



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110381955 A

(43)申请公布日 2019. 10. 25

(21)申请号 201880015381.7

(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司
11332

(22)申请日 2018.03.21

代理人 吕琳 宋东颖

(30)优先权数据

10-2017-0035224 2017.03.21 KR

(51)Int.Cl.

A61K 31/7076(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.09.02

A61K 9/00(2006.01)

A61K 9/50(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2018/003274 2018.03.21

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/174549 KO 2018.09.27

(71)申请人 未来制药有限公司

地址 韩国京畿道城南市

(72)发明人 李相玖 朴钟宇 金惠玉 李喜雨

刘美罗

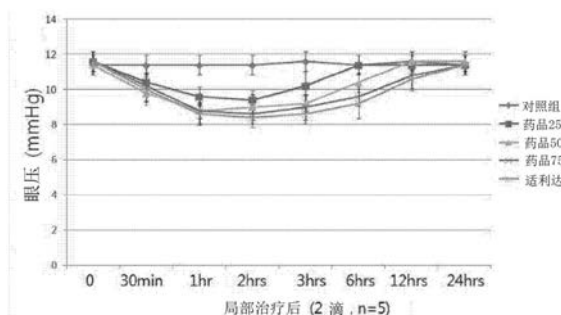
权利要求书3页 说明书41页 附图14页

(54)发明名称

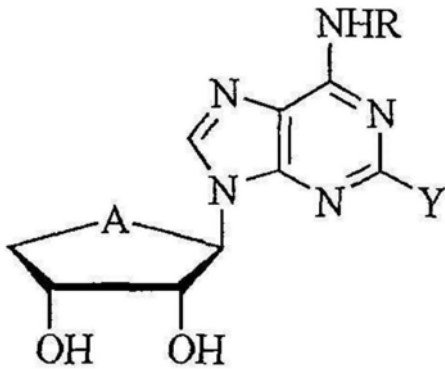
用于预防及治疗青光眼的含有腺苷衍生物的药物组合物

(57)摘要

本发明提供一种用于预防或治疗眼的药物组合物和口服制剂。用于预防或治疗眼病的药物组合物作为有效成份包含以化学式1表示的化合物或其药用盐。



1. 一种用于预防或治疗眼病的药物组合物,其特征在于,
其作为有效成份包含以下化学式1表示的化合物或其药用盐,
化学式1



其中,在所述式中,

A是硫;

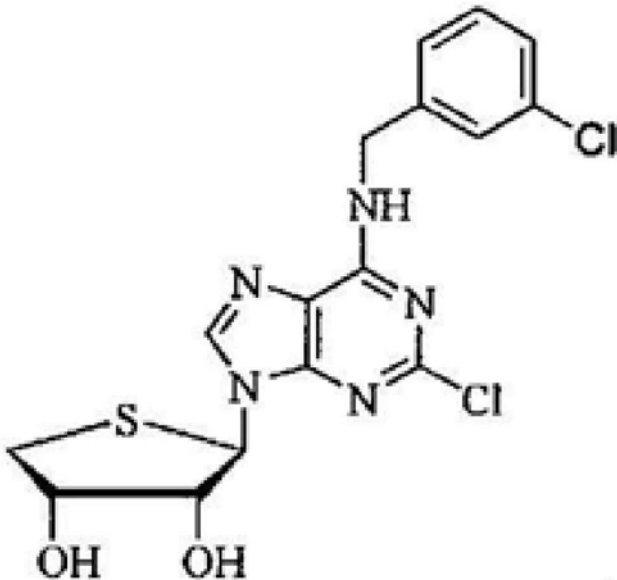
R是非取代或者独立或选择性地被一个或两个以上的C₆~C₁₀的芳基取代的直链或支链的C₁~C₅的烷基、非取代或者独立或选择性地被选自卤素及直链或支链的C₁~C₄的烷氧基中的一个或两个以上取代的苄基、或由羟基羰基取代的苄基;

Y是氢或卤族元素。

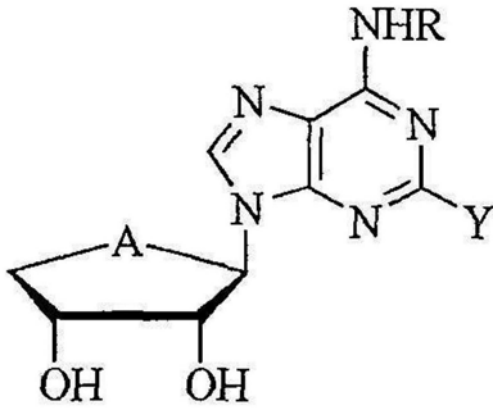
2. 根据权利要求1所述的用于预防或治疗眼病的药物组合物,其特征在于,所述眼病包括眼压上升及青光眼中的一种以上。

3. 根据权利要求1所述的用于预防或治疗眼病的药物组合物,其特征在于,所述化学式1是以下化学式A表示的化合物,

化学式A



4. 一种用于预防或治疗眼病的口服制剂,其特征在于,
其包含以下化学式1表示的化合物或其药用盐,
化学式1



其中,在所述式中,

A是硫;

R是非取代或者独立或选择性地被一个或两个以上的 $C_6\sim C_{10}$ 的芳基取代的直链或支链的 $C_1\sim C_5$ 的烷基、非取代或者独立或选择性地被选自卤素及直链或支链的 $C_1\sim C_4$ 的烷氧基中的一个或两个以上取代的苄基、或由羟基羰基取代的苄基;

Y是氢或卤族元素。

5. 根据权利要求4所述的用于预防或治疗眼病的药物组合物,其特征在于,所述眼病包括眼压上升及青光眼中的一种以上。

6. 根据权利要求4所述的用于预防或治疗眼病的口服制剂,其特征在于,还包含赋形剂,

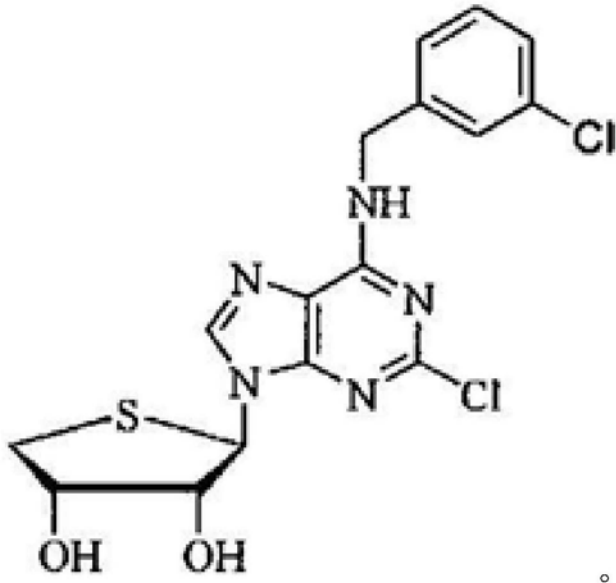
所述赋形剂包括选自由甲基纤维素、二甲基亚砷、聚乙二醇及蒸馏水所构成的组中的一种以上。

7. 根据权利要求6所述的用于预防或治疗眼病的口服制剂,其特征在于,所述赋形剂包含05wt%的甲基纤维素。

8. 根据权利要求4所述的用于预防或治疗眼病的口服制剂,其特征在于,以所述化学式1表示的化合物或其药用盐以粉末状态填充于胶囊剂内。

9. 根据权利要求4所述的用于预防或治疗眼病的口服制剂,其特征在于,所述化学式1是以下化学式A表示的化合物,

化学式A



用于预防及治疗青光眼的含有腺苷衍生物的药物组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于眼病的预防或治疗的药物组合物,更进一步地,涉及一种能有效用于眼压上升及青光眼的预防或治疗的含有腺苷衍生物的药物组合物。

背景技术

[0002] 腺苷(adenosine)是一种通过特殊的细胞膜受体来执行多种生理学功能的物质,而存在于细胞外的腺苷在多种生理学体系中起到神经递质的作用,主要起到对特定器官的过度活动进行补偿的作用以及保护身体免受压力的有害效应的作用(Jacobson, K. A. et al, J. Med. Chem., 35, 407-422, 1992)。这些作用是基于细胞内和细胞外的三磷酸腺苷(ATP)分解生成的腺苷的欲减少细胞的能量需求和增加氧供应的一部分负反馈循环(negative feedback loop)来实现的。腺苷在维持重要器官(比如脑、心脏和肾脏)的内环境稳定中起重要作用。例如,当从外部将腺苷激动剂给药至脑部时,已证实具有神经保护作用,并且发现其也与疼痛、认知、运动或睡眠相关。

[0003] 迄今,通过药理学研究和分子克隆研究揭示了两种类型的腺苷受体,即P1受体和P2受体。对于P1受体而言,腺苷作为底物发挥作用,而对于P2受体而言,三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)、尿苷三磷酸(UTP)和尿苷二磷酸(UDP)作为底物发挥作用,从而发挥生理活性。其中,已确认了P1受体具有四个不同亚型的腺苷受体,且可以根据对配体的亲和力、体内分布、作用途径将其分成A₁、A₂和A₃,其中可将A₂进一步分成A_{2A}和A_{2B}。这些腺苷受体是G蛋白-偶合受体(G-protein-coupled receptor)家族的一类,已经使用多种选择性配体揭示了腺苷A₁、A_{2A}和A_{2B}受体的药理学特性。但就A₃受体而言,其是在1992年首次发现的(Zhou, Q. Y, et al, Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 89, 7432-7436, 1992),而目前进行着大量为确认该受体的病理生理学功能的研究。

[0004] 腺苷A₁和A₂受体激动剂,大多数是腺苷的衍生物,已经在应用于降血压剂、精神病治疗药、心律失常治疗药、脂类代谢抑制剂(糖尿病治疗药)和神经保护剂方面进行了大量研究。另一方面,A₁和A₂受体的拮抗剂为黄嘌呤(xanthine)衍生物或多个二环化合物稠合的形式,其被开发为平喘药、抗抑郁药、心律不齐治疗药、肾脏保护剂、帕金森病治疗药和智力增强剂等。尽管进行了广泛的研究,但是目前也只开发出了少数市售产品,包括用于治疗室上性心动过速(supraventricular tachycardia)的腺苷本身、以及腺苷转运抑制剂双嘧达莫(dipyridamole),其中,双嘧达莫为用于预防心脏手术后的血液凝固的华法林(Warfarin)的辅助剂。商业化发展进程这样缓慢的原因是由于腺苷受体的分布遍及全身,因此受体被激活时会伴随多种药理作用,简言之,是由于不存在能够只激活期望组织的腺苷受体的化合物。

[0005] 在腺苷受体中,与众所周知的腺苷A₁和A₂相比,腺苷A₃受体是最近才发现的,因此其被阐明的功能并不多,而为了开发腺苷A₃受体的选择性受体调节剂正进行着大量的研究。目前,为了腺苷A₃受体的药理学研究使用三种放射标记配体,即[¹²⁵I]ABA(N⁶-(4-氨基-3-[¹²⁵I]碘苄基)-腺苷(N⁶-(4-amino-3-[¹²⁵I]iodobenzyl)-adenosine))、[¹²⁵I]APNEA(N⁶-

2-(4-氨基-3-[¹²⁵I]碘苄基)-乙基腺苷(N⁶-2-(4-amino-3-[¹²⁵I]iodobenzyl)-ethyladenosine)、或[¹²⁵I]AB-MECA(N⁶-(4-氨基-3-[¹²⁵I]碘苄基)-腺苷-5'-N-甲基甲酰胺(N⁶-(4-amino-3-[¹²⁵I]iodobenzyl)-adenosine-5'-N-methylcarboxamide))。通过利用放射标记配体的药理学研究发现,当在中国仓鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary,CHO)细胞中表达腺苷A₃受体时,A₃受体具有抑制由ATP生成环化一磷酸腺苷(cAMP)的腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase)的作用,并且,当由激动剂激活A₃受体时,证实了A₃受体可激活鸟苷三磷酸-依赖性磷脂酶C(Guanosine triphosphate-dependent phospholipase C)的现象,其中该酶为一种将脑中的磷脂酰肌醇(phosphatidyl inositol)分解成肌醇三磷酸(inositol phosphate)和二酰甘油(DAG)的酶(Ramkumar,V.et al,J.Biol.Chem.,268,168871-168890,1993;Abbracchio,M.P.et al,Mol.Pharmacol.,48,1038-1045,1995)。这些发现显示了在脑缺血(brain ischemia)中,可能存在基于A₃受体激活作用的反应途径的可能性,其理由在于该第二信使系统可意味着脑缺血中的神经损伤的反应途径。并且,已知A₃受体激动剂可抑制炎症介质TNF-α(肿瘤坏死因子)的释放,还抑制同为炎症介质的MIP-1α、白细胞介素-12(interleukin-12)和干扰素-γ(interferon-γ)的生成,同时不仅具有对于脑疾病(如癫痫)的保护效果,还对心脏具有保护效果。另一方面,腺苷A₃受体的失活会引起炎症诱导因子(如从肥大细胞释放的组胺)的释放,起到使支气管收缩的作用,并会在免疫细胞引起细胞凋亡(apoptosis)。因此,腺苷A₃拮抗剂具有可被开发为抗炎剂和平喘药的可能性。因此,如果能开发出具有药理选择性的化合物,可使得开发出用于治疗包括哮喘、炎症、脑缺血、心脏疾病、癌症等多种疾病的药物成为可能。

[0006] 目前所研究开发出的物质中,代表性的人类腺苷A₃激动剂为核苷系列的N⁶-(3-碘苄基)-5'-(N-甲基氨基甲酰基)-腺苷(N⁶-(3-iodobenzyl)-5'-(N-methylcarbamoyl)-adenosine;IB-MECA)和N⁶-(3-碘苄基)-2-氯-5'-(N-甲基氨基甲酰基)-腺苷(N⁶-(3-iodobenzyl)-2-chloro-5'-(N-methylcarbamoyl)-adenosine;CI-IB-MECA),与对于腺苷A₁和A₂受体的亲和力和选择性相比,其对腺苷A₃受体显示出更高的亲和力和选择性。另一方面,显示出高亲和力的和选择性的腺苷A₃受体拮抗剂大部分不是核苷骨架,而是非-嘌呤系(nonpurine)的二环化合物(bicyclic compound),对此有人指出过:其虽然在人类受体中显示出高活性,但对于鼠的A₃受体的活性较弱或几乎没有活性,因此存在无法进行开发可临床适用药物所必须的动物实验的缺点(Baraldi,P.G.et al,Curr.Med.Chem.,12,1319-1329,2005)。然而,与非-嘌呤系二环化合物相比,核苷系的化合物显示出与种间关系无关的高亲和力和选择性,具有易于进行动物实验的优点,据此开发出新药的可能性非常高,因此急需获得该系列的选择性A₃拮抗剂。

[0007] 本发明人通过各种前期研究发现,为了实现腺苷A₃受体激动剂的作用,其代表性物质IB-MECA和CI-IB-MECA的结构中的糖的第5位的N-甲基氨基甲酰基是必须要存在的,而碱基部分的第6位要以芳基氨基或烷基氨基取代。即,由于糖的第5位的N-甲基氨基甲酰基通过氢键引起受体的激动作用所必须的结构变化(conformational change)(Kim,S-K.et al,J.Mol.Graph.Model.,25,562-577,2006),因此如果能合成出去除糖的第5位的N-甲基氨基甲酰基的物质,被认为是有可能被开发为腺苷A₃受体拮抗剂。

[0008] 另一方面,眼病(eye disease)中的青光眼(glaucoma)指的是由眼房水(aqueous humor)的生成或排出机制发生问题导致眼压(intraocular pressure)上升,由此发生的疾

病,当眼压上升时,血液供应产生障碍,由此视神经的功能可发生异常,末期甚至可导致失明,因此在全世界范围内被视为严重疾病。

[0009] 为此,本发明人首次将腺苷A₃受体拮抗剂作为眼压上升及可由眼压上升引发或伴有如上所述的症状的青光眼的预防及治疗药物进行了研究,并成功地合成出了一种可以通过双重药理机制(dual mechanism)来有效地降低眼压的新型腺苷衍生物化合物,其中,该双重药理机制包括:抑制在睫状体(ciliary body)生成眼房水(aqueous humor)及通过基于抗纤维化促进的小梁网(trabecular meshwork)组织的重构来促进眼房水的排出。

发明内容

[0010] 本发明要解决的技术问题

[0011] 本发明所要解决的技术问题为,提供一种含有腺苷衍生物的药物组合物,该含有腺苷衍生物的药物组合物作为能够预防或治疗眼压上升及青光眼等的眼病的腺苷A₃受体拮抗剂而发挥作用。

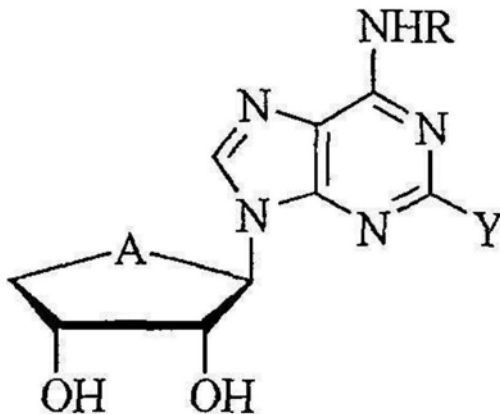
[0012] 本发明所要解决的技术问题不限于前述技术问题,本领域技术人员可以根据以下的记载而明确地了解未提及的其它技术问题。

[0013] 技术方案

[0014] 为解决上述技术问题,根据本发明一实施例的用于预防或治疗眼病的药物组合物,作为有效成份包含以下化学式1表示的化合物或其药用盐。

[0015] 化学式1

[0016]



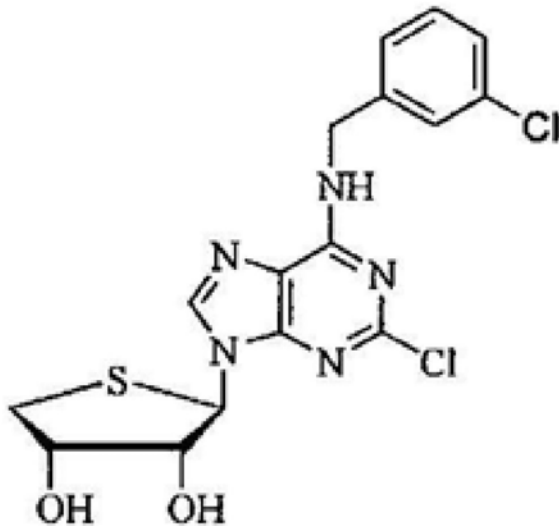
[0017] (在上述式中,A是S;R是非取代或者独立或选择性地被一个或两个以上的C₆~C₁₀的芳基取代的直链或支链的C₁~C₅的烷基、非取代或者独立或选择性地被选自卤素及直链或支链的C₁~C₄的烷氧基中的一个或两个以上取代的苄基、或由羟基羰基取代的苄基;Y是H或卤族元素。)

[0018] 并且,上述眼病可包括眼压上升及青光眼中的一种以上。

[0019] 并且,上述化学式1可以是以下化学式A表示的化合物。

[0020] 化学式A

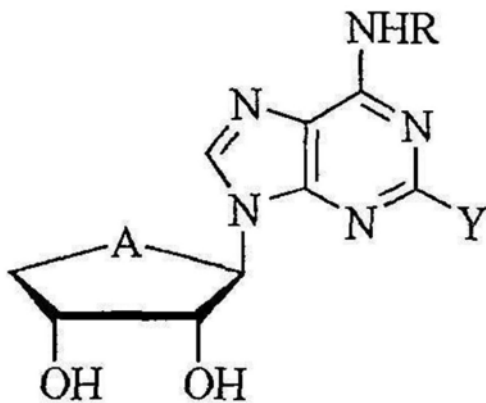
[0021]



[0022] 为解决上述另一技术问题,根据本发明一实施例的用于预防或治疗眼病的口服制剂包含以下化学式1表示的化合物或其药用盐。

[0023] 化学式1

[0024]



[0025] (在上述式中,A是S;R是非取代或者独立或选择性地被一个或两个以上的C₆~C₁₀的芳基取代的直链或支链的C₁~C₅的烷基、非取代或者独立或选择性地被选自卤素及直链或支链的C₁~C₄的烷氧基中的一个或两个以上取代的苄基、或由羟基羰基取代的苄基;Y是氢或卤族元素。)

[0026] 并且,上述眼病可包括眼压上升及青光眼中的一种以上

[0027] 并且,还可包含赋形剂,上述赋形剂包括选自由甲基纤维素(Methyl cellulose, MC)、二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)、聚乙二醇(Polyethylene glycol, PEG)及蒸馏水所构成的组中的一种以上。

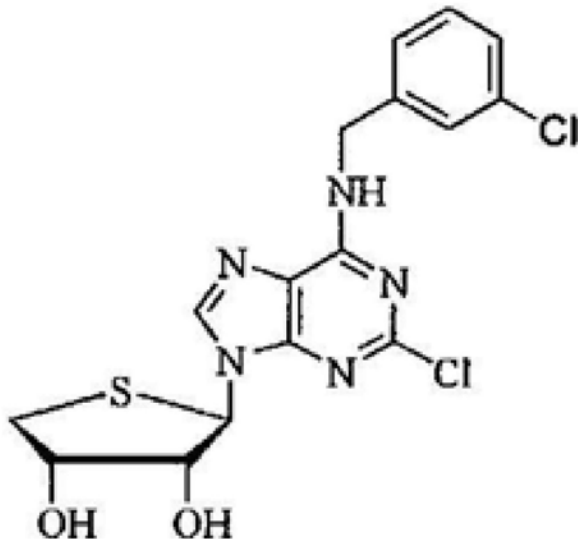
[0028] 并且,上述赋形剂可包含0.5wt%的甲基纤维素。

[0029] 并且,以上述化学式1表示的化合物或其药用盐可以以粉末状态充填在胶囊剂内。

[0030] 并且,上述化学式1可以是以下化学式A表示的化合物。

[0031] 化学式A

[0032]



[0033] 其他实施例的具体内容将包括在具体实施方式以及附图。

[0034] 有益效果

[0035] 本发明的腺苷衍生物能作为可预防或治疗眼压上升及青光眼等的眼病的腺苷A3受体拮抗剂而发挥作用,由此非常适合于眼病的预防及治疗,口服给药时药物吸收性极其优异,且几乎没有体内毒性而具有生物相容性,当剂型化为口服制剂时,保管稳定性优异,从而可以作为非常适合于为眼病的预防及治疗而使用的口服给药的药物组合物来进行使用。

[0036] 并且,本发明的腺苷衍生物可以表现出双重药理机制(dual mechanism),上述双重药理机制包括抑制在睫状体(ciliary body)生成眼房水(aqueous humor)以及通过基于抗纤维化促进的小梁网(trabecular meshwork)组织的重构来促进眼房水的排出,因此可以作为非常适用于青光眼的预防及治疗的药物组合物而被使用。

[0037] 根据本发明的实施例的效果并不局限于以上所例示的内容,本说明书包含了其他多种效果。

附图说明

[0038] 图1为显示实施例4的化合物对于用激动剂C1-IB-MECA处理的CHO细胞的拮抗作用的图。

[0039] 图2为显示动物实验中的本发明的化合物(实施例2、3和4)的抗炎活性的图。

[0040] 图3为显示动物实验中的本发明的化合物(实施例1和6)的抗炎活性的图。

[0041] 图4为显示动物实验中的本发明的化合物(实施例5、7和8)的抗炎活性的图。

[0042] 图5为显示动物实验中的本发明的化合物(实施例15和16)的抗炎活性的图。

[0043] 图6是示出测量实验例8中实验动物的眼压的结果的曲线图。

[0044] 图7是示出测量实验例9中实验动物的眼压的结果的曲线图。

[0045] 图8至图12是示出测量实验例10中实验动物的眼压的结果的曲线图。

[0046] 图13是观察实验例11中实验动物眼球的小梁网(trabecular meshwork)组织中的细胞外基质蛋白质(Fibronectin、SMA及MYOC)的表达变化的图片。

[0047] 图14至图17是示出测量实验例12中实验动物眼球的小梁网(trabecular

meshwork)组织中的基质金属蛋白酶(MMP)及基质金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)蛋白质和 mRNA表达量的结果的曲线图。

[0048] 图18是得自实验例14(14-1及14-2)的血中浓度-时间数据的曲线图。

[0049] 图19是得自实验例15(15-1及15-2)的血中浓度-时间数据的曲线图。

[0050] 图20是得自实验例16的血中浓度-时间数据的曲线图。

[0051] 图21是得自实验例17(17-1、17-2及17-3)的血中浓度-时间数据的曲线图。

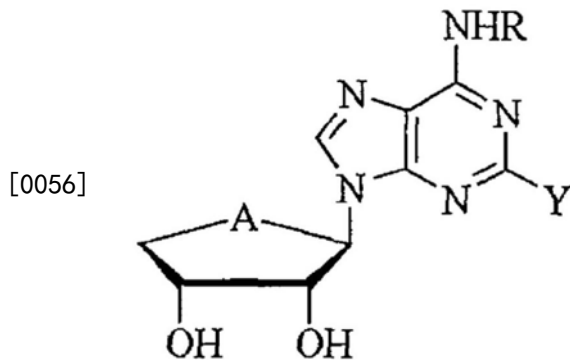
[0052] 图22是得自实验例18(18-1及18-2)的血中浓度-时间数据的曲线图。

具体实施方式

[0053] 以下,将详细说明本发明。

[0054] 本发明提供了一种作为有效成份而包含通过下述化学式1表示的化合物或其药用盐的腺苷衍生物。

[0055] [化学式1]



[0057] 在上述式中,A为O或S;

[0058] R为非取代或者独立地或选择性地被一个或两个以上的C₆~C₁₀芳基取代的直链或支链的C₁~C₅烷基、非取代或者独立地或选择性地被选自卤素及直链或支链的C₁~C₄烷氧基中的一个或两个以上以上取代的苄基,或羟基羰基取代的苄基;以及

[0059] Y为H或卤素原子。

[0060] 在优选的实施方案中,

[0061] 上述A为O或S;

[0062] 上述R为甲基、乙基、丙基、萘基甲基、苄基、独立地或选择性地被选自F、Cl、Br、I、C₁~C₃烷氧基构成的组中的一个或两个以上取代基取代的苄基、或甲苯甲酸(toluic acid);以及

[0063] 上述Y为H或Cl。

[0064] 在更优选的实施方案中,

[0065] 上述A为O或S;

[0066] 上述R为甲基、乙基、1-萘基甲基、苄基、2-氯苄基、3-氟苄基、3-氯苄基、3-溴苄基、3-碘苄基、2-甲氧基-5-氯苄基、2-甲氧基苄基或3-甲苯甲酸;以及

[0067] 上述Y为H或Cl。

[0068] 根据本发明优选的实施方案的腺苷衍生物的具体实例如下:

[0069] 1) (2R,3R,4S)-2-(2-氯-6-(3-氟苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;

- [0070] 2) (2R,3R,4S)-2-(2-氯-6-(3-氯苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0071] 3) (2R,3R,4S)-2-(6-(3-溴苄基氨基)-2-氯-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0072] 4) (2R,3R,4S)-2-(2-氯-6-(3-碘苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0073] 5) (2R,3R,4S)-2-(2-氯-6-(2-氯苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0074] 6) (2R,3R,4S)-2-(2-氯-6-(5-氯-2-甲氧基苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0075] 7) (2R,3R,4S)-2-(2-氯-6-(2-甲氧基苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0076] 8) (2R,3R,4S)-2-(2-氯-6-(萘-1-基甲基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0077] 9) 3-((2-氯-9-((2R,3R,4S)-3,4-二羟基四氢噻吩-2-基)-9H-嘌呤-6-基氨基)甲基)苯甲酸;
- [0078] 10) 2-(2-氯-6-甲基氨基-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0079] 11) (2R,3R,4S)-2-(6-(3-氟苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0080] 12) (2R,3R,4S)-2-(6-(3-氯苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0081] 13) (2R,3R,4S)-2-(6-(3-溴苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0082] 14) (2R,3R,4S)-2-(6-(3-碘苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇;
- [0083] 15) (2R,3R,4R)-2-(6-(3-溴苄基氨基)-2-氯-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3,4-二醇;以及
- [0084] 16) (2R,3R,4R)-2-(2-氯-6-(3-碘苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3,4-二醇。

[0085] 根据本发明的化学式1表示的腺苷衍生物可以以药用盐的形式被使用。作为如上所述的盐,可使用由多种药用有机酸或无机酸形成的酸加成盐。作为适合的有机酸的实例,包括羧酸(사복시산)、磷酸、磺酸、乙酸、丙酸、辛酸、癸酸、乙醇酸、乳酸、富马酸、琥珀酸、己二酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、谷氨酸、门冬氨酸、马来酸、苯甲酸、水杨酸、邻苯二甲酸、苯乙酸、苯磺酸、2-萘磺酸、甲基硫酸(methylsulfuric acid)、乙基硫酸(ethylsulfuric acid)和月桂基硫酸(dodecylsulfuric acid);而作为适合的无机酸可以使用例如盐酸、硫酸等氢卤酸和磷酸。

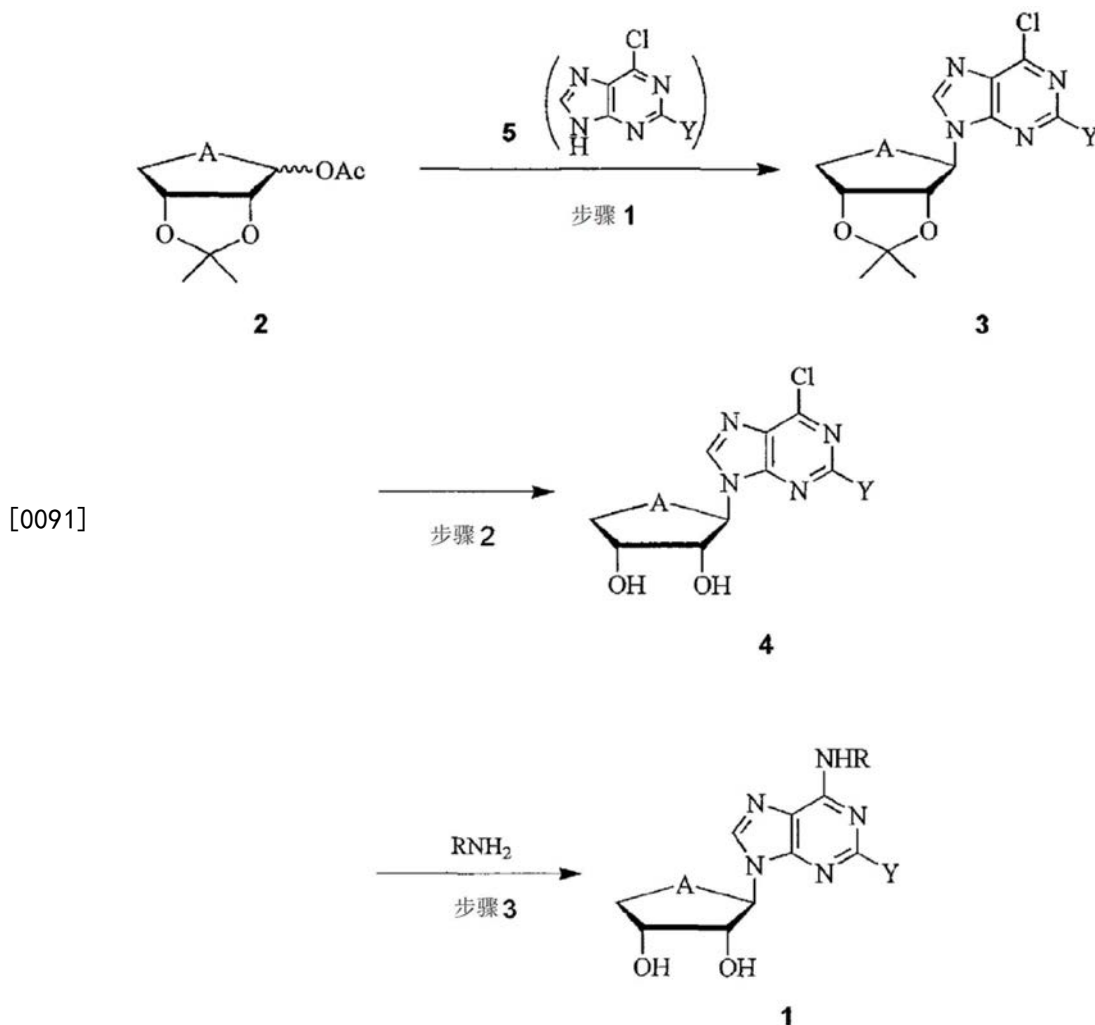
[0086] 根据本发明的上述化学式1表示的腺苷衍生物不仅可包括其药用盐,还可包括能通过常规方法制备的所有盐、水合物和溶剂化物。

[0087] 并且,本发明提供一种制备上述化学式1表示的腺苷衍生物的方法。

[0088] 具体而言,提供一种如以下反应式1所示出的腺苷衍生物的制备方法。

[0089] 上述方法包括:在路易斯酸催化剂存在的条件下,将化学式2的化合物作为起始原料与硅烷基化(silylated)的嘌呤化合物进行反应,获得化学式3的 β -端基异构体(β -anomer)化合物的步骤(步骤1);向步骤1中获得的化学式3的化合物添加盐酸,从而获得化学式4的二醇化合物的步骤(步骤2);以及,在碱催化剂存在的条件下,将步骤2中获得的化学式4的二醇化合物与胺化合物进行反应,从而获得腺苷衍生物的步骤(步骤3)。

[0090] [反应式1]



[0092] 在上述反应式1中,A、R和Y为如化学式1所定义。

[0093] 以下,将分步骤来详细说明本发明的制备方法。

[0094] 根据本发明的步骤1为,在路易斯酸催化剂存在的条件下,将化学式2的化合物作为起始原料与硅烷基化(silylated)的嘌呤化合物进行反应,获得化学式3的β-端基异构体(β-anomer)化合物的步骤。

[0095] 上述化学式3的化合物可通过在路易斯酸存在的条件下,将化学式2的化合物和硅烷基化(silylated)的嘌呤化合物进行反应而获得,其中,作为上述路易斯酸可使用三甲基硅烷基三氟甲烷磺酸酯(TMSOTf)。并且,作为上述步骤1中的溶剂优选使用二氯乙烷、氯仿、乙腈或二氯甲烷,其中,最优选使用二氯乙烷。上述硅烷基化的嘌呤化合物可通过在六甲基二硅氮烷(HMDS)和硫酸铵的催化条件下,使得化学式5的嘌呤化合物发生反应而获得。

[0096] 根据本发明的步骤2为,向上述步骤1中获得的化学式3的化合物添加盐酸,从而获得化学式4的二醇化合物的步骤。此时,也可以使用乙酸、硫酸、对甲苯磺酸来代替盐酸。

[0097] 根据本发明的步骤3为,在碱催化剂存在的条件下,将上述步骤2中获得的化学式4的二醇化合物与胺化合物进行反应,从而获得腺苷衍生物的步骤。

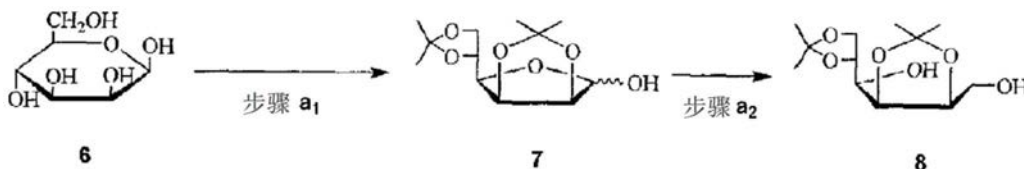
[0098] 作为上述碱催化剂可优选使用三乙胺、吡啶、N,N-二甲基氨基吡啶和1,4-二氧六环,其中,更优选使用三乙胺。并且,作为步骤3的溶剂可优选使用如甲醇和乙醇的低级醇或者1,4-二氧六环、四氢呋喃和氯仿等溶剂。

[0099] 就本发明的腺苷衍生物制备方法而言,作为起始原料的化学式2的化合物可根据取代基A的类型而通过下述的反应式2或者3的方法来实现制备。

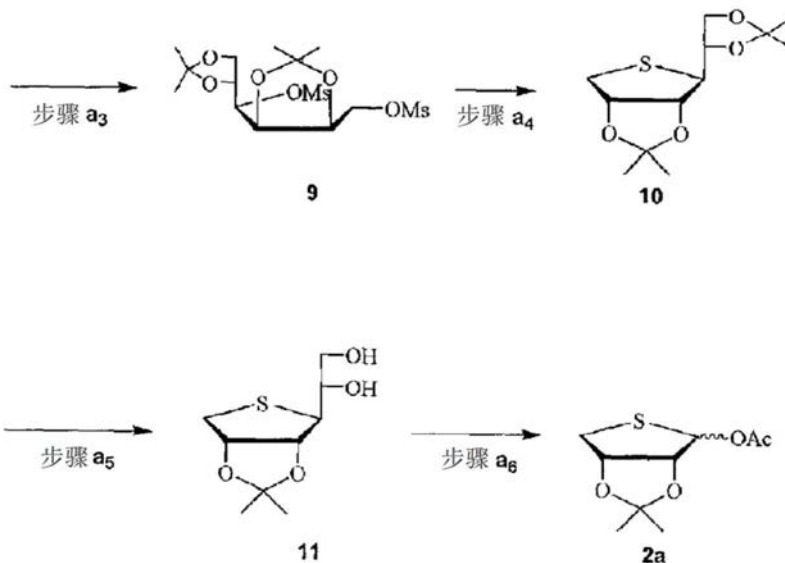
[0100] 取代基A为硫(S)时,制备方法可包括下述反应式2所示出的如下步骤。

[0101] 在酸催化剂存在的条件下,将化学式6的D-甘露糖化合物与2,2-二甲氧基丙烷进行反应,从而获得化学式7的二缩丙酮(diacetonide)的步骤(步骤a₁);在还原剂存在的条件下,使通过上述步骤a₁获得的化学式7的化合物开环,从而获得化学式8的二醇化合物的步骤(步骤a₂);使通过上述步骤a₂获得的化学式8的二醇化合物甲磺酰化(mesylation),从而获得化学式9的二甲磺酰化合物的步骤(步骤a₃);使通过上述步骤a₃获得的化学式9的化合物环化,从而获得化学式10的硫糖化合物的步骤(步骤a₄);使通过上述步骤a₄获得的化学式10的化合物发生选择性水解,从而获得化学式11的二醇化合物的步骤(步骤a₅);以及,使得通过上述步骤a₅获得的化学式11的化合物在催化剂存在的条件下转化成化学式2a的乙酸酯化合物的步骤(步骤a₆)。

[0102] [反应式2]



[0103]



[0104] (在上述反应式2中,化合物2a正是化学式2的化合物。)

[0105] 以下,将分步骤来详细说明本发明的化学式2的化合物的制备方法。

[0106] 根据本发明的化学式2的化合物的制备方法的步骤a₁为,在酸催化剂存在的条件下,将化学式6的D-甘露糖化合物与2,2-二甲氧基丙烷进行反应,从而获得化学式7的二缩丙酮(diacetonide)化合物的步骤。

[0107] 上述化学式7的化合物可通过在酸催化剂以及无水乙酸存在的条件下,使得化学式6的D-甘露糖与2,2-二甲氧基丙烷发生反应而获得,其中,作为上述酸催化剂可使用如浓硫酸或盐酸气体的无机酸、如对甲苯磺酸的有机酸。

[0108] 根据本发明的化学式2的化合物的制备方法的步骤a₂为,在还原剂存在的条件下,使通过上述步骤a₁获得的化学式7的化合物开环,从而获得化学式8的二醇化合物的步骤。

[0109] 上述化学式8的化合物可通过与还原剂硼氢化钠发生反应而获得。也可以使用如氢化铝锂的金属氢化物或亚硫酸钠来代替硼氢化钠。

[0110] 根据本发明的化学式2的化合物的制备方法的步骤a₃为,使通过上述步骤a₂获得的化学式8的二醇化合物甲磺酰化,从而获得化学式9的二甲磺酰化合物的步骤。

[0111] 上述化学式9的化合物可通过将化学式8的化合物与甲烷磺酰氯 (MsCl) 进行反应而获得,此时,作为反应溶剂可优选使用如乙醚、石油醚、二氯甲烷、四氢呋喃和N,N-二甲基甲酰胺的惰性溶剂。

[0112] 根据本发明的化学式2的化合物的制备方法的步骤a₄为,使通过上述步骤a₃获得的化学式9的化合物环化,从而获得化学式10的硫糖化合物的步骤。

[0113] 上述化学式10的化合物可通过将化学式9的化合物与硫化钠进行反应而获得,此时,作为代替硫化钠的方案,可通过将化学式9的化合物与如硫代乙酸甲酯的硫酯进行取代反应后,接着与醇钠进行反应而获得化学式10的化合物。作为上述步骤a₄的溶剂可使用N,N-二甲基甲酰胺或二甲基亚砷。

[0114] 根据本发明的化学式2的化合物的制备方法的步骤a₅为,使通过上述步骤a₄获得的化学式10的化合物发生选择性水解,从而获得化学式11的二醇化合物的步骤。

[0115] 上述化学式11的化合物可通过利用乙酸对化学式10的化合物的5,6-缩丙酮进行选择性水解而获得,其中,也可使用硫酸、盐酸或对甲苯磺酸等来代替乙酸。

[0116] 根据本发明的化学式2的化合物的制备方法的步骤a₆为,使得通过上述步骤a₅获得的化学式11的化合物在催化剂存在的条件下转化成化学式2a的乙酸酯化合物的步骤。

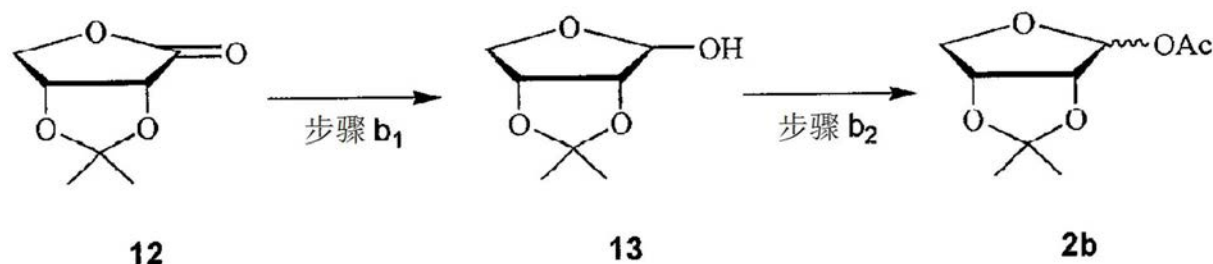
[0117] 上述化学式2a的化合物可通过将化学式11的化合物与四乙酸铅 (lead tetraacetate) (Pd(OAc)₄) 进行反应而获得。

[0118] 并且,当作为起始原料的化学式2的取代基A为氧(O)时,制备方法可包括下述反应式3所示出的如下步骤。

[0119] 将化学式12的化合物与还原剂进行反应,从而获得化学式13的乳醇(Lactol)化合物的步骤(步骤b₁);以及,将通过步骤b₁获得的化学式13的化合物与无水乙酸进行反应,从而获得化学式2b的乙酸酯化合物的步骤(步骤b₂)。

[0120] [反应式3]

[0121]



[0122] (在上述反应式3中,化合物2b正是化学式2的化合物。)

[0123] 以下,将分步骤来详细说明本发明的化学式2的化合物的另一制备方法。

[0124] 根据本发明的化学式2的化合物的另一制备方法的步骤b₁为,将化学式12的化合

物与还原剂进行反应,从而获得化学式13的乳醇(Lactol)化合物的步骤。

[0125] 上述化学式13的化合物可通过利用二异丁基氢化铵(DIBAL)催化剂对能够轻易合成出的化学式12的化合物进行还原的方式获得。

[0126] 根据本发明的化学式2的化合物的另一制备方法的步骤 b_2 为,将通过步骤 b_1 获得的化学式13的化合物与无水乙酸进行反应,从而获得化学式2b的乙酸酯化合物的步骤。

[0127] 上述化学式2的化合物可通过将化学式13的乳醇(Lactol)化合物与无水乙酸进行反应而获得。

[0128] 并且,本发明还提供一种作为有效成份而包含以化学式1表示的腺苷衍生物或其药用盐的腺苷 A_3 受体拮抗剂。

[0129] 更进一步,本发明提供一种作为有效成份而包含以化学式1表示的腺苷衍生物或其药用盐的用于预防和治疗炎症疾病的药物组合物。

[0130] 当使得腺苷 A_3 受体在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中表达时, A_3 受体具有抑制由ATP生成环化一磷酸腺苷(cAMP)的腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase)的作用,并且,当由激动剂激活 A_3 受体时,证实了 A_3 受体可激活鸟苷三磷酸-依赖性磷脂酶C的现象,其中该酶为一种将脑中的磷脂酰肌醇(phosphatidyl inositol)分解成肌醇三磷酸(inositol phosphate)和二酰甘油(DAG)的酶(Ramkumar,V.et al,J.Biol.Chem.,268,168871-168890,1993;Abbracchio,M.P.et al,Mol.Pharmacol.,48,1038-1045,1995)。由于这些第二信使系统意味着脑缺血中的神经损伤反应途径,因此这些发现可解释脑缺血中的基于 A_3 受体激活作用的反应途径。已知 A_3 受体激动剂可抑制炎症介质TNF- α (肿瘤坏死因子)的释放,还抑制同为炎症介质的MIP-1 α 、白细胞介素-12(interleukin-12)和干扰素- γ (interferon- γ)的生成,同时不仅具有对于脑疾病(如癫痫)的保护效果,还对心脏具有保护效果。另一方面,腺苷 A_3 受体的失活会引起炎症诱导因子(如从肥大细胞释放的组胺)的释放,起到使支气管收缩的作用,并会在免疫细胞引起细胞凋亡(apoptosis)。因此,腺苷 A_3 拮抗剂具有可被开发为抗炎剂和平喘药的可能性。

[0131] 为了测定本发明的腺苷衍生物对于人类腺苷受体(hAR)的结合亲和度和选择性而执行的受体结合亲和度(Binding affinity)测试(参见实验例1)中,发现本发明的腺苷衍生物对于人类腺苷 A_3 受体(h A_3 AR)具有很高的结合亲和力,但是对于腺苷 A_1 和 A_{2A} 受体则具有较低亲和力,即表现出了很高的选择性。尤其,本发明实施例12的化合物显示出对于h A_3 受体的最高的亲和度,其 K_i 为 1.50 ± 0.40 nM。对于其余实施例而言,可按照结合亲和度的降序排列为:实施例2的化合物($K_i = 1.66 \pm 0.90$ nM),实施例14的化合物($K_i = 2.50 + 1.00$ nM),实施例10的化合物($K_i = 3.69 + 0.25$ nM)和实施例4的化合物($K_i = 4.16 \pm 0.50$ nM)。并且,本发明的实施例4的化合物对于在CHO细胞中表达的鼠腺苷 A_3 受体也显示出高的结合亲和度($K_i = 3.89 \pm 1.15$ nM)。并且,作为具有4'-O氧代核苷(oxonucleoside)形状的实施例15和16的化合物,也显示出了高的结合亲和度和选择性(参见表1)。

[0132] 并且,为了研究本发明的腺苷衍生物的抗炎症活性而执行的实验中(参见实施例3~6),发现本发明的腺苷衍生物具有抗炎症活性,尽管该活性相比于对照组使用的氢化可的松低。

[0133] 以研究利用实施例2至4的化合物(由丙酮酸稀释)处理后的抗炎症活性的结果来看,通过化合物4处理能够对由12-氧-十四烷酰佛波醇-13-醋酸酯(12-O-tetradecanoyl-

phorbol-13-acetate, TPA) 诱发的小鼠耳肿胀起到消肿效果 (参见图2)。并且, 研究利用实施例1和6的化合物 (由丙酮酸稀释) 处理后的抗炎症活性, 发现其相比于实施例2至4的化合物, 可具有四倍以上显著增加的抑制率 (参见图3)。

[0134] 利用实施例5至7的化合物 (利用蒸馏水和丙酮的混合溶剂 (1:4) 稀释为0.5%的浓度) 研究的抗炎症活性, 分别显示出17%、34%和53%的炎症抑制率 (参见图4)。利用实施例15和16的化合物 (利用二甲基亚砜 (Dimethylsulfoxide, DMSO) 和丙酮的混合溶剂 (1:9) 稀释为0.5%的浓度) 研究的炎症抑制率分别显示为59%和79% (参见图5)。由此, 可确认本发明的腺苷衍生物化合物具有抗炎症活性。

[0135] 由于本发明的化学式1表示的腺苷衍生物对于腺苷A₃受体显示出高的结合亲和度和选择性, 因此可作为有效的腺苷A₃受体拮抗剂来进行利用。并且, 本发明的腺苷衍生物对腺苷A₃受体发挥拮抗作用而表现出抗炎症活性, 因此可用作炎症疾病的预防药物和治疗药物。

[0136] 并且, 根据本发明的上述炎症疾病包括变质性炎症、渗出性炎症、化脓性炎症、出血性炎症或增生性炎症等急性或慢性炎症疾病。

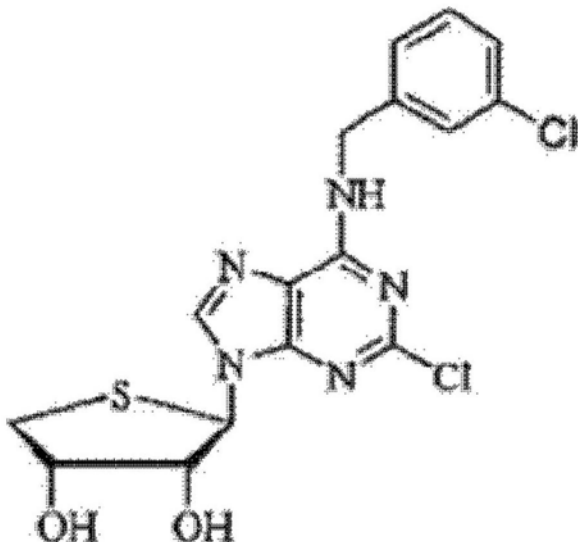
[0137] 本发明提供一种作为有效成份而包含腺苷衍生物的用于预防及/或治疗眼病 (eye disease) 的药物组合物, 其中, 上述腺苷衍生物包括上述化学式1表示的化合物及/或其药用盐。

[0138] 眼病可包括视网膜疾病、角膜疾病、结膜疾病、葡萄膜疾病、青光眼、白内障等与眼睛相关的所有疾病、疾患或症状, 尤其, 可包括眼压 (intraocular pressure) 上升及可由眼压上升引发或伴有如上所述的症状的青光眼 (glaucoma)。

[0139] 上述化学式1表示的腺苷衍生物的优选例可为以下述化学式A表示的化合物 (2R, 3R, 4S)-2-(2-氯-6-(3-氯苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇。

[0140] 化学式A

[0141]



[0142] 本发明的用于预防及/或治疗眼病的药物组合物可以以滴眼剂或口服制剂的方式进行剂型化。

[0143] 滴眼剂可包括以上述化学式1表示的化合物及/或其药用盐和滴眼液。滴眼液可包括选自由增溶剂 (solubilizer)、粘度增强剂 (viscosity enhancer)、抗氧化剂

(antioxidant)、防腐剂(preservative)及缓冲溶液(buffer solution)构成的组中的一种以上。在示例性的实施例中,滴眼液可以是由克列莫佛(Cremophor)EL、甘油(Glycerin)、柠檬酸(Citric acid)及对羟基苯甲酸甲酯(Methylparaben)溶解或混合而成的pH6.8的缓冲溶液。

[0144] 口服制剂可以是将以上述化学式1表示的化合物及/或其药用盐剂型化为固体制剂或液体制剂而成。

[0145] 固体制剂可以是片剂、丸剂、粉剂、颗粒剂、胶囊剂等,液体制剂可以是混悬剂、内服溶液剂、乳剂、糖浆剂等,但是并不仅限于此。

[0146] 口服制剂还可包括赋形剂。赋形剂可以包含选自由甲基纤维素(Methyl Cellulose,MC)、蔗糖(Sucrose)、乳糖(lactose)、二甲基亚砜(Dimethylsulfoxide,DMSO)、聚乙二醇(Polyethylene glycol,PEG)、硬脂酸镁(Magnesium Stearate)、碳酸钙、明胶、滑石(talc)、蒸馏水(Distilled water,DW)、液体石蜡等构成的组中的一种以上,优选地,上述赋形剂可以包含0.5wt%的甲基纤维素。

[0147] 在示例性的实施例中,口服制剂可以是将上述化学式1表示的化合物及/或其药用盐以粉末状态或溶解于上述赋形剂的溶液状态填充至胶囊等而构成。但是,并不仅限于此。

[0148] 本发明的用于预防及/或治疗眼病的药物组合物可以通过滴眼给药或口服给药的方式作为滴眼剂或口服剂而实现对患者的给药。但是,并不限于此,也可以通过静脉给药等其他非口服给药方法来实现给药。

[0149] 本发明的腺苷衍生物可以表现出双重药理机制(dual mechanism),即可在抑制在睫状体(ciliary body)生成眼房水(aqueous humor)的同时,通过抑制小梁网(trabecular meshwork)组织中的纤维化(抗纤维化)来促进眼房水的排出(参见实验例11及12)。

[0150] 由于本发明的腺苷衍生物以剂量依赖性的方式有效降低眼压(参见实验例8~10),因此可以作为非常适合于青光眼等眼病的预防及/或者治疗的药物组合物而被使用。

[0151] 并且,本发明的腺苷衍生物显示出适合于口服给药的物理化学特性(参见实验例13),其在口服给药时血中浓度及稳定性优异(参见实验例14~18),且是一种几乎没有体内毒性的生物相容性物质(参见实验例19),并且,剂型化为口服制剂时的保管稳定性优异(参见实验例20),因此非常适合于作为预防及/或治疗眼病而使用的口服给药的有效成份来进行使用。

[0152] 起始原料的制备

[0153] <制备例1>

[0154] (3aR,4R,6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基乙酸酯的制备

[0155] 步骤_{a1}: (3aR,4R,6R,6aR)-6-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2,2-二甲基-四氢呋喃并[3,4-d][1,3]-间二氧杂环戊烯-4-醇的制备

[0156] 向丙酮(50ml)中加入D-甘露糖(1.74g,6.52mmol)和2,2-二甲氧基丙烷(2.45ml,19.55mmol)之后进行搅拌混合,接着冷却至0℃。向该溶液中滴加浓硫酸(0.45g,1.96mmol)。在室温下,搅拌反应混合物24小时。接着向该混合物加入三乙胺来进行中和,并进行真空浓缩。对浓缩后获得的混合物进行硅胶柱层析,从而获得呈白色固体的目标化合物(1.61g,95%),其中,上述硅胶柱层析将己烷:乙酸乙酯混合溶剂(1:1,v/v)作为洗脱溶

剂。

[0157] mp 120.3-120.5°C

[0158] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 5.34 (s, 1H), 4.76-4.79 (m, 1H), 4.58 (d, 1H, $J=6.0\text{Hz}$), 4.34-4.39 (m, 1H), 4.15 (dd, 1H, $J=3.6, 7.2\text{Hz}$), 4.00-4.08 (m, 2H);

[0159] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ 11.71 (c 0.11, CH_2Cl_2);

[0160] FAB-MS m/z 261 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0161] 步骤 a_2 : (1R)-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)((4R,5S)-5-(羟甲基)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)甲醇的制备

[0162] 将上述步骤 a_1 中制备的(3aR,4R,6R,6aR)-6-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2,2-二甲基-四氢咪喃并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-醇(1.50g, 5.76mmol)小心地进行分配并加入至乙醇(25ml)中,且冷却至0°C。向该溶液中加入硼氢化钠(NaBH_4 , 440mg, 11.53mmol),接着在室温下搅拌2小时。用乙酸中和反应混合物之后,进行真空浓缩。利用乙酸乙酯和水对混合物进行萃取之后,用无水硫酸镁(MgSO_4)干燥有机层,并进行过滤,然后再次进行真空浓缩。对浓缩后获得的混合物进行硅胶柱层析,从而获得糖浆形式的目标化合物(1.38g, 92%),其中,上述硅胶柱层析将己烷:乙酸乙酯混合溶剂(1:1, v/v)作为洗脱溶剂。

[0163] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 4.33 (dd, 1H, $J=1.6, 7.2\text{Hz}$), 4.24-4.28 (m, 1H), 4.06-4.13 (m, 2H), 3.92-3.97 (m, 1H), 3.76-3.85 (m, 2H), 3.59-3.61 (m, 1H), 1.48 (s, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.36 (s, 3H), 1.33 (s, 3H);

[0164] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -3.88 (c 0.44, CH_2Cl_2);

[0165] FAB-MS m/z 263 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0166] 步骤 a_3 : (1R)-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)((4S,5S)-2,2-二甲基-5-(甲基磺酰氧基)甲基)-1,3-二氧戊环-4-基)甲基甲磺酸酯的制备

[0167] 将上述步骤 a_2 中制备的(1R)-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)((4R,5S)-5-(羟甲基)-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)甲醇(38.52g, 146.85mmol)和4-二甲基氨基吡啶(4-DMAP, 5.38mg, 44.06mmol)加入至二氯甲烷(300ml)和三乙胺(163.75ml, 1.17mol)的混合物后进行混合,且冷却至0°C。向该溶液中小心地滴加二甲磺酰氯(47.59ml, 587.42mmol)。在室温下搅拌1小时后,用二氯甲烷萃取该反应混合物,并用饱和的碳酸氢钠(NaHCO_3)水溶液进行洗涤。用无水硫酸镁(MgSO_4)干燥收集的有机层,并进行过滤,然后再次进行真空浓缩。对浓缩后获得的褐色糖浆形式的二甲磺酰化合物进行硅胶柱层析,从而获得糖浆形式的目标化合物(57.83g, 94%),其中,上述硅胶柱层析将己烷:乙酸乙酯混合溶剂(5:1, v/v)作为洗脱溶剂。

[0168] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 4.75 (pseudo t, 1H, $J=7.4\text{Hz}$), 4.33-4.45 (m, 4H), 4.06-4.20 (m, 3H), 3.12 (s, 3H), 3.07 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.33 (s, 3H);

[0169] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ 38.32 (c 0.29, CH_2Cl_2);

[0170] FAB-MS m/z 419 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

[0171] 步骤 a_4 : (3aR,4S,6aS)-4-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2,2-二甲基四氢咪喃并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯的制备

[0172] 将上述步骤 a_3 中制备的(1R)-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)((4S,5S)-2,2-

二甲基-5-((甲基磺酰氧基)甲基)-1,3-二氧戊环-4-基)甲基甲磺酸酯(993.80g, 2.23mmol)溶于二甲基甲酰胺(DMF)(50ml)中,且在向该溶液中加入硫化钠(348.30g, 4.46mmol)后,在80℃的温度条件下过夜回流搅拌该混合物。在反应完成之后,在减压条件下除去溶剂,且用乙酸乙酯和水萃取残留物。用无水硫酸镁(MgSO₄)干燥有机层,并进行过滤,然后再次进行真空浓缩。浓缩后获得的残留物进行硅胶柱层析,从而获得呈糖浆形式的目标化合物(453.0mg,78%),其中,上述硅胶柱层析将己烷:乙酸乙酯混合溶剂(8:1,v/v)作为洗脱溶剂。

[0173] ¹H-NMR(CDCl₃) δ4.92(dt,1H,J=1.8,5.6Hz),4.72(dd,1H,J=2.0,6.0Hz),4.26-4.30(m,1H),4.04(s,1H),3.79(t,1H,J=3.8Hz),3.31-3.32(m,1H),3.19(dd,1H,J=5.4,12.0Hz),2.84(dd,1H,J=1.6,12.0Hz),1.51(s,3H),1.43(s,3H),1.32(dd,6H,J=8.4Hz);

[0174] $[\alpha]_{D}^{25}$ -96.04(c 0.20,CH₂Cl₂);

[0175] FAB-MS m/z 261[M+H]⁺。

[0176] 步骤a₅:1-((3aR,4S,6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)乙烷-1,2-二醇的制备

[0177] 将上述步骤a₄中制备的(3aR,4S,6aS)-4-(2,2-二甲基-1,3-二氧戊环-4-基)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯(21.78g,83.66mmol)溶于60%的乙酸水溶液(250ml)中,接着在室温下搅拌2小时。在减压条件下浓缩该反应混合物,并对所获得的残留物进行硅胶柱层析,从而获得呈白色固体的目标化合物(14.85g,81%),其中,上述硅胶柱层析将己烷:乙酸乙酯混合溶剂(1:2,v/v)作为洗脱溶剂。

[0178] ¹H-NMR(CDCl₃) δ4.92(dt,1H,J=1.8,5.6Hz),4.72(dd,1H,J=2.0,6.0Hz),4.26-4.30(m,1H),4.04(s,1H),3.79(t,1H,J=3.8Hz),3.31-3.32(m,1H),3.19(dd,1H,J=5.4,12.0Hz),2.84(dd,1H,J=1.6,12.0Hz),1.51(s,3H),1.43(s,3H),1.32(dd,6H,J=8.4Hz);

[0179] $[\alpha]_{D}^{25}$ -96.04(c 0.20,CH₂Cl₂);

[0180] FAB-MS m/z 261[M+H]⁺。

[0181] 步骤a₆: (3aR,4R,6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基乙酸酯的制备

[0182] 将上述步骤a₅中制备的1-((3aR,4S,6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)乙烷-1,2-二醇(14.85g,67.41mmol)溶于乙酸乙酯(300ml)中,并冷却至0℃。向该溶液中加入四乙酸铅(Pb(OAc)₄,157.31g,337.06mmol)之后,在室温下过夜搅拌。通过硅藻土(Celite)过滤该反应混合物,用乙酸乙酯稀释滤液。用二氯甲烷稀释该有机层,且用饱和的碳酸氢钠(NaHCO₃)水溶液进行洗涤之后,经无水硫酸镁进行干燥,并进行真空浓缩。对浓缩后获得的残留物进行硅胶柱层析,从而获得呈糖浆形式的目标化合物(8.82g,60%),其中,上述硅胶柱层析将己烷:乙酸乙酯混合溶剂(8:1,v/v)作为洗脱溶剂。

[0183] ¹H-NMR(CDCl₃) δ5.03(dd,1H,J=5.6,9.6Hz),4.79(dd,1H,J=5.6,8.8Hz),3.21-3.27(m,2H),3.01(dt,2H,J=0.8,12.8Hz),2.05(s,3H),1.50(s,3H),1.31(s,3H);

[0184] $[\alpha]_{D}^{25}$ -258.15(c 0.18,CH₂Cl₂);

[0185] FAB-MS m/z 218[M]⁺。

[0186] <制备例2>

[0187] (3aS,4S,6aS)-2,2-二甲基-四氢呋喃并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基乙酸

酯的制备

[0188] 步骤b₁: (3aR, 4R, 6aR) -2, 2-二甲基-四氢呋喃并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-醇的制备

[0189] 将2, 3-0-异亚丙基-D-赤酮酸内酯(2, 3-0-isopropylidene-D-erythrone) (1.04g, 6.42mmol) 溶于甲苯(20ml) 中, 接着在-78℃的温度条件下, 向其中加入1M的二异丁基氢化铵(DIBAL)/四氢呋喃(THF) 溶液。在相同的温度条件下对该反应混合物进行30分钟的搅拌, 然后缓慢地加入甲醇来停止反应。通过硅藻土(Celite) 过滤该悬浮液, 并用乙酸乙酯和水进行萃取, 接着对其进行硅胶柱层析, 从而获得糖浆形式的目标化合物(1.94g, 96%), 其中, 上述硅胶柱层析将己烷: 乙酸乙酯混合溶剂(3:1, v/v) 作为洗脱溶剂。

[0190] ¹H-NMR (CDCl₃) δ5.39 (s, 1H), 4.82 (dd, 1H, J=3.6, 6.0Hz), 4.55 (d, 1H, J=6.0Hz), 4.05 (dd, 1H, J=3.6, 10.2Hz), 4.00 (d, 1H, J=10.0Hz), 1.45 (s, 3H), 1.30 (s, 3H)。

[0191] 步骤b₂: (3aS, 4S, 6aS) -2, 2-二甲基-四氢呋喃并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基乙酸酯的制备

[0192] 将在上述制备例2的步骤b₁中制备的乳醇化合物(875.9mg, 5.47mmol) 溶于吡啶(10ml) 中, 接着在0℃的温度条件下加入无水乙酸(0.67ml, 6.56mmol)。在室温下, 搅拌该反应混合物3小时之后, 进行真空浓缩。用乙酸乙酯和水萃取浓缩后的残留物, 然后经无水硫酸镁干燥有机层, 并再次进行真空浓缩。对该残留物进行硅胶柱层析, 从而获得糖浆形式的目标化合物(702.1mg, 65%), 其中, 上述硅胶柱层析将己烷: 乙酸乙酯混合溶剂(8:1, v/v) 作为洗脱溶剂。

[0193] ¹H-NMR (CDCl₃) δ6.16 (s, 1H), 4.86 (dd, 1H, J=3.6, 6.0Hz), 4.66 (d, 1H, J=6.0Hz), 4.12 (d, 1H, J=6.4Hz), 3.99 (dd, 1H, J=3.6, 10.8Hz), 2.05 (s, 3H), 1.48 (s, 3H), 1.33 (s, 3H)。

[0194] <实施例1>

[0195] (2R, 3R, 4S) -2-(2-氯-6-(3-氟苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0196] 步骤1: 2, 6-二氯-9-((3aR, 4R, 6aS) -2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤的制备

[0197] 将2, 6-二氯嘌呤(2.29g, 22.12mmol) 和硫酸铵(438mg, 3.32mmol) 溶解于六甲基二硅氮烷(HMDS, 50ml) 之后, 在惰性干燥的条件下过夜回流溶液。在减压条件下浓缩反应混合物, 接着将所获得的固体混合物再次溶解于冷的1, 2-二氯乙烷(20ml) 中。向该溶液中滴加将通过制备例1获得的(3aR, 4R, 6aS) -2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基乙酸酯(1.41g, 11.06mmol) 溶于1, 2-二氯乙烷(20ml) 的溶液。在该混合物中滴加三甲基硅烷基三氟甲烷磺酸酯(TMSOTf, 4.0ml, 22.12mmol), 并且在0℃的温度条件下搅拌30分钟后, 在室温下搅拌1小时, 之后再加热至80℃并搅拌2小时。在冷却反应混合物之后, 用二氯甲烷进行稀释, 并用饱和碳酸氢钠(NaHCO₃) 水溶液洗涤。用无水硫酸镁(MgSO₄) 干燥有机层之后, 进行真空浓缩来获得黄色糖浆形式的残留物。对该残留物进行硅胶柱层析, 从而获得泡沫(foam) 形式的目标化合物(3.03g, 79%), 其中, 上述硅胶柱层析使用二氯甲烷: 甲醇混合溶剂(50:1, v/v) 作为洗脱溶剂。

- [0198] UV (CH₂Cl₂) λ_{max}275.0nm;
- [0199] ¹H-NMR (CDCl₃) δ8.17 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 5.32 (pseudot, 1H, J=4.8Hz), 5.21 (d, 1H, J=5.6Hz), 3.79 (dd, 1H, J=4.4, 12.8Hz), 3.26 (d, 1H, J=13.2Hz), 1.59 (s, 3H), 1.36 (s, 3H);
- [0200] [α]_D²⁵-42.04 (c 0.16, CH₂Cl₂);
- [0201] FAB-MS m/z 347 [M+H]⁺.
- [0202] 步骤2: (2R, 3S, 4S)-2-(2,6-二氯-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备
- [0203] 将上述步骤1中制备的2,6-二氯-9-((3aR, 4R, 6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤溶于四氢呋喃(20ml)后,加入2N的HCl,接着在室温下过夜搅拌。用1N的氢氧化钠水溶液中和该反应混合物,并且小心地在减压条件下进行浓缩。对浓缩后获得的残留物进行硅胶柱层析,从而获得呈白色固体的目标化合物(1.94g, 96%),其中,上述硅胶柱层析使用二氯甲烷:甲醇混合溶剂(20:1, v/v)作为洗脱溶剂。
- [0204] mp 198.3-200.3°C;
- [0205] UV (MeOH) λ_{max}275.0nm;
- [0206] ¹H-NMR (CD₃OD) δ8.87 (s, 1H), 6.08 (d, 1H, J=6.8Hz), 4.69 (q, 1H, J=3.2Hz), 4.48 (q, 1H, J=3.6Hz), 3.56 (dd, 1H, J=4.4, 11.2Hz), 2.97 (dd, 1H, J=3.4, 11.2Hz);
- [0207] [α]_D²⁵-50.43 (c 0.12, DMSO);
- [0208] FAB-MS m/z 307 [M+H]⁺.
- [0209] 步骤3: (2R, 3R, 4S)-2-(2-氯-6-(3-氟苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备
- [0210] 在室温下,将上述步骤2中制备的(2R, 3S, 4S)-2-(2,6-二氯-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇(1当量)和3-氟苄胺(1.5当量)溶解于乙醇(5ml)中,接着仍在室温下,搅拌该反应混合物2~3小时。在完成反应之后,进行真空浓缩,并对浓缩后获得的残留物进行硅胶柱层析,从而获得目标化合物(0.10g, 80%),其中,上述硅胶柱层析使用二氯甲烷:甲醇混合溶剂(20:1, v/v)作为洗脱溶剂。
- [0211] mp 183.2-183.5°C;
- [0212] UV (MeOH) λ_{max}275.0nm;
- [0213] ¹H-NMR (DMSO-d₆) δ8.91 (t, 1H-NH, J=5.8Hz), 8.51 (s, 1H), 7.33-7.39 (m, 1H), 7.13-7.18 (m, 2H), 7.06 (dt, 1H, J=2.8, 11.6Hz), 5.82 (d, 1H, J=7.2Hz), 5.56 (d, 1H-OH, J=6.0Hz), 5.37 (d, 1H-OH, J=4.4Hz), 4.65 (d, 1H, J=6.0Hz), 4.60 (m, 1H), 4.33-4.35 (m, 1H), 3.41 (dd, 1H, J=4.0, 10.8Hz), 2.79 (dd, 1H, J=2.8, 10.8Hz);
- [0214] [α]_D²⁵-96.21 (c 0.12, DMSO);
- [0215] FAB-MS m/z 396 [M+H]⁺.
- [0216] <实施例2>
- [0217] (2R, 3R, 4S)-2-(2-氯-6-(3-氯苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备
- [0218] 步骤1: 2,6-二氯-9-((3aR, 4R, 6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤的制备
- [0219] 通过与上述实施例1的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

- [0220] 步骤2: (2R, 3S, 4S) -2- (2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0221] 通过与上述实施例1的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。
- [0222] 步骤3: (2R, 3R, 4S) -2- (2-氯-6- (3-氯苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0223] 使用3-氯苄胺代替3-氟苄胺, 且以与上述实施例1的步骤3相同的条件进行合成, 从而获得目标化合物 (0.11g, 83%)。
- [0224] mp 163.3-165.3°C;
- [0225] UV (MeOH) λ_{\max} 274.5nm;
- [0226] $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 8.34 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.24-7.34 (m, 3H), 5.94 (d, 1H, J=6.4Hz), 4.75 (brs, 2H), 4.61 (q, 1H, J=3.2Hz), 4.45 (q, 1H, J=4.0Hz), 3.51 (dd, 1H, J=4.8, 11.2Hz), 2.95 (dd, 1H, J=3.6, 10.8Hz);
- [0227] FAB-MS m/z 411 [M]⁺。
- [0228] <实施例3>
- [0229] (2R, 3R, 4S) -2- (2-氯-6- (3-溴苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0230] 步骤1: 2, 6-二氯-9- ((3aR, 4R, 6aS) -2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基) -9H-嘌呤的制备
- [0231] 通过与上述实施例1的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。
- [0232] 步骤2: (2R, 3S, 4S) -2- (2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0233] 通过与上述实施例1的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。
- [0234] 步骤3: (2R, 3R, 4S) -2- (2-氯-6- (3-溴苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0235] 使用3-溴苄胺代替3-氟苄胺, 且以与上述实施例1的步骤3相同的条件进行合成, 从而获得目标化合物 (0.12g, 83%)。
- [0236] mp 184.0-185.0°C;
- [0237] UV (MeOH) λ_{\max} 274.0nm;
- [0238] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ 8.91 (brs, 1H-NH), 8.51 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.43 (d, 1H, J=7.6Hz), 7.33-7.35 (m, 1H), 7.26-7.30 (m, 1H), 5.82 (d, 1H, J=7.2Hz), 5.57 (d, 1H-OH, J=6.0Hz), 5.38 (d, 1H-OH, J=4.0Hz), 4.60-4.63 (m, 3H), 4.34 (s, 1H), 3.41 (dd, 1H, J=4.4, 11.2Hz), 2.80 (dd, 1H, J=2.8, 10.8Hz);
- [0239] FAB-MS m/z 456 [M+H]⁺。
- [0240] <实施例4>
- [0241] (2R, 3R, 4S) -2- (2-氯-6- (3-碘苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0242] 步骤1: 2, 6-二氯-9- ((3aR, 4R, 6aS) -2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基) -9H-嘌呤的制备
- [0243] 通过与上述实施例1的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。
- [0244] 步骤2: (2R, 3S, 4S) -2- (2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0245] 通过与上述实施例1的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。

[0246] 步骤3: (2R, 3R, 4S) -2-(2-氯-6-(3-碘苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0247] 使用3-碘苄胺代替3-氟苄胺, 且以与上述实施例1的步骤3相同的条件进行合成, 从而获得目标化合物(0.14g, 84%)。

[0248] mp 198.7-199.9°C;

[0249] UV (MeOH) λ_{\max} 274.0nm;

[0250] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.90 (t, 1H-NH, J=6.4Hz), 8.51 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.60 (d, 1H, J=7.6Hz), 7.35 (d, 1H, J=7.6Hz), 7.13 (t, 1H, J=8.0Hz), 5.82 (d, 1H, J=7.6Hz), 5.56 (d, 1H, J=6.4Hz), 5.37 (d, 1H, J=4.0Hz), 4.60 (d, 3H, J=4.4Hz), 4.34 (brs, 1H), 3.38 (dd, 1H, J=4.0, 10.8Hz), 2.80 (dd, 1H, J=4.0, 10.8Hz);

[0251] $[\alpha]^{25}_D$ -78.91 (c 0.13, DMSO);

[0252] FAB-MS m/z 504[M+H]⁺。

[0253] <实施例5>

[0254] (2R, 3R, 4S) -2-(2-氯-6-(2-氯苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0255] 步骤1: 2, 6-二氯-9-((3aR, 4R, 6aS) -2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤的制备

[0256] 通过与上述实施例1的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

[0257] 步骤2: (2R, 3S, 4S) -2-(2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0258] 通过与上述实施例1的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。

[0259] 步骤3: (2R, 3R, 4S) -2-(2-氯-6-(2-氯苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0260] 使用2-氯苄胺代替3-氟苄胺, 且以与上述实施例1的步骤3相同的条件进行合成, 从而获得目标化合物(0.11g, 81%)。

[0261] mp 198.7-199.7°C;

[0262] UV (MeOH) λ_{\max} 273.5nm;

[0263] $^1\text{H-NMR}$ (CD₃OD) δ 8.35 (brs, 1H), 7.45-7.47 (m, 1H), 7.39-7.43 (m, 1H), 7.25-7.29 (m, 2H), 5.95 (d, 1H, J=6.4Hz), 4.60-4.63 (m, 1H), 4.45 (dd, 1H, J=3.6, 8.0Hz), 3.51 (dd, 1H, J=4.8, 10.8Hz), 2.95 (dd, 1H, J=4.0, 10.8Hz);

[0264] $[\alpha]^{25}_D$ -96.21 (c 0.12, DMSO);

[0265] FAB-MS m/z 412[M+H]⁺。

[0266] <实施例6>

[0267] (2R, 3R, 4S) -2-(2-氯-6-(5-氯-2-甲氧基苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0268] 步骤1: 2, 6-二氯-9-[(3aR, 4R, 6aS) -2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤的制备

[0269] 通过与上述实施例1的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

[0270] 步骤2: (2R, 3S, 4S) -2-(2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0271] 通过与上述实施例1的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。

[0272] 步骤3: (2R, 3R, 4S) -2- (2-氯-6- (5-氯-2-甲氧基苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0273] 使用5-氯-2-甲氧基苄胺代替3-氟苄胺, 且以与上述实施例1的步骤3相同的条件进行合成, 从而获得目标化合物 (0.11g, 78%)。

[0274] mp 188.8-189.8°C;

[0275] UV (MeOH) λ_{\max} 275.5nm;

[0276] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.64 (t, 1H-NH, J=6.0Hz), 8.51 (s, 1H), 7.21-7.25 (m, 1H), 7.12 (d, 1H, J=7.2Hz), 7.00 (d, 1H, J=8.0Hz), 6.85-6.89 (m, 1H), 5.82 (d, 1H, J=7.6Hz), 5.57 (d, 1H-OH, J=6.4Hz), 5.37 (d, 1H-OH, J=4.0Hz), 4.61-4.63 (m, 2H), 4.35 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.71 (dd, 1H, J=3.6, 10.4Hz), 2.80 (dd, 1H, J=2, 4, 10.8Hz);

[0277] $[\alpha]^{25}_D$ -96.10 (c 0.21, DMSO);

[0278] FAB-MS m/z 442 [M+H]⁺。

[0279] <实施例7>

[0280] (2R, 3R, 4S) -2- (2-氯-6- (2-甲氧基苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0281] 步骤1: 2, 6-二氯-9- ((3aR, 4R, 6aS) -2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基) -9H-嘌呤的制备

[0282] 通过与上述实施例1的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

[0283] 步骤2: (2R, 3S, 4S) -2- (2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0284] 通过与上述实施例1的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。

[0285] 步骤3: (2R, 3R, 4S) -2- (2-氯-6- (2-甲氧基苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0286] 使用2-甲氧基苄胺代替3-氟苄胺, 且以与上述实施例1的步骤3相同的条件进行合成, 从而获得目标化合物 (0.12g, 88%)。

[0287] mp 188.0°C;

[0288] UV (MeOH) λ_{\max} 276.5nm;

[0289] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.65 (t, 1H-NH, J=6.0Hz), 8.51 (s, 1H), 7.21-7.25 (m, 1H), 7.12 (d, 1H, J=7.2Hz), 7.00 (d, 1H, J=8.0Hz), 6.85-6.89 (m, 1H), 5.83 (d, 1H, J=6.8Hz), 5.58 (d, 1H-OH, J=6.4Hz), 5.39 (d, 1H-OH, J=3.6Hz), 4.62-4.64 (m, 2H), 4.35 (s, 1H), 3.84 (s, 1H), 3.42 (dd, 1H, J=3.6, 10.4Hz), 2.79-2.82 (m, 1H);

[0290] $[\alpha]^{25}_D$ -93.53 (c 0.17, DMSO);

[0291] FAB-MS m/z 407 [M+H]⁺。

[0292] <实施例8>

[0293] (2R, 3R, 4S) -2- (2-氯-6- (萘-1-基甲苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0294] 步骤1: 2, 6-二氯-9- ((3aR, 4R, 6aS) -2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基) -9H-嘌呤的制备

[0295] 通过与上述实施例1的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

[0296] 步骤2: (2R, 3S, 4S) -2- (2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备

[0297] 通过与上述实施例1的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。

[0298] 步骤3: (2R,3R,4S)-2-(2-氯-6-(萘-1-基苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0299] 使用萘-1-基苄胺(naphthalene-1-yl methylbenzyl amine)代替3-氟苄胺,且以与上述实施例1的步骤3相同的条件进行合成,从而获得目标化合物(0.13g,90%)。

[0300] mp 226.3°C(分解(decomp));

[0301] UV(MeOH) λ_{\max} 281.0nm;

[0302] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.96(t,1H-NH,J=6.0Hz),8.51(s,1H),8.25(d,1H,J=8.0Hz),7.95-7.97(m,1H),7.83-7.85(m,1H),7.53-7.61(m,2H),7.43-7.46(m,2H),5.82(d,1H,J=7.6Hz),5.56(d,1H,J=6.4Hz),5.38(d,1H,J=4.0Hz),5.12(d,1H,J=6.0Hz),4.59-4.61(m,1H),4.34-4.35(m,1H),3.40-3.44(m,1H),2.80(dd,1H,J=2.4,6.8Hz);

[0303] FAB-MS m/z 428[M+H]⁺。

[0304] <实施例9>

[0305] 3-((2-氯-9-((2R,3S,4R)-3,4-二羟基四氢噻吩-2-基)-9H-嘌呤-6-基氨基)甲基)苯甲酸的制备

[0306] 步骤1:2,6-二氯-9-((3aR,4R,6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤的制备

[0307] 通过与上述实施例1的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

[0308] 步骤2:(2R,3S,4S)-2-(2,6-二氯-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0309] 通过与上述实施例1的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。

[0310] 步骤3:3-((2-氯-9-((2R,3S,4R)-3,4-二羟基四氢噻吩-2-基)-9H-嘌呤-6-基氨基)甲基)苯甲酸的制备

[0311] 使用3-(氨基甲基)苯甲酸代替3-氟苄胺,且以与上述实施例1的步骤3相同的条件进行合成,从而获得目标化合物(0.12g,84%)。

[0312] mp 254.0-256.9°C;

[0313] UV(MeOH) λ_{\max} 275.5nm;

[0314] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.95(t,1H-NH,J=6.0Hz),8.52(s,1H),7.89(d,1H,J=8.4Hz),7.43(d,1H,J=8.0Hz),5.82(d,1H,J=7.6Hz),5.57(brs,1H),5.38(brs,1H),4.71(d,1H,J=6.0Hz),4.60(brs,1H),4.34(brs,1H),3.41(dd,1H,J=4.0,10.8Hz),2.80(dd,1H,J=2.8,10.8Hz);

[0315] $[\alpha]_D^{25}$ -94.55(c 0.11,DMSO);

[0316] FAB-MS m/z 422[M+H]⁺。

[0317] <实施例10>

[0318] 2-(2-氯-6-甲基氨基-嘌呤-9-基)(2R,3S,4R)-四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0319] 步骤1:2,6-二氯-9-((3aR,4R,6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤的制备

[0320] 通过与上述实施例1的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

[0321] 步骤2:(2R,3S,4S)-2-(2,6-二氯-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0322] 通过与上述实施例1的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。

- [0323] 步骤3: 2-(2-氯-6-甲基氨基-嘌呤-9-基) (2R, 3S, 4R)-四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0324] 使用甲胺代替3-氟苄胺, 且以与上述实施例1的步骤3相同的条件进行合成, 从而获得目标化合物 (0.89g, 90%)。
- [0325] UV (MeOH) λ_{\max} 269.5nm (pH 7);
- [0326] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 2.99 (1H, dd, 4'-CH, J=4.4, 10.8Hz), 3.12 (3H, brs, NH-CH3), 3.44 (1H, dd, 4'-CH, J=4, 10.8Hz), 4.41 (1H, m, 2'-CH, J=5.6Hz), 4.47 (1H, m, 3'-CH), 5.89 (1H, d, 1'-CH, J=5.6Hz), 8.40 (s, 1H, 8-CH);
- [0327] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -34.8 (c 0.115, DMSO);
- [0328] FAB-MS m/z 302.3 [M+H]⁺。
- [0329] <实施例11>
- [0330] (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-氟苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0331] 步骤1: 6-氯-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤的制备
- [0332] 使用6-氯嘌呤 (2.29g, 22.12mmol) 代替2, 6-氯嘌呤, 且以与上述实施例1的步骤1相同的条件进行合成, 从而获得泡沫形式的目标化合物 (1.84g, 91%)。
- [0333] UV (CH_2Cl_2) λ_{\max} 265.0nm;
- [0334] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 8.67 (pseudo t, 1H, J=1.4Hz), 8.23 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 5.23 (m, 2H), 3.69 (dd, 1H, J=4.0, 13.2Hz), 3.18 (d, 1H, J=12.8Hz), 1.52 (s, 3H), 1.29 (s, 3H);
- [0335] $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ 152.05, 151.39, 151.09, 144.34, 132.56, 111.90, 89.60, 84.31, 70.30, 40.76, 26.40, 24.63;
- [0336] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -157.64 (c 0.15, MeOH);
- [0337] FAB-MS m/z 313 [M+H]⁺。
- [0338] 步骤2: (2R, 3S, 4S)-2-(6-氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0339] 使用在上述步骤1中制备的6-氯-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤 (1.84g, 5.88mmol), 且以与上述实施例1的步骤2相同的条件进行合成, 从而获得呈白色固体的目标化合物 (1.27g, 79%)。
- [0340] mp 192.3-192.8°C;
- [0341] UV (MeOH) λ_{\max} 264.5nm;
- [0342] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ 9.02 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 6.02 (d, 1H, J=7.6Hz), 5.62 (d, 1H-OH, J=6.0Hz), 5.43 (d, 1H-OH, J=4.0Hz), 4.70-4.74 (m, 1H), 4.36-4.40 (m, 1H), 3.47 (dd, 1H, J=4.0, 10.8Hz), 3.17 (d, 1H, J=5.2Hz), 2.84 (dd, 1H, J=2.8, 11.2Hz);
- [0343] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -109.15 (c 0.16, DMSO);
- [0344] FAB-MS m/z 273 [M+H]⁺。
- [0345] 步骤3: (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-氟苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0346] 在室温下, 将上述步骤2中制备的 (2R, 3S, 4S)-2-(6-氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇 (1当量) 和3-氟苄胺 (1.5当量) 溶解于乙醇 (5ml) 中, 接着仍在室温下, 搅拌该反应混合物2-3小时。在完成反应之后, 进行真空浓缩, 并对浓缩后获得的残留物进行硅胶柱层析, 从而获得目标化合物 (0.11g, 82%), 其中, 上述硅胶柱层析使用二氯甲烷: 甲醇混合溶

剂(20:1,v/v)作为洗脱溶剂。

[0347] mp 180.5-180.7°C;

[0348] UV (MeOH) λ_{\max} 273.5nm;

[0349] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.46 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.31-7.39 (m, 1H), 7.12-7.18 (m, 2H), 7.01-7.05 (m, 1H), 5.90 (d, 1H, J=7.2Hz), 5.53 (d, 1H-OH, J=6.4Hz), 5.35 (d, 1H-OH, J=4.0Hz), 4.67-4.71 (m, 2H), 4.35-4.37 (m, 1H), 3.39-3.43 (m, 1H), 3.17 (d, 1H, J=5.2Hz), 2.80 (dd, 1H, J=3.2, 11.2Hz);

[0350] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -141.2 (c 0.11, DMSO);

[0351] FAB-MS m/z 362 [M+H]⁺。

[0352] <实施例12>

[0353] (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-氯苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0354] 步骤1:6-氯-9-((3aR, 4R, 6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤的制备

[0355] 通过与上述实施例11的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

[0356] 步骤2:(2R, 3S, 4S)-2-(6-氯-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0357] 通过与上述实施例11的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。

[0358] 步骤3:(2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-氯苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0359] 使用3-氯苄胺代替3-氟苄胺,且以与上述实施例11的步骤3相同的条件进行合成,从而获得目标化合物(0.12g,85%)。

[0360] mp 165.0-165.3°C;

[0361] UV (MeOH) λ_{\max} 274.5nm;

[0362] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.47 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.26-7.35 (m, 3H), 5.91 (d, 1H, J=7.2Hz), 5.53 (d, 1H-OH, J=6.4Hz), 5.35 (d, 1H-OH, J=4.0Hz), 4.67-4.71 (m, 2H), 4.33-4.37 (m, 1H), 3.40-3.48 (m, 2H), 2.80 (dd, 1H, J=3.2, 10.4Hz);

[0363] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -162.5 (c 0.10, DMSO);

[0364] FAB-MS m/z 378 [M+H]⁺。

[0365] <实施例13>

[0366] (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-溴苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0367] 步骤1:6-氯-9-((3aR, 4R, 6aS)-2,2-二甲基四氢噻吩并[3,4-d][1,3]间二氧杂环戊烯-4-基)-9H-嘌呤的制备

[0368] 通过与上述实施例11的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

[0369] 步骤2:(2R, 3S, 4S)-2-(6-氯-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0370] 通过与上述实施例11的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。

[0371] 步骤3:(2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-溴苄基氨基)-9H-嘌呤-9-基)四氢噻吩-3,4-二醇的制备

[0372] 使用3-溴苄胺代替3-氟苄胺,且以与上述实施例11的步骤3相同的条件进行合成,从而获得目标化合物(0.11g,70%)。

[0373] mp 183.0-184.0°C;

- [0374] UV (MeOH) λ_{\max} 270.0nm;
- [0375] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.46 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.39-7.42 (m, 1H), 7.34-7.35 (m, 1H), 7.24-7.28 (m, 1H), 5.90 (d, 1H, J=7.2Hz), 5.53 (d, 1H-OH, J=6.4Hz), 5.35 (d, 1H-OH, J=4.0Hz), 4.67-4.71 (m, 2H), 4.35-4.37 (m, 1H), 3.41 (dd, 1H, J=4.0, 10.8Hz), 3.06 (q, 1H, J=7.2Hz), 2.80 (dd, 1H, J=2.8, 10.8Hz);
- [0376] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -100.72 (c 0.14, DMSO);
- [0377] FAB-MS m/z 422 [M+H] $^+$.
- [0378] <实施例14>
- [0379] (2R, 3R, 4S) -2- (6- (3-碘苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0380] 步骤1: 6-氯-9- ((3aR, 4R, 6aS) -2, 2-二甲基四氢噻吩并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基) -9H-嘌呤的制备
- [0381] 通过与上述实施例11的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。
- [0382] 步骤2: (2R, 3S, 4S) -2- (6-氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0383] 通过与上述实施例11的步骤2相同的方法来获得呈白色固体的目标化合物。
- [0384] 步骤3: (2R, 3R, 4S) -2- (6- (3-碘苄基氨基) -9H-嘌呤-9-基) 四氢噻吩-3, 4-二醇的制备
- [0385] 使用3-碘苄胺代替3-氟苄胺, 且以与上述实施例11的步骤3相同的条件进行合成, 从而获得目标化合物 (0.12g, 72%)。
- [0386] mp 198.8-199.8°C;
- [0387] UV (MeOH) λ_{\max} 271.5nm;
- [0388] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.46 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.56-7.59 (m, 1H), 7.35-7.36 (d, 1H, J=7.6Hz), 7.01-7.12 (m, 1H), 5.90 (d, 1H, J=7.2Hz), 5.53 (d, 1H-OH, J=6.4Hz), 5.35 (d, 1H-OH, J=4.4Hz), 4.67-4.71 (m, 2H), 4.34-4.38 (m, 1H), 3.41 (dd, 1H, J=4.0, 10.8Hz), 3.16 (d, 1H, J=7.2Hz), 2.80 (dd, 1H, J=2.8, 10.8Hz);
- [0389] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -97.08 (c 0.14, DMSO);
- [0390] FAB-MS m/z 470 [M+H] $^+$.
- [0391] <实施例15>
- [0392] (2R, 3R, 4R) -2- (6- (3-溴苄基氨基) -2-氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢呋喃-3, 4-二醇的制备
- [0393] 步骤1: 2, 6-二氯-9- ((3aR, 4R, 6aR) -2, 2-二甲基四氢呋喃并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基) -9H-嘌呤的制备
- [0394] 使用在上述制备例2中获得的 (3aR, 4R, 6aR) -2, 2-二甲基四氢呋喃并[3, 4-d][1, 3]间二氧杂环戊烯-4-醇 (702.1g, 3.472mmol), 且以与上述实施例1的步骤1相同的条件进行合成, 从而获得泡沫形式的目标化合物 (793.0mg, 69%)。
- [0395] UV (MeOH) λ_{\max} 276.5nm;
- [0396] $^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$) δ 8.15 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 5.41 (d, 1H, J=6.0Hz), 5.26-5.29 (m, 1H), 4.25-4.31 (m, 2H), 1.57 (s, 3H), 1.41 (s, 3H);
- [0397] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -21.00 (c 0.10, DMSO);
- [0398] FAB-MS m/z 331 [M+H] $^+$.

[0399] 步骤2: (2R, 3R, 4R) -2- (2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢呋喃并-3, 4-二醇的制备

[0400] 使用在上述步骤1中制备的2, 6-二氯-9- ((3aR, 4R, 6aR) -2, 2-二甲基四氢呋喃并[3, 4-d] [1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基) -9H-嘌呤 (900mg, 2.0mmol), 且以与上述步骤2相同的条件进行合成, 从而获得呈白色固体的目标化合物 (0.46g, 80%)。

[0401] mp 122.7-123.4°C;

[0402] UV (MeOH) λ_{\max} 276.5nm;

[0403] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.98 (s, 1H), 5.96 (d, 1H, J=6.4Hz), 5.57 (d, 1H-OH, J=6.0Hz), 5.32 (d, 1H-OH, J=4.0Hz), 4.69-4.74 (m, 1H), 4.41 (dd, 1H, J=3.6, 9.2Hz), 4.29-4.32 (m, 1H), 3.87 (dd, 1H, J=2.0, 9.6Hz);

[0404] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -68.09 (c 0.14, DMSO);

[0405] FAB-MS m/z 291 [M+H]⁺。

[0406] 步骤3: (2R, 3R, 4R) -2- (6- (3-溴苄基氨基) -2-氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢呋喃-3, 4-二醇的制备

[0407] 在室温下, 将上述步骤2中制备的 (2R, 3S, 4S) -2- (2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢呋喃-3, 4-二醇 (1当量) 和3-溴苄胺 (1.5当量) 溶解于乙醇 (5ml) 中, 接着在室温下, 搅拌该反应混合物2-3小时。在完成反应之后, 进行真空浓缩, 并对浓缩后获得的残留物进行硅胶柱层析, 从而获得目标化合物 (0.12g, 82%), 其中, 上述硅胶柱层析使用二氯甲烷: 甲醇混合溶剂 (20:1, v/v) 作为洗脱溶剂。

[0408] mp 181.5-181.7°C;

[0409] UV (MeOH) λ_{\max} 274.5nm;

[0410] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.92 (t, 1H-NH, J=6.0Hz), 8.43 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.44 (d, 1H, J=8.0Hz), 7.33-7.35 (m, 1H), 7.26-7.30 (m, 1H), 5.81 (d, 1H, J=6.4Hz), 5.47 (d, 1H, J=6.4Hz), 5.22 (d, 1H, J=4.0Hz), 4.66-4.69 (m, 1H), 4.62 (s, 2H), 4.32 (dd, 1H, J=3.6, 9.2Hz), 4.25 (brs, 1H), 3.80 (dd, 1H, J=1.6, 9.2Hz);

[0411] $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -62.75 (c 0.10, DMSO);

[0412] FAB-MS m/z 440 [M+H]⁺。

[0413] <实施例16>

[0414] (2R, 3R, 4R) -2- (6- (3-碘苄基氨基) -2-氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢呋喃-3, 4-二醇的制备

[0415] 步骤1: 2, 6-二氯-9- ((3aR, 4R, 6aR) -2, 2-二甲基四氢呋喃并[3, 4-d] [1, 3]间二氧杂环戊烯-4-基) -9H-嘌呤的制备

[0416] 通过与上述实施例15的步骤1相同的方法来获得泡沫形式的目标化合物。

[0417] 步骤2: (2R, 3R, 4R) -2- (2, 6-二氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢呋喃-3, 4-二醇的制备

[0418] 通过与上述实施例15的步骤2相同的方法来获得糖浆形式的呈白色固体的目标化合物。

[0419] 步骤3: (2R, 3R, 4R) -2- (6- (3-碘苄基氨基) -2-氯-9H-嘌呤-9-基) 四氢呋喃-3, 4-二醇的制备

[0420] 使用3-碘苄胺代替3-溴苄胺, 且以与上述实施例15的步骤3相同的条件进行合成, 从而获得目标化合物 (0.13g, 78%)。

[0421] mp 195.5–195.8°C;

[0422] UV (MeOH) λ_{\max} 274.0nm;

[0423] $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.91 (t, 1H-NH, $J=6.4\text{Hz}$), 8.44 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.61 (d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$), 7.36 (d, 1H, $J=7.6\text{Hz}$), 7.13 (t, 1H, $J=4.0\text{Hz}$), 5.81 (d, 1H, $J=6.8\text{Hz}$), 5.47 (d, 1H-OH, $J=6.8\text{Hz}$), 5.23 (d, 1H-OH, $J=4.0\text{Hz}$), 4.72 (dd, 1H, $J=6.4, 10.8\text{Hz}$), 4.61 (d, 1H, $J=6.0\text{Hz}$), 4.34 (dd, 1H, $J=3.6, 9.2\text{Hz}$), 3.81 (dd, 1H, $J=1.2, 9.2\text{Hz}$);

[0424] $[\alpha]_D^{25}$ -68.07 (c 0.12, DMSO);

[0425] FAB-MS m/z 488[M+H] $^+$.

[0426] <实验例1>对于腺苷受体的结合亲和力 (Binding affinity) 测定

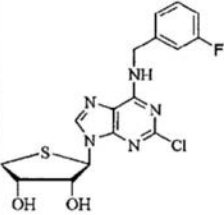
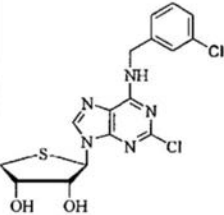
[0427] 为了测定本发明的衍生物对人类腺苷受体 (hAR) 中的A₁、A_{2A}和A₃受体的亲和度和选择性, 进行以下实验。

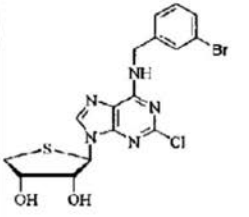
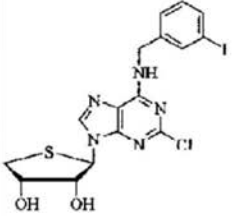
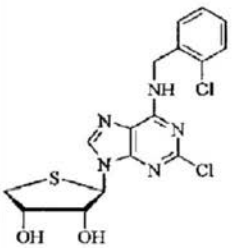
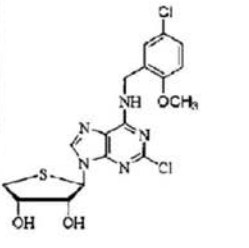
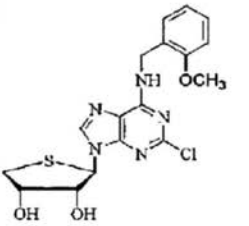
[0428] 将表达腺苷A₁和A₃受体的中国仓鼠卵巢 (CHO, ATCC美国细胞银行No. CCL-61) 细胞, 在包括10%胎牛血清 (FBS) 和青霉素/链霉素 (100单位/ml和100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 的F-12 (Gibco, U.S.A.) 培养基中, 以37°C, 5%CO₂的条件进行培养, 并对其进行使用。在试管中的加入50/10/1缓冲溶液, 并混合一定量的表达合适的hAR的CHO细胞以及选择性地结合于各腺苷A₁和A₃受体的标记配体 (1nM [^3H]CCPA (2-氯-N⁶- [^3H] 环戊基腺苷, 2-Chloro-N⁶- [^3H] cyclopentyladenosine) 和0.5nM [^{125}I]AB-MECA)。首先, 将本发明的衍生物以不同浓度溶解在二甲基亚砷 (DMSO) 后, 用缓冲溶液进行稀释 (但需要注意DMSO的最终浓度不能超过1%), 然后在37°C的恒温箱中培养1小时, 接着使用细胞收集器 (TOMTEC, U.S.A.) 快速进行减压过滤。接着, 用3ml的缓冲溶液洗涤上述试管三次, 之后使用 γ -计数器来确定放射性。非特异性结合 (nonspecific binding) 在与用于测量全部结合的条件相同的条件下, 当作为非标记配体的5'-N-乙基甲酰胺基腺苷 (NECA) 存在10 μM 的情况下被确定, 对于作为平衡常数的K_i值是在假设 [^{125}I]AB-MECA的K_d值为1.48nM前提下, 根据郑-普鲁萨福 (Cheng-Prusoff) 方程式进行确定。通过从全部结合减去非特异性结合来计算出特异性结合。基于这样测量的特异性结合, 得出对多种受体的各样品的结合亲和力。

[0429] 另外, 以如下方式测量在HEK 293细胞 (人类肾脏内皮细胞株) 表达的A_{2A}受体与标记配体 [^3H]CGS-21680 (2-(((4-(2-羧乙基) 苯基) 乙基氨基)-5'-N-乙基氨基甲酰基) 腺苷) 的结合。在将脑膜在30°C下培养30分钟时, 以及在加入放射性配体后进行培养时, 加入腺苷脱氨酶 (adenosine deaminase), 并且至少在6种不同浓度下测量对各个实施例中的化合物的IC₅₀, 并使用普来特 (PLAT) 软件来确定K_i值。将根据本发明的实施例化合物的结构、取代基和结合亲和度的测量结果以及得出的K_i值一起表示在表1中。

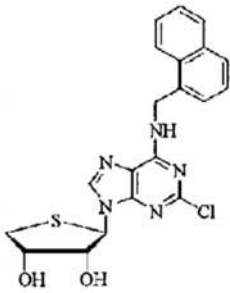
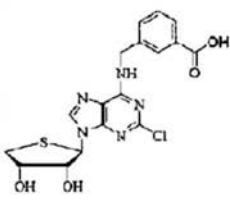
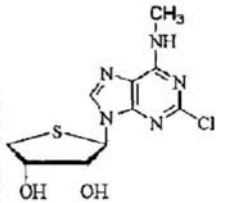
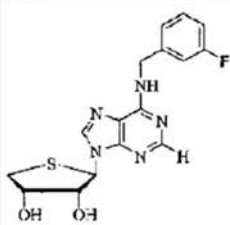
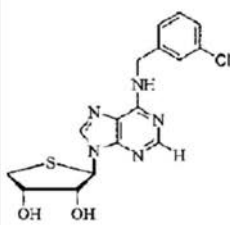
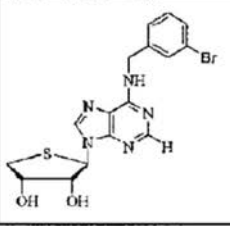
[0430] <表1>

[0431]

实施例	结构	取代基			K _i (nM)或者%		
		A	R	Y	hA ₁	hA _{2A}	hA ₃
1		S	3-氟苄基	Cl	19.8%	47.6%	7.4 ± 1.3
2		S	3-氯苄基	Cl	37.9%	17.7%	1.66 ± 0.90

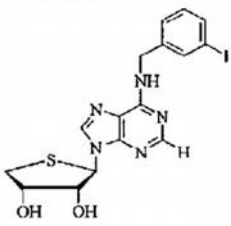
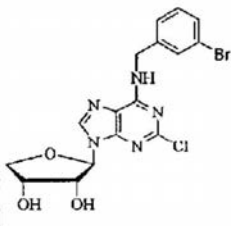
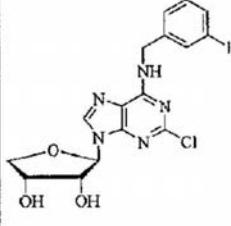
3		S	3-溴苄基	Cl	34.2%	18.4%	8.99 ± 5.17
4		S	3-碘苄基	Cl	2490 ± 940	341 ± 75	4.16 ± 0.50
5		S	2-氯苄基	Cl	12.8%	1600 ± 135	25.8 ± 6.3
6		S	5-氯-2-甲氧基苄基	Cl	23.8%	4020 ± 1750	12.7 ± 3.7
7		S	2-甲氧基苄基	Cl	9.4%	17.5%	19.9 ± 7.1

[0432]

8		S	1-萘基甲基	Cl	22.0%	-8.3%	24.8 ± 8.1
9		S	3-甲苯甲酸	Cl	13.1%	-0.18%	41.5%
10		S	甲基	Cl	55.4 ± 1.8%	45.0 ± 1.4%	3.69 ± 0.25
11		S	3-氟苄基	H	1430 ± 420	1260 ± 330	7.3 ± 0.6
12		S	3-氯苄基	H	860 ± 210	440 ± 110	1.5 ± 0.4
13		S	3-溴苄基	H	790 ± 190	420 ± 32	6.8 ± 3.4

[0433]

[0434]

14		S	3-碘苄基	H	530 ± 97	230 ± 65	2.5 ± 1.0
15		O	3-溴苄基	Cl	39.8%	22.8%	13.0 ± 6.9
16		O	3-碘苄基	Cl	37.7%	28.6%	42.9 ± 8.9
单位: nM ± SEM ‘%’ 表示作为非标记配体的NECA存在10 μM时, 10 μM的标记配体特异性结合的抑制百分比。							

[0435] 如表1所示,本发明实施例的化合物对人类腺苷A₃受体显示出了高的结合亲和力,但是对于腺苷A₁和A_{2A}受体显示出了低的亲和力,即显示出了高选择性。尤其,本发明实施例12的化合物对于hA₃受体显示出最高的亲和力,其亲和力常数K_i值为1.50 ± 0.40 nM,其次,对于其余实施例而言,可按照结合亲和度的降序排列为:实施例2的化合物(K_i = 1.66 ± 0.90 nM),实施例14的化合物(K_i = 2.50 ± 1.00 nM),实施例10的化合物(K_i = 3.69 ± 0.25 nM)和实施例4的化合物(K_i = 4.16 ± 0.50 nM)。并且,本发明实施例4的化合物对于在中国仓鼠卵巢(CHO)细胞表达的鼠腺苷A₃受体也显示出高亲和力(K_i = 3.89 ± 1.15 nM),而且对人类腺苷A_{2B}受体的没有显示出作为激动剂或拮抗剂的活性。

[0436] 另外,在具有卤苄基取代基的实施例的化合物中,其结合亲和力显示出Cl > I > Br的排序,其中具有3-氯苄基的实施例2的化合物相比于具有2-氯苄基的实施例5的化合物(K_i = 25.8 ± 6.3 nM),显示出对hA₃腺苷受体的更高的亲和力。另外,对于结合亲和力而言,相比于苯环的2-位或4-位被取代的化合物或者2,5-位双取代的化合物,人类腺苷A₃受体显示出更偏好苯环的3-位被取代的实施例的化合物。而且,具有4'-O的氧代核苷形式的腺苷衍生物的实施例15和16的化合物也显示出了高的结合亲和力和选择性,然而,与作为具有相应的4'-S的硫代核苷形式的腺苷衍生物的实施例3和4的化合物相比并未显示出更好的特性。并且,确认了嘌呤碱基第2位的氯基被氢原子取代的实施例10至14的化合物相比于2-

氨基的化合物具有更好的亲和力和选择性。

[0437] <实施例2>根据本发明衍生物的对腺苷A₃受体的拮抗作用和cAMP抑制实验

[0438] 为了证实本发明的衍生物作为拮抗剂是否对人类腺苷A₃受体有效,通过用实施例4的化合物和C1-IB-MECA一起处理CHO细胞,从而进行了本发明的衍生物的拮抗作用和cAMP抑制作用的实验。

[0439] 如图1所示,对于人类腺苷A₃受体而言,在用不同浓度的实施例4的化合物处理的CHO细胞中,作为100%纯激动剂的C1-IB-MECA的激动作用以浓度依赖性的方式被实施例4的化合物所抑制。这表明本发明的化合物与C1-IB-MECA在受体的相同的结合位点以竞争的方式发挥作用。并且,利用CHO细胞进行以人类腺苷A₃受体介导的cAMP抑制实验的结果,可以证实本发明的实施例的化合物为100%的纯腺苷A₃拮抗剂。因此,进行Schild分析时测定出的根据本发明合成的化合物的解离常数K_B值为1.92nM。

[0440] <实施例3~6>根据本发明衍生物的抗炎活性测定

[0441] 为了检验本发明的衍生物的抗炎活性,进行了如下的动物实验。对七周龄雄性ICR小鼠,用TPA(12-氧-十四烷酰佛波醇-13-醋酸酯,20μl)处理右耳。在15分钟内,将实施例1至16的化合物以0.5%的浓度稀释在丙酮(20μl)、蒸馏水或将DMSO和丙酮混合的混合溶剂(在表2至表5显示了该组合)中,并给药至上述小鼠。并且,将作为炎症治疗剂使用的氢化可的松(hydrocortisone)作为对照组,并以相同的浓度进行处理从而执行相同的实验。

[0442] 接着,TPA处理6小时后,用本发明的腺苷衍生物化合物进行二次处理。TPA处理24小时后,使用颈椎脱臼法(cervical dislocation method)将实验动物安乐死。然后,使用直径为6mm的穿孔器获得右耳的样品。并且,其活性可通过使用微量天平测量重量而进行确定。使用以下数学式1来计算抑制率(%)。实验例3至6的处理组合和处理用量表示在表2至表5中,并且将其抗炎活性显示在图2至5中。

[0443] 数学式1

$$[0444] \quad \text{抑制率 (\%)} = \frac{1 - (\text{用实施例化合物处理的样品重量} - \text{未处理样品重量})}{\text{仅用TPA处理的样品重量} - \text{未处理样品重量}}$$

[0445] [表2]

[0446]

实验例3	处理组合	处理用量
3-1	未处理	-
3-2	单独的TPA	20μl
3-3	TPA+丙酮	20μl+20μl
3-4	TPA+丙酮+实施例2的化合物	20μl+0.5%/20μl
3-5	TPA+丙酮+实施例3的化合物	20μl+0.5%/20μl
3-6	TPA+丙酮+实施例4的化合物	20μl+0.5%/20μl
3-7	TPA+丙酮+氢化可的松	20μl+0.5%/20μl

[0447] [表3]

[0448]

实验例4	处理组合	处理用量
4-1	未处理	-

4-2	单独的TPA	20 μ l
4-3	TPA+丙酮	20 μ l+20 μ l
4-4	TPA+丙酮+实施例1的化合物	20 μ l+0.5%/20 μ l
4-5	TPA+丙酮+实施例6的化合物	20 μ l+0.5%/20 μ l
4-6	TPA+丙酮+氢化可的松	20 μ l+0.5%/20 μ l

[0449] [表4]

[0450]

实验例5	处理组合	处理用量
5-1	未处理	-
5-2	单独的TPA	20 μ l
5-3	TPA+混合溶剂(蒸馏水:丙酮=1:4)	20 μ l+20 μ l
5-4	TPA+混合溶剂+实施例5的化合物	20 μ l+0.5%/20 μ l
5-5	TPA+混合溶剂+实施例7的化合物	20 μ l+0.5%/20 μ l
5-6	TPA+混合溶剂+实施例8的化合物	20 μ l+0.5%/20 μ l
5-7	TPA+混合溶剂+氢化可的松	20 μ l+0.5%/20 μ l

[0451] [表5]

[0452]

实验例6	处理组合	处理用量
6-1	未处理	-
6-2	单独的TPA	20 μ l
6-3	TPA+混合溶剂(DMSO:丙酮=1:9)	20 μ l+20 μ l
6-4	TPA+混合溶剂+实施例15的化合物	20 μ l+0.5%/20 μ l
6-5	TPA+混合溶剂+实施例16的化合物	20 μ l+0.5%/20 μ l
6-6	TPA+混合溶剂+氢化可的松	20 μ l+0.5%/20 μ l

[0453] 如图2所示,虽然相比于作为对照组的氢化可的松是很小的变化,但是将实施例2至4的化合物稀释在丙酮并进行处理后,检验抗炎活性的结果,可以证实能少量减少由TPA诱发的小鼠的耳肿胀。

[0454] 如图3所示,将本发明实施例1和6的化合物稀释在丙酮并进行处理后,检验的抗炎活性相比于图2所示的实施例2至4的化合物具有增加4倍以上的显著的抑制率。

[0455] 如图4所示,将本发明实施例5、6和7的化合物以0.5%的浓度稀释在蒸馏水和丙酮的混合溶剂(1:4)中来检验抗炎活性的结果,分别显示出17%、34%和53%的炎症抑制率。

[0456] 如图5所示,将本发明实施例15和16的化合物以0.5%的浓度稀释在DMSO和丙酮的混合溶剂(1:9)中来检验抗炎活性的结果,分别显示出59%和79%的炎症抑制率,从而能证实上述化合物具有抗炎活性。

[0457] <实施例7>毒性试验

[0458] 为了试验本发明实施例的化合物的毒性,进行了动物实验。将 25 ± 5 g的ICR小鼠(中央实验动物,韩国)和 235 ± 10 g的无特异性致病菌(SPF)的斯泼累格多雷大鼠(Sprague Dawley)(中央试验动物,韩国)分别分成三组,且每组三只。之后,利用实施例2的化合物,分别以20mg/kg、10mg/kg和1mg/kg的剂量进行腹腔给药,观察24小时并判断是否具有毒性。

[0459] 实验结果,三组中均没有出现死亡的例,并且从表观上(重量增加程度、摄食量等)并未见与对照组存在何种差异,因此能证实本发明的衍生物化合物是安全的药物。

[0460] <实验例8>包括本发明衍生物的滴眼剂的眼压降低效能实验(1)

[0461] 为了检验根据本发明衍生物的滴眼给药的眼压降低效能,进行了以下动物实验。在克利莫佛EL、甘油、柠檬酸及对羟基苯甲酸甲酯溶解而成的pH6.8的缓冲溶液中混合实施例2的化合物,从而制备实施例2的化合物的浓度分别为250 μ M、500 μ M及750 μ M的滴眼剂,且将滴眼剂分别以2滴(drop)的量对2.5~3.0kg的正常雄性新西兰白兔(New Zealand white rabbit)进行滴眼给药。作为阳性对照组(positive control),通过相同的方法来施用作为用作青光眼治疗剂的滴眼剂的适利达(Xalatan[®]),作为阴性对照组(negative control),对实验动物不进行单独处理。

[0462] 接着,在30分钟,1小时,2小时,3小时,6小时,12小时及24小时后测量实验动物的眼压,且将其结果示出在图6。在图6中,对照组(Control)表示阴性对照组,药品(Drug) 250、500及750表示分别以250 μ M、500 μ M及750 μ M的浓度包括实施例2的化合物的滴眼剂,适利达(Xalatan)表示阳性对照组。

[0463] 如图6所示,在施用包括本发明腺苷衍生物的滴眼剂的兔子(rabbit)中,可以确认发生了依赖于上述滴眼剂的剂量的眼压下降效果。

[0464] <实验例9>包括本发明衍生物的滴眼剂的眼压降低效能实验(2)

[0465] 为了检验根据本发明衍生物的滴眼给药的眼压降低效能,进行了以下动物实验。利用通过实验例8来制备的滴眼剂对诱导青光眼的DAB 2J小鼠(mouse)进行滴眼给药,按每天两次进行给药。作为阳性对照组,通过相同的方法施用作为用作青光眼治疗剂的滴眼剂的适利达(Xalatan[®]),作为阴性对照组,对实验动物不进行单独处理。

[0466] 接着,在施用滴眼剂期间,大致每两天测量实验动物的眼压,且将其结果示出在图7中。在图7中,对照组(Control)表示阴性对照组,药品(Drug) 250、500及750表示分别以250 μ M、500 μ M及750 μ M的浓度包括实施例2的化合物的滴眼剂,适利达(Xalatan)表示阳性对照组。

[0467] 如图7所示,在施用包括本发明腺苷衍生物的滴眼剂的小鼠(mouse)中,可以确认发生了依赖于上述滴眼剂的剂量的眼压下降效果。

[0468] <实验例10>根据本发明衍生物的口服给药的眼压降低效能实验

[0469] 为了检验根据本发明衍生物的口服给药的眼压降低效能,进行了以下动物实验。利用地塞米松(Dexamethasone)对10周龄正常C57BL/6J小鼠(mice)进行滴眼给药,使得眼压上升,并且可分别将实施例2的化合物与作为赋形剂的DMSO、PEG400及生理食盐注射液一起使用,来对不同的个体进行口服给药,其中,实施例2的化合物的浓度以及给药频度可分别为:浓度为5mg/kg,且每天给药1次;浓度为10mg/kg,且每天给药1次;浓度为20mg/kg,且每天给药1次;浓度为10mg/kg,且每天给药2次。作为对照组,仅利用上述赋形剂对眼压上升的实验动物进行口服给药(每天给药一次),或者对实验动物不进行地塞米松处理,或者以4.17mg/kg的浓度施用作为眼压降低剂的乙酰唑胺(Acetazolamide)(每天给药一次)。

[0470] 接着,在22天内,以规定周期测量实验动物的眼压,且将其结果示出在图8至图12。在图8至图12中,对照组(Control)表示对实验动物不进行地塞米松处理的对照组,空白组

(Vehicle) 表示仅利用赋形剂对眼压上升的实验动物进行口服给药的对照组, 乙酰唑胺 (Acetazolamide) 表示利用作为眼压降低剂的乙酰唑胺对眼压上升的实验动物进行给药的对照组。

[0471] 如图8至图12所示, 可以确认以下内容: 在通过口服给药施用本发明腺苷衍生物的小鼠 (mice) 中, 产生依赖于上述腺苷衍生物的剂量的眼压下降效果, 对于将实施例2的化合物分别按20mg/kg (1日1次) 及10mg/kg (1日2次) 施用的小鼠 (mice) 而言, 从施用22天开始显示出类似于没有进行地塞米松处理的正常小鼠 (mice) 对照组的眼压。

[0472] <实验例11> 本发明腺苷衍生物的小梁网 (trabecular meshwork) 组织抗纤维化 (antifibrotic) 效能实验

[0473] 为了检验本发明腺苷衍生物是否具有对于眼球的小梁网组织的纤维化的抑制效能, 进行了以下动物实验。

[0474] 摘除在实验例10中完成测量眼压的各个实验动物的眼球组织, 并对其进行切片之后, 通过利用抗体的免疫染色法来确认了细胞外基质蛋白质 (Fibronectin、SMA及MYOC) 的表达变化, 且将其结果示出在图13。在图13中, 正常组 (Normal) 表示在实验例10中没有进行地塞米松处理的动物的小梁网组织, 对照组 (Control) 表示在实验例10中仅施用赋形剂的动物的小梁网组织, 乙酰唑胺 (Acetazolamide) 表示在实验例10中施用乙酰唑胺的动物的的小梁网组织。通过荧光显微镜在相同条件 (放大倍率200x, 曝光时间1秒) 下观察荧光染色的组织。

[0475] 如图13所示, 可以确认以下内容: 在仅施用赋形剂的动物或施用作为眼压降低剂的乙酰唑胺的动物的的小梁网组织, 观察到纤维连接蛋白 (Fibronectin)、平滑肌肌动蛋白 (smooth muscle actin, SMA) 及肌纤蛋白 (MYOC) 的表达增加的现象, 与此不同地, 在按照20mg/kg施用实施例2的化合物的动物 (每天给药1次) 和按照10mg/kg施用的动物 (每天给药2次) 的小梁网组织, 观察到上述三个蛋白质的表达大大减小的现象。

[0476] <实验例12> 本发明腺苷衍生物的MMP酶及TIMP酶蛋白质表达效能实验

[0477] 为了确认本发明腺苷衍生物对于小梁网组织的抗纤维化效能是否与调节细胞外基质的变化的MMP及TIMP酶蛋白质的表达有关, 进行了以下动物实验。

[0478] 对于在实验例10中完成测量眼压的各个实验动物的眼球组织, 以MMP及TIMP酶为对象, 测量了MMP及TIMP酶的蛋白质和mRNA表达量, 且将其结果示出在图14至图17。图14及图15分别示出MMP (MMP2、MMP9) 及TIMP (TIMP1、TIMP2) 酶的蛋白质表达量, 图16及图17示出mRNA表达量。在图14至图17中, 正常组 (Normal) 表示在实验例10中没有进行地塞米松处理的动物的表达量, 对照组 (Control) 表示在实验例10中仅施用赋形剂的动物的表达量, 乙酰唑胺 (Acetazolamide) 表示在实验例10中施用乙酰唑胺的动物的表达量。

[0479] 如图14至图17所示, 可以确认以下内容: 在仅施用赋形剂的动物或施用作为眼压降低剂的乙酰唑胺的动物小梁网组织中, 相比于正常组 (Normal), MMP酶的蛋白质和mRNA表达量显著减少, TIMP酶的蛋白质和mRNA表达量显著增加。与此不同地, 在按照20mg/kg适用实施例2的化合物的动物 (每天给药1次) 和按照10mg/kg施用的动物 (每天给药2次) 的小梁网组织中, 相比于正常组 (Normal), MMP酶的蛋白质和mRNA表达量显著增加, TIMP酶的蛋白质及mRNA表达量显著减少。

[0480] 通过如上所述的一系列的实验结果, 确认了本发明的腺苷衍生物通过双重药理机

制 (dual mechanism) 来发挥下降眼压的作用, 其中, 双重药理机制包括: 腺苷A3受体拮抗剂共同具有的、通过抑制眼房水的生成来降低眼压的效果, 以及通过抑制小梁网组织的纤维化来促进眼房水的排出。

[0481] 市售的青光眼治疗剂通过以上提及的两种药理机制中的一种机制来降低眼压, 但是本发明的腺苷衍生物具有两种作用机制, 因此可以确认本发明的腺苷衍生物能作为非常适合于青光眼的预防及治疗的组合物来进行使用。

[0482] <实验例13>本发明的腺苷衍生物的物理化学特性试验

[0483] 为了针对本发明的腺苷衍生物的物理化学特性进行试验, 在体外 (in vitro) 对实施例2的化合物进行了实验, 并且将其结果列示在表6。血浆 (plasma) 稳定性 (stability) 及蛋白质结合度 (protein binding) 是利用大鼠 (Rat) 和人 (Human) 的血浆进行了测量。

[0484] [表6]

[0485]

物性 (ADME特性)	值
动力学溶解度 [®]	361.0 μ M (148.8 μ g/ml)
平衡溶解度	6.7 μ M (2.76 μ g/ml)
Log P	3.18
pKa	11.33
PAMPA	-4.49
血浆稳定性	>99.9 (Rat)、98.9 (Human)
血浆蛋白质结合	90.2 (Rat)、98.7 (Human)

[0486] 如表6所示, 能确认本发明腺苷衍生物具有适合于利用口服制剂的口服给药的吸收、分布、代谢及排泄 (ADME) 的特性值。

[0487] <实验例14~18>对于本发明腺苷衍生物的口服给药的药理学试验

[0488] 为了试验本发明腺苷衍生物的口服给药后的吸收、分布、代谢及排泄 (ADME) 的特性, 在体内 (in vivo) 测量了实施例2的化合物的药动 (Pharmacokinetic, PK) 特性。

[0489] 如表7所示, 将实施例2的化合物以不同的给药方式施用于实验动物。静脉给药采取了通过插入大腿静脉的管 (tube) 给药的方式, 口服给药则采取了利用经口灌胃 (oral gavage) 由口腔给药的方式。

[0490] [表7]

[0491]

实验例	实验动物	给药方法
14-1	8周龄雄性SD大鼠	按照5mg/kg将实施例2的化合物予以静脉给药
14-2	8周龄雄性SD大鼠	按照5mg/kg将实施例2的化合物予以口服给药
15-1	8周龄雄性SD大鼠	按照2mg/kg将实施例2的化合物予以静脉给药
15-2	8周龄雄性SD大鼠	按照10mg/kg将实施例2的化合物予以口服给药
16	8周龄雄性ICR小鼠	按照10mg/kg将实施例2的化合物予以口服给药
17-1	犬	按照2mg/kg将实施例2的化合物予以静脉给药
17-2	犬	按照10mg/kg将实施例2的化合物溶解到溶剂后口服 给药
17-3	犬	按照10mg/kg将实施例2的化合物以胶囊内粉末的状 态予以口服给药
18-1	8周龄雄性SD大鼠	按照10mg/kg将实施例2的化合物溶解至0.5wt%甲基 纤维素（2mL/kg）后口服给药
18-2	8周龄雄性SD大鼠	按照10mg/kg将实施例2的化合物溶解至混合了5wt% DMSO、40wt% PEG400、55wt% D.W的溶剂后口服 给药

[0492] 给药后在24小时内以规定时间间隔采血,并且对血液进行离心后分离出血浆,并且使用适当的有机溶剂对血浆样品进行预处理后根据LC-MS/MS分析浓度。利用WinNonlin (Pharsight,USA) 分析实施例2的化合物的血中浓度-时间数据,并通过图20至图24示出了其曲线图,而表8至表12示出了根据其算出的非房室模型的药代动力学参数(noncompartmental pharmacokinetic parameter)的结果。图18至图22中,I.V.表示静脉给药组,P.O.表示口腔给药组,并且表13示出了对表8至表12的各参数的定义。

[0493] [表8]

[0494]

参数	I.V., 5 mg/kg	P.O., 5 mg/kg
T _{max} (h)	NA	1.33 ± 0.577
C _{max} (µg/mL)	NA	1.45 ± 0.255
T _{1/2} (h)	3.6 ± 0.589	3.26 ± 0.945
AUC _t (µg·h/mL)	14.04 ± 2.55	6.98 ± 0.584
AUC _∞ (µg·h/mL)	14.11 ± 2.59	7.04 ± 0.551
CL (L/h/kg)	0.363 ± 0.07	NA
V _{ss} (L/kg)	0.881 ± 0.203	NA
F _t (%)	NA	49.74

[0495] NA,not applicable;ND,not detected;NC,not calculated

[0496] [表9]

[0497]

参数	IV, 2 mg/kg	PO, 10 mg/kg
T _{max} (hr)	-	2.42 ± 3.13
C _{max} (µg/mL)	-	2.71 ± 0.183
T _{1/2} (hr)	6 ± 2.98	3.34 ± 0.075
AUC _t (µg·hr/mL)	5.2 ± 0.548	26.5 ± 5.88
AUC _∞ (µg·hr/mL)	5.49 ± 0.3	26.7 ± 0.0750
CL (L/kg/hr)	0.365 ± 0.019	-
V _{ss} (L/kg)	2.27 ± 0.863	-
F _t (%)	-	>99.9

[0498] [表10]

[0499]

参数	P.O., 10 mg/kg
T _{max} (h)	6.13 ± 3.75
C _{max} (µg/mL)	8.57 ± 1.52
T _{1/2} (h)	3.61 ± 0.3
AUC _t (µg·h/mL)	100 ± 13.2
AUC _∞ (µg·h/mL)	102 ± 13.5
CL (L/h/kg)	NA
V _{ss} (L/kg)	NA
F _t (%)	NA

[0500] NA,not applicable;ND,not detected;NC,not calculated

[0501] [表11]

[0502]

参数	G1, IV, 2 mg/kg	G2, PO, 10 mg/kg	G3, PO, 10 mg/kg
T _{max} (h)	NA	1.67 ± 0.58	2 ± 0
C _{max} (µg/mL)	NA	0.467 ± 0.073	1.14 ± 0.23
T _{1/2} (h)	2.17 ± 0.867	4.21 ± 1.41	5.53 ± 3.06
AUC _t (µg·h/mL)	0.948 ± 0.464	3.88 ± 1.03	5.64 ± 0.84
AUC _∞ (µg·h/mL)	1.07 ± 0.62	3.99 ± 1.09	6.35 ± 0.83
CL (L/h/kg)	2.27 ± 1.04	NA	NA
V _{ss} (L/kg)	6.02 ± 0.79	NA	NA
F _t (%)	NA	82.0	>99.9

[0503] NA, not applicable; ND, not detected; NC, not calculated

[0504] [表12]

[0505]

参数	0.5%MC, 10 mg/kg	现有阴性对照组, 10 mg/kg
T _{max} (hr)	1.33 ± 0.58	2.42 ± 3.13
C _{max} (µg/mL)	5.72 ± 6.11	2.71 ± 0.183
T _{1/2} (hr)	4.56 ± 2.8	3.34 ± 0.075
AUC _t (µg·hr/mL)	40.1 ± 26.8	26.5 ± 5.88
AUC _∞ (µg·hr/mL)	41.4 ± 26.03	26.7 ± 0.0750
CL (L/kg/hr)	-	-
V _{ss} (L/kg)	-	-
F _t (%)	-	-

[0506] [表13]

[0507]

参数	说明
T _{max} (hr)	C _{max} 的时间 (time for C _{max})
C _{max} (µg/mL)	最大血浆浓度 (maximum plasma concentration)
T _{1/2} (hr)	终末半衰期 (terminal half-life)
AUC _t (µg·hr/mL)	血浆浓度-时间曲线下的面积 (areas under the plasma concentration-time curve)
AUC _∞ (µg·hr/mL)	基于时间的血浆浓度-时间曲线下的面积 (areas under the plasma concentration-time curve from time)

[0508]

CL (L/kg/hr)	血浆的总清除率 (total clearance from plasma)
V _{ss} (L/kg)	分布的稳态体积 (steady-state volume of distribution)
F _t (%)	生物利用度 (Bioavailability) (AUC _{P.O.} /AUC _{L.V.}) ×100

[0509] 图18与表8是得自实验例14 (14-1及14-2) 的血中浓度-时间数据的曲线图及参数值,图19与表9是得自实验例15 (15-1及15-2) 的血中浓度-时间数据的曲线图及参数值。如图18、图19、表8及表9所示,本发明的腺苷衍生物的半衰期 ($T_{1/2}$) 最长为3.34小时以上,从而能实现长时间的暴露,相比于静脉给药,其生物利用度 (F_t) 最高达到99.9%以上,由此能确认其具有适合口服给药的特性。

[0510] 图20和表10是得自实验例16的血中浓度-时间数据的曲线图及参数值。如图20和表10所示,本发明的腺苷衍生物在小鼠中的半衰期 ($T_{1/2}$) 也能达到3.61小时左右,从而能实现长时间的暴露,由此能确认其具有适合口服给药的特性。

[0511] 图21与表11是得自实验例17 (17-1、17-2及17-3) 的血中浓度-时间数据的曲线图及参数值。在图21中,G2及G3各自表示了溶解在溶剂后口服给药的情形和以胶囊内粉末状态进行口服给药的情形。如图21和表11所示,本发明的腺苷衍生物在利用犬的实验中的半衰期 ($T_{1/2}$) 最高达到5.53小时以上,相比于大鼠或小鼠,可实现更久地暴露,从而具有适合口服给药的特性,尤其是以粉末状态充填在胶囊内后给药时能进一步提高半衰期 ($T_{1/2}$) 及生物利用度 (F_t) 等特性。

[0512] 图22与表12是得自实验例18 (18-1及18-2) 的血中浓度-时间数据的曲线图及参数值。如图22与表12所示,本发明的腺苷衍生物在口服给药时与甲基纤维素 (MC) 一起投入时,相比于一起投入作为现有赋形剂的二甲基亚砷 (DMSO)、聚乙二醇 (PEG)、蒸馏水 (D.W.) 等的情形更具有优异的特性。

[0513] <实验例19>本发明的腺苷衍生物的毒性试验

[0514] 为了试验本发明的腺苷衍生物的毒性,针对实施例2的化合物评估了细胞毒性 (cytotoxicity)、心脏毒性 (hERG ligand binding assay)、遗传毒性及单次给药毒性。

[0515] 首先,为了试验实施例2的化合物的细胞毒性而使用了Cyto XTM细胞存活率检测试剂盒 (Cyto XTM cell viability assay kit)。实验结果,基于实施例2的化合物的IC₅₀在各个细胞株为10 μ M以上,因此其在细胞毒性方面被评估为安全。

[0516] 为了试验实施例2的化合物的心脏毒性而使用了非电生理 (non-electrophysiological) 试验法,该试验法通过基于红色荧光hERG通道配体示踪剂 (red fluorescent hERG channel ligand tracer) 的hERG通道蛋白 (hERG channel protein) 结合程度的荧光偏振 (fluorescence polarization) 评估来对心脏稳定性进行评估。试验结果,对于实施例2的化合物10 μ M的抑制率为基准值 (50%) 以下,因此其在心脏毒性方面被评估为安全。

[0517] 为了试验实施例2的化合物的遗传毒性,利用组氨酸缺陷型沙门氏菌 (TA98、TA100、TA1535及TA1537菌株) 及色氨酸缺陷型大肠杆菌 (WP2uvrA (pKM101) 菌株),在不存在

代谢激活及存在代谢激活的情形下各自评估了实施例2的化合物的基因突变诱发性。评估结果,实施例2的化合物以与是否进行代谢激活无关的方式在各菌株的所有使用量中回复突变克隆数没有超过阴性对照组的2倍,也没有观察到使用量依赖性的增加现象,而在阳性对照组中针对各菌株的回复突变菌落数相比于阴性对照组则确实增加了2倍以上。从上述结果得知,实施例2的化合物在遗传毒性方面被评估为安全。

[0518] 为了试验实施例2的化合物的单次给药毒性,将实施例2的化合物按照2000mg/kg分别单次给药至五只雄性大鼠 (male rat) 和五只雌性大鼠 (female rat)。试验结果,实验动物没有死亡,根据上述结果,实施例2的化合物在单次给药毒性方面被评估为安全。

[0519] 表14是整理了上述本发明的腺苷衍生物的毒性试验结果的表。从表14可确认,本发明的腺苷衍生物在细胞毒性、心脏毒性、遗传毒性及单次给药毒性方面是安全的。

[0520] [表14]

[0521]

试验种类	毒性
细胞毒性评估	没有发现

[0522]

心脏毒性评估	没有发现
遗传毒性评估	没有发现
单次给药毒性评估	没有发现

[0523] <实验例20>包括本发明腺苷衍生物的口服制剂的稳定性评估

[0524] 为了对包括本发明腺苷衍生物的口服制剂的稳定性进行评估,进行了以下实验。

[0525] 将可用作口服制剂的赋形剂的0.5wt%甲基纤维素加入至实施例2的化合物,并进行超声处理 (sonication) 而使其均质化后,分成室温下保管的组和 4°C 条件下保管的组,并且分别在1、3、7及10天后,利用沃特世 (Waters) 超高效液相色谱 (UPLC) 与作为对照组的0.5%甲基纤维素比较浓度来测量稳定性 (stability),且将其结果列示在表15。

[0526] [表15]

[0527]

保管条件		稳定性 (%)		
		200 μ g/ml	1000 μ g/ml	3000 μ g/ml
对照组		100 \pm 28.7	100 \pm 9.55	100 \pm 5.40
室温 (RT) 下保管	1 天后	84.3 \pm 4.10	82.7 \pm 16.3	90.5 \pm 6.44
	3 天后	76.3 \pm 8.12	82.7 \pm 37.0	80.5 \pm 5.01
	7 天后	80.9 \pm 14.6	75.4 \pm 6.66	101 \pm 13.2
	10 天后	90.3 \pm 23.2	94.2 \pm 9.17	92.2 \pm 2.17
在 4 $^{\circ}$ C 条件下保管	1 天后	118 \pm 21.4	76.5 \pm 11.7	84.8 \pm 17.9
	3 天后	125 \pm 40.2	87.6 \pm 9.26	94.8 \pm 2.55
	7 天后	88.3 \pm 17.3	80.1 \pm 27.7	89.7 \pm 8.30
	10 天后	93.8 \pm 44.8	79.5 \pm 22.0	99.0 \pm 3.87

[0528] 如表15所示,当本发明的腺苷衍生物配制为口服制剂时,其稳定性未表现出根据保管条件及保管时间的显著的差异,因此可以确认本发明的腺苷衍生物适合于根据口服制剂的口服给药。

[0529] 虽然,通过以上内容说明了本发明的实施例,但是本领域技术人员应当理解在不改变本发明的技术思想或必要特征的前提下,还可以用其他具体实施方式来实施本发明。因此,以上描述的实施例仅仅是示例性的,且其并不用于限定本发明。

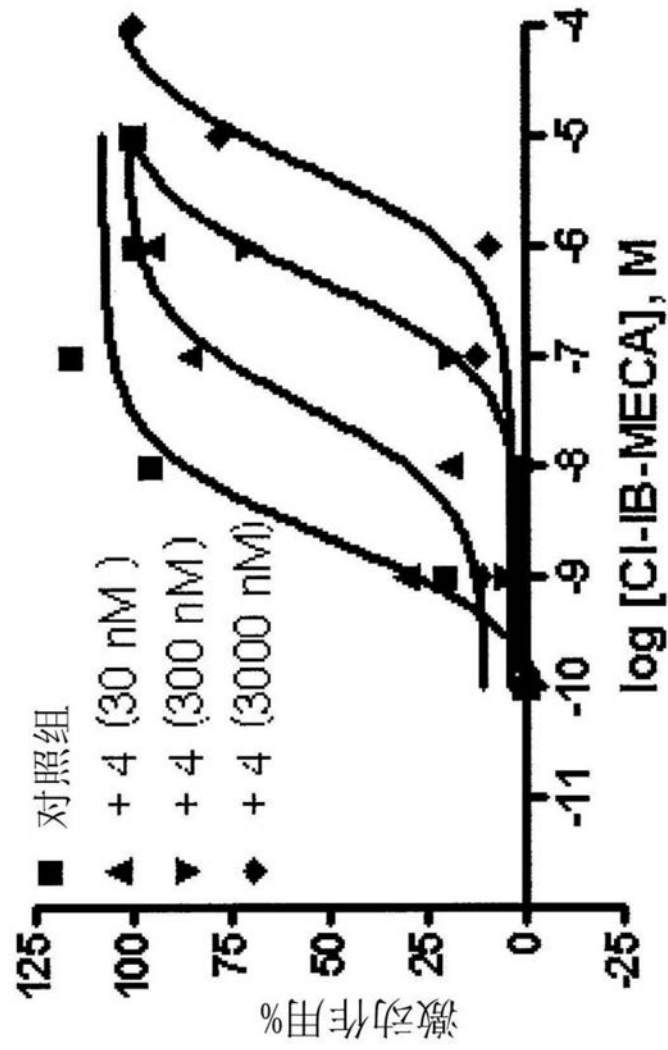


图1

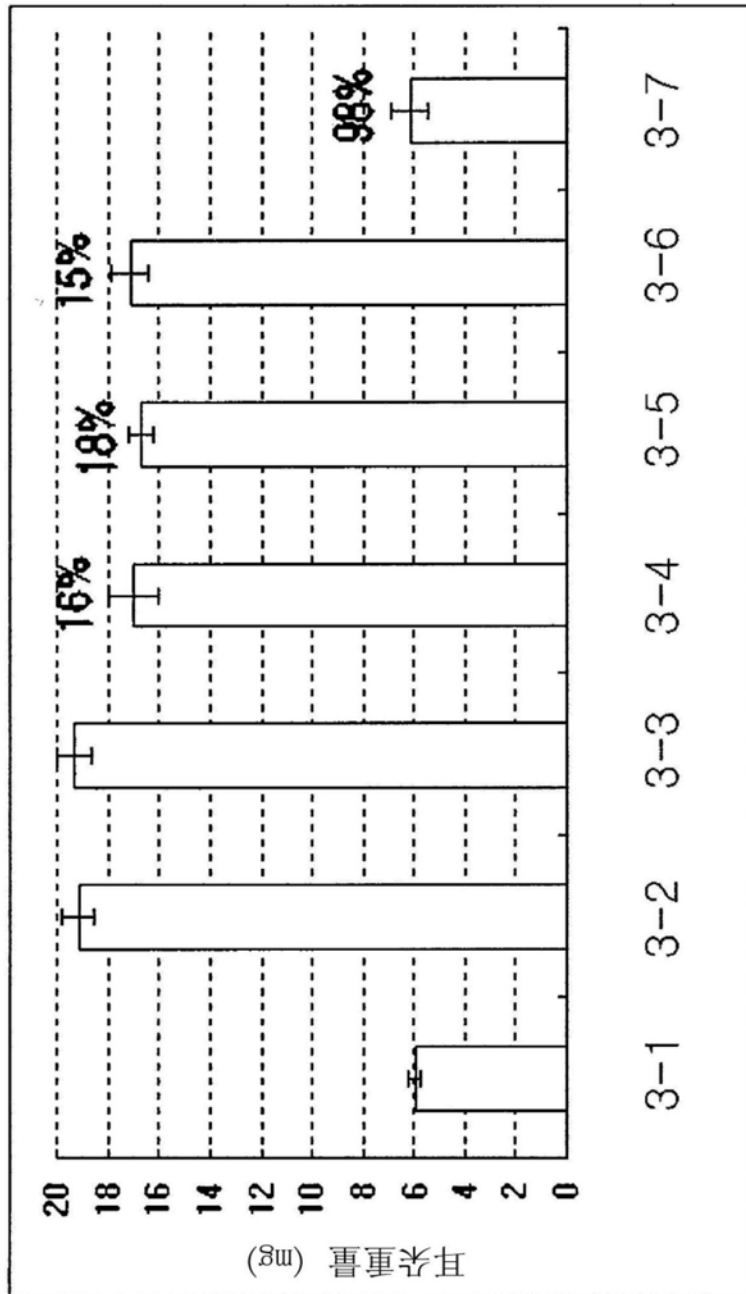


图2

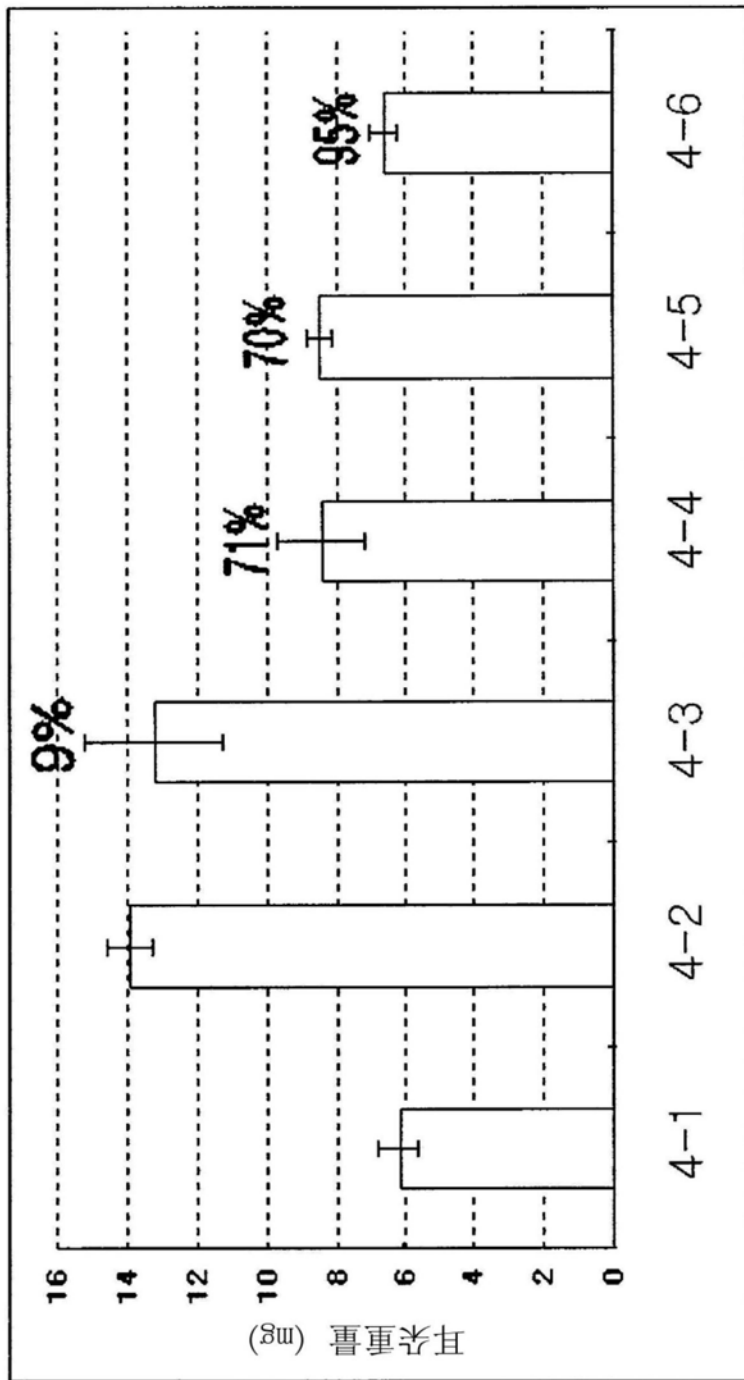


图3

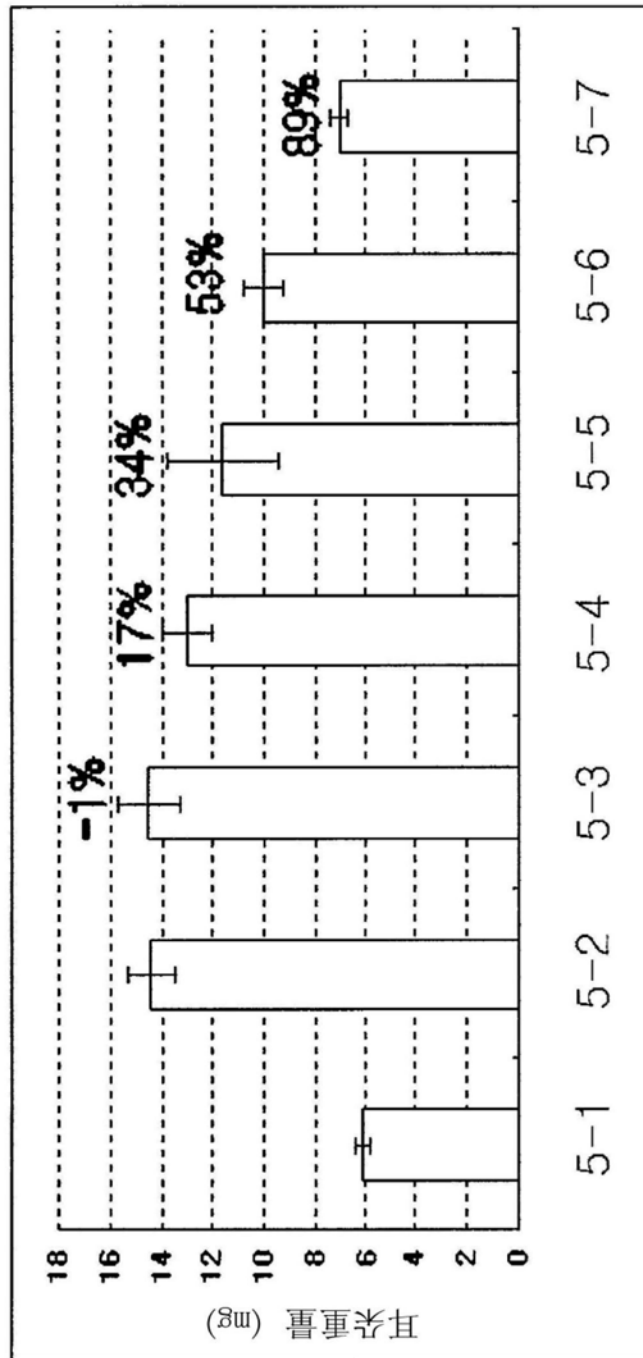


图4

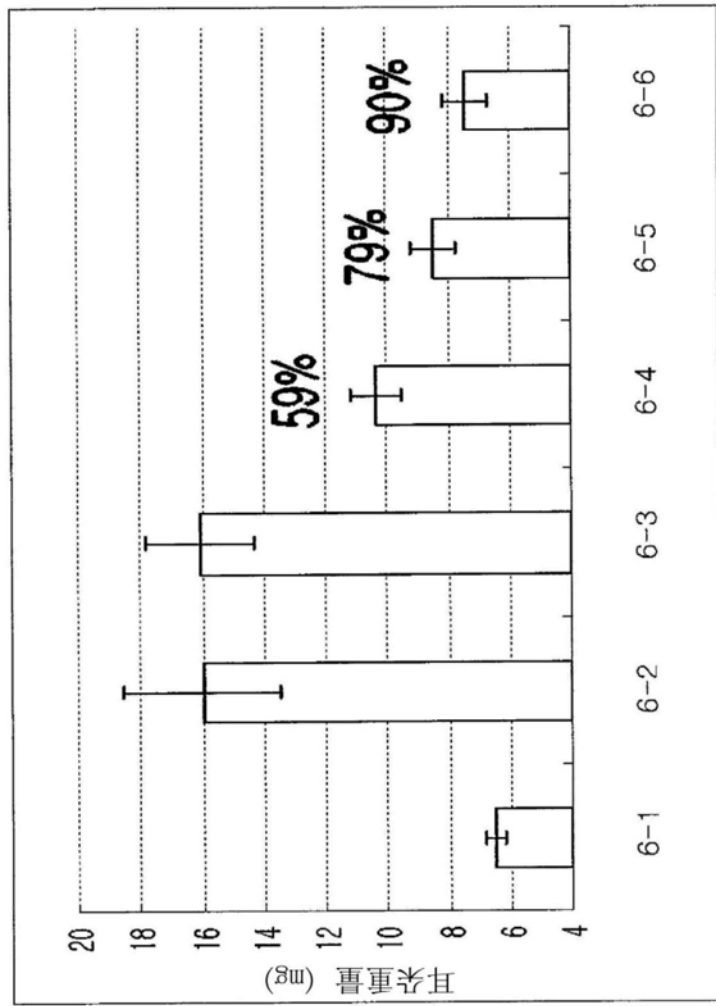


图5

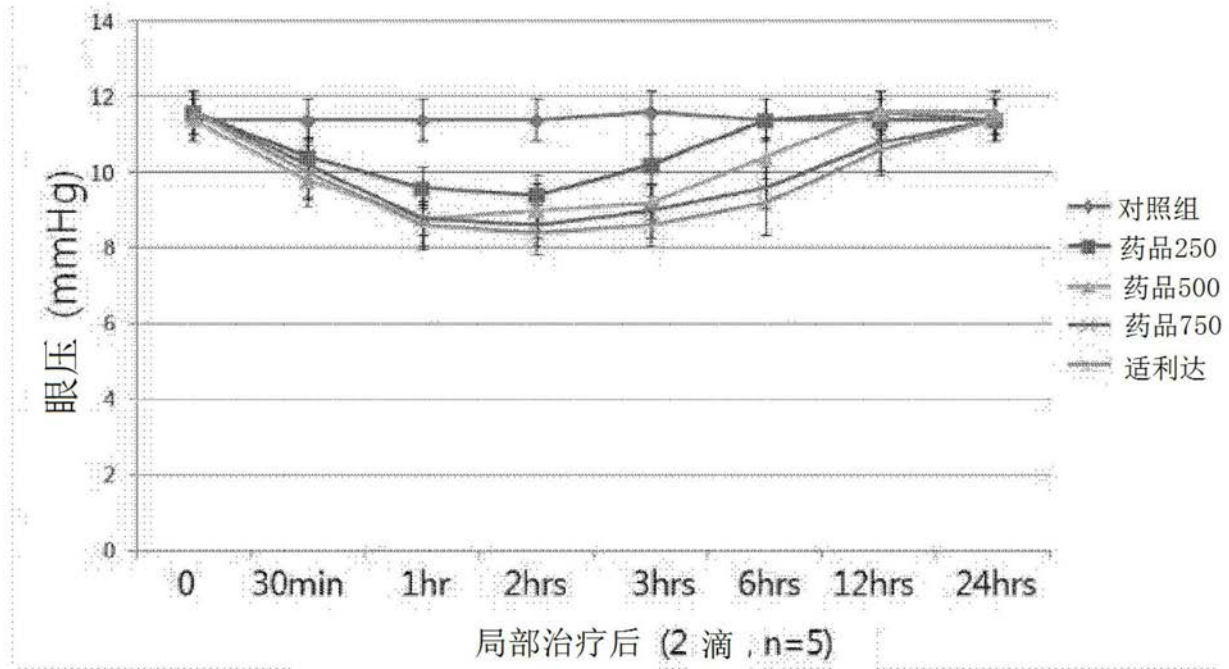


图6

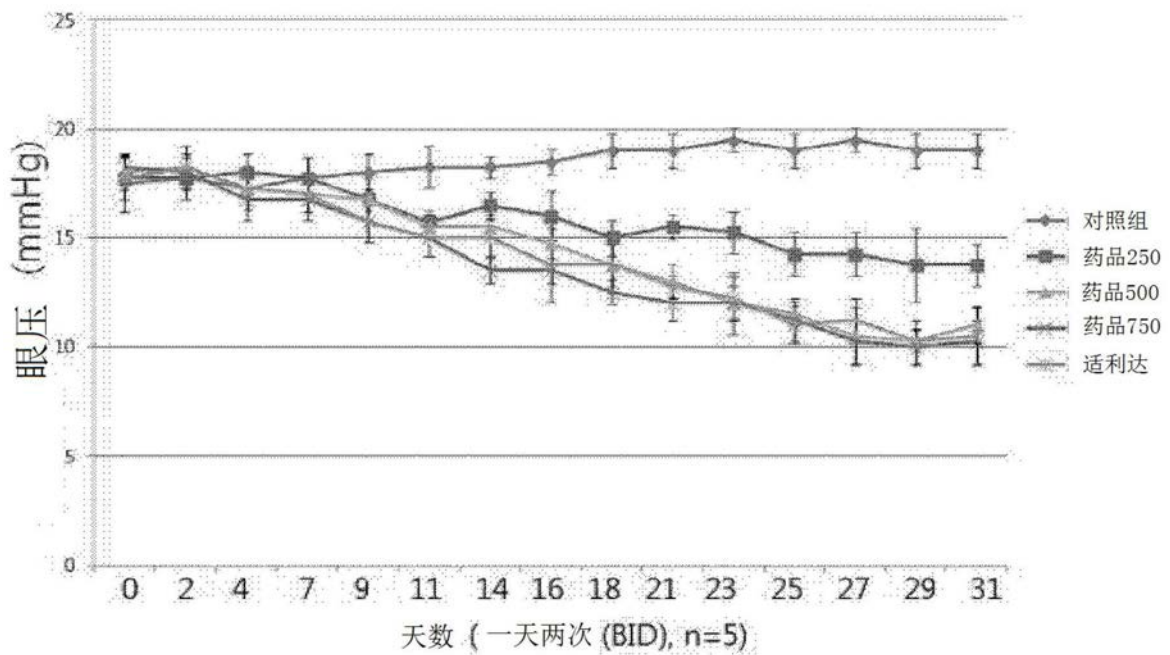


图7

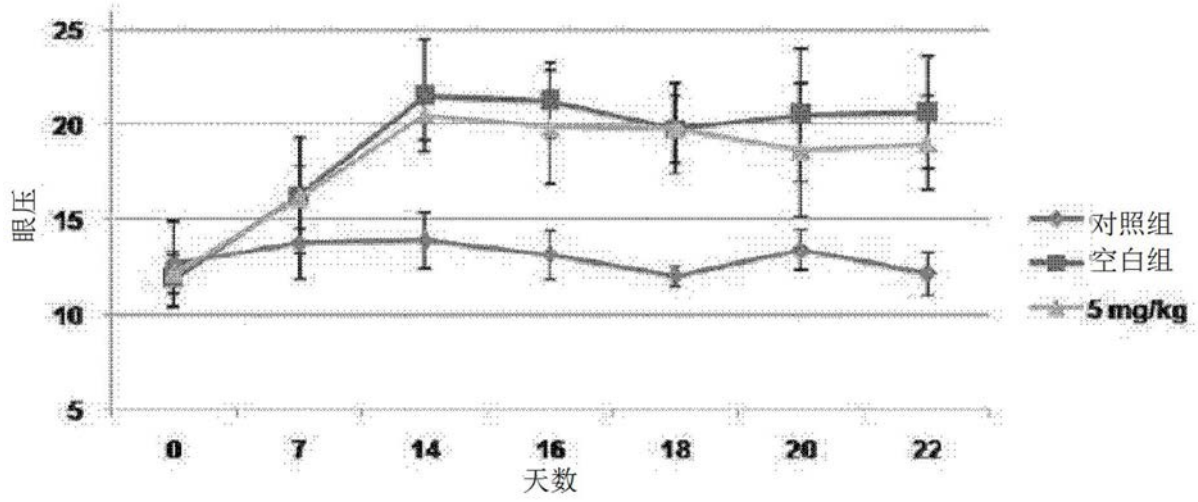


图8

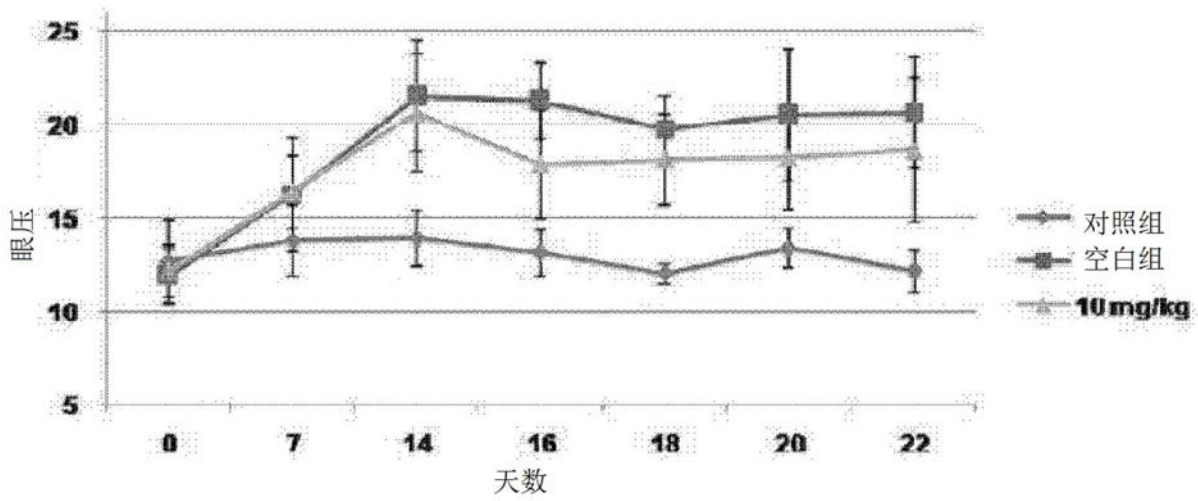


图9

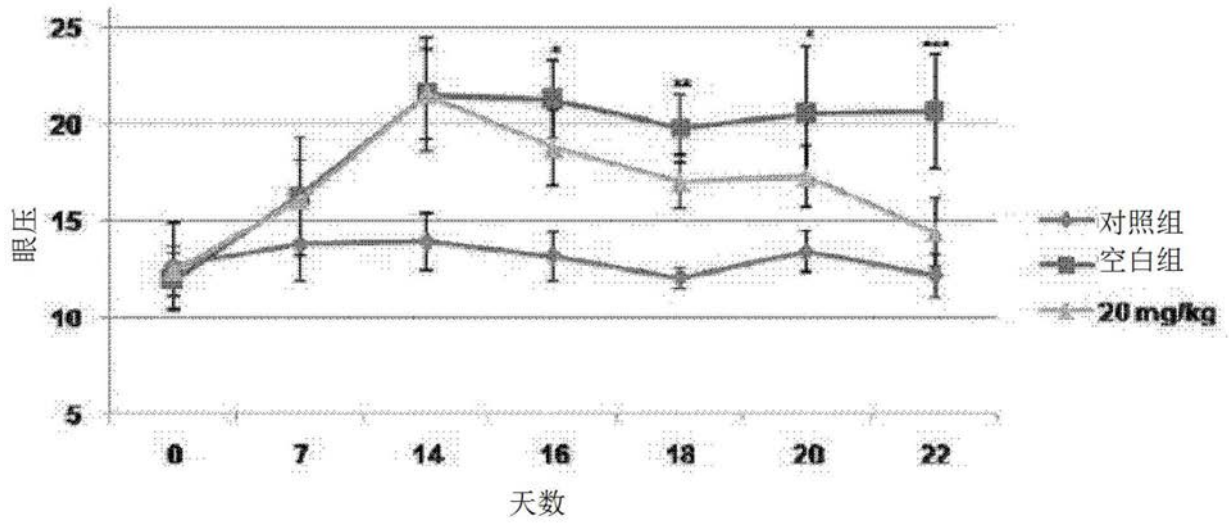


图10

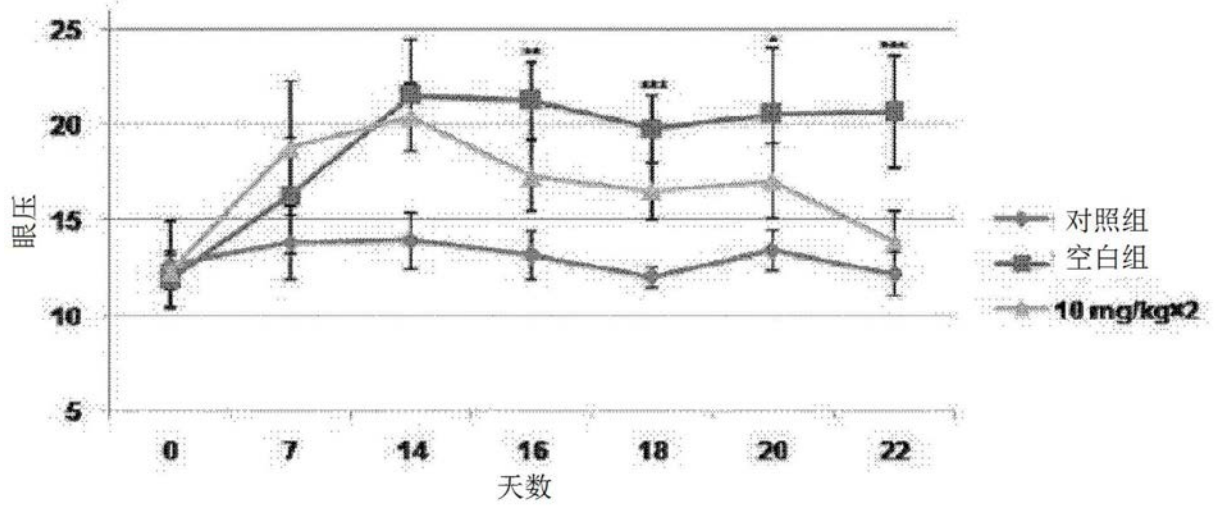


图11

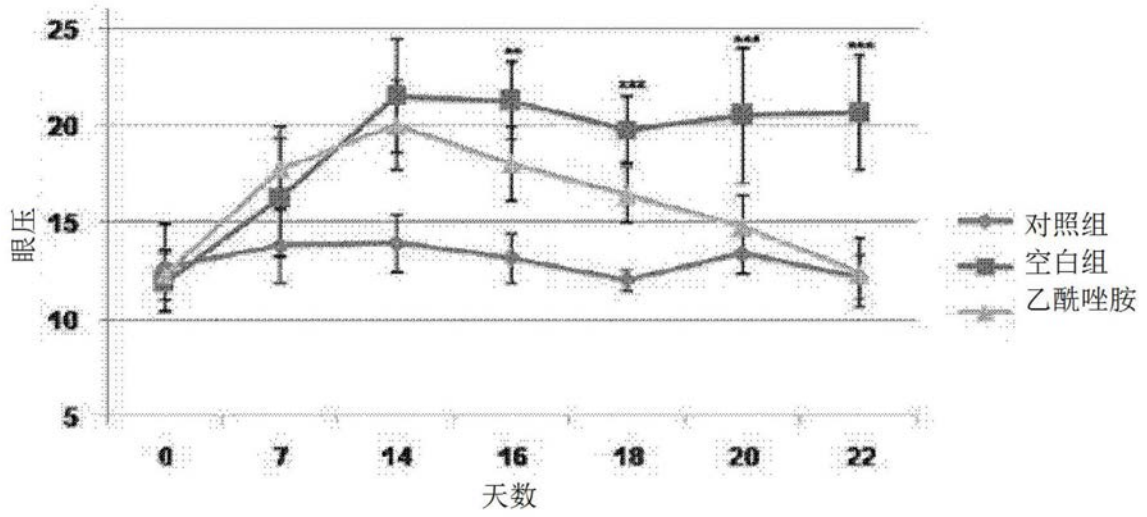


图12

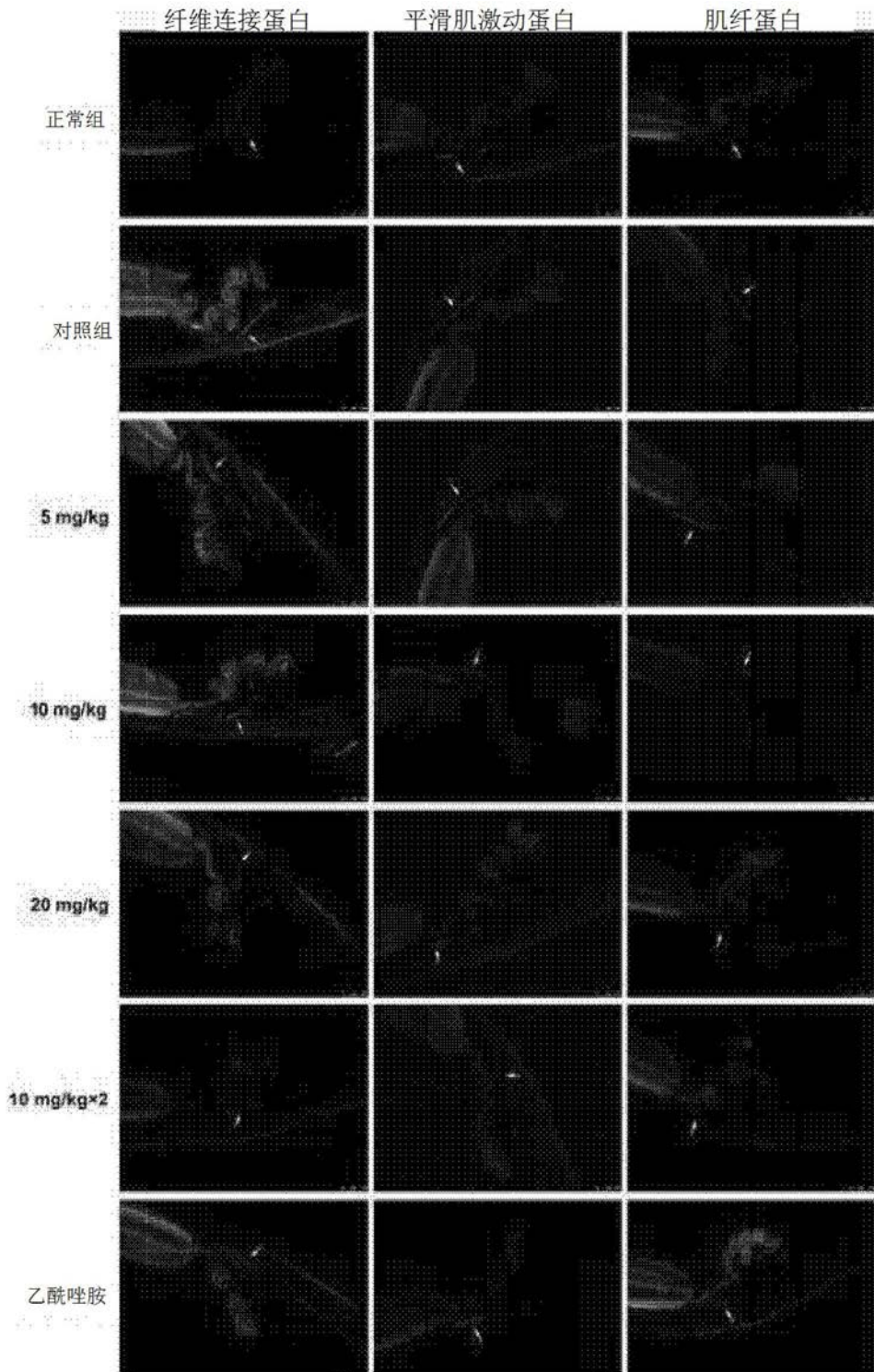


图13

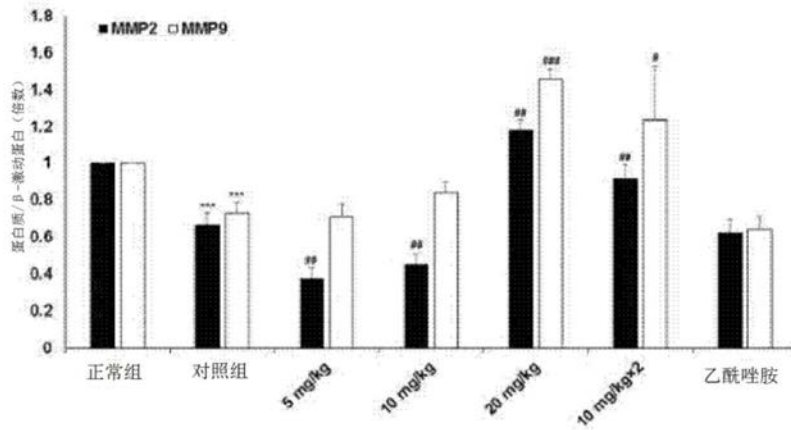


图14

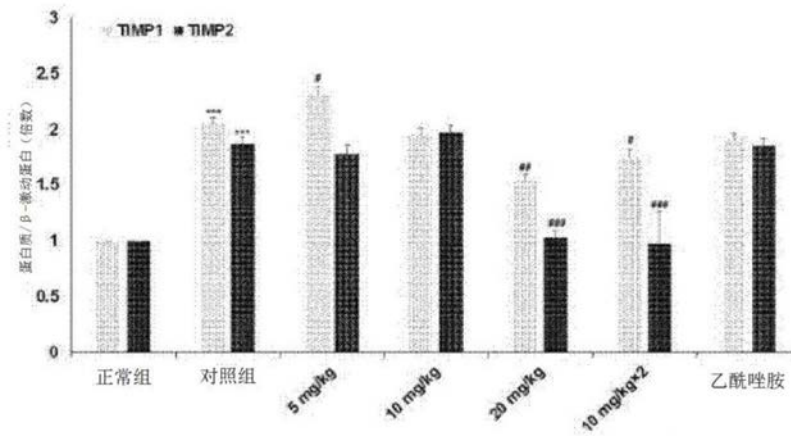


图15

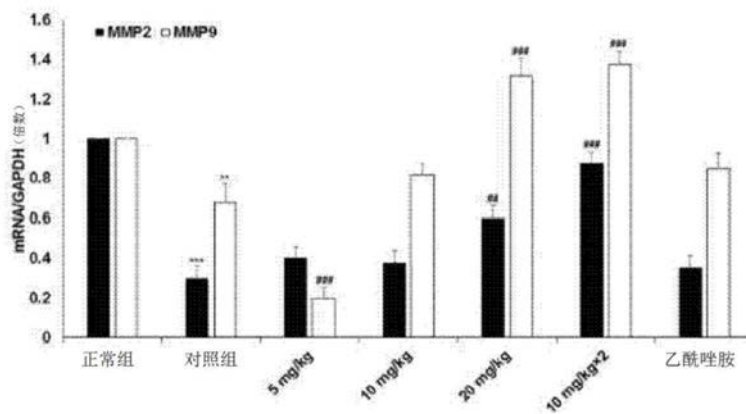


图16

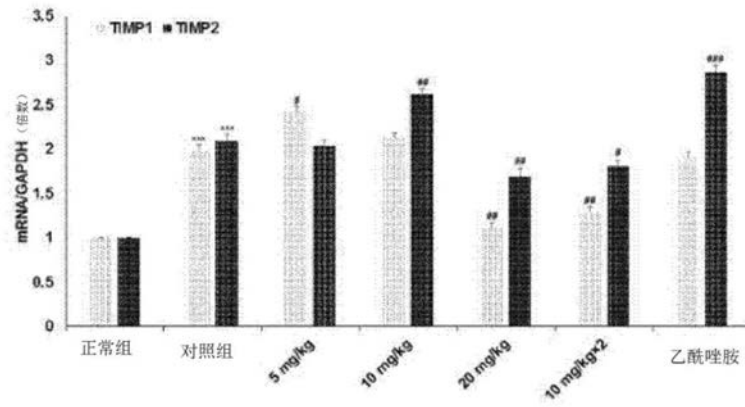


图17

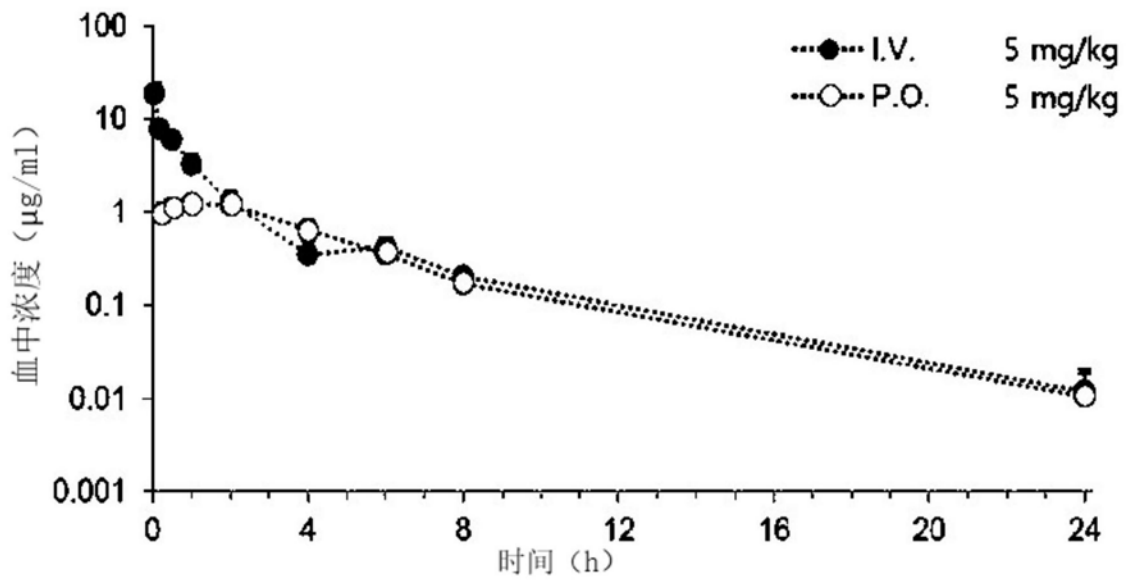


图18

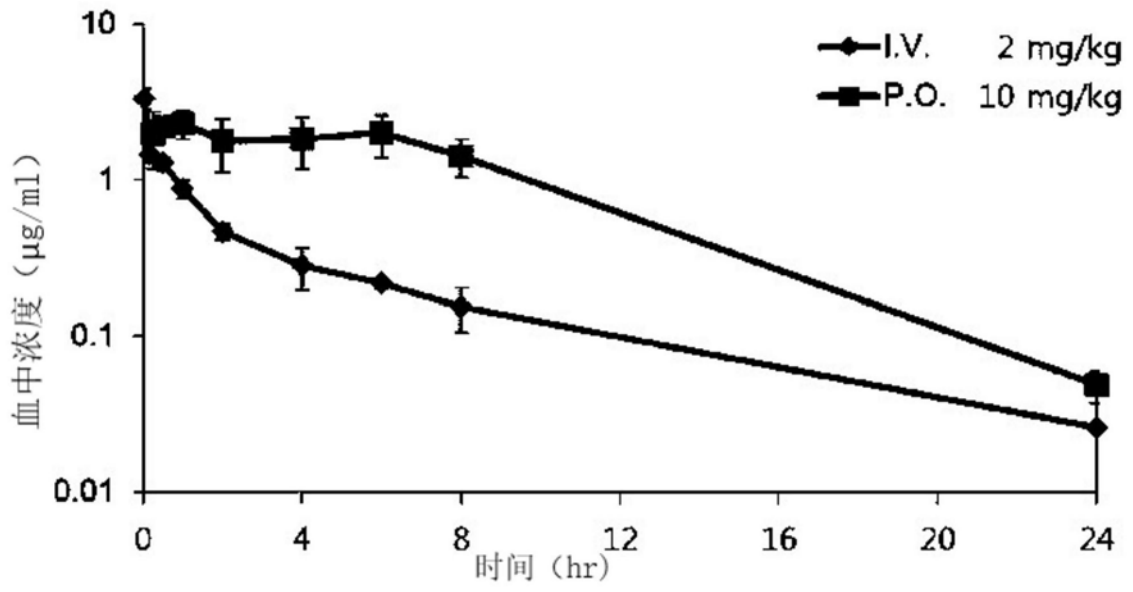


图19

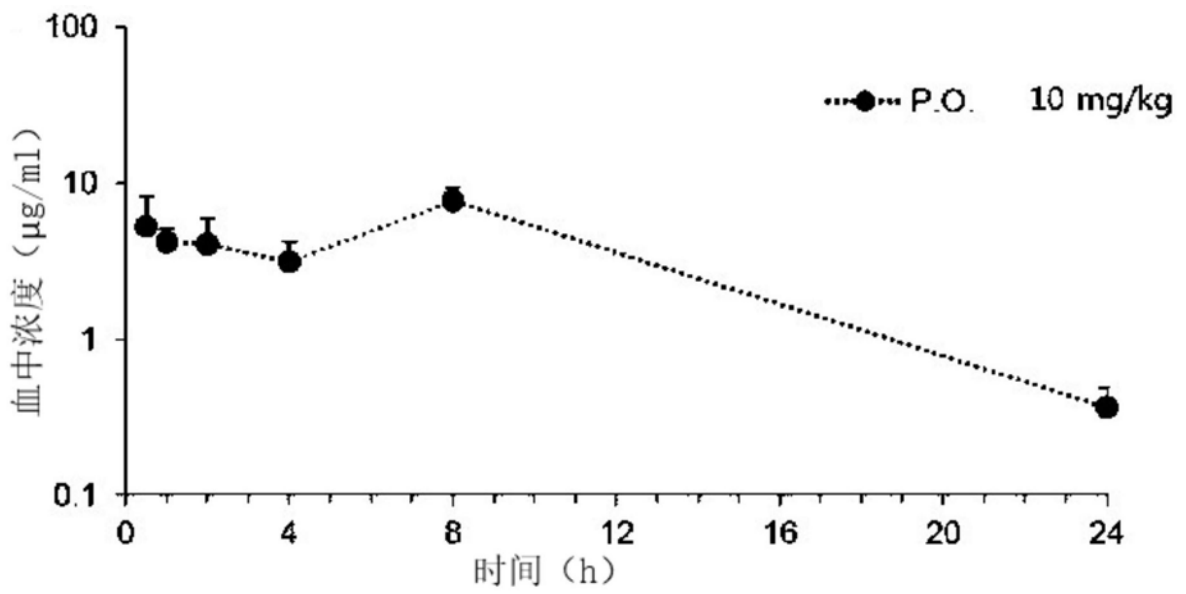


图20

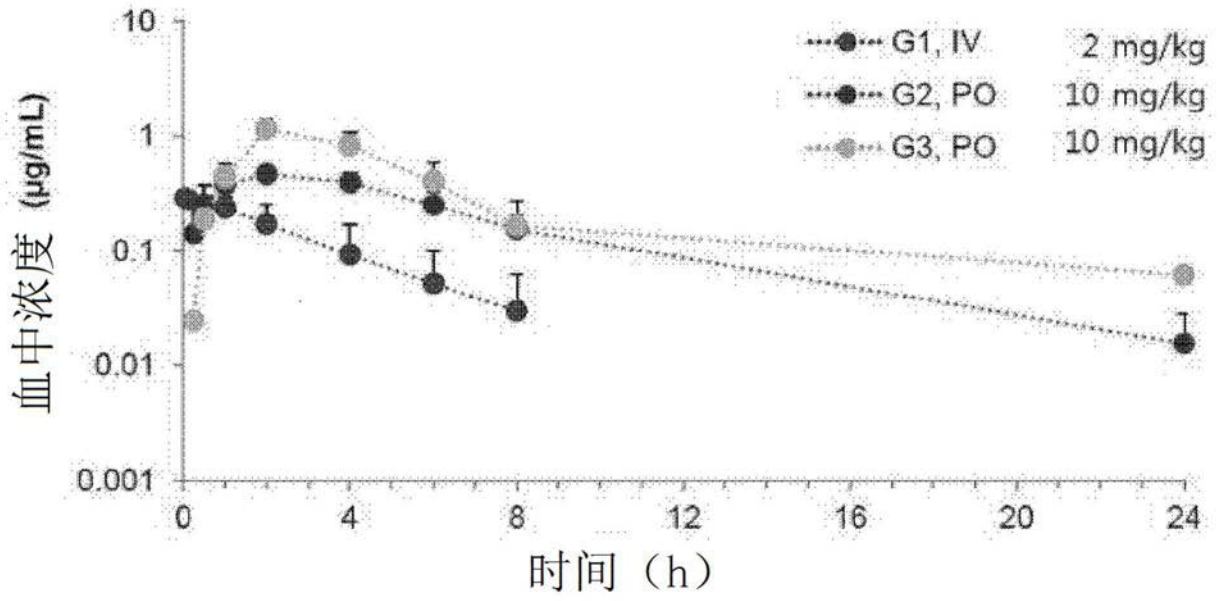


图21

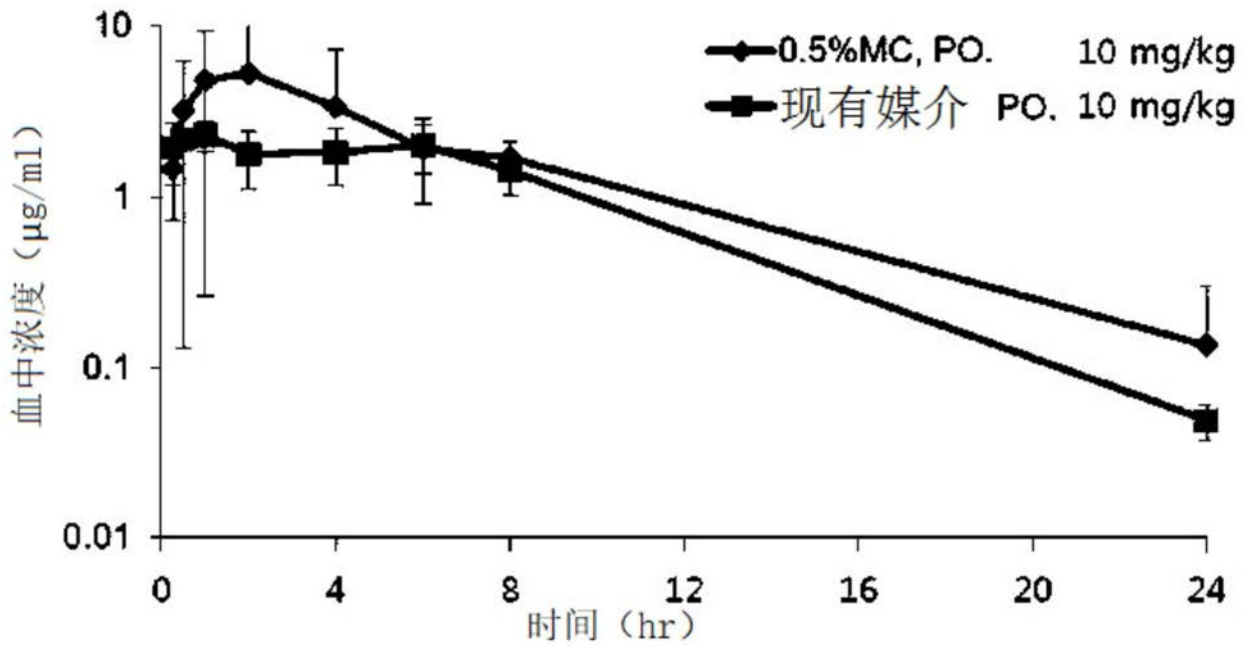


图22