

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6821050号
(P6821050)

(45) 発行日 令和3年1月27日 (2021.1.27)

(24) 登録日 令和3年1月7日 (2021.1.7)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 31/7076 (2006.01)
A 6 1 P 27/02 (2006.01)
A 6 1 P 27/06 (2006.01)
A 6 1 K 47/38 (2006.01)
A 6 1 K 47/20 (2006.01)

A 6 1 K 31/7076
A 6 1 P 27/02
A 6 1 P 27/06
A 6 1 K 47/38
A 6 1 K 47/20

請求項の数 4 (全 54 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-547971 (P2019-547971)
(86) (22) 出願日 平成30年3月21日 (2018.3.21)
(65) 公表番号 特表2020-511437 (P2020-511437A)
(43) 公表日 令和2年4月16日 (2020.4.16)
(86) 国際出願番号 PCT/KR2018/003274
(87) 国際公開番号 W02018/174549
(87) 国際公開日 平成30年9月27日 (2018.9.27)
審査請求日 令和1年10月7日 (2019.10.7)
(31) 優先権主張番号 10-2017-0035224
(32) 優先日 平成29年3月21日 (2017.3.21)
(33) 優先権主張国・地域又は機関
韓国 (KR)

(73) 特許権者 519133134
フューチャー メディシン カンパニー
リミテッド
FUTURE MEDICINE CO.,
LTD.
大韓民国 13449 キョンギード ソ
ンナムーシ スジョンーグ チャンウブー
ロ 54 エルエイチ パンギョ ビジネ
ス グロース センター ナンバー616
(シフンードン)
(74) 代理人 100147485
弁理士 杉村 憲司
(74) 代理人 230118913
弁護士 杉村 光嗣

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アデノシン誘導体を含む緑内障の予防及び治療用薬学的組成物

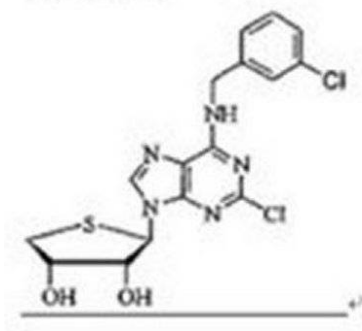
(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記化学式Aで表される化合物またはその薬学的に許容可能な塩を含む眼疾患の予防または治療用経口投与剤:

【化 1】

【化学式 A】



10

ここで、前記眼疾患は、眼圧上昇及び緑内障のうち1つ以上を含む。

【請求項 2】

メチルセルロース (MC)、ジメチルスルホキシド (DMSO)、ポリエチレングリコー

20

ル（PEG）、及び蒸留水からなる群から選択される1つ以上を含む賦形剤をさらに含む請求項1に記載の眼疾患の予防または治療用経口投与剤。

【請求項3】

前記賦形剤は、0.5wt%メチルセルロースを含む請求項2に記載の眼疾患の予防または治療用経口投与剤。

【請求項4】

前記化学式Aで表される化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、粉末状にカプセル内に充填される請求項1に記載の眼疾患の予防または治療用経口投与剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、眼疾患の予防または治療、さらには、眼圧上昇及び緑内障の予防または治療に有用に使われるアデノシン誘導体を含む薬学的組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

アデノシン（adenosine）は、特殊な細胞膜の受容体を通じて多くの生理学的機能を行う物質であって、細胞外に存在するアデノシンは、多くの生理学的体系で神経伝達物質として作用するが、一般的に、与えられた器官の過多活動を補償し、ストレスの有害な効果から保護する作用を行う（Jacobson, K. A. et al., J. Med. Chem., 35, 407-422, 1992）。このような作用は、細胞内または細胞外のATP（adenosine triphosphate）が分解されて生成されたアデノシンによる細胞のエネルギー要求を減らし、酸素の供給を増加させようとする部分的に生成された陰性フィードバックループ（negative feedback loop）によるものである。アデノシンは、脳、心臓、腎臓のような必須的な器官の恒常性保持のために重要であり、例えば、脳に外部からアデノシンアゴニスト（agonist）を投与すれば、神経保護作用があることが証明されており、疼痛、認知、運動または睡眠にもかかわっていることが知られている。

20

【0003】

アデノシン受容体（adenosine receptor）は、現在まで薬理学的研究及び分子クローニングを通じて、それぞれP1とP2受容体とに分類される。P1受容体は、アデノシンが基質として作用し、P2受容体は、ATP、ADP、UTP及びUDPが基質として作用して、生理活性を発現する。そのうちから、P1受容体は、4個の互いに異なるサブタイプのアデノシン受容体が確認され、リガンド（ligand）に対する親和力、体内分布、作用経路などによって、A₁、A₂またはA₃に分類され、A₂は、再びA_{2A}とA_{2B}とに分類される。これらアデノシン受容体は、Gタンパク質共役受容体（G-protein-coupled receptor）群の一部類であって、アデノシンA₁、A_{2A}及びA_{2B}受容体は、多くの選択的なリガンドを使用して薬理的に確認されているが、アデノシンA₃受容体は、1992年に最初に明らかになった受容体（Zhou, Q. Y, et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 89, 7432-7436, 1992）であって、この受容体の病態生理学的な機能を確認するために多くの研究がなされている。

30

40

【0004】

アデノシンA₁及びA₂受容体アゴニストは、主にアデノシンの誘導体であって、血圧降下剤、精神病治療剤、不整脈治療剤、脂肪代謝抑制剤（糖尿病治療剤）、脳保護剤として多く研究され、その拮抗剤（antagonist）は、キサンチン（xanthine）誘導体であるか、多様な二環式が接合されたものであって、喘息治療剤、抗うつ剤、不整脈治療剤、腎臓保護剤、パーキンソン病治療剤、知能開発剤などとして開発されている。それにも拘らず、現在商品化されたものは、上室性頻拍（supraventricular tachycardia）の治療目的として使用中であるアデノシン自体と心臓手術後に来る血液凝固を防止するために、ワーファリン（warfarin）の補助制

50

として使用中であるアデノシン運搬阻害剤であるジピリダモール (dipyridamole) だけである。このように商品化が円滑ではない理由は、アデノシン受容体が全身に広がっており、受容体の活性化時に伴われる多様な薬理作用のためであり、すなわち、所望の組織のアデノシン受容体のみを活性化させることができる化合物がないためである。

【0005】

アデノシン受容体のうち、アデノシンA₃受容体は、広く知られたアデノシンA₁及びA₂の受容体とは異なって、最も最近に明らかになった受容体であって、その役割が多く明らかになっておらず、選択的な受容体調節剤の開発のために多くの研究が進行中である。アデノシンA₃受容体を薬理的に研究するために、^[125I]ABA (N⁶-(4-アミノ-3-^[125I]ヨードベンジル)-アデノシン、N⁶-(4-amino-3-^[125I]iodobenzyl)-adenosine)、^[125I]APNEA (N⁶-2-(4-アミノ-3-^[125I]ヨードフェニル)-エチルアデノシン、N⁶-2-(4-amino-3-^[125I]iodophenyl)-ethyladenosine) または ^[125I]AB-MECA ((N⁶-(4-アミノ-3-^[125I]ヨードベンジル)-アデノシン-5'-N-メチルカルボキサミド、N⁶-(4-amino-3-^[125I]iodobenzyl)-adenosine-5'-N-methylcarboxamide) である3個の放射性標識されたリガンドが用いられている。前記放射性標識されたリガンドを利用した薬理的に研究を通じて、アデノシンA₃受容体をチャイニーズハムスター卵巣 (Chinese Hamster Ovary、CHO) 細胞に発現させた時、A₃受容体は、ATPからcAMPを生成させる酵素であるアデニル酸シクラーゼ (adenylyl cyclase) の抑制作用があり、A₃受容体は、アゴニストによって活性化される時、脳でホスファチジルイノシトール (phosphatidyl inositol) を分解させて、イノシトールリン酸 (inositol phosphate) とDAGとを生成させる酵素であるGTP-依存性ホスホリパーゼC (Guanosine triphosphate-dependent phospholipase C) を活性化させるという事実が証明されている (Ramkumar, V. et al., J. Biol. Chem., 268, 168871-168890, 1993; Abbracchio, M. P. et al., Mol. Pharmacol., 48, 1038-1045, 1995)。このような発見は、脳虚血 (brain ischemia) でのA₃受容体活性化作用による反応経路の可能性を説明可能にするが、その理由は、このような2次伝達物質体系が脳虚血での神経傷害の反応経路を意味するためである。また、A₃受容体のアゴニストは、炎症媒介体である腫瘍壊死因子TNF-α (tumor necrosis factor) の放出を抑制し、やはり炎症媒介体であるMIP-1α、インターロイキン-12 (interleukin-12) 及びインターフェロン-γ (interferon-γ) の生成を抑制し、癲癇のような脳疾患に対する保護効果だけではなく、心臓に対しても保護効果があると知られている。一方、アデノシンA₃受容体の不活性化は、肥満細胞 (mast cell) からヒスタミンのような炎症誘発因子の放出を引き起こせ、気管支を収縮する作用を行い、免疫細胞で細胞死 (apoptosis) を引き起こせる。したがって、アデノシンA₃拮抗剤は、消炎剤及び喘息治療剤としての開発可能性がある。したがって、薬物学的選択性を有した化合物を開発することができるならば、喘息、炎症、脳虚血、心臓疾患、癌など多様な疾病に対する新たな治療薬物の開発が可能であると考えられる。

【0006】

現在まで研究開発された物質のうち、代表的なヒトアデノシンA₃アゴニストは、ヌクレオシド系であるN⁶-(3-ヨードベンジル)-5'-(N-メチルカルバモイル)-アデノシン (N⁶-(3-iodobenzyl)-5'-(N-methylcarbamoyle)-adenosine; IB-MECA) 及びN⁶-(3-ヨードベンジル)-2-クロロ-5'-(N-メチルカルバモイル)-アデノシン (N⁶-(3-iodobenzyl)-2-chloro-5'-(N-methylcarbamoyle)-adenosine; CI-IB-MECA) であって、アデノシンA₁及びA₂受容

体に比較して、 A_3 受容体に対して高い親和力及び選択性を有する物質である。一方、高い親和力及び選択性を示すアデノシン A_3 拮抗剤は、ほとんどヌクレオシド骨格ではない非プリン (nonpurine) 系の二環式化合物であって、ヒトの受容体では高い活性を示しているが、ラットの A_3 受容体に対しては活性が弱い、ほとんどないので、臨床適用が可能な薬物の開発のために必須的な動物実験が不可能であるという短所が指摘されている (Baraldi, P. G. et al., Curr. Med. Chem., 12, 1319-1329, 2005)。しかし、非プリン系の二環式化合物に比べて、ヌクレオシド系の化合物は、種間に関係なく、高い親和力と選択性を示すために、動物実験が容易な長所があるので、新薬としての開発可能性が非常に大きいと考えられ、したがって、この系列の選択的 A_3 拮抗剤の導出が至急な課題であると言える。

10

【0007】

本発明者らは、多様な先行研究の分析を通じて、アデノシン A_3 受容体のアゴニストとして作用するためには、その代表物質である IB-MECA と CI-IB-MECA との構造のうち、糖の 5 位の N-メチルカルバモイル基が必然的に存在しなければならない、塩基部分は、プリン の 6 番位置がアリールアミノ基またはアルキルアミノ基で置換されていなければならないということが分かった。したがって、糖の 5 位の N-メチルカルバモイル基は、水素結合を通じて受容体のアゴニスト作用に必須的な構造変化 (conformational change) を起こすので (Kim, S-K. et al., J. Mol. Graph. Model., 25, 562-577, 2006)、糖の 5 位の N-メチルカルバモイル基を除去した物質を合成すれば、 A_3 受容体拮抗剤として開発され

20

【0008】

一方、眼疾患 (eye disease) の一種である緑内障 (glaucoma) は、眼房水 (aqueous humor) の生成または排出機転に問題が発生して、眼圧 (intraocular pressure) が上昇することによって誘発される疾患であって、眼圧が上昇すれば、血液供給に障害が生じて、視神経の機能に異常をもたらす、末期には、失明に至ることができるために、全世界的に深刻な疾患として認識されている。

【0009】

これにより、本発明者らは、眼圧上昇及びこれより誘発されるか、このような症状を伴う緑内障の予防及び治療剤としてアデノシン A_3 受容体拮抗剤を最初に研究して、毛様体 (ciliary body) で眼房水の生成を抑制し、抗線維化の促進による線維柱帯 (trabecular meshwork) 組織のリモデリングを通じて、眼房水の排出を促進する二重薬理機転 (dual mechanism) を通じて眼圧を効果的に降下することができる新規なアデノシン誘導体化合物を合成した。

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明が解決しようとする課題は、眼圧上昇及び緑内障などの眼疾患を予防または治療することができるアデノシン A_3 受容体拮抗剤として作用するアデノシン誘導体を含む薬学的組成物を提供することにある。

40

【0011】

本発明の課題は、前述した技術的課題に制限されず、言及されていないさらに他の技術的課題は、下記の記載から当業者に明確に理解されるであろう。

【課題を解決するための手段】

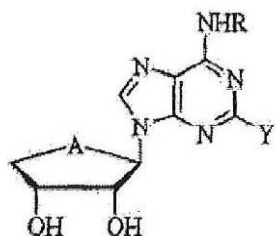
【0012】

前記課題を解決するための本発明の一実施例による眼疾患の予防または治療用薬学的組成物は、下記化学式 1 で表される化合物またはその薬学的に許容可能な塩を有効成分として含む。

[化 1]

50

【化 1】



【0013】

(前記式において、Aは、Sであり、Rは、非置換されるか、独立して、または選択的に1または2以上のC₆～C₁₀のアリールで置換された直鎖状または側鎖状のC₁～C₅のアルキル、非置換されるか、独立して、または選択的にハロゲン及び直鎖状または側鎖状のC₁～C₄のアルコキシ基が、1または2以上に置換されたベンジルまたはヒドロキシカルボニルで置換されたベンジルであり、Yは、Hまたはハロゲン元素である)。

10

【0014】

また、前記眼疾患は、眼圧上昇及び緑内障のうち1つ以上を含むうる。

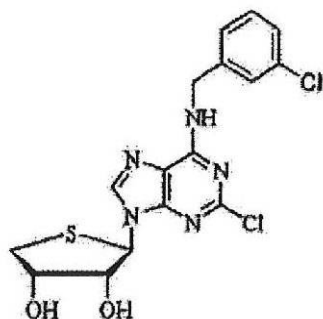
【0015】

また、前記化学式1は、下記化学式Aで表される化合物であり得る。

[化A]

【化 2】

20



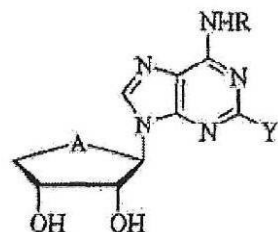
30

【0016】

前記他の課題を解決するための本発明の一実施例による眼疾患の予防または治療用経口投与剤は、下記化学式1で表される化合物またはその薬学的に許容可能な塩を含む。

[化 1]

【化 3】



40

【0017】

(前記式において、Aは、Sであり、Rは、非置換されるか、独立して、または選択的に1または2以上のC₆～C₁₀のアリールで置換された直鎖状または側鎖状のC₁～C₅のアルキル、非置換されるか、独立して、または選択的にハロゲン及び直鎖状または側鎖状のC₁～C₄のアルコキシ基が、1または2以上に置換されたベンジルまたはヒドロキシカルボニルで置換されたベンジルであり、Yは、Hまたはハロゲン元素である)。

50

【0018】

また、前記眼疾患は、眼圧上昇及び緑内障のうち1つ以上を含みうる。

【0019】

また、メチルセルロース (Methyl cellulose、MC)、ジメチルスルホキシド (Dimethyl sulfoxide、DMSO)、ポリエチレングリコール (Polyethylene glycol、PEG)、及び蒸留水からなる群から選択される1つ以上を含む賦形剤をさらに含みうる。

【0020】

また、前記賦形剤は、0.5wt%メチルセルロースを含みうる。

【0021】

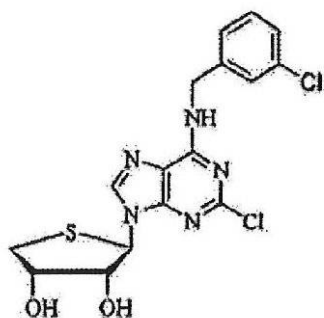
また、前記化学式1で表される化合物またはその薬学的に許容可能な塩は、粉末状にカプセル内に充填される。

【0022】

また、前記化学式1は、下記化学式Aで表される化合物であり得る。

[化A]

【化4】



【0023】

その他の実施例の具体的な事項は、詳細な説明及び図面に含まれている。

【発明の効果】

【0024】

本発明のアデノシン誘導体は、眼圧上昇及び緑内障などの眼疾患を予防または治療することができるアデノシンA₃受容体拮抗剤として作用することができて、眼疾患の予防及び治療に非常に適し、経口投与時に、薬物の吸収に優れ、体内毒性がほとんどなくて、生体親和的であり、経口投与剤として剤形化時に、保管安定性に優れて、眼疾患の予防及び治療のための経口投与に非常に適した薬学的組成物として使われる。

【0025】

また、本発明のアデノシン誘導体は、毛様体での眼房水の生成抑制と、抗線維化の促進による線維柱帯組織のリモデリングを通じる眼房水の排出促進という二重薬理機転を示すことができるために、緑内障の予防及び治療に非常に適した薬学的組成物として使われる。

【0026】

本発明の実施例による効果は、以上で例示された内容によって制限されず、さらに多様な効果が、本明細書内に含まれている。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】アゴニストとしてC1-IB-MECAを処理したチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞に対して、本発明の実施例4の化合物の拮抗効果を示す図面である。

【図2】本発明の化合物 (実施例2、実施例3及び実施例4) の動物実験による抗炎症活性を示す図面である。

10

20

30

40

50

【図 3】本発明の化合物（実施例 1 及び実施例 6）の動物実験による抗炎症活性を示す図面である。

【図 4】本発明の化合物（実施例 5、実施例 7 及び実施例 8）の動物実験による抗炎症活性を示す図面である。

【図 5】本発明の化合物（実施例 15 及び実施例 16）の動物実験による抗炎症活性を示す図面である。

【図 6】実験例 8 で実験動物の眼圧を測定した結果を示すグラフである。

【図 7】実験例 9 で実験動物の眼圧を測定した結果を示すグラフである。

【図 8】実験例 10 で実験動物の眼圧を測定した結果を示すグラフである。

【図 9】実験例 10 で実験動物の眼圧を測定した結果を示すグラフである。

10

【図 10】実験例 10 で実験動物の眼圧を測定した結果を示すグラフである。

【図 11】実験例 10 で実験動物の眼圧を測定した結果を示すグラフである。

【図 12】実験例 10 で実験動物の眼圧を測定した結果を示すグラフである。

【図 13】実験例 11 で実験動物の眼球の線維柱帯組織で細胞外基質タンパク質（F i b r o n e c t i n、SMA 及び M Y O C）の発現変化を観察した写真である。

【図 14】実験例 12 で実験動物の眼球の線維柱帯組織で MMP 及び T I M P 酵素タンパク質と mRNA 発現量とを測定した結果を示すグラフである。

【図 15】実験例 12 で実験動物の眼球の線維柱帯組織で MMP 及び T I M P 酵素タンパク質と mRNA 発現量とを測定した結果を示すグラフである。

【図 16】実験例 12 で実験動物の眼球の線維柱帯組織で MMP 及び T I M P 酵素タンパク質と mRNA 発現量とを測定した結果を示すグラフである。

20

【図 17】実験例 12 で実験動物の眼球の線維柱帯組織で MMP 及び T I M P 酵素タンパク質と mRNA 発現量とを測定した結果を示すグラフである。

【図 18】実験例 14（14-1 及び 14-2）の血中濃度－時間データから得たグラフである。

【図 19】実験例 15（15-1 及び 15-2）の血中濃度－時間データから得たグラフである。

【図 20】実験例 16 の血中濃度－時間データから得たグラフである。

【図 21】実験例 17（17-1、17-2 及び 17-3）の血中濃度－時間データから得たグラフである。

30

【図 22】実験例 18（18-1 及び 18-2）の血中濃度－時間データから得たグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0028】

以下、本発明を詳しく説明する。

【0029】

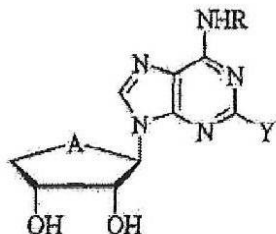
本発明は、下記化学式 1 で表される化合物またはその薬学的に許容可能な塩を有効成分として含有するアデノシン誘導体を提供する。

【0030】

[化 1]

40

【化 5】



50

【0031】

前記式において、

Aは、Sであり、

Rは、非置換されるか、独立して、または選択的に1または2以上のC₆～C₁₀のアリールで置換された直鎖状または側鎖状のC₁～C₅のアルキル、非置換されるか、独立して、または選択的にハロゲン及び直鎖状または側鎖状のC₁～C₄のアルコキシ基が、1または2以上に置換されたベンジルまたはヒドロキシカルボニルで置換されたベンジルであり、

Yは、Hまたはハロゲン元素である。

【0032】

10

望ましくは、

前記Aは、OまたはSであり、

前記Rは、メチル、エチル、プロピル、ナフチルメチル、ベンジル、独立して、または選択的にF、Cl、Br、I、及びC₁～C₃のアルコキシ基からなる群から選択される1または2以上の置換基で置換されたベンジル、またはトルイル酸 (t o l u i c a c i d) であり、

前記Yは、HまたはClである。

さらに望ましくは、

前記Aは、OまたはSであり、

前記Rは、メチル、エチル、1-ナフチルメチル、ベンジル、2-クロロベンジル、3-フルオロベンジル、3-クロロベンジル、3-ブロモベンジル、3-ヨードベンジル、2-メトキシ-5-クロロベンジル、2-メトキシベンジルまたは3-トルイル酸であり、

20

前記Yは、HまたはClである。

【0033】

本発明による前記化学式1で表されるアデノシン誘導体の望ましい例は、次の通りである。

【0034】

1) (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6 - (3-フルオロベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

30

【0035】

2) (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6 - (3-クロロベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0036】

3) (2R, 3R, 4S) - 2 - (6 - (3-ブロモベンジルアミノ) - 2-クロロ-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0037】

4) (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6 - (3-ヨードベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0038】

40

5) (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6 - (2-クロロベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0039】

6) (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6 - (5-クロロ-2-メトキシベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0040】

7) (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6 - (2-メトキシベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0041】

8) (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6 - (ナフタレン-1-イルメチルア

50

ミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0042】

9) 3-((2-クロロ-9-((2R, 3R, 4S)-3, 4-ジヒドロキシテトラヒドロチオフエン-2-イル)-9H-プリン-6-イルアミノ)メチル)安息香酸;

【0043】

10) 2-((2-クロロ-6-メチルアミノ-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール);

【0044】

11) (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-フルオロベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

10

【0045】

12) (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-クロロベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0046】

13) (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-ブロモベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0047】

14) (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-ヨードベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオール;

【0048】

20

15) (2R, 3R, 4R)-2-(6-(3-ブロモベンジルアミノ)-2-クロロ-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロフラン-3, 4-ジオール; 及び

【0049】

16) (2R, 3R, 4R)-2-(2-クロロ-6-(3-ヨードベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロフラン-3, 4-ジオール。

【0050】

本発明による前記化学式1で表されるアデノシン誘導体は、薬学的に許容可能な塩の形態で使用することができる。前記塩としては、薬学的に許容される多様な有機酸または無機酸によって形成された酸付加塩が有用である。適した有機酸としては、例えば、カルボン酸、ホスホン酸、スルホン酸、酢酸、プロピオン酸、オクタン酸、デカン酸、グリコール酸、乳酸、フマル酸、コハク酸、アジピン酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、グルタミン酸、アスパラギン酸、マイレン酸、安息香酸、サリチル酸、フタル酸、フェニル酢酸、ベンゼンスルホン酸、2-ナフタレンスルホン酸、メチル硫酸、エチル硫酸、ドデシル硫酸などを使用し、適した無機酸としては、例えば、塩酸、硫酸などのハロゲン酸またはリン酸などを使用することができる。

30

【0051】

本発明による前記化学式1で表されるアデノシン誘導体は、薬学的に許容可能な塩だけではなく、通常の方法によって製造可能なあらゆる塩、水化物及び溶媒化物をいずれも含みうる。

【0052】

40

また、本発明は、前記化学式1で表されるアデノシン誘導体を製造する方法を提供する。

【0053】

具体的に、下記の反応式1に示されたように、

【0054】

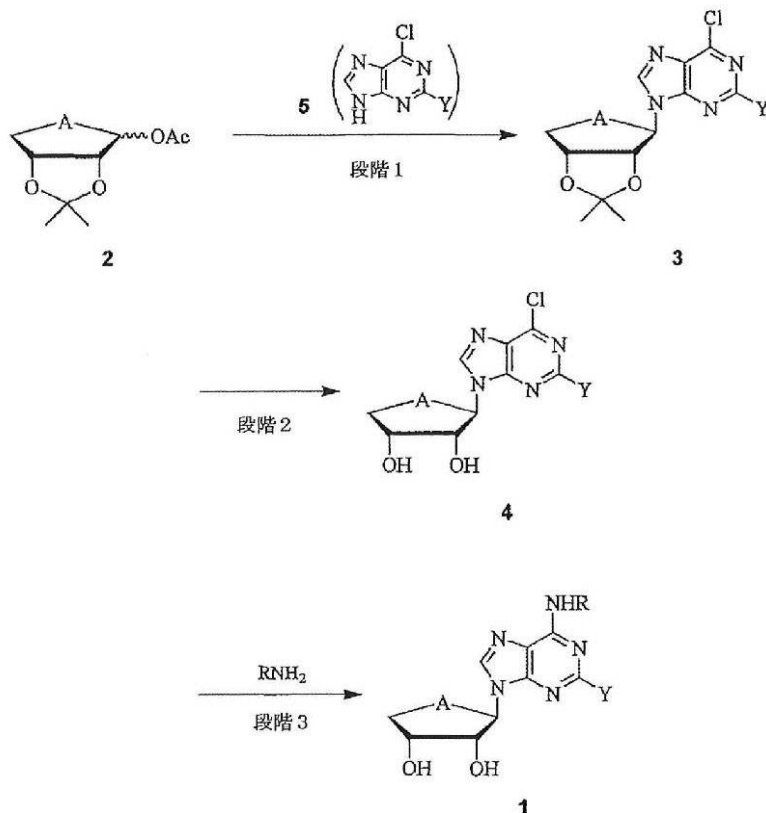
化学式2の化合物を出発物質として、ルイス酸触媒の存在下でシリル化されたプリン化合物と反応させて、化学式3のβ-アノマー化合物を得る段階(段階1); 前記段階1で得た化学式3の化合物に塩酸を添加して、化学式4のジオール化合物を得る段階(段階2); 及び前記段階2で得た化学式4のジオール化合物を塩基触媒下でアミン化合物と反応させて、アデノシン誘導体を得る段階(段階3); を含んでなる化学式1のアデノシン誘

50

導体の製造方法を提供する。

[反 1]

【化 6】



【0055】

前記反応式 1 において、A、R 及び Y は、化学式 1 で定義したようである。

【0056】

以下、本発明の製造方法を段階別に詳細に説明する。

【0057】

本発明による段階 1 は、化学式 2 の化合物を出発物質として、ルイス酸触媒の存在下でシリル化されたプリン化合物と反応させて、化学式 3 の β -アノマー化合物を得る段階である。

【0058】

前記化学式 3 の化合物は、化学式 2 の化合物とシリル化されたプリン化合物とをルイス酸存在下で反応させて得られるが、前記ルイス酸としては、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル (TMSOTf) を使用することができる。また、前記段階 1 の溶媒としては、ジクロロエタン、クロロホルム、アセトニトリル、ジクロロメタンなどを使用することが望ましい。その中でも、ジクロロエタンがさらに望ましい。前記シリル化されたプリン化合物は、化学式 5 のプリン化合物をヘキサメチルジシラザン (HMD S) 及び硫酸アンモニウム触媒下で反応させて得られる。

【0059】

本発明による段階 2 は、前記段階 1 で得た化学式 3 の化合物に塩酸を添加して、化学式 4 のジオール化合物を得る段階である。この際、塩酸の代わりに、酢酸、硫酸、p-トルエンスルホン酸を使用することができる。

【0060】

本発明による段階 3 は、前記段階 2 で得た化学式 4 のジオール化合物を塩基触媒下でアミン化合物と反応させて、アデノシン誘導体を得る段階である。

【0061】

前記塩基触媒としては、トリエチルアミン、ピリジン、N，N－ジメチルアミノピリジン、1，4－ジオキサンなどを使用することが望ましく、その中でも、トリエチルアミンがさらに望ましい。また、段階3の溶媒としては、メタノール及びエタノールのような低級アルコールあるいは1，4－ジオキサン、テトラヒドロフラン及びクロロホルムのような溶媒が望ましい。

【0062】

本発明のアデノシン誘導体の製造方法において、出発物質である化学式2の化合物は、置換基Aの種類によって、下記の反応式2または反応式3の方法で製造可能である。

【0063】

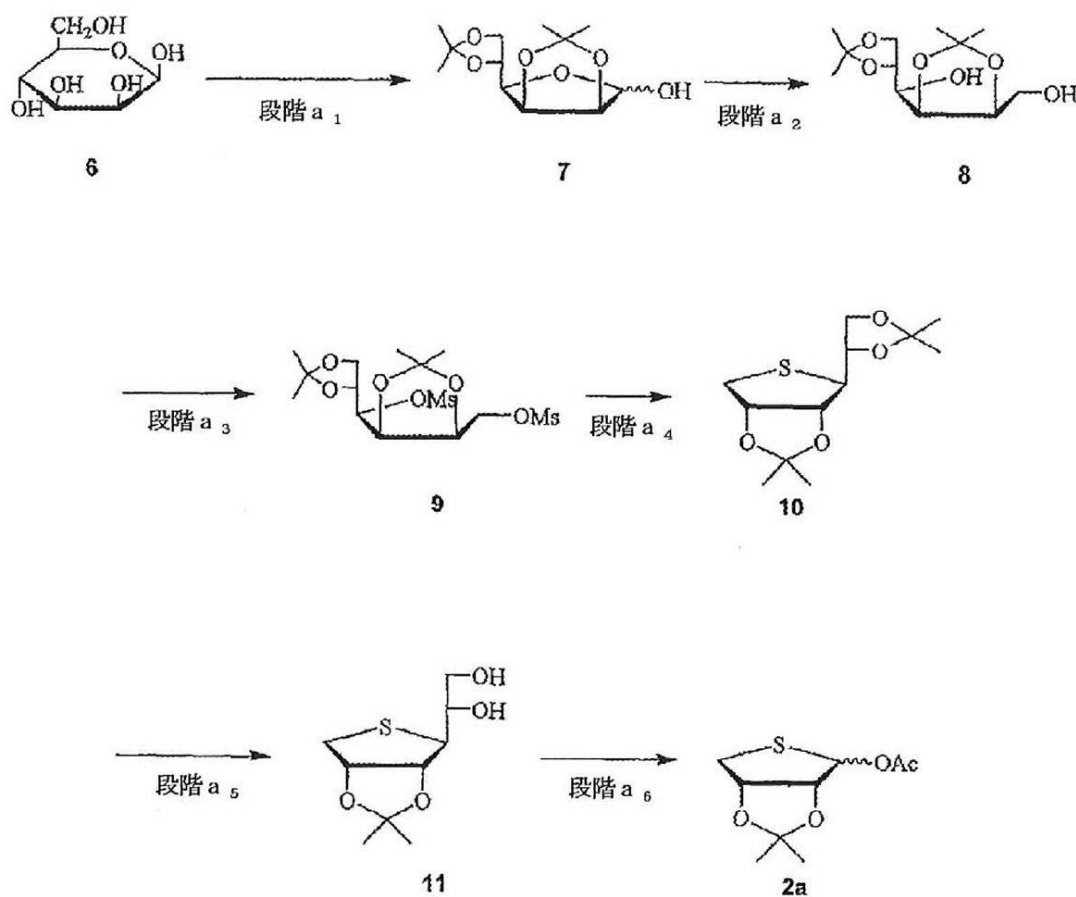
Aが硫黄（S）である場合、下記の反応式2に示されたように、

化学式6のD－マンノース化合物を酸触媒下で2，2－ジメトキシプロパンと反応させて、化学式7のジアセトニド化合物を得る段階（段階a₁）；前記段階a₁で得た化学式7の化合物を還元剤存在下に開環させて、化学式8のジオール化合物を得る段階（段階a₂）；前記段階a₂で得た化学式8の化合物をメシル化して、化学式9のジメシル化合物を得る段階（段階a₃）；前記段階a₃で得た化学式9の化合物を環化させて、化学式10のチオ糖化合物を得る段階（段階a₄）；前記段階a₄で得た化学式10の化合物を選択的に加水分解させて、化学式11のジオール化合物を得る段階（段階a₅）；及び前記段階a₅で得た化学式11の化合物を触媒存在下に化学式2aのアセテート化合物を得る段階（段階a₆）；を含んでなる。

【0064】

[反2]

【化7】



【0065】

(前記反応式2において、化合物2aは、化学式2の化合物である)。

【0066】

以下、本発明の化学式2の化合物の製造方法を段階別に詳細に説明する。

【0067】

本発明の化学式2の化合物の製造方法による前記段階a₁は、化学式6のD-マンノース化合物を酸触媒下で2, 2-ジメトキシプロパンと反応させて、化学式7のジアセトニド化合物を得る段階である。

【0068】

前記化学式7の化合物は、化学式6のD-マンノースを酸触媒及び無水酢酸存在下に2, 2-ジメトキシプロパンと反応させて得られるが、この際、前記酸触媒としては、濃い硫酸または塩酸ガスのような無機酸、p-トルエンスルホン酸のような有機酸を使用することができる。

10

【0069】

本発明の化学式2の化合物の製造方法による前記段階a₂は、前記段階a₁で得た化学式7の化合物を還元剤存在下に開環させて、化学式8のジオール化合物を得る段階である。

【0070】

前記化学式8の化合物は、還元剤である水素化ホウ素ナトリウムと反応させて得られる。前記水素化ホウ素ナトリウムの代わりに、水素化アルミニウムリチウムのようなメタルハイドライド、亜硫酸ナトリウムなどを使用することができる。

20

【0071】

本発明の化学式2の化合物の製造方法による前記段階a₃は、前記段階a₂で得た化学式8の化合物をメシル化して、化学式9のジメシル化合物を得る段階である。

【0072】

前記化学式9の化合物は、化学式8の化合物をメタンスルホニルクロリド(MsCl)と反応させて得られるが、この際、反応溶媒としては、エチルエーテル、石油エーテル、ジクロロメタン、テトラヒドロフラン及びN, N-ジメチルホルムアミドのような不活性溶媒を使用することが望ましい。

【0073】

本発明の化学式2の化合物の製造方法による前記段階a₄は、前記段階a₃で得た化学式9の化合物を環化させて、化学式10のチオ糖化合物を得る段階である。

30

【0074】

前記化学式10の化合物は、化学式9の化合物を硫化ナトリウムと反応させて得られるが、この際、硫化ナトリウムの代わりに、メチルチオアセテートなどのチオエステルと置換反応後、ナトリウムアルコキシドなどを反応させて得られることもある。前記段階a₄において、溶媒としては、N, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシドなどを使用することができる。

【0075】

本発明の化学式2の化合物の製造方法による前記段階a₅は、前記段階a₄で得た化学式10の化合物を選択的に加水分解させて、化学式11のジオール化合物を得る段階である。

40

【0076】

前記化学式11の化合物は、化学式10の化合物を酢酸を用いて5, 6-アセトニドを選択的に加水分解して得られるが、この際、酢酸の代わりに、硫酸、塩酸、p-トルエンスルホン酸などを使用することもできる。

【0077】

本発明の化学式2の化合物の製造方法による前記段階a₆は、前記段階a₅で得た化学式11の化合物を触媒存在下に化学式2aのアセテート化合物を得る段階である。

【0078】

50

前記化学式 2 a の化合物は、化学式 1 1 の化合物をレッドテトラアセテート (Pd (OAc)₄) と反応させて得られる。

【0079】

また、本発明による出発物質 2 において、A が酸素 (O) である場合、下記の反応式 3 に示されたように、

【0080】

前記出発物質である化学式 2 の化合物は、下記の反応式 3 に示されたように、

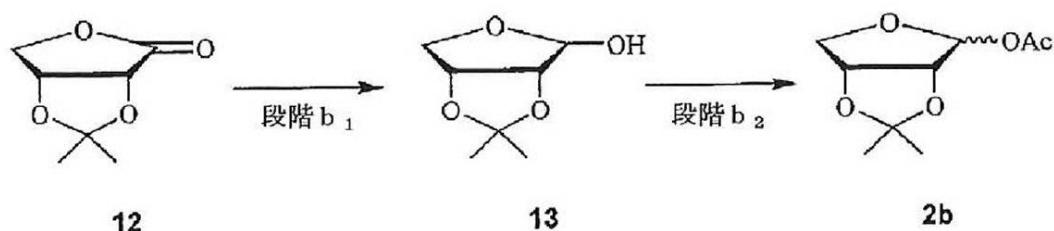
【0081】

化学式 1 2 の化合物を還元剤と反応させて、化学式 1 3 のラクトール化合物を得る段階 (段階 b₁) ; 及び前記段階 b₁ で得た化学式 1 3 の化合物を無水酢酸と反応させて、化学式 2 b のアセテート化合物を得る段階 (段階 b₂) ; を含んでなる。

【0082】

[反 3]

【化 8】



【0083】

(前記反応式 3 において、化合物 2 b は、化学式 2 の化合物である)。

【0084】

以下、本発明の化学式 2 の化合物のさらに他の製造方法を段階別に詳細に説明する。

【0085】

本発明の化学式 2 の化合物のさらに他の製造方法による前記段階 b₁ は、化学式 1 2 の化合物を還元剤と反応させて、化学式 1 3 のラクトール化合物を得る段階である。

【0086】

前記化学式 1 3 の化合物は、容易に合成して得られる化学式 1 2 の化合物を水素化ジイソブチルアルミニウム (DIBAL) 触媒を用いて還元させて得られる。

【0087】

本発明の化学式 2 の化合物のさらに他の製造方法による前記段階 b₂ は、化学式 1 3 の化合物を無水酢酸と反応させて、化学式 2 b のアセテート化合物を得る段階である。

【0088】

前記化学式 2 の化合物は、化学式 1 3 のラクトール化合物を無水酢酸と反応させて得られる。

【0089】

また、本発明は、化学式 1 で表されるアデノシン誘導体またはその薬学的に許容可能な塩を有効成分として含有するアデノシン A₃ 拮抗剤を提供する。

【0090】

さらに、本発明は、化学式 1 で表されるアデノシン誘導体またはその薬学的に許容可能な塩を有効成分として含有する炎症性疾患の予防及び治療用薬学的組成物を提供する。

【0091】

アデノシン A₃ 受容体をチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞に発現させた時、A₃ 受容体は、ATP から cAMP を生成させる酵素であるアデニル酸シクラーゼの抑制作用があり、A₃ 受容体は、アゴニストによって活性化される時、脳でホスファチジルイノシトールを分解させて、イノシトールリン酸と DAG とを生成させる酵素である GTP-依存性ホスホリパーゼ C を活性化させるという事実が証明されている (Ramkumar, V. et al., J. Biol. Chem., 268, 168871-16889

10

20

30

40

50

0, 1993; Abbracchio, M. P. et al., Mol. Pharmacol., 48, 1038-1045, 1995)。前記2次伝達物質体系が脳虚血での神経傷害の反応経路を意味するので、このような発見は、脳虚血でのA₃受容体活性化作用による反応経路を説明することができる。また、アデノシンA₃アゴニストは、炎症媒体である腫瘍壊死因子TNF-αの放出を抑制し、やはり炎症媒体であるMIP-1α、インターロイキン-12及びインターフェロン-γの生成を抑制し、癲癇のような脳疾患に対する保護効果だけではなく、心臓に対しても保護効果があると知られている。また、アデノシンA₃受容体の不活性化は、肥満細胞からヒスタミンのような炎症誘発因子の放出を引き起こせ、気管支を収縮させる作用を行い、免疫細胞で細胞死を引き起こせる。したがって、アデノシンA₃拮抗剤は、消炎剤及び喘息治療剤としての開発可能性がある。

10

【0092】

本発明のアデノシン誘導体のヒトアデノシン受容体(hAR)に対する結合親和力及び選択性を評価するために行った受容体結合親和力(Binding affinity)の測定実験において(実験例1参照)、本発明のアデノシン誘導体は、ヒトアデノシンA₃(hA₃AR)受容体に対して高い結合親和力を示し、アデノシンA₁及びA_{2A}受容体に対しては、低い親和力、すなわち、大きな選択性を示した。特に、本発明の実施例12の化合物は、hA₃受容体に対して、K_i値が1.50±0.40nMに最も高い親和力を示し、その次に、実施例2の化合物(K_i=1.66±0.90nM)、実施例14の化合物(K_i=2.50±1.00nM)、実施例10の化合物(K_i=3.69±0.25nM)及び実施例4の化合物(K_i=4.16±0.50nM)の順に結合親和力が高く表われた。本発明の実施例4の化合物は、また、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞から発現されたラットのアデノシンA₃受容体に対しても高い親和力(K_i=3.89±1.15nM)を示した。また、4'-Oであるオキソヌクレオシド形態を帯びるアデノシン誘導体である実施例15及び実施例16の化合物も、高い結合親和力と選択性を示した(表1参照)。

20

【0093】

また、本発明のアデノシン誘導体の抗炎症活性を調査するために行った実験で(実験例3～実験例6参照)、対照群として用いられたヒドロコルチゾンに比べれば、少ない変化であるが、本発明のアデノシン誘導体が、抗炎症活性を有するということが分かった。

30

【0094】

実施例2ないし実施例4の化合物をアセトンに希釈して処理した後、抗炎症活性を調査した結果からTPAによって誘導されたマウス耳浮腫が、化合物4の処理によって浮腫減少効果があることを確認することができた(図2参照)。また、本発明の実施例1及び実施例6の化合物をアセトンに希釈して処理した後、調査した抗炎症活性は、実施例2ないし実施例4の化合物よりも4倍以上格段に増加した阻害率を示すことが分かった(図3参照)。

【0095】

蒸留水とアセトンとの混合溶媒(1:4)に0.5%に希釈した本発明の実施例5ないし実施例7の化合物を用いて調査した抗炎症活性は、それぞれ17%、34%及び53%の炎症阻害率を示した(図4参照)。そして、ジメチルスルホキシド(DMSO)とアセトンとの混合溶媒(1:9)に0.5%に希釈した本発明の実施例15及び実施例16の化合物を用いて調査した炎症阻害率は、それぞれ59%及び79%に観察されることにより(図5参照)、本発明のアデノシン誘導体化合物が、抗炎症活性を有するということを確認することができた。

40

【0096】

したがって、本発明の化学式1で表されるアデノシン誘導体は、アデノシンA₃受容体に対して高い結合親和力及び選択性を示すので、優れたアデノシンA₃拮抗剤として有用に用いられうる。また、本発明のアデノシン誘導体は、アデノシンA₃受容体に対して拮抗作用して抗炎症活性を示すので、炎症性疾患の予防及び治療剤として利用できる。

50

【0097】

また、本発明による前記炎症性疾患としては、変質性炎症、滲出性炎症、化膿性炎症、出血性炎症または増殖性炎症などの急性及び慢性炎症疾患を含む。

【0098】

本発明は、前記化学式1で表される化合物及び／またはその薬学的に許容可能な塩を含むアデノシン誘導体を有効成分として含有する眼疾患の予防及び／または治療用薬学的組成物を提供する。

【0099】

眼疾患は、網膜疾患、角膜疾患、結膜疾患、ブドウ膜疾患、緑内障、白内障など目と関連したあらゆる疾病、疾患または症状などを含み、特に、眼圧上昇と、これより誘発されるか、このような症状を伴う緑内障を含みうる。

10

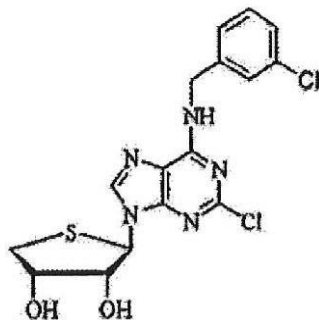
【0100】

前記化学式1で表されるアデノシン誘導体の望ましい例は、下記化学式Aで表される化合物である(2R, 3R, 4S)-2-(2-クロロ-6-(3-クロロベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールであり得る。

【0101】

[化A]

【化9】



20

【0102】

本発明の眼疾患の予防及び／または治療用薬学的組成物は、点眼剤または経口投与剤で剤形化される。

30

【0103】

点眼剤は、前記化学式1で表される化合物及び／またはその薬学的に許容可能な塩と点眼液とを含みうる。点眼液は、溶解剤(solubilizer)、粘度向上剤(viscosity enhancer)、抗酸化剤(antioxidant)、保存剤(preservative)、及びバッファ溶液(buffer solution)からなる群から選択される1つ以上を含みうる。例示的な実施例において、点眼液は、クレモフォール(Cremophor) EL、グリセリン(Glycerin)、クエン酸(Citric acid)及びメチルパラベン(Methylparaben)が溶解または混合されたpH6.8のバッファ溶液であり得る。

40

【0104】

経口投与剤は、前記化学式1で表される化合物及び／またはその薬学的に許容可能な塩が固型製剤または液状製剤で剤形化されたものである。

【0105】

固型製剤は、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤などであり、液状製剤は、懸濁剤、内用液剤、乳剤、シロップ剤などであり得るが、これに限定されるものではない。

【0106】

経口投与剤は、賦形剤をさらに含みうる。賦形剤は、メチルセルロース(MC)、スクロース(Sucrose)、ラクトース(Lactose)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ポリエチレングリコール(PEG)、ステアリン酸マグネシウム(Magne

50

sium Stearate)、炭酸カルシウム、ゼラチン、タルク (talc)、蒸留水 (Distilled water、DW)、流動パラフィンなどからなる群から選択される1つ以上を含み、望ましくは、0.5 wt %メチルセルロースを含みうる。

【0107】

例示的な実施例において、経口投与剤は、前記化学式1で表される化合物及び／またはその薬学的に許容可能な塩が粉末状または前述した賦形剤に溶解された溶液状にカプセルなどに充填されたものである。但し、これに制限されるものではない。

【0108】

本発明の眼疾患の予防及び／または治療用薬学的組成物は、前述した点眼または経口投与を通じて患者に点眼剤または経口剤で投与される。但し、これに制限されるものではなく、静脈投与などのその他の非経口投与方法でも投与される。

10

【0109】

本発明のアデノシン誘導体は、毛様体での眼房水の生成を抑制すると共に、線維柱帯組織での線維化を抑制して（抗線維化）、眼房水の排出を促進する二重薬理機転を表わすことができる（実験例11及び実験例12参照）。

【0110】

これにより、投与量依存的に眼圧を効果的に降下させるために（実験例8～実験例10参照）、緑内障などの眼疾患の予防及び／または治療に非常に適した薬学的組成物として使われる。

【0111】

20

また、本発明のアデノシン誘導体は、経口投与に適した物理化学的特性を示し（実験例13参照）、経口投与時の血中濃度及び安定性に優れ（実験例14～実験例18参照）、体内毒性がほとんどない生体親和的な物質であると同時に（実験例19参照）、経口投与剤で剤形化時の保管安定性に優れるために（実験例20参照）、眼疾患を予防及び／または治療するための経口投与に非常に適した有効成分として使われる。

【0112】

出発物質の製造

【0113】

<製造例1> (3aR, 4R, 6aS) - 2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール-4-イルアセテートの製造

30

【0114】

段階a₁. (3aR, 4R, 6R, 6aR) - 6 - (2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) - 2, 2-ジメチル-テトラヒドロフロ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール-4-オール

の製造

【0115】

アセトン (50ml) に、D-マンノース (1.74g、6.52mmol) と2, 2-ジメチルシプロパン (2.45ml、19.55mmol) とを添加した後、攪拌混合し、0℃に冷却した。これに濃い硫酸 (0.45g、1.96mmol) を滴加した。反応混合物は、室温で24時間攪拌した。その混合物にトリエチルアミンを添加して中和させ、減圧濃縮した。濃縮後、得た混合物に対して、ヘキサン：酢酸エチル混合溶媒 (1:1、v/v) を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、白色固体の目的化合物 (1.61g、95%) を得た。

40

【0116】

mp 120.3 - 120.5℃;

【0117】

¹H-NMR (CDCl₃) δ 5.34 (s, 1H)、4.76 - 4.79 (m, 1H)、4.58 (d, 1H、J = 6.0 Hz)、4.34 - 4.39 (m, 1H)、4.15 (dd, 1H、J = 3.6、7.2 Hz)、4.00 - 4.08 (m, 2H);

【0118】

[α]_D²⁵ 11.71 (c 0.11、CH₂Cl₂);

50

【0119】

FAB-MS m/z 261 $[M+H]^+$ 。

【0120】

段階 a_2 ：(1R) - (2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) ((4R, 5S) - 5 - (ヒドロキシメチル) - 2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) メタノールの製造

【0121】

エタノール (25 ml) に、前記段階 a_1 で製造した (3aR, 4R, 6R, 6aR) - 6 - (2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) - 2, 2-ジメチル-テトラヒドロフロ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール-4-オール (1.50 g、5.76 mmol) を気をつけて分配して添加し、0℃に冷却した。これに水素化ホウ素ナトリウム ($NaBH_4$ 、440 mg、11.53 mmol) を添加し、室温で2時間攪拌した。その反応混合物を酢酸で中和した後、減圧濃縮した。その混合物を酢酸エチルと水とを用いて抽出した後、有機層を無水硫酸マグネシウム ($MgSO_4$) で乾燥し、濾過した後、再び減圧濃縮した。濃縮後、得た混合物に対して、ヘキサン：酢酸エチル混合溶媒 (1：1、v/v) を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、シロップ形態の目的化合物 (1.38 g、92%) を得た。

10

【0122】

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

20

【0123】

$[\alpha]^{25}_D - 3.88$ (c 0.44, CH_2Cl_2)；

【0124】

FAB-MS m/z 263 $[M+H]^+$ 。

【0125】

段階 a_3 ：(1R) - (2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) ((4S, 5S) - 2, 2-ジメチル-5 - ((メチルスルホニルオキシ)メチル) - 1, 3-ジオキソラン-4-イル) メチルメタンスルホン酸の製造

30

【0126】

ジクロロメタン (300 ml) とトリエチルアミン (163.75 ml、1.17 mol) との混合物に、前記段階 a_2 で製造した (1R) - (2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) ((4R, 5S) - 5 - (ヒドロキシメチル) - 2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) メタノール (38.52 g、146.85 mmol) と4-ジメチルアミノピリジン (4-DMAP、5.38 mg、44.06 mmol) とを添加した後、混合し、0℃に冷却した。これにジメタンスルホニルクロリド (47.59 ml、587.42 mmol) を気をつけて滴加した。1時間室温で攪拌した後に、その反応混合物をジクロロメタンで抽出し、飽和された重炭酸ナトリウム ($NaHCO_3$) 水溶液で洗浄した。有機層を集める間に無水硫酸マグネシウム ($MgSO_4$) で乾燥し、濾過した後、再び減圧濃縮した。濃縮後、得た褐色シロップ形態のジメシル化合物に対して、ヘキサン：酢酸エチル混合溶媒 (5：1、v/v) を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、シロップ形態の目的化合物 (57.83 g、94%) を得た。

40

【0127】

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

50

【0128】

$[\alpha]^{25}_D$ 38.32 (c 0.29, CH₂Cl₂) ;

【0129】

FAB-MS m/z 419 [M+H]⁺。

【0130】

段階a₄. (3aR, 4S, 6aS) - 4 - (2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) - 2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソールの製造

【0131】

DMF (50ml) に、前記段階a₃で製造した(1R) - (2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) ((4S, 5S) - 2, 2-ジメチル-5 - ((メチルスルホニルオキシ)メチル) - 1, 3-ジオキソラン-4-イル) メチルメタンスルホン酸 (993.80g, 2.23mmol) を溶解させて、これに硫化ナトリウム (348.30g, 4.46mmol) を添加した後、その混合物を80℃で夜から朝まで還流撹拌した。反応完了後、減圧で溶媒を除去し、その残留物を酢酸エチルと水とを用いて抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウム (MgSO₄) で乾燥し、濾過した後、再び減圧濃縮した。濃縮後、得た残留物に対して、ヘキサン：酢酸エチル混合溶媒 (8：1, v/v) を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、シロップ形態の目的化合物 (453.0mg, 78%) を得た。

【0132】

¹H-NMR (CDCl₃) δ 4.92 (dt, 1H, J = 1.8, 5.6 Hz), 4.72 (dd, 1H, J = 2.0, 6.0 Hz), 4.26 - 4.30 (m, 1H), 4.04 (s, 1H), 3.79 (t, 1H, J = 3.8 Hz), 3.31 - 3.32 (m, 1H), 3.19 (dd, 1H, J = 5.4, 12.0 Hz), 2.84 (dd, 1H, J = 1.6, 12.0 Hz), 1.51 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.32 (dd, 6H, J = 8.4 Hz) ;

【0133】

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

【0134】

FAB-MS m/z 261 [M+H]⁺。

【0135】

段階a₅. 1 - ((3aR, 4S, 6aS) - 2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール-4-イル) エタン-1, 2-ジオールの製造

【0136】

60%酢酸水溶液 (250ml) に、前記段階a₄で製造した(3aR, 4S, 6aS) - 4 - (2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-イル) - 2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール (21.78g, 83.66mmol) を溶解させ、室温で2時間撹拌した。その反応混合物を減圧で濃縮し、得た残留物に対して、ヘキサン：酢酸エチル混合溶媒 (1：2, v/v) を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、白色固体の目的化合物 (14.85g, 81%) を得た。

【0137】

¹H-NMR (CDCl₃) δ 4.92 (dt, 1H, J = 1.8, 5.6 Hz), 4.72 (dd, 1H, J = 2.0, 6.0 Hz), 4.26 - 4.30 (m, 1H), 4.04 (s, 1H), 3.79 (t, 1H, J = 3.8 Hz), 3.31 - 3.32 (m, 1H), 3.19 (dd, 1H, J = 5.4, 12.0 Hz), 2.84 (dd, 1H, J = 1.6, 12.0 Hz), 1.51 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.32 (dd, 6H, J = 8.4 Hz) ;

【0138】

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

10

20

30

40

50

【0139】

FAB-MS m/z 261 $[M+H]^+$ 。

【0140】

段階a₆．(3aR, 4R, 6aS)−2, 2−ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4−d][1, 3]ジオキソール−4−イルアセテートの製造

【0141】

酢酸エチル(300ml)に、前記段階a₅で製造した1−((3aR, 4S, 6aS)−2, 2−ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4−d][1, 3]ジオキソール−4−イル)エタン−1, 2−ジオール(14.85g、67.41mmol)を溶解させ、0℃に冷却した。これにレッドテトラアセテート(Pb(OAc)₄、157.31g、337.06mmol)を添加した後、室温で夜から朝まで攪拌した。その反応混合物をセライトで濾過し、その濾液を酢酸エチルで希釈した。その有機層をジクロロメタンで希釈し、飽和された重炭酸ナトリウム(NaHCO₃)水溶液で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮した。濃縮後、得た残留物に対して、ヘキサン：酢酸エチル混合溶媒(8：1、v/v)を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、シロップ形態の目的化合物(8.82g、60%)を得た。

10

【0142】

¹H-NMR(CDCl₃) δ 5.03(dd, 1H, J=5.6、9.6Hz)、4.79(dd, 1H, J=5.6、8.8Hz)、3.21−3.27(m, 2H)、3.01(dt, 2H, J=0.8、12.8Hz)、2.05(s, 3H)、1.50(s, 3H)、1.31(s, 3H)；

20

【0143】

$[\alpha]^{25}_D$ −258.15(c 0.18, CH₂Cl₂)；

【0144】

FAB-MS m/z 218 $[M]^+$ 。

【0145】

<製造例2>(3aS, 4S, 6aS)−2, 2−ジメチル−テトラヒドロフロ[3, 4−d][1, 3]ジオキソール−4−イルアセテートの製造

【0146】

段階b₁．(3aR, 4R, 6aR)−2, 2−ジメチル−テトラヒドロフロ[3, 4−d][1, 3]ジオキソール−4−オール

30

【0147】

トルエン(20ml)に、2, 3−O−イソプロピリデン−D−エリスロノラクトン(2, 3−O−isopropylidene-D-erythrone, 1.04g、6.42mmol)を溶解させた後、1Mの水素化ジイソブチルアルミニウム(DIBAL)/THF溶液を−78℃で添加した。その反応混合物を同じ温度で30分間攪拌した後、メタノールを徐々に添加して反応を終結させた。その懸濁液をセライトで濾過し、酢酸エチルと水とで抽出した後、それに対して、ヘキサン：酢酸エチル混合溶媒(3：1、v/v)を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、シロップ形態の目的化合物(1.94g、96%)を得た。

40

【0148】

¹H-NMR(CDCl₃) δ 5.39(s, 1H)、4.82(dd, 1H, J=3.6、6.0Hz)、4.55(d, 1H, J=6.0Hz)、4.05(dd, 1H, J=3.6、10.2Hz)、4.00(d, 1H, J=10.0Hz)、1.45(s, 3H)、1.30(s, 3H)。

【0149】

段階b₂．(3aS, 4S, 6aS)−2, 2−ジメチル−テトラヒドロフロ[3, 4−d][1, 3]ジオキソール−4−イルアセテートの製造

【0150】

ピリジン(10ml)に、前記製造例2の段階b₁で製造したラクツール化合物(875

50

． 9 mg、5． 47 mmol）を溶解させた後、無水酢酸（0． 67 ml、6． 56 mmol）を0℃で添加した。その反応混合物を室温で3時間攪拌した後、減圧濃縮した。濃縮後、残留物を酢酸エチルと水とで抽出した後、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、再び減圧濃縮した。その残留物に対して、ヘキサン：酢酸エチル混合溶媒（8：1、v/v）を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、シロップ形態の目的化合物（702． 1 mg、65%）を得た。

【0151】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 6． 16 (s、1H)、4． 86 (dd、1H、 $J=3． 6、6． 0\text{ Hz}$)、4． 66 (d、1H、 $J=6． 0\text{ Hz}$)、4． 12 (d、1H、 $J=6． 4\text{ Hz}$)、3． 99 (dd、1H、 $J=3． 6、10． 8\text{ Hz}$)、2． 05 (s、3H)、1． 48 (s、3H)、1． 33 (s、3H)。

10

【0152】

<実施例1> (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6-(3-フルオロベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0153】

段階1. 2, 6-ジクロロ-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキソール-4-イル)-9H-プリン

【0154】

ヘキサメチルジシラザン (HMDS、50 ml) に、2, 6-ジクロロプリン (2． 29 g、22． 12 mmol) と硫酸アンモニウム (438 mg、3． 32 mmol) とを溶解させた後、不活性の乾燥された条件で夜から朝まで還流させた。その反応混合物を減圧で濃縮した後、得た固体混合物を冷たい1, 2-ジクロロエタン (20 ml) に再び溶解させた。前記製造例1で得た (3aR, 4R, 6aS) - 2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキソール-4-イルアセテート (1． 41 g、11． 06 mmol) を1, 2-ジクロロエタン (20 ml) に溶解させて、前記溶液に再び滴加した。その混合物にトリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル (TMSOTf、4． 0 ml、22． 12 mmol) を滴加し、0℃で30分間攪拌した後、室温で1時間攪拌した後、80℃に加熱して、2時間攪拌した。反応混合物を冷却した後、ジクロロメタンで希釈し、飽和された重炭酸ナトリウム (NaHCO_3) 水溶液で洗浄した。その有機層を無水硫酸マグネシウム (MgSO_4) で乾燥した後、減圧濃縮して、黄色のシロップ形態の残留物を得た。その残留物に対して、ジクロロメタン：メタノール混合溶媒 (50：1、v/v) を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、泡 (foam) 状の目的化合物 (3． 03 g、79%) を得た。

20

30

【0155】

UV (CH_2Cl_2) λ_{max} 275． 0 nm;

【0156】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 8． 17 (s、1H)、5． 87 (s、1H)、5． 32 (pseudo t、1H、 $J=4． 8\text{ Hz}$)、5． 21 (d、1H、 $J=5． 6\text{ Hz}$)、3． 79 (dd、1H、 $J=4． 4、12． 8\text{ Hz}$)、3． 26 (d、1H、 $J=13． 2\text{ Hz}$)、1． 59 (s、3H)、1． 36 (s、3H);

40

【0157】

$[\alpha]^{25}_{\text{D}} - 42． 04$ (c 0． 16、 CH_2Cl_2);

【0158】

FAB-MS m/z 347 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0159】

段階2. (2R, 3S, 4S) - 2 - (2, 6-ジクロロ-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0160】

テトラヒドロフラン (20 ml) に、前記段階1で製造した2, 6-ジクロロ-9-((

50

3 a R, 4 R, 6 a S) - 2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール-4-イル) - 9 H-プリンを溶解させた後、2 Nの塩酸を添加し、夜から朝まで室温で攪拌した。その混合物を1 Nの水酸化ナトリウム水溶液で中和させた後、気をつけて減圧で濃縮した。濃縮後、残留物に対して、ジクロロメタン：メタノール混合溶媒 (20 : 1、v/v) を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、白色固体の目的化合物 (1.94 g、96%) を得た。

【0161】

mp 198.3 - 200.3 °C ;

【0162】

UV (MeOH) λ_{max} 275.0 nm ;

10

【0163】

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 8.87 (s, 1H)、6.08 (d, 1H, $J=6.8$ Hz)、4.69 (q, 1H, $J=3.2$ Hz)、4.48 (q, 1H, $J=3.6$ Hz)、3.56 (dd, 1H, $J=4.4$, 11.2 Hz)、2.97 (dd, 1H, $J=3.4$, 11.2 Hz) ;

【0164】

$[\alpha]^{25}_D -50.43$ (c 0.12, DMSO) ;

【0165】

FAB-MS m/z 307 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

20

【0166】

段階3. (2 R, 3 R, 4 S) - 2 - (2-クロロ-6 - (3-フルオロベンジルアミノ) - 9 H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0167】

室温でエタノール (5ml) に、前記段階2で製造した (2 R, 3 S, 4 S) - 2 - (2, 6-ジクロロ-9 H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオール (1当量) と3-フルオロベンジルアミン (1.5当量) とを溶解させた後、その反応混合物を2~3時間室温で攪拌した。反応完了後、減圧濃縮して得た残留物に対して、ジクロロメタン：メタノール混合溶媒 (20 : 1、v/v) を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、目的化合物 (0.10 g、80%) を得た。

【0168】

30

mp 183.2 - 183.5 °C ;

【0169】

UV (MeOH) λ_{max} 275.0 nm ;

【0170】

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.91 (t, 1H-NH, $J=5.8$ Hz)、8.51 (s, 1H)、7.33-7.39 (m, 1H)、7.13-7.18 (m, 2H)、7.06 (dt, 1H, $J=2.8$, 11.6 Hz)、5.82 (d, 1H, $J=7.2$ Hz)、5.56 (d, 1H-OH, $J=6.0$ Hz)、5.37 (d, 1H-OH, $J=4.4$ Hz)、4.65 (d, 1H, $J=6.0$ Hz)、4.60 (m, 1H)、4.33-4.35 (m, 1H)、3.41 (dd, 1H, $J=4.0$, 10.8 Hz)、2.79 (dd, 1H, $J=2.8$, 10.8 Hz) ;

40

【0171】

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

【0172】

FAB-MS m/z 396 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0173】

<実施例2> (2 R, 3 R, 4 S) - 2 - (2-クロロ-6 - (3-クロロベンジルアミノ) - 9 H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0174】

段階1. 2, 6-ジクロロ-9 - ((3 a R, 4 R, 6 a S) - 2, 2-ジメチルテト

50

ラヒドロチエノ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール-4-イル)-9H-プリン)の製造

【0175】

前記実施例1の段階1と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0176】

段階2. (2R, 3S, 4S)-2-(2, 6-ジクロロ-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0177】

前記実施例1の段階2と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0178】

段階3. (2R, 3R, 4S)-2-(2-クロロ-6-(3-クロロベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0179】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、3-クロロベンジルアミンを使用して、前記実施例1の段階3と同じ条件で合成を行って、目的化合物(0.11g、83%)を得た。

【0180】

mp 163.3-165.3°C;

【0181】

UV (MeOH) λ_{max} 274.5 nm;

【0182】

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 8.34 (s, 1H)、7.41 (s, 1H)、7.24-7.34 (m, 3H)、5.94 (d, 1H, $J=6.4\text{ Hz}$)、4.75 (brs, 2H)、4.61 (q, 1H, $J=3.2\text{ Hz}$)、4.45 (q, 1H, $J=4.0\text{ Hz}$)、3.51 (dd, 1H, $J=4.8, 11.2\text{ Hz}$)、2.95 (dd, 1H, $J=3.6, 10.8\text{ Hz}$);

【0183】

FAB-MS m/z 411 $[\text{M}]^+$ 。

【0184】

<実施例3> (2R, 3R, 4S)-2-(2-クロロ-6-(3-ブロモベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0185】

段階1. 2, 6-ジクロロ-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール-4-イル)-9H-プリン)の製造

【0186】

前記実施例1の段階1と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0187】

段階2. (2R, 3S, 4S)-2-(2, 6-ジクロロ-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0188】

前記実施例1の段階2と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0189】

段階3. (2R, 3R, 4S)-2-(2-クロロ-6-(3-ブロモベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0190】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、3-ブロモベンジルアミンを使用して、前記実施例1の段階3と同じ条件で合成を行って、目的化合物(0.12g、83%)を得た。

【0191】

10

20

30

40

50

mp 184.0–185.0℃;

【0192】

UV (MeOH) λ_{max} 274.0 nm;

【0193】

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.91 (brs, 1H-NH)、8.51 (s, 1H)、7.55 (s, 1H)、7.43 (d, 1H, $J=7.6\text{ Hz}$)、7.33–7.35 (m, 1H)、7.26–7.30 (m, 1H)、5.82 (d, 1H, $J=7.2\text{ Hz}$)、5.57 (d, 1H-OH, $J=6.0\text{ Hz}$)、5.38 (d, 1H-OH, $J=4.0\text{ Hz}$)、4.60–4.63 (m, 3H)、4.34 (s, 1H)、3.41 (dd, 1H, $J=4.4$ 、11.2 Hz)、2.80 (dd, 1H, $J=2.8$ 、10.8 Hz);

10

【0194】

FAB-MS m/z 456 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0195】

<実施例4> (2R, 3R, 4S)–2–(2-クロロ–6–(3-ヨードベンジルアミノ)–9H-プリン–9-イル) テトラヒドロチオフエン–3, 4-ジオールの製造

【0196】

段階1. 2, 6-ジクロロ–9–((3aR, 4R, 6aS)–2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール–4-イル)–9H-プリン の製造

20

【0197】

前記実施例1の段階1と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0198】

段階2. (2R, 3S, 4S)–2–(2, 6-ジクロロ–9H-プリン–9-イル) テトラヒドロチオフエン–3, 4-ジオールの製造

【0199】

前記実施例1の段階2と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0200】

段階3. (2R, 3R, 4S)–2–(2-クロロ–6–(3-ヨードベンジルアミノ)–9H-プリン–9-イル) テトラヒドロチオフエン–3, 4-ジオールの製造

30

【0201】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、3-ヨードベンジルアミンを使用して、前記実施例1の段階3と同じ条件で合成を行って、目的化合物 (0.14 g、84%) を得た。

【0202】

mp 198.7–199.9℃;

【0203】

UV (MeOH) λ_{max} 274.0 nm;

【0204】

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

40

【0205】

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

【0206】

FAB-MS m/z 504 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

50

【0207】

<実施例5> (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6-(2-クロロベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0208】

段階1. 2, 6-ジクロロ-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキソール-4-イル)-9H-プリン-9-イルの製造

【0209】

前記実施例1の段階1と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0210】

段階2. (2R, 3S, 4S) - 2 - (2, 6-ジクロロ-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0211】

前記実施例1の段階2と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0212】

段階3. (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6-(2-クロロベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0213】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、2-クロロベンジルアミンを使用して、前記実施例1の段階3と同じ条件で合成を行って、目的化合物(0.11g, 81%)を得た。

【0214】

mp 198.7-199.7°C;

【0215】

UV (MeOH) λ_{max} 273.5 nm;

【0216】

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 8.35 (br s, 1H)、7.45-7.47 (m, 1H)、7.39-7.43 (m, 1H)、7.25-7.29 (m, 2H)、5.95 (d, 1H, $J=6.4\text{ Hz}$)、4.60-4.63 (m, 1H)、4.45 (dd, 1H, $J=3.6, 8.0\text{ Hz}$)、3.51 (dd, 1H, $J=4.8, 10.8\text{ Hz}$)、2.95 (dd, 1H, $J=4.0, 10.8\text{ Hz}$);

【0217】

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

【0218】

FAB-MS m/z 412 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

【0219】

<実施例6> (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6-(5-クロロ-2-メトキシベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0220】

段階1. 2, 6-ジクロロ-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキソール-4-イル)-9H-プリン-9-イルの製造

【0221】

前記実施例1の段階1と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0222】

段階2. (2R, 3S, 4S) - 2 - (2, 6-ジクロロ-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0223】

前記実施例1の段階2と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

10

20

30

40

50

【0224】

段階3. (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6-(5-クロロ-2-メトキシベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0225】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、5-クロロ-2-メトキシベンジルアミンを使用して、前記実施例1の段階3と同じ条件で合成を行って、目的化合物(0.11g、78%)を得た。

【0226】

mp 188.8 - 189.8 °C ;

10

【0227】

UV (MeOH) λ_{max} 275.5 nm ;

【0228】

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.64 (t, 1H-NH, $J=6.0$ Hz)、8.51 (s, 1H)、7.21-7.25 (m, 1H)、7.12 (d, 1H, $J=7.2$ Hz)、7.00 (d, 1H, $J=8.0$ Hz)、6.85-6.89 (m, 1H)、5.82 (d, 1H, $J=7.6$ Hz)、5.57 (d, 1H-OH, $J=6.4$ Hz)、5.37 (d, 1H-OH, $J=4.0$ Hz)、4.61-4.63 (m, 2H)、4.35 (m, 1H)、3.84 (s, 3H)、3.71 (dd, 1H, $J=3.6, 10.4$ Hz)、2.80 (dd, 1H, $J=2.4, 10.8$ Hz) ;

20

【0229】

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

【0230】

FAB-MS m/z 442 $[M+H]^+$ 。

【0231】

<実施例7> (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6-(2-メトキシベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0232】

段階1. 2, 6-ジクロロ-9-((3aR, 4R, 6aS) - 2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキソール-4-イル) - 9H-プリン

30

【0233】

前記実施例1の段階1と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0234】

段階2. (2R, 3S, 4S) - 2 - (2, 6-ジクロロ-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

【0235】

前記実施例1の段階2と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0236】

段階3. (2R, 3R, 4S) - 2 - (2-クロロ-6-(2-メトキシベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオールの製造

40

【0237】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、2-メトキシベンジルアミンを使用して、前記実施例1の段階3と同じ条件で合成を行って、目的化合物(0.12g、88%)を得た。

【0238】

mp 188.0 °C ;

【0239】

UV (MeOH) λ_{max} 276.5 nm ;

【0240】

50

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

【0241】

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

【0242】

FAB-MS m/z 407 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0243】

<実施例8> (2R, 3R, 4S)–2–(2-クロロ–6–(ナフタレン–1–イルメチルベンジルアミノ)–9H–プリン–9–イル)テトラヒドロチオフエン–3, 4–ジオールの製造

【0244】

段階1. 2, 6–ジクロロ–9–((3aR, 4R, 6aS)–2, 2–ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4–d][1, 3]ジオキソール–4–イル)–9H–プリン

の製造

【0245】

前記実施例1の段階1と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0246】

段階2. (2R, 3S, 4S)–2–(2, 6–ジクロロ–9H–プリン–9–イル)テトラヒドロチオフエン–3, 4–ジオールの製造

【0247】

前記実施例1の段階2と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0248】

段階3. (2R, 3R, 4S)–2–(2-クロロ–6–(ナフタレン–1–イルメチルベンジルアミノ)–9H–プリン–9–イル)テトラヒドロチオフエン–3, 4–ジオールの製造

【0249】

3–フルオロベンジルアミンの代わりに、ナフタレン–1–イルメチルベンジルアミンを使用して、前記実施例1の段階3と同じ条件で合成を行って、目的化合物(0.13g、90%)を得た。

【0250】

mp 226.3°C (decomp)；

【0251】

UV (MeOH) λ_{max} 281.0 nm；

【0252】

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

【0253】

FAB-MS m/z 428 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0254】

10

20

30

40

50

<実施例 9> 3-((2-クロロ-9-((2R, 3S, 4R)-3, 4-ジヒドロキシテトラヒドロチオフェン-2-イル)-9H-プリン-6-イルアミノ)メチル)安息香酸の製造

【0255】

段階 1. 2, 6-ジクロロ-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキサール-4-イル)-9H-プリン-9-イル)の製造

【0256】

前記実施例 1 の段階 1 と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0257】

段階 2. (2R, 3S, 4S)-2-((2, 6-ジクロロ-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオール)の製造

【0258】

前記実施例 1 の段階 2 と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0259】

段階 3. 3-((2-クロロ-9-((2R, 3S, 4R)-3, 4-ジヒドロキシテトラヒドロチオフェン-2-イル)-9H-プリン-6-イルアミノ)メチル)安息香酸の製造

【0260】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、3-(アミノメチル)安息香酸を使用して、前記実施例 1 の段階 3 と同じ条件で合成を行って、目的化合物 (0.12 g、84%) を得た。

【0261】

mp 254.0-256.9°C;

【0262】

UV (MeOH) λ_{max} 275.5 nm;

【0263】

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

【0264】

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

【0265】

FAB-MS m/z 422 $[M+H]^+$ 。

【0266】

<実施例 10> 2-((2-クロロ-6-メチルアミノ-プリン-9-イル)(2R, 3S, 4R)-テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオール)の製造

【0267】

段階 1. 2, 6-ジクロロ-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキサール-4-イル)-9H-プリン-9-イル)の製造

【0268】

前記実施例 1 の段階 1 と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0269】

段階 2. (2R, 3S, 4S)-2-((2, 6-ジクロロ-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフェン-3, 4-ジオール)の製造

【0270】

10

20

30

40

50

前記実施例 1 の段階 2 と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0271】

段階 3. 2-((2-クロロ-6-メチルアミノ-プリン-9-イル)(2R, 3S, 4R)-テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0272】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、メチルアミンを使用して、前記実施例 1 の段階 3 と同じ条件で合成を行って、目的化合物 (0.89 g, 90%) を得た。

【0273】

UV (MeOH) λ_{max} 269.5 nm (pH 7);

【0274】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 2.99 (1H, dd, 4'-CH, $J=4.4, 10.8$ Hz), 3.12 (3H, br s, NH-CH_3), 3.44 (1H, dd, 4'-CH, $J=4.4, 10.8$ Hz), 4.41 (1H, m, 2'-CH, $J=5.6$ Hz), 4.47 (1H, m, 3'-CH), 5.89 (1H, d, 1'-CH, $J=5.6$ Hz), 8.40 (s, 1H, 8-CH);

【0275】

$[\alpha]^{25}_{\text{D}} -34.8$ (c 0.115, DMSO);

【0276】

FAB-MS m/z 302.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

【0277】

<実施例 11> (2R, 3R, 4S)-2-((6-((3-フルオロベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0278】

段階 1. 6-クロロ-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキソール-4-イル)-9H-プリンの製造

【0279】

2, 6-クロロプリンの代わりに、6-クロロプリン (2.29 g, 22.12 mmol) を使用して、前記実施例 1 の段階 1 と同じ条件で合成を行って、泡状の目的化合物 (1.84 g, 91%) を得た。

【0280】

UV (CH_2Cl_2) λ_{max} 265.0 nm;

【0281】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 8.67 (pseudo t, 1H, $J=1.4$ Hz), 8.23 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 5.23 (m, 2H), 3.69 (dd, 1H, $J=4.0, 13.2$ Hz), 3.18 (d, 1H, $J=12.8$ Hz), 1.52 (s, 3H), 1.29 (s, 3H);

【0282】

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ 152.05, 151.39, 151.09, 144.34, 132.56, 111.90, 89.60, 84.31, 70.30, 40.76, 26.40, 24.63;

【0283】

$[\alpha]^{25}_{\text{D}} -157.64$ (c 0.15, MeOH);

【0284】

FAB-MS m/z 313 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

【0285】

段階 2. (2R, 3S, 4S)-2-((6-クロロ-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0286】

前記段階 1 で製造した 6-クロロ-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキソール-4-イル)-9H-プリ

10

20

30

40

50

ン (1.84 g、5.88 mmol) を使用して、前記実施例 1 の段階 2 と同じ条件で合成を行って、白色固体の目的化合物 (1.27 g、79%) を得た。

【0287】

mp 192.3–192.8 °C ;

【0288】

UV (MeOH) λ_{max} 264.5 nm ;

【0289】

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 9.02 (s、1H)、8.82 (s、1H)、6.02 (d、1H、 $J=7.6\text{ Hz}$)、5.62 (d、1H-OH、 $J=6.0\text{ Hz}$)、5.43 (d、1H-OH、 $J=4.0\text{ Hz}$)、4.70–4.74 (m、1H)、4.36–4.40 (m、1H)、3.47 (dd、1H、 $J=4.0$ 、10.8 Hz)、3.17 (d、1H、 $J=5.2\text{ Hz}$)、2.84 (dd、1H、 $J=2.8$ 、11.2 Hz) ;

【0290】

$[\alpha]^{25}_D -109.15$ (c 0.16、DMSO) ;

【0291】

FAB-MS m/z 273 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0292】

段階 3. (2R, 3R, 4S)–2–(6–(3–フルオロベンジルアミノ)–9H–プリン–9–イル) テトラヒドロチオフェン–3, 4–ジオールの製造

【0293】

室温でエタノール (5 ml) に、前記段階 2 で製造した (2R, 3S, 4S)–2–(6–クロロ–9H–プリン–9–イル) テトラヒドロチオフェン–3, 4–ジオール (1 当量) と 3–フルオロベンジルアミン (1.5 当量) とを溶解させた後、その反応混合物を 2–3 時間室温で攪拌した。反応完了後、減圧濃縮して得た残留物に対して、ジクロロメタン：メタノール混合溶媒 (20 : 1、v/v) を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、目的化合物 (0.11 g、82%) を得た。

【0294】

mp 180.5–180.7 °C ;

【0295】

UV (MeOH) λ_{max} 273.5 nm ;

【0296】

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

【0297】

$[\alpha]^{25}_D -141.2$ (c 0.11、DMSO) ;

【0298】

FAB-MS m/z 362 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0299】

<実施例 12> (2R, 3R, 4S)–2–(6–(3–クロロベンジルアミノ)–9H–プリン–9–イル) テトラヒドロチオフェン–3, 4–ジオールの製造

【0300】

段階 1. 6–クロロ–9–((3aR, 4R, 6aS)–2, 2–ジメチルテトラヒドロチエノ [3, 4–d] [1, 3] ジオキソール–4–イル)–9H–プリン の製造

【0301】

10

20

30

40

50

前記実施例 11 の段階 1 と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0302】

段階 2. (2R, 3S, 4S) - 2 - (6-クロロ-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0303】

前記実施例 11 の段階 2 と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0304】

段階 3. (2R, 3R, 4S) - 2 - (6 - (3-クロロベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0305】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、3-クロロベンジルアミンを使用して、前記実施例 11 の段階 3 と同じ条件で合成を行って、目的化合物 (0.12 g、85%) を得た。

【0306】

mp 165.0 - 165.3 °C ;

【0307】

UV (MeOH) λ_{max} 274.5 nm ;

【0308】

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ 8.47 (s, 1H)、8.22 (s, 1H)、7.39 (s, 1H)、7.26 - 7.35 (m, 3H)、5.91 (d, 1H, J = 7.2 Hz)、5.53 (d, 1H-OH, J = 6.4 Hz)、5.35 (d, 1H-OH, J = 4.0 Hz)、4.67 - 4.71 (m, 2H)、4.33 - 4.37 (m, 1H)、3.40 - 3.48 (m, 2H)、2.80 (dd, 1H, J = 3.2, 10.4 Hz) ;

【0309】

$[\alpha]^{25}_D$ -162.5 (c 0.10, DMSO) ;

【0310】

FAB-MS m/z 378 [M+H]⁺。

【0311】

<実施例 13> (2R, 3R, 4S) - 2 - (6 - (3-ブロモベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0312】

段階 1. 6-クロロ-9 - ((3aR, 4R, 6aS) - 2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ [3, 4-d] [1, 3] ジオキソール-4-イル) - 9H-プリン の製造

【0313】

前記実施例 11 の段階 1 と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0314】

段階 2. (2R, 3S, 4S) - 2 - (6-クロロ-9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0315】

前記実施例 11 の段階 2 と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0316】

段階 3. (2R, 3R, 4S) - 2 - (6 - (3-ブロモベンジルアミノ) - 9H-プリン-9-イル) テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0317】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、3-ブロモベンジルアミンを使用して、前記実施例 11 の段階 3 と同じ条件で合成を行って、目的化合物 (0.11 g、70%) を得た。

【0318】

mp 183.0 - 184.0 °C ;

【0319】

UV (MeOH) λ_{max} 270.0 nm;

【0320】

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.46 (s, 1H)、8.22 (s, 1H)、7.53 (s, 1H)、7.39–7.42 (m, 1H)、7.34–7.35 (m, 1H)、7.24–7.28 (m, 1H)、5.90 (d, 1H, $J=7.2\text{ Hz}$)、5.53 (d, 1H-OH, $J=6.4\text{ Hz}$)、5.35 (d, 1H-OH, $J=4.0\text{ Hz}$)、4.67–4.71 (m, 2H)、4.35–4.37 (m, 1H)、3.41 (dd, 1H, $J=4.0, 10.8\text{ Hz}$)、3.06 (q, 1H, $J=7.2\text{ Hz}$)、2.80 (dd, 1H, $J=2.8, 10.8\text{ Hz}$);

10

【0321】

$[\alpha]^{25}_D -100.72$ (c 0.14, DMSO);

【0322】

FAB-MS m/z 422 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

【0323】

<実施例14> (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-ヨードベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0324】

段階1. 6-クロロ-9-((3aR, 4R, 6aS)-2, 2-ジメチルテトラヒドロチエノ[3, 4-d][1, 3]ジオキソール-4-イル)-9H-プリン-9-イルの製造

20

【0325】

前記実施例11の段階1と同じ方法によって、泡状の目的化合物を得た。

【0326】

段階2. (2R, 3S, 4S)-2-(6-クロロ-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

【0327】

前記実施例11の段階2と同じ方法によって、白色固体の目的化合物を得た。

【0328】

段階3. (2R, 3R, 4S)-2-(6-(3-ヨードベンジルアミノ)-9H-プリン-9-イル)テトラヒドロチオフエン-3, 4-ジオールの製造

30

【0329】

3-フルオロベンジルアミンの代わりに、3-ヨードベンジルアミンを使用して、前記実施例11の段階3と同じ条件で合成を行って、目的化合物(0.12 g、72%)を得た。

【0330】

mp 198.8–199.8 °C;

【0331】

UV (MeOH) λ_{max} 271.5 nm;

【0332】

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.46 (s, 1H)、8.22 (s, 1H)、7.72 (s, 1H)、7.56–7.59 (m, 1H)、7.35–7.36 (d, 1H, $J=7.6\text{ Hz}$)、7.01–7.12 (m, 1H)、5.90 (d, 1H, $J=7.2\text{ Hz}$)、5.53 (d, 1H-OH, $J=6.4\text{ Hz}$)、5.35 (d, 1H-OH, $J=4.4\text{ Hz}$)、4.67–4.71 (m, 2H)、4.34–4.38 (m, 1H)、3.41 (dd, 1H, $J=4.0, 10.8\text{ Hz}$)、3.16 (d, 1H, $J=7.2\text{ Hz}$)、2.80 (dd, 1H, $J=2.8, 10.8\text{ Hz}$);

40

【0333】

$[\alpha]^{25}_D -97.08$ (c 0.14, DMSO);

【0334】

FAB-MS m/z 470 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

50

【0335】

<実施例15> (2R, 3R, 4R) - 2 - (6 - (3 - ブロモベンジルアミノ) - 2 - クロロ - 9H - プリン - 9 - イル) テトラヒドロフラン - 3, 4 - ジオールの製造

【0336】

段階1. 2, 6 - ジクロロ - 9 - ((3aR, 4R, 6aR) - 2, 2 - ジメチルテトラヒドロフロ [3, 4 - d] [1, 3] ジオキソール - 4 - イル) - 9H - プリンの製造

【0337】

前記製造例2で得た (3aR, 4R, 6aR) - 2, 2 - ジメチルテトラヒドロフロ [3, 4 - d] [1, 3] ジオキソール - 4 - オール (702.1g、3.472mmol) を使用して、前記実施例1の段階1と同じ条件で合成を行って、泡状の目的化合物 (793.0mg、69%) を得た。

【0338】

UV (MeOH) λ_{max} 276.5nm;

【0339】

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 8.15 (s, 1H)、6.07 (s, 1H)、5.41 (d, 1H, $J=6.0\text{Hz}$)、5.26-5.29 (m, 1H)、4.25-4.31 (m, 2H)、1.57 (s, 3H)、1.41 (s, 3H);

【0340】

$[\alpha]^{25}_D - 21.00$ (c 0.10, DMSO);

【0341】

FAB-MS m/z 331 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0342】

段階2. (2R, 3R, 4R) - 2 - (2, 6 - ジクロロ - 9H - プリン - 9 - イル) テトラヒドロフロ - 3, 4 - ジオールの製造

【0343】

前記段階1で製造した2, 6 - ジクロロ - 9 - ((3aR, 4R, 6aS) - 2, 2 - ジメチルテトラヒドロフロ [3, 4 - d] [1, 3] ジオキソール - 4 - イル) - 9H - プリン (900mg、2.0mmol) を使用して、前記段階2と同じ条件で合成を行って、白色固体の目的化合物 (0.46g、80%) を得た。

【0344】

mp 122.7-123.4°C;

【0345】

UV (MeOH) λ_{max} 276.5nm;

【0346】

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

【0347】

$[\alpha]^{25}_D - 68.09$ (c 0.14, DMSO);

【0348】

FAB-MS m/z 291 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

【0349】

段階3. (2R, 3R, 4R) - 2 - (6 - (3 - ブロモベンジルアミノ) - 2 - クロロ - 9H - プリン - 9 - イル) テトラヒドロフロ - 3, 4 - ジオールの製造

【0350】

室温でエタノール (5ml) に、前記段階2で製造した (2R, 3S, 4S) - 2 - (2, 6 - ジクロロ - 9H - プリン - 9 - イル) テトラヒドロフロ - 3, 4 - ジオール (1当量) と3 - ブロモベンジルアミン (1.5当量) とを溶解させた後、その反応混合物を2

10

20

30

40

50

～3時間室温で攪拌した。反応完了後、減圧濃縮して得た残留物に対して、ジクロロメタン：メタノール混合溶媒（20：1、v/v）を展開溶媒として使用したシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行って、目的化合物（0.12g、82%）を得た。

【0351】

mp 181.5–181.7℃;

【0352】

UV (MeOH) λ_{max} 274.5nm;

【0353】

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

【0354】

$[\alpha]^{25}_D -62.75$ (c 0.10, DMSO);

【0355】

【0356】

<実施例16> (2R, 3R, 4R)–2–(6–(3–ヨードベンジルアミノ)–2–クロロ–9H–プリン–9–イル)テトラヒドロフロ–3, 4–ジオールの製造

【0357】

段階1. 2, 6–ジクロロ–9–((3aR, 4R, 6aR)–2, 2–ジメチルテトラヒドロフロ[3, 4–d][1, 3]ジオキソール–4–イル)–9H–プリン–9–イルの製造

【0358】

前記実施例15の段階1と同じ方法によって、シロップ形態の泡状の目的化合物を得た。

【0359】

段階2. (2R, 3R, 4R)–2–(2, 6–ジクロロ–9H–プリン–9–イル)テトラヒドロフロ–3, 4–ジオールの製造

【0360】

前記実施例15の段階2と同じ方法によって、シロップ形態の白色固体の目的化合物を得た。

【0361】

段階3. (2R, 3R, 4R)–2–(6–(3–ヨードベンジルアミノ)–2–クロロ–9H–プリン–9–イル)テトラヒドロフロ–3, 4–ジオールの製造

【0362】

3–ブロモベンジルアミンの代わりに、3–ヨードベンジルアミンを使用して、前記実施例15の段階3と同じ条件で合成を行って、目的化合物（0.13g、78%）を得た。

【0363】

mp 195.5–195.8℃;

【0364】

UV (MeOH) λ_{max} 274.0nm;

【0365】

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8.91 (t, 1H-NH, $J=6.4\text{Hz}$)、8.44 (s, 1H)、7.75 (s, 1H)、7.61 (d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$)、7.36 (d, 1H, $J=7.6\text{Hz}$)、7.13 (t, 1H, $J=4.0\text{Hz}$)、5.81 (d, 1H, $J=6.8\text{Hz}$)、5.47 (d, 1H-OH, $J=6.8\text{Hz}$)、5.23 (d, 1H-OH, $J=4.0\text{Hz}$)、4.72 (dd, 1H, $J=6.4, 10$

． 8 H z) 、 4 . 6 1 (d 、 1 H 、 J = 6 . 0 H z) 、 4 . 3 4 (d d 、 1 H 、 J = 3 . 6 、 9 . 2 H z) 、 3 . 8 1 (d d 、 1 H 、 J = 1 . 2 、 9 . 2 H z) ;

【 0 3 6 6 】

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

【 0 3 6 7 】

F A B - M S m / z 488 [M + H] ⁺ .

【 0 3 6 8 】

< 実験例 1 > アデノシン受容体に対する結合親和力の評価

【 0 3 6 9 】

本発明の誘導体のヒトアデノシン受容体 (h A R) 中の A ₁ 、 A _{2A} 及び A ₃ 受容体に対する親和力及び選択性を評価するために、下記のような実験を行った。

10

【 0 3 7 0 】

アデノシン A ₁ 及び A ₃ 受容体を発現するチャイニーズハムスター卵巣 (C H O 、 A T C C ; 米国細胞株銀行 No . C C L - 6 1) 細胞は、 1 0 % ウシ胎児血清 (F B S) とペニシリン / ストレプトマイシン (1 0 0 ユニット / ml と 1 0 0 μ g / ml) とを含む F - 1 2 (G i b c o 社、米国) 培地で 3 7 ° C 、 5 % 二酸化炭素の条件下で培養されて使われた。 5 0 / 1 0 / 1 緩衝溶液を試験管に入れ、適した h A R が発現された C H O 細胞一定量と各アデノシン A ₁ 及び A ₃ 受容体に選択的に結合する標識リガンド (1 n M [³ H] C C P A 及び 0 . 5 n M [¹²⁵ I] A B - M E C A) とを混合させた。多様な濃度の本発明の誘導体をジメチルスルホキシド (DMSO) に先に溶解させた後、緩衝溶液と希釈されるが、 DMSO の最終濃度は、 1 % を超過しないように注意し、 3 7 ° C の恒温槽で 1 時間培養させた後、細胞収集器 (T O M T E C 社、米国) を使用して、迅速に減圧濾過した。次いで、試験管は、 3 ml 緩衝液で 3 回洗浄した後、放射性を γ - カウンターを使用して決定した。非特異的結合 (N o n s p e c i f i c b i n d i n g) は、全体結合を測定するための条件と同じ条件で、非標識リガンドである 5 ' - N - エチルカルボキサミドアデノシン (N E C A) の 1 0 μ M 存在下で決定され、平衡定数である K _i 値は、 [¹²⁵ I] A B - M E C A の K _d 値が 1 . 4 8 n M であるという仮定下でチェンブルソフ (C h e n g - P r u s o f f) 方程式に基づいて決定した。特異的結合は、全体結合で非特異的結合を減算して算出した。このように測定された特異的結合からさまざまな受容体に対するそれぞれの試料の結合親和力を求めた。

20

30

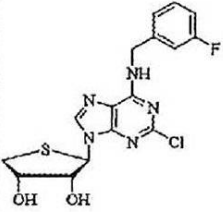
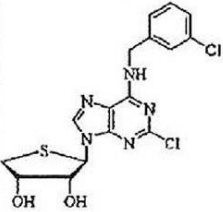
【 0 3 7 1 】

また、 H E K 2 9 3 細胞 (ヒト腎臓内皮細胞株) から発現された A _{2A} 受容体と標識リガンド、 [³ H] C G S - 2 1 6 8 0 (2 - ((4 - (2 - カルボキシエチル) フェニル) エチルアミノ) - 5 ' - N - エチルカルバモイル) アデノシン) の結合測定は、次のように行われるが、アデノシンデアミナーゼ (a d e n o s i n e d e a m i n a s e) は、脳膜を 3 0 ° C で 3 0 分間培養する時に放射性リガンドを入れ、培養する間に共に入れ、少なくとも 6 回の異なる濃度でそれぞれの実施例の化合物に対する I C ₅₀ 値を定め、この数値をプロットプログラムを用いて K _i 値を決定した。本発明による実施例の化合物の構造、置換基及び結合親和力の測定結果、得た K _i 値を表 1 に共に示した。

【 0 3 7 2 】

40

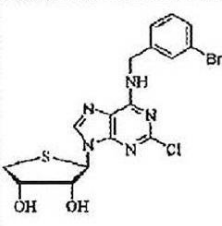
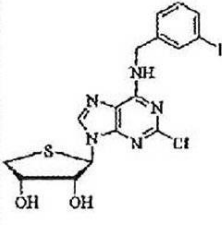
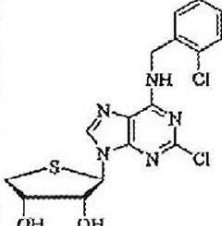
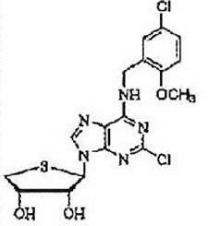
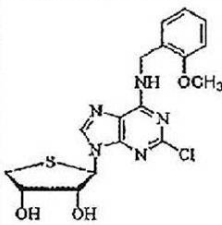
【表 1 - 1】

実施例	構造	置換基			K _i (nM) または%		
		A	R	Y	hA ₁	hA _{2A}	hA ₃
1		S	3-フルオロベンジル	Cl	19.8%	47.6%	7.4 ± 1.3
2		S	3-クロロベンジル	Cl	37.9%	17.7%	1.66 ± 0.90

10

20

【表 1 - 2】

3		S	3-ブロモベンジル	Cl	34.2%	18.4%	8.99 ± 5.17
4		S	3-ヨードベンジル	Cl	2490 ± 940	341 ± 75	4.16 ± 0.50
5		S	2-クロロベンジル	Cl	12.8%	1600 ± 135	25.8 ± 6.3
6		S	5-クロロ-2-メトキシベンジル	Cl	23.8%	4020 ± 1750	12.7 ± 3.7
7		S	2-メトキシベンジル	Cl	9.4%	17.5%	19.9 ± 7.1

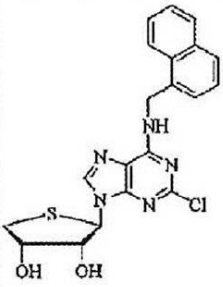
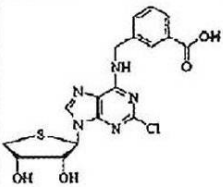
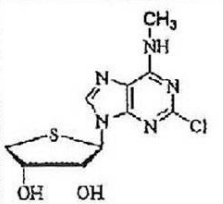
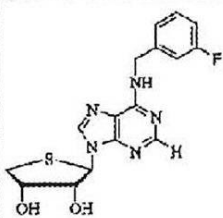
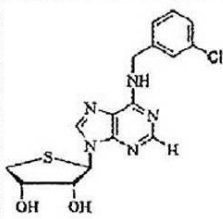
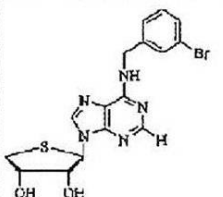
10

20

30

40

【表 1 - 3】

8		S	1-ナフチルメチル	Cl	22.0%	-8.3%	24.8 ± 8.1
9		S	3-トルイル酸	Cl	13.1%	-0.18%	41.5%
10		S	メチル	Cl	55.4 ± 1.8%	45.0 ± 1.4%	3.69 ± 0.25
11		S	3-フルオロベンジル	H	1430 ± 420	1260 ± 330	7.3 ± 0.6
12		S	3-クロロベンジル	H	860 ± 210	440 ± 110	1.5 ± 0.4
13		S	3-ブロモベンジル	H	790 ± 190	420 ± 32	6.8 ± 3.4

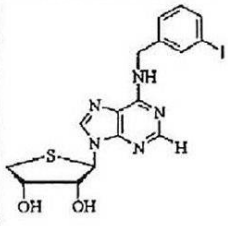
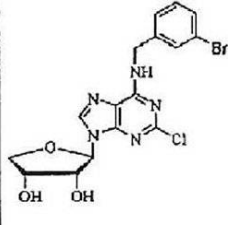
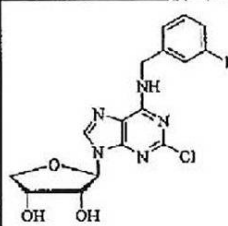
10

20

30

40

【表 1 - 4】

14		S	3-ヨードベンジル	H	530 ± 97	230 ± 65	2.5 ± 1.0
15		O	3-ブロモベンジル	Cl	39.8%	22.8%	13.0 ± 6.9
16		O	3-ヨードベンジル	Cl	37.7%	28.6%	42.9 ± 8.9
単位：nM ± SEM ‘%’ は、非標識リガンドであるNECAの10 μM存在下に、10 μM標識リガンドの特異的結合の阻害百分率を示す。							

【0373】

表1に示されたように、本発明の実施例の化合物は、ヒトアデノシンA₃受容体に対して高い結合親和力を示し、アデノシンA₁及びA_{2A}受容体に対しては、低い親和力、すなわち、大きな選択性を示した。特に、本発明の実施例12の化合物は、hA₃受容体に対して、親和力定数、K_i値が1.50 ± 0.40 nMに最も高い親和力を示し、その次に、実施例2の化合物（K_i = 1.66 ± 0.90 nM）、実施例14の化合物（K_i = 2.50 ± 1.00 nM）、実施例10の化合物（K_i = 3.69 ± 0.25 nM）及び実施例4の化合物（K_i = 4.16 ± 0.50 nM）の順に結合親和力が高く表われた。本発明の実施例4の化合物は、また、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞から発現されたラットのアデノシンA₃受容体に対しても、高い親和力（K_i = 3.89 ± 1.15 nM）を示し、ヒトアデノシンA_{2B}受容体に対しては、アゴニストまたは拮抗剤として活性を示さなかった。

【0374】

また、ハロベンジル置換基を有する実施例の化合物で結合親和力は、Cl > I > F > Brの順序に従うが、3-クロロベンジルを有する実施例2の化合物は、2-クロロベンジルを有する実施例5の化合物（K_i = 25.8 ± 6.3 nM）よりもhA₃アデノシン受容体に対してさらに高い親和力を示した。また、ヒトアデノシンA₃受容体は、結合親和力において、ベンゼン環の3-位置が置換された実施例の化合物を2-または4-置換された化合物または2, 5-二置換された化合物よりもさらに好むものと表われた。そして、4'-Oであるオキソヌクレオシド形態を帯びるアデノシン誘導体である実施例15及び実施例16の化合物も、高い結合親和力と選択性を示したが、それに相応する4'-Sであるチオヌクレオシド形態を帯びるアデノシン誘導体、実施例3及び実施例4の化合

物よりもさらに良いものではなく、プリン塩基の2位のクロロ基を水素で置換した実施例10ないし実施例14の化合物は、2-クロロである化合物よりも親和力及び選択性に優れると確認された。

【0375】

<実験例2>本発明の誘導体によるアデノシンA₃受容体に対する拮抗効果及びcAMP抑制実験

【0376】

本発明の誘導体が、ヒトアデノシンA₃受容体に対して拮抗剤として効果があるかを調べるために、CHO細胞に実施例4の化合物及びCl-IB-MECAを共に処理して、本発明の誘導体の拮抗効果及びcAMP抑制実験を行った。

10

【0377】

図1に示されたように、ヒトアデノシンA₃受容体に対して、本発明の実施例4の化合物を濃度を異ならせて処理したCHO細胞で100%純粋アゴニストであるCl-IB-MECAのアゴニスト効果は、実施例4の化合物の濃度に依存して阻害されると確認された。これは、本発明の化合物とCl-IB-MECAとが受容体の同じ結合部位に互いに競争的に作用するものであることを示す結果である。また、CHO細胞でヒトアデノシンA₃受容体を媒介とするcAMP抑制実験結果、本発明の実施例の化合物は、100%純粋アデノシンA₃拮抗剤であるということが分かる。したがって、本発明から合成された化合物は、Schil分析によって測定した解離定数K_B値は1.92nMであった。

【0378】

20

<実験例3～実験例6>本発明の誘導体による抗炎症活性の測定

【0379】

本発明の誘導体の抗炎症活性を調べるために、下記のような動物実験を行った。生後7週齢の雄ICRマウスは、右側耳にTPA(12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate、20μl)が処理された。15分以内に本発明の実施例1～実施例16の化合物をアセトン(20μl)または蒸留水あるいはDMSOとアセトンとを混合した混合溶媒(その組成は、表2ないし表5に示す)に0.5%の濃度で希釈してマウスに投与した。対照群で炎症治療剤として用いられるヒドロコルチゾン(hydrocortisone)を同じ濃度で処理して、同じ実験を行った。

【0380】

30

引き続き、TPA処理から6時間後に、本発明のアデノシン誘導体化合物を二番目に処理した。再びTPA処理から24時間後に、実験動物を首脱臼方法(cervical dislocation method)を用いて安楽死させた。次いで、6mm直径のパンチを用いて右側耳のサンプルを得た。その活性は、微量天秤を用いて重量を測定することで確認することができた。阻害率(%)は、下記数式1を用いて計算された。実験例3ないし実験例6の処理組成及び処理量は、表2ないし表5に示し、その抗炎症活性の測定結果を図2ないし図5に示した。

【0381】

【数1】

40

$$\text{阻害率 (\%)} = \frac{1 - (\text{実施例の化合物を処理したサンプル重量} - \text{無処理サンプル重量})}{\text{TPAのみ処理したサンプル重量} - \text{無処理サンプル重量}}$$

【0382】

【表 2】

実験例 3	処理組成	処理量
3-1	無処理	-
3-2	T P Aのみ処理	20 μl
3-3	T P A+アセトン処理	20 μl + 20 μl
3-4	T P A+アセトン+実施例 2 の化合物	20 μl + 0.5% / 20 μl
3-5	T P A+アセトン+実施例 3 の化合物	20 μl + 0.5% / 20 μl
3-6	T P A+アセトン+実施例 4 の化合物	20 μl + 0.5% / 20 μl
3-7	T P A+アセトン+ヒドロコルチゾン	20 μl + 0.5% / 20 μl

10

【 0 3 8 3 】

【表 3】

実験例 4	処理組成	処理量
4-1	無処理	-
4-2	T P Aのみ処理	20 μl
4-3	T P A+アセトン処理	20 μl + 20 μl
4-4	T P A+アセトン+実施例 1 の化合物	20 μl + 0.5% / 20 μl
4-5	T P A+アセトン+実施例 6 の化合物	20 μl + 0.5% / 20 μl
4-6	T P A+アセトン+ヒドロコルチゾン	20 μl + 0.5% / 20 μl

20

30

【 0 3 8 4 】

【表 4】

実験例 5	処理組成	処理量
5-1	無処理	-
5-2	T P Aのみ処理	20 μl
5-3	T P A+混合溶媒処理 (混合溶媒=蒸留水:アセトン=1:4)	20 μl + 20 μl
5-4	T P A+混合溶媒+実施例 5 の化合物	20 μl + 0.5% / 20 μl
5-5	T P A+混合溶媒+実施例 7 の化合物	20 μl + 0.5% / 20 μl
5-6	T P A+混合溶媒+実施例 8 の化合物	20 μl + 0.5% / 20 μl
5-7	T P A+混合溶媒+ヒドロコルチゾン	20 μl + 0.5% / 20 μl

40

【 0 3 8 5 】

50

【表 5】

実験例 6	処理組成	処理量
6-1	無処理	-
6-2	T P Aのみ処理	20 μ l
6-3	T P A+混合溶媒処理 (混合溶媒=DMSO : アセトン=1 : 9)	20 μ l + 20 μ l
6-4	T P A+混合溶媒+実施例 1 5 の化合物	20 μ l + 0.5% / 20 μ l
6-5	T P A+混合溶媒+実施例 1 6 の化合物	20 μ l + 0.5% / 20 μ l
6-6	T P A+混合溶媒+ヒドロコルチゾン	20 μ l + 0.5% / 20 μ l

10

【0386】

図 2 に示されたように、対照群として用いられたヒドロコルチゾンに比べれば、極めて少ない変化であるが、実施例 2、実施例 3 及び実施例 4 の化合物をアセトンに希釈して処理した後、抗炎症活性を調査した結果、T P A によって誘導されたマウスの耳浮腫が少量減少することを確認することができた。

20

【0387】

図 3 に示されたように、本発明の実施例 1 及び実施例 6 の化合物をアセトンに希釈して処理した後、調査した抗炎症活性は、図 2 に示された実施例 2 ないし実施例 4 の化合物よりも 4 倍以上格段に増加した阻害率を示すことが分かった。

【0388】

図 4 に示されたように、蒸留水とアセトンとの混合溶媒 (1 : 4) に 0.5 % に希釈した本発明の実施例 5、実施例 6 及び実施例 7 の化合物を用いて調査した抗炎症活性は、それぞれ 17 %、34 % 及び 53 % の炎症阻害率を示した。

30

【0389】

図 5 に示されたように、DMSO とアセトンとの混合溶媒 (1 : 9) に 0.5 % に希釈した本発明の実施例 15 及び実施例 16 の化合物を用いて調査した炎症阻害率は、それぞれ 59 % 及び 79 % であって、前記化合物が抗炎症活性を有するということが分かった。

【0390】

< 実験例 7 > 毒性試験

【0391】

本発明の実施例の化合物の毒性を試験するために、動物実験を行った。25 $\pm$ 5 g の I C R 系マウス (中央実験動物) と 235 $\pm$ 10 g の特定の病院部材 (S P F) スプラグーダウリー (S p r a g u e D a w l e y、中央実験動物) ラットとをそれぞれ 3 匹ずつ 3 群に分けて、本発明の実施例 2 の化合物をそれぞれ 20 m g / k g、10 m g / k g、1 m g / k g の容量で腹腔投与した後、24 時間毒性の有無を観察した。

40

【0392】

実験の結果、3 群いずれでも死亡した例を全く観察することができず、体重増加、飼料摂取量などで外見上対照群と何らの症状が見られず、したがって、本発明の誘導体化合物が、安全な薬物であることを確認することができた。

【0393】

< 実験例 8 > 本発明の誘導体を含む点眼剤の眼圧降下効能の実験 (1)

【0394】

本発明の誘導体の点眼投与による眼圧降下効能を調べるために、下記のような動物実験を

50

行った。クレモフォールEL、グリセリン、クエン酸及びメチルパラベンが溶解されたpH6.8のバッファ溶液に実施例2の化合物を混合して、実施例2の化合物がそれぞれ250 μ M、500 μ M及び750 μ Mの濃度で含まれるように製造した点眼剤をそれぞれ2dropずつ2.5~3.0kgの正常雄New Zealand white rabbitに点眼投与した。陽性対照群(positive control)として緑内障治療剤として用いられる点眼剤であるXalatan^(R)を同じ方法で投与し、陰性対照群(negative control)として実験動物に別途の処理を行っていない。

【0395】

引き続き、30分、1時間、2時間、3時間、6時間、12時間及び24時間後に、実験動物の眼圧を測定し、その結果を図6に示した。図6において、Controlは、陰性対照群、Drug 250、500及び750は、実施例2の化合物をそれぞれ250 μ M、500 μ M及び750 μ Mの濃度で含む点眼剤、Xalatanは、陽性対照群を示す。

10

【0396】

図6に示されたように、本発明のアデノシン誘導体を含む点眼剤を投与したrabbitで、前記点眼剤の投与量に依存的な眼圧低下効果があったことを確認することができる。

【0397】

<実験例9>本発明の誘導体を含む点眼剤の眼圧降下効能の実験(2)

20

【0398】

本発明の誘導体の点眼投与による眼圧降下効能を調べるために、下記のような動物実験を行った。緑内障が誘発されたDAB 2J mouseに実験例8で製造した点眼剤を一日に2回ずつ点眼投与した。陽性対照群として緑内障治療剤として用いられる点眼剤であるXalatan^(R)を同じ方法で投与し、陰性対照群として実験動物に別途の処理を行っていない。

【0399】

引き続き、点眼剤を投与する期間の間に、約2日ごとに実験動物の眼圧を測定し、その結果を図7に示した。図7において、Controlは、陰性対照群、Drug 250、500及び750は、実施例2の化合物をそれぞれ250 μ M、500 μ M及び750 μ Mの濃度で含む点眼剤、Xalatanは、陽性対照群を示す。

30

【0400】

図7に示されたように、本発明のアデノシン誘導体を含む点眼剤を投与したmouseで、前記点眼剤の投与量に依存的な眼圧低下効果があったことを確認することができる。

【0401】

<実験例10>本発明の誘導体の経口投与による眼圧降下効能の実験

【0402】

本発明の誘導体の経口投与による眼圧降下効能を調べるために、下記のような動物実験を行った。10週齢の正常C57BL/6J miceにデキサメタゾン(Dexamethasone)を点眼投与して眼圧を上昇させ、互いに異なる個体に実施例2の化合物をそれぞれ5mg/kg 1日1回、10mg/kg 1日1回、20mg/kg 1日1回及び10mg/kg 1日2回を賦形剤であるDMSO、PEG400及び生理食塩注射液と共に経口投与した。対照群として眼圧が上昇した実験動物に前記賦形剤のみ1日1回経口投与するか、実験動物にデキサメタゾン処理を行わないか、眼圧降下剤であるアセタゾラミド(Acetazolamide)4.17mg/kgを1日1回投与した。

40

【0403】

引き続き、22日間所定の週期で実験動物の眼圧を測定し、その結果を図8ないし図12に示した。図8ないし図12において、Controlは、実験動物にデキサメタゾン処理を行っていない対照群、Vehicleは、眼圧が上昇した実験動物に賦形剤のみ経口投与した対照群、Acetazolamideは、眼圧が上昇した実験動物に眼圧降下

50

剤であるアセタゾラミドを投与した対照群を示す。

【0404】

図8ないし図12に示されたように、本発明のアデノシン誘導体を経口投与したmiceで、前記アデノシン誘導体の投与量に依存的な眼圧低下効果があり、実施例2の化合物を20mg/kg 1日1回及び10mg/kg 1日2回投与したmiceは、投与22日からデキサメタゾン処理を行っていない正常mice対照群と類似した眼圧を示したことを確認することができる。

【0405】

<実験例11>本発明のアデノシン誘導体の線維柱帯組織の抗線維化(antifibrotic) 10
効能の実験

【0406】

本発明のアデノシン誘導体が、眼球の線維柱帯組織に対する線維化を抑制する効能があるか否かを調べるために、下記のような動物実験を行った。

【0407】

実験例10で眼圧の測定が完了した各実験動物の眼球組織を摘出し、それを切片した後、抗体を利用した免疫染色法で細胞外基質タンパク質(Fibronectin、SMA及びMYOC)の発現変化を確認し、その結果を図13に示した。図13において、Normalは、実験例10でデキサメタゾン処理を行っていなかった動物の線維柱帯組織、Controlは、実験例10で賦形剤のみ投与した動物の線維柱帯組織、Acetazolamideは、実験例10でアセタゾラミドを投与した動物の線維柱帯組織を示す。20
蛍光染色された組織は、蛍光顕微鏡で同じ条件(倍率200x、露出時間1秒)下に観察した。

【0408】

図13に示されたように、賦形剤のみを投与した動物や眼圧降下剤であるアセタゾラミドを投与した動物の線維柱帯組織では、フィブロネクチン(Fibronectin)、平滑筋アクチン(smooth muscle actin、SMA)及びミオシリン(MYOC)タンパク質発現の増加が観察される一方、実施例2の化合物20mg/kgを1日1回投与した動物と10mg/kgを1日2回投与した動物との線維柱帯組織では、前記3種のタンパク質の発現が大きく減少したことを確認することができる。

【0409】

<実験例12>本発明のアデノシン誘導体のMMP酵素及びTIMP酵素タンパク質発現効能の実験 30

【0410】

本発明のアデノシン誘導体の線維柱帯組織に対する抗線維化効能が細胞外基質の変化を調節するMMP及びTIMP酵素タンパク質の発現と関連があるか否かを確認するために、次のような動物実験を行った。

【0411】

実験例10で眼圧の測定が完了した各実験動物の眼球組織に対してMMP及びTIMP酵素を対象にして、これらタンパク質とmRNA発現量とを測定し、その結果を図14ないし図17に示した。図14及び図15は、それぞれMMP(MMP2、MMP9)及びTIMP(TIM P1、TIM P2)酵素のタンパク質発現量を示したものであり、図16及び図17は、mRNA発現量を示したものである。図14ないし図17において、Normalは、実験例10でデキサメタゾン処理を行っていなかった動物の発現量、Controlは、実験例10で賦形剤のみ投与した動物の発現量、Acetazolamideは、実験例10でアセタゾラミドを投与した動物の発現量を示す。 40

【0412】

図14ないし図17に示されたように、賦形剤のみを投与した動物や眼圧降下剤であるアセタゾラミドを投与した動物の線維柱帯組織では、正常群(Normal)に比べて、MMP酵素のタンパク質とmRNA発現量が、有意的に減少し、TIMP酵素のタンパク質とmRNA発現量は、有意的に増加した。一方、実施例2の化合物20mg/kgを1 50

日1回投与した動物と10mg/kgを1日2回投与した動物との線維柱帯組織では、正常群に比べて、MMP酵素のタンパク質とmRNA発現量が、有意的に増加し、TIMP酵素のタンパク質及びmRNA発現量は、有意的に減少したことを確認することができる。

【0413】

前述したような一連の実験の結果を通じて、本発明のアデノシン誘導体は、アデノシンA₃受容体拮抗剤が共通して有していると知られている眼房水の生成抑制を通じる眼圧降下効果の以外にも、線維柱帯組織の線維化抑制を通じる眼房水の排出促進を通じる二重薬理機転を通じて眼圧を低下させる作用を行うと確認された。

【0414】

販売中である緑内障治療剤は、前述した2種の薬理機転中の1種の機転を通じて眼圧を低下させるが、本発明のアデノシン誘導体は、2種の作用機転をいずれも有しているために、緑内障の予防及び治療に非常に適した組成物として使われうるということを確認することができる。

【0415】

＜実験例13＞本発明のアデノシン誘導体の物理化学的特性の試験

【0416】

本発明のアデノシン誘導体の物理化学的特性を試験するために、生体外（*in vitro*）で実施例2の化合物に対する試験を実施し、その結果を表6に示した。血しょう（*plasma*）安定性（*stability*）及びタンパク質結合度（*protein binding*）は、Ratとヒトとの血しょうを用いて測定した。

【0417】

【表6】

物性（ADME特性）	値
動的水溶解度	361.0 μ M (148.8 μ g/ml)
溶解度平衡	6.7 μ M (2.76 μ g/ml)
Log P	3.18
pKa	11.33
PAMPA	-4.49
血しょう安定性	>99.9 (Rat)、98.9 (Human)
血しょうタンパク質結合	90.2 (Rat)、98.7 (Human)

【0418】

表6に示されたように、本発明のアデノシン誘導体は、経口製剤による経口投与に適した吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）の特性値を有するという点を確認することができる。

【0419】

＜実験例14～実験例18＞本発明のアデノシン誘導体の経口投与に対する薬物動態学の試験

【0420】

本発明のアデノシン誘導体の経口投与後の吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）の特性を試験するために、生体内（*in vivo*）で実施例2の化合物のPK（*Pharmacokinetic*）特性を測定した。

【0421】

表7のように、実験動物に実施例2の化合物を投与方法を異ならせて投与した。静脈投与は、大腿静脈に挿入したチューブ（*tube*）を通じて投与し、経口投与は、強制経口投与（*oral gavage*）を用いて口腔に投入する方式で行った。

【0422】

【表 7】

実験例	実験動物	投与方法
14-1	8週齢SD雄ラット	実施例2の化合物5mg/kgを静脈投与
14-2	8週齢SD雄ラット	実施例2の化合物5mg/kgを経口投与
15-1	8週齢SD雄ラット	実施例2の化合物2mg/kgを静脈投与
15-2	8週齢SD雄ラット	実施例2の化合物10mg/kgを経口投与
16	8週齢ICR雄マウス	実施例2の化合物10mg/kgを経口投与
17-1	犬	実施例2の化合物2mg/kgを静脈投与
17-2	犬	実施例2の化合物10mg/kgを溶媒に溶解させて経口投与
17-3	犬	実施例2の化合物10mg/kgをカプセル内粉末状に経口投与
18-1	8週齢SD雄ラット	実施例2の化合物10mg/kgを0.5wt%メチルセルロース2mL/kgに溶解させて経口投与
18-2	8週齢SD雄ラット	実施例2の化合物10mg/kgを5wt%DMSO、40wt%PEG400、55wt%D.W.が混合された溶媒に溶解させて経口投与

10

【0423】

投与後、24時間所定時間間隔で採血して血液を遠心分離した後、血しょうを分離し、適正有機溶媒を使用して血しょう試料を前処理した後、LC-MS/MSで濃度を分析した。WinNonlin (Pharsight, USA) を用いて実施例2の化合物の血中濃度-時間データを分析し、これについてのグラフを図20ないし図24に示し、これより算出したnoncompartmental pharmacokinetic parameterに対する結果を表8ないし表12に示した。図18ないし図22において、I.V. は、静脈投与群、P.O. は、口腔投与群を示し、表8ないし表12の各パラメータに対する定義は、表13に示した。

20

【0424】

【表 8】

パラメータ	I.V., 5 mg/kg	P.O., 5 mg/kg
T_{max} (h)	NA	1.33 ± 0.577
C_{max} (μg/mL)	NA	1.45 ± 0.255
$T_{1/2}$ (h)	3.6 ± 0.589	3.26 ± 0.945
AUC_0-t (μg·h/mL)	14.04 ± 2.55	6.98 ± 0.584
AUC_{∞} (μg·h/mL)	14.11 ± 2.59	7.04 ± 0.551
CL (L/h/kg)	0.363 ± 0.07	NA
V_{ss} (L/kg)	0.881 ± 0.203	NA
F_r (%)	NA	49.74

NA、適用されていない；ND、検出されていない；NC、計算されていない

30

【0425】

【表 9】

パラメータ	IV, 2 mg/kg	PO, 10 mg/kg
T_{max} (hr)	-	2.42 ± 3.13
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	-	2.71 ± 0.183
$T_{1/2}$ (hr)	6 ± 2.98	3.34 ± 0.075
AUC_0 ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	5.2 ± 0.548	26.5 ± 5.88
AUC_{∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	5.49 ± 0.3	26.7 ± 0.0750
CL (L/kg/hr)	0.365 ± 0.019	-
V_z (L/kg)	2.27 ± 0.863	-
F_r (%)	-	>99.9

10

【0426】

【表 10】

パラメータ	P.O., 10 mg/kg
T_{max} (h)	6.13 ± 3.75
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	8.57 ± 1.52
$T_{1/2}$ (h)	3.61 ± 0.3
AUC_0 ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	100 ± 13.2
AUC_{∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	102 ± 13.5
CL (L/h/kg)	NA
V_z (L/kg)	NA
F_r (%)	NA

NA、適用されていない；ND、検出されていない；NC、計算されていない

20

【0427】

【表 11】

パラメータ	G1, IV, 2 mg/kg	G2, PO, 10 mg/kg	G3, PO, 10 mg/kg
T_{max} (h)	NA	1.67 ± 0.58	2 ± 0
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	NA	0.467 ± 0.073	1.14 ± 0.23
$T_{1/2}$ (h)	2.17 ± 0.867	4.21 ± 1.41	5.53 ± 3.06
AUC_0 ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	0.948 ± 0.464	3.88 ± 1.03	5.64 ± 0.84
AUC_{∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	1.07 ± 0.62	3.99 ± 1.09	6.35 ± 0.83
CL (L/h/kg)	2.27 ± 1.04	NA	NA
V_z (L/kg)	6.02 ± 0.79	NA	NA
F_r (%)	NA	82.0	>99.9

NA、適用されていない；ND、検出されていない；NC、計算されていない

30

【0428】

40

【表 1 2】

パラメータ	0.5%MC, 10 mg/kg	既存賦形剤, 10 mg/kg
T_{max} (hr)	1.33 ± 0.58	2.42 ± 3.13
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	5.72 ± 6.11	2.71 ± 0.183
$T_{1/2}$ (hr)	4.56 ± 2.8	3.34 ± 0.075
AUC_0 ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	40.1 ± 26.8	26.5 ± 5.38
AUC_{∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	41.4 ± 26.03	26.7 ± 0.0750
CL (L/kg/hr)	—	—
V_{ss} (L/kg)	—	—
F_t (%)	—	—

10

【0 4 2 9】

【表 1 3】

パラメータ	Description
T_{max} (hr)	C_{max} にかかる時間
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	最大血しょう濃度
$T_{1/2}$ (hr)	生物学的半減期
AUC_0 ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	血しょう濃度—時間曲線下面積
AUC_{∞} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	経時的な血しょう濃度—時間曲線下面積
CL (L/kg/hr)	血しょうから全体排除率
V_{ss} (L/kg)	定常状態の分布容積
F_t (%)	生体利用率 (AUC_{po}/AUC_{iv}) $\times 100$

20

【0 4 3 0】

図 1 8 と表 8 は、実験例 1 4 (1 4-1 及び 1 4-2) の血中濃度—時間データから得たグラフ及びパラメータ値であり、図 1 9 と表 9 は、実験例 1 5 (1 5-1 及び 1 5-2) の血中濃度—時間データから得たグラフ及びパラメータ値である。図 1 8 及び図 1 9 と表 8 及び表 9 とに示されたように、本発明のアデノシン誘導体は、半減期 ($T_{1/2}$) が最大 3. 3 4 時間以上に長期間露出され、静脈投与と比較する時に、生体利用率 (F_t) が最大 9 9. 9 % 以上に経口投与に適した特性を有するということを確認することができる。

30

【0 4 3 1】

図 2 0 と表 1 0 は、実験例 1 6 の血中濃度—時間データから得たグラフ及びパラメータ値である。図 2 0 と表 1 0 とに示されたように、本発明のアデノシン誘導体は、*mice* でも半減期 ($T_{1/2}$) が 3. 6 1 時間程度に長期間露出されて、経口投与に適した特性を有するという点を確認することができる。

【0 4 3 2】

図 2 1 と表 1 1 は、実験例 1 7 (1 7-1、1 7-2 及び 1 7-3) の血中濃度—時間データから得たグラフ及びパラメータ値である。図 2 1 において、G 2 及び G 3 は、それぞれ溶媒に溶解させて経口投与した場合と、カプセル内粉末状に経口投与した場合と、を示す。図 2 1 と表 1 1 とに示されたように、本発明のアデノシン誘導体は、*dog* で半減期 ($T_{1/2}$) が最大 5. 5 3 時間以上に *rat* や *mice* よりも長期間露出されて、経口投与に適した特性を有し、特に、カプセル内に粉末状に充填して投与した場合、半減期 ($T_{1/2}$) 及び生体利用率 (F_t) などの特性がより向上するという点を確認することができる。

40

【0 4 3 3】

図 2 2 と表 1 2 は、実験例 1 8 (1 8-1 及び 1 8-2) の血中濃度—時間データから得たグラフ及びパラメータ値である。図 2 2 と表 1 2 とに示されたように、本発明のアデ

50

ノシン誘導体は、経口投与において、メチルセルロース（MC）と共に投与されることが従来の賦形剤であるジメチルスルホキシド（DMSO）、ポリエチレングリコール（PEG）、蒸留水（D.W.）などと共に投与されることよりも優れた特性を有するという点を確認することができる。

【0434】

<実験例19>本発明のアデノシン誘導体の毒性試験

【0435】

本発明のアデノシン誘導体の毒性を試験するために、実施例2の化合物に対して、細胞毒性（cytotoxicity）、心臓毒性（hERG ligand binding assay）、遺伝毒性及び単回毒性を評価した。

10

【0436】

まず、実施例2の化合物の細胞毒性を試験するために、Cytotoxicity assay kitを利用した。試験の結果、実施例2の化合物によるIC₅₀が、それぞれの細胞株で10 μM以上であって、一般細胞毒性に対して安全であると評価された。

【0437】

実施例2の化合物の心臓毒性を試験するために、red fluorescent hERG channel ligand tracerのhERG channel protein結合程度による蛍光偏光（fluorescence polarization）評価を通じて心臓安定性を評価するnon-electrophysiological試験法を使用した。試験の結果、実施例2の化合物10 μMに対する阻害率は、基準値である50%以下であって、心臓毒性に対して安全であると評価された。

20

【0438】

実施例2の化合物の遺伝毒性を試験するために、ヒスチジン要求性サルモネラ菌（TA98、TA100、TA1535及びTA1537菌株）及びトリプトファン要求性大腸菌（WP2uvrA（pKM101）菌株）を用いて代謝活性化非存在下及び存在下のそれぞれの場合に対して、実施例2の化合物の遺伝子突然変異誘発性を評価した。評価の結果、実施例2の化合物は、代謝活性化の有無に関係なく、各菌株のあらゆる容量で復帰変異コロニー数が陰性対照群の2倍を超過せず、容量依存的な増加も観察されず、陽性対照群では、各菌株に対する復帰変異コロニー数が陰性対照群と比較して、2倍以上確実に増加した。以上の結果から、実施例2の化合物は、遺伝毒性に対して安全であると評価された。

30

【0439】

実施例2の化合物の単回毒性を試験するために、male ratとfemale ratの5匹のそれぞれに実施例2の化合物2,000 mg/kgを単回投与した。試験の結果、死亡した実験動物はなく、前記結果によって、実施例2の化合物は、単回毒性に対して安全であると評価された。

【0440】

表14は、以上の本発明のアデノシン誘導体に対する毒性試験の結果を整理したものである。表14に示されたように、本発明のアデノシン誘導体は、細胞毒性、心臓毒性、遺伝毒性及び単回毒性に対して安全であるという点を確認することができる。

40

【0441】

【表14】

試験種類	毒性
細胞毒性評価	発見されていない
心臓毒性評価	発見されていない
遺伝毒性評価	発見されていない
単回毒性評価	発見されていない

50

【0442】

＜実験例20＞本発明のアデノシン誘導体を含む経口投与剤の安定性の評価

【0443】

本発明のアデノシン誘導体を含む経口投与剤の安定性を評価するために、下記のように実験した。

【0444】

経口投与剤の賦形剤として使われる0.5wt%メチルセルロースを実施例2の化合物に添加して音波処理(sonication)し、均質化した後、室温で保管する群と4℃で保管する群とに分けて、それぞれ1、3、7及び10日後に、Waters UPLCを用いて対照群である0.5%メチルセルロースとの濃度比較を通じて安定性を測定し、その結果を表15に示した。

10

【0445】

【表15】

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

20

【0446】

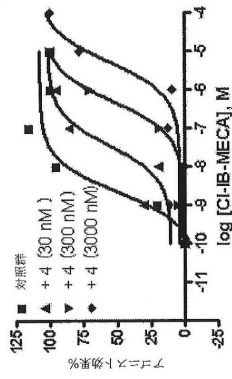
表15に示されたように、本発明のアデノシン誘導体は、経口投与剤で調剤された時、その安定性が保管条件及び保管時間によって有意な差を示していないので、本発明のアデノシン誘導体は、経口製剤による経口投与に適していることを確認することができる。

【0447】

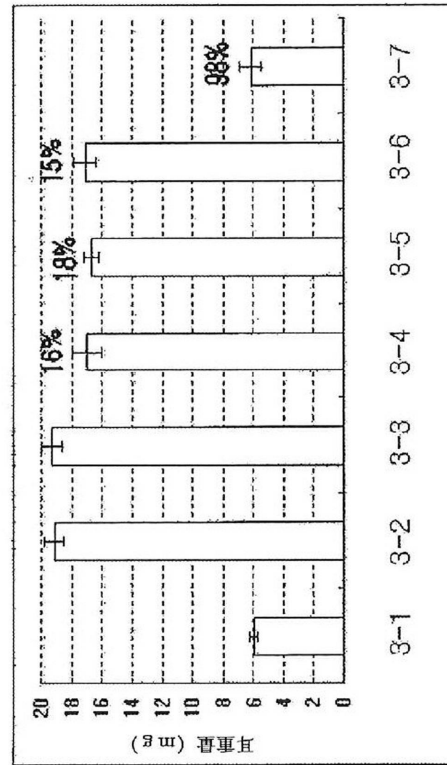
以上、添付図面を参照して、本発明の実施例を説明したが、当業者ならば、本発明のその技術的思想や必須的な特徴を変更せずとも、他の具体的な形態で実施可能であることを理解できるであろう。したがって、前述した実施例は、あらゆる面で例示的なものであり、限定的ではないということを理解せねばならない。

30

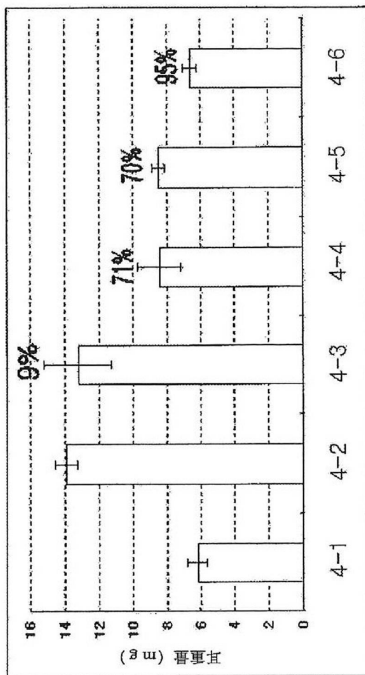
【図 1】



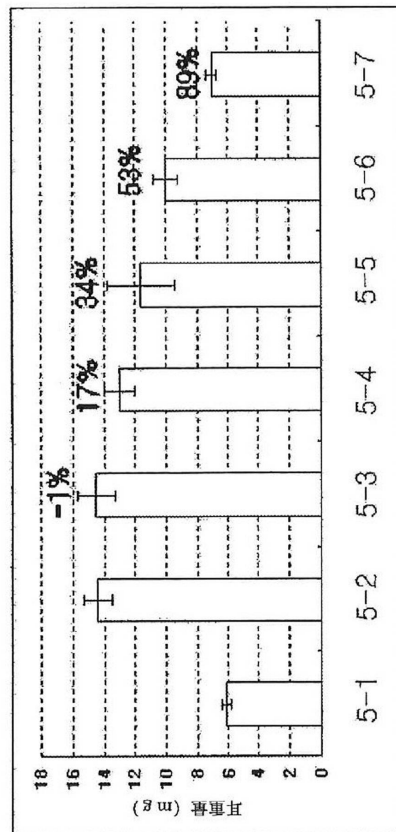
【図 2】



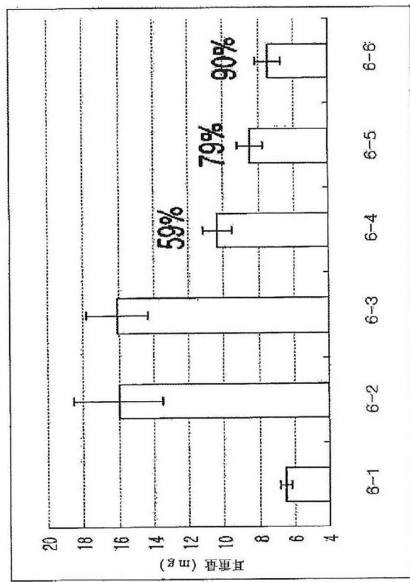
【図 3】



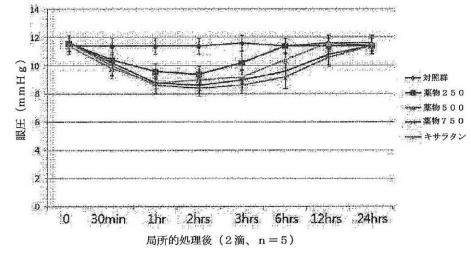
【図 4】



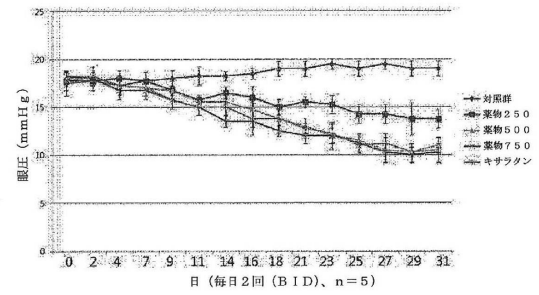
【図 5】



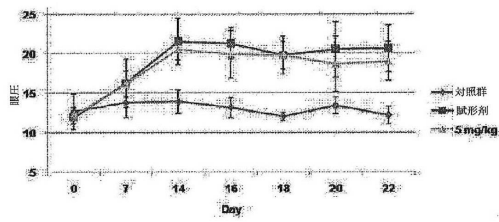
【図 6】



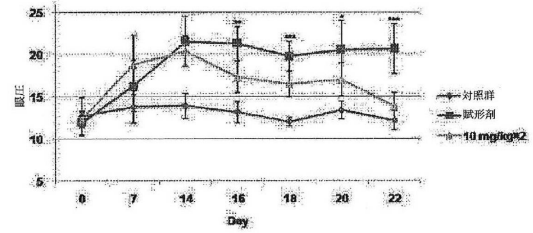
【図 7】



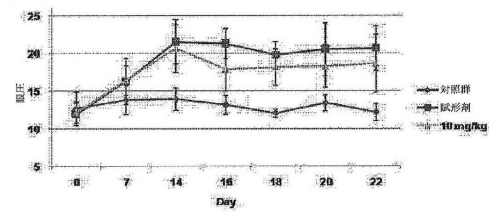
【図 8】



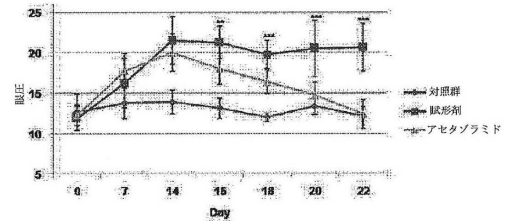
【図 11】



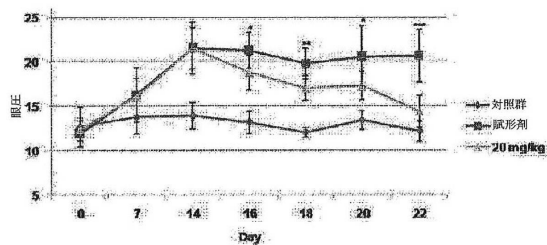
【図 9】



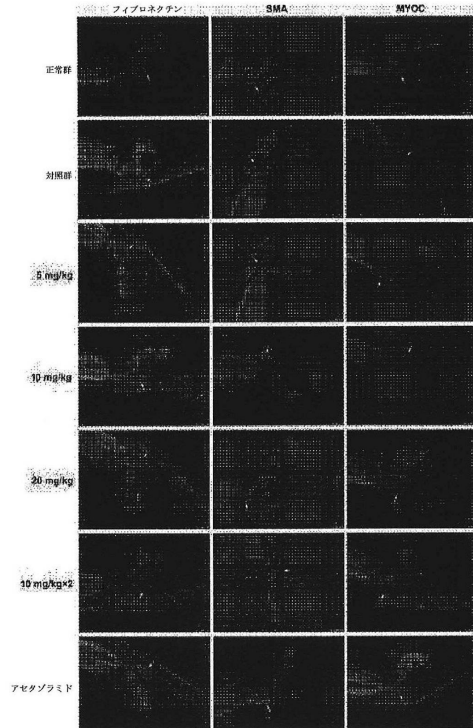
【図 12】



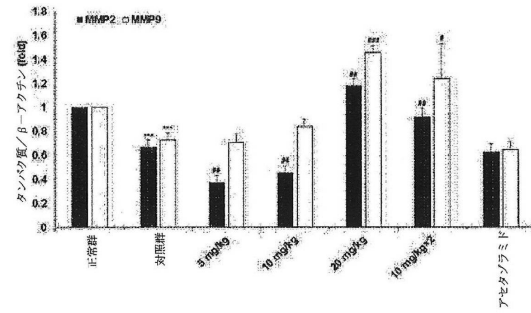
【図 10】



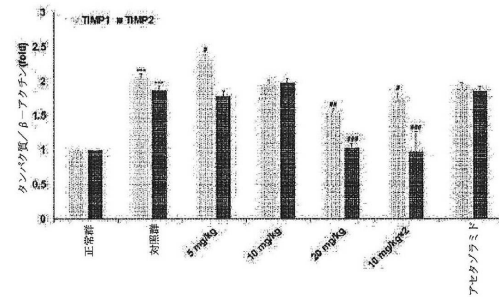
【図 13】



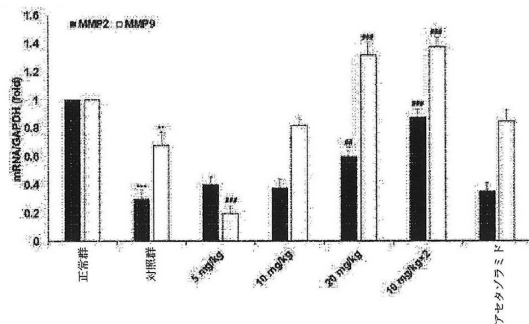
【図 14】



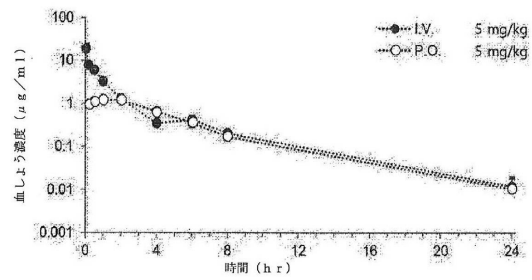
【図 15】



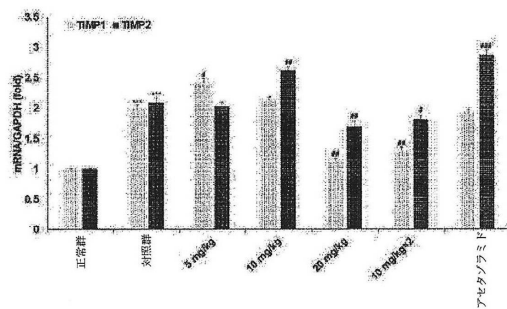
【図 16】



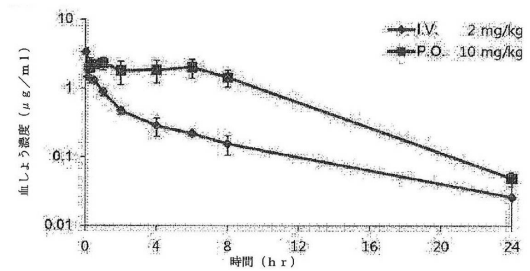
【図 18】



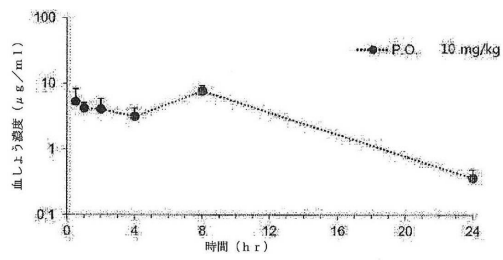
【図 17】



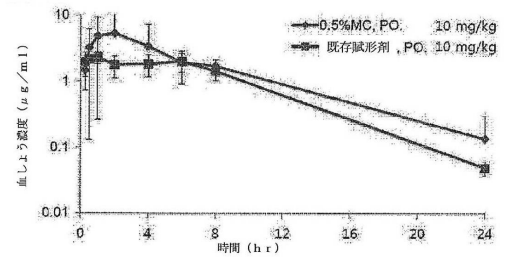
【図 19】



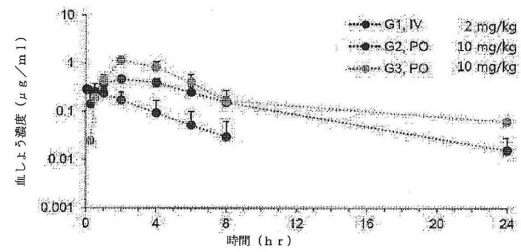
【図 20】



【図 22】



【図 21】



フロントページの続き

- (51)Int.Cl. F I
A 6 1 K 47/34 (2017.01) A 6 1 K 47/34
A 6 1 K 9/48 (2006.01) A 6 1 K 9/48
- (74)代理人 100214259
弁理士 山本 睦也
- (72)発明者 イ サンク
大韓民国 08061 ソウル ヤンチョング チュンアンロー 29ーギル 61 104ー
501
- (72)発明者 パク チョンウ
大韓民国 04354 ソウル ヨンサング セチャンロー 70 111ー1505
- (72)発明者 キム ヘア オク
大韓民国 06216 ソウル カンナムグ オンジュロー 332 107ー402
- (72)発明者 イ ヒウ
大韓民国 08744 ソウル クァナクグ チュンアン 2ーギル 22 ナンバー405
- (72)発明者 ユ ミラ
大韓民国 08706 ソウル クァナクグ ボンチョンロー 4ーギル 56ー2 ナンバー
201

審査官 伊藤 幸司

- (56)参考文献 特表2010ー505848 (JP, A)
特表2010ー520271 (JP, A)
国際公開第2012/125400 (WO, A1)
Exp Eye Res., 2010年, 90(1), pp.146-154
Biochimica et Biophysica Acta, 2013年, 1830, pp.2882-2890
The American Journal of Pathology, 2013年, 183(5), pp.1488-1497

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A 6 1 K
A 6 1 P
C 0 7 H
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)