



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2019년03월07일  
 (11) 등록번호 10-1955863  
 (24) 등록일자 2019년02월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**C07D 215/233** (2006.01) **A61K 31/4704**  
 (2006.01)  
**C07C 201/08** (2006.01) **C07C 213/02** (2006.01)  
**C07C 229/66** (2006.01) **C07C 68/02** (2006.01)  
**C07C 69/96** (2006.01) **C07D 215/56** (2006.01)  
 (52) CPC특허분류  
**C07D 215/233** (2013.01)  
**A61K 31/4704** (2013.01)  
 (21) 출원번호 **10-2018-7011145(분할)**  
 (22) 출원일자(국제) **2010년03월19일**  
 심사청구일자 **2018년04월19일**  
 (85) 번역문제출일자 **2018년04월19일**  
 (65) 공개번호 **10-2018-0043408**  
 (43) 공개일자 **2018년04월27일**  
 (62) 원출원 **특허 10-2017-7009737**  
 원출원일자(국제) **2010년03월19일**  
 심사청구일자 **2017년04월10일**  
 (86) 국제출원번호 **PCT/US2010/028069**  
 (87) 국제공개번호 **WO 2010/108162**  
 국제공개일자 **2010년09월23일**  
 (30) 우선권주장  
 61/162,148 2009년03월20일 미국(US)  
 (뒷면에 계속)  
 (56) 선행기술조사문헌  
 W02007134279 A2\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
**버텍스 파마슈티칼스 인코포레이티드**  
 미국 매사추세츠주 02210 보스턴 15층 플로어 노  
 던 에비뉴 50  
 (72) 발명자  
**데마테이, 존**  
 미국 92129 캘리포니아주 샌 디에고 클랫슝 레인  
 8521  
**루키, 애덤, 알.**  
 미국 02140 매사추세츠주 캄브릿지 유닛 #3 메사  
 추세츠 에비뉴 1783  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**양영준, 김영**

전체 청구항 수 : 총 26 항

심사관 : 이재정

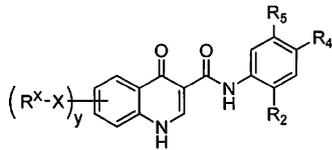
(54) 발명의 명칭 **낭성 섬유증 막횡단 전도도 조절자의 조정자의 제조 방법**

**(57) 요약**

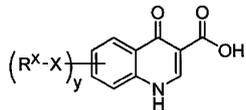
본 발명은 하기 화학식 2의 카르복실산을 커플링제의 존재 하에 하기 화학식 3의 아닐린과 커플링시키는 것을 포  
 (뒷면에 계속)

함하는, 하기 화학식 1의 화합물의 제조 방법을 제공한다.

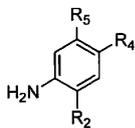
<화학식 1>



<화학식 2>



<화학식 3>



(52) CPC특허분류

- C07C 201/08 (2013.01)
- C07C 213/02 (2013.01)
- C07C 229/66 (2013.01)
- C07C 68/02 (2013.01)
- C07C 69/96 (2013.01)
- C07D 215/56 (2013.01)

(30) 우선권주장

- 61/246,303 2009년09월28일 미국(US)
- 61/248,565 2009년10월05일 미국(US)

(72) 발명자

**뉴버트-광길, 보비안나**

미국 01776 메사추세츠주 서드버리 윌라드 그랜트 로드 9

**트루도우, 마르틴**

캐나다 퀴0에이 4엔0 퀘백주 세논 에비뉴 버흐 38

**로퍼, 슈테파니**

미국 02141 메사추세츠주 캠프릿지 #2 스프링 스트리트 144

**라이언, 마이클, 피.**

미국 02119 메사추세츠주 록스부리 #2 체스터튼 스트리트 12

**엡, 다리카, 밀프레드 라오**

미국 02138 메사추세츠주 캠프릿지 바살 레인 69

**크루거, 브라이언, 알.**

미국 02139 메사추세츠주 캠프릿지 #32 체스트넛 스트리트 2

**그루텐휘스, 피터, 디.제이.**

미국 92130 캘리포니아주 샌 디에고 라이딩 럽지 로드 4801

**벤 고어, 프레데릭, 에프.**

미국 92109 캘리포니아주 샌 디에고 올몬드 코트 832

**보트필드, 마르틴, 씨.**

미국 01742 메사추세츠주 콩코드 윌튼 테라스 47

**츠로카르니크, 그레고르**

미국 92037 캘리포니아주 라 졸라 팔로미노 씨클 2754

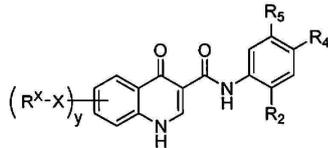
명세서

청구범위

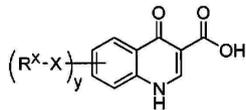
청구항 1

2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 프로판 포스포산 무수물로 이루어진 군으로부터 선택된 커플링제의 존재 하에 하기 화학식 2의 카르복실산을 하기 화학식 3의 아닐린과 커플링시키는 것을 포함하는, 하기 화학식 1의 화합물의 제조 방법.

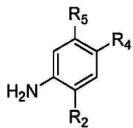
<화학식 1>



<화학식 2>



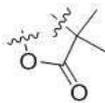
<화학식 3>



상기 식들에서,

각각의 R<sub>2</sub> 및 R<sub>4</sub>는 수소, CN, CF<sub>3</sub>, 할로, C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭은 O, S 또는 N으로부터 선택된 3개 이하의 헤테로원자를 갖고, 각각의 C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭은 -OR', -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, SR', S(O)R', SO<sub>2</sub>R', -SCF<sub>3</sub>, 할로, CN, -COOR', -COR', -O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R'), -O(CH<sub>2</sub>)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OR', -(CH<sub>2</sub>)OR', CH<sub>2</sub>CN, 임의로 치환된 페닐 또는 페녹시, -N(R')(R'), -NR'C(O)OR', -NR'C(O)R', -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R') 또는 -(CH<sub>2</sub>)N(R')(R')로부터 선택된 3개 이하의 치환기로 독립적으로 및 임의로 치환되고;

R<sub>5</sub>는 -OC(O)OR', -OC(O)NHR', 또는 -OC(O)N(R')<sub>2</sub>이며, R'은 수소가 아니고,



또는 R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 함께 모이어티를 형성하며;

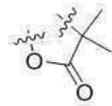
각각의 X는 독립적으로 결합이거나, 또는 임의로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬리덴쇄이고, 여기서 X의 2개 이하의 메틸렌 단위는 -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR'-, -CONR'NR'-, -CO<sub>2</sub>-, -OCO-, -NR'CO<sub>2</sub>-, -O-, -NR'CONR'-, -OCONR'-, -NR'NR', -NR'NR'CO-, -NR'CO-, -S-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -NR'-, -SO<sub>2</sub>NR'-, NR'SO<sub>2</sub>- 또는 -NR'SO<sub>2</sub>NR'-에 의해 임의로 및 독립적으로 대체되고;

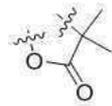
각각의 R<sup>x</sup>는 독립적으로 R', 할로, NO<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub> 또는 OCF<sub>3</sub>이며;

y는 0 내지 4의 정수이고;

각각의 R'는 수소, 또는 C<sub>1-8</sub> 지방족 기, 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 3 내지 8원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 고리, 또는 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 5개의 헤테로원자를 갖는 8 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 비시클릭 고리계로부터 선택된 임의로 치환된 기로부터 독립적으로 선택되거나; 또는 2개 존재의 R'는 이들이 결합되어 있는 원자(들)과 함께, N, O 또는 S로부터 독립적으로 선택된 0 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 또는 비시클릭 고리를 형성한다.

**청구항 2**



제1항에 있어서, -OC(O)OR', -OC(O)NHR', , 또는 -OC(O)N(R')<sub>2</sub> 기를 절단하여 R<sub>5</sub> 치환기로 -OH를 형성하는 것을 추가로 포함하는 방법.

**청구항 3**

제2항에 있어서, 절단은 화학식 1의 화합물을 NaOH, KOH 또는 나트륨 메톡시드의 존재 하에 알콜성 용매로 처리하여 수행하는 방법.

**청구항 4**

제3항에 있어서, 알콜성 용매가 메탄올인 방법.

**청구항 5**

제1항에 있어서, R<sub>4</sub> 또는 R<sub>2</sub> 중 적어도 하나가 독립적으로 -COOR' 또는 -CON(R')<sub>2</sub>로 치환된 C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬이고, 여기서 R'은 수소가 아닌 것인 방법.

**청구항 6**

제5항에 있어서, 각각의 -COOR' 또는 -CON(R')<sub>2</sub> 를 가수분해하여 -COOH를 형성하는 것을 추가로 포함하는 방법.

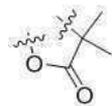
**청구항 7**

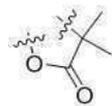
제6항에 있어서, 화학식 1의 화합물을 NaOH, KOH 또는 나트륨 메톡시드의 존재 하에 알콜성 용매로 처리하여 가수분해를 수행하는 것인 방법.

**청구항 8**

제7항에 있어서, 알콜성 용매가 메탄올인 방법.

**청구항 9**



제5항에 있어서, -OC(O)OR', -OC(O)NHR', , 또는 -OC(O)N(R')<sub>2</sub> 기를 절단하여 R<sub>5</sub> 치환기로 -OH를 형성하는 것을 추가로 포함하는 방법.

**청구항 10**

제9항에 있어서, 화학식 1의 화합물을 NaOH, KOH 또는 나트륨 메톡시드의 존재 하에 알콜성 용매로 처리하여 절단을 수행하는 방법.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 알콜성 용매가 메탄올인 방법.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 염기의 존재 하에 커플링을 수행하는 방법.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 염기가  $K_2CO_3$ ,  $Et_3N$ , N-메틸모르폴린(NMM), 피리딘 또는 DIEA인 방법.

**청구항 14**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 용매의 존재 하에 커플링을 수행하는 방법.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 용매가 아세토니트릴인 방법.

**청구항 16**

제14항에 있어서, 용매가 DMF인 방법.

**청구항 17**

제14항에 있어서, 용매가 2-메틸테트라히드로푸란인 방법.

**청구항 18**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 10℃ 내지 78℃ 사이에서 유지되는 반응 온도에서 커플링을 수행하는 방법.

**청구항 19**

제18항에 있어서, 20℃ 내지 30℃ 사이에서 유지되는 반응 온도에서 커플링을 수행하는 방법.

**청구항 20**

제18항에 있어서, 40℃ 내지 50℃ 사이에서 유지되는 반응 온도에서 커플링을 수행하는 방법.

**청구항 21**

제18항에 있어서, 42℃ 내지 53℃ 사이에서 유지되는 반응 온도에서 커플링을 수행하는 방법.

**청구항 22**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 커플링 반응물을 2시간 이상 동안 교반하는 방법.

**청구항 23**

제22항에 있어서, 커플링 반응물을 70시간 이상 동안 교반하는 방법.

**청구항 24**

제22항에 있어서, 커플링 반응물을 3일 이상 동안 교반하는 방법.

**청구항 25**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, y가 0인 방법.

**청구항 26**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, R<sub>2</sub>가 tert-부틸인 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

- [0001] 우선권 주장
- [0002] 본원은 2009년 3월 20일에 출원된 제61/162,148호; 2009년 9월 28일에 출원된 제61/246,303호; 및 2009년 10월 5일에 출원된 제61/248,565호의 3건의 미국 가출원을 우선권 주장한다. 상기 가출원 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 발명의 기술 분야
- [0004] 본 발명은 낭성 섬유증 막횡단 전도도 조절자 ("CFTR")의 조정자의 제조 방법에 관한 것이다.

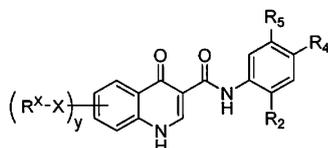
**배경 기술**

- [0005] 낭성 섬유증 (CF)은 미국에서 소아 및 성인 대략 30,000명, 및 유럽에서 소아 및 성인 대략 30,000명이 걸리는 열성 유전 질환이다. CF 치료의 발전에도 불구하고 치유법은 없다.
- [0006] CF는 다양한 조직에서 염 및 물 흡수 및 분비의 조절을 돕는 역할을 하는 상피 염소 이온 채널을 코딩하는 낭성 섬유증 막횡단 전도도 조절자 (CFTR) 유전자의 돌연변이에 의해 유발된다. CFTR 채널 개방의 가능성을 증가시키는 강화제로서 공지된 소분자 약물이 CF 치료를 위한 하나의 잠재적 치료학적 전략을 나타낸다.
- [0007] 구체적으로, CFTR은 흡수 상피 세포 및 분비 상피 세포를 포함하는 다양한 세포 유형에서 발현되는 cAMP/ATP-매개 음이온 채널이며, 이는 막을 가로지르는 음이온 플럭스, 뿐만 아니라 다른 이온 채널 및 단백질의 활성을 조절한다. 상피 세포에서, CFTR의 정상적인 기능수행은 호흡 및 소화 조직을 포함하는 체내 전반에 걸친 전해질 수송의 유지에 중요하다. CFTR은 막횡단 도메인 (각각 6개의 막횡단 나선 함유) 및 뉴클레오티드 결합 도메인의 병렬식 반복부로 이루어진 단백질을 코딩하는 대략 1480개 아미노산으로 이루어진다. 2개의 막횡단 도메인은 채널 활성 및 세포 트래픽킹(trafficking)을 조절하는 다중 인산화 부위를 갖는 커다란 극성 조절 (R)-도메인에 의해 연결된다.
- [0008] CFTR을 코딩하는 유전자가 확인되고 서열분석되었다 (문헌 [Gregory, R. J. et al. (1990) Nature 347:382-386], [Rich, D. P. et al. (1990) Nature 347:358-362], [Riordan, J. R. et al. (1989) Science 245:1066-1073] 참조). 이 유전자에서의 결함은, 인간에서 가장 흔한 치명적인 유전 질환인 낭성 섬유증 ("CF")을 초래하는 CFTR의 돌연변이를 야기한다. 미국에서는 대략 유아 2,500명 당 1명 꼴로 낭성 섬유증에 걸린다. 일반적인 미국 인구 내에서, 최대 1000만명의 사람들이 명백한 병적 효과는 없는 단일 카피의 결함 유전자를 갖는다. 대조적으로, 2개 카피의 CF 관련 유전자를 갖는 개체는 만성 폐 질환을 비롯한 CF의 쇠약하게 하고 치명적인 효과로 고통을 받는다.
- [0009] CF를 갖는 환자에서, 호흡기 상피에서 내인적으로 발현된 CFTR의 돌연변이는 정단 음이온 분비의 감소를 야기하여, 이온 및 유체 수송의 불균형을 초래한다. 이로 인한 음이온 수송의 감소는 폐에서의 점액 축적 및 이에 수반되는 미생물 감염의 증진에 기여하고, 이것은 궁극적으로 CF 환자의 사망을 초래한다. 호흡기 질환 이외에도, CF 환자는 전형적으로 위장 문제 및 체장 기능부전으로 고통을 받고, 치료받지 않으면 사망에 이르게 된다. 또한, 낭성 섬유증을 갖는 남성의 대다수가 불임이고, 낭성 섬유증을 갖는 여성은 생식 능력이 감소된다. 2개 카피의 CF 관련 유전자의 중증 효과와는 대조적으로, 단일 카피의 CF 관련 유전자를 갖는 개체는 콜레라 및 설사로 인한 탈수에 대한 내성 증가를 나타낸다 - 아마도 이로 인해 집단 내 CF 유전자의 빈도가 상대적으로 높다고 여겨진다.
- [0010] CF 염색체의 CFTR 유전자의 서열 분석은 다양한 질환 유발 돌연변이를 밝혀냈다 (문헌 [Cutting, G. R. et al. (1990) Nature 346:366-369], [Dean, M. et al. (1990) Cell 61:863:870] 및 [Kerem, B-S. et al. (1989) Science 245:1073-1080], [Kerem, B-S et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8447-8451]). 현재까지, CF 유전자에서 1000가지를 초과하는 질환 유발 돌연변이가 확인되었다 (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>). 가장 보편적인 돌연변이는 CFTR 아미노산 서열의 위치 508의 페닐알라닌의 결실이고, 통상적으로 ΔF508-CFTR로 지칭된다. 상기 돌연변이는 낭성 섬유증 사례의 대략 70%에서 발생하고, 중증 질환과 관련이 있다.

- [0011] ΔF508-CFTR에서의 잔기 508 결실은 신생 단백질이 올바르게 폴딩하는 것을 방해한다. 이것은 돌연변이 단백질이 ER을 빠져나가지 못하게 하고 원형질 막으로 트래픽킹되지 못하게 한다. 그 결과, 막에 존재하는 채널의 수가 야생형 CFTR을 발현하는 세포에서 관찰되는 것보다 훨씬 더 적다. 트래픽킹 손상 이외에도, 상기 돌연변이는 결합이 있는 채널 게이팅을 야기한다. 전체적으로, 막 내의 채널 개수의 감소 및 결합있는 개폐는 상피를 가로지르는 음이온 수송의 감소를 초래하여, 결합있는 이온 및 유체 수송을 초래한다 (문헌 [Quinton, P. M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727]). 그러나, 연구는 막 내의 감소된 개수의 ΔF508-CFTR이 야생형 CFTR보다 적긴 하지만 기능적임을 보여주었다 (문헌 [Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528], [Denning et al., 상기 문헌], [Pasyk and Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50]). ΔF508-CFTR에 추가하여, 트래픽킹, 합성 및/또는 채널 게이팅에서의 결함을 야기하는 CFTR의 다른 질환 유발 돌연변이가 상향 또는 하향 조절되어 음이온 분비를 변경시키고 질환 진행 및/또는 중증도를 변형시킬 수 있다.
- [0012] CFTR은 음이온 뿐만이 아니라 다양한 분자를 수송하지만, 이러한 역할 (음이온 수송)이 상피를 횡단하여 이온 및 물을 수송하는 중요 메카니즘의 한 요소임은 명백하다. 다른 요소는 클로라이드의 세포로의 흡수에 관여하는 상피 Na<sup>+</sup> 채널, ENaC, Na<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup>/K<sup>+</sup> 공동수송자, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 펌프 및 기저측부 막 K<sup>+</sup> 채널을 포함한다.
- [0013] 이들 요소는 함께 작동하여 이들의 선택적인 발현 및 세포 내 국소화를 통해 상피를 횡단하여 일어나는 방향성 수송을 달성한다. 클로라이드 흡수는 정단막 상에 존재하는 ENaC 및 CFTR, 및 세포의 기저외측 표면 상에 발현된 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 펌프 및 Cl<sup>-</sup> 이온 채널의 공동작용 활성화에 의해 발생한다. 내강 측으로부터의 클로라이드의 2 차 능동 수송은 세포내 클로라이드의 축적을 야기하고, 이것은 이후에 Cl<sup>-</sup> 채널을 통해 세포를 수동적으로 이탈하여 방향적 수송이 일어날 수 있다. 기저측부 표면의 Na<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup>/K<sup>+</sup> 공동수송자, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 펌프 및 기저측부 막 K<sup>+</sup> 채널 및 내강 측 CFTR의 배치는 내강 측의 CFTR을 통한 클로라이드 분비의 균형을 맞춘다. 물은 아마도 그 자체는 능동 수송되지 않기 때문에, 상피를 횡단하여 일어나는 이것의 유동은 나트륨 및 클로라이드의 대량 유동에 의해 발생하는 작은 상피횡단 삼투 구배에 의존한다.
- [0014] 상기 논의된 바와 같이, ΔF508-CFTR의 잔기 508의 결실은 신생 단백질이 올바르게 폴딩하는 것을 방해하여 이러한 돌연변이 단백질이 ER을 빠져나가지 못하게 하고 원형질 막으로 트래픽킹하지 못하게 한다고 여겨진다. 그 결과, 성숙 단백질이 원형질 막에 불충분한 양으로 존재하고 상피 조직 내에서의 클로라이드 수송이 유의하게 감소된다. 사실, ER 기구에 의한 ABC 수송자의 ER 프로세싱 결함인 이러한 세포 현상은, CF 질환만이 아니라 광범위한 다른 단독 및 유전 질환의 근본적인 기초인 것으로 밝혀졌다.
- [0015] 따라서, 포유동물의 세포막에 있는 CFTR의 활성을 조정하는 데 사용될 수 있는 CFTR 활성 조정자 및 그의 조성물이 필요하다.
- [0016] 상기 CFTR 활성 조정자를 사용하여 CFTR에서의 돌연변이에 의해 유발되는 질환을 치료하는 방법이 필요하다.
- [0017] 포유동물의 생체의 세포 막에서 CFTR 활성을 조정하는 방법이 필요하다.
- [0018] CFTR 활성을 조정하는 화합물의 제조 방법이 또한 필요하다.

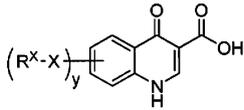
**발명의 내용**

- [0019] 일반적으로, 본 발명은 CFTR의 조정자로서 유용한 화합물의 제조 방법을 제공한다.
- [0020] 한 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 2의 카르복실산을 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P®로 이루어진 군으로부터 선택된 커플링제의 존재 하에 하기 화학식 3의 아닐린과 커플링시키는 것을 포함하는, 하기 화학식 1의 화합물의 제조 방법을 제공한다.
- [0021] <화학식 1>



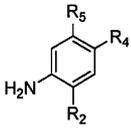
[0022]

[0023] <화학식 2>



[0024]

[0025] <화학식 3>



[0026]

[0027] 각각의 R<sub>2</sub> 및 R<sub>4</sub>는 수소, CN, CF<sub>3</sub>, 할로, C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭은 O, S 또는 N으로부터 선택된 3개 이하의 헤테로원자를 갖고, 각각의 C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭은 -OR', -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, SR', S(O)R', SO<sub>2</sub>R', -SCF<sub>3</sub>, 할로, CN, -COOR', -COR-, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R'), -O(CH<sub>2</sub>)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OR', -(CH<sub>2</sub>)OR', CH<sub>2</sub>CN, 임의로 치환된 페닐 또는 페녹시, -N(R')(R'), -NR'C(O)OR', -NR'C(O)R', -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R') 또는 -(CH<sub>2</sub>)N(R')(R')로부터 선택된 3개 이하의 치환기로 독립적으로 및 임의로 치환된다.

[0028] 각각의 R<sub>5</sub>는 수소, -OH, NH<sub>2</sub>, CN, CHF<sub>2</sub>, NHR', N(R')<sub>2</sub>, -NHC(O)R', NHC(O)OR', NHSO<sub>2</sub>R', -OR', OC(O)OR', OC(O)NHR', OC(O)NR'<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>N(R')<sub>2</sub>, C(O)OR', SO<sub>2</sub>NHR', SO<sub>2</sub>N(R')<sub>2</sub> 또는 CH<sub>2</sub>NHC(O)OR'로부터 독립적으로 선택된다.

[0029] 또는 R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 함께 N, O 또는 S로부터 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 함유하는 5 내지 7원 고리를 형성하고, 여기서 상기 고리는 3개 이하의 R<sub>3</sub> 치환기로 임의로 치환된다.

[0030] 각각의 X는 독립적으로 결합이거나, 또는 임의로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬리덴쇄이고, 여기서 X의 2개 이하의 메틸렌 단위는 -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR'-, -CONR'NR'-, -CO<sub>2</sub>-, -OCO-, -NR'CO<sub>2</sub>-, -O-, -NR'CONR'-, -OCONR'-, -NR'NR', -NR'NR'CO-, -NR'CO-, -S-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -NR'-, -SO<sub>2</sub>NR'-, NR'SO<sub>2</sub>- 또는 -NR'SO<sub>2</sub>NR'-에 의해 임의로 및 독립적으로 대체된다. 각각의 R<sup>x</sup>는 독립적으로 R', 할로, NO<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub> 또는 OCF<sub>3</sub>이다.

[0031] y는 0 내지 4의 정수이다.

[0032] 각각의 R'는 C<sub>1-8</sub> 지방족 기, 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 3 내지 8원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 고리, 또는 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 5개의 헤테로원자를 갖는 8 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 비시클릭 고리계로부터 선택된 임의로 치환된 기, 또는 수소로부터 독립적으로 선택되거나; 또는 2개 존재의 R'는 이들이 결합되어 있는 원자(들)과 함께, N, O 또는 S로부터 독립적으로 선택된 0 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 또는 비시클릭 고리를 형성한다.

[0033] 각각의 R<sub>3</sub>은 독립적으로 -C<sub>1-3</sub> 알킬, C<sub>1-3</sub> 퍼할로알킬, -O(C<sub>1-3</sub> 알킬), -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -SCF<sub>3</sub>, -F, -Cl, -Br, -COOR', -COR', -O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R'), -O(CH<sub>2</sub>)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OR', -(CH<sub>2</sub>)OR', 임의로 치환된 모노시클릭 또는 비시클릭 방향족 고리, 임의로 치환된 아릴술폰, 임의로 치환된 5원 헤테로아릴 고리, -N(R')(R'), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R') 또는 -(CH<sub>2</sub>)N(R')(R')이다.

[0034] 상기 측면의 실시양태는 하기 특징 중 하나 이상을 포함한다. R<sub>5</sub>는 독립적으로 -OC(O)OR', -OC(O)NHR' 또는 -OC(O)N(R')<sub>2</sub>이고, R'는 수소가 아니고; R<sub>4</sub> 또는 R<sub>2</sub> 중 적어도 하나는 독립적으로 -COOR' 또는 -CON(R')(R')로 치환된 C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬이고, R'는 수소가 아니다. 방법은 -OC(O)OR', -OC(O)NHR' 또는

-OC(O)N(R')<sub>2</sub> 기를 절단하여 -OH를 형성하는 것을 추가로 포함한다. 방법은 각각의 -COOR' 또는 -CON(R')<sub>2</sub> 기를 가수분해하여 -COOH를 형성하는 것을 추가로 포함한다. 가수분해는 화학식 1의 화합물을 염기, 예컨대 NaOH, KOH 또는 나트륨 메톡시드의 존재 하에 알콜성 용매로 처리하여 수행한다. 가수분해에 사용되는 알콜성 용매는 메탄올이다. 화학식 2의 화합물 및 화학식 3의 화합물을 커플링시켜 화학식 1의 화합물을 생성하는 것을 염기, 예컨대 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N, NMM, 피리딘 또는 DIEA의 존재 하에 수행한다. 화학식 2의 화합물 및 화학식 3의 화합물을 커플링시켜 화학식 1의 화합물을 생성하는 것을 용매, 예컨대 EtOAc, IPAc, THF, MEK, NMP, 아세토니트릴, DMF 또는 2-메틸테트라히드로푸란의 존재 하에 수행한다. 화학식 2의 화합물 및 화학식 3의 화합물을 커플링시켜 화학식 1의 화합물을 생성하는 것을 약 10°C 내지 78°C, 예컨대 약 20°C 내지 30°C, 약 40°C 내지 50°C, 및 약 42°C 내지 53°C로 유지되는 반응 온도에서 수행한다. 커플링 반응물을 2시간 이상 동안, 예컨대 70시간 이상 동안 또는 3일 이상 동안 교반한다.

[0035] 일부 실시양태에서, R<sub>5</sub>는 독립적으로 -OC(O)OR', -OC(O)NHR' 또는 -OC(O)N(R')<sub>2</sub>이고, R'는 수소가 아니고; 각각의 R<sub>2</sub> 및 R<sub>4</sub>는 수소, CF<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족 또는 페닐로부터 독립적으로 선택된다.

[0036] 일부 추가 실시양태에서, R<sub>5</sub>는 독립적으로 -OC(O)OR'이고, R'는 수소가 아니고; 각각의 R<sub>2</sub> 및 R<sub>4</sub>는 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 또는 3 내지 12원 시클로지방족이다.

[0037] 일부 실시양태에서, R<sub>2</sub> 및 R<sub>4</sub>는 t-부틸이다.

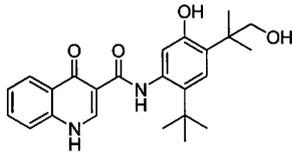
[0038] 또 다른 측면에서, 본 발명은

[0039] (a) 하기 화합물 26을 EDCI, HOBT 및 DIEA의 존재 하에 용매로서 DMF를 사용하여 하기 화합물 13과 커플링시켜 (여기서, 반응 온도를 약 20°C 내지 30°C로 유지하고, 반응을 70시간 이상 동안 진행함), 하기 화합물 14를 생성하는 것; 및

[0040] (b) 화합물 14를 메탄올 중에서 KOH로 처리하는 것

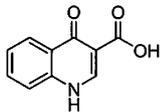
[0041] 을 포함하는, 하기 화합물 27의 제조 방법을 제공한다.

[0042] <화합물 27>



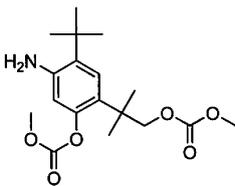
[0043]

[0044] <화합물 26>



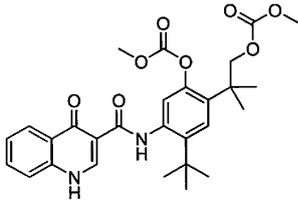
[0045]

[0046] <화합물 13>



[0047]

[0048] <화합물 14>



[0049]

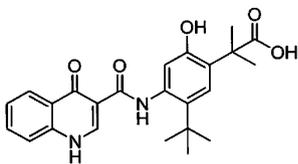
[0050] 또 다른 측면에서, 본 발명은

[0051] (a) 하기 화합물 26을 HATU 및 DIEA의 존재 하에 용매로서 아세트니트릴을 사용하여 하기 화합물 20과 커플링시켜 (여기서, 반응 온도를 약 40°C 내지 50°C로 유지하고, 반응을 3일 이상 동안 진행함), 하기 화합물 21을 생성하는 것; 및

[0052] (b) 화합물 21을 메탄올 중에서 NaOH로 처리하는 것

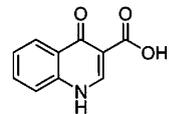
[0053] 을 포함하는, 하기 화합물 28의 제조 방법을 제공한다.

[0054] <화합물 28>



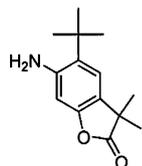
[0055]

[0056] <화합물 26>



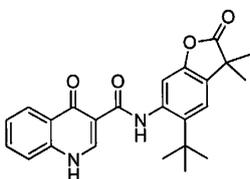
[0057]

[0058] <화합물 20>



[0059]

[0060] <화합물 21>



[0061]

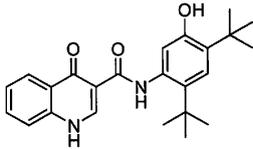
[0062] 또 다른 측면에서, 본 발명은

[0063] (a) 하기 화합물 26을 T3P® 및 피리딘의 존재 하에 용매로서 2-메틸 테트라히드로푸란을 사용하여 하기 화합물 32와 커플링시켜 (여기서, 반응 온도를 약 42°C 내지 53°C로 유지하고, 반응을 2시간 이상 동안 진행함), 하기 화합물 33을 생성하는 것; 및

[0064] (b) 화합물 33을 2-메틸 테트라히드로푸란 중에서 NaOMe/MeOH로 처리하는 것

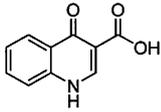
[0065] 을 포함하는, 하기 화합물 34의 제조 방법을 제공한다.

[0066] <화합물 34>



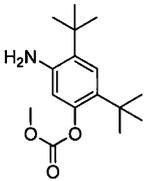
[0067]

[0068] <화합물 26>



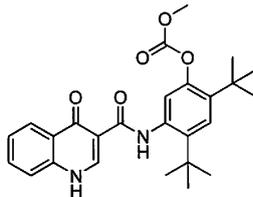
[0069]

[0070] <화합물 32>



[0071]

[0072] <화합물 33>



[0073]

[0074] 한 실시양태에서, 방법은 아세토니트릴과 물의 혼합물 중에서 화합물 34의 슬러리를 형성하는 단계 (여기서 화합물 34의 고체 형태가 화합물 34로 전환됨)를 추가로 포함한다.

[0075] 상기 측면의 실시양태는 하기 특징 중 하나 이상을 포함한다. 방법은 화합물 34를 2-메틸테트라히드로푸란과 0.1 N HCl의 2상 용액에 용해시키고, 이를 교반하는 것을 추가로 포함한다. 방법은 2상 용액으로부터 유기 상을 분리하는 것을 추가로 포함한다. 방법은 유기 상으로부터 고형물질을 여과 및 제거하는 것을 추가로 포함한다. 방법은 유기 상의 부피를 증류를 이용하여 대략 50%만큼 감소시키는 것을 추가로 포함한다. 방법은 하기 절차: 유기 상의 부피가 100%만큼 증가할 때까지 유기 상에 MeOAc, EtOAc, IPAc, t-BuOAc, 테트라히드로푸란 (THF), Et<sub>2</sub>O 또는 메틸-t-부틸 에테르 (MTBE)를 첨가하고 유기 상의 부피를 증류를 이용하여 50%만큼 감소시키는 것을 3회 수행하는 것을 추가로 포함한다. 방법은 유기 상의 부피가 100%만큼 증가할 때까지 유기 상에 MeOAc, EtOAc, IPAc, t-BuOAc, 테트라히드로푸란 (THF), Et<sub>2</sub>O 또는 메틸-t-부틸 에테르 (MTBE)를 첨가하는 것을 추가로 포함한다. 방법은 유기 상을 환류 온도로 가열하고, 상기 환류 온도를 약 5시간 이상의 시간 동안 유지하는 것을 추가로 포함한다. 방법은 유기 상을 4.5시간 내지 5.5시간의 기간에 걸쳐 -5°C 내지 5°C의 온도로 냉각시키는 것을 추가로 포함한다.

[0076] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 제조된 화합물을 제공한다.

[0077] 추가 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 제조된 화합물을 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0078] 추가 측면에서, 본 발명은 생물학적 샘플을 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 제조된 화합물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 상기 생물학적 샘플에서 CFTR 활성을 조정하는 방법을 제공한다.

[0079] 또 다른 측면에서, 본 발명은 또한 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 질환을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공하며, 상기 질환은 낭성 섬유증,

천식, 흡연 유발 COPD, 만성 기관지염, 비부비동염, 변비, 췌장염, 췌장 기능부전, 선천성 양측 정관 결손증 (CBAVD)에 의해 유발되는 남성 불임, 경증 폐 질환, 특발성 췌장염, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증 (ABPA), 간 질환, 유전성 폐기종, 유전성 혈액소증, 응고-섬유소용해 결핍, 예컨대 단백질 C 결핍, 1형 유전성 혈관부종, 지질 프로세싱 결핍, 예컨대 가족성 고콜레스테롤혈증, 1형 킬로마이크론혈증, 무베타지단백혈증, 리소좀 축적 질환, 예컨대 I-세포병/가성-후롤러, 점액다당류증, 샌드호프/테이-삭스, 크리글러-나자르 II형, 다발성내분비병증/고인슐린혈증, 당뇨병, 라론 왜소증, 미엘로퍼옥시다제 결핍, 원발성 부갑상선기능저하증, 흑색증, 글리칸증 CDG 1형, 선천성 갑상선기능항진증, 골형성 부전증, 유전성 저섬유소원혈증, ACT 결핍, 요붕증 (DI), 신경성 DI, 신장성 DI, 샤르코-마리 투스 증후군, 펠리체우스-메르츠바허병, 신경변성 질환, 예컨대 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축성 측삭 경화증, 진행성 핵상 마비, 픽병, 여러 폴리글루타민 신경계 장애, 예컨대 헌팅턴병, I형 척수소뇌성 운동실조, 척수 및 연수 근육 위축, 치상핵적핵 담창구시상하핵 및 근긴장성 이영양증, 뿐만 아니라 해면상 뇌병증, 예컨대 유전성 크로이즈펠트-야콥병 (프리온 단백질 프로세싱 결함으로 인한), 파브리병, 슈트라우슬러-샤잉커 증후군, COPD, 건성안 질환, 또는 쇼그렌병, 골다공증, 골감소증, 골 치유 및 골 성장 (골 복구, 골 재생, 골 재흡수 감소 및 골 침착 증가를 포함), 고렘 증후군, 클로라이드 채널병증, 예컨대 선천성 근긴장증 (툼슨 및 베커 형태), III형 바터 증후군, 덴트병, 과도놀람증, 간질, 과도놀람증, 리소좀 축적 질환, 안젤만 증후군, 및 원발성 섬모 운동이상증 (PCD) [내장역위증 동반 PCD (또한 카르타게너 증후군으로도 공지됨), 내장역위증 비동반 PCD 및 섬모 무형성을 비롯한 섬모의 구조 및/또는 기능의 유전 장애에 대한 용어임]으로부터 선택된다.

- [0080] 특정 실시양태에서, 질환은 양성 섬유증이다.
- [0081] 또 다른 측면에서, 본 발명은
- [0082] i. 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 생성된 화합물을 포함하는 조성물; 및
- [0083] ii. a. 조성물을 생물학적 샘플과 접촉시키는 것; 및
- [0084] b. 상기 CFTR 또는 그의 단편의 활성을 측정하는 것
- [0085] 에 대한 지침서
- [0086] 를 포함하는, 생물학적 샘플에서 CFTR 또는 그의 단편의 활성을 시험관내 또는 생체내 측정하는 데 사용하기 위한 키트를 제공한다.
- [0087] 특정 실시양태에서, 키트는
- [0088] i. 추가의 화합물을 생물학적 샘플과 접촉시키는 것;
- [0089] ii. 상기 추가의 화합물의 존재 하에 상기 CFTR 또는 그의 단편의 활성을 측정하는 것; 및
- [0090] iii. 추가의 화합물의 존재 하에서의 CFTR의 활성을, 화학식 1의 조성물의 존재 하에서의 CFTR의 밀도와 비교하는 것
- [0091] 에 대한 지침서를 추가로 포함한다.
- [0092] 유리하게는, 본 발명은 CFTR의 조정자로서 유용한 화합물을 공지된 방법에 비하여 더 높은 수율 및 더 높은 순도로 합성하는 방법을 제공한다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0093] I. 정의
- [0094] 본원에서 사용된 바와 같이, 달리 나타내지 않는 한은 하기하는 정의가 적용될 것이다.
- [0095] 본원에 사용된 용어 "ABC-수송자"는 ABC-수송자 단백질 또는 적어도 하나의 결합 도메인을 포함하는 그의 단편을 의미하고, 여기서 상기 단백질 또는 그의 단편은 생체내 또는 시험관내 존재한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "결합 도메인"은 조정자에 결합할 수 있는 ABC-수송자의 도메인을 의미한다. 예를 들어, 문헌 [Hwang, T. C. et al., J. Gen. Physiol. (1998): 111(3), 477-90]을 참조한다.
- [0096] 본원에 사용된 용어 "CFTR"은 양성 섬유증 막횡단 전도도 조절자 또는 조절자 활성을 가질 수 있는 그의 돌연변이, 예를 들어 (이에 제한되지 않음) ΔF508 CFTR 및 G551D CFTR을 의미한다 (CFTR 돌연변이에 대해서는 예를 들어 <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/> 참조).

- [0097] 본원에 사용된 용어 "조정"은 측정가능한 양만큼의 증가 또는 감소를 의미한다.
- [0098] 본 발명의 목적을 위해, 화학 원소는 문헌 [Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry 및 Physics, 75th Ed.]에 따라 확인된다. 추가로, 유기 화학의 일반 원리는 문헌 ["Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999] 및 ["March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001]에 기재되어 있으며, 상기 문헌의 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0099] 본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 화합물은 하나 이상의 치환기로 임의로 치환될 수 있고, 예컨대 일반적으로 상기 예시되어 있거나 본 발명의 특정 클래스, 하위클래스 및 종으로 예시된 바와 같다. 어구 "임의로 치환된"이 어구 "치환 또는 비치환된"과 상호전환하여 사용될 수 있음을 인지할 것이다. 일반적으로, 용어 "치환된"은 용어 "임의로"를 앞에 붙이든 붙이지 않든지 간에, 제시된 구조식의 수소 라디칼을 특정된 치환기의 라디칼로 치환하는 것을 지칭한다.
- [0100] 달리 나타내지 않는 한, 임의로 치환된 기는 상기 기의 각각의 치환가능한 위치에 치환기를 가질 수 있고, 주어진 임의의 구조식에서 하나 초과와 위치가 특정 기로부터 선택되는 하나 초과와 치환기로 치환될 수 있는 경우, 치환기는 모든 위치에서 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 본 발명에 의해 계획된 치환기의 조합은 바람직하게는 안정하거나 화학적으로 사용가능한 화합물의 형성을 일으키는 것이다.
- [0101] 본원에 사용된 용어 "안정한"은, 이들의 생성, 검출 및 바람직하게는 이들의 회수, 정제, 및 본원에 개시된 목적 중 하나 이상을 위한 용도를 가능하게 하기 위한 조건에 적용되는 경우에 실질적으로 변경되지 않는 화합물을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 안정적인 화합물 또는 화학적으로 가능한 화합물은 40°C 이하의 온도에서 습기 또는 다른 화학적 반응성 조건 없이 적어도 1주일 동안 유지될 경우에 실질적으로 변경되지 않는 화합물이다.
- [0102] 본원에 사용된 용어 "지방족" 또는 "지방족 기"는 완전 포화이거나 하나 이상의 불포화 단위를 함유하는 직쇄(즉, 비-분지형) 또는 분지형의 치환 또는 비치환된 탄화수소쇄, 또는 완전 포화이거나 하나 이상의 불포화 단위를 함유하지만 방향족은 아니고 분자의 나머지 부분에 대한 단일 부착 지점을 갖는 모노시클릭 탄화수소 또는 비시클릭 탄화수소 (또한 본원에서 "카르보사이클", "시클로지방족" 또는 "시클로알킬"로도 지칭됨)를 의미한다. 달리 명시되지 않는 한, 지방족 기는 1 내지 20개의 지방족 탄소 원자를 함유한다. 일부 실시양태에서, 지방족 기는 1 내지 10개의 지방족 탄소 원자를 함유한다. 다른 실시양태에서, 지방족 기는 1 내지 8개의 지방족 탄소 원자를 함유한다. 또 다른 실시양태에서, 지방족 기는 1 내지 6개의 지방족 탄소 원자를 함유하고, 또 다른 실시양태에서 지방족 기는 1 내지 4개의 지방족 탄소 원자를 함유한다. 일부 실시양태에서, "시클로지방족" (또는 "카르보사이클" 또는 "시클로알킬")은, 완전 포화이거나 하나 이상의 불포화 단위를 함유하지만 방향족은 아니고 분자의 나머지 부분에 대한 단일 부착 지점을 갖는 모노시클릭 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> 탄화수소, 또는 비시클릭 또는 트리시클릭 C<sub>8</sub>-C<sub>14</sub> 탄화수소 (여기서, 상기 비시클릭 고리계에서의 개별 고리는 3 내지 7개의 구성원을 가짐)를 지칭한다. 적합한 지방족 기에는 선형 또는 분지형의 치환 또는 비치환된 알킬, 알케닐, 알키닐 기 및 이들의 하이브리드, 예컨대 (시클로알킬)알킬, (시클로알케닐)알킬 또는 (시클로알킬)알케닐이 포함되나, 이에 제한되지는 않는다. 적합한 시클로지방족 기에는 시클로알킬, 비시클릭 시클로알킬 (예를 들어, 데칼린), 가교된 비시클로알킬 (예컨대, 노르보르닐 또는 [2.2.2]비시클로-옥틸) 또는 가교된 트리시클릭 (예컨대, 아다만틸)이 포함된다.
- [0103] 본원에 사용된 용어 "헤테로지방족"은 1 또는 2개의 탄소 원자가 하나 이상의 산소, 황, 질소, 인 또는 규소에 의해 독립적으로 대체되는 지방족 기를 의미한다. 헤테로지방족 기는 치환 또는 비치환, 분지형 또는 비분지형, 시클릭 또는 비-시클릭일 수 있고, "헤테로사이클", "헤테로시클릴", "헤테로시클로지방족" 또는 "헤테로시클릭" 기를 포함한다.
- [0104] 본원에 사용된 용어 "헤테로사이클", "헤테로시클릴", "헤테로시클로지방족" 또는 "헤테로시클릭"은 하나 이상의 고리원이 독립적으로 선택된 헤테로원자인 비-방향족, 모노시클릭, 비시클릭, 또는 트리시클릭 고리계를 의미한다. 일부 실시양태에서, "헤테로사이클", "헤테로시클릴", "헤테로시클로지방족" 또는 "헤테로시클릭" 기는 3 내지 14개의 고리원을 갖고, 여기서 하나 이상의 고리원이 산소, 황, 질소 또는 인으로부터 독립적으로 선택된 헤테로원자이고, 상기 계 내 고리가 각각 3 내지 7개의 고리원을 포함한다.
- [0105] 용어 "헤테로원자"는 하나 이상의 산소, 황, 질소, 인 또는 규소 (예를 들어, 임의의 산화 형태의 질소, 황, 인 또는 규소, 임의의 염기성 질소의 4급화된 형태, 또는 헤테로시클릭 고리의 치환가능한 질소, 예컨대 N (3,4-디

히드로-2H-피롤릴에서와 같은 N), NH (피롤리디닐에서와 같은 NH) 또는 NR<sup>+</sup> (N-치환된 피롤리디닐에서와 같은 NR<sup>+</sup>)를 의미한다.

- [0106] 본원에 사용된 용어 "불포화된"은 모이어티가 하나 이상의 불포화 단위를 갖는 것을 의미한다.
- [0107] 본원에 사용된 용어 "알콕시" 또는 "티오알킬"은 앞서 정의된 것과 같은, 산소 ("알콕시") 또는 황 ("티오알킬") 원자를 통해 탄소 주쇄에 부착된 알킬 기를 지칭한다.
- [0108] 용어 "할로지방족" 및 "할로알콕시"는, 경우에 따라 하나 이상의 할로 원자로 치환될 수 있는 지방족 또는 알콕시를 의미한다. 용어 "할로젠" 또는 "할로"는 F, Cl, Br 또는 I를 의미한다. 할로지방족의 예에는 -CHF<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>F, -CF<sub>3</sub>, -CF<sub>2</sub>-, 또는 퍼할로알킬, 예컨대 -CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>이 포함된다.
- [0109] 단독으로, 또는 "아르알킬", "아르알콕시" 또는 "아릴옥시알킬"에서와 같이 더 큰 모이어티의 일부로 사용된 용어 "아릴"은 총 5 내지 14개의 고리원을 갖는 모노시클릭, 비시클릭 및 트리시클릭 고리계를 가리키고, 여기서 상기 계 내의 하나 이상의 고리는 방향족이고, 상기 계 내의 고리는 각각 3 내지 7개의 고리원을 포함한다. 용어 "아릴"은 용어 "아릴 고리"와 상호전환하여 사용될 수 있다. 용어 "아릴"은 또한 하기 본원에 정의된 바와 같은 헤테로아릴 고리계를 지칭한다.
- [0110] 단독으로 또는 "헤테로아르알킬" 또는 "헤테로아릴알콕시"에서와 같이 더 큰 모이어티의 일부로 사용된 용어 "헤테로아릴"은 총 5 내지 14개의 고리원을 갖는 모노시클릭, 비시클릭 및 트리시클릭 고리계를 가리키고, 여기서 상기 계 내의 하나 이상의 고리는 방향족이고, 상기 계 내의 하나 이상의 고리는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하고, 상기 계 내의 고리는 각각 3 내지 7개의 고리원을 포함한다. 용어 "헤테로아릴"은 용어 "헤테로아릴 고리" 또는 용어 "헤테로방향족"과 상호전환하여 사용될 수 있다.
- [0111] 아릴 (아르알킬, 아르알콕시, 아릴옥시알킬 등을 포함함) 또는 헤테로아릴 (헤테로아르알킬 및 헤테로아릴알콕시 등을 포함함) 기는 하나 이상의 치환기를 함유할 수 있다. 아릴 또는 헤테로아릴 기의 불포화 탄소 원자에 대해 적합한 치환기는 할로; -R<sup>o</sup>; -OR<sup>o</sup>; -SR<sup>o</sup>; 1,2-메틸렌-디옥시; 1,2-에틸렌디옥시; 임의로 R<sup>o</sup>로 치환된 페닐 (Ph); 임의로 R<sup>o</sup>로 치환된 -O(Ph); 임의로 R<sup>o</sup>로 치환된 -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(Ph); 임의로 R<sup>o</sup>로 치환된 -CH=CH(Ph); -NO<sub>2</sub>; -CN; -N(R<sup>o</sup>)<sub>2</sub>; -NR<sup>o</sup>C(O)R<sup>o</sup>; -NR<sup>o</sup>C(O)N(R<sup>o</sup>)<sub>2</sub>; -NR<sup>o</sup>CO<sub>2</sub>R<sup>o</sup>; -NR<sup>o</sup>NR<sup>o</sup>C(O)R<sup>o</sup>; -NR<sup>o</sup>NR<sup>o</sup>C(O)N(R<sup>o</sup>)<sub>2</sub>; -NR<sup>o</sup>NR<sup>o</sup>CO<sub>2</sub>R<sup>o</sup>; -C(O)C(O)R<sup>o</sup>; -C(O)CH<sub>2</sub>C(O)R<sup>o</sup>; -CO<sub>2</sub>R<sup>o</sup>; -C(O)R<sup>o</sup>; -C(O)N(R<sup>o</sup>)<sub>2</sub>; -OC(O)N(R<sup>o</sup>)<sub>2</sub>; -S(O)<sub>2</sub>R<sup>o</sup>; -SO<sub>2</sub>N(R<sup>o</sup>)<sub>2</sub>; -S(O)R<sup>o</sup>; -NR<sup>o</sup>SO<sub>2</sub>N(R<sup>o</sup>)<sub>2</sub>; -NR<sup>o</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>o</sup>; -C(=S)N(R<sup>o</sup>)<sub>2</sub>; -C(=NH)-N(R<sup>o</sup>)<sub>2</sub>; 또는 -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>NHC(O)R<sup>o</sup>로부터 선택되고, 여기서 각각의 독립적 존재의 R<sup>o</sup>는 수소, 임의로 치환된 C<sub>1-6</sub> 지방족, 비치환된 5 내지 6원 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭 고리, 페닐, -O(Ph) 또는 -CH<sub>2</sub>(Ph)로부터 선택되거나, 또는 상기에 정의된 바와 달리, 동일한 치환기 또는 상이한 치환기에 대해 2개의 독립적 존재의 R<sup>o</sup>는 각각의 R<sup>o</sup> 기가 결합된 원자(들)과 함께, 3 내지 8원 시클로알킬, 헤테로시클릭, 아릴, 또는 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 헤테로아릴 고리를 형성한다. R<sup>o</sup>의 지방족 기에 대한 임의의 치환기는 NH<sub>2</sub>, NH(C<sub>1-4</sub>지방족), N(C<sub>1-4</sub>지방족)<sub>2</sub>, 할로, C<sub>1-4</sub>지방족, OH, O(C<sub>1-4</sub>지방족), NO<sub>2</sub>, CN, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>(C<sub>1-4</sub>지방족), O(할로C<sub>1-4</sub> 지방족) 또는 할로C<sub>1-4</sub>지방족으로부터 선택되고, 여기서 상기 R<sup>o</sup>의 C<sub>1-4</sub> 지방족 기 각각은 비치환된다.
- [0112] 지방족 또는 헤테로지방족 기, 또는 비-방향족 헤테로시클릭 고리는 하나 이상의 치환기를 함유할 수 있다. 지방족 또는 헤테로지방족 기, 또는 비-방향족 헤테로시클릭 고리의 포화 탄소에 대해 적합한 치환기는, 아릴 또는 헤테로아릴 기의 불포화 탄소에 대해 상기 열거한 것들로부터 선택되고, 추가로 =O, =S, =NNHR\*, =NN(R\*)<sub>2</sub>, =NNHC(O)R\*, =NNHCO<sub>2</sub>(알킬), =NNHSO<sub>2</sub>(알킬) 또는 =NR\* (여기서, 각각의 R\*는 수소 또는 임의로 치환된 C<sub>1-6</sub> 지방족으로부터 독립적으로 선택됨)을 포함한다. R\*의 지방족 기에 대한 임의의 치환기는 NH<sub>2</sub>, NH(C<sub>1-4</sub> 지방족), N(C<sub>1-4</sub> 지방족)<sub>2</sub>, 할로, C<sub>1-4</sub> 지방족, OH, O(C<sub>1-4</sub> 지방족), NO<sub>2</sub>, CN, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>(C<sub>1-4</sub> 지방족), O(할로 C<sub>1-4</sub> 지방족) 또는 할로(C<sub>1-4</sub> 지방족)으로부터 선택되고, 여기서 상기 R\*의 C<sub>1-4</sub> 지방족 기 각각은 비치환된다.

- [0113] 비-방향족 헤테로시클릭 고리의 질소에 대한 임의의 치환기는  $-R^+$ ,  $-N(R^+)_2$ ,  $-C(O)R^+$ ,  $-CO_2R^+$ ,  $-C(O)C(O)R^+$ ,  $-C(O)CH_2C(O)R^+$ ,  $-SO_2R^+$ ,  $-SO_2N(R^+)_2$ ,  $-C(=S)N(R^+)_2$ ,  $-C(=NH)-N(R^+)_2$  또는  $-NR^+SO_2R^+$ 로부터 선택되고, 여기서  $R^+$ 는 수소, 임의로 치환된  $C_{1-6}$  지방족, 임의로 치환된 페닐, 임의로 치환된  $-O(Ph)$ , 임의로 치환된  $-CH_2(Ph)$ , 임의로 치환된  $-(CH_2)_{1-2}(Ph)$ ; 임의로 치환된  $-CH=CH(Ph)$ ; 또는 산소, 질소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 비치환된 5 내지 6원 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭 고리이거나, 또는 상기에 정의된 바와 달리, 동일한 치환기 또는 상이한 치환기에 대해 2개의 독립적 존재의  $R^+$ 는 각각의  $R^+$  기가 결합된 원자(들)과 함께, 3 내지 8원 시클로알킬, 헤테로시클릭, 아릴, 또는 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 헤테로아릴 고리를 형성한다.  $R^+$ 의 지방족 기 또는 페닐 고리에 대한 임의의 치환기는  $NH_2$ ,  $NH(C_{1-4}$  지방족),  $N(C_{1-4}$  지방족) $_2$ , 할로,  $C_{1-4}$  지방족,  $OH$ ,  $O(C_{1-4}$  지방족),  $NO_2$ ,  $CN$ ,  $CO_2H$ ,  $CO_2(C_{1-4}$  지방족),  $O$ (할로  $C_{1-4}$  지방족) 또는 할로( $C_{1-4}$  지방족)으로부터 선택되고, 여기서 상기  $R^+$ 의  $C_{1-4}$  지방족 기 각각은 비치환된다.
- [0114] 용어 "알킬리텐 쇠"는, 완전 포화되거나 또는 하나 이상의 불포화 단위를 가질 수 있고, 분자의 나머지 부분에 대한 2개의 부착 지점을 갖는 직쇄형 또는 분지형 탄소 쇠를 지칭한다. 용어 "스피로시클로알킬리텐"은, 완전 포화되거나 또는 하나 이상의 불포화 단위를 가질 수 있고, 동일한 고리 탄소 원자로부터 분자의 나머지 부분으로의 2개의 부착 지점을 갖는 카르보시클릭 고리를 지칭한다.
- [0115] 본원에 사용된 용어 "슬러리"는, 고체 및 액체를 포함하는 혼합물 (여기서, 고체는 액체 중에 기껏해야 부분적으로 가용성임)로서 정의된다. 본원에 사용된 용어 "슬러리화" 또는 "슬러리화된" (예를 들어, "24시간 동안 슬러리화된 고체 생성물")은, 슬러리를 만들어내고 상기 슬러리를 소정의 시간 동안 교반하는 행위로서 정의된다.
- [0116] 본원에 사용된 용어 "보호기" (PG)는, 합성 절차 동안 원하지 않는 반응에 대해 관능기, 예컨대 예를 들어 알콜, 아민, 카르복실, 카르보닐 등을 보호하도록 의도된 기를 나타낸다. 통상적으로 사용되는 보호기는, 이 거명에 의해 본원에 포함된 문헌 [Greene 및 Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York, 1999)]에 개시되어 있다. 질소 보호기의 예에는 아실, 아로일 또는 카르바밀 기, 예컨대 포르밀, 아세틸, 프로피오닐, 피발로일, t-부틸아세틸, 2-클로로아세틸, 2-브로모아세틸, 트리플루오로아세틸, 트리클로로아세틸, 프탈릴, o-니트로페녹시아세틸,  $\alpha$ -클로로부틸, 벤조일, 4-클로로벤조일, 4-브로모벤조일, 4-니트로벤조일 및 키랄 보조제, 예컨대 보호 또는 비보호된 D, L 또는 D, L-아미노산, 예컨대 알라닌, 루이신, 페닐알라닌 등; 술포닐 기, 예컨대 벤젠술포닐, p-톨루엔술포닐 등; 카르바메이트 기 (예컨대, 벤질옥시카르보닐, p-클로로벤질옥시카르보닐, p-메톡시벤질옥시카르보닐, p-니트로벤질옥시카르보닐, 2-니트로벤질옥시카르보닐, p-브로모벤질옥시카르보닐, 3,4-디메톡시벤질옥시카르보닐, 3,5-디메톡시벤질옥시카르보닐, 2,4-디메톡시벤질옥시카르보닐, 4-메톡시벤질옥시카르보닐, 2-니트로-4,5-디메톡시벤질옥시카르보닐, 3,4,5-트리메톡시벤질옥시카르보닐, 1-(p-비페닐릴)-1-메틸에톡시카르보닐,  $\alpha$ ,  $\alpha$ -디메틸-3,5-디메톡시벤질옥시카르보닐, 벤즈히드릴옥시카르보닐, t-부틸옥시카르보닐, 디소프로필메톡시카르보닐, 이소프로필옥시카르보닐, 에톡시카르보닐, 메톡시카르보닐, 알릴옥시카르보닐, 2,2,2-트리클로로에톡시카르보닐, 페녹시카르보닐, 4-니트로페녹시 카르보닐, 플루오레닐-9-메톡시카르보닐, 시클로펜틸옥시카르보닐, 아다만틸옥시카르보닐, 시클로헥실옥시카르보닐, 페닐티오카르보닐 등), 아릴알킬 기 (예컨대, 벤질, 트리페닐메틸, 벤질옥시메틸 등) 및 실릴 기 (예컨대, 트리메틸실릴 등)가 포함된다. 또 다른 예시적인 N-보호기로는 tert-부틸옥시카르보닐 (Boc)이 있다.
- [0117] 산에 대해 유용한 보호기의 예로는, 치환된 알킬 에스테르, 예컨대 9-플루오레닐메틸, 메톡시메틸, 메틸티오메틸, 테트라히드로피라닐, 테트라히드로푸라닐, 메톡시에톡시메틸, 2-(트리메틸실릴)에톡시메틸, 벤질옥시메틸, 피발로일옥시메틸, 페닐아세톡시메틸, 트리이소프로필실릴메틸, 시아노메틸, 아세톨, 페나실, 치환된 페나실 에스테르, 2,2,2-트리클로로에틸, 2-할로에틸,  $\omega$ -클로로알킬, 2-(트리메틸실릴)에틸, 2-메틸티오에틸, t-부틸, 3-메틸-3-펜틸, 디시클로프로필메틸, 시클로펜틸, 시클로헥실, 알릴, 메탈릴, 신나밀, 페닐, 실릴 에스테르, 벤질 및 치환된 벤질 에스테르, 2,6-디알킬페닐 에스테르, 예컨대 펜타플루오로페닐, 2,6-디알킬페닐이 있다. 산에 대한 다른 보호기로는 메틸 또는 에틸 에스테르가 있다.
- [0118] 이러한 아민 및 산 보호기를 첨가 (일반적으로 "보호"로서 지칭되는 공정) 및 제거 (일반적으로 "탈보호"로서

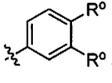
지칭되는 공정)하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 그 전문이 본원에 참조로 포함된 문헌 [P.J.Kocienski, Protecting Groups, Thieme, 1994] 및 [Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York, 1999)]에서 이용가능하다.

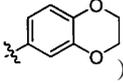
[0119] 본 발명에 사용될 수 있는 적합한 용매의 예로는 물, 메탄올, 디클로로메탄 (DCM), 아세트니트릴, 디메틸포름아미드 (DMF), 메틸 아세테이트 (MeOAc), 에틸 아세테이트 (EtOAc), 이소프로필 아세테이트 (IPAc), t-부틸 아세테이트 (t-BuOAc), 이소프로필 알콜 (IPA), 테트라히드로푸란 (THF), 메틸 에틸 케톤 (MEK), t-부탄올, 디에틸 에테르 (Et<sub>2</sub>O), 메틸-t-부틸 에테르 (MTBE), 1,4-디옥산 및 N-메틸 피롤리돈 (NMP)이 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0120] 본 발명에 사용될 수 있는 적합한 커플링 작용제의 예로는 1-(3-(디메틸아미노)프로필)-3-에틸-카르보디이미드 히드록로라이드 (EDCI), 2-(1H-벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸우로늄 헥사플루오로포스페이트 (HBTU), 1-히드록시벤조트리아졸 (HOBT), 2-(1H-7-아자벤조트리아졸-1-일)-1,1,3,3-테트라메틸 우로늄 헥사플루오로포스페이트 (HATU), 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, 1H-벤조트리아졸륨-1-[비스(디메틸아미노)메틸렌]-5-클로로헥사플루오로포스페이트 (HCTU), 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진 및 2-프로판 포스포산 무수물 (T3P®)이 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0121] 본 발명에 사용될 수 있는 적합한 염기의 예로는 탄산칼륨 (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), N-메틸모르폴린 (NMM), 트리에틸아민 (Et<sub>3</sub>N; TEA), 디이소프로필-에틸 아민 (i-Pr<sub>2</sub>EtN; DIEA), 피리딘, 수산화칼륨 (KOH), 수산화나트륨 (NaOH) 및 나트륨 메톡사이드 (NaOMe; NaOCH<sub>3</sub>)가 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0122] 일부 실시양태에서, 하기 구조에 도시된 바와 같이, 2개의 독립적 존재의 R<sup>0</sup>는 이들이 부착되어 있는 원자(들)과 함께, 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 3 내지 8원 시클로알킬, 헤테로시클릴, 아릴 또는 헤테로아릴 고리를 형성한다. 2개의 독립적 존재의 R<sup>0</sup>가 이들이 부착되어 있는 원자와 함께 형성하는 예시적 고리에는, a) 동일한 원자에 결합되고 해당 원자와 함께 고리를 형성하는 2개의 독립적 존재의 R<sup>0</sup>, 예를 들어 N(R<sup>0</sup>)<sub>2</sub> (여기서, 존재하는 두 R<sup>0</sup>는 모두 질소 원자와 함께 피페리딘-1-일, 피페라진-1-일 또는 모르폴린-4-일 기를 형성함); 및 b) 상이한 원자에 결합되고 해당 원자 둘 모두와 함께 고리를 형성하는 2

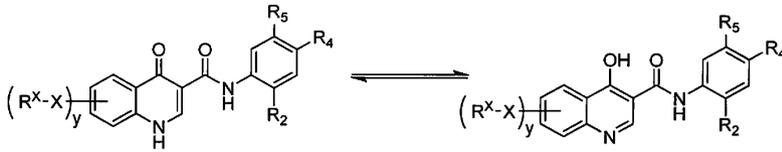
개의 독립적 존재의 R<sup>0</sup> (예를 들어, 여기서 페닐 기가 2개 존재의 OR<sup>0</sup>로 치환되고 (  ), 이들 2개 존

재의 R<sup>0</sup>가 이들이 결합되어 있는 산소 원자와 함께 융합된 6원 산소 함유 고리를 형성함 (  ))가 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

[0123] 2개의 독립적 존재의 R<sup>0</sup>가 각각의 가변기가 결합되어 있는 원자(들)과 함께 다양한 다른 고리를 형성할 수 있다는 것, 및 상기 상세히 설명된 예가 제한하도록 의도되지 않는다는 것을 인지할 것이다.

[0124] 예를 들어, 모노 및 폴리 아릴, 지방족, 헤테로지방족 고리계 상의 고리 치환기는, 치환기를 부착시키는 것이 화학적으로 실행가능한 임의의 고리 위치에 부착될 수 있다.

[0125] 달리 언급하지 않는다면, 본원에 도시된 구조는 또한 그 구조의 모든 이성질체 (예를 들어, 거울상이성질체, 부분입체이성질체 및 기하이성질체 (또는 형태이성질체)) 형태, 예를 들어 각각의 비대칭 중심에 대한 R 및 S 배위, (Z) 및 (E) 이중 결합 이성질체, 및 (Z) 및 (E) 형태 이성질체를 포함한다. 따라서, 본 발명의 화합물의 단일 입체화학 이성질체 및 또한 거울상이성질체, 부분입체이성질체 및 기하이성질체 (또는 형태이성질체) 혼합물은 본 발명의 범위에 속한다. 달리 언급하지 않는다면, 본 발명의 화합물의 모든 호변이성질체 형태는 본 발명의 범위 내에 포함된다. 즉, 화학식 1의 화합물에서 R<sup>x</sup>-X가 수소인 경우에, 상기 화학식 1의 화합물은 호변 이성질체로서 존재할 수 있다.

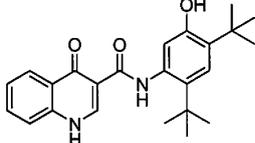


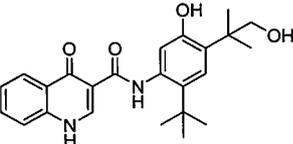
[0126] 화학식 1의 호변이성질체

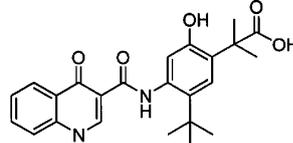
[0127] 추가로, 달리 언급하지 않는다면, 본원에 도시된 구조는 또한 하나 이상의 동위원소 풍부 원자의 존재에 있어서 만 상이한 화합물을 포함한다. 예를 들어, 수소를 중수소 또는 삼중수소로 대체하거나, 또는 탄소를 <sup>13</sup>C 또는 <sup>14</sup>C로 대체한 것을 제외하고는 본 발명의 구조를 갖는 화합물이 본 발명의 범위 내에 포함된다. 이러한 화합물은, 예를 들어 생물학적 검정에서의 분석용 도구, 프로브로서 또는 치료제로서 유용하다.

[0128] II. 본 발명의 방법

[0129] 일반적으로, 본 발명은 CFTR의 조정자로서 유용한 화합물의 합성을 위한 방법을 제공한다.

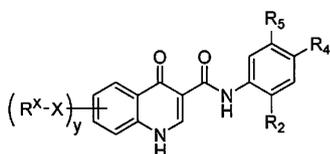
[0130] 일부 실시양태에서, 본 발명은 구조  를 갖는 화합물의 제조 방법을 제공한다.

[0132] 일부 실시양태에서, 본 발명은 구조  를 갖는 화합물의 제조 방법을 제공한다.

[0134] 일부 실시양태에서, 본 발명은 구조  를 갖는 화합물의 제조 방법을 제공한다.

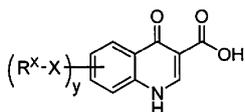
[0136] 한 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 2의 카르복실산을 2-클로로-1,3-디메틸-2-이미다졸륨 테트라플루오로보레이트, HBTU, HCTU, 2-클로로-4,6-디메톡시-1,3,5-트리아진, HATU, HOBT/EDC 및 T3P®로 이루어진 군으로부터 선택된 커플링제의 존재 하에 하기 화학식 3의 아닐린과 커플링시키는 것을 포함하는, 하기 화학식 1의 화합물의 제조 방법을 제공한다.

[0137] <화학식 1>



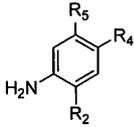
[0138]

[0139] <화학식 2>



[0140]

[0141] <화학식 3>



[0142]

[0143] 각각의 R<sub>2</sub> 및 R<sub>4</sub>는 수소, CN, CF<sub>3</sub>, 할로, C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭은 O, S 또는 N으로부터 선택된 3개 이하의 헤테로원자를 갖고, 각각의 C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭은 -OR', -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, SR', S(O)R', SO<sub>2</sub>R', -SCF<sub>3</sub>, 할로, CN, -COOR', -COR-, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R'), -O(CH<sub>2</sub>)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OR', -(CH<sub>2</sub>)OR', CH<sub>2</sub>CN, 임의로 치환된 페닐 또는 페녹시, -N(R')(R'), -NR'C(O)OR', -NR'C(O)R', -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R') 또는 -(CH<sub>2</sub>)N(R')(R')로부터 선택된 3개 이하의 치환기로 독립적으로 및 임의로 치환된다.

[0144] 각각의 R<sub>5</sub>는 수소, -OH, NH<sub>2</sub>, CN, CHF<sub>2</sub>, NHR', N(R')<sub>2</sub>, -NHC(O)R', NHC(O)OR', NHSO<sub>2</sub>R', -OR', OC(O)OR', OC(O)NHR', OC(O)NR'<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>N(R')<sub>2</sub>, C(O)OR', SO<sub>2</sub>NHR', SO<sub>2</sub>N(R')<sub>2</sub> 또는 CH<sub>2</sub>NHC(O)OR'로부터 독립적으로 선택된다.

[0145] 또는 R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 함께 N, O 또는 S로부터 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 함유하는 5 내지 7원 고리를 형성하고, 여기서 상기 고리는 3개 이하의 R<sub>3</sub> 치환기로 임의로 치환된다.

[0146] 각각의 X는 독립적으로 결합이거나, 또는 임의로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬리덴 쇠이고, 여기서 X의 2개 이하의 메틸렌 단위는 -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR'-, -CONR'NR'-, -CO<sub>2</sub>-, -OCO-, -NR'CO<sub>2</sub>-, -O-, -NR'CONR'-, -OCONR'-, -NR'NR', -NR'NR'CO-, -NR'CO-, -S-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -NR'-, -SO<sub>2</sub>NR'-, NR'SO<sub>2</sub>- 또는 -NR'SO<sub>2</sub>NR'-에 의해 임의로 및 독립적으로 대체된다.

[0147] 각각의 R<sup>x</sup>는 독립적으로 R', 할로, NO<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub> 또는 OCF<sub>3</sub>이다. y는 0 내지 4의 정수이다. 각각의 R'는 C<sub>1-8</sub> 지방족 기, 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 3 내지 8원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 고리, 또는 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 5개의 헤테로원자를 갖는 8 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 비시클릭 고리계로부터 선택된 임의로 치환된 기, 또는 수소로부터 독립적으로 선택되거나; 또는 2개 존재의 R'는 이들이 결합되어 있는 원자(들)과 함께, N, O 또는 S로부터 독립적으로 선택된 0 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 또는 비시클릭 고리를 형성한다.

[0148] 각각의 R<sub>3</sub>은 독립적으로 -C<sub>1-3</sub> 알킬, C<sub>1-3</sub> 퍼할로알킬, -O(C<sub>1-3</sub> 알킬), -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -SCF<sub>3</sub>, -F, -Cl, -Br, 또는 -COOR', -COR', -O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R'), -O(CH<sub>2</sub>)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OR', -(CH<sub>2</sub>)OR', 임의로 치환된 모노시클릭 또는 비시클릭 방향족 고리, 임의로 치환된 아릴술폰, 임의로 치환된 5원 헤테로아릴 고리, -N(R')(R'), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R') 또는 -(CH<sub>2</sub>)N(R')(R')이다.

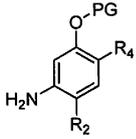
[0149] 한 실시양태에서, R<sub>5</sub>는 독립적으로 -OC(O)OR', -OC(O)NHR' 또는 -OC(O)N(R')<sub>2</sub>이고, R'는 수소가 아니다. 특정 예에서, R<sub>5</sub>는 -OC(O)OR'이고, R'는 수소가 아니다. 다른 예에서, R<sub>5</sub>는 -OC(O)NHR'이고, R'는 수소가 아니다. 또 다른 예에서, R<sub>5</sub>는 -OC(O)N(R')<sub>2</sub>이고, R'는 수소가 아니다.

[0150] 한 실시양태에서, 방법은 -OC(O)OR', -OC(O)NHR' 또는 -OC(O)N(R')<sub>2</sub>R<sub>5</sub> 기를 절단하여 -OH를 형성하는 것을 추가로 포함한다. 절단은 -OC(O)OR', -OC(O)NHR' 또는 -OC(O)N(R')<sub>2</sub>R<sub>5</sub> 기를 함유하는 화학식 1의 화합물을 염기, 예컨대 NaOH, KOH 또는 나트륨 메톡시드의 존재 하에 알콜성 용매로 처리하여 수행한다. 절단 반응에 사용되는 알콜성 용매는 메탄올, 에탄올, 이소프로필 알콜 또는 t-부탄올이다.

- [0151] 또 다른 실시양태에서,  $R_4$  또는  $R_2$  중 적어도 하나는 독립적으로  $-COOR'$  또는  $-CON(R')_2$ 로 치환된  $C_1-C_6$  직쇄형 또는 분지형 알킬이고,  $R'$ 는 수소가 아니다. 특정 예에서,  $R_4$  또는  $R_2$  중 하나는  $-COOR'$ 이고,  $R'$ 는 수소가 아니다. 다른 예에서,  $R_4$  또는  $R_2$  중 하나는  $-CON(R')_2$ 이고,  $R'$ 는 수소가 아니다.
- [0152] 한 실시양태에서, 방법은  $R_4$  및  $R_2$  중 적어도 하나 상에서  $-COOR'$  또는  $-CON(R')_2$ 를 가수분해하는 것을 추가로 포함한다. 가수분해는  $R_4$  및  $R_2$  중 적어도 하나 상에  $-COOR'$  또는  $-CON(R')_2$  기를 함유하는 화학식 1의 화합물을 염기, 예컨대 NaOH, KOH 또는 나트륨 메톡시드의 존재 하에 알콜성 용매로 처리하여 수행한다. 가수분해에 사용되는 알콜성 용매는 메탄올, 에탄올, 이소프로필 알콜 또는 t-부탄올이다.
- [0153] 또 다른 실시양태에서,  $R_4$  또는  $R_2$  중 적어도 하나는 독립적으로  $-COOR'$  또는  $-CON(R')_2$ 로 치환된  $C_{1-6}$  직쇄형 또는 분지형 알킬이고,  $R_5$ 는 독립적으로  $-OC(O)OR'$ ,  $-OC(O)NHR'$  또는  $-OC(O)N(R')_2$ 이고, 각각의  $R'$ 는 수소가 아니다.
- [0154] 한 실시양태에서, 방법은  $R_4$  및  $R_2$  중 적어도 하나 상에서  $-COOR'$  또는  $-CON(R')_2$ 를 가수분해하고,  $-OC(O)OR'$ ,  $-OC(O)NHR'$  또는  $-OC(O)N(R')_2R_5$  기를 절단하는 것을 추가로 포함한다. 가수분해/절단 반응은  $R_4$  및  $R_2$  중 적어도 하나 상에  $-COOR'$  또는  $-CON(R')_2$ 를 함유하고  $-OC(O)OR'$ ,  $-OC(O)NHR'$  또는  $-OC(O)N(R')_2R_5$  기를 함유하는 화학식 1의 화합물을 염기, 예컨대 NaOH, KOH 또는 나트륨 메톡시드의 존재 하에 알콜성 용매로 처리하여 수행한다. 가수분해/절단 반응에 사용되는 알콜성 용매는 메탄올, 에탄올, 이소프로필 알콜 또는 t-부탄올이다.
- [0155] 또 다른 실시양태에서, 화학식 2의 카르복실산과 화학식 3의 아닐린의 커플링은 염기, 예컨대  $K_2CO_3$ ,  $Et_3N$ , N-메틸모르폴린 (NMM), 피리딘 또는 DIEA의 존재 하에 수행한다.
- [0156] 또 다른 실시양태에서, 화학식 2의 카르복실산과 화학식 3의 아닐린의 커플링은 피리딘 또는 DIEA의 존재 하에 수행한다.
- [0157] 또 다른 실시양태에서, 화학식 2의 카르복실산과 화학식 3의 아닐린의 커플링은 용매, 예컨대 EtOAc, IPAc, THF, MEK, NMP, 아세토니트릴, DMF 또는 2-메틸테트라히드로푸란의 존재 하에 수행한다.
- [0158] 추가 실시양태에서, 화학식 2의 카르복실산과 화학식 3의 아닐린의 커플링은 10°C 내지 78°C, 예컨대 약 20°C 내지 30°C, 약 40°C 내지 50°C, 및 약 42°C 내지 53°C로 유지되는 반응 온도에서 수행한다.
- [0159] 추가 실시양태에서, 커플링 반응물은 2시간 이상 동안, 예컨대 8시간 이상 동안, 70시간 이상 동안 또는 3일 이상 동안 교반한다.
- [0160] 또 다른 실시양태에서,  $y$ 는 0이다.
- [0161] 또 다른 실시양태에서,  $R_2$ 는 tert-부틸이다.
- [0162] 일부 실시양태에서,  $R_5$ 는 독립적으로  $-OC(O)OR'$ ,  $-OC(O)NHR'$  또는  $-OC(O)N(R')_2$ 이고,  $R'$ 는 수소가 아니고; 각각의  $R_2$  및  $R_4$ 는 수소,  $CF_3$ ,  $C_1-C_6$  직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족 또는 페닐로부터 독립적으로 선택된다.
- [0163] 일부 실시양태에서,  $R_5$ 는 독립적으로  $-OC(O)OR'$ ,  $-OC(O)NHR'$  또는  $-OC(O)N(R')_2$ 이고,  $R'$ 는 수소가 아니고; 각각의  $R_2$  및  $R_4$ 는  $C_1-C_6$  직쇄형 또는 분지형 알킬로부터 독립적으로 선택된다.
- [0164] 일부 실시양태에서,  $R_5$ 는 독립적으로  $-OC(O)OR'$ ,  $-OC(O)NHR'$  또는  $-OC(O)N(R')_2$ 이고,  $R'$ 는 수소가 아니고; 각각의  $R_2$  및  $R_4$ 는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, t-부틸, n-펜틸 또는 n-헥실로부터 독립적으로 선택된다.
- [0165] 일부 실시양태에서,  $R_2$  및  $R_4$ 는 t-부틸이다.
- [0166] 한 실시양태에서, 본 발명은 하기 화학식 6의 화합물을 용매의 존재 하에 화학식 6의 화합물의 폐놀성 산소에 부착될 보호기를 유발할 수 있는 시약과 반응시켜, 그로 인해 하기 화학식 7의 화합물을 생성하고, 이를 니트로화시켜 하기 화학식 8의 화합물을 형성하고, 이어서 이를 환원시켜 하기 화학식 5의 화합물을 얻는 것인 화학식

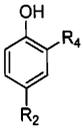
5의 화합물의 제조 방법을 제공한다.

[0167] <화학식 5>



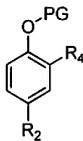
[0168]

[0169] <화학식 6>



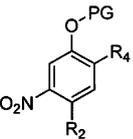
[0170]

[0171] <화학식 7>



[0172]

[0173] <화학식 8>



[0174]

[0175] 상기 식에서, PG는 보호기이고, R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 상기와 같이 정의된다.

[0176] 한 실시양태에서, 화학식 6의 화합물의 화학식 7의 화합물로의 전환에 사용되는 용매는 디에틸 에테르 또는 메틸렌 클로라이드이다.

[0177] 또 다른 실시양태에서, 보호 반응에 사용되는 용매는 메틸렌 클로라이드이다.

[0178] 추가 실시양태에서, PG는 프로폭시 포르밀, 메탄술폰닐, 4-니트로-벤조일, 에톡시 포르밀, 부톡시 포르밀, t-부톡시 포르밀, i-프로폭시 포르밀 또는 메톡시 포르밀이다.

[0179] 또 다른 실시양태에서, PG는 메톡시 포르밀이다.

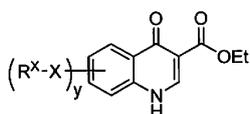
[0180] 또 다른 실시양태에서, 화학식 7의 화합물은 황산, 질산 및 메틸렌 클로라이드의 혼합물을 사용하여 니트로화시킨다.

[0181] 한 실시양태에서, 화학식 8의 니트로 화합물은 결정화에 의해 정제한다.

[0182] 추가 실시양태에서, 화학식 8의 니트로 화합물은 헥산을 사용하는 결정화에 의해 정제한다.

[0183] 또 다른 실시양태에서, 방법은 하기 화학식 4의 화합물을 수성 산과 접촉시켜 화학식 2의 화합물을 생성하는 단계를 추가로 포함한다.

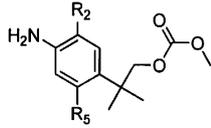
[0184] <화학식 4>



[0185]

[0186] 한 실시양태에서, 화학식 3의 화합물은 하기 화학식 40의 화합물이다.

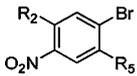
[0187] <화학식 40>



[0188]

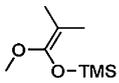
[0189] 또 다른 실시양태에서, 방법은 하기 화학식 41의 화합물을 메틸 트리메틸실릴 디메틸케텐 아세탈 (MTDA)과 접촉시켜 하기 화학식 42의 화합물을 생성하는 단계를 추가로 포함한다.

[0190] <화학식 41>



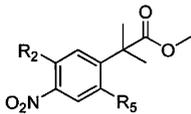
[0191]

[0192] <MTDA>



[0193]

[0194] <화학식 42>

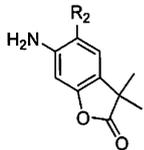


[0195]

[0196] 추가 실시양태에서, 방법은 화학식 42의 화합물을 환원시켜 화학식 40의 화합물을 생성하는 단계를 포함한다.

[0197] 한 실시양태에서, 화학식 3의 화합물은 하기 화학식 43의 화합물이다.

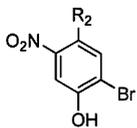
[0199] <화학식 43>



[0200]

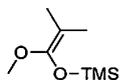
[0201] 추가 실시양태에서, 방법은 하기 화학식 44의 화합물을 메틸 트리메틸실릴 디메틸케텐 아세탈 (MTDA)과 접촉시켜 하기 화학식 45의 화합물을 생성하는 단계를 포함한다.

[0202] <화학식 44>



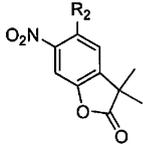
[0203]

[0204] <MTDA>



[0205]

[0206] <화학식 45>

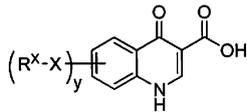


[0207]

[0208] 추가 실시양태에서, 방법은 화학식 45의 화합물을 환원시켜 화학식 43의 화합물을 생성하는 단계를 포함한다.

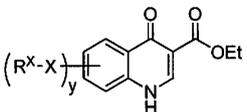
[0209] 또 다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 4의 화합물을 수성 산과 접촉시키는 것을 포함하는, 하기 화학식 2의 화합물의 제조 방법을 제공한다.

[0210] <화학식 2>



[0211]

[0212] <화학식 4>



[0213]

[0214] 상기 식에서,

[0215] 각각의 X는 독립적으로 결합이거나, 또는 임의로 치환된 C<sub>1-6</sub> 알킬리덴쇄이고, 여기서 X의 2개 이하의 메틸렌 단위는 -CO-, -CS-, -COCO-, -CONR'-, -CONR'NR'-, -CO<sub>2</sub>-, -OCO-, -NR'CO<sub>2</sub>-, -O-, -NR'CONR'-, -OCONR'-, -NR'NR', -NR'NR'CO-, -NR'CO-, -S-, -SO-, -SO<sub>2</sub>-, -NR'-, -SO<sub>2</sub>NR'-, NR'SO<sub>2</sub>- 또는 -NR'SO<sub>2</sub>NR'-에 의해 임의로 및 독립적으로 대체되고;

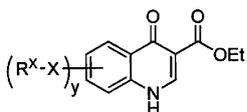
[0216] 각각의 R<sup>x</sup>는 독립적으로 R', 할로, NO<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub> 또는 OCF<sub>3</sub>이고;

[0217] y는 0 내지 4의 정수이고;

[0218] 각각의 R'는 C<sub>1-8</sub> 지방족 기, 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 3 내지 8원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 고리, 또는 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 5개의 헤테로원자를 갖는 8 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 비시클릭 고리계로부터 선택된 임의로 치환된 기, 또는 수소로부터 독립적으로 선택되거나; 또는 2개 존재의 R'는 이들이 결합되어 있는 원자(들)과 함께, N, O 또는 S로부터 독립적으로 선택된 0 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 또는 비시클릭 고리를 형성한다.

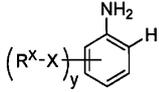
[0219] 이러한 측면의 한 실시양태에서, 하기 화학식 4의 화합물은 하기 화학식 50의 화합물을 하기 화학식 51의 화합물과 접촉시켜 제조하였다.

[0220] <화학식 4>



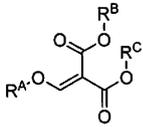
[0221]

[0222] <화학식 50>



[0223]

[0224] <화학식 51>



[0225]

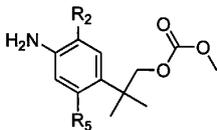
[0226] 상기 식에서, R<sup>A</sup>, R<sup>B</sup> 및 R<sup>C</sup>는 C<sub>1-6</sub> 알킬일 수 있다.

[0227] 이러한 측면의 한 실시양태에서, 화학식 50의 화합물과 화학식 50의 화합물은 약 100℃ 내지 약 300℃의 온도에서 반응시킨다. 또 다른 실시양태에서, 화학식 50의 화합물과 화학식 50의 화합물은 약 100℃의 온도에서 반응시킨다. 또 다른 실시양태에서, 화학식 50의 화합물과 화학식 50의 화합물은 약 250℃의 온도에서 반응시킨다. 한 추가 실시양태에서, 화학식 50의 화합물과 화학식 50의 화합물은 약 100℃의 온도에서, 및 이어서 약 250℃의 온도에서 반응시킨다.

[0228] 이러한 측면의 한 추가 실시양태에서, y는 0이다.

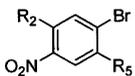
[0229] 또 다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 41의 화합물을 메틸 트리메틸실릴 디메틸케텐 아세탈 (MTDA)과 접촉시켜 하기 화학식 42의 화합물을 생성하는 단계를 포함하는, 하기 화학식 40의 화합물의 제조 방법을 제공한다.

[0230] <화학식 40>



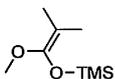
[0231]

[0232] <화학식 41>



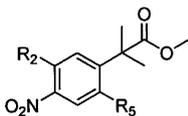
[0233]

[0234] <MTDA>



[0235]

[0236] <화학식 42>



[0237]

[0238] 상기 식에서,

[0239] 각각의 R<sub>2</sub>는 수소, CN, CF<sub>3</sub>, 할로, C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭은 O, S 또는 N으로부터 선택된 3개 이하의 헤테로원자를 갖고, 각각의 C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭은 -OR', -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, SR', S(O)R', SO<sub>2</sub>R', -SCF<sub>3</sub>, 할

로, CN, -COOR', -COR-, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R'), -O(CH<sub>2</sub>)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OR', -(CH<sub>2</sub>)OR', CH<sub>2</sub>CN, 임의로 치환된 페닐 또는 페녹시, -N(R')(R'), -NR'C(O)OR', -NR'C(O)R', -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R') 또는 -(CH<sub>2</sub>)N(R')(R')로부터 선택된 3개 이하의 치환기로 독립적으로 및 임의로 치환되고;

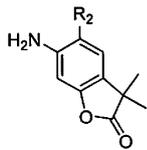
[0240] 각각의 R<sub>5</sub>는 수소, -OH, NH<sub>2</sub>, CN, CHF<sub>2</sub>, NHR', N(R')<sub>2</sub>, -NHC(O)R', NHC(O)OR', NHSO<sub>2</sub>R', -OR', OC(O)OR', OC(O)NHR', OC(O)NR'<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>N(R')<sub>2</sub>, C(O)OR', SO<sub>2</sub>NHR', SO<sub>2</sub>N(R')<sub>2</sub> 또는 CH<sub>2</sub>NHC(O)OR'로부터 독립적으로 선택되고;

[0241] 각각의 R'는 C<sub>1-8</sub> 지방족 기, 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 3 내지 8원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 고리, 또는 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 5개의 헤테로원자를 갖는 8 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 비시클릭 고리계로부터 선택된 임의로 치환된 기, 또는 수소로부터 독립적으로 선택되거나; 또는 2개 존재의 R'는 이들이 결합되어 있는 원자(들)과 함께, N, O 또는 S로부터 독립적으로 선택된 0 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 또는 비시클릭 고리를 형성한다.

[0242] 이러한 측면의 한 실시양태에서, 방법은 화학식 42의 화합물을 환원시켜 화학식 40의 화합물을 생성하는 단계를 포함한다.

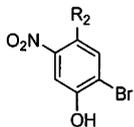
[0243] 또 다른 측면에서, 본 발명은 하기 화학식 44를 갖는 화합물을 메틸 트리메틸실릴 디메틸케텐 아세탈 (MTDA)과 접촉시켜 하기 화학식 45의 화합물을 생성하는 단계를 포함하는, 하기 화학식 43의 화합물의 제조 방법을 제공한다.

[0244] <화학식 43>



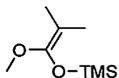
[0245]

[0246] <화학식 44>



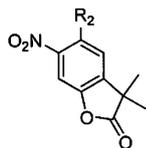
[0247]

[0248] <MTDA>



[0249]

[0250] <화학식 45>



[0251]

[0252] 상기 식에서,

[0253] 각각의 R<sub>2</sub>는 수소, CN, CF<sub>3</sub>, 할로, C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭으로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 헤테로아릴 또는 헤테로시클릭은 O, S 또는 N으로부터 선택된 3개 이하의 헤테로원자를 갖고, 각각의 C<sub>1-6</sub> 직쇄형 또는 분지형 알킬, 3 내지 12원 시클로지방족, 페닐, C<sub>5-10</sub> 헤테로아릴 또는 C<sub>3-7</sub> 헤테로시클릭은 -OR', -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, SR', S(O)R', SO<sub>2</sub>R', -SCF<sub>3</sub>, 할

로, CN, -COOR', -COR-, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R'), -O(CH<sub>2</sub>)N(R')(R'), -CON(R')(R'), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OR', -(CH<sub>2</sub>)OR', CH<sub>2</sub>CN, 임의로 치환된 페닐 또는 페녹시, -N(R')(R'), -NR'C(O)OR', -NR'C(O)R', -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(R')(R') 또는 -(CH<sub>2</sub>)N(R')(R')로부터 선택된 3개 이하의 치환기로 독립적으로 및 임의로 치환되고;

[0254] 각각의 R'는 C<sub>1-8</sub> 지방족 기, 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 3 내지 8원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 고리, 또는 질소, 산소 또는 황으로부터 독립적으로 선택된 0 내지 5개의 헤테로원자를 갖는 8 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 비시클릭 고리계로부터 선택된 임의로 치환된 기, 또는 수소로부터 독립적으로 선택되거나; 또는 2개 존재의 R'는 이들이 결합되어 있는 원자(들)과 함께, N, O 또는 S로부터 독립적으로 선택된 0 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 임의로 치환된 3 내지 12원 포화, 부분 불포화 또는 완전 불포화 모노시클릭 또는 비시클릭 고리를 형성한다.

[0255] 이러한 측면의 한 실시양태에서, 방법은 화학식 45의 화합물을 환원시켜 화학식 43의 화합물을 생성하는 단계를 포함한다.

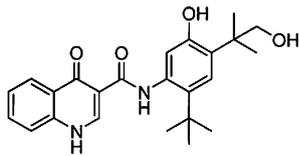
[0256] 일부 구체적인 실시양태에서, 하기 화합물 27의 제조 방법은

[0257] (a) 하기 화합물 26을 EDCI, HOBT 및 DIEA의 존재 하에 용매로서 DMF를 사용하여 하기 화합물 13과 반응시켜 (여기서, 반응 온도를 약 20°C 내지 30°C로 유지하고, 반응을 70시간 이상 동안 진행함), 하기 화합물 14를 생성하는 것; 및

[0258] (b) 화합물 14를 메탄올 중에서 KOH로 처리하는 것

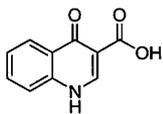
[0259] 을 포함한다.

[0260] <화합물 27>



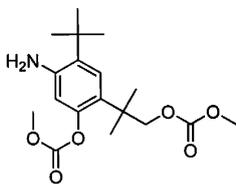
[0261]

[0262] <화합물 26>



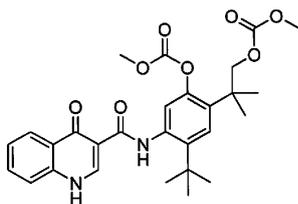
[0263]

[0264] <화합물 13>



[0265]

[0266] <화합물 14>



[0267]

[0268] 또 다른 구체적인 실시양태에서, 하기 화합물 28의 제조 방법은

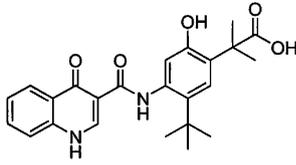
[0269] (a) 하기 화합물 26을 HATU 및 DIEA의 존재 하에 용매로서 아세트니트릴을 사용하여 하기 화합물 20과 반응시켜

(여기서, 반응 온도를 약 40℃ 내지 50℃로 유지하고, 반응을 3일 이상 동안 진행함), 하기 화합물 21을 생성하는 것; 및

[0270] (b) 화합물 21을 메탄올 중에서 NaOH로 처리하는 것

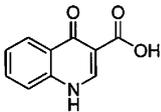
[0271] 을 포함한다.

[0272] <화합물 28>



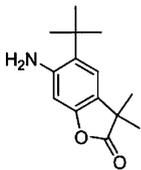
[0273]

[0274] <화합물 26>



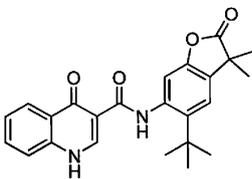
[0275]

[0276] <화합물 20>



[0277]

[0278] <화합물 21>



[0279]

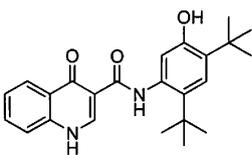
[0280] 또 다른 구체적인 실시양태에서, 하기 화합물 34의 제조 방법은

[0281] (a) 하기 화합물 26을 T3P® 및 피리딘의 존재 하에 용매로서 2-메틸 테트라히드로푸란을 사용하여 하기 화합물 32와 반응시켜 (여기서, 반응 온도를 약 42℃ 내지 약 3℃로 유지하고, 반응을 2시간 이상 동안 진행함), 하기 화합물 33을 생성하는 것; 및

[0282] (b) 화합물 33을 2-메틸 테트라히드로푸란 중에서 NaOMe/MeOH로 처리하는 것

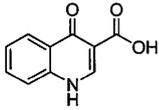
[0283] 을 포함한다.

[0284] <화합물 34>



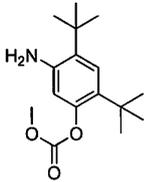
[0285]

[0286] <화합물 26>



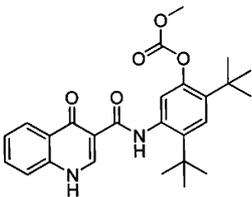
[0287]

[0288] <화합물 32>



[0289]

[0290] <화합물 33>



[0291]

[0292] 또 다른 실시양태에서, 방법은 또한 아세트니트릴과 물의 혼합물 중에서 화합물 34의 슬러리를 형성하는 단계 (여기서 화합물 34의 고체 형태가 화합물 34로 전환됨)를 포함한다.

[0293] 한 실시양태에서, 슬러리에서 아세트니트릴 대 물의 비율은 약 9:1이다.

[0294] 또 다른 실시양태에서, 슬러리는 약 73°C 내지 83°C의 온도로 가열한다.

[0295] 또 다른 실시양태에서, 화합물 34는 약 3시간 이상 동안 슬러리로 존재한다.

[0296] 추가 실시양태에서, 방법은 반응 혼합물을 1 N HCl로 켄칭하고; 혼합물에 0.1 N HCl을 첨가하고, 그로 인해 2상 혼합물을 생성하고; 2상 혼합물을 교반하고; 상기 2상 혼합물로부터 유기 상을 분리하고; 상기 유기 상으로부터 고형물질을 여과 및 제거하고; 유기 상의 부피를 증류를 이용하여 대략 50%만큼 감소시키고; 하기 단계: 상기 유기 상의 부피가 100%만큼 증가할 때까지 유기 상에 아세트니트릴을 첨가하고 유기 상의 부피를 대략 50%만큼 감소시키는 것을 3회 수행하고; 유기 상의 부피를 아세트니트릴을 첨가하여 대략 100%만큼 증가시키고, 이어서 물을 첨가하여, 최종 용매 비율이 9:1 아세트니트릴/물인 슬러리를 형성하고; 상기 슬러리를 약 73°C 내지 83°C의 온도로 가열하고; 상기 슬러리를 5시간 이상 동안 교반하고; 상기 슬러리를 약 -5°C 내지 5°C의 온도로 냉각시키는 것을 포함한다.

[0297] 대안적 실시양태에서, 방법은 반응 혼합물을 1.2 N HCl로 켄칭하고; 그로 인해 2상 혼합물을 생성하고; 상기 2상 혼합물을 교반하고; 상기 2상 혼합물로부터 유기 상을 분리하고; 유기 층에 0.1 N HCl을 첨가하고, 그로 인해 2상 혼합물을 생성하고; 상기 2상 혼합물을 교반하고; 유기 상을 분리하고; 상기 유기 상으로부터 고형물질을 여과 및 제거하고; 유기 상의 부피를 증류를 이용하여 대략 50%만큼 감소시키고; 하기 단계: 상기 유기 상의 부피가 100%만큼 증가할 때까지 유기 상에 아세트니트릴을 첨가하고 유기 상의 부피를 대략 50%만큼 감소시키는 것을 3회 수행하고; 유기 상의 부피를 아세트니트릴을 첨가하여 대략 100%만큼 증가시키고, 이어서 물을 첨가하여, 최종 용매 비율이 9:1 아세트니트릴/물인 슬러리를 형성하고; 상기 슬러리를 약 73°C 내지 83°C의 온도로 가열하고; 상기 슬러리를 5시간 이상 동안 교반하고; 상기 슬러리를 약 20°C 내지 25°C의 온도로 냉각시키고; 상기 슬러리로부터 고형물질을 여과 및 제거하고; 고형물질을 약 20°C 내지 25°C의 온도를 갖는 아세트니트릴로 4회 세척하고; 고형물을 진공 하에 45°C 내지 약 55°C의 온도에서 건조시키는 것을 포함한다.

[0298] 한 실시양태에서, 반응을 켄칭하기 위해 사용되는 1 N HCl의 부피는 최초 반응 혼합물의 총 부피의 25%와 동일하고; 반응 혼합물에 추가되는 0.1 N HCl의 부피는 최초 반응 혼합물의 총 부피의 25%와 동일하고; 증류 단계는 감압 하에 수행한다 (여기서, 반응 용기 외부 온도는 약 45°C 미만이고, 반응 혼합물의 온도는 약 0°C 초과임).

[0299] 추가 실시양태에서, 방법은 이소프로필 아세테이트 중에서 화합물 34의 슬러리를 형성하는 것을 포함한다.

[0300] 한 실시양태에서, 슬러리는 환류 온도로 가열하였다.

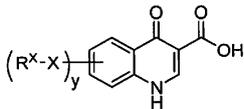
[0301] 또 다른 실시양태에서, 화합물 34는 약 3시간 이상 동안 슬러리로 존재한다.

[0302] 특정 실시양태에서, 화합물 34의 제조 방법은 화합물 34를 2-메틸테트라히드로푸란에 용해시키고; 0.1 N HCl을 용액에 첨가하여 2상 용액을 생성하고, 이를 교반하는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 2상 용액으로부터 유기 상을 분리하는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 유기 상으로부터 고형물질을 여과 및 제거하는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 유기 상의 부피를 증류를 이용하여 대략 50%만큼 감소시키는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 하기 절차: 유기 상의 부피가 100%만큼 증가할 때까지 유기 상에 MeOAc, EtOAc, IPAc, t-BuOAc, 테트라히드로푸란 (THF), Et<sub>2</sub>O 또는 메틸-t-부틸 에테르 (MTBE)를 첨가하고 유기 상의 부피를 증류를 이용하여 50%만큼 감소시키는 것을 3회 수행하는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 유기 상의 부피가 100%만큼 증가할 때까지 유기 상에 MeOAc, EtOAc, IPAc, t-BuOAc, 테트라히드로푸란 (THF), Et<sub>2</sub>O 또는 메틸-t-부틸 에테르 (MTBE)를 첨가하는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 유기 상을 환류 온도로 가열하고, 상기 환류 온도를 약 5시간 이상의 시간 동안 유지하는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 유기 상을 4.5시간 내지 5.5시간의 기간에 걸쳐 약 -5°C 내지 약 5°C의 온도로 냉각시키는 것을 추가로 포함한다.

[0303] 또 다른 실시양태에서, 화합물 34의 제조 방법은 화합물 34의 결정화 (용액 중에 화합물 34를 포함하는 포화 반응 혼합물을 하나 이상의 실질적으로 순수한 화합물 34의 결정과 함께 시딩하는 것 포함)를 추가로 포함한다.

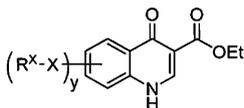
[0304] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 하기 화학식 4의 화합물을 가수분해하는 것을 포함하는, 하기 화학식 2의 화합물의 제조 방법을 제공한다.

[0305] <화학식 2>



[0306]

[0307] <화학식 4>



[0308]

[0309] 추가 실시양태에서, 화학식 4의 화합물은 용매의 존재 하에 가수분해제를 사용하여 가수분해한다.

[0310] 일부 추가 실시양태에서, 가수분해제는 HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, LiOH, KOH 또는 NaOH이다.

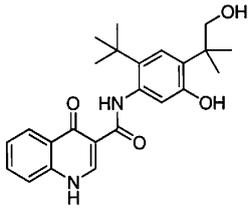
[0311] 일부 실시양태에서, 가수분해에 사용되는 용매는 H<sub>2</sub>O, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올 또는 t-부탄올이다.

[0312] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 제조된 화합물을 제공한다.

[0313] 추가 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 임의의 방법에 의해 제조된 화합물을 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

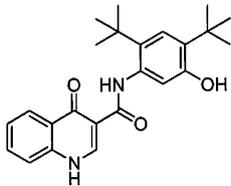
[0314] 한 측면에서, 본 발명은 하기 화합물 34를 생물학적 조성물과 접촉시키는 것을 포함하는, 하기 화합물 27의 제조 방법을 제공한다.

[0315] <화합물 27>



[0316]

[0317] <화합물 34>



[0318]

[0319] 이러한 측면의 한 실시양태에서, 생물학적 조성물은 진균, 박테리아 및 고세균으로 이루어진 군으로부터 선택된 생물학적 유기체를 포함한다.

[0320] 한 실시양태에서, 생물학적 조성물은 진균이다. 추가 실시양태에서, 진균은 단세포 진균이다. 또 다른 실시양태에서, 진균은 다세포 진균이다.

[0321] 추가 실시양태에서, 진균은 압시디아, 아스페르길루스, 류베리아, 보트리티스, 쿤닝하멜라, 시아투스, 글리오클라디움, 모르티에렐라, 뮤코르, 파네로카에테, 스템필리움, 신세팔라스트룸 및 베르티실리움으로 이루어진 군으로부터 선택된 다세포 진균이다.

[0322] 추가 실시양태에서, 진균은 압시디아 슈도실린드로스포라, 아스페르길루스 알리아세우스, 아스페르길루스 오크라세우스, 류베리아 바시아나, 쿤닝하멜라 블라케슬리아나, 쿤닝하멜라 에키놀라타, 모르티에렐라 이사벨리나, 뮤코르 플룸베우스, 파네로카에테 크리소스포리움, 신세팔라스트룸 라세모숨 및 베르티실리움 테오브로마에로 이루어진 군으로부터 선택된 다세포 진균이다.

[0323] 또 다른 실시양태에서, 진균은 칸디다, 데바리오미세스, 게오트리쿰, 피키아, 로도토룰라, 사카로미세스, 스포로볼로미세스, 윌리옵시스 및 야로위아로 이루어진 군으로부터 선택된 단세포 진균이다.

[0324] 추가 실시양태에서, 진균은 칸디다 파립실로시스, 데바리오미세스 한세니이, 게오트리쿰 칸디둠, 피키아 메타놀리카, 피키아 서브펠리코사, 로도토룰라 글루티니스, 로도토룰라 무칼리기노사, 사카로미세스 세레비지아에, 스포로볼로미세스 살모니콜로르, 윌리옵시스 사투르니스 및 야로위아 리폴리티카로 이루어진 군으로부터 선택된 단세포 진균이다.

[0325] 또 다른 실시양태에서, 생물학적 유기체는 고세균이다. 추가 실시양태에서, 고세균은 피로코쿠스이다. 추가 실시양태에서, 고세균은 피로코쿠스 푸리오수스이다.

[0326] 또 다른 실시양태에서, 생물학적 유기체는 박테리아이다.

[0327] 추가 실시양태에서, 박테리아는 락토바실루스, 슈도모나스, 로도코쿠스 및 스트렙토미세스로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0328] 추가 실시양태에서, 박테리아는 락토바실루스 레우테리이, 슈도모나스 메타놀리카, 로도코쿠스 에리트로폴리스, 스트렙토미세스 그리세우스, 스트렙토미세스 그리세올루스, 스트렙토미세스 플라텐시스 및 스트렙토미세스 리모수스로 이루어진 군으로부터 선택된다.

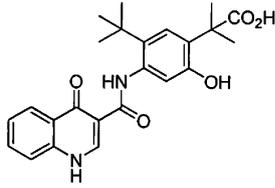
[0329] 추가 실시양태에서, 생물학적 조성물은 스트렙토미세스 리모수스 또는 그의 단편을 포함한다.

[0330] 이러한 측면의 한 실시양태에서, 생물학적 조성물은 용매를 포함한다. 추가 실시양태에서, 용매는 물을 포함한다. 추가 실시양태에서, 용매는 완충제이다. 추가 실시양태에서, 용매는 약 7의 pH를 갖는 인산칼륨 완충제이다.

[0331] 한 측면에서, 본 발명은 하기 화합물 34를 생물학적 조성물과 반응시키는 것을 포함하는, 하기 화합물 28의 제

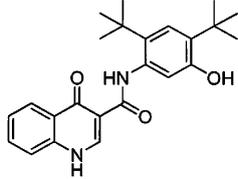
조 방법을 제공한다.

[0332] <화합물 28>



[0333]

[0334] <화합물 34>



[0335]

[0336] 이러한 측면의 한 실시양태에서, 생물학적 조성물은 진균, 박테리아 및 고세균으로 이루어진 군으로부터 선택된 생물학적 유기체를 포함한다.

[0337] 한 실시양태에서, 생물학적 조성물은 진균이다. 추가 실시양태에서, 진균은 단세포 진균이다. 또 다른 실시양태에서, 진균은 다세포 진균이다.

[0338] 추가 실시양태에서, 진균은 압시디아, 아스페르길루스, 류베리아, 보트리티스, 쿤닝하멜라, 시아투스, 글리오클라디움, 모르티에렐라, 뮤코르, 파네로카에테, 스템필리움, 신세팔라스트룸 및 베르티실리움으로 이루어진 군으로부터 선택된 다세포 진균이다.

[0339] 추가 실시양태에서, 진균은 압시디아 슈도실린드로스포라, 아스페르길루스 알리아세우스, 아스페르길루스 오크라세우스, 류베리아 바시아나, 쿤닝하멜라 블라케슬리아나, 쿤닝하멜라 에키놀라타, 모르티에렐라 이사벨리나, 뮤코르 플룸베우스, 파네로카에테 크리소스포리움, 신세팔라스트룸 라세모숨 및 베르티실리움 테오브로마에로 이루어진 군으로부터 선택된 다세포 진균이다.

[0340] 또 다른 실시양태에서, 진균은 칸디다, 데바리오미세스, 게오트리쿰, 피키아, 로도토룰라, 사카로미세스, 스포로볼로미세스, 윌리옵시스 및 야로위아로 이루어진 군으로부터 선택된 단세포 진균이다.

[0341] 추가 실시양태에서, 진균은 칸디다 파립실로시스, 데바리오미세스 한세니이, 게오트리쿰 칸디둠, 피키아 메타놀리카, 피키아 서브펠리코사, 로도토룰라 글루티니스, 로도토룰라 무칼리기노사, 사카로미세스 세레비지아에, 스포로볼로미세스 살모니콜로르, 윌리옵시스 사투르니스 및 야로위아 리폴리티카로 이루어진 군으로부터 선택된 단세포 진균이다.

[0342] 또 다른 실시양태에서, 생물학적 유기체는 고세균이다. 추가 실시양태에서, 고세균은 피로코쿠스이다. 추가 실시양태에서, 고세균은 피로코쿠스 푸리오수스이다.

[0343] 또 다른 실시양태에서, 생물학적 유기체는 박테리아이다.

[0344] 추가 실시양태에서, 박테리아는 락토바실루스, 슈도모나스, 로도코쿠스 및 스트렙토미세스로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0345] 추가 실시양태에서, 박테리아는 락토바실루스 레우테리이, 슈도모나스 메타놀리카, 로도코쿠스 에리트로폴리스, 스트렙토미세스 그리세우스, 스트렙토미세스 그리세올루스, 스트렙토미세스 플라텐시스 및 스트렙토미세스 리모수스로 이루어진 군으로부터 선택된다.

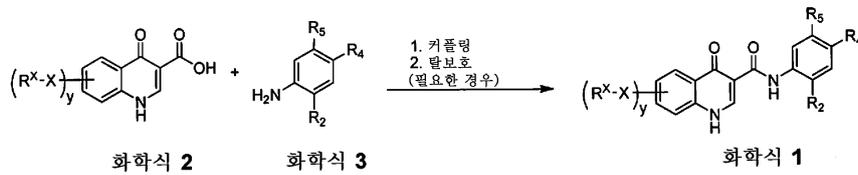
[0346] 이러한 측면의 한 실시양태에서, 생물학적 조성물은 스트렙토미세스 리모수스 또는 그의 단편을 포함한다.

[0347] 이러한 측면의 한 실시양태에서, 생물학적 조성물은 용매를 포함한다. 추가 실시양태에서, 용매는 물을 포함한다. 추가 실시양태에서, 용매는 완충제이다. 추가 실시양태에서, 용매는 약 7의 pH를 갖는 인산칼륨 완충제이다.

[0348] III. 일반적 합성

[0349] 화학식 1의 화합물은 하기 반응식 1에 따라 합성할 수 있다.

[0350] <반응식 1>



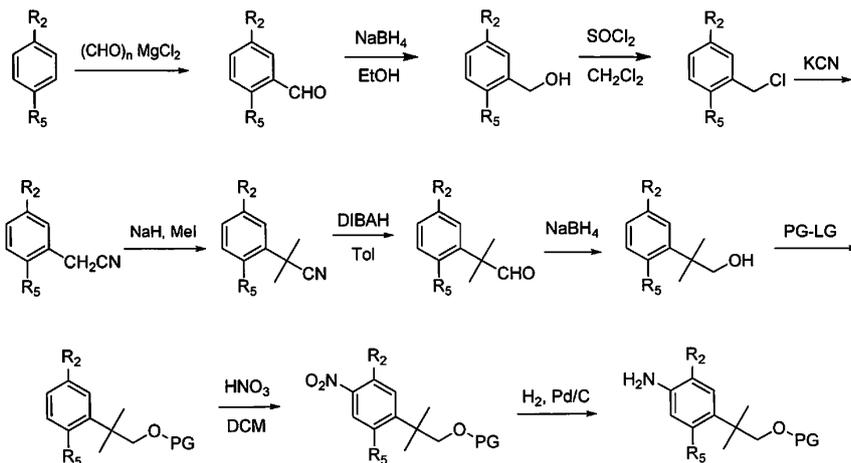
[0351]

[0352] 반응식 1에서, R<sub>2</sub>, R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>가 임의로 및 독립적으로 상기 정의된 관능기로 치환되고, 해당 관능기가 임의로 및 독립적으로 그에 대한 보호기를 보유하는 화학식 3의 아닐린을 커플링 조건 하에 화학식 2의 카르복실산 중간체와 반응시킨다. 이어서, 하나 이상의 보호기를 보유한 화학식 1의 유도체를 탈보호시켜, 비보호된 화학식 1의 유도체를 제공한다.

[0353] 반응식 1에 기재된 커플링 반응은, 반응물을 적합한 용매에 용해시키고, 생성된 용액을 임의로 적합한 염기의 존재 하에 적합한 커플링 시약으로 처리하여 달성할 수 있다.

[0354] R<sub>4</sub>가 보호된 1-히드록시-2-메틸프로판-2-일인 화학식 3의 아닐린은 하기 반응식 2에 따라 합성할 수 있다.

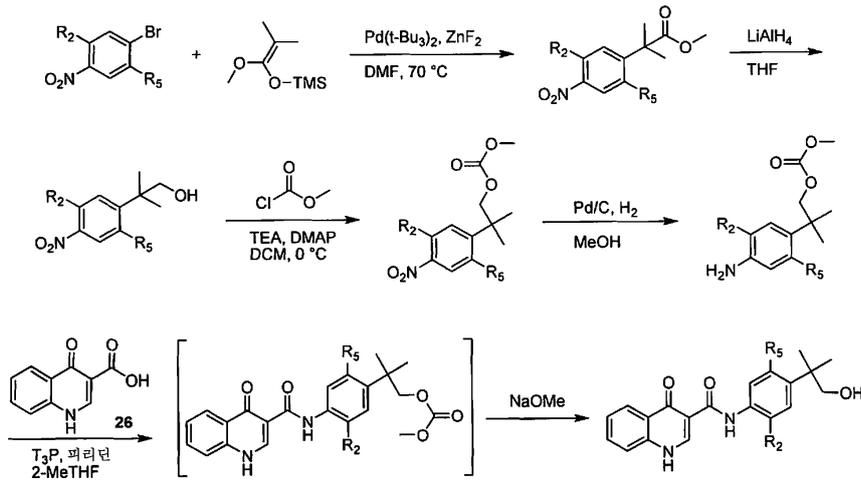
[0355] <반응식 2>



[0356]

[0357] 대안적으로, R<sub>4</sub>가 보호된 1-히드록시-2-메틸프로판-2-일인 화학식 3의 아닐린은 하기 반응식 3에 따라 합성할 수 있다.

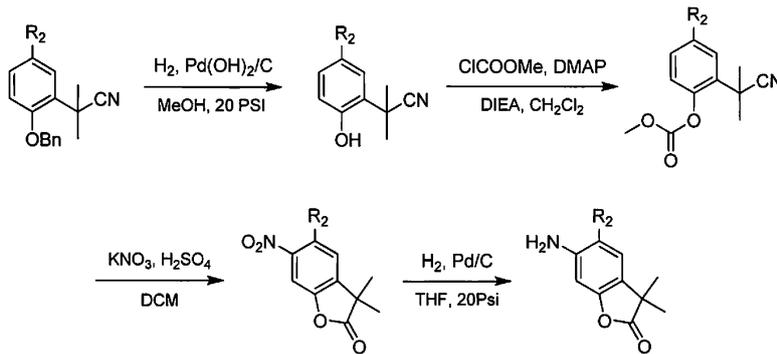
[0358] <반응식 3>



[0359]

[0360] R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>가 이들이 부착되어 있는 페닐 고리와 함께 3,3-디메틸벤조푸란-2(3H)-온을 형성하는 화학식 3의 아닐린은 하기 반응식 4에 따라 합성할 수 있다.

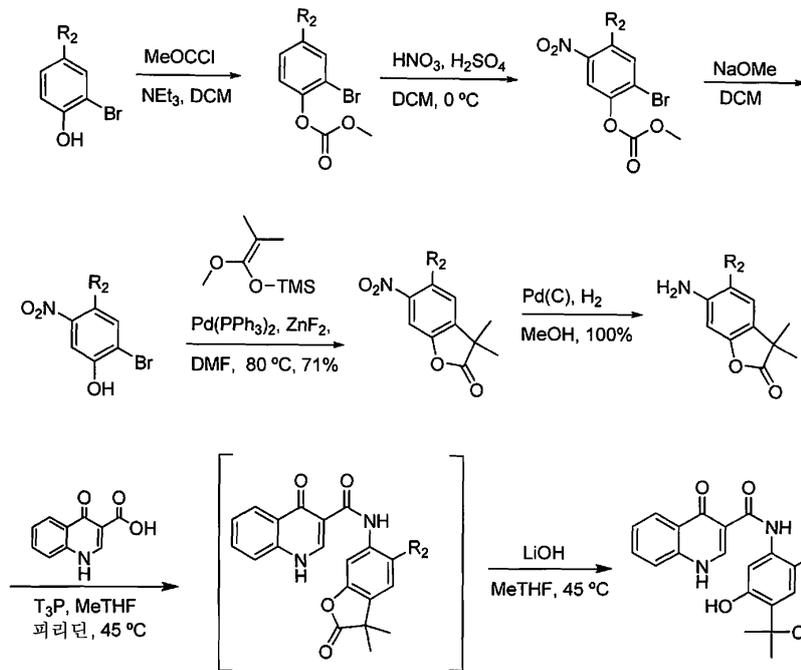
[0361] <반응식 4>



[0362]

[0363] 대안적으로, R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>가 이들이 부착되어 있는 페닐 고리와 함께 3,3-디메틸벤조푸란-2(3H)-온을 형성하는 화학식 3의 아닐린은 하기 반응식 5에 따라 합성할 수 있다.

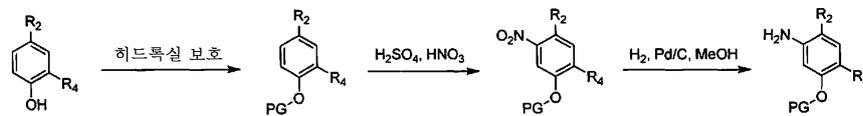
[0364] <반응식 5>



[0365]

[0366] R5가 보호된 히드록실인 화학식 3의 아닐린은 하기 반응식 6에 따라 합성할 수 있다.

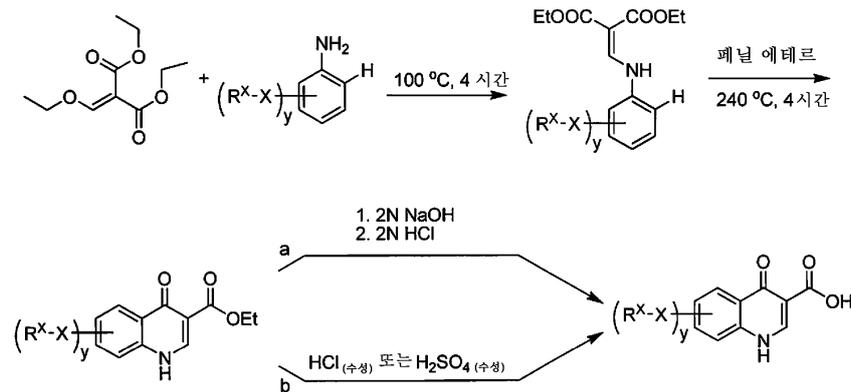
[0367] <반응식 6>



[0368]

[0369] 화학식 2의 디히드로퀴놀린 카르복실산은 하기 반응식 7에 따라 합성될 수 있으며, 여기서 아닐린 유도체는 EtOCH=C(COOEt)2에의 접합 첨가에 이어 열적 재배열 및 가수분해를 겪는다.

[0370] <반응식 7>



[0371]

[0372] IV. 용도 및 사용 방법

[0373] 제약상 허용되는 조성물

[0374] 본 발명의 한 측면에서, 제약상 허용되는 조성물이 제공되며, 상기 조성물은 본원에 기재된 임의의 화합물을 포함하고, 제약상 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 임의로 포함한다. 특정 실시양태에서, 이들 조성물은 1 종 이상의 추가의 치료제를 임의로 추가 포함한다.

- [0375] 또한, 본 발명의 특정 화합물이 처리를 위해서 유리 형태로 존재할 수 있거나, 또는 적절하다면 그의 제약상 허용되는 유도체 또는 전구약물로서 존재할 수 있음을 알 것이다. 본 발명에 따르면, 제약상 허용되는 유도체 또는 전구약물에는 제약상 허용되는 염, 에스테르, 이러한 에스테르의 염, 또는 그를 필요로 하는 환자에게 투여 시 본원에 또한 기재된 화합물, 또는 그의 대사물 또는 잔류물을 직접적으로 또는 간접적으로 제공할 수 있는 임의의 다른 부가물 또는 유도체가 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0376] 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 염"은 분별있는 의학적 판단의 범위 내에서 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 등이 없이 인간 및 하등 동물의 조직과 접촉시키는데 사용하기에 적합하고 합리적인 이익/위험 비율을 갖는 그러한 염을 지칭한다. "제약상 허용되는 염"은 수용자에게 투여시에 본 발명의 화합물 또는 그의 억제 활성 대사물 또는 잔류물을 직접적으로 또는 간접적으로 제공할 수 있는 본 발명의 화합물의 임의의 비독성 염 또는 에스테르의 염을 의미한다.
- [0377] 제약상 허용되는 염은 당업계에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 에스. 엠. 버지(S. M. Berge) 등은 본원에 참조로 포함되는 문헌 [J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19]에서 제약상 허용되는 염을 상세하게 기재한다. 본 발명의 화합물의 제약상 허용되는 염에는 적합한 무기 및 유기 산 및 염기로부터 유래된 것들이 포함된다. 제약상 허용되는 비독성 산 부가염의 예로는 무기 산, 예컨대 염산, 브롬화수소산, 인산, 황산 및 과염소산, 또는 유기 산, 예컨대 아세트산, 옥살산, 말레산, 타르타르산, 시트르산, 숙신산 또는 말론산을 사용하여 형성되거나, 또는 당업계에서 사용되는 다른 방법, 예컨대 이온 교환법을 이용하여 형성된 아미노기의 염이 있다. 다른 제약상 허용되는 염에는 아디페이트, 알기네이트, 아스코르베이트, 아스파르테이트, 벤젠술포네이트, 벤조에이트, 비술페이트, 보레이트, 부티레이트, 캄포레이트, 캄포술포네이트, 시트레이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실술포에이트, 에디실레이트 (에탄디술포네이트), 에탄술포네이트, 포르메이트, 푸마레이트, 글루코헵토네이트, 글리세로포스페이트, 글루코네이트, 헤미술포에이트, 헬타노에이트, 헥사노에이트, 히드로요오다이드, 2-히드록시-에탄술포네이트, 락토비오네이트, 락테이트, 라우레이트, 라우릴 술포에이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 메탄술포네이트, 2-나프탈렌술포네이트, 니코티네이트, 니트레이트, 올레에이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼술포에이트, 3-페닐프로피오네이트, 포스페이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 스테아레이트, 숙시네이트, 술포에이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, p-톨루엔술포네이트, 운데카노에이트, 발레레이트 염 등이 포함된다. 적절한 염기로부터 유래된 염에는 알칼리 금속, 알칼리성 토금속, 암모늄 및  $N^+(C_{1-4}\text{알킬})_4$  염이 포함된다. 본 발명은 또한 본원에 개시된 화합물의 임의의 염기성 질소-함유 기의 4급화도 고려한다. 물 또는 오일에 가용성이거나 분산가능한 생성물은 이러한 4급화에 의해 수득될 수 있다. 대표적인 알칼리 또는 알칼리성 토금속 염에는 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 염 등이 포함된다. 적절한 경우에, 추가의 제약상 허용되는 염에는 비독성 암모늄, 4급 암모늄, 및 반대이온, 예컨대 할라이드, 히드록시드, 카르복실레이트, 술포에이트, 포스페이트, 니트레이트, 저급알킬 술포네이트 및 아릴 술포네이트를 사용하여 형성된 아민 양이온이 포함된다.
- [0378] 상기 기재된 바와 같이, 본 발명의 제약상 허용되는 조성물은 제약상 허용되는 담체, 보조제 또는 비히클을 추가로 포함하고, 이것은 본원에서 사용된 바와 같이 원하는 특정 투여 형태에 적절하게 임의의 및 모든 용매, 희석제, 또는 기타 액체 비히클, 분산 또는 현탁 보조제, 표면 활성제, 등장화제, 증점제 또는 유화제, 보존제, 고체 결합제, 윤활제 등을 포함한다. 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Sixteenth Edition, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980)]에 제약상 허용되는 조성물을 제제화하는 데 사용되는 다양한 담체 및 그의 공지된 제조 기법이 개시되어 있다. 임의의 바람직하지 않은 생물학적 효과를 일으키거나 또는 대안적으로는 제약상 허용되는 조성물의 임의의 다른 성분(들)과 해로운 방식으로 상호작용하는 것과 같이 임의의 통상적인 담체 매질이 본 발명의 화합물과 상용가능하지 않은 경우를 제외하면, 그의 용도는 본 발명의 범위 내에 속하는 것으로 고려된다. 제약상 허용되는 담체로서 사용될 수 있는 물질의 일부 예에는 이온 교환체, 알루미늄, 알루미늄 스테아레이트, 레시틴, 혈청 단백질, 예컨대 인간 혈청 알부민, 완충 물질, 예컨대 포스페이트, 글리신, 소르브산 또는 칼륨 소르베이트, 포화 식물성 지방산의 부분 글리세리드 혼합물, 물, 염 또는 전해질, 예컨대 프로타민 술포에이트, 인산수소이온나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연염, 콜로이드성 실리카, 마그네슘 트리실리케이트, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌 블록 중합체, 양모 지방, 당, 예컨대 락토스, 글루코스 및 수크로스; 전분, 예컨대 옥수수 전분 및 감자 전분; 셀룰로스 및 그의 유도체, 예컨대 나트륨 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; 분말화 트라가칸트; 맥아; 젤라틴; 활석; 부형제, 예컨대 코코아 버터 및 좌제 왁스; 오일, 예컨대 낙화생유, 면실유, 홍화유, 참깨유, 올리브유, 옥수수유 및 대두유; 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜; 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트 및 에틸 라우레이트; 한천; 완충제, 예컨대 수산화마그네슘 및

수산화알루미늄; 알긴산; 발열원 무함유 물; 등장성 식염수; 링거액; 에틸 알콜 및 인산염 완충 용액 뿐만 아니라, 기타 비독성 상용성 윤활제, 예컨대 나트륨 라우릴 술페이트 및 마그네슘 스테아레이트가 포함되나, 이에 제한되지는 않으며, 착색제, 이형제, 코팅제, 감미제, 향미제 및 향료, 보존제 및 항산화제 또한 제조자의 판단에 따라 상기 조성물에 존재할 수 있다.

[0379] 화합물 및 제약상 허용되는 조성물의 용도

[0380] 또 다른 측면에서, 본 발명은 CFTR 돌연변이가 원인인 상태, 질환 또는 장애의 중증도를 낮추거나 그를 치료하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 CFTR 활성의 결핍이 원인인 상태, 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체, 바람직하게는 포유동물에게 화학식 1의 화합물을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는, CFTR 활성의 결핍이 원인인 상태, 질환 또는 장애의 치료 방법을 제공한다.

[0381] 또 다른 측면에서, 본 발명은 또한 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증, 천식, 흡연 유발 COPD, 만성 기관지염, 비부비동염, 변비, 췌장염, 췌장 기능 부전, 선천성 양측 정관 결손증 (CBAVD)에 의해 유발되는 남성 불임, 경증 폐 질환, 특발성 췌장염, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증 (ABPA), 간 질환, 유전성 폐기종, 유전성 혈색소증, 응고-섬유소용해 결핍, 예컨대 단백질 C 결핍, 1형 유전성 혈관부종, 지질 프로세싱 결핍, 예컨대 가족성 고콜레스테롤혈증, 1형 킬로마이크론혈증, 무베타지단백혈증, 리소좀 축적 질환, 예컨대 I-세포병/가성-후롤러, 점액다당류증, 샌드호프/테이-삭스, 크리글러-나자르 II형, 다발성내분비병증/고인슐린혈증, 당뇨병, 라론 왜소증, 미엘로퍼옥시다제 결핍, 원발성 부갑상선기능저하증, 흑색종, 글리칸증 CDG 1형, 선천성 갑상선기능항진증, 골형성 부전증, 유전성 저섬유소원혈증, ACT 결핍, 요붕증 (DI), 신경성 DI, 신장성 DI, 샤르코-마리 투스 증후군, 펠리체우스-메르츠바허병, 신경변성 질환, 예컨대 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축성 측삭 경화증, 진행성 핵상 마비, 픽병, 여러 폴리글루타민 신경계 장애, 예컨대 헌팅톤병, I형 척수소뇌성 운동실조, 척수 및 연수 근육 위축, 치상핵적핵 담당구시상하부 및 근긴장성 이영양증, 뿐만 아니라 해면상 뇌병증, 예컨대 유전성 크로이츠펠트-야콥병 (프리온 단백질 프로세싱 결함으로 인한), 파브리병, 슈트라우슬러-샤잉커 증후군, COPD, 건성안 질환, 쇼그렌병, 골다공증, 골감소증, 고렘 증후군, 클로라이드 채널병증, 예컨대 선천성 근긴장증 (톰슨 및 베커 형태), III형 바터 증후군, 덴트병, 과도놀람증, 간질, 과도놀람증, 리소좀 축적 질환, 안젤만 증후군, 및 원발성 섬모 운동이상증 (PCD) [내장역위증 동반 PCD (또한 카르타게너 증후군이라고 공지됨), 내장역위증 비동반 PCD 및 섬모 무형성을 포함하는 섬모의 구조 및/또는 기능의 유전 장애에 대한 용어임]으로부터 선택된 질환을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.

[0382] 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 환자는 인간 CFTR의 돌연변이 형태를 소유한다. 다른 실시양태에서, 환자는 하기 인간 CFTR의 돌연변이 ΔF508, R117H 및 G551D 중 하나 이상을 소유한다. 한 실시양태에서, 방법은 인간 CFTR의 ΔF508 돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 적어도 하나의 대립유전자에 대하여 인간 CFTR의 ΔF508 돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 양쪽 대립유전자에 대하여 인간 CFTR의 ΔF508 돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 적어도 하나의 대립유전자에 대하여 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 양쪽 대립유전자에 대하여 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다.

[0383] 일부 실시양태에서, 방법은 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 특정 실시양태에서, 환자는 인간 CFTR의 돌연변이 형태를 소유한다. 다른 실시양태에서, 환자는 하기 인간 CFTR의 돌연변이 ΔF508, R117H 및 G551D 중 하나 이상을 소유한다. 한 실시양태에서, 방법은 인간 CFTR의 ΔF508 돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을

포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 적어도 하나의 대립유전자에 대하여 인간 CFTR의  $\Delta F508$  돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 양쪽 대립유전자에 대하여 인간 CFTR의  $\Delta F508$  돌연변이를 소유하는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 적어도 하나의 대립유전자에 대하여 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 가지는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. 한 실시양태에서, 방법은 양쪽 대립유전자에 대하여 인간 CFTR의 G551D 돌연변이를 가지는 환자에게 본원에 정의된 바와 같은 조성물 중 하나를 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 낭성 섬유증의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다.

- [0384] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 골다공증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0385] 일부 실시양태에서, 환자에서 골다공증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 실질적으로 무정형인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0386] 또 다른 실시양태에서, 환자에서 골다공증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 무정형 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0387] 특정 실시양태에서, 환자에서 골다공증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 바와 같은 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0388] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 골감소증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0389] 일부 실시양태에서, 환자에서 골감소증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 실질적으로 무정형인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0390] 또 다른 실시양태에서, 환자에서 골감소증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 무정형 화합물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0391] 특정 실시양태에서, 환자에서 골감소증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 바와 같은 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0392] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서의 골 치유 및/또는 골 복구 방법을 제공한다.
- [0393] 일부 실시양태에서, 환자에서의 골 치유 및/또는 골 복구 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 실질적으로 무정형인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0394] 또 다른 실시양태에서, 환자에서의 골 치유 및/또는 골 복구 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 무정형 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0395] 특정 실시양태에서, 환자에서의 골 치유 및/또는 골 복구 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 바와 같은 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0396] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 골 재흡수를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0397] 일부 실시양태에서, 환자에서 골 재흡수를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 실질적으로 무정형인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0398] 또 다른 실시양태에서, 환자에서 골 재흡수를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 무정형 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0399] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 골 침착을 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0400] 일부 실시양태에서, 환자에서 골 침착을 증가시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 실질적으로 무정형인 화

합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.

- [0401] 또 다른 실시양태에서, 환자에서 골 침착을 증가시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 무정형 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0402] 특정 실시양태에서, 환자에서 골 침착을 증가시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 바와 같은 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0403] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 COPD를 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0404] 일부 실시양태에서, 환자에서 COPD를 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 실질적으로 무정형인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0405] 또 다른 실시양태에서, 환자에서 COPD를 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 무정형 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0406] 특정 실시양태에서, 환자에서 COPD를 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 바와 같은 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0407] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 흡연 유발 COPD를 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0408] 일부 실시양태에서, 환자에서 흡연 유발 COPD를 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 실질적으로 무정형인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0409] 또 다른 실시양태에서, 환자에서 흡연 유발 COPD를 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 무정형 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0410] 특정 실시양태에서, 환자에서 흡연 유발 COPD를 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 바와 같은 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0411] 일부 측면에서, 본 발명은 환자에게 화학식 1의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 만성 기관지염을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0412] 일부 실시양태에서, 환자에서 만성 기관지염을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 실질적으로 무정형인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0413] 또 다른 실시양태에서, 환자에서 만성 기관지염을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 화학식 1의 무정형 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 투여하는 것을 포함한다.
- [0414] 특정 실시양태에서, 환자에서 만성 기관지염을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법은 상기 환자에게 본원에 기재된 바와 같은 제약 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0415] 대안적 실시양태에 따르면, 본 발명은 상기 포유동물에게 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는, 남성 섬유증을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0416] 본 발명에 따르면, 화합물 또는 제약상 허용되는 조성물의 "유효량"은 상기 인용된 바와 같은 질환, 장애 또는 상태 중 하나 이상을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키기에 효과적인 양이다.
- [0417] 본 발명의 또 다른 측면은, 환자에게 화학식 1의 화합물을 포함하는 조성물을 1일 1회 이상 경구 투여함으로써 제약 조성물을 투여하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 방법은 화학식 1의 화합물을 포함하는 제약 조성물을 매 24시간마다 투여하는 것을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 화학식 1의 화합물을 포함하는 제약 조성물을 매 12시간마다 투여하는 것을 포함한다. 추가 실시양태에서, 방법은 화학식 1의 화합물을 포함하는 제약 조성물을 1일 3회 투여하는 것을 포함한다. 추가 실시양태에서, 방법은 화학식 1의 화합물을 포함하는 제약 조성물을 매 4시간마다 투여하는 것을 포함한다.
- [0418] 본 발명의 방법에 따른 화합물 및 조성물은, 상기 인용된 질환, 장애 또는 상태 중 하나 이상을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키기에 효과적인 임의의 투여 경로 및 임의의 양을 사용하여 투여할 수 있다.
- [0419] 특정 실시양태에서, 본 발명의 화합물 및 조성물은 호흡기 및 비호흡기 상피의 첨단막에서의 잔여 CFTR 활성을 나타내는 환자에서 남성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키기에 유용하다. 상피 표면에 잔여 CFTR

활성의 존재는 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 표준 전기생리학적, 생화학적 또는 조직화학적 기법을 사용하여 용이하게 검출할 수 있다. 이러한 방법은 생체내 또는 생체의 전기생리학적 기법, 땀 또는 타액의  $Cl^-$  농도 측정, 또는 세포 표면 밀도를 모니터링하기 위한 생체의 생화학적 또는 조직화학적 기법을 사용하여 CFTR 활성을 확인한다. 이러한 방법을 사용하여, 잔여 CFTR 활성을 가장 일반적인 돌연변이인  $\Delta F508$ 에 대하여 동형접합적 또는 이형접합적인 환자를 비롯하여, 매우 다양한 돌연변이에 대하여 이형접합적 또는 동형접합적인 환자에서 용이하게 검출할 수 있다.

[0420] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 화합물 및 조성물은 약리학적 방법 또는 유전자 요법을 사용하여 유도되거나 또는 증강된 잔여 CFTR 활성을 갖는 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키기에 유용하다. 상기 방법은 세포 표면에 존재하는 CFTR의 양을 증가시킴으로써, 환자에게 이전에는 존재하지 않았던 CFTR 활성을 유도하거나 환자에서의 잔여 CFTR 활성의 원래 수준을 증강시킨다.

[0421] 한 실시양태에서, 본 발명의 화합물 및 조성물은 잔여 CFTR 활성을 나타내는 특정한 유전자형, 예를 들어 제III 부류 돌연변이 (불완전한 조절 또는 게이팅), 제IV 부류 돌연변이 (변경된 전도도) 또는 제V 부류 돌연변이 (감소된 합성)을 갖는 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키기에 유용하다 (문헌 [Lee R. Choo-Kang, Pamela L., Zeitlin, Type I, II, III, IV, and V cystic fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Defects and Opportunities of Therapy; Current Opinion in Pulmonary Medicine 6:521-529, 2000]). 잔여 CFTR 활성을 나타내는 기타 환자 유전자형은 상기 부류 중 하나에 대하여 동형접합적인 환자 또는 제I 부류 돌연변이, 제II 부류 돌연변이 또는 비분류 돌연변이를 포함하는 임의의 다른 부류의 돌연변이를 갖는 이형접합적인 환자를 포함한다.

[0422] 한 실시양태에서, 본 발명의 화합물 및 조성물은, 통상적으로 상피의 첨단막에서의 잔여 CFTR 활성도와 상관관계가 있는 특정한 임상학적 표현형, 예를 들어 중증도 내지 경도의 임상학적 표현형을 갖는 환자에서 낭성 섬유증을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키기에 유용하다. 상기 표현형은 폐장 기능부전 환자 또는 특발성 폐장염 및 선천성 양측 정관 결손증, 또는 경증 폐 질환을 진단받은 환자를 포함한다.

[0423] 정확한 필요량은 대상체의 종, 연령 및 일반적 상태, 감염의 중증도, 특정 작용제, 그의 투여 방식 등에 따라 대상체마다 달라질 것이다. 본 발명의 화합물은 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위 형태로 제제화되는 것이 바람직하다. 본원에 사용된 표현 "투여 단위 형태"는 치료할 환자에게 적절한, 물리적으로 분리된 단위의 작용제를 지칭한다. 그러나, 본 발명의 화합물 및 조성물의 총 1일 사용량은 분별되는 의학적 판단의 범위 내에서 담당 의사가 결정할 일임을 이해할 것이다. 임의의 특정 환자 또는 유기체를 위한 구체적인 유효 용량 수준은 치료할 장애 및 상기 장애의 중증도; 사용되는 특정 화합물의 활성; 사용되는 특정 조성물; 환자의 연령, 체중, 일반적인 건강, 성별 및 식단; 투여 시간, 투여 경로 및 사용된 특정 화합물의 배출 속도; 치료 기간; 사용되는 특정 화합물과 조합되어 또는 동시에 사용되는 약물, 및 의료 업계에 공지된 유사 인자를 비롯한 다양한 인자에 따라 달라질 것이다. 본원에 사용된 용어 "환자"는 동물, 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 인간을 의미한다.

[0424] 본 발명의 제약상 허용되는 조성물은 치료될 감염의 중증도에 따라, 경구로, 직장으로, 비경구로, 낭내로, 질내로, 복강내로, 국소적으로 (분말, 연고, 점적제 또는 패치에 의해), 협부로, 경구 또는 비강분부 등으로 인간 및 기타 동물에 투여될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 화합물은 목적하는 치료 효과를 얻기 위해, 1일 1회 이상, 대상체의 체중에 대하여 1일 약 0.01 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 바람직하게는 약 0.5 mg/kg 내지 약 25 mg/kg의 투여량 수준으로 경구 또는 비경구 투여될 수 있다.

[0425] 경구 투여를 위한 액체 투여 형태에는 제약상 허용되는 에멀전, 마이크로에멀전, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르가 포함되나, 이에 제한되지는 않는다. 액체 투여 형태는 활성 화합물에 추가하여 당업계에서 일반적으로 사용되는 불활성 희석제, 예를 들어 물 또는 기타 용매, 가용화제 및 유화제, 예컨대 에틸 알콜, 이소프로필 알콜, 에틸 카르보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알콜, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 디메틸포름아미드, 오일 (특히, 면실유, 땅콩유, 옥수수유, 배아유, 올리브유, 피마자유 및 참깨유), 글리세롤, 테트라히드로프루피릴 알콜, 폴리에틸렌 글리콜, 및 소르비탄의 지방산 에스테르, 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다. 경구 조성물은 불활성 희석제 이외에도 또한 보조제, 예컨대 습윤제, 유화제 및 현탁화제, 감미제, 향미제 및 방향제를 포함할 수 있다.

[0426] 주사가능한 제제, 예를 들어, 주사가능한 수성 또는 유성 멸균 현탁액은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 당업계에 공지된 바에 따라 제제화될 수 있다. 주사가능한 멸균 제제는 또한 예를 들어 1,3-부탄디올 중의 용액과 같이 비독성의 비경구 허용되는 희석제 또는 용매 중의 멸균 주사가능한 용액, 현탁액 또는

에멸전일 수 있다. 허용되는 비히클 및 용매 중에서, 물, 링거 용액, U.S.P. 및 등장성 염화나트륨 용액이 사용될 수 있다. 또한, 멸균 고정유가 통상적으로 용매 또는 현탁 매질로서 사용된다. 상기 목적을 위해, 합성 모노글리세리드 또는 디글리세리드를 비롯한 임의의 순한 고정유가 사용될 수 있다. 추가로, 올레산과 같은 지방산이 주사가능한 제제의 제조에 사용된다.

[0427] 주사가능한 제제는 예를 들어 박테리아-보유 필터를 통한 여과에 의해, 또는 사용 전에 멸균수 또는 기타 멸균 주사가능한 매질 중에 용해 또는 분산시킬 수 있는 멸균 고체 조성물 형태에 멸균제를 혼입시켜 멸균될 수 있다.

[0428] 본 발명의 화합물의 효과를 연장시키기 위해서, 피하 또는 근육내 주사된 화합물의 흡수를 저속화하는 것이 종종 바람직하다. 이것은 수용해도가 불량한 결정질 또는 무정형 물질의 액체 현탁액을 사용하여 달성될 수 있다. 이후, 화합물의 흡수 속도는 용해 속도에 따라 달라지고, 이것은 다시 결정 크기 및 결정질 형태에 따라 달라질 수 있다. 대안적으로, 비경구 투여된 화합물 형태의 흡수 지연은 화합물을 오일 비히클 중에 용해 또는 현탁시켜 달성된다. 주사가능한 데포 형태는 생분해성 중합체, 예컨대 폴리락티드-폴리글리콜리드 중에 화합물의 마이크로캡슐 매트릭스를 형성하여 제조된다. 화합물 대 중합체의 비율, 및 사용되는 특정 중합체의 성질에 따라 화합물 방출 속도가 제어될 수 있다. 다른 생분해성 중합체의 예에는 폴리(오르토에스테르) 및 폴리(무수물)이 포함된다. 또한, 주사가능한 데포 제제는 화합물을 신체 조직에 적합한 리포솜 또는 마이크로에멸전 중에 포획하여 제조된다.

[0429] 직장 또는 질 투여를 위한 조성물은 바람직하게는 본 발명의 화합물을 적합한 비-자극성 부형제 또는 담체, 예컨대 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜 또는 좌제 왁스와 혼합하여 제조할 수 있는 좌제이며, 이것은 주위 온도에서는 고체이지만 체온에서는 액체여서 직장강 또는 질강에서 용융되어 활성 화합물을 방출한다.

[0430] 경구 투여를 위한 고체 투여 형태에는 캡슐, 정제, 환제, 분말 및 과립이 포함된다. 이러한 고체 투여 형태에서, 활성 화합물은 1종 이상의 불활성 제약상 허용되는 부형제 또는 담체, 예컨대 시트르산나트륨 또는 인산이 칼슘 및/또는 a) 충전제 또는 증량제, 예컨대 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨 및 규산, b) 결합제, 예를 들어 카르복시메틸셀룰로오스, 알기네이트, 젤라틴, 폴리비닐피롤리디논, 수크로스 및 아카시아, c) 보습제, 예컨대 글리세롤, d) 붕해제, 예컨대 한천-한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 실리케이트 및 탄산나트륨, e) 용해 지연제, 예컨대 파라핀, f) 흡수 가속화제, 예컨대 4급 암모늄 화합물, g) 습윤제, 예를 들어 세틸 알콜 및 글리세롤 모노스테아레이트, h) 흡수제, 예컨대 카올린 및 벤토나이트 점토, 및 i) 윤활제, 예컨대 활석, 스테아르산칼슘, 스테아르산마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 라우릴 술페이트, 및 이들의 혼합물과 혼합된다. 캡슐, 정제 및 환제의 경우, 투여 형태는 또한 완충제를 포함할 수 있다.

[0431] 또한, 유사한 유형의 고체 조성물이 부형제, 예컨대 락토스 또는 유당 및 또한 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등을 사용하여 연결 및 경질-충전 젤라틴 캡슐 중의 충전제로 사용될 수 있다. 정제, 당의정, 캡슐, 환제 및 과립의 고체 투여 형태는 제약 제제화 분야에 널리 공지된 코팅제 및 쉘, 예컨대 장용 코팅제 및 기타 코팅제를 이용하여 제조될 수 있다. 이들은 임의로 유백화제를 함유할 수 있고, 또한 장관의 특정 부위에서 임의로는 지연된 방식으로 활성 성분(들)만을 방출하거나 활성 성분(들)을 우선적으로 방출하는 조성물일 수도 있다. 사용될 수 있는 포매 조성물의 예에는 중합체 물질 및 왁스가 포함된다. 또한, 유사한 유형의 고체 조성물이 부형제, 예컨대 락토스 또는 유당, 및 또한 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등을 사용하여 연결 및 경질-충전 젤라틴 캡슐 중의 충전제로 사용될 수 있다.

[0432] 활성 화합물은 또한 상기한 바와 같은 1종 이상의 부형제와 함께 마이크로캡슐화된 형태일 수도 있다. 정제, 당의정, 캡슐, 환제 및 과립의 고체 투여 형태는 제약 제제화 분야에 널리 공지된 코팅제 및 쉘, 예컨대 장용 코팅제, 방출 제어 코팅제 및 기타 코팅제를 사용하여 제조될 수 있다. 이러한 고체 투여 형태에서, 활성 화합물은 1종 이상의 불활성 희석제, 예컨대 수크로스, 락토스 또는 전분과 혼합될 수 있다. 이러한 투여 형태는 또한 통상의 관행에 따라 불활성 희석제 이외의 추가의 물질, 예를 들어 정제화 윤활제 및 기타 정제화 보조제, 예컨대 스테아르산마그네슘 및 미세결정질 셀룰로오스를 포함할 수 있다. 캡슐, 정제 및 환제의 경우, 투여 형태는 또한 완충제를 포함할 수 있다. 이들은 임의로 유백화제를 함유할 수 있고, 또한 장관의 특정 부위에서 임의로는 지연된 방식으로 활성 성분(들)만을 방출하거나 활성 성분(들)을 우선적으로 방출하는 조성물일 수도 있다. 사용될 수 있는 포매 조성물의 예에는 중합체 물질 및 왁스가 포함된다.

[0433] 본 발명의 화합물의 국소 또는 경피 투여를 위한 투여 형태에는 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 분말, 용액, 스프레이, 흡입제 또는 패치가 포함된다. 활성 성분은 멸균 조건 하에 제약상 허용되는 담체, 및 요구될 수 있는 경우에는 임의의 필요한 보존제 또는 완충제와 혼합된다. 안과용 제제, 점이제 및 점안제도 또한 본 발명의

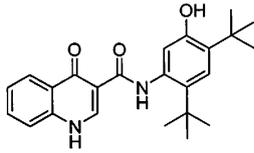
범위 내에 포함되는 것으로 고려된다. 추가로, 본 발명은 신체로의 화합물의 제어 전달을 제공한다는 부가의 이점을 갖는 경피 패치의 사용을 고려한다. 이러한 투여 형태는 상기 화합물을 적당한 매질 중에 용해 또는 분산시켜 제조된다. 피부를 통한 화합물의 유동을 증가시키기 위해 흡수 증진제를 사용할 수도 있다. 상기 속도는 속도-제어 막을 제공하거나 화합물을 중합체 매트릭스 또는 겔 중에 분산시켜 제어될 수 있다.

- [0434] CFTR의 조정자로서 본 발명에 이용되는 화합물의 활성은 당업계 및 본원의 실시예에 일반적으로 기재되어 있는 방법에 따라 검정할 수 있다.
- [0435] 또한, 본 발명의 화합물 및 제약상 허용되는 조성물이 조합 요법에서 사용될 수 있다는 것, 즉, 상기 화합물 및 제약상 허용되는 조성물이 1종 이상의 다른 원하는 치료제 또는 의료 절차와 동시에, 그 이전에 또는 그 이후에 투여될 수 있다는 것을 인지할 것이다. 조합 요법에 사용할 특정 조합의 요법 (치료제 또는 절차)은 원하는 치료제 및/또는 절차의 상용가능성 및 달성할 원하는 치료 효과를 고려할 것이다. 또한, 사용되는 요법이 동일 장애에 대해 원하는 효과를 달성할 수도 있고 (예를 들어, 본 발명의 화합물은 동일 장애의 치료에 사용되는 또 다른 작용제와 공동으로 투여될 수 있음), 또는 상이한 효과 (예를 들어, 임의의 부작용의 제어)를 달성할 수도 있다는 것을 인지할 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 통상적으로 특정 질환 또는 상태를 치료 또는 예방하기 위해 투여되는 추가의 치료제는 "치료될 질환 또는 상태에 적절하다"고 공지되어 있다.
- [0436] 한 실시양태에서, 추가의 작용제는 점액용해제, 기관지확장제, 항생제, 항감염제, 항염증제, 본 발명의 화합물 이외의 CFTR 조정자 또는 영양제로부터 선택된다.
- [0437] 한 실시양태에서, 추가의 작용제는 항생제이다. 본원에서 유용한 예시적인 항생제에는 토브라마이신 (토브라마이신 흡입형 분말 (TIP) 포함), 아지트로마이신, 아스트레오남 (아스트레오남의 에어로졸 형태 포함), 아미카신 (그의 리포솜 제제 포함), 시프로플록사신 (흡입에 의한 투여에 적합한 그의 제제 포함), 레보플락사신 (그의 에어로졸화 제제 포함) 및 항생제 2종, 예를 들어 포스포마이신과 토브라마이신의 조합물이 포함된다.
- [0438] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 점액용해제이다. 본원에서 유용한 예시적인 점액용해제에는 폴모자임®이 포함된다.
- [0439] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 기관지확장제이다. 예시적인 기관지확장제에는 알부테롤, 메타프로테네롤 술페이트, 피르부테롤 아세테이트, 살메테롤 또는 테트라볼린 술페이트가 포함된다.
- [0440] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 폐 기도 표면 액체를 복원시키는 데 효과적이다. 이러한 제제는 세포 내부 및 외부로의 염의 이동을 향상시켜, 폐 기도에서의 점액이 더욱 수화되어 보다 용이하게 청소되도록 한다. 예시적인 이러한 제제에는 고장성 식염수, 데누포솔 테트라나트륨 ([[(3S,5R)-5-(4-아미노-2-옥소피리미딘-1-일)-3-히드록시옥솔란-2-일]메톡시-히드록시포스포릴] [[[ (2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-디옥소피리미딘-1-일)-3,4-디히드록시옥솔란-2-일]메톡시-히드록시포스포릴]옥시-히드록시포스포릴]히드로겐 포스페이트) 또는 브론키톨 (만니톨의 흡입형 제제)가 포함된다.
- [0441] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 항염증제, 즉 폐 염증을 감소시킬 수 있는 제제이다. 본원에서 유용한 예시적인 이러한 제제에는 이부프로펜, 도코사헥산산 (DHA), 실테나필, 흡입형 글루타티온, 피오글리타존, 히드록시클로로퀸 또는 시마바스타틴이 포함된다.
- [0442] 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 화합물 1 이외의 CFTR 조정자, 즉, CFTR 활성을 조정하는 효과를 갖는 작용제이다. 예시적인 이러한 제제에는 아탈루렌 ("PTC124®"; 3-[5-(2-플루오로페닐)-1,2,4-옥사디아졸-3-일]벤조산), 시나폴티드, 란코부티드, 데켈레스타트 (인간 재조합 호중구 엘라스타제 억제제), 코비프로스톤 (7-((2R,4aR,5R,7aR)-2-((3S)-1,1-디플루오로-3-메틸헨틸)-2-히드록시-6-옥소옥타히드로시클로펜타[b]피란-5-일)헵탄산), 또는 (3-(6-(1-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)시클로프로판카르복스아미도)-3-메틸피리딘-2-일)벤조산이 포함된다. 또 다른 실시양태에서, 추가 작용제는 3-(6-(1-(2,2-디플루오로벤조[d][1,3]디옥솔-5-일)시클로프로판카르복스아미도)-3-메틸피리딘-2-일)벤조산이다.
- [0443] 또 다른 실시양태에서, 추가의 작용제는 영양제이다. 예시적인 이러한 작용제에는 판크레리파제 (췌장 효소 대체제) (판크레아제®, 판크레아카르브®, 울트라제® 또는 크레온® 포함), 리프로토마제® (이전에 트리지텍®), 아쿠아텍스® 또는 글루타티온 흡입이 포함된다. 한 실시양태에서, 추가의 영양제는 판크레리파제이다.
- [0444] 본 발명의 조성물에 존재하는 추가의 치료제의 양은 상기 치료제를 유일한 활성제로서 포함하는 조성물 중에서 통상적으로 투여되는 양보다 많지 않다. 바람직하게는, 본원에 개시된 조성물 중 추가의 치료제의 양은 상기

작용제를 유일한 치료 활성제로서 포함하는 조성물 중에 통상적으로 존재하는 양의 약 50% 내지 100%의 범위 일 것이다.

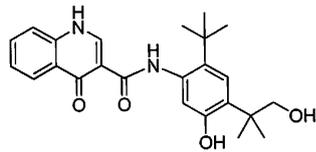
- [0445] 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 조성물은 이식가능한 의료 장치, 예컨대 인공삼입물, 인공 판막, 혈관 이식편, 스텐트 및 카테터를 코팅하기 위한 조성물에 혼입될 수도 있다. 따라서, 본 발명은 또 다른 측면에서 일반적으로 상기 기재된 바와 같고 본원에서의 클래스 및 하위클래스에 속하는 본 발명의 화합물 및 이식가능한 장치의 코팅에 적합한 담체를 포함하는, 이식가능한 장치를 코팅하기 위한 조성물을 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 일반적으로 상기 기재된 바와 같고 본원에서의 클래스 및 하위클래스에 속하는 본 발명의 화합물 및 이식가능한 장치의 코팅에 적합한 담체를 포함하는 조성물로 코팅된 이식가능한 장치를 포함한다. 적합한 코팅제 및 코팅된 이식가능한 장치의 일반적인 제법은 미국 특허 6,099,562, 5,886,026 및 5,304,121에 기재되어 있다. 코팅제는 전형적으로 생체적합성 중합체 물질, 예컨대 히드로겔 중합체, 폴리메틸디실록산, 폴리카프로락톤, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리락트산, 에틸렌 비닐 아세테이트, 및 이들의 혼합물이다. 코팅물은 임의로 플루오로실리콘, 폴리사카라이드, 폴리에틸렌 글리콜, 인지질 또는 이들의 조합물의 적합한 탐코트로 추가로 피복되어 조성물에 제어 방출 특징을 부여할 수 있다.
- [0446] 본 발명의 또 다른 측면은 화학식 1의 화합물 또는 상기 화합물을 포함하는 조성물을 환자에게 투여하거나 또는 생물학적 샘플과 접촉시키는 것을 포함하는, 상기 생물학적 샘플 또는 환자 (예를 들어, 시험관내 또는 생체내)에서 CFTR 활성을 조정하는 방법에 관한 것이다. 본원에 사용된 용어 "생물학적 샘플"은 세포 배양물 또는 그의 추출물; 포유동물로부터 수득된 생검 물질 또는 그의 추출물; 및 혈액, 타액, 소변, 대변, 정액, 눈물 또는 기타 체액, 또는 이들의 추출물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0447] 생물학적 샘플에서 CFTR의 조정은 당업자에게 공지된 다양한 목적에 유용하다. 그러한 목적의 예에는, 생물학적 및 병리학적 현상에서의 CFTR의 연구 및 CFTR에 대한 신규 조정자의 비교 평가가 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0448] 또 다른 실시양태에서, 음이온 채널을 화학식 1의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 시험관내 또는 생체내에서 상기 채널의 활성을 조정하는 방법이 제공된다. 실시양태에서, 음이온 채널은 클로라이드 채널 또는 비카르보네이트 채널이다. 다른 실시양태에서, 음이온 채널은 클로라이드 채널이다.
- [0449] 대안적 실시양태에 따르면, 본 발명은 세포를 화학식 1의 화합물과 접촉시키는 단계를 포함하는, 상기 세포의 막에서 기능성 CFTR의 수를 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0450] 또 다른 실시양태에 따르면, CFTR의 활성은 막횡단 전위의 측정에 의해 결정된다. 생물학적 샘플에서 막을 가로지르는 전압 전위를 측정하는 수단은 당업계에 공지된 임의의 방법, 예컨대 광학 막 전위 검정 또는 기타 전기생리학적 방법을 이용할 수 있다.
- [0451] 광학 막 전위 검정은 곤잘레즈(Gonzalez) 및 치엔(Tsien)이 기재한 전압-감수성 FRET 센서 (문헌 [Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells." *Biophys J* 69(4): 1272-80] 및 [Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien (1997) "Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" *Chem Biol* 4(4): 269-77] 참조)를 형광 변화를 측정하는 기기, 예컨대 전압/이온 프로브 판독기 (Voltage/Ion Probe Reader, VIPR) (문헌 [Gonzalez, J. E., K. Oades, et al. (1999) "Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets" *Drug Discov Today* 4(9): 431-439] 참조)와 조합하여 이용한다.
- [0452] 이러한 전압 감수성 검정은 막-가용성의 전압-감수성 염료인 DiSBAC<sub>2</sub>(3)과 형광 인지질인 CC2-DMPE (원형질 막의 외막에 부착되어 FRET 공여자로 작용함) 사이에서의 형광 공명 에너지 전달 (FRET)의 변화를 기초로 한다. 막 전위 (V<sub>m</sub>)의 변화는 음으로 대전된 DiSBAC<sub>2</sub>(3)이 원형질 막에 재분포되도록 하고, 이에 따라 CC2-DMPE로부터의 에너지 전달량이 변화된다. 형광 방출의 변화는, 96웰 또는 384웰 마이크로타이터 플레이트에서 세포-기재의 스크리닝을 수행하도록 디자인된 통합된 액체 핸들러 및 형광 검출기인 VIPR™ II로 모니터링될 수 있다.
- [0453] 한 실시양태에서, 본 발명은 생물학적 샘플을 화학식 1 (식 중, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> 및 Y는 상기와 같이 정의됨)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 접촉시키는 단계를 포함하는, 상기 생물학적 샘플에서 CFTR 활성을 조정하는 방법을 제공한다.
- [0454] 한 실시양태에서, 본 발명은 생물학적 샘플을 하기 구조의, 본원에 기재된 방법을 통해 제조된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 접촉시키는 단계를 포함하는, 상기 생물학적 샘플에서 CFTR 활성을 조정하는 방법을

제공한다.



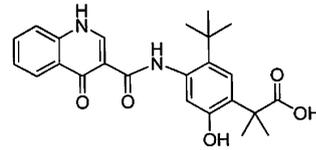
[0455]

[0456] 한 실시양태에서, 본 발명은 생물학적 샘플을 하기 구조의, 본원에 기재된 방법을 통해 제조된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 접촉시키는 단계를 포함하는, 상기 생물학적 샘플에서 CFTR 활성을 조정하는 방법을 제공한다.



[0457]

[0458] 한 실시양태에서, 본 발명은 생물학적 샘플을 하기 구조의, 본원에 기재된 방법을 통해 제조된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염과 접촉시키는 단계를 포함하는, 상기 생물학적 샘플에서 CFTR 활성을 조정하는 방법을 제공한다.

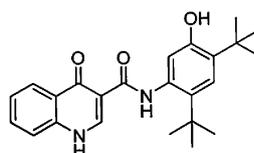


[0459]

[0460] 한 실시양태에서, 본 발명은 환자에게 화학식 1 (식 중, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> 및 Y는 상기와 같이 정의됨)의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 상기 환자에서 남성 섬유증, 천식, 흡연 유발 COPD, 만성 기관지염, 비부비동염, 변비, 췌장염, 췌장 기능부전, 선천성 양측 정관 결손증 (CBAVD)에 의해 유발되는 남성 불임, 경증 폐 질환, 특발성 췌장염, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증 (ABPA), 간 질환, 유전성 폐기종, 유전성 혈색소증, 응고-섬유소용해 결핍, 예컨대 단백질 C 결핍, 1형 유전성 혈관부종, 지질 프로세싱 결핍, 예컨대 가족성 고콜레스테롤혈증, 1형 키로마이크론혈증, 무베타지단백혈증, 리소좀 축적 질환, 예컨대 I-세포병/가성-후플리, 점액다당류증, 샌드호프/테이-삭스, 크리글러-나자르 II형, 다발성내분비병증/고인슐린혈증, 당뇨병, 라론 왜소증, 미엘로퍼옥시다제 결핍, 원발성 부갑상선기능저하증, 흑색종, 글리칸증 CDG 1형, 선천성 갑상선기능항진증, 골형성 부전증, 유전성 저섬유소원혈증, ACT 결핍, 요붕증 (DI), 신경성 DI, 신장성 DI, 샤르코-마리 투스 증후군, 펠리체우스-메르츠바허병, 신경변성 질환, 예컨대 알츠하이머병, 파킨슨병, 근위축성 측삭 경화증, 진행성 핵상 마비, 픽병, 여러 폴리글루타민 신경계 장애, 예컨대 헌팅턴병, I형 척수소뇌성 운동실조, 척수 및 연수 근육 위축, 치상핵적핵 담창구시상하핵 및 근긴장성 이영양증, 뿐만 아니라 해면상 뇌병증, 예컨대 유전성 크로이즈펠트-야콥병 (프리온 단백질 프로세싱 결함으로 인한), 파브리병, 슈트라우슬러-샤잉커 증후군, COPD, 건성안 질환 또는 쇼그렌병으로부터 선택된 질환을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 방법을 제공한다.

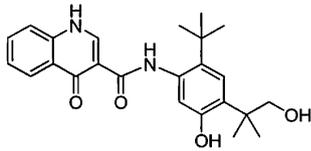
[0461]

한 실시양태에서, 방법은 환자에게 하기 구조를 갖는, 본원에 기재된 방법에 의해 제조된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 유효량을 투여함으로써 상기 환자에서 질환을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다.



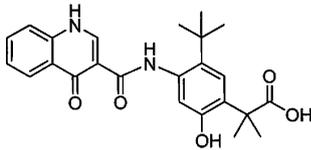
[0462]

[0463] 한 실시양태에서, 방법은 환자에게 하기 구조를 갖는, 본원에 기재된 방법에 의해 제조된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 유효량을 투여함으로써 상기 환자에서 질환을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다.



[0464]

[0465] 한 실시양태에서, 방법은 환자에게 하기 구조를 갖는, 본원에 기재된 방법에 의해 제조된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 유효량을 투여함으로써 상기 환자에서 질환을 치료하거나 그의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다.



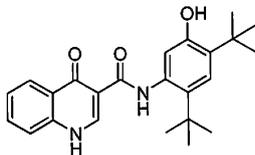
[0466]

[0467] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (i) 화학식 1의 화합물 또는 상기 실시양태 중 어느 하나를 포함하는 조성물; 및 (ii) a) 상기 조성물을 생물학적 샘플과 접촉시키는 것 및 b) 상기 CFTR 또는 그의 단편의 활성을 측정하는 것에 대한 지침서를 포함하는, 시험관내 또는 생체내에서 생물학적 샘플 중의 CFTR 또는 그의 단편의 활성을 측정하는 데 사용하기 위한 키트를 제공한다.

[0468] 한 실시양태에서, 키트는 a) 추가의 조성물을 생물학적 샘플과 접촉시키는 것, b) 상기 추가의 화합물의 존재 하에 상기 CFTR 또는 그의 단편의 활성을 측정하는 것, 및 c) 추가의 화합물의 존재 하에서의 CFTR의 활성을 화학식 1의 조성물의 존재 하에서의 CFTR의 밀도와 비교하는 것에 대한 지침서를 추가로 포함한다.

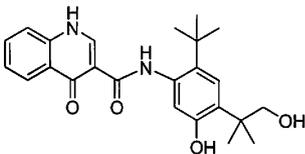
[0469] 실시양태에서, 키트는 CFTR의 밀도를 측정하는 데 사용된다.

[0470] 한 실시양태에서, 키트는 하기 구조를 갖는, 본원에 기재된 방법을 통해 제조된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 조성물을 포함한다.



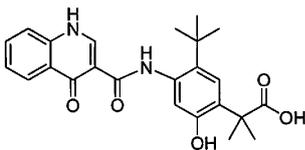
[0471]

[0472] 한 실시양태에서, 키트는 하기 구조를 갖는, 본원에 기재된 방법을 통해 제조된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 조성물을 포함한다.



[0473]

[0474] 한 실시양태에서, 키트는 하기 구조를 갖는, 본원에 기재된 방법을 통해 제조된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는 조성물을 포함한다.

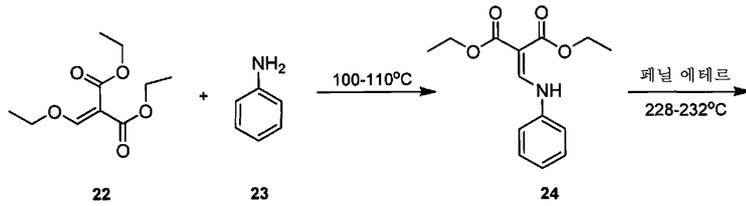


[0475]

[0476] 본원에 기재된 본 발명을 보다 완전하게 이해할 수 있게 하기 위해서 하기 실시예를 기재한다. 이들 실시예는 단지 예시 목적을 위한 것이며, 어떠한 방식으로든 본 발명을 제한하는 것으로 간주되지 않는다는 것을 이해해야 한다.

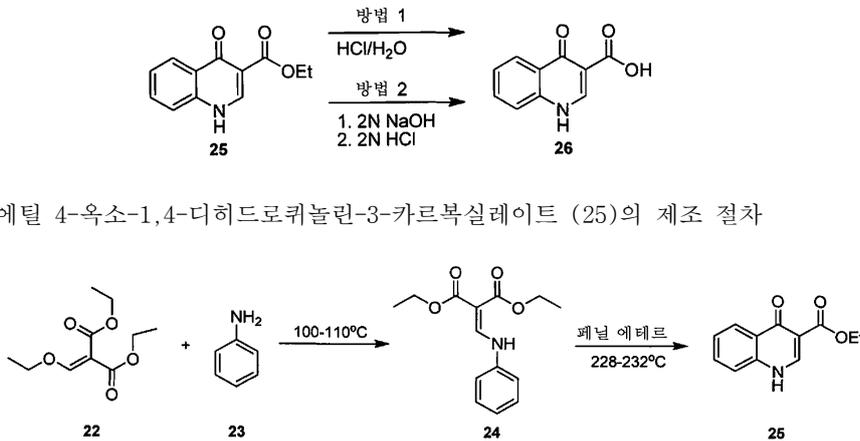
[0477] V. 실시예

[0478] 제조예 1: 4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (26)의 전체 합성



[0479]

[0480] 에틸 4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실레이트 (25)의 제조 절차

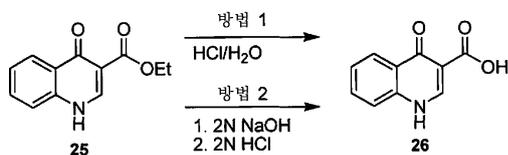


[0481]

[0482] 화합물 23 (4.77 g, 47.7 mmol)을 화합물 22 (10 g, 46.3 mmol)에, 에탄올을 제거하기 위해 표면 하에 N<sub>2</sub>를 유입시키면서 30℃ 미만에서 0.5시간 동안 적가하였다. 이어서, 용액을 100 내지 110℃로 가열하고, 2.5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 60℃ 미만으로 냉각시킨 후, 디페닐 에테르를 첨가하였다. 생성된 용액을 에탄올을 제거하기 위해 표면 하에 N<sub>2</sub>를 유입시키면서 228 내지 232℃로 1.5시간 동안 가열한 디페닐 에테르에 적가하였다. 혼합물을 228 내지 232℃에서 추가로 2시간 동안 교반하고, 100℃ 미만으로 냉각시키고, 이어서 헵탄을 첨가하여 생성물을 침전시켰다. 생성된 슬러리를 30℃에서 0.5시간 동안 교반하였다. 이어서, 고체를 여과하고, 케이크를 헵탄으로 세척하고, 진공 하에 건조시켜, 화합물 25를 갈색 고체로서 수득하였다.

[0483]

[0484] 4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (26)의 제조 절차



[0485]

[0486] 방법 1

[0487] 화합물 25 (1.0 당량)를 HCl (10.0 당량) 및 H<sub>2</sub>O (11.6 부피)의 용액 중에 현탁시켰다. 슬러리를 85 내지 90℃로 가열하였으나, 대안적 온도 또한 상기 가수분해 단계에 적합하다. 예를 들어, 대안적으로, 가수분해를 약 75 내지 약 100℃의 온도에서 수행할 수 있다. 일부 예에서, 가수분해를 약 80 내지 약 95℃의 온도에서 수행한다. 다른 예에서, 가수분해 단계를 약 82 내지 약 93℃ (예를 들어, 약 82.5 내지 약 92.5℃, 또는 약 86 내지 약 89℃)의 온도에서 수행한다. 85 내지 90℃에서 대략 6.5시간 동안 교반한 후, 반응 완료에 대해 반응물을 샘플링하였다. 가수분해에 적합한 임의의 온도하에 교반을 수행할 수 있다. 이어서, 용액을 20 내지 25℃로 냉각시키고, 여과하였다. 반응기/케이크를 H<sub>2</sub>O (2 부피)로 2회 세정하였다. 이어서, pH가 3.0 이상이 될 때까지 케이크를 2 부피의 H<sub>2</sub>O로 세척하였다. 이어서, 케이크를 진공 하에 60℃에서 건조시켜, 화합물 26을 수

득하였다.

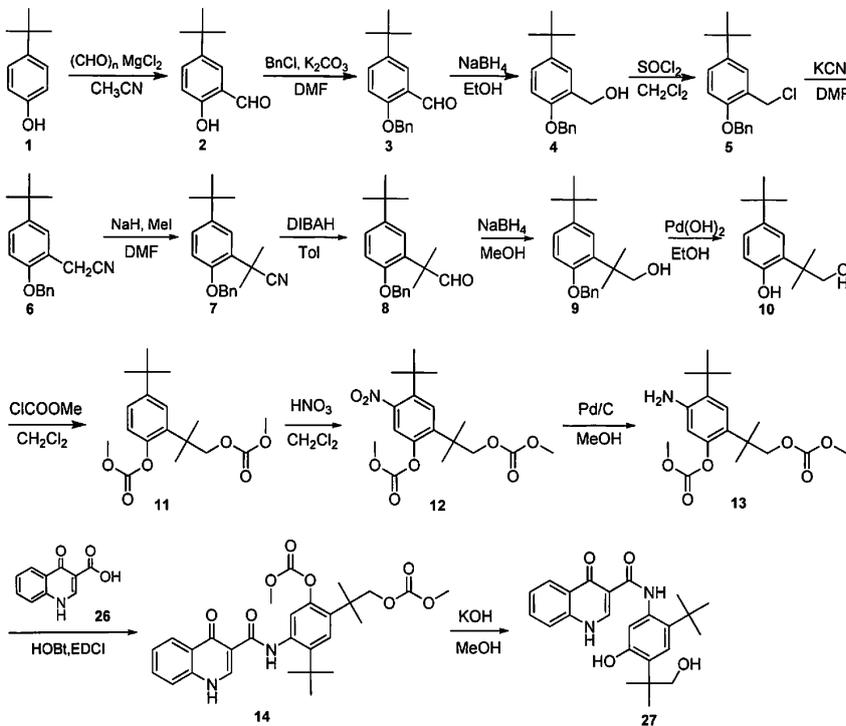
[0488] 방법 2

[0489] 화합물 25 (11.3 g, 52 mmol)를 10% NaOH (수성) (10 mL) 및 에탄올 (100 mL)의 혼합물에 첨가하였다. 용액을 16시간 동안 가열 환류시키고, 20 내지 25°C로 냉각시키고, 이어서 8% HCl을 사용하여 pH를 2 내지 3으로 조정하였다. 이어서, 혼합물을 0.5시간 동안 교반하고, 여과하였다. 케이크를 물 (50 mL)로 세척하고, 이어서 진공 하에 건조시켜, 화합물 26을 갈색 고체로서 수득하였다.

[0490] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 15.33 (s), δ 13.39 (s), δ 8.87 (s), δ 8.26 (m), δ 7.87 (m), δ 7.80 (m), δ 7.56 (m).

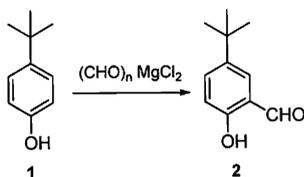
[0491] 실시예 1: N-(2-tert-부틸-5-히드록시-4-(1-히드록시-2-메틸프로판-2-일)페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (27)의 전체 합성

[0492] 화합물 27의 합성에 대한 전체 반응식을 하기 나타내었고, 이어서 각각의 합성 중간체의 합성 절차를 나타내었다.



[0493]

[0494] 2-히드록시-5-tert-부틸벤즈알데히드 (2)의 제조 절차



[0495]

[0496] CH<sub>3</sub>CN (7.0 L) 중 화합물 1 (700 g, 4.66 mol)의 교반 용액에 MgCl<sub>2</sub> (887 g, 9.32 mol), 파라-포름알데히드 (1190 g) 및 TEA (2.5 L, 17.9 mol)를 N<sub>2</sub> 하에 첨가하였다. 혼합물을 5시간 동안 가열 환류시켰다. 실온으로 냉각시킨 후, 빙수 2 L에 이어서 3 M HCl (수성) 6 L를 혼합물에 첨가하였다. 용액이 투명해질 때까지 현탁액을 교반 하에 방치하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 MTBE (3 L)로 3회 추출하였다. 유기 층을 합하고, 농축 건조시켰다. 잔류물을 MTBE (4000 mL)에 용해시키고, 물 (1000 mL x 2) 및 염수 (1000 mL)로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 이어서 농축시켜, 화합물 2를 밝은-황색 고체로서 수득하였고, 이를

다음 반응에 추가 건조 또는 정제 없이 사용하였다.

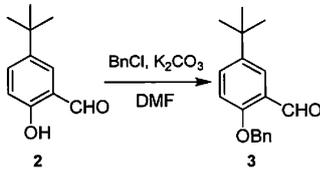
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz) δ 10.86 (s), δ 9.89 (s), δ 7.59 (m),

δ 7.51 (d), δ 6.94 (d), δ 10.61 (s).

[0497]

[0498]

2-(벤질옥시)-5-tert-부틸벤즈알데히드 (3)의 제조 절차



[0499]

[0500]

DMF (3.5 L) 중 화합물 2 (614.5 g, 3.33 mol)의 교반 용액에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (953 g, 6.90 mol) 및 벤질 클로라이드 (480 g, 3.80 mol)를 첨가하였다. 혼합물을 90℃로 가열하고, 3시간 동안 교반 하에 방치하였다. 현탁액을 실온으로 냉각시킨 후, MTBE (2 L)에 이어서 물 (12 L)을 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 10분 동안 교반하고, 수성 층을 분리하고, MTBE (2 L)로 3회 추출하였다. 유기 층을 합하고, 물 (2 L x 2) 및 염수 (1.5 L x 1)로 세척하고, 농축시켜, 화합물 3을 밝은-황색 고체로서 수득하였다.

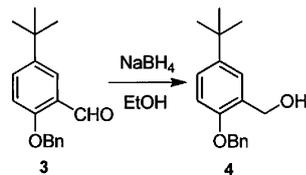
<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 10.42 (s), δ

7.71 (m), δ 7.51 (m), δ 7.43 (m), δ 7.35 (m), δ 7.24 (m), δ 5.27 (s), δ 1.26 (s).

[0501]

[0502]

2-(벤질옥시)-5-tert-부틸벤질 알콜 (4)의 제조 절차



[0503]

[0504]

0 내지 20℃에서 MeOH (4000 mL) 중 화합물 3 (974 g, 3.63 mol)의 교반 현탁액에 NaBH<sub>4</sub> (121 g, 3.20 mol)를 서서히 첨가하였다. 용액을 15℃에서 3시간 동안 교반 하에 방치하고, 이어서 0℃로 냉각시켰다. 2 N HCl (수성) (1300 mL)을 20℃ 미만에서 적가하였다. 이어서, 용액을 여과하고, 증발 건조시키고, 잔류물을 MTBE (5 L)에 용해시켰다. 이어서, 용액을 물 (2 L x 2) 및 염수 (1.5 L x 1)로 세척하였다. 용매를 증발시켜, 화합물 4를 밝은-황색 고체로서 수득하였고, 이를 다음 반응에 추가 정제 없이 사용하였다.

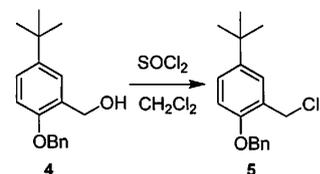
<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 7.40 (m), δ 7.32

(m), δ 7.17 (m), δ 6.91 (m), δ 5.09 (s), δ 5.00 (t), δ 4.56 (d), δ 1.26 (s).

[0505]

[0506]

2-(벤질옥시)-5-tert-부틸벤질 클로라이드 (5)의 제조 절차

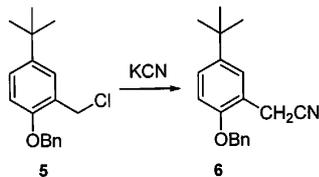


[0507]

[0508]

0℃에서 무수 DCM (2000 mL) 중 화합물 4 (963 g, 3.56 mol)의 교반 용액에 SOCl<sub>2</sub> (535 g, 4.5 mol)를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 2시간 동안 교반하고, 이어서 진공 하에 농축시켜, 화합물 5를 오일로서 수득하였고, 이를 다음 반응에 추가 건조 또는 정제 없이 사용하였다.

[0509] 2-(벤질옥시)-5-tert-부틸벤질 니트릴 (6)의 제조 절차

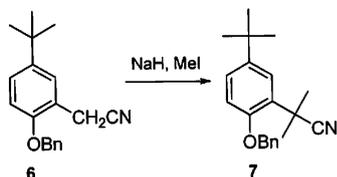


[0510]

[0511] 무수 DMF (1000 mL) 중 화합물 5 (1045 g, 3.54 mol)의 교반 용액에 KCN (733 g, 11.3 mol)을 첨가하였다. 혼합물을 35℃에서 24시간 동안 교반하고, 이어서 물 (10 L)에 부었다. 에틸 아세테이트 (4 L)를 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 이어서, 유기 층을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트 (3000 mL)로 2회 추출하였다. 유기 층을 합하고, 물 (4 L x 2) 및 염수 (3 L x 1)로 세척하고, 이어서 진공 하에 농축시켜, 화합물 6을 황색 고체로서 수득하였다.

[0512] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 7.51 (m), δ 7.37 (m), 7.02 (d), δ 5.17 (s), δ 3.88 (s), 1.26 (s).

[0513] 2-(2-(벤질옥시)-5-tert-부틸페닐)-2-메틸프로판니트릴 (7)의 제조 절차

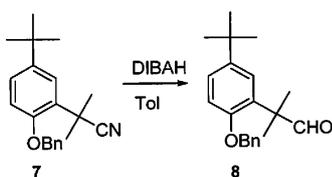


[0514]

[0515] 20℃에서 DMF (1000 mL) 중 NaH (86 g, 2.15 mol, 미네랄 오일 중 60%)의 교반 현탁액에 DMF (500 mL) 중 화합물 6 (100.0 g, 0.358 mol)의 용액을 적가하였다. 30분 동안 교반한 후, 30℃ 미만에서 2시간의 기간 동안 DMF (500 mL) 중 MeI (205 g, 1.44 mol)를 적가하였다. 현탁액을 25 내지 30℃에서 1.5시간 동안 교반하고, 이어서 기체가 생성되지 않을 때까지 얼음 (100 g)을 서서히 첨가하였다. 2 N HCl을 서서히 첨가하여 pH를 대략 7로 조정하였다. 혼합물을 물 (4 L) 및 MTBE (2 L)로 희석하였다. 유기 층을 분리하고, 수성 층을 MTBE (500 mL)로 2회 추출하였다. 합한 유기 층을 물 및 염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 여과하고, 이어서 진공 하에 농축시켜, 화합물 7을 백색 고체로서 수득하였다.

[0516] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 7.56 (m), δ 7.40 (m), δ 7.34 (m), δ 7.10 (d), δ 5.21 (s), δ 1.73 (s), δ 1.27 (s).

[0517] 2-(2-(벤질옥시)-5-tert-부틸페닐)-2-메틸프로판알 (8)의 제조 절차

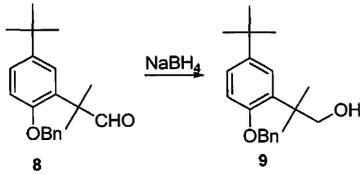


[0518]

[0519] 약 -60 내지 -50℃에서 톨루엔 (300 mL) 중 화합물 7 (20 g, 0.065 mol)의 교반 용액에 DIBALH (80 mL, 톨루엔 중 1 M)를 적가하였다. 2시간 동안 교반한 후, 6 N HCl (300 mL)을 반응 혼합물에 첨가하고, 30분 동안 교반을 계속하였다. 이어서, 유기 층을 분리하고, 2 N HCl, 이어서 NaHCO<sub>3</sub> 용액, 이어서 염수 용액으로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜, 화합물 8을 오일로서 수득하였다. 생성물을 다음 반응에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0520] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz) δ 9.61 (s), δ 7.36 (m), δ 7.25 (m), δ 6.87 (m), δ 5.06 (m), δ 1.43 (s), δ 1.33 (s).

[0521] 2-(2-(벤질옥시)-5-tert-부틸페닐)-2-메틸프로판-1-올 (9)의 제조 절차



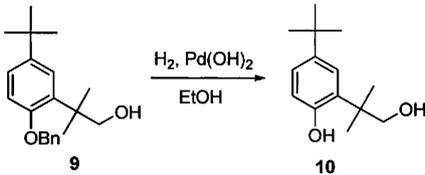
[0522]

[0523] 0℃에서 MeOH (150 mL) 중 화합물 8 (9.21 g, 0.030 mol)의 교반 용액에 NaBH<sub>4</sub> (2.3 g, 0.061 mol)를 서서히 첨가하였다. 20℃에서 3시간 동안 혼합물을 교반한 후, 6 N HCl 12 mL를 첨가하고, 혼합물을 추가로 30분 동안 교반하였다. 이어서, 용액을 원래 부피의 약 1/4로 농축시키고, EtOAc로 추출하였다. 유기 층을 분리하고, 물 및 염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과하고, 이어서 진공 하에 농축시켜, 화합물 9를 백색 고체로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 7.47 (m), δ 7.42 (m), δ 7.34 (m), δ 7.28 (m), δ 7.16 (m), δ 6.94 (m), δ 5.08 (s), δ 4.45 (t), δ 3.64 (d), δ 1.28 (s), δ 1.25 (s).

[0524]

[0525] 2-(2-(히드록시)-5-tert-부틸페닐)-2-메틸프로판-1-올 (10)의 제조 절차



[0526]

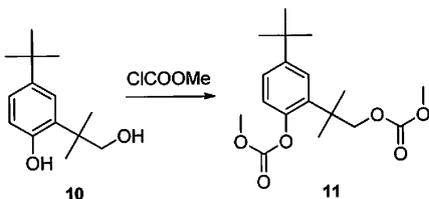
[0527] MeOH (200 mL) 중 Pd(OH)<sub>2</sub> (1 g) 및 화합물 9 (9.26 g, 0.030 mol)를 수소 하에 20 내지 30 psi 압력에서 16 내지 18시간 동안 교반하였다. 이어서, 셀라이트(Celite)®를 통해 혼합물을 여과하고, 여과물을 농축시켜, 화합물 10을 백색 고체로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H

NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 9.16 (s), δ 7.16 (d), δ 7.00 (m), δ 6.65 (m), δ 4.71 (t), δ 3.62 (d), δ 1.27 (s), δ 1.22 (s).

[0529]

[0530] 1-((메틸카르복시)옥시)-2-(1-((메틸카르복시)옥시)-2-메틸프로판-2-일)-4-tert-부틸 벤젠 (11)의 제조 절차



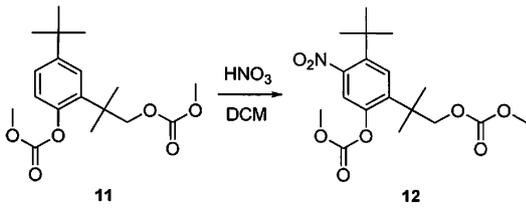
[0531]

[0532] 0℃에서 무수 DCM (720 mL) 중 화합물 10 (23.2 g, 0.10 mol), DMAP (1.44 g) 및 DIEA (72.8 g, 0.56 mol)의 교반 용액에 DCM (160 mL) 중 메틸 클로로포르메이트 (43.5 g, 0.46 mol)를 적가하였다. 혼합물을 20℃에서 16시간 동안 교반한 후, 이를 물, 1 N HCl 및 염수로 세척하고, MgSO<sub>4</sub>로 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피 (1:20 EtOAc:석유 에테르)를 이용하여 정제함으로써, 화합물 11을 백색 고체로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 7.32 (m), δ 7.10 (d), δ 4.26 (s), δ 3.84 (s), δ 3.64 (s), δ 1.31 (s), δ 1.28 (s).

[0533]

[0534] 1-((메틸카르복시)옥시)-2-(1-((메틸카르복시)옥시)-2-메틸프로판-2-일)-4-tert-부틸-5-니트로 벤젠 (12)의 제조 절차



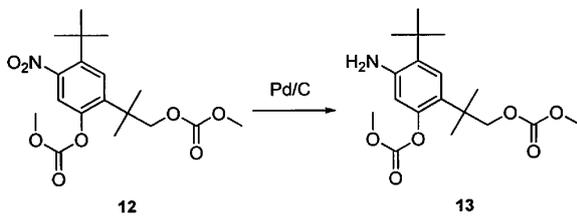
[0535]

[0536]

0℃에서 DCM (550 mL) 중 화합물 11 (32 g, 0.095 mol)의 교반 용액에 98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (43 g, 0.43 mol)를 적가하였다. 0℃에서 20분 동안 교반한 후, 65% HNO<sub>3</sub> (16.2 g, 0.17 mol)을 0℃에서 혼합물에 적가하였다. 이어서, 혼합물을 1 내지 10℃에서 4시간 동안 교반하고, 이어서 빙수 (200 mL)를 첨가하였다. 수성 층을 분리하고, DCM (200 mL)으로 3회 추출하고, 합한 유기 층을 물 (수성), NaHCO<sub>3</sub> 및 염수로 세척하고, 이어서 MgSO<sub>4</sub>로 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피 (1:20 EtOAc:석유 에테르)를 통해 정제하여, 조 화합물 12를 오일로서 수득하였다.

[0537]

2-tert-부틸-5-((메틸카르복시)옥시)-4-(1-((메틸카르복시)옥시)-2-메틸프로판-2-일) 아닐린 (13)의 제조 절차



[0538]

[0539]

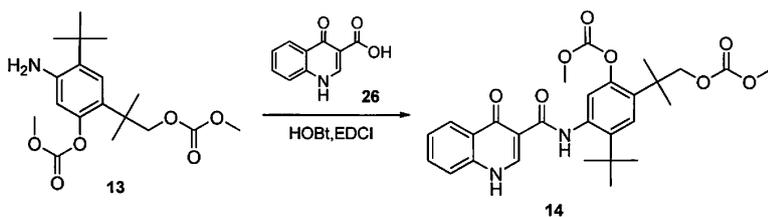
Pd/C (2.6 g) 및 화합물 12 (14 g, 조 물질)를 실온에서 수소 하에 20 내지 30 psi 압력에서 16 내지 18시간 동안 MeOH (420 mL) 중에서 교반하였다. 이어서, 혼합물을 규조토®로 여과하고, 여과물을 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피 (1:10 EtOAc:석유 에테르)를 통해 정제하여, 화합물 13을 회색 고체로서 수득하였다.

[0540]

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz) δ 7.26 (s), δ 7.19 (s), δ 4.26 (s), δ 3.89 (s), δ 3.74 (s), δ 1.40 (s), δ 1.35 (s).

[0541]

N-(2-tert-부틸-5-((메틸카르복시)옥시)-4-(1-((메틸카르복시)옥시)-2-메틸프로판-2-일)페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복스아미드 (14)의 제조 절차



[0542]

[0543]

0℃에서 무수 DMF (120 mL) 중 화합물 26 (5.0 g, 0.026 mol)의 교반 용액에 EDCI (5.6 g, 0.029 mol), HOBT (3.8 g, 0.028 mol) 및 DIEA (6.6 g, 0.051 mol)를 첨가하였다. 1시간 동안 교반한 후, 0℃에서 혼합물을 DCM (30 mL) 중 화합물 13 (3.0 g, 0.008 mol)의 용액에 적가하였다. 혼합물을 25℃에서 72시간 동안 교반하고, 이어서 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 EtOAc (225 mL)에 용해시키고, 물 (120 mL x 1), 1 N HCl (120 mL) 및 염수로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피 (1:1 EtOAc:석유 에테르)를 통해 정제하여, 화합물 14를 백색 고체로서 수득하였다.

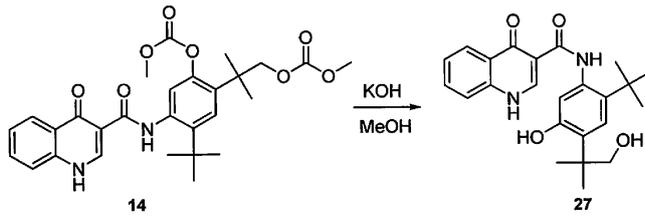
[0544]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12.34 (s, 1H), 11.58 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 8.42 (d, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 4.34 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 1.41 (s, 9H), 1.40 (s, 6H).

[0545]

N-(2-tert-부틸-5-히드록시-4-(1-히드록시-2-메틸프로판-2-일)페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복스아

미드 (27)의 제조 절차



[0546]

[0547]

0℃에서 MeOH (80 mL) 중 KOH (1.2 g, 0.02 mol)의 교반 용액에 화합물 14 (1.9 g, 0.0036 mol)를 첨가하였다. 5 내지 15℃에서 2 내지 3시간 동안 교반한 후, 혼합물을 농축 건조시켰다. 이어서, 잔류물을 물 (10 mL)로 연화처리하고, 여과하고, DCM으로 세척하고, 진공 하에 24시간 동안 건조시켜, 화합물 27을 백색 고체로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H

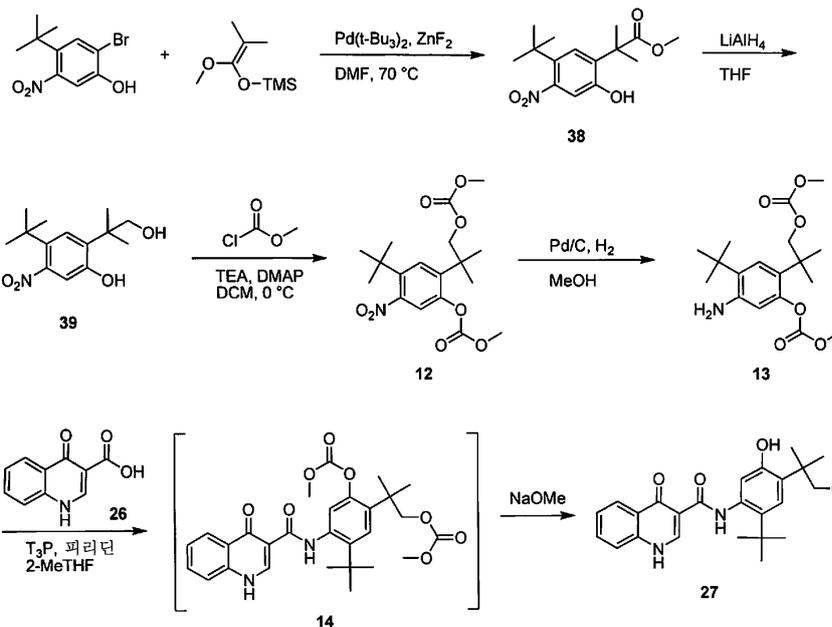
NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 12.77 (s), δ 8.86 (s), δ 8.20 (d), δ 7.55 (d), δ 7.42 (t), δ 7.16 (q), δ 7.02 (s), δ 6.85 (m), δ 3.55 (s), δ 1.55 (s), δ 1.35 (s), δ 1.27 (s). MS 실측치 (M + H)

409.2

[0548]

[0549]

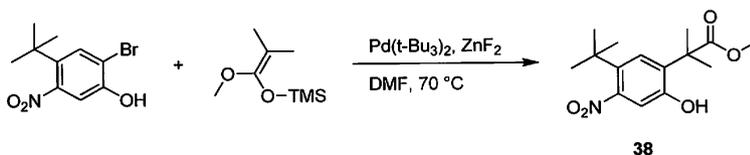
실시예 2: N-(2-tert-부틸-5-히드록시-4-(1-히드록시-2-메틸프로판-2-일)페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카복스아미드 (27)의 대안적 전체 합성



[0550]

[0551]

메틸 2-(5-tert-부틸-2-히드록시-4-니트로페닐)-2-메틸프로파노에이트 (38)의 제조 절차:



[0552]

[0553]

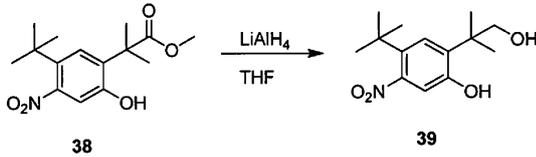
2-브로모-4-tert-부틸-5-니트로페놀 (15.00 g, 54.72 mmol), 비스(트리-tert-부틸포스핀)팔라듐(0) (1.422 g, 2.783 mmol), 불화아연 (2.82 g, 27.27 mmol), 메틸 트리메틸실릴 디메틸케텐 아세탈 (MTDA) (19.35 g, 111.0 mmol) 및 디메틸포름아미드 (150 mL)의 혼합물을 70℃에서 18시간 동안 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 물로 희석하였다. 1시간 동안 교반한 후, 수성 상을 MTBE로 추출하였다. 유기 층을 진공 하에 건조시켜, 조 생성물을 갈색 고체로서 수득하였다. n-헵탄 중에서 연화처리하여 생성물의 정제를 달성하였다.

<sup>1</sup>H-

NMR (400MHZ, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.38 (s, 1H); 7.37 (s, 1H); 6.79 (s, 1H); 3.54 (s, 3H); 1.45 (s, 6H); 1.32 (s, 9H)

[0554]

[0555] 4-tert-부틸-2-(1-히드록시-2-메틸프로판-2-일)-5-니트로페놀 (39)의 제조 절차:



[0556]

[0557] THF 중 수소화알루미늄리튬의 1 M 용액 (11.80 mL, 11.80 mmol)을 THF (50 mL) 중 메틸 2-(5-tert-부틸-2-히드록시-4-니트로페닐)-2-메틸프로파노에이트 (5.36 g, 18.15 mmol)의 용액에 첨가하였다. 혼합물을 주위 온도에서 3시간 동안 교반하고, 이어서 메탄올로 희석하였다. 1 N HCl을 사용하여 혼합물을 산성화시키고 (pH 1 내지 2), 수성 상을 MTBE로 추출하였다. 유기 상을 진공 하에 건조시켜, 4-tert-부틸-2-(1-히드록시-2-메틸프로판-2-일)-5-니트로페놀을 수득하였고, 이를 추가 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

[0557]

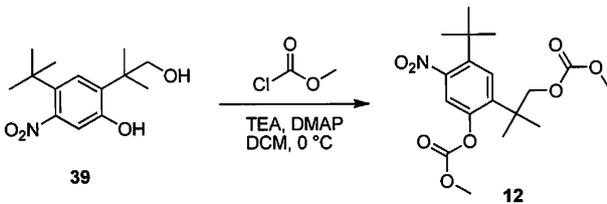
<sup>1</sup>H-NMR (400MHZ, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10.12 (s, 1H); 7.37 (s, 1H);

[0558]

6.80 (s, 1H); 4.77 (s, 1H); 3.69-3.65 (m, 2H); 1.30 (s, 9H); 1.29 (s, 6H)

[0559] 4-tert-부틸-2-(2-메톡시카르보닐옥시-1,1-디메틸-에틸)-5-니트로-페닐] 메틸 카르보네이트 (12)의 제조 절차

[0559]



[0560]

[0561] 0°C에서 디클로로메탄 (30 mL) 중 4-tert-부틸-2-(1-히드록시-2-메틸프로판-2-일)-5-니트로페놀 (1.92 g, 7.18 mmol), 트리에틸아민 (1.745 g, 17.24 mmol) 및 디메틸아미노피리딘 (87.74 mg, 0.718 mmol)의 용액에, 5°C 미만의 온도를 유지하면서 메틸클로로포르메이트 (2.376 g, 25.14 mmol)를 서서히 충전하였다. 첨가 후, 혼합물을 주위 온도로 가온하고, HPLC에서 출발 물질의 완전한 전환이 나타날 때까지 (2 내지 8시간) 교반하였다. 반응 혼합물을 물로 희석하고, 1 N HCl로 산성화시켰다 (pH 1 내지 2). 수성 상을 DCM으로 추출하고, 합한 유기 상을 진공 하에 건조시켰다. 호박색 조 반-고체를 메탄올 및 디클로로메탄으로부터 재결정화시켜, 표제 화합물을 황색 결정질 고체로서 수득하였다.

[0561]

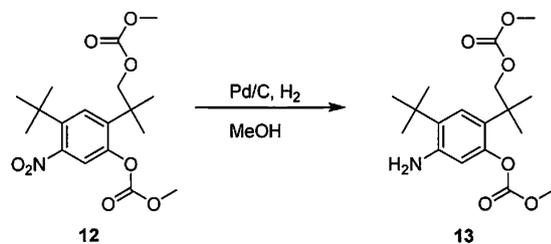
<sup>1</sup>H-NMR (400MHZ, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.67 (s, 1H); 7.52 (s, 1H); 4.30 (s, 2H);

[0562]

3.86 (s, 3H); 3.64 (s, 3H); 1.35 (s, 9H); 1.35 (s, 6H)

[0563] 5-아미노-4-tert-부틸-2-(2-메톡시카르보닐옥시-1,1-디메틸-에틸)페닐] 메틸 카르보네이트 (13)의 제조 절차:

[0563]



[0564]

[0565] 메탄올 (50 mL) 중 [4-tert-부틸-2-(2-메톡시카르보닐옥시-1,1-디메틸-에틸)-5-니트로-페닐] 메틸 카르보네이트 (1.27 g, 3.313 mmol) 및 Pd/C (75 mg, 0.035 mmol)의 혼합물을 질소로 퍼징하였다. 플라스크를 수소로 퍼징한 후, 혼합물을 주위 온도에서 가압 하에 18시간 동안 수소화시켰다. 용액을 셀라이트®를 통해 여과하고, 진공 하에 건조시켜, 생성물을 고체로서 수득하였다.

[0565]

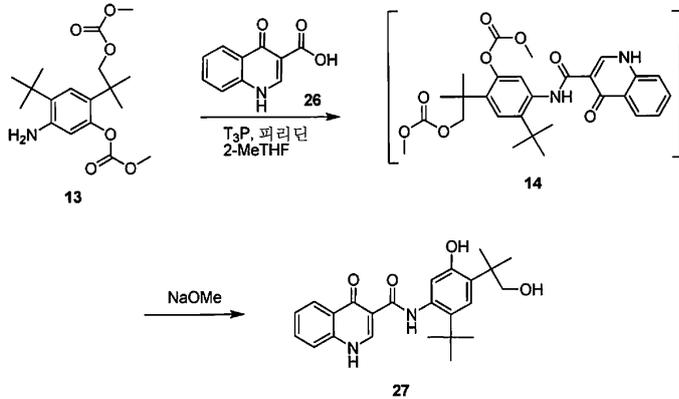
<sup>1</sup>H-NMR (400MHZ,

DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 6.99 (s, 1H); 6.39 (s, 1H); 4.92(s, 2H); 4.13 (s, 2H); 3.82 (s, 3H); 3.65 (s, 3H); 1.32 (s, 9H); 1.23 (s, 6H)

[0566]

[0567]

N-(2-*tert*-부틸-5-히드록시-4-(1-히드록시-2-메틸프로판-2-일)페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복스아미드 (27)의 제조 절차:



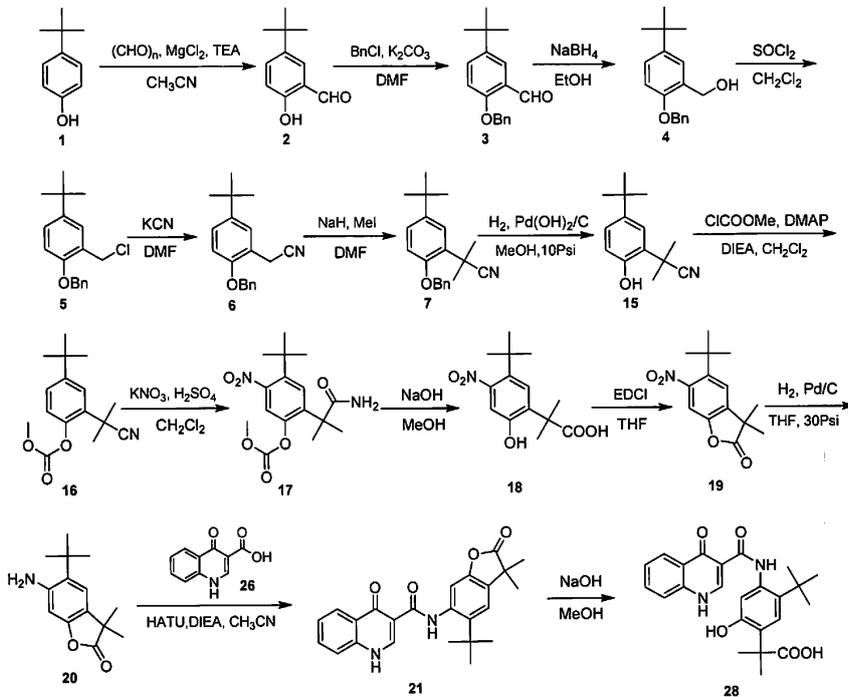
[0568]

[0569]

2-MeTHF (3.0 mL) 중 [5-아미노-4-*tert*-부틸-2-(2-메톡시카르보닐옥시-1,1-디메틸-에틸)페닐] 메틸 카르보네이트 (103 mg, 0.29 mmol), 4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (50 mg, 0.26 mmol) 및 피리딘 (42 mg, 0.53 mmol)의 혼합물에 2-MeTHF 중 50 중량% 용액으로서의 T3P (286 mg, 0.45 mmol)를 충전하였다. 혼합물을 18시간 동안 50℃로 가열하였다. 주위 온도로 냉각시킨 후, 혼합물을 물로 희석하였다. 유기 상을 분리하고, 다시 물로 세척하였다. 나트륨 메톡사이드 (39 mg, 0.72 mmol)를 유기 상에 충전하고, 용액을 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 1 N HCl로 켄칭하고, 상을 분리한 후, 유기 상을 0.1 N HCl로 세척하였다. 이어서, 유기 상을 진공 하에 건조시켜, 화합물 27을 고체로서 수득하였다. <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼은 상기 기록된 것과 일치하였다.

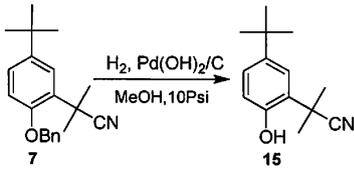
[0570]

실시예 3: 2-(5-*tert*-부틸-2-히드록시-4-(4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복스아미도)페닐)-2-메틸프로판산 (28)의 전체 합성:



[0571]

[0572] 2-(5-tert-부틸-2-히드록시페닐)-2-메틸프로판니트릴 (15)의 제조 절차



[0573]

[0574] Pd(OH)<sub>2</sub>/C (2.0 g) 및 화합물 7 (20.0 g, 0.104 mol)을 실온에서 수소 하에 10 psi의 압력에서 16 내지 18시간 동안 MeOH (150 mL) 중에서 교반하였다. 이어서, 혼합물을 셀라이트®의 패드를 통해 여과하고, 여과물을 농축시켜, 화합물 15를 수득하였고, 이를 다음 반응에 추가 정제 없이 사용하였다.

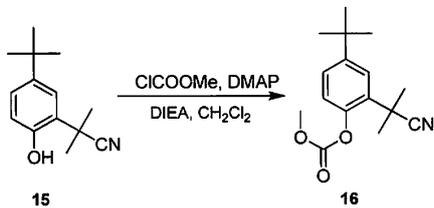
<sup>1</sup>H NMR

[0575]

(DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 9.83 (s), δ 7.24 (s), δ 7.18 (m), δ 6.80 (m), δ 1.71 (s), δ 1.24 (s).

[0576]

4-tert-부틸-2-(2-시아노프로판-2-일)페닐 메틸 카르보네이트 (16)의 제조 절차



[0577]

[0578] 무수 DCM (1500 mL) 중 화합물 15 (126.6 g, 0.564 mol), DMAP (6.0 g) 및 DIEA (188 g, 1.46 mol)의 교반 혼합물에 무수 DCM (300 mL) 중 메틸 클로로포르메이트 (110 g, 1.17 mol)를 0°C에서 2시간 이내에 적가하였다. 0°C에서 12시간 동안 교반한 후, 빙수 (1.5 L)를 첨가하고, 혼합물을 0°C에서 30분 동안 교반하였다. 유기 층을 분리하고, 1 N HCl, 물 및 염수로 세척하였다. DCM 용액을 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜, 화합물 16을 황색 고체로서 수득하였다.

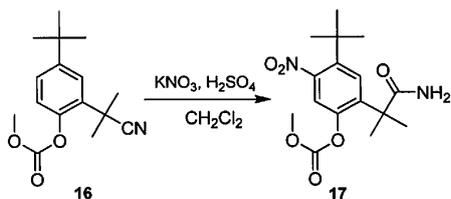
<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 7.47 (m), δ 7.39 (d), δ 7.24 (d), δ 3.84 (s),

[0579]

δ 1.71 (s), δ 1.30 (s).

[0580]

2-(1-아미노-2-메틸-1-옥소프로판-2-일)-4-tert-부틸-5-니트로페닐 메틸 카르보네이트 (17)의 제조 절차



[0581]

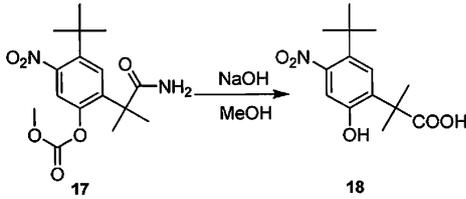
[0582] 0°C에서 DCM (1000 mL) 중 화합물 16 (10.0 g, 36.3 mmol) 및 KNO<sub>3</sub> (5.51 g, 54.5 mmol)의 교반 혼합물에 98% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (145.4 g, 1.45 mol)를 적가하였다. 혼합물을 30°C에서 4일 동안 교반하였다. 이어서, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 층을 분리하고, 빙수 (50 g)에 붓고, 이어서 DCM (100 mL)으로 3회 추출하였다. 합한 유기 층을 물, 수성 NaHCO<sub>3</sub> 용액 및 염수로 세척하고, 이어서 MgSO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피 (석유 에테르/EtOAc 20:1→10:1→5:1→3:1)를 통해 정제하여, 화합물 17을 황색 고체로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H

[0583]

NMR (CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz) δ 8.05 (s), δ 7.74 (s), δ 7.61 (s), δ 7.32 (s), δ 5.32 (s), δ 3.91 (s), δ 3.92 (s), δ 1.62 (s), δ 1.59 (s), δ 1.42 (s), δ 1.38 (s).

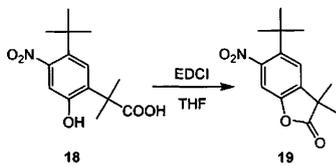
[0584] 2-(5-tert-부틸-2-히드록시-4-니트로페닐)-2-메틸프로판산 (18)의 제조 절차



[0585]

[0586] 메탄올 (180 mL) 중 화합물 17 (7.3 g, 21.6 mmol)의 혼합물에 물 (18 mL) 및 NaOH (8.64 g, 216 mmol)를 첨가하였다. 용액을 가열하고, 환류 상태에서 3일 동안 유지하였다. 용매를 진공 하에 증발시키고, 잔류물을 물 140 mL에 용해시켰다. 이어서, 2 N HCl을 첨가하여 용액을 pH 2로 산성화시켰다. 수성 상을 에틸 아세테이트 (100 mL)로 3회 추출하고, 합한 유기 상을 물 및 염수로 세척하고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 이어서 농축시켜, 화합물 18을 황색 고체로서 수득하였고, 이를 다음 반응에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0587] 5-tert-부틸-3,3-디메틸-6-니트로벤조푸란-2(3H)-온 (19)의 제조 절차

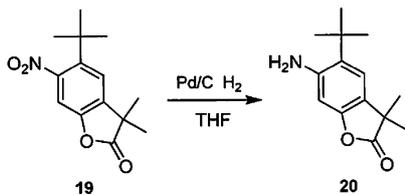


[0588]

[0589] 무수 THF 710 mL 중 화합물 18 (7.10 g, 25.2 mmol)의 용액에 EDCI (14.5 g, 75.6 mmol)를 첨가하였다. 생성된 현탁액을 30°C에서 밤새 교반 하에 방치하였다. 침전물을 여과하고, DCM으로 철저히 세척하였다. 여과물을 농축 건조시키고, 잔류물을 DCM (100 mL)에 용해시켰다. 용액을 물 (50 mL x 2) 및 염수 (50 mL x 1)로 세척하였다. 이어서, DCM 층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 농축시켜, 조 생성물을 얻고, 이를 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피 (석유 에테르/EtOAc 200:1→100:1→50:1)를 통해 정제하여, 화합물 19를 백색 고체로서 수득하였다.

[0590] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz) δ 7.36 (s), δ 7.10 (s), δ 1.53 (s), δ 1.41 (s).

[0591] 6-아미노-5-tert-부틸-3,3-디메틸벤조푸란-2(3H)-온 (20)의 제조 절차

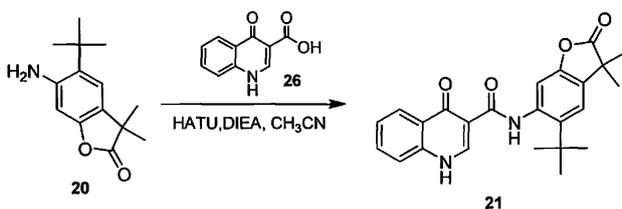


[0592]

[0593] Pd/C (1.50 g) 및 화합물 19 (3.00 g, 1.14 mmol)를 25°C에서 수소 하에 30 psi에서 4시간 동안 THF (1500 mL) 중에 현탁시켰다. 이어서, 혼합물을 셀라이트®의 패드를 통해 여과하고, 여과물을 진공 하에 농축시켜, 화합물 20을 백색 고체로서 수득하였다.

[0594] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 7.05 (s), δ 6.49 (s), δ 5.01 (s), δ 1.35 (s), δ 1.33 (s).

[0595] N-(5-tert-부틸-3,3-디메틸-2-옥소-2,3-디히드로벤조푸란-6-일)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (21)의 제조 절차



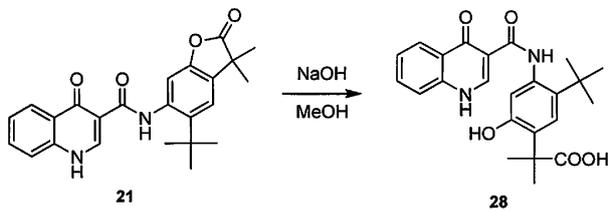
[0596]

[0597] 무수 아세트니트릴 (1 L) 중 HATU (17.6 g, 46.3 mol) 및 화합물 26 (8.36 g, 44.2 mmol)의 현탁액을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 화합물 20 (3.40 g, 14.6 mmol)을 현탁액에 첨가하고, 이어서 DIEA (11.5 g, 89.0 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 45°C에서 4일 동안 교반하였다. 생성된 침전물을 여과하고, DCM으로 철저히 세척하였다. 여과물을 농축 건조시키고, 잔류물을 DCM (200 mL)에 용해시키고, 1 N HCl (200 mL x 2)에 이어서 5% 수성 NaHCO<sub>3</sub> (200 mL x 3), 이어서 염수 (200 mL x 1)로 세척하였다. 이어서, 혼합물을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 실리카 겔 상에서 칼럼 크로마토그래피 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 100:1→50:1)를 통해 정제하여, 화합물 21을 밝은 황색 고체로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H-NMR (400MHZ, DMSO-*d*6) δ 12.96 (d, *J* 6.4 Hz, 1H); 12.1 (s, 1H); 8.9 (d, *J* 6.4Hz, 1H); 8.33 (d, *J* 8Hz, 1H); 7.84-7.75 (m, 2H); 7.55-7.48 (m, 3H); 1.47 (s, 6H); 1.45 (s, 9H).

[0598]

[0599] 2-(5-tert-부틸-2-히드록시-4-(4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미도)페닐)-2-메틸프로판산 (28)의 제조 절차



[0600]

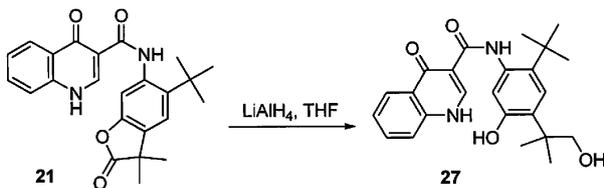
[0601] 0°C에서 MeOH (50 mL) 중 화합물 21 (0.9 g, 2.45 mmol)의 교반 용액에 NaOH (1.5 g, 37.5 mmol)를 첨가하였다. 40°C에서 16시간 동안 교반한 후, 용매를 진공 하에 증발시키고, 이어서 잔류물을 H<sub>2</sub>O (50 mL)에 용해시켰다. 침전물을 여과하고, 여과물을 DCM (100 mL x 1) 및 에틸 아세테이트 (100 mL x 1)로 세척하였다. 2 N HCl을 사용하여 수성 층을 pH 1 내지 2로 산성화시켰다. 침전물을 여과하고, H<sub>2</sub>O (80 mL) 및 헵탄 (50 mL)으로 세척하였다. 이를 진공 하에 건조시켜, 화합물 28을 백색 고체로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 12.85 (s), δ 11.84 (s), δ 11.77 (s), δ 9.39 (s), δ 8.86 (s), δ 8.33 (s), δ 7.79 (m), δ 7.52 (m), δ 7.18 (s), δ 7.09 (s), δ 1.44 (s), δ 1.40 (s).

MS 질량치 (M + H) 423.08

[0602]

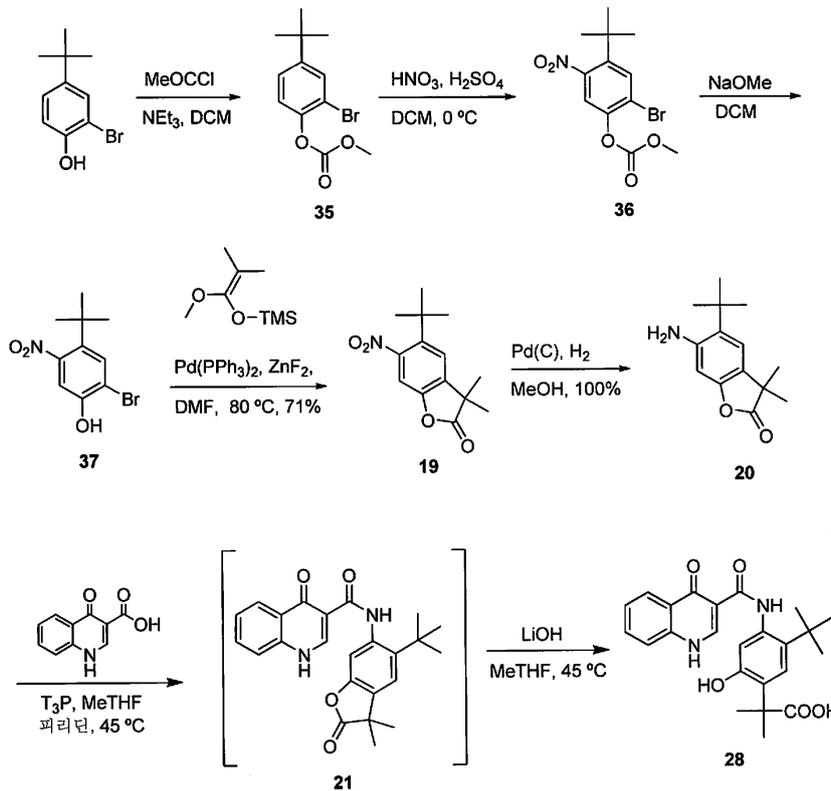
[0603] 실시예 4: N-(2-tert-부틸-5-히드록시-4-(1-히드록시-2-메틸프로판-2-일)페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (27)의 제2 대안적 합성



[0604]

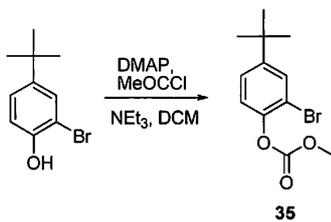
[0605] 3-구 50 mL 둥근 바닥 플라스크에 자석 교반기, 질소 버블러 및 열전대를 장착하였다. 화합물 21 (514 mg, 1.27 mmol) 및 2-MeTHF (4 mL)를 플라스크에 충전하였다. 반응 혼합물을 실온에서 교반하였다. 100% 전환이 달성될 때까지 수소화알루미늄리튬 (204 mg, 6.6 mmol)을 고체로서 첨가하고, HPLC을 이용하여 이를 모니터링하였다. 칼럼 나트륨 2,3-디히드록시부탄디오에이트 테트라히드레이트 염 (400 g/L 용액 50 mL) 및 MTBE (50 mL)를 반응 혼합물에 첨가하였다. 생성된 용액을 15분 동안 교반하고, 이어서 15분 동안 정치시켰다. 유기 층을 분리하고, 타르타르산을 첨가하여 수성 층의 pH를 약 6 내지 7의 pH로 조정하였다. 수성 층을 MTBE로 추출하였다. 유기 층을 농축시키고, 고 진공 하에 건조시켜, 표제 화합물을 회백색 분말로서 수득하였다. <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼은 상기 기록된 것과 일치하였다.

[0607] 실시예 5: 2-(5-tert-부틸-2-히드록시-4-(4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미도)페닐)-2-메틸프로판산 (28)의 대안적 전체 합성:



[0608]

[0609] 탄산 2-브로마이드, 4-tert부틸 페닐 에스테르 메틸 에스테르 (35)의 제조 절차



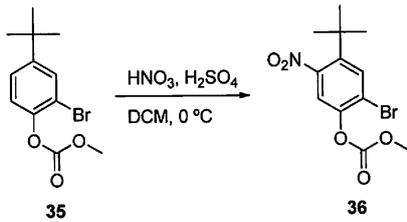
[0610]

[0611] 3-구 2 L 둥근 바닥 플라스크에 기계적 교반기, 질소 버블러 및 열전대를 장착하였다. 2-브로모-4-tert 부틸 페놀 (50 g, 211.7 mmol)을 첨가하고, 이어서 DCM (1.75 L), DMAP (1.29 g, 10.58 mmol) 및 Et<sub>3</sub>N (44.3 mL, 317.6 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0°C로 냉각시켰다. 메틸 클로로포르메이트 (19.62 mL, 254 mmol)를 반응 혼합물에 적가하였다. 혼합물을 밤새 교반하면서 실온으로 가온하였다. 반응이 완료되면, 소결 깔대기를 통해 혼합물을 여과하였다. 여과물을 1 L 분리 깔대기로 옮겼다. 켄칭하기 위하여, 1 N HCl (300 mL)을 여과물에 첨가하고, 유기 층을 분리하였다. 이어서, 유기 층을 포화 NaHCO<sub>3</sub> 291 mL 및 물 100 mL의 혼합물로 세척하였다. 층을 분리하였고, 수성 층은 약 8의 pH를 갖는 것으로 측정되었다. 유기 층을 농축시키고, 고 진공 하에 약 16시간 동안 건조시켜, 표제 화합물을 투명한 황색 오일로서 수득하였고, 이를 다음 단계에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0612]

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 7.66 (d, *J* 2.0 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* 8.4, 2.0 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* 8.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 1.28 (s, 9H)

[0613] (2-브로모-4-tert-부틸-5-니트로-페닐) 메틸 카르보네이트 (36)의 제조 절차

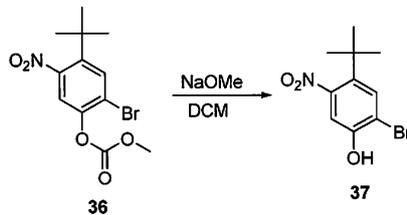


[0614]

[0615] 3-구 2 L 둥근 바닥 플라스크에 기계적 교반기, 질소 버블러 및 열전대를 장착하였다. 화합물 35 (176 g, 612.9 mmol) 및 진한 황산 (264 mL)을 플라스크에 충전하였다. 반응 혼합물을 -5°C 내지 0°C로 냉각시켰다. 질산 (28.6 mL, 612.9 mmol)을 적가하고, 반응 혼합물을 0°C에서 2시간 동안 교반하였다. 완료되면, 물 (264 mL)을 첨가하고, 이어서 MTBE (264 mL)를 첨가하였다. 용액을 15분 동안 교반하고, 이어서 15분 동안 방치하였다. 유기 층을 분리하고, 농축시키고, 고 진공 하에 건조시켜, 표제 화합물을 암갈색 오일로서 수득하였고, 이를 다음 단계에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0616] <sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 7.96 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 1.34 (s, 9H)

[0617] 2-브로모-4-tert-부틸-5-니트로-페놀 (37)의 제조 절차

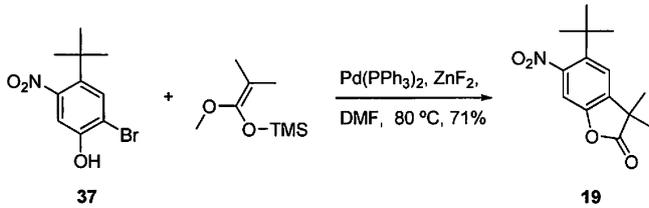


[0618]

[0619] (2-브로모-4-tert-부틸-5-니트로-페닐)메틸 카르보네이트 (72.9 g, 219.5 mmol)를 반응기에 충전하고, DCM (291.6 mL)을 첨가하였다. 빙조를 이용하여 황색 반응 용액을 냉각시켰다. 나트륨 메톡시드 (67.04 g, 5.4 M 69.11 mL, 373.2 mmol)를 2.2 내지 6.9°C에서 일부분씩 첨가하였다. 첨가 완료 후, 반응물을 주위 온도로 서서히 가온하였다. 완료되면, 반응물을 0°C로 냉각시키고, 1 M HCl (373.2 mL, 373.2 mmol)로 켄칭하였다. 2상 혼합물을 20분 동안 교반하고, 분리 깔대기로 옮겼다. 유기 층을 분리하고, 물 (300 mL)에 이어서 염수 (300 mL)로 세척하였다. 유기 층을 농축시키고, 조 생성물을 고 진공 하에 건조시켰다. 생성물을 베르거 멀티그램 (Berger MultiGram) III (메틀러 톨레도 오토켄(Mettler Toledo AutoChem), 델라웨어주 뉴어크) 상에서 초임계 유체 크로마토그래피 (SFC) 분리를 이용하여 추가로 정제하였다. 방법 조건은 프린스턴 크로마토그래피 (Princeton Chromatography)로부터의 PPU 칼럼 (30\*150) 상에서 250 mL/분에서 20% 메탄올, 100 bar, 35C, 220nm였다. 55 내지 70 mg/mL 용액의 주입액 3.5 mL를 주입하였다. 데이터를 SFC ProNTo 소프트웨어를 이용하여 수집하였다. SFC 정제로부터 얻은 정제된 생성물은 메탄올 용매화물이었다. 메탄올을 제거하기 위해, 공비 증류를 수행하였다. 암황색 고체인 2-브로모, 4-tert부틸, 5-니트로 페놀 메탄올 용매화물 (111.3 g, 59.9 mmol)을 1 L 둥근 바닥 플라스크에 충전하고, 이어서 헵탄 (500 mL)을 충전하였다. 슬러리를 64°C로 가열하여 투명한 용액을 얻었다. 용매를 감압 하에 (649 mbar) 30분 동안 증류하고, 이어서 건조 상태까지 스트리핑하였다. <sup>1</sup>H-NMR에 의해 MeOH가 전혀 검출되지 않을 때까지 상기 절차를 3회 반복하였다. 생성물을 고 진공 하에 16시간 동안 건조시켜, 생성물을 암황색 반고체로서 수득하였다.

[0620] <sup>1</sup>H-NMR (400MHZ, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 11.2 (bs, OH), 7.69 (s, 1H); 7.03 (s, 1H); 1.30 (s, 9H)

[0621] 5-tert-부틸-3,3-디메틸-6-니트로벤조푸란-2(3H)-온 (19)의 제조 절차

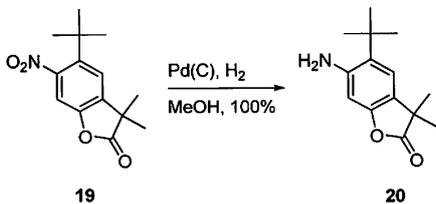


[0622]

[0623] 디플루오로아연 (6.093 g, 58.92 mmol)을 둥근 바닥 플라스크에 첨가하고, 이를 질소로 플라싱하였다. 이어서, Pd(tBu<sub>3</sub>P)<sub>2</sub> (2 g, 3.835 mmol)를 질소 스트림 하에 첨가하였다. 이어서, DMF (80.75 mL)에 용해된 2-브로모-4-tert-부틸-5-니트로-페놀 (16.15 g, 58.92 mmol)을 플라스크에 첨가하였다. 반응 혼합물은 오렌지색 현탁액이었다. (1-메톡시-2-메틸-프로프-1-에녹시)트리메틸실란 (21.61 g, 25.13 mL, 117.8 mmol)을 혼합물에 첨가하고, 생성된 혼합물을 80°C로 가열하고, 16시간 동안 교반하였다. 완료되면, 반응 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 셀라이트®를 통해 여과하였다. 필터 케이크를 MTBE (536.0 mL)로 세척하고, 물 (893.3 mL)을 여과물에 첨가하였다. 혼합물을 15분 동안 교반하고, 추가로 15분 동안 침강시켰다. 층을 분리하고, 0.5 M HCl (500 mL, 250.0 mmol)을 유기 상에 첨가하였다. 층을 분리하고, 유기 층을 물 (500 mL)로 세척하였다. 층을 분리하고, 유기 층을 NaCl (500 mL; 8 중량%)로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 용매를 진공 하에 제거하였다. 조 생성물을 갈색 결정질 고체로서 얻고, 이어서 실리카 플리그를 통해 정제하였다 (용리액으로서 헥산:MTBE 20:1→10:1을 사용함). 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 용매를 진공 하에 제거하여, 순수한 생성물을 백색 결정질 고체로서 수득하였다.

[0624] <sup>1</sup>H-NMR (400MHZ, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.80 (s, 1H); 7.62 (s, 1H); 1.49 (s, 6H); 1.34 (s, 9H)

[0625] 6-아미노-5-tert-부틸-3,3-디메틸벤조푸란-2(3H)-온 (20)의 제조 절차



[0626]

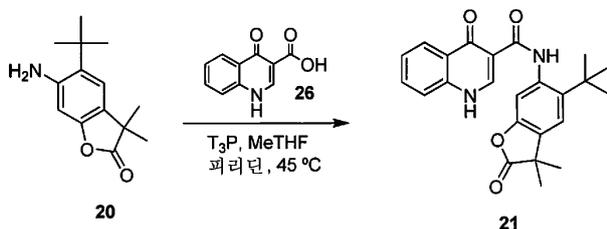
[0627] 탄소상 팔라듐 (습윤; 5 중량%)을 질소 유입 하에 둥근 바닥 플라스크 내에 위치시켰다. 이어서, 5-tert-부틸-3,3-디메틸-6-니트로-벤조푸란-2-온 (4.7 g, 17.85 mmol)을 용기에 첨가하였다. 이어서, 메탄올 (120 mL)을 질소 분위기 하에 용기에 조심스럽게 충전하였다. 이어서, 용기를 N<sub>2</sub>로 퍼징하고, 탈기시키고, 이어서 수소 기체로 충전하였다. 용기를 탈기시키고, 수소 기체로 재충전하고, 이어서 연속적인 수소 기체 스트림을 도입시켰다. 완료 후, 반응물을 셀라이트®를 통해 여과하고, 케이크를 MeOH (300 mL)로 세척하였다. 용매를 진공 하에 제거하고, 생성물을 고 진공 하에 건조시켜, 백색 결정질 고체를 수득하였다.

<sup>1</sup>H-NMR

(400MHZ, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7.05 (s, 1H); 6.48 (s, 1H); 5.02 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 1.34 (s, 6H); 1.30 (s, 9H)

[0628]

[0629] N-(5-tert-부틸-3,3-디메틸-2-옥소-2,3-디히드로벤조푸란-6-일)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (21)의 제조 절차



[0630]

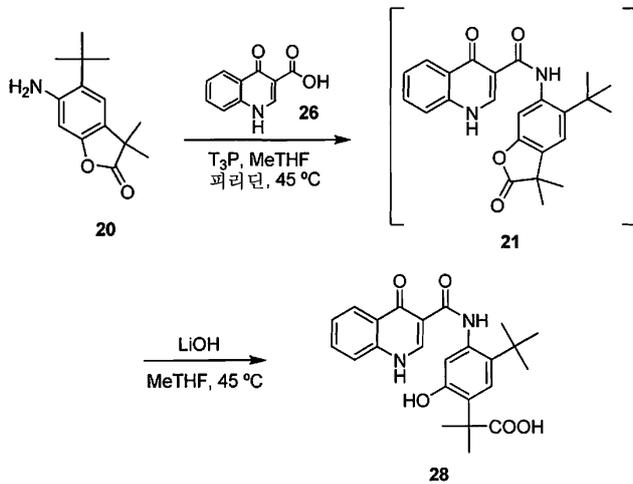
[0631] 반응 용기를 화합물 26 (2.926 g, 15.43 mmol), 화합물 20 (4.32 g, 18.52 mmol), 2-MeTHF (35.99 mL)로 충전하고, 후속적으로 2-MeTHF 중 50% T<sub>3</sub>P (13.36 g, 21.00 mmol)로 충전하였다. 피리딘 (2.441 g, 2.496 mL, 30.86 mmol)을 첨가하고, 현탁액을 47.5°C ± 5°C로 18시간 동안 가열하였다. 완료 후, 반응물을 주위 온도로 냉각시키고, 2-MeTHF (36) 및 물 (30 mL)을 첨가하였다. 층을 분할하고, 유기 층을 10 중량% 시트르산 용액 (30 mL), 물 (30 mL)로 세척하고, NaHCO<sub>3</sub> (20 mL)으로 2회 세척하였다. 유기 층을 염수 (50 mL)로 세척하고, 분리하고, 용매를 진공 하에 제거하였다. 조 생성물을 MTBE (100 mL)에 용해시키고, 헥산 (200 mL)을 항-용매로서 첨가하였다. 고체가 침전되었고, 생성된 슬러리를 2시간 동안 교반하였다. 고체를 흡인 여과에 의해 수집하고, 케이크를 헥산으로 세척하였다. 수득된 생성물을 55°C의 진공 오븐에서 질소를 빼면서 건조시켜, 표제 화합물을 베이지색 고체로서 수득하였다.

<sup>1</sup>H-NMR (400MHZ, DMSO-d<sub>6</sub>) δ

12.96 (d, J 6.4 Hz, 1H); 12.1 (s, 1H); 8.9 (d, J 6.4Hz, 1H); 8.33 (d, J 8Hz, 1H); 7.84-7.75 (m, 2H); 7.55-7.48 (m, 3H); 1.47 (s, 6H); 1.45 (s, 9H).

[0632]

[0633] 2-(5-tert-부틸-2-히드록시-4-(4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미도)페닐)-2-메틸프로판산 (28)의 제조 절차



[0634]

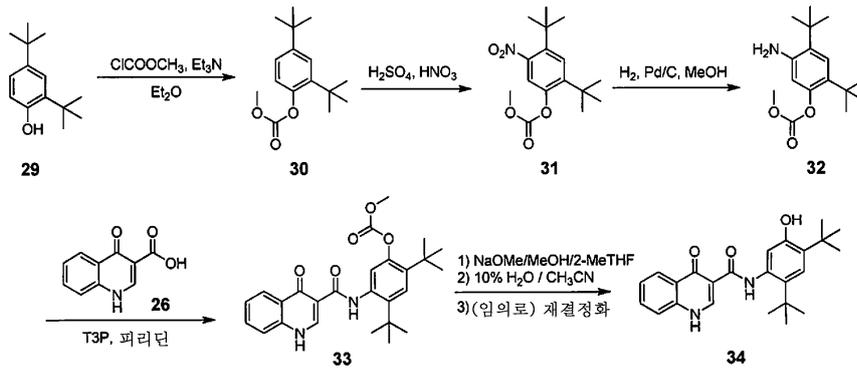
[0635] 화합물 26 (81.30 mg, 0.4288 mmol) 및 화합물 20 (110 mg, 0.4715 mmol)을 둥근 바닥 플라스크에 충전하였다. 이어서, 2-MeTHF (1 mL)를 첨가하고, 이어서 2-MeTHF 중 50% T<sub>3</sub>P (371.4 mg, 0.5836 mmol) 및 2-MeTHF 중 피리딘 (67.84 mg, 69.37 μL, 0.8576 mmol)을 첨가하였다. 현탁액을 47.5°C ± 5°C에서 밤새 가열하였다. 완료 후, 반응물을 주위 온도로 냉각시켰다. 2-MeTHF (1.014 mL) 및 물 (811.2 μL)을 첨가하였다. 층을 분리하고, 유기 층을 물 (811.2 μL)로 세척하고, NaHCO<sub>3</sub> (2 mL)으로 2회 세척하였다. 유기 층을 둥근 바닥 플라스크로 옮겼다. 물 (2 mL)에 용해된 LiOH (38.6 mg, 0.9 mmol)를 첨가하고, 반응물을 45°C로 가열하였다. 완료 후, 층을 분리하고, 유기 층을 폐기하였다. 수성 층을 빙조로 냉각시키고, 염산 (1.0 M 10.72 mL, 10.72 mmol)을 pH가 약 3 내지 4의 pH에 도달할 때까지 용액에 첨가하였다. 수성 층을 2-MeTHF (5 mL)로 2회 추출하고, 유기 층을 합하고, 염수 (5 mL)로 세척하였다. 유기 층을 분리하고, 용매를 진공 하에 제거하였다. 생성된 고체를 50°C의 진공 오븐에서 질소를 빼면서 건조시켜, 표제 화합물을 수득하였다.

<sup>1</sup>H-NMR (400MHZ, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.89 (d, J 6.8

Hz, 1H); 11.84 (s, 1H); 11.74 (s, 1H); 9.36 (s, 1H); 8.87-8.61 (d, J 6.4 Hz, 1H); 8.34-8.32 (d, J 9.1 Hz, 1H); 7.83-7.745 (m, 2H); 7.17-7.09 (m, 1H); 7.17 (s, 1H); 7.09 (s, 1H); 1.43 (s, 6H); 1.40 (s, 9H)

[0636]

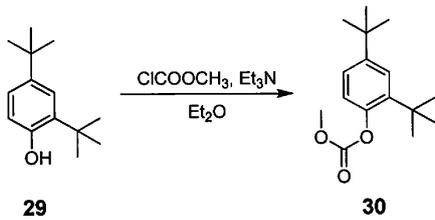
[0637] 실시예 6: N-(2,4-디-tert-부틸-5-히드록시페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (34)의 전체 합성



[0638]

[0639]

2,4-디-tert-부틸페닐 메틸 카르보네이트 (30)의 제조 절차



[0640]

[0641]

방법 1

[0642]

0℃에서 디에틸 에테르 (100 mL) 및 트리에틸아민 (10.1 mL, 72.8 mmol) 중 2,4-디-tert-부틸 페놀 (29) (10 g, 48.5 mmol)의 용액에 메틸 클로로포르메이트 (7.46 mL, 97 mmol)를 적가하였다. 이어서, 혼합물을 실온으로 가온하고, 추가로 2시간 동안 교반하였다. 이어서, 추가의 트리에틸아민 5 mL 및 메틸 클로로포르메이트 3.7 mL를 첨가하고, 반응물을 밤새 교반하였다. 이어서, 반응물을 여과하고, 여과물을 0℃로 냉각시키고, 이어서 추가의 트리에틸아민 5 mL 및 메틸 클로로포르메이트 3.7 mL를 첨가하고, 반응물을 실온으로 가온하고, 이어서 추가로 1시간 동안 교반하였다. 이 단계에서 반응은 거의 완료되었고, 이를 여과하고, 이어서 물로 2회 세척하고, 이어서 염수로 세척하여 후처리하였다. 이어서, 용액을 농축시켜 황색 오일을 생성하고, 칼럼 크로마토그 래피를 이용하여 정제함으로써, 화합물 30을 수득하였다.

[0643]

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.35 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 1.30 (s, 9H), 1.29 (s, 9H).

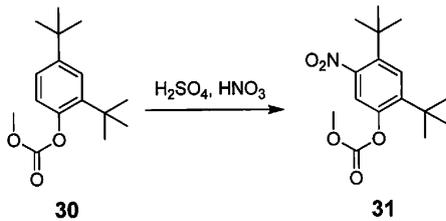
[0644]

방법 2

[0645]

4-디메틸아미노피리딘 (DMAP, 3.16 g, 25.7 mmol) 및 2,4-디tert-부틸 페놀 (화합물 29, 103.5 g, 501.6 mmol)로 충전된 반응기 용기에 메틸렌 클로라이드 (415 g, 313 mL)를 첨가하고, 모든 고체가 용해될 때까지 용액을 교반하였다. 이어서, 트리에틸아민 (76 g, 751 mmol)을 첨가하고, 용액을 0 내지 5℃로 냉각시켰다. 이어서, 용액 온도를 0 내지 5℃로 유지하면서 메틸 클로로포르메이트 (52 g, 550.3 mmol)를 2.5 내지 4시간에 걸쳐 적 가하였다. 이어서, 반응 혼합물을 23 내지 28℃로 서서히 가열하고, 20시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응물 을 10 내지 15℃로 냉각시키고, 물 150 mL로 충전하였다. 혼합물을 15 내지 20℃에서 35 내지 45분 동안 교반 하고, 이어서 수성 층을 분리하고, 메틸렌 클로라이드 150 mL로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 5 내지 20℃의 온도에서 2.5% HCl (수성)로 중화시켜, 5 내지 6의 최종 pH를 얻었다. 이어서, 유기 층을 물로 세척하고, 진 공 하에 20℃ 미만의 온도에서 150 mL로 농축시켜, 메틸렌 클로라이드 중 화합물 30을 수득하였다.

[0646] 5-니트로-2,4-디-tert-부틸페닐 메틸 카르보네이트 (31)의 제조 절차



[0647]

[0648] 방법 1

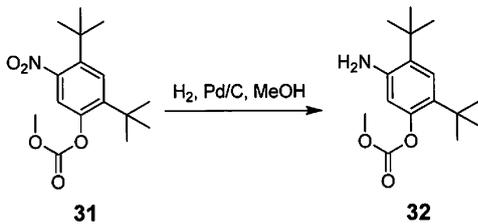
[0649] 0°C에서 화합물 30 (6.77 g, 25.6 mmol)의 교반 용액에 황산 및 질산의 1:1 혼합물 6 mL를 적가하였다. 혼합물을 실온으로 가온하고, 1시간 동안 교반하였다. 생성물을 액체 크로마토그래피 (이스코(ISCO), 120 g, 0→7% EtOAc/헥산, 38분)를 이용하여 정제함으로써, 화합물 31의 위치이성질체의 약 8:1 내지 10:1 혼합물을 백색 고체로서 수득하였다.

[0650]

[0651] 방법 2

[0652] 화합물 30 (100 g, 378 mmol)에 DCM (540 g, 408 mL)을 첨가하였다. 모든 고체가 용해될 때까지 혼합물을 교반하고, 이어서 -5 내지 0°C로 냉각시켰다. 이어서, 반응물의 초기 온도를 유지하면서 진한 황산 (163 g)을 적가하고, 혼합물을 4.5시간 동안 교반하였다. 이어서, 반응물의 초기 온도를 유지하면서 질산 (62 g)을 2 내지 4시간에 걸쳐 적가하고, 이어서 상기 온도에서 추가로 4.5시간 동안 교반하였다. 이어서, 온도를 5°C 미만으로 유지하면서, 반응 혼합물을 차가운 물에 서서히 첨가하였다. 이어서, 켄칭된 반응물을 25°C로 가열하고, 수성 층을 제거하고, 메틸렌 클로라이드로 추출하였다. 합한 유기 층을 물로 세척하고, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하여 건조시키고, 124 내지 155 mL로 농축시켰다. 헥산 (48 g)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 124 내지 155 mL로 다시 농축시켰다. 후속적으로, 더 많은 헥산 (160 g)을 혼합물에 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 23 내지 27°C에서 15.5시간 동안 교반하고, 이어서 여과하였다. 필터 케이크에 헥산 (115 g)을 첨가하고, 생성된 혼합물을 가열 환류시키고, 2 내지 2.5시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합물을 3 내지 7°C로 냉각시키고, 추가로 1 내지 1.5시간 동안 교반하고, 여과하여, 화합물 31을 연황색 고체로서 수득하였다.

[0653] 5-아미노-2,4-디-tert-부틸페닐 메틸 카르보네이트 (32)의 제조 절차



[0654]

[0655]

2,4-디-tert-부틸-5-니트로페닐 메틸 카르보네이트 (1.00 당량)를 적합한 수소화 반응기에 충전하고, 이어서 5% Pd/C (건조 기준 2.50 중량%, 존슨-매티(Johnson-Matthey) 유형 37)를 충전하였다. MeOH (15.0 부피)를 반응기에 충전하고, 계(system)를 폐쇄하였다. 계를 N<sub>2</sub> (g)로 퍼징하고, 이어서 H<sub>2</sub> (g)를 사용하여 2.0 Bar로 가압하였다. 반응은 25°C +/- 5°C의 반응 온도에서 수행하였다. 완료되면, 반응물을 여과하고, 반응기/케이프를 MeOH (4.00 부피)로 세척하였다. 생성된 여과물을 진공 하에 50°C 이하에서 8.00 부피로 증류하였다. 물 (2.00 부피)을 45°C +/- 5°C에서 첨가하였다. 생성된 슬러리를 0°C +/- 5°C로 냉각시켰다. 슬러리를 1시간 이상 동안 0°C +/- 5°C로 유지하고, 여과하였다. 케이크를 0°C +/- 5°C MeOH/H<sub>2</sub>O (8:2) (2.00 부피)로 1회 세척하였다. 케이크를 진공 하에 (-0.90 bar 및 -0.86 bar) 35°C 내지 40°C에서 건조시켜, 화합물 32를 수득하였다.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.05 (s, 1H), 6.39 (s, 1H), 4.80 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.23 (s, 9H).

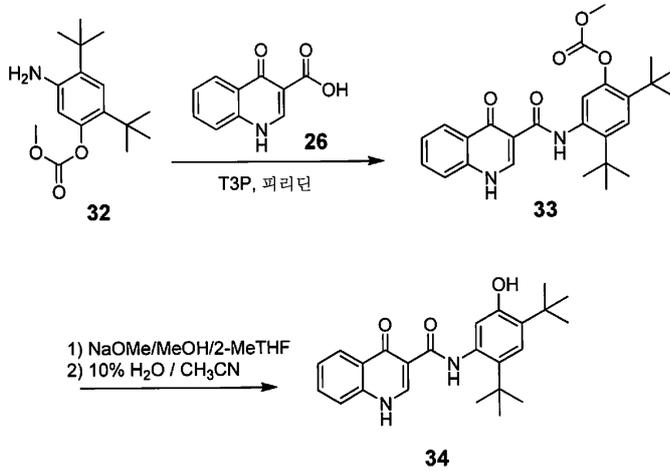
[0656]

[0657]

반응이 일단 완료되면, 상기 기재된 바와 같이, 생성된 혼합물을 약 5 내지 10 부피의 MeOH (예를 들어, 약 6 내지 약 9 부피의 MeOH, 약 7 내지 약 8.5 부피의 MeOH, 약 7.5 내지 약 8 부피의 MeOH, 또는 약 7.7 부피의 MeOH)로 희석하고, 약 35 ± 5°C의 온도로 가열하고, 여과하고, 세척하고, 건조시켰다.

[0658]

N-(2,4-디-tert-부틸-5-히드록시페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (34)의 제조예.



[0659]

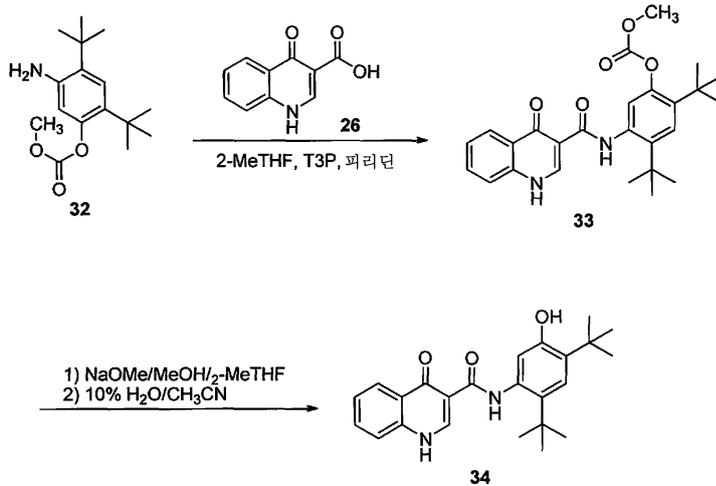
[0660]

4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (26) (1.0 당량) 및 5-아미노-2,4-디-tert-부틸페닐 메틸 카르보네이트 (32) (1.1 당량)를 반응기에 충전하였다. 2-MeTHF (산에 대하여 4.0 부피)를 첨가하고, 이어서 2-MeTHF 중 T3P<sup>®</sup> 50% 용액 (1.7 당량)을 첨가하였다. T3P 충전된 용기를 2-MeTHF (0.6 부피)로 세척하였다. 이어서, 피리딘 (2.0 당량)을 첨가하고, 생성된 현탁액을 47.5 +/- 5.0°C로 가열하고, 8시간 동안 상기 온도로 유지하였다. 샘플을 취하여 HPLC에 의해 완료에 대해 체크하였다. 일단 완료되면, 생성된 혼합물을 25.0°C +/- 2.5°C로 냉각시켰다. 2-MeTHF (12.5 부피)를 첨가하여 혼합물을 희석하였다. 반응 혼합물을 물 (10.0 부피)로 2회 세척하였다. 2-MeTHF를 첨가하여 반응물의 총 부피가 40.0 부피 (약 16.5 부피가 충전됨)가 되게 하였다. 상기 용액에 NaOMe/MeOH (1.7 당량)를 첨가하여 가메탄올분해를 수행하였다. 반응물을 1.0시간 이상 동안 교반하고, HPLC에 의해 완료에 대해 체크하였다. 일단 완료되면, 반응을 1 N HCl (10.0 부피)로 켄칭하고, 0.1 N HCl (10.0 부피)로 세척하였다. 유기 용액을 연마 여과(polish filter)하여 어떠한 미립자라도 제거하고, 제2 반응기에 위치시켰다. 여과된 용액을 35°C (재킷 온도) 이하 및 8.0°C (내부 반응 온도) 이상에서 감압 하에 20 부피로 농축시켰다. CH<sub>3</sub>CN을 40 부피까지 첨가하고, 용액을 35°C (재킷 온도) 이하 및 8.0°C (내부 반응 온도) 이상에서 20 부피로 농축시켰다. 총 3회의 CH<sub>3</sub>CN 첨가 및 4회의 20 부피로의 농축을 위해, CH<sub>3</sub>CN의 첨가 및 농축 사이클을 2회 더 반복하였다. 20 부피로의 최종 농축 후에, 16.0 부피의 CH<sub>3</sub>CN을 첨가하고, 이어서 4.0 부피의 H<sub>2</sub>O를 첨가하여, 출발 산에 대해 40 부피의 10% H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN 최종 농도를 만들었다. 상기 슬러리를 78.0°C +/- 5.0°C로 가열하였다 (환류). 이어서, 슬러리를 5시간 이상 동안 교반하였다. 슬러리를 5시간에 걸쳐 0.0°C +/- 5°C로 냉각시키고, 여과하였다. 케이크를 0.0°C +/- 5.0°C CH<sub>3</sub>CN (5 부피)으로 4회 세척하였다. 생성된 고체 (화합물 34)를 50.0°C +/- 5.0°C의 진공 오븐에서 건조시켰다.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.8 (s, 1H), 11.8 (s, 1H), 9.2 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 8.3 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.9 (t, 1H), 7.8 (d, 1H), 7.5 (t, 1H), 7.1 (s, 1H), 1.4 (s, 9H), 1.4 (s, 9H).

[0661]

[0662] N-(2,4-디-tert-부틸-5-히드록시페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복스아미드 (34)의 대안적 제조에.



[0663]

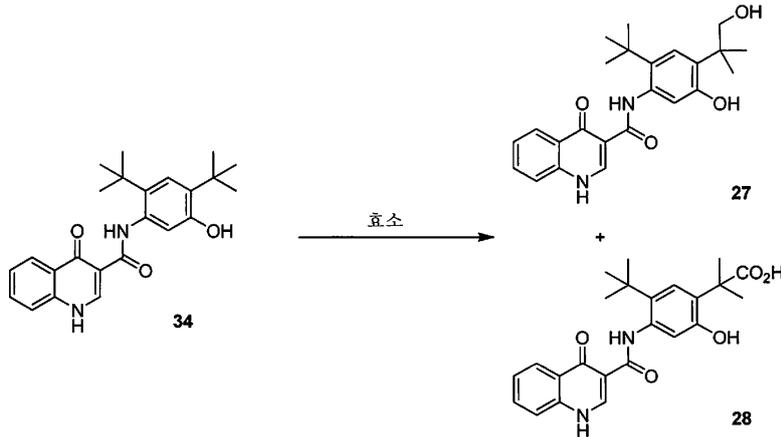
[0664] 4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복실산 (26) (1.0 당량) 및 5-아미노-2,4-디-tert-부틸페닐 메틸 카르보네이트 (32) (1.1 당량)를 반응기에 충전하였다. 2-MeTHF (산에 대하여 4.0 부피)를 첨가하고, 이어서 2-MeTHF 중 T3P® 50% 용액 (1.7 당량)을 첨가하였다. T3P 충전된 용기를 2-MeTHF (0.6 부피)로 세척하였다. 이어서, 피리딘 (2.0 당량)을 첨가하고, 생성된 현탁액을 47.5 +/- 5.0℃로 가열하고, 8시간 동안 상기 온도로 유지하였다. 샘플을 취하여 HPLC에 의해 완료에 대해 체크하였다. 일단 완료되면, 생성된 혼합물을 25.0℃ +/- 5℃로 냉각시켰다. 2-MeTHF (12.5 부피)를 첨가하여 혼합물을 희석하였다. 반응 혼합물을 물 (10.0 부피)로 2회 세척하고, 2-MeTHF (16.5 부피)를 반응기에 충전하였다. 상기 용액을 30% w/w NaOMe/MeOH (1.7 당량)로 충전하여 가메탄올분해를 수행하였다. 반응물을 25.0℃ +/- 5.0℃에서 1.0시간 이상 동안 교반하고, HPLC에 의해 완료에 대해 체크하였다. 일단 완료되면, 반응을 1.2 N HCl/H<sub>2</sub>O (10.0 부피)로 켄칭하고, 0.1 N HCl/H<sub>2</sub>O (10.0 부피)로 세척하였다. 유기 용액을 연마 여과하여 어떠한 미립자라도 제거하고, 제2 반응기에 위치시켰다.

[0665] 여과된 용액을 35℃ (재킷 온도) 이하 및 8.0℃ (내부 반응 온도) 이상에서 감압 하에 20 부피로 농축시켰다. CH<sub>3</sub>CN을 40 부피까지 첨가하고, 용액을 35℃ (재킷 온도) 이하 및 8.0℃ (내부 반응 온도) 이상에서 20 부피로 농축시켰다. 총 3회의 CH<sub>3</sub>CN 첨가 및 4회의 20 부피로의 농축을 위해, CH<sub>3</sub>CN의 첨가 및 농축 사이클을 2회 더 반복하였다. 20 부피로의 최종 농축 후에, 16.0 부피의 CH<sub>3</sub>CN을 충전하고, 이어서 4.0 부피의 H<sub>2</sub>O를 충전하여, 출발 산에 대해 40 부피의 10% H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN 최종 농도를 만들었다. 상기 슬러리를 78.0℃ +/- 5.0℃로 가열하였다 (환류). 이어서, 슬러리를 5시간 이상 동안 교반하였다. 슬러리를 5시간에 걸쳐 20 내지 25℃로 냉각시키고, 여과하였다. 케이크를 20 내지 25℃로 가열된 CH<sub>3</sub>CN (5 부피)으로 4회 세척하였다. 생성된 고체 (화합물 34)를 50.0℃ +/- 5.0℃의 진공 오븐에서 건조시켰다.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.8 (s, 1H), 11.8 (s, 1H), 9.2 (s, 1H), 8.9 (s, 1H), 8.3 (s, 1H), 7.2 (s, 1H), 7.9 (t, 1H), 7.8 (d, 1H), 7.5 (t, 1H), 7.1 (s, 1H), 1.4 (s, 9H), 1.4 (s, 9H).

[0666]

[0667] 실시예 7: N-(2-tert-부틸-5-히드록시-4-(1-히드록시-2-메틸프로판-2-일)페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복스아미드 (27) 및 2-(5-tert-부틸-2-히드록시-4-(4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복스아미도)페닐)-2-메틸프로판산 (28)의 생합성 절차



[0668]

[0669]

스트렙토미세스 리모수스 (DSM 40260)를 동결 배양물로서 DSM으로부터 구입하였다. 상기 배양물을 사용하여 아가 경사면에 접종하고, 이를 4℃에서 유지 및 저장하였다. 효모 추출물 (4 g/L), 맥아 추출물 (10 g/L) 및 대두분 (5 g/L)을 함유하는 효모 추출물-맥아 추출물-펩톤 (YMP) 배지를 제조하고, 130℃에서 60분 동안 멸균시켰다. YMP 배지 1 L를 함유하는 5개의 플라스크에 아가 경사면으로부터의 S. 리모수스를 직접 접종하였다. 배양물을 대략 100 rpm으로 부드럽게 교반하면서 30℃에서 2 내지 3일 동안 성장시켰다. 이들 조건 하에, 흐린 용액 또는 플라스크 바닥에 응집되는 구형 미립자의 2가지 성장 유형이 관찰되었다. 후자의 성장 유형이 보다 높은 화합물 27로의 전환을 초래하는 것으로 밝혀졌다. 이어서, 세포를 회전 침강시키고, 수확하고, 0.1 M 인산 칼륨 완충제 (pH 7.0) 1 L를 함유하는 2개의 플라스크 중에 재현탁시켰다. N,N-디메틸포름아미드 (DMF) 50 mL 중 화합물 34 5.0 g을 플라스크에 첨가하였다. 약 100 rpm으로 부드럽게 교반하면서 30℃에서 24시간 동안 반응을 진행시켰고, 이 시점에 HPLC는 7.59% 화합물 27 및 1.17% 화합물 28의 전환을 나타내었다.

[0670]

두 플라스크 모두를 합하고, 3500 rpm에서 10분 동안 원심분리하고, 메탄올 500 mL 중에 재현탁시켰다. 상기 현탁액을 30분 동안 격렬히 교반하고, 이어서 6000 rpm에서 10분 동안 다시 회전 침강시켰다. 유기 층을 수집하고, 과정을 2회 반복하였다. 메탄올 추출물을 진공 하에 농축시켜, 각각 고형물 2.50 g, 1.57 g 및 1.11 g을 얻었다. 이들 추출물로부터의 고체는 74.78 내지 91.96% 화합물 34, 7.66 내지 19.73% 화합물 27 및 0.39 내지 5.49% 화합물 28을 함유하는 것으로 나타났다. 생물학적-산화 생성물로부터 화합물 34 부분을 가려내기 위한 노력으로, 처음 두 추출물로부터의 고체를 합하고, 메탄올 250 mL에 현탁시키고, 1시간 동안 격렬히 교반하고, 진공 여과하였다. 여과물에서 화합물 27 및 28이 풍부화된 반면 (각각 22.09 및 6.14%), 고체 또한 여전히 화합물 27 (8.96%) 및 화합물 28 (0.50%)을 함유하였다.

[0671]

용해된 고체 대략 2.2 g을 함유하는 메탄올 여과물을 실리카 4.5 g 상에 흡착시키고, 플래쉬 크로마토그래피 (100% 디클로로메탄 → 88:12 디클로로메탄/메탄올의 구배를 이용함)에 의해 정제하였다. 화합물 27을 함유하는 분획을 진공 하에 농축시키고, 동결-건조를 통해 추가로 건조시켜, 화합물 27 130 mg (HPLC에 의하면 98.5% 순도)을 수득하였다. 불순한 화합물 28을 함유하는 분획을 또한 진공 하에 농축시켜, 10 mg 미만의 고체를 수득하였다.

[0672]

세포 펠릿을 메탄올 500 mL 중에 재현탁시키고, 비드비터(BeadBeater)에서 균질화시켜 세포를 흩뜨리고, 임의의 잔여 생성물을 회수하였다. 균질화된 현탁액을 6000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 유기 층을 얻었다. 이를 제3 추출물로부터 얻은 고체, 및 처음 두 추출물의 슬러리 풍부화로부터의 여과된 고체에 첨가하고, 환류 상태에서 밤새 슬러리화시켰다. 이어서, 슬러리를 냉각시키고, 흡인 여과하여 고체 1.99 g을 얻었다. 고체를 메탄올 300 mL에 재용해시키고, 이어서 이를 대략 5 g의 실리카 상에 흡착시키고, 플래쉬 크로마토그래피 (100% 디클로로메탄 → 94:6 디클로로메탄/메탄올의 구배를 이용함)에 의해 정제하여, 화합물 34 및 화합물 27 뿐만 아니라 다른 불순물을 함유하는 고체 820 mg을 얻었다. 이를 보다 점진적인 용매 구배 (100% DCM → 6% MeOH/94% DCM의 혼합물)를 이용하여 재칼럼처리하여, 추가의 화합물 27 89 mg을 수득하였다. <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼은 상기 기록된 것과 일치하였다.

[0673]

실시예 8: N-(2,4-디-tert-부틸-5-히드록시페닐)-4-옥소-1,4-디히드로퀴놀린-3-카르복사미드 (34)의 재결정화 절차



[0674]

[0675]

화합물 34 (1.0 당량)를 반응기에 충전하였다. 2-MeTHF (20.0 부피)를 첨가하고, 이어서 0.1 N HCl (5.0 부피)을 첨가하였다. 2상 용액을 교반하고, 분리하고, 상부 유기 상을 0.1 N HCl (5.0 부피)로 2회 더 세척하였다. 유기 용액을 연마 여과하여 어떠한 미립자라도 제거하고, 제2 반응기에 위치시켰다. 여과된 용액을 감압 하에 35°C 이하 (재킷 온도) 및 8.0°C (내부 반응 온도) 이하에서 10 부피로 농축시켰다. 이소프로필 아세테이트 (IPAc) (10 부피)를 첨가하고, 용액을 35°C (재킷 온도) 이하 및 8.0°C (내부 반응 온도) 이하에서 10 부피로 농축시켰다. 총 3회의 IPAc 첨가 및 4회의 10 부피로의 농축을 위해, IPAc의 첨가 및 농축을 2회 더 반복하였다. 최종 농축 후, 10 부피의 IPAc를 충전하고, 슬러리를 가열 환류시키고, 5시간 동안 상기 온도로 유지하였다. 슬러리를 5시간에 걸쳐 0.0°C +/- 5°C로 냉각시키고, 여과하였다. 케이크를 IPAc (5 부피)로 1회 세척하였다. 생성된 고체를 50.0°C +/- 5.0°C의 진공 오븐에서 건조시켰다.

[0676]

실시예 9: pH 7.4에서의 용해도를 시험하기 위한 일반적 절차

[0677]

고처리량 진탕 플라스크 검정을 이용하여, pH 7.4 완충제 중의 화합물의 용해도를 결정하였다. 용액 중 화합물의 농도를 계산하기 위해, 화합물당 2가지 조건을 실행하였다: 100% DMSO 중 300 uM, 및 pH 7.4 인산염 완충제 (2% DMSO 존재) 중 200 uM. 각각의 샘플을 밤새 진탕되도록 방지하고, 이어서 HPLC-UV에 주입하여, 하기 조건을 이용하여 피크 면적을 결정하였다: 페노메닉스(Phenomenex) 00A-4251-B0 - 30x2.00 mm 루나(Luna) 3u C18(2) 100A 칼럼; 0.8 mL/분 유량; 20 uL 주입 부피; 0.1% 포름산을 함유하는 HPLC 등급 물 및 0.1% 포름산을 함유하는 HPLC 등급 아세토니트릴 이동상; 피크 면적은 254 nm에서 결정됨. 용해도 (uM)는 하기 공식을 이용하여 계산하였다: 농도 = (피크 면적 pH 7.4) / (피크 면적 300 uM DMSO 표준 조건) x 표준 조건의 300 uM 농도. 관심 대상의 피크는 300 uM DMSO 표준 조건에서의 최대 면적 피크의 체류 시간 (RT)을 기초로 한 완충제 조건에서 확인하였다.

[0678]

VI. 활성 검정

[0679]

실시예 10: 활성 검정을 위한 일반적 절차

[0680]

화합물의 ΔF508-CFTR 강화 특성의 검출 및 측정을 위한 검정

[0681]

화합물의 ΔF508-CFTR 조정 특성을 검정하기 위한 막 전위 광학법

[0682]

본 검정은 형광 전압 감지 염료를 사용하여, 형광 플레이트 판독기 (예를 들어, FLIPR III, 몰레큘라 디바이스즈, 인크.(Molecular Devices, Inc.))를 통해 NIH 3T3 세포에서의 기능적 ΔF508-CFTR의 증가에 대한 판독치로서 막 전위에서의 변화를 측정한다. 반응을 위한 구동력은 세포에 화합물을 미리 처리하고 나서 전압 감지 염료를 로딩한 후에 단일 액체 첨가 단계에 의한 채널 활성화와 더불어 발생하는 클로라이드 이온 구배의 생성이다.

[0683]

강화제 화합물의 확인

[0684]

ΔF508-CFTR의 강화제를 확인하기 위해, 이중-첨가 HTS 검정 포맷을 개발하였다. 이 HTS 검정은 형광 전압 감지 염료를 사용하여, FLIPR III을 통해 온도-보정된 ΔF508 CFTR NIH 3T3 세포에서의 ΔF508 CFTR의 게이팅 (전도도) 증가의 척도로서 막 전위에서의 변화를 측정한다. 반응을 위한 구동력은 세포에 강화제 화합물 (또는 DMSO 비히클 대조군)을 미리 처리하고 나서 재분포 염료를 로딩한 후에 단일 액체 첨가 단계 (형광 플레이트 판독기, 예컨대 FLIPR III 사용)에서의 포스스콜린에 의한 채널 활성화와 더불어 발생하는 Cl<sup>-</sup> 이온 구배이다.

[0685]

용액

[0686]

조(bath) 용액 #1: (mM) NaCl 160, KCl 4.5, CaCl<sub>2</sub> 2, MgCl<sub>2</sub> 1, HEPES 10, pH 7.4 (NaOH 함유).

[0687]

클로라이드-무함유 조 용액: 조 용액 #1 중의 클로라이드 염을 글루코네이트 염으로 바꿈.

[0688]

세포 배양 ΔF508-CFTR을 안정적으로 발현하는 NIH3T3 마우스 섬유모세포를 막 전위의 광학 측정을 위해 사용하

었다. 세포를 5% CO<sub>2</sub> 및 90% 습도에서 175 cm<sup>2</sup> 배양 플라스크 내의 2 mM 글루타민, 10% 태아 소 혈청, 1X NEAA, β-ME, 1X 페니실린/스트렙토마이신 및 25 mM HEPES가 보충된 돌베코 변형 이글 배지 중에서 37°C로 유지하였다. 모든 광학 검정을 위해, 세포를 384-웰 매트릭셀-코팅된 플레이트에 약 20,000개/웰로 시딩하여 37°C에서 2시간 동안 배양한 후, 강화제 검정을 위해 27°C에서 24시간 동안 배양하였다. 고정 검정을 위해, 세포를 화합물의 존재 및 부재 하에 16 내지 24시간 동안 27°C 또는 37°C에서 배양하였다. 화합물의 ΔF508-CFTR 조정 특성을 검정하기 위한 전기생리학적 검정

[0689] 1. 유성 챔버(Ussing Chamber) 검정

[0690] 유성 챔버 실험을 ΔF508-CFTR을 발현하는 분극화 기도 상피 세포에서 수행하여 광학 검정에서 확인된 ΔF508-CFTR 조정자를 추가로 특징규명하였다. 비-CF 및 CF 기도 상피를 기관지 조직으로부터 분리하여 이전에 기재된 바와 같이 배양하고 (문헌 [Galiotta, L.J.V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, G.A., & Zegarra-Moran, O. (1998) In Vitro Cell. Dev. Biol. 34, 478-481]), NIH3T3-조건화 배지로 사전 코팅된 코스타(Costar)® 스냅웰(Snapwell)<sup>TM</sup> 필터 상에 플레이팅하였다. 4일 후에 정단 배지를 제거하고, 세포를 공기 액체 계면에서 >14일 동안 성장시킨 후에 사용하였다. 이로써, 기도 상피의 특징인 섬모를 갖는 완전 분화된 원주 세포의 단층이 생성되었다. 비-CF HBE를 임의의 공지의 폐 질환을 갖지 않는 비-흡연자로부터 분리하였다. CF-HBE를 ΔF508-CFTR에 대해 동형접합인 환자로부터 분리하였다.

[0691] 코스타® 스냅웰<sup>TM</sup> 세포 배양 삽입물 상에서 성장한 HBE를 유성 챔버 (피지올로지 인스트루먼트즈, 인크.(Physiologic Instruments, Inc.), 캘리포니아주 샌 디에고)에 탑재하고, 상피 횡단 내성 및 기저측부에서 정단까지의 Cl<sup>-</sup> 구배 존재 하의 단락 전류 (I<sub>sc</sub>)를 전압-클램프 시스템 (아이오와주, 아이오와대학교, 생체공학과)을 사용하여 측정하였다. 간략하게 설명하면, HBE를 전압-클램프 기록 조건 (V<sub>hold</sub> = 0 mV)하에 37°C에서 조사하였다. 기저측부 용액은 145 NaCl, 0.83 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.3 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2 MgCl<sub>2</sub>, 1.2 CaCl<sub>2</sub>, 10 글루코스 및 10 HEPES (NaOH를 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였고 (mM), 정단 용액은 145 Na글루코네이트, 1.2 MgCl<sub>2</sub>, 1.2 CaCl<sub>2</sub>, 10 글루코스 및 10 HEPES (NaOH를 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM).

[0692] 강화제 화합물의 확인

[0693] 전형적인 프로토콜은 기저측부에서 정단까지의 막 Cl<sup>-</sup> 농도 구배를 이용하였다. 이러한 구배를 셋업하기 위해서, 기저측부 막에는 통상의 링거를 사용하고 정단 NaCl은 동물의 나트륨 글루코네이트 (NaOH를 사용하여 pH 7.4로 적정함)로 대체하여 상피를 가로지르는 높은 Cl<sup>-</sup> 농도 구배를 생성하였다. 포르스콜린 (10 μM) 및 모든 시험 화합물을 세포 배양 삽입물의 정단 측에 첨가하였다. 추정적 ΔF508-CFTR 강화제의 효능을 공지된 강화제인 제니스테인의 효능과 비교하였다.

[0694] 2. 패치-클램프 기록

[0695] ΔF508-NIH3T3 세포에서의 총 Cl<sup>-</sup> 전류를 이전에 기재된 바와 같이 천공형-패치 기록 장치를 사용하여 모니터링 하였다 (문헌 [Rae, J., Cooper, K., Gates, P., & Watsky, M. (1991) J. Neurosci. Methods 37, 15-26]). 전압-클램프 기록은 악소패치(Axopatch) 200B 패치-클램프 증폭기 (악손 인스트루먼트즈 인크.(Axon Instruments Inc.), 캘리포니아주 포스터 시티)를 사용하여 22°C에서 수행하였다. 피펫 용액은 150 N-메틸-D-글루카민 (NMDG)-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 EGTA, 10 HEPES 및 240 μg/mL 암포테리신-B (HCl을 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM). 세포외 배지는 150 NMDG-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES (HCl을 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM). 펄스 생성, 데이터 획득 및 분석은 디지데이터(Digidata) 1320 A/D 인터페이스 및 클램프엑스(Clampex) 8 (악손 인스트루먼트즈 인크.)이 장착된 PC로 수행하였다. ΔF508-CFTR을 활성화시키기 위해, 10 μM 포르스콜린 및 20 μM 제니스테인을 조에 첨가하고, 전류-전압 관계를 매 30초마다 모니터링 하였다.

[0696] 강화제 화합물의 확인

[0697] ΔF508-CFTR 강화제가 ΔF508-CFTR을 안정적으로 발현하는 NIH3T3 세포에서 거시적 ΔF508-CFTR Cl<sup>-</sup> 전류 (I<sub>ΔF508</sub>)를 증가시키는 능력 또한 천공형-패치-기록 기술을 이용하여 조사하였다. 광학 검정에서 확인된 강화제는

광학 검정에서 관찰된 것과 유사한 효력 및 효능으로  $I_{\Delta F508}$ 에서 용량-의존적 증가를 야기하였다. 조사한 모든 세포에서, 강화제 적용 이전 및 적용 동안의 역전 전위는 약 -30 mV로, 계산된  $E_{Cl}$  (-28 mV)에 해당하였다.

[0698] 세포 배양

[0699]  $\Delta F508$ -CFTR을 안정적으로 발현하는 NIH3T3 마우스 섬유모세포를 온전한 세포 기록을 위해 사용하였다. 세포를 5% CO<sub>2</sub> 및 90% 습도에서 175 cm<sup>2</sup> 배양 플라스크 내의 2 mM 글루타민, 10% 태아 소 혈청, 1X NEAA,  $\beta$ -ME, 1X 페니실린/스트렙토마이신 및 25 mM HEPES가 보충된 둘베코 변형 이글 배지 중에서 37°C로 유지하였다. 온전한 세포 기록을 위해, 2,500 내지 5,000개 세포를 폴리-L-리신-코팅된 유리 커버슬립에 시딩하고 24 내지 48시간 동안 27°C에서 배양한 후에 이것을 사용하여 강화제의 활성을 시험하였고, 고정 화합물의 존재 또는 부재 하에 37°C에서 인큐베이션하여 고정제의 활성을 측정하였다.

[0700] 3. 단일-채널 기록

[0701] NIH3T3 세포에서 발현된 wt-CFTR 및 온도-보정된  $\Delta F508$ -CFTR의 게이팅 활성을 악소패치 200B 패치-클램프 증폭기 (악손 인스트루먼트즈 인크.)를 사용하여 이전에 기재된 바와 같이 절제된 내부-외부 막 패치 기록으로 관찰하였다 (문헌 [Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R.G., Pavirani, A., Lecocq, J-P., Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526-528]). 피펫은 150 NMDG, 150 아스파르트산, 5 CaCl<sub>2</sub>, 2 MgCl<sub>2</sub> 및 10 HEPES (트리스 염기를 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM). 조는 150 NMDG-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 5 EGTA, 10 TES 및 14 트리스 염기 (HCl을 사용하여 pH를 7.35로 조정함)를 함유하였다 (mM). 절제 후, wt- 및  $\Delta F508$ -CFTR 둘 다 1 mM Mg-ATP, 75 nM의 cAMP-의존적 단백질 키나제 (PKA; 프로메가 코포레이션(Promega Corp.), 위스콘신주 매디슨)의 촉매 서브유닛, 및 10 mM NaF 첨가에 의해 활성화되어 단백질 포스파타제를 억제하였고, 이것은 전류 감소를 저해하였다. 피펫 전위는 80 mV로 유지시켰다. 채널 활성은 2개 이하의 활성 채널을 함유하는 막 패치로부터 분석하였다. 동시에 개방된 최대 수로 실험 동안의 활성 채널의 수를 결정하였다. 단일 채널 전류 크기를 결정하기 위해서, 120초의  $\Delta F508$ -CFTR 활성으로부터 기록된 데이터를 100 Hz에서 "오프-라인(off-line)" 여과한 후에 이것을 사용하여 바이오-패치(Bio-Patch) 분석 소프트웨어 (바이오-로직 캄파니(Bio-Logic Comp.), 프랑스)의 멀티가우시안(multigaussian) 기능으로 피팅된 모든 지점 크기 히스토그램을 구축하였다. 전체 미시적 전류 및 개방 확률(open probability) ( $P_o$ )을 120초의 채널 활성으로부터 결정하였다.  $P_o$ 는 바이오-패치 소프트웨어를 사용하여 결정하거나, 또는 관계  $P_o = I/i(N)$  (여기서, I = 평균 전류, i = 단일 채널 전류 크기, N = 패치 내 활성 채널의 수)으로부터 결정하였다.

[0702] 세포 배양

[0703]  $\Delta F508$ -CFTR을 안정적으로 발현하는 NIH3T3 마우스 섬유모세포를 절제된-막 패치-클램프 기록에 사용하였다. 세포를 5% CO<sub>2</sub> 및 90% 습도에서 175 cm<sup>2</sup> 배양 플라스크 내의 2 mM 글루타민, 10% 태아 소 혈청, 1X NEAA,  $\beta$ -ME, 1X 페니실린/스트렙토마이신 및 25 mM HEPES가 보충된 둘베코 변형 이글 배지 중에서 37°C로 유지하였다. 단일 채널 기록을 위해, 2,500 내지 5,000개 세포를 폴리-L-리신-코팅된 유리 커버슬립에 시딩하고 24 내지 48 시간 동안 27°C에서 배양한 후에 사용하였다.

[0704] 화학식 1의 화합물은 ATP 결합 카세트 수송자의 조정자로서 유용하다.

[0705] 다른 실시양태

[0706] 상기 개시내용에 언급된 모든 공보 및 특허는, 각각의 개별 공보 또는 특허 출원이 구체적으로 및 개별적으로 참고로 포함된 것과 같은 동일한 정도로 본원에 참고로 포함된다. 참고로 포함된 임의의 특허 또는 공보의 용어의 의미가 본 개시내용에 사용된 용어의 의미와 상충되는 경우, 본 개시내용의 용어의 의미가 우선적인 것이다. 또한, 상기의 논의는 본 발명의 예시적인 실시양태만을 개시 및 기재한다. 당업자는 상기의 논의로부터 및 첨부된 도면 및 청구항으로부터, 다양한 변화, 개질 및 변형이 하기의 특허청구범위에 정의된 본 발명의 취지 및 범주를 벗어나지 않으면서 만들어질 수 있음을 쉽게 알 것이다.