

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4378445号  
(P4378445)

(45) 発行日 平成21年12月9日 (2009. 12. 9)

(24) 登録日 平成21年10月2日 (2009. 10. 2)

(51) Int. Cl.

F I

**C O 7 F 9/09 (2006. 01)**

C O 7 F 9/09 U

**A 6 1 K 39/39 (2006. 01)**

C O 7 F 9/09 V

**A 6 1 P 31/04 (2006. 01)**

A 6 1 K 39/39

**A 6 1 P 31/16 (2006. 01)**

A 6 1 P 31/04

**A 6 1 P 31/18 (2006. 01)**

A 6 1 P 31/16

請求項の数 22 (全 103 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-516455 (P2003-516455)  
 (86) (22) 出願日 平成14年7月31日 (2002. 7. 31)  
 (65) 公表番号 特表2005-504749 (P2005-504749A)  
 (43) 公表日 平成17年2月17日 (2005. 2. 17)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2002/024258  
 (87) 国際公開番号 W02003/011223  
 (87) 国際公開日 平成15年2月13日 (2003. 2. 13)  
 審査請求日 平成17年7月29日 (2005. 7. 29)  
 (31) 優先権主張番号 09/918, 849  
 (32) 優先日 平成13年7月31日 (2001. 7. 31)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 506137147  
 エーザイ・アール・アンド・ディー・マネ  
 ジメント株式会社  
 東京都文京区小石川四丁目6番10号  
 (74) 代理人 110000659  
 特許業務法人広江アソシエイツ特許事務所  
 (72) 発明者 ホウキンス, リン, ディー.  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O  
 1742, コンコルド, ロウエル ロード  
 963  
 (72) 発明者 イシザカ, サリー, ティー.  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O  
 2493, ウェストン, マウントバーレ  
 ロード 110

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫調節化合物およびその使用方法

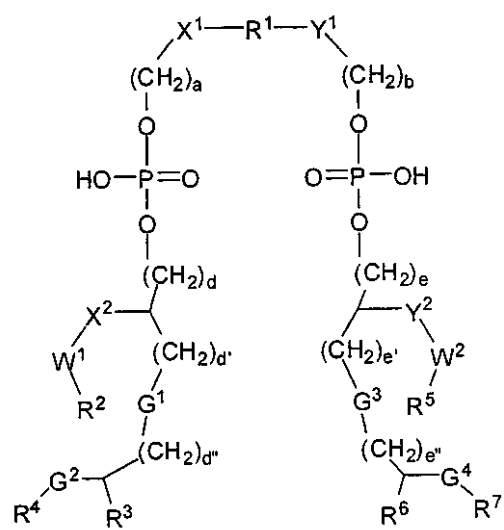
(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式 I、II または III で表される化合物、またはその医薬上許容される塩：

【化 1】

式I

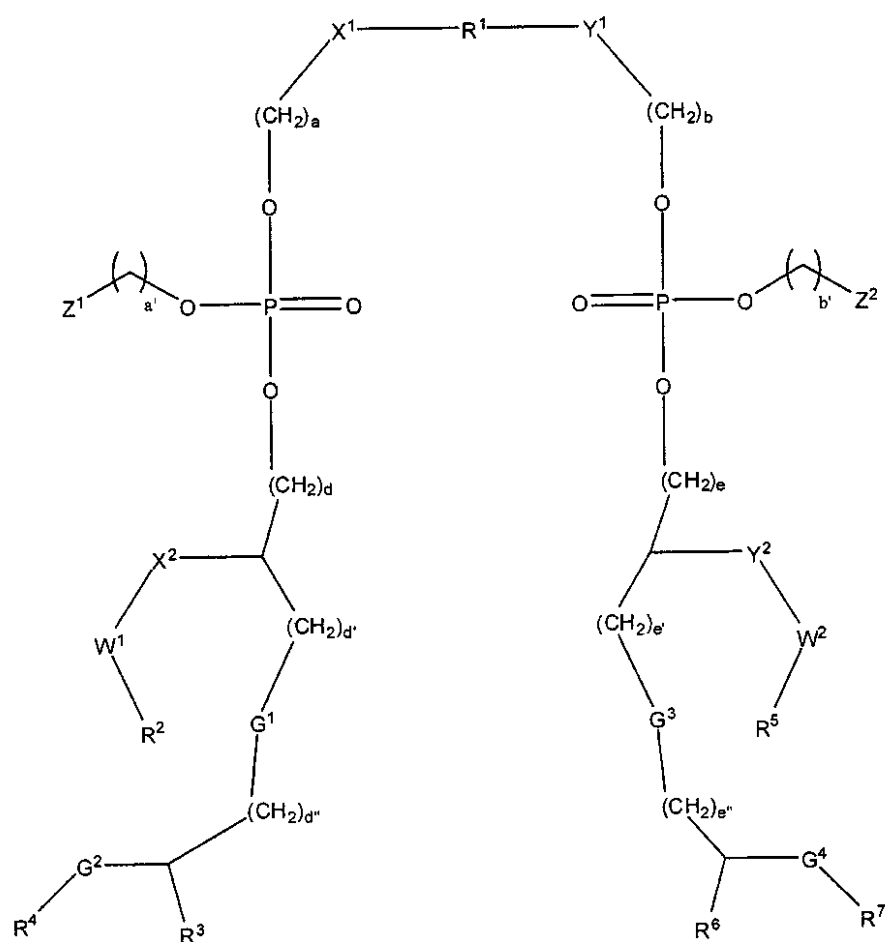


10

20

【化 2】

式II



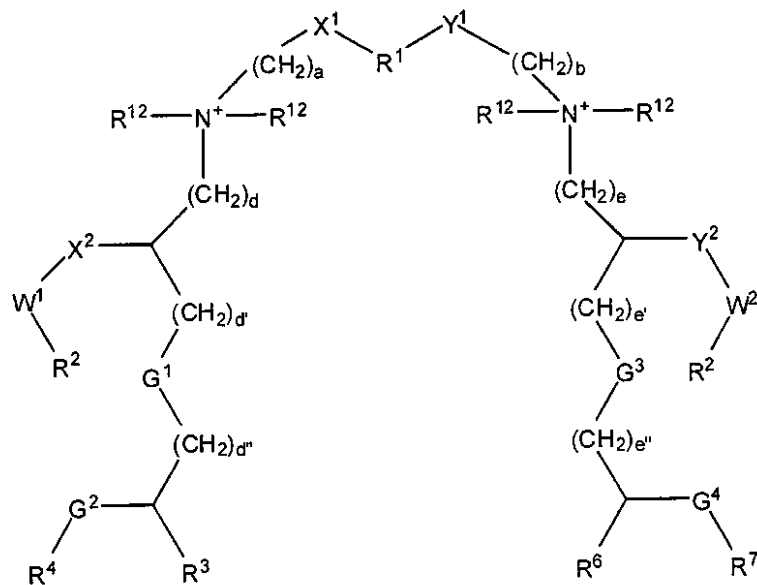
10

20

30

## 【化 3】

## 式III



10

20

[ 式 I、II または III の各々につき：

$R^1$  は、

(a)  $C(O)$ ；

(b)  $C(O)-C_{1-14}$  アルキレン  $C(O)$ 、ここに、該  $C_{1-14}$  アルキレンは、所望により、ヒドロキシ、 $C_{1-5}$  アルコキシ、 $C_{1-5}$  アルキレンジオキシ、 $C_{1-5}$  アルキルアミノ、または  $C_{1-5}$  アルキル アリールで置換されていてもよく、ここに、該  $C_{1-5}$  アルキル アリールの該アリール部位は、所望により、 $C_{1-5}$  アルコキシ、 $C_{1-5}$  アルキルアミノ、 $C_{1-5}$  アルコキシ アミノ、 $C_{1-5}$  アルキルアミノ  $C_{1-5}$  アルコキシ、 $O-C_{1-5}$  アルキルアミノ  $C_{1-5}$  アルコキシ、 $O-C_{1-5}$  アルキルアミノ  $C(O)-C_{1-5}$  アルキル  $C(O)OH$ 、 $O-C_{1-5}$  アルキルアミノ  $C(O)-C_{1-5}$  アルキル  $C(O)-C_{1-5}$  アルキルで置換されていてもよく；

30

(c) 所望によりヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい  $C_2$  ないし  $C_{1-5}$  の直鎖または分岐鎖アルキレン；および

(d) 当該アリーレンが所望によりヒドロキシ、ハロゲン、ニトロまたはアミノで置換されていてもよい  $C(O)-C_{6-12}$  アリーレン  $C(O)$ ；  
よりなる群から選択され；

a および b は独立して 0、1、2、3 または 4 であり；

d、d'、d''、e、e' および e'' は独立して 0 ないし 4 の整数であり；

40

$X^1$ 、 $X^2$ 、 $Y^1$  および  $Y^2$  は、独立して、無し、酸素、 $NH$ 、 $N(C(O)C_{1-4}$  アルキル)、および  $N(C_{1-4}$  アルキル) $_2$  よりなる群から選択され；

$W^1$  および  $W^2$  は、独立して、カルボニル、メチレン、スルホンおよびスルホキシドよりなる群から選択され；

$R^2$  および  $R^5$  は独立して：

(a) 所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい  $C_2$  ないし  $C_{2-0}$  の直鎖または分岐鎖アルキル、

(b) 所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよく、かつ 1 または 2 の二重結合を有する  $C_2$  ないし  $C_{2-0}$  の直鎖または分岐鎖アルケニル；

(c) 所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい  $C_2$

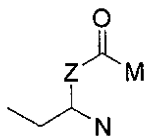
50

ないし  $C_{20}$  の直鎖または分岐鎖アルコキシ；

(d)  $NH$   $C_2$  ないし  $C_{20}$  直鎖または分岐鎖アルキル、ここに、該アルキル基は所望によりオキソ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよく；および

(e)

【化4】



10

(式中、ZはOおよびNHよりなる群から選択され、MおよびNは独立して  $C_2$  ないし  $C_{20}$  の直鎖または分岐鎖のアルキル、アルケニル、アルコキシ、アシルオキシ、アルキルアミノおよびアシルアミノよりなる群から選択される)

よりなる群から選択され；

$R^3$  および  $R^6$  は、独立して、所望によりオキソまたはフルオロで置換されていてもよい  $C_2$  ないし  $C_{20}$  の直鎖または分岐鎖のアルキルまたはアルケニルよりなる群から選択され；

$R^4$  および  $R^7$  は、独立して、 $C(O)C_2$  ないし  $C_{20}$  直鎖または分岐鎖アルキルまたはアルケニル； $C_2$  ないし  $C_{20}$  直鎖または分岐鎖アルキル； $C_2$  ないし  $C_{20}$  直鎖または分岐鎖アルコキシ； $C_2$  ないし  $C_{20}$  直鎖または分岐鎖アルケニルよりなる群から選択され；ここに、該アルキル、アルケニルまたはアルコキシ基は、独立して、かつ所望によりヒドロキシ、フルオロまたは  $C_1$  ないし  $C_5$  アルコキで置換されていてもよい；

20

$G^1$  および  $G^3$  は  $C(O)NH$  であり、

$G^2$  および  $G^4$  は、独立して、酸素、メチレン、アミノ、チオール、 $NHC(O)$ 、 $C(O)NH$ 、 $C(O)O$ 、 $OC(O)$  および  $N(C(O)C_1-4$  アルキル) よりなる群から選択され；

または  $G^2 R^4$  または  $G^4 R^7$  は両者とも水素原子またはヒドロキシルであってもよい；

式IIについては、

$a'$  および  $b'$  は独立して2、3、4、5、6、7または8であり；

30

$Z^1$  は  $OP(O)(OH)_2$ 、 $P(O)(OH)_2$ 、 $R^8$  が  $C_1-C_4$  アルキル鎖である  $OP(O)(OR^8)(OH)$ 、 $OS(O)_2OH$ 、 $S(O)_2OH$ 、 $CO_2H$ 、 $OB(OH)_2$ 、 $OH$ 、 $CH_3$ 、 $NH_2$ 、 $R^9$  が  $C_1-C_4$  アルキル鎖である  $NR^9_3$  よりなる群から選択され；

$Z^2$  は  $OP(O)(OH)_2$ 、 $P(O)(OH)_2$ 、 $R^{10}$  が  $C_1-C_4$  アルキル鎖である  $OP(O)(OR^{10})(OH)$ 、 $OS(O)_2OH$ 、 $S(O)_2OH$ 、 $CO_2H$ 、 $OB(OH)_2$ 、 $OH$ 、 $CH_3$ 、 $NH_2$ 、 $R^{11}$  が  $C_1-C_4$  アルキル鎖である  $NR^{11}_3$  であり；

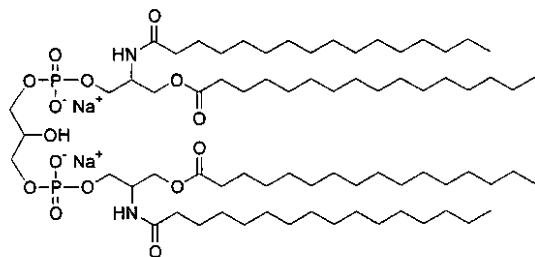
式IIIについては、

$R^{12}$  はHおよび  $C_1-C_4$  アルキル鎖から選択され；

40

但し、式Iの化合物は、

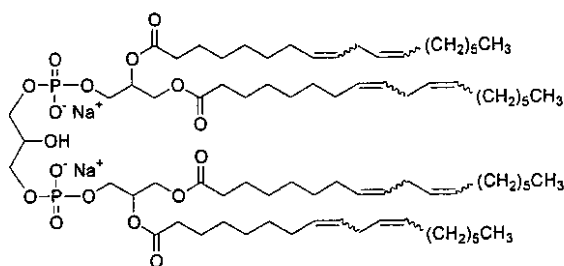
【化5】



50

又は

【化 6】



10

の化合物ではない]

の化合物。

【請求項 2】

$R^1$  が  $C(O)$  および  $C(O)-C_{1-14}$  アルキレン  $C(O)$  よりなる群から選択される請求項 1 記載の化合物。

【請求項 3】

a および b の各々が 2 である請求項 1 記載の化合物。

【請求項 4】

a' および b' が 2 である請求項 1 記載の化合物。

【請求項 5】

X<sup>1</sup> および Y<sup>1</sup> が共に NH である請求項 1 記載の化合物。

20

【請求項 6】

d および e が 1 である請求項 1 記載の化合物。

【請求項 7】

G<sup>2</sup> R<sup>4</sup> および G<sup>4</sup> R<sup>7</sup> が共にヒドロキシである請求項 1 記載の化合物。

【請求項 8】

請求項 1 ないし 7 いずれかに記載された化合物を含む免疫学的アジュバント処方物。

【請求項 9】

抗原および請求項 1 ないし 7 いずれかのアジュバント化合物を含むワクチン処方物。

【請求項 10】

該アジュバントおよび抗原が該アジュバントのアミノ、カルボニル、ヒドロキシルまたはホスフェート部位を介して共有結合している請求項 9 記載の処方物。

30

【請求項 11】

$R^1$  が  $C(O)$  または  $C(O)-C_{3-14}$  アルキレン  $C(O)$  であり、ここに、該アジュバントおよび抗原が該  $C(O)$  または  $C(O)-C_{3-14}$  アルキレン  $C(O)$  の該 C<sub>1</sub> カルボニルのカルボニル部位に共有結合している請求項 8 記載の処方物。

【請求項 12】

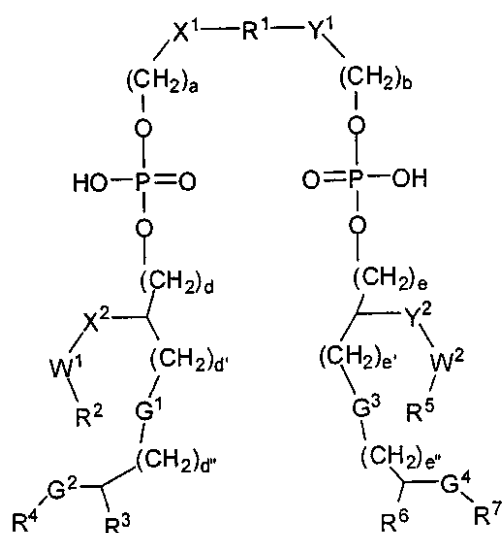
有効量の抗原および該抗原に対する免疫応答を刺激するのに有効な量の請求項 1 ないし 7 のいずれかに記載のアジュバント化合物よりなることを特徴とする抗原に対する免疫応答を刺激するための刺激剤。

40

【請求項 13】

式 I で表される化合物、またはその医薬上許容される塩：

## 【化 7】



式I

R<sup>1</sup> は、

(a) C(O) ;

(b) C(O) C<sub>1-14</sub> アルキレン C(O)、ここに、該 C<sub>1-14</sub> アルキレンは、所望により、ヒドロキシ、C<sub>1-5</sub> アルコキシ、C<sub>1-5</sub> アルキレンジオキシ、C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ、または C<sub>1-5</sub> アルキル アリールで置換されていてもよく、ここに、該 C<sub>1-5</sub> アルキル アリールの該アリール部位は、所望により、C<sub>1-5</sub> アルコキシ、C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ、C<sub>1-5</sub> アルコキシ アミノ、C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ C<sub>1-5</sub> アルコキシ、O C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ C<sub>1-5</sub> アルコキシ、O C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ C(O) C<sub>1-5</sub> アルキル C(O) OH、O C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ C(O) C<sub>1-5</sub> アルキル C(O) C<sub>1-5</sub> アルキルで置換されていてもよく；

(c) 所望によりヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい C<sub>2</sub> ないし C<sub>1-5</sub> の直鎖または分岐鎖アルキル；および

(d) 当該アリーレンが所望によりヒドロキシ、ハロゲン、ニトロまたはアミノで置換されていてもよい C(O) C<sub>6-12</sub> アリーレン C(O) ；  
よりなる群から選択され；

a および b は独立して 0、1、2、3 または 4 であり；

d、d'、d''、e、e' および e'' は独立して 0 ないし 4 の整数であり；

X<sup>1</sup>、X<sup>2</sup>、Y<sup>1</sup> および Y<sup>2</sup> は、独立して、無し、酸素、NH、N(C(O) C<sub>1-4</sub> アルキル)、および N(C<sub>1-4</sub> アルキル) よりなる群から選択され；

W<sup>1</sup> および W<sup>2</sup> は、独立して、カルボニル、メチレン、スルホンおよびスルホキシドよりなる群から選択され；

R<sup>2</sup> および R<sup>5</sup> は独立して；

(a) 所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい C<sub>2</sub> ないし C<sub>2-10</sub> の直鎖または分岐鎖アルキル、

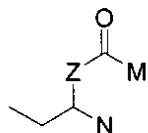
(b) 所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよく、かつ 1 または 2 の二重結合を有する C<sub>2</sub> ないし C<sub>2-10</sub> の直鎖または分岐鎖アルケニル；

(c) 所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい C<sub>2</sub> ないし C<sub>2-10</sub> の直鎖または分岐鎖アルコキシ；

(d) NH C<sub>2</sub> ないし C<sub>2-10</sub> の直鎖または分岐鎖アルキル、ここに、該アルキル基は所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよく；および

(e)

## 【化 8】



(式中、ZはOおよびNHよりなる群から選択され、MおよびNは独立して $C_2$ ないし $C_{20}$ の直鎖または分岐鎖のアルキル、アルケニル、アルコキシ、アシルオキシ、アルキルアミノおよびアシルアミノよりなる群から選択される)

よりなる群から選択され；

$R^3$ および $R^6$ は、独立して、所望によりオキシまたはフルオロで置換されていてもよい $C_2$ ないし $C_{20}$ の直鎖または分岐鎖のアルキルまたはアルケニルよりなる群から選択され；

$R^4$ および $R^7$ は、独立して、 $C(O)C_2$ ないし $C_{20}$ の直鎖または分岐鎖アルキルまたはアルケニル； $C_2$ ないし $C_{20}$ の直鎖または分岐鎖アルキル； $C_2$ ないし $C_{20}$ の直鎖または分岐鎖アルコキシ； $C_2$ ないし $C_{20}$ の直鎖または分岐鎖アルケニルよりなる群から選択され；ここに、該アルキル、アルケニルまたはアルコキシ基は、独立して、かつ所望によりヒドロキシ、フルオロまたは $C_1$ ないし $C_5$ アルコキで置換されていてもよい；

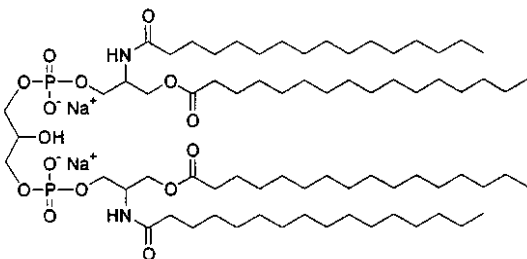
$G^1$ および $G^3$ は  $C(O)NH$  よりなり、

$G^2$ および $G^4$ は、独立して、酸素、メチレン、アミノ、チオール、 $NHC(O)$ 、 $C(O)NH$ 、 $OC(O)$  および  $N(C(O)C_{1-4} \text{アルキル})$  よりなる群から選択され；

または $G^2R^4$ または $G^4R^7$ は両者とも水素原子またはヒドロキシルであってもよい；

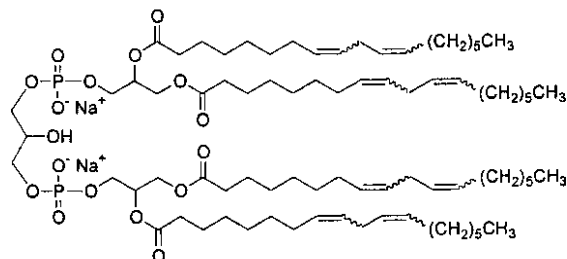
但し、式Iの化合物は、

## 【化 9】



又は

## 【化 10】



の化合物ではない]

の化合物。

## 【請求項 14】

$R^1$ が $C(O)$ および $C(O)C_{1-4}$ アルキレン  $C(O)$ よりなる群から選択される請求項13記載の化合物。

## 【請求項 15】

a および b の各々が 2 である請求項 13 記載の化合物。

## 【請求項 16】

X<sup>1</sup> および Y<sup>1</sup> が共に NH である請求項 13 記載の化合物。

## 【請求項 17】

d および e が 1 である請求項 13 記載の化合物。

## 【請求項 18】

請求項 13 に記載された化合物を含む免疫学的アジュバント処方物。

## 【請求項 19】

抗原および請求項 13 の化合物を含むワクチン処方物。

10

## 【請求項 20】

式 I の化合物および抗原が該式 I の化合物のアミノ、カルボニル、ヒドロキシルまたはホスフェート部位を介して共有結合している請求項 19 記載の処方物。

## 【請求項 21】

R<sup>1</sup> が C(O) または C(O) - C<sub>3-14</sub> アルキレン - C(O) であり、ここに、式 I の化合物および抗原が該 C(O) または C(O) - C<sub>3-14</sub> アルキレン - C(O) の C<sub>1</sub> カルボニルのカルボニル部位に共有結合している請求項 19 記載の処方物。

## 【請求項 22】

有効量の抗原および請求項 13 に記載の化合物の抗原に対する免疫応答を刺激するのに有効な量よりなることを特徴とする免疫応答を刺激する刺激剤。

20

## 【発明の詳細な説明】

## 【背景技術】

## 【0001】

ワクチンは、感染症の予防のための成功したかなり許容できる方法であることが判明している。それはコストが妥当であり、宿主に存在する病原体を標的とし、または通常の微生物叢に影響する抗生物質抵抗性を誘導しない。抗ウイルス免疫性を誘導する場合のごとき多くの場合において、ワクチンは、強力な治癒的または軽減的治療が利用できない病気を予防することができる。

## 【0002】

ワクチンは、非感染性または非病原性形態で身体に導入される剤、または抗原、典型的には感染性生物またはその部分に対してする応答を開始するよう免疫系をトリガーすることによって機能する。一旦、免疫系が「始動」するか、または生物に対して感作されれば、感染性病原体としてのこの生物に対して免疫系が遅れて作用を受けた後の暴露の結果、迅速かつ強烈な免疫応答が生じ、これは、病原体が増殖し、宿主細胞中の十分な細胞に感染して病気兆候を引き起こし得る前に病原体を破壊する。

30

## 【0003】

免疫系を始動させるのに用いられる剤、または抗原は、弱毒化生物として知られている感染性の低い状態の生物全体、またはある場合には、生物の種々の構造的成分を表わす炭水化物、蛋白質またはペプチドのごとき生物の成分であり得る。

## 【0004】

40

多くの場合、ワクチンに存在する抗原に対する免疫応答を増強させて、免疫系を、ワクチンを効果的とする、すなわち、免疫性を付与するのに十分な程度まで刺激する必要がある。単独で投与された多くの蛋白質およびほとんどのペプチドおよび炭水化物抗原は、免疫性を付与するのに十分な抗体応答を誘導しない。そのような抗原は、それが外来性として認識され、免疫応答を誘導するように、免疫系に対して提示されなければならない。この目的で、添加剤（アジュバント）が工夫されており、これは、抗原を動かなくし、免疫応答を刺激する。

## 【0005】

最良の公知のアジュバントであるフロイントの完全アジュバントは油/水型エマルジョン中のマイコバクテリアの混合物よりなる。フロイントのアジュバントは 2 つの方法：ま

50

ず、細胞性および液性 媒介免疫性を増強することによって、第 2 に、抗原攻撃の迅速な四散をブロックすることによって（「デポ効果」）働く。しかしながら、この物質に対する頻繁な毒性生理学および免疫学的反応のため、フロイントのアジュバントはヒトでは用いることができない。

【 0 0 0 6 】

免疫刺激性またはアジュバント活性を有することが示されているもう 1 つの分子は、リポ多糖（LPS）としても知られているエンドトキシンである。LPS は、「先天性」免疫応答 生物が以前に暴露されている必要性なくして生物がエンドトキシン（およびそれが成分である侵入細菌）を認識できるように進化してきた応答をトリガーすることによって免疫系を刺激する。LPS は過度にも毒性で活力のあるアジュバントにはならないが、モノホルフォリル脂質 A（「 MPL 」）などのエンドトキシンに構造的に関連する分子が臨床試験でアジュバントとしてテストされつつある。しかしながら、現在、ヒトで用いるのに唯一 FDA が認可したアジュバントはアルミニウム塩（ミョウバン）であり、これは、抗原の沈殿によって抗原を「貯蔵する」のに用いられる。また、ミョウバンは抗原に対する免疫応答を刺激する。

10

【 0 0 0 7 】

かくして、抗原と共に投与して、免疫系を刺激し、もし抗原が単独で注射されるか、またはミョウバンと共に注射されれば観察されるであろう抗原に対するより強烈な抗体応答を生じさせることができる化合物に対して当該分野において認識された要望が存在する。

【 発明の開示 】

20

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 8 】

1 つの態様において、本発明は、細菌およびウイルス病用のワクチンなどの抗原と共に投与した場合に免疫学的アジュバントとして機能する新規な化合物に指向される。

【 0 0 0 9 】

第 2 の態様において、本発明は、本発明のアジュバント化合物の少なくとも 1 つを含む新規なアジュバント処方物に指向される。

【 0 0 1 0 】

第 3 の態様において、本発明は抗原、および本発明のアジュバント化合物の少なくとも 1 つを含む新規な免疫刺激性組成物に指向される。

30

【 0 0 1 1 】

もう 1 つの態様において、本発明は、動物がそれに対して免疫化されるべき抗原と本発明の化合物との共投与によって動物を免疫化する方法に指向される。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 2 】

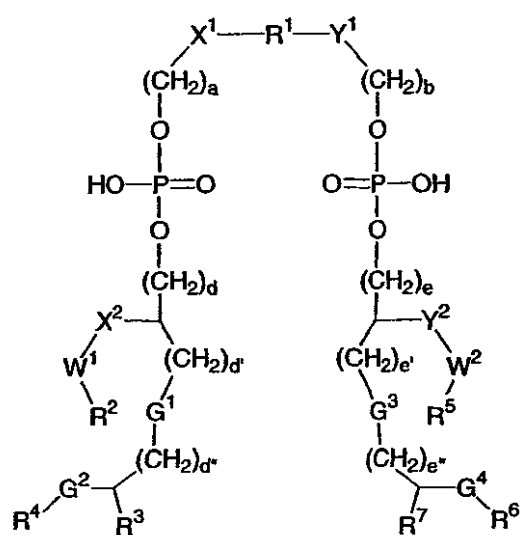
好ましい具体例の詳細な記載

本発明は、式 I、II および III の新規な化合物；式 I、II または III の化合物を含む突然変異用の免疫学的アジュバント；および少なくとも 1 つの更なる成分；式 I、II または III の化合物を用いる方法；および式 I、II または III の化合物および少なくとも 1 つの更なる成分を含む免疫学的処方物を用いる方法に部分的には指向される。

40

【 0 0 1 3 】

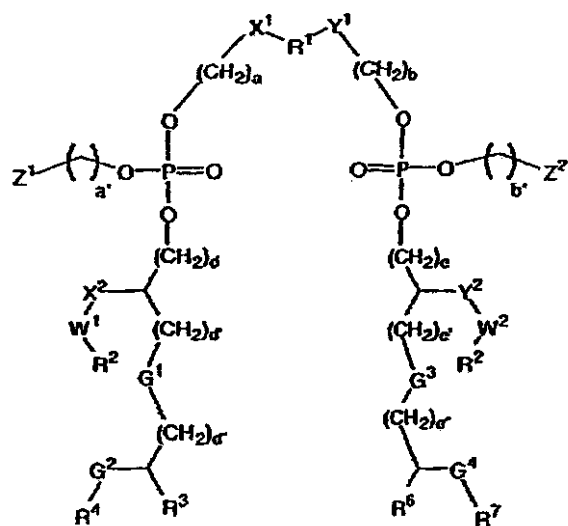
【化 1】



10

【 0 0 1 4 】

【化 2】

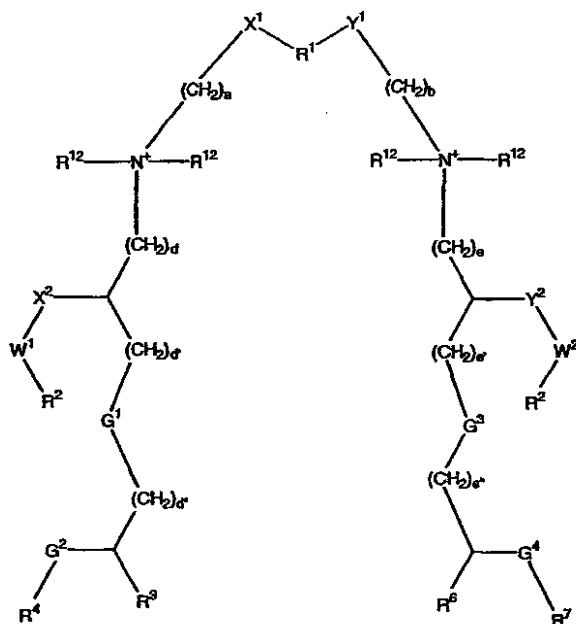


20

30

【 0 0 1 5 】

## 【化 3】



[ 式 I、II または III の各々につき：

R¹は、

( a ) C ( O ) ；

( b ) C ( O ) C<sub>1-14</sub> アルキル C ( O )、ここに、該 C<sub>1-14</sub> アルキルは、所望により、ヒドロキシ、C<sub>1-5</sub> アルコキシ、C<sub>1-5</sub> アルキレンジオキシ、C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ、または C<sub>1-5</sub> アルキル アリールで置換されていてもよく、ここに、該 C<sub>1-15</sub> アルキル アリールの該アリール部位は、所望により、C<sub>1-5</sub> アルコキシ、C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ、C<sub>1-5</sub> アルコキシ アミノ、C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ C<sub>1-5</sub> アルコキシ、O C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ C<sub>1-5</sub> アルコキシ、O C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ C ( O ) C<sub>1-5</sub> アルキル C ( O ) O H、O C<sub>1-5</sub> アルキルアミノ C ( O ) C<sub>1-5</sub> アルキル C ( O ) C<sub>1-5</sub> アルキルで置換されていてもよく；

( c ) 所望によりヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい C<sub>2</sub> ないし C<sub>15</sub> の直鎖または分岐鎖アルキル；および

( d ) 当該アリーレンが所望によりヒドロキシ、ハロゲン、ニトロまたはアミノで置換されていてもよい C ( O ) C<sub>6-12</sub> アリーレン C ( O ) ；  
よりなる群から選択され；

a および b は独立して 0、1、2、3 または 4 であり；

d、d'、d''、e、e' および e'' は独立して 0 ないし 4 の整数であり；

X¹、X²、Y¹ および Y² は、独立して、無し、酸素、NH および N ( C ( O ) C<sub>1-4</sub> アルキル )、および N ( C<sub>1-4</sub> アルキル )<sub>2</sub> よりなる群から選択され；

W¹ および W² は、独立して、カルボニル、メチレン、スルホンおよびスルホキシドよりなる群から選択され；

R² および R⁵ は独立して：

( a ) 所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい C<sub>2</sub> ないし C<sub>20</sub> の直鎖または分岐鎖アルキル、

( b ) 所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい C<sub>2</sub> ないし C<sub>20</sub> の直鎖または分岐鎖アルケニルまたはジアルケニル；

( c ) 所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよい C<sub>2</sub> ないし C<sub>20</sub> の直鎖または分岐鎖アルコキシ；

( d ) NH C<sub>2</sub> ないし C<sub>20</sub> 直鎖または分岐鎖アルキル、ここに、該アルキル基は

10

20

30

40

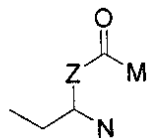
50

所望によりオキシ、ヒドロキシまたはアルコキシで置換されていてもよく；および

(e)

【0016】

【化4】



(式中、ZはOおよびNHよりなる群から選択され、MおよびNは独立してC<sub>2</sub>ないしC<sub>20</sub>の直鎖または分岐鎖のアルキル、アルケニル、アルコキシ、アシルオキシ、アルキルアミノおよびアシルアミノよりなる群から選択される)

よりなる群から選択され；

R<sup>3</sup>およびR<sup>6</sup>は、独立して、所望によりオキシまたはフルオロで置換されていてもよいC<sub>2</sub>ないしC<sub>20</sub>の直鎖または分岐鎖のアルキルまたはアルケニルよりなる群から選択され；

R<sup>4</sup>およびR<sup>7</sup>は、独立して、C(O)C<sub>2</sub>ないしC<sub>20</sub>直鎖または分岐鎖アルキルまたはアルケニル；C<sub>2</sub>ないしC<sub>20</sub>直鎖または分岐鎖アルキル；C<sub>2</sub>ないしC<sub>20</sub>直鎖または分岐鎖アルコキシ；C<sub>2</sub>ないしC<sub>20</sub>直鎖または分岐鎖アルケニルよりなる群から選択され；ここに、該アルキル、アルケニルまたはアルコキシ基は、独立して、かつ所望によりヒドロキシ、フルオロまたはC<sub>1</sub>ないしC<sub>5</sub>アルコキで置換されていてもよい；

G<sup>1</sup>、G<sup>2</sup>、G<sup>3</sup>およびG<sup>4</sup>は、独立して、酸素、メチレン、アミノ、チオール、NHC(O)、C(O)NH、C(O)O、OC(O)およびN(C(O)C<sub>1-4</sub>アルキル)よりなる群から選択され；

またはG<sup>2</sup>R<sup>4</sup>またはG<sup>4</sup>R<sup>7</sup>は一緒になって水素原子またはヒドロキシルとなることができ；

またはその医薬上許容される塩；

式IIについては、

a'およびb'は独立して2、3、4、5、6、7または8、好ましくは2であり；

Z<sup>1</sup>はOP(O)(OH)<sub>2</sub>、P(O)(OH)<sub>2</sub>、R<sup>8</sup>がC<sub>1</sub> C<sub>4</sub>アルキル鎖であるOP(O)(OR<sup>8</sup>)(OH)、OS(O)<sub>2</sub>OH、S(O)<sub>2</sub>OH、CO<sub>2</sub>H、OB(OH)<sub>2</sub>、OH、CH<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、R<sup>9</sup>がC<sub>1</sub> C<sub>4</sub>アルキル鎖であるNR<sup>9</sup>よりなる群から選択され；

Z<sup>2</sup>はOP(O)(OH)<sub>2</sub>、P(O)(OH)<sub>2</sub>、R<sup>10</sup>がC<sub>1</sub> C<sub>4</sub>アルキル鎖であるOP(O)(OR<sup>10</sup>)(OH)、OS(O)<sub>2</sub>OH、S(O)<sub>2</sub>OH、CO<sub>2</sub>H、OB(OH)<sub>2</sub>、OH、CH<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、R<sup>11</sup>がC<sub>1</sub> C<sub>4</sub>アルキル鎖であるNR<sup>11</sup>であり；

式IIIについては、

R<sup>12</sup>はHおよびC<sub>1</sub> C<sub>4</sub>アルキル鎖から選択され；

またはその医薬上許容される塩、

但し、式IIまたはIIIの化合物は、

【0017】

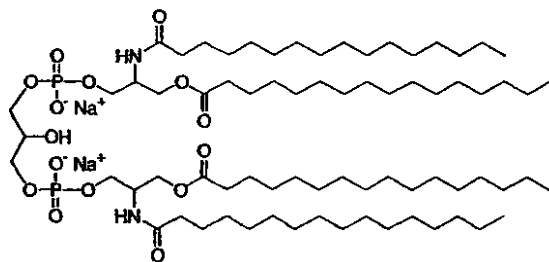
10

20

30

40

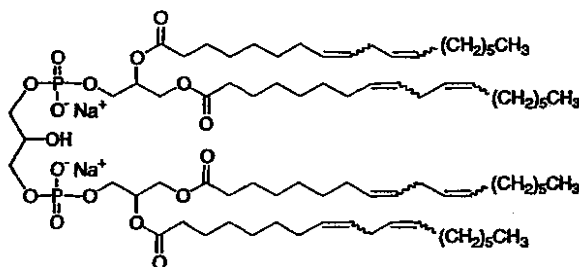
## 【化5】



10

## 【0018】

## 【化6】



20

の化合物ではない]

本発明の好ましい具体例において、以下の1以上が存在する：aおよびbの各々は2であり；X<sup>1</sup>およびY<sup>1</sup>の各々はNHであり；R<sup>1</sup>はC(O)またはC(O) C<sub>1-14</sub>アルキル C(O)である；d'およびe'の各々は1であり；d''およびe''の各々は1であり；XはOまたはNH、より好ましくはNHであり；およびWはC(O)であり；あるいはd'およびe'の各々は2である。

## 【0019】

更なる好ましい具体例において、R'はC(O) C<sub>1-14</sub>アルキル C(O)であり、ここに、該<sub>1-14</sub>アルキルは、例えば、C<sub>1-5</sub>アルコキシ基で置換されている。

30

## 【0020】

最も好ましい具体例において、本発明は、化合物ER803022、ER803058、ER803732、ER804053、ER804057、ER804058、ER804059、ER804442、ER804680およびER804764、およびこれらの化合物を含有する組成物に指向される。

## 【0021】

また、本発明は、抗原および前記開示の本発明の免疫学的アジュバント処方物を含む新規な免疫刺激性組成物に指向される。

## 【0022】

また、それに対して動物が免疫化されるべき抗原と共に、本発明の化合物または本発明のアジュバント処方物を共投与することによって動物を免疫化する方法が提供される。

40

## 【0023】

定義

本明細書中で用いられるカルボニルは(C=O)部位である。

## 【0024】

本明細書中で用いるジカルボニルは構造(C=O) アルキル (C=O)または(C=O) アリール (C=O)を持つ部位であり、これは、末端カルボニル部位の双方の炭素原子を介して分子に結合する。

## 【0025】

本明細書中で用いるオキソは=O基である。

50

## 【 0 0 2 6 】

本明細書中で用いるアルキルエステルは、構造  $O - (C = O) -$  アルキルを持つ部位であり、これは、エステル基の非二重結合酸素を介して分子に結合する。

## 【 0 0 2 7 】

本明細書中で用いるアルケニルエステルは、炭素鎖が炭素 - 炭素二重結合を含む場合、エステル基の非二重結合酸素を介して分子に結合する構造  $O - (C = O) -$  炭素鎖を持つ部位である。

## 【 0 0 2 8 】

用語「アルキレン」は、二価の直鎖または分岐鎖アルキル炭化水素基を意味する。

## 【 0 0 2 9 】

用語「アルキレン」は、単一の炭素 - 炭素二重結合を有する二価の直鎖または分岐鎖炭化水素基を意味する。

## 【 0 0 3 0 】

用語「ジアルキレン」は、2つの炭素 - 炭素二重結合を有する二価の不飽和直鎖または分岐鎖炭化水素基を意味する。

## 【 0 0 3 1 】

用語「アリーレン」とは、二価の芳香族基をいう。

## 【 0 0 3 2 】

本明細書中で用いる略語「B o c」は t - ブチルオキシカルボニルを意味する。

## 【 0 0 3 3 】

本発明の化合物および組成物に言及して本明細書中で用いるごとく、用語「タイプ 1」は、a および b の値が同一であり； d および e の値が同一であり； d' および e' の値が同一であり； d'' および e'' の値が同一であり； X<sup>1</sup> および Y<sup>1</sup> が同一であり； X<sup>2</sup> および Y<sup>2</sup> が同一であり； W<sup>1</sup> および W<sup>2</sup> が同一であり； R<sup>2</sup> および R<sup>5</sup> が同一であり； G<sup>1</sup> および G<sup>3</sup> が同一であり； R<sup>3</sup> および R<sup>6</sup> が同一であり； G<sup>2</sup> および G<sup>4</sup> が同一であり；および R<sup>4</sup> および R<sup>7</sup> が同一である前記式 I に対応する本発明の化合物をいう。本明細書中で用いる「タイプ 2」は、以下のいずれかの 1 以上が適用される式 I に対応する化合物または組成物をいう： a および b の値が異なり、d および e の値が同一であり、d' および e' の値が異なり； d'' および e'' の値が同一であり； X<sup>1</sup> および Y<sup>1</sup> が異なり； X<sup>2</sup> および Y<sup>2</sup> が異なり； W<sup>1</sup> および W<sup>2</sup> が異なり； R<sup>2</sup> および R<sup>5</sup> が異なり； G<sup>1</sup> および G<sup>3</sup> が異なり； R<sup>3</sup> および R<sup>6</sup> が異なり； G<sup>2</sup> および G<sup>4</sup> が異なり；または R<sup>4</sup> および R<sup>7</sup> が異なる。

## 【 0 0 3 4 】

ここに言及する全ての特許、特許出願および刊行物は出典明示してその全体を本明細書の一部とみなす。用語において差異がある場合、本明細書を基準とする。

## 一般的な合成方法

## 1. ジアミド化合物の合成

一般に、アジ化トリフルオロメタンスルホンと反応させ、続いて、容易な操作のために過酢酸として保護することによって、2 - アミノ - 1, 3 - ジヒドロキシプロパンまたは (±) セリノールを 2 - アジド化合物に変換する。得られた化合物を脱アセチル化し、続いて、ジオール部位の適当に活性化された第一級アルコールと反応させる。次いで、例えば、T B D P S C L を用いることによって、この反応の生成物の第一級アルコール部位を保護し、続いて、ホスゲン、次いで、アリルアルコールと反応させて、十分に保護されたジオールを得る。次いで、保護されたジオールを処理して、第一級アルコールから保護基を切断する。未保護アルコールを、実施例に示すごとく、式 ( 1 1 ) を持つ適切に機能性化されたリン酸化試薬と反応させて、リン酸エステル化合物を形成する。生成物のアジド部位を還元し、次いで、活性化されたアシル酸と反応させてアミドを形成させる。機能性化されたリン酸塩上の保護末端アミンを脱保護し、引き続いて、E D C のごとき脱水剤の存在下で、ホスゲンまたはジカルボン酸と反応させる。次いで、得られた化合物のリン酸塩を脱保護し、ラセミ体アミドが得られる。

## 【 0 0 3 5 】

## 2. タイプ1のキラルジアミド化合物の合成

一般に、所望の構造を持つキラルアミノ酸エステルをベンズイミデートエステルで保護する。保護された化合物を還元剤、例えば、D I B A L等と反応させて、アミノ酸の酸部位をアルコールまで還元する。得られたアルコール化合物を適切に活性化されたジオール部位の第一級アルコールと反応させ、続いて、ベンズイミデート保護基を切断し、アミノ-ジオールを得る。次いで、ジオールを適当な酸塩化物と反応させてジオール-アミドを得る。

## 【 0 0 3 6 】

次いで、ジオール-アミドを、遊離第一級ヒドロキシル基において、適切に機能性化されたリン酸化試薬と反応させる。得られた化合物を第二級アルコール基において適当なアシル部位でエステル化する。次いで、N - B O C基を、リン酸化試薬( 1 1 )によって生じたアミノ基から切断し、遊離第一級アミンを持つリン酸エステル化合物を得る。次いで、脱水剤の存在下で、この生成物をホスゲンまたはジカルボン酸と反応させて、ジアミド生成物を得る。次いで、ジアミド生成物の保護されたリン酸塩を、典型的には、パラジウム( 0 )およびフェニルシランで脱保護する。

## 【 0 0 3 7 】

## 3. タイプ2のキラルジアミド化合物の合成

タイプ2のキラルジアミド化合物は、リン酸エステル化合物の第一級アミン基からの保護基の丁度切断後の時点まで、タイプ1のキラルジアミド化合物について実質的に記載されているごとく合成する。この時点で、保護された酸部位の1つを有するジカルボン酸を第一級アミン基と反応させて、モノアミドを得る。次いで、他のカルボン酸の保護基を切断し、遊離カルボン酸が得られ、次いで、これを、脱水剤の存在下で、別の適切に置換されたリン酸塩系からの第一級アミンと反応させて、タイプ2のジアミドを得ることができ、次いで、これを処理して、リン酸塩基または複数リン酸塩基を脱保護し、本発明の所望の化合物が得られる。

## 【 0 0 3 8 】

本発明のタイプ2のキラル尿素化合物の特別な場合、リン酸エステルのN - B O Cアミノ基の第一級アミノ基を脱保護し、次いで、クロロギ酸トリクロロメチル等と反応させて、イソシアネート化合物を形成させる。次いで、該イソシアネートとを、別の適切に置換されたリン酸塩系からの第一級アミンと反応させて、タイプ2の尿素生成物を得る。次いで、この生成物を処理して、リン酸塩基または複数リン酸塩基を脱保護することができる。

## 【 0 0 3 9 】

## 4. グリセロールジアミドアナログ

本発明のこれらの化合物は、アミド部位の代わりに、ホスフェート基に対してベータである、炭素に結合したエステル部位を有する。

## 【 0 0 4 0 】

一般に、これらの化合物は、ジオール部位の活性化された第一級アルコールでの保護されたキラルグリセロールのエーテル化、続いての、第二級アルコール部位のエステル化、および引き続いてのグリセロール部位の脱保護により調製して、新しいジオールを得る。次いで、該ジオールの第一級ヒドロキシル基を保護し、第二級ヒドロキシル基をアシル部位と縮合させて、ジエステルを得る。第一級ヒドロキシル基を脱保護し、続いてリン酸化剤でエステル化し、そのうち以下の化合物( 1 1 )を例示する。リン酸化剤によって導入されたアミン基の脱保護に続き、E D Cのごとき脱水剤を用い、生成物をホスゲンまたはジカルボン酸と反応させる。ホスフェート基の引き続いての脱保護により、本発明の化合物を得る。

## 【 0 0 4 1 】

一般的に前記した合成において、本発明の化合物のR<sup>1</sup>における置換基は、種々のジカルボン酸化合物によって容易に変化させることができる。そのような酸は、E D Cのごと

10

20

30

40

50

き脱水剤を用いるか、あるいは例えば対応する二酸塩化物を合成することによりジカルボン酸を活性化することによって、前記で概説した反応スキームのリン酸エステル中間体のアミン基にカップリングさせることができる。

#### 【0042】

前記式 I における変数  $R^2$  および  $R^5$  によって表わされる置換基は、式 I において H または Y によって表わされるヘテロ原子のアミド化またはエステル化反応において、適当な活性化された酸または酸塩化物を利用することによって容易に変化させることができる。

#### 【0043】

式 I の変数  $R^3$  および  $R^6$  によって表わされる置換基は、アジドジオール、アミノアルコール、またはグリセロール出発物質と反応することができる活性化された炭素機能性、例えば、ハロゲンまたはスルホネート ( $OSO_2CH_3$ 、 $OSO_2CF_3$ 、 $OSO_2CH_2C_6H_4-p-CH_3$ ) も含む所望の数の炭素原子を含有する中間体を用いることによって変化させることができる。

#### 【0044】

前記式 I における変数  $R^4$  および  $R^7$  によって表わされる置換基は、前記にて概説した反応スキームで用いた第二級ヒドロキシル基のエステル化で適切に保護された酸または酸塩化物を用いることによって変化させることができる。

#### 【0045】

後記適当な化合物 (11) を用いることによって、式 I の化合物における a および b の値を変化させることができる。適当な 2 - アミノジオールまたは 2 - ヒドロキシジオール出発物質を用いることによって、式 I の化合物における変数 d および e の値を修飾することができる。

#### 【0046】

アジュバントおよびワクチン処方物および投与

また、本発明は、本発明のアジュバント化合物を含むアジュバント処方物、ならびに本発明のアジュバント化合物を含むワクチンおよび他の免疫刺激性処方物にも指向される。特定の抗原に対する免疫応答を刺激する方法も本発明の範囲内のものである。

#### 【0047】

本発明のアジュバントおよびアジュバント - 含有ワクチン処方物が首尾よく投与される宿主動物は、ヒトならびに非 - ヒト哺乳動物、魚類、爬虫類等を含む。

#### 【0048】

典型的には、抗原は、本発明のアジュバント化合物との混合物にて使用する。本発明のアジュバントの他の処方物において、いくつかの適用において、本発明のアジュバント化合物のアミノ、カルボキシル、ヒドロキシルおよび / またはリン酸部位に共有結合した抗原を使用するのが有用であろう。本発明の治療上有効な組成物の具体的処方法は、かくして、アジュバントを、処方物を投与する対象において生物学的に利用可能、安全かつ効果的とするであろういずれかの適当な方法で実行することができる。

#### 【0049】

本発明では、例えば、(i) 少なくとも 1 つの治療上有効な抗原またはワクチン；および (ii) 本発明による少なくとも 1 つのアジュバント化合物を含むことができる治療アジュバント処方物が広く考えられる。

#### 【0050】

そのような治療組成物は、例えば、

(A) 生きた、加熱により殺した、または化学的に弱毒化したウイルス、細菌、マイコプラズマ、真菌および原生動物；

(B) (A) の断片、抽出物、サブユニット、代謝産物および組換え構築体；

(C) 哺乳動物蛋白質および糖蛋白質の断片、サブユニット、代謝産物および組換え構築体；

(D) 腫瘍 - 特異的抗原；および

(E) 核酸ワクチン；

10

20

30

40

50

よりなる群から選択される少なくとも1つの抗原性剤を含むことができる。

【0051】

従って、治療組成物は、本発明のアジュバント化合物と組み合わせたいずれかの適当な抗原またはワクチン成分、例えば、本発明のアジュバント化合物と組み合わせた病原性および非 - 病原性生物、ウイルスおよび真菌からの抗原よりなる群から選択される抗原性剤を利用することができる。

【0052】

さらなる例として、そのような治療組成物は、適当には、天然痘、黄熱、ジステンパー、コレラ、家禽痘、猩紅熱、ジフテリア、破傷風、百日咳、インフルエンザ、狂犬病、おたふく風邪、麻疹、足および口の病気、およびポリオなどの病気状態および疾患で薬理的に活性な蛋白質、ペプチド、抗原およびワクチンを含むことができる。(i) 抗原、および(ii) 本発明の少なくとも1つのアジュバント化合物を含む得られたワクチン処方物において、抗原およびアジュバント化合物は、各々、処方物をそれでワクチン接種した宿主動物、胚および卵子に投与する場合に免疫応答を誘導するのに効果的な量で存在させる。

【0053】

さらなる具体例において、本発明の化合物は、例えば、アミノ、カルボニル、ヒドロキシルまたはリン酸塩部位を介してワクチン抗原に共有結合させることができる。本発明のアジュバント組成物をワクチン抗原に連結させる方法は、本開示に鑑みて、当業者によって理解される。アジュバント組成物は、ここに出典明示して全てその全体を本明細書の一部とみなす、P. Hoffinan et al., Biol. Chem. Hoppe-Sayler, 1989, 370: 575 - 582; K-H. Wiesmuller, et al., Vaccine, 1989, 7: 29 - 33; K-H Wiesmuller et al., Int. J. Peptide Protein Res., 1992, 40: 255 - 260; J. - P. Defourt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 1992, 89: 3879 - 3883; T. Tohokuni et al., J. Am. Chem. Soc. 1994, 116: 395 - 396; F. Reichel, Chem. Commun., 1997, 2087 - 2088; H. Kamitakahara, Angew. Chem. Int. Ed. 1998, 37: 1524 - 1528; W. Dullenkopf et al., Chem. Eur. J., 1999, 5: 2432 - 2438; に記載された方法のいずれかによってワクチンに連結させることができる。

【0054】

(i) 抗原、および(ii) アジュバント化合物を含む得られたワクチン処方物は、動物において抗体応答を生じさせるのに十分な量にてそのような動物にワクチン処方物を投与することによって、動物において免疫学的応答を誘導するのに有用に使用される。

【0055】

投与の態様は、いずれかの適当な手段および/またはアジュバント、アジュバント - 含有ワクチン、またはアジュバントおよび/または抗原を、そこでアジュバントおよび関連抗原が免疫刺激的に効果的である宿主細胞の1以上の体部位に送達する方法の使用を含むことができる。送達態様は、限定されるものではないが、皮下(SC)注射、経皮、鼻腔内(IN)、眼、経皮、筋肉内(IM)、皮内(ID)、腹腔内(IP)、膈内、肺および直腸投与のごとき非 - 経口投与方法、ならびに非 - 非経口、例えば、経口投与を含むことができる。

【0056】

本発明のアジュバントおよびワクチン組成物のための容量率および適当な投与形態は、慣用的な抗体力価測定技術および慣用的生物効率/生物適合性プロトコルの使用によって、およびアジュバントと共に使用する特定の抗原または治療剤、所望の治療効果、および生物活性の所望の時間スパンに応じて、過度の実験なくして当業者が容易に決定することができる。

## 【 0 0 5 7 】

本発明のアジュバントは、いずれかの他の適当な薬理学的にまたは生理学的に活性な剤、例えば、抗原性および／または他の生物学的に活性な物質と共に宿主動物に有用に投与することができる。

## 【 0 0 5 8 】

本発明の処方物は、生理食塩水、油、スクワレン、油 - 水分散物、リポソーム、Q S - 2 1 のとき他のアジュバント、ムラミルペプチド、フロイントの不完全アジュバント等のようなさらなる成分を含むことができる。

## 【 0 0 5 9 】

## 合成実施例

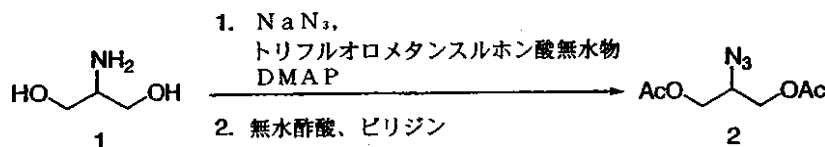
以下に記載する合成方法における全ての反応生成物は、満足できる N M R スペクトルおよびシリカゲルでの薄層クロマトグラフィープロフィールを与えた。全てのクロマトグラフィーはシリカゲルで行い、溶出は薄層クロマトグラフィーによってモニターした。全ての完了した反応は薄層クロマトグラフィー分析によって測定した。全ての反応は、特に断りのない限り、室温にて窒素下で行った。特に断りのない限り、全ての反応溶媒は無水であった。後記する化学反応についての典型的な仕上げ処理は、水性洗浄、無水硫酸ナトリウムでの乾燥、および減圧下での溶媒の除去を含む。

## 【 0 0 6 0 】

## 実施例 1 : スクシネート - 1

## 【 0 0 6 1 】

## 【 化 7 】



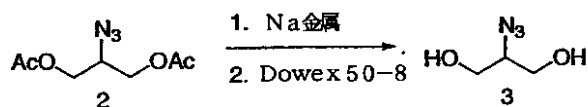
250 mL の水中のアジ化ナトリウム (107.67 g) の溶液に、300 mL の塩化メチレンを添加した。混合物を 0 まで冷却し、トリフルオロメタンスルホン酸無水物 (57 mL) を 0.32 mL / 分の速度で滴下した。混合物を 0 にてさらに 6 時間攪拌し、-20 にて 72 時間保存した。混合物を 10 まで加温し、続いて、Teflon R、分離漏斗にて塩化メチレンで抽出した。合わせた有機層を乾燥した (硫酸マグネシウム)。前記懸濁物を、10 にて、メタノール (200 mL) および 4 - N, N - ジメチルアミノピリジン (DMAP, 54 g) 中の (±) - 2 - アミノ - 1, 3 - ジヒドロキシプロパン (1) (9.89 g) の攪拌溶液にゆっくりと濾過した。得られた反応混合物を室温にて 17 時間攪拌した。

## 【 0 0 6 2 】

溶媒を減圧下で除去し、残渣をピリジン (200 mL) に溶解させ、0 まで冷却した。無水酢酸 (50 mL) を滴下し、混合物を室温にて 20 時間攪拌した。さらなる無水酢酸 (20 mL) を添加し、4 時間後、混合物を氷に注ぎ、常法にて仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより 16 g のジアセテート (2) を油として得た。

## 【 0 0 6 3 】

## 【 化 8 】

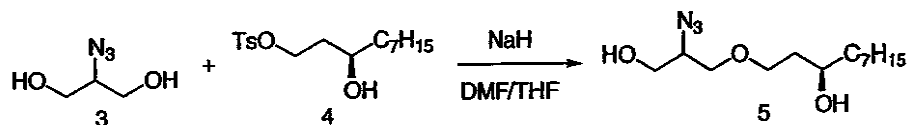


該ジアセテート (2) (16 g) をメタノール (150 mL) に溶解させ、ナトリウム金属 (2.0 g) をゆっくりと添加した。混合物を 90 分間攪拌し、Dowex R 50

- 8 樹脂を pH が 7 以下になるまで添加した。混合物を濾過し、続いて、濾液を濃縮し、クロマトグラフィーに付して 6.73 g のジオール (3) を得た。

【0064】

【化9】



10

ジメチルホルムアミド (DMF、200 mL) 中の水素化ナトリウムの懸濁液 (ヘキサンで 3 回洗浄し、窒素下で乾燥した 1.24 g の 60% 油分散油分散液) に、THF (100 mL) 中のアジド - ジオール (3) (6.73 g) を滴下し、続いて、THF (100 mL) 中の 3 - R - ヒドロキシ - 1 - O - トシル - 1 - デカノール (4) (トシレート、9.44 g) を滴下した。混合物を 16 時間攪拌し、メタノール (200 mL) で希釈し、Amberlite R25 H<sup>+</sup> と共に 25 分間攪拌し、濃縮乾固した。クロマトグラフィーにより 4.37 g の (5) を得た。

【0065】

【化10】

20

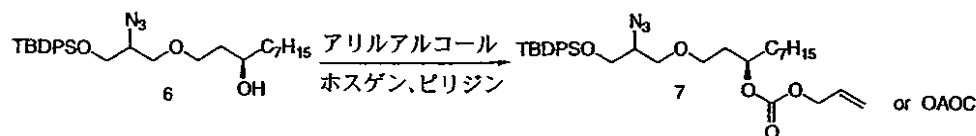


塩化メチレン (30 mL) 中のジオール (5) (5.32 g) の溶液に、トリエチルアミン (TEA、6 mL) および DMAP (痕跡量)、続いて塩化 t - ブチルジフェニルシリル (TBDPSCI、5 mL) を添加し、混合物を一晩攪拌した。混合物を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより 3.6 g の第二級アルコール (6) を油として得た。

【0066】

【化11】

30

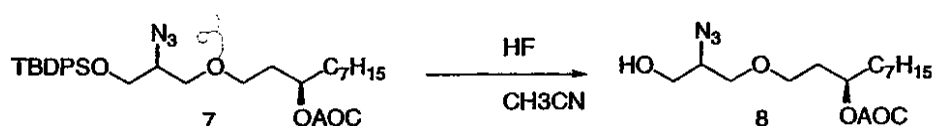


トルエン (30 mL) 中の第二級アルコール (6) (2.95 g) の溶液に、0 にて、ピリジン (1.8 mL) を添加し、続いて、ホスゲン (トルエン中の 1.93 M 溶液の 4.5 mL) をゆっくりと添加した。0 にて 20 分間攪拌した後、アシルアルコール (3.1 mL) を滴下した。室温にて 60 分間さらに攪拌した後、反応を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより 3.24 g の保護されたアルコール (7) を油として得た。

【0067】

40

## 【化 1 2】

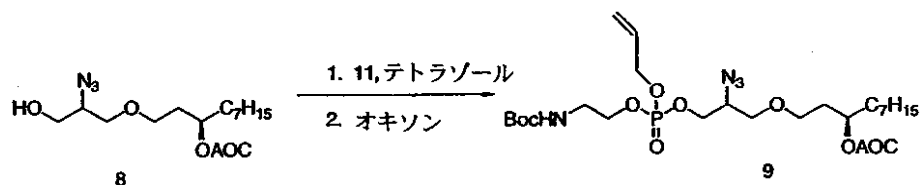


塩化メチレン（3 mL）中の保護されたアルコール（7）（1.29 g）の溶液に、アセトニトリル（12 mL）中のフッ化水素酸（HF、4 mL）を添加した。混合物を一晩攪拌し、常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、150 mg のアルコール（8）を油として得た。

10

【0068】

## 【化 1 3】

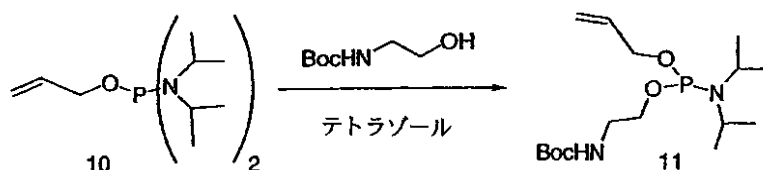


塩化メチレン（0.6 mL）中のアルコール（8）（150 mg）の溶液に、テトラゾール（74 mg）およびリン酸化試薬（11）（175 mg）を添加した。30分後、冷却した THF（0.5 mL）- 水（0.5 mL）溶液中のオキサゾン（323 mg）を冷却した反応混合物に添加した。3時間後、反応を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、242 mg の（9）を油として得た。

20

【0069】

## 【化 1 4】



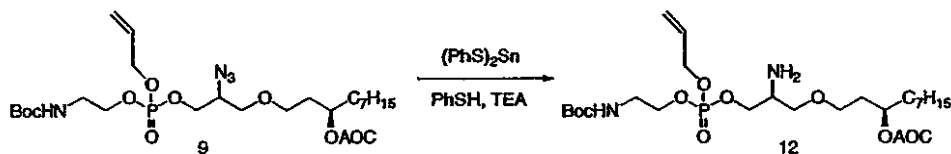
30

リン酸化試薬 11 を作成するために、塩化メチレン中の蒸留したジイソプロピルアミン（9.0 mL）の溶液に、室温にてテトラゾール（4.51 g）を添加し、続いて1.5時間攪拌した。アリルホスホロジアミダイト（10）（20.5 mL）を6.5 mL / 時間速度にて滴下し、続いて、さらに3時間攪拌した。塩化メチレン（50 mL）中の N - Boc - 2 - アミノエタノール（10.36 g）を8.4 mL / 時間の速度にて前記反応混合物に敵下し、続いて、さらに18時間攪拌した。白色懸濁液を、塩化メチレンを含む2回分の20 mL の洗浄液にて Celite 545 を通して濾過した。濾液を濃縮し、続いて懸濁させ、残渣をヘキサン（200 mL）で濾過した。得られたヘキサン濾液を濃縮乾固し、2.10 mL 分のトルエンで共沸させて、粗生成物（11）（21.54 g）を油として得た。

40

【0070】

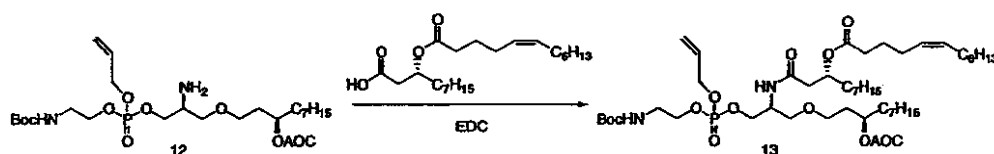
## 【化 15】



塩化メチレン（7.8 mL）中のジチオフェノールスズ（1.3 g）の懸濁液に、チオフェノール（400  $\mu$ L）、続いてTEA（543  $\mu$ L）を添加した。反応混合物を室温にて15分間攪拌し、続いて、攪拌を停止し、残渣をフラスコの底まで沈降させた。1.0 mLの前記溶液を塩化メチレン（0.5 mL）中のアジド（9）（242 mg）の溶液に添加し、30分間攪拌した。0.1 NのNaOHでクエンチし、続いて、常法により仕上げ処理して193.1 mgのアミン（12）を油として得た。

【0071】

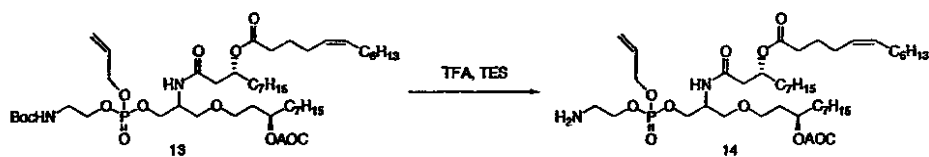
## 【化 16】



塩化メチレン中のアミン（12）（193 mg）および（Christらの米国特許第5,530,113号に従って製造することができる）アシル酸（132 mg）の乾燥した溶液に、1-（3-ジメチルアミノプロピル）-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（EDC、93 mg）を添加した。室温にて90分間攪拌した後、その反応物を急冷し、常法により処理して、232 mgの保護リン酸塩（13）を油として得た。

【0072】

## 【化 17】



塩化メチレン（1 mL）中の保護リン酸塩（13）（232 mg）の溶液に、トリエチルシラン（TES、120  $\mu$ L）およびトリフルオロ酢酸（TFA、1.2 mL）を添加し、続いて、30分間攪拌した。減圧下でTFAを除去し、続いて、3.5 - mL分のトルエンと共沸させた。20 mLの塩化メチレンを添加し、混合物を常法により仕上げ処理して、174 mgの遊離アミン（14）を油として得た。

【0073】

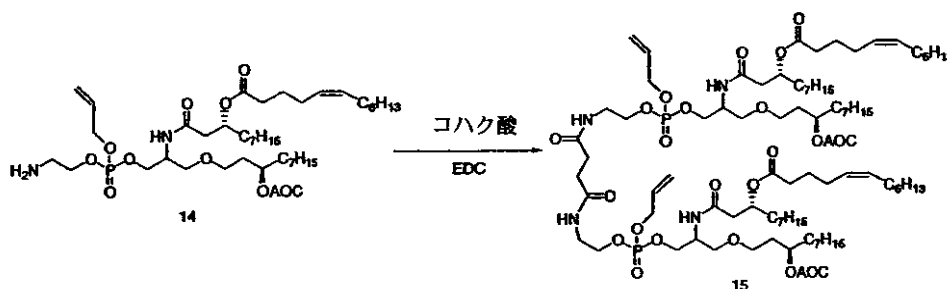
10

20

30

40

## 【化 18】

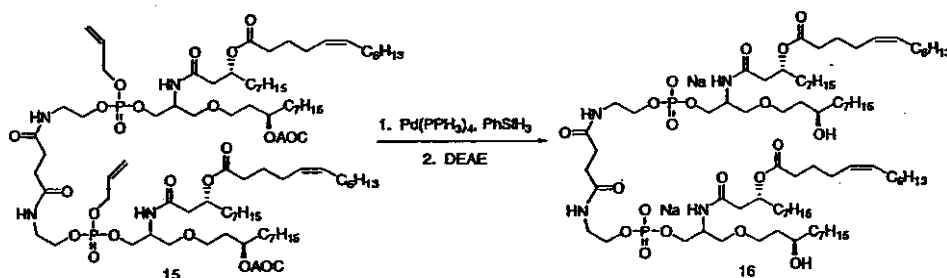


10

塩化メチレン（0.5 mL）中の遊離アミン（14）（174 mg）の乾燥した溶液に、コハク酸（12.1 mg）および EDC（59 mg）を添加した。1 時間後、その反応物を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、143.1 mg のブロックされたリン酸塩（15）を油として得た。

【0074】

## 【化 19】



20

ドライボックスの中で脱気したクロロホルム（1.7 mL）中のブロックされたリン酸塩（15）（177.9 mg）の溶液に、まずフェニルシラン（ $\text{PhSiH}_3$ 、50  $\mu\text{L}$ ）、次いでテトラキス・ポリフェニルホスフィンパラジウム（0）（ $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 、70 mg）を添加した。1 時間後、その反応物をボックスから取り出し、クロロホルム：メタノール：水（2：3：1）を添加し、混合物を 1 時間攪拌した。それをジエチルアミノ・エチルセルロース（DEAE）クロマトグラフィーカラムに注いだ。クロロホルム：メタノール：水（2：3：1）中の 0.0 M ないし 0.1 M の酢酸アンモニウムの直線グラジエントでのカラムの溶出、等容量のクロロホルムでの所望の画分の抽出、濃縮乾固および 0.1 N の  $\text{NaOH}$ （175  $\mu\text{L}$ ）の添加、続いての、凍結乾燥により、136.2 mg の（16）を白色固体として得た。

30

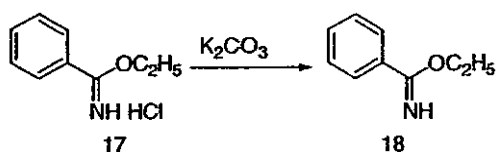
【0075】

実施例 2：キラルマロネート - タイプ 1

【0076】

## 【化 20】

40

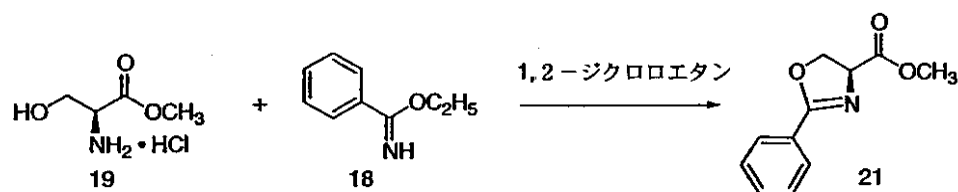


水（575 mL）中の炭酸カリウム（165 g）の冷却された溶液に、塩化メチレン（200 mL）、続いてエチルベンゾイミデート塩酸塩（17）（100 g）を添加し、しかる後、混合物を 8 分間攪拌した。層を分離し、水性層を塩化メチレンで抽出した。有機層を合わせ、乾燥し、減圧下で溶媒を除去して、83 g の（18）を得た。

50

【 0 0 7 7 】

【 化 2 1 】

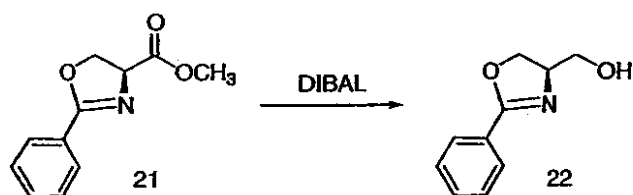


1,2-ジクロロエタン(450 mL)中のL-セリンメチルエステル塩酸塩(19)(41.6 g)の溶液に、エチルベンズイミデート(11)(36 g)を添加した。混合物を20時間加熱還流し、冷却し、珪藻土を通して濾過し、濃縮乾固して、56 gのエチルエステル(21)を白色固体として得た。

10

【 0 0 7 8 】

【 化 2 2 】



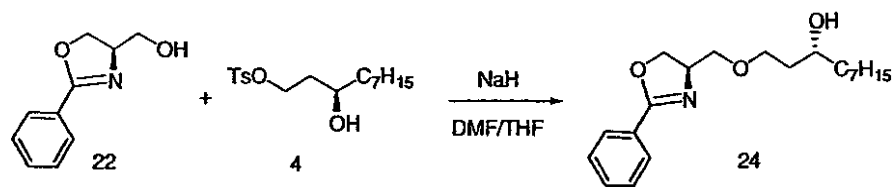
20

THF(500 mL)中のエチルエステル(21)(56 g)の氷冷溶液に、水素化ジイソブチルアルミニウム(DIBAL、ヘキサン中の1 M溶液の545 mL)を滴下した。混合物を室温にて一晩加温し、次いで、ロッシェル塩の水溶液(1.0 L水中油型エマルジョン500 g)に注意深く注いだ。混合物を1時間攪拌し、常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、25.5 gのアルコール(22)を白色固体として得た。

【 0 0 7 9 】

【 化 2 3 】

30



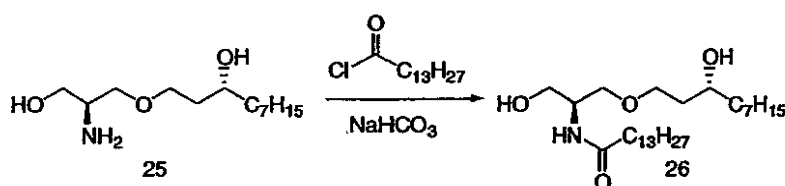
DMF(200 mL)中の洗浄した水素化ナトリウム(60%油分散液の5.3 g)の懸濁液に、250 mLのTHF中の該アルコール(22)(24 g)を添加した。30分後、トシレート(4)を250 mLのTHFに2.5時間にわたって添加し、一晩攪拌した。混合物を氷中で冷却し、メタノールを添加し、減圧下で溶媒を除去し、クロマトグラフィーに付して、4.32 gのアルコール(24)を油として得た。

40

【 0 0 8 0 】

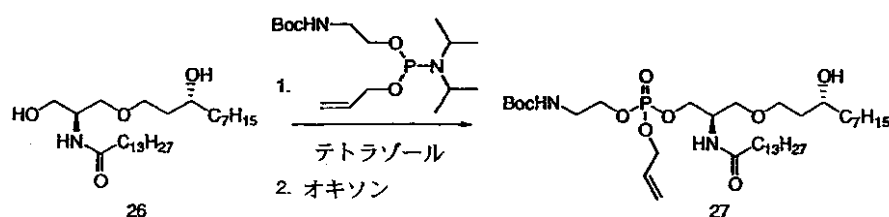
10

【化 2 5】



20

【化 2 6】

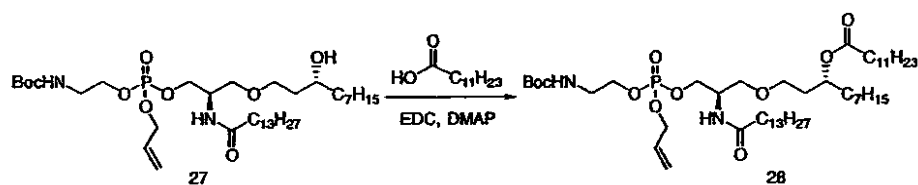


30

40

【 0 0 8 3 】

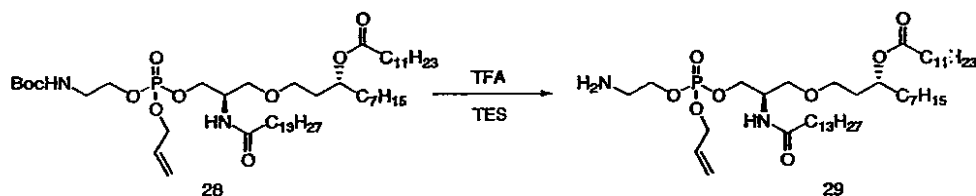
## 【化 27】



塩化メチレン（126 mL）中の該アルコール（27）（3.9 g）の溶液に、EDC（10.8 g）、DMAP（66 mg）およびドデシル酸（1.62 g）を添加し、一晩  
 10 攪拌した。さらなる酸（1.6 g）、EDC（1 g）およびDMAP（0.5 g）を添加した。3時間後、反応を常法により仕上げ処理し、クロマトグラフィーに付して、2.07 gのN-BOC-保護アミン（28）を得た。

【0084】

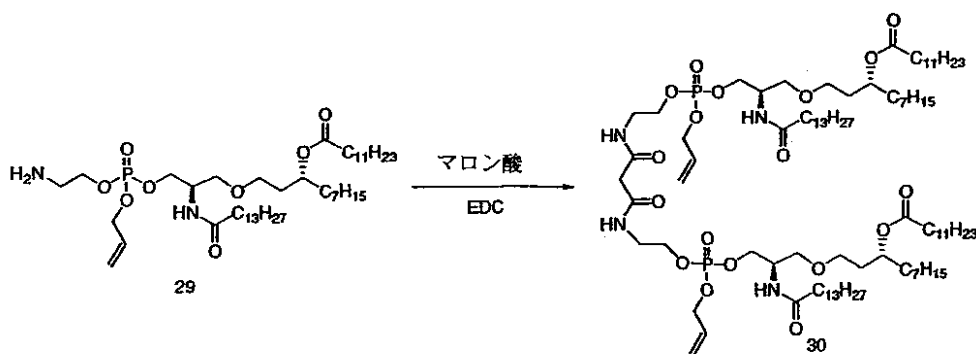
## 【化 28】



塩化メチレン（1.5 mL）中のN-BOC-保護アミン（28）（187.3 mg）の溶液に、TES（240 μL）およびTFA（300 μL）を添加し、混合物を45分  
 間攪拌した。トルエンを添加し、溶媒を減圧下で除去した。残渣を塩化メチレンに溶解させ、常法により仕上げ処理して、154 mgのアミン（29）を油として得た。

【0085】

## 【化 29】



塩化メチレン（0.5 mL）中の該アミン（29）（75.6 mg）およびマロン酸（4.8 mg）の氷冷溶液に、EDC（27 mg）を添加し、続いて、冷却浴を取り除いた。  
 1時間後、微量のDMAPを添加した。2.5時間後、混合物を直接クロマトグラフィーに付して、54.1 mgのダイマー生成物（30）を得た。

【0086】

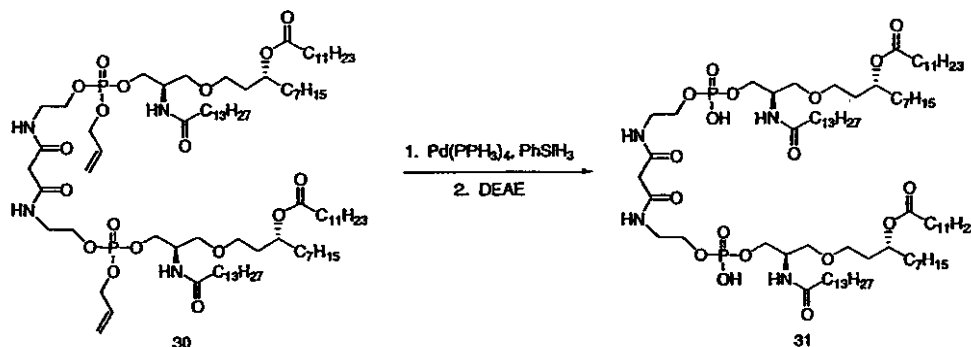
10

20

30

40

## 【化 30】



10

脱気したクロロホルム（2 mL）中の該ダイマー（30）（54 mg）の溶液に、 $\text{PhSiH}_3$ （14  $\mu\text{L}$ ）および  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ （18 mg）を添加し、続いて、冷却浴を取り除いた。1時間後、反応物をクロロホルム：メタノール：水（2：3：1）で急令し、DEAEセルロースクロマトグラフィーカラムに注ぎ、クロマトグラフィーに付して、半固体を得た。該固体を滅菌水に溶解させ、0.1 Nの水酸化ナトリウム水溶液（306  $\mu\text{L}$ ）を添加し、混合物を凍結乾燥して、白色固体（31）（25 mg）を得た。

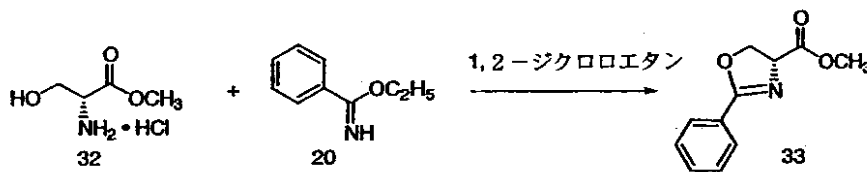
## 【0087】

実施例 3：キラルマロネート - タイプ 2

20

## 【0088】

## 【化 31】

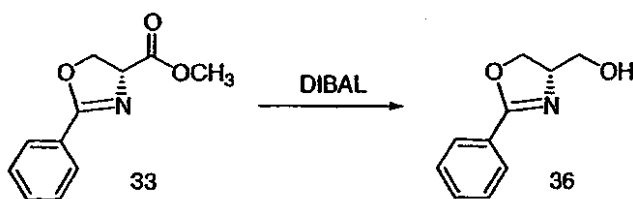


30

ジクロロエタン（270 mL）中の D-セリンメチルエステル塩酸塩（32）（25 g）の溶液に、エチルベンズイミデート（20）（24 g）を添加した。還流の20時間後、混合物を室温まで冷却し、珪藻土を通して濾過し、溶媒を減圧下で除去して、34 gのメチルエステル（33）を白色固体として得た。

## 【0089】

## 【化 32】



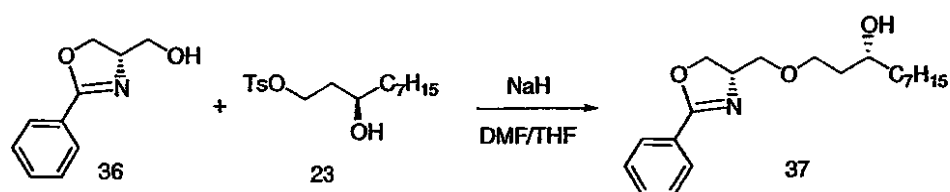
40

THF（300 mL）中のメチルエステル（33）（34 g）の氷冷溶液に、ヘキサン中の DIBAL の溶液（1.0 M、322 mL）を滴下した。混合物を室温まで一晩で加温し、次いで、ロッシェル塩の水溶液に注意深く注いだ。次いで、混合物を1時間攪拌し、仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、18.6 gのアルコール（36）を白色固体として得た。

## 【0090】

50

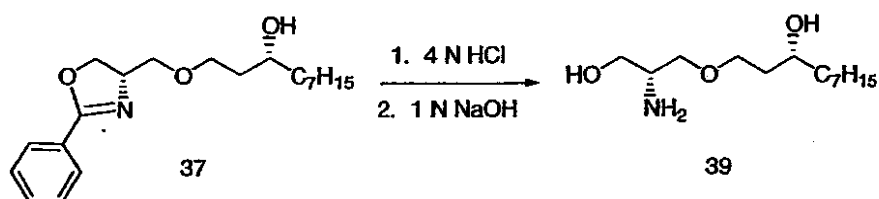
## 【化 3 3】



DMF (100 mL) 中の洗浄した水素化ナトリウム (60% 油懸濁液の 4 g) の懸濁液に、THF (40 mL) 中の該アルコール (36) (8.6 g) の溶液を添加した。混合物を 1 時間攪拌し、THF (40 mL) 中のトシレート (23) (17.5 g) の溶液を添加した。混合物を一晩攪拌し、次いで、さらにトシレート (23) を添加し (5 g)、さらに 4 時間攪拌した。メタノールを冷却した反応混合物に添加し、溶媒を減圧下で除去し、残渣をクロマトグラフィーに付して、1.03 g のアルコール (37 g) を固体として得た。

【0091】

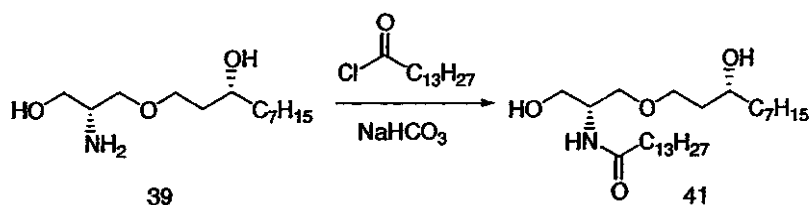
## 【化 3 4】



該アルコール (37) (1.03) を 4 N の塩酸 (25 mL) に溶解させ、混合物を 20 時間で 100 まで加熱した。さらに塩酸 (5 mL) を添加し、還流を 6 時間継続した。混合物を冷却し、エーテルで洗浄し、1 N 水酸化ナトリウム水溶液で塩基性とし、クロロホルムで抽出した (3 ×)。合わせたクロロホルム層を乾燥し、溶媒を減圧下で除去して、553 mg のアミノ - ジオール (39) を得た。

【0092】

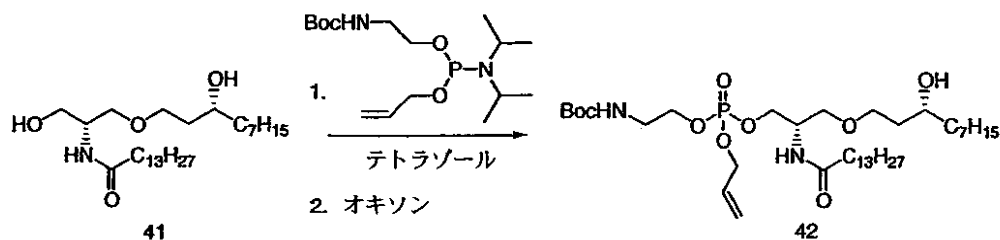
## 【化 3 5】



THF (3 mL) 中のアミノ - ジオール (39) (553 mg) の溶液に、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (6 mL)、続いて塩化ミリスチル (628 μL) を添加した。50 分後、反応を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、389 mg のアミド - ジオール (41) を油として得た。

【0093】

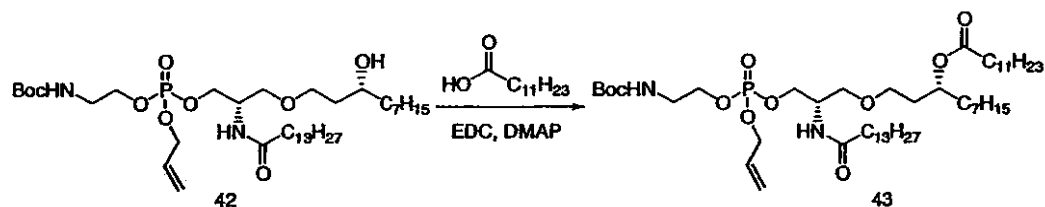
## 【化 3 6】



塩化メチレン (40 mL) 中の該アミド - ジオール (41) (531 mg) の溶液に、  
テトラゾール (203 mg) を添加し、混合物を5分間攪拌した。次いで、リン酸化試薬  
(11) (482 mg) を添加した。20分後、さらにリン酸化試薬 (11) (100 mg)  
を添加し、さらに20分後、100 mg をさらに添加した。さらに20分後、20 mg  
をさらに添加した。20分後、混合物をTHF (30 mL) / オキシソ (1.07 g)  
/ 水 (30 mL) の冷溶液に注いだ。混合物を0 にて5分間攪拌し、次いで、室温にて  
20分間攪拌し、しかる後、反応を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーによ  
り、852 mg のアルコールリン酸塩 (42) を油として得た。

【0094】

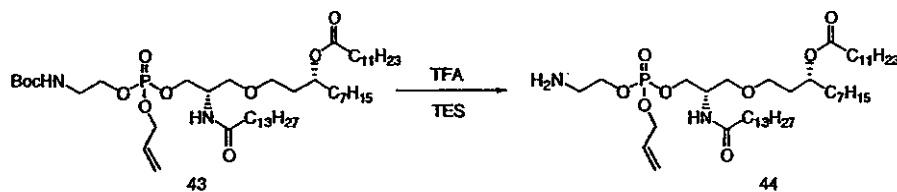
## 【化 3 7】



塩化メチレン (126 mL) 中の該アルコールリン酸塩 (42) (3.9 g) の溶液に  
、EDC (10.8 g)、DMAP (66 mg) およびドデシル酸 (1.62 g) を添加  
した。反応混合物を一晩攪拌した。さらに酸 (1.6 g)、EDC (1 g) およびDMA  
P (0.5 g) を添加した。3時間後、反応物を常法により仕上げ処理し、クロマトグラ  
フィーに付して、2.07 g の保護アミン (43) を得た。

【0095】

## 【化 3 8】



塩化メチレン (1.5 mL) 中の保護されたアミン (43) (194 mg) の溶液に、  
TES (240 μL) およびTFA (300 μL) を添加した。混合物を20分間攪拌し  
、さらにTES (50 μL) およびTFA (50 μL) を添加した。1時間後、トルエン  
を添加し、溶媒を減圧下で除去し、次いで、混合物を常法により仕上げ処理した。粗製遊  
離アミン生成物 (44) を次の反応で直ちに用いた。

【0096】

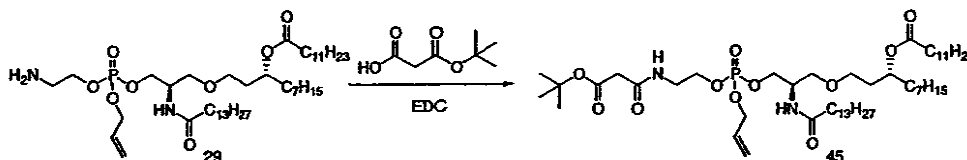
10

20

30

40

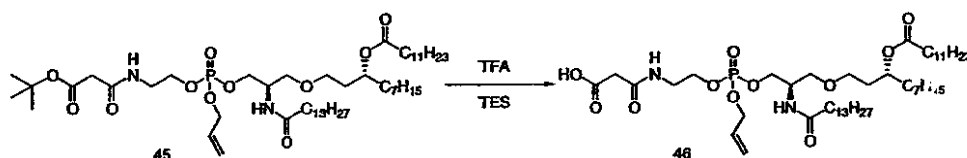
## 【化 3 9】



塩化メチレン (250  $\mu$ L) 中の該遊離アミン (29) (43.5 mg) の氷冷溶液に、マロン酸モノ-*t*-ブチル (8.3  $\mu$ L)、EDC (12.4 mg) および微量の DMA P を添加した。氷浴を取り除き、2 時間後、反応物を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、44 mg のアミド (45) を得た。

## 【0097】

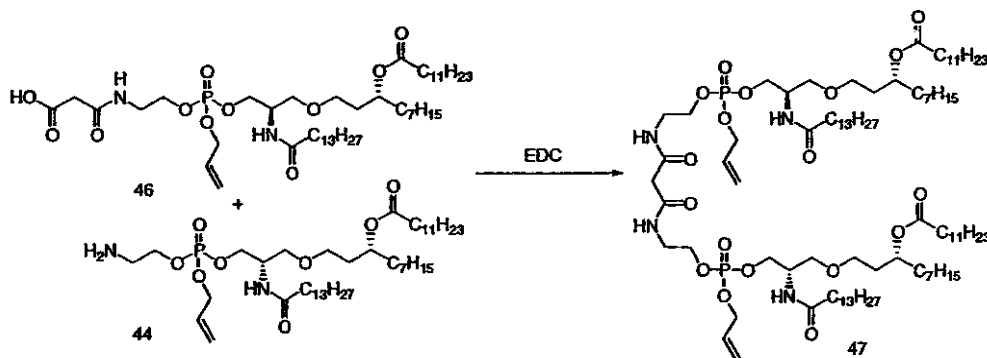
## 【化 4 0】



塩化メチレン (0.5 mL) 中の該アミド (45) (44 mg) の溶液に、TES (90  $\mu$ L) および TFA (100  $\mu$ L) を添加した。2 時間後、トルエンを添加し、溶媒を減圧下で除去した。混合物を常法により仕上げ処理して、44.2 mg の遊離酸 (46) を得た。

## 【0098】

## 【化 4 1】



塩化メチレン (500  $\mu$ L) 中の該遊離酸 (46) (41 mg) および該遊離アミン (44) (26.3 mg) の氷冷溶液に、EDC (13 mg) を添加し、混合物を 30 分間攪拌した。さらに EDC (5 mg) および DMA P (2 mg) を添加し、1 時間後、反応物を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、32.7 mg のカップリングした化合物 47 を油として得た。

## 【0099】

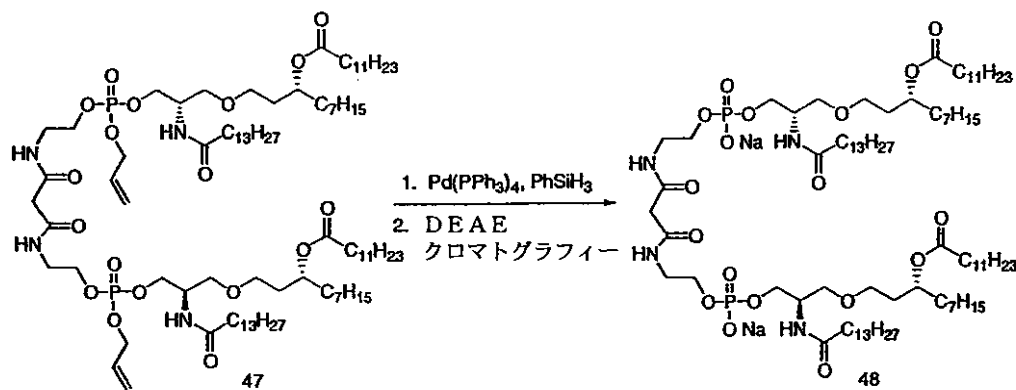
10

20

30

40

## 【化 4 2】



10

ドライボックスの中で脱気したクロロホルム（1.5 mL）中のカップリングした化合物（47）（32.7 mg）の溶液に、 $\text{PhSiH}_3$ （8.5  $\mu\text{L}$ ）および $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ （11 mg）を添加した。混合物をボックスから取り出し、氷中で冷却した。5分後、氷浴を取り除き、1時間後、クロロホルム：メタノール：水（2：3：1）を添加し、混合物を15分間攪拌し、フリーザー中で一晩貯蔵した。次いで、混合物をDEAEクロマトグラフィーカラムに注いだ。0.1 Nの $\text{NaOH}$ 処理、続いての凍結乾燥の後に、クロマトグラフィーにより、13.9 mgの化合物（48）を白色粉末として得た。

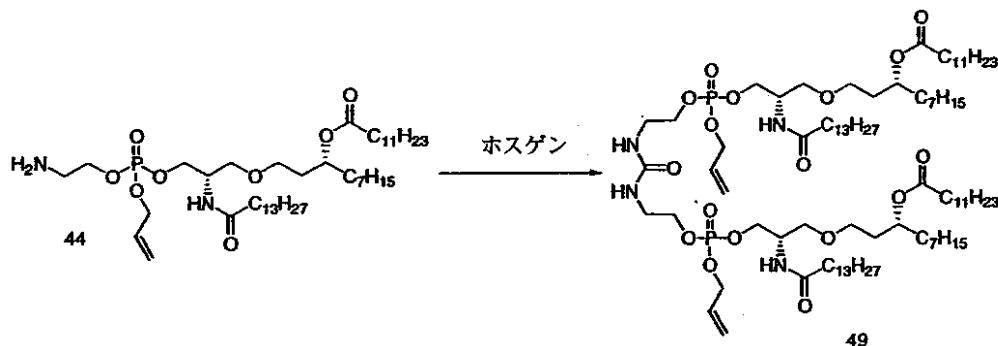
20

【0100】

実施例4：キラル尿素 - タイプ1

【0101】

【化 4 3】



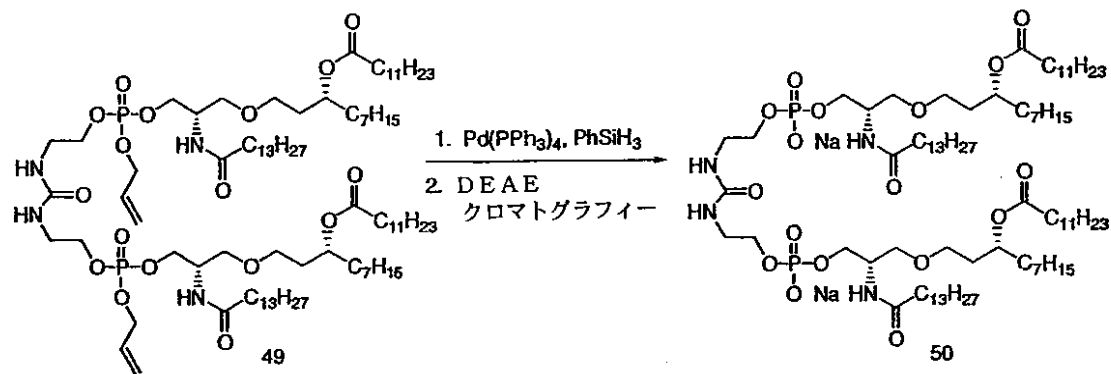
30

トルエン中のアミン（44）（46.1 mg）の溶液に、飽和重炭酸ナトリウム（0.5 mL）、続いてホスゲン（トルエン中の1.93 M溶液の15  $\mu\text{L}$ ）を添加した。30分後、さらにホスゲン（10  $\mu\text{L}$ ）を添加した。2時間後、さらにホスゲン（5  $\mu\text{L}$ ）を添加した。反応物を重炭酸ナトリウム水溶液で急冷し、常法により仕上げ処理して、保護リン酸塩を持つ29.6 mgの尿素（49）を得た。

40

【0102】

## 【化 4 4】



10

ドライボックスの中で脱気したクロロホルム (1.5 mL) 中の保護リン酸塩を持つ尿素 (49) (29.6 mg) の溶液に、 $\text{PhSiH}_3$  (8  $\mu\text{L}$ ) を添加した。反応容器をドライボックスから取り出し、氷の上に置いた。 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (10 mg) を添加し、5 分後、氷浴を取り除いた。1 時間後、クロロホルム：メタノール：水の添加によって反応物を急冷した。混合物を 15 分間攪拌し、フリーザー中で一晩貯蔵した。それを DEAE でのクロマトグラフィーに付して、0.1 N の  $\text{NaOH}$  処理、続いての凍結乾燥の後に、24.1 mg の (50) を白色粉末として得た。

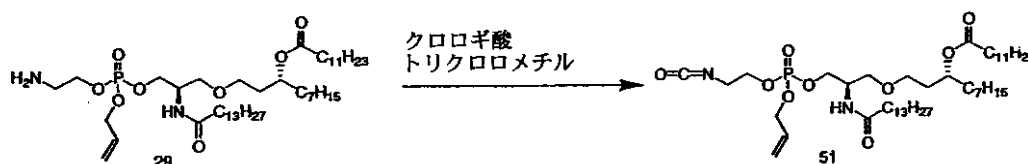
## 【0103】

20

実施例 5：キラル尿素 - タイプ 2

## 【0104】

## 【化 4 5】

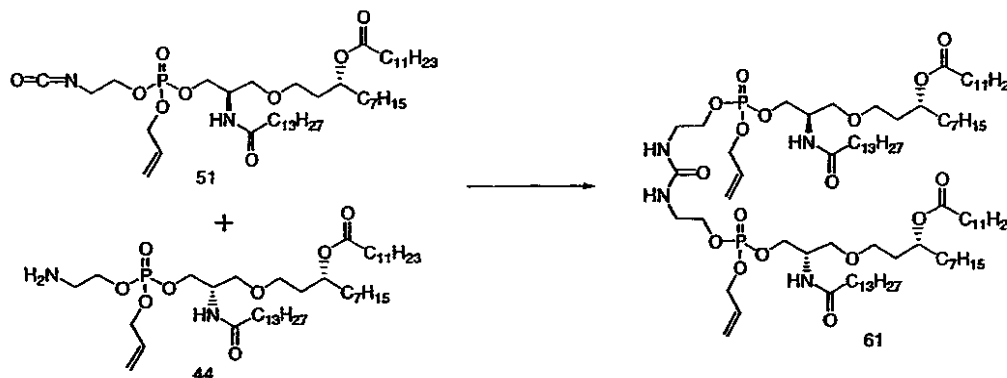


30

塩化メチレン (200  $\mu\text{L}$ ) 中のクロロギ酸トリクロロメチル (2.6  $\mu\text{L}$ ) の氷冷溶液に、塩化メチレン (200  $\mu\text{L}$ ) 中の遊離アミン (29) (35 mg) および 1, 8 - ビス - (ジメチルアミノ) - ナフタレンの溶液を添加した。5 分後、氷浴を取り除いた。15 分後、さらに塩化メチレンを添加し、混合物を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、9.4 mg のイソシアネート (51) を油として得た。

## 【0105】

## 【化 4 6】



40

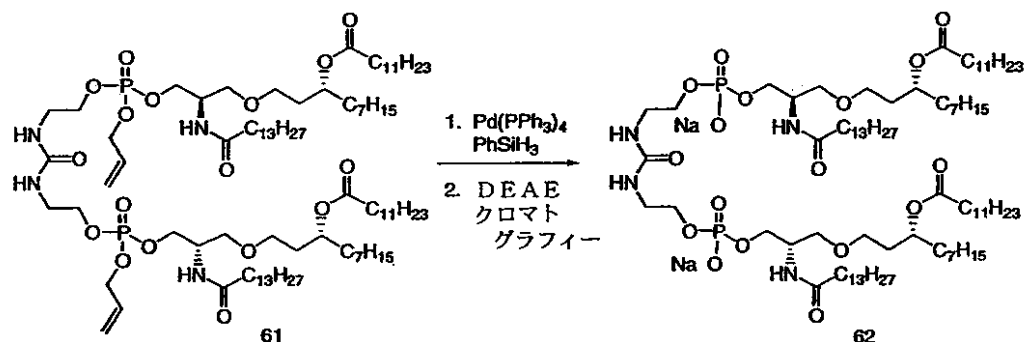
塩化メチレン (0.2 mL) 中の該イソシアネート (51) (9.4 mg) の溶液に、塩化メチレン中の該アミン (44) (10.3 mg) の溶液を添加した。15 分後、反応

50

を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、5.5 mg のカップリングした化合物 (61) を油として得た。

【0106】

【化47】



10

ドライボックスの中で脱気したクロロホルム (0.5 mL) 中のカップリングした化合物 (61) (25.2 mg) の溶液に、 $\text{PhSiH}_3$  (6.6  $\mu\text{L}$ ) および  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (8.8 mg) を添加した。混合物をボックスから取り出し、氷中で冷却した。5 分後、氷浴を取り除き、1 時間後、クロロホルム：メタノール：水 (2：3：1) を添加し、混合物を 15 分間攪拌し、フリーザー中で一晩貯蔵した。次いで、混合物を DEAE クロマトグラフィーカラムに注いだ。0.1 N の  $\text{NaOH}$  処理、続いての凍結乾燥の後に、クロマトグラフィーにより 7.5 mg の (62) を白色粉末として得た。

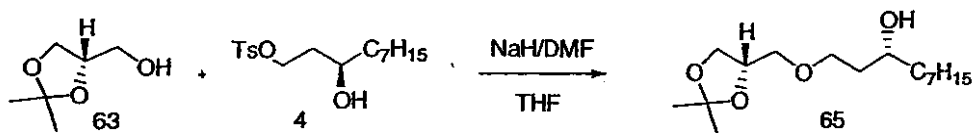
20

【0107】

実施例 6：タイプ 1 のキラルグリセロールアナログ

【0108】

【化48】

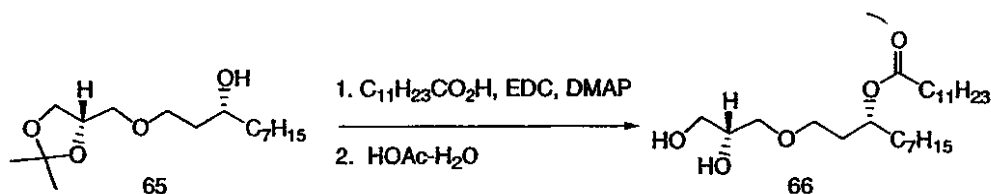


30

$\text{DMF}$  (12 mL) 中の水素化ナトリウム (ヘキサンで洗浄した 60% 油分散液の 145.5 mg) の攪拌懸濁液に、8 mL の  $\text{THF}$  を 1 時間にわたって滴下した。混合物をさらに 30 分間攪拌し、続いて、10 mL の  $\text{THF}$  中のトシレート (4) (0.789 g) を 10 分間にわたって滴下した。得られた反応混合物を一晩攪拌した。通常の仕上げ処理により、0.56 mg の所望のアダクト (65) を得た。

【0109】

【化49】



40

4 mL の塩化メチレン中のラウリン酸 (1.40 g)、 $\text{EDC}$  (1.35 g)、 $\text{DMA P}$  (0.04 g) およびアルコールアダクト (65) (0.564 g) の溶液を室温にて 15 時間攪拌した。ブラインおよび飽和重炭酸ナトリウム水溶液 (1：1) を添加し、混合物を塩化メチレンで抽出した。混合物を常法により仕上げ処理し、クロマトグラフィー

50

【化 5 0】



【化 5 1】

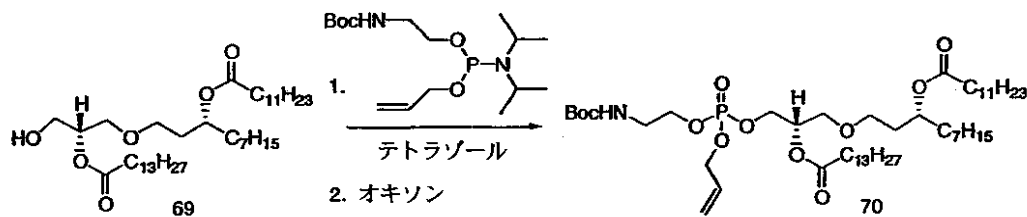


【化 5 2】



【 0 1 1 3 】

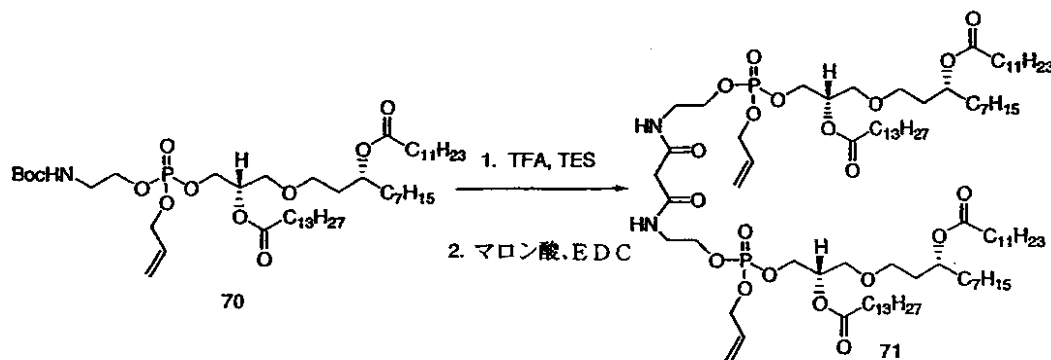
## 【化53】



塩化メチレン（0.5 mL）中の遊離アルコール（69）（57 mg）の溶液に、室温にて、テトラゾール（15.6 mg）およびリン酸化試薬（11）（40 mg）を添加した。4時間後、混合物を0℃まで冷却し、THF（0.5 mL）：水（0.6 mL）中のオキシソ（82 mg）を添加した。混合物を室温まで加温し、80分間攪拌した。最終反応混合物を常法により仕上げ処理した。クロマトグラフィーにより、72 mgの保護リン酸塩（70）を得た。

【0114】

## 【化54】



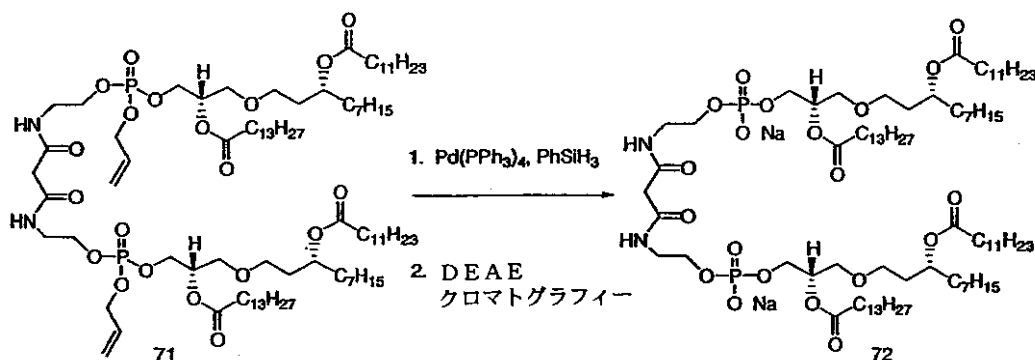
塩化メチレン（1 mL）中の保護リン酸塩（70）（72 mg）の溶液に、TES（120 μL）およびトリフルオロ酢酸（0.6 mL）を添加し、続いて1時間攪拌した。TFAを減圧下で除去し、続いて、10 mLのトルエンと共沸させた。20 mLの塩化メチレンを添加し、混合物を常法により仕上げ処理して、0.52 gの油を得た。

【0115】

粗製アミンを塩化メチレン（0.7 mL）に溶解させ、続いて、マロン酸（4.5 mg）およびEDC（25.6 mg）を添加した。混合物と一晩攪拌し、常法により仕上げ処理して、32.5 mgのダイマー生成物（71）を得た。

【0116】

## 【化55】



10

20

30

40

50

これまでの反応からの保護ダイマー(71)(32.5mg)を脱気したクロロホルム(2mL)に溶解させ、 $\text{PhSiH}_3$ (8.6 $\mu\text{L}$ )をドライボックス中で添加した。混合物を、ドライボックスから取り出し、ドライボックス中で秤量した $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (22.6mg)を添加した。2時間後、混合物をDEAEでのクロマトグラフィーに付して、1N水酸化ナトリウム(34.2 $\mu\text{L}$ )の添加、続いての凍結乾燥の後に、27.9mgの白色固体(72)を得た。

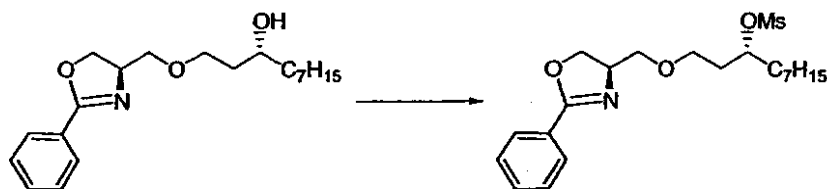
【0117】

ER-804253の調製

【0118】

【化56】

10

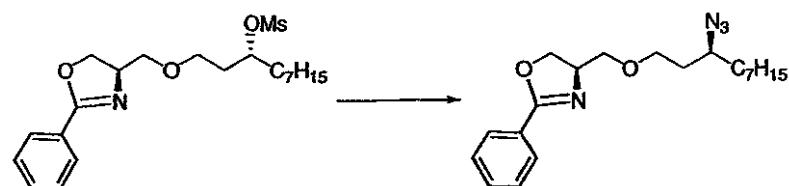


該アルコール(558mg)を、0℃まで冷却した塩化メチレン(5mL)に溶解させ、トリエチルアミン(0.466mL)を窒素雰囲気下で添加した。5分間攪拌した後、塩化メタンスルホニル(0.142mL)を滴下した。混合物を0℃にてさらに5分間攪拌し、次いで、室温まで加温した。さらに1時間攪拌した後、混合物を飽和重炭酸ナトリウムで仕上げ処理し、酢酸エチルで抽出し、抽出物を水、希塩酸、水、ブラインで洗浄し、乾燥し、溶媒を除去して630mgを得た。

【0119】

【化57】

20

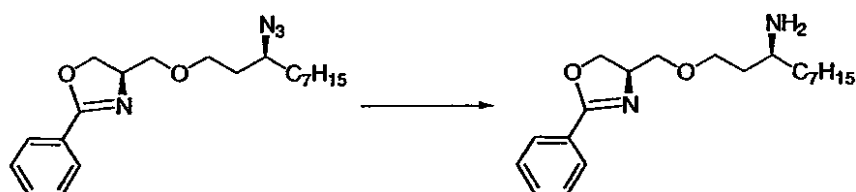


メシレート(630mg)およびアジ化ナトリウム(299mg)をDMSO(6mL)に溶解させ、90分間で60℃まで加熱した。室温まで冷却した後、反応混合物を塩化メチレンで希釈し、水およびブラインで洗浄した。水性洗浄液を抽出した後、合わせた有機物を乾燥し、濃縮し、4:1比のヘキサン:酢酸エチルを用いてシリカゲル上で精製し、乾燥した生成物画分から420mgを得た。

【0120】

【化58】

30



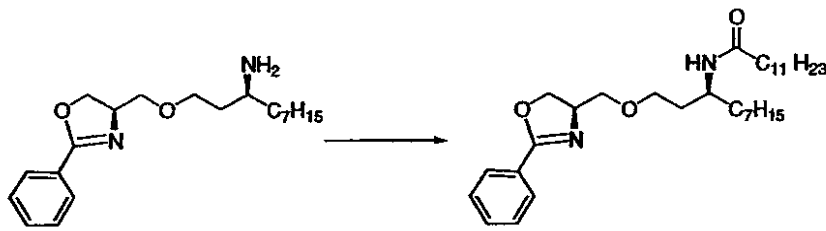
該アジド(295mg)をエタノール(5mL)に溶解させ、リンドラ触媒(200mg)を添加した。大気圧において水素ガスの雰囲気下で攪拌した後、濾過した溶液を乾燥して274mgを得た。

40

50

【 0 1 2 1 】

【 化 5 9 】

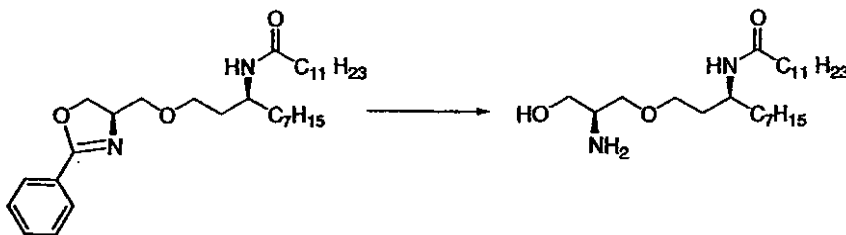


10

該アミン ( 9 3 0 m g ) を T H F ( 1 0 m L ) および飽和重炭酸ナトリウム ( 2 2 m L ) に溶解させた。5 分間攪拌した後、塩化ラウロイル ( 0 . 7 1 2 m L ) を 2 0 分間にわたって滴下した。最終混合物をクロロホルムで抽出し、乾燥して 1 . 4 5 g を得た。

【 0 1 2 2 】

【 化 6 0 】



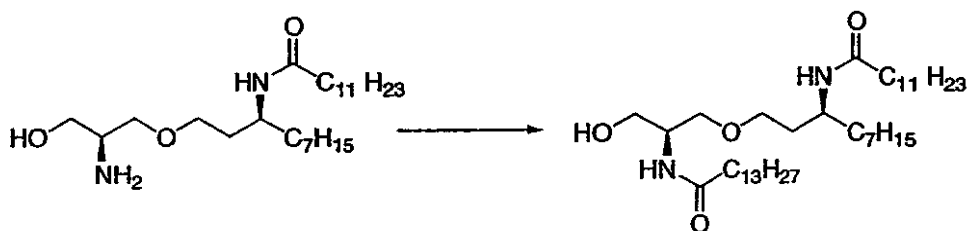
20

該アミド ( 1 . 1 1 g ) をメタノール ( 1 4 m L ) に溶解させ、4 N 塩酸 ( 8 m L ) を添加した。混合物を 5 0 にて 1 時間攪拌し、次いで、濃縮した。メタノール ( 1 6 m L ) および 4 0 % 水酸化ナトリウム ( 8 m L ) を添加し、混合物を 1 時間還流した。それを冷却し、塩化メチレンで抽出し、抽出物を水で洗浄し、乾燥し、溶媒を除去して 9 3 0 m g を得た。

【 0 1 2 3 】

【 化 6 1 】

30

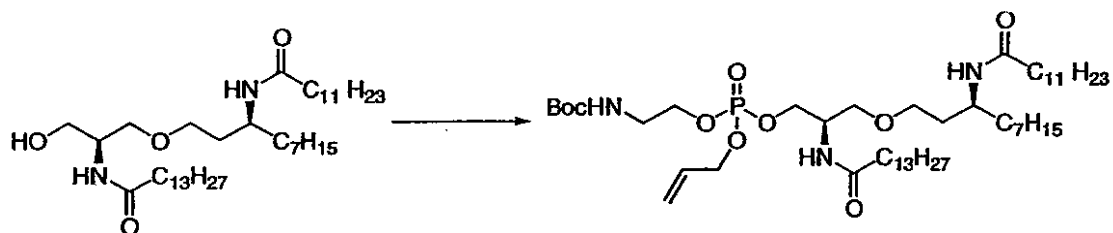


該アミノアルコールを T H F ( 6 m L ) に溶解させ、飽和重炭酸ナトリウムを添加した ( 1 3 m L ) 。5 分後、混合物を 0 まで冷却し、塩化ミリストイル ( 3 0 0 μ L ) を添加した。3 0 分後、混合物を常法により仕上げ処理して、4 3 0 m g を得た。

40

【 0 1 2 4 】

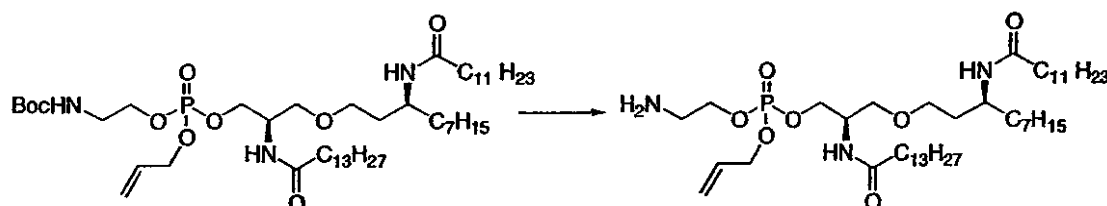
## 【化 6 2】



該アルコール（101.7 mg）を氷冷塩化メチレンに溶解させ、リン酸化試薬 11（90  $\mu$ L）を添加し、混合物を30分間攪拌した。氷冷オキソン（166.3 mg）を添加し、混合物を30分間攪拌した。反応をチオスルフェートで急令した。混合物を常法により仕上げ処理し、クロマトグラフィーに付して、174 mg（精製せず）を得た。

【0125】

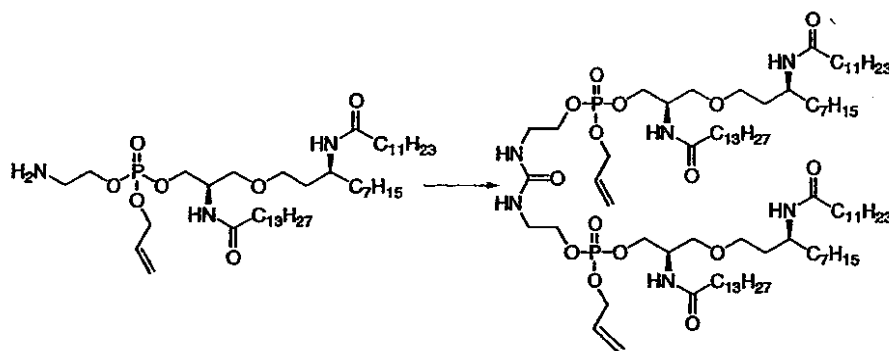
## 【化 6 3】



前記反応からの保護されたアミンを氷冷塩化メチレン（1 mL）に溶解させ、トリフルオロ酢酸（1 mL）を添加し、混合物を1時間攪拌した。TFAを除去し、混合物を精製して、106.7 mgを得た。

【0126】

## 【化 6 4】



該アミンを塩化メチレン（3 mL）に溶解させ、飽和重炭酸ナトリウム溶液（3 mL）を添加した。混合物を氷中で冷却し、トルエン中のホスゲン（0.55当量）を滴下した。混合物を20分間攪拌し、仕上げ処理して、112.3 mgを得た。

【0127】

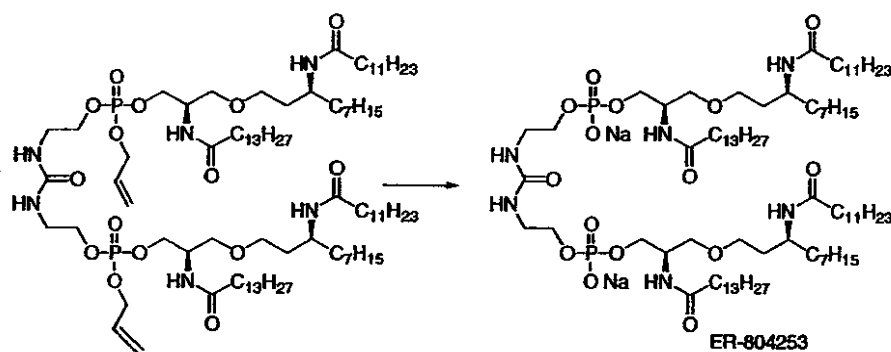
10

20

30

40

【化 6 5】



10

氷冷クロロホルム（2.6 mL）中のブロックされたリン酸塩（40.5 mg）の溶液に、フェニルシラン（10.7 mg）およびテトラキス（トリフェニルホスフィン）パラジウム〔0〕（28.7 mg）を添加し、混合物を1時間攪拌した。混合物をDEAEカラムでのクロマトグラフィーに付して、27.7 mgのER-804253を得た。

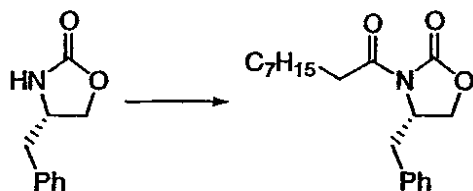
【0128】

ER-804130の調製

【0129】

【化 6 6】

20

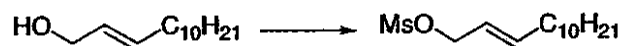


-78 のTHF（65 mL）中の該アミド（3 g）の溶液に、同等のブチルリチウム、続いて、THF（6 mL）中の塩化ノナノイルの溶液を添加した。塩化アンモニウム水溶液を添加し、混合物を常法にて仕上げ処理して、5.35 gを得た。

30

【0130】

【化 6 7】

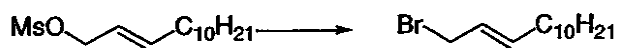


氷冷塩化メチレン（100 mL）中の該アルコール（5 g）の溶液に、トリエチルアミン（4.1 mL）および塩化メシル（2.1 mL）を添加した。混合物を4時間攪拌し、常法により仕上げ処理して、6.99 gを得た。

40

【0131】

【化 6 8】

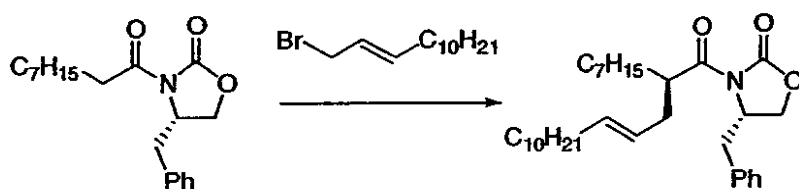


氷冷DMF（100 mL）中の該メシレート（6.99 g）の溶液に、臭化カリウムを添加した。混合物を室温まで加温し、5時間攪拌した。それを常法により仕上げ処理して、4.63 gの透明な油を得た。

【0132】

50

【化 6 9】

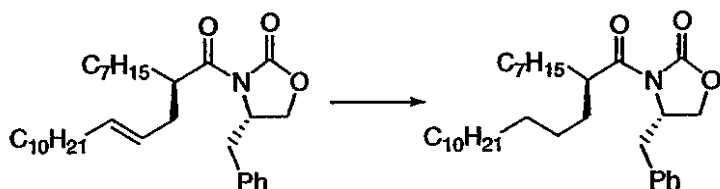


THF (15 mL) 中の該アミド (2.8 g) の溶液を、THF (15 mL) 中のナトリウムビス-トリメチルシリルアミドの -78 溶液に添加した。1 時間後、該臭化物を添加し、混合物を室温まで加温し、常法により仕上げ処理して、1.02 g を得た。

10

【0133】

【化 7 0】

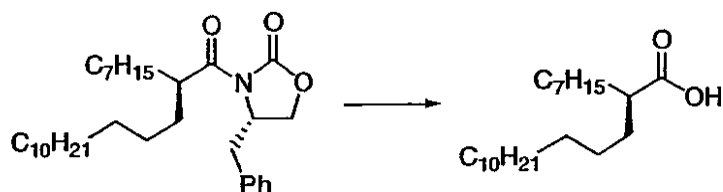


20

EtOAc 中の該オレフィン (1.02 g) の溶液に、炭素上のパラジウム (126 mg) を添加し、混合物を水素下に置いた。4 時間後、混合物を常法により仕上げ処理して、1.0 g を得た。

【0134】

【化 7 1】

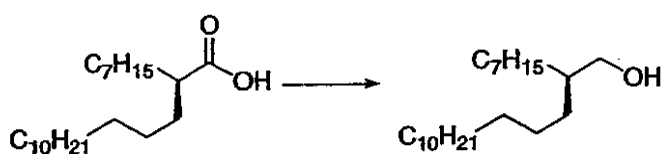


30

氷冷 THF (20 mL) 中の該アミド (1.0 g) の溶液に、水過酸化水素および水酸化リチウムを添加した。翌日、混合物を常法により仕上げ処理して、590 mg の酸を得た。

【0135】

【化 7 2】

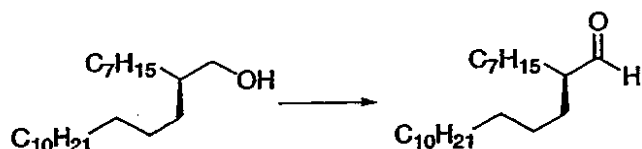


40

氷冷 THF (10 mL) 中の該酸の溶液に、ジボラン：THF 錯体を添加し、混合物をゆっくりと加温させた。7 時間後、希塩酸を注意深く添加し、混合物を常法により仕上げ処理した。粗製物質を氷冷エーテルに溶解させ、LAH 溶液 (1 M の 2 mL) を添加した。5 分後、混合物を常法により仕上げ処理して、556 mg のアルコールを得た。

【0136】

【化 7 3】

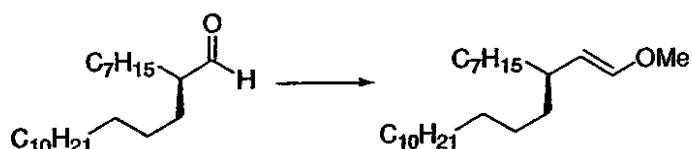


塩化メチレン ( 1 0 m L ) 中の塩化オキサリル ( 2 . 2 m l ) の - 7 8 溶液に D M S O ( 1 . 1 m L ) を添加し、2 分後、アルコール ( 5 5 6 m g ) を塩化メチレン ( 5 m L ) に添加した。2 0 分後、トリエチルアミン ( 1 m L ) を添加し、混合物を 0 まで加温した。混合物をエーテルで希釈し、常法に従って仕上げ処理して、5 6 7 m g を得た。

10

【 0 1 3 7 】

【化 7 4】

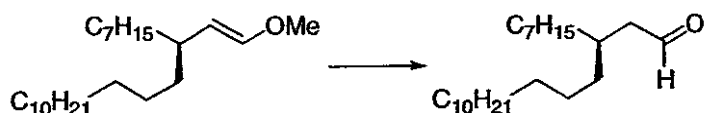


ウィティッヒ試薬 ( 6 7 9 m g ) を T H F ( 1 0 m L ) に懸濁させ、K H M D S 溶液 ( 0 . 5 M の 4 m L ) を添加した。2 0 分後、混合物を - 7 8 まで冷却し、T H F ( 5 m L ) 中のアルデヒド ( 5 6 7 m g ) を添加した。1 5 分後、混合物を常法により仕上げ処理して、3 4 2 m g を得た。

20

【 0 1 3 8 】

【化 7 5】

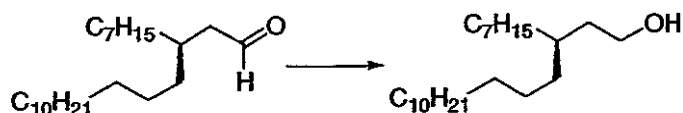


30

アセトニトリル ( 3 . 5 m L ) および水 ( 0 . 1 5 m L ) 中の該エノールエーテル ( 3 4 2 m g ) の溶液にヨウ化水素酸を添加した。4 時間後、混合物を常法により仕上げ処理して、3 2 5 m g を得た。

【 0 1 3 9 】

【化 7 6】

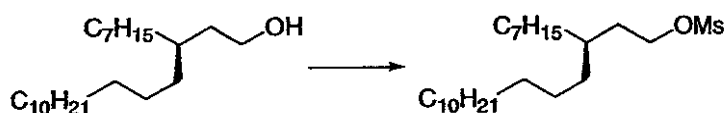


40

メタノール ( 1 0 m L ) 中の該アルデヒド ( 3 2 5 m g ) の溶液にホウ水素化ナトリウム ( 3 8 m g ) を添加した。3 時間後、反応物を常法により仕上げ処理して、3 0 3 m g のアルコールを得た。

【 0 1 4 0 】

【化 77】

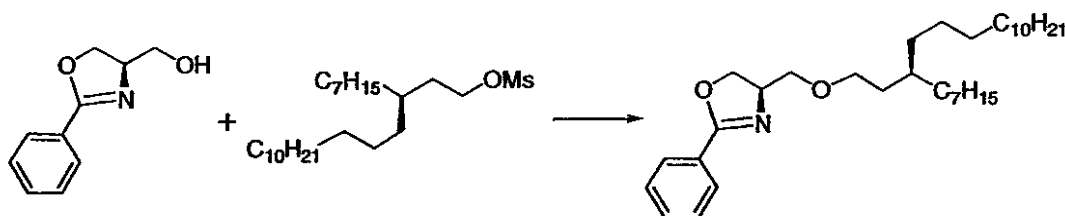


塩化メチレン ( 10 m L ) 中の該アルコール ( 303 m g ) の氷冷溶液にトリエチルアミン ( 150  $\mu$  L ) および塩化メシル ( 76  $\mu$  L ) を添加した。4 時間後、反応を常法により仕上げ処理して、352 m g を得た。

10

【 0141】

【化 78】

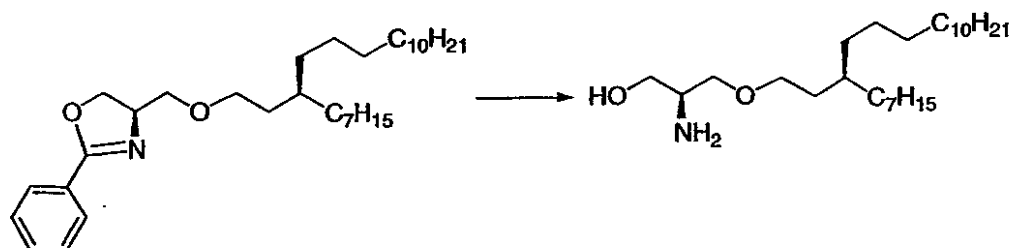


氷冷 T H F ( 5 m L ) 中の該オキサゾリン ( 1 m L ) の溶液にカリウム t - ブトキシド溶液 ( 1 M の 2.2 m L ) を添加した。30 分後、メシレート ( 5 m L ) に添加し、混合物を 8 時間攪拌した。常法仕上げ処理により 318.5 m g を得た。

20

【 0142】

【化 79】

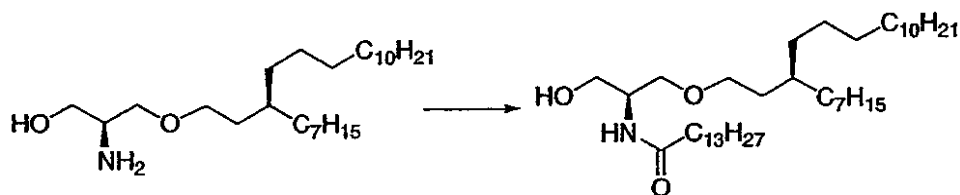


30

メタノール ( 8 m L ) および塩酸 ( 4 M の 4 m L ) 中のオキサゾールの溶液を 90 分間で 50  $^{\circ}$  C まで加温した。さらにメタノールを添加し、溶媒を除去した。残渣をメタノール ( 8 m L ) および水酸化ナトリウム溶液 ( 4 m L ) に溶解させ、軽く 50  $^{\circ}$  C まで加温した。混合物を冷却し、クロロホルムで抽出した。常法仕上げ処理により 114 m g を得た。

【 0143】

【化 80】

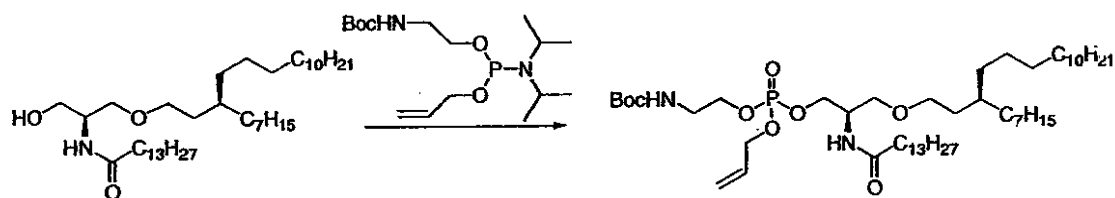


40

T H F ( 2 m L ) および飽和重炭酸ナトリウム水溶液 ( 2 m L ) 中の該アミン ( 114 m g ) の溶液に酸塩化物を添加した。30 分後、さらに酸塩化物を添加した。30 分後、反応を常法により仕上げ処理して 146 m g を得た。

【 0144】

【化 8 1】

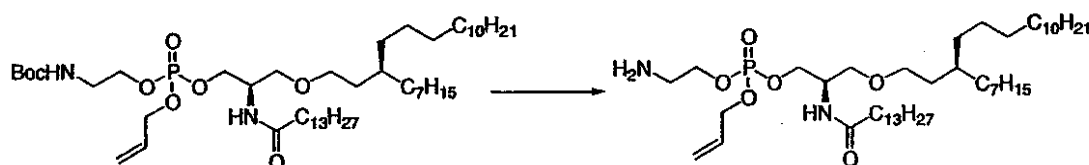


氷冷塩化メチレン（2 mL）中のテトラゾール（48 mg）の溶液に、リン酸化試薬（122 mg）の溶液に該アルコール（146 mg）を添加した。水（1 mL）およびTHF（2 mL）中のオキソン（230 mg）を添加した。90分後、チオスルフェートを用いて反応をクエンチした。標準的な仕上げ処理により140 mgを得た。

10

【0145】

【化 8 2】

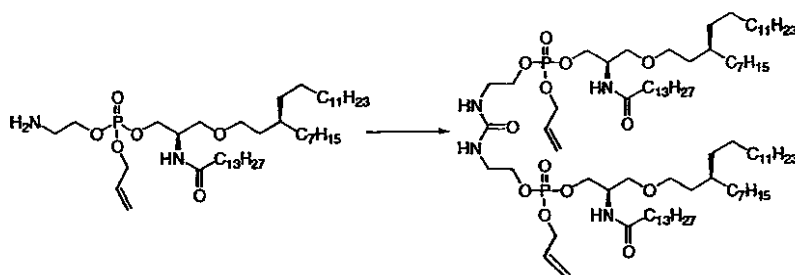


20

氷冷塩化メチレン中の該基質の溶液にトリエチルシラン（370 μL）およびトリフルオロ酢酸（110 μL）を添加した。5分後、揮発物を除去して148 mgを得た。

【0146】

【化 8 3】



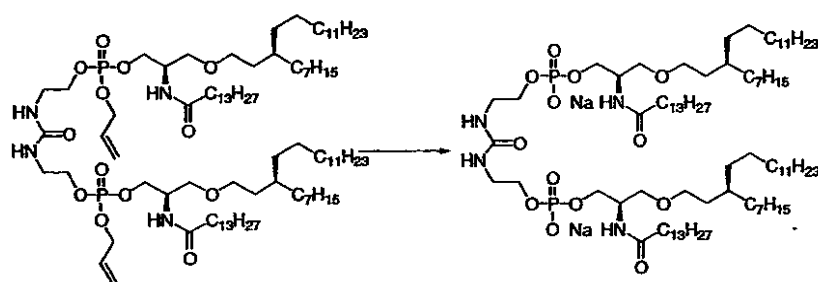
30

氷冷塩化メチレン（0.8 mL）中の該アミン（66.9 mg）の溶液に飽和重炭酸ナトリウム水溶液（0.8 mL）およびホスゲン溶液（1.93 Mの20 μL）を添加した。1時間後、さらにホスゲン（10 μL）を添加した。30分後、常法仕上げ処理により47.7 mgを得た。

【0147】

【化 8 4】

40



不活性雰囲気下で、氷冷クロロホルム中のフェニルシラン（15 μL）、テトラキス（

50

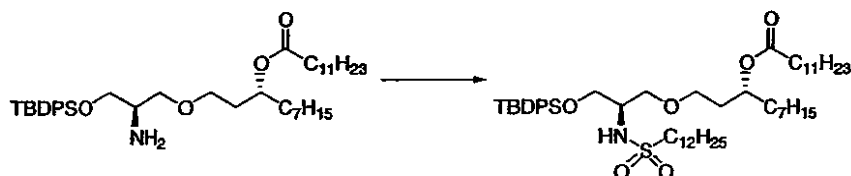
トリフェニルホスフィン)、パラジウム[0](24.8 mg)の溶液に該基質を添加した。5分後、混合物をDEAEカラムに適用し、クロマトグラフィーに付し、31 mgのER 804130を得た。

【0148】

ER 804558の調製

【0149】

【化85】

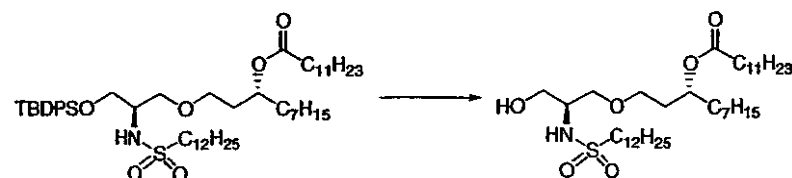


10

塩化メチレン中の該アミン(325 mg)の溶液にトリエチルアミン(321 μL)および塩化1-ドデカンスルホニルを添加した。3時間後、通常の仕上げ処理により384 mgを得た。

【0150】

【化86】



20

THF(4 mL)中の保護されたアルコール(384 mg)の溶液にフッ化テトラブチルアンモニウム(123 mg)および酢酸(29 μL)を添加した。2時間後、通常の仕上げ処理により180 mgを得た。

【0151】

合成の残りは、本発明の他の化合物について前記で概説したごとく完了した。すなわち、リン酸化、脱ブロッキング、ホスゲンとのカップリング、およびフェニルシランおよびパラジウムでの脱保護。

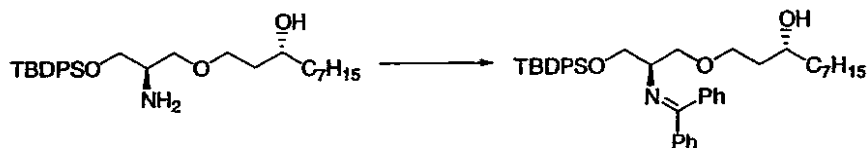
【0152】

ER 804442の調製

該ジオールアミンは前記で概説したそのt-ブチルジフェニルシリルエーテルとしてモノ保護した。

【0153】

【化87】

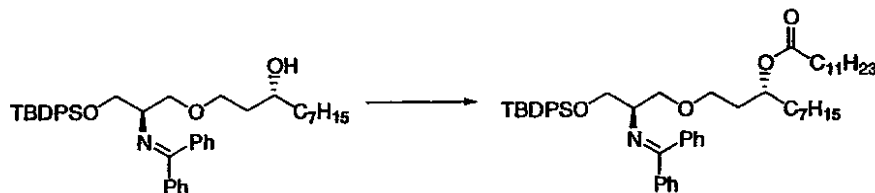


40

該アミン(2.6 g)およびベンゾフェノンイミン(1.1 mL)を混合し、4日間まで加熱し、クロマトグラフィーの後に3.3 gを得た。

【0154】

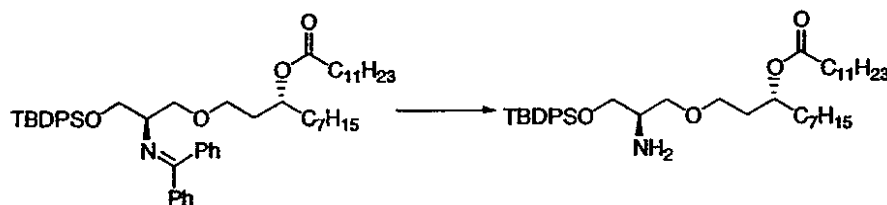
【化 8 8】



氷冷塩化メチレン中の該アミン（3.3 g）の溶液にラウリン酸（1.5 g）、EDC（1.7 g）およびDMA P（155 mg）を添加した。翌日、反応物を常法により仕上げ処理して3.15 gを得た。

【0155】

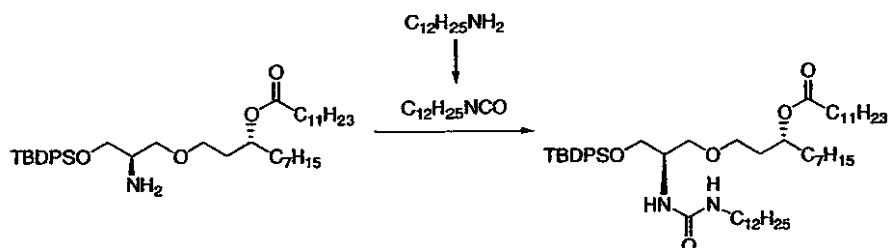
【化 8 9】



エーテル中の該イミン（3.14 g）の溶液に1 N 塩酸を添加した。翌日、反応物を常法により仕上げ処理して2.81 gを得た。

【0156】

【化 9 0】



氷冷塩化メチレン（250 μL）中のクロロギ酸トリクロロメチル（12 μL）の溶液にドデシルアミン（18 μL）およびジイソプロピルエチルアミン（27 μL）を添加した。30分後、溶媒を除去した。残渣を氷冷塩化メチレンに溶解させ、それに該アミン（55.6 mg）およびさらにジイソプロピルエチルアミン（13 μL）を添加した。2時間後、常法仕上げ処理によりクロマトグラフィーの後に、60.9 mgを得た。

【0157】

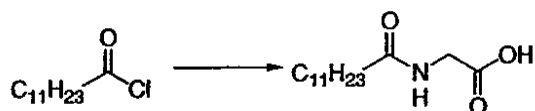
この生成物をフッ化物で脱保護し、リン酸化し、TFAで脱保護し、ホスゲンで二量体化し、前記で概説したごとくフェニルシランおよびパラジウムで脱ブロックして、ER 804442を得た。

【0158】

ER 804221の調製

【0159】

【化 9 1】



10

20

30

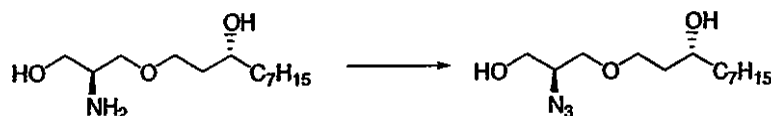
40

50

水酸化ナトリウム水溶液（60 mL の 4.4 g）中のグリシン（8.26 g）の氷冷溶液に塩化ラウロイル（21.8 g）を添加した。1 時間後、酸を添加し、混合物を常法により仕上げ処理した。酢酸エチルからの再結晶により 9.7 g を得た。

【0160】

【化92】

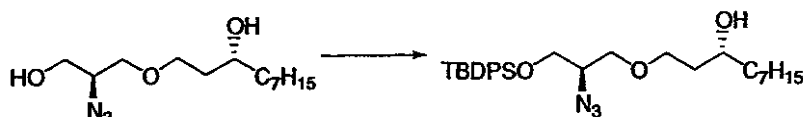


10

メタノール中の該アミン（1.4 g）の氷冷溶液にトリフリックアジド（20 mg）を添加した。翌日、さらにアジドを添加した。2 時間後、反応物を常法により仕上げ処理して、クロマトグラフィーの後に、1.14 g を得た。

【0161】

【化93】

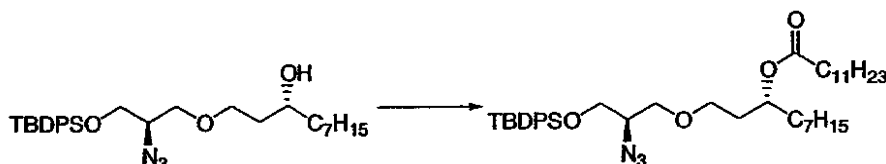


20

塩化メチレン中の該アルコール（1.14 g）の溶液に塩化 t-ブチルジフェニルシリル（1.09 mL）、トリエチルアミン（1.8 mL）および DMA P（50 mg）を添加した。3 時間後、常法仕上げ処理により 1.4 g を得た。

【0162】

【化94】

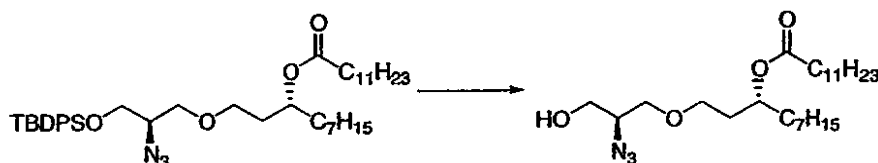


30

氷冷塩化メチレン中の該アルコール（1.4 g）の溶液にラウリン酸（826 mg）、EDC（1.05 g）および DMA P（33 mg）を添加した。翌日、常法仕上げ処理により、クロマトグラフィーの後に、778 mg を得た。

【0163】

【化95】

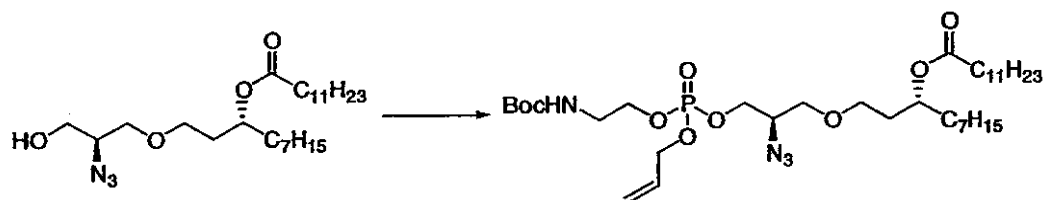


40

THF 中の該アジド（778 mg）の溶液に酢酸（77 μL）および TBAF（323 mg）を添加した。翌日、常法仕上げ処理により、クロマトグラフィーの後に、428 mg を得た。

【0164】

【化 9 6】

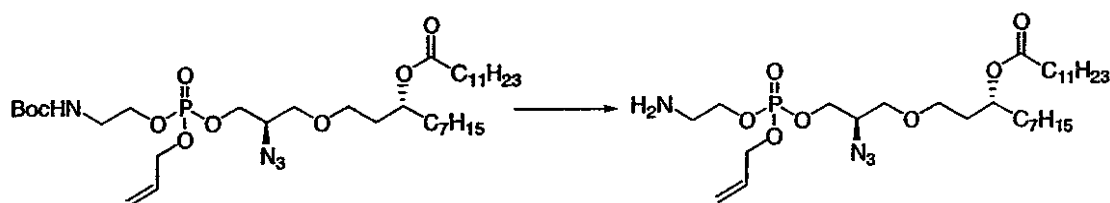


塩化メチレン中の該アジド（460 mg）の溶液にテトラゾール（165 mg）、リン酸化試薬（390 mg）を添加し、30分後、水中のオキシソ（3 mL中の722 mg）を添加した。反応物をチオスルフェートで急冷した。常法仕上げ処理により、クロマトグラフィーの後に、392 mgを得た。

10

【0165】

【化 9 7】

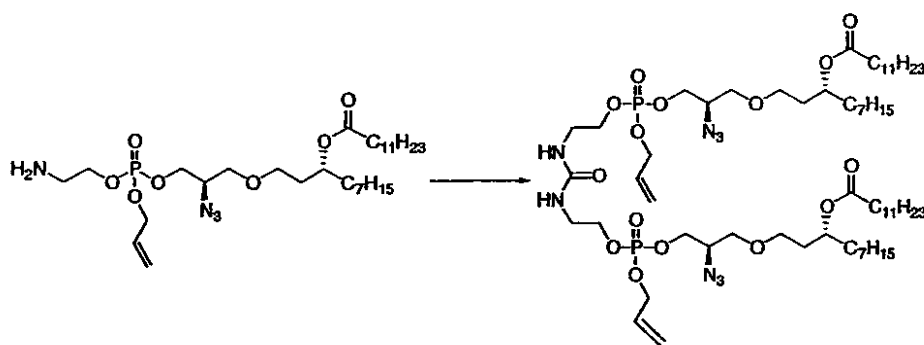


20

保護されたアミン（460 mg）を塩化メチレン、トリフルオロ酢酸（394  $\mu$ L）およびトルエチルシラン（308  $\mu$ L）に溶解させた。1.5時間後、常法仕上げ処理により392 mgを得た。

【0166】

【化 9 8】



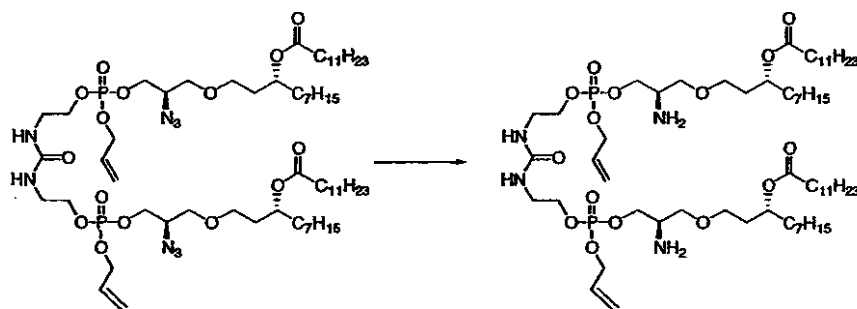
30

塩化メチレン（5.5 mL）中の該アミンの氷冷溶液に飽和重炭酸ナトリウム（5.5 mL）、およびホスゲン（トルエン中の1.93 M溶液の164  $\mu$ L）を添加した。15分後、常法仕上げ処理により、クロマトグラフィーの後に、342 mgを得た。

【0167】

40

【化 9 9】

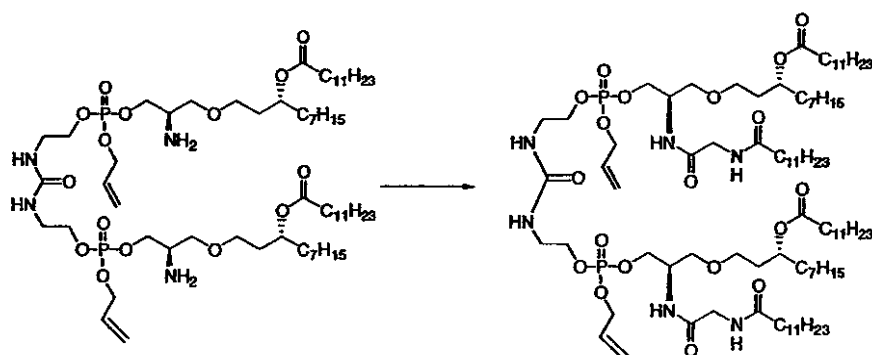


10

塩化メチレン中の該アジド（187mg）の氷冷溶液に、ここに出典明示して本明細書の一部とみなす米国特許第5,756,718号に概説されているごとく調製したスズ試薬（1.5mL）を添加した。30分後、混合物をクロマトグラフィーに付して187mgを得た。

【0168】

【化100】



20

塩化メチレン中の該尿素（55mg）の氷冷溶液に（前記したごとく調製した）該酸（59mg）およびEDC（44mg）を添加した。翌日、さらにEDC（5mg）および酸（5mg）を添加した。2時間後、通常の仕上げ処理により45.7mgを得た。保護基をフェニルシランおよびパラジウムで常法により除去して、ER 804221を得た。

30

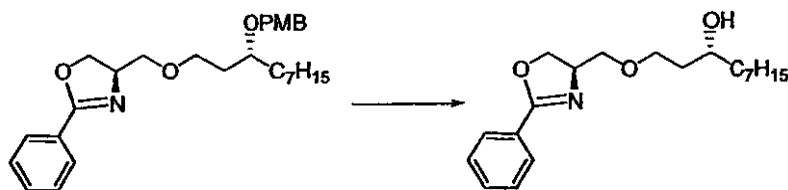
ER 804222は、塩化ラウリルおよびグリシンの間の縮合生成物である15メチルミリスチン酸を用いた以外は同様に調製した。

【0169】

ER 804281の調製

【0170】

【化101】

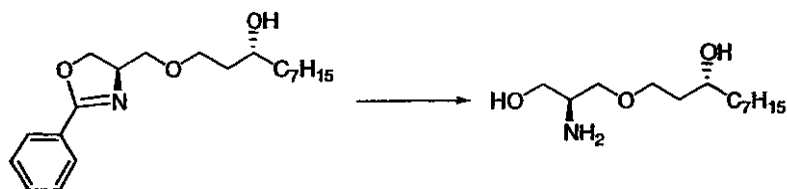


40

アセトニトリル：水中の該保護アルコール（8.3g）の氷冷溶液にCAN（41.4g）を添加した。1時間後、常法仕上げ処理により5.7gを得た。

【0171】

【化 1 0 2】

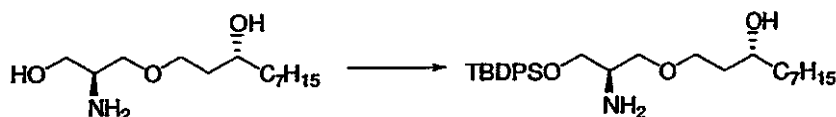


4 N の H C l 溶液中の該アルコール ( 5 . 6 3 g ) の溶液を 1 時間加熱還流し、冷却し、水酸化ナトリウムで中和し、常法により仕上げ処理して 2 . 1 g を得た。

10

【 0 1 7 2】

【化 1 0 3】

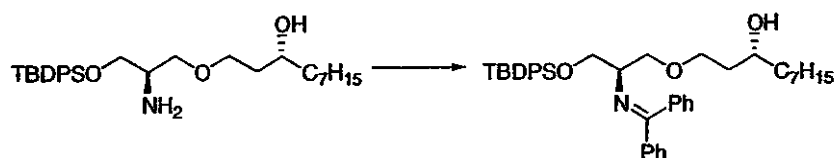


塩化メチレン中の該アルコール ( 2 . 2 g ) の氷冷溶液に 1 5 m L の塩化メチレン中のイミダゾール ( 0 . 7 g )、塩化 t - ブチル ジフェニルシリルを添加した。翌日、常法仕上げ処理により 1 . 5 4 g を得た。

20

【 0 1 7 3】

【化 1 0 4】

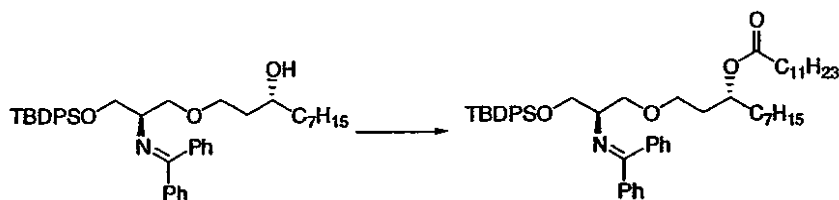


塩化メチレン ( 4 0 m L ) 中の該アルコール ( 1 . 9 3 g ) の溶液にベンゾフェノイミン ( 0 . 8 m L ) を添加した。1 日後、混合物を一晩加熱還流した。常法仕上げ処理により 1 . 6 7 g を得た。

30

【 0 1 7 4】

【化 1 0 5】

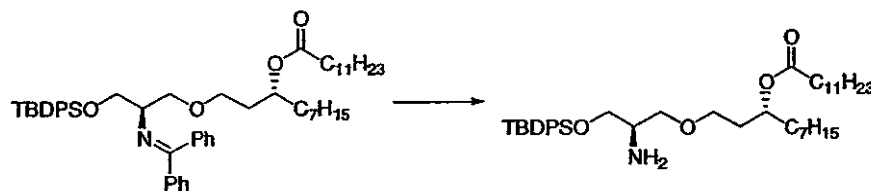


40

塩化メチレン中の該アルコール ( 1 . 6 7 g ) の氷冷溶液に D M A P ( 1 5 9 m g )、E D C ( 0 . 9 9 g ) およびラウリン酸 ( 1 . 0 4 g ) を添加した。1 日後、常法仕上げ処理により 7 4 % 収率が得られた。

【 0 1 7 5】

【化 1 0 6】

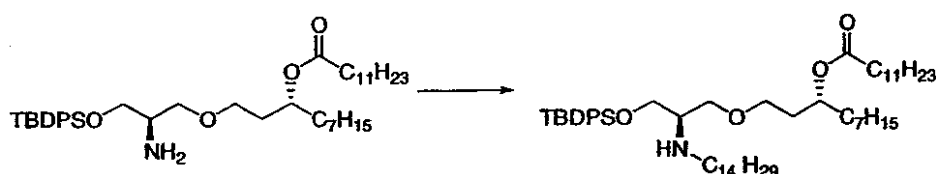


エーテル ( 5 0 m L ) 中の該イミン ( 2 . 9 g ) の氷冷溶液に 1 N の H C l ( 5 0 m L ) を添加した。翌日、常法仕上げ処理により 2 . 0 9 g を得た。

【 0 1 7 6】

10

【化 1 0 7】

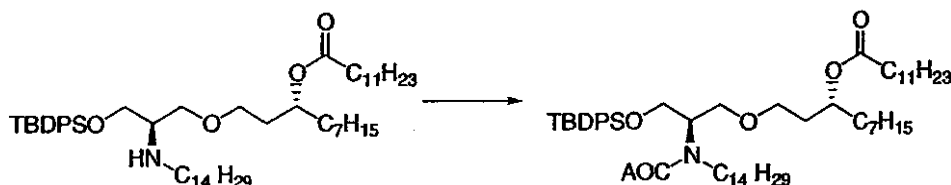


ジクロロエタン中の該アミン ( 1 . 2 4 g ) の溶液にシアノホウ水素化ナトリウム ( 1 7 8 m g ) およびテトラデカノール ( 4 1 1 m g ) を添加した。翌日、常法仕上げ処理により 1 . 5 g を得た。

【 0 1 7 7】

20

【化 1 0 8】

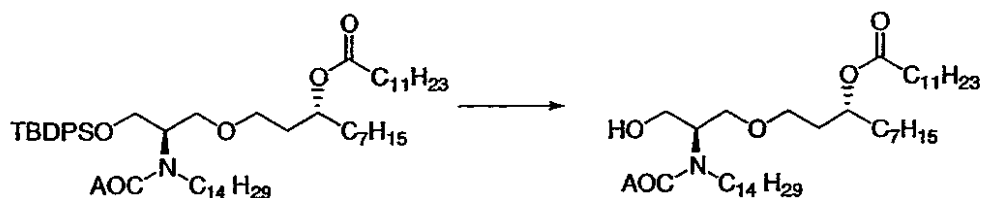


ジオキサン中の該アミン ( 2 2 1 m g ) の氷冷溶液にクロロギ酸アリル ( 4 0 m g ) および 3 0 8  $\mu$  L の 1 N N a O H 溶液を添加した。2 時間後、常法仕上げ処理により 2 0 0 m g を得た。

【 0 1 7 8】

30

【化 1 0 9】



T H F 中の該保護アルコール ( 3 6 5 m g ) の氷冷溶液に T B A F ( 1 9 2 4  $\mu$  L ) および酢酸 ( 1 2 2  $\mu$  L ) を添加した。翌日、常法仕上げ処理により 2 7 1 m g を得た。

【 0 1 7 9】

40

この物質を、前記したごとく、リン酸化し、T F A で脱ブロックし、ホスゲンで二量化し、フェニルシランおよびパラジウムでアリール保護基を除去して、E R 8 0 4 2 8 1 を得た。

【 0 1 8 0】

E R 8 0 4 3 3 9 の調製

E R 8 0 4 2 8 1 E R 8 0 4 3 3 9

50

塩化メチレン中のER 804281 (7 mg) の氷冷溶液イントリエチルアミン (5  $\mu$ L)、DMA P (0.6 mg) および塩化アセチル (1.8  $\mu$ L) を添加した。4日後、常法仕上げ処理により1.1 mgを得た。

【0181】

ER 804674の調製

ER 804281 ER 804674

THF (1.0 mL) 中のER 804281 (12.7 mg) の溶液にヨウ化メチル (9.2 mg) および重炭酸ナトリウム (6.8 mg) を添加した。混合物を5日間攪拌し、重炭酸ナトリウム (14 mg) およびさらにヨウ化メチル (8 mL) を添加した。さらに3日後、さらに重炭酸塩 (28 mg) およびMe i (16  $\mu$ L) を添加した。さらに6日後、混合物を仕上げ処理して9.1 mgの生成物を得た。

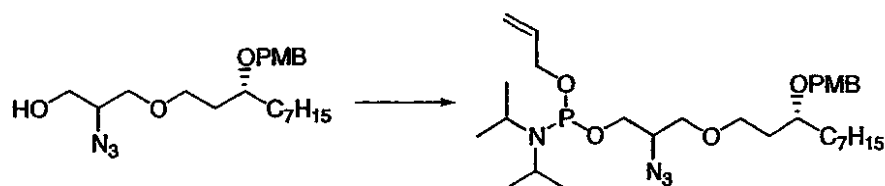
10

【0182】

ER 804596の調製

【0183】

【化110】

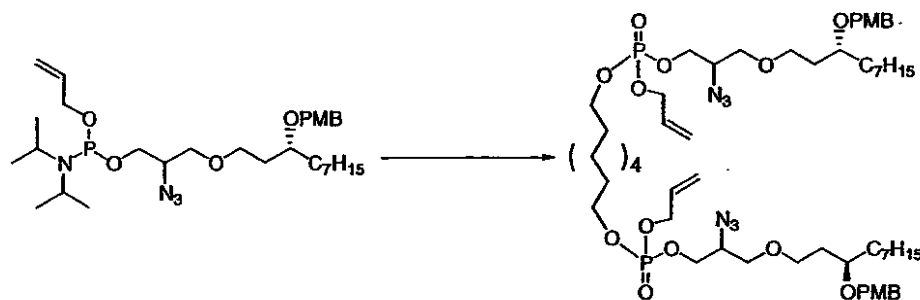


20

塩化メチレン (2 mL) 中の該アルコール (393 mg) の溶液にジイソプロピルアミン (210  $\mu$ L)、テトラゾール (105 mg) および (前記したとき) リン酸化試薬 (488 mg) を添加した。2と1/5時間後、常法仕上げ処理により所望の生成物を得た。

【0184】

【化111】



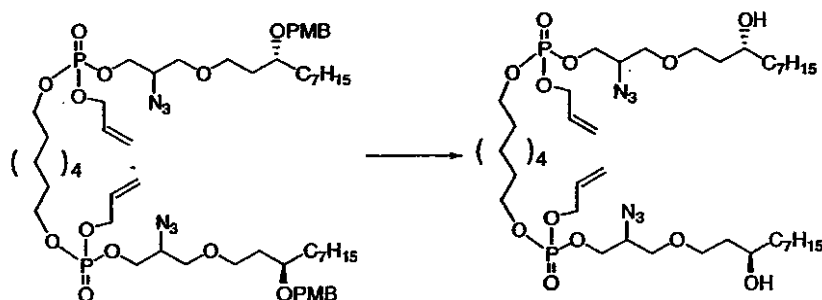
30

アセトニトリル中の該ジオール (73 mg) の溶液にテトラゾール (175 mg)、アジド (1当量) を添加した。3時間後、混合物を冷却し、オゾン (1229 mg) を添加した。翌日、常法仕上げ処理により所望の生成物を得た。

40

【0185】

## 【化 1 1 2】

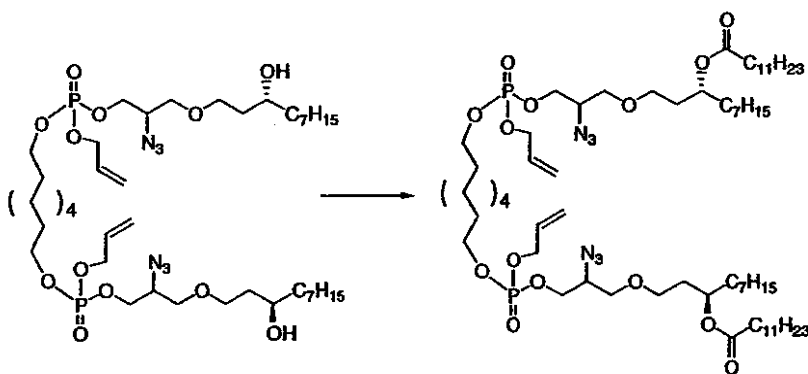


10

アセトニトリル：水（6 mL：1.5 mL）中の該保護されたアルコール（92.9 mg）の氷冷溶液にCAN（358 mg）を添加した。1時間後、常法仕上げ処理により68.5 mgを得た。

## 【0186】

## 【化 1 1 3】



20

塩化メチレン中の該ジオール（68.5 mg）の氷冷溶液にラウリン酸（76.5 mg）、DMA P（4.7 mg）およびEDC（73 mg）を添加した。翌日、常法仕上げ処理により76.5 mgを得た。

## 【0187】

30

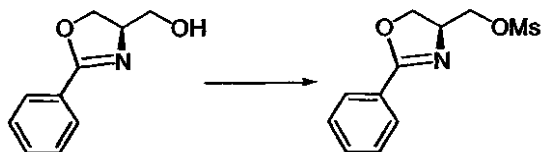
該アジドを前記した該スズ試薬を用いて還元した。該ジアミンを塩化ドデカノイルでアシル化し、保護基を前記したごとくフェニルシランおよびパラジウムで除去して、ER 804596を得た。

## 【0188】

ER 804732の調製

## 【0189】

## 【化 1 1 4】

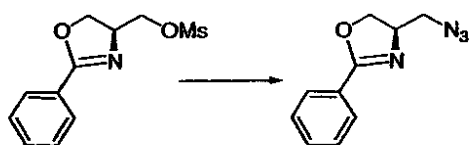


40

該アルコール（7.04 g）をトリエチルアミン（11.13 mL）を含む塩化メチレン（300 mL）に溶解させ、次いで、窒素雰囲気下で0℃まで冷却した。塩化メタンスルホン（3.69 mL）を滴下し、しかる後、反応物を室温にて1時間攪拌した。常法仕上げ処理により5.551 gを得た。

## 【0190】

【化 1 1 5】

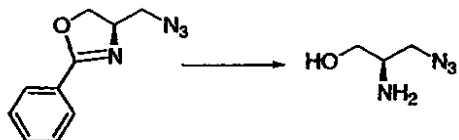


該メシレート ( 1 . 1 1 4 g ) を D M F ( 3 0 m L ) に溶解させ、続いてアジ化ナトリウム ( 0 . 9 3 3 7 g ) を溶解させた。反応混合物を 5 7 まで加温し、1 6 時間攪拌し、次いで、1 0 4 までさらに 3 時間加温した。室温まで冷却した後、混合物を常法により仕上げ処理して、0 . 4 6 6 g を得た。

10

【 0 1 9 1】

【化 1 1 6】

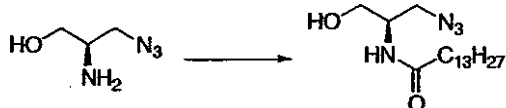


4 N H C l ( 1 5 m L ) を用い、該保護アミノアルコール ( 0 . 4 6 6 g ) を 1 0 7 にて加水分解した。室温まで冷却した後、反応混合物を濾過し、エチルエーテルで抽出し、乾燥し、濃縮し、次の反応で用いた。

20

【 0 1 9 2】

【化 1 1 7】

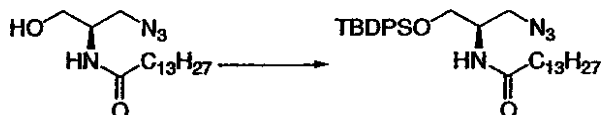


粗製アミノアルコールを、飽和重炭酸ナトリウム ( 6 m L ) を含む T H F ( 5 m L ) に溶解させ、0 まで冷却した。塩化ミリストイル ( 0 . 7 9 m L ) を滴下し、しかる後反応を室温まで加温し、2 時間攪拌した。反応混合物を常法を用いて仕上げ処理し、0 . 7 5 1 g を得た。

30

【 0 1 9 3】

【化 1 1 8】

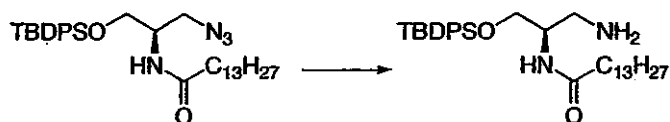


40

該アルコール ( 0 . 1 8 5 g ) を、イミダゾール ( 0 . 0 7 7 g ) および塩化 t e r t - ブチルジフェニルシリル ( 0 . 1 9 7 m L ) を含む D M F ( 3 . 0 m L ) に溶解させた。反応混合物を室温にて 1 6 時間攪拌し、しかる後、常法仕上げ処理により 0 . 3 2 0 g を得た。

【 0 1 9 4】

【化 1 1 9】



該アジド ( 0 . 9 7 5 g ) を、炭素上の 1 0 % パラジウム ( 0 . 1 8 0 g ) を含むメタノール ( 2 0 m L ) に溶解させた。大気圧下、混合物を水素ガスの雰囲気下で 2 時間攪拌し、しかる後、ガスを引き、混合物を Celite 5 4 5 で濾過し、濃縮した。常法を用

10

【 0 1 9 5】

【化 1 2 0】

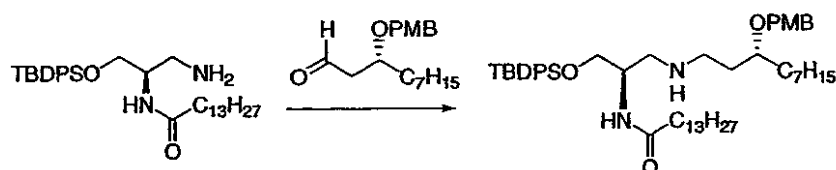


7 8 にて、DMSO ( 1 . 5 m L ) を塩化メチレン ( 3 0 m L ) 中の塩化オキサリル ( 0 . 9 2 m L ) に滴下した。15 分間攪拌した後、塩化メチレン ( 3 0 m L ) 中の該アルコール ( 1 . 7 2 7 g ) を滴下し、さらに 3 0 分間攪拌した。トリエチルアミン ( 4 . 9 0 m L ) を滴下し、反応物を 0 まで加温し、飽和塩化アンモニウムを用いて急冷した。ヘキサン中の 2 0 % 酢酸エチルでのシリカゲルクロマトグラフィーを用いる粗生成物の精製により、1 . 6 5 3 g を得た。

20

【 0 1 9 6】

【化 1 2 1】



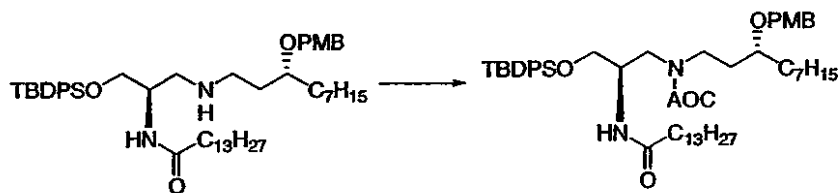
30

該第一級アミン ( 0 . 1 3 5 g ) およびアルデヒド ( 0 . 0 7 7 g ) を 1 , 2 -ジクロロエタン ( 5 m L ) に溶解させ、続いてシアノホウ水素化ナトリウム ( 0 . 0 3 2 g ) を添加した。反応物を 2 0 時間攪拌し、しかる後、酢酸 ( 0 . 0 2 m L ) を添加し、反応物を常法により仕上げ処理して 0 . 1 0 3 g を得た。

【 0 1 9 7】

【化 1 2 2】

40

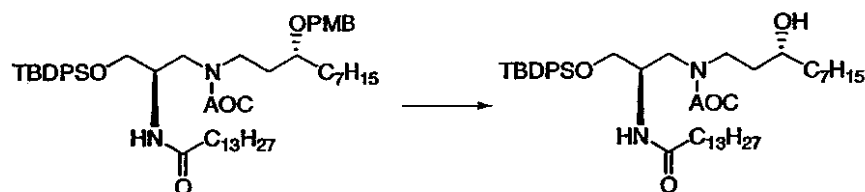


該第二級アミンを 1 , 4 -ジオキサン ( 1 5 m L ) に溶解させ、0 まで冷却し、続いて、1 M 水酸化ナトリウム ( 3 . 0 m L ) をゆっくりと添加した。1 0 分間攪拌した後、クロロギ酸アリル ( 0 . 2 3 6 m L ) を滴下し、しかる後、反応物を室温まで加温し、1 6 時間攪拌した。常法により仕上げ処理して 0 . 6 1 3 g を得た。

50

【 0 1 9 8 】

【 化 1 2 3 】

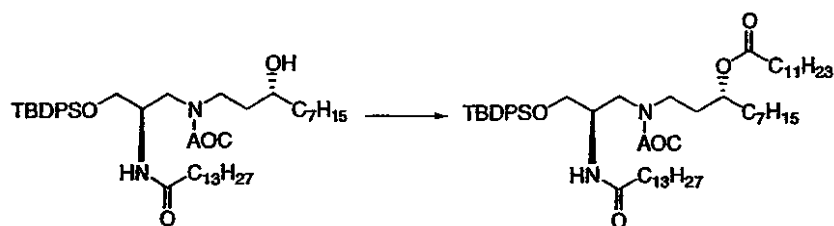


パラ メトキシベンジルエーテル ( 0 . 6 1 3 g ) を 4 : 1 の比率のアセトニトリル : 水 ( 1 5 m L ) に溶解させ、 0 °C まで冷却し、次いで、CAN ( 1 . 5 2 5 g ) を添加した。反応混合物を 0 °C にて 2 時間攪拌し、次いで、常法により仕上げ処理して 0 . 3 5 7 g を得た。

10

【 0 1 9 9 】

【 化 1 2 4 】

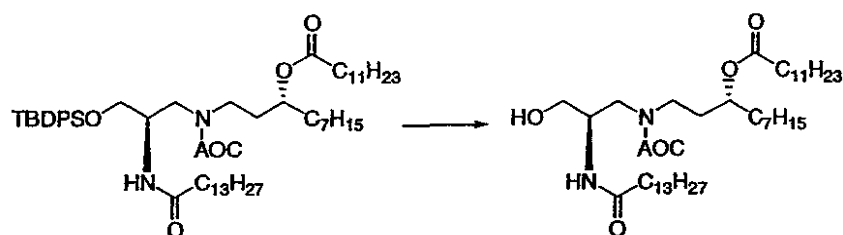


20

該アルコール ( 0 . 3 5 7 g ) をラウリン酸 ( 0 . 1 8 4 g )、EDC ( 0 . 1 7 5 g ) を含む塩化メチレン ( 5 m L ) に溶解させ、 0 °C まで冷却した。4-ジメチルアミノピリジン ( 0 . 0 1 2 g ) を添加し、得られた混合物を室温にて 2 時間攪拌した。常法により仕上げ処理して 0 . 4 3 6 g を得た。

【 0 2 0 0 】

【 化 1 2 5 】



30

該シリル保護アルコール ( 0 . 2 1 1 g ) を、酢酸 ( 0 . 0 3 m L ) を含む THF ( 5 m L ) に溶解させた。フッ化テトラブチルアンモニウム ( 0 . 1 1 5 g ) を一度に添加し、反応混合物を室温にて 1 6 時間攪拌した。常法仕上げ処理により 0 . 1 5 0 g を得た。

【 0 2 0 1 】

40

この物質を、前記したごとく、リン酸化し、TFA で脱ブロックし、ホスゲンで二量体化し、フェニルシランおよびパラジウムでアリル保護基を除去して、ER 804732 を得た。

【 0 2 0 2 】

ER 804680 の調製

【 0 2 0 3 】

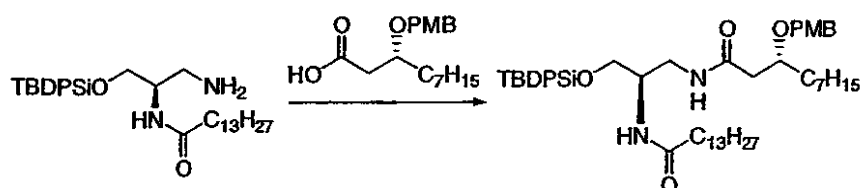
【化 1 2 6】



該アルデヒド ( 1 . 5 4 g ) を T H F ( 2 8 m L ) に溶解させ、 0 °C まで冷却し、しかる後、 2 - メチル - 2 - ブテン ( 1 4 m L ) および *tert* - ブチルアルコール ( 2 8 m L ) を添加した。水 ( 4 2 . 7 m L ) 中の塩化ナトリウム ( 3 . 7 0 g ) およびリン酸三水素ナトリウム ( 4 . 0 9 g ) の攪拌懸濁液を前記混合物に添加し、 0 °C にて 1 . 5 時間攪拌した。完了した反応を酢酸エチル ( 1 0 0 m L ) で希釈し、 1 0 % 重亜硫酸ナトリウム、ブラインで洗浄し、乾燥し、濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィーに付して、 1 . 5 5 g を得た。

【 0 2 0 4】

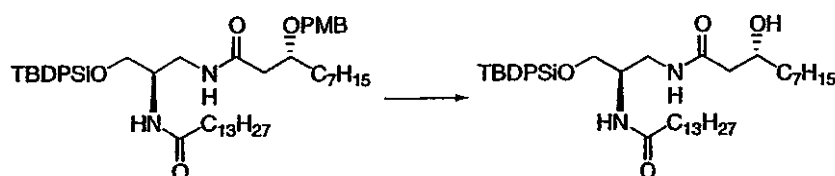
【化 1 2 7】



該アミン ( 0 . 5 5 3 g ) および酸 ( 0 . 3 8 1 g ) を塩化メチレン ( 8 m L ) 中で混合し、 0 °C まで冷却し、しかる後、 E D C ( 0 . 2 3 0 g ) を添加し、反応混合物を室温にて 7 2 時間攪拌した。常法仕上げ処理により 0 . 5 6 7 g を得た。

【 0 2 0 5】

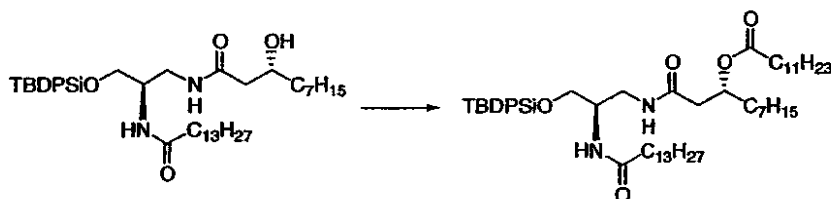
【化 1 2 8】



該メトキシベンジルエーテル ( 0 . 5 6 7 g ) を 1 : 1 比率のアセトニトリル : 水 ( 1 6 m L ( 塩化メチレン ( 8 m L ) を含む ) ) に溶解させ、 0 °C まで冷却した。C A N ( 1 . 5 3 g ) を添加し、反応混合物を 1 時間攪拌し、しかる後、それを常法により仕上げ処理して、粗製アルコールを得た。

【 0 2 0 6】

【化 1 2 9】



前記からの粗製アルコールを、ラウリン酸 ( 0 . 2 8 0 g ) および 4 - ジメチルアミノピリジン ( 0 . 0 1 7 g ) を含む塩化メチレン ( 1 5 m L ) に溶解させた。反応混合物を 0 °C まで冷却し、E D C ( 0 . 2 6 7 g ) を一度に添加し、しかる後、反応混合物を室温

10

20

30

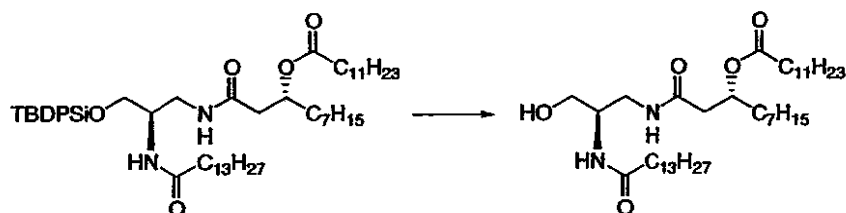
40

50

まで加温し、16時間攪拌した。常法仕上げ処理手法により0.622gを得た。

【0207】

【化130】



10

該シリルエーテル(0.563g)を、酢酸(0.087mL)を含むTHF(10mL)に溶解させた。フッ化tert-ブチルアンモニウム(0.330g)を添加し、反応物を室温にて16時間攪拌した。常法仕上げ処理により0.384gを得た。

【0208】

この物質を、前記したごとく、リン酸化し、TFAで脱ブロックし、ホスゲンで二量体化し、アリル保護基をフェニルシランおよびパラジウムで除去して、ER 804780を得た。

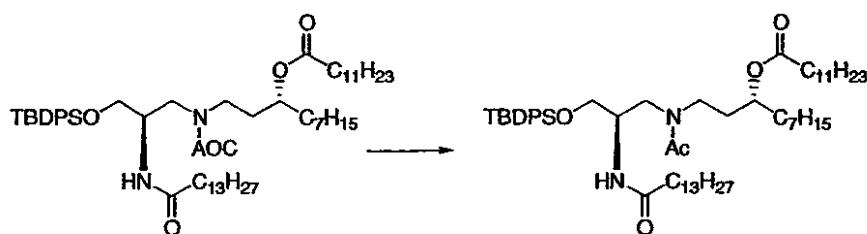
【0209】

ER 804679の調製

【0210】

【化131】

20

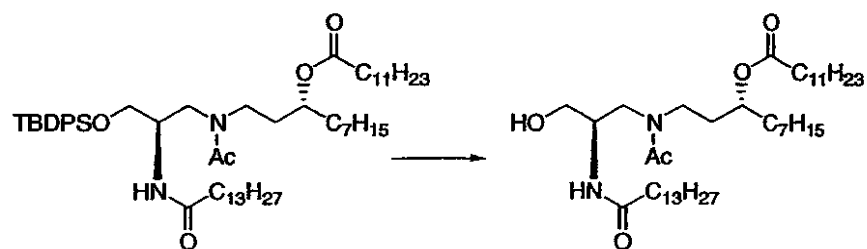


該保護された第二級アミン(0.071g)を、フェニルシラン(0.017mL)および無水酢酸(0.014mL)を含む脱気したクロロホルム(3mL)に溶解させた。反応混合物を0℃まで冷却し、続いて、テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(0)(0.002g)を添加した。反応混合物を室温まで加温し、30分間攪拌した。完了した反応を塩化メチレンで希釈し、水で洗浄し、乾燥し、濃縮し、クロマトグラフィーに付して0.068gを得た。

【0211】

【化132】

30



40

該シリルエーテルを、フッ化tert-ブチルアンモニウム(0.092g)を添加した酢酸(0.025mL)を含むTHF(5mL)中で脱保護した。室温にて16時間攪拌した後、反応物を常法にて仕上げ処理して、0.120gを得た。

【0212】

この物質を、前記したごとく、リン酸化し、TFAで脱ブロックし、ホスゲンで二量体

50

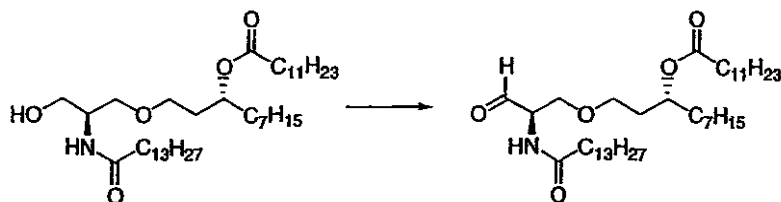
化し、アリル保護基をフェニルシランおよびパラジウムで除去し、E R 804679を得た。

【0213】

E R 804764の調製

【0214】

【化133】



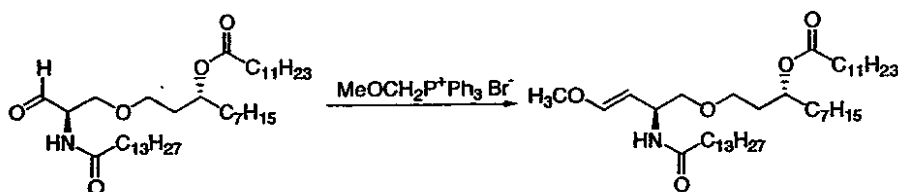
10

78にて、DMSO(0.33mL)を塩化メチレン(10mL)中の塩化オキサリル(0.203mL)に滴下した。15分間攪拌した後、塩化メチレン(3mL)中の該アルコール(0.993g)を滴下し、さらに30分間攪拌した。トリエチルアミン(1.08mL)を滴下し、反応物を0℃まで加温して、飽和塩化アンモニウムを用いて急令した。ヘキサン中の20%酢酸エチルでのシリカゲルクロマトグラフィーを用いる粗生成物の精製により、0.743gを得た。

20

【0215】

【化134】

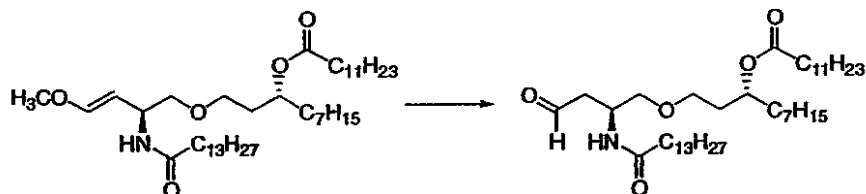


ヘキサン(1.5mL)中の1.6Mのn-ブチルリチウムを、0℃にて、THF(10mL)中のホスホニウム塩(0.797g)に滴下した。30分間攪拌した後、THF(15mL)中の該アルデヒド(0.734g)を滴下した。室温にて1時間攪拌した後、反応を常法により仕上げ処理して、0.193gを得た。

30

【0216】

【化135】



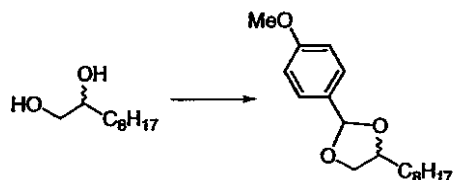
40

該エノールエーテル(0.193g)をアセトニトリル(2mL)中の57%ヨウ化水素(0.114L)で加水分解した。室温にて2時間攪拌した後、反応物を飽和重炭酸ナトリウムで急令し、塩化メチレンで抽出し、乾燥して、0.211gの粗製アルデヒドを得た。

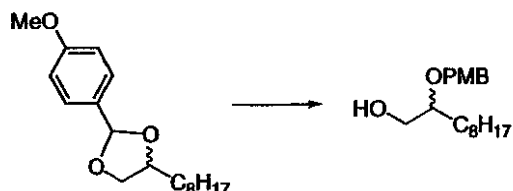
【0217】

CCCCCCCCC[C@H](COC(=O)CCCCCCCCCCCCCCC)[C@@H](NC(=O)CCCCCCCCCCCCCCC)C=COC >> CCCCCCCCCC[C@H](COC(=O)CCCCCCCCCCCCCCC)[C@@H](NC(=O)CCCCCCCCCCCCCCC)C=O

10



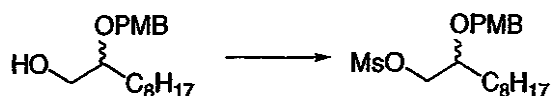
30



40

【 0 2 2 2 】

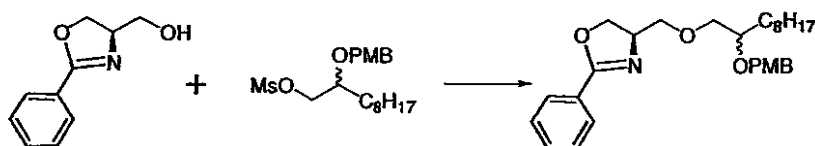
【化 1 3 9】



該アルコール（1.286 g）を塩化メチレン（15 mL）中のトリエチルアミン（0.883 g）と混合し、0℃まで冷却した。塩化メタンスルホニル（0.575 g）を滴下し、続いて、0℃にて20分間、次いで、室温にて2時間攪拌した。常法仕上げ処理により1.496 gを得た。

【0 2 2 3】

【化 1 4 0】



DMF（10 mL）中の該アルコール（1.495 g）を、0℃にて、DMF（20 mL）中の洗浄した60%水素化ナトリウム（0.257 g）の攪拌懸濁液に滴下した。3時間攪拌した後、DMF（10 mL）中のメシレート（0.925 g）を滴下した。さらに3日間攪拌した後、反応物を急冷し、常法により仕上げ処理して0.905 gを得た。

【0 2 2 4】

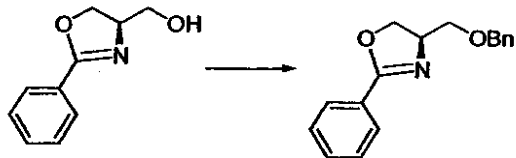
前記で供した実施例に関しては、パラメトキシベンジル保護基はCANで加水分解し、保護アミノアルコールは、塩酸、次いでKOHを用いて加水分解し、塩化テトラデカノイルで該アミンをアシル化し、TBDSで第一級アルコールをシリル化し、塩化ドデカノイルで第二級アルコールをアシル化し、TBAFを用いてシリル保護基を加水分解して、第一級アルコールを得た。この物質を、前記したごとく、リン酸化し、TFAで脱ブロックし、ホスゲンで二量体化し、アリル保護基をフェニルシランおよびパラジウムdで除去して、ER 804772を得た。

【0 2 2 5】

ER 804947の調製

【0 2 2 6】

【化 1 4 1】



室温にて、窒素雰囲気下でTHF（5 mL）中の該アルコール（0.263 g）をDMF（2.0 mL）中の洗浄した60%水素化ナトリウム（0.216 g）に滴下した。反応混合物を30時間攪拌し、しかる後、触媒量（0.05 g）のヨウ化テトラブチルアンモニウムを含む臭化ベンジル（0.272 mL）を添加した。最終反応混合物をさらに1時間攪拌し、しかる後、混合物を急冷し、常法により仕上げ処理して0.365 gを得た。

【0 2 2 7】

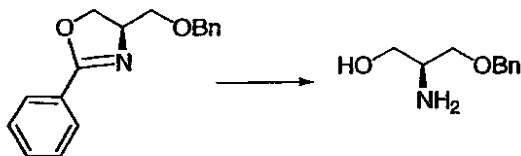
10

20

30

40

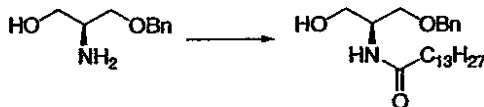
【化 1 4 2】



該保護されたアミノアルコール ( 0 . 1 8 9 g ) を 4 N 塩酸 ( 2 . 5 m L ) 、続いて 4 0 % 水酸化ナトリウム ( 2 . 5 m L ) を用いて前記したごとく加水分解して、 0 . 1 2 1 g を得た。

【 0 2 2 8】

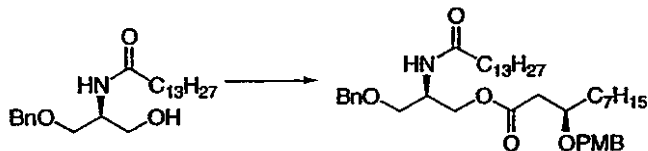
【化 1 4 3】



該アミノアルコール ( 0 . 1 2 1 g ) を飽和重炭酸ナトリウム ( 2 m L ) を含む塩化メチレン ( 2 m L ) に溶解させた。 0 まで冷却した後、塩化ミリストイル ( 0 . 1 9 9 m L ) を滴下した。 2 時間攪拌を継続した後、混合物を常法により仕上げ処理して、 0 . 1 8 1 g を得た。

【 0 2 2 9】

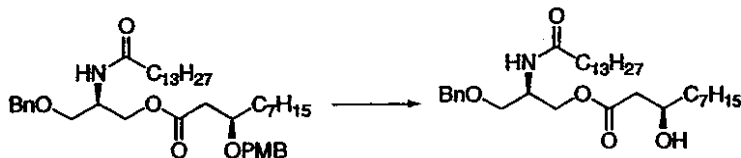
【化 1 4 4】



該アルコール ( 0 . 1 8 1 g ) を、該酸 ( 0 . 1 8 0 g ) および 1 [ 3 (ジメチルアミノ)プロピル] 3 エチルカルボジイミド ( E D C 、 0 . 1 3 3 g ) を含む塩化メチレン ( 5 m L ) に溶解させた。混合物を 0 まで冷却し、 4 ジメチルアミノピリジン を添加し、続いて、室温にて 1 6 時間攪拌した。常法仕上げ処理により 0 . 3 1 0 g を得た。

【 0 2 3 0】

【化 1 4 5】



該パラメトキシベンジルエーテル ( 0 . 3 0 5 g ) を水 ( 2 m L ) を含むアセトニトリル ( 8 m L ) に溶解させ、 0 まで冷却した。硝酸アンモニウムセリウム ( 1 . 1 1 0 g ) を添加し、反応混合物を 2 時間攪拌し、しかる後、常法仕上げ処理により粗製アルコールを得た。

【 0 2 3 1】

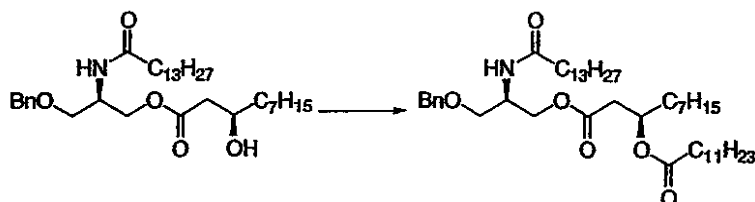
10

20

30

40

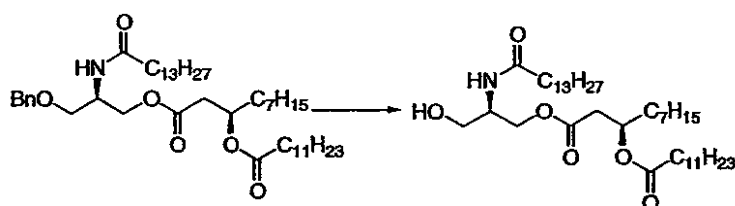
【化 1 4 6】



該粗製アルコールをラウリン酸（0.126 g）および 4 ジメチルアミノピリジン（0.011 g）を含む塩化メチレン（8 mL）に溶解させた。0℃まで冷却した後、EDC（0.119 g）を添加し、混合物を室温にて16時間攪拌した。常法仕上げ処理により0.355 gを得た。

【0 2 3 2】

【化 1 4 7】



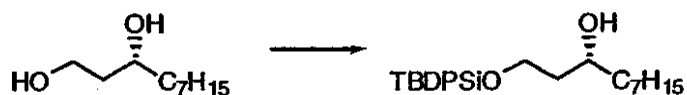
該ベンジルエーテル（0.355 g）を、水酸化パラジウム（0.048 g）および酢酸（0.25 mL）を含む酢酸エチル（50 mL）に溶解させた。反応混合物を50 psiの水素雰囲気下に置き、10時間震盪した。常法仕上げ処理により0.255 gを得た。この物質を、前記したごとく、リン酸化し、TFAで脱ブロックし、ホスゲンで二量体化し、アリル保護基をフェニルシランおよびパラジウムで除去して、ER 804947を得た。

【0 2 3 3】

ER 805718の調製

【0 2 3 4】

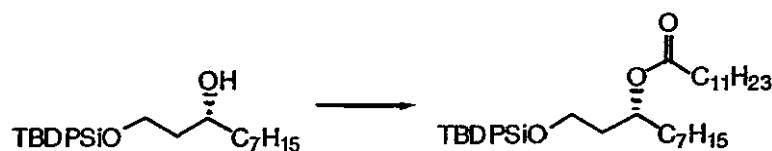
【化 1 4 8】



室温にて、塩化メチレン（100 mL）中のジオール（6.90 g）の攪拌溶液にトリエチルアミン（6.63 mL）およびDMAP（0.50 g）を添加し、続いて、tert-ブチルジフェニルクロロシラン（10.38 mL）を滴下した。18時間攪拌した後、反応物を常法により仕上げ処理し、続いて、シリカゲル精製により、11.70 gの所望のシリルエーテルを得た。

【0 2 3 5】

【化 1 4 9】



室温にて、塩化メチレン（60 mL）中のシリルエーテル（11.70 g）の攪拌溶液

10

20

30

40

50

【化 1 5 0】



【化 1 5 1】



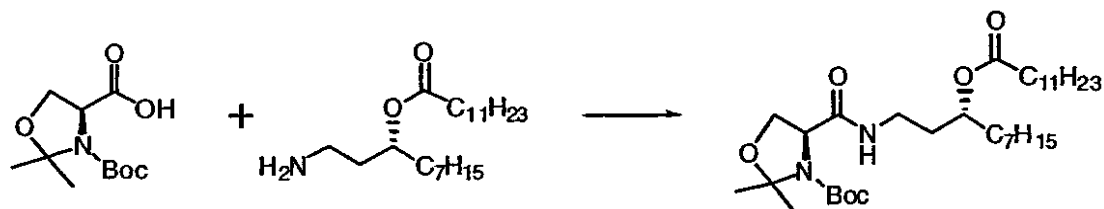
30

【化 1 5 2】



【 0 2 3 9 】

【化 1 5 3】

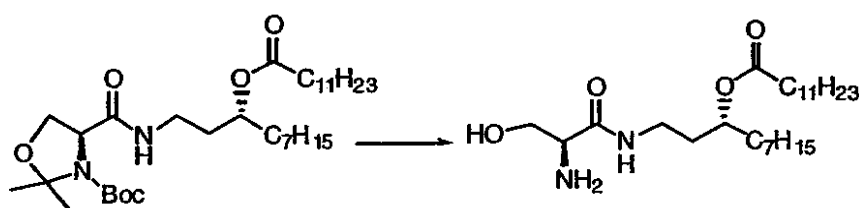


0 にて、塩化メチレン（2 mL）中のアミン（0.188 g）および保護 L セリン（0.150 g）の攪拌溶液に EDC（0.152 g）、続いて DMAP（0.006 g）を添加した。16 時間攪拌した後、反応物を常法により仕上げ処理し、シリカゲルクロマトグラフィーを用いて精製して、0.292 g の所望のアミドを得た。

10

【0 2 4 0】

【化 1 5 4】



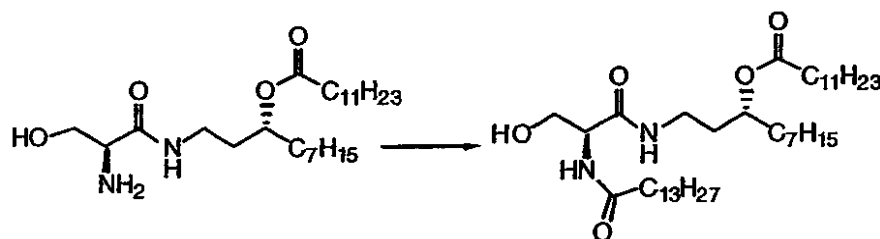
20

室温にて、メタノール（7 mL）中のアミド（0.292 g）の攪拌溶液にパラ トル エンスルホン酸（0.70 g）を添加した。4 時間攪拌した後、飽和重炭酸ナトリウムを用いて反応を仕上げ処理し、続いて、常法により抽出し、濃縮した。室温にて、塩化メチレン（7 mL）中の粗製中間体の攪拌溶液にトリエチルシラン（1.2 mL）を添加し、続いて、トリフルオロ酢酸（2.1 mL）を添加した。1 時間攪拌した後、反応混合物を常法により仕上げ処理し、シリカゲルクロマトグラフィーを用いて精製して、0.170 g の所望のアミノアルコールを得た。

【0 2 4 1】

【化 1 5 5】

30

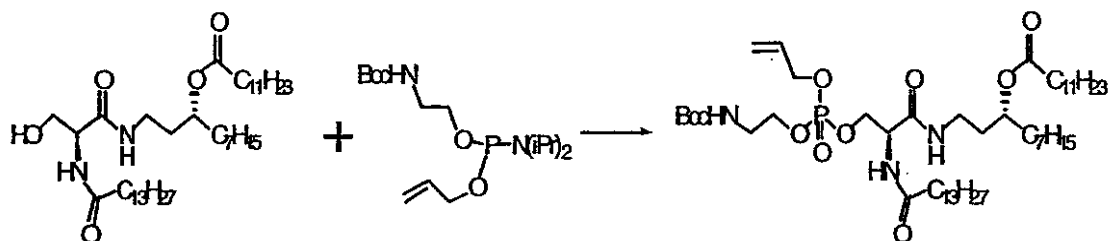


室温にて、THF（4 mL）中のアミノアルコール（0.170 g）の攪拌溶液に飽和重炭酸ナトリウム（4 mL）、続いて塩化ミリストイル（0.114 mL）を添加した。3 時間攪拌した後、反応混合物を常法により仕上げ処理し、シリカゲルクロマトグラフィーを用いて精製して、0.244 g の所望のアルコールを得た。

40

【0 2 4 2】

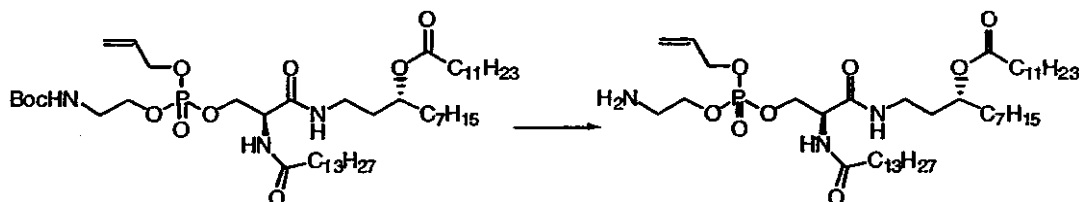
【化 1 5 6】



室温にて、塩化メチレン（4 mL）中のアルコール（0.256 g）の攪拌溶液にテトラゾール（0.069 g）、続いて、リン酸化試薬（0.163 g）を添加した。30分間攪拌した後、テトラゾール（0.065 g）およびリン酸化試薬（0.165 g）を添加した。反応混合物をさらに1時間攪拌し、次いで、反応混合物を、0℃にて、THF（4 mL）および水（4 mL）中のオキソン（0.601 g）の攪拌懸濁液に注いだ。室温にてさらに16時間攪拌した後、反応物を常法により仕上げ処理し、シリカゲルクロマトグラフィーを用いて精製して、0.40 gの所望の保護アミノリン酸塩を得た。

【0 2 4 3】

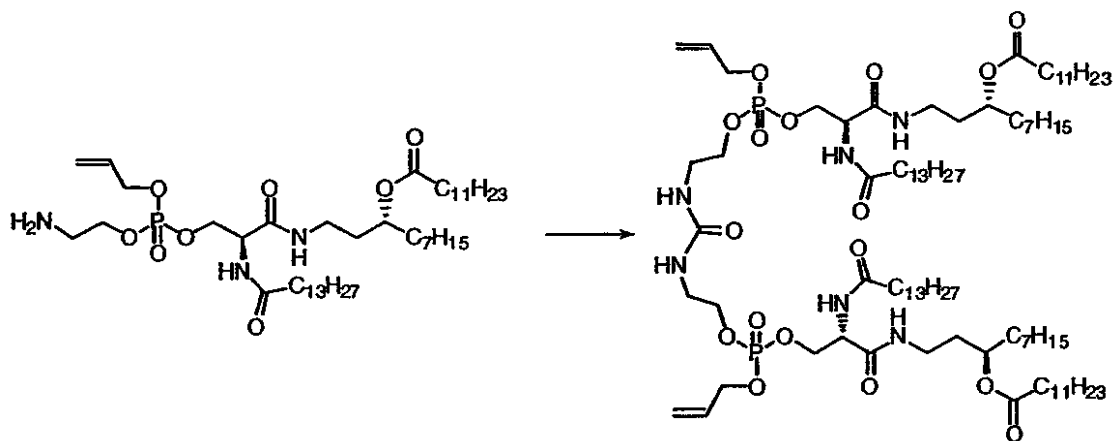
【化 1 5 7】



室温にて、塩化メチレン（4 mL）中の保護アミノリン酸塩（0.400 g）の攪拌溶液にトリエチルシラン（0.21 mL）、続いて、トリフルオロ酢酸（0.34 mL）を添加した。2時間攪拌した後、反応混合物を常法にて仕上げ処理して、所望の粗製アミンを得た。

【0 2 4 4】

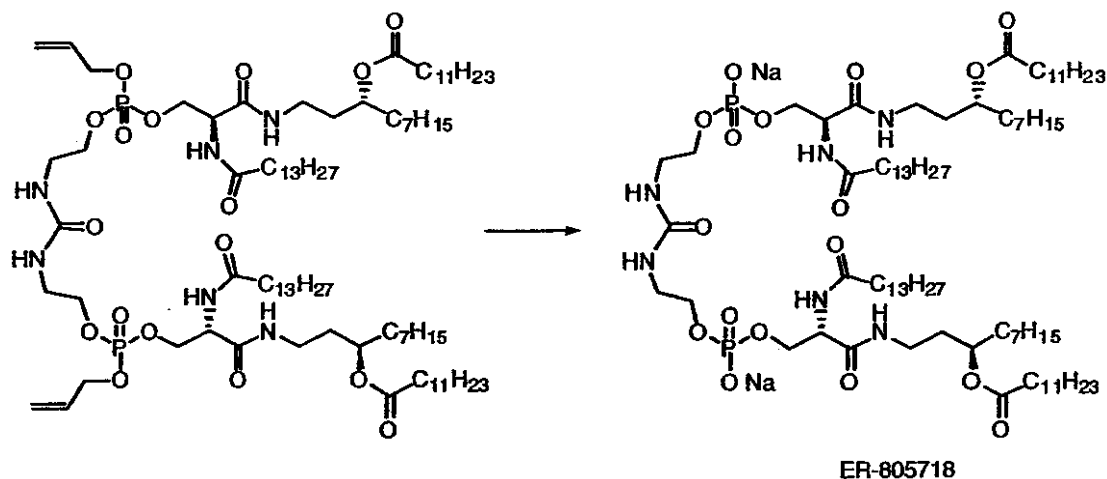
【化 1 5 8】



室温にて、THF（3 mL）中の該粗製アミンの攪拌溶液に飽和重炭酸ナトリウム（3 mL）を添加し、続いて、トルエン（0.115 mL）中の20%ホスゲンを滴下した。室温にて16時間攪拌した後、反応物を常法にて仕上げ処理し、シリカゲルクロマトグラフィーを用いて精製して、0.081 gの所望の尿素を得た。

【0 2 4 5】

【化 1 5 9】



10

0 にて、脱気したクロロホルム (2 mL) 中の該尿素 (0.081 g) の攪拌溶液にフェニルシラン (0.044 mL)、続いて、テトラキス(トルフェニルホスフィン)パラジウム (0) (0.115 mL) を添加した。1 時間攪拌した後、反応物を常法により仕上げ処理し、DEAE セルロースイオン交換クロマトグラフィー、次いで、シリカゲルクロマトグラフィー、続いて、SP セファデックスカチオン交換を用いて精製して、0.054 g の ER 805718 を得た。

20

【0 2 4 6】

リン酸塩トリエステルアナログ (式 II) についての反応スキーム

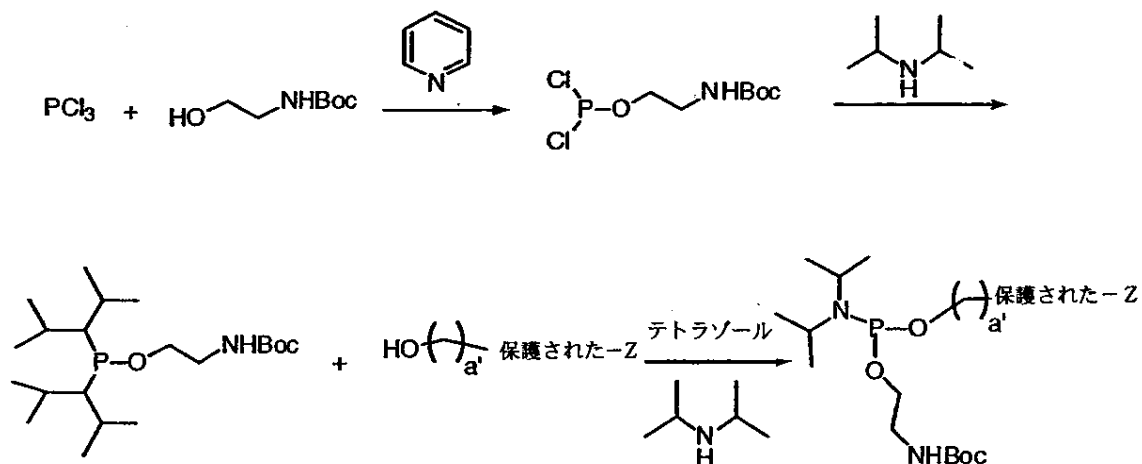
当業者であれば、リストされた新しい構造を取り込むリン酸化試薬 11 を変化させることによって、式 II に描かれたリン酸塩トリエステルアナログの調製を容易に思い浮かべることができる。後記スキームに例示するごとく、アリル - 保護基を適当に機能性化された置換基で置き換えると、通常の合成プロセスによって所望の構造が供される。一般に、ピリジンの存在下で N - Boc - 1 - アミノ - 2 - エタノールを三塩化リンに添加することによって、改変されたリン酸化試薬が段階的に調製される。ジクロロホスホリルモノエ

ステルを活性化されたビス(ジイソプロピルアミド)に変換した後、テトラゾール存在下において適切に機能性化されたアルコールを添加して、所望の保護された機能性またはその前駆体が供される。次いで、改変されたリン酸化試薬を、一般的な実験で記載した元のリン酸化試薬 11 の代わりに用いる。典型的な合成経路で用いるアリル基の脱保護の代わりに、構造に一体化された新しい機能性を、当業者に利用可能な方法によって脱保護して、リストした別の所望の生成物が得られる。

30

【0 2 4 7】

【化 1 6 0】



10

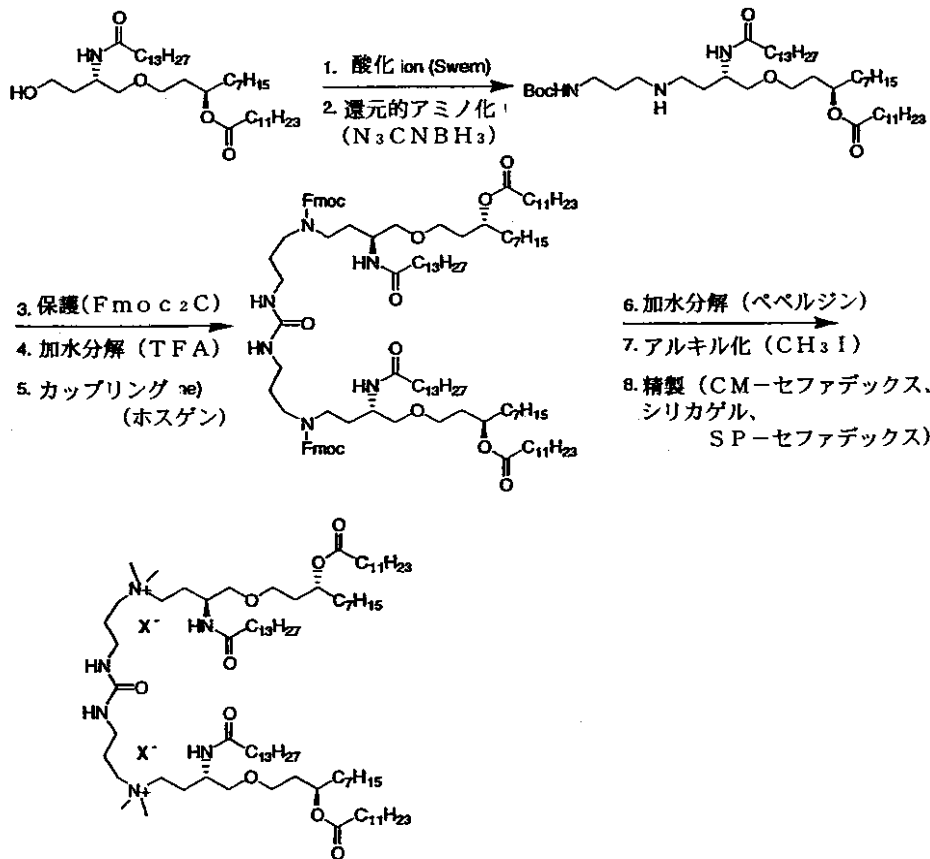
#### 第四級アミンアナログ（式 I I I）についての反応スキーム

当業者であれば、第四級アミン化合物の調製を容易に思い描くことができる。以下のスキームに例示されるごとく、アルコールのアルデヒドへの酸化、適当に機能性化されたアミンでの還元的アミノ化、続いての、Fmocのごとき保護基での結果としての第二級アミンの保護により、所望の保護された中間体が供される。第一級アミン上のBoc-基の選択的脱保護、続いての、ホスゲンのごとき適当なリンカーとの縮合により、保護されたダイマーが供される。最終の所望の生成物は、第二級アミンの脱保護、続いての、ヨウ化メチルのごとき単純なハロゲン化アルキルの存在下におけるアミンのジアルキル化によって生じさせることができる。該生成物は、先の実験で記載したごとく、溶離対イオンのごとき希塩酸を用いるCM-セファデックスを使用するカチオン交換クロマトグラフィー、続いての、シリカゲルクロマトグラフィー、次いで、同様の溶出溶媒を用いる適切なアニオン対イオンを含むSP-セファデックスでのアニオン交換によって精製される。

20

【0 2 4 8】

## 【化 1 6 1】



10

20

## 生物学的実施例

## 実施例 7：サイトカインの誘導（インビトロ）

## A．ヒト全血におけるアッセイ

単球 / マクロファージに対する化合物の活性をテストするための最も容易に利用できるヒト系は全血におけるものである。本発明の種々の濃度の化合物を  $50 \mu l$  の  $Ca^{++}$ 、 $Mg^{++}$  遊離ハンス平衡塩溶液 (HBSS) 中の  $10 \times$  ストックとして加え、続いて、 $500 \mu l$  / ウェル (全血の最終濃度は  $80\%$  であった) の合計容量にて、正常なボランティア (18 ないし 51 歳;  $110 - 230$  ポンド) から得られた  $400 \mu l$  のヘパリン処理全血に入れた  $50 \mu l$  の HBSS をプラスチックアッセイプレートのウェルに加えた。 $5\% CO_2$  雰囲気中で  $37^\circ C$  にて軽く震盪しつつの 3 時間のインキュベーションの後に、アッセイプレートを  $4^\circ C$  にて 10 分間、 $1000 \times g$  において遠心し、血漿を吸出し、 $-80^\circ C$  にて凍結した。血漿試料を TNF- $\alpha$ 、IL-10、および IL-12 につき ELISA (Genzyme Corp., Cambridge, MA) によって分析した。各アッセイ点は三連でテストした。

30

## 【0249】

40

図 1 に示すごとく、100、184 および 186 などの化合物は血液で生じた細胞を刺激して、TNF- $\alpha$  を放出させる。この刺激活性は、同一アッセイにおいて同様のインキュベーションで存在させる  $10 ng/ml$  エンドトキシン (または LPS) のそれと比較することができる。表 1 に示すごとく、( $10 \mu M$  でテストした) 化合物の活性は、(化合物 110 のような) 不活性から、LPS 標準よりも大きな活性を示す化合物までの範囲である。

## 【0250】

## B．培養されたヒト細胞系

本発明の化合物を細胞 - 培養モデルでテストすると、同様の結果を得ることができる。このアッセイでは、本発明の化合物は、Gotoら、Molecular Pharma

50

c o l o g y 49 ; 860 - 873 ( 1996 ) に詳細に記載されているごとく、T N F - プロモーターの制御下で分泌されたアルカリ性ホスファターゼについての遺伝子でトランスフェクトされたT H P - 1細胞からのアルカリ性ホスファターゼの分泌を刺激するそれらの能力についてテストする。しかしながら、このアッセイでは、血清を除去する効果<sup>1</sup> - 皮下環境を最も模倣するような条件 - を評価することができる。図2に示し、表1に記載するごとく、これらのアッセイからの結果は、本発明の化合物が、血清の不存在ならびに存在下で細胞に加えた場合に、T N F - プロモーターの制御下で遺伝子の誘導を刺激することを示す。

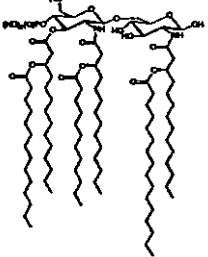
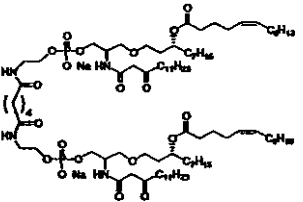
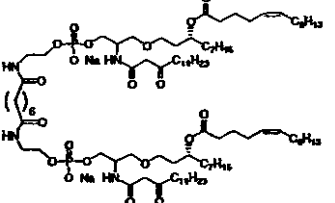
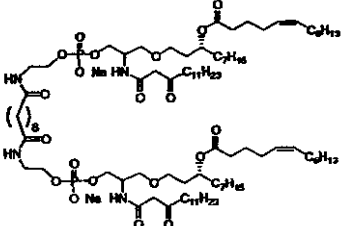
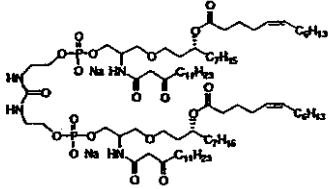
【 0 2 5 1 】

<sup>1</sup>これは、リポ多糖結合蛋白質のごとき血清成分が薬物活性に必要であるかを決定するのに重要である。

【 0 2 5 2 】

【表 1】

表 1 インビトロにおける化合物によるサイトカイン放出の刺激

ER#	化合物	全血 (10 $\mu$ M に おける LPS の%)	THP-1 細胞刺激 (10 $\mu$ M に おける化合物 100 の%) <sup>(1)</sup>	
			+ 血清	- 血清
	MPL 標準 	29 <sup>(2)</sup>		
112022		131 $\pm$ 10.2 (n=6)		
111230			49	
111231			17	
111232		158	155	225

10

20

30

40

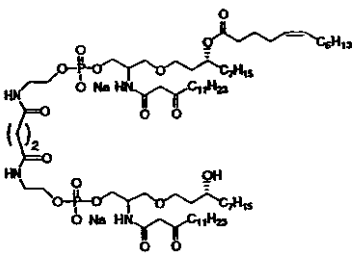
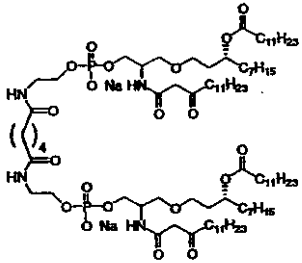
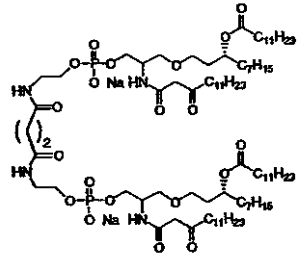
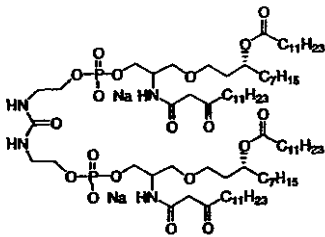
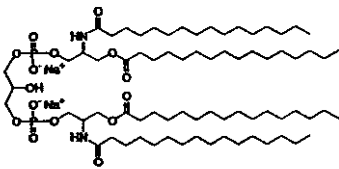
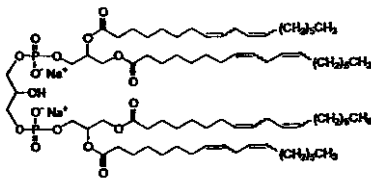
111233		141	
112043		0	
112044		0	
112047		0	
112048		24	
112049		0	

10

20

30

40

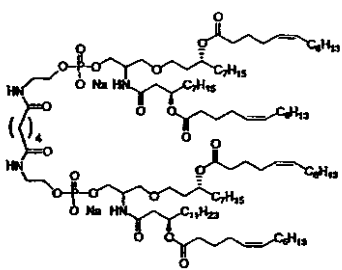
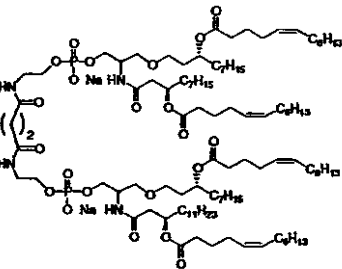
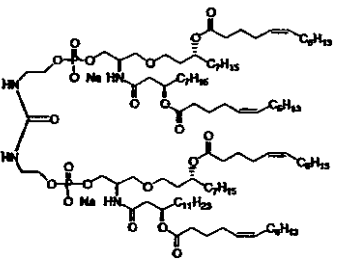
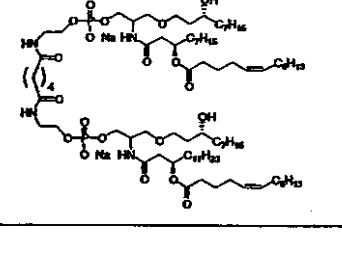
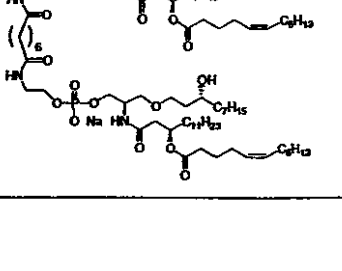
112063		0		
112064			50	
112065			86	
112066		162	330	
112071		0		
112072		0		

10

20

30

40

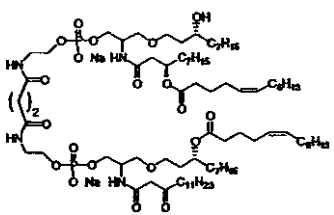
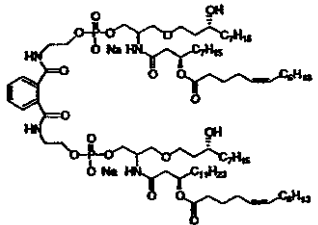
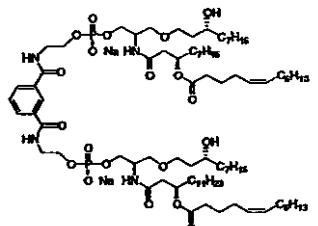
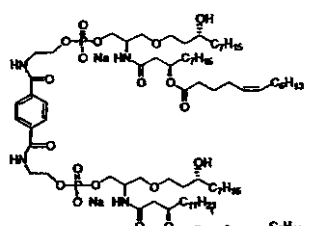
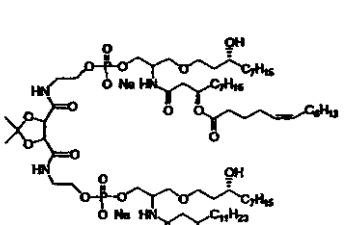
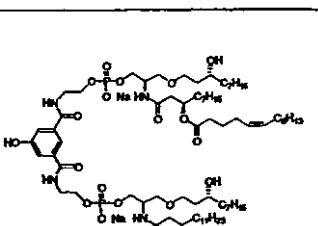
112091		0		
112092		0		
112093		0		
112098		0		
112049		0		

10

20

30

40

112100		0		
112859		0		
112860		0		
112861		0		
113634		0		
113635		0		

10

20

30

40

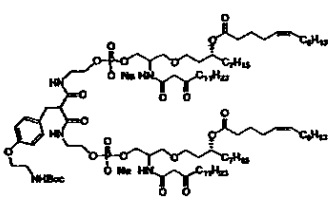
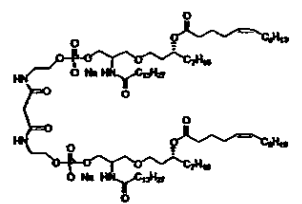
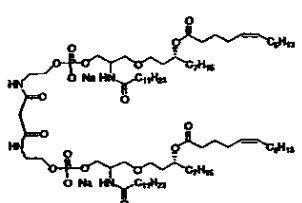
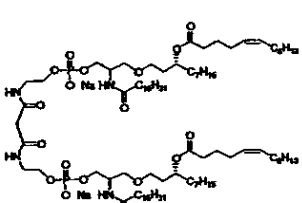
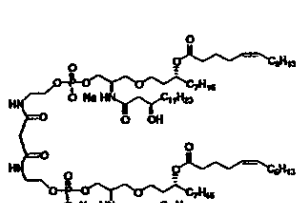
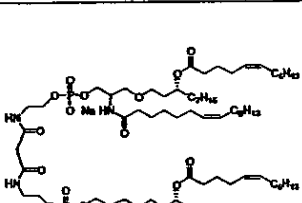
113643		0		
113644		0		
113651		$133 \pm 4.4$ (n=4)	215	254
113665				
113666				
118023		63		

10

20

30

40

019772		69		
118989		159		
118999		105		
119000		60		
119001		113		
118949		138		

10

20

30

40

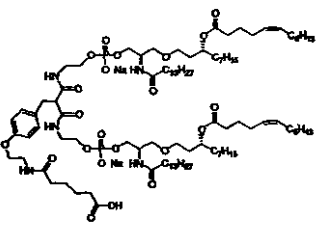
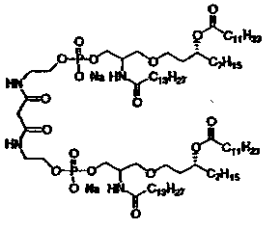
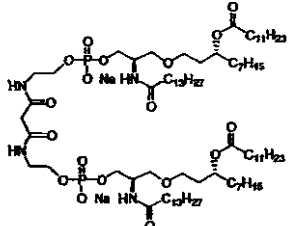
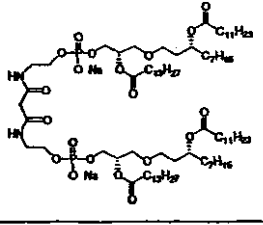
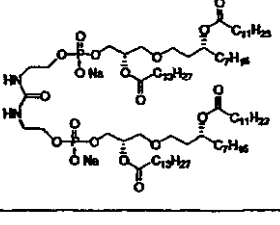
119327		165±33 (n=3)		
119328		181±42 (n=3)		
119329		2±2 (n=2)		
119521		103		
119522		129		
119523		176		
803022		164		

10

20

30

40

803045		65		
803056		151 ± 42		
803058		149 ± 37 (n=2)		
803059		2		
803592		15		

(1) 各アッセイにおける応答は、典型的には、基礎よりはTNF - PLAP発現の2ないし3倍増加を誘導した10 μM化合物100内部標準と比較した。

(2) 5.8 μMにおいてテストした。

#### C. ネズミ脾臓細胞

脾臓細胞からのサイトカイン放出を刺激する化合物の能力は、マウスモデルで評価することができる。C57BL/6マウスから収穫した脾臓細胞を、5% FBS、1 mM ビルビン酸ナトリウム、2 mM のL-グルタミン、100 U/ml ペニシリン/ストレプトマイシンおよび50 μM -メルカプトエタノール、種々の濃度のテスト化合物を含有するRPMI 1640細胞培養基中で24時間培養し、しかる後、細胞培養上澄みをサイトカインの存在につきテストする。

#### 【0253】

マウスから収穫した脾臓細胞をテスト化合物と共に24時間培養し、上澄みをサイトカ

10

20

30

40

50

インの放出につきテストした。図3および4に示すごとく、脾臓細胞からのIL-10およびインターフェロン-ガンマのごときサイトカインの放出は104、106、124、160および162などの化合物によって刺激される。

#### 【0254】

これらのアッセイは、脾臓に由来する細胞の不均一集団を利用した。これは、細胞に対するテスト化合物の直接的効果によって、かつ1つのタイプの細胞によるサイトカインの放出が同一培地に存在する他の細胞における他のサイトカインの放出を誘導することができるサイトカイン「カスケード」のより間接的な刺激を介してサイトカイン誘導を引き起こすことができるのを可能とする。このサイトカイン「環境」は、この健全な免疫応答の一部を担う可能性がある。

10

#### 実施例8：抗体応答のインビボ誘導

アジュバント活性の最も臨界的なテストは、抗原調製物への化合物の添加が、生きた動物に投与された場合にその抗原に対して生じた抗体のレベルを上昇させることによって免疫応答を増加させるかの判断である。

初期実験は、本発明の化合物+キーホールリンペットヘモシアニンのような担体に結合したペプチドでのマウス(Balb/c)注射を含むものであった。これらの実験のために選択されたペプチドは、HIV IIIB gp120蛋白質のV3ループのアミノ酸308-322に対応するペプチド(P18)である。HIV IIIB gp120蛋白質のV3ループのアミノ酸308-322に対応するP18 21aaペプチドは免疫原生であると報告されている。グリシン/アラニン/グリシンスペーサー残基+アミノ末端システイン残基を持つこのペプチドはGenosys(Woodlands TX)によって合成された。該ペプチドの配列は以下の通りである：CGAGIRIQRGPRAFVTIGKG、下線を施したアミノ酸は天然配列を示す。該ペプチドは供給業者によってHPLCを用いて>80%純度まで単離された。このペプチドは、マレイミド活性化コンジュゲーション(Pierce Immunochemical; カタログ番号77107)を用いて、システイン残基を介して、ウシ血清アルブミン(BSA)およびキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)にカップリングされた。該KLHコンジュゲートドペプチドは、免疫原として用い、BSAコンジュゲートはPI 1特異的抗体につ

いてのスクリーニング標的抗原として用いた。示された量のKLH-P18コンジュゲートを300μgのテスト化合物と共にルーチンの用い、ミョウバンまたはPBSを(示すごとく)2ないし3週間間隔で、ほぼ6ないし8週齢(18ないし25g)の雄Balb/cマウス(Charles River Laboratories)に注射した。全ての注射は、PBS中の抗原+アジュバントの200μlの混合物を用いて、首の裏側の皮下になすもので、合計して3つの注射につき2週間毎に投与した(多糖またはインフルエンザにつき3週間)。第2および第3の注射から1または2週間後にマウスから血液を採取した。試料採血はいつ採取したかに関して命名される(すなわち、二次採血は第2の蛋白質注射から1週間後または第2の多糖注射から2週間後であり、三次採血は抗原/アジュバントの第3の注射後である)。血液は尾静脈に刻みを入れた後に収集し、Becton Dickinsonブランドのマикроテイナ血清セパレーターチューブに血液液滴を収集した。血清はミクロ遠心によって赤血球から分離し、ELISAによって抗原特異的IgGレベルにつきテストした。

20

30

40

#### 【0255】

該ペプチドに対する免疫応答は、ウシ血清アルブミン(P18-BSA)のごときもう1つの非-交差反応性蛋白質に結合され、ELISAプレートにコートされたP18ペプチドに結合する血清抗体のレベルを定量することができる酵素結合免疫ソルベント検定法(ELISA)によってテストすることができる。

#### 【0256】

図5および表2および3に示すごとく、KLH-P18抗原と共に種々の化合物を注射

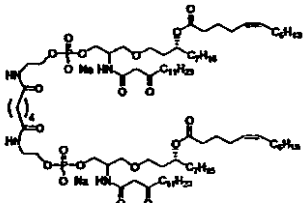
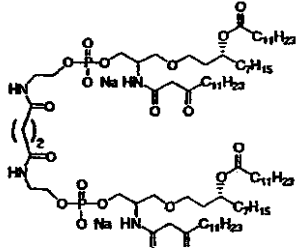
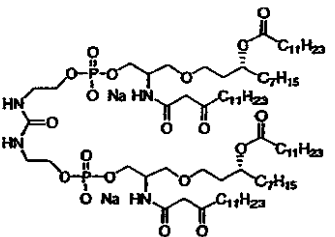
50

したマウスは、P 1 8 - K L H ペプチドコンジュゲート単独を注射したものよりも大きな応答（抗体のより高いレベル）を示した。

【 0 2 5 7 】

【 表 2 】

表 2 化合物による P 1 8 ペプチドに対する抗体生成の刺激

ER #	化合物	平均血清抗-P 1 8 I g G 濃度 <sup>1</sup> (アジュバント無しからの増加倍数)
112022	112022 	6.7
112065	112065 	19.4
112066	112066 	39.2

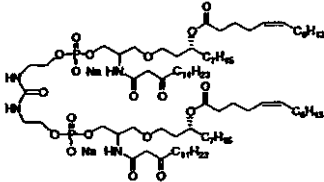
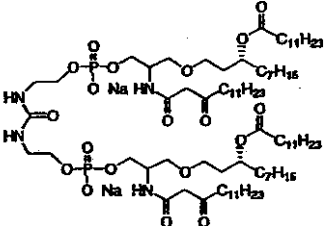
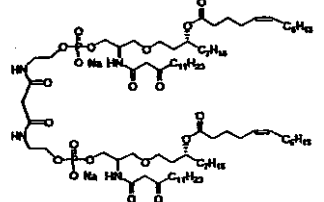
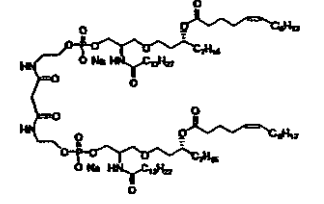
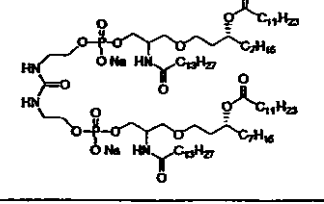
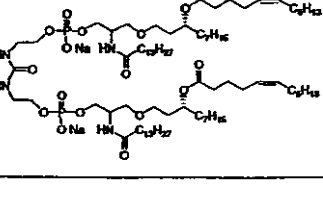
<sup>1</sup> 三次採血においてアッセイした I g G の濃度

方法セクションに記載したごとく、300 μg 化合物および 5 μg K L H - P 1 8 コンジュゲート抗原を注射した 5 匹のマウスからの血清についての平均 I g G。抗原特異的 E L I S A は、P B S 中の 5 μg / m l B S A - P 1 8 をコートした C o s t a r E I A / R I A プレートを用いて方法セクションに記載したように行った。

【 0 2 5 8 】

【表 3】

表 3 化合物による P 1 8 ペプチドに対する抗体生成の刺激

化合物 #	化合物	平均血清抗-P 1 8 I g G 濃度 <sup>1</sup> (アジュバント無しからの増加倍数)
111232	111232 	7.6
112066	112066 	13.4*
113651	113651 	10.5*
118989	118989 	4.35*
119327	119327 	16.5*
119328	119328 	26.8*

<sup>1</sup> 三次採血においてアッセイした I g G の濃度。方法セクションに記載したように、300 μg 化合物および抗原（後記）を注射した 5 匹のマウスからの血清についての平均 I g G。抗原特異的 E L I S A は、P B S 中の 50 μl の 5 μg / ml B S A - P 1 8 コン

10

20

30

40

50

ジュゲートをコートしたC o s t a r E I A / R I Aプレートを用いて、方法セクションに記載したごとく行った。比較として、ミョウバンの添加は、I g GレベルをP B S / 抗原単独よりも7 . 4 倍増加させた。用いた抗原：一次：1  $\mu$  g K L H - コンジュゲート P 1 8 ペプチド。2 °および3 °ブースト：0 . 5  $\mu$  g K L H - コンジュゲート P 1 8 ペプチド、\* P B S + 抗原群と比較したスチューデントの両側 t - 検定（非同等偏差）により  $p < 0 . 0 5$ 。

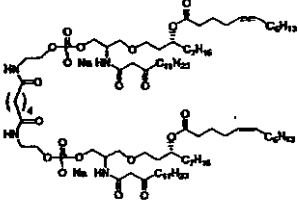
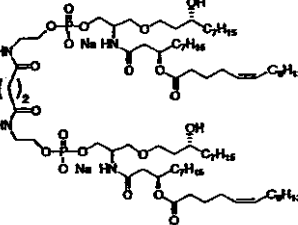
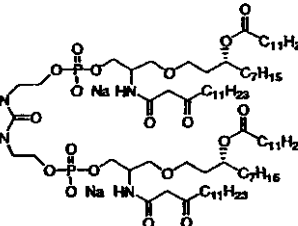
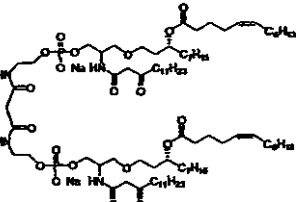
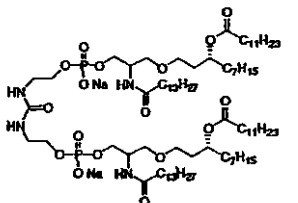
【 0 2 5 9 】

また、他の抗原でテストした場合に、アジュバント活性が本発明の化合物でも得られた。1 0 0、1 1 6、1 2 6、1 6 0、1 8 4 および 1 8 6 などの化合物は、インフルエンザ X - 3 1 抗原に対して、2 6 . 8 倍まで（表 4）、抗原 - 特異的抗体生産を刺激することができる。破傷風トキソイド（図 6）および髄膜症菌 C 多糖（表 5）を攻撃抗原として用いた場合にも、応答の増加が見られる。該アッセイにおいては、1  $\mu$  g の髄膜症菌 C P S または 1 . 5  $\mu$  g の破傷風トキソイドまたは 5  $\mu$  g のインフルエンザ X 3 1（S P A F A S 研究所）を用いた。A c c u r a t e C h e m i c a l（カタログ番号 s s t e t t o x）からの破傷風トキソイドを攻撃抗原として用い、他方、L i s t . B i o l o g i c a l s（カタログ番号 1 9 1）からの精製されたトキソイドを E L I S A アッセイについての標的抗原として用いた。

【 0 2 6 0 】

【表 4】

表 4 化合物によるインフルエンザ X 3 1 に対する抗体生成の刺激

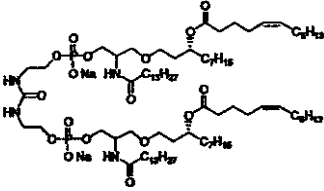
ER #	化合物	平均血清抗-インフルエンザ X 3 1 濃度 <sup>1</sup> (アジュバント無しからの増加倍数)
112022	112022 	1.7
112048	112048 	5.4
112066	112066 	2.3
113651	113651 	1
119327	119327 	7.85

10

20

30

40

119328	<div data-bbox="485 185 563 215" data-label="Text">119328</div> 	26.8
--------	---	------

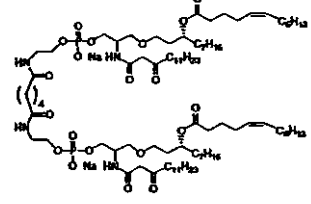
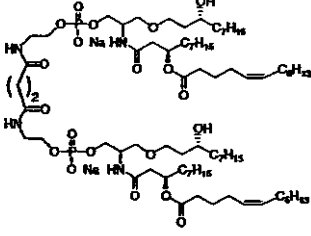
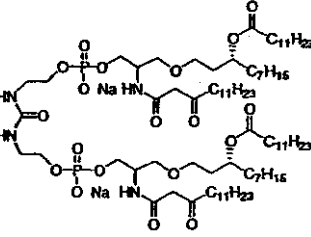
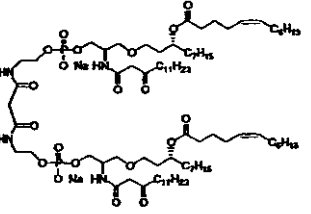
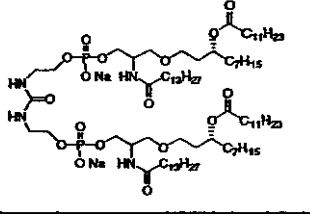
<sup>1</sup>三次採血においてアッセイした I g G の濃度

方法セクションにおいて記載したように、300 μg 化合物および 5 μg 抗原を注射した 5 匹のマウスからの血清についての平均 I g G。抗原特異的 E L I S A は、0.5 M 炭酸ナトリウム緩衝液 (pH 9.6) 中で、50 μl の 10 μg / ml インフルエンザ X - 31 抗原をコートした C o s t a r E I A / R I A プレートを用い、方法セクションに記載したように実行した。比較として、ミョウバンの添加は P B S / 抗原単独よりも I g G レベルを 3.5 倍増加させた。

【0261】

【表5】

表5 化合物による髄膜炎菌多糖に対する抗原生成の刺激

ER #	化合物	平均血清抗-髄膜炎菌多糖 P S I g G濃度 <sup>1</sup> (アジュバント無しからの増加倍数)
112022	112022 	8.3
112048	112048 	1.8
112066	112066 	12.9
113651	113651 	18.3
119327	119327 	15.8

<sup>1</sup> 二次採血においてアッセイした I g G の濃度

方法セクションにおいて記載したように、300 μg 化合物および 1 μg 抗原を注射した 5 匹のマウスからの血清についての平均 I g G。抗原特異的 E L I S A は、G h e e s l i n g ら、J . C l i n . M i c r o b i o l . 3 2 ; 1 4 7 5 - 8 2 ( 1 9 9 4 ) に記載されるように P B S + メチル化したヒトの血清アルブミン中で、50 μl の 5 μg / ml 髄膜炎菌 P S をコートした C o s t a r E I A / R I A プレートを用い、方法セクションに記載したように実行した。比較として、ミョウバンの添加は P B S / 抗原単独よりも I g G レベルを 2 . 3 倍増加させた。

10

20

30

40

50

インフルエンザウイルスX-31はSPAFAS (Storrs, CT) から購入し、供給業者によって、不活化され、不活性であることが確認されている [Payneら, Vaccine 16; 92-98 (1998)]。髄膜炎菌C多糖 (PS) はPasteur Merieux Connaught (Swiftwater PA) によって供給された。メチル化ヒトアルブミンは、Gheeslingら, J. Clin Microbiol. 32; 1475-82 (1994) によって記載されている方法に従って得ることができる。

#### 【0262】

抗原/アジュバント混合物の調製では、凍結乾燥されたテスト化合物をリン酸緩衝化生理食塩水 (PBS; カタログ番号P-3813; Sigma Chemical Co, St Louis MO) で2mg/mlまで復元し、冷却した水浴中で2分間音波処理した。モノホスホリル脂質A、MPL (Ribi Immunochemical) は注射用滅菌水で2mg/mlまで復元し、50℃にて15分間インキュベートし、次いで、前記したごとく音波処理した。Pierce Immunochemicalから購入したImject<sup>®</sup>ミョウバンは製造業者のガイドラインに従って用い、それは、注射容量のほぼ20ないし30%を構成した。PBSに希釈した示した量の抗原を、化合物またはMPLの最終濃度が200µl注射容量中で (特に断りのない限り) 300µgとなるように化合物、MPLまたはミョウバンと混合した。注射に先立ち、混合物は、連続的に震盪しつつ、室温にて40分間インキュベートした。

#### 【0263】

抗原特異的IgGレベルは、抗原を96ウェルCostar EIA/RIAプレートに受動的にコートした直接的ELISAによってモニターした。プレートは示した抗原の50µl/ウェルでコートし、4℃にて一晚 (ON) インキュベートし、自動プレート洗浄器中でPBS+0.05% Tween 20 (PBS-t) で3回洗浄した。次いで、室温 (RT) にて、プレートをPBS中の20µl/ウェルの0.5%ゼラチンで1時間ブロックし、PBS-tで3回洗浄した。マウス血清をPBS-t+0.3% BSA中で希釈し、100µlの種々の希釈物を、二連にて、抗原をコートしたウェル (または対照としてのBSAコートウェル) に添加し、RTにて1時間インキュベートし、再度、PBS-tで3回洗浄した。ピオチニル化ヤギ抗マウスIgG (Southern Biotechnology Associates Inc., Birmingham AL, カタログ番号1031-08) をPBS-t中で1:5000希釈し、100µl/ウェルを適用し、RTにて1時間インキュベートし、PBS-tで3回洗浄し、続いて、RTにて30分間で、PBS-t中の1:10,000ストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼコンジュゲート (Southern Biotechnology Associates Inc.) を添加し、再度、PBS-tで3回洗浄した。次いで、ウェルを100µlのTMB基質 (Kirkegaard and Perry Labs) 中で5分間インキュベートした。等容量の1Mリン酸の添加によって発色を停止させ、Deltasoftソフトウェア分析パッケージを備えたTitertek Multiscanプレートリーダーにて吸光度を450nmで読み取った。

#### 【0264】

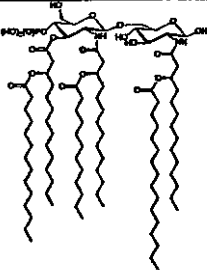
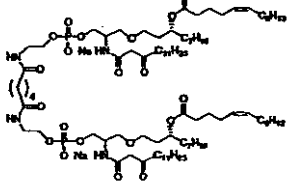
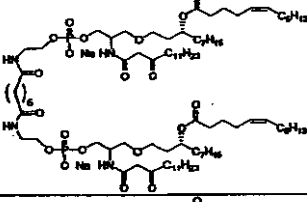
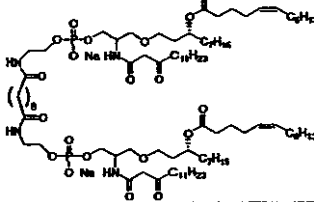
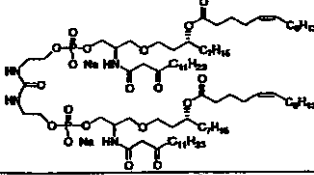
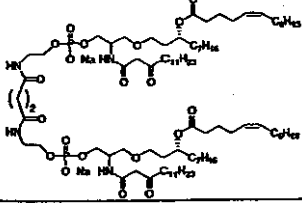
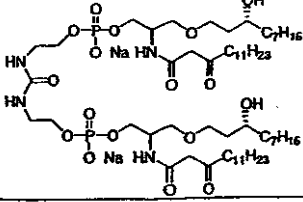
抗原特異的IgGレベルの相対的定量では、固定量の抗体により生じた色を得るのに必要な希釈を決定することによって、曲線を相互に比較した。いくつかの場合には、IgG標準曲線として既知量の精製されたIgG (Southern Biotech. から購入) を捕獲するために抗Fab特異的試薬を用いる全IgGアッセイを、BSA-P18コンジュゲートでの直接的ELISAと組み合わせて行った。抗Fab試薬は、抗体がどのようにしてFab領域を通じて抗原に結合するかと同様に精製されたIgGを方向付ける。これは、抗体の抗原特異的捕獲を測定するのに用いられる同一試薬による結合抗体の検出を可能とする。BSA-P18コンジュゲート、すなわちピオチニル化抗IgG (Fc特異的)、続いてのHRPストレプトアビジンに結合した抗体の検出で用いる同一試薬

溶液は、抗F A b全I g G定量アッセイおよび抗原特異的アッセイに同時に適用した。よって、精製されたI g G標準曲線の結合からのシグナルは、抗標的抗原アッセイで結合した同等量のI g Gに対して生じたのと同様である。次いで、血清中の抗体の量は、4パラメーター曲線フィット(D e l t a S o f t 3ソフトウェアパッケージ)を用いて、精製されたI g G標準から内挿した。

【 0 2 6 5 】

【 表 6 】

表6 10 ng/mlにおけるWB ED<sub>50</sub> vs. LPSの%

ER#	構造	WB ED <sub>50</sub> vs LPS@ 10ng/ml
MPL標準		>> 10 μm
112022		0.696 μm
111230		
111231		0.29 μm
111232		
111233		
112043		

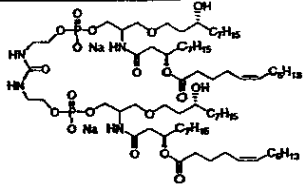
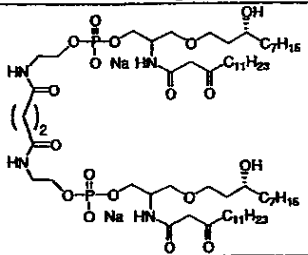
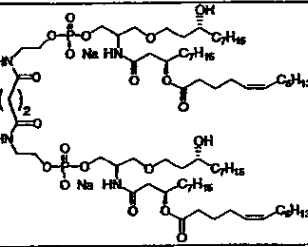
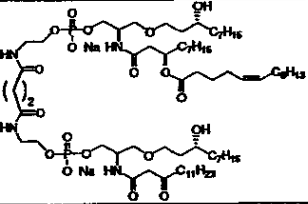
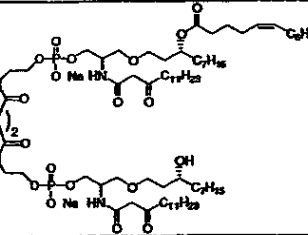
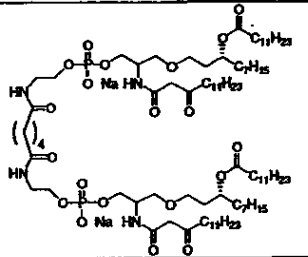
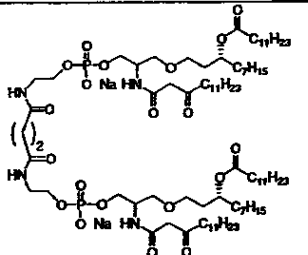
10

20

30

40

50

112044		
112047		
112048		>> 10 $\mu$ M
112049		
112063		
112064		
112065		0.25 $\mu$ M

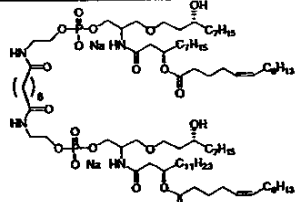
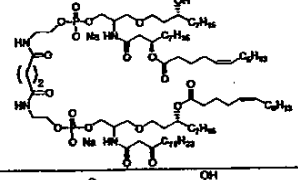
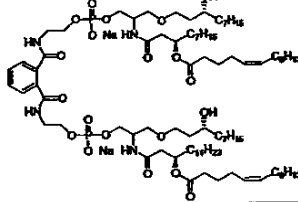
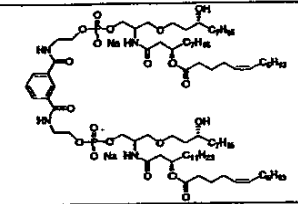
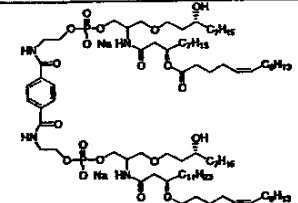
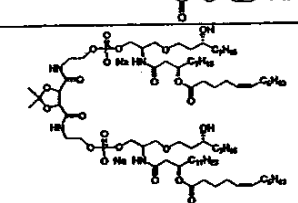
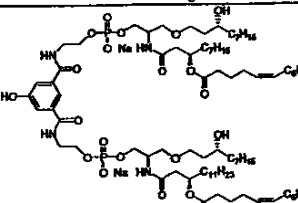
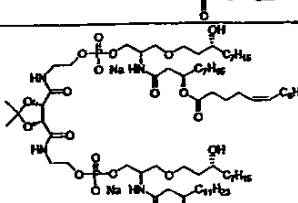
10

20

30

40



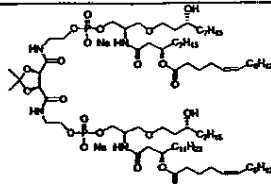
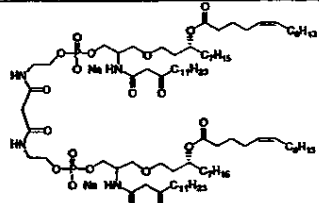
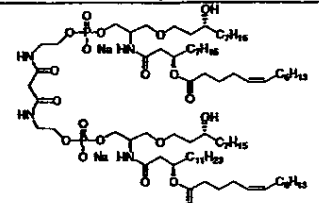
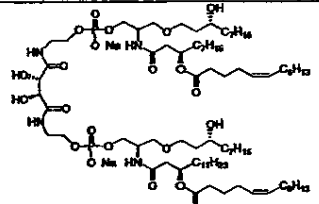
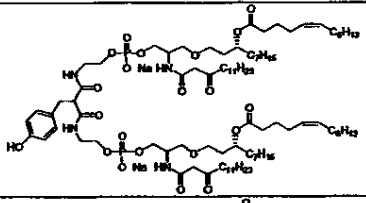
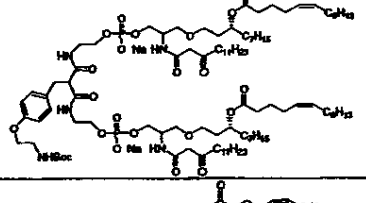
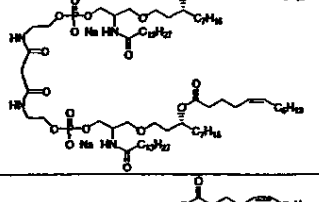
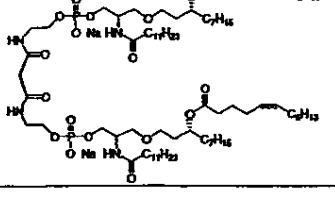
112099		
112100		
112859		
112860		
112861		
113634		
113635		
113643		

10

20

30

40

113644		
113651		0.70 $\mu$ M
113665		
113666		
118023		
019772		
118989		0.1 $\mu$ M
118999		

10

20

30

40

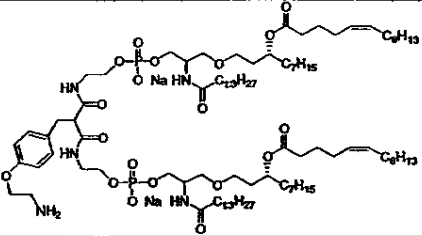
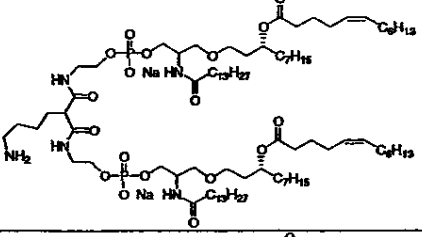
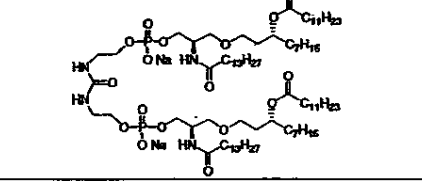
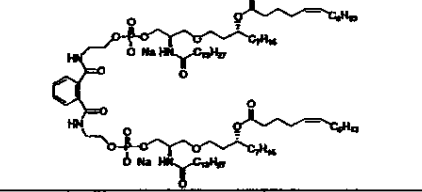
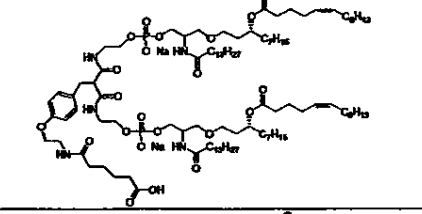
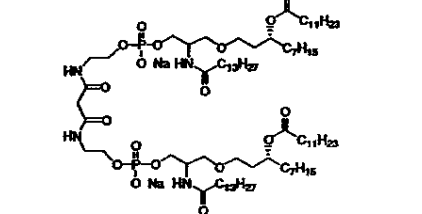
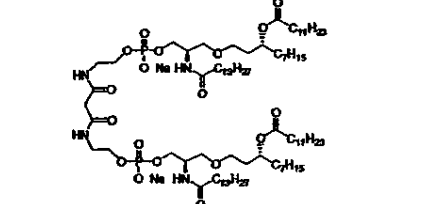
119000		
119001		1.23 $\mu$ M
118949		
119327		0.015 $\mu$ M
119328		>> 10 $\mu$ M
119329		
119521		

10

20

30

40

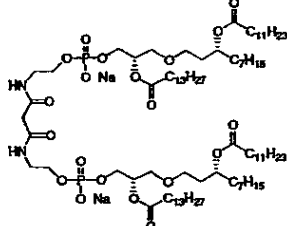
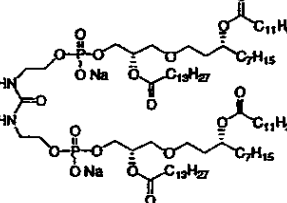
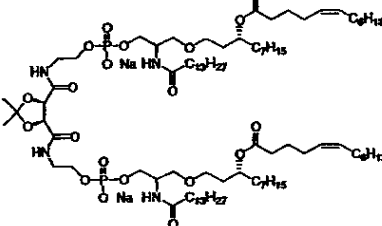
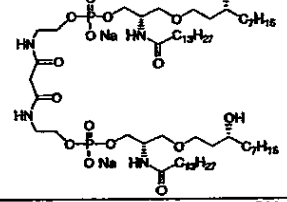
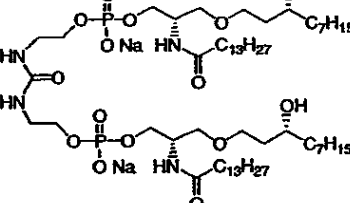
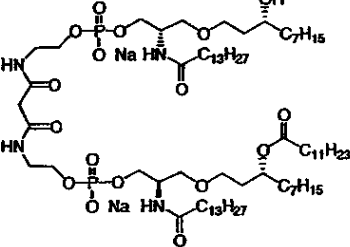
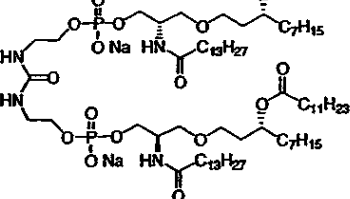
119522		
119523		
803022		0.06 $\mu$ M
803028		
803045		
803056		
803058		0.022 $\mu$ M

10

20

30

40

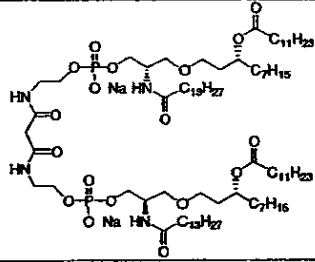
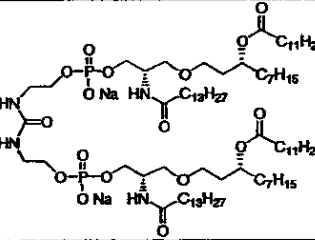
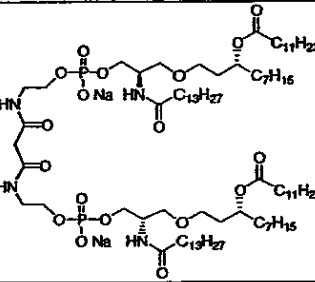
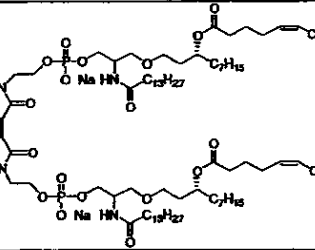
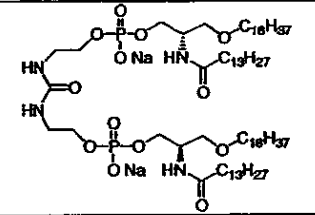
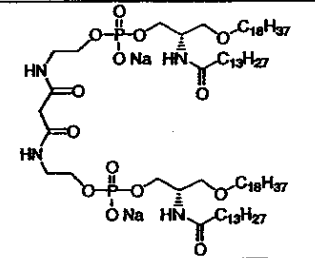
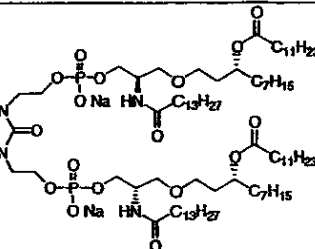
803059		0.89 $\mu$ M
803592		
803596		
803597		
803598		
803599		
803613		

10

20

30

40

803731		> 10 $\mu\text{M}$
803732		0.85 $\mu\text{M}$
803733		0.70 $\mu\text{M}$
803751		
803783		
803784		
803789		0.10 $\mu\text{M}$

10

20

30

40

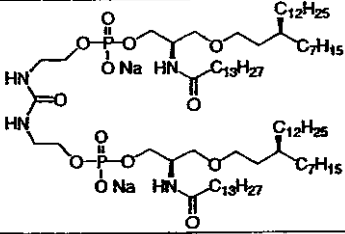
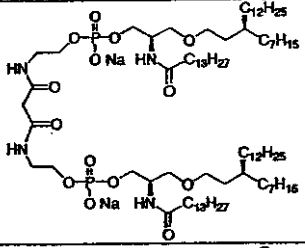
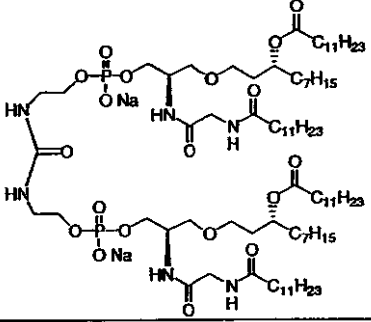
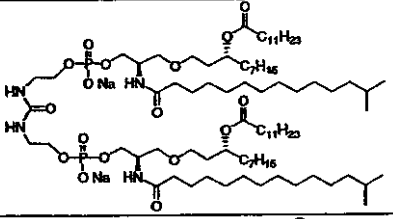
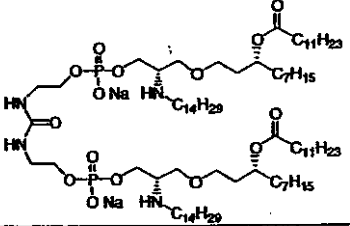
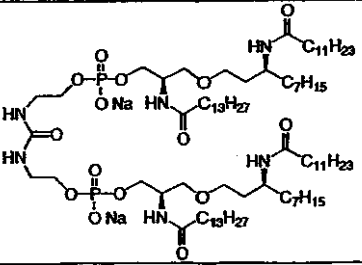
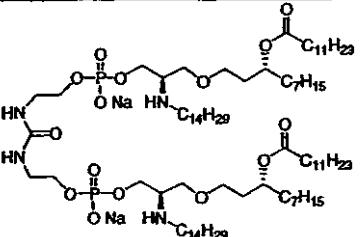
804053		1.34 $\mu\text{M}$
804057		0.008 $\mu\text{M}$
804058		0.03 $\mu\text{M}$
804059		> 10 $\mu\text{M}$
804061		2.5 $\mu\text{M}$
804097		0.3 $\mu\text{M}$

10

20

30

40

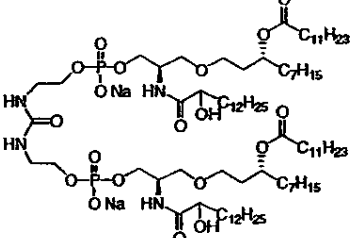
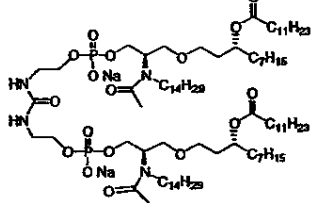
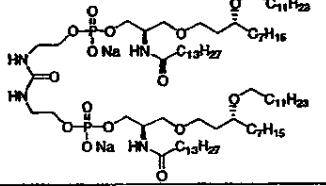
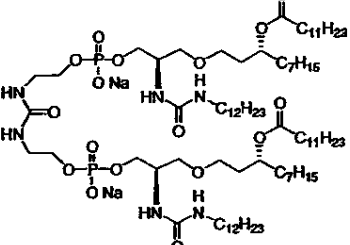
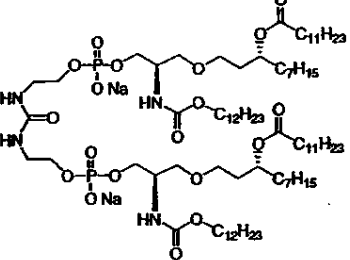
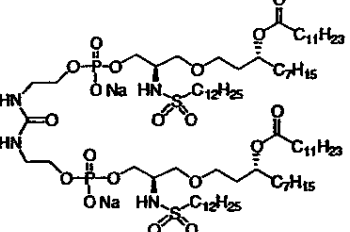
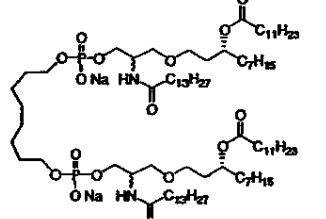
804121		0.46 $\mu$ M
804130		0.66 $\mu$ M
804221		2.2 $\mu$ M
804222		0.008 $\mu$ M
804252		400 nM (576-021) + EtOH
804253		> 10 $\mu$ M
804281		0.45 $\mu$ M

10

20

30

40

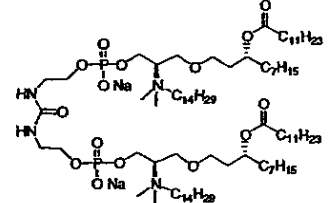
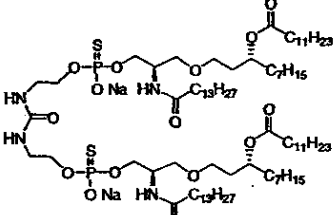
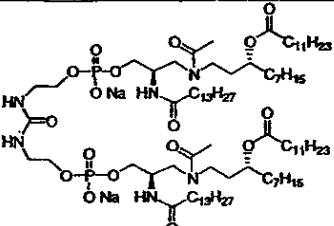
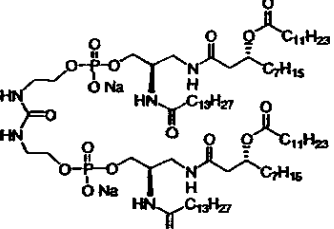
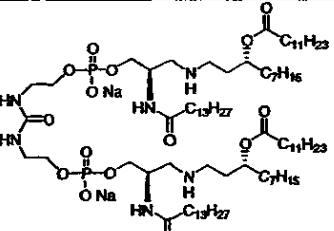
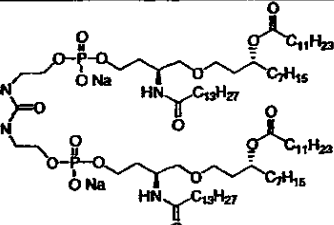
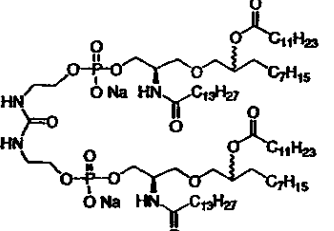
804313		0.014 $\mu$ M
804339		1.06 $\mu$ M
804372		0.4 $\mu$ M
804442		0.007 $\mu$ M
804503		0.35 $\mu$ M
804558		0.16 $\mu$ M
804596		> 10 $\mu$ M

10

20

30

40

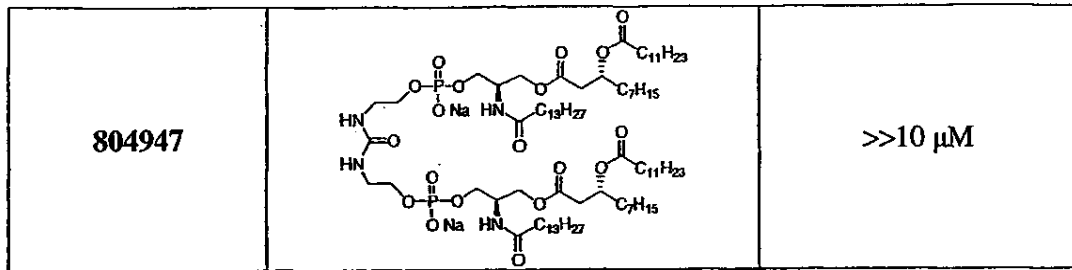
804674		1.2 $\mu\text{M}$
804678		0.018 $\mu\text{M}$
804679		0.53 $\mu\text{M}$
804680		0.015 $\mu\text{M}$
804732		<0.001 $\mu\text{M}$
804764		0.015 $\mu\text{M}$
804772		0.008 $\mu\text{M}$

10

20

30

40



以下の表 7 は、対応する E R 数に対する本明細書中で言及した化合物番号を示す。

【 0 2 6 6 】

【表 7】

表 7 E R 番号に対する化合物番号の対応性

化合物 #	ER #	化合物 #	ER #
16	112048	152	113634
31	803058	154	113635
48	803733	156	113643
50	803022	158	113644
62	803789	160	113651
72	803592	164	113665
100	112022	166	113666
102	111230	168	118023
104	111231	170	019772
106	111232	172	118989
108	111233	176	118999
110	112043	178	119000
112	112047	180	119001
114	112047	182	118949
116	112048	184	119327
118	112049	186	119328
120	112063	188	119329
122	112064	190	119521
124	112065	192	119522
126	112066	194	119523
128	112071	196	803022
130	112072	198	803045
132	112091	200	803056
134	112092	202	803058
136	112093	204	803059
138	112098	206	803592
140	112099		
142	112100		
146	112859		
148	112860		
150	112861		

【図面の簡単な説明】

【 0 2 6 7 】

【図 1】図 1 は、本発明の化合物 1 0 0、1 8 4 または 1 8 6 による T N F - サイトカイン放出の誘導についてのイン・ビトロアッセイの結果を示すグラフである。

【図 2】図 2 は、1 0 % 血清の不存在下および存在下における、化合物 1 0 6 および 1 2 6 による、T H P - 1 細胞での、T N F プロモーター ( T N F - P L A P ) を持つ誘導性

10

20

30

40

50

レポーター構築体からのアルカリ性ホスファターゼ発現の刺激を示すグラフである。

【図 3】図 3 は、本発明の化合物 104、106、124、126、160 および 162 による正常マウス脾臓細胞からの IL-10 放出の刺激を示すグラフである。

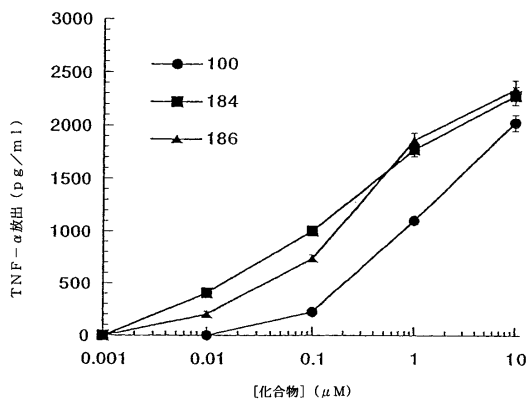
【図 4】図 4 は、本発明の化合物 104、106、124、126、160 および 162 による正常マウス脾臓細胞からのインターフェロン - ガンマ放出の刺激を示すグラフである。

【図 5】図 5 は、本発明の化合物 100、124 および 126 の不存在下および存在下における、キーホールリンペットヘモシアニンに応答して生産された抗体の量を測定するための血清滴定分析の結果を示すグラフである。

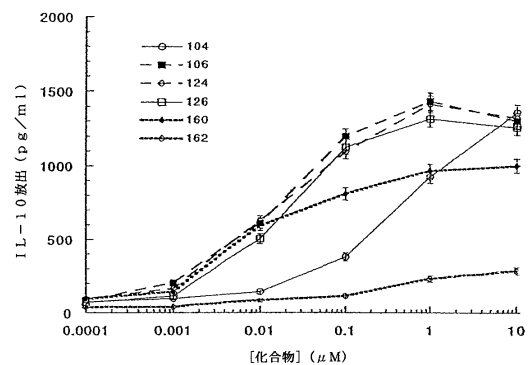
【図 6】図 6 は、本発明の化合物 100、116、126、160 および 184 の不存在下および存在下における、破傷風トキソイドに応答して生産された抗体の量を測定するための血清滴定分析の結果を示すグラフである。

10

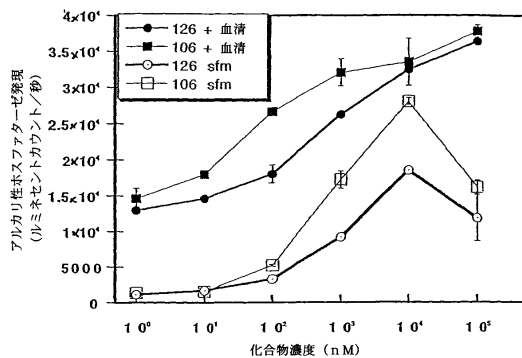
【図 1】



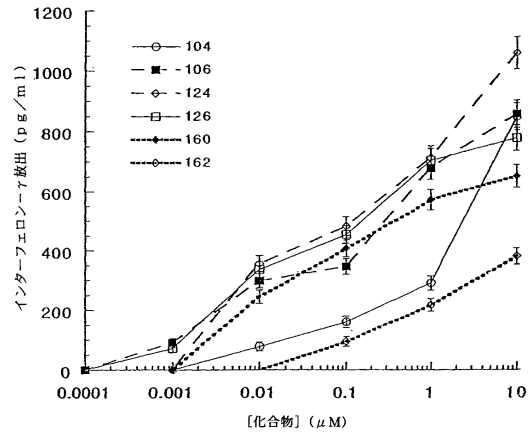
【図 3】



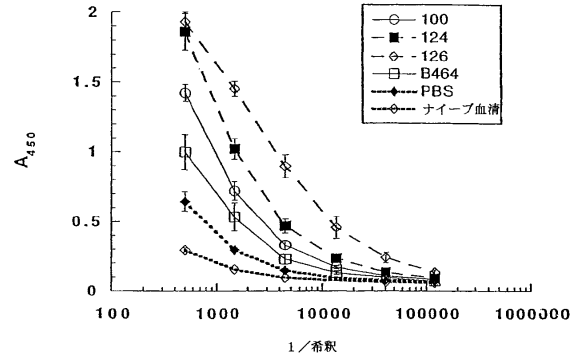
【図 2】



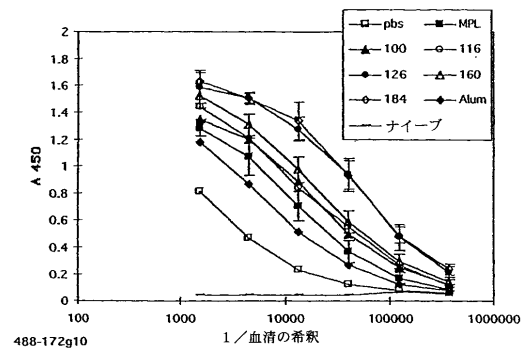
【図 4】



【図 5】



【図 6】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
A 6 1 P 37/04 (2006.01) A 6 1 P 31/18  
A 6 1 P 37/04

(72)発明者 ルイス, マイケル  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 8 1 0 , アンドバー, カスリーン ドライブ 2 5  
(72)発明者 マックギネス, パメラ  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 8 4 4 , メスエン, ドラカット ストリート 8  
(72)発明者 ローズ, ジェフリー  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 8 2 4 , ケルムスフォード, トーマス ドライブ 6  
2

審査官 藤森 知郎

(56)参考文献 国際公開第 0 0 / 0 4 4 7 5 8 ( WO , A 1 )

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07F 9/09  
A61K 39/39  
A61P 31/04  
A61P 31/16  
A61P 31/18  
A61P 37/04  
CA/REGISTRY(STN)