

명세서

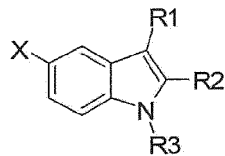
발명의 명칭: 잔틴 옥시다아제 저해제 합성을 위한 중간체의 제조 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 잔틴 옥시다아제 저해제 합성을 위한 중간체의 제조 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 저가의 출발물질 및 리간드, 킬레이팅 추출 정제기법을 사용하는 하기 화학식 2 및 화학식 4 화합물을 제조하는 방법에 관한 것이다:

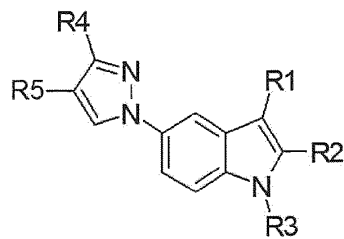
- [2] [화학식 2]

- [3]



- [4] [화학식 4]

- [5]



- [6]

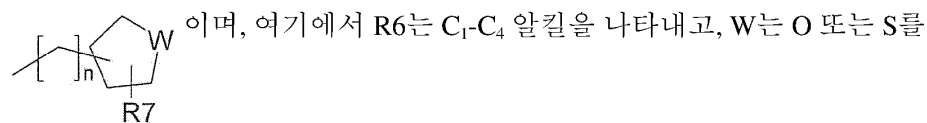
- [7] 상기 화학식에서,

- [8] X는 F, Cl, Br 또는 I이고;

- [9] R1은 수소 또는 CN이며;

- [10] R2는 수소, 할로젠, C₁-C₇ 알킬, C₁-C₇ 알콕시-C₁-C₇ 알킬 또는 페닐이고;

- [11] R3는 수소; 비치환 또는 할로젠, C₃-C₇ 사이클로알킬 및 O-R6에서 선택된 하나 이상의 치환체에 의해서 치환된 C₁-C₇ 알킬; C₃-C₇ 사이클로알킬; 또는



- [12] R4는 수소, 할로젠 또는 C₁-C₇ 알킬이고;

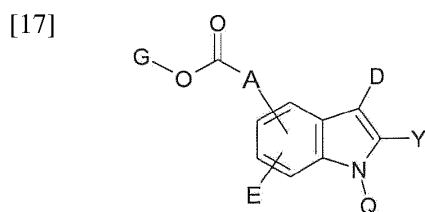
- [13] R5는 -C(O)OR8이며, 여기에서 R8은 수소, C₁-C₇ 알킬 또는 C₃-C₇ 사이클로알킬이다.

배경기술

- [14] 잔틴 옥시다아제(xanthine oxidase)는 하이포잔틴(hypoxanthine)을 잔틴(xanthine)으로, 또한 형성된 잔틴을 요산으로 전환시키는 효소로

알려져있다. 대부분의 포유동물에 존재하는 유리카아제(uricase)가 사람과 침팬지에는 존재하지 않아 요산이라는 물질이 퓨린 대사(purine metabolism)의 마지막 산물로 알려져 있다(S. P. Bruce, Ann. Pharm., 2006, 40, 2187~2194). 혈중에서 높은 농도로 유지되는 요산은 다양한 질병을 일으키며 대표적인 것으로 통풍(gout)을 들 수 있다.

- [15] 통풍은 상기한 바와 같이 체내에 요산 수치가 높아 생기는 질환으로서, 요산 결정체들이 관절의 연골이나, 인대, 그리고 주변조직에 축적되어 심한 염증과 통증을 유발하는 상태를 말한다. 통풍은 염증성 관절 질환의 일종으로서 지난 40년 동안 발병률이 꾸준히 증가하는 추세를 보이고 있다(N. L. Edwards, Arthritis & Rheumatism, 2008, 58, 2587~2590).
- [16] 이에 새로운 잔틴 옥시다아제 저해제를 개발하기 위한 연구가 다양하게 진행되어 왔으며, 대한민국 공개특허공보 제10-2011-0037883호에서는 잔틴 옥시다아제 저해제로서 효과적인, 하기 화학식의 신규 화합물을 개시하고 있다:



[18]

[19] 상기 잔틴 옥시다아제 저해제의 중간체인

5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 종래 제조 단계가 기재된 대한민국 공개특허공보 제10-2011-0037883호에서는 경제성이 낮고 밀도가 높아 사용에 불편한 CsCO_3 를 사용하였기 때문에 이의 대체제를 확보할 필요성이 있었다. 또한 확립된 정제 방법이 없어 반응 및 work up 공정 후 얻어진 유기층을 농축하여 바로 다음 반응을 진행하였는데 이때 정제되지 않아 반응혼합물에 포함된 5-브로모-3-시아노-1H-인돌이 다음반응에서 impurity를 생성시키는 원인물질로 작용하여 제품품질에 악영향을 미치는 문제점이 존재하였다.

- [20] 또한 기존의 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 제조 단계는 반응 시간이 35~48 시간으로 매우 길며, 출발물질인 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌이 잔류하고 다양한 impurity가 생성되어 결과적으로 원료의약품에 영향을 주기 때문에 품질 및 수율 측면에서 개선이 필요하였다. 또한 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 반응 완료 후 work up 공정에서 Cu-complex 및 in-organic 부산물들을 제거하기 위해 Na_2SO_4 와 silica gel을 반응기에 투입 후 흡착공정을 실시하게 되는데, 이때 제조설비 cleaning 이슈가 있다. 또한 흡착제 및 고체 complex들을 제거하기 위한 여과 및 세척 때문에 공정시간이 길고, 고체 폐기물 처리가 어려워 효과적인 정제법의 개발이 필요하게 되었다.

[21] [선행기술문헌]

[22] [특허문헌]

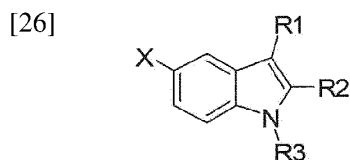
[23] (특허문헌 1) 대한민국 공개특허공보 제10-2011-0037883호

발명의 상세한 설명

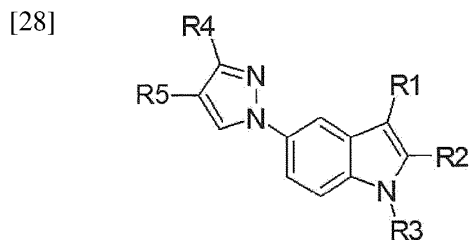
기술적 과제

[24] 이에 본 발명은 잔틴 옥시다아제 저해제의 합성에 있어서 핵심 중간체인 화학식 2 및 화학식 4의 화합물을 보다 저렴한 비용으로 잔류 impurity를 효과적으로 감소시키고 반응시간을 단축시키는 동시에 수율이 향상되고 고체 폐기물의 발생가능성이 없는 새로운 제조 방법을 제공하는 것을 그 기술적 과제로 한다:

[25] [화학식 2]



[27] [화학식 4]



[29]

[30] 상기 화학식에서 X, R1, R2, R3, R4 및 R5는 명세서에 정의되어 있는 바와 같다.

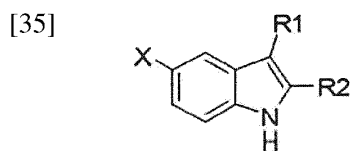
과제 해결 수단

[31] 상기 과제를 해결하기 위하여

[32] i) 화학식 1의 화합물 및 X-R3을 유기용매 상에서 KOH를 포함하는 염기와 함께 반응시키는 단계; 및

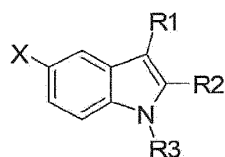
[33] ii) 상기 단계 (i)의 수득물을 알코올 및 탄소수 5 내지 8개의 탄화수소를 포함하는 반응매(anti-solvent)를 사용하여 결정화하는 단계를 포함하는 하기 화학식 2의 화합물의 제조방법이 제공된다:

[34] [화학식 1]



[36] [화학식 2]

[37]

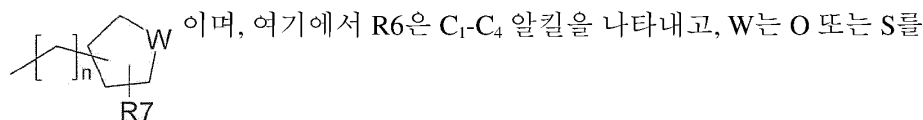


[38]

[39] 상기 화학식에서,

[40] X는 F, Cl, Br 또는 I이고;

[41] R1은 수소 또는 CN이며;

[42] R2는 수소, 할로젠, C₁-C₇ 알킬, C₁-C₇ 알콕시-C₁-C₇ 알킬 또는 페닐이고;[43] R3는 수소; 비치환 또는 할로젠, C₃-C₇ 사이클로알킬 및 O-R6에서 선택된 하나 이상의 치환체에 의해서 치환된 C₁-C₇ 알킬; C₃-C₇ 사이클로알킬; 또는

나타내며, R7은 수소 또는 C₁-C₄ 알킬을 나타내고, W는 O 또는 S를 나타내며, R7은 수소 또는 C₁-C₄ 알킬을 나타내고, n은 0 내지 3의 정수이다.

[44]

[45] 본 발명의 일 구체예에 따라, 상기 X-R3은 2-아이오도프로판(2-iodopropane)일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[46] 본 발명의 일 구체예에 따라, 상기 유기용매는 아세톤일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[47] 본 발명의 일 구체예에 따라, 상기 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올 및 부탄올로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[48] 본 발명의 일 구체예에 따라, 상기 탄소수 5 내지 8개의 탄화수소는 헥산, 헵탄 및 이의 혼합물로 구성되는 군으로부터 선택될 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

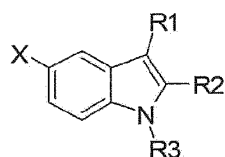
[49] 본 발명의 일 구체예에 따라, R1이 CN이고, R2가 수소이며, R3가 이소프로필일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[50]

[51] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 화학식 2의 화합물 및 화학식 3의 화합물을 유기용매 하에서 구리촉매, 염기 및 N,N-디메틸에틸렌디아민을 포함하는 리간드와 함께 C-N 커플링 반응시키는 단계를 포함하는 하기 화학식 4의 화합물의 제조방법이 제공된다:

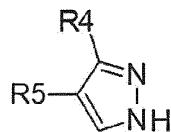
[52] [화학식 2]

[53]



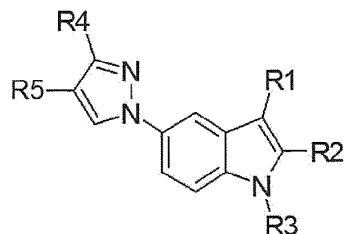
[54] [화학식 3]

[55]



[56] [화학식 4]

[57]



[58]

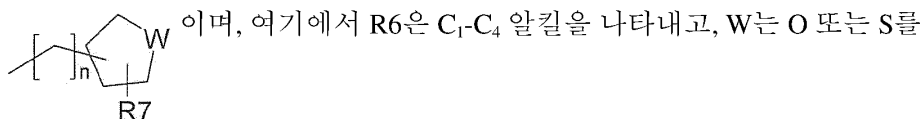
[59] 상기 화학식에서,

[60] X는 F, Cl, Br 또는 I이고;

[61] R1은 수소 또는 CN이며;

[62] R2는 수소, 할로젠, C₁-C₇ 알킬, C₁-C₇ 알콕시-C₁-C₇ 알킬 또는 페닐이고;

[63] R3는 수소; 비치환 또는 할로젠, C₃-C₇ 사이클로알킬 및 O-R6에서 선택된 하나 이상의 치환체에 의해서 치환된 C₁-C₇ 알킬; C₃-C₇ 사이클로알킬; 또는



나타내며, R7은 수소 또는 C₁-C₄ 알킬을 나타내고, n은 0 내지 3의 정수이며,

[64] R4는 수소, 할로젠 또는 C₁-C₇ 알킬이고;

[65] R5는 -C(O)OR8이고, 여기에서 R8은 수소, C₁-C₇ 알킬 또는 C₃-C₇ 사이클로알킬이다.

[66]

[67] 본 발명의 일 구체예에 따라, 상기 유기용매가 자일렌, 톨루엔, 디메틸포름아마이드(DMF), 디메틸설폭사이드(DMSO)로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[68] 본 발명의 일 구체예에 따라, 상기 구리촉매가 CuI, Cu(OAc)₂, Cu, Cu₂O 및 CuO로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[69] 본 발명의 일 구체예에 따라, 상기 염기가 탄산칼륨, 탄산세슘, 제삼인산칼륨, 트리에틸아민 및 소듐 tert-부톡사이드로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[70] 본 발명의 일 구체예에 따라, 상기 화학식 4의 화합물의 제조 방법은

[71] EDTA, 시트르산, 시트르산 칼륨염 및 시트르산 소듐염으로 구성되는

- 군으로부터 선택되는 1 이상의 킬레이트화 시약; 및
- [72] 암모늄클로라이드 및 암모니아수로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상의 리간드 시약을 사용하여
- [73] 화학식 4의 화합물을 정제하는 단계를 추가로 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.
- [74] 본 발명의 일 실시예에 따라, R1이 CN이고, R2가 수소이며, R3가 이소프로필이고, R4가 수소이며, R5가 에톡시카르보닐(-C(O)OEt)일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

발명의 효과

- [75] 본 발명의 제조 방법은 화학식 2의 화합물 제조에 있어 기존에 쓰이던 값비싼 Cs_2CO_3 을 획기적으로 저렴한 KOH로 대체하여 경제성을 확보하고 잔류 impurity를 효과적으로 감소시킬 수 있다. 또한, 본 발명의 제조 방법은 화학식 4의 화합물 제조에 있어 반응시간을 획기적으로 단축시키고 동시에 기존 방식에 비해 수율을 획기적으로 향상시키고 고체 폐기물의 발생가능성을 현저히 줄여 scale up에 더욱 용이하다.

도면의 간단한 설명

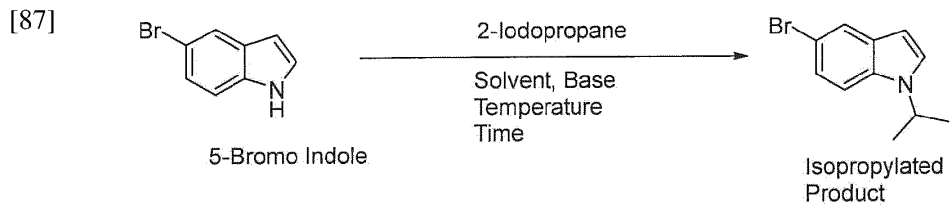
- [76] 도 1은 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화 전과 후의 잔류 5-브로모-3-시아노-1H-인돌의 HPLC 피크 면적을 비교한 것이다. (GD40: 5-브로모-3-시아노-1H-인돌, GD60: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌)
- [77] 도 2는 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 반응에 적용된 리간드의 구조를 나타낸다.
- [78] 도 3은 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌에서 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르의 HPLC Conversion Ratio(%)를 나타낸다.
- [79] 도 4는 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌에서 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르의 HPLC Conversion Ratio(%)를 나타낸다.
- [80] 도 5는 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌에서 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르의 HPLC Conversion Ratio(%)를 나타낸다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [81] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다. 그러나 하기 실시예는 본 발명의 이해를 돕기 위하여 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이에 의하여 한정되는 것은 아니다.
- [82]
- [83] 실시예 1: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 반응 실험결과
- [84] 실시예 1.1: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 Base Screening

[85] 기존에 공지된 공정에서 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 합성에 사용되는 원료인 Cs_2CO_3 는 상당히 고가료, 5-브로모-3-시아노-1H-인돌 대비 1.7 당량이 반응에 투입되어 원재료비의 약 1%를 차지하였다. 또한 Cs_2CO_3 의 높은 밀도 (density 4.07 g/cm³)로 인해 반응시 원할한 교반을 위해 agitation speed 운전범위를 높여 진행하였다. 이러한 문제를 해결하기 위해 우선 indole source로 5-bromoindole을 선정하여 하기 반응식 1에서 다양한 base에 대한 screening을 진행하였다(표 1).

[86] [반응식 1]



[88] [표 1] 5-Bromoindole의 Isopropylation 스크리닝 실험

[89]

Run	Base (equiv)	Solvent (fold)	Temp. (°C)	Time (h)	Result (HPLC % ratio)			
					16 min (SM)	18 min	20 min	23 min (Prt)
실시예 1-1-1	Cs ₂ CO ₃ (1.7)	DMF (10)	25	2.5	52.5	8.6	2.1	36.6
실시예 1-1-2	K ₂ CO ₃ (1.7)				96.2	3.6	0.2	-
실시예 1-1-3	STP (1.7)				41.3	-	2.5	56.2
실시예 1-1-4	NaOMe (1.7)				50.2	-	1.3	48.5
실시예 1-1-5	KOH (1.7)				15.4	-	2.0	82.6
실시예 1-1-6	Cs ₂ CO ₃ (1.7)	DMF (6)		6.0	61.8	-	2.5	-
실시예 1-1-7	Cs ₂ CO ₃ (1.7)	DMF (10)	90	5.0	59.2	-	2.3	38.5
실시예 1-1-8	K ₂ CO ₃ (1.7)				74.0	0.7	1.1	24.1
실시예 1-1-9	STP (1.7)				37.6	-	2.4	59.9
실시예 1-1-10	NaOMe (1.7)				16.6	-	1.6	81.8
실시예 1-1-11	KOH (1.7)				16.0	-	1.9	81.9
실시예 1-1-12	KOH (2.0)	DMF (10)	35	3.5	13.7	-	1.65	84.1
실시예 1-1-13	KOH (2.0)				8.3	-	1.7	90.0
실시예 1-1-14	KOH (2.4)				14.0	0.8	1.1	83.8
실시예 1-1-15	KOH (2.4)				1.45	1.1	0.6	96.9
실시예 1-1-16	NaOMe (2.0)		90	6.0	53.1	1.9	2.1	42.9
실시예 1-1-17	NaOMe (2.0)				63.0	2.7	1.7	32.6
실시예 1-1-18	NaOMe (2.4)				54.0	-	2.2	43.8

STP: sodium tert-pentoxide

[90]

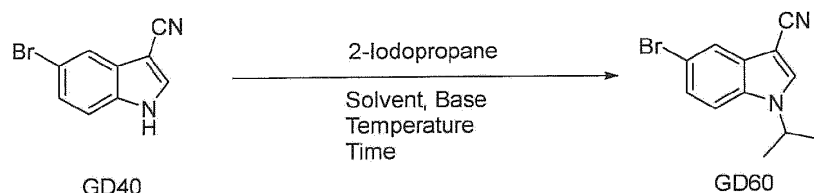
[91]

2-iodopropane은 1.7 당량과 반응용매로 DMF를 선정하여 반응온도와 반응시간을 변경하며 alkylated product로 전환되는 비율로 적합한 base를 예측하였다. 실시예 1-1-1 내지 1-1-5에서 KOH가 가장 높은 전환율 보였다. 실시예 1-1-7 내지 1-1-11의 경우 반응 온도를 90°C로 승온 후 반응을 진행한 결과 K₂CO₃ < Cs₂CO₃ < STP < NaOMe ≤ KOH 전환율 경향성을 보였다. 실시예 1-1-12

내지 1-1-18은 KOH와 NaOMe와 비교하기 위해 반응온도와 당량을 변경하였다. 결과적으로 KOH를 base로 사용할 경우 가장 바람직한 결과를 얻었다. 표 1의 실험을 바탕으로 5-bromoindole의 C3 위치에 CN group이 치환된 5-브로모-3-시아노-1H-인돌을 사용하여 하기 반응식 2에서 isopropylation 반응을 실시하였다(표 2).

[92] [반응식 2]

[93]



[94] [표 2] 5-브로모-3-시아노-1H-인돌의 Isopropylation 스크리닝 실험-I

[95]

Run	2-Iodo propane (equiv)	Base (equiv)	Solvent (fold)	Temp. (°C)	Time (h)	Result (HPLC % ratio)			
						10 min	14 min (GD40)	16 min	18 min (GD60)
실시예 1-2-1	1.7	Cs ₂ CO ₃ (1.7)	Acetone (5)	60	3.0	1.11	N/D	2.17	95.06
실시예 1-2-2	1.7	KOH (1.7)	DMF (7)	r.t	5.0	0.83	18.10	2.55	78.42
실시예 1-2-3	2.2	KOH (1.7)		r.t	4.0	0.93	11.68	2.86	84.37
실시예 1-2-4	1.7	KOH (1.7)		154	7.0	0.43	7.40	1.78	89.75
실시예 1-2-5	1.7	KOH (1.7)	Acetone (7)	60	4.6	1.24	N/D	1.89	95.45

GD40: 5-브로모-3-시아노-1H-인돌

GD60: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌

[96]

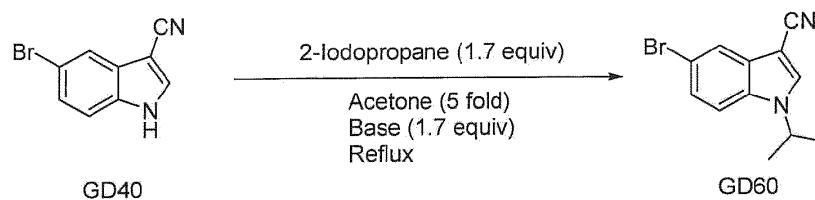
[97]

실시예 1-2-1을 통해 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 반응 조건으로 반응 완료 후 5-브로모-3-시아노-1H-인돌이 잔류하지 않는 결과를 확인하였다. 실시예 1-2-2 내지 1-2-4에서 Cs₂CO₃ 대신 KOH로 변경하고 DMF 용매하에서 반응을 진행하였다. 반응온도 및 2-iodopropane의 당량과 KOH의 당량을 변경한 결과 양호하게 반응이 진행되었지만 출발물질 5-브로모-3-시아노-1H-인돌이 0.43~0.93% 잔류하는 것을 확인하였다. 실시예 1-2-5는 base를 KOH를 사용하고 반응용매를 DMF에서 acetone으로 변경하고 환류조건에서 실시한 결과 기존 Cs₂CO₃를 사용한 것과 유사한 결과를 확인하였다. 따라서 Cs₂CO₃를 KOH로 변경할 수 있음을 알 수 있었다. 상기 표 1 및 표 2의 결과를 검증하기 위해 추가 실험을 진행하였다. 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 반응에서 isopropylated product로 전환되는 비율뿐만 아니라 반응 완료 후 work up 공정 과정에서 생성되는 de-isopropylated impurity의 함량 변화와 실제 isolation 수율을 확인이 필요하였다. 하기 반응식 3에서 7종류의 base와 acetone을 반응용매로 사용한

환류 조건하에서 반응을 진행한 내용을 정리하였다(표 3).

[98] [반응식 3]

[99]



[100] [표 3] 5-브로모-3-시아노-1H-인돌의 Isopropylation 스크리닝 실험-II

[101]

Run	Base (equiv)	Time (h)	De-isopropylated Impurity (5-브로모-3-시아노-1H-인돌) HPLC ratio (%)			Gross Yield (%)	Net Yield (%)
			w/up 전	w/up 후	농축 후		
실시예 1-3-1	Cs ₂ CO ₃	2.0	0.03	0.16	0.15	96.89	98.65
실시예 1-3-2	LiOH	12.0	15.37	12.76	24.80	99.83	88.41
실시예 1-3-3	Ca(OH) ₂	24.0	99.45	N/A	N/A	N/A	N/A
실시예 1-3-4	NaOH	5.0	0.83	0.95	0.01	84.54	85.04
실시예 1-3-5	KOH	3.0	0.12	0.29	0.01	100.97	98.76
실시예 1-3-6	K ₂ CO ₃	6.0	65.03	N/A	N/A	N/A	N/A
실시예 1-3-7	NaOAc	6.0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

[102]

[103] 실시예 1-3-1은 isopropylation 반응에서 사용된 Cs₂CO₃를 사용한 실험으로 반응 완료 후 work up 및 농축을 진행한 후 de-isopropylated impurity가 0.03%에서 0.16%로 증가하는 결과를 확인하였다. 실시예 1-3-2의 경우 LiOH를 base로 사용한 실험에서 work up 후 유기층을 분리하여 농축을 실시한 후 결정화 공정을 진행하기 전 시료를 분석한 결과 de-isopropylated impurity이 12.76%에서 24.80%으로 증가하는 결과를 확인하였다. 실시예 1-3-4 및 1-3-5에서 NaOH와 KOH를 사용한 실험에서도 work up 공정을 진행하는 과정에서 de-isopropylated impurity가 증가하는 경향성을 확인하였다. work up 시 생성되는 중간층의 tarr 생성량, 반응 시간과 isolation 수율, base 구매단가 등을 고려하여 Cs₂CO₃보다 KOH를 사용하는 것이 바람직하다고 판단하였다.

[104]

[105] 실시예 2: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 결정화 실험결과

[106] 실시예 2.1: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 결정화 공정연구

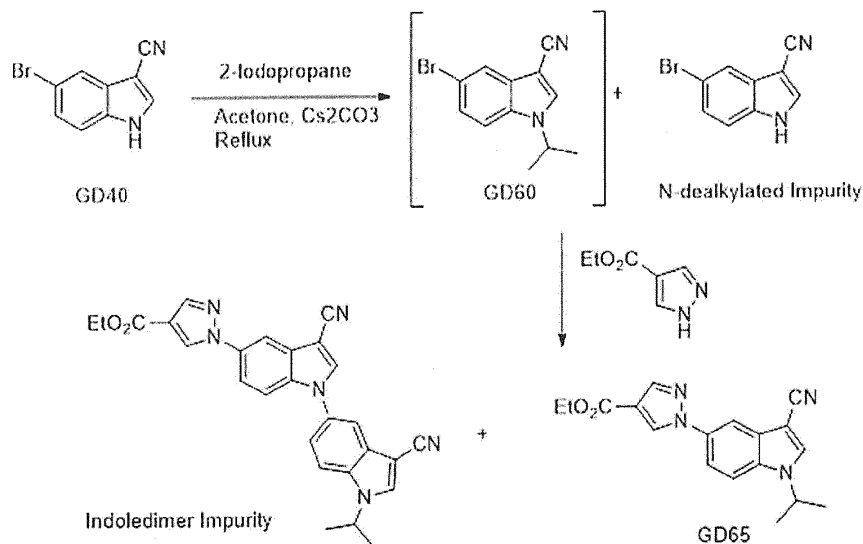
[107] 앞서 실시예 1에서 설명한 바와 같이 de-isopropylated impurity가

5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 공정에서 잔류할 경우

1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르의 C-N coupling 반응에서 indole dimer impurity가 생성되는데 후반 제조공정에서 제거가 용이하지 않았다.

[108] [반응식 4] De-isopropylated impurity에 따른 Indole dimer Impurity의 생성

[109]



GD40: 5-브로모-3-시아노-1H-인돌

GD60: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌

GD65: 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르

[110]

[111] 특히, de-isopropylated impurity는 반응중에 거의 생성되지 않지만 work up 또는 ethyl acetate 증류 및 toluene을 사용한 azeotropic distillation 공정에서 증가하는 경향성을 확인하였다(표 4).

[112] [표 4] De-isopropylated Impurity의 생성

[113]

Process Step	Result (HPLC % ratio)	
	17.6 min (5-브로모-3-시아노-1H-인돌, De-isopropylation Impurity)	21.4 min (5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌)
Final IPC (In Process Control)	n/d	100
After Work up	0.538	99.462
After Distillation	3.178	96.822

[114]

[115] 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌을 HPLC 분석을 통해 de-isopropylated impurity를 추적한 결과 반응 IPC (In Process Control)에서는 검출되지 않았으나 work up과 distillation 단계에서 증가하는 것을 관찰하였다. 이렇게 생산된 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌을 사용하여 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르, 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 및 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 공정을 진행한 후 최종 API(active pharmaceutical ingredient)를 분석한 결과 indole dimer로 예상되는 impurity가 검출되어 option 공정을 진행하였다.

[116]

[117] 실시예 2.1.1. i-PrOH을 이용한 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화
[118] 용해도 곡선을 통해 얻어진 결과를 바탕으로 i-PrOH을 이용한 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화를 진행하였다. Cs_2CO_3 를 이용한 5-브로모-3-시아노-1H-인돌의 합성 공정에서는 층분리 이후 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 de-isopropylation으로 5-브로모-3-시아노-1H-인돌이 재생성되어, 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르반응에 참여하게 됨으로써 indole dimer를 생성하게 된다. 5-브로모-3-시아노-1H-인돌을 사전에 제거함으로써 indole dimer의 생성을 억제할 수 있는 조건을 탐색하기 위해 5-브로모-3-시아노-1H-인돌을 0.86%, 1.56%, 3.00% 포함하도록 spiking 한 후, 환류조건에서 녹인 뒤 상온에서 서서히 냉각하고 0~5°C에서 1시간 숙성시킨 뒤 여과를 진행하였다. 얻어진 결정의 HPLC purity와 gross yield를 정리하였다(표 5).

[119] [표 5] i-PrOH을 이용한 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화 전, 후 잔류 5-브로모-3-시아노-1H-인돌

[120]

Run	i-PrOH (fold)	Temp.	Time (h)	Result (HPLC % ratio)				Gross Yield (%)
				결정화 전		결정화 후		
				GD40	GD60	GD40	GD60	
실시에 2-1-1	1.0	Reflux	3	0.86	98.37	0.12	99.68	88
실시에 2-1-2	1.0	Reflux	3	1.56	96.83	0.28	99.31	87
실시에 2-1-3	1.0	Reflux	3	3.00	94.10	0.59	98.63	81

GD40: 5-브로모-3-시아노-1H-인돌

GD60: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌

[121]

[122] 실시예 2-1-1 내지 2-1-3 결과 1.0 fold의 i-PrOH를 사용하여 결정화를 진행하더라도 de-isopropylated impurity인 5-브로모-3-시아노-1H-인돌이 소량 잔류함을 확인하였다. 초기 출발물질 5-브로모-3-시아노-1H-인돌이 충분히 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌로 전환되지 않거나 work up 공정 단계에서 de-isopropylated impurity가 증가하여 5-브로모-3-시아노-1H-인돌의 함량이 높아질 경우 i-PrOH 1 fold를 사용하여 결정화 공정을 진행하여도 완벽히 제거할 수 없었다. 도 1은 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화 전과 후의 잔류 5-브로모-3-시아노-1H-인돌의 HPLC 피크 면적을 비교한 것이다.

[123]

[124] 실시예 2.1.2. i-PrOH과 반응매(anti-solvent)를 이용한

5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화 (Lab scale)

[125] i-PrOH을 이용하여 결정화를 진행하였을 때, 잔류

5-브로모-3-시아노-1H-인돌은 정제되는 것을 확인하였으며, 수율을 증가시키기 위해 anti-solvent를 이용하여 결정화 조건을 탐색하였다. i-PrOH과 hexane, heptane을 이용하여 결정화를 진행하였을 때, 잔류물 5-브로모-3-시아노-1H-인돌은 효과적으로 제거가 되는 것을 확인하였으며, hexane과 heptane간의 net yield는 큰 차이가 없었다(표 6).

[126] [표 6] Anti-solvent를 이용한 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화 전, 후 잔류 5-브로모-3-시아노-1H-인돌 함량 비교

[127]

Run	i-PrOH (fold)	Anti Solvent (fold)	Temp.	Result (HPLC % ratio)				Gross Yield (%)	Net Yield (%)
				결정화 전		결정화 후			
				GD40	GD60	GD40	GD60		
실시예 2-2-1	1.0	Hexane (2.0)	Reflux	0.68	99.32	0.00	99.99	93	90
실시예 2-1-2	1.0	Hexane (2.0)	Reflux	1.35	98.65	0.03	99.97	93	91
실시예 2-1-3	1.0	Hexane (2.0)	Reflux	2.59	97.41	0.12	99.88	93	92
실시예 2-1-4	1.0	Heptane (2.0)	Reflux	0.71	99.29	0.02	99.98	94	92
실시예 2-1-5	1.0	Heptane (2.0)	Reflux	1.38	98.62	0.06	99.94	94	92
실시예 2-1-6	1.0	Heptane (2.0)	Reflux	2.54	97.46	0.12	99.88	94	93

GD40: 5-브로모-3-시아노-1H-인돌

GD60: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌

[128]

[129] 실시예 2.1.3. 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화 조건 탐색

[130] 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화 공정에서 수율을 향상시키면서 5-브로모-3-시아노-1H-인돌이 제거되는지를 확인하기 위한 추가적인 시험을 진행하였다. 5-브로모-3-시아노-1H-인돌은 0.78%와 2.59%를 spiking하여 결정화 후 잔류하는 양을 HPLC로 확인하였다.

[131] i-PrOH의 양을 줄였을 경우 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 수율이 향상되는 것은 확인되었으나, 5-브로모-3-시아노-1H-인돌은 잔류하는 것으로 보았을 때, 잔류 5-브로모-3-시아노-1H-인돌을 완벽하게 제거하기 위해서는 기존 조건인 i-PrOH는 1 fold 사용 및 heptane은 2 fold를 사용한 조건으로 결정화를 진행하는 것이 바람직한 것으로 판단된다. 그러나, 반응 중 5-브로모-3-시아노-1H-인돌이 0.78%이하로 존재한 상태에서 결정화를 진행한다면 i-PrOH를 0.5 fold 사용하여 결정화를 진행하여도 관리 가능할 것으로 판단되었다(표 7).

[132] [표 7] i-PrOH 비율 변경을 통한 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 결정화 조건 결과

[133]

Run	i-PrOH (fold)	Heptane (fold)	Temp.	Result (HPLC % ratio)				Gross Yield (%)
				결정화 전		결정화 후		
				GD40	GD60	GD40	GD60	
실시예 2-3-1	1.0	2.0	Reflux	0.71	99.39	0.00	99.99	93
실시예 2-3-2	-	2.0	Reflux	0.78	99.42	0.68	99.99	95
실시예 2-3-3	0.25	2.0	Reflux	0.78	99.42	0.11	99.89	95
실시예 2-3-4	0.25	2.0	Reflux	2.59	99.42	0.17	99.83	94
실시예 2-3-5	0.50	2.0	Reflux	0.78	97.41	0.04	99.94	94
실시예 2-3-6	0.50	2.0	Reflux	2.59	97.41	0.14	99.86	94

GD40: 5-브로모-3-시아노-1H-인돌

GD60: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌

[134]

[135] 실시예 3: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 제조 방법

[136] Acetone (800 L), 5-브로모-3-시아노-1H-인돌 (300 kg), KOH (114 kg), 2-iodopropane (346 kg)을 차례대로 반응기에 투입 후 승온, reflux조건 하에서 반응을 진행하였다. HPLC로 반응 종결을 확인 후 반응혼합물을 상온으로 냉각하였다. 추출 및 층분리를 위하여 EtOAc (1,353 kg), 정제수 (1,500 kg)를 추가적으로 반응혼합물에 투입 후 1시간 교반, 1시간 정치하였으며 아래에 형성되는 수층은 폐기하였다. 남은 유기층은 microfiltration 후 증류를 진행하여 최대한 농축하고 GC로 잔류 EtOAc를 확인하였다. 농축된 반응혼합물에 2-propanol (150 L), heptane (816 kg)을 투입한 후 78°C로 승온 하여 반응혼합물이 맑아지는 것이 육안으로 확인되면 30분간 추가 교반 후 천천히 냉각을 시작하였다. 냉각은 약 6시간에 걸쳐 진행하였으며 5-10°C에서 1시간 숙성 후 여과를 진행하였다. 여과된 고체는 heptane (408 kg)을 이용하여 세척 후 질소건조하여 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 (335.7 kg, 94.0% gross yield)을 얻었다.

[137]

[138] 실시예 4: 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 반응 실험결과

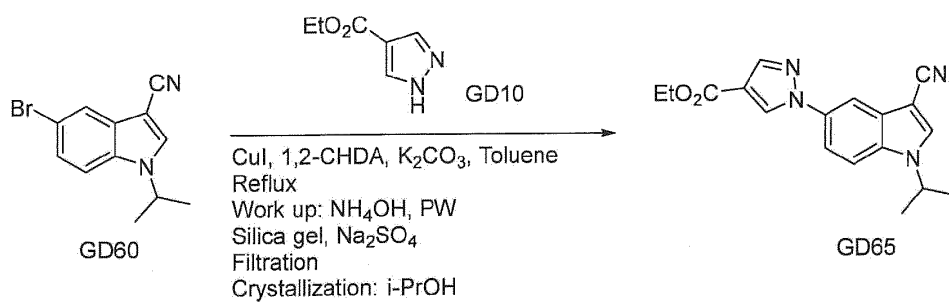
[139] 실시예 4.1. 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 공정연구

[140] 기존공정에서 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 제조 공정은 농축된 crude 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌에

1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르와 catalyst로 CuI를 사용하고 리간드로 1,2-cyclohexanediamine (1,2-CHDA), base로 K₂CO₃ 그리고 반응 용매로 toluene을 사용하여 환류조건 하에서 38~45시간 교반 후 냉각하여 NH₄OH 및 정제수를 사용하여 work up을 진행한다. Work up 후 충분히 분리된 유기층은 과량의 tar 및 고체 불순물을 포함하며 이를 제거하기 위해 Na₂SO₄와 실리카겔을 투입하여 교반 후 여과를 실시한다. 이때 Na₂SO₄와 실리카겔의 양은 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌과 동일한 무게 비율로 사용되어 여과 공정 단계에서 많은 양의 고체 폐기물이 발생한다. 여과액은 세척된 반응기로 이송 및 농축하고, 농축 완료 후 i-PrOH를 투입하여 승온 및 냉각을 통해 결정화 공정을 실시하여 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르를 얻는다. 기존 공정의 평균 수율은 56% 정도이다.

[141] [반응식 5] 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르의 공정

[142]



GD10: 1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르

GD60: 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌

GD65: 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르

[143]

[144] 실시예 4.1.1. 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 반응을 위한 리간드 스크리닝

[145] 상기 공정과 같이 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르의 경우 리간드로 1,2-CHDA (1,2-cyclohexanediamine, L1)을 사용하여 C-N coupling 반응을 진행하였다. 이 경우 1차 아민 리간드가 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌과 coupling되어 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌-리간드 impurity가 과량 생성되는 문제점을 확인하였다. 결국 리간드와 coupling 된 impurity는 수율에 영향을 미칠뿐만 아니라 반응 완결 시점이 지연되거나 반응이 완결되지 않는 문제점이 나타났다. 이러한 문제를 해결하기 위해 우선 리간드 스크리닝을 진행하였다. 스크리닝에 사용된 리간드는 N-N 리간드, N-O 리간드 및 기타 적용 가능한

리간드를 선택하여 실험을 진행하였다(도 3).

- [146] 리간드 스크리닝 실험 조건은 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 (1.0 equiv), 1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 (1.0 equiv), toluene (4 fold, fold= ml/g of 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌), CuI (0.2 equiv), K₂CO₃ (2.0 equiv), 리간드 (0.4 equiv)를 투입 후 외부설정온도 125~130°C에서 24시간 교반 후 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌에서 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르로 conversion ratio (%)를 평가 기준으로 실험을 진행하였다(도 3).
- [147] 도 3의 결과에서 보여주듯 리간드 L1 (1,2-cyclohexanediamine)을 사용한 경우 38.85%의 전환율을 나타내는 반면, 리간드 L10 (N,N-Dimethylethylenediamine, DMEDA)을 사용할 경우 87.28%의 높은 전환율을 확인할 수 있었다.
- [148] 결국 동일한 반응시간에서 리간드를 L10으로 변경하면 반응속도가 향상되고 및 impurity가 억제되어 결과적으로 수율도 높아지게 된다. L2 (1,2-phenanthroline) 0.41 %, L7 (JohnPhos) 2.1 %를 제외한 나머지 리간드의 경우 전혀 반응이 진행되지 않았다.
- [149]
- [150] 실시예 4.1.2. 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 반응을 위한 Base, Solvent 스크리닝
- [151] 실시예 4.1.1.에서 기존 사용된 L1 리간드보다 L10 리간드를 사용한 경우 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르로 전환되는 비율이 높아지는 결과를 확인하였고 다음으로 base에 대한 스크리닝 실험을 진행하였다(도 4).
- [152] [표 8]

[153]

Base \ Solv.	HPLC Conversion Ratio (%)		
	Toluene	DMF	DMSO
K ₂ CO ₃	77.6 %	62.2 %	64.2 %
K ₃ PO ₄	81.4 %	0	67.7 %
Na <i>t</i> -butoxide	1.0 %	37.9 %	3.3 %
Cs ₂ CO ₃	3.7 %	75.8 %	5.6 %

[154]

- [155] 도 4의 실험 조건은 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 (1.0 equiv), 1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 (1.0 equiv), solvent (4 fold, fold= ml/g of 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌), CuI (0.2 equiv), base (2.0 equiv), 1,2-CHDA (0.4 equiv)를 투입 후 외부설정온도 125~130°C에서 24시간 교반 후 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌에서 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르로의 conversion ratio (%)를 평가 기준으로 실험을 진행하였다. 우선, toluene 용매

하에서 base로 K_2CO_3 , K_3PO_4 , Na t-butoxide, Cs_2CO_3 를 사용하여 반응을 진행한 결과 K_2CO_3 와 K_3PO_4 에서 77.6%와 81.4%의 전환율을 확인하였다. 반면 Na t-butoxide와 Cs_2CO_3 는 거의 반응이 진행되지 않았다. 반응용매를 DMF로 변경할 경우 K_2CO_3 , Na t-butoxide, Cs_2CO_3 는 toluene을 사용한 것과 비교하여 양호한 전환율을 나타내고 있고 K_3PO_4 는 전혀 반응이 진행되지 않았다. DMSO를 사용할 경우 toluene을 사용한 실험과 유사한 경향성을 나타내지만 전환율이 비교적 낮은 결과를 확인하였다. 위 실험에서 base와 solvent의 구매 단가와 제조 공정의 안전성 그리고 후반공정 (work up 및 distillation)을 고려하여 base로 K_2CO_3 , solvent로 toluene을 사용하는 것이 바람직하다고 판단하였다.

[156]

[157] 실시예 4.1.3. 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 반응을 위한 Catalyst 스크리닝

[158] 실시예 4.1.1. 및 실시예 4.1.2.에서 리간드로 1,2-cyclohexanediamine (L1)보다 N,N-dimethylethylenediamine (L10)을 사용할 경우 반응속도와 전환율이 우수하며, base와 반응용매는 K_2CO_3 와 toluene이 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르반응에 바람직하다고 판단되었다. 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 합성의 경우 1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르와 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌의 C-N coupling의 catalyst로 copper source를 사용하는 Ullmann Reaction으로 다양한 copper catalyst에 대한 스크리닝이 필요하였다. 뿐만 아니라, palladium catalyst를 이용한 Buchwald-Hartwig type의 cross coupling reaction도 연구가 필요하였다. 총 4종의 catalyst 스크리닝 실험을 진행하였다(도 5).

[159] 실험 조건은 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 (1.0 equiv), 1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 (1.0 equiv), solvent (4 fold, fold= ml/g of 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌), catalyst (0.2 equiv), K_2CO_3 (2.0 equiv), 1,2-CHDA (0.4 equiv)를 투입 후 외부설정온도 125~130°C에서 24시간 교반 후 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌에서 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르로 conversion ratio (%)를 평가 기준으로 실험을 진행하였다.

[160] [표 9]

[161]

Cat. \ Solv.	HPLC Conversion Ratio		
	Toluene	DMF	DMSO
CuI	16.1 %	0.7 %	32.2 %
CuBr	14.3 %	4.4 %	8.1 %
CuCl	8.1 %	27.9 %	62.3 %
Pd(OAc) ₂	0.0 %	0.0 %	0.0 %

[162]

[163] Catalyst 스크리닝 실험의 경우 carousel multi reactor를 사용하여 진행하였다.

실험 결과를 보면 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌에서 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르로 전환되는 비율이 DMSO 반응용매에서 CuCl가 가장 높은 것을 보여주고 있지만 side reaction으로 debrominated impurity를 HPLC에서 확인할 수 있었다. Palladium source로 Pd(OAc)₂를 사용하였지만 3개의 반응용매에서 전혀 반응이 진행되지 않았다. CuI의 경우에도 DMSO 용매를 사용할 경우 debrominated impurity를 확인할 수 있었다. 결과적으로 CuCl와 CuI를 DMSO 용매에서 반응을 진행할 경우 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌에서 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르로 전환되는 비율을 높지만 debrominated impurity 생성량이 동시에 증가하는 문제를 확인하였다. 따라서 DMSO 용매는 반응에 적합하지 않다고 판단되었다. 위 실험을 통해 toluene 반응 용매에서 catalyst로 CuI를 사용할 경우가 CuBr, CuCl, Pd(OAc)₂를 사용했을 때 보다 높은 전환율을 확인하였고, 최종적으로 반응용매는 toluene을, catalyst는 CuI를 선정하였다.

[164]

[165] 실시예 5: 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 잔류 Cu 제거 실험결과

[166] 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 work up 공정을 개선하기 위해 새로운 접근방법이 필요하였고 특히, 흡착공정을 생략하고 층분리를 효과적으로 진행할 수 있는 새로운 방법을 고려하였다. 결국 Cu-complex와 KBr, K₂CO₃, 과량의 tar 및 기타 부산물을 효과적으로 제거하기 위해 정제수 사용량을 증가시킬 필요가 있었고 copper를 chelating 시켜 효과적으로 제거할 수 있는 방법이 요구되었다. 이를 위해 chelating agent인 citric acid와 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)를 사용하여 work up을 진행하였다.

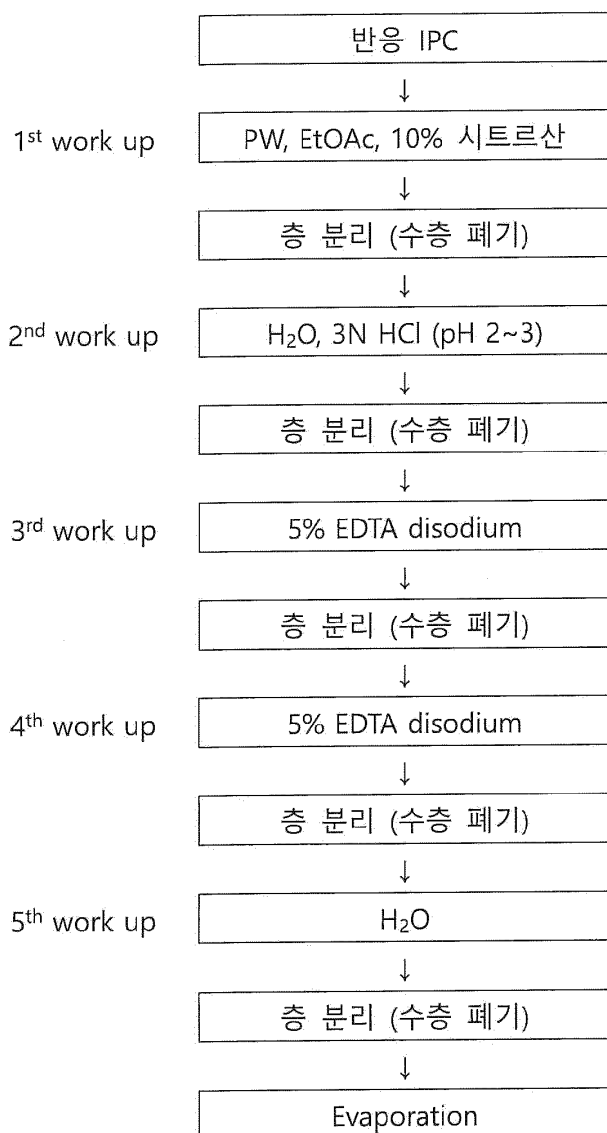
[167]

[168] 실시예 5.1. 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 Work up 연구 (II)

[169] 실시예 5.1.1. Work up 연구 (시트르산)

- [170] Toluene 용매 하 반응 후 work up시 유기층과 수층이 탁한 한 덩어리가 되며 층 분리가 잘 되지 않아 ethyl acetate를 추가한 후 work up을 진행하였다. NH_4OH 를 대신할 여러 work up 방법들 중 10% 시트르산 solution을 사용하였을 때 수층이 깔끔하고 층 분리가 잘되어 첫번째 work up에 사용하기로 결정하였다.
- [171] 이후에는 정제수를 투입한 후 3N HCl을 사용하여 pH를 2 ~ 3으로 낮추어 Cu complex를 확실히 깨어주는 효과를 주고자 하였다. 그 다음 단계로는 5% EDTA disodium solution을 처리하여 남아있을 수 있는 Cu를 제거해주고자 하였고 이 과정을 한번 더 반복하였다. 마지막으로 정제수를 투입하여 남아있을 수 있는 salt들을 씻어주는 과정으로 마무리하였다(모식도 1).
- [172] [모식도 1] 시트르산을 사용한 work up 조건

[173]



* 투입하는 용액들은 각 6 fold 씩 투입되었다.

[174]

[175] 실시예 5.1.2. Work up 최적화 (10% 시트르산+ HCl)

[176] 첫번째 work up에 사용되는 용액과 aq. HCl을 조합할 때, 양호한 층 분리 양상을 보이는 최적 비율을 탐색하고자 하였다(표 10). 이 결과를 토대로 10% 시트르산 수용액과 6N HCl 수용액을 각 2 fold, 2 fold의 양으로 같이 사용하는 것을 최적 조건으로 정하였고 이 때 적정 pH 구간은 2.75 ~ 3.5이었다.

[177] [표 10] 첫번째 work up의 조건과 결과^{a)}

[178]

Run	Work up 용액	Fold	HCl	Fold	pH	층 분리 양상
실시예 5-1-1	10% NH ₄ Cl 수용액	3	3N	1	8.12	탁한 수층
실시예 5-1-2	10% NH ₄ Cl 수용액	2	3N	2	6.94	탁한 수층
실시예 5-1-3	10% NH ₄ Cl 수용액	1	3N	3	6.85	매우 탁한 수층
실시예 5-1-4	10% 시트르산 수용액	3	3N	1	7.4	층 분리 양호
실시예 5-1-5	10% NH ₄ Cl 수용액	3	6N	1	8.1	탁한 수층
실시예 5-1-6	10% 시트르산 수용액	3	6N	1	8.5	수층이 거품으로 가득함
실시예 5-1-7	10% NH ₄ Cl 수용액	4	6N	2	8.1	층 분리 불량

[179]

실시예 5-1-8	10% 시트르산 수용액	4	6N	2	3.5	층 분리 양호, 색 구분 용이
실시예 5-1- 9b)	10% NH ₄ Cl 수용액	8	-	-	-	수층이 거품으로 가득함
실시예 5-1- 10	10% 시트르산 수용액	2	6N	2	2.75	층 분리 양호, 색 구분 용이
실시예 5-1- 11	10% 시트르산 수용액	2.5	6N	1.5	4.70	층 분리 양호, 색 구분 용이, 어두운 유기층
실시예 5-1- 12	10% 시트르산 수용액	2.2	6N	1.8	3.72	층 분리 양호, 색 구분 용이, 어두운 유기층

a)반응은 10.0 g scale 로 진행하였음, b) 반응은 100.0 g scale 로 진행하였음

[180]

[181]

이어서 scale up 실험을 진행하였다(표 11). 2 L 반응기를 사용한 100.0 g scale에서 10% 시트르산 수용액을 4 fold 투입하였을 때에는 6N HCl이 2.8 fold, 10% 시트르산 수용액을 8 fold 투입하였을 때에는 6N HCl이 2.2 fold 투입되었을 때 층 분리가 양호하며 색 구분이 용이하였다.

[182]

[표 11] 첫번째 Work up의 조건과 결과

[183]

Run	Scale	10% 시트르산	6N HCl	층 분리 양상
실시예 5-2-1	100.0 g	2 fold	2 fold	수층에 부유물 존재, 수층 색이 아직 녹색으로 변하지 않음
실시예 5-2-2	100.0 g	2 fold	3 fold	유기층의 색깔이 매우 어두워짐. 층 분리 양호하지만 다음 단계에서 수층에 부유물 존재
실시예 5-2-3	20.0 g	4 fold	2.8 fold	층 분리 양호, 색 구분 용이
실시예 5-2-4	20.0 g	8 fold	2.2 fold	층 분리 양호, 색 구분 용이
실시예 5-2-5	100.0 g	4 fold	2.8 fold	층 분리 양호, 색 구분 용이
실시예 5-2-6	100.0 g	4 fold	2.5 fold	층 분리 양호, 색 구분 용이

[184]

[185] 기존에는 실리카겔과 Na_2SO_4 를 투입한 후 여과하는 공정을 통하여 Cu 제거를 수행하였으나 이 과정에서 다량의 고체폐기물이 발생하며 이를 처리하기 위하여 많은 시간이 소요되었다. 이를 해결하기 위하여 실시예 5에서 나타난 다양한 실험을 진행한 결과 새로운 work up 방법을 발견하여 여과공정을 chelation 원리를 활용한 work up 공정으로 대체할 수 있었다.

[186]

[187] 실시예 6: 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르의 제조방법

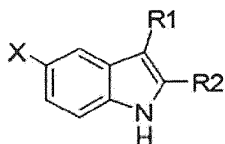
[188] Toluene (880 L), 5-브로모-3-시아노-1-이소프로필-인돌 (220 kg), 1H-피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 (129 kg), K_2CO_3 (231 kg)를 반응기에 투입 후 약 30분 동안 N_2 purge를 진행하였다. CuI (32 kg), DMEDA (30 kg)을 투입 후 N_2 purge를 유지하며 내부온도 45°C 로 승온하였다. 이를 reflux condition에서 9시간 반응 후 반응 IPC (in process control)를 시행, 반응 종결이 확인되어 상온으로 냉각하였다. 기존 공정에서는 35시간 걸리던 것이 9시간으로 단축되었다. 추출 및 층분리를 위하여 10% 시트르산 수용액 (880 L), EtOAc (794 kg)를 차례로 반응 혼합물에 투입 후 $\text{pH} = 2\sim 3$ 이 되도록 6 N HCl (381 kg)를 적가하였다. 30분 교반 후 1시간 동안 정치하였으며 분리된 수층은 폐기하였다. 남은 유기층에 5% EDTA 수용액 (880 L) 투입 후 30분 교반 및 1시간 정치하여 층분리 진행 후 동일과정을 반복하여 총 2회 진행하였다. 마지막으로 정제수 (880 L) 투입 후 30분씩 교반 및 정치하여 분리된 수층을 폐기하였다. 위 과정에서 추출 및 층분리는 총 4회 진행되었으며 약 35°C 에서 진행하였다. 남은

유기층을 microfiltration 후 최대한 증류하고 농축 IPC (in process control)를 시행하여 EtOAc가 제거된 것을 확인하였다. 증류가 완료된 반응혼합물에 2-propanol (880 L)을 투입 후 승온하였다. 반응혼합물이 맑아진 것이 확인되면 7-8시간 동안 0-10°C까지 천천히 냉각하고 약 1시간 숙성 후 여과하였다. 여과된 고체는 2-propanol (880 L)을 이용하여 세척 후 질소 및 진공을 이용하여 건조하여 1-(3-시아노-1-이소프로필-인돌-5-일)피라졸-4-카르복실산 에틸 에스테르 (253.5 kg, 94.0% gross yield)를 얻었다. 이는 기존 공정의 수율 56%보다 약 1.7배나 높은 수치이다.

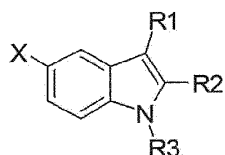
청구범위

- [청구항 1] i) 화학식 1의 화합물 및 X-R3을 유기용매 상에서 KOH를 포함하는 염기와 함께 반응시키는 단계; 및
ii) 상기 단계 (i)의 수득물을 알코올 및 탄소수 5 내지 8개의 탄화수소를 포함하는 반응매(anti-solvent)를 사용하여 결정화하는 단계를 포함하는 하기 화학식 2의 화합물의 제조방법:

[화학식 1]



[화학식 2]



상기 화학식에서,

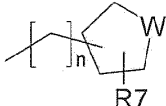
X는 F, Cl, Br 또는 I이고;

R1은 수소 또는 CN이며;

R2는 수소, 할로젠, C₁-C₇ 알킬, C₁-C₇ 알콕시-C₁-C₇ 알킬 또는 페닐이고;

R3는 수소; 비치환 또는 할로젠, C₃-C₇ 사이클로알킬 및 O-R6에서 선택된

하나 이상의 치환체에 의해서 치환된 C₁-C₇ 알킬; C₃-C₇ 사이클로알킬;

또는 이며, 여기에서 R6는 C₁-C₄ 알킬을 나타내고, W는 O

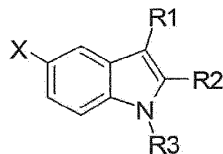
R7

또는 S를 나타내며, R7은 수소 또는 C₁-C₄ 알킬을 나타내고, n은 0 내지 3의 정수이다.

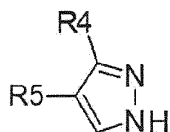
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 X-R3은 2-아이오도프로판(2-iodopropane)인 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 유기용매는 아세톤인 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 알코올은 메탄올, 에탄올, 프로판올, 이소프로판올 및 부탄올로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상인 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 탄소수 5 내지 8개의 탄화수소는 헥산, 헵탄 및 이의 혼합물로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 6] 화학식 2의 화합물 및 화학식 3의 화합물을 유기용매 하에서 구리촉매,

염기 및 N,N-디메틸에틸렌디아민을 포함하는 리간드와 함께 C-N 커플링 반응시키는 단계를 포함하는 하기 화학식 4의 화합물의 제조방법:

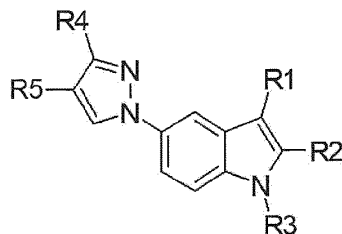
[화학식 2]



[화학식 3]



[화학식 4]



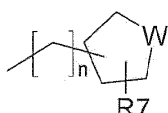
상기 화학식에서,

X는 F, Cl, Br 또는 I이고;

R1은 수소 또는 CN이며;

R2는 수소, 할로젠, C₁-C₇ 알킬, C₁-C₇ 알콕시-C₁-C₇ 알킬 또는 페닐이고;

R3는 수소; 비치환 또는 할로젠, C₃-C₇ 사이클로알킬 및 O-R6에서 선택된 하나 이상의 치환체에 의해서 치환된 C₁-C₇ 알킬; C₃-C₇ 사이클로알킬;

또는 이며, 여기에서 R6는 C₁-C₄ 알킬을 나타내고, W는 O

R7

또는 S를 나타내며, R7은 수소 또는 C₁-C₄ 알킬을 나타내고, n은 0 내지 3의 정수이며;

R4는 수소, 할로젠 또는 C₁-C₇ 알킬이고;

R5는 -C(O)OR8이며, 여기에서 R8은 수소, C₁-C₇ 알킬 또는 C₃-C₇ 사이클로알킬이다.

[청구항 7]

제6항에 있어서, 상기 유기용매가 자일렌, 톨루엔, 디메틸포름아마이드(DMF) 및 디메틸설폭사이드(DMSO)로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상인 것을 특징으로 하는 제조방법.

[청구항 8]

제6항에 있어서, 상기 구리촉매가 CuI, Cu(OAc)₂, Cu, Cu₂O 및 CuO로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상인 것을 특징으로 하는 제조방법.

- [청구항 9] 제6항에 있어서, 상기 염기가 탄산칼륨, 탄산세슘, 제삼인산칼륨, 트리에틸아민 및 소듐 *tert*-부톡사이드로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상인 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 10] 제6항에 있어서,
EDTA, 시트르산, 시트르산 칼륨염 및 시트르산 소듐염으로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상의 킬레이트화 시약; 및
암모늄클로라이드 및 암모니아수로 구성되는 군으로부터 선택되는 1 이상의 리간드 시약을 사용하여
화학식 4의 화합물을 정제하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 11] 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어 R1이 CN이고, R2가 수소이며, R3가 이소프로필인 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 12] 제6항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어 R1이 CN이고, R2가 수소이며, R3가 이소프로필이고, R4가 수소이며, R5가 에톡시카르보닐(-C(O)OEt)인 것을 특징으로 하는 제조방법.