



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0040870
(43) 공개일자 2011년04월20일

(51) Int. Cl.

C07D 401/12 (2006.01) *A61K 31/497* (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01) *A61P 25/22* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7002253

(22) 출원일자(국제출원일자) 2009년04월27일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2011년01월28일

(86) 국제출원번호 PCT/US2009/041793

(87) 국제공개번호 WO 2010/014280

국제공개일자 2010년02월04일

(30) 우선권주장

61/085,230 2008년07월31일 미국(US)

(71) 출원인

브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니

미합중국 뉴저지주 08540 프린스턴 루트 206 앤드
프로빈스 라인 로드

(72) 발명자

하츠, 리처드, 에이.

미국 06492 코네티컷주 윌링포드 리서치 파크웨이
5 브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니 내

아후자, 비제이, 티.

미국 06492 코네티컷주 윌링포드 리서치 파크웨이
5 브리스톨-마이어스 스텝 컴퍼니 내

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양영준, 이귀동

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 코르티코트로핀 방출 인자 수용체 활성의 피라지논 조절제

(57) 요약

본 발명은 화합물 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴, 상기 화합물의 제약 조성물, 및 우울증, 불안 관련 장애, 과민성 대장 증후군, 약물 및 알콜 금단의 중독 및 부정적인 국면, 및 CRF와 관련있는 기타 상태를 비롯한 정신과적 장애 및 신경학적 질환의 치료에 상기 화합물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

(72) 발명자

브루들라, 비베카난다, 엠.

미국 06492 코네티컷주 윌링포드 리서치 파크웨이
5 브리스톨-마이언스 스쿼드 컴퍼니 내

브론슨, 조앤, 제이.

미국 06492 코네티컷주 윌링포드 리서치 파크웨이
5 브리스톨-마이언스 스쿼드 컴퍼니 내

특허청구의 범위

청구항 1

화합물 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴, 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 2

치료 유효량의 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴 및 제약상 허용되는 보조제, 담체 또는 희석제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 3

치료 유효량의 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, CRF와 관련있는 정신과적 또는 신경학적 상태의 치료 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상태가 우울증인 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 상태가 불안증 또는 불안 관련 장애인 방법.

청구항 6

제3항에 있어서, 상태가 과민성 대장 증후군인 방법.

청구항 7

제3항에 있어서, 상태가 약물 및 알콜 금단의 중독 또는 부정적인 국면인 방법.

명세서

배경 기술

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2008년 7월 31일자로 출원된 미국 가출원 일련번호 제61/085,230호의 우선권을 주장한다.

[0003] 배경 기술

[0004] 본 발명은 화합물 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴, 상기 화합물의 제약 조성물, 및 우울증, 불안 관련 장애, 과민성 대장 증후군, 약물 및 알콜 금단의 중독 및 부정적인 국면, 및 CRF와 관련있는 기타 상태를 비롯한 정신과적 장애 및 신경학적 질환의 치료에 상기 화합물을 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0005] 41개의 아미노산 펩티드인 코르티코트로핀 방출 인자 (CRF)는 뇌하수체 전엽으로부터의 프로오피오멜라노코르틴 (POMC) 유도된 펩티드 분비의 주요 생리학적 조절제이다 (문헌 [Rivier, J. et al., Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 80: 4851 (1983); Vale, W. et al., Science 213: 1394 (1981)]). 뇌하수체에서의 그의 엔도크린 역할 이외에도, CRF의 면역조직화학적 국재화는 상기 호르몬이 중추신경계에서 광범위한 시상하부의 분포를 가지며 뇌에서 신경전달물질 또는 신경조절물질 역할에 부합하는 자율적인, 전기생리학적 및 행동적 효과의 광범위한 스펙트럼을 유발함을 입증하였다 (문헌 [Vale, W. et al., Rec. Prog. Horm. Res. 39: 245 (1983); Koob, G. F. Persp. Behav. Med. 2: 39 (1985); De Souza, E. B. et al., J. Neurosci. 5: 3189 (1985)]). CRF가 생리학적, 심리학적, 및 면역학적 스트레스 요인에 대한 면역계의 반응을 통합하는 데 있어서 중요한 역할을 한다는 증거가 있다 (문헌 [Blalock, J. E. Physiological Reviews 69: 1 (1989); Morley, J. E. Life Sci. 41: 527

(1987)]).

[0006] CRF의 과발현 또는 저발현은 여러 의학적 장애의 근본적인 원인으로 시사되어 왔다. 이러한 치료가능한 장애에는 정동 장애, 불안증, 우울증, 두통, 과민성 대장 증후군, 외상후 스트레스 장애, 핵상 마비, 면역 억제, 알츠하이머병, 위장관 질환, 신경성 식욕부진 또는 기타 섭식 장애, 약물 중독, 약물 또는 알콜 금단 증후군, 염증성 질환, 심혈관 또는 심장 관련 질환, 임신 문제, 인간 면역결핍 바이러스 감염, 출혈성 스트레스, 비만증, 불임, 두부 및 척수 외상, 간질, 뇌졸중, 폐양, 근위축성 측색 경화증, 저혈당증, 고혈압, 빈맥 및 울혈성 심부전증, 뇌졸중, 골다공증, 조산, 심리사회적 왜소증, 스트레스성 열병, 폐양, 설사, 수술후 장폐색증 및 정신병리학적인 장애 및 스트레스와 관련있는 결장 과민증이 포함된다 (문헌 [McCarthy, J. R.; Heinrichs, S. C.; Grigoriadis, D. E. *Cur. Pharm. Res.* 5: 289-315 (1999); Gilligan, P. J.; Robertson, D. W.; Zaczek, R. *J. Med. Chem.* 43: 1641-1660 (2000), Chrousos, G. P. *Int. J. Obesity*, 24, Suppl. 2, S50-S55 (2000); Webster, E.; Torpy, D. J.; Elenkov, I. J.; Chrousos, G. P. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 840: 21-32 (1998); Newport, D. J.; Nemeroff, C. B. *Curr. Opin. Neurobiology*, 10: 211-218 (2000); Mastorakos, G.; Ilias, I. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 900: 95-106 (2000); Owens, M. J.; Nemeroff, C. B. *Expert Opin. Invest. Drugs* 8: 1849-1858 (1999); Koob, G. F. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 909: 170-185 (2000)] 참조).

[0007] 우울증 (예를 들면, 주요 우울증, 단일 에피소드 우울증, 재발성 우울증, 아동 학대 유도성 우울증, 및 산후 우울증), 기분부전장애, 조울증, 및 순환성 기분장애를 비롯한 정동 장애에서 CRF가 소정의 역할을 한다는 증거가 있다. 주요 우울증을 앓고 있는 사람의 경우에, CRF의 농도는 약물을 투약하지 않은 사람의 뇌척수액 (CSF)에서 상당히 증가한다 (문헌 [Nemeroff, C. B. et al., *Science* 226: 1342 (1984); Banki, C. M. et al., *Am. J. Psychiatry* 144: 873 (1987); France, R. D. et al., *Biol. Psychiatry* 28: 86 (1988); Arato, M. et al., *Biol Psychiatry* 25: 355 (1989)]). 또한, CRF 수용체의 밀도는 CRF의 과다분비와 함께, 자살 사망자의 전두엽에서 상당히 감소한다 (문헌 [Nemeroff, C. B. et al., *Arch. Gen. Psychiatry* 45: 577 (1988)]). 또한, 우울증 환자에게서 관찰되는 CRF (정맥내 투여됨)에 대한 둔화된 아드레노코르티코트로핀 (ACTH) 반응이 있다 (문헌 [Gold, P. W. et al., *Am J. Psychiatry* 141: 619 (1984); Holsboer, F. et al., *Psychoneuroendocrinology* 9: 147 (1984); Gold, P. W. et al., *New Eng. J. Med.* 314: 1129 (1986)]). 래트 및 비-인간 영장류에서의 임상전 연구에 의해 CRF의 과다분비가 인간 우울증에서 보여지는 징후와 관련있을 수 있다는 가설의 추가 증거가 제공되었다 (문헌 [Sapolsky, R. M. *Arch. Gen. Psychiatry* 46: 1047 (1989)]). 트리스클릭 항우울제가 CRF 수준을 조절할 수 있고 따라서 뇌에서의 CRF 수용체 개수를 조절한다는 예비 증거가 있다 (문헌 [Grigoriadis et al., *Neuropsychopharmacology* 2: 53 (1989)]).

[0008] 동반성 우울증이 공존하는 불안증, 공황 장애, 공포 장애, 사회 불안 장애, 강박장애, 외상후 스트레스 장애, 및 비전형 불안 장애를 비롯한 불안증 및 관련 장애의 병인에서 CRF가 소정의 역할을 한다는 증거가 있다 (문헌 [The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 16th edition (1992)]). 정서적 스트레스는 종종 불안 장애에서 촉발 요인이 되고, 이러한 장애는 일반적으로 스트레스에 대한 반응을 경감시키는 약물에 반응한다. 과도한 수준의 CRF는 동물 모델에서 불안발생 효과를 발휘하는 것으로 알려져 있다 (문헌 [Britton, D. R. et al., *Life Sci.* 31: 363 (1982); Berridge, C. W., Dunn, A. J. *Regul. Peptides* 16: 83 (1986); Berridge, C. W.; Dunn, A. J. *Horm. Behav.* 21: 393 (1987)] 참조). CRF는 동물에서의 불안발생 효과 및 벤조디아제핀/비-벤조디아제핀 불안완화제와의 상호작용을 일으키고 또한 CRF는 다양한 행동 불안증 모델에서 입증되었다 (문헌 [Britton, D. R. et al., *Life Sci.* 31: 363 (1982); Berridge, C. W., Dunn, A. J. *Regul. Peptides* 16: 83 (1986)]). 다양한 행동 패러다임에서 추정상의 CRF 수용체 길항제 α -나선 양 CRF (9-41)를 사용하는 예비 연구는 상기 길항제가 벤조디아제핀과 질적으로 유사한 "불안완화제 유사" 효과를 발휘함을 입증하였다 (문헌 [Berridge, C. W.; Dunn, A. J. *Horm. Behav.* 21: 393 (1987), Dunn, A. J.; Berridge, C. W. *Brain Research Reviews* 15: 71 (1990)]).

[0009] 신경화합물질, 엔도크린, 및 수용체 결합 연구는 모두 CRF와 벤조디아제핀 불안완화제 사이의 상호작용을 입증하였고, 상기 장애에 CRF가 관여한다는 추가 증거를 제공하였다. 클로르디아제폭시드는 래트의 갈등 검사 (문헌 [Britton, K. T. et al. *Psychopharmacology* 86: 170 (1985); Britton, K. T. et al. *Psychopharmacology* 94: 306 (1988)]) 및 청각 놀람반응 검사 (문헌 [Swerdlow, N. R. et al. *Psychopharmacology* 88: 147 (1986)]) 모두에서 CRF의 "불안발생" 효과를 약화시킨다. 조작적 갈등 검사에서만 행동적 활동이 없었던, 벤조디아제핀 수용체 길항제 (Ro15-1788)는 투여량 의존성 방식으로 CRF의 효과를 역전시켰고 반면 벤조디아제핀 역효능제 (FG7142)는 CRF의 작용을 증대시켰다 (문헌 [Britton, K. T. et al. *Psychopharmacology* 94: 306 (1988)]). 다양한 행동 패러다임에서 CRF 수용체 길항제 (α -나선 CRF9-41)의 효과를 시험하는 예비 연구가,

CRF 길항제가 벤조디아제핀과 질적으로 유사한 "불안완화제 유사" 효과를 발휘함을 입증하였다는 것이 특히 흥미롭다 (문헌 [G.F. Koob and K.T. Britton, In: Corticotropin-Releasing Factor: Basic and Clinical Studies of a Neuropeptide, E.B. De Souza and C.B. Nemeroff eds., CRC Press p 221 (1990)] 참조).

[0010] HPA-축 조절 이외에도, CRF는 장관-뇌 축의 핵심 조절제인 것으로 생각된다. CRF가 과민성 대장 증후군 (IBS), 수술후 장폐색증, 및 정신병리학적 장애 및 스트레스와 관련있는 결장 과민증과 같은 스트레스 관련 위장관 장애 (문헌 [Gabry, K. E. et al. Molecular Psychiatry 7(5): 474-483 (2002)])의 증세에서 소정의 역할을 할 수 있음을 나타내는 증거가 있다 (문헌 [E.D. DeSouza, C.B. Nemeroff, Editors; Corticotropin-Releasing Factor: Basic and Clinical Studies of a Neuropeptide, E.B. De Souza and C.B. Nemeroff eds., CRC Press p 221 (1990) and Mailliot, C. et al. Gastroenterology, 119: 1569-1579 (2000); Fukudo, S. J. Gastroenterol. 42(Suppl XVII): 48 (2007); Tache, Y.; Bonaz, B. J. Clin. Invest. 117: 33 (2007)] 참조). 래트에서 CRF₁ 길항제 JTC-017의 복강내 투여는 만성 결장 팽창에의 노출에 의해 유도되는 배설물 배출량 증가를 차단함이 입증되었다 (문헌 [Saito, K. et al. Gastroenterol., 129: 1533 (2005)]). 또한, JTC-017은 급성 결장 팽창에의 노출 후에 보여지는 불안 관련 행동을 약화시켰다. 래트에서의 CRF-자극 결장 운동성은 또한 CRF_{1/2} 펩티드 길항제 아스트레신의 중심정맥 투여에 의해 약화되었다 (문헌 [Tsukamoto, K. et al. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 290: R1537 (2006)]). 건강한 인간에게서, CRF의 정맥내 투여는 직장 과민증을 일으키고 IBS 환자에게 특징적인 스트레스성 내장 반응을 모방하는 것으로 나타났다 (문헌 [Nozu, T.; Kudaira, M. J. Gastroenterol. 41: 740 (2006)]). 이들 데이터는 CRF 길항제가 IBS의 치료에 유용할 수 있음을 시사한다.

[0011] CRF₁의 길항제는 약물 금단의 중독 및 부정적인 국면에 대한 치료법으로서 사용하는 것에 대해 조사되었다 (문헌 [Steckler, T.; Dautzenberg, F. M. CNS Neurol. Disord. Drug Targets 5: 147 (2006)]). 니코틴, 코카인, 아편제, 및 알콜 금단은 종종 부정적 정서 상태 및 불안 수준의 상승을 유도한다. 이러한 원치않는 효과는 때로는 약물의 자가 투여 증가에 의해 해소될 수 있고, 이는 중독 상태로의 재발을 유도한다. 외부 스트레스 요인 역시 종종 남용 재발을 유도할 수 있다.

[0012] CRF 수용체 길항제는 니코틴 금단의 부정적인 정서적 국면의 치료에 유용할 수 있다. 니코틴 의존성 래트의 CRF_{1/2} 펩티드 길항제 D-Phe CRF₍₁₂₋₄₁₎로의 예비치료는 니코틴 금단과 관련있는 뇌 보상 역치의 상승을 방지하는 것으로 나타났다 (문헌 [Brujinzeel, A. W. et al. Neuropsychopharmacol. 32: 955 (2007)]). D-Phe CRF₍₁₂₋₄₁₎은 또한 래트에서 니코틴 추구 행동의 스트레스성 복귀를 감소시킨다 (문헌 [Zislis, G. et al. Neuropharmacol. 53: 958 (2007)]). 또한, 종종 니코틴 의존성과 함께 나타나는, 절제 기간 후의 니코틴 섭취 증가는 CRF₁ 길항제 MPZP로의 예비치료에 의해 래트에서 차단될 수 있다 (문헌 [Specio, S. E. et al. Psychopharmacol. 196: 473 (2008); George, O. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104: 17198 (2007)]).

[0013] 동물 연구에서의 증거는 또한 코카인 및 모르핀 금단 효과 및 재발이 CRF 수용체의 안타고니즘에 의해 약화될 수 있음을 시사한다. CRF₁ 길항제 CP-154,526은 다람쥐 원숭이의 코카인 추구 행동의 스피라돌린 유도성 복귀 (문헌 [Valdez, G. R. et al. J. Pharm. Exp. Ther. 323: 525 (2007)]) 및 래트의 메탐페타민 추구 행동의 신호 유도성 복귀 (문헌 [Moffett, M. C. et al. Psychopharmacol. 190: 171 (2007)])를 약화시키는 것으로 나타났다. 금단의 촉발 전에 CRF₁ 길항제 R121919로 예비치료한 로라제팜 의존성 래트 (문헌 [Holsboer, F. et al. Eur. J. Pharmacol. 583: 350 (2008)])는 방어적 금단 모델에서 HPA 축 활성화 감소 및 불안증 행동 감소를 나타냈다 (문헌 [Skelton, K. H. et al. Psychopharmacol. 192: 385 (2007)]). R121919는 유사하게 촉발된 모르핀 금단의 경중도 및 금단 유도성 HPA 축 활성화를 약화시킬 수 있었다 (문헌 [Skelton, K. H. et al. Eur. J. Pharmacol. 571: 17 (2007)]). 자가 투여 동안의 아편제 노출량 및 절제 기간이 재발에 영향을 미칠 수 있다. 보다 장시간 (1일 6시간) 동안 코카인을 자가 투여하도록 둔 래트는 보다 단시간 (1일 2시간) 동안 자가 투여하도록 둔 래트보다 코카인, 족부 전기 충격, 또는 투여된 CRF에 의한 복귀 가능성이 더 컸다 (문헌 [Mantsch, J. R. et al. Psychopharmacol. 195: 591 (2008)]). 또다른 연구에서, CRF₁ 길항제 MPZP 및 안타라르민은 연장된 1일 코카인 접근을 갖는 래트에서 코카인 자가 투여를 감소시키는 것으로 나타났다 (문헌 [Specio, S. E. Psychopharmacol. 196: 473 (2008)]).

[0014] CRF₁ 길항제가 에탄올 의존증에서 보여지는 부정적인 정서적 국면, 과도한 음주, 및 스트레스성 재발의 차단에 도움을 줄 수 있음을 시사하는 증거가 있다 (문헌 [Heilig, M. et al. Trends Neurosci. 30: 399 (2007)]).

에탄올 의존성 야생형 마우스는 금단 동안 뿐만 아니라, 절제 기간 이후에도 에탄올 자가 투여의 증가를 나타냈다 (문헌 [Chu, K. G. F. Pharmacol. Biochem. Behav. 86: 813 (2007)]). 이러한 효과는 CRF₁ 길항제 안타라르민의 투여에 의해 역전되었다. CRF₁ 녹아웃 (KO) 마우스는 이러한 자가 투여 증가 경향을 보이지 않았다. CRF₁ 길항제 R121919 또는 안타라르민으로의 치료시에, 에탄올 의존성 래트는 금성 금단 동안에 과도한 에탄올 자가 투여의 감소를 나타냈다 (문헌 [Funk, C. K. et al. Biol. Psychiatry 61: 78 (2007)]). 그러나, 상기 CRF₁ 길항제로 치료한 비의존성 래트는 에탄올 자가 투여에 대해 어떤 영향도 나타내지 않았다. 마찬가지로, CRF₁ 길항제 MPZP는 의존성 래트에서 금성 금단 동안에 과도한 에탄올 자가 투여를 선택적으로 감소시켰다 (문헌 [Richardson, H. N. et al. Pharmacol. Biochem. Behav. 88: 497 (2008)]). 또다른 연구에서, 신규 CRF₁ 길항제는 의존성 래트에서 스트레스에 의해 유도된 과도한 에탄올 자가 투여를 선택적으로 감소시켰다 (문헌 [Gehlert, D. R. et al. J. Neurosci. 27: 2718 (2007)]). 상기 연구들은 CRF₁ 수용체의 안타고니즘이 기본 자가 투여 수준에 영향을 미치지 않으면서 과도한 에탄올 자가 투여를 선택적으로 차단할 수 있음을 입증한다. 이는 CRF₁ 길항제가 알콜 의존증의 치료에 유용할 수 있음을 시사한다.

[0015] 또한 CRF가 스트레스로 인한 심혈관 또는 심장 관련 질환, 예컨대 고혈압, 빈맥 및 울혈성 심부전증, 뇌졸중에서 소정의 역할을 한다는 가정도 있다 (울혈성 심부전증을 치료하기 위한 CRF₁ 길항제의 사용 방법은, 1999년 2월 10일자로 출원된 미국 특허 출원 제09/248,073호 (현재는 미국 특허 제6,043,260호 (2000년 3월 28일))에 개시되어 있음).

[0016] 또한 CRF₁ 길항제가 관절염 및 염증 장애의 치료에 유용함이 시사되었다 (문헌 [Webster, E. L. et al. J. Rheumatol. 29(6): 1252-61 (2002); Murphy, E. P. et al. Arthritis Rheum. 44(4): 782-93 (2001)]).

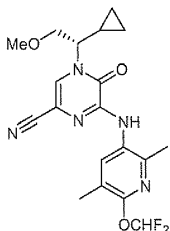
[0017] 또한 CRF₁ 길항제가 피부 장애에 유용함이 시사되었다 (문헌 [Zouboulis, C. C. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 99: 7148-7153 (2002)]). 만성 접촉성 피부염의 스트레스성 악화는 동물 모델에서 선택적 CRF₁ 길항제에 의해 차단되었고, 이는 CRF₁이 만성 접촉성 피부염의 스트레스성 악화에 관여하고 또한 CRF₁ 길항제가 상기 장애의 치료에 유용할 수 있음을 시사한다 (문헌 [Kaneko, K. et al. Exp. Dermatol. 12(1): 47-52 (2003)]).

[0018] CRF₁ 길항제가 모발 성장 자극인자로서 유용할 수 있음이 연구에 의해 입증되었다 (WO 2002/19975호에 KBM-2 세포 생산의 자극에 CRF 길항제를 사용하는 것에 대한 세포 배양 검정이 개시되어 있음). 따라서, CRF 길항제는 탈모 치료에 유용할 수 있다.

발명의 내용

[0019] 본 발명은 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보닐 (화합물 I) 및 CRF의 비정상적인 수준과 관련있는 의학적 상태를 갖고 있는 환자에서 CRF를 조절하기 위한 방법 및 제약 조성물을 포함한다.

[0020] <화학식 I>



[0021]

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 본 발명은 상기 화합물의 모든 제약상 허용되는 염 형태를 포함한다. 제약상 허용되는 염은, 반대이온이 화합물의 생리학적 활성 또는 독성 및 약리학적 등가의 기능에 유의하게 기여하지 않는 것이다. 이러한 염은 시판 시약을 사용하여 통상의 유기 기법에 따라 제조할 수 있다. 몇몇 음이온 염 형태는 아세테이트, 아시스트레이트, 베실레이트, 브로마이드, 클로라이드, 시트레이트, 푸마레이트, 글루코우로네이트, 히드로브로마이드, 히드

로클로라이드, 히드로요오다이드, 요오다이드, 락테이트, 말레이트, 메실레이트, 니트레이트, 파모에이트, 포스페이트, 숙시네이트, 술페이트, 타르트레이트, 토실레이트, 및 크시노포에이트를 포함한다. 몇몇 양이온 염 형태는 암모늄, 알루미늄, 벤자틴, 비스무트, 칼슘, 콜린, 디에틸아민, 디에탄올아민, 리튬, 마그네슘, 메글루민, 4-페닐시클로헥실아민, 피페라진, 칼륨, 나트륨, 트로메타민, 및 아연을 포함한다.

[0023] 화합물 I이 비대칭 탄소 원자를 갖고 있기 때문에, 본 발명은 본원에 개시된, 화합물 I의 라세미체 및 개개의 거울상이성질체 형태, 및 키랄 및 라세미 중간체를 포함한다. (R) 또는 (S)와 같은 단일 명칭의 사용은 주로 하나의 입체이성질체를 포함시키기 위한 것이다. 이성질체의 혼합물은 당분야에 공지된 방법에 따라 개개의 이성질체로 분리가능하다.

[0024] "치료법", "요법", "치료계획" 및 관련 용어들은 당분야에서 의료 종사자들이 이해하고 있는 바와 같이 사용된다.

[0025] "치료적으로 유효한"이란 당분야에서 의료 종사자들이 이해하고 있는 바와 같이 의미있는 환자 이점을 제공하는 데 필요한 제제의 양을 의미한다. 단독 투여되는, 개개의 활성 성분은 적용되는 경우에, 상기 용어는 단독의 그 성분을 가리킨다. 조합물에 적용되는 경우에, 상기 용어는, 조합되어, 연속으로 투여되든지 또는 동시에 투여되든지, 치료 효과를 초래하는 활성 성분의 조합된 양을 가리킨다.

[0026] "환자"란 당분야에서 의료 종사자들이 이해하고 있는 바와 같이 요법에 적합한 사람을 의미한다.

[0027] 합성 방법

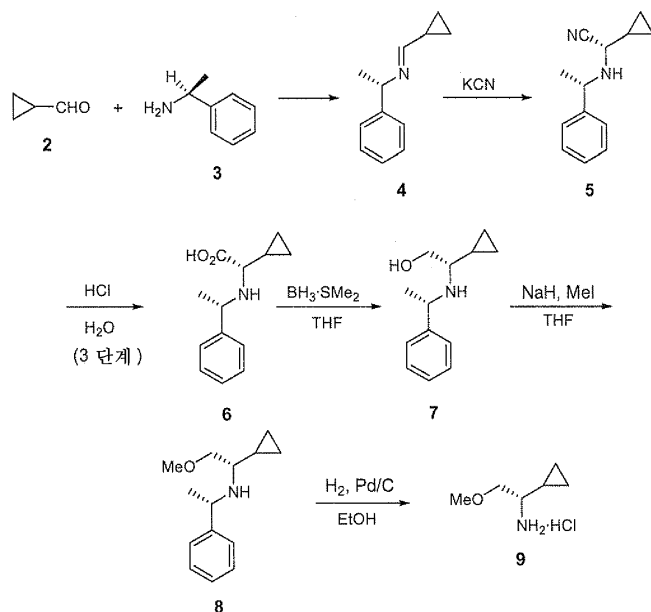
[0028] 화합물 I은 반응식 1 내지 8에 개시된 것들을 포함하는 당분야에서 공지된 방법에 의해 제조가능하다. 당업자에게 자명한 합성 방법과 함께, 개시된 방법의 적절한 변형을 본 발명의 범위 내에 포함시키고자 한다.

[0029] 반응식에서 사용된 약어는 일반적으로 당분야에서 사용되는 관례를 따른다. 본 명세서 및 실시예에서 사용되는 화학 약어는 다음과 같이 정의된다: "NaHMDs": 나트륨 비스(트리메틸실릴)아미드; "DMF": N,N-디메틸포름아미드; "MeOH": 메탄올; "NBS": N-브로모숙신이미드; "Ar": 아릴; "TFA": 트리플루오로아세트산; "LAH": 리튬 알루미늄 하이드라이드; "BOC", "DMSO": 디메틸설폭사이드; "h": 시간; "rt": 실온 또는 체류 시간 (명세서에 명시될 것임); "min": 분; "EtOAc": 에틸 아세테이트; "THF": 테트라히드로푸란; "EDTA": 에틸렌디아민테트라아세트산; "Et₂O": 디에틸 에테르; "DMAP": 4-디메틸아미노피리딘; "DCE": 1,2-디클로로에탄; "ACN": 아세토니트릴; "DME": 1,2-디메톡시에탄; "HOBt": 1-히드록시벤조트리아졸 수화물; "DIEA": 디이소프로필에틸아민; "Nf": CF₃(CF₂)₃SO₂-; 및 "TMOF": 트리메틸오르토포르메이트.

[0030] (S)-아민 (9)의 합성을 위한 두 경로가 반응식 1 및 2에 도시되어 있다. 경로 A (반응식 1)에서, 아민에서의 (S)-키랄 중심은 시아나이드의 키랄 이민 (4)로의 부분입체이성질체 선택적 첨가를 포함하는 스트레커 (Strecker) 합성에 의해 정해질 수 있다 (Bayston, D.J.; Griffin, J.L.W.; Gruman, A.; Polywka, M.E.C.; Scott, R.M. 미국 특허 제6191306호). 이민 (4)는 시판 키랄 아민 (3)으로부터 유도될 수 있다. 경로 B에서, 키랄 아민은 키랄 크로마토그래피 분리에 의해 라세미 중간체 (13)으로부터 수득가능하다.

[0031] 경로 A는 시판 시클로프로판 카르복스알데히드 (2) 및 (S)-1-페네틸 아민 (3)의 축합으로 시작되며 키랄 이민 (4)을 제공할 수 있다. 동일계 내에서 칼륨 시아나이드로 처리한 후, 산성 조건하에서 중간체 α-아미노 니트릴 (5)의 가수분해에 의해 산 (6)을 생성할 수 있다. (6)의 보란 환원은 알콜 (7)을 제공할 수 있고, 이것을 나트륨 하이드라이드 및 메틸 요오다이드로 처리함으로써 메틸화시켜 에테르 (8)을 76% 수율로 제공할 수 있다. 벤질기의 환원성 분해는 핵심 키랄 아민 (9)를 생성할 수 있다.

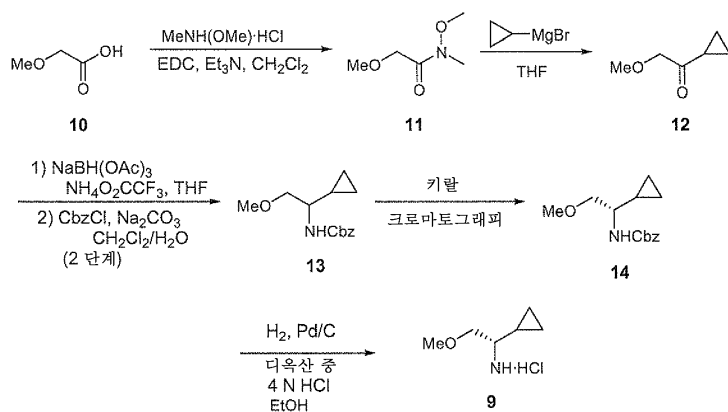
[0032] <반응식 1>



[0033]

[0034] (S)-아민 (9)로의 경로 B는 시판 α -메톡시산 (10)의 아마이드 (11)로의 전환으로 시작된 후에, 시클로프로필 그리냐드(Grignard)의 첨가에 의해 케톤 (12)를 제공할 수 있다. 환원성 아미노화 후에, (벤질옥시)카르바메이트로서 아민의 보호는 라세미 중간체 (13)을 제공할 수 있다. 크로마토그래피에 의한 거울상이성질체의 분리로 단일 거울상이성질체 (14)를 생성할 수 있다. 산성 조건하의 탈보호는 (S)-아민 (9)를 제공할 수 있다.

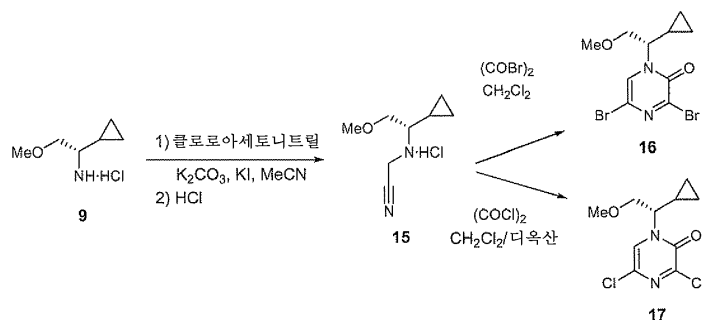
[0035] <반응식 2>



[0036]

[0037] 디브로모피라진 (16) 및 디클로로피라진 (17)의 합성은 반응식 3에 약술되어 있다. 아민 (9)의 클로로아세토니트릴에 의한 알킬화는 α -아미노 니트릴 (15)를 제공할 수 있다. 디브로모피라진은 고리 형성은 니트릴을 과량의 옥살릴 브로마이드로 처리함으로써 실시되어 (16)을 제공할 수 있다. 별법으로, 니트릴 (15)를 옥살릴 클로라이드로 처리함으로써 디클로로피라진 (17)을 제공할 수 있다 (문헌 [Vekemans, J.; Pollers-Wieërs, C.; Hoornaert, G. J. Heterocycl. Chem. 20: 919-923 (1983)]).

[0038] <반응식 3>

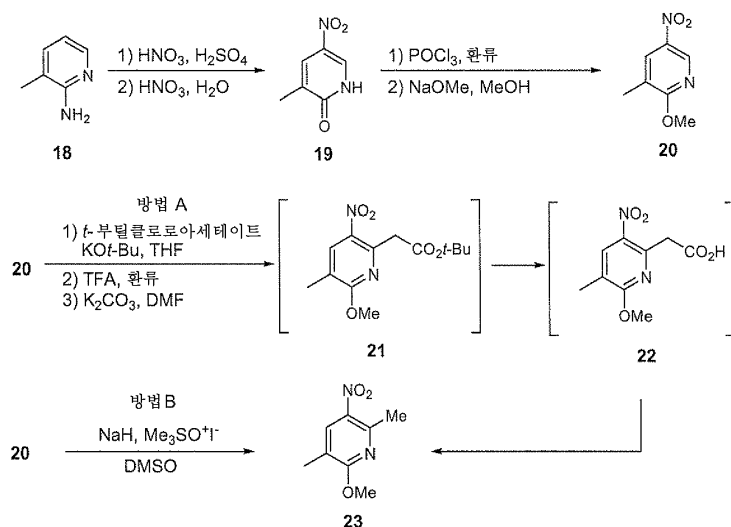


[0039]

[0040]

피리딜 아민 단편 (26)의 합성은 반응식 4 및 5에 도시되어 있다. 시판 2-아미노-3-메틸피리딘 (18)을 호킨스 (Hawkins) 및 로(Roe)의 2단계 원 포트(one pot) 방법 (문헌 [Hawkins, G. F.; Roe, A. J. Org. Chem. 14: 328-332 (1949)])의 변형을 사용하여 질산 및 황산으로 처리함으로써 니트로화시켜 피리돈 (19)를 제공할 수 있다. 메톡시피리딘 (20)으로의 전환은 (19)를 POCl₃로 처리함으로써 시작한 후에 메탄올첨가분해하는 2단계 방법으로 고수율로 달성가능하다. 6-메틸 치환기의 첨가는, 둘다 니트로피리딘 (20)의 6번 위치에서의 간접적인 친핵성 방향족 치환을 포함하는 2가지 상이한 방법을 통해 달성가능하다. 방법 A는 t-부틸 클로로아세테이트의 음이온을 생성한 후, 생성된 에스테르 (21)의 가수분해에 의해 산 (22)를 제공하는 것을 포함한다. 탈카르복실화는 DMF 중 염기성 조건하에서 가열함으로써 실시되어 6-메틸피리딘 (23)을 제공할 수 있다. 별법으로 방법 B에서, 6-메틸기는 (20)을 트리메틸술폰소늄 요오다이드로 처리함으로써 직접 첨가될 수 있다.

[0041] <반응식 4>

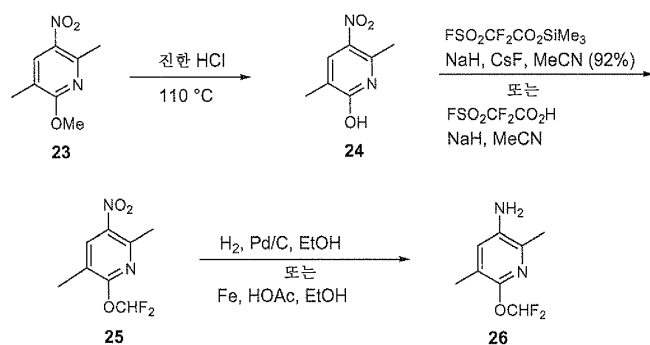


[0042]

[0043]

피리딜 아민 (26)의 합성 완료는 1 내지 2시간 동안 산성 조건하에서 (23)을 가열함으로써 시작되어 피리돈 (24)를 제공할 수 있다. 디플루오로메틸 에테르 (25)는, 예를 들어 2-플루오로술폰닐디플루오로아세테이트의 실릴 에스테르 (문헌 [Dolbier, W. R.; Tian, F.; Duan, J. X.; Chen, Q. Y. Org. Synth. 2003, 80, 172-176; Dolbier, W. R.; Tian, F.; Duan, J. X.; Li, A.; Ait-Mohand, S.; Bautista, O.; Buathong, S.; Baker, J. M.; Crawford, J.; Anselme, P.; Cai, X. H.; Modzelewska, A.; Koroniak, H.; Battiste, M. A.; Chen, Q. Y. J. Fluorine Chem. 2004, 125, 459-469; Cai, X.; Zhai, Y.; Ghiviriga, I.; Abboud, K. A.; Dolbier, W. R. J. Org. Chem. 2004, 69, 4210-4215]) 또는 2-플루오로술폰닐디플루오로아세트산 (문헌 [Chen, Q. Y.; Wu, S. W. J. Fluorine Chem. 1989, 44, 433-440])을 사용하여 (24)를 디플루오로카르벤으로 선택적 O-알킬화함으로써 제조할 수 있다. 피리딜 아민 (26)으로의 최종 전환은 수소화에 의해 달성될 수 있다.

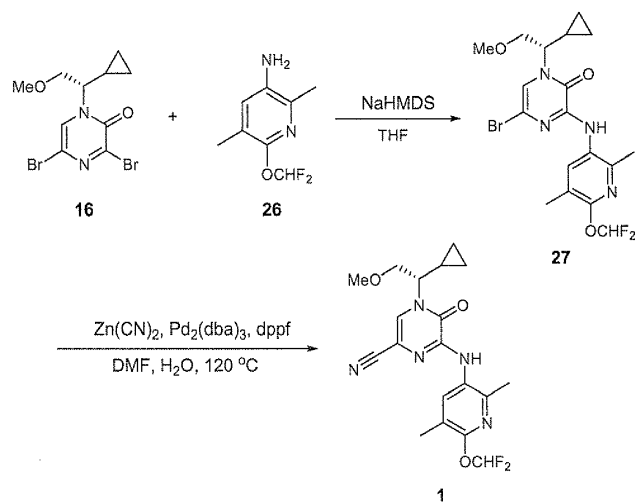
[0044] <반응식 5>



[0045]

[0046] (1)의 합성 완료는 반응식 6에 도시되어 있다. 디브로모피라지논 (16)의 피리딜 아민 (26)과의 커플링이 NaHMDS의 존재하에 달성되어 화합물 (26)을 제공할 수 있다. DMF 중 (27)의 아연 시아나이드와의 팔라듐 매개 커플링이 시아노피라지논 (1)을 제공할 수 있다 (문헌 [Maligres, P. E.; Waters, M. S.; Fleitz, F.; Askin, D. Tetrahedron Lett. 40: 8193-8195 (1999)]).

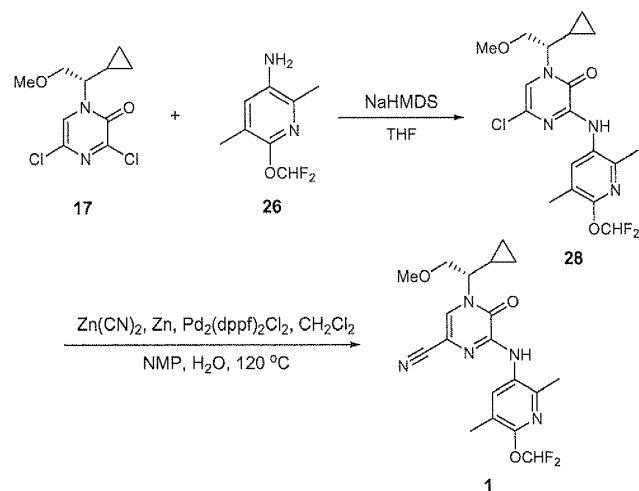
[0047] <반응식 6>



[0048]

[0049] 클로로피라지논 (28)로부터 시아노피라지논 (1)을 합성하는 것은 또한 아연 시아나이드 및 팔라듐 촉매작용을 사용하여 실시할 수 있다.

[0050] <반응식 7>



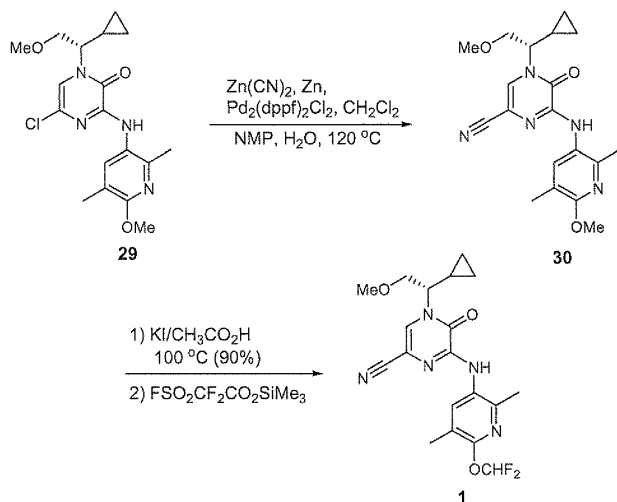
[0051]

[0052]

별법으로, 클로로피라지논 (29)는 팔라듐 촉매작용하에 아연 시아나이드에 의해 시아노피라지논 (1)로 전환되어 5-시아노피라지논 (30)을 제공할 수 있다. 메톡시피리딘 잔기의 탈메틸화는 아세트산 중 칼륨 요오다이드로 처리함으로써 실시할 수 있다. 그 후에 피리디논을 2-플루오로술포닐디플루오로아세트산의 트리메틸실릴 에스테르로 선택적 0-알킬화함으로써 시아노피라지논 (1)을 제공할 수 있다.

[0053]

<반응식 8>



[0054]

[0055]

생물학적 방법

[0056]

CRF₁ 결합 검정. 냉동된 래트 전두엽을, 50 mM Hepes (pH 7.0, 23°C), 10 mM MgCl₂, 2 mM EGTA, 1 µg/ml 아프로티닌, 1 µg/ml 류펩틴, 1 µg/ml 펩스타틴 A, 0.005% 트리톤(Triton) X-100, 10 U/ml 바시트라신 및 0.1% 오발부민을 함유하는 검정 완충액 중에서 급속 해동시켜 균질화하였다. 현탁액을 32000 x g에서 30분 동안 원심분리하였다. 생성 상청액을 버리고 펠렛을 검정 완충액 중에서의 균질화에 의해 재현탁시키고 다시 원심분리하였다. 상청액을 버리고 펠렛을 검정 완충액 중에서의 균질화에 의해 재현탁시키고 -70°C에서 냉동시켰다. 실험 당일에 균질 현탁액의 분취물을 급속 해동시켜 25 µg/웰을 전체 부피 100 µl의 검정 완충액 중의 150 pM ¹²⁵I-양-CRF (¹²⁵I-o-CRF) 및 약물에 첨가하였다. 검정 혼합물을 2시간 동안 21°C에서 인큐베이션하였다. 이어서 결합 및 비결합 방사성 리간드를 브란델(Brandel) 세포 채집기 상에서 유리 섬유 필터 (화트만(Whatman) GF/B, 0.3% PEI (폴리에틸렌아민)으로 전처리)를 사용하는 급속 여과에 의해 분리하였다. 그 후에 필터를 빙냉 세척 완충액 (Ca²⁺ 및 Mg²⁺ 무함유 PBS, 0.01% 트리톤 X-100; pH 7.0, 23°C)으로 여러번 세척하였다. 비특이적 결합을 1 µM DMP696 (CRF₁ 선택적 길항제)을 사용하여 규정하였다 (문헌 [Li, Y-W. et al., CNS Drug Reviews 11: 21-52, (2005)]). 이어서 필터를 왈락 위자드 감마 카운터(Wallac Wizard gamma counter)에서 카운팅하였다. IC₅₀ 값을 5지점 (5개의 약물 농도) 또는 10지점 (10개의 약물 농도) 경쟁적 검정에서 마이크로소프트 엑셀 피트(Microsoft Excel-fit)에 의한 비선형 회귀법을 사용하여 측정하였다.

[0057]

CRF₂ 결합 검정. 냉동된 돼지 맥락충을, 50 mM Hepes (pH 7.0, 23°C), 10 mM MgCl₂, 2 mM EGTA, 1 µg/ml 아프로티닌, 1 µg/ml 류펩틴, 1 µg/ml 펩스타틴 A, 0.005% 트리톤 X-100, 10 U/ml 바시트라신 및 0.1% 오발부민을 함유하는 검정 완충액 중에서 급속 해동시켜 균질화하였다. 현탁액을 32000 x g에서 30분 동안 원심분리하였다. 생성 상청액을 버리고 펠렛을 검정 완충액 중에서의 균질화에 의해 재현탁시키고 다시 원심분리하였다. 상청액을 버리고 펠렛을 검정 완충액 중에서의 균질화에 의해 재현탁시키고 -70°C에서 냉동시켰다. 실험 당일에 균질 현탁액의 분취물을 급속 해동시켜 10 µg/웰을 전체 부피 100 µl의 검정 완충액 중의 100 pM ¹²⁵I-소바진(sauvagine) 및 약물에 첨가하였다. 검정 혼합물을 2시간 동안 21°C에서 인큐베이션하였다. 이어서 결합 및 비결합 방사성 리간드를 브란델 세포 채집기 상에서 유리 섬유 필터 (화트만 GF/B, 0.3% PEI로 전처리)를 사용하는 급속 여과에 의해 분리하였다. 그 후에 필터를 빙냉 세척 완충액 (Ca²⁺ 및 Mg²⁺ 무함유 PBS, 0.01% 트리톤 X-100 (pH 7.0, 23°C))으로 여러번 세척하였다. 비특이적 결합을 1 µM α-나선 CRF (9-41)을 사용하여 규정하였다. 이어서 필터를 왈락 위자드 감마 카운터에서 카운팅하였다. IC₅₀ 값을 5지점 (5개의 약물 농도) 경쟁적

검정에서 마이크로소프트 엑셀 피트에 의한 비선형 회귀법을 사용하여 측정하였다.

[0058] hCRF₁ 결합 검정. 인간 CRF₁ 수용체를 음성 발현하는 인간 망막모세포종 세포주인 Y79 세포를 사용하여 결합을 위한 막을 생산하였다 (문헌 [Hauger, R., et al., Journal of Neurochemistry 68: 2308-2316, (1997)]). 간략하게 말하면, 세포를 성장시키고 수집한 후에 펠렛을 50 mM Hepes (pH 7.0, 23°C), 10 mM MgCl₂, 2 mM EGTA, 1 µg/ml 아프로티닌, 1 µg/ml 류팍틴, 1 µg/ml 펄스타틴 A, 0.005% 트리톤 X-100, 10 U/ml 바시트라신 및 0.1% 오발부민을 함유하는 검정 완충액 중에서 균질화하였다. 현탁액을 32000 x g에서 30분 동안 원심분리하였다. 생성 상청액을 버리고 펠렛을 검정 완충액 중에서의 균질화에 의해 재현탁시키고 다시 원심분리하였다. 상청액을 버리고 펠렛을 검정 완충액 중에서의 균질화에 의해 재현탁시키고 분취물을 -70°C에서 냉동시켰다. 실험 당일에 분취물을 급속 해동시켜 25 µg/웰을 전체 부피 100 µl의 검정 완충액 중의 150 pM ¹²⁵I-양-CRF 및 약물에 첨가하였다. 검정 혼합물을 2시간 동안 21°C에서 인큐베이션하였다. 이어서 결합 및 비결합 방사성 리간드를 브란델 세포 채집기 상에서 유리 섬유 필터 (화트만 GF/B, 0.3% PEI로 전처리)를 사용하는 급속 여과에 의해 분리하였다. 그 후에 필터를 빙냉 세척 완충액 (Ca²⁺ 및 Mg²⁺ 무함유 PBS, 0.01% 트리톤 X-100 (pH 7.0, 23°C))으로 여러번 세척하였다. 비특이적 결합을 1 µM DMP696을 사용하여 규정하였다. 이어서 필터를 왈락 위자드 감마 카운터에서 카운팅하였다. IC₅₀ 값을 5지점 (5개의 약물 농도) 경쟁적 검정에서 마이크로소프트 엑셀 피트에 의한 비선형 회귀법을 사용하여 측정하였다.

[0059] 결합 결과. CRF₁ 수용체에서 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴의 결합 능력 (IC₅₀ 값)을 측정하기 위한 1차 스크린은 표지된 펄티드 리간드로서 ¹²⁵I-o-CRF를 사용하고 수용체 공급원으로서 래트 전두엽 막을 사용하는 경쟁적 결합 실험이었다. (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴은 0.86 ± 0.04 nM의 IC₅₀ (n=10) 및 0.94 ± 0.03의 힐 경사도(Hill Slope) (n=10)를 나타내면서 래트 전두엽 막에의 ¹²⁵I-o-CRF 결합을 강력하게 그리고 완전히 억제하였다. 이러한 결과는 5지점 및 10지점 경쟁적 결합 검정 둘다에 포함된다. 비교하기 위해 널리 특성화된 선택적 소분자 CRF₁ 길항제인 DMP696을 또한 시험하였고 1.39 ± 0.09 nM의 IC₅₀ (n=10) 및 1.00 ± 0.02의 힐 경사도 (n=10)를 나타냈다. (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴은 또한 인간 망막모세포종 세포주 Y79 상에 존재하는 네이티브 CRF₁ 수용체에 높은 친화도로 결합하였다. (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴은 1.81 ± 0.46 nM의 IC₅₀ (n=3)을 나타내면서 Y79 막에의 ¹²⁵I-o-CRF 결합을 강력하게 그리고 완전히 억제하였다. 비교하기 위해 DMP696을 또한 시험하였고 1.71 ± 0.53 nM의 IC₅₀ (n=3)을 나타냈다. CRF₁ 수용체에 대한 높은 친화도와 달리, (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴은 돼지 맥락총 막에서 발현된 CRF₂ 수용체에 대하여 친화성이 거의 없거나 또는 전혀 없었다. α-나선 CRF (CRF₁ 및 CRF₂ 수용체의 절단형 고친화도 길항제)는 돼지 맥락총 막 상에서 내생적으로 발현된 CRF₂ 수용체에 높은 친화도로 결합하는 반면 (IC₅₀ = 25.7 ± 2.9 nM, n=3), (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴은 10,000 nM 초과의 IC₅₀ (n=3)을 나타냈다.

[0060] 래트에서의 상황적 불안 행동 연구. (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴을 그의 불안완화 능력을 평가하기 위해 상황적 불안 모델에서 평가하였다. 상기 모델에서, 래트를 익숙하지 않은 개방 공간에 위치하는 작은 암실 챔버에 넣었다. 비히클 처치 래트는 고조된 불안 상태에 따라, 챔버 내에서 대부분의 시간을 보냈다 (문헌 [Takahashi L. K. et al., Behav. Neurosci. 103: 648-654, (1989)]). 상기 모델은 클로르디아제폭시드와 같은 벤조디아제핀을 비롯한 불안완화제에 대해서 감수성이 있었다 (문헌 [Yang X-M. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 255: 1064-1070, (1990)]). 또한, DMP696 및 DMP904와 같은 이전의 CRF₁ 길항제 (문헌 [McElroy J. F. et al., Psychopharmacology 165: 86-92, (2002); Lelas S. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 309: 293-302, (2004)])도 상기 모델에서 효과적이었다. (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-

디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴의 효과를 상기 모델에서 불안완화제 표준 클로르디아제폭시드 (리브리움(Librium)[®]) 및 디아제팜 (발륨(Valium)[®])의 효과와 비교하였다. 체중이 180 내지 300 g인 수컷 스프래그-돌리(Sprague-Dawley) 래트를 찰스 리버 래보라토리즈(Charles River Laboratories; 미국 매사추세츠주 윌밍톤 소재)로부터 구입하였다. 래트를 일정한 온도 ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$) 및 습도 ($50 \pm 10\%$)에서 유지된 집단실에서 지지 철망 우리에 개별적으로 수용시켰다. 상기 집단실에 하루 12시간 조명을 비추었다. 연구 기간 동안 래트의 사료와 물은 자유급이하였다. 행동 연구는 0600시간과 1300시간 사이에 수행하였다. 동물들은 브리스톨-마이어드 스쿼프 컴퍼니(Bristol-Myers Squibb Company) 동물실험윤리위원회 (Animal Care and Use Committee)의 지침, "실험 동물의 관리 및 사용 지침(Guide for Care and Use of Laboratory Animals)" (인스티튜트 오브 애니멀 래보라토리 리소시스(Institute of Animal Laboratory Resources), 1996), 및 실험 동물의 관리 및 사용에 관하여 미국 국립보건원에서 발행한 지침에 따라 유지하였다. 연구 프로토콜은 브리스톨-마이어드 스쿼프 컴퍼니 동물실험윤리위원회에 의해 승인받았다. 모든 화합물은 0.25% 메틸셀룰로스 중에 준비하였고 경구 투여하였다. 클로르디아제폭시드, 디아제팜, 및 데시프라민은 시그마 케미컬 컴퍼니(Sigma Chemical Company)로부터 구입하였다. (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴은 2 ml/kg의 부피로 투여하였다. 모든 표준은 2 ml/kg의 부피로 투여하였다. 모든 검사에서, 데이터는 각각의 비교를 위해 분산 분석, 이어서 던넛(Dunnett) t-검정법으로 분석하였다. 유의값은 0.05로 설정하였다. 데이터는 본문 및 도면에서 평균 \pm 평균의 표준 오차 (SEM)으로 제시된다. 수컷 스프래그-돌리 래트는 검사 전날에 관리 및 투약에 익숙하게 하였다. 검사 당일, 모든 화합물을 행동 검사 60분 전에 튜브식으로 경구 투여하였다. 검사를 개시하기 위해, 각각의 동물을 조명을 비추는 개방 공간 (106 cm 길이 x 92 cm 너비 x 50 cm 높이)의 한 벽에 대하여 길이를 따라서 위치하는, 작은 아연도금 강철 실린더 (14 cm 길이, 10 cm 직경)에 넣었다. 개방 공간에 60-W 백열 전구로 조명을 비추었고 조명은 실린더 입구에서 30 렉스 리딩값으로 파워스탯(powerstat) 변성기에 의해 조절되었다. 행동은 처치법 배정을 알지 못하는 훈련된 관찰자에 의해 15분 동안 평가되었다. 4발이 모두 개방 공간에 놓여 있는 것으로 정의되는, 실린더에서 나와서, 개방 공간을 더듬어보는 동물의 반응시간(latency)을 기록하였다 (초 단위). 동물이 15분 후에도 실린더에서 나오지 않으면 실험을 종료하고 900초의 점수를 기록하였다. 플렉시글라스(Plexiglas) 챔버 및 실린더를 동물들 사이에 1.0% 빙초산으로 닦아서, 후각적 신호가 후에 검사하는 동물의 행동에 영향을 미치는 것을 방지하였다. 행동 검사 후에, 동물을 참수시키고 혈장 노출 및 중추 수용체 사용의 분석을 위해 혈장 샘플 및 뇌를 채취하였다.

[0061] 상황적 불안 행동 연구 결과, 비히클 처치 동물은 암실 챔버에서 나와서 개방 공간을 더듬어보는데에 긴 반응시간을 나타냈다. 평균 이탈 반응시간은 클로르디아제폭시드 및 디아제팜 연구에서 각각 792 ± 108 초 및 794 ± 106 초였다 (두 연구 모두에서 전체 검사 시간 900초의 88%). 벤조디아제핀 불안완화제 계열의 클로르디아제폭시드 및 디아제팜은 모두 이탈 반응시간을 투여량 의존방식으로 단축시켰다 [클로르디아제폭시드 $F(5,47) = 7.62$, $p < 0.0001$; 디아제팜 $F(4,38) = 15.17$, $p < 0.0001$]. 클로르디아제폭시드의 최저 유효 투여량 (3.0 mg/kg, PO)은 비히클 처치 대조군에 비해 이탈 반응시간을 58% 단축시켰다. 검사한 클로르디아제폭시드의 보다 높은 투여량 (10, 30, 및 100 mg/kg, PO) 또한 비히클 처치 동물에 비해, 이탈 반응시간을 각각 97%, 72%, 및 54%씩 유의하게 단축시켰다. 클로르디아제폭시드의 이러한 효과의 U자형 곡선은 아마도 상기 약물의 진정제 특징 때문일 것이다. 디아제팜의 최저 유효 투여량 (1.0 mg/kg, PO)은 대조군에 비해 이탈 반응시간을 62% 단축시켰고, 검사한 보다 높은 투여량 (3.0 및 10 mg/kg, PO) 또한 비히클 처치 대조군에 비해, 이탈 반응시간을 각각 69% 및 91%씩 단축시켰다.

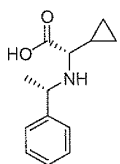
[0062] (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴을 독립된 세 연구에서 단일 투여량 (1.0, 1.8, 및 3.0 mg/kg, PO)으로, 그 후에 완전한 투여량-반응 (0.56-3.0 mg/kg, PO) 연구에서 검사하였다. 모든 단일 투여량 연구에서, 비히클 처치 동물은 암실 챔버에서 나와서 개방 공간을 더듬어보는데에 긴 반응시간을 나타냈다. 평균 이탈 반응시간은 세 연구에서 각각 780 ± 81 , 748 ± 77 , 및 824 ± 76 초였다 (각각 전체 검사 시간 900초의 87%, 83%, 및 92%). 또다른 CRF₁ 수용체 길항제인, 양성 대조군 DMP696 (10 mg/kg)은 세 연구 각각에서 이탈 반응시간을 유의하게 단축시켰다 (각각 57%, 74%, 및 81% 단축). (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴의 1.8 및 3.0 mg/kg 투여량은 이탈 반응시간을 유의하게 단축시켰지만, 1.0 mg/kg의 투여량은 그렇지 않았다. 1.8 mg/kg의 투여량은 이탈 반응시간을 53% 단축시켰고 [$F(2,23) = 7.52$, $p = 0.003$] 3.0 mg/kg의 투여량은 이탈 반응시간을 51% 단축시켰다 [$F(2,23) = 14.05$, $p = 0.0001$].

- [0063] 투여량-반응 연구에서, 비히클 처치 동물은 747 ± 78 초의 이탈 반응시간 (전체 검사 시간 900초의 83%)을 나타냈다. 양성 대조군 DMP696은 10 mg/kg에서, 이탈 반응시간을 유의하게 단축시켰다 (62% 단축). 단일 투여량 연구에서 확인된 효과와 일관되게, (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴은 경구 투여되었을 때 상황적 불안 모델에서 이탈 반응시간을 투여량 의존방식으로 단축시켰다 [$F(5,47) = 3.69, p = 0.007$]. (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴의 최저 유효 투여량은 1.8 mg/kg이며, 이는 이탈 반응시간을 비히클 처치 대조군에 비해 60% 단축시켰다. (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴의 보다 높은 투여량 (3.0 mg/kg) 또한 이탈 반응시간을 유의하게 56% 단축시켰다. (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴의 보다 낮은 투여량 (0.56 및 1.0 mg/kg)은 이탈 반응시간을 유의하게 변경시키지 않았다. 요약하면, (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴은 래트의 상황적 불안 모델에서 불안완화제 유사 효과를 발휘하는데 있어서 벤조디아제핀 계열의 디아제팜 및 클로르디아제폭시드와 대등한 능력을 나타냈다.
- [0064] 제약 조성물 및 사용 방법
- [0065] 화합물 I은 CRF의 억제제를 보여준다. CRF의 억제는 우울증, 불안 관련 장애, 과민성 대장 증후군, 약물 및 알콜 금단의 중독 및 부정적인 국면, 및 CRF와 관련있는 기타 상태를 비롯한 정신과적 장애 및 신경학적 질환에 대한 효능과 상관관계가 있다. 따라서, 화합물 I은 상기 장애의 치료에 유용할 수 있으며, 본 발명의 다른 측면은 상기 상태 및 CRF의 비정상적인 수준과 관련있는 기타 상태를 치료하기 위해 화합물 I을 사용하는 방법 및 조성물이다.
- [0066] 본 발명의 또다른 측면은 치료 유효량의 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, CRF와 관련있는 정신과적 또는 신경학적 상태의 치료 방법이다.
- [0067] 본 발명의 또다른 측면은 우울증의 치료 방법이다.
- [0068] 본 발명의 또다른 측면은 불안증 또는 불안 관련 장애의 치료 방법이다.
- [0069] 본 발명의 또다른 측면은 과민성 대장 증후군의 치료 방법이다.
- [0070] 본 발명의 또다른 측면은 약물 및 알콜 금단의 중독 또는 부정적인 국면의 치료 방법이다.
- [0071] 화합물 I은 일반적으로 치료 유효량의 화합물 I, 또는 제약상 허용되는 염, 및 제약상 허용되는 담체로 이루어지고 또한 통상의 부형제를 함유할 수 있는 제약 조성물로서 주어진다. 치료 유효량은 당분야 종사자가 판단한 의미있는 환자 이점을 제공하는데 필요한 양이다. 제약상 허용되는 담체는 허용되는 안전성 프로파일을 갖는 통상적으로 공지된 담체이다. 조성물은 캡슐제, 정제, 로젠지제, 및 분말제 뿐만 아니라, 액상 현탁액제, 시럽제, 엘릭시르제, 및 용액제를 비롯한 모든 통상의 고체 및 액체 형태를 포함한다. 조성물은 통상의 제형 기법 및 통상의 부형제 (예컨대, 결합제 및 습윤화제) 및 비히클 (예컨대, 물 및 알콜)을 사용하여 제조한다.
- [0072] 고체 조성물은 보통 투여량 당 활성 성분 약 1 내지 약 1000 mg을 제공하는 투여량 단위로 제형화된다. 고체 투여량 단위의 몇몇 예로는 1 mg, 10 mg, 100 mg, 250 mg, 500 mg, 및 1000 mg이 있다. 액체 조성물은 일반적으로 1-100 mg/mL의 단위 투여량 범위를 갖는다. 액체 투여량 단위의 몇몇 예로는 1 mg/mL, 10 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL, 및 100 mg/mL가 있다.
- [0073] 본 발명은 모든 통상의 투여 방식을 포함하며; 경구 및 비경구 방법이 바람직하다. 전형적으로, 1일 투여량은 체중 1 kg 당 1일 0.01 내지 100 mg일 것이다. 일반적으로, 경구 방법의 경우에 보다 많은 화합물이 요구되고 비경구 방법의 경우에 보다 적은 화합물이 요구된다. 그러나, 특정한 투약 계획은 타당한 의학적 판단으로 의사에 의해 결정되어야 한다.
- [0074] 구체적 실시상태의 설명
- [0075] 하기 실시예에서, 모든 온도는 섭씨 온도로 주어진다. 용점은 멜템프 3.0 래보러토리 디바이시스, 인크.(Meltemp 3.0 Laboratory Devices, Inc.) 또는 토마스 사이언티픽 유니멜트(Thomas Scientific Unimelt) 모

세관 융점 장치로 기록하고 보정하지 않았다. 양성자 자기 공명 (^1H NMR) 스펙트럼은 브루커(Bruker) 400 또는 브루커 500 MHz 분광계로 기록하였다. 모든 스펙트럼은 명시한 용매 중에서 측정하고, 화학적 이동은 내부 표준 테트라메틸실란 (TMS)으로부터의 δ 단위 다운필드(downfield)로 기록하고, 양성자간 결합 상수는 헤르츠(Hz)로 기록하였다. 다중도 패턴은 다음과 같이 표기한다: s, 단일피크; d, 2중피크; t, 3중피크; q, 4중피크; m, 다중피크; br, 넓은 피크; dd, 2중 2중피크; br d, 넓은 2중피크; dt, 2중 3중피크; br s, 넓은 단일피크; dq, 2중 4중피크. 선광도 $[\alpha]_D$ 는 루돌프 사이언티픽 오토폴(Rudolph Scientific Autopol) IV 편광계에서 명시한 용매 중에서 측정하고; 농도는 mg/mL로 주어진다. 저해상도 질량 스펙트럼 (MS) 및 겔보기 분자량 (MH^+) 또는 $(M-H)^+$ 은 핀네간(Finnegan) SSQ7000으로 측정하였다. 고해상도 질량 스펙트럼은 핀네간 MAT900으로 측정하였다. 액체 크로마토그래피 (LC)/질량 스펙트럼은 워터 마이크로매스(Water Micromass) ZQ와 커플링된 시마즈(Shimadzu) LC에서 전개시켰다.

[0076]

약어는 일반적으로 당분야에서 사용되는 통상의 용어를 따른다: "1 x": 1회; "2 x": 2회; "3 x": 3회; "°C": 섭씨 온도; "eq": 당량 또는 당량들; "g": 그램 또는 그램들; "mg": 밀리그램 또는 밀리그램들; "L": 리터 또는 리터들; "mL": 밀리리터 또는 밀리리터들; " μ L": 마이크로리터 또는 마이크로리터들; "N": 노르말; "M": 몰; "mmol": 밀리몰 또는 밀리몰들; "min": 분 또는 분들; "h": 시간 또는 시간들; "rt": 실온; "RT": 체류 시간; "atm": 대기; "psi": 1 제곱인치 당 파운드; "conc.": 농축물; "sat" 또는 "sat'd": 포화; "MW": 분자량; "mp": 융점; "ee" 거울상이성질체 과량; "MS" 또는 "Mass Spec": 질량 분광분석법; "ESI": 전자분무 이온화 질량 분광법; "HR": 고해상도; "HRMS": 고해상도 질량 분광분석법; "LCMS": 액체 크로마토그래피 질량 분광분석법; "HPLC": 고압 액체 크로마토그래피; "RP HPLC": 역상 HPLC; "TLC" 또는 "tlc": 박층 크로마토그래피; "NMR": 핵자기공명 분광법; " ^1H ": 양성자; " δ ": 델타; "s": 단일피크; "d": 2중피크; "t": 3중피크; "q": 4중피크; "m": 다중피크; "br": 넓은; "Hz": 헤르츠; 및 " α ", " β ", "R", "S", "E" 및 "Z"는 당업자들이 잘 아는 입체화학 명칭이다.



[0077]

[0078]

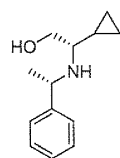
(S)-2-시클로프로필-2-[(S)-1-페닐에틸아미노]아세트산. 5 L 들이의 3목 둥근 바닥 플라스크에서 메탄올 (2.0 L) 중 시클로프로판 카르복살데히드 (200.0 g, 1.42 mol) 및 S-(-)-1-페닐 에틸아민 (172.9 g, 1.42 mol)의 교반 용액을 75°C에서 2시간 동안 가열하였다. 이어서 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 칼륨 시아나이드 (185.0 g, 1.42 mol)를 나누어 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 물 (600 mL)을 첨가한 후에 반응 혼합물이 pH 9-10이 될 때까지 진한 HCl (250 mL)를 적가하였다. 그 후에 혼합물을 에틸 아세테이트 (4 x 1 L)로 추출하고 합친 유기층을 감압하에 농축시켜 황색 오일을 제공하였다. 진한 HCl (3.5 L)을 상기 잔여물에 첨가하고 혼합물을 95°C에서 밤새 가열하였다. 실온으로 냉각시킨 후에, pH가 거의 중성 (pH 7-8)이 될 때까지 10% 수산화칼륨 용액을 냉각 및 교반과 함께 적가하였다. 0°C에서 추가로 45분 동안 교반을 계속하였다. 내용물을 여과하고 냉각 메탄올 (5 L)로 철저히 세척하였다. 이 단계에서 수분 함량은 약 8-10%인 것으로 관찰되었다. 고상물을 무수 아세톤 (7 L) 중에 재현탁시키고 여과하여 (S)-2-시클로프로필-2-[(S)-1-페닐에틸아미노]아세트산 (330 g, 52% 수율)을 수분 1% 미만의 고상물로서 수득하였다:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.44-

7.26 (m, 5H), 3.91-3.86 (m, 1H), 2.28-2.22 (m, 1H), 1.34 (d, J = 4.0 Hz, 3H), 0.93-

0.89 (m, 1H), 0.41-0.37 (m, 2H), 0.31-0.27 (m, 1H), 0.11-0.07 (m, 1H).

[0079]



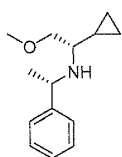
[0080]

[0081]

(S)-2-시클로프로필-2-[(S)-1-페닐에틸아미노]에탄올. 0°C에서 무수 THF (5.2 L) 중 (S)-2-시클로프로필-2-

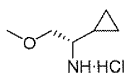
[(S)-1-페닐에틸아미노]아세트산 (400 g, 1.82 mol)의 용액에 보란 디메틸술파이드 (순수) (485 g, 6.39 mol)를 격렬히 교반하면서 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 진행은 HPLC에 의해 모니터링하였다. 산이 완전히 소진될 때까지 (18-20시간) 교반을 계속하였다. 완료시에 반응 혼합물을 0℃로 냉각시키고 메탄올 (6 L)을 적가하였다. 혼합물을 진공하에 농축시키고 잔여물을 클로로포름 (5 L) 중에 용해시켰다. 유기층을 10% NaHCO₃ 수용액 (2 X 1 L)으로, 이어서 염수로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축시켜 황갈색 오일을 제공하였다. 오일을 감압하에 증류시켜 (S)-2-시클로프로필-2-[(S)-1-페닐에틸아미노]에탄올 (166 g, 44% 수율)을 무색 오일로서 제공하였다: bp 175-184℃, 0.1 mm Hg;

$[\alpha]^{25}_D -52.1$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.33-7.20 (m, 5H), 3.91-3.86 (m, 1H), 3.67 (dd, *J*_{AB} = 10.6, *J*_{AX} = 3.8 Hz, 1H), 3.39 (dd, *J*_{BA} = 10.6, *J*_{BX} = 4.3 Hz, 1H), 2.40 (s br, 2H), 1.70-1.65 (m, 1H), 1.35 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 0.88-0.82 (m, 1H), 0.47-0.37 (m, 2H), 0.05- -0.06 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ 146.8, 127.6, 126.2, 125.9, 63.0, 60.5, 54.4, 24.4, 13.3, 3.0, 1.5; LRMS (ESI) *m/e* 206.3 [(M+H)⁺, 계산치 (C₁₃H₂₀NO 206.2)].



(S)-1-시클로프로필-2-메톡시-N-[(S)-1-페닐에틸]에탄아민. 0℃에서 THF (700 mL) 중 (S)-2-시클로프로필-2-[(S)-1-페닐에틸아미노]에탄올 (29.2 g, 0.143 mol)의 용액에 NaH (6.29 g, 0.157 mol, 광유 중 60% 분산액)를 첨가하였다. 냉각조를 제거하고 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 실온에서 30분 동안 교반하였다. 이어서 메틸 요오다이드 (20.30 g, 0.143 mol)를 시린지를 통해 적가하였다. 첨가를 완료한 직후에 약간 가온된다. 반응 혼합물의 온도를 소량의 얼음을 함유하는 수조를 이용하여 약 25℃에서 조절하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 이어서 반응 혼합물을 포화 NaHCO₃ 수용액으로 서서히 쉐킹시키고 포화 NaHCO₃ 수용액 (400 mL)을 함유하는 분리 깔때기로 옮겼다. 수성층을 에틸 아세테이트 (3 x 300 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축시켰다. 조질 생성물을 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 (1:1 에틸 아세테이트/헥산 중의 5% MeOH)에 의해 정제하여 (S)-1-시클로프로필-2-메톡시-N-[(S)-1-페닐에틸]-에탄아민 (26.52 g, 85% 수율)을 밝은 갈색 오일로서 제공하였다:

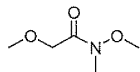
$[\alpha]^{25}_D -61.5$ (c 0.72, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.30-7.25 (m, 4H), 7.20-7.16 (m, 1H), 3.98-3.93 (q, *J* = 6.8 Hz, 1H), 3.50 (dd, *J*_{AB} = 9.5, *J*_{AX} = 3.5 Hz, 1H), 3.35 (s, 3H), 3.34 (dd, *J*_{BA} = 9.5, *J*_{BX} = 5.8 Hz, 1H), 1.79-1.74 (m, 2H), 1.33 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.73-0.67 (m, 1H), 0.36-0.34 (m, 2H), 0.03- -0.06 (m, 2H); GC/MS (ESI) *m/e* 220.2 [(M+H)⁺, 계산치 (C₁₄H₂₂NO 220.2)].



(S)-1-시클로프로필-2-메톡시에탄아민 히드로클로라이드. (S)-1-시클로프로필-2-메톡시-N-[(S)-1-페닐에틸]에탄아민 (100 g, 458 mmol)을 파르(Parr) 보틀에서 Pd(OH)₂/C (50 g, 탄소상 20%) 및 에탄올 (1.2 L)과 합쳤다. 반응 혼합물을 H₂ 대기 (15 psi)하에 두고 18시간 동안 진탕시켰다. 이어서 반응 혼합물을 교반하면서, 셀라이트(Celite) 패드를 통해 Et₂O (360 mL) 중 2 N HCl을 함유하는 플라스크로 여과하였다. 생성 여과물을 황색 고상물로 농축시킨 후에, Et₂O (500 mL)를 이용하여 공증발시켰다. 생성 고상물을 진공에서 밤새 건조시켜 (S)-1-시클로프로필-2-메톡시에탄아민 히드로클로라이드 (69 g, 99% 수율)를 백색 고상물로서 제공하였다: mp 190-192℃;

$[\alpha]^{25}_D +16.3$ (c 0.446, MeOH); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.41 (s br, 3H), 3.68 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.39 (s, 3H), 2.64-2.60 (m, 1H), 1.20-1.13 (m, 1H), 0.71-0.58 (m, 3H), 0.32-0.28 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 72.1, 59.2, 57.5, 10.7, 4.2, 4.1; LRMS (ESI) m/e 231.2 $[(2\text{M}+\text{H})^+]$, 계산치 ($\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_2$ 231.2)].

[0088]



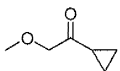
[0089]

[0090]

N,2-디메톡시-N-메틸아세트아미드. 트리에틸아민 (115 mL)을 실온에서 CH_2Cl_2 (1200 mL) 중 메톡시아세트산 (35.0 g, 389 mmol)의 용액에 첨가하였다. N,O-디메틸히드록실아민 히드로클로라이드 (45.5 g, 467 mmol)를 첨가하고, 5분 동안 교반한 후에, 현탁액을 0°C 로 냉각시켰다. 이어서 에틸 디아조카르복실레이트 (EDC) (81.7 g, 428 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 밤새 교반하면서 실온으로 가온하였다. 혼합물을 분리 깔때기에 붓고 CH_2Cl_2 (500 mL)로 희석시켰다. 유기층을 1 N HCl (2 x 300 mL), 포화 NaHCO_3 수용액 (2 x 300 mL), 및 염수 (300 mL)로 세척하였다. 생성 용액을 MgSO_4 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 진공에서 농축시켰다. 생성물을 실리카겔의 단결럼 상에서 컬럼 크로마토그래피 (CH_2Cl_2 중 5% 메탄올)에 의해 정제하여 N,2-디메톡시-N-메틸아세트아미드 (33.2 g, 64% 수율)를 무색 오일로서 제공하였다:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.20 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 3.45 (s, 3H), 3.17 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173.0, 69.7, 69.4, 61.4, 59.4; LRMS (ESI) m/e 134.1 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 계산치 ($\text{C}_5\text{H}_{12}\text{NO}_3$ 134.1)].

[0091]



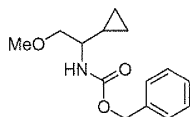
[0092]

[0093]

1-시클로프로필-2-메톡시에탄논. 마그네슘 터닝(turning) (15.2 g, 632 mmol)을 적하 깔때기가 장치된 5 L 들이의 3목 플라스크에 첨가하였다. 플라스크, 깔때기, 및 터닝을 화염 건조시킨 후에, 환류 응축기를 플라스크에 위치시켰다. 플라스크와 내용물이 실온으로 냉각된 후에, 디에틸 에테르 (100 mL)를 플라스크에 첨가하고, 이어서 일정 분량의 시클로프로필 브로마이드 (5.0 mL, 7.55 g, 62.4 mmol) 및 약간의 요오드 결정체를 첨가하였다. 반응이 개시된 후에, 디에틸 에테르 (400 mL)를 반응 플라스크에 첨가하였다. 이어서 나머지 시클로프로필 브로마이드 (87.3 g, 721 mmol)를 빙수조로 반응 혼합물을 간헐적으로 냉각시키면서 30분에 걸쳐서 서서히 첨가하였다. 첨가를 완료하고 마그네슘이 소진된 후에, 추가 디에틸 에테르 (700 mL)를 첨가하고 반응 혼합물을 0°C 로 냉각시켰다. 자기 교반기를 기계 교반기로 대체하고 디에틸 에테르 (500 mL) 중에 용해된 N,2-디메톡시-N-메틸아세트아미드 (42.07 g, 316 mmol)의 용액을 적하 깔때기를 통해 30분에 걸쳐서 서서히 첨가하였다. 그 동안 백색 고상물이 형성되었다. 첨가를 완료한 후에, 냉각조를 제거하고 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하였다. 이어서 혼합물을 0°C 로 냉각시키고 1 N HCl (700 mL, 처음에는 서서히 첨가함)을 첨가함으로써 반응물을 쉐칭시켰다. 추가로 15분 동안 교반한 후에, 혼합물을 분리 깔때기로 옮겨, 수성층을 에테르 (3 x 500 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 포화 NaHCO_3 수용액 (400 mL), 염수 (400 mL)로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 최소 진공 (500 mbar)에서 농축시켰다. 생성물을 감압하 증류에 의해 정제하고 수집 플라스크를 드라이 아이스/이소프로판올조에 침수시켜 1-시클로프로필-2-메톡시에탄논 (29.2 g, 81% 수율)을 무색 오일로서 제공하였다: bp $35-38^\circ\text{C}$, 5 mm Hg;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.13 (s, 2H), 3.43 (s, 3H), 2.11-2.07 (m, 1H), 1.10-1.06 (m, 2H), 0.94-0.89 (m, 2H); GC/MS (CI) m/e 115.1 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 계산치 ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_2$ 115.1)].

[0094]



[0095]

[0096]

벤질 1-시클로프로필-2-메톡시에틸카르바메이트. THF (1000 mL) 중 1-시클로프로필-2-메톡시에탄올 (10.0 g, 88.0 mmol)을 암모늄 트리플루오로아세테이트 (115 g, 880 mmol)로 처리하고 혼합물을 0℃로 냉각시켰다. 나트륨 트리아세톡시보로히드라이드 (27.9 g, 133 mmol)를 첨가하고, 냉각조를 제거하고, 반응 혼합물을 2시간 동안 온수조로 40℃에서 부드럽게 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 농축시켜 1-시클로프로필-2-메톡시에탄아민을 제공하고, 이것을 다음 단계에 그대로 사용하였다.

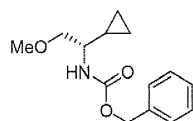
[0097]

이전 단계로부터의 조질 1-시클로프로필-2-메톡시에탄아민을 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (300 mL/300 mL) 중에 용해시키고 Na_2CO_3 (111.9 g, 1.06 mol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 빙조에 넣고 CbzCl (16.46 g, 96.78 mmol)을 시린지를 통해 첨가하였다. 첨가하는 동안, 내부 반응 혼합물 온도를 15-20℃에서 유지하였다. 첨가를 완료한 후에, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 분리 깔때기에 부어, H_2O (300 mL)로 희석시키고, CH_2Cl_2 (3 x 300 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 염수 (300 mL)로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축시켰다. 생성물을 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 (헥산 중 30% 에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 벤질 1-시클로프로필-2-메톡시에틸카르바메이트 (17.2 g, 2 단계동안 78% 수율)를 오일로서 제공하였고, 이것은 정치시에 결정화되었다: mp 190.5-192℃;

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ

7.39-7.29 (m, 5H), 7.17 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.00 (s, 2H), 3.36-3.34 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 3.19-3.14 (m, 1H), 0.85-0.79 (m, 1H), 0.43-0.37 (m, 1H), 0.35-0.22 (m, 2H), 0.20-0.16 (m, 1H); LRMS (ESI) m/e 250.3 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 계산치 ($\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_3$ 250.1).

[0098]



[0099]

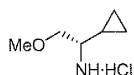
[0100]

(S)-벤질 1-시클로프로필-2-메톡시에틸카르바메이트. 라세미 1-시클로프로필-2-메톡시에틸카르바메이트를 HPLC (키랄팩(Chiralpak) AD 컬럼 (10 cm x 50 cm), 94% 헵탄/6% 에탄올, 300 mL/분, $\lambda = 210$ nm, 1회 주입 당 1 g, 30분 방법, 피크 1 (S), 피크 2 (R))에 의해 그의 거울상이성질체로 분리하였고 이것은 분석용 HPLC (키랄팩 AD 컬럼, 4.6 x 250 mm, 95% 헵탄/5% 에탄올, 0.8 mL/분, $\lambda = 212$ nm, $t_R = 15.79$ 분)에 의해 99% ee 초과와 광학 순도를 갖는 것으로 측정되었다: mp 190.5-192℃;

$[\alpha]_D^{25} -18.2$ (c 0.500, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7.39-

7.29 (m, 5H), 7.17 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.00 (s, 2H), 3.36-3.34 (m, 2H), 3.23 (s, 3H), 3.19-3.14 (m, 1H), 0.85-0.79 (m, 1H), 0.43-0.37 (m, 1H), 0.35-0.22 (m, 2H), 0.20-0.16 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 155.6, 136.9, 128.0, 127.38, 127.34, 74.0, 64.8, 57.8, 53.5, 12.6, 2.2, 1.5; LRMS (ES^+) m/e 272.3 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$, 계산치 ($\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_3\text{Na}$ 272.1).

[0101]



[0102]

[0103]

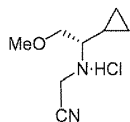
(S)-1-시클로프로필-2-메톡시에탄아민 히드로클로라이드. 파르 보틀에서 EtOH (80 mL) 및 CHCl_3 (3 mL) 중 (S)-1-시클로프로필-2-메톡시에틸카르바메이트 (4.36 g, 17.5 mmol)의 용액에 디옥산 (5 mL) 중 4 N HCl 및 Pd/C (476 mg, 10%, 습윤화된 데구사(Degussa)형)를 첨가하였다. 혼합물을 파르 진탕기에서 H_2 대기하에 45 psi에서 16시간 동안 두었다. 반응 혼합물을 셀라이트 패드를 통해 여과하고 여과물을 농축시킨 후에 헥산 (2 x)으로부터 재농축시켜 (S)-1-시클로프로필-2-메톡시에탄아민 히드로클로라이드 (2.65 g, 100% 수율)를 백색 고상물로서

제공하였다: mp 190-192 °C ;

$[\alpha]_D^{25} +14.3$ (c 0.446, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ

8.41 (s br, 3H), 3.68 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.39 (s, 3H), 2.64-2.60 (m, 1H), 1.20-1.13 (m, 1H), 0.71-0.58 (m, 3H), 0.32-0.28 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 72.1, 59.2, 57.5, 10.7, 4.2, 4.1; LRMS (ESI) m/e 231.2 $[(2\text{M}+\text{H})^+]$, 계산치 ($\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_2$ 231.2)].

[0104]



[0105]

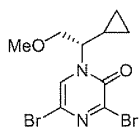
[0106]

(S)-2-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸아미노)아세토니트릴 히드로클로라이드. 클로로아세토니트릴 (8.40 mL, 133 mmol)을 실온에서 아세토니트릴 (300 mL) 중 (S)-1-시클로프로필-2-메톡시에탄아민 히드로클로라이드 (20.0 g, 133 mmol), K_2CO_3 (52.0 g, 376 mmol) 및 KI (24.2 g, 145 mmol)의 교반 현탁액에 첨가하였다. 혼합물을 48 °C 에서 17시간 동안 교반하였다. 이어서 반응 혼합물을 실온으로 냉각시킨 후에, 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. 생성 여과물을 암갈색 반고상물로 농축시켰다. 고상물을 CH_2Cl_2 중에 현탁시키고 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 \rightarrow \text{CH}_2\text{Cl}_2$ 중 3% 메탄올)에 의해 정제하여 갈색 오일 (18.8 g)을 수득하였다. 상기 오일을 Et_2O (150 mL)에 용해시키고 용액을 Et_2O (100 mL) 중 2 N HCl로 산성화하여 (S)-2-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸아미노)-아세토니트릴 히드로클로라이드 (23.6 g, 93% 수율)를 희백색 고상물로서 제공하였다:

$[\alpha]_D^{25} +22.9$ (c 0.714, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ

10.51 (s br, 2H), 4.39 (ABq, $J_{AB} = 16.7$, $\Delta\nu = 24.4$ Hz, 2H), 3.94 (dd, $J_{AB} = 10.6$, $J_{AX} = 7.8$ Hz, 1H), 3.79 (dd, $J_{BA} = 10.8$, $J_{BX} = 2.2$ Hz, 1H), 3.42 (s, 3H), 2.79-2.75 (m, 1H), 1.25-1.17 (m, 1H), 0.90-0.83 (m, 1H), 0.78-0.70 (m, 2H), 0.39-0.34 (m, 1H); LRMS (ES $^+$) m/e 155.2 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 계산치 ($\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}$ 155.1)].

[0107]



[0108]

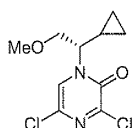
[0109]

(S)-3,5-디브로모-1-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)피라진-2(1H)-온. (S)-2-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸아미노)아세토니트릴 히드로클로라이드 (15.0 g, 78.7 mmol)를 적하 깔때기가 장치된 1 L 들이의 3목 둥근 바닥 플라스크에서 무수 디클로로메탄 (300 mL) 중에 현탁시켰다. 혼합물을 -60 °C로 냉각시키고 옥살릴 브로마이드 (41.3 mL, 440 mmol)를 15분에 걸쳐서 적가하였다. 첨가를 완료한 후에, 냉각조를 제거하고 반응 혼합물을 실온으로 가온한 후에, 3시간 동안 40 °C에서 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고 진공하에 농축시켰다. 고상물을 실리카겔 컬럼의 헤드부(head)에 직접 첨가하고 용리 (헥산 중 5% → 20% 에틸 아세테이트)함으로써 정제하였고 잔여 옥살릴 브로마이드와 실리카겔의 반응이 중단된 후에 (S)-3,5-디브로모-1-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)피라진-2(1H)-온 (15.5 g, 56% 수율)을 희백색 고상물로서 제공하였다: mp 98.5-100.5 °C ;

$[\alpha]_D^{25} -71.8$

(c 1.19, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.61 (s, 1H), 4.08-4.04 (m, 1H), 3.72 (dd, $J_{AB} = 10.5$, $J_{AX} = 4.5$ Hz, 1H), 3.61 (dd, $J_{BA} = 10.3$, $J_{BX} = 3.0$ Hz, 1H), 3.32 (s, 3H), 1.41-1.36 (m, 1H), 0.82-0.76 (m, 1H), 0.65-0.59 (m, 1H), 0.54-0.48 (m, 1H), 0.32-0.27 (m, 1H); LRMS (APCI) m/e 351.1 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 계산치 ($\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2\text{Br}_2$ 350.9)].

[0110]



[0111]

[0112]

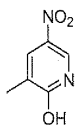
(S)-3,5-디클로로-1-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)피라진-2(1H)-온. 옥살릴 클로라이드 (54.5 mL, 624 mmol)를 1,4 디옥산 (300 mL) 및 메틸렌 클로라이드 (200 mL) 중 (S)-2-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸아미노)아세트 니트릴 히드로클로라이드 (23.6 g, 124 mmol)의 냉각 (8°C 미만) 용액에 적가하였다. 이어서 반응 혼합물을 53°C에서 19시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 반고상물로 농축시킨 후에, CH₂Cl₂ (50 mL)를 이용하여 3회 공증발시켰다. 생성된 갈색 고상물을 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 (헥산 중 0 → 10% → 20% 에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 (S)-3,5-디클로로-1-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)피라진-2(1H)-온 (22.4 g, 69% 수율)을 백색 고상물로서 제공하였다: mp 109.8-110.8°C;

$[\alpha]_D^{25}$ -88.8 (c 0.513, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.54 (s, 1H), 4.12-4.08 (m, 1H), 3.73 (dd, J_{AB} = 10.3, J_{AX} = 4.5 Hz, 1H), 3.62 (dd, J_{BA} = 10.3, J_{BX} = 3.0 Hz, 1H), 3.32 (s, 3H), 1.43-1.37 (m, 1H), 0.82-0.76 (m, 1H), 0.65-0.61 (m, 1H), 0.55-0.50 (m, 1H), 0.33-0.27 (m, 1H); LRMS (ESI) m/e 206.3 [(M+H)⁺, 계산치 (C₁₀H₁₃N₂O₂Cl₂ 263.0)]. 분석 계산치 (C₁₀H₁₂N₂O₂Cl₂) : C, 45.64, H, 4.59, N, 10.64. 실측치: C, 45.74, H, 4.62, N, 10.61.

[0113]

[0114]

여러 개의 배치로부터의 (S)-3,5-디클로로-1-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)피라진-2(1H)-온 [160 g, 90-95%의 (S)-거울상이성질체]을 타르(Thar) SFC에 의해 처리하여 99% 초과와 거울상이성질체 순도로 (S)-거울상이성질체를 분리하였다. 총 133 g의 (S)-3,5-디클로로-1-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)피라진-2(1H)-온을 3개의 배치에서 분리하였다. 11.8 g의 원치않는 이성질체 역시 수득되었다. 전달된 화합물의 거울상이성질체 과량 (ee)은 99% 초과였다. 타르 350 SFC 상의 정제 조건은 다음과 같다: 라세미체 양 (g): 65, 58, 37; 컬럼: 키랄팩 AD-H, 5 x 25 cm; 이동상: CO₂ 중 10% EtOH; 압력 (bar): 100; 유속 (ml/분): 200; 용액 농도 (mg/ml): 50; 주입량 (ml): 6; 사이클 시간 (분/주입): 3.5; 온도: 35; 처리량 (g/hr): 5.1; 검출기 λ: 220.



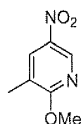
[0115]

[0116]

3-메틸-5-니트로피리딘-2-올. 기계 교반기, 적하 깔때기 및 온도계가 장치된 2 L 들이의 3목 둥근 바닥 플라스크를 빙수조에 넣었다. 진한 H₂SO₄ (150 mL)를 플라스크에 첨가하였다. 2-아미노-3-메틸피리딘 (50.0 g, 0.463 mol, 랭카스터(Lancaster), CAS 1603-40-3, mp. 29°C, 온수조에서 예비가온하여 용융시켰음)을 125 mL 들이 삼각 플라스크에서 칭량한 후에 좁은 첨단부가 부러진, 예비가온 파스퇴르(Pasteur) 피펫을 통해 소량씩 나누어 첨가하였다. 삼각 플라스크를 첨가하는 동안 온수조에서 유지하여 출발 물질이 고상화되는 것을 방지하였다. 첨가하는 동안 온도가 약 45°C로 상승하였고 플라스크 내부에서 백연/연무가 형성되었다. 진한 H₂SO₄ (100 mL)를 잔여 출발 물질에 첨가하고 혼합물을 반응 플라스크에 첨가하였다. 생성 혼합물은 유백색 현탁물이었다. 진한 H₂SO₄ (35 mL)와 70% 질산 (35 mL)을 예비혼합한 용액을 빙수조로 냉각시키고 적하 깔때기로 옮겼다. 반응 혼합물의 내부 온도가 10-15°C (10°C 미만은 아님)로 냉각된 후에, 예비혼합한 H₂SO₄/HNO₃ 산 혼합물을 내부 반응 온도가 20-25°C로 상승하는 속도로 적가하였다 (5-10분 첨가 시간). 첨가를 완료한 후에, 빙수조를 수돗물 조로 대체하였다. 반응 온도는 서서히 약 30°C 범위로 상승하였고 그 후에 실온으로 냉각시켰다. 반응물을 그 동안 모니터링하여 온도가 너무 높이 상승하지 않도록 한다. 이어서 반응 혼합물을 밤새 교반한 후에, 70% 질산 (35 mL)을 적하 깔때기를 통해 암적갈색 혼합물에 온도가 35°C를 초과하지 않는 첨가 속도로 적가하였다. 이때, 반응 플라스크를 실온에서 물을 함유하는 수조에 방치해 두었다. 이어서 물 (500 mL)을 반응 플라스크에 적하 깔때기를 통해 나누어 첨가하였다. 처음에 약 150 mL의 물을 적가하면서 내부 온도가 50-60°C로 서서히 상승하도록 하였다. 발생한 임의의 기포를 파괴하기 위해 교반 속도를 증가시켰다. 처음 약 150 mL의 물을 첨가하는 동안 갈색 기체가 방출되었다. 나머지 약 350 mL의 물을 기체 방출이 중단되고 온도 상승이 더이상 관찰되지 않은 후에 보다 신속한 속도로 첨가하였다. 반응물은 흐린 암갈색에서 투명한 오렌지색 용액이 되었다. 반응물이 50°C 미만으로 냉각되면 약간의 황색 침전물이 형성될 수 있다. 이어서 수조를 제거하고, 가열 맨틀로 대체하고, 적하 깔때기를 응축기로 대체하였다. 이어서 반응 혼합물 (밝은 오렌지색 용액 또는 밝은 황색 용액)을 115-118°C에서 1.75-2시간 동안 가열하였다. 그 동안 추가의 기체 방출이 약 115°C에서 발생하였다. 그 후에 반응 혼합물을 빙수조를 이용하여 실온으로 냉각시킨 후에, 얼음을 직접 반응 혼합물에 첨가함으로써 0

℃로 더욱 냉각시켰다. 형성된 고상물을 부호너(Buchner) 깔때기 상에 수집하여 냉수, 이어서 최소량의 냉각 에탄올, 그 다음에 최소량의 냉각 에테르로 세척하였다. 그 후에 고상물을 진공하에 건조시켜 3-메틸-5-니트로 피리딘-2-올 (53.5 g, 75% 수율)을 담황색 고상물로서 제공하였다: mp 228-229℃;

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12.55 (s, br, 1H), 8.54 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 8.04 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 2.04 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 162.2, 135.4, 130.0, 129.5, 128.1, 15.8; LRMS, (ESI) m/e 152.96 [(M-H) $^+$], 계산치($\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_3$, 153.03). 분석 계산치($\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_3$): C, 46.75, H, 3.92, N, 18.17. 실측치: C, 46.80, H, 3.79, N, 18.14.



2-메톡시-3-메틸-5-니트로피리딘. 3-메틸-5-니트로피리딘-2-올 (134 g, 0.872 mol) (문헌 [J. Org. Chem. 1949, 14, 328-332])을 3 분량으로 나누어 3개의 1 L 들이 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. POCl_3 (200 mL)를 각각의 플라스크에 첨가하고 혼합물을 환류로 2시간 동안 가열하였다. 용액을 냉각시키고 과량의 POCl_3 를 진공에서 제거하였다. 잔여물을 교반하면서 빙수 (1 L)에 붓고 침전물을 여과에 의해 수집하여 20분 동안 공기 건조시켰다. 합친 생성물을 헥산 (300 mL) 중 10% 에틸 아세테이트로부터 재결정화하고 공기 건조시켜 2-클로로-3-메틸-5-니트로피리딘 (139 g, 92% 수율)을 백색 고상물로서 제공하였고, 이것을 다음 단계에서 추가 정제 없이 사용하였다:

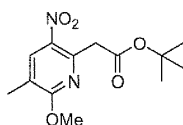
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9.04 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 8.33 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 2.50 (s, 3H).

상기 방법으로부터의 2-클로로-3-메틸-5-니트로피리딘 (139 g, 0.806 mol)을 2 분량으로 나누어 메탄올 (500 mL)이 함유된 2개의 2 L 들이 둥근 바닥 플라스크에 넣었다. 용액을 드라이 아이스/이소프로판올 조에서 냉각시켰고 이때 고상 나트륨 메톡사이드 (26.5 g, 0.467 mol)를 각각의 플라스크에 나누어 첨가하여 온도를 20℃ 미만으로 유지하였다. 첨가를 완료한 후에, 생성 혼합물을 환류로 1시간 동안 가열하였다. 혼합물을 냉각시키고 빙수 (500 mL)로 희석하여 백색 침전물을 제공하였고, 이것을 여과에 의해 수집하였다. 합친 여과물을 물로 세척하고 공기 건조시켜 2-메톡시-3-메틸-5-니트로피리딘 (127 g, 97% 수율)을 백색 고상물로서 제공하였다:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.91 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H), 4.06 (s, 3H), 2.25 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 165.83, 141.91, 139.37, 132.92, 121.77, 54.83, 15.84.

분석용 샘플을 헥산으로부터 재결정화하여 백색 침상물을 제공하였다: mp 95-96.5℃.

분석 계산치($\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$): C, 50.00, H, 4.79, N, 16.66. 실측치: C, 49.73, H, 5.02, N, 16.48.



tert-부틸 2-(6-메톡시-5-메틸-3-니트로피리딘-2-일)아세테이트. THF (1 L) 중 2-메톡시-3-메틸-5-니트로피리딘 (68.8 g, 409 mmol) 및 tert-부틸 2-클로로아세테이트 (77.0 g, 511 mmol)의 황색 용액을 교반하고 드라이 아이스/이소프로판올 조에서 -20℃로 냉각시켰다. 칼륨 tert-부톡사이드 (115 g, 1.02 mol)를 반응 온도가 -10℃ 미만인 속도로 첨가하였다. 반응 혼합물은 암자주색이 되었다. 첨가를 완료한 후에, 냉각조를 제거하고 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 교반한 반응 혼합물을 HCl (500 mL, 2.4 N)로 킨칭시켰다. 자주색 용액이 되었고 혼합물을 2층으로 분리하였다. 유기층을 분리하고, 염수로 3회 세척한 다음, 진공에서 농축시켰다. 헥산을 호박색 잔여물에 첨가하였다. 혼합물을 진공에서 농축시킨 후에 고 진공하에 1시간 동안 건조시켜

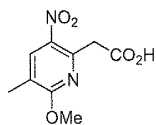
tert-부틸 2-(6-메톡시-5-메틸-3-니트로피리딘-2-일)아세테이트 (83.4 g, 72% 수율)를 황갈색 고상물로서 제공하였다:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.16 (s, 1H), 4.09 (s, 2H), 4.02 (s, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.44 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 168.81, 163.63, 147.88, 139.41, 135.19, 120.82, 81.66, 54.69, 44.48, 28.03, 15.27.

분석용 샘플을 헥산으로부터 재결정화하여 백색 침상물을 제공하였다: mp 71-72.5°C.

분석 계산치 (

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$) : C, 55.31, H, 6.42, N, 9.92. 실측치: C, 55.52, H, 6.40, N, 9.84.

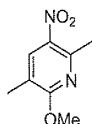


2-(6-메톡시-5-메틸-3-니트로피리딘-2-일)아세트산. TFA (200 mL) 중 tert-부틸 2-(6-메톡시-5-메틸-3-니트로피리딘-2-일)아세테이트 (83.0 g, 294 mmol)의 용액을 고온수조에서 1시간 동안 가열하였다. 용액을 진공에서 농축시켜 갈색 오일을 제공하였다. 상기 오일을 헥산으로 희석하고 교반하였다. 생성 고상물을 여과에 의해 수집하고 공기 건조시켜 2-(6-메톡시-5-메틸-3-니트로피리딘-2-일)아세트산 (62.8 g, 94% 수율)을 황갈색 고상물로서 제공하였다:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.70 (s br, 1H), 8.20 (s, 1H), 4.25 (s, 2H), 4.03 (s, 3H), 2.24 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 175.59, 163.80, 146.52, 139.16, 135.30, 121.53, 54.86, 42.88, 15.32.

분석용 샘플을 헥산으로부터 재결정화하였다: mp 135-137°C.

분석 계산치 ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_5$) : C, 47.79, H, 4.46, N, 12.39. 실측치: C, 47.65, H, 4.14, N, 12.30.



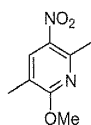
2-메톡시-3,6-디메틸-5-니트로피리딘. tert-부틸 2-(6-메톡시-5-메틸-3-니트로피리딘-2-일)아세테이트 (62.5 g, 276 mmol), K_2CO_3 (20.0 g, 145 mmol), 및 DMF (100 mL)의 혼합물을 교반하면서, 고온수조에서 1시간 동안 90°C로 가열하였다. 가열 시간 동안 기체 방출이 확인되었고 1시간 후에 중단되었다. 혼합물을 교반 빙수 (600 mL)에 부으면서, 반응 플라스크를 소량의 아세톤으로 세척하였다. 생성 침전물을 여과에 의해 수집하고 공기 건조시켜 2-메톡시-3,6-디메틸-5-니트로피리딘 (48.5 g, 96% 수율)을 황갈색 고상물로서 제공하였다:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.08 (s, 1H), 4.02 (s, 3H), 2.76 (d, 3H), 2.19 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 163.37, 151.63, 139.44, 135.02, 119.39, 54.45, 24.18, 15.16.

분석용 샘플을 헥산으로부터 재결정화하여 황갈색 침상물을 제공하였다: mp 85.9-90.5°C.

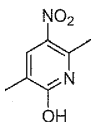
분석 계산치 ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$): C, 52.74,

H, 5.53, N, 15.37. 실측치: C, 52.82, H, 5.28, N, 15.45.



[0141] 2-메톡시-3,6-디메틸-5-니트로피리딘. NaH (1.82 g, 45.5 mmol, 광유 중 60%)를 함유하는 건조한 둥근 바닥 플라스크에 디메틸 술폭사이드 (35 mL)를 첨가하였다. 생성 현탁액을 70℃에서 35분 동안 가열하였고, 그 동안 현탁액은 용액이 되었다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 트리메틸술폭소늄 요오다이드 (10.0 g, 45.5 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하였다. 2-메톡시-3-메틸-5-니트로피리딘 (4.50 g, 26.80 mmol)을 첨가하고 생성된 암적색 용액을 실온에서 30분 동안 교반하였고, 이때 TLC는 출발 물질의 완전한 소진을 나타냈다. 물 (30 mL)을 함유하는 분리 깔때기로 반응 혼합물을 옮기고, 수성층을 EtOAc (3 x 100 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축시켰다. 잔여물을 MPLC (실리카겔, 헥산 중 20% 에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 2-메톡시-3,6-디메틸-5-니트로피리딘 (2.00 g, 41% 수율)을 이전 방법에 의해 제조된 것과 동일한 무색 고상물로서 제공하였다: mp 85.5-86.2℃;

[0142] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (s, 1H), 4.02 (s, 3H), 2.77 (s, 3H), 2.20 (s, 3H).

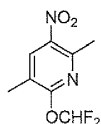


[0143]

[0144] 3,6-디메틸-5-니트로피리딘-2-올. 12 N 염산 (300 mL) 중 2-메톡시-3,6-디메틸-5-니트로피리딘 (32.3 g, 182 mmol)의 용액을 100℃에서 1시간 동안 가열하였다. TLC에 의한 분석이 약간의 출발 물질이 남아있음을 나타냈고, 따라서 반응물을 110℃에서 추가로 45분 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 얼음 (400 g)에 부었다. 얼음이 용융되고 생성된 농후한 갈색 현탁액의 온도가 여전히 0℃ 미만일 때, 혼합물을 여과하였다. 고상 케이크를 물 (100 mL)로 세척하고 필터 상에서 30분 동안 건조시켰다. 그 후에 고상물을 냉각 (-10℃) 에탄올 (150 mL) 중에 재현탁시키고, 여과하고, 냉각 에탄올 (50 mL)로 세척한 다음, 필터 상에서 1시간 동안 공기 건조시켜, 3,6-디메틸-5-니트로피리딘-2-올 (28.0 g, 94% 수율)을 황갈색 분말로서 제공하였다: mp 263℃;

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.42 (s br, 1 H), 8.03 (s, 1 H), 2.61 (s, 3 H), 2.01 (s, 3 H); LRMS (ESI) *m/e* 169.3 [(M+H)⁺, 계산치 (C₇H₉N₂O₃ 169.1)]. 분석 계산치 (C₇H₉N₂O₃): C, 50.00, H, 4.79, N, 16.66. 실측치: C, 50.01, H, 4.59, N, 16.75.

[0145]



[0146]

[0147] 2-(디플루오로메톡시)-3,6-디메틸-5-니트로피리딘. 나트륨 히드라이드 (6.63 g, 166 mmol, 광유 중 60%)을 헥산 (100 mL)으로 세척하여 광유를 제거한 후에 실온에서 무수 아세트니트릴 (1500 mL) 중에 현탁시켰다. 3,6-디메틸-5-니트로피리딘-2-올 (27.9 g, 166 mmol)을 30분에 걸쳐서 나누어 첨가하여 황색 현탁액을 제공하였다. 첨가하는 동안 약간의 버블링이 있었지만 무시할 수 있는 온도 변화가 있었다. 이어서 세습 플루오라이드 (2.50 g, 16.6 mmol)를 첨가한 후에 트리메틸실릴 2-(플루오로술포닐)디플루오로아세테이트 (36.0 mL, 182 mmol)를 30분에 걸쳐서 서서히 첨가하였다. 첨가하는 동안 약간의 버블링이 있었고, 온도가 23℃에서 30℃로 상승하였고, 현탁액은 현저히 덜 혼탁해졌다. 15분 동안 교반한 후에, TLC는 출발 물질이 여전히 남아있음을 나타내므로, 추가 트리메틸실릴 2-(플루오로술포닐)디플루오로아세테이트 (6.5 mL, 33 mmol)를 10분에 걸쳐서 첨가하였다. 추가로 15분 후에, TLC는 출발 물질의 소진을 나타냈다. 물 (20 mL)을 버블링이 너무 격렬해지지 않는 속도로 적가함으로써 반응물을 쉼시켰다. 버블링이 중단된 후에, 추가 물 (200 mL)을 첨가하였다. 대부분의 용매를 진공에서 제거하고 수성 잔여물을 에틸 아세테이트 (3 x 200 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 갈색 시럽으로 증발시켰고, 이것은 정치시에 고상화되었다. 상기 잔여물을 에탄올 (400 mL) 중에 용해시키고 탈색 목탄 (15 g)을 첨가하였다. 현탁액을 70℃에서 20분 동안 가열한 후에 셀라이트 패드 및 모래를 통해 여과하였다. 여과물을 수집하고 용매를 증발시켰다. 잔여물을 메틸렌 클로라이드 중에 용해시키고 용액을 증발시켜 2-(디플루오로메톡시)-3,6-디메틸-5-니트로피리딘 (33.4 g, 92% 수율)을 담황색 고상물로서 제공하였다: mp 51-52℃;

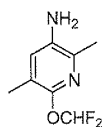
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.21 (s, 1 H), 7.55 (t, J = 72.0 Hz, 1 H), 2.76 (s, 3 H), 2.30 (s, 3 H). 분석 계산치 ($\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3\text{F}_2$) : C, 44.04, H, 3.69, N, 12.84. 실측치: C, 43.78, H, 3.55, N, 12.58.

[0148]

별법 경로. 아세트니트릴 (70 mL) 중 3,6-메틸-5-니트로피리딘-2-올 (700 mg, 4.17 mmol)의 현탁액에 NaH (450 mg, 11.3 mmol, 광유 중 60%)를 첨가하였다. 실온에서 15분 동안 교반한 후에, 2,2-디플루오로-2-(플루오로술포닐)아세트산 (0.73 mL, 7.09 mmol)을 수분에 걸쳐서 적가하였다. 첨가하는 동안 약간의 버블링이 있었다. 반응 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반한 후에, 물 (10 mL)을 서서히 첨가함으로써 반응물을 킨칭시켰다. 아세트니트릴을 진공에서 제거하고 물 (50 mL)을 함유하는 분리 깔때기로 잔여물을 옮겼다. 수성층을 EtOAc (3 x 50 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 염수로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축시켰다. 잔여물을 실리카겔 상에서 MPLC (헥산 중 10% 에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 2-(디플루오로메톡시)-3,6-디메틸-5-니트로피리딘 (870 mg, 96% 수율)을 방법 A에 의해 제조된 것과 동일한 무색 고상물로서 제공하였다: mp 48-49°C;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.21 (s, 1 H), 7.54 (t, J = 72.4 Hz, 1 H), 2.76 (s, 3 H), 2.30 (s, 3 H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 158.1, 151.0, 142.0, 137.0, 120.0, 113.9 (t, J = 255.8 Hz), 23.5, 14.7.

[0150]



[0151]

6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-아민. 메틸렌 클로라이드 (100 mL) 및 에탄올 (600 mL) 중 2-(디플루오로메톡시)-3,6-디메틸-5-니트로피리딘 (33.4 g, 153 mmol)의 용액에 목탄 상의 10% 팔라듐 (3.3 g)을 첨가하였다. 생성 현탁액을 파르 장치로 40 psi H_2 에서 1시간 동안 수소화하였다. TLC를 사용하여 반응을 모니터링 하였다. 추가로 3.3 g의 목탄 상의 팔라듐을 출발 물질이 남아있지 않을 때까지 1시간 마다 첨가하였다. 총 13.2 g의 Pd/C를 첨가하였다. 촉매를 마지막으로 첨가한 후에 반응 혼합물을 H_2 대기하에 2시간 동안 유지하였다. 반응 혼합물을 셀라이트 및 모래를 통해 여과하고 수집한 고상물을 에틸 아세테이트 (2 x 100 mL)로 세척 하였다. 여과물을 진공에서 농축시켜 회색 오일을 제공하였고, 이것을 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 (헥산 중 35% → 50% 에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-아민 (25.7 g, 89% 수율)을 담황색 오일로서 제공하였고, 이것은 냉동기에서 냉각시에 고상화되었다. 생성물을 0°C 미만에서 헥산으로부터 재결정화하여 백색 침상물을 제공하였다: mp 40-42°C;

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.35 (t, J = 74.0 Hz, 1 H), 6.84 (s, 1 H), 2.27 (s, 3 H), 2.15 (s, 3 H); LRMS (ESI) m/e 189.2 [(M+H) $^+$], 계산치 ($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OF}_2$ 189.1). 분석 계산치 ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OF}_2$) : C, 51.12, H, 5.38, N, 14.86. 실측치: C, 51.17, H, 5.29, N, 14.87.

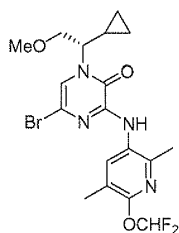
[0153]

별법 경로. EtOH (40 mL) 및 아세트산 (4 mL) 중 2-(디플루오로메톡시)-3,6-디메틸-5-니트로피리딘 (1.00 g, 4.58 mmol)의 용액에 철 분말 (1.26 g, 22.9 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 교반바가 없는 플라스크에서 가열 맨틀을 이용하여 격렬한 환류에서 가열하였다. 1.75시간 후에, 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 철 분말을 셀라이트 패드를 통한 여과에 의해 제거하였다. 여과물을 농축시키고 포화 수성 NaHCO_3 (50 mL)을 함유하는 분리 깔때기로 잔여물을 옮겼다. 수성층을 EtOAc (3 x 100 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 염수로 세척 하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축시켰다. 잔여물을 실리카겔 상에서 MPLC (헥산 중 20% → 50% 에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-아민 (774 mg, 90% 수율)을 방법 A에 의해 제조된 것과 동일한 담황색 고상물로서 제공하였다: mp 38.4-39.4°C;

[0154]

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.35 (t, $J = 74.5$ Hz, 1 H), 6.82 (s, 1 H), 2.26 (s, 3 H), 2.14 (s, 3 H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 149.6, 137.4, 137.1, 127.4, 119.0, 115.0 ($J = 251.3$ Hz), 19.3, 14.8; LRMS (ESI) m/e 189.0 [(M+H) $^+$], 계산치($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OF}_2$ 189.1)].

[0155]



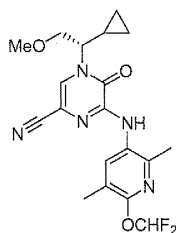
[0156]

[0157]

(S)-5-브로모-1-(시클로프로필-2-메톡시에틸)-3-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸-피리딘-3-일아미노]피라진-2(1H)-온. (S)-3,5-디브로모-1-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)피라진-2(1H)-온 (18.1 g, 51.7 mmol) 및 6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-아민 (9.70 mg, 51.7 mmol)을 온도계 및 적하 깔때기가 장치된 2 L 들이의 3목 둥근 바닥 플라스크에서 합쳐 N_2 하에 두었다. THF (360 mL)를 첨가하고 혼합물을 0°C 로 냉각시켰다. NaHMDS (109 mL, 109 mmol, THF 중 1 M)를 적하 깔때기를 통해 15분에 걸쳐서 적가하였다 (내부 온도는 5°C 미만으로 유지되었음). 첨가를 완료한 후에, 반응 혼합물을 0°C 에서 추가로 30분 동안 교반하였다. 포화 수성 NH_4Cl (120 mL)을 첨가함으로써 반응물을 킨칭시켰다. 물 (100 mL)을 함유하는 분리 깔때기로 혼합물을 옮기고 수성층을 에틸 아세테이트 (3 x 250 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 염수로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축시켜 (S)-5-브로모-1-(시클로프로필-2-메톡시에틸)-3-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노]피라진-2(1H)-온 (22.4 g, 95% 수율)을 갈색 고상물로서 제공하였고, 이것을 다음 단계에서 추가 정제 없이 사용하였다:

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.40 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.46 (t, $J = 73.7$ Hz, 1H), 4.16-4.12 (m, 1H), 3.74 (dd, $J_{AB} = 10.5$, $J_{AX} = 5.2$ Hz, 1H), 3.66 (dd, $J_{BA} = 10.3$, $J_{BX} = 3.3$ Hz, 1H), 3.35 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.39-1.34 (m, 1H), 0.85-0.79 (m, 1H), 0.66-0.62 (m, 1H), 0.56-0.51 (m, 1H), 0.34-0.29 (m, 1H); HRMS (ESI) m/e 459.0864 [(M+H) $^+$], 계산치($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3\text{BrF}_2$ 459.0843)].

[0158]



[0159]

[0160]

(S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노]-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴. (S)-5-브로모-1-(시클로프로필-2-메톡시에틸)-3-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸-피리딘-3-일아미노]피라진-2(1H)-온 (22.4 g, 48.8 mmol)을 실온에서 무수 디메틸포름아미드 (480 mL) 및 물 (24 mL) 중에 자기 교반하면서 용해시켰다. 질소를 15분 동안 반응 혼합물을 통해 버블링시켰다. 아연 시아나이드 (6.00 g, 51.0 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (2.23 g, 2.40 mmol) 및 dppf (3.24 g, 5.85 mmol)를 첨가하고 반응 혼합물을 120°C 에서 3시간 동안 가열하였다. 반응물을 냉각시키고 셀라이트 패드를 통해 여과하였다. DMF 여과물을 진공에서 증발시키고 (조 온도 $< 40^\circ\text{C}$) 포화 NH_4Cl 수용액 (200 mL)을 함유하는 분리 깔때기로 잔여물을 옮겼다. 수성층을 EtOAc (3 x 400 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 염수 (300 mL)로 세척하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축시켰다. 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 (헥산 중 70% \rightarrow 100% CH_2Cl_2 , 이어서 CH_2Cl_2 중 2% \rightarrow 5% 에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노]-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴 (14.2 g, 72% 수율)을

담황색 고상물로서 제공하였다. EtOH:2-BuOH (10:1) 혼합물로부터 재결정화하여 담황색 침상물을 제공하였다: mp 146.8-147.7°C;

$[\alpha]_D^{25} -63.7$ (c 0.486, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.40 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.46 (t, *J* = 73.5 Hz, 1H), 4.16-4.12 (m, 1H), 3.74 (dd, *J*_{AB} = 10.3, *J*_{AX} = 5.0 Hz, 1H), 3.67 (dd, *J*_{BA} = 10.4, *J*_{BX} = 3.0 Hz, 1H), 3.35 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.39-1.33 (m, 1H), 0.85-0.79 (m, 1H), 0.67-0.61 (m, 1H), 0.56-0.50 (m, 1H), 0.34-0.29 (m, 1H); HRMS (ESI) *m/e* 406.1704 [(M+H)⁺, 계산치(C₁₉H₂₂N₅O₃F₂ 406.1691)]. 분석 계산치 (C₁₉H₂₂N₅O₃F₂) : C, 56.29; H, 5.22; N, 17.27. 실측치: C, 56.38; H, 5.31; N, 17.34.

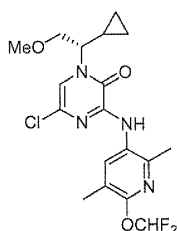
[0161]

[0162]

키랄 지지체 상에서의 초임계 유체 크로마토그래피 (SFC)에 의해 원치않는 제2 용리 이성질체를 제거하기 위해 제1 용리 이성질체에서 강화된 (약 97% 거울상이성질체 순도) (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노]-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴 (97 g, 다중 전개로부터)을 합쳤다: 키랄팩 OD-H 컬럼 (5 x 25 cm), 이동상 = CO₂ 중 15% 이소프로판올/아세트니트릴 (1:1); 유속 = 200 mL/분, 압력 = 100 bar, 온도 = 35°C, λ = 254 nm, 이소프로판올/아세트니트릴 (1:1) 중 91 mg/mL의 5 mL/주입/6분. 정제된 물질은 분석용 SFC에 의해 측정하였을 때 99% ee 초과와 광학 순도를 가졌다: 키랄셀 (Chiralcel) OD-H 컬럼 (4.6 x 250 mm, 5 μm); 이동상 = CO₂ 중 8% 에탄올; 유속 = 2 mL/분, 150 bar에서; λ = 215 nm; t_R = 6.5분.

[0163]

상기 분리에 의해 85 g의 거울상이성질체적으로 순수한 화합물 (ee > 99%)이 제공되었다. 상기 물질을 각각 약 28 g씩 3 분량으로 나누었다. 각각의 분량을 무수 2-부탄올 (280 mL)로부터 재결정화하였다. 합친 고상물을 고 진공하에 72시간 동안 건조시켜 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노]-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴 81.7 g을 제공하였다.

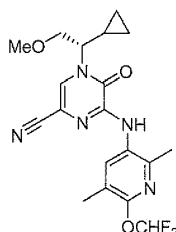


[0164]

[0165]

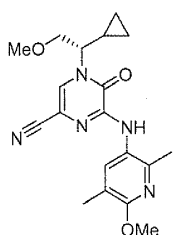
(S)-5-클로로-1-(시클로프로필-2-메톡시에틸)-3-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸-피리딘-3-일아미노]피라진-2(1H)-온. (S)-3,5-디클로로-1-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)피라진-2(1H)-온 (15.0 g, 57.0 mmol) 및 6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-아민 (10.7 g, 57.0 mmol)을 온도계 및 적하 깔때기가 장치된 2 L 들이의 3목 둥근 바닥 플라스크에서 N₂하에 합쳤다. THF (570 mL)를 첨가하고 혼합물을 0°C로 냉각시켰다. NaHMDS (119.7 mL, 119.7 mmol, THF 중 1 M)를 적하 깔때기를 통해 20분에 걸쳐서 내부 온도를 5°C 미만으로 유지하는 속도로 적가하였다. 첨가를 완료한 후에, 반응 혼합물을 0°C에서 추가로 15분 동안 교반하였다. 포화 수성 NH₄Cl (60 mL)을 첨가함으로써 반응물을 켄칭시켰다. 물 (400 mL)을 함유하는 분리 깔때기로 혼합물을 옮기고 수성층을 에테르 (3 x 300 mL)로 추출하였다. 합친 유기층을 염수로 세척하고, MgSO₄ 상에서 건조시키고, 여과한 다음, 농축시켰다. 생성물을 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 (헥산 중 30% 에틸 아세테이트)에 의해 정제하여 (S)-5-클로로-1-(시클로프로필-2-메톡시에틸)-3-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노]피라진-2(1H)-온 (22.1 g, 94% 수율)을 담황색 고상물로서 제공하였고, 이것을 이어서 헵탄으로부터 재결정화하여 무색 침상물을 제공하였다: mp 103.4-104.4°C;

$[\alpha]_D^{25} -41.9$ (*c* 0.807, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.42 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.46 (t, $J = 74.0$ Hz, 1H), 6.96 (s, 1H), 4.19-4.14 (m, 1H), 3.75 (dd, $J_{AB} = 10.3$, $J_{AX} = 6.3$ Hz, 1H), 3.67 (dd, $J_{BA} = 10.3$, $J_{BX} = 3.5$ Hz, 1H), 3.34 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 1.32-1.26 (m, 1H), 0.81-0.74 (m, 1H), 0.63-0.54 (m, 1H), 0.52-0.47 (m, 1H), 0.36-0.29 (m, 1H); HRMS (ESI) m/e 415.1360 $[(M+H)^+]$, 계산치($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3\text{ClF}_2$ 415.1349). 분석 계산치($\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_3\text{ClF}_2$): C, 52.11; H, 5.10; N, 13.50. 실측치: C, 52.05; H, 4.99; N, 13.48.



(S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노]-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴. (S)-5-클로로-1-(시클로프로필-2-메톡시에틸)-3-[6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸-피리딘-3-일아미노]피라진-2(1H)-온 (99.3 mg, 0.24 mmol)을 무수 NMP (3 mL) 중에 용해시켰다. 상기 용액에 Pd(dppf)Cl_2 , CH_2Cl_2 (78.4 mg, 0.096 mmol), Zn(CN)_2 (60 mg, 0.51 mmol) 및 Zn 분말 (24 mg, 0.37 mmol)을 첨가하였다. N_2 를 15분 동안 반응 혼합물을 통해 버블링시켜 용해된 O_2 를 배출시켰고 반응 혼합물을 120°C 에서 아르곤하에 1시간 동안 유지하였다. LC-MS 분석은 요구되는 생성물로의 92.5% 전환율을 나타냈다.

LRMS (ESI) m/e 406.3 $[(M+H)^+]$, 계산치($\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_3\text{F}_2$ 406.2).



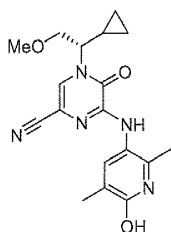
(S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-메톡시-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴. (S)-5-클로로-1-(시클로프로필-2-메톡시에틸)-3-[6-(메톡시)-2,5-디메틸-피리딘-3-일아미노]피라진-2(1H)-온 (3.00 g, 7.93 mmol)을 N-메틸피롤리디논 63 mL 중에 용해시켰다. $\text{Pd(dppf)Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (648 mg, 0.793 mmol), Zn(CN)_2 (1.86 g, 15.9 mmol) 및 Zn 분말 (619 mg, 9.52 mmol)을 용액에 첨가하였다. 15분 동안 용액을 통해 N_2 를 버블링시킨 후에, 암색 혼합물을 아르곤하에 120°C 에서 23시간 동안 유지하였다. 반응 혼합물의 LC-MS 분석은 98.6% 전환율을 나타냈다. 반응 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 셀라이트 단층을 통해 여과한 다음, 셀라이트 케이크를 NMP로 세척하였다. 여과물을 진공에서 증발시켰다 (조 온도 약 60°C). 암색 잔여물을 EtOAc (350 mL)와 H_2O (60 mL) 사이에서 분배하였다. 유기층을 물 (2 x 50 mL) 및 염수 (50 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시킨 후에, 진공에서 증발시켰다. 이어서 암갈색 잔여물을 실리카겔 상에서 컬럼 크로마토그래피 (헥산 중 30% 에틸 아세테이트, $R_f = 0.3$)에 의해 정제하여 순수한 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-메톡시-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴 (2.83 g, 96.5%)을 담황색 고상물로서 제공하였다:

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.86 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 4.16-4.13 (m, 1H), 3.94 (s, 1H), 3.74 (dd, 1H, $J_{\text{AB}} = 10.4$ Hz, $J_{\text{AX}} = 5.2$ Hz), 3.66 (dd, $J_{\text{BX}} = 3.2$ Hz), 3.35 (s, 3H), 2.43 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.39-1.32 (m, 1H), 0.85-0.79 (m, 1H), 0.67-0.61 (m, 1H), 0.55-0.50 (m, 1H), 0.34-0.29 (m, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): 158.7, 151.4, 148.1, 144.1, 133.1, 125.7, 124.7, 118.4, 117.3, 107.8, 77.4, 77.1, 76.9, 72.7, 62.3, 59.5, 53.6, 20.0, 15.8, 11.2, 6.2, 4.1; LRMS (ESI) m/e 370 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 계산치 ($\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_3$ 370)];

[0172]

[0173]

$t_R = 2.0$ 분 (용매 A: $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA} = 10:90:0.1$; 용매 B: $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA} = 90:10:0.1$; A 중 40% B \rightarrow A 중 100% B 선형 구배를 3분 전개시키고 말단에서 1분의 체류 시간을 가짐, $\lambda = 280$ nm).



[0174]

[0175]

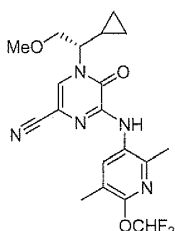
(S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-히드록시-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴. 빙초산 (80 mL) 중 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-메톡시-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴 (3.00 g, 8.12 mmol) 및 KI (6.2 g, 37.3 mmol)를 100°C 에서 1시간 동안 교반하면서 가열하였다. LC-MS 분석은 요구되는 생성물로의 98% 초과와 전환율을 나타냈다. 반응 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고 아세트산을 진공에서 증발시켰다. 잔여물을 에틸 아세테이트 (3 x 150 mL)와 H_2O (약 100 mL) 사이에서 분배하였다. 유기층을 염수 (100 mL)로 세척한 후에 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 유기층을 진공에서 증발시키고 암갈색 잔여물을 바이오타게(Biotage) SiO_2 컬럼 크로마토그래피 (5% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, $R_f = 0.16$)에 의해 정제하여 순수한 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-히드록시-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴 (2.33 g, 81%)을 담황색 고상물로서 제공하였다:

[0176]

[0177]

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.85-7.55 (br. s, 1H), 7.48 (s, 1H), 4.16-4.12 (m, 1H), 3.73 (dd, 1H, $J_{\text{AB}} = 10.3$ Hz, $J_{\text{AX}} = 4.9$ Hz), 3.66 (dd, $J_{\text{BX}} = 2.2$ Hz), 3.35 (s, 3H), 2.40-2.20 (br s, 6H), 1.39-1.32 (m, 1H), 0.85-0.79 (m, 1H), 0.67-0.61 (m, 1H), 0.55-0.51 (m, 1H), 0.34-0.29 (m, 1H); LRMS (ESI) m/e 356 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 계산치 ($\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_3$ 356)];

$t_R = 1.8$ 분 (용매 A: $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA} = 10:90:0.1$; 용매 B: $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{TFA} = 90:10:0.1$; A 중 0% B \rightarrow A 중 100% B 선형 구배를 3분 전개시키고 말단에서 1분의 체류 시간을 가짐, $\lambda = 280$ nm).



[0178]

[0179]

(S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴. 순수한 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-히드록시-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보니트릴 (2.3 g, 6.5 mmol)과 CsF (395 mg, 2.6 mmol)의 혼합물을 아세트니트릴 (65 mL)에 첨가하였다. 생성 현탁액에, 트리메틸실릴 2,2-디플루오로-2-(플루오로술포닐)아세테이트 (3.82 mL, 19.4 mmol)를 서서히 첨가하였다 (아주 조심스럽게 사용하여야 함. 상기 시약은 피부 손상을 초래할 수 있고 항상 후드에서 취급해야 함). 1시간 후의 LC-MS 분석은 반응이 완료되었음을 나타냈다 (요

구되는 생성물로의 89% 전환율). 휘발물질을 진공에서 증발시키고 잔여물을 EtOAc (3 x 120 mL)와 H₂O (약 100 mL) 사이에서 분배하였다. 유기층을 물 (2 x 50 mL) 및 염수 (50 mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 에틸 아세테이트를 진공에서 증발시키고 잔여물을 DMF (10 mL) 중에 용해시켰다. 용액을 MeCN:H₂O (1:2)로 평형화된 C₁₈ 실리카겔 컬럼 (14 cm x 5 cm)에 적용하였다. 컬럼을 33% MeCN/H₂O (500 mL), 45% MeCN/H₂O (500 mL), 60% MeCN/H₂O (1000 mL), 70% MeCN/H₂O (500 mL)로 용리시켰다. 각각의 분획을 LC-MS에 의해 분석하였다 (생성물은 60%~70% MeCN/H₂O 사이에서 배출됨). 순수한 생성물을 함유하는 분획을 합치고 진공에서 농축시켜 순수한 (S)-4-(1-시클로프로필-2-메톡시에틸)-6-(6-(디플루오로메톡시)-2,5-디메틸피리딘-3-일아미노)-5-옥소-4,5-디히드로피라진-2-카르보닐 (2.28 g, 87% 수율)을 담황색 고상물로서 제공하였다:

¹H NMR

(CDCl₃) δ 8.43 (s, 1 H); 8.01 (s, 1 H); 7.56 (s, 1 H); 7.49 (t, *J*_{H-F} = 73.8 Hz, 1 H); 4.15 - 4.18 (m, 1 H); 3.76 (dd, *J*_{AB} = 10.4, *J*_{AX} = 5.2 Hz, 1 H); 3.68 (dd, *J*_{BA} = 10.4, *J*_{BX} = 3.1 Hz, 1 H); 3.37 (s, 3 H); 2.46 (s, 3 H); 2.30 (s, 3 H); 1.35-1.42 (m, 1 H); 0.82-0.88 (m, 1 H); 0.64-0.69 (m, 1 H); 0.53-0.58 (m, 1 H); 0.31-0.36 (m, 1 H); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 153.0, 151.5, 147.8, 143.8, 133.3, 129.4, 125.6, 119.1, 117.2, 114.8 (t, *J* = 256.1 Hz, 1 C), 107.6, 72.7, 62.6, 59.6, 20.0, 15.5, 11.4, 6.4, 4.2; ¹⁹F NMR (CDCl₃) δ -88.73 (d); LRMS (ESI) *m/e* 406 [(M+H)⁺, 계산치 (C₁₉H₂₂N₅O₃F₂ 406)];

[0180]

*t*_R = 2.7분 (용매 A: MeOH:H₂O:TFA = 10:90:0.1; 용매 B: MeOH:H₂O:TFA = 90:10:0.1; A 중 40% B → A 중 100% B 선형 구배를 3분 전개시키고 말단에서 1분의 체류 시간을 가짐, λ = 280 nm).

[0182]

본 발명의 개시내용은 상기 예시 실시예로 제한되지 않으며, 또한 그의 본질적인 특징으로부터 이탈함이 없이 다른 특정 형태로 구체화될 수 있음이 당업자에게 자명할 것이다. 따라서 상기 실시예는 모든 측면에서 제한하는 것이 아닌 예시로서 간주되고, 상기 실시예보다는 첨부된 특허청구범위를 참조로 하는 것이 바람직하며, 따라서 특허청구범위의 등가의 의미 및 범주 내에 있는 모든 변화를 포함시키고자 한다.