

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3677286号  
(P3677286)

(45) 発行日 平成17年7月27日(2005.7.27)

(24) 登録日 平成17年5月13日(2005.5.13)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

F I

C O 7 D 473/06

C O 7 D 473/06

A 6 1 K 31/522

A 6 1 K 31/522

A 6 1 P 11/06

A 6 1 P 11/06

A 6 1 P 13/02

A 6 1 P 13/02

A 6 1 P 43/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

請求項の数 8 (全 23 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平7-512857  
 (86) (22) 出願日 平成6年10月28日(1994.10.28)  
 (65) 公表番号 特表平9-507052  
 (43) 公表日 平成9年7月15日(1997.7.15)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US1994/012388  
 (87) 国際公開番号 W01995/011904  
 (87) 国際公開日 平成7年5月4日(1995.5.4)  
 審査請求日 平成13年7月26日(2001.7.26)  
 (31) 優先権主張番号 08/144,459  
 (32) 優先日 平成5年10月28日(1993.10.28)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者  
 ユニバーシティ オブ フロリダ リサー  
 チ ファウンデーション インコーポレイテ  
 ッド  
 アメリカ合衆国 フロリダ州 ゲインズヴ  
 ィル グリントー ホール 223  
 (74) 代理人  
 弁理士 清水 初志  
 (72) 発明者  
 ベラーディネリ ルイス  
 アメリカ合衆国 フロリダ州 ゲインズヴ  
 ィル エヌ.ダヴリュウ. ナインス プ  
 レース 4332

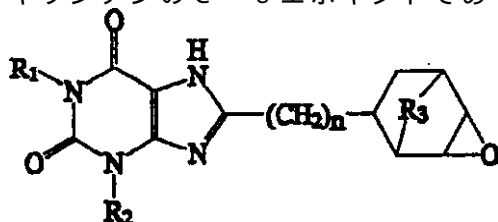
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規A▲1 ▼アデノシン受容体アンタゴニスト

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

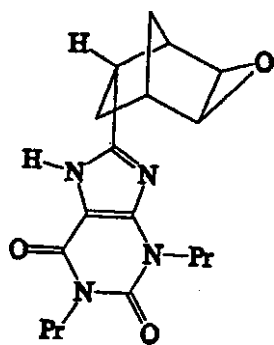
キサンチンのC - 8 エポキシドであって、該キサンチンのエポキシドが、下記式



(式中、 $R_1$  及び  $R_2$  は、同一でも、異なってもよく、H、又は炭素数1～4のアルキル基であり、 $R_3$  は、O、又は  $(CH_2)_{1-4}$  のいずれかであり、そして  $n$  は0～4である) で表される構造を有する、キサンチンのC - 8 エポキシド。

【請求項2】

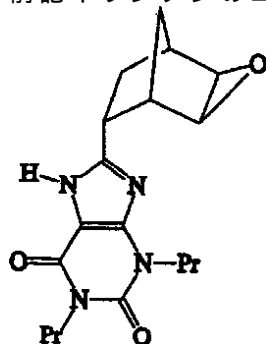
前記キサンチンのエポキシドが、下記の構造：



を有する 2 S - 鏡像異性体である、特許請求の範囲第 1 項記載のキサンチンのエポキシド 10

【請求項 3】

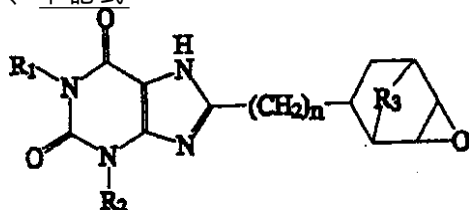
前記キサンチンのエポキシドが、下記の構造：



を有する 2 R - 鏡像異性体である、特許請求の範囲第 1 項記載のキサンチンのエポキシド 20

【請求項 4】

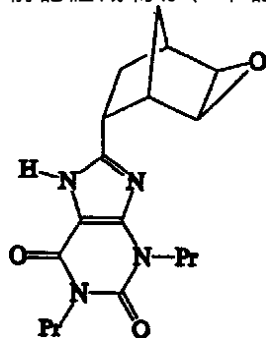
アデノシンの生物学的活性を調節する組成物であって、前記アデノシンの生物学的活性の調節とは、アデノシン受容体と結合するアデノシンの拮抗作用であり、前記組成物がキサンチンのエポキシド及び医薬的に許容しうる担体を含み、前記キサンチンのエポキシドが、下記式



(式中、 $R_1$  及び  $R_2$  は、同一でも、異なってもよく、H、又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル基であり、 $R_3$  は、O、又は  $(CH_2)_{1-4}$  のいずれかであり、そして  $n$  は 0 ~ 4 である) で表される構造を有する、アデノシンの生物学的活性の調節用組成物。 30

【請求項 5】

前記組成物が、下記の構造：

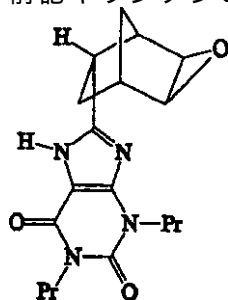


を有する 2 R - 鏡像異性体である、特許請求の範囲第 4 項記載のアデノシンの生物学的活 50

性の調節用組成物。

【請求項 6】

前記キサンチンのエポキシドが 2 S - 鏡像異性体であり、下記の構造：



10

を有する、特許請求の範囲第 4 項の アデノシンの生物学的活性の調節用組成物。

【請求項 7】

アデノシンの生物学的活性を調節して、利尿をもたらす、特許請求の範囲第 4、5 又は 6 項記載の アデノシンの生物学的活性の調節用組成物。

【請求項 8】

アデノシンの生物学的活性を調節して、気管支拡張をもたらす、特許請求の範囲第 4、5 又は 6 項記載の アデノシンの生物学的活性の調節用組成物。

【発明の詳細な説明】

関連出願との相互参照

本出願は、現在係属中である 1993 年 10 月 28 日に出願の米国特許出願第 08/144,459 号の一部継続出願である。

発明の背景

アデノシンは、身体的全細胞により産生される細胞外メッセンジャーである。アデノシン自体、アデノシンの作用を擬態する物質、及びその作用に拮抗する物質は、臨床的に重要な適用を有する。酸素が適正に供給されるかどうかはその働きが依存している器官である心臓においては、アデノシンは、酸素供給（冠血流量）と酸素要求（心臓の働き）とのバランスを調節する。作動している心細胞より放出されるアデノシンは、冠状血管拡張を介して酸素供給量を増加し、心拍数を低下させ、 $\beta$ -アドレナリン作動性受容体の刺激を調節することによって、酸素消費量を低下させる。心臓の酸素供給が、例えば、冠状動脈狭窄により制限されている場合、アデノシンによる保護効果は、特に重要である。

最近のいくつかの総説には、アデノシン系が詳細に記載されている (Belardinelli, L., J. Linden, R.M. Berne [1989] Prog. Cardiovasc. Dis. 32: 73-97; Belardinelli, L., A. Pelleg [1990] J. Cardiovasc. Electrophysiol. 1: 327-339; Olsson, R. A., J.D. Pearson [1990] Physiol. Rev. 70: 761-845)。心臓のアデノシン系は、以下の 3 行程からなる：(1) アデノシン形成の機序；(2) アデノシン受容体、及びそれらをエフェクターと結合させるタンパク質；並びに (3) アデノシン除去の機序。アデノシン受容体のアンタゴニスト及びアデノシン取り込み阻害剤などの薬物により、これらの系の一つ又はそれ以上を選択的に変えることによって、アデノシンの作用を、その治療効果の面において、変えることが可能である。

酸素要求量が、その供給量を超えると、アデノシン生成が増大し、それにより、アデニンヌクレオチドの分解が促進される。神経伝達物質と共に神経末端から放出されるアデニレートの分解、及びメチル化反応の副生成物である S-アデノシルホモシステインの分解は、心臓におけるアデノシンの付加的供給源である。心筋及び冠状血管細胞は、心臓において生成するほぼすべてのアデノシンを取り込み、そのアデノシンを、細胞のヌクレオチドプールへと再び取り込む。

心臓においては、少なくとも 2 種類の受容体が、アデノシンの作用を仲介する。A<sub>1</sub> アデノシン受容体 (A<sub>1</sub>AR) は、例えば、心拍数を低下させることによって、酸素消費量を低下させ、A<sub>2</sub> アデノシン受容体 (A<sub>2</sub>AR) は、冠血管を拡張させることによって、酸素供給量を増大させる。心細胞に対するアデノシンの作用は、直接的 (cAMP-独立性)

20

30

40

50

又は間接的 ( c A M P - 依存性 ) のいずれかである。直接的作用には、A V 結節に対する陰性変伝導作用が含まれる。これらの電気生理学的効果は、アデノシンの抗不整脈特性に基づく。アデノシンは、発作性上室性頻脈 ( P S V T ) を終了させるのに、高度に有効である ( > 90 % )。アゴニストにより刺激される (しかし、基底のものではない) アデニレートシクラーゼの活性に対する  $A_1$  A R により仲介される阻害は、アデノシンによる間接的効果を構成する。アデノシンの直接効果は、アデニレートシクラーゼを介して作用する薬剤の非存在下においても起こるが、間接的効果は、 $\beta$  - アドレナリン受容体アゴニストなどの薬剤によって刺激される場合、この酸素の阻害を反映するものである。

受容体に対して選択的であるアゴニストを用いた多くの薬理学的研究により、 $A_2$  A R が、冠状血管拡張を仲介するとの考えが支持されている。内皮細胞が、 $A_2$  A R を含み、それにより血管拡張において役割を果たしているが、アデノシンは、冠状血管平滑筋細胞に作用して、これを弛緩させるため、 $A_2$  A R は必須というわけではない。

アデノシンを薬物として使用する場合、その副作用は、通常、一過性であり、これは、体内で非常に速やかに分解される (秒単位) ことを反映している。P S V T の診断および治療におけるアデノシンの安全性は、現在、明らかに確立されている。アデノシン類似体の治療面での開発を阻害してきた重要な因子は、各種組織にアデノシンが、あまねく作用するとの特性である。

ヌクレオシドの効果を増強又は減少させるかにより、2種類の薬物が、アデノシンの作用を変化させる。細胞膜のヌクレオシド移送体の阻害剤が、細胞外空隙からのアデノシンの除去を阻害し、それにより、アデノシンの濃度を上昇させ、その作用を増強する。アデノシン取り込み阻害剤もまた、ヒト赤血球及び心臓細胞膜におけるヌクレオシド移送系を阻害し、イヌにおけるアデノシンの心臓作用を増強する。

メチルキサンチンは、 $A_1$  A R 及び  $A_2$  A R の両方に対するアデノシンの結合に、競合的に拮抗する。カフェイン及びテオフィリンなどのある種の天然のメチルキサンチンは、アデノシンの心臓血管系に対する効果に拮抗する。例えば、テオフィリンを投与されている患者に、アデノシンを投与しても、A V 遮断を起こしたり、P S V T を終了させることはできない。しかし、これらのメチルキサンチンは、比較的弱いものであり、より重要なのは、実験動物及びヒトにおいて、アデノシンの電気生理学的及び血管拡張効果の両方に、非選択的に拮抗するということである。テオフィリンはまた、潮紅、局所疼痛、及び呼吸刺激などのアデノシンの非心臓的効果を改善する。

合成アルキルキサンチン、例えば、8 - シクロペンチル - 1 , 3 - ジプロピルキサンチン ( C P X ; 米国特許第4,364,922号及び第4,980,379号を参照 ) は、テオフィリン又はカフェインよりも、 $A_1$  A R に対して、有意に強力かつ選択的なアンタゴニストである。

#### 発明の簡単な概要

本発明は、驚くべきほど高度な親和性、特異性、及び選択性により、アデノシン受容体に結合することのできるある種の新規化合物の発見に関する。ここで特に例示するのは、エポキシド部分を含むキサンチンである。本明細書で詳細に説明するように、これらのアンタゴニストは、心臓及び腎臓の調節など、広範囲の適応において治療的有用性を有している。

本発明の一態様においては、1 , 3 - ジプロピル - 8 - { 3 - オキサトリシクロ [ 3 . 1 . 2 . 0<sup>2,4</sup> ] オクト - 6 ( 7 ) - イル } キサンチン (ここで E N X と称する) として知られる新規化合物を、アデノシンのアンタゴニストとして使用する。好都合なことに、E N X は、 $A_1$  アデノシン受容体に対して、特に強力、特異的かつ高度に選択的であることが認められている。E N X 化合物のある種の鏡像異性体を合成し、その相対的活性について、試験を行った。E N X の R - 及び S - 鏡像異性体について、試験を行ったところ、S - 鏡像異性体が優る、つまり、ラセミ体又は R - 鏡像異性体よりも、 $A_1$  A R に対して、より強力かつ選択的であることが示された。しかし、その生物学的半減期が短いため、作用期間が短いことが要求される限られた治療面での適用においては、R - 鏡像異性体が有利である。

本発明は、更に、環外置換基にエポキシド部分を含むその他のキサンチンに関する。本発

10

20

30

40

50

明の別の態様としては、アデノシンのアンタゴニストとして治療的有用性を有することのできる、ENX又はその類似体又は誘導体からなる組成物、或いは処方物が含まれる。本発明の更に別の特性は、アデノシンの生物学的活性を調節するために、開示化合物を使用する方法である。本化合物、又はこれらの化合物からなる組成物を、アデノシンに対する調節効果のため、例えば、アデノシン受容体のアンタゴニストとして、利用することができる。本発明化合物のアンタゴニスト活性は、アデノシン濃度が上昇している状態を治療するのに利用することができ、アデノシン受容体の刺激が必要とされている場合には、アゴニストが有用である。このような状態としては、これに限られるわけではないが、心不整脈、腎不全、肝不全、腹水、及び喘息などの心臓、腎臓、肝臓、又は肺臓の疾患が挙げられる。アデノシン活性を調節することは、成人発症型糖尿病の治療においても、使用

10

#### 【図面の簡単な説明】

図1は、エポキシド部分を含むC-8置換基を有する1,3-ジプロピルキサンチンの合成を概略した図である。

図2は、エポキシド部分を含むアデノシン誘導体の合成図である。

図3は、(2R)-、(2S)-、及び(2S)-エンド-5-ノルボルネン-2-カルボン酸の合成を示す。

図4A~4Dは、ENXによるアデノシン(Ado)の陰性変伝導(S-H間隔の延長)作用の選択的拮抗を示す。図4A~4Bは、0.4  $\mu$ MのENXの非存在下及び存在下で、アデノシン(4  $\mu$ M)を3分間注入することによって起こされるS-H間隔の延長(A<sub>1</sub>反応、図4A)、及び冠状コンダクタンスの増大(A<sub>2</sub>反応、図4B)のアナログ記録を示す。ENXは、アデノシンの陰性変伝導作用を阻害したが、アデノシンにより惹起された冠状血管拡張(冠状コンダクタンスの増大)に拮抗しなかった。図4C~4Dは、A<sub>1</sub>受容体により仲介される、アデノシン(4  $\mu$ M)により惹起されるS-H間隔の増大が、ENX(0.4  $\mu$ M)により選択的に拮抗されるが、A<sub>2</sub>受容体が仲介する冠状血管拡張は、拮抗されないことを示す。示す値は、モルモットの心臓5例から得た平均 $\pm$ SEMである。アステリスクは、アデノシン単独の場合よりも有意に異なる値(P<0.05)に付されている。

20

図5A~5Dは、左心室圧(LVP)及びdP/dt<sub>max</sub>に対してENXが効果を示さないことを示している。モルモット心房は、300 msecの一定の周期長に調節し、高濃度のENX、つまり2及び200  $\mu$ MのENXに、徐々に曝した。同一の心臓において、ENXは単独で、His束に対する刺激の間隔には、有意な変動を惹起しなかった(図示せず)。その他の3例の心臓においても、同一の結果が得られた。

30

図6は、DDT<sub>1</sub>MF-2細胞のホスホジエステラーゼ(PDE)活性に対するENX及びイソブチルメチルキサンチン(IBMx)の効果を示す。図中、四角で示したIBMxに関するデータは、ホスホジエステラーゼ活性の阻害を、明確に示している。反対に、図中、丸で示したENX投与後のホスホジエステラーゼ活性は、一定のままであり、阻害はまったく示されなかった。

図7は、モルモットの心臓におけるアデノシンの陰性変伝導作用(S-H延長)に拮抗するENXの作用の特異性を示す。アデノシン(ADO、4  $\mu$ M)、マグネシウム(Mg<sup>2+</sup>、3 mM)、及びカルバコール(CCh、14  $\mu$ M)により惹起される同様のS-H延長に対するENX(2 nM、2  $\mu$ M)の効果を測定した。それぞれの棒グラフの高さは、4回の実験の平均 $\pm$ SEMを示す。アデノシンにより惹起されるS-H間隔延長のみが、ENXによって、拮抗された。

40

図8は、ENX(ラセミ体)混合物；ENX(R-鏡像異性体)；ENX(S-鏡像異性体)；及び対照として使用した賦形剤0.1 mg/kgを静脈内投与されたラットにおける蓄積尿中排泄量を示す。

#### 開示の詳細な説明

本発明は、アデノシン受容体のアンタゴニストとして有利に使用することのできる新規化合物、及びこれらの化合物からなる処方物に関する。具体的には、これらの化合物は、A

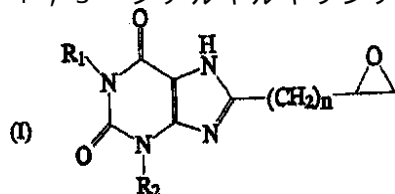
50

<sub>1</sub> アデノシン受容体 (A<sub>1</sub>AR) により仲介される陰性変伝導、変時、及び変力作用に対して、促進又は拮抗する。心臓においては、これらの化合物は、A<sub>1</sub>AR により仲介される陰性変伝導、変時、及び変力作用に対して、促進又は拮抗することができ、腎臓においては、これらのアンタゴニストは、A<sub>1</sub>AR を介して、利尿を促進する。

本化合物は、一般的にエポキシド (オキシラニル) 部分を含む C - 8 置換基を有する 1, 3 - ジアルキルキサンチンである。本発明の好ましい態様においては、キサンチンエポキシドは、キサンチンの C - 8 置換基に共有結合したエポキシド部分を有する 1, 3 - ジアルキルキサンチンである。好ましいキサンチンのエポキシドは、環外置換基の一部として、エポキシド部分を有するものである。

1, 3 - ジアルキルキサンチンの一種の一般構造は、以下の式 I :

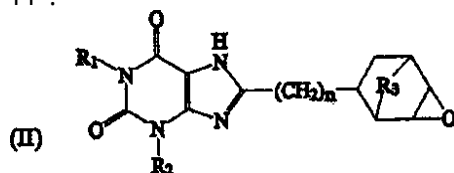
10



(式中、R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は、同一でも、異なってもよく、鎖長が 1 ~ 4 炭素原子であるアルキル基であることができ、n は、0 ~ 4 である) により示される。R<sub>1</sub> 及び / 又は R<sub>2</sub> が、水素であることができることも理解されよう。一方の R 基を、水素として、そしてもう一方の R 基を、アルキル基として有する化合物は、アルキルキサンチンのエポキシドであり；両方の R 基を、アルキル基として有する化合物は、ジアルキルキサンチンのエポキシドである。

20

1, 3 - ジアルキル - 8 - オキサトリシクロアルキルキサンチンの一般構造は、以下の式 II :



(式中、R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は、同一でも、異なってもよく、水素、又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル基であり；R<sub>3</sub> は、O、又は炭素数 1 ~ 4 のアルキル基であり；そして n は 0 ~ 4 である) により示される。

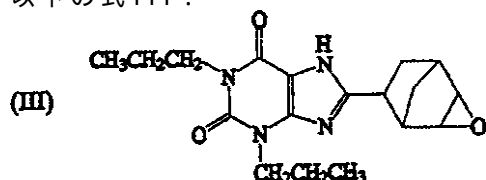
30

鎖長が 1 ~ 4 炭素原子であるポリメチレン鎖は、式 I において示したように、エポキシド部分を、1, 3 - ジアルキルキサンチンの C - 8 に結合させることができる。エポキシド基はまた、式 II において示したように、キサンチン部の C - 8 に、直接、又は鎖長が 1 ~ 4 炭素原子である (ポリ) メチレン鎖を介して結合している環外置換基の一部であることができる。式 II として示したように、環外置換基は、二環アルキル基であることができ、オキサトリシクロアルキル置換基を形成する。その他の環外エポキシド構造はまた、当業者が、本発明の開示により、容易に認識することのできるような化合物の一部であることができる。二環アルキル基は更に、第二のエポキシド部分を形成するために、アルケニル基を含むことができる。

40

図 1 は、8 - 置換 1, 3 - ジプロピルキサンチンの一般合成式を示す。

本発明の好ましい態様は、一般的には、エポキシノルボルニルキサンチン、又は ENX と称されている、1, 3 - ジプロピル - 8 - { 3 - オキサトリシクロ [ 3 . 1 . 2 . 0<sup>2,4</sup> ] オクト - 6 ( 7 ) - イル } キサンチンの化学名を有する化合物である。ENX の式は、以下の式 III :



50

として示すとおりである。E N X は、 $A_1$  アデノシン受容体に対する高い選択性及び親和性のため、アデノシンアンタゴニストとして有利かつ予想外の特性を有することが証明されている。

本質的には、内因性アデノシンの濃度が、過剰である、又は過剰となりえる状態を有する患者に、本アンタゴニスト化合物、又は本化合物を含む組成物を、治療的に使用することによって、患者は、その効果を享受することができる。例えば、本発明は、本アンタゴニスト化合物の利尿剤としての用途、又は腎不全の治療における用途に関する。更に、本アンタゴニスト化合物、又は本化合物を含む組成物は、低酸素症又は虚血（心筋梗塞）と関連した徐脈型不整脈、洞房結節症候群などの心臓に影響を及ぼすある種の状態の治療、及びアンタゴニストの陽性変力作用が有利であることのできる心不全において、用いることができる。内因性アデノシンの濃度上昇が原因である、又はその影響を受けていると認められるその他の状態もまた、本アデノシンアンタゴニストにより治療することができる。本化合物、例えば、E N X が示す、 $A_1$  アデノシン受容体に対する高い選択性及び親和性のため、これらの化合物は、利尿剤として特に有用である。利尿剤としてのE N X の効力は、ヒト及び動物の医学において通常使用されている利尿剤であるフロセミド（ラシックス）と、少なくとも同程度であることが証明されている。したがって、E N X は、フロセミドが、患者において利尿効果を示すために用いられているのと同様の方法で、使用することができることが理解されよう。

E N X が呈する利尿活性は、哺乳類、特にヒトに通常影響を及ぼすある種の状態の治療に利用することができる。例えば、うっ血性心疾患（C H F）は、利尿剤が、広く使用される状態である。C H F にしばしば併発する状態である高血圧もまた、通常、利尿剤により治療される。E N X は、現在市販されている利尿剤、例えば、このような状態の治療に用いられるラシックスに匹敵する利尿活性及び効力を有することが示された。したがって、本化合物、特に、E N X は、これらの状態の治療に、同様の方法で使用する事ができる。

本アデノシンアンタゴニストはまた、腎臓保護化合物として示すことができる。E N X は、 $A_1$  アデノシン受容体に結合することが示されており、腎毒性を有することが知られている反対の薬剤の使用の間、これらの受容体を遮断するために使用することができ、また、ある種の抗生物質、例えば、ゲンタマイシン、アンホテリシン、又はシクロスポリンの腎毒性に対抗するための治療において有効である。

更にまた、本 $A_1$  アデノシンアンタゴニスト、例えば、E N X は、肝不全における腹水の治療に有効である。当該技術において容易に理解されるように、E N X は、肝不全を有する非移植患者、移植前の患者、又は肝腎症候群を有する移植患者の治療及び適応の、ある種の変更に有用である。

アデノシン $A_1$  受容体阻害剤及び利尿剤としての活性により、本アンタゴニスト化合物、例えば、E N X は、虚血、低酸素症、又は再循環と関連するアンギナ、脳跛行、及び徐脈型不整脈の治療において特に、鎮痛薬としても使用することができる。また、心臓の診断処置、例えば、心臓血管系の造影において、アデノシンの外因的投与により、短期間の疼痛発生などの一過性副作用が発生することが知られている。この副作用は、 $A_1$  受容体（しかし、 $A_2$  受容体ではない）へのアデノシンの結合及び刺激に起因するものであるため、 $A_1$  受容体へのアデノシンの結合を阻害するアデノシンアンタゴニストは、この処置を受けている患者が感じる疼痛に対抗するために使用することができる。E N X を含む本化合物は、 $A_1$  アデノシン受容体に選択的に結合し、アデノシンの結合を阻害する（そして、このようにして $A_1$  受容体へのアデノシンの結合と関連した副作用を、遮断又は対抗する）。

更に、E N X を含む本アンタゴニスト化合物は、気管支拡張剤、つまり抗喘息剤として使用することもできる。E N X は、気管支平滑筋を弛緩し、その結果、気管支拡張をもたらすことが示されている。この特性は、その他の、はるかに作用の弱いキサンチン誘導体、例えば、テオフィリンと、共通するものである。本アンタゴニスト化合物の抗喘息剤としての使用により、本化合物を、吸入経路により投与した場合にも、有効であることが示唆

10

20

30

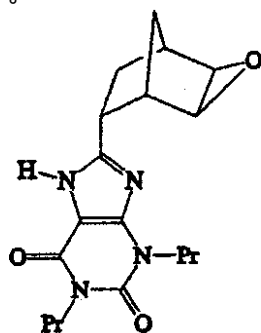
40

50

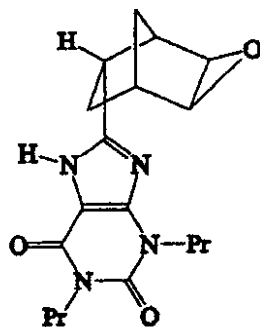
される。

本化合物の、その他の投与経路もまた、使用することができる。例えば、治療を行う状態に適応される最適な経路により本化合物を投与することが、一般に予想される。したがって、本化合物は、静脈内、経口、経皮投与することができ、そして当業界の通常の技術者が理解できるように、一回又は複数回の投与方法により投与することができる。

本化合物の上述したような使用法は、異なる生物学的活性を有することが証明されている特定の異性体を用いることによって、最適化することができることも、当業者により理解されるであろう。キラル中心を有する ENX は、少なくとも二つの鏡像異性体として存在することが認められる。ENX の鏡像異性体、すなわち、S - 鏡像異性体及び R - 鏡像異性体は、当該技術において利用可能な方法により、5 - ノルボルネン - 2 - カルボン酸の R - 及び S - 鏡像異性体から合成されてきた。Poll, T. et al. (1985) Tetrahedron Lett. 26: 3095-3098 及び Poll, T. et al. (1989) Tetrahedron Lett. 30: 5595-5598 を参照。ENX のエンド - R - 及びエンド - S - 鏡像異性体は、それぞれ式 IV 及び V として示す。



IV



V

ENX の二つの鏡像異性体について行った研究の結果、両者とも、 $A_2A_R$  と比較して、 $A_1A_R$  に対して選択的であることが示された。S - 鏡像異性体は、R - 鏡像異性体よりも、長い作用時間を示す。R - 及び S - 鏡像異性体のラセミ体混合物も、異性体のいずれか又は両方の生物学的活性を有するが、S - 及び R - 異性体を、単一の鏡像異性体として、それぞれ別に使用して、それぞれの鏡像異性体の特異的に有利な活性を得ることができると、現在は理解されている。

例えば、ENX のラセミ体混合物により証明されている生物学的活性の約 80 から 90 % は、S - 鏡像異性体によるものである。この結果は、R - 鏡像異性体では、S - 鏡像異性体と比較して、その作用時間が非常に短いためである。S - 鏡像異性体の作用が持続するのは、肝臓におけるクリアランス速度が低い、つまり、チトクローム  $P_{450}$  などの酵素系による代謝分解が遅いためである。R - 鏡像異性体と比べて、*in vitro* における効力がわずかに大きい S - 鏡像異性体は、*in vivo* においては、実質的に高い効力を示し、したがって、 $A_2$  アデノシン受容体と比較して、 $A_1$  アデノシン受容体に対して、より高い選択性を示した。ENX の S - 及び R - 鏡像異性体の選択性及び親和性特性を比較した詳細なデータについては、実施例 4 を参照。

S - 鏡像異性体 that 示す有利な特性、例えば、(*in vitro* 及び *in vivo* において) 効力が大きく、選択性が高く、そして作用が持続するなどの特性により、S - 鏡像異性体が、動物及びヒトにおいて、利尿剤として非常に有用であることが示される。多くの場合では、上記において説明したように、S - 鏡像異性体の作用時間が、R - 鏡像異性体のそれよりも長く、作用時間の長いことが、その作用を得るために必須であるため、S - 鏡像異性体が、好ましい化合物とされる。つまり、本化合物は、少なくとも、所望の結果を得るのに十分長い効果を生起するものでなければならない。

一方、作用時間の短いことが必要である場合、例えば、アデノシン濃度の上昇が急激であり、短時間しか持続しない(秒又は分の単位)アデノシンの静脈内注入の間、又は心筋虚血の発作の間、作用時間の短いアデノシンアンタゴニスト、例えば、ENX の R - 鏡像異

10

20

30

40

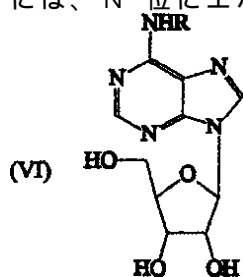
50

性体を、有利に使用することができる。E N XのR - 鏡像異性体の活性は、短期間では有利である。しかし、E N XのR - 鏡像異性体は、速やかに分解又は代謝される。E N XのR - 鏡像異性体の濃度が速やかに低下するため、この速やかな代謝により、薬物相互作用による合併症を予防することができる。E N XのR - 鏡像異性体は、その鎮痛特性のため、

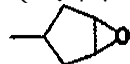
アンギナの急激な疼痛に対して投与することができる。  
作用時間の短い本化合物は、抗喘息薬又は気管支拡張薬として適用することができる。E N XのS - 鏡像異性体について示された高い生物学的活性は、肝臓におけるE N XのR - 鏡像異性体の速やかな、かつ選択的な代謝のためであることが示唆されている。これは、R - 鏡像異性体の薬理学的効果が誘導される適当な受容体に薬物が達する前、又は達するのとはほぼ同時に、肝酵素により薬物が分解されるような経路により投与される場合に、R - 鏡像異性体について示される初回通過効果のためである。しかし、ある種の他の投与経路も、この初回通過効果を利用するために、有利に使用することができる。例えば、E N XのS - 及びR - 鏡像異性体は、気管支拡張剤であることが証明されている。R - 鏡像異性体を単独で（又は、R - 鏡像異性体を含むが、S - 鏡像異性体を含まない組成物として）、吸入により投与すると、気管及び気管支における適当な受容体に、化合物が速やかに供され、その作用が起こる。吸収されたいずれの化合物も、速やかに排泄され、そのため、体内の化合物の残留濃度が低下する。

参考として、アデノシンアゴニストについて記載する。エポキシド部分を含有するアデノシン誘導体、特に、N - 6置換基にエポキシド部分を有するものは、A<sub>1</sub>ARアゴニストとして、使用することができる。アデノシンアゴニストのエポキシド誘導体もまた、アデノシン受容体に対して、高い選択性を示すことができる。心臓組織に対する選択性の高さもまた、証明されている。より詳細には、アデノシンのN<sup>6</sup>位を、エポキシシクロアルキル基で置換すると、強力かつ組織選択性であるアゴニストが得られる。

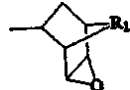
A<sub>1</sub>アデノシン受容体のN<sup>6</sup> - 下領域は、A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub>選択性の決定に重要である、キラル認識部位を含む。エポキシドは、アデノシンのシクロアルキル置換基、例えば、シクロペンチル、ノルボルナニル、又はアダマンタニル誘導体として、置き換えることもできる。以下には、N<sup>6</sup>位にエポキシド置換基を有するアデノシンエポキシドを、式VI



(式中、Rは、



又は



であり、そしてR<sub>1</sub>は、炭素数1から4のアルキル基である)の化合物として、示す。エポキシドは、シクロペンチル又はノルボルナニル基として、付加することもできる。本化合物は、2R - エンド、2R - エキソ、2S - エンド、又は2S - エキソ型の4種類の異性体の一つであることができる。

シクロアルキルアデノシン分子のその他の部分を修飾することによっても、生物学的活性を、増強することができる。例えば、N<sup>6</sup> - シクロアルキルアデノシンの2'及び5'位の塩素による置換は、A<sub>1</sub>選択性を増強するために使用されている。図2は、アデノシン分子又はその誘導体を、N<sup>6</sup>位の置換基としてエポキシビシクロアルキル基を含むアデノシン化合物に、化学的に変換するための工程を示す。好ましくは、ジメチルジオキシランを

、アデノシン化合物のエポキシドの形成のために、酸化剤として使用する。Iyer, R.S. et al. (1994) J. Am. Chem. Soc. 116: 1603-1609を参照。ジメチルジオキシランは、当該技術において公知の方法及び操作により調製することができる。Murray, R. W., R. Jeyaraman (1985) J. Org. Chem. 50: 2847-2853; Adam, W. et al. (1991) Chem. Ber. 124: 2377を参照。

このアデノシンアゴニストは、 $A_1AR$ の刺激が必要である患者の治療に、有用である。このアデノシンアゴニスト及びこれらのアゴニストを含む組成物の用途としては、機能的な $\beta$ 遮断剤として；上室性徐脈型不整脈、カテコールアミン（cAMP-依存性）性上室性及び心室性不整脈を含む、心拍数コントロールのための抗不整脈剤として；II型糖尿病；並びに、心臓保護、例えば、梗塞の大きさを縮小させ、心筋虚血に対する耐性を高めるための用途が挙げられる。

本発明の化合物（アンタゴニスト）は、医薬的に許容しうる担体と共に、本化合物又は組成物のアデノシン受容体アンタゴニストとしての特性から恩恵を受ける患者に投与することのできる組成物に処方することができる。

有利なことに、蘇生後の心不整脈の治療のための本アデノシンアンタゴニストの用量は、公知のアデノシンアンタゴニストについてすでに報告されている0.1～20 mg/kgの範囲よりも低いものであることができる。米国特許第4,980,379号を参照。有効な用量とは、徐脈の軽減、及び血液動力学的虚脱の逆転が起きる用量であると、認識することができる。

デオフィリン及びアミノフィリンなどのアデノシンアンタゴニストを、有効用量で投与するための標準的な処置操作は、確立されており、当業者にもよく知られている。例えば、気道の可逆性閉塞を有する患者におけるデオフィリン血漿中濃度の治療的範囲は、10～20  $\mu\text{g/ml}$ であると勧告されている。高い選択性及び効力を有する本化合物は、血液中、公知の濃度で有用かつ有効である。

本化合物又は組成物の治療のための用途を示す上記のリストは、余すところのないというものではなく、本発明を有利に使用することのできるその他の状況も、当業界における通常の技術者により、容易に認識されよう。例えば、内因性アデノシンの上昇による効果を低下させることによって治療することのできるその他の状態も、本アデノシンアンタゴニストの使用又は投与により、利益を受けることができることは、当業界において、容易に認識できよう。

本発明を実施するための、最良の形態を含む、本発明の方法を説明する実施例を、以下に示す。これらの実施例は、本発明を制限するものであると解釈してはならない。パーセントはいずれも、重量で示すものであり、溶媒混合物の比率はいずれも、他に指示がない限り、容積で示すものである。

#### 実施例 1 - 8 - エポキシアルキルキサンチンの調製

##### 化学

図1に示す反応式は、エポキシド部分を含むC-8置換基を有する1,3-ジプロピルキサンチンの合成の概略を示すものである。5,6-ジアミノ-1,3-ジプロピルウラシル1の、ハロゲン化 $\omega$ -アルケノイル又は $\omega$ -アルケノイルエステルとの反応により、アミド2が得られ、次にこれを、熱アルカリ中で、環化して、8- $\omega$ -アルケニル-1,3-ジプロピルキサンチン3を形成した。m-クロロ過安息香酸による酸化を行い、8-エポキシアルキルキサンチン4を得た。代わりに、3を、1,3-シクロアルカジエンと、ディールスアルダー縮合を行い、8-ビシクロアルケニルキサンチン5を得た。フランが、アルカジエンであった場合、生成物は、8- $\omega$ -{7-オキサビシクロ[2.2.1]ヘプト-2-エン-5(6)-イル}キサンチン5であり、これは、(a)エポキシド部分、及び第二のエポキシ部分の形成に役立つ(b)アルケニル部分の両方を含んでいた。5を、メタ-クロロ過安息香酸2.4当量により酸化して、8-エポキシビシクロアルキルキサンチン6を得た。

1,3-ジプロピル-8-{3-オキサトリシクロ[3.2.1.0<sup>2,4</sup>]オクト-6(7)イル}キサンチン

10

20

30

40

50

8 - ビシクロ [ 2 . 2 . 1 ] ヘプト - 2 - エン - 5 ( 6 ) イルキサンチン ( 1 . 0 g、3 mmol ) 及び m - クロロ過安息香酸 ( 0 . 8 g、3 . 6 mmol ) を、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  50 ml に溶解した溶液を、室温で 24 時間撹拌した。過酸を更に一部加え、撹拌を 24 時間続けた。蒸発させた結果、黄色の油状物を得、これを、C - 18 シリカを用い、70 ~ 80 % メタノール / 水で勾配溶離する、分取逆相 HPLC により精製した。収量は、0 . 54 g、52 % であり、融点は、149 ~ 150 であった。

1, 3 - ジブロピル - 8 - { 7 - オキサビシクロ [ 2 . 2 . 1 ] ヘプト - 2 - エン - 5 ( 6 ) イル } キサンチン

1, 3 - ジブロピル - 8 - ビニルキサンチン ( 0 . 4 g、1 . 5 mmol ) を、フラン ( 0 . 22 ml、3 mmol ) を含有する乾燥 THF 50 ml に懸濁した懸濁液を、室温で撹拌した。TMS トリフラートを 1 滴加えることによって、溶液とし、HPLC により、出発物質が消失したことが示された。C - 18 シリカを用い、50 ~ 80 % メタノール / 水で勾配溶離する、分取逆相 HPLC により、生成物 0 . 25 g ( 50 % ) を得た。

#### 参考例 2 - エポキシド部分を含むアデノシン誘導体の調製

アデノシンアゴニストとして有用な化合物は、N - 6 置換基として、オキサビシクロ - 又はオキサトリシクロアルキル基を含むアデノシン誘導体である。本化合物の調製を示す一般反応式は、図 2 に示す。

N<sup>6</sup> - エンド - { 3 - オキサトリシクロ [ 3 . 2 . 1 . 0<sup>2,4</sup> ] オクト - 6 ( 7 ) - イル } アデノシン

N<sup>6</sup> - ( エンド - 2 - ノルボルネン - 5 - イル ) アデノシン ( 0 . 5 g、1 . 4 mmol ) を、乾燥メタノール 100 mL に溶解した溶液を、氷浴中、0 ~ 5 に冷却し、ジメチルジオキシランのアセトン溶液 ( 40 mL、4 mmol ) を加え、氷浴中で、8 時間、更に室温で一晩、撹拌を続けた。溶媒を蒸発させ、クロマトグラフィーにより精製した結果、白色固体 0 . 42 g ( 81 % ) を得た。

#### 実施例 3 - アデノシンアンタゴニストとしての新規化合物の使用

本化合物のアデノシンアンタゴニストとしての有効性を証明するために、本化合物の活性を、公知アンタゴニストと比較した。更に、A<sub>1</sub> アデノシン受容体アンタゴニストとしての ENX の特異性、選択性および効力について、モルモットから単離した心臓を、モルモット脳、DDT<sub>1</sub>MF - 2、及び PC12 細胞から得た膜中で用い、機能的及び生化学的 ( ラジオリガンド結合測定法 ) 試験を行った。これらの試験の結果を、以下に述べる。

##### 1 . 機能的研究

アルキルキサンチン ( ENX ) のエポキシドは、A<sub>1</sub> アデノシン受容体により仲介されるアデノシンの心臓作用に対して、特異的かつ選択的に拮抗するが、A<sub>2</sub> アデノシン受容体によって仲介される冠状血管拡張には拮抗しないとの機能的証拠が、モルモットより単離された灌流心臓から得られた。ENX、及び他の 2 種類のアルキルキサンチン ( NAX 及び CPX ) の、A<sub>1</sub> 受容体が仲介する His 束に対する刺激の間隔の変化 ( S - H 間隔 ; AV 結節伝導の測定 )、及び A<sub>2</sub> 受容体が仲介する冠状血管拡張に対する効果を検討した。A<sub>1</sub> アゴニストである CCPA の陰性変伝導作用 ( S - H 間隔の延長 ) に拮抗する ENX、NAX 及び CPX の効力、及びアデノシンの血管拡張効果に対する効力を、表 1 及び 2 に示す。

10

20

30

40

表 1

各種アルキルキサンチンの、 $A_1$ 受容体により仲介される心反応に拮抗する効力：シルド  
(Schild) 解析の結果

|        | ENX              | NAX              | CPX              |
|--------|------------------|------------------|------------------|
| $PA_2$ | $8.45 \pm 0.19$  | $8.79 \pm 0.15$  | $8.76 \pm 0.02$  |
| $K_B$  | 3.6 nM           | 1.6 nM           | 1.7 nM           |
|        | (1.2-3.9)        | (1.1-3.2)        | (1.6-1.9)        |
| 傾き     | $-0.91 \pm 0.06$ | $-0.89 \pm 0.11$ | $-0.81 \pm 0.03$ |
| n      | 4                | 3                | 3                |

数値は、 $PA_2$  ( $-\log_{10} K_B$ )、平衡解離定数  $K_B$ 、及びシルドプロットの傾きの平均  $\pm S.E.M.$  である。心反応：選択的  $A_1$  アゴニストである CCPA の陰性変伝導効果の拮抗。カッコ内の数値は、最小及び最大  $K_B$  値である。n は、試験数である。 $PA_2$  ( $K_B$ ) とシルドプロットの傾きのいずれも、アンタゴニスト間で、有意には異ならなかった。

表 2

各種アルキルキサンチンの、 $A_2$ 受容体により仲介される冠状血管拡張に拮抗する効力

|           | ENX               | NAX         | CPX         |
|-----------|-------------------|-------------|-------------|
| $IC_{50}$ | 効果なし              | 7.1 $\mu M$ | 1.5 $\mu M$ |
|           | (50 $\mu M$ で 0%) | (4.8-9.4)   | (0.8-2.2)   |
| n         | 4                 | 3           | 3           |

数値は、アデノシンにより惹起される最大の冠状血管拡張の 50% ( $IC_{50}$ ) を阻害するアンタゴニストの濃度である。カッコ内の値は、 $IC_{50}$  値の 95% 信頼区間である。n は、試験数である。

$A_1$  受容体が仲介する S-H 間隔の延長に拮抗する効力については、3 種類のアルキルキサンチンは、同等の効力を示したが、ENX は、NAX 及び CPX よりも、はるかに選択的である。

$A_1$  対  $A_2$  受容体に対する ENX の選択性を更に証明するために、アデノシン単独及びアデノシンプラス ENX の投与中における  $A_1$  受容体仲介の S-H 間隔、及び  $A_2$  受容体仲介の冠状血管伝導の増加の測定を行った (図 4A ~ 4D)。アデノシン (Ado、4  $\mu M$ ) を単独で投与した場合、S-H 間隔及び冠状血管伝導が有意に増大した。アデノシンを ENX (0.4  $\mu M$ ) と共に投与した場合、S-H 間隔の延長は、完全に阻害されたが、 $A_2$  仲介の冠状血管拡張は、変化しなかった。ENX のウォッシュアウト後、3 回目のアデノシン単独投与により、S-H 間隔の有意な延長 (アデノシンの 1 回目の投与と同様)、及び冠状血管伝導の増大が惹起された。これらの知見により、ENX の効果は、可逆的であり、ENX は、 $A_1$  受容体が仲介する S-H の延長には拮抗するが、 $A_2$  受容体が仲介するアデノシンによる冠状血管伝導の増大には、拮抗しないことが証明される。これらのデータにより、アデノシンの  $A_1$  受容体に対する結合と関連した活性に対する ENX の阻害能が証明される一方、 $A_2$  受容体のアデノシンによる刺激による有利な薬理学的活性は、影響を受けないことも証明される。

10

20

30

40

50

ENXが陽性変力作用を有するかどうかを決定するために、試験を行い、左心室圧(LVP)及びその収縮性の指標である、第一次変数の $dP/dt$ に対する効果を調べた。図5に示したように、モルモットの心臓を、ENX濃度を上昇させながら(2-200  $\mu$ M)曝した場合、酸素正常状態のモルモットの心臓のLVP又は $dP/dt$ のいずれも、有意な変化を示さなかった。ENXの濃度を変化させながら投与した場合と、ウオッシュアウトの間、LVP及び $dP/dt$ は一定であった。これらの結果から、ENXには、陽性変力作用がないことが証明される。

陽性変力作用の欠如とともに、ENXは、酵素であるホスホジエステラーゼも阻害しなかった(図6)。細胞を、pH8.0の40 mMトリス緩衝液中で、ホモジナイズし、ホモジネート全体を、酵素測定に用いた。20 mM MgCl<sub>2</sub>、4 mMメルカプトエタノール、ウシ血清アルブミン0.06 mg、[<sup>3</sup>H]cAMPの0.4 mM cAMP 130 nCi、及び表示された濃度のENX又はIBMXを含むトリス緩衝液中で、ホモジネート(タンパク質、0.4 mg)を、30 で45分間保温することによって、PDE活性を測定した。ホモジネートを用いないブランクのインキュベーションも、平行して行った。インキュベーションの終了時に、懸濁液を、沸騰水浴中で2分間保温し、氷水浴に2分間移動し、ヘビ毒ホスホジエステラーゼ0.1 mgを加えた。懸濁液を、30 で10分間インキュベートし、生成したアデノシンを、イオン交換クロマトグラフィーにより単離した。生成したアデノシンのコントロール速度は、1分当たり220 pmol/mgタンパク質であった。生成したアデノシンの量は、インキュベーションの時間に応じて、直線状であった。

酵素であるホスホジエステラーゼを阻害する薬剤は、陽性変力作用を呈することが知られている。図6に示した結果から、ENXは、ホスホジエステラーゼを阻害しないが、イソブチルメチルキサンチン(IBMX、公知の陽性変力剤)は、ホスホジエステラーゼを阻害することが、明らかに示された。これらの知見から、ホスホジエステラーゼを阻害することが知られ、したがって、陽性変力作用を示す能力を有するその他のアルキルキサンチンを超える利点を、ENXが有することが証明される。

ENXによる拮抗の特異性、例えば、アデノシンにより仲介されるS-H間隔延長を試験するために、カルバコール及びMgCl<sub>2</sub>を用いた。図7に示すように、ENX(2 nM、2  $\mu$ M)は、カルバコール又はMgCl<sub>2</sub>の陰性変伝導作用に対して、拮抗しなかった。反対に、ENXは、アデノシンにより惹起されるS-H延長に拮抗した。

要約すると、上述した機能的試験の結果、心臓においては、ENXは、A<sub>1</sub>受容体のサブタイプに対しては、可逆的、特異的、かつ高度に選択的なアデノシンアンタゴニストであることが証明される。

## 2. ラジオリガンド結合に関する研究

アルキルキサンチンであるENXのエポキシドの結合親和性を求め、その他のアルキルキサンチン(CPX、NAX、及びCPT)と比較するために、脳組織、DDT<sub>1</sub>MF-2、及びPC12細胞株から調製した膜において、ラジオリガンド結合試験を行った。これらの試験の結果を、表3及び4に示す。以下の表3に要約した結果により、脳組織においては、ENXは、A<sub>1</sub>ARに対しては、その他のアルキルキサンチンよりも強力であるが、DDT<sub>1</sub>MF-2細胞においては、A<sub>1</sub>受容体に対するアルキルキサンチンの結合親和性は、ほぼ同じであることが、示される。PC12細胞膜におけるA<sub>2</sub>受容体に関しては、ENXは、CPXよりも著しく低い効力を示した。更にまた、A<sub>1</sub>受容体に対するENXの結合親和性は、脳又はDDT<sub>1</sub>MF-2細胞のいずれにおいても、PC-12細胞膜におけるA<sub>2</sub>受容体に対するよりも、著しく高かった。

表 3

脳、DDT<sub>1</sub>-MF<sub>2</sub>、及びPC-12細胞膜におけるA<sub>1</sub>-及びA<sub>2</sub>-アデノシン受容体に対するアルキルキサンチンの結合親和性

| アルキルキサンチン | K <sub>i</sub> (nM) |                                  |                |
|-----------|---------------------|----------------------------------|----------------|
|           | 脳                   | DDT <sub>1</sub> MF <sub>2</sub> | PC-12          |
| ENX       | 0.45±0.02 (5)       | 0.22±0.03 (5)                    | 11,666±366 (4) |
| CPX       | 4.4±0.8 (4)         | 0.13±0.01 (4)                    | 320±40 (3)     |
| NAX       | 3.8±0.21 (4)        | 0.18±0.05 (3)                    | -----          |
| CPT       | 41.0±13.0 (4)       | -----                            | -----          |

A<sub>1</sub>受容体の結合は、モルモットの前脳及び心膜、並びに未処置のDDT<sub>1</sub>-MF<sub>2</sub>細胞において、[<sup>3</sup>H]CPXにより行った。A<sub>2</sub>受容体の結合は、PC-12細胞膜において、[<sup>3</sup>H]NECAにより行った。数値は、数個(n個)の標本のそれぞれについて3回測定を行った、その平均±S.E.M.である。K<sub>i</sub>値は、記載した方法により算出した。アルキルキサンチンの略称は、以下のとおりである：ENX=1,3-ジプロピル-8-{3-オキサトリシクロ[3.1.2.0<sup>2,4</sup>]オクト-6(7)-イル}キサンチン；CPX=8-シクロペンチル-1,3-ジプロピルキサンチン；NAX=1,3-ジプロピル-8-(3-ノルアダマンチル)キサンチン；及びPTC=8-シクロペンチル-1,3-ジメチルキサンチン。

モルモットの脳(A<sub>1</sub>受容体)及び線条(A<sub>2</sub>受容体)におけるラジオリガンド結合試験を更に行って、すでに公知であるアデノシン受容体アンタゴニストであるNAX又はCPXと比較して、ENXのA<sub>1</sub>受容体に対する選択性が高いことを証明した。表4には、A<sub>1</sub>(前脳)及びA<sub>2</sub>(線条)アデノシン受容体を表わす、脳組織のA<sub>1</sub>及びA<sub>2</sub>受容体の結合親和性を示す。表4の結果、ENXは、他のアルキルキサンチン、NAX、及びCPXよりも、A<sub>2</sub>受容体よりA<sub>1</sub>受容体に、有意にさらに選択的であることが明らかに示される。すなわち、ENXは、A<sub>2</sub>よりもA<sub>1</sub>に800倍も高い選択性を有する一方、NAX及びCPXは、A<sub>2</sub>よりもA<sub>1</sub>に、それぞれ20倍及び7.5倍ほど高い選択性を有していた。これらのラジオリガンド結合の研究の結果は、単離したモルモットの心臓における機能的研究の結果と、十分に一致する。

表 4

脳膜におけるA<sub>1</sub>及びA<sub>2</sub>アデノシン受容体に対するアルキルキサンチンの結合親和性

| アルキルキサンチン | K <sub>i</sub> (nM) |                     |                                  |
|-----------|---------------------|---------------------|----------------------------------|
|           | A <sub>1</sub> (前脳) | A <sub>2</sub> (線条) | A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub> 比 |
| ENX       | 0.45±0.13           | 360±36              | 800                              |
| NAX       | 1.10±0.15           | 22±6.90             | 20                               |
| CPX       | 8.4±3.00            | 63±5.40             | 7.5                              |

A<sub>1</sub>及びA<sub>2</sub>受容体との結合は、モルモットの脳膜及び線条において、それぞれ[<sup>3</sup>H]CPX及び[<sup>3</sup>H]CGS21,860により行った。数値は、4個の標本のそれぞれについて、3回測定を行った、その平均±S.E.M.である。

実施例4-ENX鏡像異性体の活性

ENXのS-鏡像異性体及びR-鏡像異性体を、記載したように合成し、その相対的活性及び効力について、試験を行った。以下の表5に示したよに、ENXのS-鏡像異性体の解離定数が低いことにより、R-鏡像異性体に比べて( $K_i = 2.1$ )、効力がわずかに大きい( $K_i = 0.98$ )ことが示唆される

表5

ラット脳のA<sub>1</sub>アデノシン受容体に対するENX鏡像異性体及びCPXの平衡解離定数

| 化合物                  | K <sub>d</sub> 又はK <sub>i</sub> , nM |
|----------------------|--------------------------------------|
| [ <sup>3</sup> H]CPX | 0.49                                 |
| R-ENX                | 2.1                                  |
| S-ENX                | 0.98                                 |

10

更に、ENXのS-鏡像異性体は、A<sub>1</sub>受容体に対して、高い結合選択性を有することが証明された。以下の表6を参照。

表6

ENXの、ラット脳のアデノシンA<sub>1</sub>及びA<sub>2</sub>受容体に対するラジオリガンド結合に拮抗する効力及び選択性(「IC<sub>50</sub>」\*値)

20

|             | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | 選択性  |
|-------------|----------------|----------------|------|
| ENX(ラセミ化合物) | 1.65 nM        | 2.1 μM         | 1300 |
| S-ENX       | 1.15 nM        | 9.0 μM         | 7800 |
| R-ENX       | 2.70 nM        | 2.6 μM         | 960  |

30

\*「IC<sub>50</sub>」値は、受容体に対するラジオリガンド結合が、50%阻害された濃度を示す。

S-鏡像異性体の効力の増大が、図8には示される。示されたように、ラセミ体混合物としてENXが示す利尿活性のほとんどは、S-鏡像異性体によるものであった。詳細には、図8には、ENXラセミ体、ENXのR-鏡像異性体、及びENXのS-鏡像異性体0.1 mg/kgを投与したラットにおいて2時間測定した蓄積尿中排泄量を示す。したがって、利尿剤としては、ENXのS-鏡像異性体は、ENXのR-鏡像異性体、又はENXのR-及びS-鏡像異性体のラセミ体混合物よりも強力であることが示される。作用期間もまた、ENXのS-鏡像異性体で長い。ENXのS-鏡像異性体のこれらの特性により、利尿剤の投与を通常必要とする状態の治療において、長時間持続性利尿剤として使用することが好ましいことが示唆される。標準的な薬理学的スクリーニング試験では、ENXのS-鏡像異性体(100 mg/kg、経口投与)は、モルモットの気管筋の収縮を、弛緩させることが示された。ENXのS-鏡像異性体は、マウスに100 mg/kgを経口投与後、βリポ蛋白を沈殿させる血清中コレステロール及びヘパリン濃度を低下させた。興味深いことに、HPL/CHOL比が0.92以下に低下したことにより、アテローム発生性低密度βリポ蛋白濃度が低下する可能性があることが示唆される。

40

尿中排泄量の増加と関連する塩排泄活性が、脱水ラットにおいて、3 mg/kg及びそれ以上の用量の経口投与により、観察された。この標本に、30 mg/kgを経口投与後、中程度のカリウム排泄活性もまた認められ、カリウム節約性利尿活性が示唆される。

R-鏡像異性体は、アデノシンのアンタゴニストとしての活性を有することが示された。

50

詳細には、R - 鏡像異性体は、モルモットの気管の自発的緊張の弛緩を誘導することが観察された。尿中排泄量増大と関連する塩排泄活性が、E N X の R - 鏡像異性体 10 mg/kg を経口投与された脱水ラットにおいて、観察された。しかし、E N X の R - 鏡像異性体の活性持続期間は、S - 鏡像異性体と比較して、非常に短い。しかし、短期間しか作用しない治療を必要とする状態の治療においては、これは有用である。

#### 参考例 5 - N<sup>6</sup> - 置換アデノシン誘導体の合成

構造式 IV として示される本発明のアゴニスト化合物は、公知の方法により合成することができる。例えば、これらの化合物を得るための一般的な合成式には、適切に置換されたアミン、例えば、二環性アミンの、6 - クロロプリン リボシドによるアルキル化が含まれる。N<sup>6</sup> - 置換アデノシンの合成には、直接前進的な反応が通常使用される。WO 84 04 88 2(1985)を参照。

置換アミンは、酸化されるとエポキシド生成物を形成する二重結合により、官能化することができる。m - クロロ過安息香酸を、この酸化反応に使用することができる。Sharpless, K.B., W. Amberg, Y.L. Bennani, G.A. Crispino, J. Hartung, K.-S. Jeong, H.-L. Kwong, K. Morikawa, Z.-M. Wong, D. Xu, X.-L. Zhang (1992) J. Org. Chem. 57:2768-2771; 及び Kolb, H.C., B.K. Sharpless (1992) Tetrahedron 48: 1015-1030 もまた参照。エポキシドを形成する代替の方法は、オレフィンの、オスミウムにより触媒されるジヒドロキシ化であり、これは、フタラジンリガンドの発見のために、現在良く知られており、オスミウム酸エステルの加水分解は、有機スルホンアミドにより促進される。ビシナルジオールのエポキシドへの変換のための、簡単な一行程による方法は、当該技術において

は公知である (Kolb, H.C., B.K. Sharpless、上記)。この反応は、ハロヒドリンエステル中間体を経て、エピマー化することなく進行する。これらの方法を組み合わせることによって、エポキシドを、オレフィンから、立体特異的な方法により得ることができる。構造式 IV として示した本化合物の合成に用いることのできる置換アミンは、(アデノシンのシクロペンテンオキシド誘導体には) 3 - シクロペンテン - 1 - イルアミン、又は (アデノシンのシクロヘキセンエポキシド誘導体には) 5 - ノルボルネン - 2 - イルアミンである。3 - シクロペンテン - 1 - イルアミンは、当該技術では公知の方法により、シス - 1, 4 - ジクロロブテン及びジエチルマロナートから、5 段階の反応を経て合成することができる (Murdock, K.C., R.B. Angier [1962] J. Org. Chem. 27: 2395-2398 を参照)。

5 - ノルボルネン - 2 - イルアミンの合成は、4 種類の異性体、つまり 2 R 及び 2 S、それぞれエンド及びエキソ形の混合物として市販されている 5 - ノルボルネン - 2 - カルボン酸から行う。このカルボン酸のアシルクロリドへの変換、及びその後のアジ化ナトリウムによる処理により、アシルアジドが得られる。クルチウス転位 (N<sub>2</sub> の消失、及び置換基の移動)、及びその後の加水分解により、5 - ノルボルネン - 2 - イルアミンが、異性体の混合物として得られる。この反応は、4 - アミノシクロヘキセンの合成において、アシルアジド又はイソシアナートを単離することなく、持続して行うことができる。クルチウス転位に用いる別の変法は、対応するアシルヒドラジンを、亜硝酸により処理することにより、アシルアジドを調製することからなる。いずれの場合も、転位により、キラル中心における絶対配置が保持される。エンド及びエキソ成分は、当該技術において公知の H P L C 法により分離することができる。

光学的に純粋な 5 - ノルボルネン - 2 - イルアミンの合成には、不斉ディールスアルダー反応を用いて、中間体であるカルボン酸を得、その後これを、上述したように、クルチウス転位を行うことが含まれる。これらの化合物を合成するための一般式を、図 3 に示す。

#### 実施例 6 - 使用、処方化、及び投与

本化合物及びこれらを含む組成物の治療的並びに予防的応用は、当業者に、現在又は将来公知である、いかなる適当な方法又は技術によっても、実行することができる。更に、本発明化合物は、その他の有用な化合物及び組成物の調製のための出発物質又は中間体としての用途を有する。本発明化合物は、各種の非治療的及び治療目的に有用である。本発明化合物が、有効な抗不整脈活性を有することは、試験より明らかである。詳細には、動物

及びヒトにおけるP V S Tを含む心不整脈の調節に有用である。

心臓の変時性、変伝導性、及び変力性に対する本アンタゴニストの効果が証明されたことにより、これらが、心臓の働きの刺激剤又は調節剤のいずれかとして、治療に有用となり、それにより、心機能が、影響を受ける。例えば、本化合物の調節又は変調活性により、心拍数（変時作用）及びインパルス伝導（変伝導作用）が影響を受ける。本発明化合物はまた、心機能のパラメーターを求めるために、診断に用いることができ、例えば、アデノシン受容体が、心臓又はその他の器官の機能不全の仲介物であるかどうかを求めるための有用な薬理学的試薬として、使用することができる。

本化合物はまた、アデノシン受容体を介して、直接若しくは間接的に作用するその他のアンタゴニストの活性を測定又は比較するin vitro及びin vivoにおける研究の標準としても、役に立つ。このような比較のための試薬としては、本化合物が、価値のある薬理的道具となる。A<sub>1</sub>アデノシン受容体に対する高い親和性及び選択性のため、これらの化合物は、身体全体のこれらの受容体の機能に関する重要な情報源となる。

本化合物のその他の用途としては、器官若しくは組織におけるアデノシン受容体の構造又は位置の特徴づけにおける用途が挙げられる。これは、例えば、適当な標識又は報告物質を、当業者に公知の標準的技術又は方法により、本発明化合物に結合させることによって、行うことができる。本発明化合物への結合に適当である標識としては、放射活性標識（例えば、放射性同位元素）、蛍光標識、及びビオチン標識が挙げられるが、これに限られるわけではない。本化合物の標識に適当である放射性同位元素としては、臭素 - 77、フッ素 - 77、ヨウ素 - 131、ヨウ素 - 123、ヨウ素 - 125、ヨウ素 - 126、ヨウ素 - 133、インジウム - 111、インジウム - 113m、ガリウム - 67、ガリウム - 68、ルテニウム - 95、ルテニウム - 97、ルテニウム - 103、ルテニウム - 105、水銀 - 107、水銀 - 203、レニウム - 99m、レニウム - 105、レニウム - 101、テクネチウム - 99m、テルリウム - 121m、テルリウム - 99m、テルリウム - 125m、ツリウム - 165、ツリウム - 167、ツリウム - 168、及びツリウムが挙げられる。ガンマ線発光性インジウム種及びテクネチウム - 99mが、好ましい放射性同位元素である。これらの放射性同位元素は、ガンマ線カメラにより検出可能であり、in vivoにおける造影に好ましい半減期を有するからである。あるいは、非放射活性標識、例えば、酵素 - 基質複合体、例えば、ビオチン - アビジン、ホースラディッシュペルオキシダーゼ - アルカリホスファターゼなどを使用することができるのは、当業者により認められるであろう。また、本化合物の標識に適当である蛍光物質としては、フルオレセインナトリウム、フルオレセインイソチオシアナート、及びテキサスレッドスルホニルクロリドが挙げられる。それにより、本化合物は、A<sub>1</sub>アデノシン受容体が存在する器官又は組織の構造又は機能を、in vitro及びin vivoにおいて視覚化するために使用することができる。

本発明の更なる態様には、A<sub>1</sub>アデノシン受容体部位に、治療化合物を、誘導するために、本化合物を使用することも含まれる。本発明化合物の特異性のため、治療化合物を、A<sub>1</sub>アデノシン受容体の周辺に誘導するために、本発明化合物を、治療化合物に結合させることもできる。また、心臓組織などの特定の種類の組織に選択性を有する本発明化合物の場合、治療のため、又は診断のための試薬を、これらの位置に誘導するために、これらの化合物を使用することができる。

本発明化合物の投与は、抗不整脈剤として有用である。したがって、活性成分として本発明化合物を含有する医薬組成物は、ヒト若しくはその他の哺乳類の心不整脈の予防又は治療的処置に有用である。

投与量は、所望の抗不整脈反応；関係する投与対象ホストの種類、その年齢、健康度、体重、ある場合には、同時に受けている治療の種類；治療の頻度；治療の比率、及び同様の要件に応じて、異なるであろう。有利なことに、投与する活性成分の投与量は、例えば、皮膚投与であれば、動物の体重に対して、1 ~ 約500 mg/kg、経口投与であれば、0.01 ~ 200 mg/kg、鼻腔内投与であれば、0.01 ~ 約100 mg/kg、及びエーロゾンであれば、0.01 ~ 約50 mg/kgである。

10

20

30

40

50

濃度の点から見ると、本発明の活性成分は、皮膚、経皮、鼻腔内、気管支、筋肉内、腔内、静脈内、又は経口投与のための新規組成物においては、組成物に対して、約 0.01 ~ 約 50 w/w% の濃度、そして、特に、組成物に対して、約 0.1 ~ 約 30 w/w% の濃度で存在することができる。好ましくは、本新規化合物は組成物中に、約 1 ~ 約 10 % 存在し、そして最も好ましくは、本新規組成物は、新規化合物約 5 % を含有する。

本発明組成物は、指示された適当な量の活性成分を含む各種剤型、例えば、錠剤、軟膏、カプセル、丸剤、散剤、エーロゾル、顆粒、並びに経口用溶液又は懸濁液などとして、有利に使用される。このような組成物を、本明細書及び添付の特許請求の範囲においては、一般的に「医薬組成物」として記載する。代表的には、これらは、単位剤型、つまり、ヒト又は動物の被験者に、単位投与量として適した物理的に異なる単位であって、各々の単位が、一つ又はそれ以上の医薬的に許容しうるその他の成分、例えば、希釈剤又は担体と関連して、所望の治療又は予防効果を生むと計算される所定の量の活性成分を含有する単位で存在することができる。

10

医薬組成物がエーロゾルである場合、活性成分は、噴霧剤、例えば、二酸化炭素、窒素、プロパンなどにより、加圧されたエーロゾル容器に、補助溶媒、湿潤剤などの通常の補助薬と共に、包装することができる。

医薬組成物が軟膏である場合、活性成分を、カカオバター、粘性ポリエチレングリコール、水素化油などの希釈賦形剤と混合することができ、これらの混合物は、所望であれば、乳化することができる。

本発明によると、医薬組成物は、活性化成分として、一つ又はそれ以上の無毒で、医薬的に許容しうる成分の有効量を含むものである。組成物において使用するためのこのような成分の例としては、エタノール、ジメチルスルホキシド、グリセロール、アルミナ、澱粉、炭酸カルシウム、タルク、小麦粉、並びに同等の無毒な担体及び希釈剤が挙げられる。本明細書で述べる実施例及び態様は、説明を目的とするためだけのものであり、それを考慮して各種変形又は変更を行うことは、当業者に示唆されることであり、本出願の精神及び範囲、並びに添付の特許請求の範囲内に含まれるものであると、解釈されるべきである。

20

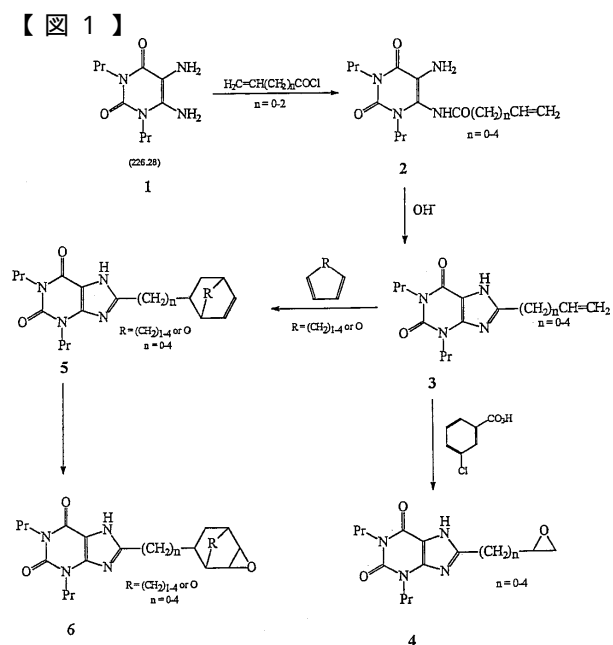


Figure 1

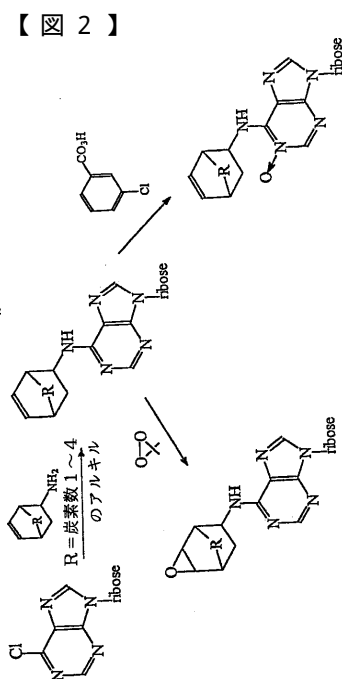


Figure 2

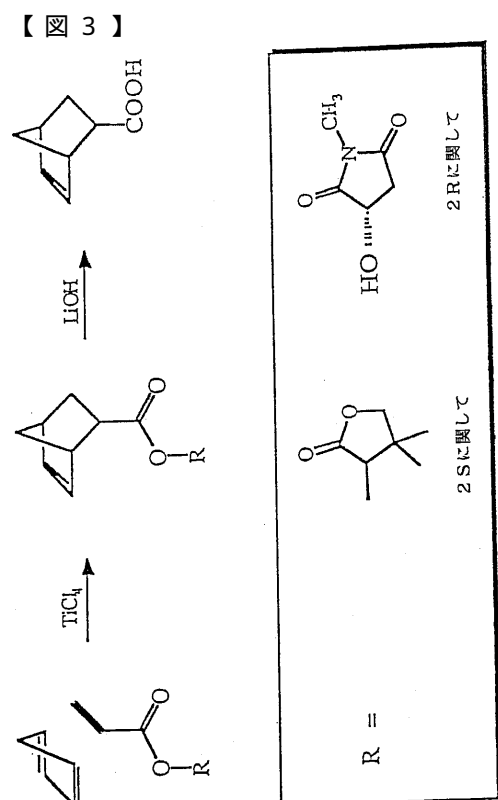


Figure 3

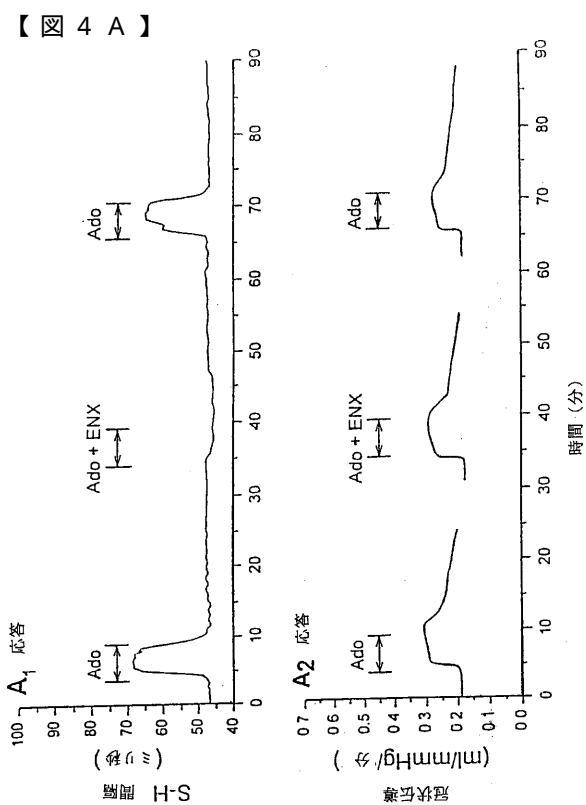


Figure 4A

Figure 4B

【図 4 B】

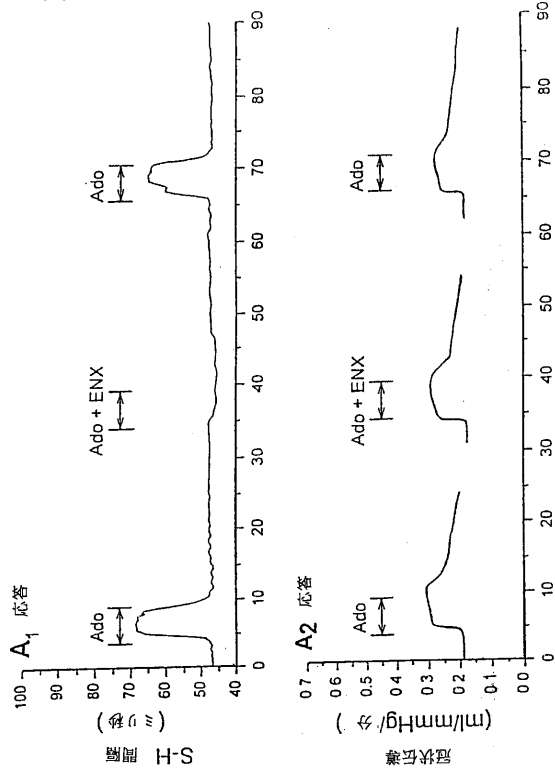


Figure 4A

Figure 4B

【図 4 C】

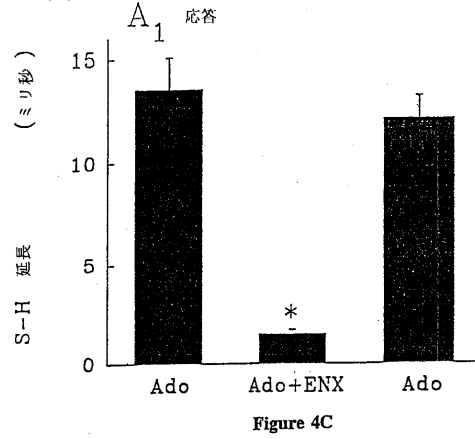


Figure 4C

【図 4 D】

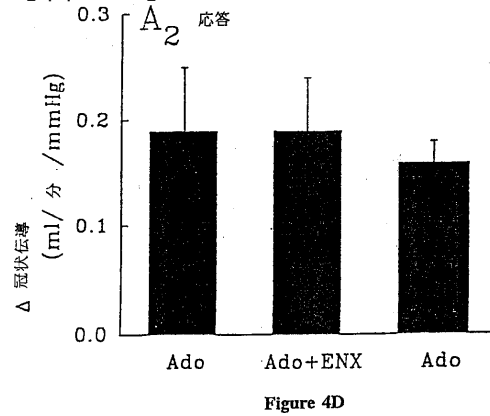
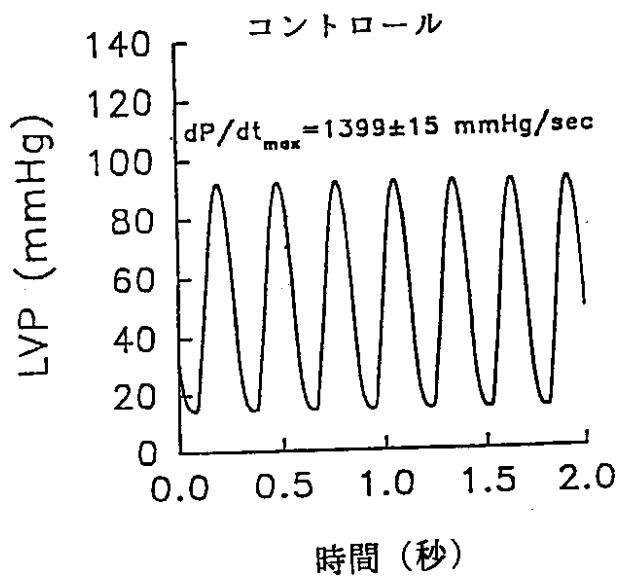
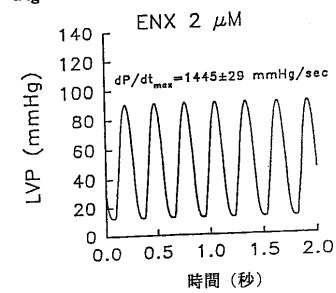
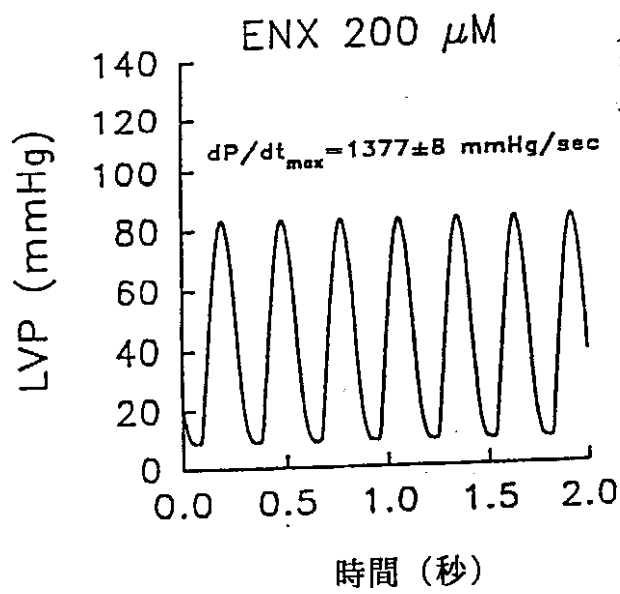


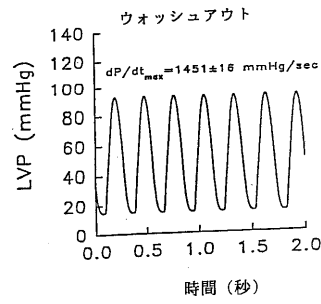
Figure 4D

【図 5 A】  
Figure 5A【図 5 B】  
Figure 5B

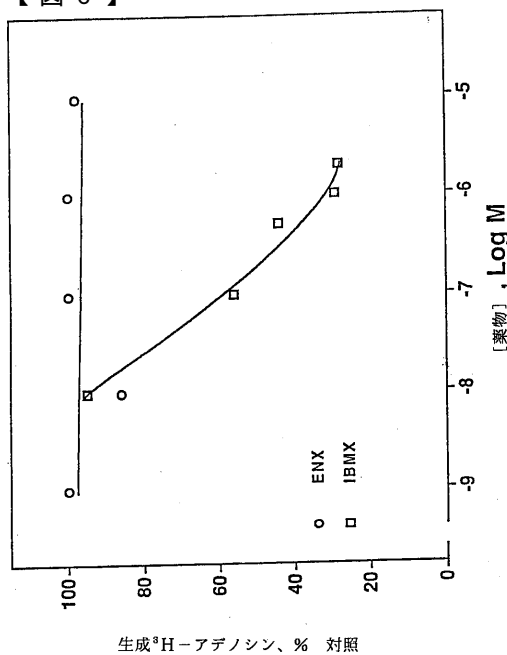
【図 5 C】  
Figure 5C



【図 5 D】  
Figure 5D



【図 6】



【図 7】

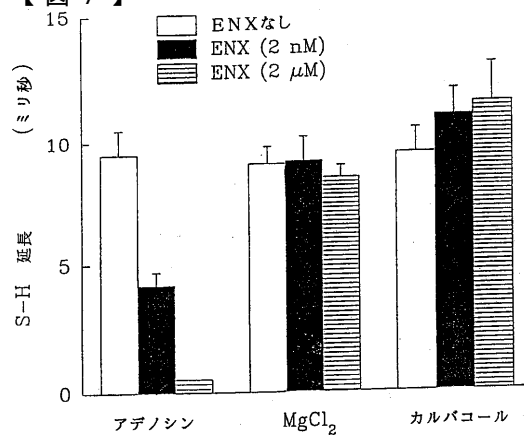


Figure 7

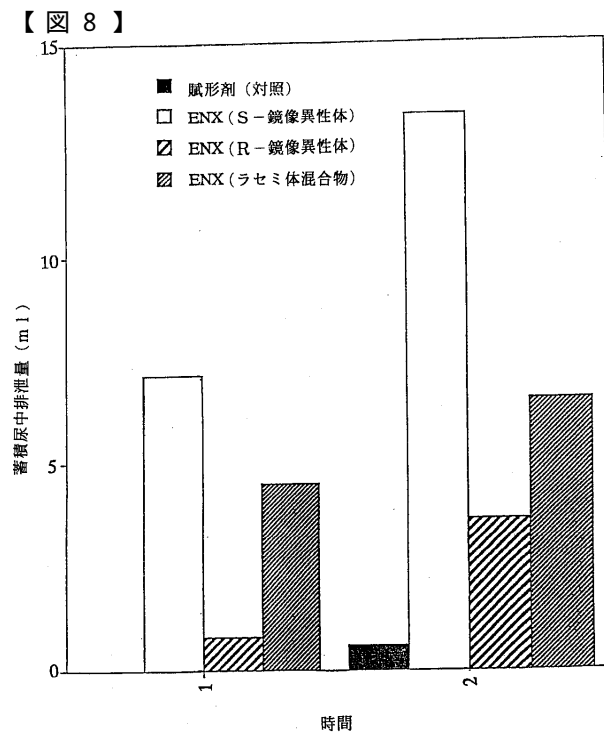


Figure 8

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.<sup>7</sup> F I  
C 0 7 D 519/00 C 0 7 D 519/00 3 0 1

- (72)発明者 オルソン レイ  
アメリカ合衆国 フロリダ州 タンパ ダヴリュウ . クリーブランド ストリート 5 1 1 4
- (72)発明者 ベーカー ステファン  
アメリカ合衆国 フロリダ州 ゲインズヴィル エヌ . ダヴリュウ . トゥエンティエス テレー  
ス 2 2 1 0
- (72)発明者 スカンメルズ ピーター ジェイ .  
オーストラリア国 ヴィクトリア州 ハイトン フライヤーズ ロード ユニット 3 / 6 9
- (72)発明者 ミルナー ピーター ジェラルド  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ロス アルトス レイ アヴェニュー 1 0 0 1
- (72)発明者 フィスター ジャーグ ローランド  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ロス アルトス オーク アヴェニュー 1 5 0 0
- (72)発明者 スクレイナー ジョージ フレデリック  
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ロス アルトス リーンダー ドライブ 1 2 7 7 4

審査官 中木 亜希

(56)参考文献 特開平 0 2 - 2 4 7 1 8 0 ( J P , A )

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup> , D B名)  
C07D473/04 - 473/14  
C07D519/00  
REGISTRY(STN)  
CA(STN)  
CAOLD(STN)