(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3874436号
(P3874436)
(45)発行日　平成19年1月31日(2007.1.31)　(24)登録日　平成18年11月2日(2006.11.2)

(51)Int.Cl.		F I	
C07D 263/52	(2006.01)	C07D	263/52
C07C 215/44	(2006.01)	C07C	215/44
A61K 31/423	(2006.01)	A61K	31/423
A61K 31/133	(2006.01)	A61K	31/133
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00　111

請求項の数 5　(全 29 頁)　最終頁に続く

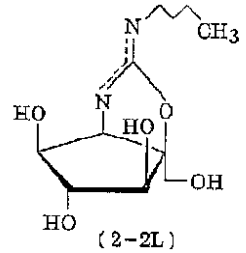
(21)出願番号　特願平7-326221
(22)出願日　平成7年11月22日(1995.11.22)
(65)公開番号　特開平8-225551
(43)公開日　平成8年9月3日(1996.9.3)
審査請求日　平成14年11月22日(2002.11.22)
(31)優先権主張番号　特願平6-311264
(32)優先日　平成6年11月22日(1994.11.22)
(33)優先権主張国　日本国(JP)

(73)特許権者　000195524
生化学工業株式会社
東京都千代田区丸の内一丁目６番１号
(74)代理人　100073874
弁理士　萩野　平
(74)代理人　100081075
弁理士　佐々木　清隆
(74)代理人　100066429
弁理士　深沢　敏男
(74)代理人　100093573
弁理士　添田　全一
(72)発明者　小川　誠一郎
東京都武蔵野市吉祥寺南町３－１６－８

最終頁に続く

(54)【発明の名称】アミノシクロペンタン誘導体

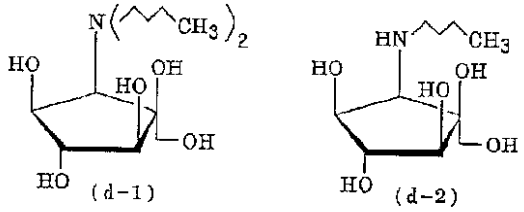
(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
下記構造式（２－２Ｌ）で表される（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｒ，８Ｓ）－１－ヒドロキシメチル－３－ブチルアミノ－２－オキサ－４－アザビシクロ［３．３．０］オクト－３－エン－６，７，８－トリオールであるアミノシクロペンタン誘導体。
【化１】



（2-2L）

【請求項２】
下記構造式（ｄ－１）で表される１Ｌ－（１，２，４，５／３）－５－ジブチルアミノ－１－ヒドロキシメチル－１，２，３，４－シクロペンタンテトラオール、および下記構造式（ｄ－２）で表される１Ｌ－（１，２，４，５／３）－５－ブチルアミノ－１－ヒドロキシメチル－１，２，３，４－シクロペンタンテトラオールからなる群から選択されるアミノシクロペンタン誘導体。

【化２】



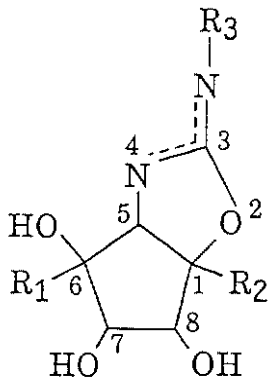
【請求項３】
請求項１又は２に記載のアミノシクロペンタン誘導体を有効成分とするグリコシダーゼ阻害剤。
【請求項４】
前記グリコシダーゼ阻害剤が、α－グルコシダーゼ阻害剤である請求項３記載のグリコシダーゼ阻害剤。
【請求項５】
Ｎ-［（１Ｒ）-（１，２，３，５／４）-２-ヒドロキシメチル-２，３，４，５-テトラヒドロキシシクロペンチル］-Ｎ’-ブチルチオ尿素を環状イソ尿素化し、（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｒ，８Ｓ）－１－ヒドロキシメチル－３－ブチルアミノ－２－オキサ－４－アザビシクロ［３．３．０］オクト－３－エン－６，７，８－トリオールを製造する方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
【産業上の利用分野】
本発明は新規構造のアミノシクロペンタン誘導体およびその合成中間体に関し、更に詳しくはグリコシダーゼ阻害剤に関するものである。
【０００２】
【従来の技術】
近年、細胞表層に存在する糖鎖の生物学的な機能が解明されるにつれ、これら糖鎖を構築あるいは分解する酵素の阻害剤が非常に注目され合成的な研究が広く化学者により展開されている。更に、最近では各種グリコシダーゼに対して特異的な阻害剤の開発が注目されている。例えば同じα-グルコシド加水分解酵素の中でもスクラーゼは阻害するがマルターゼは阻害しない、あるいは、昆虫由来の酵素は阻害するが、動物由来のそれは阻害しないといった化合物の開発である。現在これらへのアプローチは、酵素が生体内で実際に加水分解する糖鎖に阻害剤の構造を類似させる方法が一般的である。リード化合物として使用されている単純なグリコシド加水分解酵素阻害剤にはいわゆる擬似糖類が利用されている。これら擬似糖類は更にカルバ糖、アザ糖、チア糖、ホスファ糖などに分類されている。
【０００３】
こうして設計、合成されたオリゴ糖鎖には期待された酵素に対する阻害活性は発現せず、別種の酵素阻害活性が発現していると思われる化合物も見受けられる。この様に、特異的阻害剤の開発に注目してみても、現在知られているリード化合物のみでは多くの問題が生じている。これらの問題解決のために、様々な新たなリード化合物の合成スクリーニングが行われてきており、C-H. Wong らはアザピラノース〔 G. C. Lock, C. H. Fotsh, and C-H. Wong, Acc. Chem. Res., 26, 182-190 (1993)〕からアザフラノース〔Y-F. Wang, Y. Takaoka, and C-H. Wong, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 33, 1242-1244 (1994) 〕への拡張を展開している。また最近、アミジン骨格がグリコシダーゼを阻害することが報告され、このアミジン骨格を介してアザ糖のオリゴ糖鎖への導入が試みられ始めている〔 a) G. Papandreou, M. K. Tong, and B. Ganem, J. Amer. Chem. Soc., 115, 11682-11690 (1993); b) Y. Bleriot, A. Genre-Grandpierre, and C. Tellier, Tetrahedron Lett., 35, 1867-1870 (1994) 〕。

【０００４】
一方、α-グルコシド加水分解酵素はアミラーゼ、マルターゼ、イソマルターゼ、スクラーゼ、トレハラーゼを始め、細胞中に存在する糖タンパク質の生合成過程に作用するα-グルコシダーゼＩ，ＩＩなどがある。そして、これらの酵素の阻害剤を医薬、農薬として利用しようとする試みが活発化し、実際に市販されている阻害剤も存在する。例えばα-アミラーゼとスクラーゼの阻害剤であるアカルボース（商品名：グルコバイ、Ｂａｙｅｒ）は抗糖尿病薬あるいは抗肥満薬として販売され、またトレハラーゼ阻害剤バリダマイシン類（商品名：バリダシン、武田）は稲紋枯病用農薬として市販されており、また殺虫剤としても期待されている。そして、デオキシノジリマイシン誘導体も米国にて医薬品（抗ウイルス剤）の臨床試験に供されている。さらに、機能解明が進んでいない酵素に対しては、阻害剤を道具として利用する研究も行われている。また最近になって、グルコシダーゼ阻害剤デオキシノジリマイシン(DNJ)がＡＩＤＳに対して効果があるという報告もなされ、グルコシダーゼ阻害剤は非常に注目されてきていると共に医薬、農薬として利用が期待される新規構造の酵素阻害剤が望まれている。

【０００５】
【発明が解決しようとする課題】
本発明は極めて高いα－グルコシダーゼ阻害作用を有する新規構造の擬似糖であって、医薬または農薬として使用もしくは応用が期待されるアミノシクロペンタン誘導体を提供することを目的とする。

【０００６】
【課題を解決するための手段】
本発明は以下により構成される。
１．下記一般式（１）で表されるアミノシクロペンタン誘導体。

【０００７】
【化１１】



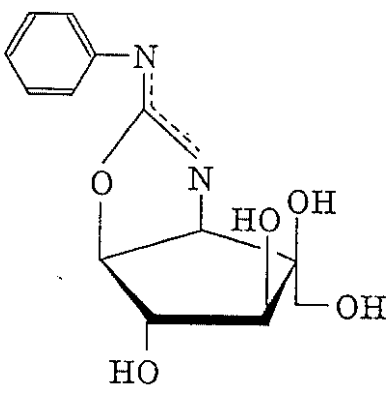
(1)

【０００８】
［式中、R_1はＨでR_2はCH_2OH を示すか、またはR_1 はCH_2OH でR_2 はＨを示し、R_3 は置換基を有していてもよいアリール基、炭素数１～１０のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基またはヒドロキシアルキル基を示す。］
２．前記一般式（１）で表されるアミノシクロペンタン誘導体において、R_3 が置換基を有していてもよいアリール基である前記１記載のアミノシクロペンタン誘導体。
３．前記一般式（１）で表されるアミノシクロペンタン誘導体が、下記構造式（１－１Ｌ）で表される（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｓ，８Ｒ）-６-ヒドロキシメチル-３-フェニルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール、下記構造式（１－１Ｄ）で表される（１Ｒ，５Ｓ，６Ｒ，７Ｒ，８Ｓ）-６-ヒドロキシメチル-３-フェニルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール、下記構造式（１－２Ｌ）で表される（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｒ，８Ｓ）-１-ヒドロキシメチル-３-フェニルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．

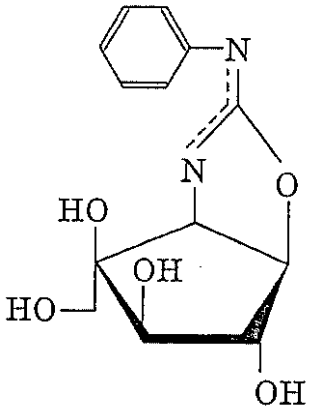
０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール、および下記構造式（１－２Ｄ）で表される（１Ｒ，５Ｓ，６Ｒ，７Ｓ，８Ｒ）-１-ヒドロキシメチル-３-フェニルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオールからなる群から選択される前記２記載のアミノシクロペンタン誘導体。

【０００９】

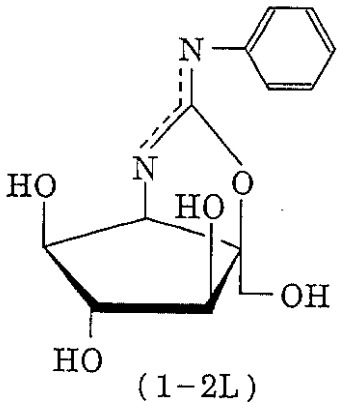
【化１２】



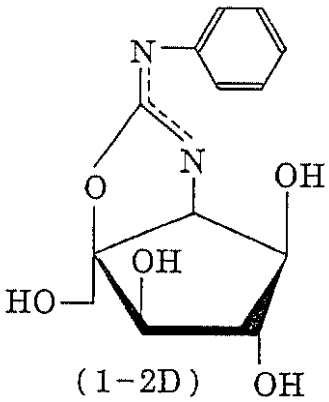
(1-1L)



(1-1D)



(1-2L)



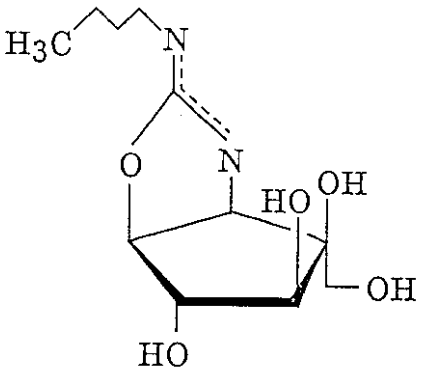
(1-2D)

【００１０】

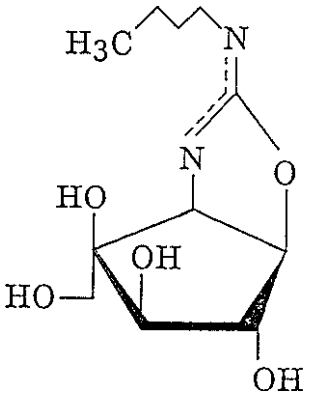
４．前記一般式（１）で表されるアミノシクロペンタン誘導体において、R_3 が炭素数１～１０のアルキル基である前記１記載のアミノシクロペンタン誘導体。５．前記一般式（１）で表されるアミノシクロペンタン誘導体が、下記構造式（２－１Ｌ）で表される（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｓ，８Ｒ）-６-ヒドロキシメチル-３-ブチルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール、下記構造式（２－１Ｄ）で表される（１Ｒ，５Ｓ，６Ｒ，７Ｒ，８Ｓ）-６-ヒドロキシメチル-３-ブチルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール、下記構造式（２－２Ｌ）で表される（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｒ，８Ｓ）-１-ヒドロキシメチル-３-ブチルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール、および下記構造式（２－２Ｄ）で表される（１Ｒ，５Ｓ，６Ｒ，７Ｓ，８Ｒ）-１-ヒドロキシメチル-３-ブチルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオールからなる群から選択される前記４記載のアミノシクロペンタン誘導体。

【００１１】

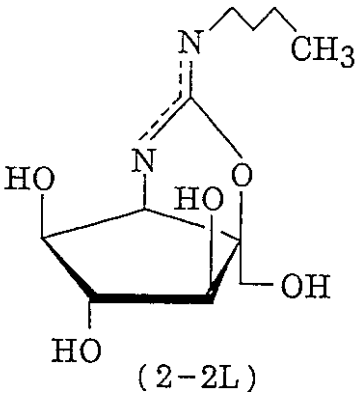
【化１３】



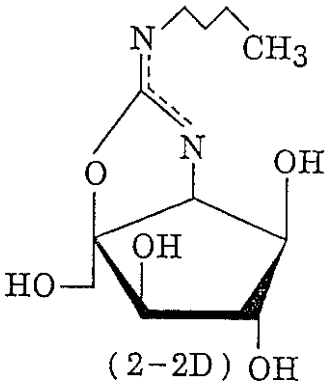
(2-1L)



(2-1D)



(2-2L)



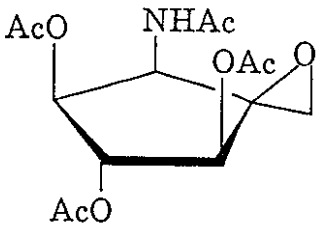
(2-2D)

【００１２】

６．下記構造式で表される化合物である（３Ｓ，４Ｒ，５Ｓ，６Ｒ，７Ｓ）-７-アセトアミド-４，５，６-トリ-Ｏ-アセチル-１-オキサスピロ［２．４］ヘプタン-４，５，６-トリオール。

【００１３】

【化１４】

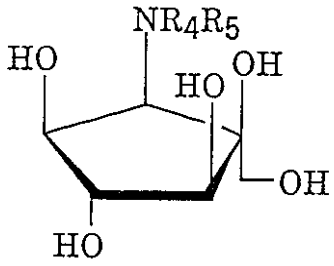


【００１４】

７．下記一般式（２）で表されるアミノシクロペンタン誘導体。

【００１５】

【化１５】



(2)

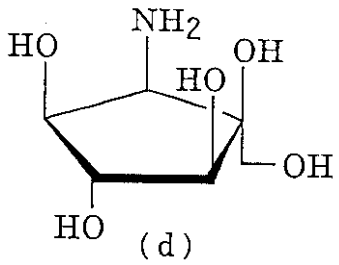
【００１６】

［式中、R_4 およびR_5 はそれぞれ独立にH、置換基を有していてもよいアリール基、炭素数１～１０のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、又はヒドロキシアルキル基を示す。］

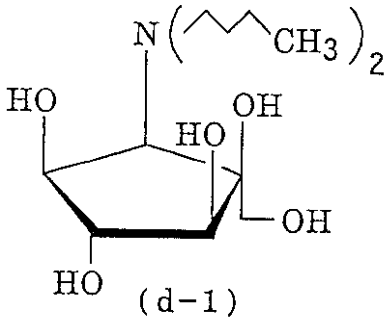
８．前記一般式（２）で表されるアミノシクロペンタン誘導体が下記構造式（ｄ）で表される１Ｌ-（１，２，４，５／３）-５-アミノ-１Ｃ-ヒドロキシメチル-１，２，３，４-シクロペンタンテトラオール、下記構造式（ｄ－１）で表される１Ｌ-（１，２，４，５／３）-５-ジブチルアミノ-１-ヒドロキシメチル-１，２，３，４-シクロペンタンテトラオール、および下記構造式（ｄ－２）で表される１Ｌ-（１，２，４，５／３）-５-ブチルアミノ-１-ヒドロキシメチル-１，２，３，４-シクロペンタンテトラオールからなる群から選択される前記７記載のアミノシクロペンタン誘導体。

【００１７】

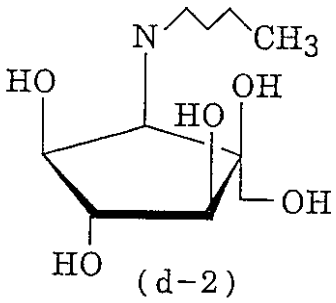
【化１６】



(d)



(d-1)



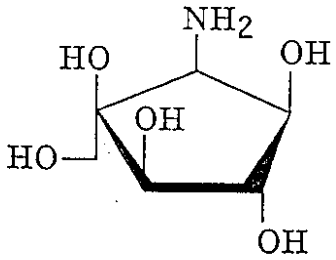
(d-2)

【００１８】

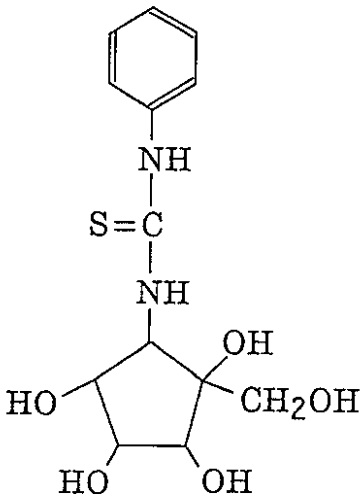
９．下記構造式で表される化合物である１Ｄ-（１，２，４，５／３）-５-アミノ-１Ｃ-ヒドロキシメチル-１，２，３，４-シクロペンタンテトラオール。

【００１９】

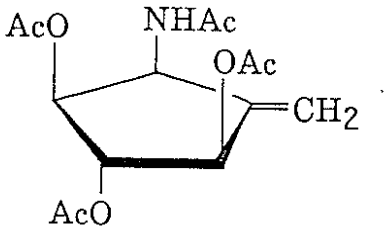
【化１７】



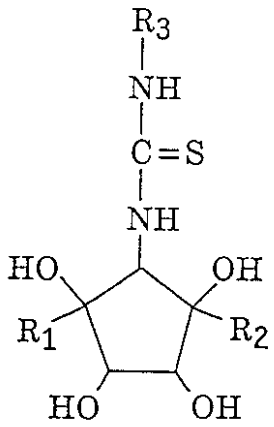
【００２０】
１０．下記構造式で表される化合物であるＮ-［２-ヒドロキシメチル-２，３，４，５-テトラヒドロキシシクロペンチル］-Ｎ’-フェニルチオ尿素。
【００２１】
【化１８】



【００２２】
１１．前記１または７記載のアミノシクロペンタン誘導体を有効成分とするグリコシダーゼ阻害剤。
１２．前記グリコシダーゼ阻害剤が、α－グルコシダーゼ阻害剤である前記１１記載のグリコシダーゼ阻害剤。
１３．有効成分が前記２、４又は８のいずれか１項に記載のアミノシクロペンタン誘導体である前記１２記載のグリコシダーゼ阻害剤。
１４．有効成分が前記３又は５記載のアミノシクロペンタン誘導体である前記１３記載のグリコシダーゼ阻害剤。
１５．下記構造式で表される化合物を溶液下に酸化することを特徴とする前記６記載の化合物の製造方法。
【００２３】
【化１９】

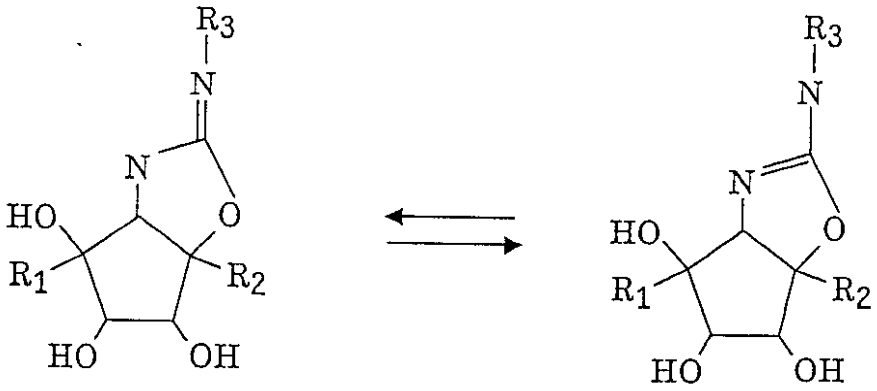


【００２４】
１６．下記一般式（３）で表されるチオ尿素体を環状イソ尿素化し、前記１記載のアミノシクロペンタン誘導体を製造する方法。
【００２５】
【化２０】

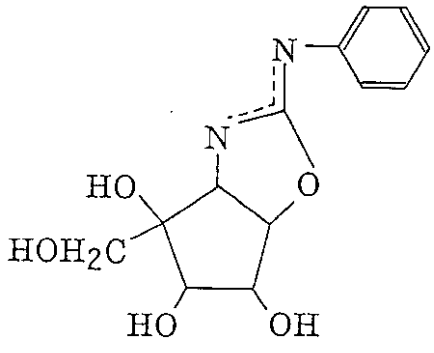


（３）

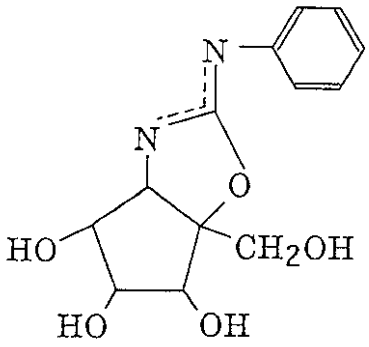
【００２６】
［式中、R_1、R_2およびR_3は前記１記載のものと同義である。］
以下、本発明の構成を詳述する。
本発明の一般式（１）で表されるアミノシクロペンタン誘導体〔以下、化合物（１）という〕は下式に示す通り、互変異性を有すると考えられている。従って、一般式（１）の構造式の破線はこの互変異性を示す。また、化合物（１）は、任意の立体異性体を包含する。
【００２７】
【化２１】



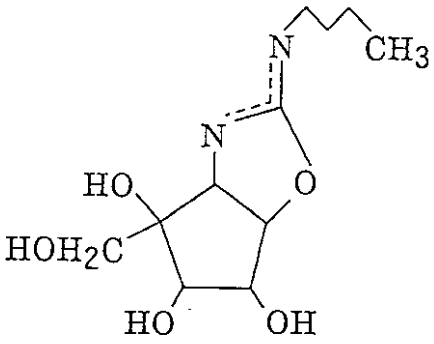
【００２８】
また、化合物（１）は、環状イソ尿素結合を含むビシクロ環部分を含み水酸基やヒドロキシメチル基の配向は非常に重要であり、酵素阻害活性に大きな影響を及ぼしていると考えられる。また、該化合物（１）の構造中に存在する２つの窒素原子を含むイソ尿素部分は弱塩基性を有しており、この部位が酵素との複合体形成においてその活性中心に強く結合しているものと推察され、従来にない酵素特異的な阻害活性の増大が図られたものと考えられる。
【００２９】
一般式（１）において、R_3 は置換基を有していてもよいアリール基、炭素数１～１０の更に好ましくは炭素数３～８のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基またはヒドロキシアルキル基を示し、好ましくはフェニル基又はブチル基である。アリール基は置換基を有してもよく、該置換基としては、炭素数１～６のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、ハロゲン、水酸基、ニトロ基、カルボキシル基等が例示される。
【００３０】
本発明の化合物（１）としては、下記化合物（１－１）および化合物（１－２）、あるいは下記化合物（２－１）および化合物（２－２）が好ましい。
【００３１】
【化２２】



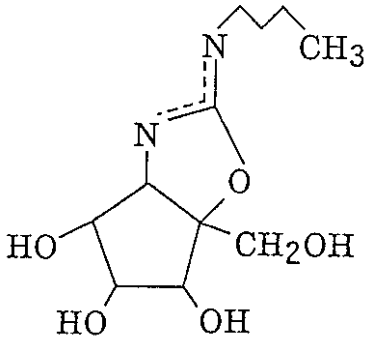
(1-1)



(1-2)



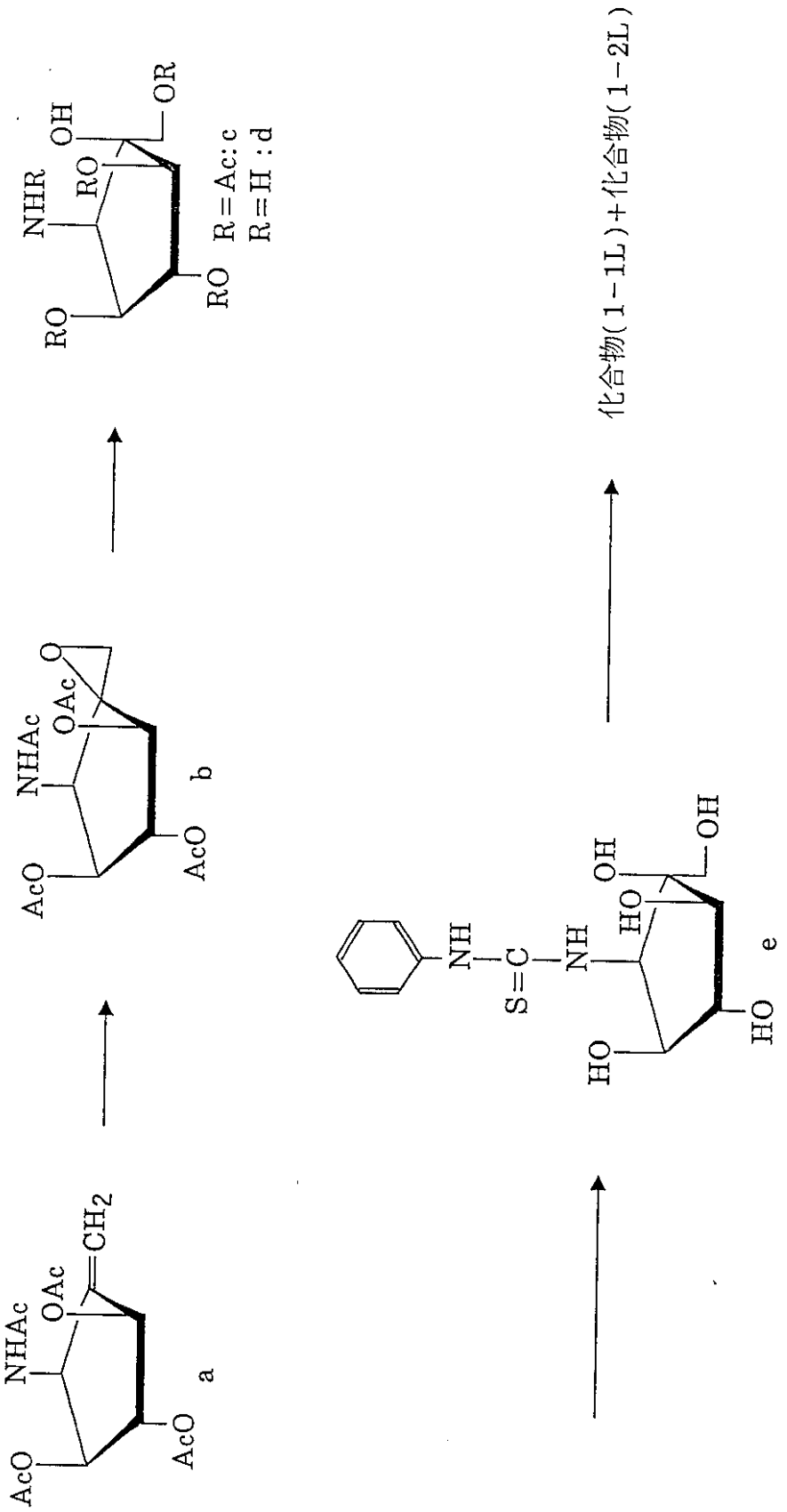
(2-1)



(2-2)

【００３２】
化合物（１－１）と化合物（１－２）および化合物（２－１）と化合物（２－２）の各々の組合せは互いに構造異性体であり、化合物（１－１）は、前記３に記載した如く構造式（１－１Ｌ）と構造式（１－１Ｄ）で表されるエナンチオマー（対掌体）を包含する。また、化合物（１－２）は、前記３に記載した如く構造式（１－２Ｌ）と構造式（１－２Ｄ）で表されるエナンチオマー（対掌体）を包含する。更に、化合物（１－１）および（１－２）は、６、７および８位の水酸基に由来する任意のジアステレオマーを包含する。
また化合物（２－１）は前記５に記載した如く構造式（２－１Ｌ）と構造式（２－１Ｄ）で表されるエナンチオマー（対掌体）を包含する。化合物（２－２）は前記５に記載した如く構造式（２－２Ｌ）と構造式（２－２Ｄ）で表されるエナンチオマー（対掌体）を包含する。更に、化合物（２－１）および（２－２）は、６、７および８位の水酸基に由来する任意のジアステレオマーを包含する。
【００３３】
化合物（１－１）および（１－２）は、グルコシダーゼの阻害活性を有し、特にα－グルコシダーゼの阻害活性が極めて高い。また、抗ＨＩＶ活性も有する。
また、化合物（２－１）および（２－２）は、グルコシダーゼの阻害活性を有し、特にα－グルコシダーゼの阻害活性が高い。また抗ＨＩＶ活性も有する。
本発明の化合物（１－１Ｌ）および（１－２Ｌ）は、例えば以下に示す反応工程（スキーム１）により合成される。
【００３４】
【化２３】

スキーム1



【００３５】

化合物ａであるオレフィン体（C. Uchida, T. Yamagishi, and S. Ogawa, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1994, 589-602に記載の方法により合成）をケトン以外の有機溶媒（好ましくは１，２－ジクロロエタン）に溶解し、緩衝水溶液存在下でｐＨを中性に保ちな

がら、０℃～反応液の沸点程度（加熱還流）にて過酸（例えば、m-クロロ過安息香酸、過安息香酸、モノペルオキシフタル酸、トリフルオロ過酢酸、過蟻酸等）もしくは過酸化物（例えば、ジオキシラン等）等の酸化剤を該オレフィン体に対して１～１０当量加えるか、またはヒドロペルオキシドを発生させる金属触媒（五酸化バナジウム（V_2O_5）とｔｅｒｔ－ブチルハイドロパーオキサイド（ｔＢｕＯＯＨ）の系、タングステン酸ナトリウム（Na_2WO_4）と過酸化水素（H_2O_2）の系、五酸化モリブデン（MoO_5）・ヘキサメチルホスホリルアミド（ＨＭＰＡ）とｔＢｕＯＯＨの系等）を加え、遮光下、０．５～１２０時間攪拌することにより酸化する。反応系をクロロホルム、酢酸エチル等の非アルコール系有機溶媒で希釈し、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和重曹水等の水性溶媒にて洗浄し、化合物ｂ〔（３Ｓ，４Ｒ，５Ｓ，６Ｒ，７Ｓ）-７-アセトアミド-４，５，６-トリ-Ｏ-アセチル-１-オキサスピロ［２．４］ヘプタン-４，５，６-トリオール〕を得る。さらにクロマトグラフィー等により精製してもよい。なお、Ａｃはアセチル基を示す。

【００３６】

化合物ｂをＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）水溶液、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）水溶液、２－メトキシエタノール水溶液等の有機溶媒水溶液に溶解し、酢酸ナトリウム、安息香酸ナトリウム等を加え室温～１５０℃にて１～４８時間攪拌する。反応液を減圧濃縮して得られる残渣をピリジン、４－ジメチルアミノピリジン、ルチジン、トリエチルアミン等の塩基および無水酢酸、塩化アセチル等でアセチル化する。クロマトグラフィー等にて精製し化合物ｃ〔１Ｌ-（１，２，４，５／３）-５-アセトアミド-１-アセトキシメチル-２，３，４-トリ-Ｏ-アセチル-１，２，３，４-シクロペンタンテトラオール〕をシロップとして得る。

【００３７】

化合物ｃを０．５～６Ｍの塩酸もしくは硫酸等に溶解し、室温～１００℃にて０．５～５時間攪拌することにより脱アセチル化した後、減圧濃縮する。得られた残渣は陽イオン交換樹脂（Ｄｏｗｅｘ５０Ｗ－Ｘ２，Ｘ４，Ｘ８（商品名）、Ａｍｂｅｒｌｉｔｅ　ＩＲ－１２０Ｂ，ＣＧ－５０（商品名）等）等で精製され、化合物ｄ〔エピトレハゾラミン＝１Ｌ-（１，２，４，５／３）-５-アミノ-１Ｃ-ヒドロキシメチル-１，２，３，４-シクロペンタンテトラオール〕をシロップとして得る。

【００３８】

尚、化合物ｄを得るルートにおいて、化合物ｂを経ないで、化合物ａを酸化オスミウム(VIII)（OsO_4）（化合物ａに対して１～５当量）で、または化合物ａに対して０．０５～１当量のOsO_4と１～５当量のＮ－メチルモルホリン－Ｎ－オキシド等の酸化剤との併用でアセトン水溶液下で１～７２時間反応して水酸化し、次いでアセチル化し、化合物ｃのジアステレオマーをシリカゲルクロマトグラフィーにより分離することにより化合物ｃを得ることもできる（J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1994, p589-602 に記載）。

【００３９】

化合物ｄはアルコール水溶液等に溶解され、フェニルイソチオシアナートが化合物ｄに対して１～５当量添加され０～８０℃で１～７２時間攪拌される。反応液を減圧濃縮して得られる残渣は、通常、分配カラムクロマトグラフィーにて精製され、化合物ｅであるフェニルチオ尿素体〔Ｎ-［（１Ｒ）-（１，２，３，５／４）-２-ヒドロキシメチル-２，３，４，５-テトラヒドロキシシクロペンチル］-Ｎ’-フェニルチオ尿素〕（白色固体）が得られる。

【００４０】

化合物ｅをケトン、アルコール系溶媒等に溶解し、酸化水銀（黄色もしくは赤色）、酸化鉛、ヨウ化アルキル、トリエチルオキソニウムテトラフルオロボラート、メチルトリフラート又は、次亜塩素酸ナトリウムと水酸化ナトリウムとの混合物、トリフェニルホスフィンとアゾジカルボン酸ジエチルとの混合物等の触媒を化合物ｅに対して、１～１０当量加え、０℃～反応液の沸点程度（加熱還流）にて１～７２時間攪拌することにより環状イソ尿素化する。反応系をセライト等で濾過し、メタノール等で洗浄する。濾液と洗液を合わ

せて減圧濃縮して得られる残渣を薄層クロマトグラフィー等にて化合物（１）の各異性体を粗分離し、まず粗化合物（１－１Ｌ）である粗6-ヒドロキシメチルイソ尿素を得、陽イオン交換樹脂にて精製し、化合物（１－１Ｌ）を白色固体として得る。

【００４１】

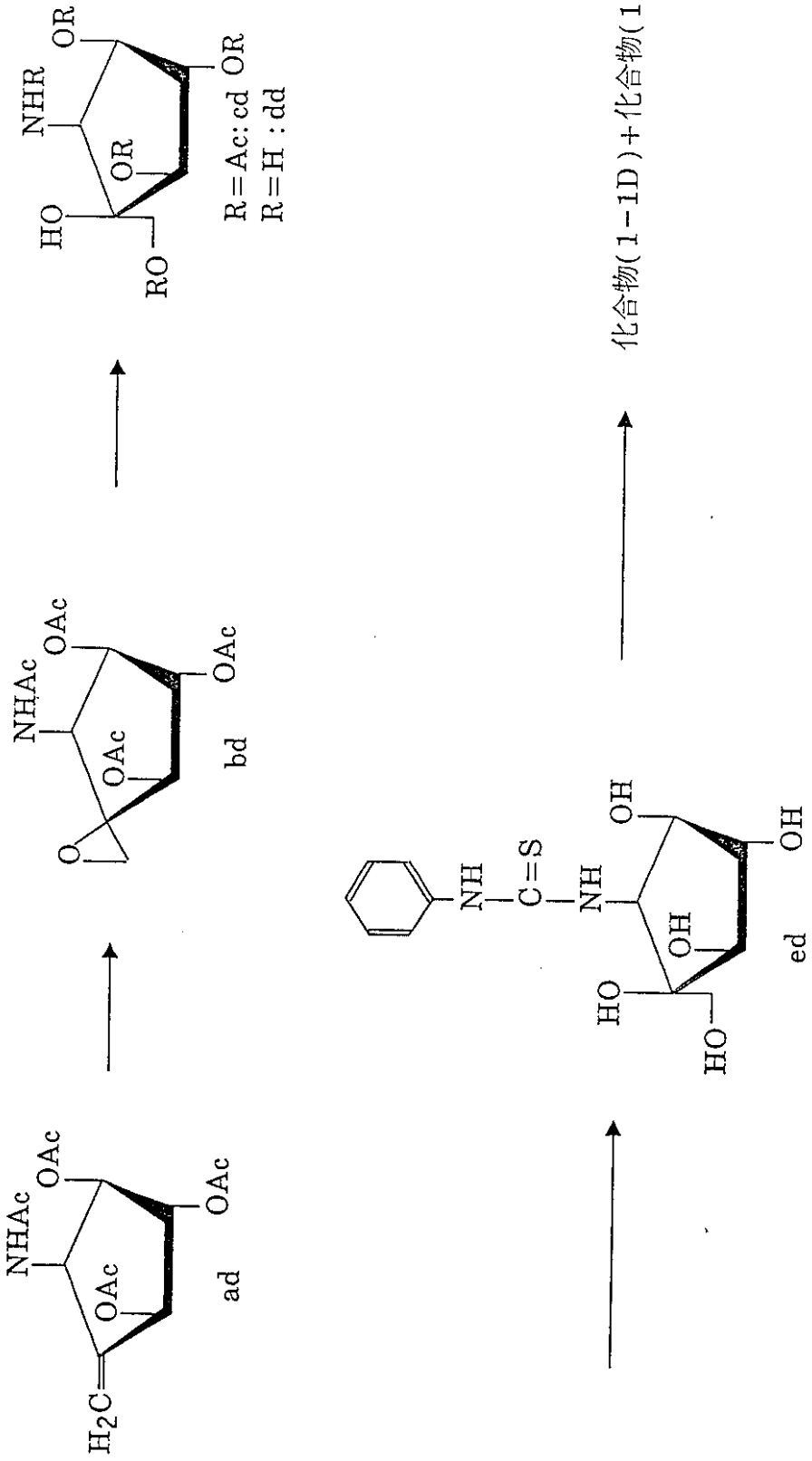
次に、前記薄層クロマトグラフィーから粗化合物（１－２Ｌ）である粗1-ヒドロキシメチルイソ尿素を得、陽イオン交換樹脂にて精製し、化合物（１－２Ｌ）を白色固体として得る。

化合物（１－１Ｄ）および（１－２Ｄ）は上記化合物ａに代えて立体異性の下記化合物ａｄ（Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｐｅｒｋｉｎ　Ｔｒａｎｓ．１，１９９２，ｐ１９３９－１９４２に記載の方法により合成）を用いることにより、スキーム１と同様の処理でスキーム２より化合物（１－１Ｄ）、化合物（１－２Ｄ）を得ることができる。

【００４２】

【化２４】

スキーム2



【００４３】

なお、スキーム１および２において、化合物ｅまたはｅｄは化合物ｄまたはｄｄをフェニルイソチオシアナートと反応させることによって、一般式（１）のR_3がフェニル基のも

のを合成したが、これと同様にフェニルイソチオシアナートのフェニルが所望の置換基（R_3）に置換されたイソチオシアナート誘導体を用いることにより、R_3の異なるチオ尿素体を得ることができる。そして、該チオ尿素体を上記と同様の方法で環状イソ尿素化し、精製することで所望する本発明のアミノシクロペンタン誘導体を得ることができる。また、上記と同様の方法においてフェニルイソチオシアナートの代わりにブチルイソチオシアナートを用いることにより、化合物（２－１Ｌ）、化合物（２－２Ｌ）、化合物（２－１Ｄ）および化合物（２－２Ｄ）を得ることができる。

本発明の一般式（２）で表されるアミノシクロペンタン誘導体〔以下、化合物（２）という〕において、R_4およびR_5は、それぞれ独立にH、置換基を有していてもよいアリール基、炭素数１～１０の更に好ましくは炭素数３～８のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基またはヒドロキシアルキル基を示し、好ましくはブチル基等が挙げられる。アリール基は置換基を有してもよく、該置換基としては、炭素数１～６のアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、ハロゲン、水酸基、ニトロ基、カルボキシル基等が例示される。

本発明の化合物（２）としては、化合物ｄ、化合物（ｄ－１）および化合物（ｄ－２）等が挙げられる。

本発明の化合物（ｄ－１）および化合物（ｄ－２）は、例えば以下のようにして合成される。

化合物ｄをアルコール水溶液等に溶解し、必要に応じてモレキュラーシーブス等を加えて４～４０℃で０．５～５時間攪拌後、ブタナールを化合物ｄに対して１～１０当量、好ましくは１当量程度加えて０℃～反応液の沸点程度（加熱還流）で０．５～５時間攪拌する。水素化シアノホウ素ナトリウム等の還元剤を化合物ｄに対して１～１０当量加え、０℃～反応液の沸点程度（加熱還流）にて１～７２時間攪拌する。反応系をセライト等で濾過し、メタノール等で洗浄する。濾液と洗液を合わせて減圧濃縮して得られる残渣を薄層クロマトグラフィー等にて、まず粗化合物（ｄ－１）を得、陽イオン交換樹脂にて精製し、化合物（ｄ－１）を得る。

次に、前記薄層クロマトグラフィーから粗化合物（ｄ－２）を得、陽イオン交換樹脂にて精製し、化合物（ｄ－２）を得る。

なお、化合物ｄをブタナールと反応させることによって、一般式（２）のR_4及び／又はR_5がブチル基であるものを合成したが、これと同様にブタナールのブチル基が所望の置換基に置換されたアルデヒド誘導体を用いることにより、目的とする本発明のアミノシクロペンタン誘導体を得ることができる。

【００４４】

【実施例】

以下、本発明の具体的実施例を説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

尚、実施例における操作法、測定法および試料は以下に記載のものである。

合成関係

１）薄層クロマトグラフィー(TLC)

Merck 社製クロマトグラフィー用シリカゲル(Kieselgel 60GF 254)をガラス板上に塗布し、７０℃にて３０分間活性化させたものを使用した。呈色は濃硫酸を噴霧した後、加熱することにより行った。ＵＶ吸収は濃硫酸を噴霧する前に平井理科研究所製UVランプ(254 nm)を使用して調べた。

２）比旋光度($[\alpha]_D$)

日本分光社製　DIP-370 デジタル旋光度計を使用した。測定はナトリウムＤ線で行い10mmの角型石英セルを用いた。

３）核磁気共鳴スペクトル(^{1}H-NMR 、^{13}C-NMR)

^{1}H-NMR の測定には、日本電子社製 JNM-270 FT NMR スペクトロメーター(270MHz)を使用した。溶媒は重クロロホルム、あるいは重水を用い、内部基準として重クロロホルムの場合にはテトラメチルシラン(δ0.00)、重水の場合にはアセトン(δ2.08)を用いた。

^{13}C-NMR の測定には、日本電子社製 JNM-400 FT NMR スペクトロメーターを使用した。溶媒は重メタノールを用い、内部基準としてテトラメチルシラン（ＴＭＳ）(δ0.00)を用い

た。
４）赤外線吸収スペクトル(IR)
付着法(neat)の場合には日本分光社製 IR-810型赤外分光光度計を使用し、KBr 結晶板に試料を付着させて測定した。錠剤法(KBr-ディスク) の場合には日立 225型回折格子 BIO-RAD DIGILAL FTS-65フーリエ変換赤外分光光度計を用いて測定した。
５）質量分析
ＨＲ－ＦＡＢ－ＭＳの測定は、日本電子社製ＪＥＯＬ　ＪＭＳ　ＨＸ－１１０を使用した。イオン検出モードはＦＡＢ　Ｐｏｓｉｔｉｖｅで、マトリックスはグリセリン（クラスターイオン［９３＋（９２）$_n$］$^+$）を用い、質量校正試料としてヨウ化セシウム（ＣｓＩ）を用いた。
６）プレパラティブ薄層クロマトグラフィー(PTLC)
Merck 社製分取用薄層クロマトグラフィープレート(Merck Art 5744)を使用した。溶出にはメタノールを用いた。
７）シリカゲルカラムクロマトグラフィー
和光純薬工業社製ワコーゲルC-300(Wakogel C-300, 200～300メッシュ)を使用した。
８）減圧濃縮
減圧濃縮はアスピレーター減圧下、ロータリーエバポレーターを使用し、40℃程度で行った。
９）反応溶媒
反応には全て未蒸留の溶媒を使用した。
１０）反応試薬
mCPBA(m-クロロ過安息香酸)は純度70%のものを東京化成より購入した。
【００４５】
酢酸ナトリウムは和光純薬工業より購入した。
フェニルイソチオシアナートは東京化成から購入した。
酸化水銀は水酸化ナトリウムと塩化第二水銀から調製した。
これらの試薬は購入したものをそのまま使用した。
酵素阻害活性関係
１）吸光度
９６穴マイクロプレートを使用し、遊離されたp-あるいはo-ニトロフェノールを東ソー社製マイクロプレートリーダーMPR-4Aiを用いて(405 nm)測定した。
２）インキュベーション
３７℃でのインキュベーションは岩城ガラス社製ナチュラルインキュベーター, Compact NIB-10を使用した。
３）酵素
各酵素[α-グルコシダーゼ(Baker's Yeast)、β-グルコシダーゼ(Almonds)、α-ガラクトシダーゼ(E.Coli)、β-ガラクトシダーゼ(E.Coli)、β-ガラクトシダーゼ(Bovin Liver)]は全てSigma社から購入した。
４）基質
各酵素の基質(p-あるいはo-ニトロフェニルグリコシド)は全てSigma社から購入した。
実施例１
（３Ｓ，４Ｒ，５Ｓ，６Ｒ，７Ｓ）-７-アセトアミド-４，５，６-トリ-Ｏ-アセチル-１-オキサスピロ［２．４］ヘプタン-４，５，６-トリオール（化合物ｂ）の合成
化合物ａ(21.7 mg, 0.0725 mmol)を1,2-ジクロロエタン(2 ml)に溶解し、リン酸緩衝溶液存在下、室温にて70%mCPBA(53.4 mg, 0.218 mmol, 3 equiv.)を加え、遮光下26時間攪拌した。反応系をクロロホルム(30 ml)にて希釈し、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液(5 ml)、飽和重曹水(5 ml)にて順次洗浄した。有機層を芒硝乾燥し、濾過、濾液を減圧濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(Wakogel C-300, 1 g, アセトン／トルエン＝１／２）にて精製し化合物ｂ(19.8 mg, 収率86.5%)をシロップとして得た。
【００４６】

Rf 0.41 （エタノール／トルエン＝１／５，２重展開）
$[\alpha]_D^{27}$ -63.7°(c 0.96, クロロホルム)
IR(付着法) 3360(OH 及びNH), 1740 (OAc),及び 1670 (NAc) cm^{-1}
^{1}H-NMR (270MHz, $CDCl_3$)
δ5.59 (1H, d, $J_{7,NH}$ 9.2Hz, NH), 5.26 (1H, dd, $J_{4,5}$～1, $J_{5,6}$ 2.9 Hz, 5-H), 5.21-5.17 (2H, m, 4 and 6-H), 5.00 (1H, dd, $J_{6,7}$ 5.1, $J_{7,NH}$ 9.2 Hz, 7-H), 2.98 and 2.68 (各 1 H, ABq, J_{gem} 4.8 Hz, 2 x 2-H), 2.14, 2.12, 2.09, and 2.00 (各 3H, 4s, 4 Ac).
元素分析 $C_{14}H_{19}NO_8$ として
計算値 C, 51.06; H, 5.82; N, 4.25% 実験値 C, 51.61; H, 5.82; N, 4.20%.

実施例２
１Ｌ-（１，２，４，５／３）-５-アミノ-１-ヒドロキシメチル-１，２，３，４-シクロペンタンテトラオール（化合物ｄ）の合成
化合物ｂ(19.8 mg, 0.0628 mmol)を80%DMF水溶液(1 ml)に溶解し、酢酸ナトリウム(30.9 mg, 0.377 mmol, 6 equiv.)を加え１２０℃にて２０時間攪拌した。反応液を減圧濃縮して得られた残渣をピリジン(1 ml)および無水酢酸(0.5 ml)にてアセチル化した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(Wakogel C-300, 1 g,アセトン／トルエン＝１／２）にて精製しペンタアセタート（化合物ｃ）(16.0 mg, 収率65.3%)をシロップとして得た。

【００４７】
化合物ｃのデータは文献（C. Uchida, T. Yamagishi, and S. Ogawa, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1994, 589-602) 記載のデータと一致した。化合物ｃ(42.5 mg, 0.109 mmol)を2M塩酸に溶解し、８０℃にて２時間攪拌した後、減圧濃縮した。得られた残渣をDowex 50W-X2 (H^+, 1 ml, 1M アンモニア水)にて精製し、エピトレハゾラミン（化合物ｄ）(19.7 mg, 収率～100%)をシロップとして得た。

【００４８】
Rf 0.38 （水／アセトニトリル＝１／４）
$[\alpha]_D^{23}$ -3.8° (c 0.98, 水)
IR(付着法) 3350 (OH 及びNH_2) cm^{-1}
^{1}H-NMR (270MHz, D_2O,対照 アセトン)
δ3.96 (1H, dd, $J_{2,3}$ 8.1, $J_{3,4}$ 4.8 Hz, 3-H), 3.87 (1H, dd, $J_{3,4}$ 4.8, $J_{4,5}$ 7.7 Hz, 4-H), 3.69 (1H, d, $J_{2,3}$ 8.1 Hz, 2-H), 3.51 (2H, s, 2 x 6-H), 3.27 (1H, d, $J_{4,5}$ 7.7 Hz, 5-H).

実施例３
Ｎ-［（１Ｒ）-（１，２，３，５／４）-２-ヒドロキシメチル-２，３，４，５-テトラヒドロキシシクロペンチル］-Ｎ’-フェニルチオ尿素（化合物ｅ）の合成
化合物ｄ(15.3 mg, 0.0854 mmol)を60%エタノール水溶液(1 ml)に溶解し、フェニルイソチオシアナート(23 μl, 0.171 mmol, 2.0 equiv.) を加え３時間攪拌した。反応液を減圧濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(Wakogel C-300, 2 g,トルエンからエタノール／トルエン＝１／５)にて精製し、フェニルチオ尿素体である化合物ｅ(23.6 mg,収率88.1%) を白色固体として得た。

【００４９】
Rf 0.41 （エタノール／トルエン＝１／２）
$[\alpha]_D^{22}$ +43.9°(c 1.18, アセトン)
IR (KBr ディスク) 3280 (OH及びNH) 及び1540 (NH) cm^{-1}
^{1}H-NMR (270MHz, D_2O,対照 アセトン)
δ7.38-7.17 (5 H, m, Ph), 4.66 (1 H, m, 1-H), 3.97 (1H, dd, $J_{1,5}$ 8.1, $J_{4,5}$ 4.6 Hz, 5-H), 3.87 (1H, dd, $J_{3,4}$ 8.4, $J_{4,5}$ 4.6 Hz, 4-H), 3.67 (1 H, d, $J_{3,4}$ 8.4 Hz, 3-H), 3.38 and 3.33 (各 1H, ABq, J_{gem} 12.1 Hz, 2 x 6-H).
元素分析 $C_{13}H_{18}N_2O_5S$ として
計算値 C, 49.67; H, 5.77; N, 8.91% 実験値 C, 49.93; H, 6.17; N, 8.59%.

実施例４
（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｓ，８Ｒ）-６-ヒドロキシメチル-３-フェニルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール〔化合物（１－１Ｌ）〕および（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｒ，８Ｓ）-１-ヒドロキシメチル-３-フェニルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール〔化合物（１－２Ｌ）〕の合成
化合物ｅ(23.6 mg, 0.0751 mmol)をアセトン－エタノール(1.5 ml, v/v)に溶解し、酸化水銀（黄色）(55.2 mg, 0.256 mmol, 3 equiv.)を加え、室温にて２時間攪拌した。反応系をセライト濾過し、メタノールで十分洗浄した。濾液と洗液を合わせて減圧濃縮して得られた残渣をPTLC(酢酸／エタノール／トルエン＝１／２／４，４重展開)にて分離し、まず粗6-ヒドロキシメチルイソ尿素〔化合物（１－１Ｌ）〕を得、Dowex 50W-X2 (H^+, 1 ml, 14M アンモニア水:メタノール＝１／２８)にて精製し、化合物（１－１Ｌ）(9.2 mg,収率 43.8%) を白色固体として得た。
【００５０】
Rf 0.22 （エタノール／トルエン＝１／２）
$[\alpha]_D^{28}$ +50.1°(c 0.15, メタノール)
IR (KBr ディスク) 3430 (OH and NH), 1660 (C=N), and 1580 (NH) cm^{-1}
^{1}H-NMR (270MHz, D_2O, 対照 アセトン)
δ7.26-6.97 (5H, m, Ph), 4.56 (1H, dd, $J_{1,5}$ 9.5, $J_{1,8}$ 4.2 Hz, 1-H), 4.25 (1H, d, $J_{1,5}$ 9.5 Hz, 5-H), 4.13 (1H, dd, $J_{1,8}$ 4.2, $J_{7,8}$ 9.5 Hz, 8-H), 3.67 (1H, d, $J_{7,8}$ 9.5 Hz, 7-H), 3.46 (2H, s, 2 x 9-H).
元素分析 $C_{13}H_{16}N_2O_5$ として
計算値 C, 55.71; H, 5.75; N, 9.99% 実験値 C, 55.30; H, 5.81; N, 9.84%.
次に、粗1-ヒドロキシメチルイソ尿素〔化合物（１－２Ｌ）〕を得、Dowex 50W-X2 (H^+, 1 ml, 14M アンモニア水:50%メタノール水溶液＝１／２８)にて精製し、化合物（１－２Ｌ）(10.6 mg, 収率50.5%)を白色固体として得た。
【００５１】
Rf 0.17 （エタノール／トルエン＝１／２）
$[\alpha]_D^{28}$ -27.5°(c 0.26, メタノール)
IR (KBr ディスク) 3420 (OH and NH), 1670 (C=N), and 1560 (NH) cm^{-1}
^{1}H-NMR (270MHz, D_2O, 対照、アセトン)
δ7.29-6.97 (5H, m, Ph), 4.06 (1H, d, $J_{5,6}$ 5.9 Hz, 5-H), 3.76 and 3.56 (各 1H, ABq, J_{gem} 12.5 Hz, 2 x 9-H), 3.72-3.61 (3H, m, 6, 7, and 8-H).元素分析 $C_{13}H_{16}N_2O_5$ として
計算値 C, 55.71; H, 5.75; N, 9.99% 実験値 C, 55.25; H, 5.75; N, 10.01%
実施例５
実施例１～４に準じてスキーム２に従って化合物（１－１Ｄ）および（１－２Ｄ）を得た。
【００５２】
実施例６
Ｎ-［（１Ｒ）-（１，２，３，５／４）-２-ヒドロキシメチル-２，３，４，５-テトラヒドロキシシクロペンチル］-Ｎ’-ブチルチオ尿素の合成
古川らの方法（Ｎｉｐｐｏｎ Ｋａｇａｋｕ Ｋａｉｓｈｉ（１９８９）ｐ．８２２－８２５）に従って、ブチルイソチオシアナートを次のように調製した。トリフェニルホスフィン（３１．４７ｇ、０．１２ｍｏｌ）をベンゼン（２０ml）に溶解し、トリエチルアミン（４１．８ml、０．３０mol）および二硫化炭素（７．３ml、０．１２mol）を加え、さらにアセトニトリル（１５０ml）を加えた。反応系を－１５℃に冷却し、ブチルアミン（９．９ml、０．１０mol）と四塩化炭素（９．７ml、０．１０mol）を加えて攪拌した。３０分後、反応系を０℃に昇温して１時間攪拌した。さらに反応系を室温に昇温し、５時間攪拌した。反応系を濾過し、不溶物を除去した後、濾液を５０ml程度まで減圧濃縮し

た。ヘキサン（１００ml×５）で抽出し、有機層を合わせて芒硝乾燥した。これを濾過し、濾液を減圧濃縮して得られた液体状残渣を減圧蒸留にて精製し、ブチルイソチオシアナート（６．３４ｇ、収率５５．０％）を液体として得た。
沸点７５－７６℃（３１mmHｇ）、上記文献値７６－７７℃（２２mmHｇ）。
化合物ｄ（エピトレハゾラミン）(21.4 mg, 0.119 mmol) を60%エタノール水溶液(1.5 ml)に溶解し、ブチルアミンから調製した上記のブチルイソチオシアナート(44 μl, 0.358 mmol, 3 equiv.) を加え、室温にて攪拌した。３、５、１９時間後にも同量ずつ合計４回（１７６ml、１．４３mmol、12equiv.）加え、22時間攪拌した。反応液を減圧濃縮した後に得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(片山６０（商品名、片山化学社販売）、８g, エタノール／トルエン＝１／３)にて精製し、ブチルチオ尿素体(35.2 mg, 収率～100%)を白色固体として得た。
Rf 0.36 （エタノール／トルエン＝１／２）
$[\alpha]_D^{21}$ +38.1°(c 2.06, メタノール)
IR (KBr ディスク) 3370 (OH及びNH) 及び1560 (NH) cm^{-1}
^{1}H-NMR (270MHz, D_2O,対照 アセトン)
δ4.70-4.60 (1 H, m,1-H), 3.95-3.87 (2H, m, 4 and 5-H), 3.67 (1H, d, $J_{3,4}$ 8.4Hz, 3-H), 3.40-3.25(2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 3.37 and 3.30 (各 1H, ABq, J_{gem} 11.9 Hz, 2 x 6-H), 1.49-1.37(2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.29-1.14(2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 0.76(3H, t, $J_{3',4'}$ 7.3Hz, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).
元素分析 $C_{11}H_{22}N_2O_5S$ として
計算値 C, 44.88; H, 7.53; N, 9.52% 実験値 C, 44.26; H, 7.94; N, 9.38%.
実施例７
（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｓ，８Ｒ）-６-ヒドロキシメチル-３-ブチルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール〔化合物（２－１Ｌ）〕および（１Ｓ，５Ｒ，６Ｓ，７Ｒ，８Ｓ）-１-ヒドロキシメチル-３-ブチルアミノ-２-オキサ-４-アザビシクロ［３．３．０］オクト-３-エン-６，７，８-トリオール〔化合物（２－２Ｌ）〕の合成
実施例６で得られたブチルチオ尿素体(35.2 mg, 0.119 mmol) をアセトン－エタノール(2 ml, 1/1 v/v) に溶解し、酸化水銀(77.0mg, 0.357mmol, 3 equiv.) を加え、室温にて攪拌した。６時間後にも同量（７７mg）加え、３時間攪拌した。反応系をセライト濾過し、メタノールで十分洗浄した。濾液と洗液を合わせて減圧濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（片山６０（商品名、片山化学社販売）、８ｇ、酢酸／エタノール／トルエン＝１／２／４）にて分離し、まず粗６－ヒドロキシメチルイソ尿素〔化合物（２－１Ｌ）〕を得、Ｄｏｗｅｘ５０Ｗ－Ｘ２（H^+ 、１ml、１４Ｍアンモニア水：メタノール＝１／２８）にて精製し、化合物（２－１Ｌ）（８．４mg、収率２３．１％）を白色固体として得た。
Rf 0.14 （酢酸／エタノール／トルエン＝１／２／４）
$[\alpha]_D^{28}$ +35.2°(c 0.41, メタノール)
IR (KBr ディスク) 3400 (OH and NH), 1655 (C=N), and 1555 (NH) cm^{-1}
^{1}H-NMR (270MHz, D_2O, 対照 アセトン)
δ4.45(1H, dd, $J_{1,5}$ 9.2, $J_{1,8}$ 4.4 Hz, 1-H), 4.18 (1H, d, $J_{1,5}$ 9.2 Hz, 5-H), 4.02 (1H, dd, $J_{1,8}$ 4.4, $J_{7,8}$ 9.7 Hz, 8-H), 3.63 (1H, d, $J_{7,8}$ 9.7 Hz, 7-H), 3.44 and 3.39(各1H, ABq, J_{gem} 11.7Hz, 2 ×9-H), 3.01(2H,t, $J_{1',2'}$ 7.0Hz, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.41-1.31(2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.25-1.11(2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 0.74(3H,t, $J_{3',4'}$ 7.3Hz, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).
^{13}C-NMR (100MHz, CD_3OD, 対照TMS)
δ164.89, 87.34, 82.24, 78.57, 77.19, 67.78, 64.23, 43.47, 32.83, 21.01, 14.16.
元素分析 $C_{11}H_{20}N_2O_5$ として
計算値 C, 50.76; H, 7.74; N, 10.76% 実験値 C, 50.35; H, 8.09; N, 10.46%.
次に、粗1-ヒドロキシメチルイソ尿素〔化合物（２－２Ｌ）〕を得、Dowex 50W-X2 (H^+,

1 ml, 14M アンモニア水:50%メタノール水溶液＝１／２８)にて精製し、化合物（２－２Ｌ）(11.7 mg, 収率32.1%)を白色固体として得た。

【００５３】

Rf 0.12 （酢酸／エタノール／トルエン＝１／２／４）

$[\alpha]_D^{23}$ +16.7°(c 0.58, メタノール)

IR (KBr ディスク) 3400 (OH and NH), 1660 (C=N), and 1560 (NH) cm^{-1}

^{1}H-NMR (270MHz, D_2O, 対照 アセトン)

δ3.97(1H, d, $J_{1,5}$ 6.2Hz, 5-H), 3.68 and 3.49(各1H, ABq, J_{gem} 12.5Hz, 2×9-H), 3.64-3.54 (3H, m, 6, 7, and 8-H), 3.02(2H,t, $J_{1',2'}$ 6.8Hz, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.42-1.32(2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.26-1.02(2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 0.74(3H,t, $J_{3',4'}$ 7.1Hz, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).

^{13}C-NMR (100MHz, CD_3OD, 対照TMS)

δ163.59, 91.02, 80.12, 75.90, 75.16, 68.78, 63.31, 43.49, 32.86, 21.05, 14.19.

元素分析 $C_{11}H_{20}N_2O_5$ として

計算値 C, 50.76; H, 7.74; N, 10.76% 実験値 C, 50.41; H, 8.16; N, 10.61%.

実施例８

１Ｌ-（１，２，４，５／３）-５-ジブチルアミノ-１-ヒドロキシメチル-１，２，３，４-シクロペンタンテトラオール〔化合物（ｄ－１）〕および１Ｌ-（１，２，４，５／３）-５-ブチルアミノ-１-ヒドロキシメチル-１，２，３，４-シクロペンタンテトラオール〔化合物（ｄ－２）〕）の合成

化合物Ｃ（エピトレハゾラミンペンタアセテート）（５１．８mg、０．１３３１mmol）を２M塩酸（２ml）に溶解し、８０℃にて２時間攪拌した。反応系を室温に戻した後、減圧濃縮してエピトレハゾラミン塩酸塩の残渣を得た。続いてこの残渣をメタノール（１．５ml）に溶解し、モレキュラーシーブス４Ａ（５０．０mg）を加え、室温で２時間攪拌した。この反応系にブタナール（１３．２μｌ、０．１４６４mmol、１．１equiv.）を加えてさらに室温にて１時間攪拌した。ここへ水素化シアノホウ素ナトリウム（２６．４mg、０．３９９２mmol、３equiv.）を加え、同温にて３時間攪拌した。反応系をセライト濾過した後、メタノールで十分に洗浄した。濾液を減圧濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(Wakogel C-300, ２g, 酢酸／メタノール／クロロホルム＝１／４／１２）にて分離し、まず粗ジブチルエピトレハゾラミン〔化合物（ｄ－１）〕を得た。さらにこれをDowex 50W-X2 (H^+, 1 ml)に吸着させ、水で十分に洗浄した後、１４Ｍアンモニア水／メタノール（１：１３）で溶出し、化合物（ｄ－１）（４．２mg、収率１０．９%）をシロップとして得た。。

【００５４】

Rf 0.47 （12M 塩酸／アセトニトリル＝１／８）

$[\alpha]_D^{23}$ -18.5 ° (c 0.21, メタノール)

IR(KBr ディスク) 3400 (OH 及びNH) 、1620(NH)cm^{-1}

^{1}H-NMR (270MHz, D_2O,対照 アセトン)

δ3.95 (1H, dd, $J_{3,4}$ 4.4, $J_{4,5}$ 6.4 Hz, 4-H), 3.89 (1H, dd, $J_{2,3}$ 6.0 , $J_{3,4}$ 4.4Hz, 3-H), 3.53 (1H, d, $J_{2,3}$ 6.0 Hz, 2-H), 3.49 and 3.43(各1H, ABq, g_{gem} 11.7Hz, 2×6-H), 3.06(1H, d, $J_{4,5}$ 6.4 Hz, 5-H), 2.83-2.65 (4H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.42-1.28(4H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.22-1.08(4H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 0.76(6H,t, $J_{3',4'}$ 7.1Hz, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).

^{13}C-NMR (100MHz, CD_3OD, 対照 TMS)

δ84.77, 80.28, 78.84, 78.20, 67.12, 64.05, 53.33(2C), 31.70(2C), 21.58(2C), 14.50(2C)

HR-FAB-MS $[M+H]^+$

測定値 292.2124 、計算値 292.2124

次に粗モノブチルエピトレハゾラミン〔化合物（ｄ－２）〕を得、ジブチル体と同様にDowex 50W-X2 (H^+, 1 ml)で精製して化合物（ｄ－２）（４．６mg、収率１４．７%）をシ

ロップとして得た。
Rf 0.43　（12M 塩酸／アセトニトリル＝１／８）
$[\alpha]_D^{23}$ +10.9 °　(c 0.23, メタノール)
IR(KBr ディスク) 3350 (OH 及びNH)cm^{-1}
^{1}H-NMR (270MHz, D_2O,対照　アセトン)
δ3.84 (1H, dd, $J_{3,4}$ 4.8, $J_{4,5}$ 7.3 Hz, 4-H), 3.78 (1H, dd, $J_{2,3}$ 7.7,$J_{3,4}$ 4.8Hz, 3-H), 3.54 (1H, d, $J_{2,3}$ 7.7 Hz, 2-H), 3.42 and 3.38(各1H, ABq, g_{gem} 12.3Hz, 2×6-H), 2.94(1H, d, $J_{4,5}$ 7.3 Hz, 5H), 2.59-2.41 (2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.39-1.26(2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.23-1.12(2H, m, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 0.75(3H,t, $J_{3',4'}$ 7.1Hz, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).
^{13}C-NMR (100MHz, CD_3OD, 対照TMS)
δ83.25, 77.93, 76.85, 74.27, 65.76, 60.75, 53.29, 33.32, 21.40, 14.32　HR-FAB-MS $[M+H]^+$
測定値 236.1492 、計算値　236.1498
実験例１
前記実施例で得られた化合物ｄ、ｄ－１、ｄ－２、化合物（１－１Ｌ）、（１－１Ｄ）、（１－２Ｌ）、（１－２Ｄ）、（２－２Ｌ）および比較例としてデオキシノジリマイシン（ＤＮＪ）、Ｎ－ブチルデオキシノジリマイシン（Ｎ－Ｂ－ＤＮＪ）、トレハゾラミンをサンプルとして下記酵素阻害活性を調べた。
１）α-グルコシダーゼ (Baker's yeast, EC 3.2.1.20)(H. Halvorson and L. Ellias, Biochim. Biophys. Acta, 30, 28-40 (1958) に記載)
１穴につきサンプル水溶液 (1 μl)、0.66 mM p-ニトロフェニル α-D-グルコピラノシド緩衝溶液 (98μl)、(0.4 mg/ml) 酵素緩衝溶液(1μl)を加え(全容積 100μl)、37℃にて30分間インキュベーションし、1M 炭酸ナトリウム水溶液 (100 μl) を加え反応を停止させた。この酵素反応によって遊離したp-ニトロフェノールの吸光度(A_{405})を測定した。ブランクとしてサンプル(1μl)と基質 (99μl)で行った吸光度(A_{blank})を、また対照として水 (1 μl) 、基質 (98μl)、および 酵素溶液(1μl)で行った吸光度($A_{control}$)を同様にインキュベーションの後、炭酸ナトリウム水溶液 (100 μl) を加えて測定した。各濃度のサンプル、ブランク、対照それぞれ２穴ずつ同時に行った。なお、緩衝溶液は0.1 M リン酸緩衝溶液(pH 6.8, KH_2PO_4, K_2HPO_4より調製)を使用した。また、酵素活性の５０％阻害濃度（IC_{50}値（Ｍ））については100, 50, 25, 12.5, 6.25, ・・・・・(μg/μl) と順次希釈した各サンプル濃度における吸光度から求めた。
２）β-グルコシダーゼ (Almonds, EC 3.2.1.21)(A. Kobayashi, Agr. Biol. Chem., 26, 203-207 (1962) に記載)
１穴につきサンプル水溶液 (1 μl) 、0.33 mM p-ニトロフェニル β-D-グルコピラノシド緩衝溶液(98 μl)、(0.4 mg/ml) 酵素緩衝溶液(1μl)を加え(全容積100μl)、37℃にて45分間インキュベーションし、1M炭酸ナトリウム水溶液 (100 μl)を加え反応を停止させた。この酵素反応によって遊離したp-ニトロフェノールの吸光度(A_{405})を測定した。ブランクとしてサンプル(1μl)と基質 (99μl)で行った吸光度(A_{blank})を、また対照として水(1 μl) 、基質 (98μl)、および酵素溶液(1μl)で行った吸光度($A_{control}$)を同様にインキュベーションの後、炭酸ナトリウム水溶液 (100 μl) を加えて測定した。なお、緩衝溶液は0.1 M 酢酸緩衝溶液(pH 5.0, NaOAc, AcOHより調製)を使用した。IC_{50}値の算出はα-グルコシダーゼ同様に行った。
３）α-ガラクトシダーゼ (E. Coli, EC 3.2.1.22)(H. Suzuki, S-C. Li, and Y-T. Li, J. Biol. Chem., 245, 781-786 (1970)に記載)
１穴につきサンプル水溶液 (1 μl) 、緩衝溶液(74 μl) 、9.9 mM p-ニトロフェニル α-D-ガラクトピラノシド緩衝溶液 (20μl)、(50μg/ml) 酵素緩衝溶液(5μl)を加え(全容積 100μl)、室温(20～30℃)にて15分間インキュベーションし、0.2M ホウ酸緩衝溶液 (pH 9.8, NaOH, H_3BO_3より調製, 100 μl) を加え反応を停止させた。この酵素反応によって遊離したp-ニトロフェノールの吸光度(A_{405})を測定した。ブランクとしてサンプル(1μ

l)、基質 (20μl)、緩衝溶液(79 μl) で行った吸光度(A_{blank}) を、また対照として水 (1 μl) 、基質 (20μl)、緩衝溶液(74 μl) および 酵素溶液(5μl)で行った吸光度($A_{control}$)を同様にインキュベーションの後、0.2 M ホウ酸緩衝溶液(100μl)を加えて測定した。なお、酵素反応に用いた緩衝溶液は0.1 M リン酸緩衝溶液(pH 6.5,KH_2PO_4, K_2HPO_4より調製)を使用した。IC_{50}値の算出はα-グルコシダーゼ同様に行った。

４）β-ガラクトシダーゼ (E. Coli, EC 3.2.1.23)(G. R. Craven, E. Steers, Jr., and C. B. Anfinsen, J. Biol. Chem., 240, 2468-2477 (1965) に記載)

１穴につきサンプル水溶液 (2 μl) 、緩衝溶液(153μl)、20 mM o-ニトロフェニル β-D-ガラクトピラノシド緩衝溶液 (25μl)、100 mM 2-メルカプトエタノール(10 μl) 、(10 μg/ml)酵素緩衝溶液(10 μl) を加え(全容積 200μl)、室温(20～30℃)にて30分間インキュベーションした。この酵素反応によって遊離したo-ニトロフェノールの吸光度(A_{405})を測定した。ブランクとしてサンプル(2μl)、基質 (25μl)、緩衝溶液(163μl)、2-メルカプトエタノール(10 μl) で行った吸光度(A_{blank})を、また対照として水 (2 μl) 、基質 (25μl)、緩衝溶液(153μl)、2-メルカプトエタノール(10 μl) および酵素溶液(10 μl) で行った吸光度($A_{control}$)を同様にインキュベーションの後、測定した。なお、酵素反応に用いた緩衝溶液は50 mM リン酸緩衝溶液(pH 7.3, KH_2PO_4, K_2HPO_4より調製,1.3 mM $MgCl_2$を含む)を使用した。IC_{50}値の算出はα-グルコシダーゼ同様に行った。

５）β-ガラクトシダーゼ (Bovin liver, EC 3.2.1.23)(T. Aoyagi, T. Hazato, M. Kumagai, M. Hamada, T. Takeuchi, and H. Umezawa, J. Antibiot., 28, 1006-1008 (1975) に記載)

１穴につきサンプル水溶液 (2 μl) 、緩衝溶液(158 μl)、20 mM o-ニトロフェニルβ-D-ガラクトピラノシド緩衝溶液 (25 μl)、100 mM 2-メルカプトエタノール(10 μl) 、(5 mg/ml) 酵素緩衝溶液(5 μl)を加え(全容積 200μl)、室温(20～30℃)にて30分間インキュベーションした。この酵素反応によって遊離したo-ニトロフェノールの吸光度(A_{405})を測定した。ブランクとしてサンプル(2 μl)、基質 (25 μl)、緩衝溶液(163 μl)、2-メルカプトエタノール(10 μl) で行った吸光度(A_{blank})を、また対照として水 (2 μl) 、基質 (25 μl)、緩衝溶液(158 μl)、2-メルカプトエタノール(10 μl) および 酵素溶液(5 μl)で行った吸光度($A_{control}$)を同様にインキュベーションの後、測定した。なお、酵素反応に用いた緩衝溶液は50 mM リン酸緩衝溶液(pH 7.3, KH_2PO_4, K_2HPO_4より調製, 1.3 mM $MgCl_2$を含む)を使用した。IC_{50}値の算出はα-グルコシダーゼ同様に行った。

【００５５】

以上の結果を表１に示す。

【００５６】

【表１】

表1：IC_{50} (M)

化合物	α-グルコシダーゼ (Baker's yeast)	β-グルコシダーゼ (Almonds)	α-ガラクトシダーゼ (E.coli)	β-ガラクトシダーゼ (E.coli)	β-ガラクトシダーゼ (Bovine Liver)
d	4.02×10^{-7}	2.93×10^{-5}	—	—	3.63×10^{-4}
1-1D	2.32×10^{-6}	—	—	—	3.00×10^{-6}
1-1L	2.93×10^{-8}	—	—	—	1.53×10^{-4}
1-2D	9.99×10^{-7}	—	—	—	1.89×10^{-6}
1-2L	5.0×10^{-12}	—	—	—	5.17×10^{-5}
2-2L	7.0×10^{-14}	—	.....	.....	.....
d-1	5.0×10^{-7}	1.3×10^{-4}	.....	.....	.....
d-2	1.7×10^{-8}	3.0×10^{-6}	.....	.....	.....
DNJ	9.19×10^{-5}	1.47×10^{-4}	.....	.....	—
N-B-DNJ	8.0×10^{-5}	5.0×10^{-4}	.....	.....	.....
トレハゾラミン	5.0×10^{-4}	9.9×10^{-6}	.....	.....	.....

注）—：3.0×10^{-4}Mより大きい。 .....：測定せず

【００５７】

上表より本発明の化合物ｄ（エピトレハゾラミン）、化合物（ｄ－１）、化合物（ｄ－２）、５種類のイソ尿素体〔化合物（１－１Ｌ）、化合物（１－１Ｄ）、化合物（１－２Ｌ

）、化合物（１－２Ｄ）、化合物（２－２Ｌ）〕はデオキシノジリマイシン（ＤＮＪ）に比べ１０^{2}～$２×１０^{9}$倍α－グルコシダーゼ阻害活性が高いことが分かる。また、これらはα－グルコシダーゼに特異性が高いことを示している。また、該５種類のイソ尿素体は、それぞれトレハゾラミンよりも強力な阻害活性が発現し、かつα,βの選択性もトレハゾラミンよりも高く、非常に有用な化合物と考えられる。また、２級水酸基とイソ尿素結合を形成した化合物（１－１Ｌ）と３級水酸基と形成した化合物（１－２Ｌ）の阻害活性を比較して見ると、後者の方が若干活性が強い。これは、今回用いた酵素とのバインディングにおいて、グルコースの２位に相当する水酸基がプロトンドナーとしても水素結合に寄与する可能性を示唆している。また、化合物ｄへのフェニル基の導入によりα,βの選択性も著しく向上しており、疎水性部分が大きく選択性にも影響を与えていると予想される。

【００５８】

実験例２

前記実施例で得られた化合物ｄ、化合物（１－２Ｌ）および化合物（２－２Ｌ）ならびに比較例としてトレハゾラミンおよびＮ－ブチルデオキシノジリマイシンをサンプルとしてα－グルコシダーゼＩに対する阻害活性を調べた。

α－グルコシダーゼＩ（Ｂａｋｅｒ’ｓ　ｙｅａｓｔ）および基質（α－Ｄ－Ｇｌｃ１→２α－Ｄ－Ｇｌｃ１→３α－Ｄ－Ｇｌｃ－Ｏ$（ＣＨ_{2}）_{6}$ＣＯＯＣ$Ｈ_{3}$）は、Ｉ．Ｎｅｖｅｒｏｖａ　ｅｔ　ａｌ，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２２２，ｐ．１９０－１９６（１９９４）に記載の方法で調製したものを用いた。

以下の測定法は該文献記載の方法を用いた。

すなわち、上記サンプルと基質（α－Ｄ－Ｇｌｃ１→２α－Ｄ－Ｇｌｃ１→３α－Ｄ－Ｇｌｃ－Ｏ$（ＣＨ_{2}）_{6}$ＣＯＯＣ$Ｈ_{3}$）を含むミクロチューブにα－グルコシダーゼＩを含む緩衝溶液２５μｌを加え、３７℃にて１時間インキュベーションし、１．２５Ｍトリス塩酸緩衝液ｐＨ７．６（２５μｌ）を加え反応を停止させた。反応液をマイクロプレートに移し、２５０μｌの反応緩衝液（ｄｅｖｅｌｏｐｉｎｇ　ｓｏｌｕｔｉｏｎ）（グルコースオキシダーゼ（５単位／ｍｌ、シグマ社製）、ホースラディシュ　パーオキシダーゼ（１　ｐｕｒｐｕｒｏｇａｌｌｉｎ単位、シグマ社製）、Ｏ－ジアニシジンニ塩酸（４０μｇ／ｍｌ）を含む１Ｍトリス塩酸緩衝液ｐＨ７．２）を加えた。３７℃にて３０分または吸光度の上昇がプラトーに達するまでインキュベーションした。この酵素反応によって生成した酸化されたＯ－ジアニシジンの吸光度（$Ａ_{450-650}$）を測定した。ブランクとして上記サンプルと基質を加えないで反応した後の吸光度を測定した。また既知量のＤ－グルコースに上記反応緩衝液を加えてインキュベーションした後の吸光度を測定し、Ｄ－グルコース量と吸光度との関係について調べた。これらの測定は、それぞれ２穴ずつ同時に行った。

それぞれの上記サンプルの$ＩＣ_{50}$値を与える前後のサンプル濃度と基質濃度(0.25～4.0mM)において上記測定を行い、上記D-グルコース量と吸光度との関係から、サンプル存在下でのα－グルコシダーゼＩの酵素反応による基質からのグルコース遊離量を測定した。得られた結果から、Ｋｍ値を求め、サンプル量とＫｍ値とからＫｉ値を求めた。

表２にこの結果を示した。表２に示す通り、本発明の化合物はα－グルコシダーゼＩの酵素活性を阻害する。また、特に化合物（２－２Ｌ）は抗ＨＩＶ剤として研究開発されているＮ－Ｂ－ＤＮＪと同等の活性を有することから抗ＨＩＶ剤として期待される。

【００５９】

【表２】

表２

化合物	Ｋｉ（μＭ）
ｄ	３００
１－２Ｌ	５１
２－２Ｌ	４．２
Ｎ－Ｂ－ＤＮＪ	３．６
トレハゾラミン	１５００

【００６０】

実験例３

ＨＩＶ産生に対するアミノシクロペンタン誘導体の阻害効果（ＨＩＶの中和アッセイ）

本発明化合物のＨＩＶの中和活性をヒト正常末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を用いたウイルス中和アッセイによって求めた。前記実施例で得られた化合物ｄ、化合物（１－１Ｌ）、化合物（１－２Ｌ）、化合物（２－２Ｌ）および比較例としてＮ－メチルデオキシノジリマイシン（Ｎ－ｍＤＮＪと略）、Ｎ－Ｂ－ＤＮＪ、トレハゾラミン、アジドチミジン（ＡＺＴ）の０．１μＭおよび１μＭをサンプルとして、$ＨＩＶ_{ＭＮ}$のＴＣＩ$Ｄ_{50}$（ｍｅｄｉａｎ ｔｉｓｓｕｅ ｃｕｌｔｕｒｅｉｎｆｅｃｔｉｏｎ ｄｏｓｅ）の１００倍量と混合し、３７℃で６０分間インキュベートした。この混合物を５μｇ植物凝集素（ＰＨＡ）で２４時間活性化されたＰＢＭＣ １×１０^{6} 個を含むエッペンドルフチューブに移し、３７℃の水浴中で６０分間振とうした。なお、ＰＨＡを用いた該活性化は、ＰＢＭＣを刺激培地（ｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ ｍｅｄｉｕｍ）中で２４時間培養して行った。該刺激培地は、ＲＰＭＩ１６４０培地にグルタミン（２ｍＭ）、熱不活化された１０％ウシ胎児血清、０．０１％ＰＨＡ（Ｄｉｆｃｏ社製）、抗ＩＮＦα抗体（５０単位／ｍｌ、コスモバイオ社販売）、ペニシリン（５０単位／ｍｌ）およびストレプトマイシン（５０μｇ／ｍｌ）を加えた培地である。ＰＢＳで３回洗浄後、該細胞を成長培地（ｇｒｏｗｔｈ ｍｅｄｉｕｍ）１ｍｌに懸濁し、これを培養チューブ（Ａ－Ｓ Ｎｕｎｃ，Ｒｏｓｋｉｌｄｅ，デンマーク）に移して、７日間培養した。なお該成長培地は、ＲＰＭＩ１６４０培地にグルタミン（２μＭ）、熱不活化された１０％ウシ胎児血清、Ｔ細胞成長因子（ＩＬ－２）（４０単位／ｍｌ、塩野義製薬（株）販売）、抗ＩＮＦα抗体（５０単位／ｍｌ、コスモバイオ社販売）、ペニシリン（５０単位／ｍｌ）およびストレプトマイシン（５０μｇ／ｍｌ）を加えた培地である。ＨＩＶの上清への産生をＨＩＶ－１ ｐ２４抗原ＥＬＩＳＡ（Ｄｉｎａｂｏｔ社製）により測定し（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４２，４２４８－４２５５（１９８９）、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４８，２１７５－２１８０（１９９２））、サンプルのＨＩＶ産生に対する阻害効果を阻害（％）で表した。中和アッセイに使用した$ＨＩＶ_{ＭＮ}$は、５μｇ／ｍｌのＰＨＡで７日間活性化したＰＢＭＣと$ＨＩＶ_{ＭＮ}$（Ｈ９／ＨＴＬＶ－$ＩＩＩ_{ＭＮ}$、ＡＩＤＳ Ｒｅｓｅａｒｃｈａｎｄ Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ Ｒｅａｇｅｎｔ Ｐｒｏｇｒａｍ、ＮＩＨ、Ｒｏｃｋｖｉｌｌ、ＭＤ）のＴＣＩ$Ｄ_{50}$の１００倍量とを７日間培養し、該培養上清から細胞を除くことで調製し、実験に使用するまで－１３０℃で貯蔵したものである。該$ＨＩＶ_{ＭＮ}$は、ＰＨＡ活性化ＰＢＭＣで滴定し、１ｍｌ当たりのＴＣＩ$Ｄ_{50}$を定義した。図１にこの結果を示した。各検体の阻害の程度は、ＡＺＴ １μＭでの阻害を７０％とし

た阻害（％）として縦軸に表した。 図１に示す通り、本発明の化合物は抗ＨＩＶ活性を有する。図１において、０．１μＭにおける阻害（％）は、ｄ、２－２Ｌ、Ｎ－Ｂ－ＤＮＪの他は、０％である。

実験例４

ＨＩＶで誘導される細胞融合（巨細胞形成）に対するアミノシクロペンタン誘導体の阻害効果

10^6 個のＭｏｌｔ４細胞または 10^6 個のＭｏｌｔ４／ＨＩＶ－III Ｂ細胞を含む培地に各々、サンプルとして、前記実施例で得られた化合物（１－２Ｌ）、化合物（２－２Ｌ）、化合物ｄ、化合物（ｄ－２）、化合物（ｄ－１）および比較例としてＮ－ｍＤＮＪ、Ｎ－Ｂ－ＤＮＪ、ＡＺＴの０．１μＭおよび１μＭを各々加え、３日間インキュベートした。該培地は、ＲＰＭＩ１６４０培地にグルタミン（２ｍＭ）、熱不活化された１０％ウシ胎児血清、ペニシリン（５０単位／ｍｌ）およびストレプトマイシン（５０㎎／ｍｌ）を加えた培地である。インキュベート後の、該Ｍｏｌｔ４細胞と該Ｍｏｌｔ４／ＨＩＶ－III Ｂ細胞とを同数混合し、３７℃で２４時間インキュベーション後、細胞の大きさと数とをマルチサイザー（Ｍｕｌｔｉｓｉｚｅｒ）（Ｃｏｕｌｔｅｒ社製）を用いて測定した。直径が２０μｍ以上の細胞を細胞融合によって生じた巨細胞とみなした。細胞融合（巨細胞形成）に対するサンプルの阻害効果を阻害（％）で表した。

図２にこの結果を示した。縦軸は、該阻害（％）である。図２に示す通り、本発明の化合物は抗ＨＩＶ活性を有する。図２において、０．１μＭにおけるＡＺＴの阻害（％）は、０％である。

実験例５

本発明の化合物（ｄ、１－１Ｌ、１－２Ｌ、２－２Ｌ、ｄ－１、ｄ－２）は、表１及び２に示したようにα－グルコシダーゼに対する阻害活性が既知のデオキシノジリマイシンに対し著しく強力であり、特に１－１Ｌ、１－２Ｌ、２－２Ｌはβ－グルコシダーゼ活性の阻害作用が弱く、α－グルコシダーゼに特異性の高い阻害剤であることが判明した。さらに、これらの化合物の細胞毒性を検討した。

【００６１】

２０ｍＭの化合物ｄ水溶液、１０ｍＭの化合物（１－１Ｌ）の５０％ＤＭＳＯ溶液、１０ｍＭの化合物（１－２Ｌ）の５０％ＤＭＳＯ溶液を調製し、被検物質とした。

１２穴のマイクロプレート（３．８cm^2 ／穴、コーニング製）を用い、Ｂ１６メラノーマ細胞を１０％牛胎仔血清（ＦＣＳ）を含むダルベッコ改変イーグル培地（ギブコ・ラボラトリーズ製）中で２×10^5 細胞／ｍｌ／穴で３７℃、５％CO_2 条件で培養し、２４時間後に各被検物質を含むダルベッコ改変イーグル培地に交換し、さらに２４時間前記条件下で培養後、ＥＤＴＡを加えることによって細胞を回収し、ＰＢＳで細胞を洗浄後、０．３％トリパンブルー溶液による染色で細胞の生存率を判定した。

【００６２】

その結果、表３に示されるように、検討した全ての濃度範囲において細胞毒性は認められなかった。化合物（１－２Ｌ）ではα－グルコシダーゼの５０％阻害濃度（IC_{50}）の１００００倍の濃度においても細胞毒性は認められず、安全性の高い医薬品として有用であると考えられる。

【００６３】

【表３】

表３

化合物	化合物濃度（μM）			
	１００	５０	１０	５
d	－	－	－	－
１－１Ｌ	－	－	－	－
１－２Ｌ	－	－	－	－

０．３％トリパンブルー溶液で染色後の生存率（コントロールを１００％）

＋：２５％、±：５０％、－：９５％以上

【００６４】

【発明の効果】

本発明のアミノシクロペンタン誘導体、特に、化合物（１－１）、（１－２）、（２－１）および（２－２）はDNJの様なエンド窒素とマンノスタチンの様なエキソ窒素を有する新規な化合物であり、新規な医薬あるいは農薬に応用が期待される。また、今後、本発明の新規化合物から様々なアナログの合成が可能であり、より特異性の高い誘導体を得ることが期待される。

【００６５】

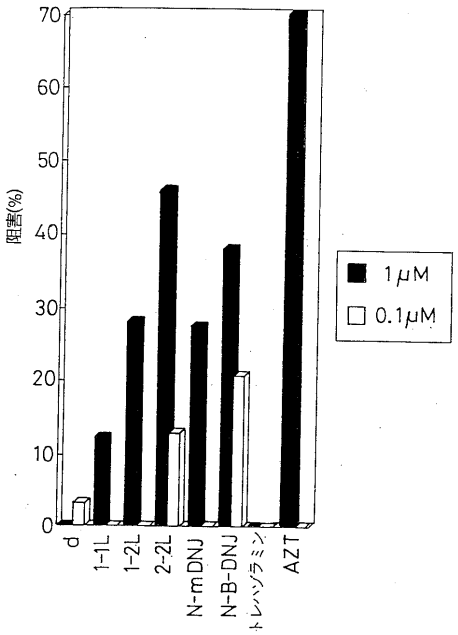
即ち、本発明の化合物はグルコシダーゼ阻害活性と関連する種々の生化学的相互作用に影響を及ぼすと考えられる系の研究に寄与することができ、新規薬剤の開発、例えば、抗ＨＩＶ剤等の抗ウイルス剤、肥満、糖尿病等の脂質、糖代謝関連の疾病治療剤、免疫アジュバンド等の免疫系を制御する薬剤、癌転移抑制剤、病原菌としてPellicularia sasakii, Rhizotonia solani 等が知られている稲紋枯病等に使用される農薬、抗菌剤および殺虫剤等に応用され得る。そして、本発明の化合物は抗ＨＩＶ活性を示すことから、抗ＨＩＶ剤として有用である。

【図面の簡単な説明】

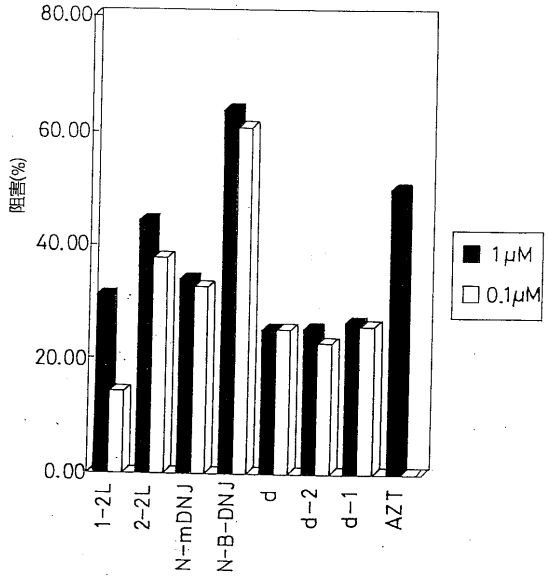
【図１】ＨＩＶを感染させたＰＨＡ活性化ＰＢＭＣによるＨＩＶ産生に対する阻害活性を示すグラフである。

【図２】ＨＩＶ感染Ｍｏｌｔ－４／ｃ１８細胞とＭｏｌｔ－４／III Ｂ細胞との共培養による細胞融合（巨細胞形成）に対する阻害効果を示すグラフである。

【図１】


70
60
50
40
30
20
10
0
阻害(%)
1μM
0.1μM
d
1-1L
1-2L
2-2L
N-mDNJ
N-B-DNJ
トレハゾラミン
AZT

【図２】


80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
阻害(%)
1μM
0.1μM
1-2L
2-2L
N-mDNJ
N-B-DNJ
d
d-2
d-1
AZT

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI	
A61P 31/18	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	31/18
A61P 3/08	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	3/08
Ｃ０７Ｃ 335/16	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｃ	335/16
Ｃ０７Ｄ 303/36	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	303/36

(72)発明者 内田 力
愛知県知多郡美浜町大字奥田字儀路３６２ フレンドハイツ１０１
(72)発明者 木村 洋
埼玉県幸手市権現堂１１３４－２ 幸手寮２１８号室
(72)発明者 井ノ口 仁一
東京都小平市上水新町１－６－９

審査官 中木 亜希

(56)参考文献 特開平０６－１００５４９（ＪＰ，Ａ）
J.Chem.Soc.Perkin Trans.1, １９９４年 3月 7日, No.5, p.589-602
J.Chem.Soc.Perkin Trans.1, １９９２年, No.15, p.1939-1942

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
REGISTRY(STN)
CA(STN)
CAOLD(STN)