

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6416249号  
(P6416249)

(45) 発行日 平成30年10月31日 (2018.10.31)

(24) 登録日 平成30年10月12日 (2018.10.12)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 H 15/04 (2006.01)  
 A 6 1 K 39/09 (2006.01)  
 A 6 1 K 31/702 (2006.01)  
 A 6 1 P 31/04 (2006.01)  
 A 6 1 P 11/00 (2006.01)

C O 7 H 15/04 C S P C  
 A 6 1 K 39/09  
 A 6 1 K 31/702  
 A 6 1 P 31/04  
 A 6 1 P 11/00

請求項の数 15 (全 121 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-524767 (P2016-524767)  
 (86) (22) 出願日 平成26年7月7日 (2014.7.7)  
 (65) 公表番号 特表2016-526564 (P2016-526564A)  
 (43) 公表日 平成28年9月5日 (2016.9.5)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2014/064407  
 (87) 国際公開番号 W02015/004041  
 (87) 国際公開日 平成27年1月15日 (2015.1.15)  
 審査請求日 平成29年6月16日 (2017.6.16)  
 (31) 優先権主張番号 13175447.5  
 (32) 優先日 平成25年7月7日 (2013.7.7)  
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)  
 (31) 優先権主張番号 13183826.0  
 (32) 優先日 平成25年9月10日 (2013.9.10)  
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 501497655  
 マックス ブランク ゲゼルシャフト ツ  
 ウアー フェデルウン デル ヴィッセン  
 シャフテン エー フォー  
 ドイツ連邦共和 80539 ミュンヘン  
 、 ホフガーテンシュトラッセ 8  
 (74) 代理人 110000578  
 名古屋国際特許業務法人  
 (72) 発明者 ゼーベルガー ペーター ハー.  
 ドイツ国 14532 クラインマハノー  
 ルドルフ-ブライト-シャイト-シュト  
 ラッセ 46  
 (72) 発明者 ペライラ クラニー レベフ  
 ドイツ国 12203 ベルリン ホルテ  
 ンジエンシュトラッセ 66  
 最終頁に続く

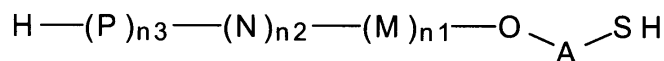
(54) 【発明の名称】 ストレプトコッカス ニューモニエ1型に対する合成ワクチン

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

一般式 (I) :

【化1】



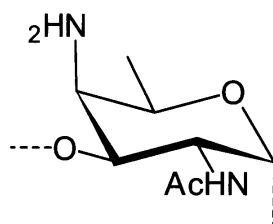
(I)

式中、Aは(CH<sub>2</sub>)<sub>01</sub>を表し；

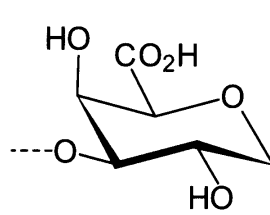
o 1は、1, 2, 3, 4, 5及び6から選択される整数を表し；

M、N、およびPは、互いに独立して、次の糖断片の一つを表し；

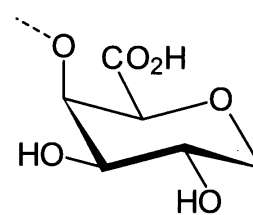
【化2】



S1



S2



S3

10

20

ここで、前記糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - S H 断片に連結され、各 S 1、S 2、および S 3 は、前記一般式 ( I ) において多くて 1 回存在し、糖断片 S 1 は、- O - A - S H および糖断片 S 3 に同時に連結されることができず、糖断片 S 3 は、- O - A - S H および糖断片 S 2 に同時に連結されることができず、糖断片 S 2 は、- O - A - S H および糖断片 S 1 に同時に連結されることができず、並びに、

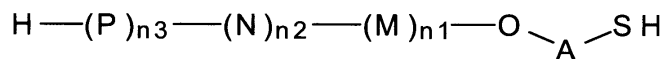
n 1、n 2、および n 3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで前記整数 n 1、n 2、および n 3 の少なくとも一つは、1 である、

一般式 ( I ) のサッカライド、およびこれらのサッカライドの薬学的に許容できる塩。

【請求項 2】

一般式 ( I ) のサッカライドの合成であって、

【化 3】



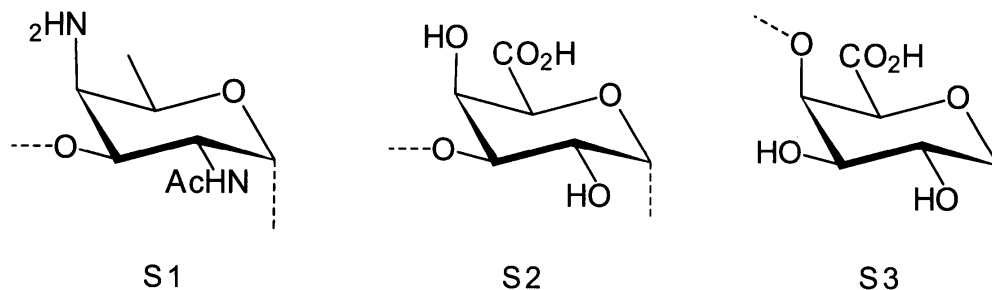
( I )

式中、A は ( C H <sub>2</sub> )<sub>0 1</sub> を表し；

o 1 は、1、2、3、4、5 及び 6 から選択される整数を表し；

M、N、および P は、互いに独立して、次の糖断片の一つを表し；

【化 4】



ここで、前記糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して互いに連結され、および - O - A - S H 断片に連結され、各糖断片 S 1、S 2、および S 3 は、前記一般式 ( I ) において多くて 1 回存在し、糖断片 S 1 は、- O - A - S H および糖断片 S 3 に同時に連結されることができず、糖断片 S 3 は、- O - A - S H および糖断片 S 2 に同時に連結されることができず、糖断片 S 2 は、- O - A - S H および糖断片 S 1 に同時に連結されることができず、並びに、

n 1、n 2、および n 3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで前記整数 n 1、n 2、および n 3 の少なくとも一つは、1 であり、

並びに次のステップ、

A 1 )、B 1 ) および C 1 )、または

A 2 )、B 3 ) および C 3 )、または

A 3 )、B 2 )、および C 2 )、

を含み、ここで A 1 ) ~ A 3 )、B 1 ) ~ B 3 )、C 1 ) ~ C 3 ) は下記に記述される通りであり、

A 1 ) 一般式

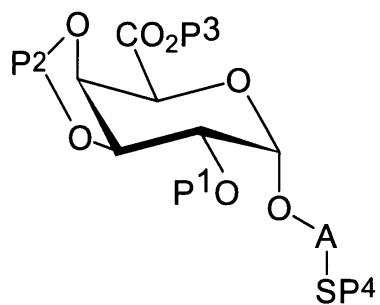
10

20

30

40

【化 5】



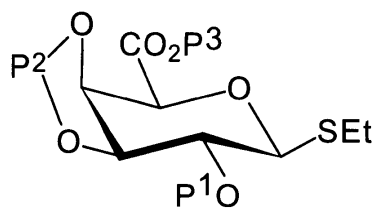
4

10

である化合物 4 を得るために、

ここで化合物 4 の式中、 $P^1 \sim P^4$  は下述のように定義され、A は上述のように定義され、

【化 6】



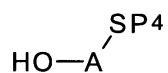
2

20

である化合物 2 を、

式

【化 7】



3

30

である化合物 3 と反応させること、

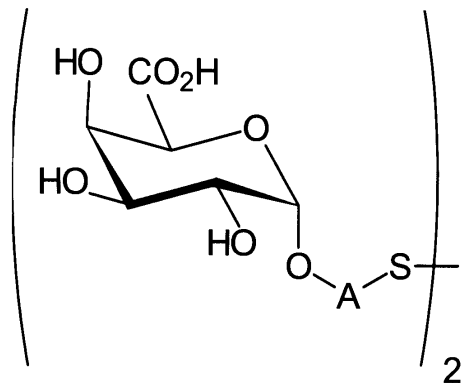
ここで、化合物 2 の式中、 $P^1 \sim P^3$  は保護基を表し、

化合物 3 の式中、 $P^4$  は保護基を表し、

および、

一般式

【化 8】



10

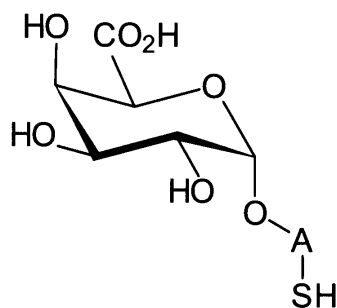
5

であるモノサッカライドジスルフィド 5 を提供するために、化合物 4 における保護基  $P^1$  ~  $P^4$  の除去を行うこと、

ここで、モノサッカライドジスルフィド 5 の式中、A は上述のように定義され、モノサッカライドジスルフィド 5 は、一般式

【化 9】

20



6 (H-S 2-O-A-SH)

30

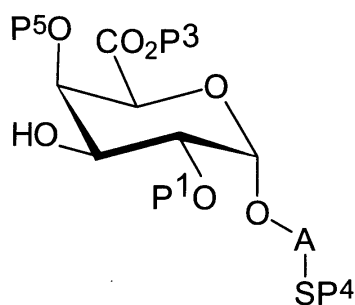
であるモノサッカライド 6 を提供するために還元剤を用いて更に処理され、

ここで、モノサッカライド 6 の式中、A は上述のように定義され；

または、

一般式

【化 10】



40

7

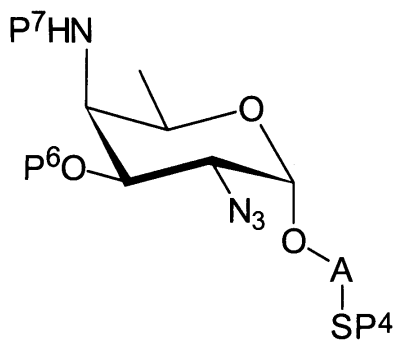
である化合物 7 を提供するために化合物 4 において選択的脱保護を行うこと、

化合物 7 の式中、 $P^5$  は保護基であり、 $P^1$ 、 $P^3$ 、 $P^4$ 、および A は、上述のように定義され、

A 2 ) 一般式

50

【化 1 1】



10

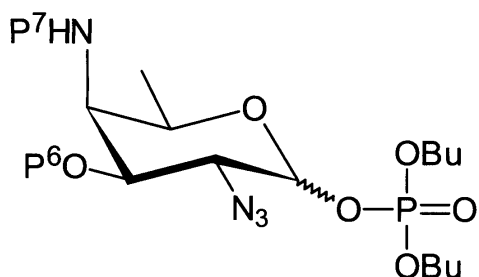
9

である化合物 9 を提供するために、

ここで、式中、P<sup>4</sup>、P<sup>6</sup>、および P<sup>7</sup> は保護基を表し、並びに A は上述のように定義され、

一般式

【化 1 2】



20

8

である化合物 8 を、

化合物 3 と反応させること、

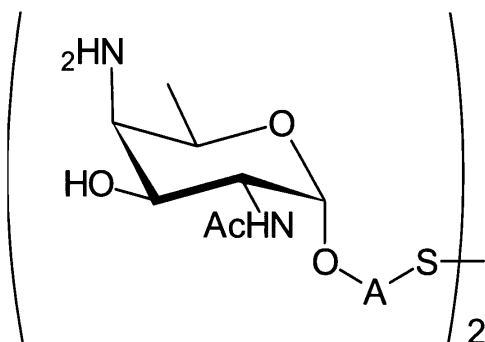
ここで、化合物 8 の式中、P<sup>6</sup> および P<sup>7</sup> は保護基を表し、

30

および、

一般式

【化 1 3】



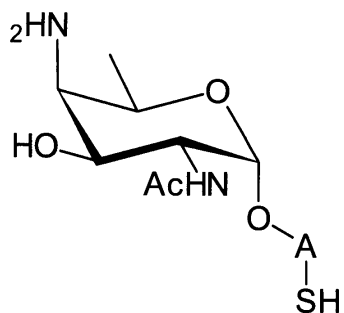
40

1 0

であるモノサッカライドジスルフィド 10 を提供するために、化合物 9 においてアジド基のアセトアミド基への変換、および保護基 P<sup>4</sup>、P<sup>6</sup>、および P<sup>7</sup> の除去を行うこと、

ここで、モノサッカライドジスルフィド 10 の式中、A は上述のように定義され、モノサッカライドジスルフィド 10 は、一般式

【化 1 4】



10

### 1 1 (H-S 1-O-A-SH)

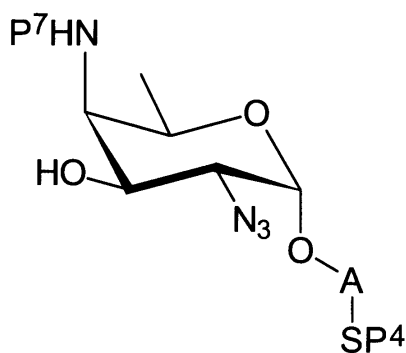
であるモノサッカライド 1 1 を提供するために還元剤を用いて更に処理され、

ここで、モノサッカライド 1 1 の式中、A は上述のように定義され；

または、

一般式

【化 1 5】



20

### 1 2

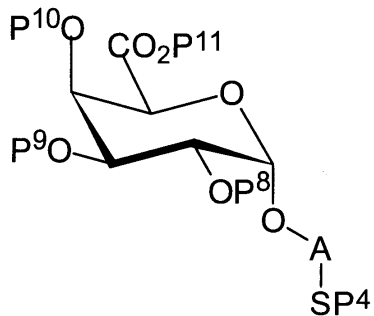
である化合物 1 2 を提供するために化合物 9 において選択的脱保護を行うこと、

化合物 1 2 の式中、P<sup>4</sup>、P<sup>7</sup>、および A は、上述のように定義され、

30

A 3 ) 一般式

【化 1 6】



40

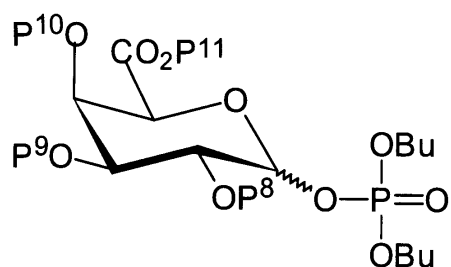
### 1 4

である化合物 1 4 を提供するために、

ここで、化合物 1 4 の式中、P<sup>4</sup>、P<sup>8</sup> ~ P<sup>11</sup> は保護基を表し、

一般式

【化 1 7】



1 3

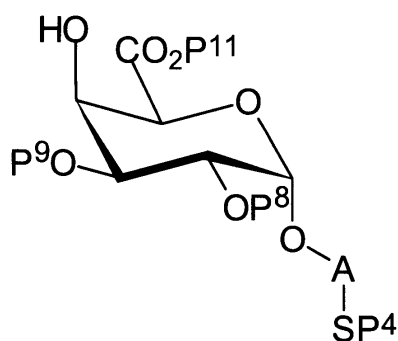
10

である化合物 1 3 を、化合物 3 と反応させること、

ここで、化合物 1 3 の式中、 $P^8 \sim P^{11}$  は保護基を表し、  
 および、

一般式

【化 1 8】



20

1 5

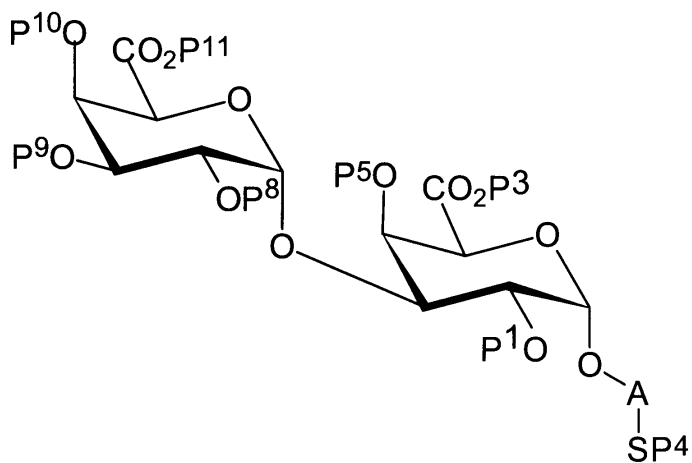
である化合物 1 5 を提供するために、化合物 1 4 の選択的脱保護を行うこと、

ここで、化合物 1 5 の式中、 $P^4$ 、 $P^8$ 、 $P^9$ 、 $P^{11}$  および A は上述のように定義され、

B 1 ) 一般式

30

【化 1 9】



40

1 6

である化合物 1 6 を提供するために、化合物 7 を、化合物 1 3 と反応させること、

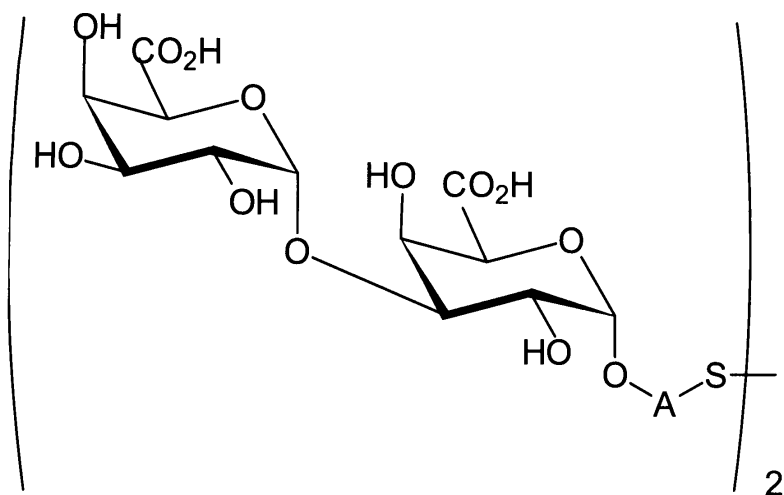
ここで、化合物 1 6 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^8 \sim P^{11}$ 、および A は上述のように定義され；

および、

一般式

50

【化 2 0】



10

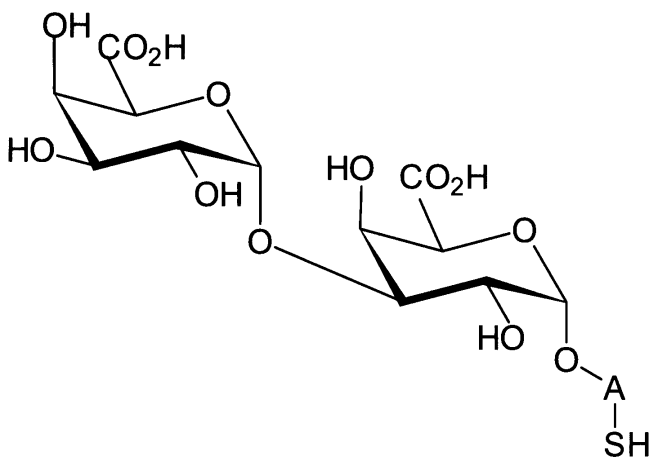
1 7

であるジサッカライドジスルフィド 1 7 を提供するために、化合物 1 6 における保護基  $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^8 \sim P^{11}$  の除去を行うこと、

ここで、ジサッカライドジスルフィド 1 7 の式中、A は上述のように定義され、ジサッカライドジスルフィド 1 7 は、一般式

20

【化 2 1】



30

1 8 (H-S 3-S 2-O-A-SH)

であるジサッカライド 1 8 を提供するために還元剤を用いて更に処理され、

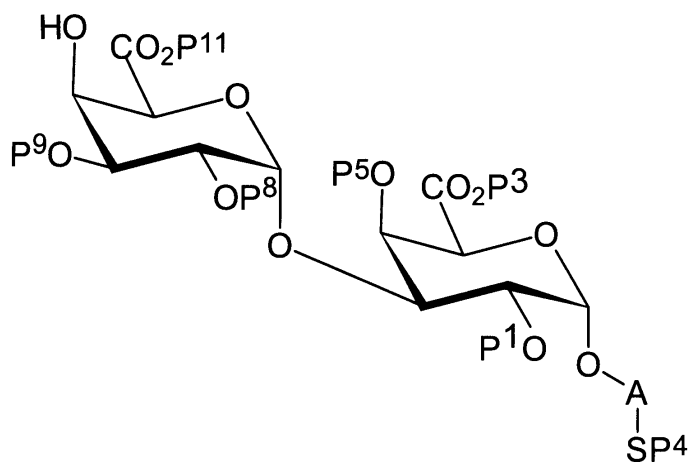
ここで、ジサッカライド 1 8 の式中、A は上述のように定義され；

または、

一般式



【化 2 2】



10

**1 9**

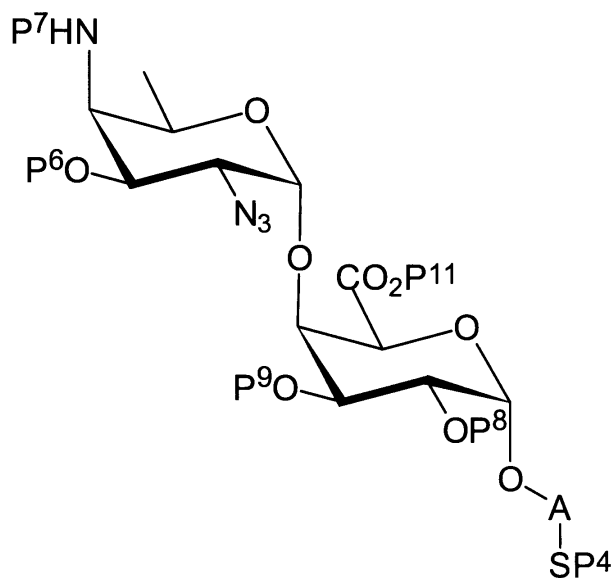
である化合物 1 9 を提供するために化合物 1 6 における保護基  $P^{10}$  の選択的除去を行うこと、

ここで、化合物 1 9 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^8$ 、 $P^9$ 、 $P^{10}$  および A は、上述のように定義され、

B 2 ) 一般式

20

【化 2 3】



30

**2 0**

である化合物 2 0 を提供するために、化合物 1 5 を、化合物 8 と反応させること、

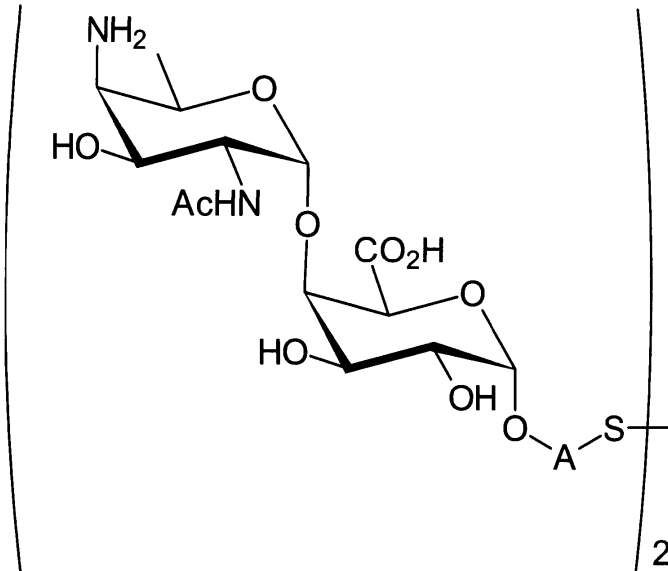
40

ここで、化合物 2 0 の式中、 $P^4$ 、 $P^6 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、および A は上述のように定義され、

および、

一般式

## 【化 2 4】



10

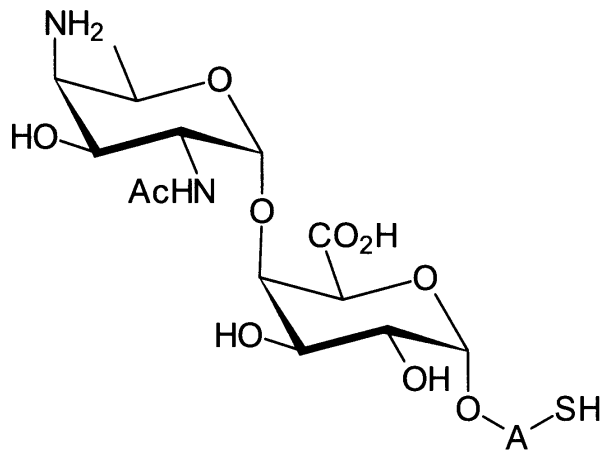
## 2 1

であるジサッカライドジスルフィド 2 1 を提供するために、化合物 2 0 においてアジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^4$ 、 $P^6 \sim P^9$ 、 $P^{11}$  の除去を行うこと、

20

ここで、ジサッカライドジスルフィド 2 1 の式中、A は上述のように定義され、ジサッカライドジスルフィド 2 1 は、一般式

## 【化 2 5】



30

## 2 2 (H-S 1-S 3-O-A-S H)

であるジサッカライド 2 2 を提供するために還元剤を用いて処理され、

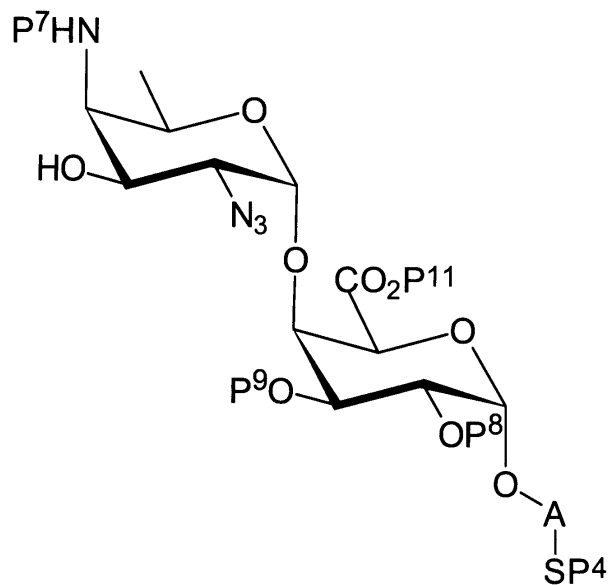
ここで、ジサッカライド 2 2 の式中、A は上述のように定義され；

または、

一般式

40

【化 2 6】



10

2 3

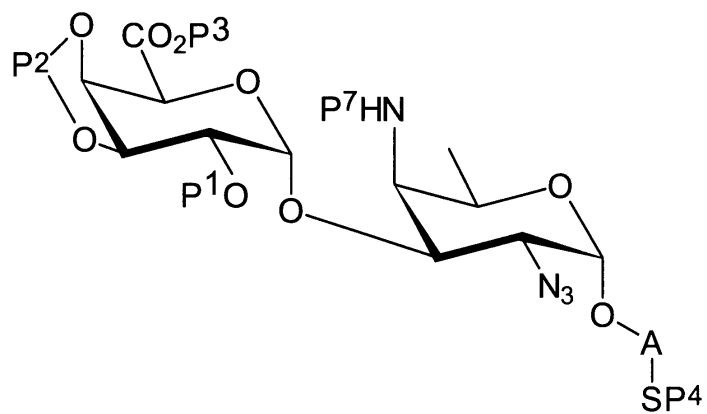
である化合物 2 3 を提供するために化合物 2 0 における保護基  $P^6$  の選択的除去を行うこと、

20

ここで、化合物 2 3 の式中、 $P^4$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$  および A は、上述のように定義され、

B 3 ) 一般式

【化 2 7】



30

2 4

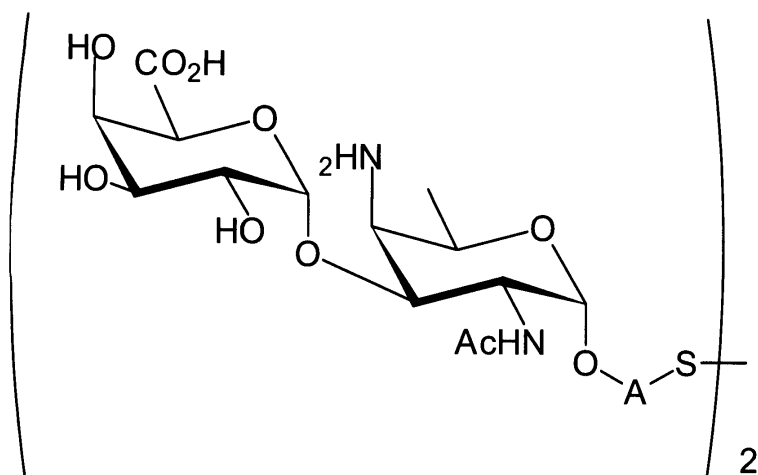
である化合物 2 4 を提供するために、化合物 1 2 を、化合物 2 と反応させること、

ここで、化合物 2 4 の式中、 $P^1 \sim P^4$ 、 $P^7$ 、および A は上述のように定義され、

40

一般式

【化 2 8】



10

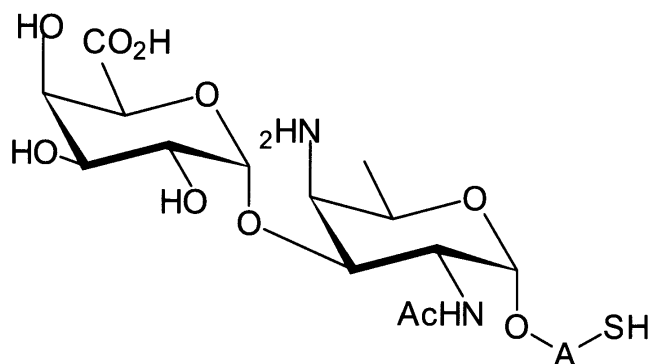
2 5

であるジサッカライドジスルフィド 2 5 を提供するために、化合物 2 4 においてアジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^1 \sim P^4$ 、および  $P^7$  の除去を行うこと、

ここで、ジサッカライドジスルフィド 2 5 の式中、A は上述のように定義され、ジサッカライドジスルフィド 2 5 は、一般式：

20

【化 2 9】



30

2 6 (H-S 2-S 1-O-A-SH)

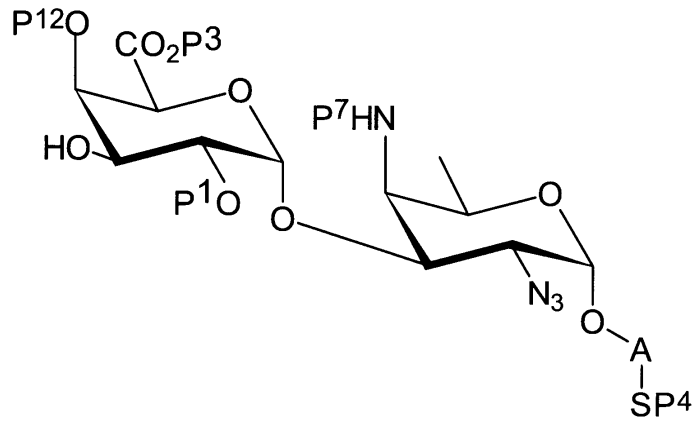
であるジサッカライド 2 6 を提供するために還元剤を用いてさらに処理され、

ここで、ジサッカライド 2 6 の式中、A は上述のように定義され；

または、

一般式：

【化 3 0】



10

2 7

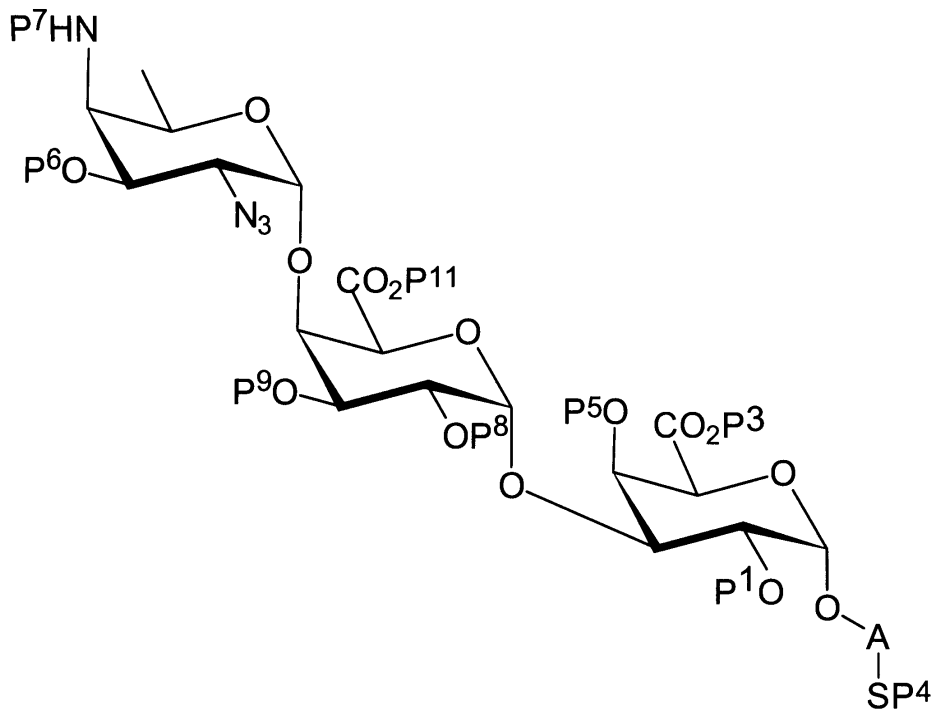
である化合物 2 7 を提供するために化合物 2 4 における選択的脱保護を行うこと、

ここで、化合物 2 7 の式中、 $P^{12}$  は保護基であり、 $P^1$ 、 $P^3$ 、 $P^4$ 、 $P^7$  および A は、上述のように定義され、

C 1 ) 一般式：

【化 3 1】

20



30

2 8

40

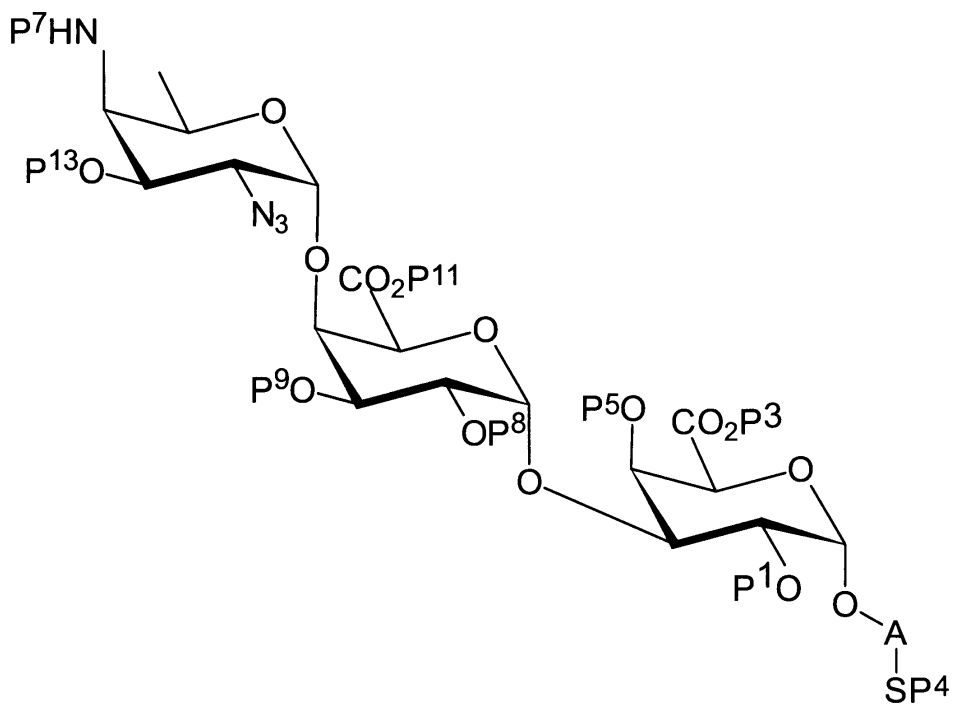
である化合物 2 8 を提供するために、化合物 1 9 を、化合物 8 と反応させること、

ここで、化合物 2 8 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、および A は上述のように定義され、

および、

ここで、次の化学式

【化 3 2】



10

20

## 2 9

である化合物 2 9 を得るために、化合物 2 8 の式中、保護基  $P^6$  は、保護基  $P^{13}$  と置換され、

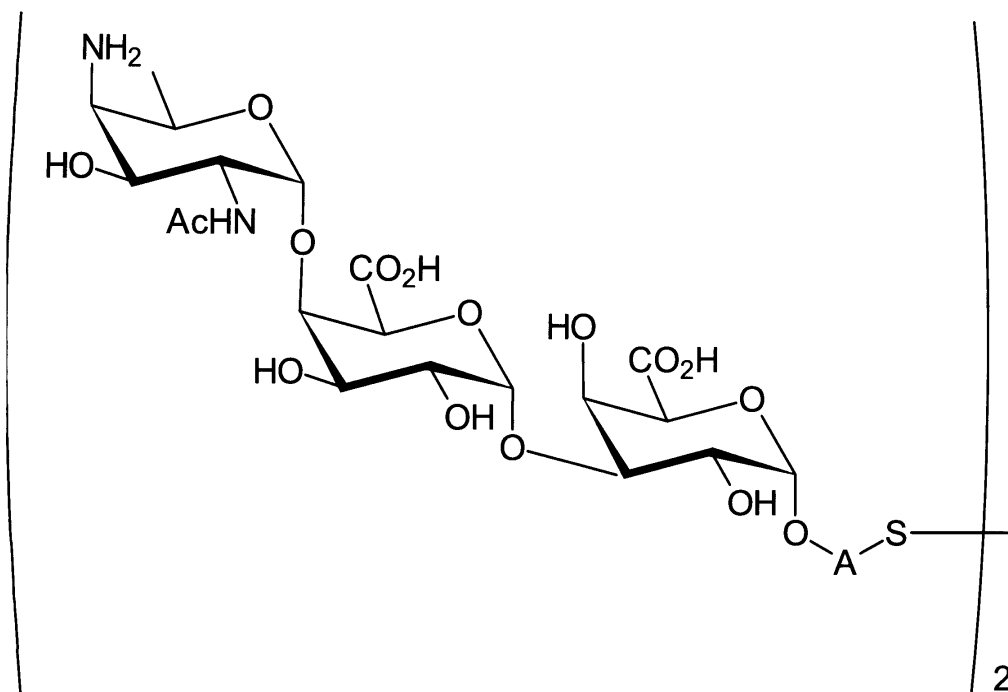
ここで、化合物 2 9 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、 $P^{13}$ 、および A は上述のように定義され；

および、

アジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、 $P^{13}$  の切断による化合物 2 9 におけるトリサッカライドジスルフィド 3 0 への変換、ここで化合物 3 0 は、一般式：

30

【化 3 3】



3 0

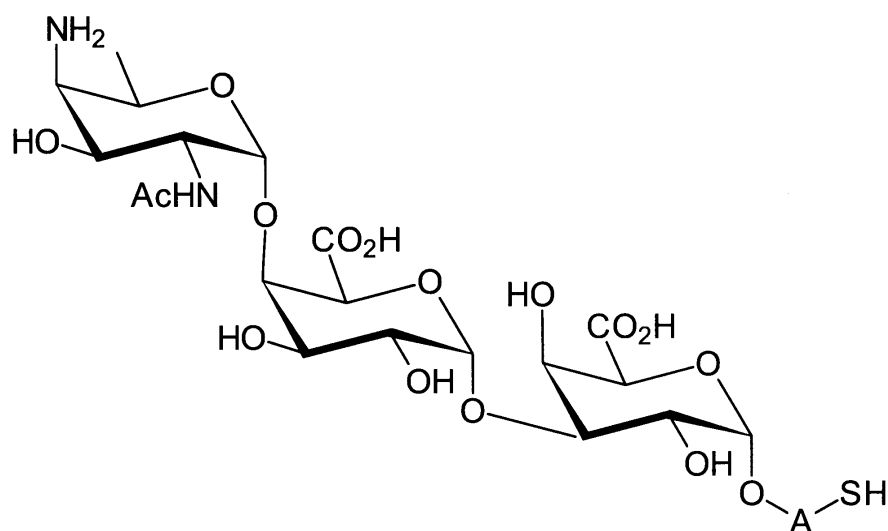
であり、

化合物 3 0 の式中、A は上述のように定義され；

および、

還元剤を用いて処理することによるトリサッカライドジスルフィド 3 0 のトリサッカライド 3 1 への変換、ここで、化合物 3 1 は一般式：

【化 3 4】

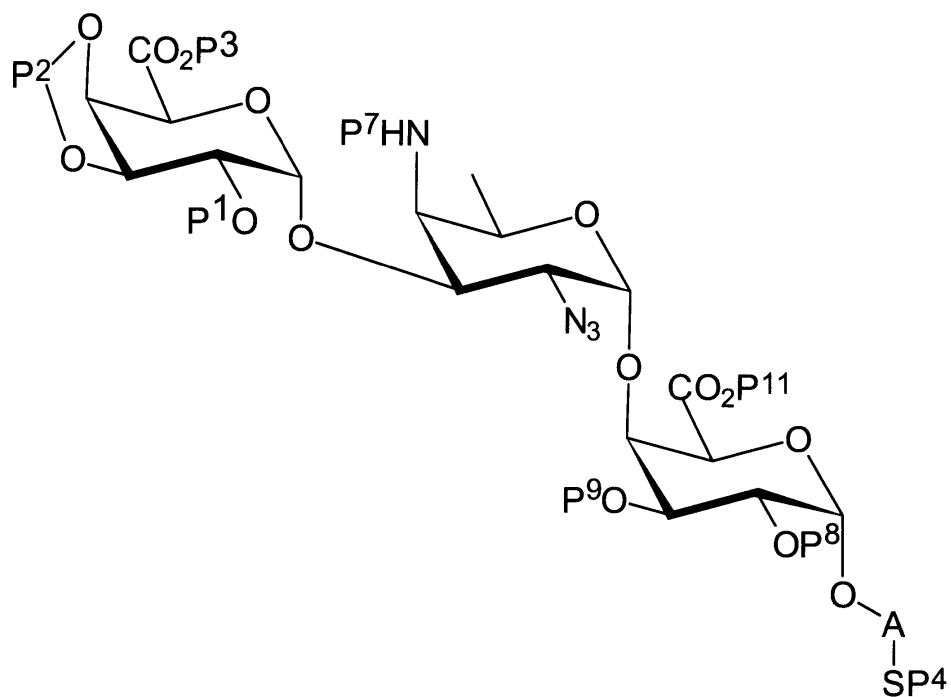


3 1 (H-S 1-S 3-S 2-O-A-SH)

であり、化合物 3 1 の式中、A は上述のように定義され、

C 2 ) 一般式：

【化 3 5】



10

20

**3 2**

である化合物 3 2 を提供するために、化合物 2 3 を、化合物 2 と反応させること、

ここで、化合物 3 2 の式中、 $P^1 \sim P^4$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、および  $A$  は上述のよう

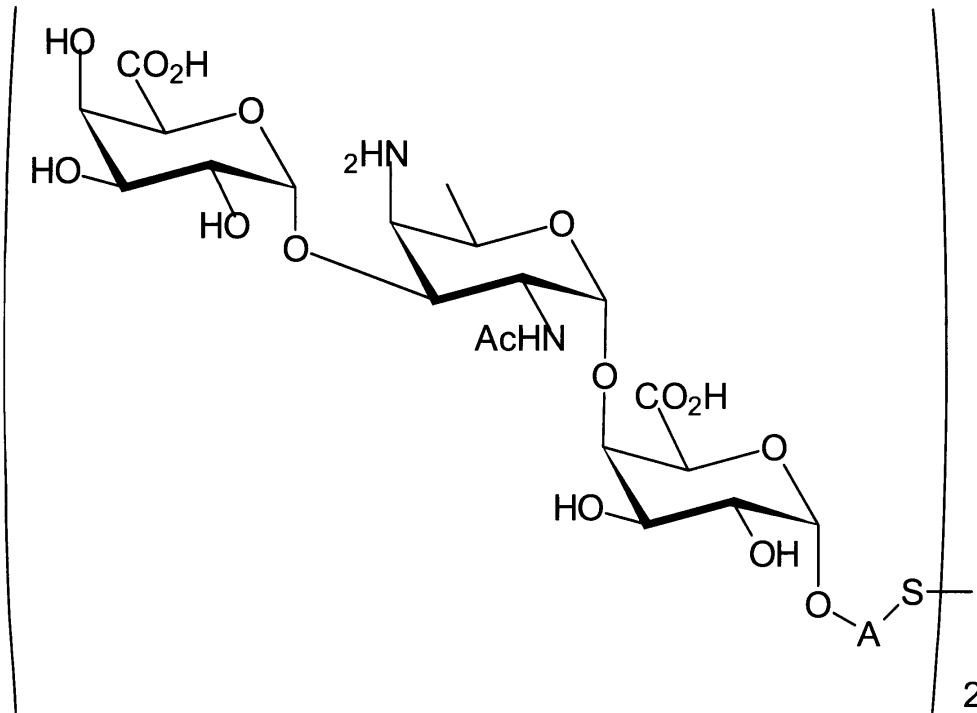
に定義され、

および、

アジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^1 \sim P^4$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$  の切断による化合物 3 2 におけるトリサッカライドジスルフィド 3 3 への変換、ここで化合物 3 3 は、一般式：



【化 3 6】



3 3

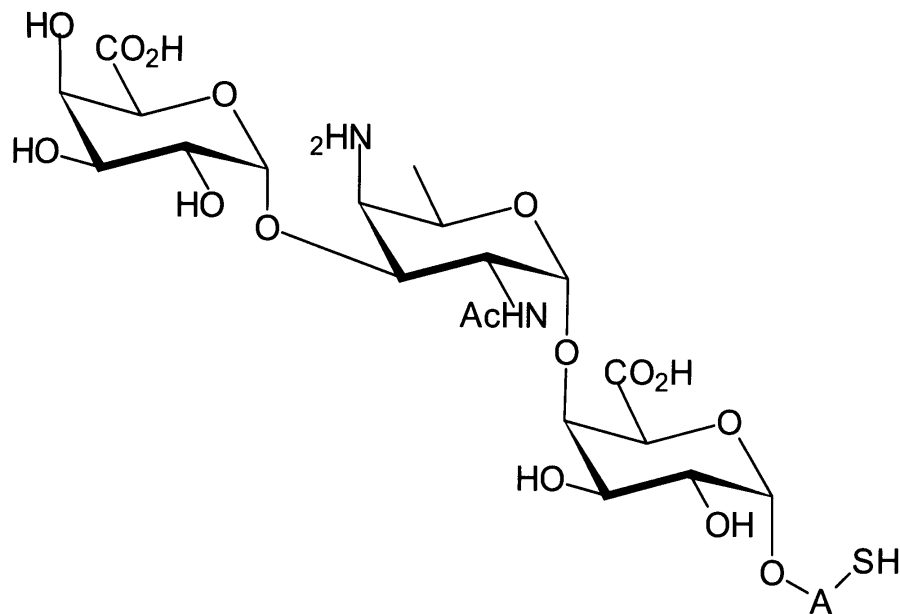
であり、

化合物 3 3 の式中、A は上述のように定義され；

および、

還元剤を用いて処理することによるトリサッカライドジスルフィド 3 3 のトリサッカライド 3 4 への変換、ここで、化合物 3 4 は一般式：

【化 3 7】

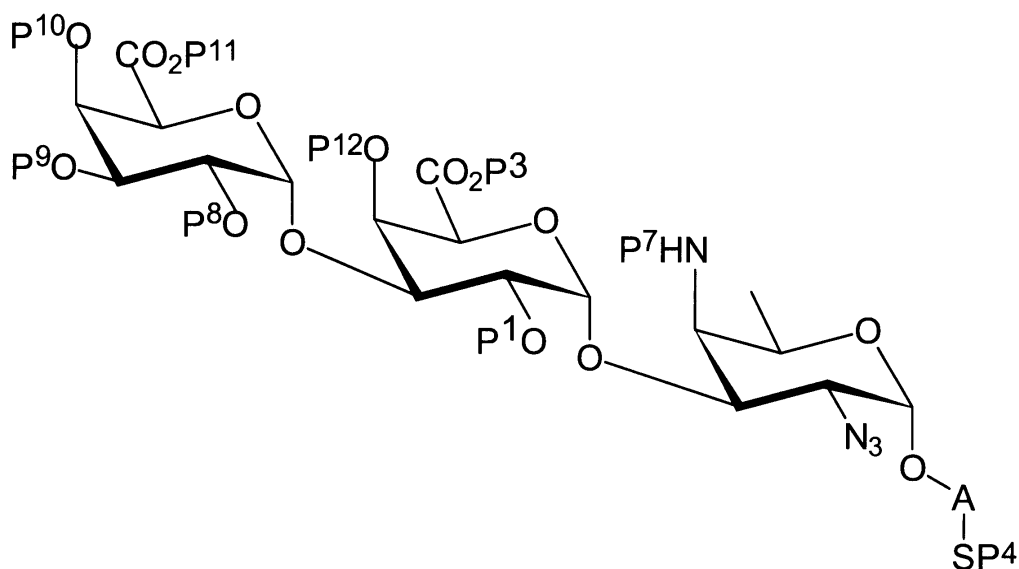


3 4 (H-S 2 - S 1 - S 3 - O - A - S H)

であり、化合物 3 4 の式中、A は上述のように定義され、

C 3 ) 一般式：

【化 3 8】



10

3 5

である化合物 3 5 を提供するために、化合物 2 7 を、化合物 1 3 と反応させること、

ここで、化合物 3 5 の式中、 $P^1$ 、 $P^3$ 、 $P^4$ 、 $P^7 \sim P^{11}$ 、および A は上述のよう

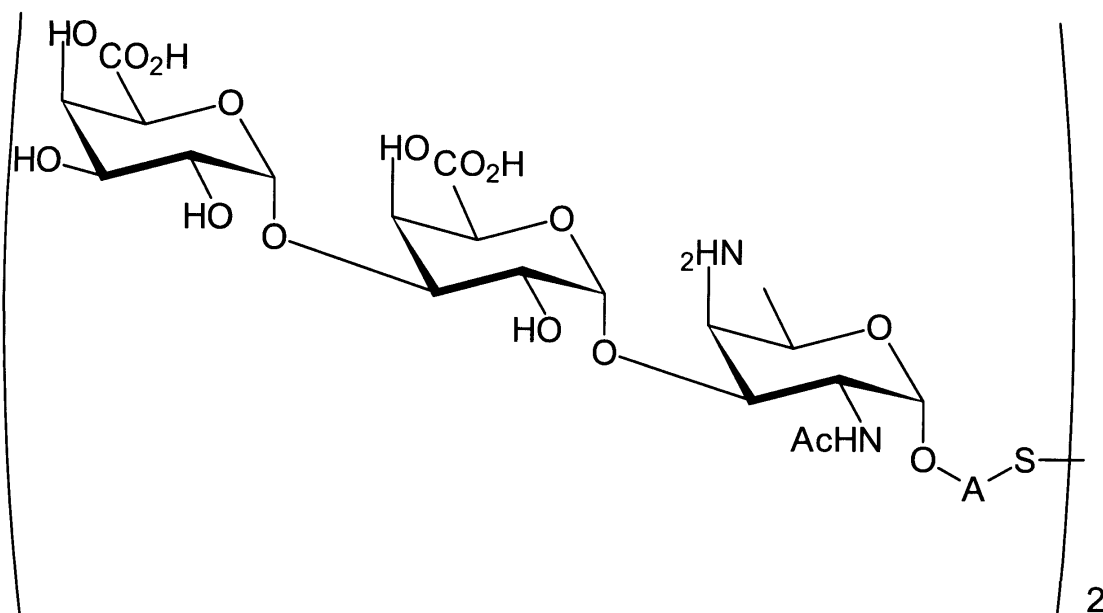
20

に定義され、

および、

アジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^1$ 、 $P^3$ 、 $P^4$ 、 $P^7 \sim P^{11}$  の切断による化合物 3 5 におけるトリサッカライドジスルフィド 3 6 への変換、ここで化合物 3 6 は、一般式：

【化 3 9】



30

40

2

3 6

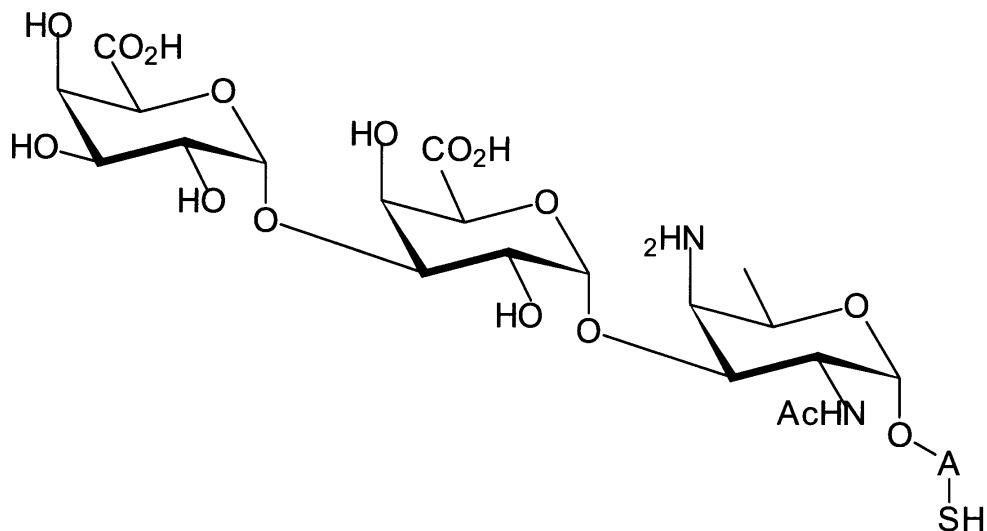
であり、

化合物 3 6 の式中、A は上述のように定義され；

および、

還元剤を用いて処理することによるトリサッカライドジスルフィド 3 6 のトリサッカライド 3 7 への変換、ここで、化合物 3 7 は一般式：

【化 4 0】



10

### 3 7 (H-S 3-S 2-S 1-O-A-SH)

であり、化合物 3 7 の式中、A は上述のように定義される、合成。

【請求項 3】

請求項 2 に記載の合成であって、ステップ D :

20

D) 一般式 (I) の化合物の塩を調製すること、または一般式 (I) の化合物の、もしくは一般式 (I) の化合物の塩の凍結乾燥体を調製すること、をさらに含む、合成。

【請求項 4】

請求項 2 に記載の合成であって、化合物 2 および化合物 3、化合物 2 および化合物 1 2、並びに化合物 2 および化合物 2 3 との前記反応は、非極性溶媒、および極性非プロトン性溶媒の混合物中に DMTST および TTBP y が存在する溶液で行われる、合成。

【請求項 5】

請求項 2 に記載の合成であって、化合物 2 9 を得るために、化合物 2 8 における保護基 P<sup>6</sup> の保護基 P<sup>13</sup> との置換は、二つのステップで行われ、第 1 に、溶媒中で、または溶媒の混合物中で化合物 2 8 をヒドラジン、またはヒドラジニウム塩と反応させることを含み、第 2 に、第 1 のステップ後に得られた生成物を、非極性溶媒中で BnOCH<sub>2</sub>SCy、DMTST、および TTBP y と処理することである、合成。

30

【請求項 6】

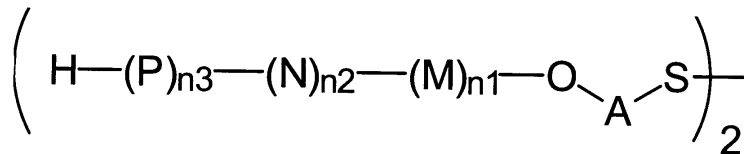
請求項 2 に記載の合成であって、前記保護基の切断は、第 1 に、極性非プロトン性溶媒および極性プロトン性溶媒の混合物中で塩基を用いて処理することにより塩基に不安定な保護基の切断；第 2 に、極性プロトン性溶媒および極性非プロトン性溶媒の混合物中でナトリウムおよびアンモニアに曝すことにより水素化に敏感な保護基の切断を含む、合成。

【請求項 7】

一般式 (II) :

40

【化 4 1】



(II)

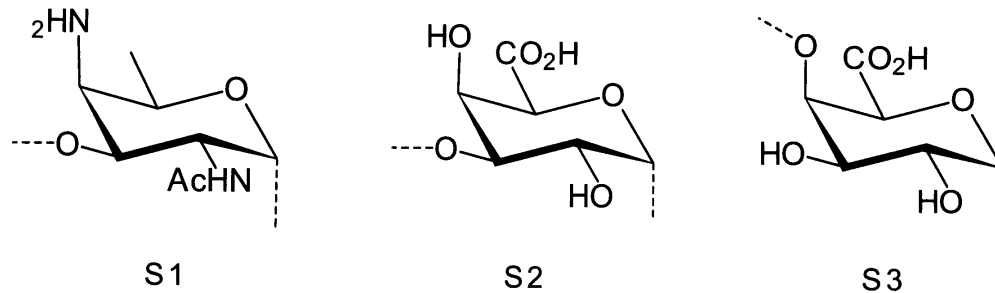
式中、A は (CH<sub>2</sub>)<sub>01</sub> を表し；

o 1 は、1, 2, 3, 4, 5 及び 6 から選択される整数を表し；

50

M、N、およびPは、互いに独立して次の断片を表し：

【化 4 2】



10

ここで、前記糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して互いに連結され、および - O - A - S 断片に連結され、各糖断片 S 1、S 2、および S 3 は、前記断片 H - (P)<sub>n3</sub> - (N)<sub>n2</sub> - (M)<sub>n1</sub> - O - A - S において多くて 1 回存在し、糖断片 S 1 は、- O - A - S および糖断片 S 3 に同時に連結されることができず、糖断片 S 3 は、- O - A - S および糖断片 S 2 に同時に連結されることができず、糖断片 S 2 は、- O - A - S および糖断片 S 1 に同時に連結されることができず、並びに、

n 1、n 2、および n 3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで前記整数 n 1、n 2、および n 3 の少なくとも一つは、1 である、

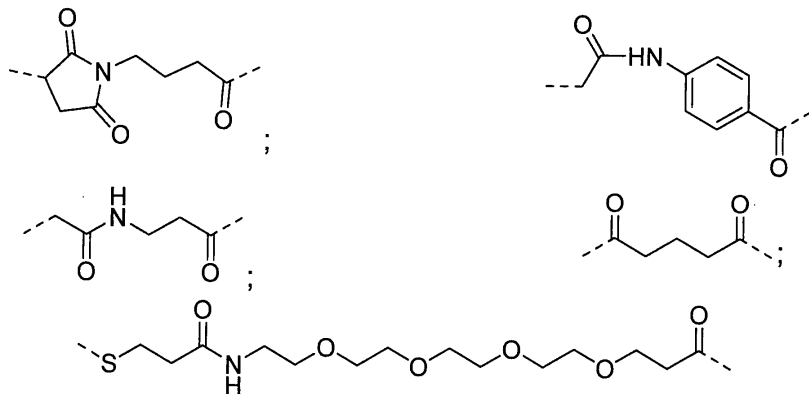
一般式 (I) である中間体、およびこれらのサッカライドの薬学的に許容できる塩。

【請求項 8】

20

請求項 1 に記載の一般式 (I) のサッカライドであって、  
次のフラグメント

【化 4 3】



30

の 1 つを介して担体タンパク質にチオール基を介して共有結合的に結合されたサッカライドを含む複合糖質。

【請求項 9】

細菌と関連する疾患に対する免疫付与においてワクチンとしての使用のための請求項 8 に記載の複合糖質であって、

- 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - (1 4) - - D 40  
- GalAp - (1 3) - - D - GalAp  
- 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - (1 4) - - D  
- GalAp  
- D - GalAp - (1 3) - - D - GalAp  
- D - GalAp  
- 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc  
- D - GalAp - (1 3) - - D - GalAp - (1 3) - - 2, 4, 6  
- トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc  
- D - GalAp - (1 3) - - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D -  
GalNAc

50

- D - GalAp - ( 1 3 ) - - 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - ( 1 4 ) - - D - GalAp

から選択されるサッカライド構造を細菌の莢膜ポリサッカライドにおいて含む、複合糖質。

【請求項 10】

前記細菌は、ストレプトコッカス ニューモニエ ( *Streptococcus pneumoniae* ) 1 型である、請求項 9 に記載の使用のための複合糖質。

【請求項 11】

細菌と関連する前記疾患は、肺炎、髄膜炎、中耳炎、菌血症、並びに、慢性気管支炎、副鼻腔炎、関節炎および結膜炎の急激な悪化を含む、請求項 9 に記載の使用のための複合糖質。

10

【請求項 12】

少なくとも一つの薬学的に許容できる抗凍結剤、リオプロテクタント ( *lyoprotectant* )、賦形剤および/または希釈剤と共に、請求項 8 に記載の複合糖質、および/または請求項 1 に記載のサッカライド、および/または請求項 7 に記載の中間体を含む医薬組成物。

【請求項 13】

ストレプトコッカス ニューモニエ ( *Streptococcus pneumoniae* ) 細菌と関連する疾患に対する免疫において使用するための請求項 12 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 14】

請求項 13 に記載の使用のための医薬組成物であって、

前記ストレプトコッカス ニューモニエ細菌は、ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 4 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 9 V 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 2 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 19 F 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 3 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 19 A 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 12 F 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 31 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 7 F 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 5 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 14 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 6 A 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 6 B 型、ストレプトコッカス ニューモニエ 18 C 型、およびストレプトコッカス ニューモニエ 23 F 型を含む、または、からなる群から選択される、使用のための医薬組成物。

30

【請求項 15】

- 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - ( 1 4 ) - - D - GalAp - ( 1 3 ) - - D - GalAp

- 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - ( 1 4 ) - - D - GalAp

- D - GalAp - ( 1 3 ) - - D - GalAp

- D - GalAp

- 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc

- D - GalAp - ( 1 3 ) - - D - GalAp - ( 1 3 ) - - 2 , 4 , 6

- トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc

- D - GalAp - ( 1 3 ) - - 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc

- D - GalAp - ( 1 3 ) - - 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - ( 1 4 ) - - D - GalAp

40

から選択されるサッカライド構造を細菌の莢膜ポリサッカライドにおいて含む細菌によって引き起こされる疾患の診断のための免疫学的アッセイにおけるマーカーとして使用するための、請求項 1 に記載のサッカライド、および/または請求項 7 に記載の中間体。

【発明の詳細な説明】

50

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## [発明の分野]

本発明は、ストレプトコッカス ニューモニエ (*Streptococcus pneumoniae*) 1 型の莢膜ポリサッカライドに含まれるサッカライド構造の全合成に関し、全合成によって得られる前記サッカライド構造を含む複合糖質に関し、および、細菌と関連する疾患に対する、特に、ストレプトコッカス ニューモニエと関連する疾患に対する免疫付与における当該複合糖質および当該複合糖質の医薬組成物の使用に関する。

## [発明の背景]

グラム陽性被包性細菌ストレプトコッカス ニューモニエは、世界中で疾病および死亡の主な要因になる。それらは、上気道にコロニーをつくり、髄膜炎、菌血症、および菌血症性肺炎のような侵襲性肺炎球菌疾患、および急性中耳炎および肺炎を含む非侵襲性肺炎球菌疾患の原因となる。これらの疾患は、若い子供、高齢者、および全ての年齢の免疫障害をもつ人によく見られる。発展途上国において、ストレプトコッカス ニューモニエ関連疾患は、推定 120 万人の若い子供達の死亡原因になる。

## 【0002】

構造的に、3つの区別された層：細胞膜、細胞壁、および莢膜を細菌表面で見ることができる。細胞壁は、細胞壁ポリサッカライド (C-ポリサッカライド) および莢膜ポリサッカライド (CPS) を固定するペプチドグリカン骨格からなる。C-ポリサッカライドは、全ての肺炎球菌血清型に共通の構造であり、一方 CPS は、90 個の公知の血清型のそれぞれに特異的であり、主な毒性因子になる。

## 【0003】

90 個の血清型から、世界中で発見される最も共通の一般的な血清型を、図 1 に示す。この分布は、地理学および年齢差に基づいても変化する。したがって、最も一般的で普及しているストレプトコッカス ニューモニエ血清型の莢膜ポリサッカライド由来の免疫原性担体およびサッカライド構造を含む複合糖質を含むワクチンは、グラム陽性細菌のクラスによって引き起こされる高い割合の疾患に対して免疫を提供するだろう。

## 【0004】

種々の多価肺炎球菌ワクチンが現在まで製造された。市販の 23-多価肺炎球菌ポリサッカライドワクチン (PPV) は、23 血清型の精製された莢膜ポリサッカライド (CPS) 抗原を含む。しかしながら、このワクチンは、乳児および幼児の場合では効果的ではない。現在市販される肺炎球菌共役ワクチン (PCV)、PCV-7 (プレベナー TM) は、ジフテリア CRM 917 に、個々に共役される血清型 4、6B、9V、14、18C、19F、および 23F の莢膜抗原であるサッカライドを含み、乳児に効果的である。

## 【0005】

現在市販されているワクチンは、北アメリカおよびヨーロッパにおいて特定の年齢の個人に効果的である。これらのワクチンの製造過程は、複雑であり結果として高価になる。したがって、ワクチンは、ほとんどの発展途上国には手が届かない。本発明の目的は、発展途上世界の一般的な血清型の多くを含む手ごろな価格の合成サッカライドワクチンを提供することである。

## 【0006】

ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型 (SP1) は、最も一般的な S. ニューモニエ血清型の一つである。ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型莢膜ポリサッカライドは、繰り返しユニットとして：[ 3 ] - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - (1 4) - D - GalAp - (1 3) - D - GalAp - (1) ] を有する線状ポリマーである。

## 【0007】

ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型莢膜ポリサッカライドの [ 3 ] - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - (1 4) - D - GalAp - (1 3) - D - GalAp - (1) ] トリサッカライドの繰り返しユニットに由

10

20

30

40

50

来する合成サッカライド構造は、すでに報告された。しかしながら、Bundle (Chem. Eur. J. 2010, 16, 3476) によって開発された方法は、 $\alpha$ -メトキシサッカライドを提供し、免疫原性担体への共役には適切ではない。

#### 【0008】

本発明の目的は、リンカーを有する機能化されたサッカライド構造にアクセスするための改良された合成経路を提供することであり、前記サッカライド構造は、ストレプトコッカスニューモニエ1型莢膜ポリサッカライドの[3]-2,4,6-トリデオキシ-4-アミノ-D-GalNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-D-GalAp-(1 $\rightarrow$ 3)-D-GalAp-(1 $\rightarrow$ 3)トリサッカライドの繰り返しユニットに由来する。前記サッカライド構造は、リンカーと共に機能化されているので、免疫原性担体に共役されるのに適しているという利点を有する。したがって、本発明の目的は、細菌の莢膜ポリサッカライドにおいて次の構造： $\alpha$ -2,4,6-トリデオキシ-4-アミノ-D-GalNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-D-GalAp-(1 $\rightarrow$ 3)-D-GalAp、 $\alpha$ -2,4,6-トリデオキシ-4-アミノ-D-GalNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-D-GalAp、 $\alpha$ -D-GalAp-(1 $\rightarrow$ 3)-D-GalAp、 $\alpha$ -D-GalAp、 $\alpha$ -2,4,6-トリデオキシ-4-アミノ-D-GalNAc、 $\alpha$ -D-GalAp-(1 $\rightarrow$ 3)-D-GalAp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -2,4,6-トリデオキシ-4-アミノ-D-GalNAc、 $\alpha$ -D-GalAp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -2,4,6-トリデオキシ-4-アミノ-D-GalNAc、 $\alpha$ -D-GalAp-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -2,4,6-トリデオキシ-4-アミノ-D-GalNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-D-GalApの一つを含む細菌と関連する疾患に対する免疫付与のために、前記複合糖質を含む複合糖質、および医薬組成物を提供することである。一般式(I)のサッカライド、および/または一般式(II)の中間体、および/または本発明に係る複合糖質を含む医薬組成物は、細菌と関連する疾患、特にストレプトコッカスニューモニエ(*Streptococcus pneumoniae*)と関連する疾患に対する免疫において使用するためであり、前記疾患は、肺炎、髄膜炎、中耳炎、菌血症並びに慢性気管支炎、副鼻腔炎、関節炎および結膜炎の急性増悪を含む。

#### 【0009】

本発明の目的は、独立請求項の教示によって解決される。本発明のさらに有利な特徴、態様および詳細は、本出願における独立請求項、明細書、図面および実施例から明らかである。

#### [発明の説明]

#### [定義]

本願で使用される用語「リンカー」は、免疫原性担体、または固体支持体と、サッカライドの還元末端モノサッカライドとを、任意選択的に少なくとも一つの内部連結分子に結合することによって、連結することが可能な分子断片を含む。したがって、リンカー自体の機能、または内部連結分子と共にリンカーの機能は、還元末端モノサッカライドと、免疫原性担体または固体支持体との間の特別な距離を定め、保ち、および/または架橋することである。より明確に、リンカーの一方の末端は、還元末端モノサッカライドのアノマー中心で環外酸素原子に連結され、他方の末端は、免疫原性担体または固体支持体と、内部連結分子と共にまたは直接、硫黄原子を介して連結される。

#### 【0010】

本願で使用される用語「内部連結分子」は、官能基Xおよび官能基Yを含む二官能性分子に関し、官能基Xは、リンカーAにおける末端チオール基と反応することが可能であり、官能基Yは、免疫原性担体に、または固体支持体に結合することが可能である。図2は、市販の内部連結分子の例を表示するが、その内部連結分子に限定されず、内部連結分子を本願に表示される実施例に本発明にしたがって使用することができる。

本願で使用される用語「アジュバント」は、免疫学的アジュバント、すなわち、ワクチンに抗原的に関連しているのではなく、与えられた抗原に対してワクチンに含まれる免疫応答を高めることによって、前記ワクチンの効果を改善する、または増強させる、ワクチ

ン組成物に使用される物質に関する。当業者にとって、古典的に認識されるアジュバントの例は、次を含む。

無機物含有組成物 - カルシウム塩およびアルミニウム塩（またはそれらの混合物）を含む組成物を含む。カルシウム塩は、リン酸カルシウムを含む。アルミニウム塩は、水酸化物、リン酸塩、硫酸塩等、任意の適切な形（例えば、ゲル、結晶性、非晶質など）をとる塩と共に含む。これらの塩への吸着が好ましい。無機物含有組成物は、金属塩の粒子としても調製されてもよい。水酸化アルミニウムおよびリン酸アルミニウムのような公知のアジュバントを使用してもよい。本発明は、アジュバントとして一般的に使用される「水酸化物」、または「リン酸塩」のいずれかのアジュバントを使用されることができる。「水酸化アルミニウム」として公知のアジュバントは、典型的にアルミニウムオキシ水酸化物塩であり、通常少なくとも部分的に結晶である。「リン酸アルミニウム」として公知のアジュバントは、典型的にリン酸水酸化アルミニウムであり、少量の硫酸塩（すなわち、リン酸水酸化硫酸アルミニウム）もよく含む。それらは沈殿によって得られてもよく、沈殿中の反応条件および濃度は、塩におけるヒドロキシルのリン酸への置換の度合いに影響を与える。水酸化アルミニウムおよびリン酸アルミニウムの混合物を、本発明に係る製剤化において使用することができる。

- サポニン、サポニンは、多種多様な植物種の樹皮、葉、茎、根及び花でも発見されるステロールグリコシドおよびトリテルペノイドグリコシドの異種の群である。クイライアサポナリア モリナ (*Quillaria saponaria* Molina) の木の樹皮由来のサポニンは、アジュバントとして広く研究されている。サポニンを、スミラックス オルナタ (*Smilax ornata*) (サルサパリラ (*sarsapilla*))、ジブソフィラ パニキュラータ (*Gypsophylla paniculata*) (ブライズベール (*brides veil*)) およびサポナリア オフィシアナリス (*Saponaria officianalis*) (ソープルート (*soap root*)) から商業的にも得ることができる。サポニンアジュバント製剤は、QS21のような精製製剤および、例えばISCOMのような脂質製剤を含む。サポニン組成物は、HPLCおよびRP-HPLCを使用して精製されている。これらの技術を使用する特定の精製画分が同定されており、QS7、QS17、QS18、QS21、QH-A、QH-BおよびQH-Cを含む。サポニン製剤は、コレステロールのようなステロールも含んでもよい。サポニンとコレステロールとの組合せを、免疫刺激複合体 (ISCOM) と呼ばれる特有の粒子を形成するために使用できる。ISCOMは、例えばホスファチジルエタノールアミンまたはホスファチジルコリンのようなリン脂質を一般的に含む。任意の公知のサポニンをISCOMにおいて使用できる。好ましくは、ISCOMは、QuilA、QHAおよびQHCの1つ以上を含む。

- 生分解性及び非毒性である材料から形成される微粒子（すなわち、直径100nm~150pm、より好ましくは直径200nm~30pm、または直径500nm~10pm）。当該非毒性および生体分解性材料は、ポリ（-ヒドロキシ酸）、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルトエステル、ポリ無水物、ポリカプロラク톤を含むが、それらに限定されない。

- CD1dリガンド、例えば - グリコシルセラミド、フィトスフィンゴシン含有 - グリコシルセラミド、OCH、KRN7000 [(2S, 3S, 4R) - 1-O-( - D - ガラクトピラノシル) - 2-(N-ヘキサコサノイルアミノ) - 1, 3, 4-オクタデカントリオール)、CRONY-101、3'-スルホ - ガラクトシルセラミドなど。

- 免疫刺激性オリゴヌクレオチド、例えば、CpGモチーフ含有オリゴヌクレオチド（グアノシン残基に結合されるリン酸結合によって連結される非メチル化シトシン残基を含有するジヌクレオチド配列）、またはCpIモチーフ含有オリゴヌクレオチド（イノシンに連結されるシトシンを含むジヌクレオチド）、または二本鎖RNA、またはパリンドローム配列を含むオリゴヌクレオチド、またはポリ(dG)配列を含むオリゴヌクレオチドなど。免疫刺激性オリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート修飾のようなヌクレオチド修飾/アナログを含むことができ、二本鎖または(RNAを除いて)一本鎖であることがで

10

20

30

40

50



きる。

- リン酸含有非環式骨格に結合される脂質を含有する化合物、例えば T L R 4 アンタゴニスト E 5 5 6 4 など

- オイルエマルジョン（例えば、フロイント（F r e u n d ' s ）アジュバント）

理論的に、免疫学的事象のカスケードにおいて特定の状況を支持する、または増幅することができ、最終的により顕著な免疫学的応答につながる、各分子または物質をアジュバントとして定義することができる。

#### 【 0 0 1 1 】

原理上は、ワクチン製剤においてアジュバントを使用して、

- ワクチンにとって適切な、または所望の免疫応答に向ける、および最適化することができる、

- ワクチンの粘膜投与、すなわち、口腔、または胃内、または肺上皮、および関連したリンパ系組織とワクチンとの接触の結果として起こる投与、を可能にすることができる、

- 細胞媒介免疫応答を促進することができる、

- 高純度抗原または組換え型抗原のような弱くなった免疫原の免疫原性を高めることができる、

- 防御免疫を提供するための必要とされる免疫付与の頻度または抗原量を減少させることができる、および

- 新生児、老人、免疫力がないワクチン接種者のような、減少した、または弱くなった免疫応答を有する個人においてワクチンの効果を改善することができる。

#### 【 0 0 1 2 】

アジュバントの作用機構についてはほとんど知られていないけれども、アジュバントは、次のメカニズムの一つによって免疫応答を増加させることが現在信じられている。

- 抗原の生物学的または免疫学的半減期を増加させる、

- 抗原提示細胞（A P C s ）への抗原輸送、並びに抗原処理および抗原提示を、A P C によって、例えば、A P C によって抗原 - アジュバント複合体の接種後、抗原がエンドソーム膜を超えて細胞質ゾルに入ることを可能にすることによって、を改善する、

- ストレス細胞または損傷細胞から危険誘導シグナルを模倣し、危険誘導シグナルは免疫応答を開始するのに役立つ、

- 免疫調節サイトカインの産生を誘導する、

- 免疫システムの特定の一部分に対する免疫応答を付勢する、および

- 抗原チャレンジの急速分散を阻止する。

#### 【 0 0 1 3 】

サッカライドは、T I - 2（T細胞非依存性 - 2）抗原、および低い免疫原性として当業者に公知である。したがって、サッカライドに基づくワクチンを生成するために、前記サッカライドは、免疫原性担体に共役され複合糖質を提供し、サッカライドと比較して増加した免疫原性を示す。これに関連して、用語「免疫原性担体」は、構造として定義され、複合糖質を形成するためにサッカライドに共役され、サッカライド自体と比較して増加した免疫を示す。したがって、サッカライドの免疫原性担体への共役は、前記免疫原性担体に対する免疫応答を誘導することなく、前記サッカライドに対する免疫応答を刺激する効果を有する。

#### 【 0 0 1 4 】

本願で使用される用語「O - グリコシド結合」は、糖断片 S 1、S 2、および S 3 のアノマー炭素（すなわち、炭素 C - 1）を糖断片 S 1、S 2、S 2 または - O - A - S H 断片に酸素原子を介して連結する共有結合に関する。糖断片 S 1、S 2、および S 3 のアノマー炭素が、- O - A - S H 断片に連結される場合、酸素原子は、断片 - O - A - S H の末端酸素原子である。糖断片 S 1、S 2、および S 3 のアノマー炭素が、他の糖断片 S 1、S 2、S 3 に連結される場合、酸素原子は、糖断片 S 1 における 3 位の酸素原子、または糖断片 S 2 における 3 位における酸素原子、または糖断片 S 3 の 4 位における酸素原子である。言い換えると、本発明に係るサッカライドは、- O - O - 結合、または糖断片の

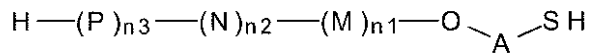
アノマー炭素または C - 1 炭素を介して、互いに連結される、または結合される糖断片を含まない。

【 0 0 1 5 】

したがって、本発明は下記一般式 ( I ) のサッカライド、およびこれらのサッカライドの薬学的に許容できる塩に関し：

【 0 0 1 6 】

【 化 1 】



( I )

10

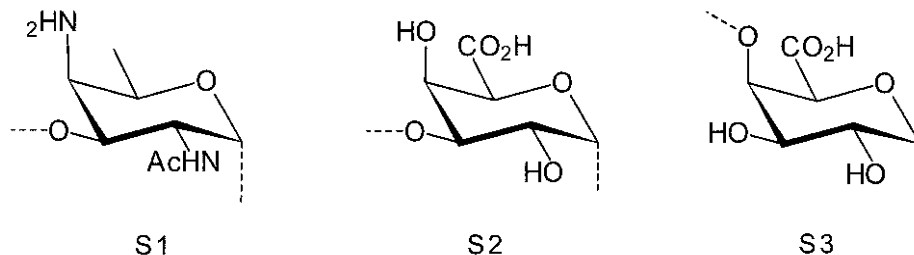
【 0 0 1 7 】

式中、A はリンカーであり；

M、N、および P は、互いに独立して、次の糖断片の一つを表し：

【 0 0 1 8 】

【 化 2 】



20

【 0 0 1 9 】

ここで、前記糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結、および - O - A - S H 断片に連結され、各糖断片 S 1、S 2、および S 3 は、前記一般式 ( I ) において多くて 1 回存在し、糖断片 S 1 は、- O - A - S H および糖断片 S 3 に同時に連結されることができず、糖断片 S 3 は、- O - A - S H および糖断片 S 2 に同時に連結されることができず、糖断片 S 2 は、- O - A - S H および糖断片 S 1 に同時に連結されることができず、n 1、n 2、および n 3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで前記整数 n 1、n 2、および n 3 の少なくとも一つは、1 である。

30

【 0 0 2 0 】

各糖断片 S 1、S 2、および S 3 は、前記一般式 ( I ) において多くて 1 回存在するとは、M、N、および P のそれぞれは、S 1、S 2、および S 3 の一つを表さなければならず、糖断片 S 1、S 2、S 3 のどれもが 2 度選択させることはできないことを意味する。したがって、M が S 1 である場合、N は S 2 および S 3 からのみ選択されることができ、S 1 を表すことはできず、M が S 1 であり、N が S 2 である場合、P は S 3 だけであることができる。

40

【 0 0 2 1 】

用語「同時に連結されることができず」は、直接的な連結に関する。「直接的な連結」は、例えば、糖断片 S 1 は断片 - O - A - S H に直接的に連結される場合、糖断片 S 1 は、当該アノマー炭素原子を介して断片 - O - A - S H に連結され、他の糖断片（例えば S 3 等）を介して断片 - O - A - S H に間接的に連結されないことを意味する。各糖断片 S 1 または S 2 または S 3 は、点線によって示される 2 つの位置を介して連結されることができる。1 つの位置は、アノマー炭素 C - 1 であり、断片 - O - A - S H の酸素に、または他の糖断片の点線を有する酸素原子に連結されることができる。各糖断片 S 1、または S 2 または S 3 の点線を有する酸素は、断片 - O - A - S H に連結されることができず、水素原子に（末端糖断片の場合）、または他の糖断片のアノマー炭素 C - 1 に連結される

50

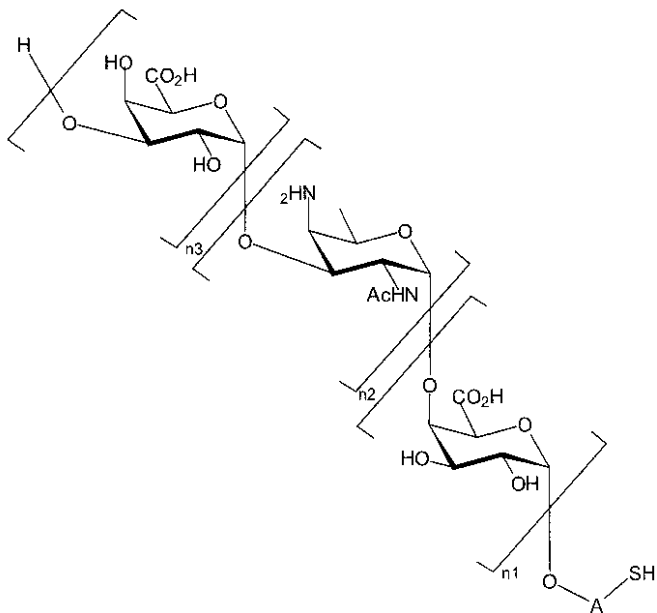
だけである。しかしながら、糖断片および - O - A - S H 断片を共に連結する場合、本願で開示された例外を考慮しなければならない。

【 0 0 2 2 】

したがって、本発明の範囲の下では、下記一般式 ( I a ) のサッカライド、

【 0 0 2 3 】

【 化 3 】



I a

【 0 0 2 4 】

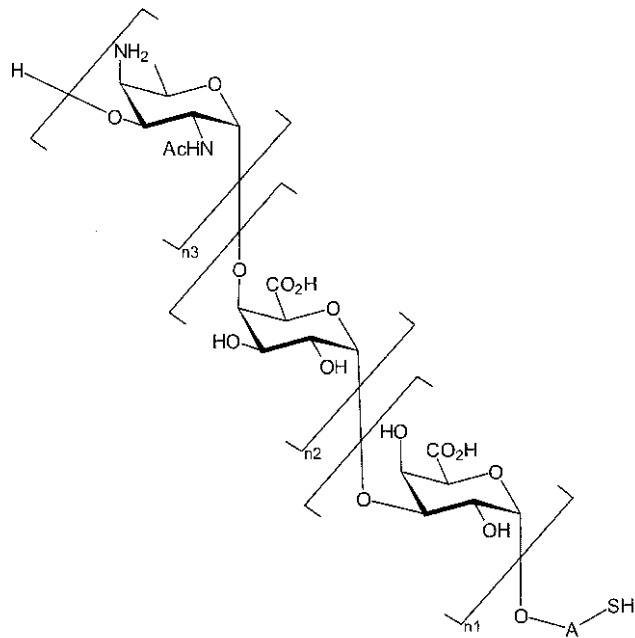
式中、

$n_1 = n_2 = n_3 = 1$ 、または  $n_1 = n_2 = 1$  および  $n_3 = 0$ 、または  $n_2 = n_3 = 1$  および  $n_1 = 0$ 、または  $n_1 = 1$  および  $n_2 = n_3 = 0$ 、または  $n_2 = 1$  および  $n_1 = n_3 = 0$  ;

および、下記一般式 ( I b ) のサッカライド

【 0 0 2 5 】

## 【化 4】



I b

## 【 0 0 2 6 】

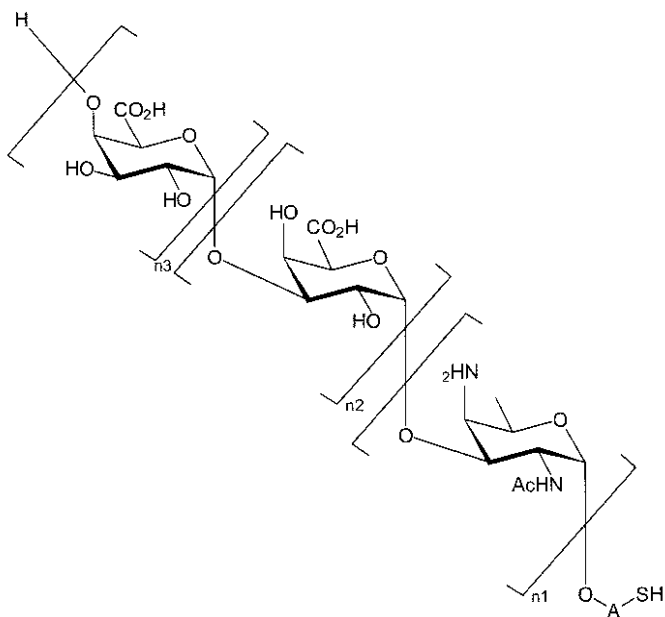
式中、

$n_1 = n_2 = n_3 = 1$ 、または  $n_1 = n_2 = 1$  および  $n_3 = 0$ 、または  $n_2 = n_3 = 1$  および  $n_1 = 0$ 、または  $n_1 = 1$  および  $n_2 = n_3 = 0$ 、または  $n_3 = 1$  および  $n_1 = n_2 = 0$  ;

および、一般式 ( I c ) のサッカライド

## 【 0 0 2 7 】

## 【化 5】



I c

## 【 0 0 2 8 】

式中、

$n_1 = n_2 = n_3 = 1$ 、または  $n_1 = n_2 = 1$  および  $n_3 = 0$ 、または  $n_2 = n_3 = 1$

10

20

30

40

50

および  $n_1 = 0$ 、または  $n_1 = 1$  および  $n_2 = n_3 = 0$ 、または  $n_3 = 1$  および  $n_1 = n_2 = 0$ 、

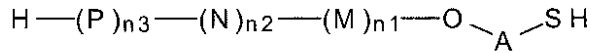
並びに、これらのサッカライドの薬学的に許容できる塩になる。

【0029】

言い換えると、本発明は、下記一般式 (I) のサッカライドおよびこれらのサッカライドの薬学的に許容できる塩に関し、

【0030】

【化6】



10

(I)

【0031】

式中、A はリンカーであり；

P は S 1 を表し、N は S 3 を表し、M は S 2 を表し；

または、

P は S 3 を表し、N は S 2 を表し、M は S 1 を表し；

または、

P は S 2 を表し、N は S 1 を表し、M は S 3 を表し；

20

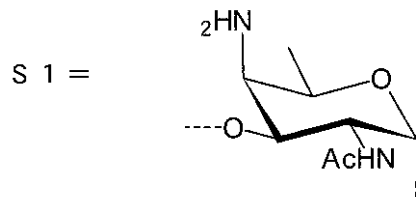
および、

$n_1 = n_2 = n_3 = 1$ 、または、 $n_1 = n_2 = 1$  および  $n_3 = 0$ 、または、 $n_2 = n_3 = 1$  および  $n_1 = 0$ 、または、 $n_1 = 1$  および  $n_2 = n_3 = 0$ 、または、 $n_2 = 1$  および  $n_1 = n_3 = 0$ 、または、 $n_3 = 1$  および  $n_1 = n_2 = 0$  であり、

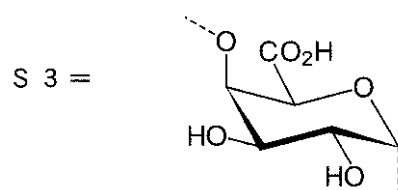
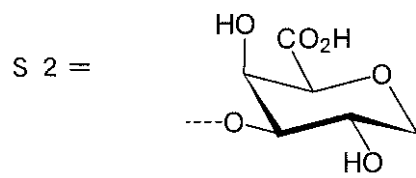
式中、S 1、S 2、および S 3 は、次に定義される糖断片であり、

【0032】

【化7】



30



40

【0033】

および、糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - S H 断片に連結される。

好ましくは、 $n_1$ 、 $n_2$ 、および  $n_3$  の多くても一つは、0 または  $n_1 = n_2 = n_3 = 1$  であり、さらにより好ましくは  $n_1 = n_2 = n_3 = 1$  である。さらに、糖 S 1 を含む一

50

般式 (I) のサッカライドが好ましい。したがって、一般式 (I) は次の糖：H - (S 1) - (S 3) - (S 2) - O - A - SH、H - (S 2) - (S 1) - (S 3) - O - A - SH、H - (S 3) - (S 2) - (S 1) - O - A - SH、H - (S 2) - (S 1) - O - A - SH、H - (S 3) - (S 2) - O - A - SH、H - (S 1) - (S 3) - O - A - SH、H - (S 1) - O - A - SH、H - (S 2) - O - A - SH、および好ましくは H - (S 1) - (S 3) - (S 2) - O - A - SH、H - (S 2) - (S 1) - (S 3) - O - A - SH、H - (S 3) - (S 2) - (S 1) - O - A - SH、H - (S 2) - (S 1) - O - A - SH、H - (S 1) - (S 3) - O - A - SH、および H - (S 1) - O - A - SH、を表すと好ましい。

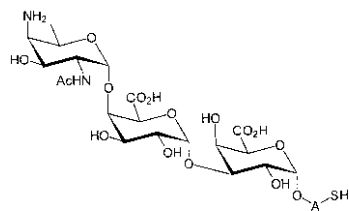
【0034】

10

特に好ましい一般式 (I) のサッカライドは、

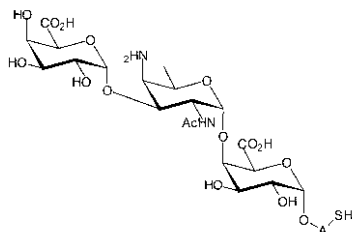
【0035】

【化8】

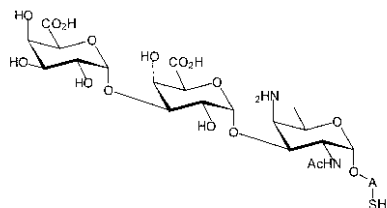


H - S 1 - S 3 - S 2 - O - A - S H

20



H - S 2 - S 1 - S 3 - O - A - S H



H - S 3 - S 2 - S 1 - O - A - S H

30

【0036】

であり、

A はリンカーとして定義され、断片 - O - A - SH の一部分である。したがって、リンカー A は、酸素原子および S H 基に結合され、一方、酸素原子および S H 基は、リンカー A の異なる炭素原子に結合される。リンカーの少なくとも 2 つの炭素原子は、酸素原子および S H 基の間に - O - C - C - S H のようにある。

40

【0037】

リンカー A は、2 ~ 20 個の炭素原子 (任意の側鎖の炭素原子を含む)、より好ましくは 2 ~ 18 個、より好ましくは 2 ~ 16 個、より好ましくは 2 ~ 14 個、より好ましくは 2 ~ 12 個、さらにより好ましくは 2 ~ 10 個の炭素原子を含む。

【0038】

酸素 (すなわち、- O - A - SH の酸素) および S H 基の間の最も短い原子鎖は、好ましくは、2 ~ 14 個の原子、より好ましくは 2 ~ 12 個の原子、より好ましくは 2 ~ 10 個の原子、より好ましくは 2 ~ 8 個の原子からなる。最も短い鎖 (最も短い鎖は、酸素および S H 基の間の最も短い可能な連結である) は、2 ~ 5 個の原子からなり、原子は好ま

50

しくは炭素原子である。最も短い鎖が4～8個の原子からなる場合、鎖は、O、NおよびSから選択される1、2、3、または4個のヘテロ原子を含んでもよい。最も短い鎖が9～14個の原子からなる場合、鎖は、O、NおよびSから選択される1、2、3、4、5、または6個のヘテロ原子を含んでもよい。最も短い鎖が0、1、または2個の硫黄原子、および/または0、1、2個の窒素原子、および/または0、1、2、または3個の酸素原子を含むと好ましい。4個より多い酸素原子が存在する場合、好ましくは他のヘテロ原子は存在しない。

#### 【0039】

リンカーA、または最も短い鎖は、完全に、または部分的にフッ素化されていても好ましい。リンカーAは、4員環、もしくは5員環、もしくは6員環の飽和炭素環、または6員環の部分的に不飽和（芳香族ではない）の炭素環、または4員環、もしくは5員環、もしくは6員環の飽和の酸素ヘテロ環、または4員環、もしくは5員環、もしくは6員環の飽和の窒素ヘテロ環を含んでもよい。

10

#### 【0040】

リンカーAは、アミド（-NH-CO-、-CO-NH-）残基および/またはウレア（-NH-CO-NH-）残基も含んでもよく、好ましくは一つのアミドまたはウレア残基のみ含んでもよい。リンカーは置換基も含んでもよく、好ましくは、 $R^1$ のような1つの置換基、または $R^1$ および $R^2$ のような2つの置換基も含んでもよく、置換基は本願で定義される通りの意味を有し、好ましくは、-OCH<sub>3</sub>、-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、-CH<sub>3</sub>、-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CF<sub>2</sub>H、-CF<sub>3</sub>、-C(O)-NH<sub>2</sub>、-NHAc、-NH(CH<sub>3</sub>)、-NH(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)、-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>、-NH-C(O)-CH<sub>3</sub>、および-C(O)-CH<sub>3</sub>から選択される。

20

#### 【0041】

リンカーがフッ素化されている場合、2個を超える置換基がFであると好ましい。

酸素ヘテロ環が存在する場合、酸素ヘテロ環の各炭素原子は、ヒドロキシ基（-OH）によって置換されてもよい。したがって、5員環の酸素ヘテロ環は、1個または2個のヒドロキシ基を含んでもよく、6員環の酸素ヘテロ環は、1個または2個、または好ましくは3個のヒドロキシ基を含んでもよい。

#### 【0042】

リンカーAは、-A<sup>a</sup>-A<sup>b</sup>-A<sup>c</sup>-A<sup>d</sup>-、または-A<sup>a</sup>-A<sup>b</sup>-A<sup>d</sup>-として定義され、好ましくは1個、2個、3個または4個の次の断片、より好ましくは1個、2個、3個の次の断片を含み、

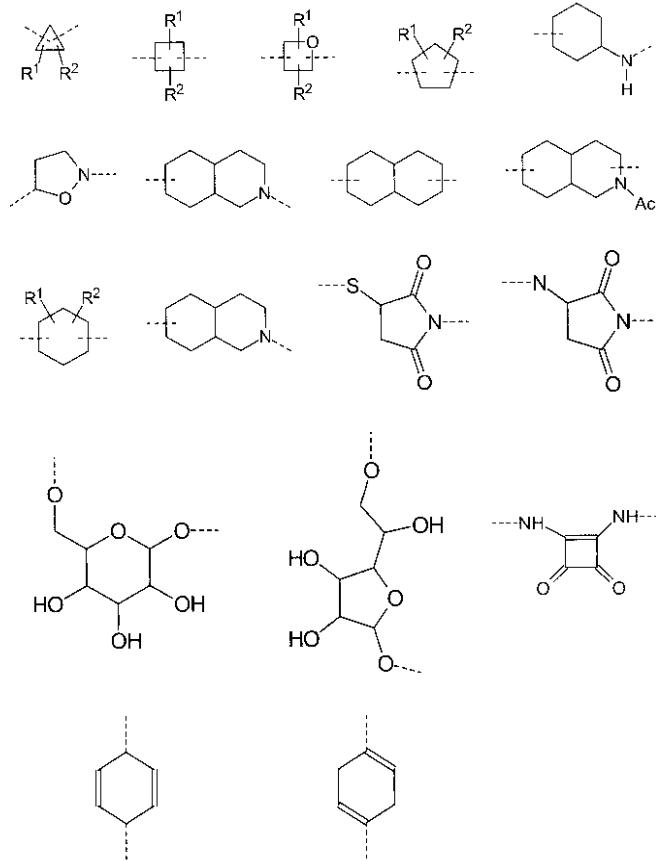
30

- (CH<sub>2</sub>)<sub>01</sub> -, - (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>01</sub> -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>03</sub> - (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>02</sub> - (CH<sub>2</sub>)<sub>01</sub> -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>01</sub> - S - (CH<sub>2</sub>)<sub>04</sub> -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>01</sub> - O - (CH<sub>2</sub>)<sub>04</sub> -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>01</sub> - NH - (CH<sub>2</sub>)<sub>04</sub> -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>01</sub> - NAc - (CH<sub>2</sub>)<sub>04</sub> -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>01</sub> - C(O) - (CH<sub>2</sub>)<sub>04</sub> -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>p1</sub> -, - (CR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>)<sub>p1</sub> -, - (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p1</sub> -, - O -, - S -, - NH -, - C(O) -, - NH - C(O) - NH -, - NH - C(O) - (CH<sub>2</sub>)<sub>p2</sub> -, - C(O) - NH - (CH<sub>2</sub>)<sub>p2</sub> -, - NH - C(O) - C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> - C(O) - NH -, - C(O) - NH -, - C(O) - NH - (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p1</sub> - C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> -, - C(O) - NH - (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p1</sub> -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>q1</sub> -, - (CR<sup>16</sup>R<sup>17</sup>)<sub>q1</sub> -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>q1</sub> - NHC(O) -, - (CH<sub>2</sub>)<sub>q1</sub> - C(O) - NH -,

40

#### 【0043】

## 【化 9】



10

20

## 【0044】

ここで、上述の残基の二つのヘテロ原子は、基 - S - が基 - NH - C(O) - NH - に連結されないように、共に連結されず；

p 2、O 2、O 3 は、互いに独立して、

0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 から選択される整数であり、

p 1、q 1、O 1、O 4 は、互いに独立して、

1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 から選択される整数であり、

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>16</sup>、および R<sup>17</sup> は、互いに独立して、

- H、- OCH<sub>3</sub>、- OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、- CH<sub>3</sub>、- C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、- C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>、- CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、- F、- CH<sub>2</sub>F、- CF<sub>2</sub>H、- CF<sub>3</sub>、- C(O) - NH<sub>2</sub>、- SCH<sub>3</sub>、- SC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、- NHAc、- NH(CH<sub>3</sub>)、- NH(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)、- N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、- N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>、- NH - C(O) - CH<sub>3</sub>、および - C(O) - CH<sub>3</sub> を表す。

## 【0045】

本発明に係るリンカー A は、

- A<sup>a</sup> - A<sup>b</sup> - A<sup>c</sup> - A<sup>d</sup> -、または - A<sup>a</sup> - A<sup>b</sup> - A<sup>d</sup> -、または - A<sup>a</sup> - A<sup>d</sup> -、または - A<sup>a</sup> - を表し、

ここで、

A<sup>a</sup> は、- (CH<sub>2</sub>)<sub>0 1</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 2</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 2</sub> - (CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>0 3</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 3</sub> - (CH<sub>2</sub> - CH<sub>2</sub> - O)<sub>0 2</sub> - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 1</sub> -、- (CH<sub>2</sub> - CH<sub>2</sub> - O)<sub>0 2</sub> - (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 3</sub> - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 1</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 2</sub> - S - (CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>0 4</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 2</sub> - O - (CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>0 4</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 2</sub> - NH - (CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>0 4</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> - S - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 4</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> - S - (CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>0 3</sub> - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 4</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> - O - (CR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>)<sub>0 4</sub> -、- (CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>0 1</sub> - O - (CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>)<sub>0 3</sub> -

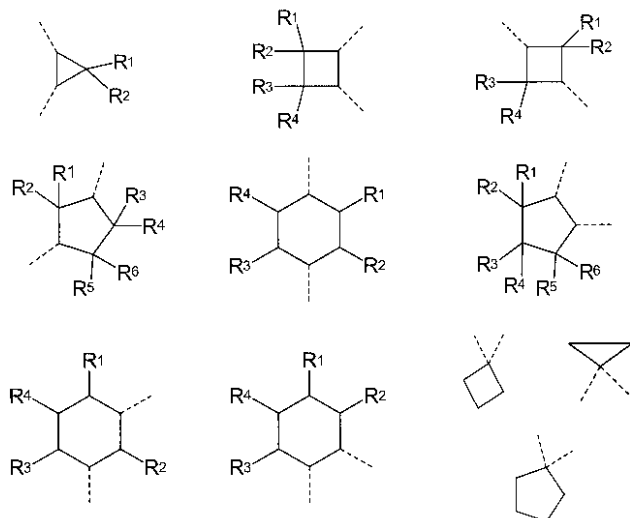
50



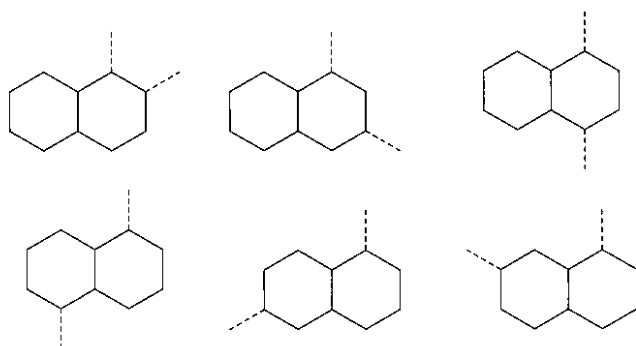
$(\text{CR}^3\text{R}^4)_{\text{O}4} - , - (\text{CR}^1\text{R}^2)_{\text{O}1} - \text{NH} - (\text{CR}^3\text{R}^4)_{\text{O}4} - , - (\text{CR}^1\text{R}^2)_{\text{O}1} - \text{NH} - (\text{CR}^5\text{R}^6)_{\text{O}3} - (\text{CR}^3\text{R}^4)_{\text{O}4} - , - (\text{CR}^1\text{R}^2)_{\text{O}1} - \text{C}(\text{O}) - (\text{CR}^3\text{R}^4)_{\text{O}4} - , - (\text{CR}^1\text{R}^2)_{\text{O}1} - \text{C}(\text{O}) - (\text{CR}^5\text{R}^6)_{\text{O}3} - (\text{CR}^3\text{R}^4)_{\text{O}4} - ,$

【0046】

【化10-1】



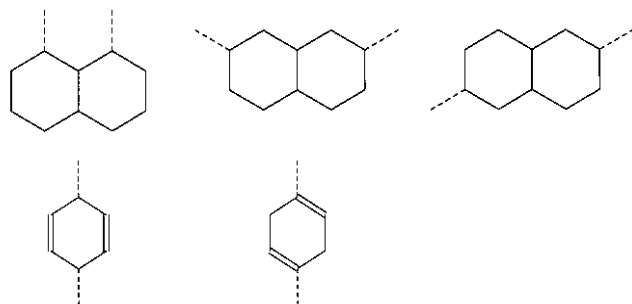
10



20

【0047】

【化10-2】



30

【0048】

を表し、

$A^b$  は、 $-(\text{CH}_2)_{p1} - , - (\text{CR}^7\text{R}^8)_{p1} - , - (\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O})_{p1} - , - (\text{CR}^7\text{R}^8)_{p1} - \text{S} - (\text{CR}^9\text{R}^{10})_{p2} - , - (\text{CR}^7\text{R}^8)_{p1} - \text{O} - (\text{CR}^9\text{R}^{10})_{p2} - , - (\text{CR}^7\text{R}^8)_{p1} - \text{NH} - (\text{CR}^9\text{R}^{10})_{p2} - , - \text{O} - , - \text{S} - , - \text{NH} - , - \text{C}(\text{O}) - , - \text{NH} - \text{C}(\text{O}) - \text{NH} - , - \text{NH} - \text{C}(\text{O}) - (\text{CH}_2)_{p2} - , - \text{C}(\text{O}) - \text{NH} - (\text{CH}_2)_{p2} - , - \text{NH} - \text{C}(\text{O}) - \text{C}_2\text{H}_4 - \text{C}(\text{O}) - \text{NH} - , - (\text{CR}^7\text{R}^8)_{p1} - (\text{CR}^9\text{R}^{10})_{p2} - (\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O})_{p3} - , - (\text{CR}^7\text{R}^8)_{p1} - (\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O})_{p2} - (\text{CR}^9\text{R}^{10})_{p3} - , - (\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O})_{p1} - (\text{CR}^7\text{R}^8)_{p2} - (\text{CR}^9\text{R}^{10})_{p3}$

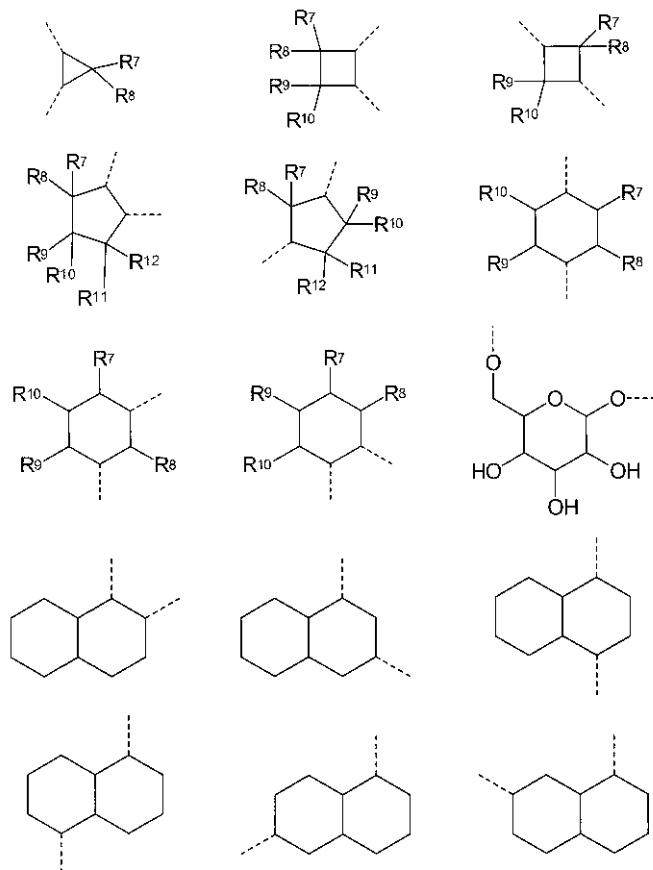
40

50

-、-C(O)-NR<sup>15</sup>-、-(CR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>)<sub>p1</sub>-(CR<sup>9</sup>R<sup>10</sup>)<sub>p2</sub>-(CR<sup>11</sup>R<sup>12</sup>)<sub>p3</sub>、-C(O)-NH-CH(R<sup>18</sup>)-、-C(O)-NH-CH(R<sup>18</sup>)-C(O)-NH-CH(R<sup>19</sup>)-、-C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p1</sub>-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-、-C(O)-NH-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p1</sub>-、

【0049】

【化11-1】



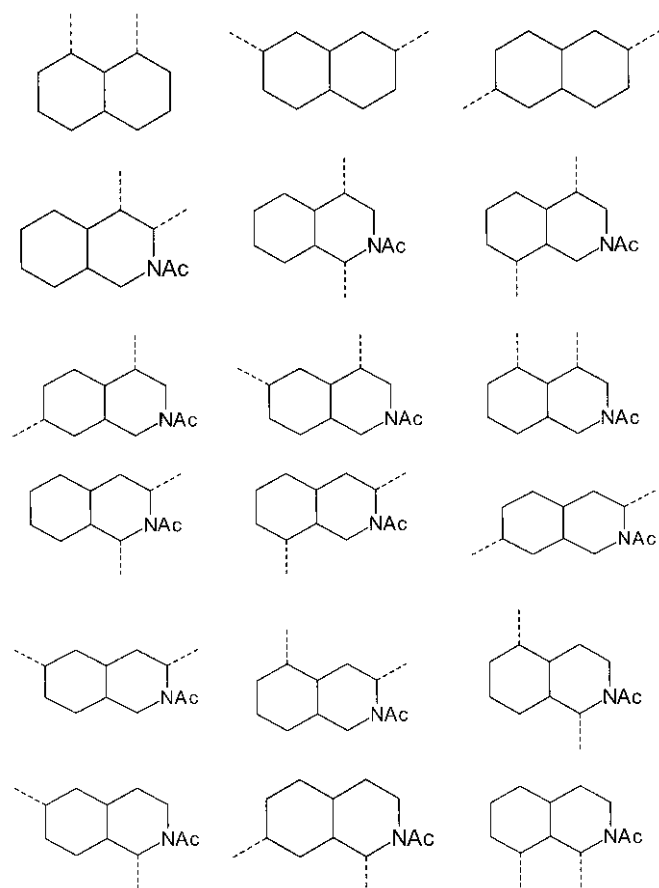
【0050】

10

20

30

## 【化 1 1 - 2】

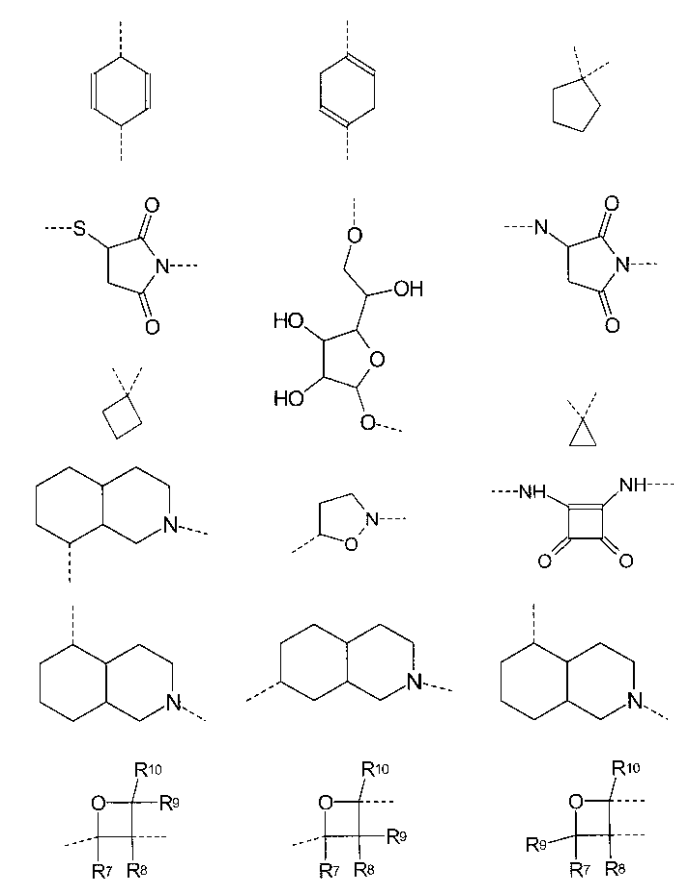


10

20

## 【 0 0 5 1】

## 【化 1 1 - 3】



30

40

## 【 0 0 5 2】

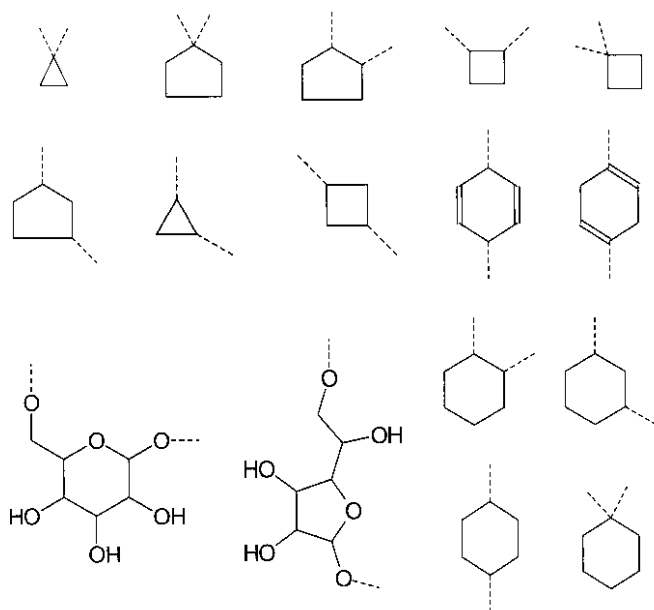
50

を表す。

$$\begin{array}{l} A^c \text{ は、 } -(\text{CH}_2)_{q_1} - , -(\text{CR}^{16}\text{R}^{17})_{q_1} - , -(\text{CH}_2)_{q_1} - \text{NH} \\ -\text{C}(\text{O}) - , -(\text{CH}_2)_{q_1} - \text{C}(\text{O}) - \text{NH} - \end{array}$$

【 0 0 5 3 】

【化 1 2】



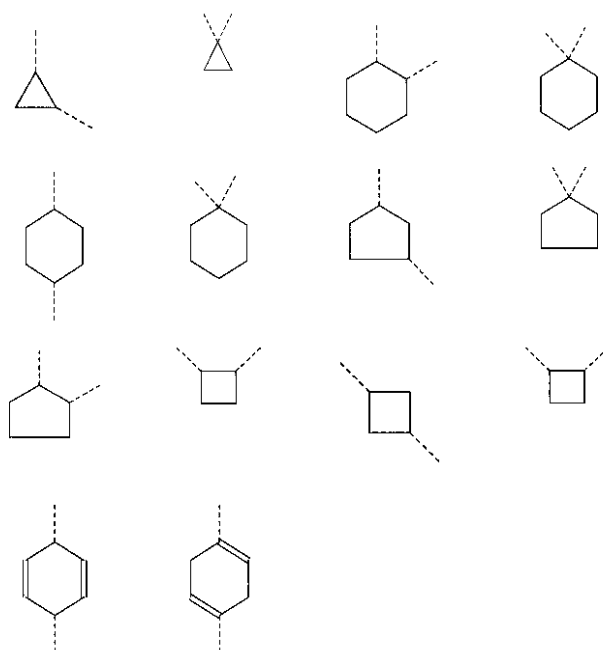
【 0 0 5 4 】

を表す。

$$\begin{aligned} A^d \text{ は、} & -(\text{CH}_2)_{m_1} - , -(\text{CR}^{13}\text{R}^{14})_{m_1} - , -\text{CH}_2 - \text{S} - \text{C}(\text{CH}_2)_{m_1} - \\ & -\text{CH}_2 - \text{O} - \text{C}(\text{CH}_2)_{m_1} - , -\text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) - (\text{CH}_2)_{m_1} - \\ & , -(\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O})_{m_1} - (\text{CR}^{13}\text{R}^{14})_{m_2} - , -(\text{CH}_2)_{m_1} - (\text{CR}^{13}\text{R}^{14})_{m_2} - , \\ & -(\text{CR}^{13}\text{R}^{14})_{m_2} - (\text{CH}_2)_{m_1} - , -(\text{CR}^{13}\text{R}^{14})_{m_1} - (\text{CH}_2)_{m_2} - , -(\text{CH}_2)_{m_2} - (\text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2)_{m_1} - , \end{aligned}$$

【 0 0 5 5 】

【化 1 3】



【 0 0 5 6 】

を表す。

$R^{1 \sim 14}$ 、 $R^{16}$  および  $R^{17}$  は、互いに独立して、 $-H$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OC_2$

$H_5$ 、 $-OC_3H_7$ 、 $-\text{シクロ}-C_3H_5$ 、 $-\text{シクロ}-C_4H_7$ 、 $-\text{シクロ}-C_5H_9$ 、  
 $-\text{シクロ}-C_6H_{11}$ 、 $-\text{シクロ}-C_7H_{13}$ 、 $-\text{シクロ}-C_8H_{15}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{シク}$   
 $\text{ロ}-C_6H_{11}$ 、 $-C(\text{シクロ}-C_6H_{11})_3$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-C_2H_5$ 、 $-C_3H_7$ 、  
 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-C_4H_9$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-C$   
 $_2H_5$ 、 $-C(\text{CH}_3)_3$ 、 $-C_5H_{11}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_3H_7$ 、 $-\text{CH}_2-C$   
 $H(\text{CH}_3)-C_2H_5$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-C(\text{CH}_3)_2-C$   
 $_2H_5$ 、 $-\text{CH}_2-C(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{CH}(C_2H_5)_2$ 、 $-C_2H_4-\text{CH}(\text{CH}_3)$   
 $_2$ 、 $-C_6H_{13}$ 、 $-C_3H_6-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-C_2H_4-\text{CH}(\text{CH}_3)-C$   
 $_2H_5$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_4H_9$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_3H_7$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_2H_5$ 、  
 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2-C(\text{CH}_3)_2-C_2H_5$ 、  
 $-C(\text{CH}_3)_2-C_3H_7$ 、 $-C(\text{CH}_3)_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-C_2H_4-C(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-C(\text{CH}_3)_3$ 、 $-C_7H_{15}$ 、 $-C_8H_{17}$ 、 $-C_6H_4-OCH_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-OCH_3$ 、 $-\text{CH}_2-OCH_3$ 、 $-\text{CH}_2-C_6H_4-OCH_3$ 、 $-F$ 、 $-\text{CH}_2F$ 、 $-CF_2H$ 、 $-CF_3$ 、 $-C(O)-NHR^{15}$ 、 $-C(O)-NHR^{22}$ 、 $-C(O)-NHR^{23}$ 、 $-C(O)-NHR^{24}$ 、 $-C(O)-NHR^{25}$ 、 $-SCH_3$ 、 $-SC_2H_5$ 、 $-NR^{15}R^{22}$ 、 $-NHR^{15}$ 、 $-NHR^{22}$ 、 $-NHR^{23}$ 、 $-NHR^{24}$ 、 $-NHR^{25}$ 、 $-NH-C(O)-R^{15}$ 、 $-NH-C(O)-R^{22}$ 、 $-NH-C(O)-R^{23}$ 、 $-NH-C(O)-R^{24}$ 、 $-NH-C(O)-R^{25}$ 、 $-C(O)-R^{15}$ 、 $-C(O)-R^{22}$ 、 $-C(O)-R^{23}$ 、 $-C(O)-R^{24}$ 、 $-C(O)-R^{25}$ 、を表す。

10

20

## 【0057】

$R^{15}$ 、 $R^{22}$ 、 $R^{23}$ 、 $R^{24}$ 、および $R^{25}$ は、 $-\text{CH}_3$ 、 $-C_2H_5$ 、 $-C_3H_7$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-C_4H_9$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_2H_5$ 、 $-C(\text{CH}_3)_3$ 、 $-C_5H_{11}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_3H_7$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_2H_5$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-C(\text{CH}_3)_2-C_2H_5$ 、 $-\text{CH}_2-C(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{CH}(C_2H_5)_2$ 、 $-C_2H_4-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-C_6H_{13}$ 、 $-C_3H_6-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-C_2H_4-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_2H_5$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_4H_9$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_3H_7$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)-C_2H_5$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2-C(\text{CH}_3)_2-C_2H_5$ 、 $-C(\text{CH}_3)_2-C_3H_7$ 、 $-C(\text{CH}_3)_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-C_2H_4-C(\text{CH}_3)_3$ 、を表し、

30

$R^{18}$ 、 $R^{19}$ 、 $R^{20}$ 、および $R^{21}$ は、互いに独立して、 $-\text{CH}_2-OCH_3$ 、 $-\text{CH}_2-SCH_3$ 、 $-\text{CH}_2-SeCH_3$ 、 $-C_2H_4-OCH_3$ 、 $-C_2H_4-SCH_3$ 、 $-C_2H_4-SeCH_3$ 、 $-H$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-C_2H_5$ 、 $-C_3H_7$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)(OCH_3)$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2-Ph$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)(C_2H_5)$ 、 $-\text{CH}_2-C(O)-NH_2$ 、 $-C_2H_4-C(O)-NH_2$ 、 $-\text{CH}_2-p-C_6H_4-OCH_3$ 、を表し、

40

$p_2$ 、 $p_3$ 、 $O_2$ 、 $O_3$ は、互いに独立して、  
 $0$ 、 $1$ 、 $2$ 、 $3$ 、 $4$ 、 $5$ 、 $6$ 、 $7$ 、 $8$ 、 $9$ 、 $10$ から選択される整数であり、  
 $p_1$ 、 $q_1$ 、 $O_1$ 、 $O_4$ 、 $m_1$ 、 $m_2$ は、互いに独立して、  
 $1$ 、 $2$ 、 $3$ 、 $4$ 、 $5$ 、 $6$ 、 $7$ 、 $8$ 、 $9$ 、 $10$ から選択される整数である。

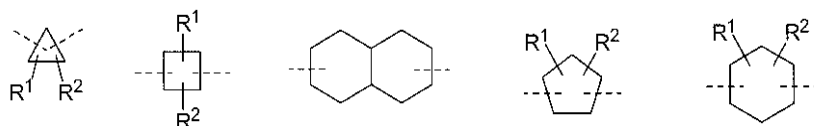
## 【0058】

好ましくは、リンカーAは残基 $-A^a-$ を表す。

$-A^a-$ は、好ましくは、直鎖の炭素鎖であり、または

## 【0059】

## 【化 1 4】



## 【0060】

から選択される飽和炭素環である。

更に好ましくは、リンカーAは、 $-(CH_2)_{01}-A^b-A^c-A^d-$ 、 $-(CH_2)_{01}-A^b-A^d-$ 、 $-(CH_2)_{01}-A^d-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-A^b-A^c-A^d-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-A^b-A^d$ または $-(CR^1R^2)_{01}-A^d-$ を表し、ここで、 $A^b$ 、 $A^c$ 、および $A^d$ は、本願に定義される通りの意味を有し、 $R^1$ および $R^2$ は、本願に定義される通りの意味を有し、好ましくは互いに独立して、 $-H$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OC_2H_5$ 、 $-CH_3$ 、 $-C_2H_5$ 、 $-C_3H_7$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-F$ 、 $-CH_2F$ 、 $-CF_2H$ 、 $-CF_3$ 、 $-C(O)-NH_2$ 、 $-SCH_3$ 、 $-SC_2H_5$ 、 $-NHAc$ 、 $-NH(CH_3)$ 、 $-NH(C_2H_5)$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-N(C_2H_5)_2$ 、 $-NH-C(O)-CH_3$ 、および $-C(O)-CH_3$ を表す。

10

## 【0061】

$A^b$ は、一般的に、特に上記の一般式 $-(CH_2)_{01}-A^b-A^c-A^d-$ 、 $-(CH_2)_{01}-A^b-A^d-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-A^b-A^c-A^d-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-A^b-A^d-$ を表し、好ましくは次の残基： $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-NH-C(O)-NH-$ 、 $-NH-C(O)-(CH_2)_{p2}-$ 、 $-C(O)-NH-(CH_2)_{p2}-$ 、 $-NH-C(O)-C_2H_4-C(O)-NH-$ 、 $-C(O)-NR^{15}$ 、 $-C(O)-NH-CH(R^{18})-$ 、 $-C(O)-NH-(CH_2-CH_2-O)_{p1}-C_2H_4-$ 、 $-C(O)-NH-(CH_2-CH_2-O)_{p1}-$ の一つを表し、ここで、置換基 $R^{15}$ 、および $R^{18}$ は、本願に定義される通りの意味を有し、好ましくは、 $-CH_3$ 、 $-C_2H_5$ 、または $-C_3H_7$ である。

20

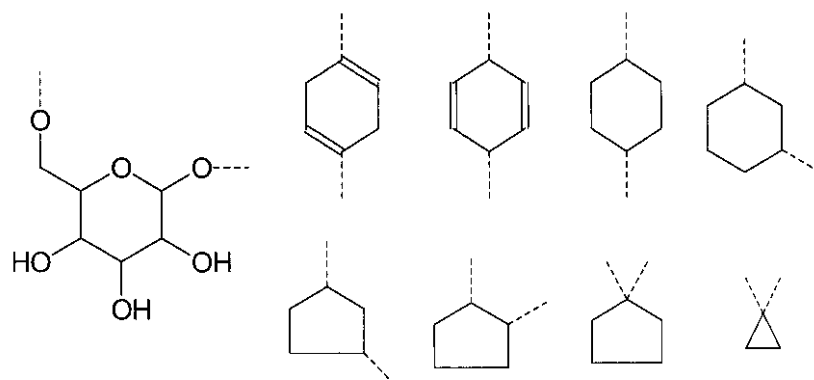
## 【0062】

$A^c$ は、一般的に、特に上記の一般式 $-(CH_2)_{01}-A^b-A^c-A^d-$ 、および $-(CR^1R^2)_{01}-A^b-A^c-A^d-$ を表し、好ましくは、次の残基： $-(CH_2)_{q1}-$

30

## 【0063】

## 【化 1 5】



40

## 【0064】

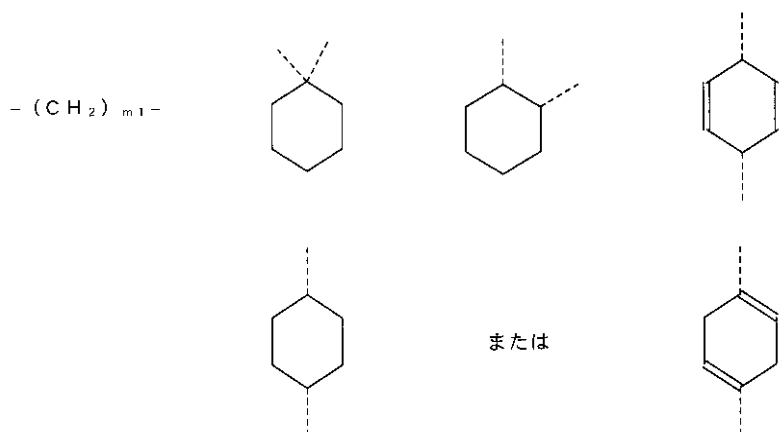
の一つを表す。

$A^d$ は、一般的に、特に上記の一般式 $-(CH_2)_{01}-A^b-A^c-A^d-$ 、 $-(CH_2)_{01}-A^b-A^d-$ 、 $-(CH_2)_{01}-A^d-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-A^b-A^c-A^d-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-A^b-A^d-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-A^d-$ を表し、好ましくは次の残基：

50

【 0 0 6 5 】

【 化 1 6 】



10

【 0 0 6 6 】

の 一 つ を 表 す。

リンカー単独の、または相互接続分子と共にリンカーの機能は、免疫原性担体、または固体支持体にサッカライドの還元末端を共有的に結合することである。本発明に係る相互接続分子は、官能基 Z および官能基 Y を含む二官能性分子に関し、官能基 X は、リンカー A における末端チオール基と反応することが可能であり、官能基 Y は、免疫原性担体に、  
 または固体支持体に結合することが可能である。したがって、本発明は、式 (I) のサッカライドに関し、ここで、リンカー自体、または相互接続分子共にリンカーは、モノサッカライドの還元末端と免疫原性担体または固体支持体との間の空間的な距離を設立する、  
 保つ、および / または架橋することが可能である。

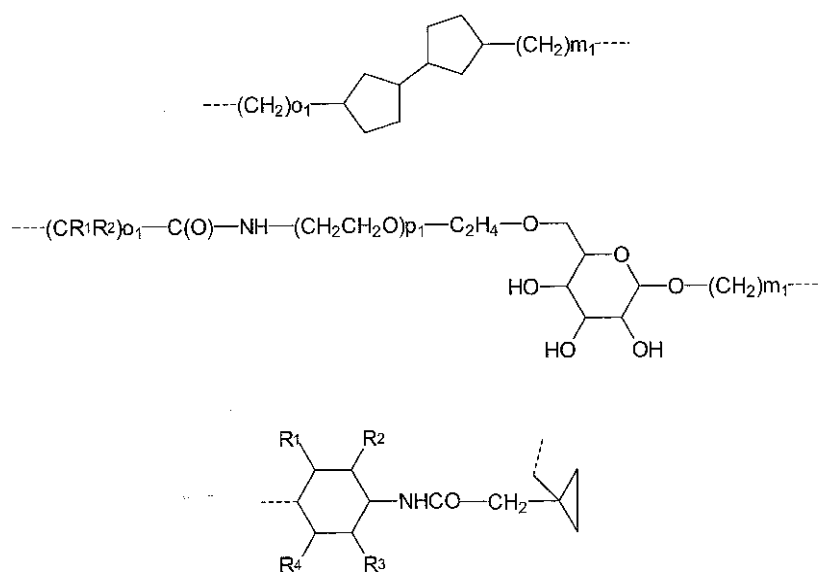
20

【 0 0 6 7 】

本発明に係る好ましい実施形態において、リンカー - A - は、 $-A^a - A^b - A^c - A^d -$  を表す。好ましくは、断片  $-A^a - A^b - A^c - A^d -$  は次の断片から選択される：

【 0 0 6 8 】

【 化 1 7 】



30

40

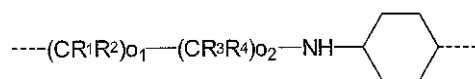
【 0 0 6 9 】

他の好ましい実施形態は、一般式 (I) のサッカライドに関し、式中、リンカー A は、 $-A^a - A^b - A^d -$  を表す。好ましくは、断片  $-A^a - A^b - A^d -$  は次の断片

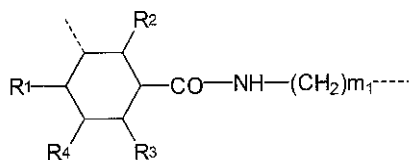
【 0 0 7 0 】

【 0 0 7 2 】

から選択される。

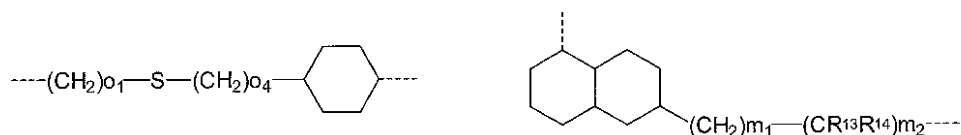


20



## 【化 1 9】

30



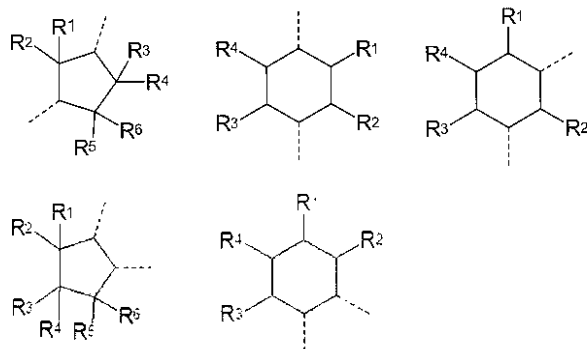
から選択され

40

【 0 0 7 5 】



## 【化20】



10

## 【0076】

、 $-(CH_2)_{01}-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-$ 、 $-(CR^1R^2)_{03}-$ 、 $(CH_2-C$   
 $H_2-O)_{02}-$ 、 $(CR^3R^4)_{01}-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-$ 、 $(CR^3R^4)_{02}-$   
 $(CR^5R^6)_{03}-$ 、 $-(CH_2-CH_2-O)_{02}-$ 、 $(CR^1R^2)_{03}-$ 、 $(CR^3$   
 $R^4)_{01}-$ 、 $-(CH_2)_{01}-$ 、 $(CR^3R^4)_{02}-$ 、 $S-(CH_2)_{04}-$ 、 $-(C$   
 $H_2)_{01}-$ 、 $(CR^3R^4)_{02}-$ 、 $O-(CH_2)_{04}-$ 、 $-(CH_2)_{01}-$ 、 $(CR^3$   
 $R^4)_{02}-$ 、 $NH-(CH_2)_{04}-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-$ 、 $S-(CR^3R^4)_{04}$   
 $-(CR^1R^2)_{01}-O-(CR^3R^4)_{04}$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-NH-(C$   
 $R^3R^4)_{04}$ 、または $-(CR^1R^2)_{01}-C(O)-(CR^3R^4)_{04}$ 、

20

から選択される。

## 【0077】

好ましい実施形態において、置換基 $R^1 \sim R^{14}$ 、 $R^{16}$ および $R^{17}$ は、  
 $-H$ 、 $-OCH_3$ 、 $-OC_2H_5$ 、 $-CH_3$ 、 $-C_2H_5$ 、 $-C_3H_7$ 、 $-F$ 、 $-CH_2$   
 $F$ 、 $-CF_2H$ 、 $-CF_3$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-C_4H_9$ 、 $-CH_2-CH(CH_3)$   
 $_2$ 、 $-CH(CH_3)-C_2H_5$ 、 $-C(CH_3)_3$ 、 $-CH_2-CH_2-OCH_3$ 、  
 $-CH_2-OCH_3$ 、 $-SCH_3$ 、 $-SC_2H_5$ 、 $-NR^{15}R^{22}$ 、 $-NHR^{15}$ 、  
 $-NHR^{22}$ 、 $-NHR^{23}$ 、 $-NHR^{24}$ 、 $-NHR^{25}$ 、 $-NH-C(O)-R^{15}$ 、  
 $-NH-C(O)-R^{22}$ 、 $-NH-C(O)-R^{23}$ 、 $-NH-C(O)-R^{24}$ 、  
 $-NH-C(O)-R^{25}$ 、から選択される。

30

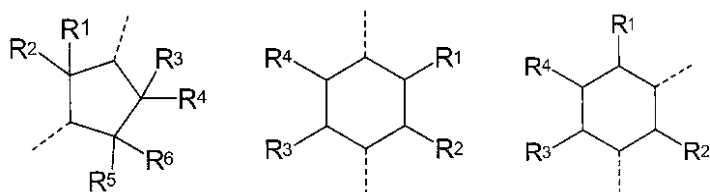
## 【0078】

リンカーとしてさらに好ましくは、 $-A-$ は、 $-A^a-$ を表す。好ましくは、断片  
 $-A^a-$ は、次の意味： $-(CH_2)_{01}-$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-$ 、 $-(CH_2)_{01}$   
 $-(CR^3R^4)_{02}-$ 、 $(CH_2)_{03}-$ 、 $-(CH_2-CH_2-O)_{02}-$ 、 $(CH_2)$   
 $_{01}-$ 、 $-(CH_2-CH_2-O)_{02}-$ 、 $(CR^1R^2)-$ 、 $(CH_2)_{01}-$ 、 $-(CH$   
 $_2)_{01}-$ 、 $(CR^3R^4)_{02}-$ 、 $S-(CH_2)_{04}$ 、 $-(CR^1R^2)_{01}-S-(C$   
 $H_2)_{04}$ 、 $-(CH_2)_{01}-$ 、 $(CR^3R^4)_{02}-O-(CH_2)_{04}$ 、 $-(CR^1$   
 $R^2)_{01}-O-(CH_2)_{04}$ 、または $-(CR^1R^2)_{01}-C(O)-(CR^3R$   
 $^4)_{04}$ 、

## 【0079】

40

## 【化21】



## 【0080】

を有し、  
 式中、

50

○ 1 および ○ 4 は、1、2、3、4、5、6、から選択される整数であり、  
○ 2 および ○ 3 は、0、1、2、3、4、5、6、から選択される整数であり、  
置換基  $R^1 \sim R^6$  は、

- H、- OCH<sub>3</sub>、- OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、- CH<sub>3</sub>、- C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、- C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>、- F、- CH<sub>2</sub>F、- CF<sub>2</sub>H、- CF<sub>3</sub>、- CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、- C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>、- CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、- CH(CH<sub>3</sub>)-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、- C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、- CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>、- CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>、- SCH<sub>3</sub>、- SC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、- NHR<sup>1 5</sup>、- NHR<sup>2 2</sup>、- NHR<sup>2 3</sup>、- NHR<sup>2 4</sup>、- NHR<sup>2 5</sup>、- NH-C(O)-R<sup>1 5</sup>、- NH-C(O)-R<sup>2 2</sup>、- NH-C(O)-R<sup>2 3</sup>、- NH-C(O)-R<sup>2 4</sup>、- NH-C(O)-R<sup>2 5</sup>、から選択される。

10

#### 【0081】

本発明に係るリンカー A は、文献に記載される手順にしたがって、当業者によって簡単に利用されることができる。

さらに、本発明は式 (I) の合成のサッカライドに関し、ここで、リンカーは、一般式 (I) におけるサッカライドの還元末端モノサッカライドを、チオール基を介して免疫原性担体と、または固体支持体と、任意に少なくとも一つの更なる相互接続分子に結合することにより、連結することが可能な分子断片である。より明確に、リンカーの一つの末端は、還元末端モノサッカライドのアノマー中心で、環外の酸素原子に連結され、他の末端は、相互接続分子と硫黄原子を介して連結される、または硫黄原子を介して免疫原性担体もしくは固体支持体と直接連結される。

20

#### 【0082】

本発明の化合物は、塩基および/または酸置換基を有し、有機もしくは無機酸、または有機もしくは無機塩基を用いて塩を形成してもよい。当該酸付加塩形成のための適切な酸の例は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、酢酸、クエン酸、シュウ酸、マロン酸、サリチル酸、p-アミノサリチル酸、リンゴ酸、フマル酸、コハク酸、アスコルビン酸、マレイン酸、スルホン酸、ホスホン酸、過塩素酸、硝酸、ギ酸、プロピオン酸、グルコン酸、乳酸、酒石酸、ヒドロキシマレイン酸、ピルビン酸、フェニル酢酸、安息香酸、p-アミノ安息香酸、p-ヒドロキシ安息香酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、亜硝酸、ヒドロキシエタンスルホン酸、エチレンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、ナフチルスルホン酸、スルファニル酸、カンフルスルホン酸、キナ酸、マンデル酸、O-メチルマンデル酸、水素-ベンゼンスルホン酸、ピクリン酸、アジピン酸、d-O-トリル酒石酸、タルトロン酸、(O、m、p)-トルイル酸、ナフチルアミンスルホン酸、および当業者に公知の他の無機酸、またはカルボン酸である。塩は、従来の方法で塩を生成するために、十分な量の所望の酸と遊離塩基形を接触させることによって調製される。

30

#### 【0083】

適切な無機塩、または有機塩の例は、例えば、NaOH、KOH、NH<sub>4</sub>OH、水酸化テトラアルキルアンモニウム、リジンまたはアルギニン等である。塩は、当技術分野で公知の方法を用いて従来の方法で、例えば、一般式 (I) の化合物を有する溶液を、上述の群から選択される酸の溶液と処理することによって、調製されてもよい。

#### 【0084】

さらに、本発明の化合物は、塩基性基および酸性基を同時に有することも可能である。さらに、これらの塩基性基および酸性基は、互いに近接して存在するようにしてあって、酸性基から塩基性基へ分子内プロトン移動を可能にするということも起こってもよい。したがって、本発明の好ましい実施形態において、式 (I) の化合物は、両性イオンであってもよく、少なくとも例えば、一つの - O<sup>-</sup> および一つの - NH<sup>3+</sup> 基を有する。

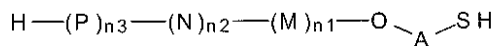
40

#### 【0085】

したがって、本発明は、下記一般式 (I) のサッカライドおよびこれらのサッカライドの薬学的に許容できる塩に関し、

#### 【0086】

## 【化 2 2】



(1)

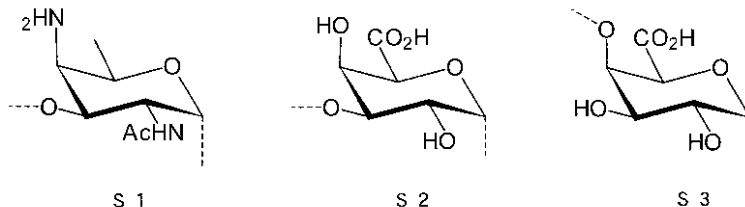
## 【0087】

式中、A はリンカーであり；

M、N、および P は、互いに独立して、次の糖断片の一つを表し：

## 【0088】

## 【化 2 3】



## 【0089】

ここで、各糖断片 S 1、S 2、および S 3 は、前記一般式 (I) において多くて 1 回存在し、糖断片 S 1 が存在する場合、当該アノマー炭素は、- O - A - SH にのみ、または糖断片 S 3 の 4 位で酸素原子にのみ連結されることができ、糖断片 S 2 が存在する場合、当該アノマー炭素は、- O - A - SH にのみ、または糖断片 S 1 の 3 位で酸素原子にのみ連結され、糖断片 S 3 が存在する場合、当該アノマー炭素は、- O - A - SH にのみ、または糖断片 S 2 の 3 位で酸素原子にのみ連結されることができ、

n 1、n 2、および n 3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで整数 n 1、n 2、および n 3 の少なくとも一つは、1 である。

## 【0090】

一般式 (I) のサッカライドのために本願に開示される通り、同じ連結は、中間体として本願で名付けられている一般式 (II) のジスルフィド（すなわち、二量体サッカライド）にも適用する。

## 【0091】

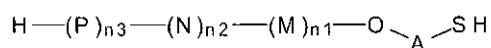
したがって、本発明の範囲の下で含まれるのは、一般式：H - (S 1) - (S 3) - (S 2) - O - A - SH、H - (S 2) - (S 1) - (S 3) - O - A - SH、H - (S 3) - (S 2) - (S 1) - O - A - SH のトリサッカライド、一般式：H - (S 1) - (S 3) - O - A - SH、H - (S 3) - (S 2) - O - A - SH、H - (S 2) - (S 1) - O - A - SH のジサッカライド、および一般式：H - (S 1) - O - A - SH、H - (S 3) - O - A - SH のモノサッカライドであり、式中、A はリンカーとして定義される。

## 【0092】

本出願における好ましい実施形態は、下記一般式 (I) のサッカライド、およびこれらのサッカライドの薬学的に許容できる塩に関し

## 【0093】

## 【化 2 4】



(1)

## 【0094】

式中、A は上記に定義されるリンカーであり、

P は S 1 を表し、

NはS 3を表し、

MはS 2を表し、

糖断片S 1、S 2、S 3は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - SH断片に連結され、糖断片S 2は、糖断片S 1に連結されることはできず、および、

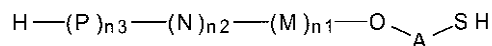
n 1、n 2、およびn 3は、0および1から選択される整数であり、ここで整数n 1、n 2、およびn 3の少なくとも一つは、1である。

【0095】

言い換えると、本発明の好ましいサッカライドは、下記一般式(I)のサッカライドであり、

【0096】

【化25】



(1)

【0097】

式中、Aは上記に定義されるリンカーであり、

PはS 1を表し、

NはS 3を表し、

MはS 2を表し、

糖断片S 1、S 2、S 3は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - SH断片に連結され、および

n 1 = n 2 = n 3 = 1、またはn 1 = n 2 = 1およびn 3 = 0、またはn 1 = 1およびn 2 = n 3 = 0、またはn 1 = 0およびn 2 = n 3 = 1、またはn 1 = n 2 = 0およびn 3 = 1である。

【0098】

本発明のさらに他の好ましい実施形態において、一般式(I)に係る化合物は、

2 - メルカプトエタニル O - ( 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル ) - ( 1 4 ) - O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート ) - ( 1 3 ) - O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート )

2 - メルカプトエタニル O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート ) - ( 1 3 ) - O - ( 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル ) - ( 1 4 ) - O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート )、

2 - メルカプトエタニル O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート ) - ( 1 3 ) - O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート ) - ( 1 3 ) - O - ( 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシド )、

2 - メルカプトエタニル O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート ) - ( 1 3 ) - O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート )、

2 - メルカプトエタニル O - ( 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル ) - ( 1 4 ) - O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート )、

2 - メルカプトエタニル O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート )、

2 - メルカプトエタニル O - ( - D - ガラクトピラノシルウロネート ) - ( 1 3 ) - O - ( 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシド )、

2 - メルカプトエタニル O - ( 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシド )、

を含む、からなる群から選択される。

[ 化学合成 ]

10

20

30

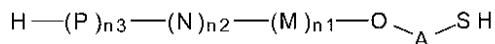
40

50

本発明の他の態様は、下記一般式 ( I ) のサッカライドの合成に関して、

【 0 0 9 9 】

【 化 2 6 】



( I )

【 0 1 0 0 】

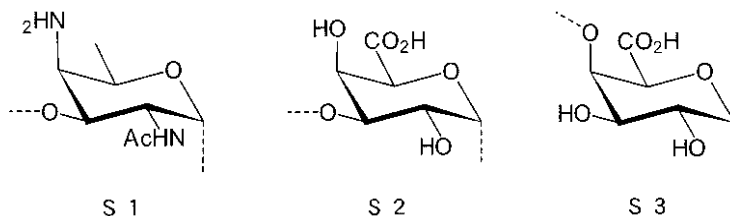
式中、A はリンカーであり；

M、N、および P は、互いに独立して、次の糖断片の一つを表し：

10

【 0 1 0 1 】

【 化 2 7 】



【 0 1 0 2 】

20

ここで、糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - S H 断片に連結され、各糖断片 S 1、S 2、および S 3 は、一般式 ( I ) において多くて 1 回存在し、糖断片 S 1 は、- O - A - S H および糖断片 S 3 に同時に連結されることができず、糖断片 S 3 は、- O - A - S H および糖断片 S 2 に同時に連結されることができず、糖断片 S 2 は、- O - A - S H および糖断片 S 1 に同時に連結されることができず、n 1、n 2、および n 3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで整数 n 1、n 2、および n 3 の少なくとも一つは、1 であり、

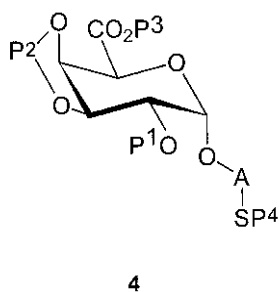
次のステップ：

A 1 ) 下記一般式である化合物 4 を得るために、

【 0 1 0 3 】

30

【 化 2 8 】



【 0 1 0 4 】

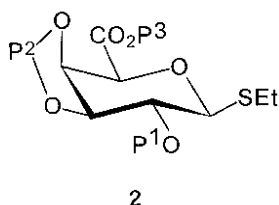
40

式中、P<sup>1</sup> ~ P<sup>4</sup> は上述のように定義され、

式

【 0 1 0 5 】

【 化 2 9 】



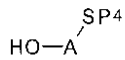
50

【 0 1 0 6 】

である化合物 2 を、  
式

【 0 1 0 7 】

【 化 3 0 】



3

【 0 1 0 8 】

10

である化合物 3 と反応させること、

ここで、化合物 2 の式中、 $P^1 \sim P^3$  は保護基を表し、

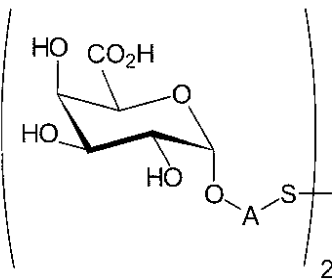
化合物 3 の式中、 $P^4$  は保護基を表し、

および、

一般式

【 0 1 0 9 】

【 化 3 1 】



5

20

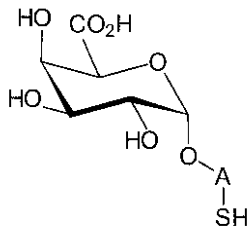
【 0 1 1 0 】

であるモノサッカライドジスルフィド 5 を提供するために、化合物 4 における保護基  $P^1 \sim P^4$  の除去を行うこと、

ここで、モノサッカライドジスルフィド 5 の式中、A は上述のように定義され、モノサ 30  
ッカライドジスルフィド 5 は、一般式

【 0 1 1 1 】

【 化 3 2 】



6 (H-S 2-O-A-SH)

40

【 0 1 1 2 】

であるモノサッカライド 6 を提供するために還元剤を用いて更に処理され、

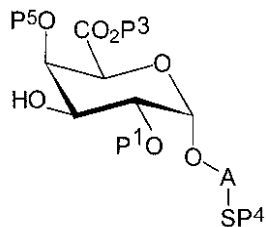
ここで、モノサッカライド 6 の式中、A は上述のように定義され；

または、

一般式

【 0 1 1 3 】

## 【化 3 3】



7

## 【 0 1 1 4 】

10

である化合物 7 を提供するために化合物 4 において選択的脱保護を行うこと、

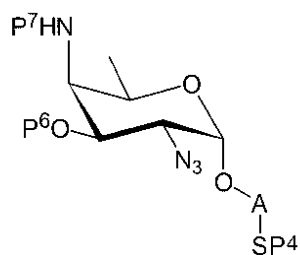
化合物 7 の式中、 $P^5$  は保護基であり、 $P^1$ 、 $P^3$ 、 $P^4$ 、および A は、上述のように定義され、

または

A 2 ) 一般式

## 【 0 1 1 5 】

## 【化 3 4】



9

20

## 【 0 1 1 6 】

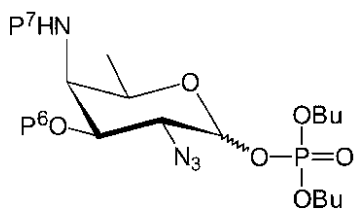
である化合物 9 を提供するために、

ここで、化合物 9 の式中、 $P^6$ 、 $P^7$ 、および A は上述のように定義され、  
一般式

30

## 【 0 1 1 7 】

## 【化 3 5】



8

40

## 【 0 1 1 8 】

である化合物 8 を、

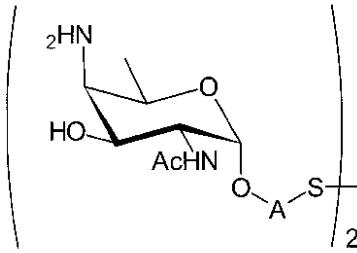
化合物 3 と反応させること、

ここで、化合物 8 の式中、 $P^6$  および  $P^7$  は保護基を表し、  
および、

一般式

## 【 0 1 1 9 】

## 【化 3 6】



1 0

10

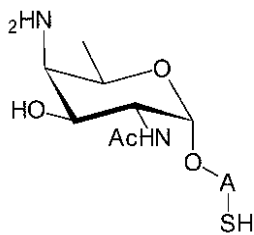
## 【 0 1 2 0】

であるモノサッカライドジスルフィド 1 0 を提供するために、化合物 9 においてアジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^4$ 、 $P^6$ 、および  $P^7$  の除去を行うこと、

ここで、モノサッカライドジスルフィド 1 0 の式中、A は上述のように定義され、モノサッカライドジスルフィド 1 0 は、一般式

## 【 0 1 2 1】

## 【化 3 7】



1 1 (H-S 1-O-A-SH)

20

## 【 0 1 2 2】

であるモノサッカライド 1 1 を提供するために還元剤を用いて更に処理され、

ここで、モノサッカライド 1 1 の式中、A は上述のように定義され；

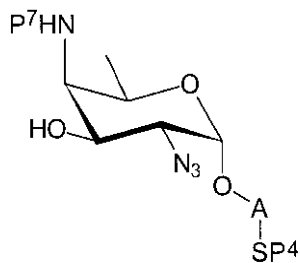
または、

一般式：

30

## 【 0 1 2 3】

## 【化 3 8】



1 2

40

## 【 0 1 2 4】

である化合物 1 2 を提供するために化合物 9 において選択的脱保護を行うこと、

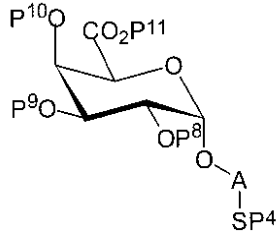
ここで、化合物 1 2 の式中、 $P^4$ 、 $P^7$ 、および A は、上述のように定義され、  
または、

A 3 ) 一般式

## 【 0 1 2 5】



## 【化 3 9】



1 4

## 【 0 1 2 6】

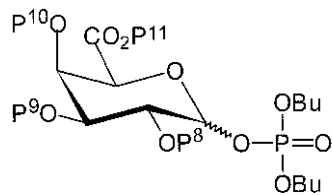
10

である化合物 1 4 を提供するために、

ここで、化合物 1 4 の式中、 $P^4$ 、 $P^8 \sim P^{11}$  は上述のように定義され、  
一般式

## 【 0 1 2 7】

## 【化 4 0】



1 3

20

## 【 0 1 2 8】

である化合物 1 3 を、化合物 3 と反応させること、

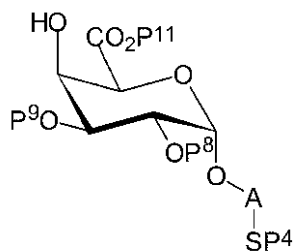
ここで、化合物 1 3 の式中、 $P^8 \sim P^{11}$  は保護基を表す：

および、

一般式：

## 【 0 1 2 9】

## 【化 4 1】



1 5

30

## 【 0 1 3 0】

である化合物 1 5 を提供するために、化合物 1 4 の選択的脱保護を行うこと、

ここで、化合物 1 5 の式中、 $P^4$ 、 $P^8$ 、 $P^9$ 、 $P^{11}$  および A は上述のように定義さ  
れ、

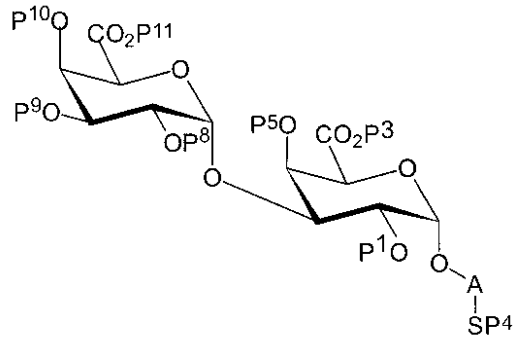
40

および、

B 1 ) 一般式：

## 【 0 1 3 1】

## 【化 4 2】



16

10

## 【0132】

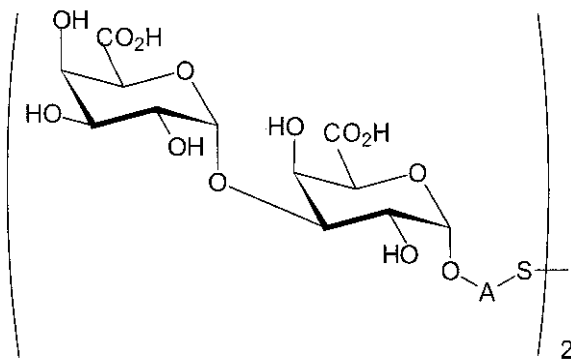
である化合物 16 を提供するために、化合物 7 を、化合物 13 と反応させること、  
ここで、化合物 16 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^8 \sim P^{11}$ 、および A は上述のよう  
に定義され；

および、

一般式：

## 【0133】

## 【化 4 3】



17

30

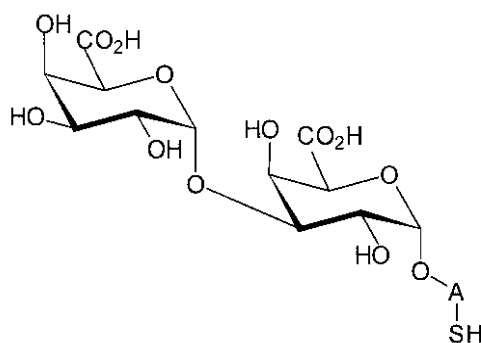
## 【0134】

であるジサッカライドジスルフィド 17 を提供するために、化合物 16 における保護基  $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^8 \sim P^{11}$  の除去を行うこと、

ここで、ジサッカライドジスルフィド 17 の式中、A は上述のように定義され、ジサッカライドジスルフィド 17 は、一般式：

## 【0135】

## 【化 4 4】



18 (H-S3-S2-O-A-SH)

40

## 【0136】

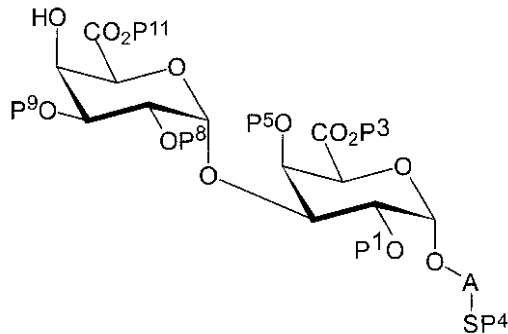
50

であるジサッカライド 18 を提供するために還元剤を用いて更に処理され、  
ここで、ジサッカライド 18 の式中、A は上述のように定義され；  
または、

一般式：

【 0 1 3 7 】

【 化 4 5 】



10

19

【 0 1 3 8 】

である化合物 19 を提供するために化合物 16 における保護基  $P^{10}$  の選択的除去を行うこと、

20

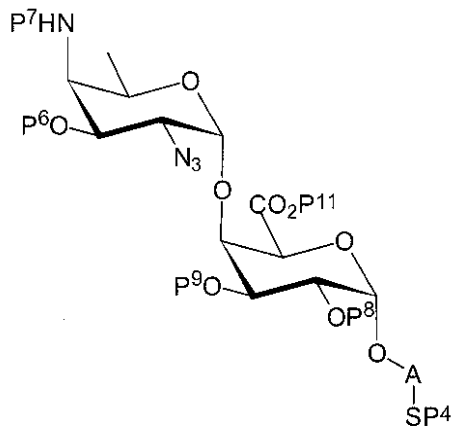
ここで、化合物 19 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^8$ 、 $P^9$ 、 $P^{11}$  および A は、上述のように定義される。

または、

B 2 ) 一般式：

【 0 1 3 9 】

【 化 4 6 】



30

20

【 0 1 4 0 】

40

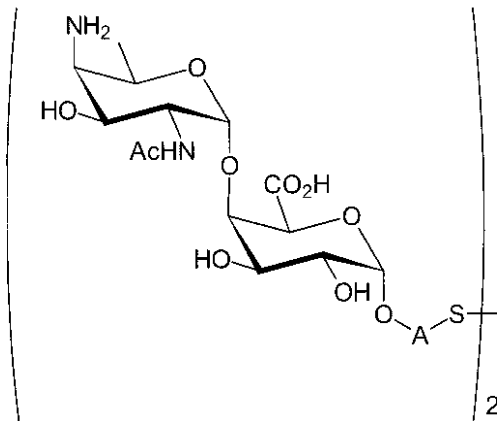
である化合物 20 を提供するために、化合物 15 を、化合物 8 と反応させること、

化合物 20 の式中、 $P^4$ 、 $P^6 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、および A は上述のように定義され、  
および、

一般式

【 0 1 4 1 】

## 【化 4 7】



10

2 1

## 【 0 1 4 2】

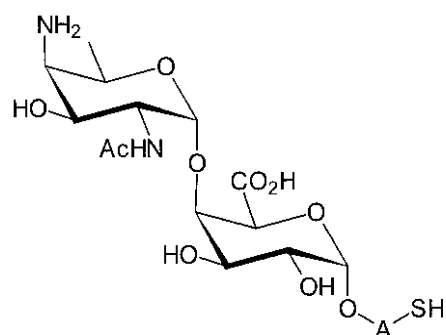
であるジサッカライドジスルフィド 2 1 を提供するために、化合物 2 0 においてアジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^4$ 、 $P^6 \sim P^9$ 、 $P^{11}$  の除去を行うこと、

ジサッカライドジスルフィド 2 1 の式中、A は上述のように定義され、ジサッカライドジスルフィド 2 1 は、一般式

## 【 0 1 4 3】

20

## 【化 4 8】



30

2 2 (H-S 1-S 3-O-A-S H)

## 【 0 1 4 4】

であるジサッカライド 2 2 を提供するために還元剤を用いて処理され、

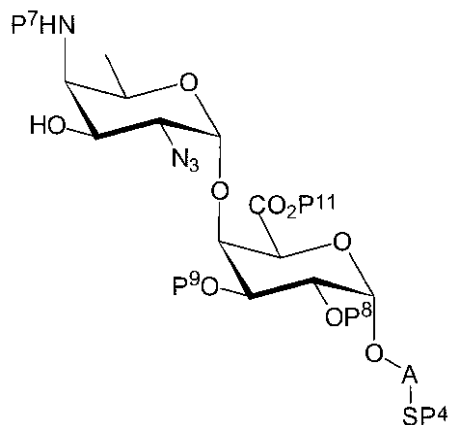
ジサッカライド 2 2 の式中、A は上述のように定義され；

または、

一般式

## 【 0 1 4 5】

## 【化 4 9】



2 3

10

## 【 0 1 4 6】

である化合物 2 3 を提供するために化合物 2 0 における保護基 P<sup>6</sup> の選択的除去を行うこと、

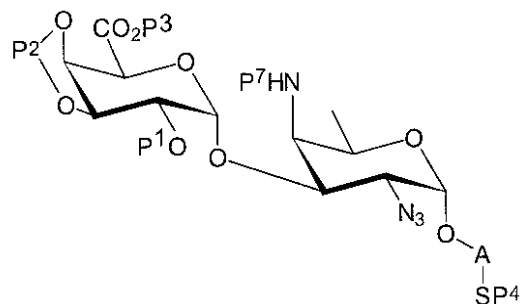
化合物 2 3 の式中、P<sup>4</sup>、P<sup>7</sup> ~ P<sup>9</sup>、P<sup>11</sup> および A は、上述のように定義され；  
または、

20

B 3 ) 一般式：

## 【 0 1 4 7】

## 【化 5 0】



2 4

30

## 【 0 1 4 8】

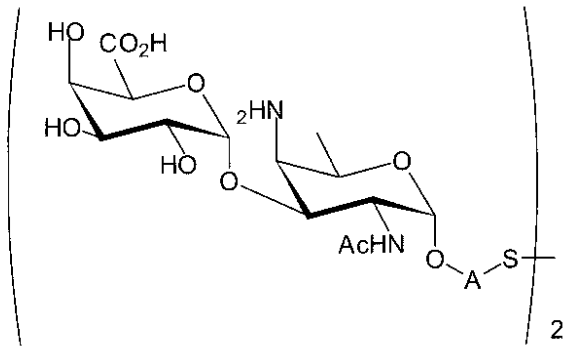
である化合物 2 4 を提供するために、化合物 1 2 を、化合物 2 と反応させること、

化合物 2 4 の式中、P<sup>1</sup> ~ P<sup>4</sup>、P<sup>7</sup>、および A は上述のように定義され、  
および、

一般式：

## 【 0 1 4 9】

## 【化 5 1】



10

2 5

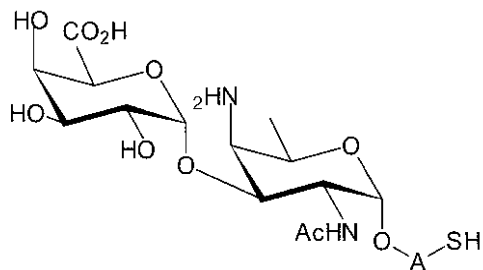
## 【 0 1 5 0】

であるジサッカライドジスルフィド 2 5 を提供するために、化合物 2 4 においてアジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^1 \sim P^4$ 、および  $P^7$  の除去を行うこと、

ジサッカライドジスルフィド 2 5 の式中、A は上述のように定義され、ジサッカライドジスルフィド 2 5 は、一般式：

## 【 0 1 5 1】

## 【化 5 2】



20

2 6 (H-S 2-S 1-O-A-SH)

## 【 0 1 5 2】

であるジサッカライド 2 6 を提供するために還元剤を用いてさらに処理され、

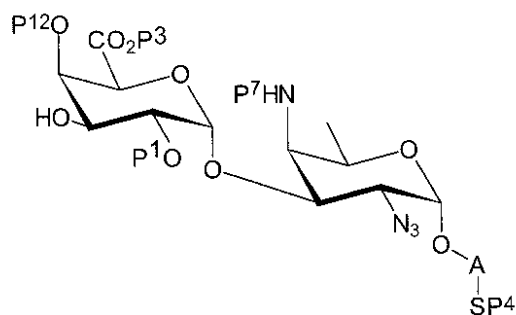
ジサッカライド 2 6 の式中、A は上述のように定義され；

または、

一般式：

## 【 0 1 5 3】

## 【化 5 3】



40

2 7

## 【 0 1 5 4】

である化合物 2 7 を提供するために化合物 2 4 における選択的脱保護を行うこと、

化合物 2 7 の式中、 $P^{12}$  は保護基であり、 $P^1$ 、 $P^3$ 、 $P^4$ 、 $P^7$  および A は、上述

50

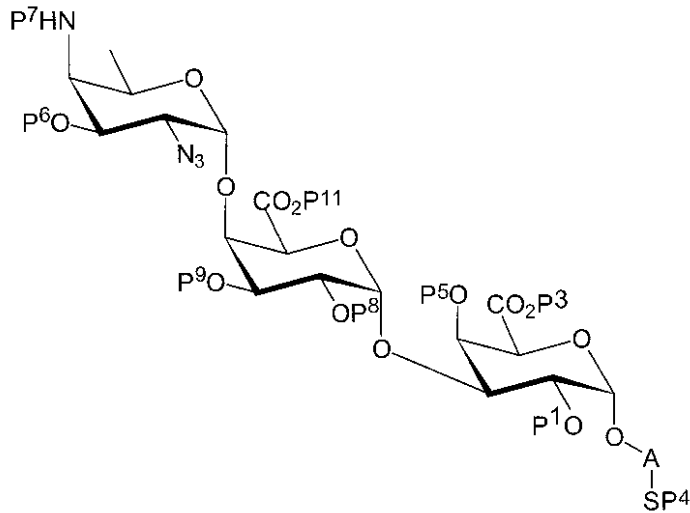
のように定義される。

および、

C 1 ) 一般式：

【 0 1 5 5 】

【 化 5 4 】



2 8

【 0 1 5 6 】

である化合物 2 8 を提供するために、化合物 1 9 を、化合物 8 と反応させること、

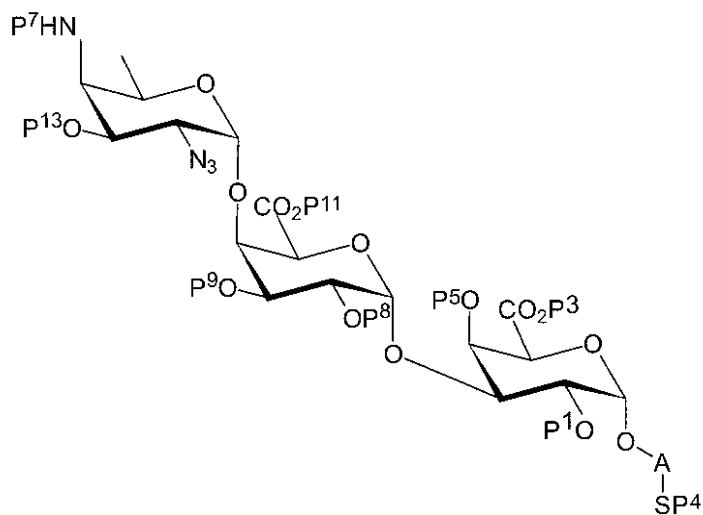
化合物 2 8 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、および A は上述のように定義され、

および、

次の化学式：

【 0 1 5 7 】

【 化 5 5 】



2 9

【 0 1 5 8 】

である化合物 2 9 を得るために、化合物 2 8 の式中、保護基  $P^6$  は、保護基  $P^{13}$  と置換され、

化合物 2 9 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、 $P^{13}$ 、および A は上述のように定義され；

および、

10

20

30

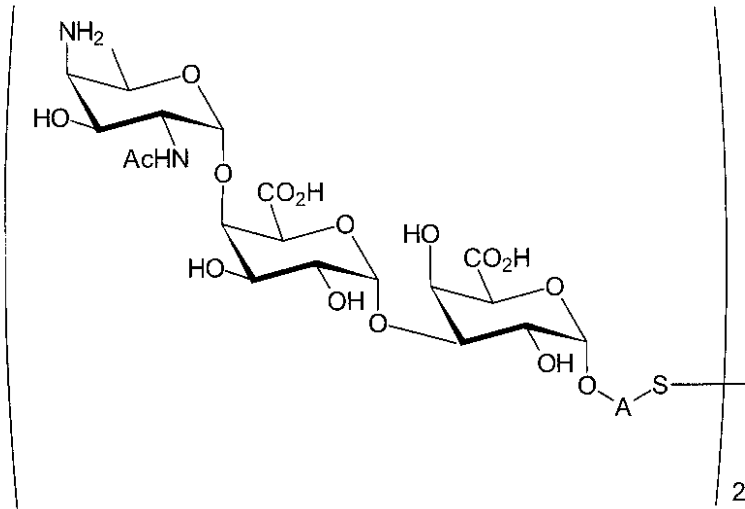
40

50

アジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、 $P^{13}$  の切断による化合物 29 におけるトリサッカライドジスルフィド 30 への変換、化合物 30 は、一般式：

【0159】

【化56】



30

【0160】

であり、

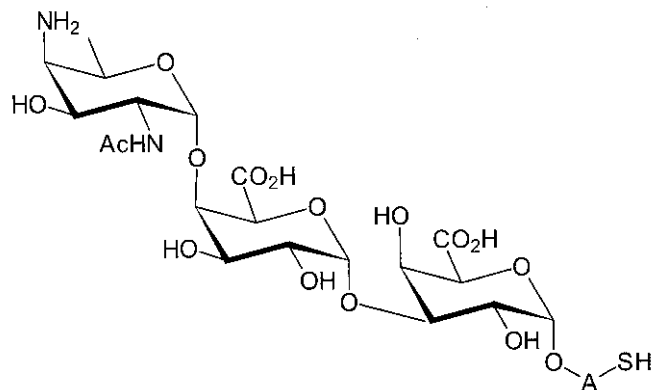
化合物 30 の式中、A は上述のように定義され；

および、

還元剤を用いて処理することによるトリサッカライドジスルフィド 30 のトリサッカライド 31 への変換、化合物 31 は一般式：

【0161】

【化57】



31 (H-S1-S3-S2-O-A-SH)

【0162】

であり、化合物 31 の式中、A は上述のように定義される。

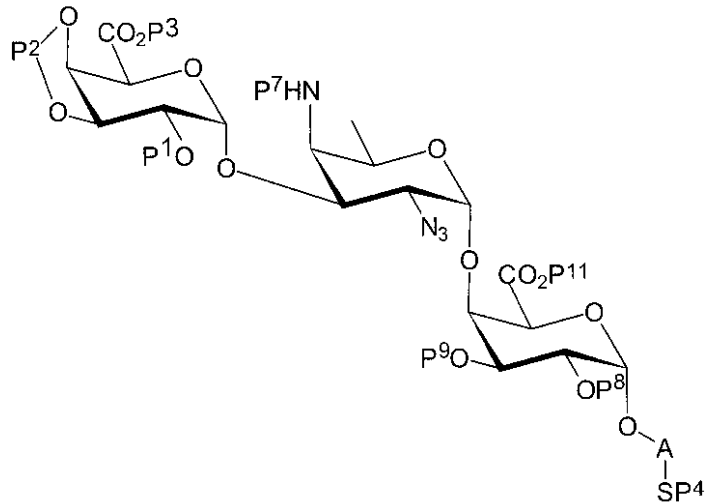
または、

C2) 一般式：

【0163】



## 【化 5 8】



10

3 2

## 【 0 1 6 4】

である化合物 3 2 を提供するために、化合物 2 3 を、化合物 2 と反応させること、

化合物 3 2 の式中、 $P^1 \sim P^4$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、および A は上述のように定義され、

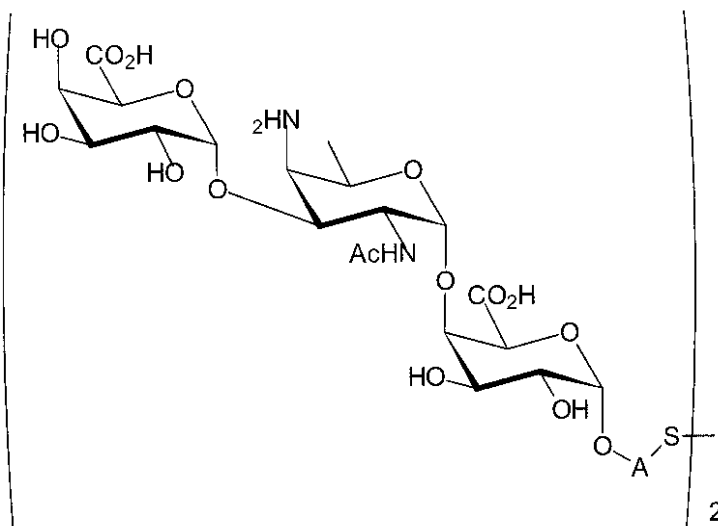
20

および、

アジド基のアセトアミド基への変換および保護基  $P^1 \sim P^4$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$  の切断による化合物 3 2 のトリサッカライドジスルフィド 3 3 への変換、ここで化合物 3 3 は、一般式：

## 【 0 1 6 5】

## 【化 5 9】



30

3 3

## 【 0 1 6 6】

であり、

化合物 3 3 の式中、A は上述のように定義され；

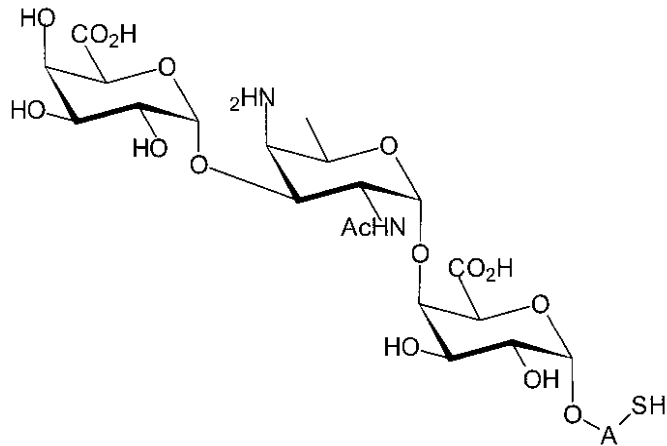
および、

還元剤を用いて処理することによるトリサッカライドジスルフィド 3 3 のトリサッカライド 3 4 への変換、ここで、化合物 3 4 は一般式：

## 【 0 1 6 7】

40

## 【化 6 0】



3 4 (H-S 2-S 1-S 3-O-A-SH)

## 【 0 1 6 8】

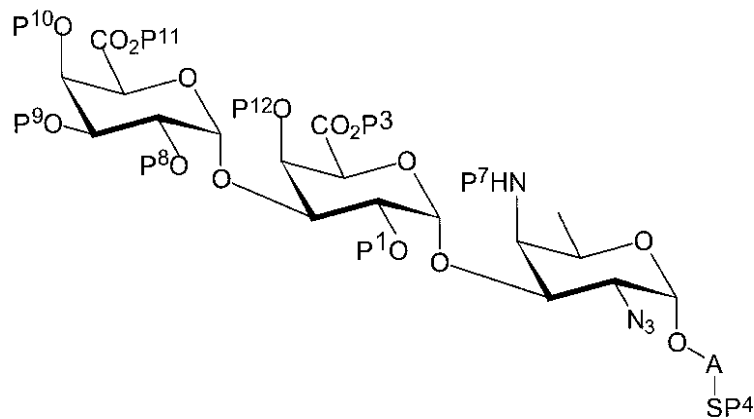
であり、化合物 3 4 の式中、A は上述のように定義され；

または、

C 3 ) 一般式：

## 【 0 1 6 9】

## 【化 6 1】



3 5

## 【 0 1 7 0】

である化合物 3 5 を提供するために、化合物 2 7 を、化合物 1 3 と反応させること、

化合物 3 5 の式中、P<sup>1</sup>、P<sup>3</sup>、P<sup>4</sup>、P<sup>7</sup> ~ P<sup>11</sup>、および A は上述のように定義され、

および、

アジド基のアセトアミド基への変換および保護基 P<sup>1</sup>、P<sup>3</sup>、P<sup>4</sup>、P<sup>7</sup> ~ P<sup>11</sup> の切断による化合物 3 5 のトリサッカライドジスルフィド 3 6 への変換、ここで化合物 3 6 は、一般式：

## 【 0 1 7 1】

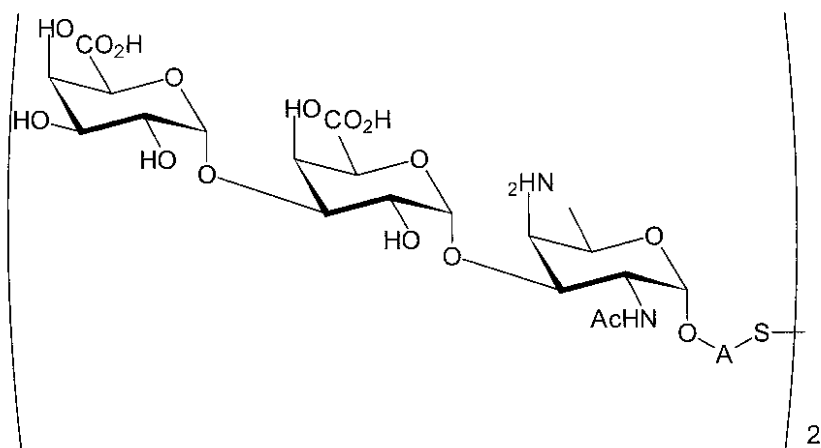
10

20

30

40

## 【化 6 2】



3 6

10

## 【 0 1 7 2】

であり、

化合物 3 6 の式中、A は上述のように定義され；

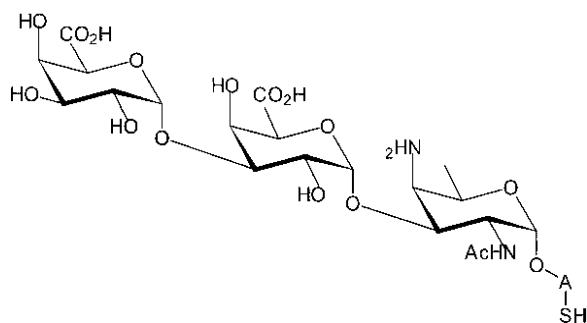
および、

還元剤を用いて処理することによるトリサッカライドジスルフィド 3 6 のトリサッカライド 3 7 への変換、ここで、化合物 3 7 は一般式：

20

## 【 0 1 7 3】

## 【化 6 3】



3 7 (H-S 3-S 2-S 1-O-A-SH)

30

## 【 0 1 7 4】

であり、化合物 3 7 の式中、A は上述のように定義される。

本願で使用される用語「保護基」は、有機合成において一般的に使用される基に関し、好ましくは、アミン、ヒドロキシル基、チオール、イミン、カルボニル、カルボキシル、または他の一般的な官能基のために使用され、特に好ましくは、アミン、ヒドロキシル基、チオール、およびカルボキシルのために使用される。

## 【 0 1 7 5】

より明確に、 $P^1$ 、 $P^2$ 、 $P^5$ 、 $P^6$ 、 $P^8 \sim P^{10}$ 、 $P^{12}$ 、および  $P^{13}$  は、好ましくは、ヒドロキシル基のための適切な保護基であり、より好ましくは、適切な一連の脱保護反応によって、次々に続いて除去されることが可能な、ヒドロキシル基のための種々の適切な保護基である。したがって、ヒドロキシル基のための保護基、すなわち、 $P^1$ 、 $P^2$ 、 $P^5$ 、 $P^6$ 、 $P^8 \sim P^{10}$ 、 $P^{12}$ 、および  $P^{13}$  は、アセチル、ベンジル、イソプロピリデン、ベンジリデン、ベンゾイル、p-メトキシベンジル、p-メトキシベンジリデン、p-メトキシフェニル、p-プロモベンジル、p-プロモベンジレデン (bromobenzylidene)、p-ニトロフェニル、アリル、アセチル、イソプロピル、p-プロモベンジル ジメトキシトリチル、トリチル、2-ナフチルメチル、ピバロイル、トリイソプロピルシリル、tert-ブチルジメチルシリル、tert-ブチルジフ

40

50

エニルシリル、tert-ブチルメトキシフェニルシリル、トリエチルシリル、トリメチルシリル、2-トリメチルシリルエトキシメチル、9-フルオレニルメトキシカルボニル、ベンジルオキシメチル、メチルオキシメチル、tert-ブチルオキシメチル、メトキシエチルオキシメチル、レプリノイル、からなる、または含む群から選択されてもよい。

【0176】

より明確に、本発明の好ましい実施形態において、保護基 $P^1$ 、 $P^5$ 、 $P^8$ 、 $P^9$ 、および $P^{12}$ はベンジルであり、 $P^2$ はベンジリデンであり、 $P^6$ はレプリノイルであり、 $P^{10}$ は、9-フルオレニルメトキシカルボニルであり、 $P^{13}$ はベンジルオキシメチルである。

【0177】

アミンは一般的にカルバメートとして保護される。したがって、保護基 $P^7$ は、tert-ブチルオキシカルボニル、9-フルオレニルメトキシカルボニル、アリルオキシカルボニル、2,2,2-トリクロロエチルオキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、からなる、または含む群から選択されてもよい。本発明の好ましい実施形態において、 $P^7$ はベンジルオキシカルボニルである。

【0178】

カルボン酸は一般的にエステルとして保護される。したがって、保護基 $P^3$ および $P^{11}$ は、メチル、エチル、アリル、イソプロピル、tert-ブチル、フェニル、ベンジル、p-メトキシベンジル、からなる、または含む群から選択されてもよい。本発明の好ましい実施形態において、保護基 $P^3$ および $P^{11}$ は、メチルである。

【0179】

ヒドロキシル基のための保護基は、チオールのための保護基と同様に機能してもよい。したがって、チオール基のための好ましい保護基は、ベンジル、ベンゾイル、4-O-p-メトキシベンジル、アリル、アセチル、メチルスルホニルエトキシカルボニル、レプリニル、ジメトキシトリチル、2-ナフチルメチル、トリイソプロピルシリル、tert-ブチルジメチルシリル、tert-ブチルジフェニルシリル、2-トリメチルシリルエトキシメチルである。特に、本発明の好ましい実施形態において、保護基 $P^4$ はベンジル基である。

【0180】

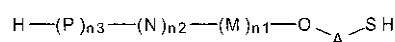
一般式(I)のサッカライドの合成において採用される保護基は、永久的保護基および一次的保護基に区別されることができる。永久的保護基は、全合成中に適しており、合成の後期で効率的に除去されることができる保護基である。当該永久的保護基は、限定されないが、ベンジル、ベンジリデン、ベンゾエート、アセテート、アルキルエステルを含む。一次的保護基は、モノサッカライドまたは他の保護基を含む種々の置換基の後続の導入のために、遊離のヒドロキシル基へと合成の種々のレベルで選択的に除去されることができる一般的にオルソゴナル保護基である。保護基の巧妙な選択は、担体抗原または固体支持体への後続の結合のためにチオール基を有して機能化される一般式(I)のサッカライドのライブラリーに対して適切なアクセスを許す。

【0181】

本発明の好ましい実施形態は、下記一般式(I)のサッカライドの合成に関し

【0182】

【化64】



(I)

【0183】

式中、Aは上記に定義されるリンカーであり、

PはS1を表し、

NはS3を表し、

MはS2を表し、

10

20

30

40

50

糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - S H 断片に連結され、糖断片 S 2 は、糖断片 S 1 に連結されることはできず、および、

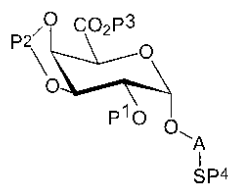
n 1、n 2、および n 3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで整数 n 1、n 2、および n 3 の少なくとも一つは、1 であり、

次のステップ：

A 1) 下記一般式である化合物 4 を得るために、

【0184】

【化65】



4

10

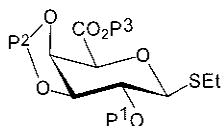
【0185】

式中、P<sup>1</sup> ~ P<sup>4</sup> および A は上述のように定義され、

式：

【0186】

【化66】



2

20

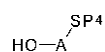
【0187】

である化合物 2 を、

式

【0188】

【化67】



3

30

【0189】

である化合物 3 と反応させること、

ここで、化合物 2 の式中、P<sup>1</sup> ~ P<sup>3</sup> は保護基を表し、

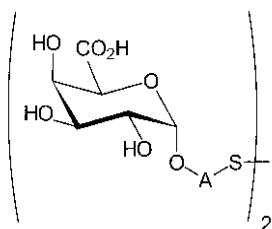
化合物 3 の式中、P<sup>4</sup> は保護基を表し、

および、

一般式：

【0190】

【化68】



5

40

【0191】

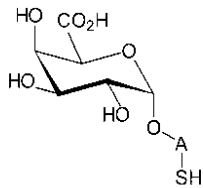
50

であるモノサッカライドジスルフィド 5 を提供するために、化合物 4 における保護基  $P^1$  ~  $P^4$  の除去を行うこと、

モノサッカライドジスルフィド 5 の式中、A は上述のように定義され、ここで、モノサッカライドジスルフィド 5 は、一般式：

【 0 1 9 2 】

【 化 6 9 】



6 (H-S 2-O-A-SH)

10

【 0 1 9 3 】

であるモノサッカライド 6 を提供するために還元剤を用いて更に処理され、

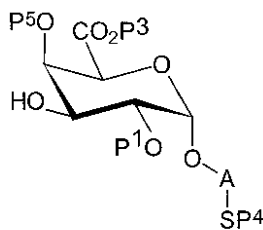
ここで、モノサッカライド 6 の式中、A は上述のように定義され；

または、

一般式

【 0 1 9 4 】

【 化 7 0 】



7

20

【 0 1 9 5 】

である化合物 7 を提供するために化合物 4 において選択的脱保護を行うこと、

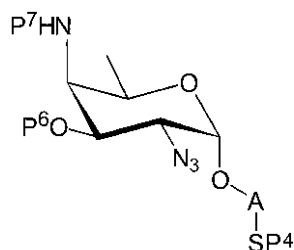
化合物 7 の式中、 $P^5$  は保護基であり、 $P^1$ 、 $P^3$ 、 $P^4$ 、および A は、上述のように定義され、

または

A 2 ) 一般式

【 0 1 9 6 】

【 化 7 1 】



9

【 0 1 9 7 】

である化合物 9 を提供するために、

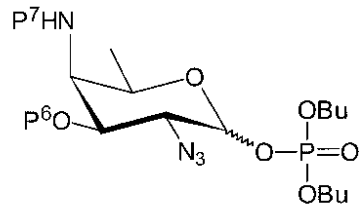
化合物 9 の式中、 $P^6$ 、 $P^7$ 、および A は上述のように定義され、

一般式

【 0 1 9 8 】

40

## 【化 7 2】



8

## 【 0 1 9 9 】

10

である化合物 8 を、

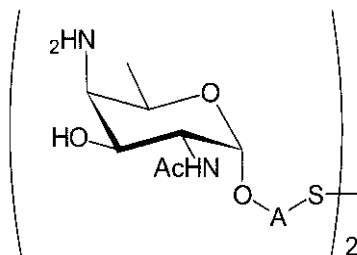
化合物 3 と反応させること、

ここで、化合物 8 の式中、 $P^6$  および  $P^7$  は保護基を表し、  
 および、

一般式：

## 【 0 2 0 0 】

## 【化 7 3】



10

20

## 【 0 2 0 1 】

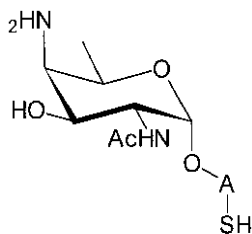
であるモノサッカライドジスルフィド 10 を提供するために、化合物 9 においてアジド基  
 のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^4$ 、 $P^6$ 、および  $P^7$  の除去を行うこと、

モノサッカライドジスルフィド 10 の式中、A は上述のように定義され、ここでモノサ  
 ッカライドジスルフィド 10 は、一般式：

30

## 【 0 2 0 2 】

## 【化 7 4】



11 ( $H-S1-O-A-SH$ )

40

## 【 0 2 0 3 】

であるモノサッカライド 11 を提供するために還元剤を用いて更に処理され、

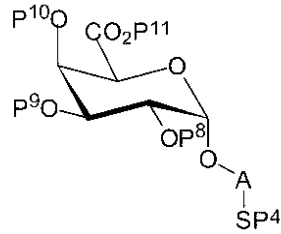
モノサッカライド 11 の式中、A は上述のように定義され；

または、

A 3 ) 一般式

## 【 0 2 0 4 】

## 【化 7 5】



1 4

## 【 0 2 0 5】

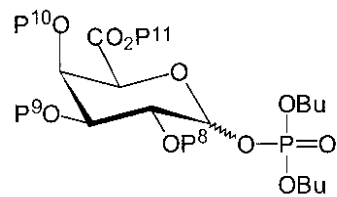
10

である化合物 1 4 を提供するために、

ここで、化合物 1 4 の式中、 $P^4$ 、 $P^8 \sim P^{11}$  は上述のように定義され、  
一般式

## 【 0 2 0 6】

## 【化 7 6】



1 3

20

## 【 0 2 0 7】

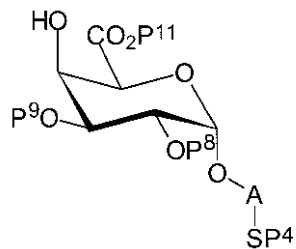
である化合物 1 3 を、化合物 3 と反応させること、

ここで、化合物 1 3 の式中、 $P^8 \sim P^{11}$  は保護基を表し、  
および、

一般式：

## 【 0 2 0 8】

## 【化 7 7】



1 5

30

## 【 0 2 0 9】

である化合物 1 5 を提供するために、化合物 1 4 の選択的脱保護を行うこと、

化合物 1 5 の式中、 $P^4$ 、 $P^8$ 、 $P^9$ 、 $P^{11}$  および A は上述のように定義され、  
および、

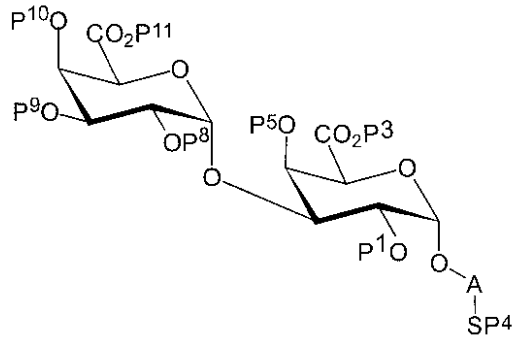
B 1 ) 一般式：

## 【 0 2 1 0】

40



## 【化 7 8】



1 6

10

## 【 0 2 1 1】

である化合物 1 6 を提供するために、化合物 7 を、化合物 1 3 と反応させること、

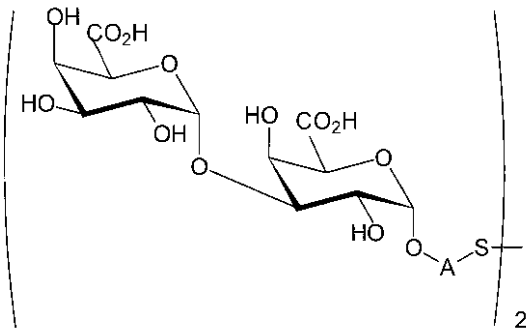
化合物 1 6 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^8 \sim P^{11}$ 、および A は上述のように定義され；

および、

一般式：

## 【 0 2 1 2】

## 【化 7 9】



1 7

20

30

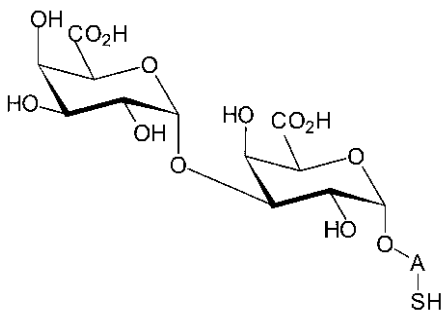
## 【 0 2 1 3】

であるジサッカライドジスルフィド 1 7 を提供するために、化合物 1 6 における保護基  $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^8 \sim P^{11}$  の除去を行うこと、

ジサッカライドジスルフィド 1 7 の式中、A は上述のように定義され、ここで、ジサッカライドジスルフィド 1 7 は、一般式：

## 【 0 2 1 4】

## 【化 8 0】



1 8 (H-S3-S2-O-A-SH)

40

## 【 0 2 1 5】

であるジサッカライド 1 8 を提供するために還元剤を用いて更に処理され、

ジサッカライド 1 8 の式中、A は上述のように定義され；

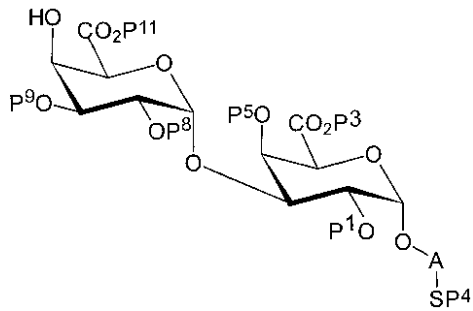
50

または、

一般式：

【 0 2 1 6 】

【 化 8 1 】



19

10

【 0 2 1 7 】

である化合物 19 を提供するために化合物 16 における保護基  $P^{10}$  の選択的除去を行うこと、

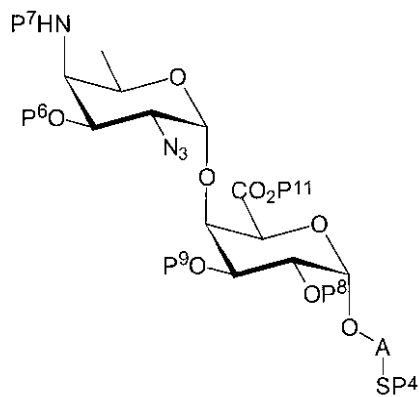
化合物 19 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^8$ 、 $P^9$ 、 $P^{11}$  および A は、上述のように定義される。

または、

B 2 ) 一般式：

【 0 2 1 8 】

【 化 8 2 】



20

20

30

【 0 2 1 9 】

である化合物 20 を提供するために、化合物 15 を、化合物 8 と反応させること、

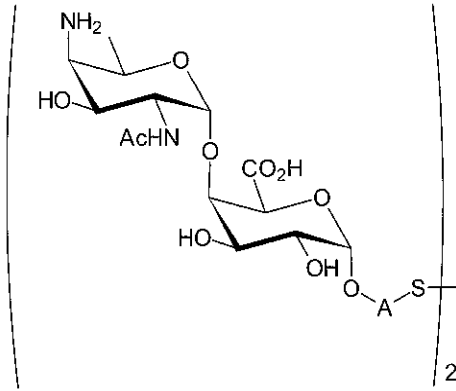
化合物 20 の式中、 $P^4$ 、 $P^6 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、および A は上述のように定義され、

一般式：

【 0 2 2 0 】

40

## 【化 8 3】



10

2 1

## 【 0 2 2 1】

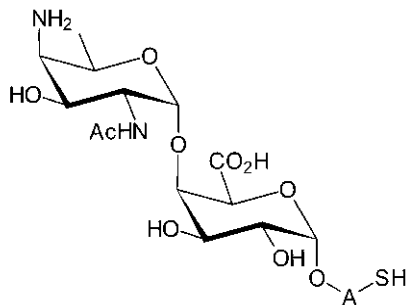
であるジサッカライドジスルフィド 2 1 を提供するために、化合物 2 0 においてアジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^4$ 、 $P^6 \sim P^9$ 、 $P^{11}$  の除去を行うこと、

ジサッカライドジスルフィド 2 1 の式中、A は上述のように定義され、ジサッカライドジスルフィド 2 1 は、一般式：

## 【 0 2 2 2】

## 【化 8 4】

20



2 2 (H-S 1-S 3-O-A-SH)

30

## 【 0 2 2 3】

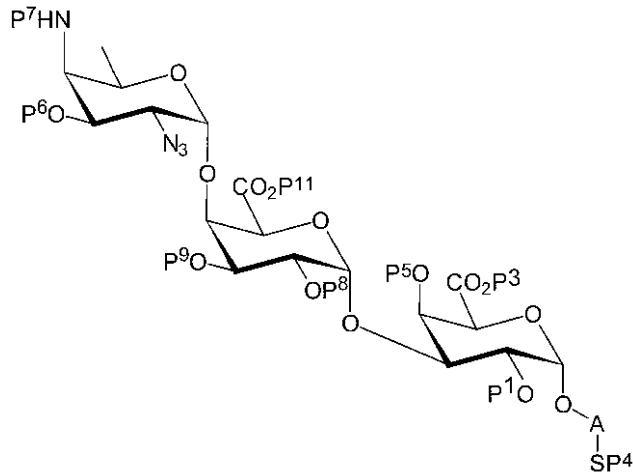
であるジサッカライド 2 2 を提供するために還元剤を用いて処理され、

ジサッカライド 2 2 の式中、A は上述のように定義され；

C 1 ) 一般式：

## 【 0 2 2 4】

## 【化 8 5】



2 8

10

## 【 0 2 2 5】

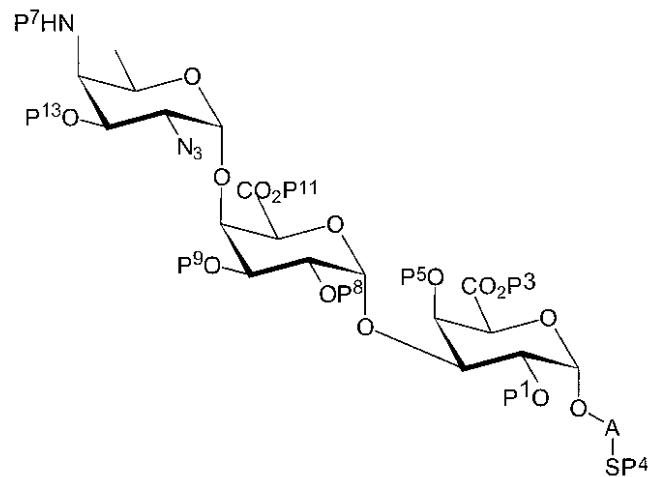
である化合物 2 8 を提供するために、化合物 1 9 を、化合物 8 と反応させること、  
化合物 2 8 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、および A は上述のように定義され、  
および、

20

次の化学式：

## 【 0 2 2 6】

## 【化 8 6】



2 9

30

## 【 0 2 2 7】

である化合物 2 9 を得るために、化合物 2 8 の式中、保護基  $P^6$  は、保護基  $P^{13}$  と置換  
され、

40

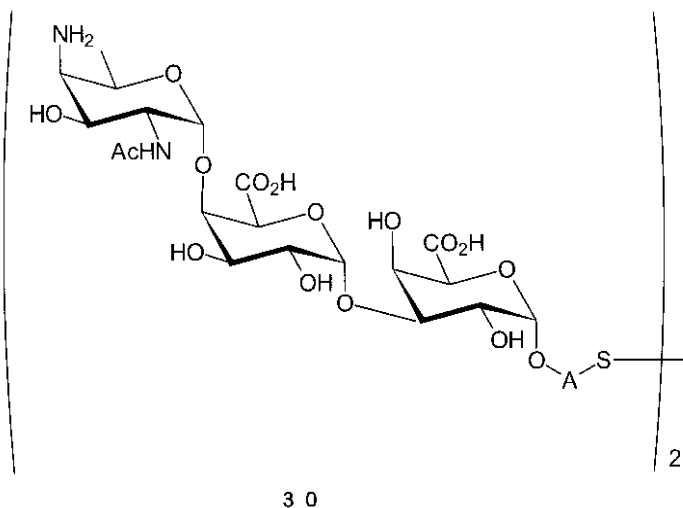
化合物 2 9 の式中、 $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、 $P^{13}$ 、および A は上述  
のように定義され；

および、

アジド基のアセトアミド基への変換、および保護基  $P^1$ 、 $P^3 \sim P^5$ 、 $P^7 \sim P^9$ 、 $P^{11}$ 、 $P^{13}$  の切断による化合物 2 9 のトリサッカライドジスルフィド 3 0 への変換、こ  
こで、化合物 3 0 は、一般式：

## 【 0 2 2 8】

## 【化 8 7】



10

## 【 0 2 2 9】

であり、

化合物 3 0 の式中、A は上述のように定義され；

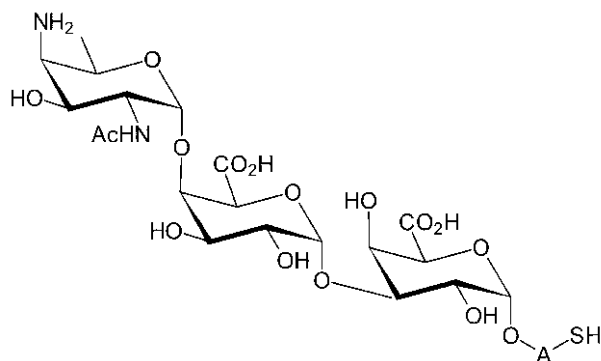
および、

還元剤を用いて処理することによるトリサッカライドジスルフィド 3 0 のトリサッカライド 3 1 への変換、ここで、化合物 3 1 は一般式：

20

## 【 0 2 3 0】

## 【化 8 8】



30

3 1 (H-S 1-S 3-S 2-O-A-SH)

## 【 0 2 3 1】

であり、化合物 3 1 の式中、A は上述のように定義される。

サッカライドジスルフィド 3 6、3 3、3 0、2 5、2 1、1 7、1 0、および 5 のサッカライド 3 7、3 4、3 1、2 6、2 2、1 8、1 1、および 6 それぞれへの変換は、還元剤の存在下で行われる。当業者に公知の還元剤は、メルカプトエタノール、ジトリオテオリトール (ditritiotheritol)、トリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン、マグネシウム / メタノール、ナトリウム / アンモニア、続いて塩化アンモニウム / 塩酸を含むが、それらに限定されない。好ましくは、サッカライドジスルフィドの対応するサッカライドへの変換は、トリス (2-カルボキシエチル) ホスフィンを用いて行われる。

40

## 【 0 2 3 2】

化合物 2 と化合物 3、化合物 2 と化合物 1 2、化合物 5 \* と化合物 1 1 \*、化合物 1 9 \* と化合物 2 1 \*、化合物 2 と化合物 2 3 との間の反応は、非極性溶媒および極性非プロトン性溶媒の混合物中に、(ジメチルチオ)メチルスルホニルトリフルオロメタンスルホネート (DMTST) および 2, 4, 6-トリ-tert-ブチルピリジン (TTBPY) の存在下で行われる。さらに、3 モレキュラーシーブ、4 モレキュラーシーブ、3

50

酸で洗浄したモレキュラーシーブのような活性化されたモレキュラーシーブを使用することができる。反応温度は、 $-20 \sim$  室温であり、好ましくは、温度は  $-10 \sim$  室温であり、より好ましくは、温度は  $-5 \sim$  室温であり、最も好ましくは、温度は  $0 \sim$  室温である。好ましい極性非プロトン性溶媒は、テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル、およびジオキサンである。好ましい非極性溶媒は、トルエン、クロロホルムおよび塩化メチレンのようなハロゲン化溶媒である。非極性および極性非プロトン性溶媒の好ましい混合物は、塩化メチレン/テトラヒドロフラン、塩化メチレン/ジエチルエーテル、トルエン/ジエチルエーテル、トルエン/テトラヒドロフランである。

#### 【0233】

化合物 13 と化合物 7、化合物 8 と化合物 3、化合物 12<sup>\*</sup> と化合物 9<sup>\*</sup>、化合物 13<sup>\*</sup> と化合物 2<sup>\*</sup>、化合物 13<sup>\*</sup> と化合物 2<sup>\*</sup>、化合物 2<sup>\*</sup> と化合物 21<sup>\*</sup>、化合物 2<sup>\*</sup> と化合物 11<sup>\*</sup>、化合物 19 と化合物 8、化合物 27 と化合物 13、並びに、化合物 8 と化合物 15 との間の反応は、非極性溶媒中、または非極性溶媒および極性プロトン性溶媒の混合物中、シリルトリフレートが存在下で行われる。シリルトリフレートの例は、トリメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート、tert-ブチルジメチルトリフルオロメタンスルホネート、トリイソプロピルトリフルオロメタンスルホネートを含むが、それらに限定されない。適切な非極性溶媒は、トルエン、クロロホルム、および塩化メチレンである。好ましい極性非プロトン性溶媒は、テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル、およびジオキサンである。反応温度は、 $-20 \sim +20$  であり、好ましくは、温度は  $-10 \sim +10$  であり、より好ましくは、温度は  $-5 \sim +5$  であり、最も好ましくは、温度は約  $0$  である。好ましくは、3 モレキュラーシーブ、4 モレキュラーシーブ、または 3 酸で洗浄したモレキュラーシーブのような活性化されたモレキュラーシーブを使用することができる。

#### 【0234】

好ましくは、化合物 29 を得るために、化合物 28 における保護基 P<sup>6</sup> の保護基 P<sup>13</sup> との置換は、2つのステップ：溶媒中でまたは溶媒の混合物中で、ヒドラジンまたはヒドラジニウム塩と化合物 28 との反応を含む第 1 のステップ、第 1 のステップ後に得られた生成物を非極性溶媒中で BnOCH<sub>2</sub>SCy、DMTST、および TTBPY と処理することによる第 2 のステップ、で行われる。最初のステップでは、酢酸ヒドラジニウム、またはプロピオン酸ヒドラジニウムなどのような弱酸のヒドラジニウム塩が好ましい。この反応に適切な溶媒は、塩化メチレンのような非極性溶媒、ピリジンおよび酢酸のような極性溶媒、並びにそれらの混合物である。第 2 のステップは、上述のように活性化したモレキュラーシーブの存在下で、好ましくは  $-10 \sim 20$  の温度で、最も好ましくは、 $0 \sim 10$  で、行われる。適切な非極性溶媒は上述の通りである。保護基 P<sup>6</sup> の保護基 P<sup>13</sup> との置換は、永久的保護基の切断中の副反応を避けるために必須であることが見出された。

#### 【0235】

化合物 4 から 5 への、16 から 17 への、13<sup>\*</sup> から 27<sup>\*</sup> への、および 20<sup>\*</sup> から 22<sup>\*</sup> への変換は、保護基の切断、より明確には永久的保護基の切断を必要とする。前記保護基の切断は、第 1 に、極性非プロトン性溶媒および極性プロトン性溶媒の混合物中で塩基を用いて処理することにより塩基に不安定な保護基の切断；第 2 に、極性プロトン性溶媒および極性非プロトン性溶媒の混合物中でナトリウムおよびアンモニアに曝すことにより水素化に敏感な保護基の切断を含む。第 1 のステップのための適切な非プロトン性溶媒は、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、アセトン、N,N-ジメチルホルムアミド、アセトニトリル、および N,N-ジメチルスルホキシドを含み、例えば水、およびメタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、または tert-ブタノールを含むアルコールのような適切なプロトン性溶媒と混合される。

#### 【0236】

保護基の塩基性切断は、好ましく室温で行われ、 $0 \sim$  室温の間を含む。第 1 ノステップを行うために適切な塩基は、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、および水酸化カリウ

10

20

30

40

50

ムを含む。水素化に敏感な保護基の切断は、極性プロトン性溶媒および極性非プロトン性溶媒の混合物中で、 $-78^{\circ}\text{C}$  ~ 室温の間を含む温度で、ナトリウムおよびアンモニアに曝すことにより行われる。

#### 【0237】

任意選択的に、リチウムを、水素化に敏感な保護基の切断中にナトリウムと同等のものとして使用することができる。

永久的保護基の上述の切断より前に、化合物9から10への、20から21への、24から25への、29から30への、32から33への、36から37への、および16\*から18\*への変換は、アジド基のアセトアミド基への変換を含み、好ましくは、チオ酢酸およびピリジンの存在下で行われる。代替方法は、二つのステップ：最初にアジド基の化学選択的還元、続いてアセチル化でアジド基のアセトアミド基への変換を行うことである。化学選択的還元を、アンモニア、酢酸アンモニア、トリフェニルホスフィン、またはピリジンの存在下においてPd/Cでの水素化を用いて行うことができる。アセチル化を、塩基の存在下で塩化アセチルまたは無水酢酸を用いて達成することができる。

#### 【0238】

サッカライド1、5、6、10、11、17、18、21、22、25、26、30、31、33、34、36、37、27\*、26\*、24\*、22\*および18\*は、塩基および/または酸置換基を有し、それらは有機もしくは無機酸、または有機もしくは無機塩基を用いて塩を形成してもよい。当該酸付加塩形成のための適切な酸の例は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、酢酸、クエン酸、シュウ酸、マロン酸、サリチル酸、p-アミノサリチル酸、リンゴ酸、フマル酸、コハク酸、アスコルビン酸、マレイン酸、スルホン酸、ホスホン酸、過塩素酸、硝酸、ギ酸、プロピオン酸、グルコン酸、乳酸、酒石酸、ヒドロキシマレイン酸、ピルビン酸、フェニル酢酸、安息香酸、p-アミノ安息香酸、p-ヒドロキシ安息香酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、亜硝酸、ヒドロキシエタンスルホン酸、エチレンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、ナフチルスルホン酸、スルファニル酸、カンフルスルホン酸、キナ酸、マンデル酸、O-メチルマンデル酸、水素-ベンゼンスルホン酸、ピクリン酸、アジピン酸、d-O-トリル酒石酸、タルトロン酸、(O、m、p)-トルイル酸、ナフチルアミンスルホン酸、および当業者に公知の他の無機酸、またはカルボン酸である。塩は、従来の方法で塩を生成するために、十分な量の所望の酸と遊離塩基形を接触させることによって調製される。

#### 【0239】

遊離塩基形は、希釈された水酸化ナトリウム、炭酸カリウム、アンモニアおよび重炭酸ナトリウムのような適切な希釈された塩基溶液と共に塩を処理することによって再生されてもよい。遊離塩基形は、それらの対応する塩形とは、極性溶媒における溶解性のような特定の物理的特性で多少異なるが、塩は、本発明の目的のために、それらの対応する遊離塩基形に、その他の点では同じである。

適切な無機塩、または有機塩の例は、例えば、NaOH、KOH、 $\text{NH}_4\text{OH}$ 、水酸化テトラアルキルアンモニウム、リジンまたはアルギニン等である。塩は、当技術分野で公知の方法を用いて従来の方法で、例えば、一般式(I)の化合物を有する溶液を、上述の群から選択される酸の溶液と処理することによって、調製されてもよい。

#### 【0240】

さらに、本発明の化合物は、塩基性基および酸性基を同時に有することも可能である。さらに、これらの塩基性基および酸性基は、互いに近接して存在するようであり、酸性基から塩基性基へ分子内プロトン移動を可能にするということも起こってもよい。したがって、本発明の好ましい実施形態において、式(I)の化合物は、両性イオンであってもよく、少なくとも例えば、一つの $-\text{O}^-$ および一つの $-\text{NH}^3+$ 基を有する。

#### 【0241】

本発明は、水和物を含む当量の溶媒和物、および可変量の水を含む化合物を当該範囲内に含み、凍結乾燥のような過程によって生成されてもよい。

したがって、一般式(I)のサッカライドの合成は、ステップD：

D) 一般式 (I) の化合物の塩を調製すること、または一般式 (I) の化合物の、もしくは一般式 (I) の化合物の塩の凍結乾燥体を調製すること、  
をさらに含んでもよい。

【0242】

他の好ましい実施形態において、一般式 (II) の中間体の合成は、ステップ D :

D) 一般式 (II) の化合物の塩を調製すること、または一般式 (II) の化合物の凍結乾燥体、もしくは一般式 (II) の化合物の塩の凍結乾燥体を調製すること、  
をさらに含んでもよい。

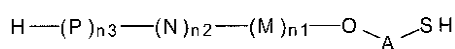
【0243】

好ましい実施形態において、下記一般式 (I) のサッカライドの合成、

10

【0244】

【化89】



(I)

【0245】

式中、A は上記に定義されるリンカーであり、

P は S1 を表し、

N は S3 を表し、

M は S2 を表し、

20

糖断片 S1、S2、S3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - SH 断片に連結され、糖断片 S2 は、糖断片 S1 に連結されることはできず、および、

n1、n2、および n3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで整数 n1、n2、および n3 の少なくとも一つは、1 であり、  
および、

ステップ D)

D) 一般式 (I) の化合物の塩を調製すること、または一般式 (I) の化合物の凍結乾燥体、もしくは一般式 (I) の化合物の塩の凍結乾燥体を調製すること、  
をさらに含んでもよい。

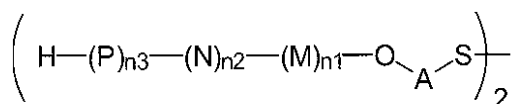
30

[ 中間体 ]

本発明の他の態様は、下記一般式 (II) の中間体、およびこれらのサッカライドの薬学的に許容できる塩に関し、

【0246】

【化90】



(II)

40

【0247】

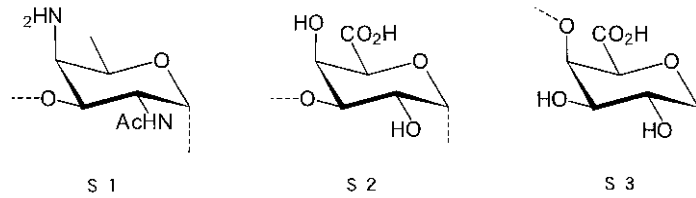
式中、A はリンカーであり、

M、N、および P は、互いに独立して、次の断片の一つを表し：

【0248】



## 【化 9 1】



## 【 0 2 4 9 】

ここで、糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - S H 断片に連結され、各糖断片 S 1、S 2、および S 3 は、断片 H - ( P )<sub>n 3</sub> - ( N )<sub>n 2</sub> - ( M )<sub>n 1</sub> - O - A - S において多くて 1 回存在し、糖断片 S 1 は、- O - A - S および糖断片 S 3 に同時に連結されることができず、糖断片 S 3 は、- O - A - S H および糖断片 S 2 に同時に連結されることができず、糖断片 S 2 は、- O - A - S H および糖断片 S 1 に同時に連結されることができず、並びに、

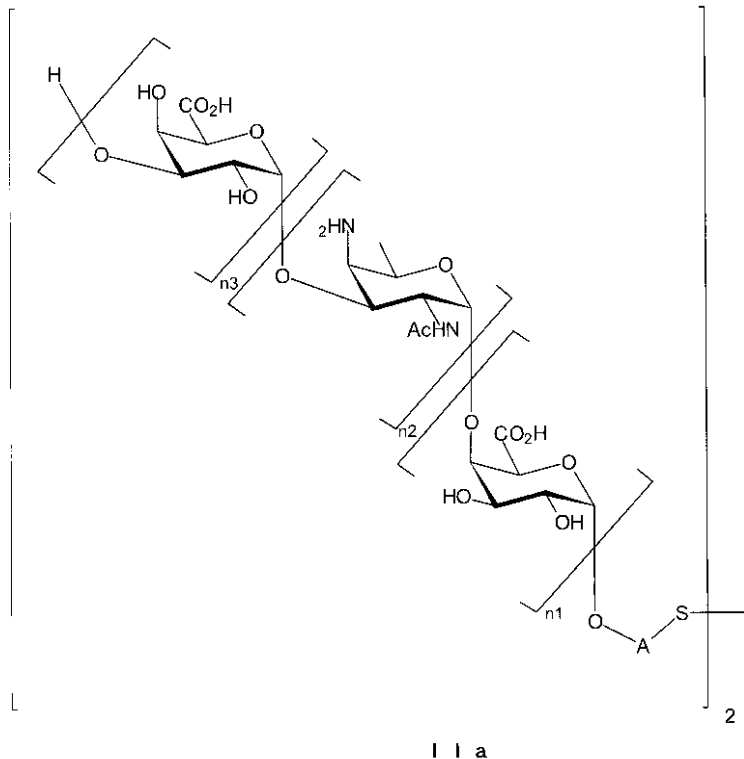
n 1、n 2、および n 3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで整数 n 1、n 2、および n 3 の少なくとも一つは、1 である。

## 【 0 2 5 0 】

したがって、本発明の範囲下では、次の一般式 ( I I a ) の中間体、およびこれらのサッカライドの薬学的に許容できる塩になり、

## 【 0 2 5 1 】

## 【化 9 2】



## 【 0 2 5 2 】

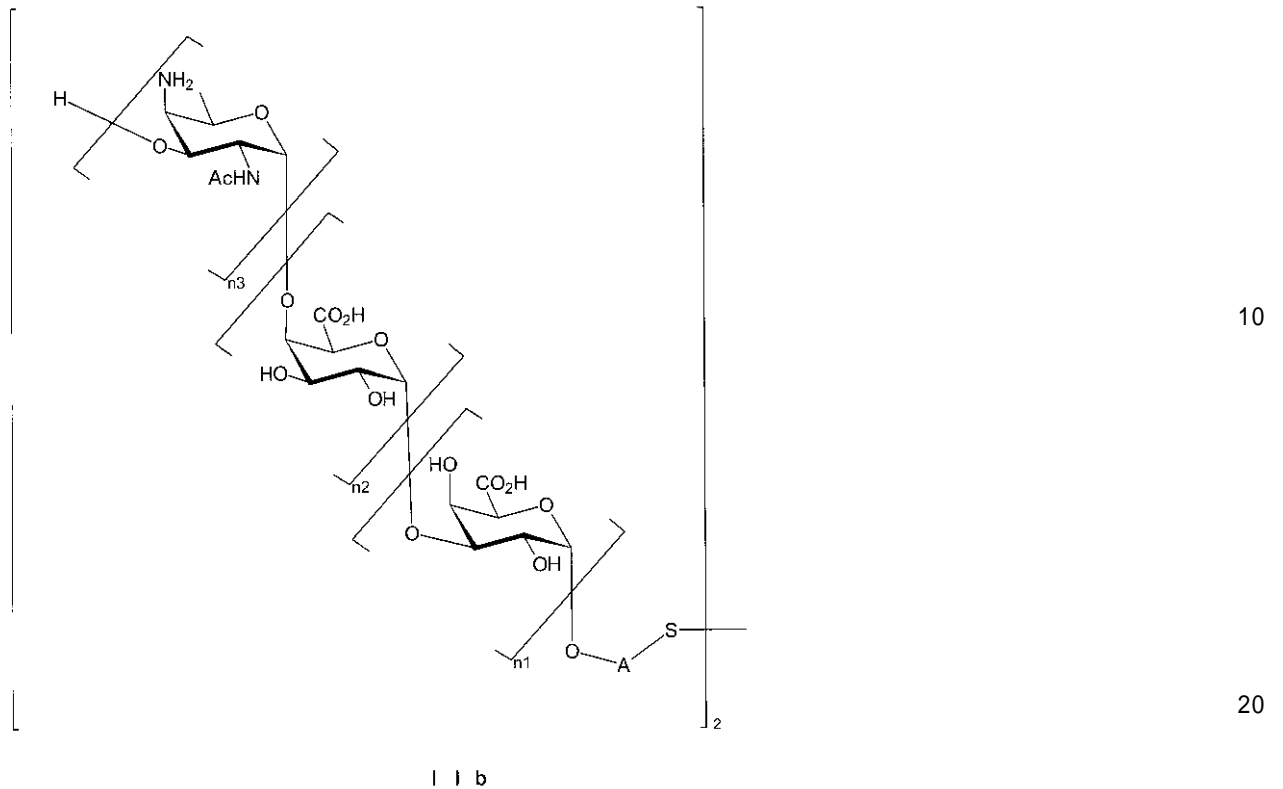
式中、

n 1 = n 2 = n 3 = 1、または n 1 = n 2 = 1 および n 3 = 0、または n 2 = n 3 = 1 および n 1 = 0、または n 1 = 1 および n 2 = n 3 = 0、または n 2 = 1 および n 1 = n 3 = 0 ;

および、下記一般式 ( I I b ) の中間体

## 【 0 2 5 3 】

## 【化 9 3】



## 【 0 2 5 4】

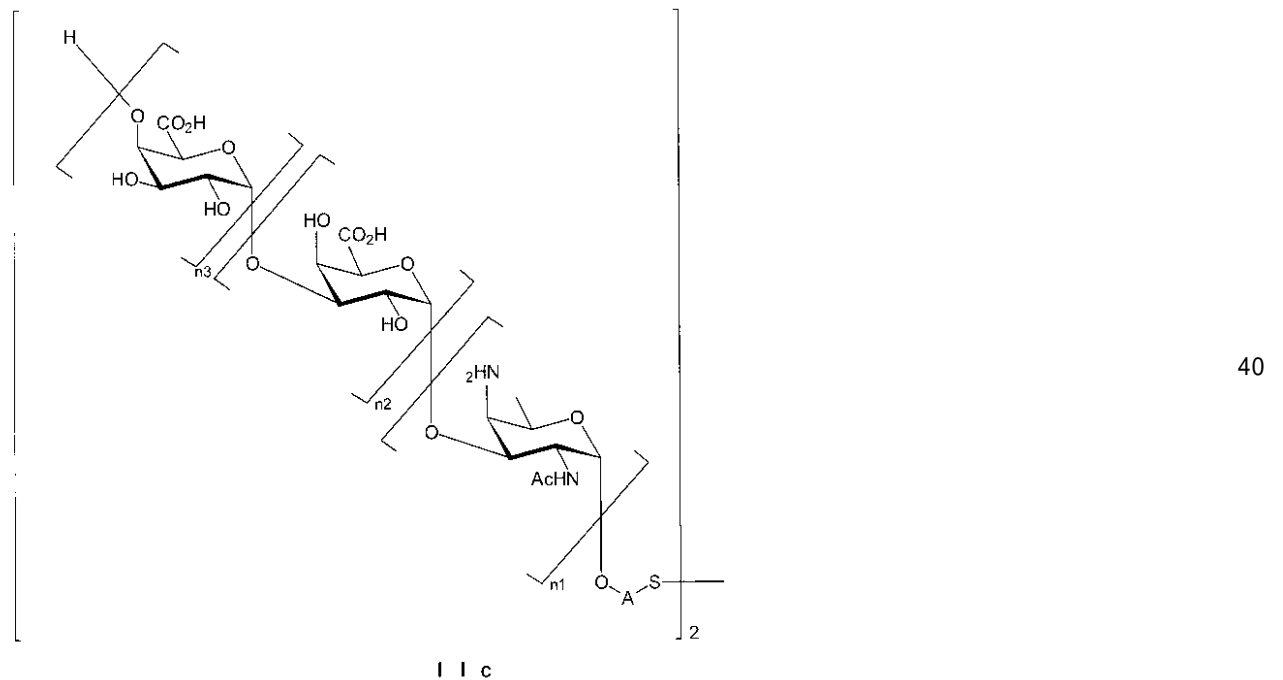
式中、

$n_1 = n_2 = n_3 = 1$ 、または  $n_1 = n_2 = 1$  および  $n_3 = 0$ 、または  $n_2 = n_3 = 1$  および  $n_1 = 0$ 、または  $n_1 = 1$  および  $n_2 = n_3 = 0$ 、または  $n_3 = 1$  および  $n_1 = n_2 = 0$  ;

および、下記一般式 ( I I c ) の中間体

## 【 0 2 5 5】

## 【化 9 4】



## 【 0 2 5 6】

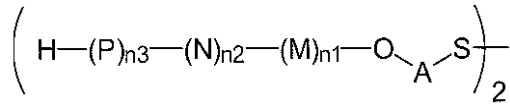
式中、

$n_1 = n_2 = n_3 = 1$ 、または  $n_1 = n_2 = 1$  および  $n_3 = 0$ 、または  $n_2 = n_3 = 1$  および  $n_1 = 0$ 、または  $n_1 = 1$  および  $n_2 = n_3 = 0$ 、または  $n_3 = 1$  および  $n_1 = n_2 = 0$  ;

言い換えると、本発明は、下記一般式 ( I I ) の中間体およびこれらのサッカライドの薬学的に許容できる塩に関し、

【 0 2 5 7 】

【 化 9 5 】



10

( I I )

【 0 2 5 8 】

式中、A はリンカーであり、

P は S 1 を表し、N は S 3 を表し、M は S 2 を表し、

または、

P は S 3 を表し、N は S 2 を表し、M は S 1 を表し、

または、

P は S 2 を表し、N は S 1 を表し、M は S 3 を表し、および

ここで、

20

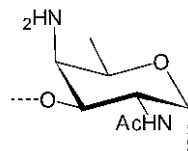
$n_1 = n_2 = n_3 = 1$ 、または  $n_1 = n_2 = 1$  および  $n_3 = 0$ 、または  $n_2 = n_3 = 1$  および  $n_1 = 0$ 、または  $n_1 = 1$  および  $n_2 = n_3 = 0$ 、または  $n_2 = 1$  および  $n_1 = n_3 = 0$ 、または  $n_3 = 1$  および  $n_1 = n_2 = 0$  ;

ここで、

【 0 2 5 9 】

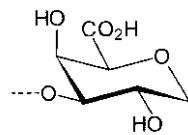
【 化 9 6 】

S 1 =

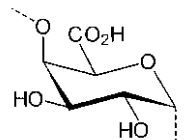


30

S 2 =



S 3 =



40

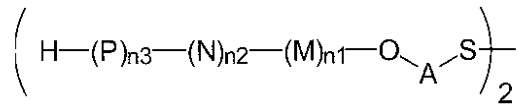
【 0 2 6 0 】

および、糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - S - 断片に連結される。

好ましくは、一般式 ( I I ) の中間体であり

【 0 2 6 1 】

## 【化 9 7】



( I I )

## 【 0 2 6 2】

式中、A は上記のように定義されるリンカーであり；

P は S 1 を表し、

N は S 3 を表し、

M は S 2 を表し、

糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - S - 断片に連結され、断片 S 2 は、糖断片 S 1 に連結されることはできず、および

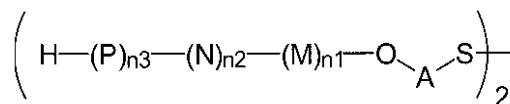
n 1、n 2、および n 3 は、0 および 1 から選択される整数であり、ここで整数 n 1、n 2、および n 3 の少なくとも一つは、1 である。

## 【 0 2 6 3】

より好ましいのは、一般式 ( I I ) の中間体であり、

## 【 0 2 6 4】

## 【化 9 8】



( I I )

## 【 0 2 6 5】

式中、A は上記のように定義されるリンカーであり；

P は S 1 を表し、

N は S 3 を表し、

M は S 2 を表し、

糖断片 S 1、S 2、S 3 は、O - グリコシド結合を介して、互いに連結され、および - O - A - S - 断片に連結され、

式中、n 1 = n 2 = n 3 = 1、または、n 1 = n 2 = 1 および n 3 = 0、または、n 1 = 1 および n 2 = n 3 = 0、または、n 1 = 0 および n 2 = n 3 = 1、または、n 1 = n 2 = 0、n 3 = 1。

## 【 0 2 6 6】

さらにより好ましいのは中間体：

H - ( S 1 ) - ( S 3 ) - ( S 2 ) - O - A - S - S - A - O - ( S 2 ) - ( S 3 ) - ( S 1 ) - H、

H - ( S 2 ) - ( S 1 ) - ( S 3 ) - O - A - S - S - A - O - ( S 3 ) - ( S 1 ) - ( S 2 ) - H、

H - ( S 3 ) - ( S 2 ) - ( S 1 ) - O - A - S - S - A - O - ( S 1 ) - ( S 2 ) - ( S 3 ) - H、

H - ( S 1 ) - ( S 3 ) - O - A - S - S - A - O - ( S 3 ) - ( S 1 ) - H、

H - ( S 3 ) - ( S 2 ) - O - A - S - S - A - O - ( S 2 ) - ( S 3 ) - H、

H - ( S 2 ) - ( S 1 ) - O - A - S - S - A - O - ( S 1 ) - ( S 2 ) - H、

H - ( S 1 ) - O - A - S - S - A - O - ( S 1 ) - H、および

H - ( S 3 ) - O - A - S - S - A - O - ( S 3 ) - H、である。特に好ましくは、

H - ( S 1 ) - ( S 3 ) - ( S 2 ) - O - A - S - S - A - O - ( S 2 ) - ( S 3 ) - ( S 1 ) - H、

10

20

30

40

50

$H - (S2) - (S1) - (S3) - O - A - S - S - A - O - (S3) - (S1) - (S2) - H$ 、  
 $H - (S3) - (S2) - (S1) - O - A - S - S - A - O - (S1) - (S2) - (S3) - H$ 、  
 $H - (S1) - (S3) - O - A - S - S - A - O - (S3) - (S1) - H$ 、  
 $H - (S2) - (S1) - O - A - S - S - A - O - (S1) - (S2) - H$ 、および、  
 $H - (S1) - O - A - S - S - A - O - (S1) - H$ 、  
 のような、糖断片 S1 を含む一般式 (II) の中間体である。

#### [複合糖質]

本発明の他の態様は、一般式 (I)、(Ia)、(Ib) および (Ic) のサッカライドを免疫原性担体と反応させることによって得られる複合糖質に関する。前記複合糖質は、細菌と関連する疾患に対する免疫付与のためのワクチンとして効果的であることを証明された。したがって、免疫原性担体に共有結合的に結合された一般式 (I)、(Ia)、(Ib) および (Ic) のサッカライドを含む複合糖質は、人および/または動物宿主の防御免疫応答を上昇させるのに有用であるので、細菌と関連する疾患の予防および/または治療に有用である。

#### 【0267】

サッカライドは、一般的に TI-2 (T細胞非依存性-2) 抗原および低い免疫原性として当業者に知られている。TI-2 抗原は、抗原であり、表面に曝された免疫グロブリン受容体のクロスリンクを介して成熟 B 細胞によってのみ認識される。T細胞ヘルプなしでは、免疫記憶は発生せず、IgM から他の IgG サブクラスへのアイソタイプ変換も、B細胞親和性成熟も起こらない。さらに、サッカライドは、人の糖脂質および糖蛋白質の構造的相同性により、人において低い免疫原性であると知られている。それらの低い免疫原性特性により、サッカライドは、強力なワクチンの産生に必須である特徴の、B細胞による抗体産生ならびに記憶細胞の形成の両方を産生する能力が低い。

#### 【0268】

したがって、強力なサッカライドに基づくワクチンを産生するために、一般式 (I)、(Ia)、(Ib)、および (Ic) は、免疫原性担体に共役され、複合糖質を提供し、複合糖質はサッカライドと比較して増加した免疫原性を示す。

#### 【0269】

これに関連して、用語「免疫原性担体」は、構造として定義され、複合糖質を形成するためにサッカライドに共役され、サッカライド自体と比較して増加した免疫を表す。したがって、一般式 (I)、(Ia)、(Ib)、および (Ic) のサッカライドの免疫原性担体への共役は、前記免疫原性担体に対する免疫応答を誘導することなく、一般式 (I)、(Ia)、(Ib)、および (Ic) のサッカライドに対する免疫応答を刺激する効果を有する。

#### 【0270】

好ましい免疫学的担体は、免疫調節特性を有する担体タンパク質、またはスフィンゴ糖脂質であり、当業者にとって、担体タンパク質は、ジフテリアトキソイド、変異ジフテリアトキソイド、修飾ジフテリアトキソイド、変異および修飾ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド、修飾破傷風トキソイド、変異破傷風トキソイド、外膜タンパク質 (OMP)、ウシ血清アルブミン (BSA)、キーホールリンペットヘモシニアン (KLH)、またはコレラ毒素 (CT) を含む、または、からなる群から選択されるタンパク質である。本願で使用される用語「トキソイド」は、細菌毒素 (一般に、外毒素) に関し、細菌毒素の毒性は化学的 (ホルマリン) または熱的処理のどちらかによって、不活性化または抑制されており、一方他の特性、典型的な免疫原性は維持される。本願で使用される変異トキソイドは、組換え型細菌毒素であり、野生型アミノ酸配列を修正することによって、低い毒性に、または非毒性にさへなるように修正されている。当該変異は、一つ以上のアミノ酸の置換であり得る。当該変異トキソイドは、修正トキソイドを提供するために、内部連結分子の官能基 Y と反応することができる官能性を該表面に提示する。前記官能性は、当

10

20

30

40

50

業者に知られており、還元剤の存在下で活性化されたエステル、イソシアネート基、またはアルデヒドと反応することができるリジン残基の第一級アミノ官能性、カルボジイミドによって活性化されることができる、グルタミン酸残基またはアスパラギン酸残基のカルボキシレート官能性、またはシステイン残基のチオール官能性を含むがこれに限定されない。活性化されたエステルは、N - ( - マレイミドブチリルオキシ ) スルホスクシンイミドエステル ( スルホ - G M B S )、スクシンイミジル ( 4 - ヨードアセチル ) アミノベンゾエート ( スルホ - S I A B )、スクシンイミジル - 3 - ( プロモアセトアミド ) プロピオネート ( S B A P )、ジスクシンイミジルグルタレート ( D S G )、2 - ピリジルジチオール - テトラオキサテトラデカン - N - ヒドロキシスクシンイミド ( P E G - 4 - S P D P ) を含む ( 図 2 参照 )。担体タンパク質におけるシステイン残基は、担体タンパク質の表面に内部連結分子の官能基 X を有する修飾担体タンパク質を提供するために、適切な内部連結分子とさらに反応させることができる対応するジヒドロアラニンに変換されることができる。この場合において、内部連結分子における官能基 Y はチオール基でもよく、基 X はアルケンでもよい。当該内部連結分子はアリルメルカプタンを含む。当該内部連結分子との反応後、担体タンパク質は、内部連結分子のビニル基 X を示す修飾担体タンパク質に変換され、それは、一般式 ( I )、( I a )、( I b ) および ( I c ) のサッカライドと反応させるのに適している。

#### 【 0 2 7 1 】

一般式 ( I )、( I a )、( I b ) および ( I c ) のサッカライド、好ましくはサッカライド 37、34、31、26、22、18、11、および 6 は、官能性リジン残基の第 1 級アミンの官能性として示す非毒性変異ジフテリア毒素 C R M <sub>197</sub> に共役されると特に好ましい。

#### 【 0 2 7 2 】

野生型ジフテリア毒素のように C R M <sub>197</sub> は、グリシンがグルタミン酸に置換された単一のアミノ酸置換を有するジスルフィド架橋によって連結される 2 つのサブユニットからなる 535 アミノ酸 ( 58 k D ) の一本鎖ポリペプチドである。C R M <sub>197</sub> は、プレブナー ( P r e v n a r ) のような疾患のための認可された多くの共役ワクチンで担体タンパク質として利用される。

#### 【 0 2 7 3 】

したがって、本発明の好ましい実施形態において、担体タンパク質は、それらの表面に、内部連結分子の前記官能基 X を有する修飾担体タンパク質を提供するために、当該表面にリジン残基の第 1 級アミノ官能性を示し、内部連結分子の官能基 Y と反応させることができ、修飾担体タンパク質は、一般式 ( I ) の化合物のリンカーにおける末端チオール基と反応することができる。内部連結分子の上記官能基 X は、マレイミド、 - ヨードアセチル、 - プロモアセチル、N - ヒドロキシスクシンイミドエステル ( N H S )、2 - ピリジルジチオール、チオール、およびビニルを含む、または、からなる群から選択される ( 図 3 参照 )。

#### 【 0 2 7 4 】

好ましくは、一般式 ( I )、( I a )、( I b )、または ( I c ) のサッカライドは、非毒性変異ジフテリア毒素 C R M <sub>197</sub> に共役され、マレイミドによって修飾される。さらに他の好ましい実施形態において、一般式 ( I )、( I a )、( I b )、または ( I c ) のサッカライドは、非毒性変異ジフテリア毒素 C R M <sub>197</sub> に共役され、ビニルによって修飾される。最も好ましい実施形態において、一般式 ( I )、( I a )、( I b )、または ( I c ) のサッカライドは、非毒性変異ジフテリア毒素 C R M <sub>197</sub> に共役され、 - プロモアセトアミドによって修飾される。

#### 【 0 2 7 5 】

他の実施形態において、上記免疫原性担体は、好ましくは、免疫調節特性を有するスフィンゴ糖脂質であり、より好ましくは、( 2 S , 3 S , 4 R ) - 1 - ( - D - ガラクトピラノシル ) - 2 - ヘキサコサノイルアミノオクタデカン - 3 , 4 - ジオールである。本願で使用される用語「免疫調節特性を有するスフィンゴ糖脂質」は、標的抗原への免疫シ

10

20

30

40

50

ステム応答を刺激することができるが、上記に定義されるように、スフィンゴ糖脂質自体で免疫を与えない、適切なスフィンゴ糖脂質に関する。

【0276】

本願で使用されるスフィンゴ糖脂質は、スフィンゴ脂質に - 連結される糖質部分を含む化合物である。好ましくは、糖質部分はヘキソピラノースであり、最も好ましくは、  
- D - ガラクトピラノースである。当業者にとって、スフィンゴ脂質は、脂肪酸にアミド結合を介して連結される C 18 アミノアルコールを含む脂質のクラスである。C 18 アミノアルコールは、好ましくは、ヒドロキシル基を有するモノ - 、ジ - 、またはポリ置換されている。特に好ましくは、C 18 アミノアルコールは、フィトスフィンゴシンである。脂肪酸は、16 ~ 28 個の範囲の、より好ましくは 18 ~ 26 個の範囲の炭素数の飽和アルキル鎖を有する好ましくは、モノカルボン酸である。免疫調節特性を有するスフィンゴ糖脂質は、(2S, 3S, 4R) - 1 - ( - D - ガラクトピラノシル) - 2 - ヘキサコサノイルアミノオクタデカン - 3, 4 - ジオールを含むが、これに限定されず、ナチュラルキラー (NK) 活性、およびナチュラルキラー T (NKT) 細胞によるサイトカイン産生を刺激することができ、インビボにおいて強力な抗腫瘍活性を示す (Proc. Natl Acad. Sci. USA, 1998, 95, 5690)。

10

【0277】

免疫調節特性を有するスフィンゴ糖脂質と一般式 (I)、(Ia)、(Ib)、または (Ic) のサッカライドとの共役体は、熱的安定であるという利点を有する。共役に安定であるために、免疫調節特性を有するスフィンゴ糖脂質において官能性を導入する。前記官能性は、一般式 (I)、(Ia)、(Ib)、または (Ic) のサッカライドの複合糖質を提供するために、一般式 (I)、(Ia)、(Ib)、または (Ic) のサッカライドのリンカーの末端チオール基と直接反応しやすい、または免疫調節特性を有する修飾スフィンゴ糖脂質を提供するために、内部連結分子の官能基 Y と、直接反応しやすい。

20

【0278】

好ましくは、前記官能性は、免疫調節特性を有するスフィンゴ糖脂質の糖部分の C 6 位に導入される。したがって、免疫調節特性を有するスフィンゴ糖脂質は、一般式 (I) のサッカライドの複合糖質を、または内部連結分子の官能基 X を提示する免疫調節特性を有する修飾スフィンゴ糖脂質を直接的に提供するために、官能基で官能化され、チオール基、活性化されたエステル、イソシアネート基、アルデヒド、ビニル、アミノ基、およびアジド基と反応しやすい。

30

【0279】

好ましくは、免疫調節特性を有するスフィンゴ糖脂質の糖部分の C 6 位に導入される官能基は、アミン、チオール、アルコール、カルボン酸、ビニル、マレイミド、 - ヨードアセチル、 - ブロモアセチル、N - ヒドロキシスクシンイミドエステル (NHS)、2 - ピリジルジチオールを含む (comprising)、または、含む (containing) 群から選択される。

【0280】

内部連結分子の前記官能基 X は、マレイミド、 - ヨードアセチル、 - ブロモアセチル、N - ヒドロキシスクシンイミドエステル (NHS)、2 - ピリジルジチオール、チオールおよびビニルを含む、または、からなる群から選択される。

40

【0281】

本願で使用される通り、用語「内部連結分子」は官能基 X および官能基 Y を含む二官能性分子に関し、官能基 X は、リンカー A における末端チオール基と反応することが可能であり、官能基 Y は、免疫原性担体に、または固体支持体に結合することが可能である。

【0282】

一般式 (I)、(Ia)、(Ib)、または (Ic) のサッカライドを免疫原性担体と反応させることによって得られる複合糖質は、動物における免疫応答を引き起こすのに適切であるので、細菌と関連する疾患に対する免疫におけるワクチンとして有用であり、

50

細菌の莢膜ポリサッカライドにおいて、次から選択されるサッカライド構造を含む：

- 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - (1 4) - - D - GalAp - (1 3) - - D - GalAp  
 - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - (1 4) - - D - GalAp  
 - D - GalAp - (1 3) - - D - GalAp  
 - D - GalAp  
 - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc  
 - D - GalAp - (1 3) - - D - GalAp - (1 3) - - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc  
 - D - GalAp - (1 3) - - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc  
 - D - GalAp - (1 3) - - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - (1 4) - - D - GalAp

好ましくは、莢膜ポリサッカライドにおいて上記のサッカライド構造の一つを含む細菌は、ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型である。

#### 【0283】

好ましい実施形態において、一般式 (I)、(Ia)、(Ib)、または (Ic) のサッカライドを免疫原性担体と反応させることによって得られる複合糖質は、細菌と関連する疾患に対する免疫のためのワクチンとして有用であり、前記疾患は、肺炎、髄膜炎、中耳炎、菌血症並びに慢性気管支炎、副鼻腔炎、関節炎および結膜炎の急性増悪を含む。

#### 【0284】

本発明の一つの態様は、医薬組成物、特に、任意の一般式 (I) のサッカライドを免疫原性担体と反応させることによって得られる複合糖質、および / または一般式 (I) の一つのサッカライド、および / または一般式 (III) の中間体の少なくとも一つを、薬学的に許容できる抗凍結剤、リオプロテクタント (lyoprotectant)、賦形剤および / または希釈剤の少なくとも一つと共に含むワクチンに関する。

#### 【0285】

前記ワクチンは、懸濁液の形態で調製されてもよく、または凍結乾燥されてもよい。懸濁液の形態は凍結して保存されてもよい。凍結乾燥形態では、一つ以上の安定剤を加えると好ましい。任意に、一つ以上のアジュバントを同様に加えてもよい。任意の慣習の安定剤およびアジュバントは、本発明に係るワクチンに含まれてもよい。

#### 【0286】

本願で使用される用語「アジュバント」は、免疫学的アジュバント、すなわち、ワクチンに抗原的に関連しているのではなく、与えられた抗原に対してワクチンに含まれる免疫応答を高めることによって、前記ワクチンの効果を修正する、または増強させる、ワクチン組成物に使用される物質に関する。当業者にとって、古典的に認識される免疫学的アジュバントの例は、制限されないが、オイルエマルジョン (例えば、フロイント (Freund's) アジュバント)、サポニン、アルミニウム塩またはカルシウム塩 (例えば、ミョウバンなど)、非イオン性ブロックポリマー界面活性剤、および他多数、を含む。

#### 【0287】

ワクチン接種を、任意の年齢で行うことができる。ワクチンを、皮下に、スプレー、注射、経口、眼内、気管内、または、経鼻によって投与してもよい。

本発明の他の態様は、少なくとも一つの薬学的に許容できる担体、アジュバント、溶媒および / または希釈剤と共に、活性成分としてワクチンを含む医薬製剤および医薬組成物に関する。

#### 【0288】

さらに好ましくは、医薬組成物は、凍結乾燥体または液体緩衝液の形態で製剤化される。

ワクチンを、当該薬学的に活性な塩の形態で、任意に実質上は非毒性の薬学的に許容で

10

20

30

40

50



きる担体、賦形剤、アジュバント、希釈剤を用いて投与することもできる。本発明のワクチンは、従来の固体もしくは液体担体、または希釈剤、および従来の薬学的に作られるアジュバントを用いて公知の方法で適切な用量レベルで調製される。好ましい調製物および製剤は、投与可能な形態であり、経口適用に適切である。これらの投与可能形態は、例えば、ピル、錠剤、フィルム錠剤、被覆錠剤、カプセル、粉末および沈殿物を含む。経口投与可能な形態以外も可能である。本発明のワクチンを、吸入、注射（静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下内）を含む任意の適切な手段によって；上皮または皮膚粘膜ライニング（口腔粘膜、直腸および膣上皮ライニング、鼻咽頭粘膜、腸粘膜）を介して吸収によって；経口的に、直腸に、経皮的に、局所的に、皮内に（*intradermally*）、胃内に、皮内に（*intracutaneously*）、腔内に、血管内に、鼻腔内に、口腔内に、経皮的に、舌下的に、または医薬分野内の任意の他の手段によって投与され得るがこれに制限されない。

10

#### 【0289】

活性成分として、一般式（I）のサッカライドを免疫原性担体と反応させることによって得られる複合糖質、またはその薬学的に許容できる塩を含む本発明のワクチンを、意図された投与形態、すなわち経口錠剤、カプセル（固体充填、半固体充填、または液体充填のいずれか）、構成のための粉末、経口ゲル、エリキシル、粉末顆粒、シロップ、懸濁液などについて適切に選択された適切な担体材料と混合して、従来の薬務と一致して典型的に投与するだろう。例えば、錠剤またはカプセルの形態での経口投与のために、活性成分を、ラクトース、デンプン、スクロース、セルロース、ステアリン酸マグネシウム、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、タルク、マンニトール、エチルアルコール（液体形態）などのような、任意の経口非毒性の薬学的に許容可できる不活性担体と組み合わせてもよい。さらに、望まれる場合または必要とされる場合、適切な結合剤、潤滑剤、*z*、および着色剤を、混合物中に含んでもよい。

20

#### 【0290】

適切な結合剤は、デンプン、ゼラチン、天然糖、コーン甘味料、アカシアのような天然および合成ゴム、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチル-セルロース、ポリエチレングルコールおよびワックスを含む。潤滑剤のうち、ホウ酸、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどは、これらの投与形態で使用のために述べられ得る。崩壊剤は、デンプン、メチルセルロース、グアーゴムなどを含む。甘味料および着香料および保存料を、適切な場合に含んでもよい。上記の用語のいくつか、すなわち、崩壊剤、希釈剤、潤滑剤などは、下記により詳細に論じられる。

30

#### 【0291】

さらに、本発明のワクチンは、治療効果を最適化するために任意の一つ以上の構成成分、または活性成分の速度制御された放出を提供するために持続放出形態で製剤化されてもよい。持続放出のための適切な投与形態は、変動する崩壊速度の層、または活性成分をしみ込ませた制御された放出ポリマーマトリックスを含み、および当該しみ込ませた、またはカプセル化されたポーラスポリマーマトリックスを含む錠剤形態、またはカプセルで形成された層状の錠剤を含む。

#### 【0292】

液体形態調製物は、溶液、懸濁液、およびエマルジョンを含む。例として、水、または非経口注射液のための水-ポリエチレングリコール溶液、または経口溶液のための甘味料および乳白剤の付加、懸濁液、およびエマルジョンを言及されてもよい。液体形態調製物は、鼻腔内投与のための溶液も含んでもよい。

40

#### 【0293】

吸入のために適切なエアロゾル調製物は、溶液および粉末形態のための固体を含んでもよく、それらは、例えば、窒素などの不活性ガスのような薬学的に許容できる担体と組み合わせてもよい。

#### 【0294】

坐薬を調製するために、ココアバターのように脂肪酸グリセリドのような低融点ワック

50

スが最初に溶解され、活性成分は、攪拌または同様の混合によって、その中で均一に分散される。溶解された均一な混合物を、その後、便利な大きさの型に注ぎ、冷却させて、それによって凝固させる。

【0295】

固体形態製剤も含まれ、使用するすぐ前に、経口または非経口投与のいずれかのために、液体形態調製物に変換されることを意図される。当該液体形態は、溶液、懸濁液、およびエマルジョンを含む。

【0296】

本発明のワクチンは、経皮的に輸送可能であってもよい。経皮組成物は、クリーム、ローション、エアロゾル、および/またはエマルジョンの形態をとってもよく、この目的のために従来の技術であるように、マトリックス型またはリザボア型の経皮パッチに含まれることができる。

10

【0297】

用語カプセルは、活性成分を含む組成物を保持し、または含むための、メチルセルロース、ポリビニルアルコール、または変性ゼラチンまたは変性デンプンから作られる特別な容器またはエンクロージャに関する。殻の固いカプセルは、典型的に、比較的高いゲル強度の骨および豚皮ゼラチンの混合物から作られる。カプセル自体は、少量の染色料、オペーク剤、可塑剤、および保存剤を含んでもよい。

【0298】

錠剤は、適切な希釈剤と共に、活性成分を含む圧縮された、または型で作られた固体投与形態を意味する。錠剤を、当業者によく知られている湿式造粒によって、乾式造粒によって、または圧縮によって得られる混合物または顆粒の圧縮によって調製することができる。

20

【0299】

経口ゲルは、親水性の反固体マトリックスに分散された、または可溶化された活性成分に関する。

構成のための粉末は、水またはジュース中に懸濁されることができる有効成分および適切な希釈剤を含む粉末混合物に関する。

【0300】

適切な希釈剤は、組成物または投与形態の大部分を通常占める物質である。適切な希釈剤は、ラクトース、スクロース、マンニトールおよびソルビトールのような糖、小麦、コーンライス、およびポテト由来のデンプン、並びに微結晶性セルロースのようなセルロースを含む。組成における希釈剤の量は、全組成物の約5～約95重量%、好ましくは約25～約75重量%、より好ましくは約30～約60重量%、最も好ましくは約40～50重量%の範囲であることができる。

30

【0301】

用語崩壊剤は、組成物を粉々にする（崩壊する）、および薬剤を放出することを助けるために組成物に添加される材料に関する。適切な崩壊剤は、デンプン、カルボキシメチルデンプンナトリウムのような「冷水可溶化」修飾デンプン、ローカストビーン、カラヤ、グアー、トラガカント、およびアガーのような天然および合成ガム、メチルセルロース、およびカルボキシメチルセルロースナトリウムのようなセルロース誘導体、微結晶性セルロース、クロスカルメロースナトリウムのようなクロスリンクされた微結晶性セルロース、アルギン酸およびアルギン酸ナトリウムのようなアルギネート、ベントナイトのようなクレイ、並びに発泡性の混合物を含む。組成物における崩壊剤の量は、組成物の約1～約40重量%、好ましくは組成物の2～約30重量%、より好ましくは組成物の約3～20重量%、最も好ましくは約5～約10重量%の範囲であることができる。

40

【0302】

結合剤は、粉を共に結合し、または「接着し」、顆粒を形成することによってそれらを凝集させ、製剤において「接着剤」として働く物質と特徴づける。結合剤は、希釈剤または充填剤において、すでに得られる凝集強度を増大する。適切な結合剤は、スクロースの

50

ような糖、小麦、コーンライス、およびポテト由来のデンプン；アカシア、ゼラチン、およびトラガカントのような天然ガム；アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、およびアルギン酸アンモニウムカルシウムのような海藻の誘導体；メチルセルロース、およびカルボキシメチルセルロースナトリウム、およびヒドロキシプロピル - メチルセルロースのようなセルロース材料、ポリビニルピロリドン；ケイ酸アルミニウムマグネシウムのような無機物を含む。組成物における結合剤の量は、組成物の約 1 ~ 30 重量%、好ましくは組成物の約 2 ~ 約 20 重量%、より好ましくは組成物の約 3 ~ 約 10 重量%、さらにより好ましくは約 3 ~ 約 6 重量%の範囲であることができる。

#### 【0303】

潤滑剤は、圧縮された後、錠剤、顆粒などが、摩擦または摩耗を減少させることによって型 (mold)、または鋳型 (die) から放出できるように投与形態に加えらるる物質に関する。適切な潤滑剤は、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、またはステアリン酸カリウムのようなステアリン酸金属塩；ステアリン酸、高融点ワックス、および塩化ナトリウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、オレイン酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、および D, L - ロイシンのような水溶性潤滑剤を含む。潤滑剤は、顆粒表面に、および顆粒と錠剤圧縮部分との間に存在しなければならないので、圧縮前に最後の最後のステップで通常加えられる。組成物における潤滑剤の量は、組成物の約 0.05 ~ 約 15 重量%、好ましくは組成物の 0.2 ~ 約 5 重量%、より好ましくは約 0.3 ~ 約 3 重量%、最も好ましくは組成物の約 0.3 ~ 約 1.5 重量%の範囲であることができる。

#### 【0304】

流動促進剤は、固化を防ぎ、顆粒の流動特性を改善する材料であるので、流動は滑らかおよび均一になる。適切な流動促進剤は、二酸化ケイ素およびタルクを含む。組成物における流動促進剤の量は、組成物の約 0.01 ~ 10 重量%、好ましくは全組成物の 0.1 ~ 約 7 重量%、より好ましくは約 0.2 ~ 5 重量%、最も好ましくは約 0.5 ~ 約 2 重量%の範囲であることができる。

#### 【0305】

着色剤は、組成物または投与形態に着色を与える賦形剤である。当該賦形剤は、食品等級染色剤、およびクレイまたは酸化アルミニウムのような適切な吸着剤に吸着される食品等級染色剤を含むことができる。着色剤の量は、組成物の約 0.01 ~ 10 重量%、好ましくは約 0.05 ~ 6 重量%、より好ましくは組成物の約 0.1 ~ 約 4 重量%、最も好ましくは約 0.1 ~ 約 1 重量%に変わることができる。

#### 【0306】

本発明における製剤およびワクチンの投与のための技術は、「レミントンの薬科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences)」マック出版社 (Mack Publishing Co.)、ペンシルベニア州、イーストン、で明らかにされてもよい。少なくとも一つの本発明の複合糖質および / または複合糖質の薬学的に許容できる塩を含む適切なワクチン組成物は、適切な液体医薬担体中の、または錠剤、ピル、フィルム錠剤、被覆錠剤、ドラジェ、カプセル、粉末、および沈殿物、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液、エマルジョンなどのような任意の他の製剤中の、一般式 (I) の任意のサッカライドを免疫原性担体と反応させることによって得られる一つの複合糖質の溶液であってもよい。

#### 【0307】

一般式 (I) の任意のサッカライドを、免疫原性担体と反応させることによって得られる一つの複合糖質の治療有効投与量は、疾患に対して少なくとも部分的な免疫化が結果として起こる化合物の量に関する。当該化合物の毒性および治療有効性は、細胞培養物、または実験動物において標準的な薬学的な、薬理学的な、および毒物学的な手順によって決定されることができる。毒性および治療有効性の用量比は、治療指数になる。投与される化合物の実際量は、治療される患者、患者の体重、苦痛の重症度、投与方法、および処方医師の判断に依存するだろう。

## 【0308】

本発明の他の好ましい実施形態は、一般式（Ⅰ）の任意のサッカライドを免疫原性担体と反応させることによって得られる複合糖質、および／または一般式（Ⅰ）のサッカライド、および／または一般式（Ⅱ）の中間体を、少なくとも一つの薬学的に許容できる抗凍結剤、リオプロテクタント（lyoprotectant）、賦形剤および／または希釈剤と共に含む医薬組成物に関する。前記医薬組成物は、ストレプトコッカス ニューモニエ細菌と関連する疾患に対する免疫化に有用である。

## 【0309】

本願で言及されるストレプトコッカス ニューモニエ細菌は、次の血清型、ストレプトコッカス ニューモニエ1型、ストレプトコッカス ニューモニエ4型、ストレプトコッカス ニューモニエ9V型、ストレプトコッカス ニューモニエ2型、ストレプトコッカス ニューモニエ19F型、ストレプトコッカス ニューモニエ3型、ストレプトコッカス ニューモニエ19A型、ストレプトコッカス ニューモニエ12F型、ストレプトコッカス ニューモニエ31型、ストレプトコッカス ニューモニエ7F型、ストレプトコッカス ニューモニエ5型、ストレプトコッカス ニューモニエ14型、ストレプトコッカス ニューモニエ6A型、ストレプトコッカス ニューモニエ6B型、ストレプトコッカス ニューモニエ18C型、およびストレプトコッカス ニューモニエ23F型を含む。

## 【0310】

本発明の好ましい実施形態は、ストレプトコッカス ニューモニエ1型と関連する疾患に対する免疫化に使用するために、一般式（Ⅰ）の任意のサッカライドを免疫原性担体と反応させることによって得られる複合糖質、および／または一般式（Ⅰ）のサッカライド、および／または一般式（Ⅱ）の中間体を、少なくとも一つの薬学的に許容できる抗凍結剤、リオプロテクタント（lyoprotectant）、賦形剤および／または希釈剤と共に含む医薬組成物、特にワクチンに関する。

## 【0311】

[ 3 ] - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - ( 1 4 ) - D - GalAp - ( 1 3 ) - D - GalAp - ( 1 ) に由来するサッカライドは、適切なリンカーと共に機能化されて、免疫原性担体へサッカライドを共役させ、本願で定義されるような複合糖質を提供する。前記複合糖質は、細菌と関連する疾患に対する、特にストレプトコッカス ニューモニエ、特にストレプトコッカス ニューモニエ1型と関連する疾患に対する、免疫化のためのワクチンとして有効であることを証明した。前記疾患は、肺炎、髄膜炎、中耳炎、菌血症並びに慢性気管支炎、副鼻腔炎、関節炎および結膜炎の急性憎悪を含む。

## 【0312】

本発明のさらに他の態様は、

- 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - ( 1 4 ) - D - GalAp - ( 1 3 ) - D - GalAp  
 - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - ( 1 4 ) - D - GalAp  
 - D - GalAp - ( 1 3 ) - D - GalAp  
 - D - GalAp  
 - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc  
 - D - GalAp - ( 1 3 ) - D - GalAp - ( 1 3 ) - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc  
 - D - GalAp - ( 1 3 ) - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc  
 - D - GalAp - ( 1 3 ) - 2, 4, 6 - トリデオキシ - 4 - アミノ - D - GalNAc - ( 1 4 ) - D - GalAp

から選択されるサッカライド構造を莢膜ポリサッカライドに含む細菌によって引き起こ

される疾患の診断のための免疫学的アッセイにおけるマーカーとして使用するための、一般式 (I) のサッカライド、および/または一般式 (II) の中間体に関する。

【0313】

当該アッセイは、本発明のサッカライドを含む (containing) または含む (comprising) 細菌によって引き起こされる疾患の診断に有用である、例えば、マイクロアレイおよび ELISA を含み、前記疾患は、肺炎、髄膜炎、中耳炎、菌血症並びに慢性気管支炎、副鼻腔炎、関節炎および結膜炎の急性憎悪を含む。

【0314】

本発明のサッカライドは、本発明のサッカライドを含む (containing) または含む (comprising) 細菌によって引き起こされる疾患の診断に有用なアッセイを提供するための固体担体に容易に共役されることができる。前記固体担体は、官能性を固体担体表面に提示し、修飾固体担体を提供するために内部連結分子の官能基 Y と反応しやすく、内部連結分子の官能基 X を該表面に提示し、一般式 (I) のサッカライドのチオール基と反応することができる。前記固体担体は、マイクロアレイスライドを含むが、制限されない。マイクロアレイスライドは、マイクロアレイスライドの表面に官能性を提示し、修飾マイクロアレイスライドを提供するために内部連結分子の官能基 Y と反応しやすく、内部連結分子の官能基 X を該表面に提示する。好ましくは、マイクロアレイスライドは、マイクロアレイスライド表面にアミノ基を提示する。マイクロアレイスライド表面にアミノ基を提示するマイクロアレイスライドは、アミン被覆された GAPSIISライド (コーニング)、またはコードリンク (Codelink) NHS スライドを含むがこれに限定されず、それらスライド上のアミノ官能性は、ウシ血清アルブミン (BSA) とのインキュベーションによって導入された。

【0315】

一般式 (I) のサッカライドを用いて被覆されるマイクロアレイスライドは、一般式 (I) のサッカライドを前記修飾マイクロアレイスライドに共役させることによって合成され、天然のストレプトコッカス ニューモニエ 1 型ポリサッカライドの存在下、または非存在下で、ウサギ抗 - ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型血清ヒト肺炎球菌血清 007 sp とインキュベートされた。結合実験は、ウサギ抗 - ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型血清およびヒト肺炎球菌血清 007 sp の両方は、 $-2, 4, 6$ -トリデオキシ- $4$ -アミノ-D-GalNAc-( $1 \rightarrow 4$ )- $-D$ -GalAp-( $1 \rightarrow 3$ )- $-D$ -GalAp および  $-D$ -GalAp-( $1 \rightarrow 3$ )- $-D$ -GalAp サッカライド構造に結合されることを示す (図 4 ~ 8 参照)。さらに、結合は、天然のストレプトコッカス ニューモニエ 1 型ポリサッカライドを用いて阻害されることが可能であり、本発明に係るサッカライドは、免疫応答によって認識されるエピトープを共有することを示す (図 5 および図 6 参照)。

【図面の簡単な説明】

【0316】

【図 1】図 1 は、ストレプトコッカス ニューモニエ血清型の全体分布を示す。

【図 2】図 2 は、本発明に係る市販の内部連結分子の例を提供する。

【図 3】図 3 は、本発明に係る内部連結分子の官能基 X の例を提供する。

【図 4】図 4 は、マイクロアレイスライドにおける一般式 (I) のサッカライドのプリントパターンを示す。

【図 5】図 5 は、ヒト肺炎球菌血清 007 sp (ニューモバックスワクチンを用いて免疫付与された 287 人のプール血清) における一般式 (I) のサッカライドへの結合を示し、天然のストレプトコッカス ニューモニエ 1 型ポリサッカライドの存在下、および非存在下で、修飾コードリンク (Codelink) NHS スライド上で被覆される。

【図 6】図 6 は、ウサギ抗 - ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型血清における一般式 (I) のサッカライドへの結合を示し、天然のストレプトコッカス ニューモニエ 1 型ポリサッカライドの存在下、および非存在下で、修飾されたアミン被覆 GAPSIISライド上で被覆される。

【図 7】図 7 は、ウサギ抗 - ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型血清における一般式 ( I ) のサッカライドへの結合を示し、修飾されたアミン被覆 G A P S I I スライド ( コーニング ( C o r n i n g ) 上で被覆される。

【図 8】図 8 は、ウサギ抗 - ストレプトコッカス ニューモニエ 1 型血清における一般式 ( I ) のサッカライドへの結合を示し、修飾されたコードリンク ( C o d e L i n k ) N H S スライド上に被覆される。

【発明を実施するための形態】

【 0 3 1 7 】

次の実施例は、本発明における好ましい実施形態を示すために含まれる。実施例に開示される技術は、当業者によって認識されるべきであり、続いて、本発明の実施においてよく機能するために発明者によって開示される技術を示すのであって、当該実施のための好ましい様式を構成することを考慮されるべきである。しかしながら、当業者は、本発明の開示を考慮して、いくつかの変化が特定の実施形態において作られることができることを認識するべきであり、それは開示され、本発明の精神および範囲から逸脱することなく同様または類似の結果を常に得る。

【 0 3 1 8 】

本発明の種々の態様のさらなる修正および代替的な実施形態は、本願の記述を考慮して当業者に明らかであるだろう。したがって、本願の記述は、例として解釈されるべきであり、本発明を実行する一般的な方法を当業者に教示する目的のためである。本願で示される、および記述される本発明の形態は、実施形態の例として受け入れられるべきであることは理解されるべきである。要素および材料は、本願で例示される、および記述されるものに置換されてもよく、部分および工程は、反転されてもよく、本発明の特定の特徴は、独立して利用されてもよく、全て、当業者には、本発明における本願に記述の利点を有することは明らかであるだろう。変化が、次のクレームに記述されるように本発明の精神および範囲から逸脱することなく、本願に記述される要素で作られてもよい。

[ 実施例 ]

[ 化学合成 ]

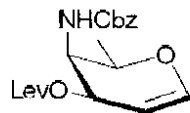
化学合成に一般的な情報

市販の試薬を、注記がある場合を除いて更なる精製なしで使用した。溶媒を、通常の方法で使用するより前に乾燥させ再蒸留した。全ての反応を、他に注記されていなければ、不活性雰囲気下、オープンで乾燥させたガラス製品で行った。分析薄層クロマトグラフィー ( T L C ) を、シリカゲルが 0 . 2 5 m m の厚さでプレコートされたキーゼルゲル ( K i e s e l g e l ) 6 0 F 2 5 4 ガラスプレートで行った。T L C を、ハネシアン溶液 ( 含水硫酸中に硫酸セリウムおよびモリブデン酸アンモニウム )、または硫酸 - エタノール溶液を用いて染色することにより U V ライトを用いて可視化した。カラムクロマトグラフィーを、フルカ キーゼルゲル 6 0 ( 2 3 0 ~ 4 0 0 メッシュ ) で行った。旋光度を、シュミット ウント ハエンシュ ( S c h m i d t & H a e n s h ) U n i P O L L 1 0 0 0 ポラリメーターを用いて g / 1 0 0 m L で表される濃度 ( c ) で測定した。 <sup>1</sup> H および <sup>13</sup> C N M R スペクトルを、バリアン ( V a r i a n ) 4 0 0 - M R、またはバリアン ( V a r i a n ) 6 0 0 スペクトロメーターを用いて、内部標準物質として M e <sub>4</sub> S i を用いて測定した。N M R 化学シフト ( ) を p p m で記録し、カップリング定数 ( J ) を H z で報告した。高解像度マスマスペクトル ( H R M S ) を、アギレント ( A g i l e n t ) 6 2 1 0 E S I - T O F マスマスペクトロメーターを用いて、ベルリン自由大学、マスマスペクトロメトリーコア施設で記録した。

実施例 1 : 4 - ( ベンジルオキシカルボニル ) アミノ - 3 - O - レプリノイル - 4 , 6 - ジデオキシ - D - ガラクタル ( 1 \* ) :

【 0 3 1 9 】

## 【化 9 9】



## 【0320】

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 ml) 中に 4 - O - (ベンジルオキシカルボニル) アミノ - 3 - ヒドロキシ - 4, 6 - ジデオキシ - D - ガラクトール (Org. Lett. 2010, 12, 1624) (1.64 g、6.21 mmol) を有する攪拌溶液に、0 でピリジン (0.501 ml、6.21 mmol)、レブリン酸 (0.96 ml、9.31 mmol)、DMAP (0.152 g、1.242 mmol) および EDC (1.205 ml、6.83 mmol) を加えた。混合物を室温まで温め、その室温で攪拌した。3 時間後、0.5 当量のレブリン酸および 0.5 当量の EDC を加えて反応を開始し完結させる。5 時間後、混合物を、100 ml DCM を用いて希釈し、水 (50 ml)、飽和 NH<sub>4</sub>Cl 水溶液 (50 ml)、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (50 ml)、およびブライン (50 ml) を用いて洗浄した。有機画分を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 1 : 1) によって精製し、エステル 1\* (2.07 g、5.73 mmol、92%) を透明なオイルとして得た。HRMS (ESI) C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub> (M + Na<sup>+</sup>) 計算値 384.1423 実測値 384.1415 m/z。

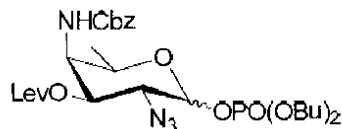
10

20

実施例 2 : ジブチル [2 - アジド - 4 - (ベンジルオキシカルボニル) アミノ - 3 - O - レブリンイル - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル] ホスフェート (2\*) :

## 【0321】

## 【化 100】



## 【0322】

乾燥 MeCN (44 ml) 中にガラクトール 1\* (3.17 g、8.77 mmol) を有する攪拌溶液に、-25 で硝酸セリウムアンモニウム (14.42 g、26.3 mmol)、アジ化ナトリウム (0.86 g、13.15 mmol) を加えた。反応を -25 ~ -20 の間で激しく攪拌した。混合物を、冷 Et<sub>2</sub>O (50 ml) を用いて希釈した。有機相を、冷水 (3 x 30 ml) を用いて洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ濃縮した。残渣を、シリカゲルのプラグ (EtOAc / ヘキサン / Et<sub>3</sub>N 1 : 1 : 0.01) に通してろ過し、わずかに黄色のオイルとして 4 : 1 ガラクト / タロ混合物で粗硝酸グリコシル (2.01 g) を得た。

30

## 【0323】

粗硝酸グリコシル (2.01 g) を、乾燥 DMF (28 ml) 中にリン酸セシウムジブチル (2.21 g、6.45 mmol) を有する溶液に室温で加えた。混合物を 4.5 時間、その温度で攪拌し、EtOAc (100 ml) で希釈し、水 (100 ml) に注いだ。有機相を水 (5 x 50 ml) で洗浄し、合わせた水性画分を EtOAc (50 ml) で抽出した。有機相を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 45 : 55 ~ 50 : 50) によって精製し、リン酸グリコシル 2\* (1.84 g、3.00 mmol、37%、1 : 10 / ) を透明なオイルとして得た。HRMS (ESI) C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>P (M + Na<sup>+</sup>) 計算値 635.2458 実測値 635.2422 m/z。

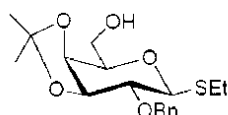
40

実施例 3 : エチル 2 - O - ベンジル - 3, 4 - イソプロピリデン - 1 - チオ - - D - ガラクトピラノシド (3\*) :

50

【0324】

【化101】



【0325】

DMF (150 ml) および THF (75 ml) 中にエチル 6 - O - tert - ブチルジメチルシリル - 3, 4 - イソプロピリデン - 1 - チオ - - D - ガラクトピラノシド (BioOrg. Med. Chem. 2001, 9, 1395) (45.7 g、121 mmol) を有する攪拌溶液に、0 で、少しずつ水素化ナトリウム (60%、7.24 g、181 mmol) を加え、その後ベンジルプロミド (17.2 ml、145 mmol) を加えた。混合物を 0 で 1 時間攪拌し、ゆっくり室温まで温め、16 時間その温度で攪拌した。反応を、飽和 NH<sub>4</sub>Cl 水溶液 (20 ml) を用いて 0 でクエンチし、水 (200 ml) および EtOAc (150 ml) を用いて希釈し、15 分間 0 で攪拌した。分離後、有機相を、水 (5 × 100 ml) を用いて洗浄し、合わせた水性画分を、EtOAc (2 × 100 ml) を用いて再抽出した。合わせた有機層を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ濃縮し、黄色オイルとして粗ベンジルエーテル (61 g) を得た。

10

【0326】

THF (370 ml) 中に粗ベンジルエーテル (61 g) を有する攪拌溶液に、フッ化テトラブチルアンモニウム (THF 中に 1 M、166 ml、166 mmol) を 0 で加えた。混合物を室温まで温め、1 時間攪拌した。反応を飽和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液 (200 ml) および EtOAc (100 ml) を用いて希釈した。分離後、水相を、EtOAc (3 × 100 ml) を用いて抽出し、合わせた有機画分を、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させ濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 0 : 1 ~ 1 : 3 ~ 1 : 1) によって精製し、アルコール 3\* を白色固体として得た。HRMS (ESI) C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>S (M + Na<sup>+</sup>) 計算値 377.1398 実測値 377.1416 m/z。

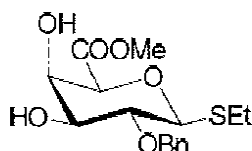
20

実施例 4 : メチル (エチル 2 - O - ベンジル - 1 - チオ - - D - ガラクトピラノシド) ウロネート (4\*)

30

【0327】

【化102】



【0328】

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml) および H<sub>2</sub>O (25 ml) 中にアルコール 4\* (6.0 g、16.93 mmol) を有する激しく攪拌した溶液に、0 で、TEMPO (0.53 g、3.39 mmol)、および BAIB (10.9 g、33.9 mmol) を加えた。混合物を室温まで温め、1 時間その温度で攪拌した。反応を、10% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 水溶液 (10 ml) を用いてクエンチし、EtOAc (30 ml) を用いて希釈した。分離後、有機相を、10% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (4 × 20 ml) を用いて洗浄した。水相を、EtOAc (2 × 100 ml) を用いて抽出し、合わせた有機画分を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ濃縮し、黄色オイルとして粗の酸 (7.92 g) を得た。

40

【0329】

MeOH (300 ml) 中に塩化アセチル (6.04 ml、85 mmol) を有する攪拌溶液に、MeOH (40 ml) 中に粗の酸 (7.92 g) を有する溶液を 0 で滴下した。混合物を室温まで温め、その温度で 2 時間攪拌し、0 まで冷却した。反応を飽和 N

50

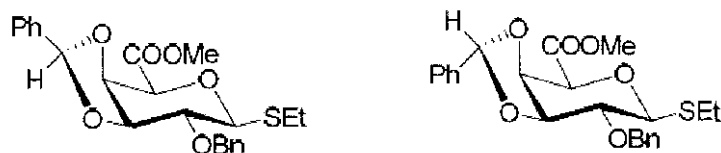


a H C O<sub>3</sub> 水溶液 ( 3 0 m l ) 用いてクエンチし、固体 N a H C O<sub>3</sub> を用いて p H 7 に中和した。揮発性物質を蒸発させ、混合物を E t O A c ( 7 0 m l ) を用いて希釈した。分離後、水相を、E t O A c ( 5 × 5 0 m l ) を用いて抽出した。合わせた有機画分を、N a<sub>2</sub> S O<sub>4</sub> で乾燥させ濃縮した。フラッシュクロマトグラフィー ( E t O A c / ヘキサン 2 : 3 ~ 1 : 1、その後 1 : 0 ) を行い粗生成物を与え、粗生成物をメタノール中、2 0 で結晶化させ ( 5 m l / g 粗生成物 )、ジオール 4 \* ( 3 . 4 7 g、1 0 . 1 3 m m o l、6 0 % ) を白色固体として得た。H R M S ( E S I ) C<sub>16</sub> H<sub>22</sub> O<sub>6</sub> S ( M + N a )<sup>+</sup> 計算値 3 6 5 . 1 0 3 4 実測値 3 6 5 . 1 0 5 8 m / z。

実施例 5 : メチル ( エチル 2 - O - ベンジル - 3 , 4 - O - エンド - ベンジリデン - 1 - チオ - - D - ガラクトピラノシド ) ウロネート ( 5 \* )、およびメチル ( エチル 2 - O - ベンジル - 3 , 4 - O - エキソ - ベンジリデン - 1 - チオ - - D - ガラクトピラノシド ) ウロネート ( 6 \* )

【 0 3 3 0 】

【 化 1 0 3 】



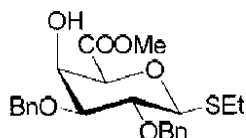
【 0 3 3 1 】

乾燥アセトニトリル ( 2 9 m l ) 中にジオール 4 \* ( 2 . 9 9 g、8 . 7 3 m m o l ) を有する攪拌溶液に、ベンズアルデヒドジメチルアセタール ( 6 . 5 7 m l、4 3 . 6 m m o l )、および D L - カンファースルホン酸 ( 0 . 5 1 g、2 . 1 8 m m o l ) を室温で加えた。混合物を室温で 5 時間攪拌し、反応をトリエチルアミン ( 0 . 3 5 m l ) の添加によってクエンチした。混合物を減圧下で濃縮し、残渣を与え、残渣をシリカゲルのショートプラグに通してろ過し ( ヘキサン / E t O A c 8 : 1 ( 2 % E t<sub>3</sub> N ) ~ 1 : 1 ( 2 % E t<sub>3</sub> N )、ベンジリデンアセタール 5 \* ( エンド ) および 6 \* ( エキソ ) ( 3 . 4 6 g、8 . 0 3 m m o l、9 2 % ) の 1 : 1 の混合物を得た。異性体を、E t O A c / ヘキサンからエキソ異性体 6 \* の選択的結晶化、および母液のクロマトグラフ分離 ( バイオタージ ( B i o t a g e )、ヘキサン 1 0 % ~ 4 0 % 中 E t O A c + 0 . 5 % E t<sub>3</sub> N の均一なグラジエント ) によって分離した。5 \* の分析データ、透明なオイル、H R M S ( E S I ) C<sub>23</sub> H<sub>26</sub> O<sub>6</sub> S ( M + N a )<sup>+</sup> 計算値 4 5 3 . 1 3 4 8 実測値 4 5 3 . 1 3 5 2 m / z。6 \* の分析データ、白色固体、H R M S ( E S I ) C<sub>23</sub> H<sub>26</sub> O<sub>6</sub> S ( M + N a )<sup>+</sup> 計算値 4 5 3 . 1 3 4 8 実測値 4 5 3 . 1 3 3 8 m / z。

実施例 6 : メチル ( エチル 2 , 3 - O - ベンジル - 1 - チオ - - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート ( 7 \* )

【 0 3 3 2 】

【 化 1 0 4 】



【 0 3 3 3 】

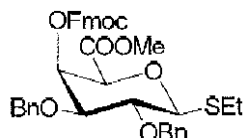
T H F ( 9 . 4 m l ) 中にアセタール 6 \* ( 1 6 2 m g、0 . 3 8 m m o l )、シアノ水素化ホウ素ナトリウム ( 2 9 6 m g、4 . 7 0 m m o l ) を有する溶液に、室温で、塩化水素 ( E t<sub>2</sub> O 中に 1 M ) をガスの発生が終わるまで加えた。1 0 分後、シアノ水素化ホウ素ナトリウム ( 2 9 6 m g、4 . 7 0 m m o l ) を加え、続いて H C l を加えた。反応物を室温で攪拌し、E t O A c ( 3 0 m l ) を用いて希釈し、飽和 N a H C O<sub>3</sub> 水溶液 ( 3 0 m l ) を用いてクエンチした。分離後、有機層を、飽和 N a H C O<sub>3</sub> 水溶液 ( 2 0 m l ) を用いて洗浄し、水層を、E t O A c ( 2 × 1 0 0 m l ) を用いて再抽出した。有

機抽出物をためて、 $MgSO_4$  で乾燥させ濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー（EtOAc / ヘキサン 1 : 1）によって精製し、アルコール 7\*（67.5 mg、0.156 mmol、42%）を白色固体として得た。HRMS（ESI） $C_{23}H_{28}O_5S$ （ $M + Na^+$ ） 計算値 455.1504 実測値 455.1511 m/z。

実施例 7：メチル（エチル 2, 3 - O - ベンジル - 4 - O - フルオレニルメトキシカルボニル - 1 - チオ - D - ガラクトピラノシル）ウロネート（8\*）

【0334】

【化105】



10

【0335】

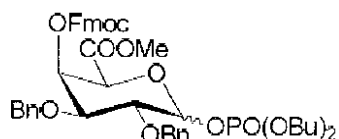
ピリジン（1.2 ml）中にアルコール 7\*（160 mg、0.370 mmol）を有する溶液に、0 で FmocCl（383 mg、1.48 mmol）を加えた。混合物を室温まで温め、3 時間撹拌した。混合物を、EtOAc（50 ml）を用いて希釈し、1 N HCl（2 x 30 ml）、および飽和  $NaHCO_3$  水溶液（30 ml）を用いて洗浄した。有機相を  $Na_2SO_4$  で乾燥し濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー（EtOAc / ヘキサン 1 : 2）によって精製し、カルボネート 8\*（217 mg、0.331 mmol、90%）を白色泡として得た。HRMS（ESI） $C_{38}H_{38}O_8S$ （ $M + Na^+$ ） 計算値 677.2185 実測値 677.2167 m/z。

20

実施例 8：ジブチル〔メチル（2, 3 - O - ベンジル - 4 - O - フルオレニルメトキシカルボニル - / - D - ガラクトピラノシル）ウロネート〕ホスフェート（9\*）

【0336】

【化106】



30

【0337】

チオグリコシド 8\*（200 mg、0.305 mmol）を、乾燥トルエン（2 x 30 ml）と共に共蒸発させ、高真空下で 1 時間保ち、乾燥  $CH_2Cl_2$ （3 ml）に溶解した。活性化されたモレキュラーシーブ（3 - AW）を加え、溶液を 15 分間、室温で撹拌した。溶液をその後 0 まで冷却し、リン酸ジブチル（128 mg、0.611 mmol）を用いて処理し 15 分間撹拌した。混合物を、その後 NIS（89 mg、0.397 mmol）を用いて処理し、室温まで温め、その温度で 3 時間撹拌した。反応物を、 $CH_2Cl_2$ （20 ml）を用いて希釈し、10%  $Na_2S_2O_3$ 、および飽和  $NaHCO_3$  水溶液の 1 : 1（v/v）混合物（20 ml）を用いてクエンチした。水相を、 $CH_2Cl_2$ （3 x 30 ml）を用いて抽出し、合わせた有機画分を  $Na_2SO_4$  で乾燥させ濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー（EtOAc / ヘキサン 1 : 1 ~ 2 : 1）によって精製し、リン酸グリコシル 9\*（218 mg、0.272 mmol、89%、10 : 1 / ）を透明オイルとして得た。9\* の分析データ：HRMS（ESI） $C_{44}H_{51}O_{12}P$ （ $M + Na^+$ ） 計算値 825.3015 実測値 825.3020 m/z、9\* の分析データ：HRMS（ESI） $C_{44}H_{51}O_{12}P$ （ $M + Na^+$ ） 計算値 825.3015 実測値 825.2970 m/z

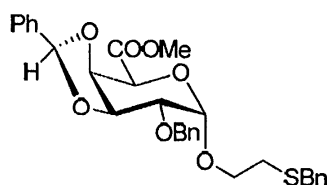
40

実施例 9：メチル（2 - O - ベンジル - 3, 4 - O - エンド - ベンジリデン - / - D - ガラクトピラノシル）ウロネート - （1 1） - 2 - （ベンジルチオ）エタノール（10\*）、

50

【 0 3 3 8 】

【 化 1 0 7 】



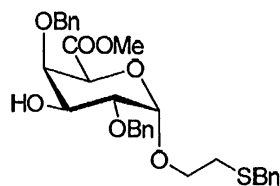
【 0 3 3 9 】

チオグリコシド 5<sup>\*</sup> (102 mg、0.237 mmol)、2-(ベンジルチオ)エタノール 11<sup>\*</sup> (60 mg、0.355 mmol)、および TTBPy (117 mg、0.474 mmol) を、無水トルエン (3 × 10 ml) と共に共蒸発させ、高真空下で 30 分間保った。混合物を、THF (4.8 ml) に溶解し、活性化されたモレキュラーシーブ (3) で、30 分間、室温で撹拌した。溶液を 0℃ まで冷却し、DMTST (0.2 ml 乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中、92 mg、0.355 mmol) を用いて処理した。反応物を、室温まで温め、その温度で 2 時間撹拌した。反応を、1:1 (v/v) MeOH/Et<sub>3</sub>N 混合物 (0.1 ml) を用いてクエンチし、濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc/ヘキサン/ Et<sub>3</sub>N 0:1:0.01 ~ 30:70:0.01 ~ 45:55:0.01) によって精製し、チオエーテル 10<sup>\*</sup> (59 mg、0.110 mmol、46%) を透明オイルとして、対応する - 異性体 10<sup>\*</sup> (35 mg、0.065 mmol、27%) と共に得た。10<sup>\*</sup> の分析データ: HRMS (ESI) C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub>S (M+Na)<sup>+</sup> 計算値 559.1766 実測値 559.1731 m/z。

実施例 10: メチル (2, 4 - ジ - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシド) ウロネート - (1 1) - 2 - (ベンジルチオ) エタノール (12<sup>\*</sup>)

【 0 3 4 0 】

【 化 1 0 8 】



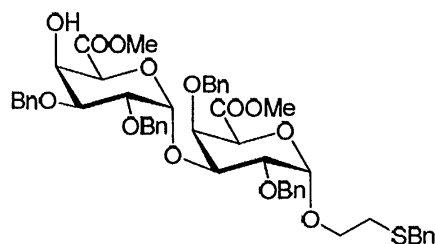
【 0 3 4 1 】

乾燥 THF (5.3 ml) 中にアセタール 10<sup>\*</sup> (100.0 mg、0.186 mmol) を有する撹拌溶液に、最初にトリメチルアミンボラン複合体 (57.4 mg、0.745 mmol) を、その後、塩化アルミニウム (149 mg、1.118 mmol) を室温で加えた。混合物を 4.5 時間撹拌した。反応を、水 (10 ml) および 1M 塩酸 (5 ml) の添加によってクエンチした。混合物を、EtOAc (3 × 10 ml) を用いて抽出し、合わせた有機画分を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc/ヘキサン 2:5 ~ 1:1) によって精製し、アルコール 12<sup>\*</sup> (70.0 mg、0.13 mmol、70%) を透明オイルとして得た。HRMS (ESI) C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>O<sub>7</sub>S (M+Na)<sup>+</sup> 計算値 561.1923 実測値 561.1879 m/z。

実施例 11: メチル (2, 3 - ジ - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 3) - メチル (2, 4 - ジ - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 3) - (2 - (ベンジルチオ) エタノール (13<sup>\*</sup>)) :

【 0 3 4 2 】

## 【化 1 0 9】



## 【 0 3 4 3】

10

アルコール 12<sup>\*</sup> (90 mg、0.166 mmol)、およびグリコシルホスフェート 9<sup>\*</sup> (208 mg、0.259 mmol) を、乾燥トルエン (3 × 10 ml) と共に共蒸発させ、高真空下で 1 時間保った。混合物を、乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3.3 ml) に溶解し、活性化されたモレキュラーシーブ (3 - AW) で、30 分間、室温で撹拌した。溶液を 0℃ まで冷却し、TBSOTf (0.2 ml 乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中、0.133 mmol) を用いて滴下で処理した。溶液を、室温まで温め、20 時間撹拌した。反応物を、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml) を用いて希釈し、1 : 1 (v/v) MeOH / ピリジン混合物 (0.2 ml) を用いてクエンチした。溶液を、セライトに通してろ過し、濃縮した。粗生成物を、シリカゲルのショートプラグ (EtOAc / ヘキサン 1 : 1) に通してろ過し、透明のオイルとして中間体ジサッカライド混合物 (150 mg、0.133 mmol、80%、3 : 1 / ) を得た。

20

## 【 0 3 4 4】

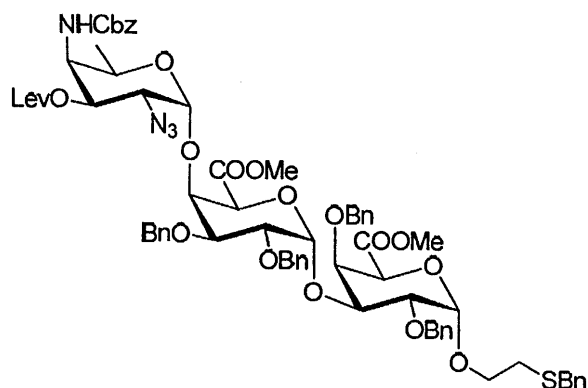
CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.6 ml) 中に炭酸塩混合物 (150 mg) を有する撹拌溶液に、室温でトリエチルアミン (1.1 ml、7.96 mmol) を加えた。反応物を 3 時間その温度で撹拌し、トルエン (2 × 10 ml) を用いて共蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 1 : 6 ~ 2 : 3 ~ 1 : 1) によって精製し、アルコール 13<sup>\*</sup> (62 mg、0.068 mmol、51%) を対応する - アノマー (20 mg、0.022 mmol、17%) と共に得た。HRMS (ESI) C<sub>51</sub>H<sub>56</sub>O<sub>13</sub>S (M + Na)<sup>+</sup> 計算値 931.3339 実測値 931.3340 m/z。

実施例 12 : 2 - アジド - 4 - (ベンジルオキシカルボニル) アミノ - 3 - O - レプリノイル - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル - (1 4) - メチル (2, 3 - ジ - O - ベンジル - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 3) - メチル (2, 4 - ジ - O - ベンジル - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 1) - 2 - (ベンジルチオ) エタノール (14<sup>\*</sup>) :

30

## 【 0 3 4 5】

## 【化 1 1 0】



40

## 【 0 3 4 6】

アルコール 13<sup>\*</sup> (65 mg、0.062 mmol)、およびグリコシルホスフェート

50

2<sup>\*</sup> (61 mg、0.100 mmol) を、乾燥トルエン (3 × 10 ml) と共に共蒸発させ、高真空下で30分保った。混合物を、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2.1 ml) に溶解し、活性化されたモレキュラーシーブ (4 - AW) で、1時間、室温で撹拌した。溶液をその後0℃まで冷却し、TMSOTf (0.2 ml 乾燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中、17 μl、0.093 mmol) を用いて処理した。混合物を3時間0℃で撹拌させ、TLC (EtOAc / ヘキサン 2 : 3) は、アクセプターの完全な消費を示した。反応を、1 : 1 (v / v) MeOH / NEt<sub>3</sub> 混合物 (0.5 ml) を用いてクエンチし、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml) を用いて希釈しセライトに通してろ過した。粗生成物を、フラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 1 : 2 ~ 1 : 1) によって精製し、トリサッカライド14<sup>\*</sup> (69 mg、0.053 mmol、85%) を透明なオイルとして得た。HRMS (ESI) C<sub>70</sub>H<sub>78</sub>N<sub>4</sub>O<sub>19</sub>S (M + Na)<sup>+</sup> 計算値1333.4879 実測値1333.4911 m/z。

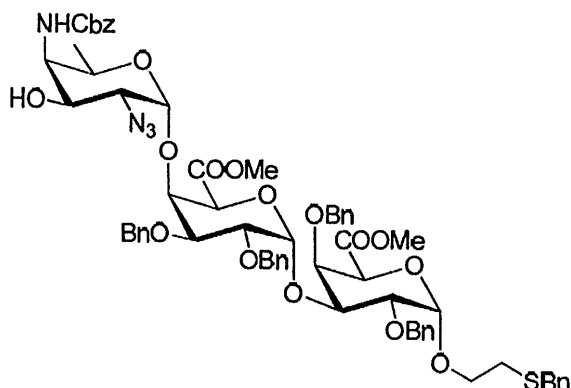
10

実施例13：2 - アジド - 4 - (ベンジルオキシカルボニル) アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - β - D - ガラクトピラノシル - (1 → 4) - メチル (2, 3 - ジ - O - ベンジル - β - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 → 3) - メチル (2, 4 - ジ - O - ベンジル - β - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 → 1) - (2 - (ベンジルチオ) エタノール (15<sup>\*</sup>) :

【0347】

【化111】

20



30

【0348】

乾燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.0 ml) 中に、レプリノイルエステル14<sup>\*</sup> (30 mg、0.023 mmol) を有する撹拌溶液に、室温で、最初にピリジン (56 μl、0.692 mmol) および酢酸 (37 μl、0.646 mmol) の混合物を加え、その後、ヒドラジン-水和物 (2 μl、0.041 mmol) を加えた。混合物を室温で4時間撹拌させ、EtOAc (2 ml) を用いて希釈し、アセトン (0.1 ml) を用いてクエンチし、水 (15 ml) に注いだ。水相を、EtOAc (4 × 10 ml) を用いて抽出し、合わせた有機抽出物をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 0 : 1 ~ 1 : 2 ~ 2 : 3) によって精製し、アルコール15<sup>\*</sup> (28 mg、0.023 mmol、100%) を透明なオイルとして得た。HRMS (ESI) C<sub>65</sub>H<sub>72</sub>N<sub>4</sub>O<sub>17</sub>S (M + Na)<sup>+</sup> 計算値1235.4511 実測値1235.4539 m/z。

40

実施例14：2 - アジド - 4 - (ベンジルオキシカルボニル) アミノ - 3 - O - ベンジルオキシメチル - 2, 4, 6 - トリデオキシ - β - D - ガラクトピラノシル - (1 → 4) - メチル (2, 3 - ジ - O - ベンジル - β - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 → 3) - メチル (2, 4 - ジ - O - ベンジル - β - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 → 1) - 2 - (ベンジルチオ) エタノール (16<sup>\*</sup>) :

【0349】

10

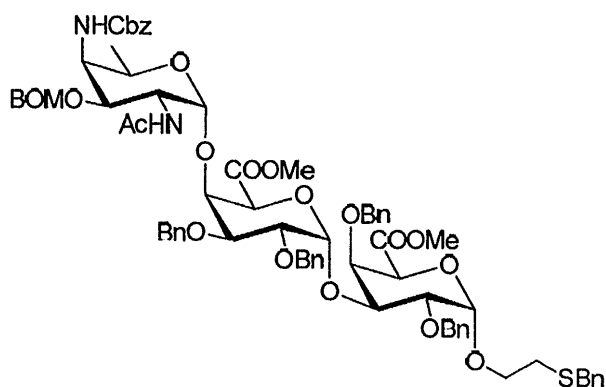
アルコール 15<sup>\*</sup> ( 8 . 6 m g、7 . 1 μ m m o l )、ベンジルオキシメチルチオシクロヘキサン ( 7 9 m g、0 . 3 5 4 m m o l )、および T T B P y ( 1 0 5 m g、0 . 4 2 5 m m o l ) を、乾燥トルエン ( 3 × 1 0 m l ) と共に共蒸発させ、高真空下で 3 0 分間保った。混合物を、乾燥 C H <sub>2</sub> C l <sub>2</sub> ( 0 . 4 m l ) に溶解し、活性化されたモレキュラーシーブ ( 3 ) で、3 0 分間、室温で攪拌した。混合物を 0 まで冷却し、D M T S T ( 0 . 1 m l 乾燥 C H <sub>2</sub> C l <sub>2</sub> 中、7 . 1 m g、0 . 1 8 m m o l ) を 4 5 分間にわたって滴下で加え、一方、反応温度は 1 0 より下に保った。反応物を更に 4 5 分間攪拌し、1 : 1 ( v / v ) M e O H / E t <sub>3</sub> N 混合物の添加によってクエンチし濃縮した。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー ( E t O A c / ヘキサン 1 : 1 0 ~ 1 : 2 ) によって精製し、アセタール 16<sup>\*</sup> ( 6 . 0 m g、4 . 5 μ m o l、6 4 % ) を透明なオイルとして得た。H R M S ( E S I ) C <sub>73</sub> H <sub>80</sub> N <sub>4</sub> O <sub>18</sub> S ( M + N a ) <sup>+</sup> 計算値 1 3 5 5 . 5 0 8 6 実測値 1 3 5 5 . 5 0 7 1 m / z。

20

実施例 15 : 2 - アセトアミド - 4 - (ベンジルオキシカルボニル) アミノ - 3 - O - ベンジルオキシメチル - 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル - ( 1 4 ) - メチル ( 2 , 3 - ジ - O - ベンジル - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート - ( 1 3 ) - メチル ( 2 , 4 - ジ - O - ベンジル - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート - ( 1 1 ) - 2 - ( ベンジルチオ ) エタノール ( 1 7 \* ) :

30

## 【化 1 1 3】



40

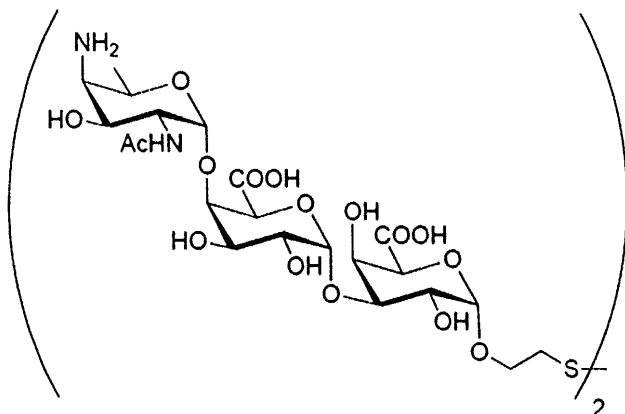
乾燥ピリジン (0.35 ml) 中にアジド 16\* (14.0 mg、10.5 μmol) を有する攪拌溶液に、0 でチオ酢酸 (0.35 ml) を加えた。混合物を室温に温め、その温度で 24 時間攪拌した。溶液を、トルエン (2 × 5 ml) を用いて共蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 1 : 10 ~ アセトン / ヘキサン 1 : 7 ~ 1 : 5 ~ 1 : 3) によって精製し、アセトアミド 17\* (9.4 mg、7.0 μmol、66%) を白色固体として得た。HRMS (ESI) C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O

50

$_{19}S(M+Na)^+$  計算値 1371.5281 実測値 1371.5314 m/z。  
 実施例 16: 2, 2' - ジチオビス [ 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリ  
 デオキシ - D - ガラクトピラノシル - ( 1 4 ) - D - ガラクトピラノシルウロ  
 ネート - ( 1 3 ) - D - ガラクトピラノシルウロネート - ( 1 1 ) - エタノール  
 ] ( 18\* ) :

【 0 3 5 3 】

【 化 1 1 4 】



10

【 0 3 5 4 】

THF ( 4 . 0 m l ) および MeOH ( 0 . 8 m l ) 中に、ジエステル 17\* を有する  
 攪拌溶液に、0 で、水中に NaOH の 1 M 溶液 ( 1 . 5 m l ) を加えた。反応物を室温  
 にゆっくり温め、16 時間攪拌した。反応物を、EtOAc ( 5 m l ) を用いて希釈し、  
 0 . 5 M の NaHSO<sub>4</sub> 水溶液を用いて pH 4 に酸性化した。分離後、水性画分を、Et  
 OAc ( 8 × 10 m l ) を用いて抽出し、合わせた有機画分を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、  
 濃縮し、白色固体として中間体二塩基酸を得た。

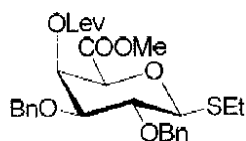
【 0 3 5 5 】

液体アンモニア ( 5 m l ) の攪拌溶液に、THF ( 15 m l ) 中に粗二塩基酸を有する  
 溶液を - 78 で加えた。混合物を、tBuOH ( 0 . 5 m l ) を用いて処理し、新たに  
 カットされたナトリウムのかたまり ( 45 m g ) を、深い青色が持続されるまで加えた。  
 反応物を、- 78 で 45 分間攪拌し、固体の酢酸アンモニウム ( 200 m g ) を添加す  
 ることによってクエンチした。溶液をアルゴン気流の下で、室温に温め、MeOH ( 2 ×  
 10 m l ) および水 ( 2 × 5 m l ) を用いて共蒸発させた。残渣を 16 時間空気下に放置  
 し、サイズ排除クロマトグラフィー ( セファデックス G - 25、1 : 1 MeOH / 5 m  
 M NH<sub>4</sub>OAc 水溶液 ) によって精製し、繰り返し凍結乾燥し、ジスルフィド 18\*  
 を白色固体として得た。HRMS ( MALDI ) C<sub>44</sub>H<sub>70</sub>N<sub>4</sub>O<sub>32</sub>S<sub>2</sub> ( M - H<sup>+</sup>  
 ) 計算値 1229.3330 実測値 1229.3342 m/z。

実施例 17: メチル ( エチル 2, 3 - O - ベンジル - 4 - O - レプリノイル - 1 - チオ -  
 - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート ( 19\* ) :

【 0 3 5 6 】

【 化 1 1 5 】



【 0 3 5 7 】

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ( 1 . 9 m l ) 中にアルコール 7\* ( 94 m g、0 . 217 m o l ) を有  
 する攪拌溶液に、室温でレプリン酸 ( 386 m g、3 . 26 m m o l )、DCC ( 673  
 m g、3 . 26 m m o l ) およびピリジン ( 0 . 26 m l、3 . 26 m m o l ) を加えた  
 。混合物をその温度で 35 時間攪拌し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ( 5 m l ) を用いて希釈し、セライ

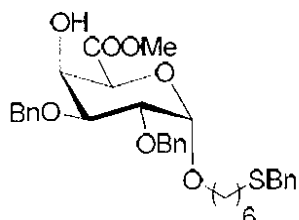
50

トに通してろ過した。混合物を濃縮し、残渣を $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1~3 mL) の最少容量で溶解し、脱脂綿に通してろ過した。同じ手順を3回繰り返した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / トルエン 1 : 1) によって精製し、エステル19\* (91 mg、0.171 mmol、79%) を淡黄色のオイルとして得た。HRMS (ESI)  $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_8\text{S} (\text{M}+\text{Na})^+$  計算値553.1872 実測値553.1872 m/z。

実施例18：メチル(2,3-ジ-O-ベンジル-D-ガラクトピラノシド)ウロネート-(1)-6-(ベンジルチオ)ヘキサノール(20\*)：

【0358】

【化116】



【0359】

チオグリコシド19\* (87 mg、0.164 mmol)、6-(ベンジルチオ)ヘキサノール21\* (85 mg、0.379 mmol)、およびTTBPY (97 mg、0.392 mmol) を、無水トルエン (3 x 10 mL) と共に共蒸発させ、高真空下で30分間保った。混合物を、 $\text{Et}_2\text{O}$  (2.5 mL)、および $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0.83 mL) の溶液に溶解し、活性化されたモレキュラーシーブ (3) を加え、30分間、室温で撹拌した。溶液を0℃に冷却し、DMTST (63.5 mg、0.246 mmol) を用いて処理した。反応物を、室温まで温め、8時間その温度で撹拌した。反応を、1 : 1 (v/v) のMeOHおよびトリエチルアミン (0.1 mL) を用いてクエンチし濃縮した。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー (EtOAc /  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  / ヘキサン 0 : 0 : 1 ~ 1 : 2 : 1) によってろ過し、分離できない混合物として対応するグリコシド (60 mg) を得た。

【0360】

乾燥 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.2 mL) 中にグリコシド混合物を有する撹拌溶液に、室温で最初にピリジン (195  $\mu\text{L}$ 、2.411 mmol) および酢酸 (137  $\mu\text{L}$ 、2.393 mmol) の混合物、その後、ヒドラジン水和物 (5.9  $\mu\text{L}$ 、0.121 mmol) を加えた。混合物を2時間その温度で撹拌し、EtOAc (2 mL) を用いて希釈し、アセトン (0.1 mL) を用いてクエンチし、水 (15 mL) に注いだ。水相を、EtOAc (4 x 10 mL) を用いて抽出し、合わせた有機抽出物を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 1 : 2) によって精製し、アルコール20\* (29 mg、0.049 mmol、2ステップで30%) を透明オイルとして、対応する異性体 (22 mg、0.037 mmol、22%) と共に得た。HRMS (ESI)  $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_7\text{S} (\text{M}+\text{Na})^+$  計算値617.2544 実測値617.2542 m/z。

実施例19：6,6'-ジチオビス[D-ガラクトピラノシルウロネート-(1)-1-ヘキサノール] (22\*)：

【0361】

10

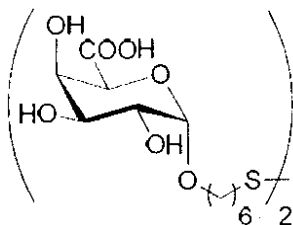
20

30

40



## 【化 1 1 7】



## 【 0 3 6 2】

THF (1.0 ml) および MeOH (0.5 ml) 中に、エステル 20\* (10 mg、0.017 mmol) を有する攪拌溶液に、0 で、NaOH の 1 M 水溶液 (0.8 ml) を加えた。反応物を室温に温め、16 時間攪拌した。反応を、EtOAc (5 ml)、および水 (5 ml) を用いて希釈し、0.5 M の NaHSO<sub>4</sub> 水溶液を用いて pH 4 に酸性化した。分離後、水性画分を、EtOAc (8 × 5 ml) を用いて抽出し、合わせた有機画分を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮し、白色固体として中間体酸を得た。

10

## 【 0 3 6 3】

液体アンモニア (8 ml) の攪拌溶液に、THF (2 ml) 中に粗二塩基酸を有する溶液を -78 で加えた。混合物を、tBuOH (0.4 ml) を用いて処理し、新たにカットされたナトリウムのかたまり (45 mg) を、深い青色が持続されるまで加えた。反応物を、-78 で 45 分間攪拌し、固体の酢酸アンモニウム (100 mg) の添加によってクエンチした。溶液をアルゴン気流の下で、室温に温め、MeOH (2 × 10 ml) および水 (2 × 5 ml) を用いて共蒸発させた。残渣を 16 時間空気下に放置し、サイズ排除クロマトグラフィー (セファデックス G-25、9:1 MeOH / 5 mM NH<sub>4</sub>OAc 水溶液) によって精製し、繰り返して凍結乾燥し、ジスルフィド 22\* (3.1 mg、5.1 μmol、2 ステップで 60%) を白色固体として得た。HRMS (MALDI) C<sub>24</sub>H<sub>42</sub>O<sub>14</sub>S<sub>2</sub> (M - H<sup>+</sup>) 計算値 617.1938 実測値 617.1954 m/z。

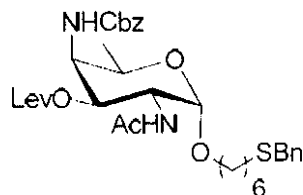
20

実施例 20: 2 - アセトアミド - 4 - (ベンジルオキシカルボニル) アミノ - 3 - O - レブリノイル - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル - (1 → 1) - 6 - (ベンジルチオ) ヘキサノール (23\*):

30

## 【 0 3 6 4】

## 【化 1 1 8】



## 【 0 3 6 5】

6 - (ベンジルチオ) ヘキサノール 21\* (29 mg、0.171 mmol)、およびリン酸グリコシル 2\* (70 mg、0.114 mmol) を、乾燥トルエン (3 × 10 ml) と共に共蒸発させ、高真空下で 30 分間保った。混合物を、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.8 ml) に溶解し、活性化されたモレキュラーシーブ (4 - ÅW) を加え、1 時間、室温で攪拌した。溶液をその後 0 に冷却し、TMSOTf (0.2 ml の乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中に、31 μl、0.171 mmol) を用いて処理した。混合物を、3 時間その温度で攪拌し、反応を、1:1 (v/v) の MeOH およびトリエチルアミン (0.5 ml) を用いてクエンチし、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml) を用いて希釈し、セライトに通してろ過した。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 2:3 ~ 3:2) によってろ過し、分離できない / 混合物として対応するグリコシド (57 mg) を得た。

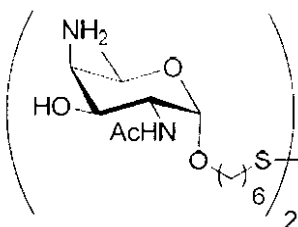
40

## 【 0 3 6 6】

50

乾燥ピリジン (0.9 ml) 中にグリコシド混合物を有する攪拌溶液に、0 でチオ酢酸 (0.9 ml) を加えた。混合物を、室温に温め、24 時間その温度で攪拌した。溶液を、トルエン (2 × 5 ml) を用いて共蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 1 : 2 ~ 2 : 1 ~ 6 : 1) によって精製し、アセトアミド 23<sup>\*</sup> (22 mg、0.034 mmol、2 ステップで 29%) を白色固体として、対応する - 異性体 (21.6 mg、0.034 mmol、29%) と共に得た。HRMS (ESI) C<sub>34</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S (M + Na)<sup>+</sup> 計算値 665.2872 実測値 665.2865 m/z。

実施例 21 : 6, 6' - ジチオビス [2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル - (1 → 1) - 1 - ヘキサノール] (24<sup>\*</sup>) :  
【0367】  
【化119】



【0368】

乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.0 ml) 中にエステル 23<sup>\*</sup> (10 mg、0.016 mmol) を有する攪拌溶液に、室温で最初にピリジン (38 μl、0.467 mmol) と酢酸 (24.9 μl、0.436 mmol) との混合物を加え、その後ヒドラジン水和物 (1.0 μl、0.020 mmol) を加えた。混合物を、2 時間その温度で攪拌し、アセトン (0.1 ml) を用いてクエンチし、サイズ排除クロマトグラフィー (セファデックス LH-20、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH 2 : 1) によって精製し、対応するアルコールを透明なオイルとして得た。

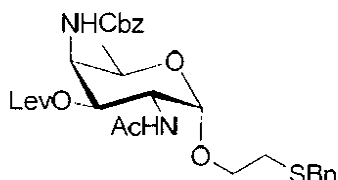
【0369】

液体アンモニア (5 ml) の攪拌溶液に、THF (1.2 ml) 中に中間体アルコールを有する溶液を -78 で加えた。混合物を、tBuOH (0.5 ml) を用いて処理し、新たにカットされたナトリウムのかたまり (80 mg) を、深い青色が持続されるまで加えた。反応物を、-78 で45 分間攪拌し、固体の酢酸アンモニウム (100 mg) に添加することによってクエンチした。溶液をアルゴン気流の下で、室温に温め、MeOH (2 × 10 ml) および水 (2 × 5 ml) を用いて共蒸発させた。残渣を16 時間空気に放置し、サイズ排除クロマトグラフィー (セファデックス G-25、9 : 1 MeOH / 5 mM NH<sub>4</sub>OAc 水溶液) によって精製し、繰り返して凍結乾燥し、ジスルフィド 24<sup>\*</sup> (1.7 mg、2.7 μmol、2 ステップで 33%) を白色固体として得た。HRMS (ESI) C<sub>28</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> (M + Na)<sup>+</sup> 計算値 661.3281 実測値 661.3306 m/z。

実施例 22 : 2 - アセトアミド - 4 - (ベンジルオキシカルボニル) アミノ - 3 - O - レブリノイル - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル - (1 → 1) - 2 - (ベンジルチオ) エタノール (25<sup>\*</sup>) :

【0370】

【化120】



【0371】

2 - (ベンジルチオ)エタノール 11<sup>\*</sup> (71 mg、0.421 mmol)、およびリン酸グリコシル 2<sup>\*</sup> (171 mg、0.281 mmol) を、乾燥トルエン (3 × 10 ml) と共に共蒸発させ、高真空下で 30 分間保った。混合物を、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.8 ml) に溶解し、活性化されたモレキュラーシーブ (4 - AW) を加え、1 時間、室温で撹拌した。溶液を -40 に冷却し、TMSOTf (0.2 ml の乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中に、56 μl、0.309 mmol) を用いて処理した。混合物を、0 にゆっくり温め (2 時間)、1 : 1 (v/v) の MeOH とトリエチルアミンとの混合物 (0.5 ml) を用いてクエンチし、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 ml) を用いて希釈し、セライトに通してろ過し濃縮した。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 1 : 3 ~ 1 : 1) によって精製し、対応する - グリコシド (22 mg、0.039 mmol、14 %) と共に、対応する - グリコシド (55 mg、0.096 mmol、34 %) を得た。

10

## 【0372】

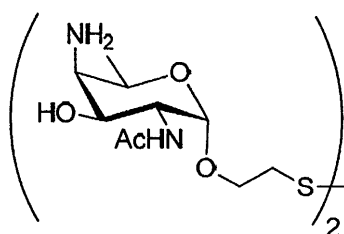
乾燥ピリジン (0.4 ml) 中に中間体 - グリコシド (40 mg、0.070 mmol) を有する撹拌溶液に、0 でチオ酢酸 (0.4 ml) を加えた。混合物を、室温に温め、24 時間その温度で撹拌した。溶液を、トルエン (2 × 5 ml) を用いて共蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン 1 : 3 ~ アセトン / ヘキサン 1 : 2 ~ 2 : 3) によって精製し、アセトアミド 25<sup>\*</sup> (31 mg、0.053 mmol、76 %) を白色固体として得た。HRMS (ESI) C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S (M + Na)<sup>+</sup> 計算値 609.2246 実測値 609.2256 m/z。

実施例 23 : 6, 6' - ジチオビス [2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル - (1 → 1) - 1 - エタノール] (26<sup>\*</sup>) :

20

## 【0373】

## 【化121】



30

## 【0374】

乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3.0 ml) 中にエステル 25<sup>\*</sup> (20.7 mg、0.035 mmol) を有する撹拌溶液に、室温で最初にピリジン (86 μl、1.058 mmol) と酢酸 (57 μl、0.988 mmol) との混合物を加え、その後ヒドラジン水和物 (3.4 μl、0.071 mmol) を加えた。混合物を、5 時間その温度で撹拌し、EtOAc (2 ml) を用いて希釈し、アセトン (0.1 ml) を用いてクエンチし、水 (10 ml) に注いだ。水相を、EtOAc (4 × 5 ml) を用いて抽出し、合わせた有機画分を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー (アセトン / ヘキサン 1 : 1) によって精製し、中間体アルコール (17.5 mg) を白色固体として得た。

40

## 【0375】

液体アンモニア (6 ml) の撹拌溶液に、THF (1.5 ml) 中に中間体アルコールを有する溶液を -78 で加えた。混合物を、tBuOH (0.5 ml) を用いて処理し、新たにカットされたナトリウムのかたまり (45 mg) を、深い青色が持続されるまで加えた。反応物を、-78 で 45 分間撹拌し、固体の酢酸アンモニウム (100 mg) の添加によってクエンチした。溶液をアルゴン気流の下で、室温に温め、MeOH (2 × 10 ml) および水 (2 × 5 ml) を用いて共蒸発させた。残渣を 16 時間空気下に放置し、サイズ排除クロマトグラフィー (セファデックス G - 25、1 : 10 MeOH / 5 mM NH<sub>4</sub>OAc 水溶液) によって精製し、繰り返して凍結乾燥し、ジアセテート塩と

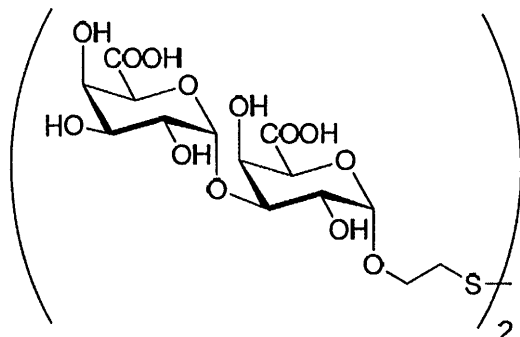
50

してジスルフィド 26\* (7.91 mg、12.3  $\mu\text{mol}$ 、2ステップで70%)を白色固体として得た。HRMS (ESI)  $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2$  ( $\text{M} + \text{Na}$ )<sup>+</sup> 計算値 549.2029 実測値 549.2086 m/z。

実施例 24: 2, 2'-ジチオビス[ -D-ガラクトピラノシルウロネート-(1 3)-D-ガラクトピラノシルウロネート-(1 1)-1-エタノール] (27\*) :

【0376】

【化122】



10

【0377】

THF (0.6 ml)、および MeOH (0.3 ml) の溶液中にエステル 13\* (8.6 mg、9.5  $\mu\text{mol}$ ) を有する攪拌溶液に、0 で、水中に NaOH が 1 M となる溶液 (0.5 ml) を加えた。反応物を室温にゆっくり温め、16 時間攪拌した。反応物を EtOAc (5 ml) および水 (5 ml) を用いて希釈し、0.5 M NaHSO<sub>4</sub> 水溶液を用いて pH 4 に酸性化した。分離後、水性画分を、EtOAc (8 x 5 ml) を用いて抽出し、合わせた有機画分を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮し、白色固体として中間体二塩基酸を得た。

20

【0378】

液体アンモニア (6 ml) の攪拌溶液に、THF (1.5 ml) 中に粗二塩基酸を有する溶液を -78 で加えた。混合物を、tBuOH (0.4 ml) を用いて処理し、新たにカットされたナトリウムのかたまり (75 mg) を、深い青色が持続されるまで加えた。反応物を、-78 で 45 分間攪拌し、固体の酢酸アンモニウム (100 mg) の添加によってクエンチした。溶液をアルゴン気流の下で、室温に温め、MeOH (2 x 10 ml) および水 (2 x 5 ml) を用いて共蒸発させた。残渣を 16 時間空気下に放置し、サイズ排除クロマトグラフィー (セファデックス G-25、1:9 MeOH / 5 mM NH<sub>4</sub>OAc 水溶液) によって精製し、繰り返して凍結乾燥し、ジスルフィド 27\* (2.5 mg、2.9  $\mu\text{mol}$ 、2ステップで61%)を白色固体として得た。HRMS (MALDI)  $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_{26}\text{S}_2$  ( $\text{M} - \text{H}$ )<sup>+</sup> 計算値 901.0966 実測値 901.0981 m/z。

30

実施例 25: 複合糖質の合成 一般式 (I) のサッカライドの CRM<sub>197</sub> への共役 :

0.1 M リン酸ナトリウムバッファー (NaPi) pH 7.4 (1 ml) 中に CRM<sub>197</sub> を有する攪拌溶液に、室温で、DMF (20  $\mu\text{l}$ ) 中にスクシンイミジル-3-(プロモアセトアミド) プロピオネート (SBAP) (264  $\mu\text{g}$ 、863 nmol) を有する溶液を加えた。混合物を、その温度で 1 時間攪拌し、膜ろ過 (アミコンウルトラ (Amicon Ultra) 遠心分離 (centrifuge) 膜、10 kDa カットオフ) を用いて濃縮した。タンパク質溶液を 0.1 M NaPi pH 7.4 を用いて希釈し、再び濃縮した。この工程を 3 回繰り返し、溶液を、0.1 M NaPi pH 7.4 を用いて 1 ml に希釈した。120  $\mu\text{l}$  の 0.1 M NaPi pH 7.4 中に一般式 (I) の中間体 (690 mmol) を有する溶液を、室温で、トリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン (TCEP) (690 mmol) と共に処理し、アルゴン雰囲気下その温度で 1 時間放置し、プロモアセトアミド修飾 CRM<sub>197</sub> を有する溶液に、室温で、加え

40

50

た。混合物を室温で2時間、その後4 で16時間放置し、膜ろ過を用いて精製した（上記参照）。その後、0.1M NaPi pH7.4（1ml）中に精製された複合糖質を有する溶液を、100μlの水中にL-システイン（417μg、3.45μmol）を有する溶液と室温で処理した。混合物をその温度で2時間放置し、膜ろ過によって精製した。一般式（I）のサッカライドの複合糖質への取り込みを、MALDI-TOF-MS、SDS-PAGE、および直角光散乱検出器（SEC-RALS）を有するサイズ排除クロマトグラフィーによって評価した。

#### 【0379】

実施例26：複合糖質の合成 一般式（I）のサッカライドの免疫調節特性を有するスフィンゴ糖脂質への共役の流れ

環状のテフロンAF2400チューブ（566μl）を装着している光化学的フローリアクターを用いることによって（Chem. Eur. J. 2013, 19, 3090）、水（300μl）中に一般式（I）のサッカライド（1.5当量）を有する溶液を、水（300μl）およびAcOH中にペンテニル修飾された（2S, 3S, 4R）-1-（-D-ガラクトピラノシル）-2-ヘキサコサノイルアミノオクタデカン-3, 4-ジオール（1当量）を有する溶液と反応させる（8μl；滞留時間：10分、流速：シリンジごとに28.3μl/min<sup>-1</sup>）。リアクターアウトプットは凍結乾燥され、粗物質を、サイズ排除クロマトグラフィー（セファデックスG-25、水中に5% EtOH、10mm×150mm）を用いて精製し、修飾された（2S, 3S, 4R）-1-（-D-ガラクトピラノシル）-2-ヘキサコサノイルアミノオクタデカン-3, 4-ジオールに共有結合した一般式（I）のサッカライドの複合糖質を、白色固体として得た。

実施例27：複合糖質の合成 2-アセトアミド-4-アミノ-2, 4, 6-トリデオキシ- -D-ガラクトピラノシル-（1 4）-（-D-ガラクトピラノシル）ウロネート-（1 3）-（-D-ガラクトピラノシル）ウロネート-（1 1）-2-（チオ）エタノールのBSAへの共役

0.1Mリン酸ナトリウムバッファ（NaPi）pH7.4（1mL）中にBSA（0.5mg、7.6nmol）を有する攪拌溶液に、DMF（20μl）中にN-スクシンイミジル-3-（プロモアセトアミド）プロピオネート（SBAP）（89μg、290nmol）を有する溶液を室温に加えた。混合物を、室温で1時間攪拌し、膜ろ過（アミコン（Amicon）ウルトラ（Ultra）遠心式（centrifuge）膜、10kDa カットオフ）を用いて濃縮した。タンパク質溶液を0.1M NaPi pH7.4を用いて希釈し、再び濃縮した。この工程を3回繰り返し、溶液を、水を用いて0.5mLに希釈した。20μLを分析のために取り、タンパク質溶液を、膜ろ過を用いて0.1M NaPi pH7.4に再バッファ化した。120μlの0.1M NaPi pH7.4中に、ジスルフィド18\*（モノマーに対してそれぞれ140μg、228nmol）を有する溶液を、室温で、トリス（2-カルボキシエチル）ホスフィン（TCEP）（250mmol）と共に処理し、アルゴン雰囲気下その温度で1時間放置し、活性化されたタンパク質を有する溶液に、室温で、加えた。混合物を4 で16時間放置し、膜ろ過を用いて精製した（上記参照）。水を用いて洗浄し、0.5mLに希釈後、分析サンプル（20μL）を取り、溶液を再バッファ化した。0.1M NaPi pH7.4（0.5mL）中に精製された複合糖質を有する溶液を、100μlの水中にL-システイン（417μg、3.45μmol）を有する溶液と室温で処理した。混合物をその温度で2時間放置し、膜ろ過によって精製した。2-アセトアミド-4-アミノ-2, 4, 6-トリデオキシ- -D-ガラクトピラノシル-（1 4）-（-D-ガラクトピラノシル）ウロネート-（1 3）-（-D-ガラクトピラノシル）ウロネート-（1 1）-2-（チオ）エタノールの複合糖質への取り込みを、MALDI-TOF-MS（ポジティブモード）によって評価した。

測定された分子量：

BSA：66341m/z

BSA-SBAP共役体：68316m/z（約10個のSBAP基の取り込み）

B S A - S B A P 複合糖質：6 9 1 0 m / z ( 約 1 . 3 分子の 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - - D - ガラクトピラノシル - ( 1 4 ) - ( - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート - ( 1 3 ) - ( - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート - ( 1 1 ) - 2 - ( チオ ) エタノールの取り込み )

L - システインを用いてクエンチ後の B S A - S B A P 複合糖質：7 2 0 7 4 m / z ( 約 2 4 . 5 個の L - システイン分子の取り込み )

実施例 2 8 : 複合糖質の合成 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - - D - ガラクトピラノシル - ( 1 4 ) - ( - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート - ( 1 3 ) - ( - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート - ( 1 1 ) - 2 - ( チオ ) エタノールの B S A への共役

0 . 1 M リン酸ナトリウムバッファ ( N a P i ) p H 7 . 4 ( 1 m L ) 中に B S A ( 0 . 5 m g , 7 . 6 n m o l ) を有する攪拌溶液に、D M F ( 2 0 μ l ) 中に N - スクシンイミジル - 3 - マレイミドプロピオネート ( 1 0 1 μ g , 3 8 0 n m o l ) を有する溶液を室温に加えた。混合物を、室温で 1 時間攪拌し、膜ろ過 ( アミコン ( A m i c o n ) 0 . 5 m L ウルトラ ( U l t r a ) 遠心式 ( c e n t r i f u g e ) 膜、1 0 k D a カットオフ) を用いて濃縮した。タンパク質溶液を 0 . 1 M N a P i p H 7 . 4 を用いて希釈し、再び濃縮した。この工程を 3 回繰り返す、溶液を、水を用いて 0 . 5 m L に希釈した。2 0 μ L を分析のために取り、タンパク質溶液を、膜ろ過を用いて 0 . 1 M N a P i p H 7 . 4 に再バッファ化した。1 2 0 μ l の 0 . 1 M N a P i p H 7 . 4 中に、ジスルフィド 1 8 \* ( モノマーに対してそれぞれ 1 4 0 μ g , 2 2 8 n m o l ) を有する溶液を、室温で、トリス ( 2 - カルボキシエチル ) ホスフィン ( T C E P ) ( 2 5 0 m m o l ) と共に処理し、アルゴン雰囲気下その温度で 1 時間放置し、活性化されたタンパク質を有する溶液に、室温で、加えられた。混合物を 4 で 1 6 時間放置し、膜ろ過を用いて精製した ( 上記参照 ) 。水を用いて洗浄し、0 . 5 m L に希釈後、分析サンプル ( 2 0 μ L ) を取り、溶液を再バッファ化した。0 . 1 M N a P i p H 7 . 4 ( 0 . 5 m l ) 中に精製された複合糖質を有する溶液を、1 0 0 μ l の水中に L - システイン ( 4 1 7 μ g , 3 . 4 5 μ m o l ) を有する溶液と室温で処理した。混合物をその温度で 2 時間放置し、膜ろ過によって精製した。グリカンの複合糖質への取り込みを、M A L D I - T O F - M S ( ポジティブモード ) によって評価した。

測定された分子量：

B S A : 6 6 3 4 1 m / z

B S A - マレイミド共役：6 9 2 5 4 m / z ( 約 1 9 個のマレイミド基の取り込み )

B S A - マレイミド複合糖質：7 1 3 4 0 m / z ( 約 3 . 4 分子の 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2 , 4 , 6 - トリデオキシ - - D - ガラクトピラノシル - ( 1 4 ) - ( - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート - ( 1 3 ) - ( - D - ガラクトピラノシル ) ウロネート - ( 1 1 ) - 2 - ( チオ ) エタノールの取り込み )

L - システインを用いてクエンチ後の B S A - マレイミド複合糖質：7 2 1 0 6 m / z ( 約 6 . 3 個の L - システイン分子の取り込み )

実施例 2 9 : 固体担体への共役 G A P S I I スライドを用いたマイクロアレイ合成

マレイミド - 機能化マイクロアレイを、ジイソプロピルエチルアミン ( 2 . 5 % v / v ) と共に、乾燥 D M F 中に 6 - マレイミドヘキサノ酸 N - ヒドロキシスクシンイミドエステル ( 2 m M ) を有する溶液中にアミン被覆されたスライド ( G A P S I I スライド、コーニング ( C o r n i n g ) ) を 2 4 時間、室温で浸すことによって生成した。スライドを、水を用いて 3 回洗浄、エタノールを用いて 3 回洗浄し、乾燥まで遠心分離し、スポットがつくまでアルゴン下で保存した。希釈された一般式 ( I ) のサッカライドを、スポットにつき 0 . 4 n L で、自動圧電配列ロボット ( サイエニオン社 ( S c i e n i o n ) 、ベルリン、ドイツ) によって修飾マイクロアレイスライドに印刷した。固定化反応の完結のために、印刷されたスライドを、加湿チャンバーに保存した。

【 0 3 8 0 】

マイクロアレイスライドを、水を用いて 3 回洗浄した。未反応のマレイミドを、スライ

10

20

30

40

50

ドをPBS中に  $\gamma$ -メルカプトエタノール (0.1%, v/v) を有する溶液に、1時間室温で浸すことによってクエンチした。スライドを、水を用いて、およびエタノールを用いて3回洗浄し、乾燥まで遠心分離し、PBS中にBSA (1%, w/v) を有する溶液で、1時間室温でブロックした。ブロックされたスライドを洗浄し (2 x PBS、3 x 水)、遠心分離し、血清希釈液と共にインキュベートした。

実施例30：固体担体への共役 コードリンク (Code Link) NHSスライドを用いてのマイクロアレイの合成

コードリンク (Code Link) NHSスライドを24時間 (PBS中に1% w/v) インキュベートした。スライドをブロッキングバッファー (50 mM NaPi中に100 mMエタノールアミン pH > 9) 中で、30分間室温でインキュベートし、水およびエタノールを用いてそれぞれ3回洗浄し、乾燥した。スライドは、その後、マレイミド機能化および印刷を受けた (実施例29参照)。

10

実施例31：実施例29および実施例30に記述される手順に従って合成されたマイクロアレイを用いた結合実験

結合実験を、蛍光標識された抗ウサギ、または抗ヒト二次抗体を用いて、天然のSP1ポリサッカライドの存在下、または非存在下で示される希釈液において、ウサギ抗-SP1型血清、またはヒト肺炎球菌標準血清007 sp (ニューモバックスワクチンを用いて免疫付与された287人のプール血清) のいずれかを用いて被覆されたマイクロアレイスライドをインキュベートすることによって行った。

実施例32：リンカーAの、および内部連結分子の免疫原性の評価

20

本発明に係る複合糖質1、すなわち

$H - (P)_{n_3} - (N)_{n_2} - (M)_{n_3} - O - A - S$  - 残りの内部連結分子1 - 免疫原性担体1

のように内部連結分子1を介して免疫原性担体1に連結されるリンカーAを示す一般式 (I) のサッカライドを含む複合糖質、

を調製するのに使用されるリンカーAの、および内部連結分子の免疫原性をチェックするために、

下記の3つの複合糖質を合成する必要がある：

複合糖質2：

$H - (P)_{n_3} - (N)_{n_2} - (M)_{n_3} - O - A - S$  - 残りの内部連結分子2 - 免疫原性担体2；

30

複合糖質3

ガラクトース -  $O - A - S$  - 残りの内部連結分子1 - 免疫原性担体2；

複合糖質4

ガラクトース -  $O - A - S$  - 残りの内部連結分子2 - 免疫原性担体2；

免疫原性担体2は、免疫付与において使用される免疫原性担体1に無関係でなければいけない。例えば、CRM197を、複合糖質1を調製するために使用する場合、BSAを免疫原性担体2として使用することができる。

【0381】

ガラクトースは、本発明に係るサッカライド、すなわち  $H - (P)_{n_3} - (N)_{n_2} - (M)_{n_3} - OH$  に無関係であるように、複合糖質3を調製するのに選択された。

40

複合糖質2の調製のために使用される内部連結分子2は、内部連結分子1に無関係でなければいけない。例えば、スルホ-GMB Sを、内部連結分子1として使用した場合、無関係な内部連結分子2はスルホS I A Bになるだろう。

【0382】

免疫原性担体2、内部連結分子2、および無関係なサッカライドの選択は、複合糖質の合成の分野の当業者にとって明らかである。

E L I S A プロトコル

96ウェルプレートに、PBS中に各複合糖質 (50  $\mu$ g/ml) を有する溶液の50  $\mu$ lを用いて1時間37℃で被覆した。プレートを100  $\mu$ lの洗浄バッファー (PBS

50

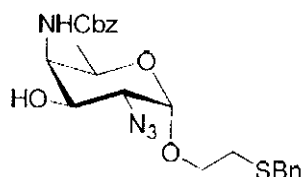
【 0 3 8 3 】

10

実施例 33 : 2 - アジド - 4 - ( ベンジルオキシカルボニル ) アミノ - 2 , 4 , 6 - トリ  
デオキシ - D - ガラクトピラノシル - ( 1 1 ) - 6 - ( ベンジルチオ ) エタノール  
( 28 \* ) :

【 0 3 8 4 】

【化 1 2 3】



20

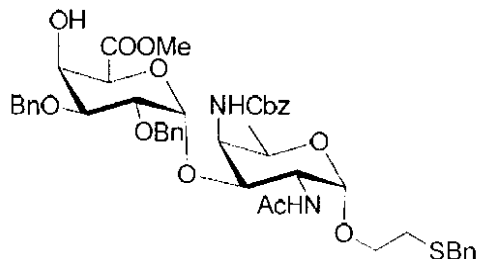
【 0 3 8 5 】

30

実施例 34：メチル（2，3 - ジ - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシル）ウロネート - （1 3） - 2 - アジド - 4 - （ベンジルオキシカルボニル）アミノ - 2，4，6 - トリデオキシ - - D - ガラクトピラノシル - （1 1） - 2 - （ベンジルチオ）エタノール（29\*）

【 0 3 8 6 】

【化 1 2 4】



40

【 0 3 8 7 】

アルコール 28<sup>\*</sup> ( 13 mg、 0.028 mmol )、TTBP y ( 45、 0.138

50



mmol)、およびチオグリコシド19\* (37mg、0.069mmol)を、乾燥トルエン(3×10mL)と共に共蒸発させ、高真空下で1時間保った。混合物を、乾燥THF(1.5mL)に溶解し、活性化されたモレキュラーシーブ(3)で、30分間、室温で撹拌した。溶液を0に冷却し、DMTST(0.2mL DCM中、17mg、0.069mmol)を滴下して処理した。混合物を室温に温め、2時間後、DCM中にさらなるDMTSTを有する溶液(2当量)を用いて処理した。反応を16時間撹拌し、10%Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>水溶液および飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(5mL)の1:1(v/v)混合物を用いてクエンチした。混合物を、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3×10mL)を用いて抽出し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ濃縮した。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー(EtOAc/ヘキサン 1:2)によって精製し、中間体ジサッカライドを透明なオイルとして得た。

10

## 【0388】

乾燥ピリジン(0.2mL)中に中間体ジサッカライドを有する撹拌溶液に、0でチオ酢酸(0.2mL)を加えた。混合物を室温に温め、その温度で24時間撹拌した。溶液を、トルエン(2×5mL)を用いて共蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー(EtOAc/ヘキサン 1:3~アセトン/ヘキサン 1:2)によって精製し、中間体アセトアミドを白色泡として得た。

## 【0389】

乾燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(0.6mL)およびMeOH(60μL)中に中間体アセトアミドを有する撹拌溶液に、室温で最初にピリジン(12μL、0.16mmol)および酢酸(8μL、0.15mmol)の混合物を加え、その後ヒドラジン水和物(1μL、0.021mmol)を加えた。混合物を、3時間その温度で撹拌し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(2mL)を用いて希釈し、アセトン(0.1mL)を用いてクエンチし、水(5mL)に注いだ。水相を、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(4×5mL)を用いて抽出し、合わせた有機層画分をNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ濃縮した。残渣を、フラッシュクロマトグラフィー(アセトン/ヘキサン 0:1~1:1)によって精製し、アセトアミド29\*(2.7mg、3.14μmol、回収された28\*に基づいて3ステップで21%)を白色泡として得た。HRMS(ESI)C<sub>46</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>S(M+Na)<sup>+</sup> 計算値881.3295 実測値881.3286m/z。

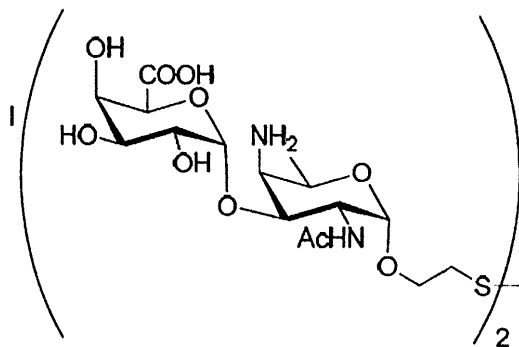
20

実施例35: 2, 2'-ジチオビス[ -D-ガラクトピラノシルウロネート-(1 3)-2-アセトアミド-4-アミノ-2, 4, 6-トリデオキシ- -D-ガラクトピラノシル-(1 1)-1-エタノール](30\*)

30

## 【0390】

## 【化125】



40

## 【0391】

THF(1mL)およびMeOH(0.25mL)中にエステル29\*(2.7mg、3.14μmol)を有する撹拌溶液に、1MのNaOH水溶液(0.4mL)を0で加えた。反応物をゆっくり室温に温め、16時間撹拌した。反応物を、EtOAc(5mL)および水(5mL)を用いて希釈し、0.5MのNaHSO<sub>4</sub>水溶液を用いてpH4に酸性化した。分離後、水性画分を、EtOAc(8×5mL)を用いて抽出し、合わせ

50

た有機画分を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濃縮し、白色固体として中間体二塩基酸を得た。

【0392】

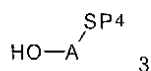
液体アンモニア (10 ml) の攪拌溶液に、THF (1.5 ml) 中に粗二塩基酸を有する溶液を -78 で加えた。混合物を、tBUOH (0.4 ml) を用いて処理し、新たにカットされたナトリウムのかたまり (80 mg) を、深い青色が持続されるまで加えた。反応物を、-78 で45分間攪拌し、固体の酢酸アンモニウム (100 mg) を添加することによってクエンチした。溶液をアルゴン気流の下で、室温に温め、MeOH (2 × 10 ml) および水 (2 × 5 ml) を用いて共蒸発させた。残渣を16時間空気下に放置し、サイズ排除クロマトグラフィー (セファデックス G-25、1:3 MeOH / 5 mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$  水溶液) によって精製し、繰り返して凍結乾燥し、ジスルフィド 30<sup>\*</sup> (1.15 mg、2.61  $\mu\text{mol}$ 、2ステップで83%) を白色固体として得た。  
<sup>1</sup>H NMR (600 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) 5.16 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 5.02 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 4.49 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 4.44 - 4.35 (m, 1H), 4.34 - 4.20 (m, 2H), 4.15 - 4.04 (m, 1H), 4.00 - 3.78 (m, 5H), 3.06 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.41 (d, J = 6.6 Hz, 3H)。LRMS  $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_{20}\text{S}_2$  ( $\text{M} + 2\text{H}$ )<sup>2+</sup> 計算値 440.4 実測値 440.2 m/z。

10

実施例 36: 本発明に係る一般式 3 の化合物にアクセセルするための一般的手順

【0393】

【化126】



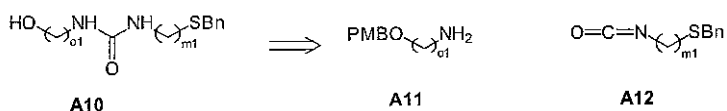
20

【0394】

実施例 36. 1

【0395】

【化127】



30

【0396】

12 ml の  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中にイソシアネート A12 (2.70 mmol) を有する溶液に、アミン (1.05 当量、2.83 mmol) を加えた。反応混合物を12時間大気温度で攪拌し、その後真空内で濃縮した。粗物質を、 $\text{Et}_2\text{O}$  中で溶解し、続いてヘキサンを添加した。その後、ウレアを沈殿しろ過し、生成物を得た。

【0397】

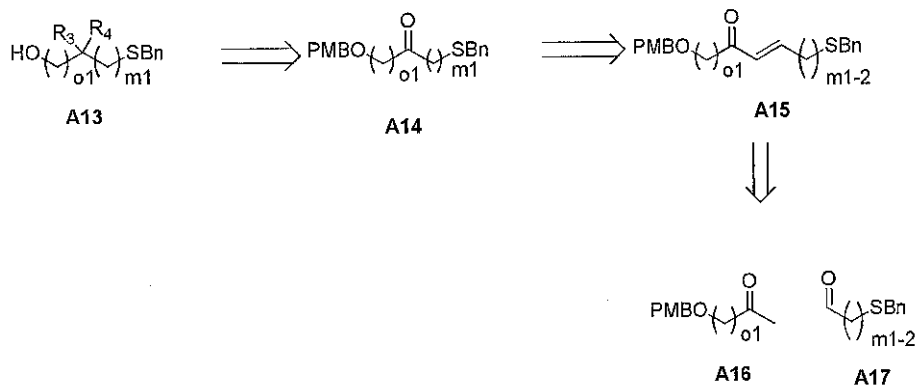
無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 mL) 中に p-メトキシベンジルエーテル保護されたウレア化合物 (0.4 mmol)、および 1, 3, 5-トリメトキシベンゼン (0.2 mmol) の混合物を有する溶液を、無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1 mL) 中にヘキサフルオロアンチモン酸銀 (20  $\mu\text{mol}$ 、5 mol%) を有する溶液にカニユーレを介して加えた。反応混合物を完了するまで加熱還流し、溶出剤としてジクロロメタンを用いてセライトの小さいパッドに通してろ過した。溶媒を真空内で除去し、粗残渣をフラッシュクロマトグラフィーによって精製し A10 を得た。

40

実施例 36. 2

【0398】

## 【化 1 2 8】



10

## 【 0 3 9 9】

ここで、 $\text{R}^3$  は Me を表し、 $\text{R}^4$  は OH を表す。

i-PrOH (100 mL) 中にアルデヒド A17 (1.0 mmol) およびケトン A16 (1.0 mmol) の混合物を有する溶液に、プロピオン酸 (0.1 mmol、10 mol%) およびピロリジン (0.1 mmol、10 mol%) を加えた。反応混合物を 45 で 1~25 時間撹拌した。NaHCO<sub>3</sub> を加え、混合物を、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (35 mL) を用いて抽出した。合わせた抽出物を、ブラインを用いて洗浄し、乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、真空内で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィーによって精製し、中間体の不飽和ケトン A15 を得た。

20

## 【 0 4 0 0】

THF 中に中間体の不飽和ケトン A15 (0.05 mmol) を有する A9.5 × 10<sup>-3</sup> M 溶液、および最近報告されたストライカー (Stryker's) 試薬 (0.025 mmol) を、共に混合して均一溶液を形成し、その溶液を室温で 2 時間撹拌した。反応を、飽和 NH<sub>4</sub>Cl を用いてクエンチした。混合物を 1 時間撹拌した。反応混合物をろ過し、残渣を、酢酸エチルを用いて洗浄した。有機相を分離し、水相を、酢酸エチルを用いて抽出した。合わせた有機相を、MgSO<sub>4</sub> を用いて乾燥させ、溶媒を真空下で除去した。残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィーによって精製し、ケトン A14 を得た。

30

## 【 0 4 0 1】

ニートなトリス・ノニルオキシメチルチタニウム (10.1 mmol) を二口丸底フラスコ内に置き、Ar 雰囲気にした。THF 中にケトン A14 (4.65 mmol) を有する溶液を加え、混合物を室温で 30 分間撹拌した。オレイン酸 (17.8 mmol) を加え、混合物を 110 に加熱した。生成物を濃縮し、フラッシュクロマトグラフィーによって精製し、中間体の第 3 級アルコールを得た。

## 【 0 4 0 2】

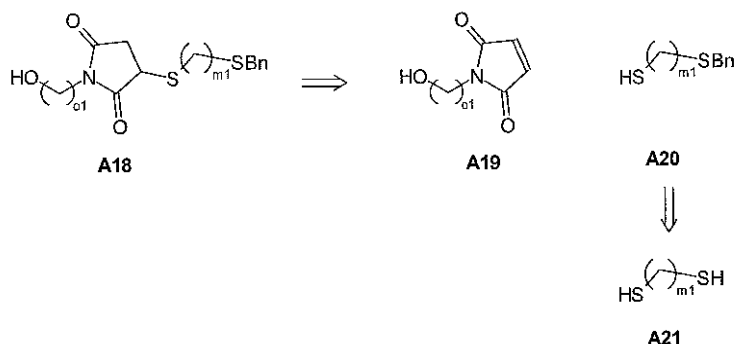
ジクロロメタン (5 mL) 中に PMB エーテル (0.1 mmol) を有する溶液に、POCl<sub>3</sub> (0.5 mmol) を加えて室温で撹拌した。反応の完結後、反応を氷水でクエンチし、有機層を分離し、水層を、ジクロロメタン (2 × 5 mL) を用いて抽出した。合わせた有機層を、ブライン溶液を用いて洗浄し、乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、EtOAc : ヘキサン) によって精製し、アルコール A13 を得た。

40

実施例 36.3

## 【 0 4 0 3】

## 【化 1 2 9】



10

## 【 0 4 0 4】

オープン乾燥させた250 mL丸底フラスコに、乾燥THF(100 mL)中に、1,3-プロパンジオール(20 mmol、1.1当量)、およびヨウ化テトラブチルアンモニウム(0.40 mmol、2.2 mol%)を有する溶液を装填した。混合物を室温で攪拌し、水素化ナトリウム(鉱油中に60%懸濁液、20 mmol、1.1当量)を一部分ずつ加えた。結果として生じる混合物を30分間攪拌し、その後、臭化ベンジル(18 mmol)を滴下した。溶液を室温で1時間攪拌し、その後、フリットファンネル(frit funnel)でろ過し、真空下で濃縮した。結果として生じる粗オイルを、真空下で蒸留し、無色オイルA20として表題の化合物を得た。

20

## 【 0 4 0 5】

無水DMF(2 mL)中にA19(0.11 mmol)を有する溶液に、チオールA20(0.22 mmol)を加えた。混合物を25℃で18時間攪拌し、その後、真空内で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィーによって精製し、A18を提供した。

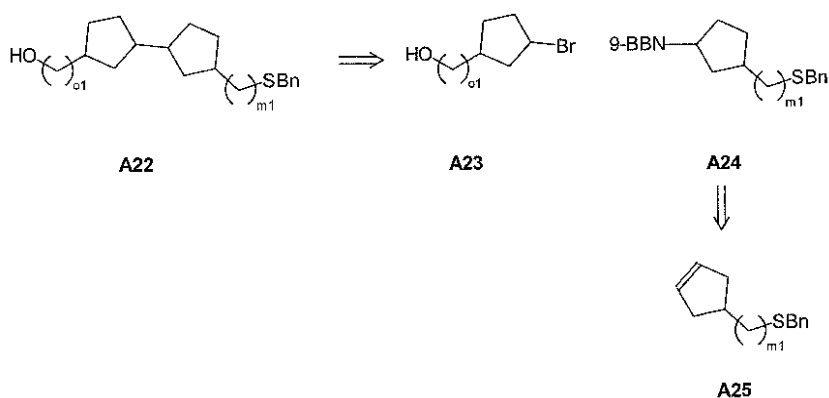
## 【 0 4 0 6】

一般式A20の種々のジチオール誘導体は市販されている。

## 実施例 36.4

## 【 0 4 0 7】

## 【化 1 3 0】



30

40

## 【 0 4 0 8】

新たにカットされたナトリウム金属(4.67 mmol)をイソプロパノール(10 mL)に溶解し、ベンジルメルカプタン(6.23 mmol)を加えた。イソプロパノール(5 mL)中に4-(プロモメチル)シクロペンタ-1-エン(1.55 mmol)を有する溶液を加え、その溶液を4日間加熱還流した。溶液を冷却して室温にし、水(50 mL)を用いて希釈し、ジエチルエーテル(3×50 mL)を用いて抽出した。合わせた有機抽出物を、0.1 Mの水酸化カリウム水溶液(2×50 mL)を用いて洗浄し、乾燥させ、蒸発させて、粗A25を得た。酢酸エチル/ヘキサンを用いて溶出するシリカゲルのカラムクロマトグラフィーにより表題の化合物A25を得た。

## 【 0 4 0 9】

50

磁気の撹拌バー、セプタム注入口、オイルバブラー、及び還流凝縮装置を備えている乾燥 50 mL フラスコを、窒素を用いてフラッシュした。フラスコに、アルケン A 2 5 ( 5 . 5 mmol ) および乾燥 THF ( 2 . 5 mL ) を加え、その後 9 - BBN ( THF 中に 0 . 5 M 水溶液、 5 . 5 mmol ) を有する溶液を 0 で加えた。混合物をゆっくり室温に温め、その後 4 ~ 6 時間撹拌し、B - アルキル - 9 - BBN A 2 4 の溶液を得た。

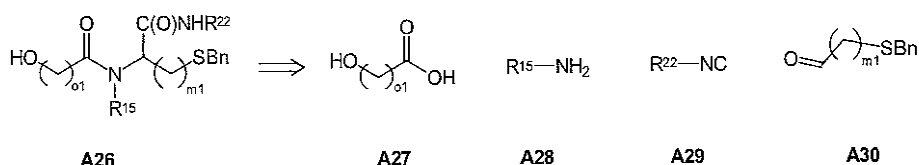
【 0 4 1 0 】

A 2 4 の上記ボラン溶液に、DMF - THF ( 2 5 mL )、PdCl<sub>2</sub>(dppf) ( 0 . 1 5 mmol )、ハロアルケン ( 5 mmol )、および粉末化 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ( 6 mmol ) を加えた。混合物を 8 時間 50 で撹拌し、その後水に注いだ。生成物を、ベンゼンを用いて抽出し、水を用いて 4 回洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させた。酢酸エチル / ヘキサンを用いて溶出するシリカゲルのカラムクロマトグラフィーにより表題の化合物 A 2 2 を得た。

実施例 3 6 . 5

【 0 4 1 1 】

【 化 1 3 1 】



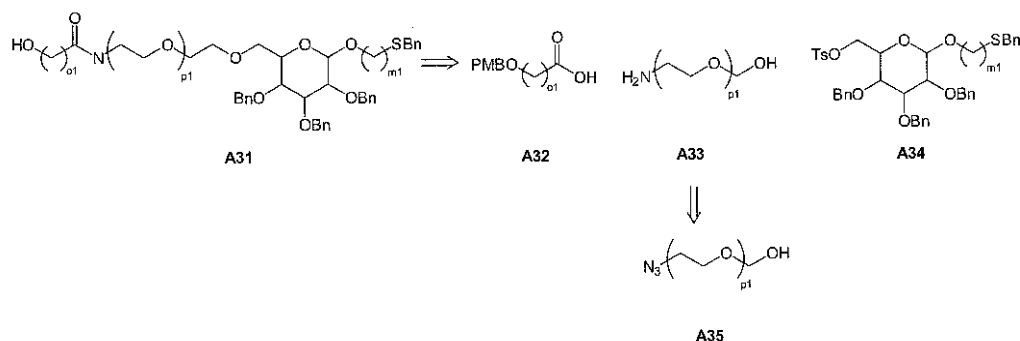
【 0 4 1 2 】

乾燥メタノール中に 1 . 1 当量のアルデヒド A 3 0 を有する溶液に、乾燥メタノール中に 1 . 3 当量のアミン A 2 8 を 0 アルゴン雰囲気下で滴下した。混合物を、さらに 1 0 分間室温で撹拌し、続いて、乾燥メタノール中に 1 . 0 当量の酸 A 2 7 を有する溶液、および 1 . 1 当量のイソシアニド A 2 9 の連続的な付加を行った。反応混合物を室温で 2 4 ~ 4 8 時間撹拌した。結果として生じる溶液を、ジクロロメタンを用いて希釈し、1 N HCl 水溶液を用いて、続いて、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、およびブラインによって洗浄した。有機層を MgSO<sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン / 酢酸エチル) によって精製した。

実施例 3 6 . 6

【 0 4 1 3 】

【 化 1 3 2 】



【 0 4 1 4 】

A 3 3 の合成 :

エチルアルコール ( 8 0 mL ) および水 ( 2 7 mL ) 中にアジド A 3 5 ( 0 . 0 3 mol ) および塩化アンモニウム ( 0 . 0 7 mol ) を有する溶液に、亜鉛粉末 ( 0 . 0 4 mol ) を加え、混合物を、室温で、または還流で激しく撹拌した。反応が終わった後、酢酸エチル ( 2 0 0 mL ) およびアンモニア水 ( 1 0 mL ) を加えた。混合物をろ過し、ろ液を、ブラインを用いて洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧下で濃縮した。

A 3 1 の合成

酸 A 3 2 ( 1 m m o l ) およびアミン A 3 3 ( 1 m m o l ) を、 1 - エチル - 3 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) カルボジイミド ( E D C ) 塩酸塩 ( 1 m m o l ) と 3 . 5 m L のメタノール中、 3 時間、室温でカップリングさせた。混合物を、 E t O A c ( 2 0 m L ) を用いて希釈し、水 ( 1 0 m L ) 、 1 M の H C l 水溶液 ( 1 0 m L ) 、 および飽和 N a H C O <sub>3</sub> 水溶液 ( 1 0 m L ) を用いて抽出した。有機層を N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> で乾燥させ、濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィーによって精製し、中間体アルコールを与えた。

#### 【 0 4 1 5 】

T H F ( 2 m L ) 中に N a H ( 0 . 8 3 m m o l ) を有する懸濁液を 0 に冷却し、その後、懸濁液に、 T H F ( 4 m L ) 中に中間体アルコール ( 0 . 1 7 m m o l ) を有する溶液をゆっくり加えた。混合物を 2 時間還流し、その後、冷却して室温にした。混合物に、 T H F ( 2 m L ) 中に A 3 4 ( 0 . 1 1 m m o l ) を有する溶液を、その温度で滴下した。反応混合物を、 1 2 時間還流し、その後冷却して室温にした。ロータリーエバポレーターによって溶媒の除去後、残渣を C H C l <sub>3</sub> に溶解し、ろ過した。ろ液をロータリーエバポレーターによって蒸発させた後、クロマトグラフィーを行った。

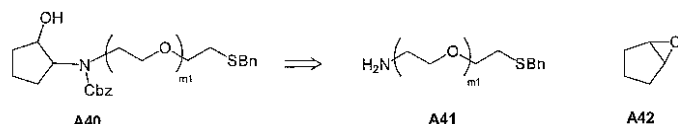
#### 【 0 4 1 6 】

ジクロロエタン ( 5 m L ) 中に P M B エーテル ( 0 . 1 m m o l ) を有する溶液に、 P O C l <sub>3</sub> ( 0 . 5 m m o l ) を加えて、室温で撹拌した。反応の完結後、反応を冷水でクエンチし、有機層を分離し、水層を、ジクロロメタン ( 2 × 5 m L ) を用いて抽出した。合わせた有機層を、ブライン溶液を用いて洗浄し、乾燥させ ( N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> ) 、減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー ( シリカゲル、 E t O A c : ヘキサン ) によって精製し、対応するアルコール A 3 1 を得た。

#### 実施例 3 6 . 7

#### 【 0 4 1 7 】

#### 【 化 1 3 3 】



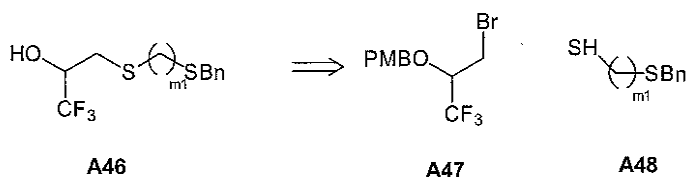
#### 【 0 4 1 8 】

試験管にエポキシド A 4 2 ( 5 m m o l ) および水 ( 2 m L ) を導入した。アミン A 4 1 ( 6 m m o l ) を一度に加えて、試験管を 0 に保持し、 2 4 時間激しい撹拌下室温に温めた。水 ( 2 m l ) を加えて、含水混合物を、 1 0 m l の酢酸エチルを用いて抽出し、無水 N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> で乾燥させ、溶媒を減圧下で除去し、中間体 - アミノアルコールを得た。 E t O A c ( 2 m L ) 中の粗アミン、および飽和 N a H C O <sub>3</sub> 水溶液 ( 1 m L ) を、 C b z C l ( 6 m m o l ) を用いて室温で処理し、 5 時間その温度で撹拌した。混合物を、 E t O A c ( 3 × 5 m L ) を用いて抽出し、有機画分を N a <sub>2</sub> S O <sub>4</sub> で乾燥させ濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、アルコール A 4 0 を得た。

#### 実施例 3 6 . 8

#### 【 0 4 1 9 】

#### 【 化 1 3 4 】



#### 【 0 4 2 0 】

プロミド A 4 7 ( 8 . 2 6 m m o l ) を、 M e O H ( 5 m L ) 中でチオール A 4 8 と反応させ、 N a O M e を用いて p H 9 に調節した。混合物を室温で 1 6 時間撹拌し、減圧下

で濃縮し、中間体PMBエーテルを得た。

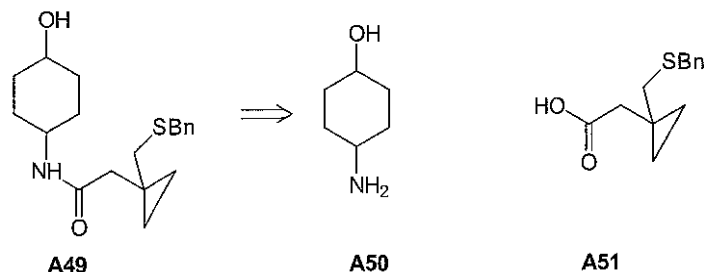
【0421】

ジクロロエタン(5 mL)中にPMBエーテル(0.1 mmol)を有する溶液に、 $\text{POCl}_3$ (0.5 mmol)を加え、室温で撹拌した。反応の完結後、反応を冷水でクエンチし、有機層を分離し、水層を、ジクロロエタン(2 × 5 mL)を用いて抽出した。合わせた有機層を、ブライン溶液を用いて洗浄し、乾燥させ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )、減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、 $\text{EtOAc}$ :ヘキサン)によって精製し、対応するアルコールA46を得た。

実施例36.9

【0422】

【化135】



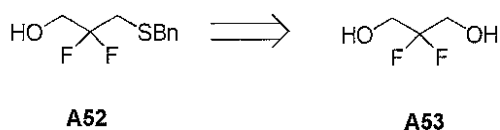
【0423】

酸A51(1 mmol)およびアミンA50(1 mmol)を、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)塩酸塩(1 mmol)と3.5 mLのメタノール中、3時間、室温でカップリングさせた。混合物を、 $\text{EtOAc}$ (20 mL)を用いて希釈し、水(10 mL)、1 Mの $\text{HCl}$ 水溶液(10 mL)、および飽和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(10 mL)を用いて抽出した。有機層を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィーによって精製し、アルコールA49を得た。

実施例36.10

【0424】

【化136】



【0425】

ピリジン(60 mL)中にA53(80 mmol)を有する溶液に、 $\text{MsCl}$ (80 mmol)を効果的な撹拌で、30分間20℃で少量ずつ加えた。30分間撹拌した後、反応混合物を20時間室温で維持し、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (100 mL)を用いて希釈し、水性洗浄物が酸性になるまで2 N  $\text{HCl}$ 水溶液を用いて洗浄した。 $\text{H}_2\text{O}$ 層を、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (3 × 50 mL)を用いて抽出した。合わせた有機抽出物を乾燥させ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )、濃縮し、中間体メシレートを得た。

【0426】

ナトリウムベンジルスルフィド(4.1 mmol)を、DMF(5 mL)中に中間体メシレート(2.7 mmol)を有する撹拌溶液に、室温で少量ずつ加えた。3時間後、混合物を、トルエン(100 mL)を用いて希釈し、水(25 mL)およびブライン(25 mL)を用いて洗浄し、乾燥させ( $\text{MgSO}_4$ )、真空内で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィーによって精製し、チオエーテルA52を得た。

実施例36.11

【0427】

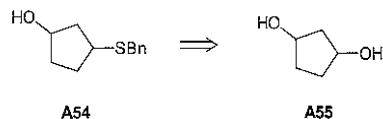
10

20

30

40

## 【化 1 3 7】



## 【0 4 2 8】

ピリジン (6 mL) 中にジオール A 5 5 (8 mmol) を有する溶液に、T s C l (8 mmol) を効果的な撹拌をしながら、30 分間 20 で少量ずつ加えた。30 分間撹拌した後、反応混合物を 20 時間室温で維持し、C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> (100 mL) を用いて希釈し、水性洗浄物が酸性になるまで 2 N H C l 水溶液を用いて洗浄した。H<sub>2</sub>O 層を、C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> (3 × 50 mL) を用いて抽出した。合わせた有機抽出物を乾燥させ (N a<sub>2</sub> S O<sub>4</sub>)、濃縮し、中間体トシレートを得た。

10

## 【0 4 2 9】

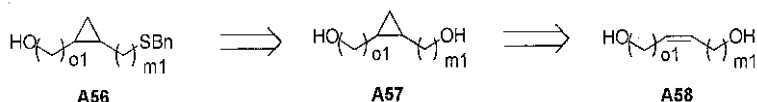
5 mL の乾燥 H M P A 中に中間体トシレート (0.67 mmol) を有する溶液を、N<sub>2</sub> 下、氷浴で冷却した。この混合物を、20 mL の乾燥 H M P A 中に N a S B n (10 mmol) を有する冷たい溶液 (乾燥エーテル中で 400 mg のナトリウムおよび過剰の B n S H から調製され、エーテルは続いて除去され、H M P A と置き換えられる) に加えた。添加後、溶液を冷凍庫 (-15) で 14 時間保存した。それを 100 mL の水を用いて処理し、エーテルを用いて 3 回抽出した。エーテル抽出物を、水を用いて 4 回洗浄し、M g S O<sub>4</sub> で乾燥させた。溶媒をその後、真空下で除去し、残渣 (140 mg) をシリカゲルでクロマトグラフィーを行い、チオエーテル A 5 4 を得た。

20

実施例 3 6 . 1 2

## 【0 4 3 0】

## 【化 1 3 8】



## 【0 4 3 1】

新たに蒸留された C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> (20 mL) に、N<sub>2</sub> 下で E t<sub>2</sub> Z n (ヘキサン中に 1.0 M) (20.0 mmol) を加えた。溶液を氷浴で冷却し、その後、C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> (10 mL) 中にトリフルオロ酢酸 (20.0 mmol) を有する溶液を、シリンジを介して反応混合物に滴下した。20 分間撹拌して、C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> (10 mL) 中に C H<sub>2</sub> I<sub>2</sub> (20.0 mmol) を有する溶液を加えた。さらなる 20 分の撹拌後、C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> (10 mL) 中にジオール A 5 8 (10.0 mmol) を有する溶液を加え、氷浴を除去した。さらなる 30 分の撹拌後、反応混合物を、0.1 N H C l (50 mL) (代替方法として、飽和 N H<sub>4</sub> C l 水溶液、または E t<sub>3</sub> N、続いて飽和 N a H C O<sub>3</sub> 水溶液)、およびヘキサン (25 mL) を用いてクエンチし、層を分離した。水層を、ヘキサンを用いて抽出した。合わせた有機層を、飽和 N a H C O<sub>3</sub>、H<sub>2</sub>O、およびブラインを用いて洗浄し、その後、乾燥させ (N a<sub>2</sub> S O<sub>4</sub>)、ろ過し、濃縮し、カラムクロマトグラフィー (ヘキサン / エーテル = 50 / 1) によって精製し、ジオール A 5 7 を得た。

30

40

## 【0 4 3 2】

ピリジン (6 mL) 中にジオール A 5 7 (8 mmol) を有する溶液に、T s C l (8 mmol) を効果的な撹拌をしながら、30 分間 20 で少量ずつ加えた。30 分間撹拌した後、反応混合物を 20 時間室温で維持し、C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> (100 mL) を用いて希釈し、水性洗浄物が酸性になるまで 2 N H C l 水溶液を用いて洗浄した。H<sub>2</sub>O 層を、C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> (3 × 50 mL) を用いて抽出した。合わせた有機抽出物を乾燥させ (N a<sub>2</sub> S O<sub>4</sub>)、濃縮し、中間体トシレートを得た。

## 【0 4 3 3】

5 mL の乾燥 H M P A 中に中間体トシレート (0.67 mmol) を有する溶液を、N

50

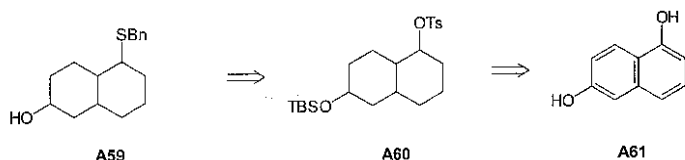


2 下、氷浴で冷却した。この混合物を、20 mL の乾燥 HMPA 中に NaSBn (10 mmol) を有する冷たい溶液 (乾燥エーテル中で 400 mg のナトリウムおよび過剰の BnSH から調製され、エーテルは続いて除去され、HMPA と置き換えられる) に加えた。添加後、溶液を冷凍庫 (-15 ) で 14 時間保存した。それを 100 mL の水を用いて処理し、エーテルを用いて 3 回抽出した。エーテル抽出物を、水を用いて 4 回洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させた。溶媒をその後、真空下で除去し、残渣 (140 mg) をシリカゲルでクロマトグラフィーを行い、チオエーテル A56 を得た。

実施例 36 . 13

【0434】

【化139】



【0435】

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (120 mL) 中、ジオール A61 (16.1 mmol)、トリエチルアミン (24.1 mmol)、および DMAP (0.16 mmol) を有する溶液に、TBDMSCl (19.3 mmol) を 0 で 1 時間にわたって 5 回で加えた。結果として生じる不均一な反応混合物を、室温に徐々に温めた。混合物を、水および CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> を用いて希釈する前に 12 時間攪拌した。有機層を、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液、飽和 NH<sub>4</sub>Cl 水溶液、水、およびブラインを用いて連続して洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させ、真空内で濃縮した。淡黄色オイルを、真空クロマトグラフィーによって精製し、中間体シリルエーテルを得た。

【0436】

封管内で、iPrOH (1 mL) 中に中間体シリルエーテル (1.0 mmol) および触媒 (活性炭上の Rh または Ru、N.E ケムキャット (Chemcat); 基質の 10 wt %) の混合物を有する溶液を、60 、5 気圧、H<sub>2</sub> 下で攪拌した。室温に冷却後、反応混合物を、MeOH (20 mL) を用いて希釈し、触媒を、膜フィルター (ミリポア (Millipore)、マイレクス (Millex) - LH、0.45 mm) に通してろ過によって除去した。ろ液を真空内で濃縮し、対応するデカリンを得た。

【0437】

ピリジン (6 mL) 中に中間体デカリンアルコール (8 mmol) を有する溶液に TSCl (8 mmol) を効果的な攪拌をしながら、30 分間 20 で少量ずつ加えた。30 分間攪拌した後、反応混合物を 20 時間室温で維持し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) を用いて希釈し、水性洗浄物が酸性になるまで 2N HCl 水溶液を用いて洗浄した。H<sub>2</sub>O 層を、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50 mL) を用いて抽出した。合わせた有機層を、乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮し、トシレート A60 を得た。

【0438】

5 mL の乾燥 HMPA 中にトシレート A60 (0.67 mmol) を有する溶液を、N<sub>2</sub> 下、氷浴で冷却した。この混合物を、20 mL の乾燥 HMPA 中に NaSBn (10 mmol) を有する冷たい溶液 (乾燥エーテル中で 400 mg のナトリウムおよび過剰の BnSH から調製され、エーテルは続いて除去され、HMPA と置き換えられる) に加えた。添加後、溶液を冷凍庫 (-15 ) で 14 時間保存した。それを 100 mL の水を用いて処理し、エーテルを用いて 3 回抽出した。エーテル抽出物を、水を用いて 4 回洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させた。溶媒をその後、真空下で除去し、残渣 (140 mg) をシリカゲルでクロマトグラフィーを行い、中間体シリルエーテルを得た。

【0439】

中間体シリルエーテル (0.235 mmol) を THF (1 mL) 中に室温で溶解し、続いて、70 % HF - ピリジン (0.2 mL) を添加した。2 日間攪拌後、反応混合物を

10

20

30

40

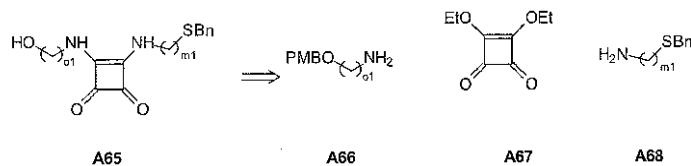
50

、飽和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液を用いて慎重にクエンチし、結果として生じる溶液を、 $\text{EtOAc}$  を用いて希釈した。有機層を、ブラインを用いて洗浄し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、ろ過し、真空内で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、アルコール A59 を得た。

実施例 36 . 14

【0440】

【化140】



10

【0441】

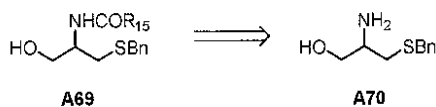
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) 中にスクアリン酸エチルエステル A67 (0.5 mmol)、A68 (100 mg、0.588 mmol)、および  $\text{Et}_3\text{N}$  (15 滴) を有する溶液を、室温で一晩撹拌した。その後、溶液を減圧下で濃縮した。 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) 中に、結果として生じる粗残渣、A66 (1.1 mmol) および  $\text{Et}_3\text{N}$  (15 滴) を有する溶液を、室温で一晩撹拌した。その後、溶液を減圧下で濃縮し、カラムクロマトグラフィーによって精製した。PMBエーテル (0.44 mmol) を、アセトン (4.5 mL) および水 (0.5 mL) 中に溶解した。CAN (0.845 mmol) を固体として加え、続いて、アセトン (0.9 mL) および水 (0.1 mL) 中に CAN (0.845 mmol) を有する溶液の滴下を 70 分にわたって行った。さらに 15 分後、反応物を炭酸水素ナトリウム水溶液に注ぎ、クロロホルムを用いて抽出した。生成物をクロマトグラフィーで精製し、65 を得た。

20

実施例 36 . 15

【0442】

【化141】



30

【0443】

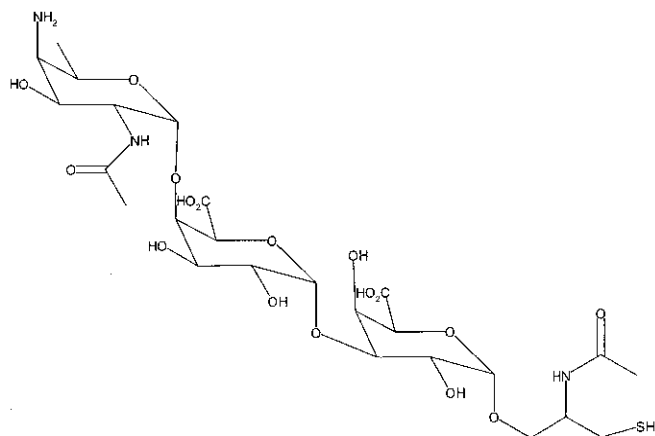
トリエチルアミン (0.359 mL) を、THF (7.50 mL) 中に市販の S - ベンジル - (R) - システイノール (2.56 mmol) を有する溶液に加えた。10 分撹拌後、ジ - tert - ブチルジカーボネート (2.56 mmol) を 0 で加えた。反応混合物を、2 時間室温で撹拌した。その後、溶媒を減圧下で蒸発させ、残渣を酢酸エチルに溶解し、水を用いて洗浄した。有機層を分離し、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  を用いて乾燥させ、ろ過し、減圧下で蒸発させ、無色オイルとして A69 を得た。

実施例 37 : 本発明に係るサッカライドのさらなる例 :

【0444】

40

## 【化 1 4 2 - 1】



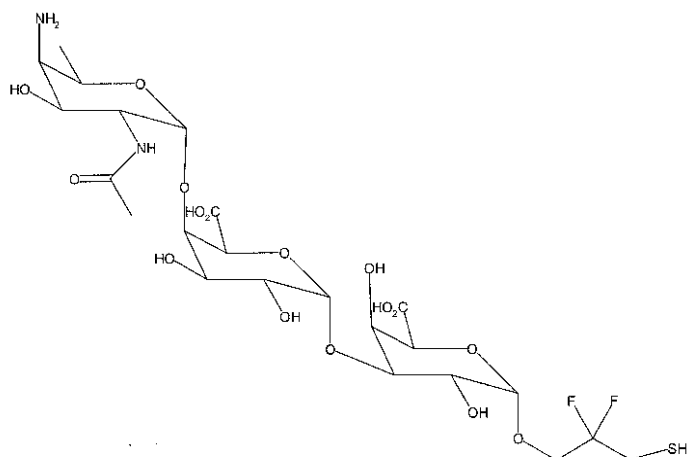
3 1 \*

化学式:  $C_{25}H_{41}N_3O_{17}S$ ; 分子量=687.68

10

## 【 0 4 4 5】

## 【化 1 4 2 - 2】



3 2 \*

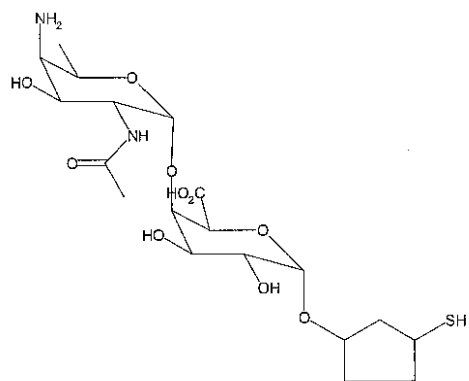
化学式:  $C_{23}H_{36}F_2N_2O_{16}S$ ; 分子量=666.61

20

30

## 【 0 4 4 6】

## 【化 1 4 2 - 3】



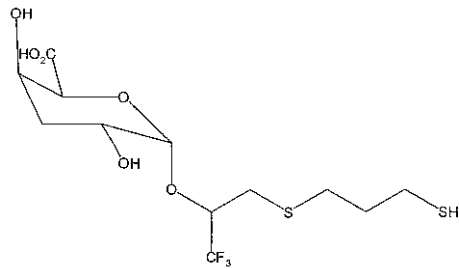
3 3 \*

化学式:  $C_{19}H_{32}N_2O_{10}S$ ; 分子量=480.54

40

## 【 0 4 4 7】

## 【化 1 4 2 - 4】



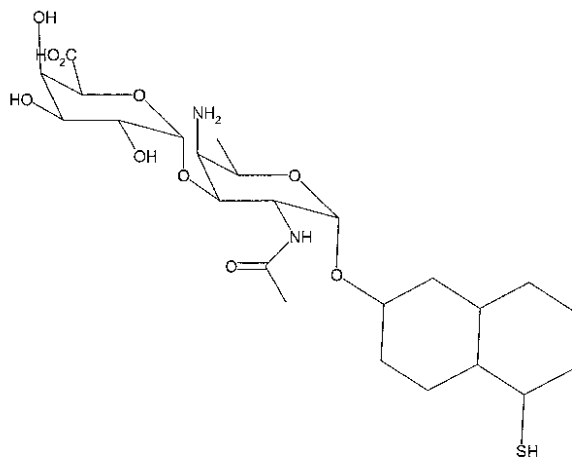
3 4 \*

化学式:  $C_{12}H_{22}O_6S_2$ ; 分子量=326.43

10

## 【 0 4 4 8】

## 【化 1 4 2 - 5】



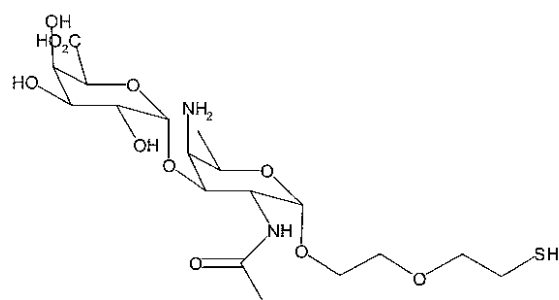
3 5 \*

化学式:  $C_{24}H_{40}N_2O_{10}S$ ; 分子量=548.66

20

## 【 0 4 4 9】

## 【化 1 4 2 - 6】



3 6 \*

化学式:  $C_{18}H_{32}N_2O_{11}S$ ; 分子量=484.53

30

## 【 0 4 5 0】

実施例 38: 複合糖質の合成 2 - アセトアミド - 4 - アミノ - 2, 4, 6 - トリデオキシ - D - ガラクトピラノシル - (1 4) - ( - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 3) - ( - D - ガラクトピラノシル) ウロネート - (1 1) - 2 - (チオ)エタノールの CRM197 への共役

0.1 M リン酸ナトリウムバッファー (NaPi) pH 7.4 (1.33 mL) 中に CRM197 (2 mg、34.5 nmol) を有する攪拌溶液に、DMF (40 μl) 中に N - スクシンイミジル - 3 - (プロモアセトアミド) プロピオネート (SBAP) (1.05 mg、3.4 μmol) を有する溶液を室温で加えた。混合物を、室温で 1 時間攪拌し、膜ろ過 (アミコン (Amicon) 4 mL ウルトラ (Ultra) 遠心式 (cent

50

refuge)膜、10kDa カットオフ)を用いて濃縮した。タンパク質溶液を、滅菌水を用いて4mLに希釈し、再び濃縮した。この工程を3回繰り返し、溶液を、滅菌水を用いて0.5mLに希釈した。20μLを分析のために取り、タンパク質溶液を、膜ろ過を用いて0.1M NaPi pH8.0(0.5mL)に再バッファ化した。0.1M NaPi pH8.0(0.2mL)中に、ジスルフィド18\* (モノマーに対してそれぞれ1.44mg、2.33μmol)を有する溶液を、室温で、トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン(TCEP、pH7.4で100mM保存溶液から25μL)と共に処理し、アルゴン雰囲気下その温度で1時間放置し、活性化されたタンパク質を有する溶液に、加えられた。混合物を室温で16時間攪拌し、膜ろ過を用い滅菌水で洗浄した(上記参照)。分析サンプルを取り、溶液を0.1M NaPi pH7.4(0.5mL)に再バッファ化した。その後、複合糖質を、100μLの滅菌水中にL-システイン(0.625mg、5.1μmol)を有する溶液と室温で処理した。混合物をその温度で2時間放置し、膜ろ過によって精製した。グリカンの複合糖質への取り込みを、MALDI-TOF-MS(ポジティブモード)によって評価した。

測定された分子量：

CRM197: 58100m/z

CRM197-SBAP共役体: 61700m/z (約19SBAP基の取り込み)

CRM197-SBAP複合糖質: 66000m/z (約5.9分子の2-アセトアミド-4-アミノ-2,4,6-トリデオキシ-D-ガラクトピラノシル-(1-4)-(D-ガラクトピラノシル)ウロネート-(1-3)-(D-ガラクトピラノシル)ウロネート-(1-1)-2-(チオ)エタノールの取り込み)

#### 実施例39：免疫付与実験

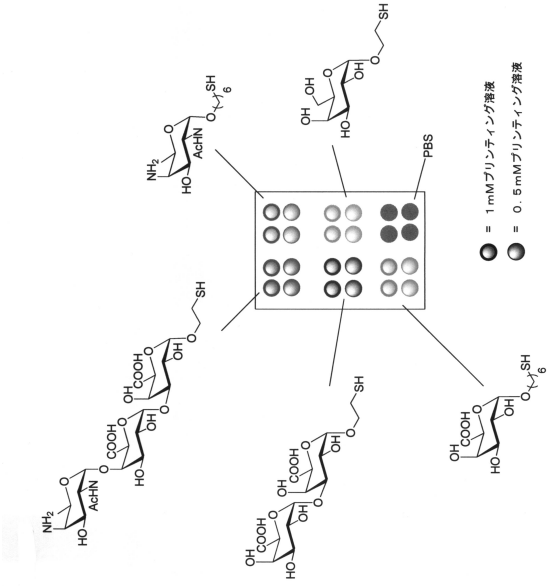
マウス(6~8週歳の雌NMRIMマウス、チャールスリバー(Charles River))を、アルム(Alum)(アルヒドロゲル(Alhydrogel)、ブレンタグ(Brenntag))を用いる、または用いないで製剤化された実施例38において合成されたCRM197-SBAP-複合糖質(4μg合成グリカンに対応する)を用いて、100μLの全用量で、0日、14日、および28日に皮下に免疫付与された。対照群は、アルム(Alum)のみまたはPBSで同様に処理されたマウスを含んだ。血液を0日、14日、28日、および35日に採取し、免疫応答をグリカンマイクロアレイおよびELISAによって評価した。

#### 【0451】

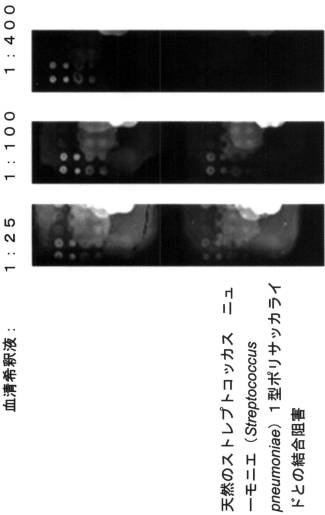
天然のSp1ポリサッカライドに対する免疫応答は、アルム(Alum)でアジュバント化された複合糖質を用いて免疫付与された一連のマウスに見出され、0日と比べて35日では、それぞれ500および2500のエンドポイント力価を有する。



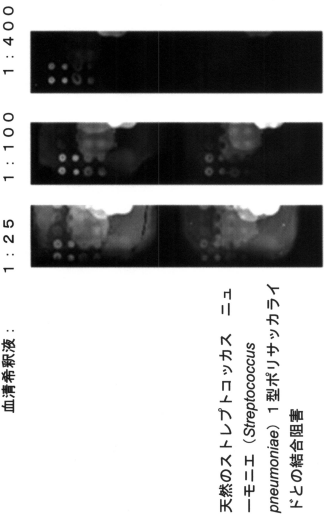
【図 4】



【図 5】



【図 6】



【図 7】

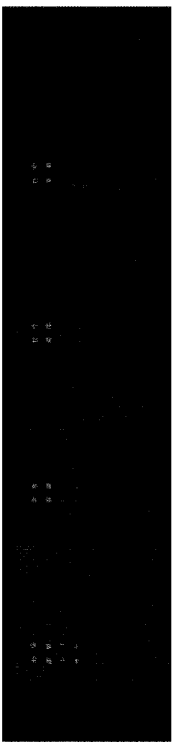
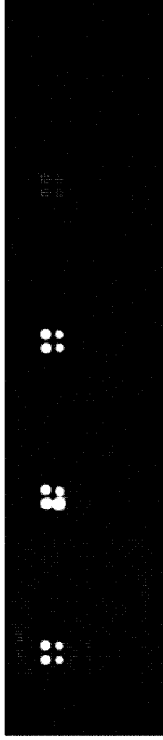


Figure 7

【図 8】

Figure 8





## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 25/00 (2006.01)		A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 27/16 (2006.01)		A 6 1 P 27/16
A 6 1 P 11/02 (2006.01)		A 6 1 P 11/02
A 6 1 P 19/02 (2006.01)		A 6 1 P 19/02
A 6 1 P 27/02 (2006.01)		A 6 1 P 27/02
A 6 1 K 31/7012 (2006.01)		A 6 1 K 31/7012
A 6 1 K 31/7016 (2006.01)		A 6 1 K 31/7016

(31)優先権主張番号 13196568.3

(32)優先日 平成25年12月10日(2013.12.10)

(33)優先権主張国 欧州特許庁(EP)

## 早期審査対象出願

(72)発明者 アニッシュ チャックムンカル  
 オランダ国 エンエル 2 5 9 2 アーエル ハーグ フラスカンブ 5 9 4  
 (72)発明者 シューマン ベンジャミン  
 ドイツ国 1 0 8 2 7 ベルリン ハウプトシュトラッセ 6 3

審査官 三上 晶子

(56)参考文献 国際公開第2 0 1 1 / 1 3 3 2 2 7 (WO, A 2)  
 国際公開第2 0 0 5 / 0 9 3 4 2 2 (WO, A 2)  
 XIANGYANG WU; LINA CUI; TOMASZ LIPINSKI, SYNTHESIS OF MONOMERIC AND DIMERIC REPEATING UNITS OF THE ZWITTERIONIC TYPE 1 CAPSULAR POLYSACCHARIDE FROM STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE, CHEMISTRY - A EUROPEAN JOURNAL, [ONLINE], VERLAG CHEMIE, 2 0 1 0 年 3 月 1 5 日, VOL:16, NR:11, , PAGE(S):3476 - 3488, U R L , <http://dx.doi.org/10.1002/chem.200902460>  
 ALPHERT E CHRISTINA; LEENDERT J VAN DEN BOS; HERMAN S OVERKLEEF, GALACTURONIC ACID LACTONES IN THE SYNTHESIS OF ALL TRISACCHARIDE REPEATING UNITS OF THE ZWITTERIONIC POLYSACCHARIDE SP1, THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, [ONLINE], AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 2 0 1 1 年 3 月 1 8 日, VOL:76, NR:6, , PAGE(S):1692 - 1706, U R L , <http://dx.doi.org/10.1021/jo102363d>  
 Tetrahedron, 2 0 1 0 年, Vol.66, pp.7510-7519

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

C 0 7 H 1 / 0 0 - 9 9 / 0 0  
 A 6 1 K 3 1 / 3 3 - 3 3 / 4 4  
 A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0  
 A 6 1 K 3 9 / 0 9  
 C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )