 유발한다. 그 밖의 유형의 내장 통증에는 월경 곤란, 방광염 및 췌장염 관련 통증, 그리고 골반 통증이 포함된다.
- [0078] 일부 유형의 통증은 복수의 병인을 가질 수 있어서, 하나 이상의 영역으로 분류될 수 있고, 예를 들면, 요통과 암 통증은 침해성 및 신경병증성 요소를 모두 가진다.
- [0079] 그 밖의 유형의 통증에는 다음과 같은 것들이 포함된다:
- [0080] · 근육통, 섬유근통, 척추염, 혈청-음성(비-류마티즘성) 관절병증, 비-관절성 류마티즘, 근이영양증, 글리코젠 분해, 다발성근염 및 화농성근염을 포함하는 근-골격 질병으로부터 야기되는 통증;
- [0081] · 협심증, 심근 경색증, 승모판 협착증, 심낭염, 레이노 현상, 경화부종, 및 골격근 허혈에 의해 유발되는 통증을 포함하는 심장 및 혈관 통증;
- [0082] · 편두통(전조형 편두통 및 비전조형 편두통을 포함), 군집성 두통, 긴장형 두통과 혼합된 두통, 및 혈관 질환 관련 두통과 같은 머리 통증;
- [0083] · 치통, 귀 통증, 구강 작열감 증후군 및 악관절 근막 통증을 포함하는 구강안면 통증.
- [0084] 본 발명의 화학식 I의 화합물은 또한 그 밖의 통증 병태의 치료에도 유용하다. 특히, 본 발명의 화학식 I의 화합물은 T-세포-관련 질환, 자가면역 질환, 다발성 경화증, 골다공증, 만성 폐쇄성 폐질환, 천식, 암, 후천성 면역 결핍 증후군(AIDS), 알러지 및 염증성 장 질환의 치료에 유용하다.
- [0085] 또한, 본 발명은 가장 넓은 관점 또는 바람직한 관점에서, 통증(특히, 신경 통증), T-세포-관련 질환, 자가면역 질환, 다발성 경화증, 골다공증, 만성 폐쇄성 폐질환, 천식, 암, 후천성 면역 결핍 증후군(AIDS), 알러지 및 염증성 장 질환으로부터 선택된 병태 또는 질병 치료를 위한 약제의 제조에 있어서, 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 프로드러그의 용도를 포함한다.
- [0086] 또한, 본 발명은 가장 넓은 관점 또는 바람직한 관점에서, 화학식 I의 화합물, 또는 그의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 프로드러그의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 통증(특히, 신경 통증), T-세포-관련 질환, 자가면역 질환, 다발성 경화증, 골다공증, 만성 폐쇄성 폐질환, 천식, 암, 후천성 면역 결핍 증후군(AIDS), 알러지 또는 염증성 장 질환으로부터 선택된 질환 또는 병태의 치료 방법을 포함한다.
- [0087] 화학식 I의 화합물의 제약상 허용가능한 염에는 그의 산 부가 및 염기 염이 포함된다.
- [0088] 적합한 산 부가 염은 무독성 염을 형성하는 산으로부터 형성된다. 그 일례에는 아세테이트, 아디페이트, 아스팔테이트, 벤조에이트, 베실레이트, 바이카보네이트/카보네이트, 바이실레이트/셀레이트, 보레이트, 캄실레이트, 시트레이트, 시클라메이트, 에디실레이트, 에실레이트, 포메이트, 푸마레이트, 글루셉테이트, 글루

코네이트, 글루쿠로네이트, 헥사플루오로포스페이트, 하이벤제이트, 히드로클로라이드/클로라이드, 히드로브로마이드/브로마이드, 히드로요오다이드/요오다이드, 이세티오네이트, 락테이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 메실레이트, 메틸설페이트, 나프틸레이트, 2-납실레이트, 니코티네이트, 니트레이트, 오로테이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 포스페이트/히드로겐 포스페이트/디히드로겐 포스페이트, 피로글루타메이트, 사카레이트, 스테아레이트, 숙시네이트, 탄네이트, 타르트레이트, 토실레이트, 트리플루오로아세테이트 및 크시노포에이트 염이 포함된다.

- [0089] 적합한 염기 염은 무-독성 염을 형성하는 염기로부터 형성된다. 그 일례에는 알루미늄, 알기닌, 벤자딘 (benzathine), 칼슘, 콜린, 디에틸아민, 디올아민, 글리신, 리신, 마그네슘, 메글루민, 올라민, 칼륨, 나트륨, 트로메타민 및 아연 염이 포함된다.
- [0090] 산과 염기의 헤미-염, 예컨대 헤미설페이트 및 헤미칼슘 염도 또한 형성될 수 있다.
- [0091] 적합한 염의 검토를 위해, 문헌 [Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use by Stahl and Wermuth(Wiley-VCH, 2002)]를 참조한다.
- [0092] 화학식 I의 화합물의 제약상 허용가능한 염은 하기 3가지 방법 중 1가지 이상에 의해 제조될 수 있다:
- [0093] (i) 화학식 I의 화합물을 목적하는 산 또는 염기와 반응시키는 것;
- [0094] (ii) 화학식 I의 화합물의 적합한 전구체로부터 산- 또는 염기-불안정 보호기를 제거하거나, 목적하는 산 또는 염기를 이용하여 적합한 시클릭 전구체, 예컨대 락톤 또는 락탐을 개환시키는 것; 또는
- [0095] (iii) 적절한 산 또는 염기와 반응시키거나 적합한 이온 교환 컬럼을 이용하여, 화학식 I의 화합물의 한 염을 다른 것으로 전환시키는 것.
- [0096] 세 가지 반응은 모두 전형적으로 용액 중에서 수행된다. 생성된 염은 침전될 수 있고, 여과에 의해 수집할 수 있으며, 또는 용매를 증발시킴으로써 회수할 수 있다. 생성된 염의 이온화 정도는 완벽하게 이온화된 것부터 거의 이온화되지 않은 것까지 다양할 수 있다.
- [0097] 본 발명의 화합물은 완전한 비결정질로부터 완전한 결정질까지의 범위에서 연속적인 고체 상태로 존재할 수 있다. 용어 '비결정질'이란 물질이 분자 수준에서 장거리 질서(long range order)를 잃고, 온도에 따라 고체 또는 액체의 물리적 특성을 나타낼 수 있는 상태를 말한다. 전형적으로 그러한 물질은 고체의 특성을 나타내는 한편, 구별되는 X-선 회절 패턴을 나타내지 않고, 보다 형식적으로는 액체로서 설명된다. 가열시, 상태의 변화를 특징으로 하는 고체로부터 액체로의 특성 변화, 전형적으로 2차적 질서('유리 전이')가 일어난다. 용어 '결정질'이란 물질이 분자 수준에서 규칙적인 내부 질서 구조를 가지고, 구별되는 X-선 회절 패턴을 명확한 피크로 나타내는 고체 상을 말한다. 그러한 물질도 충분히 가열하면 액체의 특성을 나타낼 것이지만, 고체로부터 액체로의 변화는 상 변화, 전형적으로 1차적 질서('융점')를 특징으로 한다.
- [0098] 본 발명의 화합물은 또한 용매화 및 탈용매화 형태로 존재할 수도 있다. 용어 '용매화물'은 본원에서 본 발명의 화합물과 하나 이상의 제약상 허용가능한 용매 분자, 예를 들면, 에탄올을 포함하는 분자 복합체를 설명하는 데 사용된다. 용어 '수화물'은 상기 용매가 물일 때 적용된다. 본 발명은 탈용매화 및 모든 용매화 형태 양자를 포함한다.
- [0099] 최근에 유기 수화물에 대하여 받아들여지는 분류 체계는 단리된 위치, 채널 또는 금속-이온 배위 수화물을 정의하는 것이다 - 문헌 [Polymorphism in Pharmaceutical Solids by K. R. Morris(Ed. H. G. Brittain, Marcel Dekker, 1995)] 참고. 단리된 위치 수화물이란, 물 분자들이 유기 분자들 사이에 개입하여 서로간의 직접 접촉으로부터 단리된 것을 말한다. 채널 수화물에서, 물 분자들은 서로 다른 물 분자와 인접하는 격자 채널 내에 있다. 금속-이온 배위 수화물에서, 물 분자들은 금속 이온과 결합되어 있다.
- [0100] 용매 또는 물이 단단히 결합된 경우, 그 복합체는 습도에 무관하게 명확한 화학량론을 가질 것이다. 그러나, 채널 용매화물 및 흡습성 화합물에서와 같이 용매 또는 물이 약하게 결합된 경우, 물/용매 함량은 습도 및 건조 조건에 의존할 것이다. 그러한 경우에는, 비-화학량론이 표준이 될 것이다.
- [0101] 이하 화학식 I의 화합물에 대한 모든 언급에는 그의 염과 용매화물 및 그의 염의 용매화물에 대한 언급이 포함된다.
- [0102] 본 발명의 화합물에는 상기에서 언급한 바와 같은 화학식 I의 화합물과 그의 모든 다형체 및 결정 습성, 이하에서 설명하는 바와 같은 그의 프로드러그 및 이성질체(광학, 기하 및 호변 이성질체를 포함), 그리고 동위원소-

표지의 화학식 I의 화합물이 포함된다.

- [0103] 지적인 바와 같이, 소위 화학식 I의 화합물의 '프로드러그'도 또한 본 발명의 범위에 속한다. 그 자체로서는 거의 또는 전혀 약리학적 활성을 가지지 않을 수 있는 화학식 I의 화합물의 특정 유도체가 신체 내 또는 상에 투여되었을 때, 예를 들면 가수분해 절단에 의해, 목적하는 활성을 가진 화학식 I의 화합물로 전환될 수 있다. 그러한 유도체를 "프로드러그"라 한다. 프로드러그의 용도에 대한 추가의 정보는 문헌 [Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14, ACS Symposium Series(T. Higuchi and W. Stella)]와, 문헌 [Bioreversible Carriers in Drug Design, Pergamon Press, 1987(Ed. E. B. Roche, American Pharmaceutical Association)]에서 확인할 수 있다.
- [0104] 본 발명에 따른 프로드러그는, 예를 들면 화학식 I의 화합물에 존재하는 적절한 관능기들을, 예를 들면 문헌 [Design of Prodrugs by H. Bundgaard(Elsevier, 1985)]에 기재되어 있는 바와 같은 당업자들에게 '프로-모이어티'라 알려진 특정 모이어티로 대체함으로써 생산할 수 있다.
- [0105] 본 발명의 화학식 I의 화합물은 카르복실산 관능기(-COOH)를 함유한다. 따라서, 적합한 프로드러그에는 화학식 I의 화합물의 카르복실산 관능기의 수소를 에스테르 잔기로 대체한 그의 에스테르가 포함된다. 용어 "에스테르 잔기"란 생체 내에서 가수분해와 같은 생물학적 방법에 의해 절단되어, 유리 카르복실산기를 가지는 화학식 I의 화합물 또는 그의 염을 형성할 수 있는 에스테르기를 의미한다.
- [0106] 화합물이 프로드러그인지 아닌지는, 예를 들면 그것을 래트 또는 마우스와 같은 실험 동물에 정맥내 주사로 투여한 후, 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용가능한 염이 검출되는지 여부를 판단하기 위해 상기 동물의 체액을 연구함으로써 판단할 수 있다.
- [0107] 에스테르의 바람직한 일례에는 하기의 것이 포함된다:
- [0108] 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, n-펜틸, 이소펜틸, 네오펀틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 헵타데실, 옥타데실, 노나데실 및 이코사닐과 같은, 직쇄 또는 분지쇄 알킬기일 수 있는 C<sub>1-20</sub> 알킬기, 특히 C<sub>1-12</sub> 알킬기, 바람직하게는 C<sub>1-8</sub> 알킬기, 보다 바람직하게는 C<sub>1-6</sub> 알킬기, 및 가장 바람직하게는 상기에서 정의 및 예시한 바와 같은 C<sub>1-4</sub> 알킬기;
- [0109] C<sub>1-10</sub> 할로알킬기(하나 이상의 할로젠 원자, 바람직하게는 불소 또는 염소 원자, 보다 바람직하게는 불소 원자로 치환된 알킬기를 말함), 바람직하게는 C<sub>1-8</sub> 할로알킬기, 보다 바람직하게는 C<sub>1-6</sub> 할로알킬기, 및 가장 바람직하게는 모노-, 디- 또는 트리-플루오로메틸, 모노-, 디- 또는 트리-클로로메틸, 브로모메틸, 2-플루오로에틸, 2,2-디플루오로에틸, 2,2,2-트리플루오로에틸, 2-클로로에틸, 2,2-디클로로에틸, 2,2,2-트리클로로에틸, 퍼플루오로에틸, 퍼플루오로프로필 및 퍼플루오로부틸과 같은 C<sub>1-4</sub> 할로알킬기;
- [0110] C<sub>1-10</sub> 히드록시알킬기(히드록시(-OH)기로 치환된 알킬기를 말함), 바람직하게는 C<sub>1-8</sub> 히드록시알킬기, 보다 바람직하게는 C<sub>1-6</sub> 히드록시알킬기, 및 가장 바람직하게는 히드록시메틸, 1- 또는 2-히드록시에틸, 1-, 2- 또는 3-히드록시프로필, 및 1-, 2-, 3- 또는 4-히드록시부틸과 같은 C<sub>1-4</sub> 히드록시알킬기;
- [0111] (C<sub>1-10</sub> 알콕시)C<sub>1-10</sub> 알킬기(알콕시기로 치환된 알킬기를 말함), 바람직하게는(C<sub>1-6</sub> 알콕시)C<sub>1-6</sub> 알킬기, 보다 바람직하게는(C<sub>1-4</sub> 알콕시)C<sub>1-4</sub> 알킬기, 및 가장 바람직하게는 메톡시메틸, 1,1-디메틸-1-메톡시메틸, 에톡시메틸, 프로폭시메틸, 이소프로폭시메틸, 부톡시메틸 및 t-부톡시메틸기와 같은 (C<sub>1-4</sub> 알콕시)메틸기;
- [0112] 2-메톡시에톡시메틸기와 같은 C<sub>1-6</sub> 알콕시화 (C<sub>1-6</sub> 알콕시)메틸기;
- [0113] 2,2,2-트리클로로에톡시메틸 및 비스(2-클로로에톡시)메틸기와 같은 할로(C<sub>1-6</sub> 알콕시)메틸기;
- [0114] 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸 및 시클로옥틸기와 같은 C<sub>3-8</sub> 시클로알킬기;
- [0115] 아랄킬기, 예를 들면: 1 내지 3개의 C<sub>6-14</sub> 아릴기(여기서, 아릴 부분은 페닐, 나프틸, 안트릴 및 페난트릴에서 선택됨)로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬기, 예컨대 벤질, α-나프틸메틸, β-나프틸메틸, 디페닐메틸, 트리페닐메틸, α-나

프틸디페닐메틸 및 9-안트릴메틸기; 및 치환 C<sub>6-14</sub> 아릴기 1 내지 3개로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬기(여기서, 하나 이상의 아릴기가 하나 이상(바람직하게는 1 내지 3개, 보다 바람직하게는 오직 1개)의 C<sub>1-6</sub> 알킬, C<sub>1-6</sub> 알콕시, 니트로, 할로겐 또는 시아노 치환체로 치환됨), 예컨대 4-메틸벤질, 2,4,6-트리메틸벤질, 3,4,5-트리메틸벤질, 4-메톡시벤질, 4-메톡시페닐디페닐메틸, 2-니트로벤질, 4-니트로벤질, 4-클로로벤질, 4-브로모벤질 및 4-시아노벤질기; 특히 벤질기;

- [0116] 테트라히드로피라닐 또는 테트라히드로티오피라닐기, 여기서, 테트라히드로피라닐 또는 테트라히드로티오피라닐기는 경우에 따라 할로 및 C<sub>1-6</sub> 알콕시에서 선택된 치환체로 치환될 수 있고, 예를 들면: 테트라히드로피란-2-일, 3-브로모테트라히드로피란-2-일, 4-메톡시-테트라히드로피란-4-일, 테트라히드로티오피란-2-일, 및 4-메톡시-테트라히드로티오피란-4-일기;
- [0117] 테트라히드로푸라닐 또는 테트라히드로티오푸라닐기, 여기서, 테트라히드로푸라닐 또는 테트라히드로티오푸라닐기는 경우에 따라 할로 및 C<sub>1-6</sub> 알콕시에서 선택된 치환체로 치환될 수 있고, 예를 들면: 테트라히드로푸란-2-일 및 테트라히드로티오푸란-2-일기;
- [0118] 비닐, 프로페닐, 부테닐, 펜테닐, 헥세닐, 헵테닐, 옥테닐, 노네닐 및 데세닐기와 같은 C<sub>2-10</sub> 알케닐기; 및
- [0119] 에티닐, 프로피닐, 부티닐, 펜티닐, 헥시닐, 헵티닐, 옥티닐, 노니닐 및 데시닐기와 같은 C<sub>2-10</sub> 알키닐기.
- [0120] 상기의 일례 및 그 밖의 프로드러그 유형의 일례에 따른 추가의 치환기의 일례는 상기에서 언급한 참고문헌에서 찾아볼 수 있다.
- [0121] 또한, 특정 화학식 I의 화합물은 그 자체가 다른 화학식 I의 화합물의 프로드러그로서 작용할 수 있다.
- [0122] 하나 이상의 비대칭 탄소 원자를 함유하는 화학식 I의 화합물은 2 이상의 입체이성질체로 존재할 수 있다. 화학식 I의 화합물이 시클로알킬렌기를 함유할 때, CO<sub>2</sub>H 및 B기가 동일한 탄소 상에 있지 않을 경우, 시스/트랜스 이성질체가 가능하다. 구조 이성질체가 낮은 에너지 장벽을 통해 상호전환이 가능할 경우, 호변 이성질체가 발생할 수 있다. 이것은 시클릭 우레아, 티오우레아 또는 시아노구아니딘기를 함유하는 화학식 I의 화합물 내에서는 양성자 호변 이성질체, 또는 방향족 모이어티를 함유하는 화합물 내에서는 소위, 원자가 호변 이성질체의 형태를 취할 수 있다. 이는 단일 화합물이 하나의 유형 이상의 이성질체를 나타낼 수 있기 때문이다.
- [0123] 본 발명의 범위 내에는 하나 이상의 유형의 이성질체를 나타내는 화합물을 포함하여, 화학식 I의 화합물의 모든 입체이성질체, 부분입체이성질체(특히 시스/트랜스 이성질체) 및 호변 이성질체 형태와, 그의 하나 이상의 혼합물이 포함된다. 또한, 예를 들면, d-락타이트 또는 l-리신과 같이 반대이온이 광학적으로 활성이 있는 산 부가 또는 염기 염, 또는 예를 들면 d1-타르타레이트 또는 d1-알기닌과 같은 라세미체가 포함된다.
- [0124] 시스/트랜스 이성질체는 당업자에게 잘 알려진 종래의 기술, 예를 들면 크로마토그래피 및 분별 결정에 의해 분리될 수 있다.
- [0125] 개개의 거울상 이성질체의 제조/단리를 위한 종래의 기술에는, 적합한 광학적 순수 전구체로부터의 키랄 합성, 또는 예를 들면 키랄 고압 액체 크로마토그래피(HPLC)를 이용한 라세미체(또는 염 또는 유도체의 라세미체)의 분해가 포함된다.
- [0126] 선택적으로, 라세미체(또는 라세미 전구체)를 예를 들면 알코올, 또는 화학식 I의 화합물이 산성 또는 염기성 모이어티를 함유한 경우에는 염기 또는 산, 예를 들면 1-페닐에틸아민 또는 타르타르산과 같은 적합한 광학적 활성 화합물과 반응시킬 수 있다. 생성된 부분입체이성질 혼합물은 크로마토그래피 및/또는 분별 결정으로 분리될 수 있으며, 부분입체이성질체 중 하나 또는 모두는 당업자에게 잘 알려진 방법에 의해 대응하는 순수 거울상 이성질체로 전환된다.
- [0127] 본 발명의 키랄 화합물(및 그의 키랄 전구체)은 이소프로판올 0~50부피%, 전형적으로는 2부피%~20부피%, 및 알킬아민 0~5부피%, 전형적으로는 디에틸아민 0.1부피%를 함유하는 탄화수소, 전형적으로는 헵탄 또는 헥산으로 이루어진 이동 상을 가진 비대칭 수지 상에서, 크로마토그래피, 전형적으로 HPLC를 이용하여 거울상 이성질체가 풍부한 형태로 수득할 수 있다. 용출액의 농축은 강화된 혼합물을 산출한다.
- [0128] 임의의 라세미체가 결정화된 경우, 두 가지 다른 유형의 결정일 수 있다. 첫 번째 유형은 상기에서 언급한 바와 같은 라세미 화합물(진성 라세미체, true racemate)로, 두 거울상 이성질체를 동일한 몰 양으로 함유하는 하

나의 균질한 형태의 결정이 생성된다. 두 번째 유형은 라세미 혼합물 또는 집괴로, 단일 거울상 이성질체 각각이 동일한 몰 양으로 두 가지 형태의 결정이 생성된다.

- [0129] 라세미 혼합물 중에 존재하는 두 결정 형태는 동일한 물리적 특성을 가지는 반면, 진성 라세미체와 비교하여 다른 물리적 특성을 가질 수 있다. 라세미 혼합물은 당업자에게 알려진 종래의 기술로 분리할 수 있다 - 예를 들면, 문헌 [ Stereochemistry of Organic Compounds by E. L. Eliel and S. H. Wilen(Wiley, 1994)] 참조.
- [0130] 본 발명에는 하나 이상의 원자가 동일한 원자 번호를 가지지만, 원자 질량 또는 질량수가 자연계에서 우세한 원자 질량 또는 질량수와는 다른 원자로 대체된, 모든 제약상 허용가능한 동위원소-표지의 화학식 I의 화합물이 포함된다.
- [0131] 본 발명의 화합물에 포함되기에 적합한 동위원소의 일례에는 <sup>2</sup>H 및 <sup>3</sup>H와 같은 수소 동위원소, <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>C 및 <sup>14</sup>C와 같은 탄소 동위원소, <sup>36</sup>Cl과 같은 염소 동위원소, <sup>18</sup>F와 같은 불소 동위원소, <sup>123</sup>I 및 <sup>125</sup>I와 같은 요오드 동위원소, <sup>13</sup>N 및 <sup>15</sup>N와 같은 질소 동위원소, <sup>15</sup>O, <sup>17</sup>O 및 <sup>18</sup>O와 같은 산소 동위원소, <sup>32</sup>P와 같은 인 동위원소, 및 <sup>35</sup>S와 같은 황 동위원소가 포함된다.
- [0132] 특정 동위원소-표지의 화학식 I의 화합물, 예를 들면, 방사성 동위원소가 도입된 화합물은 약물 및/또는 기질 조직 분포 연구에 유용하다. 방사성 동위원소 트리튬, 즉 <sup>3</sup>H와, 탄소-14, 즉 <sup>14</sup>C는 그들의 도입의 용이성과 신속한 검출 방식의 관점에서 이러한 목적에 특히 유용하다.
- [0133] 듀테륨, 즉 <sup>2</sup>H와 같은 무거운 동위원소에 의한 치환은, 예를 들면 생체 내 반감기의 증가 또는 투약 요구량의 감소와 같은 보다 큰 대사 안정성을 야기하여 특정한 치료상 장점을 제공할 수 있어서, 일부 상황에서 바람직할 수 있다.
- [0134] <sup>11</sup>C, <sup>18</sup>F, <sup>15</sup>O 및 <sup>13</sup>N과 같은 양전자 방출 동위원소에 의한 치환은 기질 수용체 점유를 검토하기 위한 양전자 방출 지형(Positron Emission Topography, PET) 연구에 유용할 수 있다.
- [0135] 동위원소-표지의 화학식 I의 화합물은 일반적으로, 당업자에게 알려져 있는 종래의 기술, 또는 이전에 채용한 비-표지 시약 대신 적절한 동위원소-표지 시약을 이용하는 첨부한 실시예 및 제조법에 기재한 것과 유사한 공정으로 제조할 수 있다.
- [0136] 본 발명에 따른 제약상 허용가능한 용매화물에는 결정화 용매가 동위원소로 치환될 수 있는 것, 예를 들면 D<sub>2</sub>O, d<sub>6</sub>-아세톤, d<sub>6</sub>-DMSO가 포함된다.
- [0137] 또한, 본 발명의 범위 내에는 상기에서 언급한 바와 같은 화학식 I의 중간체 화합물, 그의 모든 염, 용매화물 및 복합체, 및 상기에서 언급한 바와 같은 화학식 I의 화합물에 대한 그의 염의 모든 용매화물 및 복합체가 포함된다. 본 발명은 상기 종의 모든 다형체와 그의 결정 습성을 포함한다.
- [0138] 본 발명에 따라 화학식 I의 화합물을 제조할 때, 당업자들은 본 목적을 위한 최선의 특성의 조합을 제공하는 화학식 I의 화합물 형태를 통상적으로 선택할 수 있다. 그러한 특성들에는 용점, 용해도, 가공성 및 중간체 형성 수율과, 단리시 산물 정제의 용이성이 포함된다.
- [0139] 화학식 I의 화합물은 제시되는 징후의 치료를 위한 가장 적절한 투여형 및 투여 경로를 선택하기 위해, 용해도와 용해 안정성(pH에 걸친), 투과성 등과 같은 그들의 생물 제약상 특성이 평가되어야 한다.
- [0140] 제약상 사용을 위한 본 발명의 화합물들은 결정질 또는 비결정질 산물로 투여될 수 있다. 이들은 침전, 결정화, 동결 건조, 스프레이 건조 또는 증발 건조와 같은 방법에 의해 고체 플러그, 분말 또는 필름으로 얻어질 수 있다. 본 목적을 위해 마이크로과 또는 고주파 건조를 이용할 수 있다.
- [0141] 이들은 단독으로, 또는 1 이상의 다른 본 발명의 화합물과 조합되어, 또는 1 이상의 다른 약물과 조합되어(또는 그의 염의 조합으로) 투여될 수 있다. 일반적으로, 이들은 1 이상의 제약상 허용가능한 부형제를 함께 포함하는 제형으로서 투여될 것이다. 용어 '부형제'는 본원에서 본 발명의 화합물(들) 이외의 임의의 성분을 기재하는데 사용된다. 부형제의 선택은 투여의 특정 방식, 용해도 및 안정성에 대한 부형제의 효과, 및 투여형의 본질과 같은 넓은 범위의 인자들에 의존적일 것이다.
- [0142] 본 발명의 화합물을 운반하는데 적합한 제약 조성물 및 그 제조 방법은 당업자에게 곧 분명해질 것이다. 그러

한 조성물 및 그 제조 방법은, 예를 들면 문헌 [ Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition(Mack Publishing Company, 1995)]에서 확인할 수 있다.

- [0143] 경구 투여
- [0144] 본 발명의 화합물은 경구적으로 투여될 수 있다. 경구 투여에는 화합물이 위장관으로 유입되도록 하는 삼키는 것, 및/또는 화합물이 입으로부터 직접 혈류로 유입되도록 하는 구강, 혀 또는 설하 투여가 포함될 수 있다.
- [0145] 경구 투여에 적합한 제형에는 정제; 멀티- 또는 나노-미립자, 액체, 또는 분말을 함유하는 연질 또는 경질 캡슐; 로젠지제(액체-충진된 것을 포함); 추잉제; 젤; 신속 분산 투여형; 필름; 배주(ovules); 스프레이; 및 구강/점막 점착성 패치와 같은 고체, 반-고체 및 액체 시스템이 포함된다.
- [0146] 액체 제형에는 현탁액, 용액, 시럽 및 엘릭시르가 포함된다. 그러한 제형은 연질 또는 경질 캡슐(예를 들면, 젤라틴 또는 히드록시프로필메틸셀룰로오스로 제조된) 내의 충전제로서 채용될 수 있고, 전형적으로 담체, 예를 들면 물, 에탄올, 폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 메틸셀룰로오스 또는 적합한 오일, 및 1 이상의 유화제 및/또는 현탁화제를 포함할 수 있다. 액체 제형은 또한 고체를 재구성한 것, 예를 들면 사셰(sachet)로부터 제조할 수도 있다.
- [0147] 또한, 본 발명의 화합물은 문헌 [Expert Opinion in Therapeutic Patents, 11(6), 981-986, by Liang and Chen(2001)]에 기재된 바와 같은 신속-용해, 신속-붕괴 투여형으로 사용될 수도 있다.
- [0148] 정제 투여형에 있어서, 부피에 의존하여 약물은 투여형의 1중량% 내지 80중량%, 보다 전형적으로는 투여형의 5중량% 내지 60중량%를 차지할 수 있다. 약물에 더하여, 정제는 일반적으로 붕괴제를 함유한다. 붕괴제의 예에는 나트륨 전분 글리콜레이트, 나트륨 카르복시메틸 셀룰로오스, 칼슘 카르복시메틸 셀룰로오스, 크로스카르멜로오스 나트륨, 크로스포비돈, 폴리비닐피롤리돈, 메틸 셀룰로오스, 미세결정성 셀룰로오스, 저급 알킬-치환 히드록시프로필 셀룰로오스, 전분, 예비 젤라틴화 전분 및 나트륨 알기네이트가 포함된다. 일반적으로, 붕괴제는 투여형의 1중량% 내지 25중량%, 바람직하게는 5중량% 내지 20중량%를 차지할 것이다.
- [0149] 결합제는 일반적으로 정제 제형에 점착성을 부여하기 위해 사용된다. 적합한 결합제에는 미세결정성 셀룰로스, 젤라틴, 당, 폴리에틸렌 글리콜, 천연 및 합성 검, 폴리비닐피롤리돈, 예비 젤라틴화 전분, 히드록시프로필 셀룰로오스 및 히드록시프로필 메틸셀룰로오스가 포함된다. 정제는 또한 락토스(모노히드레이트, 스프레이-건조 모노히드레이트, 무수물 등), 만니톨, 자일리톨, 텍스트로스, 수크로스, 소르비톨, 미세결정성 셀룰로오스, 전분 및 2염기성 칼슘 포스페이트 디히드레이트와 같은 희석제를 함유할 수 있다.
- [0150] 또한, 정제는 경우에 따라 나트륨 라우릴 설페이트 및 폴리소르베이트 80와 같은 표면 활성제, 및 실리콘 디옥사이드 및 탈크와 같은 유동화제(glidant)를 포함할 수 있다. 이들이 존재할 경우, 표면 활성제는 정제의 0.2중량% 내지 5중량%를 차지할 수 있고, 유동화제는 정제의 0.2중량% 내지 1중량%를 차지할 수 있다.
- [0151] 또한, 정제는 일반적으로 마그네슘 스테아레이트, 칼슘 스테아레이트, 아연 스테아레이트, 나트륨 스테아릴 푸마레이트, 및 마그네슘 스테아레이트와 나트륨 라우릴 설페이트의 혼합물과 같은 활택제를 함유한다. 활택제는 일반적으로 정제의 0.25중량% 내지 10중량%, 바람직하게는 0.5중량% 내지 3중량%를 차지한다.
- [0152] 기타 가능한 성분에는 향-산화제, 착색제, 풍미제, 보존제 및 맛-음폐제(taste-masking agents)가 포함된다.
- [0153] 예시가 되는 정제는 약물을 약 80%, 결합제를 약 10중량% 내지 약 90중량%, 희석제를 약 0중량% 내지 약 85중량%, 붕괴제를 약 2중량% 내지 약 10중량%, 및 활택제를 약 0.25중량% 내지 약 10중량% 함유한다.
- [0154] 정제 블렌드는 직접 또는 압연기에 의해 압착되어 정제를 형성할 수 있다. 정제 블렌드 또는 블렌드의 일부는 정제화 이전에 선택적으로 습윤-, 건조- 또는 용융-과립화, 용융 응결, 또는 압출될 수 있다. 최종 제형은 1 이상의 층을 포함할 수 있으며, 코팅되거나 코팅되지 않을 수 있고; 캡슐화될 수도 있다.
- [0155] 정제의 제형은 문헌 [Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Vol. 1, by H. Lieberman and L. Lachman(Marcel Dekker, New York, 1980)]에서 논의된다.
- [0156] 인간 또는 가축용으로 시판하는 경구 필름은 전형적으로 신속 분해성 또는 점막 점착성일 수 있는 유연한 수용성 또는 수팽윤성 얇은 필름 투여형이며, 전형적으로 화학식 I의 화합물, 막-형성 중합체, 결합제, 용매, 습윤제, 가소제, 안정제 또는 유화제, 점성-개조제 및 용매를 포함한다. 제형의 일부 요소는 1 이상의 기능을 수행할 수 있다.

- [0157] 화학식 I의 화합물은 수용성 또는 불용성일 수 있다. 수용성 화합물은 전형적으로 용질을 1중량% 내지 80중량%, 보다 전형적으로는 20중량% 내지 50중량% 포함한다. 덜 가용성인 화합물은 용질을 보다 높은 비율로, 전형적으로 조성물의 88중량%까지 포함할 수 있다. 선택적으로, 화학식 I의 화합물은 다중입자 비드 형태일 수 있다.
- [0158] 막-형성 중합체는 천연 폴리사카라이드, 단백질, 또는 합성 히드로콜로이드로부터 선택될 수 있으며, 전형적으로 0.01 내지 99중량%, 보다 전형적으로는 30 내지 80중량% 범위로 존재한다.
- [0159] 기타의 가능한 성분에는 항-산화제, 착색제, 풍미제 및 풍미 증강제, 보존제, 침샘 자극제, 냉각제, 공-용매(오일을 포함), 연화제, 팽화제, 소포제, 계면활성제 및 맛-음폐제가 포함된다.
- [0160] 본 발명에 따른 필름은 전형적으로, 탈리가능한 지지체 또는 페이퍼 상에 코팅된 얇은 수성 필름을 증발 건조시킴으로써 제조할 수 있다. 이는 건조 오븐 또는 터널, 전형적으로는 코팅기 건조기 조합체 내에서, 또는 동결-건조 또는 진공화에 의해 행할 수 있다.
- [0161] 경구 투여를 위한 고체 제형은 즉시 방출형 및/또는 개조 방출형으로 제형화될 수 있다. 개조 방출형 제형에는 지연-, 서방-, 펄스-, 제어-, 표적화- 및 프로그래밍 방출형이 포함된다.
- [0162] 본 발명의 목적에 적합한 개조 방출형 제형은 미국 특허 제6,106,864호에 기재되어 있다. 고 에너지 분산법과 같은 그 밖의 적합한 방출형 기법 및 삼투성 코팅 입자에 대한 상세한 사항은 문헌 [Pharmaceutical Technology On-line, 25(2), 1-14, by Verma et al(2001)]에서 확인된다. 제어 방출을 위한 슈잉검의 사용은 WO 00/35298에 게시되어 있다.
- [0163] 비경구 투여
- [0164] 본 발명의 화합물은 또한 직접적으로 혈류, 근육 또는 내부 장기에 투여될 수 있다. 비경구 투여를 위한 적합한 수단에는 정맥내 주사, 동맥내 주사, 복강내 주사, 수막강내 주사, 심실내 주사, 요도내 주사, 흉골내 주사, 두개내 주사, 근육내 주사, 활액내 주사 및 피하 주사가 포함된다. 비경구 투여를 위한 적합한 장치에는 침(현미침을 포함) 주사기, 무침 주사기 및 주입 기법이 포함된다.
- [0165] 비경구 제형은 전형적으로 염, 탄수화물 및 완충제(바람직하게는 pH가 3 내지 9)와 같은 부형제를 포함할 수 있는 수용액이지만, 일부 적용분야에서 그들은 살균 비-수용액으로서, 또는 살균 발열원-무함유 물과 같은 적합한 비히클과 함께 사용되는 건조 형태로서, 보다 바람직하게 제형화될 수 있다.
- [0166] 예를 들면, 동결건조와 같은 살균 조건 하에서의 비경구 제형의 제조는 당업자에게 잘 알려진 표준 제약 기술을 이용하여 쉽게 수행될 수 있다.
- [0167] 비경구 용액의 제조에 사용되는 화학식 I의 화합물의 용해도는, 용해도-증강제 도입과 같은 적절한 제형화 기술을 사용하여 증가시킬 수 있다.
- [0168] 비경구 투여를 위한 제형은 즉시 방출형 및/또는 개조 방출형으로 제형화될 수 있다. 개조 방출형 제형에는 지연-, 서방-, 펄스-, 제어-, 표적화- 및 프로그래밍 방출형이 포함된다. 이에, 본 발명의 화합물은 활성 화합물의 개조 방출을 제공하는 이식 저장고(implanted depot)로서의 투여를 위해, 현탁액으로서 또는 고체, 반-고체, 또는 요변성 액체(thixotropic liquid)로서 제형화될 수 있다. 그러한 제형의 일례에는 약물-코팅 스텐트(drug-coated stents), 반-고체 및 약물-적재 폴리(dl-락트-코글리콜)산(PGLA) 마이크로스피어를 포함하는 현탁액이 포함된다.
- [0169] 국소 투여
- [0170] 본 발명의 화합물은 또한 피부 또는 점막에 국소적, (내)피적, 또는 경피적으로 투여될 수 있다. 이러한 목적을 위한 전형적인 제형에는 겔, 히드로겔, 로션, 용액, 크림, 연고, 더스팅 분말, 드레싱, 거품, 필름, 피부 패치, 웨이퍼, 임플란트, 스폰지, 섬유, 붕대 및 마이크로에멀전이 포함된다. 또한, 리포솜을 사용할 수도 있다. 전형적인 담체로는 알코올, 물, 미네랄 오일, 유동 바셀린, 백색 바셀린, 글리세린, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜이 포함된다. 투과 촉진제를 도입할 수도 있다 - 예를 들면, 문헌 [J. Pharm. Sci., 88(10), 955-958, by Finnin and Morgan(October 1999)] 참고.
- [0171] 국소 투여의 그 밖의 수단에는 전기천공, 이온영동, 음파영동, 초음파영동 및 현미침 또는 무침(예를 들어, Powderject™, Bioject™ 등) 주사에 의한 운반이 포함된다.

- [0172] 국소 투여를 위한 제형은 즉시 방출형 및/또는 개조 방출형으로 제형화될 수 있다. 개조 방출형 제형에는 지연-, 서방-, 펄스-, 제어-, 표적화- 및 프로그램화 방출형이 포함된다.
- [0173] 흡입/비강내 투여
- [0174] 또한, 본 발명의 화합물은, 전형적으로는 건조 분말 흡입기로부터 건조 분말의 형태로(단독으로, 또는 혼합물로서, 예컨대 락토스와 건조 블렌드로서, 또는 포스포타티딜콜린과 같은 인지질과 혼합된 혼합 성분 입자로서), 1,1,1,2-테트라플루오로에탄 또는 1,1,1,2,3,3,3-헵타플루오로프로판과 같은 적합한 추진제를 이용하거나 그렇지 않은, 가압 용기, 펌프, 스프레이, 분무기(atomiser, 바람직하게는 미세 미스트를 생성하는 전기유체역학을 이용한 분무기), 또는 네블라이저(nebuliser)로부터 에어로졸 스프레이로서, 또는 점비제로서, 비강으로 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다. 비강내 사용을 위해, 분말은 예를 들면 키토산이나 시클로덱스트린과 같은 생 점착제(bioadhesive agent)를 포함할 수 있다.
- [0175] 가압 용기, 펌프, 스프레이, 분무기 또는 네블라이저는, 예를 들면, 에탄올, 수성 에탄올, 또는 활성 성분의 분산, 가용화, 또는 방출 연장에 적합한 대안적인 작용제, 용매로서의 추진제(들) 및 선택적 계면활성제, 예컨대 소르비탄 트리올레이트, 올레산 또는 올리고락트산을 포함하는 본 발명의 화합물(들)의 용액 또는 현탁액을 함유한다.
- [0176] 건조 분말 또는 현탁액 제형을 사용하기 이전에, 약물 생산품은 흡입에 의한 운반에 적합한 크기(전형적으로 5  $\mu\text{m}$  미만)로 미세화된다. 이것은 스파이럴 제트 제분법, 유동층 제트 제분법, 나노입자의 형성을 위한 초임계 유체 기술, 고압 균질화, 또는 스프레이 건조와 같은 적절한 분쇄 방법으로 달성할 수 있다.
- [0177] 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 캡슐(예를 들면, 젤라틴 또는 히드록시프로필메틸셀룰로오스로 제조된 것), 기포 및 약포는 본 발명의 화합물, 락토스 또는 전분과 같은 적합한 분말 베이스, 및 1-루신, 만니톨 또는 마그네슘 스테아레이트와 같은 성능 개조제의 분말 믹스를 함유하도록 제형화될 수 있다. 상기 락토스는 무수 물이거나 1수화물 형태일 수 있고, 후자가 바람직하다. 그 밖의 적합한 부형제에는 텍스트란, 글루코스, 말토스, 소르비톨, 자일리톨, 프럭토스, 수크로스 및 트레할로스가 포함된다.
- [0178] 미세 미스트를 생성하기 위한 전기유체역학을 이용하는 분무기에 사용하는데 적합한 용액 제형은 작용(actuation) 당 본 발명의 화합물을 1  $\mu\text{g}$  내지 20mg 함유할 수 있고, 작용 부피는 1  $\mu\text{l}$  내지 100  $\mu\text{l}$ 의 범위일 수 있다. 전형적인 제형은 화학식 I의 화합물, 프로필렌 글리콜, 살균수, 에탄올 및 나트륨 클로라이드를 포함할 수 있다. 프로필렌 글리콜 대신 사용할 수 있는 선택적 용매에는 글리세롤 및 폴리에틸렌 글리콜이 포함된다.
- [0179] 멘톨 및 레보멘톨과 같은 적합한 풍미료, 또는 사카린 또는 사카린 나트륨과 같은 감미료를 흡입/비강내 투여를 위한 본 발명의 제형들에 첨가할 수 있다.
- [0180] 흡입/비강내 투여를 위한 제형은, 예를 들면 PGLA를 이용하여, 즉시 방출형 및/또는 개조 방출형으로 제형화될 수 있다. 개조 방출형 제형에는 지연-, 서방-, 펄스-, 제어-, 표적화- 및 프로그램화 방출형이 포함된다.
- [0181] 직장/질내 투여
- [0182] 본 발명의 화합물은, 예를 들면 좌제, 페서리(pessary), 또는 관장제의 형태로 직장 또는 질내로 투여될 수 있다. 코코아 버터가 전통적인 좌제 기재이지만, 그 밖의 다양한 것들도 적절하게 사용할 수 있다.
- [0183] 직장/질내 투여를 위한 제형은 즉시 방출형 및/또는 개조 방출형으로 제형화될 수 있다. 개조 방출형 제형에는 지연-, 서방-, 펄스-, 제어-, 표적화- 및 프로그램화 방출형이 포함된다.
- [0184] 눈/귀 투여
- [0185] 본 발명의 화합물은 또한, 전형적으로 등장, pH-조정, 살균 염수의 미세 현탁액 또는 용액의 방울 형태로 눈 또는 귀에 직접 투여될 수 있다. 눈 및 귀 투여를 위한 그 밖의 적합한 제형에는 연고, 겔, 생분해성(예를 들면, 흡수성 겔 스폰지, 콜라겐) 및 비-생분해성(예를 들면, 실리콘) 임플란트, 웨이퍼, 렌즈, 및 니오븀이나 리포솜과 같은 미립자성 또는 소포성 시스템이 포함된다. 교차-결합된 폴리아크릴산, 폴리비닐알코올, 히알루론산, 셀룰로오스성 중합체, 예컨대 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 또는 메틸 셀룰로오스, 또는 헥테로폴리사카라이드 중합체, 예컨대 젤란 검과 같은 중합체가 벤즈알코늄 클로라이드와 같은 보존제와 함께 도입될 수 있다. 또한, 상기 제형은 이온영동에 의해 전달될 수도 있다.
- [0186] 눈/귀 투여를 위한 제형은 즉시 방출형 및/또는 개조 방출형으로 제형화될 수 있다. 개조 방출형 제형에는 지



연-, 서방-, 펄스-, 제어-, 표적화- 및 프로그램화 방출형이 포함된다.

[0187] 그 밖의 기술

[0188] 본 발명의 화합물은 상기에서 언급한 임의의 방식의 투여에 사용하기 위하여 그들의 용해도, 용해 속도, 맛-음페, 생물학적 이용가능성 및/또는 안정성을 개선시키기 위해, 시클로텍스트린과 그의 적합한 유도체, 또는 폴리 에틸렌 글리콜-함유 중합체와 같은 가용성 고분자 물질과 조합될 수 있다.

[0189] 예를 들면, 약물-시클로텍스트린 복합체는 대부분의 투여형 및 투여 경로에 일반적으로 유용함이 확인된다. 포 접 및 비-포접 복합체가 모두 사용될 수 있다. 약물과의 직접 복합체화를 위한 대안으로, 시클로텍스트린을 보조 첨가제, 즉, 담체, 희석제 또는 가용화제로서 사용할 수 있다. 이러한 목적을 위해 가장 일반적으로 사용되는 것은 WO 91/11172, WO 94/02518 및 WO 98/55148에서 찾아볼 수 있는 일례로서 알파-, 베타- 및 감마-시클로 텍스트린이 있다.

[0190] 부분의 키트(KIT-OF-PARTS)

[0191] 예를 들면, 특정 질환 또는 병태를 치료하기 위해 활성 화합물을 조합하여 투여하는 것을 목적으로 할 수 있으므로, 적어도 하나는 본 발명에 따른 화합물을 함유하는 것인 2 이상의 제약 조성물을 조성물의 공투여에 적합한 키트의 형태로 편리하게 조합하는 것은 본 발명의 범위 내에 속한다.

[0192] 따라서, 본 발명의 키트는 적어도 하나가 본 발명에 따른 화학식 I의 화합물을 함유하는 것인 2 이상의 개별적인 제약 조성물과, 상기 조성물을 개별적으로 보유하기 위한 수단, 예를 들면 용기, 분획된 병, 또는 분획된 호일 패킷을 포함한다. 상기 키트의 일례는 정제, 캡슐 등을 포장하는데 사용되는 통상의 블리스터 팩(blister pack)이다.

[0193] 본 발명의 키트는 상이한 투여형, 예를 들면 경구 및 비경구 투여형을 투여하거나, 상이한 투약 간격으로 개별적인 조성물을 투여하거나, 또는 개별적인 조성물을 서로 적정하는데 특히 적합하다. 사용이 용이하도록, 상기 키트는 투여를 위한 지시사항을 포함할 수 있으며, 소위 기억 보조물(memory aid)을 제공할 수 있다.

[0194] 투약

[0195] 인간 환자에의 투여를 위한 본 발명의 화합물의 하루 총 부피는 전형적으로 10 mg 내지 1000 mg의 범위이며, 물론 투여의 방식에 따라 다르다. 예를 들면, 경구 투여는 10 mg 내지 1000 mg의 하루 총 부피를 요구할 수 있는 반면, 정맥내 주사 부피는 10 mg 내지 1000 mg을 요구할 수 있다. 하루 총 부피는 한번에 또는 분획된 부피로 투여할 수 있으며, 의사의 지시에 따라 본원에서 제시한 전형적인 범위를 벗어날 수도 있다.

[0196] 이러한 투약은 체중이 약 60kg 내지 70kg인 평균적인 인간을 기초로 한 것이다. 의사는 유아나 노인과 같이 체중이 이 범위를 벗어난 대상에 대해 부피를 쉽게 판단할 수 있을 것이다.

[0197] 의심의 소지를 없애기 위해, 본원에서 언급하는 "치료"에는 치유적, 완화적, 및 예방적 치료에 대한 언급이 포함된다.

[0198] 모든 화학식 I의 화합물은 이하의 일반적 방법에서 설명하는 방법에 따라, 또는 실시예 섹션 및 제조법 섹션에서 설명하는 특별한 방법에 따라, 또는 그것의 일상적인 개조에 따라 제조할 수 있다. 또한, 본 발명은 화학식 I의 화합물의 제조를 위한 1 이상의 임의의 공정 및 그에 사용되는 임의의 신규 중간체를 포함한다.

[0199] 일반적 방법

[0200] 이하의 약어를 사용한다:

[0201] DMF = 디메틸포름아미드

[0202] DMSO = 디메틸 술폭시드

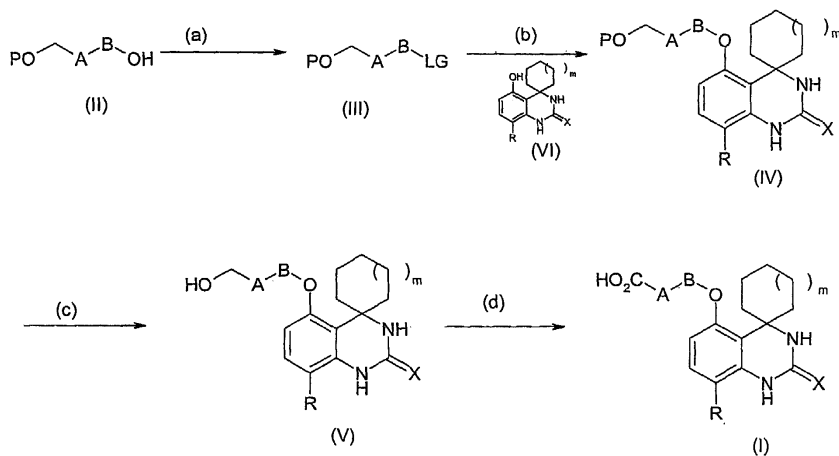
[0203] TEMPO = 2,2,6,6-테트라메틸피페리딘-N-옥사이드

[0204] THF = 테트라히드로푸란

[0205] DCM = 디클로로메탄

[0206] 화학식 I의 화합물은 이하의 반응식 1에 나타낸 바와 같이 제조할 수 있다.

반응식 1



[0207]

[0208] 반응식 1에서, P는 히드록시-보호기를 나타내며, 그의 적합한 일례는 문헌 ["Protective Groups in Organic Synthesis" by T. W. Greene and P. Wuts, Wiley and Sons, 1991]에 기재되어 있고, LG는 할로젠, (C<sub>1-6</sub> 알킬)설포닐옥시(예를 들면, 메탄-설포닐옥시), (C<sub>1-6</sub> 할로알킬)설포닐옥시(예를 들면, 트리플루오로메탄설포닐옥시), 또는 벤젠- 또는 톨루엔설포닐옥시(예를 들면, p-톨루엔설포닐옥시)와 같은 적합한 이탈기를 나타낸다. 바람직한 P는 벤질이며, LG는 p-톨루엔설포닐옥시이다.

[0209] 단계(a): 화학식 III의 화합물은, 화학식 II의 화합물과 히드록시기를 이탈기로 전환시킬 수 있는 적절한 작용제, 전형적으로는 설포닐화 시약(예를 들면, 메탄설포닐 클로라이드 또는 p-톨루엔설포닐 클로라이드)으로부터, 염기(예를 들면, 트리에틸아민 또는 피리딘)의 존재하에, 적합한 용매(예를 들면, 피리딘 또는 디클로로메탄) 중에서 0°C 내지 실온에서 15분 내지 24시간 동안 제조할 수 있다.

[0210] 바람직한 조건은 다음과 같다: 디클로로에탄 중의 1eq 화합물 II, 1.2eq p-톨루엔설포닐 클로라이드, 2eq 피리딘, 실온에서 18시간.

[0211] 단계(b): 화학식 IV의 화합물은, 화합물 III과 화학식 VI의 히드록시 화합물로부터, 적합한 용매(예를 들면, DMF, DMSO) 중에서, 적합한 염기(예를 들면, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)의 존재하에, 경우에 따라 크라운 에테르(예를 들면, 18-크라운-6)의 존재하에, 50-120°C에서 밤새도록 제조할 수 있다.

[0212] 바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 VI, 1.1eq 화합물 III, 1.2eq Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF 중, 80°C에서 24시간.

[0213] 화학식 VI의 화합물은 일반적으로 WO 02/074754에 기재되어 있다. X가 O이고, m이 1이고, R이 Cl인 특정 화학식 VI의 화합물은 문헌 [Bioorg. Med. Chem. Lett., (2004), 14(18), 4627-32]에 기재된 바와 같이, 또는 하기 반응식 5에 약술한 바와 같이 제조할 수 있다.

[0214] 단계(c): 화학식 IV의 화합물은 적합한 용매 중에서 탈보호제와의 반응에 의해 탈보호되어, 화학식 V의 화합물을 생성할 수 있다. 적합한 시약 및 방법은 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis(상기에서 언급)]에 기재되어 있다. P가 벤질일때, 적합한 시약의 일례에는 보론 트리클로라이드 또는 철(III) 클로라이드가 포함된다.

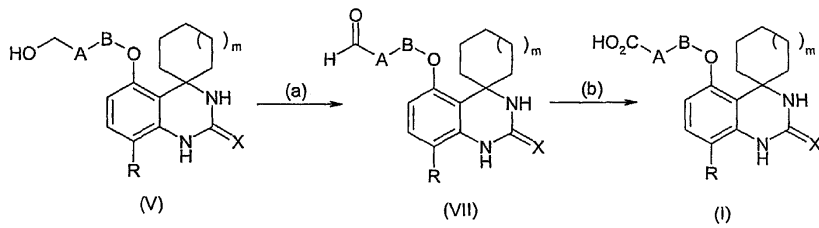
[0215] 바람직한 조건은 다음과 같다: 디클로로메탄 중 1eq 화합물 IV, 4eq BCl<sub>3</sub>, 실온에서 18시간.

[0216] 단계(d): 화학식 I의 화합물은 적합한 용매 중에서 산화제를 사용하여 화학식 V의 화합물을 산화시켜 제조할 수 있다. 전형적인 시약 및 조건에는 아세트니트릴과 같은 용매 중의 촉매성 크롬 트리옥사이드 및 과요오드산(H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub>), 실온 내지 50°C에서 18 내지 36시간, 또는 선택적으로 아세트니트릴과 같은 용매 중 촉매성 TEMPO 존재 하에서 NaOCl + NaClO<sub>2</sub>, 0°C 내지 실온에서 18 내지 36시간이 포함된다.

[0217] 바람직한 조건은 다음과 같다: 0.75% 수성 아세트니트릴 중에서 1eq 화합물 V, 2.5eq 과요오드산, 0.02eq CrO<sub>3</sub>, 40°C에서 24시간.

[0218] 선택적으로, 화학식 I의 화합물은 반응식 2에 나타난 바와 같이, 화학식 VII의 알데히드를 개재한 2-단계 과정으로, 화학식 V의 화합물의 산화에 의해 제조할 수 있다.

**반응식 2**



[0219]

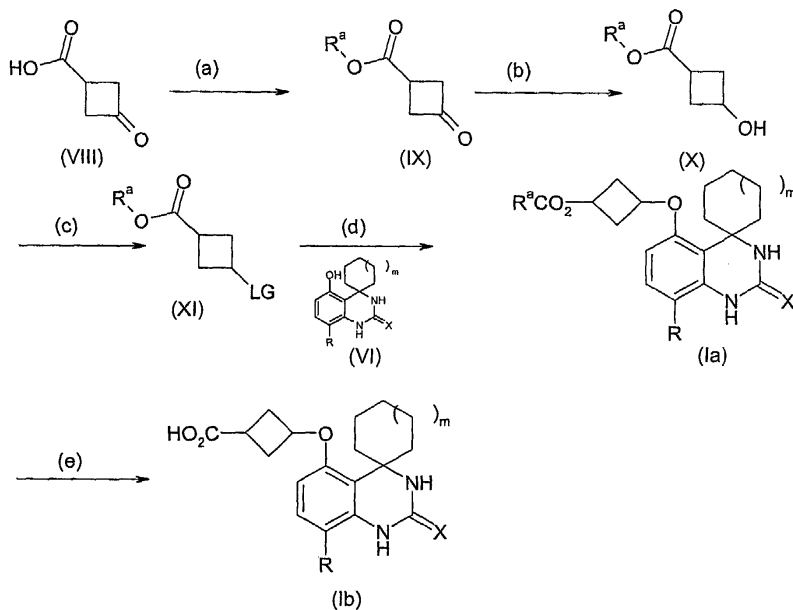
[0220] 단계(a): 알코올(V)에서 알데히드(VII)로의 산화는 전형적으로, 0℃ 내지 실온에서 2-18시간 동안, 예를 들면 아세트니트릴, 아세톤과 같은 적합한 용매 중에서 촉매성 TEMPO와 함께 NaOCl을 이용하는 것에 의해, 또는 선택적으로 0℃ 내지 실온에서 2-18시간 동안 THF와 같은 용매 중에서 DMSO와 함께 셀퍼 트리옥사이드-피리딘 복합체를 이용하는 것에 의해 일어난다.

[0221] 단계(b): 알데히드(VII)에서 산(I)으로의 추가의 산화는 전형적으로, 0℃ 내지 실온에서 2-18시간 동안 수성 t-부탄올과 같은 용매 중 칼륨 포스페이트의 존재하에서 NaClO<sub>2</sub>를 이용하는 것에 의해, 또는 선택적으로 0℃ 내지 실온에서 2-18시간 동안, 예를 들면 아세톤 또는 아세트니트릴과 같은 적합한 용매 중에서 촉매성 TEMPO와 함께 트리클로로이소시아누르산을 이용하는 것에 의해 일어난다.

[0222] 화학식 II의 화합물은 문헌에 공지되어 있다. 예를 들면, A가 시스-1,3-시클로부틸렌기이고, B가 단일 결합인 화학식 II의 화합물은 문헌 [J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, (1995), 18, 2281-7]에 기재된 바와 같이 제조할 수 있다.

[0223] 선택적으로, 화학식 I의 화합물에서 A가 시스- 또는 트랜스-1,3-시클로부틸렌기이고, B가 단일 결합인 화학식 Ib의 화합물은 반응식 3에 나타난 바와 같은 표준 방법에 의해 화합물 VIII 또는 화합물 IX로부터 제조할 수 있다. 트랜스 화합물 II 및 X는 각각 시스 화합물 II 및 X로부터 문헌 [Synthesis, (1981), 1]에 기재된 것과 유사한 미쯔노부 화학을 이용한 전환에 의해 얻을 수 있다.

**반응식 3**



[0224]

[0225] 반응식 3에서, R<sup>a</sup>는 에스테르 잔기이고, 그의 적합한 일례는 상기의 프로드러그에 대한 참고문헌 및 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis(상기에서 언급)]에 기재되어 있으며(예를 들면, (C<sub>1-6</sub>)알킬, 벤질 또

는 (+) 또는 (-)-멘틸), LG는 할로젠, (C<sub>1-6</sub> 알킬)설포닐옥시(예를 들면, 메탄설포닐옥시), (C<sub>1-6</sub> 할로알킬)설포닐옥시(예를 들면, 트리플루오로메탄설포닐옥시), 또는 벤젠- 또는 톨루엔설포닐옥시(예를 들면, p-톨루엔설포닐옥시)와 같은 이탈기이다.

[0226] 단계(a): 화학식 IX의 화합물은 다양한 조건 하에서 화합물 VIII과 식 R<sup>a</sup>OH의 적합한 알코올(예를 들면, 메탄올, t-부탄올, 벤질알코올 또는 (-) 멘톨)을 반응시켜 제조할 수 있고, 그의 적합한 일례는 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis(상기에서 언급)]에 기재되어 있다.

[0227] 바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 VIII, 1.1eq. 1,1'-카르보닐 디이미다졸, 에틸 아세테이트 중에서 환류하 1시간에 이어 1eq R<sup>a</sup>OH 중에서 실온에서 4시간.

[0228] 단계(b): 화합물 IX에서 알코올 X로의 환원은 THF와 같은 적합한 용매 중에서 적합한 환원제, 예를 들면 나트륨 보로히드라이드 또는 L-Selectride<sup>®</sup>를 이용하는 것에 의해 일어날 수 있다.

[0229] 바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 IX, 0.5eq NaBH<sub>4</sub>, 20:1 THF:메탄올 중에서 0°C에서 20분.

[0230] 단계(c): 화학식 XI의 화합물은 반응식 1의 단계(a)에 기재된 것과 유사한 시약 및 조건을 이용하여 화합물 X로부터 제조할 수 있다.

[0231] 바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 X, 1.05eq p-톨루엔설포닐 클로라이드, 피리딘 중에서 0°C 내지 실온.

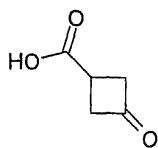
[0232] 단계(d): 화학식 Ia의 화합물은 반응식 1의 단계(b)에 기재된 것과 유사한 시약 및 조건을 이용하여 화합물 XI 및 화학식 VI의 히드록시 화합물로부터 제조할 수 있다.

[0233] 바람직한 조건은 다음과 같다: 1.2eq 화합물 XI, 1.0eq 화합물 VI, 1.5eq Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF 중에서 80°C에서 18시간.

[0234] 단계(e): 화학식 Ia의 화합물은 가수분해되어 화학식 Ib의 화합물을 제공할 수 있다. 이 반응은 다양한 조건 하에서 달성될 수 있고, 그 적합한 일례는 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis(상기에서 언급)]에 기재되어 있다. 바람직한 조건은 다음과 같다: 화합물 Ia, 2eq NaOH, 1:1 에탄올:물 중에서 60°C에서 2시간.

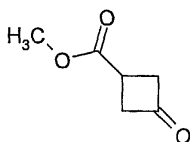
[0235] 화합물 VIII은 문헌 [J. Org. Chem., (1981), 53, 3841-43]에 기재되어 있고, R<sup>a</sup>가 메틸기인 화합물 IX은 문헌 [J. Org. Chem., (1994), 59, 2132-34]에 기재되어 있다.

### 화학식 VIII



[0236]

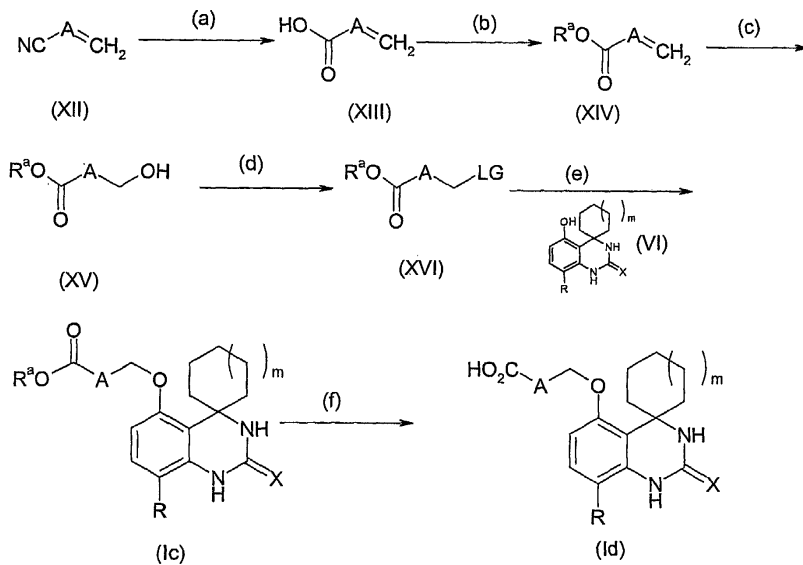
### 화학식 IX



[0237]

[0238] 화학식 I의 화합물에서 B가 메틸렌기인 화학식 Id의 화합물은 반응식 4에 나타낸 바와 같이 제조할 수 있다.

반응식 4



[0239]

[0240]

반응식 4에서,  $\text{R}^a$ 는 에스테르 잔기이고, 그의 적합한 일례는 상기의 프로드러그에 대한 참고문헌 및 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis(상기에서 언급)]에 기재되어 있으며(예를 들면,  $(\text{C}_{1-6}$  알킬 또는 벤질), LG는 할로겐,  $(\text{C}_{1-6}$  알킬)설포닐옥시(예를 들면, 메탄설포닐옥시),  $(\text{C}_{1-6}$  할로알킬)설포닐옥시(예를 들면, 트리플루오로메탄설포닐옥시), 또는 벤젠- 또는 톨루엔설포닐옥시(예를 들면, p-톨루엔설포닐옥시)와 같은 이탈기이다. 바람직한  $\text{R}^a$ 는 벤질이며, LG는 p-톨루엔설포닐옥시이다. 화학식 XII의 화합물은 시중에서 얻을 수 있다.

[0241]

단계(a): 화학식 XIII의 화합물은 산성 또는 염기성 조건하에서, 예를 들면 메탄올, 에탄올 또는 1,4-디옥산과 같은 적합한 공-용매와 함께 수성 나트륨 히드록시드 하에서, 또는 경우에 따라 에탄올 또는 1,4-디옥산과 같은 적합한 공-용매와 함께 수성 염산 또는 황산 하에서, 화학식 XII의 화합물을 가수분해하는 것에 의해 제조할 수 있다.

[0242]

바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 XII, 4eq NaOH, 1:1 에탄올:물 중에서 환류하 2.5시간.

[0243]

단계(b): 화학식 XIV의 화합물은 다양한 조건 하에서 화학식 XIII의 화합물을 적합한 식  $\text{R}^a\text{OH}$ 의 알코올(예를 들면, 메탄올, tert-부탄올, 벤질 알코올)과 반응시키는 것에 의해 제조할 수 있고, 적합한 일례는 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis(상기에서 언급)]에 기재되어 있다. 바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 XIII, 1.1eq 1,1'-카르보닐디이미다졸, 에틸 아세테이트 중에서 약 1시간에 이어 1.2eq 벤질 알코올 중에서 실온에서 18시간.

[0244]

단계(c): 화학식 XV의 화합물은 화학식 XIV의 화합물을 THF와 같은 적합한 용매 중, 0°C 내지 실온에서 보란-디메틸설파이드, 카테콜보란 또는 9-보라바이시클로[3.3.1]노난(9-BBN)과 같은 히드로보레이션화 작용제 (hydroborating agent)로 처리한 후, 히드로젠 퍼옥사이드, 나트륨 퍼보레이트 또는 트리메틸아민-N-옥사이드와 같은 산화제로 실온 내지 60°C에서 동일계 내 산화(in situ oxidation)시켜 제조할 수 있다.

[0245]

바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 XIV, 0.5eq 보란-디메틸설파이드, THF 중에서 실온에서 1시간에 이어 1.2eq 나트륨 퍼보레이트 중에서 60°C에서 1시간 동안 가열.

[0246]

단계(d): 화학식 XVI의 화합물은 반응식 1의 단계(a)에 기재한 것과 유사한 시약 및 조건을 이용하여 화학식 XV의 화합물로부터 제조할 수 있다.

[0247]

바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 XV, 1.3eq p-톨루엔설포닐 클로라이드, 2.6eq 피리딘, DCM 중에서 0°C 내지 실온.

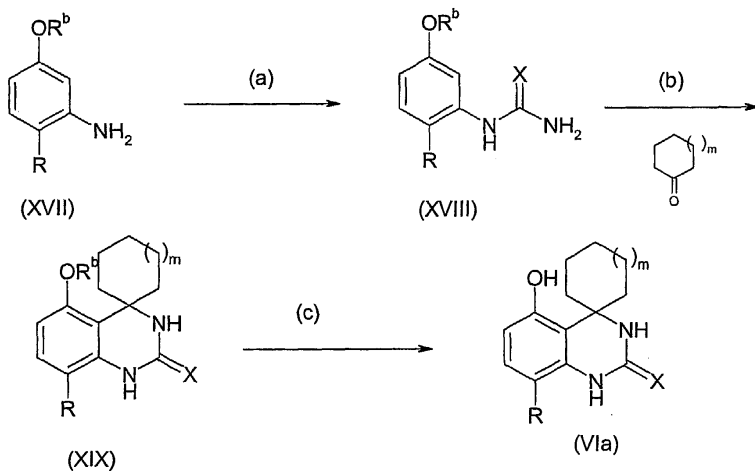
[0248]

단계(e): 화학식 Ic의 화합물은 반응식 1의 단계(b)에 기재한 것과 유사한 시약 및 조건을 이용하여 화학식 XVI

의 화합물 및 화학식 VI의 히드록시 화합물로부터 제조할 수 있다.

- [0249] 바람직한 조건은 다음과 같다: 1.2eq 화합물 XVI, 1.0eq 화합물 VI, 1.5eq Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF 중에서 80°C에서 18시간.
- [0250] 단계(f): 화학식 Ic의 화합물을 가수분해하여 화학식 Id의 화합물을 제공할 수 있다. 이 반응은 다양한 조건 하에서 달성할 수 있으며, 적합한 일례는 문헌 [Protective Groups in Organic Synthesis(상기에서 언급)]에 기재되어 있다.
- [0251] 바람직한 조건은 다음과 같다: 화합물 Ic, 과잉의 NaOH, 1:1 에탄올:물 중에서 60°C에서 2시간.
- [0252] 화학식 VI의 화합물은 일반적으로 WO 02/074754에 기재되어 있다. 화학식 VI의 화합물에서 X가 O 또는 S인 특정 화학식 VIa의 화합물은 문헌 [Bioorg. Med. Chem. Lett., (2004), 14(18), 4627-32]에 기재된 바와 같이, 또는 하기 반응식 5에 약술된 바와 같이 제조할 수 있다.

**반응식 5**



- [0253]
- [0254] 반응식 5에서, R<sup>b</sup>는 (C<sub>1-6</sub>)알킬 또는 벤질이다.
- [0255] 단계(a): 화학식 XVIII의 화합물은 말레산 또는 아세트산과 같은 산의 존재하의 적합한 용매 또는 용매 혼합물, 예컨대 디클로로메탄 또는 아세트산:물 중에서 아닐린(XVII)을 나트륨 또는 칼륨 시아네이트 또는 티오시아네이트와 반응시켜 제조할 수 있다. 선택적으로, 화학식 XVIII의 화합물은 디클로로메탄과 같은 용매 중에서 아닐린(XVII)을 트리메틸실릴 이소시아네이트 또는 티오시아네이트와 반응시킨 후, 물로 동일계 내 가수분해하여 제조할 수 있다.
- [0256] X가 O일때 바람직한 조건은 다음과 같다: 아세트산:물(9:1) 중의 1eq 화합물 XVII, 이어서 1.2eq 칼륨 시아네이트 적가, 40°C에서 1시간 동안 유지.
- [0257] 단계(b): 화학식 XIX의 화합물은 화학식 XVIII의 우레아 및 적절한 케톤을, 폴리인산 또는 이튼(Eaton) 시약(베탄술포산 중의 7.5% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)과 같은 탈수제의 존재하에서 50~100°C에서 반응시켜 제조할 수 있다.
- [0258] 바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 XVIII, 60°C에서 이튼 시약(30g/g), 이어서 2eq 케톤 및 80°C에서 1시간 동안 가열.
- [0259] 단계(c): 화학식 VIa의 화합물은 화학식 XIX의 화합물을 보론 트리브로마이드와 같은 루이스 산과 적합한 용매, 예컨대 디클로로메탄 중에서 실온에서 반응시키거나, 또는 강산과 고온에서, 예를 들면 히드로브롬산과 110°C에서 반응시켜 제조할 수 있다.
- [0260] 바람직한 조건은 다음과 같다: 1eq 화합물 XIX, 20eq 48% 수성 히드로젠 브로마이드, 아세트산 중에서 110°C에서 4일.
- [0261] 화학식 I의 PDE7 억제제는 특히 통증의 치료에서 다른 제약상 활성 화합물과, 또는 2 이상의 다른 제약상 활성 화합물과 유용하게 조합될 수 있다. 예를 들면, 화학식 I의 PDE7 억제제, 또는 상기에서 정의한 바와 같은 그

의 제약상 허용가능한 염, 용매화물 또는 프로드러그는 이하에서 선택된 1 이상의 작용제와 조합되어 동시에, 순차적으로 또는 개별적으로 투여될 수 있다:

- [0262] · 아편계 진통제, 예를 들면, 모르핀, 헤로인, 히드로모르폰, 옥시모르폰, 레보과놀, 레발로르판, 메타돈, 메페리딘, 펜타닐, 코카인, 코데인, 디히드로코데인, 옥시코돈, 히드로코돈, 프로폭시펜, 날메펜, 넬로르핀, 날록손, 날트렉손, 부프레노르핀, 부틀과놀, 날부핀 또는 펜타조신;
- [0263] · 비스테로이드성 항염증제(NSAID), 예를 들면, 아스피린, 디클로페낙, 디플루시날, 에토돌락, 펜부펜, 페노프로펜, 플루페니잘, 플루비프로펜, 이부프로펜, 인도메타신, 케토프로펜, 케톨락, 메클로페남산, 메페남산, 멜록시캄, 나부메톤, 나프록센, 니메술리드, 니트로플루비프로펜, 울살라진, 옥사프로진, 페닐부타존, 피록시캄, 설과살라진, 슐린닥, 톨메틴 또는 조메피락;
- [0264] · 바르비투르산염 진정제, 예를 들면, 아모바르비탈, 아프로바르비탈, 부타바르비탈, 부타비탈, 메포바르비탈, 메타르비탈, 메토hexital, 펜토바르비탈, 페노바르비탈, 세코바르비탈, 탈부탈, 티아밀랄 또는 티오펜탈;
- [0265] · 진정작용을 가진 벤조디아제핀, 예를 들면, 클로르디아제폭시드, 클로라제페이트, 디아제팜, 플루라제팜, 로라제팜, 옥사제팜, 테마제팜 또는 트리아졸람;
- [0266] · 진정작용을 가진 H<sub>1</sub> 길항제, 예를 들면, 디펜히드라민, 피릴라민, 프로메타진, 클로르페니라민 또는 클로르시클리진;
- [0267] · 글루테티미드, 메프로바메이트, 메타쿠알론 또는 디클로랄페나존과 같은 진정제;
- [0268] · 골격근 이완제, 예를 들면, 바클로펜, 카리소프로돌, 클로르축사존, 시클로벤자프린, 메토칼바몰 또는 오르프레나딘;
- [0269] · NR2B 길항제, 예를 들면, 이펜프로딜, 트락소프로딜 또는(-)-(R)-6-{2-[4-(3-플루오로페닐)-4-히드록시-1-피페리딘일]-1-히드록시에틸}-3,4-디히드로-2(1H)-퀴놀리논을 포함하는, NMDA 수용제 길항제, 예를 들면, 텍스트로메토르판((+)-3-히드록시-N-메틸모르피난) 또는 그의 대사산물 텍스트로르판((+)-3-히드록시-N-메틸모르피난), 케타민, 메만틴, 피롤로퀴놀린 퀴닌, 시스-4-(포스포노메틸)-2-피페리딘카르복실산, 부디핀, EN-3231(MorphiDex<sup>®</sup>, 모르핀과 텍스트로메토르판의 조합 제형), 토피라메이트, 네라멕산 또는 페르진포텔;
- [0270] · 알파-아드레날린제, 예를 들면, 독사조신, 탐솔로신, 클로니딘, 구안파신, 텍스메타토미딘, 모다피닐 또는 4-아미노-6,7-디메톡시-2-(5-메탄-술폰아미도-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀-2-일)-5-(2-피리딜) 퀴나졸린;
- [0271] · 3환계 항우울제, 예를 들면, 데시프라민, 이미프라민, 아미트리프틸린 또는 노르트리프틸린;
- [0272] · 항경련제, 예를 들면, 카바마제핀, 라모트리진, 토피라메이트 또는 발프로에이트;
- [0273] · 타키키닌(NK) 길항제, 특히 NK-3, NK-2 또는 NK-1 길항제, 예를 들면, (αR,9R)-7-[3,5-비스(트리플루오로메틸)벤질]-8,9,10,11-테트라히드로-9-메틸-5-(4-메틸페닐)-7H-[1,4]디아조시노[2,1-g][1,7]-나프티리딘-6-13-디온(TAK-637), 5-[[[(2R,3S)-2-[(1R)-1-[3,5-비스(트리플루오로메틸)페닐]에톡시-3-(4-플루오로페닐)-4-모르폴리닐]-메틸]-1,2-디히드로-3H-1,2,4-트리아졸-3-온(MK-869), 아프레피턴트, 라네피턴트, 다피턴트 또는 3-[[[2-메톡시-5-(트리플루오로메톡시)페닐]-메틸아미노]-2-페닐피페리딘(2S,3S)];
- [0274] · 무스카린성 길항제, 예를 들면, 옥시부티닌, 톨테로딘, 프로피베린, 트롭시움 클로라이드, 다리페나신, 솔리페나신, 데미베린 및 이프라트로피움;
- [0275] · COX-2 선택적 억제제, 예를 들면, 셀레콕시브, 로페콕시브, 파레콕시브, 발데콕시브, 데라콕시브, 에토리콕시브 또는 루미라콕시브;
- [0276] · 콜-타르 진통제, 특히 파라세타몰;
- [0277] · 드로페리돌, 클로르프로마진, 할로페리돌, 페르페나진, 티오리다진, 메조리다진, 트리플루오페라진, 플루페나진, 클로자핀, 올란자핀, 리스페리돈, 지프라시돈, 퀘티아핀, 서틴돌, 아리피프라졸, 소네피프라졸, 블로난세린, 일로페리돈, 페로스피론, 라클로프리드, 조테핀, 바이페프루녹스, 아세나핀, 루라시돈, 아미실프라이드, 발라페리돈, 팔린도르, 에플리반세린, 오사네타트, 리모나벤트, 메클리네르탄트, Miraxion<sup>®</sup> 또는 사리조탄과 같은 신경 이완제;

- [0278] · 바닐로이드 수용체 아고니스트(예를 들면, 레진페라톡신) 또는 길항제(예를 들면, 갑사제핀);
- [0279] · 프로프라놀롤과 같은 베타-아드레날린제;
- [0280] · 맥실레틴과 같은 국소 마취제;
- [0281] · 텍사메타존과 같은 콜티코스테로이드;
- [0282] · 5-HT 수용체 아고니스트 또는 길항제, 특히 엘레트립탄, 수마트립탄, 나라트립탄, 졸미트립탄 또는 리자트립탄과 같은 5-HT<sub>1B/1D</sub> 아고니스트;
- [0283] · R(+)-알파-(2,3-디메톡시-페닐)-1-[2-(4-플루오로페닐에틸)]-4-피페리딘메탄올(MDL-100907)와 같은 5-HT<sub>2A</sub> 수용체 길항제;
- [0284] · 이스프로니클린(TC-1734), (E)-N-메틸-4-(3-피리디닐)-3-부텐-1-아민(RJR-2403), (R)-5-(2-아제티디닐메톡시)-2-클로로피리딘(ABT-594) 또는 니코틴과 같은 콜린성(니코틴성) 진통제;
- [0285] · Tramadol<sup>®</sup>;
- [0286] · 5-[2-에톡시-5-(4-메틸-1-피페라지닐-설포닐)페닐]-1-메틸-3-n-프로필-1,6-디히드로-7H-피라졸로[4,3-d]피리미딘-7-온(실테나필), (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-헥사히드로-2-메틸-6-(3,4-메틸렌디옥시페닐)-피라지노[2',1':6,1]-피리도[3,4-b]인돌-1,4-디온(IC-351 또는 타달라필), 2-[2-에톡시-5-(4-에틸-피페라진-1-일-1-설포닐)-페닐]-5-메틸-7-프로필-3H-이미다조[5,1-f][1,2,4]트리아진-4-온(바데나필), 5-(5-아세틸-2-부톡시-3-피리디닐)-3-에틸-2-(1-에틸-3-아제티디닐)-2,6-디히드로-7H-피라졸로[4,3-d]피리미딘-7-온, 5-(5-아세틸-2-프로폭시-3-피리디닐)-3-에틸-2-(1-이소프로필-3-아제티디닐)-2,6-디히드로-7H-피라졸로[4,3-d]피리미딘-7-온, 5-[2-에톡시-5-(4-에틸피페라진-1-일설포닐)피리딘-3-일]-3-에틸-2-[2-메톡시에틸]-2,6-디히드로-7H-피라졸로[4,3-d]피리미딘-7-온, 4-[(3-클로로-4-메톡시벤질)아미노]-2-[(2S)-2-(히드록시메틸)피롤리딘-1-일]-N-(피리미딘-2-일메틸)피리미딘-5-카르복사미드, 3-(1-메틸-7-옥소-3-프로필-6,7-디히드로-1H-피라졸로[4,3-d]피리미딘-5-일)-N-[2-(1-메틸피롤리딘-2-일)에틸]-4-프로폭시벤젠술폰아미드와 같은 PDEV 억제제;
- [0287] · 가바펜틴, 프레가발린, 3-메틸가바펜틴, (1a,3a,5a)(3-아미노-메틸-비시클로[3.2.0]헵트-3-일)-아세트산, (3S,5R)-3-아미노메틸-5-메틸-헵탄산, (3S,5R)-3-아미노-5-메틸-헵탄산, (3S,5R)-3-아미노-5-메틸-옥탄산, (2S,4S)-4-(3-클로로페녹시)프롤린, (2S,4S)-4-(3-플루오로벤질)-프롤린, [(1R,5R,6S)-6-(아미노메틸)비시클로[3.2.0]헵트-6-일]아세트산, 3-(1-아미노메틸-시클로헥실메틸)-4H-[1,2,4]옥사디아졸-5-온, C-[1-(1H-테트라졸-5-일메틸)-시클로헵틸]-메틸아민, (3S,4S)-(1-아미노메틸-3,4-디메틸-시클로헵틸)-아세트산, (3S,5R)-3-아미노메틸-5-메틸-옥탄산, (3S,5R)-3-아미노-5-메틸-노난산, (3S,5R)-3-아미노-5-메틸-옥탄산, (3R,4R,5R)-3-아미노-4,5-디메틸-헵탄산 및 (3R,4R,5R)-3-아미노-4,5-디메틸-옥탄산과 같은 알파-2-델타 리간드;
- [0288] · 카나비노이드;
- [0289] · 대사자극성 글루타메이트 제1 아형 수용체(mGluR1) 길항제;
- [0290] · 세트랄린, 세트랄린 대사산물 디메틸세트랄린, 플루옥세틴, 노르플루옥세틴(플루옥세틴 데스메틸 대사산물), 플루복사민, 파록세틴, 시탈로프람, 시탈로프람 대사산물 데스메틸시탈로프람, 에스시탈로프람, d,l-펜플루라민, 페록세틴, 이폭세틴, 시아노도티에핀, 리톡세틴, 다폭세틴, 네파조돈, 세리클라민 및 트라조돈과 같은 세로토닌 재흡수 억제제;
- [0291] · 마프로틸린, 로페프라민, 미르타제핀, 옥사프로틸린, 페졸라민, 토목세틴, 미안세린, 부프로피리온, 부프로피리온 대사산물 히드록시부프로피리온, 노미펜신 및 빌록사진(Vivalan<sup>®</sup>)과 같은 노르아드레날린(노르에피네프린) 재흡수 억제제, 특히 레복세틴과 같은 선택적 노르아드레날린 재흡수 억제제, 특히(S,S)-레복세틴;
- [0292] · 벤라팍신, 벤라팍신 대사산물 O-데스메틸벤라팍신, 클로미프라민, 클로미프라민 대사산물 데스메틸클로미프라민, 돌록세틴, 밀나시프란 및 이미프라민과 같은 2중 세로토닌-노르아드레날린 재흡수 억제제;
- [0293] · S-[2-[(1-이미노에틸)아미노]에틸]-L-호모시스테인, S-[2-[(1-이미노에틸)-아미노]에틸]-4,4-디옥소-L-시스테인, S-[2-[(1-이미노에틸)아미노]에틸]-2-메틸-L-시스테인, (2S,5Z)-2-아미노-2-메틸-7-[(1-이미노에틸)아미노]-5-헵텐산, 2-[[1R,3S)-3-아미노-4-히드록시-1-(5-티아졸릴)-부틸]티오]-5-클로로-3-피리딘카르보니트릴;



2-[[[(1R,3S)-3-아미노-4-히드록시-1-(5-티아졸릴)부틸]티오]-4-클로로벤조니트릴, (2S,4R)-2-아미노-4-[[2-클로로-5-(트리플루오로메틸)페닐]티오]-5-티아졸부탄올, 2-[[[(1R,3S)-3-아미노-4-히드록시-1-(5-티아졸릴)부틸]티오]-6-(트리플루오로메틸)-3 피리딘카르보니트릴, 2-[[[(1R,3S)-3-아미노-4-히드록시-1-(5-티아졸릴)부틸]티오]-5-클로로벤조니트릴, N-[4-[2-(3-클로로벤질아미노)에틸]페닐]티오펜-2-카르복사미딘 또는 구아니디노에틸디술포이드와 같은 유도성 일산화질소 신타아제(iNOS) 억제제;

- [0294] · 도네페질과 같은 아세틸콜린에스테라제 억제제;
- [0295] · N-[(2-[4-(2-에틸-4,6-디메틸-1H-이미다조[4,5-c]피리딘-1-일)페닐]에틸)아미노)-카르보닐]-4-메틸벤젠술폰아미드 또는 4-[(1S)-1-([5-클로로-2-(3-플루오로페녹시)피리딘-3-일]카르보닐)아미노]에틸]벤조산과 같은 프로스타글란딘 E<sub>2</sub> 제4 아형(EP4) 길항제;
- [0296] · 류코트리엔 B<sub>4</sub> 길항제; 예컨대 1-(3-비페닐-4-일메틸-4-히드록시-크로만-7-일)-시클로펜탄카르복실산(CP-105696), 5-[2-(2-카르복시에틸)-3-[6-(4-메톡시페닐)-5E-헥세닐]옥시페녹시]-발레르산(ONO-4057) 또는 DPC-11870,
- [0297] · 질류톤, 6-[(3-플루오로-5-[4-메톡시-3,4,5,6-테트라히드로-2H-피란-4-일])페녹시-메틸]-1-메틸-2-퀴놀론(ZD-2138), 또는 2,3,5-트리메틸-6-(3-피리디메틸), 1,4-벤조퀴논(CV-6504)과 같은 5-리폭시게나제 억제제;
- [0298] · 리토카인과 같은 나트륨 채널 차단제;
- [0299] · 온단세트론과 같은 5-HT<sub>3</sub> 길항제;
- [0300] 및 그의 제약상 허용가능한 염 및 용매화물.

[0301] 화학식 I의 화합물의 PDE7 억제 능력은 하기의 검정 프로토콜을 이용하여 측정할 수 있다.

[0302] PDE7A 및 PDE7B 효소는 3',5'-시클릭 아데노신 모노포스페이트(cAMP)의 5'아데노신 모노포스페이트, 5'AMP로의 가수분해를 촉매한다. 멀티웰 플레이트 내에서, PDE 효소, [<sup>3</sup>H]-cAMP 및 테스트 화합물을 실온에서 인큐베이션한다. 상기 인큐베이션은 아연 설페이트를 함유하는 시판의 이트립 실리케이이트 설파트 근접 검정(SPA) 비드를 첨가하여 종료시킨다. 상기 이트립 실리케이이트 비드는 우선적으로 선형 뉴클레오티드에 결합하므로, 효소 반응 산물, [<sup>3</sup>H]-5'AMP은 비드와 결합하여 빛 신호를 산출하고, 이것은 설파트 계수기에 의해 검출된다. 산출되는 신호의 양은 형성되는 산물의 양, 및 따라서 효소의 활성과 직접적인 관련이 있다. 최대 신호는 효소와 기질을 단독으로 인큐베이션할 때 얻어진다. 배경 신호는 효소를 함유하지 않는 웰, 또는 공지의 PDE7A/B 억제제를 초-최대 농도로 함유하는 웰에서 측정한다. 정제된 각 배치의 효소는 품질 제어되며, 그 Km, Vmax 및 특이적 활성은 화합물 억제 연구에 사용하기 이전에 반응 속도 연구에서 결정한다. 테스트 화합물에 의한 효소의 억제는 최대 및 배경 응답과 비교하여 계산한다. 이들 데이터를 사용하여, % 억제 수치를 얻어진 최대 및 최소 값과 비교하여 계산한다.

[0303] 작업 용액의 제조

[0304] 이하의 표 1에 나타낸 성분으로 1000ml의 저장 버퍼를 제조하였다:

**표 1**

시약	공급원	최종 농도	저장 용액 농도	ml/1000ml
HEPES (버퍼)	시그마	50mM	1	50
MgCl <sub>2</sub>	시그마	5mM	1	5
플루로닉® (세정제)	시그마	0.025%	5%	5
밀리포어® 18mΩ 정제수	밀리포어			940

- [0305]
- [0306] 상기 저장 버퍼의 pH를 실온에서 7.4로 조정 한 후, 0.2µm 필터를 통해 여과시켰다. 상기 저장 버퍼는 4℃에서

제조 후 1달 동안 안정하다.

[0307] 실험날, 소 혈청 알부민(BSA, Sigma사 제)을 버퍼의 요구량에 첨가하여 0.00625% BSA 최종 용액을 제조하였다. 이것은 이하와 같이 저장 10% BSA 용액을 제조함으로써 달성된다:

[0308] 저장 10% BSA 용액의 제조

[0309] 1g BSA를 10ml 정제수에 용해시키고, 확실하게 균질해지도록 뒤집어서 혼합하고, 100 $\mu$ l 용적의 적절하게 표지된 튜브에 분취하였다. 이 10% BSA 용액은 -20 $^{\circ}$ C에서 6개월까지 안정하다.

[0310] 저장 10% BSA 저장 용액의 분취량을 저장소에서 빼내어 실온에서 해동시킨 후, 이하의 표 2에 나타낸 바와 같은 BSA 작업 용액을 제조하는데 사용하였다:

[0311] 10ml 작업 BSA 검정 버퍼의 제조

**표 2**

시약	부피	최종 BSA 농도
1x 버퍼 저장	9.99 ml	
10 % BSA 저장	6.25 $\mu$ l	0.00625%

[0312]

[0313] 표준 화합물 및 대조군의 제조

[0314] WO 02/074754의 실시예 75의 화합물, 5'-카르복시프로폭시-8'-클로로-스피로[시클로hex산-1-4'-(3',4'-디히드로)퀴나졸린]-2'(1'H)-온(이하 "화합물 A")을 표준으로 사용하였다.

[0315] 100% DMSO 중에서 제조된 4mM 저장 용액을 4 $^{\circ}$ C에 저장해둘 수 있다. DMSO의 부피는 이하와 같이 계산할 수 있다:

$$\text{DMSO의 부피 (ml)} = \frac{\text{화합물의 중량}}{\text{화합물의 분자량}} \times 250$$

[0316]

[0317] 30배 최대 대조군은 100% DMSO 용액이다. 30배 최소 대조군은 어떤 효소 활성화도 생기지 않도록 100% DMSO 중에서 화합물 A를 30  $\mu$ M 사용하여 획득한다. 30  $\mu$ M 화합물 A의 용액 5ml는 100% DMSO 4.962ml를 4mM 화합물 A 37.5 $\mu$ l에 가하여 제조할 수 있다.

[0318] 방법

[0319] 검정하는 날, 상기에서 상세하게 설명한 바와 같이 1배의 최종 검정 버퍼를 제조하여 필요할 때까지 빙냉하여 유지시켰다.

[0320] 반응 속도 연구

[0321] 각각의 새로운 배치의 효소에 대해 Km을 판단하고, 반응 진행 곡선의 직선 부분이 잔존하는 동안, 45분 내에 대략 1000cpm 신호를 얻는데 요구되는 효소량을 평가하였다. 이상적으로, 이용가능한 [ $^3$ H]-cAMP의 10% 미만이 검정 과정 동안 가수분해될 것이다.

[0322] 효소 용액

[0323] 이 검정의 최적화는 전장 PDE7A 및 PDE7B 효소를 함유하는 세포 용해물의 이용에 의해 이루어진다. 이러한 세포 용해물 샘플 내의 효소 농도는 알려져있지 않으므로, 임의의 배치마다 농도/활성이 다양하지만 웰 당 동일한 활성이 사용됨을 보증하기 위해, 세포 용해물의 특이적 활성을 측정치로서 사용한다.

[0324] PDE7A/B 효소의 제조

[0325] PDE7 저장 효소를 제조하고, 적절한 크기의 분취량으로 -20 $^{\circ}$ C에 유지시켜 동결/해동 사이클의 수를 줄인다. 이하의 표 3은 9ml의 PDE7A/B 효소 용액을 제조하는데 필요한 부피를 보여준다. PDE7A는 1/8000로 희석하고, PDE7B는 1/10000로 희석한다.

표 3

[0326]

효소	희석도	PDE7 저장/희석 용액의 부피(μl)	버퍼 + BSA의 부피(μl)	효소 저장의 전체 희석도
PDE7A	PDE7B 1:100 저장 희석도	5	495	1:100
	상기 용액의 1:40 희석도	25	975	1:4000
	이 효소 용액은 모든 검정 성분들이 검정 플레이트에 분배되었을때, 즉 14μl의 효소 용액이 총 검정 부피 30μl에 분배되었을때, 추가로 희석되어 전체적으로 1/8000-효소 희석도를 제공한다.			
PDE7B	PDE7B 1:100 저장 희석도	5	495	1:100
	상기 용액의 1:50 희석도	20	980	1:5000
	이 효소 용액은 모든 검정 성분들이 검정 플레이트에 분배되었을때, 즉 14μl의 효소 용액이 총 검정 부피 30μl에 분배되었을때, 추가로 희석되어 전체적으로 1/10000-효소 희석도를 제공한다.			

[0327] 일단 효소 용액이 제조되면 사용 전에 빙냉하에 유지시켰다.

[0328] 50nM 아데노신 3', 5' 시클릭 포스페이트(cAMP) 기질 용액의 제조

[0329] 상기 기질은 표지되지 않은 cAMP와 트리튬(<sup>3</sup>H)-cAMP)으로 방사성 표지된 cAMP의 혼합물로 구성된다. [<sup>3</sup>H]-cAMP 저장의 상제는 사용된 부피를 결정할 것이다.

[0330] 1mCi/ml 및 24Ci/mmol(따라서, 41.66 μM)인 [<sup>3</sup>H]-cAMP 저장을 이용한 9ml 기질 용액의 제조를 이하에 설명한다:

[0331] 지금까지의 효소 배치에 대한 Km은 다음과 같다:

[0332] PDE7A - 20nM    PDE7B - 100nM

[0333] 이 검정은 15μl의 기질 용액이 30μl의 총 검정 부피에 분배될 것, 즉 검정 플레이트에서의 2배 희석을 요구한다.

[0334] 대략 25nM의 최종 검정 [cAMP]가 요구되므로, 대략 50nM [<sup>3</sup>H]-cAMP를 제조하였다.

[0335] 10.8μl의 [<sup>3</sup>H]-cAMP(Amersham사 제)를 8975μl의 검정 버퍼와 혼합하여 9ml의 기질 용액을 제조하였다.

[0336] cAMP의 정확한 농도는 심광 바이알에 3개의 샘플을 15μl씩 취하여 결정하였다. 4ml Starscint<sup>®</sup>(심광 각테일, Perkin Elmer사 제)를 가한 후, 그 튜브를 dpm 프로그램의 β-계수기 상에서 계수하였다.

[0337] 방사성 리간드의 농도는 하기 공식으로 판단한다:

$$[\text{방사성리간드}](M) = \frac{DPM}{(2.22 \times 10^{12}) \times \frac{\text{방사성리간드의 } x \text{ 측정치}}{\text{(dpm/Ci)} \quad \text{(특이적 활성)} \quad \text{(샘플의 부피)}}} \quad \frac{(Ci/Mol)}{(L)}$$

[0338]

[0339] 이어서, 검정 플레이트에서의 2배 희석을 위해 농도를 2로 나눈다.

[0340] 6.6mg/ml 이트륨 실리케이트 PDE SPA 비드의 제조

[0341] 포스포다이에스테라제 SPA 비드(이트륨 실리케이트)는 Amersham에서 구입할 수 있다.

[0342] 제조사의 권장에 따라, 28ml의 증류수 또는 탈이온수(대략 20 mg/ml)를 이용하여 비드의 바이알을 재구성하였다. 재구성된 비드는 2-8°C에서 저장했을때 1달 동안 안정하다. 검정을 위한 비드를 제조하기

위해, 상기 재구성된 비드를 살균 재증류수(double distilled water)(대략 6.6 mg/ml)로 3배 희석시켰다. 비드가 가라앉을 수 있으므로, 분배 동안 꾸준히 저어주거나/교반시켰다.

[0343] 대략 6.6 mg/ml 비드 30 $\mu$ l를 30 $\mu$ l 검정에 가하여, 최종 비드 농도를 대략 0.2 mg/웰로 하였다.

[0344] 화합물 희석도 및 "배경" 웰은 검정 플레이트에 요구되는 것보다 30배 강하게 하여, 1 $\mu$ l의 화합물이 29 $\mu$ l의 다른 검정 성분(14 $\mu$ l 효소 및 15 $\mu$ l 방사성 리간드)에 의해 희석되게 하였다. 따라서, 최종 검정 농도 10  $\mu$ M를 위해, 화합물 첨가 플레이트의 화합물은 300  $\mu$ M이어야 한다. 4mM 화합물 저장을 100% DMSO에 공급한다(또는 분말 제안서에 따라 4mM에서 제조한다). 이것은 제조될 DMSO 중의 1/13.33 희석도를 요구한다.

[0345] 검정 프로토콜

[0346] 1 $\mu$ l 테스트 화합물을 시약 검정 첨가 직전에 적합한 멀티-웰 검정 플레이트로 옮기고, 14 $\mu$ l의 효소 용액을 상기 검정 플레이트에 가한 후, 15 $\mu$ l 기질 용액을 가하였다(즉: 최종 검정 부피는 30 $\mu$ l, 최종 스크리닝 화합물 농도는 1  $\mu$ M). 이후, 상기 플레이트를 플레이트 봉합제로 봉합하고, 플레이트 셰이커 상에서 실온에서 45분 동안 인큐베이션하였다.

[0347] 이어서, 30 $\mu$ l의 이트림 실리케이트 PDE4 SPA 비드를 첨가하고, 비드를 계속적으로 교반하여 검정 플레이트 내에서 균일하게 분포되도록 하였다. 이어서, 상기 플레이트를 플레이트 봉합제로 봉합하고, 플레이트 셰이커 상에서 실온에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 상기 비드를 30분 동안 가라앉힌 후, 상기 플레이트를 200g에서 1분 동안 회전시켰다.

[0348] 적절한 프로토콜(웰 당 판독시간 30초)을 이용하여 상기 플레이트를 적합한 방사성 계수기, 예를 들면 NXT-TopCount™(Perkin Elmer사 제)로 판독하였다.

[0349] 데이터를 최소 사승 알고리즘(least squares algorithm)을 이용하여 S자형 곡선에 맞추었다.

[0350] Cheng-Prussoff 공식을 이용하여 IC<sub>50</sub> 값을 K<sub>i</sub> 값으로 전환시켰다:

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[방사성리간드]}{K_m}}$$

[0351]

[0352] 실시예 1-7 화합물의 PDE7 억제 활성을 상기 프로토콜에 따라 테스트하였다. 얻어진 K<sub>i</sub> 값을 이하의 표 4에 나타낸다:

**표 4**

실시에 번호	K <sub>i</sub> PDE7A (nM)	K <sub>i</sub> PDE7B (nM)
1	1.9	4.6
2	3.1	13.4
3	15.6	108
4	11.6	144
5	276	1420
6	NT	17.6
7	19.8	140

NT = 테스트되지 않음

[0353]

[0354] 인간 간세포 데이터 개요

[0355] 본 출원의 실시예 1-7 화합물의 인간 간 대사 안정성을 하기의 모델에서 평가하였다. 당업계에서 가장 근접한 신행 기술의 상태를 나타내는 것이라 여겨지는 WO 02/074754의 실시예 75 화합물, 5'-카르복시프로폭시-8'-클로로-스피로[시클로헥산-1-4'-(3',4'-디히드로)퀴나졸린]-2'(1'H)-온(이하 "화합물 A")을 비교를 위하여

사용하였다.

[0356] 방법

[0357] 간세포의 완전한 세포는 생체 내에서 발견되는 모든 간 효소, 즉 시토크롬 P450 옥시다제(CYP), 알데히드 옥시다제 및 모노아민 옥시다제(MAO)와 같은 제1상 효소와, UDP-글루쿠로닐트랜스퍼라제 및 설포트랜스퍼라제와 같은 제2상 효소를 포함하는 것으로, 간세포는 간 대사를 모니터링하기 위한 생체 외 시스템으로 사용된다. 냉동보존된 인간 간세포를 5명의 제공자로부터 준비하였고, Williams' E 매질에 현탁시켰다. 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산(HEPES)을 50mM의 최종 농도로 가하고, pH를 7.4로 조정한다. 인큐베이션 중의 최종 DMSO 농도가 0.1% 미만인 1μM의 기질 농도가 되도록, DMSO 중에 용해된 테스트 기질을 상기 간세포에 가하였다. 실험은 0.5 백만 생존 세포/ml의 간세포 밀도로 37°C에서 96 또는 384 웰 플레이트에서 행한다. 10, 20, 30, 60, 90, 및 120분의 단위시간을 사용하고, 분석적 정량화는 LC-MS/MS에 의한다. 고유의 클리어런스(겉보기)는 하기 식을 이용하여 계산한다:

[0358]  $CL_{int, app} = [-기울기 / 0.5 \text{ M 세포/ml}] \cdot 1000 \mu\text{l/ml} = \mu\text{l/분/M 세포}$ .

[0359] 본 발명의 화합물의 인간 간 대사 안정성은 상기 프로토콜에 따라 테스트하였다. 얻어진 고유의 클리어런스 값을 이하의 표 5에 나타낸다:

표 5

화합물	인간 간세포 클리어런스 (μL/분/M 세포)
화합물 A	25
실시예 1	<5
실시예 2	<5
실시예 3	<5
실시예 4	<5
실시예 5	<5
실시예 6	<5
실시예 7	<5

[0360]

[0361] 상기 표 5에 나타낸 데이터는 본 출원의 실시예 1-7 화합물과 가장 근접한 선행 기술의 화합물 A와의 사이에 고유의 간 대사 안정성에 있어서의 분명한 차이를 보여준다. 따라서, 상기 데이터에 기초하면, 본 출원의 실시예 1-7 화합물의 감소된 간 클리어런스(hepatic clearance)는 상기 화합물이 화합물 A에 비해 인간에게서 개선된 반감기를 나타낼 것으로 보인다.

[0362] 래트 IV 약물 동태학적 개요

[0363] 실시예 1 및 2 화합물의 약물 동태학적 특성을 하기의 래트 모델에서 테스트하였다. 당업계의 가장 근접한 선행 기술의 상태를 나타내는 것이라 여겨지는 WO 02/074754의 실시예 75 화합물, 5'-카르복시프로폭시-8'-클로로-스피로[시클로헥산-1-4'-(3',4'-디히드로)퀴나졸린]-2'(1'H)-온(이하 "화합물 A")을 비교를 위해 사용하였다.

[0364] 방법

[0365] 테스트 화합물을 수컷 래트(각 래트는 하나의 화합물을 투여받음)의 꼬리 정맥을 통해 1mg/kg(실시예 1 화합물은 0.08mg/kg) 부피로 투여하였다. 투여 후 미리 정해진 시점에 혈액 샘플을 래트로부터 외과적으로 이식된 경정맥 캐놀러를 통해 빼내고, 혈장을 얻기위해 원심분리하였다. 혈장 중 약물의 정량화를 위해 특이적 LC-MS/MS 검정을 통해 혈장 샘플을 분석하였다. 결과적인 혈장 농도-시간 곡선은 각 배치의 화합물을 이해하기 위해 구획되지 않은 약물 동태학적 분석을 이용하여 심의하였다. 이어서 그 결과치를 이하에 기재한 바와 같이, 유력한 인간 약물 동태학적 추이를 추정하는데 사용하였다.

[0366] 1mg/kg 정맥 투여 후의 실시예 1 및 2 화합물의 평균, 부피 보정, 약물 동태학적 추이를 화합물 A에 대한 것파 함께 이하의 표 6 및 도 1에 나타낸다.

표 6

	실시예 1	실시예 2	화합물 A
Cl (ml/분/kg)	1.9	0.7	7
fup	0.07	0.1	0.045
Cl <sub>u</sub> (ml/분/kg)	27	70	156
V <sub>d</sub> (ml/분/kg)	0.6	0.7	0.4
T <sub>1/2</sub> (시)	4	11	< 1

[0367]

표 6에서, 이하의 약자를 사용한다:

[0368]

Cl은 래트 클리어런스이고;

[0369]

T<sub>1/2</sub>는 반감기이며;

[0370]

V<sub>d</sub>는 래트 중의 분포 용적이고;

[0371]

fup는 래트 혈장에 결합되지 않은 부분이며;

[0372]

Cl<sub>u</sub>는 결합되지 않은 래트 혈장 클리어런스이며, Cl<sub>u</sub> = Cl / fup이다.

[0373]

인간 약물 동태학 추정

[0374]

상기 래트에서의 약물 동태학 데이터에 기초하여, 실시예 1 및 2 화합물의 유력한 인간 약물 동태학, 및 화합물 A의 유력한 인간 약물 동태학을 이하와 같이 추정할 수 있다.

[0375]

· 이하의 관계식을 이용하여 결합되지 않은 인간 혈장 클리어런스를 추정하기 위해(Cl<sub>u 인간</sub>), 정맥 투여 후 관찰된 결합되지 않은 래트 혈장 클리어런스(Cl<sub>u 래트</sub>)를 측정:

[0376]

$$Cl_{u \text{ 인간}} = Cl_{u \text{ 래트}} * (BW_{\text{인간}} / BW_{\text{래트}})^{0.75}$$

[0377]

여기서, BW<sub>인간</sub> & BW<sub>래트</sub>는 각각 인간의 평균 체중(70kg)과 래트의 평균 체중(0.25kg)이며, 클리어런스 단위는 ml/분이다.

[0378]

· 인간의 총 혈액 클리어런스(Cl<sub>인간</sub>)를 추정하기 위해 Cl<sub>u 인간</sub>을 전환:

[0379]

$$Cl_{\text{인간}} = [(Cl_{u \text{ 인간}}) * f_{up}] / B:P$$

[0380]

여기서, f<sub>up</sub>는 혈장 중 결합되지 않은 약물의 유리 부분이며, B:P는 인간 혈액 중 혈액 대 혈장 비이다.

[0381]

· 하기의 관계식을 이용해서 유도한 인간 반감기의 추정치를 각 화합물에 대해 제시한다:

[0382]

$$T_{1/2} = [ln(2) * V_d] / Cl$$

[0383]

여기서, T<sub>1/2</sub>는 추정되는 인간 반감기이고(시간), V<sub>d</sub>는 인간 내 분포 용적이며(이 계열의 물성 화학으로 인해 0.2L/kg으로 예상됨), Cl은 인간 클리어런스이다.

[0384]

추정되는 인간 약물 동태학의 개요를 이하의 표 7에 제시한다.

[0385]

표 7

	실시에 1	실시에 2	화합물 A
Cl <sub>0</sub> 래트 (ml/분/kg)	27	70	156
fup	0.07	0.01	0.03
Cl <sub>0</sub> 인간 (ml/분/kg)	0.8	0.2	1.9
B:P	0.6	0.7	0.6
측정된 T <sub>1/2</sub> (시)	3	10	1

[0386]

[0387]

[0388]

[0389]

[0390]

[0391]

[0392]

[0393]

[0394]

[0395]

[0396]

[0397]

상기 표 6 및 7에 제시된 데이터는 본 출원의 실시예 2 화합물과 가장 근접한 선행 기술의 화합물 A를 비교할 때, 그들 사이에는 래트에서 관찰되는 약물 동태학과 예상되는 인간 약물 동태학 모두에서 분명한 차이가 있음을 보여준다. 이것은 실시예 2 화합물에 대해 10시간으로 추정되는 인간 반감기가, 약 1시간의 인간 반감기를 제공하는 것으로 여겨지는 화합물 A와 비교됨을 명백하게 한다.

따라서, 상기 데이터에 기초하면, 본 출원의 실시예 2 화합물의 약물 동태학은 임상에서 하루에 1회 또는 2회 투여하는 것에 적합할 것으로 여겨진다. 본 출원의 실시예 1 화합물의 약물 동태학은 하루에 2회 또는 3회 투여하는 것에 적합할 수 있다. 이것은 짧은 반감기로 인해 유사한 방식으로 투여하는 것이 적합하지 않을 것으로 여겨지는 가장 근접한 선행 기술의 화합물 A에 비해 현저한 개선을 나타낸다.

신경 통증 치료에 있어서의 본 발명에 따른 화학식 I의 화합물의 활성은 하기 테스트 프로토콜에 따라 측정할 수 있다.

동물: 수컷 스프래그 다우리 래트(Sprague Dawley rat, 평균 무게 500g)를 12 그룹으로 수용한다. 모든 동물들을 임의의 사료 및 물과 함께 12시간 낮/밤 사이클 하(오전 7시에 불을 켜)에 둔다. 모든 실험은 치료에 대해 관찰자의 눈을 가리고 홈 오피스 애니멀(Home Office Animals; 문헌 [Scientific Procedures Act 1986])에 따라 행한다.

신경 통증의 만성 협착 손상(CCI) 래트 모델

좌골 신경의 CCI를 기준에 기재되어 있는 바와 같이 행한다(문헌 [G.J. Bennett and Y.K. Xie, Pain(1988) 33, 87-107]). 동물들을 2% 이소플루오란/O<sub>2</sub> 혼합물로 마취시켰다. 오른쪽 대퇴 뒤쪽을 면도하고, 1% 요오드를 발랐다. 이어서, 연속 과정을 위해 동물들을 보온 장치(homeothermic blanket)로 옮기고, 노즈 콘(nose cone)을 통해 수술 동안 마취를 지속시켰다. 대퇴골의 선을 따라 피부를 잘라낸다. 대퇴 이두근을 통한 둔개에 의해 대퇴의 중심부에서 총 좌골 신경이 드러난다. 신경 아래에 검자를 삽입해서 약 7mm의 신경을 좌골 삼분지에 근접해서 분리시키고, 그 신경을 대퇴 밖으로 조심스럽게 들어올린다. 검자를 이용하여 신경 아래에서 봉합선을 당기고, 약한 저항이 감지될 때까지 간단하게 매듭지은 후, 이중 매듭짓는다. 이 과정을 4개의 묶음(4-0 silk)이 약 1mm 간격으로 신경 주변에 느슨하게 묶일 때까지 반복한다. 절개는 층에 가깝게 하고, 상처는 국소 항생제로 치료한다.

래트에서의 스트렙토조토신(STZ)-유도 당뇨병 신경병증

0.9%의 살균 염수에 새로 용해시킨 스트렙토조토신(50mg/kg)을 한 번 복강내 주사하여 당뇨병을 유도한다. 스트렙토조토신 주사는 3주 이내에 재생가능한 기계적 이질통을 유도하고, 적어도 7주간 지속시킨다(문헌 [S.R. Chen and H.L. Pan. J. Neurophysiol.(2002), 87, 2726-2733]).

정적 및 동적 이질통의 평가

정적 이질통

이질통을 평가하기 전에, 동물들을 바닥이 철사인 테스트 우리에 길들인다. 폰 프레이 헤어(von Frey hairs; Stoelting, Wood Dale, Illinois, USA)을 적용하여, 뒷 발의 발바닥 표면에 강도를 오름차순(0.6, 1, 1.4, 2, 4, 6, 8, 10, 15 및 26 그램)으로 하여 정적 이질통을 평가한다. 각 폰 프레이 헤어를 최대 6초 동안, 또는 회피 반응이 일어날 때까지 적용한다. 일단 폰 프레이 헤어에 대한 회피 반응이 일어나면, 회피를 야기하는 것 미만의 필라멘트부터 시작하여, 나머지 필라멘트로 회피가 일어나지 않을 때까지 내림차순으로 발을 다시 테스트한다. 최대 26g의 강도가 발을 들어올리게 하는 반응을 이끌어냈으므로, 이것이 컷-오프 지점임을 나타낸다. 각 동물들에 대해 이러한 방식으로 양쪽 뒷 발 모두를 시험하였다. 반응을 이끌어내는데 요구되는 가장 낮은

강도의 양을 발 회피 역치(PWT)로서 그래프로 기록한다. 정적 이질통은 천연의 래트에 해를 끼치지 않는 4g, 또는 그 미만의 자극에 동물이 반응하는지 여부를 나타내는 것으로 정의된다(문헌 [M.J. Field et al. Pain(1999), 83, 303-11]).

[0398] 동적 이질통

[0399] 동적 이질통은 면봉으로 뒷 발의 발바닥 표면을 가볍게 두드려 평가한다. 일반적인 운동 활동이 기록되는 것을 피하기 위하여, 활동적이지 않은 충분히 길들여진 래트에 대해 이 과정을 조심스럽게 수행한다. 각 시점마다 적어도 두 개의 측정치를 얻고, 그 평균은 발 회피 잠복기(PWL)를 의미한다. 15초 이내에 어떤 반응도 나타나지 않으면, 과정을 종료하고, 동물들을 이 회피 시간으로 지정한다. 통증 회피 반응은 종종 반복적인 발바닥 움찔거림 또는 핏기를 수반한다. 동적 이질통은 두드리기 시작한 8초 이내에 동물이 면봉 자극에 반응하는지 여부를 나타내는 것으로 간주된다(문헌 [Field et al, 1999] 등의 상기 문헌).

### 실시예

[0400] <sup>1</sup>H 핵 자기 공명(NMR) 스펙트럼은 모든 케이스에서 제안된 구조와 일치하였다. 특징적인 화학적 이동( $\delta$ )은 주 피크(major peak)의 지정을 위해 종래의 약자: 예를 들면, s, 단일선; d, 이중선; t, 삼중선; q, 사중선; m, 다중선; br, 넓은 부분을 이용하여, 테트라메틸실란으로부터 낮은 쪽으로 100만당 부(ppm)로 나타낸다. 질량 스펙트럼(m/z)은 전자분사 이온화(ES 또는 ESI) 또는 대기압 화학적 이온화(APCI)를 이용하여 기록하였다. 하기의 약자는 일반적인 용매에 대해 사용되어 왔다: CDCl<sub>3</sub>, 듀테로클로로포름; D<sub>6</sub>-DMSO, 헥사듀테로디메틸설폭시드.

[0401] 단결정 X-선 회절 실험

[0402] 실시예 2 화합물의 아세트산 용매화물의 결정 구조는 실온에서 Bruker SMART APEX Single Crystal X-선 회절계 및 Mo K $\alpha$  방사선을 이용한 단결정 X-선 회절로 판단하였다. 강도들을 SMART v5.622(대조군) 및 SAINT v6.02(통합) 소프트웨어(Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1994)를 사용하여, 각 노출이  $\omega$ 에서 0.3°에 걸치는 수 회의 연속 노출로부터, 60초의 노출 시간으로 적분하였고, 총 데이터 세트는 반구를 초과하였다. 다중스캔 방법을 이용하여 흡수에 대해 데이터를 보정하였다(문헌 [SADABS, Program for scaling and correction of area detector data, G. M. Sheldrick, University of Gottingen, 1997, R. H. Blessing, Acta Cryst. 1995, A51, 33-38] 방법에 기초).

[0403] 결정 구조는 공간 군 C2/c 중 SHELXS-97(문헌 [Program for crystal structure solution. G. M. Sheldrick, University of Goettingen, Germany, 1997, release 97-2])를 이용한 직접적인 방법으로 성공적으로 해석하였고, SHELXL-97(문헌 [Program for crystal structure refinement. G. M. Sheldrick, University of Goettingen, Germany, 1997, release 97-2])를 이용한 최소 자승법으로 정밀화하였다. 결정 구조 정밀화 과정은 비대칭 단위 내에 실시예 2 화합물 분자와 아세트산 분자가 존재함을 밝혀내었다. 따라서, 이 구조는 실시예 2 화합물의 1:1 아세트산 용매화물이라 할 수 있다.

[0404] 실시예 2, 단계(b) (아세트산 용매화물) 결정 구조로부터 분말 X-선 회절 패턴의 계산

[0405] Accelrys MS Modelling™ [version 3.0]의 "Reflex Powder Diffraction" 모듈을 이용하여 실시예 2 화합물의 아세트산 용매화물의 단일 결정 구조로부터 2 $\theta$  각 및 상대 강도(이하 표 8 참조)를 계산하였다. 관련 자극 파라미터는 하기와 같다:

[0406] 파장 = 1.5406 Å (Cu K $\alpha$ )

[0407] 편광 인자 = 0.5

[0408] 위-포르트 추이(Pseudo-Voigt Profile)(U = 0.01, V = -0.001, W = 0.002)

[0409] 계산된 패턴은 실시예 2 화합물의 아세트산 용매화물의 순수한 상의 패턴을 나타내는데, 이는 이것이 단일 결정 구조로부터 유래되었기 때문이다. 측정된 패턴과 계산된 패턴의 비교를 도 2에 나타내었고, 벌크는 단일 결정 구조에 의해 제시됨이 증명된다. 측정된 패턴의 편향 효과로 인해 피크 강도들 사이에 약간의 불일치가 있을 수 있다.

[0410] 분말 X-선 회절

[0411] 실시예 2 화합물의 탈용매화 결정 형태(형태 A)에 대한 분말 X-선 회절 패턴은 자동 샘플 교환기, 세타-세타 측



각기, 자동 빔 발산 슬릿, 및 PSD Vantec-1 검출계가 갖추어진 Bruker-AXS Ltd. D4 분말 X-선 회절계를 이용하여 판단하였다. 분석을 위해 샘플을 초기에 실리콘으로 도핑하여 제조하였고, 정확한 피크 위치를 측정하기 위해, 이어서 낮은 배경의 실리콘 웨이퍼 표본 장착기 상에 장착하였다. 40kV/30mA에서 작동되는 X-선 튜브로 구리 K-알파<sub>1</sub> X-선(파장 = 1.5406 Å)을 방사시키는 동안 상기 표본을 회전시켰다. 2° 내지 55°의 2 세타 범위에 걸쳐 0.018° 단계 당 0.2초 카운트로 설정된 연속 모드를 구동시키면서 측각기로 분석을 수행하였다. 또한, 이 회절계에 대한 동일한 파라미터를 사용하여 진공 건조된 용해화물 샘플에 대한 PXRD 패턴을 수집하였지만, 이들 샘플은 실리콘으로 도핑되지 않은 것이다.

[0412] Bruker AXS Ltd을 이용하여, 편평한 실리콘 웨이퍼 상에 장착된 샘플에 대하여 그 밖의 모든 분말 X-선 회절 패턴을 기록하였다. D8 개량 분말 X-선 회절계는 Gobel 거울 광학, 단일 샘플 스테이지 및 위치 감응 검출기 (PSD)를 갖추었다. 각 표본에 40kV/40mA에서 작동되는 X-선 튜브로 구리 K-알파<sub>1</sub> X-선(파장 = 1.5406 Å)을 조사하였다. 3° 내지 35° 2θ의 범위에 걸쳐 0.014° 단계 당 0.2초 카운트로 설정된 연속 스캔 모드를 구동시키면서 측각기로 분석을 수행하였다.

[0413] 시차 주사 열량법(DSC)

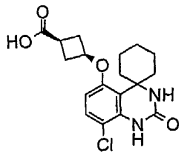
[0414] Perkin Elmer사의 다이아몬드 시차 주사 열량계를 이용하여 DSC 측정치를 얻었다. 샘플을 50μl의 구멍이 뚫린 알루미늄 팬 내에서, 20°C/분으로 실온에서 300°C까지 가열하였다. 가스 유량은 질소로 40 ml/분으로 하였다.

[0415] 열중량 분석(TGA)

[0416] TA Instruments TGA2950 Hi-Res Thermogravimetric Analyser를 이용하고, 20°C/분의 가열 속도로 실온에서부터 탈용매 온도(150°C-180°C)까지 75cm<sup>3</sup>/분의 속도로 질소 퍼지 가스를 이용하여, 용매화물의 TGA 측정치를 얻었다. 이어서, 이후의 PXRD 분석을 위해 상기 샘플을 실온까지 냉각시켰다.

[0417] 실시예 1

[0418] 시스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산



[0419]

[0420] 99.25:0.75 아세트니트릴:물(2ml) 중의 제조법 8의 알코올 용액(50mg, 0.14mmol)에 99.25:0.75 아세트니트릴:물(2ml) 중의 과요오드산(82mg, 0.359mmol) 및 크롬(VI) 옥사이드(1.6mg, 0.016mmol) 용액을 가하고, 반응 온도를 5°C 미만으로 유지시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 여과하고, 잔류물을 99.25:0.75 아세트니트릴:물, 2N 염산:메탄올(5:1), 물 및 메탄올로 세정하였다. 상기 잔류물을 진공 중에 건조시켜, 백색 고체로서 표제 화합물을 수득하였다(28mg, 0.077mmol, 55%).

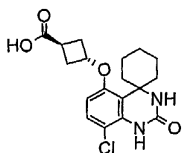
<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.17 (m, 1H), 1.40-1.65 (m, 5H), 1.79 (m, 2H), 2.16 (m, 2H), 2.48 (m, 2H), 2.72 (m, 3H), 4.64 (m, 1H), 6.43 (d, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.21 (d, 1H), 7.90 (s, 1H), 12.26 (bs, 1H).

LRMS m/z (APCI): 365[M+H]<sup>+</sup>, 406[M+CH<sub>3</sub>CN+H]<sup>+</sup>

[0421]

[0422] 실시예 2

[0423] 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산



[0424]

[0425] 방법 A

[0426] 0.75% 물(50ml)을 함유하는 아세트니트릴 중의 제조법 11의 알코올 용액(2.05g, 5.84mmol)에 크롬(VI) 옥사이드(12mg, 0.11mmol) 및 과요오드산(3.33g, 14.6mmol) 용액을 가하고, 40℃에서 96시간 동안 반응 혼합물을 교반하였다. 물(100ml)을 가하고, 그 현탁액을 2시간 동안 교반하였다. 생성된 침전물을 여과하여 수집하고, 물로 세정하고, 진공 중에서 건조시켜 표제 화합물을 수득하였다(1.90g, 5.2mmol, 89%).

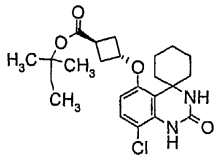
<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.2 (m, 1H), 1.2 (m, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.8 (m, 2H), 2.3 (m, 2H), 2.6 (m, 2H), 3.1 (m, 1H), 3.2 (s, 1H), 4.0 (bs, 1H), 4.8 (m, 1H), 6.4 (d, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.2 (d, 1H), 7.9 (s, 1H).

[0427] LRMS m/z (APCI) 365 [MH]<sup>+</sup>

[0428] 방법 B

[0429] 단계(a)

[0430] 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄 카르복실산 tert-부틸 에스테르



[0431]

[0432] 제조법 27, 단계(b)의 화합물(34.1g, 130 mmol)을 DMF(300ml) 중에 현탁시키고, 그 슬러리를 35℃까지 가온하였다. 세슘 카보네이트(63g, 190mmol)를 한번에 가하였다. 제조법 22의 화합물을 DMF(90ml) 중에 용해시키고, 상기 반응에 가하였다. 상기 반응을 1시간에 걸쳐 90℃까지 가열하고, 8시간 동안 유지시켰다. 상기 반응을 73℃까지 냉각시키고, 온도가 65℃를 초과하도록 유지시키면서 물(160ml)을 가하였다. 생성된 슬러리를 35℃까지 냉각시킨 후, 에틸 아세테이트(260ml)를 한번에 가하였다. 실온까지 냉각시킨 후, 상기 슬러리를 여과하고, 그 산물을 에틸 아세테이트(2×100ml)로 세정하였다. 생성된 백색 고체를 60℃의 진공 중에서 16시간 동안 건조시켜, 백색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(44.4g, 105 mmol, 82%).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.3 (m, 1H), 1.4 (m, 1H), 1.5 (s, 9H), 1.6 (m, 1H), 1.7 (bm, 1H), 1.8 (bm, 2H), 1.8 (bm, 1H), 2.4 (m, 2H), 2.6 (t, 2H), 2.7 (m, 2H), 3.1 (m, 1H), 3.2 (m, 1H), 4.8 (m, 1H), 5.5 (s, 1H), 6.2 (d, 1H), 6.9 (s, 1H), 7.1 (d, 1H).

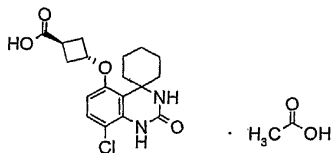
LC-MS (ESI): 22.6 분 11.8 (%) { 시스 이성질체 } m/z 422 [MH]<sup>+</sup>; 23.1

분 88.2 (%) { 트랜스 이성질체 } m/z 422 [MH]<sup>+</sup>.

[0433]

[0434] 단계(b)

[0435] 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄 카르복실산 아세트산 용매화물



[0436]

[0437] 단계(a) 산물(207g, 0.492mol)을 아세트산(3100ml) 중에서 슬러리화하고, 60℃까지 가열하였다. 온도를 60℃로 유지하면서 48% 히드로브롬산(4.93 mol)을 적가하였다. 용액을 60℃에서 30분 동안 교반하였다. 온도를 55℃ 이상으로 유지하면서 물(700ml)을 적가하였다. 상기 슬러리를 20℃까지 냉각시키고, 추가로 30분 동안 교반한 후, 여과하고, 아세트산:물(2000ml) 및 물(1000ml)로 세정하고, 진공 오븐 내에서 밤새도록 60℃에서 건조시켜 아세트산 용매화물로서 표제 화합물의 백색 고체를 수득하였다(153.6g, 73.5%).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.2 (m, 1H), 1.2 (m, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.8 (m, 2H), 1.9 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COOH), 2.3 (m, 2H), 2.6 (m, 2H), 3.1 (m, 1H), 3.2 (s, 1H), 4.0 (bs, 1H), 4.8 (m, 1H), 6.4 (d, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.2 (d, 1H), 7.9 (s, 1H), 9.9 (s, 1H, CH<sub>3</sub>COOH).

LC-MS (ESI): 18.0 분 1.65 (%) {시스 이성질체} m/z 365 [MH<sup>+</sup>];  
18.3 분 98.4 (%) {트랜스 이성질체} m/z 365 [MH<sup>+</sup>].

[0438]

[0439]

상기 아세트산 용매화물은 단결정 X-선 회절법에 의해 판단된 그의 결정 구조에서 볼 수 있는 바와 같이, 1:1 화학량론으로 결정화되는 것으로 확인되었다. 도 2는 단결정 구조로부터 계산된 모의실험 분말 X-선 회절 (PXRD) 패턴(B)과 함께, 상기 한 배치의 아세트산 용매화물에 대해 측정된 PXRD 패턴(A)을 나타낸다. 두 패턴에서의 피크 위치가 매우 잘 일치함을 볼 수 있다. 상대 강도 및 회절 피크의 너비에 있어서의 약간의 차이는 각각 배향 효과 및 입자 크기 효과로 인해 야기될 수 있다. 상기 아세트산 용매화물에 대한 특징적인 2θ X-선 회절 피크 및 그들의 상대 강도를 이하의 표 8에 열거한다.

표 8

2θ / °	강도 %	2θ / °	강도 %
8.3	58.5	20.5	36.8
10.8	18.3	21.8	18.4
16.6	52.5	22.9	12.5
17.1	22.7	23.1	12.4
17.7	14.6	23.7	100
19.2	14	24.7	21.2
19.5	24.1	26.3	10.4

[0440]

[0441]

상기 아세트산 용매화물은 115℃ 근처에서 열적으로 탈용매화됨이 확인되었고, 이는 이 온도에서 급격한 대략 15%의 중량 감소가 관찰되는 열중량 분석(TGA)에 의해 나타내어지며, 이는 아세트산의 1몰 당량과 동일하다. TGA 플롯을 도 3에 나타낸다. 탈용매화시에, 상기 용매화물은 탈용매화 형태 A로 재결정화되고(이하의 단계 (c)에 기재), 이것은 도 4에 나타낸 PXRD로 증명된다.

[0442]

단계(c)

[0443]

트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄 카르복실산

[0444]

단계(b)의 아세트산 용매화물(157g, 369 mmol)을 수중(5200ml)에 실온에서 밤새도록 슬러리화하였다. 상기 슬러리를 여과한 후, 물(4×500ml)로 세정하고, 진공 오븐 내에서 밤새도록 60℃에서 건조시켜, 백색 고체로서 탈용매화된 표제 화합물을 수득하였다(130g, 357mmol, 96%).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.2 (m, 1H), 1.2 (m, 2H), 1.6 (m, 2H), 1.8 (m, 2H), 2.3 (m, 2H), 2.6 (m, 2H), 3.1 (m, 1H), 3.2 (s, 1H), 4.0 (bs, 1H), 4.8 (m, 1H), 6.4 (d, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.2 (d, 1H), 7.9 (s, 1H).

LRMS m/z (APCI) 365 [MH]<sup>+</sup>

[0445]

[0446]

이 화합물 또한 탈용매화 형태(형태 A)로 결정화되는 것이 도 5에 나타낸 특징적인 분말 X-선 회절(PXRD) 패턴에 의해 확인되었다. 특징적인 2θ X-선 회절 피크 및 그들의 상대 강도를 이하의 표 9에 열거한다. 이 결정질 형태는 도 6에 도시한 시차 주사 열량계(DSC)에 의해 판단된 바와 같이 250℃의 용점을 가진다.

표 9

2θ / °	강도 %	2θ / °	강도 %
6.3	24.6	24.8	17.9
9.7	14.6	25.3	11.3
13.6	20.0	25.5	13.7
14.7	13.4	26.3	48.8
16.2	20.0	28.2	11.2
17.8	47.5	28.5	22.0
18.5	15.9	29.8	14.7
18.7	18.3	31.3	12.1
18.9	13.7	31.8	13.5
19.4	12.9	36.4	12.8
21.5	100.0	37.9	18.2
22.1	31.5	38.8	15.2
22.4	57.5	48.7	10.4
22.7	13.0		

[0447]

[0448]

실시예 2의 화합물 또한 디메틸아세트아미드(DMAC), 피리딘, 테트라히드로푸란(THF) 및 디메틸설폭사이드(DMSO)에 의해 용매화물로 결정화되는 것이 확인되었다. 이들 용매화물 각각은 도 7에 나타난 바와 같이 특징적인 PXRD 패턴을 가진다.

[0449]

이들 용매화물의 TGA 측정치는 피리딘과 THF 용매화물이 1:1의 화학량론을 가지는 것을 보여주는 반면(도 8 & 9), DMAC 용매화물은 화합물에 대해 용매가 2:1의 화학량론을 가지는 것을 보여준다(도 10). DMSO 용매화물의 무른 속성은 그 화학량론이 판단될 수 없음을 의미한다.

[0450]

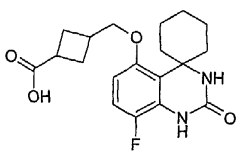
도 11, 12, 13 및 14에 각각 나타난 PXRD 분석에 의해 증명되는 바와 같이, 탈용매화시 피리딘, THF, DMAC 및 DMSO 용매화물 각각은 무수 형태 A로 재결정화된다.

[0451]

실시예 3

[0452]

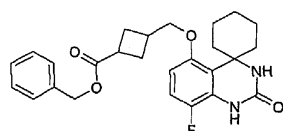
3-[(8'-플루오로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시메틸]시클로부탄카르복실산



[0453]

[0454]

(a) 3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시메틸]시클로부탄카르복실산 벤질 에스테르



[0455]

[0456]

8'-플루오로-5'-히드록시-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온(140mg, 0.56mmol)(WO 2004/026818에 기재된 바와 같이 제조, 중간체 c) 및 세슘 카보네이트(301mg, 0.925mmol)를 DMF(2ml) 중에서 조합하고, DMF(2ml) 중의 제조법 15의 화합물 용액(220mg, 0.588mmol)을 가하고, 그 혼합물을 80°C에서 18시간 동안 교반하였다. 물(35ml)을 가한 후, 그 산물을 에틸 아세테이트(2×25ml)로 추출하였다. 조합된 유기 추출물을 포화 염수로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시켰다. 용매를 증발시켜 표제 화합물, 갈색 검을, 시스 및 트랜스 이성질체의 대략 5:4 혼합물로 얻었다(204mg, 80%).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.29 (m, 1H), 1.66 (m, 7H), 2.21 (m, 2H), 2.41 (m, 2H), 2.59 (m, 2H), 2.8 & 2.90 (2x m, 1H), 3.2 (m, 1H), 3.96 & 4.00 (2x d, 2H), 5.13 (2x s, 2H), 6.6 (m, 1H); 6.95 (m, 1H), 7.33 (m, 5H).

LRMS m/z (ES) 453 [MH]<sup>+</sup>

[0457]

(b) 3-[(8'-플루오로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시메틸]시클로부탄카르복실산

[0458]

[0459]

단계(a) 산물(200mg, 0.442mmol)을 메탄올(2ml) 중에 용해시키고, 2M NaOH(2ml, 4.0mmol)를 가하고, 그 갈색 에멀전을 60°C에서 1.5시간 동안 교반한 후, 냉각시켰다. 2N HCl(2ml, 4.0mmol)을 가하고, 생성된 현탁액을 1.5시간 동안 교반하였다. 크립형 고체를 여과하여 수집하고, 물로 잘 세정하고, 진공에서 건조시켜 표제 화합물(136mg, 85%)을 수득하였다.

[0460]

Chiralpak AD-H 상에서의 키랄 HPLC는, 15% 이소프로판올:85% 헥산+0.1% 트리플루오로아세트산이 43:57의 이성질체 비율을 보여준다(체류 시간 13.69 및 15.27분).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.16 (m, 1H), 1.43 (m, 2H), 1.57(m, 3H), 1.76 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.43 (m, 2H), 2.68 (2x m, 1H), 3.03 (2x m, 1H), 3.88 & 3.97 (2x d, 2H), 6.48 (m, 1H), 6.76 (m, 1H), 6.98 (m, 1H), 8.79 (s, 1H), 12.06 (br, 1H).

LRMS m/z (ES) 363 [MH]<sup>+</sup>

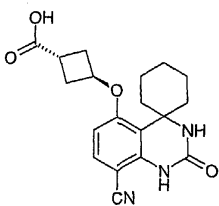
[0461]

실시예 4

[0462]

트랜스-3-[(8'-시아노-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산

[0463]



[0464]

제조법 16의 화합물(101mg, 0.296mmol)로 출발하고, 크롬(VI) 옥사이드(0.5mg, 0.005mmol) 및 과요오드산(167mg, 0.733mmol)을 이용하여, 실시예 1의 방법에 따라 표제 화합물을 얻었다(76mg, 72%).

[0465]

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO) δ: 1.1-1.85 (m, 8H), 2.3-2.7 (m, 6H), 3.10 (m, 1H), 4.92 (m, 1H), 6.47 (d, 1H), 7.14 (s, 1H), 7.51 (d, 1H), 8.51 (s, 1H).

LC-MS: 체류 시간 = 2.49 분 (100%), LRMS (ESI) m/z 356 [MH]<sup>+</sup>

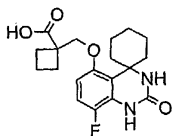
[0466]

실시예 5

[0467]

1-[(8'-플루오로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시메틸]시클로부탄카르복실산

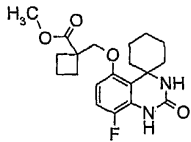
[0468]



[0469]

(a) 1-[(8'-플루오로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시메틸]시클로부탄카르복실산 메틸 에스테르

[0470]



[0471]

[0472] DMF(1ml) 중의 8'-플루오로-5'-히드록시-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온(120mg, 0.48mmol)(WO 2004/026818에 기재) 용액에, 실온에서 세슘 카보네이트(234mg, 0.72mmol)를 가하고, 그 혼합물을 10분 동안 교반한 후, DMF(1ml) 중의 제조법 18의 화합물 용액(172mg, 0.58mmol)을 가하였다. 반응 혼합물을 18시간 동안 80℃까지 가열한 후, 실온까지 냉각시켰다. 상기 혼합물을 에틸 아세테이트(20ml) 및 물(20ml)로 희석시키고, 유기층을 분리하고, 수성층을 에틸 아세테이트(20ml)로 추출하였다. 결합된 유기층을 물(2×20ml) 및 염수(2×20ml)로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 디에틸 에테르(10ml)로부터 얻은 갈색 오일을 연화처리하고, 얻은 갈색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(0.3몰 DMF를 함유하는 용매화물 140mg, 0.35mmol, 73%).

[0473]

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.16 (m, 1H), 1.35 (m, 2H), 1.49 (m, 3H), 1.72 (m, 2H), 1.90 (m, 1H), 2.03 (m, 3H), 2.26 (m, 2H), 2.42 (m, 2H), 3.60 (s, 3H), 4.22 (s, 2H), 6.52 (dd, 1H), 6.79 (s, 1H), 7.01 (t, 1H), 8.85 (s, 1H).

[0474]

(b) 1-[(8'-플루오로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시메틸]시클로부탄카르복실산

[0475]

메탄올/물(1:1, 2ml) 중의 단계(a) 산물 일부 용액(140mg, 0.35mmol)에 나트륨 히드록사이드(28mg, 0.70mmol)를 가하고, 그 반응을 50℃에서 24시간 동안 교반하였다. 그 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 추가로 6일 동안 교반한 후, 2N 염산 수용액(2ml)으로 처리하였다. 생성된 크림형 고체를 여과하여 수집하고, 물로 세정하고, 진공 중에서 건조시켜, 표제 화합물을 얻었다(83mg, 0.23mmol, 65%).

[0476]

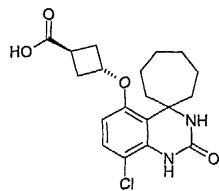
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.25 (m, 1H), 1.37 (m, 2H), 1.49 (m, 3H), 1.71 (m, 2H), 1.90 (m, 1H), 2.01 (m, 3H), 2.38 (m, 4H), 4.18 (s, 2H), 6.52 (dd, 1H), 6.71 (s, 1H), 7.00 (dd, 1H), 8.78 (s, 1H), 12.43 (s, 1H).  
LRMS m/z (ESI) 377 [M+H]<sup>+</sup>

[0477]

실시예 6

[0478]

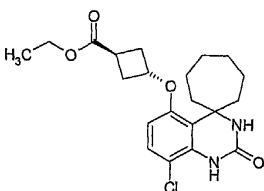
트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥살-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산



[0479]

[0480]

(a) 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥살-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산 에틸 에스테르



[0481]

[0482]

디메틸포름아미드(3ml) 중의 제조법 20의 화합물(100mg, 0.36mmol), 칼륨 카보네이트(57mg, 0.41mmol) 및 18-크라운-6(110mg, 0.41mmol) 현탁액에, 디메틸포름아미드(1ml) 중의 3-(톨루엔-4-설폰닐옥시)-시스-시클로부탄카

르복실산 에틸 에스테르(제조법 22 화합물과 유사한 방법으로 제조)(123mg, 0.41mmol) 용액을 가하고, 반응 혼합물을 80℃에서 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 물(30ml)로부터 에틸 아세테이트(2×20ml)로 2회 추출하였다. 결합된 유기층을 염수(2×20ml)로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 오일 잔류물을 메탄올로부터 다시 증발시키고, 디에틸 에테르로 연화처리하고, 크립형 고체로서 표제 화합물을 얻었다(75mg, 0.18mmol, 51%).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.19 (t, 3H); 1.43-1.77 (m, 10H), 2.24 (m, 2H), 2.38 (m, 2H), 2.63 (m, 2H), 3.14 (m, 1H), 4.09 (q, 2H), 4.82 (m, 1H), 6.36 (d, 1H), 7.17 (d, 1H), 7.29 (s, 1H), 8.05 (s, 1H).  
LRMS m/z (ESI) 407 [MH]<sup>+</sup>

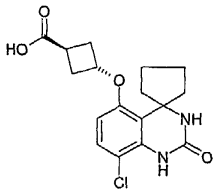
(b) 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥틸-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산

메탄올(1ml) 중의 단계(a)의 화합물 현탁액(70mg, 0.17mmol)에 수중(1ml)의 나트륨 히드록사이드 용액(14mg, 0.35mmol)을 가하고, 생성된 현탁액을 40℃에서 2시간 동안 교반하였다. 진공 중에서 메탄올을 제거하고, 2N 수성 HCl(5ml)을 적가하여 생성된 용액의 pH를 대략 1까지 조정하였다. 생성된 고체를 여과하고, 이소프로판올(1.5ml)로 세정하여, 백색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(25mg, 0.066mmol, 40%).

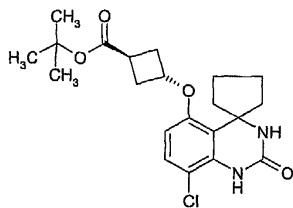
<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.43-1.77 (m, 10H), 2.23 (m, 2H), 2.34 (m, 2H), 2.61 (m, 2H), 3.06 (m, 1H), 4.81 (q, 1H), 6.36 (d, 1H), 7.17 (d, 1H), 7.29 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 12.35 (s, 1H).  
LRMS m/z (ESI) 755 [2M-H]<sup>-</sup>

실시예 7

트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥틸-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산



(a) 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥틸-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산 tert-부틸 에스테르



(a) DMF(3ml) 중의 제조법 24 화합물의 일부 용액(300mg, 1.14mmol)에 세슘 카보네이트(559mg, 1.72mmol)를 가하고, 그 반응 혼합물을 10분 동안 40℃까지 가열한 후, DMF(3ml) 중의 제조법 22의 조 화합물(crude compound) 용액(523mg, 1.60mmol)을 한번에 가하였다. 상기 반응 혼합물을 추가의 9시간 동안 80℃까지 가열하고, 실온까지 냉각되게 하였다. 물(3ml), 이어서 에틸 아세테이트(5ml)를 상기 반응 혼합물에 가한 후, 생성된 침전물 수집을 시도했지만, 성공하지 못했다. 빠르게 완전히 용해되었고, 반응 혼합물을 진공 중에서 2ml까지 농축시키고, 물(5ml)을 가하여 결정화를 유도하고, 생성된 산물을 여과하고, 진공 중에서 건조시켜, 표제 화합물을 얻었다(310mg, 0.76mmol, 67%). LC-MS는 출발 물질인 페놀이 10% 잔류함을 보여준다. 이 물질은 추가의 정제없이 단계(b)에 사용되었다.

[0493] LRMS m/z(ESI) 407 [M+H]<sup>+</sup>

[0494] (b) 트랜스-3-[(8'-클로로-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로펜틸-1,4'-퀴나졸린]-5'-일)옥시]시클로부탄카르복실산

[0495] 아세트산(3ml) 중의 단계(a) 산물 용액(310mg, 0.76mmol)에 60°C에서 48% 수성 히드로브롬산(0.5ml)을 가하고, 그 반응을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 약간의 혼탁함이 관찰될 때까지, 물(0.1ml)을 적가하여 혼합물을 켄칭시켰다. 상기 반응을 실온까지 냉각되게 한 후, 생성된 침전물을 여과하여 얼은 갈색 고체를 얻었다(130mg). 아세트산(1.5ml)/물(0.1ml) 중에서 재-결정화에 의한 정제를 행하여, 희백색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(35mg, 0.09mmol, 9%).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.70 (m, 4H), 1.82 (m, 2H), 2.27 (m, 2H), 2.60 (m, 2H), 3.04 (m, 2H), 4.81 (m, 1H), 6.35 (d, 1H), 7.18 (d, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 12.14 (s, 1H).

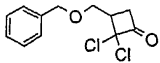
LRMS (ESI) m/z 351 [M+H]<sup>+</sup>

[0496]

[0497] 제조법

[0498] 제조법 1

[0499] 3-[(벤질옥시)메틸]-2,2-디클로로시클로부타논



[0500]

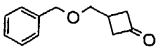
[0501] 아연 가루(6.54g, 0.1mol)를 수증(30ml)에 현탁시키고, 현탁액을 통해 15분 동안 아르곤 거품을 발생시킨 후, 구리(II) 설페이트(780mg, 3.1mmol)를 가하였다. 반응 혼합물을 아르곤 하 실온에서 30분 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 아르곤 기류하에서 여과하고, 고체를 물(100ml), 아세톤(100ml)으로 세정하고, 진공 중에서 4시간 동안 건조시켰다. 생성된 아연/구리 커플을 아르곤 하에서 디에틸 에테르:1,2-디메톡시에탄(70ml:10ml) 중에 현탁시키고, 알릴 벤질 에테르(4.6ml, 30mmol)를 가하였다. 디에틸 에테르:1,2-디메톡시에탄(58ml:7ml) 중의 트리클로로아세틸 클로라이드(9ml, 81mmol) 용액을 45분에 걸쳐 적가하고, 반응 혼합물을 48시간 동안 가열 환류시켰다. 상기 반응 혼합물을 Celite® 통해 여과하고, 그 염을 디에틸 에테르(3×70ml)로 세정하였다. 여과물을 진공 중에서 증발시키고, 잔류물을 헥산(150ml) 중에 재용해시켰다. 잔류 고체를 여과하여 제거하고, 여과물을 나트륨 히드로젠 카보네이트의 포화 수용액(2×100ml), 염수(80ml)로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 10-25% 헥산:디에틸 에테르로 용출하는 실리카겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피에 의해 조 물질(crude material)을 정제하였다. 표제 화합물을 황색 오일로서 얻었다(7.03g, 27.3mmol, 91%).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 3.11-3.21 (m, 2H), 3.48 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 7.35 (m, 5H), 4.58 (s, 2H).

[0502]

[0503] 제조법 2

[0504] 3-[(벤질옥시)메틸]시클로부타논



[0505]

[0506] 암모늄 클로라이드(90ml)가 포화된 메탄올 중의 제조법 1의 디클로로시클로부타논 용액(5.98g, 23.08mmol)에 아연 분말(9.25g, 142mmol)을 가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 암모늄 클로라이드를 가하고, 반응 혼합물을 실온에서 6시간 더 교반하였다. 그 혼합물을 Celite®를 통해 여과하고, 염을 디에틸 에테르(50ml)로 세정하였다. 여과물을 진공 중에서 농축시키고, 잔류물을 디에틸 에테르(200ml)와 물(100ml) 사이에 분획시켰다. 혼합물을 여과하고, 유기상을 물로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 표제 화합물을 황색 오일로서 수득하였다(3.7g, 19.5mmol, 84%).

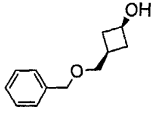


<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 2.69 (m, 1H), 2.90 (m, 2H), 3.11 (m, 2H), 3.60 (d, 2H), 4.56 (s, 2H), 7.34 (m, 5H).

[0507]

[0508] 제조법 3

[0509] 시스-3-[(벤질옥시)메틸]시클로부탄올



[0510]

[0511] -70℃에서 교반 중인 테트라히드로푸란 중의 제조법 2의 시클로부탄올 용액(1.166g, 6.13mmol)에, 반응 온도를 -65℃ 미만으로 유지하면서 테트라히드로푸란(40ml) 중의 1M 리튬 트리-sec-부틸보로히드라이드 용액(40ml)을 적가하였다. 상기 반응을 18시간에 걸쳐 실온까지 가온되게 하였다. 상기 반응 혼합물을 나트륨 히드로젠 카보네이트 포화 수용액(25ml)으로 킨칭시킨 후, 5℃까지 냉각시켰다. 반응 온도를 10℃ 미만으로 유지하면서, 30% 수성 히드로젠 퍼옥사이드(4ml)를 적가하였다. 상기 혼합물을 물로부터 에틸 아세테이트(50ml)로 추출하고, 결합된 유기상을 염수(30ml)로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 25-50% 에틸 아세테이트:펜탄으로 용출하는 실리카겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피에 의해 조 물질을 정제하여, 무색 오일을 얻었다(1.05g, 5.5mmol, 89%). <sup>1</sup>H-NMR은 시스:트랜스 이성질체가 15:1의 비율로 얻어졌음을 나타낸다.

[0511]

[0512]

[0513]

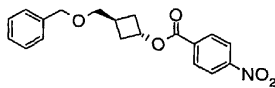
[0514]

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.70 (m, 2H), 2.10 (m, 1H), 2.46 (m, 2H), 3.45 (d, 2H), 4.15 (q, 1H), 4.52 (s, 2H), 7.33 (m, 5H).

[0512]

[0513] 제조법 4

[0514] 트랜스-3-[(벤질옥시)메틸]시클로부틸 4-니트로벤조에이트



[0515]

[0516] 테트라히드로푸란(5ml) 중의 디에틸 아조디카르복실레이트 용액(2g, 11.5mmol)을 테트라히드로푸란(20ml) 중의 제조법 3의 시클로부틸 알코올(1.05g, 5.47mmol), 4-니트로벤조산(1.82g, 10.9mmol) 및 트리페닐포스핀(3.016g, 11.5mmol) 용액에 0℃에서 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 용매를 진공 중에서 증발시키고, 잔류물을 디에틸 에테르(30ml)에 재용해시켰다. 잔류 고체를 여과하여 제거하고, 여과물을 진공 중에서 증발시켰다. 1:10 내지 1:3 에틸 아세테이트:펜탄으로 용출하는 실리카겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피에 의해 조 물질을 정제하여, 무색 오일을 얻었다(1.64g, 4.8mmol, 88%). <sup>1</sup>H-NMR은 트랜스:시스 이성질체가 15:1의 비율로 얻어졌음을 나타낸다.

[0516]

[0517]

[0518]

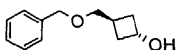
[0519]

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 2.40 (m, 4H), 2.67 (m, 1H), 3.53 (d, 2H), 4.57 (s, 2H), 5.36 (q, 1H), 7.37 (m, 5H), 8.20 (d, 2H), 8.29 (d, 2H).

[0517]

[0518] 제조법 5

[0519] 트랜스-3-[(벤질옥시)메틸]시클로부탄올



[0520]

[0521] 1,4-디옥산(35ml) 중의 제조법 4의 p-니트로에스테르 용액(1.64g, 4.8mmol)에 수증(25ml)의 나트륨 히드록사이드 용액(385mg, 9.6mmol)을 가하고, 실온에서 30분 동안 반응 혼합물을 교반하였다. 아세트산(0.4ml, 7mmol)을 가하고, 그 혼합물을 진공 중에서 농축시켰다. 잔류물을 나트륨 히드로젠 카보네이트 포화 수용액으로부터 에틸 아세테이트(20ml)로 추출하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 표제 화합물을 황색 오일로서 얻었다(850mg, 4.4mmol, 92%).

[0521]

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 2.08 (m, 2H), 2.20 (m, 2H), 2.47 (m, 1H), 3.47 (d, 2H), 4.39 (q, 1H), 4.52 (s, 2H), 7.34 (m, 5H).

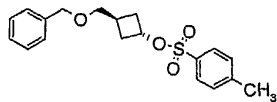
[0522]

제조법 6

[0523]

트랜스-3-[(벤질옥시)메틸]시클로부틸 p-톨루엔설포네이트

[0524]



[0525]

p-톨루엔설포닐 클로라이드(1.18g, 6.2mmol)를 피리딘(5ml) 중의 제조법 5의 시클로부탄올 교반 용액(850mg, 4.42mmol)에 0℃에서 일부씩 나누어 가하고, 그 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 용매를 진공 중에서 농축시키고, 잔류물을 에틸 아세테이트(30ml)에 재용해시키고, 2N 염산(30ml), 나트륨 히드로젠 카보네이트 포화 수용액(30ml), 염수(30ml)로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 디클로로메탄으로 용출하는 실리카겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피에 의해 조 물질을 정제하였다. 표제 화합물을 무색 오일로서 얻었다(1.53g, 4.4mmol).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 2.15 (m, 2H), 2.31 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.49 (m, 1H), 3.4 (d, 2H), 4.49 (s, 2H), 4.93 (q, 1H), 7.32 (m, 7H), 7.75 (d, 2H).

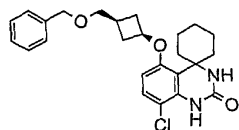
[0527]

제조법 7

[0528]

5'-({시스-3-[(벤질옥시)메틸]시클로부틸}옥시)-8'-클로로-1'H-스피로[시클로hex산-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온

[0529]



[0530]

8'-클로로-5'-히드록시-1'H-스피로[시클로hex산-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온(문헌 [Bioorg. Med. Chem. Lett, (2004), 14(18), 4627-4632]에 기재된 바에 따라 제조)(640mg, 2.4mmol), 칼륨 카보네이트(400mg, 2.9mmol) 및 18-크라운-6(767mg, 2.9mmol)을 디메틸포름아미드(8ml) 중에서 조합시키고, 그 반응 혼합물을 80℃까지 가열하였다. 디메틸포름아미드 중의 제조법 6의 토실레이트 용액(1g, 2.9mmol)을 3회로 나누어 가하고, 그 혼합물을 80℃에서 18시간 더 가열하였다. 상기 반응 혼합물을 에틸 아세테이트(100ml)와 물(150ml) 사이에 분획시키고, 고체를 여과하여 수집하였다. 상을 분리시키고, 수성상을 에틸 아세테이트로 재추출하고, 염수로 희석하고, 에틸 아세테이트로 재추출하였다. 결합된 유기상을 진공 중에서 농축시키고, 잔류물을 물 및 에탄올로 연화처리하였다. 디클로로메탄 내지 디클로로메탄:에틸 아세테이트(1:1)로 용출하는 실리카겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피에 의해 결합된 조 산물을 정제하여, 회-백색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(685mg, 1.156mmol, 64%).

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz): δ 1.1 (m, 1H), 1.4 (m, 2H), 1.6 (m, 3H), 1.7 (m, 2H), 1.8 (m, 2H), 2.3 (m, 1H), 2.5 (m, 4H), 3.4 (s, 2H), 4.4 (s, 2H), 4.6 (m, 1H), 6.4 (d, 1H), 7.0 (s, 1H), 7.2 (d, 1H), 7.3 (m, 5H), 7.8 (s, 1H).

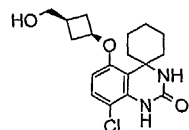
[0532]

제조법 8

[0533]

8'-클로로-5'-{[시스-3-(히드록시메틸)시클로부틸]옥시}-1'H-스피로[시클로hex산-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온

[0534]



[0535]

디클로로메탄 중의 2M 보론 트리클로라이드-디메틸 설페이트 복합체 용액(1.8ml, 3.6mmol)을 디클로로메탄(10ml) 중의 제조법 7의 벤질 알코올 현탁액(400mg, 0.9mmol)에 가하고, 그 반응 혼합물을 실온에서 밤새도록 교반하였다. 나트륨 히드로젠 카보네이트 포화 수용액(10ml)을 가하고, 그 혼합물을 5분 동안 교

[0536]

반하였다. 디클로로메탄과 물을 가하고, 생성된 고체를 여과하여 수집하였다. 표제 화합물을 백색 고체로서 얻었다(230mg, 0.657mmol, 73%).

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz): δ 1.17 (m, 1H), 1.42 (m, 2H), 1.57 (m, 3H), 1.82 (m, 4H), 2.05 (m, 1H), 2.45 (m, 4H), 3.38 (t, 2H), 4.58 (m, 2H), 6.41 (d, 1H), 6.99 (s, 1H), 7.20 (d, 1H), 7.86 (s, 1H). LRMS m/z (APCI) 351 [MH]<sup>+</sup>

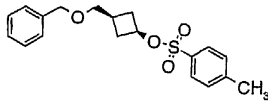
[0537]

[0538]

제조법 9

[0539]

시스-3-[(벤질옥시)메틸]시클로부틸 p-톨루엔설포네이트



[0540]

[0541]

피리딘(14.3ml, 176mmol) 및 p-톨루엔설포닐 클로라이드(20.2g, 105.9mmol)를 5°C에서 교반 중인 디클로로메탄(90ml) 중의 제조법 3의 알코올 용액(17g, 88.4mmol)에 가하고, 그 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 디클로로메탄(50ml)으로 희석시키고, 2N 염산(50ml), 나트륨 히드로젠 카보네이트 포화 수용액(50ml)으로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 헥산:에틸 아세테이트(19:1, 9:1, 4:1)로 용출하는 실리카겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피에 의해 조 물질을 정제하였다. 표제 화합물을 무색 오일로서 얻었다(24.8g, 71.6mmol, 81%).

[0542]

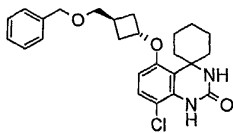
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.95 (m, 2H), 2.1 (m, 1H), 2.35 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 3.4 (m, 2H), 4.5 (s, 2H), 4.7 (m, 1H), 7.3 (m, 7H), 7.8 (m, 2H). LRMS m/z (ESI) 347 [MH]<sup>+</sup>

[0543]

제조법 10

[0544]

5'--({트랜스-3-[(벤질옥시)메틸]시클로부틸}옥시)-8'-클로로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온



[0545]

[0546]

방법 A

[0547]

세슘 카보네이트(730mg, 2.24mmol)를 디메틸포름아미드(2ml) 중의 8'-클로로-5'-히드록시-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온(500mg, 1.87mmol) 교반 현탁액에 가하고, 그 반응 혼합물을 80°C까지 가열하였다. 5분 후, 디메틸포름아미드(1ml) 중의 제조법 9의 토실레이트 용액(710mg, 2.05mmol)을 가하고, 상기 반응 혼합물을 80°C에서 18시간 동안 가열하였다. 상기 혼합물을 염수(60ml)로부터 에틸 아세테이트(1×80 ml, 2×30ml)로 추출하고, 염수(3×100ml)로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 약간의 불순물이 있는 크림형 고체로서 표제 화합물을 얻었다(800mg, 0.96mmol, 96%).

[0548]

방법 B

[0549]

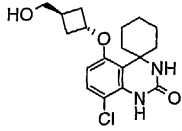
80°C에서 교반 중인 디메틸포름아미드(12ml) 중의 8'-클로로-5'-히드록시-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온(950mg, 3.56mmol) 용액에, 칼륨 카보네이트(590mg, 4.27mmol)와 18-클라운-6(1.1g, 4.27mmol)을 가하였다. 그 반응 혼합물을 10분 동안 교반한 후, 디메틸포름아미드(3ml) 중의 제조법 9의 토실레이트 용액(1.48g, 4.27mmol)을 가하였다. 상기 반응 혼합물을 80°C에서 24시간 동안 가열하였다. 상기 혼합물을 물:메탄올(75ml:25ml)에 붓고, 10분간 교반한 후, 생성된 침전물을 여과하여 수집하고, 메탄올로 세정하였다. 고체를 디클로로메탄 중에 용해시키고, Celite®를 통해 여과하고, 생성된 여과물을 진공 중에서 증발시켜, 트랜스:시스 이성질체 혼합물의 9:1 비율로서 표제 화합물을 얻었다(887mg, 2.0mmol, 56%).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.3 (m, 1H), 1.5-1.9 (m, 9H), 2.4 (m, 3H), 2.6 (m, 2H), 3.5 (d, 2H), 4.6 (s, 2H), 4.75 (m, 1H), 5.85 (bs, 1H), 6.25 (d, 1H), 7.05 (bs, 1H), 7.1 (d, 1H), 7.3-7.4 (m, 5H).  
LRMS m/z (ESI) 441 [MH]<sup>+</sup>

[0550]

[0551] 제조법 11

[0552] 8'-클로로-5'-{[트랜스-3-(히드록시메틸)시클로부틸]옥시}-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴니졸린]-2'(3'H)-온



[0553]

[0554] 디클로로메탄(15ml) 중의 2M 보론 트리클로라이드-디메틸 설파이드 복합체 용액을 디클로로메탄(80ml) 중의 제조법 10의 벤질 에테르 용액(3.5g, 7.9mmol)에 적가하고, 그 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 나트륨 히드로젠 카보네이트 포화 수용액(200ml)에 붓고, 거품이 없어질 때까지 교반하였다. 상기 혼합물을 디클로로메탄(1×200ml, 2×100ml)으로 추출하고, 염수(50ml)로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켰다. 조 물질을 아세토니트릴로부터 재결정화시켜, 트랜스:시스 산물이 91:9 비율인 표제 화합물을 얻었다(2.33g, 6.65mmol, 84%).

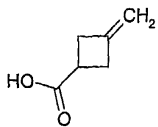
[0554]

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.3 (m, 1H), 1.5 (m, 2H), 1.8 (m, 5H), 2.4 (m, 4H), 2.6 (m, 3H), 3.8 (d, 2H), 4.8 (m, 1H), 5.7 (bs, 1H), 6.25 (d, 1H), 7.0 (bs, 1H), 7.1 (d, 1H).

[0555] LRMS m/z (ESI) 351 [MH]<sup>+</sup>

[0556] 제조법 12

[0557] 3-메틸렌시클로부탄카르복실산



[0558]

[0559] 칼륨 히드록사이드(17.37g, 214.7mmol)를 수중(20ml)에 용해시키고, 에탄올(20ml)을 가하였다. 차가울 때 이 용액을 3-메틸렌-시클로부탄카르보닐트릴(5.0g, 53.7mmol)에 가하고, 생성된 용액을 2.5 시간 동안 가열 환류시킨 후, 냉각되게 하고, 진공 중에서 크럼형 고체로 증발시켰다. 상기 고체를 물(15ml)에 용해시키고, 얼음 배치 내에서 냉각시키고, 농축 HCl을 pH 1까지 가하고, 디에틸 에테르(3×20ml)로 추출하였다. 에테르성 추출물을 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 진공 중에서 증발시켜, 옅은 황색 액체로서 표제 화합물을 얻었다(5.6g, 93%).

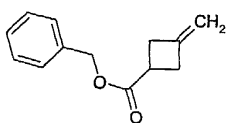
[0559]

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 2.95 (m, 2H), 3.02 (m, 2H), 3.17 (m, 1H), 4.82 (m, 2H) (1 교환 가능한 양성자는 관찰되지 않음).

[0560]

[0561] 제조법 13

[0562] 3-메틸렌시클로부탄카르복실산 벤질 에스테르



[0563]

[0564] 에틸 아세테이트(5ml) 중의 1,1'-카르보닐디이미다졸(1.59g, 9.81mmol) 현탁액을 에틸 아세테이트(5ml) 중의 제조법 12 산물의 용액(1g, 8.9 mmol)에 일부 가하였다. 부드러운 거품이 관찰되었다. 그 혼합물을 실온에서 약 1.5시간 동안 교반하고, 벤질 알코올(1.11ml, 10.7mmol)을 가하여 밤새도록 계속해서 교반하였다. 상기 용액을

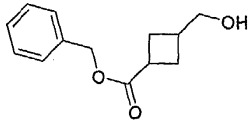
[0564]

디에틸 에테르(20ml)로 희석시키고, 물로 세정하고(2×10ml), 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 진공 중에서 무색의 액체로 증발시켰고, 상기 무색 액체를 10g SiO<sub>2</sub>를 통한 여과, 디클로로메탄에 의한 용출로 정제하여, 무색 오일로서 표제 화합물을 얻었다(1.246g, 69%).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 2.92 (m, 2H), 3.02 (m, 2H), 3.16 (m, 2H), 4.80 (m, 2H), 5.15 (s, 2H), 7.36 (m, 5H).  
LRMS m/z (ESI) 203 [MH]<sup>+</sup>

[0565] 제조법 14

[0566] 3-(히드록시메틸)시클로부탄 카르복실산 벤질 에스테르

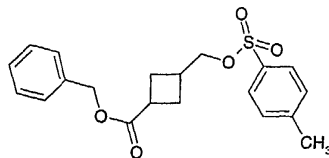


[0567] 보란-디메틸 설페이드(0.07ml, 0.72mmol)를 THF(1ml)로 희석시키고, THF(1ml) 중의 제조법 13 화합물의 교반 용액(300mg, 1.48mmol)에 실온에서 적가하였다. 무색의 용액을 실온에서 1시간 동안 교반한 후, 수증(1ml)의 나트륨 퍼보레이트 용액(145mg, 1.78mmol)을 거품이 제어되는 속도로 적가하였다. 첨가가 완료되면, 상기 혼합물을 1,4-디옥산(1ml)으로 희석하고, 생성된 용액을 60℃에서 1시간 동안 가온하고, 물(5ml)을 가하여 켄칭하고, 에틸 아세테이트(10ml)로 추출하였다. 에틸 아세테이트 추출물을 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 진공 중에서 증발시켜, 다음 단계에 사용할 것으로서 무색 오일을 얻었다(226mg, 69%).

[0568] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 2.05 (m, 2H), 2.33 (m, 2H), 2.45 (m, 1H), 3.11 (m, 1H), 3.62 (dd, 2H), 5.13 (d, 2H), 7.35 (m, 5H).

[0569] 제조법 15

[0570] 3-(p-톨루엔설포닐옥시메틸)시클로부탄-1-카르복실산 벤질 에스테르

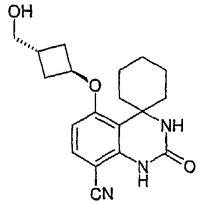


[0571] 디클로로메탄(2ml) 중의 p-톨루엔설포닐 클로라이드(309mg, 1.62mmol) 용액을 제조법 14의 화합물(275mg, 1.25mmol) 및 피리딘(0.26ml, 3.25mmol) 교반 용액에 실온에서 적가하고, 교반을 3일 동안 계속하였다. 상기 혼합물을 디클로로메탄(20ml)과 물(2×20ml) 사이에 분획시키고, 디클로로메탄 추출물을 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 진공 중에서 무색 오일로 증발시켰고, 상기 무색 오일을 디클로로메탄 내지 1:1 디에틸 에테르:디클로로메탄으로 용출하는 실리카겔 상에서의 컬럼 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 표제 화합물을 얻었다(226mg, 48%).

[0572] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 2.02 (m, 2H), 2.25-2.41 (m, 2H), 2.44 (s, 3H), 2.55-2.75 (m, 1H), 3.07(m, 1H), 4.00 (2xd, 2H), 5.10 (d, 2H), 7.34 (m, 7H), 7.78 (m, 2H).

[0573] 제조법 16

[0574] 5'-{[트랜스-3-(히드록시메틸)시클로부탄]옥시}-2'-옥소-2',3'-디히드로-1'H-스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-8'-카르보닐트릴



[0578]

[0579] 나트륨 시아나이드(27.9mg, 0.57mmol), 이어서 니켈 브로마이드(62.3mg, 0.285mmol)를 N-메틸피롤리디논(1.5ml) 중의 제조법 11 화합물의 현탁액에 가하고, 그 반응 혼합물을 마이크로파 반응기 내에서 10분 동안 200℃로 가열하였다. 상기 혼합물을 디에틸 에테르(2×20ml)와 물(10ml) 사이에 분획시키고, 합한 유기 추출물을 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 진공 중에서 농축시켜, 옅은 오렌지색/적색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(27.8mg).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.4-1.85 (m, 9H), 2.3-2.7 (m, 6H), 3.73 (d, 2H), 4.83 (m, 1H), 5.60 (s, 1H), 6.33 (d, 1H), 6.98 (s, 1H), 7.36 (d, 1H).

[0580]

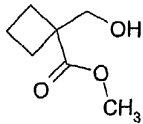
LC-MS: 체류 시간 = 2.54 분 (100%), LRMS m/z 342 [MH<sup>+</sup>]

[0581]

제조법 17

[0582]

1-(히드록시메틸)-시클로부탄카르복실산 메틸 에스테르



[0583]

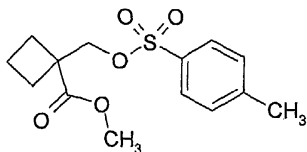
[0584] 테트라히드로푸란(20ml) 중의 1,1-시클로부탄디카르복실산 디메틸 에스테르(Lancaster Synthesis Ltd, UK사제)(2.0g, 11.6mmol) 용액에, 실온에서 리튬 트리-tert-부톡시알루미늄 히드라이드(테트라히드로푸란 중 1M 용액의 25.5ml, 25.5mmol)를 10분에 걸쳐 적가하였다. 그 반응 혼합물을 3시간 동안 부드럽게 가열 환류하고, 실온까지 냉각시키고, 18시간 동안 교반하였다. 생성된 현탁액을 포화 수성 암모늄 클로라이드(30ml)로 희석시키고, 15분 동안 강하게 교반한 후, 여과하였다. 고체를 디에틸 에테르(50ml)로 세정하고, 유기층을 분리시키고, 수성층을 디에틸 에테르(50ml)로 추출하였다. 합한 유기 추출물을 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 중에서 증발시켜, 무색 오일로서 표제 화합물을 얻었다(1.8g).

[0585]

제조법 18

[0586]

1-(p-톨루엔설포닐옥시메틸)-시클로부탄카르복실산 메틸 에스테르



[0587]

[0588] 디클로로메탄(5ml) 중의 제조법 17의 조 화합물 용액(1.6g, 11.0mmol)에, p-톨루엔설포닐 클로라이드(4.2g, 22.0mmol), 이어서 피리딘(2.7ml, 33.0mmol)을 가하고, 그 용액을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 디클로로메탄(30ml)으로 희석한 후, 2N 수성 HCl(2×25ml), 포화 수성 나트륨 바이카보네이트(50ml)로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 진공 중에서 증발시켰다. 조 오렌지색 오일(5g)을 에틸 아세테이트:헨탄(1:5)으로 용출하는 실리카겔 상에서의 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여, 무색 오일로서 표제 화합물을 얻었다(1.7g, 5.7mmol, 49%).

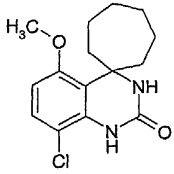
[0589]

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.96 (m, 4H), 2.40 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 4.24 (s, 2H), 7.35 (d, 2H), 7.79 (d, 2H).

[0590]

제조법 19

[0591] 8'-클로로-5'-메톡시-1'H-스피로[시클로헵탈-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온



[0592]

[0593] 시클로헵타논(60ml, 0.51mol) 중의 2-클로로-5-메톡시페닐우레아(WO 02/074754, 중간체 5)(17.9g, 89.5mmol)을 폴리인산(213g)에 100℃에서 20분에 걸쳐 적가하고(127℃까지의 발열(exotherm)이 기록됨), 1시간 동안 가열하였다. 교반하면서 그 혼합물을 물(3 리터) 및 에틸 아세테이트(1 리터)에 부었다. 생성된 고체를 여과하여 수집하고, 에틸 아세테이트로 잘 세정하고, 건조시켰다. 건조된 고체를 클로로포름 중에 용해시키고, 수성 나트륨 바이카보네이트로 세정하고, 나트륨 설페이트 상에서 건조시키고, 진공 중에서 농축시켜, 백색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(10.2g, 34mmol, 39%).

[0594] 이상(biphasic) 여과물을 분리시키고, 에틸 아세테이트 상을 물 및 염수로 세정하고, 나트륨 설페이트 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 t-부틸 메틸 에테르로 연화처리하고, 생성된 백색 고체를 여과하여 수집하고, 추가로 t-부틸 메틸 에테르로 세정하고, 건조시켜, 표제 화합물 두 번째 일부를 얻었다(9.0g, 30.6mmol, 34%).

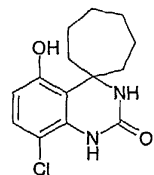
<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.53-1.84 (컴플렉스 10H), 2.46 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 5.33 (br, 1H), 6.46 (d, 1H), 7.03 (br, 1H), 7.18 (d, 1H).

LRMS m/z 295 [M+H]<sup>+</sup>

[0595]

[0596] 제조법 20

[0597] 8'-클로로-5'-히드록시-1'H-스피로[시클로헵탈-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온



[0598]

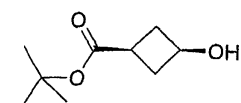
[0599] 디클로로메탄(500ml) 중의 제조법 19 화합물 용액(19.0g, 64.6mmol)에 디클로로메탄 중의 보론 트리브로마이드 1M 용액(129ml, 129mmol)을 가하고, 그 혼합물을 3일 동안 실온에서 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 물(1.5 리터) 및 에틸 아세테이트(1 리터)에 따라부었다. 백색 고체를 여과하여 수집하고, 상을 분리시키고, 유기 상을 나트륨 설페이트 상에서 건조시키고, 진공 중에서 농축시켜, 갈색 고체를 얻었다. 여과된 백색 고체를 에탄올로부터 재결정화하여 표제 화합물을 얻었다(7.4g, 26.4mmol, 41%). 재결정화로부터의 모액(mother liquor)을 갈색 고체와 조합하고, 그 혼합물을 에탄올 중에서 교반하고, 여과하고, 건조시켜, 두 번째 배치의 산물을 얻었다(7.0g, 25mmol, 39%).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): δ 1.38-1.78 (컴플렉스, 10H), 2.26 (m, 2H), 6.40 (d, 1H), 7.02 (d, 1H), 7.20 (br, 1H), 7.80 (br, 1H), 9.84 (br, 1H).

[0600]

[0601] 제조법 21

[0602] 시스-3-히드록시시클로부탄카르복실산 tert-부틸 에스테르



[0603]

[0604] 방법 A

[0605] tert-부틸 3-옥소시클로부탄카르복실산(J. Org. Chem.(1993) 58, 110), (3.10g, 18.2mmol)을 테트라히드로푸란:메탄올(20:1, 30ml) 중에 용해시키고, 질소 하에서 5℃까지 냉각시켰다. 나트륨 보로히드라

이드(345mg)를 일부씩 나누어 가하고, 생성된 맑은 용액을 5°C에서 15분 동안 교반한 후, 물(135ml), 이어서 에틸 아세테이트(135ml)를 적가하여 희석시켰다. 수성상을 분리시키고, 에틸 아세테이트(2×25ml)로 세정하였다. 합한 유기상을 염수(20ml)로 세정하고, 마그네슘 설페이트 상에서 건조시키고, 진공 중에서 농축시켜, 약간 황색인 오일로서 표제 화합물을 얻었다(3.05g, 17.7mmol, 97%).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.46 (s, 9H), 2.12 (m, 2H), 2.55 (m, 3H), 4.17 (m, 1H).

GC 분석 (아세트니트릴 중의 샘플): 체류 시간 4.57분 (91.5% 면적).

[0606]

방법 B

[0607]

3-옥소시클로부탄카르복실산(문헌 [J. Org. Chem.(1993) 58, 110]), (10.0g, 88mmol)을 디클로로메탄(20ml) 중 에 용해시키고, 5°C까지 냉각시켰다. 4-디메틸아미노피리딘(8.6g, 70mmol)을 일부씩 나누어 가한 후, tert-부탄올(13.0g, 176mmol)을 한번에 가하였다. 온도를 0°C 내지 5°C로 유지하면서, 디클로로메탄 중의 N,N'-디시클로헥실카르보디이미드 1M 용액(96ml, 96mmol)을 적가하였다. 생성된 슬러리를 실온까지 가온하고, 밤새도록 교반하였다. 여과 후, 여과물을 2M 염산(50ml)에 5°C에서 적가하였다. 생성된 상을 분리시키고, 저층 유기층이 실온까지 가온되게 한 후, 물(50ml) 및 포화 나트륨 바이카보네이트 용액(50ml)으로 세정하였다. 저층 유기상을 증류에 의해 농축시키고, 용매를 테트라히드로푸란으로 교환하였다. 최종 반응 부피는 30ml였다. 메탄올(6ml)을 가하였다. 한편, 나트륨 보로히드라이드(1.65g, 44mmol)를 테트라히드로푸란(39ml) 중에 현탁시키고, 5°C까지 냉각시켰다. 온도를 0°C 내지 5°C로 유지하면서 중간체 테트라히드로푸란 용액을 나트륨 보로히드라이드 슬러리에 적가하였다. 이어서, 0-5°C에서 2시간 동안 반응을 교반하였다. 온도를 0°C 내지 5°C로 유지하면서 물을 적가하였다. 에틸 아세테이트(75ml)를 가하고, 상을 분리시켰다. 저층 수성층을 실온까지 가온되게 하고, 에틸 아세테이트(37ml)로 세정하였다. 합한 유기층을 농축시키고, 염수(37ml), 이어서 물(37ml)로 더 세정하였다. 상층 유기층을 진공 하에서 뽑아내어, 황색 오일로서 표제 화합물을 얻었다(10.1g, 58.6mmol, 67%).

[0608]

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 1.46 (s, 9H), 2.12 (m, 2H), 2.55 (m, 3H), 4.17 (m, 1H).

GC 분석 : 체류 시간 9.02분 (시스 이성질체) (87.5% 면적), 체류 시간 9.07분 (트랜스 이성질체) (10.0% 면적)

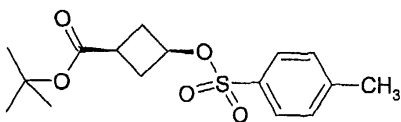
[0609]

제조법 22

[0610]

3-(p-톨루엔설포닐옥시)-시클로부탄카르복실산 tert-부틸 에스테르

[0611]



[0612]

방법 A

[0613]

제조법 21의 화합물(3.02g, 17.35mmol)을 피리딘(15ml) 중에 용해시키고, 질소 하에서 0°C까지 냉각시켰다. p-톨루엔설포닐 클로라이드(3.5g, 18.4mmol)를 한번에 가하고, 그 용액을 실온에서 72시간 동안 교반하였다. 백색 현탁 물질을 함유한 생성된 분홍색 용액을 진공 중에서 농축시키고, 2N 수성 HCl(30ml)과 에틸 아세테이트(30ml) 사이에 분획시키고, 수성층을 다시 에틸 아세테이트(15ml)로 세정하였다. 합한 유기층을 2N 수성 HCl(15ml), 포화 수성 나트륨 바이카보네이트(15ml) 및 염수(30ml)로 세정하고, 진공 중에서 건조 농축시켜, 정지시에 고체화되는 오렌지색 오일로서 표제 화합물을 얻었다(5.15g, 15.7mmol, 90%).

[0614]

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.43 (s, 9H), 2.32-2.57 (컴플렉스, 5H), 2.46 (s, 3H), 4.73 (m, 1H), 7.35 (d, 2H), 7.79 (d, 2H).

LC-MS: 시스 이성질체 체류 시간 21.78분 (81%), LRMS (ESI) m/z 327

[MH<sup>+</sup>], 트랜스 이성질체 체류 시간 22.08분 (7.3%), LRMS (ESI) m/z 327 [MH<sup>+</sup>].

[0615]

방법 B

[0616]



[0617] 제조법 21의 화합물(10.0, 58mmol)을 피리딘(25ml) 중에 용해시키고, 질소 하에서 0℃까지 냉각시켰다. p-톨루엔설포닐 클로라이드(16.6g, 87mmol)를 피리딘(25ml) 중에 용해시키고, 온도를 0℃ 내지 5℃로 유지하면서 적가하였다. 이어서, 그 반응이 실온까지 가온되게 하고, 밤새도록 교반하였다.

[0618] 상기 반응을 고체로 농축시키고, 에틸 아세테이트(50ml) 중에서 슬러리화시켰다. 상기 슬러리를 0-5℃까지 냉각시키고, 2M 염산(75ml)으로 세정하고, 상을 분리시켰다. 저층 수성상을 에틸 아세테이트(50ml)로 역추출하였다. 합한 유기상을 물(50ml) 및 나트륨 히드로젠 카보네이트 용액(50ml)으로 세정하였다. 상기 유기상을 농축시키고, 0℃-5℃까지 냉각시켰다. N,N-디메틸에틸렌디아민(3.5g, 40mmol)을 적가하였다. 상기 반응 혼합물을 2M 염산(75ml)으로 세정하였다. 상층 유기상을 물(75ml) 및 염수(75ml)로 세정하였다. 상기 유기상을 옅은 황색 오일로 농축시켰고, 그 오일은 정치시에 결정화된다(15.5g, 47mmol, 82%).

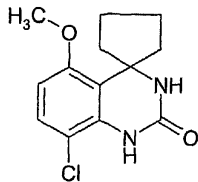
<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.43 (s, 9H), 2.32-2.57 (컴플렉스, 5H), 2.46 (s, 3H), 4.73 (m, 1H), 7.35 (d, 2H), 7.79 (d, 2H).

GC 분석 : 체류 시간 15.98 분 (시스 이성질체) (94.1% 면적), 체류 시간 15.82 분 (트랜스 이성질체) (5.9% 면적)

[0619]

[0620] 제조법 23

[0621] 8'-클로로-5'-메톡시-1'H-스피로[시클로펜탄-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온



[0622]

[0623] 2-클로로-5-메톡시페닐우레아(WO 02/074754, 중간체 5)(22.04g, 0.11mol)에 이튼 시약(메탄술폰산 중의 인(V) 옥사이드 7.7중량% 용액)(440.8ml), 이어서 시클로펜타논(19.5ml, 0.22mol)을 가하고, 생성된 용액을 85℃에서 4시간 동안 가열하였다. 상기 반응을 대략 5℃까지 냉각시키고, 온도를 20 내지 30℃로 유지하면서 물을 조심스럽게 가하였다. 디클로로메탄(총 400ml) 및 염수(200ml)를 가한 후, 상을 분리시켰다. 수성상을 디클로로메탄(2×100ml)으로 세정하고, 유기 추출물을 합하고, 진공 중에서 증발시켜, 짙은색 오일을 얻었고, 이 짙은색 오일을 디클로로메탄:메탄올(95:5 내지 90:10)로 용출하는 실리카 크로마토그래피 컬럼 상에서 정제하여, 짙은 갈색 고체로서 산물을 얻었다. 상기 고체를 디에틸 에테르 및 펜탄으로 연화처리하고, 여과하여 수집하고, 건조하여, 갈색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(27.17g, 0.1mol, 92%).

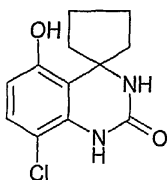
<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.7-1.8 (m, 6H), 2.4-2.5 (m, 2H), 3.7 (s, 3H), 5.75 (br s, 1H), 6.4 (d, 1H), 7.05 (s, 1H), 7.15 (d, 1H).

LRMS m/z (APCI) 267 [M+H]<sup>+</sup>

[0624]

[0625] 제조법 24

[0626] 8'-클로로-5'-히드록시-1'H-스피로[시클로펜탄-1,4'-퀴나졸린]-2'(3'H)-온



[0627]

[0628] 제조법 23의 화합물(25g, 0.093mol)에 아세트산(250ml), 이어서 48% 수성 히드로브롬산(207ml, 1.86mol)을 한 번에 가하고, 생성된 용액을 115℃에서 7일간 교반하였다. 반응 혼합물을 100℃까지 냉각시키고, 물(207ml)을 적가하였다. 상기 혼합물을 진공 중에서 농축하여 갈색 고체를 침전시켰고, 이것을 여과하여 수집하고, 물로 세정하였다(2×100ml). 정치 여과물로부터 산물의 두 번째 일부를 얻었다. 산물의 합한 일부를 톨루엔(150ml)에 의해 슬러리로 건조시키고, 용매를 진공 중에서 3회 제거하여 회색 고체를 얻었고, 이것은 실리카 상에

이전에 흡수된 것이며, 디클로로메탄:메탄올(98:2 내지 95:5 내지 80:20)로 용출하는 컬럼 크로마토그래피에 의해 정제된다. 산물 분획을 진공 중에서 농축시키고, 생성된 고체를 펜탄으로 연화처리한 후, 여과하여, 갈색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(10g, 0.0395mol, 42%).

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, D<sub>6</sub>-DMSO) δ 1.6-1.8 (m, 6H), 2.3-2.4 (m, 2H), 6.4 (d, 1H), 7.11 (d, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.8 (s, 1H), 9.9 (s, 1H).

LRMS m/z (ESI) 253 [M+H]<sup>+</sup>

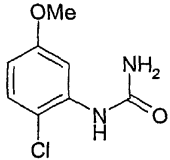
[0629]

[0630]

제조법 25

[0631]

(2-클로로-5-메톡시페닐)우레아



[0632]

[0633]

2-클로로-5-메톡시아닐린 히드록로라이드(26g, 134mmol)를 아세트산(117ml) 및 물(13ml)에 가하였다. 슬러리를 30℃까지 가온하였다. 수중(104 ml)의 칼륨 시아네이트 용액(13g, 161 mmol)을 적가하였다. 40℃에서의 1 시간 후, 상기 반응을 20℃까지 냉각시키고, 여과하고, 물(78ml)로 세정하였다. 산물을 진공 중 60℃에서 밤새도록 건조시켜, 백색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(21.8g, 81%).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): d 3.71 (s, 3H), 6.41 (s, 2H), 6.53 (d, 1H), 7.26 (d, 1H), 7.85 (s,1H), 7.98 (s, 1H).

LC-MS (ESI): 10.9 분 99.4 (%), m/z 201 [MH]<sup>+</sup>

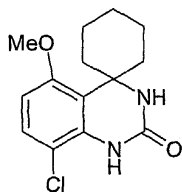
[0634]

[0635]

제조법 26

[0636]

8'-클로로-5'-메톡시스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-2'(1'H)-온



[0637]

[0638]

제조법 25 화합물(5.0g, 25 mmol)을 이튼 시약(메탄술폰산 중의 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 7% w/w 용액)(150g)에 가하여 용액을 만들고, 이를 60℃까지 가열하였다. 시클로헥사논(4.9g, 50mmol)을 10분에 걸쳐 가하고, 그 반응을 80℃까지 가온한 후, 그 온도에서 1시간 동안 유지시켰다. 상기 반응 혼합물을 5℃까지 냉각시킨 후, 물을 가하였다(150ml). 상기 반응 혼합물을 디클로로메탄(100ml)으로 추출하고, 상층 수성상을 디클로로메탄(2×10 ml)으로 세정하였다. 합한 유기상을 농축시키고, 2-프로판올(110ml)을 가하였다. 상기 반응 혼합물을 대기압에서 더 농축시켜, 잔류하는 디클로로메탄을 제거하였다. 상기 반응을 냉각시켜, 5℃에서 1시간 동안 교반한 산물을 결정화하였다. 산물을 여과하여 수집하고, 2-프로판올(15ml)로 세정하고, 50℃에서 18시간 동안 건조시켜, 백색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(5.2g, 19mmol, 76%).

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, D<sub>6</sub>-DMSO): d 1.2 (m, 1H), 1.4 (m, 2H), 1.5 (m, 1H), 1.6 (m, 2H), 1.7 (m, 1H), 1.8 (m,1H), 2.4 (t, 2H), 3.79 (s, 3H), 6.64 (d, 1H), 6.97 (s, 1H), 7.26 (d,1H), 7.91 (s, 1H).

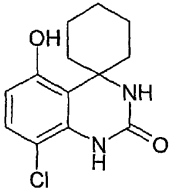
LC-MS (ESI): 18.5 분 97.4 (%), m/z 281 [MH]<sup>+</sup>

[0639]

[0640]

제조법 27

[0641] 8'-클로로-5'-히드록시스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-2'(1'H)-온



[0642]

[0643] 단계 (a)

[0644] 8'-클로로-5'-히드록시스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-2'(1'H)-온

[0645] 아세트산 용매화물

[0646] 제조법 26 화합물(350g, 1.24mol)을 아세트산(3500ml) 중에서 슬러리화하였다. 실온에서 히드로브롬산(수중 48 % w/w)(2800ml, 24.8mol)을 상기 슬러리에 가하였다. 상기 슬러리를 가온 환류한 후, 4일 동안 교반하였다. 상기 반응을 100℃까지 냉각시키고, 물(2800ml)을 1시간에 걸쳐 적가하였다. 상기 슬러리를 10℃까지 냉각시키고, 1시간 동안 교반한 후, 여과하고, 물(1100ml)로 세정하고, 진공 오븐 내에서 밤새 건조시켜, 백색 고체로서 표제 화합물을 얻었다(344g, 1.28mol, 103%).

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO, 300MHz): δ 1.2 (m, 1H), 1.4 (m, 2H), 1.5 (m, 1H), 1.6 (m, 2H), 1.7 (m, 1H), 1.8 (m, 1H), 1.9 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COOH), 2.4 (t, 2H), 6.45 (d, 1H), 6.95 (s, 1H), 7.1 (d, 1H), 7.75 (s, 1H), 9.9 (s, 1H, CH<sub>3</sub>COOH).

[0647] LC-MS (ESI): 14.2, 분 99.1 (%), m/z 267 [MH<sup>+</sup>].

[0648] 단계 (b)

[0649] 8'-클로로-5'-히드록시스피로[시클로헥산-1,4'-퀴나졸린]-2'(1'H)-온

[0650] 단계 (a)의 아세트산 용매화물(330g, 1.24mol)을 실온에서 6시간 동안 아세톤(730ml) 중에서 슬러리화시켰다. 그 산물을 여과하여 수집한 후, 아세톤(330ml)으로 세정하고, 18시간 동안 60℃에서 건조시켜, 백색 고체로서 탈용매화 표제 화합물을 얻었다(238g, 0.89mol, 72%).

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO, 300MHz): δ 1.2 (m, 1H), 1.4 (m, 2H), 1.5 (m, 1H), 1.6 (m, 2H), 1.7 (m, 1H), 1.8 (m, 1H), 2.4 (t, 2H), 6.45 (d, 1H), 6.95 (s, 1H), 7.1 (d, 1H), 7.75 (s, 1H).

[0651]

**도면의 간단한 설명**

[0025] 도 1은 1mg/kg 정맥 투여에 따른 본 발명의 실시예 1 및 2 화합물과, W002/074754의 실시예 75 화합물(화합물 A)의 평균, 부피 보정, 약물 동태학적 추이를 나타내는 농도/시간 그래프이다.

[0026] 도 2는 실시예 2 화합물의 아세트산 용매화물에 대해 측정(A) 및 모의 실험(B)한 패턴에 대한 분말 X-선 회절 (PXRD) 플롯을 나타낸다.

[0027] 도 3은 열중량 분석(TGA)을 이용한, 실시예 2 화합물의 아세트산 용매화물 가열시의 질량 손실 플롯이다(15.05 % 질량 손실은 아세트산 1몰 당량에 해당함).

[0028] 도 4는 실시예 2 화합물의 실리콘-도핑 탈용매화 형태(형태 A)(A), 및 TGA 분석 전(B)과 후(C)의 이 화합물의 아세트산 용매화물에 대한 PXRD 패턴을 나타낸다.

[0029] 도 5는 실리콘 표준과 비교하여 수정한, 실시예 2 화합물의 탈용매화 결정 형태(형태 A)의 PXRD 패턴을 나타낸다.

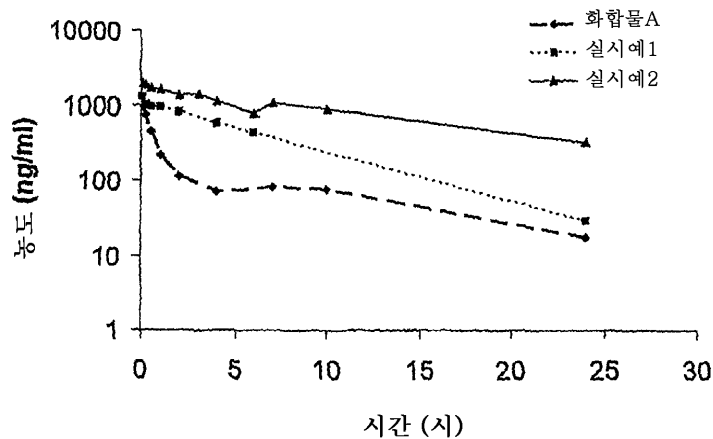
[0030] 도 6은 실시예 2 화합물의 탈용매화 결정 형태(형태 A)에 대한 시차 주사 열계량계(DSC) 자취이다.

[0031] 도 7은 실시예 2 화합물의 탈용매화 결정 형태(형태 A) 및 디메틸아세트아미드(DMAC)(B), 피리딘(C), 테트라히드로푸란(THF)(D), 디메틸설폭사이드(DMSO)(E) 및 아세트산(F) 용매화물에 대한 PXRD 플롯을 나타낸다.

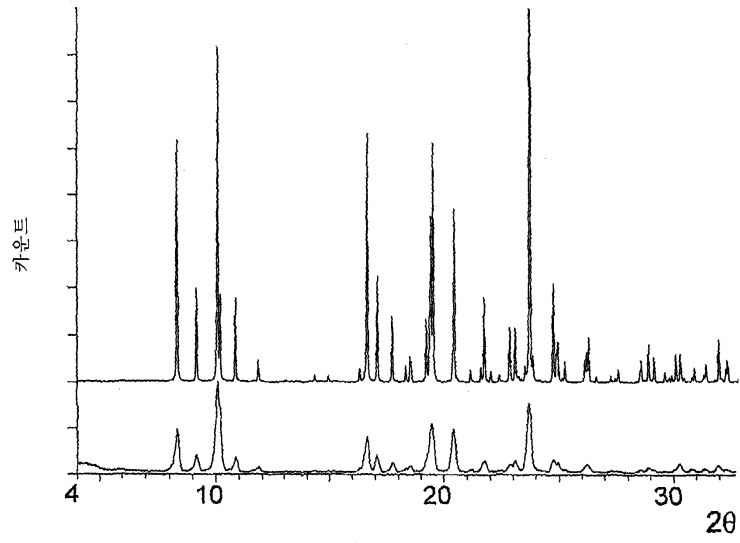
- [0032] 도 8은 실시예 2 화합물의 피리딘 용매화물의 TGA 자취이며, 17.3%의 질량 손실은 화합물에 대한 용매의 1:1 비율에 해당한다.
- [0033] 도 9는 실시예 2 화합물의 테트라히드로푸란 용매화물의 TGA 자취이며, 14.7%의 총 질량 손실은 THF 용매에 대한 화합물의 1:1 비율에 해당한다(가열시 단계적인 용매 손실의 특징은 중간체 반-THF 용매화 형태의 존재를 나타내는 것일 수 있음).
- [0034] 도 10은 실시예 2 화합물의 디메틸아세트아미드 용매화물의 TGA 자취이며, 33.0%의 총 질량 손실은 화합물에 대한 용매의 2:1 비율에 해당한다.
- [0035] 도 11은 실시예 2 화합물의 피리딘 용매화물(A), TGA 이후의 피리딘 용매화물(B) 및 형태 A(C)에 대한 PXRD 패턴을 나타낸다.
- [0036] 도 12는 실시예 2 화합물의 테트라히드로푸란 용매화물(A), TGA 이후의 THF 용매화물(B) 및 형태 A(C)에 대한 PXRD 패턴을 나타낸다.
- [0037] 도 13은 실시예 2 화합물의 디메틸아세트아미드 용매화물(A), TGA 이후의 디메틸아세트아미드 용매화물(B) 및 형태 A(C)에 대한 PXRD 패턴을 나타낸다.
- [0038] 도 14는 실시예 2 화합물의 디메틸술폭시드 용매화물(A), 진공 건조 이후의 DMSO 용매화물(B) 및 형태 A(C)에 대한 PXRD 패턴을 나타낸다.

**도면**

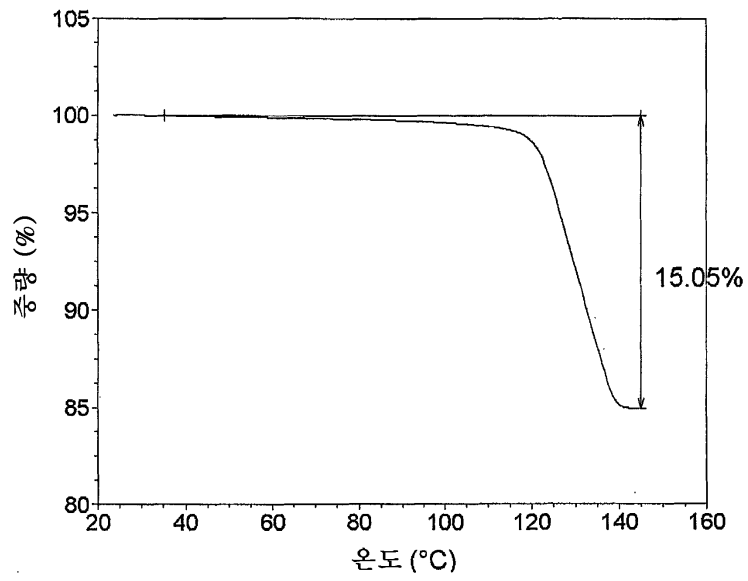
**도면1**



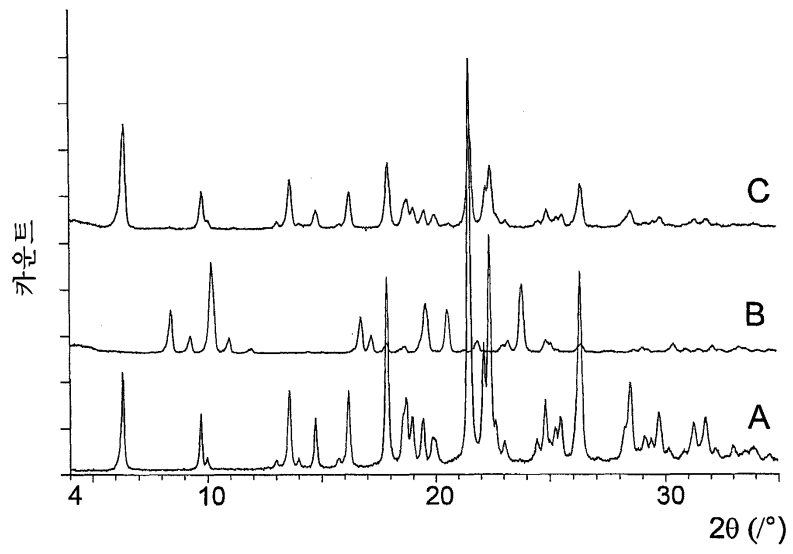
도면2



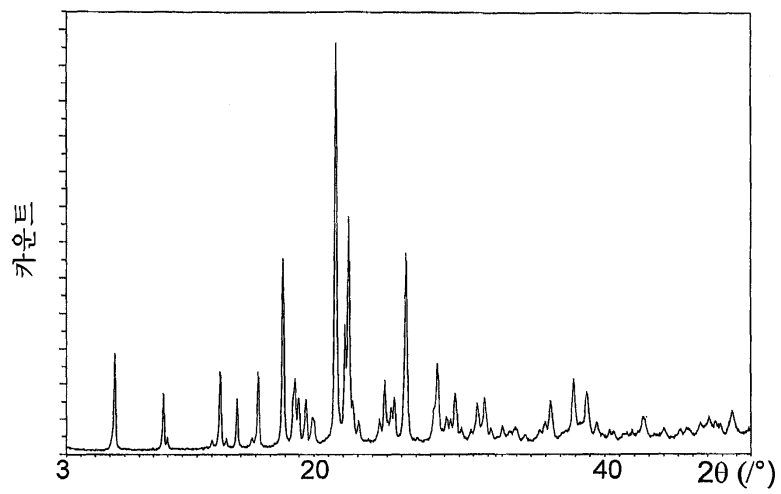
도면3



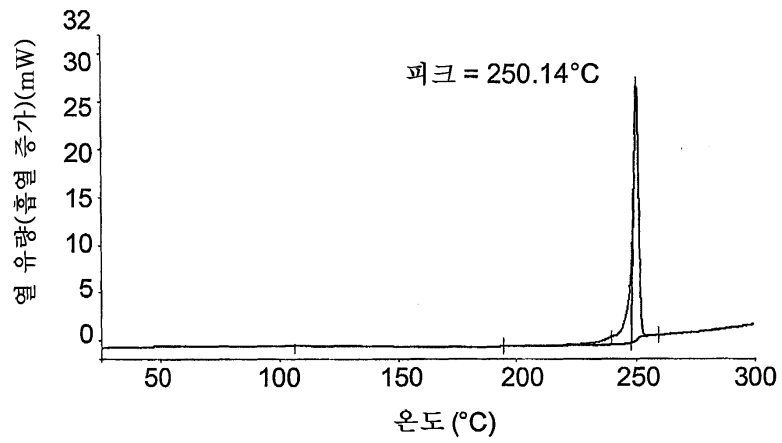
도면4



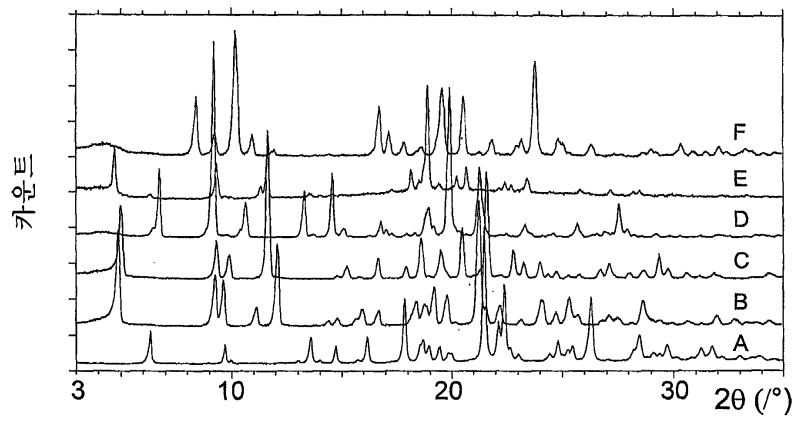
도면5



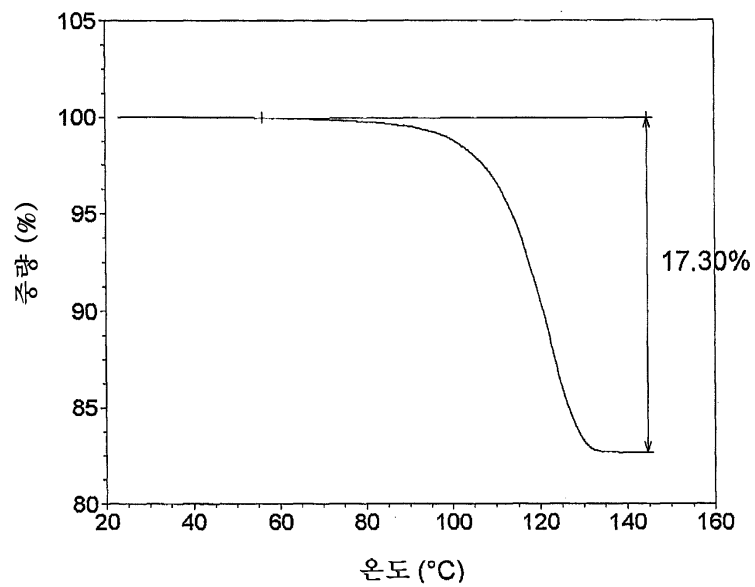
도면6



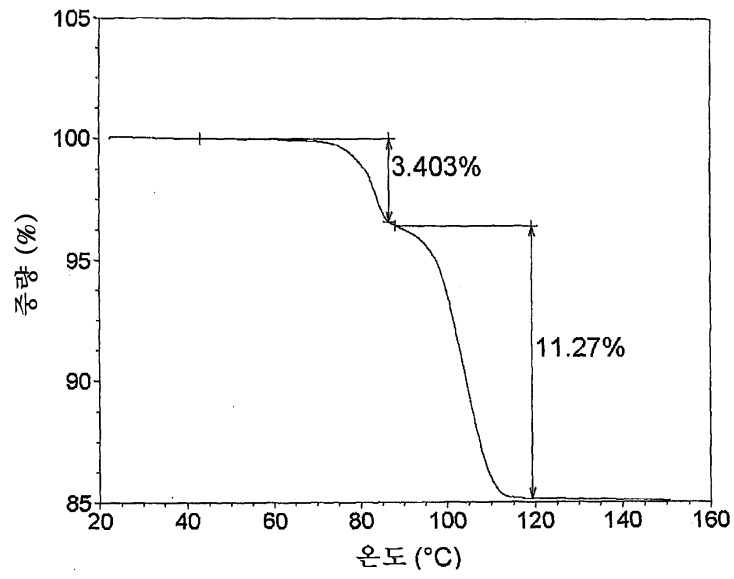
도면7



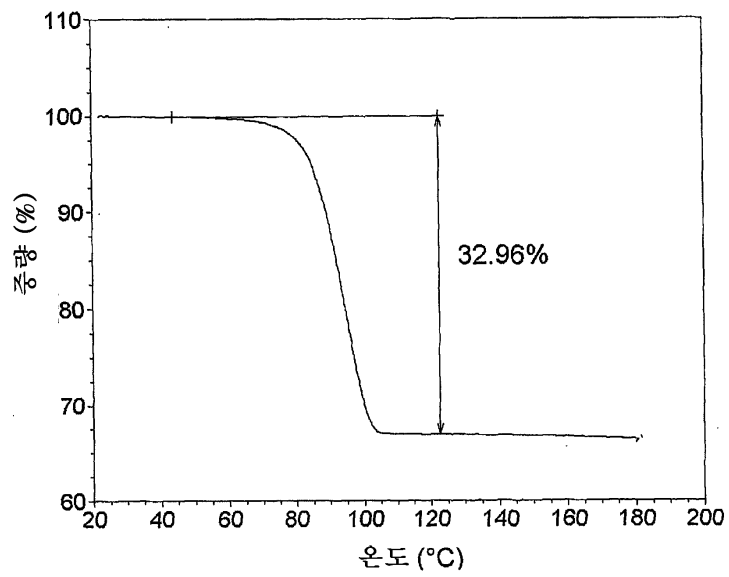
도면8



도면9

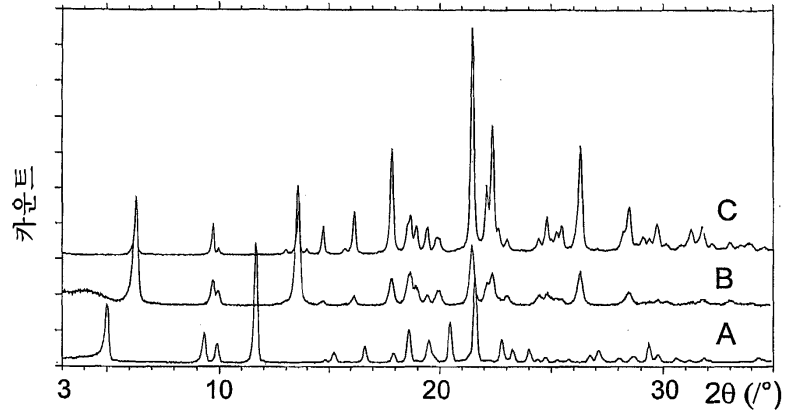


도면10

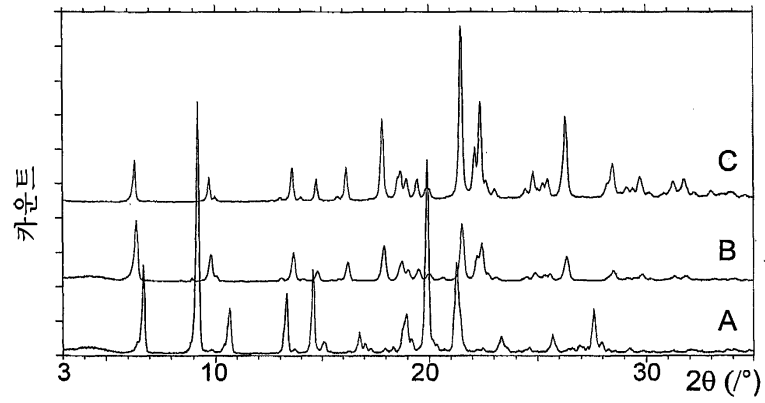




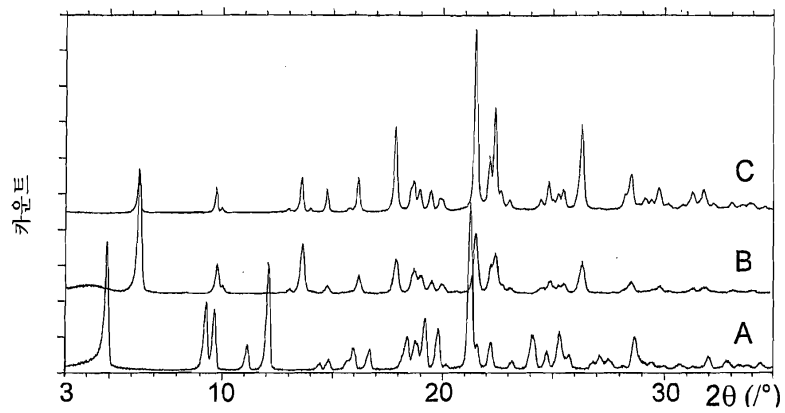
도면11



도면12



도면13



도면14

