



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0140549
(43) 공개일자 2016년12월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 473/34 (2006.01) *A61K 31/52* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07D 473/34 (2013.01)
A61K 31/52 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0159362(분할)
(22) 출원일자 2016년11월28일
심사청구일자 2016년11월28일
(62) 원출원 특허 10-2013-0084844
원출원일자 2013년07월18일
심사청구일자 2014년07월09일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김원기
서울특별시 강남구 압구정로 321, 31동 901호 (압구정동, 한양아파트)
최용석
경기도 고양시 일산동구 위시티4로 45, 409동 1604호 (식사동, 위시티일산자이4단지아파트)
(74) 대리인
이처영, 장제환

전체 청구항 수 : 총 13 항

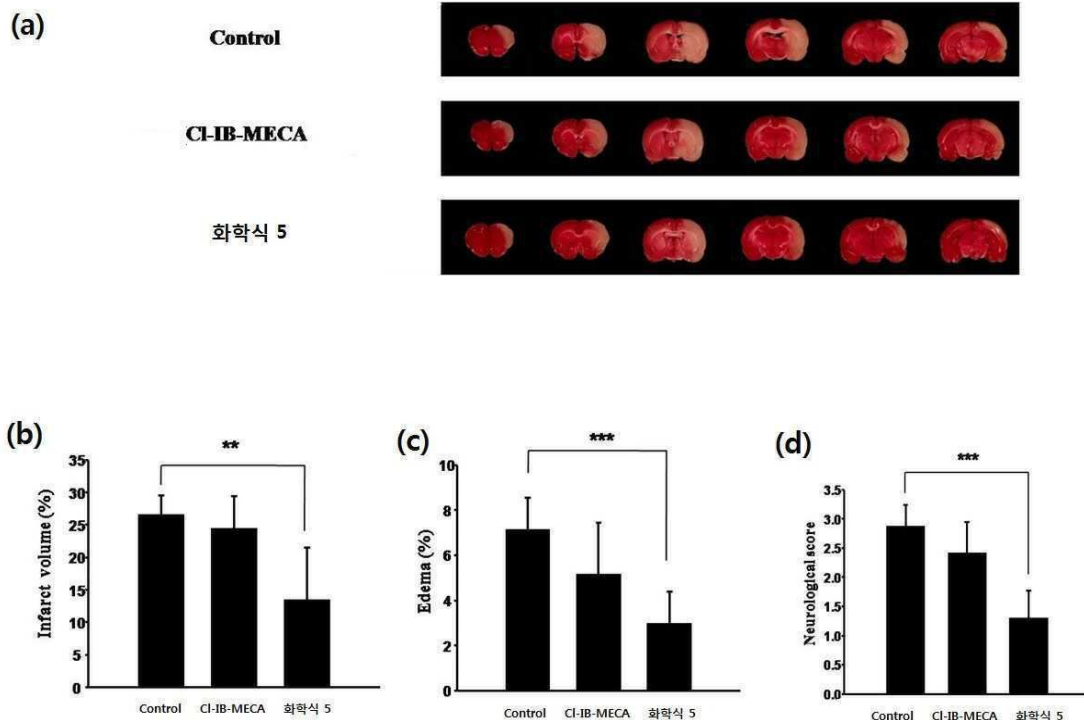
(54) 발명의 명칭 신규한 아데닌 유도체 및 그 용도

(57) 요약

본 발명은 신규한 아데닌 유도체 및 이의 약제학적 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 화학식 1의 구조식을 가지는 신규한 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염과, 이를 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 신규 아데닌 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염은 아데노

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



신 A3 수용체 효현제로서, 염증성세포(소교세포 (microglia), 대식세포(macrophages)와 호중구(neutrophil), 등)의 질환 부위로의 이주(이동, migration 혹은 infiltration) 및 활성화에 대한 억제 작용을 가진다. 아울러, 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 뇌허혈증 실험 모델에서 종래 공지된 아데노신 A3 수용체 효현제에 비하여 현저한 정도로 뇌손상을 억제 및 치료하는 효과가 확인되었으며, 뇌경색 후 10시간 이후의 약물 투여에도 유의적인 효과가 나타나며, 뇌허혈을 통한 뇌손상에도 장기 생존을 가능하게 함이 확인된 바, 뇌졸중을 포함한 퇴행성 뇌 질환의 치료 및 예방제로서 활용될 수 있어 유용하다.

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2013035843

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 신약후보물질발굴 및 최적화사업

연구과제명 허혈성 뇌졸중 치료를 위한 새로운 아데노신 A3 수용체 효현제 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교

연구기간 2011.06.01 ~ 2016.05.31

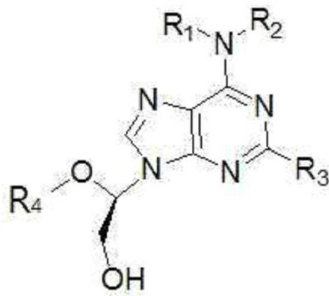
명세서

청구범위

청구항 1

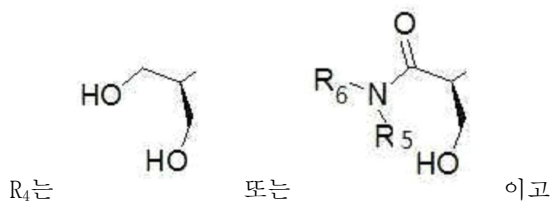
하기 화학식 1로 표시되는 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 1]



상기 식에서 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기이고;

R₃는 수소원자 또는 할로젠 원자이고;



R₅ 및 R₆는 각각 독립적으로 수소 원자 메틸기이고,

(S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드;

(R)-2-(1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시) 프로판-1,3-다이올;

(S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드; 및

(R)-2-(2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)프로판-1,3-다이올;로 구성된 군에서 선택된 화합물임.

청구항 2

제1항의 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 치료 또는 예방용 약학조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 퇴행성 뇌질환은 뇌졸중, 중풍, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 또는 헌팅턴 질환인 것을 특징으로 하는 약학 조성물.

청구항 4

제1항의 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 개선 또는 예방을 위한 건강기능식품.

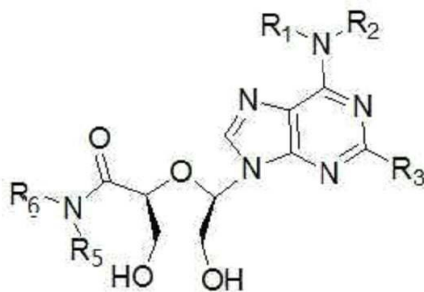
청구항 5

제4항에 있어서, 상기 퇴행성 뇌질환은 뇌졸중, 중풍, 치매, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 또는 헌팅턴 질환인 것을 특징으로 하는 건강기능식품.

청구항 6

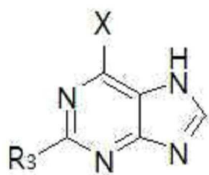
다음의 단계를 포함하는 하기 화학식 2로 표시되는 아데닌 유도체의 제조방법:

[화학식 2]



(a) 출발물질인 (2R,3R,4S,5R)-2-아세톡시-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 화학식 4로 표시되는 퓨린계 화합물을 반응시키는 단계,

[화학식 4]



상기 식에서 R₃는 수소원자, 알킬기, 알케닐기, 알키닐기 또는 할로젠 원자이고, X는 할로젠 원자이다;

(b) 상기 (a) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R₁-NY-R₂를 반응시키는 단계,

상기 식에서 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기, 또는 방향환 (aromatic ring)이고, Y는 할로젠 원자이다;

(c) 상기 (b) 단계에서 제조된 중간체 화합물을 아세토나이드화 반응시키는 단계;

(d) 상기 (c) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R₅-NH-R₆를 반응시키는 단계,

상기 식에서 R₅ 및 R₆는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 알킬기이다; 및

(e) 상기 (d) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 화학식 2의 화합물을 제조하는 단계.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 아데닌 유도체는 (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드인 것을 특징으로 하는 아데닌 유도체의 제조방법.

청구항 8

다음의 단계를 포함하는 (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드의 제조방법:

(a) 출발물질인 (2R,3R,4S,5R)-2-아세톡시-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 2,6-다이클로로퓨린을 반응시켜 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2,6-다이클로로-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트를 수득하는 단계;

(b) 상기 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2,6-다이클로로-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 3-아이오도벤질아민 염산염을 반응시켜 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트를 수득하는 단계;

(c) 상기 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트를 메탄올릭 암모니아에 녹인 후 감압 농축하여 트리올 중간체의 형태로 수득한 다음, 아세노타이드화 반응시켜 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올을 수득하는 단계;

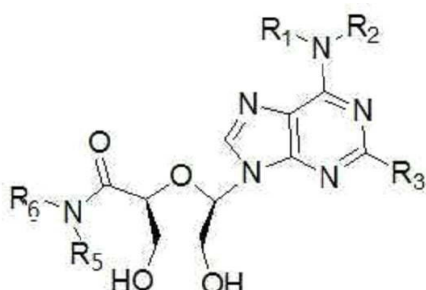
(d) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올을 에틸 에스터화 시킨 후 메틸 아민을 반응시켜 (2S,5R)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시-N-메틸테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드를 수득하는 단계; 및

(e) 상기 (2S,5R)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시-N-메틸테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드의 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드를 제조하는 단계.

청구항 9

다음의 단계를 포함하는 하기 화학식 2로 표시되는 아데닌 유도체의 제조방법:

[화학식 2]



(a) 출발물질인 (2R,5R)-2-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-5-(하이드록시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이올을 아세토나이드화 반응시키는 단계;

(b) 상기 (a) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링의 CH₂OH기를 보호기로 블로킹 반응시킨 후, R₁-N^Y-R₂를 반응시키는 단계,

상기 식에서 R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소원자, C_1-C_6 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기이고, Y는 할로젠 원자이다;

(c) 상기 (b) 단계에서 제조된 중간체 화합물을 탈아세토나이드화 반응시키고, 탈아세토나이드화된 중간체 화합물의 퓨란링의 다이올기를 각각 보호기로 블로킹시키는 단계;

(d) 상기 (c) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링의 CH_2OH 기의 보호기를 제거하는 단계;

(e) 상기 (d) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R_5-NH-R_6 를 반응시키는 단계; 및

(f) 상기 (e) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링의 다이올기의 보호기를 제거하고, 퓨란링의 개환반응을 수행하여 화학식 2의 화합물을 제조하는 단계,

상기 식에서 R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소원자, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기이고, Y는 할로젠 원자이며;

R_3 는 수소원자 또는 할로젠 원자이고;

R_5 및 R_6 는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 메틸기임.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 아데닌 유도체는 (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드인 것을 특징으로 하는 아데닌 유도체의 제조방법.

청구항 11

다음의 단계를 포함하는 (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드의 제조방법:

(a) 출발물질인 (2R,5R)-2-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-5-(하이드록시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이올을 아세토나이드화 반응시켜 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올을 수득하는 단계;

(b) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올에 벤조일클로라이드를 적가하여 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트를 수득하는 단계;

(c) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트에 3-아이오도벤질아민 염산염을 반응시켜 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트를 수득하는 단계;

(d) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트에 아세트산을 가하여 가열 환류시키고 감압농축하여 다이올 중간체로 수득한 다음, 터트뷰틸다이메틸실릴트리플레이트를 가하여 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸 벤조에이트를 수득하는 단계;

(e) 상기 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸 벤조에이트를 메탄올에 녹인 후 소듐메톡사이드/메탄올을 가하여 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메탄올을 수득하는 단계;

(f) 상기 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메탄올을 에틸 에스터화한 후 메틸아민을 가하여, (2S,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드를 수득하는

단계;

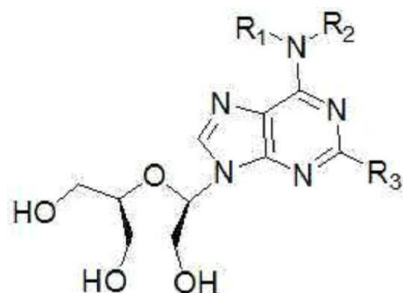
(g) 상기 (2S,5R)-3,4-비스(터트-부틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드에 터트부틸암모늄플로라이드를 적가하여 3,4-다이하이드록시-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드를 수득하는 단계; 및

(h) 상기 3,4-다이하이드록시-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드의 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드를 제조하는 단계.

청구항 12

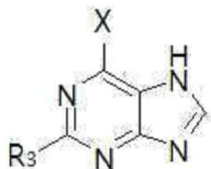
다음의 단계를 포함하는 하기 화학식 3로 표시되는 아데닌 유도체의 제조방법:

[화학식 3]



(a) 출발물질인 (2R,3R,4S,5R)-2-아세톡시-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 화학식 4로 표시되는 퓨린계 화합물을 반응시키는 단계,

[화학식 4]



상기 식에서 R₃는 수소원자, C₁~C₆ 알킬기 또는 할로젠 원자이고, X는 할로젠 원자이다;

(b) 상기 (a) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R₁-NY-R₂를 반응시키는 단계,

상기 식에서 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, C₁~C₆ 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기이고, Y는 할로젠 원자이다;

(c) 상기 (b) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링상의 벤질기를 제거하고, 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 화학식 3의 화합물을 제조하는 단계.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 아데닌 유도체는 (R)-2-(1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시) 프로판-1,3-다이올인 것을 특징으로 하는 아데닌 유도체의 제조방법.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 신규한 아데닌 유도체 및 이의 약제학적 용도에 관한 것으로, 보다 상세하게는 화학식 1의 구조식을 가지는 신규한 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염과, 이를 포함하는 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 뇌졸중은 뇌혈류에 이상(abnormality)을 초래하는 질환으로써 전 세계적으로 사망률이 매우 높고, 생활의 질을 크게 저하시키는 질환이다. 전 세계적으로 뇌졸중에 대한 관심은 꾸준히 증가하고 있으며, 우리나라에서도 생활 수준의 향상에 따라 뇌졸중 환자가 1980년대 초반부터 증가하는 추세이지만, 아직 확실한 치료방법은 알려져 있지 않다.

[0004] 뇌졸중은 뇌의 혈관 과열로 인한 뇌 조직 손상이 특징 되는 출혈성 뇌졸중과, 혈액공급의 장애를 받아 전체의 어느 한 부분에만 한정적으로 조직의 괴사가 발생되면 허혈성 뇌졸중으로 구별된다. 이러한 뇌졸중은 다양한 세포내 신호 전달경로를 통하여 세포 손상이 발생하는 질환이며, 많은 퇴행성 뇌질환들과 상당 부분 동일한 세포 손상 기전을 통하여 뇌손상이 일어나고 있다. 따라서 뇌세포의 사멸기전에 대한 뇌졸중의 예방, 조절 및 치료법 개발은 파킨슨씨 병, 뇌두부 외상, 척수손상, 알츠하이머병, 동맥경화, 심장관상동맥질환, 등의 다양한 뇌질환과 뇌-심장 혈관질환의 예방 및 치료의 기반이 되어 응용 범위는 매우 광대하다 할 수 있다.

[0005] 뇌졸중은 암에 이은 국내 사망원인 2위의 매우 발병 빈도가 높은 질환이다. 2008년 미국심장학회(AHA: American Heart Association)의 보고에 따르면 뇌졸중의 치료 및 관리를 위하여 뇌졸중에 연간 655억불의 막대한 비용이 지출되고 있으나, 뇌졸중 치료제 시장은 13억불에 불과한 실정이다. 이러한 사실로부터 5~10년 내로 효과가 입증된 뇌졸중 치료약물들이 시판될 경우 220억불 이상의 시장가치를 형성할 것으로 전망되며, 국내는 2005년 6,463억 원에서 2015년 21,554억 원의 시장을 형성할 것으로 예상된다.

[0006] 아울러, 현대 사회의 노령화 추세로 노인 인구의 급속한 증가가 이루어지고 있는 최근의 경향에 비추어 볼 때, 뇌졸중 발생과 발생 후 생존 기간의 증가는 큰 사회적 문제로 대두되고 있다. 따라서 뇌졸중에 대한 증상 경감 및 치료약물의 개발에 대한 미래수요가 높아질 것으로 기대되며, 불균형적인 식습관, 환경적 요인 및 스트레스에 의한 요인들에 의해 시장이 확대될 것으로 예상된다.

[0007] 이에 따라, 뇌졸중의 임상적 중요도와 사회 경제적 손실을 줄이기 위하여 이에 대한 치료제 개발 연구가 활발하게 진행되고 있다. 뇌졸중 후 뇌조직의 손상은 미토콘드리아의 기능상실로 인한 세포내 에너지원(예, ATP, 등)의 소실과 흥분성신경독성, 라디칼생성 및 염증세포의 활성화로 인한 염증반응에 의하여 발생한다. 이러한 가운데, 많은 연구들이 NMDA 수용체 차단제를 개발함으로써 허혈성 뇌손상을 줄이기 위하여 노력하였으나, 독성이 있어 임상시험에 성공한 사례가 없다. 이에 NMDA 수용체 차단제인 MK-801은 허혈성 뇌손상을 현저하게 감소시켰으나, 허혈 후 1시간 이내에 투여하여야만 신경세포 보호 효과를 확인할 수 있었다(Margail I, Parmentier S, Callebort J, Allix M, Boulou RG, Plotkine M. Short therapeutic window for MK-801 in transient focal cerebral ischemia in normotensive rats. J Cereb Blood Flow Metab. 1996 ;16:107). 또한, 산화적 스트레스는 세포 사멸이나 기능상실에 매우 큰 영향을 미치기 때문에, 항산화제를 이용한 허혈성 뇌졸중에 대한 치료 효과에 대한 연구들이 활발하게 이루어지고 있는데, 일본의 경우 뇌졸중 치료제로 Edaravone이 사용되고 있다(Firuzi O, Miri R, Tavakkoli M, Saso L. Antioxidant therapy: current status and future prospects. Curr Med Chem. 2011;18(25):3871-88).

[0008] 앞에서 언급한 바와 같이 뇌졸중에 대한 치료제 개발은 여전히 부족한 수준이며, 임상적으로 허용된 뇌졸중의 치료제는 FDA가 허락한 치료제로 tissue plasminogen activator (t-PA)가 주로 사용되고 있을 뿐이다. 환자가 뇌졸중 발생 후 병원 응급실에 도착하기까지 걸리는 시간 동안 신경세포는 과도한 글루타민산의 유리로 인한 흥분성 신경독성에 의하여 일차 손상을 받게 되며 시간이 지나면서 산소 및 질소 라디칼의 과도한 생성에 노출되고 염증반응이 진행되어 이차적 손상이 일어나게 된다. 허혈 후 일차 손상은 매우 짧은 시간 내에 일어나므로 치료가 어렵다. 따라서, 이차 손상을 막기 위한 시도가 이뤄지고 있으며, 염증 반응 억제나, 항산화 효과와 항염증효과를 갖고 있는 약물들의 개발이 시도 되고 있다.

[0009] 최근 뇌 허혈에 의한 뇌손상에서 염증작용의 중요성에 대하여 많은 보고가 되고 있다(Guann-Juh Chen, Brandon K. Harvey, Hui Shen, Jenny Chou, Adrienne Victor, and Yun Wang. Activation of Adenosine A3 Receptors

Reduces Ischemic Brain Injury in Rodents. J Neurosci Res. 2006 Dec;84(8):1848-55; Choi YK, Cho GS, Hwang S, Kim BW, Lim JH, Lee JC, Kim HC, Kim WK & Kim YS. Methyleugenol reduces cerebral ischemic injury by suppression of oxidative injury and inflammation. Free Radic Res. 2010 Aug;44(8):925-35; Choi IY, Lim JH, Hwang S, Lee JC, Cho GS, Kim WK. Anti-ischemic and anti-inflammatory activity of (S)-cis-verbenol. Free Radic Res. 2010 May;44(5):541-51). 또한 cannabinoid B2수용체를 통한 항염증반응이 허혈성 뇌조직의 손상을 억제한다는 것이 보고된 바 있다(Choi IY, Ju C, Anthony Jalin AM, Lee da I, Prather PL, Kim WK. Activation of cannabinoid CB2 receptor-mediated AMPK/CREB pathway reduces cerebral ischemic injury. Am J Pathol. 2013 Mar;182(3):928-39). 최근에는 항염증효과를 가지는 것으로 알려져 있는 Adenosine A3 수용체 효현제를 사용하여, 허혈성 뇌손상을 막을 수 있다는 보고들이 발표되고 있으며, 폐, 심장 손상에 대한 보호효과 및 항염증/염증작용, 항암/암유발에 보호효과도 보고되고 있다(Zhi-Dong Ge, Jason N. Peart, Laura M. Kreckler, Tina C. Wan, Marlene A. Jacobson, Garrett J. Gross, and John A. Auchampach. Cl-IB-MECA[2-Chloro-N6-(3-iodobenzyl)adenosine-5-Nmethylcarboxamide]Reduces Ischemia/Reperfusion Injury in Mice by Activating the A3 Adenosine Receptor. J Pharmacol Exp Ther. 2006 Dec;319(3): 1200-10; Silvana Morello, Antonello Petrella, Michela Festa, Ada Popolo, Mario Monaco, Emilia Vuttariello, Gennaro Chiappetta, Luca Parente and Aldo Pinto. Cl-IB-MECA inhibits human thyroid cancer cell proliferation independently of A3 adenosine receptor activation. Cancer Biol Ther. 2008 Feb;7(2):278-84; Leo M. Gazoni, MD, Dustin M. Walters, MD, Eric B. Unger, BS, Joel Linden, PhD, Irving L. Kron, MD, and Victor E. Laubach, PhD. Activation of A1, A2A, or A3 adenosine receptors attenuates lung ischemia-reperfusion injury. J Thorac Cardiovasc Surg. 2010 Aug; 140(2):440-6; Daniel P. Mulloy, MD, Ashish K. Sharma, MBBS, PhD, Lucas G. Fernandez, MD, Yunge Zhao, MD, PhD, Christine L. Lau, MD, Irving L. Kron, MD, and Victor E. Laubach, PhD. Adenosine A3 Receptor Activation Attenuates Lung Ischemia-Reperfusion Injury. Ann Thorac Surg. 2013 May;95(5):1762-7; Bella Chanyshv, Asher Shainberg, Ahuva Isak, Alexandra Litinsky, Yelena Chepurko, Dilip K. Tosh, Khai Phan, Zhan-Guo Gao, Edith Hochhauser, Kenneth A. Jacobson. Anti-ischemic effects of multivalent dendrimeric A3 adenosine receptor agonists in cultured cardiomyocytes and in the isolated rat heart. Pharmacol Res. 2012 Mar;65(3):338-46.; Choi IY, Lee JC, Ju C, Hwang S, Cho GS, Lee HW, Choi WJ, Jeong LS, Kim WK. A3 adenosine receptor agonist reduces brain ischemic injury and inhibits inflammatory cell migration in rats. Am J Pathol. 2011 Oct;179(4):2042-52).

[0011] 이에 본 발명자는 새로운 퇴행성 뇌질환, 염증 또는 암의 예방 또는 치료제를 제공하고자 예의 노력한 결과, 신규한 아데닌 유도체를 분리한 다음, 신규 아데닌 유도체와 이의 약학적으로 허용 가능한 염이 뇌허혈 후처리 시, 농도 시간 의존적으로 경색 용적 및 부종을, 신경행동학적 검사에서 유의적인 보호효과를 확인하였으며, 이 외에도 long-term-survival을 통한 생존율과 영구적 MCAO 조건에서도 현저히 우수한 효과를 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[0012] 본 배경기술 부분에 기재된 상기 정보는 오직 본 발명의 배경에 대한 이해를 향상시키기 위한 것이며, 이에 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가지는 자에게 있어 이미 알려진 선행기술을 형성하는 정보를 포함하지 않을 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명의 목적은 아데노신 A3 수용체 효현제로 작용할 수 있는, 신규한 아데닌 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 데 있다.

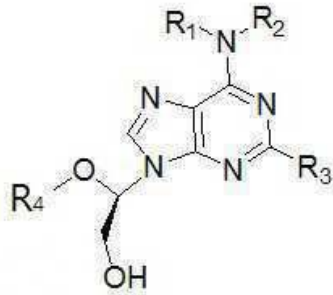
[0015] 본 발명의 다른 목적은 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 포함하여 우수한 퇴행성 뇌질환의 예방 또는 치료 효능을 나타내는 약학적 조성물을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 크게는 신규 아데닌 유도체와, 그 용도 및 제법을 제공한다.

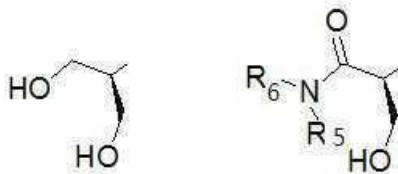
[0018] 구체적으로, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다:

[0019] [화학식 1]



[0021] 상기 식에서 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기, 또는 방향환 (aromatic ring)이고;

[0022] R₃는 수소원자, 알킬기, 알케닐기, 알키닐기 또는 할로젠 원자이고;



[0023] R₄는 또는 이고;

[0024] R₅ 및 R₆는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 알킬기이다.

[0025] 본 발명은 또한, 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌 질환의 치료 또는 예방용 약학조성물을 제공한다.

[0026] 본 발명은 또한, 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는 퇴행성 뇌 질환의 치료 또는 예방방법을 제공한다.

[0027] 본 발명은 또한, 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 퇴행성 뇌 질환의 치료 또는 예방에의 용도를 제공한다.

[0028] 본 발명은 또한, 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 퇴행성 뇌 질환의 치료 또는 예방용 약학조성물의 제조에의 용도를 제공한다.

[0029] 본 발명은 또한, 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌 질환의 개선 또는 예방을 위한 건강기능식품을 제공한다.

[0030] 본 발명은 또한, 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 폐질환, 심장질환, 암 또는 염증의 치료 또는 예방용 약학조성물을 제공한다.

[0031] 본 발명은 또한, 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 투여하는 단계를 포함하는 폐질환, 심장질환, 암 또는 염증의 치료 또는 예방방법을 제공한다.

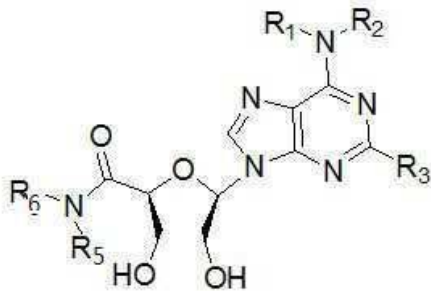
[0032] 본 발명은 또한, 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염의 폐질환, 심장질환, 암 또는 염증의 치료 또는 예방에의 용도를 제공한다.

[0033] 본 발명은 또한, 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 폐질환, 심장질환, 암 또는 염증의 치료 또는 예방용 약학조성물의 제조에의 용도를 제공한다.

[0034] 본 발명은 또한, 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 폐질환, 심장질환, 암 또는 염증의 개선 또는 예방을 위한 건강기능식품을 제공한다.

[0035] 본 발명은 또한, 다음의 단계를 포함하는 하기 화학식 2로 표시되는 아데닌 유도체의 제조방법을 제공한다:

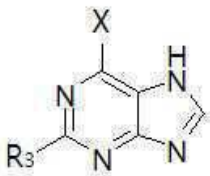
[0036] [화학식 2]



[0037]

[0038] (a) 출발물질인 (2R,3R,4S,5R)-2-아세톡시-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 화학식 4로 표시되는 퓨린계 화합물을 반응시키는 단계,

[0039] [화학식 4]



[0040]

[0041] 상기 식에서 R3는 수소원자, 알킬기, 알케닐기, 알킬닐기 또는 할로젠 원자이고, X는 할로젠 원자이다;

[0042] (b) 상기 (a) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R1-NY-R2를 반응시키는 단계,

[0043] 상기 식에서 R1 및 R2는 각각 독립적으로 수소원자, 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기, 또는 방향환 (aromatic ring)이고, Y는 할로젠 원자이다;

[0044] (c) 상기 (b) 단계에서 제조된 중간체 화합물을 아세토나이드화 반응시키는 단계;

[0045] (d) 상기 (c) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R5-NH-R6를 반응시키는 단계,

[0046] 상기 식에서 R5 및 R6는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 알킬기이다; 및

[0047] (e) 상기 (d) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링의 개환반응을 수행하여 화학식 2의 화합물을 제조하는 단계.

[0048] 본 발명은 또한, 다음의 단계를 포함하는 (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드의 제조방법을 제공한다:

[0049] (a) 출발물질인 (2R,3R,4S,5R)-2-아세톡시-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 2,6-다이클로로퓨린을 반응시켜 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2,6-다이클로로-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트를 수득하는 단계;

[0050] (b) 상기 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2,6-다이클로로-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 3-아이오도벤질아민 염산염을 반응시켜 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트를 수득하는 단계;

[0051] (c) 상기 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트를 메탄올릭 암모니아에 녹인 후 감압 농축하여 트리올 중간체의 형태로 수득

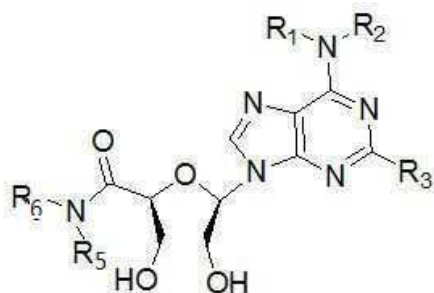
한 다음, 아세토나이드화 반응시켜 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올을 수득하는 단계;

[0052] (d) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올을 에틸 에스터화 시킨 후 메틸 아민을 반응시켜 (2S,5R)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시-N-메틸테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드를 수득하는 단계; 및

[0053] (e) 상기 (2S,5R)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시-N-메틸테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드의 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드를 제조하는 단계.

[0054] 본 발명은 또한, 다음의 단계를 포함하는 하기 화학식 2로 표시되는 아데닌 유도체의 제조방법을 제공한다:

[0055] [화학식 2]



[0056]

[0057] (a) 출발물질인 (2R,5R)-2-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-5-(하이드록시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이올을 아세토나이드화 반응시키는 단계;

[0058] (b) 상기 (a) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링의 CH₂OH기를 보호기로 블로킹 반응시킨 후, R₁-NY-R₂를 반응시키는 단계,

[0059] 상기 식에서 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기, 또는 방향환(aromatic ring)이고, Y는 할로젠 원자이다;

[0060] (c) 상기 (b) 단계에서 제조된 중간체 화합물을 탈아세토나이드화 반응시키고, 탈아세토나이드화된 중간체 화합물의 퓨란링의 다이올기를 각각 보호기로 블로킹시키는 단계;

[0061] (d) 상기 (c) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링의 CH₂OH기의 보호기를 제거하는 단계;

[0062] (e) 상기 (d) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R₅-NH-R₆를 반응시키는 단계,

[0063] 상기 식에서 R₅ 및 R₆는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 알킬기이다; 및

[0064] (f) 상기 (e) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란 링의 다이올기의 보호기를 제거하고, 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 화학식 2의 화합물을 제조하는 단계.

[0065] 본 발명은 또한, 다음의 단계를 포함하는 (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드의 제조방법을 제공한다:

[0066] (a) 출발물질인 (2R,5R)-2-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-5-(하이드록시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이올을 아세토나이드화 반응시켜 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올을 수득하는 단계;

[0067] (b) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올에 벤조일클로라이드를 적가하여 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트를 수득하는 단계;

[0068] (c) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-

4-일)메틸 벤조에이트에 3-아이오도벤질아민 염산염을 반응시켜 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트를 수득하는 단계;

[0069] (d) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트에 아세트산을 가하여 가열 환류시키고 감압농축하여 다이올 중간체로 수득한 다음, 터트뷰틸다이메틸실릴트리플레이트를 가하여 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸 벤조에이트를 수득하는 단계;

[0070] (e) 상기 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸 벤조에이트를 메탄올에 녹인 후 소듐메톡사이드/메탄올을 가하여 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메탄올을 수득하는 단계;

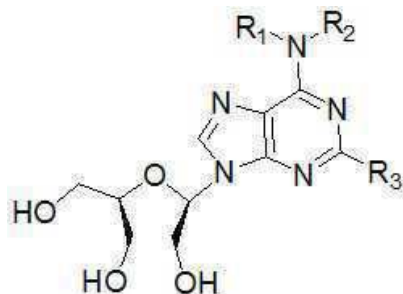
[0071] (f) 상기 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메탄올을 에틸 에스터화한 후 메틸아민을 가하여, (2S,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드를 수득하는 단계;

[0072] (g) 상기 (2S,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드에 터트뷰틸암모늄플로라이드를 적가하여 3,4-다이하이드록시-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드를 수득하는 단계; 및

[0073] (h) 상기 3,4-다이하이드록시-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드의 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드를 제조하는 단계.

[0074] 본 발명은 또한, 다음의 단계를 포함하는 하기 화학식 3로 표시되는 아데닌 유도체의 제조방법을 제공한다:

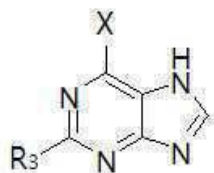
[0075] [화학식 3]



[0076]

[0077] (a) 출발물질인 (2R,3R,4S,5R)-2-아세톡시-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 화학식 4로 표시되는 퓨린계 화합물을 반응시키는 단계,

[0078] [화학식 4]



[0079]

[0080] 상기 식에서 R3는 수소원자, 알킬기, 알케닐기, 알킬닐기 또는 할로겐 원자이고, X는 할로겐 원자이다;

[0081] (b) 상기 (a) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R1-NY-R2를 반응시키는 단계,

- [0082] 상기 식에서 R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소원자, 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기, 또는 방향환(aromatic ring)이고, Y는 할로겐 원자이다;
- [0083] (c) 상기 (b) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링상의 벤질기를 제거하고, 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 화학식 3의 화합물을 제조하는 단계.

발명의 효과

- [0085] 본 발명에 따른 신규 아데닌 유도체 및 이의 약학적으로 허용가능한 염은 아데노신 A3 수용체 효현제로서, 염증성세포(소교세포, microglia), 대식세포(macrophages)와 호중구(neutrophil), 등의 질환 부위로의 이주(이동, migration 혹은 infiltration) 및 활성화에 대한 억제 작용을 가진다. 아울러, 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 뇌허혈증 실험 모델에서 종래 공지된 아데노신 A3 수용체 효현제에 비하여 현저한 정도로 뇌손상을 억제 및 치료하는 효과가 확인되었으며, 뇌경색 후 10시간 이후의 약물 투여에도 유의적인 효과가 나타나며, 뇌허혈을 통한 뇌손상에도 장기 생존을 가능하게 함이 확인된바, 뇌졸중을 포함한 퇴행성 뇌질환의 치료 및 예방제로서 활용될 수 있어 유용하다.

도면의 간단한 설명

- [0087] 도 1은 신규 아데닌 유도체를 뇌허혈을 일으킨 후 3시간 및 8시간에 두 차례에 걸쳐 2mg/kg의 용량으로 경구 투여 시, 뇌손상 감소 정도를 보이는 것으로서, 도 1a는 각 그룹의 관상 뇌 슬라이스를 촬영한 사진이고, 도 1b는 각 그룹의 경색 용적을 나타내는 그래프이고, 도 1c는 각 그룹의 부종율을 나타내는 그래프이고, 도 1d는 각 그룹의 신경행동학적 검사 결과를 나타내는 그래프이다. 대조군으로 사용된 C1-IB-MECA 투여군보다 신규 아데닌 유도체 처치군에서 모든 측정 지표에서 월등히 좋은 뇌조직 보호효과를 관찰할 수 있었다.
- 도 2는 신규 아데닌 유도체를 뇌허혈을 일으킨 후 3시간 및 8시간에 두 차례에 걸쳐 2mg/kg의 용량으로 정맥 투여 시, 뇌손상 감소 정도를 보이는 것으로서, 도 2a는 각 그룹의 관상 뇌 슬라이스를 촬영한 사진이고, 도 2b는 각 그룹의 경색 용적을 나타내는 그래프이고, 도 2c는 각 그룹의 부종율을 나타내는 그래프이고, 도 2d는 각 그룹의 신경행동학적 검사 결과를 나타내는 그래프이다. 대조군으로 사용된 C1-IB-MECA 투여군보다 신규 아데닌 유도체 처치군에서 모든 측정 지표에서 월등히 좋은 뇌조직 보호효과를 관찰할 수 있었다.
- 도 3은 신규 아데닌 유도체를 10mg/kg의 용량으로 정맥 투여 시, 뇌손상 감소 정도를 보이는 것으로서, 도 3a는 각 그룹의 관상 뇌 슬라이스를 촬영한 사진이고, 도 3b는 각 그룹의 경색 용적을 나타내는 그래프이고, 도 3c는 각 그룹의 부종율을 나타내는 그래프이고, 도 3d는 각 그룹의 신경행동학적 검사 결과를 나타내는 그래프이다.
- 도 4는 신규 아데닌 유도체를 뇌허혈을 일으킨 후 6시간 및 12시간에의 두 차례에 걸쳐 2mg/kg의 용량으로 정맥 투여 시, 뇌손상 감소 정도를 보이는 것으로서, 도 4a는 각 그룹의 관상 뇌 슬라이스를 촬영한 사진이고, 도 4b는 각 그룹의 경색 용적을 나타내는 그래프이고, 도 4c는 각 그룹의 부종율을 나타내는 그래프이고, 도 4d는 각 그룹의 신경행동학적 검사 결과를 나타내는 그래프이다.
- 도 5는 신규 아데닌 유도체를 뇌허혈을 일으킨 후 10시간 및 18시간에의 두 차례에 걸쳐 2mg/kg의 용량으로 정맥 투여 시, 뇌손상 감소 정도를 보이는 것으로서, 도 4a는 각 그룹의 관상 뇌 슬라이스를 촬영한 사진이고, 도 4b는 각 그룹의 경색 용적을 나타내는 그래프이고, 도 4c는 각 그룹의 부종율을 나타내는 그래프이고, 도 4d는 각 그룹의 신경행동학적 검사 결과를 나타내는 그래프이다.
- 도 6은 신규 아데닌 유도체를 뇌 허혈을 일으킨 후 3시간 및 8시간째에 정맥투여한 후 12시간 간격으로 네 차례에 걸쳐 경구 투여한 후 약물투여를 중단하고 32일 후 뇌손상 감소정보를 보이는 것으로서, 도 6a는 32일째 되는 날 슬라이스하여 촬영한 관상 뇌 슬라이스 사진이고, 도 6b는 32일간의 쥐의 사망율을 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0088] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[0089] 본 발명의 상세한 설명 등에서 사용되는 주요 용어의 정의는 다음과 같다.

[0090] 본 발명에서의 용어 "퇴행성 뇌질환"은 퇴행성 뇌질환은 뇌졸중, 중풍, 치매, 알츠하이머 질환(Alzheimer's disease), 파킨슨 질환(Parkinson's disease), 헌팅턴 질환(Huntington's disease), 다발성경화증 및 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis) 등이 포함되며, 뇌질환은 뇌신경계의 정보 전달에 가장 중요한 뇌신경세포의 사멸, 뇌신경세포와 뇌신경세포 사이의 정보를 전달하는 시냅스의 형성이나 기능상의 문제, 뇌신경의 전기적 활동성의 이상적 증상이나 감소로 인한 질환을 의미한다. 본 발명에 있어서, 퇴행성 뇌질환은, 보다 바람직하게는 뇌졸중, 보다 더 바람직하게는 허혈성 뇌졸중 질환을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0091] 본 발명에서의 용어 "염증성 질환"은 변질성 염증, 삼출성 염증, 화농성 염증, 출혈성 염증 또는 증식성 염증 등의 급성 및 만성 염증 질환을 포함한다.

[0092] 본 발명에서의 용어 "효현제(agonist)"는 수용체와 특이적으로 결합하여 그 고차구조를 변화시켜, 화학적인 정보를 세포에 부여하는 물질로, 작동약이라고도 한다.

[0094] 이하, 구체적으로 본 발명을 설명한다.

[0095] 본 발명은 일 관점에서, 하기 화학식 1로 표시되는 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염에 대한 것이다:

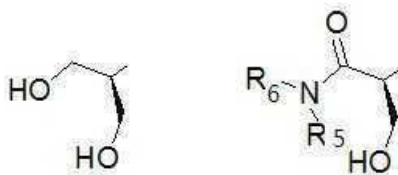
[0096] [화학식 1]



[0097]

[0098] 상기 식에서 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기, 또는 방향환(aromatic ring)이고;

[0099] R₃는 수소원자, 알킬기, 알케닐기, 알키닐기 또는 할로젠 원자이고;



[0100] R₄는 또는 이고;

[0101] R₅ 및 R₆는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 알킬기이다.

[0102] 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체는 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 약학적으로 허용되는 염은 약제학적으로 허용가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염을 포함한다. 산부가염 예컨대 메탄술포네이트, 에탄술포네이트, 푸마레이트, 숙시네이트, 히드로클로라이드, 시트레이트, 말레이트, 타르트레이트 및 (덜 바람직하게는) 히드로브로마이드를 포함한다. 또한 염산, 인산 및 황산과 함께 형성된 염이 적합하다. 또한, 적합한 염은 염기성 염, 예컨대, 알칼리금속염, 예를 들어, 나트륨; 알칼리토금속염, 예를 들어, 칼슘 또는 마그네슘; 유기아민염, 예를 들어, 트리에틸아민, 모르폴린, N-메틸피페리딘, N-에틸피페리딘, 프로카인, 디벤질아민, N,N-디벤질에틸아민, 트리스-(2-하이드록시에틸)아민, N-메틸 d-글루카민 및 리신과 같은 아미노산이다. 하전된 기의 수 및 양이온 또는 음이온의 원자수에 따라 하나 이상의 양이온 또는 음이온이 있을 수 있다. 바람직한 제약상 허용되는 염은 나트륨 염이다. 그러나, 제조 동안 염의 이탈을 용이하게 하기 위해, 제

약상 허용 여부에 따라서 선택된 용매에 대하여 덜 가용성인 염이 바람직할 수 있다.

- [0103] 아울러, 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체는 생체 내 흡수를 증진시키거나 용해도를 증가시키기 위하여 프로드럭, 수화물, 용매화물, 이성질체 및 이들의 약학적으로 허용되는 염의 형태로 만들어 사용할 수 있으므로, 상기의 프로드럭, 수화물, 용매화물, 이성질체 및 이들의 약학적으로 허용되는 염 역시 본 발명의 범위에 속한다.
- [0104] 본 발명의 아데닌 유도체는 용매화된 형태, 예를 들어 수화된 형태 및 비용매화 형태로 존재할 수 있으며, 본 발명에 따른 아데닌 유도체 화합물의 용매화물은 제약 활성을 갖는 모든 용매화된 형태를 포함하는 것이다.
- [0105] 본 발명의 아데닌 유도체는 인간 또는 동물의 체내에서 분해되어 본 발명의 화합물을 제공하는 프로드럭의 형태로 투여될 수 있다. 프로드럭은 모 화합물의 물리적 및(또는) 약동학적 프로파일을 변경 또는 개선하는 데 사용될 수 있고 모 화합물이 프로드럭을 형성하도록 유도될 수 있는 적합한 기 또는 치환체를 함유할 경우 형성될 수 있다. 프로드럭의 예는 본 발명에 따른 화합물의 생체 내 가수분해 가능한 에스테르 및 이의 제약상 허용되는 염을 포함한다.
- [0106] 프로드럭의 다양한 형태는 당업계에 공지되어 있는데, 예를 들어:
- [0107] a) 문헌 [Hans Bundard, Design of Prodrugs, p. 1 ©1985 Elsevier Science Publishers. 및 WIDDER, Kenneth J. and GREEN, Ralph., Drug and enzyme targeting. Methods in enzymology. Volume 112. ©1985 Academic Press, Inc.];
- [0108] b) 문헌 [Krogsgaard-Larsen, P.; Bundgaard, H. A Textbook of Drug Design and Development, p. 113 ©1991 Harwood Academic Publishers];
- [0109] c) 문헌 [H. Bundgaard. (C) Means to enhance penetration: (1) Prodrugs as a means to improve the delivery of peptide drugs. Adv Drug Deliv Rev. 1992; 8(1):1-38.];
- [0110] d) 문헌 [Nielsen NM, Bundgaard H. Glycolamide esters as biolabile prodrugs of carboxylic acid agents: synthesis, stability, bioconversion, and physicochemical properties. J Pharm Sci. 1988 Apr;77(4):285-98.]; 및
- [0111] e) 문헌 [Takeya N, Nishimura K, Yoshimi A, Nakamura S, Nishizawa S, Tamaki S, Matsui H, Kawamura T, Kasai M, Kitao K. Studies on prodrugs of cephalosporins. I. Synthesis and biological properties of glycyloxybenzoyloxymethyl and glycylaminobenzoyloxymethyl esters of 7 beta-[2-(2- aminothiazol-4-yl)-(Z)-2-methoxyiminoacetamido]-3- methyl-3-cephem-4-carboxylic acid. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1984 Feb;32(2):692-8.]
- [0112] 등의 문헌을 참조할 수 있다.
- [0113] 아울러, A3 아데노신 수용체 효현제 활성을 갖는 모든 광학 및 부분입체 이성질체 및 라세미체 혼합물도 본 발명의 범주에 포함하는 것으로 이해된다. 광학 활성 형태의 제조법 (예컨대, 재결정화 기술, 키랄 합성, 효소에 의한 분해 (resolution), 생체 변환 또는 크로마토그래피 분리에 의한 라세미체의 분리) 및 향균 활성의 측정법 등은 당업계에 공지되어 있다.
- [0114] 본 발명에서 화학식 1의 화합물 또는 이의 염은 호변이성질화(tautomer) 현상을 나타낼 수 있으므로, 비록 본 명세서 내의 화학식 또는 반응식 들이 하나의 가능성 있는 호변이성질체 형태만을 표현하고 있다 하더라도, 본 발명은 A3 아데노신 수용체 효현제 활성을 갖는 임의의 호변이성질체 형태를 포함하고 단순히 화학식 또는 반응식 내에 사용된 하나의 호변이성질체 형태에만 국한되는 것은 아니다.
- [0115] 본 발명의 특정 화합물은, 또한, 동질이상 (polymorphism)을 나타낼 수 있으며, A3 아데노신 수용체 효현제 활성을 갖는 임의의 동질 이상 화합물도 모두 본 발명에 포함된다.
- [0116] 본 발명에 있어서, 바람직하게는 상기 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자 또는 m-아이오도벤질일 수 있다.
- [0117] 본 발명에 있어서, 바람직하게는 상기 R₃는 수소 원자 또는 염소 원자일 수 있다.
- [0118] 본 발명에 있어서, 상기 R₅ 및 R₆는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 메틸기일 수 있다.
- [0119] 본 발명에 있어서, 상기 화학식 1로 표시되는 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 대표적인

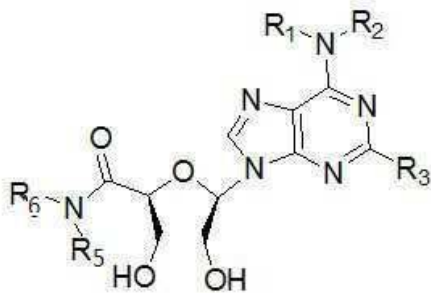
예는 하기와 같다:

- [0120] (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드;
- [0121] (R)-2-(1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시) 프로판-1,3-다이올;
- [0122] (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드; 및
- [0123] (R)-2-(2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)프로판-1,3-다이올.

[0125] 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체 화합물은 그 치환체의 종류에 따라 알려진 다양한 방법으로 제조될 수 있는데, 예를 들어, 하기 반응식에 예시된 방법에 따라 제조될 수 있다. 하기 반응식에 제시된 제조방법은 예시일 뿐이며 특정의 치환체에 따라 당업자에 의해 용이하게 변형될 수 있음 자명하므로 하기 반응식에 예시된 방법이 본 발명에 따른 아데닌 유도체 화합물을 제조하는 방법을 한정하는 것은 아니며, 달리 언급이 없는 한 하기 반응식들에서 치환체의 정의는 상기 화학식 1에서의 정의와 동일하다.

[0126] 먼저 화학식 1의 화합물은, 하기 화학식 2로 표시되는 아데닌 유도체임을 특징으로 할 수 있으며, 하기 화학식 2로 표시되는 아데닌 유도체는 다음과 같이 제조될 수 있다:

[0127] [화학식 2]

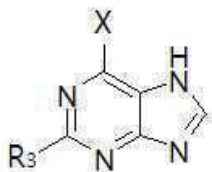


[0128] .

[0129] 즉, 화학식 2의 아데닌 유도체는 다음의 단계에 의하여 제조될 수 있다:

[0130] (a) 출발물질인 (2R,3R,4S,5R)-2-아세트키-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 화학식 4로 표시되는 퓨린계 화합물을 반응시키는 단계,

[0131] [화학식 4]



[0132]

[0133] 상기 식에서 R₃는 수소원자, 알킬기, 알케닐기, 알킬닐기 또는 할로겐 원자이고, X는 할로겐 원자이다;

[0134] (b) 상기 (a) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R₁-NY-R₂를 반응시키는 단계,

[0135] 상기 식에서 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기, 또는 방향환 (aromatic ring)이고, Y는 할로겐 원자이다;

[0136] (c) 상기 (b) 단계에서 제조된 중간체 화합물을 아세트나이드화 반응시키는 단계;

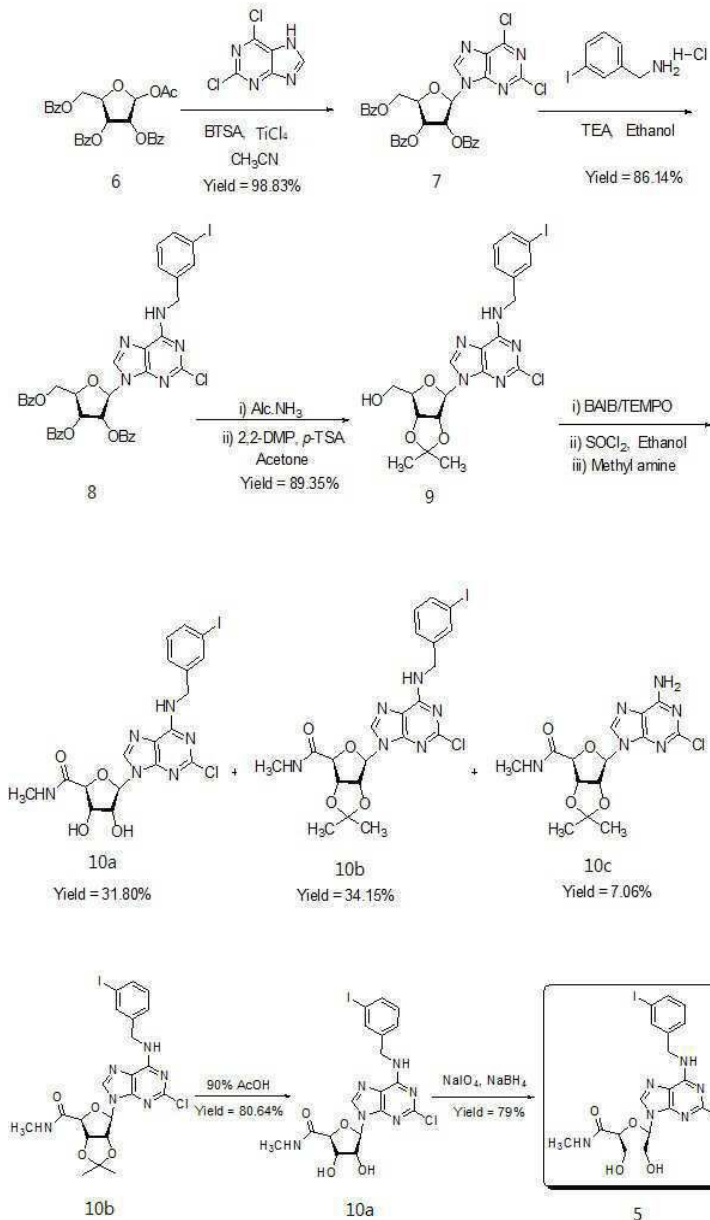
[0137] (d) 상기 (c) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R₅-NH-R₆를 반응시키는 단계,

[0138] 상기 식에서 R_5 및 R_6 는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 알킬기이다; 및

[0139] (e) 상기 (d) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 화학식 2의 화합물을 제조하는 단계.

[0140] 본 발명의 일 실시예에서는, 상기 방법에 따라, 화학식 5의 화합물인 (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드를 제조하였으며, 이의 제조 반응식은 다음과 같다:

[0141] [반응식 1]



[0143]

[0144] 즉, 상기 (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드는 다음의 단계를 포함하는 제법에 의하여 제조될 수 있다:

[0145] (a) 출발물질인 (2R,3R,4S,5R)-2-아세톡시-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 2,6-다이클로로퓨린을 반응시켜 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2,6-다이클로로-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트를 수득하는 단계;

[0146] (b) 상기 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2,6-다이클로로-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 3-아이오도벤질아민 염산염을 반응시켜 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2-클로로-6-(3-

아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트를 수득하는 단계;

[0147] (c) 상기 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트를 메탄올릭 암모니아에 녹인 후 감압 농축하여 트리올 중간체의 형태로 수득한 다음, 아세토나이드화 반응시켜 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올을 수득하는 단계;

[0148] (d) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올을 에틸 에스터화 시킨 후 메틸 아민을 반응시켜 (2S,5R)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시-N-메틸테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드를 수득하는 단계; 및

[0149] (e) 상기 (2S,5R)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시-N-메틸테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드의 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드를 제조하는 단계.

[0151] 한편, 상기 화학식 2로 표시되는 아테닌 유도체는 다음의 제법에 의하여도 제조될 수 있다:

[0152] (a) 출발물질인 (2R,5R)-2-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-5-(하이드록시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이올을 아세토나이드화 반응시키는 단계;

[0153] (b) 상기 (a) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링의 CH₂OH기를 보호기로 블로킹 반응시킨 후, R₁-NY-R₂를 반응시키는 단계,

[0154] 상기 식에서 R₁ 및 R₂는 각각 독립적으로 수소원자, 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기, 또는 방향환(aromatic ring)이고, Y는 할로젠 원자이다;

[0155] (c) 상기 (b) 단계에서 제조된 중간체 화합물을 탈아세토나이드화 반응시키고, 탈아세토나이드화된 중간체 화합물의 퓨란링의 다이올기를 각각 보호기로 블로킹시키는 단계;

[0156] (d) 상기 (c) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링의 CH₂OH기의 보호기를 제거하는 단계;

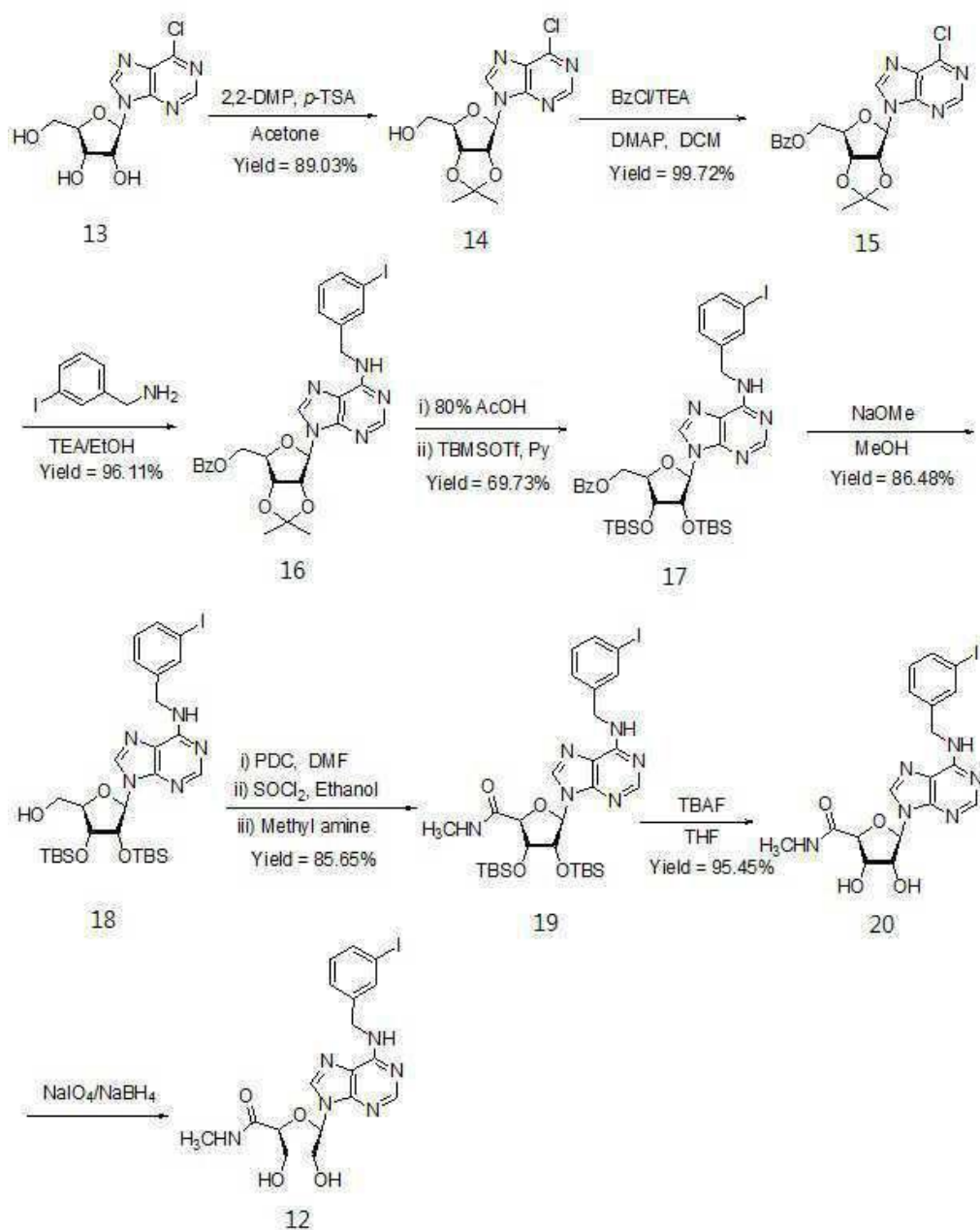
[0157] (e) 상기 (d) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R₅-NH-R₆를 반응시키는 단계,

[0158] 상기 식에서 R₅ 및 R₆는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 알킬기이다; 및

[0159] (f) 상기 (e) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란 링의 다이올기의 보호기를 제거하고, 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 화학식 2의 화합물을 제조하는 단계.

[0160] 본 발명의 일 실시예에서는, 상기 방법에 따라, 화학식 12의 화합물인 (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드를 제조하였으며, 이의 제조 반응식은 다음과 같다:

[0161] [반응식 3]



[0162]

[0163] 즉, 상기 (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드는 다음의 단계를 포함하는 제법에 의하여 제조될 수 있다:

[0164] (a) 출발물질인 (2R,5R)-2-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-5-(하이드록시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이올을 아세트나이트드화 반응시켜 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올을 수득하는 단계;

[0165] (b) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올에 벤조일클로라이드를 적가하여 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트를 수득하는 단계;

[0166] (c) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트에 3-아이오도벤질아민 염산염을 반응시켜 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트를 수득하는 단계;

[0167] (d) 상기 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트에 아세트산을 가하여 가열 환류시키고 감압농축하여 다이올 중간체로 수득한 다음, 터트뷰틸다이메틸실릴트리플레이트를 가하여 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸 벤조에이트를 수득하는 단계;

[0168] (e) 상기 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸 벤조에이트를 메탄올에 녹인 후 소듐메톡사이드/메탄올을 가하여 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메탄올을 수득하는 단계;

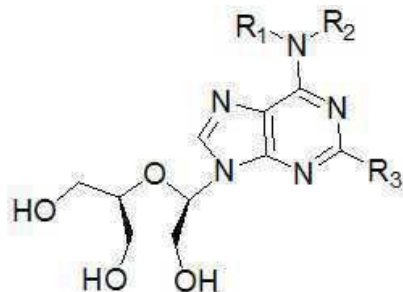
[0169] (f) 상기 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메탄올을 에틸 에스터화한 후 메틸아민을 가하여, (2S,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드를 수득하는 단계;

[0170] (g) 상기 (2S,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드에 터트뷰틸암모늄폴로라이드를 적가하여 3,4-다이하이드록시-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드를 수득하는 단계; 및

[0171] (h) 상기 3,4-다이하이드록시-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드의 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드를 제조하는 단계.

[0173] 아울러, 상기 화학식 1의 화합물은, 하기 화학식 3로 표시되는 아데닌 유도체임을 특징으로 할 수 있으며, 하기 화학식 3로 표시되는 아데닌 유도체는 다음과 같이 제조될 수 있다:

[0174] [화학식 3]

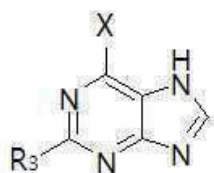


[0175]

[0176] 즉, 화학식 3의 아데닌 유도체는 다음의 단계에 의하여 제조될 수 있다:

[0177] (a) 출발물질인 (2R,3R,4S,5R)-2-아세톡시-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트에 화학식 4로 표시되는 퓨린계 화합물을 반응시키는 단계,

[0178] [화학식 4]



[0179]

[0180] 상기 식에서 R3는 수소원자, 알킬기, 알케닐기, 알키닐기 또는 할로젠 원자이고, X는 할로젠 원자이다;

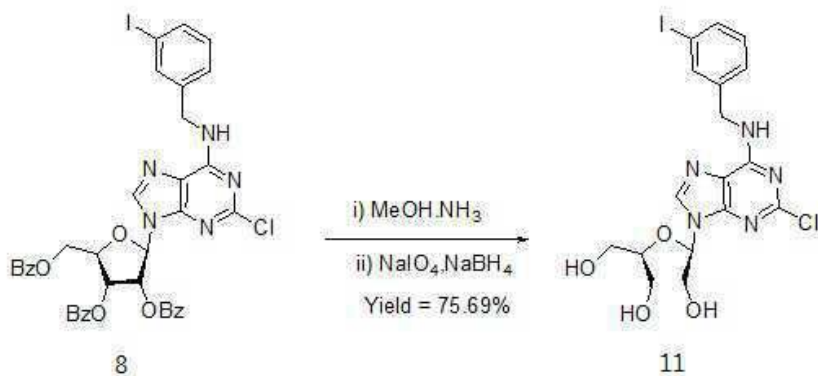
[0181] (b) 상기 (a) 단계에서 제조된 중간체 화합물에 R1-NY-R2를 반응시키는 단계,

[0182] 상기 식에서 R_1 및 R_2 는 각각 독립적으로 수소원자, 알킬기, m-할로-벤질기, m-아미노-벤질기, 또는 방향환 (aromatic ring)이고, Y는 할로겐 원자이다;

[0183] (c) 상기 (b) 단계에서 제조된 중간체 화합물의 퓨란링상의 벤질기를 제거하고, 퓨란 링의 개환반응을 수행하여 화학식 3의 화합물을 제조하는 단계.

[0184] 본 발명의 일 실시예에서는, 상기 방법에 따라, 화학식 11의 화합물인 (R)-2-(1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2- 하이드록시에톡시) 프로판-1,3-다이올을 제조하였으며, 이의 제조 반응식은 다음과 같다:

[0185] [반응식 2]



[0186]

[0187] 본 발명의 다른 실시예에서는, 본 발명에 따른 신규 아데닌 유도체가 뇌허혈 동물모델 실험에서 비투여군 (Control)은 물론 종래 아데노신 A3 리셉터 효현제로 알려진 Cl-IB-MECA에 비하여 유의적으로 뇌손상을 감소시키는 효과를 확인하였다. 특히, 저농도로 투여한 경우에도 유의적인 손상방지 효과를 나타냈으며, 약물 처리를 10시간 이상 지연시켜 투여한 경우에도 뇌손상을 유의적으로 감소시키는 것으로 나타나 일차적인 손상 후 진행되는 염증반응도 효과적으로 방지하는 것으로 나타났다. 이에 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 정맥 주사로 투여한 경우에도 뇌허혈로 인한 뇌손상을 억제 및 방지하는 효과가 있으므로, 뇌졸중 예방 및 치료제로서 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다. 아울러, 뇌졸중은 다양한 세포내 신호 전달경로를 통하여 세포 손상이 발생하는 질환이며, 많은 퇴행성 뇌질환들과 상당 부분 동일한 세포 손상 기전을 통하여 뇌손상이 일어나고 있다. 따라서 뇌 세포의 사멸기전에 대한 뇌졸중의 예방, 조절 및 치료법 개발은 파킨슨씨 병, 뇌두부 외상, 척수손상, 알츠하이머병, 동맥경화, 심장관상동맥질환, 등의 다양한 뇌질환과 뇌-심장 혈관질환의 예방 및 치료의 기반이 되어 응용 범위는 매우 광대하다 할 수 있다. 이에 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 뇌졸중이외에 다양한 퇴행성 뇌질환의 치료 및 예방용 약제로서 유용하게 사용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0188] 따라서, 본 발명은 일 관점에서 상기 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 함유하는 퇴행성 뇌질환의 치료 또는 예방용 조성물에 관한 것이다.

[0189] 아울러, 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 아데노신 A3 수용체 효현제로서 작용하는데, 아데노신 A3 수용체 효현제는 허혈성 뇌, 폐, 심장손상에 대한 보호효과 및 항염증/염증작용, 항암/암유발에 보호효과를 가지는 것으로 보고되고 있다. (Zhi-Dong Ge, Jason N. Peart, Laura M. Kreckler, Tina C. Wan, Marlene A. Jacobson, Garrett J. Gross, and John A. Auchampach. Cl-IB-MECA[2-Chloro-N6-(3-iodobenzyl)adenosine-5-Nmethylcarboxamide]Reduces Ischemia/Reperfusion Injury in Mice by Activating the A3 Adenosine Receptor. J Pharmacol Exp Ther. 2006 Dec;319(3): 1200-10. ; Silvana Morello, Antonello Petrella, Michela Festa, Ada Popolo, Mario Monaco, Emilia Vuttariello, Gennaro Chiappetta, Luca Parente and Aldo Pinto. Cl-IB-MECA inhibits human thyroid cancer cell proliferation independently of A3 adenosine receptor activation. Cancer Biol Ther. 2008 Feb;7(2):278-84. ; Leo M. Gazoni, MD, Dustin M. Walters, MD, Eric B. Unger, BS, Joel Linden, PhD, Irving L. Kron, MD, and Victor E. Laubach, PhD. Activation of A1, A2A, or A3 adenosine receptors attenuates lung ischemia-reperfusion injury. J Thorac Cardiovasc Surg. 2010 Aug; 140(2):440-6. ; Daniel P. Mulloy, MD, Ashish K. Sharma, MBBS, PhD, Lucas G. Fernandez, MD, Yunge Zhao, MD, PhD, Christine L. Lau, MD, Irving L. Kron, MD, and Victor E. Laubach, PhD. Adenosine A3 Receptor Activation Attenuates Lung Ischemia-Reperfusion Injury. Ann Thorac Surg. 2013

May;95(5):1762-7. ; Bella Chanyshv, Asher Shainberg, Ahuva Isak, Alexandra Litinsky, Yelena Chepurko, Dilip K. Tosh, Khai Phan, Zhan-Guo Gao, Edith Hochhauser, Kenneth A. Jacobson. Anti-ischemic effects of multivalent dendrimeric A3 adenosine receptor agonists in cultured cardiomyocytes and in the isolated rat heart. Pharmacol Res. 2012 Mar;65(3):338-46.; Choi IY, Lee JC, Ju C, Hwang S, Cho GS, Lee HW, Choi WJ, Jeong LS, Kim WK. A3 adenosine receptor agonist reduces brain ischemic injury and inhibits inflammatory cell migration in rats. Am J Pathol. 2011 Oct;179(4):2042-52.). 이에 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 아데노신 A3 수용체 효현제로서 폐질환, 심장질환, 암 또는 염증의 예방 또는 치료용 조성물로 사용될 수 있다.

[0190] 따라서, 본 발명은 다른 관점에서, 본 발명에 따른 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 유효 성분으로 함유하는 폐질환, 심장질환, 암 또는 염증의 예방 또는 치료용 조성물에 대한 것이다.

[0191] 본 발명의 치료 또는 예방용 조성물의 투여는 본 발명에 따른 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염을 단독으로 투여함으로써 이루어질 수 있으나, 부형제, 결합제, 활택제, 붕해제, 코팅 물질, 유화제, 현탁제, 용매, 안정화제, 흡수 촉진제 및/또는 연고 기재를 혼합함으로써 특정 사용 및 바람직한 목적에 적당하도록 제형화된 약제학적 혼합물의 형태로 일반적으로 투여될 수 있다. 상기 혼합물은 경구용, 주사용, 직장용 또는 외용 투여용으로 사용될 수 있다. 상기에서 "약학적으로 허용되는"이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다.

[0192] 상기 경구 투여용의 제형인 경우, 예를 들어, 정제, 코팅 정제, 드라지(dragees), 경질 또는 연질 젤라틴 캡슐제, 액제, 유화제 또는 현탁제 같은 제형일 수 있다. 투여는 또한 직장으로 투여, 예를 들어, 좌제를 사용하여 투여될 수 있으며; 국소적 또는 경피적으로 투여, 예를 들어, 연고, 크림, 패취제, 겔 또는 액제로 사용하여 투여될 수 있으며; 또는 비경구적으로 투여, 예를 들어, 전신투여 또는 척수투여용의 주사용 용액을 사용하여 투여될 수 있다.

[0193] 정제, 코팅 정제, 드라지(dragees), 경질 또는 연질 젤라틴 캡슐제의 제조를 위해, 본 발명에 따른 아데닌 유도체 또는 이의 약학적으로 허용 가능한 염은 약제학적으로 불활성인 무기 또는 유기 부형제(약제학적으로 허용되는 담체)와 함께 혼합될 수 있다. 정제, 코팅 정제, 드라지(dragees), 경질 젤라틴 캡슐제에 적당한 부형제의 예에는 락토오스, 메이즈(maize) 전분 또는 그들의 유도체, 탈크 또는 스테아르산 또는 그들의 염들이 포함된다. 연질 젤라틴 캡슐제에 사용되는 적당한 부형제에는 예를 들어 식물성 오일, 왁스, 지방, 반-고형(semi-solid) 또는 액체 폴리올 등이 포함된다. 그러나 활성 성분의 성질에 따라 연질 젤라틴 캡슐제에 어떠한 부형제도 필요하지 않는 경우가 있을 수 있다. 액제 및 시럽제의 제조를 위해, 사용될 수 있는 부형제에는 예를 들어, 물, 폴리올, 사카로오스, 전화당(invert sugar) 및 글루코오스가 포함된다. 주사용 용액의 제조를 위해, 사용될 수 있는 부형제에는 예를 들어, 물, 알코올, 폴리올, 글리세린 및 식물성 오일이 포함된다. 좌제 및 국소 또는 경피 적용용의 제조를 위해, 사용될 수 있는 부형제에는 예를 들어, 천연 오일 또는 경화유, 왁스, 지방 및 반-고형 또는 액체 폴리올이 포함된다.

[0194] 본 발명의 조성물은 또한 보존제, 용해제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 감미제, 색소, 방향제, 삼투압 조절용 염, 완충제, 코팅제, 긴장력 완화제, 등장 조절제 또는 항산화제를 포함할 수 있고, 그들은 또한 다른 치료학적으로 가치있는 약제를 포함할 수도 있다.

[0195] 결과적으로, 경구 투여용 약제학적 제형은 과립제, 정제, 당 코팅 정제, 캡슐제, 환제(pill), 현탁제 또는 유화제일 수 있으며, 비경구용 제형으로 예를 들어, 정맥내, 근육내 또는 피하 제형용으로는 멸균 수용액의 제형이 사용될 수 있으며 이는 등장성 용액을 만들기 위하여 다른 물질 예를 들어, 염들 또는 글루코오스를 포함할 수 있다. 또한 좌제 또는 페서리(pessary)의 제형으로 투여될 수 있으며, 또는 패취제, 로션, 용액, 크림, 연고 또는 더스팅 파우더(dusting powder)의 형태로 외용적으로 적용될 수 있다.

[0196] 본 발명의 조성물의 적절한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 성별 및 체중, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성 등의 여러 관련 인자에 비추어 결정되어야 하는 것으로 이해되어야 할 것이며, 따라서, 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하지 않는다.

[0198] 실시예

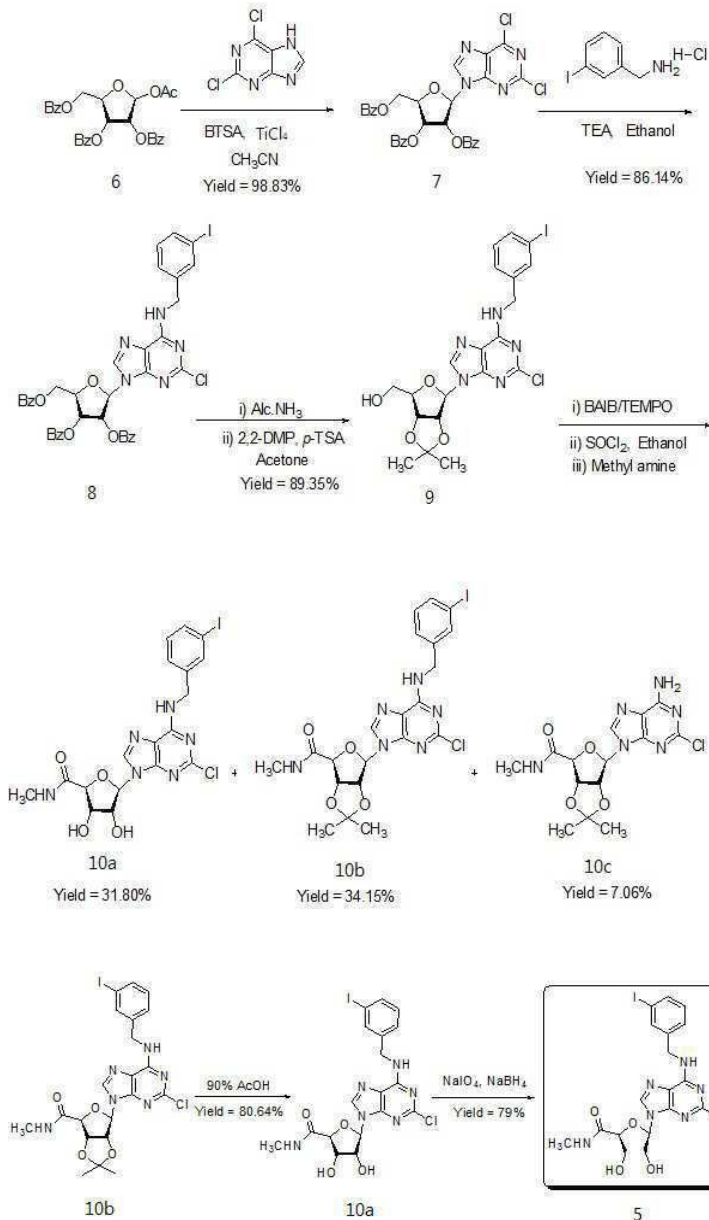
[0199] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위

한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0201] [실시예 1]

[0202] **제조예 1: 화학식 5의 화합물((S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드)의 제작**

[0203] [반응식 1]



[0204]

[0205]

[0207] **단계 1 : (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2,6-다이클로로-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트 (7)의 제조**

[0208] 출발물질 (2R,3R,4S,5R)-2-아세트옥시-5-(벤조일옥시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트 (7.5 g, 14.9 mmol)와 2,6-다이클로로퓨린 (3.09 g, 16.4 mmol)을 아세트나이트릴 (50 mL)에 녹인 후 N,O-비스(트라이메틸실릴)아세트아마이드 (8.9 mL, 36.4 mmol) 용액을 10~15분 동안 천천히 적가한 다음 60 °C 에서 30분 동안

교반한다. 반응액을 -30 ℃로 냉각한 후 TiCl_4 (60 mL, 1 M 메틸렌 클로라이드용액, 59.5 mmol)을 적가 한 후 60-65 ℃ 에서 20 분 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인한 후 메틸렌 클로라이드 (500 mL)와 포화 탄산수소나트륨 용액 (500 mL)을 첨가한다. 반응액을 0 ℃ 에서 30분간 교반 후 유기층을 추출한 다음 황산 마그네슘 무수물로 건조하였다. 감압 하에 농축한 후 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2,6-다이클로로-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트 (9.3 g, 98.8 %)를 얻었다.

[0209] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0210] ^1H NMR (500 MHz; CDCl_3) δ ppm 4.71-4.74 (dd, J = 12.22, 3.91 Hz, 1H), 4.85-4.93 (m, 2H), 6.12-6.14 (t, J = 4.89 Hz, 1H), 6.16-6.19 (t, J = 5.38 Hz, 1H), 6.47-6.48 (d, J = 5.38 Hz, 1H), 7.35-7.38 (t, J = 7.82 Hz, 2 H), 7.41-7.46 (m, 4H), 7.54-7.61 (m, 3H), 7.92-7.93 (d, J = 7.33 Hz, 2H), 8.02-8.06 (m, 4H), 8.28 (s, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ 63.50, 71.59, 74.33, 81.56, 87.05, 128.14, 128.59(3), 128.63(2), 128.73(2), 129.10, 129.63(2), 129.88(2), 129.92(2), 131.38, 133.63, 133.87, 133.98, 143.81, 152.36, 152.64, 153.51, 165.13, 165.29, 166.03; mp = 76~80 ℃.

[0212] 단계 2 : (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트 (8)의 제조

[0213] 상기 단계 1에서 제조된 중간체 화합물 (204 mg, 0.32 mmol)와 3-아이오도벤질아민 염산염 (113 mg, 0.41 mmol)을 질소 기류 하에서 무수 에탄올 (5 mL)에 녹인 후 트리에틸 아민 (0.13 mL, 0.96 mmol)을 실온에서 24 시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인한 후 반응액을 감압 농축하여 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 (2R,3S,4S,5R)-2-(벤조일옥시메틸)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이일 다이벤조에이트 (230 mg, 86.14 %)를 얻었다.

[0214] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0215] ^1H NMR (500 MHz; CDCl_3) δ ppm 4.71-4.90 (m, 5H), 6.13-6.17 (m, 2H), 6.33 (br. s., 1H), 6.43-6.44 (d, J = 4.89 Hz, 1H), 7.04-7.07 (t, J = 7.82 Hz, 1H), 7.31-7.33 (d, J = 7.82 Hz, 1H), 7.36-7.46 (m, 6H), 7.53-7.61 (m, 4H), 7.70-7.71 (t, J = 1.46 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.94-7.96 (m, 2H), 7.99-8.01 (m, 2H), 8.07 -8.09 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ 43.91, 63.79, 71.56, 74.43, 80.97, 86.40, 94.49, 119.07, 127.14, 128.40, 128.52(3), 128.62(2), 128.71, 129.32, 129.68(3), 129.86(2), 129.93(2), 130.39(2), 133.41, 133.69, 133.78, 136.72, 136.80, 138.39, 140.20, 150.05, 155.00, 165.17, 165.31, 166.11; mp = 80~84 ℃.

[0217] 단계 3 : ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올 (9)의 제조

[0218] 상기 단계 2에서 제조된 중간체 화합물 (20 g, 24.09 mmol)을 메탄올릭 암모니아 (1 L)에 녹인 후 실온에서 3일간 교반한 후 반응액을 감압 농축하여 트리올 중간체를 얻는다. 이렇게 얻어진 트리올 중간체 (20 g, 38.63 mmol)를 무수 아세톤 (400 mL)에 녹인 후 2,2-다이메톡시프로판 (23.68 mL, 193.15 mmol)과 p-톨루엔설포닉 산 모노 하이드레이트 (7.34 g, 38.63 mmol)을 적가 한 후 다음 실온에서 12시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인한 후 포화 탄산수소나트륨 용액 (400 mL)을 첨가한 후 반응액을 감압 농축하여 클로로포름 (4 x 250 mL)으로 유기층을 추출한 다음 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하고 황산 마그네슘 무수물로 건조하였다. 반응액을 감압 하에 농축한 후 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올 (12 g, 89.35 %)을 얻었다.

[0219] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0220] ^1H NMR (500 MHz; CDCl_3) δ ppm 1.36 (s, 3H), 1.62 (s, 3H), 3.77-3.80 (dd, J = 12.71, 1.95 Hz, 1H), 3.95-3.98 (dd, J = 12.71, 1.95 Hz, 1H), 4.48-4.49 (d, J = 1.46 Hz, 1H), 4.68 (br. s., 1H, exchangeable with D_2O , OH), 4.74 (br. s., 2H), 5.09-5.11 (dd, J = 5.86, 1.46 Hz, 1H), 5.15-5.17 (t, J = 5.38 Hz, 1H), 5.77-5.78 (d, J = 4.40 Hz, 1H), 6.81 (br. s., 1H, exchangeable with D_2O , NH), 7.03-7.06 (t, J = 7.82 Hz, 1H), 7.30-7.31 (d, J =7.33 Hz, 1H), 7.59-7.61 (d, J = 7.82 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.70 (s, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ 25.26, 27.63, 43.93, 63.37, 81.52, 82.98, 86.12, 93.89, 94.55, 114.18, 120.09, 127.19, 130.44, 136.86(2), 139.93, 140.01, 148.80, 154.50, 155.14; mp = 82~86 °C

[0222] 단계 4 : (2S,5R)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시-N-메틸테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드 (10)의 제조

[0223] 상기 단계 3에서 제조된 중간체 화합물 (15 g, 26.89 mmol)을 아세트나이트릴-물 (130 mL, 1:1) 용액에 녹인 후 (다이아세톡시아이오도)-벤젠 (19 g, 59.16 mmol)과 2,2,6,6-테트라메틸 1-피페리딘올 (840 mg, 5.37 mmol)을 적가 한 다음 실온에서 4시간 교반한다. 반응의 완결을 확인 한 후 반응액을 감압 농축하여 정제과정 없이 산 중간체를 얻었다. 이렇게 얻어진 산 중간체 (15 g, 26.23 mmol)를 질소 기류 하에 무수 에탄올 (500 mL)에 녹이고 0 °C로 냉각한 다음 싸이오닐 클로라이드 (9.52 mL, 131.17 mmol) 천천히 적가한 다음 실온에서 12시간 교반한다. 반응의 완결을 확인 한 후 반응액을 감압 농축하여 정제과정 없이 에틸 에스터 중간체를 얻었다. 이렇게 얻어진 에틸 에스터 중간체 (15.5 g, 25.84 mmol)에 메틸아민 (750 mL, 2 N THF 용액)을 적가한 후 실온에서 12시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인 한 후 감압 하에 농축한 다음 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 (2S,5R)-5-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-3,4-다이하이드록시-N-메틸테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드 (5 g, 31.80 %)를 얻었다.

[0224] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0225] ^1H NMR (500 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.72-2.73 (d, J = 3.91 Hz, 3H), 4.17 (br. s., 1H), 4.33 (s, 1H), 4.55-4.56 (m, 1H), 4.61-4.62 (br. d., J = 4.89 Hz, 2H), 5.56-5.57 (d, J = 6.35 Hz, 1H, exchangeable with D_2O , 2'-OH), 5.71-5.72 (d, J = 3.91 Hz, 1H, exchangeable with D_2O , 3'-OH), 5.92-5.93 (d, J = 7.33 Hz, 1H), 7.11-7.14 (t, J = 7.82 Hz, 1H), 7.35-7.37 (d, J = 6.84 Hz, 1H), 7.59-7.61 (d, J = 7.82 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 8.27-8.28 (br. d., J = 5.38 Hz, 1H, exchangeable with D_2O , NH), 8.48 (s, 1H), 8.98-8.99 (br. t., J = 5.86 Hz, 1H, exchangeable with D_2O , ^6H); ^{13}C NMR (125 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ 26.07, 43.02, 72.79, 73.42, 84.95, 88.10, 95.12, 119.46, 127.31, 130.99, 136.06, 136.51, 141.57, 142.23, 150.00, 153.44, 155.31, 170.14; mp = 207~209 °C

[0227] 단계 5 : (S)-2-((R)-1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2-하이드록시에톡시)-3-하이드록시-N-메틸프로판아마이드(5)의 제조

[0228] 상기 단계 4에서 제조된 중간체 화합물 (2.0 g, 3.67 mmol)을 물/메탄올 (210 mL, 1:2)에 녹인 후 0 °C로 냉각한 다음 소듐 퍼아이오테이트 (1.57 g, 7.34 mmol)를 적가한 후 같은 온도에서 2 시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인 한 후 소듐 보로하이드라이드 (694 mg, 18.35 mmol)를 첨가한 후 1시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인 한 후 반응액을 감압 농축한 잔사를 톨루엔 (3 x 50 mL)을 이용하여 감압농축을 한 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 상기 목적 화합물 (1.58 g, 79 %)을 얻었다.

[0229] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

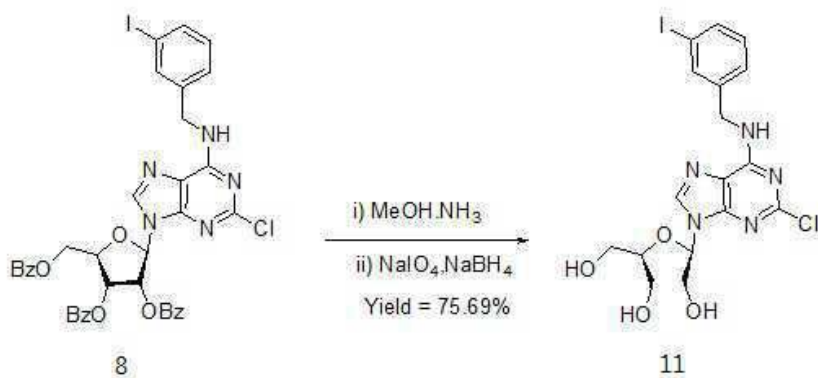
[0230] ^1H NMR (500 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.40 (br. s., 3H), 3.53-3.60 (m, 1H), 3.71-3.73 (d, J =10.27 Hz, 1H), 3.85 (br. s., 1H), 3.95 (br. s., 2H), 4.60 (br. s., 2H), 4.98-5.00 (t, J = 5.38 Hz, 1H, exchangeable with D_2O , OH), 5.19-5.20 (t, J =5.86 Hz, 1H,exchangeable with D_2O , OH), 5.78-5.80 (t, J =5.38 Hz, 1H), 7.10-7.13 (t, J = 7.82Hz, 1H), 7.35-7.36 (d, J = 6.84Hz, 1H), 7.59-7.60 (d, J = 5.86 Hz, 2H,exchangeable

with D₂O, NH), 7.73 (br. s., 1H), 8.30 (s, 1H), 8.85 (br. s., 1H,exchangeable with D₂O, NH); ¹³C NMR (125 MHz; DMSO-d₆) δ 25.59, 42.98, 62.02, 62.25, 80.43, 84.90, 95.11,118.57, 127.27, 130.96, 136.03, 136.45, 140.78, 142.34, 150.69, 153.53, 155.17, 169.31; HRMS (FAB) m/z calcd for C₁₈H₂₀ClIN₆O₄[M+Na]⁺ 546.0279, found 569.0162; mp = 226-229 °C

[0232] [실시예 2]

[0233] 제조예 2: 화학식 11의 화합물 ((R)-2-(1-(2-클로로-6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2- 하이드록시에톡시) 프로판-1,3-다이올)의 제작

[0234] [반응식 2]



[0235]

[0236] 실시예 1의 단계 2에서 제조된 중간체 화합물 (230 mg, 0.27 mmol)을 메탄올릭 암모니아 (25 mL)에 녹인 후 실온에서 3일간 교반한 후 반응액을 감압 농축하여 트리올 중간체를 얻었다. 이렇게 얻어진 트리올 중간체 (248 mg, 0.47 mmol)를 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 제조하여 상기 목적 화합물 (109 mg, 75.69 %)을 얻었다.

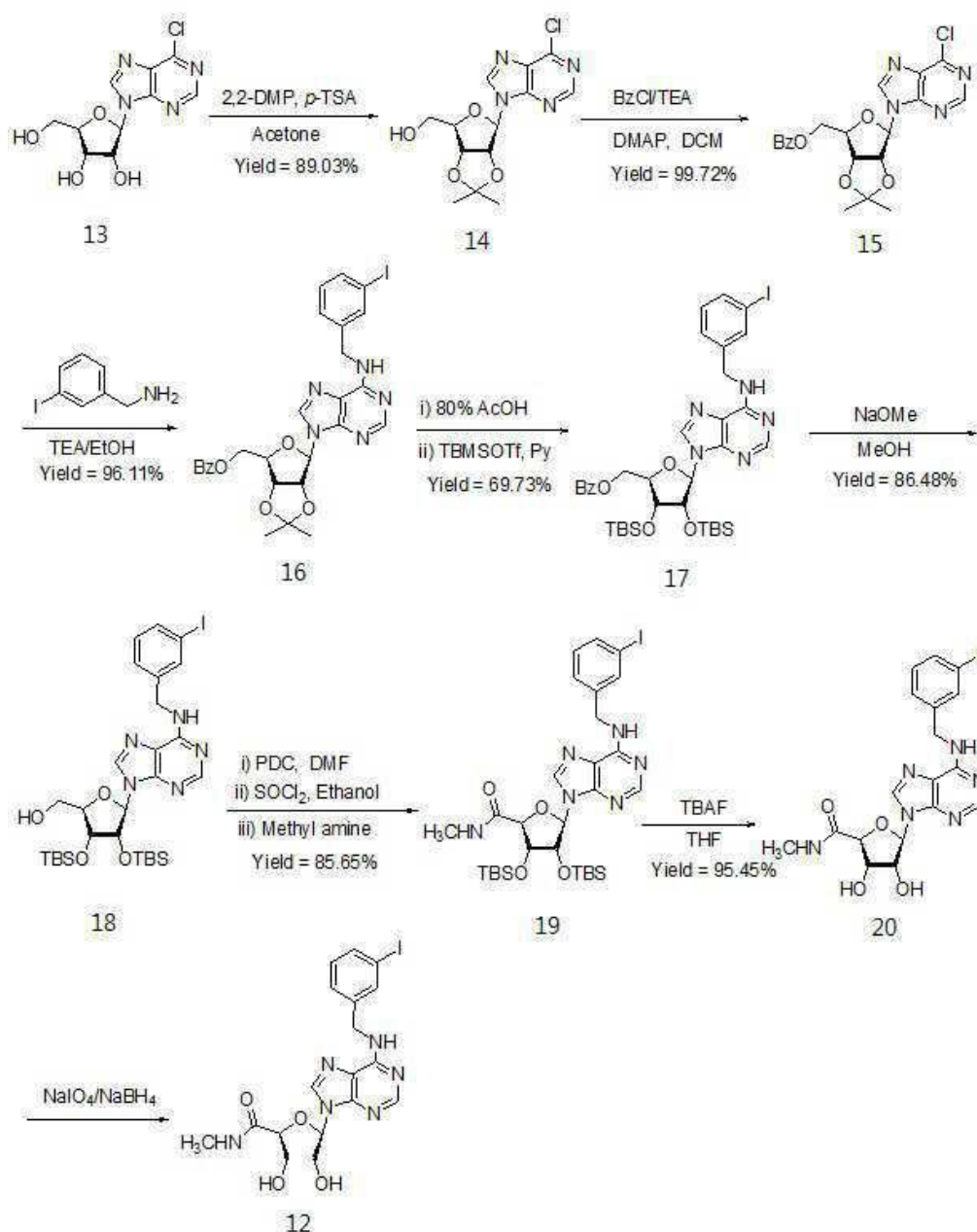
[0237] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0238] ¹H NMR (500 MHz; DMSO-d₆) δ ppm 3.13-3.17 (m, 1H), 3.22-3.26 (m, 1H), 3.43-3.47 (m, 2H), 3.54-3.56 (m, 1H), 3.83 (br. s., 2H), 4.41-4.42 (br. t., J=5.38 Hz, 1H, exchangeable with D₂O, OH), 4.60 (br. s., 2H), 4.73-4.75 (t, J= 5.38 Hz, 1H,exchangeable with D₂O, OH), 5.13 (br. s., 1H, exchangeable with D₂O, OH), 5.80-5.82 (t, J= 4.89 Hz, 1H), 7.11-7.14 (t, J= 7.33 Hz, 1H), 7.36-7.37 (d, J= 7.33 Hz, 1H), 7.59-7.60 (d, J= 7.82 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.82 (br. s., 1H, exchangeable with D₂O, NH); ¹³C NMR (125 MHz; DMSO-d₆) δ 43.01, 61.12, 61.23, 62.64, 80.90, 84.53, 95.12, 118.56, 127.36, 130.99, 136.04, 136.58, 140.68, 142.44, 150.73, 153.40, 155.12; HRMS (FAB) m/z calcd for C₁₇H₁₉ClIN₅O₄ [M+Na]⁺ 519.0170, found 542.0054; mp = 170~172 °C

[0240] [실시예 3]

[0241] 제조예 3: 화학식 12의 화합물((S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드)의 제작

[0242] [반응식 3]



[0243]

[0244] 단계 1: ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올(14)의 제조

[0245] (2R,5R)-2-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-5-(하이드록시메틸)테트라하이드로퓨란-3,4-다이올 (4.8 g, 16.74 mmol)과 2,2-다이메톡시프로판 (10.26 mL, 83.71 mmol)을 질소 기류 하에서 무수 아세톤 (120 mL)에 녹인 다음 p-톨루엔 설폰산 모노 하이드레이트 (3.18 g, 16.74 mmol)을 적가 한 후 실온에서 4시간 교반 한다. 반응의 완결을 확인 한 후 포화 탄산수소나트륨 용액으로 반응을 종결한다. 반응액을 감압 농축하여 클로로포름 (4 X 20 mL)으로 유기층을 추출한 다음 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하고 황산 마그네슘 무수물로 건조하였다. 감압 하에 농축한 후 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로퓨로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메탄올 (4.87 g, 89.03 %)을 얻었다.

[0246] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0247] ^1H NMR (500 MHz; CDCl_3) δ ppm 1.38 (s, 3H), 1.65 (s, 3H), 3.80-3.83 (dd, J = 12.22, 1.46 Hz, 1H), 3.95-

3.98 (dd, J= 12.22, 1.46 Hz, 1H), 4.53-4.55 (q, J= 1.95 Hz, 1H), 4.86 (br. s., 1H), 5.10-5.11 (dd, J= 5.86, 1.46 Hz, 1H), 5.19-5.21 (dd, J= 5.86, 4.40 Hz, 1H), 5.99-6.00 (d, J= 4.89 Hz, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.75 (s, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ 25.22, 27.55, 63.22, 81.51, 83.35, 86.43, 94.02, 114.51, 133.25, 144.73, 150.50, 151.71, 152.31; mp = 146-150 °C

[0249] 단계 2: ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로피로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸벤조에이트(15)의 제조

[0250] 상기 단계 1에서 제조된 중간체 화합물 (2.8 g 8.56 mmol)을 무수 메틸렌 클로라이드 (100 mL)에 녹인 후 0 °C로 냉각한 다음 트리에틸아민 (3.6 mL, 25.70 mmol)과 다이메틸아미노피리딘 (21 mg, 0.17 mmol)을 적가한다. 벤조일 클로라이드 (1.5 mL, 12.85 mmol)를 같은 온도에서 천천히 적가한 다음 실온에서 2시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인한 후 포화 탄산수소나트륨 용액으로 반응을 종결한다. 반응액을 감압 농축하여 메틸렌 클로라이드로 유기층을 추출한 다음 포화 염화나트륨 수용액으로 세척하고 황산 마그네슘 무수물로 건조하였다. 감압 하에 농축한 후 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-클로로-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이메틸테트라하이드로피로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트 (3.68 g, 99.72 %)를 얻었다.

[0251] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0252] ^1H NMR (500 MHz; CDCl_3) δ ppm 1.40 (s, 3H), 1.62 (s, 3H), 4.42-4.46 (dd, J= 11.73, 3.9 Hz, 1H), 4.61-4.64 (m, 2H), 5.12-5.13 (d, J= 2.93 Hz, 1H), 5.53-5.54 (d, J= 5.86 Hz, 1H), 6.15 (s, 1H), 7.29-7.32 (t, J= 7.33 Hz, 2H), 7.47-7.50 (t, J= 7.33 Hz, 1H), 7.79-7.81 (d, J= 7.82 Hz, 2H), 8.21 (s, 1H), 8.64 (s, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ 25.36, 27.15, 63.99, 81.42, 84.07, 85.04, 91.87, 114.92, 128.31(2), 129.07, 129.39(2), 132.42, 133.33, 144.10, 150.79, 151.40, 152.02, 165.80; mp = 50-54 °C.

[0254] 단계 3 : ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2 다이메틸테트라하이드로피로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트(16)의 제조

[0255] 상기 단계 2에서 제조된 중간체 화합물 (1.24 g, 2.87 mmol)을 실시예 1의 단계 2와 동일한 방법으로 제조하여 중간체 화합물 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2다이메틸테트라하이드로피로[3,4-d][1,3]다이옥솔-4-일)메틸 벤조에이트 (1.73 g, 96.11 %)를 얻었다.

[0256] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0257] ^1H NMR (500 MHz; CDCl_3) δ ppm 1.42 (s, 3H), 1.63 (s, 3H), 4.45-4.59 (m, 1H), 4.59-4.61 (m, 2H), 4.80 (br. s., 2H), 5.17 (d, J= 3.43 Hz, 1H), 5.58-5.59 (d, J= 5.86 Hz, 1H), 6.09 (s, 1H), 6.34-6.35 (t, J=5.38 Hz, 1H), 7.02-7.05 (t, J= 7.33 Hz, 1H), 7.30-7.31 (d, J=7.82 Hz, 1H), 7.34-7.37 (t, J= 7.33 Hz, 2H), 7.49-7.52 (t, J= 7.33 Hz, 1H), 7.58-7.60 (d, J= 7.33 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.90-7.91 (d, J= 7.33 Hz, 2H), 8.36 (br. s., 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ 25.47, 27.21, 43.81, 64.35, 81.71, 84.21, 85.03, 91.38, 94.55, 114.61, 120.52, 126.85, 128.32(3), 129.43, 129.62 (2), 130.34, 133.18, 136.53, 139.16, 140.99, 148.68, 153.34, 154.60, 166.02; mp = 68-72 °C.

[0259] 단계 4: ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-뷰틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로피란-2-일)메틸 벤조에이트(17)의 제조

[0260] 상기 단계 3에서 제조된 중간체 화합물 (4.93 g, 7.85 mmol)을 80% 아세트산 (250 mL)에 녹인 후 100 °C에서 12시간 동안 가열 환류한다. 반응의 완결을 확인한 후 반응액을 감압 농축하고, 톨루엔 (4 x 50mL)을 가한 다음 감압 농축하여 정제과정 없이 다이올 중간체를 얻었다. 이렇게 얻어진 다이올 중간체 (8.5 g 14.47 mmol)를 무수 피리딘 (250 mL)에 녹인 후 터트뷰틸다이메틸실릴트리플레이트 (TBDMSTf) (13.3 mL, 57.88 mmol)를 가한

후 50 °C에서 5시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인한 후 반응액을 메틸렌클로라이드/물에 분배한 후 유기층을 물, 포화 탄산수소나트륨 용액, 그리고 포화 감압 농축하고, 포화 염화나트륨 수용액으로 세척한 다음 황산 마그네슘 무수물로 건조하였다. 감압 하에 농축한 후 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-부틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메틸 벤조에이트 (4.47 g, 69.73 %)를 얻었다.

[0261] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0262] ^1H NMR (500 MHz; CDCl_3) δ ppm -0.17 (s, 3H), 0.01 (s, 3H), 0.1 (s, 3H), 0.12 (s, 3H), 0.83 (s, 9H), 0.93 (s, 9H), 4.39-4.41 (m, 1H), 4.51-4.55 (dd, $J=12.22$, 4.40 Hz, 1H), 4.58-4.59 (t, $J=4.40$ Hz, 1H), 4.74-4.78 (dd, $J=12.22$, 4.40 Hz, 1H), 4.82 (br. s., 2H), 5.07-5.09 (t, $J=4.40$ Hz, 1H), 5.88-5.89 (d, $J=4.40$ Hz, 1H), 6.26-6.28 (t, $J=6.35$ Hz, 1H), 7.02-7.05 (t, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.31-7.33 (d, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.38-7.41 (t, $J=7.82$ Hz, 2H), 7.52-7.55 (t, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.59-7.60 (d, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.98-8.00 (dd, $J=8.31$, 0.97 Hz, 2H), 8.32 (s, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ -0.00, 0.11, 0.26, 0.54, 30.63 (3), 30.74 (3), 34.61 (2), 49.19, 68.45, 77.09, 79.28, 87.24, 94.71, 99.46, 125.63, 131.74, 133.32 (3), 134.52, 134.59, 135.23, 138.10, 141.41, 141.46, 144.66, 145.99, 153.87, 157.99, 159.53, 171.15; mp = 68-70 °C.

[0264] 단계 5: ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-부틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메탄올(18)의 제조

[0265] 상기 단계 4에서 제조된 중간체 화합물 (1.28 g, 1.56 mmol)을 무수 메탄올 (100 mL)에 녹인 후 25% 소듐메톡사이드/메탄올 (15 mL)을 가한 다음 실온에서 12 시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인한 후 반응액을 감압 농축하고 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 ((2R,3R,4R,5R)-3,4-비스(터트-부틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-2-일)메탄올 (960 mg, 86.48 %)를 얻었다.

[0266] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0267] ^1H NMR (500 MHz; CDCl_3) δ ppm -0.58 (s, 3H), -0.13 (s, 3H), 0.11-0.13 (d, $J=7.33$ Hz, 6H), 0.74 (s, 9H), 0.95 (s, 9H), 3.68-3.71 (d, $J=12.71$ Hz, 1H), 3.92-3.95 (d, $J=12.71$ Hz, 1H), 4.15 (s, 1H), 4.32-4.33 (d, $J=4.40$ Hz, 1H), 4.73-4.88 (m, 2H), 5.03-5.05 (dd, $J=7.33$, 4.40 Hz, 1H), 5.75-5.77 (d, $J=7.82$ Hz, 1H), 6.39 (br. s., 1H), 6.73 (br. s., 1H), 7.03-7.06 (t, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.30-7.32 (d, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.59-7.61 (d, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.76 (br. s., 1H), 8.35 (br. s., 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ 0.00, 1.30, 1.35, 1.38, 31.62 (3), 31.75 (3), 35.61 (2), 49.54, 68.95, 79.91, 79.96, 95.50, 96.96, 100.51, 127.37, 132.70, 136.30, 142.42, 142.57, 146.54, 146.61, 153.78, 158.46, 160.79; mp = 82-86 °C.

[0269] 단계 6: (2S,5R)-3,4-비스(터트-부틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드(19)의 제조

[0270] 상기 단계 5에서 제조된 중간체 화합물 (450 mg, 0.63 mmol)와 피리디늄 다이크로메이트 (5.47 g, 14.54 mmol)를 질소 기류 하에서 DMF (50 mL)에 녹인 후 실온에서 12시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인한 후 생성된 고체를 물로 세척하여 산 중간체를 얻었다. 이렇게 얻어진 산 중간체 (450 mg, 0.62 mmol)를 질소 기류 하에서 무수 에탄올 (10 mL)에 녹인 후 0 °C로 냉각한 다음 싸이오닐 클로라이드 (0.25 mL, 3.10 mmol)을 천천히 적가한 후 실온에서 5 시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인한 후 반응액을 감압 농축하고 에틸 아세테이트/물에 분배한 후 유기층을 물과 포화 염화나트륨 수용액으로 세척한 다음 황산 마그네슘 무수물로 건조하였다. 감압 하에 농축한 후 중간체 에틸 에스터를 얻었다. 이렇게 얻어진 에틸 에스터를 질소 기류 하에서 메틸아민/2 N-THF용액을 가한 후 실온에서 12시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인한 후 반응액을 감압 농축한 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 (2S,5R)-3,4-비스(터트-부틸다이메틸실릴옥시)-5-(6-(3-아이오

도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드 (400 mg, 85.65 %)을 얻었다.

[0271] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0272] ^1H NMR (500 MHz; CDCl_3) δ ppm -0.61 (s, 3H), -0.16 (s, 3H), 0.15 (s, 3H), 0.25 (s, 3H), 0.71 (s, 9H), 0.97 (s, 9H), 2.93-2.94 (d, J= 4.40 Hz, 3H), 4.33-4.34 (d, J= 3.42 Hz, 1H), 4.51 (s, 1H), 4.72-4.94 (m, 3H), 5.82-5.84 (d, J= 8.31 Hz, 1H), 6.42 (br. s., 1H), 7.03-7.06 (t, J= 7.82 Hz, 1H), 7.30-7.32 (d, J= 7.33 Hz, 1H), 7.59-7.61 (d, J= 7.82 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.75 (s, 1H), 8.36 (br. s., 1H), 9.42-9.43 (d, J= 3.91 Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; CDCl_3) δ 0.00, 1.19, 1.21, 1.40, 23.71, 24.00, 31.53(3), 31.58, 31.78 (2), 35.64, 49.60, 78.09, 81.25, 92.53, 95.48, 100.56, 127.30, 132.72, 136.34, 142.44, 142.61, 146.64, 146.79, 154.27, 158.70, 160.96, 175.92; mp = 80-84 °C.

[0274] 단계 7: (2S,5R)-3,4-다이하이드록시-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N- 메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드(20)의 제조

[0275] 상기 단계 6에서 제조된 중간체 화합물 (65 mg, 0.08 mmol)을 질소 기류 하에서 무수 THF에 녹인 후 터트뷰틸암모늄플로라이드 (TBAF) (0.44 mL, 0.43 mmol, (1 M 용액 THF))를 적가한 다음 실온에서 1시간 동안 교반한다. 반응의 완결을 확인 한 후 반응액을 감압 농축한 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 화합물 (2S,5R)-3,4-다이하이드록시-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-N-메틸 테트라하이드로퓨란-2-카복사마이드 (52 mg, 95.45 %)를 얻었다.

[0276] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0277] ^1H NMR (500 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.70-2.71 (d, J= 4.40 Hz, 3H), 4.14-4.16 (t, J= 3.91 Hz, 1H), 4.31 (s, 1H), 4.57-4.60 (dd, J= 11.73, 6.84 Hz, 1H), 4.67 (br. s., 2H), 5.56-5.57 (d, J= 6.35 Hz, 1H), 5.72-5.73 (d, J= 4.40 Hz, 1H), 5.96-5.97 (d, J=7.33 Hz, 1H), 7.09-7.12 (t, J= 7.82 Hz, 1H), 7.35-7.36 (d, J= 7.82 Hz, 1H), 7.56-7.58 (d, J= 7.82 Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.53 (br. s., 1H), 8.85-8.86 (m, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ 25.81, 42.74, 72.56, 73.49, 85.09, 88.26, 95.06, 120.42, 127.11, 130.95, 135.86, 136.13, 141.17, 143.10, 148.70, 152.94, 154.86, 170.34; mp = 178-182 °C.

[0279] 단계 8: (S)-3-하이드록시-2-((R)-2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)-N-메틸프로판아마이드(12)의 제조

[0280] 상기 단계 7에서 제조된 중간체 화합물 (52 mg, 0.10 mmol)을 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 제조하여 상기 목적 화합물 (35 mg, 83.33 %)을 얻었다.

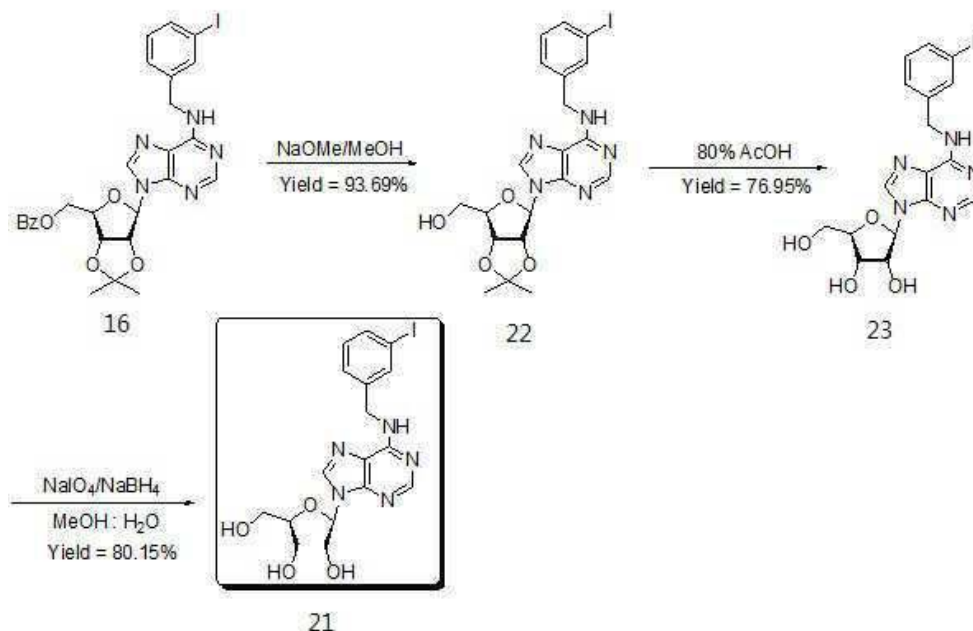
[0281] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0282] ^1H NMR (500 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2.35 (s, 3H), 3.5-3.6 (m, 1H), 3.72-3.74 (d, J= 9.29 Hz, 1H), 3.86 (br. s., 1H), 4.00 (d, J= 4.40 Hz, 2H), 4.66 (br. s., 2H), 4.99 (br. s., 1H,exchangeable with D_2O , OH), 5.21 (br. s., 1H,exchangeable with D_2O , OH), 5.87 (br. s., 1H), 7.08-7.11 (t, J= 7.82 Hz, 1H), 7.35-7.36 (d, J= 6.84 Hz, 1H), 7.56-7.57 (d, J= 6.35 Hz, 2H, exchangeable with D_2O , NH), 7.71 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.37 (br. s., 1H,exchangeable with D_2O , NH); ^{13}C NMR (125 MHz; $\text{DMSO}-d_6$) δ 25.53, 42.81, 61.98, 62.26, 80.30, 84.62, 95.09, 119.43, 127.11, 130.91, 135.81, 136.16, 140.19, 143.31, 149.79, 152.98, 154.66, 169.42; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 512.0669, found 535.0578; mp = 176-182 °C.

[0284] [실시예 4]

[0285] 제조예 4: 화학식 21의 화합물 ((R)-2-(2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)프로판-1,3-다이올)의 제작

[0286] [반응식 4]



[0287]

[0288] 단계 1: ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이 메틸 테트라하이드로퓨란-3,4-d)[1,3]다이옥솔-4-일)메탄올(22)의 제조

[0289] 실시예 1의 단계 2에서 제조된 중간체 화합물 (1.73 g, 2.75 mmol)을 실시예 3의 단계 5와 동일한 방법으로 중간체 화합물 ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)-2,2-다이 메틸 테트라하이드로퓨란-3,4-d)[1,3]다이옥솔-4-일)메탄올 (1.04 g, 93.69 %)을 얻었다.

[0290] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0291] ¹H NMR (500 MHz; CDCl₃) δ ppm 1.36 (s, 3H), 1.63 (s, 3H), 3.75-3.80 (t, J= 11.24 Hz, 1H), 3.95-3.97 (d, J= 12.71 Hz, 1H), 4.52 (s, 1H), 4.79 (br. s., 2H), 5.10-5.11 (d, J= 4.89 Hz, 1H), 5.19 (br. s., 1H), 5.82 (d, J= 3.91 Hz, 1H), 6.58 (br. s., 2H), 7.01-7.04 (t, J= 7.82 Hz, 1H), 7.29-7.30 (d, J= 6.84 Hz, 1H), 7.58-7.59 (d, J=7.33 Hz, 1H), 7.69 (br. s., 2H), 8.33 (br. s., 1H); ¹³C NMR (125 MHz; CDCl₃) δ 25.24, 27.66, 29.65, 63.36, 81.68, 83.03, 86.12, 94.26, 94.54, 113.93, 121.24, 126.80, 130.32, 136.52, 136.58, 139.71, 140.72, 147.66, 152.73, 154.94; mp = 72-76 °C.

[0293] 단계 2: (2R,3S,4R,5R)-2-(하이드록시메틸)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이올(23)의 제조

[0294] 상기 단계 1에서 제조된 중간체 화합물 (250 mg, 0.47 mmol)을 80% 아세트산 (250 mL)에 녹인 후 100 °C에서 12시간 동안 가열 환류한다. 반응의 완결을 확인한 후 반응액을 감압 농축하고, 톨루엔 (4 x 50mL)을 가한 다음 감압 농축하여 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간체 (2R,3S,4R,5R)-2-(하이드록시메틸)-5-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)테트라하이드로퓨란-3,4-다이올 (177 mg, 76.95 %)을 얻었다.

[0296] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0297] ^1H NMR (500 MHz; DMSO- d_6) δ ppm 3.56 (br. s., 1H), 3.67-3.69 (d, $J=10.27$ Hz, 1H), 3.97 (s, 1H), 4.16 (s, 1H), 4.61-4.67 (m, 3H), 5.17 (d, $J=2.93$ Hz, 1H, exchangeable with D_2O , OH), 5.35-5.36 (t, $J=5.38$ Hz, 1H, exchangeable with D_2O , OH), 5.43-5.44 (d, $J=5.38$ Hz, 1H, exchangeable with D_2O , OH), 5.89-5.90 (d, $J=4.89$ Hz, 1H), 7.09-7.11 (t, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.35-7.36 (d, $J=6.84$ Hz, 1H), 7.56-7.58 (d, $J=7.33$ Hz, 1H), 7.72 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 8.45 (br. s., 1H, exchangeable with D_2O , NH); ^{13}C NMR (125 MHz; DMSO- d_6) δ 42.69, 62.08, 71.06, 73.97, 86.32, 88.42, 95.09, 120.24, 127.08, 130.91, 135.81, 136.16, 140.47, 143.22, 149.00, 152.76, 154.79; mp = 174-178 $^\circ\text{C}$.

[0299] 단계 3: (R)-2-(2-하이드록시-1-(6-(3-아이오도벤질아미노)-9H-퓨린-9-일)에톡시)프로판-1,3-다이올 (21)의 제조

[0300] 상기 단계 2에서 제조된 중간체 화합물 (77 mg, 0.15 mmol)을 실시예 1의 단계 5와 동일한 방법으로 제조하여 상기 목적화합물 (62 mg, 80.51 %)을 얻었다.

[0301] 얻어진 화합물의 분석 데이터는 다음과 같다.

[0302] ^1H NMR (500 MHz; CD_3OD) δ ppm 3.42-3.44 (d, $J=5.38$ Hz, 2H), 3.54-3.58 (m, 1H), 3.65-3.68 (dd, $J=11.73, 5.38$ Hz, 1H), 3.75-3.78 (dd, $J=11.73, 4.40$ Hz, 1H), 4.01-4.02 (d, $J=5.38$ Hz, 2H), 4.53 (s, 2H), 6.04-6.06 (t, $J=4.89$ Hz, 1H), 7.07-7.10 (t, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.38-7.40 (d, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.59-7.60 (d, $J=7.82$ Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.29 (s, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz; CD_3OD) δ 42.88, 60.80, 61.25, 62.76, 80.26, 84.02, 93.52, 119.00, 126.44, 129.93, 135.90, 136.10, 139.65, 141.72, 148.97, 152.52, 154.53; HRMS (FAB) m/z calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{IN}_5\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 485.0560, found 486.0625; mp = 72-76 $^\circ\text{C}$.

[0304] [실시예 5]

[0305] 국소뇌허혈증에 대한 신규 아데닌 유도체의 효능 확인

[0306] 5-1: 실험동물

[0307] 본 실험에서는 260g~300g의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 Charles River Laboratories사(Seoul, Korea)에서 공급받아 20 $^\circ\text{C}$ 정도의 실내온도 및 항습이 유지되면서 12시간의 밤-낮 주기가 일정하게 관리되는 사육실내에서 사육하였다. 또 한, 수술 전날 밤부터 수술당일까지는 먹이공급을 중단하였으며, 물은 지속적으로 공급하였다. NIH 기준 (NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) 및 위원회(Korea University Institutional Animal Care & Use Committee) 승인 하에 수행되었다.

[0309] 5-2: 통계처리

[0310] Data는 means $\pm$ SD 로 나타내었으며, 통계적인 유의성은 Kruscal-Wallis test 및 Mann-Whitney U test로 검정하였다. (*** $P<0.001$, ** $P<0.01$, * $P<0.05$; 대조군과 유의적인 차이). N=5~11

[0312] 5-3: 국소 뇌허혈증 실험모델의 제작 및 경색 부피 측정/신경행동학적 검사 방법

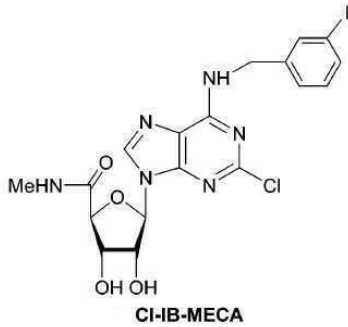
[0313] 실시예 1 내지 4에서 제조한 시료들의 국소시료들의 국소 뇌허혈증 실험에서의 효과를 확인하기 위하여 문헌에 개시된 방법을 응용하여 하기와 같이 실험을 수행하였다 (Belayev L, Alonso OF, Busto L, Zhao W, Ginsberg MD. Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture. Neurological and pathological evaluation of an improved model. Stroke. 1996 Sep.; 27(9):1616-1622; discussion 1623).

- [0315] 즉, 먼저 국소 뇌허혈 모델은 다음과 같이 제작하였다.
- [0316] 상기 실험동물을 24시간 절식시켰다음, 실험동물을 7:3의 부피비로 혼합된 N₂O와 O₂ 혼합가스에 3% isoflurane으로 마취시키고, 마취를 유지시켰다. 히딩패드로 수술하는 동안 체온을 섭씨 37.0~37.9도로 유지하였다. 온목동맥(common carotid artery)과 바깥목동맥(external carotid artery)을 결찰하고, 속목동맥(internal carotid artery)의 분지점으로부터 19mm의 probe(4-0 수술용 나일론실의 한쪽 끝을 불에 그을려 둥글게 만듦)를 삽입하여 오른쪽 중간대뇌동맥을 결찰(right sheath endovascular middlecerebral artery occlusion)에 의한 국소적 뇌허혈을 유발시켰다.
- [0317] 90분 동안 중간대뇌동맥의 혈류 흐름을 차단하여 허혈상태를 유지시킨 후, 수술부위를 다시 노출시켜 probe를 제거하고 재관류 시켰다. 재관류 시킨 실험동물의 절개된 피부를 수술용 봉합사를 이용하여 완전히 봉합하고, 전 실험과정 중 사용된 히딩패드를 이용하여 실험동물의 직장체온이 37도 이하로 떨어지지 않도록 계속해서 유지시켰다.
- [0319] 한편, 제작된 국소 뇌허혈 모델은 다음과 같이, 경색 부피 측정 및 신경행동학적 검사를 수행하였다.
- [0320] * 경색 부피의 측정
- [0321] 실험동물을 7:3의 부피비로 혼합된 N₂O와 O₂ 혼합가스에 3% isoflurane으로 마취시키고, 경추탈골 시켰다. 매트릭스(rat brain matrix, Ted Pella, Redding, CA)를 이용하여 절단한 뇌 동맥 절편 (2 mm)을 시약으로 (2% 트리페닐테트라졸리움 염산, 시그마-알드리히, St. Louis, MO) 30분간 37°C에서 염색하였다. 4% 파라포름알데히드 (pH 7.4)로 고정하고 연속적으로 2일간 30% sucrose at 4°C에서 30% 수크로스(sucrose)에서 동결보존시켰다. 브레그마의 +4mm(전방) 및 -6mm(후방) 사이의 경색 절편을 분석 프로그램(OPTIMAS5.1image analysis program, BioScanInc. Edmonds, WA)으로 측정하였다.
- [0322] 부종율 (%) = (A-B)/B 100
- [0323] A. 각 coronal slice에서 허혈이 유발된 대뇌반구의 용적 (mm³)
- [0324] B. 각 coronal slice에서 정상 대뇌반구의 용적 (mm³)
- [0326] * 신경행동학적 검사
- [0327] 신경행동학적 검사는 허혈 후 24시간 후에 측정하며, 실험자는 손상의 정도를 다음의 기준에 따라 3점 스케일로 평가하였다.
- [0328] Normal grade 0: no observable deficit
- [0329] Moderate grade 1: forelimb flexion
- [0330] Severe grade 2: decreased resistance to lateral push
- [0331] (and forelimb flexion) without circling
- [0332] grade 3: same behavior as grade 2, with circling
- [0334] 0점: 쥐를 테이블 1m위에 꼬리를 잡고 들 때, 두 쪽 앞발을 테이블을 향해서 뻗는다 (정상 쥐).
- [0335] 1점: 쥐를 테이블 1m위에 꼬리를 잡고 들 때, 쥐가 한쪽 앞발을 구부린다.
- [0336] 2점: 손으로 쥐의 꼬리를 잡고 어깨 뒤쪽으로 부드럽게 옆으로 밀 때, 정상이거나 손상이 미약한 정도일 때에는 양쪽 모두 같은 정도의 힘으로 밀리는 것에 저항한다. 심한 증상의 경우로 마비가 있는 쪽으로 저항이 줄어든다.

[0337] 3점: 쥐를 자유롭게 움직이게 하여 circling behavior를 관찰 시, 계속 돌면서 앞발의 구부림이 항상 관찰된다.

[0339] **5-4: 신규 아데닌 유도체의 뇌손상 예방 및 치료 효능 확인 (1)**

[0340] 실시예 5-3의 국소허혈을 유발한 흰 쥐를 뇌 허혈을 일으킨 후, 본 발명에 따른 신규 아데닌 유도체 (화학식 5의 화합물) 또는 하기 구조식의 C1-IB-MECA 를 3 시간 및 8시간째의 2차례에 걸쳐 2mg/kg의 용량으로 경구투여한 후, 상기 실시예 5-3의 방법에 따라 경색 부피를 측정하거나, 신경행동학적 검사를 수행하였다. 음성대조군(Control)은 비투여군이다.



[0341]

[0342] 그 결과, 도 1에 나타난 바와 같이, 약물을 2mg/kg의 용량으로 두 차례 경구 투여한 경우, 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체가, 비투여군 (Control)은 물론 종래 아데노신 A3 리셉터 효현제로 알려진 C1-IB-MECA에 비하여 유의적으로 뇌손상을 감소시킴을 확인할 수 있었다. 도 1a는 각 그룹의 관상 뇌 슬라이스를 촬영한 것으로, 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체를 투여한 경우 외관적으로도 허혈이 유발된 대뇌반구의 용적이 낮음을 보인다. 도 1b는 각 그룹의 경색용적을 그래프로 나타난 것으로 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체 투여군에서 비투여군 (Control) 이나 C1-IB-MECA 투여군에 비하여 현저히 경색용적이 낮았으며, 이를 부종율로 계산한 경우 도 1c에 나타난 바와 같이, C1-IB-MECA 투여군이 비투여군에 비해서는 부종율을 낮추는 효과가 있기는 하나, 본 발명에 따른 아데닌 유도체 투여군이 C1-IB-MECA 투여군에 비하여도 현저히 낮은 부종율을 보임을 확인할 수 있었다. 아울러, 신경행동학적 검사를 수행한 결과, 도 1d에 나타난 바와 같이, 비투여군 (Control) 이나 C1-IB-MECA 투여군의 경우 허혈으로 인한 신경행동에 있어 손상의 정도가 높게 나타났으나, 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체 투여군의 경우 평균점수가 1.5 이하로 허혈으로 인한 손상 신경행동양상이 거의 나타나지 않거나 손상이 매우 미약한 정도로 나타났다.

[0344] 아울러, 투여 경로에 따른 효과상 차이점이 있는지 확인하기 위하여, 약물을 4mg/kg (2mg/kg씩 2회 투여)의 용량으로 정맥 내 주사하여 실험을 수행한 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 역시 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체가, 비투여군 (Control)은 물론 종래 아데노신 A3 리셉터 효현제로 알려진 C1-IB-MECA에 비하여 유의적으로 뇌손상을 감소시킴을 확인할 수 있었다. 도 2a는 각 그룹의 관상 뇌 슬라이스를 촬영한 것으로, 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체를 투여한 경우 외관적으로도 허혈이 유발된 대뇌반구의 용적이 낮음을 보인다. 도 2b는 각 그룹의 경색용적을 그래프로 나타난 것으로, 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체 투여군에서 비투여군 (Control) 이나 C1-IB-MECA 투여군에 비하여 현저히 경색용적이 낮았으며, 이를 부종율로 계산한 경우 도 2c에 나타난 바와 같이, C1-IB-MECA 투여군이 비투여군에 비해서는 부종율을 낮추는 효과가 있기는 하나, 본 발명에 따른 아데닌 유도체 투여군이 C1-IB-MECA 투여군에 비하여도 현저히 낮은 부종율을 보임을 확인할 수 있었다. 아울러, 신경행동학적 검사를 수행한 결과, 도 2d에 나타난 바와 같이, 비투여군 (Control) 이나 C1-IB-MECA 투여군의 경우 허혈으로 인한 신경행동에 있어 손상의 정도가 높게 나타났으나, 본 발명에 따른 신규한 아데닌 유도체 투여군의 경우 평균점수가 2 이하로 허혈으로 인한 손상이 상대적으로 낮은 것으로 나타났다. C1-IB-MECA 투여군의 경우 투여경로 (경구 투여 혹은 정맥주사)와 상관없이 경색용적이나 부종율이 비투여군과 거의 차이가 없었고 신경손상행동조사에서도 비투여군과 유사한 손상의 정도를 보였다. 이에 반하여 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 투여경로에 상관없이 4mg/kg (2mg/kg씩 2회 투여)의 낮은 용량에서도 높은 뇌손상 억제효과를 보임을 확인할 수 있었다.

[0345] 이에 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 뇌허혈로 인한 뇌손상을 억제 및 방지하는 효과가 있으므로, 뇌졸중과 같은 퇴행성 뇌질환의 치료 및 예방용 약제로서 유용하게 사용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0347] **5-5: 신규 아데닌 유도체의 뇌손상 예방 및 치료 효능 확인 (2)**

[0348] 본 발명에 따른 아데닌 유도체의 용량에 따른 효과를 확인하기 위하여 실시예 5-3의 국소뇌허혈을 유발한 흰 쥐를 뇌 허혈을 일으킨 후, 본 발명에 따른 신규 아데닌 유도체 (화학식 5의 화합물)을 3 시간 및 8시간째의 2차례에 걸쳐 10mg/kg의 용량으로 정맥 투여한 후, 상기 실시예 5-3의 방법에 따라 경색 부피를 측정하거나, 신경행동학적 검사를 수행하였다. 음성대조군 (Control)은 비투여군이다.

[0350] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 정맥투여한 경우에도 본 발명에 따른 아데닌 유도체는, 비투여군 (Control)에 비하여 유의적으로 뇌손상을 감소시켰다. 도 3a는 실험군과 대조군(비투여군)의 관상 뇌 슬라이스를 촬영한 것으로, 본 발명에 따른 아데닌 유도체를 투여한 경우 외관적으로도 허혈이 유발된 대뇌반구의 용적이 낮음을 보인다. 경색용적 (도 3b), 부종율(도 3c) 및 신경행동학적 검사 (도 3d)에서 역시 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 비투여군에 비하여 유의하게 낮은 손상의 정도를 나타내었다.

[0351] 이에 본 발명에 따른 아데닌 유도체는 증가된 용량으로 정맥 주사로 투여한 경우에도 뇌허혈로 인한 뇌손상을 억제 및 방지하는 효과가 있으므로, 뇌졸중과 같은 퇴행성 뇌질환의 치료 및 예방용 약제로서 유용하게 사용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0353] **5-6: 신규 아데닌 유도체의 뇌손상 예방 및 치료 효능 확인 (3)**

[0354] 본 발명에 따른 아데닌 유도체를 허혈 후 처치 시간을 달리 한 경우 뇌손상 예방 및 치료효과를 확인하기 위하여, 실시예 5-3의 국소뇌허혈을 유발한 흰 쥐를 뇌 허혈을 일으킨 후, 본 발명에 따른 신규 아데닌 유도체 (화학식 5의 화합물)을 6 시간 및 12시간째의 2차례에 걸쳐 (도 4) 또는 10시간 및 18시간의 2차례에 걸쳐 (도 5) 2mg/kg의 용량으로 정맥 투여한 후, 상기 실시예 5-3의 방법에 따라 경색 부피를 측정하거나, 신경행동학적 검사를 수행하였다. 음성대조군 (Control)은 비투여군이다.

[0355] 그 결과, 도 4 및 도 5에 나타난 바와 같이, 국소뇌허혈을 유발한 후 6시간 및 12시간째에 투여하거나 또는 10시간 및 18시간 후 투여한 경우 모두 본 발명에 따른 아데닌 유도체는, 비투여군 (Control)에 비하여 유의적으로 뇌손상을 감소시켰다. 도 4a 및 도 5a는 실험군과 대조군(비투여군)의 관상 뇌 슬라이스를 촬영한 것이고, 도 4b 및 도 5b는 경색용적을, 도 4c 및 도 5c는 부종율을, 도 4d 및 도 5d는 신경행동학적 검사 결과를 나타낸다.

[0357] [실시예 6]

[0358] **국소뇌허혈중 모델에서 본 발명에 따른 아데닌 유도체 투여에 따른 장기 생존율 측정**

[0359] 본 발명에 따른 아데닌 유도체의 뇌허혈 유도 시 장기 생존율에 미치는 영향을 조사하기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

[0360] 즉, 실시예 5-3의 국소뇌허혈을 유발한 흰 쥐를 뇌 허혈을 일으킨 후, 본 발명에 따른 신규 아데닌 유도체 (화학식 5의 화합물)을 3 시간 및 8시간째에 정맥 투여 한 후, 12시간 간격으로 네 차례 (4회) 약물을 경구 투여하였고 (이후에는 약물을 투여하지 않음), 32일에 걸쳐 생존율을 확인하였다. 이때 약물의 정맥 및 경구 투여 용량은 각 2mg/kg씩이며, 음성대조군 (Control)은 비투여군이다.

[0361] 그 결과, 도 6a에 나타난 바와 같이, 조직의 손상정도의 크기가 비투여군(Control)에 비하여 적음을 확인할 수 있었다. 도 7a는 32일째 슬라이스하여 촬영한 사진이다.

[0362] 아울러, 도 6b에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 아데닌 유도체가 투여된 쥐의 사망율을 유의적으로 감소함을 확인할 수 있었다.

[0364] 이러한 실험결과는 본 발명에 따른 화합물 및 이의 약학적으로 허용가능한 염이 뇌손상을 치료하는 효과가 있음을 나타내는 것으로, 이에 퇴행성 뇌질환의 예방 및 치료용 조성물로서 유효하게 작용할 것임을 제시한다.

[0366] [실시예 7]

[0367] 하기에 본 발명의 화합물을 함유하는 조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

[0368] **제제예 1. 산제의 제조**

[0369] **화합물 5** **200 mg**

[0370] 유당 100 mg

[0371] 탈크 10 mg

[0372] 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조한다.

[0374] **제제예 2. 정제의 제조**

[0375] **화합물 11** **200 mg**

[0376] 옥수수전분 100 mg

[0377] 유당 100 mg

[0378] 스테아린산 마그네슘 2 mg

[0379] 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

[0381] **제제예 3. 캡셀제의 제조**

[0382] **화합물 12** **200 mg**

[0383] 결정성 셀룰로오스 3 mg

[0384] 락토오스 14.8 mg

[0385] 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

[0386] 통상의 캡셀제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡셀제를 제조한다.

[0388] **제제예 4. 주사제의 제조**

[0389] **화합물 5** **200 mg**

[0391] *만니톨 180 mg

[0392] 주사용 멸균 증류수 2974 mg

[0393] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 26 mg

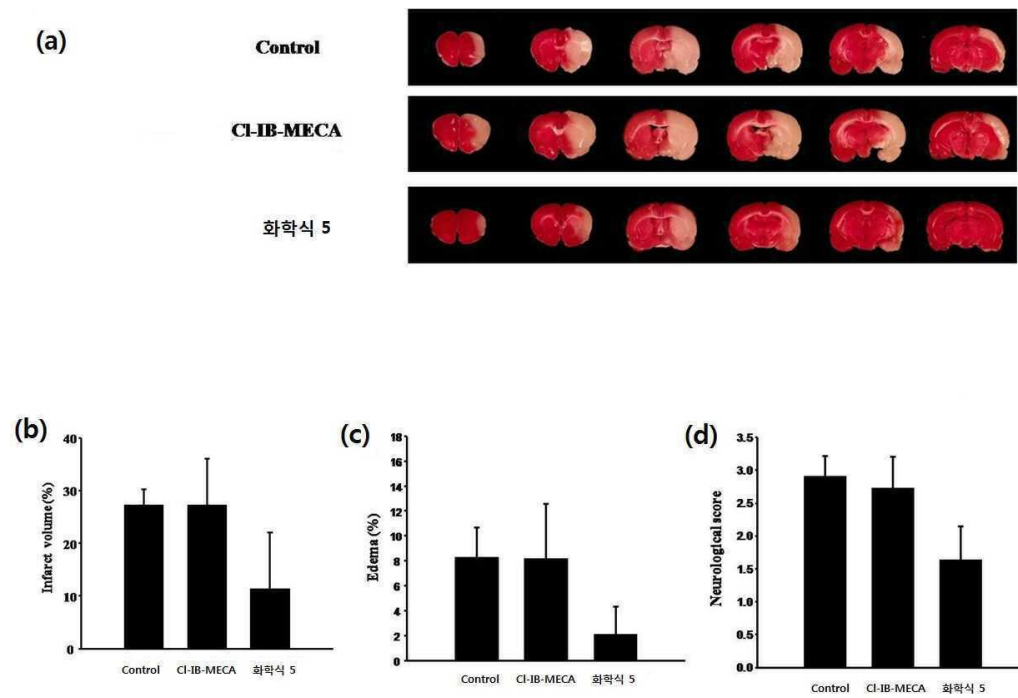
[0394] 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2ml) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

[0396] **제제예 5. 액제의 제조**

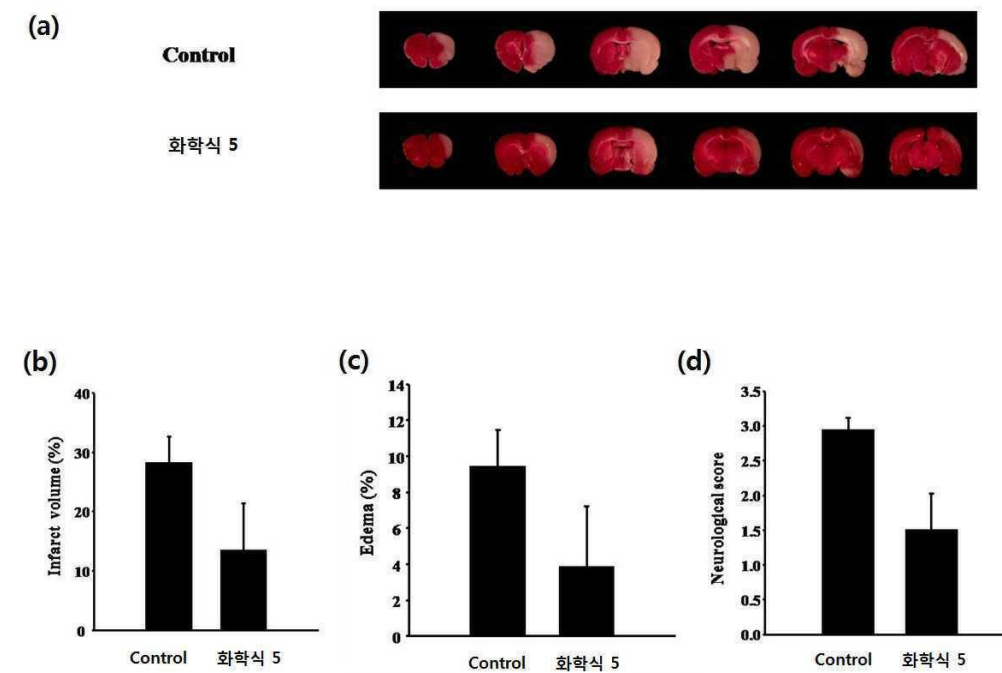
[0397] **화합물 21** **200 mg**

[0398]	이성화당	10 g
[0399]	만니톨	5 g
[0400]	정제수	적량
[0401]	통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100 ml로 조절한 후 갈색병에 충전하여 멸균시켜 액제를 제조한다.	
[0403]	제제예 6. 건강 식품의 제조	
[0404]	화합물 5	1000 mg
[0405]	비타민 혼합물	적량
[0406]	비타민 A 아세테이트	70 μ g
[0407]	비타민 E	1.0mg
[0408]	비타민 B1	0.13 mg
[0409]	비타민 B2	0.15 mg
[0410]	비타민 B6	0.5 mg
[0411]	비타민 B12	0.2 μ g
[0412]	비타민 C	10 mg
[0413]	비오틴	10 μ g
[0414]	니코틴산아미드	1.7 mg
[0415]	엽산	50 μ g
[0416]	판토텐산 칼슘	0.5 mg
[0417]	무기질 혼합물	적량
[0418]	황산제1철	1.75 mg
[0419]	산화아연	0.82 mg
[0420]	탄산마그네슘	25.3 mg
[0421]	제1인산칼륨	15 mg
[0422]	제2인산칼슘	55 mg
[0423]	구연산칼륨	90 mg
[0424]	탄산칼슘	100 mg
[0425]	염화마그네슘	24.8 mg
[0426]	상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.	
[0428]	제제예 7. 건강 음료의 제조	
[0429]	화합물 12	1000 mg
[0430]	구연산	1000 mg

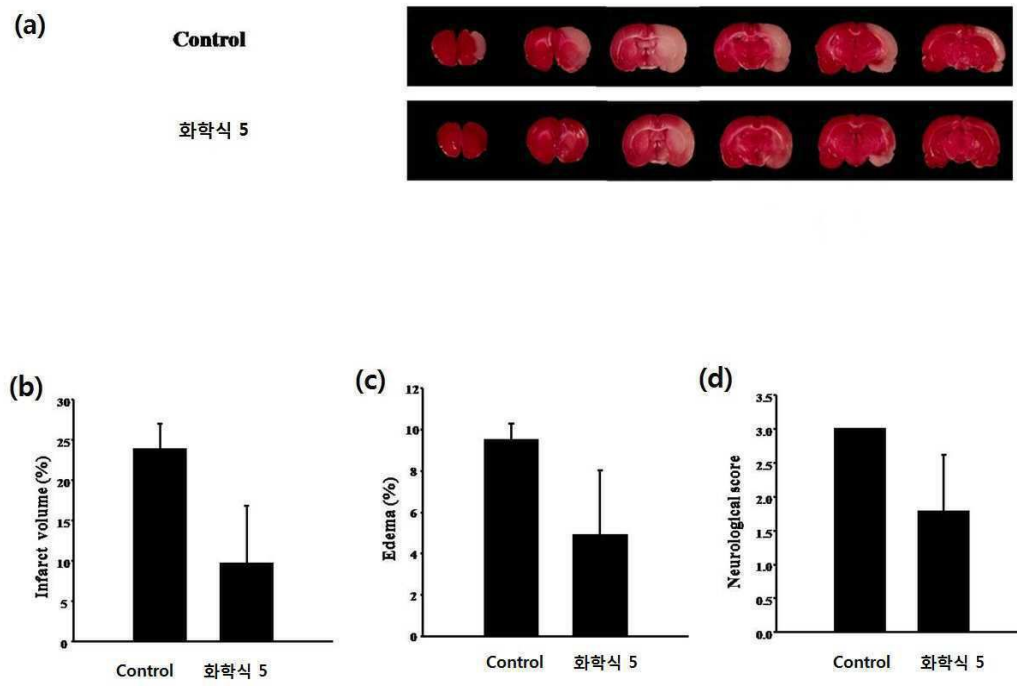
도면2



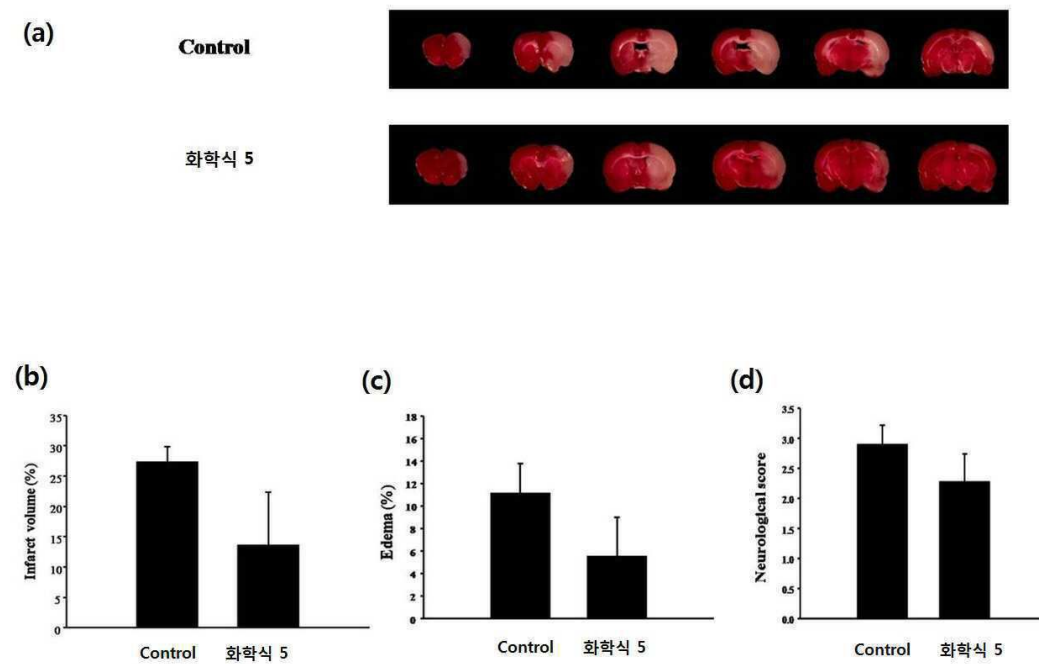
도면3



도면4



도면5



도면6

