(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0075908
(43) 공개일자 2010년07월05일

(51) Int. Cl.
A61K 31/52 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07D 473/16 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-7007886
(22) 출원일자(국제출원일자) 2008년09월12일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2010년04월12일
(86) 국제출원번호 PCT/FR2008/001278
(87) 국제공개번호 WO 2009/068761
국제공개일자 2009년06월04일
(30) 우선권주장
0706390 2007년09월12일 프랑스(FR)

(71) 출원인
상뜨로 나쇼날 드 라 러쉐르쉐 샹띠피크
프랑스 파리 에프-75016 뤼 미셸 앙즈 3
위니벨시떼 드 렌 1
프랑스, 에프-35065 레느네스 세텍스, 씨에스 46510, 1-2 뤼 드 타보르
(뒷면에 계속)
(72) 발명자
메이제르, 라우렌트
프랑스, 에프-29680 로스코프, 뤼 드 비르-하케임, 16
베타예브, 카리마
프랑스, 에프-29680 로스코프, 11 애비뉴 빅토르 휴고
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인필앤온지

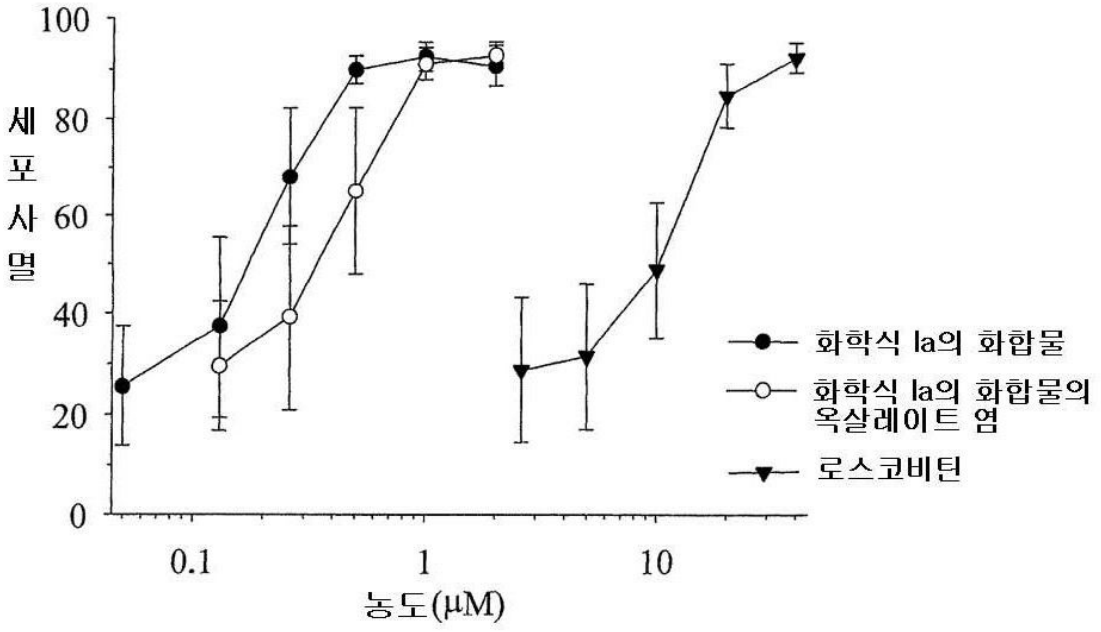
전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 약제 제조용 퓨린 유도체의 용도

(57) 요 약

본 발명은 세포 분화와 아폽토시스 간의 불균형이 관련된 병리 상태를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서 퓨린 유도체의 용도에 관한 것이며, 더욱 구체적으로 상기 병리 상태는 과도한 아폽토시스에 원인이 있다. 본 발명에 따라서, 화학식 I의 퓨린 유도체가 사용된다. 본 발명은 약학 업계의 용도를 발견한다.

대 표 도



(71) 출원인

위니베르시떼 파리 데카르트

프랑스 에프-75006 파리 뤼 드 레꼴 드 메드신 12

유니베스티에 드 브르타뉴 오씨덴탈레

프랑스, 에프-29238 브레스트 쎄덱스 3, 씨에스 93837 3 뤼 데스 아르치베스

센트레 호스피탈리에르 유니베르시테르 드 브레스트

프랑스, 에프-29609 브레스트 쎄덱스, 2 애비뉴 포츠

(72) 발명자

가론스, 헤르베

프랑스, 에프-75014 파리, 뤼 깜빠뉴 프리미에르, 9

오우마타, 나씨마

프랑스, 에프-75017 파리, 블리바드 마레쉐르베스, 157

베르토우, 크리스티안

프랑스 에프-29200 브레스트 뤼 드 프로므베우르 10 비스

레스테르, 카리네

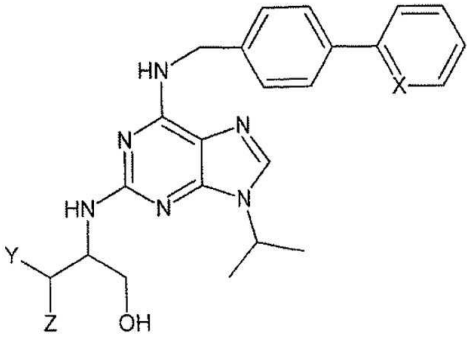
프랑스 에프-29000 켐페르, 11 헨트 파크 아르베이르호

특허청구의 범위

청구항 1

세포 분화와 아폽토시스(apoptosis) 간의 불균형이 관련된 병리 상태를 치료하기 위한 약제의 제조에 사용되는 것을 특징으로 하는

하기의 화학식 I의 화합물 중 적어도 하나, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물, 에스테르 또는 이성질체(isomer) 중 하나의 용도.



화학식 I

상기 X는 C 또는 N이고,

상기 Y는 CH_3 또는 OH이며,

상기 Z는 H 또는 CH_3이다.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 병리 상태는 다낭성 신장 질환(polycystic kidney disease) 같은 신장 질환인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 병리 상태는 만성 림프구성 백혈병이며, 더욱 구체적으로는 B-세포 만성 림프구성 백혈병인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적으로 허용되는 염은 옥살레이트 염, 타르타르산 염, 히드로클로라이드 염, 또는 푸마레이트 염인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, X가 N인 화학식 I의 화합물인 것을 특징으로 하는 용도.

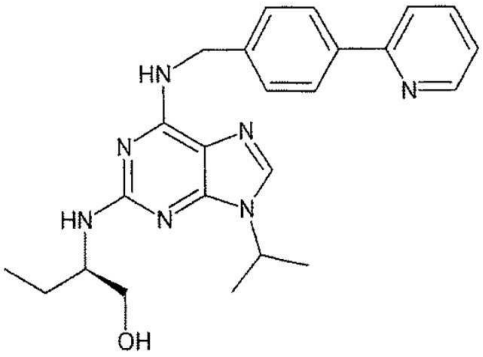
청구항 6

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, X가 N이고 Y가 OH인 화학식 I의 화합물인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 7

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, X가 N이고 Y가 CH_3이며 Z가 H인 화학식 I의 화합물로서 하기의 화학식 Ia를 갖는 화합물이거나, 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물 또는 에스테르

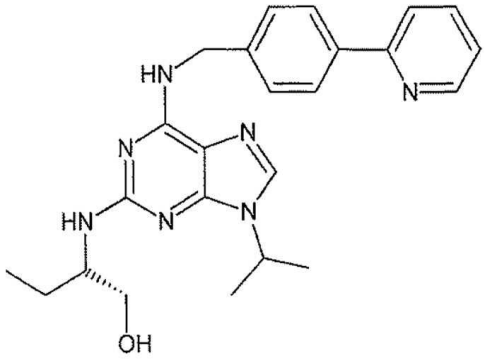
중 하나인 것을 특징으로 하는 용도.



화학식 Ia

청구항 8

제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, X가 N이고 Y가 CH_3이며 Z가 H인 화학식 I의 화합물로서 하기의 화학식 Ib의 (S) 절대 배열(absolute configuration)을 갖는 화합물이거나, 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물 또는 에스테르 중 하나인 것을 특징으로 하는 용도.



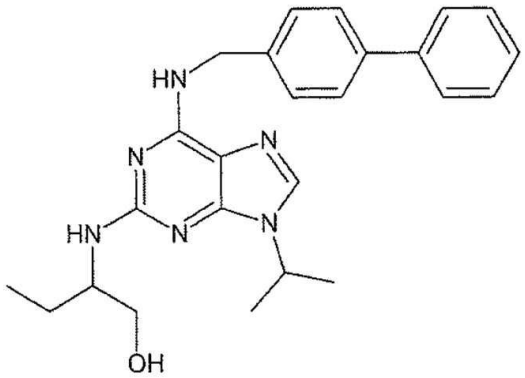
화학식 Ib

청구항 9

제 8항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, 화학식 Ib의 화합물의 옥살레이트 염인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 10

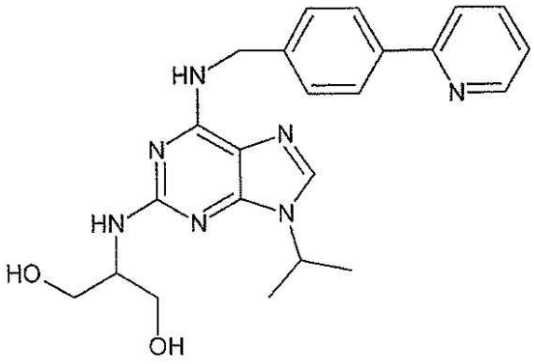
제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, X가 N이고 Y가 OH이며 Z가 H인 화학식 I의 화합물로서 하기의 화학식 Ic를 갖는 화합물이거나, 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물 또는 이성질체 중 하나인 것을 특징으로 하는 용도.



화학식 Ic

청구항 11

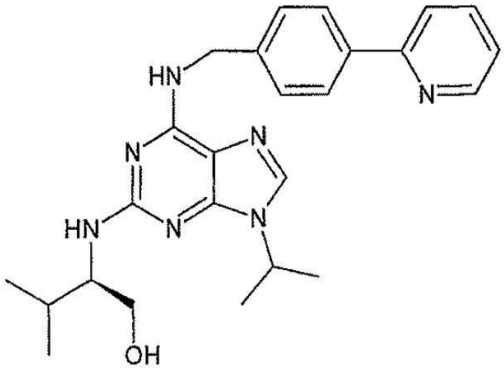
제 1항 내지 제 4항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, X가 C이고 Y가 CH_3이며 Z가 H인 화학식 I의 화합물로서 하기의 화학식 Id를 갖는 화합물이거나, 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물 또는 에스테르 중 하나인 것을 특징으로 하는 용도.



화학식 Id

청구항 12

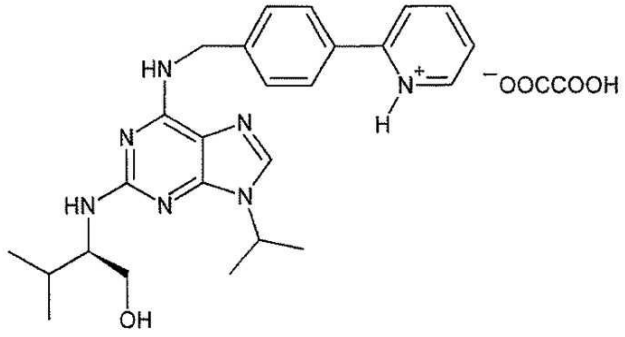
제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, X가 N이고 Y가 CH_3이며 Z가 CH_3인 화학식 I의 화합물로서 하기의 화학식 Ie를 갖는 화합물이거나, 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물 또는 에스테르 중 하나인 것을 특징으로 하는 용도.



화학식 Ie

청구항 13

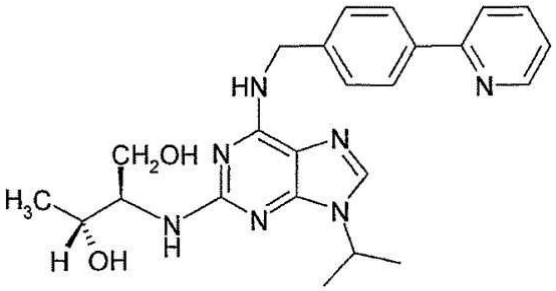
제 1항 내지 제 4항 및 제 12항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, X가 N이고 Y가 CH_3이며 Z가 CH_3인 화학식 I의 화합물의 옥살레이트 염으로서 하기의 화학식 If를 갖는 화합물인 것을 특징으로 하는 용도.



화학식 If

청구항 14

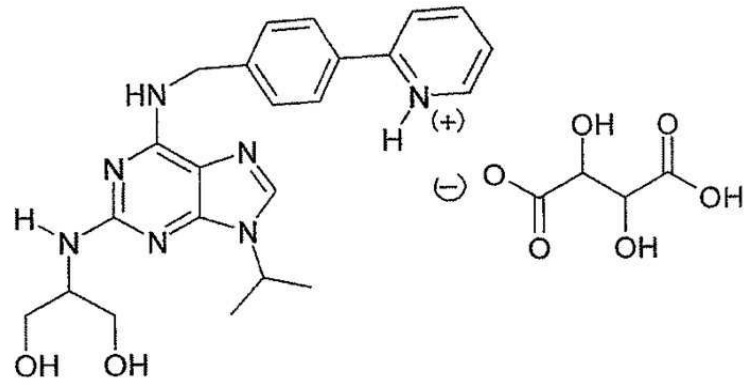
제 1항 내지 제 5항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, 하기의 화학식 Ig를 갖는 화합물이거나, 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물 또는 이성질체 중 하나인 것을 특징으로 하는 용도.



화학식 Ig

청구항 15

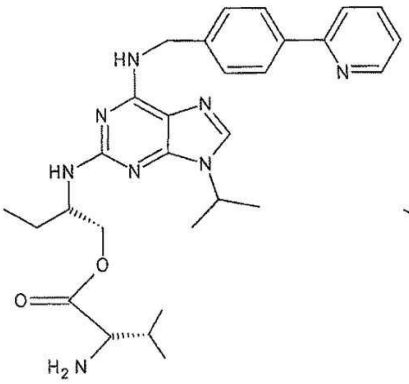
제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, 하기의 화학식 Ih를 갖는 화합물인 것을 특징으로 하는 용도.



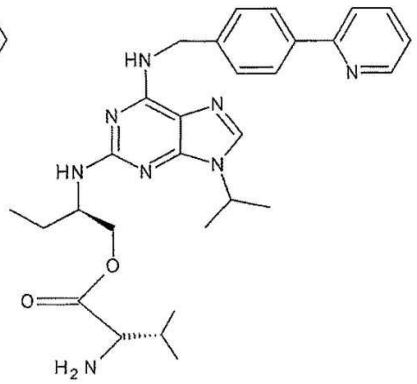
화학식 Ih

청구항 16

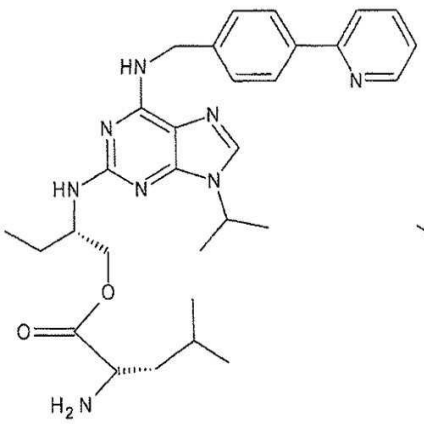
제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서, 화합물 중 적어도 하나는, 하기의 화학식 II-1 내지 화학식 II-4를 갖는 화합물들로부터 선택된 에스테르인 것을 특징으로 하는 용도.



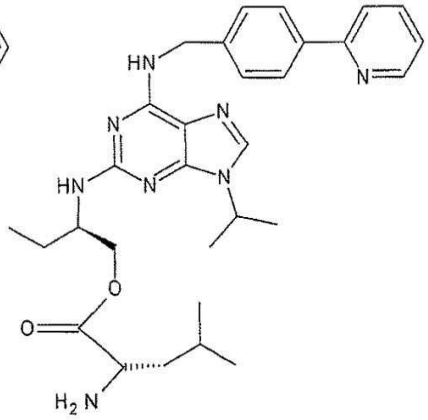
화학식 II-1



화학식 II-2



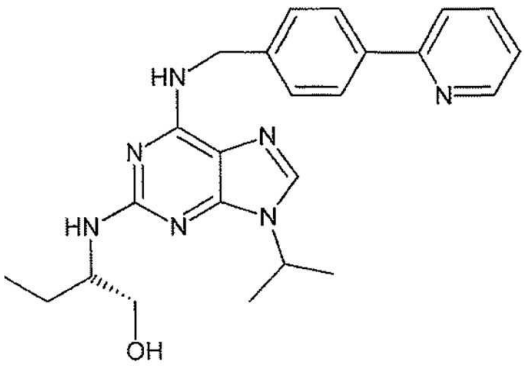
화학식 II-3



화학식 II-4

청구항 17

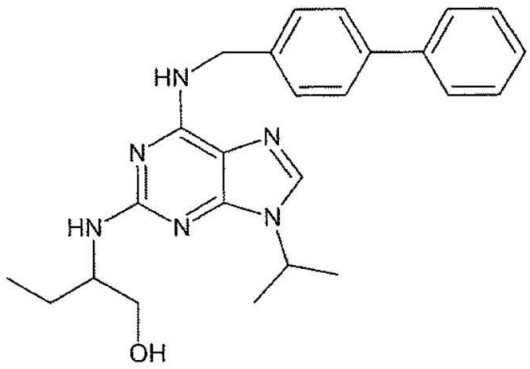
하기의 화학식 Ib를 갖는 화합물이거나, 또는 이의 염, 수화물 또는 에스테르 중 하나인 것을 특징으로 하는 화합물.



화학식 Ib

청구항 18

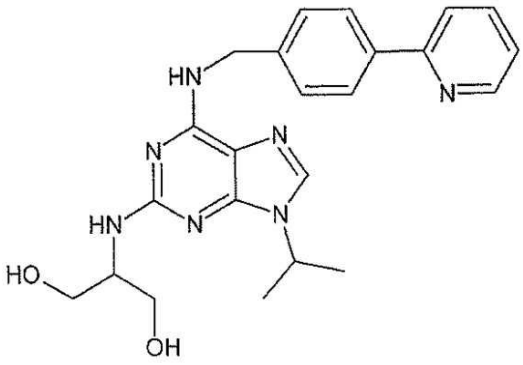
하기의 화학식 Ic를 갖는 화합물이거나, 또는 이의 염, 수화물, 에스테르 또는 이성질체 중 하나인 것을 특징으로 하는 화합물.



화학식 Ic

청구항 19

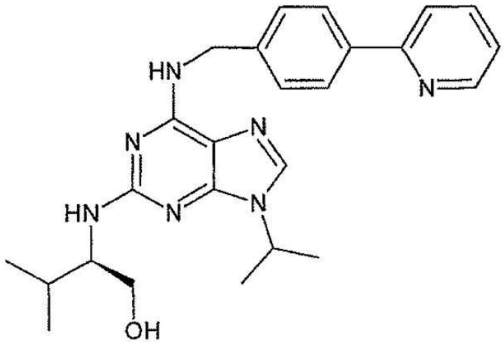
하기의 화학식 Id를 갖는 화합물이거나, 또는 이의 염, 수화물, 에스테르 또는 이성질체 중 하나인 것을 특징으로 하는 화합물.



화학식 Id

청구항 20

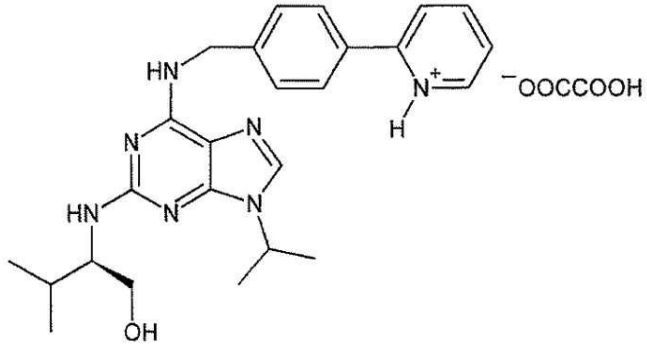
하기의 화학식 Ie를 갖는 화합물이거나, 또는 이의 염, 수화물 또는 에스테르인 것을 특징으로 하는 화합물.



화학식 Ie

청구항 21

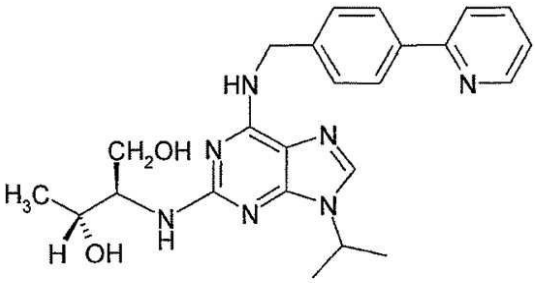
하기의 화학식 If를 갖는 것을 특징으로 하는 화합물.



화학식 If

청구항 22

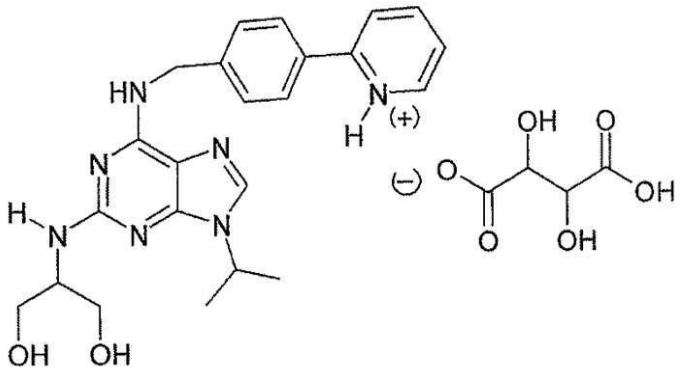
하기의 화학식 Ig를 갖는 화합물이거나, 또는 이의 염, 수화물, 에스테르 또는 이성질체 중 하나인 것을 특징으로 하는 화합물.



화학식 Ig

청구항 23

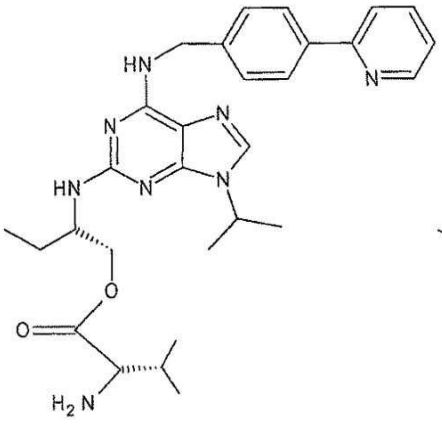
하기의 화학식 Ih를 갖는 것을 특징으로 하는 화합물.



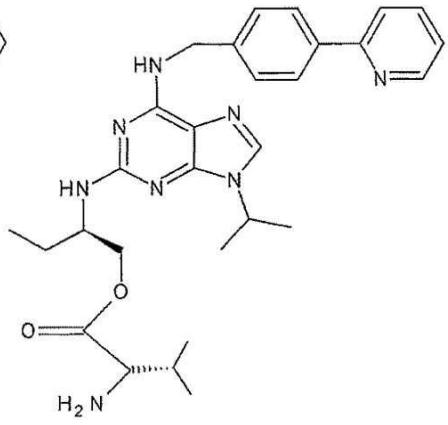
화학식 Ih

청구항 24

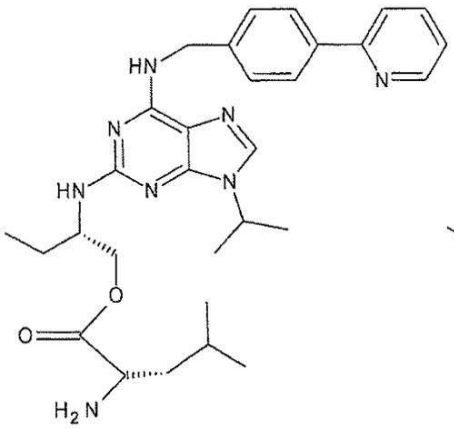
하기의 화학식 II-1 내지 화학식 II-4 중 어느 하나를 갖는 것을 특징으로 하는 화합물.



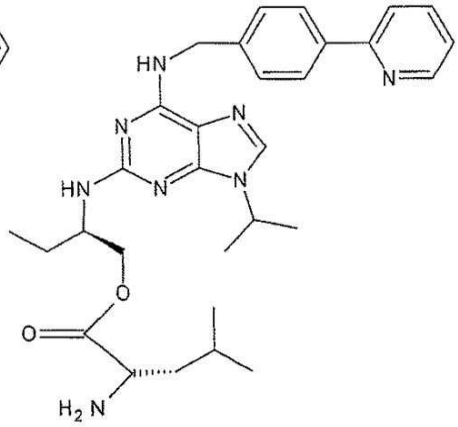
화학식 II-1



화학식 II-2



화학식 II-3



화학식 II-4

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 세포 분화와 아폽토시스 간의 불균형이 관련된 병리 상태를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서 퓨린 유도체의 용도에 관한 것이며, 더욱 구체적으로는 과도한 아폽토시스가 상기 병리 상태의 원인이다.

[0002] 본 발명은 또한 상기 퓨린 유도체에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 본 출원은 2007년 9월 12일에 출원된 프랑스 출원 제0706390호의 우선권 이익을 주장하며, 상기 출원의 내용들은 인용에 의하여 그 전체가 본 명세서에 포함된다.

[0004] 세포 분화와 아폽토시스 간의 불균형이 관련된 병리 상태는 만성 림프구성 백혈병이거나, 다낭성 신장 질환(polycystic kidney disease)과 같은 신장 질환이다.

[0005] 만성 림프구성 백혈병(CLL)은 혈액, 골수 및 조혈 기관(hematopoietic organs)에 CD5+ 단일클론 B 세포가 축적되는 것을 특징으로 하는 질환의 이질적 그룹이다.

[0006] 상기 만성 림프구성 백혈병(CLL)은 단일클론 B 세포가 자연적 아폽토시스(세포 사멸)를 하지 않거나 거의 하지 않으며, 세포 주기에 관련된 작은 규모의 B 세포를 포함하는 질환이다. 이러한 의미에서, 상기 질환에서 단일클론 세포의 멈추지 않는 과도한 증식이 관찰되고, 상기 단일클론 세포는 세포 주기에 상당히 관여되며 아폽토시스(세포 사멸)에 대한 저항성이 2차 병원성의 현상을 구성하는 질환들과 상당히 다른 질환이다.

[0007] 상기 CLL은 B-세포 만성 림프구성 백혈병 및 T-세포 만성 림프구성 백혈병을 포함하는, 별개의 카테고리로 흔히 분류된다. 용어 "CLL"은 흔히 B-세포 만성 림프구성 백혈병(B-CLL)을 의미하는 것으로 이해된다.

[0008] B-CLL로도 알려진, B-세포 만성 림프구성 백혈병은 림프구성 형태(lymphocytic morphology)의 B 림프구의 축적에 기인하며, CD5 및 CD23 분자와 같은, 질환의 특징인 막항원(membrane antigen)을 발현하며, 혈액에서 특발성 림프구증가증(hyperlymphocytosis)을 일으키며, 골수에서 골수부전(bone marrow failure)을 일으키며, 림프절에서 다발선변증(polyadenopathy)을 일으키는, B 림프구의 질환이다.

[0009] B-CLL는 다양한 진행성 성질(progressive nature)을 갖는 단일의 생물학적 본질로서 특징지어졌다.

[0010] 비넷 분류법(Binet prognosis classification)은 질환의 진행의 프로파일을 A, B 및 C의 세 단계로 배열하는 것을 가능하게 만든다.

[0011] 상기 질환의 A 단계의 개체들 중에서, 41%는 B 및 C의 단계로 진행할 것이다. 생물학적 파라미터들 중에서, 6

개월 미만의 림프구 배가 시간(doubling time), 가용성 CD23의 농도의 증가, 또는 혈청 티미딘 키나아제의 활성의 증가는 좋지않은 예후로 간주된다. 좋지 않은 예후로 완전히 인식된 유전적 파라미터들은, 질환의 비돌연변이 형태(unmutated forms)(14q32의 배아 위치에 있는 면역글로불린 중쇄 유전자), 비정상적인 11q 및 17p 염색체의 삭제, 또는 비정상적인 12q+ 타입의 염색체의 추가를 포함한다. B-CLL의 보균자이며 짧은 진행 시간을 갖는 생물학적 특징을 나타내는 환자들: 즉, 비돌연변이(unmutated) 환자들의 50%는 24 개월 내에 진행하였고; 17p-, 11q- 또는 12q+를 나타내는 환자들의 50%는 15 개월째에 진행하였다. 만약 A 단계의 환자들이 심각한 정도의 생물학적 기준치를 나타낸다면, B 단계 및 C 단계의 환자들은 활동적인 치료적 태도로부터 이득을 얻어야 한다.

[0012] 현재의 치료들이 질환의 완화하는 결과를 가져오더라도, 모든 환자들은 병이 재발하며, CLL이 불치병으로 남아있다는 것에 현재로서 의견의 일치를 보인다.

[0013] 오늘날 주어진 실제 의문은, 질환의 A 단계에 있으며, 심각한 상태로 진행하는 생물학적 잠재성을 보이는 환자를 정의하는 것이다.

[0014] B-CLL에 대한 가장 중요한 치료는 정의되어야 하는 것으로 남아있다.

[0015] 퓨린 유사체, 구체적으로 플루다라빈은, 지금까지 B-CLL에서 가장 연구되었다. 플루다라빈을 단독으로 사용하는 것은, 알킬레이트제(alkylating agents) 및 코르티코테라피(corticotherapy)를 포함하는 복합투여 방식(multidrug therapies)을 사용하는 것보다 전반적으로 더 나은 정도의 반응을 유도한다. 플루다라빈은 CHOP 또는 CAP(클로람이노펜, chloraminophene) 타입의 복합투여 방식(multidrug therapies)보다 더 완전한 혈액학적 차도(7 내지 40%)를 유도한다.

[0016] 플루다라빈을 사용하여 관찰된 더 나은 반응에도 불구하고, 전반적인 생존에 관하여 관찰된 이익은 최저이다. 현재의 치료적 노력들은 플루다라빈과 종래의 화학치료법의 조합, 예를 들면 구체적으로 질환의 저항성 형태에서, 플루다라빈과 시클로포스파미드의 조합에 모아졌다. 플루다라빈에 대한 내성이 있는 환자에게서 오로지 12 개월의 수명 연장이 발생하였다. 그럼에도 불구하고, 치료의 독성, 구체적으로 혈액학적 독성은, 이러한 조합과 함께 증가하였다.

[0017] 감염은 플루다라빈 및 시클로포스파미드의 조합을 사용하여 치료된 환자의 50%에서 관찰되었다. 문서로 증명된 패혈증 또는 신경장애는 치료된 환자의 25%에서 치료되는 동안 관찰되었고, 문서로 증명되지 않은 열 및/또는 입원은 다른 환자의 25%에서 관찰되었다.

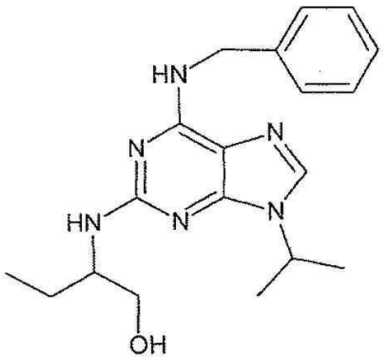
[0018] 치료적 개혁은 치료적 항체의 출현에 의해 달성되었다. B-CLL에서, 2 개의 치료적 항체가 나타났다: 리툭시맙(rituximab) 및 알렘투주맙(alemtuzumab). B-CLL에서, 리툭시맙의 활성은 CLL의 B 림프구에서, 타겟(CD20 항원)의 낮은 발현에 의해 불이익을 받았다. 리툭시맙은 퓨린 유사체 및/또는 시클로포스파미드(오직 5%의 완벽한 반응을 포함하여, 플루다라빈에 대해 내성을 갖는 환자들에게, 플루다라빈/시클로포스파미드/리툭시맙의 조합을 사용하여 전반적으로 59%의 반응이 관찰되었다)를 사용한 시너지 작용을 이용하여 B-CLL에 배치되었다.

[0019] 항원의 매우 이질적인 막 밀도(membrane density)를 사용하여, 백혈병 및 CLL의 백혈병 B 림프구에서 발현된 항원을 향한 알렘투주맙의 활성은, 치료하는 동안 또는 치료 후에 발생하는 높은 면역억제 활성 및 거대세포 감염과 기회 감염(opportunist infections)이 높은 빈도로 재활성화되는 것에 의해 불이익을 받았다: 항체는 높은 T 면역억제 활성을 보인다. 알렘투주맙에 대한 혈액학적 반응은 33%이다; 항체는 혈액 및 골수에서 클론 B 림프구를 파괴할 수 있지만 림프절에서 거의 효과가 없다. 이러한 점들은 이러한 징조에서 항체의 사용을 제한한다. 이트륨-90(Zevalin)에 결합된 항-CD20(anti-CD20)을 사용한 방사선 면역 치료법은 B-CLL에서의 낮은 퍼센트의 완화를 유도하며 상당한 골수억제에 원인이 된다.

[0020] 미국 특허등록 제 6,812,232호는 세포 증식을 저해하는데 있어서 본 발명의 퓨린 유사체에 유사한 퓨린 유사체의 활성에 대하여 설명한다. 사실상, CLL에서, 과도한 세포 증식이 멈추었다.

[0021] 특허출원 제 WO2005/002584호는 만성 림프구성 백혈병 및 더욱 구체적으로는 B-세포 만성 림프구성 백혈병의 치료에 있어서, 로스코비틴, 바람직하게 (R) 절대 배열(absolute configuration)의 로스코비틴의 용도를 제공한다.

[0022] 로스코비틴(roscovitine)은 하기의 화학식을 갖는 퓨린이다:



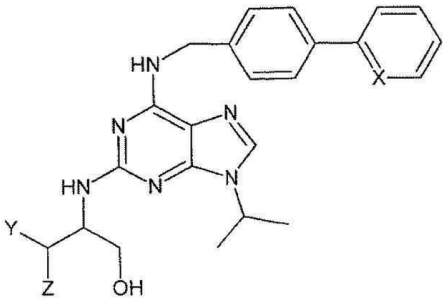
[0023]

[0024] 사실상, 로스코비틴 유도체는 세포 분화와 아폽토시스(apoptosis) 간의 불균형이 관련된 병리 상태의 치료에 있어서 로스코비틴보다 훨씬 더 큰 활성을 가지며, 몇몇 경우에 있어서는 로스코비틴보다 더 나은 수용성을 또한 갖는 것으로 현재 밝혀졌다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0025] 따라서, 본 발명은 세포 분화와 아폽토시스(apoptosis) 간의 불균형이 관련된 병리 상태를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서, 하기의 화학식 I의 화합물의 적어도 하나, 또는 이의 약학적으로 허용되는 염, 수화물, 에스테르, 또는 이성질체(isomer) 중 하나의 용도를 제공한다:



화학식 I

[0026]

[0027] 상기 X는 C 또는 N,

[0028] 상기 Y는 CH_3 또는 OH, 및

[0029] 상기 Z는 H 또는 CH_3이다.

과제의 해결 수단

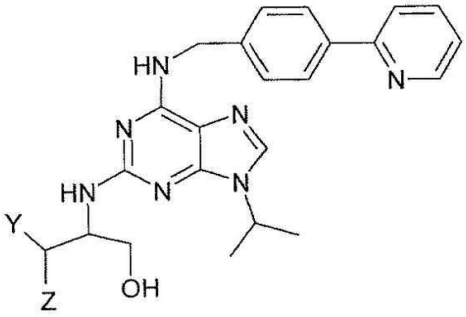
[0030] 본 발명의 첫번째 대체 형태에 있어서, 병리 상태는 만성 림프구성 백혈병이다.

[0031] 더욱 구체적으로, 병리 상태는 B-세포 만성 림프구성 백혈병이다.

[0032] 본 발명의 두번째 대체 형태에 있어서, 병리 상태는 신장 질환(kidney disease)이며, 더욱 구체적으로 다낭성 신장 질환(polycystic kidney disease)이다.

[0033] 세포 분화와 아폽토시스 간의 불균형이 관련된 병리 상태의 치료를 위한 약제의 제조에 사용되는 바람직한 염은 화학식 I의 화합물의 옥살레이트(oxalate) 염이다.

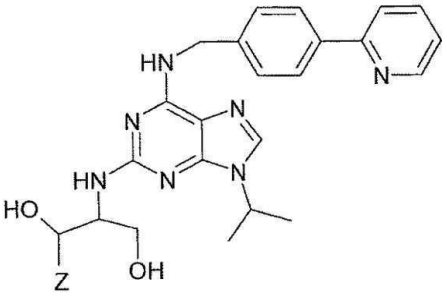
[0034] 바람직하게, 본 발명에 사용된 적어도 하나의 화합물은, X가 N인 화학식 I의 화합물로서 하기의 화학식 I-I을 갖는다:



[0035] 화학식 I-I

[0036] 이것은, 상기의 화합물이 만성 림프구성 백혈병 및 다낭성 신장 질환(polycystic kidney disease)의 세포 모델에서 4 내지 5 배 더 활성적이고, 또한 하기에서 설명하는 바와 같이, X가 C인 경우의 화학식 I의 화합물보다 수용성 배지에서 5 내지 10 배 더 수용성이기 때문이다.

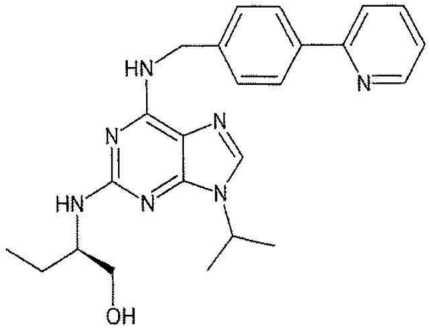
[0037] 그러나, 더욱 바람직하게, 본 발명에 사용된 적어도 하나의 화합물은, X가 N이고 Y가 OH인 화학식 I의 화합물로서 하기의 화학식 I-II를 갖는다:



[0038] 화학식 I-II

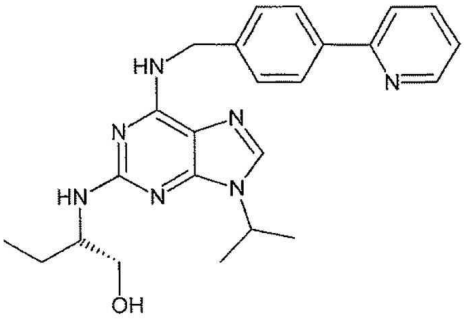
[0039] 화학식 I-II를 갖는 화합물은 화학식 I-I를 갖는 유도체에 필적할 만한 활성을 나타내지만 수용성 배지에서의 용해도는 더욱 증가되었다.

[0040] 더욱 구체적으로 첫번째 바람직한 실시예에서, 상기 병리 상태를 치료하기 위한 약제의 제조에 사용되는 적어도 하나의 화합물은 X는 N이고 Y가 CH_3이며 Z는 H인 화학식 I의 화합물이다. 이러한 화합물은 (R) 절대 배열(absolute configuration)을 가지며 하기의 화학식 Ia을 갖는다:



[0041] 화학식 Ia

[0042] 본 발명의 바람직한 두번째 일 실시예에서, 적어도 하나의 화합물은 (S) 절대 배열(absolute configuration)을 갖는다. 이러한 화합물은 하기의 화학식 Ib를 갖는다:

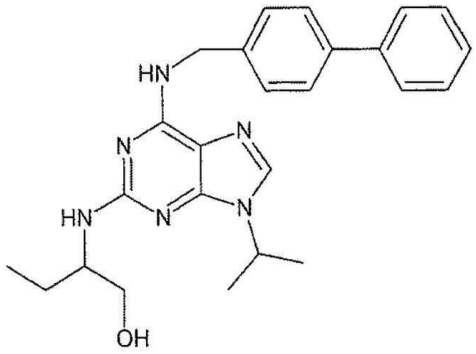


[0043] 화학식 Ib

[0044] 선행 기술에 있어서, 일반적으로 (R) 절대 배열(absolute configuration)을 갖는 화합물이 더 나은 결과를 얻을 수 있게 하기 때문에, 상기와 같은 점은 특히 놀랍다.

[0045] 본 발명의 바람직한 세번째 일 실시예에서, 화학식 Ia의 화합물 또는 화학식 Ib의 화합물 중 적어도 하나의 화합물은 이의 옥살레이트 염의 형태로 존재한다.

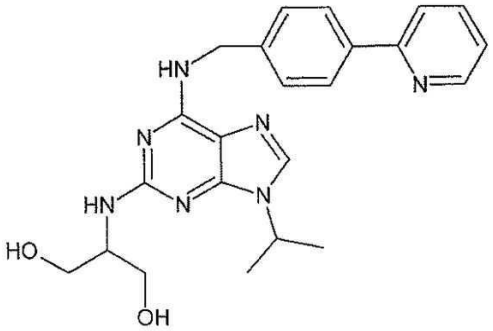
[0046] 그러나, 본 발명의 바람직한 네번째 일 실시예에서, 세포 분화와 아폽토시스 간의 불균형이 관련된 병리 상태를 치료하기 위한 약제의 제조에 사용되는 적어도 하나의 화합물은, X는 C이고 Y는 CH_3이며 Z는 H인 화학식 I의 화합물이다. 이러한 화합물은 하기의 화학식 Ic의 화합물이다:



[0047] 화학식 Ic

[0048] 상기 화합물은 (S) 또는 (R) 절대 배열(absolute configuration)로 사용될 수 있으며 이들의 혼합물의 형태로 사용될 수 있다.

[0049] 그러나, 본 발명의 바람직한 다섯번째 일 실시예에서, 본 발명에서 사용된 적어도 하나의 화합물은, X는 N이고 Y는 OH이며 Z는 H인 화학식 I의 화합물이다. 이러한 화합물은 하기의 화학식 Id를 갖는다:

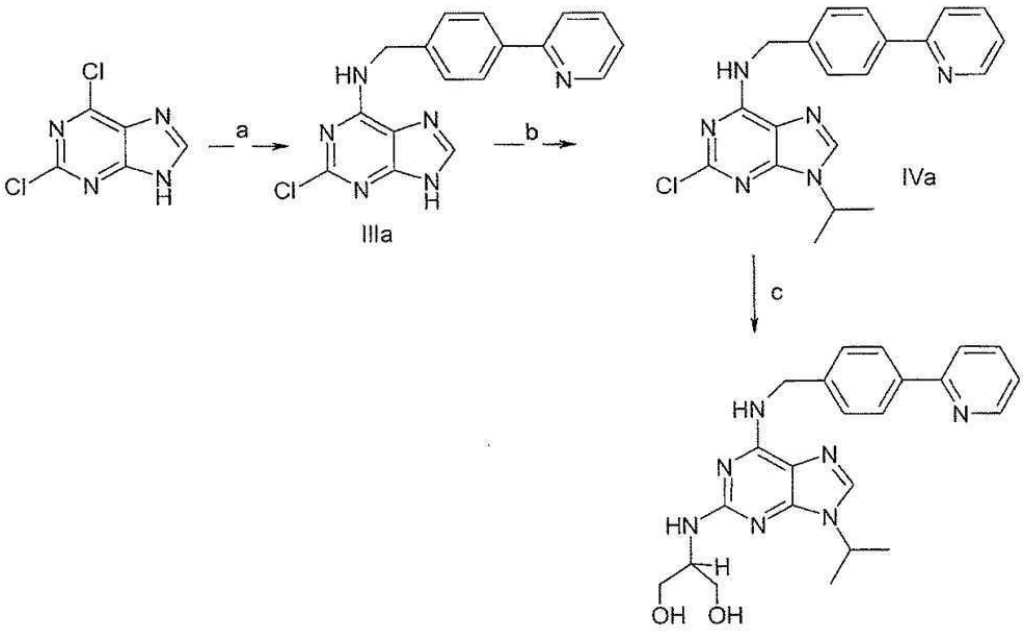


[0050] 화학식 Id

[0051] 상기 화학식 Id의 화합물은 하기의 실험예 1에 설명된 바에 따라서 얻을 수 있다.

[0052] **실험예 1 :** 화학식 Id의 화합물의 제조

[0053] 화학식 Id의 화합물은 하기의 도식에 따라서 디클로로퓨린으로부터 시작하는 3 단계들을 거쳐서 얻어진다:



[0054]

[0055] 반응물 및 조건:

[0056] a: 4-(2-피리딜)벤질아민, n-BuOH, 110 ℃;

[0057] b: 2-브로모프로판, K_2CO_3, DMSO;

[0058] c: 세린올, 8 시간동안 160 ℃에서 가열.

[0059] 단계 1: **2-클로로-6-[4-(2-피리딜)페닐메틸아미노]-퓨린(IIIa)**

[0060] 4-(2-피리딜)벤질아민(2.0 g, 1.05 mmol) 및 3 ml의 NEt_3를 20 ml의 *n*-BuOH에 있는 2,6-디클로로퓨린(2.3 g, 10 mmol) 용액에 첨가하였다. 3 시간 동안 110 ℃에서 가열한 후에, 상기 혼합물을 20 ℃로 냉각한 후, 고체는 여과하고 5 ml의 차가운 부탄올로 수세한 다음, 진공에서 건조하였다.

[0061] 수득률 : 85%.

[0062] 녹는점 > 250 ℃.

[0063] ^{1}H NMR (d_6-DMSO) : δ 4.80 (s, 2H, CH_2); 7.20 (m, 1H, $H_{피리딜}$); 7.45 (d, 2H, $H_{페닐}$); 7.72 (m, 2H, $H_{피리딜}$); 7.95 (m, 3H, $H_{페닐}$ 및 H-8), 8.54 (d, 1H, *J* = 4.8 Hz, $H_{피리딜}$).

[0064] 단계 2: **2-클로로-9-이소프로필-6-[4-(2-피리딜)페닐메틸-아미노]퓨린(IVa)**

[0065] K_2CO_3(3.5 g, 24 mmol) 및 1.9 ml(20 mmol)의 2-브로모프로판을 18 내지 20 ℃에서 10 ml의 DMSO에 있는 2-클로로-6-[4-(2-피리딜)페닐메틸아미노]퓨린(8 mmol)의 용액에 첨가하였다. 5 시간 동안 18 내지 20 ℃에서 교반한 후에, 2-브로모프로판(0.5 ml)을 다시 첨가한 후 5 시간 동안 20 ℃에서 계속해서 교반하였다. 50 ml의 차가운(5 ℃) 물을 첨가한 후에, 상기 혼합물을 EtOAc(3 × 10 ml)를 사용하여 추출하고 유기층은 브라인(brine)(3 × 10 ml)을 사용하여 수세한 후 Na_2SO_4 위에서 건조하였다. 용매를 증발시킴으로써 유도체 IVa가 결정화된다. 2 ml의 2-프로판올로부터 가루로 만들어진 후 여과되었다.

[0066] 수득률 : 86%.

[0067] ^{1}H NMR ($CDCl_3$) : δ 1.58 (d, 6H); 4.79 (hept, 1H); 4.85 (넓은 s, 2H); 6.59 (넓은 s, 1H); 7.20-7.23 (m,

1H); 7.49 (d, 2H); 7.73-7.71 (m, 2H); 7.79 (s, 1H); 7.98 (d, 2H); 8.71 (d, 1H).

[0068] 단계 3: **2-(1,3-디히드록시프로프-2-일아미노)-6-[4-(2-피리딜)페닐메틸아미노]-9-이소프로필퓨린 Id (2-(1,3-Dihydroxyprop-2-ylamino)-6-[4-(2-pyridyl)phenylmethylamino]-9-isopropylpurine Id)**

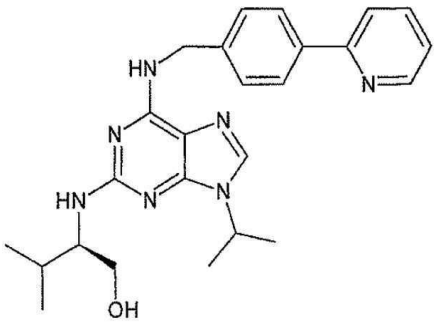
[0069] 화합식 IVa의 화합물(10 mmol) 및 세린올(2-아미노프로판-1,3-디올)(2 ml)의 혼합물은 8 시간 동안 160 ℃에서 N_2 분위기에서 가열하였다. 20 ℃로 냉각한 후, 20 ml의 물을 첨가하고 상기 혼합물은 EtOAc(4 × 10 ml)로 추출하였다. 유기 용액은 2 × 20 ml의 물을 사용하여 수세하였고, 건조하고 증발시켰다. 유도체 Id는 Et_2O로부터 가루로 만들어짐으로써 결정화된다.

[0070] 녹는점 : 114 내지 117 ℃.

[0071] 수득률 : 74%.

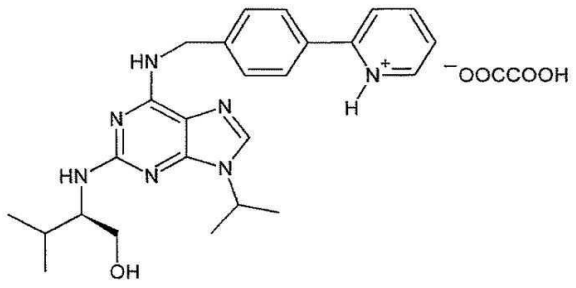
[0072] ^1H NMR ($CdCl_3$) : δ 1.52 (d, 6H); 3.78 (m, 4H); 3.96 (m, 1H); 4.55 (hept, 1H); 4.76 (s, 2H); 5.40 (s, 1H); 6.20 (s, 1H); 7.12 (m, 1H); 7.38 (d, 2H); 7.48 (s, 1H); 7.62 (m, 2H); 7.90 (d, 2H); 8.60 (d, 1H).

[0073] 본 발명의 바람직한 여섯번째 일 실시예에서, 본 발명에 사용되는 적어도 하나의 화합물은, X는 N이고 Y가 CH_3이며 Z가 CH_3인 화학식 I의 화합물이다. 이와 같은 화합물은 하기의 화학식 Ie를 갖는다:



[0074] 화학식 Ie

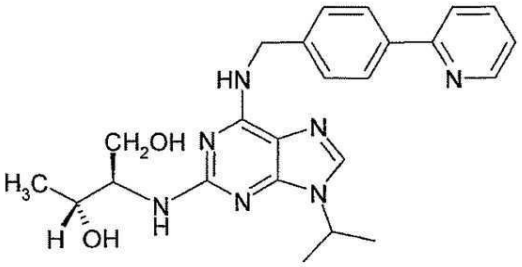
[0075] 본 발명의 바람직한 일곱번째 일 실시예에서, 본 발명에 사용되는 적어도 하나의 화합물은 화학식 Ie의 화합물의 옥살레이트 염이다. 이러한 화합물은 하기의 화학식 If를 갖는다:



[0076] 화학식 If

[0077] 이산(diacid)과 1 분자의 퓨린의 조합에 따라서, 퓨린의 질소들 중 하나는 상기 염의 형성에 관여될 수 있다는 점에 주목해야 한다.

[0078] 본 발명의 바람직한 여덟번째 일 실시예에서, 본 발명에 사용되는 적어도 하나의 화합물은 하기의 화학식 Ig을 갖는다:



화학식 Ig

[0079]

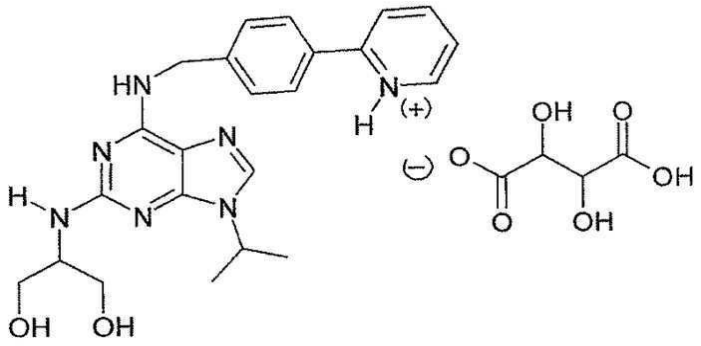
[0080] 상기 화합물은 **(1R,2R)-2-(1,3-디히드록시부트-2-일아미노)-6-[4-(2-피리딜)페닐메틸아미노]-9-이소프로필퓨린 Ig ((1R,2R)-2-(1,3-dihydroxybut-2-ylamino)-6-[4-(2-pyridyl)phenylmethylamino]-9-isopropylpurine Ig)**이다.

[0081] 상기 화합물은 화합물 Id의 제조방법과 같은 방법을 사용하되, 마지막 단계에서, 아미노프로판디올 대신 L-트레오닌올(L-threoninol) 또는 (1R,2R)-2-아미노부탄-1,3-디올을 사용함으로써 얻어졌다.

[0082] 상기 화합물은 NMR에 의해 측정된, 하기와 같은 특성을 갖는다:

[0083] NMR : 1.2 (d, 3H); 1.4 (d, 6H); 3.70 (m, 4H); 4.10 (m, 1H), 4.52 (hept, 1H); 4.72 (넓은 s, 2H); 5.50 (s, 1H); 6.2 (넓은 s, 1H); 7.15 (m, 1H); 7.4 (d, 2H); 7.42 (s, 1H); 7.55 (m, 2H); 7.85 (d, 2H); 8.60 (d, 1H).

[0084] 본 발명의 바람직한 아홉번째 일 실시예에서, 본 발명에 사용되는 적어도 하나의 화합물은 하기의 화학식 Ih를 갖는다:



화학식 Ih

[0085]

[0086] 이산(diacid)과 1 분자의 퓨린의 조합에 따라서, 퓨린의 질소들 중 하나는 상기 염의 형성에 관여될 수 있다는 점에 주목해야 한다. 타르타르산의 3 개의 이성질체들(isomers)이 사용될 수 있다.

[0087] 상기 화합물은 2-(1,3-디히드록시프로프-2-일아미노)-6-[4-(2-피리딜)페닐메틸아미노]-9-이소프로필피린 타르타르산 염(Ih)이다.

[0088] 상기의 화합물은 하기의 방법으로 얻어진다:

[0089] 이소프로판올(1 ml)에 용해된 2.1 mmol의 타르타르산을, 이소프로판올(1 ml)에 있는 2 mmol의 Id의 용액에 첨가하였고, 상기 용액은 70 내지 80 ℃에 달하였다. 냉각시킨 후 Id의 타르타르산염은 여과에 의해 분리되었다.

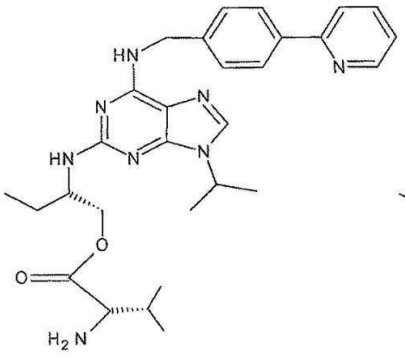
[0090] 화학식 Ia의 화합물, 화학식 Id의 화합물 및 화학식 Ig의 화합물의 푸마레이트 염 또는 히드로클로라이드 염과 같은 염(salt), 화학식 Ia, 화학식 Id 및 화학식 Ig의 화합물의 수화물 및 에스테르와, 화학식 Ic의 화합물 및 화학식 Ig의 화합물의 이성질체(isomer) 역시 유리하게 사용될 수 있다.

[0091] 특히, 화학식 I의 화합물의 에스테르 역시 본 발명의 범위 내에 포함된다.

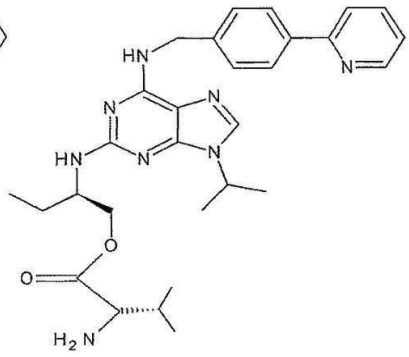
[0092] 화학식 I의 화합물의 바람직한 에스테르는, 아세틸 에스테르, 니코티닐 에스테르, L 형 아미노산의 에스테르 또는 D 형 아미노산의 에스테르와 같은, 아실 에스테르이다.

[0093] 다른 바람직한 에스테르는, 발린 또는 류신과 같은, 아미노산으로부터 형성된다.

[0094] 특히 바람직한 에스테르는 하기의 화학식 II-1 내지 화학식 II-4 중 어느 하나를 갖는다:

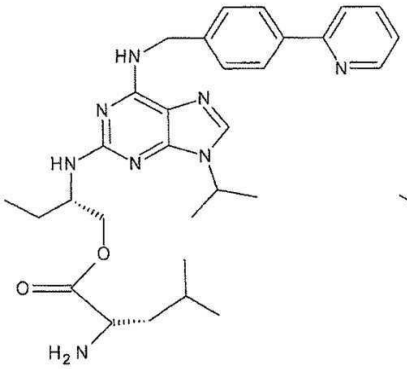


화학식 II-1

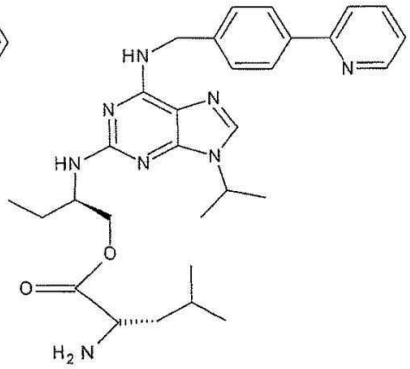


화학식 II-2

[0095]



화학식 II-3



화학식 II-4

[0096]

[0097] 이러한 점은 상기 에스테르는 화학식 I의 생성물의 전구체(프로드러그, prodrug)이기 때문이다.

[0098] 세포 분화와 아폽토시스 간의 불균형이 관여된 병리 상태를 치료하기 위한 약제의 제조에 사용되는 이들의 용도는 본 발명의 내용에 또한 포함된다.

발명의 효과

[0099] 본 발명의 화합물들은 만성 림프구성 백혈병의 치료를 위한 약제의 제조의 용도로 특히 효과적이다. 상기 화합물들은 또한 만성 림프구성 백혈병에 걸린 환자들을 치료하는 방법에서 투여용으로 특히 적절하다.

도면의 간단한 설명

[0100] 하기의 도면 및 이에 대한 설명을 참조하면, 본 발명에 대해 더 나은 이해를 돕고 본 발명의 또다른 특성 및 장점을 더욱 분명히 할 수 있을 것이다.

도 1은 로스코비틴에 의해 유도된 세포 사멸의 유도와 비교하여, 만성 림프구성 백혈병 세포들에서 화학식 Ia의 화합물 및 이의 옥살레이트 염에 의한 세포 사멸의 유도를 보여준다.

도 2는 만성 림프구성 백혈병 세포들에서 화학식 Ie의 화합물 및 화학식 If의 화합물에 의한 세포 사멸의 유도를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0101] 로스코비틴, 화학식 Ia의 화합물 및 이의 옥살레이트 염의 효과는 키나아제 분석(kinase assays)에서 다양한 농도로 테스트되었다.

[0102] 이러한 테스트들은 다음과 같이 수행되었다:

[0103] **완충액**

[0104] *완충액 A*: 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA, 1 mM DTT, 25 mM tris-HCl pH 7.5, 50 마이크로그램 헤파린/ml.

[0105] *완충액 C*: 60 mM 글리세로포스페이트, 15 mM p-니트로페닐 포스페이트, 25 mM MOPS(pH 7.2), 5 mM EGTA, 15 mM $MgCl_2$, 1 mM DTT, 1 mM 소듐 바나데이트, 1 mM 페닐 포스페이트.

[0106] **키나아제의 준비 및 분석**

[0107] 키나아제의 활성은 30 ℃ 및 15 마이크로몰의 최종 ATP 농도에서 완충액 A 또는 완충액 C에서 분석되었다. 대조군들은 디메틸 술폭사이드의 적당한 희석액을 사용하여 수행되었다.

[0108] *CDK1/사이클린 B(*불가사리의 M-기 난모세포, 재래(native)) 및 *CDK5/p25(*인간, 재조합)을 준비하고 Leclerc S. et al., J. Biol. Chem., 2001, 276, 251-60에 설명된 바와 같이 분석하였다. 분석은 30 마이크로리터의 최종 부피에 15 마이크로미터[γ-^{33}P]ATP(3000 Ci/mmol; 10 mCi/ml)의 존재하에서, 1 mg의 히스톤 H1/ml을 사용하여 수행되었다. 30 분 동안 30 ℃에서 배양한 후, 상청액의 25 마이크로리터 분취액들을 2.5 × 3 cm 크기의 Whatman P8 포스포셀룰로오스 페이퍼에 올려지고, 20 초 후에 상기 여과지들은 10 ml의 인산/리터의 용액에서 5회 수세되었다. 뒤이어 상기 여과지들은 1 ml의 ACS(Amersham)의 존재하에 카운트되었다.

[0109] *CDK2/사이클린 A 및 CDK2/사이클린 E(*인간, 재조합, 곤충 세포에서 발현됨)은 CDK1과 같은 방식으로 분석하였다.

[0110] *CDK9/사이클린 T(*인간, 재조합, 곤충 세포에서 발현됨)은, 기질로서 pRB 절편(AA773-928)(3.5 마이크로그램/에세이(assay))을 사용하여, CDK1/사이클린 B과 같은 방식으로 분석하였다.

[0111] *GSK-3 α/β(*돼지의 뇌, 재래(native), 친화력을 이용한 정제(affinity-purified))는 CDK1/사이클린 B와 같은 방식으로 분석하되, 완충액 A에서 특이 GSK-3 기질(GS-1: YRRAAVPPSPSLSRHSSPHQSpEDEEE)(Bach S. et al., J. Biol. Chem., 2005, 280, 31208-19)을 사용하여 분석하였다.

[0112] *CK1δ/ε(*돼지의 뇌, 재래(native), 친화력을 이용한 정제(affinity-purified))는 CDK1/사이클린 B와 같은 방식으로 분석하되, 완충액 A에서 특이 기질인, RRKHAAIGSpAYSITA(Reinhardt J. et al., Protein Expr. & Purif., 2007, 54, 101-9)을 사용하여 분석하였다.

[0113] *DYRK1A(*인간, 재조합, E. coli 세포에서 발현됨)는 CDK1/사이클린 B와 같은 방식으로 분석하였다.

[0114] 평균 저해 농도인 IC_{50} 값은 투여량/반응 곡선으로부터 계산되었고 하기의 표 1에서 마이크로몰의 단위를 사용하여 열거되었다.

표 1

[0115]

키나아제	(R)- 로스코비틴	화학식 Ia의 화합물의 (R) 형	화학식 Ib의 화합물의 (S) 형
CDK1/사이클린 B	0.33	0.09	0.15
CDK2/사이클린 A	0.21	0.072	0.080
CDK2/사이클린 E	0.17	0.041	0.060
CDK5/p25	0.28	0.11	0.12
CDK7/사이클린 H	0.80	1.10	-
CDK9/사이클린 T	0.23	0.18	0.11
CK1	4.00	0.40	0.61
DYRK1A	3.00	3.60	0.9
Erk2	11.00	3.60	2.1
GSK-3α/β	60.00	12.0	≥ 30.00

[0116] 표 1로부터, 모든 프로틴 키나아제에 대하여, 화학식 Ib의 화합물의 (S) 형은, 즉 다시 말하면 (R) 절대 배열(absolute configuration)의 동족체는, 다양한 키나아제에 대하여, 로스코비틴의 활성과 유사하고 화학식 Ia의 화합물의 활성보다 약간 낮은, 저해 활성을 나타낸다는 것을 알 수 있다.

[0117] 그러나, 화학식 Ia의 화합물 및 이의 옥살레이트 염과 화학식 Ie의 화합물 및 화학식 If의 화합물이 만성 림프구성 백혈병의 상기의 타입을 갖는 환자들로부터 채취한 B 만성 림프구성 백혈병 세포에서 테스트 되었을 때, 놀랍게도, 이러한 화합물들은 CLL 세포에서 아폽토시스-유도 활성을 갖는 것으로 밝혀졌으며, 상기 아폽토시스-유도 활성은 도 1 및 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 로스코비틴의 활성에 비해 50 내지 100 배 더 컸다.

[0118] 게다가, 환자로부터 기원한 B2 림프구의 세포 사멸의 유도에 있어서 화학식 Ia의 화합물, 화학식 Ib의 화합물, 화학식 Ic의 화합물, 화학식 Id의 화합물, 화학식 Ie의 화합물, 화학식 If의 화합물 및 화합식 Ia의 화합물의 옥살레이트 염의 효과는, 환자로부터 기원한 B2 림프구의 세포 사멸의 유도에 있어서 (R)-로스코비틴의 효과와 비교하였다.

[0119] B2 림프구는 B2-세포 만성 림프구성 백혈병에 관련된 림프구이다.

[0120] 세포의 생육성(viability)은 3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-5-(3-카르복시메톡시페닐)-2-(4-술포페닐)-2H-테트라졸륨(MTS)의 감소에 의해 판단된다.

[0121] 세포 사멸은 세포의 용해(lysis)가 일어나는 동안 방출되는 락트산 탈수소효소(LDH)의 활성의 정도를 측정함으로써 판단된다. 2 개의 과정들이 "Ribas J. and Boix J. Cell differentiation, caspase inhibition, and macromolecular synthesis blockage, but not BCL-2 or BCL-XL proteins protect SH-SY5Y cells from apoptisis triggered by two CDK inhibitory drugs. Exp. Cell Res., 2004, 295, 9-24"에 상세히 설명되어 있다.

[0122] 얻은 결과들은 하기의 표 2에 나타냈다.

표 2

[0123]

화학식의 화합물	세포 사멸의 유도
(R)-로스코비틴	8.96
Ia	0.20
Ib	0.09
Ia 옥살레이트 염	0.2
Ic	1.25
Id	0.25
Ie	0.51
If	0.38

[0124] 표 2의 값은 마이크로몰 단위로 표현된, 평균 저해 농도 IC_{50} 값이다.

[0125] 다낭성 신장 질환(polycystic kidney disease)에 대한 본 발명의 화학식 Ib의 화합물 및 화학식 Id의 화합물의 효과는 (R) 로스코비틴과 비교하여 MDCK 주(line)에서 또한 테스트되었다. 화학식 Ib의 화합물 및 화학식 Id의 화합물은 로스코비틴보다 50 내지 60 배 더 활성적이다.

[0126] 상기에서 언급한, X가 N인 본 발명의 화합물의 용해도는, X가 C인 화합물보다 물에서 5 내지 10 배 더 수용성이다.

[0127] 따라서, X가 N인 화학식 Ib의 화합물의 물에 대한 용해도가 3.3 마이크로그램/ml인데 반해, X가 C인 화학식 Ic의 화합물의 물에 대한 용해도는 0.5 마이크로그램/ml이다.

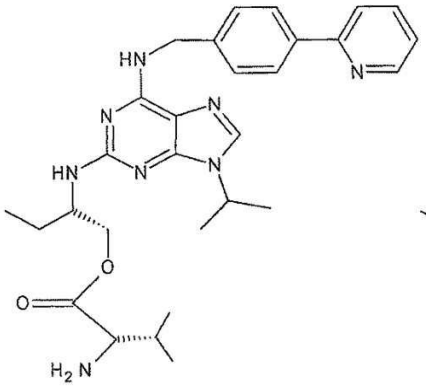
[0128] 화학식 Ib의 화합물 내지 화학식 Ih의 화합물은 또한 그 자체로 본 발명의 범위에 포함된다.

[0129] 화학식 I의 화합물들의 에스테르는 또한 본 발명의 범위에 포함된다.

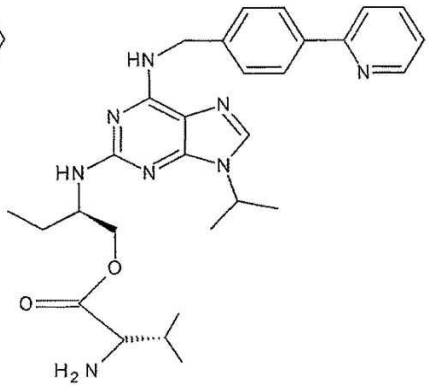
[0130] 화학식 I의 화합물들의 바람직한 에스테르는 아세틸 에스테르, 니코티닐 에스테르, L형 아미노산의 에스테르 및 D형 아미노산의 에스테르와 같은, 아실 에스테르이다.

[0131] 바람직한 에스테르는 발린 또는 류신과 같은 아미노산으로부터 형성된다.

[0132] 특히 바람직한 에스테르는 하기의 화학식 II-1 내지 II-4 중 어느 하나를 갖는다:

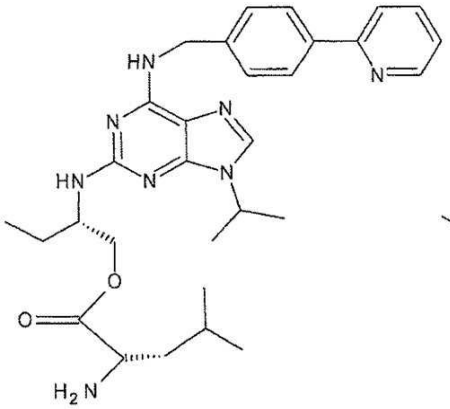


화학식 II-1

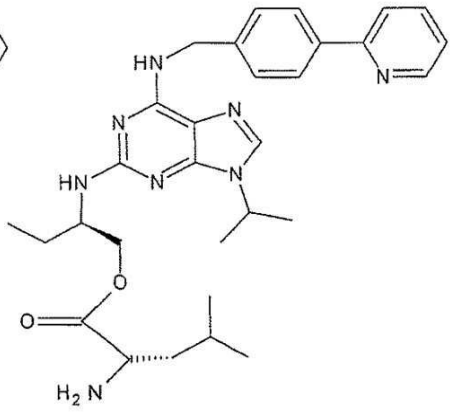


화학식 II-2

[0133]



화학식 II-3



화학식 II-4

[0134]

[0135] 이것은, 상기 에스테르가 화학식 I의 생성물의 전구체(프로드러그, prodrug)이기 때문이다.

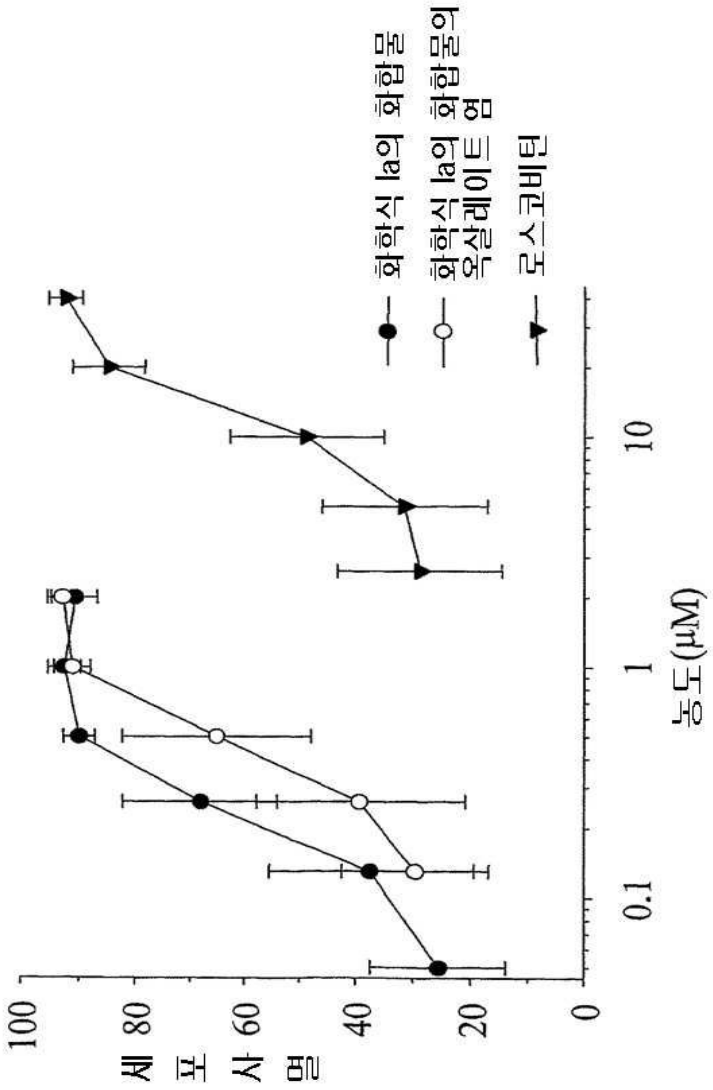
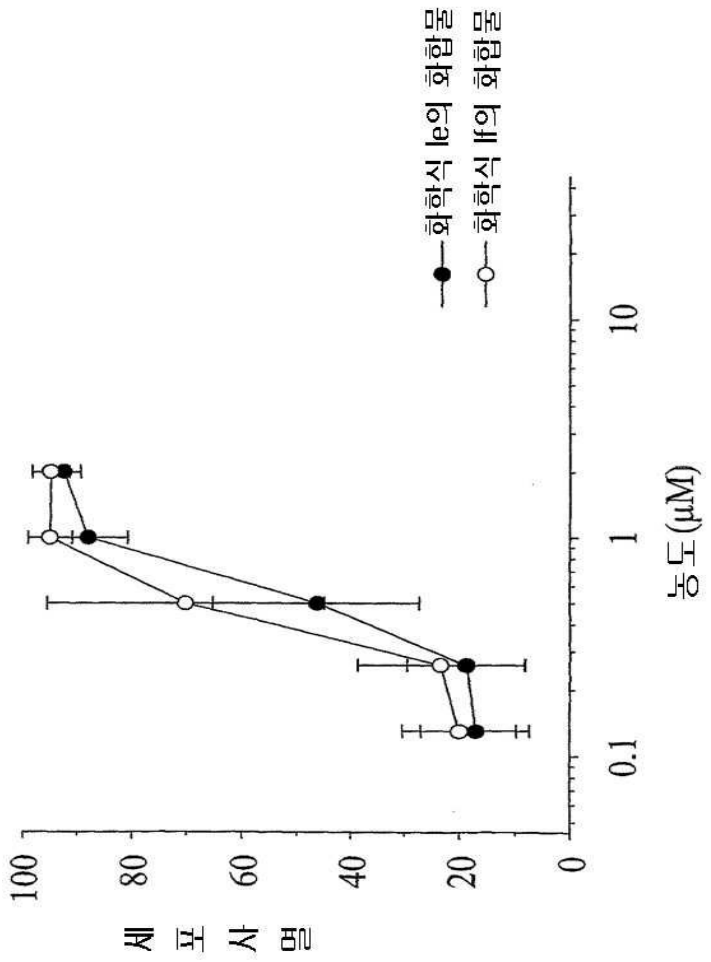
[0136] 따라서, 본 발명의 화합물들은 만성 림프구성 백혈병의 치료를 위한 약제의 제조의 용도로 특히 효과적이다. 상기 화합물들은 또한 만성 림프구성 백혈병에 걸린 환자들을 치료하는 방법에서 투여용으로 특히 적절하다.

[0137] 상기 화합물들은 또한 신장 질환 및, 특히 다낭성 신장 질환(polycystic kidney disease)을 치료하기 위한 약제의 제조의 용도로 특히 효과적이다. 같은 방식으로, 상기 화합물들은 신장 질환 및, 특히 다낭성 신장 질환(polycystic kidney disease)에 걸린 환자들을 치료하는 방법에서 투여용으로 특히 적절하다.

[0138] 본 발명의 화합물들이 2 이상의 또다른 화합물과의 혼합물로 사용될 수 있으며, 또한 만성 림프구성 백혈병, 또는 다낭성 신장 질환(polycystic kidney disease)과 같은 신장 질환의 치료에서 치료적 효과를 갖는 다른 화합물과 조합하여 사용될 수 있으며, 및/또는 약제의 제조에 있어서 약학적으로 허용되는 어떠한 첨가제(excipient)와 함께 조합하여 사용될 수 있으며, 이러한 조합들 및 혼합물들은 본 발명의 범위 내에 속한다는 것을 당업자는 쉽게 이해할 것이다.

도면

도면1


화학식 Ia의 화합물
화학식 Ia의 화합물의 옥살레이트 염
로스코비틴
세포 사멸
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
농도(μM)

도면2