

발명의 설명

발명의 명칭: 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-D]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온의 제조 방법, 및 이의 중간체 화합물
기술분야

- [1] 관련 출원(들)과의 상호 인용
- [2] 본 출원은 2023년 12월 5일자 한국 특허 출원 제10-2023-0174736호 및 2024년 1월 16일자 한국 특허 출원 제10-2024-0006933호에 기초한 우선권의 이익을 주장하며, 해당 한국 특허 출원들의 문헌에 개시된 모든 내용은 본 명세서의 일부로서 포함된다.
- [3]
- [4] 본 발명은 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온의 제조 방법 및 이의 중간체 화합물에 관한 것이다.

[5]

배경기술

- [6] 단백질 카이네이즈(kinase)는 다른 단백질의 특정 잔기의 인산화를 촉매하는 효소로서, 세포의 신호를 핵으로 전달(transduction)하는 신호 전달경로에 있어 핵심적인 역할을 하며, 생체 내 다양한 질환에 관여한다. 염증성 질환(inflammatory disease), 자가면역 질환(autoimmune disease), 증식성 질환 또는 과다증식성 질환, 및/또는 면역학적으로 매개된 질환(immunity mediated disease)의 발병에 있어서, T-세포(또는 T-림프구) 및 B-세포(또는 B-림프구)가 핵심 역할을 한다는 다양한 증거가 있다.

[7]

- [8] 야누스 카이네이즈(Janus kinase, 이하 'JAK'라 함)는 림프-조혈계에서 세포 기능을 조절하는데 있어 중추적 역할을 하는 세포질 단백질 타이로신 카이네이즈이다. 사이토카인은 염증과 면역 및 정상적인 세포기능을 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, JAK는 타이로신 인산화 반응을 통해 STAT(Signal Transducer and activators of Transcription, 신호 변환 및 전사인자 활성화) 단백질을 활성화시켜 사이토카인에 신속하게 신호전달경로를 제공한다. JAK/STAT 신호 전달이 알려지, 천식, 자가면역질환(예컨대, 이식거부, 류마티스관절염, 근위축성 측삭 경화증, 다발성 경화증 등), 고형암, 혈액암(예컨대, 백혈병, 림프종 등)에 관련된 것으로 알려져 있다.

[9]

- [10] JAK 패밀리는 JAK1, JAK2, JAK3, TYK2 등 4 종류로 구분된다. JAK 패밀리 구성원은 서로 짝을 이루어 서로 다른 사이토카인의 신호전달을 매개한다. 조

혈 성장 인자 신호전달에 관련된 JAK2 및 JAK1을 포함하고, JAK2와 조합된 TYK2는 인터페론 신호전달에 중요하고, 숙주 내성에 기여한다. JAK2는 특히 조혈 성장 인자 신호에 관여하여 과도한 저해시 빈혈(anemia), 혈소판감소증(thrombocytopenia), 백혈구감소증(leucopenia)을 유발시킬 수 있다.

[11]

[12] JAK1, JAK2, TYK2는 발현이 두루 분포되어 발견되는데 반하여, JAK3의 발현은 림프 세포로 제한되며, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21 수용체의 구성체인 공통감마사슬(common gamma chain)의 신호전달, 특히 IL-2 패밀리의 일반적인 γ 사슬과 연관되어있다. 사이토카인이 결합되자마자 수용체는 가까이 인접한 JAK3를 운반하며, 이는 β -사슬 C-말단의 자기인산화(autophosphorylation)를 유발한다. 결과적으로, 이것은 핵으로 신호를 재전송하는 중요한 단계인 STAT 단백질의 활성화를 유발한다. JAK3는 이러한 과정을 통해서 다양한 사이토카인의 신호 경로를 통제하게 된다. 이는 JAK3을 면역억제를 위한 매력적인 표적으로 만든다.

[13]

[14] B 세포는 자가면역 및/또는 염증성 질환의 발병에 있어서 핵심 역할을 한다. B 세포를 감소시키는 단백질계 치료제, 예컨대 리툭산(Rituxan)은 자가항체-유도된 염증성 질환, 예컨대 류마티스 관절염에 효과적이다. 따라서, B 세포 활성화에서 역할을 하는 단백질 카이네이즈 억제제는 B 세포-매개된 질환의 병증, 예컨대 자가항체 생산에 대한 유용한 치료제이다.

[15]

[16] B 세포 수용체(BCR)를 통한 신호전달은 증식 및 성숙한 항체 생산 세포로의 분화를 포함하는 다양한 B 세포 반응을 제어한다. BCR은 B 세포 활성화에 대한 핵심 조절 요소이고, 이상 신호전달은 다수의 자가면역 및/또는 염증성 질환을 초래하는 병원성 자가항체의 형성 및 탈조절된 B 세포 증식을 야기할 수 있다.

[17]

[18] 브루톤 타이로신 카이네이즈(Bruton's tyrosine kinase, 이하 'BTK'라 함)는 B-세포 발생, 활성화, 신호화 및 생존의 핵심 조절자이다. BTK는 다양한 세포외 리간드를 그들의 세포 표면 수용체와 결합시킴으로써 개시된 신호전달 경로에 참여한다. B세포 항원 수용체(BCR)의 결합에 이어, 단백질 타이로신 카이네이즈 Lyn 및 Syk의 일치된 작용에 의한 BTK의 활성이 포스포리파제 C- γ 2 매개 칼슘 가동화의 유도를 위해 요구된다. 따라서 BTK의 억제는 B-세포 매개 질환의 발병 과정을 차단하는데 있어 유용한 치료적 접근일 수 있다.

[19]

[20] 상기와 같이, 야누스 카이네이즈 및 TEC 계열의 카이네이즈는 염증성 질환, 자가면역 질환, 증식성 질환 또는 과다증식성 질환, 및 면역학적으로 매개된 질환의 발병에 관여하는 T-세포 및/또는 B-세포의 활성화에 중요한 역할을 하고 있으므로, 이들을 효과적으로 억제하는 물질의 개발은 관련 치료제로 유용할 수 있

다. 치료 및 예방될 수 있는 질환은, 구체적으로 암, 이식거부, 다발성 경화증, 류머티스 관절염, 건선성 관절염, 건선, 천식, 알레르기성 피부염, 아토피성 피부염, 습진, I형 당뇨병, 당뇨병 합병증, 궤양성 대장염, 크론병, 자가면역 갑상선 장애, 전신성 탈모, 쇼그렌증후군 등이 있다.

[21]

[22] 현재, JAK3 카이네이즈 저해제로서 화이자(Pfizer)사의 토파시티닙(tasocitinib, CP-690550)이 류마티스 관절염에 대해 승인되어 시판되고 있다. 또한, BTK 카이네이즈 저해제로서 파마사이클릭스(Pharmacyclics)사의 이브루티닙(ibrutinib, PCI-32765)이 임상 단계에 있으나, 임상에서 심각한 피부발진 및 설사 등의 부작용이 보고되기도 하였다. 따라서, 보다 안정적이고 효과적으로 JAK 및/또는 BTK를 저해하는 물질의 개발이 요구되는 상황이다(Nat Rev Rheumatol. 2009 Jun 5(6) 317-24; Expert Opin Investig Drugs. 2014 Aug 23(8) 1067-77; Drug Discov Today 2014 Aug 19(8) 1200-4; WO2002/096909; WO2010-009342 참조).

[23]

[24] 이에 본 발명자들은, 현재까지 보고된 카이네이즈 저해제와 상이한 화학구조를 가진 옥시-플루오로피페리딘 유도체가 카이네이즈 저해제로서 우수한 저해능을 가짐을 확인한 바 있다. 이에 신규한 옥시-플루오로피페리딘 유도체를 제조할 수 있는 제조 방법을 예의 연구한 결과, 후술할 제조 방법을 사용하는 경우, 상업적으로 대량 생산이 가능하고, 나아가 전체적으로 수율과 품질이 향상되면서 불순물이 저감되는 제조 방법을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[25]

발명의 내용

기술적 과제

[26] 본 발명은 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온의 제조 방법을 제공하기 위한 것이다.

[27]

[28] 또한 본 발명은 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온의 제조 과정 중 얻어지는 신규한 중간체 화합물을 제공하기 위한 것이다.

[29]

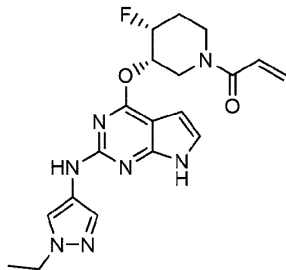
과제 해결 수단

[30] 상기 과제를 해결하기 위하여, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물인, 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온을 제조하는 방법을 제공하며, 보다 구체적으로 하기의 단계를 포함하되 하기 단계 1 내지 단계 4 중 적어도 하나의 단계는 결정화하는 단계를 더 포함하는, 제조 방법을 제공한다:

- [31] (단계 1) 하기 화학식 1-1로 표시되는 화합물과 하기 화학식 1-2로 표시되는 화합물을 염기의 존재 하에 반응시켜 하기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계;
- [32] (단계 2) 하기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물과 하기 화학식 1-4로 표시되는 화합물을 팔라듐 촉매 및 염기의 존재 하에 반응시켜 하기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계;
- [33] (단계 3) 하기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 산과 반응시켜 하기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계; 및
- [34] (단계 4) 하기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물과 하기 화학식 1-7로 표시되는 화합물을 염기의 존재 하에 반응시켜 하기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계;

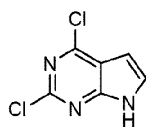
[35] [화학식 1]

[36]



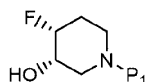
[37] [화학식 1-1]

[38]



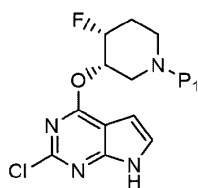
[39] [화학식 1-2]

[40]



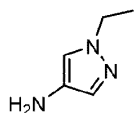
[41] [화학식 1-3]

[42]



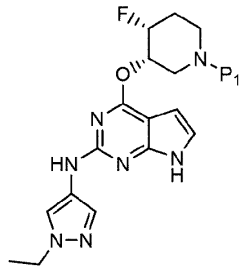
[43] [화학식 1-4]

[44]



[45] [화학식 1-5]

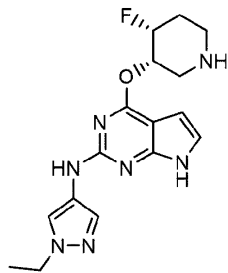
[46]



[47]

[화학식 1-6]

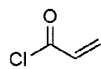
[48]



[49]

[화학식 1-7]

[50]



[51]

상기 화학식 1-1 내지 1-7에서,

[52]

P₁은 보호기를 의미한다.

[53]

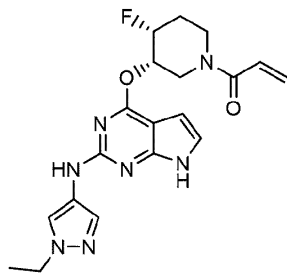
[54]

또한, 본 발명은 하기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 중간체로 포함하는, 하기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조 방법을 제공한다:

[55]

[화학식 1]

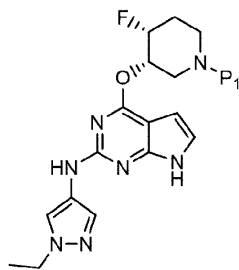
[56]



[57]

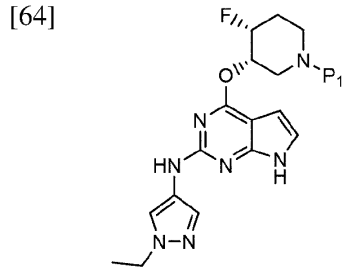
[화학식 1-5]

[58]



[59] 상기 화학식 1-5에서,
 [60] P₁은 보호기를 의미한다.

[61]
 [62] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 제공한다:
 [63] [화학식 1-5]

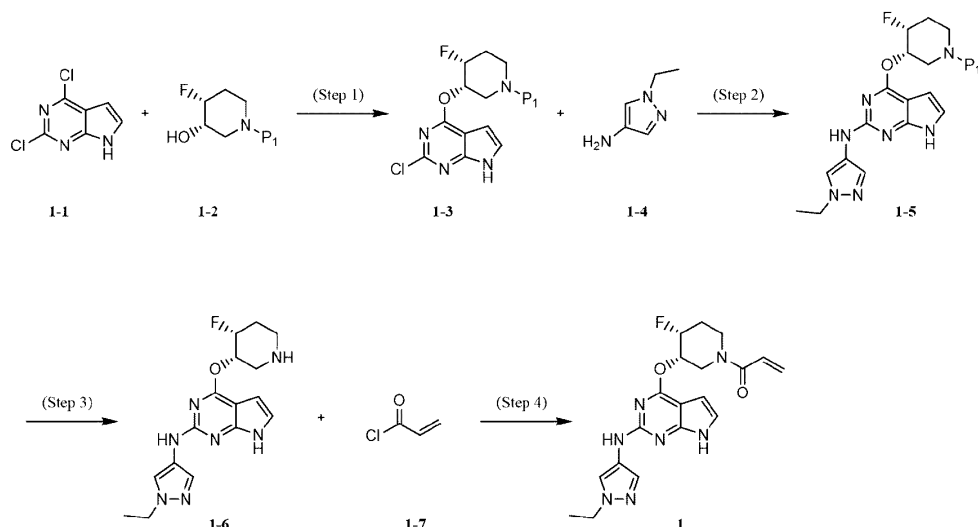


[65] 상기 화학식 1-5에서,
 [66] P₁은 보호기를 의미한다.

[67]
 [68] 상기 제조 방법은 별도의 보호기 치환 반응을 포함하지 않아 종래의 제법 대비 공정 단계가 단축되었고, 컬럼에 의한 정제 단계를 거치지 않아 최종 산물의 수율 및/또는 순도가 개선되었으며, 적어도 하나의 단계에서 결정화 정제를 진행하여 대량 생산에 유리하다. 또한, 종래에 사용되던 폭발성 강한 염기(NaH 등)를 사용하지 않아 공정 중의 안전성이 확보되고, 일부 단계의 반응 온도가 종래 대비 낮아져 일반적인 생산 공장에서의 적용이 유리하고 경제적인 효과를 갖는다.

[69]
 [70] 이하, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조 방법에 대하여 상세하게 설명한다.

[71]
 [72] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 반응식 1을 통해 제조된다:
 [73] [반응식 1]
 [74]



[75] 상기 반응식 1에서 P₁은 보호기를 의미한다.

[76]

[77] 보다 구체적으로, P₁은 터트부톡시카보닐(Boc), 카보벤질옥시(Cbz), 파라-메톡시벤질카보닐(Moz), 9-플루오레닐메틸옥시카보닐(Fmoc), 아세틸(Ac), 벤조일(Bz), 벤질(Bn) 및 파라-메톡시벤질(PMB)로 구성되는 군으로부터 선택되는 어느 하나의 보호기일 수 있다.

[78]

[79] 이때, 제조의 용이성 및 수율 측면에서, P₁은 터트부톡시카보닐(Boc)인 것이 바람직하다.

[80]

[81] 한편 후술하는 각 단계에서는 높은 순도와 수율로 화합물을 제조하기 위해서 반응 이후 정제 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 정제 방법의 일 예로 용해도 차이를 이용한 추출, 활성탄 및/또는 실리카겔 물질을 사용한 흡착, 여과, 석출, 결정화 등을 사용할 수 있다. 다만, 정제 방법으로 대량생산에 적합하지 않은 컬럼 크로마토그래피는 사용하지 않는다. 바람직하게는, 상기 정제 단계는 각 단계에서 설명하는 바에 따라 수행될 수 있다.

[82]

[83] 또한 각 단계의 마지막 과정으로 결정화 용매를 사용한 결정화 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 결정화 단계는 상기 정제 단계가 진행되는 경우, 정제 단계 이후에 진행될 수 있고, 정제 단계가 진행되지 않는 경우, 반응 이후에 진행될 수 있다. 상기 결정화 단계를 더 포함함으로써 대량 생산이 가능하다. 상기 결정화 용매는 각 단계의 생성물에 맞게 사용될 수 있으나, 특별히 제한되지 않는다. 바람직하게는 상기 결정화 단계는 각 단계에서 설명하는 바에 따라 수행될 수 있다.

[84]

[85] (단계 1)

- [86] 상기 단계 1은, 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물과 상기 화학식 1-2로 표시되는 화합물을 염기의 존재 하에 반응시켜 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 상기 반응은 친핵성 방향족 치환 반응으로, 첨가되는 화학식 1-2로 표시되는 화합물을 친핵체로 만들기 위해 염기의 존재 하에서 수행된다.
- [87]
- [88] 상기 단계 1에서, 상기 화학식 1-2로 표시되는 화합물은 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.1 내지 10 당량으로 사용될 수 있다. 구체적으로, 상기 화학식 1-2로 표시되는 화합물은 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.2 내지 5 당량, 0.3 내지 3 당량, 0.5 내지 2 당량, 0.7 내지 1.5 당량, 1 내지 1.5 당량, 1 내지 1.3 당량, 1 내지 1.05 당량, 또는 1.05 당량으로 사용될 수 있다.
- [89]
- [90] 또한, 상기 단계 1에서, 상기 염기는 포타슘터트부톡사이드, 소듐터트부톡사이드, 포타슘메톡사이드, 소듐메톡사이드, 포타슘터트펜톡사이드, 소듐터트펜톡사이드, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬, 탄산칼륨, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 탄산수소칼륨, 탄산수소나트륨 및 탄산세슘으로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상일 수 있다. 이 중, 반응속도 및 수율 측면에서 포타슘터트부톡사이드를 사용하는 것이 바람직하다. 사용되는 염기는 폭발성이 없는 염기로도 충분하여 안전성이 확보되므로, 산업화에 유리하다.
- [91]
- [92] 그리고, 상기 염기는 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.1 내지 10 당량으로 사용될 수 있다. 바람직하게는, 상기 염기는 화학식 1-1로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.5 내지 5 당량, 1 내지 5 당량, 2 내지 5 당량, 2 내지 3 당량, 또는 3 당량으로 사용될 수 있다. 상기 염기가 지나치게 적은 양으로 사용되는 경우 반응 시간이 길어질 우려가 있고, 지나치게 많은 양으로 사용되더라도 반응 시간에는 차이가 없어, 상술한 범위로 염기를 사용하는 것이 바람직하다.
- [93]
- [94] 상기 단계 1에서, 상기 반응은 테트라하이드로퓨란(Tetrahydrofuran; THF), 1,4-다이옥세인(1,4-dioxane), 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 1-부탄올, 2-부탄올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 에틸아세테이트, 메틸터트부틸에테르, 아세토니트릴, 톨루엔, 헵테인, 3-메틸테트라하이드로퓨란, 디클로로메탄, 메틸이소부틸케톤, 디메틸폼아마이드(DMF), 디메틸아세트아마이드(DMAC) 및 디메틸설폭사이드(DMSO)로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기 용매 중에서 수행될 수 있다. 일 예로 상기 용매로는 1종이 사용되거나 2종 이상이 혼합된 혼합 용매가 사용될 수 있다. 바람직하게는, 1,4-다이옥세인이 유기 용매로 사용될 수 있다. 1,4-다이옥세인은 다른 용매를 사용한 경우보다 높은 순도의 생성물을 얻을 수 있고, 추출 시 층 분리가 용이한 장점이 있다. 타 용매는 불순물이 상대적으로 많이 생성되거나 반응속도가 느린 단점이 있다.

- [95]
- [96] 또한, 상기 유기 용매는 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물의 중량 대비 5 배 내지 30 배의 부피의 양(mL/g), 보다 구체적으로는, 5 배 내지 15 배의 부피의 양(mL/g)으로 사용될 수 있다.
- [97]
- [98] 또한, 상기 반응은 30 내지 60 °C에서 2 시간 내지 10 시간 동안 수행될 수 있다. 상술한 범위보다 낮은 온도 조건 및/또는 짧은 반응 시간 동안 반응을 수행하는 경우 반응이 충분히 진행되지 않아 제조 수율이 낮아질 수 있다. 또한, 상술한 범위보다 높은 온도 조건 및/또는 긴 반응 시간 동안 반응을 수행하더라도 제조 수율이 실질적으로 증가하지 않아, 공정 비용 측면에서 바람직하지 않다.
- [99]
- [100] 한편, 상기 단계 1의 반응이 종결된 이후, 상기 반응의 생성물을 에틸아세테이트 및/또는 물을 이용하여 추출하는 정제 단계를 더 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 반응의 생성물을 에틸아세테이트와 물을 이용하여 추출할 수 있다. 즉, 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물은 반응 종결 이후 에틸아세테이트 및 물을 이용하여 추출된 것일 수 있다. 에틸아세테이트와 물을 이용한 추출은, 상기 반응의 생성물과 각 용매가 포함된 혼합물을 30분 이상 교반 및 30분 이상 정치 후 층 분리하여 수층(하층)은 폐기하고 유기층(상층)을 취하는 방법으로 진행될 수 있다. 상기 에틸아세테이트와 물을 이용한 추출은 1회 이상 반복될 수 있다. 이와 같이 추출하는 경우, 디클로로메탄/물 혼합 용매를 사용하여 추출하는 경우에 비해, 고성능 액체 크로마토그래피(high-performance liquid chromatography; HPLC)로 분리되는 상대보존시간(relative retention time)이 1.0 미만인 불순물들을 물층으로 효과적으로 제거할 수 있다.
- [101]
- [102] 또한, 상기 단계 1은 추출된 혼합물을 여과 후 진공 농축 및/또는 공비 농축하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이러한 진공 농축 및/또는 공비 농축 단계는 상기 에틸아세테이트 및/또는 물에 의한 추출 단계 이후 수행하는 것이 바람직하다.
- [103]
- [104] 그리고, 상기 단계 1은 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물을 정제하기 위하여, 상기 반응의 생성물을 결정화하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이러한 결정화 단계는 상기 추출 정제 단계 이후 수행하는 것이 바람직하다. 다시 말해, 상기 단계 1은 상기 추출 정제 단계 이후 농축된 생성물에 결정화 용매를 투입하고 약 20 내지 50 °C 온도에서 30 분 내지 4 시간 동안 교반하여, 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계로 수행될 수 있다.
- [105] 이와 같이 결정화 용매에 의한 결정화를 통해 반응 생성물을 제조하는 경우, 실리카 컬럼을 사용하여 정제하는 컬럼 크로마토그래피와는 달리 산업화에 적용이 가능하며, 산업적 대량 생산 측면에서 유리하고, 높은 수율을 얻을 수 있는 장점이 있다.

[106]

[107] 구체적으로 상기 결정화 단계는 결정화 용매로써 물을 사용한 결정화로 수행될 수 있다. 상기 결정화 단계는 '결정화 용매의 투입 후 교반'의 순서로 진행되는 결정화 과정을 1회 이상 반복하여 진행될 수 있다. 이와 같이 용매를 한번에 투입하지 않고, 여러 차례 투입하면서 결정화하는 과정을 반복하는 경우, 용매의 투입 과정에서 벽면에 달라붙어 있는 결정까지 수득할 수 있어 수율이 저하되는 것을 방지할 수 있고, 반응 후 남아있는 부산물을 효과적으로 제거할 수 있으며, 결정화 되지 못한 생성물을 반복적인 결정화 과정을 통해 결정화시킬 수 있다. 이에 따라, 에틸 아세테이트와 같은 용매를 이용하여 슬러리 형태로 정제하는 공정에 비해, 고순도의 화합물을 높은 수율로 얻을 수 있다.

[108]

[109] 상기 결정화 과정 1회에 사용되는 결정화 용매는 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물의 중량 대비 3 배 내지 20 배의 부피의 양(mL/g)으로, 보다 구체적으로는 3 내지 10 배의 부피의 양(ml/g)으로 사용될 수 있다. 1회의 결정화 과정은 5 내지 30 °C의 온도 범위에서, 바람직하게는 상온(20 내지 25 °C)에서 10 분 내지 2 시간 동안 교반하여 진행될 수 있다. 상기 진행 시간은 결정화 과정의 반복 횟수가 적을 경우 증가시키고, 반복 횟수가 많을 경우 감소시키는 등 적절히 조절할 수 있다.

[110]

[111] 즉, 상기 단계 1의 반응 생성물을 정제 및 결정화하는 단계를 모두 수행하여 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물을 제조하는 경우, 상기 단계 1은 하기와 같은 단계를 포함하여 진행될 수 있으나 하기 단계만으로 한정되는 것은 아니다:

[112] 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물과 상기 화학식 1-2로 표시되는 화합물을 염기의 존재 하에 반응시키는 단계;

[113] 에틸아세테이트와 물을 투입하여 수층(하층)은 폐기하고 유기층(상층)을 분리하여 추출하는 단계, 및 상기 정제된 혼합물을 진공 농축 및/또는 공비 농축하는 단계; 및

[114] 상기 농축물을 결정화하는 단계.

[115]

[116] 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물을 정제한 후에는 40 내지 60 °C에서 10 내지 14 시간 동안 건조하여, 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물에 포함된 수분 함량을 낮출 수 있다. 보다 구체적으로, 50 내지 60 °C에서 건조함으로써 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물의 수분 함량을 현저히 낮추면, 다음 단계(즉, 하기 2 단계)의 전환율을 높일 수 있다.

[117]

[118] **(단계 2 및 단계 3)**

[119] 상기 단계 2는 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물과 상기 화학식 1-4로 표시되는 화합물을 팔라듐 촉매 및 염기의 존재 하에 반응시켜 상기 화학식 1-5로 표

시되는 화합물을 제조하는 단계로, Buchwald-Hartwig 아민화 반응이 진행된다. 상기 Buchwald-Hartwig 아민화 반응은 아민과 아릴할라이드의 팔라듐 촉매 커플링 반응을 통해 탄소와 질소 결합이 형성되는 반응이다. 또한, 상기 단계 3은 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 산과 반응시켜 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계로써, 화학식 1-5에 포함된 보호기 P_1 을 제거시키는 단계이다.

[120]

[121] 상기 단계 2에서 생성되는 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 포함하는 농축 잔액은 별도의 정제 과정 없이 다음 단계에 그대로 사용하더라도 수율이나 순도 등의 저하가 발생하지 않는 안정적인 반응이 가능하다. 이에 정제 단계가 생략됨으로써 발생하는 경제적 효과와 공정의 용이함 및 편의성 등을 고려하여 상기 단계 2의 농축 잔액을 그대로 사용하여 상기 단계 2와 단계 3을 인-시츄(in-situ)로 구성할 수 있다.

[122]

[123] 상기 단계 2에서, 상기 화학식 1-4로 표시되는 화합물은 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.1 내지 10 당량으로 사용될 수 있다. 구체적으로, 상기 화학식 1-4로 표시되는 화합물은 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.2 내지 5 당량, 0.5 내지 5 당량, 0.5 내지 3 당량, 0.5 내지 2 당량, 0.5 내지 1.5 당량, 1 내지 1.5 당량, 또는 1.5 당량으로 사용될 수 있다.

[124]

[125] 상기 단계 2에서, 상기 팔라듐 촉매는 화합물 내 팔라듐(Pd)의 원자가(valency)가 0인 팔라듐(0) 촉매, 또는 원자가(valency)가 +2인 팔라듐(II) 촉매일 수 있다. 예를 들어, 상기 팔라듐 촉매로 트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(0), 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0), 비스[트리스(2-메틸페닐)포스핀]팔라듐, 팔라듐(II)아세테이트, 1,1-(비스(디페닐포스피노)페로센)팔라듐(II)디클로라이드 및 팔라듐(II)클로라이드로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상일 수 있다.

[126]

[127] 또한, 상기 단계 2에서, 상기 염기는 포타슘터트부톡사이드, 소듐터트부톡사이드, 포타슘메톡사이드, 소듐메톡사이드, 포타슘터트펜톡사이드, 소듐터트펜톡사이드, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬, 탄산칼륨, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 탄산수소칼륨, 탄산수소나트륨 및 탄산세슘으로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상일 수 있다. 사용되는 염기로는 폭발성이 없는 염기로도 충분하여 안전성이 확보되는 바, 산업화에 유리하다.

[128]

[129] 또한, 상기 반응은, 상기 팔라듐 촉매 및 상기 염기와 함께 포스핀계 화합물의 존재 하에서 수행될 수 있다. 상기 포스핀계 화합물로는 2,2'-비스(디페닐포스피노)-1,1'-비나프틸, 4,5-비스(디페닐포스피노)-9,9-디메틸잔텐, 2-(디사이클로헥실

포스피노)-3,6-디메톡시-2,4'6'-트리아소프로필-1,1'-비페닐, 2-디-터트-부틸포스피노-2',4',6'-트리아소프로필바이페닐 및 디사이클로헥실포스피노-2',6'-디이소프로폭시비페닐로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상이 사용될 수 있다.

[130]

[131] 바람직하게는, 상기 단계 2에서 상기 염기는 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.1 내지 10 당량이 사용될 수 있다. 바람직하게는, 상기 염기는 화학식 1-3으로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.5 내지 5 당량, 1 내지 5 당량, 2 내지 5 당량, 3 내지 5 당량, 또는 3 당량으로 사용될 수 있다. 상기 염기가 지나치게 적은 양으로 사용되는 경우 반응 시간이 길어질 우려가 있고, 지나치게 많은 양으로 사용되더라도 반응 시간에는 차이가 없어, 상술한 범위로 염기를 사용하는 것이 바람직하다.

[132]

[133] 상기 단계 2의 반응 용매로는 아민 치환 반응에 대해 비활성을 나타내는 용매를 사용할 수 있다. 예를 들어, 테트라하이드로퓨란(Tetrahydrofuran; THF), 1,4-다이옥세인(1,4-dioxane), 섹스-부틸알콜(sec-butyl alcohol), 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 1-부탄올, 2-부탄올, 터트부틸알코올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 에틸아세테이트, 메틸터트부틸에테르, 아세토니트릴, 톨루엔, 자일렌, 헵테인, 3-메틸테트라하이드로퓨란, 디클로로메탄, 메틸이소부틸케톤, 다이메틸폼아마이드(DMF), 다이메틸아세트아마이드(DMAC) 및 다이메틸설폭사이드(DMSO)로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기 용매 중에서 수행될 수 있다. 일례로 상기 용매로는 1종이 사용되거나 2종 이상이 혼합된 혼합 용매가 사용될 수 있으나, 반응 속도 및 수율 측면에서 섹스-부틸알콜이 바람직하다.

[134]

[135] 상기 유기 용매는 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물의 중량 대비 0.5 배 내지 10 배의 부피의 양(mL/g), 구체적으로는, 4 배 내지 8 배의 부피의 양(mL/g)으로 사용될 수 있다. 상기 단계 2의 반응 시 용매가 과량일 경우 반응이 진행되지 않는 문제가 있다.

[136]

[137] 또한, 상기 반응은 80 내지 100 °C의 온도에서 1 시간 내지 10 시간 동안 수행될 수 있다. 상술한 범위보다 낮은 온도 조건 및/또는 짧은 반응 시간 동안 반응을 수행하는 경우 반응이 충분히 진행되지 않아 제조 수율이 낮아 질 수 있다. 또한, 상술한 범위보다 높은 온도 조건 및/또는 긴 반응 시간 동안 반응을 수행하더라도 제조 수율이 실질적으로 증가하지 않아, 공정 비용 측면에서 바람직하지 않다. 보다 구체적으로, 상기 반응은 85 내지 95 °C 또는 88 내지 92 °C의 온도에서 1 시간 내지 6 시간, 1 시간 내지 4 시간, 바람직하게는, 1 시간 내지 3 시간, 보다 바람직하게는 1.5 시간 내지 2 시간 동안 수행될 수 있다. 상기 반응의 온도는 반응 용매의 끓는점을 훨씬 밑도는 범위로, 종래의 반응 온도에 비해 월등히 낮아 공정 상 적용이 쉽고 시간과 비용을 절감할 수 있는 효과가 있다.

[138]

[139] 또한, 상기 반응은 상술한 팔라듐 촉매, 염기 및 포스핀계 화합물의 조합을 사용하는 경우에 통상적으로 알려진 반응기에서 진행될 수 있다. 이에 따라, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 대량 생산하기 위한 공정의 일 단계로 상기 단계 2를 적용할 수 있다.

[140]

[141] 한편, 상기 단계 2의 반응이 종결된 이후, 상기 반응의 생성물을 에틸아세테이트와 물을 이용하거나 에틸아세테이트와 염화나트륨 수용액을 이용하여 추출하는 정제 단계를 더 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 반응의 생성물을 에틸아세테이트와 물을 이용하거나 에틸아세테이트와 염화나트륨 수용액을 이용하거나, 상기 두 가지 방법을 모두 이용하여 추출할 수 있다. 즉, 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물은 반응 종결 이후 에틸아세테이트와 물을 이용하거나 에틸아세테이트와 염화나트륨 수용액을 이용하여 추출된 것일 수 있다. 에틸아세테이트와 물을 이용하거나 에틸아세테이트와 염화나트륨 수용액을 이용한 추출은, 상기 반응의 생성물과 각 용매가 포함된 혼합물을 30분 이상 교반 및 30분 이상 정지 후 층 분리하여 수층(하층)은 폐기하고 유기층(상층)을 취하는 방법으로 진행될 수 있다. 상기 에틸아세테이트와 물을 이용하거나 에틸아세테이트와 염화나트륨 수용액을 이용한 추출은 각각 1회 이상 반복될 수 있다. 이와 같이 추출하는 경우, 디클로로메탄/물 혼합 용매를 사용하여 추출하는 경우에 비해, 고성능 액체 크로마토그래피(high-performance liquid chromatography; HPLC)로 분리되는 상대보존시간(relative retention time)이 1.0 미만인 불순물들을 물층으로 효과적으로 제거할 수 있다.

[142]

[143] 또한, 상기 단계 2는 추출된 혼합물을 진공 농축 및/또는 공비 농축하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이러한 진공 농축 및/또는 공비 농축 단계는 상기 에틸아세테이트와 물; 또는 에틸아세테이트와 염화나트륨 수용액에 의한 추출 단계 이후 수행하는 것이 바람직하다.

[144]

[145] 즉, 상기 단계 2의 반응 생성물을 정제하는 단계를 모두 수행하여 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 제조하는 경우, 상기 단계 2는 하기와 같은 단계를 포함하여 진행될 수 있으나 하기 단계만으로 한정되는 것은 아니다:

[146] 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물과 상기 화학식 1-4로 표시되는 화합물을 팔라듐 촉매 및 염기의 존재 하에 반응시키는 단계;

[147] 에틸아세테이트와 물, 또는 에틸아세테이트와 염화나트륨 수용액을 투입하여 수층(하층)은 폐기하고 유기층(상층)을 분리하여 추출하는 단계, 및 상기 정제된 혼합물을 진공 농축 및/또는 공비 농축하는 단계.

[148]

- [149] 한편, 상기 반응이 종결된 이후에, 제조된 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 정제하거나 분리하는 공정없이, 단계 2와 후술하는 단계 3까지의 공정이 동일한 반응 용기 내에서 인-시츄(In-situ)로 이루어질 수 있다. 이와 같이, 상기 단계 2에서 화합물의 정제 및 분리 공정을 요하지 않으므로, 상기 단계 2를 포함하는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조 방법은, 화합물의 산업적 대량 생산 측면에서 유리할 수 있다.
- [150]
- [151] 상기 단계 3은 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 산과 반응시켜 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계로써, 화학식 1-5에 포함된 보호기 P₁을 제거시키는 단계이다.
- [152]
- [153] 상기 단계 3의 반응에 사용되는 산으로는, 염산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 브롬산, 황산, 질산 및 요오드산으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상이 사용될 수 있다. 이 중, 수율 및 원가를 고려할 때 염산을 사용하는 것이 바람직하다. 여기서, 상기 염산으로는 농염산(c-HCl)이 사용될 수 있다. 예를 들어, 약 30 내지 40 중량% 농도의 농염산이 사용될 수 있다.
- [154]
- [155] 상기 산은 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물의 중량 대비 1 배 내지 10 배의 부피의 양(mL/g), 보다 구체적으로는, 2 배 내지 5 배의 부피의 양(mL/g)으로 사용될 수 있다.
- [156]
- [157] 상기 단계 3의 반응 용매로는 에틸아세테이트, 디클로로메탄, 부틸아세테이트, 트라이클로로메탄, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 1-부탄올, 2-부탄올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 메틸터트부틸에테르, 아세토니트릴, 톨루엔, 헵테인, 테트라하이드로퓨란, 3-메틸테트라하이드로퓨란, 1,4-다이옥세인, 메틸이소부틸케톤, 다이메틸폼아마이드(DMF), 다이메틸아세트아마이드(DMAC) 및 다이메틸설폭사이드(DMSO)로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기 용매일 수 있다. 일 예로 상기 용매로는 1종이 사용되거나 2종 이상이 혼합된 혼합 용매가 사용될 수 있다.
- [158]
- [159] 상기 유기 용매는 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물의 중량 대비 5 배 내지 30 배의 부피의 양(mL/g), 보다 구체적으로는, 5 배 내지 15 배, 또는 5 배 내지 6 배의 부피의 양(mL/g)으로 사용될 수 있다.
- [160]
- [161] 또한, 상기 반응은 0 °C 내지 50 °C에서 수행될 수 있고, 1 시간 내지 10 시간, 바람직하게는 3 시간 내지 5 시간 동안 수행될 수 있다. 보호기인 터트부톡시카보닐기의 제거 반응은 추가적인 열처리 없이도 쉽게 일어나는 반응에 해당하여 상

기 온도 범위에서 진행될 수 있다. 다만, 반응 시간이 1 시간 미만인 경우에는 반응이 충분히 진행되지 않을 수 있고, 반응 시간이 10 시간을 초과하는 경우에는 제조 수율이 실질적으로 증가하지 않아 상술한 반응 시간이 바람직하다.

[162]

[163] 한편, 상기 단계 3의 반응이 종결된 이후, 상기 반응의 생성물을 추출하는 정제 단계를 더 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 추출에 사용되는 용매에는 제한이 없으나, 일 예로 상기 추출하는 단계는 상기 반응의 생성물을 디클로로메탄과 물을 이용하거나 에틸아세테이트와 물을 이용하여 추출할 수 있다. 즉, 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물은 반응 종결 이후, 디클로로메탄과 물을 이용하거나 에틸아세테이트와 물을 이용하거나 상기 두 가지 방법을 모두 이용하여 추출된 것일 수 있다.

[164] 상기 디클로로메탄과 물을 이용한 추출은, 상기 반응의 생성물과 각 용매가 포함된 혼합물을 30분 이상 교반 및 30분 이상 정치 후 층 분리하여 유기층(하층)은 폐기하고 수층(상층)을 취하는 방법으로 진행될 수 있다. 에틸아세테이트와 물을 이용한 추출은, 상기 반응의 생성물과 각 용매가 포함된 혼합물을 30분 이상 교반 및 30분 이상 정치 후 층 분리하여 수층(하층)은 폐기하고 유기층(상층)을 취하는 방법으로 진행될 수 있다. 상기 디클로로메탄과 물을 이용하거나 에틸아세테이트와 물을 이용한 추출은 각각 1회 이상 반복될 수 있다. 한편 상기 에틸아세테이트와 물을 이용한 추출은 수산화나트륨과 같은 염기의 존재 하에, 반응물의 pH를 9 내지 11로 유지하면서 수행하는 것이 바람직하다.

[165]

[166] 또한, 상기 단계 3은 추출된 혼합물을 진공 농축 및/또는 공비 농축하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이러한 진공 농축 및/또는 공비 농축 단계는 상기 디클로로메탄과 물; 또는 에틸아세테이트와 물에 의한 추출 단계 이후 수행하는 것이 바람직하다.

[167]

[168] 그리고, 상기 단계 3은 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물을 정제하기 위하여, 상기 반응의 생성물을 결정화하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이러한 결정화 단계는 상기 추출 정제 단계 이후 수행하는 것이 바람직하다. 다시 말해, 상기 단계 3은, 상기 추출 정제 단계 이후 농축된 생성물에 결정화 용매를 투입하고 약 20 내지 40 °C 온도에서 30 분 내지 4 시간 동안 교반하여, 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계로 수행될 수 있다. 바람직하게는 상기 결정화 단계는 20 내지 30 °C, 또는 20 내지 25 °C의 상온에서 수행될 수 있다.

[169] 이와 같이 결정화 용매에 의한 결정화를 통해 반응 생성물을 제조하는 경우, 실리카 컬럼을 사용하여 정제하는 경우와는 달리 산업화에 적용이 가능하여, 산업적 대량 생산 측면에서 유리하고, 높은 수율을 얻을 수 있는 장점이 있다.

[170]

- [171] 구체적으로 상기 결정화 단계는 결정화 용매로써 메틸이소부틸케톤 또는 노말-헵탄을 사용한 결정화로 수행될 수 있다. 상기 두 가지 용매를 모두 사용하는 경우 그 순서에 제한은 없으나, 메틸이소부틸케톤을 사용한 결정화 과정 후 노말-헵탄을 사용한 결정화 과정의 순서로 진행하는 것이 바람직하다. 상기 결정화 단계는 '결정화 용매의 투입 후 교반'의 순서로 진행되는 결정화 과정을 1회 이상 반복하여 진행될 수 있다. 이와 같이 용매를 한번에 투입하지 않고, 여러 차례 투입하면서 결정화하는 과정을 반복하는 경우, 용매의 투입 과정에서 벽면에 달라붙어 있는 결정까지 수득할 수 있어 수율이 저하되는 것을 방지할 수 있고, 반응 후 남아있는 부산물을 효과적으로 제거할 수 있다. 추가적으로 반복적인 결정화 과정을 통해 결정화 되지 못한 생성물을 결정화시킬 수 있다. 이에 따라, 용매를 이용하여 슬러리 형태로 정제하는 공정에 비해, 고순도의 화합물을 높은 수율로 얻을 수 있다.
- [172]
- [173] 상기 결정화 과정 1회에 사용되는 결정화 용매는 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물의 중량 대비 3 배 내지 20 배의 부피의 양(mL/g)으로, 보다 구체적으로는 3 내지 15 배의 부피의 양(ml/g)으로 사용될 수 있고, 1회의 결정화 과정은 5 내지 30 °C의 온도 범위에서, 10 분 내지 3 시간 동안 교반하여 진행될 수 있다. 상기 진행 시간은 결정화 과정의 반복 횟수가 적을 경우 증가시키고, 반복 횟수가 많을 경우 감소시키는 등 적절히 조절할 수 있다.
- [174]
- [175] 즉, 상기 단계 3의 반응 생성물을 정제 및 결정화하는 단계를 모두 순차적으로 수행하여 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물을 제조하는 경우, 상기 단계 3은 하기와 같은 단계를 포함하여 진행될 수 있으나 하기 단계만으로 한정되는 것은 아니다:
- [176] 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 산과 반응시키는 단계;
- [177] 물과 디클로로메탄을 투입하여 유기층(하층)은 폐기하고 수층(상층)을 분리하여 추출하는 단계, 물과 에틸 아세테이트를 투입하여 수층(하층)을 폐기하고 유기층(상층)을 분리하는 단계, 및 상기 정제된 혼합물을 진공 농축 및/또는 공비 농축하는 단계; 및
- [178] 상기 농축물을 결정화하는 단계.
- [179]
- [180] 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물을 결정화하여 정제한 후에는 30 내지 60 °C에서 10 내지 14 시간 동안 건조하여, 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물에 포함된 수분 함량을 낮출 수 있다. 보다 구체적으로, 50 °C 이하에서 건조함으로써 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물의 수분 함량을 현저히 낮추면, 다음 단계(즉, 하기 4 단계)의 전환율을 높일 수 있다.
- [181]
- [182] (단계 4)

- [183] 상기 단계 4는 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물과 상기 화학식 1-7로 표시되는 화합물을 염기의 존재 하에 반응시켜 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 아크릴화 반응 단계이다.
- [184]
- [185] 상기 단계 4에서, 상기 화학식 1-7로 표시되는 화합물은 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.1 내지 10 당량이 사용될 수 있다. 구체적으로, 상기 화학식 1-7로 표시되는 화합물은 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.2 내지 5 당량, 0.5 내지 5 당량, 0.5 내지 3 당량, 0.5 내지 2 당량, 0.5 내지 1.5 당량, 1 내지 1.5 당량, 1 내지 1.1 당량, 또는 1.1 당량이 사용될 수 있다.
- [186]
- [187] 상기 단계 4의 반응에 사용되는 염기로는, 탄산칼륨, 수산화나트륨, 수산화리튬, 수산화칼륨, 트리에틸아민, 디이소프로필아민, 디이소프로필에틸아민, 탄산수소나트륨, 탄산수소칼륨, 탄산세슘, 탄산나트륨, 메틸산나트륨 및 부티르산칼륨으로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상이 사용할 수 있다. 이 중, 반응 완결 및 부산물 생성 측면에서, 탄산칼륨, 탄산나트륨, 탄산수소나트륨, 또는 탄산수소칼륨을 사용하는 것이 바람직하다.
- [188]
- [189] 이러한 반응의 용매로는 테트라하이드로퓨란(THF) 및 물의 혼합 용매를 사용할 수 있다. 이때, 상기 테트라하이드로퓨란은 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물의 중량 대비 5 배 내지 40 배, 또는 5 배 내지 10 배의 부피의 양(mL/g)으로 사용될 수 있고, 상기 물은 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물의 중량 대비 2 배 내지 10 배, 또는 2 배 내지 5 배의 부피의 양(mL/g)으로 사용될 수 있다.
- [190]
- [191] 또한, 상기 단계 4의 반응은 -10 °C 내지 50 °C의 온도에서 1 시간 내지 5 시간 동안 수행될 수 있다. 바람직하게는, 바람직하게는 0 °C 이상의 온도, 보다 바람직하게는 0 °C 이상 10 °C 이하의 온도에서 수행될 수 있다. 이에 따라, 상기 반응 중 반응 온도가 상승하는 것을 억제하기 위해 사용되는 반응물 및 유기용매 등 반응 시약은 모두 0 °C 이하의 온도로 냉각한 다음 사용하는 것이 바람직하다.
- [192]
- [193] 한편, 상기 단계 4의 반응이 종결된 이후, 반응의 생성물을 추출하는 정제 단계를 더 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 반응의 생성물을 에틸아세테이트와 물을 이용하여 추출할 수 있다. 즉, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 반응 종결 이후 에틸아세테이트 및 물을 이용하여 추출된 것일 수 있다. 에틸아세테이트와 물을 이용한 추출은, 상기 반응의 생성물과 각 용매가 포함된 혼합물을 30 분 이상 교반 및 30분 이상 정치 후 층 분리하여 수층(하층)은 폐기하고 유기층(상층)을 사용하는 것으로 진행될 수 있다. 이와 같이 추출하는 경우, 디클로로메탄/물 혼합 용매를 사용하여 추출하는 경우에 비해, 고성능 액체 크로마토그래피(high-performance liquid chromatography; HPLC)로 분리되는 상대보존시간

(relative retention time)이 1.0 미만인 불순물들을 물층으로 효과적으로 제거할 수 있다. 추가적으로, 필요한 경우 활성탄 및/또는 실리카겔 물질을 사용하여 부산물이나 이물질을 제거하는 정제 공정을 진행할 수 있다.

[194]

[195] 또한, 상기 단계 4는 추출된 혼합물을 포함하는 유기층을 여과 후 진공 농축하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이러한 진공 농축 단계는 상기 에틸아세테이트 및/또는 물에 의한 추출 단계 이후 수행하는 것이 바람직하다.

[196]

[197] 바람직하게는, 상기 단계 4는 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 정제하기 위하여, 상기 반응의 생성물을 결정화하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이러한 결정화 단계는 상기 추출 정제 및 진공 농축 공정 이후 수행하는 것이 바람직하다. 다시 말해, 상기 단계 4는 상기 추출 정제 단계 이후 농축된 생성물에 결정화 용매를 투입하여 약 20 내지 40 °C 온도에서 30 분 내지 4 시간 동안 교반하여 수행될 수 있다. 바람직하게는 상기 결정화 단계는 20 내지 30 °C, 또는 20 내지 25 °C의 상온에서 수행될 수 있다. 상기 진행 시간은 결정화 과정의 반복 횟수가 적을 경우 증가시키고, 반복 횟수가 많을 경우 감소시키는 등 적절히 조절할 수 있다.

[198] 이와 같이 결정화 용매에 의한 결정화를 통해 반응 생성물을 제조하는 경우, 실리카 컬럼을 사용하여 정제하는 경우와는 달리 산업화에 적용이 가능하여, 산업적 대량 생산 측면에서 유리하고, 높은 수율을 얻을 수 있는 장점이 있다.

[199]

[200] 구체적으로 상기 결정화 단계는 결정화 용매로써 에틸알콜 또는 노말-헵탄을 사용한 결정화로 수행될 수 있다. 상기 두 가지 용매를 모두 사용하는 경우 그 순서에는 제한이 없다. 상기 결정화 단계는 '결정화 용매의 투입 후 교반'의 순서로 진행되는 결정화 과정을 1회 이상 반복하여 진행될 수 있다. 이와 같이 용매를 한번에 투입하지 않고, 여러 차례 투입하면서 결정화하는 과정을 반복하는 경우, 용매의 투입 과정에서 벽면에 달라붙어 있는 결정까지 수득할 수 있어 수율이 저하되는 것을 방지할 수 있고, 반응 후 남아있는 부산물을 효과적으로 제거할 수 있다. 추가적으로 반복적인 결정화 과정을 통해 결정화 되지 못한 생성물을 결정화시킬 수 있다. 이에 따라, 용매를 이용하여 슬러리 형태로 정제하는 공정에 비해, 고순도의 화합물을 높은 수율로 얻을 수 있다.

[201]

[202] 상기 결정화 용매는 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물의 중량 대비 0.5 배 내지 15 배의 부피의 양(mL/g)으로, 보다 구체적으로는 0.5 내지 10 배의 부피의 양(mL/g)으로 사용될 수 있다. 1회의 결정화 과정은 5 내지 30 °C의 온도 범위에서, 바람직하게는 상온(20 내지 25 °C)에서 10 분 내지 2 시간 동안 교반하여 진행될 수 있다. 상기 진행 시간은 결정화 과정의 반복 횟수가 적을 경우 증가시키고, 반복 횟수가 많을 경우 감소시키는 등 적절히 조절할 수 있다.

[203]

- [204] 한편, 보다 신속한 결정화를 위해 결정화 과정 중 1회 이상에, 용매와 함께 반응 생성물인 화학식 1로 표시되는 화합물의 결정을 Seed로 투입할 수 있다. 상기 Seed는 화학식 1-6으로 표시되는 화합물 1 중량부 대비 0.01 중량부 이하로 투입할 수 있다.
- [205]
- [206] 즉, 상기 단계 4의 반응 생성물을 정제 및 결정화하는 단계를 모두 순차적으로 수행하여 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 경우, 상기 단계 4는 하기와 같은 단계를 포함하여 진행될 수 있으나 하기 단계만으로 한정되는 것은 아니다:
- [207] 화학식 1-6으로 표시되는 화합물과 화학식 1-7로 표시되는 화합물을 염기의 존재 하에 반응시키는 단계;
- [208] 에틸아세테이트와 물을 투입하여 수층(하층)은 폐기하고 유기층(상층)을 분리하여 추출하는 단계, 및 상기 정제된 혼합물을 진공 농축하는 단계; 및
- [209] 상기 농축물을 결정화하는 단계.
- [210]
- [211] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물을 결정화한 후에는 30 내지 60 °C에서 8 내지 14 시간 동안 건조하여, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물에 포함된 수분 함량을 낮출 수 있다. 보다 구체적으로, 50 °C 이하에서 건조될 수 있다.

[212]

발명의 효과

- [213] 상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 제조 방법은, 단축된 공정으로도 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온을 높은 수율로 제조할 수 있고, 대량 생산이 가능하며, 종래의 제조 방법에 사용되는 반응물 대비 안전한 물질을 사용하여 제조 공정의 안전성이 향상된다는 이점이 있다.

[214]

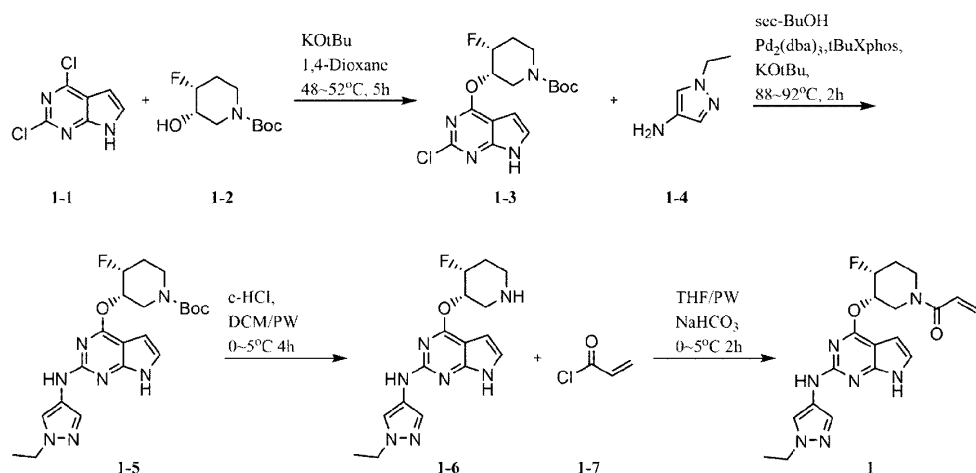
발명의 실시를 위한 형태

- [215] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다. 또한, 하기에서 "volume"은 각 단계의 출발물질 중량 대비 부피비를 의미하는 것으로 이해될 수 있고, "중량부"는 각 단계의 출발물질 대비 중량비를 의미하는 것으로 이해될 수 있고, "eq"는 각 물질의 당량을 의미하는 것으로 이해될 수 있다.

[216]

[217] **실시예 1: 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조**

[218]



[219] 단계 1) 화합물 1-3의 제조

[220] 화합물 1-1인 2,4-디클로로-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘(100.00 g, 1 eq)과 화합물 1-2인 tert-부틸(3S,4R)-4-플루오로-3-하이드록시피페리딘-1-카르복실레이트(122.45 g, 1.05 eq)를 1,4-다이옥세인 1000.0 mL(10 volume)과 정제수 10.0 mL(0.1 volume)의 혼합물에 녹이고, 포타슘터트부톡사이드(179.05 g, 3 eq)를 넣고, 48 내지 52 °C 에서 5 시간 동안 교반하여 반응을 완결시켰다.

[221] 이 후 에틸 아세테이트 1000.0 mL(10 volume), 정제수 500.0 mL(5 volume)를 투입하고 30 분 이상 교반, 30 분 이상 정지 후 층 분리하여 수층(하층)을 폐기하였다. 남은 유기층에 정제수 500.0 mL(5 volume)를 투입하고 30 분 이상 교반, 30 분 이상 정지 후 층 분리하여 수층(하층)을 폐기하였다. 남은 유기층을 외부온도 50 °C 이하에서 진공 농축하고, 1,4-다이옥세인 200.0 mL(2 volume)를 투입 후 외부 온도 50 °C 이하에서 공비농축하였다.

[222] 1,4-다이옥세인 200.0 mL(2 volume)을 추가적으로 투입 후 내부 온도를 40 ~ 50 °C 로 승온하여 완전 용해하고 정제수 400.0 mL(4 volume)를 투입하고 상온에서 1 시간 이상 교반하였다. 추가적으로 정제수 600.0 mL(6 volume)를 투입하고 1 시간 이상 교반하였다. 여과기를 이용해 감압 여과하고, 정제수 500.0 mL(5 volume)로 세척하였다. 이를 외부온도 50 °C 에서 12 시간 진공 건조하여 상기 화합물 1-3 인 tert-부틸 (3S,4R)-3-((2-클로로-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-카르복실레이트(181.4 g, 수율 92.0%)를 수득하였다.

[223] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7.206 (s, 1H), 6.552 (s, 1H), 5.461 (s, 1H), 5.093-4.997 (d, 1H), 3.908-3.793 (d, 2H), 3.559 (s, 2H), 2.210 (s, 1H), 1.926 (s, 1H), 1.287(s, 9H)

[224]

[225] 단계 2) 화합물 1-5의 제조

[226] 상기 단계 1에서 얻은 화합물 1-3(181.40 g, 1 eq), 2-디-tert-부틸포스포노-2',4',6'-트라이소프로필바이페닐(8.31 g, 0.04 eq), 트리스(디벤질리덴아세톤)디

팔라듐(0)(8.96 g, 0.02 eq) 및 포타슘 터트부톡사이드(164.73 g, 3 eq)를 세크-부틸알콜 907.2 mL(5 volume)에 투입 후 상온에서 교반하였다. 이 후 화합물 1-4인 1-에틸-1H-피라졸-4-아민(81.58 g, 1.5 eq)을 투입 후 세크-부틸알콜 181.4 mL(1 volume)로 잔존하는 시약 및 원료가 모두 반응에 사용되도록 반응기 벽과 주입라인을 세척하면서 투입하였다. 내부 온도 88 내지 92 °C 에서 2 시간동안 교반하여 반응을 완결시켰다.

- [227] 이 후 정제수 907.2 mL(5 volume)와 에틸 아세테이트 907.2 mL(5 volume)를 투입하여 내부 온도 50 °C에서 여과하고, 에틸 아세테이트 907.2 mL(5 volume)로 세척하였다. 여과액에 정제수 907.2 mL(5 volume)를 한번 더 투입하고 30 분 이상 교반, 30 분 이상 정치 후 층 분리하여 수층(하층)을 폐기하였다. 남은 유기층에 정제수 907.2 mL(5 volume)를 투입하고 30 분간 이상 교반, 30 분 이상 정치 후 층 분리하여 수층(하층)을 폐기하였다. 남은 유기층에 25 중량% 염화나트륨 수용액 544.3 mL(3 volume)를 투입하고 30 분간 이상 교반, 30 분 이상 정치 후 층 분리하여 수층(하층)을 폐기하였다. 이를 여과 후 에틸 아세테이트 907.2 mL(5 volume)로 세척하였다. 여과액을 외부온도 60 °C 이하에서 진공 농축한 뒤, 에틸 아세테이트 544.3 mL(3 volume)를 투입 후 외부온도 60 °C 이하에서 공비 농축하여 상기 화합물 1-5인 터트-부틸 (3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-카르복실레이트(217.9 g, 수율 100.0 %)를 얻었다. 얻은 화합물을 정제하지 않고 다음 단계에 사용하였다.

[228]

[229] **단계 3) 화합물 1-6의 제조**

- [230] 상기 단계 2에서 얻은 화합물 1-5의 농축 잔사(217.9 g, 1 eq)에 디클로로메탄 1090.0 mL(6 volume)를 투입하여 용해하였다. 용해액을 0 내지 5 °C로 냉각하고 내부 온도가 5 °C 넘지 않게 농염산 414.2 mL(2.28 volume)를 천천히 투입 후 0 내지 5 °C에서 4 시간동안 교반하여 반응을 완결시켰다.

- [231] 이 후 디클로로메탄 1090.0 mL(6 volume), 정제수 1090.0 mL(6 volume)를 투입하고 30 분 이상 교반, 30 분 이상 정치 후 층 분리하여 유기층(하층)을 폐기하였다. 남은 수층에 디클로로메탄 1090.0 mL(6 volume)를 투입하고 30 분간 이상 교반, 30 분 이상 정치 후 층 분리하여 유기층(하층)을 폐기하였다. 이를 여과 후 정제수 1090.0 mL(6 volume)로 세척하고 에틸 아세테이트 2179.9 mL(12 volume)를 투입한 후 0 내지 5 °C로 냉각하였다. 이에 8N 수산화나트륨 용액 약 1300.0 mL(7.17 volume)를 투입하여 pH를 9 내지 11로 조절하고 30 분 이상 정치 후 층 분리하여 수층(하층)을 폐기하였다. 추가적으로 정제수 1090.0 mL(6 volume)를 투입하고 30 분 이상 교반, 30 분 이상 정치 후 층 분리하여 수층(하층)을 폐기하였다. 이 후 외부온도 50 °C 이하에서 진공 농축하고 메틸이소부틸케톤 654.0 mL(3.6 volume)를 투입하고 공비 농축하였다.

- [232] 추가로 메틸이소부틸케톤 1090.0 mL(6 volume) 투입 후 1시간 이상 환류 및 교반한 뒤, 내부온도를 20 내지 25 °C로 냉각 후 노말-헵탄 2179.9 mL(12 volume)

를 천천히 투입하고 2 시간 교반하였다. 이를 여과 후 노말-헵탄 1090.0 mL(6 volume)로 세척하고, 세척한 여과물을 외부온도 50 °C 이하에서 12 시간 동안 진공건조 하여 상기 화합물 1-6인 N-(1-에틸-1H-피라졸-4-일)-4-(((3S,4R)-4-플루오로피페리딘-3-일)옥시)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-2-아민을 126.75 g(2 step in-situ 수율: 75.0%) 수득하였다.

[233] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8.902 (s, 1H), 7.906 (s, 1H), 7.528(s, 1H), 6.932 (s, 1H), 6.277 (s, 1H), 5.375-5.330 (d, 1H), 5.166-5.066 (d, 1H), 4.104-4.061 (d, 2H), 3.011-3.002 (d, 2H), 2.826-2.664 (dd, 2H), 2.006-1.776 (m, 2H), 1.370 (s, 3H)

[234]

[235] 단계 4) 화합물 1의 제조

[236] 상기 단계 3에서 얻은 화합물 1-6(126.75 g, 1 eq, 1 중량부), 탄산수소나트륨 (61.66 g, 2 eq)을 테트라히드로퓨란 760.5 mL(6 volume)와 정제수 316.9 mL(2.5 volume)의 혼합용액에 투입 후 0 내지 5 °C로 냉각하여 1 시간 동안 교반하였다. 여기에 화합물 1-7인 아크릴로일 클로라이드(6.54 g, 1.1 eq)를 테트라히드로퓨란 190.1 mL(1.5 volume)에 용해하여 5 °C 를 넘지 않게 서서히 투입하고, 투입 완료 후 0 내지 5 °C에서 2 시간 동안 교반하여 반응을 완결시켰다.

[237] 이 후 정제수 1267.5 mL(10 volume), 에틸 아세테이트 1267.5 mL(10 volume)를 투입하고, 30 분 이상 교반, 30 분 이상 정치한 후, 층 분리하여 수층(하층)을 폐기 하였다. 이를 여과 후 에틸 아세테이트 380.3 mL(3 volume)로 세척하였다. 여과액을 외부온도 50 °C 이하에서 진공농축한 뒤, 에틸알콜 380.3 mL(3 volume)를 투입 하고 외부온도 60 °C 이하에서 진공농축하였다.

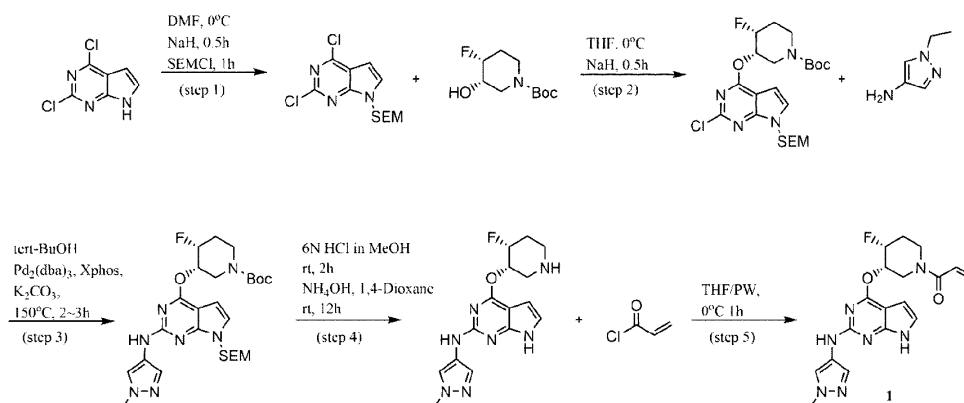
[238] 추가로 에틸알콜 316.9 mL(2.5 volume)를 투입 후 20 내지 25 °C에서 교반하며 용해하였다. 20 내지 25 °C에서 Seed인 화합물 1을 1.27 g(0.01 중량부) 투입하고 2 시간 교반하였다. 석출이 충분히 발생하면 에틸알콜 63.4 mL(0.5 volume)를 투입 하고 유동성을 확인 후 2 시간 교반하였다. 이 후 노말-헵탄 1140.7 mL(9 volume)를 투입하고 2 시간 교반한 뒤, 결정화액을 여과 후 노말-헵탄 253.5 mL(2 volume)로 세척하였다. 세척 후 여과물을 건조기에 넣고 외부온도 50 °C 이하에서 10 시간 동안 진공 건조하여 상기 화합물 1인 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온 114.34 g(수율 : 78%)을 수득하였다.

[239] ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7.678 (s, 1H), 7.543-7.491 (d, 1H), 6.612-6.424 (m, 2H), 6.320-5.523 (m, 3H), 5.360-5.241 (m, 1H), 5.185-5.007 (m, 1H), 4.709-3.400 (m, 6H), 2.192-1.839 (m, 2H), 1.358-1.303 (m, 3H)

[240]

[241] 비교예 1

[242]



[243] 단계 1) 2,4-디클로로-7-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘의 제조

[244] 2,4-디클로로-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘(1.0 g, 5.3 mmol)을 N,N-디메틸포름아미드(10.0 mL)에 녹인 후에, 0 °C에서 소듐 하이드라이드(234.0 mg, 5.9 mmol)를 가한 후 30 분 동안 교반하였다. 상기 반응물에 (2-(클로로메톡시)에틸)트리메틸실란(975.0 mg, 5.9 mmol)을 가한 후, 실온에서 1 시간 동안 교반하였다. 에틸 아세테이트를 가한 후, 증류수를 가하여 유기층을 분리하였다. 유기층을 황산나트륨으로 처리하여 여과한 후 감압 농축하였다. 잔사물을 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 표제 화합물 1.7 g(수율: 100.0%)를 수득하였다.

[245]

[246] 단계 2) 터트-부틸 (3S,4R)-3-((2-클로로-7-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-카르복실레이트의 제조

[247] 터트-부틸 (3S,4R)-4-플루오로-3-하이드록시피페리딘-1-카르복실레이트(826.6 mg, 3.8 mmol)를 테트라히드로퓨란(10.0 mL)에 녹인 후에, 0 °C에서 소듐 하이드라이드(180.9 mg, 4.5 mmol)을 가한 후 30 분간 교반하였다. 상기 반응물에 2,4-디클로로-7-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘(1.2 g, 3.8 mmol)을 가한 후 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 에틸 아세테이트를 가한 후, 증류수를 가하여 유기층을 분리하였다. 유기층을 황산나트륨으로 처리하여 여과한 후 감압 농축하였다. 잔사물을 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 표제 화합물 1.6 g(수율: 83.1%)를 수득하였다.

[248]

[249] 단계 3) 터트-부틸 (3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-카르복실레이트의 제조

[250] 터트-부틸 (3S,4R)-3-((2-클로로-7-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-카르복실레이트(1.4 g, 2.7 mmol)와 1-에틸-1H-피라졸-4-아민(333.8 mg, 3.0 mmol)에 터트-부탄올(40.0 mL)

을 가하였다. 트리스(디벤질리딘아세톤)디팔라듐(125.0 mg, 0.1 mmol), 2-디사이클로헥실포스포노-2',4',6'-트리아이소프로필바이페닐(128.6 mg, 0.3 mmol)과 포타슘 카보네이트(754.6 mg, 5.5 mmol)를 가한 후에, 150 °C에서 2 ~ 3시간 동안 교반 후 실온으로 냉각하였다. 에틸 아세테이트를 가한 후, 증류수를 가하여 유기층을 분리하였다. 유기층을 황산나트륨으로 처리하여 여과한 후 감압 농축하였다. 잔사물을 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 표제 화합물 1.3 g(수율: 83.4%)를 수득하였다.

[251]

[252] 단계 4) N-(1-에틸-1H-피라졸-4-일)-4-(((3S,4R)-4-플루오로피페리딘-3-일)옥시)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-2-아민의 제조

[253] 터트-부틸(3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7-((2-(트리메틸실릴)에톡시)메틸)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-카복실레이트(1.3 g, 2.3 mmol)에 메탄올에 녹여있는 6 N 염산 용액(10.0 mL)을 가한 후에 실온에서 2 시간 동안 교반하였다. 반응물을 농축한 후에 잔사물에 1,4-다이옥세인(20.0 mL)과 암모니아수(10.0 mL)를 가하였다. 실온에서 12 시간 동안 교반한 후 반응물을 농축하여 추가 정제 과정 없이 표제 화합물 785.8 mg(수율: 100.0%)을 수득하였다.

[254]

[255] 단계 5) 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온의 제조

[256] N-(1-에틸-1H-피라졸-4-일)-4-(((3S,4R)-4-플루오로피페리딘-3-일)옥시)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-2-아민(785.8 mg, 2.3 mmol)과 탄산수소나트륨(599.8 mg, 6.9 mmol)를 테트라히드로퓨란/증류수(15.0 mL / 3.0 mL)에 용해 후 0 °C에서 아크릴로일 클로라이드(212.7 μ L, 2.6 mmol)를 가하였다. 반응물을 0 °C에서 1 시간 동안 교반하였다. 에틸 아세테이트를 가한 후, 증류수를 가하여 유기층을 분리하였다. 유기층을 황산나트륨으로 처리하여 여과한 후 감압 농축하였다. 잔사물을 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 화합물 1의 표제 화합물 250.0 mg(수율: 27.5%)를 수득하였다.

[257] $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ 7.98 (s, 1H), 7.57-7.55 (m, 1H), 6.88-6.45 (m, 2H), 6.30-5.98 (m, 2H), 5.80-5.44 (m, 2H), 5.20-5.05 (m, 1H), 4.40-4.12 (m, 3H), 4.05-3.52 (m, 3H), 2.24-2.21 (m, 1H), 2.01-1.94 (m, 1H), 1.47-1.43 (m, 3H)

[258]

[259] 실험예

[260] 상기 실시예 및 비교예의 제조 방법에서 제조된 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 순도를 다음과 같이 측정하여, 하기 표 2에 수율과 함께 나타내었다.

[261]

[262] (1) 순도 측정 방법 (Related substance)

- [263] 다음 시험법에 따라 시험할 때 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온의 총 유연물질의 양은 1.0% 이하였다. 0.04% 수준 이상으로 검출되는 미지 유연물질은 피크의 이름을 상대피크유지시간으로 표기하고 검출되는 양을 함께 기록하였다.
- [264] 1) 희석액
- [265] 아세토니트릴·정제수 혼합액 (중량비 4 : 1)
- [266] 2) 표준액의 조제 (1회)
- [267] 1-((3S,4R)-3-((2-((1-에틸-1H-피라졸-4-일)아미노)-7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)옥시)-4-플루오로피페리딘-1-일)프로프-2-엔-1-온 표준품 약 30 mg을 정밀히 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 희석액을 넣어 완전히 용해한 후 표선을 맞추고, 적당량을 취하여 여과한 액을 표준액으로 하였다.
- [268] 3) 검액의 조제 (3회)
- [269] 이 약 약 30 mg을 정밀히 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 희석액을 넣어 완전히 용해한 후 표선을 맞추고, 적당량을 취하여 여과한 액을 검액으로 하였다.
- [270] 이 액을 각 3회 조제하여 검액 1, 2 및 3으로 하였다.
- [271] 4) 감도확인용액의 조제 (1회)
- [272] 검액 4.0 mL를 정밀히 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 희석액을 넣어 완전히 용해한 후 표선을 맞추었다. 이 액 1.0 mL를 정밀히 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 희석액을 넣어 완전히 용해한 후 표선한 뒤, 이 액을 감도확인용액으로 하였다.
- [273] 5) 조작조건
- [274] 공시험액, 표준액 및 검액 각각 10 μ L를 가지고 다음 조작조건에 따라 대한민국 약전 일반시험법의 액체크로마토그래프법에 따라 시험하였다.
- [275] [조작조건]
- [276] - 검출기: 자외부흡광광도계 (측정파장: 235 nm)
- [277] - 칼럼: X-Bridge C18 (150 x 4.6 mm, 3.5 μ m) 또는 이와 동등한 칼럼
- [278] - 유량: 1.0 mL/min
- [279] - 주입량: 10 μ L
- [280] - 칼럼 온도: 40 $^{\circ}$ C
- [281] - 이동상: 이동상 A¹⁾와 이동상 B²⁾를 가지고 다음 표 1과 같이 농도 기울기적으로 제어하였다.
- [282] 1) 이동상 A: 상온(20 $^{\circ}$ C)에서 트리플루오로아세트산 1.0 mL를 정밀히 달아 물 1000 mL에 넣어 녹인 액
- [283] 2) 이동상 B: 상온(20 $^{\circ}$ C)에서 트리플루오로아세트산 1.0 mL를 정밀히 달아 아세토니트릴 1000 mL에 넣어 녹인 액
- [284] [표1]

시간 (분)	이동상 A(%)	이동상 B(%)
0.00	95	5
20.00	5	95
25.00	5	95
25.10	95	5
30.00	95	5

[285]

[286] [표2]

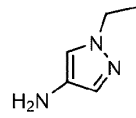
실시예 1	수율(%) / 순도(%)	비교예 1	수율(%) / 순도(%)
-	-	단계 1	100 / -
단계 1	92.0 / 92.6	단계 2	83.1 / 89.3
단계 2	100 / 80.8	단계 3	83.4 / -
단계 3	75 / 98.7	단계 4	100 / 95.7
단계 4	78 / 99.3	단계 5	27.5 / 95.9
최종	53.8 / 99.6	최종	19.06 / 95.9

[287]

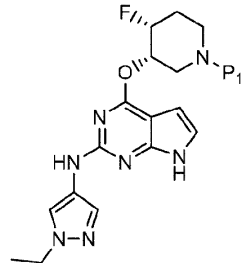
[288] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 실시예의 제조 방법에 의해 화학식 1로 표시되는 화합물 제조 시, 제조되는 화합물의 분리 및 정제가 컬럼을 통해 이루어지는 비교예 1의 제조 방법과 달리, 단계 2 및 단계 3이 인-시츄(In-situ)로 이루어지고, 결정화를 통해 화합물의 분리 및 정제가 이루어져 산업적으로 생산에 유리하면서도, 비교예 1 대비 보다 우수한 수율을 가지는 것이 확인된다.

[289] 이에 따라, 본 발명에 따른 실시예 제조 방법에 의해, 고품질을 갖는 화학식 1로 표시되는 화합물을 산업적 대량 생산할 수 있음을 확인하였다.

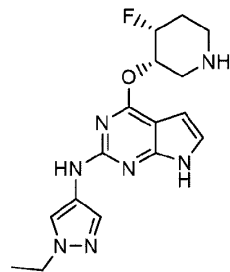
[화학식 1-4]



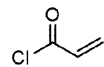
[화학식 1-5]



[화학식 1-6]



[화학식 1-7]



상기 화학식 1-1 내지 1-7에서,
P₁은 보호기를 의미한다.

- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 단계 1에서, 상기 화학식 1-2로 표시되는 화합물은 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.1 내지 10 당량이 사용되는,
제조 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 단계 1에서, 상기 염기는 포타슘터트부톡사이드, 소듐터트부톡사이드, 포타슘메톡사이드, 소듐메톡사이드, 포타슘터트펜톡사이드, 소듐터트펜톡사이드, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬, 탄산칼륨, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 탄산수소칼륨, 탄산수소나트륨 및 탄산세슘으로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상인,
제조 방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,

상기 단계 1에서, 상기 염기는 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.1 내지 10 당량으로 사용되는,
제조 방법.

[청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 단계 1에서, 상기 반응은 테트라하이드로퓨란(THF), 1,4-다이옥세인, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 1-부탄올, 2-부탄올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 에틸아세테이트, 메틸터트부틸에테르, 아세토니트릴, 톨루엔, 헵테인, 3-메틸테트라하이드로퓨란, 디클로로메탄, 메틸이소부틸케톤, 다이메틸폼아마이드(DMF), 다이메틸아세트아마이드(DMAC) 및 다이메틸설폭사이드(DMSO)로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기 용매 중에서 수행되는,
제조 방법.

[청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 단계 1에서, 상기 반응은 30 내지 60 °C에서 수행되는,
제조 방법.

[청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 단계 1은 상기 화학식 1-1로 표시되는 화합물과 상기 화학식 1-2로 표시되는 화합물을 염기의 존재 하에 반응시킨 후, 반응 생성물을 결정화하는 단계를 더 포함하는,
제조 방법.

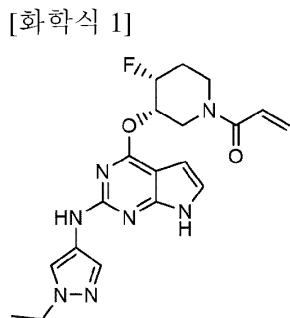
[청구항 8] 제1항에 있어서,
상기 단계 2에서, 상기 화학식 1-4로 표시되는 화합물은 상기 화학식 1-3으로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.1 내지 10 당량이 사용되는,
제조 방법.

[청구항 9] 제1항에 있어서,
상기 단계 2에서, 상기 팔라듐 촉매는 트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(0), 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐(0), 비스[트리스(2-메틸페닐)포스핀]팔라듐, 팔라듐(II)아세테이트, 1,1-(비스(디페닐포스피노)페로센)팔라듐(II)디클로라이드 및 팔라듐(II)클로라이드로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상인,
제조 방법.

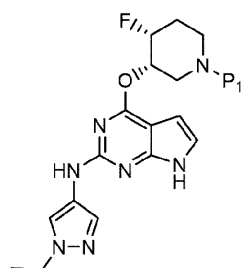
[청구항 10] 제1항에 있어서,
상기 단계 2에서, 상기 염기는 포타슘터트부톡사이드, 소듐터트부톡사이드, 포타슘메톡사이드, 소듐메톡사이드, 포타슘터트펜톡사이드, 소듐터트펜톡사이드, 트리에틸아민, 디이소프로필에틸아민, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화리튬, 탄산칼륨, 탄산칼슘, 탄산나트륨, 탄산수소칼륨, 탄산수소나트륨 및 탄산세슘으로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상인,

- 제조 방법.
- [청구항 11] 제1항에 있어서,
상기 단계 2에서, 상기 반응은 테트라하이드로퓨란(THF), 1,4-다이옥세인, 세크-부틸알콜, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 1-부탄올, 2-부탄올, tert-부틸알코올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 에틸아세테이트, 메틸tert부틸에테르, 아세토니트릴, 톨루엔, 자일렌, 헵테인, 3-메틸테트라하이드로퓨란, 디클로로메탄, 메틸이소부틸케톤, 다이메틸폼아마이드(DMF), 다이메틸아세트아마이드(DMAC) 및 다이메틸설폭사이드(DMSO)로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기 용매 중에서 수행되는,
제조 방법.
- [청구항 12] 제1항에 있어서,
상기 단계 2의 반응은 80 °C 내지 100 °C에서 수행되는,
제조 방법.
- [청구항 13] 제1항에 있어서,
상기 단계 3에서, 상기 산은 염산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 브롬산, 황산, 질산 및 요오드산으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인,
제조 방법.
- [청구항 14] 제1항에 있어서,
상기 단계 3에서, 상기 반응은 에틸아세테이트, 디클로로메탄, 부틸아세테이트, 트라이클로로메탄, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 1-부탄올, 2-부탄올, 아세톤, 메틸에틸케톤, 메틸tert부틸에테르, 아세토니트릴, 톨루엔, 헵테인, 테트라하이드로퓨란, 3-메틸테트라하이드로퓨란, 1,4-다이옥세인, 메틸이소부틸케톤, 다이메틸폼아마이드(DMF), 다이메틸아세트아마이드(DMAC) 및 다이메틸설폭사이드(DMSO)로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상의 유기 용매 중에서 수행되는,
제조 방법.
- [청구항 15] 제1항에 있어서,
상기 단계 3의 반응은 0 °C 내지 50 °C에서 수행되는,
제조 방법.
- [청구항 16] 제1항에 있어서,
상기 단계 3은 상기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 산과 반응시킨 후, 반응 생성물을 결정화하는 단계를 더 포함하는,
제조 방법.
- [청구항 17] 제1항에 있어서,
상기 단계 4에서, 상기 화학식 1-7로 표시되는 화합물은 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물 1 당량 대비 0.1 내지 10 당량이 사용되는,
제조 방법.

- [청구항 18] 제1항에 있어서,
상기 단계 4의 염기는 탄산칼륨, 수산화나트륨, 수산화리튬, 수산화칼륨, 트리에틸아민, 디이소프로필아민, 디이소프로필에틸아민, 탄산수소나트륨, 탄산수소칼륨, 탄산세슘, 탄산나트륨, 메틸산나트륨 및 부티르산칼륨으로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상인,
제조 방법.
- [청구항 19] 제1항에 있어서,
상기 단계 4의 반응은 -10 °C 내지 50 °C의 온도에서 수행되는,
제조 방법.
- [청구항 20] 제1항에 있어서,
상기 단계 4는 상기 화학식 1-6으로 표시되는 화합물과 하기 화학식 1-7로 표시되는 화합물을 염기의 존재 하에 반응시킨 후, 반응 생성물을 결정화하는 단계를 더 포함하는,
제조 방법.
- [청구항 21] 하기 화학식 1-5로 표시되는 화합물을 중간체로 포함하는,
하기 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조 방법:



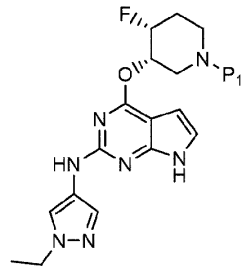
[화학식 1-5]



상기 화학식 1-5에서,
P₁은 보호기를 의미한다.

- [청구항 22] 제21항에 있어서,
P₁은 터트부톡시카보닐(Boc; t-butoxycarbonyl)인,
제조 방법.
- [청구항 23] 하기 화학식 1-5로 표시되는 화합물:

[화학식 1-5]



상기 화학식 1-5에서,
P₁은 보호기를 의미한다.

[청구항 24] 제23항에 있어서,
P₁은 터트부톡시카보닐(Boc; t-butoxycarbonyl)인,
화합물.