



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I882103 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 05 月 01 日

(21)申請案號：110111917 (22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 03 月 31 日

(51)Int. Cl. : *A61K31/7135 (2006.01)* *C07H23/00 (2006.01)*
C07F1/12 (2006.01) *C07F9/50 (2006.01)*
A61K41/00 (2020.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/04/01 日本 JP2020-066177

(71)申請人：日商ORBIO股份有限公司(日本)ORBIO CORPORATION (JP)
日本

(72)發明人：山口栄一 YAMAGUCHI, EIICHI (JP)；飯嶋秀樹 IJIMA, HIDEKI (JP)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

(56)參考文獻：

期刊 Navarro M, et al., Metal-chloroquine derivatives as possible anti-malarial drugs: evaluation of anti-malarial activity and mode of action, Malar J, 13:471, 2014/12/3.

審查人員：陳琬瑜

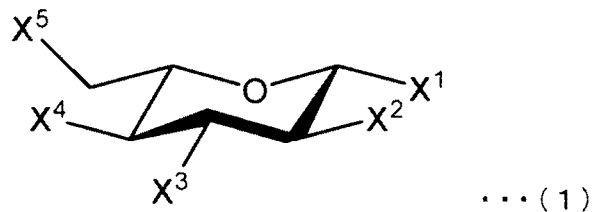
申請專利範圍項數：2 項 圖式數：6 共 31 頁

(54)名稱

金屬醣類錯合物

(57)摘要

本發明係一種 L-葡萄糖衍生物，其以下述通式 (1) 所表示。



[式 (1) 中， X^1 表示-SAu R^1 基， X^2 、 X^3 、 X^4 及 X^5 分別獨立地表示-OR 2 基、-NH $_2$ 基或氟原子； R^1 表示配位基， R^2 表示氫原子或有機基]

無



I882103

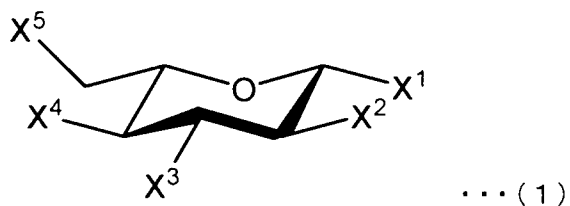
【發明摘要】

【中文發明名稱】 金屬醣類錯合物

【英文發明名稱】 無

【中文】

本發明係一種L-葡萄糖衍生物，其以下述通式（1）所表示。



[式（1）中，X¹表示-SAuR¹基，X²、X³、X⁴及X⁵分別獨立地表示-OR²基、-NH₂基或氟原子；R¹表示配位基，R²表示氫原子或有機基]

【英文】

無

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 金屬醣類錯合物

【英文發明名稱】 無

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種金屬醣類錯合物。

【先前技術】

【0002】 近年來，作為癌症之非侵入性治療法的溫熱療法（Hyperthermia）受到關注。溫熱療法係一種利用癌細胞（惡性腫瘤細胞）與正常細胞相比不耐熱之性質，藉由對患部加熱而使癌細胞死滅或使癌細胞周圍環境改變，或者使癌症治療之效果增強，藉此謀求患者存活率提昇之方法（例如參照非專利文獻1）。作為溫熱療法中之加熱方法，例如可例舉對患部照射射頻波（RF波）之方法。其被稱為高頻溫熱療法。

【0003】 然而，於通常之對患部照射射頻波之方法中，難以選擇性地對癌細胞進行加熱，且周圍之正常細胞亦會被加熱，故存在能量效率較差，對患者負擔較大等問題。對此，專利文獻1中揭示有一種方法，其以磁性粒子等作為RF吸收增強劑（敏化藥物），將其引入腫瘤（患部）中而提昇RF波之加熱效率。作為將RF吸收增強劑引入腫瘤中之方法，例如揭示有藉由注射等而作為流體之一部分直接導入腫瘤中之方法、或使用MRI引入患部之方法等。

先前技術文獻

專利文獻

【0004】 專利文獻1：日本特表2007-536016號公報

非專利文獻

【0005】 非專利文獻1：Killock, D. Nature Reviews Clinical Oncology, 15: 266, 2018.

【發明內容】

[發明所欲解決之課題]

【0006】 然而，專利文獻1等習知方法中，存在難以將吸收增強劑選擇性地僅引入腫瘤中，或者難以將RF吸收增強劑引入深部之癌、尤其是胰臟癌之癌細胞中等問題。

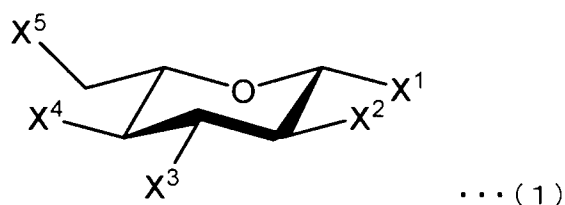
【0007】 因而，本發明之一目的在於提供一種敏化藥物，該敏化藥物可選擇性地滲入癌細胞中，且於高頻溫熱療法時，可選擇性地使標的部位發熱。

【0008】 又，作為癌症之一般治療法之一，已知有使用抗癌劑之方法。通常，抗癌劑不僅會作用於癌細胞，亦會作用於正常細胞，結果會出現較強之副作用。如何減輕該副作用便成為癌症治療中的課題。對此，掌握癌細胞特異性表現之分子而抑制癌細胞之生長或轉移的分子標的藥受到關注。期待藉由分子標的藥來抑制傳統抗癌劑所引起之副作用。然而，實際上，被稱為癌細胞特異性表現之分子亦會表現於正常細胞中，又，分子標的藥亦會作用於與設想不同之分子等，而產生較多副作用。更何況人類身體係細胞之集合。只要是細胞，其活動之能量源或增生中就需要碳源。因而，藉由對滲入細胞之分子進行標記來識別癌，而非以我們生物體內所存在之特定之蛋白或分子作為標的之方法近年來再次受到關注（Ono K. et al., Cancers 2020）。

【0009】 然，若是對正常細胞為低毒性，且選擇性地滲入癌細胞中而發揮毒性之化合物，便可減輕副作用。因而，本發明之另一目的在於提供一種對正常細胞為低毒性，且選擇性地滲入癌細胞中而發揮毒性之化合物。

[解決課題之技術手段]

【0010】 本發明人等為了解決上述課題進行了銳意研究，結果發現一種以下通式（1）所表示之L-葡萄糖衍生物。



[式（1）中，X¹表示-SAuR¹基，X²、X³、X⁴及X⁵分別獨立地表示-OR²基、-NH₂基或氟原子；R¹表示配位基，R²表示氫原子或有機基]

【0011】 如實施例所示，藉由該L-葡萄糖衍生物，便可選擇性地滲入癌細胞中。如實施例所示，於該L-葡萄糖衍生物之存在下，RF波之加熱效率提昇，故可發揮作為敏化藥物之功能。如實施例所示，該L-葡萄糖衍生物對正常細胞為低毒性，且可期待其提高對癌細胞之選擇性之效果。

【0012】 藉由本發明之L-葡萄糖衍生物實現上述效果之理由尚不明確，本發明人等之研究如下所示。

【0013】 L-葡萄糖係自然界中罕見之分子，但其係自然界中廣泛存在之葡萄糖即D-葡萄糖之光學異構物。D-葡萄糖經由存在於細胞膜之葡萄糖轉運體（GLUT或SGLT）滲入細胞內，而成為能量源或者碳源，另一方面，認為L-葡萄糖係無法通過葡萄糖轉運體者，而基本無法滲入正常細胞中。

【0014】 另一方面，本發明之L-葡萄糖衍生物之至少一部分有可能選擇性地滲入癌細胞中。

【0015】 此外，本發明之L-葡萄糖衍生物於分子中包含金原子（Au），故考慮其是否有可能獲得加熱效果。進而，本發明之L-葡萄糖衍生物於分子中包含金原子（Au），故於滲入癌細胞中時，金原子有可能對癌細胞發揮顯著之毒性。

[發明之效果]

【0016】 根據本發明，能夠提供一種可選擇性滲入癌細胞中，且於高頻溫熱療法時，可選擇性地使標的部位發熱之敏化藥物。進而，根據本發明，能夠提供一種對正常細胞為低毒性，且選擇性地滲入癌細胞中而發揮毒性之化合物。

【圖式簡單說明】

【0017】

[圖1]係表示RF波照射單元之示意圖。

[圖2]係表示對培養天數4DIV (Days In Vitro, 體外天數) 之MIN6投予LGG時之死亡細胞數之比率之圖。

[圖3] (A) 係培養天數5DIV之MIN6之代表性光學顯微鏡照片，(B) 係對培養天數5DIV之MIN6投予LGG後之細胞之代表性光學顯微鏡照片，(C) 係對培養天數5DIV之MIN6預先投予PHT後，間隔一定時間再投予LGG之細胞之代表性光學顯微鏡照片。

[圖4]係圖3之光學顯微鏡照片之放大圖。

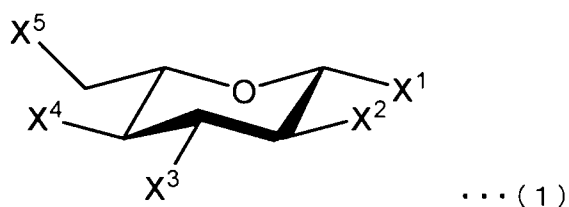
[圖5]係表示於PHT存在下及非存在下投予LGG時藉由表示活細胞之活性的螢光標記物鈣黃綠素 (Calcein) 之螢光強度進行評價之結果之圖。

[圖6]係表示對培養天數19DIV之MIN6投予LGG時之死亡細胞數之比率之圖。

【實施方式】

【0018】 以下，對本發明之適宜實施形態詳細地進行說明。但，本發明並不受限於以下實施形態。

【0019】 本實施形態之L-葡萄糖衍生物具有下述通式(1)所表示之結構。



[式(1)中， X^1 表示-SAu R^1 基， X^2 、 X^3 、 X^4 及 X^5 分別獨立地表示-OR 2 基、-NH $_2$ 基或氟原子； R^1 表示配位基， R^2 表示氫原子或有機基]

【0020】 葡萄糖衍生物中有D體及L體，通式(1)所表示之結構係L體之葡萄糖衍生物。又，葡萄糖衍生物中可能存在變旋異構物，即 X^1 朝向赤道方向之變旋異構物及 X^1 朝向軸方向之變旋異構物，本實施形態之L-葡萄糖衍生物可為該等之混合物。

【0021】 作為 R^1 中之配位基，例如可例舉：磷配位基、硫醇配位基、烯烴配位基等。

【0022】 R^1 較佳為磷配位基，更佳為三烷基磷配位基，進而較佳為三乙基磷配位基。

【0023】 作為 R^2 中之有機基，例如可例舉：烷基、烯基、炔基、芳基、醯基等。該等基可進而具有其他取代基。有機基之碳數例如可設為1~10，較佳為1~5，更佳為1~3。

【0024】 R^2 較佳為氫原子、烷基或醯基，更佳為氫原子或醯基，進而較佳為氫原子或乙醯基。

【0025】 通式(1)所表示之L-葡萄糖衍生物例如可由L體之糖或其衍生物合成。作為L體之糖或其衍生物之具體例，可例舉L-葡萄糖、L-甘露糖、L-半乳糖、1,2:5,6-二-O-亞異丙基- α -L-葡萄糖呋喃糖等。

【0026】 作為由L體之糖或其衍生物合成通式(1)所表示之L-葡萄糖衍生物之方法，例如可例舉實施例所記載之方法等。可適當組合實施例所記載之方法之各步驟，或利用先前公知之方法導入取代基，藉此合成各種衍生物。

【0027】 通式(1)所表示之L-葡萄糖衍生物適合用作高頻溫熱療法時所利用之敏化藥物。高頻溫熱療法中可使用先前公知之裝置。

【0028】 通式(1)所表示之L-葡萄糖衍生物可於高頻溫熱療法中之RF波之照射前或照射中投予。

【0029】 將通式(1)所表示之L-葡萄糖衍生物用作敏化藥物之高頻溫熱療法可對癌症之治療起效，尤其可對胰臟癌、腦瘤、乳癌、子宮癌等各種癌症之治療起效。

【0030】 藉由使用通式(1)所表示之L-葡萄糖衍生物，可對癌症之治療起效，尤其可對胰臟癌、腦瘤、乳癌、子宮癌等各種癌症之治療起效。

【0031】 通式(1)所表示之L-葡萄糖衍生物例如可以如下形式進行投予：經口劑（錠劑、顆粒劑、散劑、膠囊劑、糖漿劑等）；舌下錠；注射劑（靜脈內投予用、肌內投予用、皮下投予用、腹腔內投予用、關節內投予用、硬膜外投予用）；或者對宮頸部或口腔內、皮膚等局部直接應用。

實施例

【0032】 以下，基於實施例進一步具體地對本發明進行說明，但本發明並不受限於任何實施例。再者，合成之化合物之結構係使用UPLC-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR等進行鑑定。再者，實施例中所使用之縮寫及化合物名之關係如下所示。

KSAc：硫代乙酸S-鉀

NaOMe：甲醇鈉

Et₃PAuCl：氯(三乙基磷)金(I)

DMF：N,N-二甲基甲醯胺

HOBt：1-羥基苯并三唑

WSC HCl：1-乙基-3-(3-二甲胺基丙基)碳二醯亞胺鹽酸鹽

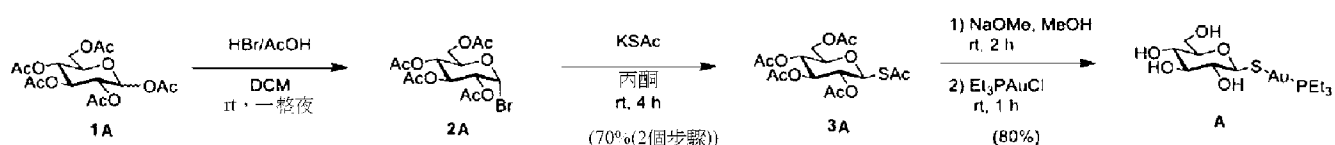
TMSOTf：三氟甲磺酸三甲基矽酯

THF：四氫呋喃

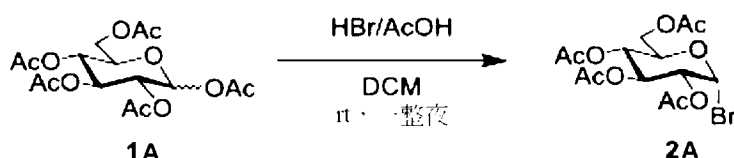
【0033】 參考合成例

化合物A之合成

以五-O-乙醯基-β-D-葡萄糖吡喃糖（化合物1A）作為起始原料，按照以下反應式，合成化合物A。

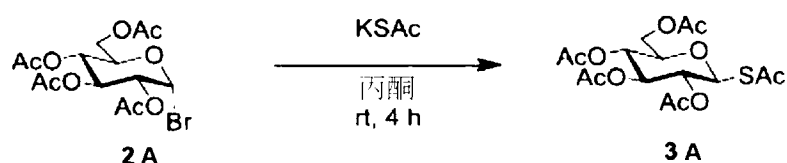


【0034】 (1) 化合物2A之合成



向100 mL茄形燒瓶中加入化合物1A（6.0 g、15.4 mmol）、二氯甲烷36 mL，添加25%溴化氫-乙酸6.0 mL。於室溫攪拌一整夜後，添加水15 mL，進行分液操作。藉由飽和碳酸氫鈉溶液15 mL、鹽水（Brine）15 mL將所獲得之有機層洗淨後，藉由硫酸鈉進行乾燥、濃縮。藉此，獲得7.9 g之無色油狀之化合物2A。不進行進一步之純化，進入下一步驟。

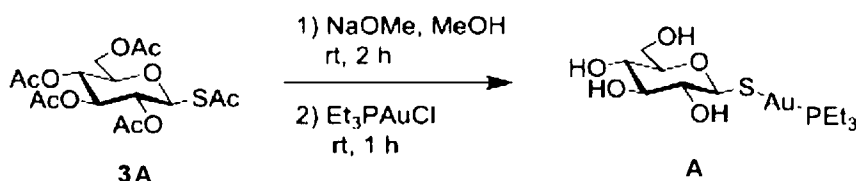
【0035】 (2) 化合物3A之合成



向100 mL燒瓶中加入化合物2A（6.3 g）、丙酮30 mL、KSAc（3.5 g、30.7 mmol），於室溫攪拌4小時。使反應液濃縮後，添加乙酸乙酯50 mL、水30 mL，進行分液操作。收集有機層後，藉由鹽水（Brine）30 mL進行洗淨，藉由硫酸鈉

進行乾燥。使溶液濃縮，藉此獲得6.7 g之褐色油狀之粗產物。於矽膠140 g、展開溶劑：庚烷/乙酸乙酯=2：1~3：2之條件下進行純化。使目標組分濃縮後，藉由庚烷200 mL進行洗淨、過濾，藉此獲得3.9 g之淡粉色固體之化合物3A（產率63%（2個步驟））。

【0036】 (3) 化合物A之合成



向500 mL燒瓶中加入化合物3A（1.5 g，3.7 mmol）、甲醇150 mL，於冰浴冷卻下，在內溫4°C添加5 M NaOMe甲醇溶液0.89 mL。於室溫攪拌2小時後，添加Et₃PAuCl（1.4 g，4.0 mmol）。於室溫攪拌1小時後，藉由使反應溶液濃縮，獲得無色油狀之粗產物688 mg。於矽膠14.5 g（吸附量1.5 g）、展開溶劑：乙酸乙酯/甲醇=9：1~4：1之條件進行純化，使目標組分濃縮。將濃縮殘渣溶解於甲醇20 mL中，添加活性碳600 mg，攪拌1小時，進行矽藻土過濾，獲得化合物A（(1-硫代-β-D-葡萄糖吡喃糖苷)(S-三乙基磷)金(I)）。

與以化合物3A（500 mg，1.2 mmol）為起始原料且藉由同樣之方法獲得之化合物A合併，而獲得無色非晶化合物A 1.7 g（產率63%（2個步驟））。

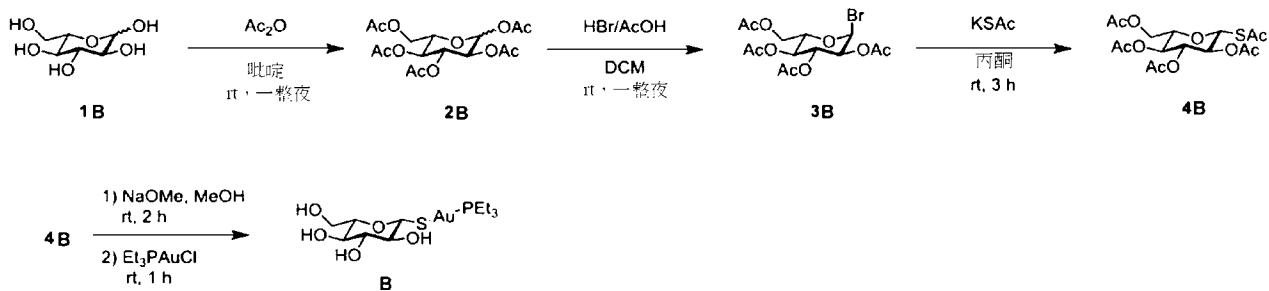
【0037】 [比旋光度測定]

將50.7 mg之化合物A溶解於甲醇中，製成5.00 mL。使用槽長度100 mm之槽，測定比旋光度10次，除去最大值及最小值後取平均值，其平均值為+7.28度。

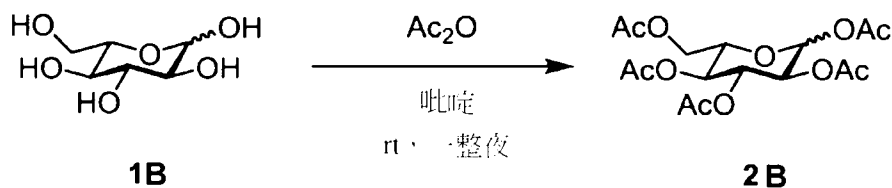
【0038】 實施例1

化合物B之合成

以L-(-)-葡萄糖（化合物1B）作為起始原料，按照以下反應式，合成化合物B。

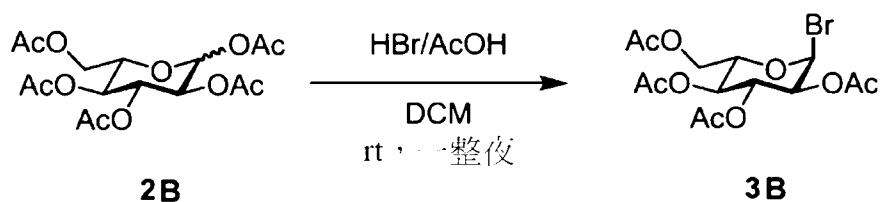


【0039】 化合物2B之合成



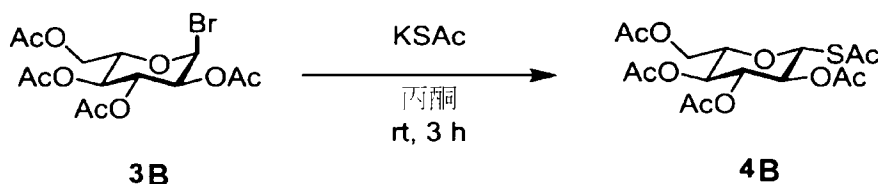
向200 mL茄形燒瓶中加入化合物1B (5.0 g, 27.6 mmol)、吡啶50 mL，添加乙酸酐15.7 mL。於室溫攪拌一整夜後，添加乙酸乙酯200 mL、水100 mL，進行分液操作。藉由1 M鹽酸50 mL、鹽水 (Brine) 50 mL將所獲得之有機層洗淨，進行濃縮。藉此，獲得12.1 g之無色油狀之化合物2B。不進行進一步之純化，進入下一步驟。

【0040】 化合物3B之合成



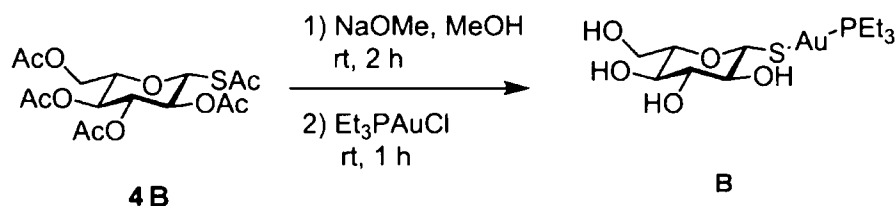
向200 mL茄形燒瓶中加入化合物2B (12.1 g)、二氯甲烷60 mL，添加25%溴化氫-乙酸10 mL。於室溫攪拌一整夜後，添加水100 mL、氯仿100 mL，進行分液操作。藉由飽和碳酸氫鈉溶液100 mL、鹽水 (Brine) 100 mL將所獲得之有機層洗淨後，藉由硫酸鈉進行乾燥、濃縮。藉此，獲得15.9 g之無色油狀之化合物3B。不進行進一步之純化，進入下一步驟。

【0041】 化合物4B之合成



向300 mL茄形燒瓶中加入化合物3B (15.9 g)、丙酮55 mL、KSAc (6.4 g, 55.6 mmol), 於室溫攪拌4小時。使反應液濃縮後, 添加乙酸乙酯100 mL、水100 mL, 進行分液操作。收集有機層後, 藉由鹽水 (Brine) 30 mL進行洗淨, 藉由硫酸鈉進行乾燥。藉由使溶液濃縮, 獲得11.3 g之褐色油狀之粗產物。於矽膠200 g、展開溶劑: 甲苯/乙酸乙酯=9:1~5:1之條件下進行純化, 藉此獲得5.1 g之橙色固體之化合物4B (產率45% (3個步驟))。

【0042】 化合物B之合成



向300 mL燒瓶中加入化合物4B (4.1 g, 10.1 mmol)、甲醇100 mL, 於冰浴冷卻下, 在內溫4°C添加5 M NaOMe甲醇溶液2.42 mL。於室溫攪拌2小時後, 添加Et₃PAuCl (3.18 g, 9.0 mmol)。於室溫攪拌1小時後, 藉由使反應溶液濃縮, 獲得無色油狀之粗產物5.8 g。於矽膠100 g (吸附量6.0 g)、展開溶劑: 乙酸乙酯/甲醇=9:1~4:1之條件下進行純化, 使目標組分濃縮, 藉此獲得化合物B ((1-硫代-β-L-葡萄糖吡喃糖苷)(S-三乙基膦)金(I)) 2.5 g (產率49%)。

【0043】 [比旋光度測定]

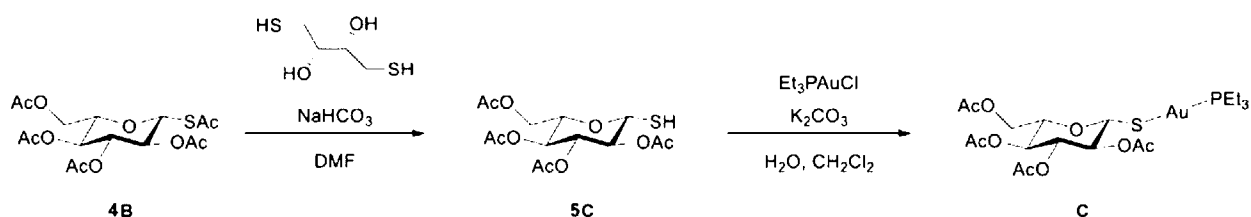
將50.5 mg之化合物B溶解於甲醇中, 製成5.00 mL。藉由槽長度100 mm之槽, 於20°C測定比旋光度10次, 除去最大值及最小值後取平均值, 結果為-8.73度。再

者，與已知之作為D體之化合物A之比旋光度 (+7.28度) 進行比較，確認化合物B為L體。

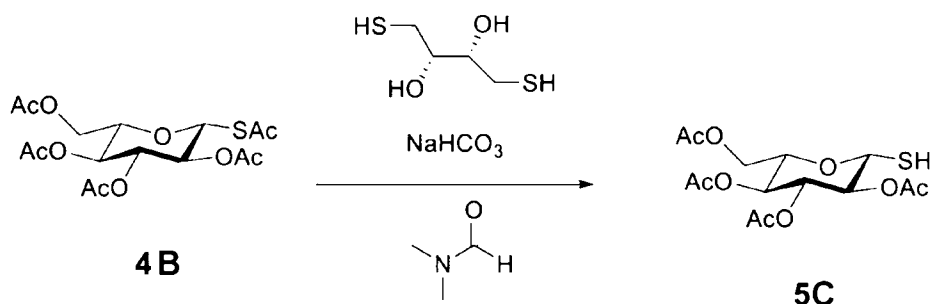
【0044】 實施例2

化合物C之合成

以實施例1之化合物4B為起始原料，按照以下反應式，合成化合物C。

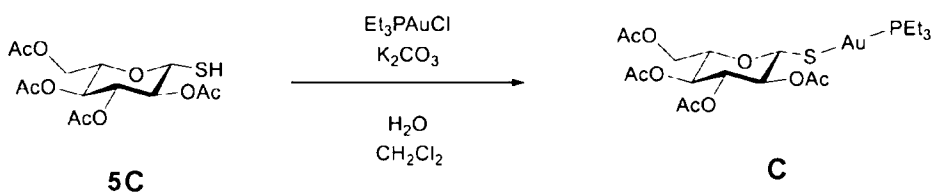


【0045】 (1) 化合物5C之合成



於氫氣流下，向100 mL茄形燒瓶中加入化合物4B (19.0 g)及DMF(19.0 mL)。添加NaHCO₃ (0.06 g) 及(2S,3S)-1,4-二巰基丁烷-2,3-二醇 (1.80 g)，於室溫攪拌2小時。藉由LC/MS確認原料消失後，向反應溶液中添加水/甲苯 (20 mL/20 mL)，進行分液。向有機層中添加無水Na₂SO₄，過濾後，藉由蒸發器將濾液減壓濃縮，獲得黃色溶液 (3.09 g)。不進行進一步之純化，進入下一步驟。

【0046】 (2) 化合物C之合成



於氫氣流下，向100 mL茄形燒瓶中加入化合物5C (3.1 g)、 CH_2Cl_2 (14.0 mL) 及水 (14.0 mL)。於冰浴冷卻下，添加 Et_3PAuCl (1.6 g) 及 K_2CO_3 (0.77 g)。恢復至室溫後，攪拌1小時。添加水 (30.0 mL)，藉由 CH_2Cl_2 (30.0 mL) 萃取2次。添加無水 MgSO_4 ，過濾後，藉由蒸發器將濾液減壓濃縮，獲得黃色溶液 (3.6 g)。使用中性矽膠 (60-210 μm ，64 g)，於展開溶劑：庚烷/乙酸乙酯 = 1 : 1 ~ 1 : 3 之條件下對粗產物 (3.6 g) 進行純化，使目標組分濃縮，藉此獲得2.03 g之白粉色固體之化合物C ((2,3,4,6-四-O-乙醯基-1-硫代- β -L-葡萄糖吡喃糖苷)(S-三乙基磷)金(I)) (產率64%)。

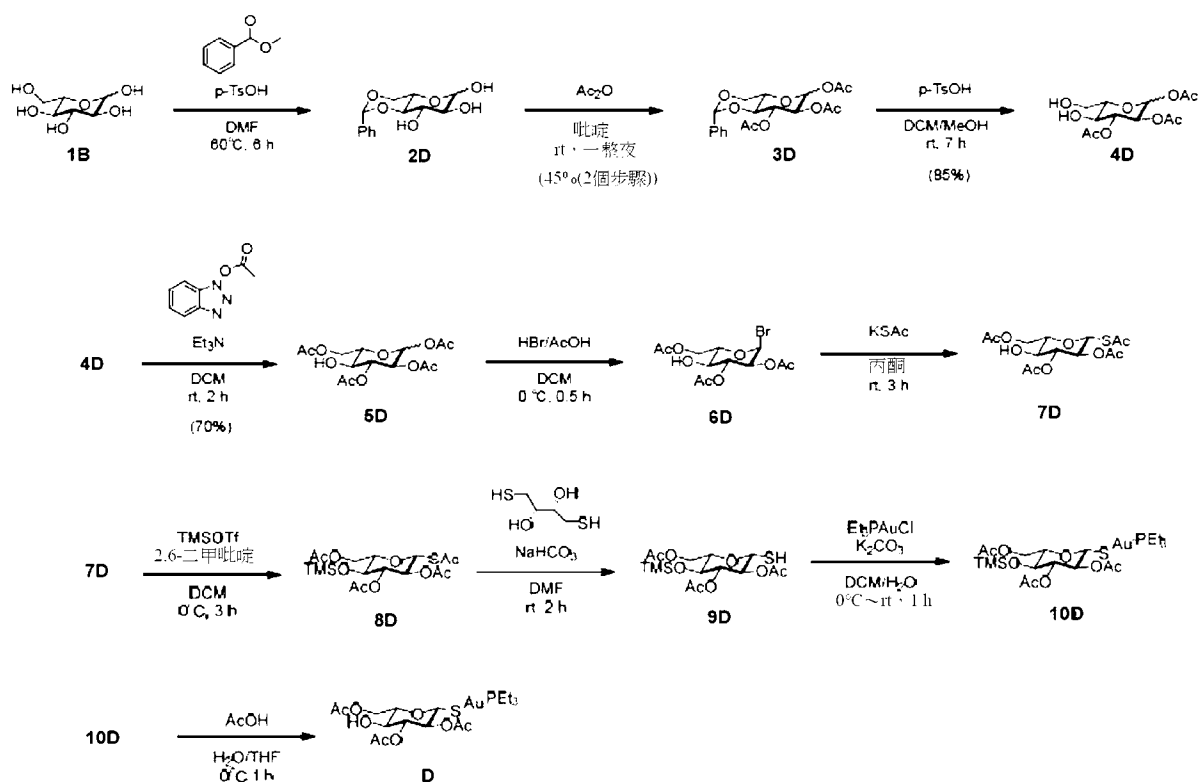
【0047】 [比旋光度測定]

將化合物C 101.2 mg溶解於甲醇10.0 mL中，製備濃度1.01 mg/mL之樣品溶液。使用槽長度100 mm之槽，於20°C，測定比旋光度10次，除去最大值及最小值後取平均值，結果為+56.1度。再者，作為化合物C之D體之金諾芬 (auranofin) 之比旋光度為-52度 (參考Green Chemistry, 2015,17,4,2545-2551)，可確認化合物C為L體。

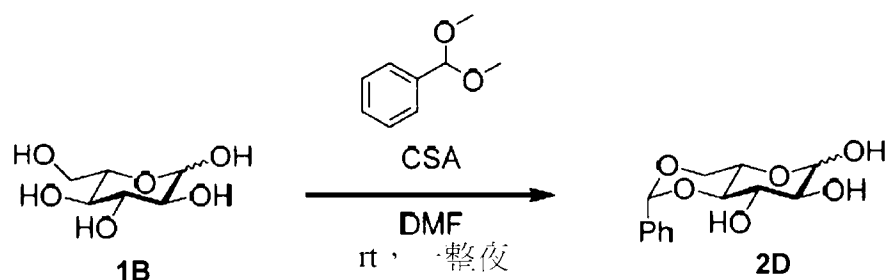
【0048】 實施例3

化合物D之合成

以L-(-)-葡萄糖 (化合物1B) 作為起始原料，按照以下反應式，合成化合物D。

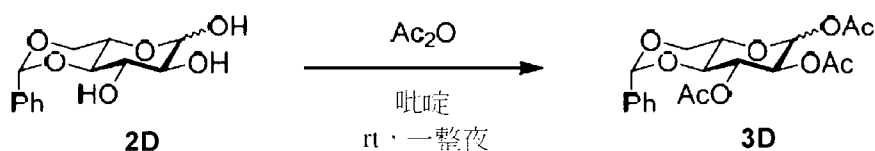


【0049】 化合物2D之合成



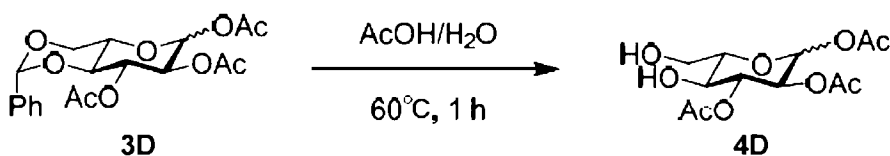
向500 mL茄形燒瓶中加入化合物1B (23.0 g, 128 mmol)、DMF 220 mL，添加苯甲醛二甲基縮醛 (22.3 g, 147 mmol)、CSA (2.97 g, 12.8 mmol)。於室溫攪拌一整夜後，添加三乙胺10 mL，使反應停止。於浴溫60°C使反應溶液減壓濃縮，藉此獲得50.2 g之黃色油狀之化合物2D。不進行進一步之純化，進入下一步驟。

【0050】 化合物3D之合成



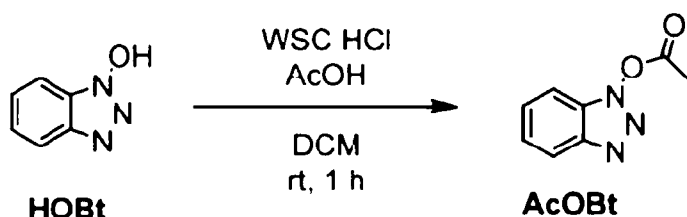
向500 mL茄形燒瓶中加入化合物2D (50.2 g)、吡啶300 mL。於冰浴冷卻下，添加乙酸酐60.5 mL (640 mmol)。於室溫攪拌一整夜後，將反應溶液注加至乙酸乙酯200 mL、水300 mL之混合溶液中。進行分液操作後，藉由1 M鹽酸200 mL對所獲得之有機層進行洗淨。進而，藉由飽和碳酸氫鈉溶液200 mL對有機層進行洗淨。藉由硫酸鈉使有機層乾燥後，進行減壓濃縮。藉由甲苯200 mL共沸3次，藉此獲得56.1 g之黃色固體之粗產物 (化合物3D)。不進行進一步之純化，進入下一步驟。

【0051】 化合物4D之合成



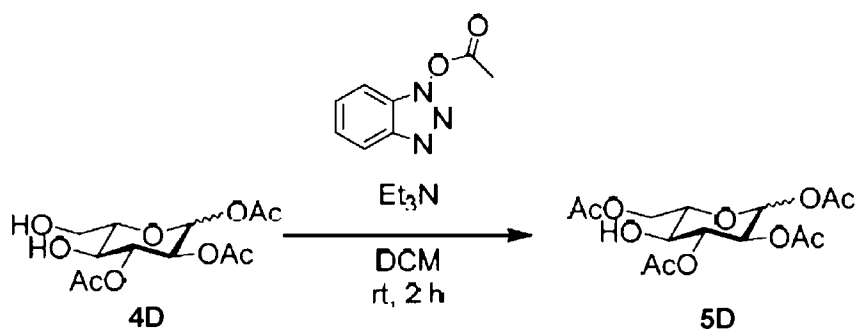
向1 L燒瓶中加入化合物3D (56.1 g)、乙酸400 mL、水100 mL，於內溫60°C攪拌1小時。於浴溫50°C使反應溶液減壓濃縮後，添加氯仿300 mL、飽和碳酸氫鈉溶液400 mL，進行分液操作。進而，藉由氯仿100 mL萃取10次。藉由硫酸鎂使所獲得之有機層乾燥後，進行減壓濃縮，藉此獲得43.3 g之褐色油狀之粗產物。於矽膠900 g、展開溶劑：氯仿/甲醇 = 100 : 0 ~ 95 : 5之條件下進行純化。使目標組分濃縮，且於40°C進行減壓乾燥，藉此獲得19.5 g之白色非晶之化合物4D。

【0052】 AcOBt之合成



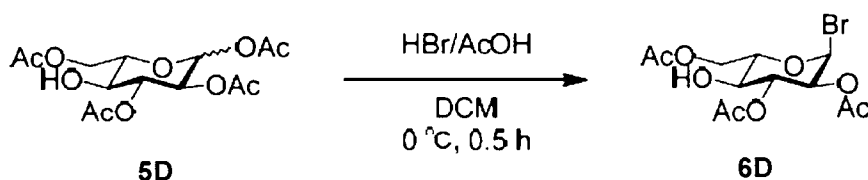
於氬氣環境下，向300 mL茄形燒瓶中加入HOBt (10.3 g, 76.0 mmol)、二氯甲烷100 mL，添加WSC HCl (15.3 g, 79.8 mmol)、乙酸 (4.78 mL, 83.6 mmol)。於室溫攪拌1小時後，用於化合物5D之合成。

【0053】 化合物5D之合成



於氬氣環境下，向500 mL燒瓶中加入化合物4D (19.4 g, 63.3 mmol)、二氯甲烷200 mL，添加三乙胺 (11.0 mL, 76.0 mmol)。於冰浴冷卻下，於內溫40°C滴加AcOBt。此時，內溫上升至60°C。於室溫攪拌2小時後，添加水200 mL，進行分液操作。進而，藉由二氯甲烷100 mL萃取3次。藉由硫酸鎂使所獲得之有機層乾燥，進行減壓濃縮，藉此獲得29.1 g之黃色油狀之粗產物。於矽膠600 g、展開溶劑：庚烷/乙酸乙酯=1:1~1:2之條件下進行純化。使目標組分於40°C進行減壓濃縮、乾燥，藉此獲得13.2 g之無色油狀之化合物5D (產率60%)。

【0054】 化合物6D之合成



於氬氣環境下，向300 mL茄形燒瓶中加入化合物5D (8.5 g, 24.4 mmol)、二氯甲烷 (超脫水) 60 mL。於冰浴冷卻下，在內溫4°C滴加30%溴化氫-乙酸30 mL。於相同溫度攪拌30分鐘後，向冰水30 mL中注加反應溶液。進行分液操作

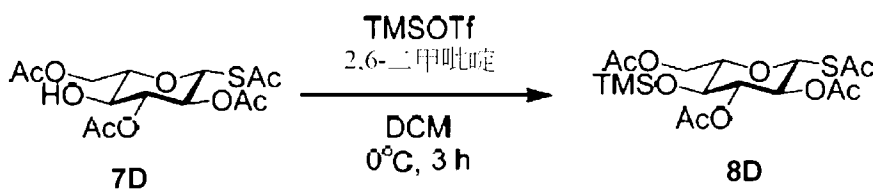
後，藉由二氯甲烷30 mL萃取2次。藉由硫酸鎂使所獲得之有機層乾燥後，於浴溫30°C進行減壓濃縮。藉此，獲得10.5 g之無色油狀之化合物6D。不進行進一步之純化，進入下一步驟。

【0055】 化合物7D之合成



向300 mL茄形燒瓶中加入化合物6D (10.5 g)、丙酮90 mL、KSAc (3.1 g, 26.8 mmol)，於室溫攪拌3小時。使反應液濃縮後，添加乙酸乙酯200 mL、水100 mL，進行分液操作。進而藉由乙酸乙酯100 mL進行萃取後，藉由硫酸鈉使有機層乾燥。藉由使溶液減壓濃縮，獲得7.6 g之褐色油狀之粗產物。於矽膠160 g、展開溶劑：甲苯/乙酸乙酯=4：1~2：1之條件下進行純化，藉此獲得4.4 g之黃色固體之化合物7D (產率50% (2個步驟))。

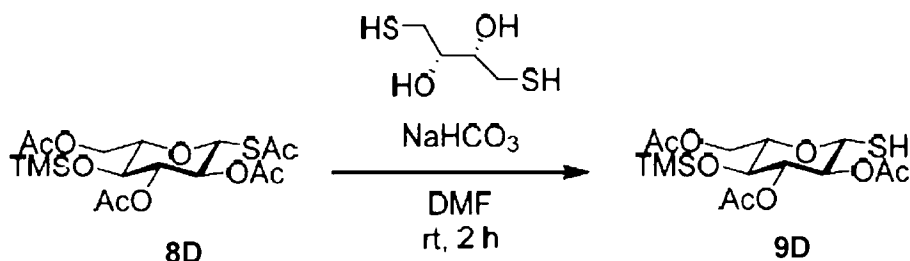
【0056】 化合物8D之合成



於氬氣環境下，向30 mL茄形燒瓶中加入化合物7D (150 mg, 0.412 mmol)、二氯甲烷2.0 mL。於冰浴冷卻下，添加2,6-二甲吡啶 (88.2 mg, 0.823 mmol)、TMSOTf (0.10 mL, 0.535 mmol)，於相同溫度攪拌3小時。向氯仿10 mL、水10 mL之混合溶液中注加反應溶液，進行分液操作。藉由硫酸鎂使所獲得之有機層乾燥。使該有機層進行減壓濃縮，藉此獲得油狀之粗產物300 mg。於矽膠10 g、展開溶劑：庚烷/乙酸乙酯=4：1~2：1之條件下進行純化，藉此獲得115 mg之

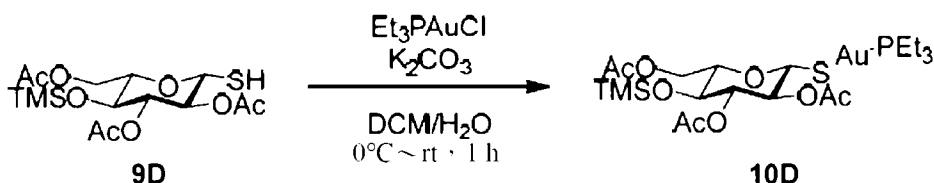
無色固體之化合物8D (產率64%)。

【0057】 化合物9D之合成



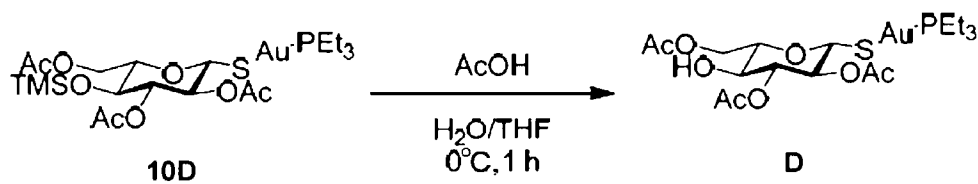
向30 mL茄形燒瓶中加入化合物8D (111 mg, 0.254 mmol)、DMF 1.0 mL, 添加碳酸氫鈉 (3.2 mg, 0.038 mmol)、二硫蘇糖醇 (66.7 mg, 0.432 mmol)。於室溫攪拌2小時後, 添加甲苯10 mL、水10 mL, 進行分液操作。進而藉由甲苯10 mL萃取2次。藉由硫酸鎂使所獲得之有機層乾燥後, 使溶液減壓濃縮。藉此, 獲得140 mg之黃色油狀之化合物9D。不進行進一步之純化, 進入下一步驟。

【0058】 化合物10D之合成



向30 mL茄形燒瓶中加入化合物9D (140 mg)、二氯甲烷1.0 mL、水1.0 mL。於冰浴冷卻下, 添加碳酸鉀(40 mg, 0.305 mmol)、Et₃PAuCl(90 mg, 0.267 mmol)。於室溫攪拌1小時後, 添加氯仿10 mL、水10 mL, 進行分液操作。藉由硫酸鎂使所獲得之有機層乾燥後, 進行減壓濃縮, 藉此獲得300 mg之油狀之粗產物。於矽膠10 g、展開溶劑: 庚烷/乙酸乙酯=4:1~1:1之條件下進行純化。使目標組分濃縮、乾燥, 藉此獲得55.7 mg之無色油狀之化合物10D (產率32% (2個步驟))。進而, 回收41.9 mg之化合物14 (產率65%)。

【0059】 化合物D之合成



向30 mL茄形燒瓶中加入水1.0 mL、乙酸0.10 mL。於冰浴冷卻下，滴加化合物10D (29.0 mg, 0.041 mmol) 之THF溶液 (1.0 mL)。於相同溫度攪拌1小時後，向反應溶液中添加乙酸乙酯10 mL、飽和碳酸氫鈉溶液10 mL，進行分液操作。藉由硫酸鎂使所獲得之有機層乾燥後，進行減壓濃縮，藉此獲得24.4 mg之化合物D ((2,3,6-三-O-乙醯基-1-硫代-β-L-葡萄糖吡喃糖苷)(S-三乙基膦)金(I)) (產率94%)。

【0060】 <化合物之評價>

對實施例中所獲得之化合物進行以下所示之試驗。

【0061】 [RF波照射試驗]

為了確認由本發明之L-葡萄糖衍生物產生之溫度上升效果，使用圖1所示之RF波照射單元10，進行射頻波 (RF波) 照射試驗。RF波照射單元10具備：高頻產生器1、連接於高頻產生器1之上部電極3及下部電極5、用以屏蔽於上部電極3與下部電極5之間產生之電磁波之電磁屏7。於上部電極3與下部電極5之間設置試樣S，當於上部電極3與下部電極5之間照射電磁波 (RF波) 時，會產生電力線LEF，而可進行RF波照射試驗。將RF波照射之條件設為頻率 (13.56 MHz)。

【0062】 為了在RF照射時準確測定試樣S之溫度，使用光纖溫度計FL-2000 (安立計器製造)。將溫度感測器FS100 (安立計器製造) 之前端插入試樣S之中心部，進行溫度測定。

【0063】 作為試樣S，使用以既定之金原子濃度 (以金原子計為0 ppm, 308.9 ppm) 含有化合物D ((2,3,6-三-O-乙醯基-1-硫代-β-L-葡萄糖吡喃糖苷)(S-三乙基膦)金(I)) 之含水凝膠。含水凝膠係生物體組織之模型，化合物D係包含金原子

之L-葡萄糖衍生物。

【0064】 具體而言，將含有化合物D之凝膠封入聚苯乙烯製容器中，將所得之樣品用作試樣S。該樣品按照以下順序製備。於被上部電極3及下部電極5夾住時電極間距離為28 mm之聚苯乙烯製容器中封入包含既定濃度之化合物D之含水凝膠。

【0065】 對於不包含化合物D之情形（以金原子計為0 ppm）及包含化合物之情形（以金原子計為308.9 ppm），根據自30°C上升至35°C所需之時間求出升溫速度（°C/min）。於不包含化合物D之情形時，升溫速度平均為2.5（°C/min），標準誤差SE為0.06°C。於包含化合物D之情形時，升溫速度平均為2.9（°C/min），標準誤差SE為0.12°C。根據該等結果可確認，與不包含化合物D之情形相比，包含化合物D之情形時升溫速度增大。

【0066】 <L-葡萄糖衍生物投予試驗>

使用小鼠之胰臟β細胞之腫瘤化（胰島素瘤）細胞株MIN6（Miyazaki J. et al., *Endocrinology* 127:126-132,1990），進行以下實驗。此處，所有實驗均是預先向96孔之細胞培養小室中加入約1000個MIN6細胞，投予上述化合物B（以下稱為LGG）之實驗與投予上述化合物A（以下稱為DGG）之對照實驗應注意儘量避免外部干擾。

【0067】 再者，來自小鼠胰臟之MIN6細胞係異質之細胞集群（Yamato, E. et al., *PLoS One* 8: e61211, 2013），培養開始後至4-5 DIV左右，正常細胞即產生胰島素之胰島β細胞（islet of langerhans β cell）占主要比率，表現病理學上所謂之惡性細胞性質之細胞雖存在一部分，但其比率較小。另一方面，推定：若當培養天數例如超過10 DIV，整體達到細胞狀態惡化之時期時，則惡性細胞之比率會相對增加（Sasaki, A. et al., *Human Cell* 2016, 29, 37-45）。

【0068】 對Vitro之培養天數為4 DIV（Days In Vitro）之MIN6投予LGG。

LGG係L-葡萄糖之1位OH基取代於-SAuP(C₂H₅)₃基上之L-葡萄糖衍生物。作為對照實驗，亦進行投予DGG之實驗。DGG係D-葡萄糖之1位OH基取代於-SAuP(C₂H₅)₃基上之D-葡萄糖衍生物。

【0069】 具體而言，對培養天數為4 DIV之MIN6分別投予0~1000 μM之LGG及DGG，經過90分鐘後，作為該等之濃度之函數，測定藉由死亡細胞標記物PI (Propidium Iodide) 評價之死亡細胞數之比率。將其結果示於圖2中。於圖2中，橫軸表示DGG或LGG之濃度，縱軸表示PI螢光之每個細胞之平均強度之總和。其中，縱軸係將濃度1000 μM之死亡細胞數假定為各細胞培養小室 (well) 內之總細胞數，根據總細胞數之螢光強度進行標準化時之值 (%)。折線係走向引導線 (Eye guide)。

【0070】 根據圖2之內插推定，投予DGG時，若其濃度超過約1 μM，則至少可按本實驗所使用之標準檢測出藉由PI評價之細胞死亡。DGG係公知化合物，認為其細胞毒性取決於進入細胞內之金原子 (Au) (Sutton B. M. et al., J. Med. Chem. 15: 1095-98, 1972; Wu, B. et al., J. Med. Chem. 62: 7751-68, 2019)。根據圖2觀測到，關於細胞之藉由PI評價之核異常，呈現50%有效量 (effective dose) 之DGG之濃度處於1 μM至10 μM之間。

【0071】 另一方面，推定：投予LGG時，若其濃度超過10 μM，則可檢測出藉由PI評價之細胞死亡。於本實驗條件中，觀測到呈現50%有效量之LGG之濃度處於10 μM至100 μM之間，由此推定，LGG對以胰島β細胞株為代表之正常細胞之安全性較高，其安全性約為DGG之10倍 (約1位數)。

【0072】 此處，為了驗證圖2所明示之LGG所致之細胞死亡確實係因LGG滲入細胞內所引起，而進一步進行實驗。具體而言，於根皮素 (phloretin, 以下稱為PHT) 存在下投予LGG，測試細胞死亡是否受到抑制。

【0073】 PHT作為水通道蛋白或葡萄糖轉運體等多樣之膜通道蛋白之抑

制劑而發揮功能 (Ono K. et al., *Cancers* 12: 850, 2020)。特定物質 (此處係LGG) 之效果「被PHT抑制」意指該物質 (即LGG) 之至少一部分經由上述膜通道蛋白被轉運至細胞內，且該轉運被PHT抑制 (Ono K. et al., *Cancers* 12: 850, 2020)。即，推定：若於PHT存在下對MIN6細胞應用L-葡萄糖衍生物，則由於PHT對非轉運體型轉運機制之抑制效果，導致LGG向存在於異質之細胞集群之部分「可滲入L-葡萄糖衍生物之細胞」之滲入受到抑制。

【0074】 作為具體之實驗，藉由光學顯微鏡分別觀察以下情形時之細胞狀態，即，對於培養天數為5 DIV之MIN6，(A) 未投予LGG之情形 (對照實驗)，(B) 用時10 min投予100 μ M之LGG之情形，(C) 預先投予150 μ M之PHT後用時10 min投予100 μ M之LGG之情形。將結果分別示於圖3A~C中，將圖3中之a~i之放大圖 (放大圖彼此之比例尺全部相同) 示於圖4a~i中。

【0075】 於圖3B、及其放大圖即圖4e中，觀察到一部分細胞中細胞質之一部分為向細胞外突出之特徵形態 (參照箭頭)。此種形態於圖3A、及其放大圖即圖4a~d中並未觀察到，表示細胞狀態惡化。另一方面，於圖3C、及其放大圖即圖4f~i中，幾乎未觀察到表示細胞狀態惡化之細胞。

【0076】 進而，於PHT存在下及非存在下，定量解析LGG對細胞之影響。具體而言，與上述圖3之情形相同，根據表示活細胞活性之螢光標記物鈣黃綠素之螢光強度，對以下情形分別進行評價，即，對於MIN6 (5DIV)，(A) 未投予LGG之情形 (對照)，(B) 用時10 min投予100 μ M之LGG之情形 (LGG)，(C) 預先投予150 μ M之PHT後用時10 min投予100 μ M之LGG之情形 (LGG+PHT)。將結果示於圖5中。圖5中，誤差槓 (Error bar) 表示標準誤差SE，括弧內之數值表示所解析之ROI之數。

【0077】 再者，鈣黃綠素之螢光強度反映細胞內之水解酶酯酶之活性，鈣黃綠素之螢光強度降低表示細胞狀態惡化。圖之縱軸表示每個設定於細胞之重

點區域 (region of interest, ROI) 之鈣黃綠素之平均螢光強度 (arbitrary unit, A.U.)。於統計解析中，使用龐費洛尼-鄧恩法 (Bonferroni-Dunn test)。

【0078】 根據圖5中之左側 (對照) 之條柱 (bar) 與中央 (LGG) 之條柱之實驗群之比較可知，LGG使MIN6細胞之活性明顯降低。進而，根據中央 (LGG) 之條柱與右側 (LGG + PHT) 之條柱之實驗群之比較可知，由LGG引起之細胞活性之降低被PHT明顯抑制。

【0079】 重複相同實驗3次，均得到同樣之結果。其表示LGG之至少一部分經由被PHT抑制之機制對MIN6細胞發揮作用，使其細胞活性降低。最有可能之機制係LGG經由「被PHT抑制之通道般之膜通道蛋白」(Sasaki A. et al., Human Cell 2016, 29, 37-45) 滲入細胞內，而使細胞活性降低。如上所述，MIN6細胞中有可能混合存在一部分表現此種通道樣蛋白之腫瘤細胞，LGG有可能滲入此種腫瘤細胞內，使細胞活性減弱，而導致細胞死亡。

【0080】 進而，對培養天數DIV較長之MIN6進行與圖2相同之實驗。將18 DIV之DGG、19 DIV之LGG之結果示於圖6中。其中，對於任一情形，均於DGG或LGG投予10分鐘後再進行觀察。再者，繪圖表示死亡細胞數之比率。

【0081】 根據該結果可知，於DIV較大之情形時，投予LGG時之死亡細胞數之比率之LGG濃度依存性與投予DGG時之死亡細胞數之比率之DGG濃度依存性基本一致。原本於培養天數為18-19 DIV之MIN6細胞中，死亡細胞之比率增加，培養環境惡化，故據此推定，惡性腫瘤細胞於存活細胞中所占之比率會相對增加。對於此種細胞群，LGG會明顯造成較多細胞死亡。

【0082】 根據以上結果可知，對正常細胞之毒性遠低於DGG之LGG之至少一部分選擇性地滲入癌細胞內部，推測其滲入後，金原子 (Au) 對癌細胞呈現顯著之毒性。

【符號說明】

【0083】

1:高頻產生器

3:上部電極

5:下部電極

7:電磁屏

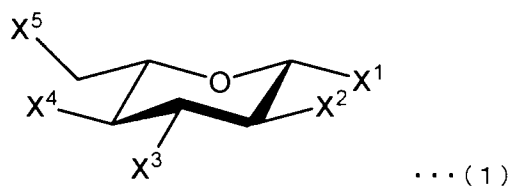
10:RF波照射單元

S:試樣

LEF:電力線

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種L-葡萄糖衍生物，其以下述通式（1）所表示，



[式（1）中，X¹表示-SAuR¹基，X²、X³、X⁴及X⁵分別獨立地表示-OR²基；R¹表示三烷基膦配位基，R²表示氫原子或乙醯基]。

【請求項2】 如請求項1之L-葡萄糖衍生物，其中，R¹為三乙基膦配位基。

【發明圖式】

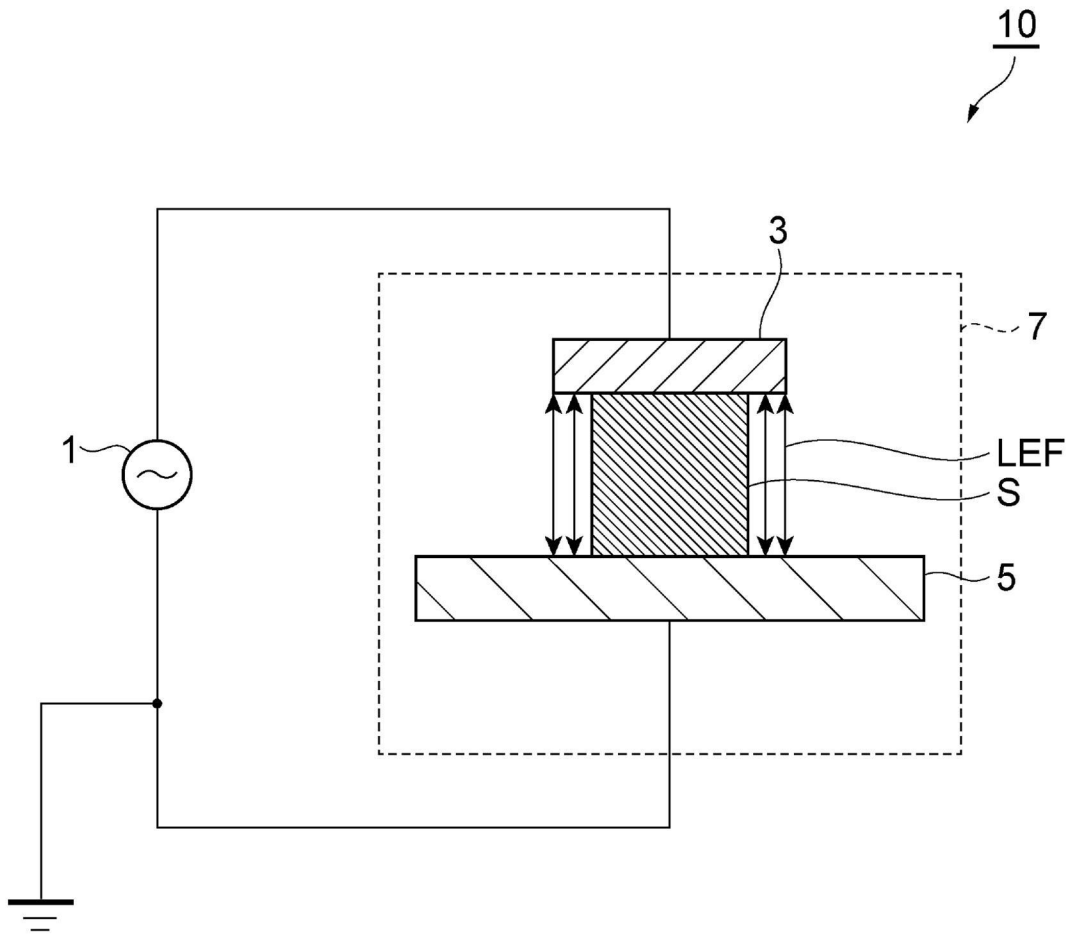


圖1

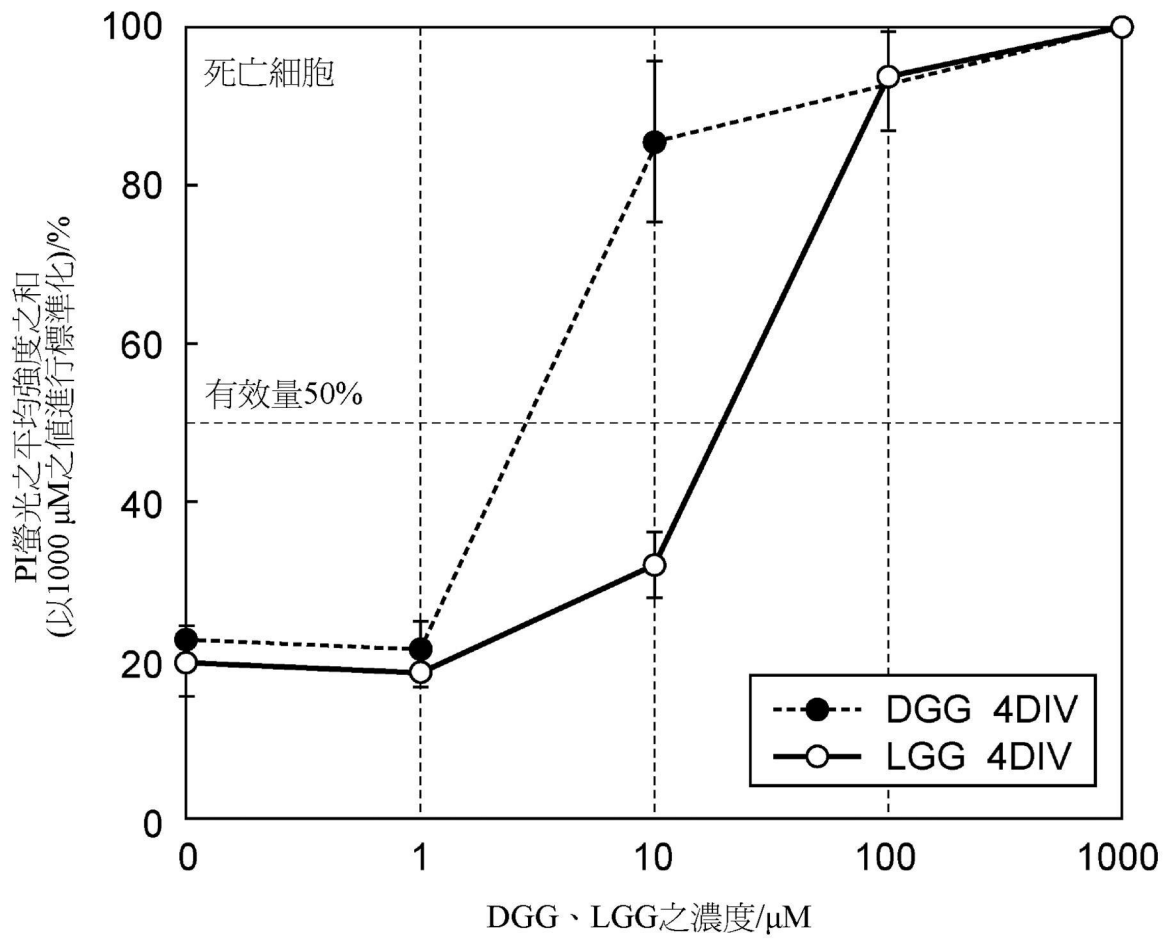


圖2

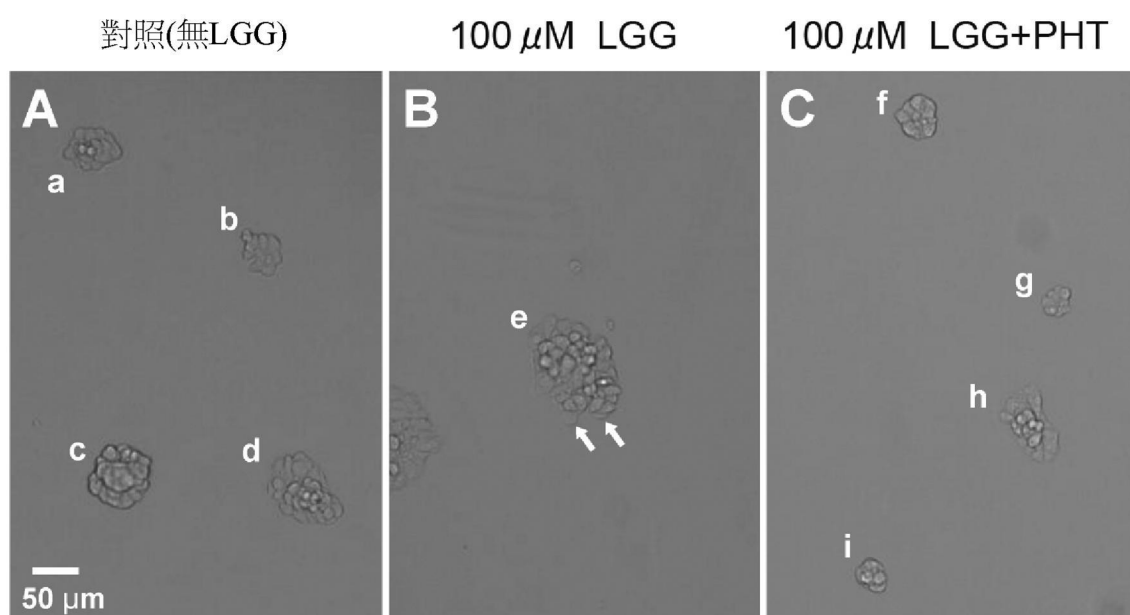


圖3

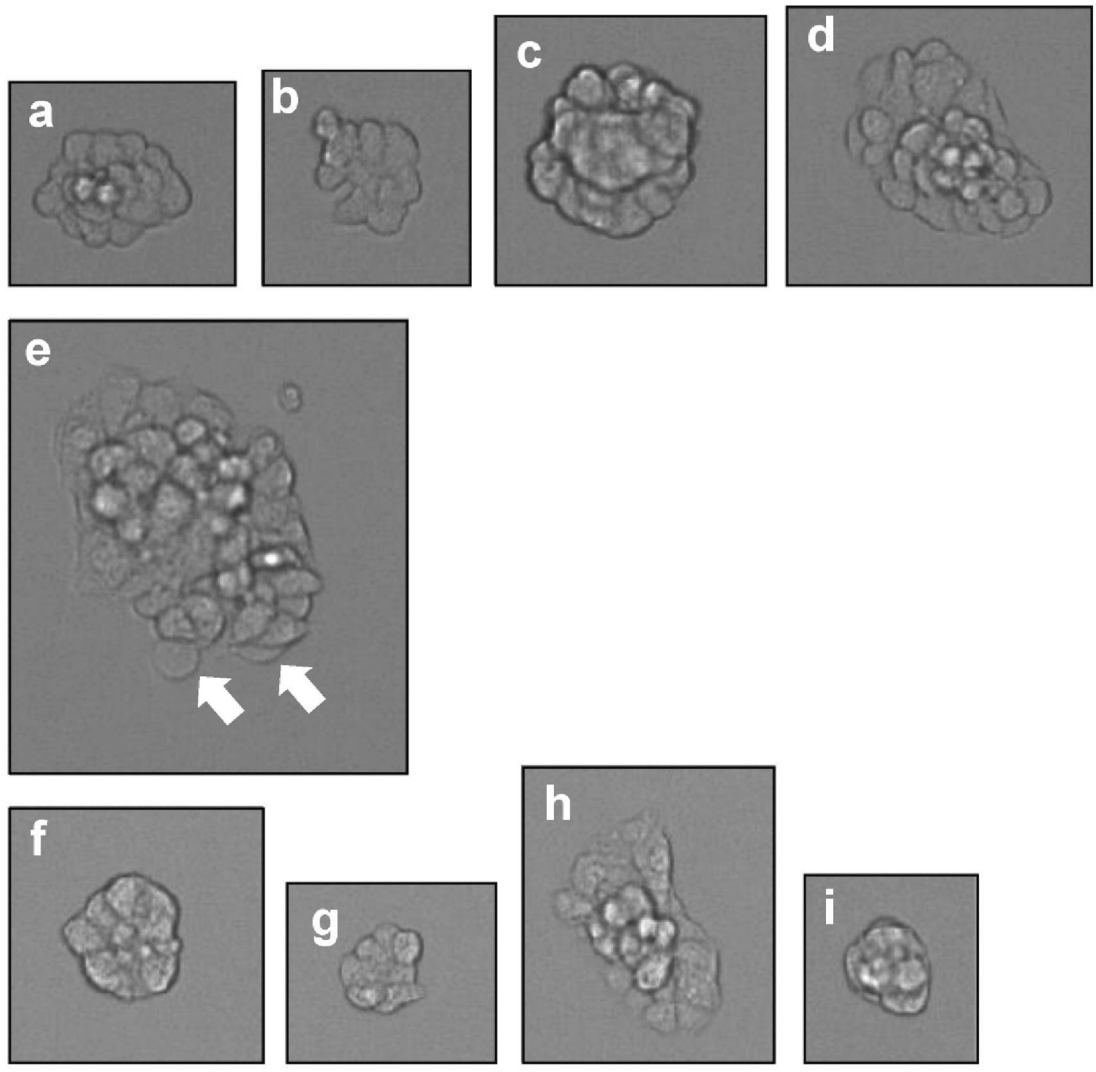


圖4

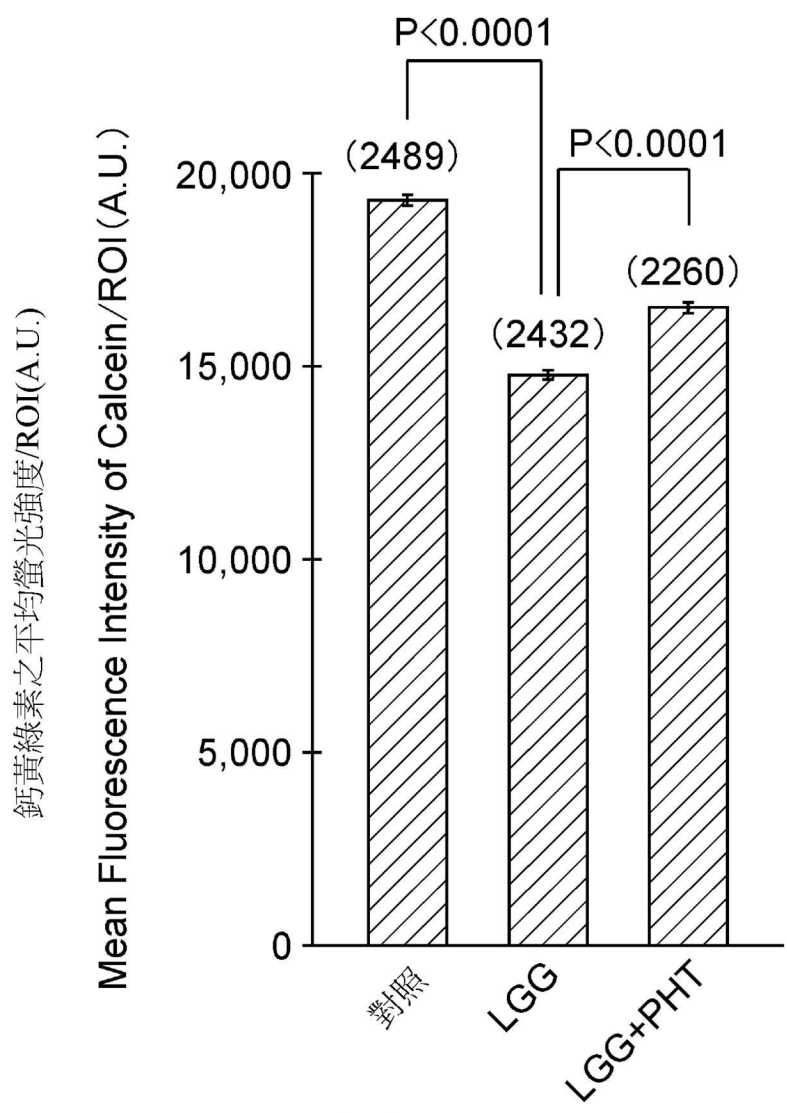


圖5

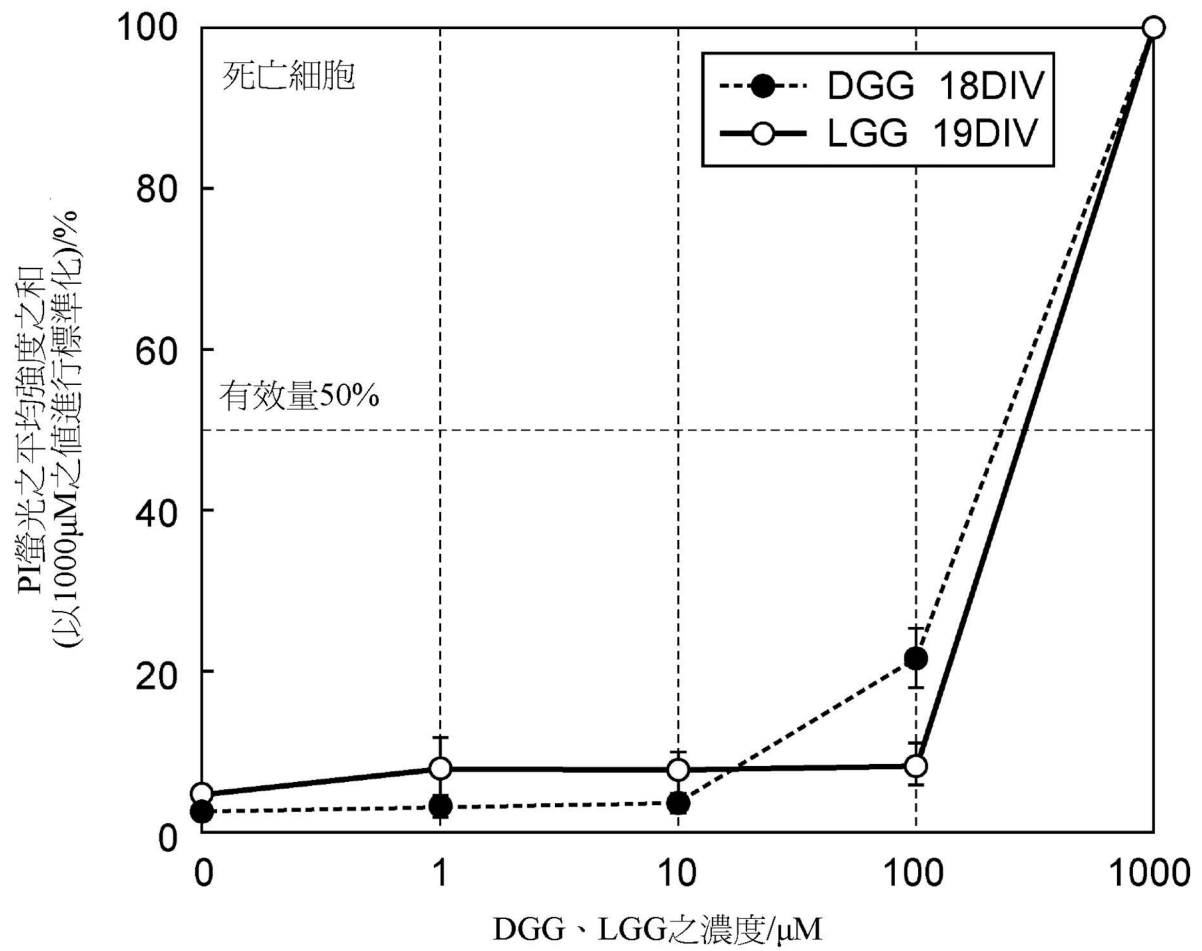


圖6