



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0110845
(43) 공개일자 2008년12월19일

(51) Int. Cl.

C07D 403/08 (2006.01) C07D 473/00 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-7025605

(22) 출원일자 2008년10월20일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2008년10월20일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2007/053847

국제출원일자 2007년04월19일

(87) 국제공개번호 WO 2007/147659

국제공개일자 2007년12월27일

(30) 우선권주장

0607944.6 2006년04월21일 영국(GB)

(71) 출원인

노파르티스 아게

스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35

(72) 발명자

페어허스트, 로빈, 알렉

영국 알에이치12 5에이비 웨스트 서섹스 호삼 워
블허스트 로드 노바티스 호삼 리서치 센터

테일러, 로저, 존

영국 알에이치12 5에이비 웨스트 서섹스 호삼 워
블허스트 로드 노바티스 호삼 리서치 센터

(74) 대리인

양영준, 위혜숙

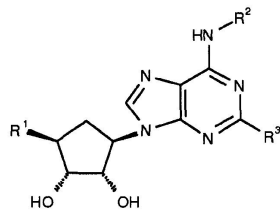
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 아데노신 A3 수용체 작용물질

(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 (I)의 화합물 및 이의 제조 방법과 이의 약제로서의 용도에 관한 것이다:

<화학식 I>



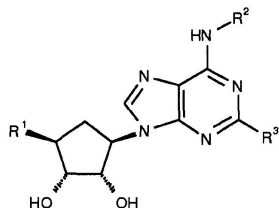
상기 식에서, R¹, R² 및 R³는 본원에서 정의한 바와 같다.

특허청구의 범위

청구항 1

유리된 형태 또는 염 형태의 하기 화학식 (I)의 화합물:

<화학식 I>

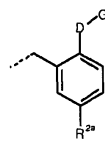


상기 식에서 R^1 은 1 내지 4개의 고리 질소 원자를 함유하고 임의로 산소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 1 내지 4개의 다른 헤테로 원자를 함유하는 N-결합된 3원 내지 12원 헤테로시클릭 기를 나타내고, 상기 기는 임의로 옥소, C1-C8 알콕시, C6-C10 아릴, R^{1a} 로, 또는 OH에 의해 임의로 치환된 C1-C8 알킬로 치환되거나;

R^1 은 -NH-C1-C8-알킬카르보닐, -NH-C3-C8-시클로알킬카르보닐, -NH-SO₂-C1-C8 알킬, -NH-C7-C14-아르알킬카르보닐, -NH-C(=O)-3원 내지 12원 헤테로시클릭기, -NH-C(=O)-C6-C10 아릴, 또는 R^{1a} 에 의해 임의로 치환된 -NH-C(=O)-C(=O)-NH-C1-C8 알킬이고, 상기 R^{1a} 는 질소, 산소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 고리 헤테로원자를 함유하는 3원 내지 12원 헤테로시클릭 기이며, 상기 3원 내지 12원 헤테로시클릭 고리는 임의로 할로, 시아노, 옥소, OH, 카르복시, 아미노, 니트로, C1-C8 알킬, C1-C8 알킬설폰, 아미노카르보닐, C1-C8 알킬카르보닐 또는 임의로 아미노카르보닐에 의해 치환된 C1-C8 알콕시에 의해 치환되며;

R^2 는 C1-C8 알킬, R- 및 S-1-페닐에틸, 미치환된 벤질기, 및 하나 이상의 위치에서 C1-C8 알킬, 아미노, 할로, C1-C8 할로알킬, 니트로, OH, 아세트아미도, C1-C8 알콕시 및 설포로 이루어진 군 중에서 선택된 치환체로 치환

된 페닐에틸 또는 벤질기로 이루어진 군 중에서 선택되거나, R^2 는



이고;

여기서, R^{2a} 는 할로, 트리플루오로메틸, 시아노, C1-C8 알킬, C1-C8 알킬옥시, 에테닐 또는 에티닐이며;

D는 옥시, 티오, NH, C1-C8 알킬옥시, C1-C8 알킬티오 또는 -CO-알킬아미노이고;

G는 임의로 산소, 황 및 질소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 5원 내지 8원 고리, 또는 임의로 질소, 황 및 산소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 독립적으로 선택된 2개의 융합된 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 3원 내지 6원 고리로 이루어진 바이시클릭 고리이며, 상기 G는 임의로 할로, C1-C8 알킬, 트리플루오로메틸, 트리플루오로메톡시, 니트로, 시아노, C3-C10 시클로알킬, 히드록시 또는 C1-C8 알콕시에 의해 독립적으로 일치환, 이치환 또는 삼치환되거나; 또는

G는 시아노, C1-C8 알콕시카르보닐, C3-C10 시클로알콕시카르보닐, C(O)NR⁴R⁵, C(S)NR⁴R⁵, C(NH)NR⁴NR⁵, C(N(C1-C3)알킬)NR⁴R⁵ 또는 C(N(C3-C10)시클로알킬)NR⁴R⁵이며;

R^3 은 H, 할로, 임의로 할로 또는 OH에 의해 치환된 C1-C8 알킬, C1-C8 알콕시, 아미노, C1-C8 알킬아미노, C2-C10 알켄, 임의로 C1-C8 알킬에 의해 치환된 C2-C10 알킨, 임의로 C1-C8 알킬 또는 OH에 의해 치환된 아릴, 티오 및 C1-C8 알킬티오이고;

R^4 는 결합, H, C1-C10 알킬, 히드록시, C1-C10 알콕시, C3-C10 시클로알콕시 또는 임의로 산소, 황 및 질소 중

에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖고 임의로 C1-C8 알킬을 통해 연결된 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 5원 내지 8원 고리이거나, 또는 바이시클릭 고리 또는 임의로 C1-C8 알킬을 통해 연결된 임의의 C1-C8 브리지를 갖는 바이시클릭 고리이고, 상기 바이시클릭 고리 또는 브리지를 갖는 바이시클릭 고리는 임의로 질소, 황 및 산소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖고, 상기 C1-C10 알킬, C1-C10 알콕시, C3-C10 시클로알콕시 또는 R^4 고리(들)은 임의로 할로, C1-C8 알킬, 트리플루오로메틸, 니트로, 시아노, C3-C10 시클로알킬, OH 또는 C1-C8 알콕시에 의해 독립적으로 일치환, 이치환 또는 삼치환되며;

R^5 는 결합, H, C1-C8 알킬 또는 C1-C10 시클로알킬이거나;

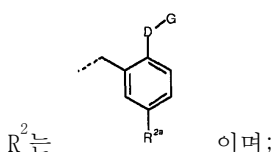
R^4 및 R^5 는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 완전 포화 또는 부분 불포화된 4원 내지 9원 고리(상기 고리는 임의로 브리지를 갖고, 임의로 산소, 황 및 질소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 가지며, 상기 고리는 임의로 옥소, 히드록시, C1-C8 알콕시, C1-C8 알킬, 아미노, 모노-N 또는 디-N,N-C1-C8 알킬 아미노카르보닐, 모노-N 또는 디-N,N-C3-C10 시클로알킬아미노카르보닐, N-C1-C8 알킬-N-C3-C10 시클로알킬아미노카르보닐, 모노-N 또는 디-N,N-C1-C8 알킬아미노, 모노-N 또는 디-N,N-C3-C10 시클로알킬아미노, N-C1-C8 알킬-N-C3-C10 시클로알킬아미노, 포르밀아미노, C1-C8 알킬카르보닐아미노, C3-C10 시클로알킬카르보닐아미노, C1-C8 알콕시카르보닐아미노, N-C1-C8 알콕시카르보닐-N-C1-C8 알킬아미노, C1-C8 설파모일, C1-C8 알킬설파모일 아미노, C3-C10 시클로알킬설파모일아미노 또는 임의로 C1-C8 알킬을 통해 연결되고 임의로 산소, 황 및 질소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화 5원 내지 8원 고리에 의해 독립적으로 일치환 또는 이치환됨), 또는 임의로 C1-C8 알킬을 통해 연결된 독립적으로 선택된 2개의 융합된 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 3원 내지 6원 고리로 이루어진 바이시클릭 고리(상기 바이시클릭 고리는 임의로 질소, 황 및 산소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖고, 임의로 할로, 트리플루오로메틸, 트리플루오로메톡시, C1-C8 알킬 또는 C1-C8 알콕시에 의해 일치환 또는 이치환됨)를 형성한다.

청구항 2

제 1 항에 있어서, R^1 은 1 내지 4개의 고리 질소 원자를 함유하고 임의로 산소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 1 내지 4개의 다른 헤테로 원자를 함유하는 N-결합된 3원 내지 12원 헤테로시클릭 기이거나, 또는

R^1 은 -NH-C1-C8 알킬카르보닐이고;

R^2 는 할로젠에 의해 임의로 치환된 C1-C8 알킬 또는 벤질이거나,



R^{2a} 는 할로, 트리플루오로메틸, 시아노, C1-C8 알킬, C1-C8 알콕시, 에테닐 또는 에티닐이고;

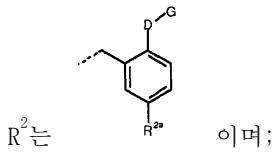
D는 옥시, 티오, NH, C1-C8 알콕시, C1-C8 알킬티오 또는 -CO-알킬아미노이며;

G는 임의로 산소, 황 및 질소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 5원 내지 8원 고리, 또는 임의로 질소, 황 및 산소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 독립적으로 선택된 2개의 융합된 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 3원 내지 6원 고리로 이루어진 바이시클릭 고리이고; 상기 G는 임의로 할로 또는 C1-C8 알킬에 의해 임의로 일치환, 이치환 또는 삼치환되며;

R^3 은 H, 할로, 임의로 할로 또는 OH에 의해 치환된 C1-C8 알킬, C1-C8 알콕시, 아미노, C1-C8 알킬아미노, C2-C10 알켄, 임의로 C1-C8 알킬에 의해 치환된 C2-C10 알킨, 임의로 C1-C8 알킬 또는 OH에 의해 치환된 C6-C10 아릴, 티오 및 C1-C8 알킬티오 중에서 선택되는 것인 화합물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, R^1 은 질소, 산소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 고리 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 12원 헤테로시클릭 기이거나, 또는 R^1 은 $-NH-C1-C8$ 알킬카르보닐이고;



R^{2a} 는 할로겐이고;

D는 C1-C8 알콕시이며;

G는 메틸기에 의해 치환된 5원 헤테로시클릭 기이거나; 또는

R^2 는 할로겐에 의해 치환된 벤질기이거나; 또는

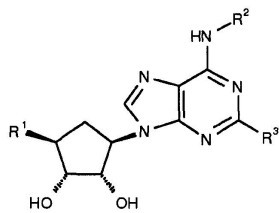
R^2 는 C1-C8 알킬이며;

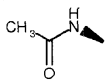
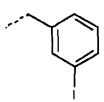

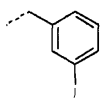
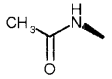
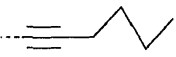
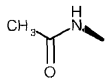
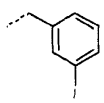
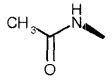
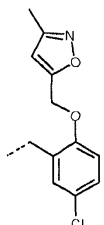
R^3 은 H, 할로 또는 C1-C8 알킬에 의해 임의로 치환된 C2-C10 알킨인 화합물.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 하기 화학식 (I)로 표시되고, 식 중, R^1 , R^2 및 R^3 가 다음과 같은 것인 화합물:

<화학식 I>



R^1	R^2	R^3
		Cl
		Cl
	CH ₃	
		H
		H

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 약제로서 유용한 화합물.

청구항 6

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에서 정의한 화합물을 포함하는 약학 조성물.

청구항 7

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에서 정의한 화합물의, 아데노신 A₃ 수용체의 활성화에 의해 매개되는 증상을 치료하기 위한 약제의 제조에서의 용도.

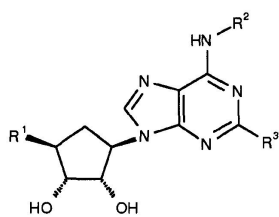
청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 아데노신 A₃ 수용체의 활성화에 의해 매개되는 증상이 류마티스성 관절염인 용도.

청구항 9

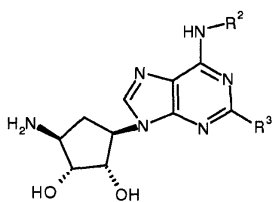
(i) (A) 하기 화학식 (I)의 화합물을 제조하고자 하는 경우, 하기 화학식 (Ia)의 화합물을 염기의 존재하에서 아세틸 클로라이드와 반응시키는 단계;

<화학식 I>



(상기 식에서, R¹, R² 및 R³는 상기에서 정의한 바와 같음)

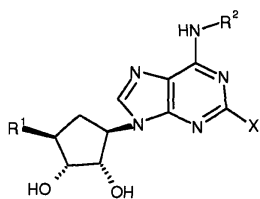
<화학식 Ia>



(상기 식에서 R² 및 R³는 상기에서 정의한 바와 같음)

(B) R³가 C2-C8 알킬닐인 화학식 (I)의 화합물을 제조하고자 하는 경우에는 하기 화학식 (Ib)의 화합물을 화학식 H—C≡C—R (식 중, R은 C1-C6 알킬임)의 화합물과 반응시키는 단계;

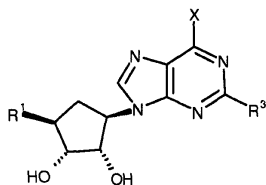
<화학식 Ib>



(상기 식에서 X는 이탈기임)

(C) 화학식 (I)의 화합물을 제조하고자 하는 경우, 하기 화학식 (Ic)의 화합물을 염기의 존재하에 화학식 H_2N-R^2 (식 중, R^2 는 상기에서 정의한 바와 같음)의 화합물과 반응시키는 단계; 및

<화학식 Ic>



(상기 식에서 R^1 및 R^3 는 상기에서 정의한 바와 같고, X는 이탈기임)

(ii) 형성된 화학식 (I)의 화합물을 유리된 형태 또는 약학적 허용 염의 형태로 회수하는 단계를 포함하는, 상기 화학식 (I)의 화합물의 제조 방법.

명세서

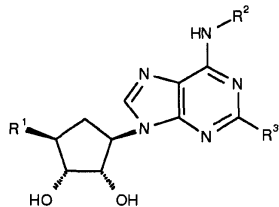
기술분야

<1> 본 발명은 유기 화합물, 이의 제조 방법 및 이의 약제로서의 용도에 관한 것이다.

발명의 상세한 설명

<2> 본 발명은 유리된 형태 또는 염 형태의 하기 화학식 (I)의 화합물을 제공한다:

화학식 I

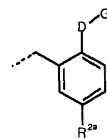


<3>

<4> 상기 식에서 R^1 은 1 내지 4개의 고리 질소 원자를 함유하고 임의로 산소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 1 내지 4개의 다른 헤테로 원자를 함유하는 N-결합된 3원 내지 12원 헤테로시클릭 기를 나타내고, 상기 기는 임의로 옥소, C1-C8 알콕시, C6-C10 아릴, R^{1a} 로, 또는 OH에 의해 임의로 치환된 C1-C8 알킬로 치환되거나; 또는

<5> R^1 은 임의로 OH에 의해 치환된 -NH-C1-C8-알킬카르보닐, -NH-C3-C8-시클로알킬카르보닐, -NH-SO₂-C1-C8 알킬, -NH-C7-C14-아르알킬카르보닐, -NH-C(=O)-3원 내지 12원 헤테로시클릭기, -NH-C(=O)-C6-C10 아릴, 또는 R^{1a} 에 의해 임의로 치환된 -NH-C(=O)-C(=O)-NH-C1-C8 알킬이고, 상기 R^{1a} 는 질소, 산소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 고리 헤테로원자를 함유하는 3원 내지 12원 헤테로시클릭 기이며, 상기 3원 내지 12원 헤테로시클릭 고리는 임의로 할로, 시아노, 옥소, OH, 카르복시, 아미노, 니트로, C1-C8 알킬, C1-C8 알킬설폰일, 아미노카르보닐, C1-C8 알킬카르보닐 또는 임의로 아미노카르보닐에 의해 치환된 C1-C8 알콕시에 의해 치환되며;

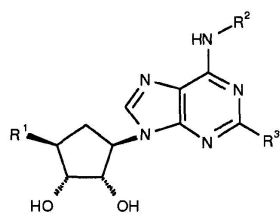
<6> R^2 는 C1-C8 알킬, R- 및 S-1-페닐에틸, 미치환된 벤질기, 및 하나 이상의 위치에서 C1-C8 알킬, 아미노, 할로, C1-C8 할로알킬, 니트로, OH, 아세트아미도, C1-C8 알콕시 및 설포로 이루어진 군 중에서 선택된 치환체로 치환



된 페닐에틸 또는 벤질기로 이루어진 군 중에서 선택되거나, R^2 는 이고;

- <7> 여기서, R^{2a} 는 할로, 트리플루오로메틸, 시아노, C1-C8 알킬, C1-C8 알킬옥시, 에테닐 또는 에티닐이며;
- <8> D는 옥시, 티오, NH, C1-C8 알킬옥시, C1-C8 알킬티오 또는 -CO-알킬아미노이고;
- <9> G는 임의로 산소, 황 및 질소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 5원 내지 8원 고리, 또는 임의로 질소, 황 및 산소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 독립적으로 선택된 2개의 융합된 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 3원 내지 6원 고리로 이루어진 바이시클릭 고리이며, 상기 G는 임의로 할로, C1-C8 알킬, 트리플루오로메틸, 트리플루오로메톡시, 니트로, 시아노, C3-C10 시클로알킬, 히드록시 또는 C1-C8 알콕시에 의해 독립적으로 일치환, 이치환 또는 삼치환되거나; 또는
- <10> G는 시아노, C1-C8 알콕시카르보닐, C3-C10 시클로알콕시카르보닐, $C(O)NR^4R^5$, $C(S)NR^4R^5$, $C(NH)NR^4NR^5$, $C(N(C1-C3)알킬)NR^4R^5$ 또는 $C(N(C3-C10)시클로알킬)NR^4R^5$ 이며;
- <11> R^3 은 H, 할로, 임의로 할로 또는 OH에 의해 치환된 C1-C8 알킬, C1-C8 알콕시, 아미노, C1-C8 알킬아미노, C2-C10 알켄, 임의로 C1-C8 알킬에 의해 치환된 C2-C10 알킨, 임의로 C1-C8 알킬 또는 OH에 의해 치환된 아릴, 티오 및 C1-C8 알킬티오이고;
- <12> R^4 는 결합, H, C1-C10 알킬, 히드록시, C1-C10 알콕시, C3-C10 시클로알콕시 또는 임의로 산소, 황 및 질소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖고 임의로 C1-C8 알킬을 통해 연결된 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 5원 내지 8원 고리이거나, 또는 바이시클릭 고리 또는 임의로 C1-C8 알킬을 통해 연결된 임의의 C1-C8 브리지를 갖는 바이시클릭 고리이고, 상기 바이시클릭 고리 또는 브리지를 갖는 바이시클릭 고리는 임의로 질소, 황 및 산소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖고, 상기 C1-C10 알킬, C1-C10 알콕시, C3-C10 시클로알콕시 또는 R^4 고리(들)은 임의로 할로, C1-C8 알킬, 트리플루오로메틸, 니트로, 시아노, C3-C10 시클로알킬, OH 또는 C1-C8 알콕시에 의해 독립적으로 일치환, 이치환 또는 삼치환되며;
- <13> R^5 는 결합, H, C1-C8 알킬 또는 C1-C10 시클로알킬이거나; 또는
- <14> R^4 및 R^5 는 이들이 부착되어 있는 질소 원자와 함께, 완전 포화 또는 부분 불포화된 4원 내지 9원 고리(상기 고리는 임의로 브리지를 갖고, 임의로 산소, 황 및 질소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 가지며, 상기 고리는 임의로 옥소, 히드록시, C1-C8 알콕시, C1-C8 알킬, 아미노, 모노-N 또는 디-N,N-C1-C8 알킬아미노카르보닐, 모노-N 또는 디-N,N-C3-C10 시클로알킬아미노카르보닐, N-C1-C8 알킬-N-C3-C10 시클로알킬아미노카르보닐, 모노-N 또는 디-N,N-C1-C8 알킬아미노, 모노-N 또는 디-N,N-C3-C10 시클로알킬아미노, N-C1-C8 알킬-N-C3-C10 시클로알킬아미노, 포르밀아미노, C1-C8 알킬카르보닐아미노, C3-C10 시클로알킬카르보닐아미노, C1-C8 알콕시카르보닐아미노, N-C1-C8 알콕시카르보닐-N-C1-C8 알킬아미노, C1-C8 설파모일, C1-C8 알킬설포닐아미노, C3-C10 시클로알킬설포닐아미노 또는 임의로 C1-C8 알킬을 통해 연결되고 임의로 산소, 황 및 질소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 5원 내지 8원 고리에 의해 독립적으로 일치환 또는 이치환됨), 또는 임의로 C1-C8 알킬을 통해 연결된 독립적으로 선택된 2개의 융합된 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 3원 내지 6원 고리로 이루어진 바이시클릭 고리(상기 바이시클릭 고리는 임의로 질소, 황 및 산소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖고, 임의로 할로, 트리플루오로메틸, 트리플루오로메톡시, C1-C8 알킬 또는 C1-C8 알콕시에 의해 일치환 또는 이치환됨)를 형성한다.
- <15> 또한, 본 발명은 유리된 형태 또는 염 형태의 하기 화학식 (I)의 화합물을 제공한다:

<16> <화학식 I>

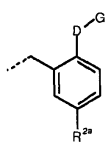


<17>

<18> 상기 식에서 R¹은 1 내지 4개의 고리 질소 원자를 함유하고 임의로 산소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 1 내지 4개의 다른 헤테로 원자를 함유하는 N-결합된 3원 내지 12원 헤테로시클릭 기이거나, 또는

<19> R¹은 -NH-C1-C8 알킬카르보닐이고;

<20> R²는 할로젠에 의해 임의로 치환된 C1-C8 알킬 또는 벤질이거나,



<21> R²는 이며;

<22> R²ᵃ는 할로, 트리플루오로메틸, 시아노, C1-C8 알킬, C1-C8 알콕시, 에테닐 또는 에티닐이고;

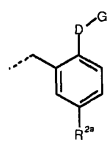
<23> D는 옥시, 티오, NH, C1-C8 알콕시, C1-C8 알킬티오 또는 -CO-알킬아미노이며;

<24> G는 임의로 산소, 황 및 질소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 3개의 헤테로원자를 갖는 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 5원 내지 8원 고리, 또는 임의로 질소, 황 및 산소 중에서 독립적으로 선택된 1 내지 4개의 헤테로원자를 갖는 독립적으로 선택된 2개의 융합된 부분 포화, 완전 포화 또는 완전 불포화된 3원 내지 6원 고리로 이루어진 바이시클릭 고리이고; 상기 G는 임의로 할로 또는 C1-C8 알킬에 의해 임의로 일치환, 이치환 또는 삼치환되며;

<25> R³은 H, 할로, 임의로 할로 또는 OH에 의해 치환된 C1-C8 알킬, C1-C8 알콕시, 아미노, C1-C8 알킬아미노, C2-C10 알켄, 임의로 C1-C8 알킬에 의해 치환된 C2-C10 알킨, 임의로 C1-C8 알킬 또는 OH에 의해 치환된 C6-C10 아릴, 티오 및 C1-C8 알킬티오 중에서 선택된다.

<26> 화학식 (I)에 있어서, R¹은 질소, 산소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 고리 헤테로원자를 함유하는 5원 내지 12원 헤테로시클릭 기인 것이 적당하다. R¹은 트리아졸과 같은 5원 내지 6원 헤테로시클릭 기인 것이 바람직하다.

<27> 화학식 (I)에 있어서, R¹은 또한 -NH-C1-C8 알킬카르보닐인 것이 적당하다. 상기 -NH-C1-C8 알킬카르보닐은 -NHC(O)CH₃인 것이 바람직하다.



<28> 화학식 (I)에 있어서, R²는 인 것이 적당하고,

<29> 식 중, R²ᵃ는 염소와 같은 할로젠인 것이 적당하며;

<30> D는 C1-C8 알콕시인 것이 적당하고;

<31> G는 메틸기에 의해 일치환된 이속사졸과 같은 5원 헤테로시클릭 기인 것이 적당하다.

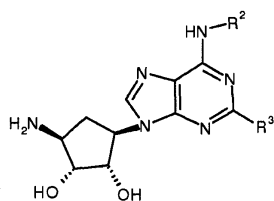
<32> 화학식 (I)에 있어서, R²는 할로젠에 의해 일치환된 벤질기인 것도 적당하다. 할로젠은 요오드인 것이 바람직하

다.

- <33> 화학식 (I)에 있어서, R^2 는 C1-C8 알킬인 것도 적당하다. 메틸이 바람직하다.
- <34> 화학식 (I)에 있어서, R^3 은 H, 할로 또는 C1-C8 알킬에 의해 임의로 치환된 C2-C10 알킬인 것이 적당하다.
- <35> 용어의 정의
- <36> 본 명세서에서 사용된 용어들은 다음과 같은 의미를 갖는다:
- <37> "임의로 치환된"이란 언급된 기가 이후에 기재된 하나의 라디칼 또는 조합된 라디칼에 의해 하나 이상의 위치에 서 치환될 수 있음을 의미한다.
- <38> 본 명세서에 사용한 "할로" 또는 "할로젠"은 플루오르, 염소, 브롬 또는 요오드일 수 있다.
- <39> 본 명세서에 사용한 "히드록시"는 OH를 말한다.
- <40> 본 명세서에 사용한 "C1-C8 알킬"은 탄소 원자 수가 1 내지 8개인 직쇄 또는 분지쇄 알킬을 가리킨다. C1-C8 알킬은 C1-C4 알킬인 것이 바람직하다.
- <41> 본 명세서에서 사용한 "C1-C8 알콕시"는 탄소 원자 수가 1 내지 8개인 직쇄 또는 분지쇄 알콕시, 예컨대 O-C1-C8 알킬을 가리킨다. C1-C8 알콕시는 C1-C4 알콕시인 것이 바람직하다.
- <42> 본 명세서에서 사용한 "C1-C8 알킬아미노" 및 "디-C1-C8 알킬아미노"는 각각 앞에서 정의한 바와 같은 하나 또는 동일하거나 상이한 것일 수 있는 1개 또는 2개의 C1-C8 알킬기에 의해 치환된 아미노를 가리킨다.
- <43> 본 명세서에서 사용한 "C1-C8 알킬카르보닐" 및 "C1-C8 알콕시카르보닐"는 각각 탄소 원자에 의해서 카르보닐기에 결합된 앞에서 정의한 바와 같은 C1-C8 알킬 또는 C1-C8 알콕시를 가리킨다.
- <44> 본 명세서에 사용한 "C6-C10 아릴"은 탄소 원자 수가 6 내지 10개이고, 페닐과 같은 모노시클릭 기 또는 나프틸과 같은 바이시클릭 기일 수 있는 1가의 카르보시클릭 방향족 기를 가리킨다.
- <45> 본 명세서에 사용한 "C7-C14 아르알킬"은 앞에서 정의한 바와 같은 C6-C10 아릴에 의해 치환된 앞에서 정의한 바와 같은 알킬, 예를 들면 C1-C4 알킬을 가리킨다. C7-C14 아르알킬은 C7-C10 아르알킬, 예컨대 페닐-C1-C4 알킬인 것이 바람직하다.
- <46> 본 명세서에서 사용한 "C1-C8 알킬아미노카르보닐" 및 "C3-C8 시클로알킬아미노카르보닐"은 탄소 원자에 의해 카르보닐기에 결합된 각각 전술한 바와 같은 C1-C8 알킬아미노 및 C3-C8 시클로알킬아미노를 가리킨다. C1-C8 알킬아미노카르보닐 및 C3-C8 시클로알킬아미노카르보닐은 각각 C1-C4 알킬아미노카르보닐 및 C3-C8 시클로알킬아미노카르보닐인 것이 바람직하다.
- <47> 본 명세서에서 사용한 "C3-C15 카르보시클릭 기"는 탄소 원자 수가 3 내지 15개인 카르보시클릭 기, 예를 들면 방향족 또는 비방향족인 모노시클릭 기, 예컨대 시클로프로필, 시클로펜틸, 시클로헥실, 시클로헵틸, 시클로옥틸 또는 페닐; 또는 바이시클릭 기, 예컨대 바이시클로옥틸, 바이시클로노닐, 바이시클로데실, 인다닐 또는 인데닐을 가리키며, 이러한 기들은 하나 이상, 통상적으로는 1개 또는 2개의 C1-C4 알킬기에 의해 치환될 수 있다.
- <48> 본 명세서에서 사용한 "질소, 산소 및 황으로 이루어진 군 중에서 선택된 하나 이상의 고리 헤테로원자를 함유하는 3원 내지 12원 헤테로시클릭 고리"는 예컨대 푸란, 피롤, 피롤리딘, 피라졸, 이미다졸, 트리아졸, 이소트리아졸, 테트라졸, 티아디아졸, 이소티아졸, 옥사디아졸, 피리딘, 피페리딘, 피라진, 옥사졸, 이속사졸, 피라진, 피리다진, 피리미딘, 피페라진, 피롤리딘, 모르폴리노, 트리아진, 옥사진 또는 티아졸일 수 있다. 바람직한 헤테로시클릭 고리로서는 피페라진, 피롤리딘, 모르폴리노, 이미다졸, 이소트리아졸, 피라졸, 테트라졸, 티아졸, 트리아졸, 티아디아졸, 피리딘, 피페리딘, 피라진, 푸란, 옥사졸, 이속사졸, 옥사디아졸 및 아세티딘을 들 수 있다. 상기 3원 내지 12원 헤테로시클릭 고리는 치환되지 않거나 치환될 수 있다.
- <49> 명세서 및 첨부된 청구의 범위 전반에 걸쳐서, 특별한 언급이 없는 한, "포함한다" 또는 이의 변형된 형태, 예를 들면 "포함하는"이란 표현은 기재된 정수나 단계 또는 정수나 단계들의 집합을 포함하되, 다른 정수나 단계 또는 정수나 단계들의 집합을 배제하지 않는 의미로 이해하여야 한다. 당업자이 잘 알고 있는 바와 같이, 화학적으로 가능한 치환체들의 조합만이 본 발명의 실시양태에 존재한다.

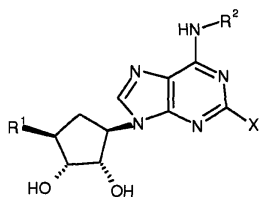
- <50> 화학식 (I)로 표시되는 특히 바람직한 구체적인 화합물들은 후술하는 실시예에 기재되어 있다.
- <51> 입체이성질체는 비대칭 탄소 원자가 존재하는 화합물이다. 이러한 화합물은 각각의 광학 활성 이성질체 형태 또는 이들의 혼합물 형태, 예를 들면 부분입체이성질체 혼합물 형태로 존재한다. 본 발명은 각각의 광학 활성 R 및 S 이성질체 뿐만 아니라 이들의 혼합물도 모두 포함한다. 각각의 이성질체는 당업자에게 잘 알려진 방법, 예를 들면 키랄 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의해서 분리시킬 수 있다.
- <52> 호변이성질체는 평형 상태로 존재하고 한 이성질체 형태에서 다른 한 이성질체 형태로 쉽게 전환되는 2개 이상의 구조 이성질체 중 하나이다.
- <53> 본 발명의 화합물은 용매화되지 않은 형태 또는 용매화된 형태로 존재할 수 있다. 여기서 사용한 "용매화물"이란 용어는 본 발명의 화합물과 1종 이상의 약학적으로 허용되는 용매 분자, 예를 들면 에탄올을 포함하는 분자 복합체를 의미한다. "수화물"이란 용어는 상기 용매가 물인 경우에 사용된다.
- <54> 합성
- <55> 또한, 본 발명은 유리된 형태 또는 염 형태의 상기 화학식 (I)의 화합물의 제조 방법을 제공하며, 본 발명의 제조 방법은,
- <56> (i) (A) 화학식 (I)의 화합물을 제조하고자 하는 경우, 하기 화학식 (Ia)의 화합물을 염기의 존재하에서 아세틸 클로라이드와 반응시키는 단계;

화학식 Ia



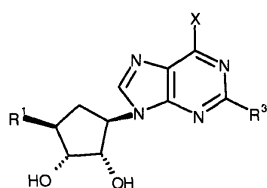
- <57>
- <58> (상기 식에서 R^2 및 R^3 는 앞에서 정의한 바와 같음)
- <59> (B) R^3 가 C2-C8 알킬인 화학식 (I)의 화합물을 제조하고자 하는 경우에는 하기 화학식 (Ib)의 화합물을 화학식 $H-C\equiv C-R$ (식 중, R은 C1-C6 알킬임)의 화합물과 반응시키는 단계;

화학식 Ib



- <60>
- <61> (상기 식에서 X는 이탈기임)
- <62> (C) 화학식 (I)의 화합물을 제조하고자 하는 경우, 하기 화학식 (Ic)의 화합물을 염기의 존재하에 화학식 H_2N-R^2 (식 중, R^2 는 앞에서 정의한 바와 같음)의 화합물과 반응시키는 단계; 및

화학식 Ic



<63>

<64> (상기 식에서 R^1 및 R^3 는 앞에서 정의한 바와 같고, X는 이탈기임)

<65> (ii) 형성된 화학식 (I)의 화합물을 유리된 형태 또는 약학적 허용 염의 형태로 회수하는 단계.

<66> 상기 화학식 (I)의 화합물은, 예를 들면 이하에 설명하고 실시예에 기재한 반응 및 기법을 사용하여 제조할 수 있다. 반응은 사용된 반응 시약 및 물질에 적합하고 수행하고자 하는 전환 반응에 대해 적합한 용매 중에서 수행할 수 있다. 유기 합성 분야에 알려져 있는 바와 같이, 분자상에 존재하는 작용기는 소정의 전환 반응과 양립하여야 한다. 경우에 따라서는, 본 발명의 바람직한 화합물을 얻기 위해서, 합성 단계의 순서를 변경하거나 다른 공정보다도 우선적으로 특정한 한 공정을 선택할 필요가 있을 것이다.

<67> 이하의 반응 도식에 나타난 합성 중간체 및 최종 생성물상에 존재하는 다양한 치환체들은 당업자가 필요한 것으로 판단하였을 경우에는 적절한 보호기에 의해 완전 동화된 형태로, 또는 차후에 당업자에게 잘 알려진 방법에 의해서 최종 형태로 동화될 수 있는 전구체 형태로 존재할 수 있다. 또한, 치환체들을 합성 공정 전반에 걸쳐 다양한 단계에서 첨가하거나 합성 공정을 완료한 후에 부가할 수 있다. 많은 경우에, 통상 사용되는 작용기 조작법을 이용하여 한 중간체를 다른 중간체로 전환시키거나, 또는 한 화학식 (I)의 화합물을 다른 한 화학식 (I)의 화합물로 전환시킬 수 있다. 이와 같은 조작법의 예를 들면 에스테르나 케톤을 알코올로 전환시키는 방법; 에스테르를 케톤으로 전환시키는 방법, 에스테르, 산 및 아미드간의 상호전환 방법; 알코올과 아민의 알킬화, 아실화 및 설폰화 등을 들 수 있다. 또한, 치환체는 통상의 반응, 예를 들면 알킬화, 아실화, 할로젠화 또는 산화 반응을 사용해서 부가할 수 있다. 이와 같은 조작법은 당업자에게 잘 알려져 있으며, 많은 참고 문헌에는 이와 같은 조작법의 절차와 방법이 요약되어 있다. 많은 작용기 조작법 및 유기 합성 분야에 통상 사용되는 다른 전환 방법에 대한 유기 합성의 주요 문헌에 대한 예 및 참고 자료를 제공하는 참고 문헌으로서, [March's Organic Chemistry, 5th Edition, Wiley and Chichester, Eds. (2001)]; [Comprehensive Organic Transformations, Larcock, Ed., VCH (1989)]; [Comprehensive Organic Functional Group Transformations, Katritzky et al. (series editors), Pergamon (1995)]; 및 [Comprehensive Organic Synthesis, Trost and Fleming (series editors), Pergamon (1991)]을 들 수 있다. 당해 분야에서 합성 경로를 계획하는데 있어서 또 다른 주요 고려 사항은 본 발명의 화합물에 존재하는 반응성 작용기를 보호하기 위해 사용된 보호기의 합당한 선택임을 잘 알것이다. 동일한 분자내의 여러 개의 보호기들을, 각 보호기를 동일 분자내의 다른 보호기를 제거하지 않고 제거할 수 있도록 선택하거나, 또는 소정의 결과에 따라서 동일한 반응 공정을 사용해서 여러 개의 보호기들을 제거할 수 있도록 선택할 수 있다. 당분야의 숙련자들에게 많은 대안들을 설명해주는 문헌으로서 [Protective Groups In Organic Synthesis, Greene and Wuts, Eds., Wiley and Sons (1999)]가 있다. 당업자라면 화학적으로 가능한 치환체들의 조합만이 본 발명의 실시양태에 존재한다는 사실을 잘 알것이다.

<68> 약리학적 활성 및 용도

<69> 화학식 (I)의 화합물 및 이의 약학적 허용 염은 약제로서 유용하다. 구체적으로, 이들은 아데노신 A3 수용체를 활성화시킨다. 즉, 이들은 A2A 수용체 작용물질로서 작용한다. A3 작용물질로서의 이들의 특성은 국제 공개 특허 공보 WO 05/063246호, W002/055085호, W095/02604호 및 W006/011130호에 설명되어 있다.

<70> 후술하는 실시예의 화합물들은 다음과 같은 분석에서 5.0 μ M 미만의 K_i 값과 EC_{50} 값을 나타내었다. 예를 들면, 실시예 1의 화합물은 K_i 결합 분석에서 0.91 nM의 K_i 값을 나타내었고, $A_3[^{35}S]\text{-GTP}_\gamma\text{S}$ 작용 분석에서 11.0 nM의 EC_{50} 값을 나타내었다.

<71> A3 결합 분석 프로토콜

<72> 약어 목록

- <73> A₃: 아데노신 A₃ 수용체
- <74> BSA: 소 혈청 알부민
- <75> CHO: 중국 햄스터 난소(Chinese hamster ovary)
- <76> DMSO: 디메틸 설펝사이드
- <77> EDTA: 에틸렌디아민 테트라아세트산
- <78> FCS: 소 태아 혈청
- <79> HEPES: 4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-에탄설폰산
- <80> I-AB-MECA: N6-(4-아미노-3-요오도벤질)-5'-N-메틸카르바모일-아데노신
- <81> K_d: 해리 상수
- <82> MgCl₂: 염화마그네슘
- <83> NaCl: 염화나트륨
- <84> 트리스-HCl: 트리스(히드록시메틸)-아미노메탄 염산염
- <85> 서론
- <86> 광범위한 생물학적 작용을 갖는 내생 조절인자인 아데노신은 A₁, A_{2A}, A_{2B} 및 A₃으로 분류되는 4개 이상의 세포 표면 수용체 아형과 상호작용하며, 상기 수용체 아형들은 모두 G 단백질에 결합된다. 이에 관해서는 문헌 [Linden, Annu Rev Pharmacol Toxicol, Vol. 41, pp. 775-787 (2001)]을 참조할 수 있다.
- <87> 최근까지, 아데노신의 항염증 작용의 대부분은 A_{2A} 수용체를 통해서 발생하는 것으로 생각되었다. 그러나, 상기 A₃ 아형은 염증과 퇴행성 신경 질환(문헌 [Kohno et al., Biochem Biophys Res Commun, Vol. 219, pp. 904-910 (1996)] 참조) 및 천식([문헌 [Jacobson et al., Neuropharmacology, Vol. 36, pp. 1157-1165 (1997)] 참조)과 같은 다른 병상에서도 기본적인 역할을 할 수 있다.
- <88> 아데노신 유도체인, 4-아미노벤질-5'-N-메틸-카르복사미도아데노신(AB-MECA)는 대조 화합물로서 사용되는 잠재적인 A₃ 수용체 선택적 작용물질이다(문헌 [Varani et al., Life Sci, Vol. 63, No. 5, pp. 81-87 (1998)] 참조).
- <89> 본 발명의 화합물을 요오드화된 리간드 [¹²⁵I]-AB-MECA와 인간 A₃ 수용체를 안정적으로 발현하는 CHO 세포로부터 제조된 막을 사용하여 A₃ 결합 분석으로 테스트하였다.
- <90> 방법
- <91> 재료
- <92> - CHO 아데노신 A₃ 막
- <93> - [¹²⁵I]-AB-MECA: 애머삼 파마시아 바이오테크(Amersham Pharmacia Biotech)(Cat# TRK)
- <94> - CGS21680: 토크리스(Tocris)(1063)
- <95> - 유니필터(Unifilter) GF/B96-웰 평판: 퍼킨 엘머(Perkin Elmer)(Cat# 6005174)
- <96> - 96-웰 U형 바닥 폴리프로필렌 평판: 그라이너(Greiner)(Cat# 650201)
- <97> - 탑실(TopSeal): 캔버라 팩커드(Canberra Packard)(Cat# 6005185)
- <98> - BSA: 시그마(Sigma)(Cat# A-6003)
- <99> - 아데노신 데아미나제(1000 U/mL): 로슈 다이아그노스틱스 리미티드(Roche Diagnostics Limited)(Cat# 102121)

- <100> - 마이크로신티-20(1 L): 퍼킨 엘머(Cat# 6013611)
- <101> - 다른 모든 화학물질은 시그마(Sigma)로부터 입수함.
- <102> A₃ 막 제조
- <103> 완충액
- <104> - 완충액 A 10 mM HEPES, 0.9% NaCl, 0.2% EDTA, pH 7.4
- <105> - 완충액 B 10 mM HEPES, 10 mM EDTA, pH 7.4
- <106> - 완충액 C 10 mM HEPES, 0.1 mM EDTA, pH 7.4
- <107> - A₃ 배지: 글루타맥스(Glutamax), 50 mL FCS(가열 불활성화됨)(Cat#10108-157, 인비트로젠(invitrogen)), 5 mL HEPES(1M)(Cat# 15630-056, 인비트로젠)을 함유한 이스코브스(Iscoves) 변형 DMEM (Cat# 31980-022, 인비트로젠) 500 mL.
- <108> 제조 프로토콜
- <109> - A₃ CHO 세포를 37℃ 및 5% CO₂하에 95% 융합물까지 플러 병에서 배양하였다.
- <110> - 이어서 40 mL의 빙냉된 완충액 A(상승 완충액)을 첨가하고, 플러 병을 10분동안 항온배양기에 복귀시켰다.
- <111> - 이어서 세포를 멸균 스크래퍼를 사용해서 병 표면으로부터 분리시키고 얼음 위에 놓인 50 mL 팔콘(Falcon) 튜브로 옮겼다.
- <112> - 이어서, 로울러 표면을 완충액 A 10 mL로 세척하였다. 이 세척액을 팔콘 튜브로 옮겨넣은 후에 4℃에서 5분 동안 500 g으로 원심분리하였다.
- <113> - 상청액을 제거하고 빙냉된 완충액 B(분해 완충액) 25 mL를 펠릿에 첨가하였다.
- <114> - 펠릿을 폴리트론(5초 동안 각 파열 처리 회수 사이에 20초 간격을 두고 4회 파열 처리)을 사용해서 얼음 위에서 균질화시켰다.
- <115> - 균질화시킨 이후에, 튜브를 4℃에서 25분 동안 베크만 아반티 J-251 울트라센트리퓨지(Beckman Avanti J-251 Ultracentrifuge)를 사용해서 39,000 x g으로 원심분리하였다.
- <116> - 상청액을 제거하고 빙냉된 완충액 C(냉동 완충액) 20 mL를 튜브에 첨가하였다.
- <117> - 일단 얼음 위에서 폴리트론을 사용하여 펠릿을 다시 균질화시킨 다음, 4℃에서 25분 동안 베크만 아반티 J-251 울트라센트리퓨지를 사용해서 39,000 x g으로 원심분리하였다.
- <118> - 상청액을 제거하고, 펠릿을 빙냉된 완충액 1 mL에 재현탁시켰다.
- <119> - 단백질 정량은 소 혈청 알부민을 표준물질로 사용해서 브래드포드 단백질 마이크로 분석기(Bradford Protein Micro-Assay)(바이오라드, BioRad[®])에 의해 평가하였다.
- <120> - 막 농도를 조정하고 필요에 따라 완충액 C를 분취해서 -80℃에 보관하기 전에 잠깐 냉동시켰다.
- <121> 결합 분석
- <122> 완충액
- <123> - 분석 완충액. 50mM 트리스-HCl, pH 7.4, 10 mM MgCl₂, 1 mM EDTA 및 0.1% w/v BSA. BSA를 일단 첨가한 후에는, 4℃에 보관하고 1주동안 유지시킴.
- <124> - 세척 완충액. 50 mM 트리스-HCl, pH 7.4 및 0.9% NaCl, 4℃에 보관함.
- <125> 화합물 제조
- <126> 대조 화합물 및 테스트 화합물의 10 mM 용액을 DMSO 중에서 제조하였다. 이 원료 용액들을 4% DMSO(v/v)를 함유하는 분석 완충액으로 희석하여 최종 농도를 40 μM로 만들었다.

- <127> K_d 측정
- <128> CHO A₃ 막에 대한 방사능리간드 결합을 방사능 표지된 작용물질인 [¹²⁵I]-AB-MECA를 0.002-5 nM 범위의 농도로 사용하여 수행함으로써 포화 결합을 얻었다. 결합 실험은 분석 완충액 총 부피 200 μL 중에서 2.5 μg 막을 사용하여 두벌로 수행하였다. 비특이적인 결합은 작용물질 I-AB-MECA 10 μM 존재하에서 측정하였다.
- <129> 결합 분석
- <130> 분석은 U자형 바닥을 가진 폴리프로필렌 96-웰 평판에서 최종 부피 200 μL/웰에서 수행하였다. 분석 성분들을 다음과 같이 첨가하였다:
- <131> - 4%(v/v) DMSO를 함유하는 분석 완충액 중의 테스트 화합물 50 μL. 총 결합은 부형제 50 μL를 사용해서 측정하였다. 비특이적인 결합은 최종 분석 농도 10 μM까지 40 μM I-AB-MECA 50 μL를 사용하여 측정하였다.
- <132> - [¹²⁵I]-AB-MECA 50 μL는 1 nM의 농도(4회)로 최종 분석 농도 0.25 nM까지 첨가하였다.
- <133> - CHO A₃ 막 100 μL는 4 U/mL의 아데노신 데아미나제(ADA)(최종 분석 농도 2 U/mL)를 함유하는 분석 완충액 중에서 25 μg/mL의 농도로 최종 분석 농도 2.5 μg/웰까지 첨가하였다.
- <134> 화합물 희석액은 바이오맥(Biomek) 2000 상에서 제조하여 40-0.002 μM(4x) 범위의 일련의 10 가지 농도의 희석액을 제공하였다. 각 농도의 희석액을 토탉 콰드라(Tomtec Quadra)를 사용해서 다이넥스(Dynex) 96-웰 평판으로 옮겼다. 총 결합은 I-AB-MECA의 부재하에서 측정하였으며, 비특이적인 결합은 10 μM I-AB-MECA의 존재하에서 측정하였다. CHO A₃ 막을 사용 직전에 해동시켜서 아데노신 데아미나제를 4 U/mL(2x)로 함유하는 분석 완충액 중의 25 μg/mL 농도로 희석하였다. 현탁액을 사용할 때까지 얼음 위에 계속 놓아두었다. 방사능리간드 [¹²⁵I]-AB-MECA를 희석하고 96-웰 평판의 모든 웰에 50 μL씩 첨가하여 최종 방사능리간드 농도를 0.25 nM로 만들었다. 희석된 막 제제 100 μL를 각 웰에 첨가하여 총 단백질 농도를 2.5 μg/웰로 만들고 분석 완충액을 웰당 50 μL 첨가하였다. 96-웰 평판을 짧게 혼합하고 실온에서 120분 동안 항온 처리하였다.
- <135> 분석 평판으로부터 얻은 샘플들을 유니필터 GF/B 평판(여기에는 모든 웰에 0.5%(w/v) 폴리에틸렌이민 50 μL가 사전에 첨가되어 있음)으로 자동화된 토탉 9600 수확기를 사용해서 수확하였다. 유니필터 GF/B 평판을 50℃에서 3시간 동안 항온 처리하거나 실온에서 밤새 항온 처리하여 필터를 건조시켰다. 이면 필터를 유니필터 GF/B 평판에 부착하고, 마이크로신티-20을 각 웰에 첨가한 후, 탐살-S를 제조업체의 지침에 따라 사용하여 평판을 밀봉하였다. 유니필터 GF/B 평판을 팩커드 탑카운트(Packard TopCount)를 사용해서 계수하였다(¹²⁵I-신티레이션, 1 분/웰). 분당 계수(cpm)을 사용해서 IC₅₀을 측정하고 이 값으로부터 하기 수학적 식 1을 사용해서 K_i를 측정하였다. 이에 관해서는 문헌 [Cheng and Prusoff, Biochem Pharmacol, Vol. 22, pp. 3099-3018 (1974)]을 참조할 수 있다.

수학적 식 1

$$Ki = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{C}{Kd}}$$

- <136>
- <137> 상기 식에서, C는 방사능리간드의 농도이고, K_d는 리간드에 대한 해리 상수이다.
- <138> A₃[³⁵S]-GTP_γS 결합 작용 분석
- <139> 약어 목록
- <140> [³⁵S]-GTP_γS: 구아노신 5'-[γ-³⁵S]티오프로스포에이트, 트리에틸암모늄염
- <141> BSA: 소 혈청 알부민
- <142> CHO: 중국 햄스터 난소(Chinese hamster ovary)

- <143> DMSO: 디메틸 설펍사이드
- <144> GDP: 구아노신 5'-디포스페이트
- <145> GTP_γS: 구아노신 5'-O-(3-티오텐리포스페이트)
- <146> HEPES: 4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-에탄설폰산
- <147> I-AB-MECA: N6-(4-아미노-3-요오도벤질)-5'-N-메틸카르바모일-아데노신
- <148> MgCl₂: 염화마그네슘
- <149> NaCl: 염화나트륨
- <150> SPA: 신틸레이션 근사 분석법
- <151> 트리스-HCl: 트리스(히드록시메틸)-아미노메탄 염산염
- <152> WGA: 밀 배아 아글루티닌
- <153> 본 발명의 화합물의 작용 반응을 확립하기 위해서, 아데노신 A 수용체를 안정적으로 형질발현하는 CHO 세포로부터 제조된 막에서 [³⁵S]-GTP_γS 결합에 대한 A₃ 작용물질의 자극 여부를 측정하였다. 작용물질에 의해 유도된 활성화된 G 단백질에 대한 [³⁵S]-GTP_γS의 결합 자극은, 아데노신 수용체를 비롯한 다양한 유도체에 대한 작용 분석 수단으로 이용되고 있다. 이에 관해서는 문헌 [Lorenzen et al., Mol Pharmacol, Vol. 49, pp. 915-926 (1996)] 및 [Jacobson et al., Drug Dev Res, Vol. 37, p. 131 (1996)]을 참조할 수 있다.
- <154> [³⁵S]-GTP_γS 결합 분석을 수행할 때는 여러 가지 사항을 고려해야 한다. 먼저, GDP를 분석에 포함시켜서 G-단백질 불활성화를 촉진한다. 과량의 GDP는 G-단백질 활성화의 촉매 반응 속도를 저하시킬 수 있으며, 고효능 작용물질은 이러한 저하된 속도에 대해 덜 민감하다. 저효능 작용물질은 고농도의 GDP가 존재할 경우에는 반응을 나타내기가 힘들 것이다. 고효능 작용물질이 GDP 블록을 극복할 수 있는 이유에 대한 한 가지 가능한 이론은 수용체 형상의 변화를 유발하거나 안정화시킨다는 것이다. 둘째로, 분석시 기준선 활성을 저하시키기 위해 고농도의 나트륨 이온이 필요하고, 그 결과 고효능 결합이 손상될 수 있다. 셋째로, βγ 서브유닛으로부터 α형으로의 해리에는 Mg²⁺ 이온이 필요하며, 이는 특정한 작용물질의 결합능력에 영향을 미칠 수 있다. 또한, Mg²⁺ 이온의 존재는 GTP_γS의 비가역적인 결합을 유발할 수 있으므로 비평형 상태가 발생할 수 있다. 마지막으로, [³⁵S]-GTP_γS 결합 분석에서, GTP_γS는 모든 G-단백질에 결합한다. 즉, GTP_γS는 상이한 G-단백질들을 구분하지 않으며, 다른 막 단백질 분석의 경우와 마찬가지로, 프로테아제에 의한 단백질 분해에도 민감하다.
- <155> 상기 로젠젠 (Lorenzen) 등의 문헌(1996)에 설명된 종래의 GTP_γS 결합 분석은 여과에 근거한 방법이므로, 분리 단계를 필요로 한다. 본 발명자들은 이 방법을 SPA 형태로 실시할 수 있도록 변형시킴으로써 반자동화되고 균질한 형태로 사용될 수 있도록 하였다. SPA 분석에서, 막들은 밀 배아 아글루티닌(WGA) SPA 비이드에 의해 WGA와 막 표면상의 당단백질의 탄수화물 잔기 사이의 특이적인 상호작용을 통해서 포획된다. 수용체 자극시, [³⁵S]-GTP_γS는 G-단백질의 알파 서브유닛에 특이적으로 결합하므로 [³⁵S]-GTP_γS를 SPA 비이드내로 밀접하게 가교시킨다. [³⁵S]-GTP_γS로부터 방출된 β 입자들은 비이드내에서 섬광체를 여기시키고 광을 발광한다. 용액 중의 유리된 [³⁵S]-GTP_γS는 SPA 비이드와 밀접하게 존재하지 않으므로 섬광체를 활성화시키지 못하고, 따라서 광을 발광하지 않는다.
- <156> 방법
- <157> 재료
- <158> - CHO 아데노신 A₃ 세포
- <159> - N-2-히드록시에틸피페라진-N-2-에탄설폰산(HEPES)(인비트로젠, Cat#15630-056)

- <160> - BSA(실질적으로 유리 지방산)(시그마, Cat# A-6003)
- <161> - 트리스(BDH 바이오케미칼스, Cat#443864E)
- <162> - 에틸렌디아민-테트라아세트산(EDTA)(시그마, Cat# E-5391)
- <163> - $MgCl_2$ (무수)(시그마, Cat# M-8266)
- <164> - GDP(나트륨염)(시그마, Cat# G-7127)
- <165> - $GTP_{\gamma}S$ (테트라리튬염)(시그마, Cat# G-8634)
- <166> - [^{35}S]- $GTP_{\gamma}S$ (애머삼 SJ1320, 1 $\mu Ci/\mu L$)
- <167> - WGA SPA 비이드(애머삼 인터내셔널, Cat# SPQ 0031)
- <168> - 폴리프로필렌 96-웰 평판: (그라이너, Cat# 650201)
- <169> - 백색 비결합 표면 96-웰 옵티플레이트(Optiplate): 팩커드 Cat# 6005190
- <170> - 탐실: (캔버라 팩커드 카운터 Cat# 6005185)
- <171> A₃ 막 제조
- <172> 완충액
- <173> - 완충액 A 10 mM HEPES, 0.9% NaCl, 0.2% EDTA, pH 7.4
- <174> - 완충액 B 10 mM HEPES, 10 mM EDTA, pH 7.4
- <175> - 완충액 C 10 mM HEPES, 0.1 mM EDTA, pH 7.4
- <176> - A₃ 배지: 글루타맥스, 50 mL FCS(가열 불활성화됨)(Cat#10108-157, 인비트로젠), 5 mL HEPES(1M)(Cat# 15630-056, 인비트로젠)을 함유한 이스코브스 변형 DMEM (Cat# 31980-022, 인비트로젠) 500 mL.
- <177> 제조 프로토콜
- <178> - A₃ CHO 세포를 37℃ 및 5% CO₂하에 95% 융합률까지 롤러 병에서 배양하였다.
- <179> - 이어서 40 mL의 빙냉된 완충액 A(상승 완충액)를 첨가하고, 롤러 병을 10분동안 항온배양기에 복귀시켰다.
- <180> - 이어서 세포를 멸균 스크래퍼를 사용해서 병 표면으로부터 분리시키고 얼음 위에 놓인 50 mL 팔콘 튜브로 옮겼다.
- <181> - 이어서, 로울러 표면을 완충액 A 10 mL로 세척하였다. 이 세척액을 팔콘 튜브로 옮겨넣은 후에 4℃에서 5분 동안 500 g으로 원심분리하였다.
- <182> - 상청액을 제거하고 빙냉된 완충액 B(분해 완충액) 25 mL를 펠릿에 첨가하였다.
- <183> - 펠릿을 폴리트론(5초 동안 각 파열 처리 회수 사이에 20초 간격을 두고 4회 파열 처리)을 사용해서 얼음 위에서 균질화시켰다.
- <184> - 균질화시킨 이후에, 튜브를 25분 동안 4℃에서 베크만 아반티 J-251 울트라센트리피지를 사용해서 39,000 x g으로 원심분리하였다.
- <185> - 상청액을 제거하고 빙냉된 완충액 C(냉동 완충액) 20 mL를 튜브에 첨가하였다.
- <186> - 일단 얼음 위에서 폴리트론을 사용하여 펠릿을 다시 균질화시킨 다음, 4℃에서 25분 동안 베크만 아반티 J-251 울트라센트리피지를 사용해서 39,000 x g으로 원심분리하였다.
- <187> - 상청액을 제거하고, 펠릿을 빙냉된 완충액 1 mL에 재현탁시켰다.
- <188> - 단백질 정량은 소 혈청 알부민을 표준물질로 사용해서 브래드포드 단백질 마이크로 분석기(바이오라드)에 의해 평가하였다.

- <189> - 막 농도를 조정하고 필요에 따라 완충액 C를 분취해서 -80℃에 보관하기 전에 잠깐 냉동시켰다.
- <190> 비이드 저장 완충액
- <191> - 50 mM 트리스-HCl (7.88 mg/mL), pH 7.4
- <192> - 용액은 4℃에 보관하였다.
- <193> 분석 완충액
- <194> - 20 mM HEPES (4.766 g/L)
- <195> - 10 mM MgCl₂ (2.033 g/L)
- <196> - 100 mM NaCl (5.844 g/L)
- <197> - 1 mM EDTA (0.452 g/L)
- <198> - pH 7.4
- <199> - %BSA (1 g/L)
- <200> WGA PVT SPA 비이드는 분석 완충액 중에서 250 mg/mL 농도로 제조하여 최대 1주동안 4℃에 보관하였다.
- <201> [³⁵S]-GTP_γS- 원료 [³⁵S]-GTP_γS의 농도는 해당일에 하기 수학적 2와 같은 방식으로 측정하였다.

수학적 2

- <202>
$$[^{35}\text{S}]\text{-GTP}_{\gamma}\text{S의 몰 농도 } (\mu\text{M}) = \frac{\text{방사능 농도 (mCi/mL)}}{\text{원료의 특이 활성 (Ci/mmol)}} \times 1000$$
- <203> 예: 5일째, 활성은 0.961 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ (애머삼 카다로그 뒤에 첨부된 [³⁵S]의 방사능 붕괴표로부터 구함, 기준값= 1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$)이므로, 특이 활성이 1082 Ci/mmol인 [³⁵S]-GTP_γS의 배치에 대한 몰농도는(mCi/mmol) (0.961 X 1000)/1082= 0.888 μM 이다.
- <204> 분석 프로토콜
- <205> 분석은 백색 비결합 표면 96-웰 옵티플레이트에서 최종 부피 250 μL /웰 중에서 수행하였다. 분석 성분은 다음과 같이 첨가하였다.
- <206> - 96-웰 옵티플레이트의 모든 웰에 분석 완충액 25 μL 를 첨가하였다.
- <207> - 10 μM GDP 25 μL 도 각 웰에 첨가하였다.
- <208> - 웰 A1 내지 D1, 및 E12 내지 H12에는 10% DMSO/분석 완충액(기준 반응을 측정하기 위한 대조군) 25 μL 를 첨가하였다.
- <209> - 웰 E1 내지 H1 및 A12 내지 D12에는 10% DMSO/분석 완충액 중의 100 nM I-AB-MECA 25 μL (최대 자극을 측정하기 위한 대조군) 첨가하였다.
- <210> - 화합물은 팁 변화를 사용해서 바이오맥 상에서 희석하였으며(10% DMSO/분석 완충액 3개의 희석 농도 중 하나), 25 μL 를 옵티플레이트에 두벌로 옮겼다.
- <211> - [³⁵S]-GTP_γS를 1.25 nM로 희석하고(상기 참조) 25 μL 를 각 웰에 첨가하여 최종 분석 농도를 웰당 0.125 nM [³⁵S]-GTP_γS로 만들었다.
- <212> - 막을 분석 완충액을 사용해서 25 $\mu\text{g/mL}$ 로 희석하였다.
- <213> - SPA 비이드의 원료 용액을 분석 완충액으로 희석하여 농도를 5 mg/mL로 만들었다.
- <214> - 평판에 첨가하기 직전에(사용전 20분 이내) 비이드를 막과 1:2 비율로 혼합하였다(50 μL 비이드 : 100 μL

막).

<215> - 비이드와 막 혼합물 150 μ L을 각 웰에 첨가하였다.

<216> - 평판을 탑실로 밀봉하고 40 내지 170분 동안 실온에서 항온 처리하였다.

<217> - 평판을 10분동안 실온에서 850 x g로 원심분리하고(주앙(Jouan B4i)) 팩커드 탐카운트, 프로그램 [35 S dpm] 상에서 웰당 1분동안 즉시 판독하였다.

<218> 따라서, 본 발명의 화합물들은 아데노신 A_3 수용체의 활성화에 의해 매개되는 증상의 치료에 유용할 수 있다.

<219> 예를 들면, 본 발명을 이용하여 WO 04/045627호에 기재된 바와 같이 류마티스성 관절염을 치료할 수 있다.

<220> 또한, 본 발명은 A_3 아데노신 수용체 작용물질(A_3 RAg)를 투여하여 WO 05/063246호에 기재된 바와 같이 다발성 경화증 증상을 경감시킬 수 있다는 의외의 발견에 기초한 것이다.

<221> 한 실시양태에서, 본 발명은 다발성 경화증(MS)의 치료를 요하는 개인에게 유효량의 A_3 RAg를 투여하는 것을 포함하는, 인체 피검체에서 다발성 경화증을 치료하는 방법에 관한 것이다.

<222> 본 명세서에서 "다발성 경화증(MS)"라는 용어는 신경 절연 미엘린 껍질이 부분적으로 상실되어 여러 가지 병리 증상을 일으키는 중추신경계(CNS)의 염증성 질환을 말한다. MS는 다양한 유형의 질병, 예를 들면 퇴행/진정(RRMS), 2차 진행성(SPMS), 진행성 퇴행(PRMS) 및 일차 진행성(PPMS) 등의 질병을 포함한다.

<223> 본 명세서에서 "치료" 또는 "신경통성 보호"라는 용어는 질병의 임상 징후에 있어서의 개선 및/또는 MS 환자의 열화 또는 퇴행 속도의 감소, 및 환자의 건강 상태의 개선을 언급한 것이다. 예를 들면, 다음 중 하나 이상에 의해서 개선 효과가 나타날 수 있다: 근육 허약의 감소, 근육 경련의 감소, 경련성 마비의 감소, 균형의 개선 및 기억의 개선.

<224> 또한, 본 발명은 아데노신 수용체 작용물질이 WO 02/055085호에 기재된 바와 같이 세포내 바이러스 복제를 억제 한다는 발견에 기초한 것이다. 따라서, 본 발명에 의하면, 유효량의 1종 이상의 A_3 RAg를 세포에 제시하는 것을 포함하는, 세포내 바이러스 복제를 억제하는 방법이 제공된다.

<225> 본 발명에 의한 작용물질은 아데노신 A_3 수용체의 완전 또는 부분 작용물질이다. 여기서, 어떤 화합물이 아데닐레이트 시클라제(A_3)를 완전히 억제할 수 있을 경우에, 그 화합물은 아데노신 A_3 수용체의 "완전 작용물질"이고, 어떤 화합물이 아데닐레이트 시클라제(A_3)를 부분적으로 억제할 수 있을 경우에, 그 화합물은 아데노신 A_3 수용체의 "부분 작용물질"이다.

<226> 또한, 본 발명에 의하면, 유효량의 상기 1종 이상의 A_3 RAg를 포함하는 세포내 바이러스 복제 억제용 약학 조성물, 및 상기 활성 성분(즉, A_3 RAg)을 상기 약학 조성물의 제조에 사용하는 용도가 제공된다.

<227> 본 발명은 특히 인간 세포에서 HIV 바이러스 복제를 억제하는데 유용하지만, 이에 국한되는 것은 아니다.

<228> 본 발명의 방법은 WO 95/02604호에 개시된 바와 같은 생체내 용도에 특히 유용할 수 있다. 예를 들면, WO 95/02604호에 개시된 바와 같이, A_3 아데노신 수용체 작용물질은 이노시톨-1,4,5-트리포스페이트(IP3), 디아실글리세롤(DAG) 및 유리 라디칼의 방출 및 차후의 아라키돈산 연속단계(cascade)를 포함하는 질병 상태 또는 증상을 치료하는데 사용될 수 있다. 따라서, 고혈액압, 운동 과잉증, 고혈압, 긴장 항진증, 급성 저산소혈증, 우울증 및 불임증을 본 발명의 방법에 따라서 치료할 수 있으며, 이때 전술한 바와 같은 화합물 중 한 화합물을 신속하게, 즉, 증상이 개시 또는 발현된지 약 수 분 내지 약 1 시간 이내에 투여한다. 또한, 본 발명의 방법은 만성 질병 상태 및 증상, 구체적으로 상기 화합물 중 한 화합물을 장기적 예방 또는 치료용으로 투여하여 증상의 개시를 방지하거나 회복 기간을 줄일 수 있는 증상 및 질병 상태에도 유용하다. 본 발명의 방법에 따라 장기적으로 치료할 수 있는 질병 상태 및 증상의 예로서는, 염증성 질환, 예컨대 혈관 염증 및 관절염, 알레르기, 천식, 외상 치유, 졸중, 심부전증, 급성 척수 손상, 급성 두부 손상 또는 트라우마, 간질, 신생아 저산소혈증(대뇌 마비; 장기적인 치료는 태반 순환을 통해 장기간 노출시키는 것을 포함한다), 동정맥 이형성 및 폐색성 대뇌 동맥 질환에 기인한 만성 저산소혈증, 흥분독성과 관련된 극심한 신경학적 장애, 파킨슨병, 헌팅톤 무도병, 및 기타 중추신경계 질환, 심장 질환, 신장 질환 및 피임을 들 수 있다.

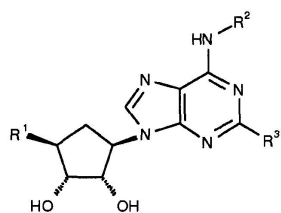
- <229> 더욱이, 상기 화합물들은 기초 또는 전신 혈압을 증가시키는 것으로 밝혀졌으므로, 이 화합물을 장기간 투여하여 악성 저혈압증을 치료할 수 있다. 예를 들면 IB-MECA를 투여하면 기초 또는 전신 혈압(예를 들면 약 70 mmHg에서 약 90 mmHg로)이 현저하게 증가한다(예를 들면, 약 10-30 t).
- <230> 또한, 상기 화합물들은 대뇌 보호제인 것으로 밝혀졌다. 상기 화합물들을 그 자체로 여러 가지 장애, 예를 들면 간질, 일시적 허혈 쇼크, 졸중, 혈전 또는 뇌출혈에 기인한 국소 허혈, 심장 박동 정지에 기인한 광범위 허혈, 트라우마, 신생아 마비, 저혈량성 쇼크, 기관지확장증을 비롯한 장애를 치료 및/또는 대비하는데, 수면 촉진제로서, 다발성 경화증과 같은 미엘린 손실성 질환 치료제로서, 예컨대 대뇌 출혈 손상, 척수 허혈 관류 손상, 고혈당증 및 관련된 신경병상에 대한 신경보호제로서 사용될 수 있다. 또한, 상기 화합물, 특히 예를 들면 IB-MECA는 대인식(procognitive) 효과를 갖는 것으로 밝혀졌으므로, 이러한 효과가 유용한 것으로 입증된 장애를 치료하는데, 예를 들면 알츠하이머병 및 기타 치매 및 인식 장애를 치료하는데 사용될 수 있다.
- <231> WO 06/011130호에 의하면, A₃RAg를 인간 피검체에 투여하면 쇼그렌 증후군(SS)의 증상이 완화된다.
- <232> 따라서, 본 발명은 한 실시양태에서, SS의 치료를 요하는 개인에게 유효량의 A₃RAg를 투여하는 것을 포함하는, 인간 피검체에서 SS를 치료하는 방법을 제공한다. 한 바람직한 실시양태에서, A₃RAg는 국소, 예를 들면 눈 또는 피부에 국소 투여된다. 다른 바람직한 실시양태에서, A₃RAg는 경구 투여된다.
- <233> 본 발명에서 "SS"라는 용어는 면역 세포가 눈물과 침을 생산하는 선을 공격하여 파괴하는 KCS를 일으키는 자가 면역 장애이다. 본 발명의 한 실시양태에서, 상기 용어는 이차 SS로서 분류된 장애를 언급한 것이다. 바람직한 실시양태에서, 이차 SS는 류마티스 증상으로부터 야기된다. 장애의 증상들로서는 눈, 구강, 피부, 코 및 생식기 건조증을 들 수 있으며, 신장, 혈관, 폐, 간, 췌장 및 뇌를 비롯한 신체의 다른 기관에도 영향을 미칠 수 있다.
- <234> 본 발명의 방법은 SS를 포함하는 건성안에서의 안과학적 임상적 증상 및 징후를 치료 또는 방지하는 것으로 이해된다. SS에서의 안과학적 임상적 증상으로서의 이물감, 작열감 및 따끔거림을 들 수 있지만, 이에 국한되는 것은 아니며, SS에서의 안과학적 임상적 징후로서는 플루오레세인 및 로즈 벵갈(rose Bengal)에 의해 착색된 각막 및 결막 침식 및, 및 눈물막 분해를 들 수 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.
- <235> 본 발명의 약제는 WO 01/23399호, WO 95/02604호, WO 05/063246호, WO 02/055085호 및 WO 06/011130호에 기재된 바와 같은 다른 활성 약제와 함께 사용될 수 있다.
- <236> 본 발명의 약제는 WO 01/23399호, WO 95/02604호, WO 05/063246호, WO 02/055085호 및 WO 06/011130호에 기재된 바와 같이, 임의의 적절한 경로를 통해서, 예를 들면 정제 또는 캡슐 형태로 경구 투여하거나, 비경구 투여, 예컨대 정맥내 또는 흡입에 의해 투여할 수 있다.
- <237> 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 유리된 형태 또는 약학적 허용 염 형태의 상기 화학식 (I)의 화합물을, 임의로 약학적 허용 희석제 또는 담체와 함께 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 본 발명의 조성물은 전술한 바와 같이, 보조 치료제, 예를 들면 항염증제, 기관지 확장제, 항히스타민제 또는 진해제를 함유할 수 있다. 본 발명의 조성물은 통상의 희석제 또는 부형제를 사용하여 생약 분야에 알려진 기법을 사용해서 제조할 수 있다. 따라서, 경구 투여 제형으로서 정제 및 캡슐을 들 수 있다. 국소 투여용 제제는 크림, 연고, 겔 또는 경피 전달 시스템, 예컨대 패치의 형태를 취할 수 있다. 흡입용 조성물은 에어로졸 또는 다른 분무 가능한 제제 또는 건조 분말 제제를 포함할 수 있다. 그밖의 제제는 WO 01/23399호, WO 95/02604호, WO 05/063246호, WO 02/055085호 및 WO 06/011130호에 기재된 바와 같은 것일 수 있다.
- <238> 물론, 본 발명을 실시하는데 사용된 화학식 (I)의 화합물의 투여 용량은, WO 01/23399호, WO 95/02604호, WO 05/063246호, WO 02/055085호 및 WO 06/011130호에 기재된 바와 같이, 치료하고자 하는 구체적인 증상, 목적하는 효과 및 투여 방식에 따라 달라질 것이다.
- <239> 이하에서는 실시예에 의거하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다.

실시예

<240> 실시예 1-5

<241> 화학식 (I)의 화합물

<242> <화학식 I>



<243>

실시예	R¹	R²	R³
1			Cl
2			Cl
3		CH₃	
4			H
5			H

<244>

<245> 실시예 1

<246> (1S,4R)-4-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-엔올

<247> 2,6-디클로로퓨린(10 g, 52.90 mmol), (1S,4R)-시스-4-아세톡시-2-시클로펜텐-1-올(10 g, 70.40 mmol), 트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(0)(3.20 g, 3.50 mmol) 및 중합체 지지된 트리페닐포스핀(3 mmol/g, 11.60 g, 35.00 mmol)을 아르곤 대기하에서 오븐 건조된 플라스크에 넣었다. 탈산소 처리된 건조 THF(80 L)를 첨가하고 반응 혼합물을 5분 동안 완만하게 교반하였다. 트리에틸아민(20 mL)을 첨가하고 반응 혼합물을 50℃에서 교반하였다. 1시간 경과후 LCMS로 확인한 결과 반응은 완결된 것으로 나타났다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 여과한 후에 용매를 진공 중에서 제거하였다. 플래쉬 컬럼 크로마토그래피(실리카, 디클로로메탄:메탄올 25:1)로 정제한 후에 표제 화합물을 수득하였다.

<248>

¹H nmr (CDCl₃, 400 MHz); 8.30(s, 1H), 6.40(m, 1H), 5.90(m, 1H), 5.50(m, 1H), 4.95(m, 1H), 3.05(m, 1H), 2.10(m, 1H), MS (ES+) m/z 271 (MH⁺).

<249> 탄산 (1S,4R)-4-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐 에스테르 에틸 에스테르

<250> (1S,4R)-4-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-엔올(9.5 g, 35.05 mmol)을 아르곤 대기하에서 오븐 건조된 플라스크에 넣었다. 건조 THF(200 mL)를 첨가한 후에 건조 피리딘(5.54 g, 70.1 mmol)을 첨가하였다. 에틸 클로로포르메이트(15.21 g, 140.2 mmol)을 온도가 40℃를 초과해서 상승하지 않도록 서서히 첨가하고 반응 혼합물을 실온에서 교반하였다. 1시간 경과후 LCMS로 확인한 결과 반응은 완결된 것으로 나타났다. 용매를 진공 중에서 제거하고 잔류물을 디클로로메탄(200 mL)과 물(200 mL) 사이에 분배시켰다. 유기 층을 물(150 mL) 및 염수(150 mL)로 세척하고, MgSO₄로 건조시키고 여과한 후에 용매를 진공 중에서 제거하였다. 메탄올로부터 결정화한 후에 표제 화합물을 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz); 8.20(s, 1H), 6.45(m, 1H), 6.25(m, 1H), 5.75(m, 1H), 5.70(m, 1H), 4.25(q, 2H), 3.20(m, 1H), 2.05(m, 1H), 1.35(t, 3H), MS (ES+) *m/e* 343 (MH⁺).

<252> 디-Boc-[(1S,4R)-4-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐]-아민

<253> 탈산 (1S,4R)-4-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐 에스테르 에틸 에스테르(2.5 g, 7.29 mmol), 디-t-부틸 이미노디카르복실레이트(1.74 g, 8.02 mmol), 트리스(디벤질리덴아세톤)디팔라듐(0)(0.33 g, 0.36 mmol) 및 트리페닐포스핀(0.29 g, 1.09 mmol)을 아르곤 대기하에서 오븐 건조된 플라스크에 넣었다. 탈산소 처리된 건조 THF(30 mL)를 첨가하고 반응 혼합물을 실온에서 교반하였다. 3시간 경과후 LCMS로 확인한 결과 반응은 완결된 것으로 나타났다. 용매를 진공 중에서 제거한 다음, 플래쉬 컬럼 크로마토그래피(실리카, 에틸 아세테이트:이소헥산 4:1)로 정제한 후에 표제 화합물을 수득하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz); 8.70(s, 1H), 6.20(m, 1H), 5.85(m, 1H), 5.80(m, 1H), 5.40(m, 1H), 3.20(m, 1H), 2.15(m, 1H), 1.55(s, 18H), MS (ES+) *m/e* 470 (MH⁺).

<255> (1S,2R,3S,5R)-3-(디-t-부톡시카르보닐아미노)-5-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-시클로펜탄-1,2-디올

<256> 과요오드산나트륨(682 mg, 3.19 mmol)을 함유하는 물(5 mL)에 루테늄 트리클로라이드 삼수화물(60 mg, 0.29 mmol)을 용해시킴으로써 루테늄 테트록사이드의 진한 적색/주황색 용액을 제조하고, 그 용액을 한번에 에틸 아세테이트:아세토니트릴 1:1(30 mL) 중의 (1S,4R)-1-(디-t-부톡시카르보닐아미노)-4-(2,6-디클로로퓨린-9-일)-시클로펜트-2-엔(1.00 g, 2.12 mmol)의 냉각된 용액(얼음/물 배스에서 0℃로 냉각)에 첨가하였다. 형성된 흐린 갈색 혼합물을 얼음/물상에서 10분동안 교반한 후에, 포화 수성 메타아황산나트륨(25 mL)을 첨가함으로써 반응을 종료하고 1 시간 동안 교반하였다. 에틸 아세테이트(75 mL)를 첨가함으로써 혼합물을 희석하고, 물(25 mL씩 2회)과 염수(20 mL)로 연속해서 세척한 후에, 황산마그네슘으로 건조시켰다. 감압하에 여과하고 휘발성 성분을 제거하여 목적 화합물을 담황색 고형물로서 수득하였으며, 이를 더 이상 정제하지 않고 사용하였다.

<257> (1S,2R,3S,5R)-3-(디-t-부톡시카르보닐아미노)-5-[2-클로로-6-(3-요오도벤질아미노)-퓨린-9-일]-시클로펜탄-1,2-디올

<258> 3-요오도벤질아민(500 mg, 2.15 mmol)과 트리에틸아민(400 μL, 291 mg, 2.9 mmol)을 디클로로메탄(5 mL)에 용해시켜서, 디클로로메탄(20 mL) 중의 (1S,2R,3S,5R)-3-(디-t-부톡시카르보닐아미노)-5-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-시클로펜탄-1,2-디올(1.07 g, 2.12 mmol)의 용액에 첨가하였다. 주위 온도에서 4일동안 반응 혼합물을 교반시킨 후에, 감압하에 휘발성 성분을 제거하였다. 아르곤노트 플래쉬마스터 퍼스널 시스템(Argonaut Flashmaster Personal system)을 사용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피에 의해서 미정제 잔류물로부터 소정의 생성물을 정제하였다. 잔류물을 이소헥산으로 미리 포화시킨 배리언 메가본드 일루트 플래쉬(Megabond Elut Falsh) Si 카트리지 70 g 상으로 최소량의 디클로로메탄에 용해시켜 가하였다. 생성물을 이소헥산(250 mL)로 용출시킨 후에 1:1 에틸 아세테이트:이소헥산(1 L)로 용출시켜서 정제하고, 순수한 분류물을 합친 다음, 감압하에서 용매를 제거하여 생성물을 베이지색 포움으로서 수득하였다(610 mg; 41% 수율). LC-MS: MH⁺ 701.49.

<259> (1S,2R,3S,5R)-3-아미노-5-[2-클로로-6-(3-요오도벤질아미노)-퓨린-9-일]-시클로펜탄-1,2-디올

<260> (1S,2R,3S,5R)-3-(디-t-부톡시카르보닐아미노)-5-[2-클로로-6-(3-요오도벤질아미노)-퓨린-9-일]-시클로펜탄-1,2-디올(590 mg, 0.84 mmol)을 메탄올(10 mL)에 용해시키고, 1,4-디옥산(10 mL) 중의 4.0M 염화수소를 첨가한 후에, 담황색 용액을 주위 온도에서 1 시간 동안 교반하였다. 이후에 TCL로 확인한 결과 반응은 완결된 것으로 나타났다. 휘발성 성분을 감압하에 제거하여 베이지색 고형물을 수득하였다(450 mg, 정량적 수율). LC-MS: MH⁺ 501.15.

<261> N-[(1S,2R,3S,4R)-4-[2-클로로-6-(3-요오도벤질아미노)-퓨린-9-일]-2,3-디히드록시시클로펜틸]-아세트아미드

<262> (1S,2R,3S,5R)-3-아미노-5-[2-클로로-6-(3-요오도벤질아미노)-퓨린-9-일]-시클로펜탄-1,2-디올(450 mg, 0.84 mmol)을 트리에틸아민(380 μL, 275 mg, 2.73 mmol)을 함유한 디클로로메탄(10 mL)에 현탁시켰다. 아세틸 클로라이드(65 μL, 72 mg, 0.91 mmol)을 첨가하고, 수득한 담황색 용액을 주위 온도에서 1 시간 동안 교반하였다. 메탄올(5 mL)을 첨가하여 잔류하는 아세틸 클로라이드의 반응을 종료시키고, 모든 휘발성 성분을 감압하에 제거하여 갈색 포움을 수득하였다. 생성물을 먼저 아르곤노트 플래쉬마스터 퍼스널 시스템을 사용하여 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다. 갈색 포움을 디클로로메탄(10 mL)에 용해시키고 실리카(3 g)상

에 흡착시켰다. 이것을 미리 에틸 아세테이트로 포화시킨 아이솔루트 플래쉬(Isolute Flash) Si 카트리지 20 g 상에 가하였다. 생성물을 에틸 아세테이트 중의 5% 메탄올로 용출하고, 정제된 생성물을 함유하는 분류물로부터 용매를 감압하에 제거하여 무색 고형물을 수득하였다. 메탄올로부터 결정화하여 무색 결정질 고형물을 수득하였다(210 mg, 46% 수율). LC-MS: MH^+ 543.17.

<263> 실시예 2

<264> 2,6-디클로로-9-((1R,4S)-4-[1,2,3]트리아졸-2-일-시클로펜트-2-에닐)-9H-퓨린

<265> 탄산 (1S,4R)-4-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐 에스테르 에틸 에스테르(1.0 g, 2.91 mmol)을 아르곤 대기하에 탈산소 처리된 건조 THF(20 mL)에 용해시켰다. 트리페닐포스핀(115 mg, 0.44 mmol, 0.15 당량), [1,2,3]트리아졸(200 μ L, 238 mg, 3.45 mmol) 및 $Pd_2(dba)_3$ (133 mg, 0.146 mmol, 5 mol%)를 순차적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 50℃에서 2 시간 동안 교반시킨 후에 실온으로 냉각시킨 다음, 휘발성 성분을 감압하에 제거하였다. 생성물을 아르코노트 플래쉬마스터 퍼스널 시스템을 사용해서 플래쉬 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다. 잔류물을 디클로로메탄(5 mL)에 재현탁시킨 후에 미리 이소헥산으로 포화시킨 아이솔루트 플래쉬 Si 카트리지 25 g 상에 가하였다. 생성물을 이소헥산(500 mL)에 이어서, 이소헥산:에틸 아세테이트 4:1(250 mL) 및 이소헥산:에틸 아세테이트 1:1(750 mL)로 용출하였다. 순수한 생성물을 함유하는 분류물로부터 용매를 감압하에 제거하고, 생성물을 에틸 아세테이트로부터 재결정화하여 베이지색 고형물을 수득하였다(280 mg, 30% 수율). LC-MS: MH^+ 321.80.

<266> (1R,2S,3R,5S)-3-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-5-[1,2,3]트리아졸-2-일-시클로펜탄-1,2-디올

<267> 2,6-디클로로-9-((1R,4S)-4-[1,2,3]트리아졸-2-일-시클로펜트-2-에닐)-9H-퓨린(1 당량)을 N-메틸모르폴린-N-옥사이드(2 당량)를 함유하는 THF(0.1M)에 용해시켰다. 오스뮴 테트록사이드를 4% 수용액(10 mol%)으로서 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 24 시간 동안 교반시킨 후에, 4% OsO_4 (수용액)(10 mol%)를 더 첨가한 다음 24 시간 동안 더 교반시켰다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트로 희석하고, 0.2M HCl(수용액)에 이어서 염수로 세척한 다음, 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 여과하고 용매를 감압하에서 제거하여 미정제 생성물을 수득하였으며, 이를 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해서 정제하였다.

<268> (1R,2S,3R,5S)-3-[2-클로로-6-(3-요오도-벤질아미노)-퓨린-9-일]-5-[1,2,3]트리아졸-2-일-시클로펜탄-1,2-디올

<269> 3-요오도벤질아민(1 당량) 및 트리에틸아민(1.1 당량)을 디클로로메탄(3-요오도벤질아민에 대하여 약 0.4 M)에 용해시키고, 디클로로메탄(1 당량: 0.1 M) 중의 (1R,2S,3R,5S)-3-(2,6-디클로로-퓨린-9-일)-5-[1,2,3]트리아졸-2-일-시클로펜탄-1,2-디올의 용액에 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반한 후에, 휘발성 성분을 감압하에 제거하였다. 소정의 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.

<270> 실시예 3

<271> (1S,4R)-4-(6-클로로-2-요오도-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-엔올

<272> 6-클로로-2-요오도-퓨린(문헌 [Taddei et al., Org Biomol Chem, Vol. 2, pp. 665-670 (2004)] 참조; 1 당량), (1S,4R)-시스-4-아세톡시-시클로펜트-2-엔올(1.33 당량) 및 중합체 결합된 트리페닐 포스핀(0.66 당량)을 합하고 실온에서 24 시간 동안 진공하에 방치해두었다. 증류한 직후의 탈산소 처리된 THF를 첨가하고((1S,4R)-시스-4-아세톡시-시클로펜트-2-엔올에 대하여 1.0M), 이어서 $Pd_2(dba)_3$ (5 mol%)를 첨가하였다. 혼합물을 15분 동안 실온에서 교반한 후에, 트리에틸아민(수산화칼륨으로 건조시킴)을 첨가하였다(3 당량). 반응 혼합물을 50℃에서 1 시간 동안 교반시키고, 실온으로 냉각시킨 후에 여과하였다. 휘발성 성분을 감압하에 제거하고, 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.

<273> 탄산 (1S,4R)-4-(6-클로로-2-요오도-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐 에스테르 에틸 에스테르

<274> 피리딘(3 당량)을 건조 THF중의 (1S,4R)-4-(6-클로로-2-요오도-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-엔올(1 당량) 0.2M 용액에 첨가하였다. 반응 온도가 40℃를 초과해서 상승하지 않도록 하면서 에틸 클로로포르메이트(4 당량)을 서서히 첨가하였다. 일단 첨가를 완결한 다음, 반응 혼합물을 반응 완결시까지 실온에서 교반하였다. 침전을 여과에 의해서 제거하고, 휘발성 성분을 감압하에서 제거하였다. 잔류물을 디클로로메탄에 용해시키고 0.1M 염산, 물(2회) 및 염수로 연속해서 세척한 후에, 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 여과하고 감압하에서 용매를 제거한 다음, 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 소정의 생성물을 수득하였다.

- <275> 아세틸-[(1S,4R)-4-(6-클로로-2-요오도-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐]-카르바산 t-부틸 에스테르
- <276> 탄산 (1S,4R)-4-(6-클로로-2-요오도-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐 에스테르 에틸 에스테르(1 당량), 아세틸카르바산 t-부틸 에스테르(문헌 [Tanaka et al., Chem Pharm Bull, Vol. 36, No. 9, pp. 3215-3219 (1988)] 참조; 1.15 당량) 및 트리페닐포스핀(0.15 당량)을 아르곤 대기하에 오븐 건조된 플라스크에서 합하였다. 탄산 소처리된 건조 THF(탄산 (1S,4R)-4-(6-클로로-2-요오도-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐 에스테르 에틸 에스테르에 대해 0.3M까지)를 첨가한 후에 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (5 mol%)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 1 시간 동안 50℃에서 교반시킨 후에 실온으로 냉각시킨 다음 휘발성 성분을 감압하에서 제거하고, 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.
- <277> 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-4-(6-클로로-2-요오도-퓨린-9-일)-2,3-디히드록시-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르
- <278> 아세틸-[(1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐]-카르바산 t-부틸 에스테르(1 당량), 메탄설포아미드(1 당량) 및 AD-믹스-α(1.5 g/mmol 기질)를 t-부탄올:물 1:1중에서 혼합하였다(아세틸-[(1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐]-카르바산 t-부틸 에스테르에 대하여 0.1M까지). 오스뮴 테트록사이드(5 mol%, 4% 수용액으로서)를 첨가하고, 반응 혼합물을 밤새 격렬하게 교반하였다. 일단 반응이 완결되면, 반응 혼합물을 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배시키고, 유기 상을 깨끗한 물(2회) 및 염수로 연속해서 세척한 후, 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 여과하고 감압하에 휘발성 물질을 제거하여 소정의 생성물을 수득하였다.
- <279> 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-2,3-디히드록시-4-(2-요오도-6-메틸아미노-퓨린-9-일)-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르
- <280> 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-4-(6-클로로-2-요오도-퓨린-9-일)-2,3-디히드록시-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르를 -20℃에서 과량의 액상 메틸아민에 첨가하고, 30분 동안 교반시킨 후에 실온으로 가온시켰다. 소정의 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.
- <281> N-[(1S,2R,3S,4R)-2,3-디히드록시-4-(2-요오도-6-메틸아미노-퓨린-9-일)-시클로펜틸]-아세트아미드
- <282> 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-2,3-디히드록시-4-(2-요오도-6-메틸아미노-퓨린-9-일)-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르를 디클로로메탄(약 0.1M)에 용해시키고 얼음/물상에서 0℃로 냉각시켰다. 충분한 트리플루오로아세트산을 첨가하여 20% 용액으로 만들고 반응 혼합물을 반응 완결시까지 얼음상에서 교반하였다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고, 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.
- <283> N-[(1S,2R,3S,4R)-4-(2-헥스-1-에닐-6-메틸아미노-퓨린-9-일)-2,3-디히드록시-시클로펜틸]-아세트아미드
- <284> 건조 DMF와 트리에틸아민 7:2 혼합물중의 N-[(1S,2R,3S,4R)-2,3-디히드록시-4-(2-요오도-6-메틸아미노-퓨린-9-일)-시클로펜틸]-아세트아미드의 0.05M 용액(1 당량)을 제조하였다. 이 용액에 요오드화구리(I)(1 당량) 및 비스(트리페닐포스핀)팔라듐 디클로라이드(2 mol%)를 첨가한 다음, 1-헥신(6 당량)을 첨가하였다. 수득한 혼합물을 실온에서 반응 완결시까지 교반하고 휘발성 성분을 감압하에서 제거하였다. 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.
- <285> 실시예 4
- <286> (1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-엔올
- <287> 6-클로로퓨린(1 당량), (1S,4R)-시스-4-아세톡시-시클로펜트-2-엔올(1.33 당량) 및 중합체 결합된 트리페닐포스핀(0.66 당량)을 혼합하고, 실온에서 진공하에 24 시간 동안 방치해두었다. 증류한 직후의 탈산소 처리된 THF를 첨가하고((1S,4R)-시스-4-아세톡시-시클로펜트-2-엔올에 대하여 1.0M까지), 이어서 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (5 mol%)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 실온에서 15분 동안 교반시킨 후에, 트리에틸아민(수산화칼륨으로 건조시킴)을 첨가하였다(3 당량). 반응 혼합물을 50℃에서 1 시간 동안 교반시킨 후에, 실온으로 냉각시킨 다음 여과하였다. 휘발성 성분을 감압하에서 제거하고, 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해서 정제하였다.
- <288> 탄산 (1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐 에스테르 에틸 에스테르
- <289> 피리딘(3 당량)을 건조 THF중의 (1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-엔올 2.0M 용액(1 당량)에 첨가하였다. 에틸 클로로포르메이트(4 당량)을 반응 온도가 40℃를 초과해서 상승하지 않도록 하면서 서서히 첨가하였다. 일단 첨가를 완결한 다음, 반응 혼합물을 반응 완결시까지 실온에서 교반하였다. 침전물을 여과에 의

해서 제거하고, 휘발성 성분을 감압하에서 제거하였다. 잔류물을 디클로로메탄에 용해시키고, 0.1M 염산, 물(2회) 및 염수로 연속해서 세척한 후에 황산마그네슘으로 건조시켰다. 여과하고 감압하에 용매를 제거한 다음, 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하여 소정의 생성물을 수득하였다.

<290> 아세틸-[(1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐]-카르바산 t-부틸 에스테르

<291> 탄산 (1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐 에스테르 에틸 에스테르(1 당량), 아세틸카르바산 t-부틸 에스테르(상기 Tanaka et al.의 문헌 (1988) 참조; 1.15 당량) 및 트리페닐포스핀(0.15 당량)을 아르곤 대기하에 오븐 건조된 플라스크에서 혼합하였다. 탈산소처리된 건조 THF(탄산 (1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐 에스테르 에틸 에스테르에 대해 0.3M까지)를 첨가한 후에 $Pd_2(dba)_3$ (5 mol%)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 1 시간 동안 50℃에서 교반시킨 후에 실온으로 냉각시킨 다음 휘발성 성분을 감압하에서 제거하고, 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.

<292> 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-2,3-디히드록시-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르

<293> 아세틸-[(1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐]-카르바산 t-부틸 에스테르(1 당량), 메탄설포아미드(1 당량) 및 AD-믹스-α(1.5 g/mmol 기질)를 t-부탄올:물 1:1중에서 혼합하였다(아세틸-[(1S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-시클로펜트-2-에닐]-카르바산 t-부틸 에스테르에 대하여 0.1M까지). 오스뮴 테트록사이드(5 mol%, 4% 수용액으로서)를 첨가하고, 반응물을 밤새 격렬하게 교반하였다. 일단 반응이 완결되면, 반응물을 에틸 아세테이트와 물 사이에 분배시키고, 유기 상을 깨끗한 물(2회) 및 염수로 연속해서 세척한 후, 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 여과하고 감압하에 휘발성 물질을 제거하여 소정의 생성물을 수득하였다.

<294> 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-2,3-디히드록시-4-[6-(3-요오도-벤질아미노)-퓨린-9-일]-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르

<295> 3-요오도벤질아민(1 당량) 및 트리에틸아민(1.1 당량)을 디클로로메탄(3-요오도벤질아민에 대하여 약 0.4M)에 용해시켜서, 디클로로메탄중의 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-2,3-디히드록시-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르(1 당량; 0.1 M)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새 가열하면서 교반한 후에 휘발성 성분을 감압하에 제거하였다. 소정의 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.

<296> N-[(1S,2R,3S,4R)-2,3-디히드록시-4-[6-(3-요오도-벤질아미노)-퓨린-9-일]-시클로펜틸]-아세트아미드

<297> 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-2,3-디히드록시-4-[6-(3-요오도-벤질아미노)-퓨린-9-일]-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르를 디클로로메탄(약 0.1M)에 용해시키고 얼음/물상에서 0℃로 냉각시켰다. 충분한 트리플루오로아세트산을 첨가하여 20% 용액으로 만들고 반응 혼합물을 반응 완결시까지 얼음상에서 교반하였다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고, 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.

<298> 실시예 5

<299> 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-4-{6-[5-클로로-2-(3-메틸-이속사졸-5-일메톡시)-벤질아미노]-퓨린-9-일}-2,3-디히드록시-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르

<300> 5-클로로-2-(3-메틸이속사졸-5-일메톡시)벤질아민(문헌 [DeNinno, et al., J Med Chem, Vol. 46, pp. 353-355 (2003), supplementry material] 참조; 1 당량) 및 트리에틸아민(1.1 당량)을 디클로로메탄(3-요오도벤질아민에 대하여 약 0.4M)에 용해시켜서, 디클로로메탄중의 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-4-(6-클로로-퓨린-9-일)-2,3-디히드록시시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르(1 당량, 0.1M)의 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 밤새 가열하면서 교반시킨 후에 휘발성 성분을 감압하에 제거하였다. 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해서 소정의 생성물을 수득하였다.

<301> N-[(1S,2R,3S,4R)-4-{6-[5-클로로-2-(3-메틸-이속사졸-5-일메톡시)-벤질아미노]-퓨린-9-일}-2,3-디히드록시-시클로펜틸]-아세트아미드

<302> 아세틸-[(1S,2R,3S,4R)-4-{6-[5-클로로-2-(3-메틸-이속사졸-5-일메톡시)-벤질아미노]-퓨린-9-일}-2,3-디히드록시-시클로펜틸]-카르바산 t-부틸 에스테르를 디클로로메탄(약 0.1 M)에 용해시키고 얼음/물상에서 0℃로 냉각시켰다. 충분한 트리플루오로아세트산을 첨가하여 20% 용액으로 만들고, 반응 혼합물을 반응 완결시까지 얼음상에서 교반하였다. 휘발성 물질을 감압하에 제거하고, 생성물을 플래쉬 컬럼 크로마토그래피/결정화에 의해 정제하였다.