



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0063306
(43) 공개일자 2018년06월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 403/14 (2006.01) *A61K 31/496* (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) *A61P 25/16* (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01) *A61P 25/28* (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01) *C07D 471/08* (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07D 403/14 (2013.01)
A61K 31/496 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-7013126

(22) 출원일자(국제) 2016년10월13일
 심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2018년05월09일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/056714

(87) 국제공개번호 WO 2017/066366
 국제공개일자 2017년04월20일

(30) 우선권주장
 3308/DEL/2015 2015년10월14일 인도(IN)

(71) 출원인
브리스톨-마이어스 스CMP 컴퍼니
 미국 뉴저지 (우편번호 08540-4000) 프린스턴 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 피.오. 박스 4000

(72) 발명자
이슬람, 이마들
 미국 94806 캘리포니아주 리치몬드 #333 개리티 웨이 3184
탕가티루파티, 스리니바산
 인도 560 099 카르나타카 방갈로르 봄마산드라 지가니 라인 로드 봄마산드라 인더스트리얼 에리어 포 페이즈 플롯 넘버 2 앤드 3 비오콘 스페셜 이코 노믹 존 신진 인터내셔널 리미티드 내 (뒷면에 계속)

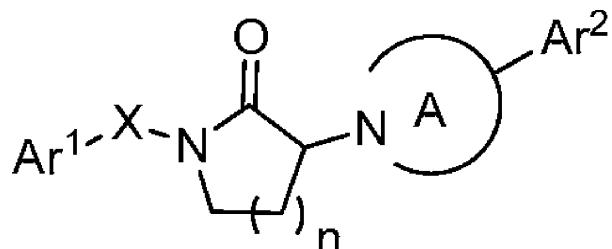
(74) 대리인
양영준, 심미성

전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 선택적 NR2B 길항제

(57) 요약

본 개시내용은 일반적으로 염을 포함한 화학식 I의 화합물, 및 상기 화합물을 사용하는 조성물 및 방법에 관한 것이다. 상기 화합물은 NR2B 수용체의 리간드이며, 다양한 중추 신경계 장애의 치료에 유용할 수 있다.



I

(52) CPC특허분류

A61K 31/506 (2013.01)
A61P 25/16 (2018.01)
A61P 25/24 (2018.01)
A61P 25/28 (2018.01)
C07D 401/12 (2013.01)
C07D 471/08 (2013.01)

(72) 발명자

와리에르, 자야쿠마르 산카라

인도 560 099 카르나타카 방갈로르 봄마산드라 지
가니 라인 로드 봄마산드라 인더스트리얼 에리어
포 페이즈 플롯 넘버 2엔드3 비오콘 스페셜 이코노
믹 존 신진 인터내셔널 리미티드 내

체루쿠, 스리니바스

인도 560 099 카르나타카 방갈로르 봄마산드라 지
가니 라인 로드 봄마산드라 인더스트리얼 에리어
포 페이즈 플롯 넘버 2엔드3 비오콘 스페셜 이코노
믹 존 신진 인터내셔널 리미티드 내

세티, 푸르니마

인도 560 099 카르나타카 방갈로르 봄마산드라 지
가니 라인 로드 봄마산드라 인더스트리얼 에리어
포 페이즈 플롯 넘버 2엔드3 비오콘 스페셜 이코노
믹 존 신진 인터내셔널 리미티드 내

굽타, 그란디 벤카트 랍 크리쉬나 모한

인도 560022 카르나타카 방갈로르 예스완트푸르 방
갈로르 노쓰 수바이다르팔라야 에이치эм티 메인 로
드 사이 세레네 아파트먼츠 넘버 #9/3

마코르, 존 이.

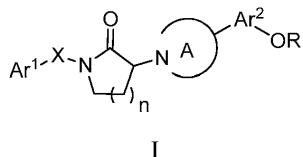
미국 18977 웬설베이니아주 워싱턴 크로싱 커맨더
스 드라이브 55

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.



여기서:

Ar¹은 페닐이며, 시아노, 할로, 알킬, 할로알킬 및 할로알콕시로부터 선택된 0-3개의 치환기로 치환되고;

Ar²는 피리디닐 또는 피리미디닐이며, 1개의 OR 치환기 및 0-2개의 할로 또는 알킬 치환기로 치환되고;

R은 수소, 또는 알킬 에스테르, 아미노산 에스테르, 알콕시 에스테르, 포스폰산, 포스폰산 알킬 에스테르, 알콕시포스포노네이트산, 알콕시포스포네이트 알킬 에스테르, 알킬 카르바메이트, 아미노산 카르바메이트, 알킬 포스포르아미데이트, 아릴 포스포르아미데이트 및 술파메이트로 이루어진 군으로부터 선택된 전구약물 모이어티이고;

X는 결합 또는 C₁-C₃ 알킬렌이고;

n은 1 또는 2이고;

고리 A는 피페라지닐, 호모피페라지닐 또는 2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄, 피페라진-2-온이며, 할로, 알킬, 히드록시 또는 알콕시로부터 선택된 0-4개의 치환기로 치환된다.

청구항 2

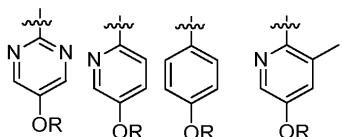
제1항에 있어서, n은 1이고 고리 A는 0-2개의 알킬 치환기로 치환된 피페라지닐인 화합물.

청구항 3

제1항에 있어서, Ar¹은 시아노, 할로, 알킬, 할로알킬 및 할로알콕시로부터 선택된 0-3개의 치환기로 치환된 페닐인 화합물.

청구항 4

제1항에 있어서, Ar²는 하기로부터 선택된 것이고,



R은 수소, 아미노산 에스테르, 포스폰산, 알콕시포스포노네이트산, 알킬 카르바메이트, 아미노산 카르바메이트, 알킬 포스포르아미데이트, 아릴 포스포르아미데이트 및 술파메이트로부터 선택된 것인 화합물.

청구항 5

제1항에 있어서, X는 메틸렌인 화합물.

청구항 6

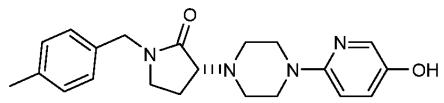
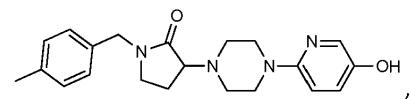
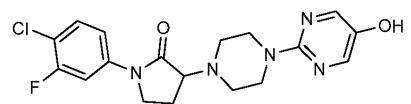
제1항에 있어서, R은 수소인 화합물.

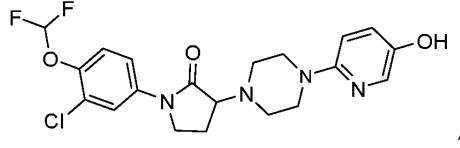
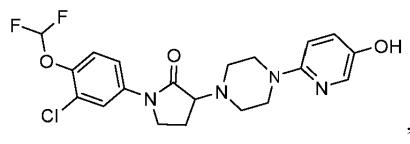
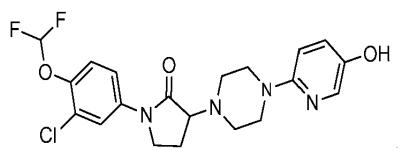
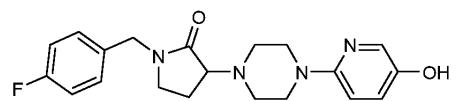
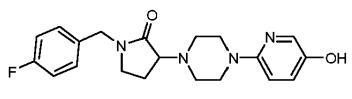
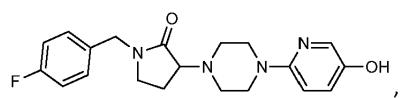
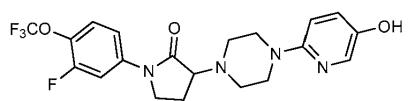
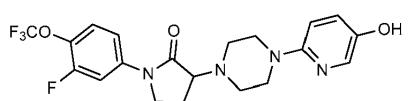
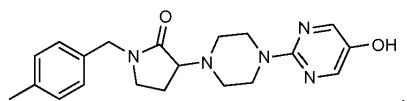
청구항 7

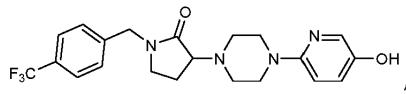
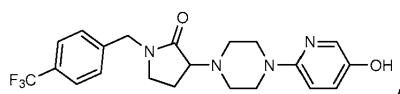
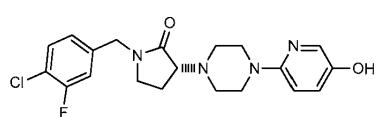
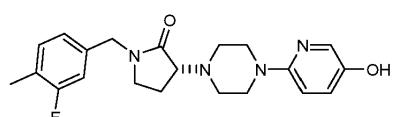
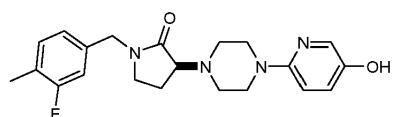
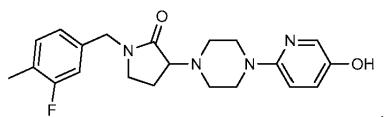
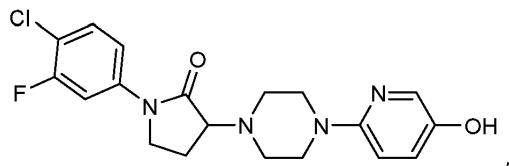
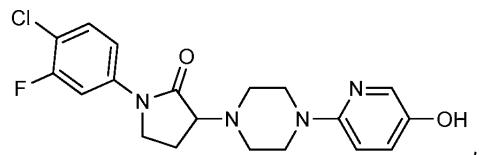
제1항에 있어서, R은 $P(=O)(OH)_2$ 인 화합물.

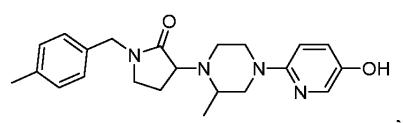
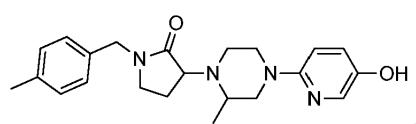
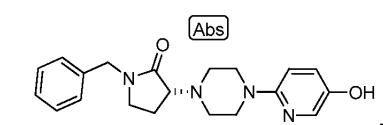
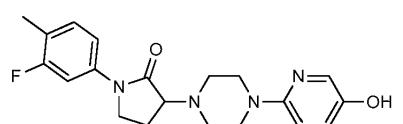
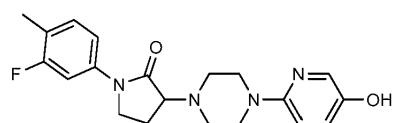
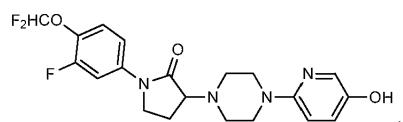
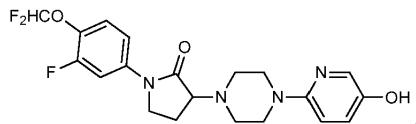
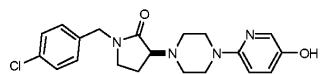
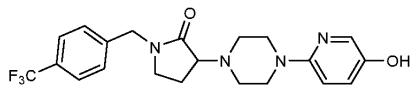
청구항 8

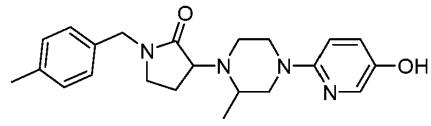
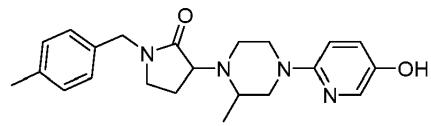
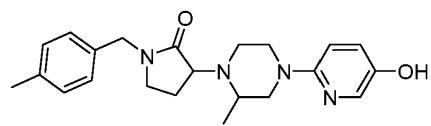
제1항에 있어서, 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.



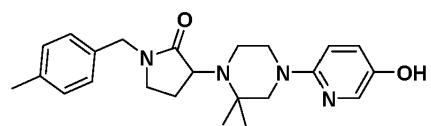
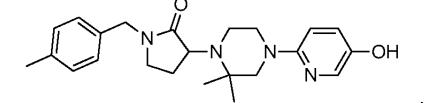
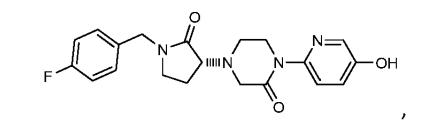
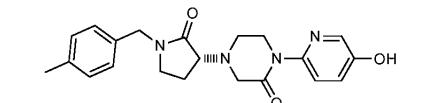
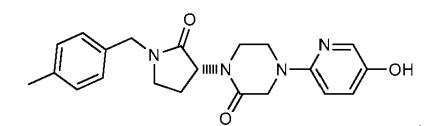
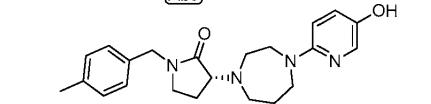


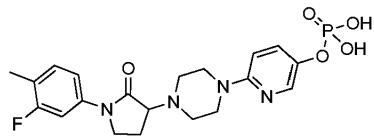
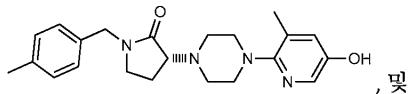
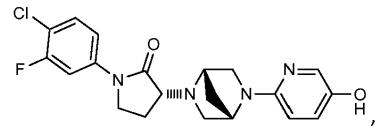
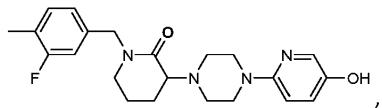
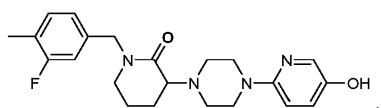
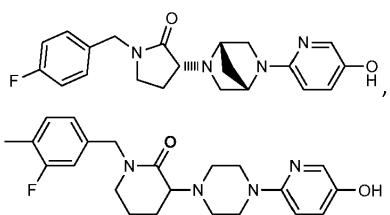
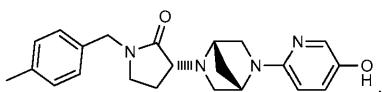
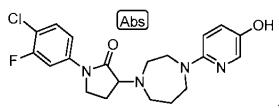
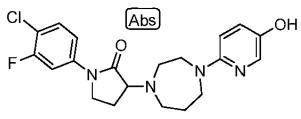
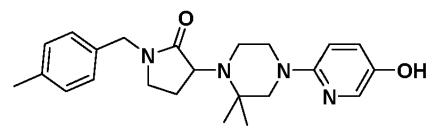






Abs





청구항 9

제1항의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 10

환자에게 치료 유효량의 제1항의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 우울증, 알츠하이머병, 신경병증성 통증 또는 파킨슨병의 치료를 위한 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 우울증의 치료에 관한 방법.

청구항 12

제10항에 있어서, 알츠하이머병의 치료에 관한 방법.

청구항 13

제10항에 있어서, 신경병증성 통증의 치료에 관한 방법.

발명의 설명**기술 분야**

[0001]

관련 출원에 대한 상호 참조

[0002]

본 출원은 2015년 10월 14일자로 출원된 인도 특허 가출원 일련 번호 3308/DEL/2015를 우선권 주장하며, 그의 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003]

본 개시내용은 일반적으로 염을 포함한 화학식 I의 화합물, 및 상기 화합물을 사용하는 조성물 및 방법에 관한 것이다. 상기 화합물은 NR2B NMDA 수용체의 리간드이며, 다양한 중추 신경계 장애의 치료에 유용할 수 있다.

배경 기술

[0004]

N-메틸-D-아스파르테이트 (NMDA) 수용체는 중추 신경계의 흥분성 신경전달물질인 글루타메이트의 결합에 의해 케이팅되는 이온 채널이다. 그것은 우울증, 신경병증성 통증, 알츠하이머병 및 파킨슨병을 포함한 수많은 신경계 질환의 발병에 주요 역할을 하는 것으로 생각되고 있다. 기능적 NMDA 수용체는 주로 2개의 NR1 및 2개의 NR2 서브유닛으로 구성되는 사량체 구조이다. NR2 서브유닛은 하기 4종의 개별 하위유형으로 더 세분되는데: NR2A, NR2B, NR2C 및 NR2D, 이들은 뇌 전체에 걸쳐 차등적으로 분포된다. NMDA 수용체, 특히 NR2B 서브유닛-함유 채널의 길항제 또는 알로스테릭 조정제는 주요 우울 장애의 치료를 위한 치료제로서 조사된 바 있다 (문헌 [G. Sanacora, 2008, Nature Rev. Drug Disc. 7: 426-437]).

[0005]

NR2B 수용체는 글루타메이트를 위한 것 이외의 추가적인 리간드 결합 부위들을 함유한다. 비-선택적 NMDA 길항제 예컨대 케타민은 채널을 통한 Ca^{++} 의 수송을 방해하는 세공 차단제이다. 케타민은 i.v. 약물로서 인간 임상 시험에서 빠르고 오래 지속되는 항우울제 특성이 입증된 바 있다. 또한, 케타민의 반복되는 간헐적 주입에 의해 효능이 유지되었다 (문헌 [Zarate et al., 2006, Arch. Gen. Psychiatry 63: 856-864]). 하지만, 이와 같은 종류의 약물은 해리 효과를 포함한 그의 CNS 부작용으로 인하여 제한된 치료적 가치를 갖는다.

[0006]

알로스테릭, 비-경쟁적 결합 부위가 NR2B의 N-말단 도메인에서 또한 확인된 바 있다. 이 부위에 선택적으로 결합하는 작용제, 예컨대 트락소프로딜(Traxoprodil)은 i.v. 약물로서 인간 임상 시험에서 지속적인 항우울제 반응 및 개선된 부작용 프로파일을 나타내었다 (문헌 [Preskorn et al., 2008, J. Clin. Psychopharmacol., 28: 631-637, 및 F. S. Menniti, et al., 1998, CNS Drug Reviews, 4, 4, 307-322]). 그러나, 이러한 종류에서의 약물의 개발은 낮은 생체이용률, 저조한 약동학, 및 hERG 이온 채널을 포함한 다른 약리학적 표적에 대한 선택성의 결핍에 의해 방해받고 있다. hERG 이온 채널의 차단은 잠재적으로 치명적인 토르사드 드 포인트(Torsades de pointe)를 포함한 심장 부정맥으로 이어질 수 있으므로, 이러한 채널에 대한 선택성은 중요하다. 따라서, 주요 우울 장애의 치료에 있어서, 유리한 내약성 프로파일을 가지는 효과적인 NR2B-선택성 음성 알로스테릭 조정제의 개발에 대한 미충족 임상적 필요가 남아 있다.

[0007]

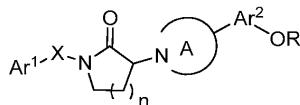
NR2B 수용체 길항제는 PCT 공개 WO 2009/006437에 개시된 바 있다.

[0008]

본 발명은 기술적 이점을 제공하는데, 예를 들어 화합물은 신규하고 NR2B 수용체의 리간드이며, 다양한 중추 신경계 장애의 치료에 유용할 수 있다. 또한, 화합물은, 예를 들어 그의 작용 메카니즘, 결합, 억제 효능, 표적 선택성, 용해도, 안전성 프로파일 또는 생체이용률 중 1종 이상과 관련하여 제약 용도에 대한 이점을 제공한다.

발명의 내용

[0009] 제1 실시양태에서, 개시내용은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공하며:



I

[0010]

[0011] 여기서:

[0012] Ar¹은 페닐이며, 시아노, 할로, 알킬, 할로알킬 및 할로알콕시로부터 선택된 0-3개의 치환기로 치환되고;

[0013] Ar²는 피리디닐 또는 피리미디닐이며, 1개의 OR 치환기 및 0-2개의 할로 또는 알킬 치환기로 치환되고;

[0014] R은 수소, 또는 알킬 에스테르, 아미노산 에스테르, 알콕시 에스테르, 포스폰산, 포스폰산 알킬 에스테르, 알콕시포스포네이트산, 알콕시포스포네이트 알킬 에스테르, 알킬 카르바메이트, 아미노산 카르바메이트, 알킬 포스포르아미데이트, 아릴 포스포르아미데이트 및 술파메이트로 이루어진 군으로부터 선택된 전구약물 모이어티이고;

[0015] X는 결합 또는 C₁-C₃ 알킬렌이고;

[0016] n은 1 또는 2이고;

[0017] 고리 A는 피페라지닐, 호모피페라지닐 또는 2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄, 피페라진-2-온이며, 할로, 알킬, 히드록시 또는 알콕시로부터 선택된 0-4개의 치환기로 치환된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 임의의 주어진 예시적 실시양태가 하나 이상의 추가의 예시적 실시양태와 조합될 수 있다는 것이 이해될 것이다.

[0019] 달리 명시되지 않는 한, 이들 용어는 하기 의미를 갖는다. "알킬"은 1 내지 6개의 탄소로 이루어진 직쇄형 또는 분지형 알킬 기를 의미한다. "알케닐"은 적어도 1개의 이중 결합을 갖는 2 내지 6개의 탄소로 구성된 직쇄형 또는 분지형 알킬 기를 의미한다. "알카닐"은 적어도 1개의 삼중 결합을 갖는 2 내지 6개의 탄소로 구성된 직쇄형 또는 분지형 알킬 기를 의미한다. "시클로알킬"은 3 내지 7개의 탄소로 이루어진 모노시클릭 고리계를 의미한다. 탄화수소 모이어티를 갖는 용어 (예를 들어, 알콕시)는 탄화수소 부분에 대한 직쇄형 및 분지형 이성질체를 포함한다. "할로"는 플루오로, 클로로, 브로모 및 아이오도를 포함한다. "할로알킬" 및 "할로알콕시"에는 모노할로 내지 퍼할로의 모든 할로겐화된 이성질체를 포함한다. "아릴"은 6 내지 12개의 탄소 원자를 갖는 모노시클릭 또는 비시클릭 방향족 탄화수소 기, 또는 고리 중 하나 또는 둘 다가 페닐 기인 비시클릭 융합된 고리계를 의미한다. 비시클릭 융합된 고리계는 4- 내지 6-원 방향족 또는 비-방향족 카르보시클릭 고리에 융합된 페닐 기로 이루어진다. 아릴 기의 대표적인 예는 인다닐, 인데닐, 나프틸, 페닐, 및 테트라히드로나프틸을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. "헵테로아릴"은 독립적으로 질소, 산소 및 황으로부터 선택된 1-5개의 헤테로원자를 갖는 5 내지 7원 모노시클릭 또는 8 내지 11원 비시클릭 방향족 고리계를 의미한다. 팔호 및 다중팔호 용어는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 결합 관계를 명확하게 하고자 하는 것으로 의도된다. 예를 들어, ((R)알킬)과 같은 용어는 치환기 R로 추가로 치환된 알킬 치환기를 의미한다.

[0020] 본 발명은 화합물의 모든 제약상 허용되는 염 형태를 포함한다. 제약상 허용되는 염은 반대 이온이 화합물의 생리학적 활성 또는 독성에 현저하게 기여하지 않고, 그 자체로 약리학적 등가물로서 기능하는 것이다. 이들 염은 상업적으로 입수 가능한 시약을 사용하여 통상의 유기 기술에 따라 제조될 수 있다. 일부 음이온성 염 형태는 아세테이트, 아스트레이트, 베실레이트, 브로마이드, 클로라이드, 시트레이트, 푸마레이트, 글루쿠로네이트, 히드로브로마이드, 히드로클로라이드, 히드로아이오다이드, 아이오다이드, 락테이트, 말레이트, 메실레이트, 니트레이트, 파모에이트, 포스페이트, 숙시네이트, 술페이트, 타르트레이트, 토실레이트 및 크시노포에이트를 포함한다. 일부 양이온성 염 형태는 암모늄, 알루미늄, 벤자린, 비스무트, 칼슘, 콜린, 디에틸아민, 디에탄올아민, 리튬, 마그네슘, 메글루민, 4-페닐시클로헥실아민, 피페라진, 칼륨, 나트륨, 트로메타민, 및 아연을 포함한다.

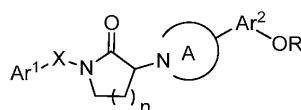
[0021] 일부 화학식 I의 화합물은 그의 예가 하기 나타난, 적어도 1개의 비대칭 탄소 원자를 함유한다. 본 발명은 화

합물의 모든 입체이성질체 형태, 및 혼합물 및 분리된 이성질체 둘 다를 포함한다. 입체이성질체의 혼합물은 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해 개별 이성질체들로 분리될 수 있다. 화합물은 모든 호변이성질체 형태를 포함한다.

[0022] 본 발명은 본 발명의 화합물에서 발생하는 원자의 모든 동위원소를 포함하는 것으로 의도된다. 동위원소는 원자 번호는 동일하지만, 질량수는 상이한 원자들을 포함한다. 일반적 예로서 및 비체한적으로, 수소의 동위원소는 중수소 및 삼중수소를 포함한다. 탄소의 동위원소는 ^{13}C 및 ^{14}C 를 포함한다. 동위원소-표지된 본 발명의 화합물은 일반적으로 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 기술에 의해 또는 본원에 기재된 것들과 유사한 방법에 의해, 달리 이용되는 비-표지된 시약 대신에 적절한 동위원소-표지된 시약을 사용하여 제조될 수 있다. 이러한 화합물은, 예를 들어 생물학적 활성을 결정하는데 있어서 표준물 및 시약으로서의, 다양한 잠재적 용도를 가질 수 있다. 안정한 동위원소의 경우에, 이러한 화합물은 생물학적, 약리학적, 또는 약동학적 특성을 유리하게 변형시키는 잠재력을 가질 수 있다.

[0023] 본 출원에서 사용된 약어는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다.

[0024] 본 발명의 한 측면은 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이며:



[0025] I

[0026] 여기서:

[0027] Ar¹은 페닐이며, 시아노, 할로, 알킬, 할로알킬 및 할로알콕시로부터 선택된 0-3개의 치환기로 치환되고;

[0028] Ar²는 피리디닐 또는 피리미디닐이며, 1개의 OR 치환기 및 0-2개의 할로 또는 알킬 치환기로 치환되고;

[0029] R은 수소, 또는 알킬 에스테르, 아미노산 에스테르, 알콕시 에스테르, 포스폰산, 포스폰산 알킬 에스테르, 알콕시포스포노네이트산, 알콕시포스포네이트 알킬 에스테르, 알킬 카르바메이트, 아미노산 카르바메이트, 알킬 포스포르아미데이트, 아릴 포스포르아미데이트 및 술파메이트로 이루어진 군으로부터 선택된 전구약물 모이어티이고;

[0030] X는 결합 또는 C₁-C₃ 알킬렌이고;

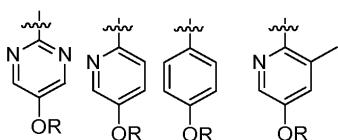
[0031] n은 1 또는 2이고;

[0032] 고리 A는 피페라지닐, 호모피페라지닐 또는 2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄, 피페라진-2-온이며, 할로, 알킬, 히드록시 또는 알콕시로부터 선택된 0-4개의 치환기로 치환된다.

[0033] 본 발명의 또 다른 측면은 n이 1이고 고리 A가 0-2개의 알킬 치환기로 치환된 피페라지닐인 화학식 I의 화합물이다.

[0034] 본 발명의 또 다른 측면은 Ar¹이 시아노, 할로, 알킬, 할로알킬, 및 할로알콕시로부터 선택된 0-3개의 치환기로 치환된 페닐인 화학식 I의 화합물이다.

[0035] 본 발명의 또 다른 측면은 Ar²가 하기로부터 선택된 것이고,



[0036]

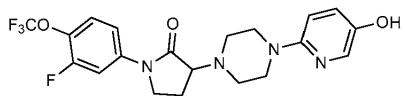
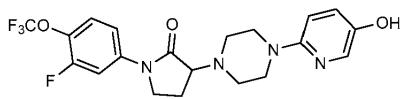
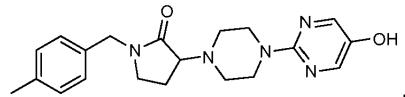
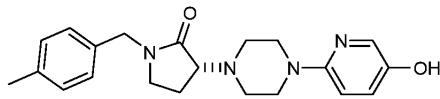
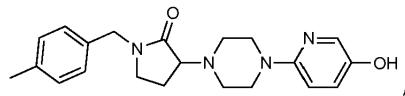
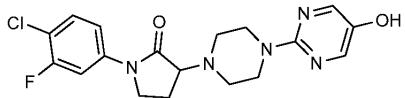
[0037] R이 수소, 아미노산 에스테르, 포스폰산, 알콕시포스포노네이트산, 알킬 카르바메이트, 아미노산 카르바메이트, 알킬 포스포르아미데이트, 아릴 포스포르아미데이트 및 술파메이트로부터 선택된 것인, 화학식 I의 화합물이다.

[0038] 본 발명의 또 다른 측면은 X가 메틸렌인 화학식 I의 화합물이다.

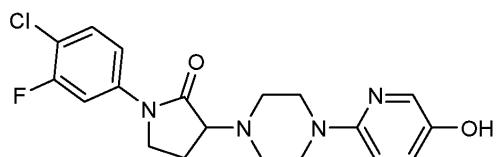
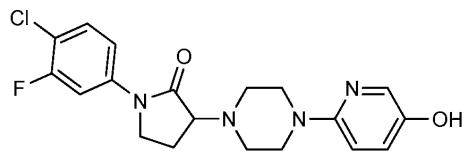
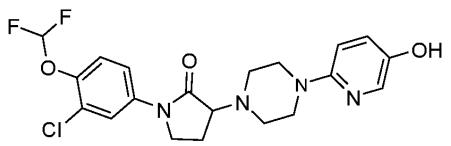
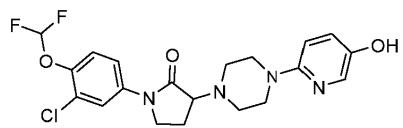
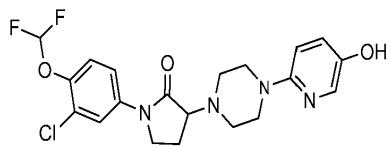
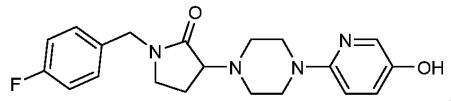
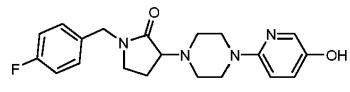
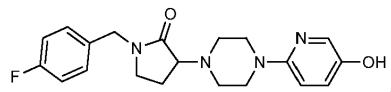
[0039] 본 발명의 또 다른 측면은 R이 수소인 화학식 I의 화합물이다.

[0040] 본 발명의 또 다른 측면은 R이 $P(=O)(OH)_2$ 인 화학식 I의 화합물이다.

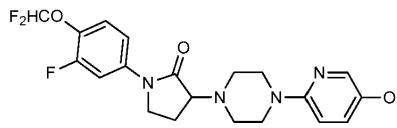
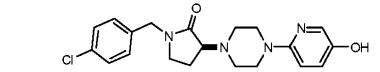
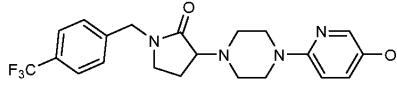
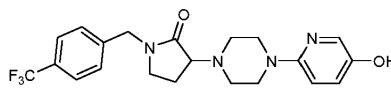
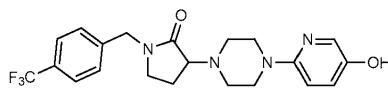
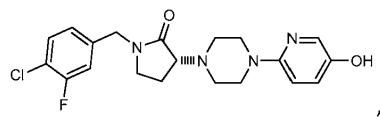
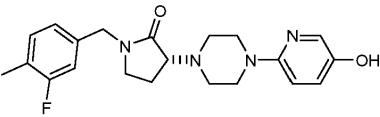
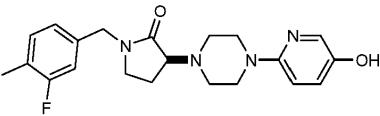
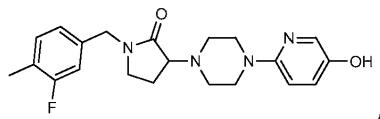
[0041] 본 발명의 또 다른 측면은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이다.



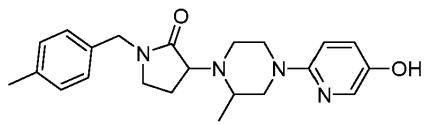
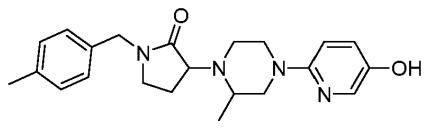
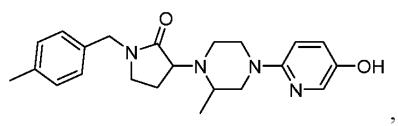
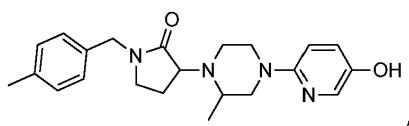
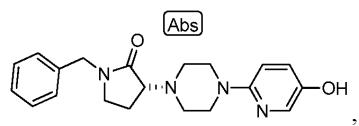
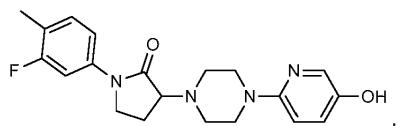
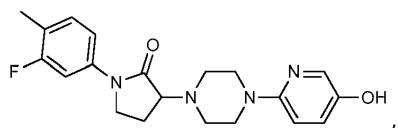
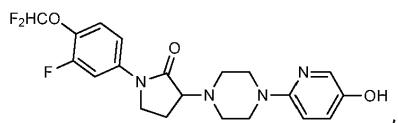
[0042]



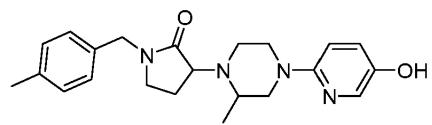
[0043]



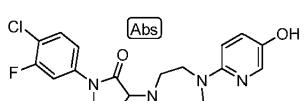
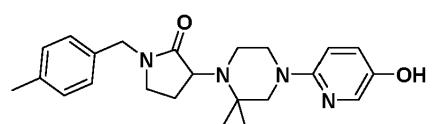
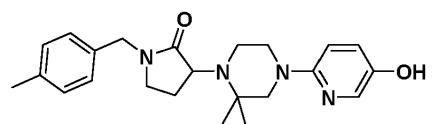
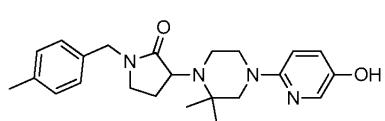
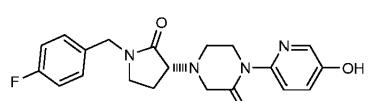
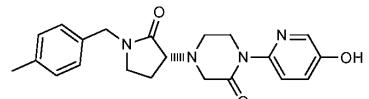
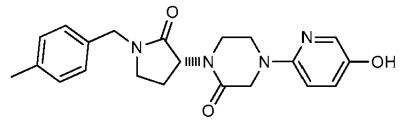
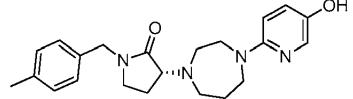
[0044]



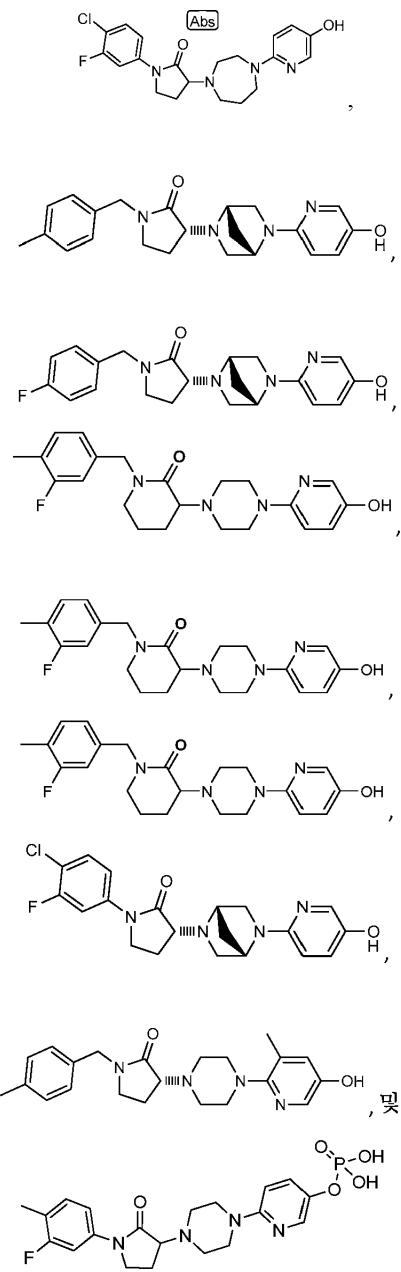
[0045]



Abs



[0046]



[0047]

[0048] 제2 측면은, 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이다.

[0049]

[0049] 제3 측면은, 환자에게 치료 유효량의 화학식 I의 화합물을 투여하는 것을 포함하는, 우울증, 알츠하이머병, 신경병증성 통증 또는 파킨슨병의 치료 방법이다.

[0050]

[0050] 제3 측면의 제2 실시양태는 우울증의 치료에 관한 화학식 I의 화합물이다.

[0051]

[0051] 제3 측면의 제3 실시양태는, 알츠하이머병의 치료에 관한 화학식 I의 화합물이다.

[0052]

[0052] 제3 측면의 제4 실시양태는, 신경병증성 통증의 치료에 관한 화학식 I의 화합물이다.

[0053]

실시예

[0054]

본 개시내용은 이제 특정 실시양태와 관련하여 기재될 것이며, 이는 그의 범주를 제한하고자 하지는 않는다. 반대로, 본 개시내용은 청구범위의 범주 내에 포함될 수 있는 모든 대안, 변형 및 등가물을 포함한다. 따라서, 구체적 실시양태를 포함하는 하기 실시예는 본 개시내용의 한 실시를 예시할 것이며, 실시예는 특정 실시양태의 예시 목적을 위한 것이고, 그의 절차 및 개념 측면의 가장 유용하고 용이하게 이해되는 기재인 것으로 여겨지는 것을 제공하기 위해 제시되는 것으로 이해된다.

[0055]

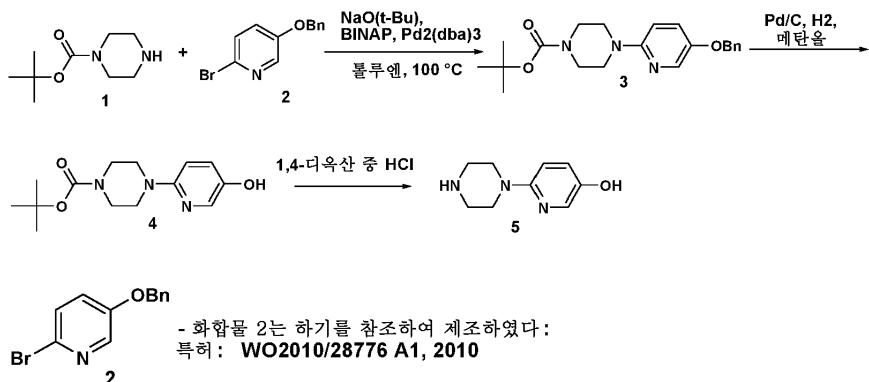
본 개시내용의 화합물은 본 섹션에 기재된 반응 및 기술뿐만 아니라 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다른 합성 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 반응은 사용된 시약 및 물질에 대해 적절한 용매 중에서 수행되고, 변형이 실시되기에 적합하다. 또한, 하기 기재된 합성 방법의 기재에서, 용매, 반응 온도, 실험 지속기간 및 후처리 절차의 선택을 포함한 모든 제안된 반응 조건은 그 반응에 대해 표준인 조건이도록 선택되며, 이는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 용이하게 인지되어야 한다는 것이 이해되어야 한다. 분자의 다양한 부분에 존재하는 관능기는 제안된 시약 및 반응과 상용성이어야 한다는 것은 유기 합성 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해된다. 반응 조건과 상용성인 치환기에 대한 이러한 제한은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 용이하게 명백할 것이고, 그에 따라 대안적 방법이 사용되어야 한다.

[0056]

본 발명의 바람직한 실시양태에서, 본 개시내용의 화합물의 합성은 하기 개략적 표현에서 제시될 수 있다.

[0057]

반응식 1:

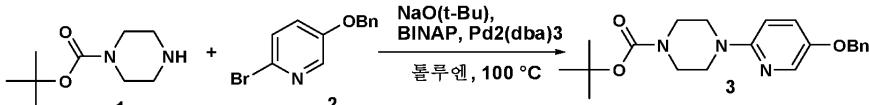


[0058]

단계 1

[0059]

tert-부틸 4-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)페페라진-1-카르복실레이트



[0060]

톨루엔 (100 mL) 중 tert-부틸 4-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)페페라진-1-카르복실레이트 (5.99 g, 32.2 mmol)의 교반 용액에 실온에서 5-(벤질옥시)-2-브로모페리딘 (8.5 g, 32.2 mmol), 소듐 tert-부톡시드 (7.73 g, 80 mmol) 및 BINAP (4.01 g, 6.44 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 N₂로 15분 동안 펴징하고, 이어서 Pd₂ (dba)₃ (2.95 g, 3.22 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 100°C에서 18시간 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트 (200 mL)로 세척하고; 여과물을 농축시켜 에틸 아세테이트 및 톨루엔을 제거하였다. 잔류물에 물 (250 mL)을 첨가하고, 생성물을 에틸 아세테이트 (3*100 mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 조 물질 20g을 수득하였다. 조 생성물을 120g 실리카 젤 칼럼을 사용하는 이스코에 의해 정제하고, 생성물을 석유 에테르 중 40% 에틸 아세테이트로 용리시켜 tert-부틸 4-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)페페라진-1-카르복실레이트 (5 g, 12.99 mmol, 40.4% 수율)를 황색 고체로서 수득하였다.

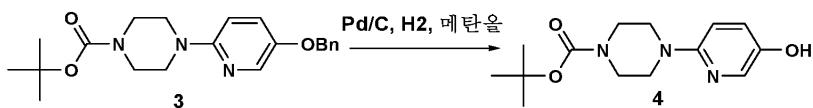
[0063]

LCMS: 완충제:HCOOH를 사용하여 pH -5로 조정된 10mM 아세트산암모늄, 이동상 A:완충제:ACN (95:5), 이동상 B:완충제:ACN (5:95), 방법:%B: 0분-5%:1.1분 -95%:1.7분-95% 칼럼 명칭: 액퀴티 BEH C18 (2.1 x 50 mm) 1.7 u 방법:C: \ 매스링스, 유량: 0.8 mL/분, RT-1.28분, M(+1)-370.

[0064]

단계 2

tert-부틸 4-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-1-카르복실레이트

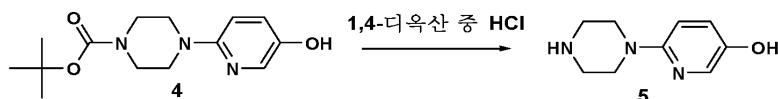


메탄올 (10 mL) 중 tert-부틸 4-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)페페라진-1-카르복실레이트 (2.00 g, 5.41 mmol)의 교반 용액에 Pd/C (0.576 g, 5.41 mmol)를 첨가하고, 수소 주머니 압력 하에 진공 밴드를 통해 교반하고, 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여과물을 농축시켜 tert-부틸 4-(5-히드록시페리딘-2-일)페페라진-1-카르복실레이트 (1.4 g, 5.01 mmol, 93% 수율)를 갈색 점착성 물질로서 수득하였다.

LCMS: %B: 0분-2%: 1.0분 -98%: 1.6분-98%, 이동상 B: 아세토니트릴, 이동상 A: 물 중 0.1% TFA, 방법:C: \ 매스링스, RT- 0.64분, M(+1)-280.

단계 3

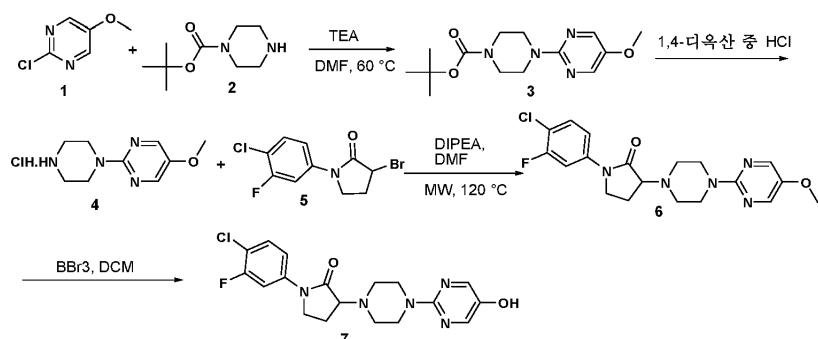
6-(페페라진-1-일)페리딘-3-올, HCl.



1,4-디옥산 (15 mL) 중 tert-부틸 4-(5-히드록시페리딘-2-일) 피페라진-1-카르복실레이트 (1.5 g, 5.37 mmol)의 교반 용액에 실온에서 1,4-디옥산 중 4M HCl (5 mL, 5.37 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 농축시켜 6-(피페라진-1-일) 피리딘-3-올, HCl (1 g, 4.08 mmol, 76% 수율)을 회백색 고체로서 수득하였다.

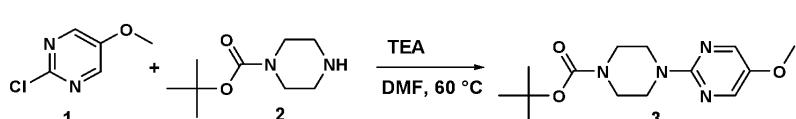
LCMS: 완충제:HCOOH를 사용하여 pH -5로 조정된 10mM 아세트산암모늄, 이동상 A:완충제:ACN (95:5), 이동상 B:완충제:ACN (5:95), 방법:%B: 0분-5%:1.1분 -95%:1.7분-95% 칼럼 명칭: 액퀴티 BEH C18 (2.1 x 50 mm) 1.7 u 방법:C: \매스링스, 유량: 0.8 ml/분, RT-0.35분, M(+)-180.

반응식 2:



五
三

text. 보통 4 (5 템플릿 사용 가능하다. 2, 3) 쿠데가지 1, 카크 보신赖以生存

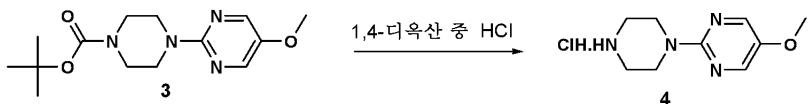


DMF (20 mL) 중 2-클로로-5-메톡시파리미딘 (1 g, 6.92 mmol)의 교반 용액에 밀봉된 튜브 중 tert-부틸 피페라진-1-카르복실레이트 (1.2 g, 6.44 mmol) 및 TEA (3 mL, 21.52 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 60°C에서 48시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 용매를 감압 하에 제거하여 조 잔류물을 수득하였다. 이를 에틸 아세테이트 (100 mL) 중에 용해시키고 물 (2×100 mL)로 세척하고 유키 층을 통한 화산나

트롬 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 증발시켜 조 물질 (1.5 g)을 갈색 액체로서 수득하였다. 조 화합물을 콤비 (24g 실리카 젤 칼럼, 15% 에틸 아세테이트 / 석유 에테르로 용리)에 의해 정제하여 tert-부틸 4-(5-메톡시피리미딘-2-일)피페라진-1-카르복실레이트 (550 mg, 1.738 mmol, 25.1% 수율)를 회백색 고체로서 수득하였다.

[0080] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, LCMS RT = 2.2분 M(+1) -295.

[0081] 단계 2:

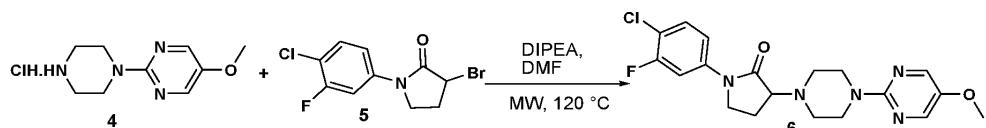


[0082]

[0083] 0°C에서 1,4-디옥산 (10 mL) 중 tert-부틸 4-(5-메톡시피리미딘-2-일)피페라진-1-카르복실레이트 (330 mg, 1.121 mmol)의 교반 용액에 1,4 디옥산 중 HCl (1.121 mL, 1.121 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 용매를 감압 하에 제거하여 조 화합물을 수득하였으며, 이를 에틸 아세테이트 (2*10 mL)로 연화처리하고, 수득된 고체를 여과하여 5-메톡시-2-(피페라진-1-일)피리미딘 히드로클로라이드 (200 mg, 0.607 mmol, 54.1% 수율)를 회백색 고체로서 수득하였다.

[0084] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT - 0.946분, M (+1) - 195.

[0085] 단계 3:



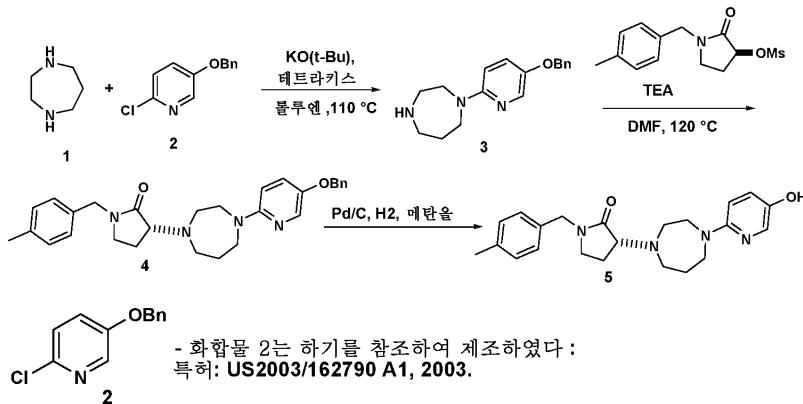
[0086]

[0087] 건조 DMF (1.5 mL) 중 5-메톡시-2-(피페라진-1-일)피리미딘 히드로클로라이드 (50 mg, 0.217 mmol)의 교반 용액에 DIPEA (0.114 mL, 0.650 mmol) 및 3-브로모-1-(4-클로로-3-플루오로페닐)파롤리딘-2-온 (95 mg, 0.325 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 MW 하에 120°C에서 90분 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켜 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-메톡시피리미딘-2-일)피페라진-1-일)파롤리딘-2-온 (60mg, 0.093mmol, 43% 수율) 조 화합물을 LCMS에 의한 63% 순도로 수득하였으며, 이를 후속 단계에 정제 없이 사용하였다.

[0088] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT - 2.2분, M (+1) -406.

[0089]

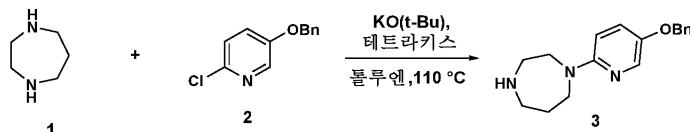
반응식 3:



[0090]

[0091] 단계 1

[0092] 1-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-1,4-디아제판.



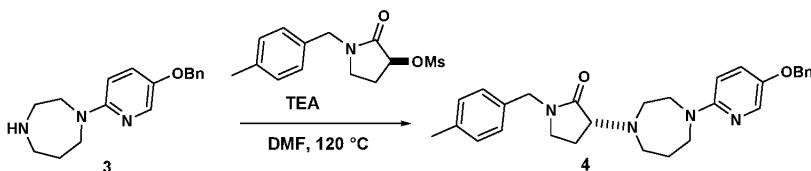
[0093]

[0094] 톨루엔 (10 mL) 중 1,4-디아제판 (4.10 g, 41.0 mmol)의 교반 용액에 실온에서 5-(벤질옥시)-2-클로로페리딘 (3.00 g, 13.66 mmol) 및 포타슘 tert-부톡시드 (3.06 g, 27.3 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 N₂로 15분 동안 펴징한 다음, 테트라카이스 (1.578 g, 1.366 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 110°C에서 4시간 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여과물을 농축시켜 조 물질 9g을 수득하였다. 조 생성물을 40g 염기성 알루미나 칼럼을 사용하는 이스코에 의해 정제하고, 생성물을 석유 에테르 중 75% 에틸 아세테이트로 용리시켜 1-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-1,4-디아제판 (1.5 g, 4.29 mmol, 31.4% 수율)을 갈색 점착성 물질로서 수득하였다.

[0095]

LCMS: %B: 0분-2%:1.0분 -98%:1.6분-98%, 이동상 B: 아세토니트릴, 이동상 A: 물 중 0.1% TFA, 방법:C: \ 매스링스, RT-0.66분, M(+1)-284.

[0096] 단계 2a:



[0097]

[0098]

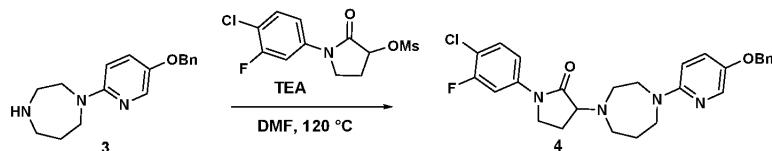
DMF (3 mL) 중 1-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-1,4-디아제판 (0.200 g, 0.169 mmol)의 교반 용액에 실온에서 TEA (0.071 mL, 0.508 mmol) 및 (S)-1-(4-메틸벤질)-2-옥소피롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (0.096 g, 0.339 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 마이크로웨이브에서 120°C에서 2시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 농축시켜 조 물질 0.45g을 수득하였다. 조 물질을 정제용 TLC에 의해 정제하고; 플레이트를 에틸 아세테이트로 현상하여 회백색 고체로서의 (R)-3-(4-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온 (0.04 g, 0.085 mmol, 50.2% 수율)을 수득하였다.

[0099]

LCMS: 완충제:HCOOH를 사용하여 pH -5로 조정된 10mM 아세트산암모늄, 이동상 A:완충제:ACN (95:5), 이동상 B:완충제:ACN (5:95), 방법:%B: 0분-5%:1.1분 -95%:1.7분-95% 칼럼 명칭: 액퀴티 BEH C18 (2.1 x 50 mm) 1.7 u 방법:C: \ 매스링스, 유량: 0.8 mL/분, RT- 1.3분, M(+1)-471.

[0100]

단계 2b:



[0101]

[0102]

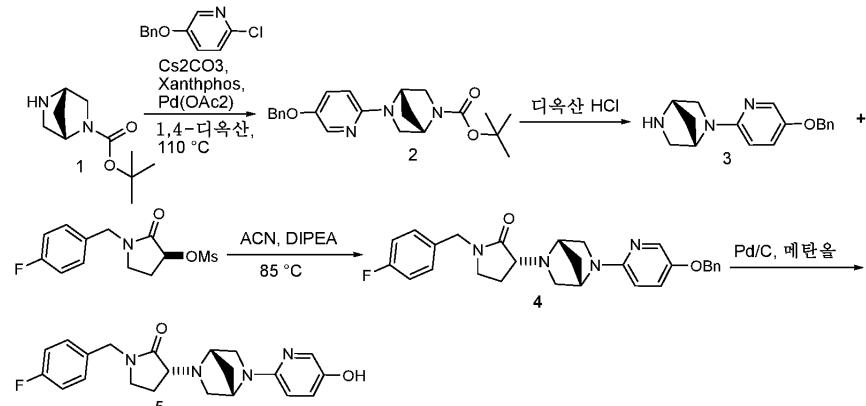
DMF (3 mL) 중 1-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-1,4-디아제판 (0.05 g, 0.176 mmol)의 교반 용액에 실온에서 TEA (0.074 mL, 0.529 mmol) 및 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄솔포네이트 (0.081 g, 0.265 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 마이크로웨이브에서 120°C에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 의한 목적 생성물 질량 28%. 반응 혼합물을 고진공 하에 농축시켜 조 3-(4-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)-1-(4-클로로-3-플루오로페닐)페롤리딘-2-온 (0.2 g, 0.113 mmol, 64.1% 수율)을 갈색 점착성 물질로서 수득하였으며, 조 물질을 그대로 후속 단계에 추가 정제 없이 사용하였다.

[0103]

LCMS: 완충제:HCOOH를 사용하여 pH -5로 조정된 10mM 아세트산암모늄, 이동상 A:완충제:ACN (95:5), 이동상 B:완충제:ACN (5:95), 방법:%B: 0분-5%:1.1분 -95%:1.7분-95% 칼럼 명칭: 액퀴티 BEH C18 (2.1 x 50 mm) 1.7 u 방법:C: \ 매스링스, 유량: 0.8 mL/분, rt-1.25분, M(+1)-495.

[0104]

반응식 4:

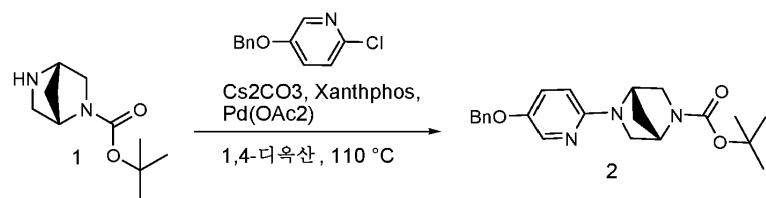


[0105]

단계 1

[0106]

(1S,4S)-tert-부틸 5-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-카르복실레이트



[0108]

1,4-디옥산 (50 mL) 중 (1S,4S)-tert-부틸 2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-카르복실레이트 (2.5 g, 12.61 mmol)의 용액에 5-(벤질옥시)-2-클로로페리딘 (3.05 g, 13.87 mmol) 및 탄산세슘 (8.22 g, 25.2 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소로 15분 동안 탈기한 다음, XANTPHOS (1.094 g, 1.891 mmol)에 이어서 PdOAc₂ (0.283 g, 1.261 mmol)를 첨가하고, 110°C로 밤새 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 에틸 아세테이트 (100 mL)로 세척하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켜 조 물질 5.5g을 수득하였다. 조 물질을 이스코 시스템 (25% EA:헥산, 40 g 실리카 젤 칼럼)에 의해 정제하여 (1S,4S)-tert-부틸 5-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-카르복실레이트 (0.8 g, 2.097 mmol, 16.63% 수율)를 황색 고체로서 수득하였다.

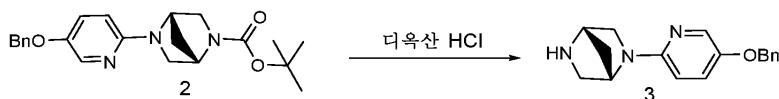
[0110]

LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM 아세트산암모늄, 이동상 B: CAN, 유량 = 1ML/분, 시간: % A: %B:: 0.0: 100.0: 0.0:: 1.7: 0.0: 100.0:: 3.2: 0.0: 100.0, RT - 2.505분,

M(+1) - 382.

[0111] 단계 2

[0112] (1S,4S)-2-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄



[0113]

[0114] 1,4-디옥산 (5 mL) 중 (1S,4S)-tert-부틸 5-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-카르복실레이트 (0.8 g, 2.097 mmol)의 용액에 디옥산 중 4 M HCl (5 mL, 20.00 mmol)을 첨가하고, 밤새 실온에서 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응물을 진공 하에 농축시켜 조 고체를 수득하였다. 고체를 에틸 아세테이트 (2x 50 mL)로 연화처리하였다. 고체 화합물에 10% 중탄산나트륨 용액(50 mL)을 첨가하고, 생성물을 에틸아세테이트 (3x 50 mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 진공 하에 농축시켜 (1S,4S)-2-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄 (0.5 g, 1.066 mmol, 50.8% 수율)을 갈색 고체로서 수득하였다.

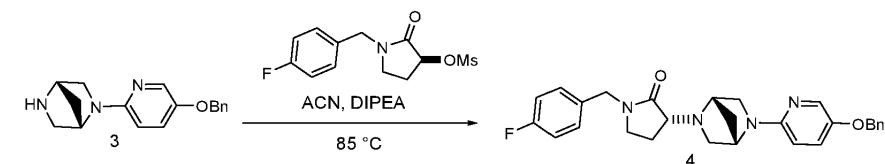
[0115]

LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C8 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 2%ACN - 98%H₂O-10mM NH₄COOH, 이동상 B: 98%ACN - 2%H₂O-10mM NH₄COOH, 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 4.0: 100.0, RT - 1.726분, M (+1) - 282.

[0116] 단계 3

[0117]

(R)-3-((1S,4S)-5-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-일)-1-(4-플루오로벤질)페롤리딘-2-온.



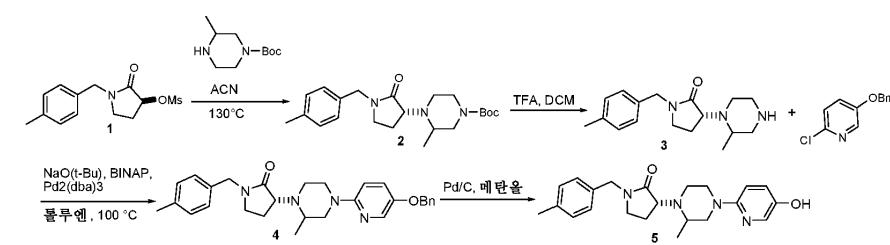
[0118]

[0119] 아세토니트릴 (3 mL) 중 (1S,4S)-2-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄 (0.075 g, 0.267 mmol)의 용액에 DIPEA (0.140 mL, 0.800 mmol) 및 (S)-1-(4-플루오로벤질)-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄솔 포네이트 (0.115 g, 0.400 mmol)를 첨가한 다음, 85°C로 밤새 가열하였다. 반응물을 감압 하에 농축시키고, 중탄산나트륨 (10%) 용액 (50 mL)과 에틸아세테이트 (50 mL) 사이에 분배하고, 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 (R)-3-((1S,4S)-5-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-일)-1-(4-플루오로벤질)페롤리딘-2-온 (0.18 g, 0.194 mmol, 72.9% 수율)을 갈색 점착성 물질로서 수득하였다.

[0120]

LCMS: %B: 0분-2%:1.0분 -98%:1.6분-98%, 이동상 B: 아세토니트릴, 이동상 A: 물 중 0.1% TFA, 방법:C:\ 매스 링스, RT - 1.21분, M(+1) - 473.

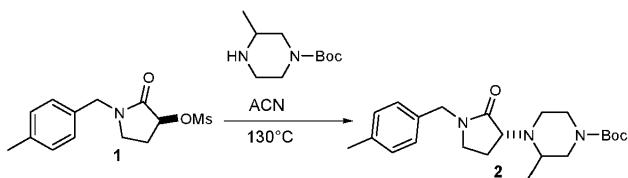
[0121] 반응식 5:



[0122]

[0123] 단계 1

[0124] tert-부틸 3-메틸-4-((R)-1-(4-메틸벤질)-2-옥소페롤리딘-3-일)페페라진-1-카르복실레이트.



[0125]

[0126] 아세토니트릴 (30 mL) 중 tert-부틸 3-메틸페페라진-1-카르복실레이트 (0.530 g, 2.65 mmol)의 용액에 (S)-1-(4-메틸벤질)-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄솔포네이트 (1.5 g, 5.29 mmol)를 첨가하고 온도를 130°C로 2시간 동안 상승시켰다. 반응 혼합물을 물 (30 mL)로 희석하고, 에틸 아세테이트 (2x 50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 하에 농축시켰다. 조 물질을 80% 아세토니트릴 + 20% 10mm 아세트산암모늄 혼합물로 용리시키는 C18, 40 g 역상 콤비플래쉬 상에서 정제하여 조 tert-부틸 3-메틸-4-((R)-1-(4-메틸벤질)-2-옥소페롤리딘-3-일)페페라진-1-카르복실레이트 (950 mg, 2.255 mmol, 85% 수율)를 회백색 고체로서 수득하였다.

[0127] LCMS: RT: 2.368분 ACN/HCOONH₄ 포함 H₂O, 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1 mm-2.7 μm), 구배 = 1.7분, 파장 = 220 nm; MS (ES): m/z 388. M+H.

[0128] 단계 2

[0129] 1-(4-메틸벤질)-3-(2-메틸페페라진-1-일)페롤리딘-2-온, TFA

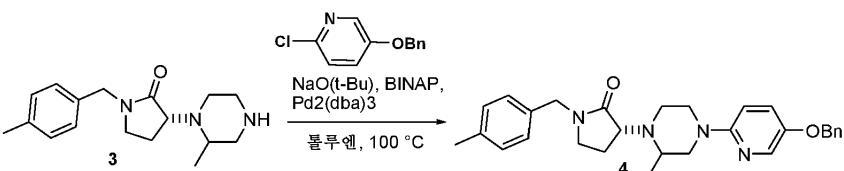


[0130]

[0131] DCM (25 mL) 중 tert-부틸 3-메틸-4-((R)-1-(4-메틸벤질)-2-옥소페롤리딘-3-일)페페라진-1-카르복실레이트 (1 g, 2.58 mmol)의 교반 용액에 실온에서 TFA (1.988 mL, 25.8 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 감압 하에 중발시키고, 디에틸 에테르 (20 mL)로 세척하고, 고체를 감압 하에 건조시켜 1-(4-메틸벤질)-3-(2-메틸페페라진-1-일)페롤리딘-2-온, TFA (856 mg, 1.919 mmol, 74.4% 수율)를 수득하였다.

[0132] LCMS: ACN/HCOONH₄ 포함 H₂O, 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1 mm-2.7 μm), 구배 - 1.7분, 파장 - 220 nm, RT -1.75분, M (+1) - 288.

[0133] 단계 3:

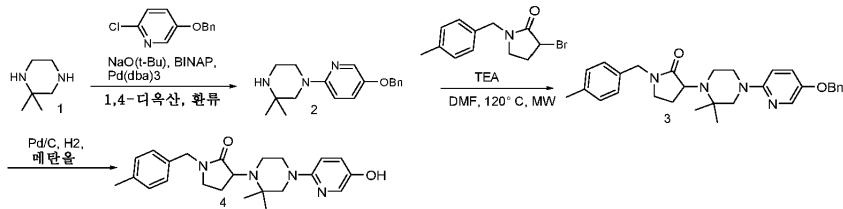


[0134]

[0135] 5-(벤질옥시)-2-클로로페리딘 (650 mg, 2.96 mmol)의 교반 용액에 1-(4-메틸벤질)-3-(2-메틸페페라진-1-일)페롤리딘-2-온 (850 mg, 0.696 mmol), BINAP (43.3 mg, 0.070 mmol) 및 소듐 tert-부톡시드 (201 mg, 2.088 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소로 10분 동안 퍼징한 다음, Pd₂(dba)₃ (51.0 mg, 0.056 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 110°C에서 18시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 포화 염화암모늄 용액으로 희석하고, 에틸 아세테이트 (100 mL)로 추출하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 중발시켜 조 물질 1.5g을 수득하였다. 조 물질을 10mm 아세트산암모늄 중 40% 아세토니트릴로 용리시키는 C18 (24gms, 역상 칼럼, 실리사이클) 상에서 정제하여 3-(4-(5-(벤질옥시)페리딘-2-일)-2-메틸페페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)페롤리딘-2-온 (650 mg, 0.994 mmol, 33.6% 수율)을 LCMS에 의해 72% 순도를 갖는 연황색 액체로서 수득하였다.

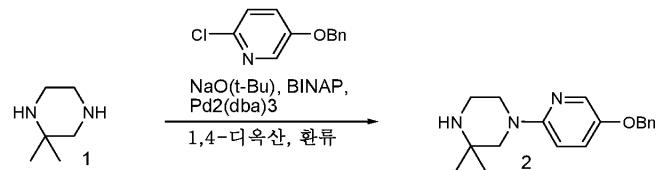
[0136] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0, 3.2: 0.0, RT = 2.489분, M(+1) = 471.

[0137] 반응식 6:



[0138]

[0139] 단계 1: 1-(5-(벤질옥시)피리딘-2-일)-3,3-디메틸피페라진



[0140]

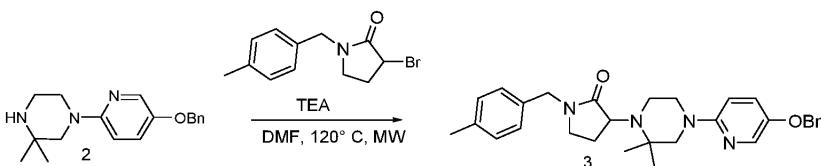
[0141] 1,4-디옥산 (20 mL) 중 5-(벤질옥시)-2-클로로피리딘 (1.731 g, 7.88 mmol)의 용액에 2,2-디메틸피페라진 (1 g, 8.76 mmol), BINAP (0.545 g, 0.876 mmol), 소듐 tert-부톡시드 (2.104 g, 21.89 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소로 15분 동안 페징하고, Pd₂(dba)₃ (0.642 g, 0.701 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소 하에 5시간 동안 환류하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 물 50mL로 희석하고, 생성물을 에틸 아세테이트 (3*50 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 염수 용액 (100 mL)으로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에 증발시켜 조 잔류물 3g을 수득하였다. 조 물질을 40% 아세토니트릴 + 60% 10mm 아세트산암모늄으로 용리하는 120 g C18 레디셉 역상 칼럼 상에서 정제하여 1-(5-(벤질옥시)피리딘-2-일)-3,3-디메틸피페라진 (1.3 g, 4.33 mmol, 49.4% 수율)을 수득하였다.

[0142]

LCMS: ACN/HCOONH₄ 포함 H₂O, 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1 mm-2.7 μm), 구배 = 1.7분, 파장 = 220 nm, RT = 1.94분, M(+1) = 298.

[0143] 단계 2

[0144] (R)-3-(4-(5-(벤질옥시)피리딘-2-일)-2,2-디메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온.



[0145]

[0146] DMF (2mL) 중 3-브로모-1-(4-메틸 벤질)피롤리딘-2-온 (135 mg, 0.504 mmol)의 용액에 실온에서 1-(5-(벤질옥시)피리딘-2-일)-3,3-디메틸피페라진 (100 mg, 0.336 mmol) 및 TEA (0.047 mL, 0.336 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 CEM 마이크로웨이브에서 120°C에서 1.5시간 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물에 물 (25 mL)을 첨가하고, 생성물을 에틸 아세테이트 (3*15 mL)로 추출하고, 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 증발시켜 조 잔류물 0.3g을 수득하였다. 조 물질을 80% 아세토니트릴 + 20% 10mm TFA로 용리하는 역상 정제 C18, 24gms 실리카 겔 칼럼에 적용하여 (R)-3-(4-(5-(벤질옥시)피리딘-2-일)-2,2-디메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온 (25 mg, 0.046 mmol, 13.81% 수율)을 수득하였다.

[0147]

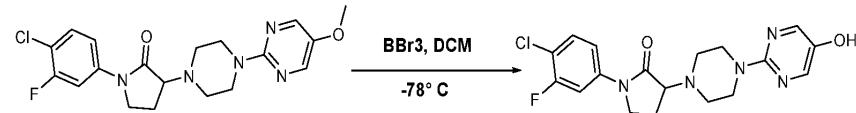
LCMS: ACN/HCOONH₄ 포함 H₂O, 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1 mm-2.7 μm), 구배 = 1.7분, 파장 = 220 nm, RT = 2.562분, M(+1) = 485.

[0148]

일반적 중간체

[0149]

실시예 1(라세미체): 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시피리미딘-2-일)피페라진-1-일)피롤리딘-2-온.



[0150]

[0151]

-78°C에서 DCM (8 mL) 중 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-메톡시피리미딘-2-일) 피페라진-1-일) 피롤리딘-2-온 (60 mg, 0.148 mmol)의 교반 용액에, DCM 중 BBr_3 (5 mL, 5.00 mmol)을 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS를 통해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 0°C로 냉각시키고, 포화 NaHCO_3 용액 (25 mL)으로 켄칭하였다. 생성물을 DCM (2*25 mL)으로 추출하고, 합한 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 증발시켜 조 화합물을 수득하였다. 조 화합물을 SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm ; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm ; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 5-35% B에 이어서 35% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백(Genevac) 원심증발기를 사용하여 건조시켜 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시피리미딘-2-일)피페라진-1-일)피롤리딘-2-온 (29.1 mg, 0.148 mmol, 50.2% 수율)을 연황색 고체로서 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0152]

주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm ; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH_4OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0153]

주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm ; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0154]

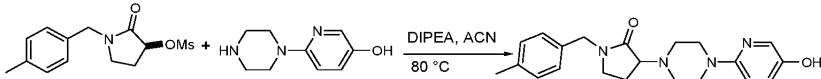
LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH_4OAc , B: 5% 물: 95% 아세토니트릴; 10mM NH_4OAc , 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1) mm, 2.7 μm , 시간 (분): 0---3, %B: 0---100, LCMS RT = 1.34분 ($\text{M}+\text{H}^+$, 392).

[0155]

^1H NMR: (400MHz, 메탄올- d_4) δ = 8.03 (s, 2 H), 7.87 - 7.81 (m, 1 H), 7.54 - 7.39 (m, 2 H), 3.90 - 3.70 (m, 7 H), 3.04 - 2.95 (m, 2 H), 2.76 - 2.68 (m, 2 H), 2.39 - 2.31 (m, 1 H), 2.27 - 2.16 (m, 1 H).

[0156]

실시예 2 (P1 & P2):



[0157]

ACN (5 mL) 중 (S)-1-(4-메틸벤질)-2-옥소피롤리딘-3-일 메탄슬포네이트 (0.108 g, 0.382 mmol)의 교반 용액에 6-(피페라진-1-일)피리딘-3-올 (0.057 g, 0.318 mmol) 및 DIPEA (0.139 mL, 0.795 mmol)를 첨가하고, 80°C로 16시간 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 반응 혼합물을 물 (15 mL)로 희석하고, 수성 층을 분리하고, EtOAc (3 x 25 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 (15 mL) 및 염수 (15 mL)로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 혼합물을 여과하고, 용매를 진공 하에 제거하여 조 생성물을 수득하였다. 조 화합물을 SCP에 의해 정제하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm ; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm ; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 5-30% B에 이어서 30% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 2; 3-(4-(5-히드록시피리미딘-2-일)피페라진-

1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온 (30mg, 0.0816 mmol, 25.74% 수율)을 연황색 고체로서 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0159] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1ml/분.

[0160] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1ml/분.

[0161] 화합물 2의 키랄 스크리닝은 라세미화를 나타내는 2개의 피크를 나타내었다. 라세미 혼합물 2를 키랄 분리를 위해 SFC에 적용하였다. SFC로부터의 분획을 수집하고, 농축시켜 P1; (S)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)파페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온 및 P2; (R)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)파페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온을 수득하였다.

[0162] 화합물을 BMT-173283 01 -003 (57% ee 가짐)으로서 등록하였다.

[0163] BMT-173283-01-003 (98564-126-02) ee: 57%를 SFC 키랄 스크리닝에 의해 정제하였다: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 23.2, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.8, 공용매 유량: 1.2, 공용매 %: 40, 배압: 101.

[0164] 피크 정보:

번호	피크 이름	RT (분)	면적	면적 %
1	피크1	3.37	431.3981	21.027
2	피크2	4.82	1620.2377	78.973

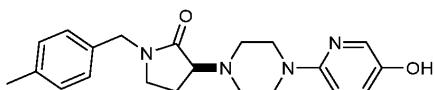
[0165]

[0166] SFC 정제 방법:

[0167] 분석용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 4.6)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 3.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 244.

[0168] 정제용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 21)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 75.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 244, 피크 수: 체류시간:: 피크 1: 3.00:: 피크 2: 4.00, 용해도: 5 ml 중 메탄올, 로딩능/주입: 9.00mg/mL, 총 주입 수: 15, 총 정제 시간: 1.0시간, 기기 세부 사항: 제조/모델: 타르 SFC-80.

[0169] P1 (호모키랄): (S)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)파페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질) 파롤리딘-2-온에 대한 것



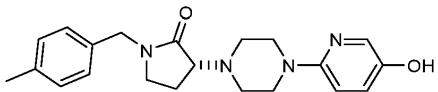
[0170]

[0171] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μ m), 이동상 A: 물 중 0.1%HCOOH, 이동상 B: CAN, 유량 = 1ML/분, 시간: % A: %B:: 0.0: 100.0: 0.0:: 1.7: 0.0: 100.0:: 3.2: 0.0: 100.0, RT - 1.669, M(+1)-367.

[0172] 키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 23.7, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.8, 공용매 유량: 1.2, 공용매 %: 40, 배압: 99, RT-2.9분.

[0173] ¹H NMR: 400 MHz, MeOD: δ 2.03-2.09 (m, 1H), 2.22 (t, J = 7.60 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.78 (t, J = 11.20 Hz, 2H), 3.11 (t, J = 21.20 Hz, 2H), 3.21-3.27 (m, 2H), 3.42-3.43 (m, 4H), 3.71 (t, J = 17.20 Hz, 1H), 4.37 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 4.49 (d, J = 14.40 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 10.00 Hz, 1H), 7.13-7.19 (m, 5H), 7.73 (d, J = 2.80 Hz, 1H).

[0174] P2 (호모카랄): (R)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)페페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질) 피롤리딘-2-온에 대한 것



[0175]

카랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 카랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 23.7, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.8, 공용매 유량: 1.2, 공용매 %: 40, 배압: 99, RT-4.95분.

[0177]

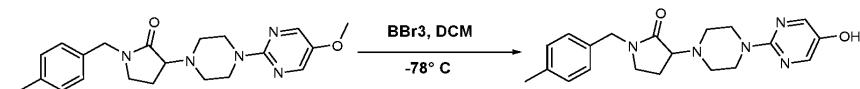
LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C8 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 2%ACN - 98%H₂O-10mM NH₄COOH, 이동상 B: 98%ACN - 2%H₂O-10mM NH₄COOH, 유량 = 1ML/분, 시간: % A:: 0.0: 0.0:: 1.5: 100.0:: 3.2: 100.0, RT - 1.733, M(+1)-367.

[0178]

¹H NMR: 400 MHz, MeOD: δ 2.01-2.08 (m, 1H), 2.15-2.20 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.67-2.73 (m, 2H), 2.98-3.03 (m, 2H), 3.19-3.26 (m, 2H), 3.38 (t, J = 10.40 Hz, 4H), 3.62 (t, J = 17.60 Hz, 1H), 4.36 (d, J = 14.40 Hz, 1H), 4.49 (d, J = 14.40 Hz, 1H), 6.77 (d, J = 8.80 Hz, 1H), 7.13-7.73 (m, 5H), 7.73 (d, J = 2.80 Hz, 1H).

[0179]

실시예 3(라세미체): 3-(4-(5-히드록시피리미딘-2-일)페페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질) 피롤리딘-2-온.



[0180]

-78°C에서 DCM (8 mL) 중 3-(4-(5-메톡시피리미딘-2-일)페페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질) 피롤리딘-2-온 (60 mg, 0.157 mmol)의 교반 용액에, DCM 중 BBr₃ (5 mL, 5.00 mmol)을 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 0°C로 냉각시키고 포화 NaHCO₃ 용액으로 켄칭하고, DCM (2 x 25 mL)으로 추출하고, 유기 층을 횡산나트륨 상에서 건조시키고, 감압 하에 증발시켜 조화합물을 75 mg을 수득하였다. 조화합물을 SCP에 적용하였다. 조물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 구배: 25분에 걸쳐 5-35% B에 이어서 35% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량: 15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 3-(4-(5-히드록시피리미딘-2-일)페페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질) 피롤리딘-2-온 (15.1 mg, 0.041 mmol, 26.1% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0182]

주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배: 3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0183]

주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴: 0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴: 0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배: 3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0184]

¹H NMR: (400MHz, 메탄올-d₄) δ = 8.03 (s, 2 H), 7.17 (d, J = 2.0 Hz, 4 H), 4.53 - 4.46 (m, 1 H), 4.41 - 4.33 (m, 1 H), 3.74 - 3.59 (m, 5 H), 3.30 - 3.19 (m, 3 H), 2.97 - 2.88 (m, 4 H), 2.68 - 2.59 (m, 2 H), 2.34 (s, 3 H), 2.24 - 2.14 (m, 1 H), 2.10 - 1.98 (m, 1 H).

[0185]

LCMS 방법 정보: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, B: 5% 물: 95% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0--3, %B: 0--100, LCMS RT = 1.24분, M (+1) - 368.

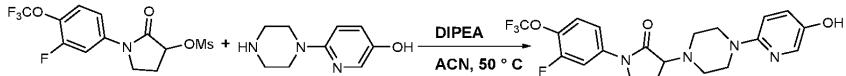
[0186]

카랄 스크리닝: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 륙스 셀룰로스 4 (250 X 4.6)mm, 5u, 칼럼

온도: 27.1, 총 유량: 4, CO_2 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 99, 키랄 RT: 5.59분.

[0187] 실시예 4:

1-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-3-(4-(5-히드록시페리딘-2-일)페페라진-1-일)페롤리딘-2-온



[0189]

80°C로 가열된 아세토니트릴 (2 mL) 중 6-(페페라진-1-일)페리딘-3-올 히드로클로라이드 (20 mg, 0.093 mmol) 및 DIPEA (0.049 mL, 0.278 mmol)의 용액에, 아세토니트릴 (1 mL) 중 1-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (43.1 mg, 0.121 mmol)를 1분에 걸쳐 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 80°C에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각되도록 한 다음, 농축시켰다. 잔류물을 SCP에 의해 정제하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm ; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm ; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 10-45% B에 이어서 45% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 1-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-3-(4-(5-히드록시페리딘-2-일)페페라진-1-일)페롤리딘-2-온 (1.5 mg, 3.34 μmol , 3.60% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

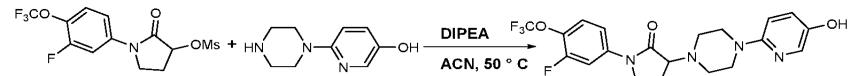
[0191] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm ; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH_4OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0192] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm ; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량:1.1mL/분.

[0193] ^1H NMR: (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 8.87 - 9.06 (m, 1 H) 7.90 - 7.99 (m, 1 H) 7.71 - 7.78 (m, 1 H) 7.53 - 7.64 (m, 2 H) 6.98 - 7.13 (m, 2 H) 6.67 - 6.76 (m, 1 H) 3.64 - 3.87 (m, 3 H) 2.89 - 2.99 (m, 2 H) 2.57 - 2.71 (m, 2 H) 2.18 - 2.37 (m, 1 H) 2.00 - 2.13 (m, 1 H).

[0194] LCMS: 방법 정보: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴: 10mM NH_4OAC , B: 5% 물: 95% 아세토니트릴: 10mM NH_4OAC , 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1) mm, 2.7 μm , 시간 (분): 0--3, %B: 0--100, RT - 1.49분, M(+1) - 441.

[0195] 실시예 5:



[0196]

80°C로 가열된 아세토니트릴 (2mL) 중 6-(페페라진-1-일)페리딘-3-올 히드로클로라이드 (20 mg, 0.093 mmol) 및 DIPEA (0.049 mL, 0.278 mmol)의 용액에, ACN (1mL) 중 1-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (25 mg, 0.070 mmol)를 1분에 걸쳐 첨가하였다. 반응 혼합물을 80°C에서 12시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 감압 하에 증발시켜 조화합물을 수득하였으며, 이를 SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm ; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm ; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH_4OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 10-45% B에 이어서 45% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 1-(3-플루오로-4-(트리플루오로메톡시)페닐)-3-(4-(5-히드록시페리딘-2-일)페페라진-1-일)페롤리딘-2-온 (4.7 mg, 10.25 μmol , 11.05% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0198] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0~100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0199] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0~100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0200] LCMS: 방법 정보: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, B: 5% 물:95% 아세토니트릴;10mM NH₄OAC, 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1) mm, 2.7 μ m, 시간 (분): 0~3, %B: 0~100, RT - 1.484분, M(+1)- 441.

[0201] ¹H NMR: 400 MHz, DMSO-d₆: δ 8.98 (br s, 1H), 7.93~7.69 (m, 2H), 7.73~7.74 (m, 1H), 7.59 (s, 2H), 6.95~7.20 (m, 1H), 6.71~6.95 (m, 1H), 3.71~3.81 (m, 3H), 3.32~3.37 (m, 4H), 2.89~2.94 (m, 2H), 2.60~2.73 (m, 2H), 2.24~2.45 (m, 2H).

[0202] 실시예 6 (P1 & P2):

[0203]

[0204] 아세토니트릴 (5 mL) 중 3-브로모-1-(4-플루오로벤질)파롤리딘-2-온 (0.042 g, 0.153 mmol), 6-(피페라진-1-일)파리딘-3-올, HCl (0.03 g, 0.139 mmol) 및 DIPEA (0.024 mL, 0.139 mmol)의 교반 용액을 90 °C에서 18시간 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 반응 혼합물을 물 (15 mL)로 희석하고, 수성 층을 분리하고, EtOAc (3 x 25 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 물 (15 mL) 및 염수 (15 mL)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시켰다. 혼합물을 여과하고, 용매를 진공 하에 제거하여 조 생성물을 수득하였다. 조 물질을 SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 액스브리지 C18, 19x150mm, 5 μ m; 가드 칼럼: 워터스 액스브리지 C18, 19x10mm, 5 μ m; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 10~30% B에 이어서 30% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (+/-)-1-(4-플루오로벤질)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파롤리딘-2-온 (45.1 mg, 0.122 mmol, 88% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0205] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0~100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0206] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0~100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0207] 라세미 화합물을 키랄 SFC로 분리하였다.

[0208] SFC 정제 방법:

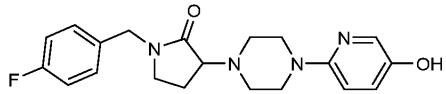
[0209] 분석용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 4.6)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 3.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 243.

[0210] 정제용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 21)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 70.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 243, 피크 수: 체류시간:: 피크 1: 3.00:: 피크 2: 4.00, 용해도: 5mL 중 메탄올+THF(1:1), 로딩능/주입: 8.00mg/mL, 총 주입 수:15, 총 정제 시간 1.0시간, 기기 세부 사항: 제조/모델: 타르 SFC-80

[0211] 키랄 정제로 1-(4-플루오로벤질)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파롤리딘-2-온 (17 mg, 0.046 mmol, 33.0% 수율) 및 1-(4-플루오로벤질)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파롤리딘-2-온 (14 mg,

0.038 mmol, 27.2% 수율)을 수득하였다.

[0212] P1 (호모키랄): 1-(4-플루오로벤질)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-1-일)피롤리딘-2-온에 대한 것



[0213]

[0214] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT-2.182분, M(+1) - 371.

[0215]

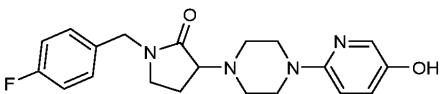
키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 23.4, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.8, 공용매 유량: 1.2, 공용매 % :40, 배압: 100, RT- 2.57분.

[0216]

¹H NMR: 400 MHz, MeOD: δ 2.05 (t, J = 15.20 Hz, 1H), 2.15-2.20 (m, 1H), 2.67-2.71 (m, 2H), 2.97-3.00 (m, 2H), 3.23-3.28 (m, 2H), 3.42-3.43 (m, 2H), 3.60 (t, J = 17.60 Hz, 1H), 4.40 (d, J = 14.40 Hz, 1H), 4.51 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 6.76 (d, J = 8.80 Hz, 1H), 7.06-7.10 (m, 2H), 7.12-7.15 (m, 1H), 7.28-7.32 (m, 2H), 7.73-7.74 (m, 1H).

[0217]

P2(호모키랄): 1-(4-플루오로벤질)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-1-일)피롤리딘-2-온에 대한 것



[0218]

[0219] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT-2.188분, M(+1) - 371.

[0220]

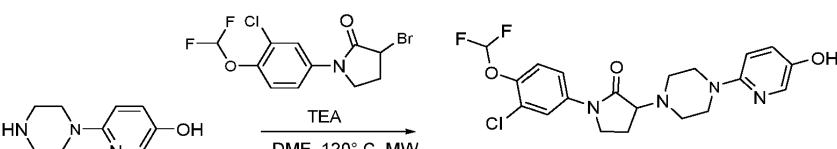
키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 23.4, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.8, 공용매 유량: 1.2, 공용매 % :40, 배압: 100, RT- 4.11분.

[0221]

¹H NMR: 400 MHz, MeOD: δ 2.02-2.11 (m, 1H), 2.16-2.20 (m, 1H), 2.65-2.71 (m, 2H), 2.96-3.02 (m, 2H), 3.21-3.28 (m, 2H), 3.30-3.38 (m, 4H), 3.60 (t, J = 17.60 Hz, 1H), 4.43 (d, J = -8.40 Hz, 1H), 4.51 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 6.76 (d, J = 8.80 Hz, 1H), 7.06-7.10 (m, 2H), 7.12-7.15 (m, 1H), 7.28-7.32 (m, 2H), 7.74 (d, J = 2.80 Hz, 1H).

[0222]

실시예 7 (P1 & P2):



[0223]

[0224] 아세토니트릴 (10 mL) 중 6-(피페라진-1-일)피리딘-3-올 (250 mg, 1.395 mmol)의 용액에 실온에서 트리에틸 아민 (706 mg, 6.97 mmol) 및 3-브로모-1-(3-클로로-4-(디플루오로메톡시)페닐)피롤리딘-2-온 (475 mg, 1.395 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 CEM 마이크로웨이브에서 90°C에서 1.5시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 포화 염화암모늄 용액 (50 mL)으로 희석하고, 생성물을 에틸 아세테이트 (50 mL)로 추출하였다. 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에 증발시켜 조간류물 0.9g 조 순도: 51%를 수득하였다. 조물질을 역상 HPLC를 통해 정제하여 (+/-)1-(3-클로로-4-(디플루오로메톡시)페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-1-일)피롤리딘-2-온 (100 mg, 0.227 mmol, 16.33% 수율)을 수득하였다.

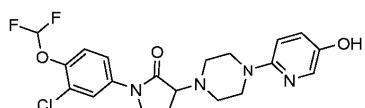
[0225] HPLC 방법 정보: 칼럼: 선파이어 C18 250X30 10u, 이동상 A: 물 중 10mM NH₄OAC, 이동상 B: CAN 용해도: CAN+THF, 유량: 30ml/분 로딩능: 50mg, T/%B: 0/30, 10/60 주입의 수: 16, 총 정제시간: 8분.

[0226] LCMS (TFA): RT0.67분; {이동상 A: 물 중 0.1% TFA, 이동상 B: 아세토나트릴} 액퀴터 BEH C18 (2.1 x 50 mm) 1.7 u, 구배 = 2.25분, 파장 = 220 nm; MS (ES): m/z 439 M+H.

[0227] 라세미 혼합물을 SFC 정제에 적용하여 이성질체 -P1, 이성질체 P2를 수득하였다.

[0228] 정제용 SFC 조건: 칼럼/치수: 룩스셀룰로스-2(250 X 21.5)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 70.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 247, 피크 수: 체류시간:: 피크 1: 4.30:: 피크 2: 5.90, 용해도: 30.0ml 중 메탄올.

[0229] P1(호모키랄): 1-(3-클로로-4-(디플루오로메톡시)페닐)-3-(4-(5-히드록시페리딘-2-일)페페라진-1-일)페롤리딘-2-온에 대한 것



[0230]

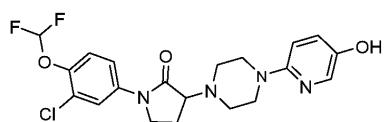
HPLC: 95/5에서 5/95 H₂O/CH₃CN/0.05%TFA, 유량 = 1mL/분, 구배=15분, 선파이어 C18 4.6x150mm: RT= 5.59분; 순도 @220nm: 94.033%; @254nm: 94.16%. 엑스브리지 페닐 3.5μm, 4.6x150mm: RT= 6.55분; 순도 @220nm: 89.82%; @254nm: 92.52%.

[0232] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT = 2.072분, M(+1) = 439.

[0233] SFC: CO₂ 3.0_Colvent_100.met; 유량:- 총 유량 3, CO₂ 유량 2.1, 공용매 (메탄올 중 0.3% DEA) 0.9; 칼럼:- 키랄팩 AD H (250 x 4.6) mm 5 μ; RT 3.17분, 순도@ 217nm :100%.

[0234] ¹H NMR: 400 MHz, MeOD: δ 2.18-2.24 (m, 1H), 2.31-2.35 (m, 1H), 2.73-2.78 (m, 2H), 3.02-3.07 (m, 2H), 3.31-3.41 (m, 4H), 3.72-3.85 (m, 3H), 6.65-7.02 (m, 2H), 7.13-7.16 (m, 1H), 7.32 (d, J = 9.20 Hz, 1H), 7.57-7.60 (m, 1H), 7.74 (d, J = 3.20 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 75.60 Hz, 1H).

[0235] P2(호모키랄): (1-(3-클로로-4-(디플루오로메톡시)페닐)-3-(4-(5-히드록시페리딘-2-일)페페라진-1-일)페롤리딘-2-온에 대한 것.



[0236]

HPLC: 95/5에서 5/95 H₂O/CH₃CN/0.05%TFA, 유량 = 1mL/분, 구배=15분, 선파이어 C18 4.6x150mm: RT= 5.6분; 순도 @220nm: 93.02%; @254nm: 93.29%. 엑스브리지 페닐 3.5μm, 4.6x150mm: RT= 6.536분; 순도 @220nm: 91.18%; @254nm: 93.24%.

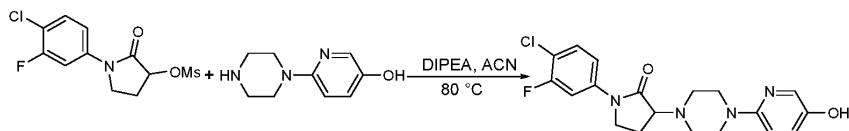
[0238] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT: 2.068분, M(+1) = 439.

[0239] SFC: CO₂ 3.0_Colvent_100.met; 유량:- 총 유량 3, CO₂ 유량 2.1, 공용매 (메탄올 중 0.3% DEA) 0.9; 칼럼:- 키랄팩 AD H (250 x 4.6) mm 5 μ; RT 4분; 순도@ 217nm :98.86%.

[0240] ¹H NMR: 400 MHz, MeOD: δ 2.16-2.26 (m, 1H), 2.32-2.38 (m, 1H), 2.73-2.78 (m, 2H), 3.03-3.07 (m, 2H), 3.38-3.41 (m, 4H), 3.72-3.84 (m, 3H), 6.65-7.02 (m, 2H), 7.13-7.16 (m, 1H), 7.32 (d, J = 9.20 Hz, 1H),

7.57-7.60 (m, 1H), 7.74 (d, J = 3.20 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 75.60 Hz, 1H).

[0241] 실시예 8 (P1 & P2):



[0242]

[0243] 절차: DIPEA (0.039 mL, 0.223 mmol)를 아세토니트릴 (5 mL) 중 6-(피페라진-1-일)파리딘-3-올 (0.04 g, 0.223 mmol)의 교반 용액에 실온에서 첨가하고 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-2-옥소파롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (0.124 g, 0.402 mmol)를 아세토니트릴 (5 mL) 중에 용해시킨 후 50°C로 5분 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 85°C에서 18시간 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 증발 건조시키고, 정체를 위해 SCP에 적용하였다. 8의 키랄 스크리닝은 라세미화를 나타내는 2개의 주요 피크를 나타내었다. 라세미 혼합물 8; 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파롤리딘-2-온 (20 mg, 0.051 mmol, 22.8% 수율)을 SFC에 의해 분리하여 P1; 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파롤리딘-2-온 및 P2; 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파롤리딘-2-온을 수득하였다.

[0244]

8에 대한 키랄 스크리닝: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 26, 총 유량: 4, CO₂ 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 129.

[0245] 피크 정보

번호	피크 이름	RT (분)	면적	면적 %
1	피크1	1.52	224.6273	3.2263
2	피크2	2.16	28.7287	0.4126
3	피크3	3.02	3801.0048	54.5936
4	피크4	6.49	2908.0087	41.7675

[0246]

[0247] SFC 정제 방법

[0248]

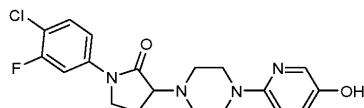
분석용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 4.6)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 4.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 247.

[0249]

정제용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 21)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 70.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 247.

[0250]

P1(호모키랄)에 대한 것:



[0251]

[0252] ¹H NMR: (400MHz, 메탄올-d₄) δ = 7.85 (dd, J = 2.5, 12.0 Hz, 1 H), 7.76 (d, J = 2.5 Hz, 1 H), 7.53 - 7.40 (m, 2 H), 7.20 - 7.10 (m, 1 H), 6.79 (d, J = 9.0 Hz, 1 H), 3.94 - 3.71 (m, 3 H), 3.53 - 3.39 (m, 4 H), 3.20 - 3.00 (m, 3 H), 2.78 (s, 2 H), 2.27 - 2.16 (m, 2 H).

[0253]

LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2 0.0, RT - 2.18분, M (+1) -391.

[0254]

키랄 순도: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3%DEA, 칼럼: 키랄팩-ODH(4.6*250)mm5u, 칼럼 온도: 22.6, CO₂ 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 :40, 총 유량: 4, 배압: 97, RT - 3.15분.

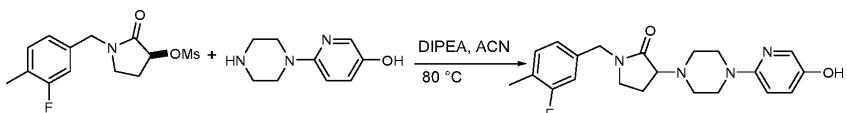
[0255] P2(호모키랄)에 대한 것:

[0256] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μ m), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT - 2.21분, M(+1) -391.

[0257] ¹H NMR: (400MHz, 메탄올-d₄) δ = 7.85 (dd, J = 2.5, 12.0 Hz, 1 H), 7.76 (d, J = 2.5 Hz, 1 H), 7.53 - 7.40 (m, 2 H), 7.20 - 7.10 (m, 1 H), 6.79 (d, J = 9.0 Hz, 1 H), 3.94 - 3.71 (m, 3 H), 3.53 - 3.39 (m, 4 H), 3.20 - 3.00 (m, 3 H), 2.78 (s, 2 H), 2.27 - 2.16 (m, 2 H).

[0258] 키랄 순도: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3%DEA, 칼럼: 키랄팩-ODH(4.6*250)mm5u, 칼럼 온도: 22.1, CO₂ 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 :40, 총 유량: 4, 배압: 101, RT - 6.6분.

[0259] 실시예 9 (P1 & P2):



[0260]

[0261] 80°C로 가열된 아세토니트릴 (2 mL) 중 6-(피페라진-1-일)파리딘-3-올 (40 mg, 0.185 mmol) 및 DIPEA (0.097 mL, 0.556 mmol)의 용액에, 아세토니트릴 (1 mL) 중 (S)-1-(3-플루오로-4-메틸벤질)-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (84 mg, 0.278 mmol)를 1분에 걸쳐 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 80°C에서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각되도록 한 다음, 농축시켰다. 잔류물을 SCP에 의해 정제하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 액스브리지 C18, 19x150mm, 5 μ m; 가드 칼럼: 워터스 액스브리지 C18, 19x10mm, 5 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 구배: 25분에 걸쳐 5-35% B에 이어서 35% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량: 1.1mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (+/-)-1-(3-플루오로-4-메틸벤질)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파롤리딘-2-온 (20 mg, 0.052mmol, 27.8% 수율)을 수득하였다.

[0262] 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0263] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배: 3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

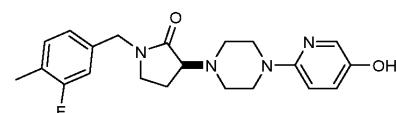
[0264] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배: 3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0265] SFC 정제 방법:

[0266] 분석용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 4.6)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 3.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 245.

[0267] 정제용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 21)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 60.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 245, 피크 수: 체류시간, 피크 1: 3.00::: 피크 2: 4.00, 용해도: 10.0mL 중 메탄올, 로딩능/주입: 5.00mg/mL, 총 주입 수: 10, 총 정제 시간 1.0시간, 기기 세부 사항: 제조/모델: 타르 SFC-80.

[0268] P1(호모키랄)에 대한 것:



[0269]

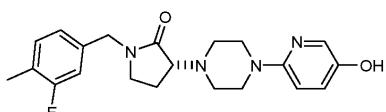
[0270] LCMS: 칼럼-카네텍스 XB-C18 (75X3mm-2.6 μ m), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 시간: %B: 유량:: 0: 20: 1:: 4: 100: 1:: 4.6: 100: 1.5:: 4.7 20 1.5, RT - 1.653분, M(+1) - 385.

[0271] ¹H NMR: (400MHz,DMSO-d₆) δ = 9.06 - 8.88 (m, 1 H), 7.79 - 7.68 (m, 1 H), 7.33 - 7.19 (m, 1 H), 7.10 - 7.03 (m, 1 H), 7.00 - 6.90 (m, 2 H), 6.76 - 6.65 (m, 1 H), 4.43 - 4.24 (m, 2 H), 3.52 - 3.40 (m, 1 H), 3.29 - 3.23 (m, 4 H), 3.20 - 3.01 (m, 2 H), 2.95 - 2.84 (m, 2 H), 2.22 (d, J = 1.5 Hz, 3 H), 2.15 - 2.02 (m, 1 H), 1.99 - 1.81 (m, 1 H).

[0272] 키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매 : 메탄올 중 0.3% DEA,

[0273] 칼럼: 키랄셀 OD-H(250 X 4.6)mm, 5u, 칼럼 온도: 27.1, 총 유량 :4, CO₂ 유량 :2.4, 공용매 유량 :1.6, 공용매 % :40, 배압 :99, RT - 4.94분.

[0274] P2(호모키랄)에 대한 것:



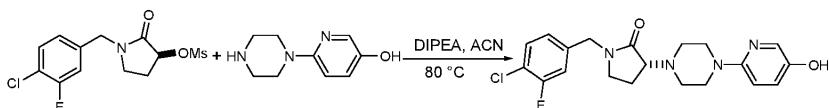
[0275]

[0276] LCMS: 칼럼-카네텍스 XB-C18 (75X3mm-2.6 μ m), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 시간: %B: 유량:: 0: 20: 1:: 4: 100: 1:: 4.6: 100: 1.5:: 4.7 20 1.5, RT - 1.656분, M(+1) - 385.

[0277] ¹H NMR: (400MHz,DMSO-d₆) δ = 9.02 - 8.90 (m, 1 H), 7.80 - 7.67 (m, 1 H), 7.34 - 7.23 (m, 1 H), 7.11 - 7.03 (m, 1 H), 7.00 - 6.90 (m, 1 H), 6.76 - 6.63 (m, 1 H), 4.44 - 4.24 (m, 2 H), 3.55 - 3.44 (m, 1 H), 3.30 - 3.22 (m, 4 H), 3.20 - 3.10 (m, 2 H), 2.96 - 2.87 (m, 2 H), 2.60 - 2.53 (m, 2 H), 2.22 (d, J = 1.0 Hz, 3 H), 2.16 - 2.03 (m, 1 H), 2.00 - 1.83 (m, 1 H).

[0278] 키랄 순도: 주입 부피; 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H (4.6X250) mm, 5u, 칼럼 온도: 23.5, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.8, 공용매 유량 :1.2, 공용매 %: 40, 배압: 100, RT - 5.42분.

[0279] 실시예 10(호모키랄):



[0280]

[0281] 80°C에서 CH₃CN 1.0 mL 중 6-(페페라진-1-일)페리딘-3-올 (0.111 g, 0.622 mmol) 및 DIPEA (0.271 mL, 1.554 mmol)의 용액에 CH₃CN 0.5 mL 중 (S)-1-(4-클로로-3-플루오로벤질)-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (0.2 g, 0.622 mmol)의 용액을 1.5시간에 걸쳐 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 80°C에서 16시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 농축시켜 조물질 0.3g을 수득하였다. 조 잔류물을 SCP에 의해 정제하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μ m; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μ m; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 5-35% B에 이어서 35% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 (R)-1-(4-클로로-3-플루오로벤질)-3-(4-(5-히드록시페리딘-2-일)페페라진-1-일)페롤리딘-2-온 (45 mg, 0.111mmol, 16.63% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0282] 주입 1 조건: 칼럼:아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량:

1.1ml/분.

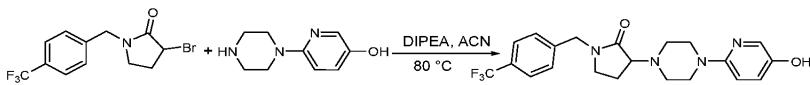
[0283] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100%B; 유량:1.1ml/분.

[0284] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 24.3, 총 유량: 3, CO_2 유량: 1.95, 공용매 유량: 1.05, 공용매 %: 35, 배압: 101, RT- 6.12분.

[0285] ^1H NMR: 400 MHz, DMSO-d₆: δ 7.73 (s, 1H), 7.56 (t, J = -8.00 Hz, 1H), 7.26 (d, J = 12.00 Hz, 1H), 7.06 (t, J = 36.00 Hz, 2H), 6.69-6.71 (m, 4H), 4.38 (d, J = 4.00 Hz, 2H), 3.47 (t, J = 20.00 Hz, 1H), 3.31-3.28 (m, 5H), 3.27-3.19 (m, 2H), 2.90 (t, J = 24.00 Hz, 2H), 2.53 (t, J = 24.00 Hz, 2H), 2.29-2.01 (m, 1H), 1.95-1.89 (m, 1H).

[0286] LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAc, B: 5% 물: 95% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAc, 유량: 1.1 ml/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μ m, 시간 (분): 0---3, %B: 0---100, RT-2.27분, M(+1) - 405.

[0287] 실시예 11 (P1 & P2):



[0288]

[0289] 건조 DMF (1.5 mL) 중 6-(페페라진-1-일)파리딘-3-올 히드로클로라이드 (70 mg, 0.325 mmol)의 교반 용액에 DIPEA (0.170 mL, 0.974 mmol) 및 3-브로모-1-(4-(트리플루오로메틸)벤질)파롤리딘-2-온 (209 mg, 0.649 mmol)을 침가하였다. 반응 혼합물을 MW 하에 120°C에서 90분 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS를 통해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 그대로 SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μ m; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 5-35% B에 이어서 35% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15ml/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 전조시켜 연황색 고체로서의 (60 mg, 0.142 mmol, 4.39% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0290] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1ml/분.

[0291] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량:1.1ml/분.

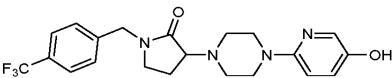
[0292] SFC 정제 방법:

[0293] 분석용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 4.6)mm, 5u, % CO_2 : 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 3.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 24°C, UV: 210.

[0294] 정제용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 21.5)mm, 5u, % CO_2 : 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 60.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 210, 피크 수: 체류시간:: 피크 1: 2.50:: 피크 2: 4.20, 용해도: 6.0ml 중 메탄올, 로딩능/주입: 2.5mg/mL, 총 주입 수:12, 총 정제 시간 1.0시간, 기기 세부 사항: 제조/모델: 타르 SFC-80.

[0295] P1(호모키랄)에 대한 것:

[0296] 3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)페페라진-1-일)-1-(4-(트리플루오로메틸)벤질)파롤리딘-2-온



[0297]

[0298] LCMS: 방법 정보: 칼럼-아센티스 익스프레스 C8 (50X2.1mm-2.7 μ m), 이동상 A: 2%ACN - 98%H₂O-10mM NH₄COOH, 이동상 B: 98%ACN - 2%H₂O-10mM NH₄COOH, 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 4.0: 100.0, RT - 1.798분, M(+1) - 421.

[0299] ¹H NMR: (400MHz,DMSO-d₆) δ = 9.10 - 8.88 (m, 1 H), 7.74 (s, 3 H), 7.50 - 7.41 (m, 2 H), 7.10 - 7.00 (m, 1 H), 6.76 - 6.65 (m, 1 H), 4.58 - 4.36 (m, 2 H), 3.64 - 3.44 (m, 2 H), 3.25 - 3.08 (m, 4 H), 2.99 - 2.87 (m, 3 H), 2.55 (br. s., 4 H), 2.20 - 2.05 (m, 1 H), 2.01 - 1.80 (m, 1 H).

[0300] 키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA,

[0301] 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm,5u, 칼럼 온도: 25.9, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.8, 공용매 유량: 1.2, 공용매 %: 40, 배압: 44, RT - 3.05분.

[0302] P2(호모키랄)에 대한 것:

[0303] 3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-1-일)-1-(4-(트리플루오로메틸)벤질)피롤리딘-2-온

[0304]

[0305] LCMS: 방법 정보: 칼럼-아센티스 익스프레스 C8 (50X2.1mm-2.7 μ m), 이동상 A: 2%ACN - 98%H₂O-10mM NH₄COOH, 이동상 B: 98%ACN - 2%H₂O-10mM NH₄COOH, 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 4.0: 100.0, RT - 1.793분, M(+1) - 421.

[0306] ¹H NMR: (400MHz,DMSO-d₆) δ = 9.04 - 8.92 (m, 1 H), 7.74 (br. s., 3 H), 7.51 - 7.42 (m, 2 H), 7.10 - 7.02 (m, 1 H), 6.76 - 6.66 (m, 1 H), 4.57 - 4.38 (m, 2 H), 3.54 - 3.44 (m, 1 H), 3.26 - 3.13 (m, 3 H), 2.97 - 2.86 (m, 2 H), 2.63 - 2.54 (m, 5 H), 2.18 - 2.07 (m, 1 H), 2.01 - 1.92 (m, 1 H).

[0307] 키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm,5u, 칼럼 온도: 25.8, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.8, 공용매 유량: 1.2, 공용매 %: 40, 배압: 52, RT - 3.94분.

[0308] 실시예 12(호모키랄):

[0309]

[0310] 80°C로 가열된 아세토니트릴 (2 mL) 중 6-(피페라진-1-일)피리딘-3-온 (20 mg, 0.112 mmol) 및 DIPEA (0.058 mL, 0.335 mmol)의 용액에, 아세토니트릴 (1 mL) 중 ((S)-1-(4-클로로벤질)-2-옥소피롤리딘-3-일)메탄술포네이트 (50.8 mg, 0.167 mmol)를 1분의 기간에 걸쳐 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 80°C에서 16시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 농축시켜 조화합물을 수득하였다. 조물질을 SCP에 의해 정제하였다. 조물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μ m; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1%TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1%TFA 포함 물; 구배: 25분에 걸쳐 5-25% B에 이어서 25% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량: 15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (R)-1-(4-클로로벤질)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-1-일)피롤리딘-2-온 (26 mg, 0.064 mmol, 57.2% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0311] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배: 3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0312] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배: 3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0313] ^1H NMR: (400MHz, 메탄올-d₄) δ = 7.70 - 7.69 (m, 1 H), 7.47 - 7.44 (m, 1 H), 7.41 - 7.38 (m, 2 H), 7.33 - 7.29 (m, 2 H), 7.12 - 7.09 (m, 1 H), 4.59 - 4.45 (m, 2 H), 4.25 - 4.19 (m, 1 H), 3.74 - 3.60 (m, 6 H), 3.44 - 3.35 (m, 3 H), 3.29 - 3.23 (m, 2 H), 2.50 - 2.42 (m, 1 H), 2.27 - 2.18 (m, 1 H).

[0314] LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, B: 5% 물: 95% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0--3, %B: 0--100, RT -1.33분, M(+1) - 387.

[0315] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄팩 AS H 4 (250 X 4.6)mm, 5μ, 칼럼 온도: 26.7, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.95, 공용매 유량: 1.05, 공용매 %: 35, 배압: 97, RT - 3.16분.

[0316] 실시예 13 P1(호모키랄):

[0317] 1-(4-(디플루오로메톡시)-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-1-일)피롤리딘-2-온

[0318]

[0319] 아세토니트릴 (10 mL) 중 6-(피페라진-1-일)피리딘-3-올 (39.6 mg, 0.221 mmol)의 혼탁액에 DIPEA (0.116 mL, 0.663 mmol)를 첨가하고, 반응물을 50°C로 10분 동안 가열하였다. 이 온도에서 아세토니트릴 (1 mL) 중 1-(4-(디플루오로메톡시)-3-플루오로페닐)-2-옥소피롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (75 mg, 0.221 mmol)를 첨가하고, 반응물을 80°C에서 18시간 동안 교반하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 농축시켜 조화합물을 수득하였다. 조물질을 SCP에 의해 정제하였다. 조물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 익스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm; 가드 칼럼: 워터스 익스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴: 0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴: 0.1% TFA 포함 물; 구배: 25분에 걸쳐 5-25% B에 이어서 25% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량: 15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 1-(4-(디플루오로메톡시)-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-1-일)피롤리딘-2-온 (8.5 mg, 0.020 mmol, 9.01% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0320] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴: 10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴: 10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배: 3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

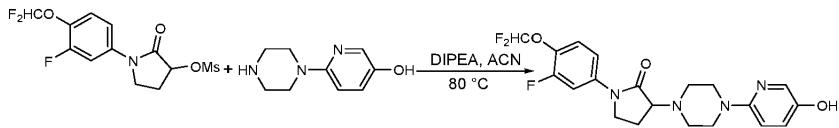
[0321] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴: 0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴: 0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배: 3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0322] LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, B: 5% 물: 95%, 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0--3, %B: 0--100, RT-1.331분, M(+1)-423.

[0323] ^1H NMR: (400MHz, 메탄올-d₄) δ = 7.85 (dd, J = 2.5, 13.1 Hz, 1 H), 7.77 (d, J = 2.5 Hz, 1 H), 7.45 - 7.40 (m, 1 H), 7.37 - 7.30 (m, 1 H), 7.17 (dd, J = 3.0, 9.0 Hz, 1 H), 7.03 - 6.64 (m, 2 H), 3.91 - 3.74 (m, 3 H), 3.42 (t, J = 5.0 Hz, 4 H), 3.07 (td, J = 5.1, 10.8 Hz, 2 H), 2.82 - 2.74 (m, 2 H), 2.42 - 2.32 (m, 1 H), 2.29 - 2.16 (m, 1 H).

[0324] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3%DEA, 칼럼: 룩스 셀룰로스-2(4.6*250)mm5μ, 칼럼 온도: 21.2, CO₂ 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매: 40, 총 유량: 4, 배압: 98, RT- 3.86분.

[0325] 실시예 13 P2(호모키랄): 1-(4-(디플루오로메톡시)-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-1-일)피롤리딘-2-온.



[0326]

아세토니트릴 (10 mL) 중 6-(피페라진-1-일)파리딘-3-올 (39.6 mg, 0.221 mmol)의 혼탁액에 DIPEA (0.116 mL, 0.663 mmol)를 첨가하고, 반응물을 50°C로 10분 동안 가열하였다. 이 온도에서 아세토니트릴 (1 mL) 중 1-(4-(디플루오로메톡시)-3-플루오로페닐)-2-옥소파롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (75mg, 0.221 mmol)를 첨가하고, 반응물을 80°C에서 18시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 농축시켜 조 화합물을 수득하였다. 조 물질을 SCP에 의해 정제하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:0.1%TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1%TFA 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 5-25% B에 이어서 25% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 1-(4-(디플루오로메톡시)-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파롤리딘-2-온 (21 mg, 0.049 mmol, 22.27% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0328]

주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량: 1.1mL/분.

[0329]

주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0-100% B; 유량:1.1mL/분.

[0330]

LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, B: 5% 물:95%, 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0---3, %B: 0---100, RT - 1.332 분 M(+1) - 423.

[0331]

¹H NMR: (400MHz, 메탄올-d₄) δ = 7.85 (dd, J = 2.5, 12.5 Hz, 1 H), 7.76 (d, J = 3.0 Hz, 1 H), 7.45 - 7.40 (m, 1 H), 7.36 - 7.31 (m, 1 H), 7.19 - 7.15 (m, 1 H), 7.02 - 6.64 (m, 2 H), 3.89 - 3.74 (m, 3 H), 3.44 - 3.40 (m, 4 H), 3.07 (td, J = 5.3, 10.9 Hz, 2 H), 2.78 (td, J = 5.1, 10.8 Hz, 2 H), 2.41 - 2.33 (m, 1 H), 2.29 - 2.18 (m, 1 H).

[0332]

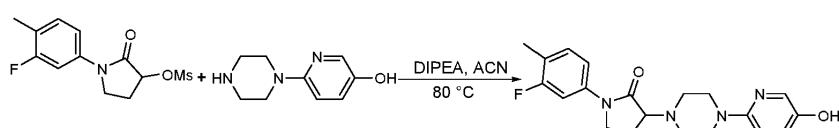
키랄 스크리닝: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3%DEA, 칼럼: 툭스 셀룰로스-2(4.6*250)mm5u, 칼럼 온도: 21.2, CO₂ 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매: 40, 총 유량: 4, 배압: 98, RT- 3.17분.

[0333]

실시예 14 (P1 & P2):

[0334]

실시예 14 P1(호모키랄):



[0335]

아세토니트릴 (6 mL) 중 6-(피페라진-1-일)파리딘-3-올 (0.04 g, 0.223 mmol)의 교반 용액에 실온에서 DIPEA (0.117 mL, 0.670 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 50°C로 가열하고, 아세토니트릴 (2 mL) 중 1-(3-플루오로-4-메틸페닐)-2-옥소파롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (0.115 g, 0.402 mmol)를 천천히 적가하였다. 반응 혼합물을 80°C로 18시간 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 혼합물을 실온으로 되게 하였다. 이어서, 농축시켜 조 화합물을 수득하였다. 조 물질을 SCP에 의해 정제하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 10-35% B에 이어서 35% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 1-(4-(3-메틸플루오로페닐)-3-옥소파롤리딘-2-일)피페라진-1-온 (14 mg, 0.032 mmol, 14.4% 수율)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

의 1-(3-플루오로-4-메틸페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)페페라진-1-일)페롤리딘-2-온 (16.5mg, 0.0445mmol, 19.95%)을 수득하였다. 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

[0337] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0~100% B; 유량: 1.1ml/분.

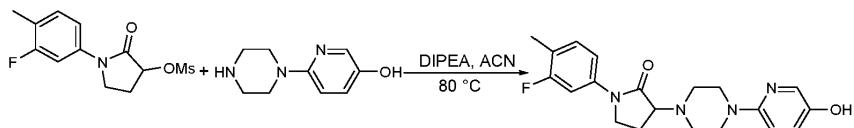
[0338] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0~100% B; 유량: 1.1ml/분.

[0339] ¹H NMR: (400MHz, 메탄올-d₄) δ = 7.76 (d, J = 3.0 Hz, 1 H), 7.57 (d, J = 12.0 Hz, 1 H), 7.32 ~ 7.23 (m, 1 H), 7.16 (dd, J = 3.0, 9.0 Hz, 1 H), 6.80 (d, J = 9.0 Hz, 1 H), 4.60 (s, 1 H), 3.88 ~ 3.71 (m, 2 H), 3.51 (s, 1 H), 3.42 (t, J = 5.0 Hz, 1 H), 3.16 (d, J = 1.5 Hz, 1 H), 3.10 ~ 3.00 (m, 1 H), 2.77 (dd, J = 5.5, 10.5 Hz, 1 H), 2.32 ~ 2.20 (m, 1 H).

[0340] LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴:10mM NH₄OAC, B: 5% 물:95%, 아세토니트릴:10mM NH₄OAC, 유량: 1.1 ml/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0~3, %B: 0~100, RT-1.32분, M(+1) -371.

[0341] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3%DEA, 칼럼: 룩스 셀룰로스-4 (4.6X250)mm 5u, 칼럼 온도: 18.8, CO₂ 유량: 2.4, 공용매 비율: 1.6, 공용매 %: 40, 총 유량: 4, 배압: 102, RT- 4.09분, 97.6% ee.

[0342] 실시예 14 P2(호모키랄):



[0343]

[0344] 아세토니트릴 (6 mL) 중 6-(페페라진-1-일)페리딘-3-올 (0.04 g, 0.223 mmol)의 교반 용액에 실온에서 DIPEA (0.117 mL, 0.670 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 50°C로 가열하고, 아세토니트릴 (2 mL) 중 1-(3-플루오로-4-메틸페닐)-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (0.115 g, 0.402 mmol)를 천천히 적가하였다. 반응 혼합물을 80°C로 18시간 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 혼합물을 실온으로 냉각되도록 하였다. 이어서, 농축시켜 조화합물을 수득하였다. 조물질을 SCP에 의해 정제하였다. 조물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 익스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm; 가드 칼럼: 워터스 익스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1%TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1%TFA 포함 물; 구배: 25분에 걸쳐 5~25% B에 이어서 25% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량: 15ml/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 1-(3-플루오로-4-메틸페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)페페라진-1-일)페롤리딘-2-온 (13mg, 0.035mmol, 15.10% 수율)을 수득하였다.

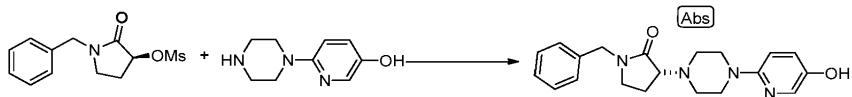
[0345] ¹H NMR: (400MHz, 메탄올-d₄) δ = 7.76 (d, J = 2.5 Hz, 1 H), 7.63 ~ 7.50 (m, 1 H), 7.33 ~ 7.23 (m, 2 H), 7.16 (dd, J = 3.0, 9.0 Hz, 1 H), 6.80 (d, J = 9.0 Hz, 1 H), 4.60 (s, 1 H), 3.89 ~ 3.69 (m, 3 H), 3.50 (d, J = 1.5 Hz, 1 H), 3.42 (t, J = 5.3 Hz, 2 H), 3.19 ~ 3.14 (m, 1 H), 3.06 (dd, J = 5.3, 11.3 Hz, 2 H), 2.83 ~ 2.67 (m, 2 H), 2.36 (br. s., 1 H), 2.28 ~ 2.11 (m, 2 H).

[0346] LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴:10mM NH₄OAC, B: 5% 물:95%, 아세토니트릴:10mM NH₄OAC, 유량: 1.1 ml/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0~3, %B: 0~100, LCMS RT - 1.32분, M(+1) - 371.

[0347] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3%DEA,

[0348] 칼럼: 룩스 셀룰로스-4 (4.6X250)mm 5u, 칼럼 온도: 21.6, CO₂ 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 총 유량: 4, 배압: 97, RT - 4.73분.

[0349] 실시예 15 (호모카랄):



[0350]

DMF (3 mL) 중 6-(페페라진-1-일)파리딘-3-올 (0.015 g, 0.084 mmol)의 교반 용액에 실온에서 TEA (0.035 mL, 0.251 mmol) 및 (S)-1-벤질-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄솔포네이트 (0.045 g, 0.167 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 마이크로웨이브에서 120°C에서 2시간 동안 교반하였다. LCMS에 의한 주요 목적 생성물 질량. 반응 혼합물을 그대로 SCP에 적용하였다. 조 화합물을 SCP에 의해 정제하여 (R)-1-벤질-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)페페라진-1-일)파롤리딘-2-온 (2 mg, 5.39 μmol, 6.44% 수율)을 연황색 고체로서 수득하였다.

[0352]

LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, B: 5% 물: 95% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0---3, %B: 0---100, RT-1.161분, M(+1)-353.

[0353]

카랄 스크리닝: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3%DEA, 칼럼: 키랄셀-ASH(250*4.6)5u, 칼럼 온도: 24.6, CO₂ 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 총 유량: 4, 배압: 103, RT-2.3분.

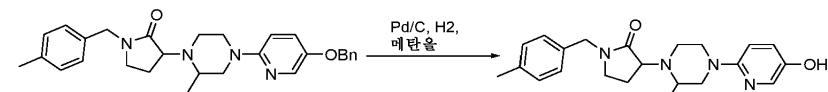
[0354]

¹H NMR: 400 MHz, DMSO-d₆: δ 2.08 (s, 2H), 2.92 (bs, 2H), 3.18-3.22 (m, 6H), 3.37-3.42 (m, 2H), 4.34-4.46 (m, 3H), 6.75 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 7.07-7.09 (m, 1H), 7.22-7.25 (m, 2H), 7.28-7.31 (m, 1H), 7.35-7.39 (m, 2H), 7.75 (d, J = 2.80 Hz, 1H).

[0355] 실시예 16 (P1, P2, P3 & P4):

[0356]

3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)-2-메틸페페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온



[0357]

메탄올 (20 mL) 중 3-(4-(5-(벤질옥시)파리딘-2-일)-2-메틸페페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온 (650 mg, 1.381 mmol)의 용액에 실온에서 Pd/C (147 mg, 1.381 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 수소 압력 하에 18시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 메탄올 (100 mL)로 세척하고, 여과물을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 감압 하에 증발시켜 조 잔류물을 수득하였다. 조 물질을 50% 아세토니트릴 + 10mM 아세트산암모늄으로 용리하는 C18 역상 실리사이클 칼럼 상에서 정제하여 순수한 분획을 수득하였으며, 이를 증발시켜 연황색 고체로서의 3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)-2-메틸페페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온 (420 mg, 0.993 mmol, 71.9% 수율)을 수득하였다.

[0359]

LCMS: RT: 1.93분 ACN/HCOONH₄ 포함 H₂O, 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1 mm-2.7 μm), 구배 = 1.7분, 파장 = 220 nm; MS (ES): m/z 381. M+H.

[0360]

SFC: CO₂ 3.0_Colvent_100.met; 유량:- 총 유량 3, CO₂ 유량 2.1, 공용매 (메탄올 중 0.3% DEA) 0.9; 칼럼:- 키랄셀 AD-H (250 x 4.6) mm 5 μ; RT 3.9분; 순도@ 217nm :32%, RT 4.7분; 순도@ 217nm :16%, RT 6분; 순도@ 217nm :16%, RT 10분; 순도@ 217nm :33%.

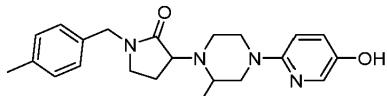
[0361]

정제용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄셀 OD-H(250 X 21)mm, 5u, % CO₂: 75%, % 공 용-매: 25%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 60.0g/분 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 245, 피크 수: 체류시간:: 피크 1: 3.90:: 피크 2: 4.70:: 피크 3: 6.00:: 피크 4: 10.00, 용해도: 메탄올 중 60mL, 로딩능/주입: 5.0mg/mL, 총 주입 수: 120 총 정제 시간 15.0시간. 기기 세부 사항: 제조/모델: 타르 SFC-80.

[0362]

P1(호모카랄)에 대한 것:

[0363] 3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-2-메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온



[0364]

[0365] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C8 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 2%ACN - 98%H₂O-10mM NH₄COOH, 이동상 B: 98%ACN - 2%H₂O-10mM NH₄COOH, 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 4.0: 100.0, RT -1.774분, M(+1)-381.

[0366]

¹H NMR: (400 MHz, 메탄올-d₄) d ppm 7.75 (dd, J=3.01, 0.50 Hz, 1 H) 7.13 - 7.21 (m, 5 H) 6.77 (dd, J=9.04, 0.44 Hz, 1 H) 4.55 (s, 1 H) 4.42 (s, 1 H) 4.13 (t, J=9.00 Hz, 1 H) 3.77 - 3.88 (m, 2 H) 3.36 - 3.39 (m, 2 H) 3.24 - 3.30 (m, 2 H) 3.02 (d, J=0.25 Hz, 1 H) 2.95 (td, J=11.66, 3.17 Hz, 1 H) 2.88 (d, J=0.69 Hz, 1 H) 2.58 - 2.73 (m, 4 H) 2.34 (s, 3 H) 2.07 - 2.19 (m, 1 H) 1.95 - 2.05 (m, 3 H) 1.18 - 1.24 (m, 3 H).

[0367]

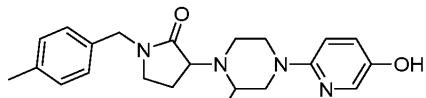
키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm,5u, 칼럼 온도: 26, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 2.25, 공용매 유량: 0.75, 공용매 %: 25, 배압: 99, RT - 5.3분.

[0368]

P2(호모키랄)에 대한 것:

[0369]

3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-2-메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온



[0370]

[0371] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C8 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 2%ACN - 98%H₂O-10mM NH₄COOH, 이동상 B: 98%ACN - 2%H₂O-10mM NH₄COOH, 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 4.0: 100.0, RT -1.751분, M(+1)-381.

[0372]

¹H NMR: (400 MHz, 메탄올-d₄) d ppm 7.75 (dd, J=2.98, 0.53 Hz, 1 H) 7.13 - 7.20 (m, 7 H) 6.77 (dd, J=9.04, 0.50 Hz, 1 H) 4.49 (d, J=14.56 Hz, 1 H) 4.30 - 4.35 (m, 1 H) 4.05 (dd, J=9.60, 7.72 Hz, 1 H) 3.74 - 3.86 (m, 3 H) 3.36 - 3.45 (m, 3 H) 3.21 - 3.31 (m, 2 H) 2.99 - 3.03 (m, 2 H) 2.89 - 2.99 (m, 3 H) 2.88 (d, J=0.63 Hz, 2 H) 2.57 - 2.70 (m, 3 H) 2.23 - 2.35 (m, 3 H) 1.94 - 2.08 (m, 3 H) 1.24 (s, 3 H).

[0373]

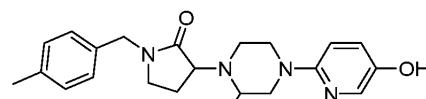
키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm,5u, 칼럼 온도: 25.9, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 2.25, 공용매 유량: 0.75, 공용매 %: 25, 배압: 103, RT - 6.4분.

[0374]

P3(호모키랄)에 대한 것:

[0375]

3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-2-메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온



[0376]

[0377] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C8 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 2%ACN - 98%H₂O-10mM NH₄COOH, 이동상 B: 98%ACN - 2%H₂O-10mM NH₄COOH, 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 4.0: 100.0, RT -1.774분, M(+1)-381.

[0378]

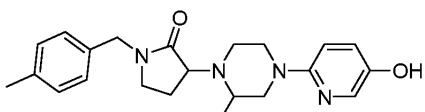
¹H NMR: (400 MHz, 메탄올-d₄) d ppm 7.75 (dd, J=3.01, 0.44 Hz, 1 H) 7.14 - 7.22 (m, 5 H) 6.75 - 6.80 (m, 5 H).

1 H) 4.50 – 4.56 (m, 1 H) 4.38 – 4.44 (m, 1 H) 4.13 (t, J=9.00 Hz, 1 H) 3.78 – 3.88 (m, 2 H) 3.36 – 3.38 (m, 2 H) 3.24 – 3.30 (m, 2 H) 3.02 (d, J=0.31 Hz, 1 H) 2.95 (td, J=11.64, 3.20 Hz, 1 H) 2.88 (d, J=0.63 Hz, 1 H) 2.59 – 2.74 (m, 6 H) 2.34 (s, 4 H) 2.08 – 2.19 (m, 1 H) 1.94 – 2.06 (m, 4 H) 1.19 – 1.24 (m, 3 H).

[0379] 키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 25.9, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 2.25, 공용매 유량: 0.75, 공용매 %: 25, 배압: 100, RT – 7.6분.

[0380] P4(호모키랄)에 대한 것:

[0381] 3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-2-메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온



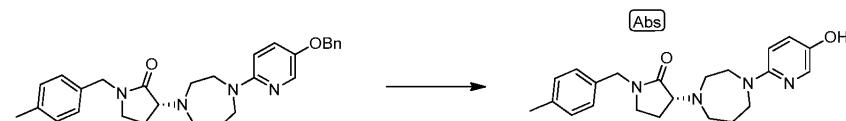
[0382]

[0383] LCMS: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C8 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 2%ACN – 98%H₂O-10mM NH₄COOH, 이동상 B: 98%ACN – 2%H₂O-10mM NH₄COOH, 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 4.0: 100.0, RT – 1.750분, M(+1)-381.

[0384] ¹H NMR: (400 MHz, 메탄올-d₄) δ ppm 7.75 (dd, J=3.01, 0.50 Hz, 1 H) 7.13 – 7.20 (m, 5 H) 6.77 (d, J=8.66 Hz, 1 H) 4.49 (d, J=14.56 Hz, 1 H) 4.29 – 4.35 (m, 1 H) 4.05 (dd, J=9.60, 7.72 Hz, 1 H) 3.75 – 3.86 (m, 2 H) 3.37 – 3.44 (m, 4 H) 3.21 – 3.31 (m, 1 H) 2.87 – 3.02 (m, 1 H) 2.57 – 2.69 (m, 1 H) 2.34 (s, 2 H) 2.22 – 2.31 (m, 1 H) 1.98 – 2.07 (m, 1 H) 1.93 – 1.96 (m, 6 H) 1.24 (s, 3 H).

[0385] 키랄 순도: 주입 부피: 10, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 24.8, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 2.25, 공용매 유량: 0.75, 공용매 %: 25, 배압: 100, RT – 15.1분.

[0386] 실시예 17(호모키랄):



[0387]

[0388] 제조:

[0389] 메탄올 (10 mL) 중 (R)-3-(4-(벤질옥시)피리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온 (0.1 g, 0.212 mmol)의 교반 용액에 Pd/C (0.023 g, 0.212 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 진공 밴드를 통해 수소 주머니에 연결하고, 실온에서 18시간 동안 교반하였다. LCMS에 의한 주요 목적 생성물 질량. 반응 혼합물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여과물을 농축시켜 조 물질 0.04g을 수득하였다. 조 물질을 SCP에 적용하였다. 조 화합물을 SCP에 의해 정제하여 (R)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온 (6.5 mg, 0.017 mmol, 7.88% 수율)을 연황색 고체로서 수득하였다.

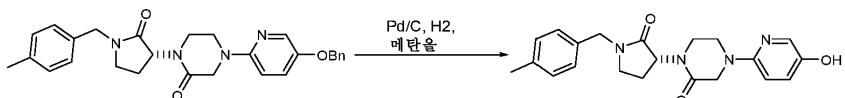
[0390] LCMS: 용매 A: 5% ACN, 95% 물, 10mM NH₄OAC, 용매 B: 95% ACN, 5% 물, 10mM NH₄OAC, 유량: 4 ml/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50X4.6)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0--- 4, % B :0---100, RT-1.93분, M(+1)-381.

[0391] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 3, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄렉 AD H (250 X 4.6)mm 5u, 칼럼 온도: 26.4, 총 유량: 4, CO₂ 유량: 1.95, 공용매 유량: 1.05, 공용매 %: 35, 배압: 99, RT -9.73분.

[0392] ¹H NMR: 400 MHz, DMSO-d₆: δ 1.80 (bs, 3H), 2.08 (d, J = 6.40 Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.68-2.68 (m, 2H), 2.91 (bs, 1H), 3.02-3.10 (m, 2H), 3.11-3.19 (m, 2H), 3.52-3.55 (m, 3H), 3.60 (s, 2H), 4.24-4.35 (m, 2H), 6.47 (d, J = 9.20 Hz, 1H), 7.01-7.04 (m, 1H), 7.08-7.16 (m, 4H), 7.68 (d, J = 2.80 Hz, 1H), 8.66

(s, 1H).

[0393] 실시예 18(호모카랄):



[0394]

[0395] MeOH (5 mL) 중 (R)-4-(5-(벤질옥시)파리딘-2-일)-1-(1-(4-메틸벤질)-2-옥소파롤리딘-3-일)파페라진-2-온 (0.15 g, 0.182 mmol)의 용액에 Pd/C (0.12 g, 0.113 mmol)를 첨가하고, 수소 풍선 압력 하에 실온에서 12시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 감압 하에 농축시켜 조 물질 0.12g를 수득하였다. 조 물질을 SCP에 적용하였다. 조 물질을 SCP에 의해 정제하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm; 이동상 A:5:95 메탄올:10mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 메탄올:10mM NH₄OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 15-60% B에 이어서 60% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15ml/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (R)-4-(5-히드록시파리딘-2-일)-1-(1-(4-메틸벤질)-2-옥소파롤리딘-3-일)파페라진-2-온 (21mg, 0.055 mmol, 30.1% 수율)을 수득하였다.

[0396]

LCMS: 용매 A: 5% ACN, 95% 물, 10mM NH₄OAC, 용매 B: 95% ACN, 5% 물, 10mM NH₄OAC, 유량: 4 ml/분, 온도: 50°C,

[0397]

칼럼:아센티스 익스프레스 C18 (50x4.6)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0--- 4, % B :0---100, RT - 1.735분, M(+1) - 381.

[0398]

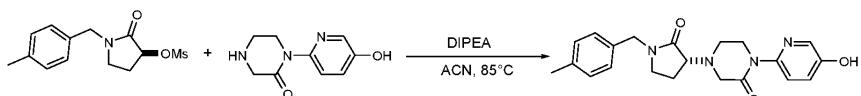
H-NMR: 400 MHz, DMSO-d₆: δ 1.98-2.05 (m, 1H), 2.15-2.22 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 3.19-3.22 (m, 2H), 3.24-3.28 (m, 1H), 3.36-3.43 (m, 1H), 3.65 (t, J = 28.00 Hz, 2H), 3.91-4.02 (m, 2H), 4.30 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 4.41 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 5.06 (t, J = 19.20 Hz, 1H), 6.76 (d, J = 8.80 Hz, 1H), 7.10 (dd, J = 11.60, Hz, 1H), 7.13-7.17 (m, 4H), 7.76 (d, J = 3.20 Hz, 1H), 9.05 (s, 1H).

[0399]

카랄 스크리닝: 주입 부피: 3, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OD-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 25, 총 유량: 3, CO₂ 유량: 1.95, 공용매 유량: 1.05, 공용매 %: 35, 배압: 99, RT- 3.97분.

[0400]

실시예 19(호모카랄):



[0401]

[0402] 아세토니트릴 (5 mL) 중 1-(5-히드록시파리딘-2-일)파페라진-2-온, HCl (0.03 g, 0.131 mmol)의 용액에 DIPEA (0.068 mL, 0.392 mmol)를 첨가하고, 60°C로 30분 동안 가열한 다음 아세토니트릴 (1 mL) 중 (S)-1-(4-메틸벤질)-2-옥소파롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (0.041 g, 0.144 mmol)를 첨가하고, 이어서 85°C로 밤새 가열하였다. 반응물을 감압 하에 농축시킨 다음, DMF 2 mL 중에 용해시키고, SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 5-30% B에 이어서 30% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15ml/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (R)-1-(5-히드록시파리딘-2-일)-4-(1-(4-메틸벤질)-2-옥소파롤리딘-3-일)파페라진-2-온 (5mg, 0.013 mmol, 10.06% 수율)을 수득하였다.

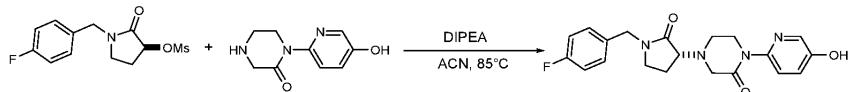
[0403]

LCMS: 용매 A: 5% ACN, 95% 물, 10mM NH₄OAC, 용매 B: 95% ACN, 5% 물, 10mM NH₄OAC, 유량: 4 ml/분, 온도: 50°C, 칼럼:아센티스 익스프레스 C18 (50x4.6)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0--- 4, % B :0---100, RT - 1.677분, M(+1) - 381.

[0404] H-NMR: ^1H NMR: 400 MHz, MeOD: δ 2.03-2.09 (m, 1H), 2.25-2.26 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.97-3.00 (m, 1H), 3.24-3.30 (m, 2H), 3.34-3.35 (m, 1H), 3.47 (d, J = 16.80 Hz, 1H), 3.72-3.81 (m, 2H), 3.85 (t, J = 10.80 Hz, 2H), 4.40 (d, J = 14.40 Hz, 1H), 4.51 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 7.18-7.21 (m, 4H), 7.28 (dd, J = 12.00, Hz, 1H), 7.44 (d, J = 9.20 Hz, 1H), 8.01-8.02 (m, 1H).

[0405] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 툭스 셀룰로스-2(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 29.1, 총 유량: 4, CO_2 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 98, RT - 5.76분.

[0406] 실시예 20(호모키랄):



[0407]

[0408] 아세토니트릴 (5 mL) 중 1-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-2-온, HCl (0.03 g, 0.131 mmol)의 용액에 DIPEA (0.068 mL, 0.392 mmol)를 첨가하고 60°C로 30분 동안 가열한 다음, 아세토니트릴 (1 mL) 중 (S)-1-(4-플루오로벤질)-2-옥소페롤리딘-3-일 메탄술포네이트 (0.041 g, 0.144 mmol)를 첨가한 다음, 85°C로 밤새 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응물을 감압 하에 농축시킨 다음 DMF 2 mL 중에 용해시키고, SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm ; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm ; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 구배: 25분에 걸쳐 5-30% B에 이어서 30% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량: 15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (R)-4-(1-(4-플루오로벤질)-2-옥소페롤리딘-3-일)-1-(5-히드록시피리딘-2-일)피페라진-2-온 (1mg, 2.55 μmol , 1.952% 수율)을 수득하였다.

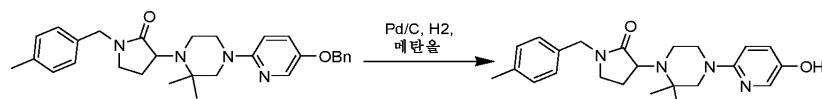
[0409] LCMS: 용매 A: 5% ACN, 95% 물, 10mM NH_4OAc , 용매 B: 95% ACN, 5% 물, 10mM NH_4OAc , 유량: 4 mL/분, 온도: 50°C,

[0410] 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x4.6)mm, 2.7 μm , 시간 (분): 0---4, % B : 0---100, RT - 1.551분, M(+1) - 385.

[0411] H-NMR: 400 MHz, MeOD: δ 2.04-2.10 (m, 1H), 2.25-2.30 (m, 1H), 2.97-3.02 (m, 1H), 3.26-3.30 (m, 2H), 3.34-3.37 (m, 1H), 3.47 (d, J = 16.40 Hz, 1H), 3.72-3.81 (m, 2H), 3.85 (t, J = 11.20 Hz, 2H), 4.45 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 4.53 (d, J = 14.40 Hz, 1H), 7.09-7.13 (m, 2H), 7.28 (dd, J = 11.60, Hz, 1H), 7.31-7.35 (m, 2H), 7.44 (d, J = 9.20 Hz, 1H), 8.02 (d, J = 2.80 Hz, 1H).

[0412] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 4, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 툭스 셀룰로스-2(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 23, 총 유량: 4, CO_2 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 99, RT - 4.64분.

[0413] 실시예 21(P1 & P2):



[0414]

[0415] MeOH (10 mL) 중 3-(4-(5-(벤질옥시)피리딘-2-일)-2,2-디메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온 (25 mg, 0.052 mmol)의 용액에 실온에서 Pd/C (1.098 mg, 10.32 μmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 수소 주머니 압력 하에 밤새 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 세라이트를 통해 여과하고, 여과물을 감압 하에 증발시켜 조 물질 30 mg을 수득하였다. 조 화합물을 SCP에 의해 정제하였다. 조 물질을 정제용 하기 조건을 갖는 LC/MS에 의해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm ; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm ; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 구배: 25분에 걸쳐 10-40% B에 이어서 40% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량: 15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (+/-)(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-2,2-디메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온 (4 mg,

0.0101mmol, 19.65% 수율)을 수득하였다.

[0416] 2개의 분석용 LC/MS 주입을 사용하여 최종 순도를 결정하였다.

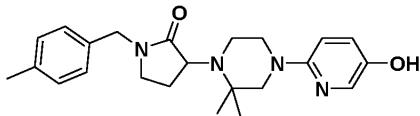
[0417] 주입 1 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10 mM NH₄OAc 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0~100% B; 유량: 1.1ml/분.

[0418] 주입 2 조건: 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18(50x2.1)mm, 2.7 μ m; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1% TFA 포함 물; 온도: 50°C; 구배:3분에 걸쳐 0~100% B; 유량: 1.1ml/분.

[0419] 라세미 혼합물을 SFC에 의해 분리하였다.

[0420] 정제용 SFC 조건: 칼럼/치수: 키랄팩 AD-H(250 X 21)mm, 5 μ m, % CO₂: 60%, % 공용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 60.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 220, 피크 수: 체류시간:: 피크 1: 3.40:: 피크 2: 4.40, 용해도: 메탄올 중 4mL.

[0421] P1(호모카랄): (4-(5-하드록시피리딘-2-일)-2,2-디메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온에 대한 것.



[0422]

[0423] HPLC: 95/5에서 5/95 H₂O/CH₃CN/0.05%TFA, 유량 = 1mL/분, 구배=15분, 선파이어 C18 4.6x150mm: RT= 10.32분; 순도 @220nm: 89.04%; @254nm: 91.96%. 엑스브리지 페닐 3.5 μ m, 4.6x150mm: RT= 11.57분; 순도 @220nm: 90.7%; @254nm: 94.77%.

[0424]

LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μ m), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT = 2.136분, M(+1) = 395.

[0425]

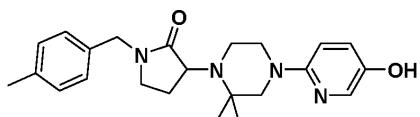
SFC: CO₂ 3.0_Colvent_100.met; 유량:- 총 유량 3, CO₂ 유량 2.1, 공용매 (메탄올 중 0.3% DEA) 0.9; 칼럼:- 키랄팩 AD H (250 x 4.6) mm 5 μ ; RT 4.12; 순도@ 217nm :100%.

[0426]

¹H NMR: (400 MHz, 메탄올-d₄) δ ppm 7.72 (dd, J=3.01, 0.56 Hz, 1 H) 7.12 ~ 7.21 (m, 4 H) 6.75 (dd, J=9.10, 0.56 Hz, 1 H) 4.49 ~ 4.55 (m, 1 H) 4.36 ~ 4.42 (m, 1 H) 4.11 (t, J=9.25 Hz, 1 H) 3.65 ~ 3.71 (m, 1 H) 3.51 (dt, J=3.29, 1.62 Hz, 1 H) 3.42 (dd, J=11.92, 1.63 Hz, 1 H) 3.04 ~ 3.27 (m, 3 H) 2.86 ~ 2.96 (m, 2 H) 2.48 (dt, J=11.40, 3.58 Hz, 1 H) 2.04 ~ 2.15 (m, 3 H) 1.29 (s, 3 H) 1.17 (s, 3H).

[0427]

P2(호모카랄): 3-(4-(5-하드록시피리딘-2-일)-2,2-디메틸피페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)피롤리딘-2-온에 대한 것.



[0428]

[0429] HPLC: 95/5에서 5/95 H₂O/CH₃CN/0.05%TFA, 유량 = 1mL/분, 구배=15분, 선파이어 C18 4.6x150mm: RT= 10.32분; 순도 @220nm: 86.63%; @254nm: 88.45%. 엑스브리지 페닐 3.5 μ m, 4.6x150mm: RT= 11.566분; 순도 @220nm: 89.57%; @254nm: 92.52%.

[0430]

LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μ m), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT = 2.133분, M(+1) = 395.

[0431] SFC: CO_2 3.0_Colvent_100.met; 유량:- 총 유량 3, CO_2 유량 2.1, 공용매 (메탄올 중 0.3% DEA) 0.9; 칼럼:- 키랄팩 AD H (250 x 4.6) mm 5 μ ; RT 6.07; 순도@ 217nm :100%.

[0432] ^1H NMR: (400 MHz, 메탄올-d₄) δ ppm 7.71 (dd, J =3.04, 0.60 Hz, 1 H) 7.11 - 7.21 (m, 5 H) 6.76 (d, J =0.56 Hz, 1 H) 4.53 (s, 1 H) 4.34 - 4.42 (m, 1 H) 4.11 (t, J =9.19 Hz, 1 H) 3.65 - 3.71 (m, 1 H) 3.38 - 3.51 (m, 1 H) 3.18 - 3.25 (m, 2 H) 3.03 - 3.16 (m, 1 H) 2.86 - 2.96 (m, 2 H) 2.47 (dt, J =11.28, 3.55 Hz, 1 H) 2.04 - 2.11 (m, 1 H) 1.27 - 1.33 (m, 3 H) 1.16 (s, 3 H).

[0433] 실시예 22(P1 & P2):

[0434] 실시예 22 (P1) (호모키랄): 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)페롤리딘-2-온



[0435]

[0436] 메탄올 (10 mL) 중 3-(4-(벤질옥시)페리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)-1-(4-클로로-3-플루오로페닐)페롤리딘-2-온 (0.186 g, 0.376 mmol)의 교반 용액에 Pd/C (0.04 g, 0.376 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 진공 밴드를 통해 수소 주머니에 연결하고, 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 주요 목적 생성물 질량, 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여과물을 농축시켜 조 생성물 0.15g을 수득하였다. 조 화합물을 SCP에 의해 정제하여 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)페롤리딘-2-온 (4 mg, 9.39 μ mol, 2.497% 수율)을 연황색 고체로서 수득하였다.

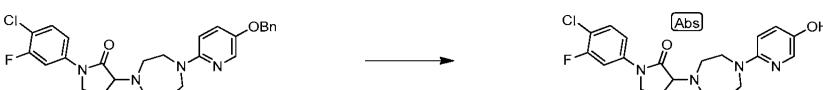
[0437] LCMS: 용매 A: 5% ACN, 95% 물, 10mM NH₄OAC, 용매 B: 95% ACN, 5% 물, 10mM NH₄OAC, 유량: 4 ml/분, 온도: 50°C,

[0438] 칼럼:아센티스 익스프레스 C18 (50x4.6)mm, 2.7 μ m, 시간 (분): 0--- 4, % B :0---100, RT-1.474분, M(+1)-405.

[0439] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 7, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OJ-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 26.6, 총 유량: 4, CO_2 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 99, RT - 2.78분.

[0440] ^1H NMR: 400 MHz, DMSO-d₆: δ 2.12-2.16 (m, 2H), 2.31-2.34 (m, 1H), 2.45-2.49 (m, 1H), 3.19-3.22 (m, 1H), 3.35-3.38 (m, 1H), 3.43-3.45 (m, 2H), 3.53-3.64 (m, 3H), 3.80-3.92 (m, 4H), 4.59 (t, J = 19.60 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 9.20 Hz, 1H), 7.30-7.33 (m, 1H), 7.54-7.57 (m, 1H), 7.64-7.69 (m, 2H), 7.86 (dd, J = 12.00, Hz, 1H).

[0441] 실시예 22 (P2) (호모키랄): 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)페롤리딘-2-온.



[0442]

[0443] 메탄올 (10 mL) 중 3-(4-(벤질옥시)페리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)-1-(4-클로로-3-플루오로페닐)페롤리딘-2-온 (0.186 g, 0.376 mmol)의 교반 용액에 Pd/C (0.04 g, 0.376 mmol)를 실온에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 진공 밴드를 통해 수소 주머니에 연결하고, 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 주요 목적 생성물 질량, 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 여과물을 농축시켜 조 생성물을 수득하였다. 조 화합물을 SCP에 의해 정제하여 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-(4-(5-히드록시피리딘-2-일)-1,4-디아제판-1-일)페롤리딘-2-온 (10 mg, 0.023 mmol, 6.18% 수율)을 연황색 고체로서 수득하였다.

[0444] LCMS: 용매 A: 5% ACN, 95% 물, 10mM NH₄OAC, 용매 B: 95% ACN, 5% 물, 10mM NH₄OAC, 유량: 4 ml/분, 온도: 50°C,

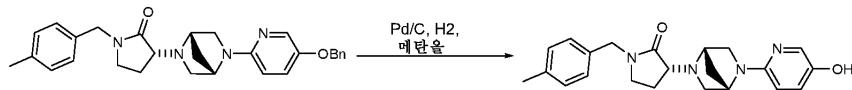
[0445] 칼럼:아센티스 익스프레스 C18 (50x4.6)mm, 2.7 μ m, 시간 (분): 0--- 4, % B :0---100, RT-1.468분, M(+1)-

405.

[0446] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 4, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 키랄셀 OJ-H(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 26.5, 총 유량: 3, CO_2 유량: 1.95, 공용매 유량: 1.05, 공용매 %: 35, 배압: 99, RT - 6.14분.

[0447] ^1H NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 : δ 2.12-2.16 (m, 2H), 2.31-2.34 (m, 1H), 2.45-2.49 (m, 1H), 3.19-3.22 (m, 1H), 3.35-3.38 (m, 1H), 3.43-3.45 (m, 2H), 3.53-3.64 (m, 3H), 3.80-3.92 (m, 4H), 4.59 (t, J = 19.60 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 9.20 Hz, 1H), 7.30-7.33 (m, 1H), 7.54-7.57 (m, 1H), 7.64-7.69 (m, 2H), 7.86 (dd, J = 12.00, Hz, 1H).

[0448] 실시예 23(호모키랄):



[0449]

[0450] MeOH (5 mL) 중 (R)-3-((1S,4S)-5-(5-(벤질옥시)파리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온 (0.18 g, 0.142 mmol)의 용액에 Pd/C (0.15 g, 0.141 mmol)를 첨가하고, 수소 풍선 압력 하에 실온에서 밤새 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고 감압 하에 농축시켜 조 물질을 수득하고, DMF 2 mL 중에 용해시키고, SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm ; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm ; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 10-45% B에 이어서 45% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (R)-3-((1S,4S)-5-(5-히드록시파리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온 (4mg, 9.83 μmol , 6.92% 수율)을 수득하였다.

[0451]

LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH_4OAc , B: 5% 물:95%, 아세토니트릴; 10mM NH_4OAc , 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm , 시간 (분): 0---3, %B: 0---100, RT- 1.171 분, M(+1) - 379.

[0452]

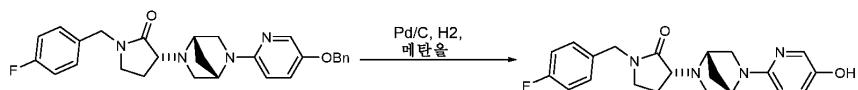
H-NMR: 400 MHz, DMSO- d_6 : δ 1.71-1.81 (m, 3H), 2.07-2.11 (m, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.73 (d, J = 10.00 Hz, 1H), 3.00-3.17 (m, 4H), 3.22 (d, J = 9.60 Hz, 1H), 3.35-3.37 (m, 1H), 3.88 (s, 1H), 4.24 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 4.30 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 4.40 (s, 1H), 6.39 (d, J = 8.80 Hz, 1H), 7.02 (dd, J = 12.00, Hz, 1H), 7.06 (d, J = 7.60 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 8.00 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 2.80 Hz, 1H), 8.73 (s, 1H).

[0453]

키랄 스크리닝: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 웨크-01(R,R) (250 X 4.6)mm 5u, 칼럼 온도: 26.7, 총 유량: 4, CO_2 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 101. RT - 5.7분.

[0454]

실시예 24(호모키랄):



[0455]

[0456] MeOH (5 mL) 중 (R)-3-((1S,4S)-5-(5-(벤질옥시)파리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-일)-1-(4-플루오로벤질)파롤리딘-2-온 (0.18 g, 0.194 mmol)의 용액에 Pd/C (0.15 g, 0.141 mmol)를 첨가하고, 수소 주머니 압력 하에 실온에서 밤새 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고 감압 하에 농축시켜 조 물질을 수득하고, DMF 2mL 중에 용해시키고, SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm ; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm ; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH_4OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 10-35% B에 이어서 35% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (R)-1-(4-플루오로벤질)-3-((1S,4S)-5-(5-히드록시파리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-일)파

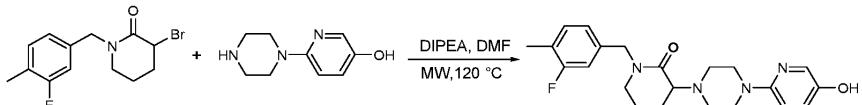
롤리딘-2-온 (11mg, 0.028 mmol, 14.66% 수율)을 수득하였다.

[0457] LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, B: 5% 물: 95%, 아세토니트릴; 10mM NH₄OAC, 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0--3, %B: 0---100, RT -1.07분, M(+1) - 383.

[0458] ^1H NMR: 400 MHz, MeOD: δ 1.91–1.98 (m, 3H), 2.27–2.31 (m, 1H), 2.99 (d, J = 11.60 Hz, 1H), 3.20–3.30 (m, 3H), 3.34–3.43 (m, 2H), 3.50 (d, J = 10.00 Hz, 1H), 4.09 (s, 1H), 4.35 (d, J = 14.80 Hz, 1H), 4.45 (d, J = 15.20 Hz, 1H), 4.50 (s, 1H), 6.51 (d, J = 9.60 Hz, 1H), 7.05–7.09 (m, 2H), 7.15 (dd, J = 12.00, Hz, 1H), 7.27–7.30 (m, 2H), 7.68 (d, J = 2.80 Hz, 1H).

[0459] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 룩스 셀룰로스-2(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 26.8, 총 유량: 4, CO_2 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 101, RT - 3.75분.

[0460] 실시예 25 (P1 & P2):



[0461]

[0462] 전조 DMF (1.5 mL) 중 6-(피페라진-1-일)파리딘-3-올 히드로클로라이드 (70 mg, 0.325 mmol)의 교반 용액에 DIPEA (0.170 mL, 0.974 mmol)를 첨가하고, 3-브로모-1-(3-플루오로-4-메틸벤질)파페리딘-2-온 (97 mg, 0.325 mmol) 혼합물을 MW 하에 120°C에서 90분 동안 가열하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 농축시켜 DMF를 제거하였다. 조 물질을 그대로 이스코에 의해 정제하였다. 조 화합물을 이스코 (50% 에틸 아세테이트 / 석유 에테르로 용리시키는 40 g 실리카겔 칼럼)에 의해 정제하여 25 (라세미 혼합물); 1-(3-플루오로-4-메틸벤질)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파페리딘-2-온 (60 mg, 0.151 mmol, 46.4% 수율)을 갈색 겹으로서 수득하였다. 라세미 혼합물을 키랄 SFC에 적용하여 P1; 1-(3-플루오로-4-메틸벤질)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파페리딘-2-온 (11.1 mg, 0.026 mmol, 8.07% 수율) 및 P2; 1-(3-플루오로-4-메틸벤질)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)피페라진-1-일)파페리딘-2-온 (9.6 mg, 0.023 mmol, 7.13% 수율)을 수득하였다.

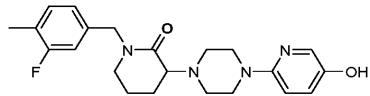
[0463]

[0464] 분석용 SFC 조건: 칼럼/치수: 룩스셀룰로스-2(250 X 4.6)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공 용매: 40%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 4.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 244.

[0465] 정제용 SFC 조건: 칼럼/치수: 룩스셀룰로스-2(250 X 21.5)mm, 5u, % CO₂: 60%, % 공 용매: 45%(메탄올 중 0.25% DEA), 총 유량: 75.0g/분, 배압: 100 bar, 온도: 25°C, UV: 244, 피크 수: 체류시간:: 피크 1: 4.20:: 피크 2: 6.00, 용해도: 메탄올 중 10ml, 로딩농/주입: 6mg/mL, 총 주입 수: 6, 총 정제 시간 0.50시간, 기기 세부 사항: 제조/모델: 타르 SFC-80.

[0466]

P1(호모키랄)에 대한 것:



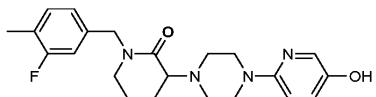
[0467]

[0468] ^1H NMR: (400MHz, DMSO- d_6) δ = 8.98 – 8.92 (m, 1H), 7.75 – 7.71 (m, 1H), 7.28 – 7.21 (m, 1H), 7.08 – 7.04 (m, 1H), 7.01 – 6.95 (m, 2H), 6.73 – 6.67 (m, 1H), 4.52 – 4.40 (m, 3H), 3.29 – 3.17 (m, 6H), 3.16 – 3.08 (m, 1H), 2.98 – 2.90 (m, 2H), 2.70 – 2.62 (m, 2H), 2.23 – 2.19 (m, 3H), 1.91 – 1.75 (m, 4H).

[0469] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μ m), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT - 1.99분, M(+1) -399.

[0470] 키랄 순도: 주입 부피: 7, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 룩스 셀룰로스-2(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 26.4, 총 유량: 4, CO_2 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 100, RT - 4.12분.

[0471] P2(호모키랄)에 대한 것:



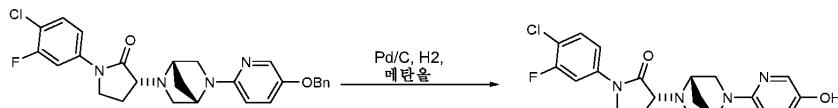
[0472]

[0473] ^1H NMR: (400MHz, DMSO-d₆) δ = 9.05 - 8.90 (m, 1H), 7.73 (d, J=2.5 Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.05 (dd, J=9.0, 3.0 Hz, 1H), 7.00 - 6.95 (m, 2H), 6.70 (d, J=9.0 Hz, 1H), 4.46 (d, J=13.1 Hz, 2H), 3.28 - 3.08 (m, 7H), 2.94 (d, J=5.0 Hz, 2H), 2.66 (d, J=6.0 Hz, 2H), 2.21 (d, J=1.5 Hz, 3H), 1.86 (br. s., 3H), 1.75 - 1.65 (m, 1H).

[0474] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C18 (50X2.1mm-2.7 μm), 이동상 A: 물 중 10mM NH_4COOH :ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH_4COOH :ACN(02:98), 유량 = 1ML/분, 시간: %B:: 0.0: 0.0:: 1.7: 100.0:: 3.0: 100.0:: 3.2: 0.0, RT - 1.99분, M(+1) -399.

[0475] 키랄 순도: 주입 부피: 7, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 룩스 셀룰로스-2(4.6X250)mm, 5u, 칼럼 온도: 26.3, 총 유량: 4, CO_2 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 94, RT - 4.67분.

[0476] 실시예 26(호모키랄):



[0477]

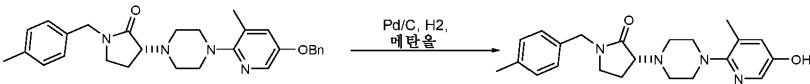
[0478] MeOH (5 mL) 중 3-((1S,4S)-5-(5-(벤질옥시)파리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-일)-1-(4-클로로-3-플루오로페닐)파롤리딘-2-온 (0.18 g, 0.215 mmol)의 용액에 Pd/C (0.11 g, 0.103 mmol)를 첨가하고, 수소 주머니 압력 하에 실온에서 밤새 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고 감압 하에 농축시켜 조 물질을 수득하고, DMF 2 mL 중에 용해시키고, SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μm; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μm; 이동상 A: 5:95 아세토니트릴:0.1%TFA 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:0.1%TFA 포함 물; 구배: 25분에 걸쳐 0-20% B에 이어서 20% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량: 15mL/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 1-(4-클로로-3-플루오로페닐)-3-((1S,4S)-5-(5-히드록시파리딘-2-일)-2,5-디아자비시클로[2.2.1]헵탄-2-일)파롤리딘-2-온 (2mg, 4.96 μmol, 2.305% 수율)을 수득하였다.

[0479] LCMS: A: 95% 물: 5% 아세토니트릴:10mM NH_4OAC , B: 5% 물:95%, 아세토니트릴:10mM NH_4OAC , 유량: 1.1 mL/분, 온도: 50°C, 칼럼: 아센티스 익스프레스 C18 (50x2.1)mm, 2.7 μm, 시간 (분): 0---3, %B: 0---100, RT - 1.302 분, M (+1) - 403.

[0480] ^1H NMR: 400 MHz, MeOD: δ 2.12-2.26 (m, 4H), 2.61 (t, J = 12.00 Hz, 1H), 3.51-3.54 (m, 1H), 3.72 (bs, 3H), 3.80-3.93 (m, 3H), 4.17 (bs, 1H), 6.86 (d, J = 9.20 Hz, 1H), 7.38-7.51 (m, 3H), 7.55 (s, 1H), 7.78-7.81 (m, 1H).

[0481] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 7, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 룩스 셀룰로스-4 (250 X 4.6)mm, 5u, 칼럼 온도: 26, 총 유량: 4, CO_2 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 98, RT - 4.43분.

[0482] 실시예 27(호모키랄):



[0483]

[0484] MeOH (5 mL) 중 (R)-3-(4-(5-(벤질옥시)-3-메틸파리딘-2-일)파페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온 (0.15 g, 0.169 mmol)의 용액에 Pd/C (0.1 g, 0.094 mmol)를 첨가하고, 수소 주머니 압력 하에 실온에서 밤새 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응물을 셀라이트를 통해 여과하고, 감압 하에 농축시켜 조 물질을 수득하였으며, 이를 DMF 2 mL 중에 용해시키고, SCP에 적용하였다. 조 물질을 하기 조건을 갖는 정제용 LC/MS를 통해 정제하였다: 워터스 엑스브리지 C18, 19x150mm, 5 μ m; 가드 칼럼: 워터스 엑스브리지 C18, 19x10mm, 5 μ m; 이동상 A:5:95 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 이동상 B: 95:5 아세토니트릴:10mM NH₄OAc 포함 물; 구배:25분에 걸쳐 10-45% B에 이어서 45% B에서 10분 유지 및 100% B에서 5분 유지; 유량:15ml/분. 목적 생성물을 함유하는 분획을 합하고, 진백 원심 증발기를 사용하여 건조시켜 연황색 고체로서의 (R)-3-(4-(5-히드록시-3-메틸파리딘-2-일)파페라진-1-일)-1-(4-메틸벤질)파롤리딘-2-온 (6mg, 0.015 mmol, 9.15% 수율)을 수득하였다.

[0485] LCMS: 용매 A: 5% ACN, 95% 물, 10mM NH₄OAC, 용매 B: 95% ACN, 5% 물, 10mM NH₄OAC, 유량: 4 mL/분, 온도: 50°C,

[0486] 칼럼:아센티스 익스프레스 C18 (50x4.6)mm, 2.7 μ m, 시간 (분): 0--- 4, % B :0---100, RT - 2.112분, M(+1) -381.

[0487] ¹H NMR: 400 MHz, DMSO-d₆: δ 2.08 (s, 3H), 2.21 (s, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.35-2.41 (m, 2H), 3.26-3.32 (m, 8H), 4.36-4.49 (m, 4H), 6.98-7.11 (m, 1H), 7.16-7.23 (m, 4H), 7.72 (d, J = 2.80 Hz, 1H).

[0488] 키랄 스크리닝: 주입 부피: 5, 공용매: 메탄올 중 0.3% DEA, 칼럼: 룩스 셀룰로스-4 중 (250 X 4.6)mm, 5u, 칼럼 온도: 26.9, 총 유량: 4, CO₂ 유량: 2.4, 공용매 유량: 1.6, 공용매 %: 40, 배압: 100, RT - 4.58분.

[0489] 실시예 28:

[0490] 2: 6-(4-(1-(3-플루오로-4-메틸페닐)-2-옥소파롤리딘-3-일)파페라진-1-일)파리딘-3-일 디히드로겐 포스페이트

[0491]

[0492] -20°C에서 건조 DCM 1.0 mL 중 1-(3-플루오로-4-메틸페닐)-3-(4-(5-히드록시파리딘-2-일)파페라진-1-일)파롤리딘-2-온 (55mg, 0.148 mmol) 및 트리에틸아민 (0.145 mL, 1.039 mmol)의 용액에 POCl₃ (0.069 mL, 0.742 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물에 물 2 mL를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 18시간 동안 교반하였다. 반응의 완결을 LCMS에 의해 모니터링하였다. 반응 혼합물을 농축시켜 조 잔류물 0.1g을 수득하였다. 조 물질을 역상 정제용 HPLC에 의해 정제하였다. 정제가 완결된 후, 분획을 동결건조시켜 6-(4-(1-(3-플루오로-4-메틸페닐)-2-옥소파롤리딘-3-일)파페라진-1-일)파리딘-3-일 디히드로겐 포스페이트 (23.56 mg, 0.051 mmol, 34.5% 수율)를 회백색 고체로서 수득하였다.

[0493] HPLC: 칼럼:키랄 팩 ADH (250 X 4.6mm), 5 마이크로미터, 이동상: 0.2% DEA n-헥산:에탄올:80:20, RT - 26.88 분.

[0494] LCMS: 칼럼-아센티스 익스프레스 C8 (50X2.1mm-2.7 μ m), 이동상 A: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(98:02), 이동상 B: 물 중 10mM NH₄COOH:ACN(02:98), RT - 0.8분, M(+1) - 451.

[0495] ¹H NMR: (400 MHz, DMSO-d₆) d ppm 1.99 - 2.13 (m, 4 H) 2.21 (d, J=1.51 Hz, 2 H) 2.31 - 2.37 (m, 4 H) 2.57 - 2.71 (m, 2 H) 2.88 - 3.01 (m, 2 H) 3.61 - 3.81 (m, 3 H) 6.74 (d, J=8.53 Hz, 1 H) 7.04 - 7.20 (m, 1 H) 7.25 - 7.44 (m, 3 H) 7.63 (dd, J=12.80, 2.26 Hz, 1 H) 7.91 (br. s., 1 H).

[0496] 생물학적 방법

[0497] 방사성 리간드 결합 검정. ³H Ro 25-6981을 사용하여 8-10주령의 수컷 스프라그 돌리(Sprague Dawley) 래트 (하틀란(Harlan), 네델란드)의 전뇌에서 NR2B-하위유형 NMDA 수용체에 대한 결합을 결정하기 위한 결합 실험을 수행하였다 (문헌 [Mutel V; Buchy D; Klingelschmidt A; Messer J; Bleuel Z; Kemp JA; Richards JG .

Journal of Neurochemistry, 1998, 70(5):2147-2155]. 래트를 마취 없이 길로틴(동물 윤리 위원회에 의해 승인된 것)을 사용하여 침수하고, 수확된 뇌를 순간-동결하고, 막 제조를 위해 3-6개월 동안 -80°C에서 저장하였다.

[0498] 막 제조를 위해, 50 mM KH₂PO₄ (KOH를 사용하여 7.4로 pH 조정), 1 mM EDTA, 0.005% 트리톤(Triton) X 100 및 프로테아제 억제제 칵테일(시그마 알드리치(Sigma Aldrich))로 구성되는 균질화 완충제 중에서, 20분 동안 얼음 상에서 래트 전뇌를 해동하였다. 다운스(Dounce) 균질화기를 사용하여 해동된 뇌를 균질화하고, 48000 X g 으로 20분 동안 원심분리하였다. 펠렛을 저온 완충제에 재현탁하고, 다운스 균질화기를 사용하여 다시 균질화하였다. 이어서, 균질물을 분취하여, 순간-동결한 후, -80°C에서 3-4개월 이하 동안 저장하였다.

[0499] 경쟁 결합 검정을 수행하기 위해, 해동된 막 균질물을 96-웰 플레이트의 각 웰에 첨가하였다(20 μg/웰). 실험 화합물을 100 % DMSO 중에 연속 희석하고 검정 플레이트의 각 열에 첨가함으로써, 검정 플레이트의 DMSO 농도를 최종 반응 부피의 1.33 %에서 유지하면서 목적 화합물 농도를 달성하였다. 다음에, ³H Ro 25-6981 (4 nM)을 검정 플레이트에 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 인큐베이션 후, 막 결합 방사성리간드를 GF/B 필터 플레이트(실온에서 1시간 동안 0.5% PEI로 처리된 것) 상으로 수확하였다. 필터 플레이트를 50°C에서 20분 동안 건조하고, 마이크로신트 20과 함께 10분 동안 인큐베이션한 후, 최종적으로 탑카운트(TopCount) (퍼킨 엘머(Perkin Elmer))에서 계수를 판독하였다. MK-0657 (이 화합물의 제조에 대해서는 WO 2004 108705호에 실시예 1로 기재되어 있음) (40 μM)을 사용하여 비-특이적 결합을 결정하였다. CPM 값을 % 억제로 전환시켜, 맞춤 제작된 소프트웨어를 사용하여 농도 반응 곡선을 플로팅하였다. 각 실험을 적어도 2회 반복하여 실험 화합물에 대한 최종 결합 K_i 값을 수득하였다. 이 검정을 사용하여, 실시예 14의 화합물, P-1은 4 nM의 결합 K_i를 나타내었다.

[0500] 생체외 점유율 검정. 본 검정은 실시예 1의 화합물이 투여 후 동물에서 뇌-상주성 NR2B-하위유형 수용체를 점유한다는 것을 입증한다. 7-9주령의 수컷 CD-1 마우스에 10% 디메틸아세트아미드, 40% PEG-400, 30% 히드록시프로필 베타시클로텍스트린 및 30% 물로 구성되는 비히클 중 실험 화합물을 정맥내로 투여하고, 투여 15분 후 침수에 의해 전뇌를 수확하였다. 뇌 샘플을 즉시 순간-동결하여, -80°C에서 저장하였다. 다음날, 투여된 뇌 샘플을 얼음 상에서 15-20분 동안 해동한 후, 이어서 50 mM KH₂PO₄ (KOH를 사용하여 7.4로 pH 조정), 1 mM EDTA, 0.005% 트리톤 X 100 및 프로테아제 억제제 칵테일(시그마 알드리치)로 구성되는 저온 균질화 완충제 중에서 폴리트론(Polytron)을 사용하여 10초 동안 균질화하였다. 다운스 균질화기를 사용하여 조 균질물을 추가적으로 균질화한 후, 모든 동물로부터의 균질화된 막 분취액을 급속-동결하여, 추가 사용시까지 -80°C에서 저장하였다. 모든 균질화 과정은 얼음 상에서 수행하였다.

[0501] 점유율을 결정하기 위해, 먼저 막 균질물을 얼음 상에서 해동한 다음, 25 게이지 니들을 사용하여 니들-균질화하였다. 균질화된 막 (6.4 mg/ml)을 96-웰 플레이트에 첨가한 후, 이어서 ³H Ro 25-6981 (6 nM)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 4°C의 진탕기에서 5분 동안 인큐베이션한 다음, GF/B 필터 플레이트(실온에서 1시간 동안 0.5% PEI로 처리된 것) 상으로 수확하였다. 필터 플레이트를 50°C에서 20분 동안 건조하고, 마이크로신트 20과 함께 10분 동안 인큐베이션한 후, 탑카운트(퍼킨 엘머)에서 판독하였다. 각 용량 또는 화합물 군은 4-5마리의 동물로 구성되었다. 대조 동물 군에는 비히클 단독을 투여하였다. 각 동물로부터의 막을 삼중으로 검정 플레이트에 첨가하였다. 비히클-투여 동물로부터의 막 균질물을 함유하는 웰에 첨가된 10 μM Ro 25-6981을 사용하여 비-특이적 결합을 결정하였다. 특이적 계수/분은 하기의 방정식을 사용하여 각 동물에 대하여 각 화합물 용량에서 % 점유율로 전환시켰다:

$$\% \text{ 점유율 (동물 A)} = 100 - \left(\frac{\text{동물 A의 특이적 CPM}}{\text{대조군의 평균 CPM}} \times 100 \right)$$

[0502]

[0503] 이 절차를 사용하여, 실시예 14의 화합물, P1은 3 mg/Kg의 i.v. 투여 후 86 %의 NR2B 수용체 점유율을 나타내었다. 약물 수준은 통상적인 방식으로 질량 분광분석법에 의해 결정하였다. 이 용량에서 혈장에서의 약물 수준은 1018 nM이었으며, 균질화된 뇌 조직에서의 약물 수준은 1342 nM이었다.

[0504] hERG 전기생리학 검정. 패치 클램프 기술을 사용하여 hERG 채널을 안정적으로 발현하는 HEK 293 세포에서 hERG 활성에 대하여 실험 화합물들을 평가하였다. hERG 발현 세포가 플레이팅된 커버슬립(coverslip)을 실험 챔버에 위치시키고, 실온에서 하기로 구성되는 (mM로 나타냄) 용액을 관류하였다: 140 NaCl, 4 KCl, 1.8 CaCl₂, 1

$MgCl_2$, 10 글루코스, 10 HEPES (pH 7.4, NaOH). 보로실리케이트 패치 피펫은 하기를 함유하는 내부 용액으로 충전되었을 때, 2-4 Mohm의 텁 저항을 가졌다: 130 KCl, 1 $MgCl_2$, 1 $CaCl_2$, 10 EGTA, 10 HEPES, 5 ATP-K₂ (pH 7.2, KOH). 피클램프(pClamp) (액손 인스트루먼츠(Axon instruments)) 소프트웨어에 의해 제어되는 액소패치 (Axopatch) 200B (액손 인스트루먼츠, 캘리포니아주 유니온 시티) 패치 클램프 증폭기를 사용하여 전세포 구성에서 -80 mV로 세포를 클램핑하였다. 기가실(gigaseal)의 형성 시, 하기의 전압 프로토콜을 반복적으로 (0.05 Hz) 적용하고 테일 전류를 기록하였다: 2초 동안의 -80 mV에서 +20 mV로의 탈분극 단계 후, 테일 전류를 유도하기 위한 -65 mV로의 과분극 단계 (3초), 및 이후의 유지 전위로의 복귀. 테일 전류의 안정화 후, 화합물을 적용하였다. 먼저, 세포의 용액 단독 (대조군)의 존재 하에, 및 이어서 증가하는 농도의 화합물을 함유하는 세포의 용액에서, 테일 전류를 기록하였다. 각 농도의 화합물을 2-5분 동안 적용하였다. 대조군 용액의 존재 하에 기록된 피크 테일 전류에 대비한 피크 테일 전류의 감소로서, 각 농도에서의 백분율 억제를 계산하였다. 데이터 분석은 맞춤 제작된 소프트웨어에서 수행하였다. 서로 다른 농도에서의 퍼센트 억제를 플로팅함으로써 농도 반응 곡선을 수득하고, 이어서 그것을 4 파라미터 방정식과 피팅하여 hERG IC₅₀ 값을 계산하였다. 이 절차를 사용하여, 실시예 14의 화합물, P-1은 IC₅₀ = 8.9 μM 인 불량한 hERG 채널 억제제였다.

[0505]

마우스 강제 수영 시험 (mFST). 강제 수영 시험 (FST)은 전임상 연구에서 항우울제 화합물을 평가하는 데에 사용되는 동물 모델이다. 변형된 포르솔트(Porsolt) 등의 방법 (문헌 [Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. Arch Int Pharmacodyn Ther 1977; 229:327-36])과 유사하게 FST를 수행하였다. 이 패러다임에서, 마우스는 물로 채워진 탈출불가능한 실린더 내에서 수영하도록 강제된다. 이를 조건 하에서, 마우스는 처음에는 탈출하기 위한 노력을 하게 되며, 궁극적으로는 부동 행동을 나타내게 되는데; 이와 같은 행동은 수동적인 스트레스-대응 전략 또는 우울증-유사 행동으로 해석된다. 수영 탱크는 플라스틱으로 제작된 박스 내부에 위치시켰다. 각 탱크는 실린더 높이까지의 불투명한 플라스틱 시트에 의해 서로 분리하였다. 한번에 3마리의 마우스를 시험에 적용하였다. 물 (20-cm 깊이, 24-25°C로 유지)이 담긴 개별 유리 실린더 (46 cm 높이 X 20 cm 직경) 내에 마우스를 위치시키는 것에 의해, 6분 동안 수영 기간을 수행하였다. 이 물 높이에서는, 마우스 꼬리가 용기의 바닥에 닿지 않는다. 물속에서 허우적거리지 않고 마우스가 수동적으로 떠서 유지되거나 그의 코/머리를 물 위로 유지하거나 떠서 유지하는데에 필요한 동작만을 수행하는 경우, 마우스가 부동인 것으로 판단하였다. 총 6분의 시험 동안 부동 기간을 평가하고, 부동 기간 (초)으로 나타내었다. 각 마우스는 단지 1회만 시험하였다. 각 기간 종료 시에는, 마우스를 마른 천으로 말린 후, 저체온을 방지하기 위한 열 블랭킷 상에 위치한 그의 원래의 케이지로 돌려보냈다. 물은 각 시험 후 교체하였다. 모든 시험 기간을 비디오 카메라 (소니 핸디캠(Sony Handicam), 모델: DCR-HC38E; PAL)로 기록하고, 포스드 스윔 스캔(Forced Swim Scan) 버전 2.0 소프트웨어 (미국 버지니아 레스턴 소재 클레버 시스템즈 인크(Clever Systems Inc.); 문헌 [Hayashi E, Shimamura M, Kuratani K, Kinoshita M, Hara H. Automated experimental system capturing three behavioral components during murine forced swim test. Life Sci. 2011 Feb 28;88(9-10):411-7] 및 [Yuan P, Tragon T, Xia M, Leclair CA, Skoumbourdis AP, Zheng W, Thomas CJ, Huang R, Austin CP, Chen G, Guitart X. Phosphodiesterase 4 inhibitors enhance sexual pleasure-seeking activity in rodents. Pharmacol Biochem Behav. 2011; 98(3):349-55] 참조)을 사용하여 점수화를 수행하였다. NCE 시험을 위하여: 수영 기간 15분 전에 i.v. 경로에 의해 마우스에 시험 화합물을 투여하고, 다음 6분 동안 부동 시간을 기록하였다. FST 종료 시, 빠른 참수 방법에 의해 마우스를 안락사시키고, 혈장 및 뇌 샘플을 수집한 후, 추가 분석시까지 -80°C에서 저장하였다. 마우스 강제 수영 검정에서, 실시예 1의 화합물은 pH 4의 30% 히드록시프로필 베타시클로덱스트린 / 70% 시트레이트 완충제인 비히클 중에서 5 mL/Kg의 투여 부피로 정맥내 투여되었다. 실시예 14의 화합물, P-1은 이러한 조건 하의 3 mg/Kg에서 통계적으로 유의한 부동 시간의 감소를 나타내었다. 약물 수준은 이 용량에서 혈장에서 314 nM 및 뇌에서 410 nM였다. NR2B 수용체 점유율은 상기에서 기록된 바와 같이 결정되었는데, 67%인 것으로 결정되었다.

[0506]

본 개시내용이 상기 예시적인 실시예에 제한되지 않고, 그의 본질적인 속성으로부터 벗어나지 않으면서 다른 구체적 형태로도 구현될 수 있다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 따라서, 실시예는 모든 측면에서 제한하는 것이 아니라 예시적인 것으로 고려되며, 상기 실시예보다는 첨부된 청구범위를 참조하고, 이에 따라 청구범위의 등가의 의미 및 범위 내에 있는 모든 변화가 그 안에 포함되도록 의도되는 것이 바람직하다.