



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0000402
(43) 공개일자 2013년01월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 473/00 (2006.01) *C07D 487/04* (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7025716
(22) 출원일자(국제) 2011년03월28일
심사청구일자 2012년09월28일
(85) 번역문제출일자 2012년09월28일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/030131
(87) 국제공개번호 WO 2011/123372
국제공개일자 2011년10월06일
(30) 우선권주장
61/319,521 2010년03월31일 미국(US)

(71) 출원인
일라이 릴리 앤드 캄파니
미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코퍼레이트 센터
(72) 발명자
아스트레스, 피터, 찰스
미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코퍼레이트 센터 일라이 릴리 앤드 캄파니 내
귀데티, 로셀라
미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코퍼레이트 센터 일라이 릴리 앤드 캄파니 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김영, 양영준

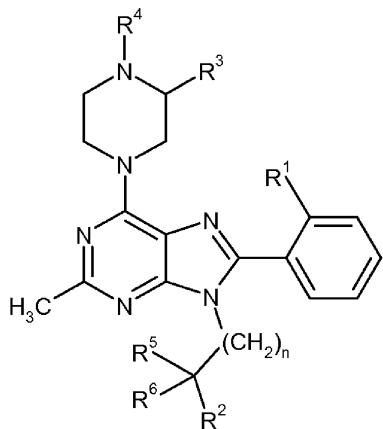
전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 발명의 명칭 퓨린 화합물

(57) 요 약

본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 및 통증의 치료 또는 예방을 위한 제약 조성물에 관한 것이다.

<화학식 I>



(72) 발명자

샌더슨, 아담, 잔

미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 렐리 코퍼
레이트 센터 일라이 렐리 앤드 컴퍼니 내

홀린셰드, 션, 패트릭

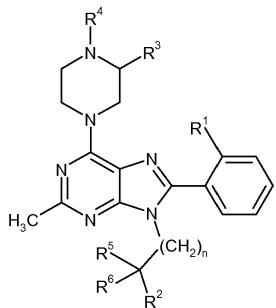
미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 렐리 코퍼
레이트 센터 일라이 렐리 앤드 컴퍼니

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

<화학식 I>



상기 식에서,

R¹은 Cl 또는 CH₃이고;

R²는 OH, OCH₃, CH₂OH 또는 CH₂OCH₃이고;

R³은 H이거나, 또는 R⁴와 결합하여 융합된 피롤리딘-2-온을 형성하고;

R⁴는 C₁-C₂ 알킬, C₁-C₂ 플루오로알킬, C(O)CH₃ 또는 CO₂CH₃이고;

R⁵는 H, CH₃ 또는 CH₂OCH₃이고;

R⁶은 H, CH₃이나, 또는 R⁵와 결합하여 시클로프로판 고리를 형성하고;

n은 0 또는 1이다.

청구항 2

제1항에 있어서, R¹이 Cl인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, R²가 OH 또는 CH₂OH인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, R²가 CH₂OH인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, R³이 H이고, R⁴가 메틸, 에틸, 2-플루오로에틸 또는 C(O)CH₃인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, R³이 H이고, R⁴가 메틸인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, R^5 및 R^6 이 독립적으로 H 및 CH_3 으로부터 선택되는 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, R^5 가 H이고, R^6 이 CH_3 인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, n이 0인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 10

제1항에 있어서, 2-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-퓨린-9-일]-프로판-1-올인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 11

제1항에 있어서, (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 제약상 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 하나 이상의 치료 성분을 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 요법에 사용하기 위한 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 15

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 통증의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 16

제15항에 있어서, 통증의 치료에 사용하기 위한 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 17

제16항에 있어서, 골관절염 통증의 치료에 사용하기 위한 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 18

제15항에 있어서, 화학요법 유발 통증의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 19

유효량의 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 통증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 또는 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 통증의 치료 또는 예방을 위한 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 통증의 치료를 위한 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 글관절염 통증의 치료를 위한 방법.

청구항 22

제19항에 있어서, 화학요법 유발 통증의 치료 또는 예방을 위한 방법.

명세서

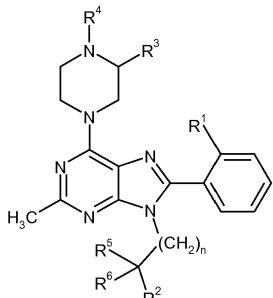
기술 분야

- [0001] 칸나비노이드 수용체 CB_1 및 CB_2 는 G-단백질-커플링된 수용체 (GPCR)의 부류에 속한다. CB_1 수용체는 중추적으로 및 말초적으로 둘 다 발현되지만, CB_2 수용체는 주로 면역 세포 및 조직 상에서 말초적으로 우세하게 발현된다.
- [0002] CB_2 수용체의 약리학적 및 치료적 잠재력이 최근에 검토되어 (문헌 [Br. J. Pharmacol. (2008) 153, 319-334]), 통증, 특히 염증성 및 신경병증성 통증의 치료를 위한 치료 표적으로서의 CB_2 를 확인시켜 주었다.
- [0003] CB_2 효능제, 특히 CB_2 -선택적 효능제는 제한된 중추 매개 부작용을 갖는, 통증의 치료를 위한 표적을 제공한다.
- [0004] WO 2004/037823은 칸나비노이드 수용체 리간드, 특히 CB_1 수용체 길항제로서의 퓨린 화합물 및 그의 용도에 관한 것이다.
- [0005] 통용되는 경구 약리 작용제와 관련된 부작용 때문에, 통증 치료를 위한 대체 요법의 개발이 여전히 필요하다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0006] 본 발명은 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다.

[0007] <화학식 I>



[0008]

[0009] 상기 식에서,

[0010] R^1 은 Cl 또는 CH_3 이고;

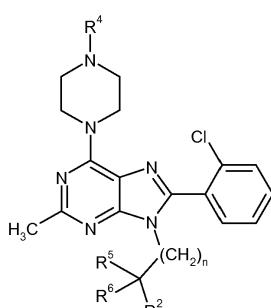
[0011] R^2 는 OH, OCH_3 , CH_2OH 또는 CH_2OCH_3 이고;

[0012] R^3 은 H이나, 또는 R^4 와 결합하여 융합된 피롤리딘-2-온을 형성하고;

[0013] R^4 는 C_1-C_2 알킬, C_1-C_2 플루오로알킬, $C(O)CH_3$ 또는 CO_2CH_3 이고;

[0014] R^5 는 H, CH_3 또는 CH_2OCH_3 이고;

- [0015] R^6 은 H, CH_3 이거나, 또는 R^5 와 결합하여 시클로프로판 고리를 형성하고;
- [0016] n은 0 또는 1이다.
- [0017] 본 발명의 화합물은 CB_2 수용체의 시험관내 효능제인 것으로 밝혀졌다. 본 발명의 특정 화합물은 기존의 CB_2 효능제보다 더 우수한 효능을 나타낸다. 본 발명의 특정 화합물은 CB_2 -선택적 효능제이다. 본 발명의 특정 화합물은 기존의 CB_2 효능제보다 더 우수한 CB_2 -선택성을 나타낸다. 본 발명의 특정 화합물은 인간에서 허용되는 부작용 프로파일에 대한 잠재성을 나타낸다.
- [0018] 본 발명은 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 제약상 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을, 제약상 허용되는 희석제 또는 담체 및 임의로 하나 이상의 다른 치료 성분과 함께 포함하는 제약 조성물을 제공한다.
- [0019] 본 발명은 요법에 사용하기 위한 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다. 본 발명은 또한 통증, 특히 골관절염 통증의 치료에 사용하기 위한 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다. 본 발명의 또 다른 측면에서, 통증, 특히 골관절염 통증의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도가 제공된다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 측면에서, 통증, 특히 화학요법-유발 통증의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에 있어서의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도가 제공된다.
- [0021] 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 통증의 치료를 필요로 하는 인간 또는 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 통증의 치료 방법을 제공한다. 본 발명은 유효량의 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 통증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 또는 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 통증의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 유효량의 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 골관절염 통증의 치료를 필요로 하는 인간 또는 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 골관절염 통증의 치료 방법을 제공한다.
- [0022] 본 발명은 또한 유효량의 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 화학요법-유발 통증의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 또는 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 화학요법-유발 통증의 치료 또는 예방 방법을 제공한다.
- [0023] 본 발명의 화합물을 통증, 특히 염증성 통증, 보다 특히 관절 통증, 가장 특히 골관절염 통증의 치료에 사용하는 것이 바람직하다.
- [0024] 본 발명의 화합물이 통증, 특히 화학요법-유발 통증의 치료 또는 예방에 사용되는 것이 바람직하다.
- [0025] CB_2 수용체 효능제는 또한 다발성 경화증의 치료에서 치료 잠재력을 갖는 것으로서 확인되었다 (문헌 [Br. J. Pharmacol. (2008) 153, 216-225] 및 [J. Biol. Chem. (2008) 283, 13320-13329]). 또한, CB_2 수용체 효능제는 암-유발 골 통증의 치료에 대한 잠재력을 갖는 것으로 확인되었다 (문헌 [Life Sciences 86 (2010) 646-653]).
- [0026] 본 발명의 바람직한 종은 하기 화학식 II의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이다.
- [0027] <화학식 II>



[0028]

- [0029] 상기 식에서, R^2 , R^4 , R^5 , R^6 및 n 은 본원에 정의된 바와 같다.

[0030] 본 발명의 바람직한 종은 하기 화학식 III의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이다.

[0031] <화학식 III>

[0032]

[0033] 상기 식에서, R^2 , R^4 , R^5 및 R^6 은 본원에 정의된 바와 같다.

[0034] 특정 부류의 화학식 I, II 또는 III의 화합물이 바람직하다. 하기 열거된 선택사항은 이러한 바람직한 부류를 기재한다:

[0035] 1) R^1 은 Cl 이고;

[0036] 2) R^2 는 OH 또는 CH_2OH 이고;

[0037] 3) R^2 는 CH_2OH 이고;

[0038] 4) R^3 은 H 이고;

[0039] 5) R^4 는 C_1-C_2 알킬, C_1-C_2 플루오로알킬 또는 $C(O)CH_3$ 이고;

[0040] 6) R^4 는 메틸, 에틸, 2-플루오로에틸 또는 $C(O)CH_3$ 이고;

[0041] 7) R^4 는 메틸 또는 에틸이고;

[0042] 8) R^5 는 H 또는 CH_3 이고;

[0043] 9) R^5 는 H 이고;

[0044] 10) R^6 은 H 또는 CH_3 이고;

[0045] 11) R^6 은 CH_3 이고;

[0046] 12) n 은 0이고;

[0047] 13) R^5 는 H 이고, R^6 은 CH_3 이고;

[0048] 14) R^2 는 OH 또는 CH_2OH 이고; R^4 는 메틸, 에틸, 2-플루오로에틸 또는 $C(O)CH_3$ 이고;

[0049] 15) R^2 는 OH 또는 CH_2OH 이고; R^4 는 메틸 또는 에틸이고;

[0050] 16) R^2 는 OH 또는 CH_2OH 이고; R^4 는 메틸이고;

[0051] 17) R^2 는 CH_2OH 이고; R^4 는 메틸, 에틸, 2-플루오로에틸 또는 $C(O)CH_3$ 이고; R^5 는 H 이고, R^6 은 CH_3 이다.

- [0052] 본 발명의 화합물 각각의 제약상 허용되는 염은 본원의 범위 내에 고려된다.
- [0053] 명세서 전반에 걸쳐 사용된 바와 같이, 하나의 기가 "본원에 정의된" 또는 "본원에서 정의된"으로 표시되는 경우, 상기 기는 그 기에 대해 처음 나타나는 가장 넓은 정의를 포함할 뿐만 아니라 그 기의 각각의 및 모든 특정한 정의를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0054] 상기 및 본 발명의 설명 전반에서 사용된 바와 같이, 달리 나타내지 않는 한, 하기 용어는 하기 의미를 가질 것이다:
- [0055] 본원에 사용된 용어 C₁-C₂ 알킬은 메틸 또는 에틸을 지칭한다.
- [0056] 본원에 사용된 용어 C₁-C₂ 플루오로알킬은 1개 이상의 수소가 플루오린으로 대체된, 본원에 정의된 바와 같은 C₁-C₂ 알킬 기를 지칭하고, 트리플루오로메틸, 2-플루오로에틸, 2,2-디플루오로에틸 및 2,2,2-트리플루오로에틸을 포함한다. 바람직한 C₁-C₂ 플루오로알킬 기는 2-플루오로에틸이다. 본원에 사용된 용어 "이성질체 1" 및 "이성질체 2"는 최종 화합물 또는 중간체의 구체적 거울상이성질체에 관한 것이고, "이성질체 1"은 상기 기재된 크로마토그래피 방법으로부터 용리되는 제1 화합물에 관련되고, "이성질체 2"는 제2 화합물에 관련된다. 용어 "이성질체 1" 또는 "이성질체 2"가 먼저 중간체에 기인하는 경우, 상기 용어는 최종 화합물까지 유지된다.
- [0057] 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 염"은 살아있는 유기체에 실질적으로 비독성인 본 발명의 화합물의 염을 지칭한다. 이러한 염 및 이들의 통상적인 제조 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [P. Stahl, et al., *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties Selection and Use*, (VCHA/Wiley-VCH, 2002)]; 및 [J. Pharm. Sci. 66, 2-19 (1977)]을 참조한다. 바람직한 제약상 허용되는 염은 히드로클로라이드 및 옥살레이트이다.
- [0058] 본 발명의 실시양태는 본원에서 제공되는 예를 포함하고, 제공된 예가 하나의 키랄 또는 입체 형태, 또는 그의 염일 수는 있지만, 본 발명의 추가의 실시양태는 기재된 예의 모든 다른 입체이성질체 및/또는 입체 형태 뿐만 아니라 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.
- [0059] 본원에 사용된 용어 "CB₂-선택적 효능제" 또는 "CB₂-선택성"은 CB₁보다 CB₂에 대해 더 우수한 효능을 갖는 화합물을 지칭한다. 바람직하게는 본 발명의 화합물은 ≥100배의 CB₂-선택성을 나타낸다. 보다 바람직하게는 본 발명의 화합물은 ≥500배의 CB₂-선택성을 나타낸다. 가장 바람직하게는 본 발명의 화합물은 ≥1000배의 CB₂-선택성을 나타낸다.
- [0060] 본 발명의 화합물은 바람직하게는 다양한 경로로 투여되는 제약 조성물로서 제제화된다. 바람직하게는, 이러한 조성물은 경구 투여용이다. 이러한 제약 조성물 및 이를 제조하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Remington: The Science and Practice of Pharmacy (A. Gennaro, et al., eds., 19th ed., Mack Publishing Co., 1995)]을 참조한다.
- [0061] 본 발명의 화합물의 X선 분말 회절 (XRD) 패턴은 CuKa 공급원 ($\lambda = 1.54060 \text{ \AA}$) 및 35 kV 및 50mA에서 작동하는 반텍(Vantec) 검출기가 장착된 브루커(Bruker) D4 인데버(Endeavor)® X선 분말 회절계 상에서 얻을 수 있다. 이 샘플을, 단계 크기 0.009°의 2θ 및 스캔 속도 0.5초/단계를 사용하고, 0.6 mm 발산, 5.28 고정된 산란방지기 및 9.5 mm 검출기 슬릿을 사용하여, 4 내지 40°의 2θ에서 스캐닝하였다. 2θ에서 ±0.2의 피크 위치 가변성을 표시된 결정 형태의 명백한 확인을 방해하지 않으면서 잠재적 변동을 고려하였다.
- [0062] 본 발명의 바람직한 화합물은 2-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-퓨린-9-일]-프로판-1-올이고; 보다 바람직한 화합물은 (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올이다.
- [0063] (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올의 바람직한 형태는 19.68, 14.81 및 13.20; ± 0.2°로부터 선택된 하나 이상의 피크와 조합으로 8.26에서의 회절 피크 (2-세타 값)를 갖는 XRD를 특징으로 하고; 바람직하게는 14.81 및 13.20; ± 0.2°로부터 선택된 하나 이상의 피크와 조합으로 8.26 및 19.68에서의 회절 피크를 갖는 XRD를 특징으로 한다.
- [0064] 하기의 반응식, 제조예 및 실시예는 본 발명의 실행을 더 잘 설명하기 위해 제공된다. 이러한 반응식, 제조예 및 실시예의 단계에 적합한 반응 조건은 당업계에 공지되어 있고, 용매 및 보조시약의 대체를 비롯한 반응 조건

의 적절한 변형은 당업자의 능력 내에 있다.

[0065] 추가로, 당업자는 일부 상황에서 모이어티가 도입되는 순서가 중요하지 않음을 인지할 것이다. 화학식 I의 화합물의 생성에 요구되는 단계들의 특정한 순서는, 숙련된 화학자에 의해 잘 인지되는 바와 같이, 합성될 특정한 화합물, 출발 화합물, 및 치환 모이어티의 상대적 불안정성에 따라 달라진다. 당업자는 모든 치환기가 모든 반응 조건에 적합한 것은 아님을 알 것이다. 이를 화합물은 합성 시에 편리한 시점에서 당업계에 공지된 방법에 의해 보호 또는 변형될 수 있다.

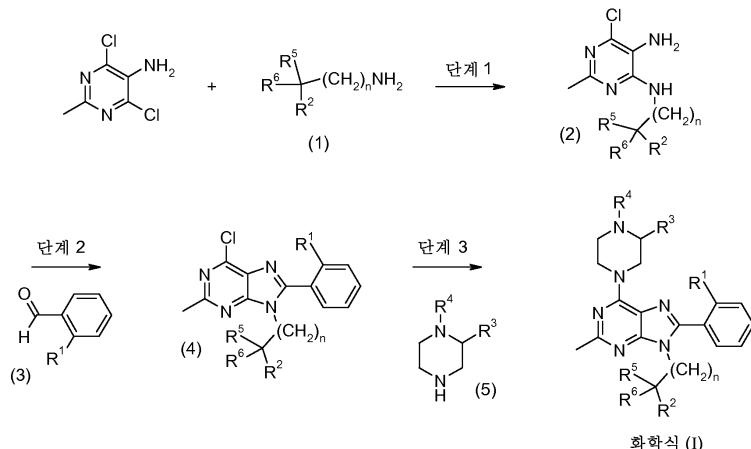
[0066] 적합한 보호기는 문헌 [T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1991] (이하, "문헌 [Greene]")에 기재된 것들을 포함한다. 문헌 [Greene]은 당업자에 의해 사용되는 적합한 보호기의 "보호" 및 "탈보호"에 대한 적절한 조건을 나타낸다.

[0067] 본 발명의 중간체 및 최종 생성물은 바람직한 경우에 통상의 기술, 예컨대 재결정화, 또는 고체 지지체, 예컨대 실리카겔 또는 알루미나 상에서의 크로마토그래피를 통해 추가로 정제될 수 있다.

[0068] 본 발명의 화합물에 대한 명칭은 IUPAC 명명 기능을 갖는 Symyx 버전 3.1.NET를 이용하여 생성한다.

[0069] 본원에서 사용되는 약어는 하기와 같이 정의된다: "염수"는 포화 수성 염화나트륨 용액을 의미하고; "BSA"은 소 혈청 알부민을 의미하고; "DCM"은 디클로로메탄을 의미하고; "DDQ"는 2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논을 의미하고; "DMAC"는 N,N-디메틸아세트아미드를 의미하고; "DMF"는 N,N-디메틸포름아미드를 의미하고; "EDTA"는 에틸렌디아민테트라아세트산을 의미하고; "EtOAc"는 에틸 아세테이트를 의미하고; "GDP"는 구아노신 디포스페이트를 의미하고; "HEPES"는 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄솔폰산을 의미하고; "IPA"는 2-프로판올을 의미하고; "IPAm"은 2-프로필아민을 의미하고; "MeOH"는 메탄올을 의미하고; "SCX"는 실리카 기재의 강한 양이온 교환 수지 칼럼, 일회용 카트리지 또는 등가물을 의미하고; "SFC"는 초임계 유체 크로마토그래피를 의미하고; "THF"는 테트라히드로푸란을 의미하고; "tBOC"는 tert-부톡시카르보닐을 의미한다.

[0070] <반응식 1>



[0071]

[0072] 화학식 I의 화합물은 반응식 1에 도시된 바와 같은 반응에 따라 제조될 수 있다.

[0073] 단계 1에서, 4,6-디클로로-2-메틸-피리미딘-5-일아민을 아민 (1)과 치환 반응에서 반응시켜 디아미노 피리미딘 (2)을 제공한다. 상기 반응은 적합한 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 디이소프로필에틸아민의 존재 하에, 적합한 용매, 예컨대 이소프로판올 중에서, 승온, 예컨대 약 100 내지 160°C에서, 바람직하게는 밀봉된 튜브에서 진행될 수 있다. 대안적으로, 상기 반응은 마이크로웨이브 조사를 이용하여 달성될 수 있다.

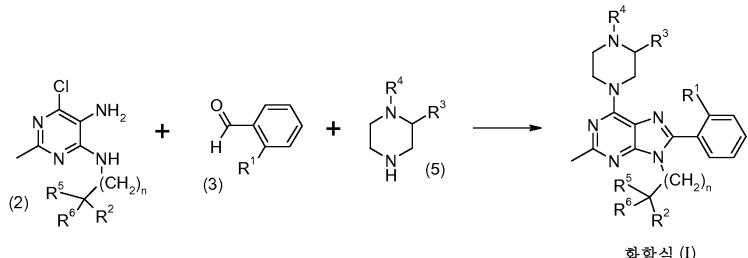
[0074] 단계 2에서, 이민은 산 촉매, 예컨대 실리카 상의 염화제2철, 또는 p-톨루엔솔폰산의 존재 하에 디아미노 피리미딘 (2) 및 벤즈알데히드 (3)로부터 형성된다. 상기 반응은 적합한 용매, 예컨대 1,4-디옥산 또는 톨루엔 중에서 승온, 예컨대 약 70 내지 110°C에서 발생한다. 실리카의 부재 하에, 분자체를 첨가하여 반응물로부터 물을 제거할 수 있다. 여과로 고체를 제거하고 농축시킨 후에, 이민의 산화 고리화는 적합한 용매, 예컨대 디클로로메탄 중에서, 옥시데이트, 예컨대 DDQ의 존재 하에 적합한 온도, 예컨대 약 -30 내지 40°C에서 달성되어 화합물 (4)의 6-클로로퓨린을 제공할 수 있다.

[0075] 단계 3에서, 6-클로로퓨린 (4)은 피페라진 (5)과의 치환 반응을 경험하여 화학식 I의 피페라지닐 퓨린을 제공한

다. 상기 반응은 적합한 염기, 예컨대 트리에틸아민 또는 디이소프로필에틸아민의 존재 하에 용매, 예컨대 메탄올, 에탄올 또는 이소프로판을 중에서 승온, 예컨대 약 50 내지 100°C에서 진행될 수 있다. 대안적으로, 상기 반응은 마이크로웨이브 조사를 이용하여 달성될 수 있다.

[0076] 피페라지닐 모이어터에 존재하는 아민 관능기가 적합한 보호기, 예컨대 tBOC에 의해 보호될 수 있다는 것이 당업자에 의해 인지될 것이다. 단계 3에서의 치환 후에, 보호기는 추후에 제거될 수 있고, 아민 아실화 또는 알킬화시켜 화학식 I의 화합물을 추가로 제조할 수 있다.

[0077] <반응식 2>

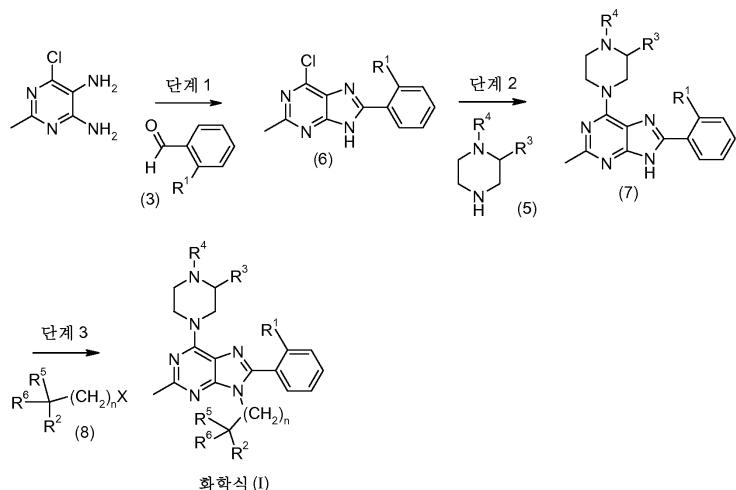


[0078]

반응식 2에서는 화학식 I의 화합물을 수득하기 위한 대안적 방법이 도시되어 있다.

[0080] 디아미노 피리미딘 (2)을 적합한 산화제, 예컨대 니트로벤젠 또는 아세트산의 존재 하에 벤즈알데히드 (3) 및 피페라진 (5)과 함께 합한다. 상기 반응은 반응물을 대기애 개방하면서 적합한 용매, 예컨대 메톡시벤젠 중에서 승온, 예컨대 약 120 내지 150°C에서 수행하여 화학식 I의 화합물을 제공한다.

[0081] <반응식 3>



[0082]

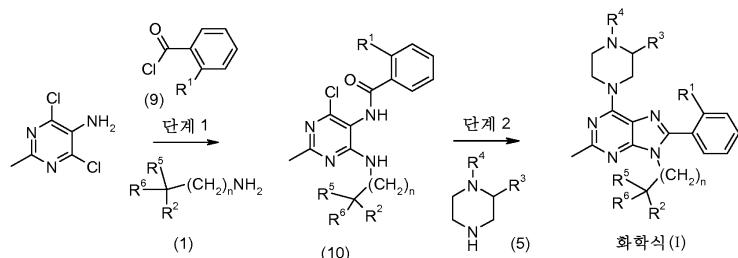
반응식 3에는 화학식 I의 화합물을 제조하기 위한 또 다른 대안이 도시되어 있다.

[0084] 단계 1에서, 본질적으로 상기 반응식 1, 단계 2에 기재된 바와 같이, 6-클로로-2-메틸-4,5-피리미딘디아민을 벤즈알데히드 (3)와 반응시켜 6-클로로퓨린 (6)을 제공한다. 단계 2에서, 본질적으로 상기 반응식 1, 단계 3에 기재된 바와 같이, 6-클로로퓨린 (6)을 피페라진 (5)과 반응시켜 피페라지닐 퓨린 (7)을 제공한다.

[0085] 단계 3에서, 피페라지닐 퓨린 (7)을 할로알칸 (8) (여기서, X = Br 또는 I)으로 알킬화시켜 화학식 I의 화합물을 제공한다. 당업자는 이러한 알킬화를 달성하기 위한 다양한 방법이 존재함을 인지할 것이다. 예를 들어, 피페라지닐 퓨린 (7)은 적합한 염기, 예컨대 수소화나트륨, 수소화칼륨, 탄산세슘 또는 탄산칼륨, 또는 나트륨 또는 칼륨 비스(트리메틸실릴)아미드로 처리할 수 있다. 적합한 용매는 불활성 용매, 예컨대 THF, 디옥산, DMF, DMAc 또는 N-메틸-2-피롤리디논을 포함한다. 바람직한 조건은 적합한 온도, 예컨대 약 -70 내지 50°C에서 THF 중 수소화나트륨을 사용하여 화학식 I의 화합물을 제공한다. 당업자는 화학식 I의 화합물 (여기서, R²는 말단 알콜을 함유함)이 적합한 보호기를 사용하여 알킬화 단계 동안 보호될 수 있고, 추후에 보호기를 제거할 수 있다는 것을 인지할 것이다.

[0086]

<반응식 4>



[0087]

반응식 4에는 화학식 I의 화합물을 제조하기 위한 또 하나의 대안이 도시되어 있다.

[0089]

단계 1에서, 5-아미노-4,6-디클로로-2-메틸피리미딘을 벤조일 클로라이드 (9)로 아실화시킨 다음, 아민 (1)으로 치환시켜 아미노 아미도 피리미딘 (10)을 제공한다. 상기 반응은 불활성 용매, 예컨대 디메틸 아세트아미드 또는 N-메틸-2-피롤리돈 중에서 승온, 예컨대 60 내지 100°C에서 벤조일 클로라이드 (9)의 존재 하에 달성된다. 물을 첨가하고, 계속 가열한 후에, 적합한 유기 염기, 예컨대 디이소프로필에틸아민 또는 트리에틸아민을 첨가한다. 이후에, 계속 가열하면서 아민 (1)을 첨가한다.

[0090]

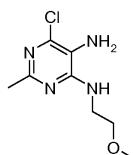
단계 2에서, 아미노 아미도 피리미딘 (10)을 밀봉된 용기에서 피페라진 (5)과 합하여 화학식 I의 화합물을 제공한다. 상기 반응은 적합한 용매, 예컨대 이소프로판을 중에서 승온, 예컨대 140 내지 180°C에서 적합한 유기 염기, 예컨대 디이소프로필에틸아민의 존재 하에 발생한다.

[0091]

제조예 1

[0092]

6-클로로-N4-(2-메톡시에틸)-2-메틸피리미딘-4,5-디아민



[0093]

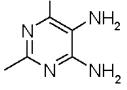
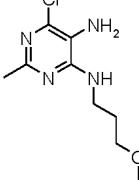
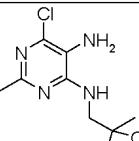
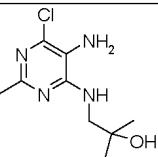
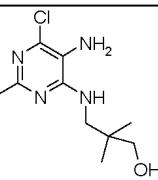
이소프로판을 (70 mL) 중 4,6-디클로로-2-메틸-피리미딘-5-일아민 (5.0 g, 0.02 mol), 2-메톡시에틸아민 (2.32 g, 0.03 mol) 및 디이소프로필에틸아민 (3.9 g, 0.03 mol)의 용액을 150°C에서 밀봉된 튜브에서 16시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 이소프로판을 감압 하에 제거하여 잔류물을 얻었다. 잔류물을 디클로로메탄 중에 용해시키고, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 잔류물을 메탄올:디클로로메탄 (4:96)으로 용리하는 실리카겔 칼럼 상에서 정제하여 표제 화합물 (5.0 g)을 얻었다.

[0095]

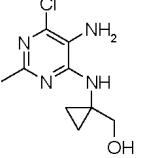
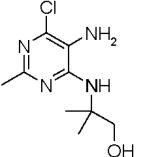
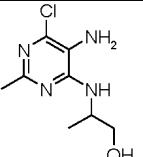
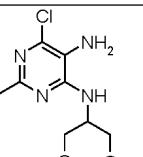
ES/MS m/z 217 (M+1).

[0096]

적절한 아민 및 4,6-디클로로-2-메틸-피리미딘-5-일아민을 사용하여, 본질적으로 제조예 1에서 기재된 바와 같은 절차에 따라, 하기 표에서의 디아미노 피리미딘을 제조하였다. 에틸 아세테이트/헥산으로 용리하는 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 제조예 3, 4 및 7을 정제하였다. 아세톤/헥산으로 용리하는 실리카겔 크로마토그래피를 이용하여 제조예 9를 정제하였다. MeOH 중 NH₃ 7M을 용리액으로 사용하는 바이오타지 아이솔루트 (Biotage Isolute)® SCX-2 (프로필су阜산 관능화 실리카)를 이용하여 제조예 10을 정제하였다.

제조예	화학 명칭	구조	ES/MS m/z
2	6-클로로-2-메틸-파리미딘-4,5-디아민		159 (M+1)
3	6-클로로-N4-(3-메톡시프로필)-2-메틸-파리미딘-4,5-디아민		231 (M+1)
4	6-클로로-N4-(2-메톡시)-2-메틸-파리미딘-4,5-디아민		245 (M+1)
5	1-[(5-아미노-6-클로로-2-메틸-파리미딘-4-일)아미노]-2-메틸-프로판-2-올		231 (M+1)
6	3-[(5-아미노-6-클로로-2-메틸-파리미딘-4-일)아미노]-2,2-디메틸-프로판-1-올		245 (M+1)

[0097]

7	1-[(5-아미노-6-클로로-2-메틸-파리미딘-4-일)아미노]-메틸]-시클로프로판 올		229 (M+1)
8	1-(5-아미노-6-클로로-2-메틸-파리미딘-4-일)아미노)-2-메틸-프로판-2-올		231 (M+1)
9	2-(5-아미노-6-클로로-2-메틸-파리미딘-4-일)아미노)-프로판-1-올		217 (M+1)
10	6-클로로-N*4*-(2-메톡시)-1-메톡시메틸-에틸)-2-메틸-파리미딘-4,5-디아민		261 (M+1)

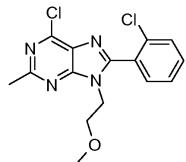
[0098]

[0099]

제조예 11

[0100]

6-클로로-8-(2-클로로페닐)-9-(2-메톡시에틸)-2-메틸-퓨린



[0101]

[0102]

1,4-디옥산 (150 mL) 중 6-클로로-N4-(2-메톡시에틸)-2-메틸피리미딘-4,5-디아민 (5.0 g, 0.023 mol), 2-클로로벤즈알데히드 (4.8 g, 0.03 mol), SiO_2 상의 15% FeCl_3 (20 g)의 용액을 16시간 동안 100°C로 가열하였다. 규조토를 통한 여과에 의해 실리카를 제거하고, 여과물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 잔류물을 건조 디클로로메탄 (150 mL) 중에 용해시키고, DDQ (5.2 g, 0.022 mol)를 0°C에서 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 디클로로메탄으로 희석시키고, 1N 수산화나트륨 용액, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 얻었다. 잔류물을 에틸 아세테이트:n-헥산 (40:60)으로 용리하는 실리카 겔 칼럼 상에서 정제하여 표제 화합물 (2.9 g)을 얻었다.

[0103]

ES/MS m/z 337 (M+1).

[0104]

적절한 디아미노 피리미딘 및 2-클로로벤즈알데히드 또는 2-메틸벤즈알데히드를 사용하여, 본질적으로 제조예 11에서 기재된 바와 같은 절차에 따라, 하기 표에서의 페닐퓨린을 제조하였다. 아세톤/헥산을 용리액으로 사용하는 실리카 겔 크로마토그래피를 이용하여 제조예 17을 정제하였다.

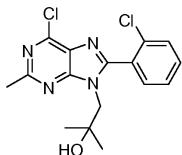
제조 예	화학 명칭	구조	ES/MS m/z
12	6-클로로-8-(2-클로로페닐)-2-메틸-9H-퓨린		279 (M+1)
13	6-클로로-8-(2-클로로페닐)-9-(3-메톡시프로필)-2-메틸-퓨린		351 (M+1)
14	6-클로로-8-(2-클로로페닐)-9-(2-메톡시)-2-메틸-프로필)-2-메틸-퓨린		365 (M+1)
15	2-[6-클로로-2-메틸-8-(o-톨릴)퓨린-9-일]에탄올		303 (M+1)
16	2-[6-클로로-8-(2-클로로페닐)-2-메틸-퓨린-9-일]-2-메틸-프로판-1-올		351 (M+1)
17	(±) 2-[6-클로로-8-(2-클로로페닐)-2-메틸-퓨린-9-일]프로판-1-올		337 (M+1)

[0105]

제조 예 18

[0106]

1-(6-클로로-8-(2-클로로페닐)-2-메틸-퓨린-9-일)-2-메틸-프로판-2-올



[0108]

[0109]

톨루엔 (25 mL) 중 1-(5-아미노-6-클로로-2-메틸파리미딘-4-일아미노)-2-메틸프로판-2-올 (0.5 g, 0.002 mol), 2-클로로벤즈알데히드 (0.6 g, 0.004 mol), p-톨루엔 술폰산 (0.1 g) 및 분자체 (1.0 g)의 혼합물을 16시간 동안 130°C로 가열하였다. 분자체를 규조토를 통한 여과에 의해 제거하고, 여과물을 감압 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 잔류물을 건조 디클로로메탄 (5 mL) 중에 용해시키고, DDQ (0.47 g, 0.002 mol)를 0°C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 디클로로메탄으로 희석하고, 1N 수산화나트륨 용액, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 얻었다. 잔류물을 메탄올:디클로로메탄 (2:98)으로 용리하는 실리카 젤 칼럼 상에서 정제하여 표제화합물 (0.4 g)을 얻었다.

[0110]

ES/MS m/z 351 (M+1).

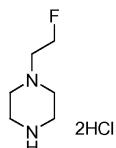
[0111] 3-[(5-아미노-6-클로로-2-메틸-피리미딘-4-일)아미노]-2,2-디메틸-프로판-1-올 및 2-클로로벤즈알데히드를 사용하여, 본질적으로 제조예 18에서 기재된 바와 같은 절차에 따라, 하기 표에서의 페닐퓨린을 제조하였다.

제조 예	화학 명칭	구조	ES/MS m/z
19	3-[6-클로로-8-(2-클로로페닐)-2-메틸-퓨린-9-일]-2,2-디메틸-프로판-1-올		365 (M+1)

[0112]

[0113] 제조예 20

[0114] 1-(2-플루오로에틸)피페라진 디히드로클로라이드



[0115]

[0116] 반응 용기를 N-tert-부톡시카르보닐피페라진 (1.600 g, 8.590 mmol), 탄산칼륨 (3.56 g, 25.77 mmol), 아이오딘화나트륨 (촉매량) (10 mg, 66.7 μ mol), 1,4-디옥산 (20 mL) 및 1-브로모-2-플루오로에탄 (704.0 μ L, 9.45 mmol)으로 충전시켰다. 혼합물을 환류 온도에서 밤새 교반하면서 가열하였다. 반응 완료 시, 실온으로 냉각시키고, 감압 하에 농축시켰다. 생성된 잔류물을 에틸 아세테이트 및 물에 분배하였다. 유기 층을 분리하고, 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 순수한 4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-카르복실산 tert-부틸 에스테르를 수득하였다.

[0117]

GC-MS m/z 232 (M).

[0118]

1,4-디옥산 중 4N HCl (21.52 mL, 86.1 mmol)을 건조 디클로로메탄 (60 mL) 중 4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-카르복실산 tert-부틸 에스테르 (2.00 g, 8.61 mmol)의 교반된 용액에 실온에서 질소 하에 첨가하였다. 질소 하에 밤새 교반하였다. 반응물을 감압 하에 농축시켜 표제 화합물 (1.78 g)를 수득하였다.

[0119]

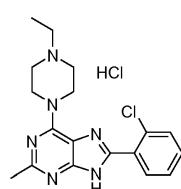
ES/MS m/z 133 (M+1).

[0120]

제조예 21

[0121]

8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-2-메틸-9H-퓨린 히드로클로라이드



[0122]

[0123] 에탄올 (10 mL) 중 6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9H-퓨린 (0.5 g, 0.0017 mol), N-에틸 피페라진 (0.22g, 0.0019 mol) 및 트리에틸 아민 (0.22 g, 0.0022 mol)의 용액을 90°C에서 8시간 동안 가열하였다. 대안적으로, 반응물을 마이크로웨이브 조사로 가열하였다. 반응 완료 시, 반응 혼합물을 감압 하에 농축시켰다. 잔류물을 건조 디클로로메탄 중에 용해시키고, 포화 중탄산나트륨 용액, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 감압 하에 농축시켜 잔류물을 얻었다. 잔류물을 MeOH:DCM (2:98)을 용리액으로 사용하는 실리카 젤 칼럼 상에서 정제하여 8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-2-메틸-9H-퓨린 (0.25 g)을 얻었다. HCl (에탄올 중 2 M 용액) (1.0 eq)을 건조 에테르 (2.5 mL) 중 8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-2-메틸-9H-퓨린 (0.25 g, 0.0007 mol)의 혼합물에 0°C에서 첨가하고, 1시

간 동안 실온에서 교반하였다. 침전물을 여과하고, 에테르 및 DCM으로 세척하였다. 진공 하에 건조시켜 표제 화합물 (0.275 g)을 백색 고체로서 수득하였다.

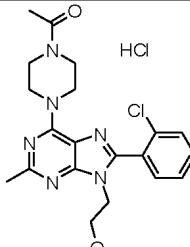
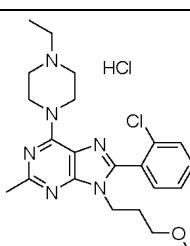
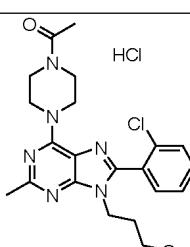
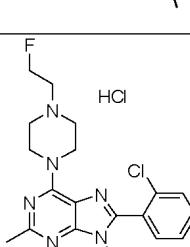
[0124] ES/MS m/z 357 (M+1).

[0125] 대안적으로, 유리 염기를 아세톤, 1:1 아세토니트릴:물 또는 또 다른 적합한 유기 용매 중에 용해시킴으로써 HCl 염을 제조하고, 이어서 교반하면서 수성 또는 에테르성 HCl의 용액을 첨가하였다. 이어서, 동결건조시켜 히드로클로라이드 염을 수득하였다.

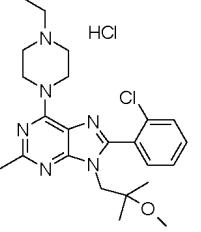
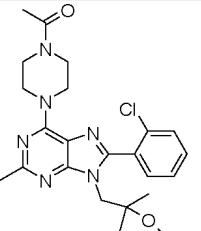
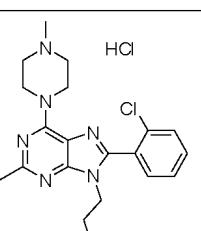
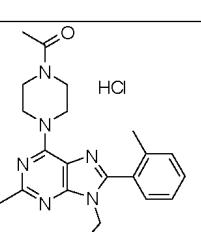
[0126] 적절하게 치환된 피페라진 및 치환된 6-클로로퓨린을 사용하여, 본질적으로 제조예 21에서 기재된 바와 같은 절차에 따라, 하기 표에서의 페닐 피페라지닐퓨린을 제조하였다. 달리 나타내지 않는 한, 아세톤/헥산 또는 MeOH/DCM을 용리액으로 사용하는 정상 실리카 겔 크로마토그래피를 이용하여 유리 염기 생성물을 정제하였다.

실시 예 또는 제조 예	화학 명칭	구조	ES/MS m/z
제조 예 22	tert-부틸 4-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-히드록시-2-메틸-프로필)-2-메틸-퓨린-6-일]피페라진-1-카르복실레이트		501 (M+1)
실시 예 1	8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-9-(2-메톡시에틸)-2-메틸-퓨린 히드로클로라이드		415 (M+1)
실시 예 2	8-(2-클로로페닐)-6-[4-(2-플루오로에틸)피페라진-1-일]-9-(2-메톡시에틸)-2-메틸-퓨린 히드로클로라이드		433 (M+1)

[0127]

실시 예 3	1-[4-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-메톡시에틸)-2-메틸-퓨린-6-일]피페라진-1-일]에타논 히드로클로로라이드		429 (M+1)
실시 예 4	8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-9-(3-메톡시프로필)-2-메틸-퓨린 히드로클로로라이드		429 (M+1)
실시 예 5	1-[4-[8-(2-클로로페닐)-9-(3-메톡시프로필)-2-메틸-퓨린-6-일]피페라진-1-일]에타논 히드로클로로라이드		443 (M+1)
실시 예 6	8-(2-클로로페닐)-6-[4-(2-플루오로에틸)피페라진-1-일]-9-(3-메톡시프로필)-2-메틸-퓨린 히드로클로로라이드		447 (M+1)

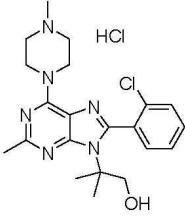
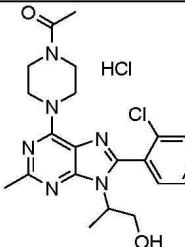
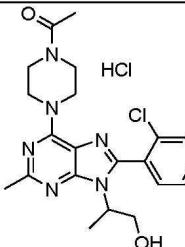
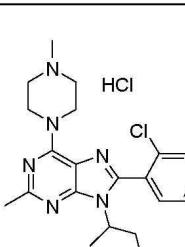
[0128]

실시 예 7	8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-9-(2-메톡시-2-메틸-프로필)-2-메틸-퓨린 히드로클로라이드		443 (M+1)
실시 예 8	1-[4-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-메톡시-2-메틸-프로필)-2-메틸-퓨린-6-일]피페라진-1-일]에탄논		457 (M+1)
실시 예 9	2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]에탄올 히드로클로라이드		387 (M+1)
실시 예 10	1-[4-[9-(2-히드록시에틸)-2-메틸-8-(o-톨릴)퓨린-6-일]피페라진-1-일]에탄논 히드로클로라이드		395 (M+1)

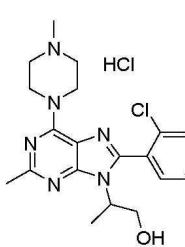
[0129]

실시 예 11	2-[2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)-8-(o-톨릴)퓨린-9-일]에탄올 히드로클로로라이드		367 (M+1)
실시 예 12	1-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]-2-메틸-프로판-2-올 히드로클로로라이드		415 (M+1)
실시 예 13	1-[4-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-히드록시-2-메틸-프로필)-2-메틸-퓨린-6-일]피페라진-1-일]에타논 히드로클로로라이드		443 (M+1)
실시 예 14	3-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]-2,2-디메틸-프로판-1-올 히드로클로로라이드		429 (M+1)

[0130]

실시 예 15	2-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-퓨린-9-일]-2-메틸-프로판-1-올 히드로클로로라이드 ^a		415 (M+1)
실시 예 16	1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-9-(2-히드록시-1-메틸-에틸)-2-메틸-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로로라이드, 이성질체 1 ^b		429 (M+1)
실시 예 17	1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-9-(2-히드록시-1-메틸-에틸)-2-메틸-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로로라이드, 이성질체 2 ^b		429 (M+1)
실시 예 18	2-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-퓨린-9-일]-프로판-1-올 히드로클로로라이드, 이성질체 1 ^c		401 (M+1)

[0131]

실시 예 19	2-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-퓨린-9-일]-프로판-1-올 히드로클로로라이드, 이성질체 2 ^c		401 (M+1)
------------	--	---	-----------

[0132]

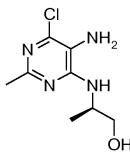
^a 역상 정제용 HPLC, 워터스(Waters)® 엑스-브릿지, 용리액: 9→100% 아세토니트릴/물 pH10 (NH_4CO_3).

^b 키랄 분리에 의한 정제: 디아셀(Diacel) OJ-H SFC, 용리액: 12% MeOH (0.2% IPAm)/ CO_2 . 이성질체 1 (100% ee) 및 이성질체 2 (91.1% ee).

^c 키랄 분리에 의한 정제: 디아셀 AD-H SFC, 용리액: 10% IPA (0.2% 디에틸메틸아민)/ CO_2 . 이성질체 1 (100% ee) 및 이성질체 2 (100% ee).

제조예 23

[0137] (2R)-2-[(5-아미노-6-클로로-2-메틸-파리미딘-4-일)아미노]프로판-1-올



[0138]

[0139] 오버헤드 교반기, 환류 코일 응축기, 온도계 및 첨가 깔때기가 장착된 아이소맨틀(isomantle) 상에 탑재된 10L 플랜지 플라스크 내에 4,6-디클로로-2-메틸-파리미딘-5-일아민 (307 g, 1.72 mol)을 충전시켰다. 이어서, 상기 플라스크에 이소프로필 알콜 (3.45 L)을 첨가하고 교반하여 투명한 연황색 용액을 얻었다. 트리에틸아민 (456.7 mL, 3.28 mol)을 상기 플라스크에 교반하면서 한번에 첨가하고, 50°C로 가온시켰다. 첨가 깔때기로부터 (R)-(-)-2-아미노-1-프로판올 (194.30 g, 202.10 mL, 2.59 mol)을 30분에 걸쳐 서서히 첨가하였다. 최종 첨가 후에, 반응 혼합물을 환류 하에 36시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 냉각시켰다. 추가의 (R)-(-)-2-아미노-1-프로판올 (64.77 g, 67.37 mL, 862.26 mmol, 0.5 eq) 및 트리에틸아민 (174.51 g, 240.37 mL, 1.72 mol, 1.0 eq)을 반응 혼합물에 첨가하고, 18시간 동안 환류시켰다. 반응 혼합물을 냉각시켰다. 추가의 (R)-(-)-2-아미노-1-프로판올 (32.38 g, 33.68 mL, 431.13 mmol, 0.25 eq) 및 트리에틸아민 (87.25 g, 120.18 mL, 862.26 mmol, 0.5 eq)을 반응 혼합물에 첨가하고, 6시간 동안 환류로 가열하였다. 48시간 동안 주위 온도에서 교반하면서 냉각시켰다.

[0140]

용매를 회전 증발에 의해 제거하여 회백색 반-고체를 수득하였다. 물 (500 mL)을 첨가하고, 잔류 이소-프로판올을 생성된 백색 슬러리로부터 회전 증발에 의해 제거하였다. 백색 고체를 여과로 수집하고, 물 (1 x 200 mL, 1 x 130 mL)로 세척하였다. 백색 고체를 진공 오븐에서 고체 수산화칼륨 상에서 50°C에서 건조시켜 표제 화합물 (222.6 g)을 수득하였다.

[0141]

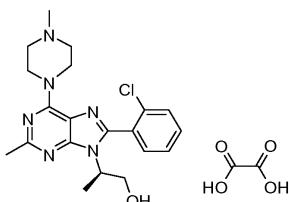
ES/MS m/z 217 (M+1).

[0142]

실시 예 20

[0143]

(2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸파페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올; 옥살산



[0144]

[0145] 공기에 개방되어 있는 10L 재킷화된 반응기 내에서 (2R)-2-[(5-아미노-6-클로로-2-메틸-파리미딘-4-일)아미노]프로판-1-올 (228 g, 1.05 mol) 및 1-메틸파페라진 (210.80 g, 233.9 mL, 2.1)을 디메틸 술폴시드 (3.16 L) 중에 용해시켰다. 2-클로로벤즈알데히드 (221.88 g, 1.58 mol)를 플라스크에 첨가한 다음, 트리에틸아민 (127.78 g, 176 mL, 1.26 mol) 및 니트로벤젠 (129.55 g, 1.05 mol)을 첨가하였다. 혼합물을 3.5시간 동안 140°C로 가열한 다음 냉각시켰다. 18시간 동안 실온에서 교반하였다.

[0146]

20 L 플라스크에 수용된 물 (7.5 L) 중에 상기 반응 혼합물을 교반하면서 부었다. 30분 후에, 디클로로메탄 (1 x 7.5 L, 1 x 5 L)을 함유한 암갈색 오일을 추출하고, 유기 층을 분리하였다. 합한 유기 층을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 오일을 수득하였다. 상기 오일을 테트라히드로푸란 (3.2 L) 중에 용해시키고, 빠르게 교반하면서 테트라히드로푸란 (2.1 L) 중 옥살산 (94.74 g, 1.05 mol, 1 eq)의 용액으로 처리하였다. 반응 혼합물을 15분 동안 45°C로 가온시킨 다음, 뜨거운 혼합물을 중력 여과 하에 여과하였다. 수동으로 고체를 교반하면서, 필터 케이크를 에틸 아세테이트-테트라히드로푸란 (1:1) 및 최종적으로 에테르로 수회 세척하였다. 상기 고체를 진공 오븐에서 건조시켜 표제 화합물 (329.4 g)을 밝은 갈색 고체로서 수득하였다.

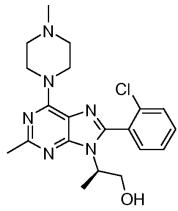
[0147]

$[\alpha]_D @ 20^\circ\text{C} = -6$, Conc = 0.101 g/100 mL (MeOH).

[0148]

실시 예 20a

[0149] (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올



[0150]

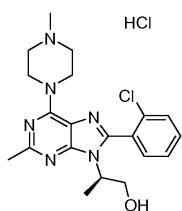
[0151] (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올 옥살레이트 염 (330.3 g, 674.17 mmol)을 빠르게 교반된 2M 수성 수산화나트륨 (1.01 L, 2.02 mol) 용액에 첨가하였다. 20분 동안 교반하고, 이어서 디클로로메탄 (5 L, 이어서 2.5 L)으로 추출하고, 물 (2.5 L) 및 이어서 염수 (1.5 L)로 세척하였다. 추가의 유리 염기 물질 (15.3 g) (본질적으로 상기 기재된 바와 같은 파일럿 반응에서 발생함)을 상기 디클로로메탄 용액에 첨가하였다. 상기 디클로로메탄 용액을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 중발시켜 금색 결정질 고체를 수득하였다. 상기 고체를 진공 하에 건조시켜 표제 화합물 (264.5 g)을 수득하였다.

[0152]

ES/MS m/z 401.2 (M+1). $[\alpha]^{20}_D -4.1$ (c 1, MeOH).

[0153] 실시 예 20b

[0154] (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올 히드로클로라이드



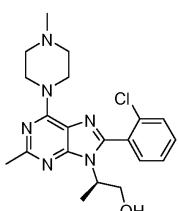
[0155]

[0156] 질소 입구가 설비된 250 mL 둥근 바닥 플라스크에서 (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올 (15.29 g, 38.14 mmol)을 디에틸 에테르 (114 mL) 중에 용해시키고, 디옥산 중 4N 염화수소 (9.53 mL, 38.14 mmol)로 처리하였다. 2.5시간 동안 실온에서 교반하고, 이어서 진공 여과에 의해 고체를 수집하였다. 디에틸 에테르 (300 mL)로 세척하고, 이어서 진공 하에 건조시켜 표제 화합물 (12.1 g)을 수득하였다.

[0157] ES/MS m/z 401.2 (M+1 - HCl).

[0158] 실시 예 20c

[0159] (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올



[0160]

[0161] 2L 플라스크에서, (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올 (202.1 g, 504.10 mmol)을 아세토니트릴 (1.26 L)로 처리하고, 30분 동안 실온에서 교반하였다. 고체를 여과로 수집하고, 아세토니트릴 (250 mL)로 세척하고, 공기 건조시키고, 이어서 40°C에서 진공 하에 건조시켜 순수한 표제 화합물 (134.1 g)을 수득하였다. 키랄 SFC에 의해 광학 순도를 측정하여 단일 거울상이성질체를 나타냈다.

[0162] ES/MS m/z 401.2 (M+1).

[0163] 키랄 HPLC 조건: 디아셀 AD-H, 10% IPA, 0.2% 이소프로필아민, 89.8% 초임계 이산화탄소, UV (220 nm), $T_R =$

4.22분, 100% ee.

[0164] (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올에 대한 대안적 경로

[0165] 제조예 23a

[0166] 2-클로로-N-[4-클로로-6-[(1R)-2-히드록시-1-메틸-에틸]아미노]-2-메틸-파리미딘-5-일]벤즈아미드



[0167]

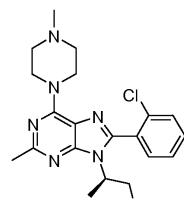
환류 응축기, 교반기 막대 및 질소 입구/출구가 장착된 250 mL 3구 등근 바닥 플라스크에서 2-클로로벤조일 클로라이드 (10.44 g, 57.86 mmol), 5-아미노-4,6-디클로로-2-메틸파리미딘 (10 g, 56.17 mmol) 및 N-메틸파롤리돈 (44 mL)을 합하고, 5시간 동안 80°C로 가열하였다. 물 (506 μL)을 첨가하고, 가열 조건 하에 20분 동안 계속 교반한 후에, 디이소프로필에틸아민 (29.4 mL, 168.52 mmol)을 첨가하였다. 이어서, (R)-(-)-2-아미노-1-프로판올 (6.23 mL, 79.77 mmol)을 한번에 첨가한 다음, N-메틸파롤리돈 (10 mL)으로 세정하였다. 17시간 동안 80°C에서 계속 가열하였다. 반응 용액을 실온으로 냉각시키고, 이어서 10분에 걸쳐 첨가 짤때기를 통해 물 (112 mL)을 적가하였다. 35분 동안 실온에 교반을 계속하고, 이어서 에틸 아세테이트 (300 mL)에 부었다. 상을 분리하고, 수성물을 에틸 아세테이트 (2 x 200 mL)로 추출하였다. 합한 유기 부분을 물 (200 mL) 및 이어서 염수 (200 mL)로 세척하고, 황산마그네슘 상에서 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 오렌지색 오일을 수득하였다. 여과에 의한 수집 후에, 이것을 tert-부틸 메틸 에테르로 연화처리하여 백색 고체를 수득하였다. 고체를 필터 상에서 0.5시간 동안 및 이어서 진공 오븐 내 50°C에서 건조시켜 표제 화합물 (15.1 g)을 수득하였다.

[0169]

ES/MS m/z 355.0 / 357.0 (M+1).

[0170] 실시예 20d

[0171] (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올



[0172]

기계적 교반기를 갖는 300 mL 파르(Parr) 오토클레이브에서 2-클로로-N-[4-클로로-6-[(1R)-2-히드록시-1-메틸-에틸]아미노]-2-메틸-파리미딘-5-일]벤즈아미드 (13.0 g), IPA (11 mL), N-메틸파페리진 (7.1 mL) 및 디이소프로필에틸아민 (7.0 mL)을 합하였다. 반응 용기를 밀봉하고, 24시간 동안 160°C로 가열하였다. 모든 휘발성 물질을 증발시키고, 디클로로메탄 (100 mL) 중에 용해시켜 암색 용액을 얻었다. 물 (2 x 50 mL)로 세척하고, 소수성 프릿을 이용하여 건조시키고, 모든 용매를 감압 하에 증발시켰다. 생성된 고체를 취하고, 아세토니트릴 (85 mL) 중에 용해시키고, 교반하였다. 1.5시간 후에, 고체를 여과로 수집하고, 공기 건조시킨 후에, 진공 하에 건조시켜 표제 화합물 (10.73 g)을 수득하였다. 키랄 SFC에 의해 광학 순도를 측정하여 단일 거울상이성질체를 나타냈다.

[0174]

ES/MS m/z 401.2 (M+1).

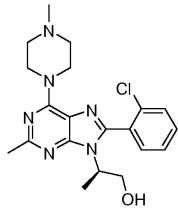
[0175]

키랄 HPLC 조건: 디아셀 AD-H, 10% IPA, 0.2% 이소프로필아민, 89.8% 초임계 이산화탄소, UV (220 nm), T_R = 4.22분, 100% ee.

[0176]

실시예 20e

[0177] (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올



[0178]

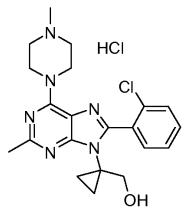
[0179] (2R)-2-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)퓨린-9-일]프로판-1-올 (800 mg, 실시 예 20a)을 아세토니트릴 (5 mL)과 혼합하였다. 생성된 투명한 암갈색 용액을 실온에서 500 rpm으로 교반하고, 교반 1분 후에, 백색 고체가 침전되기 시작했다. 샘플을 10분 동안 교반하여 가능한 많은 물질이 용액으로부터 침전되도록 하였다. 백색 고체를 진공 여과로 단리하고, 아세토니트릴 1 mL로 세정하였다. 상기 물질을 진공 오븐 내 85 °C에서 1시간 동안 건조시켜 505 mg을 회수하였다. CuKa 방사선을 공급원 ($\lambda = 1.54060 \text{ \AA}$)으로 사용하는 XRD 회절 피크는 하기 표에 정리하였다.

피크	각도 (° 2-세타) +/- 0.2°	상대 강도 (최고 강도 피크의 %)	d 값 (옹스트롬)
1	8.26	100.00	10.69
2	19.68	96.50	4.51
3	14.81	60.60	5.98
4	13.20	59.20	6.70
5	23.92	57.10	3.72
6	15.97	53.30	5.55
7	23.08	49.60	3.85
8	25.70	44.40	3.46
9	10.93	37.90	8.09
10	21.02	27.90	4.22

[0180]

[0181] 실시 예 21

[0182] {1-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-퓨린-9-일]-시클로프로필} 메탄올 히드로클로라이드



[0183]

[0184] 공기에 개방된 플라스크를 이용하여 메톡시벤젠 (15.28 mL) 중 1-(5-아미노-6-클로로-2-메틸-피리미딘-4-일아미노)-시클로프로필]-메탄을 (1.165 g, 5.09 mmol) 및 N-메틸피페리진 (622.70 μL , 5.60 mmol)의 용액을 교반하였다. 2-클로로벤즈알데히드 (860.03 μL , 7.64 mmol)에 이어 니트로벤젠 (522.22 μL , 5.09 mmol)을 한번에 첨가하고, 온도를 140°C로 상승시켰다. 반응물을 140°C에서 10시간 동안 교반하였다. 반응물을 회전 증발기로 이동시켜 회발성 물질을 제거하였다. 2N 염산 (500 mL)으로 회석하고, 디클로로메탄 (500 mL)으로 세척하였다. 유기 층을 따라내고, 산 분획을 수성 진한 수산화나트륨으로 pH=14까지 처리하였다. 생성물을 디클로로메탄으로 추출하고, MgSO_4 상에서 건조시키고, 증발시켜 갈색 오일을 수득하였다.

[0185]

정상 SFC (디니트로페닐 칼럼, 20%MeOH (0.2% 디에틸메틸아민), 80% CO_2)를 이용하여 조 물질을 정제하였다. 유리 염기를 물:아세토니트릴 2:1 또는 또 다른 적합한 유기 용매 중에 용해시킨 다음, 교반하면서 수성 또는 에테르성 HCl를 첨가함으로써 HCl 염을 제조하였다. 동결건조시켜 표제 화합물의 히드로클로라이드 염 (390 mg)을 고체로서 수득하였다.

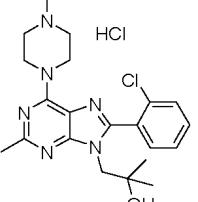
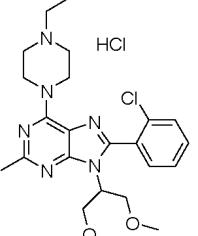
[0186]

ES/MS m/z 413 (M+1).

[0187]

적절하게 치환된 디아미노 피리미딘, 2-클로로벤즈알데히드, 및 N-메틸 또는 N-에틸피페라진을 사용하여, 본질

적으로 실시예 21에서 기재된 바와 같은 절차에 따라, 하기 표에서의 페닐 피페라지닐퓨린을 제조하였다.

실시예	화학 명칭	구조	ES/MS m/z
22	1-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-퓨린-9-일]-2-메틸-프로판-2-올 히드로클로라이드 ^a		415 (M+1)
23	8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-9-(2-메톡시-1-메톡시 메틸-에틸)-2-메틸-9H-퓨린 히드로클로라이드 ^b		459 (M+1)

[0188]

[0189] ^a 정제용 역상 HPLC에 의한 정제: 페노메넥스 제미니(Phenomenex Gemini)®, 5 마이크로미터 C-18 칼럼; 용리액: 물 중 10→100% 아세토니트릴, 0.1% TFA.

[0190]

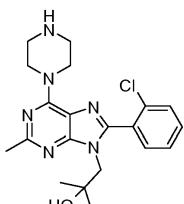
^b 정상 실리카 겔 크로마토그래피에 의한 정제. 용리액: MeOH/DCM 중 0→10% 7M NH₃.

[0191]

제조예 24

[0192]

1-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-피페라진-1-일-퓨린-9-일]-2-메틸-프로판-2-올



[0193]

[0194]

트리플루오로아세트산 (10 mL)을 디클로로메탄 (10 mL) 중 tert-부틸 4-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-히드록시-2-메틸-프로필)-2-메틸-퓨린-6-일]피페라진-1-카르복실레이트 (1.9 g, 0.0038 mol)의 용액에 0°C에서 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 중탄산나트륨 용액으로 켄칭하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 표제 화합물 (1.5 g)을 얻었다.

[0195]

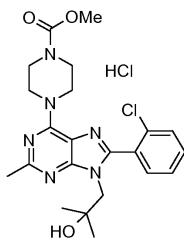
ES/MS m/z 401 (M+1).

[0196]

실시예 24

[0197]

메틸 4-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-히드록시-2-메틸-프로필)-2-메틸-퓨린-6-일]피페라진-1-카르복실레이트 히드로클로라이드



[0198]

[0199] 메틸 클로로포르메이트 (0.29 g, 0.0031 mol)를 건조 디클로로메탄 (3 mL) 중 1-[8-(2-클로로페닐)-2-메틸-6-피페라진-1-일-퓨린-9-일]-2-메틸-프로판-2-올 (0.001 mol, 0.5 g) 및 피리딘 (2.0 mL)의 용액에 0°C에서 첨가하고, 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 반응 혼합물을 포화 중탄산나트륨 용액으로 켄칭하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 얻었다. 잔류물을 메탄올:디클로로메탄 (3:97)을 용리액으로 사용하는 실리카겔 칼럼 상에서 정제하여 메틸 4-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-히드록시)-2-메틸-프로필]-2-메틸-퓨린-6-일]피페라진-1-카르복실레이트 (0.3 g)를 얻었다.

[0200]

ES/MS m/z 459 (M+1).

[0201]

[0201] HCl (에테르 중 2.0 M 용액) (0.023 g, 0.0006 mol)을 에테르 (4 mL) 중 메틸 4-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-히드록시)-2-메틸-프로필]-2-메틸-퓨린-6-일]피페라진-1-카르복실레이트 (0.3 g, 0.0006 mol)의 용액에 0°C에서 첨가하고, 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 침전물을 여과하고, 에테르로 세척하고, 진공 하에 건조시켜 표제 화합물 (0.24 g)을 백색 고체로서 얻었다.

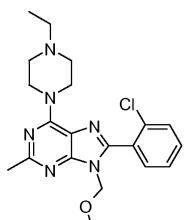
[0202]

ES/MS m/z 459 (M+1).

[0203] 실시예 25

[0204]

8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-9-(메톡시메틸)-2-메틸-퓨린



[0205]

[0206] 수소화나트륨 (0.031 g, 0.0013 mol)을 건조 테트라하이드로푸란 (20 mL) 중 8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-2-메틸-9H-퓨린 (0.233 g, 0.00065 mol)의 용액에 0°C에서 첨가하였다. 반응 혼합물을 15분 동안 교반하고, -30°C로 냉각시키고, 브로모메틸 메틸 에테르 (0.081 g, 0.00065 mol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온으로 가온시키고, 1시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 물로 켄칭하고, 테트라하이드로푸란을 증발로 제거한 다음, 반응 혼합물을 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 잔류물을 얻었다. 잔류물을 정제용 역상 HPLC (엑스-브릿지 칼럼, 5 mM NH₄OAc/아세토니트릴)을 통하여 정제하여 표제 화합물 (0.029 g)을 얻었다.

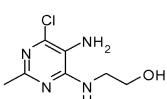
[0207]

ES/MS m/z 401 (M+1).

[0208] 제조예 25

[0209]

2-[(5-아미노-6-클로로-2-메틸-피리미딘-4-일)아미노]에탄올



[0210]

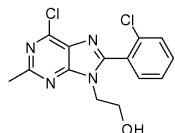
[0211] 1L 오토클레이브를 5-아미노-4,6-디클로로-2-메틸피리미딘 (50.0 g, 0.281 mol), 2-아미노 에탄올 (18.8 g, 0.309 mol), 디이소프로필에틸아민 (54.5 g, 0.421 mol) 및 IPA (500 mL)로 충전시켰다. 24 내지 30시간 동안 교반하면서, 혼합물을 145 내지 155°C로 가열하였다. 반응물을 25 내지 30°C로 냉각시켰다. 반응 혼합물을 농

축시키고, 용매를 진공 하에 50°C 미만에서 제거하였다. DCM (500 mL)을 혼합물에 충전시키고, 10 내지 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 케이크를 오븐 내 45 내지 50°C에서 건조시켜 생성물을 연황색 고체 (35.0 g)로서 얻었다.

[0212] ^1H NMR (dmso- d_6): δ 6.76 (s, 1H); 4.79 (s, 3H); 3.53-3.37 (m, 4H); 2.09 (s, 3H).

[0213] 제조예 26

[0214] 2-[6-클로로-8-(2-클로로페닐)-2-메틸-퓨린-9-일]에탄올



[0215]

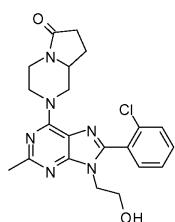
[0216] 500 mL 3구 등근 바닥 플라스크를 2-[(5-아미노-6-클로로-2-메틸-파리미딘-4-일)아미노]에탄올 (13.0 g, 0.064 mol) 및 1,4-디옥산 (300 mL)으로 충전시켰다. 2-클로로벤즈알데히드 (13.5 g, 0.096 mol)에 이어 염화철 (III) (실리카 젤 상의 5 wt%) (37.5 g)를 한번에 첨가하였다. 혼합물을 48시간 동안 100 내지 105°C로 가열하였다. 20 내지 35°C로 냉각시키고, 여과하고, 케이크를 1,4-디옥산 (40 mL)으로 세정하였다. 여과물을 합하고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 (260 mL, 20 mL/g)으로 용해시키고, 0 내지 5°C로 냉각시켰다. 2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논 (14.5 g, 0.064 mol)을 0°C에서 첨가하고, 혼합물을 10 내지 25°C로 가온시키고, 2시간 동안 교반하였다. 케이크를 여과하고 에탄올 (100 mL)로 세정하고, 여과물을 합하였다. 여과물을 진공 하에 농축시켜 암색 잔류물을 얻었다. 상기 잔류물을 디클로로메탄 (300 mL)으로 재용해시키고, 이 용액을 1N 수성 수산화나트륨으로 pH 10 내지 11까지 세척한 다음, 물 (2 x 60 mL)로 세척하였다. 유기 층을 농축시켜 조 물질을 얻었다. 조 물질을 디클로로메탄/메탄올 (50:1)로 용리하는 400 g 실리카 젤 상에서 정제하여 황색 고체 (6.5 g)를 수득하였다.

^1H NMR (dmso- d_6): δ 7.73-7.56 (m, 4H); 4.83 (t, J = 6Hz, 1H); 4.12 (t, J =

[0217] 6Hz, 2H); 3.61 (q, J = 6Hz, 2H); 2.73 (s, 3H).

[0218] 제조예 27

[0219] (±)-2-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-히드록시에틸)-2-메틸-퓨린-6-일]-1,3,4,7,8,8a-헥사하이드로파롤로[1,2-a]파라진-6-온



[0220]

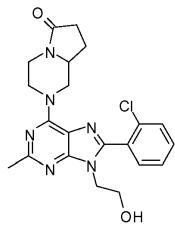
[0221] 500 mL 3구 등근 바닥 플라스크를 2-[6-클로로-8-(2-클로로페닐)-2-메틸-퓨린-9-일]에탄올 (13.3 g, 0.0412 mmol) 및 에탄올 (200 mL)에 이어 2,3,4,7,8,8a-헥사하이드로-1H-파롤로[1,2-a]파라진-6-온 (6.365 g, 0.0453 mol) 및 트리에틸아민 (14.8 mL, 3.5 eq)으로 충전시켰다. 혼합물을 24시간 동안 80 내지 85°C로 가열하였다. 반응물을 실온으로 냉각시키고, 진공 하에 농축시켜 황색 고체를 조 생성물로서 얻었다. 실리카 젤 400 g을 사용하고 디클로로메탄/메탄올 (50:1)로 용리하는 칼럼 크로마토그래피에 의해 조 물질을 정제하여 생성물을 황색 고체 (13.3 g)로서 얻었다.

^1H NMR (dmso- d_6): δ 7.55-7.41 (m, 4H); 5.72 (bs, 2H); 4.16-3.92 (m, 3H); 3.71 (s, 2H); 3.71-3.68 (m, 1H); 3.02-2.93 (m, 2H); 2.74 (m, 1H); 2.70 (s, 3H); 2.44 (m, 2H); 2.32-2.29 (m, 1H); 1.76-1.69 (m, 1H).

[0223] 실시예 26

[0224] 2-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-히드록시에틸)-2-메틸-퓨린-6-일]-1,3,4,7,8,8a-헥사하이드로파롤로[1,2-a]파라진-

6-온, 이성질체 2



[0225]

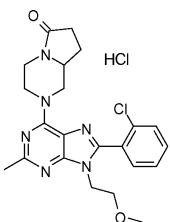
[0226] (±)-2-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-하드록시에틸)-2-메틸-퓨린-6-일]-1,3,4,7,8,8a-헥사하이드로파롤로[1,2-a]파라진-6-온 (19.0 g)을 메탄올 (400 mL) 중에 용해시켰다. 초임계 유체 크로마토그래피 ((AD-H 칼럼, 250 x 30 mm, 5 μm); 이동상: A: 초임계 CO₂; B: MeOH 0.05% 디에틸아민, A:B=75:25, 85 mL/분)를 이용하여 거울상이성질체를 분리하였다. 검출기 파장은 254 nm이다. 용매를 증발시켜 피크 2의 황색 고체를 수득하였다. 디클로로메탄 (100 mL) 중에 용해시키고, 물 (2 x 30 mL)로 세척하고, 따라내고, 유기 용액을 진공 하에 50°C 미만에서 농축시켜 이성질체 2의 7.2 g (99.8% ee)을 백색 고체로서 수득하였다.

[0227]

실시예 27

[0228]

2-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-메톡시에틸)-2-메틸-퓨린-6-일]-1,3,4,7,8,8a-헥사하이드로파롤로[1,2-a]파라진-6-온 히드로클로라이드, 이성질체 2



[0229]

[0230] 100 mL 플라스크를 2-[8-(2-클로로페닐)-9-(2-하드록시에틸)-2-메틸-퓨린-6-일]-1,3,4,7,8,8a-헥사하이드로파롤로[1,2-a]파라진-6-온, 이성질체 - 2 [C09111070-E] (3.3 g, 7.73 mmol) 및 DMF (35 mL)에 이어 메틸 아이오다이드 (1.24 g, 8.50 mmol)로 충진시켰다. 60% NaH (0.59 g, 13.9 mmol)을 10 내지 25°C에서 한번에 첨가하고, 2시간 동안 교반하였다. 혼합물을 교반하면서 물 (100 mL)에 붓고, 상기 용액을 에틸 아세테이트 (3 x 50 mL)로 추출하였다. 유기 층을 합하고, 물 (2 x 50 mL)로 세척하고, 진공 하에 농축시켜 오일을 얻었다. 조 물질을 디클로로메탄/메탄올 (50:1)로 용리하는 실리카 젤 (100 g) 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 황색 고체를 얻었다. 상기 고체를 에틸 아세테이트 (40 mL) 중에 재용해시키고, 고체가 침전될 때까지 에틸 아세테이트 중 1N HCl의 용액을 서서히 첨가하였다. 실온에서 2시간 동안 교반하고, 케이크를 여과하고, 에틸 아세테이트 (10 mL)로 세척하였다. 케이크를 진공 하에 건조시켜 표제 화합물 2.8 g을 회백색 고체로서 수득하였다 (98.0% ee).

[0231]

ES/MS m/z 441.3 (M+1).

[0232]

CB₁ 및 CB₂ 시험관내 기능적 검정

[0233]

[0233] 예시된 화합물을 SPA 기재의 GTP-γ-³⁵S 결합 검정을 이용하여 효능제 방식으로 시험하였다. 모든 검정 성분은 20 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl₂로 구성된 검정 완충액 (실온에서 pH 7.4) 중에서 제조하였다. 세미-로그 화합물 희석은 BSA (최종 0.125%)를 함유한 검정 완충액 중에서 수행하였다. GTP-γ-³⁵S 결합은 CB₁ 검정을 위해서는 전체 막 포획 기술 및 CB₂ 검정을 위해서는 이전에 문헌 [DeLapp et al. J Pharmacol Exp Ther 289:946-955, 1999]에 기재된 항체 포획 기술의 변형법을 이용하여 96웰 포맷으로 측정하였다. 모든 인큐베이션은 실온에서 수행하였다.

[0234]

CB₁:

[0235]

hCB₁-CHO 막, GDP (최종 1 uM) 및 사포닌 (최종 10 ug/mL)을 검정 완충액에 첨가하고, 균질화시켰다. 희석된

화합물, GTP-γ-³⁵S (최종 500 nM) 및 막을 검정 플레이트에 첨가하고, 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 맥아 응집소 SPA 비드 1 mg/웰을 첨가하고, 플레이트를 밀봉하고, 와류시키고, 추가 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 상기 플레이트를 700 x g에서 10분 동안 원심분리하고, 섬광 계수기를 이용하여 웰 당 1분 동안 카운팅하였다.

[0236] CB₂-Sf9:

[0237] hCB₂-Sf9 막 및 GDP (최종 1 uM)를 검정 완충액에 첨가하고 균질화시켰다. 회색된 화합물 및 막을 검정 플레이트에 첨가하고, 15분 동안 사전-인큐베이션하였다. 이후에 GTP-γ-³⁵S (최종 500 nM)를 첨가하고, 추가 35분 동안 인큐베이션하였다. 그 다음, 노니넷(Nonidet) P40 세제 (최종 0.2%), 항-Gi 항체 (최종 회석률 1:362) 및 항-토끼 항체 섬광 근접 검정 비드 1.25 mg을 함유한 혼합물을 첨가하였다. 이어서, 플레이트를 밀봉하고, 와류시키고, 추가 2시간 동안 인큐베이션한 후에, CB₁에 대해서와 같이 원심분리하고 카운팅하였다.

[0238] 데이터를 분석하기 위해, 우선 모든 웰로부터 백그라운드를 감하였다. 효능제/역 효능제 용량 반응 데이터를 완전 효능제 (메타난다미드) 반응에 대해 표준화함으로써 효능제 효능의 백분율 (%)을 측정하였다. 액티비티 베이스(Activity Base) 및 XLFit3을 이용한 4-파라미터 로지스틱 감소 피팅을 이용하여 데이터를 분석하였다.

[0239] 예시된 모든 화합물을 본질적으로 상기 기재된 바와 같이 시험하고, 각각은 CB₂에 대해 상대 EC50 값 ≤100 nM 을 갖는 것으로 밝혀졌다. 실시예 6은 CB₂에 대해 상대 EC50 값 2.7 nM 및 CB₁에 대해 상대 EC50 값 >100000 nM을 갖는다. 실시예 19는 CB₂에 대해 상대 EC50 값 22.4 nM 및 CB₁에 대해 상대 EC50 값 >100000 nM을 갖는다.

[0240] 따라서, 본 발명의 화합물은 CB₂ 시험관내 활성을 나타낸다. 또한, 본 발명의 화합물은 CB₁보다 CB₂에 대해 선택성을 나타내고, 따라서 중추 매개의 부작용에 대한 제한된 잠재성을 제공한다.

[0241] 인간 및 래트 CB₂ 수용체로부터의 3H-CP55940의 대체

[0242] 문헌 [Felder et al. (Mol. Pharmacol. 48:443-450, 1995)]의 방법을 약간 변형시켜 이용하였다. 구체적으로, 인간 또는 래트 CB₂ 수용체를 안정적으로 또는 일시적으로 발현하는 세포로부터의 막 균질물을 원심분리로 세척하고, 50 mM 트리스(Tris) HCl (pH 7.4), 5 mM MgCl₂, 2.5 mM EDTA 및 0.1% BSA 완충액 내로 회색하였다. 3H-CP55940의 특이적 결합은 1 μM CP55940을 사용하여 규정하였다. 특이적 3H-CP55940 결합을 대체하는 화합물의 능력은 소정 범위의 농도에 걸쳐 1% 디메틸 술포시드 존재 하에 트리스, MgCl₂, EDTA, BSA 완충액 중에서 실온에서 90분 동안 300 μl 부피로 인큐베이션하여 시험하였다. 물 중 0.5% 폴리비닐피롤리돈, 0.1% 폴리소르베이트 20으로 사전 처리한 유니필터(Unifilter) 96웰 마이크로플레이트를 차가운 트리스 완충액으로 3회 세척하였다. 이어서, 상기 반응 혼합물을 필터 플레이트로 옮긴 직후에, 신속한 여과로 인큐베이션을 종료시키고, 차가운 트리스 완충액 200 μl로 3회 세척하였다. 필터 플레이트를 건조시킨 후에, 마이크로신트(microscint) 20을 각 웰에 첨가하고, 상기 플레이트를 밀폐시키고 계수하여 분당 봉고수를 측정하였다. 대체곡선을 그래프화하고, 생성된 Ki 값을 그레프패드 프리즘(Graphpad Prism)으로 결정하였다.

[0243] 실시예 8은 인간 수용체 Ki 값 142 nM, 및 래트 수용체 Ki 값 37.5 nM을 갖는다. 실시예 13은 인간 수용체 Ki 값 65.2 nM, 및 래트 수용체 Ki 값 215 nM을 갖는다.

[0244] 따라서, 본 발명의 화합물은 인간 및 래트 CB₂ 수용체 둘 다에 대해 시험관내 결합하는 것으로 나타났다.

[0245] 모노아이오도아세테이트 (MIA) 모델

[0246] 모든 연구를 위해, MIA 주사 시점에 대략 8주령인 수컷 루이스(Lewis) 래트를 사용하여 MIA 모델에서의 통증을 측정하였다. 상기 래트를 케이지 당 2마리 또는 3마리의 군으로 하우징하고, 일정한 온도에서 및 12시간 광/12시간 암 주기로 유지하였다. 데이터 수집 동안을 제외하고는 동물이 음식 및 물에 언제든지 자유롭게 접근하게 하였다.

[0247] 표준 MIA 모델에서, 각 래트의 오른쪽 무릎에 염수 50ul 중 MIA 0.3 mg을 주사하고, 왼쪽 무릎에는 염수 50ul을 주사하였다. 통증은 인커패시턴스(incapacitance) 시험을 이용하여 MIA 주사 후의 시간 (일반적으로는 MIA 주

사 후 10일 이전은 아님)을 다양하게 하여 측정하였다. 이것은 MIA 및 염수 주사된 무릎 사이에서 뒷발 체중 부하에서의 차이를 측정하며, 각 측정치는 각각 1초에 걸쳐 측정된 3회의 별도의 측정치의 평균이다.

[0248] CB₂ 효능제를 사용한 연구에 있어서, 래트를 용량 군 (n = 5 또는 6)으로 랜덤화하고, 이어서 조사 시 화합물을 1회 투여하였다. 각 래트마다 15분 시차를 두고 투여하였고, 투여 후 소정의 시점에 (통상적으로 2시간), 인커 패시티스 시험을 이용하여 통증을 측정하였다. 상기 연구는 일반적으로 4개의 군, 즉 비히클 (물 중 1% 카르복시 메틸 셀룰로스 + 0.25% 폴리소르베이트 80), 및 단일 용량의 단일 화합물을 또는 3가지 용량의 동일한 화합물일 수 있는 3개의 화합물 군으로 수행하였다. 그 결과는 염수 및 MIA 주사된 무릎 사이에서 체중 부하에서의 차이로 보고되었고, 비히클을 처리한 동물 및 화합물을 처리한 동물 사이를 통계적으로 비교하여 상기 모델에서 무릎 통증에 대한 화합물의 효과를 평가하였다.

[0249] 실시예 19를 본질적으로 상기 기재된 바와 같이 시험하였고, 용량 0.3 및 1 mg/kg의 비히클에 대비하여 통증을 감소시키는 것으로 밝혀졌다. 실시예 18을 본질적으로 상기 기재된 바와 같이 시험하였고, 용량 0.3 mg/kg의 비히클에 대비하여 통증을 감소시키는 것으로 밝혀졌다.

[0250] 따라서, 본 발명의 화합물은 통증, 특히 관절 통증의 치료에 유용한 것으로 나타났다.

화학요법-유발 통증 검정

[0252] 수컷 하틀란 스프라그 돌리(Harlan Sprague Dawley) 래트 (150-200 g)를 7 일 동안 동물 사육장에 적응시켰다. 동물을 일정한 온도에서 및 12시간 광/12시간 암 주기에서 유지하고, 무제한의 물 및 식품과 함께 3 내지 4마리의 군으로 하우징하였다. 화합물 10 mg/kg (경구), 모르핀 5 mg/kg 및 비히클의 1일 2회 투여를 연구 제1일에 개시하고, 연구의 지속시간 내내 (18일) 계속하였다. 누적 용량 4 mg/kg을 위해 파클리타센 1 mg/kg (복강내) 을 제2일, 제4일, 제6일 및 제8일에 투여하여 화학요법-유발 말초 신경병증을 유발하였다.

[0253] 래트를 와이어 메쉬 플랫폼 기저부를 갖는 개별적 플렉시글라스 챔버에 넣어, 뒷발로 접근하도록 허용하였다. 15분 내지 1시간의 적응 기간 후에, 중앙-발바닥 뒷발을 좌골신경 분포 내에서 평가하였다. 로그식 증분의 강성을 갖는 일련의 8개의 본 프레이 헤어(von Frey hair) (0.41, 0.70, 1.20, 2.00, 3.63, 5.50, 8.50 및 15.10 g)를 뒷발에 적용하였다. 상기 본 프레이 헤어를 발바닥 표면과 수직으로 제공하여 충분한 힘으로 약간 굽혀지게 하였다. 수초의 간격으로 자극을 제공하였다. 양성 반응은 발이 굽격하게 위축되는 경우 또는 헤어 제거 즉시 움찔거림이 관찰되는 경우에 언급된다. 연구일에, 투여 1시간 후에 행동 종점 평가하였다. 스코어 패턴은 딕슨(Dixon) 업 다운 방법을 이용하여 평가하였고, 반응 역치로 번역하였다 (문헌 [1980, Ann Rev Pharmacol Toxicol 20:441-462]). 최대 인가된 힘은 15.10 그램이다. 초기 행동 평가는 연구 제10일에 수행하였고, 연속적 측정은 연구 제12일, 제15일 및 제18일에 이루어졌다.

[0254] 결과는 군 당 n = 12에 대해 평균의 표준 오차를 갖는 평균값 (평균 + SE)으로 표현하였다. 모든 통계적인 평가는 일원분산분석 (one-way ANOVA)을 이용한 다음, 던넷(Dunnett)의 방법에 따라 대조군과 비교하여 수행하였다. p<0.05인 경우, 통계적 유의성이 추정될 수 있다. JMP 통계적 분석 소프트웨어 (SAS 리서치 인스티튜트 (SAS Research Institute), 버전 6.0.2)를 이용하여 통계적 분석을 수행하였다.

	비히클 (평균 ± SE)	실시예 19 10mg/kg (평균 ± SE)	모르핀 5mg/kg (평균 ± SE)
제 10 일	7.83 ± 1.35	11.25 ± 1.31	8.16 ± 1.22
제 12 일	7.12 ± 1.27	7.38 ± 0.95	3.67 ± 0.30*
제 15 일	4.86 ± 0.95	7.90 ± 1.04*	3.84 ± 0.45
제 18 일	3.27 ± 0.34	6.02 ± 0.72*	3.46 ± 0.42

*통계학적 유의성을 나타냄

[0255]

[0256] 상기 표에는 실시예 19, 모르핀 및 비히클에 대한 평균 발 위축 잡복기와 표준 오차를 나타냈다. 비히클 및 모르핀-처리된 동물 둘 다와 비교하여, 실시예 19-처리된 동물에서는 연구의 지속시간에 걸쳐 더 적은 이질통이 발생하였다. 따라서, 본 발명의 실시예 19는 통증, 특히 화학요법-유발 통증, 예컨대 화학요법-유발 말초 신경 병증의 예방에 유용한 것으로 보인다.

[0257]

비글 개에서의 용량-범위 독성 연구

- [0258] 1마리 수컷 및 1마리 암컷 비글 개를 이용하여, CB₂ 효능제를 단일 경구 위관영양 투여한 후에 급성 독성을 평가하였다. 상기 개를 개별적으로 하우징하고, 일정한 온도에서 및 12시간 광/12시간 암 주기로 유지하였다. CB₂ 효능제를 비히클 (정제수 중 1% 히드록시에틸셀룰로스, 0.25% 폴리소르베이트 80 및 0.05% 다우 코닝(Dow Corning)®의 소포제 1510-US) 중에 제조하여, 경구 위관영양에 의해 2 mL/kg의 용량 부피로 투여하였다. 치사성 및 임상 관찰을 위해 개를 관찰하였다 (투여 전, 투여 2시간 후, 오후에 및 그 후 매일). 음식물 소비는 남아있는 음식물을 매일 시각적으로 평가함으로써 평가하였다. 투여 전 및 투여 후 48시간에 혈액을 수집하여, 혈액학 및 임상 화학 파라미터에 대한 효과를 평가하였다. 투여 후 0.5, 1, 2, 4, 8 및 24시간에 혈액을 수집하여, 독성역학 혈장 약물 농도를 평가하였다.
- [0259] 본질적으로 상기 기재된 바와 같이, 실시예 19를 단일 경구 용량 30 mg/kg으로 시험하였다. 투여 후 임상 관찰은 구토 및 동공 확장에 제한하였다. 구토는 투여 후 19분, 39분 및 2시간에 암컷 개에서만 주목되었다. 동공 확장은 투여 후 2 내지 4시간에 수컷 및 암컷 개에서 주목되었다. 또한, 배설물 감소 및 음식물 소비의 최소 감소는 수컷 개에서 주목되었다. 혈액학에 대한 효과는 암컷 개에서 약간의 망상 적혈구수 감소에 제한되었다 (투여 전에 비해 39% 변화). 30 mg/kg에서 0 내지 24시간의 곡선 아래 평균 영역 (AUC_{0-24hr})은 44451 ng · hr/mL이었다. 30 mg/kg에서의 평균 최대 농도 (C_{max})는 7537 ng/mL이었다.
- [0260] 따라서, 본 발명의 특정 화합물은 30 mg/kg에서 개에서 제한된 독성을 갖는 것으로 나타났고, 결과적으로 인간에서도 허용되는 부작용 프로파일에 대한 잠재성을 나타낸다.