(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년10월17일
(11) 등록번호 10-1319630
(24) 등록일자 2013년10월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 473/34 (2006.01) *C07D 405/14* (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01) *A61P 25/04* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-7014000
(22) 출원일자(국제) 2009년12월09일
심사청구일자 2011년06월17일
(85) 번역문제출일자 2011년06월17일
(65) 공개번호 10-2011-0084459
(43) 공개일자 2011년07월22일
(86) 국제출원번호 PCT/US2009/067249
(87) 국제공개번호 WO 2010/080306
국제공개일자 2010년07월15일
(30) 우선권주장
61/138,589 2008년12월18일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2004037823 A1
전체 청구항 수 : 총 14 항

(73) 특허권자
일라이 릴리 앤드 캄파니
미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포레이트 센터
(72) 발명자
애스틀레스, 피터, 찰스
영국 알지24 9엔엘 베이싱스토크 햄프셔 프리스틀리 로드 릴리 하우스 일라이 릴리 앤드 캄파니 리미티드
귀데티, 로셀라
영국 알지24 9엔엘 베이싱스토크 햄프셔 프리스틀리 로드 릴리 하우스 일라이 릴리 앤드 캄파니 리미티드
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김영, 양영준

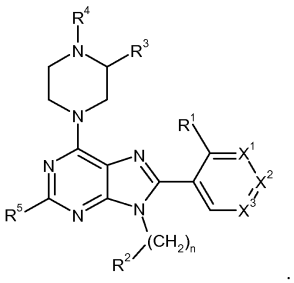
심사관 : 나영민

(54) 발명의 명칭 **퓨린 화합물**

(57) 요 약

하기 화학식 I의 화합물 및 통증의 치료를 위한 제약 조성물이 제공된다:

<화학식 I>



(72) 발명자

홀린스헤드, 션, 패트릭

미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포레이트 센터 일라이 릴리 앤드 캄파니

티드웰, 마이클, 웨이드

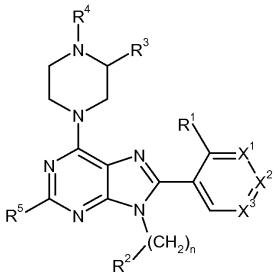
미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포레이트 센터 일라이 릴리 앤드 캄파니

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염:

<화학식 I>



상기 식에서,

R^1은 H, F, Cl, C_1-C_2알킬, CF_3, 시클로프로필, OCH_3, OCF_3 및 CN에서 선택되고,

R^2는 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 아제티딘-1-카르복실산 메틸 에스테르 및 테트라히드로티오펜-1,1-디옥시드에서 선택되고,

R^3은 H이거나, 또는 R^4와 조합되어 융합된 피롤리딘-2-온을 형성하고,

R^4는 C_1-C_2알킬, C_1-C_2플루오로알킬, 시클로프로필 및 $COCH_3$에서 선택되고,

R^5는 H, CH_3 및 CF_3에서 선택되고,

n은 0 또는 1이고,

X^1 및 X^3은 N, CH 및 CR^6에서 독립적으로 선택되고,

X^2는 CH 및 CR^6에서 선택되지만,

단, X^1, X^2 및 X^3 중 오직 하나만이 CH 이외의 것일 수 있으며,

R^6은 F, Cl, CF_3, OCH_3 및 OCF_3에서 선택된다.

청구항 2

제1항에 있어서, R^1이 Cl, C_1-C_2알킬, CF_3, 시클로프로필 및 OCF_3에서 선택된 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 3

제1항에 있어서, R^1이 Cl인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 4

제1항에 있어서, R^3이 H인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 5

제1항에 있어서, R^5가 CH_3인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 6

제1항에 있어서, X^1, X^2 및 X^3이 CH 및 CR^6에서 독립적으로 선택되고, 여기서의 R^6은 Cl, CF_3, OCH_3 및 OCF_3에서 선택된 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 7

제1항에 있어서, R^4가 C_1-C_2알킬, C_1-C_2플루오로알킬 또는 시클로프로필에서 선택된 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, R^4가 C_1-C_2알킬인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, R^2가 테트라히드로푸라닐 및 테트라히드로피라닐에서 선택된 것인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 10

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, n이 0인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 11

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, X^1, X^2 및 X^3이 각각 CH인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 12

제1항에 있어서, 8-(2-클로로-피리딘-3-일)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린, 2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(2-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린, 2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-(2-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린, 2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-o-톨릴-9H-퓨린, 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(S)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린, 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린, 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린, 및 8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린에서 선택된 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 13

제1항에 있어서, 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린인 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

제1항 내지 제7항, 제12항 및 제13항 중 어느 한 항에 따른 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는, 골관절염 통증의 치료를 위한 제약 조성물.

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 현재의 경구 약리 작용제와 관련된 부작용의 결과로서, 통증의 치료를 위한 대안적인 요법의 개발이 여전히 필요하다.

배 경 기 술

[0002] 칸나비노이드 수용체 CB_1 및 CB_2는 G-단백질-커플링 수용체 (GPCR)의 클래스에 속한다. CB_1 수용체는 중추 및 말초 둘다에서 발현되는 반면, CB_2 수용체는 말초에서, 주로 면역 세포 및 조직에서 우세하게 발현된다.

[0003] CB_2 수용체의 약리 및 치료 잠재력이 최근 밝혀져서 ([Br. J. Pharmacol. (2008) 153, 319-334]), CB_2를 통증, 특히 염증성 및 신경병성 통증의 치료를 위한 치료 표적으로 확인시켜 주었다.

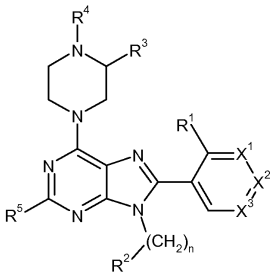
[0004] CB_2 효능제, 특히 CB_2-선택적 효능제는 제한적인 중추 매개 부작용을 갖는 통증 치료 표적을 제공한다.

[0005] WO 2004/037823은 칸나비노이드 수용체 리간드, 특히 CB_1 수용체 길항제로서의 퓨린 화합물 및 그의 용도에 관한 것이다.

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^1은 H, F, Cl, C_1-C_2알킬, CF_3, 시클로프로필, OCH_3, OCF_3 및 CN에서 선택되고,

[0011] R^2는 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 아제티딘-1-카르복실산 메틸 에스테르 및 테트라히드로티오펜-1,1-디옥시드에서 선택되고,

[0012] R^3은 H이거나, 또는 R^4와 조합되어 융합된 피롤리딘-2-온을 형성하고,

[0013] R^4는 C_1-C_2알킬, C_1-C_2플루오로알킬, 시클로프로필 및 $COCH_3$에서 선택되고,

[0014] R^5는 H, CH_3 및 CF_3에서 선택되고,

[0015] n은 0 또는 1이고,

[0016] X^1 및 X^3은 N, CH 및 CR^6에서 독립적으로 선택되고,

[0017] X^2는 CH 및 CR^6에서 선택되지만,

[0018] 단, X^1, X^2 및 X^3 중 오직 하나만이 CH 이외의 것일 수 있으며,

[0019] R^6은 F, Cl, CF_3, OCH_3 및 OCF_3에서 선택된다.

[0020] 본 발명의 화합물은 CB_2 수용체의 시험관내 효능제인 것으로 밝혀졌다. 본 발명의 바람직한 화합물은 기존의 CB_2 효능제보다 더 우수한 효력을 나타낸다. 본 발명의 더욱 바람직한 화합물은 CB_2-선택적 효능제이다. 본 발명의 가장 바람직한 화합물은 기존의 CB_2 효능제보다 더 우수한 CB_2-선택성을 나타낸다.

[0021] 본 발명은 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염, 및 제약상 허용되는 희석제 또는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.

[0022] 본 발명은 요법에 사용하기 위한 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다. 본 발명은 또한 통증, 특히 골관절염 통증의 치료에 사용하기 위한 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 제공한다. 본 발명의 또 다른 측면에서, 통증, 특히 골관절염 통증의 치료를 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염의 용도가 제공된다.

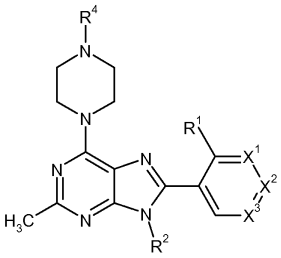
[0023] 본 발명은 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 통증의 치료가 필요한 인간 또는 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 통증의 치료 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 유효량의 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 골관절염 통증의 치료가 필요한 인간 또는 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 골관절염 통증의 치료 방법을 제공한다.

[0024] 본 발명은 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는, 요법에 사용하기 위해 제약 조성물을 제공한다. 본 발명은 본 발명의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함하는, 통증, 특히 골관절염 통증에 사용할 제약 조성물을 제공한다.

[0025] 본 발명의 화합물을 통증, 특히 염증성 통증, 더욱 특히 관절 통증, 가장 특히 골관절염 통증의 치료에 사용하는 것이 바람직하다.

[0026] 본 발명의 화합물의 바람직한 종은 하기 화학식 II의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이다:

[0027] <화학식 II>

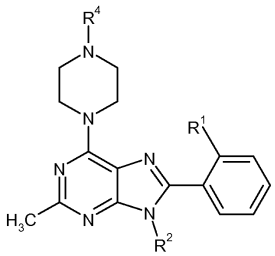


[0028]

[0029] (여기서, R^1, R^2, R^4, X^1, X^2 및 X^3은 본원에서 정의된 바와 같음).

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

[0031] <화학식 III>



[0032]

[0033] (여기서, R^1, R^2 및 R^4는 본원에서 정의된 바와 같음).

[0034] 화학식 I, II 또는 III의 화합물의 특정 클래스가 바람직하다. 하기 열거된 선택사항은 이러한 바람직한 클래스를 기재한다:

[0035] 1) R^1이 Cl, C_1-C_2알킬, CF_3, 시클로프로필 또는 OCF_3임,

[0036] 2) R^1이 Cl, 메틸 또는 에틸임,

[0037] 3) R^1이 Cl임,

[0038] 4) R^2가 테트라히드로푸라닐 또는 테트라히드로피라닐임,

[0039] 5) R^2가 테트라히드로푸라닐임,

[0040] 6) R^2가 테트라히드로피라닐임,

[0041] 7) R^3이 H임,

[0042] 8) R^4가 C_1-C_2알킬, C_1-C_2플루오로알킬 또는 시클로프로필임,

[0043] 9) R^4가 메틸, 에틸, 2-플루오로에틸 또는 시클로프로필임,

[0044] 10) R^4가 메틸 또는 에틸임,

[0045] 11) R^5가 CH_3임,

[0046] 12) X^1, X^2 및 X^3이 CH 및 CR^6에서 독립적으로 선택되고, 여기서의 R^6은 Cl, CF_3, OCH_3 또는 OCF_3에서 선택됨,

[0047] 13) X^1, X^2 및 X^3이 CH임,

[0048] 14) n이 0임,

[0049] 15) R^3이 H이고, R^5가 CH_3임,

[0050] 16) R^1이 Cl, 메틸 또는 에틸이고, R^4가 메틸, 에틸, 2-플루오로에틸 또는 시클로프로필임,

[0051] 17) R^1이 Cl, 메틸 또는 에틸이고, R^2가 테트라히드로푸라닐 또는 테트라히드로피라닐이며, R^4가 메틸, 에틸, 2-플루오로에틸 또는 시클로프로필임,

[0052] 18) R^1이 Cl이고, R^2가 테트라히드로푸라닐 또는 테트라히드로피라닐이며, R^4가 메틸, 에틸, 2-플루오로에틸 또는 시클로프로필임,

[0053] 19) R^1이 Cl이고, R^2가 테트라히드로푸라닐 또는 테트라히드로피라닐이며, R^4가 메틸 또는 에틸임,

[0054] 20) R^1이 Cl이고, R^2가 테트라히드로푸라닐 또는 테트라히드로피라닐이고, R^4가 메틸 또는 에틸이며, X^1, X^2 및 X^3이 CH 및 CR^6에서 독립적으로 선택되고, 여기서의 R^6은 Cl, CF_3, OCH_3 또는 OCF_3에서 선택됨.

[0055] 본 발명의 화합물 각각의 제약상 허용되는 염은 본 출원의 범위 내에 고려된다.

[0056] 본 발명의 바람직한 화합물은 8-(2-클로로-피리딘-3-일)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린,
2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(2-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린, 2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-(2-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린, 2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-o-톨릴-9H-퓨린, 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(S)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린,
8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린,
8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린, 및 8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린, 또는 이것들의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

[0057] 명세서 전반에 걸쳐 사용된 바와 같이, 기가 "본원에서 정의된" 또는 "본원에 정의된"으로 표시되는 경우에는 그 기에 대해 처음 기재된 정의 및 가장 넓은 범위의 정의 및 또한 그 기의 각각의 및 모든 특정 정의를 포함한다는 것을 이해해야 한다.

[0058] 상기 및 본 발명의 기재 전반에서 사용된 바와 같이, 달리 나타내지 않는 한은 하기 용어는 다음의 의미를 가질 것이다:

[0059] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 C_1-C_2알킬은 메틸 또는 에틸을 지칭한다.

[0060] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 C_1-C_2플루오로알킬은 1개 이상의 수소가 불소로 대체된, 본원에서 정의된 바와 같은 C_1-C_2알킬기를 지칭하고, 트리플루오로메틸, 2-플루오로에틸, 2,2-디플루오로에틸 및 2,2,2-트리플루오로에틸을 포함한다. 바람직한 C_1-C_2플루오로알킬기는 2-플루오로에틸이다.

[0061] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "제약상 허용되는 염"은 살아있는 유기체에 실질적으로 비-독성인 본 발명의 화합물의 염을 지칭한다. 이러한 염 및 이것들의 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 포스페이트이다.

[0062] 본 발명의 실시양태는 본원에서 제공되는 예를 포함하고, 이러한 제공된 예가 1개의 키랄 또는 입체 형태 또는 그의 염일 수는 있지만, 본 발명의 추가의 실시양태는 기재된 예의 모든 다른 입체이성질체 및/또는 입체 형태 및 또한 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

[0063] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "CB_2-선택적 효능제" 또는 "CB_2-선택성"은 CB_1보다 CB_2에 대해 더 우수한 효력을 갖는 화합물을 지칭한다. 본 발명의 바람직한 화합물은 100배 이상의 CB_2-선택성을 나타낸다. 본 발명의

더욱 바람직한 화합물은 500배 이상의 CB_2-선택성을 나타낸다. 본 발명의 가장 바람직한 화합물은 1000배 이상의 CB_2-선택성을 나타낸다.

[0064] 본 발명의 화합물은 다양한 경로로 투여되는 제약 조성물로서 제제화되는 것이 바람직하다. 바람직하게는, 이러한 조성물은 경구 투여용이다. 이러한 제약 조성물 및 이것의 제조 방법은 당업계에 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.

[0065] 하기 반응식, 절차 및 실시예는 본 발명의 실시를 보다 명료하게 하기 위해 제공된다. 이러한 반응식, 절차 및 실시예의 단계에 적합한 반응 조건은 당업계에 공지되어 있고, 반응 조건의 적절한 변형, 예를 들어 용매 및 보조시약의 대체는 당업자의 능력 내이다.

[0066] 추가로, 당업자는 일부 상황에서 잔기들이 도입되는 순서는 중요하지 않다는 것을 알 것이다. 화학식 I의 화합물 생성에 필요한 단계들의 특정 순서는 숙련된 화학자가 알고 있는 바와 같이 합성될 특정 화합물, 출발 화합물, 및 치환 잔기의 상대적 불안정성에 따라 달라진다. 당업자는 모든 치환기가 모든 반응 조건에 적합한 것은 아님을 알 것이다. 이러한 화합물은 합성시에 편리한 시점에서 당업계에 공지된 방법으로 보호 또는 변형될 수 있다.

[0067] 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 사용될 적합한 보호기의 "보호" 및 "탈보호"에 관한 적절한 조건을 나타낸다.

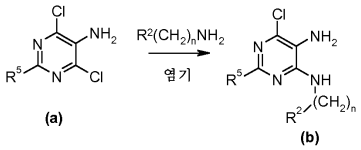
[0068] 본 발명의 중간체 및 최종 생성물은 원한다면 통상의 기술, 예컨대 재결정화 또는 고체 지지체, 예컨대 실리카겔 또는 알루미나에서의 크로마토그래피를 통해 추가로 정제될 수 있다.

[0069] 본 발명의 화합물에 대한 명칭은 AutoNom 2000을 이용하여 생성된다.

[0070] 본원에서 사용되는 약어는 다음과 같이 정의된다:

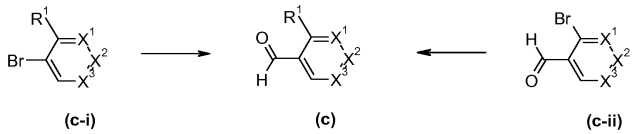
[0071] "염수"는 포화 수성 염화나트륨 용액을 의미하고, "BSA"는 소 혈청 알부민을 의미하고, "DDQ"는 2,3-디클로로-5,6-디시아노-1,4-벤조퀴논을 의미하고, "DMEA"는 N-에틸디메틸아민을 의미하고, "EDTA"는 에틸렌디아민테트라아세트산을 의미하고, "EtOH"는 에탄올을 의미하고, "GCMS"는 기체 크로마토그래피-질량 분광측정법을 의미하고, "GDP"는 구아노신 디포스페이트를 의미하고, "HEPES"는 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산을 의미하고, "IPA"는 2-프로판올을 의미하고, "IPAm"은 2-프로필아민을 의미하고, "L.R."은 제한 시약을 의미하고, "MeOH"는 메탄올을 의미하고, "PTSA"는 파라 톨루엔술폰산을 의미하고, "SCX"는 실리카 기재의 강한 양이온 교환 수지 컬럼, 1회용 카트리지 또는 등가물을 의미하며, "SFC"는 초임계 유체 크로마토그래피를 의미한다.

[0072] <반응식 A>

[0073] 

[0074] 출발 피리미딘 (a)를 적절하게 치환된 아민 및 적합한 염기, 예컨대 디이소프로필에틸아민 또는 트리에틸아민과 적합한 용매, 예컨대 이소프로판올 중에서 승온에서 반응시켜서 화합물 (b)를 제공한다.

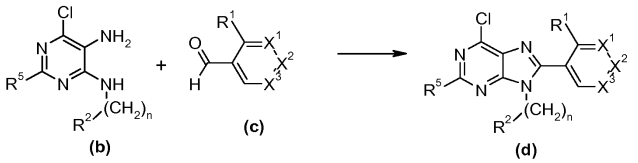
[0075] <반응식 B>

[0076] 

[0077] 출발 브로마이드 (c-i)를 강염기, 예컨대 n-부틸 리튬과 감소된 온도에서 반응시키고 N,N-디메틸포름아미드와 적합한 용매, 예컨대 무수 디에틸 에테르 중에서 반응시켜서 화합물 (c)를 제공한다.

[0078] 스즈끼(Suzuki) 커플링 조건을 이용하면, 출발 알데히드 (c-ii)를 R^1의 보론산 유도체, 적합한 촉매, 예컨대 (1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센)팔라듐(II) 클로라이드 또는 $Pd(OAc)_2$ 및 적합한 염기, 예컨대 불화세슘과 적합한 용매, 예컨대 1,4-디옥산 또는 톨루엔 중에서 승온에서 반응시켜서 화합물 (c)를 제공한다.

[0079] <반응식 C>

[0080] 

[0081] 출발 피리미딘 (b)를 알데히드 (c) (여기서, X^1 내지 X^4는 CH 및 CR^6에서 독립적으로 선택됨) 및 적합한 산, 예컨대 p-톨루엔술폰산 또는 실리카상 15% 염화제2철과 적합한 용매, 예컨대 1,4-디옥산 또는 톨루엔 중에 승온에서 반응시킨다. 반응 혼합물을 여과하고 농축시킨 후에 DDQ와 적합한 용매, 예컨대 디클로로메탄 중에서 감소된 온도에서 반응시켜서 퓨린 (d)를 제공한다.

[0082] 출발 피리미딘 (b)를 알데히드 (c) (여기서, X^1 내지 X^4 중 하나는 N임) 및 적합한 산, 예컨대 p-톨루엔술폰산과 적합한 용매, 예컨대 톨루엔 중에 승온에서 반응시킨다. 반응 혼합물을 여과하고 농축시킨 후에 티오닐 클로라이드와 승온에서 반응시켜서 퓨린 (d)를 제공한다.

[0083] 일반적 절차 2-1:

[0084] 1,4-디옥산 중 피리미딘 (b) (1.0 당량, L.R.), 알데히드 (c) (2.0 당량), 및 실리카상 15% 염화제2철 (L.R. 기준 200 wt%)의 혼합물을 100℃로 16시간 동안 가열한다. 냉각시켜 규조토를 통해 실리카를 여과해 내고, 감압하에 여액을 농축시켜서 잔류물을 수득한다. 잔류물을 무수 디클로로메탄 중에 용해하고, DDQ (1.0 당량)를 0℃에서 첨가한다. 교반하에 실온으로 가온시킨다. 반응 완료시에 반응 혼합물을 디클로로메탄으로 희석하여 15% 수성 수산화나트륨, 물 및 염수로 세척한다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 건조시켜서 잔류물을 수득한다. 잔류물을 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 퓨린 (d)를 수득한다.

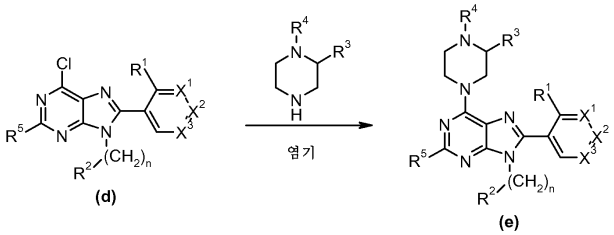
[0085] 일반적 절차 2-2:

[0086] 톨루엔 중 피리미딘 (b) (1.0 당량, L.R.), 알데히드 (c) (2 당량), p-톨루엔술폰산 (L.R. 기준 10 wt%) 및 분자 체 (L.R. 기준 200 wt%)의 용액을 환류하에 16시간 동안 가열한다. 냉각시켜 규조토를 통해 분자 체를 여과해 내고, 감압하에 여액을 농축시켜서 잔류물을 수득한다. 잔류물을 무수 디클로로메탄 중에 용해하고, DDQ (1.0 당량)를 0℃에서 첨가한다. 실온으로 가온시키고 교반한다. 반응 완료시에 반응 혼합물을 디클로로메탄으로 희석하여 1 N 수산화나트륨 용액, 물 및 염수로 세척한다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시켜서 잔류물을 수득한다. 잔류물을 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 퓨린 (d)를 수득한다.

[0087] 일반적 절차 2-3:

[0088] 반응 용기에 피리미딘 (b) (1.0 당량, L.R.), 알데히드 (c) (1.1 당량), 톨루엔 및 p-톨루엔술폰산 일수화물 (0.05 당량)을 충전한다. 100℃에서 질소하에 1시간 동안 교반한다. 실온으로 냉각시키고, 규조토에서 여과하고 감압하에 농축시킨다. 다음으로, 조 오일 (이민)에 실온에서 질소하에 티오닐 클로라이드 (순수(neat)/용매)를 서서히 첨가한다. 환류하에 30분 동안 교반한다. 실온으로 냉각시키고 감압하에 농축시킨다. 톨루엔을 첨가하고, 감압하에 2회 제거한다. 디클로로메탄 중에 용해하고, 포화 수성 중탄산나트륨으로 서서히 염기성화한다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시킨다. 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피로 정제하여 퓨린 (d)를 수득한다.

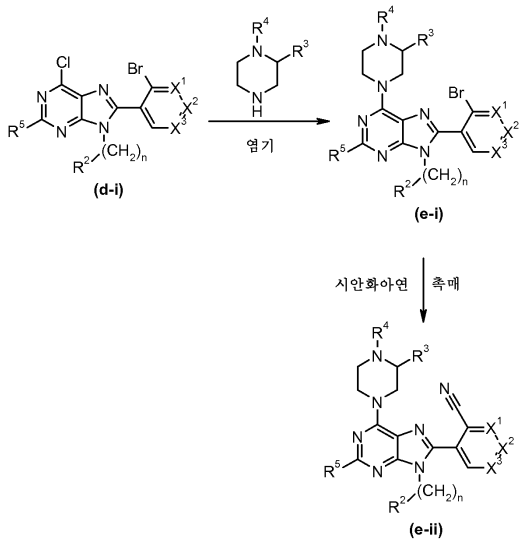
[0089] <반응식 D>



[0090]

[0091] 출발 퓨린 (d)를 적절하게 치환된 피페리진 및 적합한 염기, 예컨대 트리에틸아민과 적합한 용매, 예컨대 에탄올 중에서 승온에서 반응시켜서 화합물 (e)를 제공한다.

[0092] <반응식 E>

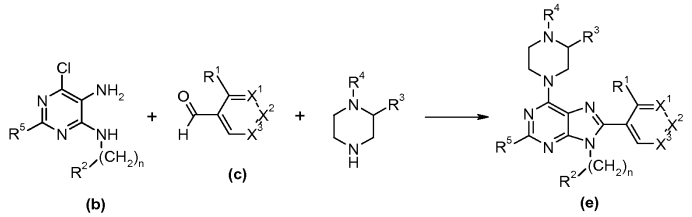


[0093]

[0094] 출발 퓨린 (d-i)를 적절하게 치환된 피페리진 및 적합한 염기, 예컨대 트리에틸아민과 적합한 용매, 예컨대 에탄올 중에서 승온에서 반응시켜서 화합물 (e-i)를 제공한다.

[0095] 퓨린 (e-i)를 시안화아연 및 적합한 촉매, 예컨대 $Pd(PPh_3)_4$ 및 적합한 용매, 예컨대 N,N-디메틸포름아미드와 승온에서 반응시켜서 화합물 (e-ii)를 제공한다.

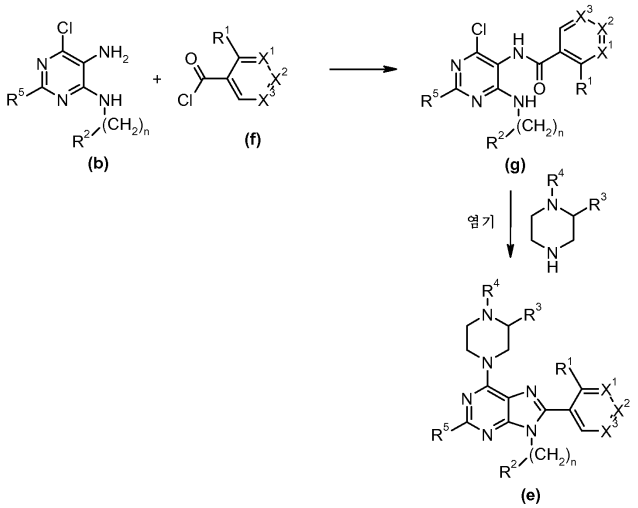
[0096] <반응식 F>



[0097]

[0098] 출발 피리미딘 (b)을 알데히드 (c), 적절하게 치환된 피페리진 및 적합한 산화제, 예컨대 니트로벤젠 또는 아세트산과 적합한 용매, 예컨대 메톡시벤젠 또는 디메틸 술폭시드 중에 승온에서 반응시켜서 화합물 (e)를 제공한다.

[0099] <반응식 G>



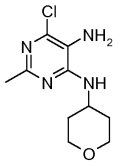
[0100]

[0101] 적합한 용매, 예컨대 디메틸아세트아미드 중 출발 피리미딘 (b)를 적절하게 치환된 산염화물 (f)와 감소된 온도에서 반응시켜서 화합물 (g)를 제공한다.

[0102] 피리미딘 (g)를 적절하게 치환된 피페리진과 적합한 염기, 예컨대 디이소프로필에틸아민의 존재하에 적합한 용매, 예컨대 이소프로판올 중에서 승온 및 승압에서 반응시켜서 화합물 (e)를 제공한다.

[0103] 제조예 1:

[0104] 6-클로로-2-메틸-N*4*-(테트라히드로-피란-4-일)-피리미딘-4,5-디아민

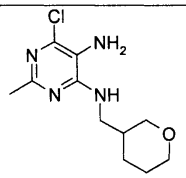
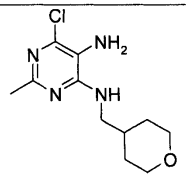
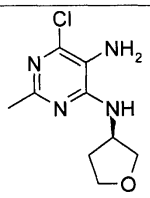
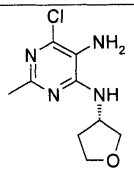
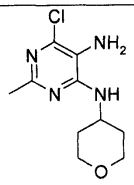
[0105] 

[0106] 2-프로판올 (80 mL) 중 4,6-디클로로-2-메틸-피리미딘-5-일아민 (0.008 mol, 1.5 g, 1.0 당량), 4-아미노 테트라히드로피란 (0.012 mol, 1.27 g, 1.5 당량) 및 N,N-디이소프로필에틸아민 (0.0092 mol, 1.1 g, 1.1 당량)의 용액을 150℃에서 밀폐된 튜브에서 16시간 동안 가열하였다. 상기 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 2-프로판올을 감압하에 제거하여 잔류물을 수득하였다. 상기 잔류물을 디클로로메탄 중에 용해하고 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시켜서 잔류물을 수득하였다. 상기 잔류물을 디클로로메탄:메탄올 96:4로 용출시키는 실리카 겔 컬럼에서 정제하여 표제 화합물을 수득하였다.

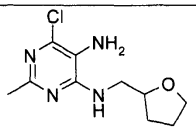
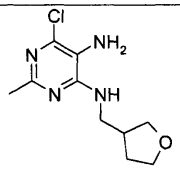
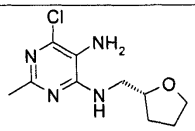
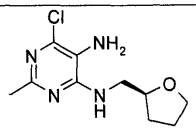
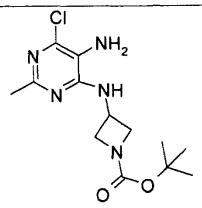
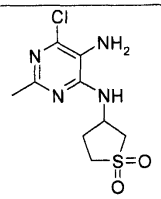
[0107] MS (m/z): 243.41 (M+1).

[0108] 표 1의 제조예 2 내지 12는 본질적으로 제조예 1에 기재된 바와 같이 하여 반응식 A에 따라 적절한 아민을 사용하여 제조될 수 있다:

표 1

제조예 번호	구조	화학적 명칭	물리적 데이터
2		6-클로로-2-메틸-N*4*(테트라히드로-피란-3-일메틸)-피리미딘-4,5-디아민	MS (m/z): 257 (M+1)
3		6-클로로-2-메틸-N*4*(테트라히드로-피란-4-일메틸)-피리미딘-4,5-디아민	MS (m/z): 257 (M+1)
4		6-클로로-2-메틸-N*4*-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-피리미딘-4,5-디아민	MS (m/z): 229 (M+1)
5		6-클로로-2-메틸-N*4*-(S)-테트라히드로-푸란-3-일-피리미딘-4,5-디아민	MS (m/z): 229 (M+1)
6		6-클로로-2-메틸-N*4*-(테트라히드로-피란-4-일)-피리미딘-4,5-디아민	MS (m/z): 243 (M+1)

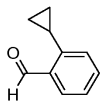
[0109]

7		6-클로로-2-메틸-N*4*-(테트라히드로-푸란-2-일메틸)-피리미딘-4,5-디아민	
8		6-클로로-2-메틸-N*4*-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-피리미딘-4,5-디아민	MS (m/z): 243 (M+1)
9		6-클로로-2-메틸-N*4*-[(R)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-피리미딘-4,5-디아민	MS (m/z): 243 (M+1)
10		6-클로로-2-메틸-N*4*-[(S)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-피리미딘-4,5-디아민	MS (m/z): 243 (M+1)
11		3-(5-아미노-6-클로로-2-메틸-피리미딘-4-일아미노)-아제티딘-1-카르복실산 tert-부틸 에스테르	MS (m/z): 314 (M+1)
12		6-클로로-N*4*-(1,1-디옥소-테트라히드로-1 람다*6*-티오펜-3-일)-2-메틸-피리미딘-4,5-디아민	MS (m/z): 277 (M+1)

[0110]

[0111] 제조예 13:

[0112] 2-시클로프로필-벤즈알데히드

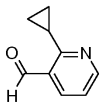
[0113] 

[0114] 60 mL 반응 바이알에 2-브로모-벤즈알데히드 (10.810 mmol, 1.264 mL), 시클로프로필보론산 (14.053 mmol, 1.207 g), 제3 인산칼륨 N-수화물 (37.834 mmol, 8.031 g), 트리시클로헥실포스핀 (1.081 mmol, 303.139 mg), 톨루엔 (283.654 mmol, 30.000 mL) 및 물 (83.263 mmol, 1.500 mL)을 충전하였다. 이어서, 상기 혼합물을 철저하게 탈기시켰다. 다음으로, $Pd(OAc)_2$ (540.482 μmol, 121.343 mg)를 첨가하고, 상기 혼합물을 질소하에 두고 100℃로 가열하였다. 2시간 후, 실온으로 냉각시키고 에틸 아세테이트 (50 mL) 및 염수 (50 mL)로 희석하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시켰다. 헥산:디클로로메탄 20%→50%로 용출시키는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 수득하였다.

[0115] ^{1}H NMR (400.31 MHz, cdcl3): 10.57 (s, 1H), 7.78 (dd, J= 1.3, 7.9 Hz, 1H), 7.45 (td, J= 7.5, 1.3 Hz, 1H), 7.28 (t, J= 7.5 Hz, 1H), 7.09 (d, J= 7.9 Hz, 1H), 2.63-2.56 (m, 1H), 1.07-1.02 (m, 2H), 0.77-0.73 (m, 2H).

[0116] 제조예 14:

[0117] 2-시클로프로필-피리딘-3-카르브알데히드

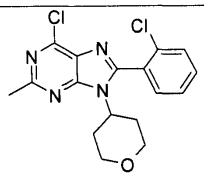
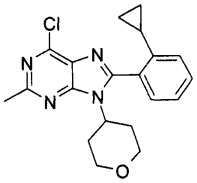
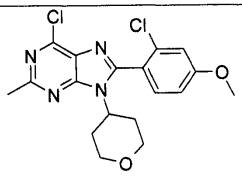
[0118] 

[0119] 40 mL 반응 바이알에 1,4-디옥산 3 mL 및 교반 막대대를 충전하였다. 질소로 5분 동안 탈기시켰다. 다음으로, 상기 바이알에 2-브로모니코틴알데히드 (645.134 μmol, 120.000 mg), 시클로프로필보론산 (1.290 mmol, 110.831 mg) 및 불화세슘 (1.935 mmol, 293.995 mg)을 충전하였다. 이어서, 상기 바이알을 질소로 다시 탈기시켰다. 다음으로, (1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센)팔라듐(II) 클로라이드 (32.257 μmol, 26.342 mg)를 첨가하고, 상기 반응 혼합물을 질소하에 100℃로 가열하였다. 반응 완료시에 상기 혼합물을 실온으로 냉각시켜 규조토 패드에서 에틸 아세테이트로 여과하여 표제 화합물을 수득하였다.

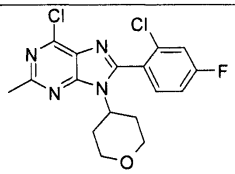
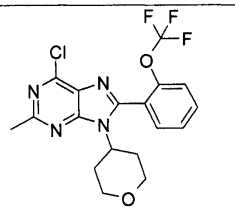
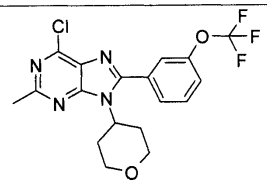
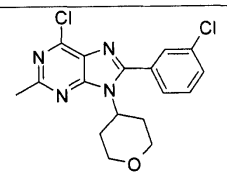
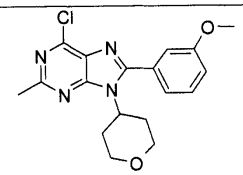
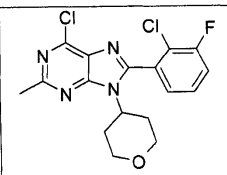
[0120] GCMS (m/z): 146 (M).

[0121] 표 2의 제조예 15 내지 47은 반응식 C에 따라 적절한 치환된 피리미딘을 사용하고 표 2에 기재된 바에 따라 적절한 일반적 절차 2-1 내지 2-3을 이용하여 제조될 수 있다:

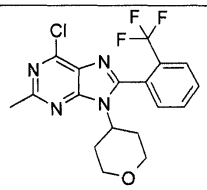
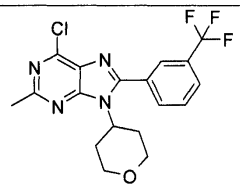
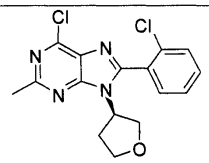
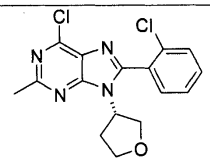
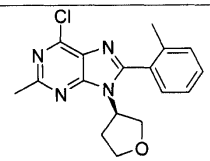
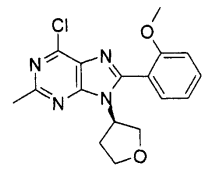
표 2

제조예 번호	구조	화학적 명칭	물리적 데이터	일반적 절차
15		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린	MS (m/z): 363 (M+1)	2-1
16		6-클로로-8-(2-시클로프로필-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린	MS (m/z): 369 (M+1)	2-1
17		6-클로로-8-(2-클로로-4-메톡시-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린	MS (m/z): 393 (M+1)	2-1

[0122]

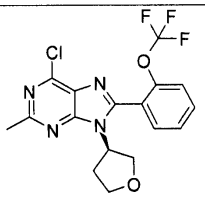
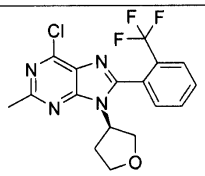
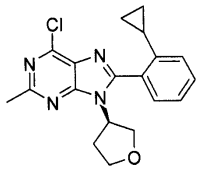
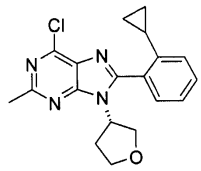
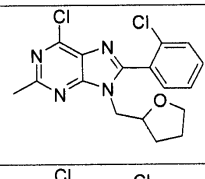
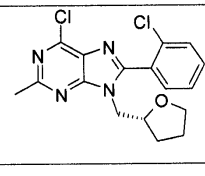
18		6-클로로-8-(2-클로로-4-플루오로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린	MS (m/z): 381 (M+1)	2-1
19		6-클로로-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(2-트리플루오로메톡시-페닐)-9H-퓨린	MS (m/z): 413 (M+1)	2-1
20		6-클로로-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(3-트리플루오로메톡시-페닐)-9H-퓨린	MS (m/z): 413 (M+1)	2-1
21		6-클로로-8-(3-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린	MS (m/z): 363 (M+1)	2-1
22		6-클로로-8-(3-메톡시-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린	MS (m/z): 359 (M+1)	2-1
23		6-클로로-8-(2-클로로-3-플루오로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린	MS (m/z): 381 (M+1)	2-1

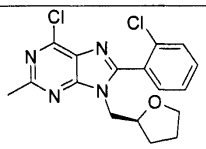
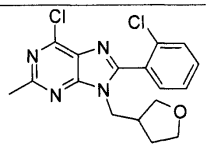
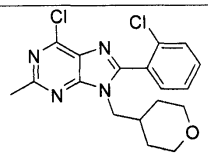
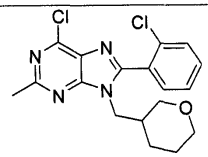
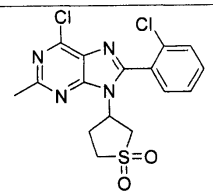
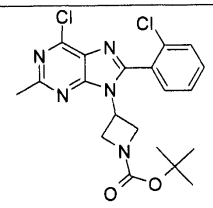
[0123]

24		6-클로로-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(2-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린	MS (m/z): 397 (M+1)	2-1
25		6-클로로-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(3-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린	MS (m/z): 397 (M+1)	2-1
26		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린	MS (m/z): 349 (M+1)	2-1
27		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(S)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린	MS (m/z): 349 (M+1)	2-1
28		6-클로로-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-o-톨릴-9H-퓨린	MS (m/z): 329 (M+1)	2-1
29		6-클로로-8-(2-메톡시-페닐)-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린	MS (m/z): 345 (M+1)	2-1

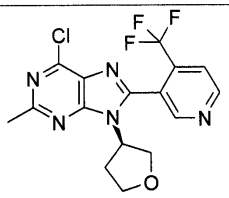
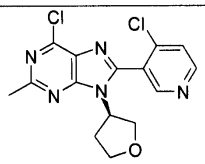
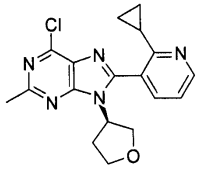
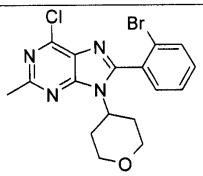
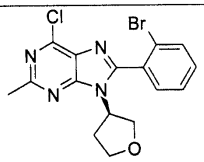
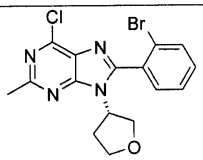
[0124]

[0125]

30		6-클로로-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-(2-트리플루오로메톡시-페닐)-9H-퓨린	MS (m/z): 399 (M+1)	2-1
31		6-클로로-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-(2-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린	MS (m/z): 385 (M+1)	2-1
32		6-클로로-8-(2-시클로프로필-페닐)-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린	MS (m/z): 355 (M+1)	2-1
33		6-클로로-8-(2-시클로프로필-페닐)-2-메틸-9-(S)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린	MS (m/z): 355 (M+1)	2-1
34		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-2-일메틸)-9H-퓨린	MS (m/z): 363 (M+1)	2-1
35		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-[(R)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-9H-퓨린	MS (m/z): 363 (M+1)	2-1

36		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-[(S)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-9H-퓨린	MS (m/z): 363 (M+1)	2-1
37		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-9H-퓨린	MS (m/z): 363 (M+1)	2-2
38		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린	MS (m/z): 377 (M+1)	2-2
39		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-3-일메틸)-9H-퓨린	MS (m/z): 377 (M+1)	2-1
40		6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-9-(1,1-디옥소-테트라히드로-1 람다*6*-티오펜-3-일)-2-메틸-9H-퓨린	MS (m/z): 397 (M+1)	2-1
41		3-[6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-퓨린-9-일]-아제티딘-1-카르복실산 tert-부틸 에스테르	MS (m/z): 434 (M+1)	2-2

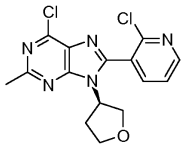
[0126]

42		6-클로로-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-(4-트리플루오로메틸-피리딘-3-일)-9H-퓨린	MS (m/z): 384 (M+1)	2-3
43		6-클로로-8-(4-클로로-피리딘-3-일)-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린	MS (m/z): 352 (M+1)	2-3
44		6-클로로-8-(2-시클로프로필-피리딘-3-일)-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린	MS (m/z): 356 (M+1)	2-3
45		8-(2-브로모-페닐)-6-클로로-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린	MS (m/z): 409 (M+1)	2-1
46		8-(2-브로모-페닐)-6-클로로-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린	MS (m/z): 393 (M+1)	2-1
47		8-(2-브로모-페닐)-6-클로로-2-메틸-9-(S)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린	MS (m/z): 393 (M+1)	2-2

[0127]

[0128] 제조예 48:

[0129] 6-클로로-8-(2-클로로-피리딘-3-일)-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린

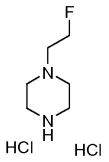
[0130] 

[0131] 반응 용기에 R-6-클로로-2-메틸-N4-(테트라히드로-푸란-3-일)-피리미딘-4,5-디아민 (2.186 mmol, 500.000 mg), 2-브로모니코틴알데히드 (3.280 mmol, 610.046 mg), 톨루엔 (94.551 mmol, 10.000 mL) 및 PTSA 일수화물 (109.323 μmol, 20.795 mg)을 충전하였다. 100℃에서 질소하에 1시간 동안 가열하였다. 실온으로 냉각시켜 여과하고 감압하에 농축시켰다. 다음으로, 조 오일 (이민)에 실온에서 질소하에 티오닐 클로라이드 (68.630 mmol, 5.000 mL)를 서서히 첨가하였다. 30분 동안 80℃로 가열하였다. 감압하에 농축시켰다. 톨루엔 (약 10 mL)을 첨가하고, 감압하에 2회 제거하였다. 잔류물을 디클로로메탄 중에 용해하고, 포화 수성 중탄산나트륨으로 서서히 염기성화하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시켰다. 헥산:아세톤으로 용출시키는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 수득하였다 (648 mg).

[0132] MS (m/z): 350 (M+1).

[0133] 제조예 49:

[0134] 1-(2-플루오로-에틸)-피페라진 히드로클로라이드 염

[0135] 

[0136] 단계 1:

[0137] 반응 용기에 N-tert-부톡시카르보닐피페라진 (8.590 mmol, 1.600 g), 탄산칼륨 (25.771 mmol, 3.562 g), 요오드화나트륨 (촉매) (66.714 μmol, 10.000 mg), 1,4-디옥산 (234.262 mmol, 20.000 mL), 1-브로모-2-플루오로에탄 (9.449 mmol, 704.029 ㎕) 및 교반 막대대를 충전하였다. 교반하에 밤새 환류하에 가열하였다. 반응 완료시에 실온으로 냉각시키고 감압하에 농축시켰다. 에틸 아세테이트 및 물로 분배하였다. 유기 층을 분리하고, 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시켜서 순수한 4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-카르복실산 tert-부틸 에스테르를 수득하였다.

[0138] GCMS (m/z): 232 (M).

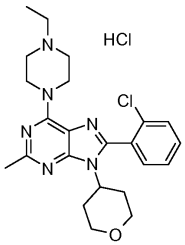
[0139] 단계 2:

[0140] 1,4-디옥산 중 4 N HCl (86.096 mmol, 21.524 mL)을 무수 디클로로메탄 (60 mL) 중 4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-카르복실산 tert-부틸 에스테르 (8.610 mmol, 2.000 g)의 교반된 용액에 실온에서 질소하에 첨가하였다. 밤새 질소하에 교반하였다. 감압하에 농축시켜서 표제 화합물을 수득하였다 (8.679 mmol, 1.780 g).

[0141] MS (m/z): 133 (M+1).

[0142] 실시예 1:

[0143] 8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염

[0144] 

[0145] 에탄올 (5.0 mL) 중 6-클로로-8-(2-클로로페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-2H-피란-4-일)-9H-퓨린 (0.0005 mol, 0.2 g), N-에틸 피페라진 (0.0006 mol, 0.069 g, 1.1 당량) 및 트리에틸아민 (0.0006 mol, 0.061 g, 1.1 당량)의 용액을 환류하에 20시간 동안 가열하였다. 대안적으로, 상기 반응물을 극초단파 조사로 가열하였다. 반응 완료시에 상기 반응 혼합물을 감압하에 농축시켰다. 잔류물을 무수 디클로로메탄 중에 용해하고, 포화 중탄산나트륨 용액, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시켜서 잔류물을 수득하였다. 헥산:아세톤 90:10으로 용출시키는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 유리 염기를 수득하였다. HCl (에탄올 중 2 M 용액) (1.0 당량)을 디에틸 에테르 (5 mL) 중 상기 유리 염기 (0.23 g, 0.500 mmol)에 0℃에서 첨가하고, 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 여과하고, 침전물을 디에틸 에테르로 세척하였다. 침전물을 진공하에 건조시켜서 표제 화합물을 수득하였다 (0.2 g).

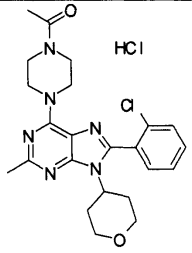
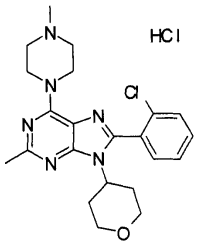
[0146] MS (m/z): 441.28 (M+1).

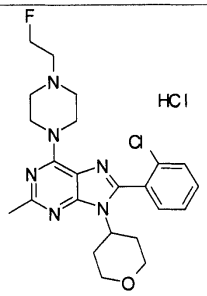
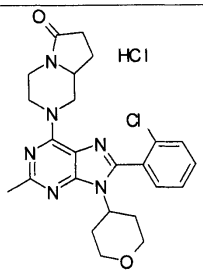
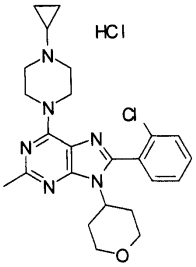
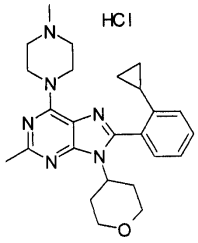
[0147] 대안적으로, 상기 유리 염기를 아세톤, 1:1 아세토니트릴:물, 또는 또 다른 적합한 유기 용매 중에 용해한 후에 교반하에 수성 또는 에테르계 HCl 용액을 첨가하여 상기 HCl 염을 제조하였다. 이어서, 동결건조시켜서 히드로클로라이드 염을 수득하였다.

[0148] 표 3의 실시예 2 내지 72는 본질적으로 제조예 1에 기재된 바와 같이 하여 적절하게 치환된 퓨린을 사용하고 반응식 D에 따라 적절하게 치환된 피페라진을 사용하여 제조될 수 있다:

표 3

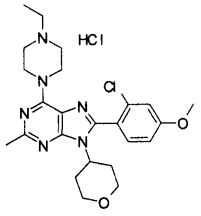
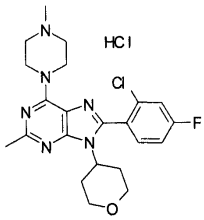
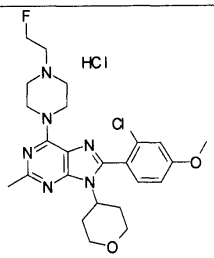
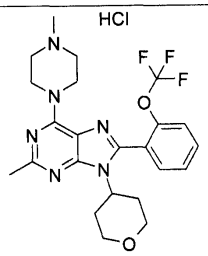
[0149]

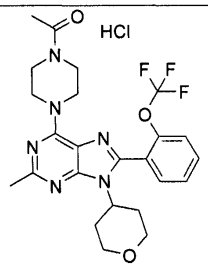
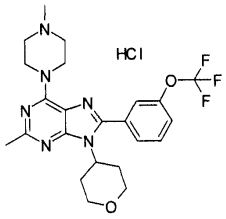
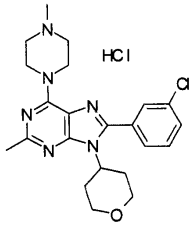
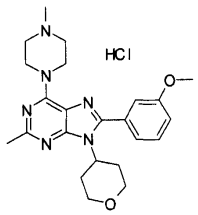
실시예 번호	구조	화학적 명칭	물리적 데이터
2		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 455 (M+1)
3		8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 427 (M+1)

4		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 459 (M+1)
5		2-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린-6-일]-헥사히드로-피롤로 [1,2-a]피라진-6-온 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[a]	MS (m/z): 425 (M+1)
6		8-(2-클로로-페닐)-6-(4-시클로프로필-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 453 (M+1)
7		8-(2-시클로프로필-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 433 (M+1)

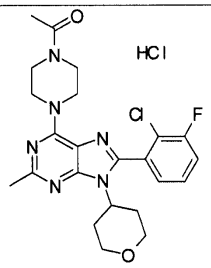
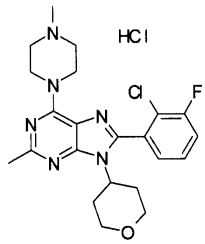
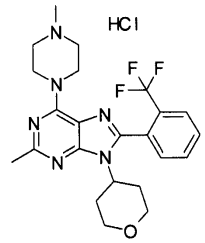
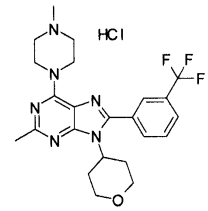
[0150]

[0151]

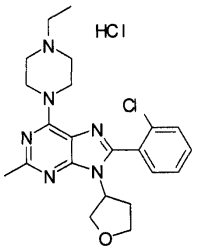
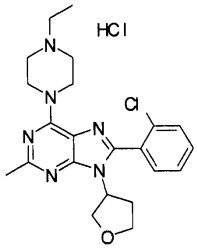
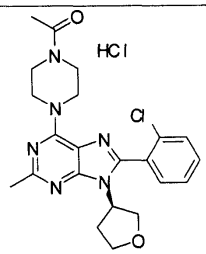
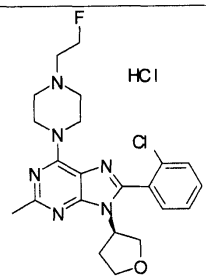
8		8-(2-클로로-4-메톡시-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 471 (M+1)
9		8-(2-클로로-4-플루오로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 445 (M+1)
10		8-(2-클로로-4-메톡시-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 489 (M+1)
11		2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(2-트리플루오로메톡시-페닐)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 477 (M+1)

12		1-{4-[2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(2-트리플루오로메톡시-페닐)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 505 (M+1)
13		2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(3-트리플루오로메톡시-페닐)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 477 (M+1)
14		8-(3-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 427 (M+1)
15		8-(3-메톡시-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 423 (M+1)

[0152]

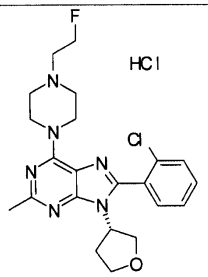
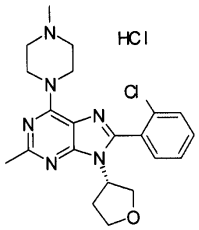
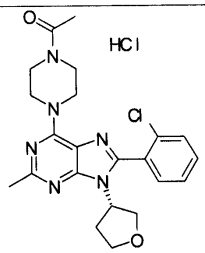
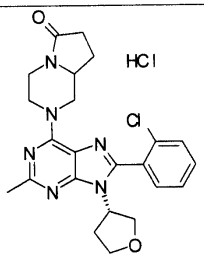
16		1-{4-[8-(2-클로로-3-플루오로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 473 (M+1)
17		8-(2-클로로-3-플루오로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-퍼페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 445 (M+1)
18		2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(2-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 461 (M+1)
19		2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-(3-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 461 (M+1)

[0153]

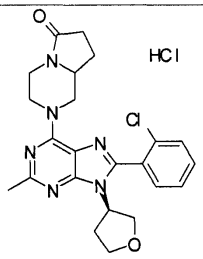
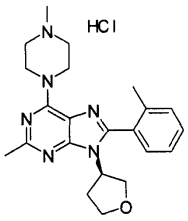
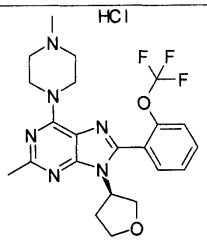
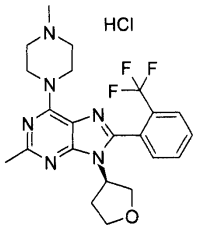
20		8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-3-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[b]	MS (m/z): 427 (M+1)
21		8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-3-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[b]	MS (m/z): 427 (M+1)
22		1-{4-[(R)-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 441 (M+1)
23		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 445 (M+1)

[0154]

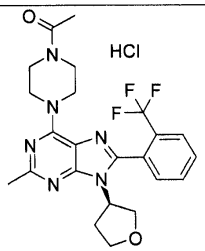
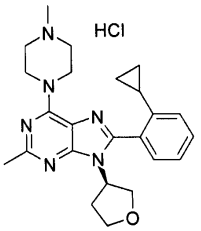
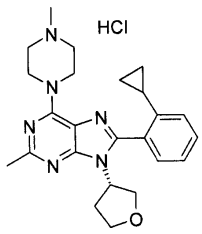
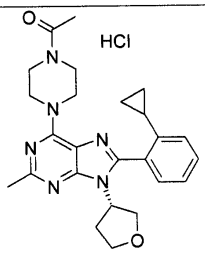
[0155]

24		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-(S)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 445 (M+1)
25		8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(S)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 413 (M+1)
26		1-{4-[(S)-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 441 (M+1)
27		2-[(S)-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린-6-일]-헥사히드로-피롤로 [1,2-a]피라진-6-온 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[c]	MS (m/z): 453 (M+1)

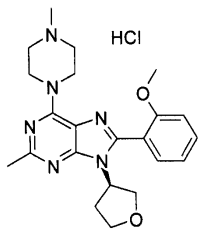
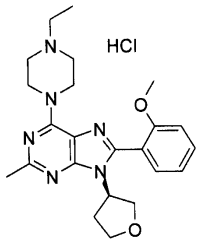
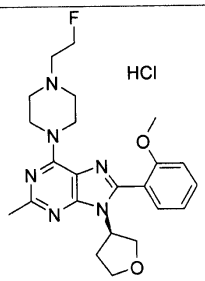
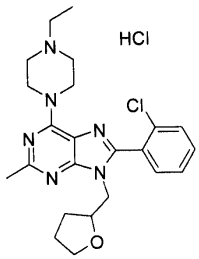
[0156]

28		2-[(R)-8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린-6-일]-헥사히드로-피롤로 [1,2-a]피라진-6-온 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[d]	MS (m/z): 453 (M+1)
29		2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-o-톨릴-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 393 (M+1)
30		2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-(2-트리플루오로메톡시-페닐)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 463 (M+1)
31		2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-(2-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 447 (M+1)

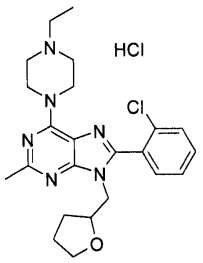
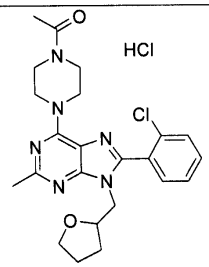
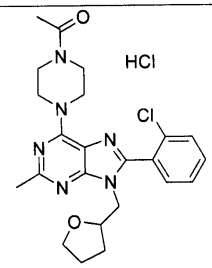
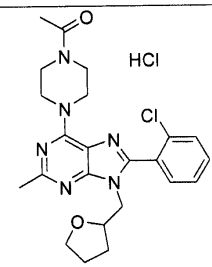
[0157]

32		1-{4-[(R)-2-메틸-9-테트라히드로-푸란-3-일-8-(2-트리플루오로메틸-페닐)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 475 (M+1)
33		8-(2-시클로프로필-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 419 (M+1)
34		8-(2-시클로프로필-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(S)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 419 (M+1)
35		1-{4-[(S)-8-(2-시클로프로필-페닐)-2-메틸-9-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 447 (M+1)

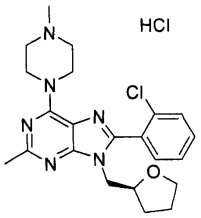
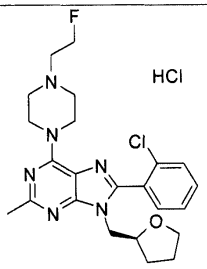
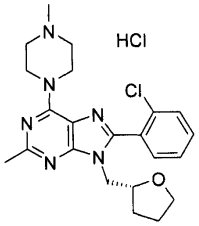
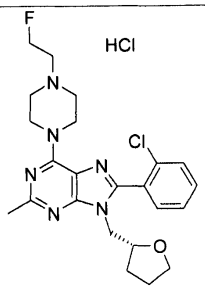
[0158]

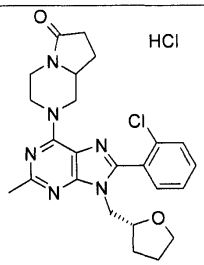
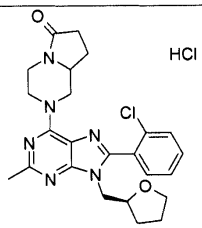
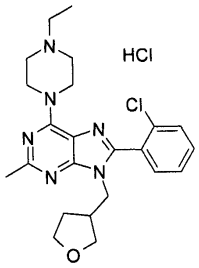
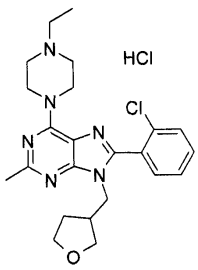
36		8-(2-메톡시-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 409 (M+1)
37		6-(4-에틸-피페라진-1-일)-8-(2-메톡시-페닐)-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 423 (M+1)
38		6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-8-(2-메톡시-페닐)-2-메틸-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 441 (M+1)
39		8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-2-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[e]	MS (m/z): 441 (M+1)

[0159]

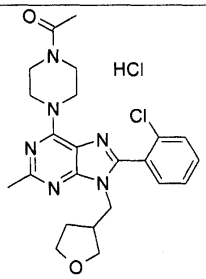
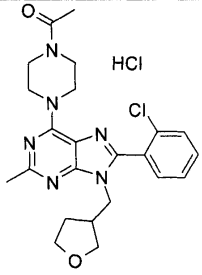
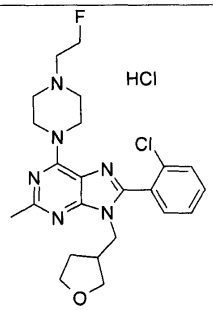
40		8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-2-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[e]	MS (m/z): 441 (M+1)
41		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-2-일메틸)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 455 (M+1)
42		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-2-일메틸)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[f]	MS (m/z): 455 (M+1)
43		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-2-일메틸)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[f]	MS (m/z): 455 (M+1)

[0160]

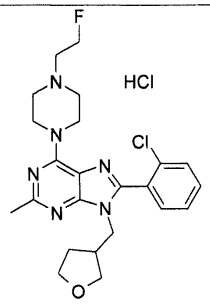
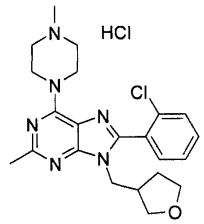
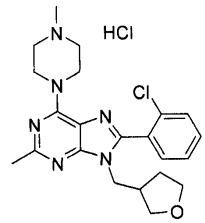
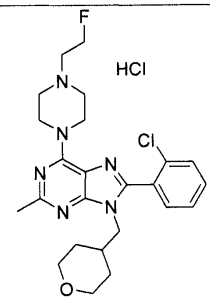
44		8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-[(S)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 427 (M+1)
45		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-[(S)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 459 (M+1)
46		8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-[(R)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 427 (M+1)
47		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-[(R)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 459 (M+1)

48		2-{8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-[(R)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-9H-퓨린-6-일}-헥사히드로-피롤로 [1,2-a]피라진-6-온 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 467 (M+1)
49		2-{8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-[(S)-1-(테트라히드로-푸란-2-일)메틸]-9H-퓨린-6-일}-헥사히드로-피롤로 [1,2-a]피라진-6-온 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[g]	MS (m/z): 467 (M+1)
50		8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[h]	MS (m/z): 441 (M+1)
51		8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[h]	MS (m/z): 441 (M+1)

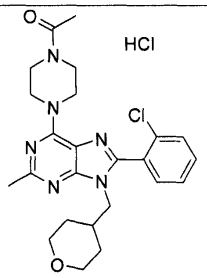
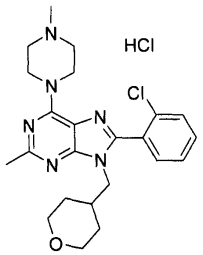
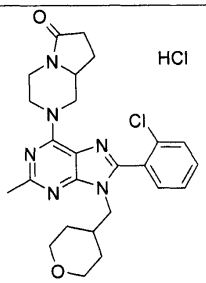
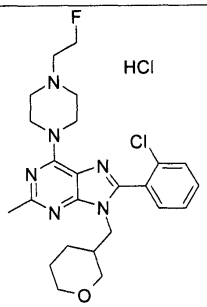
[0161]

52		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[i]	MS (m/z): 455 (M+1)
53		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[i]	MS (m/z): 455 (M+1)
54		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[j]	MS (m/z): 459 (M+1)

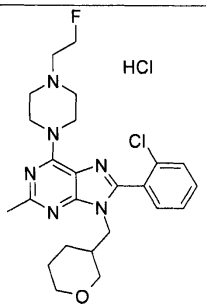
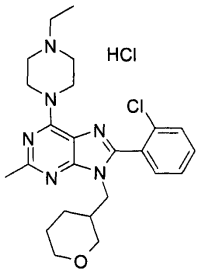
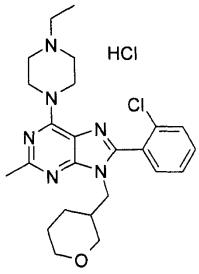
[0162]

55		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[j]	MS (m/z): 459 (M+1)
56		8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[k]	MS (m/z): 427 (M+1)
57		8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-푸란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[k]	MS (m/z): 427 (M+1)
58		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 473 (M+1)

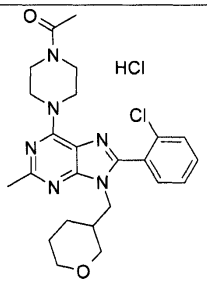
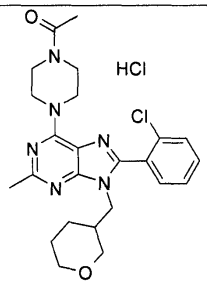
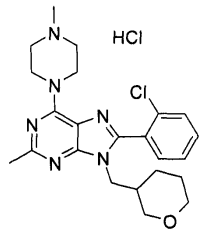
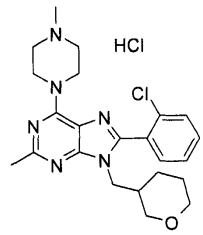
[0163]

59		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 469 (M+1)
60		8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 441 (M+1)
61		2-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린-6-일]-헥사히드로-피롤로 [1,2-a]피라진-6-온 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[l]	MS (m/z): 481 (M+1)
62		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[m]	MS (m/z): 473 (M+1)

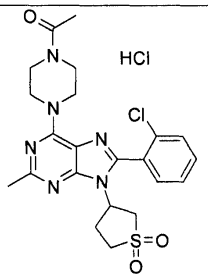
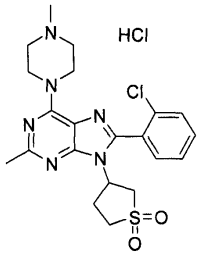
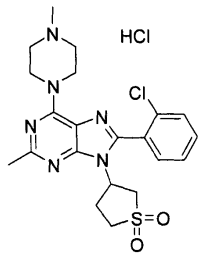
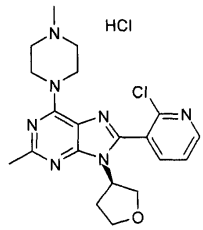
[0164]

63		8-(2-클로로-페닐)-6-[4-(2-플루오로-에틸)-피페라진-1-일]-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[m]	MS (m/z): 473 (M+1)
64		8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[n]	MS (m/z): 455 (M+1)
65		8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[n]	MS (m/z): 455 (M+1)

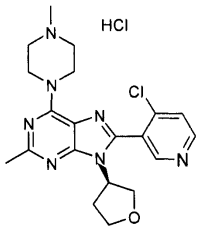
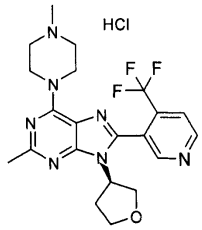
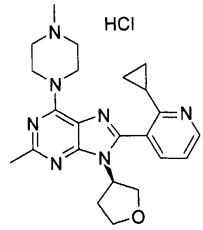
[0165]

66		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-3-일메틸)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염, 이성질체 1°	MS (m/z): 469 (M+1)
67		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-3-일메틸)-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염, 이성질체 2°	MS (m/z): 469 (M+1)
68		8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[P]	MS (m/z): 441 (M+1)
69		8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-3-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[P]	MS (m/z): 441 (M+1)

[0166]

70		1-{4-[8-(2-클로로-페닐)-9-(1,1-디옥소-테트라히드로-1 람다*6*-티오펜-3-일)-2-메틸-9H-퓨린-6-일]-피페라진-1-일}-에타논 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[q]	MS (m/z): 489 (M+1)
71		8-(2-클로로-페닐)-9-(1,1-디옥소-테트라히드로-1 람다*6*-티오펜-3-일)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 1[r]	MS (m/z): 461 (M+1)
72		8-(2-클로로-페닐)-9-(1,1-디옥소-테트라히드로-1 람다*6*-티오펜-3-일)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염, 이성질체 2[r]	MS (m/z): 461 (M+1)
73		8-(2-클로로-피리딘-3-일)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 414 (M+1)

[0167]

74		8-(4-클로로-피리딘-3-일)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 414 (M+1)
75		2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-8-(4-트리플루오로메틸-피리딘-3-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 448 (M+1)
76		8-(2-시클로프로필-피리딘-3-일)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 420 (M+1)

[0168]

[0169] 위첨자 a 내지 r은 키랄 분리 조건을 나타낸다: 이성질체 1은 분석용 키랄 컬럼으로부터 첫번째로 추출되고, 이성질체 2는 상기 키랄 컬럼으로부터 두번째로 추출된다.

[0170] a. 레지스팩(RegisPack) SFC, 용출액: 10% EtOH (0.2% IPAm)/CO_2

[0171] b. 키랄팩(Chiralpak) AS-H, 용출액: 100% MeOH (0.2% DMEA)

[0172] c. 키랄팩 AD-H, 용출액: 40:60 IPA:헵탄 (0.2% DMEA)

[0173] d. 키랄팩 AD-H SFC, 용출액: 20% IPA (0.2% IPAm)/CO_2

[0174] e. 키랄팩 AD-H SFC, 용출액: 7% MeOH (0.2% IPAm)/CO_2

[0175] f. 키랄팩 AS-H, 용출액: 100% EtOH

[0176] g. 키랄팩 AD-H, 용출액: 30:70 IPA:헵탄 (0.2% DMEA)

[0177] h. 키랄팩 AD-H SFC, 용출액: 10% EtOH (0.2% IPAm)/CO_2

[0178] I. 키랄셀(Chiralcel) OJ-H SFC, 용출액: 10% MeOH (0.2% IPAm)/CO_2

[0179] J. 키랄팩 AD-H SFC, 용출액: 10% EtOH (0.2% IPAm)/CO_2

[0180] k. 키랄팩 AD-H, 용출액: 15:85 IPA:헵탄 (0.2% DMEA)

[0181] l. 키랄팩 AD-H SFC, 용출액: 20% MeOH (0.2% IPAm)/CO_2

[0182] m. 키랄팩 AD-H SFC, 용출액: 10% EtOH (0.2% IPAm)/CO_2

[0183] n. 키랄팩 AD-H SFC, 용출액: 10% EtOH (0.2% IPAm)/CO_2

[0184] o. 키랄팩 AS-H SFC, 용출액: 10% MeOH (0.2% IPAm)/CO_2

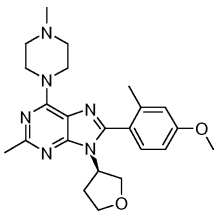
[0185] p. 키랄팩 AD-H, 용출액: 5:95 EtOH:헵탄 (0.2% DMEA)

[0186] q. 키랄팩 AS-H, 용출액: 100% MeOH (0.2% DMEA)

[0187] r. 키랄팩 AS-H, 용출액: 100% MeOH (0.2% DMEA)

[0188] 실시예 77:

[0189] 8-(4-메톡시-2-메틸-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린

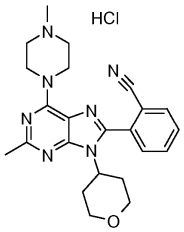
[0190] 

[0191] 6-클로로-2-메틸-N*4*-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-피리미딘-4,5-디아민 (0.100 g, 0.402 mmol), 4-메톡시-2-메틸벤즈알데히드 (0.091 g, 0.603 mmol), N-메틸피페라진 (0.044 g, 0.443 mmol) 및 니트로벤젠 (0.050 g, 0.402 mmol)을 메톡시벤젠 (1.2 mL) 중에 용해하고, 2일 동안 140℃로 가열하였다. 다음으로, 실온에서 3일 동안 교반하였다. 다음으로, 감압하에 농축시키고 수성 2 N HCl 및 디클로로메탄 사이에 분배하여 디클로로메탄으로 세척하였다. 수성 상을 pH 12로 염기성화하고, 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기물을 5 g SCX-2 컬럼에 로딩하여 메탄올로 세척한 후에 생성물을 메탄올 중 2 N 암모니아로 용출시켰다. 정제용 고압 액체 크로마토그래피로 정제하고 물/아세토니트릴로부터 동결건조하여 표제 화합물을 유리 염기로서 수득하였다.

[0192] MS (m/z): 423 (M+1).

[0193] 실시예 78

[0194] 2-[2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린-8-일]-벤조니트릴 히드로클로라이드 염

[0195] 

[0196] 단계 1:

[0197] 에탄올 (10.0 mL) 중 8-(2-브로모페닐)-6-클로로-2-메틸-9-(테트라히드로-2H-피란-4-일)-9H-퓨린 (0.0023 mol, 1.0 g), 1-메틸 피페라진 (0.0025 mol, 0.25 g, 1.1 당량) 및 트리에틸아민 (0.0025 mol, 0.25 g, 1.1 당량)의 용액을 90℃에서 16시간 동안 가열하였다. 상기 반응 혼합물을 감압하에 농축시켰다. 잔류물을 무수 디클로로메탄 중에 용해하고, 포화 중탄산나트륨 용액, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 농축시켜서 잔류물을 수득하였다. 잔류물을 디클로로메탄:메탄올 97:3으로 용출시키는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 8-(2-브로모-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린을 수득하였다 (0.71 g). 이것을 다음 반응에 그대로 사용하였다.

[0198] 단계 2:

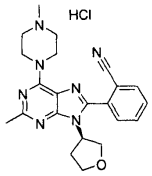
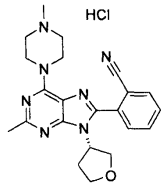
[0199] 극초단파 반응 용기에 8-(2-브로모-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 (0.0015 mol, 0.7 g), 시안화아연 (0.0022 mol, 0.256 g, 1.5 당량) 및 무수 N,N-디메틸포름아미드 (5.0 mL)를 충전하였다. 질소로 3회 탈기시켰다. $Pd(PPh_3)_4$ (0.0001 mol, 0.17 g, 0.1 당량)를 첨가하고, 질소로 3회 다시 탈기시켰다. 반응 용기를 밀폐하고, 150℃에서 1시간 동안 극초단파로 조사하였다. 상기 반응 혼합물을 실온으로 냉각시켜 반응 혼합물을 물로 켄칭(quenching)시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 층을 염수로 세척하여 무수 황산나트륨에서 건조시키고 여과하고 감압하에 농축시켜서 잔류물을 수득하였다. 상기 잔류물을 디클로로메탄:메탄올 99:1로 용출시키는 실리카 겔 컬럼에서 정제하여 유리 염기를 수득하였다. HCl

(디에틸 에테르 중 2 M 용액) (0.026 g, 0.0007 mol, 1.0 당량)을 디에틸 에테르 (5 mL) 중 2-(2-메틸-6-(4-메틸피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-2H-피란-4-일)-9H-퓨린-8-일)벤조니트릴 (0.3 g, 0.0007 mol)의 혼합물에 0 ℃에서 첨가하고, 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 침전물을 여과하여 디에틸 에테르로 세척하고, 진공하에 건조시켜서 표제 화합물을 수득하였다.

[0200] MS (m/z): 418.29 (M+1).

[0201] 표 4의 실시예 79 및 80은 본질적으로 실시예 78에서의 2개 단계에 걸쳐 동일한 절차를 이용하여 반응식 E에 따라 적절하게 치환된 퓨린을 사용하여 제조될 수 있다:

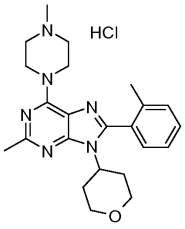
표 4

실시예 번호	구조	화학적 명칭	물리적 데이터
79		2-[(R)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린-8-일]-벤조니트릴 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 404(M+1)
80		2-[(S)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린-8-일]-벤조니트릴 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 404(M+1)

[0202]

[0203] 실시예 81:

[0204] 2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-8-o-톨릴-9H-퓨린 히드로클로라이드 염

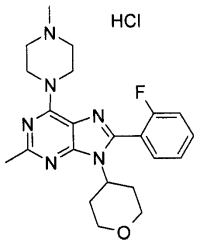
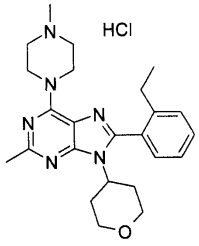
[0205] 

[0206] 디메틸 술폭시드 (5 mL) 중 6-클로로-2-메틸-N*4*-(테트라히드로-피란-4-일)-피리미딘-4,5-디아민 (1 g, 4.12 mmol)의 용액에 o-톨루알데히드 (4.12 mmol), N-메틸피페라진 (4.12 mmol) 및 이후 아세트산 (9.89 mmol, 566.635 ㎕)을 첨가하였다. 상기 반응물을 대기에 노출시킨 채로 8시간 동안 90℃로 가열하였다. 상기 물질을 사전-조건화된 SCX 컬럼에 충전하고, 메탄올 중 7 N 암모니아로 용출시켜 용매를 증발시키고, 조 물질을 역상 크로마토그래피로 정제하였다. 상기 물질에 1,4-디옥산 중 1 당량의 4 M HCl을 첨가하였다. 잉여 용매를 증발시켜서 표제 화합물을 수득하였다.

[0207] MS (m/z): 407 (M+1).

[0208] 표 5의 실시예 82 및 83은 본질적으로 실시예 81에 기재된 바와 같이 하고 반응식 F에 따라 적절한 피리미딘, 알데히드 및 피페라진을 사용하여 제조될 수 있다:

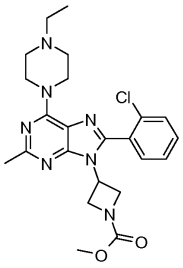
표 5

실시예 번호	구조	화학적 명칭	물리적 데이터
82		8-(2-플루오로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 411 (M+1)
83		8-(2-에틸-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염	MS (m/z): 421 (M+1)

[0209]

[0210] 실시예 84:

[0211] 3-[8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-퓨린-9-일]-아제티딘-1-카르복실산 메틸에스테르

[0212] 

[0213] 단계 1:

[0214] 에탄올 (25.0 mL) 중 tert-부틸 3-(6-클로로-8-(2-클로로페닐)-2-메틸-9H-퓨린-9-일)아제티딘-1-카르복실레이트 (0.012 mol, 5.5 g), N-에틸 피페라진 (0.013 mol, 1.59 g, 1.1 당량) 및 트리에틸아민 (0.013 mol, 1.41 g, 1.1 당량)의 용액을 90℃에서 16시간 동안 가열하였다. 상기 반응 혼합물을 감압하에 농축시켰다. 상기 잔류물을 무수 디클로로메탄 중에 용해하였다. 포화 중탄산나트륨 용액, 물 및 염수로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시켜서 잔류물을 수득하였다. 상기 잔류물을 디클로로메탄:메탄올 98:2로 용출시키는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 tert-부틸 3-(8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-2-메틸-9H-퓨린-9-일)아제티딘-1-카르복실레이트를 수득하였다 (3.0 g).

[0215] MS (m/z): 512.31(M+1).

[0216] 단계 2:

[0217] 트리플루오로아세트산 (15 mL)을 디클로로메탄 (15 mL) 중 tert-부틸 3-(8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-2-메틸-9H-퓨린-9-일)아제티딘-1-카르복실레이트 (0.005 mol, 3.0 g)의 용액에 0℃에서 첨가하고, 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 포화 중탄산나트륨 용액으로 켄칭시키고 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시켜서 9-(아제티딘-3-일)-8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-2-메틸-9H-퓨린을 수득하였다 (2.4 g).

[0218] MS (m/z): 412.22 (M+1).

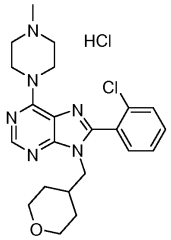
[0219] 단계 3:

[0220] 메틸 클로로포르메이트 (0.0024 mol, 0.22 g, 2.5 당량)를 무수 디클로로메탄 (2 mL) 중 9-(아제티딘-3-일)-8-(2-클로로페닐)-6-(4-에틸피페라진-1-일)-2-메틸-9H-퓨린 (0.0009 mol, 0.4 g) 및 피리딘 (2 mL)의 용액에 0℃에서 첨가하고, 2시간 동안 실온에서 교반하였다. 상기 반응 혼합물을 포화 중탄산나트륨 용액으로 켄칭시킨 후에 디클로로메탄으로 추출하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 감압하에 농축시켜서 잔류물을 수득하였다. 상기 잔류물을 디클로로메탄:메탄올 98:2로 용출시키는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 표제 화합물을 유리 염기로서 수득하였다 (0.155 g).

[0221] MS (m/z): 470.63(M+1).

[0222] 실시예 85:

[0223] 8-(2-클로로-페닐)-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염

[0224] 

[0225] 단계 1:

[0226] 극초단파 반응 바이알에 4,6-디클로로-피리미딘-5-일아민 (12.20 mmol, 2.00 g), 이소프로필 알콜 (5 mL), C-(테트라히드로-피란-4-일)-메틸아민 (14.63 mmol, 1.69 g) 및 N,N-디이소프로필에틸아민 (15.85 mmol, 2.76 mL)을 충전하였다. 교반하에 140℃에서 2시간 동안 고흡광도 방식으로 극초단파로 조사하였다. 용매를 증발시키고, 잔류물을 디클로로메탄으로 연화처리(trituration)하여 6-클로로-N*4*-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-피리미딘-4,5-디아민을 수득하였다.

[0227] 단계 2:

[0228] 일반적 절차 2-1에 따라 6-클로로-N*4*-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-피리미딘-4,5-디아민을 사용하여 6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린을 제조하였다.

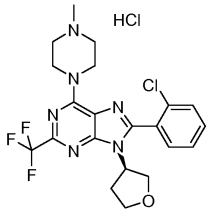
[0229] 단계 3:

[0230] 6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린을 N-메틸피페라진으로 대체하고 실시예 1에서와 동일한 절차를 이용하여 히드로클로라이드 염을 제조하여 표제 화합물을 수득하였다.

[0231] MS (m/z): 427 (M+1)

[0232] 실시예 86:

[0233] 8-(2-클로로-페닐)-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-2-트리플루오로메틸-9H-퓨린 히드로클로라이드 염

[0234] 

[0235] 단계 1:

[0236] 극초단파 반응 용기에 4,6-디클로로-2-트리플루오로메틸-피리미딘-5-일아민 (4.31 mmol, 1.00 g), 이소프로필

알콜 (3 mL), (R)-(테트라히드로-푸란-3-일)아민 (5.17 mmol, 639.24 mg) 및 디이소프로필에틸아민 (12.93 mmol, 2.26 mL)을 충전하였다. 교반하에 140℃에서 2시간 동안 고흡광도 방식을 이용하여 조사하였다. 감압하에 농축시키고 디클로로메탄 중에 용해하여 물 (2×150 mL)로 세척하였다. 유기 층을 황산마그네슘에서 건조시키고 증발시켜서 갈색 오일을 수득하였다. 헥산:에틸 아세테이트 0%→100%로 용출시키는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 6-클로로-N*4*-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-2-트리플루오로메틸-피리미딘-4,5-디아민을 수득하였다.

[0237] 단계 2:

[0238] 무수 1,4-디옥산 (10 mL) 중 6-클로로-N*4*-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-2-트리플루오로메틸-피리미딘-4,5-디아민 (2.67 mmol, 0.756 g) 및 2-클로로-벤즈알데히드 (2.94 mmol, 331.39 ㎕)를 실리카상 15% 염화제2철 (8.56 mmol, 1.39 g)로 처리하고, 100℃에서 밤새 가열하였다. 규조토를 통해 여과하고 에틸 아세테이트로 세척하였다. 여액을 증발시켜서 6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-2-트리플루오로메틸-9H-퓨린을 수득하였다.

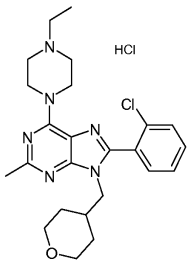
[0239] 단계 3:

[0240] 6-클로로-8-(2-클로로-페닐)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-2-트리플루오로메틸-9H-퓨린을 N-메틸피페라진으로 대체하고 실시예 1에서와 동일한 절차를 이용하여 히드로클로라이드 염을 제조하여 표제 화합물을 수득하였다.

[0241] MS (m/z): 467 (M+1).

[0242] 실시예 87:

[0243] 8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린 히드로클로라이드 염

[0244] 

[0245] 단계 1:

[0246] 환류 응축기, 질소 유입구 및 교반 막대가 장착된 1 L rbf에서 5-아미노-4,6-디클로로-2-메틸피리미딘 (25 g, 140 mmol), 4-아미노메틸테트라히드로피란 히드로클로라이드 (36.2 g, 239 mmol) 및 트리에틸아민 (57 mL, 407.3 mmol)을 이소프로필 알콜 (280 mL) 중에 용해하고 환류시까지 가열하였다. 42시간 후에 실온으로 냉각시켰다. 용매를 감압하에 제거하고, 생성된 잔류물을 디클로로메탄 (300 mL) 중에 용해하였다. 유기 층을 물 (2×150 mL) 및 염수 (150 mL)로 세척하고 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 증발시켜서 6-클로로-2-메틸-N-4-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-피리미딘-4,5-디아민을 수득하였다 (38 g).

[0247] MS (m/z): 257/259 (M+1).

[0248] 단계 2:

[0249] 온도계, 응축기 및 소결 공기 유입구가 장착된 3구 1 L rbf에서 6-클로로-2-메틸-N-4-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-피리미딘-4,5-디아민 (37.6 g, 146.4 mmol) 및 구리(II) 트리플루오로메탄술포네이트 (26.5 g, 73.2 mmol)를 디메틸포름아미드 (585 mL) 중에 실온에서 용해하였다. 이어서, 트리에틸아민 (41 mL, 293 mmol), N-에틸피페라진 (20.6 mL, 161.1 mmol) 및 2-클로로벤즈알데히드 (24.7 mL, 219.7 mmol)를 첨가하고, 상기 혼합물을 교반 및 공기 살포하에 100℃로 가열하였다.

[0250] 5.5시간 후에 가열을 중단하고 실온으로 냉각시켰다. 에틸 아세테이트 (1 L)로 희석하고 포화 수성 탄산수소나트륨 (1×200 mL) 및 수산화암모늄 (1×200 mL)으로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 증발시켜서 갈색 오일을 수득하였고, 실리카 겔 크로마토그래피 (디클로로메탄 중 4% 메탄올)로 정제하여 8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린을 수득하였다

(17.6 g).

[0251] MS (m/z): 455/457 (M+1).

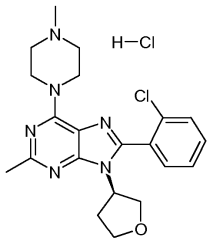
[0252] 단계 3:

[0253] 8-(2-클로로-페닐)-6-(4-에틸-피페라진-1-일)-2-메틸-9-(테트라히드로-피란-4-일메틸)-9H-퓨린 (5.23 g, 11.5 mmol)을 디에틸 에테르 (45 mL) 중에 교반하고, 염산 (1,4-디옥산 중 4 N, 2.9 mL, 11.5 mmol)을 실온에서 첨가하였다. 2시간 후에 수득된 고체를 여과로 수집하여 디에틸 에테르로 세척하였다. 진공 건조시켜서 표제 화합물을 수득하였다 (5.4 g).

[0254] MS (m/z): 455/457 (M+1- HCl).

[0255] 실시예 88:

[0256] 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 히드로클로라이드 염

[0257] 

[0258] 단계 1:

[0259] 환류 응축기, 교반 막대 및 질소 유입구가 장착된 1 L rbf에서 5-아미노-4,6-디클로로-2-메틸피리미딘 (20 g, 112.3 mmol), (R)-(테트라히드로-푸란-3-일)아민 히드로클로라이드 (20.8 g, 168.5 mmol), 트리에틸아민 (45 mL, 325.81 mmol) 및 이소프로필 알콜 (225 mL)을 합하고 자성 교반하에 환류시까지 가열하였다. 4일 후에 가열을 중단시키고 실온으로 냉각시켰다. 용매를 감압하에 제거하고, 생성된 잔류물을 디클로로메탄 (300 mL) 중에 용해하고 물 (2×150 mL) 및 염수 (150 mL)로 세척하였다. 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켜 여과하고 증발시켜서 6-클로로-2-메틸-N*4*-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-피리미딘-4,5-디아민을 수득하였다 (23.1 g).

[0260] MS (m/z):229/231 (M+1)

[0261] 단계 2:

[0262] 6-클로로-2-메틸-N*4*-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-피리미딘-4,5-디아민 (23.1 g, 101 mmol), 2-클로로벤즈알데히드 (17.0 mL. 151.5 mmol), N-메틸피페리진 (12.3 mL, 111.12 mmol) 및 니트로벤젠 (10.3 mL, 101.01 mmol)을 메톡시벤젠 (300 mL) 중에 용해하고 공기에 노출시킨 채로 130℃ (내부 온도)로 가열하였다. 36시간 후에 상기 혼합물을 실온으로 냉각시키고, SCX-2 수지 패드 (80 g)에 붓고 메탄올 (500 mL) 및 이후 메탄올 중 3.5 N 암모니아 (500 mL)로 용출시켰다. 용매를 암모니아로부터 메탄올 분획으로 제거하여 갈색 오일을 수득하였고, 이것을 디클로로메탄:메탄올 3%→20%로 용출시키는 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하여 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린을 짙은 오일로서 수득하였다 (10.1 g).

[0263] MS (m/z): 413/415 (M+1).

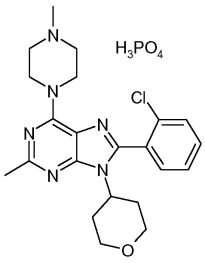
[0264] 단계 3:

[0265] 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(R)-테트라히드로-푸란-3-일-9H-퓨린 (8.62 g, 20.9 mmol)을 디에틸 에테르 (105 mL) 중에 용해하고, 염산 (디옥산 중 4 N, 5.2 mL, 20.88 mmol)으로 처리하였다. 상기 혼합물을 15시간 동안 교반하고, 형성된 고체를 여과로 수집하였다. 이것으로, 자유 유동 형태의 황색 고체를 수득하였다. 따라서, 대다수의 상기 물질을 둥근 바닥 플라스크로 옮겨 진공하에 두어 표제 화합물을 수득하였다 (7.33 g).

[0266] MS (m/z): 413/415 (M+1-HCl), $[\alpha]_D^{20}$ = +27 ° (c=0.256 (디클로로메탄 중)).

[0267] 실시예 89:

[0268] 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 포스페이트 염

[0269] 

[0270] 단계 1:

[0271] 300 mL 유리 압력 반응기에서 5-아미노-4,6-디클로로-2-메틸피리미딘 (20.0 g, 97%, 109.0 mmol), 4-아미노테트라히드로피란 히드로클로라이드 (21.0 g, 152.6 mmol), 디-이소프로필에틸아민 (57.0 mL, 326.9 mmol) 및 이소프로필 알콜 (100 mL)을 합하였다. 상기 압력 용기를 단단히 밀폐하여 교반을 시작하고, 가열 제어를 위한 설정치를 100℃로 조정하였다. 상기 혼합물을 100℃에서 24시간 동안 교반하였다. 반응기 내용물을 60℃로 냉각시키고, 용기에서 압력을 빼고 4-아미노테트라히드로피란 히드로클로라이드 (2.25 g, 16.3 mmol)를 첨가하였다. 상기 용기를 다시 밀폐시키고, 내용물을 내부 온도 100℃로 가열하여 24시간 더 교반하였다. 반응 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 반응기에서 압력을 빼고 내용물을 회수 플라스크로 옮겼다. 상기 혼합물을 감압하에 원래 부피의 대략 1/3로 농축시켰다. 물 (200 mL) 및 에틸 아세테이트 (200 mL)를 첨가하고, 생성된 혼합물을 분별 깔때기로 옮겼다. 층들을 분리하고, 수성 층을 에틸 아세테이트 (100 mL)로 재추출하여 모든 유기물을 합하였다. 물 (2×100 mL) 및 염수 (100 mL)로 세척한 후에 유기 층을 무수 황산나트륨에서 건조시켰다. 감압하에 농축시켜서 6-클로로-2-메틸-N*4*-(테트라히드로-2H-피란-4-일)-피리미딘-4,5-디아민을 회백색 고체로서 수득하였다 (25.0 g).

[0272] MS (m/z): 243/245 (M+1).

[0273] 단계 2:

[0274] 500 mL 3구 플라스크에서 질소 대기하에 6-클로로-2-메틸-N*4*-(테트라히드로-2H-피란-4-일)-피리미딘-4,5-디아민 (24.4 g, 100.4 mmol)을 디메틸아세트아미드 (175 mL) 중에 용해하였다. 생성된 용액을 0℃ 내지 5℃로 냉각시켰다. 내부 온도를 10℃ 미만으로 유지하면서 첨가 깔때기를 통해 2-클로로벤조일 클로라이드 (15.5 mL, 122.4 mmol)를 20분에 걸쳐 첨가하였다. 상기 첨가 깔때기를 디메틸아세트아미드 (1.0 mL)로 헹구었다. 생성된 혼합물을 밤새 교반시키면서 주위 온도로 저절로 가온되도록 하였다. 빙냉 탈이온수 (250 mL)를 제2의 500 mL 플라스크에 충전한 후에 상기 반응 혼합물을 20분에 걸쳐 냉수로 옮겼다. 생성된 슬러리를 2시간 동안 교반하였다. 고체를 여과하고, 냉수 (120 mL)로 세척하여 밤새 50℃에서 진공 건조시켜서 2-클로로-N-(4-클로로-2-메틸-6-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)-피리미딘-5-일)벤즈아미드를 회백색 고체로서 수득하였다 (33.1 g).

[0275] MS (m/z): 381/382 (M+1).

[0276] 단계 3:

[0277] 2-클로로-N-(4-클로로-2-메틸-6-(테트라히드로-2H-피란-4-일아미노)-피리미딘-5-일)벤즈아미드 (45.0 g, 118.0 mmol), 1-메틸피페라진 (23.0 mL, 207.0 mmol), 디-이소프로필에틸아민 (23.0 mL, 131.9 mmol) 및 이소프로필 알콜 (225 mL)을 1 L Parr 반응기에서 합하였다. 상기 반응기를 밀폐시켜 교반을 시작하고, 가열 제어를 위한 설정치를 160℃로 조정하였다. 내부 온도가 160℃에 도달한 후, 상기 혼합물을 24시간 동안 교반하였다. 반응기 내용물을 60℃로 냉각시켜 용기에서 압력을 빼고, 상기 내용물을 오버헤드 교반 장치가 장착된 2 L 플라스크로 옮겼다. 반응기 플라스크를 이소프로필 알콜 (25.0 mL)로 헹궈내고, 헹굼액을 주요 용액과 합하였다. 차가운 탈이온수 (780 mL)를 상기 혼합물에 30분에 걸쳐 첨가하고, 생성된 침전물을 30분 동안 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하여 고체를 탈이온수 (2×270 mL)로 세척하고, 깔때기에서 건조시켜 모았다. 상기 생성물을 밤새 45℃에서 추가로 건조시켜서 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-

4-일)-9H-퓨린을 회백색 고체로서 수득하였다 (44.8 g).

[0278] MS (m/z): 427/429 (M+1).

[0279] 단계 4:

[0280] 8-(2-클로로-페닐)-2-메틸-6-(4-메틸-피페라진-1-일)-9-(테트라히드로-피란-4-일)-9H-퓨린 (3.0 g, 7.1 mmol) 및 무수 에탄올 (24 mL)을 환류를 위해 설정해 둔 50 mL 3구 플라스크에서 합하였다. 생성된 현탁액을 70℃로 가열하고, 무수 에탄올 (6.0 mL) 중 85% 인산 (0.49 mL, 7.2 mmol)을 25분에 걸쳐 첨가하였다. 상기 혼합물을 70℃에서 45분 동안 교반하고 주위 온도로 서서히 냉각시켜 2시간 더 교반하였다. 상기 혼합물을 여과하고, 생성물 케이크를 무수 에탄올 (6 mL)로 헹궈 건조시켜 모았다. 상기 생성물을 밤새 55℃에서 추가로 건조시켜서 표제 화합물을 백색 결정질 고체로서 수득하였다 (3.6 g).

[0281] MS (m/z): 427/429 (M+1).

[0282] CB_1 및 CB_2 시험관내 기능적 검정

[0283] 예시된 화합물을 SPA 기재의 GTP-γ-^{35}S 결합 검정을 이용하여 효능제 방식으로 시험하였다. 모든 검정 성분은 20 mM HEPES, 100 mM NaCl, 5 mM $MgCl_2$ (실온에서 pH 7.4)로 이루어진 검정 완충제 중에 제조하였다. 세미-로그 화합물 희석을 BSA (최종 0.125%)를 함유하는 검정 완충제 중에서 수행하였다. CB_1 검정의 경우에는 온전한 막 포획 기술을 이용하고 CB_2 검정의 경우에는 이전에 기재된 항체 포획 기술 ([DeLapp et al., J Pharmacol Exp Ther 289:946-955, 1999])의 변형법을 이용하여 GTP-γ-^{35}S 결합을 96웰 포맷으로 결정하였다. 모든 인큐베이션은 실온에서 수행하였다.

[0284] CB_1:

[0285] hCB_1-CHO 막, GDP (최종 1 μM) 및 사포닌 (최종 10 μg/mL)을 검정 완충제에 첨가하고 균질화하였다. 희석된 화합물, GTP-γ-^{35}S (최종 500 nM) 및 막을 검정 플레이트에 첨가하고 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 웰 1개 당 1 mg의 맥아 응집소 SPA 비드를 첨가하고, 플레이트를 밀폐시켜 볼텍싱하고 1시간 더 인큐베이션하였다. 이어서, 상기 플레이트를 700×g에서 10분 동안 원심분리하고, 섬광 계수기를 사용하여 웰 1개 당 1분 동안 계수하였다.

[0286] CB_2-Sf9:

[0287] hCB_2-Sf9 막 및 GDP (최종 1 μM)를 검정 완충제에 첨가하고 균질화하였다. 희석된 화합물 및 막을 검정 플레이트에 첨가하고 15분 동안 사전 인큐베이션하였다. 이후에 GTP-γ-^{35}S (최종 500 nM)를 첨가하여 35분 더 인큐베이션 하였다. 다음으로, 노니데트(Nonidet) P40 세정제 (최종 0.2%), 항-Gi 항체 (최종 희석률: 1:362) 및 1.25 mg의 항-토끼 항체 섬광 근접 검정 비드를 함유하는 혼합물을 첨가하였다. 이어서, 상기 플레이트를 밀폐시켜 볼텍싱하고 2시간 더 인큐베이션한 후에 CB_1의 경우와 마찬가지로 원심분리하고 계수하였다.

[0288] 데이터를 분석하기 위해, 우선 모든 웰로부터 백그라운드를 감하였다. 효능제/역 효능제 용량 반응 데이터를 완전 효능제 (메타난다미드) 반응에 표준화하여 효능제 효능의 백분율(%)을 결정하였다. 액티비티 베이스 (Activity Base) 및 XLFit3을 이용한 4-파라미터 로지스틱 감소 핏팅으로 데이터를 분석하였다.

[0289] 모든 예시된 화합물을 본질적으로 상기 기재된 바와 같이 하여 시험하였고, 각각이 CB_2의 경우에는 상대적 EC50 값 ≤100 nM을 갖는 것으로 밝혀졌다. 실시예 61은 상대적 EC50 값이 CB_2의 경우에는 18 nM 및 CB_1의 경우에는 1950 nM이었다.

[0290] 따라서, 본 발명의 화합물은 CB_2 시험관내 활성을 보여준다. 추가로, 본 발명의 화합물은 CB_1에 비해 CB_2에 대한 선택성을 보여주고, 따라서 중추 매개 부작용이 제한적인 잠재력을 제공한다.

[0291] 인간 및 래트 CB_2 수용체로부터 3H-CP55940의 대체

[0292] 문헌 [Felder et al. (Mol. Pharmaocol. 48:443-450, 1995)]의 방법을 약간 변형시켜 이용하였다.

구체적으로, 인간 또는 래트 CB_2 수용체를 안정적으로 또는 일시적으로 발현하는 세포로부터의 막 균질물을 원심분리로 세척하고, 50 mM Tris HCl (pH 7.4), 5 mM $MgCl_2$, 2.5 mM EDTA 및 0.1% BSA 완충제로 희석하였다. 3H-CP55940의 특이적 결합을 1 μM CP55940으로 규정하였다. 화합물이 특이적 3H-CP55940 결합을 대체하는 능력을 소정 범위의 농도에 결쳐 1% 디메틸 술폭시드 존재하의 Tris, $MgCl_2$, EDTA, BSA 완충제 중에서 실온에서 90분 동안 300 ㎕ 부피로 인큐베이션하여 시험하였다. 물 중 0.5% 폴리비닐피롤리돈, 0.1% 폴리소르베이트 20으로 사전 처리한 유니필터(Unifilter) 96웰 마이크로플레이트를 차가운 Tris 완충제로 3회 세척하였다. 이어서, 상기 반응 혼합물을 필터 플레이트로 옮긴 직후에 신속한 여과로 인큐베이션을 종료하고 차가운 Tris 완충제 200 ㎕로 3회 세척하였다. 필터 플레이트를 건조시킨 후에 마이크로신트(microscint) 20을 각 웰에 첨가하고, 상기 플레이트를 밀폐시키고 계수하여 분당 붕괴수를 결정하였다. 대체 곡선을 그래프로 표시하고, 생성된 Ki 값을 그래프패드 프리즘(Graphpad Prism)으로 결정하였다.

[0293] 실시예 76은 인간 수용체 Ki 값은 33.9 nM, 래트 수용체 Ki 값은 31.3 nM이었다.

[0294] 따라서, 본 발명의 화합물은 인간 및 래트 CB_2 수용체 둘다에 시험관내 결합하는 것으로 나타났다.

[0295] 모노요오도아세테이트 (MIA) 모델

[0296] 모든 연구에서 MIA 주사 시점에 대략 8주령인 수컷 루이스(Lewis) 래트를 사용하여 MIA 모델에서의 통증을 측정하였다. 상기 래트를 우리 1개 당 2마리 또는 3마리의 군으로 가두고, 일정한 온도에서 12시간 광/12시간 암 주기를 유지하였다. 데이타 수집 동안을 제외하고는 동물이 음식 및 물에 언제든지 자유롭게 접근하게 하였다.

[0297] 표준 MIA 모델에서, 각 래트의 오른쪽 무릎에는 염수 50 ㎕ 중 MIA 0.3 mg을 주사하고, 왼쪽 무릎에는 염수 50 ㎕을 주사하였다. 통증은 인커패시턴스(incapacitance) 시험을 이용하여 MIA 주사 후의 시간 (일반적으로는 MIA 주사 10일 전이 아님)을 다르게 하여 측정하였다. 이것은 MIA 및 염수 주사된 무릎 사이에서 뒷발 체중 부하에서의 차이를 측정하며, 각 측정치는 매번 1초에 걸쳐 측정된 3회의 별도의 측정치의 평균이다.

[0298] CB_2 효능제를 사용한 연구에서, 래트를 용량 군 (n = 5 또는 6)으로 무작위한 후, 화합물을 일단 투여하며 조사하였다. 각 래트마다 15분씩 차이를 두고 교대로 투여하였고, 투여 후 소정의 시점에 (통상적으로 2시간) 인커패시턴스 시험을 이용하여 통증을 측정하였다. 연구는 일반적으로 비히클 (물 중 1% 카르복시 메틸 셀룰로스 및 0.25% 폴리소르베이트 80) 및 단일 용량의 단일 화합물일 수도 있고 3가지 용량의 동일 화합물일 수도 있는 3개의 화합물 군의 4개 군으로 수행되었다. 결과는 염수 및 MIA 주사된 무릎 사이에서 체중 부하에서의 차이로 보고되었고, 비히클을 처치한 동물과 화합물을 처치한 동물 사이를 통계적으로 비교하여 상기 모델에서 무릎 통증에 화합물이 미치는 효과를 평가하였다.

[0299] 실시예 88을 본질적으로 상기 기재된 바와 같이 하여 시험하였고, 경구 용량 0.3 및 1 mg/kg에서 비히클 대비 통증을 유의하게 감소시키는 것으로 밝혀졌다.

[0300] 따라서, 본 발명의 화합물은 통증, 특히 관절 통증의 치료에 유용한 것으로 나타났다.