



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년02월04일
 (11) 등록번호 10-1358626
 (24) 등록일자 2014년01월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 473/40 (2006.01) **C07D 473/34** (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01) **A61P 25/28** (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2011-7012017
 (22) 출원일자(국제) 2009년11월27일
 심사청구일자 2011년05월26일
 (85) 번역문제출일자 2011년05월26일
 (65) 공개번호 10-2011-0075040
 (43) 공개일자 2011년07월05일
 (86) 국제출원번호 PCT/JP2009/070062
 (87) 국제공개번호 WO 2010/061931
 국제공개일자 2010년06월03일
 (30) 우선권주장
 JP-P-2008-303239 2008년11월27일 일본(JP)
 (56) 선행기술조사문헌
 US20040157864 A1*
 WO2005097140 A2*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
고쿠리츠다이가쿠호우징 카가와다이가쿠
 760-8521, 일본국 카가와켄 다카마츠시 사이와이
 초우 1-1
 (72) 발명자
츠카모토 이쿠코
 일본 761-0793 가가와켄 기타군 미키초 오아자 이
 케노베 1750-1 고쿠리츠 다이가쿠 호우징 카가와
 다이가쿠 이가쿠부 나이
고니시 료지
 일본 761-0793 가가와켄 기타군 미키초 오아자 이
 케노베 1750-1 고쿠리츠 다이가쿠 호우징 카가와
 다이가쿠 이가쿠부 나이
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
강승욱, 송승필

전체 청구항 수 : 총 11 항

심사관 : 나영민

(54) 발명의 명칭 **시클로부틸 푸린 유도체, 혈관신생 촉진제, 관강 형성 촉진제, 신경세포 성장 촉진제 및 의약품**

(57) 요약

세포증식 촉진 활성, 혈관신생 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성, 세포 유주 촉진 활성 및 신경세포 성장 촉진 활성 중 하나 이상을 가지며, 화학적으로 안정적인 저분자 물질이고, 저분자량이기 때문에, 흡수성이 높고, 저렴하게 안정적으로 공급할 수 있는 화합물을 제공한다. 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체 이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 하기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체 이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물이다.

(72) 발명자

도쿠다 마사아키

일본 761-0793 가가와켄 기타군 미키초 오아자 이케노베 1750-1 고클리츠 다이가쿠 호우징 카가와 다이가쿠 이가쿠부 나이

구보타 야스오

일본 761-0793 가가와켄 기타군 미키초 오아자 이케노베 1750-1 고클리츠 다이가쿠 호우징 카가와 다이가쿠 이가쿠부 나이

마루야마 도쿠미

일본 769-2193 가가와켄 사누키시 시도 1314-1 도쿠시마 분리 다이가쿠 가가와 야쿠가쿠부 나이

교사카 히로아키

일본 761-0793 가가와켄 기타군 미키초 오아자 이케노베 1750-1 고클리츠 다이가쿠 호우징 카가와 다이가쿠 이가쿠부 나이

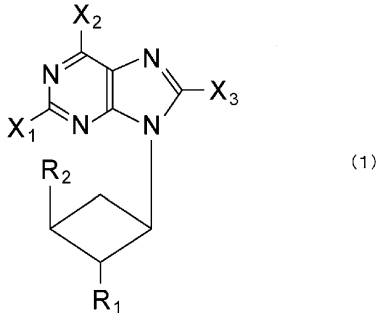
이가라시 준스케

일본 761-0793 가가와켄 기타군 미키초 오아자 이케노베 1750-1 고클리츠 다이가쿠 호우징 카가와 다이가쿠 이가쿠부 나이

특허청구의 범위

청구항 1

하기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물:



상기 일반식 (1) 중,

X₁은 할로게노기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기, 티오기 (티올기), 아미노기, 히드록시기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬닐기 또는 시아노기이고,

X₂는 할로게노기, 아미노기, 히드록시기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기, 티오기(티올기) 또는 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기이며,

X₃은 수소 원자, 할로게노기 또는 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기이고,

R₁ 및 R₂는 동일하거나 또는 상이하고, 각각 수소 원자, 할로게노기, 카르복실기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 아실기, 카르바모일기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 아실옥시기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 히드록시알킬기, 탄소수가 2~8인 직쇄 또는 분기 아실옥시알킬기, 탄소수가 2~8인 직쇄 또는 분기 알콕시알킬기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 할로알킬기 또는 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 포스포노옥시알킬기이며,

X₁이 아미노기인 경우는

X₂ 및 X₃이 모두 할로게노기이거나,

X₂ 및 X₃이 모두 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기이거나, 또는

X₂가 히드록시기이고, X₃이 할로게노기이며, R₁ 및 R₂가 모두 탄소수가 2~8인 직쇄 또는 분기 아실옥시알킬기이다.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 일반식 (1)에서, 상기 X₁이 클로로기인 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 일반식 (1)에서, 상기 X₂가 아미노기인 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 일반식 (1)에서, 상기 R₁ 및 R₂가 히드록시메틸기인 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물.

청구항 5

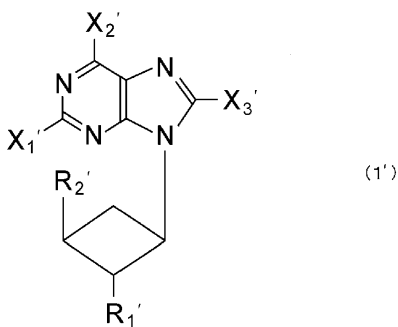
제1항에 있어서, 상기 일반식 (1)에서, 상기 X_1 이 클로로기 또는 티오메톡시기이고, 상기 X_2 가 아미노기이며, 상기 R_1 및 R_2 가 히드록시메틸기인 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물.

청구항 6

제1항에 있어서, 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린 또는 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물인 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물.

청구항 7

상기 일반식 (1')로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물을 포함하는 창상 치유약, 알츠하이머 치료약, 알츠하이머 예방약, 경색성 질환 치료약, 경색성 질환 예방약 및 육모제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상인 의약품:



상기 일반식 (1') 중,

X_1' 은 할로게노기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기, 티오기(티올기), 아미노기, 히드록시기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬닐기 또는 시아노기이고,

X_2' 는 할로게노기, 아미노기, 히드록시기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기, 티오기(티올기) 또는 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기이며,

X_3' 은 수소 원자, 할로게노기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기, 아미노기, 히드록시기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기, 히드록시페닐기 또는 카르바모일기이고,

R_1' 및 R_2' 는 동일하거나 또는 상이하며, 각각 수소 원자, 할로게노기, 카르복실기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 아실기, 카르바모일기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 아실옥시기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 히드록시알킬기, 탄소수가 2~8인 직쇄 또는 분기 아실옥시알킬기, 탄소수가 2~8인 직쇄 또는 분기 알콕시알킬기, 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 할로알킬기 또는 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 포스포노옥시알킬기이며,

X_1' 이 아미노기이며 X_3' 이 수소 원자인 경우는, R_1' 및 R_2' 는 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 히드록시알킬기 이외의 원자 또는 치환기이다.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 일반식 (1')에서, 상기 X_1' 이 클로로기인 의약품.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 일반식 (1')에서, 상기 X₂'가 아미노기인 의약품.

청구항 10

제7항에 있어서, 상기 일반식 (1')에서, 상기 R₁' 및 R₂'가 히드록시메틸기 인 의약품.

청구항 11

제7항에 있어서, 상기 일반식 (1')에서, 상기 X₁'이 클로로기 또는 티오메톡시기이고, 상기 X₂'가 아미노기이며, 상기 X₃'이 수소 원자이고, 상기 R₁' 및 R₂'가 히드록시메틸기인 의약품.

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 시클로부틸 푸린 유도체, 혈관신생 촉진제, 관강(管腔) 형성 촉진제, 신경세포 성장 촉진제 및 의약품에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 종래, 4원환에 핵산이 결합된 몇 개의 유도체는, 항바이러스 작용을 갖는 것이 알려져 있다. 상기 유도체로서는, 예컨대 시클로부틸 푸린 유도체(예컨대 특허문헌 1~3 참조), 옥세탄환에 핵산이 결합된 옥세타노신 유도체(예컨대 특허문헌 4) 등을 들 수 있다.

[0003] 한편 혈관신생, 신경세포 성장 등을 촉진하는 물질로서, 생체 유래의 성장 인자인, 선유아세포 증식인자(FGF), 혈소판 유래 증식인자(PD-ECGF), 혈관내피세포 증식인자(VEGF), 신경 성장 인자(NGF) 등이 알려져 있다. 그래서, 이들 성장 인자 중에는, 창상 치유약, 육모제 등의 유효 성분으로서 이용되고 있는 것도 있다.

선행기술문헌

- [0004] [특허문헌]
- [0005] 특허문헌 1 일본 특허 제2694999호 공보
- [0006] 특허문헌 2: 일본 특허 제2577640호 공보
- [0007] 특허문헌 3: 일본 특허 제2962494호 공보
- [0008] 특허문헌 4: 일본 특허 공개 평5-32691호 공보

발명의 내용

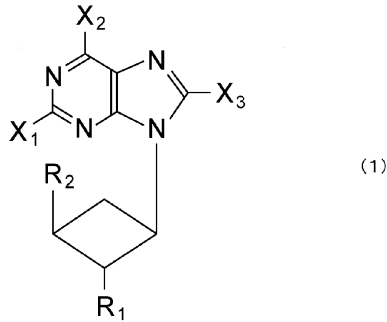
해결하려는 과제

[0009] 그러나, 상기 성장 인자는, 모두 분자량이 15000~30000의 고분자 단백질이기 때문에, 저흡수성과 안정성이 과제로 되어 있다. 그래서, 본 발명의 목적은 혈관신생 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성 및 신경세포 성장 촉진 활성 중 하나 이상을 가지며, 화학적으로 안정적인 저분자 물질이고, 저분자량이기 때문에, 흡수성이 높으며,

저렴하게 안정적으로 공급할 수 있는 화합물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은, 하기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물이다.



- [0011]
- [0012] 상기 일반식 (1) 중,
- [0013] X₁은 할로게노기, 알킬기, 알킬티오기, 티오기(티올기), 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 알킬닐기 또는 시아노기이고,
- [0014] X₂는 할로게노기, 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 티오기(티올기) 또는 알킬티오기이며,
- [0015] X₃은 수소 원자, 할로게노기 또는 알콕시기이고,
- [0016] R₁ 및 R₂는 동일하거나 또는 상이하며, 각각 수소 원자, 할로게노기, 카르복실기, 알킬기, 아실기, 카르바모일기, 아실옥시기, 히드록시알킬기, 아실옥시알킬기, 알콕시알킬기, 할로알킬기 또는 포스포노옥시알킬기이며,
- [0017] X₁이 아미노기인 경우는
- [0018] X₂ 및 X₃이 모두 할로게노기이거나,
- [0019] X₂ 및 X₃이 모두 알콕시기이거나, 또는
- [0020] X₂가 히드록시기이고, X₃이 할로게노기이며, R₁ 및 R₂가 모두 아실옥시알킬기이고,
- [0021] 상기 X₁, X₂, X₃, R₁ 및 R₂에 있어서, 상기 알킬기, 상기 알킬티오기, 상기 티오기(티올기), 상기 히드록시기, 상기 알콕시기, 상기 알킬닐기, 상기 아미노기, 상기 카르복실기, 상기 아실기, 상기 카르바모일기, 상기 아실옥시기, 상기 히드록시알킬기, 상기 아실옥시알킬기, 상기 알콕시알킬기 및 상기 포스포노옥시알킬기는, 각각 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다.

발명의 효과

[0022] 상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명자 등은 일련의 연구를 거듭한 바, 혈관신생 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성 및 신경세포 성장 촉진 활성 중 하나 이상을 갖는, 상기 일반식 (1)로 나타내는 신규인 시클로부틸 푸린 유도체를 발견하여, 본 발명에 도달하였다. 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체는, 화학적으로 안정적인 저분자 물질이고, 저분자량이기 때문에, 흡수성이 높으며, 저렴하게 안정적으로 공급할 수 있다. 그리고, 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체는, 혈관신생 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성 및 신경세포 성장 촉진 활성 중 하나 이상을 이용한 여러 가지의 의약품, 의약 부외품 등에 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은 실시예 1 및 비교예 1~8에서의 관강 형성 측정 결과를 도시하는 그래프이다.
- 도 2는 실시예 1, 비교예 7 및 비교예 8에서의 세포증식 측정 결과를 도시하는 그래프이다.

도 3의 (A)~(F)는, 실시예 1, 비교예 7 및 비교예 8에서의 관강 형성 측정 결과를 도시하는 사진이다.

도 4의 (A)~(H)는, 실시예 1, 비교예 7~10에서의 세포 유주성 측정 결과를 도시하는 사진이다.

도 5의 (A)~(H)는, 실시예 1, 비교예 7~10에서의 세포 유주성 측정 결과를 도시하는 사진이다.

도 6은 실시예 1, 비교예 7~10에서의 세포 유주성 측정 결과를 도시하는 그래프이다.

도 7의 (A)는, 실시예 3에서의, 시간 경과에 따른 pERK 및 ERK량을 도시하는 면역 블롯 사진이고, 도 7의 (B)는, pERK 상대값의 그래프이다.

도 8은 실시예 3에서의, 시간 경과에 따른 pAkt, Akt, pJNK 및 pp38량을 도시하는 면역 블롯 사진이다.

도 9의 (A)는, 본 발명의 실시예 4에서의, 2-C1-OCT.A 첨가 농도에 의한 pERK량에의 영향을 도시하는 면역 블롯 사진이고, 도 9의 (B)는 pERK 상대값의 그래프이다.

도 10의 (A)는 실시예 5에서의, 시간 경과에 따른 pMEK 및 MEK량을 도시하는 면역 블롯 사진이고, 도 10의 (B)는 pMEK 상대값의 그래프이다.

도 11의 (A)는 실시예 6에서의, PD98059에 의한 ERK 활성화 저해를 도시하는 면역 블롯 사진이고, 도 11의 (B)는 pERK 상대값의 그래프이다.

도 12는 본 발명의 실시예 7에서의, PD98059에 의한 관강 형성 저해를 도시하는 관강 면적 상대값의 그래프이다.

도 13의 (A)는, 실시예 8에서의, SU5416에 의한 ERK 활성화 저해를 도시하는 면역 블롯 사진이고, 도 13의 (B)는 pERK 상대값의 그래프이다.

도 14는 본 발명의 실시예 9에서의, SU5416에 의한 관강 형성 저해를 도시하는 관강 면적 상대값의 그래프이다.

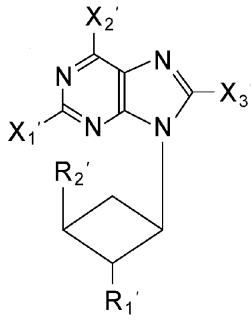
도 15는 실시예 10에서의 PC12 세포의 현미경 사진이다. 도 15의 (A)는 PBS, 도 15의 (B)는 NGF, 도 15의 (C)는 2-C1-C.OXT-A 50 μ mol/L, 도 15의 (D)는 2-C1-C.OXT-A 100 μ mol/L를 첨가한 PC12 세포의 현미경 사진이다.

도 16은 실시예 10에서의 AChE 활성의 측정 결과를 도시하는 그래프이다.

도 17은 실시예 11에서의, 토끼 각막법에 의한 혈관신생 시험 결과를 도시하는 사진이다. 도 17의 (A)는 생리식염수 투여 후의 결과를 도시하는 사진이고, 도 17의 (B)는 2-C1-C.OCT-A 투여 후의 결과를 도시하는 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 상기 일반식 (1)에 있어서, 예컨대 상기 X_1 이, 클로로기인 것이 바람직하다.
- [0025] 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 상기 일반식 (1)에 있어서, 예컨대 상기 X_2 가, 아미노기인 것이 바람직하다.
- [0026] 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 상기 일반식 (1)에 있어서, 예컨대 상기 R_1 및 R_2 가, 히드록시메틸기인 것이 바람직하다.
- [0027] 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 상기 일반식 (1)에 있어서, 예컨대 상기 X_1 이 클로로기이고, 상기 X_2 가 아미노기이며, 상기 R_1 및 R_2 가 히드록시메틸기여도 좋다.
- [0028] 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 예컨대 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린 또는 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물이어도 좋다.
- [0029] 본 발명의 촉진제는, 하기 일반식 (1')로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물을 포함하고, 혈관신생 촉진 기능, 관강 형성 촉진 기능 및 신경세포 성장 촉진 기능으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 기능을 갖는 촉진제이다.



(1')

- [0030]
- [0031] 상기 일반식 (1') 중,
- [0032] X₁'은 할로게노기, 알킬기, 알킬티오기, 티오기(티올기), 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 알킬닐기 또는 시아노기이고,
- [0033] X₂'는 할로게노기, 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 티오기(티올기) 또는 알킬티오기이며,
- [0034] X₃'은 수소 원자, 할로게노기, 알킬기, 알킬티오기, 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 히드록시페닐기 또는 카르바모일기이고,
- [0035] R₁' 및 R₂'는 동일하거나 또는 상이하며, 각각 수소 원자, 할로게노기, 카르복실기, 알킬기, 아실기, 카르바모일기, 아실옥시기, 히드록시알킬기, 아실옥시알킬기, 알콕시알킬기, 할로알킬기 또는 포스포노옥시알킬기이고,
- [0036] X₁'이 아미노기이며 X₃'이 수소 원자인 경우는, R₁' 및 R₂'는 히드록시알킬기 이외의 원자 또는 치환기이며,
- [0037] 상기 X₁', X₂', X₃', R₁' 및 R₂'에 있어서, 상기 알킬기, 상기 알킬티오기, 상기 티오기(티올기), 상기 히드록시기, 상기 알콕시기, 상기 알킬닐기, 상기 아미노기, 상기 히드록시페닐기, 상기 카르바모일기, 상기 카르복실기, 상기 아실기, 상기 아실옥시기, 상기 히드록시알킬기, 상기 아실옥시알킬기, 상기 알콕시알킬기 및 상기 포스포노옥시알킬기는, 각각의 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다.
- [0038] 본 발명의 촉진제는, 상기 일반식 (1')에 있어서, 예컨대 상기 X₁'이 클로로기여도 좋다.
- [0039] 본 발명의 촉진제는, 상기 일반식 (1')에 있어서, 예컨대 상기 X₂'가 아미노기여도 좋다.
- [0040] 본 발명의 촉진제는, 상기 일반식 (1')에 있어서, 예컨대 상기 R₁' 및 R₂'가 히드록시메틸기여도 좋다.
- [0041] 본 발명의 촉진제는, 상기 일반식 (1')에 있어서, 예컨대 상기 X₁'이 클로로기 또는 티오메톡시기이고, 상기 X₂'가 아미노기이며, 상기 X₃'이 수소 원자이고, 상기 R₁' 및 R₂'가 히드록시메틸기여도 좋다.
- [0042] 본 발명의 촉진제는, 예컨대 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린 또는 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물을 포함하고 있어도 좋다.
- [0043] 본 발명의 의약품은, 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 및 입체이성체, 및 이들의 염, 용매화물 및 수화물, 및 본 발명의 촉진제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상을 포함하고, 혈관신생 촉진용, 관강 형성 촉진용 및 신경세포 성장 촉진용으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 용도를 갖는다.
- [0044] 본 발명의 의약품은, 예컨대 창상 치유약, 알츠하이머 치료약, 알츠하이머 예방약, 경색성 질환 치료약, 경색성 질환 예방약 및 육모제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상이어도 좋다.
- [0045] 이어서, 본 발명에 대해서, 더 상세하게 설명한다.
- [0046] 본 발명에 있어서, 할로게노기란, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 플루오로기(불소 원자), 클로로기(염소 원자), 브로모기(브롬 원자) 및 요오드기(요오드 원자) 등을 들 수 있다. 또한 상기 할로게노기란, 치환기로서의 할로젠 원자의 명칭이다.
- [0047] 본 발명에 있어서, 알킬기로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 메틸기, 에틸기, n-프로필기, 이소프로필기,

n-부틸기, 이소부틸기, sec-부틸기, tert-부틸기, n-펜틸기, 이소펜틸기, 네오펜틸기, tert-펜틸기 등을 들 수 있고, 알킬아미노기, 알콕시기 등의 알킬기를 구조중에 포함하는 기에서도 마찬가지이다. 본 발명에 있어서, 상기 알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기, 카르바모일기 등을 들 수 있다.

[0048] 본 발명에 있어서, 알킬티오기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 메틸티오기, 에틸티오기, n-프로필티오기, 이소프로필티오기 등을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 알킬티오기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬티오기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기 등을 들 수 있다.

[0049] 본 발명에 있어서, 티오기(티올기)는, 예컨대 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 티오기(티올기)에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 메틸기, tert-부틸기, 벤질기, p-메톡시벤질기, 메톡시메틸기, 아세틸기, 피바로일기, 벤조일기, 디메톡시트리틸기, 모노메톡시트리틸기, 픽실기 등을 들 수 있다.

[0050] 본 발명에 있어서, 히드록시기는, 예컨대 이성화하여, 옥소기(=O)로서 존재하여도 좋고, 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 히드록시기에서의 치환기로서는, 산으로 탈보호할 수 있는 것을 포함하고, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 메틸기, tert-부틸기, 벤질기, p-메톡시벤질기, 메톡시메틸기, 아세틸기, 피바로일기, 벤조일기, 디메톡시트리틸기, 모노메톡시트리틸기, 픽실기 등을 들 수 있다.

[0051] 본 발명에 있어서, 알콕시기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 메톡시기, 에톡시기, 프로폭시기, 부톡시기 등을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 알콕시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시기에서의 치환기로서도, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기, 카르바모일기 등을 들 수 있다.

[0052] 본 발명에 있어서, 알킬닐기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 하기 일반식 (2)로 나타내는 치환기(식중 R은 수소 원자 또는 직쇄 또는 분기 알킬기) 등을 들 수 있고, 구체적으로는, 예컨대 에틸닐기, 프로파르길기 등을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 알킬닐기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬닐기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기 등을 들 수 있다.



[0054] 본 발명에 있어서, 아미노기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 아미노기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 메틸기, 에틸기 등의 알킬기; 아세틸기, 에틸카르보닐 등의 탄소수가 1~6인 알킬카르보닐기; 탄소수가 1~6인 알킬술폰닐기; 메톡시카르보닐기, 에톡시카르보닐기 등의 탄소수가 1~6인 알콕시카르보닐기; 페닐카르보닐기, 나프틸카르보닐기 등의 아릴카르보닐기; 페닐술폰닐기, 나프틸술폰닐기 등의 아릴술폰닐기; 벤질카르보닐기 등의 탄소수가 7~10인 아랄킬카르보닐기; 벤질기, 디페닐메틸기, 트리틸기 등의 아랄킬기; 옥시카르보닐기; tert-부틸옥시카르보닐기; 벤질옥시카르보닐기; 알릴옥시카르보닐기; 플루오레닐메틸옥시카르보닐기; 트리플루오로아세틸기; 포르밀기 등을 들 수 있다. 이들의 치환기는 1~3개의 할로게노기, 니트로기 등으로 치환되어 있어도 좋다. 그 구체예로서는, 예컨대 p-니트로벤질옥시카르보닐기, p-클로로벤질옥시카르보닐기, m-클로로벤질옥시카르보닐기, p-메톡시벤질옥시카르보닐기 등을 들 수 있다.

[0055] 본 발명에 있어서, 카르복실기는, 예컨대 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 카르복실기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 메틸기, tert-부틸기, 벤질기, p-메톡시벤질기, 메톡시메틸기, 아세틸기, 피바로일기, 벤조일기, 디메톡시트리틸기, 모노메톡시트리틸기, 픽실기 등을 들 수 있다.

[0056] 본 발명에 있어서, 아실기로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 포르밀기, 아세틸기, 프로피오닐기, 이소부틸릴기, 발레릴기, 이소발레릴기, 피바로일기, 헥사노일기, 시클로헥사노일기, 벤조일기, 에톡시카르보닐기 등을 들 수 있고, 아실기를 구조중에 포함하는 기(아실옥시기, 알카노일옥시기 등)에서도 마찬가지이다. 또한, 본 발명에 있어서, 아실기의 탄소수에는 카르보닐탄소를 포함하고, 예컨대 탄소수 1의 아실기란 포르밀기를 가리키는 것으로 한다. 본 발명에 있어서, 상기 아실기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 아실기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기, 카르바모일기 등을 들 수 있다.

- [0057] 본 발명에 있어서, 카르바모일기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 카르바모일기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 메틸기, 에틸기 등의 알킬기; 아세틸기, 에틸카르보닐 등의 탄소수가 1~6인 알킬카르보닐기; 탄소수가 1~6인 알킬술폰닐기; 메톡시카르보닐기, 에톡시카르보닐기 등의 탄소수가 1~6인 알콕시카르보닐기; 페닐카르보닐기, 나프틸카르보닐기 등의 아릴카르보닐기; 페닐술폰닐기, 나프틸술폰닐기 등의 아릴술폰닐기; 벤질카르보닐기 등의 탄소수가 7~10인 아랄킬카르보닐기; 벤질기, 디페닐메틸기, 트리틸기 등의 아랄킬기; 옥시카르보닐기; tert-부틸옥시카르보닐기; 벤질옥시카르보닐기; 알릴옥시카르보닐기; 플루오레닐메틸옥시카르보닐기; 트리플루오로아세틸기; 포르밀기 등을 들 수 있다. 이들의 치환기는 1~3개의 할로게노기, 니트로기 등으로 치환되어 있어도 좋다. 그 구체예로서는, 예컨대 p-니트로벤질옥시카르보닐기, p-클로로벤질옥시카르보닐기, m-클로로벤질옥시카르보닐기, p-메톡시벤질옥시카르보닐기 등을 들 수 있다.
- [0058] 본 발명에 있어서, 아실옥시기로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 아세톡시기, 프로피오닐옥시기, 부타노일옥시기, 3-클로로부틸옥시기 등을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 아실옥시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 아실옥시에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기, 카르바모일기를 들 수 있다.
- [0059] 본 발명에 있어서, 히드록시알킬기로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 히드록시메틸기, 히드록시에틸기, 히드록시프로필기 등을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 히드록시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 히드록시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기, 카르바모일기 등을 들 수 있다.
- [0060] 본 발명에 있어서, 아실옥시알킬기로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 상기 아실옥시기로 치환한 상기 알킬기 등을 들 수 있다. 상기 아실옥시알킬기로서는, 예컨대 아세톡시에틸기, 프로피오닐옥시에틸기, 부타노일옥시에틸기, 3-클로로부틸옥시에틸기 등을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 아실옥시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 아실옥시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기, 카르바모일기 등을 들 수 있다.
- [0061] 본 발명에 있어서, 알콕시알킬기로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 메톡시메틸기, 에톡시메틸기, 메톡시에틸기, 에톡시에틸기, 프로톡시에틸기 등을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 알콕시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기, 카르바모일기 등을 들 수 있다.
- [0062] 본 발명에 있어서, 할로알킬기로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 상기 할로게노기로 치환한 상기 알킬기 등을 들 수 있다. 상기 할로알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 클로로메틸기, 클로로에틸기, 클로로부틸기, 디클로로메틸기, 트리플루오로메틸기, 브로모메틸기, 브로모에틸기, 플루오로메틸기, 트리플루오로에틸기 등을 들 수 있다.
- [0063] 본 발명에 있어서, 포스포노옥시알킬기로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 포스포노옥시메틸기, 포스포노옥시에틸기, 포스포노옥시프로필기 등을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 포스포노옥시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 포스포노옥시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 히드록시기, 할로게노기, 아실기, 아실옥시기, 알콕시기, 카르바모일기 등을 들 수 있다.
- [0064] 본 발명에 있어서, 히드록시페닐기는, 예컨대 히드록시기가, 이성화하여, 옥소기(=O)로서 존재하여도 좋고, 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 히드록시페닐기에서의 치환기로서는, 산으로 탈보호할 수 있는 것을 포함하고, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 메틸기, tert-부틸기, 벤질기, p-메톡시벤질기, 메톡시메틸기, 아세틸기, 피바로일기, 벤조일기, 디메톡시트리틸기, 모노메톡시트리틸기, 픽실기 등을 들 수 있다.
- [0065] <시클로부틸 푸린 유도체>
- [0066] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1)중 상기 X₁은 할로게노기, 알킬기, 알킬티오기, 티오기(티올기), 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 알킬닐기 또는 시아노기이며, 바람직하게는 할로게노기이다.
- [0067] 상기 X₁이 상기 할로게노기인 경우, 상기 할로게노기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 플루오로기(불소

원자), 클로로기(염소 원자), 브로모기(브롬 원자), 요오드기(요오드 원자) 등을 들 수 있고, 바람직하게는 클로로기(염소 원자)이다.

- [0068] 그리고 상기 X_1 이 상기 알킬기인 경우, 상기 알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기 등을 들 수 있다. 상기 알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메틸기, 에틸기, n-프로필기, 이소프로필기, n-부틸기, 이소부틸기, sec-부틸기, tert-부틸기, n-펜틸기, 이소펜틸기, 네오펜틸기, tert-펜틸기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 메틸기이다. 상기 알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가, 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0069] 또한, 상기 X_1 이 상기 알킬티오기인 경우, 상기 알킬티오기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기 등을 들 수 있다. 상기 알킬티오기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메틸티오기, 에틸티오기, n-프로필티오기, 이소프로필티오기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 메틸티오기이다. 상기 알킬티오기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬티오기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬티오기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0070] 상기 X_1 이 상기 티오기(티올기)인 경우, 상기 티오기(티올기)는, 예컨대 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 티오기(티올기)에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 티오기(티올기)에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0071] 상기 X_1 이 상기 아미노기인 경우, 상기 아미노기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 별도의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 아미노기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 아미노기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0072] 상기 X_1 이 아미노기인 경우는 X_2 및 X_3 이 모두 할로게노기이거나, X_2 및 X_3 이 모두 알콕시기이거나, 또는 X_2 가 히드록시기이고, X_3 이 할로게노기이며, R_1 및 R_2 가 모두 아실옥시알킬기이다.
- [0073] 상기 X_1 이 상기 히드록시기인 경우, 상기 히드록시기는, 예컨대 이성화하여, 옥소기(=O)로서 존재하여도 좋고, 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 히드록시기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 히드록시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0074] 상기 X_1 이 상기 알콕시기인 경우, 상기 알콕시기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메톡시기, 에톡시기, 프로폭시기, 부톡시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알콕시기에서의 치환기 등을 들 수 있다. 상기 X_1 이 상기 알킬닐기인 경우, 상기 알킬닐기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬닐기 등을 들 수 있다. 상기 알킬닐기로서는, 구체적으로는, 예컨대 에틸닐기, 프로파르닐기 등을 들 수 있다. 상기 알킬닐기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬닐기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬닐기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0075] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1)중 상기 X_2 는 할로게노기, 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 티오기(티올기) 또는 알킬티오기이고, 바람직하게는 아미노기이다.
- [0076] 상기 X_2 가 상기 할로게노기인 경우, 상기 할로게노기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 플루오로기(불소 원자), 클로로기(염소 원자), 브로모기(브롬 원자), 요오드기(요오드 원자) 등을 들 수 있고, 바람직하게는 클로로기(염소 원자)이다.
- [0077] 상기 X_2 가 상기 아미노기인 경우, 상기 아미노기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 별도의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 아미노기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 아미노기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0078] 또한, 상기 X_2 가 상기 히드록시기인 경우, 상기 히드록시기는, 예컨대 이성화하여, 옥소기(=O)로서 존재하여도 좋고, 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 히드록시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한

되지 않지만, 예컨대 전술한 히드록시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

- [0079] 상기 X_2 가 상기 알콕시기인 경우, 상기 알콕시기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메톡시기, 에톡시기, 프로폭시기, 부톡시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알콕시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0080] 상기 X_2 가 상기 티오기(티올기)인 경우, 상기 티오기(티올기)는, 예컨대 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 티오기(티올기)에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 티오기(티올기)에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0081] 상기 X_2 가 상기 알킬티오기인 경우, 상기 알킬티오기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기 등을 들 수 있다. 상기 알킬티오기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메틸티오기, 에틸티오기, n-프로필티오기, 이소프로필티오기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 메틸티오기이다. 상기 알킬티오기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬티오기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬티오기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0082] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1)중 상기 X_3 은 수소 원자, 할로게노기 또는 알콕시기이다.
- [0083] 상기 X_3 이 상기 할로게노기인 경우, 상기 할로게노기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 플루오로기(불소 원자), 클로로기(염소 원자), 브로모기(브롬 원자), 요오드기(요오드 원자) 등을 들 수 있고, 바람직하게는, 클로로기(염소 원자)이다.
- [0084] 상기 X_3 이 상기 알콕시기인 경우, 상기 알콕시기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메톡시기, 에톡시기, 프로폭시기, 부톡시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알콕시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0085] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1)중 상기 R_1 및 R_2 는 동일하거나 또는 상이하고, 각각 수소 원자, 할로게노기, 카르복실기, 알킬기, 아실기, 카르바모일기, 아실옥시기, 히드록시알킬기, 아실옥시알킬기, 알콕시알킬기, 할로알킬기 또는 포스포노옥시알킬기이며, 바람직하게는 히드록시알킬기이다.
- [0086] 상기 R_1 및 R_2 중 한쪽 이상이, 상기 히드록시알킬기인 경우, 상기 히드록시알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 히드록시알킬기 등을 들 수 있다. 상기 히드록시알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 히드록시메틸기, 히드록시에틸기, 히드록시프로필기, 포스포노옥시알킬기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 히드록시메틸기이다. 또한, 상기 히드록시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 히드록시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 히드록시알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0087] 상기 R_1 및 R_2 중 한쪽 이상이, 상기 할로게노기인 경우, 상기 할로게노기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 플루오로기(불소 원자), 클로로기(염소 원자), 브로모기(브롬 원자), 요오드기(요오드 원자) 등을 들 수 있다.
- [0088] 상기 R_1 및 R_2 중 한쪽 이상이, 상기 카르복실기인 경우, 상기 카르복실기는, 예컨대 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 카르복실기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 카르복실기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0089] 상기 R_1 및 R_2 중 한쪽 이상이, 상기 알킬기인 경우, 상기 알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기 등을 들 수 있다. 상기 알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메틸기, 에틸기, n-프로필기, 이소프로필기, n-부틸기, 이소부틸기, sec-부틸기, tert-부틸기, n-펜틸기, 이소펜틸기, 네오펜틸기, tert-펜틸기 등을 들 수 있다. 또한, 상기 알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 알킬기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬기에서의

치환기 등을 들 수 있다.

- [0090] 상기 R₁ 및 R₂ 중 한쪽 이상이, 상기 아실기인 경우, 상기 아실기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 아실기 등을 들 수 있다. 상기 아실기로서는, 구체적으로는, 예컨대 포르밀기, 아세틸기, 프로피오닐기, 이소부틸기, 발레틸기, 이소발레틸기, 피바로일기, 헥사노일기, 시클로헥사노일기, 벤조일기, 에톡시카르보닐기 등을 들 수 있다. 또한 상기 아실기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 아실기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 아실기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0091] 상기 R₁ 및 R₂ 중 한쪽 이상이, 상기 카르바모일기인 경우, 상기 카르바모일기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 카르바모일기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 카르바모일기에서의 치환기 등을 들 수 있다. 상기 수소 원자가 치환기로 치환된 카르바모일기로서는, 구체적으로는, 예컨대 전술한 치환 카르바모일기 등을 들 수 있다.
- [0092] 상기 R₁ 및 R₂ 중 한쪽 이상이, 상기 아실옥시기인 경우, 상기 아실옥시기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 아실옥시기 등을 들 수 있다. 상기 아실옥시기로서는, 구체적으로는, 예컨대 아세톡시기, 프로피오닐옥시기, 부타노일옥시기, 3-클로로부틸옥시기 등을 들 수 있다. 또한, 상기 아실옥시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 아실옥시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 아실옥시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0093] 상기 R₁ 및 R₂ 중 한쪽 이상이, 상기 아실옥시알킬기인 경우, 상기 아실옥시알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 2~8인 직쇄 또는 분기 아실옥시알킬기 등을 들 수 있다. 상기 아실옥시알킬기로서는, 예컨대 상기 아실옥시기로 치환한 상기 알킬기 등을 들 수 있다. 상기 아실옥시알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 아세톡시에틸기, 프로피오닐옥시에틸기, 부타노일옥시에틸기, 3-클로로부틸옥시에틸기 등을 들 수 있다. 또한 상기 아실옥시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 아실옥시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 아실옥시알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0094] 상기 R₁ 및 R₂ 중 한쪽 이상이, 상기 알콕시알킬기인 경우, 상기 알콕시알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 2~8인 직쇄 또는 분기 알콕시알킬기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메톡시메틸기, 에톡시메틸기, 메톡시에틸기, 에톡시에틸기, 프로톡시에틸기 등의 알콕시기로 치환한 상기 알킬기 등을 들 수 있다. 또한, 상기 알콕시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알콕시알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0095] 상기 R₁ 및 R₂ 중 한쪽 이상이, 상기 할로알킬기인 경우, 상기 할로알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 할로알킬기 등을 들 수 있다. 상기 할로알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 클로로메틸기, 클로로에틸기, 클로로부틸기, 디클로로메틸기, 트리플루오로메틸기, 브로모메틸기, 브로모에틸기, 플루오로메틸기, 트리플루오로에틸기 등의 상기 할로게노기로 치환한 알킬기 등을 들 수 있다.
- [0096] 상기 R₁ 및 R₂ 중 한쪽 이상이, 상기 포스포노옥시알킬기인 경우, 상기 포스포노옥시알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 포스포노옥시알킬기 등을 들 수 있다. 상기 포스포노옥시알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 포스포노옥시메틸기, 포스포노옥시에틸기, 포스포노옥시프로필기 등을 들 수 있다. 또한, 상기 포스포노옥시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 포스포노옥시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 포스포노옥시알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0097] 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 상기 일반식 (1)에 있어서, 예컨대 상기 X₁이 클로로기이며, 상기 X₂가, 아미노기이며, 상기 R₁ 및 R₂가 히드록시메틸기여도 좋다. 이러한 시클로부틸 푸린 유도체로서는, 예컨대 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린 또는 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린 등을 들 수 있다.
- [0098] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 이론상 가능한 모든 호변이성체 또는

입체이성체는, 본 발명의 범위 내이다. 이하, 본 명세서에서는, 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체, 그 모든 호변이성체 및 입체이성체를 총칭하여, 간단히 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체라고 하는 경우도 있다.

[0099] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 염으로서, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 나트륨염, 칼륨염 등의 알칼리 금속염; 칼슘염, 마그네슘염 등의 알칼리토류 금속염; 암모늄염; 트리메틸아민염, 트리에틸아민염, 디클로헥실아민염, 에탄올아민염, 디에탄올아민염, 트리에탄올아민염, 브로카인염 등의 지방족 아민염, N,N-디벤질에틸렌디아민 등의 아랄킬아민염; 피리디늄, 피콜린염, 퀴놀린염, 이소퀴놀린염 등의 복소환 방향족 아민염; 테트라메틸암모늄염, 테트라에틸암모늄염, 벤질트리메틸암모늄염, 벤질트리부틸암모늄염, 메틸트리옥틸암모늄염, 테트라부틸암모늄염 등의 제4급 암모늄염; 아르기닌염, 리신염, 아스파라긴산염, 글루타민산염 등의 아미노산염; 염산염, 황산염, 질산염, 인산염, 탄산염, 탄산수소염, 과염소산염 등의 무기산염; 초산염, 프로피온산염, 유산염, 말레산염, 푸마르산염, 타르타르산염, 말산염, 시트르산염, 아스코르빈산염 등의 유기산염, 메탄술폰산염, 이세티온산염, 벤젠술폰산염, p-톨루엔술폰산염 등의 술폰산염 등을 들 수 있다. 또한 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 용매화물 또는 수화물도, 본 발명의 범위 내이다.

[0100] 상기 일반식 (1)로 나타내는 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체의 제조 방법은, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 이하와 같다.

[0101] <제조예 1>

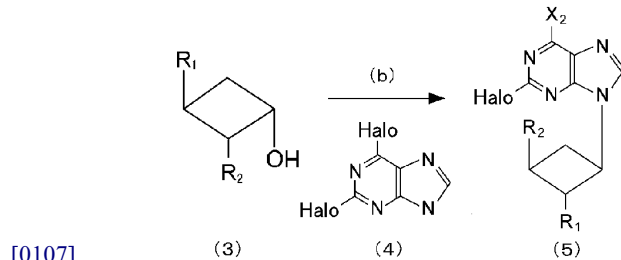
[0102] X₁이 할로게노기인 경우, 상기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 제조 방법은, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 하기 (a) 및 (b) 공정을 포함하는 제조 방법 등을 들 수 있다.

[0103] (a) 우선 Basacchi 등의 방법(G.S.Basacchi, A.Braitman, C.W.Cianci, J.M.Clark, A.K.Field, M.E.Hagen, D.R.Hockstein, M.F.Malley, T.Mitt, W.A.Slusarchyk, J.E.Sundeen, B.J.Terry, A.V.Tuomari, E.R.Weaver, M.G.Young and R.Zahler, J.Med.Chem., 1991, 34, 1415) 등에 의해, 하기 일반식 (3)에 나타내는 시클로부탄올 유도체를 합성한다.

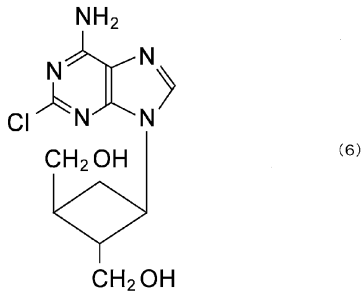
[0104] (b) 이어서, 상기 시클로부탄올 유도체에, 하기 일반식 (4)로 나타내는 푸린 유도체(Halo는 할로게노기)를 반응시키고, 또한 X₂의 치환기에 따른 치환 반응을 실시하며, 하기 일반식 (5)로 나타내는 X₁이 할로게노기인 화합물(Halo는 할로게노기)을 얻는다. 상기 푸린 유도체의 반응에 이용하는 용매로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 테트라히드로푸란(THF), 디에틸에테르, 1,4-디옥산, 톨루엔, 디클로로메탄 등을 들 수 있고, 바람직하게는 THF이다. 그리고 상기 푸린 유도체의 반응 온도로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 30℃~100℃의 범위를 들 수 있고, 바람직하게는 45℃~55℃의 범위이다. 또한 상기 푸린 유도체의 반응 시간으로서, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 5~50 시간의 범위이고, 바람직하게는 12~18시간의 범위이다. X₂의 치환기에 따른 치환 반응에서의 상기 치환기로서는, 전술한 X₂의 치환기이면, 특별히 제한되지 않는다. 또한 X₂의 치환기에 따른 치환 반응에서의 용매, 반응 온도 및 반응 시간은, 상기 치환기에 의해 적절하게 설정할 수 있고, 특별히 제한되지 않는다. 예컨대 상기 X₂의 치환기가 아미노기인 경우에는, 상기 푸린유도체의 반응 후에, 암모니아로 포화된 메탄올을 반응시켜도 좋다. 또한 이들의 반응 전에는, 예컨대 관능기 R₁ 및 R₂에 대한 보호 반응을 적절하게 실시하고, 반응 후에는, 탈보호 반응, 탈수 반응 등의 반응을 적절하게 실시하여도 좋다.

[0105] 하기 공정 반응식 1에, 상기 (b) 공정의 반응식을 나타낸다.

[0106] (공정 반응식 1)



[0108] 본 제조예에 의해 제조되는 시클로부틸 푸린 유도체로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 하기 화학식 (6)에 나타내는 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린(C₁₁H₁₄C1N₅O₂) 등을 들 수 있다.

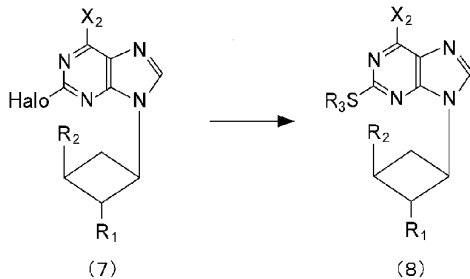


[0109]

[0110] <제조예 2>

[0111] 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체의 제조 방법에 있어서, X₁은, 상기 제조예 1과 같이, 처음부터 도입하여도 좋지만, 예컨대 상기 제조예 1과 같은 방법이 곤란한 경우 등에는, 원하는 X₁과는 별도의 치환기를 커플링 반응 후에 X₁로 변환하여도 좋다. 예컨대 X₁이 알킬티오기인 경우, 상기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 제조 방법은, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 이하의 공정을 포함하는 제조 방법 등을 들 수 있다. 하기 공정 반응식 2에, 본 제조예의 반응식을 나타낸다. 또한 하기 공정 반응식 2에 있어서, Halo는 할로게노기이고, R₃은 알킬기이다.

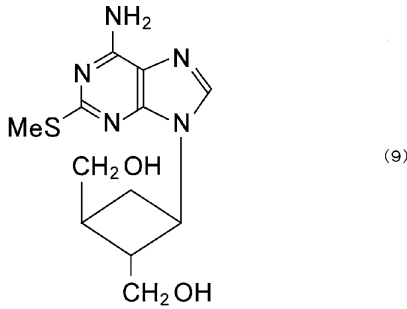
[0112] (공정 반응식 2)



[0113]

[0114] 우선, 제조예 1의 제조 방법을 이용하여, X₁이 할로게노기인 상기 일반식 (7)로 나타내는 화합물을 얻는다. 그리고, 상기 화합물을, 용매 존재하에서, 티오알킬화제와 반응시켜, 상기 일반식 (8)로 나타내는 화합물(R₃은 알킬기)을 얻는다. 상기 티오알킬화제로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 티오메톡시드나트륨, 티오에톡시드나트륨, 티오페녹시드나트륨 등을 들 수 있고, 바람직하게는 티오메톡시드나트륨이다. 상기 용매로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 N,N-디메틸포름아미드(DMF), 디메틸설폭시드(DMSO), 1,4-디옥산 등을 들 수 있고, 바람직하게는 DMF이다. 그리고, 상기 반응 온도로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 10℃~80℃의 범위를 들 수 있고, 바람직하게는 15℃~25℃의 범위이다. 또한 상기 반응 시간으로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 10~48 시간의 범위이고, 바람직하게는 12~18 시간의 범위이다. 또한 상기 반응 전에는, 예컨대 관능기 R₁ 및 R₂에 대한 보호 반응을 적절하게 실시하고, 상기 반응 후에는, 탈보호 반응, 탈수 반응 등의 반응을 적절하게 실시하여도 좋다.

[0115] 본 제조예에 의해 제조되는 시클로부틸 푸린 유도체로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 하기 화학식 (9)에 나타내는 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린(C₁₂H₁₇N₅O₂S) 등을 들 수 있다.



- [0116]
- [0117] 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체의 제조 방법은, 예컨대 상기 제조예의 공정에 추가로, 또한 각 공정에서 얻어진 반응 생성물의 분리 공정, 정제 공정 등의 다른 공정을 포함하고 있어도 좋다. 상기 분리 공정 및 상기 정제 공정으로서는, 특별히 제한되지 않고, 예컨대 칼럼 크로마토그래피, 겔 침투 크로마토그래피 등의 종래 공지의 방법을 적절하게 이용할 수 있다. 이와 같이, 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체는, 공업적으로 생산할 수 있고, 저분자이기 때문에, 저렴하게 안정적으로 공급할 수 있다.
- [0118] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 염, 용매화물 또는 수화물의 제조 방법으로서는, 특별히 제한되지 않고, 전술한 제조 방법예 등에 의해 얻어진 시클로부틸 푸린 유도체 등을 이용하여, 종래 공지의 방법을 적절하게 사용할 수 있다.
- [0119] <촉진제>
- [0120] 본 발명의 촉진제는, 전술한 바와 같이, 상기 일반식 (1')로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물을 포함하고, 혈관신생 촉진 기능, 관강 형성 촉진 기능 및 신경세포 성장 촉진 기능으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 기능을 갖는 촉진제이다.
- [0121] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1') 중 X₁'은 할로게노기, 알킬기, 알킬티오기, 티오기(티올기), 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 알킬닐기 또는 시아노기이다.
- [0122] 상기 X₁'이 상기 할로게노기인 경우, 상기 할로게노기로서는, 특별히 제한되지 않고, 예컨대 플루오로기(불소 원자), 클로로기(염소 원자), 브로모기(브롬 원자) 및 요오드기(요오드 원자) 등을 들 수 있고, 바람직하게는 클로로기(염소 원자)이다.
- [0123] 상기 X₁'이 상기 알킬기인 경우, 상기 알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기 등을 들 수 있다. 상기 알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메틸기, 에틸기, n-프로필기, 이소프로필기, n-부틸기, 이소부틸기, sec-부틸기, tert-부틸기, n-펜틸기, 이소펜틸기, 네오펜틸기, tert-펜틸기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 메틸기이다. 또한, 상기 알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가, 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 알킬기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0124] 상기 X₁'이 상기 알킬티오기인 경우, 상기 알킬티오기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기 등을 들 수 있다. 상기 알킬티오기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메틸티오기, 에틸티오기, n-프로필티오기, 이소프로필티오기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 메틸티오기이다. 상기 알킬티오기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬티오기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬티오기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0125] 상기 X₁'이 상기 티오기(티올기)인 경우, 상기 티오기(티올기)는, 예컨대 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 티오기(티올기)에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 티오기(티올기)에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0126] 상기 X₁'이 상기 아미노기인 경우, 상기 아미노기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가, 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋고, 특별히 제한되지 않는다. 아미노기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않고, 예컨대 전술한 아미노기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0127] 상기 X₁'이 상기 히드록시기인 경우, 상기 히드록시기는, 예컨대 이성화하여, 옥소기(=O)로서 존재하여도 좋고,

수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 히드록시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 히드록시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

- [0128] 상기 X_1' 이 상기 알콕시기인 경우, 상기 알콕시기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메톡시기, 에톡시기, 프로폭시기, 부톡시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알콕시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0129] 상기 X_1' 이 상기 알킬닐기인 경우, 상기 알킬닐기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬닐기 등을 들 수 있다. 상기 알킬닐기로서는, 구체적으로는, 예컨대 에틸닐기, 프로파르닐기 등을 들 수 있다. 상기 알킬닐기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬닐기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬닐기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0130] 상기 일반식 (1') 중
- [0131] X_2' 는 할로게노기, 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 티오기(티올기) 또는 알킬티오기이다.
- [0132] 상기 X_2' 가 상기 할로게노기인 경우, 상기 할로게노기로서는, 특별히 제한되지 않고, 예컨대 플루오로기(불소 원자), 클로로기(염소 원자), 브로모기(브롬 원자) 및 요오드기(요오드 원자) 등을 들 수 있고, 바람직하게는 클로로기(염소 원자)이다.
- [0133] 상기 X_2' 가 상기 아미노기인 경우, 상기 아미노기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가, 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋고, 특별히 제한되지 않는다. 아미노기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않고, 예컨대 전술한 아미노기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0134] 상기 X_2' 가 상기 히드록시기인 경우, 상기 히드록시기는, 예컨대 이성화하여, 옥소기(=O)로서 존재하여도 좋고, 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 히드록시기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 히드록시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0135] 상기 X_2' 가 상기 알콕시기인 경우, 상기 알콕시기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메톡시기, 에톡시기, 프로폭시기, 부톡시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알콕시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0136] 상기 X_2' 가 상기 티오기(티올기)인 경우, 상기 티오기(티올기)는, 예컨대 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 티오기(티올기)에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 티오기(티올기)에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0137] 상기 X_2' 가 상기 알킬티오기인 경우, 상기 알킬티오기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기 등을 들 수 있다. 상기 알킬티오기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메틸티오기, 에틸티오기, n-프로필티오기, 이소프로필티오기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 메틸티오기이다. 상기 알킬티오기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬티오기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬티오기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0138] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1')중 X_3' 은 수소 원자, 할로게노기, 알킬기, 알킬티오기, 아미노기, 히드록시기, 알콕시기, 히드록시페닐기 또는 카르바모일기이다.
- [0139] 상기 X_3' 이 상기 할로게노기인 경우, 상기 할로게노기로서는, 특별히 제한되지 않고, 예컨대 플루오로기(불소 원자), 클로로기(염소 원자), 브로모기(브롬 원자) 및 요오드기(요오드 원자) 등을 들 수 있다.
- [0140] 상기 X_3' 이 상기 알킬기인 경우, 상기 알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기 등을 들 수 있다. 상기 알킬기로서는, 구체적으로는 예컨대, 메틸기, 에틸기, n-프로필기, 이소

프로필기, n-부틸기, 이소부틸기, sec-부틸기, tert-부틸기, n-펜틸기, 이소펜틸기, 네오펜틸기, tert-펜틸기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 메틸기이다. 또한, 상기 알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가, 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 알킬기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

[0141] 상기 X_3' 가 상기 알킬티오기인 경우, 상기 알킬티오기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬티오기 등을 들 수 있다. 상기 알킬티오기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메틸티오기, 에틸티오기, n-프로필티오기, 이소프로필티오기 등을 들 수 있다. 상기 알킬티오기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알킬티오기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬티오기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

[0142] 상기 X_3' 이 상기 아미노기인 경우, 상기 아미노기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 아미노기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 아미노기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

[0143] 상기 X_3' 이 상기 히드록시기인 경우, 상기 히드록시기는, 예컨대 이성화하여, 옥소기(=O)로서 존재하여도 좋고, 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 히드록시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 히드록시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

[0144] 상기 X_3' 이 상기 알콕시기인 경우, 상기 알콕시기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알콕시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메톡시기, 에톡시기, 프로폭시기, 부톡시기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알콕시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

[0145] 상기 X_3' 이 상기 히드록시페닐기인 경우, 상기 히드록시페닐기 내의 히드록시기는, 예컨대 이성화하여, 옥소기(=O)로서 존재하여도 좋고, 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 히드록시페닐기에서의 치환기로서는, 산으로 탈보호할 수 있는 것을 포함하고, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 히드록시페닐기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

[0146] 상기 X_3' 이 상기 카르바모일기인 경우, 상기 카르바모일기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 카르바모일기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 카르바모일기에서의 치환기 등을 들 수 있다. 상기 수소 원자가 치환기로 치환된 카르바모일기로서는, 구체적으로는, 예컨대 전술한 치환 카르바모일기 등을 들 수 있다.

[0147] 상기 일반식 (1') 중 R_1' 및 R_2' 는 동일하거나 또는 상이하고, 각각 수소 원자, 할로게노기, 카르복실기, 알킬기, 아실기, 카르바모일기, 아실옥시기, 히드록시알킬기, 아실옥시알킬기, 알콕시알킬기, 할로알킬기 또는 포스포노옥시알킬기이다.

[0148] 상기 R_1' 및 R_2' 중 한쪽 이상이, 상기 할로게노기인 경우, 상기 할로게노기로서는, 특별히 제한되지 않고, 예컨대 플루오로기(불소 원자), 클로로기(염소 원자), 브로모기(브롬 원자) 및 요오드기(요오드 원자) 등을 들 수 있다.

[0149] 상기 R_1' 및 R_2' 중 한쪽 이상이, 상기 카르복실기인 경우, 상기 카르복실기는, 예컨대 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 카르복실기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 카르복실기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

[0150] 상기 R_1' 및 R_2' 중 한쪽 이상이, 상기 알킬기인 경우, 상기 알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 알킬기 등을 들 수 있다. 상기 알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메틸기, 에틸기, n-프로필기, 이소프로필기, n-부틸기, 이소부틸기, sec-부틸기, tert-부틸기, n-펜틸기, 이소펜틸기, 네오펜틸기, tert-펜틸기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 메틸기이다. 또한 상기 알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가, 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 알킬기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.

- [0151] 상기 R₁' 및 R₂' 중 한쪽 이상이, 상기 아실기인 경우, 상기 아실기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 아실기 등을 들 수 있다. 상기 아실기로서는, 구체적으로는, 예컨대 포르밀기, 아세틸기, 프로피오닐기, 이소부틸기, 발레틸기, 이소발레틸기, 피바로일기, 핵사노일기, 시클로핵사노일기, 벤조일기, 에톡시카르보닐기 등을 들 수 있다. 또한, 상기 아실기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 아실기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 아실기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0152] 상기 R₁' 및 R₂' 중 한쪽 이상이, 상기 카르바모일기인 경우, 상기 카르바모일기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 카르바모일기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 카르바모일기에서의 치환기 등을 들 수 있다. 상기 수소 원자가 치환기로 치환된 카르바모일기로서는, 구체적으로는, 예컨대 전술한 치환 카르바모일기 등을 들 수 있다.
- [0153] 상기 R₁' 및 R₂' 중 한쪽 이상이, 상기 아실옥시기인 경우, 상기 아실옥시기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 아실옥시기 등을 들 수 있다. 상기 아실옥시기로서는, 구체적으로는, 예컨대 아세톡시기, 프로피오닐옥시기, 부타노일옥시기, 3-클로로부틸옥시기 등을 들 수 있다. 또한 상기 아실옥시기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 아실옥시기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 아실옥시기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0154] 상기 R₁' 및 R₂' 중 한쪽 이상이, 상기 히드록시알킬기인 경우, 상기 히드록시알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 히드록시알킬기 등을 들 수 있다. 상기 히드록시알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 히드록시메틸기, 히드록시에틸기, 히드록시프로필기 등을 들 수 있고, 바람직하게는 히드록시메틸기이다. 또한 상기 히드록시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 히드록시알킬기에서의 상기 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 히드록시알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0155] 상기 R₁' 및 R₂' 중 한쪽 이상이, 상기 아실옥시알킬기인 경우, 상기 아실옥시알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 2~8인 직쇄 또는 분기 아실옥시알킬기 등을 들 수 있다. 상기 아실옥시알킬기로서는, 예컨대 상기 아실옥시기로 치환한 상기 알킬기 등을 들 수 있다. 상기 아실옥시알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 아세톡시에틸기, 프로피오닐옥시에틸기, 부타노일옥시에틸기, 3-클로로부틸옥시에틸기 등을 들 수 있다. 또한, 상기 아실옥시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 아실옥시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 아실옥시알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0156] 상기 R₁' 및 R₂' 중 한쪽 이상이, 상기 알콕시알킬기인 경우, 상기 알콕시알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 2~8인 직쇄 또는 분기 알콕시알킬기 등을 들 수 있다. 상기 알콕시알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 메톡시메틸기, 에톡시메틸기, 메톡시에틸기, 에톡시에틸기, 프로톡시에틸기 등의 알콕시기로 치환한 상기 알킬기 등을 들 수 있다. 또한, 상기 알콕시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 알콕시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 알콕시알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0157] 상기 R₁' 및 R₂' 중 한쪽 이상이, 상기 할로알킬기인 경우, 상기 할로알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 할로알킬기 등을 들 수 있다. 상기 할로알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 클로로메틸기, 클로로에틸기, 클로로부틸기, 디클로로메틸기, 트리플루오로메틸기, 브로모메틸기, 브로모에틸기, 플루오로메틸기, 트리플루오로에틸기 등의 상기 할로게노기로 치환한 알킬기 등을 들 수 있다.
- [0158] 상기 R₁' 및 R₂' 중 한쪽 이상이, 상기 포스포노옥시알킬기인 경우, 상기 포스포노옥시알킬기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 탄소수가 1~8인 직쇄 또는 분기 포스포노옥시알킬기 등을 들 수 있다. 상기 포스포노옥시알킬기로서는, 구체적으로는, 예컨대 포스포노옥시메틸기, 포스포노옥시에틸기, 포스포노옥시프로필기 등을 들 수 있다. 또한, 상기 포스포노옥시알킬기는, 예컨대 그 하나 이상의 수소 원자가 임의의 치환기로 치환되어 있어도 좋다. 상기 포스포노옥시알킬기에서의 치환기로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한 포스포노옥시알킬기에서의 치환기 등을 들 수 있다.
- [0159] 또한 X₁'이 아미노기이며 X₃'이 수소 원자인 경우에는, R₁' 및 R₂'는 히드록시알킬기 이외의 원자 또는

치환기이다.

- [0160] 본 발명의 촉진제는, 상기 일반식 (1')에서, 예컨대 상기 X_1' 이, 클로로기이고, 상기 X_2' 가 아미노기이며, 상기 R_1' 및 R_2' 가 히드록시메틸기여도 좋다. 이러한 촉진제로서는, 예컨대 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린 또는 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린, 이들의 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물을 포함하고, 혈관신생 촉진 기능, 관강 형성 촉진 기능 및 신경세포 성장 촉진 기능으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 기능을 갖는 촉진제 등을 들 수 있다.
- [0161] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1')로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 이론상 가능한 모든 호변이성체 또는 입체이성체를 포함하고, 혈관신생 촉진 기능, 관강 형성 촉진 기능 및 신경세포 성장 촉진 기능으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 기능을 갖는 촉진제는, 본 발명의 범위 내이다. 이하, 본 명세서에서는, 일반식 (1')로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체, 그 모든 호변이성체 및 입체이성체를 총칭하여, 간단히 일반식 (1')로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체라고 하는 경우도 있다.
- [0162] 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1')로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 염으로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 전술한, 상기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 염 등을 들 수 있다. 또한 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1')로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 염, 용매화물 또는 수화물을 포함하여, 혈관신생 촉진 기능, 관강 형성 촉진 기능 및 신경세포 성장 촉진 기능으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 기능을 갖는 촉진제도, 본 발명의 범위 내이다.
- [0163] 상기 일반식 (1')로 나타내는 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체의 제조 방법은, 특별히 제한되지 않고, 예컨대 전술한, 상기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체와 같은 제조 방법 등을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 상기 일반식 (1')로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 염, 용매화물 또는 수화물의 제조 방법도, 특별히 제한되지 않고, 상기 일반식 (1)로 나타내는 시클로부틸 푸린 유도체의 제조 방법 등에 의해 얻어진 시클로부틸 푸린 유도체 등을 이용하여, 종래 공지的方法을 적절하게 사용할 수 있다.
- [0164] 본 발명의 촉진제는, 전술한 바와 같이, 혈관신생 촉진 기능, 관강 형성 촉진 기능 및 신경세포 성장 촉진 기능으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 기능을 갖는 촉진제이다. 상기 촉진제로서는, 구체적으로는, 예컨대 혈관신생 촉진제, 관강 형성 촉진제, 신경세포 성장 촉진제 등을 들 수 있다. 상기 혈관신생 촉진제는, 혈관신생을 촉진시키는 기능을 가지며, 예컨대 혈관내피세포의 세포증식 촉진 기능, 혈관내피세포의 세포 유주(遊走) 촉진 기능 등을 갖고 있어도 좋다. 상기 관강 형성 촉진제로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 혈관내피세포에 의한 관강 형성 촉진제, 소화관 유래 세포에 의한 관강 형성 촉진제, 간장 유래 세포에 의한 관강 형성 촉진제, 임파관 형성 촉진제 등을 들 수 있고, 바람직하게는 혈관내피세포에 의한 관강 형성 촉진제이다. 상기 신경세포 성장 촉진제로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 신경세포 증식 촉진제, 신경세포 분화 촉진제 등을 들 수 있고, 바람직하게는 신경세포 증식 촉진제이다. 또한 본 발명의 촉진제는, 상기 혈관신생 촉진 기능, 관강 형성 촉진 기능 및 신경세포 성장 촉진 기능으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 기능을 갖지만, 동시에, 상기 혈관신생 촉진 기능, 관강 형성 촉진 기능 및 신경세포 성장 촉진 기능 이외의 다른 기능을 갖고 있어도 좋다. 본 발명의 촉진제가 갖는 상기 다른 기능으로서는, 특별히 제한되지 않는다.
- [0165] <의약품>
- [0166] 본 발명의 의약품은, 전술한 바와 같이, 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 및 입체이성체, 및 그의 염, 용매화물 및 수화물, 및 본 발명의 촉진제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상을 포함하고, 혈관신생 촉진용, 관강 형성 촉진용 및 신경세포 성장 촉진용으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상의 용도를 갖는다. 또한 본 발명에 있어서, 의약품이란, 의약품, 의약부외품을 포함한다. 본 발명의 의약품으로서는, 특별히 제한되지 않지만, 예컨대 외상 치료약, 화상 치료약, 반흔 치료약, 욕창 치료약 등의 창상 치유약, 알츠하이머 치료약, 알츠하이머 예방약, 경색성 질환 치료약, 경색성 질환 예방약, 욕모제 등을 들 수 있다.
- [0167] 본 발명의 의약품은, 경구적 또는 비경구적으로 투여할 수 있다. 경구적으로 투여하는 경우, 본 발명의 의약품의 제형으로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 산제, 세립제, 과립제, 정제, 피복정제, 캡슐제, 트로키제, 액제 등을 들 수 있다. 비경구적으로 투여하는 경우, 본 발명의 의약품의 제형으로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예컨대 주사제, 점비제, 연고제, 첩부제, 파프제, 로션제, 좌제 등을 들 수 있다. 또한, 상기 의약품의 조성은, 특별히 제한되지 않고, 상기 촉진제 이외에, 예컨대 부형제, 결합제, 활택제, 붕괴제, 흡수촉진제, 유향제, 안정화제, 방부제 등의 각종 첨가제 등을 포함하고 있어도 좋다. 또한, 상기 의약품은, 통상 이용되는 제제

화 기술 등에 의해 제조할 수 있다.

[0168] 본 발명의 의약품에 있어서, 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체의 투여량은, 제형, 투여 방법, 대상 질환, 투여 하는 환자 등에 의해 적절하게 설정할 수 있고, 특별히 제한되지 않는다.

[0169] **실시예**

[0170] 이어서, 본 발명의 실시예에 대해서 설명한다. 단, 본 발명은, 하기의 실시예에 의해 한정 및 제한되지 않는다.

[0171] (실시예 1)

[0172] 본 예에서는, 상기 화학식 (6)에 나타내는 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로 부틸]푸린(C₁₁H₁₄ClN₅O₂, 이하 「2-Cl-C.OXT-A」라고 함.)이, 혈관내피세포의 세포증식, 관강 형성 및 세포 유주 성에 부여하는 영향을 조사하였다.

[0173] <2-Cl-C.OXT.A의 합성>

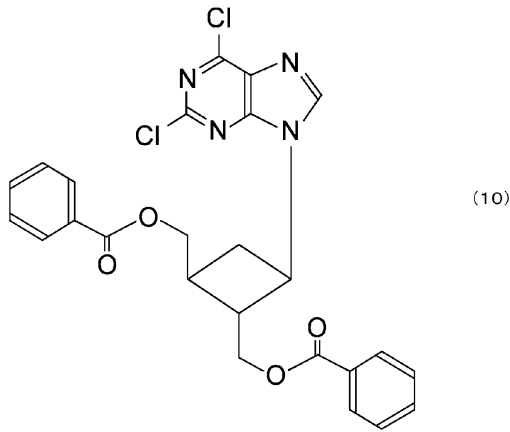
[0174] 상기 2-Cl-C.OXT.A는, 이하의 공정 1~3에 의해 합성하였다. 또한 본 예에서, ¹H NMR 및 ¹³C NMR 스펙트럼은 Ultrashield™ 400 Plus FT NMR System(BRUKER사 제조)을 이용하여 측정하였다. 케미컬 시프트는 δ로 나타내고, 커플링 상수(J)는 Hz로 나타내었다. 용점은 미량 용점 측정 장치 MP-500D(야나코 기기개발 연구소 제조)에 의해 측정하였다. 원소 분석은 2400 Series II CHNS/O(Perkin Elmer사 제조)를 이용하여 측정하였다. 고 분해능 질량 분석은 APEX IV mass spectrometer(BRUKER사 제조)를 이용하여, 일렉트로 스프레이 이온화 질량 분석(ESI-MS)법에 의해 측정하였다.

[0175] (공정 1: 시스-트랜스-2,3-비스(벤조일옥시메틸)-1-시클로부탄올의 합성)

[0176] 본 예에서, 시스-트랜스-2,3-비스(벤조일옥시메틸)-1-시클로부탄올은, Basacchi 등의 방법(G.S.Basacchi, A.Braitman, C.W.Cianci, J.M.Clark, A.K.Field, M.E.Hagen, D.R.Hockstein, M.F.Malley, T.Mitt, W.A.Slusarchyk, J.E.Sundeen, B.J.Terry, A.V.Tuomari, E.R.Weaver, M.G.Young and R.Zahler, J.Med.Chem., 1991, 34, 1415)에 기초하여, 이하와 같이 하여 합성하였다. 우선 트랜스-2,3-비스(벤조일옥시메틸)-1-시클로부탄올 14.00 g(41.40 mmol)을, 건조 THF 350 ml에 용해하고, 질소 기류하에서 -78℃로 냉각하였다. 냉각 후, 교반 하면서, 1 mmol/L의 LS-셀렉트리드 THF 용액 42 ml를 상기 용액에 적하하고, 2시간 후, 초산 6 ml를 더 적하하였다. 이 용액을, 실온으로 돌아갈 때까지 정치 후, 20 ml로 농축하였다. 상기 농축액에, 톨루엔 250 ml 및 물 100 ml를 첨가하고, 분액 로트중에서 진탕하였다. 얻어진 유기층을 물 100 ml로 세정 후, 황산마그네슘을 이용하여 건조하였다. 건조 후, 여과에 의해 고형물을 제거하고, 여과액을 20 ml로 농축하였다. 이 농축액(잔사액)을, 실리카겔 칼럼을 이용한 크로마토그래피법에 의해 분리하고, 엷 형상의 시스-트랜스-2,3-비스(벤조일옥시메틸)-1-시클로부탄올(10.15 g, 수율 72%)을 얻었다.

[0177] (공정 2: 2,6-디클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(벤조일옥시메틸)시클로부틸]푸린의 합성)

[0178] 이어서, 상기 시스-트랜스-2,3-비스(벤조일옥시메틸)-1-시클로부탄올(5.20 g, 15.28 mmol) 및 2,6-디클로로푸린(4.33 g, 22.9 mmol)을, THF 100 ml로 용해하고, 빙냉하, 트리페닐포스피린(7.87 g, 30 mmol)을 첨가하였다. 첨가 후, 또한 디이소프로필아조디카르복실레이트(5.9 ml, 30 mmol)를 첨가하고, 밤새, 50℃로 유지하였다. 이 용액을 농축한 후, 잔사액을, 실리카겔 칼럼을 이용한 크로마토그래피법에 의해 분리하고, 하기 화학식 (10)에 나타내는 2,6-디클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(벤조일옥시메틸)시클로부틸]푸린의 흰 결정(4.44 g, 수율 57%)을 얻었다.



[0179]

[0180]

이하에, 이 화합물의 물성값을 나타낸다.

[0181]

Mp 146.8-147.4°C, MS m/z=510, 512, 514(M⁺). HR-MS. C₂₅H₂₀Cl₂N₄O₄에 대한 산출치: 510.0862. 실측치: 510.0846. C₂₅H₂₀Cl₂N₄O₄ · 0.3H₂O에 대한 분석산출치: C; 58.11, H; 4.02, N; 10.84. 실측치. C; 57.79, H; 3.94, N; 10.87.

[0182]

(공정 3: 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린의 합성)

[0183]

상기 2,6-디클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(벤조일옥시메틸)시클로부틸]푸린(3.73 g, 7.29 mmol)을, MeOH 50 ml에 현탁하고, 암모니아로 포화시켰다. 이 용액을, 200 ml의 강철제 밀봉관 내에서, 밤새 100°C로 가열하였다. 가열 종료 후, 용액을 수냉하고, 이베퍼레이터를 이용하여 감압하에서 용매를 증류 제거하였다. 얻어진 잔사에 물 50 ml를 첨가하여, CHCl₃ 30 ml로 2번 세정하였다. 세정 후, 수층을 채취하고, 10 ml로 농축하며, 상기 화학식 (6)에 나타내는 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린(2-C1-C.OXT-A)의 흰 결정(1.49 g, 72%)을 얻었다. 이하에, 이 화합물의 물성값을 나타낸다.

[0184]

¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆): δ 8.25(1H, s), 7.68(2H, brs), 4.63(1H, dd, J5.2 및 4.6), 4.53-4.60(2H, m), 3.46-3.56(4H, m), 2.72-2.82(1H, m), 2.38-2.46(1H, m), 2.14(1H, dd, J19.2 및 9.6), 2.03-2.12(1H, m); ¹³C NMR(100MHz, DMSO-d₆): δ 156.7, 152.6, 150.4, 140.2, 118.0, 63.5, 61.4, 47.6, 47.3, 33.0, 29.4. Mp 172-173.5°C. C₁₁H₁₄ClN₅O₂ · 0.2H₂O에 대한 분석산출치. C; 45.98, H; 5.05, N; 24.37. 실측치. C; 45.83, H; 5.01, N; 24.23.

[0185]

<세포증식 측정>

[0186]

상기 2-C1-C.OXT-A를, 정해진 농도(0.5, 1, 5, 10, 50, 100 mmol/L)가 되도록 생리식염수에 용해하고, 시료액을 조제하였다. 그리고, 상기 정해진 농도의 시료액을 각각 10 v/v% 농도가 되도록, 2 v/v% 비동화 소태아혈청(FBS)을 첨가한 HuMedia-EB2 배지(쿠라보우사 제조)에 첨가하여, 세포증식용 배지를 조제하였다. 또한 상기 세포증식용 배지중 2-C1-C.OXT-A의 최종 농도는 50, 100, 500 μmol/L, 1, 5 및 10 mmol/L였다.

[0187]

젤라틴 코팅한 96웰 플레이트의 각 웰에, HuMedia-EG2 배지(쿠라보우사 제조)에 현탁한 인간 제대정맥 내피세포(HUVEC)를, 3×10³ 세포씩 파종하고, 24 시간 배양하였다. 배양 시작 24시간 후에, 배지를 제거하고, 각 웰에 상기 세포증식용 배지 100 μl를 첨가하여, 48시간 더 배양하였다. 배양 종료 후, 세포 계측 키트-8(도진 화학연구소사 제조)를 이용하여 정색 반응을 행하고, 반응 시작 2시간 후에, 마이크로플레이트리더를 이용하여 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 또한 상기 세포증식용 배지 대신에, 2 v/v% 비동화 소태아혈청(FBS)을 첨가한 HuMedia-EB2 배지(쿠라보우사 제조)를 이용하여 배양하고, 전술과 마찬가지로 정색 반응을 행하여, 흡광도를 측정한 것을 컨트롤로 하였다. 그리고, 하기 식 (I)를 이용하여, 상기 각 농도의 2-C1-C.OXT-A를 첨가한 세포증식용 배지를 이용한 배양에서의 상대 흡광도를, 각각 산출하였다.

[0188] [수학식 1]

$$\text{상대 흡광도} = \frac{\text{2-Cl-C.OXT-A 첨가 배지의 흡광도}}{\text{컨트롤의 흡광도}}$$

[0189]

[0190] <관강 형성 측정>

[0191] 관강 형성 측정은, 인간 제대정맥 내피세포(HUVEC) 및 정상 인간 피부 선유아세포로 구성된 시판되는 혈관신생 키트(쿠라보우사 제조)를 이용하여, 이하와 같이 하여 행하였다. 우선 2-Cl-C.OXT-A를, 정해진 농도(1, 10, 100, 500 μmol/L, 1, 5, 10, 50 mmol/L)가 되도록 생리식염수에 용해하고, 시료액을 조제하였다. 그리고, 상기 정해진 농도의 시료액을, 각각 10 v/v% 농도가 되도록, 상기 키트 부속의 배지에 첨가하고, 관강 형성용 배지를 조제하였다. 또한 상기 관강 형성용 배지중 2-Cl-C.OXT-A의 최종 농도는 0.1, 1, 10, 50, 100, 500 μmol/L, 1 및 5 mmol/L였다.

[0192] 상기 관강 형성용 배지를 이용하여, 인간 제대정맥 내피세포(HUVEC) 및 정상 인간 피부 선유아세포를 10일간 배양하였다. 배양 후, 관강 염색 키트(CD31 염색용, 쿠라보우사 제조)를 이용하여, 인간 제대정맥 내피세포(HUVEC)의 면역 염색을 행하였다. 그리고 NIH 이미지(화상 처리 해석 소프트웨어)를 이용하고, 상기 면역 염색에 의한 염색 부분의 면적(관강 면적)을 측정하였다. 또한 상기 관강 형성용 배지 대신에, 상기 키트 부속의 배지를 이용하여 배양하고, 전술과 마찬가지로 면역 염색하여 관강 면적을 측정할 것을, 컨트롤로 하였다. 그리고, 하기 식 (II)를 이용하고, 상기 각 농도의 2-Cl-C.OXT-A를 첨가한 관강 형성용 배지를 이용한 배양에서의 관강 면적 상대값을, 각각 산출하였다.

[0193] [수학식 2]

$$\text{관강면적상대치} = \frac{\text{2-Cl-C.OXT-A 첨가 배지의 관강면적}}{\text{컨트롤의 관강면적}}$$

[0194]

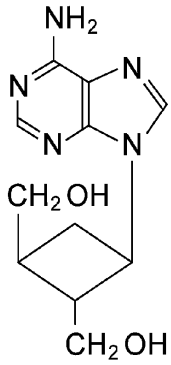
[0195] <세포 유주성 측정>

[0196] 세포 유주성 측정은 CytoSelect 24-웰 세포 이동성 분석(CBA-100, Cell Biolabs사 제조) 키트를 이용하여, 이하와 같이 하여 행하였다. 우선 2-Cl-C.OXT-A를, 정해진 농도(0.1, 0.5, 1 mmol/L)가 되도록 생리식염수에 용해하고, 시료액을 조제하였다. 그리고, 상기 정해진 농도의 시료액을, 각각 10 v/v% 농도가 되도록, 2 v/v% 비동화 소태아혈청(FBS)을 첨가한 HuMedia-EB2 배지(쿠라보우사 제조)에 첨가하고, 세포 유주용 배지를 조제하였다. 또한 상기 세포 유주용 배지중 2-Cl-C.OXT-A의 최종 농도는 10, 50, 100 μmol/L였다.

[0197] 2 v/v% 비동화 소태아혈청(FBS)을 첨가한 HuMedia-EB2 배지(쿠라보우사 제조)에, 인간 제대정맥 내피세포(HUVEC)를, 0.5×10^6 세포/ml의 밀도로 현탁하고, 세포 현탁액을 조제하였다. 상기 키트 부속의 폴리카보네이트막 플레이트의 상단(인서트 내)에, 상기 세포 현탁액 300 μl를 첨가하고, 상기 플레이트의 하단(웰 내)에, 상기 세포 유주용 배지 500 μl를 첨가하며, 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 종료 후, 면봉을 이용하여 상기 인서트 내부 바닥면의 막상을 닦아, 막상의 세포를 제거하였다. 그리고 상기 막의 이면(인서트 외부 바닥면의 막상)에 유주한 세포를, 키트 부속의 염색액을 이용하여 염색하고, 인서트 아래쪽에서부터 사진 촬영하였다. 촬영 후, 키트 부속의 추출액으로 색소를 추출하고, 마이크로플레이트리더를 이용하여 560 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 또한 상기 세포 유주용 배지 대신에, 2 v/v% 비동화 소태아혈청(FBS)을 첨가한 HuMedia-EB2 배지(쿠라보우사 제조)를 이용하여 배양하고, 전술과 마찬가지로 염색하여 흡광도를 측정할 것을, 컨트롤로 하였다. 그리고 상기 식 (I)를 이용하고, 상기 각 농도의 2-Cl-C.OXT-A를 첨가한 세포 유주용 배지를 이용한 배양에서의 상대 흡광도를, 각각 산출하였다.

[0198] (비교예 1)

[0199] 본 예에서는, 하기 화학식 (11)에 나타내는 6-아미노-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린(이하, 「C.OXT-A」라고 함.)에 의한 혈관내피세포의 관강 형성에의 영향을 조사하였다. 상기 관강 형성의 측정은, 상기 2-Cl-C.OXT-A 대신에, C.OXT-A를 이용하고, 상기 관강 형성용 배지중의 C.OXT-A의 최종 농도를, 1, 5, 10, 50, 및 100 μmol/L로 한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 하여 행하였다.



(11)

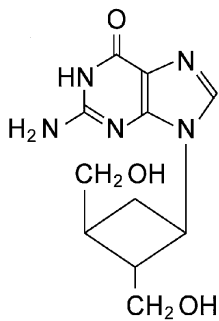
[0200]

[0201]

[0202]

(비교예 2)

본 예에서는, 하기 화학식 (12)에 나타내는 2-아미노-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]-3H-푸린-6-온(이하, 「C.OXT-G」라고 함.)에 의한 혈관내피세포의 관강 형성에의 영향을 조사하였다. 상기 관강 형성의 측정은, 상기 2-C1-C.OXT-A 대신에, C.OXT-G를 이용하고, 상기 관강 형성용 배지중 C.OXT-G의 최종 농도를, 1, 5, 10, 50, 및 100 $\mu\text{mol/L}$ 로 한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 행하였다.



(12)

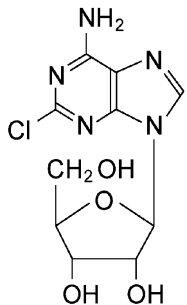
[0203]

[0204]

[0205]

(비교예 3)

본 예에서는, 하기 화학식 (13)에 나타내는 2-클로로-6-아미노-9-[3,4-디히드록시-5-(히드록시메틸)옥솔란-2-일]푸린(이하, 「2-C1-ADN」라고 함.)에 의한 혈관내피세포의 관강 형성에의 영향을 조사하였다. 상기 관강 형성의 측정은, 상기 2-C1-C.OXT-A 대신에, 2-C1-ADN을 이용하고, 상기 관강 형성용 배지중 2-C1-ADN의 최종 농도를, 500 nmol/L , 1, 5, 및 10 $\mu\text{mol/L}$ 로 한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 행하였다.



(13)

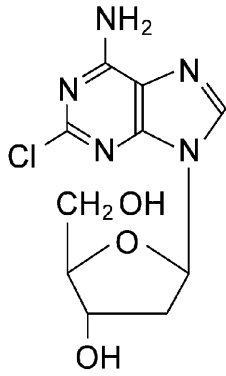
[0206]

[0207]

[0208]

(비교예 4)

본 예에서는, 하기 화학식 (14)에 나타내는 2-클로로-6-아미노-9-[4-히드록시-5-(히드록시메틸)옥솔란-2-일]푸린(이하, 「2-C1-DAD」라고 함.)에 의한 혈관내피세포의 관강 형성에의 영향을 조사하였다. 상기 관강 형성의 측정은, 상기 2-C1-C.OXT-A 대신에, 2-C1-DAD를 이용하고, 상기 관강 형성용 배지중 2-C1-DAD의 최종 농도를, 500 nmol/L , 1, 5 및 10 $\mu\text{mol/L}$ 로 한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 하여 행하였다.



(14)

[0209]

[0210]

[0211]

[0212]

[0213]

[0214]

[0215]

[0216]

[0217]

[0218]

[0219]

[0220]

[0221]

[0222]

[0223]

[0224]

[0225]

(비교예 5)

본 예에서는, 아데노신에 의한 혈관내피세포의 관강 형성에의 영향을 조사하였다. 상기 관강 형성의 측정은, 상기 2-C1-C.OXT-A 대신에, 아데노신을 이용하고, 상기 관강 형성용 배지중 아데노신의 최종 농도를, 100 μ mol/L, 1, 2.5 및 5 mmol/L로 한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 하여 행하였다.

(비교예 6)

본 예에서는, 디옥시아데노신에 의한 혈관내피세포의 관강 형성에의 영향을 조사하였다. 상기 관강 형성의 측정은, 상기 2-C1-C.OXT-A 대신에, 디옥시아데노신을 이용하고, 상기 관강 형성용 배지중 디옥시아데노신의 최종 농도를 100, 500 μ mol/L, 1 및 2.5 mmol/L로 한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 하여 행하였다.

(비교예 7)

본 예에서는, 상기 2-C1-C.OXT-A 대신에, 포지티브 컨트롤로서 VEGF를 이용하고, 상기 세포증식용 배지, 상기 관강 형성용 배지 및 상기 유주성 측정용 배지중 VEGF의 최종 농도를, 10 ng/ml로 한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포증식, 관강 형성 및 세포 유주성에의 영향을 조사하였다.

(비교예 8)

본 예에서는, 상기 시료액 대신에, 생리식염수를, 상기 세포증식용 배지, 상기 관강 형성용 배지 및 상기 유주성 측정용 배지에 첨가한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포증식, 관강 형성 및 세포 유주성에의 영향을 조사하였다.

(비교예 9)

본 예에서는, 상기 시료액 대신에, 소태아혈청(FBS)을 상기 유주성 측정용 배지에 첨가하고, FBS의 상기 배지중의 최종 농도를 5 v/v%로 한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포 유주성에의 영향을 조사하였다.

(비교예 10)

본 예에서는, 상기 시료액 대신에, 소태아혈청(FBS)을 상기 유주성 측정용 배지에 첨가하고, FBS의 상기 배지중 최종 농도를 10 v/v%로 한 것 이외는, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포 유주성에의 영향을 조사하였다.

<세포증식의 측정 결과>

도 2에, 세포증식 측정에서의 상기 상대 흡광도를 비교한 그래프를 도시한다. 도 2의 그래프에 있어서, 종축은, 상기 상대 흡광도이고, 각 바는 좌측으로부터 순서대로, 비교예 8(생리식염수), 비교예 7(VEGF), 실시예 1(2-C1-C.OXT-A)의 결과이다. 또한 횡축 아래에 기재된 각 농도는, 실시예 1에서의 세포증식용 배지중 시료의 최종 농도를 나타낸다.

도 2의 그래프에 도시하는 바와 같이, 실시예 1에서는, 2-C1-C.OXT-A의 최종 농도가 50 μ mol/L부터 1 mmol/L의 범위에서, 상대 흡광도가 대략 1보다 높고, 2-C1-C.OXT-A에 의해 증식이 약간 촉진되며, 5 mmol/L 이상의 고농도 범위에서, 농도 의존적으로 증식이 억제되었다.

<관강 형성의 측정 결과>

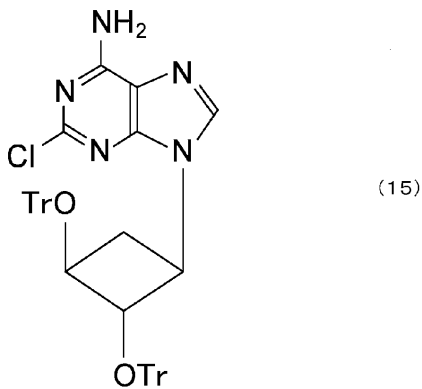
- [0226] 도 3의 (A)~(F)에, 관강 형성 측정에서의 면적 염색의 사진을 도시한다. 도 3의 (A)는 비교예 8(생리식염수)의 사진이고, 도 3의 (B)는 비교예 7(VEGF)의 사진이며, 도 3의 (C)는 실시예 1(2-C1-C.OXT-A 1 μ mol/L)의 사진이고, 도 3의 (D)는 실시예 1(2-C1-C.OXT-A 10 μ mol/L)의 사진이며, 도 3의 (E)는 실시예 1(2-C1-C.OXT-A 100 μ mol/L)의 사진이고, 도 3의 (F)는 실시예 1(2-C1-C.OXT-A 1 mmol/L)의 사진이다. 도 3에서, 각 사진의 횡폭은, 1.6 mm이다. 도 3의 각 사진에서, 흑색 선형물이 면적 염색된 인간 제대정맥 내피세포(HUVEC)이고, 흑색 부분의 면적이 클수록, 관강 형성이 촉진되어 있는 것을 도시하고 있다.
- [0227] 도 3의 (D)~(F)의 사진에 도시하는 바와 같이, 상기 관강 형성용 배지중 2-C1-C.OXT-A의 최종 농도가 10 μ mol/L부터 1 mmol/L의 범위에서, 염색된 면적이 컨트롤보다 크고, 2-C1-C.OXT-A에 의한 관강 형성의 촉진 활성이 확인되었다. 그리고 도 3의 (D) 및 (E)에 도시하는 바와 같이, 상기 최종 농도가 10 및 100 μ mol/L에서, VEGF를 첨가한 비교예 7보다 높은 관강 형성 촉진 활성을 나타내었다.
- [0228] 도 1에, 관강 면적 상대값을 비교한 그래프를 도시한다. 도 1의 그래프에서, 종축은 상기 관강 면적 상대값이고, 각 바는 좌측으로부터 순서대로, 비교예 8(생리식염수), 비교예 7(VEGF), 실시예 1(2-C1-C.OXT-A), 비교예 1(C.OXT-A), 비교예 2(C.OXT-G), 비교예 3(2-C1-ADN), 비교예 4(2-C1-DAD), 비교예 5(아테노신), 비교예 6(디옥시아테노신)의 결과이다. 또한 횡축 아래에 기재한 각 농도는, 각 예에서의 관강 형성 배양용 배지중 시료의 최종 농도를 나타낸다.
- [0229] 도 1의 그래프에 도시하는 바와 같이, 2-C1-C.OXT-A의 상기 최종 농도가 100 nmol/L부터 1 mmol/L의 범위에서, 관강 면적 상대값이 컨트롤보다 높고, 2-C1-C.OXT-A에 의한 관강 형성의 촉진 활성이 확인되었다. 그리고, 상기 최종 농도가 10~500 μ mol/L의 범위에서, VEGF를 첨가한 비교예 7보다 높은 관강 형성 촉진 활성을 나타내었다. 특히, 상기 최종 농도 100 μ mol/L에서, 상기 관강 면적 상대값이 3.8이 되고, 가장 높은 관강 형성 촉진 활성을 나타내었다.
- [0230] <세포 유주성의 측정 결과>
- [0231] 도 4의 (A)~(H) 및 도 5의 (A)~(H)에, 세포 유주 측정에서의 염색 사진을 도시한다. 도 4의 (A) 및 도 5의 (A)는 컨트롤의 사진이고, 도 4의 (B) 및 도 5의 (B)는 비교예 8(생리식염수)의 사진이며, 도 4의 (C) 및 도 5의 (C)는 비교예 9(5 v/v% FBS)의 사진이고, 도 4의 (D) 및 도 5의 (D)는 비교예 10(10 v/v% FBS)의 사진이며, 도 4의 (E) 및 도 5의 (E)는 비교예 7(VEGF)의 사진이고, 도 4의 (F) 및 도 5의 (F)는 실시예 1(2-C1-C.OXT-A 10 μ mol/L)의 사진이며, 도 4의 (G) 및 도 5의 (G)는 실시예 1(2-C1-C.OXT-A 50 μ mol/L)의 사진이고, 도 4의 (H) 및 도 5의 (H)는 실시예 1(2-C1-C.OXT-A 100 μ mol/L)의 사진이다. 양 도면에서, 각 사진의 횡폭은 1.6 mm이다. 양 도면의 각 사진에서, 흑색 염색 부분이, 유주된 인간 제대정맥 내피세포(HUVEC)이고, 흑색 부분의 면적이 클수록, 세포 유주가 촉진되어 있는 것을 나타내고 있다.
- [0232] 도 4의 (F)~(H) 및 도 5의 (F)~(H)의 사진에 도시하는 바와 같이, 배양액중 2-C1-C.OXT-A의 최종 농도가 10 μ mol/L부터 100 μ mol/L의 범위에서, 염색된 면적이 컨트롤보다 크고, 2-C1-C.OXT-A에 의한 세포 유주의 촉진 활성이 확인되었다.
- [0233] 도 6에, 세포 유주성 측정에서의 상대 흡광도를 비교한 그래프를 도시한다. 도 6의 그래프에서, 종축은 상기 상대 흡광도이고, 각 바는 좌측으로부터 순서대로, 컨트롤(세포 유주용 배지), 비교예 8(생리식염수), 비교예 9(5 v/v% FBS), 비교예 10(10 v/v% FBS), 비교예 7(VEGF) 및 실시예 1(2-C1-C.OXT-A)의 결과이다. 또한 실시예 1의 결과를 도시하는 바에서, 횡축 아래에 기재된 각 농도는, 세포 유주용 배지중 2-C1-C.OXT-A의 최종 농도를 나타낸다.
- [0234] 도 6의 그래프에 도시하는 바와 같이, 2-C1-C.OXT-A의 상기 최종 농도가 10~100 μ mol/L의 범위에서, 상대 흡광도가 컨트롤보다 높고, 2-C1-C.OXT-A에 의한 세포 유주성의 촉진 활성이 확인되었다. 그리고, 상기 최종 농도가 50 및 100 μ mol/L인 경우에, 생리식염수를 첨가한 비교예 8에 비해 유의하게 높은 세포 유주 촉진 활성을 나타낸다($p < 0.02$). 특히, 상기 최종 농도 50 μ mol/L에서, 상기 상대 흡광도가 2.1이 되고, VEGF를 첨가한 비교예 7보다 높은 세포 유주 촉진 활성을 나타내었다.
- [0235] (실시예 2)
- [0236] 본 예에서는, 상기 화학식 (9)에 나타내는 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린($C_{12}H_{17}N_5O_2S$, 이하, 「2-SMe-C.OXT-A」라고 함.)을 합성하였다. 또한 상기 화학식 (9)에 있어서, SMe는 메틸티오기이다.

[0237] <2-SMe-C.OXT-A의 합성>

[0238] 본 예에서는, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 상기 공정 1~3을 행하고, 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린(2-C1-C.OXT-A)을 합성하였다. 그리고, 상기 2-C1-C.OXT-A를 이용하여, 하기 공정 4~6을 추가로 실시하고, 상기 2-SMe-C.OXT.A를 합성하였다. 또한 본 예에서는, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 각 화합물을 측정하였다.

[0239] (공정 4: 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(트리페닐메톡시메틸)시클로부틸]푸린의 합성)

[0240] 상기 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린(170.4 mg, 0.60 mmol) 용액, 트리틸클로라이드(501.8 mg, 1.80 mmol), 트리에틸아민(0.4 ml) 및 4-디메틸아미노피리딘(11.6 mg, 0.06 mmol)을 DMF 2.0 ml에 용해시켜, 실온에서 밤새 교반하였다. 교반 시작 12시간 후, 얻어진 황탁액을, 빙수에 첨가하고, 초산에틸로 추출하였다. 이 유기 추출물을, 포화 염화암모늄 용액 및 물로 세정하고, 황산나트륨을 이용하여 건조시켰다. 용매 증류 제거 후, 잔사를 실리카겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하고, 하기 화학식 (15)에 나타내는 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(트리페닐메톡시메틸)시클로부틸]푸린의 흰 결정(273.9 mg, 수율 59%)을 얻었다. 또한 하기 화학식 (15)에 있어서, Tr은 트리틸기이다.



[0241]

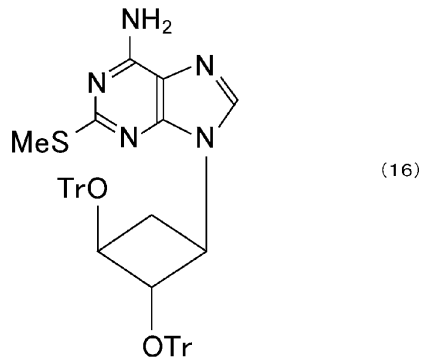
[0242] 이하에, 이 화합물의 물성값을 나타낸다.

[0243] ¹H NMR(400MHz, CDC₃): δ 7.91(1H, s), 7.15-7.41(30H, m), 5.70(2 H, brs), 4.73(1H, dd, J17.2 및 9.2), 3.70(1H, dd, J10.0 및 4.8), 3.18-3.30(4H, m), 2.87-2.90(1H, m), 2.53-2.67(1H, m), 2.20-2.33(2H, m).

[0244] (공정 5: 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(트리페닐메톡시메틸)시클로부틸]푸린의 합성)

[0245] 상기 6-아미노-2-클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(트리페닐메톡시메틸)시클로부틸]푸린(92.2 mg, 0.12 mmol) 및 티오메톡시드나트륨(84.1 mg, 1.20 mmol)을 DMF 3.1 ml에 용해하고, 110℃로 3.5 시간 가열하였다. 가열 종료 후, 감압하에서 용매를 증류 제거하고, 얻어진 잔사를 초산에틸로 추출하였다. 얻어진 유기 추출물을, 물 및 포화 염화나트륨 용액으로 세정하고, 황산나트륨을 이용하여 건조 후, 감압하에서 용매를 증류 제거하였다. 얻어진 잔사를, 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(에틸아세테이트: 헥산=1:1)에 의해 정제하고, 하기 화학식 (16)에 나타내는 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(트리페닐메톡시메틸)시클로부틸]푸린의 황색미를 띤 결정(66.3 mg, 수율 71%)을 얻었다. 또한 하기 화학식 (16)에 있어서, SMe는 메틸티오기이고, Tr은 트리틸기이다.

[0246] [화학식 14]



[0247]

[0248] 이하에, 이 화합물의 물성값을 나타낸다.

[0249] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3): δ 7.68(1H, s), 7.14-7.41(30H, m), 5.43(2 H, brs), 4.74(1H, dd, J17.6 및 8.8), 3.18-3.33(4H, m), 2.90-3.03(1H, m), 2.53-2.65(1H, m), 2.33-2.48(2H, m), 2.29(3 H, s).

[0250] (공정 6: 2-SMe-C.OXT-A의 합성)

[0251] 상기 6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(트리페닐메톡시메틸)시클로부틸]푸린(65.0 mg, 0.08 mmol)을, 포름산 1.7 ml 및 디에틸에테르 1.7 ml의 혼합액에 용해하고, 실온에서 15분간 교반하였다. 교반 종료 후, 이 혼합액을 초산에틸에 용해하고, 추출하였다. 얻어진 유기 추출물을, 포화 탄산수소나트륨 용액 및 포화 염화나트륨 용액으로 세정하고, 황산나트륨을 이용하여 건조시켰다. 유기 용매 증류 제거 후, 잔사를 박층 크로마토그래피(디클로로메탄: 에탄올=5:1)에 의해 정제하고, 상기 화학식 (9)에 나타내는 2-SMe-C.OXT-A(6-아미노-2-티오메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린)의 황색미를 띤 결정(9.4 mg, 수율 38%)을 얻었다. 이하에, 이 화합물의 물성값을 나타낸다.

[0252] ^1H NMR(400MHz, MeOH-d_4): δ 8.04(1 H, s), 4.64(1H, dd, J17.6 및 8.8), 3.62-3.87(4H, m), 2.85-3.00(1H, m), 2.54(1 H, s), 2.42-2.61(2H, m), 2.18-2.24(1H, m); ^{13}C NMR(100MHz, MeOH-d_4): δ 167.5, 165.5, 155.2, 138.9, 118.2, 64.1, 62.2, 48.6, 33.5, 29.3, 28.2, 13.1. Mp 209.4-211.0°C. HRMS(ESI) $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{NaO}_2\text{S}[\text{M}+\text{Na}]^+$ 에 대한 산출치: 318.0995. 실측치 318.1052.

[0253] 본 예의 2-SMe-C.OXT-A에 대해서, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포증식, 관강 형성 및 세포 유주성에 영향을 조사하였다. 그 결과, 2-SMe-C.OXT-A는 혈관내피세포의 세포증식 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성 및 세포 유주성 촉진 활성을 나타낸다.

[0254] (실시예 3)

[0255] 본 예에서는, 실시예 1에서 이용한 2-C1-C.OXT-A가, ERK, Akt, JNK 및 p38의 효소의 활성화(인산화)에 부여하는 영향을 조사하였다. 또한 이들의 단백질은, 상기 ERK는 내피세포에서의 가장 대표적인 혈관신생 촉진계 단백질 인산화 효소의 하나이다. 상기 Akt는 ERK 경로와 나열하는, 내피세포에서의 가장 대표적인 혈관신생 촉진계 단백질 인산화 효소의 하나이다. 또한 JNK 및 p38은 ERK 경로 이외의, 대표적인 MAP 키나아제 단백질 인산화 효소이다.

[0256] 우선, 2 v/v% 비동화 소태아혈청(FBS)을 첨가한 HuMedia-EB2 배지(쿠라보우사 제조)에, 2-C1-C.OXT-A를 100 $\mu\text{mol/L}$ 가 되도록 첨가하고, 배지를 조제하였다. 상기 배지를 이용하여, 인간 체대정맥 내피세포(HUVEC)를 정해진 시간(0, 10, 20, 30, 45 및 60분간) 배양하였다.

[0257] 배양 후, 세포를 회수하고, 세포 용해 완충액(SDS-용해 완충액)을 첨가하여 용해하며, 95°C에서 5분간 열변성시켰다. 열변성시킨 세포 용해액의 5 v/v%에 해당하는 분량의 가용화 단백질을, 10% SDS-폴리아크릴아미드겔에 의해 전기 영동하고, 니트로셀룰로오스 멤브레인(아머삼 바이오사이언스사 제조)으로 트랜스퍼하였다. 하기 조성의 TBS-T 20 ml에, 스킵밀크(와코샤 제조)를 5%가 되도록 첨가하고, 블로킹액을 조제하였다. 상기 블로킹액에, 얻어진 니트로셀룰로오스 멤브레인을 침지하고, 실온에서 1시간 진탕하였다.

- [0258] (TBS-T의 조성)
- [0259] 10 mmol/L Tris
- [0260] 0.15 mol/L NaCl
- [0261] 0.1% Tween(등록상표)-20
- [0262] 하기에 나타내는 1차 항체를, 5% 소혈청 알부민(Sigma사 제조) 함유 TBS-T에 첨가하여 1000배 희석하고, 1차 항체액을 조제하였다. 블로킹 후의 니트로셀룰로오스 멤브레인을, 상기 1차 항체액에 침지하고, 실온에서 1시간 진탕하였다. 얻어진 니트로셀룰로오스 멤브레인을, 상기 TBS-T에 침지하고, 10분간 진탕하여 세정하였다. 이 세정 조작을, 모두 3회 행하였다.
- [0263] (1차 항체)
- [0264] 항 포스포ERK 폴리클로날 항체(카탈로그 번호 9101, Cell Signaling Technology사 제조)
- [0265] 항 포스포Akt 폴리클로날 항체(카탈로그 번호 9271, Cell Signaling Technology사 제조)
- [0266] 항 포스포p38 폴리클로날 항체(카탈로그 번호 9211, Cell Signaling Technology사 제조)
- [0267] 항 포스포JNK 폴리클로날 항체(카탈로그 번호 9251, Cell Signaling Technology사 제조)
- [0268] 항 총ERK 모노클로날 항체(카탈로그 번호 610408, BD Transduction Laboratory사 제조)
- [0269] 항 총Akt 폴리클로날 항체(카탈로그 번호 9272, Cell Signaling Technology사 제조)
- [0270] 하기에 나타내는 2차 항체를, TBS-T에 첨가하여 20000배 희석하고, 2차 항체액을 조제하였다. 1차 항체 반응 후의 니트로셀룰로오스 멤브레인을, 상기 2차 항체액에 침지하고, 실온에서 1시간 진탕하였다. 얻어진 니트로셀룰로오스 멤브레인을, 상기 TBS-T에 침지하고, 10분간 진탕하여 세정하였다. 이 세정 조작을, 모두 3회 행하였다.
- [0271] (2차 항체)
- [0272] ERK:
- [0273] 양 HRP 표식 항마우스 IgG 항체(Pierce사 제조)
- [0274] pERK, Akt, pAkt, pJNK, 및 pp38:
- [0275] 양 HRP 표식 항토끼 IgG 항체(Pierce사 제조)
- [0276] Super Signal(등록상표) West Pico Chemiluminescent Substrate(Pierce사 제조)에 의해 발색하고, RX-U X선 필름(후지필름사 제조)에 노광하여 검출하였다. 검출된 밴드로부터, NIH 이미지 소프트웨어를 이용하여, 각 인산화형 효소와 총 효소를 각각 정량하였다. 또한 인산화형 효소의 측정값을 하기 식 (III)에 대입하여, 인산화형 효소 상대값(배)을 산출하였다.
- [0277] 인산화형 효소 상대값(배)=(B/D)/(A/C)⋯(III)
- [0278] A=첨가 전에서의 각 인산화형 효소의 측정값
- [0279] B=각 첨가 후 시간에서의 각 인산화형 효소의 측정값
- [0280] C=첨가 전에서의 각 총 효소의 측정값
- [0281] D=각 첨가 후 시간에서의 각 총 효소의 측정값
- [0282] 도 7 및 도 8에, 시간 경과에 따라 ERK, Akt, JNK 및 p38의 인산화형 효소량을 측정된 결과를 도시한다. 도 7의 (A)는 위로부터 순서대로, 인산화 ERK(pERK), ERK의 면역 블롯의 사진이고, 좌측으로부터 순서대로, 2-C1-C.OXT-A 첨가 0, 10, 20, 30, 45 및 60분 후의 측정 결과이다. 도 7의 (B)는 도 7의 (A)에 도시하는 pERK의 정량 결과를 도시하는 그래프이다. 도 7의 (B)에서, 횡축은 2-C1-C.OXT-A 첨가 후의 배양 시간(분)이고, 종축은 pERK 상대값(배)이다. 또한 도 8은, 위로부터 순서대로, 인산화 Akt(pAkt), Akt, 인산화 JNK(pJNK) 및 인산화 p38(pp38)의 면역 블롯의 사진이고, 좌측으로부터 순서대로, 2-C1-C.OXT-A 첨가 0, 10, 20, 30, 45 및 60분 후의 측정 결과이다.
- [0283] 도 7에 도시하는 바와 같이, pERK는, 배양 시간과 함께 증가하고, 2-C1-C.OXT-A 첨가 20분 후에는 약 11배로 증

가하였다. 이것에 대하여, 도 8에 도시하는 바와 같이, pAkt, pJNK 및 pp38은 2-C1-C.OXT-A 첨가에 의해 변화하지 않았다. 이와 같이, 2-C1-C.OXT-A에 의해, 혈관신생의 시그널 전달 물질인 ERK의 활성화(인산화)가 촉진되었다.

[0284] (실시예 4)

[0285] 본 예에서는, 실시예 1의 2-C1-C.OXT-A 및 비교예 2의 C.OXT-G가, ERK 활성화(인산화)에 부여하는 영향을 조사하였다. 본 예에서는, 2-C1-C.OXT-A를 정해진 농도(0, 10 및 100 $\mu\text{mol/L}$)로 첨가한 배지와, 100 $\mu\text{mol/L}$ C.OXT-G를 첨가한 배지를 이용하여, 첨가 후의 배양 시간을 20분으로 하고, 1차 항체로서, 항 포스포 ERK 폴리클로날 항체(카탈로그 번호 9101, Cell Signaling Technology사 제조) 및 항 총 ERK 모노클로날 항체(카탈로그 번호 610408, BD Transduction Laboratory사 제조)만을 이용하며, ERK의 2차 항체로서, 양 HRP 표식 항마우스 IgG 항체(Pierce사 제조)를 이용하고, pERK의 2차 항체로서, 양 HRP 표식 항토끼 IgG 항체(Pierce사 제조)를 이용한 것 이외는, 실시예 3과 마찬가지로 하여, 각 효소량을 측정하며, 인산화형 효소 상대값(배)을 산출하였다

[0286] 도 9에, 각 첨가 농도에서의 인산화 ERK의 측정 결과를 도시한다. 도 9의 (A)는 상단이 인산화 ERK(pERK), 하단이 ERK의 면역 블롯의 사진이고, 좌측으로부터 순서대로, 2-C1-C.OXT-A 0, 10 및 100 $\mu\text{mol/L}$, 및 C.OXT-G의 결과이다. 도 9의 (B)는 도 9의 (A)에 도시하는 pERK의 정량 결과를 도시하는 그래프이다. 도 9의 (B)에 있어서, 종축은 pERK 상대값(배)이고, 좌측으로부터 순서대로, 2-C1-C.OXT-A 0, 10 및 100 $\mu\text{mol/L}$, 및 C.OXT-G의 결과이다.

[0287] 도 9에 도시하는 바와 같이, pERK는 2-C1-C.OXT-A의 첨가 농도에 의존하여 증가하고, 100 $\mu\text{mol/L}$ 농도 첨가에 의해, 약 10배로 증가하였다. 이것에 대하여, 상기 C.OXT-G 첨가에 의해, pERK량은 증가하지 않았다. 이와 같이, 10 $\mu\text{mol/L}$ 또는 100 $\mu\text{mol/L}$ 농도의 2-C1-C.OXT-A 첨가에 의해, 혈관신생의 시그널 전달 물질인 ERK가 활성화되었다.

[0288] (실시예 5)

[0289] 본 예에서는, 실시예 1에서 이용한 2-C1-C.OXT-A가, MEK의 인산화에 부여하는 영향을 조사하였다. 또한 상기 MEK는 실시예 3에서 측정된 ERK의 상류측에 위치하는, 혈관신생의 시그널 전달 경로의 단백질 인산화 효소이고, 혈관신생 촉진에 작용한다. 본 예에서는, 2-C1-C.OXT-A 첨가 후의 배양 시간을, 정해진 시간(0, 5, 10, 15 및 20분)으로 하고, 1차 항체로서, 항 포스포 MEK 폴리클로날 항체(카탈로그 번호 9121, Cell Signaling Technology사 제조) 및 항 총 MEK 폴리클로날 항체(카탈로그 번호 9122, Cell Signaling Technology사 제조)를 이용하며, 2차 항체로서, 양 HRP 표식 항토끼 IgG 항체(Pierce사 제조)를 이용한 것 외는, 실시예 3과 마찬가지로 하여, 각 효소량을 측정하고, 인산화형 효소 상대값(배)을 산출하였다.

[0290] 도 10의 (A)는, 상단이 pMEK(인산화 MEK), 하단이 MEK의 면역 블롯의 사진이며, 좌측으로부터 순서대로, 2-C1-C.OXT-A 첨가 0, 5, 10, 15 및 20분 후의 측정 결과이다. 도 10의 (B)는, 도 10의 (A)에 도시하는 pMEK의 정량 결과를 도시하는 그래프이다. 도 10의 (B)에 있어서, 횡축은 2-C1-C.OXT-A 첨가 후의 배양 시간(분)이며, 종축은 pMEK 상대값(배)이다. 도 10에 도시하는 바와 같이, pMEK는 배양 시간과 함께 증가하고, 2-C1-C.OXT-A 첨가 15분 후에는, 약 3.5배로 증가하였다. 이와 같이, 2-C1-C.OXT-A에 의해, 혈관신생의 시그널 전달 물질인 MEK의 활성화(인산화)가 촉진되었다.

[0291] (실시예 6)

[0292] 본 예에서는, MEK 저해제인 PD98059가, 실시예 1에서 이용한 2-C1-C.OXT-A 에 의한 ERK 활성화(인산화)에 부여하는 영향을 조사하였다. 본 예에서는, 2 v/v% 비동화 소태아혈청(FBS)을 첨가한 HuMedia-EB2 배지(쿠라보우사 제조)에, 하기 표 1에 나타내는 농도로 2-C1-C.OXT-A 및 PD98059를 첨가한 배지 No.1~4를 이용한 것 이외는, 실시예 4와 마찬가지로 하여, 각 효소량을 측정하고, 인산화형 효소 상대값(배)을 산출하였다.

[0293] (표 1)

[0294] 배지	2-C1-C.OXT-A	PD98059
[0295] No.	($\mu\text{mol/L}$)	(nmol/L)
[0296] 1	0	0
[0297] 2	100	0

[0298] 3 0 100

[0299] 4 100 100

[0300] 도 11에, PD98059에 의한, ERK 활성화(인산화)의 저해 효과의 측정 결과를 도시한다. 도 11의 (A)는, 상단이 pERK(인산화 ERK), 하단이 ERK 전체의 면역 블롯의 사진이고, 좌측으로부터 순서대로, 배지 No.1, No.2, No.3 및 No.4의 측정 결과이다. 도 11의 (B)는, 도 11의 (A)에 도시하는 pERK의 정량 결과를 도시하는 그래프이다. 도 11의 (B)에 있어서, 종축은 pERK(pERK1 및 pERK2) 상대값(배)이고, 좌측으로부터 순서대로, 배지 No.1, No.2, No.3 및 No.4의 측정 결과이다.

[0301] 도 11에 도시하는 바와 같이, 2-C1-C.OXT-A를 첨가한 No.2에서는, pERK가 증가했지만, PD95059를 공존시킨 No.4에서는, pERK의 증가는 확인되지 않았다. 또한 2-C1-C.OXT-A 무첨가의 No.1, 및 PD95059만 첨가한 No.3에 있어서도, pERK의 증가는 확인되지 않았다. 이와 같이, PD95059에 의해, 2-C1-C.OXT-A에 의한 ERK 활성화가 저해되었다. 이것으로부터, 2-C1-C.OXT-A에 의한 ERK 활성화는 MEK를 통한 특이적인 MAP 키나아제 경로를 통하고 있는 것이 시사되었다.

[0302] (실시예 7)

[0303] 본 예에서는, MEK 저해제인 PD98059가, 실시예 1에서 이용한 2-C1-C.OXT-A에 의한 관강 형성에 부여하는 영향을 조사하였다.

[0304] 본 예에서는, 상기 혈관신생 키트(쿠라보우사 제조) 부속의 배지에, 하기 표 2에 나타내는 농도로 2-C1-C.OXT-A 및 PD98059를 첨가한 배지 No.5~8를 이용한 4군에 대해서 측정한 것 이외는, 실시예 1의 관강 형성 측정과 마찬가지로 하여, 관강 면적 상대값을 산출하였다. 또한 No.7군에서는 배양 1~3일째는 No.7을 이용하고, 배양 4~10일째는 No.5를 이용하여 배양하며, No.8군에서는 배양 1~3일째는 No.8을 이용하고, 배양 4~10일째는 No.6을 이용하여 배양하였다.

[0305] (표 2)

[0306] 배지 No.	2-C1-C.OXT-A ($\mu\text{mol/L}$)	PD98059 (nmol/L)
[0308] 5(컨트롤)	0	0
[0309] 6	10	0
[0310] 7	0	10
[0311] 8	10	10

[0312] 도 12에, 관강 면적 상대값을 비교한 그래프를 도시한다. 도 12에 있어서, 종축은 관강 면적 상대값이고, 좌측으로부터 순서대로, 배지 No.5, No.6, No.7 및 No.8군의 측정 결과이다. 2-C1-C.OXT-A만을 첨가한 No.6군에서는, 관강 면적 상대값이, No.5군(컨트롤)의 약 3배가 되었지만, 상기 PD98059의 병용에 의해, 약 1배로 억제되었다. 이와 같이, 2-C1-C.OXT-A에 의한 관강 형성 촉진은 전술한 ERK의 활성화와 마찬가지로, PD95059에 의해 저해되는 것이 나타났다.

[0313] (실시예 8)

[0314] 본 예에서는, VEGFR 저해제인 SU5416이, 실시예 1에서 이용한 2-C1-C.OXT-A에 의한 ERK 활성화(인산화)에 부여하는 영향을 조사하였다. 본 예에서는, 2 v/v% 비동화 소태아혈청(FBS)을 첨가한 HuMedia-EB2 배지(쿠라보우사 제조)에, 하기 표 3에 나타내는 농도로 2-C1-C.OXT-A 및 PD98059를 첨가한 배지 No.9~14를 이용한 것 이외는, 실시예 4와 마찬가지로 하여, 각 효소량을 측정하고, 인산화형 효소 상대값(배)을 산출하였다.

[0315] (표 3)

[0316] 배지 No.	2-C1-C.OXT-A ($\mu\text{mol/L}$)	VEGF (ng/ml)	SU5416 (nmol/L)
[0318] 9	0	0	0
[0319] 10	0	0	100

[0320]	11	100	0	0
[0321]	12	100	0	100
[0322]	13	0	10	0
[0323]	14	0	10	100

[0324] 도 13에, SU5416에 의한, ERK 활성화(인산화)의 저해 효과의 측정 결과를 도시한다. 도 13의 (A)는 pERK(인산화 ERK)의 면역 블롯의 사진이고, 좌측으로부터 순서대로, 배지 No.9, No.10, No.11, No.12, No.13 및 No.14의 측정 결과이다. 도 13의 (B)는, 도 13의 (A)에 도시하는 pERK(pERK1 및 pERK2)의 정량 결과를 도시하는 그래프이다. 도 13의 (B)에 있어서, 종축은 pERK(pERK1 및 pERK2) 상대값(배)이며, 좌측으로부터 순서대로, 배지 No.9, No.10, No.11, No.12, No.13 및 No.14의 측정 결과이다.

[0325] 도 13에 도시하는 바와 같이, pERK는 2-C1-C.OXT-A를 첨가한 No.11에서 증가하고, SU5416을 공존시킨 No.12에서도 증가하였다. 또한 2-C1-C.OXT-A 무첨가의 No.9, 및 SU5416만 첨가한 No.10에서, pERK는 증가하지 않았다. 한편, pERK는 포지티브 컨트롤인 VEGF를 첨가한 No.13에서 증가했지만, SU5416을 공존시킨 No.14에서는 증가가 억제되었다. 이와 같이, 2-C1-C.OXT-A에 의한 ERK 활성화는, SU5416에 의해 저해되지 않았다. 이것으로부터, 2-C1-C.OXT-A에 의한 ERK 활성화 기구는, 포지티브 컨트롤의 VEGF와 상이하고, VEGF 수용체의 활성화에 의존하지 않는 것이 나타났다.

[0326] (실시예 9)

[0327] 본 예에서는, VEGFR 저해제인 SU5416이, 실시예 1에서 이용한 2-C1-C.OXT-A 에 의한 관강 형성에 부여하는 영향을 조사하였다.

[0328] 본 예에서는, 상기 혈관신생 키트(쿠라보우사 제조) 부속의 배지에, 하기 표 4에 나타내는 농도로 2-C1-C.OXT-A, VEGF(포지티브 컨트롤) 및 SU5416을 첨가한 배지 No.15~20을 이용한 6군에 대해서 측정한 것 이외는, 실시예 1의 관강 형성 측정과 마찬가지로 하여, 관강 면적 상대값을 산출하였다. 또한 No.16군에서는 배양 1~3일째는 No.16을 이용하고, 배양 4~10일째는 No.15를 이용하여 배양하며, No.18군에서는 배양 1~3일째는 No.18를 이용하고, 배양 4~10일째는 No.17을 이용하여 배양하며, No.20군에서는, 배양 1~3일째는 No.20을 이용하고, 배양 4~10일째는 No.19를 이용하여 배양하였다.

[0329] (표 4)

[0330]	배지	2-C1-C.OXT-A	VEGF	SU5416
[0331]	No.	(μ mol/L)	(ng/ml)	(μ mol/L)
[0332]	15(컨트롤)	0	0	0
[0333]	16	0	0	2.5
[0334]	17	10	0	0
[0335]	18	10	0	2.5
[0336]	19	0	10	0
[0337]	20	0	10	2.5

[0338] 도 14에, 관강 면적 상대값을 비교한 그래프를 도시한다. 도 14에 있어서, 종축은 관강 면적 상대값이고, 좌측으로부터 순서대로, 배지 No.15, No.16, No.17, No.18, No.19 및 No.20군의 측정 결과이다. 도 14에 도시하는 바와 같이, VEGF를 첨가한 No.19에 있어서, 관강 면적은 증가했지만, VEGF와 SU5416을 병용한 No.20에서는, 감소하였다. 이것에 대하여, 2-C1-C.OXT-A를 첨가한 No.17에 있어서, 관강 면적은 현저히 증가하고, 2-C1-C.OXT-A 와 SU5416를 병용한 No.18에서는, 상기 No.17과 비교하면 증가율은 낮지만, 증가하였다. 이와 같이, 2-C1-C.OXT-A에 의한 관강 형성 촉진은, SU5416에 의해 저해되지 않았다. 또한 SU5416만을 첨가하고 있는 No.16의 관강 형성은, 무첨가의 No.15(컨트롤)에 비해 감소하였다. 이 이유는, 이 평가계에 이용한 선유아세포 유래의 VEGF에 의한 관강 형성 촉진이, SU5416 첨가에 의해 억제되었기 때문이라고 생각된다. 따라서, No.18에서의 증가 억제는, 선유아세포 유래 VEGF에 의한 관강 형성이 억제되어 있는 것에 의한 것으로 추찰된다. 이와 같이, 2-C1-C.OXT-A에 의한 관강 형성 촉진 기구는 ERK의 활성화 촉진 기구와 마찬가지로, VEGF 수용체의 활성화에 의존

하지 않는 것이 나타났다.

[0339] (실시예 10)

[0340] 본 예에서는, 이화학연구소 바이오리소스센터로부터 입수한, 신경세포 모델 세포인 래트 부신수질 유래 주화세포 PC12를 이용하여, 실시예 1의 2-C1-C.OXT-A가, PC12 세포의 분화에 부여하는 영향을 조사하였다.

[0341] PBS에, 하기 표 5에 나타내는 첨가물을 정해진 농도가 되도록 첨가하고, 3개의 샘플을 조제하였다. DMEM(무혈청)에, 각 샘플 또는 PBS를 10 v/v%가 되도록 첨가하고, 평가용 배지를 조제하였다. 또한 컨트롤용 배지로서, DMEM(무혈청)만의 배지를 조제하였다. 상기 PC12 세포를, 5×10^4 세포/ml가 되도록, 5 v/v% 소혈청 및 10 v/v% 말혈청 첨가 DMEM에 현탁하고, 세포 현탁액을 조제하였다. 상기 세포 현탁액 3 ml를, 6 cm 살레에 파종하고, 배양 2일째에, 상기 평가용 배지에 교환하여, 4일간 배양하였다. 배양 6일째에, 현미경하에서 세포를 사진 촬영하고, 엘만법[Ellman, G.L., et al., Biochem. Pharmacol., 7,88-95,(1961)]을 이용하여, AChE 활성을 측정하였다. 상기 AChE 활성은, 구체적으로는 이하와 같이 하여 측정하였다. 배양 후, PC12 세포를, 셀스크래퍼를 이용하여 떼어 회수하였다. 회수한 세포를, 가볍게 원심 분리(1200 rpm, 15분)하고, 상청을 제거한 후, 0.1 w/v% Triton(등록 상표) X-100 수용액 150 μ l를 첨가하여, 시료 용액을 조제하였다. 75 μ l 흡광도 측정용 큐벳에, 상기 시료 용액, 10 mmol/L DTNB 75 μ l, 0.1 mol/L 인산 완충액(pH 8.0) 3.0 ml를 첨가하고, 마지막에 100 mmol/L 아세틸티오콜린 50 μ l를 첨가하여 반응시키며, 첨가 직후로부터 5분간, 412 nm에서의 상기 반응액의 흡광도를 측정하였다. 상기 흡광도로부터, 1분당의 흡광도의 증가량(C)을 구했다. 또한 PIERCE(등록 상표) BCA Protein Assay Kit(Thermo Fisher Scientific사 제조)를 이용하고, 상기 시료 용액의 단백질 농도(D)를 측정하였다. 상기 흡광도 증가량(C) 및 단백질 농도(D)를, 하기 식 (IV)에 대입하여, AChE 활성을 산출하였다. 또한 1 U는, 1분당 1 μ mol의 반응 생성물을 산생하는 효소량(μ mol/분)이다. 그리고, AChE의 측정값을 하기 식 (V)에 대입하여, AChE 활성 상대값(배)을 산출하였다.

[0342] $AChE \text{ 활성}(U/mg) = 3.14 \times (C/D) \dots (IV)$

[0343] $AChE \text{ 상대값(배)} = F/E \dots (V)$

[0344] E=컨트롤용 배지에서의 AChE의 측정값

[0345] F=각 첨가물 함유 배지에서의 AChE의 측정값

[0346] (표 5)

샘플	첨가물	농도
샘플 1	NGF	1 μ g/ml
샘플 2	2-C1-C.OXT-A	500 μ mol/L
샘플 3	2-C1-C.OXT-A	1 mmol/L

[0351] <형태 변화>

[0352] 도 15의 (A)~(D)에, PC12 세포의 현미경 사진을 도시한다. 도 15의 (A)는 PBS, 도 15의 (B)는 NGF(신경성장 인자, 포지티브 컨트롤), 도 15의 (C)는 2-C1-C.OXT-A 50 μ mol/L, 도 15의 (D)는 2-C1-C.OXT-A 100 μ mol/L를 첨가하여 배양한 세포의 사진이다. 도 15의 (A)에 도시하는 바의 길이는, 100 μ m이다. 도 15에 있어서, 선형의 신경 돌기가 신장된 세포는, PC12 세포가 신경세포양으로 분화된 세포이다. 도 15의 (A)에 도시하는 바와 같이, 컨트롤에서는, 선형의 신경 돌기가 신장된 세포는 거의 관찰되지 않았다. 이것에 대하여, 도 15의 (C) 및 (D)에 도시하는 바와 같이, 도 15의 (B)의 NGF와 마찬가지로, 2-C1-C.OXT-A 첨가에 의해, 선형의 신경 돌기가 신장된 세포가 관찰되었다.

[0353] <AChE 활성>

[0354] 도 16에, AChE(아세틸콜린 에스테라아제) 활성의 측정 결과를 도시한다. AChE 활성은 PC12 세포의 분화의 마커이다. 도 16에 있어서, 종축은 AChE 활성 상대값이며, 각 바는, 좌측으로부터 순서대로, PBS, NGF(포지티브 컨트롤), 2-C1-C.OXT-A 50 μ mol/L 및 2-C1-C.OXT-A 100 μ mol/L의 결과이다. 도 16에 도시하는 바와 같이, 2-C1-C.OXT-A에 의해, NGF와 마찬가지로, AChE 효소 활성이 증가하였다. 이와 같이, 2-C1-C.OXT-A에 의한 신경세포양에의 분화 촉진 활성이 나타나고, 신경세포 성장 촉진 활성이 확인되었다.

[0355] (실시예 11)

[0356] 본 예에서는, 토끼 각막법에 의한, 실시예 1의 2-C1-C.OXT-A가, 혈관신생에 부여하는 영향을 조사하였다.

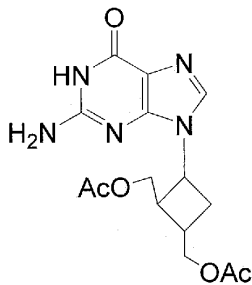
[0357] 30 μ l의 생리식염수에, 2-C1-C.OXT-A를 16 mmol/L가 되도록 첨가하고, 시료를 조제하였다. 세보플루란 마취하에서, 일본 백색종 토끼(수컷, 2.8 kg)의 각막 내에 상기 시료를 주사하고, 7일 후에 관찰하였다.

[0358] 도 17에, 토끼 안구의 관찰 결과를 도시한다. 도 17의 (A)는 생리식염수, 도 17의 (B)는 2-C1-C.OXT-A의 투여 결과를 도시하는 사진이다. 도 17의 (A)에 도시하는 바와 같이, 생리식염수 투여에 의해, 혈관신생은 확인되지 않았다. 이것에 대하여, 도 17의 (B)에 도시하는 바와 같이, 2-C1-C.OXT-A의 투여에 의해, 각막 내에, 많은 혈관신생이 확인되었다. 이와 같이, 토끼 각막법에 의한 생체내 시험에서, 2-C1-C.OXT-A에 의한 혈관신생 촉진 활성이 확인되었다.

[0359] 이상의 실시예 1~11 및 비교예 1~10으로부터 명백한 바와 같이, 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체에 의한 세포증식 촉진 활성, 혈관신생 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성, 세포 유주 촉진 활성 및 신경세포 성장 촉진 활성이 확인되었다.

[0360] (실시예 12)

[0361] 하기 화학식 (17)에 나타내는 9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]구아닌에 대해서, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포증식, 관강 형성 및 세포 유주성에의 영향을 조사하였다. 그 결과, 하기 화학식 (17)의 화합물은 혈관내피세포의 세포증식 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성 및 세포 유주성 촉진 활성을 나타내었다.



(1 7)

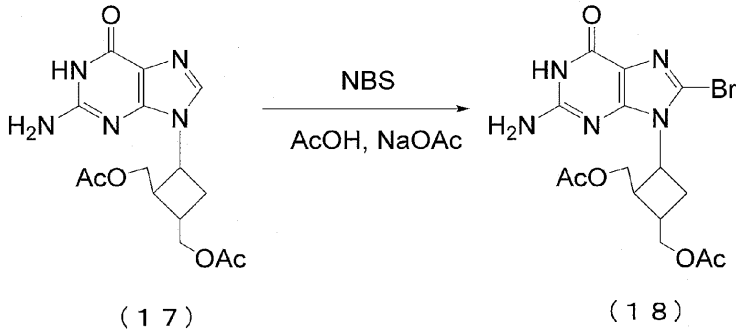
[0362]

[0363] 또한, 상기 화학식 (17)에 나타내는 9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]구아닌은, 공지 방법에 의해 적절하게 합성할 수 있다. 구체적으로는, 예컨대 상기 화학식 (12)에 나타내는 C.OXT-G(2-아미노-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]-3H-푸린-6-온, 즉 9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]구아닌)을, 아세토니트릴 용매중, 트리에틸아민 및 4-디메틸아미노피리딘의 존재하, 무수초산으로 아세틸화하여 얻을 수 있다. 이 합성 방법은, 예컨대 일본 특허 공개 평03-047169호 공보, 미국 특허 제 5153352호 공보(US5153352A), 및 유럽 특허 출원 공개 제0366059호 명세서(EP0366059A2)에 기재되어 있다.

[0364] 또한, 상기 화학식 (12)의 C.OXT-G(2-아미노-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]-3H-푸린-6-온, 즉 9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]구아닌)도, 공지 방법에 의해 적절하게 합성 가능하고, 예컨대 상기 일본 특허 공개 평03-047169호 공보, 미국 특허 제 5153352호 공보(US5153352A), 및 유럽 특허 출원 공개 제0366059호 명세서(EP0366059A2)에 합성법이 기재되어 있다.

[0365] (실시예 13)

[0366] 본 예에서는, 하기 화학식 (18)에 도시하는 8-브로모-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]구아닌을 합성하였다.



[0367]

[0368]

우선, 상기 화학식 (17)로 나타내는 9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]구아닌 175 mg(0.5 mmol)을 초산 3.5 ml에 녹이고, 초산나트륨 175 mg을 첨가하여 더 녹였다. 이 용액을 A액으로 한다. 한편 N-브롬호박산이미드 110 mg(0.62 mmol)을 2 ml의 초산에 녹였다. 이 용액을 B액으로 한다. 상기 A액에, 교반하면서 B액을 적하하였다. 이 혼합 용액을 실온에서 30분 방치하고, 4℃에서 밤 새 더 방치하였다. 그 후, 용매를 감압하에서 증류 제거하고, 잔사를 초산에틸 20 ml와 물 10 ml의 혼합액에 녹였다. 이 혼합액으로부터 수층을 분리하고, 유기층을 농축하면, 결정이 석출되었다. 또한 분리한 수층으로부터도 결정이 석출되었다. 상기 유기층 및 수층으로부터 석출된 결정을, 각각 여과에 의해 채취하고, 건조시켜, 원하는 8-브로모-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]구아닌(18)을, 수량 154 mg(0.40 mmol, 수율 80%)으로 얻었다. 이하에, 이 화합물의 물성값을 나타낸다.

[0369]

FT-MS $m/z=450, 452(M^+Na)$; 1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): δ 10.76(1H, brs), 6.48(2H, brs), 4.58(1H, m), 4.21(3H, d, $J=7.2$ Hz), 4.07(3H, d, $J=6.0$ Hz), 3.42(1H, m), 2.81(1H, m), 2.35(1H, m), 2.22(1H, m), 2.02(3H, s), 1.92(3H, s)

[0370]

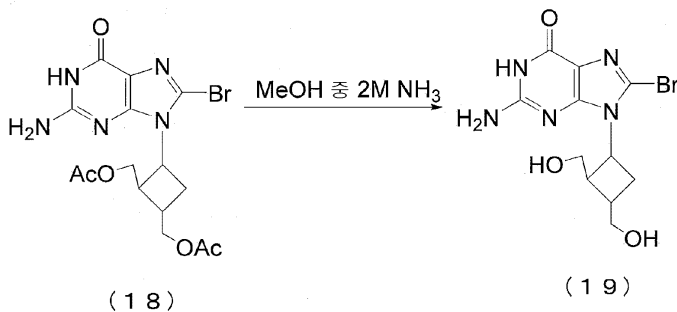
이 8-브로모-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]구아닌[화학식 (18)]에 대해서, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포증식, 관강 형성 및 세포 유주성에의 영향을 조사하였다. 그 결과, 이 화합물은 혈관내피세포의 세포증식 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성 및 세포 유주성 촉진 활성을 나타내었다.

[0371]

(실시예 14)

[0372]

하기 화학식 (19)로 나타내는 8-브로모-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]구아닌을 합성하였다.



[0373]

[0374]

상기 화학식 (18)로 나타내는 8-브로모-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]구아닌 39 mg (0.091 mmol)을, 5 ml의 2M 암모니아메탄올 용액에 녹이고, 25℃에서 방치하였다. 이 용액을 농축하면, 목적물인 8-브로모-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]구아닌(19)이, 약간 황색이 강한 결정으로서 얻어졌다. 수량은 21 mg(0.061 mmol, 수율 67%)이었다. 이하에, 이 화합물의 물성값을 나타낸다.

[0375]

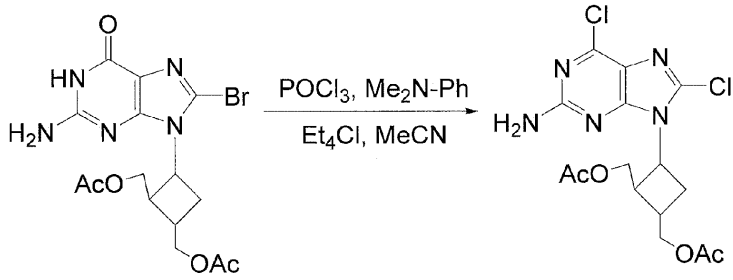
FT-MS $m/z=366, 368(M^+Na)$; 1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): δ 8.52(1H, brs), 6.47(2H, brs), 4.60(2H, m), 4.50(1H, t, $J=5.2$ Hz), 3.59(2H, t, $J=5.6$ Hz), 3.43(2H, t, $J=4.8$ Hz), 3.25(1H, m), 2.57(1H, q, $J=10.0$ Hz), 2.26(1H, m), 2.02(1H, m).

[0376]

이 8-브로모-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]구아닌[화학식 (19)]에 대해서, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포증식, 관강 형성 및 세포 유주성에의 영향을 조사하였다. 그 결과, 이 화합물은 혈관내피세포의 세포증식 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성 및 세포 유주성 촉진 활성을 나타내었다.

[0377] (실시예 15)

[0378] 하기 화학식 (20)으로 나타내는 2-아미노-6,8-디클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]푸린을 합성하였다.



(18)

$C_{15}H_{18}BrN_5O_5$
Mol. Wt.: 428.24

(20)

$C_{15}H_{17}Cl_2N_5O_5$
Mol. Wt.: 402.23

[0379]

[0380] 우선, 상기 화학식 (18)로 나타내는 8-브로모-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]구아닌 154 mg(0.4 mmol) 및 테트라에틸암모늄염화물 150 mg을, 5 ml의 아세트니트릴에 녹였다. 이 용액에, N, N-디메틸아닐린 0.16 ml(1.3 mmol) 및 옥시염화인 0.7 ml(7.7 mmol)을 더 첨가하고, 실온에서 30분 방치 후, 100℃로 30분 가열 환류하여 반응시켰다. 그 후, 상기 반응 용액을 빙수중에 적하하고, 15분간 교반한 후, 클로로포름으로 목적물을 추출하였다. 상기 클로로포름층을, 5% 탄산수소나트륨물, 및 물로 세정 후, 농축하고, 실리카겔 칼럼 크로마토그래피(헥산: 초산에틸=2:1)로 분리하며, 목적물인 2-아미노-6,8-디클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]푸린(20)을 백색 결정으로서 얻었다. 수량은 86 mg(0.21 mmol, 수율 53%)이었다. 이하에, 이 화합물의 물성값을 나타낸다.

[0381]

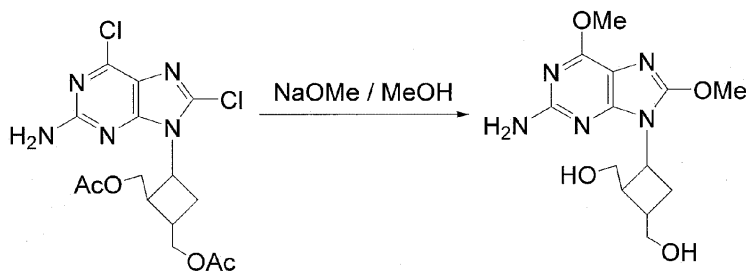
FT-MS $m/z=424, 426, 428(M^+Na)$; 1H NMR(400MHz, $CDCl_3$): δ 5.16(2H, brs), 4.70(1H, m), 4.35(2H, d, $J=6.4$ Hz), 4.17(2H, m), 3.62(1H, m), 2.89(1H, m), 2.52(1H, m), 2.33(1H, m), 2.10(3H, s), 2.02(3H, s).

[0382]

이 2-아미노-6,8-디클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]푸린[화학식 (20)]에 대해서, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포증식, 관강 형성 및 세포 유주성에 영향을 조사하였다. 그 결과, 이 화합물은, 혈관내피세포의 세포증식 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성 및 세포 유주성 촉진 활성을 나타낸다.

[0383] (실시예 16)

[0384] 하기 화학식 (21)로 나타내는 2-아미노-6,8-디메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린을 합성하였다.



(20)

(21)

[0385]

[0386] 우선, 상기 화학식 (20)으로 나타내는 2-아미노-6,8-디클로로-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(아세틸옥시메틸)시클로부틸]푸린 75 mg(0.186 mmol)을, 6 ml의 메탄올에 현탁시켰다. 이 현탁액에, 23% 나트륨메톡시드 0.5 ml를 첨가하여 더 교반하고, 상기 원료 화합물(20)을 메탄올에 용해시켰다. 이 용액을 60℃로 밤새 가열하고, 반응시켰다. 반응 후, 상기 용액을 초산으로 중화하고, 농축 후, 실리카겔 칼럼(초산에틸: 메탄올=12:1)으로 분리하며, 용매를 증류 제거하였다. 얻어진 잔사를 초산에틸로부터 결정화(재결정)하고, 목적물인 2-아미노-6,8-디메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린(21)을, 백색 결정으로서 얻었다. 수량은 34.4 mg

(0.111 mmol, 수율 60%)였다. 이하에, 이 화합물 (21)의 물성값을 나타낸다.

[0387] FT-MS $m/z=310(M^+H)$; 1H NMR(400MHz, DMSO- d_6): δ 4.44-4.55(3H, m), 3.99(3H, s), 3.88(3H, s), 3.52(2H, t, $J=6.0$ Hz), 3.40(2H, t, $J=5.2$ Hz), 3.01(1H, m), 2.31(1H, m), 2.20(1H, m), 1.98(1H, m).

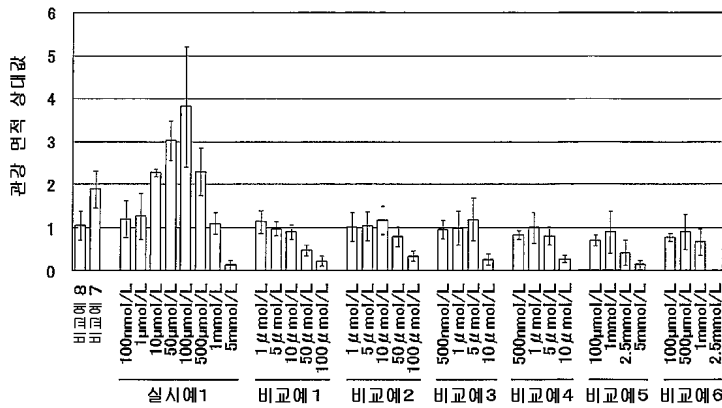
[0388] 이 2-아미노-6,8-디메톡시-9-[트랜스-트랜스-2,3-비스(히드록시메틸)시클로부틸]푸린[화학식 (21)]에 대해서, 실시예 1과 마찬가지로 하여, 혈관내피세포의 세포증식, 관강 형성 및 세포 유주성에의 영향을 조사하였다. 그 결과, 이 화합물은, 혈관내피세포의 세포증식 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성 및 세포 유주성 촉진 활성을 나타내었다.

산업상 이용가능성

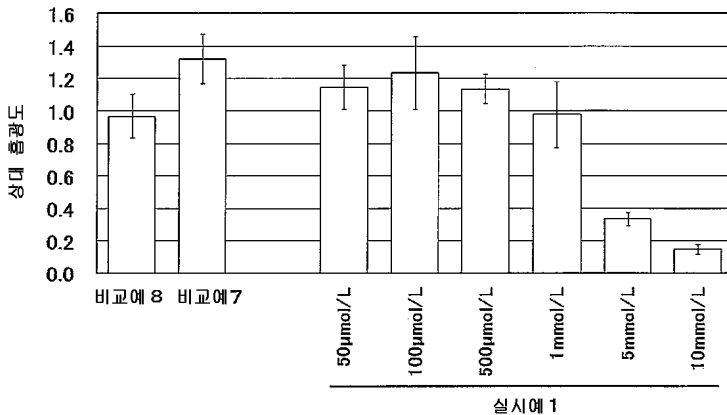
[0389] 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 화학적으로 안정적인 저분자 물질이며, 저분자량이기 때문에, 흡수성이 높다. 또한, 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 공업적으로 생산할 수 있기 때문에 저렴하게 안정적으로 공급할 수 있다. 그리고, 본 발명의 시클로부틸 푸린 유도체, 그 호변이성체 또는 입체이성체, 또는 이들의 염, 용매화물 또는 수화물은, 세포증식 촉진 활성, 혈관신생 촉진 활성, 관강 형성 촉진 활성, 세포 유주 촉진 활성 및 신경세포 성장 촉진 활성의 하나 이상을 이용한, 여러 가지의 의약품, 의약 부외품 등에 이용 가능하고, 적용 분야는 제한되지 않고 넓다.

도면

도면1

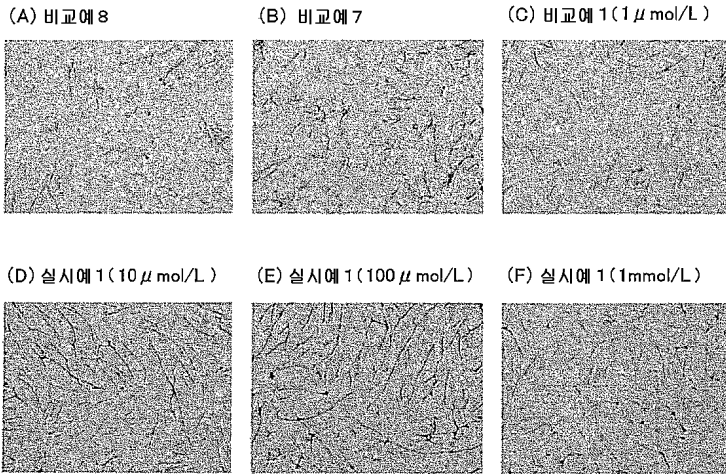


도면2

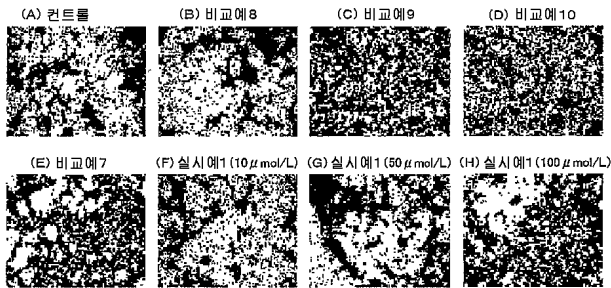


도면3

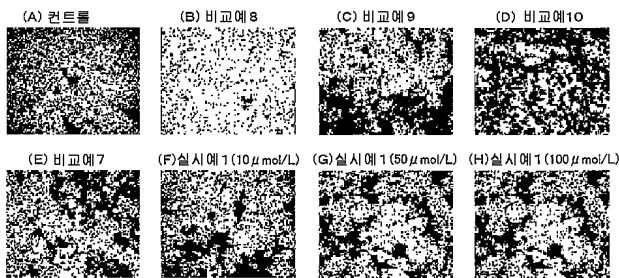
형성된 관강의 사진(CD31 염색) 횡폭 6mm



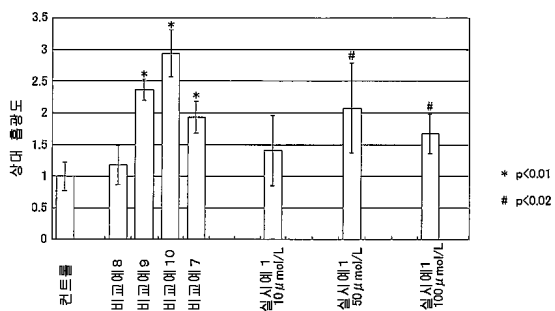
도면4



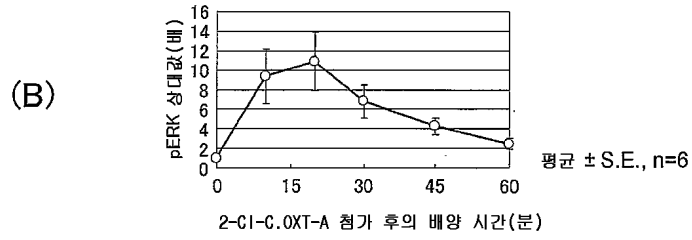
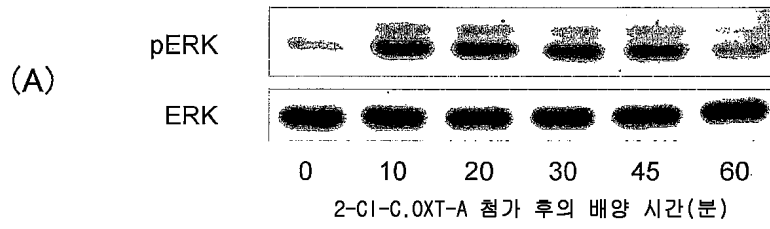
도면5



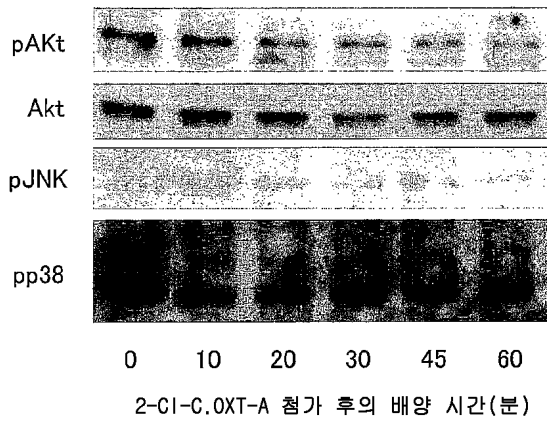
도면6



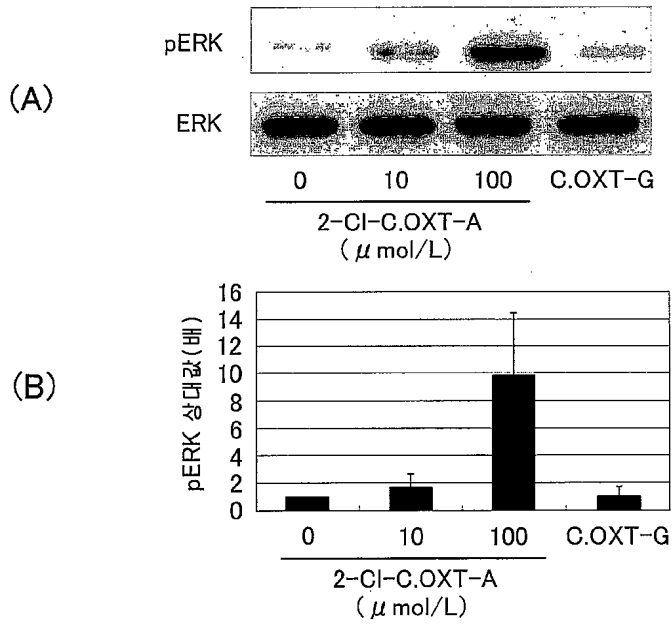
도면7



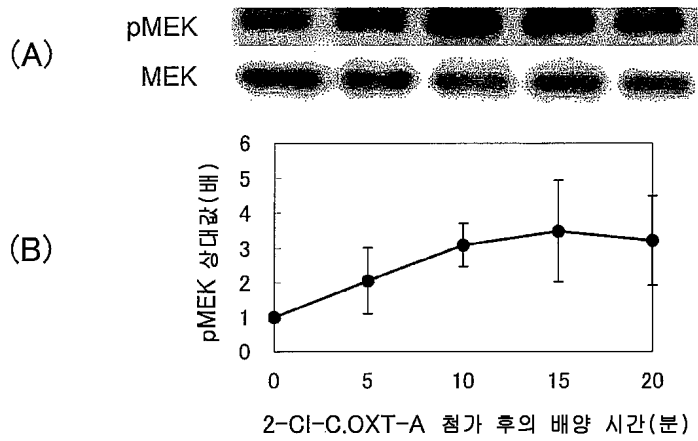
도면8



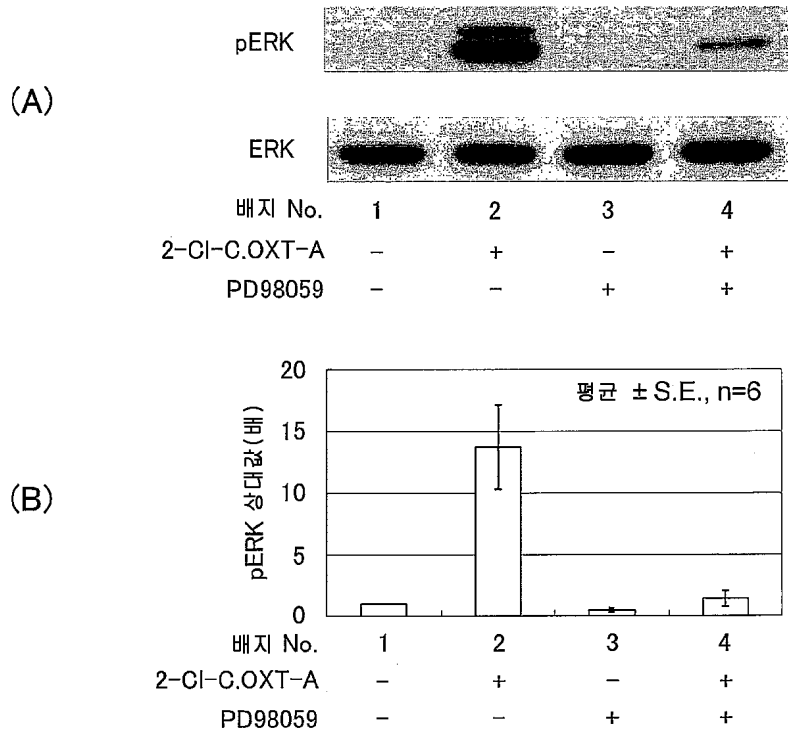
도면9



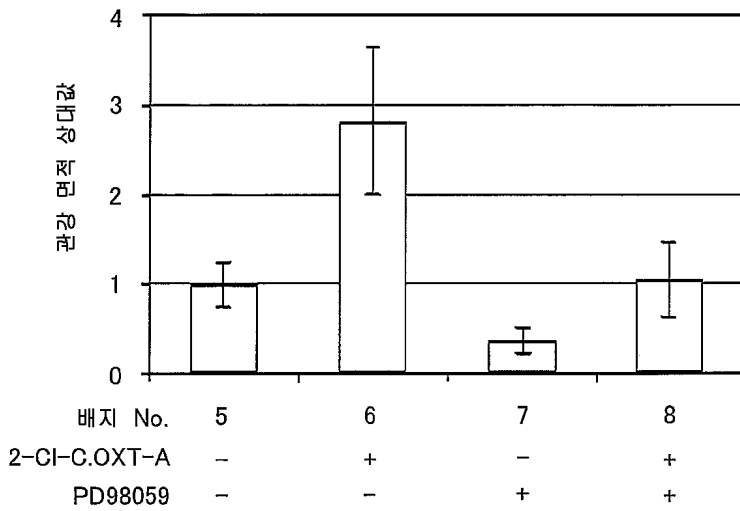
도면10



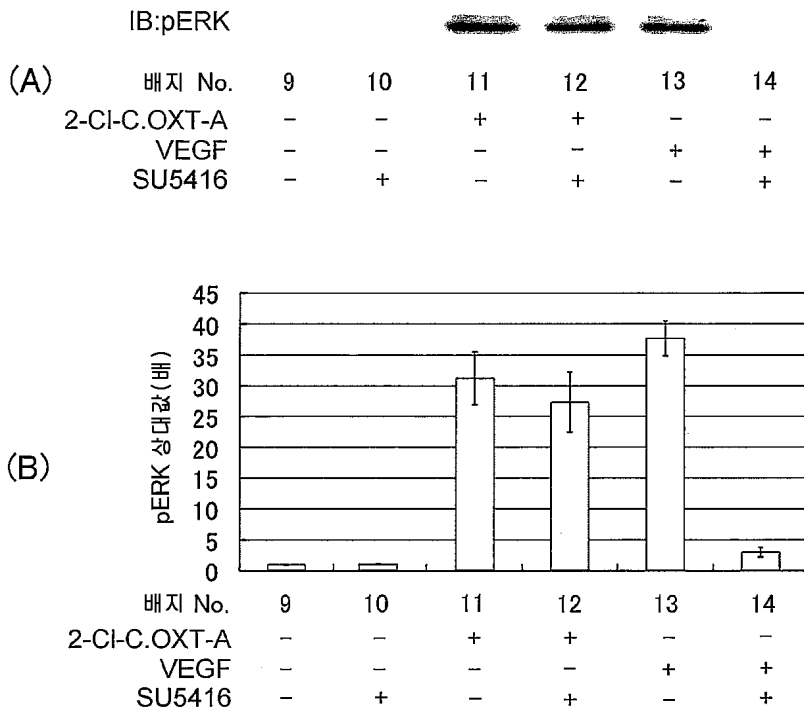
도면11



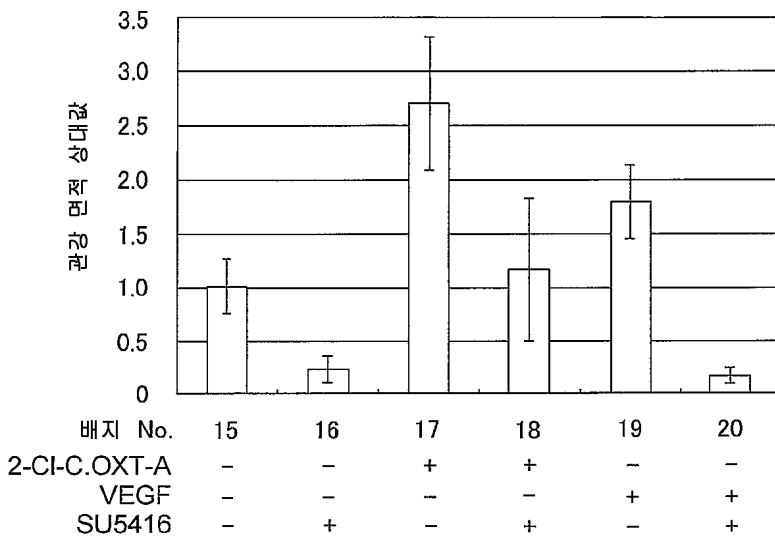
도면12



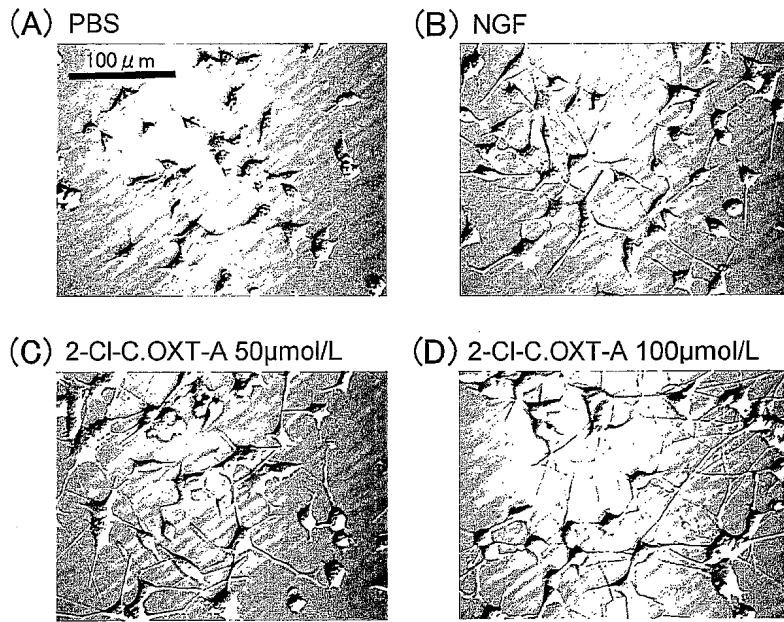
도면13



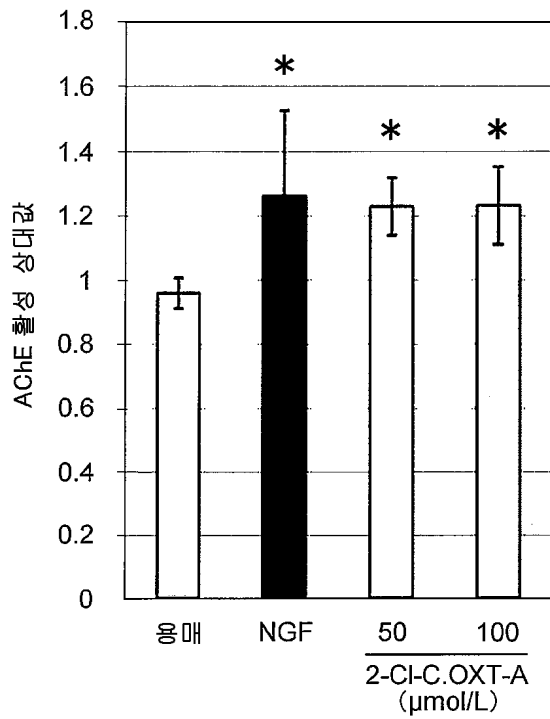
도면14



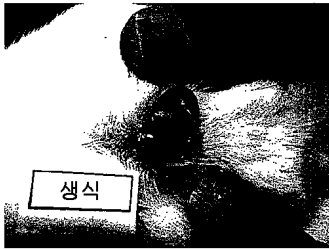
도면15



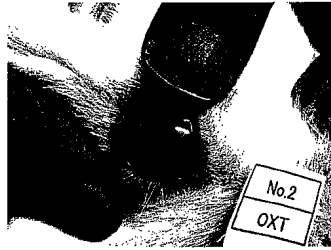
도면16



도면17



(A)



(B)