



## (54) 아데노신 수용체 아고니스트 또는 길항제를 포함하는 제약조성물

### 요약

아데노신 수용체 아고니스트, 특히 A3 아데노신 수용체에 결합하는 아고니스트는 신체 내에서 G-CSF의 생성 또는 분비를 유도하고, 약물의 독성 부작용을 예방 또는 치료하거나, 백혈구감소증, 특히 약물-유도 백혈구감소증을 예방 또는 치료하고, 비정상 세포의 성장 및 증식을 억제하는데 사용된다.

### 색인어

아데노신 수용체 아고니스트, 아데노신 수용체 길항제, G-CSF, 백혈구감소증

### 명세서

#### 기술분야

본 발명은 일반적으로 암에 관한 것으로, 암 치료요법 또는 암 치료의 부작용을 길항하기 위한 요법에 관한 것이다.

#### 배경기술

##### <선행기술>

하기는 본 발명의 분야에서 선행 기술의 상태를 설명하는데 적절한 것으로 여겨지는 선행 기술의 목록이다. 본원에서 이들 참고문헌의 참조는 괄호 내에 하기의 이들 목록의 번호를 나타냄으로써 이루어질 것이다.

1. Linden J. The FASEB J. 5:2668:2676 (1991);
2. Stiles G.L. Clin. Res. 38:10-18 (1990);
3. Stolfi R.L., et al. Cancer Res. 43:561-566 (1983);
4. Belardinelli L. et al. Prog. Cardiovasc. Dis. 32:73-97 (1989);
5. Collis M.G., Pharmacol. Ther. 41:143-162 (1989);
6. Clark B. and Coupe M. Int. J. Cardiol. 23:1-10 (1989);
7. Dubey R.K. et al. Circulation 96:2656-2666 (1997);
8. Soderback U. et al. Clin. Sci. 81:691-694 (1994);
9. Gilbertsen R.B. Agents actions 22:91-98 (1987);
10. Bouma M.G. et al. J. Immunol. 153: 4159-4168 (1994);
11. Rozengurt E. Exp. Cell Res. 139:71-78 (1982);
12. Gonzales F.A., et al., PNAS USA 87:9717-9721 (1990);
13. Sandberg G. and Fredholm B.B., Thymus 3:63-75 (1981);

14. Pastan I.H. et al. Annu. Rev. Biochem. 44:491-495 (1975);
15. WO 99/02143;
16. Fishman P., et al. Cancer Res. 58:3181-3187 (1998);
17. Djaldetti M. et al. Clin. Exp. Metastasis 14: 189-196 (1996);
18. Fishman P. et al. Caner Research 58:3181-3187 (1998).

<배경 기술>

골수독성은 화학치료의 일반적이고 심각한 합병증이고, 화학치료 약물의 투여가능한 용량을 제한하는 인자 중 하나이다. 이는 임의의 다른 화학치료의 부작용보다 환자의 이환율 및 실제적인 사망률을 더욱 위협하며, 병원 입원 기간을 더욱 연장시킬 수 있다. 또한, 약물에서 유도된 골수억제는 위험한 환자에게 더욱 효과적일 수 있는 화학치료의 투여량을 제한한다. 이러한 불리한 점을 해결하기 위한 여러가지 접근법에는 리튬, 프로스타글란딘 E, 인터페론, 락토페린 및 성장 인자인 과립구-마크로파지 콜로니 자극 인자(GM-CSF) 및 과립구-콜로니 자극 인자(G-CSF)의 사용이 포함된다. 최근까지, G-CSF와 같은 성장 인자의 사용이 호중구감소증의 암 환자를 위한 표준 요법이다. 이는 조혈 원시세포의 증식 및 분화를 자극하고, 또한 호중구 및 마크로파지의 기능성 활성을 조절한다. 그러나 G-CSF 치료는 비용이 들고, 재조합 단백질이기 때문에 부작용이 수반된다.

내인성 푸린 뉴클레오시드인 아데노신은 포유동물 세포 종류 어디에나 존재한다. 혈장 및 다른 세포외액에 존재하는 아데노신은 세포 표면 수용체를 통해 그의 각종 생리적 효과를 조정하는 중요한 조절 단백질이다. 이는 대사적으로 활성화되거나 스트레스를 받은 세포로부터 세포외 환경으로 방출된다. 이는 A1, A2 및 A3 막 수용체와 관련된 특정 G-단백질과의 결합을 통해 작용하는 것으로 알려져 있다<sup>(1-2)</sup>. 아데노신과 그의 수용체와의 상호작용은 신호 전달 경로, 주로 이차전령으로 cAMP를 사용하는 아데닐레이트 시클라제 효과기 시스템을 개시한다. Gi 단백질과 짝지어진 A1 및 A3 수용체가 아데닐레이트 시클라제를 억제하고 세포내 cAMP의 수준을 감소시키는 반면, Gs 단백질과 짝지어진 A2 수용체는 아데닐레이트 시클라제를 활성화시키고, 이로써 cAMP의 수준이 상승된다<sup>(3)</sup>.

아데노신에 대한 특정 표면 수용체가 거의 모든 세포에서 발견되기 때문에, 대부분의 모든 신체 기관계는 그의 국소 방출에 의해 어느 정도 조절된다. 이에선 심장의 전기생리적 특성의 조절, 신경전달물질 방출의 진정 및 억제, 및 렐닌 방출 및 신장에서 혈관 긴장도의 조절이 포함된다<sup>(4-7)</sup>. 아데노신은 시토킨 방출, 혈소판 응고의 억제, 에리트로포에틴 생성의 유도 및 림프구 기능 조절을 통해 면역계에 항염증성 활성을 포함한 다양한 영향을 미친다<sup>(8-10)</sup>. 또한, 아데노신이 몇몇 중추 신경계(CNS) 기능의 조절, 상처 치료, 이뇨 및 통증 조절에서 작용하는 것으로 발견되었다. 아데노신이 광범위한 일반적인 세포 종류에서 증식을 유도할 수 있다는 것도 또한 설명되었다<sup>(11-14)</sup>. 세포 성장의 이러한 조절은 상기한 아데닐레이트 시클라제 효과기 시스템을 통해 조절될 것이다.

최근 연구에서, 아데노신이 화학보호제로서 작용하며, 활성이 골수세포 증식을 자극하는 그의 능력과 관련될 것이라는 것이 발견되었다. 또한, 아데노신이 명백하게 G0/G1 세포 주기 정지 및 종말 신호 감소를 통해 종양 세포 증식에 억제 효과를 주는 것으로 발견되었다<sup>(17-18)</sup>. 이중 효과는 아데노신을 암 치료에 매력적으로 만들었다.

<본 발명의 개요>

본 발명에 따라 아데노신 A3 수용체 아고니스트(A3RAg)가 한편으로는 유해 세포의 증식을 억제하고, 다른 한편으로는 화학치료 약물의 독성 부작용을 길항하는 이중 효과를 갖는다는 것이 발견되었다. 구체적으로, A3RAg 화합물은 종양 세포의 증식 및 성장을 억제하고, 종양 부하 감소에 항암 세포독성 약물과 함께 상승작용하고, 골수 세포 및 백혈구 세포의 증식 및 분화를 유도하고, 다른 약물, 특히 화학치료 약물의 독성 부작용을 길항한다. 또한, 본 발명에서는 A3RAg가 비경구 투여, 및 특히 경구 투여를 비롯한 각종 투여 형태에 의해 이들 활성을 나타낸다는 것이 발견되었다. 또한, 본 발명에서는 A3RAg 활성의 일부가 아데노신 A1 또는 A2 수용체의 다른 아고니스트 및 길항제에 의해 모방될 수 있다는 것이 발견

되었다(아데노신 A1 수용체 아고니스트(A1RAg)는 G-CSF 분비를 유도하는 능력을 A3RAg와 공유하고, 아데노신 A2 수용체 아고니스트(A2RAg)는 유해 세포의 증식을 억제하는 능력을 A3RAg와 공유하며, 아데노신 A2 수용체 길항제(A2RAn)는 약물의 독성 부작용을 길항하는(예를 들면, 백혈구감소증을 치료 또는 예방하는) 능력을 A3RAg와 공유함).

본 발명은 가장 넓은 의미로는 하기의 요법/생물학적 효과 중 하나를 얻는 활성 성분의 용도에 관한 것이다: 신체 내에서 G-CSF의 생성 또는 분비 유도, 약물의 독성 부작용의 예방 또는 치료, 또는 백혈구감소증, 특히 약물-유도 백혈구감소증의 예방 또는 치료, 및 비정상적인 세포의 성장 및 증식 억제. 활성 성분은 A3RAg 또는 A3RAg의 사용으로 달성되는, 이들 치료 효과 중 하나를 얻을 수 있는 아데노신 수용체 시스템의 아고니스트 또는 길항제일 수 있다.

여러가지 실시태양이 본 발명에 의해 제공된다. 본원에서 "G-CSF-유도 실시태양"으로 칭하는 첫번째 실시태양은 치료받는 대상의 신체 내에 G-CSF를 분비하는, A3RAg 또는 A1RAg일 수 있는 활성 성분의 용도에 관한 것이다. G-CSF는 조혈 원시세포의 증식 및 분화를 자극하고, 호중구 및 마크로파지의 기능성 활성을 조절하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 상기한 바와 같은 G-CSF-유도체는 높은 치료값을 가질 수 있다, 예를 들면, 골수독성을 길항(즉, 방지, 감소 또는 개선)할 수 있다.

이 실시태양에 따라서, 대상에게 A3RAg, A1RAg 및 A3RAg와 A1RAg의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 활성 성분의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상의 신체 내에서 G-CSF 분비를 유도하는 방법이 제공된다. 이 실시태양에 따라서, G-CSF 형성 또는 분비 유도를 포함하는 치료 효과를 얻기 위해 상기 활성 성분의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 치료 방법이 또한 제공된다. 이 실시태양에 따라서, G-CSF 분비 유도를 위한 제약 조성물의 제조에 있어서 상기 활성 성분의 용도가 또한 제공된다. 이 실시태양에 의해 신체 내에 G-CSF의 생성 또는 분비를 유도하기 위한, 제약상 허용되는 담체 및 상기 활성 성분의 유효량을 포함하는 제약 조성물이 또한 제공된다.

본원에서 때때로 "백혈구감소증-예방 실시태양" 또는 더욱 구체적으로는 "호중구감소증-예방 실시태양"으로 칭하는 본 발명의 다른 실시태양에 따라서, A3RAg 또는 A2RAn일 수 있는 활성 성분이 골수독성으로부터 발생할 수 있는 백혈구감소증의 예방 또는 치료에 사용된다.

이 실시태양에 따라서, 대상에게 A3RAg, 아데노신 A2RAn 및 A3RAg 또는 A2RAn의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 활성 성분의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 골수 또는 백혈구 세포의 증식 또는 분화를 유도하는 방법이 제공된다. 또한, 이 실시태양에 의해 상기 활성 성분의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 백혈구감소증의 예방 또는 치료 방법이 제공된다. 또한, 이 실시태양에 따라 골수 또는 백혈구 세포의 증식 또는 분화를 유도하기 위한 제약 조성물의 제조에 있어서 상기 활성 성분의 용도가 제공된다. 또한, 이 실시태양에 따라 백혈구감소증의 예방 또는 치료를 위한 제약 조성물의 제조에 있어서 상기 활성 성분의 용도가 제공된다. 제약 조성물은 특히 백혈구감소증의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

본원에서 "독성-예방 실시태양"으로 칭하는 관련 실시태양에 따라서, 상기한 활성 성분(즉, A3RAg 또는 A2RAn 뿐 아니라 이들의 조합 중 하나)은 화학치료 약물 또는 신경이완성 약물과 같은 약물의 독성 부작용을 길항하는데 사용된다.

따라서, 후자의 실시태양에 의해 A3RAg, A2RAn 및 A3RAg와 A2RAn의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 활성 성분의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에게 투여하는 것을 포함하는, 약물의 독성 부작용을 예방 또는 치료하는 방법이 제공된다. 또한, 이 실시태양에 따라서 약물-유도 독성의 예방 또는 치료를 위한 제약 조성물의 제조에 있어서 상기 활성 성분의 용도가 제공된다. 또한, 이 실시태양에 의해 상기 활성 성분의 유효량 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 약물의 독성 부작용의 예방 또는 치료를 위한 제약 조성물이 제공된다.

일반적으로 약물-유도 백혈구감소증 또는 약물-유도 독성 부작용을 길항하기 위해서, 때때로 이러한 독성 부작용이 있는 약물을 2가지의 혼합 투여를 위해 상기 활성 성분과 함께 제형화하는 것이 바람직하다. 따라서 본 발명은 또한 치료받는 대상에게 독성 부작용을 일으킬 수 있는 약물과 상기 활성 성분의 조합을 포함하는 제약 조성물 뿐 아니라 이러한 제약 조성물의 제조를 위한 상기 활성 성분의 용도를 제공한다. 상기 활성 성분에는 독성 부작용의 예방 또는 치료를 위한 유효량의 상기 조성물이 포함된다.

본원에서 "증식-억제 실시태양"으로 칭하는 본 발명의 또다른 실시태양에 따라서, A3RAg, A2RAg 또는 이들 두가지의 조합일 수 있는 활성 성분이 비정상 세포의 성장, 예를 들면, 종양 세포의 성장을 선택적으로 억제하는데 사용된다.

이 실시태양에 따라서 대상에게 A3RAg, A2RAg 및 A3RAg와 A2RAg의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 활성 성분의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상에서 비정상 세포의 성장을 억제하는 방법이 제공된다. 또한, 이 실시태

양에 따라 비정상 세포의 성장을 억제하기 위한 제약 조성물의 제조에 있어서 상기 활성 성분의 용도가 제공된다. 이 실시태양에 의해 상기 활성 성분 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 비정상 세포의 성장을 억제하기 위한 제약 조성물이 또한 제공된다.

본 발명의 한 실시태양에서 활성 성분의 투여는 비정상 세포의 성장을 억제하고 이러한 영향을 주는 약물의 독성 부작용을 감소시키는 이중 치료 효과를 달성하기 위한 것이다.

본 발명에 따른 활성 성분은 A3RAg가 바람직하다. 본 발명에 따른 활성 성분의 바람직한 투여 경로는 경구 투여이다. 그러나, 다른 활성 성분 뿐 아니라 활성 성분의 다른 투여 경로가 배제되는 것은 아니다.

활성 성분, 특히 A3RAg인 활성 성분의 투여량은 바람직하게는 체중 1 kg 당 100  $\mu\text{g}$  미만이고, 통상적으로는 50  $\mu\text{g}$  미만이며, 체중 1 kg 당 1 내지 10  $\mu\text{g}$  범위가 바람직하다.

### 발명의 상세한 설명

본 발명에 따라 신규 치료 용도가 특정 활성제, 특히 아데노신 수용체 아고니스트 및 길항제에 대해 제공된다. 한 실시태양, 즉, G-CSF-유도 실시태양에 의해 일부 이러한 제제가 세포로부터 G-CSF의 생성 및 분비를 매개하는데 사용된다. 다른 실시태양, 즉, 독성-예방 실시태양에 따라서, 일부 이러한 제제가 약물, 예컨대 화학치료 약물 또는 신경이완성 약물의 독성 부작용을 길항하는데 사용된다. 다른 실시태양, 즉, 백혈구감소증-예방 실시태양에서 일부 이러한 제제가 백혈구감소증, 특히 약물-유도 백혈구감소증을 길항하는데 사용된다. 또다른 실시태양, 즉 증식-억제 실시태양에서 일부 이러한 제제가 비정상 세포의 성장을 선택적으로 억제하는데 사용된다.

본원에서 사용된 용어 "백혈구감소증"은 순환성 백혈구 세포수의 감소를 의미한다. 백혈구감소증이 보통 혈액 호중구 수의 감소(호중구감소증)를 특징으로 하나, 때때로 림프구, 단핵구, 호산구 또는 호염구 수의 감소가 검출될 수 있다.

호중구의 생성 감소 또는 과도한 비장 분리로부터 발생할 수 있는 백혈구감소증은 유전적이고 선천적인 질환으로부터 발생할 수 있다. 그러나, 이는 주로 세포환원성 암 약물, 항갑상선 약물, 폐노티아진, 항경련제, 페니실린, 숄폰아미드 및 클로람페니콜과 같은 약물로 처리한 후에 관찰된다. 일부 항종양제는 예상할 수 있는 부작용으로서 백혈구감소증을 일으킨다.

하기에서, 약물에 의한 백혈구수 또는 호중구수의 감소가 본원에서는 "약물-유도 백혈구감소증" 또는 "약물-유도 호중구감소증"으로 언급될 것이다. 또한, 백혈구감소증을 언급할 때마다 특히 "호중구감소증"을 칭하는 것으로 이해되어야 한다.

또한, 용어 "백혈구감소증의 예방 또는 치료"는 달리 발생할 수 있는 백혈구 세포수의 감소를 줄이는, 즉, 완전하게 예방하는 방법, 또는 이러한 감소가 일어난 경우 백혈구 세포수를 증가시키는 방법으로 이해되어야 한다. 백혈구감소증은 중요한 감염원 및 다른 것들에 의해 감염될 가능성이 증가하는 것과 같은 각종 부작용에 의해 명백해진다. 용어 "백혈구감소증의 예방 또는 치료"는 또한 백혈구감소증의 결과로 발생할 수 있는 파라미터의 향상을 의미하는 것으로도 이해되어야 한다.

본원의 목적을 위한 제약상 또는 치료상 "유효량"은 당업계에 공지될 수 있는 연구로 측정된다. 양은 치료의 종류 및 방법에 의존하는 목적하는 치료 효과를 달성하기에 효과적이어야 한다. 당업자에게 분명한 것처럼, 양은 향상된 생존율, 더 빠른 회복 속도, 증상의 개선 또는 경감, 또는 당업자에 의해 적합한 측정방법으로 선택되는 임의의 다른 지표를 얻는데 효과적이어야 한다. 예를 들어, 상기 활성 성분이 G-CSF 생성을 유도하기 위해 투여되는 경우, 활성 성분의 유효량은 말초혈 단핵 세포, 내피세포 또는 섬유아세포로부터 G-CSF의 생성 및 분비를 일으키는 양일 수 있고, G-CSF는 예를 들면 과립구 전구체에서 성숙 호중구로의 성숙을 자극함으로써 생성된다. 활성 성분이 약물-유도 백혈구감소증을 길항하기 위해 투여되는 경우, 활성 성분의 유효량은 각각을 약물-유도에 의한 백혈구, 특히 호중구 수의 감소로부터 방지하고, 이미 감소된 이러한 세포의 수준을 증가시킬 수 있는, 예를 들면 일반 수준 또는 때로는 그 이상으로 회복시킬 수 있는 등의 양일 수 있다. 활성 성분이 약물의 독성 부작용을 감소시키기 위해 투여되는 경우, 활성 성분의 양은 예를 들어 투여된 약물로 인한 체중 감소를 줄이는데 효과적인 양일 수 있다. 이하에서 기재되는 바와 같이 비정상 세포의 성장을 억제하기 위해 활성 성분을 투여하는 경우, 유효량은 치료받는 대상에서 이러한 세포의 증식을 억제하고, 심지어 종양을 제거하는 양일 수 있다. 항암 화학치료 약물의 효과를 증가시키기 위해 활성 성분을 투여하는 경우, 유효량은 화학요법성 치료의 암 특이성 독성을 증가시키고, 화학치료 약물 또는 약물 배합물의 목적하는 효과, 즉, 종양 부하의 감소를 달성하는데 필요한 화학치료 약물 또는 약물 배합물의 양을 감소시키는데 효과적인 양일 수 있다. 유효량의 예는 A3RAg를 매일 체중 1 kg 당 100  $\mu\text{g}$  미만으로, 통상적으로는 체중 1 kg 당 50  $\mu\text{g}$  미만으로, 임의로는 체중 1 kg 당 10  $\mu\text{g}$  미만, 예를 들면, 체중 1 kg 당 약 3 내지 6  $\mu\text{g}$

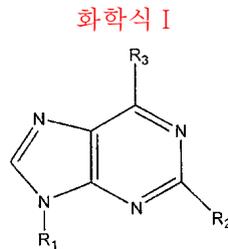
이다. A3RAg의 이러한 양은 통상적으로 매일 단일 투여되거나, 때로는 일일 투여량을 하루 동안 여러번으로 나누어 투여하거나, 특히 지효성 제제로 투여되는 경우 여럿의 일일 투여량을 단일 투여량으로 합쳐 대상에게 수일에 한번 투여할 수 있다.

본 발명에 따른 활성 성분은 A3RAg가 바람직하다. A3RAg는 A3 수용체에 결합하고 이를 활성화시켜 본 발명의 치료 효과를 얻는 임의의 아고니스트이다. 때로는 A3RAg가 다른 수용체, 예를 들면, A1 및 A2 수용체와도 상호작용할 수 있음을 인식해야 한다. 그러나, 본 발명에 따라 사용되는 A3RAg는 A3 수용체를 통해 그의 주효과를 발휘한다(즉, 다른 아데노신 수용체와의 상호작용을 통한 부가적인 효과가 있을 수 있음).

한 실시태양에 의해, 본 발명에 따른 활성 성분은 뉴클레오시드 유도체이다. 용어 "뉴클레오시드"는 당, 바람직하게는 리보스 또는 데옥시리보스, 또는 푸린 또는 피리미딘 염기 또는 당과 푸린 또는 피리미딘 염기와 조합, 바람직하게는 N-글리코실 결합을 통한 조합을 포함하는 임의의 화합물을 의미한다. 용어 "뉴클레오시드 유도체"는 상기 정의한 바와 같이 천연 뉴클레오시드, 합성 뉴클레오시드, 또는 기의 삽입, 결실 또는 엑소시클릭 및 엔도시클릭 치환에 의한 화학적 변형 또는 목적하는 생물학적 효과를 갖는 유도체를 제공하는 배열 변형이 일어난 뉴클레오시드를 의미하는데 사용된다.

본 발명의 바람직한 실시태양에 따른 활성 성분은 A3RAg이다.

본 발명의 한 실시태양에 따른 활성 성분은 하기 화학식 I의 뉴클레오시드 유도체 또는 이러한 화합물의 적합한 염, 예컨대, 그의 트리에틸암모늄염이다.



식 중, R<sub>1</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>히드록시알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>카르복시알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>시아노알킬 또는 하기 화학식 II의 기이고;



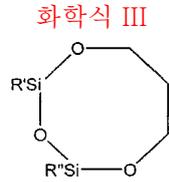
여기서,

Y는 산소, 황 또는 CH<sub>2</sub>이고;

X<sub>1</sub>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>NC(=O)- 또는 HOR<sup>c</sup>- (이때, R<sup>a</sup> 및 R<sup>b</sup>는 동일하거나 상이할 수 있고, 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, 아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>BOC-아미노알킬 및 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 함께 연결되어 2 내지 5개의 탄소 원자를 포함하는 헤테로시클릭 고리를 형성하고, R<sup>c</sup>는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬렌, 아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬렌, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬렌, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>BOC-아미노알킬렌 및 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택됨)이고;

X<sub>2</sub>는 H, 히드록실, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬아미도 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>히드록시알킬이고;

$X_3$  및  $X_4$ 는 각각 독립적으로 수소, 히드록실, 아미노, 아미도, 아지도, 할로, 알킬, 알콕시, 카르복시, 니트릴로, 니트로, 트리플루오로, 아릴, 알카릴, 티오, 티오에스테르, 티오에테르,  $-OCOPh$ ,  $-OC(=S)OPh$ 이거나,  $X_3$ 과  $X_4$  모두가  $>C=S$ 에 연결되어 5원 고리를 형성하는 산소이거나,  $X_2$  및  $X_3$ 이 하기 화학식 III의 고리를 형성하고;

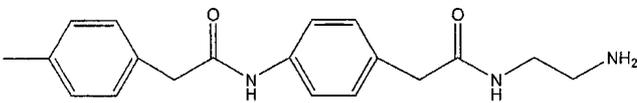


여기서, R' 및 R''은 독립적으로  $C_1-C_{10}$ 알킬이고;

$R_2$ 는 수소, 할로,  $C_1-C_{10}$ 알킬에테르, 아미노, 히드라지도,  $C_1-C_{10}$ 알킬아미노,  $C_1-C_{10}$ 알콕시,  $C_1-C_{10}$ 티오알콕시, 피리딜티오,  $C_2-C_{10}$ 알케닐,  $C_2-C_{10}$ 알키닐, 티오 및  $C_1-C_{10}$ 알킬티오로 이루어진 군으로부터 선택되고;

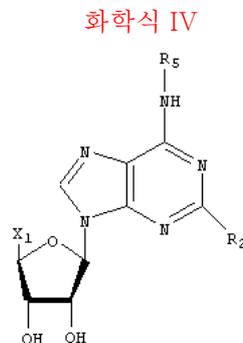
$R_3$ 은  $-NR_4R_5$  (이때,  $R_4$ 는 수소, 또는 알킬, 치환 알킬 또는 아릴-NH-C(Z)- (이때, Z는 O, S 또는  $NR^a$  (이때,  $R^a$ 는 상기 정의한 의미를 갖음)임)로부터 선택된 기임)기이고;

$R_4$ 가 수소인 경우,  $R_5$ 는 R- 및 S-1-페닐에틸, 벤질, 페닐에틸 또는 아닐리드 기로서, 이들은 치환되지 않거나  $C_1-C_{10}$ 알킬, 아미노, 할로,  $C_1-C_{10}$ 할로알킬, 니트로, 히드록실, 아세트아미도,  $C_1-C_{10}$ 알콕시 및 술폰산 또는 그의 염으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환기로 하나 이상의 위치에서 치환되거나;  $R_5$ 는 벤조디옥산메틸, 푸르푸릴, L-프로필알라닐아미노 벤질,  $\beta$ -알라닐아미노-벤질, T-BOC- $\beta$ -알라닐아미노벤질, 페닐아미노, 카르바모일, 페녹시 또는  $C_1-C_{10}$ 시클로알킬이거나  $R_5$ 는 하기 화학식의 기이거나;



$R_4$ 가 알킬, 치환 알킬 또는 아릴-NH-C(Z)-로부터 선택된 기인 경우에는  $R_5$ 는 치환 또는 비치환 헤테로아릴- $NR^a-C(Z)-$ , 헤테로아릴-C(Z)-, 알카릴- $NR^a-C(Z)-$ , 알카릴-C(Z)-, 아릴- $NR-C(Z)-$  및 아릴-C(Z)- (여기서, Z는 상기 정의된 의미를 갖음)로 이루어진 군으로부터 선택된다.

본 발명의 이 실시태양에 따라서, 활성 성분은 하기 화학식 IV의 뉴클레오시드 유도체인 것이 바람직하다.

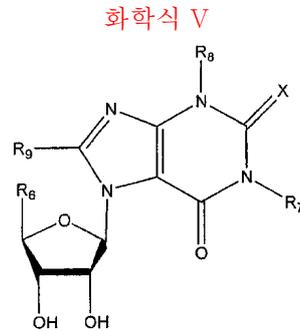


식 중,  $X_1$ ,  $R_2$  및  $R_5$ 는 상기 정의한 바와 같다.

본 발명의 이 실시태양에 따른 바람직한 활성 성분은 일반적으로 A3-선택적 아데노신 수용체 아고니스트로 발견되는 N<sup>6</sup>-벤질아데노신-5'-우론아미드 및 그의 유도체로 칭할 수 있다. 이러한 유도체의 예로는 N<sup>6</sup>-2-(4-아미노페닐)에틸아데노신 (APNEA), N<sup>6</sup>-(4-아미노-3-요오도벤질)아데노신-5'-(N-메틸우론아미드) (AB-MECA) 및 1-데옥시-1-{6-[(3-요오도도페닐)메틸]아미노]-9H-푸린-9-일}-N-메틸-β-D-리보푸란우론아미드 (또한 당업계에서 N<sup>6</sup>-3-요오도벤질-5'-메틸카르복사미도아데노신, N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)아데노신-5'-N-메틸우론아미드로 불리고 본원에서 약어 IB-MECA로 나타냄) 또는 IB-MECA의 염소화 유도체 (R<sub>2</sub>=Cl) (본원에서는 Cl-IB-MECA로 나타냄)가 있으며, IB-MECA 및 Cl-IB-MECA가 현재 특히 바람직하다.

본 발명의 다른 실시태양에 따르면, 활성 성분은 일반적으로 N<sup>6</sup>-벤질아데노신-5'-알킬우론아미드-N<sup>1</sup>-옥시드 또는 N<sup>6</sup>-벤질아데노신-5'-N-디알릴우론아미드-N<sup>1</sup>-옥시드로 칭하는 아데노신 유도체일 수 있다.

또한, 활성 성분은 하기 화학식 V의 크산틴-7-리보시드 유도체 또는 이러한 화합물의 염, 예컨대 그의 트리에틸암모늄염일 수 있다.



식 중,

X는 O 또는 S이고;

R<sub>6</sub>은 R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>NC(=O)- 또는 HOR<sup>c</sup>-이고;

여기서, R<sup>a</sup> 및 R<sup>b</sup>는 동일하거나 상이할 수 있고, 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, 아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬 및 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 함께 연결되어 2 내지 5개의 탄소 원자를 포함하는 헤테로시클릭 고리를 형성하고;

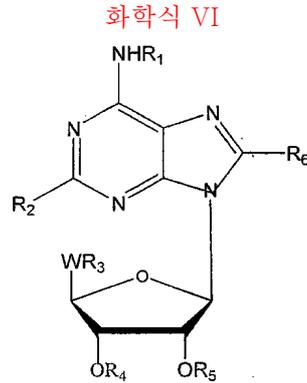
R<sup>c</sup>는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, 아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>BOC-아미노알킬 및 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬로부터 선택되고;

R<sub>7</sub> 및 R<sub>8</sub>은 동일하거나 상이할 수 있고, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬, R- 또는 S-1-페닐에틸, 비치환 벤질 또는 아닐리드기, 및 벤질기가 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, 아미노, 할로, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬, 니트로, 히드록실, 아세트아미도, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알콕시 및 술폰산으로 이루어진 군으로부터 선택된 치환기로 하나 이상의 위치에서 치환된 페닐에테르로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R<sub>9</sub>는 할로, 벤질, 페닐, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬 및 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알콕시로 이루어진 군으로부터 선택된다.

상기 정의한 화합물의 일부 및 그들의 합성 방법은 본원에 참고로 포함되는 US 5,688,744, US 5,773,423, US 6,048,865, WO 95/02604, WO 99/20284 및 WO 99/06053에서 자세하게 찾을 수 있다.

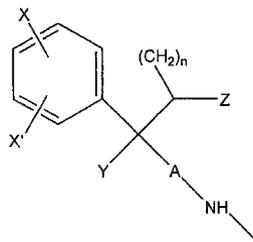
또한, GSF 유도 실시태양의 경우에서 활성 성분은 A1RAg일 수 있다. 이는 전형적으로 하기 화학식 VI의 아데노신 유도체이다.



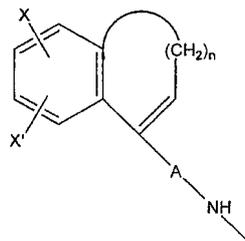
R<sub>1</sub>은 저급 알킬, 시클로알킬, 바람직하게는 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>시클로알킬 (각각 CPA 및 CHA로 공지된 잘 알려진 시클로헥실 및 시클로펜틸 함유 유도체 포함)을 나타내고, 시클로알킬기는 예를 들어, 히드록실 또는 저급 알킬로 치환될 수 있고, R<sub>1</sub>은 또한 히드록실 또는 히드록실알킬, 페닐, 아닐리드 또는 저급 알킬 페닐을 나타내고, 모두 1개 이상의 치환기, 예를 들면, 할로젠, 저급 알킬, 트리플루오로메틸과 같은 할로알킬, 니트로, 시아노, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CONR<sub>2</sub>R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>COR<sup>a</sup> (m은 0 내지 6의 정수임), -SOR<sup>c</sup>, SO<sub>2</sub>R<sup>c</sup>, -SO<sub>3</sub>H, -SO<sub>2</sub>NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, -OR<sup>a</sup>, -SR<sup>a</sup>, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>c</sup>, -NHCOR<sup>a</sup>, -NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup> 또는 -NHR<sup>a</sup>CO<sub>2</sub>R<sup>b</sup>로 임의 치환되고, 여기서

R<sup>a</sup> 및 R<sup>b</sup>는 독립적으로 수소, 저급 알킬, 알카노일, 페닐 또는 나프틸 (후자는 부분 포화될 수 있음)을 나타내고, 알킬기는 치환 또는 비치환 페닐 또는 페녹시기로 임의 치환되거나, R<sub>1</sub>이 -NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>를 나타내는 경우에, 상기 R<sup>a</sup> 및 R<sup>b</sup>는 질소 원자와 함께 산소 또는 질소로부터 선택된 2번째 헤테로원자를 임의로 포함하는 5원 또는 6원 헤테로시클릭 고리를 형성하며, 두 번째 질소 헤테로원자는 수소 또는 저급 알킬로 임의로 더 치환될 수 있거나, -NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>는 하기 화학식 VII 또는 VIII의 기이 고;

**화학식 VII**



**화학식 VIII**



여기서, n은 1 내지 4의 정수이고,

Z는 수소, 저급 알킬 또는 히드록실이고;

Y는 수소, 저급 알킬, 또는 OR' (이때, R'은 수소, 저급 알킬 또는 저급 알카노일임)이고;

A는 결합 또는 저급 알킬렌, 바람직하게는 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>알킬렌이고;

X 및 X'은 각각 독립적으로 수소, 저급 알킬, 저급 알콕시, 히드록시, 저급 알카노일, 니트로, 트리플루오로메틸과 같은 할로알킬, 할로젠, 아미노, 모노- 또는 디-저급 알킬 아미노이거나, X 및 X'이 함께 메틸렌디옥시 기를 형성하고;

R<sup>c</sup>는 저급 알킬을 나타내고;

R<sub>2</sub>는 수소, 할로젠, 치환 또는 비치환 저급 알킬 또는 알케닐기, 저급 할로알킬 또는 할로알케닐, 시아노, 아세토아미도, 저급 알콕시, 저급 알킬아미노, NR<sup>d</sup>R<sup>e</sup> (이때, R<sup>d</sup> 및 R<sup>e</sup>는 독립적으로 수소, 저급 알킬, 페닐, 또는 저급 알킬, 저급 알콕시, 할로젠 또는 트리플루오로메틸과 같은 할로알킬 또는 알콕실로 치환된 페닐임) 또는 -SR<sup>f</sup> (이때, R<sup>f</sup>는 수소, 저급 알킬, 저급 알카노일, 벤조일 또는 페닐임)이고;

W는 -OCH<sub>2</sub>-, -NHCH<sub>2</sub>-, -SCH<sub>2</sub>- 또는 -NH(C=O)-의 기를 나타내고;

R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 독립적으로 수소, 저급 알킬 또는 저급 알케닐, 분지형 또는 비분지형 C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>알카노일, 벤조일, 또는 저급 알킬, 저급 알콕시, 할로젠으로 치환된 벤조일이거나, R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 함께 저급 알킬 또는 알케닐로 임의 치환된 5원 고리를 형성하고; R<sub>3</sub>은 또한 독립적으로 포스페이트, 수소 또는 디히드로젠 포스페이트, 또는 이들의 알칼리 금속 또는 암모늄 또는 디알칼리 또는 디암모늄을 나타내고;

R<sub>6</sub>은 수소, 할로젠 원자를 나타내거나;

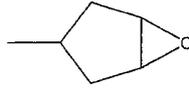
R기 중 하나 (즉, R<sub>1</sub> 내지 R<sub>6</sub>)는 화학식 R<sup>g</sup>-SO<sub>3</sub>-R<sup>h</sup> (이때, R<sub>g</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 지방족, 페닐 및 치환 또는 비치환될 수 있는 저급 알킬로 치환된 방향족기로부터 선택된 기를 나타내고, R<sup>h</sup>는 1가 양이온을 나타냄)의 술포히드로카본기이다. 적합한 1가 양이온에는 리튬, 나트륨, 칼륨, 암모늄 또는 트리알킬 암모늄이 포함되며, 이는 생리적 조건 하에서 해리되도록 한다. 나머지 R기는 수소 또는 할로젠 원자, 비치환 탄화수소 또는 상기 정의한 바와 같은 임의의 다른 황 불포함 기이다.

본원에서 사용된 탄화수소 쇠에는 직쇄 또는 분지쇄가 포함될 수 있다. 특히, 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "알킬" 또는 "알케닐"은 직쇄 또는 분지쇄 알킬 또는 알케닐기를 의미한다. 용어 "저급 알킬" 또는 "저급 알케닐"은 각각 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬 또는 C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>알케닐기를 의미하며, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>알킬 및 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>알케닐기가 바람직하다.

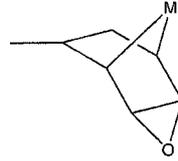
화학식 VI의 아데노신 유도체는 N<sup>6</sup>-시클로펜틸 아데노신 (CPA), 2-클로로-CPA (CCPA) 및 N<sup>6</sup>-시클로헥실 아데노실 (CHA) 유도체가 바람직하며, 그의 제법은 당업계 숙련자에게 잘 알려져 있다. A1 수용체에 선택적인 것으로 알려진 다른 아데노신 유도체는 R<sub>1</sub>이 아닐리드기인 화합물로, 후자는 비치환되거나 예를 들어, 히드록실, 알킬, 알콕시, 또는 -CH<sub>2</sub>C(O)R" (이때, R"은 히드록실기임), -NHCH<sub>3</sub>, -NHCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (에틸 글리시네이트), 톨루이디드기 (또한 메틸 잔기가 할로알킬 잔기로 치환됨), 또는 -CH<sub>2</sub>C(O)NHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>C(O)R"기 (이때, R"은 메틸 에스테르 치환기 (-OCH<sub>3</sub>), 아미드 치환기 (예를 들면, R"은 -NHCH<sub>3</sub>임)를 형성하는 기를 나타내거나, R"은 히드라지드, 에틸렌디아민, -NHC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>NHC(O)CH<sub>3</sub>, 4-(히드록시페닐)프로피오닐, 비오틴화된 에틸렌 디아민 또는 화합물이 A1 아고니스트가 되게 하는 임의의 다른 적합한 탄화수소임)로 치환될 수 있다.

별법으로, 본 발명에 따라 활성 성분으로 사용된 N<sup>6</sup>-치환된 아데노신 유도체는 에폭시드 부분을 포함하는 화합물일 수 있으며, 더욱 구체적으로는 시클로알킬 에폭시 함유 아데노신 유도체 (예를 들면, 노르보르나닐과 같은 옥사비시클로 또는 아다만타닐과 같은 옥사트리시클로)일 수 있다. 일부 이러한 화합물은 화학식 I (여기서, R<sub>1</sub>은 화학식 IXa 및 IXb의 기임)로 정의될 수 있다.

화학식 IXa



화학식 IXb



식 중, M은 상기 정의한 바와 같은 저급 알킬기이다.

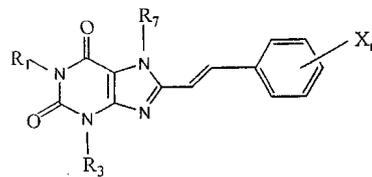
에폭시드 N<sup>6</sup>-노르보르닐기를 갖는 아고니스트 화합물의 실시태양에는 엔도 및 엑소 이성질체가 포함되며, 더욱 구체적으로는 4개의 이성질체, 즉, 2R-엑소, 2R-엔도, 2S-엑소 및 2S-엔도 형태 중 하나일 수 있다.

N<sup>6</sup>-노르보르닐 유도체의 다른 실시태양에는 퓨린 고리의 N<sup>1</sup>-위치에 산소 원자가 포함될 수 있다. 이 화합물은 N<sup>6</sup>-(5,6-에폭시노르본-2-일)아데노신-1-옥시드로 불린다.

때때로, A1RAg는 아데노신의 β-D-리보프라노질 부분이 수소 또는 페닐기로 치환된 아데닌 유도체일 수 있다.

본 발명에 따라 사용될 수 있는 A2RAn은 화학식 X의 1,3,7-치환된 크산틴의 8-스티릴 유도체이다.

화학식 X



식 중,

R<sub>1</sub> 및 R<sub>3</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>알킬, 알릴 또는 프로파르길이고;

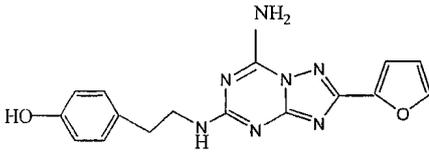
R<sub>7</sub>은 H, 메틸 또는 C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>알킬이고;

n은 1 내지 3이고;

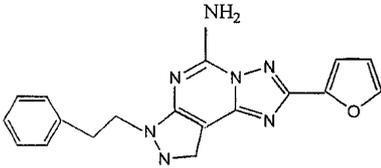
X는 할로젠, 트리플루오로알킬, 알콕시, 히드록시, 니트로, 아미노, 디알킬아미노, 디아조늄, 이소티오시아네이트, 벤질옥시, 아미노알콕시, 알콕시카르보닐아미노, 아세톡시, 아세틸아미노, 숙시닐아미노, 4-(4-NH<sub>2</sub>-트랜스-CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>O-3,5-(MeO)<sub>2</sub>), 4-(4-AcNH-트랜스-CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>O)-3,5-(MeO)<sub>2</sub>, 4-(4-t-BOC-NH-트랜스-CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>2</sub>O)-3,5-(MeO)<sub>2</sub>이다.

화학식 X의 화합물의 구체적인 예는 (3,7-디메틸-1-프로파르길-크산틴)이다.

A2RAn은 또한 하기 화학식의 화합물일 수 있다.



또는



인식되는 바와 같이 본 발명은 상기한 특정 A3RAg, A2RAg 또는 A2RAn 화합물로 제한할 수 없다.

본 발명에 따른 활성 성분은 상기 정의된 바와 같거나 또는 그의 염 또는 용매화물 형태, 특히 그의 생리적으로 허용되는 염 또는 용매화물 형태일 수 있다. 또한, 하나 이상의 비대칭 탄소 원자를 함유하는 경우, 활성 성분은 상기 활성 성분의 이성질체 및 부분입체 이성질체, 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

상기 활성 성분의 제약상 허용되는 염으로는 제약상 허용되는 무기 및 유기산으로부터 유래되는 것들이 포함된다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬화수소산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 젖산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-술폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄술폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-술폰산 및 벤젠술폰산이 포함된다.

활성 성분은 비-활성 물질 (예를 들어, 전구약물)로서 투여될 수 있으며, 대상의 특정 부위에서의 자연 반응에 의해 추가로 변형될 때만 활성이 되도록 할 수 있다. 어떤 경우라도, 유도체는 본 발명의 제약 조성물의 치료 작용성이 보존되도록 하는 것이다. 이러한 전구약물은 또한 본원에 사용된 "활성 성분"이라는 용어에 포함된다. 마찬가지로, 용어 "A3RAg", "A1RAg", "A1RAn", "A2RAg" 및 "A2RAn"은 그 자체로는 길항성 또는 길항 활성이 결여되어 있지만 (이러한 경우와 같이) 생체내에서는 활성을 갖는 전구약물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

본 발명에 따른 A3RAg는 질적으로 IB-MECA와 유사한 활성을 갖는 상기 화합물을 스크리닝함으로써 선택될 수 있다. 예를 들어, 백혈구감소증-억제 실시태양에 따라 사용되는 상기 화합물은 골수 또는 백혈구 세포의 증식을 자극하는 그들의 능력 및 이후에 생체내에서 이러한 활성을 수행하는 그들의 능력을 기초로 스크리닝할 수 있다. 증식-억제 실시태양에 사용되는 경우, 본 발명의 화합물은 종양 세포의 증식을 억제할뿐 아니라 이후에 생체내에서 이러한 활성을 수행하는 그들의 능력에 대하여 스크리닝될 수 있다.

A1RAn 및 A2RAn은 A3RAg에 대해 기재된 것과 유사한 방식이되 필요한 변경을 수행하여 이들의 활성을 시험하고 치료에 사용하기 위해 스크리닝 할 수 있다.

본 발명의 제약 조성물은 활성 성분 그 자체를 포함할 수 있지만, 예를 들어 제약 조성물에 향, 색채 또는 광택 등을 가하기 위해 당업자에게 공지된 바와 같은 제약상 허용되는 담체, 희석제, 부형제, 첨가제 및(또는) 보조제일 수 있는 다른 성분과도 배합될 수 있다. 분명히, 본 발명에 따라 사용되는 제약상 허용되는 담체, 희석제, 부형제 및 첨가제는 바람직하게는 본 발명의 조성물에 포함된 화합물과 반응하지 않는 불활성의 비독성 고체 또는 액체 충전제, 희석제 또는 캡셀화제를 의미하는 것이 일반적이다.

또한, 활성 성분은, 특히 백혈구감소증 예방 실시태양의 경우 화학치료 약물과 함께 투여될 수도 있다. 따라서, 본 발명에 따른 제약 조성물은 상기 활성 성분 이외에도 화학치료 약물을 포함할 수 있다. 본 발명의 한 실시태양에 따라, 화학치료 약물은 항암성 화학치료 약물이다. 이 용어에는 종양 무게를 감소시키기 위하여 대상에게 투여되는 임의의 세포독성 약물, 또는 2종 이상의 세포독성 약물의 복합제를 포함하는 혼합물을 의미하는 것으로 이해하여야 한다.

본 발명에 의해 밝혀낸 한가지 사실은 A3RAg가 경구적으로 생체이용성이 있으며 경구 투여되는 경우 그의 이중 활성화 (비정상 세포의 증식 저하 및 백혈구감소증의 예방 또는 감소)을 수행한다는 것이다. 따라서, 본 발명의 바람직한 한 실시태양에 따라, 본 발명의 제약 조성물은 경구 투여용으로 제제화된다. 이러한 경구용 조성물은 경구 투여에 적합한 제약상 허용되는 담체, 희석제, 부형제, 첨가제 또는 보조제를 추가로 포함할 수 있다.

본 발명의 G-CSF-유도 실시태양의 범위내에서, 개시된 제약 조성물은 특히 세포로부터 분비된 G-CSF의 수준을 증가시키는데 사용된다. 이러한 조성물을 사용하여 화학치료 및 골수이식 후 호중구 회복을 촉진시키거나 또는 비정상 세포의 증식을 억제할 수 있다. 최근까지, 이러한 치료에는 바람직하지 못한 부작용을 갖는 것으로 알려진 성장 인자 그 자체를 투여하는 것이 포함되어 있다. 그러한 까닭으로, G-CSF 치료 코스 당 평균 비용은 매우 고가인 것으로 알려져 있다.

본 발명의 백혈구감소증-예방 실시태양 또는 독성-예방 실시태양의 범위내에서, 개시된 제약 조성물은 특히 대상에서 순환성 백혈구 세포의 수준을 증가시키거나 체중 감소와 같은 기타 독성 효과를 길항하는데 사용된다. 본 발명의 이러한 측면은 다양한 임상 분야에 적용할 수 있다. 순환성 백혈구, 특히 호중구의 수준이 저하되면 면역계를 약화시킬 수 있다는 것은 자명한 사실이다. 본 발명의 이러한 측면에 따라 치료될 수 있는 약화된 면역계의 예로는 흔히 진행 단계의 암에서 발생하는 것 또는 약물-유도 백혈구감소증 또는 약물-유도 호중구감소증으로부터 유래되는 것이 있다.

본 발명의 증식-억제 실시태양은 암, 건선 및 몇몇 자가면역 질환과 같은 비정상적 세포 증식과 관련되는 여러가지 이상증의 치료에 유용하다. 특히, 본 발명의 조성물은 종양 세포의 증식을, 바람직하게는 항암 치료 체제 내에서 억제하는데 사용된다.

A3RAg를 사용하여 림프종 세포를 치료하는 경우, 이러한 세포의 증식 억제는 아데노신 또는 'A1' 또는 'A2' 아고니스트를 사용하여 얻은 것보다 더 분명하였지만, A2RAg를 사용한 경우에도 다소의 활성이 관찰되었다 (예를 들어, 도 5A 참조). 이러한 결과는, 종양 세포의 증식 억제가 주로 A3RAg의 그의 상응하는 수용체로의 결합으로 인한 것이지만 또한 A2RAg에 의해서도 어느 정도 모방될 수 있음을 보여준다. 상기와 같은 놀라운 결과는 따라서 향후의 세포정지성 항암 약물에 대한 새로운 치료 목표를 제공한다.

A3RAg는 또한 림프종 이외의 종양 세포, 예를 들어 흑색종 또는 결장암의 증식을 강력하게 억제하는 것으로 나타났다 (예를 들어, 도 6 참조). 당업계의 숙련가라면 비정상적으로 분열하는 세포의 증식을 억제함과 동시에 골수 세포의 증식을 유도함으로써 대상의 면역계를 회복시킬 수 있는 비-특이적 항암 약물로 대상을 치료하는 이점을 분명히 알 것이다.

도 7A-7B는 예를 들어 A3RAg의 차별적인 효과를 나타낸다. 이러한 특성의 경우에서, 종양 세포 및 정상 세포에 대한 IB-MECA의 효과를 평가하였다. 아데노신에 비해 A3RAg를 사용하여 얻어지는 보다 분명한 효과는 또한 상기 결과에 의해 분명하게 제공된다. A3RAg의 치료 효과는 A3 수용체 길항제인 MRS-1220을 사용했을 때 반전되었다.

생체내 연구에 의해, A3RAg와 세포독성제로 동시에 처리한 마우스에 대한 A3RAg의 화학보호 효과를, 세포독성 약물만으로 처리한 마우스와 비교하여 입증한 시험관내 결과를 확인하였다 (예를 들어, 도 8 참조). 또한, A3RAg-처리된 마우스에서 A3RAg의 화학치료 활성을 나타내는 병소의 수는 감소된 것으로 관찰되었다 (예를 들어, 도 9 참조). 도 10A-10B, 및 19A 및 19B는, 예를 들어 세포독성 약물만으로 처리된 종양-보유 마우스에서는 말초 혈종의 백혈구 및 호중구의 수가 감소된 것으로 나타났으며, 화학치료 이후에 A3RAg를 투여하자 총 백혈구 수가 회복되어 호중구 비율이 증가하였음을 보여준다.

따라서, A3RAg는 그가 화학치료제로서 뿐만 아니라 화학보호제로서도 작용하기 때문에 이중의 치료 기능을 갖는 것으로 결론지을 수 있다. 이러한 이중 효과를 위해 A3RAg를 사용하는 것이 또한 본 발명의 범위내에 포함된다는 것은 분명하다.

어떤 경우에서도, 본 발명의 제약 조성물은 의사가 알고 있는 각 대상의 임상 증상, 투여 부위 및 방법, 투여 스케줄, 대상의 연령, 성별, 체중 및 기타 요소를 고려하여 우수한 의료적 수행에 따라 투여 및 복용된다.

본 발명의 조성물은 다양한 경로로 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물은 경구, 피하 또는 비경구 (정맥내, 동맥내, 근육내, 복강내), 또는 비강내 투여뿐만 아니라 당업계의 숙련가에게 알려져 있는 경막내 주입 기술에 의해 투여될 수 있다.

알려진 바와 같이, 사람의 치료 과정은 본원에 예시된 바와 같이 동물, 예를 들어 마우스보다 일반적으로 더 길다. 치료 기간은 질병 진행 기간 및 활성화제 효과에 비례한다. 치료법은 수일 이상의 기간에 걸쳐 단일 투여 또는 다수 투여하는 것을 포함하였다. 치료 기간은 일반적으로 질병 진행 과정, 활성화제 효과 및 치료될 대상의 종에 의존한다.

본 발명의 조성물을 비경구로 투여하는 경우, 본 발명의 조성물은 일반적으로 단위 투여 주사용 형태 (용액, 현탁액, 에멀전)로 제제화될 것이다. 주사용으로 적합한 제약 제제로는 멸균 수용액 또는 분산액, 및 용해되어 주사용 멸균 용액 또는 분산액이 되는 멸균 분말이 포함된다. 사용되는 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 지질 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 적합한 혼합물, 및 식물성유를 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다.

면실유, 참기름, 올리브유, 대두유, 옥수수유, 해바라기유, 또는 땅콩유 및 에스테르, 예를 들어 이소프로필 미리스테이트와 같은 비수성 비히클이 때때로 활성 성분 에 대한 용매계로서 사용될 수도 있다.

또한, 조성물의 안정성, 멸균성 및 등장성을 증가시키는, 미생물방지용 보존제, 항산화제, 킬레이트제 및 완충제를 비롯한 각종 첨가제가 첨가될 수 있다. 미생물의 작용을 방지하는 것은 다양한 항세균제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 및 소르브산 등에 의해 보장될 수 있다.

경구 투여를 위해, 활성 성분을, 사용하기 편리하고 약사가 잘 아는 기술로 형성될 수 있는 정제, 현탁액, 용액, 에멀전, 캡슐, 분말 및 시럽 등의 형태로 제제화할 수 있다.

본 발명의 범위는 청구의 범위에 의해 한정되는 것으로, 청구 범위의 내용은 본원의 개시 범위내에 포함되는 것이며, 하기에서는 첨부된 도면을 참고하여 실시예에 의해 설명될 것이다. 본원에 사용된 용어는 단어의 본질에 있어서 한정을 위한 것이 아니라 설명을 위한 것으로 이해하여야 한다.

상기 설명에서는 본 발명의 몇가지 특정 실시태양만을 상세히 설명하였지만, 당업자라면 본 발명이 이에 한정되지 않으며, 본원에 개시된 본 발명의 사상 및 범주를 벗어나지 않고 본 발명을 다양하게 변형시킬 수 있음을 알 것이다.

### 도면의 간단한 설명

본 발명을 이해하고 본 발명이 어떻게 실시될 수 있는지를 알 수 있도록, 바람직한 실시태양을 하기 첨부된 도면을 참고로 비-제한적 실시예에 의해 설명할 것이며, 여기서:

도 1은 G-CSF 생성에 대한 아데노신 (Ad), DPCPX (A1RAn), CPA 및 CCPA (둘 다 A1RAg) 또는 IB-MECA (A3RAg)의 효과를 나타내는 시험관내 분석 결과를 보여주는 막대 그래프이다. 변형된 RPMI로 처리된 배양물은 대조군 역할을 한다. 결과는 대조군에 대한 비율로서 나타냈다 (대조군 = 100 %).

도 2는 [<sup>3</sup>H]-티미딘 혼입 분석에 의해 얻어진, G-CSF에 대한 항체가 있거나 ((+) G-CSF Ab - 밝은 색 칼럼) 또는 G-CSF에 대한 항체가 없이 ((-) G-CSF Ab - 어두운 색 칼럼) 아데노신, CPA 또는 IB-MECA에 의한 골수 세포의 증식 자극 실험에 대한 결과를 보여주는 막대 그래프이다. 이 결과는 항-g-CSF 항체의 상쇄 효과를 보여준다. 결과는 대조군보다 증가한 비율로서 나타냈다 (대조군 = 0 %).

도 3A 및 3B는 [<sup>3</sup>H]-티미딘 혼입 분석에 의해 얻어진, 아데노신, 아데노신 수용체 아고니스트 (도 3A), 또는 아데노신과 아데노신 수용체 길항제의 조합 (도 3B)의 존재하에 시험된 골수 세포의 증식 실험에 대한 결과를 보여주는 두 막대 그래프이다. 시험된 수용체 아고니스트 (도 3A)는 CPA (A1RAg) 및 IB-MECA (A3RAg)이며; 시험된 수용체 길항제 (도 3B)는 DPCPX (A1RAn), DMPX (A2RAn) 및 MRS (A3RAn)이었다. 결과는 대조군보다 증가한 티미딘 혼입 비율로서 나타냈다 (대조군 = 0 %).

도 4는 세가지 다른 IB-MECA 농도 (0.01 μM, 0.1 μM 및 1.0 μM)하에 시험한 골수 세포의 증식에 대한 시험관내 실험 결과를 보여주는 막대 그래프이다. 이러한 결과는 대조군보다 높은 [<sup>3</sup>H]-티미딘 혼입 비율로서 나타냈다 (대조군 = 0 %). 막대 아래쪽의 숫자는 IB-MECA 농도 (μM)를 의미한다.

도 5A 및 5B는 두가지 실험의 결과를 보여주는 막대 그래프인데, 이들 모두는 시험관내에서 수행되었고 세포 계수 분석을 기초로 하였으며, 아데노신 및 그의 길항제에 의한 림프종 세포 (Nb2-11C)의 성장 효과를 시험하였다. 도 5A에 나타난 실험에서, 림프종 세포의 성장에 대한 아데노신, CPA (A1RAg), DMPA (A2RAg) 또는 IB-MECA (A3RAg)의 효과를 시험하였다. 도 5B에 나타난 실험에서, 림프종 세포의 성장에 대한 아데노신, DPCPX (A1RAn), DMPX (A2RAn) 또는 MRS-1220 (A3RAn)의 효과를 시험하였다. RPMI-처리된 림프종 세포는 대조군 역할을 하였다. 결과는 대조군의 성장억제율 (대조군 = 0 %)보다 높은 억제율 (%)로 나타났다.

도 6은 여러 유형의 종양 세포 (B16 흑색종, HTC-116 결장암, Nb2-11C 림프종)의 성장이 A3Rag IB-MECA 존재하에 억제된 시험관내 분석 결과를 보여주는 막대 그래프이다. RPMI-처리된 세포는 대조군 역할을 하였다. 결과는 대조군에 대한 억제율로 나타냈다 (대조군 = 0 %).

도 7A 및 7B는 종양 세포 (Nb2-11C 림프종, 도 7A) 또는 골수 세포 (도 7B)의 성장에 대한 아데노신 또는 A3Rag IB-MECA의 효과가 시험된 시험관내 분석의 결과를 보여주는 막대 그래프이다. 도 7A 및 7B의 결과는 각각 대조군과 비교된 억제율 및 자극율로 나타냈다 (대조군 = 0 %).

도 8은 화학치료 약물 (시클로포스포아미드)로 5일 및 9일 치료한 후에 말초 백혈구 세포(WBC) 수를 시험한 생체내 실험 결과를 보여주는 막대 그래프이다. 시클로포스포아미드는 단독으로 투여되거나 (회색 칼럼) 또는 화학치료 약물 투여 24 시간 후에 시작하여 매일 경구로 (1 ml 용액으로) 투여되는 IB-MECA와 함께 투여되었다. PBS-처리된 마우스는 대조군 역할을 하였다. WBC 수 (WBC 수들)은 대조군보다 높은 비율로 나타났다 (대조군 = 0 %).

도 9는 화학치료제 시클로포스포아미드 (CHEMO), IB-MECA A3Rag, IB-MECA와 CHEMO의 조합, 또는 대조군 역할을 하는 포스페이트 완충 염수 (PBS)로 처리한 마우스에  $2 \times 10^5$ 의 흑색종 세포를 접종한 다음, 마우스에서 발생하는 흑색종 병소의 수에 대한 생체내 실험 결과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 10A 및 10B는 IB-MECA의 화학치료 활성을 입증하는 생체내 실험 결과를 보여주는 막대 그래프이다. 백혈구 세포 (WBC, 도 10A) 및 호중구 (도 10B)의 수준은 화학치료 약물인 시클로포스포아미드 (CHEMO)를 단독으로 투여하거나 또는 IB-MECA와 함께 (CHEMO + IB-MECA) 투여하여 시간 (투여 이후의 시간)에 따른 함수로 나타냈다. PBS로 처리한 종양 보유 마우스는 대조군 역할을 하였다. 호중구 수는 대조군보다 높은 비율 (%)로 나타났다 (대조군 = 0 %).

도 11은 치료 (5-FU, CI-IB-MECA, 또는 5-FU와 CI-IB-MECA의 조합 투여) 개시 후 7일, 10일 및 14일째 누드 마우스의 체중을 대조군에 대한 비율 (%)로 나타냈다 (비-처리된 마우스 = 100 %). 치료는 5-FU (어두운 색 칼럼) 투여, 5-FU를 CI-IB-MECA (A3Rag)와 함께 투여 (회색 칼럼) 및 CI-IB-MECA 단독 투여 (흰색 칼럼)로 구성된다.

도 12A 및 12B는 독소루비신에서 유도된 골수독성을 줄이는데 있어서 CI-IB-MECA의 효과를 조사한 실험 결과를 보여 준다. 이 실험은 ICR 마우스에서 수행되었다. 도 12A는 백혈구 세포의 (WBC)수를 나타내며, 도 12B는 골수 유핵세포의 수를 나타낸다. 도 12A에는 네가지 다른 기간 동안 수행된 두가지 다른 치료 결과가 나타나 있으며 (대조군 수준은 점선으로 나타냄), 도 12B에는 두가지 다른 기간 동안 수행된 결과가 나타나 있다 (대조군 수준은 좌측에 막대로 나타냄).

도 13은 대조군 마우스, 화학치료 약물로 처리된 마우스, 및 경구로 투여된 화학치료 약물 및 CI-IB-MECA (PBS 0.2 ml 중, 체중 1 kg 당  $6 \mu\text{g}$ )로 처리된 마우스에서 백혈구 세포의 (WBC)수에 대한 항-G-CSF 항체의 효과를 보여준다. 항-G-CSF 항체 주사 후 WBC의 수는 밝은 색 칼럼으로 나타났다. 모든 결과는 대조군에 대한 비율로 나타냈다 (대조군 = 100 %).

도 14는 HCT-116 사람 결장암 세포의 주사 이후의 누드 마우스, 대조군 및 처리군 (CI-IB-MECA 경구 투여)에서 발생한 종양의 크기를 시간에 따라 보여준다.

도 15는 도 14의 결과와 유사한 실험 결과를 나타내는데, HCT-116 사람 결장암 세포의 주사 이후에 누드 마우스에서 발생한 종양의 크기를 측정하였다. 네가지 군을 시험하였다: 대조군, 화학치료 약물 5-FU를 투여한 군, CI-IB-MECA를 경구 투여한 군, 및 5-FU와 CI-IB-MECA를 병용하여 치료한 군.

도 16은 도 15에 나타낸 실험에서 30일째의 종양의 크기를 나타내는 막대 그래프이다.

도 17은 CI-IB-MECA에 의해 유도된 골수 세포의 증식을 여러 농도 ( $0.05 \mu\text{g/ml}$  및  $0.5 \mu\text{g/ml}$ )의 항-G-CSF 항체 조건하에 측정한 실험 결과를 보여주는 막대 그래프이다 (0 - 항체 없음). 증식은 [ $^3\text{H}$ ]-티미딘 혼입 분석에 의해 측정하였다.

도 18은 B-16 흑색종 또는 골수 세포의 증식을 측정한 시험관내 실험 결과를 나타낸다. 증식은 [ $^3\text{H}$ ]-티미딘 혼입 분석에 의해 측정하였다. 세포를 A3Rag, MRS-1523이 있거나 (흰색 칼럼) 없이 (어두운 색 칼럼)  $0.01 \mu\text{M}$  및  $0.1 \mu\text{M}$  CI-IB-MECA에 노출시켰다. 결과는 대조군에 대한 비율로 나타냈다 (대조군 = 100 %).

도 19A 및 19B는 CI-IB-MECA를 사용하여 각각 수행한 도 10A 및 10B에 나타난 결과와 유사한 실험 결과를 보여준다.

도 20은 IB-MECA 또는 CI-IB-MECA에 의해 유도된 골수 세포의 증식을 측정하는 시험관내 실험 결과를 나타낸다. 이들 두가지 A3Rag를 골수 세포의 배양물에 10 nM 농도의 A3RAn, MRS-1523이 있거나 (회색 칼럼 - "(+) 길항제") 없이 (어두운 색 칼럼 - "(-) 길항제") 1 nM 또는 10 nM 농도로 가하였다. 증식은 [<sup>3</sup>H]-티미딘 혼입 분석에 의해 측정하였다. 결과는 자극군과 대조군 (비처리 골수 세포, 대조군 = 0 %)의 비율로 나타냈다.

## 실시예

### <실험 결과>

#### 종양 세포

쥐 종양 세포주 (B-16 흑색종 및 Nb2 11c 래트 림프종)를 사용하였다. B-16 흑색종 세포는 아메리칸 타입 티슈 컬처 콜렉션 (American Type Tissue Culture Collection (ATCC); Rockville, Maryland)에서 분양받았다. Nb2-11C 래트 림프종 세포 [Pines M., and Gertler A. J. of Cellular Biochem., 37: 119-129 (1988)]는 이스라엘 헤브루 (Hebrew) 대학의 게틀러 (A. Gertler) 박사로부터 제공받았다.

결장암 세포 (HCT-116)는 또한 ATCC로부터 분양받아 사용하였다.

세포는 통상적으로 10 % 송아지 태아 혈청 (FBS, Biological Industries, Beit Haemek, Israel) 함유 RPMI 배지에서 유지하였다. 1주에 2회씩 세포를 새로 제조한 배지로 옮겼다.

#### 정상 세포

C57BL/6J 마우스의 대퇴골로부터 유래된 골수 세포를 사용하였다. 세포를 앞서 언급한 바와 같이 준비하였다 [17].

#### 약물/화합물

다음과 같은 약물을 사용하였다: 아데노신; 아데노신 A1 수용체 아고니스트: CCPA [2-클로로-N<sup>6</sup>-시클로펜틸-아데노신], CPA (N-시클로펜틸아데노신); A1RAn: DPCPX (1,3-디프로필-8-시클로펜틸크산틴); 아데노신 A2 수용체 아고니스트: DMPA (N<sup>6</sup>-[2-(3,5-디메톡시페닐)-2-(2-메틸페닐)-에틸]아데노신) A2RAn: DMPX (3,7-디메틸-1-프로파르길-크산틴); A3Rag: IB-MECA (1-데옥시-1-{6-[(3-요오도페닐)메틸]아미노}-9H-푸린-9-일}-N-메틸-β-D-리보푸란우론아미드), CI-IB-MECA (2-클로로-N<sup>6</sup>-3-요오도벤질)-아데노신-5'-N-메틸-우론아미드; 및 아데노신 A3 수용체 길항제: MRS-1523 (5-프로필-2-에틸-4-프로필-3-에틸술폰과닐카르보닐)-6-페닐피리딘-5-카르복실레이트) 및 MRS-1200 (9-클로로-2-(2-푸라닐)-5-[(페닐아세틸)아미노] [1,2,4,]-트리아졸로[1,5-c]퀴나졸린).

항-쥐 G-CSF 항체 (단백질 A 크로마토그래피에 의해 정제된 토끼 항-혈청, Cytolab LTD, Weizmann Institute of Science, Israel)를 사용하였다.

시클로포스포아미드는 이스라엘 하이파 베이 (Haifa Bay) 소재의 타로 (Taro) 파마슈티칼 인터스트리사로부터 구입하였다.

#### 마우스

평균 체중이 25 gr인 3개월령의 암컷 ICR, C57BL/6J 또는 (BALB/C 기원) 마우스를 사용하였다. 이들 마우스는 이스라엘 예루살렘 소재의 할란 래버러토리즈 (Harlan Laboratories)사로부터 구입하였다. 표준화된 펠릿화 식이 및 수돗물을 제공하였다.

실시예 1: G-CSF 생성 및 골수 세포 증식에 대한 아데노신, 아데노신 수용체 길항제 및 아고니스트의 효과

아데노신이 G-CSF 생성의 자극을 통해 그의 생물학적 효과를 수행할 것이라는 가정을 시험하기 위해, 정상 세포를 아데노신, 아데노신 아고니스트 또는 길항제의 존재하에 배양하였다.

이를 위해, C57BL/6J 또는 ICR 마우스의 대퇴골로부터 얻은 골수 세포를 먼저 25계지 바늘을 통과시켜 분산시켰다. 이어서, 세포 (96 마이크로타이터 플레이트 중에서 웰 당  $3 \times 10^5$  세포)를 아데노신 (25  $\mu\text{M}$ )의 존재하에 10% 송아지 태아 혈청 (FBS)을 함유하는 RPMI 배지와 함께 인큐베이션하였다. 아데노신, 또는 A1 및 A3 아데노신 수용체에 대한 아고니스트 - CPA (A1RAG, 0.01  $\mu\text{M}$ ), CCPA (A1RAG, 0.01  $\mu\text{M}$ ) 또는 IB-MECA (A3RAG, 0.01  $\mu\text{M}$ )를 아데노신의 부재하의 골수 배양물에 가하고, A1 아데노신 수용체 길항제 DPCPX (0.1  $\mu\text{M}$ )를 아데노신 (25  $\mu\text{M}$ ) 존재하의 골수 배양물에 가하였다.

세포 함유 배양물을 상기 상술된 실험에서 대조군 역할을 하는 RPMI 배지 및 5% FBS 중에 현탁시켰다.

[ $^3\text{H}$ ]-티미딘 혼입 분석을 이용하여 골수 세포의 증식을 평가하였다. 이를 위해, 30 시간 동안 인큐베이션한 후, 각 웰을 1  $\mu\text{Ci}$ [ $^3\text{H}$ ]-티미딘으로 펄스를 가하였다. 총 48시간의 인큐베이션 후에, 세포를 수확하고 LKB 액체 섬광계수기 (LKB, Piscataway, NJ, USA)로 [ $^3\text{H}$ ]-티미딘 수율을 결정하였다. 이러한 분석 결과는 도 1에 나타내었는데, 이는 A1RAG 또는 A3RAG가 G-CSF 생성에 대한 효과가 있으며, 아데노신을 사용하여 얻어진 효과와 유사함을 보여준다.

아데노신 및 그의 아고니스트가 G-CSF 생성의 자극을 통해 그의 효과를 수행하는지를 확인하기 위해, 항-G-CSF 항체 (62.5 ng/ml)를 아데노신 (25  $\mu\text{M}$ ), CPA (0.01  $\mu\text{M}$ ) 또는 IB-MECA (0.01  $\mu\text{M}$ )의 존재하에 골수 세포의 배양물에 가하여 추가의 분석을 수행하였다. 세포 증식을 상기와 같이 평가하였다. 이 실험의 결과는 도 2에 나타나 있으며, 이는 G-CSF에 대한 항체가 골수 세포의 증식에 대한 아데노신 및 그의 아고니스트의 자극 효과를 억제하였음을 보여준다. 이러한 결과는 아데노신 수용체와의 상호작용과 관련된 적어도 몇가지 활성이 G-CSF의 유도를 통해 매개됨을 시사한다.

A1RAGm1 A3RAG, (CPA 및 IB-MECA)의 조합을 사용하였을 때의 골수 세포의 증식에 대한 누적 효과를 평가하였다. 도 1에 나타난 실험 결과에 대한 것과 유사하게 분석을 수행하였다. 분산시킨 후의 세포를 아데노신 (25  $\mu\text{M}$ ), CPA (0.01  $\mu\text{M}$ ), IB-MECA (0.01  $\mu\text{M}$ ), 또는 IB-MECA와 CPA의 조합 (농도는 각각 0.01  $\mu\text{M}$ )의 존재하에 인큐베이션하고 상기한 바와 같이 추가로 처리하였다. 결과는 도 3A에 나타내었으며, 이는 IB-MECA와 CPA의 조합이 효과를 증가시킴을 보여준다.

골수 세포의 증식에 대한 아데노신 수용체 길항제의 효과를 비교하기 위해, 상기와 동일한 방법 이후에, 세포를 아데노신 단독, DMPX (A2RAn), DPCPX (A1RAn), MRS-1220 (A3RAn)의 조합, 또는 DPCPX와 MRS-1220의 조합과 함께 인큐베이션하였다. 결과는 도 3B에 나타나 있다. 도 3B에 나타난 바와 같이, DMPX에 의해 A2 수용체를 차단시키면, 골수 세포의 증식은 아데노신 단독에 의한 증식까지도 초과할 정도로 증가하는 것으로 나타났다. 이에 비하여, DPCPX 또는 MRS-1220을 사용한 증식은 아데노신 단독에 비해 증가를 약 50 %까지 감소시켰지만, MRS-1220과 조합된 DPCPX는 증식을 완전히 억제하였다.

상기와 같이 전처리된 세포를 여러 농도 (1  $\mu\text{M}$ , 0.1  $\mu\text{M}$  또는 0.01  $\mu\text{M}$ )의 IB-MECA에서 인큐베이션하였다. 자극율은 [ $^3\text{H}$ ]-티미딘 혼입 분석에 의해 측정하였고, 그 결과는 도 4에 나타나 있으며, 이는 IB-MECA가 골수의 증식을 투여량 의존적인 방식으로 자극함을 보여준다.

## 실시예 2: 아데노신 및 그의 아고니스트에 의한 종양 세포 증식의 조절

Nb2-11C 래트 림프종 세포 ( $1.2 \times 10^4$  세포/ml)를 96 웰 마이크로타이터 플레이트에서 5% 송아지 태아 혈청 함유 RPMI 배지 1 ml와 함께 48시간 동안 인큐베이션하였다. 25  $\mu\text{M}$  아데노신, 0.01  $\mu\text{M}$  아데노신 수용체 아고니스트 (CPA, A1RAG; DPMA, A2RAG; 또는 IB-MECA, A3RAG), 또는 0.1  $\mu\text{M}$  아데노신 수용체 길항제 (DPCPX, A1RAn; DMPX, A2RAn; 또는 MRS-1220, A3RAn)와 아데노신 (25  $\mu\text{M}$ )의 조합을 각각 가하였다.

세포 함유 배양물을 상기 상술된 실험에서 대조군 역할을 하는 5 % FBS 함유 RPMI 배지중에 현탁시켰다. 세포 증식 정도는 세포 계수 분석법에 의해 측정하였다.

결과는 아데노신을 사용한 억제와 비교하여 도 5A 및 5B에 나타내었다. 이 결과에서 알 수 있는 바와 같이, Nb2-11C 세포의 증식은 IB-MECA, A3RAg를 사용한 인큐베이션 이후에 뚜렷하게 억제되었다. CPA, A1RAg 존재시 성장 억제는 관찰되지 않으며, DPMA, A2RAn 존재시에는 성장 억제가 낮게 나타난다. CPA가 이러한 두 종양 세포의 증식을 억제하지 못한다는 것은, 아데노신 A1 수용체가 이러한 활성화에 관여하지 않음을 시사한다. 그러나, DMPA 및 IB-MECA 둘 다의 억제 활성화는, 이러한 억제 효과에서 A2 및 A3 아데노신 수용체 각각의 역할을 시사한다.

또한, DPCPX, A1RAn은 본질적으로 효과가 없었지만, MRS-1220, A3RAn 존재하에 Nb2-11C 세포의 증식에 대한 아데노신의 효과는 실질적으로 제거되었음을 알 수 있다. 그러나, 작지만 여전히 유의한 효과가 DMPX, A2RAn에 의해 나타났다. 이러한 결과는 종양 세포 증식이 A3RAg 또는 A2RAn에 의해 효과적으로 억제될 수 있다는 결론을 도출한다.

상기와 동일한 방식으로, A3RAg, IB-MECA에 의한 B-16 흑색종, HCT-116 결장암 및 Nb2-11C 림프종의 증식 억제를 평가하였다. 결과는 도 6에 억제율 또는 증식율로 나타내었다.

### 실시예 3: 아데노신 A3 수용체 아고니스트는 종양 세포 및 정상 세포에 대하여 다른 효과를 나타낸다

상기 기술된 실험 방법에 따라, 종양 세포의 성장에 대한 아데노신, A3RAn 및 A3RAg의 효과를 조사하였다.

요컨대, Nb2-11C 림프종 또는 골수 세포를 아데노신 또는 IB-MECA의 존재하에 인큐베이션하였다. A3RAg의 이중 효과는 종양 세포의 성장을 억제함과 동시에 골수 세포의 증식을 자극하는 것이고, 이 결과는 도 7A 및 7B에 나타나 있다.

### 실시예 4: 생체내 연구

C57BL6/J 마우스 40 마리를 4 그룹으로 분류하여 이들을 각각 하기 프로토콜 중 하나에 따라 처리하였다.

1. 대조군: 마우스를 희생시킬 때까지 종양 접종일로부터 시작하여 매일 마우스 당 염수 1 ml을 복강내 (i.p.) 주사함.
2. 화학치료군: 종양 세포 접종 24시간 후에 시클로포스포아미드를 1회 복강내 주사하고, 마우스를 희생시킬 때까지 종양 접종일로부터 시작하여 매일 마우스 당 염수 1 ml를 복강내 주사함.
3. 아데노신 A3 수용체 아고니스트 (A3RAg)군: 마우스를 희생시킬 때까지 종양 접종일로부터 시작하여 매일 IB-MECA를 경구 투여함.
4. A3RAg + 화학치료군: 종양 세포 접종 24 시간 후에 시클로포스포아미드를 1회 복강내 주사하고 체중 1 kg 당 IB-MECA 3  $\mu$ g를 매일 경구 투여함.

5일 및 9일째, 마우스를 꼬리 정맥에서 채혈하고 백혈구 세포(WBC)의 계수를 위해 혈액 샘플을 얻었다. 결과는 도 8에 나타나 있다.

또한, 18일 후에 마우스를 희생시켜 폐의 흑색종 종양의 병소를 계수하였다. 결과는 도 9에 나타나 있다.

A3RAg의 화학보호 효과를 평가하기 위해 추가의 실험을 수행하였다. 마우스를 시클로포스포아미드 (PBS 0.3 ml 중, 체중 1 kg 당 50 mg)로 처리하였다. 세포독성 약물 투여로부터 48 및 72 시간 후, 마우스에 아데노신 (체중 1 kg 당 25  $\mu$ g) 또는 IB-MECA (PBS 0.2 ml 중, 체중 1 kg 당 3 또는 6  $\mu$ g)를 복강내 주사하였다. 백혈구 세포(WBC) 및 호중구의 수를 시험하였다. 결과는 각각 도 10A (WBC) 및 10B (호중구)에 나타나 있다.

알 수 있는 바와 같이, 시클로포스포아미드만으로 처리된 마우스는 IB-MECA만으로 처리된 군에 비해 말초 혈종의 백혈구 및 호중구의 수가 감소되는 것으로 나타났다. 아데노신 또는 IB-MECA를 투여했을 때, 총 백혈구 세포의 수가 회복되었는데, IB-MECA의 경우 매우 현저한 효과가 나타났으며, 168 시간 (7일) 후에는 완전히 회복되었다.

### 실시예 5: 화학치료 약물로 처리된 마우스에서 아데노신 A3 수용체 아고니스트는 체중 감소를 방지한다

각군이 10 마리로 구성된 누드 마우스 (BALB/C 기원) 4군을 하기와 같이 처리하였다.

1군: 마우스에 행한 처리 없음.

2군: 마우스에 연속 5일 동안 5-플루오로-우라실 (PBS 중, 체중 1 kg 당 5-FU 30 mg)을 복강내 (i.p.) 주사함.

3군: 2군과 같은 방식이지만 2일째부터 시작하여 마우스에 5-FU를 복강내 주사하고, 그 후 2일 마다 마우스에 CI-IB-MECA (PBS 0.2 ml 중, 체중 1 kg 당 6  $\mu$ g)를 경구 투여함.

4군: 상기와 같이 마우스에 CI-IB-MECA를 투여함.

마우스 체중을 7, 10 및 14일에 측정하였다. 결과는 도 11에 나타나 있다.

알 수 있는 바와 같이, 5-FU는 대조군에 비해 마우스의 체중에 상당한 영향을 주지만, CI-IB-MECA는 5-FU와 함께 투여되는 경우, 이러한 체중 감소를 어느 정도 방지한다. CI-IB-MECA 자체만으로는 본질적으로 어떠한 체중 감소도 일으키지 않는다.

상기 실험은 A3 아데노신 수용체 아고니스트가 화학치료의 어떠한 독성 효과에 대해 일반적인 보호 효과를 가짐을 입증한다.

#### **실시예 6: CI-IB-MECA는 화학치료 약물인 독소루비신의 골수독성 효과에 대해 마우스를 보호한다**

ICR 마우스를 독소루비신 (PBS 0.5 ml 중, 체중 1 kg 당 10 mg을 복강내 주사)으로 처리하였다. 세포독성 약물 투여로부터 24, 48 및 72시간 후, 마우스에 CI-IB-MECA (체중 1 kg 당 6  $\mu$ g)를 경구 투여하였다. 72, 96, 120 및 144시간째, 마우스를 희생시켜 혈액 샘플을 채취하였다. 또한, 마우스의 대퇴부로부터 골수 세포를 흡인하고 흡인된 시료로부터 유핵 세포의 수를 계수한 다음, 쿠마지에 블루 (Coomassile Blue)로 시료를 염색하였다.

마우스 3군을 시험하였다.

1군: (대조군) 마우스에 PBS 만을 투여함.

2군: 마우스에 독소루비신만을 처리함.

3군: 상기와 같이 CI-IB-MECA 투여와 연계하여 독소루비신을 투여함.

백혈구 세포 계수 결과는 도 12A에 나타나 있으며, 골수 유핵 세포의 계수 결과는 도 12B에 나타나 있다. 이러한 결과는 CI-IB-MECA의 투여시 말초 혈중의 백혈구 세포 및 골수 유핵 세포의 수가 두드러지게 증가함을 보여준다. 독소루비신의 골수독성 효과에 대한 A3RAg의 보호 효과는 분명하다.

#### **실시예 7: G-CSF에 대한 항체는 CI-IB-MECA의 골수보호 효과를 상쇄시킨다**

ICR 마우스를 하기와 같이 여섯 군으로 분류하였다.

1군: 대조군, 비히클만을 투여.

2군: 대조군, 항-G-CSF 항체 (5  $\mu$ g/마우스) 투여.

3군: 화학치료, 시클로포스포아미드 CYP 투여 (체중 1 kg 당 50 mg).

4군: 화학치료 (체중 1 kg 당 CYP 50 mg) + 항-G-CSF 항체 (5  $\mu$ g/마우스).

5군: 화학치료 (체중 1 kg 당 CYP 50 mg) + CI-IB-MECA (체중 1 kg 당 6  $\mu$ g) + 항-G-CSF 항체 (5  $\mu$ g/마우스).

6군: 화학치료 (체중 1 kg 당 CYP 50 mg) + CI-IB-MECA (체중 1 kg 당 6  $\mu$ g) + 항-G-CSF 항체 (5  $\mu$ g/마우스).

각 군은 마우스 10마리로 구성되었으며, 실험을 2회 반복하였다.

CYP를 담체로 작용하는 PBS 0.2 ml 중에 넣어 복강내 주사하였다.

시클로포스포아미드의 투여로부터 48 및 72시간 후에 CI-IB-MECA를 경구 (PBS 0.2 ml 중) 투여하였다.

화학치료 약물의 투여로부터 72시간 후에, 항-G-CSF 항체를 정맥내로 주사 (PBS 0.2 ml 중) 하였다.

화학치료 124시간 후에, 혈액 샘플을 채취하였다. 백혈구 세포(WBC)의 수를 쿨터 (Coulter) 계수기로 세고, 메이-그룬드 발드-짐사 (May-Grundvald-Giemsa) 용액으로 염색된 도말 표본화된 시료상에서 분별 세포 계수를 수행하였다.

WBC 수의 결과는 도 13에 나타나 있다. 알 수 있는 바와 같이, 시클로포스포아미드만으로 처리한 마우스는 말초 혈중의 WBC 수가 감소된 것으로 나타났다. CI-IB-MECA로 처리한 군에서, WBC 수 및 호중구의 비율은 화학치료 처리군 (호중구의 전달에 대한 결과는 나타내지 않음)에 비해 상당히 더 높았다. 항-G-CSF 항체를 대조군 또는 화학치료군에 투여한 경우, WBC 수는 예상대로 감소된 것으로 관찰되었다. 화학치료 약물 및 CI-IB-MECA를 병용하여 처리한 마우스에 항-G-CSF 항체를 투여하자, 도 13에서 분명하게 알 수 있는 바와 같이, CI-IB-MECA의 보호 효과가 사라졌다. 이러한 결과에 의해, 골수계에 대한 CI-IB-MECA의 보호 효과가 G-CSF의 생성 및 분비를 촉진시키는 CI-IB-MECA의 능력을 통해 매개된다는 결론을 도출하였다.

#### 실시에 8: CI-IB-MECA는 누드 마우스에서 HCT-116 사람 결장암의 발생을 억제한다

누드 마우스 (BALB/C 기원) (Harlan, Jerusalem, Israel)에  $1 \times 10^6$ 개의 HCT-116 사람 결장암 세포를 피하 주사하여 종양을 발생시켰다. 마우스에 2일 마다 체중 1 kg 당 CI-IB-MECA (PBS 0.2 ml 중)  $6 \mu\text{g}$ 을 경구 투여하였다. 마우스에 비히클 단독 (PBS)을 처리하였다. 각 군은 마우스 10마리로 구성되었다. 각 종양에서 직교하는 두 직경을 1주에 2회 측정하여 종양 발생 속도를 결정하고, 종양 크기를 식 ( $\pi/6 [D_1 D_2]$ )에 따라 계산하였다. 결과는 도 14에 나타나 있다. 알 수 있는 바와 같이, 처리된 군에서는 종양 성장이 뚜렷하게 억제되었다.

별도의 실험 세트에서, CI-IB-MECA와 5-플루오로우라실 (5-FU)의 병용 요법을 시험하였다. 누드 마우스에  $1 \times 10^6$ 개의 HCT-116 세포를 피하 주사하였다. 1일 후, 5-FU (PBS 0.2 ml 중, 체중 1 kg 당 30 mg)를 복강내 주사하고 이후에 연속하여 4일 더 주사하였다. 2일 마다, 마우스에 체중 1 kg 당 CI-IB-MECA (PBS 0.2 ml 중)  $5 \mu\text{g}$ 을 경구 투여하였다. 대조군 마우스를 비히클 단독 (PBS) 또는 5-FU로 처리하였다. 각 군은 마우스 10마리로 구성되었다. 각 종양에서 직교하는 두 직경을 1주에 2회 측정하여 종양 발생 속도를 결정하고, 종양 크기를 식 ( $\pi/6 [D_1 D_2]$ )에 따라 계산하였다.

결과는 도 15 및 16에 나타나 있다. 5-FU, CI-IB-MECA, 및 CI-IB-MECA와 5-FU의 병용 요법으로 처리한 군에서는 종양 성장이 뚜렷하게 억제되었다. 20일 후, 도 16 (도 16에 나타난 결과는 30일의 결과임)에 구체적으로 나타난 바와 같이, 종양 크기의 관찰시 CI-IB-MECA와 5-FU 사이에 분명한 상승 효과가 있음이 관찰되었다.

#### 실시에 9: CI-IB-MECA는 G-CSF 생성 유도를 통해 골수 세포 증식을 자극한다

골수 세포 ( $3 \times 10^6$  세포/ml)를 96 마이크로타이터 플레이트의 웰에서 인큐베이션하였다. 최종 농도 10 nM의 CI-IB-MECA를 단독으로 또는 최종 농도 0.05 및  $0.5 \mu\text{g/ml}$ 의 항-G-CSF 항체와 함께 가하였다. 세포 증식을 [ $^3\text{H}$ ]-티미딘 혼입 분석에 의해 측정하였다. 결과는 도 17에 나타나 있다.

알 수 있는 바와 같이, 항-G-CSF 항체는 골수 세포의 증식을 투여량 의존적인 방식으로 억제하였다. 이 실험은 또한 CI-IB-MECA의 작용이 G-CSF 경로 (세포로부터 G-CSF의 분비를 포함)를 통해 매개됨을 보여준다.

#### 실시에 10: CI-IB-MECA는 종양 세포의 성장을 억제하고 골수의 증식 및 분화를 자극한다

B-16 흑색종 세포 ( $5 \times 10^5$  세포/ml) 및 골수 세포 ( $3 \times 10^6$  세포/ml)를 96 마이크로타이터 플레이트의 웰에서 인큐베이션하였다. 배양물은 10 % FTS를 보충한 RPMI 배지로 구성되었으며,  $0.01 \mu\text{M}$  또는  $0.1 \mu\text{M}$  농도의 CI-IB-MECA를 단독으로

로 또는 아데노신 A3 수용체 MRS-1523의 길항제와 함께 첨가하였다. 세포 증식을 상기 언급한 [<sup>3</sup>H]-티미딘 혼입 분석에 의해 측정하였다. 결과는 도 18에 나타나 있다. 알 수 있는 바와 같이, MRS-1523의 존재시에는 B-16 흑색종 세포 및 골수 세포 둘 다의 증식은 대조군에 비하여 변화가 없었다. 이에 반하여, CI-IB-MECA는 B-16 흑색종 세포의 증식에 대하여는 억제 효과를, 골수 세포의 증식에 대하여는 자극 효과를 나타내었다.

이러한 결과는 A3 아데노신 수용체 아고니스트의 이중 효과를 입증한다.

**실시예 11: CI-IB-MECA는 화학보호제로 작용한다**

CI-IB-MECA를 사용하여 실시예 4와 유사하게 실시예를 수행하고, CI-IB-MECA의 화학보호 활성을 입증하는 결과를 도 19A 및 19B에 나타내었다.

**실시예 12: 골수 세포의 증식에 대한 IB-MECA 및 CI-IB-MECA의 효과**

쥐 골수 세포를 상기 기술한 바와 같이 배양하였다. IB-MECA 또는 CI-IB-MECA를 A3RAn, MRS-1523의 존재 또는 부재하에 1 또는 10 nM의 농도로 배양물에 가하였다. 길항제는 10 nM의 농도로 가하였다. 결과는 도 20에 나타나 있다.

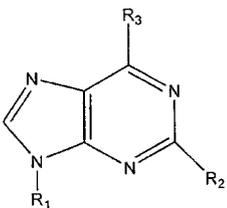
도 20에서 알 수 있는 바와 같이, IB-MECA 및 CI-IB-MECA 둘 다의 효과는 투여량 의존적이다. 또한, 알 수 있는 바와 같이, 이러한 효과는 A3RAn에 의해 크게 억제되었다.

**(57) 청구의 범위**

**청구항 1.**

아데노신 A3 수용체를 통해 주효과를 발휘하는 아데노신 A3 수용체 아고니스트(A3RAg)를 활성 성분으로 포함하고, 이때 상기 A3RAg가 하기 화학식 I의 뉴클레오시드 유도체, 하기 화학식 V의 크산틴-7-리보시드 유도체 또는 이들 화합물의 염인, 백혈구 감소증의 예방 또는 치료를 포함하는 치료 효과를 달성하기 위한 제약 조성물.

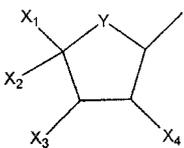
<화학식 I>



{상기 식에서,

R<sub>1</sub>은 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>히드록시알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>카르복시알킬 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>시아노알킬 또는 하기 화학식 II의 기이고:

<화학식 II>



[상기 화학식 II에서, Y는 산소, 황 또는 CH<sub>2</sub>이고;

X<sub>1</sub>은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>NC(=O)- 또는 HOR<sup>c</sup>-이고;

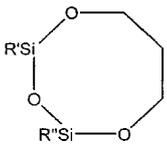
R<sup>a</sup> 및 R<sup>b</sup>는 동일하거나 상이할 수 있고, 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, 아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬, 부톡시카르보닐-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬 및 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되거나, 또는 함께 연결되어 2 내지 5개의 탄소 원자 및 고리내에 질소, 황 및 산소로 이루어진 군으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하는, 단일 고리 또는 다중 축합 고리를 갖는 1가 포화 또는 불포화 기를 형성하며;

R<sup>c</sup>는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬렌, -NH-, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬렌, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬렌, 부톡시카르보닐-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬렌 및 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬렌으로 이루어진 군으로부터 선택되고;

X<sub>2</sub>는 H, 히드록실, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬아미도 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>히드록시알킬이고;

X<sub>3</sub> 및 X<sub>4</sub>는 각각 독립적으로 수소, 히드록실, 아미노, 아미도, 아지도, 할로, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알콕시, 카르복시, 니트릴로, 니트로, 트리플루오로, C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>아릴, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알카릴, 티오, 티오에스테르, 티오에테르, -OCOPh 또는 -OC(=S)OPh 이거나, X<sub>3</sub>과 X<sub>4</sub> 둘다가 >C=S에 연결되어 5원 고리를 형성하는 산소이거나, 또는 X<sub>2</sub> 및 X<sub>3</sub>이 하기 화학식 III의 고리를 형성하고:

<화학식 III>



(상기 화학식 III에서, R' 및 R''은 독립적으로 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬이다);

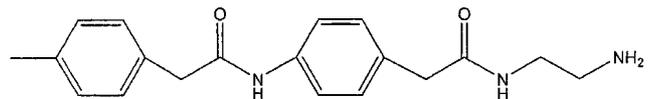
R<sub>2</sub>는 수소, 할로, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬에테르, 아미노, 히드라지도, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알콕시, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>티오알콕시, 피리딜 티오, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>알케닐, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>알키닐, 티오 및 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬티오로 이루어진 군으로부터 선택되고;

R<sub>3</sub>는 -NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> 기이고, 이때

R<sub>4</sub>는 수소이거나, 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬 및 C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>아릴-NH-C(Z)-로부터 선택되는 기이고, 이때 Z는 O, S 또는 NR<sup>a</sup>이며, R<sup>a</sup>는 상기 정의한 의미를 가지고;

R<sub>4</sub>가 수소인 경우, R<sub>5</sub>는 치환되지 않거나 하나 이상의 위치에서 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, 아미노, 할로, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬, 니트로, 히드록실, 아세트아미도, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알콕시 및 술폰산 및 그의 염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 치환기로 치환된, (R)-1-페닐에틸, (S)-1-페닐에틸, 벤질, 페닐에틸 및 아닐리드 기로 이루어진 군으로부터 선택되거나, R<sub>5</sub>는 벤조디옥산메틸, 퍼푸릴, L-프로필알라닐아미노벤질, β-알라닐아미노벤질, 3급-부톡시카르보닐-β-알라닐아미노벤질, 페닐아미노, 카르바

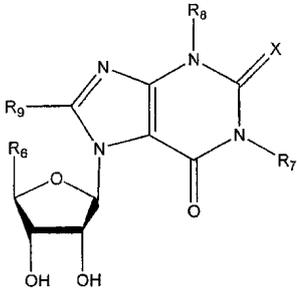
모일, 페녹시 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬이거나, 또는 R<sub>5</sub>는 화학식의 기이고;



R<sub>4</sub>가 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬 및 C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>아릴-NH-C(Z)-로부터 선택되는 기인 경우에는, R<sub>5</sub>는 헤테로아릴-NR<sup>a</sup>-C(Z)-, 헤테로아릴-C(Z)-, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알카릴-NR<sup>a</sup>-C(Z)-, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알카릴-C(Z)-, C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>아릴-NR<sup>a</sup>-C(Z)- 및 C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>아릴-C(Z)-로 이루어진

균으로부터 선택되고, 이때 Z 및 R<sup>a</sup>는 상기 정의된 의미를 가지며, 헤테로아릴은 하나 이상의 고리내에(하나 이상의 고리가 존재하는 경우) 산소, 질소 및 황으로 이루어진 균으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하는 탄소수 1 내지 15의 방향족 카르보시클릭 기이다}

<화학식 V>



{상기 식에서,

X는 O 또는 S이고;

R<sub>6</sub>는 R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>NC(=O)- 또는 HOR<sup>c</sup>-이고;

R<sup>a</sup> 및 R<sup>b</sup>는 동일하거나 상이할 수 있고, 수소, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, 아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬 및 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬로 이루어진 균으로부터 선택되거나, 또는 함께 연결되어 2 내지 5개의 탄소 원자 및 고리내에 질소, 황 및 산소로 이루어진 균으로부터 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 포함하는, 단일 고리 또는 다중 축합 고리를 갖는 1가 포화 또는 불포화 기를 형성하고;

R<sup>c</sup>는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, 아미노, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬, 부톡시카르보닐-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>아미노알킬 및 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬로부터 선택되고;

R<sub>7</sub> 및 R<sub>8</sub>는 동일하거나 상이할 수 있고, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬, (R)-1-페닐에틸, (S)-1-페닐에틸, 비치환 벤질기, 비치환 아닐리드기, 및 벤질기가 하나 이상의 위치에서 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알킬, 아미노, 할로, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>할로알킬, 니트로, 히드록실, 아세트아미도, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알콕시 및 술폰산으로 이루어진 균으로부터 선택되는 치환기로 치환된 페닐에테르로 이루어진 균으로부터 선택되며;

R<sub>9</sub>은 할로, 벤질, 페닐, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>시클로알킬 및 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>알콕시로 이루어진 균으로부터 선택된다}.

**청구항 2.**

삭제

**청구항 3.**

제1항에 있어서, 경구 투여하기 위한 제약 조성물.

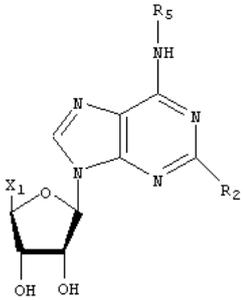
**청구항 4.**

삭제

**청구항 5.**

제1항에 있어서, 활성 성분이 하기 화학식 IV의 뉴클레오시드 유도체인 제약 조성물.

<화학식 IV>



상기 식에서,

X<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> 및 R<sub>5</sub>는 제1항에서 정의한 바와 같다.

### 청구항 6.

제5항에 있어서, 활성 성분이 N<sup>6</sup>-벤질아데노신-5'-우론아미드 유도체인 제약 조성물.

### 청구항 7.

제6항에 있어서, 활성 성분이 N<sup>6</sup>-2-(4-아미노페닐)에틸아데노신 (APNEA), N<sup>6</sup>-(4-아미노-3-요오도벤질)아데노신-5'-(N-메틸우론아미드) (AB-MECA), N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-아데노신-5'-N-메틸-우론아미드 (IB-MECA) 및 2-클로로-N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-아데노신-5'-N-메틸-우론아미드 (CI-IB-MECA)로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

### 청구항 8.

제6항에 있어서, 활성 성분이 N<sup>6</sup>-벤질아데노신-5'-알킬우론아미드-N<sup>1</sup>-옥시드 또는 N<sup>6</sup>-벤질아데노신-5'-N-디알릴-우론아미드-N<sup>1</sup>-옥시드인 제약 조성물.

### 청구항 9.

삭제

### 청구항 10.

삭제

### 청구항 11.

제1항에 있어서, 백혈구 감소증이 항암치료 체제 내에서 대상에게 투여되는 세포환원성 암 약물, 항갑상선 약물, 페노티아진, 항경련제, 페니실린, 술폰아미드, 클로람페니콜 또는 항중양제에 의해 유도되는 것인 제약 조성물.

**청구항 12.**

삭제

**청구항 13.**

삭제

**청구항 14.**

삭제

**청구항 15.**

삭제

**청구항 16.**

삭제

**청구항 17.**

삭제

**청구항 18.**

삭제

**청구항 19.**

아데노신 A3 수용체를 통해 주효과를 발휘하는 제1항에서 정의된 바와 같은 아데노신 A3 수용체 아고니스트(A3RAg)를 활성 성분으로 포함하는, 약물의 독성 부작용의 예방 또는 치료를 포함하는 치료 효과를 달성하기 위한 제약 조성물.

**청구항 20.**

제19항에 있어서, 독성 부작용이 체중 감소로 나타나는 것인 제약 조성물.

**청구항 21.**

제19항 또는 제20항에 있어서, 약물이 세포환원성 암 약물, 항갑상선 약물, 페노티아진, 항경련제, 페니실린, 숄폰아미드, 클로람페니콜 또는 항종양제인 제약 조성물.

**청구항 22.**

삭제

**청구항 23.**

제19항에 있어서, 경구 투여하기 위한 제약 조성물.

**청구항 24.**

제23항에 있어서, 활성 성분이 제5항 내지 제8항 중 어느 한 항에서 정의된 것인 제약 조성물.

**청구항 25.**

삭제

**청구항 26.**

삭제

**청구항 27.**

삭제

**청구항 28.**

아데노신 A3 수용체를 통해 주효과를 발휘하는 제1항에서 정의된 바와 같은 아데노신 A3 수용체 아고니스트(A3RAg)를 활성 성분으로 포함하는, 종양 세포의 성장 또는 증식의 선택적 억제제를 포함하는 치료 효과를 달성하기 위한 제약 조성물.

**청구항 29.**

삭제

**청구항 30.**

삭제

**청구항 31.**

제28항에 있어서, 경구 투여하기 위한 제약 조성물.

**청구항 32.**

제28항에 있어서, 세포환원성 암 약물, 항갑상선 약물, 페노티아진, 항경련제, 페니실린, 술폰아미드, 클로람페니콜 또는 항종양제와 함께 투여하기 위한 제약 조성물.

**청구항 33.**

제28항에 있어서, 활성 성분이 제5항 내지 제8항 중 어느 한 항에서 정의된 것인 제약 조성물.

**청구항 34.**

대상에서 암 세포의 증식을 억제하면서 세포환원성 암 약물, 항갑상선 약물, 페노티아진, 항경련제, 페니실린, 술폰아미드, 클로람페니콜 또는 항종양제에 의해 유도된 백혈구 감소증을 예방 또는 치료하는 이중 효과를 제공하며, 아데노신 A3 수용체를 통해 주효과를 발휘하는 제1항에서 정의된 바와 같은 A3RAg를 활성 성분으로 포함하는, 대상에서 암을 치료하기 위한 제약 조성물.

**청구항 35.**

제34항에 있어서, 활성 성분이 상기 약물과 함께 상승작용하여 상승적인 항종양 효과를 제공하는 것인 제약 조성물.

**청구항 36.**

제34항 또는 제35항에 있어서, 경구 투여하기 위한 제약 조성물.

**청구항 37.**

제34항에 있어서, 활성 성분이 제5항 내지 제8항 중 어느 한 항에서 정의된 것인 제약 조성물.

**청구항 38.**

제37항에 있어서, 경구 투여하기 위한 제약 조성물.

**청구항 39.**

제1항, 제19항, 제28항 및 제34항 중 어느 한 항에 있어서, A3RAg의 투여량이 1 내지 100 $\mu$ g/kg 체중/일의 범위내인 제약 조성물.

**청구항 40.**

제39항에 있어서, 투여량이 1 내지 50 $\mu$ g/kg 체중/일의 범위내인 제약 조성물.

**청구항 41.**

제40항에 있어서, 투여량이 1 내지 10 $\mu$ g/kg 체중/일의 범위내인 제약 조성물.

**청구항 42.**

제1항, 제19항, 제28항 및 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 활성 성분이 N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-9-메틸아데닌;

N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-9-히드록시메틸아데닌;

(R)-N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-9-(2,3-디히드록시프로필)아데닌;

(S)-N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-9-(2,3-디히드록시프로필)아데닌;

N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질아데닌-9-일)아세트산;

N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-9-(3-시아노프로필)아데닌;

2-클로로-N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-9-메틸아데닌;

2-아미노-N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-9-메틸아데닌;

2-히드라지도-N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)-9-메틸아데닌;

- $N^6$ -(3-요오도벤질)-2-메틸아미노-9-메틸아데닌;
- 2-디메틸아미노- $N^6$ -(3-요오도벤질)-9-메틸아데닌;
- $N^6$ -(3-요오도벤질)-9-메틸-2-프로필아미노아데닌;
- 2-헥실아미노- $N^6$ -(3-요오도벤질)-9-메틸아데닌;
- $N^6$ -(3-요오도벤질)-2-메톡시-9-메틸아데닌;
- $N^6$ -(3-요오도벤질)-9-메틸-2-메틸티오아데닌;
- $N^6$ -(3-요오도벤질)-9-메틸-2-(4-피리딜티오)아데닌;
- (1*S*,2*R*,3*S*,4*R*)-4-(6-아미노-2-페닐에틸아미노-9H-푸린-9-일)시클로펜탄-1,2,3-트리올;
- (1*S*,2*R*,3*S*,4*R*)-4-(6-아미노-2-클로로-9H-푸린-9-일)시클로펜탄-1,2,3-트리올;
- (±)-9-[2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -디히드록시-4 $\beta$ -( $N$ -메틸카르바모일)시클로펜트-1 $\beta$ -일)]- $N^6$ -(3-요오도벤질)아데닌;
- 2-클로로-9-(2'-아미노-2',3'-디데옥시- $\beta$ -D-5'-메틸-아라비노-푸론-아미도)- $N^6$ -(3-요오도벤질)아데닌;
- 2-클로로-9-(2',3'-디데옥시-2'-플루오로- $\lambda$ -D-5'-메틸-아라비노푸론-아미도)- $N^6$ -(3-요오도벤질)아데닌;
- 9-(2-아세틸-3-데옥시- $\beta$ -D-5-메틸-리보푸론아미도)-2-클로로- $N^6$ -  
(3-요오도벤질)아데닌;
- 2-클로로-9-(3-데옥시-2-메탄술포닐- $\beta$ -D-5-메틸-리보푸론아미도)- $N^6$ -(3-요오도벤질)아데닌;
- 2-클로로-9-(3-데옥시- $\beta$ -D-5-메틸-리보푸론아미도)- $N^6$ -(3-요오도벤질)아데닌;
- 2-클로로-9-(3,5-1,1,3,3-테트라이소프로필디실록실- $\beta$ -D-5-리보푸라노실)- $N^6$ -(3-요오도벤질)아데닌;
- 2-클로로-9-(2',3'-O-티오카르보닐- $\beta$ -D-5-메틸-리보푸론아미도)- $N^6$ -(3-요오도벤질)아데닌;
- 9-(2-페녹시티오카르보닐-3-데옥시- $\beta$ -D-5-메틸-리보푸론-아미도)-2-클로로- $N^6$ -(3-요오도벤질)아데닌;
- 1-(6-벤질아미노-9H-푸린-9-일)-1-데옥시- $N$ ,4-디메틸- $\beta$ -D-리보푸라노시드우론아미드;
- 2-클로로-9-(2,3-디데옥시- $\beta$ -D-5-메틸-리보푸론아미도)- $N^6$ -벤질아데닌;
- 2-클로로-9-(2'-아지도-2',3'-디데옥시- $\beta$ -D-5'-메틸-아라비노-푸론-아미도)- $N^6$ -벤질아데닌;
- 2-클로로-9-( $\beta$ -D-에리트르푸라노시드)- $N^6$ -(3-요오도벤질)아데닌;
- $N^6$ -(벤조디옥산메틸)아데노신;

- 1-(6-피푸릴아미노-9H-푸린-9-일)-1-데옥시-N-메틸-β-D-리보-푸라노시드우론아미드;
- N<sup>6</sup>-[3-(L-프롤릴아미노)벤질]아데노신-5'-N-메틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-[3-(β-알라닐아미노)벤질]아데노신-5'-N-메틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-[3-(N-3급-부톡시카르보닐-β-알라닐아미노)벤질]아데노신-5'-N-메틸우론아미드;
- 6-(N'-페닐히드라지닐)푸린-9-β-리보푸라노시드-5'-N-메틸우론아미드;
- 6-(O-페닐히드록실아미노)푸린-9-β-리보푸라노시드-5'-N-메틸우론아미드;
- 9-(β-D-2',3'-디데옥시에리트로푸라노실)-N<sup>6</sup>-[(3-λ-알라닐-아미노)벤질]아데노신;
- 9-(β-D-에리트로푸라노시드)-2-메틸아미노-N<sup>6</sup>-(3-요오도벤질)아데닌;
- 2-클로로-N-(3-요오도벤질)-9-(2-테트라히드로푸릴)-9H-푸린-6-아민;
- 2-클로로-(2'-데옥시-6'-티오-L-아라비노실)아데닌;
- 2-클로로-(6'-티오-L-아라비노실)아데닌;
- N<sup>6</sup>-(4-비페닐-카르보닐아미노)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(2,4-디클로로벤질-카르보닐아미노)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(4-메톡시페닐-카르보닐아미노)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(4-클로로페닐-카르보닐아미노)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(페닐-카르보닐아미노)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(벤질카르바모일아미노)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(4-술폰아미도-페닐카르바모일)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(4-아세틸-페닐카르바모일)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-((R)-α-페닐에틸카르바모일)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-((S)-α-페닐에틸카르바모일)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(5-메틸-이속사졸-3-일-카르바모일)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(1,3,4-티아디아졸-2-일-카르바모일)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;
- N<sup>6</sup>-(4-n-프로폭시-페닐카르바모일)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드;

$N^6$ -비스-(4-니트로페닐카르바모일)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드; 및

$N^6$ -비스-(5-클로로-피리딘-2-일-카르바모일)-아데노신-5'-N-에틸우론아미드

로 구성된 군에서 선택된 것인 제약 조성물.

### 청구항 43.

제5항에 있어서, 활성 성분이 화학식 IV중,

$X_1$ 이  $R^aR^bNC(=O)$ 이고, 이때

$R^a$  및  $R^b$ 가 동일하거나 상이할 수 있으며, 수소,  $C_1$ - $C_{10}$ 알킬, 아미노,  $C_1$ - $C_{10}$ 할로알킬,  $C_1$ - $C_{10}$ 아미노알킬 및  $C_3$ - $C_{10}$ 시클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고;

$R_2$ 가 수소, 할로,  $C_1$ - $C_{10}$ 알콕시, 아미노,  $C_2$ - $C_{10}$ 알케닐 및  $C_2$ - $C_{10}$ 알키닐로 이루어진 군으로부터 선택되고;

$R_5$ 가 (*R*)-1-페닐에틸, (*S*)-1-페닐에틸, 비치환 벤질 기, 및 하나 이상의 위치에서  $C_1$ - $C_{10}$ 알킬, 아미노, 할로,  $C_1$ - $C_{10}$ 할로알킬, 니트로, 히드록시, 아세트아미도,  $C_1$ - $C_{10}$ 알콕시 및 술포로 이루어진 군으로부터 선택된 치환기로 치환된 벤질 기로 이루어진 군으로부터 선택되는

화합물들로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

### 청구항 44.

제43항에 있어서, 활성 성분이,

화학식 IV중  $R^a$  및  $R^b$ 가 동일하거나 상이하며, 수소 및  $C_1$ - $C_{10}$ 알킬로 이루어진 군으로부터 선택되고,  $R_2$ 가 수소 또는 할로인 화합물;

화학식 IV중  $R^a$ 가 수소이고,  $R_2$ 가 수소이며,  $R_5$ 가 비치환 벤질인 화합물;

화학식 IV중  $R^b$ 가  $C_1$ - $C_{10}$ 알킬 또는  $C_3$ - $C_{10}$ 시클로알킬이고,  $R_5$ 가 (*R*)-1-페닐에틸, (*S*)-1-페닐에틸, 또는 하나 이상의 위치에서 할로, 아미노, 아세트아미도,  $C_1$ - $C_{10}$ 할로알킬 및 술포로 이루어진 군으로부터 선택된 치환기로 치환된 벤질이며, 이때 술포 유도체가 염인 화합물;

화학식 IV중  $R_2$ 가 화학식  $R^d-C=C-$ 의  $C_2$ - $C_{10}$ 알킨이고, 이때  $R^d$ 가  $C_1$ - $C_8$ 알킬인 화합물; 및

화학식 IV중  $R_2$ 가 할로,  $C_1$ - $C_{10}$ 알킬아미노 또는  $C_1$ - $C_{10}$ 알킬티오이고,  $R^a$ 가 수소이며,  $R^b$ 가  $C_1$ - $C_{10}$ 알킬이고,  $R_5$ 가 하나 이상의 위치에서 할로, 아미노, 아세트아미도,  $C_1$ - $C_{10}$ 할로알킬 및 술포로 이루어진 군으로부터 선택된 치환기로 치환된 벤질인 화합물

로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

**청구항 45.**

제1항, 제19항, 제28항 및 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 활성 성분이 화학식 V중,

X가 O이고;

$R_6$ 가  $R^aR^bNC(=O)$ 이고, 이때

$R^a$  및  $R^b$ 가 동일하거나 상이할 수 있고, 수소,  $C_1-C_{10}$ 알킬, 아미노,  $C_1-C_{10}$ 할로알킬,  $C_1-C_{10}$ 아미노알킬 및  $C_3-C_{10}$ 시클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되며;

$R_7$  및  $R_8$ 가 동일하거나 상이할 수 있고,  $C_1-C_{10}$ 알킬, (*R*)-1-페닐에틸, (*S*)-1-페닐에틸, 비치환 벤질 기, 및 하나 이상의 위치에서  $C_1-C_{10}$ 알킬, 아미노, 할로,  $C_1-C_{10}$ 할로알킬, 니트로, 히드록시, 아세트아미도,  $C_1-C_{10}$ 알콕시 및 술포로 이루어진 군으로부터 선택되는 치환기로 치환된 벤질 기로 이루어진 군으로부터 선택되며;

$R_9$ 가 할로, 벤질, 페닐 및  $C_3-C_{10}$ 시클로알킬로 이루어진 군으로부터 선택되는

화합물들로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

**청구항 46.**

제1항, 제19항, 제28항 및 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 활성 성분이 트리에틸암모늄염 형태인 제약 조성물.

**청구항 47.**

삭제

**청구항 48.**

삭제

**청구항 49.**

삭제

**청구항 50.**

삭제

**청구항 51.**

삭제

**청구항 52.**

삭제

**청구항 53.**

삭제

**청구항 54.**

삭제

청구항 55.  
삭제

청구항 56.  
삭제

청구항 57.  
삭제

청구항 58.  
삭제

청구항 59.  
삭제

청구항 60.  
삭제

청구항 61.  
삭제

청구항 62.  
삭제

청구항 63.  
삭제

청구항 64.  
삭제

청구항 65.  
삭제

청구항 66.  
삭제

청구항 67.  
삭제

청구항 68.  
삭제

청구항 69.  
삭제

청구항 70.  
삭제

청구항 71.  
삭제

청구항 72.  
삭제

청구항 73.  
삭제

청구항 74.  
삭제

청구항 75.  
삭제

청구항 76.  
삭제

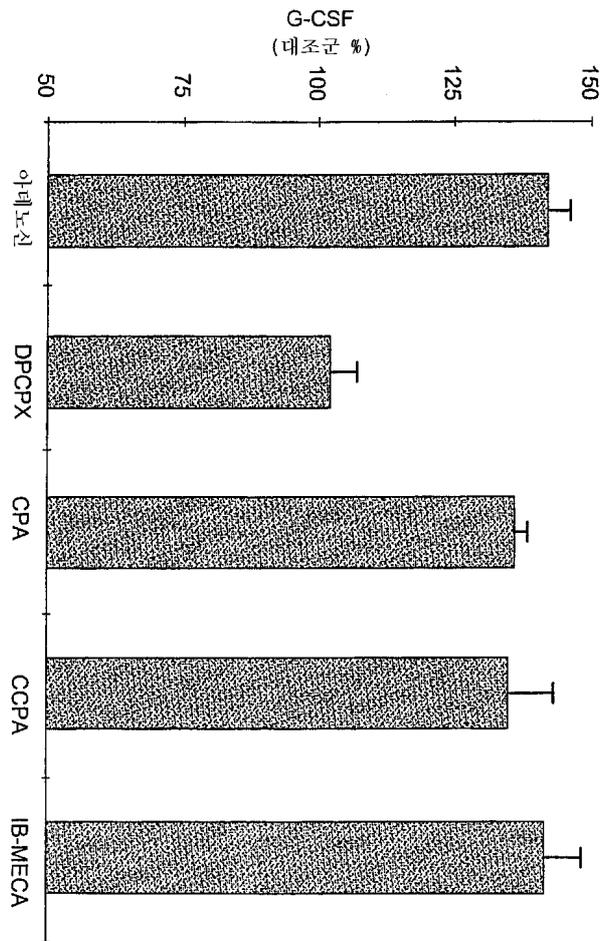
청구항 77.  
삭제

청구항 78.  
삭제

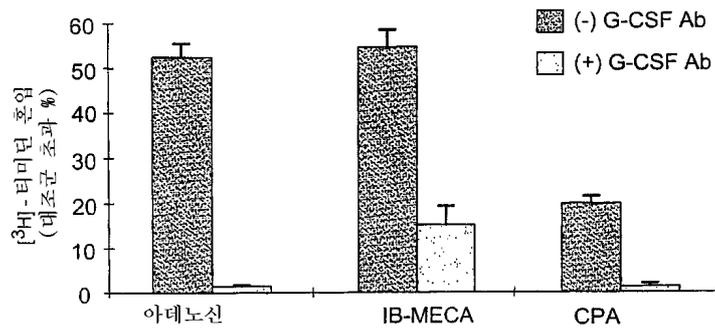
청구항 79.  
삭제

도면

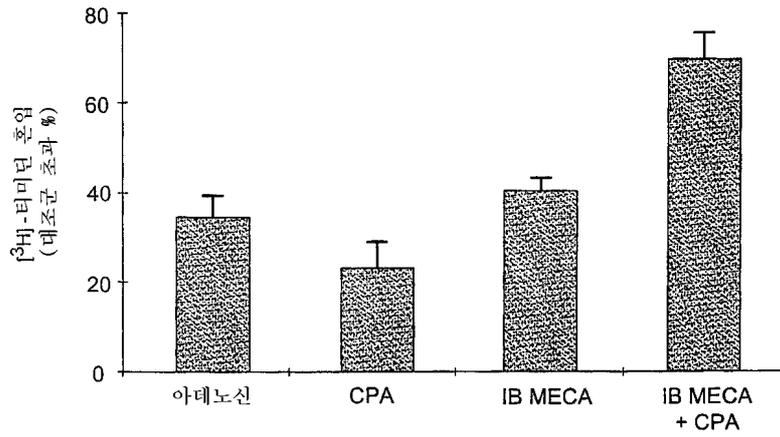
도면1



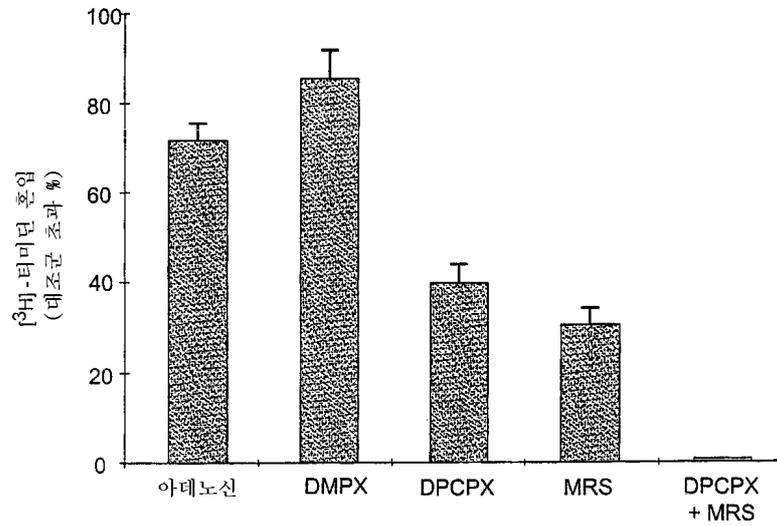
도면2



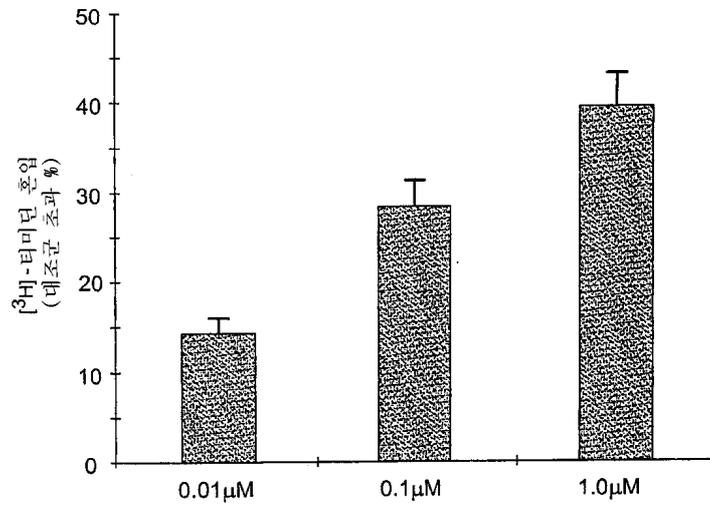
도면3A



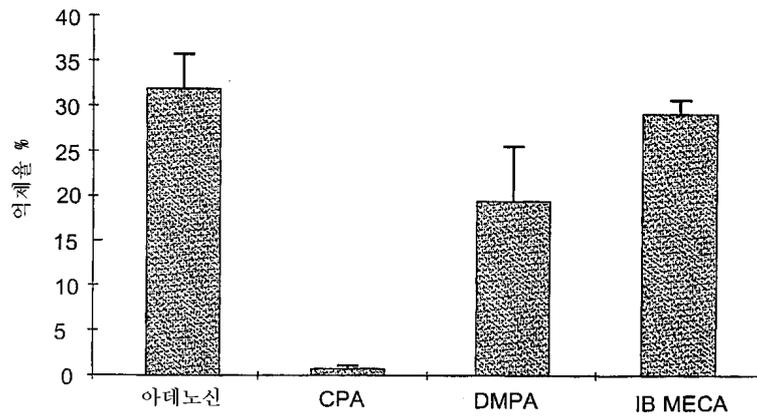
도면3B



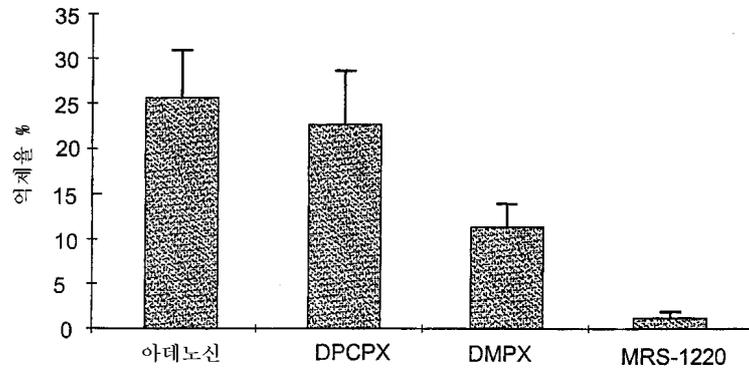
도면4



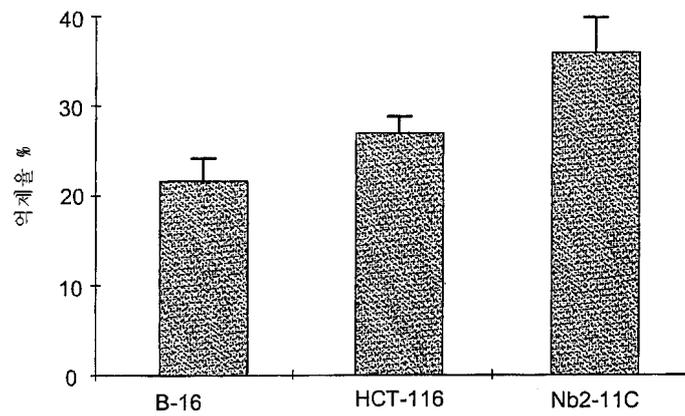
도면5A



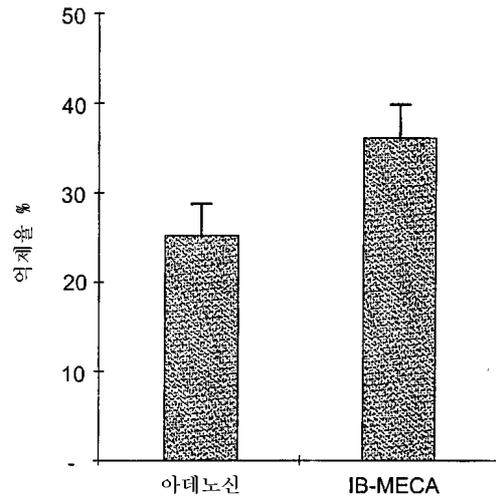
도면5B



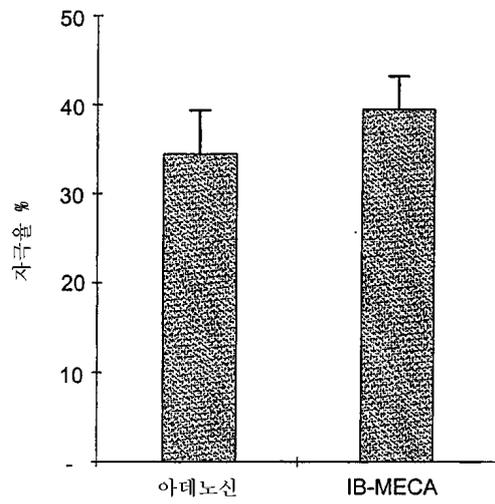
도면6



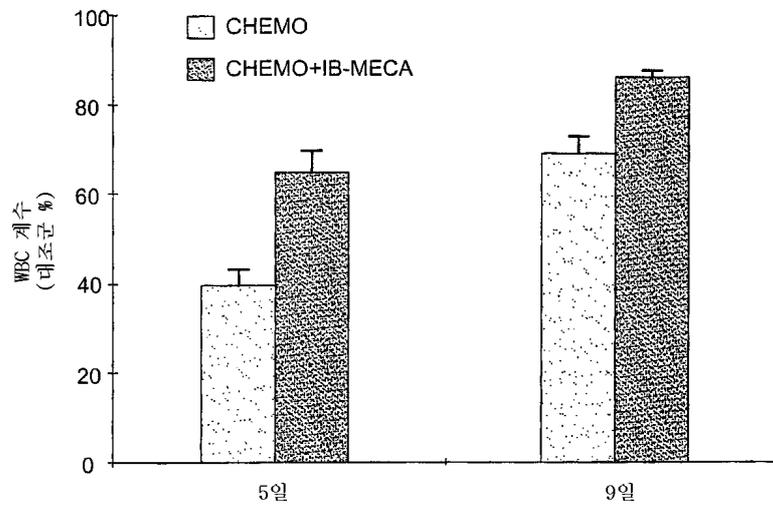
도면7A



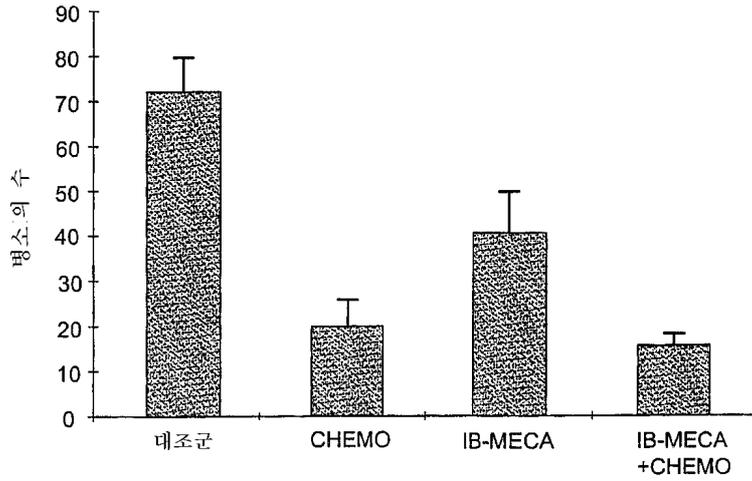
도면7B



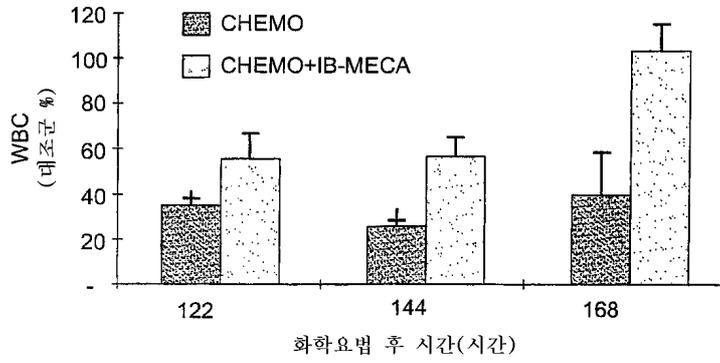
도면8



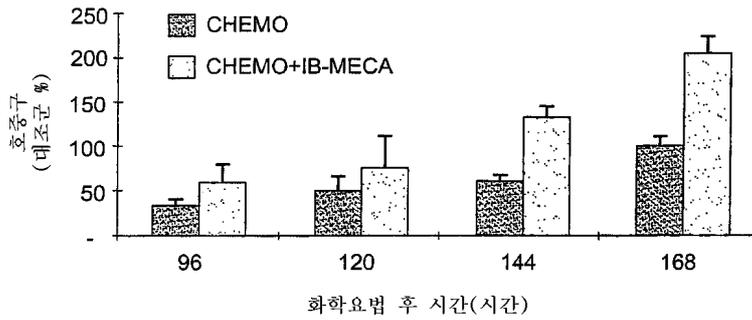
도면9



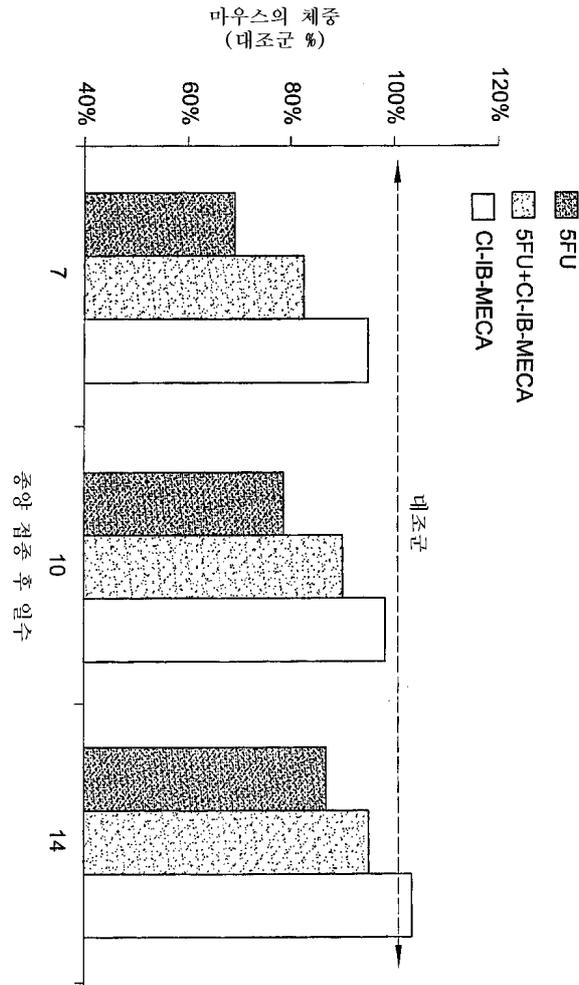
도면10A



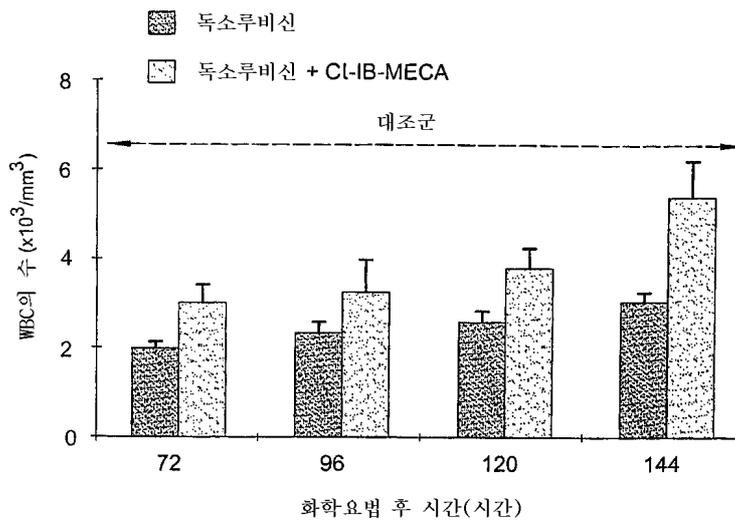
도면10B



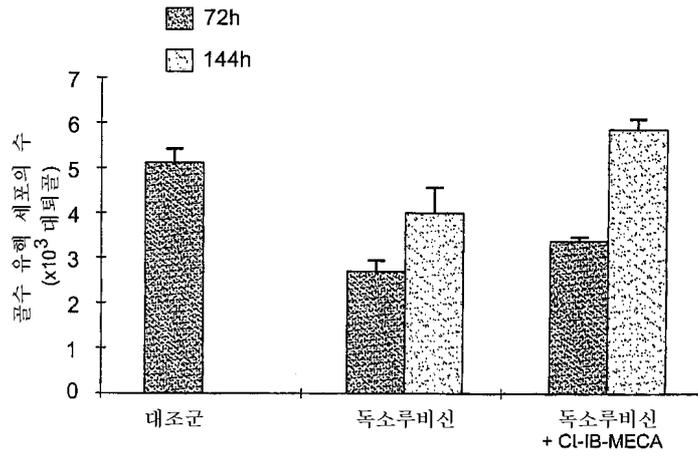
도면11



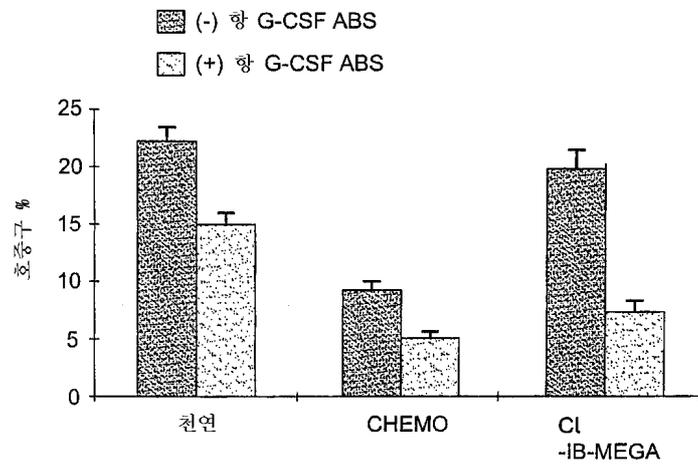
도면12A



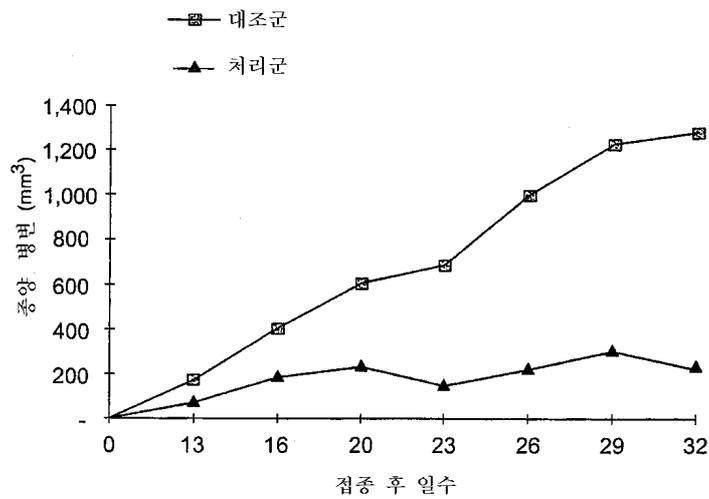
도면12B



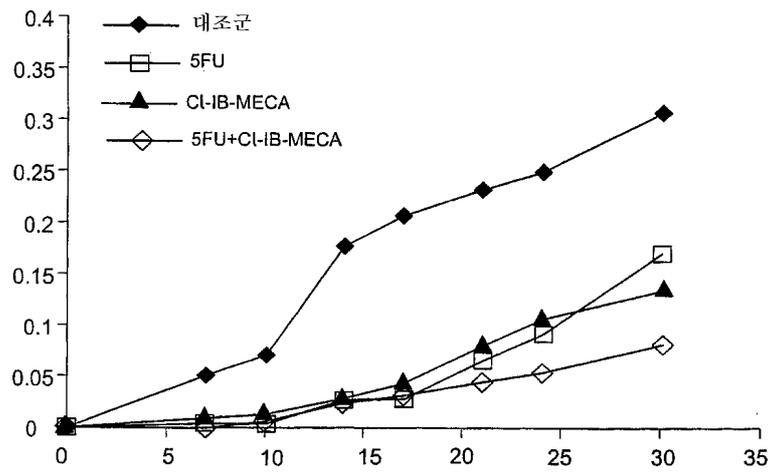
도면13



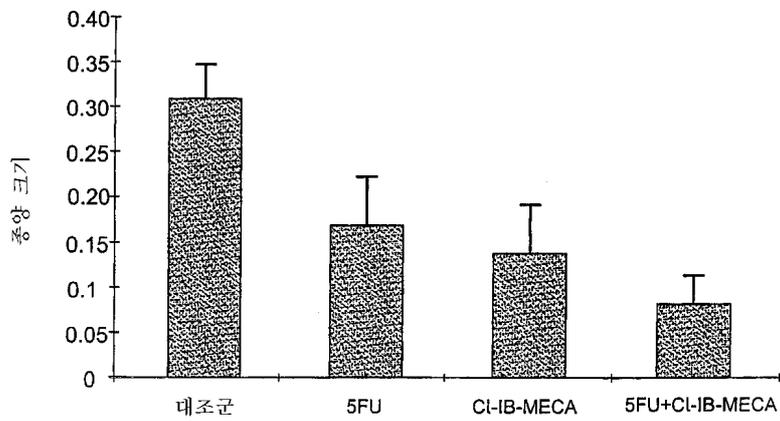
도면14



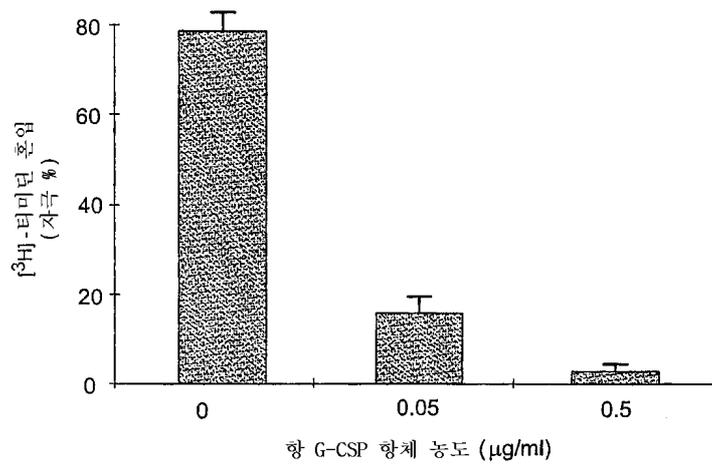
도면15



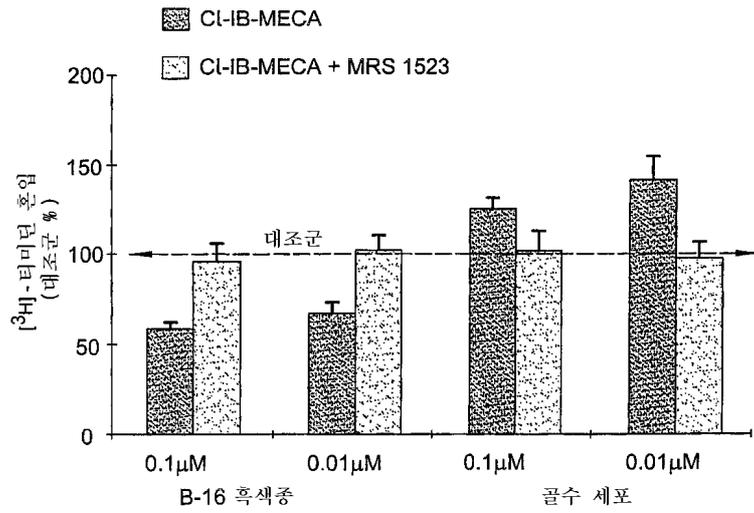
도면16



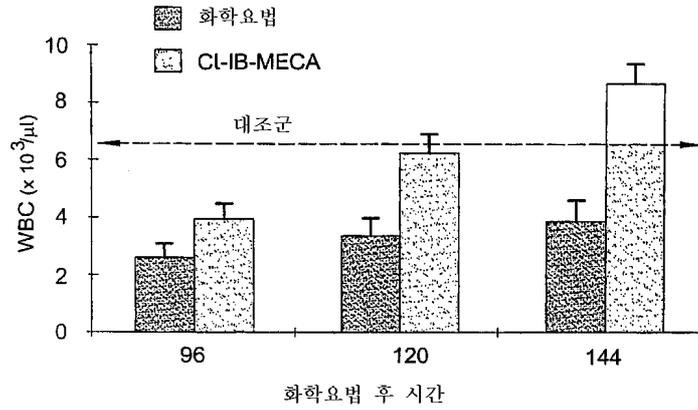
도면17



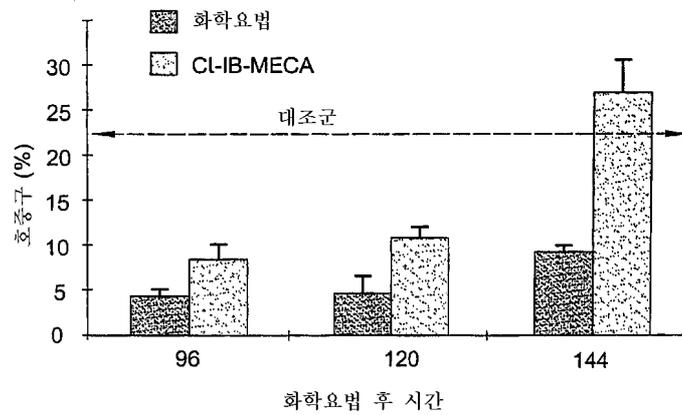
도면18



도면19A



도면19B



도면20

