(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년01월25일
(11) 등록번호 10-2629440
(24) 등록일자 2024년01월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) *A23L 33/10* (2022.01)
A61K 31/53 (2006.01) *A61P 25/24* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 487/04 (2022.08)
A23L 33/10 (2022.01)
(21) 출원번호 10-2021-0094089
(22) 출원일자 2021년07월19일
심사청구일자 2021년07월19일
(65) 공개번호 10-2023-0013707
(43) 공개일자 2023년01월27일
(56) 선행기술조사문헌
서울대학교 석사학위 논문 (2015.02.)*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
(72) 발명자
김병문
서울특별시 관악구 낙성대로 37 201동 1202호 (봉천동, 낙성대현대아파트)
임태현
대전광역시 유성구 엑스포로 448 208동 1704호 (전민동, 엑스포아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

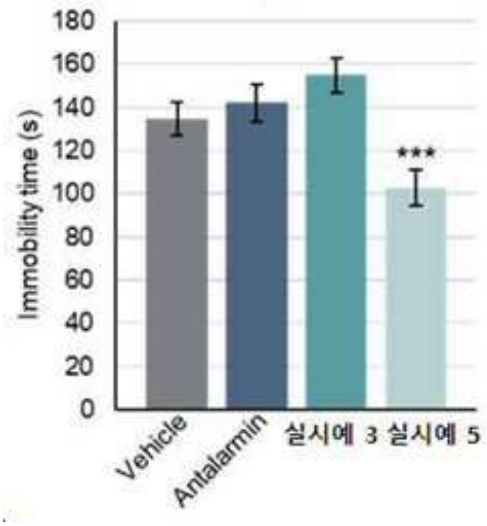
전체 청구항 수 : 총 10 항 심사관 : 정현아

(54) 발명의 명칭 **디메틸피라졸로트리아진 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 디메틸피라졸로트리아진 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물은 현저하게 우수한 대사 안정성을 가지고 있다. 또한, CRHR1에 대해서 우수한 길항 효과를 나타내면서, 항우울 효과를 확인하기 위한 동물 행동실험에서도 우수한 효과를 나타내었는바, CRHR1 관련 질환에 유용할 것으로 기대된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/53 (2013.01)
A61P 25/24 (2018.01)
A23V 2002/00 (2023.08)
A23V 2200/322 (2013.01)
A23V 2250/30 (2013.01)

(72) 발명자
조현수
서울특별시 양천구 목동중앙로 11 대원칸타빌 202동 1105호
정은지
서울특별시 양천구 목동동로 393, 부영그린타운1차 아파트 1804호
김호영
서울특별시 서대문구 연희로8길 5-8, 지하 105호 (연희동)
하고은
서울특별시 강서구 강서로 18바길 22-16 201호
장념평
서울시 서대문구 연희로 6길 21-20 지층 좌

(56) 선행기술조사문헌
WO2013160317 A
J. Org. Chem., 80(9), 4716-4721.
J. Label Compd. Radiopharm, 2009, 52, 394-400.
J. Med. Chem, 2005, 48, 5780-5793.
J. Med. Chem, 2009, 52, 3084-3092.
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711127124
과제번호	2017M3A9F6029755
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오.의료기술개발(R&D)
연구과제명	감염 및 면역질환 표적 막단백질 구조 및 신약개발 연구
기 여 율	1/1
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2017.04.01 ~ 2022.03.31

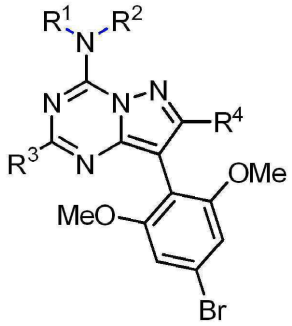
명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R^1은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-10}알킬이고, R^2는 3 내지 8원의 사이클로알킬로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-10}알킬이며,

R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-4}알킬이다.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 R^1은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-8}알킬이고, 상기 R^2는 3 내지 6원의 사이클로알킬로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-8}알킬이며,

R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-2}알킬인,

화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 R^1은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-6}알킬이고, 상기 R^2는 3 내지 6원의 사이클로알킬로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-6}알킬이며,

R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-2}알킬인,

화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 R^1은 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-4}알킬이고, 상기 R^2는 사이클로프로필로 치환된 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-4}알킬이

며,

R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 메틸인,

화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 하기 화합물인 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

<5> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-부틸-*N*-(사이클로프로필메틸)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민.

청구항 6

삭제

청구항 7

하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이,

화학식 2로 표시되는 화합물과 다이알킬아민(NHR^1R^2)을 반응시켜 화학식 3으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

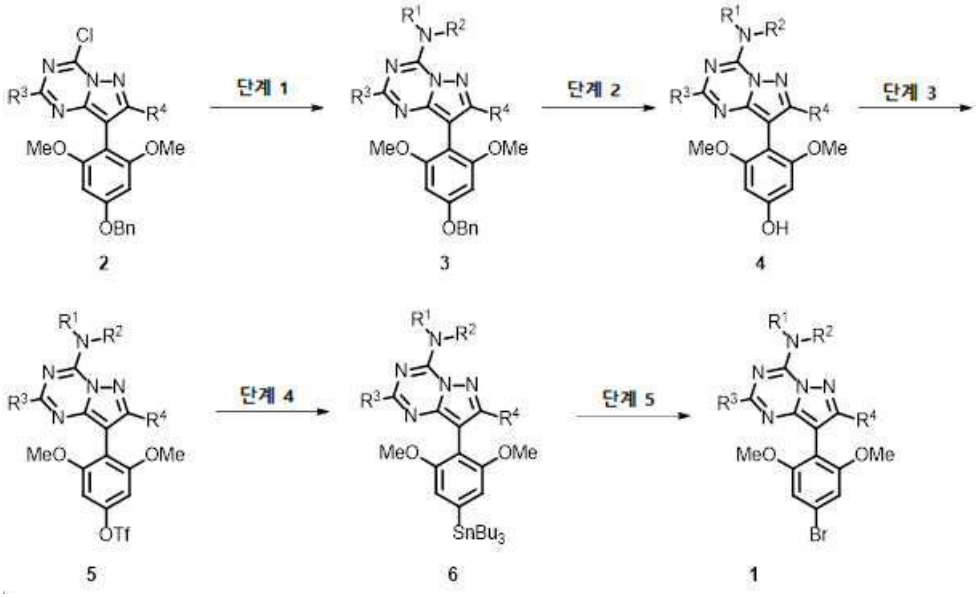
화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

화학식 4로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 4); 및

화학식 6으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 5)를 포함하는 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법:

[반응식 1]



상기 반응식 1에서,

R^1, R^2, R^3 및 R^4는 제1항의 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

청구항 8

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는,

우울증, 불안, 알콜 또는 물질 남용, 비만증, 고혈압, 대사 증후군, 과민성 대장 증후군, 간질, 뇌졸증, 수면 장애, 알레르기, 편두통, 월경전 증후군, 성기능 장애, 선천성 부신증식증, 쿠싱 질환, 조기 진통, 스트레스-유도된 위궤양, 염증성 장애, 하수체 또는 이소성 하수체-유도 종양, 만성 피로 증후군, 근섬유통, 장기 통증 또는 다발 경화증 중 어느 한 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 화합물은 CRHR1의 길항제인 것을 특징으로 하는,

약학적 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

제1항의 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는,

우울증, 불안, 알콜 또는 물질 남용, 비만증, 고혈압, 대사 증후군, 과민성 대장 증후군, 간질, 뇌졸증, 수면 장애, 알레르기, 편두통, 월경전 증후군, 성기능 장애, 선천성 부신증식증, 쿠싱 질환, 조기 진통, 스트레스-유도된 위궤양, 염증성 장애, 하수체 또는 이소성 하수체-유도 종양, 만성 피로 증후군, 근섬유통, 장기 통증 또는 다발 경화증 중 어느 한 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 화합물은 CRHR1의 길항제인 것을 특징으로 하는,

건강기능식품.

청구항 13

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 디메틸피라졸로트리아진 유도체, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 포함하는 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 코르티코트로핀 방출 인자 (corticotropin-releasing factor, 이하 CRF)는 부신피질자극호르몬 방출 호르몬으로 잘 알려져 있으며, 코르티코트로핀 방출 호르몬(corticotrophin releasing hormone) 또는 코르티콜리베린(corticoliberin)이라 명하는 방출 호르몬으로 스트레스 반응에 관여하는 펩티드 호르몬 축(HPA 축)의 일부이며, 뇌하수체를 자극하여 ACTH 합성을 유도한다.

[0003] 뇌하수체에서의 그의 내분비 역할 이외에, CRF의 면역조직 화학적 국소화는, 호르몬이 중추 신경계에서 폭넓은 시상하부 분포를 갖고, 뇌에서의 신경전달자 또는 신경조절제 역할과 동일한 광범위한 범위의 자율적, 전기생리학적 행동 효과를 제공함을 입증한다. 또한, CRF가 생리학적, 심리학적 및 면역학적 스트레스원에 대한 면역계에서 반응을 통합하는데 중요한 역할을 한다는 증거가 있다.

[0004] CRF는 우울증 및 불안을 포함한 정신의학적 장애 및 신경계 질환(비특허문헌 1, D. M. Nielsen, Life Sci.78:909-919) 뿐만 아니라 알츠하이머 질환, 헌팅톤 질환, 진행성 핵상 마비, 근위축성 측삭 경화증, 파킨슨 질환, 간질, 편두통, 알콜 및 물질 남용 및 관련 금단 증상 (비특허문헌 2, D. H. Overstreet et al., Pharmacol. Biochem. Behav. 77:405-413), 비만증, 대사 증후군, 선천성 부신증식증, 쿠싱 질환, 고혈압, 뇌졸증, 과민성 대장 증후군, 스트레스-유도 위궤양, 월경전 증후군, 성기능 장애, 조기 진통, 염증성 장애, 알레르기(비특허문헌 3, L. K. Singh et. al., Brain Behav. Immun. 13:225-239 (1999)), 다발 경화증, 장기 통증, 수면 장애, 하수체 종양 또는 이소성 하수체-유도 종양, 만성 피로 증후군 및 근섬유통과 관련이 있다고 알려져 있다.

[0005] CRF 수용체 아형인 CRHR1 및 CRHR2는 확인된 바 있고, 뇌에 불균질하게 분포하며, 이는 잠재적인 기능 다양성을 암시한다. 예를 들면, 광범위하게 분포된 뇌 CRF1 수용체들은 환경 스트레스원에의 노출에 수반되는 정서성과 강하게 관련이 있다. 중요하게는, CRHR2가 아닌 CRHR1 수용체는 불안증 유사 행동의 선택을 매개하는 것으로 보인다. 보다 이산된 중격/시상하부 분포, 및 다른 내재성 리간드의 이용성은 CRHR2 수용체의 상이한 기능적 역할을 암시한다. 예를 들면, CRHR1 수용체에 비해 CRHR2에 대해 선택적 친화성을 갖는 새로운 CRF-류 신경펩티드는, 선택적인 CRHR1 경쟁성(agonism)과 함께 관찰되는 행동 활성화 프로파일 생성 없이 식욕을 억제하는 것으로 보고되어 있다. 다른 경우, CRHR2 경쟁성은, CRHR1 길항제 또는 CRHR1 유전자 결실에 대해 보고된 것과 유사 효과를 제공한다. 예를 들면, CRHR2 작용제는 식욕 억제제로서 제안되는 반면, CRHR1 길항제는 또한 비만증을 위한 중요한 치료약일 수 있다.

[0006] 여러 CRHR1 길항제 중 결합력이 높은 화합물인 BMK-I-152 (8-(4-bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-*N,N-bis*(2-methoxyethyl)-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine)의 경우, 막단백질 수용체와 높은 결합 친화성을 가졌으나 화합물의 구조상 체내 물질 대사가 일어나는 치명적인 단점이 있다(비특허문헌 4, Elaine M. Jagoda, *et al.*, SYNAPSE 65:910-918 (2011)). 그 결과 경구흡수율이 좋지 않고, 임상실험까지 기대하기가 힘들다. 이러한 문제를 극복할 수 있는 새로운 물질 개발이 필요하다.

[0007] 본 발명자들은 CRHR1의 새로운 길항제를 개발하기 위해 CRHR1 단백질-길항제 결합체의 3차원 분자구조를 규명하였고, 단백질 구조를 기반으로 새로운 길항제를 설계 및 합성하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 일 목적은 신규한 디메틸피라졸로트리아진 유도체를 제공하는 데 있다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 신규한 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물를 제공하는 데 있다.

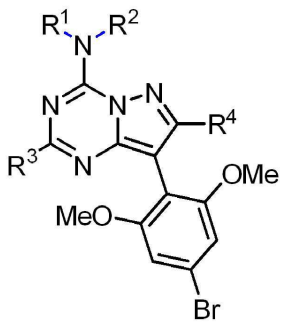
[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 신규한 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 목적을 달성하기 위하여,

[0012] 본 발명은 본 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0013] [화학식 1]

[0014] 

[0015] 상기 화학식 1에서,

[0016] R^1및 R^2는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-10}알킬이고, 상기 알킬은 C_{2-4}알콕시, 할로젠, 3 내지 8원의 사이클로알킬, 6 내지 10원의 아릴 또는 N, O 및 S 중 어느 하나 이상으로 치환된 5 내지 6원의 헤테로아릴로 치환될 수 있고,

[0017] R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-4}알킬이다.

[0018] 다른 측면에서, 본 명세서에 기재된 반응식 1에 나타낸 바와 같이,

[0019] 화학식 2로 표시되는 화합물과 다이알킬아민(NHR^1R^2)을 반응시켜 화학식 3으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

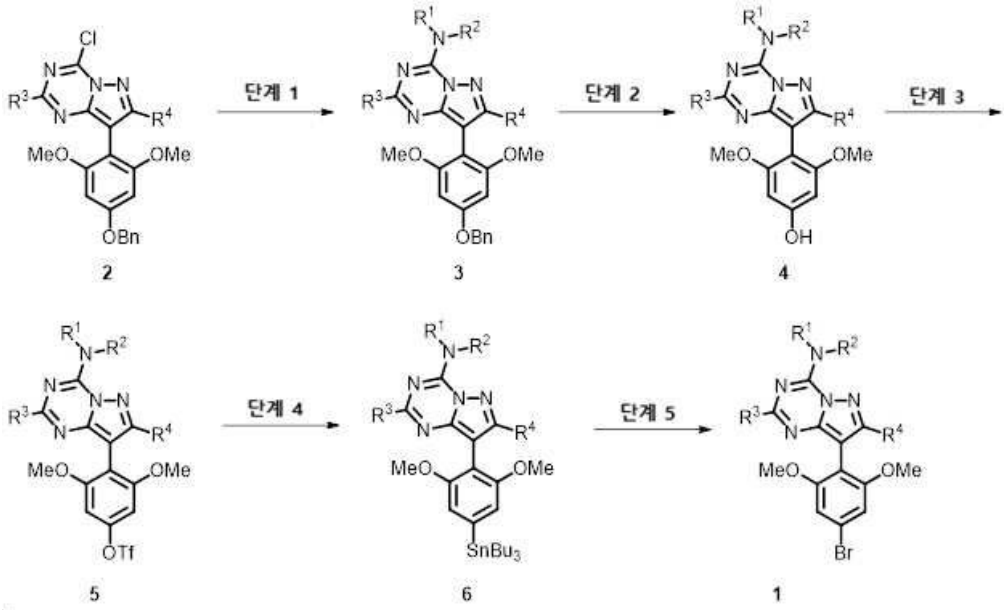
[0020] 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0021] 화학식 4로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0022] 화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 4); 및

[0023] 화학식 6으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 5)를 포함하는 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0024] [반응식 1]



[0025]

[0026] 상기 반응식 1에서,

[0027] R^1, R^2, R^3 및 R^4는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

[0028] 다른 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0029] 다른 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

[0030] 다른 측면에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물 또는 건강기능식품을 필요한 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료 방법이 제공된다.

[0031] 또 다른 측면에서, CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료에 있어서의, 본 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물 또는 건강기능식품의 용도를 제공한다.

발명의 효과

[0032] 본 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물은 현저하게 우수한 대사 안정성을 가지고 있다. 또한, CRHR1에 대해서 우수한 길항 효과를 나타내면서, 항우울 효과를 확인하기 위한 동물 행동실험에서도 우수한 효과를 나타내었는바, CRHR1 관련 질환에 유용할 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0033] 도 1은 꼬리 서스펜션 실험(Tail suspension test)에서 쥐의 몸통이 움직이지 않은 시간을 측정한 결과를 나타낸 것이다.

도 2는 혈청 코르티솔(Cortisol) 및 부신피질자극호르몬 (ACTH;Adrenocorticotropic hormone)의 농도를 측정한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

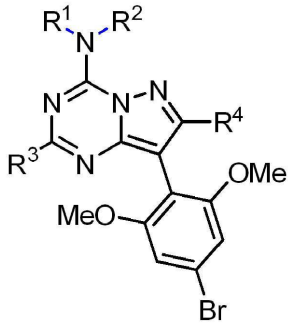
[0035] 한편, 본 발명의 실시 형태는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 이하 설명하는 실시 형태로 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명의 실시 형태는 당해 기술분야에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 더욱 완전하게 설명하기 위해서 제공되는 것이다.

[0036] 나아가, 명세서 전체에서 어떤 구성요소를 "포함"한다는 것은 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있다는 것을 의미한다.

[0037] 본 발명의 일 측면은,

[0038] 하기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0039] [화학식 1]

[0040] 

[0041] 상기 화학식 1에서,

[0042] R^1 및 R^2는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-10}알킬이고, 상기 알킬은 C_{2-4}알콕시, 할로겐, 3 내지 8원의 사이클로알킬, 6 내지 10원의 아릴 또는 N, O 및 S 중 어느 하나 이상으로 치환된 5 내지 6원의 헤테로아릴로 치환될 수 있고,

[0043] R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-4}알킬이다.

[0044] 상기 화학식 1에서,

[0045] 상기 R^1 및 R^2는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-8}알킬이고, 상기 알킬은 할로겐, 3 내지 6원의 사이클로알킬, 페닐 또는 피리딜로 치환될 수 있고,

[0046] R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-2}알킬이다.

[0047] 상기 화학식 1에서,

[0048] 상기 R^1 및 R^2는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-6}알킬이고, 상기 알킬은 할로겐, 3 내지 6원의 사이클로알킬, 페닐 또는 피리딜로 치환될 수 있고,

[0049] R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-2}알킬이다.

[0050] 상기 화학식 1에서,

[0051] 상기 R^1 및 R^2는 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_{1-4}알킬이고, 상기 알킬은 플루오로 또는 사이클로프로필로 치환될 수 있고,

[0052] R^3 및 R^4는 각각 독립적으로 메틸이다.

[0054] 본 발명의 다른 일 측면에서,

[0055] 상기 화학식 1에서 하기 화합물 군으로부터 선택되는 어느 하나인 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[0056] <1> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-(2-메톡시에틸)-2,7-디메틸-*N*-(피리딘-2-일메틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민;

[0057] <2> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N,N*-디부틸-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민;

[0058] <3> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-2,7-디메틸-*N,N*-비스(4,4,4-트리플루오로부틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민;

[0059] <4> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-2,7-디메틸-*N,N*-비스(3,3,3-트리플루오로프로필)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민;

[0060] <5> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-부틸-*N*-(사이클로프로필메틸)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민;

[0061] <6> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N,N*-비스(2-에톡시에틸)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민;

[0062] <7> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-부틸-2,7-디메틸-*N*-(4,4,4-트리플루오로부틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민;

[0063] <8> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-2,7-디메틸-*N*-(4,4,4-트리플루오로부틸)-*N*-(3,3,3-트리플루오로프로필)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민;

[0064] <9> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-(사이클로프로필메틸)-2,7-디메틸-*N*-(4,4,4-트리플루오로부틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민; 및

[0065] <10> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-2,7-디메틸-*N*-프로필-*N*-(4,4,4-트리플루오로부틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민.

[0067] 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 산 부가염은 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요드화수소산, 아질산, 아인산 등과 같은 무기산류, 지방족 모노 및 디카르복실레이트, 페닐-치환된 알카노에이트, 하이드록시 알카노에이트 및 알칸디오에이트, 방향족 산류, 지방족 및 방향족 설폰산류 등과 같은 무독성 유기산, 트리플루오로아세트산, 아세테이트, 안식향산, 구연산, 젖산, 말레인산, 글루콘산, 메탄설폰산, 4-톨루엔설폰산, 주석산, 푸마르산 등과 같은 유기산으로부터 얻는다. 이러한 약학적으로 무독한 염의 종류로는 설페이트, 피로설페이트, 바이설페이트, 설파이트, 바이설파이트, 니트레이트, 포스페이트, 모노하이드로겐 포스페이트, 디하이드로겐 포스페이트, 메타포스페이트, 피로포스페이트 클로라이드, 브로마이드, 아이오다이드, 플루오라이드, 아세테이트, 프로피오네이트, 데카노에이트, 카프릴레이트,

아크릴레이트, 포메이트, 이소부티레이트, 카프레이트, 헵타노에이트, 프로피올레이트, 옥살레이트, 말로네이트, 석시네이트, 수베레이트, 세바케이트, 푸마레이트, 말리에이트, 부틴-1,4-디오에이트, 헥산-1,6-디오에이트, 벤조에이트, 클로로벤조에이트, 메틸벤조에이트, 디니트로 벤조에이트, 하이드록시벤조에이트, 메톡시벤조에이트, 프탈레이트, 테레프탈레이트, 벤젠설포네이트, 톨루엔설포네이트, 클로로벤젠설포네이트, 크실렌설포네이트, 페닐아세테이트, 페닐프로피오네이트, 페닐부티레이트, 시트레이트, 락테이트, β-하이드록시부티레이트, 글리콜레이트, 말레이트, 타트레이트, 메탄설포네이트, 프로판설포네이트, 나프탈렌-1-설포네이트, 나프탈렌-2-설포네이트, 만델레이트 등을 포함한다.

[0068] 본 발명에 따른 산 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 유도체를 메탄올, 에탄올, 아세톤, 메틸렌클로라이드, 아세토니트릴 등과 같은 유기용매에 녹이고 유기산 또는 무기산을 가하여 생성된 침전물을 여과, 건조시켜 제조하거나, 용매와 과량의 산을 감압 증류한 후 건조시켜 유기용매 하에서 결정화시켜서 제조할 수 있다.

[0069] 용어 "수화물(hydrate)"은 비공유적 분자간력(non-covalent intermolecular force)에 의해 결합된 화학양론적(stoichiometric) 또는 비화학양론적(non-stoichiometric) 량의 물을 포함하고 있는 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다. 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물의 수화물은 비공유적 분자간 힘으로 결합되는 화학양론적 또는 비화학양론적 양의 물을 포함할 수 있다. 상기 수화물은 1당량 이상, 바람직하게는, 1 당량 내지 5당량의 물을 함유할 수 있다. 이러한 수화물은 물 또는 물을 함유하는 용매로부터 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염을 결정화시켜 제조될 수 있다.

[0070] 용어 "용매화물(solvate)"은 비공유적 분자간력에 의해 결합된 화학양론적 또는 비화학양론적 양의 용매를 포함하고 있는 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다. 그에 관한 바람직한 용매들로는 휘발성, 비독성, 및/또는 인간에게 투여되기에 적합한 용매들이 있다.

[0071] 용어 "이성질체(isomer)"는 동일한 화학식 또는 분자식을 가지지만 구조적 또는 입체적으로 다른 본 발명의 화합물 또는 그것의 염을 의미한다. 이러한 이성질체에는 호변이성질체(tautomer) 등의 구조 이성질체와, 비대칭 탄소 중심을 가지는 R 또는 S 이성체, 기하이성질체(트랜스, 시스) 등의 입체 이성질체, 광학 이성질체(enantiomer)가 모두 포함된다. 이들 모든 이성체 및 그것의 혼합물들 역시 본 발명의 범위에 포함된다.

[0073] 본 발명의 다른 일 측면에서,

[0074] 하기 반응식 1에 나타낸 바와 같이,

[0075] 화학식 2로 표시되는 화합물과 다이알킬아민(NHR^1R^2)을 반응시켜 화학식 3으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 1);

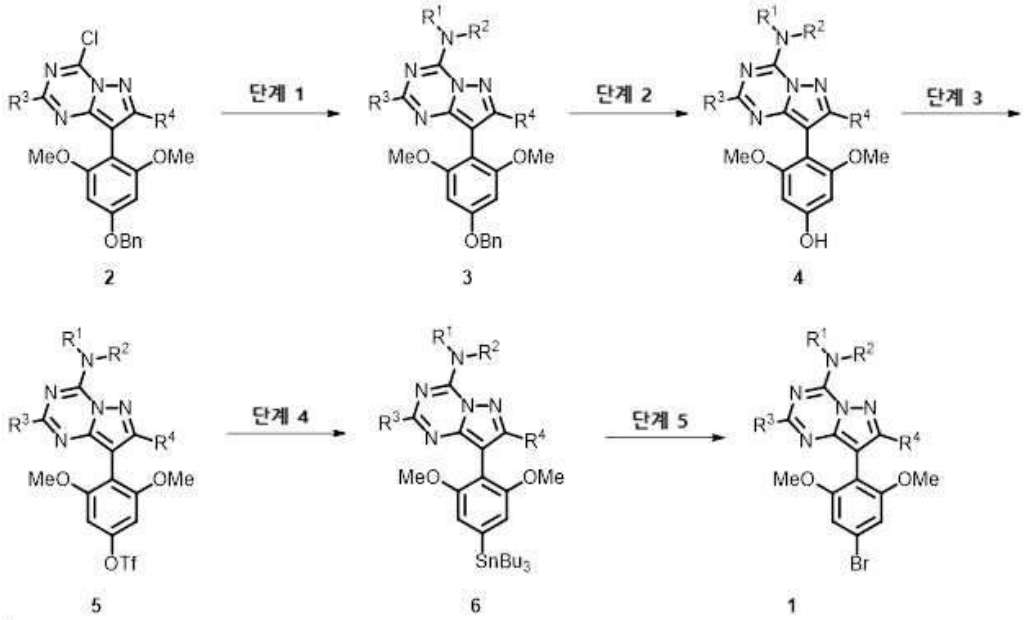
[0076] 화학식 3으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 2);

[0077] 화학식 4로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 3);

[0078] 화학식 5로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 4); 및

[0079] 화학식 6으로 표시되는 화합물을 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계(단계 5)를 포함하는 화학식 1로 표시되는 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0080] [반응식 1]



[0081]

[0082] 상기 반응식 1에서,

[0083] R^1, R^2, R^3 및 R^4는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

[0084] 이하, 상기 반응식 1의 제조방법을 상세히 설명한다.

[0085] 상기 반응식 1의 제조방법에서, 단계 1은 화학식 2로 표시되는 화합물을 아민으로 치환반응시키는 단계로서, 화학식 2로 표시되는 화합물과 다이알킬아민(NHR^1R^2)을 반응시켜 화학식 3으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 이때 용매로는 유기용매, 예를 들면, THF 등이 사용될 수 있으며, 필요에 따라서 트리에틸아민(TEA)와 같은 삼차아민이나 피리딘 등의 방향족 아민이 함께 사용될 수 있는데, 아민화 반응을 위해 통상적으로 사용되는 조건을 사용하여 수행할 수 있다.

[0086] 상기 단계 2는 벤질 보호기를 제거하는 단계로서, 예를 들면 Pd/C 촉매와 수소 기체 하에서 화학식 3으로 표시되는 화합물의 벤질기를 제거하여, 화학식 4로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 이때 용매로는 유기용매, 예를 들면 메탄올과 같은 저급 알코올이 사용될 수 있으며, 보호 그룹(protecting group)으로서의 벤질기를 제거하기 위해 통상적으로 사용되는 조건을 사용하여 수행할 수 있다.

[0087] 상기 단계 3은 화학식 4로 표시되는 화합물에 벤질 보호기가 제거된 위치에 다시 트리플루오로메탄설포닐의 보호기를 도입하여 트리플레이트(-OTf) 이탈기를 형성하는 단계로서, 화학식 4로 표시되는 화합물에 트리플루오로메탄설폰산의 활성화된 유도체, 예를 들면 무수물(anhydride), 할로겐화물 등을 반응시키되, 필요에 따라서 피리딘이나 3차 아민등의 존재하에 반응시켜, 화학식 5로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 이때 용매로는 유기용매, 예를 들면 디클로로메탄(DCM)이 사용될 수 있으며, 트리플레이트 이탈기를 형성하기 위해 통상적으로 사용되는 조건을 사용하여 수행할 수 있다.

[0088] 상기 단계 4는 트리플레이트 이탈기를 트리부틸스태닐기로 치환하는 단계로서, 필요한 경우 $Pd(PPh_3)_4$ 촉매 하에서 화학식 5로 표시되는 화합물과 헥사부틸디틴(hexabutylditin)을 반응시켜, 화학식 6으로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 이때 용매로는 유기용매, 예를 들면, 디옥세인이 사용될 수 있다.

[0089] 상기 단계 5는 브로모기를 도입하는 단계로서, 화학식 6으로 표시되는 화합물에 브로모기를 함유하는 유기화합물인 NBS를 반응시켜 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조하는 단계이다. 이때 용매로는 유기용매, 예를 들면, THF가 사용될 수 있으며, 브롬화 반응을 위하여 통상적으로 사용되는 조건을 사용하여 수행할 수 있다.

[0090] 상기 제조방법은 하나의 예시로서 제시된 본 발명의 일실시예에 한정되는 것은 아니며, 통상의 유기화학적인 지식하에 용매, 반응물질, 온도 조건 등을 변형하여 수행 가능하다.

[0092] 본 발명의 다른 일 측면에서,

[0093] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0094] 상기 CRHR1 관련 질환은 우울증, 불안, 알콜 또는 물질 남용, 비만증, 고혈압, 대사 증후군, 과민성 대장 증후군, 간질, 뇌졸증, 수면 장애, 알레르기, 편두통, 월경전 증후군, 성기능 장애, 선천성 부신증식증, 쿠싱 질환, 조기 진통, 스트레스-유도된 위궤양, 염증성 장애, 하수체 또는 이소성 하수체-유도 종양, 만성 피로 증후군, 근섬유통, 장기 통증 또는 다발 경화증 중 어느 하나인 것일 수 있다.

[0095] 본 발명에 있어서, 용어 『유효성분으로 함유하는』이란, 정신질환의 예방, 개선, 또는 치료의 효과를 가져오는 용량 범위로 함유하는 것을 의미하고, 중증도 및 제형에 따라 용량범위는 변할 수 있으며, 적용횟수도 적용 대상의 연령, 체중 및 체질에 따라 변할 수 있다. 본 발명의 한 구체예에서, 본 발명의 약학적 조성물 내에서 화학식 1로 표시되는 화합물은 예를 들어, 0.001 mg/kg 이상, 바람직하게는 0.1 mg/kg 이상, 보다 바람직하게는 10 mg/kg 이상, 보다 더 바람직하게는 100 mg/kg 이상, 보다 더욱 더 바람직하게는 250 mg/kg 이상, 가장 바람직하게는 0.1 g/kg 이상 포함된다. 본 발명의 약학적 조성물 내에 포함되는 화학식 1로 표시되는 화합물의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.

[0096] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 유효량의 화학식 1로 표시되는 화합물을 단독으로 포함하거나 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 포함할 수 있다.

[0097] 상기 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제는 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 물질을 말한다. 상기 담체, 부형제 및 희석제의 예로는, 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있으며, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 충진제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

[0098] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등 이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로오스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 스테아린산 마그네슘, 탈크 등과 같은 윤활제들도 사용된다. 경구투여를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테로 등이 사용될 수 있다.

[0099] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효 성분으로 하는 약학적 조성물은 비경구 투여할 수 있으며, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육 내 주사 또는 흉부 내 주사를 주입하는 방법에 의한다.

[0100] 이때, 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위하여 상기 화학식 1로 표시되는 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 안정제 또는 완충제와 함께 물에 혼합하여 용액 또는 현탁액으로 제조하고, 이를 앰플 또는 바이알 단위 투여형으로 제조할 수 있다. 상기 조성물은 멸균되고/되거나 방부제, 안정화제, 수화제 또는 유화 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제 등의 보조제, 및 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있으며, 통상적인 방법인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 따라 제제화할 수 있다.

[0101] 경구 투여용 제형으로는 예를 들면 정제, 환제, 경/연질 캅셀제, 액제, 현탁제, 유화제, 시럽제, 과립제, 엘릭시르제, 트로키제 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 덱스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신), 활택제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 함유하고 있다. 정제는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘 등과 같은 결합제를 함유할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염 등과 같은 붕해제 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색

제, 향미제, 및 감미제를 함유할 수 있다.

[0102] 본 발명에 있어서, 용어 『예방』이란, 본 발명의 약학적 조성물, 식품 조성물을 CRHR1 관련 질환의 투병중이지 않은 개체에게 투여, 섭취 또는 적용하여 CRHR1 관련 질환의 증세를 억제 또는 차단함으로써, CRHR1 관련 질환의 증세가 사전에 발생되지 않도록 하는 것을 의미한다.

[0103] 본 발명에 있어서, 용어 『치료』란, 본 발명의 약학적 조성물을 CRHR1 관련 질환 투병중인 개체에게 투여한 결과로서 CRHR1 관련 질환의 증세의 완치는 물론 CRHR1 관련 질환의 증세의 부분적 완치, 호전 및 경감을 포함한다.

[0104] 본 발명의 약제학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다.

[0105] 본 발명에 있어서, 용어 『약학적으로 유효한 양』이란, 의학적 치료 또는 개선에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.

[0106] 나아가, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 이의 약학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 이로부터 제조될 수 있는 용매화물, 입체 이성질체, 수화물 등의 형태로 사용될 수 있다.

[0108] 본 발명의 다른 일 측면에서,

[0109] 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.

[0110] 본 발명에 있어서, 용어 『개선』이란, 본 발명의 약학적 조성물, 식품 조성물을 CRHR1 관련 질환 투병 개체에게 투여, 섭취 또는 적용하여 CRHR1 관련 질환의 증세의 경감 또는 완화를 포함하는 의미이다.

[0111] 본 발명에 따른 식품 조성물은 상기 약학적 조성물과 동일한 방식으로 제제화되어 기능성 식품으로 이용하거나, 각종 식품에 첨가할 수 있다. 본 발명의 조성물을 첨가할 수 있는 식품으로는 예를 들어, 음료류, 알코올 음료류, 과자류, 다이어트바, 유제품, 육류, 초코렛, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류, 숙취해소제(음료, 저점도겔타입, 환, 정제, 캡슐 등), 비타민 복합제, 건강보조식품류 등이 있다.

[0112] 본 발명의 식품 조성물은 유효성분으로서 화학식 1로 표시되는 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염뿐만 아니라, 식품 제조 시에 통상적으로 첨가되는 성분을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지방, 영양소, 조미제 및 향미제를 포함한다. 상술한 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스, 올리고당 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 사이클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 향미제로서 천연 향미제 [타우마틴, 스테비아 추출물 (예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등]) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 식품 조성물이 드링크제와 음료류로 제조되는 경우에는 본 발명의 화학식 1로 표시되는 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 이외에 구연산, 액상과당, 설탕, 포도당, 초산, 사과산, 과즙, 및 각종 식물 추출액 등을 추가로 포함시킬 수 있다.

[0113] 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 상기 식품 조성물을 포함하는 건강기능식품 또는 건강보조식품을 제공한다.

[0114] 본 발명에 있어서, 용어 『건강기능식품 또는 건강보조식품』 이란, 건강기능식품에 관한 법률에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 의미하며, 용어 『기능성』 이라 함은, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미하며, 본 발명에 있어서, 화학식 1로 표시되는 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염을 음료, 차류, 향신료, 껌, 과자류 등의 식품소재에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조한 식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기 복용시 발생할 수 있는 부작용 등이 없는 장점이 있다. 이와 같이 하여 얻어지는 본 발명의 건강기능식품 또는 건강보조식품은, 일상적으로 섭취하는 것이 가능하기 때문에 매우 유용하다. 이와 같은 건강기능식품 또는 건강보조식품에 있어서의 화학식 1로 표시되는 화합물, 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염의 첨가량은, 대상인 건강기능식품의 종류에 따라 달라 일률적으로 규정할 수 없지만, 식품 본래의 맛을 손상시키지 않는 범위에서 첨가하면 되며, 대상 식품에 대하여 통상 0.01 내지 50 중량%, 바람직하기로는 0.1 내지 20 중량%의 범위이다. 또한, 환제, 과립제, 정제 또는 캡슐제 형태의 건강기능식품 또는 건강보조식품의

경우에는 통상 0.1 내지 100 중량% 바람직하기로는 0.5 내지 80 중량%의 범위에서 첨가하면 된다. 한 구체예에서, 본 발명의 건강기능식품 또는 건강보조식품은 환제, 정제, 캡슐제 또는 음료의 형태일 수 있다.

[0115] 본 발명에 있어서, 용어 『약제학적으로 허용가능한 염』이란, 의약 업계에서 통상적으로 사용되는 염을 의미하며, 예를 들어 칼슘, 포타슘, 소듐 및 마그네슘 등으로 제조된 무기이온염, 염산, 질산, 인산, 브롬산, 요오드산, 과염소산 및 황산 등으로 제조된 무기산염; 아세트산, 트라이플루오로아세트산, 시트르산, 말레인산, 숙신산, 옥살산, 벤조산, 타르타르산, 푸마르산, 만데르산, 프로피온산, 젖산, 글리콜산, 글루콘산, 갈락투론산, 글루탐산, 글루타르산, 글루쿠론산, 아스파르트산, 아스코르브산, 카본산, 바닐릭산, 하이드로 아이오딕산 등으로 제조된 유기산염; 메탄설폰산, 에탄설폰산, 벤젠설폰산, p-톨루엔설폰산 및 나프탈렌설폰산 등으로 제조된 설폰산염; 글리신, 아르기닌, 라이신 등으로 제조된 아미노산염; 및 트리메틸아민, 트라이에틸아민, 암모니아, 피리딘, 피콜린 등으로 제조된 아민염 등이 있으나, 열거된 이들 염에 의해 본 발명에서 의미하는 염의 종류가 한정되는 것은 아니다.

[0116] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한이 없으며, 통상적인 의미에서의 건강기능식품을 모두 포함한다.

[0117] 본 발명의 약학적 조성물 및 식품 조성물에서 언급된 사항은 서로 모순되지 않는 한 동일하게 적용된다.

[0119] 본 발명은 다른 측면에서, 본 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물 또는 건강기능식품을 필요한 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료 방법이 제공된다.

[0120] 본 발명은 또 다른 측면에서, CRHR1 관련 질환의 예방 또는 치료에 있어서의, 본 명세서에 기재된 화학식 1로 표시되는 화합물, 이의 입체 이성질체, 이의 용매화물, 이의 수화물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물 또는 건강기능식품의 용도를 제공한다.

[0121] 상기 방법 또는 용도에 있어서, 전술한 약학적 조성물에 대한 상세한 설명이 적용될 수 있다.

[0122] 이하, 본 발명을 제조예, 실시예 및 실험예를 통해 상세히 설명한다.

[0123] 단, 후술하는 제조예, 실시예 및 실험예는 본 발명을 일 측면에서 구체적으로 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0124] **<제조예> 8-(4-벤질옥시)-2,6-디메톡시페닐)-4-클로로-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진**

[0125] **(8-(4-(Benzyloxy)-2,6-dimethoxyphenyl)-4-chloro-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazine) (2)의 제조**

[0126] 먼저, 본 발명에 따른 실시예 화합물의 출발물질로서 공통적인 화학식 2로 표시되는 화합물을 다음과 같이 제조하였다. 환류 응축기가 장착 된 2구 둥근 바닥 플라스크에 8-(4-벤질옥시-2,6-디메 톡시페닐)-2,7-디메틸-3H-피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-온 (0.50g, 1.23mmol)을 첨가하였다. 플라스크를 비우고 불활성 가스로 3회 다시 채웠다. 건조시킨 톨루엔 (12.3mL), 건조시킨 N,N-디이소프로필에틸아민 (0.64mL, 3.67mmol) 및 증류된 $POCl_3$ (0.23mL, 2.47mmol)을 주사기를 통해 순서대로 첨가했다. 반응 혼합물을 불활성 기체 하에서 24 시간 동안 가열 환류시켰다. 그 다음 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 에틸 아세테이트 (7 mL)와 얼음물 (7 mL) 사이에 빠르게 분배(partition)시켰다. 유기층을 $MgSO_4$로 건조하고 여과한 후 감압 농축 하였다. 잔여 물질을 짧은 실리카겔 크로마토 그래피 컬럼 (n-Hex: EtOAc, 4 : 1, v / v)에서 빠르게 정제하였다. 최종적으로 황색 고체의 화합물 2를 얻었다 (390 mg, 75 % 수율).

[0127] ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.42 (m, 5H) 6.33 (s, 2H), 5.11 (s, 2H), 3.71 (s, 6H), 2.61 (s, 3H), 2.36 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 161.1, 160.7, 159.6, 159.5, 147.7, 146.9, 136.8, 128.8, 128.3, 127.7, 104.3, 100.2, 92.1, 70.4, 55.9, 25.4, 13.8. HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{22}H_{21}ClN_4O_3$, 425.1302; found, 425.1365.

[0128] **<실시예 1> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-(2-메톡시에틸)-2,7-디메틸-*N*-(피리딘-2-일메틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0129] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-*N*-(2-methoxyethyl)-2,7-dimethyl-*N*-(pyridin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-**

α][1,3,5]triazin-4-amine) (1a)의 제조

[0130] **<단계 1> 8-(4-(벤질옥시)-2,6-디메톡시페닐)-*N*-(2-메톡시에틸)-2,7-디메틸-*N*-(피리딘-2-일메틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0131] **(8-(4-(Benzyloxy)-2,6-dimethoxyphenyl)-*N*-(2-methoxyethyl)-2,7-dimethyl-*N*-(pyridin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (3a)의 제조**

[0132] 화합물 2(424mg, 1.0mmol)를 건조된 THF (5 mL)에 용해시켰다. 2-메톡시-*N*-(피리딘-2-일메틸)에탄-1-아민 (249 mg, 1.2 mmol) 및 건조된 *N,N*-디이소프로필에틸아민 (0.35 mL, 2.0 mmol)을 주사기를 통해 첨가했다. 반응 혼합물을 실온에서 3시간 동안 교반 하였다. 반응 혼합물을 물로 처리하고 생성된 혼합물을 에틸 아세테이트 (3 x 10 mL)로 추출하고 $MgSO_4$로 건조하고 여과하고 진공에서 농축하였다. 생성물을 실리카겔 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 백색 고체의 화합물 3a를 얻었다 (338 mg, 61 % 수율).

[0133] TLC (n-Hex:EtOAc, 1:1 v/v): R_f = 0.14; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.57 (s, 1H), 7.62 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 6.2 Hz, 2H), 7.40 (s, 3H), 7.34 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.33 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 5.09 (s, 2H), 4.33 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.71 (s, 6H), 3.35 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.19 (s, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 161.8, 160.3, 159.5, 158.1, 154.7, 150.0, 149.2 (d, *J* = 4.4 Hz), 137.0, 136.5, 128.6, 128.0, 127.6, 122.1, 101.9, 99.6, 92.2, 70.2, 58.8, 56.8 - 55.5 (m), 49.5, 25.7, 13.5.

[0134] **<단계 2> 3,5-디메톡시-4-(4-((2-메톡시에틸)(피리딘-2-일메틸)아미노)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-8-일)페놀**

[0135] **(3,5-Dimethoxy-4-(4-((2-methoxyethyl)(pyridin-2-ylmethyl)amino)-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-8-yl)phenol) (4a)의 제조**

[0136] 메탄올 (14mL)에 용해된 단계 1에서 제조된 화합물 3a (544mg, 1.0mmol)를 10 % Pd / C (de Gussa type, Aldrich)에 첨가하고 혼합물을 상온의 수소 하에서 교반했다. TLC가 출발 물질을 나타내지 않았을 때, 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석하고 셀 라이트 층을 통해 여과하였다. 여액을 감압하에 농축하여 백색 고체의 화합물 4a를 얻었다 (432 mg, 93 % 수율).

[0137] TLC (n-Hex:EtOAc, 1:4 v/v): R_f = 0.18; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.57 (s, 1H), 7.62 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 6.2 Hz, 2H), 7.40 (d, 3H), 7.34 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.33 (s, 2H), 5.59 (s, 2H), 5.09 (s, 2H), 4.33 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.71 (s, 6H), 3.35 (s, 3H), 2.38 (s, 3H), 2.19 (s, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.0, 159.6, 159.0, 155.7, 149.4, 149.3 (d, *J* = 2.2 Hz), 148.5, 136.7, 122.4, 100.6, 97.9, 93.0, 59.0 (d, *J* = 2.8 Hz), 55.9, 55.3 (d, *J* = 5.3 Hz), 49.8, 24.5 (d, *J* = 3.4 Hz), 13.4 (d, *J* = 1.9 Hz).

[0138] **<단계 3> 3,5-디메톡시-4-(4-((2-메톡시에틸)(피리딘-2-일메틸)아미노)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-8-일)페닐 트리플루오로메테인설포네이트**

[0139] **(3,5-Dimethoxy-4-(4-((2-methoxyethyl)(pyridin-2-ylmethyl)amino)-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-8-yl)phenyl trifluoromethanesulfonate) (5a)의 제조**

[0140] 단계 2에서 제조된 화합물 4a (465mg, 1.0mmol)을 건조된 DCM (2.5mL)에 용해시켰다. 용액을 0 ℃로 냉각시키고, 건조 피리딘 (1.4mL)과 트리플루오로 메탄설폰산 무수물 (0.18mL, 1.1mmol)을 주사기를 통해 0 ℃에서 천천히 첨가하였다. 반응 혼합물을 0 ℃에서 30 분 동안 교반한 다음, 실온에서 밤새 교반 하였다. 혼합물을 물로 급랭시키고 DCM (3 x 10 mL)으로 추출하였다. 결합된 유기층을 무수 $MgSO_4$로 건조하고 여과하고 농축하였다. 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 컬럼에서 정제하여 백색 고체의 화합물 5a를 얻었다 (322 mg, 54 % 수율).

[0141] TLC (n-Hex:EtOAc, 1:4 v/v): R_f = 0.17; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.56 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 7.64 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.18 (dd, *J* = 6.7, 5.1 Hz, 1H), 6.53 (s, 2H), 5.57 (s,

2H), 4.32 (s, 2H), 3.80 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.75 (s, 6H), 3.35 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 2.14 (s, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.5, 159.5, 158.0, 154.4, 150.3, 150.1, 149.3 (d, J = 1.7 Hz), 149.3, 136.7, 122.3, 122.2, 120.1, 117.6, 109.5, 98.5 - 97.9 (m), 59.0 (d, J = 2.5 Hz), 56.6 - 56.1 (m, J = 9.9, 4.9 Hz), 55.9, 49.7, 25.8 (d, J = 2.6 Hz), 13.6 (d, J = 1.5 Hz). ^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$) δ -72.9.

[0142] **<단계 4> 8-(2,6-디메톡시-4-(트리부틸스타닐)페닐)-*N*-(2-메톡시에틸)-2,7-디메틸-*N*-(피리딘-2-일메틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0143] **(8-(2,6-Dimethoxy-4-(tributylstannyl)phenyl)-*N*-(2-methoxyethyl)-2,7-dimethyl-*N*-(pyridin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (6a)의 제조**

[0144] 단계 3에서 제조된 화합물 5a (298mg, 0.5mmol)가 용해된 디옥세인 (2.5 mL)에 염화리튬 (63.6mg, 1.5mmol), 아르곤 하에 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (2.9mg, 5mol %), 2,6-디-tert-부틸-4-메틸페놀의 결정 및 헥사부틸디틴 (0.51 mL, 1.0 mmol)을 첨가하였다. 혼합물을 100 ℃로 5 시간 동안 가열한 다음 실온으로 냉각시켰다. 에틸아세테이트로 희석하고 10 % 수산화 암모늄 수용액으로 세척하였다. 유기층을 셀 라이트 층을 통해 여과하였다. 여액을 무수 $MgSO_4$로 건조시키고 농축시켰다. 생성물을 실리카겔 크로마토그래피 컬럼에서 정제하여 백색 고체의 화합물 6a를 얻었다 (166 mg, 45 % 수율).

[0145] TLC (n-Hex:EtOAc, 1:1 v/v): R_f = 0.13; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.57 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.65 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.41 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.21 - 7.15 (m, 1H), 6.72 (d, J = 0.7 Hz, 2H), 5.57 (s, 4H), 4.33 (s, 4H), 3.81 (s, 2H), 3.77 (s, 6H), 3.36 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.67 - 1.50 (m, 6H), 1.42 - 1.32 (m, 6H), 1.16 - 1.00 (m, 6H), 0.95 - 0.88 (m, J = 7.2, 0.7 Hz, 9H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.0, 158.2, 154.8, 150.0, 149.3, 149.3, 143.2, 136.6, 122.2, 112.3 (d, J = 18.0 Hz), 109.3, 99.9, 59.0 (d, J = 3.0 Hz), 56.2 (d, J = 7.8 Hz), 55.9, 49.6, 29.3, 27.6, 25.9 (d, J = 4.0 Hz), 13.9, 9.9.

[0146] **<단계 5> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-(2-메톡시에틸)-2,7-디메틸-*N*-(피리딘-2-일메틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0147] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-*N*-(2-methoxyethyl)-2,7-dimethyl-*N*-(pyridin-2-ylmethyl)pyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1a)의 제조**

[0148] 단계 4에서 제조된 화합물 6a (148 mg, 0.2 mmol)을 건조시킨 THF (1 mL)에 용해시켰다. NBS (34 mg, 0.19 mmol)를 용액에 첨가하였다. TLC가 출발 물질을 나타내지 않았을 때, 용매를 진공에서 제거했다. 그 다음 잔여물을 실리카겔 크로마토그래피 컬럼에서 정제하여 백색 고체의 화합물 1a를 얻었다 (63 mg, 60 % 수율).

[0149] TLC (n-Hex:EtOAc, 1:1 v/v): R_f = 0.18; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.58 (s, 1H), 7.65 (t, J = 7.1 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.76 (s, 2H), 5.57 (s, 2H), 4.33 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.73 (s, 6H), 3.35 (s, 3H), 2.35 (s, 3H), 2.15 (s, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 177.7, 162.3, 159.4, 158.1, 154.5, 149.9, 149.3, 136.7, 122.5, 108.2, 98.8, 59.0 (d, J = 3.2 Hz), 56.2 (d, J = 9.0 Hz), 55.9, 49.7, 29.7, 25.6, 13.6.; HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{24}H_{27}BrN_6O_3$, 527.1401; found, 527.1392.

[0150] **<실시예 2> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*,*N*-디부틸-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민 (8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-*N*,*N*-dibutyl-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1b)의 제조**

[0151] **<단계 1> 8-(4-벤질옥시)-2,6-디메톡시페닐)-*N*,*N*-디부틸-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0152] **(8-(4-(Benzyloxy)-2,6-dimethoxyphenyl)-*N*,*N*-dibutyl-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (3b)의 제조**

[0153] 실시예 1의 단계 1과 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 3b을 얻었다(393 mg, 76 % 수율).

[0154] TLC (n-Hex:EtOAc, 2:1 v/v): R_f = 0.48; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.48 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.42 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.38 - 7.31 (m, J = 7.2 Hz, 1H), 6.32 (s, 2H), 5.10 (s, 2H), 3.99 (s, 4H), 3.73 (s, 6H), 2.37 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 1.80 - 1.68 (m, 4H), 1.47 - 1.37 (m, J = 14.7, 7.4 Hz, 4H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 161.9, 160.4, 159.6, 154.3, 150.1, 148.9, 137.1, 128.8, 128.2, 127.7, 102.5, 99.1, 92.4, 70.4, 56.1 (d, J = 2.4 Hz), 50.2, 46.2, 30.9, 25.9, 20.4, 20.2, 14.0, 13.6.

[0155] **<단계 2> 4-(4-(디부틸아미노)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-8-일)-3,5-디메톡시페놀**

[0156] **(4-(4-(Dibutylamino)-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-8-yl)-3,5-dimethoxyphenol)(4b)의 제조**

[0157] 실시예 1의 단계 2와 같은 방법으로 합성하여, 옅은 노란색 고체의 화합물 4b를 얻었다(393 mg, 92 % 수율).

[0158] TLC (n-Hex:EtOAc, 2:1 v/v): R_f = 0.18; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5.84 (s, 2H), 4.01 (s, 4H), 3.59 (s, 6H), 2.47 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.78 (s, 4H), 1.42 (q, J = 14.6, 7.3 Hz, 4H), 1.00 (t, J = 7.3 Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.0, 159.7, 159.0, 155.3, 149.0, 148.5, 100.1, 98.1, 93.1, 55.4 (d, J = 5.1 Hz), 50.5, 29.9, 24.6, 20.2, 14.0, 13.5.

[0159] **<단계 3> 4-(4-(디부틸아미노)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-8-일)-3,5-디메톡시페닐 트리플루오로메테인설포네이트**

[0160] **(4-(4-(Dibutylamino)-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-8-yl)-3,5-dimethoxyphenyl trifluoromethanesulfonate)(5b)의 제조**

[0161] 실시예 1의 단계 3과 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 5b를 얻었다 (313 mg, 56 % 수율).

[0162] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.28; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.54 (s, 2H), 3.99 (s, 4H), 3.76 (s, 6H), 2.38 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.80 - 1.70 (m, J = 15.1, 7.6 Hz, 4H), 1.45 - 1.36 (m, 4H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.5, 159.5, 153.8, 150.2, 148.9, 120.2, 117.6, 110.0, 98.3, 97.6, 60.5, 56.3, 50.3, 25.8, 20.2, 14.3, 14.0, 13.6. ^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$) δ -73.0.

[0163] **<단계 4> *N,N*-디부틸-8-(2,6-디메톡시-4-(트리부틸스타닐)페닐)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0164] **(*N,N*-Dibutyl-8-(2,6-dimethoxy-4-(tributylstannyl)phenyl)-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine)(6b)의 제조**

[0165] 실시예 1의 단계 4와 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 6b를 얻었다 (147 mg, 42 % 수율).

[0166] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.48; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.73 (s, 2H), 3.99 (s, 4H), 3.78 (s, 6H), 2.38 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 1.82 - 1.71 (m, 4H), 1.68 - 1.53 (m, 6H), 1.45 - 1.34 (m, 10H), 1.16 - 1.03 (m, 6H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 6H), 0.93 (t, J = 7.3 Hz, 9H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 161.9, 158.2, 154.2, 150.1, 148.9, 142.9, 112.3, 109.7, 99.3, 56.2 (d, J = 6.5 Hz), 50.2, 30.9, 29.3, 27.6, 25.9 (d, J = 3.3 Hz), 20.2, 13.9 (d, J = 19.7 Hz), 11.2 (d, J = 7.4 Hz), 9.9, 8.6 (d, J = 7.6 Hz).

[0167] **<단계 5> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N,N*-디부틸-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민 (8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-*N,N*-dibutyl-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1b)의 제조**

[0168] 실시예 1의 단계 5와 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 1b를 얻었다 (58.9 mg, 60 % 수율).

[0169] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.24; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.79 (s, 2H), 3.98 (s, 4H), 3.74 (s, 6H), 2.37 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.74 (s, 4H), 1.40 (q, J = 14.1, 6.9 Hz, 4H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz,

6H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.3, 159.3, 153.8, 150.1, 148.8, 122.3, 108.8, 108.4, 98.2, 56.3 (dd, *J* = 17.3, 8.0 Hz), 50.2, 30.9, 25.9 (d, *J* = 5.1 Hz), 20.2, 14.0, 13.6 (d, *J* = 3.8 Hz). HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{23}H_{32}BrN_5O_2$, 490.1812; found, 490.1804.

[0170] **<실시예 3> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-2,7-디메틸-*N*,*N*-비스(4,4,4-트리플루오로부틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0171] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-2,7-dimethyl-*N*,*N*-bis(4,4,4-trifluorobutyl)pyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1c)의 제조**

[0172] 실시예 1과 같은 방법으로 합성하여, 옅은 노란색 고체의 화합물 1c를 얻었다.

[0173] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.12; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.80 (s, 2H), 4.04 (s, 4H), 3.75 (s, 6H), 2.38 (s, 3H), 2.29 - 2.19 (m, 4H), 2.18 (d, *J* = 5.7 Hz, 3H), 2.12 - 2.02 (m, *J* = 14.8, 7.5 Hz, 4H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.3, 159.3, 154.8, 149.9, 149.0, 130.4, 128.2, 126.0, 123.8, 122.6, 108.4, 108.2, 107.9, 99.0, 67.7, 60.5, 56.2, 49.1, 31.3 (q, *J* = 29.2 Hz), 29.3, 25.8, 24.0, 21.6, 14.3, 13.6. ^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$) δ -66.1 (t, *J* = 10.8 Hz). HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{23}H_{26}BrF_6N_5O_2$, 598.1247; found, 598.1240.

[0174] **<실시예 4> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-2,7-디메틸-*N*,*N*-비스(3,3,3-트리플루오로프로필)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0175] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-2,7-dimethyl-*N*,*N*-bis(3,3,3-trifluoropropyl)pyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1d)의 제조**

[0176] 실시예 1과 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 1d를 얻었다.

[0177] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.14; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.80 (s, 2H), 4.17 (br, s, 4H), 3.75 (s, 6H), 2.74 (m, 4H), 2.41 (s, 3H), 2.20 (s, 3H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 162.3, 159.3, 155.5, 149.8, 148.6, 130.3, 127.6, 124.8, 122.8, 108.5, 108.0, 99.5, 56.3, 45.0 (d, *J* = 3.8 Hz), 25.8, 13.6, ^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$) δ -65.2 (t, *J* = 10.8 Hz). HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{21}H_{22}BrF_6N_5O_2$, 570.0934; found, 570.0931.

[0178] **<실시예 5> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-부틸-*N*-(사이클로프로필메틸)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0179] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-*N*-butyl-*N*-(cyclopropylmethyl)-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1e)의 제조**

[0180] 실시예 1과 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 1e를 얻었다.

[0181] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.20; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.79 (s, 2H), 4.19 - 4.08 (m, *J* = 13.9, 6.9 Hz, 2H), 4.00 - 3.87 (m, *J* = 7.3 Hz, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.82 - 1.71 (m, 2H), 1.45 - 1.35 (m, 2H), 1.30 - 1.21 (m, 1H), 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 0.58 - 0.50 (m, 2H), 0.43 - 0.35 (m, *J* = 4.9 Hz, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.2, 159.5, 153.9, 150.3, 149.1, 122.4, 108.9, 108.6, 98.4, 56.3 (d, *J* = 2.4 Hz), 54.1, 50.1, 31.0, 25.9, 20.2, 14.3, 14.0, 13.6, 10.5, 3.8. HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{23}H_{30}BrN_5O_2$, 488.1656; found, 488.1651.

[0182] **<실시예 6> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*,*N*-비스(2-에톡시에틸)-2,7-디메틸피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0183] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-*N*,*N*-bis(2-ethoxyethyl)-2,7-dimethylpyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-**

amine) (1f)의 제조

[0184] 실시예 1과 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 1f를 얻었다.

[0185] TLC (n-Hex:EtOAc, 5:1 v/v): R_f = 0.12; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.79 (s, 2H), 4.29 (s, 4H), 3.79 (s, 4H), 3.73 (s, 6H), 3.53 (q, J = 6.6 Hz, 4H), 2.37 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 1.19 (t, J = 6.7 Hz, 6H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.1, 159.3, 154.1, 150.0, 149.0, 122.4, 108.5, 108.4, 98.5, 69.6, 66.5, 56.2 (d, J = 4.2 Hz), 51.2, 25.8, 15.3, 13.5. HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{23}H_{32}BrN_5O_4$, 522.1710; found, 522.1707.

[0186] **<실시예 7> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-부틸-2,7-디메틸-*N*-(4,4,4-트리플루오로부틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0187] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-*N*-butyl-2,7-dimethyl-*N*-(4,4,4-trifluorobutyl)pyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1g)의 제조**

[0188] 실시예 1과 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 1g를 얻었다.

[0189] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.14; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.79 (s, 2H), 4.25 - 3.87 (m, J = 59.4, 16.6 Hz, 4H), 3.74 (s, 6H), 2.38 (d, J = 4.7 Hz, 3H), 2.30 - 2.15 (m, 5H), 2.13 - 2.02 (m, 2H), 1.79 - 1.69 (m, 2H), 1.46 - 1.36 (m, 2H), 0.99 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.3, 159.4, 154.3, 150.0, 148.9, 130.5, 128.3, 126.1, 122.5, 108.4, 98.6, 67.8, 56.5 - 55.4 (m), 50.4, 49.1, 31.4 (q, J = 28.9 Hz), 25.8, 20.1, 14.0, 13.6. ^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$) δ -66.1 (t, J = 10.8 Hz). HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{23}H_{29}BrF_3N_5O_2$, 544.1530; found, 544.1537.

[0190] **<실시예 8> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-2,7-디메틸-*N*-(4,4,4-트리플루오로부틸)-*N*-(3,3,3-트리플루오로프로필)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0191] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-2,7-dimethyl-*N*-(4,4,4-trifluorobutyl)-*N*-(3,3,3-trifluoropropyl)pyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1h)의 제조**

[0192] 실시예 1와 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 1h를 얻었다.

[0193] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.14; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.80 (s, 2H), 4.20 - 4.01 (m, J = 14.3, 7.1 Hz, 4H), 3.75 (s, 6H), 2.81 - 2.63 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 2.32 - 2.17 (m, 5H), 2.15 - 2.06 (m, J = 15.0, 8.0 Hz, 2H). ^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 162.3, 159.3, 155.1, 149.9, 148.8, 128.5, 127.6, 125.7, 124.8, 122.7, 108.5, 108.1, 99.3, 56.3 (d, J = 2.4 Hz), 49.6, 44.3, 31.3 (q, J = 29.3 Hz), 29.9, 25.8, 13.6. ^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$) δ -65.2 (t, J = 10.8 Hz), -66.1. HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{23}H_{29}BrF_3N_5O_2$, 584.1090; found, 584.1090.

[0194] **<실시예 9> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-*N*-(사이클로프로필메틸)-2,7-디메틸-*N*-(4,4,4-트리플루오로부틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0195] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-*N*-(cyclopropylmethyl)-2,7-dimethyl-*N*-(4,4,4-trifluorobutyl)pyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1i)의 제조**

[0196] 실시예 1과 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 1i를 얻었다 (57.5 mg, 53% 수율).

[0197] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.11; ^{1}H NMR (499 MHz, $CDCl_3$) δ 6.79 (s, 2H), 4.20 (s, 2H), 3.92 (s, 2H), 3.74 (s, 6H), 2.38 (s, 3H), 2.28 - 2.20 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 2.16 - 2.07 (m, J = 15.3, 7.7 Hz, 2H), 1.22 (s, 1H), 0.57 (q, J = 5.7 Hz, 2H), 0.39 (q, J = 5.0 Hz, 2H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ

162.3, 159.3, 154.4, 150.0, 149.1, 130.6, 128.4, 126.2, 122.5, 108.4, 98.7, 56.3 (d, J = 6.0 Hz), 54.4, 49.0, 31.4 (q, J = 29.0 Hz), 25.8 (d, J = 3.1 Hz), 13.6 (d, J = 2.1 Hz), 10.3, 3.9. ^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$) δ -66.0 (t, J = 10.8 Hz). HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{23}H_{27}BrF_3N_5O_2$, 542.1373.; found, 542.1365.

[0198] **<실시예 10> 8-(4-브로모-2,6-디메톡시페닐)-2,7-디메틸-*N*-프로필-*N*-(4,4,4-트리플루오로부틸)피라졸로[1,5-α][1,3,5]트리아진-4-아민**

[0199] **(8-(4-Bromo-2,6-dimethoxyphenyl)-2,7-dimethyl-*N*-propyl-*N*-(4,4,4-trifluorobutyl)pyrazolo[1,5-α][1,3,5]triazin-4-amine) (1j)의 제조**

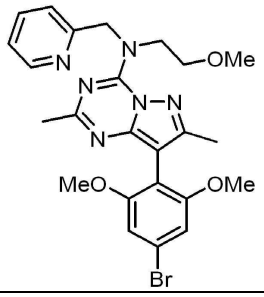
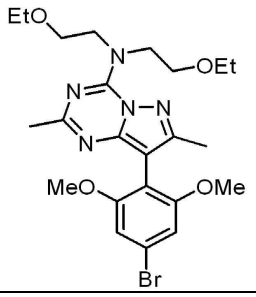
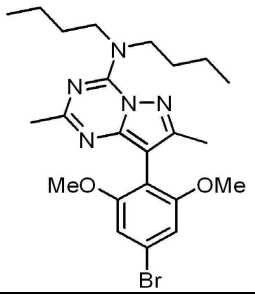
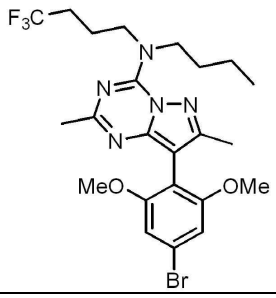
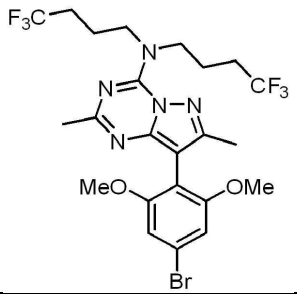
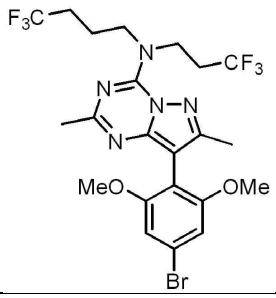
[0200] 실시예 1과 같은 방법으로 합성하여, 백색 고체의 화합물 1j를 얻었다.

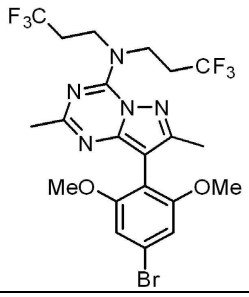
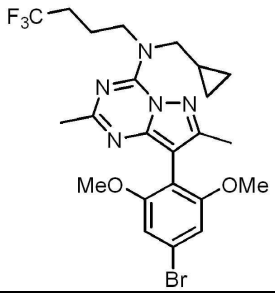
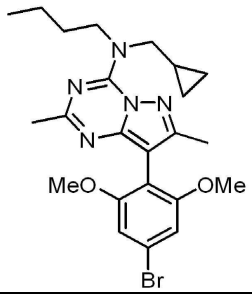
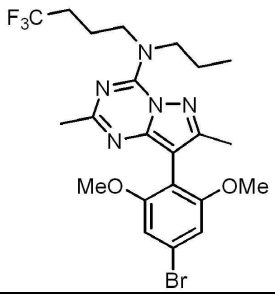
[0201] TLC (n-Hex:EtOAc, 7:1 v/v): R_f = 0.13; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6.79 (s, 2H), 4.07 (s, 2H), 3.92 (s, 2H), 3.74 (s, 6H), 2.37 (s, 3H), 2.29 - 2.20 (m, J = 10.4, 7.5 Hz, 2H), 2.18 (s, 3H), 2.12 - 2.03 (m, J = 16.1, 9.3 Hz, 2H), 1.78 (dq, J = 14.9, 7.4 Hz, 2H), 0.98 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ^{13}C NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ 162.3, 159.3, 154.3, 150.0, 149.0, 130.5, 128.3, 126.1, 123.9, 122.5, 108.4, 98.6, 60.5, 56.5 - 55.7 (m, J = 16.8, 8.3 Hz), 52.2, 49.1, 31.4 (q, J = 29.2 Hz), 25.8 (d, J = 4.6 Hz), 13.6 (d, J = 3.4 Hz), 11.3. ^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$) δ -66.1 (t, J = 10.8 Hz). HRMS (m/z): $[M]^+$ calcd. for $C_{22}H_{27}BrF_3N_5O_2$, 530.1373.; found, 530.1374.

[0202] 본 발명에 따른 실시예 화합물을 정리하여 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0203]

실시예 1		실시예 6	
실시예 2		실시예 7	
실시예 3		실시예 8	

실시예 4		실시예 9	
실시예 5		실시예 10	

[0204] **<실험예 1> CRHR1과의 결합친화도 분석**

[0205] CRHR1과 화합물 간의 binding affinity를 확인하기 위하여, 칼슘 동원 분석(calcium mobilization assay)을 시행하고 IC_{50} 농도를 계산하였으며, 실험 방법은 다음과 같다.

[0206] CRHR1로 형질 감염된 HEK-Gα15 세포(eurofins)를 웰당 50,000 세포 / 100 μL의 밀도로 96- 웰 플레이트에 플레이팅하고 밤새 배양하였다. 다음날, 화합물 또는 DMSO (양성 및 음성 대조군, 최종 농도 0.1 %)를 첨가하기 전에, 37 ℃에서 0.5 mM probenecid(sigma)를 포함하는 칼슘 6 시약 (Molecular Devices)을 1 시간 동안 세포에 로드했다. 37 ℃에서 1 시간 동안 배양한 후, 50 μL urocortin (최종 농도 2 nM, Tocris)을 FLIPR-tetra (Molecular Devices)와 함께 웰에 분배(dispense)했다. Urocortin-free buffer를 양성 대조군으로 첨가했다 (100 % 억제). 세포 내 칼슘 변화는 excitation 파장이 470-495 nm이고 emission 파장이 515-575 nm로 기록되었다. RFU (Relative Fluorescence Unit)는 첨가 후 30 초 동안 형광 신호 최대에서 최소 신호를 뺀 값으로 계산되었다. GraphPad Prism 6 소프트웨어를 사용하여 그래프와 IC_{50} 농도를 계산했으며, 그 결과는 하기 표 2와 같다.

표 2

[0207]

Compound	IC_{50} (μM)
BMK-I-152	0.028
실시예 1	0.104
실시예 2	0.214
실시예 3	0.121
실시예 4	0.206
실시예 5	0.139
실시예 6	0.116
실시예 7	0.341
실시예 8	0.455
실시예 9	0.374
실시예 10	0.360

[0208] **<실험예 2> CYP450 활성 억제 분석(CYP450 inhibition assay)**

[0209] 약물 상호작용 예측을 위한 주요 약물대사효소인 CYP 동질효소 (CYP1A2/CYP2C9/CYP2C19/CYP2D6/CYP3A4)의 활성 저해 정도를 인간 간 마이크로솜 (human liver microsome)을 이용하여 측정하였으며, 실험방법은 다음과 같다.

[0210] 인간 간 마이크로 솜 (0.25 mg / mL), 0.1 M 인산염 완충액, CYP450 동위 원소에 대한 기질을 포함하는 칵테일

(cocktail)의 혼합물 및 0 또는 10 μM 농도의 본 발명의 실시예 화합물을 37 ℃에서 5분 동안 배양했다.

[0211] 칵테일은 다음과 같다: 페나센틴(phenacentin) 50 μM + 디클로페낙(Diclofenac) 10 μM + S-메페니토인(S-mephenytoin) 100 μM + 덱스트로메토르판(dextromethorphan) 5 μM + 미다졸람(midazolam) 2.5 μM.

[0212] 이후, NADPH 생성 시스템 용액을 추가하고 37 ℃에서 15분 동안 다시 배양했다. 인큐베이션 후, 내부 표준(internal standard)로서 테르페나딘(terfenadine)을 포함하는 아세토니트릴(acetonitrile)로 반응을 담금질(quench)하였다. 4 ℃에서 14,000 rpm의 출력으로 원심 분리되었다. 원심 분리 후 상청액을 LC-MS / MS로 분석하였다. 기준 약물로는 CYP3A4 inhibitor인 케토코나졸 (0.1 μM) 을 사용하였다.

[0213] 억제제를 첨가하지 않은 control에 대한 % 활성 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

[0214]

Compound	CYP1A2	CYP2C9	CYPC19	CYP2D6	CYP3A4
BMK-I-152	>100	95.2	77.7	>100	89.0
실시예 1	90.7	79.4	76.2	81.7	63.3
실시예 2	>100	86.9	95.0	>100	88.6
실시예 3	96.6	83.9	77.6	95.3	88.9
실시예 4	97.8	68.9	76.5	92.4	>100
실시예 5	99.9	81.3	>100	>100	94.5
케토코나졸	94.6	>100	>100	>100	35.3

[0215] 표 3을 보면, 본 발명 실시예 화합물을 10 μM 첨가하였을 때, CYP 동질효소(CYP1A2/CYP2C9/CYP2C19/CYP2D6/CYP3A4)의 활성이 높아, 억제 활성이 거의 없는 것으로 평가된다. 이를 통해서 약물 상호작용으로 인한 독성 등의 문제는 없는 것으로 판단된다.

[0216] **<실험예 3> 마이크로솜 안정성 분석(Microsomal stability assay)**

[0217] 주요 장기인 간에서 약물이 대사되는 정도를 human과 rat의 간 마이크로솜(liver microsomes)을 이용하여 분석하였다.

[0218] 인산 칼륨 완충액 (0.1M, pH 7.4)에서 human과 rat의 간 마이크로솜 (0.5mg / mL) 및 CRHR1 길항제 화합물 (1 μM)을 37 ℃에서 배양했다. 반응은 β-NADPH (1.2mM)의 첨가에 의해 시작되었고, 37 ℃에서 계속되었다. 30분 동안 배양 한 후, 내부 표준 물질(chlorpropamide)과 함께 아세토니트릴을 첨가하여 반응을 중단시켰다. 샘플의 혼합물을 4 ℃에서 5분 동안 14,000 rpm에서 원심 분리하여 처리 하였다. 마지막으로 상층액을 분리하고, LC-MS / MS를 사용하여 분석했다.

[0219] 30분 동안 배양한 후 남아있는 정도를 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

[0220]

Compound	Human (%)	Rat (%)
BMK-I-152	15.2	15.7
실시예 1	14.6	16.2
실시예 2	84.2	73.4
실시예 3	87.8	99.3
실시예 4	>100	96.3
실시예 5	78.3	53.2
실시예 6	14.3	13.8

[0221] 표 4를 보면, 기존에 공지된 물질인 BMK-I-152는 30분 내에 human과 rat의 체내에서 단지 15%밖에 남아있지 않은 것에 비해, 본 발명의 실시예 2 내지 5의 화합물은 분해되지 않고 최소 50% 이상이 잔존하는 것을 확인할 수 있다. 따라서 본 발명의 화합물은 간에서의 대사 안정성이 현저하게 개선되어 약물의 체내 지속시간이 현저하게 개선될 수 있을 것으로 평가된다.

[0222] **<실험예 4> 꼬리 서스펜션 실험(Tail suspension test)**

[0223] 상기 실험예 1 내지 3에서 가장 좋은 결과를 나타낸 본 발명의 실시예 3 및 5를 대상으로, 항우울정도를 측정하는 실험으로 알려진 꼬리 서스펜션 실험을 진행하였다.

[0224] 꼬리 서스펜션 실험을 위해, 9 내지 10주된 성인 C57BL / 6J 수컷 쥐를 사용했다. 모든 쥐는 12:12 시간의 명암 주기(오전 7시에 켜짐) 아래에 그룹으로 사육되었으며, 음식과 물에 자유롭게 접근할 수 있었다. 동물의 관리 및 취급은 연세대학교 실험동물운영위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 지침에 따라 이루어졌다. 우울증과 유사한 행동에 대한 CRHR1 길항제의 효과를 확인하기 위해, 낮 시간 동안 약물의 경구 투여 2시간 후 쥐를 대상으로 꼬리 서스펜션 실험을 수행했다. 각 쥐의 꼬리에 접착 테이프를 붙여 지상에서 30cm 위의 막대에 6분 동안 매달았다. 쥐의 움직임은 카메라로 기록되었고, EthoVision XT 8.5 소프트웨어 (Noldus Technologies)의 동일한 매개 변수로 분석되었다. 꼬리 서스펜션 실험은 총 6분 동안 진행되었으며, 분석은 실험의 마지막 4분 동안 움직이지 않는 시간이 측정되었다.

[0225] CRHR1의 길항제로 알려져 있는 안타랄민(antalarmin)을 reference로 선정하여 실험을 진행하였다.

[0226] 도 1을 보면, CRHR1의 길항제로 알려진 안타랄민과 비교할 때, 본 발명의 실시예 5에서 쥐의 움직임이 가장 활발한 것이 확인된다. 쥐가 움직이지 않을수록 우울한 상태임을 의미하는 실험이므로, 본 발명의 실시예 5는 항우울 화합물로 유용할 것으로 기대된다.

[0227] **<실험예 5> 혈청 코르티솔 및 부신피질자극호르몬 농도의 측정(Measurement of serum Cortisol and ACTH levels)**

[0228] CRHR1의 길항제가 항우울 화합물로서 유용할지 확인하기 위하여, 스트레스에 관여하는 코르티솔과 부신피질자극호르몬의 농도 변화를 측정하였다.

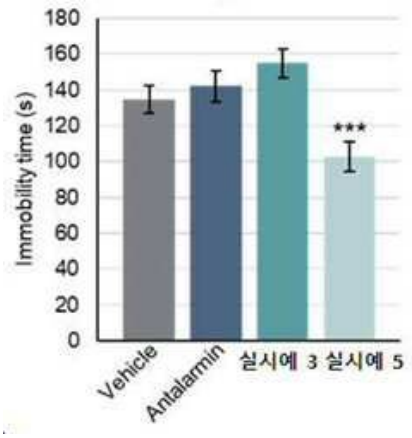
[0229] 심장에서 채혈하기 전에, 시상하부-뇌하수체-부신(HPA) 축을 활성화하는 스트레스 요인 중 하나인 꼬리 서스펜션 실험 직후의 쥐에 2,2,2-트리브로모에탄올 (300mg/kg, Sigma-Aldrich)을 복강 주사하여 마취시켰다. 혈액 샘플을 플라스틱 튜브에 수집하고 2시간 동안 실온에 두었다. 혈청은 4 ℃에서 10분 동안 13,000xg 원심 분리 후 꺼냈다. 코르티솔 농도를 측정하기 위해 단백질 침전 단계 후 혈청 샘플 (25μL)을 LC-MS로 분석했다. 혈청에서 부신피질자극호르몬 농도를 측정하기 위해, 부신피질자극호르몬 (ab263880, abcam) 용으로 시판되는 ELISA 키트를 사용하여 혈청 샘플 (20 μL)을 분석했다.

[0230] 본 발명의 실시예 3 및 5를 투여한 쥐를 대상으로 측정하였으며, CRHR1의 길항제로 알려진 안타랄민을 reference로 하였다.

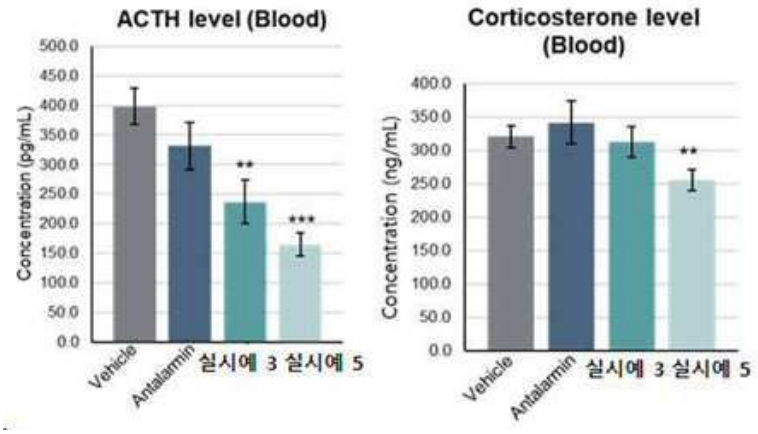
[0231] 도 2을 보면, 부신피질자극호르몬의 경우 본 발명의 실시예 3 및 5 모두에서 농도가 감소하였으며, 코르티솔의 경우 본 발명의 실시예 5에서 농도가 감소하였다. 이를 통해, 본 발명의 실시예가 스트레스에 관여하는 코르티솔 농도를 감소시킴으로써 항우울 화합물로 유용할 것이 기대된다.

도면

도면1



도면2


ACTH level (Blood)
Concentration (pg/mL)
500.0
450.0
400.0
350.0
300.0
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0.0
**
***
Vehicle
Antalarmin
실시예 3
실시예 5
Corticosterone level (Blood)
Concentration (ng/mL)
400.0
350.0
300.0
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0.0
**
Vehicle
Antalarmin
실시예 3
실시예 5