(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-514335
(P2022-514335A)
(43)公表日　令和4年2月10日(2022.2.10)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
A61K	*47/54*	*(2017.01)*	A61K	47/54		4C076
A01P	*5/00*	*(2006.01)*	A01P	5/00		4C084
A01N	*43/32*	*(2006.01)*	A01N	43/32		4C086
A01N	*43/36*	*(2006.01)*	A01N	43/36	C	4H011
A01N	*43/90*	*(2006.01)*	A01N	43/90	101	

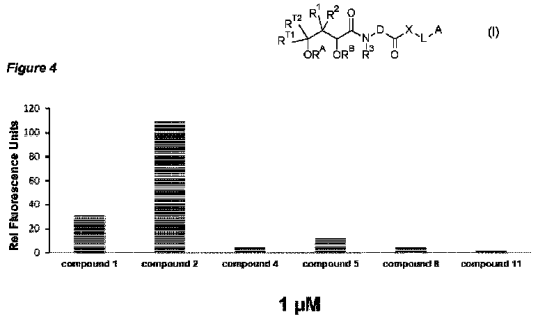
審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全144頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-535300(P2021-535300)
(86)(22)出願日　令和1年12月18日(2019.12.18)
(85)翻訳文提出日　令和3年8月16日(2021.8.16)
(86)国際出願番号　PCT/EP2019/086120
(87)国際公開番号　WO2020/127602
(87)国際公開日　令和2年6月25日(2020.6.25)
(31)優先権主張番号　1820626.8
(32)優先日　平成30年12月18日(2018.12.18)
(33)優先権主張国・地域又は機関
英国(GB)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

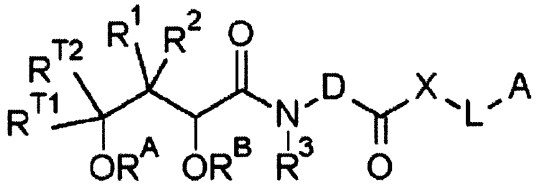
(71)出願人　521266321
トランスフェクション・ホールディングス・リミテッド
ニュージーランド・１０１０・オークランド・グラフトン・シモンズ・ストリート・５７・レベル・１
(74)代理人　100108453
弁理士　村山 靖彦
(74)代理人　100110364
弁理士　実広 信哉
(74)代理人　100133400
弁理士　阿部 達彦
(72)発明者　アラン・ローソン・スーウェル
ニュージーランド・１０１０・オークランド・グラフトン・シモンズ・ストリー
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　コンジュゲート

(57)【要約】
本発明は、式(I)のコンジュゲート及び処置方法におけるその使用、並びにまた活性剤を細胞に送達する方法を提供する。本方法を使用して、活性剤を線虫、扁形動物、寄生生物又は細菌に送達することができる。式(I)のコンジュゲートは、(式(I))(式中、-D-は$C_{1\sim4}$アルキレン又は$C_{2\sim4}$アルケニレン、好ましくは$C_{2\sim4}$アルケニレンであり、アルキレン又はアルケニレンは、アルキル又はハロで場合により置換されており;A-は送達するための活性剤であり;$-R^A$、$-R^B$、$-R^{T1}$、$-R^{T2}$、$-R^1$、$-R^2$、$-R^3$、-X-及び-L-は本明細書で定義される通りである)である。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
線虫又は扁形動物感染症を処置する方法における使用のための、式(I)のコンジュゲート又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物であって、式(I)のコンジュゲートは、
【化１】



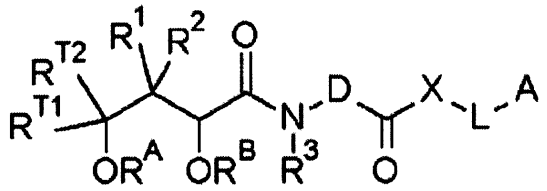
(I)

(式中、
-R^A及び-R^Bはそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルカノイル及びアラルカノイルから選択され;
又は-R^A及び-R^Bは一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-を形成し、6員環を形成しており、-R^{C1}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから独立に選択され、-R^{C2}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルコキシ、アルケノキシ、アルキノキシ、アラルコキシ及びシクロアルキルアルコキシから独立に選択されるか、又は-R^{C1}及び-R^{C2}は一緒になって、オキソ(=O)であり;
-R^{T1}及び-R^{T2}はそれぞれ独立に、水素又はアルキルであり;
-R^1及び-R^2はそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから選択され;
-R^3は水素又はアルキルであり;
-D-は$C_{2\sim4}$アルケニレン又は$C_{1\sim4}$アルキレンであり、前記アルケニレン又はアルキレンは、アルキル又はハロで場合により置換されており;
-X-は、共有結合、-N(R^4)-、-O-、-S-又は-Se-であり、-R^4は水素又はアルキルであり;
-L-はリンカー又は共有結合であり;
A-は送達するための活性剤であり、色素、低分子薬、ポリペプチド、ポリヌクレオチド又は多糖を含む)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態である、医薬組成物。
【請求項２】
活性剤を線虫又は扁形動物に送達する方法であって、式(I)のコンジュゲート又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物を、線虫又は扁形動物と接触させる工程を含み;
ヒト又は動物の体の処置方法ではなく、式(I)のコンジュゲート及び医薬組成物が請求項1に記載の通りである、方法。
【請求項３】
線虫又は扁形動物が、カエノラブディティス属(Caenorhabditis)線虫、例えばC.エレガンス(C.elegans);ヘモンクス属(Haemonchus)線虫、例えば捻転胃虫(H.contortus);及び住血吸虫属(Schistosoma)扁形動物、例えばビルハルツ住血吸虫(S.haematobium)からなる群から選択される、請求項1に記載の使用のためのコンジュゲート、又は請求項2に記載の送達する方法。
【請求項４】
A-が低分子薬、ポリペプチド又は多糖である、請求項1又は3に記載の使用のためのコンジュゲート。
【請求項５】
A-が、1000Da以下の分子量を有する低分子薬である、請求項1、3又は4のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート。

【請求項６】
A-が、１５０Ｄａ以上の分子量を有する低分子薬である、請求項1又は3から5のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート。
【請求項７】
A-が色素、ポリペプチド又は多糖である、請求項2又は3に記載の送達する方法における使用のためのコンジュゲート。
【請求項８】
-D-がC_2アルケニレン又はC_2アルキレンであり、前記アルケニレン又はアルキレンが、アルキル又はハロで場合により置換されている、請求項1から7のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項９】
-D-が、アルキル又はハロで場合により置換されたC_2アルケニレンである、請求項8に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１０】
アルケニレン基がトランス配置を有する、請求項1から9のいずれか一項に記載の使用するためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１１】
アルケニレン基がシス配置を有する、請求項1から10のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１２】
-D-がC_2アルキレンである、請求項8に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１３】
-R^{T1}が水素であり、-R^{T2}が水素又はアルキルであり、例えば-R^{T1}が水素であり、-R^{T2}が水素である、請求項1から12のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１４】
-R^1及び-R^2がそれぞれ独立に、アルキル、アルケニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから選択される、請求項1から13のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１５】
-R^1及び-R^2がそれぞれアルキル、例えばメチルである、請求項14に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１６】
-R^A及び-R^Bがそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルカノイル及びアラルカノイルから選択される、例えば-R^A及び-R^Bがそれぞれ水素である、請求項1から15のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１７】
-R^A及び-R^Bが一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-を形成し、6員環を形成しており、-R^{C1}が、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから独立に選択され、-R^{C2}が、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルコキシ、アルケノキシ、アルキノキシ、アラルコキシ及びシクロアルキルアルコキシから独立に選択されるか、又は-R^{C1}及び-R^{C2}が一緒になって、オキソ(=O)である、請求項1から16のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１８】
-R^{C1}及び-R^{C2}がそれぞれアルキル、例えばメチルである、請求項17に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項１９】

-R^3が水素である、請求項1から18のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項２０】
-X-が共有結合又は-N(R^4)-であり、例えば-X-が-N(R^4)-である、請求項1から19のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項２１】
-R^4が水素である、請求項1から20のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項２２】
-L-がリンカーである、請求項1から21のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項２３】
-L-が、*-L^3-B-L^4-G-L^A-基
(式中、アステリスクは-X-との結合点を示し;
-L^3-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-B-は共有結合、アリーレン、ヘテロシクレン又はシクロアルキレンであり;
-L^4-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-G-は、共有結合、-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基であり、-R^Nは水素又はアルキルであり、
-L^A-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり、
-L^3-、-B-及び-L^4-の少なくとも1つは共有結合ではなく、-B-が共有結合である場合、-L^4-は共有結合である)
である、請求項22に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項２４】
-L-が、*-L^3-B-L^5-G-基
(式中、アステリスクは-X-との結合点を示し;
-L^3-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-B-は共有結合、アリーレン、ヘテロシクレン又はヘテロアルキレンであり;
-L^5-は、式*-(NR^NC(O)-L^6)-のアミド基であり、アステリスクは-B-との結合点を示し、-L^6-はアルキレンであり;
G-は、共有結合、-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基であり、
-R^Nは水素又はアルキルである)
である、請求項22に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項２５】
-L-が1,2,3-トリアゾールを含有する、請求項22から24のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項２６】
-L-がマレイミド誘導基を含有する、請求項22から24のいずれか一項に記載の使用のためのコンジュゲート又は送達する方法。
【請求項２７】
式(I)のコンジュゲート:

【化２】



(I)

(式中、
-R^A及び-R^Bはそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルカノイル及びアラルカノイルから選択され;
又は-R^A及び-R^Bは一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-を形成し、6員環を形成しており、-R^{C1}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから独立に選択され、-R^{C2}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルコキシ、アルケノキシ、アルキノキシ、アラルコキシ及びシクロアルキルアルコキシから独立に選択されるか、又は-R^{C1}及び-R^{C2}は一緒になって、オキソ(=O)であり;
-R^{T1}及び-R^{T2}はそれぞれ独立に、水素又はアルキルであり;
-R^1及び-R^2はそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから選択され;
-R^3は水素又はアルキルであり;
-D-は$C_{2\sim4}$アルケニレンであり、前記アルケニレンは、アルキル又はハロで場合により置換されており;
-X-は、共有結合、-N(R^4)-、-O-、-S-又は-Se-であり、-R^4は水素又はアルキルであり;
-L-はリンカー又は共有結合であり;
A-は送達するための活性剤であり、色素、低分子薬、ポリペプチド、ポリヌクレオチド又は多糖を含む)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態。

【請求項２８】
A-が色素である、請求項27に記載のコンジュゲート。

【請求項２９】
A-が、1000Da以下の分子量を有する低分子薬である、請求項27に記載のコンジュゲート。

【請求項３０】
A-が、150Da以上の分子量を有する低分子薬である、請求項27又は29に記載のコンジュゲート。

【請求項３１】
A-がポリペプチドであるか、又はポリペプチドを含む、請求項27に記載のコンジュゲート。

【請求項３２】
A-がポリヌクレオチドであるか、又はポリヌクレオチドを含む、請求項27に記載のコンジュゲート。

【請求項３３】
A-が多糖であるか、又は多糖を含む、請求項27に記載のコンジュゲート。

【請求項３４】
A-が二糖であるか、又は二糖を含む、請求項27又は33に記載のコンジュゲート。

【請求項３５】
A-が、二糖ではなく、二糖を含まない、請求項27又は33に記載のコンジュゲート。

【請求項３６】

-D-がC_2アルケニレンであり、前記アルケニレンが、アルキル又はハロで場合により置換されている、請求項27から35のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３７】
アルケニレン基がトランス配置を有する、請求項27から36のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３８】
アルケニレン基がシス配置を有する、請求項27から36のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項３９】
-R^{T1}が水素であり、-R^{T2}が水素又はアルキルであり、例えば-R^{T1}が水素であり、-R^{T2}が水素である、請求項27から38のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４０】
-R^1及び-R^2がそれぞれ独立に、アルキル、アルケニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから選択される、請求項27から39のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４１】
-R^1及び-R^2がそれぞれアルキル、例えばメチルである、請求項27から40のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４２】
-R^A及び-R^Bがそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルカノイル及びアラルカノイルから選択される、例えば-R^A及び-R^Bがそれぞれ水素である、請求項27から41のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４３】
-R^A及び-R^Bが一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-を形成し、6員環を形成しており、-R^{C1}が、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから独立に選択され、-R^{C2}が、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルコキシ、アルケノキシ、アルキノキシ、アラルコキシ及びシクロアルキルアルコキシから独立に選択されるか、又は-R^{C1}及び-R^{C2}が一緒になって、オキソ(=O)である、請求項27から42のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４４】
-R^{C1}及び-R^{C2}がそれぞれアルキル、例えばメチルである、請求項27から41及び43のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４５】
-R^3が水素である、請求項27から44のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４６】
-X-が共有結合又は-N(R^4)-である、請求項27から45のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４７】
-X-が-N(R^4)-である、請求項27から46のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４８】
-R^4が水素である、請求項27から47のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４９】
-L-がリンカーである、請求項27から48のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項５０】
-L-が、*-L^3-B-L^4-G-L^A-基
(式中、アステリスクは-X-との結合点を示し;
-L^3-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-B-は共有結合、アリーレン、ヘテロシクレン又はシクロアルキレンであり;
-L^4-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-G-は、共有結合、-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)

C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基であり、-R^Nは水素又はアルキルであり、
-L^A-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり、
-L^3-、-B-及び-L^4-の少なくとも1つは共有結合ではなく、-B-が共有結合である場合、-L^4-は共有結合である)
である、請求項27から49のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項５１】
-L-が、*-L^3-B-L^5-G-基
(式中、アステリスクは-X-との結合点を示し;
-L^3-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-B-は共有結合、アリーレン、ヘテロシクレン又はヘテロアルキレンであり;
-L^5-は、式*-($NR^NC(O)$-L^6)-のアミド基であり、アステリスクは-B-との結合点を示し、-L^6-はアルキレンであり;
G-は、共有結合、-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基であり、
-R^Nは水素又はアルキルである)
である、請求項27から49のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項５２】
-L-が1,2,3-トリアゾールを含有する、請求項27から51のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項５３】
-L-がマレイミド誘導基を含有する、請求項27から51のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項５４】
場合により1つ又は複数の薬学的に許容される賦形剤と共に、請求項27から53のいずれか一項に記載の式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物。
【請求項５５】
処置方法における使用のための、請求項27から54のいずれか一項に記載の式(I)のコンジュゲート、又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物。
【請求項５６】
ヒト及び動物の体の寄生生物感染症を処置する方法における使用のための、請求項27から54のいずれか一項に記載の式(I)のコンジュゲート、又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物。
【請求項５７】
活性剤を寄生生物に送達する方法であって、請求項27から54のいずれか一項に記載の式(I)のコンジュゲート、又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物を寄生生物と接触させる工程を含み;ヒト又は動物の体の処置方法ではない、方法。
【請求項５８】
寄生生物が、プラスモジウム属寄生生物、例えば熱帯熱マラリア原虫(P.falciparum)、三日熱マラリア原虫(P.vivax)、卵形マラリア原虫(P.ovale)、マラリア原虫(P.malaria)及びサルマラリア原虫(P.knowlesi);タイレリア属(Theileria)寄生生物、例えばT.アンヌラタ(T.annulata)及びT.パルバ(T.parva);フィトフトラ属(Phytophthora)寄生生物、例えばP.シンナモミ(P.cinnamomi)及びP.アガチジシダ(P.agathidicida);バベシア属(Babesia)寄生生物、例えばB.ボビス(B.bovis);クリチディア属(Crithidia)寄生生物、例えばC.ボンビ(C.bombi);ロトマリア属(Lotmaria)寄生生物、例えばL.パッシム(L.passim);トリパノソーマ属(Trypanposoma)寄生生物、例えばT.ブルセイ(T.brucei);又はトキソプラズマ属(Toxoplasma)寄生生物、例えばT.ゴンディ(T.gondii)から選択される、請求項56に記載の使用のためのコンジュゲート、又は請求項57に記載の送達する方法。
【請求項５９】
ヒト及び動物の体の微生物感染症、例えば細菌感染症を処置する方法における使用のため

の、請求項27から54のいずれか一項に記載の式(I)のコンジュゲート、又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物。
【請求項６０】
活性剤を微生物、例えば細菌に送達する方法であって、請求項27から54のいずれか一項に記載の式(I)のコンジュゲート、又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物を微生物、例えば細菌と接触させる工程を含み;ヒト又は動物の体の処置方法ではない、方法。
【請求項６１】
微生物、例えば細菌が、マイコバクテリウム属(Mycobacteria)細菌、例えば結核菌(M.tuberculosis);大腸菌属(Escherichia)細菌、例えば大腸菌(E.coli);スタフィロコッカス属(Staphylococcus)細菌、例えば黄色ブドウ球菌(S.aureus);又はエンテロコッカス属(Enterococcus)細菌、例えばE.フェカリス(E.faecalis)から選択される、請求項59に記載の使用のためのコンジュゲート、又は請求項60に記載の送達する方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
本出願は、その内容全体がここに参照により組み込まれる、2018年12月18日(18/12/2018)に出願されたGB1820626.8の利益及びこれに基づく優先権を主張する。
【０００２】
本発明は、活性剤を細胞又は生物に送達するための、パントテン酸又はその誘導体と活性剤のコンジュゲートを提供する。本発明はまた、処置方法における使用のためのコンジュゲート及びコンジュゲートを調製する方法を提供する。
【背景技術】
【０００３】
寄生生物病を処置する方法は、近年、薬物の宿主内の寄生生物の位置への送達、引き続いて寄生生物へのその後の取り込みを改善するための技術に焦点を当てている。寄生生物病を処置するための現在の多くの方法は、薬物が、有益な効果を達成するのに十分な濃度で十分な持続時間、標的位置で提供されることを確保するために、持続した期間にわたって高レベルの薬物を患者に投与することに依拠する。このような薬物の投与はしばしば、処置方法における深刻な副作用をもたらす。
【０００４】
この理由のために、有益な治療効果を維持しながら、少量の薬物を投与することを可能にする薬物送達戦略を提供することが有益である。この領域での近年の研究は、薬物送達の全ての態様を考察している。第一線の研究は、活性剤の感染宿主内の標的位置への輸送の改善を考察している。例示的な戦略には、薬物製剤化及び投与レジメンの適合が含まれる。例えば、抗寄生生物剤をナノ粒子又はマイクロ粒子、エマルジョン又はリポソームに組み込むことにより、薬物の病原体へのより標的化された送達がもたらされ得る(例えば、Kayserら及びDateらによる抗寄生生物薬のための送達戦略の概要を参照されたい)。
【０００５】
別の線の研究は、薬物の寄生生物自体への送達、及び特に、寄生生物細胞膜を横切る薬物の輸送に焦点を当てている。多くの抗生物質の使用は、薬物が細胞膜を横断することが相対的にできないことによって失敗している。薬物を細胞に送達する課題に対処するために、研究者らは、薬物を、細胞膜を横断することが知られている第2の薬剤に接続することに頼っている。したがって、薬物を寄生生物の細胞に運ぶために第2の薬剤が使用され得る。
【０００６】
マラリア及び他の寄生生物病を処置するためのこのアプローチの例として、Sparrらは、抗マラリア薬ホスミドマイシンとオクタアルギニンペプチドのコンジュゲートの調製及び使用を記載している。ホスミドマイシンは、T.ゴンディ(T.gondii)、結核菌(M.tuberculosis)及びネズミマラリア原虫(P.berghei)によってあまり取り込まれないことが報告

されている。この薬物が短いリンカーを介してオクタアルギニンペプチドに共有結合的に接続された、又は対イオンが標識オクタアルギニンペプチドである塩として薬物が調製された。オクタアルギニンペプチドは、熱帯熱マラリア原虫(P.falciparum)に感染した赤血球の細胞膜を透過することが以前示された。著者らは、オクタアルギニンペプチドを使用して、ホスミドマイシンの熱帯熱マラリア原虫等への取り込みを改善し、その後、薬物の抗寄生生物効果を改善することができることを示した。

【０００７】

Landfearも、抗寄生生物剤を細胞取り込みに関連する官能基に結合すると、抗寄生生物剤の細胞内環境への取り込みが改善され得ることを報告した。よって、Landfearは、取り込みの選択性を増加させる目的でのP2トランスポーターの基質として知られているP2標的化モチーフの使用に言及している。

【０００８】

活性剤の寄生生物への送達に有用な更なるビヒクルが必要とされている。したがって、本発明者らは、少なくとも何らかの方法でこの必要性を満たす;及び/又は少なくとも公衆に有用な選択肢を提供する、活性剤の線虫又は蠕虫及び細菌を含む細胞内及び細胞外寄生生物への送達に有用なコンジュゲートを開発した。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００９】

【特許文献１】欧州特許第0068485号

【特許文献２】米国特許第9108942号

【特許文献３】国際公開第2012 064632号

【特許文献４】国際公開第2012/097454号

【特許文献５】国際公開第2019/060634号

【非特許文献】

【００１０】

【非特許文献１】Bergenら、Antimicrob. Agents and Chemotherapy、2006、50、1953

【非特許文献２】Schechterら、J. Med Chem 2002、45(19) 4264

【非特許文献３】Krise及びOliyai Biotechnology: Pharmaceutical Aspects、2007、5(2)、101～131

【非特許文献４】「Protective Groups in Organic Synthesis」(T. Green及びP. Wuts;第3版; John Wiley and Sons、1999)

【非特許文献５】Remington's Pharmaceutical Sciences、第18版、Mack Publishing Company、Easton、Pa.、1990

【非特許文献６】Handbook of Pharmaceutical Excipients、第5版、2005

【非特許文献７】PLoS Negl Trop Dis. 2011年9月;5(9):e1260

【非特許文献８】Mol. Biochem. Parasitol. 164:57～65、2009

【非特許文献９】Zhaoら Org. Biomol. Chem. 2010、8、3328～3337

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１１】

一般的な態様では、本発明は、活性剤を細胞に送達するための、パントテン酸基又はその誘導体(「パントテン酸基」)を含むコンジュゲートを提供する。パントテン酸基は、直接、又はリンカーを介して、活性剤に共有結合的に連結される。

【００１２】

よって、本発明は、活性剤の輸送特性を改善する又は変化させるためのパントテン酸基による活性剤の修飾を可能にする。例えば、パントテン酸基は、細胞膜を横切る活性剤の輸送を改善し、それによって、細胞内環境中の活性剤の量を増加させ得る。

【００１３】

本発明のコンジュゲートを使用して、活性剤を病原体の細胞、例えば細菌細胞又は寄生生物、例えば線虫若しくは蠕虫の細胞に送達することができる。本発明のコンジュゲートは、病原体に感染している宿主対象、例えば哺乳動物対象の処置に用途を見出し得る。

【００１４】

本発明のコンジュゲートを使用して、活性剤を病原体に感染している細胞に選択的に送達することができる。よって、コンジュゲートは、活性剤を非感染細胞には送達しない。

【００１５】

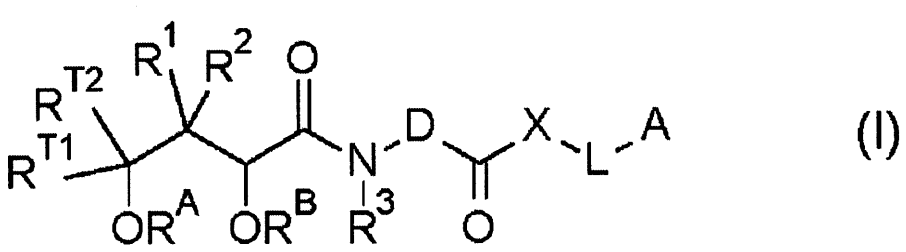
本発明のコンジュゲートを使用して、活性剤を、細胞内又は細胞外寄生生物である病原体に送達することもできる。

【００１６】

本発明の第１の態様では、式(I)のコンジュゲート:

【００１７】

【化１】



(I)

【００１８】

(式中、

-R^A及び-R^Bはそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルカノイル(alkanyol)及びアラルカノイル、例えば水素である;

又は-R^A及び-R^Bは一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-を形成し、６員環を形成しており、-R^{C1}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから独立に選択され、-R^{C2}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルコキシ、アルケノキシ、アルキノキシ、アラルコキシ及びシクロアルキルアルコキシから独立に選択され、例えば-R^{C1}及び-R^{C2}はアルキルであるか、又は-R^{C1}及び-R^{C2}は一緒になって、オキソ(=O)であり;

-R^{T1}及び-R^{T2}はそれぞれ独立に、水素又はアルキル、例えば水素であり;

-R^1及び-R^2はそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキル、例えばアルキルから選択され;

-R^3は水素又はアルキル、例えば水素であり;

-D-は$C_{1\sim4}$アルキレン又は$C_{2\sim4}$アルケニレン、例えばC_2アルキレン又はC_2アルケニレンであり、アルキレン又はアルケニレンは、アルキル又はハロで場合により置換されており;

-X-は、共有結合、-O-、-S-、-Se-又は-N(R^4)-、例えば-N(R^4)-であり、-R^4は水素又はアルキル、例えば水素であり;

-L-はリンカー又は共有結合であり;

A-は送達するための活性剤である)

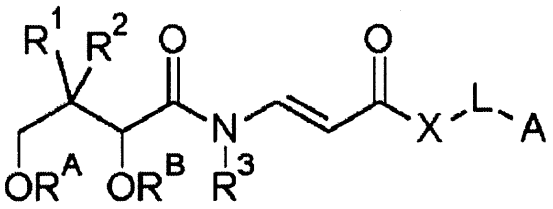
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態が提供される。

【００１９】

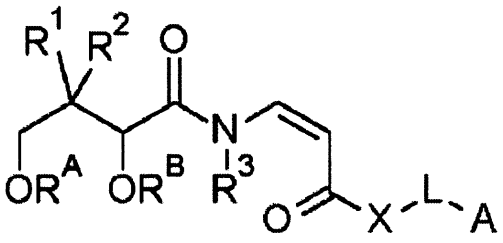
一実施形態では、式(I)の化合物が、式(Ia-I)～(Ia-III)の化合物:

【００２０】

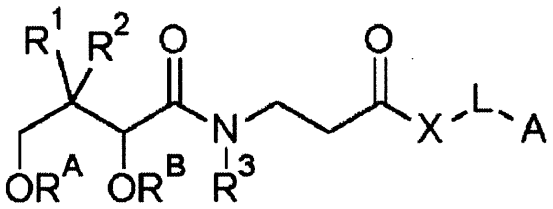
【化２】



(Ia-I)

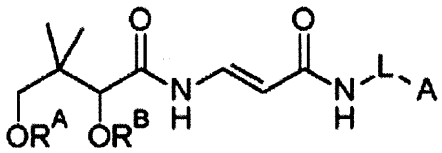


(Ia-II)

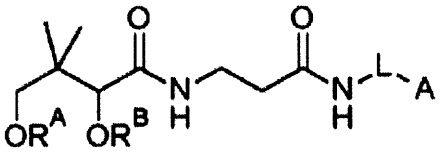


(Ia-III)

【００２１】
から選択される。
【００２２】
一実施形態では、式(I)の化合物が、式(Ib):
【００２３】
【化３】

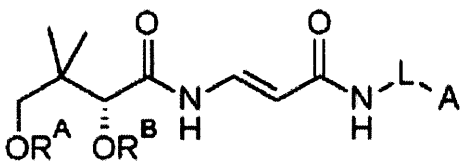


又は

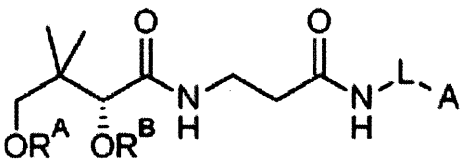


(Ib)

【００２４】
(式中、R^A、-R^B、-L-及び-Aは式(I)の化合物について定義される通りである)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態のものである。
【００２５】
一実施形態では、式(I)の化合物が、式(Ic):
【００２６】
【化４】

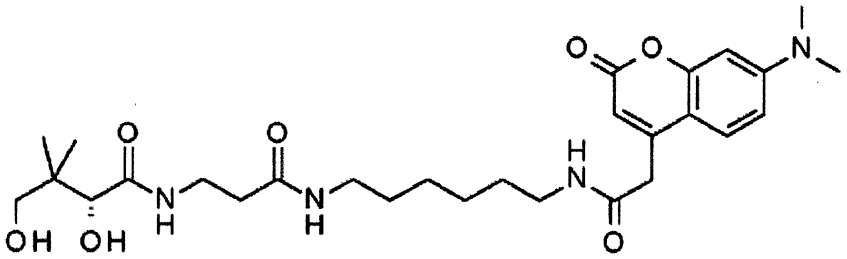


又は



(Ic)

【００２７】
(式中、R^A、-R^B、-L-及び-Aは式(I)の化合物について定義される通りである)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態のものである。
【００２８】
一実施形態では、化合物が、
【００２９】
【化５】



【００３０】
ではない。
【００３１】
本発明の第2の態様では、場合により1つ又は複数の薬学的に許容される賦形剤と共に式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物が提供される。
【００３２】
本発明の第3の態様では、処置方法における使用のための、本発明の第1の態様及び第2の態様に記載される、式(I)のコンジュゲート又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物が提供される。
【００３３】
本発明の第4の態様では、感染症、例えば微生物感染症、例えば細菌感染症;又は線虫若しくは扁形動物感染症;又は寄生生物感染症を処置する方法における使用のための、本発明の第1の態様及び第2の態様に記載される、式(I)のコンジュゲート又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物が提供される。
【００３４】
種々の実施形態では、感染症が、捻転胃虫(Haemonchus contortus)、トリパノソーマ・ブルセイ(Trypanosoma brucei)、タイレリア・アンヌラタ(Theileria annulate)、熱帯熱マラリア原虫(Plasmodium falciparum)、ロトマリア・パッシム(Lotmaria passim)、バベシア・ボビス(Babesia bovis)又は結核菌(Mycobacterium tuberculosis)のいずれか1つによって引き起こされ得る。
【００３５】
種々の実施形態では、感染症が、蠕虫、キネトプラスト、アピコンプレックス又はマイコバクテリア(Mycobacteria)によって引き起こされ得る。
【００３６】
本発明の第5の態様では、ヒト疾患の動物モデルとして使用される、カエノラブディティス・エレガンス(Caenorhabditis elegans)への薬物及びタンパク質送達のためのツールとしてのコンジュゲートの使用が提供される。
【００３７】
本発明はまた、本発明の第1の態様及び第2の態様に記載される式(I)のコンジュゲート又は式(I)のコンジュゲートを含む医薬組成物を細胞に送達する方法であって、細胞を式(I)のコンジュゲート又はコンジュゲートを含む組成物と接触させる工程を含む方法を提供する。
【００３８】
一実施形態では、本発明の方法が、ヒト又は動物の体の処置方法ではない。一実施形態で

は、本発明の方法がエキソビボである。

【００３９】

一態様では、式(I)の化合物の調製に使用するための化合物が提供される。一実施形態では、化合物が、以下に更に詳細に記載される、式(II)、(III)、(IV)又は(V)のものである。

【００４０】

本発明の更なる態様では、式(I)の化合物を調製する方法であって、式(II)、(III)又は(IV)の化合物を活性剤と反応させて、それによって、式(I)の化合物を得る工程を含む方法が提供される。

【００４１】

一実施形態では、本方法が、式(V)の化合物を式(II)、(III)又は(IV)の化合物と反応させて、それによって、式(I)の化合物を得る工程を含む。

【００４２】

本発明の更に別の態様では、処置方法における使用のための活性剤の使用であって、活性剤がパントテン酸基とコンジュゲートしている、使用が提供される。よって、活性剤は式(I)のコンジュゲートであり得る。

【００４３】

本発明のこれらの態様及び他の態様は以下に更に詳細に論じられる。

【図面の簡単な説明】

【００４４】

【図１】1対の蛍光顕微鏡像である。左は本発明のコンジュゲートで処理した2匹の栄養体段階の寄生生物を含有する感染赤血球を示し、化合物が寄生生物のサイトゾルの至る所に存在する。消化胞は黒丸に見え、化合物蓄積はない。右は栄養体段階感染細胞を囲む蛍光を示さないいくつかの非感染赤血球を示す。

【図２ａ】本発明のコンジュゲートで処理した生物の蛍光顕微鏡像を含む一連の顕微鏡像である。コンジュゲート5で処理したバベシア・ボビスに感染した赤血球の蛍光顕微鏡像である。非感染赤血球はコンジュゲートを取り込まない。

【図２ｂ】本発明のコンジュゲートで処理した生物の蛍光顕微鏡像を含む一連の顕微鏡像である。コンジュゲート5で処理したタイレリア・パルバ(Theileria parva)に感染した赤血球の蛍光顕微鏡像である。コンジュゲートが寄生生物内に蓄積しているように見える。

【図２ｃ】本発明のコンジュゲートで処理した生物の蛍光顕微鏡像を含む一連の顕微鏡像である。コンジュゲート5で処理した熱帯熱マラリア原虫に感染した赤血球の明視野(左)及び蛍光(右)顕微鏡像である。非感染赤血球はコンジュゲートを取り込まない。

【図２ｄ】本発明のコンジュゲートで処理した生物の蛍光顕微鏡像を含む一連の顕微鏡像である。コンジュゲート9(蛍光像で緑色の点として見える)で処理したトリパノソーマ・ブルセイの明視野(左)及び蛍光(右)顕微鏡像である。DAPI染色も見える(蛍光像で青色の点)。コンジュゲート5も試験した(画像は示さない)。コンジュゲート5はT.ブルセイによって取り込まれ、トリパノソーマ体の全体にわたって小型小胞を形成したが、リソソームにも核にも蓄積せず、鞭毛嚢とリソソームとの間の小胞に蓄積した。他方、コンジュゲート9は、化合物5よりもはるかに迅速に、はるかに高濃度で取り込まれる。化合物9も細胞全体にわたって広がるが、ミトコンドリア又は小胞体により高濃度の領域を有するように見える。

【図２ｅ】本発明のコンジュゲートで処理した生物の蛍光顕微鏡像を含む一連の顕微鏡像である。生物によるコンジュゲートの取り込みを示す、コンジュゲート5で処理した大腸菌(Escherichia coli)の蛍光顕微鏡像である。

【図２ｆ】本発明のコンジュゲートで処理した生物の蛍光顕微鏡像を含む一連の顕微鏡像である。生物によるコンジュゲートの取り込みを示す、コンジュゲート5で処理したエンテロコッカス・フェカリス(Enterococcus faecalis)の蛍光顕微鏡像である。

【図２ｇ】本発明のコンジュゲートで処理した生物の蛍光顕微鏡像を含む一連の顕微鏡像

である。生物によるコンジュゲートの取り込みを示す、コンジュゲート5で処理した黄色ブドウ球菌(Staphylococcus aureus)の蛍光顕微鏡像である。
【図２ｈ】本発明のコンジュゲートで処理した生物の蛍光顕微鏡像を含む一連の顕微鏡像である。コンジュゲート1(右の像)及び5(左の像)で処理したカエノラブディティス・エレガンスの1対の蛍光顕微鏡像である。コンジュゲート5は、C.エレガンスの消化通路で局在化している。コンジュゲート1は線虫全体にわたって分布している。
【図２ｉ】本発明のコンジュゲートで処理した生物の蛍光顕微鏡像を含む一連の顕微鏡像である。コンジュゲート1で処理した及び処理していない捻転胃虫の蛍光顕微鏡像のペアである。左の像は、捻転胃虫の自家蛍光を示す対照である。右の像は、コンジュゲート1とインキュベートした捻転胃虫のものである。
【図３】L.パッシムにおける送達ビヒクル(a)化合物2及び(b)化合物8の取り込み試験の結果を示す図である。写真は、化合物2については500μM、化合物8については10μM、及び室温で45分間のインキュベーションで実施した実験から撮影した。サイズバー:5μm。
【図４】L.パッシムにおける送達ビヒクル及びBODIPY11の評価の結果を示す図である。棒グラフは、1μM及び室温で45分間のインキュベーションで実施した実験からのRFUを表す。ImageJソフトウェアを使用してRFUを画像から計算した。(単位×10^6)。アステリスクは、独立したスチューデントのt検定を使用して分析した試料とBODIPY対照1との間の有意差(*P〈0.03)を示す。
【図５】ミツバチの腸における送達ビヒクル2及び8並びにBODIPYユニット11の取り込み試験の結果を示す図である。写真は、100μM及び33℃で45分間実施した実験から撮影した。サイズバー:100μm。写真は、明視野(左の画像)及びFITCフィルタ(右の画像)像を示す。(a)BODIPY11;(b)化合物1;(c)化合物2;(d)化合物8。
【図６】B.ボビスに感染したRBCにおける送達ビヒクルの取り込み評価を示す図である。写真は、明視野及びFITCフィルタの合併した結果である。サイズバー:5μm。a)化合物1;b)化合物3;c)化合物2;d)化合物5;e)BODIPY11。
【図７】B.ボビスに感染したRBCにおける送達ビヒクル(R)-P3の取り込み評価を示す図である。写真は、100μM及び37℃で45分間のインキュベーションで実施した実験からの結果である。写真:寄生生物が感染したRBC、サイズバー:5μm。(a)明視野;(b)DAPI;(c)FITC;(d)合併。
【図８】野生型線虫の混合培養物におけるイベルメクチンB1a並びに化合物14及び15並びにイベルメクチンB1aの取り込み評価を示す図である。像は、5μM及び50μM濃度、25℃及び24時間のインキュベーションで実施した実験から撮影している。サイズバー:100μm。(a)イベルメクチンB1a、5μM、明視野;(b)化合物14、5μM、明視野;(c)化合物15、5μM、FITC;(d)イベルメクチンB1a、50μM、明視野。
【図９】細菌、結核菌(H37Rv株)を50μg/mLの化合物1～8、10及び対照PBS(リン酸緩衝生理食塩水)とインキュベートした場合の取り込み評価を示す図である。図9(a)は、細菌と45分間インキュベートした後の化合物1～8、10及び対照PBSの相対蛍光単位(RFU)による取り込み実験のグラフを示す。図9(b)は、化合物1(上)及び2(下)を用いた取り込み実験についての結核菌細菌の2つの明視野像を示す。
【発明を実施するための形態】
【００４５】
本発明者らは、パントテン酸及びその誘導体を使用して活性剤を修飾してインビボでの活性剤の送達を改善することができることを見出した。
【００４６】
コンジュゲートは、直接又はリンカー基を介して、薬剤に共有結合的に連結しているパントテン酸基を含む。
【００４７】
パントテン酸は、補酵素A(CoA)を調製するためにインビボで利用される(Van der Westhuyzenら参照)。生合成の第1の工程は、PanKによって媒介される、パントテン酸のP

-Panへの変換である。次いで、このリン酸化化合物がP-Pan-CMPに変換され、次いで、PPCSの作用下でPPCに変換される。

【００４８】

近年、補酵素A生合成を破壊することができるパントテン酸の類似体が記載されている。研究により、ある範囲の細菌はパントテネートを合成することができず、したがって、CoAを合成するために環境からのパントテン酸の取り込みに依存していることが示されている。したがって、CoA生合成の破壊は、細菌感染症の処置に有用な戦略である。

【００４９】

パントテン酸の例示的な生理活性誘導体はCJ-15801である。構造的には、CJ-15801は、β-アラニン部分に二重結合を有するという事実においてのみパントテネートと異なる。CJ-15801は、PanK及びPPCSによってインビボでプロセシングされて、P-CJ-CMP(P-Pan-CMPのCJ-15801バージョン)を与える。P-CJ-CMPは、PPCSの強力な密接結合阻害剤である。したがって、パントテン酸のプロセシングが防止される。

【００５０】

Hanらは、抗生物質CJ-15801への合成経路を記載している。いくつかの中間体は抗生物質の保護された形態であり、例えばカルボン酸末端がベンジルアミド又はアリルオキシカルボニル基として保護されている。抗生物質の保護された形態は、抗生物質活性を有すると報告されておらず、カルボン酸末端で使用される保護基は活性剤とみなされない。

【００５１】

本発明者らは、活性剤をパントテン酸及びその誘導体で修飾して活性剤の送達を改善する、例えば活性剤の寄生生物及び細菌への送達を改善することができることを確立した。本発明者らは、パントテン酸基を含有するコンジュゲートが細胞に迅速に取り込まれることを確立した。例えば、本発明者らは、本発明のコンジュゲートが、黄色ブドウ球菌及びE.フェカリス細胞等に45分以内に取り込まれることに気づいた。よって、本発明のコンジュゲートは、グラム陽性菌及びグラム陰性菌で用途を見出している。

【００５２】

更に、本発明のコンジュゲートは、一定の細胞型に選択的であり、例えば、好ましくは哺乳動物細胞よりも細菌細胞に、又は宿主細胞よりも寄生生物細胞に取り込まれ得る。一実施形態では、本発明のコンジュゲートが、好ましくは感染していない哺乳動物細胞よりも寄生生物に感染している哺乳動物細胞に取り込まれ得る。別の実施形態では、本発明のコンジュゲートが、好ましくは昆虫細胞よりも寄生生物に感染している細胞に取り込まれ得る。

【００５３】

本発明のコンジュゲートは、原核細胞、例えば細菌細胞に送達可能である。本発明のコンジュゲートは、例えば、クロムアルベオラータ(Chromalveolata)微生物、例えばアピコンプレックス微生物、又はキネトプラスト、例えばトリパノソーマ属及びロトマリア属を含む、原生生物などの真核微生物の細胞を含む真核細胞に送達可能である。本発明のコンジュゲートは、蠕虫、例えばC.エレガンス及び捻転胃虫に送達可能である。

【００５４】

したがって、本発明のコンジュゲートは、疾患に関連する微生物を処理するための薬剤の送達に用途を見出し得る。よって、コンジュゲートは、対象、例えば哺乳動物対象における微生物感染症の処置に用途を見出す。

【００５５】

よって、パントテン酸及びその誘導体は(基質又は代謝拮抗薬として)CoA生合成経路内においてインビボで用途を有することが知られているが、この酸及びその誘導体を本発明では、活性剤の輸送特性を修飾する、例えば改善するために使用する。

【００５６】

Clarkeらは以前、補酵素A(CoA)の生合成を研究するためにパントテン酸類似体を記載している。ここでは、パントテン酸がジアミノアルキレンリンカーを介して蛍光色素に共有結合的に接続された。パントテン酸類似体は大腸菌細胞に取り込まれ、細胞内でプロセ

シングされて補酵素A類似体を与えた。

【００５７】

パントテン酸類似体は処置方法に使用されておらず、類似体を、寄生生物の宿主である哺乳動物細胞に送達することができるという示唆はない。実際、著者らは、類似体がごくわずかな抗菌活性を有することを報告しており、これが類似体の利点として強調されている。

【００５８】

Clarkeらの研究は、細胞内でのパントテネート化合物の代謝プロセシングを研究することのみに焦点を当てている。よって、パントテン酸類似体は、天然産物解明のための基質として提供されている。パントテン酸又はその誘導体を送達ビヒクルとして使用して他の活性剤を細胞に運ぶ、又は運ぶことができるという示唆はない。

【００５９】

一実施形態では、本発明のコンジュゲートが、Clarkeらからの化合物1ではない。更なる実施形態では、本発明のコンジュゲートが、生物活性、例えば抗寄生生物活性、例えば抗微生物活性を有する活性剤を含む。

【００６０】

欧州特許第0068485号は、抗生物質として使用するためのパントテン酸基にコンジュゲートしたカルバペネム誘導体を開示している。この特許の焦点は、細菌、例えばストレプトマイセス属(Streptomyces)種OA-6129からこれらのカルバペネム誘導体を製造することである。これらの化合物が、β-ラクタム高感受性微生物であるコマモナス・トリゲナ(Comamonas terrigena)B-996に対する抗微生物活性を有することが開示されているが、定量的データは開示されていない。パントテン酸又はその誘導体を送達ビヒクルとして使用して他の活性剤を細胞に運ぶ、又は運ぶことができる示唆はない。

【００６１】

微生物、例えば細菌に対して使用するためのコンジュゲートは、パントテン酸基のβ-アラニン部分に少なくとも1個の不飽和結合を含有しており、エナミドを形成するので、本発明は欧州特許第0068485号とは異なる。パントテン酸基のこの誘導体は、パントテン酸基自体よりも細菌に選択的である(例えば、実施例の結核菌での試験を参照されたい)。

【００６２】

米国特許第9108942号は、重度の疼痛を処置するのに使用するためのコンジュゲートCLX-SYN-G18-CO1を開示している。このコンジュゲートは、パントテン酸基に結合した活性剤として2-(2-((2,6-ジクロロフェニル)アミノ)フェニル)酢酸基を含有する。開示される他のコンジュゲートは、活性剤に結合した多種多様な異なる基を有する。パントテン酸基が、開示される基の他のリストより好ましい示唆はない。

【００６３】

本発明のコンジュゲートは、パントテン酸基のβ-アラニン部分に少なくとも1個の不飽和結合を含有しており、エナミドを形成するので、本発明はCLX-SYN-G18-CO1に対して新規である。パントテン酸基のこの誘導体は、パントテン酸基自体よりも選択的である(例えば、実施例の熱帯熱マラリア原虫、トリパノソーマ・ブルセイ、タイレリア・アンヌラタ及び結核菌での試験を参照されたい)。

【００６４】

国際公開第2012 064632号は、多種多様な状態、例えば細菌及び原生動物感染症を処置するのに使用するための、脂肪酸合成酵素を阻害することができる5-メルカプト-1H-インダゾール-4,7-ジオン誘導体を開示している。開示される化合物の一部は、多種多様な他の可能な基の中でも、パントテン酸基にコンジュゲートしている。化合物が細菌又は原生動物に対する活性を有するという主張を裏付けるための生物学的データは提供されていない。原生動物は必ずしも寄生生物ではない。

【００６５】

本発明の細菌又は寄生生物に対して使用するためのコンジュゲートは、パントテン酸基のβ-アラニン部分に少なくとも1個の不飽和結合を含有しており、エナミドを形成するの

で、本発明は国際公開第2012 064632号に対して新規である。パントテン酸基のこの誘導体は、パントテン酸基自体よりも細菌又は寄生生物に選択的である(例えば、実施例の熱帯熱マラリア原虫、トリパノソーマ・ブルセイ、タイレリア・アンヌラタ及び結核菌での試験を参照されたい)。

【００６６】

国際公開第2012/097454号は、パントテン酸基に結合したアミノグリコシド部分を含む、耐性細菌細胞を増強するためのコンジュゲートを開示している。これらのコンジュゲートは、それ自体抗菌活性を欠くが、細菌を他の抗生物質に対して再感作させることが報告されている。パントテン酸又はその誘導体を送達ビヒクルとして使用して他の活性剤を細胞に運ぶ、又は運ぶことができる示唆はない。

【００６７】

本発明の細菌に対して使用するためのコンジュゲートは、パントテン酸基のβ-アラニン部分に少なくとも1個の不飽和結合を含有しており、エナミドを形成するので、本発明は国際公開第2012/097454号に対して新規である。パントテン酸基のこの誘導体は、パントテン酸基自体よりも細菌に選択的である(例えば、実施例の結核菌での試験を参照されたい)。

【００６８】

国際公開第2019/060634号は、パントテン酸基にコンジュゲートしたシスタミン誘導体を含む2つの化合物を開示している。これらの化合物は、システアミン感受性症状、症候群及び疾患を処置するためのものである。これには、感染性疾患、例えば細菌感染症及び寄生生物感染症が含まれる。システアミン感受性感染症を引き起こすと述べられている例示的な細菌及び寄生生物は、嚢胞性線維症を引き起こす緑膿菌(Pseudomonas aeruginosa)細菌、並びにマラリアを引き起こす熱帯熱マラリア原虫及びネズミマラリア原虫寄生生物である。同様に、パントテン酸又はその誘導体を送達ビヒクルとして使用して他の活性剤を細胞に運ぶ、又は運ぶことができる示唆はない。

【００６９】

本発明の細菌及び寄生生物に対して使用するためのコンジュゲート中の活性剤は、パントテン酸基のβ-アラニン部分に少なくとも1個の不飽和結合を含有しており、エナミドを形成するので、本発明は国際公開第2019/060634号に対して新規である。パントテン酸基のこの誘導体は、パントテン酸基自体よりも細菌及び寄生生物に選択的である(例えば、実施例の熱帯熱マラリア原虫、トリパノソーマ・ブルセイ、タイレリア・アンヌラタ及び結核菌での試験を参照されたい)。

【００７０】

Meierらは、パントテン酸基にコンジュゲートした蛍光色素部分を含有する、インビトロ及びインビボタンパク質標識のための化合物を開示している。これらの化合物は、大腸菌のCoA経路に組み込まれ、キャリアタンパク質Frenに結合することが示された。同様に、パントテン酸又はその誘導体を送達ビヒクルとして使用して他の活性剤を細菌、例えば大腸菌に運ぶ、又は運ぶことができる示唆はない。

【００７１】

細菌、例えば大腸菌への送達方法における使用のためのコンジュゲートは、パントテン酸基のβ-アラニン部分に少なくとも1個の不飽和結合を含有しており、エナミドを形成するので、本発明はMeierらに対して新規である。パントテン酸基のこの誘導体は、パントテン酸基自体よりも細菌に選択的である(例えば、実施例の結核菌での試験を参照されたい)。

【００７２】

Shakyaらは、ポリケチド模倣物としてのパントテン酸誘導体を開示している。模倣物は、ポリケチド合成酵素(PKS)を調べるのに使用するためアクチノロージンアシルキャリアタンパク質(actACP)に結合する。パントテン酸又はその誘導体を送達ビヒクルとして使用して活性剤を細胞に運ぶ、又は運ぶことができる示唆はない。

【００７３】

本発明のコンジュゲートは、パントテン酸基のβ-アラニン部分に少なくとも1個の不飽和結合を含有しており、エナミドを形成するので、本発明はShakyaらに対して新規である。更に、パントテン酸基に結合した部分は、色素でも、低分子薬でも、ポリペプチドでも、ポリヌクレオチドでも、多糖でもない。

【００７４】

Storzらは、PqsD酵素を阻害する化合物を開示している。PqsDの阻害により、2-ヘプチル-4-ヒドロキシキノリン(HHQ)及び緑膿菌キノロンシグナル(PQS)の産生が抑制される。分子HHQ及びPQSは、病原性グラム陰性菌である緑膿菌の病原性因子産生及びバイオフィルム形成の調節に関与する。よって、PqsDは、抗感染症薬の開発の標的となる。

【００７５】

本発明の細菌に対して使用するためのコンジュゲートは、パントテン酸基のβ-アラニン部分に少なくとも1個の不飽和結合を含有しており、エナミドを形成するので、本発明はStorzらに対して新規である。パントテン酸基のこの誘導体は、パントテン酸基自体よりも細菌に選択的である(例えば、実施例の結核菌での試験を参照されたい)。

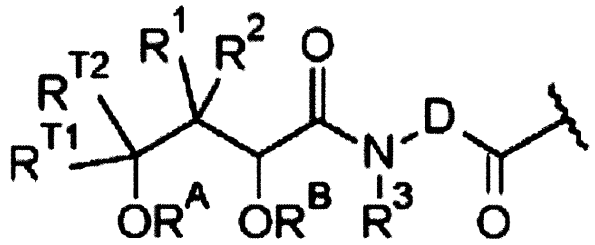
【００７６】

コンジュゲート

本発明は、薬剤とパントテン酸基のコンジュゲートを提供する。よって、一実施形態では、コンジュゲートが、構造:

【００７７】

【化６】



【００７８】

を有する基を含む。

【００７９】

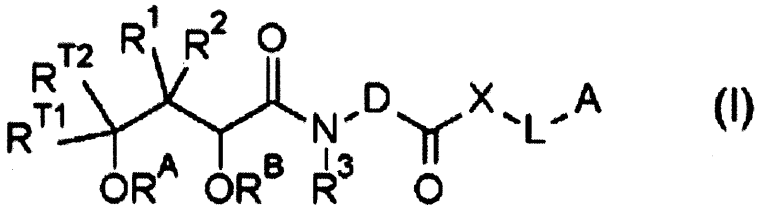
この場合、パントテン酸基及びその誘導体(「パントテン酸基」)への言及は、上に示される構造を有する基への言及である。

【００８０】

本発明の一態様では、式(I)のコンジュゲート:

【００８１】

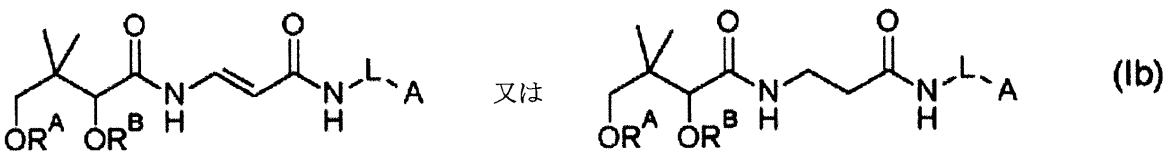
【化７】



【００８２】

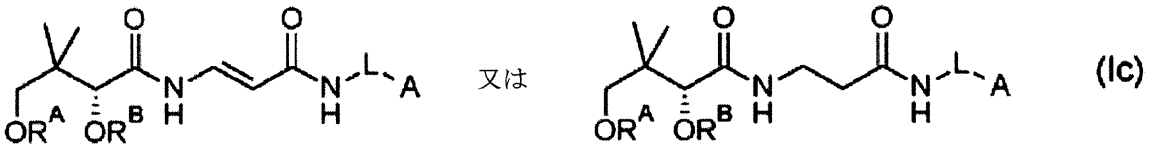
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態が提供される。置換基は以下に詳細に論じられる。

【００８３】
例示的なコンジュゲート
一実施形態では、式(I)の化合物が、式(Ib):
【００８４】
【化８】



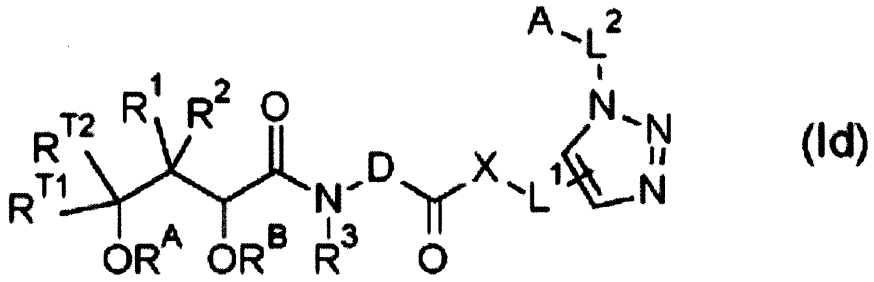
(Ib)

【００８５】
(式中、-R^A、-R^B、-L-及び-Aは式(I)の化合物について定義される通りである)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態のものである。
【００８６】
一実施形態では、式(I)の化合物が、式(Ic):
【００８７】
【化９】



(Ic)

【００８８】
(式中、-R^A、-R^B、-L-及び-Aは式(I)の化合物について定義される通りである)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態のものである。
【００８９】
一実施形態では、式(I)の化合物が、式(Id):
【００９０】
【化１０】



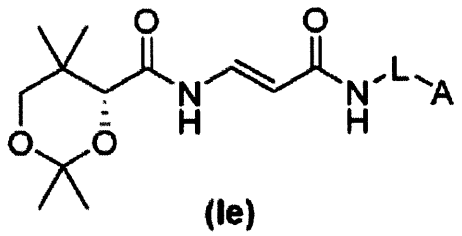
(Id)

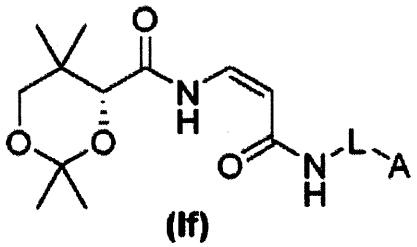
【００９１】
(式中、-R^{T1}、-R^{T2}、-R^A、-R^B、-R^1、-R^2、-R^3、-D-及び-X-は式(I)の化合物について定義される通りであり;
-L^1-はアルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-L^2-はアルキレン又はヘテロアルキレンである)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態のものである。
【００９２】

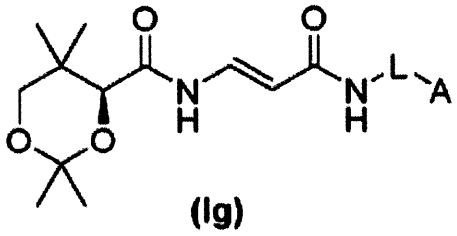
一実施形態では、式(I)の化合物が、以下の式:

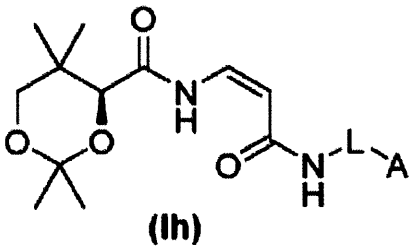
【００９３】

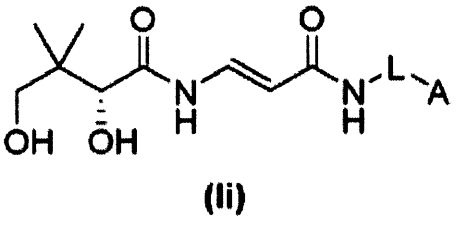
【化１１】

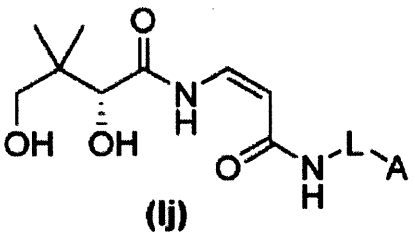

(Ie)

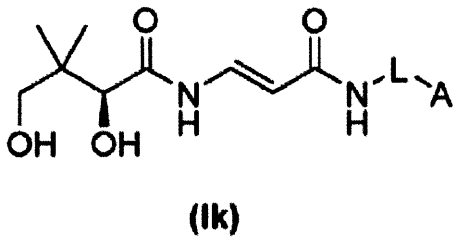

(If)

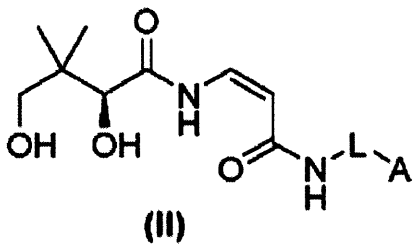

(Ig)

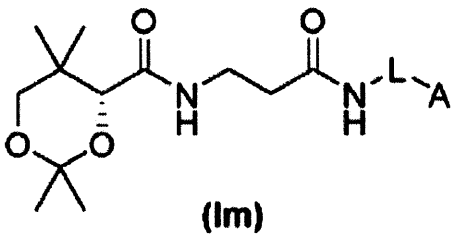

(Ih)

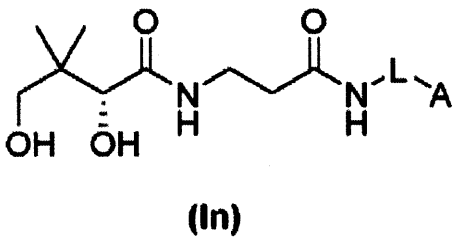

(Ii)


(Ij)


(Ik)


(Il)


(Im)


(In)

【００９４】

(式中、-L-及び-Aは式Iの化合物について定義される通りである)

の化合物から選択される。

【００９５】

好ましい実施形態では、-L-が式(Id)の化合物について定義されるリンカーである。更により好ましい実施形態では、$-L^1-$がC_2アルキレンであり、$-L^2-$がC_3アルキレン又はC_5アルキレンである。

【００９６】

一実施形態では、式Iの化合物が式(Ie)又は(If)の化合物である。好ましい実施形態では、-L-が式(Id)の化合物について定義されるリンカーである。更により好ましい実施形態では、$-L^1-$がC_2アルキレンであり、$-L^2-$がC_3アルキレン又はC_5アルキレンである。

【００９７】

中間体化合物

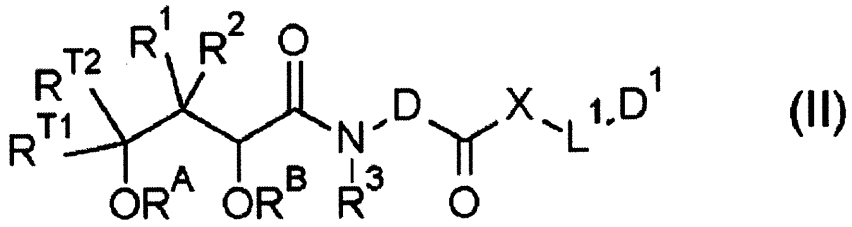
本発明の他の態様では、式(I)の化合物の調製に使用するための中間体化合物が提供される。

【００９８】

したがって、式(II)の化合物

【００９９】

【化１２】



(II)

【０１００】

(式中、$-R^{T1}$、$-R^{T2}$、$-R^A$、$-R^B$、$-R^1$、$-R^2$、$-R^3$、-D-及び-X-は式(I)の化合物について定義される通りであり;

$-L^1-$はアルキレン又はヘテロアルキレンであり;

$-D^1$は、-OH、-SH、-SeH、$-NH_2$、$-NHR^N$、-COOH、-COH、$-COOR^D$、$-N_3$、$-C=CH_2$、-C=C(H)(Hal)及び-C≡CHから選択され、$-R^N$及び$-R^D$はそれぞれ独立に、アルキルであり、Halはハロゲンである)

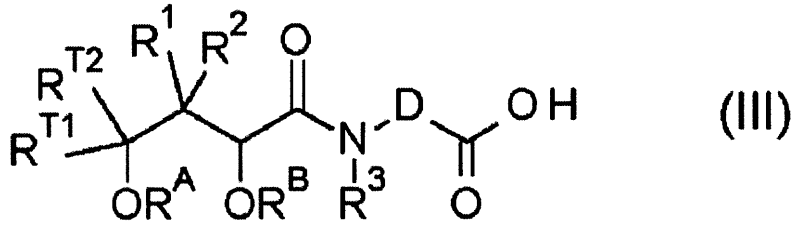
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態が提供される。

【０１０１】

式(III)の化合物:

【０１０２】

【化１３】



(III)

【０１０３】

(式中、$-R^{T1}$、$-R^{T2}$、$-R^A$、$-R^B$、$-R^1$、$-R^2$、$-R^3$及び-D-は式(I)の化合物について定義される通りである)

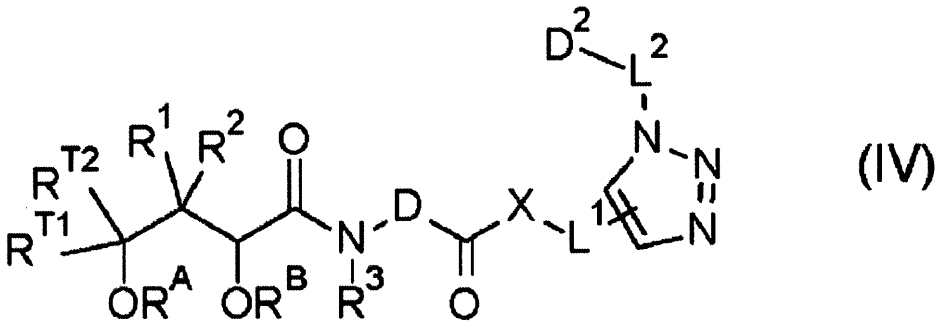
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態も提供される。

【０１０４】

本発明はまた、式(IV)の化合物:

【０１０５】

【化１４】



(IV)

【０１０６】
(式中、-R^{T1}、-R^{T2}、-R^{A}、-R^{B}、-R^{1}、-R^{2}、-R^{3}、-D-及び-X-は式(I)の化合物について定義される通りであり;
-L^{1}-はアルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-L^{2}-はアルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-D^{2}は、-OH、-SH、-SeH、-NH_2、-NHR^{N}、-COOH、-COH、-$COOR^{D}$及びマレイミジルから選択される)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態を提供する。

【０１０７】
式(V)の化合物:

【０１０８】
【化１５】



(V)

【０１０９】
(式中、-Aは活性剤であり;
-L^{3}-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-Tは、-OH、-SH、-SeH、-NH_2、-NHR^{N}、-COOH、-COH、-$COOR^{D}$、-N_3、-C=CH_2及び-C≡CHから選択され、-R^{N}及び-R^{D}はそれぞれ独立に、アルキルから選択される)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態も提供され、本発明で使用するのに適している。

【０１１０】
置換基
アルキル基は一価炭化水素基を指す。アルキル基は完全飽和である。これは直鎖状又は分岐であり得る。アルキル基は、$C_{1\sim10}$アルキル、$C_{1\sim6}$アルキル、$C_{1\sim4}$アルキル、$C_{1\sim2}$アルキル又はC_1アルキル(メチル)であり得る。

【０１１１】
アルキレン基は二価炭化水素基を指す。アルキレン基は完全飽和である。これは直鎖状又は分岐であり得る。アルキレン基は、$C_{1\sim10}$アルキレン、$C_{1\sim6}$アルキレン、$C_{1\sim4}$アルキレン、$C_{1\sim3}$アルキレン、$C_{2\sim3}$アルキレン、$C_{1\sim2}$アルキレン、C_2アルキレン(エチレン)又はC_1アルキレン(メチレン)であり得る。

【０１１２】
アルケニル基は、1つ又は複数の炭素-炭素二重結合、例えば1つの二重結合を有する一価炭化水素基を指す。アルケニル基は完全又は部分不飽和、例えば部分不飽和であり得る。

これは直鎖状又は分岐であり得る。アルケニル基は、C_{2}～$_{10}$アルケニル、C_{2}～$_{6}$アルケニル、C_{2}～$_{4}$アルケニル、C_{2}～$_{3}$アルケニル、C_{3}アルケニル(アリル)又はC_{2}アルケニル(ビニル)であり得る。

【０１１３】

アルケニレン基は、1つ又は複数の炭素-炭素二重結合、例えば1つの二重結合を有する二価炭化水素基を指す。アルケニル基は完全又は部分不飽和、例えば部分不飽和であり得る。これは直鎖状又は分岐であり得る。アルケニレン基は、C_{2}～$_{12}$アルケニレン、C_{2}～$_{10}$アルケニレン、C_{2}～$_{6}$アルケニレン、C_{4}～$_{6}$アルケニレン、C_{2}～$_{4}$アルケニレン、C_{2}～$_{3}$アルケニレン、C_{2}アルケニレン又はC_{3}アルケニレンであり得る。

【０１１４】

アルキニル基は、1つ又は複数の炭素-炭素三重結合、例えば1つの三重結合を有する一価炭化水素基を指す。アルキニル基は完全又は部分不飽和、例えば部分不飽和であり得る。これは直鎖状又は分岐であり得る。アルキニル基は、C_{2}～$_{10}$アルキニル、C_{2}～$_{6}$アルキニル、C_{2}～$_{4}$アルキニル、C_{2}～$_{3}$アルキニル、C_{3}アルキニル(プロパルギル)又はC_{2}アルキニルであり得る。

【０１１５】

シクロアルキル基は一価環状炭化水素基を指す。シクロアルキル基は完全飽和である。シクロアルキル基は、1つの環、又は2つ以上の縮合環を有し得る。シクロアルキル基は、C_{3}～$_{10}$シクロアルキル、例えばC_{3}～$_{6}$シクロアルキル、例えばC_{4}～$_{6}$シクロアルキル、例えばC_{6}シクロアルキル(シクロヘキシル)であり得る。

【０１１６】

シクロアルキレン基は二価環状炭化水素基を指す。シクロアルキレン基は完全飽和である。シクロアルキレン基は、1つの環、又は2つ以上の縮合環を有し得る。シクロアルキレン基は、C_{3}～$_{10}$シクロアルキレン、例えばC_{3}～$_{6}$シクロアルキレン、例えばC_{4}～$_{6}$シクロアルキレン、例えばC_{6}シクロアルキレン(シクロヘキシレン)であり得る。

【０１１７】

ヘテロアルキレン基は、1つ又は複数の炭素原子がヘテロ原子で置き換えられている、二価炭化水素基を指す。ヘテロアルキレン基は完全飽和である。これは直鎖状又は分岐であり得る。

ヘテロアルキレン基は、C_{2}～$_{12}$ヘテロアルキレン基、例えばC_{3}～$_{12}$ヘテロアルキレン、例えばC_{3}～$_{12}$ヘテロアルキレンであり得る。

ヘテロアルキレン基は、アルキレングリコール基、例えばポリアルキレングリコール基であり得る。ここでは、例として、エチレングリコール基、例えばポリエチレングリコール基が挙げられる。ヘテロアルキレン基は、1個又は2個のヘテロ原子、例えば1個を含み得る。

ヘテロ原子は-O-、-S-及び/又は-NH-から選択され得る。

【０１１８】

アリール基は一価芳香族基を指す。アリール基はカルボアリール基又はヘテロアリール基であり得る。

カルボアリール基は、C_{6}～$_{14}$カルボアリール、C_{6}～$_{10}$カルボアリール、例えばC_{6}カルボアリール(フェニル)又はC_{10}カルボアリール(ナフチル)であり得る。

ヘテロアリール基は、C_{5}～$_{10}$ヘテロアリール、例えばC_{5}～$_{6}$ヘテロアリール、例えばC_{5}ヘテロアリール又はC_{6}ヘテロアリールであり得る。ヘテロアリール基は、N、S及びOから選択される1つ又は複数の芳香環原子を有する。

C_{5}ヘテロアリール基の例としては、ピロリル及びオキサゾリルが挙げられる。C_{6}ヘテロアリール基の例としては、ピリジル及びピリミジニルが挙げられる。

アリール基は、1つの環、又は2つ以上の縮合環を有し得る。ヘテロアリール基が2つ以上の環を有する場合、各環は5～7個の環原子を有してもよく、そのうちの0～4個がヘテロ原子である(但し、少なくとも1つの環は1個のヘテロ原子を有する)。

【０１１９】

アリーレン基は二価芳香族基を指す。アリーレン基はカルボアリーレン基又はヘテロアリーレン基であり得る。
カルボアリーレン基は、C_{6}～$_{14}$カルボアリーレン、C_{6}～$_{10}$カルボアリーレン、例えばC_{6}カルボアリーレン(フェニレン)又はC_{10}カルボアリーレン(ナフチレン)であり得る。
ヘテロアリーレン基は、C_{5}～$_{10}$ヘテロアリーレン、例えばC_{5}～$_{6}$ヘテロアリーレン、例えばC_{5}ヘテロアリーレン又はC_{6}ヘテロアリーレンであり得る。ヘテロアリーレン基は、N、S及びOから選択される1つ又は複数の芳香環原子を有する。
C_{5}ヘテロアリーレン基の例としては、トリアゾリレン、ピロリレン及びオキサゾリレンが挙げられる。C_{6}ヘテロアリーレン基の例としては、ピリジレン及びピリミジレンが挙げられる。
アリーレン基は、1つの環、又は2つ以上の縮合環を有し得る。ヘテロアリーレン基が2つ以上の環を有する場合、各環は5～7個の環原子を有してもよく、そのうちの0～4個がヘテロ原子である(但し、少なくとも1つの環は1個のヘテロ原子を有する)。

【０１２０】

ヘテロシクレン基は二価複素環を指す。ヘテロシクレン基は完全飽和である。
ヘテロシクレンは、C_{5}～$_{12}$ヘテロシクレン、例えばC_{5}～$_{7}$ヘテロシクレン、例えばC_{5}～$_{6}$ヘテロシクレン、例えばC_{6}ヘテロシクレンであり得る。
ヘテロシクレンは、1つ又は2つの縮合環を有し得る。2つの環が存在する場合、一方又は両方の環がヘテロ原子を有し得る。
ヘテロシクレンは、O、S及びN(NHなど)から選択される1つ又は複数の環ヘテロ原子を有し得る。硫黄原子は、オキシド、例えばSO及びSO_{2}であり得る。
ヘテロシクレン基中の炭素環原子は、オキソ置換基(=O)を有し得る。一実施形態では、オキソ置換基が、隣接窒素環原子を有する炭素環原子上に提供され、それによって複素環中にアミド様基が提供される。
ヘテロシクレンが窒素環原子を有する場合、ヘテロシクレンは窒素環原子を介して接続され得る。

【０１２１】

アラルキル基は、1つ又は複数の、例えば1つのアリール置換基を有するアルキル基を指す。アラルキルは、アルキル基を介して接続される。アラルキル基の例はベンジルである。アルキル及びアリール基はそれぞれ本明細書で定義される通りであり得る。

【０１２２】

シクロアルキルアルキル基は、シクロアルキル置換基を有するアルキル基を指す。シクロアルキルアルキル基は、アルキル基を介して接続される。アルキル及びシクロアルキル基はそれぞれ本明細書で定義される通りであり得る。

【０１２３】

アルカノイル基は、接続を形成するアルキル基の炭素がオキソ(=O)で置換されている、アルキル基を指す。アルカノイル基の例はアシル(C_{2}アルカノイル)である。アルカノイル基は、本明細書に記載されるアルキル基に基づき得る。

【０１２４】

アラルカノイル基は、接続を形成するアルキル基の炭素がオキソ(=O)で置換されている、アラルキル基を指す。アラルカノイル基の例はベンゾイルである。アラルカノイル基は、本明細書に記載されるアラルキル基に基づき得る。

【０１２５】

アルコキシ基は、エーテル酸素原子を介して接続されているアルキルエーテルを指す。アルキル基は本明細書で定義される通りである。

【０１２６】

アルケノキシ基は、エーテル酸素原子を介して接続されているアルケニルエーテルを指す。アルケニル基は本明細書で定義される通りである。一実施形態では、エーテル酸素が、炭素-炭素二重結合にも参加する炭素原子で提供されない。

【０１２７】

アルキノキシ基は、エーテル酸素原子を介して接続されているアルキニルエーテルを指す。アルキニル基は本明細書で定義される通りである。一実施形態では、エーテル酸素が、炭素-炭素三重結合にも参加する炭素原子で提供されない。

【０１２８】

アラルコキシ基は、アラルキルのアルキル上に提供されるエーテル酸素原子を介して接続されているアラルキルエーテルを指す。アラルキル基は本明細書で定義される通りである。

【０１２９】

シクロアルキルアルコキシ基は、シクロアルキルアルキルのアルキル上に提供されるエーテル酸素原子を介して接続されているシクロアルキルアルキルエーテルを指す。シクロアルキルアルキル基は本明細書で定義される通りである。

【０１３０】

-R^A及び-R^B

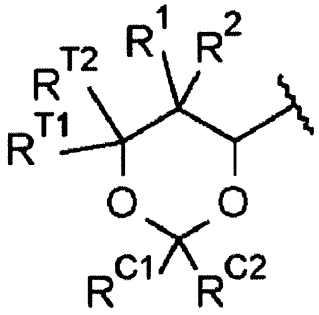
-R^A基及び-R^B基はそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル及びアルカノイルから選択される、又は-R^A及び-R^Bは一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-を形成し、6員環を形成している。

【０１３１】

-R^A及び-R^Bは一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-基となり得る。この6員環は、パントイル部分内に、-R^A及び-R^Bの各々が結合している酸素、並びにこれらの酸素原子に対してα及びβである炭素原子と一緒に形成される。

【０１３２】

【化１６】



【０１３３】

6員環は1,3-ジオキサン基である。化合物は、例えば-R^{C1}及び-R^{C2}がアルキル又は水素である場合、アセタールと呼ばれ得る。別の実施形態では、-R^{C1}及び-R^{C2}が一緒になってオキソ(=O)基を形成する。ここでは、化合物が環状カーボネートと呼ばれ得る。

【０１３４】

一実施形態では、-R^A及び-R^Bがそれぞれ独立に、水素及びアルキルから選択される、又は-R^A及び-R^Bが一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-を形成し、6員環を形成している。

【０１３５】

一実施形態では、-R^A及び-R^Bがそれぞれ独立に、水素及びアルキル、例えば水素から選択される。

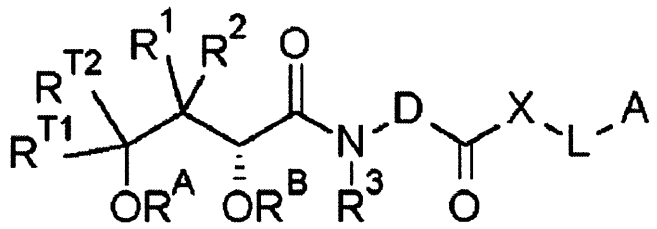
【０１３６】

-R^A及び-R^Bが共に水素である化合物は、-R^A及び-R^Bが一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-となる化合物から形成され得る。同様に、-R^A及び-R^Bが共に水素ではない化合物は、-R^A及び-R^Bが共に水素である化合物から形成され得る。

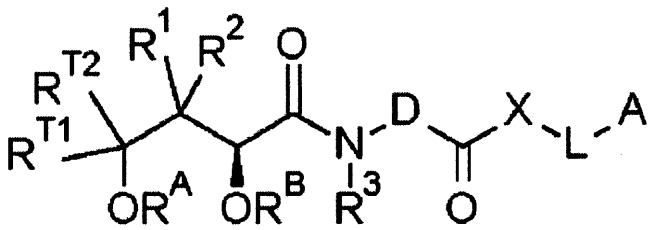
【０１３７】

アルカノイル(alkanyol)基は、$C_{1\sim6}$アルカノイル基、例えば$C_{1\sim4}$、例えばC_2アルカノイル(アシル基)であり得る。アルカノイル基を有する化合物は、アルコールと、例え

ば適切な酸塩化物又は無水物の反応によって形成され得る。
【０１３８】
典型的には、-R^Aと-R^Bの両方が水素であるか、又は-R^A及び-R^Bが一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-、例えば-C(Me)$_2$-となる。
【０１３９】
一実施形態では、-R^Aが水素である。
一実施形態では、-R^Bが水素である。
【０１４０】
立体化学
本発明のコンジュゲートはパントテン酸に基づく。よって、本発明の化合物も、パントテン酸の立体化学配置を有する。これは(2R)-配置である。よって、一実施形態では、式(I)のコンジュゲートが、
【０１４１】
【化１７】



【０１４２】
であり得る。
【０１４３】
よって、一実施形態では、本発明のコンジュゲートが(2R)-立体化学を有する。
【０１４４】
別の実施形態では、本発明のコンジュゲートが(2S)-立体化学を有する。よって、一実施形態では、式(I)のコンジュゲートが、
【０１４５】
【化１８】



【０１４６】
であり得る。
【０１４７】
-R^{C1}及び-R^{C2}
-R^{C1}基は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから選択され得る。
-R^{C2}基は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル、シクロアルキルアルキル、アルコキシ、アルケノキシ、アルキノキシ、アラルコキシ及びシクロアルキルアルコキシから選択され得る。

或いは、-R^{C1}及び-R^{C2}は一緒になってオキソ(=O)である。これは、ジオール官能基のためのカーボネート保護基と呼ばれ得る。

【０１４８】

-R^{C2}基はエーテル基、例えばアルコキシであり得る。化合物はオルトエステルと呼ばれ得る。

【０１４９】

一実施形態では、-R^{C1}が水素、アルキル及びアラルキルから選択される。

一実施形態では、-R^{C1}が水素及びアルキルから選択される。

一実施形態では、-R^{C1}がアルキル、例えばメチルである。

【０１５０】

一実施形態では、-R^{C2}が、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから選択され得る。

一実施形態では、-R^{C2}が水素、アルキル及びアラルキルから選択される。

一実施形態では、-R^{C2}が水素及びアルキルから選択される。

一実施形態では、-R^{C2}がアルキル、例えばメチルである。

【０１５１】

一実施形態では、-R^{C1}及び-R^{C2}がそれぞれアルキルである。

一実施形態では、-R^{C1}及び-R^{C2}がそれぞれメチルである。

【０１５２】

-R^{T1}及び-R^{T2}

-R^{T1}及び-R^{T2}はそれぞれ独立に、水素又はアルキルである。アルキル基は、$C_{1\sim8}$アルキル、例えば$C_{1\sim4}$アルキル、例えば$C_{1\sim2}$アルキルであり得る。アルキル基はメチルであり得る。

【０１５３】

一実施形態では、-R^{T1}が水素であり、-R^{T2}が水素又はアルキル、例えばメチルである。

一実施形態では、-R^{T1}及び-R^{T2}のそれぞれが水素である。

【０１５４】

ω位(パントイル部分の末端位置、β位も)でアルキル置換基を有するパントテン酸基は、Birdらから公知である(及びSpryらによって論じられている)。

【０１５５】

-R^{D}

各-R^{D}は独立に、アルキルである。

アルキル基は、$C_{1\sim12}$アルキル基、例えば$C_{1\sim6}$アルキル、例えば$C_{1\sim4}$アルキル、例えば$C_{1\sim2}$アルキルであり得る。アルキル基はC_1アルキル(メチル)であり得る。

一実施形態では、各-R^{D}がメチルである。

【０１５６】

-R^{N}

各-R^{N}は独立に、アルキルである。

アルキル基は、$C_{1\sim12}$アルキル基、例えば$C_{1\sim6}$アルキル、例えば$C_{1\sim4}$アルキル、例えば$C_{1\sim2}$アルキルであり得る。アルキル基はC_1アルキル(メチル)であり得る。

一実施形態では、各-R^{N}がメチルである。

【０１５７】

-R^{1}及び-R^{2}

-R^{1}及び-R^{2}はそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから選択される。

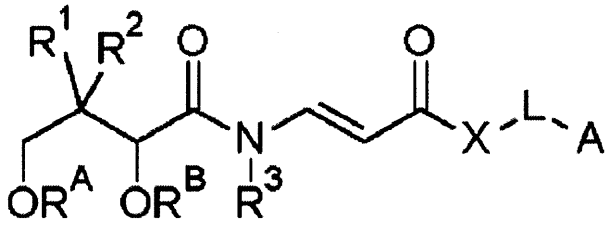
一実施形態では、-R^{1}及びR^{2}がそれぞれ独立に、アルキル、アルケニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから選択される。

【０１５８】

一実施形態では、-R^{1}及びR^{2}がそれぞれアルキルである。-R^{1}基及び-R^{2}基が共にメチルであり得る。

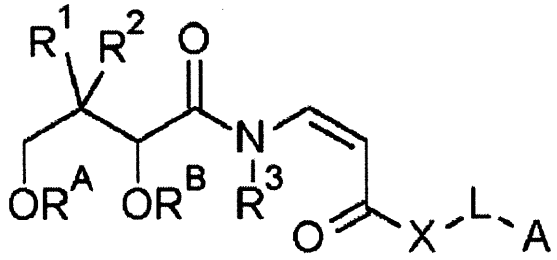
【０１５９】
-R^1及び-R^2の一方がメチルであり得、他方がメチル以外であり得る。
【０１６０】
一実施形態では、-R^1が-R^2と同じである。
【０１６１】
Akinnusiらは、パントテン酸のgem-ジメチル置換基が1つ又は2つの代替アルキル、アルケニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキル基で置き換えられている、パントテンアミドのジェミナル誘導体を記載している。
【０１６２】
-R^3
一実施形態では、-R^3が水素である。
一実施形態では、-R^3がアルキル、例えばメチルである。
【０１６３】
-D-
-D-基は、アルキレン又はアルケニレンがアルキル又はハロで場合により置換されている、例えばアルキル又はハロで場合により一置換又は二置換されている、例えばアルキルで場合により一置換又は二置換されている、$C_{1\sim4}$アルキレン又は$C_{2\sim4}$アルケニレンである。
【０１６４】
或いは、-D-は、アルケニレンがアルキル又はハロで場合により置換されている、$C_{2\sim4}$アルケニレンである。
【０１６５】
一実施形態では、-D-が、アルキレン又はアルケニレンがアルキル又はハロで場合により置換されている、$C_{1\sim3}$アルキレン又は$C_{2\sim3}$アルケニレンである。
【０１６６】
或いは、-D-は、アルケニレンがアルキル又はハロで場合により置換されている、$C_{2\sim3}$アルケニレンである。
【０１６７】
一実施形態では、-D-が、アルキレン又はアルケニレンがアルキル又はハロで場合により置換されている、C_2アルキレン又はC_2アルケニレンである。
【０１６８】
或いは、-D-は、アルケニレンがアルキル又はハロで場合により置換されている、C_2アルケニレンである。
【０１６９】
アルキレン又はアルケニレンは、直鎖状アルキレン又は直鎖状アルケニレンであり得る。
【０１７０】
一実施形態では、-D-が、各-R^5が水素又はアルキルであり、各-R^6が水素又はアルキルである、-$C(R^5)_2$-$C(R^6)_2$-又は-$C(R^5)$=$C(R^6)$-である。
【０１７１】
一実施形態では、-D-が、アルキルで場合により置換された、C_2アルキレン又はC_2アルケニレンである。
【０１７２】
或いは、-D-は、アルキルで場合により置換された、C_2アルケニレンである。
【０１７３】
-D-がC_4アルケニレンである場合、アルケニレンはジエンであり得る。
【０１７４】
好ましくは、-D-は$C_{2\sim3}$アルケニレンである。
【０１７５】
更により好ましくは、-D-はC_2アルケニレンである。
【０１７６】

二重結合
一実施形態、例えば好ましい実施形態では、二重結合が式(I)のコンジュゲート中に存在する。
一実施形態では、二重結合がトランス又はシス配置を有する。
【０１７７】
一実施形態では、二重結合がトランス配置を有する。ここでは、トランスが、二重結合を横切るアミド基の配置を指す。例えば、式(Ia-I)の化合物はトランス配置を有する:
【０１７８】
【化１９】



(Ia-I)

【０１７９】
一実施形態では、二重結合がシス配置を有する。ここでは、シスが、二重結合を横切るアミド基の配置を指す。例えば、式(Ia-II)の化合物はシス配置を有する:
【０１８０】
【化２０】



(Ia-II)

【０１８１】
本発明者らは、二重結合の幾何学が、薬剤を特定の細胞又は特定の生物に送達するためのコンジュゲートの選択性に影響を及ぼし得ることを見出した。
【０１８２】
基がジエンである場合、二重結合が共にトランス若しくはシス幾何学を有し得る、又は一方がトランスであり得、他方がシスであり得る。
【０１８３】
-R^5
パントテン酸基が二重結合を有する場合、1つの-R^5基が存在し得る。パントテン酸基が二重結合を有さない場合、2つの-R^5基が存在し得る。ここでは、-R^5基が同じであっても異なっていてもよい。
【０１８４】
一実施形態では、各-R^5が水素である。
一実施形態では、各-R^5がアルキルであり、例えばメチルである。
【０１８５】
-R^6
パントテン酸基が二重結合を有する場合、1つの-R^6基が存在し得る。パントテン酸基が

二重結合を有さない場合、2つの-R6基が存在し得る。ここでは、-R6基が同じであっても異なっていてもよい。

【０１８６】

一実施形態では、各-R6が水素である。

一実施形態では、各-R6がアルキル、例えばメチルである。

【０１８７】

二重結合が存在する場合、-R6基は-R5基と同じであり得る。例えば、-R5及び-R6は共に水素であり得る。

二重結合が存在しない場合、-R6基は同じであり得、これらは-R5基と同じであり得る。例えば、各-R5基及び各-R6基は水素であり得る。

【０１８８】

-X-

-X-は、共有結合、-O-、-S-、-Se-又は-N(R4)-、例えば-N(R4)-であり、-R4は水素又はアルキル、例えば水素である。

【０１８９】

一実施形態では、-X-が共有結合、-O-、-S-又は-N(R4)-である。

一実施形態では、-X-が共有結合、-O-又は-N(R4)-である。

一実施形態では、-X-が共有結合又は-N(R4)-である。

或いは、-X-は共有結合又は-O-であり得る。

【０１９０】

一実施形態では、-X-が-N(R4)-である。例示的な基には-N(H)-及び-N(Me)-が含まれる。

【０１９１】

-R4

一実施形態では、-R4が水素である。

一実施形態では、-R4がアルキル、例えばメチルである。

【０１９２】

-L-

-L-基は共有結合であり得る。ここでは、パントテン酸基が-X-基と一緒になって、活性剤-Aに直接接続している。

或いは、-L-基が、パントテン酸基及び-X-基と活性剤-Aの間接的共有結合接続のためのリンカーであり得る。

【０１９３】

一実施形態では、リンカー-L-が、*-L3-B-L4-G-LA-基

(式中、アステリスクは-X-との結合点を示し;

-L3-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;

-B-は共有結合、アリーレン、ヘテロシクレン又はシクロアルキレンであり;

-L4-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;

-G-は、共有結合、-O-、-S-、-N(RN)-、-C(O)-、-C(O)N(RN)-、-C(O)O-、-N(RN)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基から選択され、-RNは水素又はアルキルであり、

-LA-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり、

-L3-、-B-及び-L4-の少なくとも1つは共有結合ではなく、-B-が共有結合である場合、-L4-は共有結合である)

である。

【０１９４】

一実施形態では、-L3-及び-B-及び-L4-が全て共有結合であるわけではない。

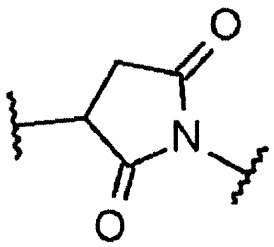
【０１９５】

一実施形態では、リンカー-L-が、*-L3-G-LA-基

(式中、アステリスクは-X-との結合点を示し;

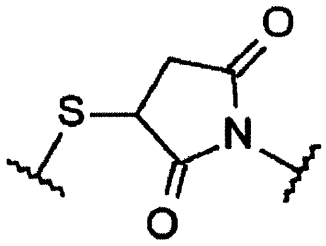
-L3-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;

-G-は、共有結合、-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基から選択され、-R^{N}は水素又はアルキルであり、
-L^A-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンである)
である。
【０１９６】
一実施形態では、-L^3-がC$_3$又はC$_5$アルキレンである。一実施形態では、-G-がマレイミド誘導基である。
【０１９７】
一実施形態では、-L^3-がC$_3$又はC$_5$アルキレンであり、-G-がマレイミド誘導基である。
【０１９８】
一実施形態では、リンカー-L-が、*-L^3-B-L^5-G-基
(式中、アステリスクは-X-との結合点を示し;
-L^3-は共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-B-は共有結合、アリーレン、ヘテロシクレン又はヘテロアルキレンであり;
-L^5-は、式*-(NR^{N}C(O)-L^6)-のアミド基であり、アステリスクは-B-との結合点を示し、-L^6-はアルキレンであり;
G-は、共有結合、-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基であり、
-R^{N}は水素又はアルキルである)
である。
【０１９９】
一実施形態では、リンカーが、マレイミド誘導基:
【０２００】
【化２１】



【０２０１】
を含む。
【０２０２】
マレイミド誘導基は、例えば活性剤-Aとの接続のために、-G-基として、リンカー-L-の末端に存在し得る。よって、リンカーと活性剤との間の接続は、典型的には活性剤がチオ官能基を有する場合、チオール基とマレイミドの反応によって形成され得る。例えば、活性剤は、システイン残基を有するポリペプチドであり得る。ここでは、活性剤の硫黄原子が、マレイミド誘導基の炭素環原子に結合している:
【０２０３】

【化２２】



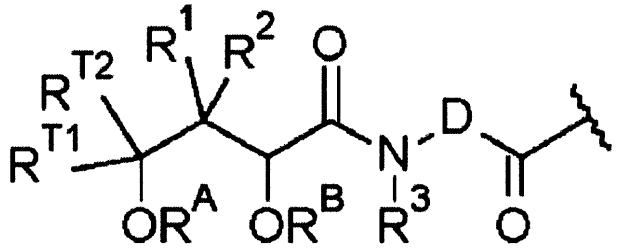
【０２０４】
上に示される結合は硫黄原子を介して形成されているが、マレイミド誘導基は、-O-、-Se-及び-NH-を介しても接続され得、このような基は、例えば、適切なアミノ酸残基(例えば、それぞれSer、Se-Cys及びLys)の側鎖官能基から誘導され得る。
【０２０５】
マレイミド誘導基は、例えば-B-基として、リンカー-L-中のヘテロシクレンであり得る。
【０２０６】
-L^1-
-L^1-基はアルキレン及びヘテロアルキレンから選択される。
【０２０７】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、特に-X-が共有結合ではない場合、-X-基に結合し得ない。
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、-D^1基に結合し得ない。
【０２０８】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、-O-、-S-、-Se-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-、-S-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-O-である。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-N(H)-である。
【０２０９】
一実施形態では、-L^1-が、C_{1}～$_{12}$アルキレン、例えばC_{2}～$_{6}$アルキレン、例えばC_{4}～$_{6}$アルキレン又はC_{3}～$_{5}$アルキレンである。
【０２１０】
-L^2-
-L^2-基はアルキレン及びヘテロアルキレンから選択される。
【０２１１】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、トリアゾールの窒素原子に結合し得ない。
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、-D^2-基に結合し得ない。
【０２１２】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、-O-、-S-、-Se-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-、-S-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-又は-N(H)-から選択され得る。

一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-O-である。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-N(H)-である。
【０２１３】
一実施形態では、-L^2-が、C_{1}～$_{12}$アルキレン、例えばC_{2}～$_{6}$アルキレン、例えばC_{4}～$_{6}$アルキレンである。
【０２１４】
-L^3-
-L^3-基は、共有結合、アルキレン及びヘテロアルキレンから選択される。
【０２１５】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、特に、-X-が共有結合ではない場合、-X-基に結合し得ない。
【０２１６】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、-O-、-S-、-Se-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-、-S-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-O-である。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-N(H)-である。
【０２１７】
一実施形態では、-L^3-が、C_{1}～$_{12}$アルキレン、例えばC_{2}～$_{6}$アルキレン、例えばC_{4}～$_{6}$アルキレンである。
【０２１８】
-B-
-B-基は、共有結合、アリーレン、ヘテロシクレン又はシクロアルキレンである。
【０２１９】
一実施形態では、-B-が共有結合である。ここでは、-L^4-も共有結合である。
一実施形態では、-B-が、アリーレン、ヘテロシクレン又はシクロアルキレンである。
【０２２０】
一実施形態では、-B-がアリーレン、例えばカルボアリーレン又はヘテロアリーレンである。
一実施形態では、-B-がカルボアリーレン、例えばフェニレンである。
一実施形態では、-B-が、ヘテロアリーレン、例えばトリアゾリレン、例えば1,2,3-トリアゾリレン、例えば1,2,3-トリアゾリル-1,4-エン及び1,2,3-トリアゾリル-1,5-エンである。
一実施形態では、-B-がヘテロシクレンである。
【０２２１】
-L^4-
-L^4-基は、共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンである。
【０２２２】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、特に-G-が-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-及び-OC(O)-である場合、-G-基に結合し得ない。
【０２２３】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、-O-、-S-、-Se-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-、-S-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-又は-N(H)-から

選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-O-である。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-N(H)-である。
【０２２４】
-G-
-G-基は、共有結合、-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基から選択され、-R^Nは水素又はアルキルである。
【０２２５】
一実施形態では、-G-が共有結合である。
一実施形態では、-G-が、-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基から選択される。
一実施形態では、-G-が、-O-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基から選択される。
一実施形態では、-G-が、-O-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-、-OC(O)-及びマレイミド誘導基から選択される。
一実施形態では、-G-が、共有結合、-C(O)N(R^N)-、-N(R^N)C(O)-及びマレイミド誘導基から選択される。
一実施形態では、-G-が、-C(O)N(R^N)-、-N(R^N)C(O)-及びマレイミド誘導基から選択される。
一実施形態では、-G-が、共有結合、-C(O)N(R^N)-及びマレイミド誘導基から選択される。
一実施形態では、-G-が-C(O)N(R^N)-及びマレイミド誘導基から選択される。
一実施形態では、-G-がマレイミド誘導基である。
【０２２６】
-L^A-
-L^A-基は、共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンである。
【０２２７】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、特に-G-が-O-、-S-、-N(R^N)-、-C(O)-、-C(O)N(R^N)-、-C(O)O-、-N(R^N)C(O)-及び-OC(O)-である場合、-G-基に結合し得ない。
【０２２８】
ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子は、-O-、-S-、-Se-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-、-S-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が、-O-又は-N(H)-から選択され得る。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-O-である。
一実施形態では、ヘテロアルキレン基中に存在するヘテロ原子が-N(H)-である。
【０２２９】
一実施形態では、-L^A-が共有結合である。
一実施形態では、-L^A-がアルキレンである。
【０２３０】
-L^5-
-L^5-基は式*-($NR^NC(O)-L^6$)-のアミド基であり、アステリスクは-B-との結合点を示し、-L^6-はアルキレンである。
【０２３１】
一実施形態では、-L^5-が式*-($NHC(O)-L^6$)-である。
一実施形態では、-L^6-が$C_{2\sim12}$アルキレン、例えば$C_{2\sim6}$アルキレンである。
【０２３２】

トリアゾール
本発明のいくつかの実施形態では、化合物が、リンカー-L-中又はリンカー-L-への前駆体基中に存在し得るトリアゾール基、特に1,2,3-トリアゾールを含有する。
【０２３３】
1,2,3-トリアゾールが存在する場合、これは1,4-又は1,5-置換されている。一実施形態では、1,2,3-トリアゾールが1,4-置換されている。
【０２３４】
-D^1
-D^1基は、-D^1との反応のための官能基を備える修飾活性剤を含む、官能基を有する活性剤との共有結合を形成するための官能基である。
【０２３５】
よって、-D^1は、-OH、-SH、-SeH、-NH_2、-NHR^N、-COOH、-COH、-$COOR^D$、-N_3、-C=CH_2、-C=C(H)(Hal)及び-C≡CHから選択され得る。
一実施形態では、-D^1が、-OH、-SH、-NH_2、-NHR^N、-COOH、-COH、-$COOR^D$、-N_3、-C=CH_2、-C=C(H)(Hal)及び-C≡CHから選択され得る。
【０２３６】
一実施形態では、-D^1が、OH、-SH、-SeH、-NH_2及び-NHR^Nから選択される。
一実施形態では、-D^1が、OH、-NH_2、-COOH、-N_3及び-C≡CHから選択される。
一実施形態では、-D^1が、-NH_2、-COOH、-N_3及び-C≡CHから選択される。
【０２３７】
-D^1-が-NH_2である場合、この基は、アミド、カルバメート及びカルバミド結合を形成するのに適している。
-D^1が-COOHである場合、この基は、アミド及びエステル結合を形成するのに適している。
-D^1が-N_3及び-C≡CHである場合、これらの基は、連結1,2,3-トリアゾール基を形成するのに適している。
-D^1が-C=C(H)(Hal)である場合、この基は、クロスカップリング反応に参加するのに適し得る。
【０２３８】
-D^2
-D^2基は、-D^2との反応のための官能基を備える修飾活性剤を含む、官能基を有する活性剤との共有結合を形成するための官能基である。
【０２３９】
よって、-D^2は、-OH、-SH、-SeH、-NH_2、-NHR^N、-COOH、-COH、-$COOR^C$及びマレイミジルから選択され得る。
一実施形態では、-D^2が、-OH、-SH、-NH_2、-NHR^N、-COOH、-COH、-$COOR^C$及びマレイミジルから選択され得る。
【０２４０】
一実施形態では、-D^2が、-OH、-SH、-SeH、-NH_2、-NHR^N及びマレイミジルから選択される。
【０２４１】
一実施形態では、-D^2が、-OH、-NH_2、-COOH及びマレイミジルから選択される。
一実施形態では、-D^2がマレイミジルである。
一実施形態では、-D^2が、-OH、-NH_2及び-COOHから選択される。
【０２４２】
-T
-T基は、例えば式(II)、(III)又は(IV)、例えば(III)の化合物との共有結合を形成するための官能基である。よって、-Tは、カルボン酸基(例えば(III)中に存在する)、又は-NH_2基(例えば式(II)の化合物では-D^1が-NH_2である、若しくは式(IV)の化合物では-D^2が-NH_2である)と反応性であり得る。

【０２４３】
-Tは、-OH、-SH、-SeH、-NH_2、-NHR^N、-COOH、-COH、-$COOR^D$、-N_3、-C=CH_2及び-C≡CHから選択され得る。
【０２４４】
一実施形態では、-Tが、-OH、-SH、-SeH、-NH_2及び-NHR^Nから選択される。このような基は、化合物(III)中に存在するカルボン酸基との反応に適している。
一実施形態では、-Tが、-OH、-NH_2及び-NHR^Nから選択される。
一実施形態では、-Tが-NH_2又は-NHR^Nである。
【０２４５】
一実施形態では、-Tが、-COOH、-COH及び-$COOR^D$から選択される。このような基は、化合物(II)又は(IV)中に存在するアミノ基との反応に適している。
一実施形態では、-Tが-COOHである。
【０２４６】
一実施形態では、-Tが-N_3又は-C≡CHである。このような基は、それぞれ化合物(II)又は(IV)中に存在する-C≡CH又は-N_3との反応に適している。
【０２４７】
-A
コンジュゲートは、細胞に送達するための活性剤を含有する。-A基は、正式には(実際には必ずしもそうではないが)活性剤から水素基を除去することによって誘導され得る活性剤の基である。
【０２４８】
活性剤は、生物学的活性剤、例えば処置方法における使用のための薬剤であり得る。活性剤は、例えば活性剤が有機低分子であり、1000Da以下、例えば500Da以下の分子量を有し得る場合、低分子薬と呼ばれ得る。場合により、活性剤は、150Da以上、例えば175Da以上、例えば200Da以上の分子量を有する。
【０２４９】
活性剤は、以下に示される構造に結合していない場合であっても、生物学的に活性であり得る:
【０２５０】
【化２３】



【０２５１】
(式中、-R^A、-R^B、-R^{T1}、-R^{T2}、-R^1、-R^2、-R^3及び-D-は上に定義される通り(すなわち、活性剤はパントテン酸基とコンジュゲートしていない)である)。
【０２５２】
活性剤は、微生物、例えば細菌、感染症の処置に使用するのに適した化合物であり得る。
活性剤は、寄生生物感染症の処置に使用するのに適した化合物であり得る。
活性剤は、線虫又は蠕虫、例えば扁形動物、感染症を処置するのに適した化合物であり得る。
活性剤は、マイコバクテリウム属(Mycobacterium)感染症、大腸菌属(Escherichia)感染症、ブドウ球菌属(Staphylococcus)感染症又はエンテロコッカス属(Enterococcus)感染症を処置するのに適した化合物であり得る。

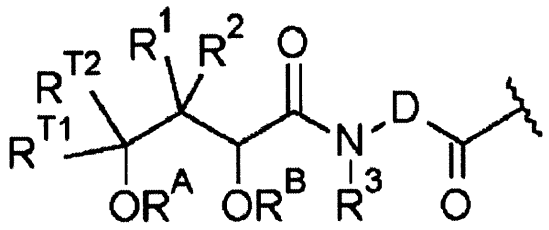
活性剤は、プラスモジウム属(Plasmodium)感染症、トリパノソーマ属(Trypanosoma)感染症、タイレリア属(Theileria)感染症又はバベシア属(Babesia)感染症、更に又は或いは、フィトフトラ属(Phytophthora)感染症、クリチディア属(Crithidia)感染症又はロトマリア属(Lotmaria)感染症を処置するのに適した化合物であり得る。
活性剤は、カエノラブディティス属(Caenorhabditis)感染症又はヘモンクス属(Haemonchus)感染症の処置に適した化合物であり得る。

【０２５３】

本発明のコンジュゲートでは、活性剤がパントテン酸でのその誘導体でもないと予想される。よって、一実施形態では、-Aがパントテン酸基ではなく、よって、-Aが以下に示される構造を有さない:

【０２５４】

【化２４】



【０２５５】

(式中、$-R^A$、$-R^B$、$-R^{T1}$、$-R^{T2}$、$-R^1$、$-R^2$、$-R^3$及び-D-は上に定義される通りである)。

【０２５６】

よって、一実施形態では、コンジュゲートが、パントテン酸基の二量体でない。

【０２５７】

-A基は色素、例えば有機色素であり得る。
一実施形態では、色素が蛍光色素である。
一実施形態では、-Aが蛍光色素でない。

【０２５８】

活性剤は、ポリペプチド、例えばタンパク質であり得る、又はポリペプチド、例えばタンパク質を含み得る。
活性剤は、ポリヌクレオチドであり得る、又はポリヌクレオチドを含み得る。

【０２５９】

活性剤は、多糖であり得る、又は多糖を含み得る。
更に、多糖は、二糖若しくは三糖、又は3個以上の糖単位を有する多糖であり得る。一実施形態では、活性剤が二糖であり得ない。

【０２６０】

本発明のコンジュゲートは、薬剤を所望の位置、例えば細胞に送達するのに使用するためのものである。

【０２６１】

薬剤は特に限定されず、特定の位置でのその存在が望ましいと考えられる任意の薬剤であり得る。

【０２６２】

薬剤は、処置方法又は診断方法における使用のための活性剤であり得る。

【０２６３】

一般的に、活性剤は、リンカーとの共有結合接続を形成するための官能基を有する。よって、活性剤は、-OH、-SH、$-NH_2$、$-NHR^N$、-COOH、-COH、$-COOR^C$、$-N_3$、$-C=CH_2$、-C≡CH及びマレイミジルから選択される1つ又は複数の基を有し得る。

【０２６４】
例えば、チオール含有(-SH)活性剤、例えばシステイン含有ポリペプチドは、リンカー前駆体、例えば化合物(III)又は(IV)上のマレイミド基との接続を形成し得る。
【０２６５】
活性剤を修飾して、パントテン酸基との共有結合接続を形成するための特定の官能基を組み込んでもよい。
【０２６６】
活性
本発明のコンジュゲートは、病原体、例えば細菌及び線虫に対する活性を有し得る。ここでは、本発明のコンジュゲートは、典型的には必須の生物活性を有する活性剤を備える。
【０２６７】
本発明の化合物は、例えば以下に更に詳細に記載される処置方法に用途を見出し得る。
【０２６８】
一実施形態では、コンジュゲートが、寄生虫血症を、未処置集団と比較して、又は活性剤単独(すなわち、活性剤がパントテン酸基とコンジュゲートしていない)で処置した細胞集団と比較して、少なくとも20％、少なくとも40％、少なくとも50％、少なくとも70、少なくとも80又は少なくとも90％減少させ得る。
寄生虫血症は、例えば寄生生物集団の最初の処理から48時間又は72時間で決定され得る。
【０２６９】
寄生生物は、プラスモジウム属寄生生物、例えば熱帯熱マラリア原虫又はタイレリア属寄生生物、例えばタイレリア・アンヌラタであり得る。
【０２７０】
更に又は或いは、寄生生物は以下に記載される寄生生物であり得る。
寄生生物はアピコンプレックス又はキネトプラストであり得る。
寄生生物は、タイレリア属寄生生物、例えばT.アンヌラタ及びT.パルバ、又はフィトフトラ属寄生生物、例えばP.シンナモミ(P.cinnamomi)及びP.アガチジシダ(P.agathidicida)、又はバベシア属寄生生物、例えばB.ボビス、又はクリチディア属寄生生物、例えばC.ボンビ(C.bombi)、又はロトマリア属寄生生物、例えばL.パッシム、又はトキソプラズマ属(Toxoplasma)寄生生物、例えばT.ゴンディ(T.gondii)であり得る。
寄生生物はまた、プラスモジウム属寄生生物、例えば三日熱マラリア原虫(P.vivax)、卵形マラリア原虫(P.ovale)、マラリア原虫(P.malaria)及びサルマラリア原虫(P.knowlesi)、又はトリパノソーマ属寄生生物、例えばT.ブルセイであり得る。
寄生生物はまた、プラスモジウム属寄生生物、例えば熱帯熱マラリア原虫であり得る。
【０２７１】
本発明のコンジュゲートは、抗微生物活性又は駆虫活性を有する化合物であり得る。
【０２７２】
一実施形態では、コンジュゲートが、最大で150μM、最大で100μM、最大で50μM、最大で25μM、最大で10μM、又は最大で5μMのMICによって測定される抗微生物活性を有し得る。
【０２７３】
更に又は或いは、コンジュゲートは、例えば以下に記載される細菌に対する、抗菌活性を有する化合物であり得る。
細菌は、マイコバクテリウム属細菌、例えば結核菌であり得る。
細菌は、エンテロコッカス属細菌、例えばE.フェカリスであり得る。
細菌は、大腸菌属細菌、例えば大腸菌、又はスタフィロコッカス属細菌、例えば黄色ブドウ球菌であり得る。
【０２７４】
抗微生物活性又は駆虫活性は、本明細書に記載されるアッセイを使用して決定され得る。
【０２７５】

一実施形態では、コンジュゲートが、最大で10.0μg/mL、最大で5.0μg/mL、最大で2.0μg/mL、最大で1.0μg/mL、最大で0.5μg/mL、又は最大で0.1μg/mLのLC_{50}によって測定される駆虫活性を有し得る。
更に、蠕虫類は、線虫又は蠕虫、例えば扁形動物であり得る。線虫又は蠕虫は、カエノラブディティス属線虫、例えばC.エレガンス、又はヘモンクス属線虫、例えば捻転胃虫、又は住血吸虫属(Schistosoma)扁形動物、例えばビルハルツ住血吸虫(S.haematobium)であり得る。

【０２７６】

活性剤は生物活性を有し得、活性剤が単独で使用される場合(すなわち、活性剤がパントテン酸基とコンジュゲートしていない)、コンジュゲートに関して上に記載される抗寄生生物活性、抗微生物活性又は駆虫活性を有し得る。しかしながら、活性剤を標的生物の細胞に送達することができることを確保することによって、活性剤の生物活性を増強するためのコンジュゲートが提供されるのが本発明の特徴である。よって、本発明の実施形態では、活性剤を含有するコンジュゲートが、単独で使用される活性剤と比較して改善した活性を有する。

【０２７７】

本発明のコンジュゲートは、低い毒性を有し得る。コンジュゲートで処置したヒト胚性腎細胞株の生存率のパーセンテージに対して測定されるコンジュゲートの毒性は、例えば、40%以下、例えば30%以下、例えば20%以下、例えば10%以下であり得る。化合物は100μMの濃度で使用され得る。

【０２７８】

塩、溶媒和物及び他の形態
本発明の化合物、例えば式(I)のコンジュゲートの塩の例としては、全ての薬学的に許容される塩、例えば限定されないが、強鉱酸の酸付加塩、例えばHCl及びHBr塩、並びに強有機酸の付加塩、例えばメタンスルホン酸塩が挙げられる。塩の更なる例としては、硫酸塩及び酢酸塩、例えばトリフルオロ酢酸塩又はトリクロロ酢酸塩が挙げられる。

【０２７９】

式(I)の化合物はまた、プロドラッグとして製剤化することもできる。プロドラッグは、1つ又は複数のアミノ基が、インビボで切断され、生物活性化合物を遊離し得る基で保護されている、本明細書に記載される抗菌化合物を含むことができる。一実施形態では、プロドラッグが「アミンプロドラッグ」である。アミンプロドラッグの例としては、例えばBergenら、Antimicrob. Agents and Chemotherapy、2006、50、1953に記載されるスルホメチル、又は例えばSchechterら、J. Med Chem 2002、45(19) 4264に記載されるHSO_3-FMOC、及びその塩が挙げられる。アミンプロドラッグの更なる例は、Krise及びOliyai Biotechnology: Pharmaceutical Aspects、2007、5(2)、101～131によって与えられる。

【０２８０】

一実施形態では、式(I)の化合物がプロドラッグとして提供される。

【０２８１】

本開示の化合物への言及はまた、その化合物の溶媒和物への言及でもある。溶媒和物の例としては、水和物が挙げられる。

【０２８２】

本開示の化合物は、原子が天然に存在する又は天然に存在しない同位体によって置き換えられている化合物を含む。一実施形態では、同位体が安定同位体である。よって、ここに記載される化合物は、例えば、重水素含有化合物等を含む。例えば、Hは、^{1}H、^{2}H(D)及び^{3}H(T)を含む任意の同位体型であり得;Cは、^{12}C、^{13}C及び^{14}Cを含む任意の同位体型であり得;Oは、^{16}O及び^{18}Oを含む任意の同位体型であり得る等である。

【０２８３】

一定の化合物は、それだけに限らないが、以下、まとめて「異性体」(又は「異性体型」)と呼ばれる、シス-及びトランス型;E-及びZ型;c、t及びr型;エンド-及びエキソ型;R、S

及びメソ型;D-及びL型;d-及びl型;(+)及び(-)型;ケト、エノール及びエノラート型;シン及びアンチ型;シンクリナル及びアンチクリナル型;α及びβ型;アキシアル及びエクアトリアル型;舟、いす、ねじれ、エンベロープ及び半いす型;並びにこれらの組み合わせを含む、1つ又は複数の特定の幾何、光学、エナンチオマー、ジアステレオマー、エピマー、アトロプ、立体異性、互変異性、コンフォメーション又はアノマー型で存在し得る。

【０２８４】

互変異性体型について以下に論じられるのを除いて、構造(又は構成)異性体(すなわち、空間中の原子の位置のみではなく原子間の接続において異なる異性体)は本明細書で使用される「異性体」という用語から具体的に除外されることに留意されたい。例えば、メトキシ基、-OCH_3への言及は、構造異性体、ヒドロキシメチル基、-CH_2OHへの言及とはみなされない。同様に、オルト-クロロフェニルへの言及は、その構造異性体、メタ-クロロフェニルへの言及とはみなされない。しかしながら、構造のクラスへの言及は、そのクラスに入る構造異性体型も含み得る(例えば、$C_{1\sim6}$アルキルはn-プロピル及びイソプロピルを含み;ブチルはn-、イソ-、sec-及びtert-ブチルを含み;メトキシフェニルはオルト、メタ及びパラメトキシフェニルを含む)。

【０２８５】

特に指定しない限り、特定の化合物への言及は、その混合物(例えば、ラセミ混合物)を含む、全てのこのような異性体型を含む。このような異性体型の調製(例えば、不斉合成)及び分離(例えば、分別結晶及びクロマトグラフィー手段)の方法は、当技術分野で公知であるか、又は本明細書で教示される方法、若しくは公知の方法を公知の様式で適合させることによって容易に得られる。

【０２８６】

本明細書に記載される化合物は保護された形態で提供され得る。よって、化合物内の1つ又は複数の官能基は、例えば合成又は貯蔵中の意図しない反応を防ぐために保護基を備え得る。

【０２８７】

化学的に保護された形態で化合物を調製する、精製する、及び/又は取り扱うことが、好都合であり得る、又は望ましくなり得る。本明細書で使用される「化学的に保護された形態」という用語は、1つ又は複数の反応性官能基が、望ましくない化学反応から保護される、すなわち、保護された基又は保護基(マスクされた基若しくはマスキング基、又はブロックされた基若しくはブロッキング基としても知られる)の形態である化合物に関する。反応性官能基を保護することによって、他の保護されていない反応性官能基を伴う反応を、保護された基に影響を及ぼすことなく、実施することができる;保護基は、通常、その後のステップで、分子の残りに実質的に影響を及ぼすことなく、除去することができる。例えば、「Protective Groups in Organic Synthesis」(T. Green及びP. Wuts;第3版;John Wiley and Sons、1999)を参照されたい。

【０２８８】

例えば、アミン基は、アミド又はウレタンとして、例えば、メチルアミド(-NHCO-CH_3);ベンジルオキシアミド(-NHCO-$OCH_2C_6H_5$、-NH-Cbz);t-ブトキシアミド(-NHCO-$OC(CH_3)_3$、-NH-Boc);2-ビフェニル-2-プロポキシアミド(-NHCO-$OC(CH_3)_2C_6H_4C_6H_5$、-NH-Bpoc)、9-フルオレニルメトキシアミド(-NH-Fmoc)、6-ニトロベラトリルオキシアミド(-NH-Nvoc)、2-トリメチルシリルエチルオキシアミド(-NH-Teoc)、2,2,2-トリクロロエチルオキシアミド(-NH-Troc)、アリルオキシアミド(-NH-Alloc)、2(-フェニルスルホニル)エチルオキシアミド(-NH-Psec);又は適切な場合、N-オキシド(〉NO・)として保護され得る。

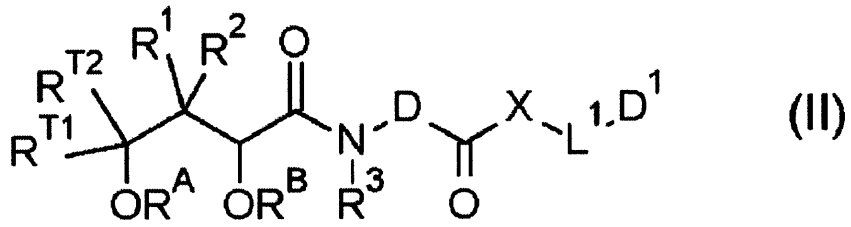
【０２８９】

カルボン酸基は、エステルとして、例えば、$C_{1\sim7}$アルキルエステル(例えば、メチルエステル;t-ブチルエステル);$C_{1\sim7}$ハロアルキルエステル(例えば、$C_{1\sim7}$トリハロアルキルエステル);トリ$C_{1\sim7}$アルキルシリル-$C_{1\sim7}$アルキルエステル;若しくは$C_{5\sim20}$アリール-$C_{1\sim7}$アルキルエステル(例えば、ベンジルエステル;ニトロベンジルエステル)とし

て;又はアミドとして、例えばメチルアミドとして保護され得る。
【０２９０】
ヒドロキシル基は、エーテル(-OR)又はエステル(-OC(=O)R)として、例えば、t-ブチルエーテル;ベンジル、ベンズヒドリル(ジフェニルメチル)若しくはトリチル(トリフェニルメチル)エーテル;トリメチルシリル若しくはt-ブチルジメチルシリルエーテル;又はアセチルエステル(-OC(=O)CH_3、-OAc)として保護され得る。
【０２９１】
本発明で使用するための化合物は、-R^A及び-R^Bの各々が水素である1,3-ジオール官能基を有し得る。ヒドロキシル基の各々は独立に、エーテル又はエステル型として保護され得る。本発明では、ジオールがアセタールとしても保護され得る。よって、-R^A及び-R^Bは一緒になって-C(R^{C1})(R^{C2})-を形成し、6員環を形成しており、各-R^{C1}及び-R^{C2}はそれぞれ独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アラルキル及びシクロアルキルアルキルから選択される。
【０２９２】
アルデヒド又はケトン基は、それぞれ、カルボニル基(〉C=O)が、例えば、第一級アルコールとの反応によってジエーテル(〉$C(OR)_2$)に変換されている、アセタール又はケタールとして保護され得る。アルデヒド又はケトン基は、酸の存在下、大過剰の水を使用した加水分解によって容易に再生される。
本発明の一態様は、実質的に精製された形態及び/又は汚染物質を実質的に含まない形態の化合物に関する。
【０２９３】
一実施形態では、実質的に精製された形態が、少なくとも50質量%、例えば少なくとも60質量%、例えば少なくとも70質量%、例えば少なくとも80質量%、例えば少なくとも90質量%、例えば少なくとも95質量%、例えば少なくとも97質量%、例えば少なくとも98質量%、例えば少なくとも99質量%である。
【０２９４】
指定しない限り、実質的に純粋な形態は、任意の立体異性体型又はエナンチオマー型の化合物を指す。例えば、一実施形態では、実質的に精製された形態が、立体異性体の混合物を指す、すなわち、他の化合物に関して精製されている。一実施形態では、実質的に精製された形態が、1つの立体異性体、例えば光学的に純粋な立体異性体を指す。一実施形態では、実質的に精製された形態が、エナンチオマーの混合物を指す。一実施形態では、実質的に精製された形態が、エナンチオマーの等モル混合物(すなわち、ラセミ混合物、ラセミ体)を指す。一実施形態では、実質的に精製された形態が、1つのエナンチオマー、例えば光学的に純粋なエナンチオマーを指す。
【０２９５】
一実施形態では、汚染物質が、50質量%以下、例えば40質量%以下、例えば30質量%以下、例えば20質量%以下、例えば10質量%以下、例えば5質量%以下、例えば3質量%以下、例えば2質量%以下、例えば1質量%以下となる。
【０２９６】
指定しない限り、汚染物質は、他の化合物、すなわち、立体異性体又はエナンチオマー以外を指す。一実施形態では、汚染物質が、他の化合物及び他の立体異性体を指す。一実施形態では、汚染物質が、他の化合物及び他のエナンチオマーを指す。
【０２９７】
一実施形態では、実質的に精製された形態が、少なくとも60%光学的に純粋(すなわち、モル基準で化合物の60%が所望の立体異性体又はエナンチオマーであり、40%が望まない立体異性体又はエナンチオマーである)、例えば少なくとも70%光学的に純粋、例えば少なくとも80%光学的に純粋、例えば少なくとも90%光学的に純粋、例えば少なくとも95%光学的に純粋、例えば少なくとも97%光学的に純粋、例えば少なくとも98%光学的に純粋、例えば少なくとも99%光学的に純粋である。
【０２９８】

コンジュゲートを調製する方法
本発明はまた、式(I)のコンジュゲートを含む、本発明のコンジュゲートを調製する方法を提供する。
【０２９９】
本発明における実施例には、コンジュゲートを調製する方法を記載しており、これらの方法を式(I)の他のコンジュゲートの調製に適合させることができる。
【０３００】
一般的に、本発明の方法は、パントテン酸基を使用し、この基を活性剤と反応させてコンジュゲートを形成する。コンジュゲートがリンカーを含有する場合、リンカーをパントテン酸基又は活性剤に結合させ、次いで、リンカーが2つの間に接続を形成し得る。例えば、本発明の方法の一部では、パントテン酸基が、マレイミド基で終結するリンカーを備える。このマレイミド基を活性剤、例えばチオール官能基を有するポリペプチドと反応させてコンジュゲートを形成する。
【０３０１】
他の方法では、パントテン酸基と活性剤の両方がリンカーの一部を含有してよく、パントテン酸基と活性剤との間の反応によって、完成した連結基が形成され得る。例えば、本発明の方法の一部では、パントテン酸基が、アセチレン基で終結するリンカーの一部を備える。活性剤がアジド基で終結するリンカーの一部を備える。アセチレン基をクリックケミストリー型反応でアジド基と反応させて、イミダゾールを形成し、それによって、パントテン酸基と活性剤との間にリンカーを生成する。
【０３０２】
パントテン酸誘導体の調製は当技術分野で記載されている。これらの方法を本発明で使用するために適合させることができる。
【０３０３】
本発明の方法は、式(II)、(III)及び(IV)の中間体化合物、並びに場合により、式(V)の化合物も使用し得る。
【０３０４】
一態様では、式(I)の化合物を調製する方法であって、式(II)、(III)又は(IV)の化合物を活性剤と反応させ、それによって、式(I)の化合物を得る工程を含む方法が提供される。
【０３０５】
ここでは、活性剤が、式(II)、(III)又は(IV)の化合物との反応のための官能基を有する。例えば、式(III)の化合物は、その末端でカルボン酸である。この基を、活性剤上に存在するヒドロキシル、チオール又はアミノ官能基と反応させて、エステル、チオエステル又はアミド官能基を有するコンジュゲートを形成することができる。
【０３０６】
本発明の一態様では、本発明のコンジュゲートを調製する方法であって、式(II)の化合物を式(V)の化合物と反応させる工程を含む方法が提供される。
【０３０７】
ここでは、活性剤(V)及びパントテン酸基(II)が共にリンカーの一部を備え、リンカー部分が、一緒になって反応し、それによって完全なリンカーを形成するのに適した官能基を備える。
【０３０８】
式(II)の化合物は、
【０３０９】

【化２５】



(II)

【０３１０】
(式中、-R^{T1}、-R^{T2}、-R^{A}、-R^{B}、-R^{1}、-R^{2}、-R^{3}、-D-及び-X-は式(I)の化合物について定義される通りであり;
-L^{1}-はアルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-D^{1}は、-OH、-SH、-SeH、-NH_2、-NHR^{N}、-COOH、-COH、-$COOR^{D}$、-N_3、-C=CH_2、-C=C(H)(Hal)及び-C≡CHから選択され、-R^{N}及び-R^{D}はそれぞれ独立に、アルキルであり、Halはハロゲンである)
並びにその塩、溶媒物及び保護された形態である。
【０３１１】
したがって、式(II)の化合物は、-L-がアルキレン又はヘテロアルキレン基を含有する、式(I)のコンジュゲートを調製するのに適している。
【０３１２】
式(II)の化合物を、-D^{1}基との反応に適した官能基を備えている、上記の活性剤と直接反応させることができる。
【０３１３】
或いは、式(II)の化合物を、場合によりリンカー部分を備えている活性剤、例えば式(V)の化合物と反応させることができる。
【０３１４】
式(V)の化合物は、
【０３１５】
【化２６】



(V)

【０３１６】
(式中、-Aは活性剤であり;
-L^{3}-は、共有結合、アルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-Tは、-OH、-SH、-SeH、-NH_2、-NHR^{N}、-COOH、-COH、-$COOR^{D}$、-N_3、-C=CH_2及び-C≡CHから選択され、-R^{N}及び-R^{D}はそれぞれ独立に、アルキルから選択される)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態である。
【０３１７】
よって、-T基は、式(III)の化合物の-D^{1}基との反応のために提供される。
【０３１８】
化合物(II)と化合物(V)の反応は、活性剤に、又は-Tと-D^{1}の反応から形成される基を介してアルキレン若しくはヘテロアルキレン基に接続されている、アルキレン又はヘテロアルキレン基を含有するリンカーを有する式(I)のコンジュゲートを提供する。
【０３１９】

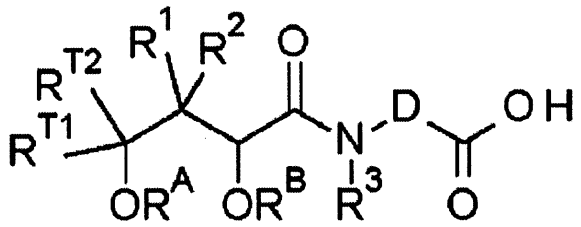
或いは、式(III)の化合物を、場合によりリンカー部分を備えている活性剤、例えば式(V)の化合物と反応させることができる。

【０３２０】

式(III)の化合物は、

【０３２１】

【化２７】



(III)

【０３２２】

(式中、-R^{T1}、-R^{T2}、-R^{A}、-R^{B}、-R^{1}、-R^{2}、-R^{3}及び-D-は式(I)の化合物について定義される通りである)

並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態である。

【０３２３】

式(V)の化合物中、-T基は、カルボン酸との反応に適した基である。例えば、-Tは、-OH、-SH、-NH_2又は-NHR^{N}、例えば-NH_2又は-NHR^{N}、例えば-NH_2である。

【０３２４】

化合物(III)と化合物(V)の反応は、活性剤に接続されているパントテン酸基、又は-Tとカルボン酸基の反応から形成される基を介してアルキレン若しくはヘテロアルキレン基に接続されているパントテン酸基を有する式(I)のコンジュゲートを提供する。

【０３２５】

式(III)の化合物を使用して式(II)の化合物を調製することができる。

【０３２６】

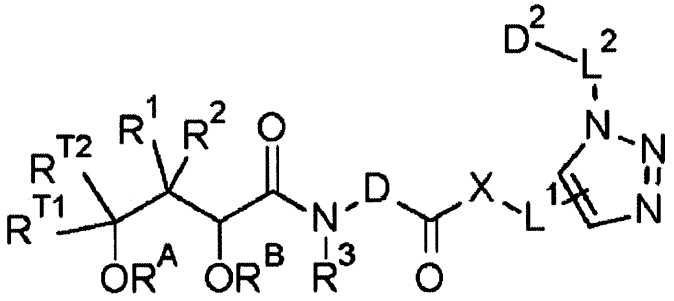
或いは、式(IV)の化合物を、場合によりリンカー部分を備えている活性剤、例えば式(V)の化合物と反応させることができる。

【０３２７】

式(IV)の化合物は、

【０３２８】

【化２８】



(IV)

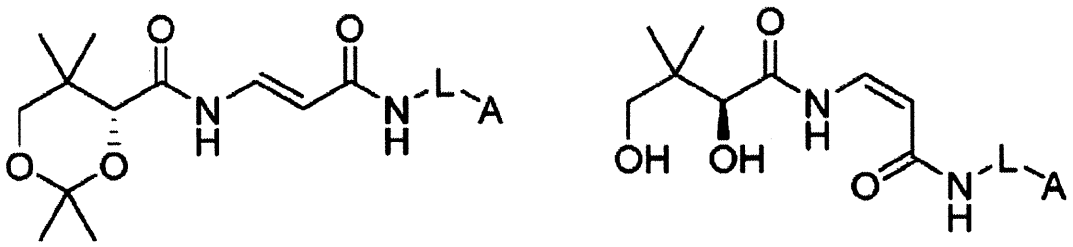
【０３２９】

(式中、-R^{T1}、-R^{T2}、-R^{A}、-R^{B}、-R^{1}、-R^{2}、-R^{3}、-D-及び-X-は式(I)の化合物について定義される通りであり;

-L^{1}-はアルキレン又はヘテロアルキレンであり;

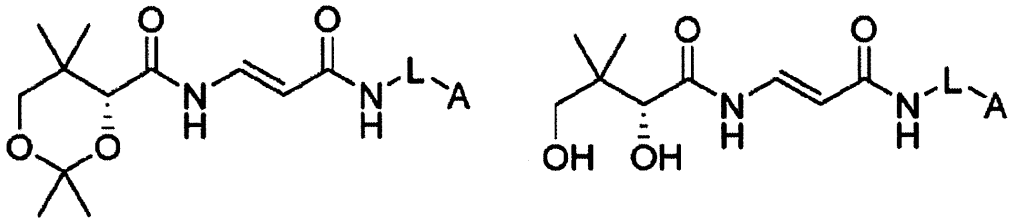
-L^2-はアルキレン又はヘテロアルキレンであり;
-D^2-は、-OH、-SH、-SeH、-NH_2、-NHR^N、-COOH、-COH、-$COOR^D$及びマレイミジルから選択される)
並びにその塩、溶媒和物及び保護された形態である。
【０３３０】
上記の方法は、標準的な結合を形成するための一般的な官能基の反応に基づく。よって、アミド結合をもたらす、アミノ官能基とカルボキシル官能基の反応が予期される。同様に、トリアゾール連結基をもたらす、アセチレン官能基とアジド官能基の反応が予期される。この結合形成を達成するのに必要な反応条件は当業者に周知であり、例示的な条件を本ケースの実施例で提供する。
【０３３１】
処置方法
式(I)の化合物又はこの化合物を含有する医薬製剤は、処置方法及び予防方法に使用するのに適している。本化合物を、それを必要とする対象に投与することができる。
【０３３２】
本発明のコンジュゲートは、細菌感染症、原生動物感染症又は蠕虫類感染症、例えば線虫又は蠕虫感染症、例えば扁形動物感染症を含む、寄生生物、例えば微生物の処置方法に使用することができる。
【０３３３】
式(I)のコンジュゲートは、治療によるヒト又は動物の体の処置方法における使用のためのものである。本発明のいくつかの態様では、式(I)の化合物を哺乳動物対象、例えばヒトに投与して、微生物感染症、例えば細菌感染症を処置することができる。
【０３３４】
本発明の別の態様は、処置に使用するための医薬の製造における式(I)の化合物の使用に関する。一実施形態では、医薬が式(I)のコンジュゲートを含む。一実施形態では、医薬が、微生物感染症、例えば細菌感染症の処置に使用するためのものである。
【０３３５】
一実施形態では、コンジュゲートが、駆虫薬として使用するのに適している。よって、コンジュゲートを使用して蠕虫類感染症、例えば線虫又は蠕虫感染症、例えば住血吸虫症を処置することができる。
【０３３６】
更に又は或いは、コンジュゲートを使用してヘモンクス属感染症、例えば捻転胃虫感染症を処置することができる。したがって、コンジュゲートを使用してヘモンクス症を処置することができる。処置する対象は哺乳動物、例えばヒツジ又はヤギであり得る。
【０３３７】
更に又は或いは、コンジュゲートを使用して住血吸虫属感染症、例えばビルハルツ住血吸虫感染症を処置することができる。したがって、コンジュゲートを使用して住血吸虫症を処置することができる。処置する対象は哺乳動物、例えばヒトであり得る。
【０３３８】
一実施形態では、蠕虫感染症を処置するために使用されるコンジュゲートが、構造Ie又はIIを有する。
【０３３９】

【化２９】



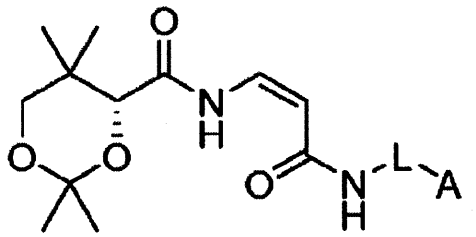
【０３４０】
一実施形態では、Ｌが、式(Id)の化合物について定義されるリンカーである。一実施形態では、-L^2-がC_3アルキレンである。好ましい実施形態では、-L^1-がC_2アルキレンであり、-L^2-がC_3アルキレンである。
【０３４１】
一実施形態では、リンカー-L-が*-L^3-G-L^A-基
(式中、アステリスクは-X-との結合点を示し;
-L^3-はアルキレンであり;
-G-はマレイミド誘導基であり;
-L^A-は共有結合である)
である。
【０３４２】
好ましい実施形態では、-L^3-がC_3アルキレンである。
【０３４３】
一実施形態では、コンジュゲートが、大腸菌属感染症、例えば大腸菌感染症、又はスタフィロコッカス属感染症、例えば黄色ブドウ球菌感染症の処置に使用するためのものである。
【０３４４】
更に又は或いは、コンジュゲートが、エンテロコッカス属感染症、例えばE.フェカリス感染症の処置に使用するためのものである。
【０３４５】
一実施形態では、コンジュゲートが、アピコンプレックス感染症の処置に使用するためのものである。
【０３４６】
例えば、コンジュゲートを使用してバベシア属感染症、例えばB.ボビスを処置することができる。したがって、コンジュゲートを使用してバベシア症を処置することができる。ここで処置する対象は哺乳動物、例えばウシ対象であり得る。
【０３４７】
一実施形態では、バベシア属感染症を処置するために使用されるコンジュゲートが、構造Ie又はIiを有する。
【０３４８】

【化３０】

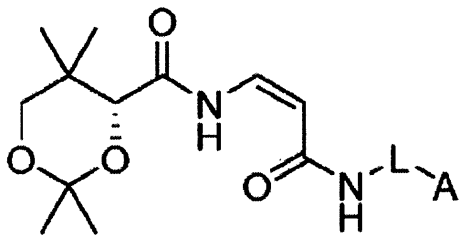


【０３４９】
一実施形態では、Ｌが、式(Id)の化合物について定義されるリンカーである。一実施形態では、-L^2-がC_3アルキレンである。好ましい実施形態では、-L^1-がC_2アルキレンであり、-L^2-がC_3アルキレンである。
【０３５０】
一実施形態では、リンカー-L-が、*-L^3-G-L^A-基
(式中、アステリスクは-X-との結合点を示し;
-L^3-はアルキレンであり;
-G-はマレイミド誘導基であり;
-L^A-は共有結合である)
である。
【０３５１】
好ましい実施形態では、-L^3-がC_5アルキレンである。
【０３５２】
コンジュゲートを使用してタイレリア属感染症、例えばT.アンヌラタ及びT.パルバを処置することができる。したがって、コンジュゲートを使用して熱帯タイレリア症及び東沿岸熱を処置することができる。処置する対象は哺乳動物、例えばウシ又はヒツジ対象であり得る。
【０３５３】
コンジュゲートを使用してプラスモジウム属感染症、例えば熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、卵形マラリア原虫、マラリア原虫及びサルマラリア原虫を処置することができる。したがって、コンジュゲートを使用してマラリアを処置することができる。処置する対象は哺乳動物、例えばヒトであり得る。
【０３５４】
更に又は或いは、コンジュゲートを使用してフィトフトラ属感染症、例えばP.シンナモミ及びP.アガチジシダを処置することができる。したがって、コンジュゲートを使用してカウリダイバック(kauri dieback)を処置することができる。処置する対象は植物、例えば樹木であり得る。
【０３５５】
コンジュゲートを使用してトキソプラズマ属感染症、例えばT.ゴンディを処置することができる。したがって、コンジュゲートを使用してトキソプラズマ症を処置することができる。処置する対象は哺乳動物、例えばヒトであり得る。
【０３５６】
コンジュゲートを使用してキネトプラスト感染症、例えばトリパノソーマ属感染症、例えばトリパノソーマ・ブルセイ感染症を処置することができる。したがって、コンジュゲートを使用して睡眠病を処置することができる。
【０３５７】
コンジュゲートを使用してロトマリア属感染症、例えばロトマリア・パッシム感染症を処置することができる。更に又は或いは、コンジュゲートを使用してクリチディア属感染症、例えばC.ボンビを処置することができる。したがって、対象はハチ、例えばマルハナ

バチであり得る。
【０３５８】
一実施形態では、ロトマリア属感染症を処置するために使用されるコンジュゲートが、構造Ifを有する。
【０３５９】
【化３１】



【０３６０】
コンジュゲートを使用してマイコバクテリウム属感染症、例えば結核菌感染症を処置することができる。したがって、コンジュゲートを使用して結核を処置することができる。
【０３６１】
一実施形態では、マイコバクテリウム属感染症を処置するために使用されるコンジュゲートが、構造Ifを有する。
【０３６２】
【化３２】



【０３６３】
式(I)のコンジュゲートは第2の活性剤と合わせて投与することができる。投与は、同時、別々又は順次であり得る。
【０３６４】
投与の方法及び様式は、コンジュゲート(I)の化合物及び第2の活性剤の薬物動態に依存する。
【０３６５】
「同時」投与とは、式(I)の化合物と第2の活性剤が、同じ投与経路によって単回投与で対象に投与されることを意味する。
【０３６６】
「別々」投与とは、式(I)の化合物と第2の活性剤が、同時に行われる2つの異なる投与経路によって対象に投与されることを意味する。これは、例えば、一方の薬剤が注入によって投与され、注入中に他方が経口で投与される場合に起こり得る。
【０３６７】
「順次」とは、2つの薬剤が異なる時点で投与され、但し、第1の投与される薬剤の活性が、第2の薬剤が投与される時に対象において存在し、進行中であることを意味する。
【０３６８】
送達方法

本発明のコンジュゲートは、送達方法、例えば活性剤を、生物の細胞を含む、生物に送達する方法に使用され得る。

【０３６９】

本発明の方法は、本発明のコンジュゲート、例えば式(I)のコンジュゲートを生物に曝露し、コンジュゲートが生物を通過するのを可能にする工程を含む。

【０３７０】

生物は蠕虫類、例えば線虫又は蠕虫であり得る。線虫又は蠕虫はコンジュゲートを摂取し得る。線虫又は蠕虫は、カエノラブディティス属線虫、例えばカエノラブディティス・エレガンス線虫、又はヘモンクス属線虫、例えば捻転胃虫線虫、又は住血吸虫属扁形動物、例えばビルハルツ住血吸虫扁形動物であり得る。

【０３７１】

より好ましい実施形態では、生物が線虫又は蠕虫である。

【０３７２】

更に又は或いは、生物は寄生生物であり得る。寄生生物はコンジュゲートを摂取し得る。寄生生物は、プラスモジウム属寄生生物、例えば熱帯熱マラリア原虫、三日熱マラリア原虫、卵形マラリア原虫、マラリア原虫及びサルマラリア原虫、又はタイレリア属寄生生物、例えばT.アンヌラタ及びT.パルバ、又はフィトフトラ属寄生生物、例えばP.シンナモミ及びP.アガチジシダ、又はバベシア属寄生生物、例えばB.ボビス、又はクリチディア属寄生生物、例えばC.ボンビ、又はロトマリア属寄生生物、例えばL.パッシム、又はトリパノソーマ属寄生生物、例えばT.ブルセイ、又はトキソプラズマ属寄生生物、例えばT.ゴンディであり得る。

【０３７３】

別の好ましい実施形態では、生物が寄生生物である。

【０３７４】

生物が寄生生物である場合、寄生生物は、好ましくはプラスモジウム属寄生生物、例えば三日熱マラリア原虫、卵形マラリア原虫、マラリア原虫及びサルマラリア原虫、又はタイレリア属寄生生物、例えばT.アンヌラタ及びT.パルバ、又はフィトフトラ属寄生生物、例えばP.シンナモミ及びP.アガチジシダ、又はバベシア属寄生生物、例えばB.ボビス、又はクリチディア属寄生生物、例えばC.ボンビ、又はロトマリア属寄生生物、例えばL.パッシム、又はトリパノソーマ属寄生生物、例えばT.ブルセイ、又はトキソプラズマ属寄生生物、例えばT.ゴンディである。

【０３７５】

生物が寄生生物である場合、寄生生物は、より好ましくはタイレリア属寄生生物、例えばT.アンヌラタ及びT.パルバ、又はフィトフトラ属寄生生物、例えばP.シンナモミ及びP.アガチジシダ、又はバベシア属寄生生物、例えばB.ボビス、又はクリチディア属寄生生物、例えばC.ボンビ、又はロトマリア属寄生生物、例えばL.パッシム、又はトキソプラズマ属寄生生物、例えばT.ゴンディである。

【０３７６】

生物は微生物、例えば細菌であり得る。微生物、例えば細菌はコンジュゲートを摂取し得る。微生物、例えば細菌は、マイコバクテリウム属細菌、例えば結核菌、又は大腸菌属細菌、例えば大腸菌、又はスタフィロコッカス属細菌、例えば黄色ブドウ球菌、又はエンテロコッカス属細菌、例えばE.フェカリスであり得る。

【０３７７】

生物が微生物、例えば細菌である場合、微生物は、好ましくはマイコバクテリウム属細菌、例えば結核菌、又はエンテロコッカス属細菌、例えばE.フェカリスである。

【０３７８】

生物が微生物、例えば細菌である場合、微生物は、より好ましくはマイコバクテリウム属細菌、例えば結核菌である。

【０３７９】

コンジュゲートは、生物の細胞壁を通過することができる。

生物は単細胞又は多細胞であり得る。

【０３８０】

送達方法はインビボ又はエキソビボで実施され得る。よって、生物はヒト、昆虫若しくは動物の内部に位置してもよく、又は生物はヒト、昆虫若しくは動物の外部に位置してもよい。

【０３８１】

処置

状態を処置する文脈において本明細書で使用される「処置」という用語は、概して、いくらかの所望の治療効果、例えば状態の進行の阻害が達成される、ヒト、昆虫又は動物のいずれかの(例えば、獣医学的用途)、処置及び治療に関し、進行速度の減少、進行速度の停止、状態の症状の軽減、状態の改善及び状態の治癒を含む。予防的手段としての処置(すなわち、予防)も含まれる。例えば、状態をまだ発症していないが、状態を発症するリスクがある患者又は対象での使用が「処置」という用語に包含される。

【０３８２】

本明細書で使用される「治療上有効量」という用語は、所望の処置レジメンに従って投与した場合に、合理的なベネフィット/リスク比と釣り合う、ある所望の治療効果をもたらすのに有効な、化合物、又は化合物を含む材料、組成物若しくは剤形の量に関する。

【０３８３】

「処置」という用語は、2つ以上の処理又は治療が、例えば順次に又は同時に組み合わせられる、本明細書に記載される併用処置及び治療を含む。

【０３８４】

製剤

一態様では、本発明は、薬学的に許容される賦形剤、例えば担体と共に、式(I)の化合物を含む医薬組成物を提供する。医薬組成物は、第2の活性剤を更に含んでもよい。代替実施形態では、第2の薬剤が治療に使用するために提供される場合、第2の薬剤を式(I)の化合物とは別々に製剤化してもよい。したがって、式(I)の化合物に関してなされる以下のコメントを、別々に製剤化される第2の薬剤にも適用することができる。

【０３８５】

式(I)の化合物を単独で、又は第2の薬剤と共に投与することが可能であるが、それだけに限らないが、薬学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、アジュバント、充填剤、緩衝剤、保存剤、抗酸化剤、潤滑剤、安定剤、可溶化剤、界面活性剤(例えば、湿潤剤)、マスキング剤、着色剤、香味剤及び甘味剤を含む、当業者に周知の1つ又は複数の他の薬学的に許容される成分と共に、本明細書に記載される少なくとも1つの式(I)の化合物を含む医薬製剤(例えば、組成物、調製物、医薬)としてこれを提供することが好ましい。製剤は、他の活性剤、例えば他の治療剤又は予防剤を更に含んでもよい。

【０３８６】

よって、本発明は更に、上に定義される医薬組成物、及び本明細書に記載される少なくとも1つの式(I)の化合物を、当業者に周知の1つ又は複数の他の薬学的に許容される成分、例えば担体、希釈剤、賦形剤等と混和する工程を含む、医薬組成物を調製する方法を提供する。離散した単位(例えば、錠剤等)として製剤化される場合、各単位は、所定量(投与量)の化合物を含有する。組成物は、場合により、所定量の第2の活性剤を更に含む。

【０３８７】

本明細書で使用される「薬学的に許容される」という用語は、健全な医学的判断の範囲内で、合理的なベネフィット/リスク比と釣り合って、過度の毒性も、刺激も、アレルギー反応も、他の問題も合併症もなく、当の対象(例えば、ヒト)の組織と接触して使用するのに適した、化合物、成分、材料、組成物、剤形等に関する。各担体、希釈剤、賦形剤等はまた、製剤の他の成分と適合性であるという意味で「許容され」なければならない。

【０３８８】

適切な担体、希釈剤、賦形剤等は、標準的な薬学テキスト、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences、第18版、Mack Publishing Company、Easton、Pa.、

1990;及びHandbook of Pharmaceutical Excipients、第5版、2005に見出すことができる。

【０３８９】

製剤は、薬学の分野で周知の任意の方法によって調製され得る。このような方法は、式(I)の化合物と、1つ又は複数の副成分を構成する担体を会合させる工程を含む。一般に、製剤は、化合物と担体(例えば、液体担体、微細固体担体等)を均一且つ密接に会合させ、次いで、必要に応じて、生成物を成形することによって調製される。

【０３９０】

製剤は、迅速若しくは緩徐放出;即時放出、遅延放出、時限放出若しくは徐放;又はこれらの組み合わせをもたらすように調製され得る。

【０３９１】

製剤は、適切には、液体、溶液(例えば、水性、非水性)、懸濁液(例えば、水性、非水性)、エマルジョン(例えば、水中油型、油中水型)、エリキシル、シロップ、舐剤、含嗽剤、滴剤、錠剤(例えば、コーティング錠を含む)、顆粒剤、散剤、ロゼンジ、香錠、カプセル剤(例えば、ハード及びソフトゼラチンカプセルを含む)、カシェ剤、丸剤、アンプル、ボーラス、坐剤、ペッサリー、チンキ、ゲル、ペースト、軟膏、クリーム、ローション、オイル、フォーム、スプレー、ミスト又はエアロゾルの形態であり得る。

【０３９２】

投与量

概して、本発明の方法は、有効量の式(I)の化合物を対象に投与して、生物学的効果をもたらす工程を含み得る。

【０３９３】

式(I)の化合物、及び式(I)の化合物を含む組成物の適切な投与量は、患者間で変化し得ることが当業者によって理解されるだろう。最適投与量を決定することは、概して、治療上の利益のレベルをリスク又は有害な副作用に対して釣り合わせることを伴う。選択される投与量レベルは、それだけに限らないが、式(I)の特定の化合物の活性、投与経路、投与時間、化合物の排出速度、処置の持続時間、組み合わせて使用される他の薬物、化合物及び/又は材料、状態の重症度、並びに患者の種、性別、年齢、体重、状態、健康全般及び前の病歴を含む種々の因子に依存する。式(I)の化合物の量及び投与経路は、最終的に、医師、獣医師、養蜂家又は臨床医の裁量となるが、概して、投与量は、実質的な害のある又は有害な副作用を引き起こすことなく所望の効果を達成する作用部位での局所濃度を達成するように選択される。

【０３９４】

投与は、処置の過程全体を通して1回の投与で、連続的に、又は間欠的に(例えば、適切な間隔で分割した用量で)行うことができる。最も有効な投与の手段及び投与量を決定する方法は当業者に周知であり、治療に使用される製剤、治療の目的、処置される標的細胞、及び処置される対象によって変化する。単回又は複数回投与を用量レベルで行うことができ、パターンは処置する医師、獣医師又は臨床医によって選択される。

【０３９５】

概して、式(I)の化合物の適切な用量は、1日当たり対象の体重1キログラム当たり約10μg～約250mg(より典型的には約100μg～約25mg)の範囲である。式(I)の化合物が塩、プロドラッグ等である場合、投与される量は、親化合物に基づいて計算されるので、使用される実際の質量は比例的に増加される。

【０３９６】

投与経路

式(I)の化合物、又は式(I)の化合物を含む医薬組成物は、全身的/末梢的又は局所的(すなわち、所望の作用部位)のいずれにせよ、任意の好都合な投与経路によって、対象に投与され得る。

【０３９７】

投与経路には、それだけに限らないが、経口(例えば、摂取による);頬側;舌下;経皮(例え

ば、パッチ、硬膏等による);鼻腔内(例えば、点鼻薬による);眼(例えば、点眼薬による);肺(例えば、エアロゾルを介して、例えば口又は鼻を通して、例えば吸入又は吹送治療による);直腸(例えば、坐剤又は浣腸による);膣(例えば、ペッサリーによる);非経口、例えば皮下、皮内、筋肉内、静脈内、動脈内、心臓内、髄腔内、脊髄内、嚢内、嚢下、眼窩内、腹腔内、気管内、表皮下、関節内、くも膜下及び胸骨内を含む注射による;例えば皮下又は筋肉内のデポー又はリザーバーの埋め込みによるものが含まれる。

【０３９８】

対象/患者

対象/患者は、脊索動物、脊椎動物、哺乳動物、有胎盤哺乳動物、有袋類(例えば、カンガルー、ウォンバット)、齧歯類(例えば、モルモット、ハムスター、ラット、マウス)、ネズミ(マウス)、ウサギ類(例えば、ウサギ)、鳥類(例えば、鳥)、イヌ(例えば、イヌ)、ネコ(例えば、ネコ)、ウマ(例えば、ウマ)、ブタ(例えば、ブタ)、ヒツジ(ヒツジ)、ウシ(例えば、ウシ)、霊長類、シミアン(例えば、サル又は類人猿)、サル(例えば、マーモセット、ヒヒ)、類人猿(例えば、ゴリラ、チンパンジー、オランウータン、テナガザル)、昆虫(例えば、ハチ、マルハナバチ)、又はヒトであり得る。更に又は或いは、対象/患者はヤギ(例えば、ヤギ)であり得る。

【０３９９】

更に、対象/患者は、その発達形態のいずれであってもよい、例えば胎児であってもよい。本発明者らは、本発明のコンジュゲートが哺乳動物細胞によって取り込まれ得ないことを見出したが、これには急速に分裂している哺乳動物細胞、例えば発育中の胎児内の細胞が含まれる。

【０４００】

よって、本発明のコンジュゲートを使用して、妊娠中の対象及び妊娠を意図している対象を処置することができる。

【０４０１】

1つの好ましい実施形態では、対象/患者がヒトである。

【０４０２】

本発明が微生物感染症を有するヒト以外の動物で実行され得ることも想起される。ヒト以外の哺乳動物は齧歯類であり得る。齧歯類には、ラット、マウス、モルモット、チンチラ及び実験室研究で使用される他の同様のサイズの小型齧歯類が含まれる。

【０４０３】

他の選好

上記の実施形態のそれぞれの及びすべての適合性の組み合わせは、それぞれの及びすべての組み合わせが個別的且つ明示的に列挙されているかのように、本明細書に明示的に開示される。

【０４０４】

本発明の種々の更なる態様及び実施形態は、本開示を考慮して当業者に明らかになるだろう。

【０４０５】

「及び/又は」は、本明細書で使用される場合、他を含む又は含まない2つの指定される特徴又は成分のそれぞれの具体的な開示とみなされる。例えば、「A及び/又はB」は、それぞれが個別に本明細書に示されているかのように、(i)A、(ii)B並びに(iii)A及びBのそれぞれの具体的な開示とみなされるべきである。

【０４０６】

本明細書及び特許請求の範囲で使用される「を含む(comprising)」という用語は、「少なくとも部分的に～からなる(consisting at least in part of)」を意味する。「含む(comprising)」という用語を含む本明細書及び特許請求の範囲中の記載を解釈する場合、各記載でこの用語で始まる特徴に加えて他の特徴も存在することができる。「含む(comprise)」及び「含む(comprises)」などの関連する用語も同様に解釈されるべきである。

【０４０７】
本明細書において、外部文書、又は他の情報源に言及している場合、これは、概して本発明の特徴を論じるための状況を提供する目的のためである。具体的に明言しない限り、このような外部文書への言及は、このような文書、又はこのような情報源が、いずれの権限においても、先行技術であるか、又は当技術分野における一般知識の一部を形成することの自認と解釈されるべきではない。
【０４０８】
文脈が指示しない限り、上に示される特徴の説明及び定義は、本発明のいずれの特定の態様又は実施形態にも限定されず、記載されている全ての態様及び実施形態に等しく適用される。技術的に適切な場合、実施形態を組み合わせることができ、よって、本開示は本明細書に提供される実施形態の全ての順列及び組み合わせに及ぶ。
【０４０９】
本発明の一定の態様及び実施形態をここで例によって、及び上記の図面を参照して例示する。
【実施例】
【０４１０】
以下の実施例は、本発明を例示するために提供されるにすぎず、本明細書に記載される本発明の範囲を限定することを意図するものではない。
【０４１１】
一般的な合成方法
空気感受性試薬及び無水溶媒を伴う反応は、オーブン(130℃)で乾燥させたガラス器具で実施した。これらの反応は、アルゴン雰囲気を使用して、空気を排除して行った。アセトニトリル、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン及びトルエンは、Pure Solv 400-5MD溶媒精製システム(Innovative Technology, Inc.社)を通して精製した。全ての試薬は、特に明言しない限り、そのままで使用した。溶媒は、Buchi社のRotavaporを使用して、減圧下40℃で蒸発させた。
【０４１２】
マイクロ波反応はBiotage社のInitiatorシステムで実施した。
【０４１３】
カラムクロマトグラフィーは、固定相としてシリカゲル(Fluoro Chem社Silica LC 60 A)及び溶離液としてHPLCグレードの溶媒を使用して、圧力下で実施した。反応は薄層クロマトグラフィーによって監視した。TLCは、シリカゲル(Merck社又はFluorochem社シリカゲル60 F_{254})でプレコーティングしたアルミニウムシートで実施した。プレートは、UV蛍光(λ_{max}254nm)の消光によって、及び/又は$KMnO_4$溶液若しくは酸性エタノール性アニスアルデヒド浸漬による染色によって可視化した。
【０４１４】
プロトン磁気共鳴スペクトル(^{1}H NMR)及び炭素磁気共鳴スペクトル(^{13}C NMR)は、Bruker社DPX Avance400機器又はBruker社AvanceIII500機器のいずれかを使用して、400MHz及び100MHz、又は500MHz及び125MHzで記録した。化学シフト(δ)は百万分率(ppm)で報告し、残留溶媒ピークを参照する。丸括弧内の引用の順序は、(i)等価原子核の数(積分による)、(ii)多重度(s=一重項、d=二重項、t=三重項、q=四重項、m=多重項、b=ブロード、dm=二重多重項、又はこれらの項の組み合わせ)、及び(iii)最も近い0.1Hzに対してヘルツで見積もられたカップリング定数(J)である。
【０４１５】
IRスペクトルは、化合物(固体又は液体)のIRスペクトルをいずれの試料調製もすることなく直接(薄膜)検出することができるように、単一反射エレメントとしてIIa型ダイアモンドを使用するGolden Gate(商標)アタッチメントを使用して入手した(Shimadzu社FTIR-8400)。有意な吸収のみを波数で報告する。
【０４１６】
UV-Vis吸収スペクトルは、Shimadzu社UV-3600 UV-Vis-NIR分光光度計を使用して

記録した。経路長10mm及び体積3mLを有するBrand(登録商標)UV-Cuvette UV-Transparent分光光度測定プラスチックキュベットを使用した。蛍光発光スペクトルは、Shimadzu社RF-5301 PC蛍光分光光度計及びPanorama蛍光1.1ソフトウェアを使用して記録した。

【０４１７】

高分解能質量スペクトルは、グラスゴー大学の化学学部の分析グループが、エレクトロスプレー及び化学イオン化によってJEOL社JMS-700質量分析計で、又はエレクトロスプレーイオン化によってBruker社マイクロTOFq質量分析計で記録した。

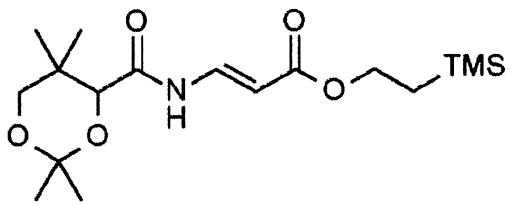
【０４１８】

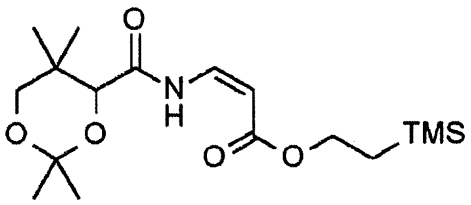
化合物合成-中間体

(E)-2-(トリメチルシリル)エチル3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート及び(Z)-2-(トリメチルシリル)エチル3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート

【０４１９】

【化３３】





【０４２０】

2-(トリメチルシリル)エチル-2-(トリフェニルホスホラニリデン)アセテート(0.84g、3.9mmol)をベンゼン(60mL)に溶解し、N-ホルミル-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(R型又はS型)(0.84g、3.9mmol)を添加した。溶液を18時間80℃に加熱し、次いで、室温に冷却させた。溶媒を真空中で除去して、粗生成物を黄色油状物として得た。粗生成物を、カラムクロマトグラフィー(10～20% EtOAc/石油エーテル)を使用して精製して、エナミド生成物を、それぞれ黄色油状物及び白色固体としてのシス(0.46g、33%)異性体及びトランス(0.75g、54%)異性体の分離可能な混合物として得た。この化合物について得られたNMRデータは、この化合物についての文献データと一致する。

【０４２１】

Sewellらも参照されたい。

【０４２２】

(E)型:^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 8.38 (1H, d, J = 11.8 Hz), 7.97 (1H, dd, J = 14.2, 11.8 Hz), 5.59 (1H, d, J = 14.2 Hz), 4.24-4.18 (2H, m), 4.20 (1H, s), 3.72 (1H, d, J = 11.8 Hz), 3.32 (1H, d, J = 11.8 Hz), 1.52 (3H, s), 1.46 (3H, s), 1.06 (3H, s), 1.02 (2H, t, J = 8.4 Hz), 1.01 (3H, s), 0.05 (9H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 169.4, 168.7, 137.2, 104.7, 100.0, 78.7, 72.2, 63.9, 34.9, 30.9, 23.3, 20.3, 20.1, 18.8, 0.0; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3295, 2957, 2897, 1688, 1638, 1476; HRMS (Cl) $C_{17}H_{32}O_5NSi$ (M+H)+の計算値: m/z 358.2050, 実測値 m/z 358.2052; 融点126-127℃.

R型:$[\alpha]_D$ +58.9(c=1.1、$CHCl_3$、T=22.5℃)。

S型:$[\alpha]_D$ -56.7(c=0.6、$CHCl_3$、T=21.6℃)。

【０４２３】

(Z)型:^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 11.08 (1H, d, J = 11.6 Hz), 7.40 (1H, dd, J = 11.6, 9.0 Hz), 5.15 (1H, d, J = 8.9 Hz), 4.26-4.20 (2H, m), 4.21

(1H, s), 3.72 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.32 (1H, d, J = 11.6 Hz), 1.59 (3H, s), 1.47 (3H, s), 1.05 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.02 (2H, m), 0.05 (9H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 170.2, 169.8, 137.3, 100.8, 99.8, 79.1, 72.8, 63.7, 34.8, 30.8, 23.4, 20.5, 20.1, 18.9, 0.0; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3331, 2959, 2858,1680, 1628, 1478; HRMS (Cl) $C_{17}H_{32}O_5NSi$ (M+H)+の計算値: m/z 358.2050, 実測値 m/z 358.2054.

R型:[α]$_D$ +40.5(c=1.0、$CHCl_3$、T=22.5℃)。

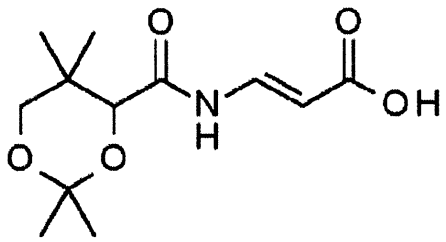
S型:[α]$_D$ -38.0(c=0.8、$CHCl_3$、T=22.5℃)。

【0424】

(E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸

【0425】

【化34】



【0426】

この化合物もSewellら(化合物11参照)から公知である。

【0427】

(E)-2-(トリメチルシリル)エチル3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート(R型又はS型)(110mg、0.310mmol)をTHF(20mL)に溶解し、0℃に冷却した後、TBAF(THF中1M溶液0.370mL、0.370mmol)を添加した。得られた淡黄色溶液を、室温に加温しながら16時間撹拌させた後、反応混合物を真空中で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～2% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると、酸生成物がTBAF不純物との混合物として得られた。粗生成物をEtOAc(10mL)及び水(10mL)に溶解した後、溶液がpH12になるまで1M NaOH水溶液を添加した。得られた溶液を室温で1時間撹拌した後、水性層を回収し、EtOAc(15mL)で希釈した後、pH5になるまで1M HClを添加した。混合物を室温で更に1時間撹拌した後、層を分離し、水性相をEtOAc(2×10mL)で抽出した。合わせた有機相をブライン(20mL)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過した後、溶媒を真空中で除去して、酸生成物(64mg、79%)を白色固体として得た。

【0428】

^{1}H NMR (CD_3OD, 400 MHz) δ: 7.95 (1H, d, J = 14.3 Hz), 5.86 (1H, J = 14.3 Hz), 4.31 (1H, s), 3.80 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.32 (1H, d, J = 11.6 Hz), 1.53 (3H, s), 1.45 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.03 (3H, s); ^{13}C NMR (CD_3OD, 100 MHz) δ: 171.5, 170.9, 138.5, 104.0, 100.8, 78.6, 72.2, 34.3, 29.5, 22.1, 19.3, 19.0; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3318, 3094, 2963, 2878, 1670, 1636; HRMS (Cl) $C_{12}H_{20}O_5N$ (M+H)+の計算値: m/z 258.1341, 実測値 m/z 258.1346; 融点185-186℃.

R型:[α]$_D$ +81.3(c=0.5、$CHCl_3$、T=22.7℃)。

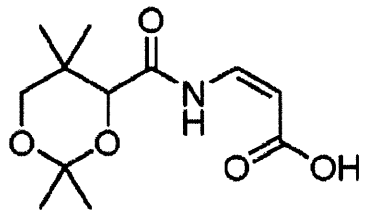
S型:[α]$_D$ -77.6(c=1.2、$CHCl_3$、T=22.8℃)。

【0429】

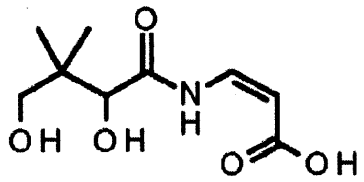
(Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸

【0430】

【化３５】

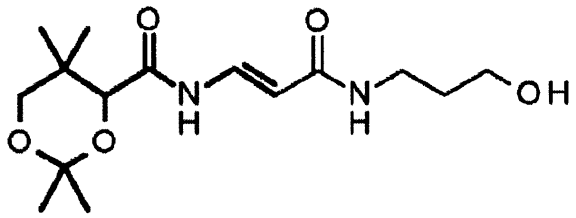


【０４３１】
(Z)-2-(トリメチルシリル)エチル3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート(R型又はS型)(310mg、0.868mmol)を、THF(6mL)と水(0.150mL)の混合物に溶解した後、0℃に冷却した。TBAF(THF中1M溶液1.30mL、1.30mmol)を0℃でシリンジを介して添加し、次いで、室温で16時間撹拌したままにした。次いで、溶媒を真空中で除去して、粗生成物を淡黄色油状物として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～2% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると、所望の酸生成物(178mg、80%)が無色油状物として得られた。
【０４３２】
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 11.25, (1H, d, J = 11.8 Hz), 7.54 (1H, dd, J = 11.8, 8.8 Hz), 5.22 (1H, d, J = 8.9 Hz), 4.21 (1H, s), 3.73 (1H, d, J = 11.7 Hz), 3.33 (1H, d, J = 11.7 Hz), 1.53 (3H, s), 1.46 (3H, s), 1.05 (3H, s), 1.03 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 173.6, 168.8, 138.6, 99.3, 96.6, 77.2, 71.2, 33.2, 29.2, 21.8, 19.0, 18.6; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3302, 2993, 2940, 2870, 1678, 1601; HRMS (Cl) $C_{12}H_{20}O_5N$ (M+H)+の計算値: m/z 258.1341, 実測値 m/z 258.1339.
R型:[α]$_D$ +51.0(c=0.5、$CHCl_3$、T=22.7℃)。
S型:[α]$_D$ -47.1(c=0.8、$CHCl_3$、T=21.7℃)。
【０４３３】
(Z)-3-(2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド)アクリル酸
【０４３４】
【化３６】

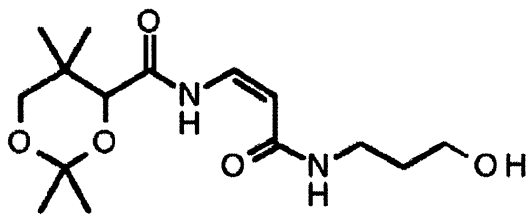


【０４３５】
(Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(R型又はS型)(40mg、0.160mmol)をMeCN(1mL)及びH_2O(50μL)中$BiCl_3$(5mg、16μmol)で処理した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～5% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると、ジオール生成物(9mg、26%)が無色油状物として得られた。
【０４３６】
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 7.43 (1H, d, J = 8.9 Hz), 5.17 (1H, d, J = 8.9 Hz), 4.05 (1H, s), 3.49 (1H, d, J = 10.9 Hz), 3.41 (1H, d, J = 10.9 Hz), 0.94 (3H, s), 0.93 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 174.6, 171.4, 137.3, 98.8, 76.8, 69.8, 40.8, 21.3, 20.5; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1}

3306, 2967, 2940, 2832, 1670; HRMS (Cl) $C_9H_{15}O_5N$ (M+H)+の計算値: m/z 218.1028, 実測値 m/z 218.1029.
R型は公知である。
S型:[α]$_D$ -30.8(c=1.4、MeOH、T=25.5℃)。
【０４３７】
(E)-N-(3-(3-ヒドロキシプロピルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド
【０４３８】
【化３７】



【０４３９】
(E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(50mg、0.195mmol)をCH_2Cl_2(0.5mL)に溶解し、得られた溶液をHBTU(110mg、0.290mmol)、3-アミノ-プロパン-1-オール(22μL、0.290mmol)及びDIPEA(51μL、0.290mmol)で処理した。得られた溶液を、マイクロ波条件下80℃で2.5時間加熱した後、溶媒を真空中で除去して、粗生成物を得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～5% MeOH/EtOAc)によって精製すると、パントテンアミド生成物(20mg、33%)が白色固体として得られた。
【０４４０】
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 8.35 (1H, d, J = 10.8 Hz), 7.80 (1H, dd, J = 13.8, 10.8, Hz), 5.98 (1H, t, J = 6.0 Hz), 5.86 (1H, d, J = 13.8 Hz), 4.20 (1H, s), 3.73 (1H, d, J = 11.7 Hz), 3.66-3.63 (2H, m), 3.53-3.48 (3H, m), 3.33 (1H, d, J = 11.7 Hz), 1.74-1.69 (2H, m), 1.52 (3H, s), 1.47 (3H, s), 1.06 (3H, s), 1.01 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 168.2, 167.5, 133.3, 105.7, 99.5, 77.3, 71.3, 59.2, 36.3, 33.4, 32.5, 29.5, 21.9, 18.8, 18.7; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3275, 2998, 2953, 2876, 1705, 1659; HRMS (Cl) $C_{15}H_{27}O_5N_2$ (M+H)+の計算値: m/z 315.1920, 実測値 m/z 315.1917; m.p. 165-166℃.
【０４４１】
(Z)-N-(3-(3-ヒドロキシプロピルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド
【０４４２】
【化３８】



【０４４３】
(l)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(50mg、

0.195mmol)を、上記の対応する(E)型の合成についての手順に従って、BTFFH(92mg、0.290mmol)、3-アミノ-プロパン-1-オール(22μL、0.290mmol)及びDIPEA(51μL、0.290mmol)で処理した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～5% MeOH/EtOAc)によって精製すると、パントテンアミド生成物(31mg、57%)が白色固体として得られた。

【0444】

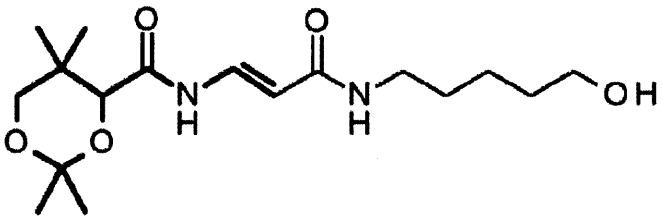
^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 500 MHz) δ: 11.91 (1H, d, J = 11.1 Hz), 7.38 (1H, br s), 7.24 (1H, dd, J = 11.1, 8.9 Hz), 5.25 (1H, d, J = 8.9 Hz), 4.28 (1H, s), 3.87 (1H, br s), 3.81 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.58 (2H, t, J = 6.0 Hz), 3.41-3.35 (2H, m), 3.31 (1H, d, J = 11.6 Hz), 1.70-1.65 (2H, m), 1.60 (3H, s), 1.50 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.00 (3H, s); ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$), 125 MHz) δ: 169.3, 169.0, 133.3, 101.4, 99.7, 77.7, 71.6, 59.5, 36.3, 33.7, 33.5, 29.5, 22.0, 19.3, 19.0; IR μ_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3243, 2974, 2930, 2842, 1672, 1612; HRMS (Cl) $C_{15}H_{26}O_5N_2$ (M+H)+の計算値: m/z 315.1918, 実測値 m/z 315.1920; m.p. 80-81℃.

【0445】

(E)-N-(3-(5-ヒドロキシペンチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【0446】

【化39】



【0447】

(E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(50mg、0.195mmol)を、(E)-N-(3-(3-ヒドロキシプロピルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミドの合成についての手順に従って、HBTU(110mg、0.290mmol)、5-アミノ-ペンタン-1-オール(100mg、0.971mmol)及びDIPEA(51μL、0.290mmol)で処理した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～5%MeOH/EtOAc)によって精製すると、パントテンアミド生成物(12mg、18%)が無色油状物として得られた。

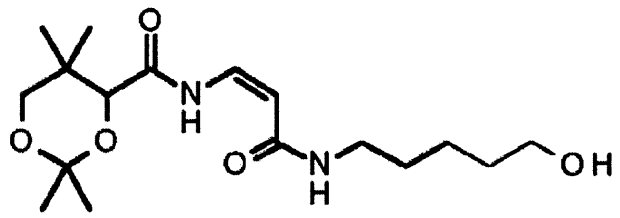
【0448】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.31 (1H, d, J = 11.0 Hz), 7.78 (1H, dd, J = 13.9, 11.0 Hz), 5.85 (1H, d, J = 13.9 Hz), 5.61 (1H, t, J = 5.4 Hz), 4.21 (1H, s), 3.74 (1H, d, J = 11.8 Hz), 3.67 (2H, t, J = 6.0 Hz), 3.39-3.34 (2H, m), 3.34 (1H, d, J = 11.8 Hz), 1.78 (1H, br s), 1.65-1.55 (4H, m), 1.53 (3H, s), 1.48 (3H, s), 1.48-1.41 (2H, m), 1.07 (3H, s), 1.02 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 168.2, 166.3, 132.8, 106.3, 99.5, 77.2, 71.3, 62.6, 39.4, 33.4, 32.2, 29.5, 29.4, 23.0, 21.9, 18.8, 18.7; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3264, 2991, 2934, 2868, 1701, 1661; HRMS (Cl) $C_{17}H_{31}O_5N_2$ (M+H)+の計算値: m/z 343.2238, 実測値 m/z 343.2233.

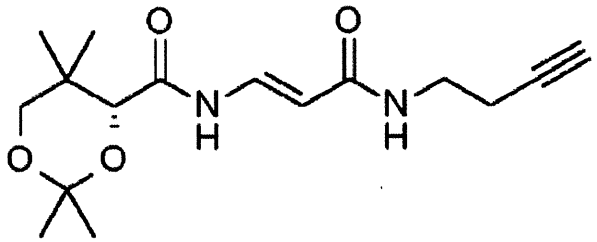
【0449】

(Z)-N-(3-(5-ヒドロキシペンチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【０４５０】
【化４０】



【０４５１】
(Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(50mg、0.195mmol)を、(E)-N-(3-(3-ヒドロキシプロピルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミドの合成についての手順に従って、BTFFH(92mg、0.290mmol)、5-アミノ-ペンタン-1-オール(30mg、0.290mmol)及びDIPEA(51μL、0.290mmol)で処理した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～5% MeOH/EtOAc)によって精製すると、パントテンアミド生成物(27mg、40%)が無色油状物として得られた。
【０４５２】
^{1}H NMR ((CD$_3$)$_2$CO, 400 MHz) δ: 11.92 (1H, d, J = 11.0 Hz), 7.27 (1H, br s), 7.22 (1H, dd, J = 11.0, 8.9 Hz), 5.24 (1H, d, J = 8.9 Hz), 4.27 (1H, s), 3.80 (1H, d, J = 11.8 Hz), 3.58-3.54 (2H, m), 3.29-3.24 (2H, m), 3.31 (1H, d, J = 11.8 Hz), 1.78 (1H, br s), 1.58-1.50 (4H, m), 1.52 (3H, s), 1.50 (3H, s), 1.46-1.40 (2H, m), 1.04 (3H, s), 1.00 (3H, s); ^{13}C NMR ((CD$_3$)$_2$CO), 100 MHz) δ: 169.0, 168.6, 133.0, 101.8, 99.8, 77.8, 71.6, 62.3, 39.4, 33.7, 33.4, 30.2, 29.9, 24.1, 22.1, 19.4, 19.0; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3293, 2992, 2937, 2868, 1652, 1609; HRMS (CI) C$_{17}$H$_{31}$O$_5$N$_2$ (M+H)+の計算値: m/z 343.2230, 実測値 m/z 343.2233.
【０４５３】
(R,E)-N-(3-(ブタ-3-イニルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド
【０４５４】
【化４１】



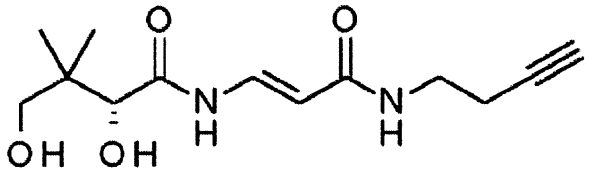
【０４５５】
(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(100mg、0.389mmol)を、(E)-N-(3-(3-ヒドロキシプロピルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミドの合成についての手順に従って、BTFFH(184mg、0.584mmol)、1-アミノ-3-ブチン(46μL、0.584mmol)及びDIPEA(102μL、0.584mmol)で処理した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(50～60% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、パントテンアミド生成物(118mg、99%)が白色固体として得られた。

【０４５６】
^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 500 MHz) δ: 9.35 (1H, d, J = 11.1 Hz), 7.83 (1H, dd, J = 13.9, 11.1 Hz), 7.18 (1H, br s), 5.95 (1H, d, J = 13.9 Hz), 4.28 (1H, s), 3.78 (1H, d, J = 11.4 Hz), 3.40-3.36 (2H, m), 3.29 (1H, d, J = 10.6 Hz), 2.39 (2H, td, J = 6.9, 2.6 Hz), 2.36 (1H, t, J = 2.6 Hz), 1.47 (3H, s), 1.40 (3H, s), 1.03 (3H, s), 1.00 (3H, s). ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$), 125 MHz) δ: 169.3, 166.9, 133.8, 106.7, 100.0, 82.7, 77.9, 71.7, 70.7, 39.1, 33.9, 29.9, 22.1, 19.9, 19.2, 19.0; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3309, 3287, 2996, 2944, 2889, 2871, 1657, 1616; HMRS (El) $C_{16}H_{24}O_4N_2$ M+の計算値: m/z 308.1736, 実測値 m/z 308.1739; m.p. 153-154℃; [α]D +73.9 (c = 0.5, $(CH_3)_2CO$, T = 30.0℃).

【０４５７】
(S,E)型も(S,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸から同様に調製することができる。[α]$_D$ -65.5(c=1.1、$(CH_3)_2CO$、T=24.4℃)。

【０４５８】
(R,E)-N-(3-(ブタ-3-イニルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタン-アミド

【０４５９】
【化４２】



【０４６０】
(R,E)-N-(3-(ブタ-3-イニルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(110mg、0.357mmol)を、MeCN(1mL)とH_2O(50μL)の混合物に溶解した。次いで、$BiCl_3$(11mg、0.035mmol)を添加したところ、乳白色の懸濁液が得られ、これを室温で18時間撹拌した。反応混合物を数滴の飽和$NaHCO_3$水溶液でクエンチし、引き続いてcelite(登録商標)パッドを通して濾過し、その後、これをEtOAc(10mL)で洗浄した。溶離液を真空中で濃縮して粗生成物を得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(5～7% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると、ジオール生成物(49mg、51%)が白色固体として得られた。

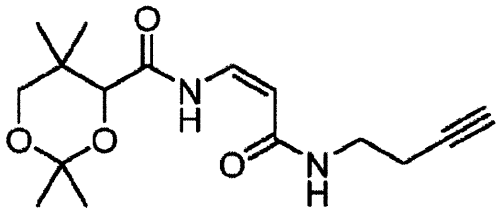
【０４６１】
^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 400 MHz) δ: 9.55 (1H, d, J = 11.3 Hz), 7.87 (1H, dd, J = 14.0, 11.3 Hz), 7.27 (1H, br s), 6.00 (1H, d, J = 14.0 Hz), 4.09 (1H, d, J = 5.0 Hz), 4.03 (1H, t, J = 5.5 Hz), 3.56 (1H, br s), 3.49 (1H, dd, J = 10.5, 5.5 Hz), 3.43 (1H, dd, J = 10.6, 5.5 Hz), 3.41-3.35 (2H, m), 2.38 (2H, td, J = 6.9, 2.6 Hz), 2.37-2.35 (1H, m), 0.94 (3H, s), 0.93 (3H, s); ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$), 100 MHz) δ: 172.9, 167.1, 134.2, 106.2, 82.7, 77.5, 70.7, 70.4, 40.3, 39.2, 21.3, 20.7, 19.9; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3368, 3309, 3247, 2965, 2920, 2861, 1691, 1652; HMRS (El) $C_{13}H_{19}O_4N_2$ (M-H)+の計算値: m/z 267.1350, 実測値 m/z 267.1344; m.p. 171-172℃; [α]$_D$ +78.1 (c = 1.1, $(CH_3)_2CO$, T = 30.0℃).

【０４６２】
(Z)-N-(3-(ブタ-3-イン-1-イルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テ

トラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【０４６３】

【化４３】



【０４６４】

(Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(R型又はS型)(１２５mg、0.49mmol)を、磁気撹拌棒を備えた0.5～2mLマイクロ波バイアル中、CH_2Cl_2(1mL)に溶解した。次いで、BTFFH(２３３mg、0.74mmol)をDIPEA(１５０μL、0.74mmol)及び1-アミノ-3-ブチン(６１μL、0.74mmol)にマイクロピペットを介して添加した。バイアルに蓋をし、マイクロ波条件下80℃に2.5時間加熱した。次いで、溶媒を真空中で除去して、粗生成物を淡黄色油状物として得た。これをフラッシュカラムクロマトグラフィー(10～25% EtOAc/石油エーテル)によって精製して、アルキン生成物を白色固体(１１０mg、７３%)として得た。

【０４６５】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 11.66 (1H, d, J = 10.9 Hz), 7.31 (1H, dd, J = 10.9, 8.9 Hz), 5.74 (1H, br s), 5.03 (1H, d, J = 8.9 Hz), 4.20 (1H, s), 3.72 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.48 (2H, m), 3.32 (1H, d, J = 11.6 Hz), 2.44 (2H, dt, J = 6.5, 2.6 Hz), 2.03 (1H, t, J = 2.6 Hz), 1.61 (3H, s), 1.47 (3H, s), 1.05 (6H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 168.9, 167.7, 133.7, 100.2, 99.3, 81.5, 77.3, 71.4, 70.2, 37.6, 33.3, 29.4, 21.9, 19.5, 19.1, 18.7; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} (非希釈): 3294, 2955, 1656, 1467, 1249; HRMS (ESI) $C_{16}H_{23}N_2O_4$ (M-H)の計算値m/z 307.1663 実測値 m/z 307.1658; m.p. 122-125℃.

R型:$[\alpha]_D$ +20.6(c=1.0、$(CH_3)_2CO$、T=24.4℃)。

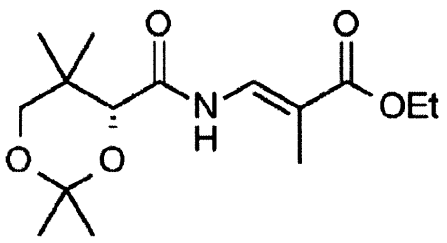
S型:$[\alpha]_D$ -23.1(c=1.4、$(CH_3)_2CO$、T=24.4℃)。

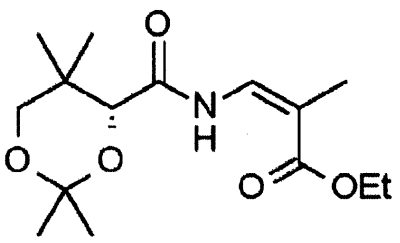
【０４６６】

(Z)-2-メチル-3-[((R)-2,2,5,5-テトラメチル-[1,3]ジオキサン-4-カルボニル)-アミノ]-アクリル酸エチルエステル及び(E)-2-メチル-3-[((R)-2,2,5,5-テトラメチル-[1,3]ジオキサン-4-カルボニル)-アミノ]-アクリル酸エチルエステル

【０４６７】

【化４４】





【０４６８】

Sewellらによって記載されるホルミル化合物9(１８６mg)を、1-カルベトキシエチリデン

トリフェニルホスホランのベンゼン中溶液に添加して、エナミド生成物(175mg、65%)をE異性体とZ異性体の混合物、E:Z比3:1として得た。一般的な手順で、ホルミル化合物(1.0mmol)のベンゼン(10mL)中溶液をエトキシカルボニルメチレントリフェニルホスホラン(3.0mmol)で処理し、得られた混合物を95℃に19時間加熱した。TLC分析によって示されるように反応が完了したら、溶媒を真空下で除去した。次いで、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、40～60石油エーテル中10%～30% EtOAc)によって精製して、所望のエナミドを得た。

【0469】

Z型:^{1}H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ: 10.90 (1H, bd, J = 12.4 Hz), 7.26 (1H, dd, J = 11.5, 1.3 Hz), 4.18 (2H, qd, J = 7.2, 1.4 Hz), 4.13 (1H, s), 3.66 (1H, d, J = 11.7 Hz), 3.26 (1H, d, J = 11.7 Hz), 1.79 (3H, d, J = 1.3 Hz), 1.51 (3H, s), 1.39 (3H, s), 1.25 (3H, t, J = 7.1 Hz), 0.98 (3H, s), 0.96 (3H, s). ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ: 167.6, 167.3, 131.3, 105.5, 98.2, 75.7, 70.4, 60.1, 32.2, 28.4, 20.9, 18.0, 17.6, 15.4, 13.4. IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3410, 3036, 2992, 1695, 1652. HRMS $C_{15}H_{25}O_5N$ (M+)の計算値: 299.1733. 実測値 299.1735. $[\alpha]_D$ +62.1 (c = 1.1, $CHCl_3$).

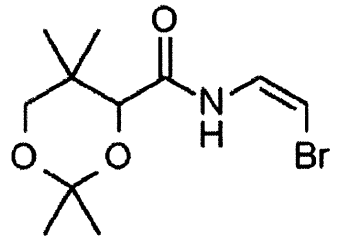
E型:^{1}H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ: 8.25 (1H, bd, J = 12.3 Hz), 7.86 (1H, dq, J = 12.3, 1.4 Hz), 4.14 (1H, s), 4.10 (2H, qd, J = 7.2, 1.2 Hz), 3.64 (1H, d, J = 11.8 Hz), 3.22 (1H, d, J = 11.8 Hz), 1.71 (3H, d, J = 1.4 Hz), 1.41 (3H, s), 1.39 (3H, s), 1.25 (3H, t, J = 7.1 Hz), 0.97 (3H, s), 0.91 (3H, s). ^{13}C NMR (100MHz, $CDCl_3$) δ: 168.0, 167.4, 130.1, 109.2, 99.3, 77.2, 71.2, 60.5, 33.2, 29.4, 21.8, 18.8, 18.6, 14.4, 10.4. IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3410, 3028, 2992, 1695, 1652. HRMS $C_{15}H_{25}O_5N$ (M+)の計算値: 299.1733. 実測値 299.1735. $[\alpha]_D$ +40.7 (c = 1.1, $CHCl_3$).

【0470】

(Z)-N-(2-ブロモビニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【0471】

【化45】



【0472】

(ブロモメチル)トリフェニルホスホニウムブロミド(8.72g、20.0mmol)及びカリウムtert-ブトキシド(2.24g、20.0mmol)を真空下で10分間乾燥させた後、フラスコを0℃に冷却し、THF(40mL)を添加して明るい黄色の懸濁液を得た。混合物を1.5時間撹拌した後、N-ホルミル-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(1.09g、5.0mmol)のTHF(5.0mL)中溶液を添加し、室温になるまで16時間撹拌したままにした。反応混合物をヘキサン(30mL)及びH_2O(30mL)で希釈した後、濾過して固体を除去した。水性相をEtOAc(3×30mL)で抽出した後、合わせた有機相をブライン(45mL)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、溶媒を真空中で除去して粗生成物を褐色油状物として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(5～10% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、ジブロモエナミドとシスブロモエナミドの混合物が得られた。次いで、混合物をEtOAc(20mL)に溶解した。$Pd(PPh_3)_4$(288mg、0.249mmol)を添加し、引き続いてBu_3SnH(0.670mL、2.49mmol)を添加した後、室温で16時間

撹拌させた。混合物をヘキサン(10mL)で希釈した後、celite(登録商標)を通して濾過し、溶媒を真空中で除去して粗生成物を褐色油状物として得た。カラムクロマトグラフィー(2～4% EtOAc/石油エーテル)によって、シスブロモエナミド(607mg、2工程にわたって41%)が淡黄色油状物として得られた。

【0473】

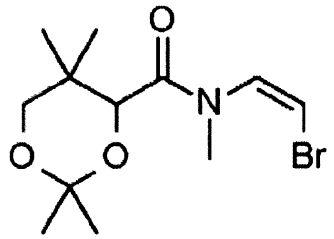
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.61 (1H, d, J = 11.2 Hz), 7.37 (1H, dd, J = 11.2, 5.9 Hz), 5.58 (1H, d, J = 5.9 Hz), 4.20 (1H, s), 3.75 (1H, d, J = 11.8 Hz), 3.35 (1H, d, J = 11.8 Hz), 1.55 (3H, s), 1.49 (3H, s), 1.08 (3H, s), 1.06 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 167.3, 124.2, 99.3, 89.8, 77.2, 71.3, 33.2, 29.4, 21.9, 18.9, 18.7; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3390, 2993, 2959, 2872, 1699, 1643.

【0474】

(Z)-N-(2-ブロモビニル)-2,2,5,5-ペンタメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【0475】

【化46】



【0476】

(ブロモメチル)トリフェニルホスホニウムブロミド(3.27g、7.50mmol)及びカリウムtert-ブトキシド(300mg、7.50mmol)を真空下で10分間乾燥させた後、フラスコを0℃に冷却し、THF(10mL)を添加して明るい黄色の懸濁液を得た。混合物を1.5時間撹拌した後、N-ホルミル-N,2,2,5,5-ペンタメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(345mg、1.50mmol)のTHF(2.0mL)中溶液を添加し、室温になるまで16時間撹拌したままにした。反応混合物をヘキサン(10mL)及びH_2O(10mL)で希釈した後、濾過して固体を除去した。水性相をEtOAc(3×15mL)で抽出した後、合わせた有機相をブライン(20mL)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、溶媒を真空中で除去して粗生成物を褐色油状物として得た。カラムクロマトグラフィー(5～10% EtOAc/石油エーテル)によって、ジブロモ化合物と未確認の不純物の混合物が得られた。次いで、混合物をEtOAc(5mL)に溶解した。$Pd(PPh_3)_4$(59mg、0.051mmol)を添加し、引き続いてBu_3SnH(0.164mL、0.612mmol)を添加した後、室温で16時間撹拌させた。混合物をヘキサン(5mL)で希釈した後、celite(登録商標)を通して濾過し、溶媒を真空中で除去して粗生成物を褐色油状物として得た。カラムクロマトグラフィー(5～20% EtOAc/石油エーテル)によって、シスブロモエナミド(97mg、2工程にわたって21%)が淡黄色油状物として得られた。

【0477】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.14 (1H, d, J = 5.5 Hz), 6.03 (1H, d, J = 5.9 Hz), 4.32 (1H, s), 3.61 (1H, d, J = 11.4 Hz), 3.31 (1H, d, J = 11.4 Hz), 3.13 (3H, s), 1.46 (3H, s), 1.42 (3H, s), 1.26 (3H, s), 0.90 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 167.1, 134.6, 99.5, 93.5, 77.2, 72.7, 33.7, 33.5, 29.4, 21.8, 19.4, 18.4; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3092, 2959, 2935, 2859, 1663.

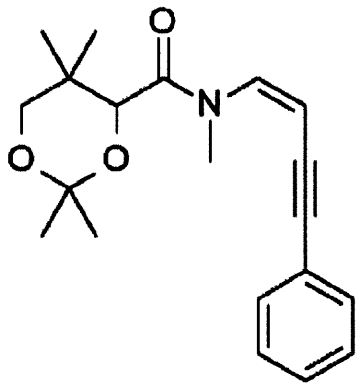
【0478】

(Z)-2,2,5,5-ペンタメチル-N-(4-フェニルブタ-1-エン-3-イニル)-1,3-ジオキサン-4-

カルボキサミド

【０４７９】

【化４７】



【０４８０】

(Z)-N-(2-ブロモビニル)-N,2,2,5,5-ペンタメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(48mg、0.157mmol)をMeCN(1mL)に溶解した後、フェニルアセチレン(35μL、0.314mmol)、Et_3N(87μL、0.628mmol)、CuI(6mg、31μmol)及び最後に$Pd(PPh_3)_4$(18mg、16μmol)を添加した。混合物を室温で16時間撹拌した後、20% EtOAc/ヘキサンを用いてcelite(登録商標)を通して濾過して、粗生成物を褐色固体として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(2～5% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、エンイン生成物(29mg、59%)が淡黄色油状物として得られた。

【０４８１】

^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz, 55℃) δ: 7.42-7.40 (2H, m), 7.33-7.30 (3H, m), 7.05 (1H, d, J = 8.7 Hz), 5.15 (1H, d, J = 8.7 Hz), 4.48 (1H, s), 3.65 (1H, d, J = 11.5 Hz), 3.55 (3H, br s), 3.35 (1H, d, J = 11.5 Hz), 1.48 (3H, s), 1.30 (3H, s), 0.94 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz, 55℃) δ: 167.8, 136.9, 131.1, 128.3, 128.2, 123.5, 99.6, 94.7, 93.2, 85.8, 76.6, 72.7, 34.2, 33.7, 29.1, 21.8, 19.2, 18.5; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 2955, 2929, 2958, 2859, 1684, 1619.

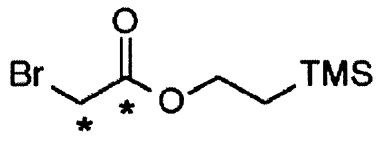
【０４８２】

化合物合成-放射標識中間体

1,2-$^{13}C_3$-2-(トリメチルシリル)エチル2-ブロモアセテート

【０４８３】

【化４８】



【０４８４】

$^{13}C_2$-ブロモ酢酸(284)(890mg、6.41mmol)をCH_2Cl_2に溶解し、0℃に冷却した後、2-トリメチルシリルエタノール(1.83mL、12.8mmol)、触媒量のDMAPを順次添加し、最後にDCC(1.39g、6.73mmol)を少しずつ添加した。得られた溶液を2時間撹拌させた後、celite(登録商標)ベッドを通して濾過した。celite(登録商標)パッドを20% EtOAc/ヘキサン(200mL)で洗浄し、次いで、溶離液を飽和$NaHCO_3$水溶液(150mL)、水(150mL)及びブライン(150mL)で洗浄した。次いで、溶液を乾燥させ(Na_2SO_4)

、真空中で溶媒を除去すると、粗生成物が黄色油状物として得られた。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(2～4% EtOAc/ヘキサン)によって精製すると、エステル生成物(1.05g、68%)が淡黄色油状物として得られた。

【０４８５】

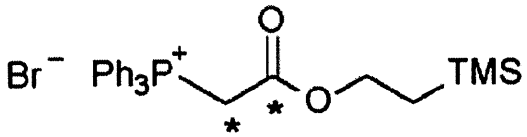
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400MHz) δ: 4.29-4.24 (2H, m), 4.00-3.61 (2H, dd, J = 152.8, 4.4 Hz), 1.07-1.00 (2H, m), 0.06 (9H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100MHz) δ: 172.6 (d, J = 49.0 Hz), 66.3, 27.6 (d, J = 49.0 Hz), 18.7, 0.0; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 2955, 2899, 1693, 1249; HRMS (ESI) $C_5{}^{13}C_2H_{15}O_2BrNaSi$ (M+Na)+の計算値: m/z 262.9984, 実測値 m/z 262.9977.

【０４８６】

1,2-$^{13}C_2$-2-(トリメチルシリルエトキシカルボニルメチル)トリフェニルホスホニウムブロミド

【０４８７】

【化４９】



【０４８８】

1,2-$^{13}C_2$-2-(トリメチルシリル)エチル2-ブロモアセテート(1.05g、4.38mmol)をトルエン(20mL)に溶解した。トリフェニルホスフィン(1.15g、4.38mmol)を添加し、得られた溶液を室温で16時間撹拌させた。この時、反応混合物は白色沈殿を含み濃厚であった。トルエン更に10mLを添加した後、超音波処理し、室温で更に1時間撹拌した。白色沈殿を濾過によって回収し、トルエン(2×20mL)で洗浄した後、CH_2Cl_2(50mL)に溶解した。溶液をブライン(50mL)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で濃縮して、ホスホニウム塩(1.42g、65%)を白色固体として得た。

【０４８９】

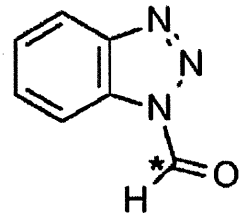
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.98-7.93 (6H, m), 7.85-7.80 (3H, m), 7.74-7.69 (6H, m), 5.83-5.44 (2H, ddd, J = 134.0, 17.0, 9.0 Hz), 4.12-4.07 (2H, m), 0.90-0.87 (2H, m), 0.00 (9H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 166.5 (d, J = 57.5 Hz), 136.7, 135.7, 131.9, 67.1, 35.0 (d, J = 57.5 Hz), 18.8, 0.00; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3478, 3405, 2954, 2802, 1674; m.p. 90-91℃.

【０４９０】

^{13}C-1H-ベンゾトリアゾール-1-カルボキシアルデヒド

【０４９１】

【化５０】



【０４９２】

無水酢酸(1.34mL、14.2mmol)及び^{13}C-ギ酸(0.800mL、21.3mol)を50℃で3時間加熱した。この時、粗NMRスペクトルの分析により、^{13}C1-酢酸ギ酸無水物の質量比の計算が可能になった。この場合、混合無水物9.94mmolが形成されていた。ベンゾトリアゾール(1.06g、8.92mmol)を-10℃でTHF(5mL)に溶解し、得られた溶液を、シリンジ添加を介して粗混合無水物混合物で処理し、1時間撹拌したままにした。溶媒を真空下で除去し、形成した粗白色固体を$CHCl_3$と共沸して過剰なギ酸を除去してホルミル化生成物(1.06g、99%)を白色固体として得た。

【0493】

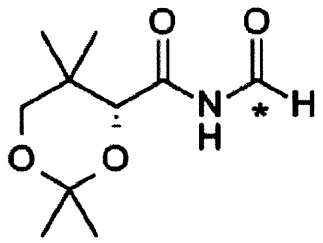
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 10.08-9.54 (1H, d, J = 220.0 Hz), 8.28 (1H, d, J = 8.0 Hz), 8.18 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.73 (1H, ddd, J = 8.2, 7.2, 1.0 Hz), 7.59 (1H, ddd, J = 8.2, 7.2, 1.0, Hz); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ: 159.9, 146.5, 130.7, 129.9, 127.0, 120.4, 114.4; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3103, 1686, 1594; HRMS (EI) $C_6{}^{13}CH_6ON_3$ (M+H)+の計算値: m/z 148.0467, 実測値 m/z 147.0469; m.p. 93-94℃.

【0494】

^{13}C-(R)-N-ホルミル-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【0495】

【化51】



【0496】

(R)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(Hanらから公知)(1.33g、7.12mmol)をTHF(40mL)に溶解した。溶液を0℃に冷却し、n-ブチルリチウム(3.13mL、ヘキサン中2.5M、7.83mmol)を、シリンジを介してゆっくり添加した後、0℃で0.5時間撹拌したままにした。^{13}C-1H-ベンゾトリアゾール-1-カルボキシアルデヒド(1.16g、7.83mmol)のTHF(10mL)中溶液を、シリンジを介してゆっくり添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌したままにした。反応混合物をイソプロパノール(10mL)で希釈した後、飽和$NaHCO_3$水溶液(50mL)で洗浄した。水性相を分離し、EtOAc(3×50mL)で抽出した後、合わせた有機相をブライン(100mL)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、真空中で濃縮して粗生成物を淡黄色固体として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(10～20% EtOAc/石油エーテル)によって精製して、イミド生成物(1.20g、78%)を白色固体として得た。

【0497】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 9.38-8.96 (1H, dd, J = 193.5, 10.4 Hz), 8.92 (1H, br s), 4.21 (1H, s), 3.73 (1H, d, J = 11.9 Hz), 3.35 (1H, d, J = 11.9 Hz), 1.50 (3H, s), 1.47 (3H, s), 1.08 (3H, s), 1.07 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 170.6, 161.4, 99.7, 77.1, 71.2, 33.4, 29.4, 21.7, 18.9, 18.6; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3264, 2994, 2960, 2882, 1724, 1657, 1457; HRMS (ESI) $C_9{}^{13}C_1H_{17}NO_4Na$ M+の計算値: m/z 239.1083, 実測値 m/z 239.1081; m.p. 130-131℃.

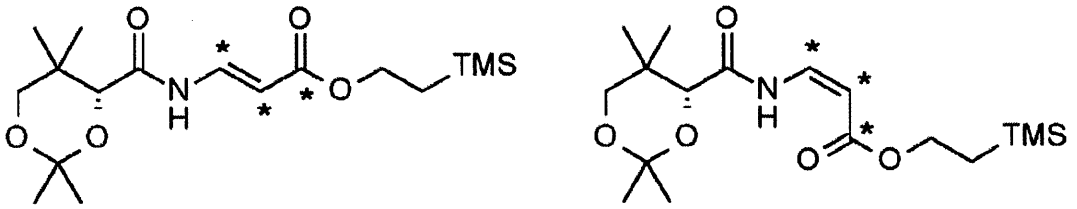
【0498】

$^{13}C_3$-(R,E)-2-(トリメチルシリル)エチル3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート及び$^{13}C_3$-(R,Z)-2-(トリメチルシリル)エチル3-(2,2,

5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート

【０４９９】

【化５２】



【０５００】

1,2-$^{13}C_2$-2-(トリメチルシリルエトキシカルボニルメチル)トリフェニルホスホニウムブロミド(1.42g、2.85mmol)をCH_2Cl_2(50mL)に溶解し、1M NaOH水溶液(50mL)と室温で2時間撹拌した。次いで、有機層を分離し、真空中で濃縮して粗トリメチルシリルイリド(1.24g)を黄色油状物として得た。粗イリドをベンゼン(15mL)に溶解した後、^{13}C-(R)-N-ホルミル-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(425mg、1.84mmol)を添加した。次いで、得られた溶液を80℃で16時間撹拌した。反応混合物を真空中で濃縮し、その後、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(5～20% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、シス異性体(99mg、15%)が黄色油状物として得られ、引き続いてトランス異性体(537mg、82%)が白色固体として得られた。

【０５０１】

$^{13}C_3$-(R,E)-2-(トリメチルシリル)エチル3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート:^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 8.33 (1H, d, J = 11.5 Hz), 8.13-7.71 (1H, dddd, J = 177.0, 14.5, 11.5, 5.0 Hz), 5.70-5.34 (1H, dddd, J = 163.0, 14.5, 3.0, 1.5 Hz), 4.25-4.21 (2H, m), 4.17 (1H, s), 3.67 (1H, d, J = 11.8 Hz), 3.27 (1H, d, J = 11.8 Hz), 1.52 (3H, s), 1.46 (3H, s), 1.06 (3H, s), 1.02 (2H, t, J = 8.4 Hz), 1.01 (3H, s), 0.05 (9H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125MHz) δ: 169.4, 169.0 (dd, J = 79.5, 4.3 Hz), 137.5 (dd, J = 79.5, 4.3 Hz), 104.7 (dd, J = 79.5, 79.5 Hz), 101.0, 78.7, 72.7, 63.8, 34.9, 30.9, 23.3, 20.3, 20.1, 18.8, 0.0; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3306, 2955, 2899, 2874, 1708, 1649, 1476; HRMS (EI) $C_{14}{}^{13}C_3H_{32}O_5NSi$ M+の計算値: m/z 360.2073, 実測値 m/z 360.2064; m.p. 126-127℃.

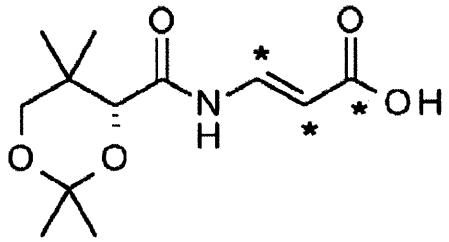
$^{13}C_3$-(R,Z)-2-(トリメチルシリル)エチル3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート:^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 11.10 (1H, d, J = 11.6 Hz), 7.62-7.09 (1H, dm, J = 175.2 Hz), 5.32-4.86 (1H, ddm, J = 168.8, 9.2 Hz), 4.23 (2H, tm, J = 8.3 Hz), 4.21 (1H, s), 3.72 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.32 (1H, d, J = 11.6 Hz), 1.59 (3H, s), 1.47 (3H, s), 1.05 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.04-1.00 (2H, m), 0.05 (9H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100MHz) δ: 170.2, 169.8 (d, J = 75.4 Hz), 137.3 (d, J = 74.4 Hz), 100.8 (dd, J = 75.4, 74.4 Hz), 99.7, 78.7, 72.8, 63.7, 34.8, 30.8, 23.4, 20.5, 20.1, 18.9, 0.0; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3300, 2965, 2924, 2860, 1672, 1630, 1454; HRMS (EI) $C_{14}{}^{13}C_3H_{32}O_5NSi$ M+の計算値: m/z 360.2073, 実測値 m/z 360.2064.

【０５０２】

$^{13}C_3$-(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸

【０５０３】

【化５３】



【０５０４】

$^{13}C_3$-(R,E)-2-(トリメチルシリル)エチル3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート(５００mg、1.40mmol)をTHF(１０mL)に溶解した。水(0.２００mL)を添加した後、TBAF(4.２０mL、4.2mmol、THF中１M溶液)をシリンジを介して添加し、得られた淡橙色溶液を４０℃で１８時間加熱した。反応混合物を真空中で濃縮し、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(０～２% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製して不純な白色固体を得た。粗生成物をEtOAc(２５mL)に溶解し、１M NaOH水溶液(２５mL)と1時間撹拌した。水性層を回収し、EtOAc(５０mL)で希釈し、次いで、１M HCl水溶液でpH5に酸性化した。混合物を1時間撹拌させた後、水性層をEtOAc(３×２５mL)で抽出した。合わせた有機層をブライン(５０mL)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、真空中で濃縮して所望の酸(２８７mg、８０%)を白色固体として得た。

【０５０５】

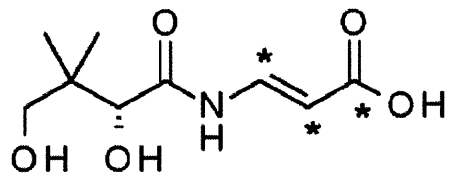
^{1}H NMR ($CDCl_3$, ５００ MHz) δ: 8.52 (1H, d, J = 11.8 Hz), 8.26-7.85 (1H, dddd, J = 176.5, 14.2, 11.8, 5.0 Hz), 5.76-5.40 (1H, ddm, J = 163.0, 14.2 Hz), 4.22 (1H, s), 3.71 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.32 (1H, d, J = 11.6 Hz), 1.55 (3H, s), 1.51 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.03 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, １２５ MHz) δ: １７２.６, １７２.９ (dd, J = 77.3, 4.4 Hz), １３８.１ (dd, J = 77.1, 4.4 Hz), １０１.８ (dd, J = 77.3, 77.1 Hz), ９９.６, ７７.２, ７１.２, ３３.４, ２９.４, ２１.８, １８.８, １８.７; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} ３３１５, ３０８５, ２９９５, ２８８０, １６９５, １６６８; HRMS (EI) $C_9{}^{13}C_3H_{20}O_5N$ M+の計算値: m/z ２６０.１３６５, 実測値 m/z ２６０.１３６４; m.p. １８７-１８８℃.

【０５０６】

$^{13}C_3$-(R,E)-3-(2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド)アクリル酸

【０５０７】

【化５４】



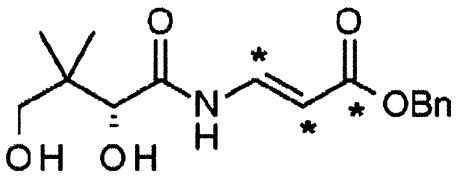
【０５０８】

$^{13}C_3$-(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(１００mg、0.３８９mmol)をMeCN(３mL)に溶解した。水(３００μL)を添加し、引き続いて$BiCl_3$(１２mg、３８μmol)を添加すると、白色の懸濁液が得られた。混合物を室温で16時間撹拌させた後、小型celite(登録商標)パッドを通して濾過し、その後、これをEtOAc(２０mL)で洗浄した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製すると、$^{13}C_3$-CJ-１５８０１が無色油状物(３５mg、４１%)として得られた。

【０５０９】
^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 500 MHz) δ: 9.70 (1H, d, J = 10.5 Hz), 8.09-7.67 (1H, dddd, J = 174.0, 14.5, 10.5, 5.2 Hz), 5.87-5.51 (1H, ddm, J = 163.5, 14.5 Hz), 4.00 (1H, s), 3.38 (1H, d, J = 10.9 Hz), 3.31 (1H, d, J = 10.9 Hz), 0.82 (3H, s), 0.81 (3H, s); ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$, 125 MHz) δ: 173.1, 170.4 (dd, J = 76.7, 4.3 Hz), 138.5 (dd, J = 76.7, 4.3 Hz), 102.2 (dd, J = 76.7, 76.7 Hz), 77.4, 70.2, 40.3, 21.4, 20.5; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3295, 2964, 2836, 2878, 1642, 1584; HRMS (ESI) $C_6{}^{13}C_3H_{15}NO_5Na$ (M+Na)+の計算値: m/z 243.0943, 実測値 m/z 243.0940.

【０５１０】
$^{13}C_3$-(R,E)-ベンジル3-(2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド)アクリレート

【０５１１】
【化５５】



【０５１２】
$^{13}C_3$-(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(100mg、0.389mmol)のCH_2Cl_2(3mL)中溶液を0℃に冷却した後、ベンジルアミン(30μL、0.291mmol)、触媒DMAP及びDCC(21mg、0.101mmol)を順次添加した。得られた溶液を0℃で4時間撹拌し、この時までに白色沈殿が形成した。反応混合物をcelite(登録商標)パッドを通して濾過し、次いで、これをEtOAc(20mL)で洗浄した。次いで、有機層を飽和$NaHCO_3$水溶液(15mL)、H_2O(15mL)及びブライン(15mL)で洗浄した後、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、真空中で濃縮して粗生成物を白色固体(71mg、0.203mmol)として得た。フラッシュカラムクロマトグラフィーによる粗残留物の精製失敗後、粗生成物をMeCN(1.5mL)とH_2O(0.150mL)の混合物に溶解した後、$BiCl_3$(6mg、19μmol)を添加して、乳白色の懸濁液を得て、次いで、これを室温で16時間撹拌した。反応混合物を数滴の飽和$NaHCO_3$水溶液でクエンチし、引き続いてcelite(登録商標)パッドを通して濾過し、その後、これをEtOAc(10mL)で洗浄した。溶離液を真空中で濃縮して粗生成物を無色油状物として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(20～70% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、ジオール生成物(26mg、41%)が無色油状物として得られた。

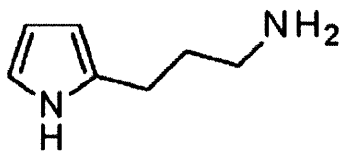
【０５１３】
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 9.03 (1H, d, J = 11.6 Hz), 8.29-7.77 (1H, dddd, J = 176.7, 13.8, 11.6, 4.9 Hz), 7.38-7.34 (5H, m), 5.89-5.41 (1H, ddm, J = 163.1, 13.8 Hz), 5.18 (2H, d, J = 3.3 Hz), 4.58 (1H, d, J = 4.1 Hz), 4.17 (1H, d, J = 4.1 Hz), 3.58 (1H, br d, J = 10.6 Hz), 3.53 (1H, d, J = 10.6 Hz), 3.04 (1H, br s), 1.02 (3H, s), 0.97 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 171.4 (d, J = 3.6 Hz), 167.1 (dd, J = 80.0, 4.6 Hz), 136.8 (dd, J = 77.9, 4.6 Hz), 135.2, 128.6, 128.2, 128.1, 102.5 (dd, J = 80.0, 77.9 Hz), 77.4, 71.6, 66.2, 39.4, 20.9, 20.3; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3316, 2963, 2934, 2875, 1682, 1649; HRMS (ESI) $C_{13}{}^{13}C_3H_{21}O_5NNa$ M+の計算値: m/z 333.1413, 実測値 m/z 333.1407.

【０５１４】
化合物合成-BODIPYアミドコンジュゲート

3-(1H-ピロール-2-イル)プロパン-1-アミン

【０５１５】

【化５６】



【０５１６】

2-(3-アジドプロピル)-1H-ピロール(１００mg、0.704mmol)をMeOH(3mL)に溶解し、アルゴン雰囲気下に置いた。Pd/C(10mg、10%)を添加した後、アルゴンを水素雰囲気で置き換えた後、室温で1.5時間撹拌した。粗混合物をcelite(登録商標)ベッドで濾過してPdを除去した後、MeOH(10mL)で洗浄し、溶媒を真空中で除去してアミン生成物(84mg、100%)を淡黄色油状物として得た。

【０５１７】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.73 (1H, br s), 6.68-6.66 (1H, m), 6.13-6.11 (1H, m), 5.94-5.92 (1H, m), 2.78 (2H, t, J = 6.8 Hz), 2.69 (2H, t, J = 7.4 Hz), 1.81-1.75 (2H, m), 1.57 (2H, br s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 132.1, 116.2, 108.5, 105.0, 41.7, 33.0, 25.2; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3364, 3233, 3098, 2932, 2851; HRMS (El) $C_7H_{13}N_2$ (M+H)+の計算値: m/z 125.1079, 実測値 m/z 125.1077.

【０５１８】

(9H-フルオレン-9-イル)メチル3-(1H-ピロール-2-イル)プロピルカルバメート

【０５１９】

【化５７】



【０５２０】

3-(1H-ピロール-2-イル)プロパン-1-アミン(719mg、5.75mmol)をCH_2Cl_2(45mL)に溶解した後、Et_3N(1.61mL、11.5mmol)及びフルオレニルメチルオキシカルボニルクロリド(1.64g、6.33mmol)を添加した。次いで、得られた溶液を室温で16時間撹拌した。反応混合物をCH_2Cl_2(25mL)で希釈し、次いで、飽和$NaHCO_3$水溶液(30mL)、水(30mL)及びブライン(30mL)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過した後、真空中で濃縮して粗生成物を無色油状物として得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー(10～20% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、清澄なFmoc保護されたアミン(1.15g、58%)が白色固体として得られた。

【０５２１】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.58 (1H, br s) 7.79 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.61 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.42 (2H, t, J = 7.3 Hz), 7.32 (2H, t, J = 7.4 Hz), 6.71- 6.69 (1H, m), 6.13-6.11 (1H, m), 5.93-5.90 (1H, m) 4.79 (1H, br s), 4.47 (2H, d, J = 6.7 Hz), 4.23 (1H, t, J = 6.7 Hz), 3.30-3.27 (2H, m), 3.05 (2H, t, J = 6.8 Hz), 1.80-1.73 (2H, m); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 157.2, 143.9, 141.4, 131.5, 127.7, 127.1, 125.0, 124.7, 116.6,

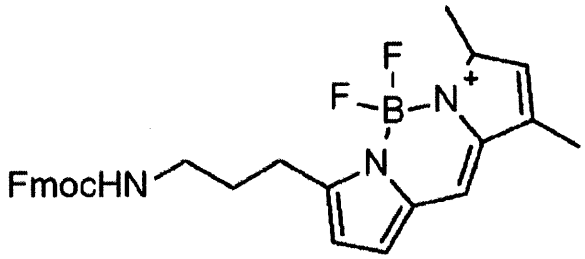
108.1, 105.3, 66.6, 47.3, 39.9, 31.0, 24.0; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3403, 3341, 2982, 2928, 1690; HRMS (Cl) $C_{22}H_{22}N_2O_2$ (M)+の計算値: m/z 346.1681, 実測値 m/z 346.1676.

【０５２２】

3-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパン

【０５２３】

【化５８】



【０５２４】

(9H-フルオレン-9-イル)メチル-3-(1H-ピロール-2-イル)プロピルカルバメート(692mg、0.739mmol)及び3,5-ジメチル-1H-ピロール-2-カルバルデヒド(268mg、2.20mmol)をCH_2Cl_2(15mL)に溶解し、0℃に冷却した後、$POCl_3$(0.205mL、2.20mmol)を滴加した。混合物を室温で6時間撹拌した後、これを再度0℃に冷却し、$BF_3.Et_2O$(0.987mL、8.00mmol)及びDIPEA(1.46mL、8.40mmol)を添加し、室温で12時間撹拌したままにした。次いで、混合物をH_2O(25mL)及びCH_2Cl_2(10mL)で希釈した後、celite(登録商標)ベッドを通して濾過し、CH_2Cl_2(2×25mL)で洗浄した。次いで、合わせた有機層を乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で濃縮して粗生成物を暗赤色/緑色固体として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(10～40% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、生成物(320mg、32%)が赤色油状物として得られ、これは冷却すると凝固した。NMR値は、同様のBODIPY化合物(Gieslerら参照)に匹敵する。

【０５２５】

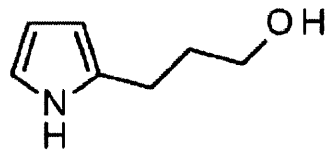
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.77 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.62 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.40 (2H, t, J = 7.3 Hz), 7.30 (2H, t, J = 7.4 Hz), 7.08 (1H, s), 6.92 (1H, d, J = 3.9 Hz), 6.32 (1H, d, J = 3.9 Hz), 6.13 (1H, s), 5.26 (1H, br s), 4.36 (2H, d, J = 7.3 Hz), 4.22 (1H, t, J = 7.3 Hz), 3.30-3.27 (2H, m), 3.05 (2H, t, J = 7.1 Hz), 2.59 (3H, s), 2.26 (3H, s), 2.01-1.95 (2H, m); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 159.7, 158.9, 156.4, 144.1, 143.5, 141.3, 134.9, 133.2, 128.5, 127.6, 127.0, 125.2, 123.7, 120.2, 119.9, 116.9, 66.6, 47.3, 40.2, 29.0, 25.6, 14.9, 11.3; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3333, 2943, 2859, 1601.

【０５２６】

3-(1H-ピロール-2-イル)プロパン-1-オール

【０５２７】

【化５９】



【０５２８】

メチル3-(1H-ピロール-2-イル)プロパノエート(2.64g、17.5mmol)のEt_2O(130mL)中溶液を0℃に冷却した後、$LiAlH_4$(996mg、26.3mmol)をゆっくり添加した。懸濁液を室温になるまで16時間撹拌したままにした。pHが中性になるまで1M NaOHを滴加して粗反応混合物をクエンチした。Et_2Oをデカントし、リチウム/アルミニウム塩を更なるEt_2O(3×50mL)で洗浄した。合わせた有機層を乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、溶媒を真空中で除去してアルコール生成物(2.15g、100%)を無色油状物として得た。

【０５２９】

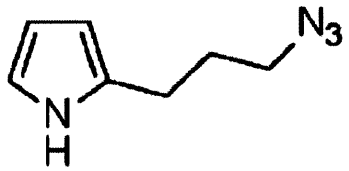
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.24 (1H, br s), 6.70-6.68 (1H, m), 6.15-6.13 (1H, m), 5.95-5.94 (1H, m), 3.73 (2H, t, J = 5.9 Hz), 2.75 (2H, t, J = 7.3 Hz), 1.93-1.87 (2H, m), 1.50 (1H, br s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 131.8, 116.4, 108.3, 105.2, 62.3, 32.2, 24.2; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3365, 2940, 2976, 2850, 1012; HRMS (Cl) $C_7H_{12}NO$ (M+H)+の計算値: m/z 126.0919, 実測値 m/z 126.0917.

【０５３０】

2-(3-アジドプロピル)-1H-ピロール

【０５３１】

【化６０】



【０５３２】

3-(1H-ピロール-2-イル)プロパン-1-オール(1.00g、8.13mmol)のCH_2Cl_2(60mL)中溶液を0℃に冷却した後、Et3N(2.26mL、16.26mmol)及びメタンスルホニルクロリド(0.755mL、9.76mmol)を添加した。反応混合物を0℃で1時間撹拌させた後、室温に加温し、1M HCl(40mL)、飽和$NaHCO_3$水溶液(60mL)及びブライン(60mL)で洗浄した後、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、溶媒を真空中で除去して、メシレート中間体(1.52g、94%)を得た。次いで、粗メシレートをDMF(60mL)に溶解し、溶液をアジ化ナトリウム(1.48g、22.7mmol)で処理した後、70℃に16時間加熱した。次いで、反応混合物を室温に冷却した後、EtOAc(60mL)、引き続いてH_2O(60mL)を添加した。水性相をEtOAc(2×60mL)で洗浄し、次いで、合わせた有機相をブライン(5×100mL)で洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、濾過し、溶媒を真空中で除去して、アジド生成物(947mg、88%)を黄色油状物として得た。

【０５３３】

^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.98 (1H, br s), 6.70-6.68 (1H, m), 6.15-6.13 (1H, m), 5.96-5.94 (1H, m), 3.34 (2H, t, J = 6.6 Hz), 2.73 (2H, t, J = 7.4 Hz), 1.92-1.87 (2H, m); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 130.7, 116.5, 108.5, 105.5, 50.7, 28.9, 24.7. IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3379, 2940,

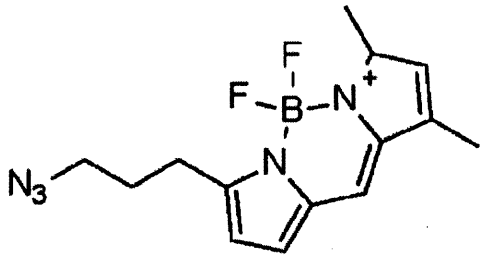
2870, 2091; HRMS (El) $C_7H_{11}N_4$(M+H)+の計算値: m/z 151.0984, 実測値 m/z 151.0987.

【0534】

3-アジド[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパン、11

【0535】

【化61】



【0536】

2-(3-アジドプロピル)-1H-ピロール(105mg、0.739mmol)及び3,5-ジメチル-1H-ピロール-2-カルボキシアルデヒド(99mg、0.813mmol)をCH_2Cl_2(5mL)に溶解し、0℃に冷却した後、$POCl_3$(76μL、0.813mmol)を滴加した。混合物を室温で6時間撹拌させた後、再度0℃に冷却し、$BF_3.Et_2O$(0.365mL、2.96mmol)及びDIPEA(0.539mL、3.10mmol)を添加し、室温で12時間撹拌したままにした。次いで、混合物をH_2O(10mL)及びCH_2Cl_2(5mL)で希釈した後、celite(登録商標)ベッドを通して濾過し、CH_2Cl_2(2×10mL)で洗浄した。次いで、合わせた有機層を乾燥させ(Na_2SO_4)、溶媒を真空中で除去して粗生成物を暗赤色/緑色固体として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(5% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、所望のアジド(155mg、57%)が赤色油状物として得られ、これは冷却すると凝固した。NMR値は、同様のBODIPY化合物(Gieslerら参照)に匹敵する。

【0537】

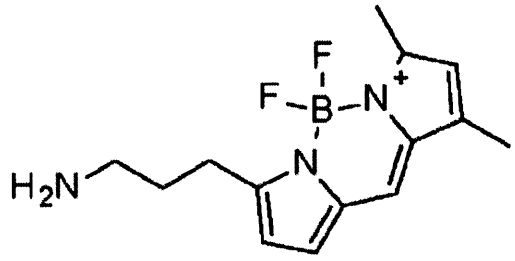
^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 7.09 (1H, s), 6.91 (1H, d, J = 3.9 Hz), 6.28 (1H, d, J = 3.9 Hz), 6.12 (1H, s), 3.40 (2H, t, J = 7.0 Hz), 3.05 (2H, t, J = 7.4 Hz), 2.57 (3H, s), 2.27 (3H, s), 2.04 (2H, m); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 160.3, 157.8, 147.9, 143.7, 133.3, 128.2, 123.7, 120.4, 116.6, 50.9, 28.1, 25.8, 14.9, 11.3. IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 2959, 2932, 2870, 2091; HRMS (ESI) $C_{14}H_{17}BF_2N_5$ (M+H)+の計算値: m/z 304.1545, 実測値 m/z 304.1528; m.p. 49-50℃.

【0538】

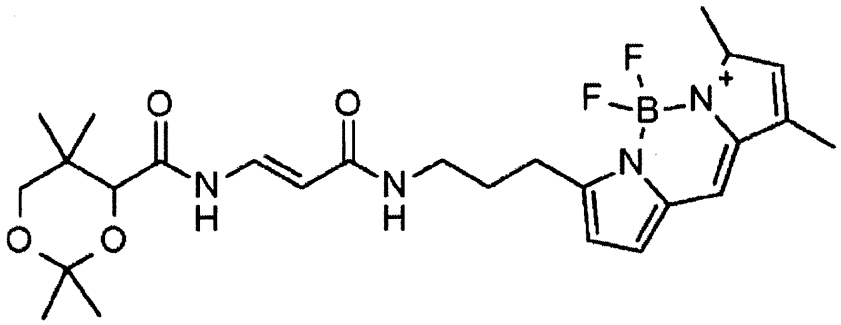
3-アミノ[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパン

【0539】

【化６２】



【０５４０】
3-アジド[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパン(25mg、0.083mmol)のTHF(1mL)中溶液に、ポリマー結合トリフェニルホスフィン(103mg、1.6mmolg^{-1})及びH_2O(50μL)を添加した。TLCによる反応進行後、得られた懸濁液を50℃で4時間加熱した。完了したら、懸濁液を室温に冷却させた後、celite(登録商標)ベッドを通して濾過し、溶媒を真空中で除去して所望のアミンを赤色油状物(61～82%)として得た。この物質を更に精製することなく使用した。
【０５４１】
アミドコンジュゲート-310
【０５４２】
【化６３】

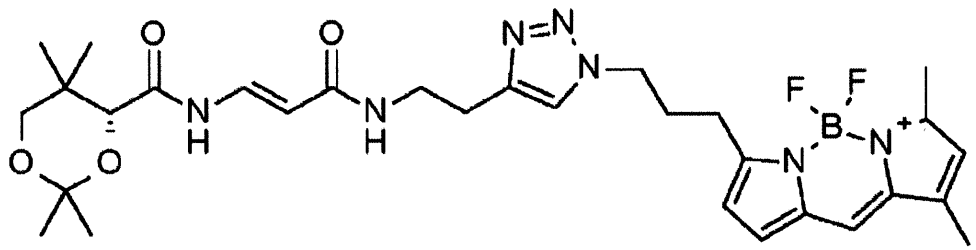


【０５４３】
ピペリジンによる処理によって3-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパンからその場で調製される3-アミノ[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパンと(E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸のアミドカップリングによって化合物を調製した。
【０５４４】
よって、3-[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパンをTHF中ピペリジンで、室温で3時間処理した。粗生成物を、マイクロ波条件下、80℃で2.5時間、HBTU、DIPEA、CH_2Cl_2の存在下、(E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸と反応させた。HPLC精製によって、粗生成物が2工程にわたって収率10%未満で得られた。
【０５４５】
化合物合成-BODIPYクリックコンジュゲート
(R,E)-N-((((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エ

ニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド、1

【０５４６】

【化６４】



【０５４７】

(R,E)-N-(3-(ブタ-3-イニルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(20mg、65μmol)及び3-アジド[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパン(15mg、50μmol)をTHF(2mL)に溶解した。DIPEA 1滴を、ピペットを介して添加し、引き続いて触媒量のCuIを添加した。得られた混合物を70℃に18時間加熱し、次いで、真空中で濃縮して粗生成物を褐色油状物として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～2% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると、所望の化合物(23mg、76%)が赤色油状物として得られた。

【０５４８】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 8.32 (1H, d, J = 11.4 Hz), 7.84 (1H, dd, J = 13.9, 11.4 Hz), 7.38 (1H, s), 7.09 (1H, s), 6.87 (1H, d, J = 4.1 Hz), 6.34 (1H, br s), 6.23 (1H, d, J = 4.1 Hz), 6.11 (1H, s), 5.73 (1H, d, J = 13.9 Hz), 4.40 (2H, t, J = 6.9 Hz), 4.15 (1H, s), 3.68 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.65-3.61 (2H, m), 3.28 (1H, d, J = 11.6 Hz), 2.97 (2H, t, J = 7.5 Hz), 2.90 (2H, t, J = 6.3 Hz), 2.53 (3H, s), 2.38-2.31 (2H, m), 2.24 (3H, s), 1.46 (3H, s), 1.42 (3H, s), 1.02 (3H, s), 0.97 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 168.0, 166.3, 160.5, 156.6, 144.2, 135.3, 133.1, 132.8, 128.2, 123.9, 122.1, 120.6, 116.6, 106.0, 99.4, 77.2, 71.3, 49.8, 38.7, 33.3, 29.4, 29.3, 25.6, 25.5, 21.9, 18.8, 18.7, 14.9, 11.3; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3295, 2991, 2830, 2876, 1666, 1598; HRMS (ESI) $C_{30}H_{39}BF_2N_7O_4$ (M-H)+の計算値: m/z 609.3166, 実測値 m/z 609.3141; $[\alpha]_D$ +29.6 (c = 0.6, $(CH_3)_2CO$, T = 24.4℃).

【０５４９】

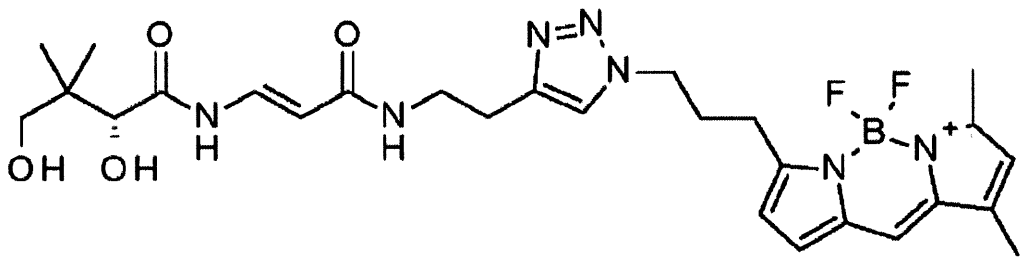
(S,E)型(3)は、(S,E)-N-(3-(ブタ-3-イニルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミドから同様に調製することができる。$[\alpha]_D$ -21.8(c=1.2、$(CH_3)_2CO$、T=24.4℃)。

【０５５０】

(R,E)-N-((((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド、5

【０５５１】

【化６５】



【０５５２】
(R,E)-N-((((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(20mg、33μmol)をTHF(1mL)とH_2O(50μL)の混合物に溶解した後、$BiCl_3$(1mg、3μmol)を添加し、室温で16時間撹拌したままにした。粗混合物を、celite(登録商標)を通して濾過した後、真空中で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(5～8% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると、ジオール生成物(10mg、56%)が赤色固体として得られた。

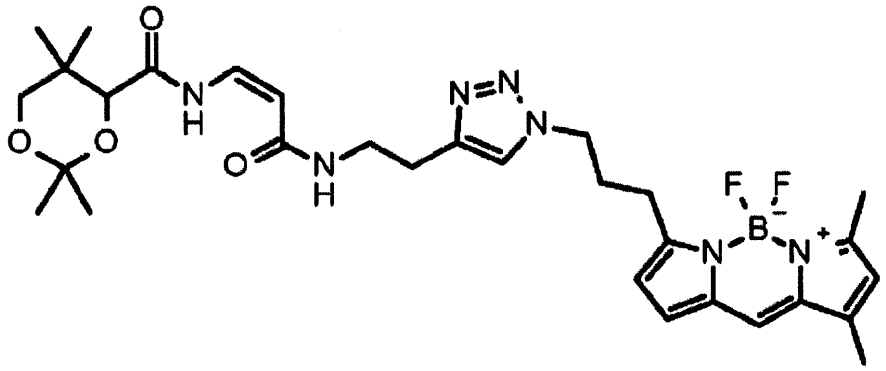
【０５５３】
^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 9.43 (1H, d, J = 11.2 Hz), 7.90-7.85 (1H, m), 7.47 (1H, s), 7.09 (2H, br s), 6.86 (1H, d, J = 3.9 Hz), 6.22 (1H, d, J = 3.9 Hz), 6.10 (1H, s), 5.81 (1H, d, J = 13.8 Hz), 5.53 (1H, br s), 4.37-4.34 (3H, m), 4.17 (1H, s), 3.56-3.50 (3H, m), 3.43 (1H, d, J = 10.7 Hz), 2.93 (2H, t, J = 7.5 Hz), 2.90 (2H, br s), 2.52 (3H, s), 2.31-2.28 (2H, m), 2.22 (3H, s), 0.93 (3H, s), 0.92 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 172.7, 167.3, 160.5, 156.6, 145.2, 144.2, 135.2, 133.8, 133.2, 128.3, 124.0, 122.1, 120.6, 116.6, 105.6, 76.8, 70.3, 49.7, 39.6, 39.1, 29.3, 25.6, 25.5, 21.0, 20.7, 14.9, 11.3; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3295, 2970, 2829, 2873, 1661, 1597; HRMS (ESI) $C_{27}H_{35}BF_2N_7O_4$ (M-H)+の計算値: m/z 569.2853, 実測値 m/z 569.2831; m.p. 104-105℃; $[\alpha]_D$ +28.1 (C = 0.5, $(CH_3)_2CO$, T = 24.4℃).

【０５５４】
(S,E)型(7)は、(S,E)-N-((((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミドから同様に調製することができる。$[\alpha]_D$ -24.0(c=1.0、$(CH_3)_2CO$、T=24.4℃)。

【０５５５】
(Z)-N-((((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド、(R)-2、(S)-4

【０５５６】

【化６６】



【０５５７】

(Z)-N-(3-(ブタ-3-イン-1-イルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(R型又はS型)(96mg、0.3mmol)をTHF(1.5mL)に溶解した後、3-アジド[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパン(122mg、0.4mmol)を一度に添加し、引き続いてDIPEA(1滴)及び触媒量のCuIを添加した。得られた混合物を70℃に16時間加熱し、次いで、真空中で濃縮して粗生成物を暗褐色油状物として得た。粗生成物を、カラムクロマトグラフィー(5% MeOH/CH_2Cl_2)を介して精製してトリアゾール生成物(161mg、85%)を赤色固体として得た。

【０５５８】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 11.68 (1H, d, J = 11.1 Hz), 7.39 (1H, s), 7.23 (1H, dd, J = 11.1, 8.9 Hz), 7.10 (1H, s), 6.88 (1H, d, J = 3.9 Hz), 6.35 (1H, t, J = 5.5 Hz), 6.24 (1H, d, J = 3.9 Hz), 6.12 (1H, s), 5.03 (1H, d, J = 8.9 Hz), 4.42 (2H, t, J = 6.9 Hz), 4.19 (1H, s), 3.71 (1H, d, J = 11.7 Hz), 3.68-3.58 (2H, m), 3.32 (1H, d, J = 11.7 Hz), 2.97 (2H, t, J = 7.5 Hz), 2.92 (2H, t, J = 6.2 Hz), 2.54 (3H, s), 2.37 (2H, 五重線, J = 7.2 Hz), 2.26 (3H, s), 1.60 (3H, s), 1.46 (3H, s), 1.04 (6H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 168.7, 167.8, 160.6, 156.5, 145.4, 144.2, 135.3, 133.1, 133.0, 128.1, 123.8, 121.7, 120.6, 116.5, 100.8, 99.2, 77.2, 71.4, 49.6, 38.2, 33.3, 29.4, 29.2, 25.5, 25.4, 22.0, 19.0, 18.6, 14.9, 11.3; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} (非希釈): 2926, 2360, 1660, 1610, 1139; HRMS (ESI) $C_{30}H_{40}N_7BF_2O_4Na$ $(M+Na)^+$の計算値: m/z 633.3131, 実測値 m/z 633.3107; 融点範囲: 66-69℃.

R型:$[\alpha]_D$ +3.8(c=0.9、$(CH_3)_2CO$、T=24.4℃)。

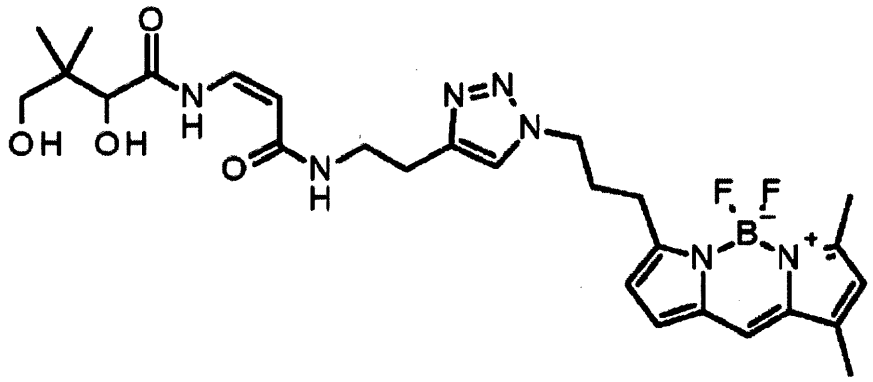
S型:$[\alpha]_D$ -1.6(c=1.0、$(CH_3)_2CO$、T=24.4℃)。

【０５５９】

(Z)-N-(((((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド、(R)-6、(S)-8

【０５６０】

【化６７】



【０５６１】

(Z)-N-((((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(60mg、0.1mmol)をMeCN(1.2mL)及びH_2O(0.1mL)に溶解した後、$BiCl_3$(6mg、0.02mmol)を添加した。混合物を16時間激しく撹拌した後、celite(登録商標)を通して濾過し、MeCN(40mL)で洗浄した。溶媒を真空中で除去すると粗ジオールが暗褐色油状物として得られた。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(5% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製してジオールを赤色油状物(52mg、92%)として得た。

【０５６２】

^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 11.85 (1H, d, J = 11.1 Hz), 7.42 (1H, s), 7.23 (1H, dd, J = 11.1, 8.8 Hz), 7.10 (1H, s), 6.89 (1H, d, J = 4.0 Hz), 6.55 (1H, t, J = 5.5 Hz), 6.24 (1H, d, J = 4.0, Hz), 6.13 (1H, s), 5.05 (1H, d, J = 8.8 Hz), 4.42 (2H, t, J = 6.9 Hz), 4.16 (1H, s), 3.66-3.55 (2H, m), 3.53 (1H, s), 2.96 (2H, t, J = 7.5 Hz), 2.92 (2H, t, J = 6.2 Hz), 2.54 (3H, s), 2.35 (2H, 五重線, J = 7.4 Hz), 2.26 (3H, s), 1.03 (3H, s), 0.98 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 172.0, 168.1, 160.6, 156.5, 145.2, 144.2, 135.3, 133.5, 133.1, 128.2, 123.9, 121.8, 120.6, 116.5, 100.6, 77.9, 71.1, 49.7, 39.4, 38.4, 29.2, 25.5, 25.4, 20.9, 20.6, 14.9, 11.3; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} (非希釈): 3309, 2953, 1654, 1610, 1139; HRMS (ESI) $C_{27}H_{36}N_7BF_2O_4Na$ $(M+Na)^+$の計算値: m/z 593.2818, 実測値 m/z 593.2810.

R型:$[\alpha]_D$ +15.3(c=0.6、$(CH_3)_2CO$、T=24.4℃)。

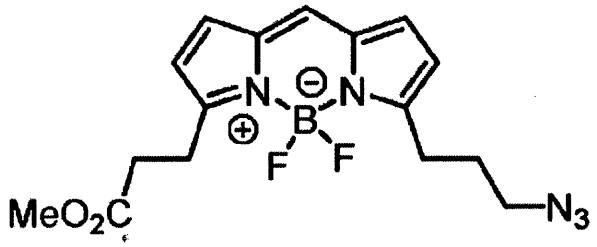
S型:$[\alpha]_D$ -16.0(c=1.0、$(CH_3)_2CO$、T=24.4℃)。

【０５６３】

7-(3-アジドプロピル)-5,5-ジフルオロ-1-(3-メトキシ-3-オキソプロピル)-5H-ジピロロ[1,2-c:1',2'-F][1,3,2]ジアザボリニン-4-イウム-5-ウイド

【０５６４】

【化６８】



【０５６５】

2-(3-アジドプロピル)-1H-ピロール(２７５mg、1.83mmol)のCH_2Cl_2(10mL)中0℃溶液を、CH_2Cl_2(10mL)中メチル3-(5-ホルミル-1H-ピロール-2-イル)プロパノエート(３６５mg、2.01mmol)で処理し、得られた溶液を$POCl_3$(0.2mL、2.01mmol)の滴加によって処理した。反応混合物を室温で6時間撹拌した後、もう一度0℃に冷却した。次いで、混合物を$BF_3(OEt)_2$(1mL、7.3mmol)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(1.4mL、8.24mmol)で処理し、反応物を室温で一晩撹拌した。次いで、混合物をH_2O(15mL)及びCH_2Cl_2(10mL)で希釈した後、celite(登録商標)ベッドを通して濾過した。celite(登録商標)をCH_2Cl_2(２×１５mL)で洗浄し、有機相を合わせた。次いで、溶液をNa_2SO_4上で乾燥させ、真空中で濃縮して暗赤色/緑色粗固体残留物を得た。粗固体をフラッシュカラムクロマトグラフィー(石油エーテル:EtOAc;8:2)によって精製すると、所望のエステル２７１mg(41%)が赤色油状物として得られ、これは冷却すると凝固した。

【０５６６】

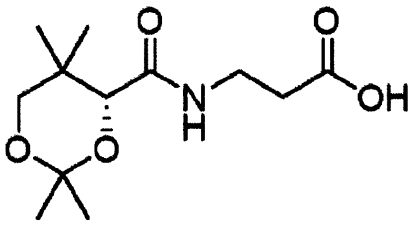
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.13 (1H, s), 7.03-6.95 (1H, m), 6.35 (1H, t, J = 3.7 Hz), 3.70 (1H, s), 3.40 (1H, t, J = 6.9 Hz), 3.32 (1H, t, J = 7.5 Hz), 3.07 (1H, t, J = 7.7 Hz), 2.78 (1H, t, J = 7.6 Hz), 2.11-1.96 (1H, m).

【０５６７】

(R)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)プロパン酸

【０５６８】

【化６９】



【０５６９】

D-パントテン酸ヘミカルシウム塩(５００mg、1.0mmol)のアセトン(２５mL)中溶液をp-TsOH.H_2O(５６０mg、3.0mmol)及び4Åモレキュラーシーブ1.0gで処理した。TLC分析による完了まで(18時間)、反応物を室温で撹拌した。次いで、懸濁液をcelite(登録商標)ベッドを通して濾過し、アセトン(２×１５mL)で洗浄し、有機相を合わせた。合わせた有機洗浄液を真空中で濃縮した後、EtOAc(３０mL)を粗残留物に添加した。次いで、得られた溶液をブライン(２×３０mL)で洗浄した。有機層をNa_2SO_4上で乾燥させ、真空下で濃縮した。溶媒を完全に除去する前に、アセトニドの結晶化を誘導するまで(３００mg、55%)、ヘキサンを滴加した。更なる精製を必要としない所望のアセトニドを白色結晶として得た。

【０５７０】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.04 (1H, m), 4.12 (1H, s), 3.71 (1H, d, J

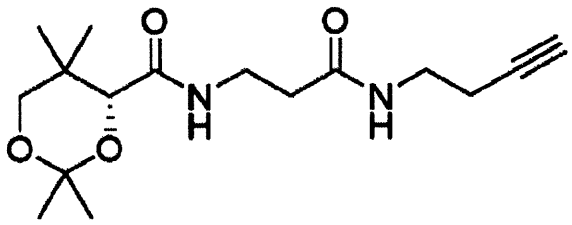
= 11.6 Hz), 3.66-3.47 (2H, m), 3.30 (1H, d, J = 11.6 Hz), 2.65 (2H, t, J = 6.0 Hz), 1.48 (3H, s), 1.45 (3H, s), 1.06 (3H, s), 1.00 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 174.7, 170.1, 99.0, 77.2, 71.4, 34.1, 33.7, 32.9, 29.4, 22.0, 18.8, 18.7.

【０５７１】

(R)-N-(3-(ブタ-3-イン-1-イルアミノ)-3-オキソプロピル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【０５７２】

【化７０】



【０５７３】

(R)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-3-カルボキサミド)プロパン酸(160mg、0.6mmol)のCH_2Cl_2(1.5mL)中溶液を、HBTU(340mg、0.9mmol)、引き続いて1-アミノ-3-ブチン(70μL、0.9mmol)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(150μL、0.9mmol)で処理した。次いで、反応混合物を電子レンジ中80℃で3.5時間加熱した。次いで、反応物を減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～5% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると、所望のアルキンが赤色油状物(175mg、90%)として得られた。

【０５７４】

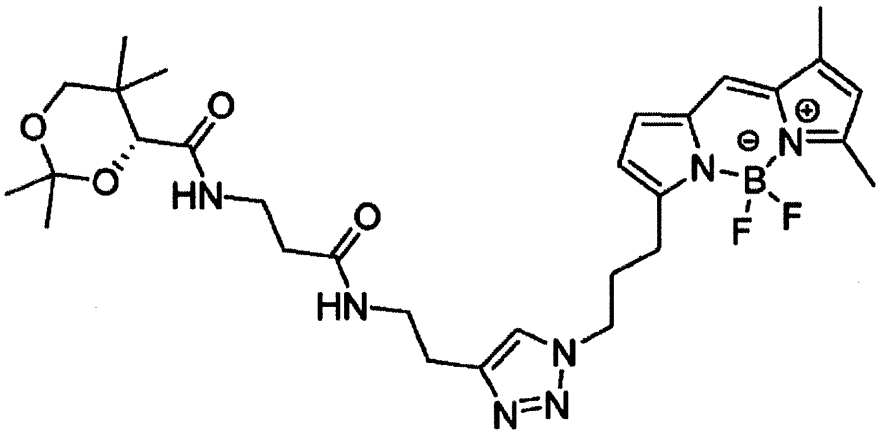
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.05 (1H, br s), 6.24 (1H, br s), 4.10 (1H, s), 3.71 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.65-3.50 (2H, m), 3.30 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.24-3.17 (2H, m), 2.50 (2H, t, J = 8.0 Hz), 2.42 (2H, td, J = 6.4, 2.4 Hz), 2.03 (1H, t, J = 2.4 Hz), 1.48 (3H, s), 1.46 (3H, s), 1.06 (3H, s), 0.99 (3H, s). ^{13}C NMR $(CD_3)_2CO$, 125 MHz) δ: 171.6, 169.8, 99.4, 82.5, 77.7, 71.8, 70.8, 39.0, 36.1, 35.5, 33.4, 22.3, 19.8, 19.2, 19.0. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3293, 2989, 1740, 1650, 1536, 1368, 1232, 1090. $[\alpha]_D$ +9.50 (c = 0.5, $CHCl_3$, T = 23.0℃).

【０５７５】

(R)-N-(((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロピル-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド、10

【０５７６】

【化７１】



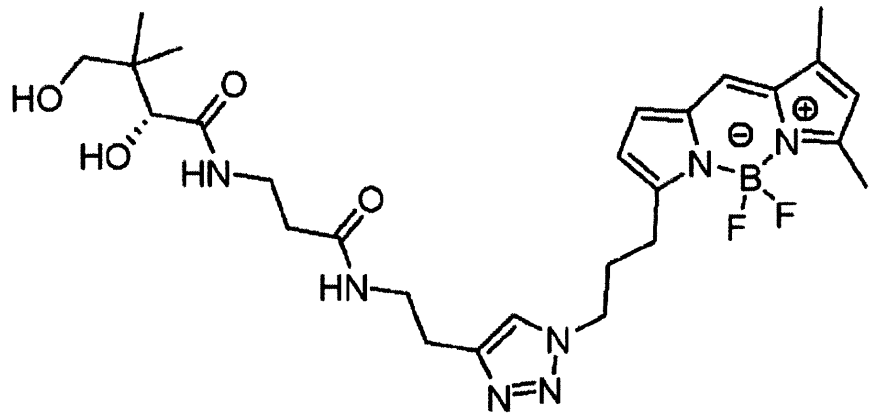
【０５７７】
3-アジド[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロパン(40mg、0.1mmol)のTHF(2.5mL)中溶液を、N-(3-(ブタ-3-イン-1-イルアミノ)-3-オキソプロピル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(43mg、0.1mmol)のTHF(2.5mL)中溶液で処理した。得られた混合物を触媒量のCuI(5mg)、引き続いてN,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.1mL、0.6mmol)で処理した。次いで、TLC分析による完了まで(18時間)、反応物を70℃に加熱した。反応混合物を室温に冷却し、H_2O(5mL)で希釈した。混合物をEtOAc(3×10mL)で抽出し、合わせた有機層をブライン(3×30mL)で洗浄し、$MgSO_4$上で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～5% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると、予想されたトリアゾール10が赤色油状物(74mg、87%)として得られた。

【０５７８】
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.45 (1H, s), 7.13 (1H, s), 6.91 (1H, d, J = 4.0 Hz), 6.61 (1H, t, J = 5.0 Hz), 6.28 (1H, d, J = 4.0 Hz), 6.15 (1H, s), 4.44 (2H, t, J = 8.0 Hz), 4.07 (1H, s), 3.70 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.62-3.56 (3H, m), 3.54-3.45 (1H, m), 3.28 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.01 (2H, t, J = 8.0 Hz), 2.90 (2H, t, J = 6.4 Hz), 2.56 (3H, s), 2.43 (2H, t, J = 6.0 Hz), 2.39-2.33 (2H, m), 2.28 (3H, s), 1.46 (3H, s), 1.44 (3H, s), 1.03 (3H, s), 0.96 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 171.2, 169.9, 160.5, 156.5, 145.2, 135.0, 133.1, 132.0, 128.8, 123.9, 121.9, 120.6, 116.5, 99.1, 77.1, 71.4, 49.7, 38.7, 35.9, 34.8, 32.9, 29.4, 29.3, 25.8, 25.4, 22.1, 18.9, 18.6,14.9, 11.3. ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376 MHz) δ: -70.1, -72.0. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3357, 2922, 2850, 1740, 1650. $[\alpha]_D$ -15.50 (c = 0.1, $CHCl_3$, T = 23.0℃).

【０５７９】
(R)-N-((((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ-3-オキソプロピル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド、9

【０５８０】

【化７２】



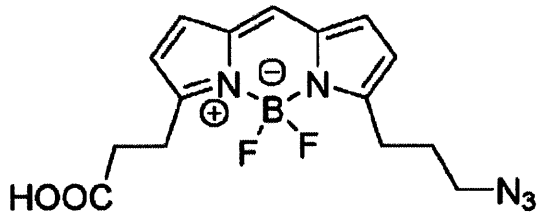
【０５８１】
(R)-N-((((3-[4,4-ジフルオロ-5,7-ジメチル-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル]プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロピル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド10(40mg、60μmol)のCH_3CN(3mL)中溶液を、触媒量の$BiCl_3$(5mg)、引き続いてH_2O(0.1mL)で処理した。次いで、TLC分析による完了まで(17時間)、反応混合物を室温で撹拌した。次いで、反応物を、数滴の飽和$NaHCO_3$水溶液の添加によってクエンチし、EtOAc(5mL)で希釈した。得られた懸濁液をcelite(登録商標)ベッドを通して濾過し、次いで、これをEtOAc(2×5mL)で完全に洗浄した。合わせた有機洗浄液をNa_2SO_4上で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(MeOH/CH_2Cl_2中0～10% 2M NH_3)によって精製すると、予想されたジオール9が赤色油状物(10mg、28%)として得られた。

【０５８２】
^1H NMR (CD_3OD, 400 MHz) δ: 8.57 (1H, s), 7.45 (1H, s), 7.06 (1H, s), 7.00 (1H, d, J = 4.0 Hz), 6.71 (1H, br s), 6.43 (1H, d, J = 4.0 Hz), 6.24 (1H, s), 4.51 (2H, t, J = 8.0 Hz), 4.09 (1H, s), 3.69 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.63-3.59 (2H, m), 3.56-3.53 (2H, m), 3.15 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.00 (2H, t, J = 8.0 Hz), 2.92 (2H, t, J = 6.4 Hz), 2.51 (3H, s), 2.31 (2H, t, J = 6.0 Hz), 2.20-2.12 (2H, m), 2.07 (3H, s), 1.04 (3H, s), 0.74 (3H, s). ^{13}C NMR (CD_3OD, 100 MHz) δ: 179.0, 167.8, 160.3, 155.8, 145.4, 134.2, 132.4, 130.8, 129.6, 124.3, 122.5, 120.9, 116.2, 100.5, 77.4, 71.8, 50.1, 38.7, 35.9, 35.1, 31.6, 29.0, 25.5, 18.7, 18.4, 13.0, 11.4. ^{19}F NMR (CD_3OD, 376 MHz) δ: -74.1, -76.0. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3491, 2927, 1843, 1644, 1557, 1411, 1258. $[\alpha]_D$ -26.00 (c = 0.02, $CHCl_3$, T = 23.0℃).

【０５８３】
7-(3-アジドプロピル)-3-(2-カルボキシエチル)-5,5-ジフルオロ-5H-ジピロロ[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]ジアザボリニン-4-イウム-5-ウイド

【０５８４】

【化７３】



【０５８５】

7-(3-アジドプロピル)-5,5-ジフルオロ-1-(3-メトキシ-3-オキソプロピル)-5H-ジピロロ[1,2-c:1',2'-F][1,3,2]ジアザボリニン-4-イウム-5-ウイド(114mg、315μmol)のTHF(13mL)中溶液をH_2O(7mL)及び濃HCl(5mL)で処理した。混合物を室温で一晩撹拌し、次いで、H_2Oで希釈し、CH_2Cl_2で抽出した。有機抽出物をNa_2SO_4上で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィー(石油エーテル:EtOAc;7:3)によって精製して、所望の酸を赤色固体として収率68%で得た。

【０５８６】

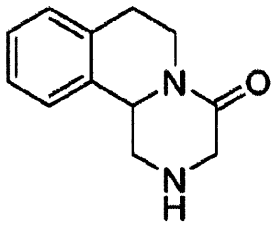
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.14 (1H, s), 7.01 (2H, dd, J = 11.9, 4.1 Hz), 6.36 (2H, d, J = 4.1 Hz), 3.40 (2H, t, J = 6.9 Hz), 3.32 (2H, t, J = 7.5 Hz), 3.07 (2H, t, J = 7.7 Hz), 2.84 (2H, t, J = 7.5 Hz), 2.08-2.00 (2H, m). ^{13}C NMR: ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 161.56, 160.42, 134.85, 130.79, 130.63, 127.97, 118.56, 51.02, 33.05, 29.84, 28.14, 26.17, 24.06, 14.25. ^{19}F NMR: (377 MHz, $CDCl_3$) δ -143.75, -143.84, -143.93, -144.02. IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 2954, 2925, 2854, 2097, 1709, 1604, 1439, 1114.

【０５８７】

(rac)-プラジクアナミン-2,3,6,7-テトラヒドロ-1H-ピラジノ[2,1-a]イソキノリン-4(11bH)-オン

【０５８８】

【化７４】



【０５８９】

1N HCl溶液(7.5mL)を、EtOH 2mL中プラジカンテル(250mg、0.8mmol)を含有する25mL丸底フラスコに添加した。混合物を60時間還流した。この後、反応物を室温で、EtOAc 5mLで洗浄し、氷浴中で冷却した。次いで、5M NaOHを添加して、pHを12～14に調整した(pH紙を使用)。水性層をCH_2Cl_2で抽出し、有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、真空中で乾燥させた。淡黄色固体をカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:MeOH;9:1)によって精製して純粋な生成物プラジクアナミンを収率83%(135mg)で得た。得られたNMRデータは、以前報告されたものと一致する(PLoS Negl Trop Dis. 2011年9月;5(9):e1260)。

【０５９０】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.25-7.09 (4H, m), 4.90-4.83 (1H, m), 4.8

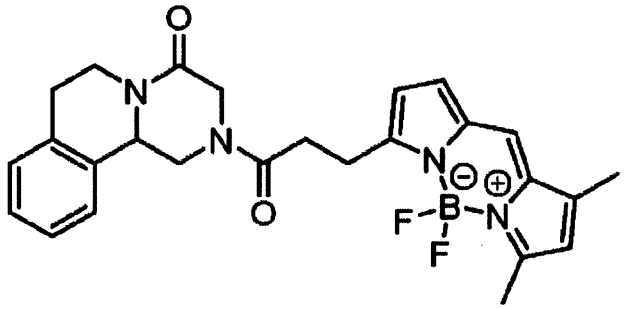
0 (1H, dd, J = 10.0, 4.5 Hz), 3.73 (1H, dd, J = 13.0, 4.7 Hz), 3.60 (2H, dd, J = 56.8, 17.4 Hz), 3.05-2.68 (4H, m), 2.00 (1H, s).

【０５９１】

5,5-ジフルオロ-1,3-ジメチル-7-(3-オキソ-3-(4-オキソ-3,4,6,7-テトラヒドロ-l-ピラジノ[2,1-a]イソキノリン2(11bH)-イル)プロピル)-5H-ジピロロ[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]ジアザボリニン-4-イウム-5-ウイド、12

【０５９２】

【化７５】



【０５９３】

BODIPY酸(53mg、0.18mmol)及びPZQアミン(35mg、0.18mmol)のCH_2Cl_2 1mL中溶液をEDC(80mg、0.36mmol)で処理し、反応物を室温で一晩撹拌した。TLC(CH_2Cl_2:MeOH;95:5)によって示されるように反応が終了したら、混合物を真空中で濃縮した。残っている赤色油状物をEtOAcに溶解し、飽和Na_2CO_3水溶液及びブラインで洗浄した。有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:MeOH;98:2)によって精製して赤色固体を収率90%(80mg)で得た。得られたNMRデータは、以前報告されたものと一致する。Mol. Biochem. Parasitol. 164:57～65、2009。

【０５９４】

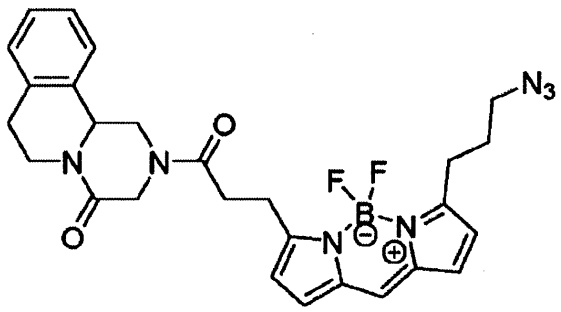
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.28-7.00 (4H, m), 6.88 (1H, t, J = 3.7 Hz), 6.38 6.09 (1H, m), 5.19-5.12 (1H, m), 4.95-4.62 (2H, m), 4.54-4.35 (1H, m), 3.90 (1H, dd, J = 86.2, 18.0 Hz), 3.34 (1H, t, J = 7.5 Hz), 3.15-2.70 (4H, m), 2.59 (2H, d, J = 8.3 Hz), 2.26 (2H, s), 1.28 (2H, s).

【０５９５】

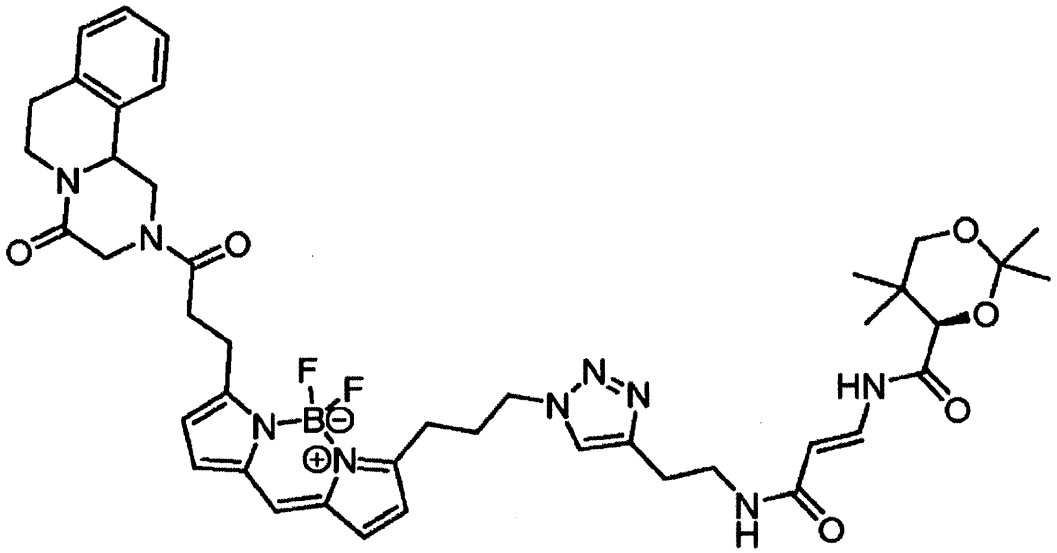
3-(3-アジドプロピル)-5,5-ジフルオロ-7-(3-オキソ-3-(4-オキソ-3,4,6,7-テトラヒドロ-1H-ピラジノ[2,1-a]イソキノリン-2(11bH)-イル)プロピル)-5H-ジピロロ[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]ジアザボリニン-4-イウム-5-ウイド

【０５９６】

【化７６】



【０５９７】
ビス官能化BODIPY酸(40mg、0.11mmol)及びPZQアミン(23mg、0.11mmol)のCH_2Cl_2 1mL中溶液をEDC(55mg、0.23mmol)で処理し、得られた混合物を室温で一晩撹拌した。TLC(CH_2Cl_2:MeOH;95:5)によって確認されるように反応が終了したら、混合物を真空中で濃縮した。残っている赤色油状物をEtOAcに溶解し、飽和Na_2CO_3水溶液及びブラインで洗浄した。有機層をNa_2SO_4で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:MeOH;97:3)によって精製して所望の生成物を赤色固体として収率90%(80mg)で得た。
【０５９８】
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.32-6.96 (4H, m), 6.39 (1H, td, J = 11.0, 4.1 Hz), 5.15 (1H, dd, J = 13.4, 2.8 Hz), 4.87-4.67 (1H, m), 4.46-4.34 (1H, m), 3.92 (1H, dd, J = 83.6, 18.0 Hz), 3.44-3.30 (2H, m), 3.18-2.69 (4H, m), 2.11-1.96 (1H, m), 1.60 (1H, s), 1.30-1.20 (1H, m), 1.25 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 170.33, 164.18, 135.42, 134.90, 132.83, 132.37, 129.45, 127.63, 127.12, 126.84, 125.69, 119.98, 76.84, 55.65, 55.03, 51.04, 48.97, 45.39, 39.16, 29.84, 28.87, 28.17, 26.21, 24.46. IR ν_{max} (フィルム)/cm^{-1}2924, 2854, 2096, 1649, 1259, 1114. HRMS (ESI) $C_{27}H_{28}BF_2N_7O_2$ [M+Na]$^+$の計算値553.2294 m/z, 実測値 553.2283 m/z.
【０５９９】
5,5-ジフルオロ-7-(3-オキソ-3-(4-オキソ-3,4,6,7-テトラヒドロ-1H-ピラジノ[2,1-a]イソキノリン-2(11bH)-イル)プロピル)-3-(3-(4-(2-((E)-3-((R)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリルアミド)エチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)プロピル)-5H-ジピロロ[1,2-c:2',1'-f][1,3,2]ジアザボリニン-4-イウム-5-ウイド、13
【０６００】
【化７７】



【０６０１】
PZQ-BODIPY-アジド(37mg、70μmol)及びパントテネート誘導アルキン(22mg、70μmol)の脱水THF(1.5mL)中溶液を触媒量のCuI及びDIPEAで処理した。得られた混合物を40℃で加熱し、一晩撹拌した。TLCが出発物質の消費を示したら(CH_2Cl_2:MeOH;96:4)、反応物を室温に冷却させ、粗生成物をカラムクロマトグラフィーによって精製した。化合物を暗赤色固体として収率20%(11mg)でトリアゾールの混合物として得

た。

【０６０２】

^{1}H NMR (CDCl$_3$, 400 MHz) δ 8.30 (1H, d, J = 11.3 Hz), 7.81 (1H, dt, J = 20.3, 10.2 Hz), 7.44 (1H, s), 7.35 (1H, s), 7.26-6.92 (8H, m), 6.46-6.28 (2H, m), 5.75 (1H, dd, J = 13.8, 4.5 Hz), 5.15 (1H, dd, J = 13.3, 3.0 Hz), 4.88-4.68 (2H, m), 4.47-4.32 (3H, m), 4.15 (1H, dd, J = 6.8, 5.2 Hz), 4.04 (1H, d, J = 17.5 Hz), 3.91-3.57 (4H, m), 3.39-3.24 (3H, m), 3.07-2.71 (8H, m), 2.37 (2H, dq, J = 15.0, 7.5 Hz), 2.17 (2H, s), 1.46 (3H, s), 1.38 (3H, s) 0.97 (3H, s), 0.87 (3H, s). ^{13}C NMR (CDCl$_3$, 100 MHz) δ 168.1, 164.2, 134.9, 129.4, 127.1, 99.5, 76.8, 71.4, 50.9, 33.4, 29.5, 22.0, 18.9, 18.8. ^{19}F NMR (377 MHz, CDCl$_3$) δ -141.87, -141.95, -142.05, -142.14, -142.35, -142.44, -142.53, -142.62. HRMS (ESI) C$_{43}$H$_{52}$BF$_2$N$_9$O$_6$ [M+Na]$^+$の計算値861.4030 m/z, 実測値 861.4004 m/z.

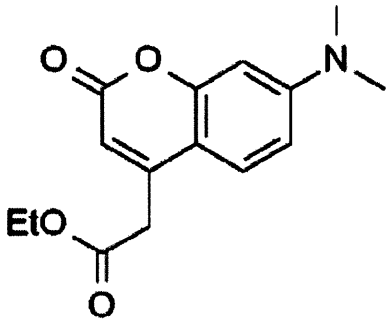
【０６０３】

化合物合成-クマリンコンジュゲート

エチル2-(7-(ジメチルアミノ)-2-オキソ-2H-クロメン-4-イル)アセテート

【０６０４】

【化７８】



【０６０５】

ZnCl$_2$を真空下140℃で18時間撹拌した後、最後に火力乾燥させ、次いで、冷却した後、秤量した。3-(ジメチルアミノ)フェノール(2.92mL、16.0mmol)のEtOH(10mL)中溶液を、エチルアセトンジカルボキシレート(2.00g、14.6mmol)、引き続いてZnCl$_2$(2.38g、17.5mmol)と共に加熱した。次いで、得られた懸濁液を16時間加熱還流した後、室温に冷却し、氷(50g)上に注いだ。水性相をCH$_2$Cl$_2$(3×30mL)で抽出した後、合わせた有機相をブライン(50mL)で洗浄し、乾燥させ(Na$_2$SO$_4$)、濾過し、真空中で濃縮して粗生成物を暗紫色油状物として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(20～50% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、クマリン生成物が淡黄色固体(1.94g、48%)として得られた。NMRデータは文献と一致する(Maら参照)。

【０６０６】

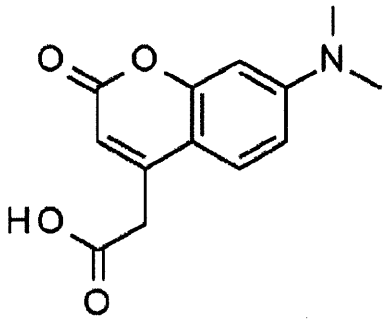
^{1}H NMR (CDCl$_3$, 400 MHz) δ: 7.40 (1H, d, J = 9.0 Hz), 6.61 (1H, dd, J = 9.0, 2.6 Hz), 6.51 (1H, d, J = 2.6 Hz), 6.05 (1H, br s), 4.18 (2H, q, J = 7.1 Hz), 3.67 (2H, d, J = 0.9 Hz), 3.05 (6H, s), 1.25 (3H, t, J = 7.1 Hz); ^{13}C NMR (CDCl$_3$, 100 MHz) δ: 169.1, 161.7, 156.0, 153.0, 148.4, 125.3, 110.7, 109.0, 108.5, 98.4, 61.5, 40.1, 38.2, 14.1.

【０６０７】

2-(7-(ジメチルアミノ)-2-オキソ-2H-クロメン-4-イル)酢酸

【０６０８】

【化７９】



【０６０９】

エチル2-(7-(ジメチルアミノ)-2-オキソ-2H-クロメン-4-イル)アセテート(1.92g、6.97mmol)のTHF(42mL)中溶液に、LiOH(338mg、14.1mmol)のH_2O(85mL)中溶液を添加した。得られた溶液を室温で4時間撹拌し、この時、反応混合物をEt_2O(2×100mL)で洗浄した。次いで、水性層を1M HClでpH2に酸性化し、得られた黄色沈殿を濾別して生成物酸(1.24g、72%)を黄色固体として得た。NMRデータは文献に一致する(Maら参照)。

【０６１０】

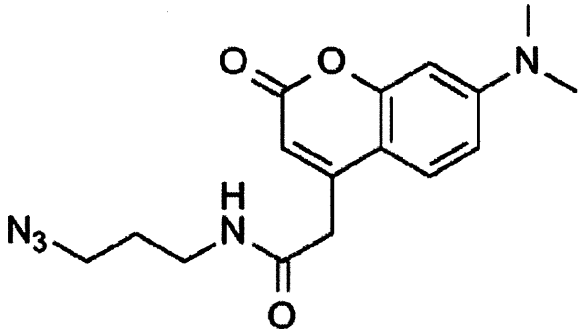
^1H NMR ($(CD_3)_2CO$, 400 MHz) δ: 7.56 (1H, d, J = 8.9 Hz), 6.76 (1H, dd, J = 8.9, 2.6 Hz), 6.54 (1H, d, J = 2.6 Hz), 6.08 (1H, br s), 3.85 (2H, d, J = 0.7 Hz), 3.10 (6H, s), 2.88 (1H, br s); ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$, 100 M Hz) δ: 170.8, 161.4, 157.0, 154.1, 150.3, 126.7, 111.2, 109.8, 109.4, 98.7, 40.2, 37.9.

【０６１１】

N-(3-アジドプロピル)-2-(7-(ジメチルアミノ)-2-オキソ-2H-クロメン-4-イル)アセトアミド

【０６１２】

【化８０】



【０６１３】

3-アジドプロパン-1-アミン(50mg、0.500mmol)(Zabrodskiらから公知)のCH_2Cl_2(1.5mL)中溶液を0℃に冷却した後、2-(7-(ジメチルアミノ)-2-オキソ-2H-クロメン-4-イル)酢酸(49mg、0.200mmol)、EDC(46mg、0.240mmol)、DIPEA(70μL、0.400mmol)及び触媒量のDMAPを添加した。0℃で15分間撹拌した後、反応混合物は白色沈殿が形成して濁った。更なるCH_2Cl_2(3mL)を添加し、混合物を超音波処理して撹拌を助けた。スラリーを16時間撹拌しながら室温に加温させ、その後、懸濁液が黄色溶液になった。反応混合物を真空中で濃縮して粗生成物を黄色油状物として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～2% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると

、アジド生成物(40mg、84%)が黄色固体として得られた。

【0614】

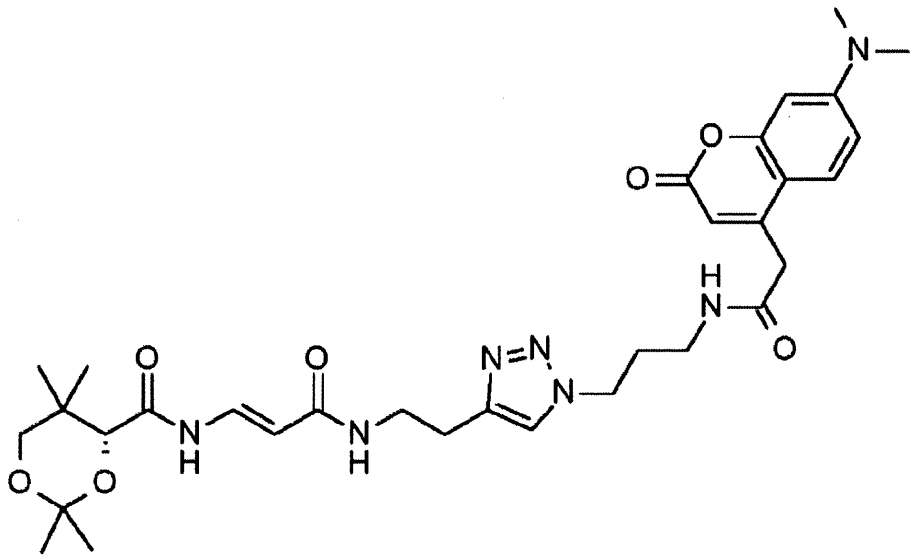
^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 400 MHz) δ: 7.58 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.45 (1H, br s), 6.71 (1H, dd, J = 9.0, 2.6 Hz), 6.49 (1H, d, J = 2.6 Hz), 6.02 (1H, br s), 3.66 (2H, d, J = 0.7 Hz), 3.34 (2H, t, J = 6.9 Hz), 3.30-3.25 (2H, m), 3.07 (6H, s), 1.77-1.70 (2H, m); ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$, 100 MHz) δ: 168.7, 161.5, 156.9, 154.1, 151.3, 126.9, 111.1, 109.7, 109.5, 98.6, 49.7, 40.5, 40.2, 37.5, 29.6; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3283, 2920, 2881, 2807, 2085, 1705, 1604; HRMS (EI) $C_{16}H_{18}O_3N_5$ (M-H)+の計算値: m/z 328.1415, 実測値 m/z 328.1404.

【0615】

(R,E)-N-(3-(2-(1-(3-(2-(7-(ジメチルアミノ)-2-オキソ-2H-クロメン-4-イル)アセトアミド)プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【0616】

【化81】



【0617】

(R,E)-N-(3-(ブタ-3-イニルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(59mg、0.192mmol)及びN-(3-アジドプロピル)-2-(7-(ジメチルアミノ)-2-オキソ-2H-クロメン-4-イル)アセトアミド(46mg、0.192mmol)をTHF(2mL)に溶解した。DIPEA 1滴を、ピペットを介して添加し、引き続いて触媒量のCuIを添加した。得られた混合物を40℃に18時間加熱した後、真空中で減量して溶媒を除去した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～5% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製して所望の化合物(78mg、74%)を黄色油状物として得た。

【0618】

^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 500 MHz) δ: 9.42 (1H, d, J = 11.0 Hz), 7.81 (1H, dd, J = 14.0, 11.0, Hz), 7.69 (1H, s), 7.60 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.59 (1H, t, J = 5.7 Hz), 7.21 (1H, t, J = 5.7 Hz), 6.72 (1H, dd, J = 9.0, 2.6 Hz), 6.48 (1H, d, J = 2.6 Hz), 6.02 (1H, br s), 5.95 (1H, d, J = 14.0 Hz), 4.35 (2H, t, J = 6.9 Hz), 4.26 (1H, s), 3.75 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.66 (2H, s), 3.53-3.50 (2H, m), 3.26 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.22-3.19 (2H, m), 3.06 (6H, s), 2.39 (2H, t, J = 6.9 Hz), 2.09-2.02 (2H, m), 1.44 (3H, s), 1.37 (3H, s), 1.00 (3H, s), 0.98 (3H, s); ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$, 125 MHz) δ: 16

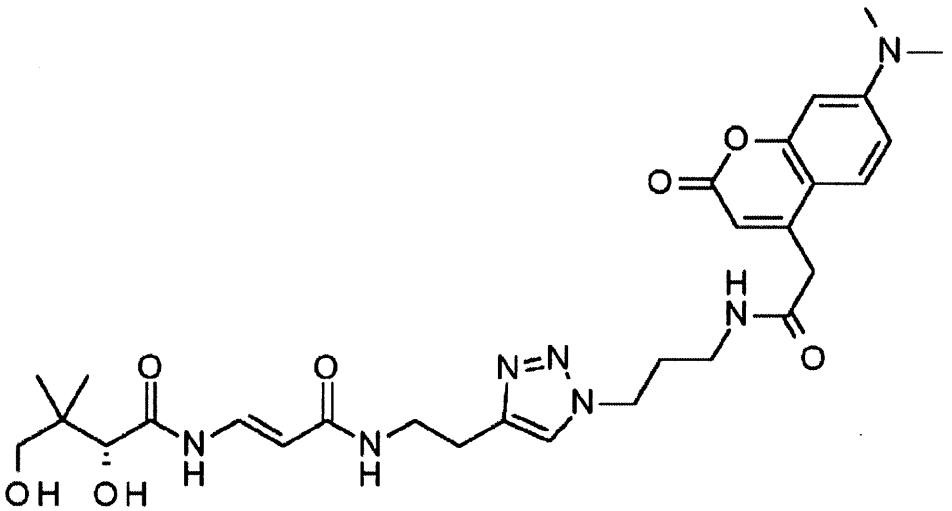
9.3, 168.7, 167.0, 161.6, 156.9, 154.1, 151.4, 145.8, 133.8, 126.9, 123.0, 111.1, 109.8, 109.5, 106.9, 100.0, 98.6, 77.9, 71.7, 48.1, 40.4, 40.2, 39.6, 37.3, 33.8, 30.9, 29.7, 26.8, 22.1, 19.3, 19.0; HRMS (ESI) $C_{32}H_{42}N_7O_7$ (M-H)+の計算値: m/z 636.3151, 実測値 m/z 636.3133; m.p. 141-142℃.

【０６１９】

(R,E)-N-(3-(2-(1-(3-(2-(7-(ジメチルアミノ)-2-オキソ-2H-クロメン-4-イル)アセトアミド)プロピル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)エチルアミノ)-2-オキソプロパ-1-エニル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタン-アミド

【０６２０】

【化８２】



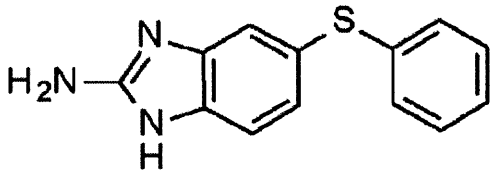
【０６２１】

(R,E)-N-(3-(ブタ-3-イニルアミノ)-3-オキソプロパ-1-エニル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド(49mg、0.183mmol)及びN-(3-アジドプロピル)-2-(7-(ジメチルアミノ)-2-オキソ-2H-クロメン-4-イル)アセトアミド(44mg、0.183mmol)をTHF(2mL)に溶解した。DIPEA 1滴を、ピペットを介して添加し、引き続いて触媒量のCuIを添加した。得られた混合物を70℃に18時間加熱した後、真空中で濃縮して溶媒を除去して粗生成物を黄色油状物として得た。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー($MeOH/CH_2Cl_2$中0～10% 7M NH_3)によって精製すると、所望の化合物(33mg、30%)が黄色油状物として得られた。

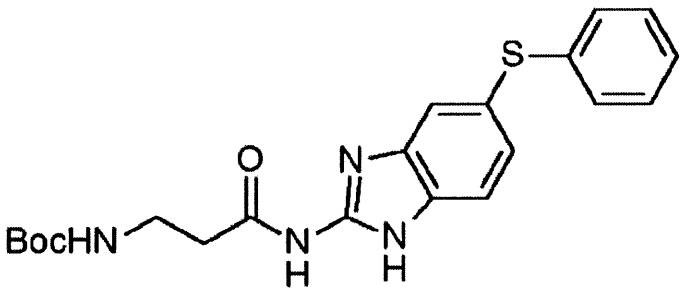
【０６２２】

^1H NMR ($(CD_3)_2SO$, 500 MHz) δ: 10.20 (1H, d, J = 10.9 Hz), 8.31 (1H, t, J = 5.5 Hz), 7.95 (1H, t, J = 5.7 Hz), 7.87 (1H, s), 7.62 (1H, dd, J = 11.0, 10.9 Hz), 7.55 (1H, d, J = 9.0 Hz), 6.73 (1H, dd, J = 9.0, 2.6 Hz), 6.55 (1H, d, J = 2.6 Hz), 6.01 (1H, br s), 5.86 (1H, d, J = 14.0 Hz), 5.68 (1H, br s), 5.51 (1H, br s), 4.31 (2H, t, J = 6.9 Hz), 3.87 (1H, s), 3.62 (2H, s), 3.38-3.32 (3H, m), 3.16 (1H, d, J = 10.4 Hz), 3.09-3.05 (2H, m), 3.02 (6H, s), 2.76 (2H, t, J = 7.3 Hz), 1.96-1.91 (2H, m), 0.83 (3H, s), 0.80 (3H, s); ^{13}C NMR ($(CD_3)_2SO$, 125 MHz) δ: 170.5, 168.0, 166.1, 160.7, 155.4, 152.8, 151.2, 145.4, 133.0, 125.9, 122.2, 109.4, 109.0, 108.2, 105.1, 97.4, 74.9, 67.4, 46.9, 39.7, 39.6, 39.2, 38.8, 38.5, 29.7, 25.7, 21.1, 19.9; IR ν_{max}(フィルム)/cm^{-1} 3295, 2945, 2929, 2876, 1711, 1653, 1615, 1598; HRMS (ESI) $C_{29}H_{38}N_7O_7$ (M-H)+の計算値: m/z 596.2838, 実測値 m/z 596.2822; m.p. 146-147℃.

【０６２３】
化合物合成-フェンベンダゾールコンジュゲート
5-(フェニルチオ)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-アミン
【０６２４】
【化８３】



【０６２５】
フェンベンダゾール(1.00g、3.34mmol)のDMSO(12mL)及び水(4mL)中懸濁液に水酸化カリウム(750mg、13.4mmol)を添加した。得られた混合物を80℃に加熱して、物質を溶解させた。72時間加熱した後、混合物を室温に冷却させた後、EtOAc(100mL)及び水(100mL)で希釈した。層を分離し、水性層を更なるEtOAc(2×75mL)で洗浄した後、合わせた有機層をブライン(100mL)で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮して所望のグアニジン(796mg、99%)を淡紫色固体として得た。
【０６２６】
^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 400 MHz) δ: 10.17 (1H, br s), 7.35 (1H, dd, J = 1.7, 0.5 Hz), 7.27-7.22 (3H, m), 7.14 - 7.10 (4H, m), 5.97 (2H, br s).
【０６２７】
tert-ブチル3-オキソ-3-(5-(フェニルチオ)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-イルアミノ)プロピルカルバメート
【０６２８】
【化８４】



【０６２９】
5-(フェニルチオ)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-アミン(116mg、0.482mmol)及びN-(tert-ブトキシカルボニル)-L-アラニン(137mg、0.723mmol)をDMF(4.5mL)に溶解して紫色溶液を得た。混合物を0℃に冷却した後、HBTU(292mg、0.771mmol)及びDIPEA(134μL、0.771mmol)を添加し、16時間撹拌させた。反応混合物をEtOAc(30mL)で希釈し、その後、1M NaOH(25mL)、水(25mL)及びブライン(4×20mL)で洗浄した後、乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で減量して粗生成物を黄色油状物として得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(0～2% MeOH/CH_2Cl_2)による精製によって、所望の生成物(185mg、93%)が白色固体として得られた。
【０６３０】
^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 400 MHz) δ: 11.87 (2H, br s), 7.80 (1H, s), 7.70 (1H, d, J = 8.1 Hz), 7.40-7.36 (3H, m), 7.31-7.26 (3H, m), 6.25 (1H, br見かけ上t), 3.60-3.56 (2H, m), 2.93 (2H, t, J = 6.7 Hz), 1.47 (9H, s). HR

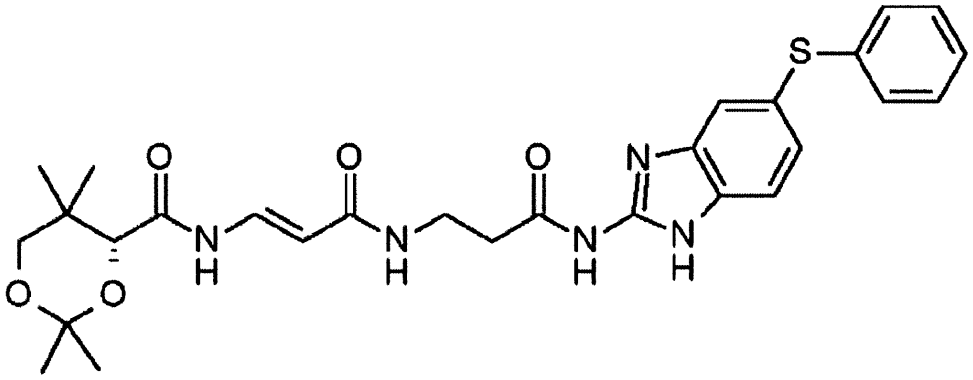
MS (ESI) $C_{21}H_{24}N_4NaO_3S$ $(M+Na)^+$の計算値: m/z 435.1461, 実測値 m/z 435.1443.

【0631】

(R,E)-2,2,5,5-テトラメチル-N-(3-オキソ-3-(3-オキソ-3-(5-(フェニルチオ)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-イルアミノ)プロピルアミノ)プロパ-1-エニル)-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【0632】

【化85】



【0633】

tert-ブチル3-オキソ-3-(5-(フェニルチオ)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-イルアミノ)プロピルカルバメート(60mg、0.145mmol)をCH_2Cl_2(1mL)とTFA(1mL)の混合物に溶解し、室温で2時間撹拌させた。次いで、反応混合物を真空中で減量して粗TFA塩をピンク色油状物として得た。粗塩をDMF(1.5mL)に溶解し、0℃に冷却した後、(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(27mg、0.106mmol)、HBTU(60mg、0.159mmol)及びDIPEA(56μL、0.318mmol)を順次添加した。得られた混合物を室温で16時間撹拌させた後、EtOAc(15mL)で希釈し、飽和$NaHCO_3$(15mL)、水(15mL)及びブライン(4×10mL)で洗浄した後、乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で減量して粗生成物を黄色油状物として得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(0～5% MeOH/CH_2Cl_2)による精製によって、所望の生成物(31mg、53%)がクリーム色固体として得られた。

【0634】

^1H NMR ($(CD_3)_2CO$, 500 MHz) δ: 11.33 (1H, br s), 11.30 (1H, br s), 9.41 (1H, d, J = 10.8 Hz), 7.85 (1H, dd, J = 14.0, 10.8 Hz), 7.69 (1H, s), 7.58 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.33-7.18 (7H, m), 5.96 (1H, d, J = 14.0 Hz), 4.23 (1H, s), 3.78 (1H, d, J = 11.7 Hz), 3.68-3.65 (2H, m), 3.29 (1H, d, J = 11.7 Hz), 2.86 (2H, t, J = 6.5 Hz), 1.47 (3H, s), 1.39 (3H, s), 1.03 (3H, s), 1.00 (3H, s).

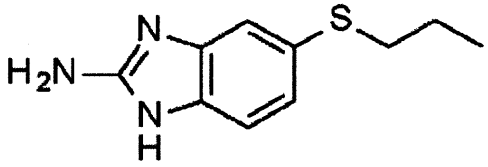
【0635】

化合物合成-アルベンダゾールコンジュゲート

5-(プロピル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-アミン

【0636】

【化８６】



【０６３７】

アルベンダゾール(８８６ｍｇ、３.３４ｍｍｏｌ)のＭｅＯＨ(２５ｍＬ)及び水(６.５ｍＬ)中懸濁液に水酸化カリウム(３７５ｍｇ、６.６８ｍｍｏｌ)を添加した。得られた混合物を加熱還流して、黄色溶液を得た。７２時間加熱した後、ＴＬＣ分析は、出発物質が存在することを示した。更なる水酸化カリウム(３７５ｍｇ、６.６８ｍｍｏｌ)を添加し、混合物を更に２４時間撹拌した。混合物を室温に冷却させた後、真空中でＭｅＯＨを除去した。次いで、残っている水性層をCH_2Cl_2(３×２０ｍＬ)で希釈した後、合わせた有機層をブライン(５０ｍＬ)で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮して所望のグアニジン(５０１ｍｇ、７２％)を淡灰色固体として得た。

【０６３８】

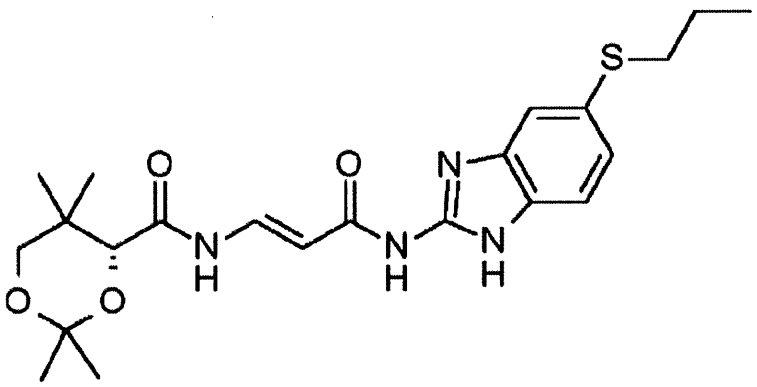
^{1}H NMR ($(CD_3)_2SO$, 400 MHz) δ: 10.67 (1H, br s), 7.14 (1H, d, J = 1.5 Hz), 7.03 (1H, dd, J = 8.1, 0.5 Hz), 6.92 (1H, br), 6.20 (2H, s), 2.79 (2H, t, J = 7.3 Hz), 1.56-1.47 (2H, m), 0.94 (3H, t, J = 7.3 Hz).参考文献:Zhaoら Org. Biomol. Chem. 2010、8、3328～3337。

【０６３９】

(R,E)-2,2,5,5-テトラメチル-N-[3-オキソ-3-[(5-プロピルスルファニル-1H-ベンズイミダゾール-2-イル)アミノ]プロパ-1-エニル]-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【０６４０】

【化８７】



【０６４１】

5-(プロピル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-アミン(３３ｍｇ、０.１５９ｍｍｏｌ)及び(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(２７ｍｇ、０.１０６ｍｍｏｌ)を０℃でＤＭＦ(１ｍＬ)に溶解した。ＨＢＴＵ(６０ｍｇ、０.１５９ｍｍｏｌ)及びＤＩＰＥＡ(２８μＬ、０.１５９ｍｍｏｌ)を添加し、得られた混合物を、室温に加温しながら１６時間撹拌させた。反応物をＥｔＯＡｃ(１５ｍＬ)で希釈し、飽和$NaHCO_3$(１５ｍＬ)、水(１５ｍＬ)及びブライン(４×１０ｍＬ)で洗浄した後、乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で減量して粗生成物を黄色油状物として得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(０～５％ ＭｅＯＨ/ＥｔＯＡｃ)による複数回の精製の試みによって、所望の生成物(９ｍｇ、１７％)が白色固体として得られた。

【０６４２】

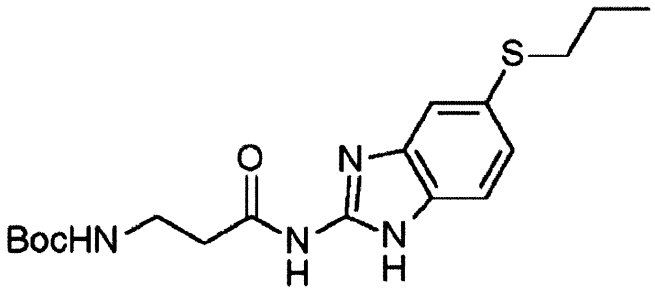
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 11.65 (1H, br), 7.82 (1H, dd, J = 12.0, 8.9 Hz), 7.40 (1H, d, J = 1.7 Hz), 7.37 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.11 (1H, dd, J = 8.4, 1.7 Hz), 6.33 (2H, br), 6.08 (1H, d, J = 12.0 Hz), 4.31 (1H, s), 3.78 (1H, d, J = 11.8 Hz), 3.39 (1H, d, J = 11.8 Hz), 2.92 (2H, t, J = 7.3 Hz), 1.72-1.65 (2H, m), 1.64 (3H, s), 1.52 (3H, s), 1.10 (6H, s), 1.03 (3H, t, J = 7.3 Hz). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 169.2, 167.9, 154.5, 140.7, 132.7, 124.3, 122.8, 118.4, 112.8, 99.4, 97.2, 77.4, 71.2, 36.8, 33.4, 29.7, 29.3, 22.6, 21.8, 19.1, 18.7, 13.4. HRMS (ESI) $C_{22}H_{31}N_4O_4S$ $(M+H)^+$の計算値: m/z 447.2066, 実測値 m/z 447.2037.

【０６４３】

tert-ブチル3-オキソ-3-(5-(プロピル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-イルアミノ)プロピルカルバメート

【０６４４】

【化８８】



【０６４５】

5-(プロピル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-アミン(100mg、0.482mmol)及びN-(tert-ブトキシカルボニル)-L-アラニン(137mg、0.732mmol)をDMF(4.5mL)に溶解して紫色溶液を得た。混合物を0℃に冷却した後、HBTU(292mg、0.771mmol)及びDIPEA(134μL、0.771mmol)を添加し、16時間撹拌させた。反応混合物をEtOAc(30mL)で希釈し、その後、1M NaOH(25mL)、水(25mL)及びブライン(4×20mL)で洗浄した後、乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で減量して粗生成物を黄色油状物として得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(0～2% MeOH/CH_2Cl_2)による精製によって、所望の生成物(125mg、69%)が白色固体として得られた。

【０６４６】

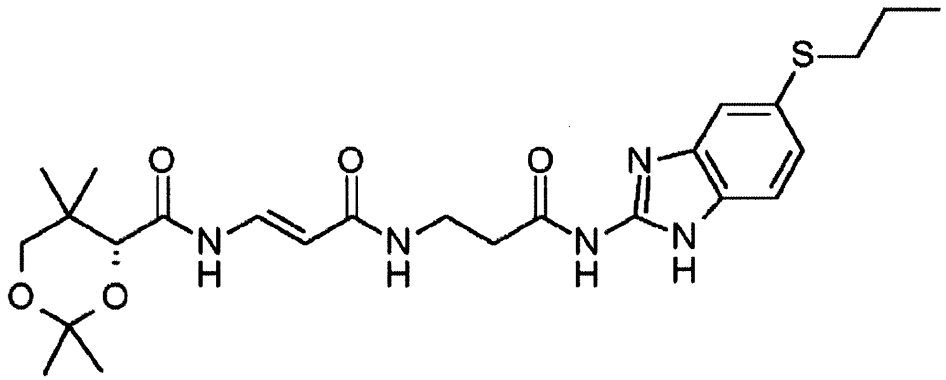
^{1}H NMR ($(CD_3)_2SO$, 500 MHz) δ: 12.06 (1H, br), 11.54 (1H, s), 7.50-7.36 (2H, m), 7.11 (1H, d, J = 7.9 Hz), 6.91 (1H, t, J = 5.6 Hz), 3.29-3.25 (2H, m), 2.86 (2H, t, J = 7.2 Hz), 2.59 (2H, t, J = 7.0), 1.57-1.50 (2H, m), 1.37 (9H, s), 0.95 (3H, t, J = 7.2 Hz). HRMS (ESI) $C_{18}H_{26}N_4NaO_3S$ $(M+Na)^+$の計算値: m/z 401.1618, 実測値 m/z 401.1596.

【０６４７】

(R,E)-2,2,5,5-テトラメチル-N-(3-オキソ-3-(3-オキソ-3-(5-(プロピル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-イルアミノ)プロピルアミノ)プロパ-1-エニル)-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【０６４８】

【化８９】



【０６４９】

tert-ブチル3-オキソ-3-(5-(プロピル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2-イルアミノ)プロピルカルバメート(60mg、0.159mmol)をCH_2Cl_2(1mL)とTFA(1mL)の混合物に溶解し、室温で2時間撹拌させた。次いで、反応混合物を真空中で減量して粗TFA塩をピンク色油状物として得た。粗塩をDMF(1.5mL)に溶解し、0℃に冷却した後、(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(27mg、0.106mmol)、HBTU(60mg、0.159mmol)及びDIPEA(56μL、0.318mmol)を順次添加した。得られた混合物を室温で16時間撹拌させた後、EtOAc(15mL)で希釈し、飽和$NaHCO_3$(15mL)、水(15mL)及びブライン(4×10mL)で洗浄した後、乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で減量して粗生成物を灰白色固体として得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(0～10% MeOH/EtOAc)による精製によって、所望の生成物(32mg、58%)が白色固体として得られた。

【０６５０】

^1H NMR ($(CD_3)_2CO$, 500 MHz) δ: 11.52 (2H, br), 9.38 (1H, d, J = 10.8 Hz), 7.83 (1H, dd, J = 14.0, 10.8 Hz), 7.59 (1H, s), 7.45 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.28 (1H, t, J = 5.7 Hz), 7.20 (1H, dd, J = 8.4, 1.7 Hz), 5.93 (1H, d, J = 14.0 Hz), 4.26 (1H, s), 3.75 (1H, d, J = 11.8 Hz), 3.66-3.62 (2H, m), 3.26 (1H, d, J = 11.8 Hz), 2.88 (2H, t, J = 7.3 Hz), 2.83 (2H, t, J = 6.5 Hz), 1.64-1.56 (2H, m), 1.44 (3H, s), 1.36 (3H, s), 1.00-0.97 (9H, m); HRMS (ESI) $C_{25}H_{36}N_5O_5S$ $(M+H)^+$の計算値518.2437; 実測値 518.2406.

【０６５１】

化合物合成-タンパク質コンジュゲート

tert-ブチル(5-ヒドロキシペンチル)カルバメート

【０６５２】

【化９０】



【０６５３】

100mLフラスコに、5-アミノペンタノール(500mg、4.84mmol)及びCH_2Cl_2(10mL)を添加し、混合物を5分間撹拌した後、Et_3N(1.3mL、9.6mmol)を添加し、引き続いてBoc_2O(1.16g、5.3mmol)のCH_2Cl_2(10mL)中溶液を滴加した。次いで、反応混合物を室温で16時間撹拌し、その後、これを水(20mL)で希釈した。相を分離し、水性相をCH_2Cl_2(2×20mL)で抽出した。合わせた有機相をブライン(60mL)で洗浄し、Na_2

SO_4上で乾燥させ、濾過した。溶媒を真空中で除去して黄色油状物を得た。粗生成物をクロマトグラフィー(CH_3OH/CH_2Cl_2(1～5%))によって精製して所望のアルコールを黄色油状物(730mg、74%)として得た。

【0654】

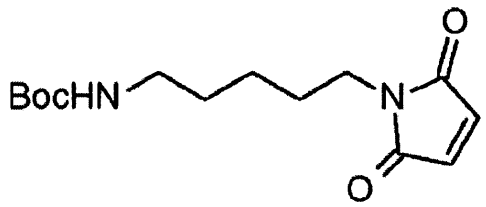
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 4.5 (1H, br s), 3.67 (2H, t, J = 6.4 Hz), 3.15 (2H, dd, J = 12.8, 6.3 Hz), 1.6-1.49 (4H, m), 1.45 (9H, s), 1.44-1.39 (2H, m). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 156.0, 79.1, 62.7, 40.4, 32.2, 29.8, 28.4, 22.9.

【0655】

tert-ブチル(5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)カルバメート

【0656】

【化91】



【0657】

25mLフラスコに、tert-ブチル(5-ヒドロキシペンチル)カルバメート(203mg、1mmol)、マレイミド(107mg、1.1mmol)、トリフェニルホスフィン(283mg、1.08mmol)及びTHF(5mL)を添加した。混合物を室温で10分間撹拌した後、DIAD(0.23mL、1.2mmol)を滴加した。反応混合物を室温で更に16時間撹拌し、この時点で、溶媒を真空中で減量して粗黄色油状物を得た。粗残留物をフラッシュクロマトグラフィー(CH_3OH/CH_2Cl_2(0～1%))によって精製すると、所望の化合物(248mg、87%)が得られた。

【0658】

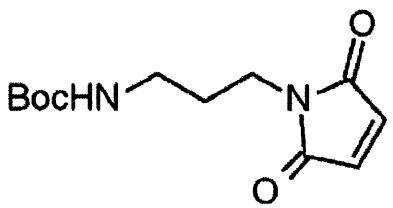
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 6.70 (2H, s), 4.5 (1H, br s), 3.53 (2H, t, J = 7.2 Hz), 3.12 (2H, dd, J = 12.6, 6.2 Hz), 1.67-1.57 (2H, m), 1.56-1.47 (2H, m), 1.46 (9H, s), 1.36-1.30 (2H, m). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 170.8, 156.3, 134.0, 79.1, 70.1, 40.3, 37.6, 29.8, 28.4, 23.9.

【0659】

tert-ブチル(3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロピル)カルバメート

【0660】

【化92】



【0661】

25mLフラスコに、tert-ブチル(3-ヒドロキシプロピル)カルバメート(0.25mL、1.5mmol)、マレイミド(175mg、1.8mmol)、PPh_3(472mg、1.8mmol)及びTHF(7mL)を添加した。混合物を室温で10分間撹拌した後、DIAD(0.35mL、1.8mmol)を滴加し

た。次いで、反応物を室温で更に18時間撹拌し、溶媒を真空中で減量して粗黄色油状物を得た。この粗油をカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル/石油エーテル(0～30%))によって精製して無色油状物(257mg、69%)を得た。

【0662】

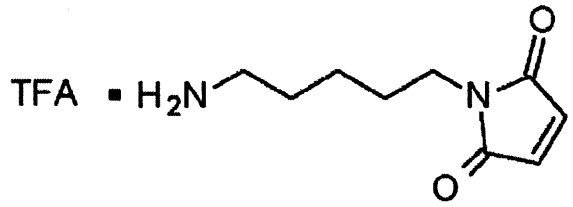
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 6.63 (2H, s), 5.08 (1H, br s), 3.55-3.42 (2H, t, J = 6.7 Hz), 3.06-2.9 (2H, dd, J = 11.9, 5.8 Hz), 1.73-1.63 (2H, q, J = 6.7 Hz), 1.38 (9H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 170.9, 170.3, 135.1, 79.3, 70.1, 37.3, 34.9, 28.4.

【0663】

1-(5-アミノペンチル)-1H-ピロール-2,5-ジオン2,2,2-トリフルオロアセテート塩

【0664】

【化93】



【0665】

10mLフラスコに、tert-ブチル(5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)カルバメート(140mg、0.49mmol)、CH_2Cl_2(0.6mL)及びトリフルオロ酢酸(0.6mL)を添加した。次いで、得られた混合物を室温で2.5時間撹拌し、その後、反応混合物をCH_2Cl_2(2mL)で希釈し、水(5mL)でクエンチした。相を分離し、有機相を水(5×3mL)で洗浄した。次いで、合わせた有機相をCH_2Cl_2(3×5mL)で抽出した後、水を高真空下で36時間にわたって除去した。生成物を白色結晶(107mg、73%)として得た。

【0666】

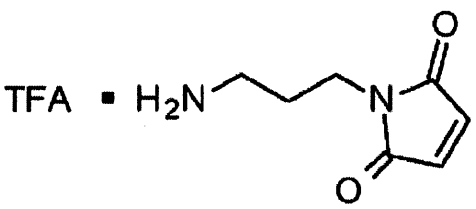
^{1}H NMR (MeOD, 400 MHz) δ: 6.71 (2H, s), 3.40 (2H, t, J = 7.2 Hz), 2.80 (2H, t, J = 7.2 Hz), 1.62-1.49 (4H, m), 1.30-1.23 (2H, m). ^{13}C NMR (MeOD, 125 MHz) δ: 171.2, 133.9, 39.1, 36.6, 27.6, 26.5, 23.1. ^{19}F NMR (MeOD, 470 MHz) δ: -76.8.

【0667】

3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロパン-1-アミニウム2,2,2-トリフルオロアセテート塩

【0668】

【化94】



【0669】

10mLフラスコに、tert-ブチル(3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロピル)カルバメート(250mg、0.98mmol)、CH_2Cl_2(1.5mL)及びトリフルオロ酢

酸(1.5mL)を添加した。混合物を室温で3時間撹拌した。この後、反応混合物をCH_2Cl_2(2mL)で希釈した後、水(5mL)を添加した。有機相を水(5×3mL)で洗浄した。次いで、合わせた水性相をCH_2Cl_2(3×5mL)で洗浄した後、水を真空中高真空で36時間にわたって除去した。生成物を白色固体(250mg、95%)として得た。

【0670】

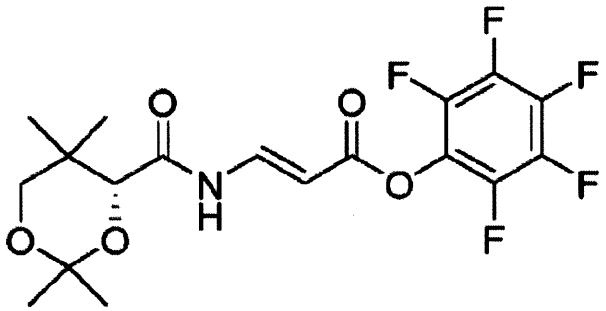
^{1}H NMR (MeOD, 500 MHz) δ: 6.86 (2H, s), 3.63 (2H, t, J = 7.0 Hz), 2.95 (2H, t, J = 7.5 Hz), 1.97-1.91 (2H, m). ^{13}C NMR (MeOD, 125 MHz) δ: 171.1, 134.1, 37.0, 34.0, 26.5. ^{19}F NMR (MeOD, 470 MHz) δ: -76.8 (3F).

【0671】

ペルフルオロフェニル(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート

【0672】

【化95】



【0673】

10mLフラスコに、(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(100mg、0.38mmol)、2,3,4,5,6-ペンタフルオロフェノール(90mg、0.48mmol)、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド塩酸塩(88mg、0.45mmol)、4-(ジメチルアミノ)ピリジン(2mg、0.016mmol)及びCH_2Cl_2(3mL)を添加した。次いで、得られた混合物を室温で24時間撹拌した。この時点で、溶媒を真空中で減量し、粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2(100%))によって精製した。精製後、出発物質アクリル酸(10mg、10%)を、黄色油状物としての予想された生成物(60mg、40%)及び同様に黄色油状物としての対応するZ異性体(60mg、40%)と共に回収した。

【0674】

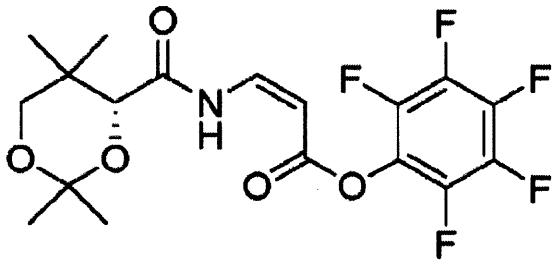
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 8.61 (1H, d, J = 12.5 Hz), 8.1 (1H, dd, J = 12.5,12.5 Hz), 5.76 (1H, d, J = 14 Hz), 4.18 (1H, s), 3.66 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.27 (1H, d, J = 12.0 Hz), 1.45 (3H, s), 1.40 (3H, s), 0.99 (3H, s), 0.96 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 168.2, 162.9, 140.2, 140.0, 138.8, 136.8, 99.7, 98.8, 77.0, 71.2, 33.5, 29.4, 21.7, 18.9, 18.8. ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 470 MHz) δ: -152.0, -158.0, -163.0. HRMS (ESI) $C_{18}H_{18}F_5NO_5$ M+の計算値: m/z 423.1105, 実測値 m/z 423.1081.

【0675】

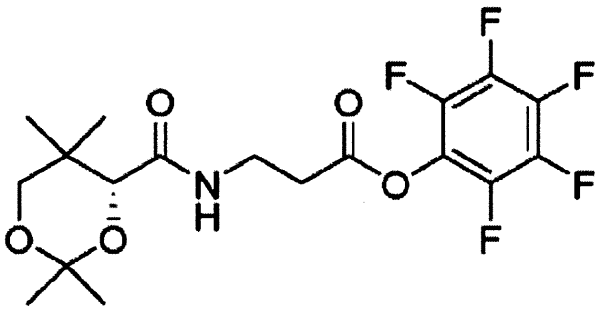
ペルフルオロフェニル(R,Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート

【0676】

【化９６】



【０６７７】
１０ｍＬフラスコに、(R,Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(３５ｍｇ、０.１３ｍｍｏｌ)、2,3,4,5,6-ペンタフルオロフェノール(３８ｍｇ、０.２０ｍｍｏｌ)、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド塩酸塩(３８ｍｇ、０.１９ｍｍｏｌ)、4-(ジメチルアミノ)ピリジン(３ｍｇ、０.０２ｍｍｏｌ)及びCH_2Cl_2(２ｍＬ)を添加した。反応混合物を室温で１８時間撹拌し、次いで、溶媒を真空中で減量した。次いで、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(石油エーテル:酢酸エチル(０～２０%))によって精製した。精製後、所望のエステルを黄色油状物(４０ｍｇ、６４%)として、黄色油状物としての対応するE異性体(２２ｍｇ、３５%)と共に得た。
【０６７８】
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 10.80 (1H, d, J = 11.5 Hz), 7.63-7.59 (1H, dd, J = 9.0, 8.5 Hz), 5.39 (1H, d, J = 8.5 Hz), 4.16 (1H, s), 3.64 (1H, d, J = 12.0 Hz), 3.25 (1H, d, J = 12.0 Hz), 1.42 (3H, s), 1.39 (3H, s), 0.99 (3H, s), 0.97 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 168.9, 163.6, 142.4, 140.3, 138.9, 136.8, 99.4, 93.8, 77.2, 71.1, 33.3, 31.9, 21.7, 18.9, 18.5. ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 470 MHz) δ: -151.6, -158.6, -162.7. HRMS (ESI) $C_{18}H_{18}F_5NO_5$ M+の計算値: m/z 423.1105, 実測値 m/z 423.1080.
【０６７９】
ペルフルオロフェニル(R)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)プロパノエート
【０６８０】
【化９７】



【０６８１】
１０ｍＬフラスコに、(R)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)プロパン酸(１５０ｍｇ、０.５７ｍｍｏｌ)、2,3,4,5,6-ペンタフルオロフェノール(１４１ｍｇ、０.７６ｍｍｏｌ)、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド塩酸塩(１３２ｍｇ、０.６８ｍｍｏｌ)、4-(ジメチルアミノ)ピリジン(３ｍｇ、０.０２ｍｍｏｌ)及びCH_2Cl_2(４ｍＬ)を添加した。得られた混合物を室温で１８時間撹拌し、その後、溶媒を真空中で減量した

。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(石油エーテル-酢酸エチル(0～40%))によって精製して所望のエステルを白色固体(200mg、81%)として得た。

【0682】

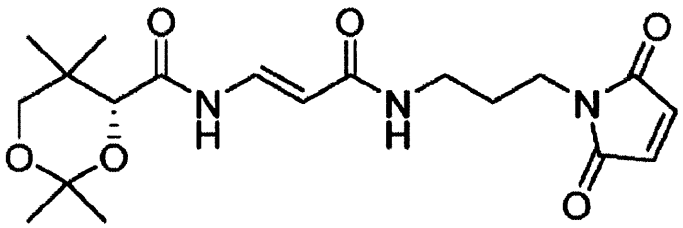
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 7.01 (1H, br s), 4.13 (1H, s), 3.78-3.60 (2H, m), 3.71 (1H, d, J = 12.5 Hz), 3.31 (1H, d, J = 11.5 Hz), 2.98 (2H, t, J = 6.5 Hz), 1.47 (3H, s), 1.45 (3H, s), 1.08 (3H, s), 1.00 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 170.1, 168.1, 99.1, 77.2, 71.4, 34.1, 33.5, 33.0, 29.3, 22.0, 18.7, 18.6. ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 470 MHz) δ: -152.6, -157.6, -162.0. HRMS (ESI) $C_{18}H_{20}F_5NO_5$ M+の計算値: m/z 425.1262, 実測値 m/z 425.1237.

【0683】

(R,E)-N-(3-((3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロピル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【0684】

【化98】



【0685】

10mLフラスコに、ペルフルオロフェニル(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート(25mg、0.06mmol)、3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロパン-1-アミニウム2,2,2-トリフルオロアセテート塩(14.5mg、0.05mmol)及びCH_2Cl_2(1.5mL)を添加した。混合物を室温で10分間撹拌した後、DIPEA(10μL、0.06mmol)を添加した。撹拌を室温で20時間続けた後、混合物を真空中で減量し、残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:CH_3OH(0～4%))によって精製して、所望の生成物をピンク色固体(8mg、48%)として得た(出発物質(5mg)の回収と合わせて)。

【0686】

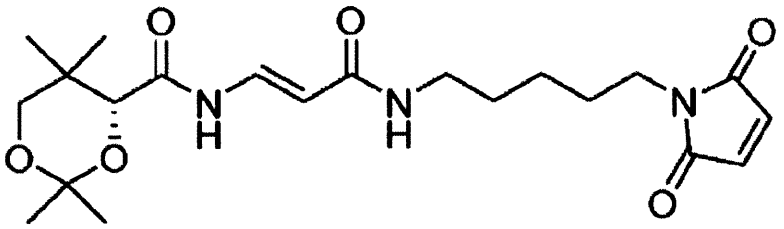
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.23 (1H, d, J = 10.8 Hz), 7.77 (1H, dd, J = 11.2, 11.2 Hz), 6.65 (2H, s), 5.95 (1H, br s), 5.75 (1H, d, J = 14 Hz), 4.12 (1H, s), 3.64 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.52 (2H, t, J = 6 Hz), 3.24 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.22-3.17 (2H, m), 1.76-1.70 (2H, m), 1.44 (3H, s), 1.38 (3H, s), 0.98 (3H, s), 0.93 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 171.1, 168.0, 162.9, 134.2, 123.0, 105.9, 99.4, 77.2, 71.3, 35.9, 34.7, 33.4, 29.4, 28.3, 21.9, 18.8, 18.7. IR ν_{max} (非希釈)/cm^{-1}: 3323, 3050, 2926, 1705, 1664, 1600, 1097. HRMS (El^+G) $C_{19}H_{27}N_3O_6$ M+の計算値: m/z 393.1900, 実測値 m/z 393.1903. $[\alpha]_D$ +54.667 (c = 0.3, $CHCl_3$, T = 23.9℃).

【0687】

(R,E)-N-(3-((5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【0688】

【化９９】



【０６８９】

10mLフラスコに、ペルフルオロフェニル(R,E)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート(60mg、0.14mmol)、1-(5-アミノペンチル)-1H-ピロール-2,5-ジオントリフルオロアセテート塩(38mg、0.12mmol)及びCH_2Cl_2(2.2mL)を添加した。混合物を室温で10分間撹拌した後、DIPEA(20μL、0.12mmol)を添加した。撹拌を室温で更に72時間続けた後、混合物を真空中で減量し、濃縮物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:CH_3OH(0～4%))によって精製して、所望の生成物を無色油状物(32mg、60%)として得た。

【０６９０】

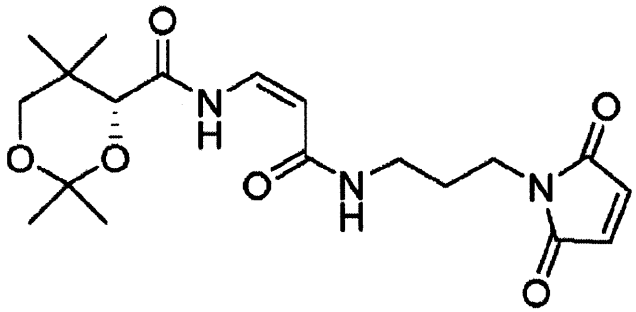
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.21 (1H, d, J = 10.4 Hz), 7.69 (1H, dd, J = 10.8,10.8 Hz), 6.63 (2H, s), 5.73 (1H, d, J = 14 Hz), 5.47 (1H, br s), 4.11 (1H, s), 3.63 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.45 (2H, t, J = 6.8 Hz), 3.25-3.17 (2H, m), 3.2 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.22-3.17 (2H, m), 1.76-1.70 (2H, m), 1.57-1.47 (4H, m), 1.43 (3H, s), 1.38 (3H, s), 1.30-1.27 (2H, m), 0.98 (3H, s), 0.93 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 170.9, 168.0, 166.2, 134.0, 132.7, 106.2, 99.4, 77.2, 71.3, 39.3, 37.4, 33.3, 29.4, 28.9, 28.2, 23.8, 21.9, 18.8, 18.7. IR ν_{max} (非希釈)/cm^{-1}: 3329, 3050, 2933, 1701, 1662, 1097, 720. HRMS (ESI) $C_{21}H_{31}N_3O_6$ M+の計算値: m/z 421.2213, 実測値 m/z 421.2207. $[\alpha]_D$ +25.09 (c = 2.2, $CHCl_3$, T = 23.0℃).

【０６９１】

(R,Z)-N-(3-((3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロピル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【０６９２】

【化１００】



【０６９３】

10mLフラスコに、ペルフルオロフェニル(R,Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート(25mg、0.05mmol)、3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロパン-1-アミニウム2,2,2-トリフルオロアセテート塩(

14.5mg、0.05mmol)及びCH_2Cl_2(1.4mL)を添加した。得られた混合物を室温で10分間撹拌した後、DIPEA(10μL、0.06mmol)を添加した。反応物を室温で72時間撹拌した後、混合物を減圧下で減量し、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:CH_3OH(0～3%))によって精製して所望の生成物を黄色油状物(4mg、17%)として得た。

【0694】

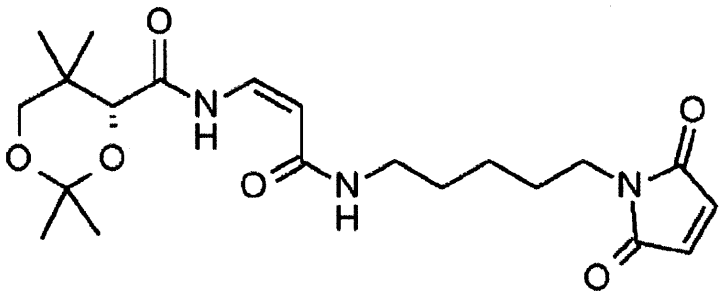
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 11.58 (1H, d, J = 11.2 Hz), 7.25-7.20 (1H, dd, J = 9.2, 9.2 Hz), 6.65 (2H, s), 5.89 (1H, t, J = 6 Hz), 4.98 (1H, d, J = 8.0 Hz), 4.12 (1H, s), 3.65 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.53 (2H, t, J = 6.4 Hz), 3.25 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.23-3.13 (2H, m), 1.77-1.70 (2H, m), 1.53 (3H, s), 1.39 (3H, s), 0.98 (6H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 171.0, 168.8, 167.8, 134.2, 133.4, 100.5, 99.2, 77.2, 71.4, 33.5, 34.8, 33.1, 29.3, 28.3, 22.0, 19.0, 18.6. IR ν_{max} (非希釈)/cm^{-1}: 3311, 3050, 2928, 1705, 1654, 1097, 696. HRMS (EI) $C_{19}H_{27}N_3O_6$ M+の計算値: m/z 393.1900, 実測値 m/z 393.1898. $[\alpha]_D$ +24.00 (c = 0.5, $CHCl_3$, T = 23.8℃).

【0695】

(R,Z)-N-(3-((5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【0696】

【化101】



【0697】

10mLフラスコに、ペルフルオロフェニル(R,Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート(30mg、0.07mmol)、1-(5-アミノペンチル)-1H-ピロール-2,5-ジオントリフルオロアセテート塩(15mg、0.05mmol)及びCH_2Cl_2(1.2mL)を添加した。反応混合物を室温で10分間撹拌した後、DIPEA(10μL、0.06mmol)を添加した。撹拌を室温で72時間続けた後、混合物を真空中で減量し、粗濃縮物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:CH_3OH(0～3%))によって精製して、所望の生成物を無色油状物(12mg、40%)として得た。

【0698】

^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 11.59 (1H, d, J = 11.2 Hz), 7.23-7.18 (1H, dd, J = 4.0, 2.0 Hz), 6.63 (2H, s), 5.37 (1H, t, J = 5.2 Hz), 4.92 (1H, d, J = 9.2 Hz), 4.12 (1H, s), 3.64 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.46 (2H, t, J = 6.8 Hz), 3.25 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.22-3.19 (2H, m), 1.58-1.43 (4H, m), 1.53 (3H, s), 1.37 (3H, s), 1.32-1.21 (2H, m), 1.18 (3H, s), 0.99 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 170.9, 169.4, 168.2, 134.1, 133.2, 100.9, 99.2, 77.2, 71.4, 38.9, 37.3, 33.3, 29.7, 28.7, 28.1, 23.8, 22.0, 19.0, 18.6. HRMS (ESI) $C_{21}H_{31}N_3O_6$ M+の計算値: m/z 421.2213, 実測値 m/z 421.2189. IR ν_{max} (非希釈)/cm^{-1}: 3323, 2926, 2854, 1703, 1656, 1465,

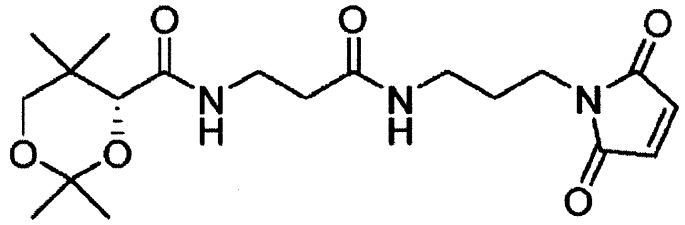
1097, 720. $[\alpha]_D$ +12.5 (c = 0.8, $CHCl_3$, T = 23.9℃).

【０６９９】

(R)-N-(3-((3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロピル)アミノ)-3-オキソプロピル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【０７００】

【化１０２】



【０７０１】

25mLフラスコに、ペルフルオロフェニル(R)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)プロパノエート(95mg、0.22mmol)、3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロパン-1-アミニウム2,2,2-トリフルオロアセテート塩(80mg、0.29mmol)及びCH_2Cl_2(8mL)を添加した。次いで、混合物を室温で10分間撹拌した後、DIPEA(70μL、0.42mmol)を添加した。撹拌を室温で更に72時間続けた後、混合物を真空中で減量した。次いで、粗濃縮物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:メタノール(0～3%))によって精製して所望の生成物を無色油状物(52mg、59%)として得た。

【０７０２】

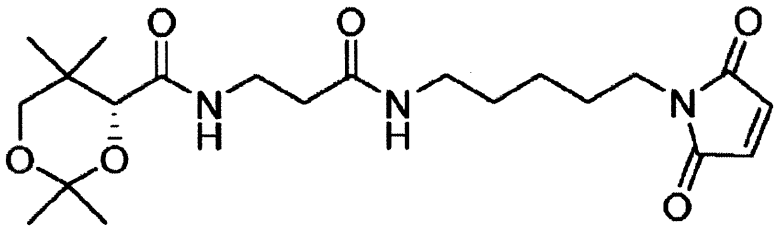
^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 7.00 (1H, t, J = 7 Hz), 6.65 (2H, s), 6.32 (1H, t, J = 7 Hz), 4.01 (1H, s), 3.67 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.55-3.42 (2H, m), 3.50 (2H, t, J = 8 Hz), 3.21 (1H, d, J = 15 Hz), 3.16-3.11 (2H, m), 2.39 (2H, t, J = 7.5 Hz), 1.74-1.68 (2H, m), 1.38 (3H, s), 1.34 (3H, s), 0.96 (3H, s), 0.90 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 171.1, 170.9, 170.0, 134.2, 99.0, 77.2, 71.4, 36.1, 36.0, 34.8, 32.9, 30.9, 29.4, 28.2, 22.1, 18.8, 18.6. IR ν_{max} (非希釈)/cm^{-1}: 3310, 3098, 2945, 1706, 1647, 1533, 1097, 696. HRMS (ESI) $C_{19}H_{29}N_3O_6$ M+の計算値: m/z 395.2056, 実測値 m/z 395.2033. $[\alpha]_D$ +21.231 (c = 1.3, $CHCl_3$, T = 23.7℃).

【０７０３】

(R)-N-(3-((5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)アミノ)-3-オキソプロピル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド

【０７０４】

【化１０３】



【０７０５】

25mLフラスコに、ペルフルオロフェニル(R)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサ

ン-4-カルボキサミド)プロパノエート(95mg、0.22mmol)、1-(5-アミノペンチル)-1H-ピロール-2,5-ジオントリフルオロアセテート塩(60mg、0.20mmol)及びCH_2Cl_2(5mL)を添加した。混合物を室温で10分間撹拌した後、DIPEA(60μL、0.36mmol)を添加した。撹拌を室温で更に72時間続けた後、混合物を真空中で減量した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:CH_3OH、(0～3%))によって精製して所望の付加物を無色油状物(90mg、95%)として得た。

【0706】

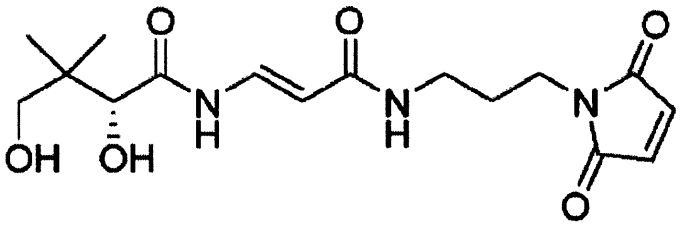
^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ: 6.97 (1H, t, J = 5.5 Hz), 6.63 (2H, s), 5.98 (1H, br s), 4.00 (1H, s), 3.61 (1H, d, J = 11.5 Hz), 3.58-3.46 (2H, m), 3.44 (2H, t, J = 7.0 Hz), 3.21 (1H, d, J = 11.5 Hz), 3.17-3.12 (2H, m), 2.36 (2H, t, J = 6.0 Hz), 1.56-1.42 (4H, m), 1.39 (3H, s), 1.34 (3H, s), 1.26-1.18 (2H, m), 1.03 (3H, s), 0.80 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 170.9, 170.8, 170.2, 134.2, 99.0, 77.2, 71.4, 39.3, 37.4, 36.1, 34.9, 32.9, 29.4, 29.2, 28.1, 23.9, 22.1, 18.8, 18.6. IR ν_{max} (非希釈)/cm^{-1}: 3330, 2930, 1706, 1656, 1521, 1097, 696. HRMS (ESI) $C_{21}H_{33}N_3O_6$ M+の計算値: m/z 423.2369, 実測値 m/z 423.2364. $[\alpha]_D$ +24.267 (c = 1.5, $CHCl_3$, T = 23.7℃).

【0707】

(R,E)-N-(3-((3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロピル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド

【0708】

【化104】



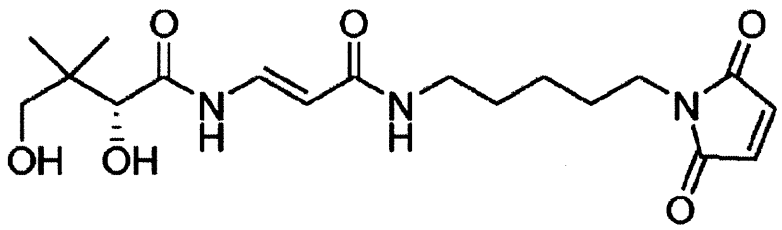
【0709】

5mLフラスコに、(R,E)-N-(3-((3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロピル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(12mg、0.03mmol)、CH_3CN(0.2mL)、塩化ビスマス(1mg、0.003mmol)及びH_2O(10μL)を添加した。反応混合物を室温で24時間撹拌し、次いで、飽和$NaHCO_3$水溶液でクエンチした。その後、混合物を酢酸エチルで希釈した後、celite(登録商標)を通して濾過した。溶媒を真空中で除去し、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:メタノール:NH_3(0～5%))によって精製して所望の生成物を無色油状物(10mg、92%)として得た。

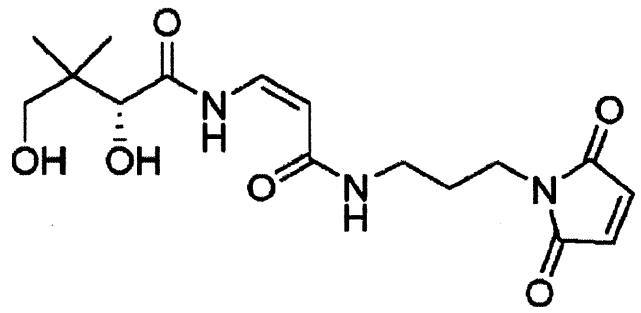
【0710】

^1H NMR ($(CD_3)_2CO$), 400 MHz) δ: 9.56 (1H, br s), 7.86 (1H, dd, J = 12.0, 11.2 Hz), 7.08 (1H, br s), 6.87 (2H, s), 6.00 (1H, d, J = 13.6 Hz), 5.17 (1H, d, J = 7.0 Hz), 3.95 (2H, d, J = 5.2 Hz), 3.38 (2H, t, J = 6.8 Hz), 3.24 (1H, d, J = 11.6 Hz), 3.12-3.11 (2H, m), 1.64-1.61 (2H, m), 1.16 (6H, s). ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$), 100 MHz) δ: 170.8, 134.2, 133.0, 105.4, 76.5, 69.4, 39.3, 36.4, 35.2, 28.9, 20.4, 19.7. IR ν_{max} (非希釈)/cm^{-1}: 3323, 2924, 1701, 1654, 1329, 1188. HRMS (ESI) $C_{16}H_{23}N_3O_6$ M+の計算値: m/z 353.1587, 実測値 m/z 353.1562. $[\alpha]_D$ +16.8 (c = 0.5, アセトン, T = 24.0℃).

【０７１１】
(R,E)-N-(3-((5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド
【０７１２】
【化１０５】



【０７１３】
5mLフラスコ中で、(R,E)-N-(3-((5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(10mg、0.02mmol)、CH_3CN(0.2mL)、塩化ビスマス(1mg、0.003mmol)及びH_2O(10μL)を合わせた。次いで、反応混合物を室温で24時間撹拌し、次いで、飽和$NaHCO_3$水溶液でクエンチした。混合物を酢酸エチルで希釈し、celite(登録商標)を通して濾過した。溶媒を真空中で除去し、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:メタノール:NH_3(0～5%))によって精製して所望の生成物を無色油状物(3mg、33%)として得た。
【０７１４】
HRMS(ESI) $C_{18}H_{27}N_3O_6$ M+についての計算値:m/z381.1900、実測値m/z381.1880。
【０７１５】
(R,Z)-N-(3-((3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロピル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド
【０７１６】
【化１０６】



【０７１７】
5mLフラスコに、(R,Z)-N-(3-((3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロピル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(18mg、0.05mmol)、CH_3CN(0.3mL)、塩化ビスマス(3mg、0.009mmol)及びH_2O(30μL)を添加した。反応物を室温で24時間撹拌し、次いで、数滴の飽和$NaHCO_3$水溶液で処理し、その後、酢酸エチルで希釈した。溶液を、celite(登録商標)を通して濾過し、溶媒を真空中で除去した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:メタノール:NH_3(0～5%))によって精製すると無色油状物

として得られる所望の付加物(5mg、30%)が得られた。

【0718】

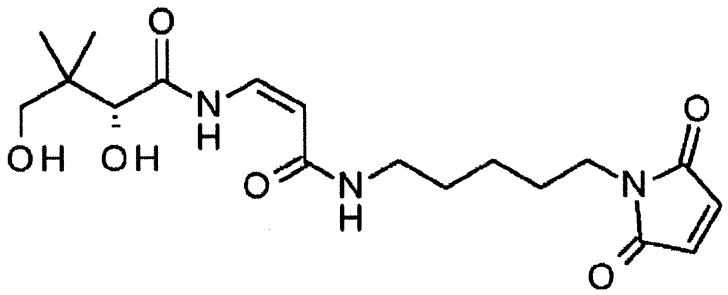
^{1}H NMR ($(CD_3)_2CO$, 400 MHz) δ: 11.85 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.12-7.07 (1H, dd, J = 9.2, 8.8 Hz), 6.73 (2H, s), 5.07 (1H, d, J = 6.0 Hz), 3.98 (1H, s), 3.42-3.30 (3H, m), 3.29 (1H, d, J = 10.8 Hz), 3.09-3.04 (2H, m), 1.75-1.66 (2H, m), 1.16 (6H, s). ^{13}C NMR ($(CD_3)_2CO$), 100 MHz) δ: 170.8, 134.2, 133.0, 100.1, 76.5, 69.4, 39.3, 36.1, 35.1, 28.9, 20.4, 19.7. HRMS (ESI) $C_{16}H_{23}N_3O_6$ M+の計算値: m/z 353.1587, 実測値 m/z 353.1567.

【0719】

(R,Z)-N-(3-((5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド

【0720】

【化107】



【0721】

5mLフラスコに、(R,Z)-N-(3-((5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)アミノ)-3-オキソプロパ-1-エン-1-イル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(19mg、0.04mmol)、CH_3CN(0.3mL)、$BiCl_3$(3mg、0.009mmol)及びH_2O(30μL)を添加した。混合物を室温で24時間撹拌し、数滴の飽和$NaHCO_3$水溶液で処理した。混合物を酢酸エチルで希釈し、次いで、celite(登録商標)を通して濾過した。溶媒を真空中で除去し、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:メタノール:NH_3(0～5%))によって精製して所望の生成物を無色油状物(5mg、29%)として得た。

【0722】

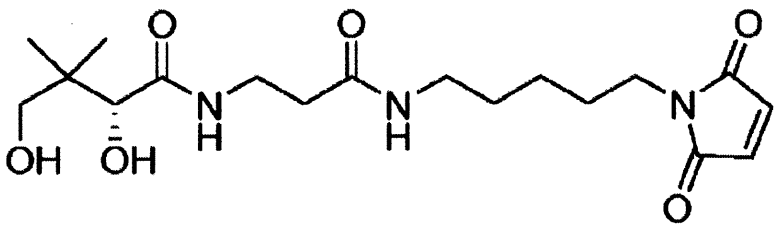
HRMS(ESI) $C_{18}H_{27}N_3O_6$ M+についての計算値:m/z381.1900、実測値m/z381.1877。

【0723】

(R)-N-(3-((5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)アミノ)-3-オキソプロピル)-2,4-ジヒドロキシ-3,3-ジメチルブタンアミド

【0724】

【化108】

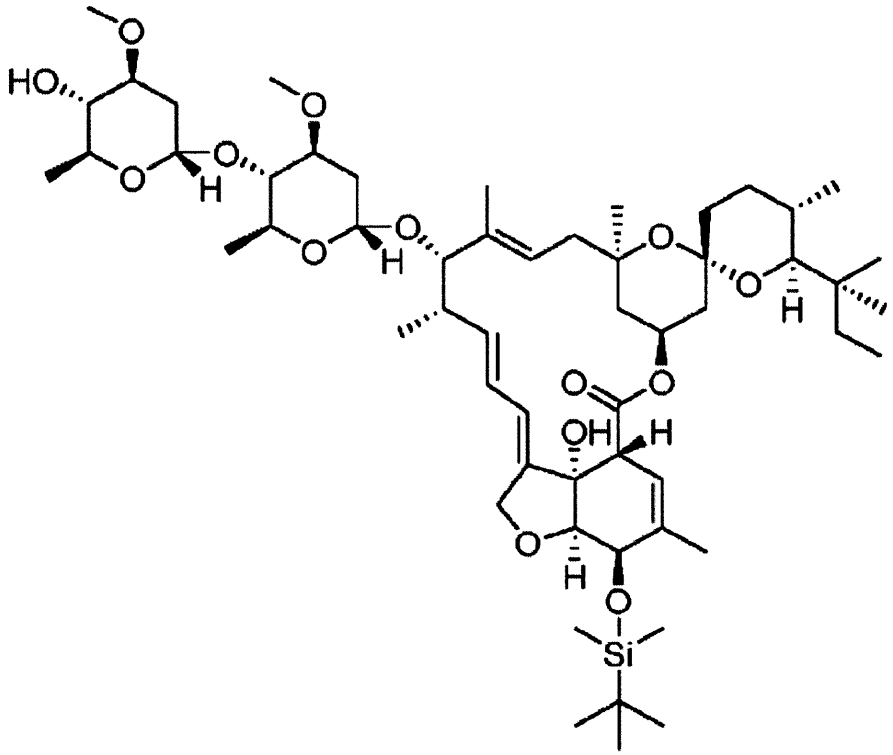


【０７２５】
5mLフラスコに、(R)-N-(3-((5-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンチル)アミノ)-3-オキソプロピル)-2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド(100mg、0.23mmol)、CH_3CN(1.6mL)、$BiCl_3$(8mg、0.02mmol)及びH_2O(80μL)を添加した。混合物を室温で24時間撹拌し、次いで、数滴の飽和$NaHCO_3$水溶液で処理した。その後、混合物を酢酸エチルで希釈し、celite(登録商標)を通して濾過した。溶媒を真空中で除去し、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(CH_2Cl_2:メタノール:NH_3(0～5%))によって精製して所望の生成物を黄色油状物(43mg、47%)として得た。

【０７２６】
^1H NMR ($(CD_3)_2CO$), 500 MHz) δ: 7.52 (1H, t, J = 6.0 Hz), 7.22 (1H, brs),6.73 (2H, s), 3.80 (1H, s), 3.41-3.24 (6H, m), 3.06-3.02 (2H, m), 2.28 (2H, t, J = 5.5 Hz), 1.46-1.34 (4H, m), 1.20-1.18 (2H, m), 0.86 (3H, s), 0.74 (3H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) δ: 173.6, 170.9, 170.8, 134.2, 76.3, 69.6, 63.3, 39.2, 38.8, 37.1, 35.2, 29.4, 28.0, 23.8, 21.1, 19.8. IR u_{max} (非希釈)/cm^{-1}: 3310, 2931, 1700, 1646, 1539, 1410, 695. HRMS (ESI) $C_{18}H_{29}N_3O_6$ M+の計算値: m/z 383.2056, 実測値 m/z 383.2051. $[\alpha]_D$ +13.023 (c = 4.3, アセトン, T = 23.9℃).

【０７２７】
化合物合成-イベルメクチンコンジュゲート
5-O-(tert-ブチルジメチルシリル)アベルメクチンB1a

【０７２８】
【化１０９】



【０７２９】
イベルメクチンB1a(980mg、1.1mmol)の無水DMF(8.0mL)中溶液をイミダゾール(495mg、7.3mmol)、引き続いてTBDMSCl(560mg、3.28mmol)の無水DMF(2.0mL)中溶液で処理した。反応混合物を室温で2.5時間撹拌し、次いで、Et_2O(25mL)、引き

続いてH_2O(15mL)で希釈した。次いで、得られたエマルジョンを0.5時間撹拌し、有機層を分離し、水性相をEt_2O(3×25mL)で抽出した。合わせた有機層をH_2O(5×100mL)及びブライン(2×100mL)で洗浄した。合わせた有機洗浄液をNa_2SO_4上で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、溶出勾配　石油エーテル中0～30% EtOAc)によって精製すると、予想された生成物が白色固体(638mg、58%)として得られた。

【０７３０】

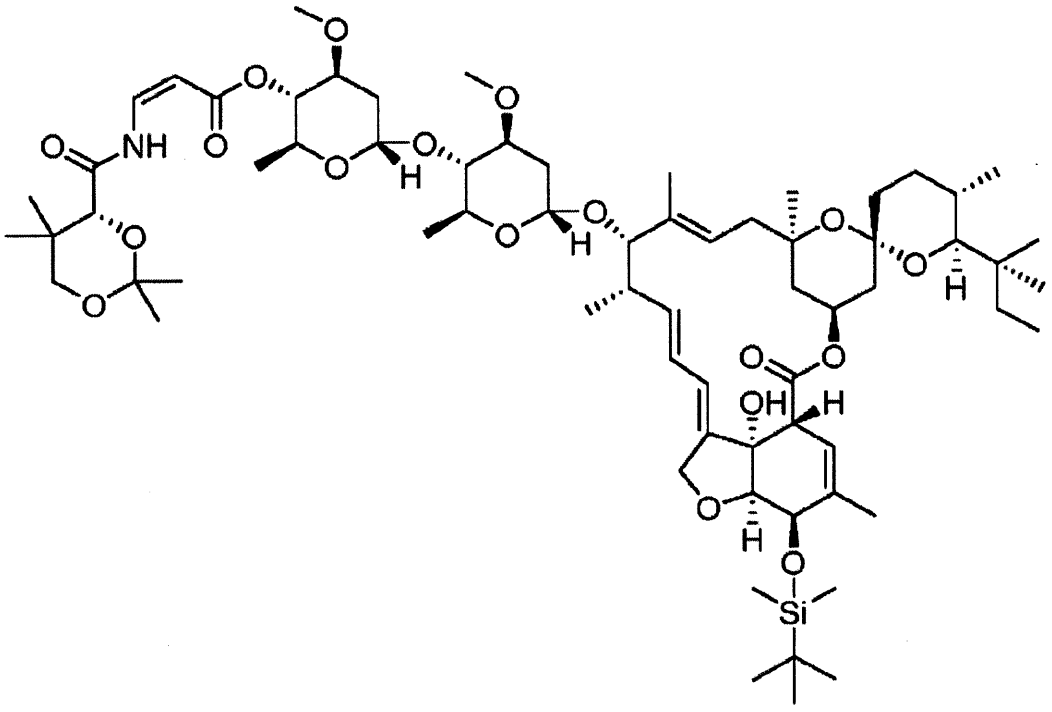
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 5.83-5.78 (1H, br m), 5.73-5.69 (2H, br m), 5.38 (1H, d, J = 3.2 Hz), 5.32 (1H, br s), 5.29-5.28 (1H, br m), 4.97 (1H, d, J = 9.6 Hz), 4.76 (1H, d, J = 3.2 Hz), 4.67 (1H, d, J = 14.4 Hz), 4.56 (1H, d, J = 14.8 Hz), 4.42 (1H, br s), 3.92(1H, br s), 3.85-3.78 (2H, br m), 3.77-3.72 (1H, br m,), 3.68-3.57 (2H, br m), 3.50-3.45 (1H, br m), 3.41 (3H, s), 3.40 (3H, s), 3.36 (1H, br s), 3.25-3.19 (2H, br m), 3.14 (1H, t, J = 8.8 Hz), 2.53 (1H, 見かけ上t, J = 6.8 Hz), 2.35-2.29 (2H, br m), 2.28-2.25 (1H, br m), 2.21 (1H, dd, J = 13.2, 5.0 Hz), 1.98 (1H, dd, J = 12.0, 4.4 Hz), 1.77 (3H, s), 1.74-1.71 (1H, br m), 1.64 (1H, d, J = 11.1 Hz), 1.59-1.52 (7H, br m), 1.49 (3H, s), 1.47-1.39 (2H, br m), 1.33 (1H, t, J = 11.6 Hz), 1.26 (3H, br s), 1.25 (3H, br s), 1.14 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.96-0.92 (3H, br m), 0.91 (9H, s), 0.87-0.81 (4H, br m), 0.76 (3H, d, J = 4.4 Hz), 0.12 (6H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 174.0, 140.2, 137.5, 137.4, 135.0, 124.8, 119.3, 118.3, 117.3, 98.4, 97.4, 94.7, 81.8, 80.3, 80.2, 80.0, 79.3, 78.1, 76.5, 76.0, 69.4, 68.6, 68.1, 67.9, 67.2, 56.4, 56.3, 45.7, 41.1, 39.6, 36.8, 35.7, 35.4, 34.5, 34.1, 31.2, 27.3, 26.8, 25.8, 20.2, 20.0, 18.4, 17.6, 17.4, 15.1, 12.4, 12.0, -4.6, -4.8.

【０７３１】

4''-O-[(R,Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート]-5-O-(tert-ブチルジメチルシリル)アベルメクチンB1a

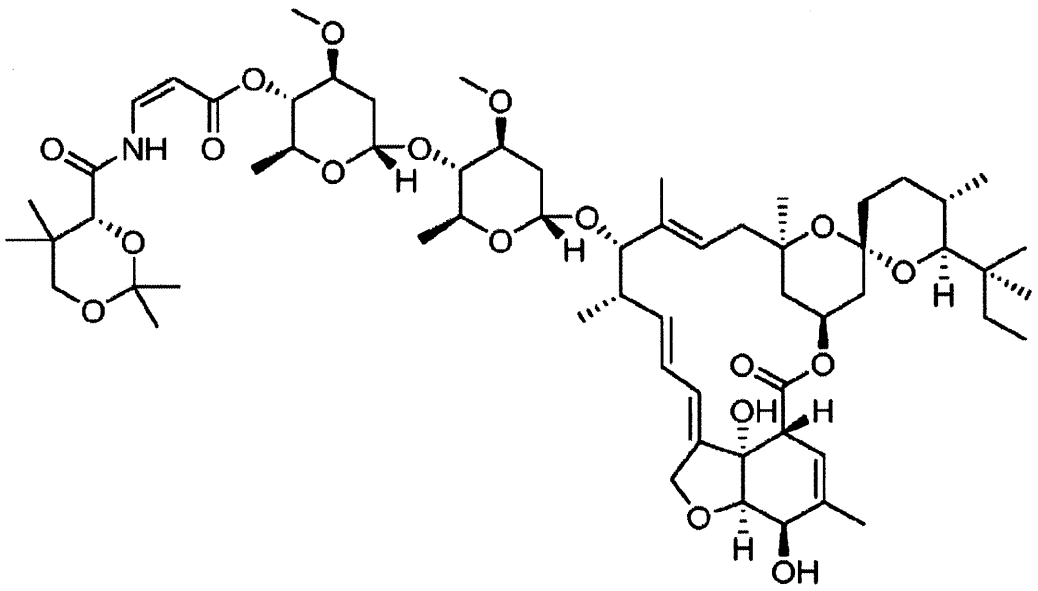
【０７３２】

【化１１０】



【０７３３】
5-O-(tert-ブチルジメチルシリル)アベルメクチンB$_{1a}$(45mg、40μmol)のCH_2Cl_2(1mL)中溶液を、DCC(19mg、90μmol)、引き続いてDMAP(10mg、80μmol)及び(R,Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリル酸(10mg、40μmol)のCH_2Cl_2(1.5mL)中溶液で順次処理した。TLC分析によって示される完了まで(18時間)、反応混合物を室温で撹拌した。次いで、反応物をCH_2Cl_2(5mL)で希釈した。有機相を1M HCl(7mL)、引き続いて飽和$NaHCO_3$水溶液(7mL)及びブライン(7mL)で洗浄した。有機層をNa_2SO_4上で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、溶出勾配　石油エーテル中0～10% EtOAc)によって精製すると、TBS保護されたイベルメクチンが無色油状物(30mg、61%)として得られた。
【０７３４】
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 11.12 (1H, d, J = 11.6 Hz), 7.52-7.43 (1H, m), 5.87-5.82 (1H, br m), 5.79-5.71 (2H, br m), 5.42 (1H, br s), 5.36-5.31 (2H, br m), 5.19 (1H, d, J = 8.9 Hz), 5.00 (1H, d, J = 9.9 Hz), 4.79 (1H, br s), 4.77 (1H, 見かけ上t, J = 9.6 Hz), 4.70 (1H, d, J = 14.6 Hz), 4.60 (1H, d, J = 14.5 Hz), 4.46 (1H, br s), 4.22 (1H, s), 3.96 (1H, br s), 3.92-3.83 (3H, m), 3.73 (1H, d, J = 11.7 Hz), 3.70-3.60 (3H, m), 3.45 (3H, s), 3.42-3.38 (4H, m), 3.34 (1H, d, J = 11 7Hz), 3.28-3.20 (2H, m), 2.53 (1H, br s), 2.38-2.32 (2H, m), 2.31-2.22 (2H, m), 2.00 (1H, dd, J = 11.7, 3.8 Hz), 1.81 (3H, s), 1.79-1.62 (9H, m), 1.59 (3H, s), 1.47 (3H, s), 1.44-1.41 (5H, m), 1.37 (1H, t, J = 12.4 Hz), 1.28 (3H, br s), 1.27 (3H, br s), 1.18 (3H, d, J = 6.3 Hz), 1.07 (3H, s), 1.05 (3H, s), 0.99-0.96 (3H, m), 0.94 (9H, s), 0.88-0.85 (4H, m), 0.81-0.79 (1H, m), 0.15 (6H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 174.0, 168.9, 167.2, 140.3, 137.5, 137.4, 136.6, 135.0, 124.8, 119.3, 118.3, 117.2, 99.3, 98.4, 98.2, 97.5, 94.8, 81.9, 80.8, 80.2, 80.0, 79.2, 77.2, 77.1, 76.6, 75.7, 75.6, 71.3, 69.5, 68.7, 67.9, 67.1, 57.2, 56.5, 45.7, 41.1, 39.6, 36.8, 35.7, 35.4, 35.2, 34.5, 34.1, 33.3, 31.2, 29.3, 27.2, 26.9, 25.8, 21.9, 20.3, 20.0, 18.9, 18.6, 18.4, 17.4 (2C), 15.2, 12.4, 12.1, -4.5, -4.8. HRMS (ESI) $C_{68}H_{109}NO_{18}Si$ $[M-CO_2]^+$の計算値: m/z 1211.7516, 実測値 m/z 1211.6699. IR ν_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3420, 2945, 2879, 1775, 1670, 1550, 1392, 1128. $[\alpha]_D$ +12.21 (c = 0.7, $CHCl_3$, T = 23.1℃).
【０７３５】
4''-O-[(R,Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート]アベルメクチンB1a、14
【０７３６】

【化１１１】



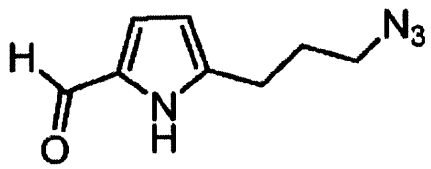
【０７３７】

4''-O-[(R,Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート]-5-O-(tert-ブチルジメチルシリル)アベルメクチンB1a(30mg、20μmol)のMeOH(2.5mL)中溶液を触媒量のp-TsOH(3mg)で処理した。反応混合物を18℃で30分間撹拌した。次いで、反応物をH_2O(17mL)、引き続いてEtOAc(20mL)で希釈した。有機層をH_2O(3×20mL)及びブライン(20mL)で洗浄した。有機相をNa_2SO_4上で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、溶出勾配0～3% MeOH/CH_2Cl_2)によって精製すると、4''-O-[(R,Z)-3-(2,2,5,5-テトラメチル-1,3-ジオキサン-4-カルボキサミド)アクリレート]アベルメクチンB1aが黄色油状物(16mg、58%)として得られた。

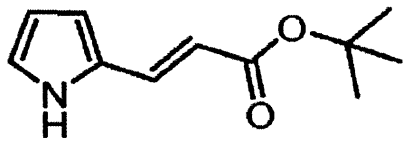
【０７３８】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 11.27 (1H, d, J = 11.6 Hz), 7.52 (1H, dd, J = 11.6 Hz, 9.6 Hz), 5.89 (1H, d, J = 9.2 Hz), 5.82-5.69 (2H, m), 5.44 (1H, br s), 5.42-5.32 (2H, m), 5.23 (1H, d, J = 9.2 Hz), 5.00 (1H, d, J = 10.0 Hz), 4.80 (1H, br s), 4.75 (1H, d, J = 9.5 Hz), 4.72-4.65 (2H, m), 4.32 (1H, d, J = 6.0 Hz), 4.23 (1H, s), 4.13 (1H, br s), 3.99 (2H, m), 3.92-3.84 (2H, m), 3.73-3.62 (4H, m), 3.58 (1H, d, J = 6.8 Hz), 3.45 (3H, br s), 3.38 (3H, br s), 3.30 (1H, br s), 3.28-3.21 (3H, m), 2.54 (1H, br s), 2.39-2.32 (2H, m), 2.32-2.22 (2H, m), 2.00 (1H, dd, J = 12.0, 4.4 Hz), 1.89 (3H, s), 1.77 (1H, d, J = 11.6 Hz), 1.67 (1H, d, J = 9.6 Hz), 1.62-1.47 (16H, m), 1.47-1.34 (3H, m), 1.29-1.25 (3H, m), 1.20-1.15 (6H, m), 1.07 (3H, s), 1.00 (3H, s), 0.95 (3H, t, J = 7.2 Hz), 0.87 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.83-0.78 (4H, m). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 174.0, 168.9, 167.2, 140.3, 138.0, 137.9, 137.2, 135.0, 124.7, 120.4, 118.3, 118.0, 107.0, 98.5, 98.3, 97.4, 94.8, 81.8, 80.7, 80.4, 79.2, 79.0, 77.9, 77.2, 76.3, 75.8, 75.7, 71.3, 68.6, 68.5, 67.7, 67.2, 67.1, 57.1, 56.5, 45.7, 41.1, 39.7, 36.9, 35.7, 35.4, 35.1, 34.5, 34.1 (2C), 31.2, 28.0, 27.2, 22.9, 20.8, 20.5, 20.2, 20.0, 18.8, 18.4, 17.4 (2C), 15.1, 12.4, 12.1. HRMS (ESI) $C_{62}H_{95}NO_{18}$ $[M-CO_2]^+$の計算値: m/z 1097.6651, 実測値 m/z 1097.1176. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3680, 2947, 2879, 1783, 1645, 1498, 1288. [α]D +4.50 (c = 0.2, $CHCl_3$, T = 23.0℃).

【０７３９】
化合物合成-BODIPY-イベルメクチン複合体
5-(3-アジドプロピル)-1H-ピロール-2-カルバルデヒド
【０７４０】
【化１１２】



【０７４１】
無水DMF(20mL)を0℃に冷却し、次いで、$POCl_3$(0.6mL、6.6mmol)で処理した。次いで、得られた溶液を0℃で5分間、次いで、室温で更に30分間撹拌した。次いで、反応物をもう一度0℃に冷却し、2-(3-アジドプロピル)-1H-ピロール(805mg、5.3mmol)の無水DMF(2mL)中溶液で処理した。次いで、TLC分析による完了まで(18時間)、混合物を40℃に加熱した。反応物をもう一度室温に冷却し、EtOAc(5mL)で希釈し、4M NaOH水溶液(5mL)で処理した。相を分離し、水性層をEtOAc(3×5mL)で抽出した。合わせた有機層をH_2O(5×20mL)、ブライン(2×20mL)で洗浄し、Na_2SO_4上で乾燥させた。得られた溶液を減圧下で濃縮して所望のアルデヒドを褐色油状物(490mg、51%)として得た。生成物を更に精製することなく使用した。
【０７４２】
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 9.95 (1H, br s), 9.41 (1H, s), 6.93-6.91 (1H, m), 6.13-6.12 (1H, m), 3.01 (2H, t, J = 8.0 Hz), 2.72 (2H, t, J = 7.0 Hz), 1.8- 1.6 (2H, m). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 178.3, 129.7, 128.5, 127.8, 109.6, 60.4, 28.0, 24.4. HRMS (ESI) $C_8H_{10}N_4O$ [M]+の計算値: m/z 178.0855, 実測値 m/z 178.0851. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3233, 2831, 2099, 1735, 1653, 1376.
【０７４３】
tert-ブチル(E)-3-(1H-ピロール-2-イル)アクリレート
【０７４４】
【化１１３】



【０７４５】
ピロール-2-カルボキシアルデヒド(1.5g、15.2mmol)のベンゼン(110mL)中溶液を(tert-ブトキシカルボニルメチレン)トリフェニルホスホラン(10.0g、26.5mmol)で処理した。TLC分析による完了まで(22時間)、反応混合物を80℃に加熱した。次いで、反応物を室温に冷却し、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～20% EtOAc/PE)によって精製すると、予想されたエステルが橙色油状物(2.45g、83%)として得られた。
【０７４６】
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 9.00 (1H, br s), 7.49 (1H, d, J = 16.0 Hz), 6.92 (1H, 見かけ上s), 6.55 (1H, 見かけ上s), 6.29 (1H, 見かけ上s), 6.01 (1H,

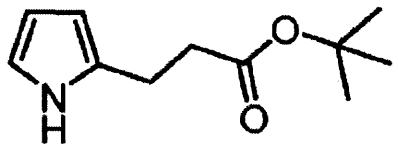
d, J = 16.0 Hz), 1.55 (9H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 167.1, 133.3, 128.5, 122.0, 113.7, 113.3, 110.8, 80.2, 28.2. HRMS (ESI) $C_{11}H_{15}NO_2$ [M+Na]$^+$の計算値: m/z 216.0995, 実測値 m/z 216.0966. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3358, 2919, 2848, 1713, 1632, 1150.

【０７４７】

tert-ブチル3-(1H-ピロール-2-イル)プロパノエート

【０７４８】

【化１１４】



【０７４９】

(E)-3-(1H-ピロール-2-イル)アクリレート(2.4g、12.4mmol)の無水MeOH(95mL)中溶液をアルゴン雰囲気下で5分間撹拌した。Pd/C(10%、160mg、7mol%)を溶液に添加し、反応物を水素雰囲気下に置き、TLC分析による完了まで(18時間)、室温で撹拌した。反応物を、celite(登録商標)ベッドを通して濾過し、MeOH(2×25mL)で洗浄した。有機相を合わせ、真空中で濃縮して所望のエステルを褐色油状物(2.23g、92%)として得た。得られた生成物は更なる精製を必要としなかった。

【０７５０】

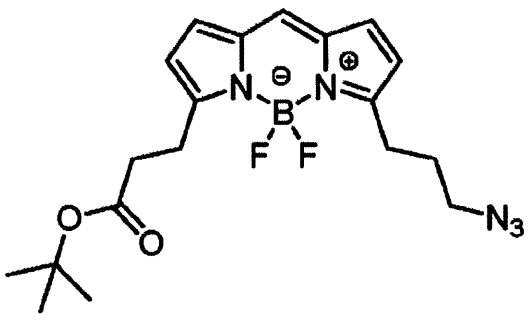
^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 8.62 (1H, br s), 6.69 (1H, 見かけ上s), 6.12 (1H, 見かけ上d, J = 2.4 Hz), 5.93 (1H, 見かけ上s), 2.89 (2H, t, J = 6.4 Hz), 2.57 (2H, t, J = 6.4 Hz), 1.47 (9H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 173.6, 131.3, 116.7, 107.8, 105.4, 80.7, 35.7, 28.1, 22.6. HRMS (ESI) $C_{11}H_{17}NO_2$ [M+Na]$^+$の計算値: m/z 218.1151, 実測値 m/z 218.1168. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3394, 2919, 2848, 1644.

【０７５１】

tert-ブチル3-(5-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル)プロパノエート

【０７５２】

【化１１５】



【０７５３】

5-(3-アジドプロピル)-1H-ピロール-2-カルバルデヒド(330mg、1.9mmol)のCH_2Cl_2(8mL)中0℃溶液を、tert-ブチル3-(1H-ピロール-2-イル)プロパノエート(346mg、1.8mmol)のCH_2Cl_2(2mL)中溶液で処理した。次いで、得られた混合物を、$POCl_3$(150μL、1.5mmol)の滴加によって処理し、次いで、室温で6.5時間撹拌した後、もう一

度0℃に冷却した。次いで、反応混合物を、$BF_3.Et_2O$(0.9mL、7.2mmol)、引き続いてN,N-ジイソプロピルエチルアミン(1.5mL、8.5mmol)で順次処理した。次いで、TLC分析による完了まで(18時間)、混合物を室温で撹拌した。反応物をH_2O(10mL)でクエンチし、CH_2Cl_2(5mL)で希釈し、celite(登録商標)ベッドを通して濾過した。celite(登録商標)をCH_2Cl_2(2×10mL)で洗浄し、有機相を合わせた。合わせた有機洗浄液をNa_2SO_4上で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、溶出勾配　石油エーテル中0～15% EtOAc)によって精製すると、予想されたエステルが赤色油状物(71mg、9%)として得られた。

【0754】

^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.13 (1H, s), 7.00-6.92 (2H, m), 6.37- 6.34 (2H, m), 3.35-3.27 (4H, m), 2.80 (2H, t, J = 8.0 Hz), 2.67 (2H, t, J = 8.0 Hz), 1.46 (9H, s), 1.27 (2H, 見かけ上t, J = 7.2 Hz). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 172.7, 161.6, 161.1, 134.7, 134.6, 130.6, 130.2, 127.8, 118.7, 118.1, 80.7, 51.8, 34.2, 32.8, 29.7, 28.2, 24.2. ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376 MHz) δ: -144.17, -144.26, -144.35, -144.44. HRMS (ESI) $C_{19}H_{24}BF_2N_5O_2$ $[M-N_3]^+$の計算値: m/z 361.1899, 実測値 m/z 361.3293. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3172, 2978, 2150, 1733, 1609, 1490, 1439, 1155.

λ_{exc}=467nm。(510nm発光、c=0.2nM、MeOH)。

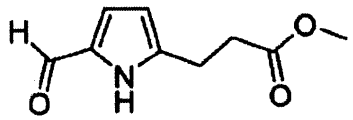
λ_{emis}=516nm、(315nm励起、c=0.2nM、MeOH)。

【0755】

メチル3-(5-ホルミル-1H-ピロール-2-イル)プロパノエート

【0756】

【化116】



【0757】

無水DMF(10mL)を0℃に冷却し、$POCl_3$(0.6mL、6.6mmol)で処理した。次いで、得られた溶液を0℃で5分間、次いで、室温で更に30分間撹拌した。反応物をもう一度0℃に冷却し、メチル3-(1H-ピロール-2-イル)プロパノエート(800mg、5.2mmol)の無水DMF(2mL)中溶液で処理した。次いで、TLC分析による完了まで(14時間)、混合物を40℃に加熱した。反応物をもう一度室温に冷却し、EtOAc(18mL)で希釈し、4M NaOH水溶液(5mL)で処理した。相を分離し、水性層をEtOAc(3×18mL)で抽出した。合わせた有機層をH_2O(5×30mL)、ブライン(2×30mL)で洗浄し、Na_2SO_4上で乾燥させた。得られた溶液を減圧下で濃縮して所望のアルデヒドを褐色油状物(630mg、66%)として得た。生成物を更に精製することなく使用した。

【0758】

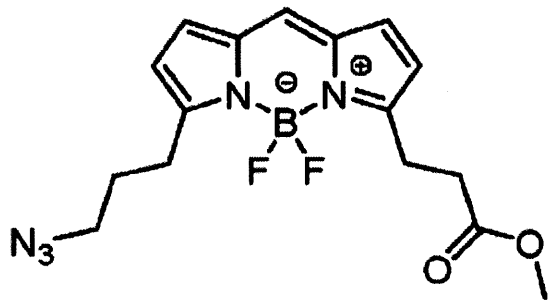
^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 10.01 (1H, br s), 9.42 (1H, s), 6.89 (1H, 見かけ上t, J = 4.0 Hz), 6.1-6.0 (1H, 見かけ上t, J = 4.0 Hz), 3.73 (3H, s), 3.02 (2H, t, J = 7.0 Hz), 2.72 (2H, t, J = 7.1 Hz). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 178.4, 173.3, 116.8, 132.3, 122.1, 109.6, 52.0, 33.3, 22.8. HRMS (ESI) $C_9H_{11}NO_3$ $[M+H]^+$の計算値: m/z 182.0739, 実測値 m/z 182.0828. IR u_{max} (フィルム)/ cm^{-1}: 3248, 2924, 2853, 1735, 1647.

【0759】

メチル3-[3-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-5-イル]プロパノエート

【0760】

【化１１７】



【０７６１】

2-(3-アジドプロピル)-1H-ピロール(１００mg、0.7mmol)のCH_2Cl_2(5mL)中0℃溶液を、3-(5-ホルミル-1H-ピロール-2-イル)プロパノエート(60mg、0.3mmol)のCH_2Cl_2(5mL)中溶液で処理した。次いで、得られた混合物を$POCl_3$(１００μL、1.0mmol)の滴加によって処理し、次いで、室温で6.5時間撹拌した後、もう一度0℃に冷却した。次いで、反応混合物を$BF_3.Et_2O$(0.2mL、1.6mmol)、引き続いてN,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.3mL、1.7mmol)で順次処理した。TLC分析による完了まで(18時間)、反応物を室温で撹拌した。次いで、反応混合物をH_2O(10mL)でクエンチし、CH_2Cl_2(5mL)で希釈し、celite(登録商標)ベッドを通して濾過した。celite(登録商標)をCH_2Cl_2(2×10mL)で洗浄し、有機相を合わせた。合わせた有機洗浄液をNa_2SO_4上で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、溶出勾配　石油エーテル中0～30% EtOAc)によって精製すると、予想されたエステルが赤色油状物(31mg、26%)として得られた。

【０７６２】

^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.15 (1H, s), 7.04 (1H, d, J = 4.0 Hz), 7.01 (1H, d, J = 4.4 Hz), 6.3 (2H, 見かけ上t, J = 4.0 Hz), 3.72 (3H, s), 3.42 (2H, t, J = 6.8 Hz), 3.34 (2H, t, J = 7.6 Hz), 3.09 (2H, t, J = 7.6 Hz), 2.81 (2H, t, J = 7.6 Hz), 2.09-2.02 (2H, m). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 164.6, 159.9, 156.5, 146.8, 140.1, 134.9, 128.3, 127.9, 120.9, 114.7, 51.8, 50.8, 34.7, 28.0, 25.4, 21.4. ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376 MHz) δ: -143.7, -143.8, -143.9, -144.0. HRMS (ESI) $C_{16}H_{18}BF_2N_5O_2$ $[M-H]^+$の計算値: m/z 360.1522, 実測値 m/z 360.3250. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3171, 2936, 2098, 1734, 1609, 1497, 1175.

λ_{exc}=467nm (510nm発光、c=0.2nM、MeOH)。

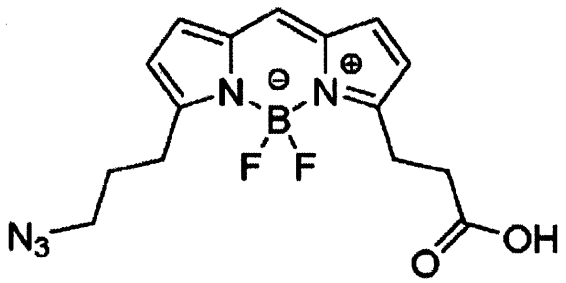
λ_{emis}=516nm (315nm励起、c=0.2nM、MeOH)。

【０７６３】

3-[3-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-5-イル]プロピオン酸

【０７６４】

【化１１８】



【０７６５】

メチル3-[3-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-5-イル]プロパノエート(30mg、80μmol)のTHF(4mL)中0℃溶液を、H_2O(2.6mL)、引き続いて濃HCl(1.6mL)で処理した。次いで、TLC分析による完了まで(18時間)、反応混合物を室温で撹拌した。次いで、反応混合物をCH_2Cl_2(20mL)で希釈し、室温で1時間撹拌した。有機層を分離し、H_2O(2×20mL)、引き続いてブライン(2×25mL)で洗浄した。得られた溶液をNa_2SO_4上で乾燥させ、減圧下で濃縮して予想されたカルボン酸を赤色油状物(15mg、52%)として得た。生成物を更に精製することなく使用した。

【０７６６】

^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.16 (1H, s), 7.05 (1H, d, J = 4.0 Hz), 7.01 (1H, d, J = 3.2 Hz), 6.39-6.38 (2H, m), 3.42 (2H, t, J = 6.8 Hz), 3.35 (2H, t, J = 7.6 Hz), 3.10 (2H, t, J = 7.6 Hz), 2.86 (2H, t, J = 7.6 Hz), 2.10-2.02 (2H, m). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 166.2, 161.6, 159.9, 153.1, 149.0, 134.9, 130.8, 128.8, 127.9, 118.5, 50.9, 31.9, 30.5, 26.0, 23.8. ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376 MHz) δ:-143.75, -143.84, -143.92, -144.01. HRMS (ESI) $C_{15}H_{16}BF_2N_5O_2$ $[M-H]^+$の計算値: m/z 346.1365, 実測値 m/z 346.3293. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3423, 2915, 2850, 1644.

λ_{exc}=467nm (510nm発光、c=5nM、MeOH)。

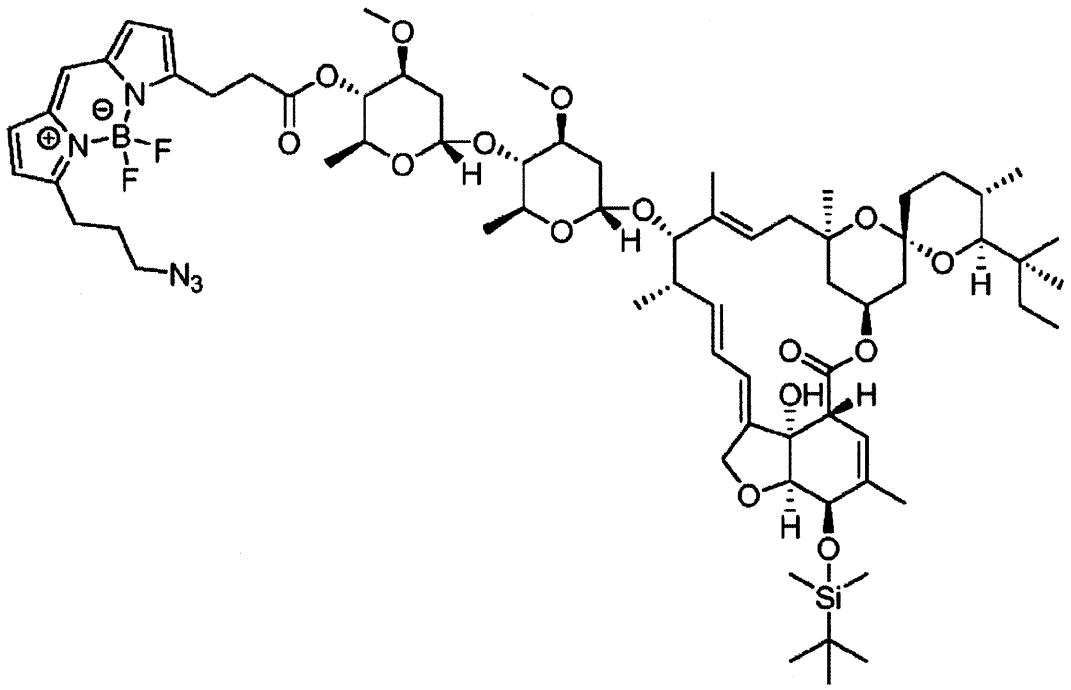
λ_{emis}=510nm (315nm励起、c=5nM、MeOH)。

【０７６７】

4''-O-[3-(5-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル)プロパノエート]-5-O-(tert-ブチルジメチルシリル)アベルメクチンB1a

【０７６８】

【化１１９】



【０７６９】

5-O-(tert-ブチルジメチルシリル)アベルメクチンB1a(40mg、40μmol)のCH_2Cl_2(2.5mL)中溶液を、3-(5-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル)プロパン酸(15mg、40μmol)のCH_2Cl_2(2.5mL)中溶液、引き続いてDCC(16mg、70μmol)及びDMAP(3mg、20μmol)で順次処理した。次いで、TLC分析による完了まで(18時間)、反応混合物を室温で撹拌した。次いで、反応物を減圧下で濃縮し、粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、溶出勾配石油エーテル中0～20% EtOAc)によって精製して4''-O-[3-(5-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル)プロパノエート]-5-O-(tert-ブチルジメチルシリル)アベルメクチンB1aを赤色油状物(23mg、39%)として得た。

【０７７０】

^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ: 7.14 (1H, s), 7.00 (2H, d, J = 4.4 Hz), 6.43 (1H, d, J = 4.0 Hz,), 6.37 (1H, d, J = 4.0 Hz), 5.85-5.82 (1H, m), 5.77-5.72 (2H, m), 5.41 (1H, br s,), 5.36-5.31 (2H, m), 5.00 (1H, d, J = 9.6 Hz), 4.79 (1H, br s), 4.74 (1H, 見かけ上t, J = 10.0 Hz), 4.71-4.68 (1H, m), 4.60 (1H, d, J = 14.4 Hz), 4.45 (1H, br s), 3.96 (1H, br s), 3.88-3.83 (3H, m), 3.70-3.60 (3H, m), 3.45 (6H, br s), 3.41- 3.37 (4H, m), 3.34-3.31 (1H, m), 3.28-3.20 (2H, m), 2.86-2.79 (4H, m), 2.53 (1H, br s), 2.38-2.32 (2H, m), 2.29 (1H, 見かけ上d, = 11.6 Hz), 2.24 (1H, dd, J = 12.0, 4.0 Hz), 2.00 (1H, dd, J = 12.8, 4.4 Hz), 1.98-1.93 (2H, m), 1.81 (3H, s), 1.79-1.62 (9H, m),1.53 (3H, s), 1.41-1.36 (3H, m), 1.29-1.27 (6H, br s), 1.17 (1H, d, J = 6.8 Hz), 0.96-0.92 (12H, m), 0.89-0.86 (4H, m), 0.81-0.79 (1H, m), 0.15 (6H, s). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ: 174.0, 172.7, 162.1, 160.5, 140.2, 137.5 (2C), 135.0 (2C), 134.8, 130.4, 127.9, 124.8, 119.3, 118.7, 118.4, 118.3, 117.2, 98.5, 97.5, 94.8, 81.9, 80.6, 80.4, 80.2, 80.0, 79.3, 79.2, 77.2, 76.5, 69.5, 68.7, 67. 9, 67. 2, 67. 1, 56.8, 56.5, 51.8, 45.7, 41. 1, 39.6, 36.8, 35.7, 35.4, 34. 9, 34.5, 34. 1, 33. 2, 33.0, 31.2, 29.7, 28. 1, 27.3, 25.8, 25.4, 20.3, 20.0, 18.4, 17.7,

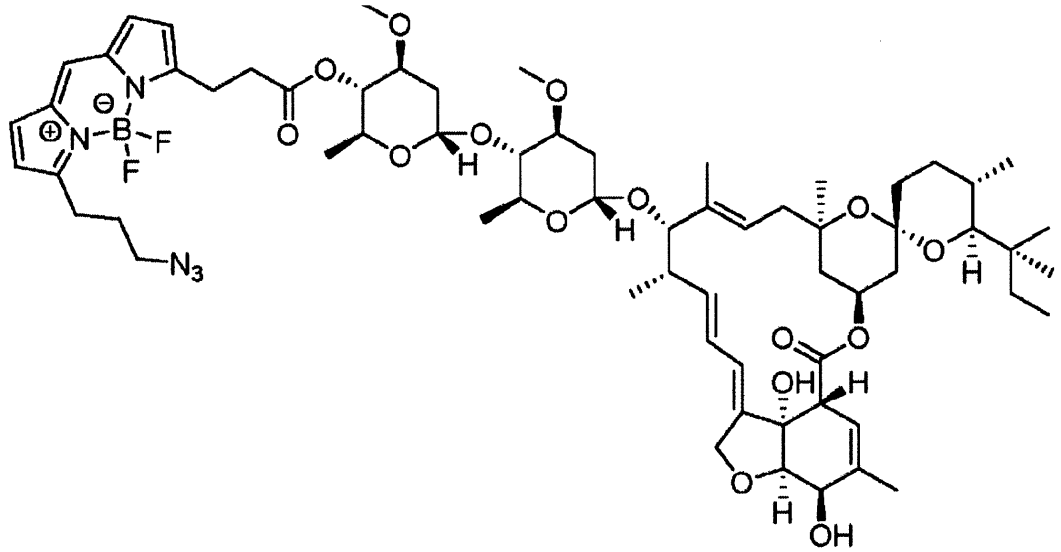
17.4, 15. 2, 12.4, 12. 1, -4.5, -4.8. ^{19}F NMR ($CDCl_3$, 376 MHz) δ: - 144. 21, -144.30, -144.39, -144.48.
HRMS (ESI) $C_{11}H_{106}BF_2N_5O_{15}Si$ [M-H]+の計算値: m/z 1344.7516, 実測値 m/z 1344. 3033. IR u_{max} (フィルム)/cm^{-1}: 3360, 2961, 2921, 2851, 1632.

【０７７１】

4''-O-[3-(5-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル)プロパノエート]アベルメクチンB1a、15

【０７７２】

【化１２０】



【０７７３】

4''-O-[3-(5-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル)プロパノエート]-5-O-(tert-ブチルジメチルシリル)アベルメクチンB1a(6mg、4μmol)のMeOH(2.0mL)中溶液を触媒量のp-TsOH(3mg)で処理した。反応混合物を18℃で30分間撹拌した。次いで、反応物をH_2O(15mL)、引き続いてEtOAc(20mL)で希釈した。有機層をH_2O(3×20mL)及びブライン(20mL)で洗浄した。有機相をNa_2SO_4上で乾燥させ、減圧下で濃縮した。粗残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(0～40% EtOAc/石油エーテル)によって精製すると、4''-O-[3-(5-(3-アジドプロピル)-4,4-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセン-3-イル)プロパノエート]アベルメクチンB1a、15が赤色油状物(4mg、72%)として得られた。MS(ESI) $C_{65}H_{92}BF_2N_5O_{15}$[M-H]$^+$についての計算値:m/z1230.6651、実測値m/z1230.1914。

【０７７４】

タンパク質とコンジュゲート前駆体を反応させる一般的な方法
10mLフラスコに、マレイミド化合物(12mmol)、iLOVタンパク質(10mg、0.7mmol)及びpH7リン酸緩衝液1mLを、室温で1時間撹拌しながら添加した。この後、反応混合物を、Strep-Tactin Superflow樹脂1mL(IBA Lifescience社)及びpH8緩衝液1mL(150mM TRIS、100mM NaCl)をロードしたカラムに添加した。カラムを密封し、ローター上で、4℃で15分間インキュベートした。未反応化合物をpH8緩衝液(4mL)で溶出した後、SUMOタンパク質(15μL)及びpH8緩衝液(100mM TRIS、150mM NaCl)を添加した。カラムを密封し、ローター上で、4℃で18時間インキュベートした。インキュベーション後、溶液(現在緑色である)を管に回収した後、遠心分離機で、14000rpmで7分間濃縮した。Bradfordタンパク質アッセイによって濃度を計算し、コンジュゲート溶液を必要となるまで-80℃で保管した。

【０７７５】

化合物P1～P11をこのようにして調製した(以下のTable 1(表1)参照)。

【０７７６】

コンジュゲート取り込み試験

本発明のコンジュゲートを使用した取り込み試験を、特にC.エレガンスによる取り込みに焦点を当てて、いくつかの生物で行った。

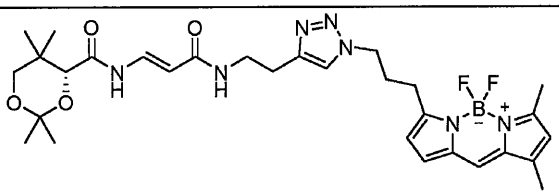
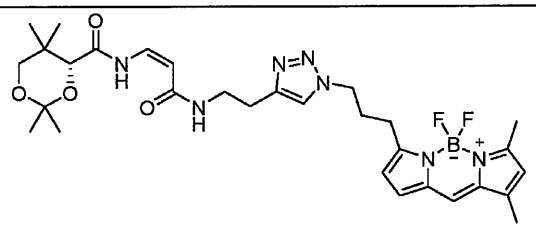
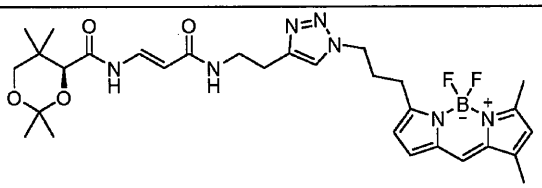
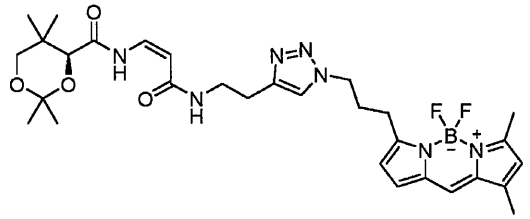
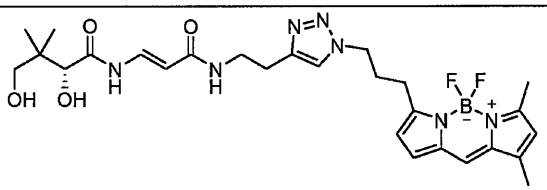
【０７７７】

試験したコンジュゲートを、比較のために同様に試験した参照化合物と一緒に、以下の表に示す。

【０７７８】

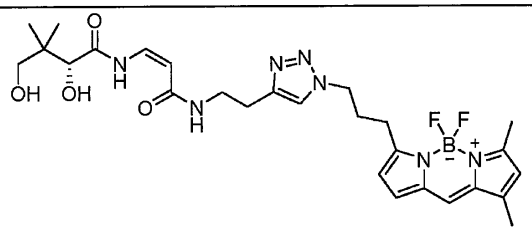
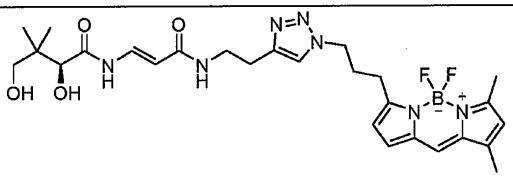
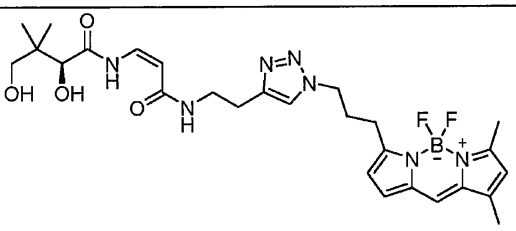
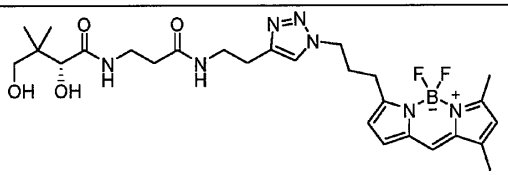
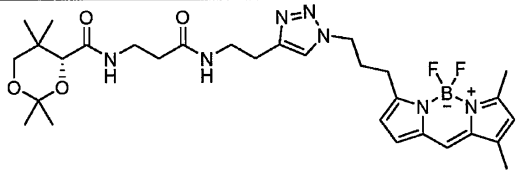
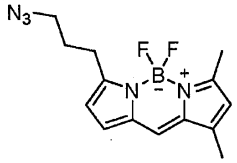
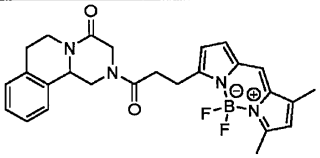
【表１Ａ】

Table 1-試験したコンジュゲート

化合物	構造
1	
2	
3	
4	
5	

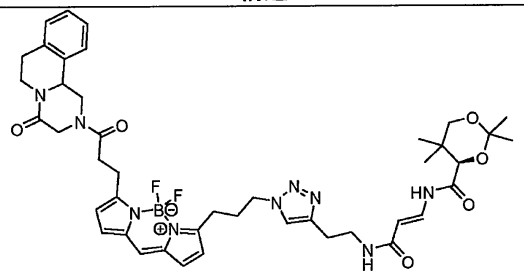
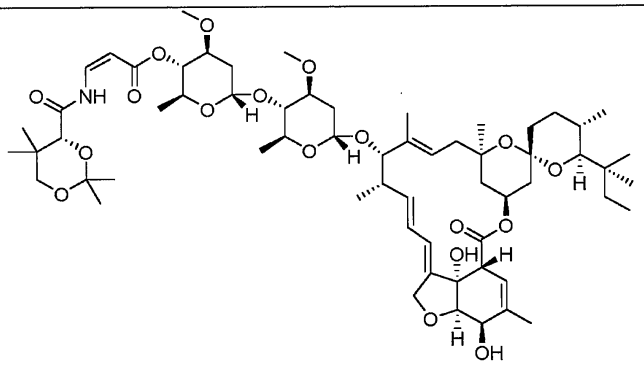
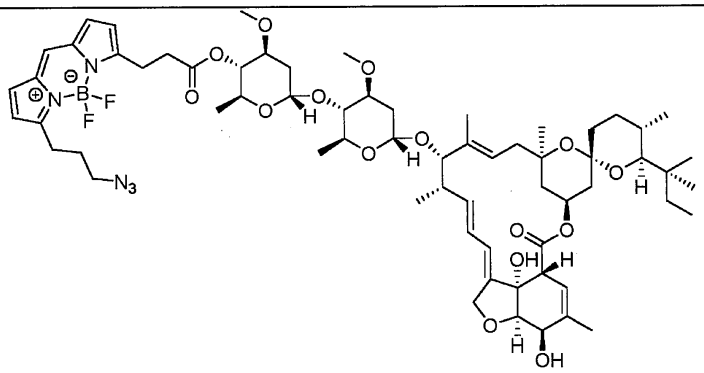
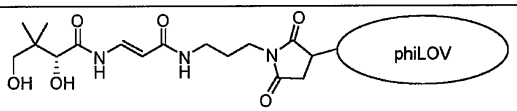
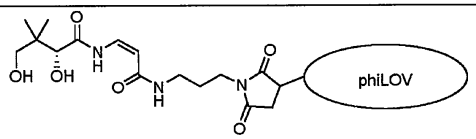
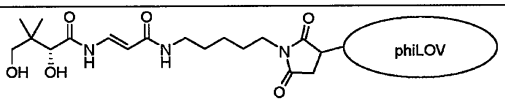
【０７７９】

【表１Ｂ】

化合物	構造
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	

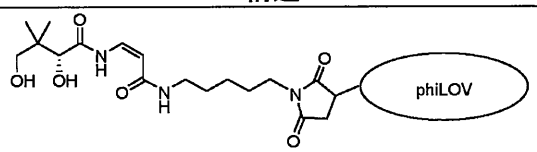
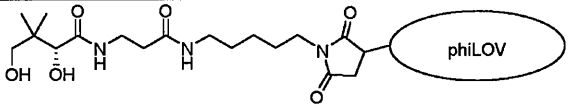
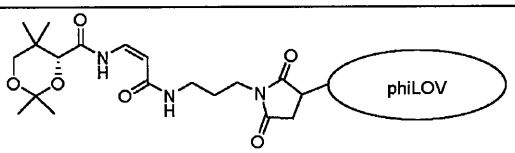
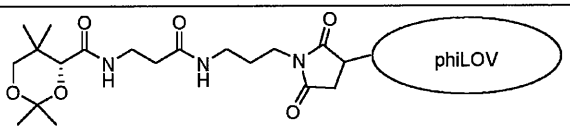
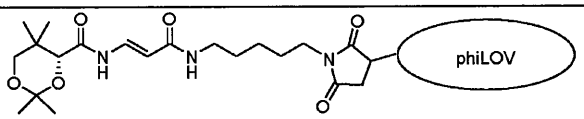
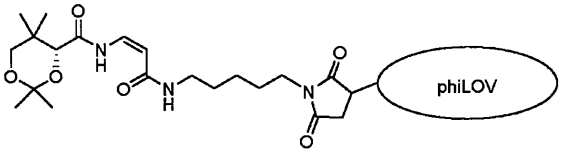
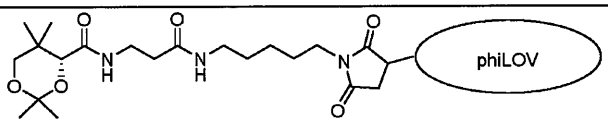
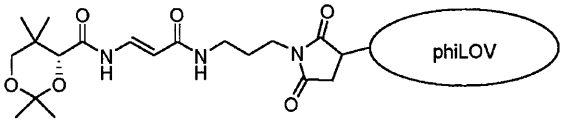
【０７８０】

【表１Ｃ】

化合物	構造
13	
14	
15	
P1	
P2	
P3	

【０７８１】

【表１Ｄ】

化合物	構造
P4	
P5	
P6	
P7	
P8	
P9	
P10	
P11	

【０７８２】

C.エレガンス試験

C.エレガンスを含有する線虫飼育培地(ＮＧＭ)プレートを1.0～1.5ｍＬの標準的なＭ９緩衝液で洗浄し、洗浄液をエッペンドルフチューブに回収した。次いで、C.エレガンスを含有する液体を、室温において、１０００ｒｐｍで1分間回転させた。上清を除去し、新鮮なＭ９緩衝液を添加して(５００μＬ)、C.エレガンスを含有するＭ９緩衝液の新たなストック溶液を作製した。

【０７８３】

C.エレガンス懸濁液(１００μＬ)を、別個のエッペンドルフチューブに含有される記載量のＭ９緩衝液(試験する化合物の最終所望濃度によって決定される:ＢＯＤＩＰＹタグ付き誘導体の場合３９９μＬ)に添加した。次いで、これに、化合物のＤＭＳＯ(１μＬ)中２５ｍＭ溶液を添加した。ボルテックス機器を使用して得られた懸濁液を混合した。混合が完了したら、エッペンドルフチューブを横にして、蠕虫がチューブの底に沈降しておらず、試験化合物が均一に分散していることを確保した。

【０７８４】
得られた混合物を、暗所中(チューブを遮蔽するためにアルミ箔を使用し、これもキャビネットに保管した)、室温で2～4時間インキュベートした。
【０７８５】
他の試料を一晩インキュベートした。ここで、OP50細菌(3μL)を給餌目的で蠕虫に添加し、蠕虫を暗所中20℃に保った。
【０７８６】
インキュベーション後、チューブ内容物を手で(典型的にはチューブの単純な回転により)穏やかに混合して、均質な懸濁液を達成した。懸濁液試料(250μL)を採取し、M9緩衝液(500μL)と混合した。得られた懸濁液を遠心分離機に入れ、室温において、10000rpmで1分間回転させた。上清を除去し、洗浄工程を、各回で更なる量の新鮮なM9緩衝液(それぞれ500μL)を使用して更に2回繰り返した。最後の洗浄後、十分な上清を除去して、最終試料体積約30μLを残した。
【０７８７】
水中1.5%アガロース溶液を、標準的な家庭用電子レンジ(パワー4に設定)で60～90秒間予熱した。この溶液2滴を取り出し、スライドガラスに載せた。スライドガラスを第2のスライドガラスで覆った。1分後、スライドを、アガロースがスライドの一方に残っている状態で、慎重に滑らせて離した。このスライド上に、最終C.エレガンス溶液のアリコート(15～20μL)を載せた。これに、20mMアジ化ナトリウム溶液(5μL)を添加して線虫可動性を阻害した。次いで、ワセリンをアガロース領域の周りに置いた後、第2のスライドを戻して置いた。スライドを押し固めなかった。
【０７８８】
次いで、浜松ホトニクス株式会社Orca-ER(CA 742-95)カメラと共にZeiss社Axiskop 2 Plus顕微鏡を使用して、線虫を分析した。MacオペレーティングシステムでOpenLabを使用して画像を解像した。
【０７８９】
取り込み試験は、コンジュゲートの構造に対する変化によって、C.エレガンスへの取り込みが最適化され、蓄積の位置が変化し得ることを実証している。これを、例として以下に記載される化合物を使用して示す。
【０７９０】
C.エレガンスにおける色素取り込み
化合物1～11を、C.エレガンスについて記載される一般的な取り込みプロトコルを使用して、50μM濃度で、3時間及び一晩のインキュベーション後に評価した。
【０７９１】
化合物1- (R)-t-kCJ-BODIPY
3時間のインキュベーション後、化合物1を、成虫段階と幼虫段階の両方の咽頭、腸管内腔及び腸細胞で観察することができた。これは、3時間のインキュベーション期間後、化合物2～8と比較して観察された最大の取り込みであった。20時間のインキュベーション後、強力な蛍光が、成虫と幼虫の両方の咽頭、腸管内腔及び腸細胞に局在化していた。
【０７９２】
化合物2- (R)-c-kCJ BODIPY
3時間のインキュベーション後、微量の化合物2が、幼虫段階の咽頭、腸細胞及び腸管内腔で観察された。成虫はスライド上に存在しなかった。20時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫の腸細胞、腸管内腔、及びより少ない程度で咽頭内に局在化していた。
【０７９３】
化合物3- (S)-t-kCJ BODIPY
3時間のインキュベーション後、化合物3が、幼虫段階の咽頭、腸細胞及び腸管内腔に存在していた。取り込みは、活発な取り込みと一致するエナンチオマー類似体化合物1よりもはるかに程度が低かった。成虫では、蛍光が咽頭、腸細胞及び腸管内腔で検出された。蛍光は、卵発生の初期段階にも存在していた。一晩のインキュベーション後、蛍光が、幼

虫の咽頭、腸細胞及び腸管内腔内で見えた。
【０７９４】
化合物4- (S)-c-kCJ BODIPY
3時間のインキュベーション後、微量の化合物4が、幼虫段階の腸細胞に存在していた。20時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫段階の咽頭及び腸細胞、並びに卵発生の初期段階で検出された。
【０７９５】
化合物5- (R)-t-dCJ BODIPY
3時間のインキュベーション後、少量の化合物5が、幼虫段階の腸細胞及び腸管内腔、並びに成虫線虫の咽頭、腸管内腔及び腸細胞に存在していた。化合物5は胚で検出されなかった。20時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫段階と成虫段階の両方の咽頭、腸細胞及び腸管内腔に残っていた。蛍光は、卵発生の初期段階でも検出されたが、胚では検出されなかった。
【０７９６】
化合物6- (R)-c-dCJ BODIPY
3時間のインキュベーション後、化合物6が、幼虫段階の腸細胞及び腸管内腔、並びにより少ない程度に咽頭で見えた。成虫では、蛍光が、咽頭、腸管内腔及び腸細胞に位置していた。蛍光は、胚では観察されなかった。取り込みは、活発な取り込みと一致するエナンチオマー類似体化合物8よりも程度がはるかに低かった。20時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫の腸管内腔及び腸細胞、並びにより少ない程度で咽頭に存在していた。蛍光は、成虫の咽頭、腸細胞及び腸管内腔、並びに卵発生の初期段階にも存在していた。蛍光は、胚では観察されなかった。
【０７９７】
化合物7- (S)-t-dCJ BODIPY
3時間のインキュベーション後、少量の化合物7が、幼虫の腸細胞及び腸管内腔で見えたが、咽頭では見えなかった。成虫では、蛍光が、腸管内腔及び腸細胞、並びにより少ない程度で咽頭に位置していた。20時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫段階の腸細胞、腸管内腔に存在していたが、咽頭には存在しなかった。蛍光は、成虫の腸管内腔、腸細胞、及びより少ない程度に咽頭でも検出された。蛍光は、卵発生の初期段階にも位置していた。
【０７９８】
化合物8- (S)-c-dCJ BODIPY
3時間のインキュベーション後、化合物8が、幼虫の腸細胞及び腸管内腔、並びにより少ない程度に咽頭で見えた。これは、3時間のインキュベーション期間後、化合物1～7と比較して観察された2番目に大きな取り込みであった。成虫では、蛍光が、咽頭、腸管内腔、腸細胞及び卵で観察された。20時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫の咽頭、腸管内腔及び腸細胞に存在していた。成虫では、蛍光が、咽頭、腸管内腔及び腸細胞で検出されたが、胚では検出されなかった。
【０７９９】
化合物9- パントテン酸BODIPY
3時間のインキュベーション後、微量の化合物9が、幼虫線虫と成虫線虫の両方の腸細胞、及びより少ない程度に咽頭で見えた。20時間のインキュベーション後、少量の蛍光を、幼虫段階と成虫段階の両方の腸細胞で検出することができた。両方の場合で、蛍光の量は、エナミド誘導体、化合物1～8よりも低かった。
【０８００】
化合物10- ケタールパントテン酸BODIPY
3時間のインキュベーション後、微量の化合物10が、幼虫の腸細胞及び腸管内腔で検出された。化合物10は、より少ない程度に幼虫の咽頭でも見えた。成虫はスライド上に存在しなかった。20時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫段階の腸細胞、及びより少ない量で咽頭で見えた。20時間後に存在する蛍光の量は、最も少ない取り込みを示す

エナミド化合物と同等であった。
【０８０１】
化合物11- BODIPYアジド
BODIPY11に曝露された蠕虫は、腸管内腔及び腸細胞に集中した、わずかな蛍光を3時間後に示し、20時間のインキュベーション後でさえ蛍光の有意な増加はなかった。
【０８０２】
C.エレガンスにおけるプラジカンテル取り込み
コンジュゲートが薬物プラジカンテルの取り込みを改善する能力を比較するために、2つのプラジカンテル誘導体を調製した。プラジカンテルをBODIPY蛍光タグでタグ付けし(化合物12)、本発明のコンジュゲートに組み込んだ(化合物13)。化合物12及び13を、化合物1～11について上に記載されるC.エレガンス取り込みプロトコルを使用して、50μMの濃度で評価した。3時間、24時間及び72時間後に顕微鏡読み取りをした。
【０８０３】
化合物12- プラジカンテルBODIPY
3時間のインキュベーション後、化合物12は、弱く、C.エレガンス幼虫の咽頭及び腸細胞に、並びに成虫線虫によって、主に腸細胞、より少ない量で咽頭に取り込まれた。24時間のインキュベーション後、幼虫は取り込み増加を示さず、ごく少量の化合物12が咽頭及び腸細胞に位置していた。成虫線虫は採取した24時間試料に存在しなかった。72時間のインキュベーション後、幼虫の腸細胞のみが、少量の蛍光の存在を示した。成虫段階の場合、蛍光は、腸管内腔、腸細胞及び咽頭で見えた。線虫は、明らかな有害効果はなく生存可能なままであった。
【０８０４】
化合物13- プラジカンテル-BODIPYとのコンジュゲート
3時間のインキュベーション後、化合物13は、幼虫段階の咽頭、腸細胞及び腸管内腔に強力に位置していた。成虫線虫では、化合物13が、咽頭、腸細胞及び腸管内腔に強力に位置していたが、胚では見えなかった。20時間のインキュベーション後、化合物13の取り込みは、そのより大きな分子量にもかかわらず、化合物12と比較して3倍増加していた。24時間のインキュベーション後、化合物13は、幼虫の咽頭、腸細胞及び腸管内腔で強力に観察された。成虫線虫は、この時点でスライドに存在しなかった。72時間後、化合物13は、幼虫の咽頭、腸管内腔及び腸細胞で依然として強力に見えた。成虫線虫の場合、化合物13が、咽頭及び腸管内腔で強力に、並びに胚及び卵で見えた。線虫は、明らかな有害効果はなく生存可能なままであった。
【０８０５】
C.エレガンスにおけるタンパク質取り込み
PhiLOVタンパク質を含有するコンジュゲートをC.エレガンスに対して試験した。
【０８０６】
化学的連結及び精製実験からM9緩衝液中の有効なPhiLOVタンパク質コンジュゲートを得た。添加するM9緩衝液の量は、必要な最終濃度によって決定した。線虫(分析するタンパク質試料当たり30～40匹)を選び取り、タンパク質溶液に添加し、得られた懸濁液を、線虫維持のためにOP50大腸菌溶液で処理した。線虫懸濁液を暗所中20℃でインキュベートし、アルミ箔で覆った。
【０８０７】
アリコート(10～25μL)を24時間、48時間及び72時間で採取し、各時点で新たなエッペンチューブに移し、M9緩衝液(200μL)で希釈した。新たな懸濁液を氷に入れ(1～2分)、次いで、10000rpmで1分間遠心分離した。上清を除去し、濃縮した線虫を再度洗浄した(2×200μL)。最後の洗浄で、残留体積(約30μL)の線虫を残した。
【０８０８】
顕微鏡試験のために、水中1.5%アガロース溶液を、標準的な家庭用電子レンジ(パワー4)で1～1.5分間加温した。アガロース溶液2滴をスライドガラス上に載せ、別のスライドガラスで覆った。1分後、2つのスライドを、慎重に引き離した。アガロースが残ってい

るスライド上に、15～20μLの最終C.エレガンス溶液を載せた。これに、20mMアジ化ナトリウム溶液(5μL)を添加して線虫可動性を阻害した。

【０８０９】

ワセリンをアガロース領域の周りに置いた後、トップカバースリップを戻して置いた。カバースリップを押し固めなかった。次いで、浜松ホトニクス株式会社Orca-ER(CA 742-95)カメラを使用してZeiss社Axiskop 2 Plus顕微鏡を使用して、線虫を分析した。MacオペレーティングシステムでOpenLabを使用して画像を解像した。

【０８１０】

給餌目的で2μLのOP50細菌を添加して、給餌を48時間後に繰り返し、蠕虫インキュベーションを暗所中2℃で続けた。

【０８１１】

上記のアプローチを使用して、11種のタンパク質コンジュゲートを、phiLOVタンパク質を線虫に送達する能力について試験した。結果は、コンジュゲートが、大きな生物学的分子を線虫の異なる部分に送達することができることを示している。送達の位置及び有効性は、化合物P1～P11(陰性対照、化合物1を使用した陽性対照及び非タグ付きphiLOVタンパク質対照を含む)によって示されるように、送達ビヒクルに対する小さな構造修飾によって調節することができる。

【０８１２】

陰性対照-M9緩衝液

M9緩衝液のみとの24時間のインキュベーション後、幼虫段階と成虫段階の両方のC.エレガンスが、腸細胞において少量の細胞自家蛍光を示した。48時間及び72時間後、自家蛍光レベルの変化はなかった。72時間の時点で、成虫線虫は死亡していた。

【０８１３】

陽性対照- 化合物1-(R)-t-kCJ BODIPY

化合物1との24時間のインキュベーション後、成虫段階と幼虫段階の両方のC.エレガンスの咽頭、腸管内腔及び腸細胞で蛍光を観察することができた。48時間及び72時間のインキュベーション後、蛍光は、成虫と幼虫の両方の咽頭、腸管内腔及び腸細胞に依然として局在化していた。72時間の時点で、成虫線虫は死亡していた。

【０８１４】

タンパク質対照-phiLOVタンパク質

非タグ付きphiLOVタンパク質(236μMの濃度で使用される13kDaタンパク質)との24時間のインキュベーション後、少量の蛍光が、成虫段階の咽頭で見えたが、幼虫段階には蛍光は存在しなかった。48時間及び72時間後、幼虫段階に変化はなかった(すなわち、蛍光は見えなかった)。成虫段階の咽頭における少量の蛍光も識別できる変化を示さなかった。

【０８１５】

化合物P1

タンパク質コンジュゲートP1(305μM)との24時間のインキュベーション後、幼虫段階の腸細胞の自家蛍光のみ検出することができた。成虫では、少量のタンパク質が咽頭に位置していた。タンパク質コンジュゲートP1との48時間のインキュベーション後、幼虫段階の咽頭及び腸細胞で蛍光を観察することができた。少量の蛍光が腸管内腔でも見えた。成虫はスライド上に存在しなかった。72時間後、蛍光レベルは変化しないままであった。

【０８１６】

化合物P2

コンジュゲートP2(305μM)との24時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫段階の咽頭並びに腸管内腔で観察された。少量の蛍光が腸細胞でも見えた。タンパク質コンジュゲートP2は、非タグ付きタンパク質対照と比較して取り込みの有意な改善を示さなかった。成虫段階はスライド上に存在しなかった。48時間のインキュベーション後、幼虫段階は、咽頭、腸細胞及び腸管内腔における蛍光の量の増加を示した。成虫段階は、咽頭及び腸管内腔における蛍光の局在化を示した。72時間後、蛍光は、幼虫の咽頭、腸管内腔

及び腸細胞に局在化したままであった。成虫では、蛍光が咽頭及び腸管内腔で観察された。

【０８１７】

化合物Ｐ３

タンパク質コンジュゲートＰ３(３０５μＭ)との２４時間のインキュベーション後、少量の蛍光が、幼虫段階の咽頭及び腸管内腔で見えた。成虫段階では、蛍光が、咽頭、腸管内腔及び腸細胞で見えた。４８時間のインキュベーション後、蛍光の量の有意な増加が幼虫の咽頭、腸細胞、及びより少ない程度に腸管内腔で検出された。成虫では、蛍光の増加が咽頭及び腸管内腔で見られた。７２時間のインキュベーション後、蛍光が、より高齢の幼虫段階の咽頭、腸管内腔及び腸細胞で見えた。成虫段階は、腸管内腔及び腸細胞で蛍光を示した。

【０８１８】

化合物Ｐ４

タンパク質コンジュゲートＰ４(３０５μＭ)との２４時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫の咽頭、腸管内腔、及びより少ない程度に腸細胞で見えた。成虫では、蛍光が、咽頭、腸管内腔及び腸細胞で観察された。タンパク質コンジュゲートＰ４は、非タグ付きタンパク質対照と比較して取り込みの有意な改善を示さなかった。４８時間のインキュベーション後、蛍光は、幼虫の咽頭及び腸管内腔に存在していた。成虫では、蛍光が、咽頭及び腸管内腔に存在していた。７２時間のインキュベーション後、幼虫段階の咽頭及び腸管内腔には極めて大量の蛍光が存在しており、腸細胞にはより少ない量の蛍光が存在していた。成虫では、蛍光が、腸細胞、腸管内腔及び咽頭で明らかに見えた。

【０８１９】

化合物Ｐ５

タンパク質コンジュゲートＰ５(３０５μＭ)との２４時間のインキュベーション後、蛍光が、幼虫の腸管内腔及び腸細胞に存在していた。成虫では、腸管内腔、及びより少ない程度に咽頭で蛍光を観察することができた。４８時間のインキュベーション後、幼虫の腸細胞及び腸管内腔、並びにより少ない量で咽頭で蛍光を見ることができた。成虫はスライド上に存在しなかった。７２時間後、幼虫の腸管内腔及び腸細胞で蛍光を可変量で観察することができた。幼虫の咽頭ではタンパク質を検出することができなかった。成虫はスライド上に存在しなかった。

【０８２０】

化合物Ｐ６

タンパク質コンジュゲートＰ６(３０５μＭ)との２４時間のインキュベーション後、成虫段階又は幼虫段階のいずれにおいても、内因性自家蛍光しか観察することができなかった。４８時間のインキュベーション後、蛍光は、より若い幼虫の腸管内腔及び腸細胞並びに咽頭に存在していた。成虫では、蛍光が腸管内腔で観察された。７２時間後、蛍光は、幼虫段階の腸管内腔に存在していた。成虫はスライド上に存在しなかった。

【０８２１】

より高濃度のタンパク質コンジュゲートＰ６(４３５μＭ)では、２４時間後に幼虫の咽頭及び腸管内腔で低い蛍光が見られた。２４時間後、成虫では内因性自家蛍光のみを見ることができた。４８時間後、幼虫は、咽頭、腸管内腔及び腸細胞で少量の蛍光を依然として示した。成虫はスライド上に存在しなかった。７２時間後、幼虫は、腸細胞及び腸管内腔で少量の蛍光を示した。成虫はスライド上に存在しなかった。

【０８２２】

化合物Ｐ７

タンパク質コンジュゲートＰ７(３０５μＭ)との２４時間のインキュベーション後、蛍光は幼虫の腸管内腔に存在していた。成虫段階の場合、蛍光は、腸細胞、及びより少ない程度で咽頭に存在していた。４８時間のインキュベーション後、幼虫の腸管内腔及び腸細胞、並びにより若い段階の幼虫の咽頭で蛍光を観察することができた。成虫はスライド上に存在しなかった。７２時間のインキュベーション後、蛍光は、幼虫段階の腸管内腔及び腸細胞

で見えた。成虫はスライド上に存在しなかった。
【０８２３】
より高濃度のタンパク質コンジュゲートP7(435μM)では、24時間のインキュベーション後に幼虫の腸管内腔、及びより少ない程度に咽頭で蛍光が見えた。成虫では、24時間後に腸管内腔、及びより少ない量で咽頭で蛍光が検出された。48時間のインキュベーション後、幼虫は、腸管内腔で、及びより少ない程度に咽頭で高レベルの蛍光を示した。成虫はスライド上に存在しなかった。72時間後、幼虫段階の腸管内腔に高レベルの蛍光が存在していた。幼虫の咽頭では少量の蛍光が見えた。成虫はスライド上に存在しなかった。
【０８２４】
化合物P8
タンパク質コンジュゲートP8(305μM)との24時間のインキュベーション後、幼虫の腸細胞で少量の蛍光が観察された。成虫の咽頭にも少量の蛍光が存在していた。タンパク質コンジュゲートP8は、タンパク質コンジュゲートP11と比較して有意に減少した取り込みを示した。48時間後、幼虫段階の腸管内腔及び腸細胞で少量の蛍光を検出することができた。成虫はスライド上に存在しなかった。72時間後、幼虫段階の腸管内腔及び腸細胞に低レベルの蛍光が残っていた。成虫はスライド上に存在しなかった。
【０８２５】
より高濃度のタンパク質コンジュゲートP8(435μM)では、24時間後に、幼虫の腸管内腔、及びより少ない程度に咽頭で蛍光が見えた。24時間のインキュベーション後、成虫の腸管内腔で、及びより少ない程度に咽頭で蛍光が観察された。タンパク質コンジュゲートP8は、タンパク質コンジュゲートP11と比較して有意に減少した取り込みを示した。48時間のインキュベーション後、幼虫の腸管内腔で蛍光が見え、腸細胞では可変量、咽頭では低い分布であった。成虫では、咽頭及び腸管内腔で蛍光を見ることができた。72時間後、幼虫は、腸管内腔、及びより少ない程度に咽頭で蛍光の存在を示した。成虫はスライド上に存在しなかった。
【０８２６】
化合物P9
タンパク質コンジュゲートP9(305μM)との24時間のインキュベーション後、幼虫の腸管内腔及び成虫の咽頭で少量の蛍光が見えた。48時間のインキュベーション後、幼虫段階と成虫段階の両方の腸管内腔及び腸細胞で蛍光を観察することができた。72時間のインキュベーション後、蛍光は、若い幼虫の腸管内腔及び腸細胞に存在していた。成虫の咽頭、腸細胞及び腸管内腔でも蛍光を見ることができた。
【０８２７】
高濃度のタンパク質コンジュゲートP9(435μM)での24時間のインキュベーション後、幼虫の腸管内腔で蛍光を見ることができた。成虫はスライド上に存在しなかった。48時間のインキュベーション後、幼虫段階の腸管内腔で蛍光の増加が観察された。成虫はスライド上に存在しなかった。72時間のインキュベーション後、幼虫は、腸管内腔でのタンパク質取り込みを示し、咽頭及び腸細胞ではより少量であった。成虫はスライド上に存在しなかった。
【０８２８】
化合物P10
タンパク質コンジュゲートP10(305μM)との24時間のインキュベーション後、蛍光は幼虫の腸管内腔に存在していた。成虫の咽頭でも低い蛍光が検出された。48時間後、幼虫は、腸管内腔及び腸細胞で高レベルの蛍光を示した。蛍光は、成虫の腸管内腔でも見えた。72時間後、蛍光は、幼虫の腸細胞、腸管内腔、及びより少ない程度に咽頭で見えた。成虫はスライド上に存在しなかった。
【０８２９】
高濃度のタンパク質コンジュゲートP10(435μM)では、24時間後、幼虫段階の腸細胞及び腸管内腔で蛍光を見ることができた。成虫の場合、低い蛍光が咽頭で見えた。48時

間のインキュベーション後、幼虫は、腸細胞及び腸管内腔で蛍光を示し、咽頭ではより少ない量であった。成虫では、蛍光が腸管内腔で見えた。72時間後、蛍光は、幼虫の腸細胞、腸管内腔及び咽頭に存在していた。成虫はスライド上に存在しなかった。

【０８３０】

化合物P11

タンパク質コンジュゲートP11(267μM)との24時間のインキュベーション後、幼虫の腸管内腔、及びより少ない程度に咽頭で蛍光が見えた。タンパク質コンジュゲートP11は、非タグ付き対照及び化合物P8と比較して、取り込みの有意な改善を示した。このことは、タンパク質コンジュゲートP11が、蠕虫に能動的に輸送されており、単に蠕虫によって摂取されているのではないという仮説を支持している。成虫段階では、咽頭、及びより少ない量で腸管内腔で蛍光が観察された。48時間のインキュベーション後、幼虫は、腸管内腔及び腸細胞で蛍光を示し、咽頭ではより少ない量であった。成虫での蛍光は、腸管内腔、及びより少ない量で咽頭に位置していた。72時間後、幼虫段階は、腸細胞、腸管内腔、及びより少ない量で咽頭で蛍光を示した。成虫はスライド上に存在しなかった。

【０８３１】

熱帯熱マラリア原虫試験

10% Albumax II血清(Thermo Fisher社)を含有するRPMI 1640の完全培地(Thermo Fisher社)を使用して、熱帯熱マラリア原虫を培養した。試験に使用した化合物は、DMSO中100mM溶液として調製し、完全培地を使用して適切な濃度に希釈した。試験のために、それぞれ50μLの血液と200μLの血清を含有する適切な数のウェルを含む96ウェルプレートを使用した。寄生虫血症範囲は約3～5%とした。各ウェルについて、血清を除去し、試験する化合物を含む等体積の血清で置き換えた。次いで、96ウェルプレートを96% N_2、3% CO_2及び1% O_2の雰囲気下、37℃で45分間インキュベートした。この後、細胞を2209rpmでの遠心分離を介して濃縮した。培地を除去し、細胞を別の200μLの新鮮な血清で再懸濁した。細胞を遠心分離し、更に2回このように洗浄した。最後の洗浄後、約5～10μLの血液をスライドに載せ、カバースリップを上に載せて血液を塗抹した。次いで、スライドの縁をマニキュアで密封して、確実に細胞が画像化前に含有されているようにした。Zeiss社Axioplan 2顕微鏡システムを使用してスライドを分析し、FITC蛍光フィルタと共にVolocity 3D Image Analysisソフトウェアを使用して画像を撮像した。

【０８３２】

化合物1、5、9、10及び11を、25μM濃度で、同期化段階と混合段階の両方の培養物で取り込みについて試験した。予想通り、化合物11は、拡散制御機構であると思われるものを通して、すべての赤血球(感染と非感染の両方)に拡散した。化合物1は、すべての培養物において感染赤血球にも非感染赤血球にも取り込まれなかった。しかしながら、化合物5は、感染赤血球によって選択的に取り込まれ、蛍光化合物が寄生生物自体に蓄積した(すなわち、化合物が感染赤血球中の寄生生物に内部移行した)。化合物10は、目に見える程度には取り込まれなかったが、化合物9は、感染赤血球と非感染赤血球の両方によって極めて迅速に取り込まれ、2つの赤血球のセット間の取り込みの差は極めてわずかであった。

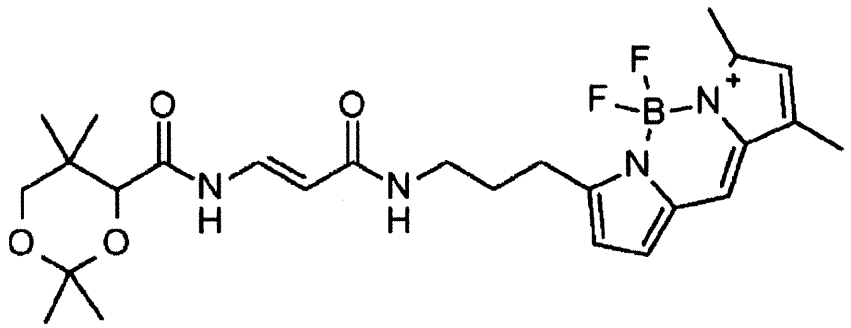
【０８３３】

更なる熱帯熱マラリア原虫試験

以下に示されるBODIPY類似体-アミドコンジュゲート310を、HPLCを介して部分的に精製した。

【０８３４】

【化１２１】



【０８３５】
次いで、化合物を、２５μＭの濃度で、５０μＬアリコートの栄養体感染赤血球(栄養体段階の熱帯熱マラリア原虫)と４５～６０分間インキュベートした。栄養体段階の寄生生物は、そのサイズのために、蛍光顕微鏡下で画像化すると最良の結果を与えた。インキュベーション後、試料を遠心分離し、上清を除去した。細胞を適切な緩衝液で洗浄して、溶液中の化合物から生じるバックグラウンド蛍光を除去した。次いで、スライドを、洗浄した生きた細胞から調製し、Applied Precision社DV Elite顕微鏡システムで蛍光顕微鏡法を使用して調べた。倒立顕微鏡及び油浸１００倍対物レンズを使用した。CoolSNAP_HQ2/HQ2-ICX285カメラを使用して画像を撮像し、ソフトWoRxバージョン5.5を使用して取得した。
【０８３６】
画像は、化合物が、感染赤血球中の寄生生物に蓄積していることを示す。健康な赤血球については、蛍光は存在しないので、おそらくは健康な細胞が感染した際に作り出される新たな透過経路(NPP)(Salibaら及びKirkら参照)を通した取り込みのために、健康な細胞と感染細胞との間に選択性が存在する。蛍光は、寄生生物の消化胞には存在しないが、サイトゾルの全体にわたって存在する。
【０８３７】
サイトゾル内に、高コンジュゲート濃度の領域を示す高い蛍光のスポットが観察可能であることも分かる。例を図1に示す。
【０８３８】
トリパノソーマ・ブルセイ試験
10% Albumax II(Thermo Fisher社)血清を含有するRPMI 1640の完全培地(Thermo Fisher社)を使用して、T.ブルセイを培養した。試験用の化合物は、ＤＭＳＯ中１００ｍＭ溶液として調製し、完全培地を使用して適切な濃度に希釈した。試験のために、それぞれ２００μＬの血清とトリパノソーマを含有する適切な数のウェルを含む96ウェルプレートを使用した。各ウェルについて、血清を除去し、試験する化合物(１０～２５μＭ)を含む等体積の血清で置き換えた。次いで、96ウェルプレートを96% N_2、3% CO_2及び1% O_2の雰囲気下、37℃で45分間インキュベートした。この後、トリパノソーマを2209rpmでの遠心分離を介して濃縮した。培地を除去し、細胞を別の２００μＬの新鮮な血清で再懸濁した。トリパノソーマを遠心分離し、更に2回このように洗浄した。最後の洗浄後、約５～１０μＬの血清をスライドに載せ、カバースリップを上に載せた。次いで、スライドの縁をマニキュアで密封して、確実に細胞が画像化前に含有されているようにした。Deltavisionデコンボリューション顕微鏡システムを使用してスライドを分析した。
【０８３９】
T.ブルセイにおける化合物5及び9の取り込みを試験した。
【０８４０】
画像は、化合物5が、T.ブルセイによって取り込まれ、トリパノソーマ体の至る所に小型

小胞を形成するが、リソソームにも核にも蓄積せず、鞭毛嚢とリソソームとの間の小胞に蓄積することを示唆している。

【０８４１】

他方、化合物9は、化合物5よりもはるかに迅速に、はるかに高濃度で取り込まれる。化合物9も細胞の全体にわたって広がっているが、ミトコンドリア又は小胞体により高濃度の領域を有するように見える。

【０８４２】

タイレリア・アンヌラタ試験

10% Albumax II(Thermo Fisher社)血清を含むRPMI 1640を使用して、T.アンヌラタを培養した。標準的な血球計数器を使用して、親培養物中の細胞の濃度を計算した。培養物をRPMI 1640で2×10^5細胞/mLに希釈した。試験する各化合物及び濃度について、2mLの培養物を1000rpmで5分間遠心分離した。培地を除去した後、細胞を、所望の濃度の試験する化合物を含有する950μLの完全培地に再懸濁した。これを化合物のDMSO中100mMストック溶液から調製した。細胞が再懸濁したら、5ウェルプレート(1mL容量/ウェル)に移した。次いで、これらを、空気中5% CO_2の雰囲気で、37℃で1時間インキュベートした。インキュベーションが完了した後、各ウェルの内容物を10mL遠心管に移した。冷RPMI 1640(Thermofisher社)又はHBSSを添加して体積5mLとした。次いで、懸濁液を1000rpm及び4℃で5分間遠心分離した。次いで、上清を除去し、細胞を更に2回このように洗浄した。最後の洗浄後、細胞のペレットを最小量のRPMI 1640に再懸濁し、次いで、スライドガラス上にスポッティングした。次いで、スライドをカバースリップで覆い、Spot RT3カメラを備えたOlympus社BX60 UV顕微鏡システム及びFITC蛍光フィルタとSpot Imageソフトウェアを使用して分析した。

【０８４３】

T.アンヌラタにおける化合物1、5、9、10、11の取り込みを試験した。画像は、化合物5及び9がT.アンヌラタによって取り込まれることを示唆している。化合物9はより迅速に取り込まれ、感染リンパ球中にも存在するにもかかわらず、蛍光を低濃度で検出することができる。他方、化合物5は、細胞内寄生生物に選択的に蓄積している。化合物11は無差別に拡散したが、化合物1及び10は極めて限られた取り込みを示した。

【０８４４】

細菌試験

LB培地(Thermo-Fisher社)に所望の細菌を接種し、空気雰囲気下37℃で一晩インキュベートすることによって、細菌を培養した。次いで、OD_{600}を測定し、ここから細菌の濃度を計算した。次いで、培養物を適切に希釈して2×10^5細胞/mLの濃度にした。1mLのこの培養物を5mL遠心管に入れ、次いで、13000rpmで5分間遠心分離した。上清を除去し、1mLの化合物の培地中25μM溶液で置き換えた。培養物を37℃で45分間インキュベートした。培養物を前のように遠心分離し、上清を除去し、ペレットを1mLのPBSに再懸濁した。細胞をさらに2回このように洗浄した。最後の洗浄後、ペレットを35μLの水に再懸濁し、スライド上にスポッティングした。次いで、スライドをカバースライドで保護した後、FITC蛍光フィルタとLeica社画像化分析ソフトウェアを用いてOlympus社UV顕微鏡システムを使用して分析した。

【０８４５】

細菌培養物の場合、化合物5をすべての場合で試験した。取り込みはグラム陰性菌とグラム陽性菌の両方の場合で見られた。

【０８４６】

細胞毒性

本発明のコンジュゲートは、パントテネート及びCJ-15801に基づく。前者は必須ビタミンであり、ヒト対象においてインビボで忍容性が認められる。

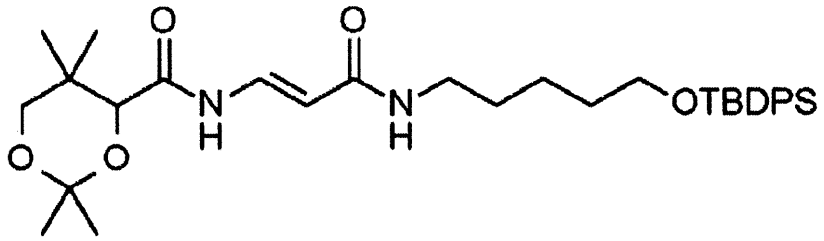
【０８４７】

コンジュゲートの細胞毒性は、以下に記載される方法を使用してHEK細胞に対して測定され得る。

【０８４８】
試料化合物を、１００μＭで、Greiner社384 cell starプレート中、ヒト胚性腎細胞(HEK293)と24時間インキュベートした後、発光出力を与える細胞生存率の指示薬であるCellTitre-Glo(登録商標)(Promega社)を添加した。このアッセイでは、１００μＭで実行した2回の試験にわたって40％超の細胞毒性を示す化合物を、細胞毒性を示したとみなす。

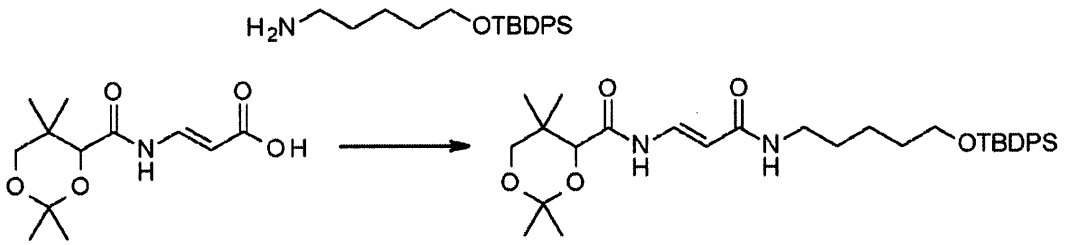
【０８４９】
興味深いことに、以下に示される代表的な化合物は、１００μＭ濃度で、3.7±0.6％で、スクリーニングにおいて不活性であった。

【０８５０】
【化１２２】



【０８５１】
上記の化合物は、ヘキサフルオロホスフェートベンゾトリアゾールテトラメチルウロニウム(HBTU)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)、CH_2Cl_2を使用して、μＷ 80℃で、2.5時間で、以下に示されるように調製され得る。収率は58％であった。

【０８５２】
【化１２３】



【０８５３】
親担体を、雌CD1マウスミクロソームで固有クリアランスについて試験したところ、1.0mL/分/g肝臓のクリアランスを示した。ここで、担体は、アミド結合を有するCJ-15801フレームワークである。

【０８５４】
ロトマリア・パッシム試験
ここ数年、蜂群崩壊症候群が、ミツバチ生存にとって重要な課題の1つとなっている。セイヨウミツバチ(アピス・メリフェラ(Apis mellifera))は、農業、並びに病原体及び共生生物を特定するための生物モデルにおいて重要な役割を果たしてきた。キネトプラスト綱に属する、ロトマリア・パッシム(L.パッシム)は、世界中でミツバチにおける主な寄生生物として出現している(Schwarzら、Ravoetら及びPaxtonら)。

【０８５５】
寄生生物取り込み試験(BODIPY FLとカップリングしたCJ-15801及びパントテン酸誘導体)
BODIPY誘導体の100mMストック溶液を、ジメチルスルホキシド(DMSO)を用いて調製

した。L.パッシム株PRA-403(ATCC)をC.ボンビについての修正培地(Tognazzoら)で培養した。寄生生物培養物を遠心分離し、上清を除去し、化合物(BODIPY誘導体について最終濃度500、100、10又は1μM)又はDMSO(0.1%)対照を含む500μLのL.パッシム培地を添加した。室温で45分間インキュベートした。インキュベーション後、試料を遠心分離し、ペレットをPBS(3×500μL)で洗浄し、試料をスライドに移し、蛍光顕微鏡(NIKON社ECLIPSE Ni)によって観察した、又は100μL添加して96ウェルマイクロプレートに移し、Varioskan LUX若しくはBio Tek社顕微鏡リーダーを使用して蛍光強度を測定した。

【０８５６】

ミツバチ腸取り込み試験(BODIPYとカップリングしたCJ-15801及びパントテン酸誘導体)

ミツバチ(A.メリフェラ)の巣箱を入手し、春～秋まで自由に摂食させた。冬の期間中、十分な食餌を提供するために、50%(v/v)スクロースと混合した花粉をミツバチの巣箱に与えた。ミツバチを解剖し、素嚢、中腸及び直腸を含む消化管系を取り出し、100μM最終濃度にPBSで希釈した試験試料又はDMSO(0.1%)対照である500μLの送達ビヒクルに直ちに添加した。混合物を33℃で45分間インキュベートした。インキュベーション後、試料を遠心分離し、腸をPBS緩衝液(3×500μL)で洗浄し、試料をスライドに移し、蛍光顕微鏡(NIKON社ECLIPSE Ni)によって観察した。

【０８５７】

結果-寄生生物取り込み試験

CJ-BODIPY誘導体のセットを、10μM及び500μMで、L.パッシム株PRA-403で試験し、室温で45分間インキュベートした。インキュベーション後、試料を蛍光顕微鏡法で分析した。500μMの(R)-trans-ケタール2で処理した寄生生物は、寄生生物のサイトゾルで蛍光を示し、誘導体が蛍光ドットを形成した。他方、10μMのジオール誘導体(S)-cis-ジオール8とインキュベートした寄生生物は、細胞膜を囲む蛍光を示したが、細胞質では示さなかった(図3)。

【０８５８】

取り込み試験を、1μM及び100μMの最終濃度のCJ-BODIPY誘導体で実施した。室温で45分間のインキュベーション後、マイクロプレートリーダーを使用して蛍光強度を評価した。定量的結果は蛍光顕微鏡所見を確認し、ケタール誘導体の優先的取り込みを示唆した。誘導体2は試験した全ての化合物の中でも最高の読み取りを示したが、誘導体4は最低量の取り込みの1つを示した。化合物1は、1μMで誘導体2の蛍光の約4分の1を示した。化合物5及び8は、比較的低い取り込みを有していた(図4)。

【０８５９】

結果-腸取り込み試験

ミツバチ成虫の消化管系(素嚢、中腸及び直腸)を取り出し、100μMの誘導体1、2、8及び11と33℃で45分間インキュベートした。誘導体2、8は中腸及び直腸でわずかな蛍光を示したが、素嚢では何も示さなかった。化合物2は、腸の表面上に局在化しているが、その内側にはない。BODIPY11で処理した腸は自家蛍光のみを示した。誘導体1とのインキュベーションは、中腸及び直腸での高い蛍光をもたらしたが、素嚢にはもたらさなかった(図5)。

【０８６０】

理論によって拘束されることを望むものではないが、結果は、100μM未満の濃度の誘導体を使用することで、ハチの消化管系の外側への試験化合物の分布の可能性が低減され、化合物が寄生生物の近くに維持されることを示唆している。

【０８６１】

よって、これらの誘導体は、ミツバチの消化管系を通した最小の透過性で、分子をロトマリア・パッシムに送達するために適したツールとなるように思われる。

【０８６２】

バベシア・ボビス試験

B.ボビスは、タイレリア属と分類群を共有する原生動物寄生生物であり、感染赤血球内での洋ナシ形状の外観によりピロプラズマ(Piroplasmida)目に位置する。バベシア属は、二分裂によって繁殖し、染色した感染赤血球中での2つ組又は4つ組の特徴的な存在を引き起こす。2つの種、B.ボビス及びB.ビゲミナ(B.bigemina)が、畜産業において相当な経済的影響を引き起こしている(Yamagishiら)。

【０８６３】

B.ボビスにおける短期試験(BODIPY FL及びphiLOV(R475G、K476C)とカップリングしたCJ-15801及びパントテン酸誘導体)

送達ビヒクルの100mMストック溶液を、DMSOを用いて調製した。B.ボビスのテキサス株(長崎大学から供給)を、微好気性定常培養系(Borkら)によって、10%ウシ赤血球(RBC)を含むGIT培地(Kohjin-bio Co社)で培養した。寄生生物培養物を遠心分離し、GIT培地で1回洗浄した。RBCをペレットダウンし(pellet down)、20μlの感染RBC混合物(10μlの濃厚感染RBC+10μlのGIT)を調製した。次いで、評価する化合物(BODIPY誘導体については最終濃度25μM及びphiLOV誘導体については100μM)又はDMSO(0.1%)/PBS対照を含む180μlのGIT培地を添加した。試料を37℃で45分間インキュベートした。(試料をGIT培地中1μg/mL希釈Hoechst 33342で染色した)。インキュベーション後、試料を遠心分離し、ペレットをGIT培地(3×)で洗浄した。50%ヘマトクリット感染RBC混合物の最終溶液をスライドに移して、共焦点レーザー顕微鏡法(Nikon社A1)によって観察した。寄生虫血症のレベルを、血液薄層塗抹をGiemsa液で染色することによって監視した。

【０８６４】

B.ボビスにおけるFACS実験(phiLOV(R475G、K476C)とカップリングしたCJ-15801及びパントテン酸誘導体)

B.ボビスのテキサス株を、微好気性定常培養系(Borkら)によって、10%ウシ赤血球(RBC)を含むGIT培地(Kohjin-bio Co社)で培養した。寄生生物培養物を遠心分離し、GIT培地で1回洗浄した。RBCをペレットダウンし、20μlの感染RBC混合物(10μlの濃厚感染RBC+10μlのGIT)を調製した。次いで、試験化合物(最終濃度150～250μM)又はDMSO(0.1%)/PBS対照を含む180μlのGIT培地を添加した。試料を37℃で45分間インキュベートした。(試料を、GIT培地中20μMの最終濃度でDRAQ5を使用して染色した)。インキュベーション後、試料を遠心分離し、ペレットをGIT培地(3×)で洗浄し、FACS管に移して、BD FACSVerseによって分析した。

【０８６５】

B.ボビスにおける長期試験(phiLOV(R475G、K476C)とカップリングしたCJ-15801及びパントテン酸誘導体)

B.ボビスのテキサス株を、微好気性定常培養系(Borkら)によって、10%ウシ赤血球(RBC)を含むGIT培地(Kohjin-bio Co社)で培養した。寄生生物培養物を遠心分離し、GIT培地で1回洗浄した。RBCをペレットダウンし、20μlの感染RBC混合物(10μlの濃厚感染RBC+10μlのGIT)を調製した。次いで、試験化合物(phiLOV誘導体について最終濃度100又は5μM)又はDMSO(0.1%)/PBS対照を含む180μlのGIT培地を添加した。混合物を37℃で45分間インキュベートした。インキュベーション後、試料を遠心分離し、ペレットをGIT培地(3×)で洗浄した。次いで、180μLのGITを添加し、試料を37℃でインキュベートした。5時間及び48時間のインキュベーション後、試料を、GIT培地中200倍希釈Hoechst 33342(Thermofisher社)で染色し、50%ヘマトクリット感染RBC混合物をスライドに移して、共焦点レーザー顕微鏡法(Nikon社A1)によって観察した。24時間後、新鮮なGIT培地を試料に添加した。寄生虫血症のレベルを、血液薄層塗抹をGiemsa液で染色することによって監視した。

【０８６６】

結果

寄生生物(約5%寄生赤血球(PPE))を25μMの各誘導体と37℃で45分間インキュベートすることによって、取り込み実験を実施した。インキュベーション後、蛍光強度を共焦点

顕微鏡像から計算した。これらの画像を、C.エレガンスに適用したのと同じ手順(Millerら及びFrickerら)に従って、ImageJ 1.50bソフトウェアによって分析した(図6)。

【０８６７】

化合物1は、最高の取り込みを示し、誘導体3(50％弱)よりも有意に高かった。類似体2及び非タグ付きBODIPY対照11(90％弱)は、化合物1と比較してはるかに低い値を示した。他方、化合物5も、化合物1と比較して低い取り込み(30％弱)を示した。

【０８６８】

phiLOV二重変異体(R475G、K476C)を使用して誘導体P11、P1、P8及びP3を作製し、これらを、phiLOVを対照として使用して、B.ボビスのテキサス株で取り込みについて試験した。誘導体及び対照を100μM及び37℃で45分間インキュベートした。インキュベーション後、試料を、共染色としてHoeschst 33342(Thermofisher社)を使用して共焦点顕微鏡法で分析した。誘導体P3で処理した試料のみが、B.ボビスの特徴的なバイナリー型で蛍光取り込みを示した(図7)。

【０８６９】

別の試験で、誘導体P11、P1、P8及びP3、並びに対照としての非タグ付きphiLOVを、約9％の寄生赤血球(PPE)中、37℃で45分間のインキュベーションでインキュベートした。インキュベーション後、DRAQ5(Thermofisher社)を共染色として添加して、試料を選別した。FACS結果は共焦点所見と一致しており、誘導体P3が寄生生物内の有意な取り込み及び局在化を示した。

【０８７０】

5μM及び100μMのphiLOV官能化誘導体の存在下、B.ボビスに感染したRBCを45分間インキュベートすることによって、寄生生物増殖影響アッセイを実施した。初期PPEはそれぞれ約1％及び3％とした。曝露48時間後に試料を採取し、顕微鏡分析前にGiemsa液を使用してPPEを計算した。全ての誘導体が同様の細胞増殖を示し、対照と有意な差はなかった。寄生生物繁殖は、誘導体P3で処理したものを含む全ての培養物で同等のレベルに達し、長期実験における寄生生物に対する誘導体の非毒性を示した。

【０８７１】

マイコバクテリウム属試験

結核菌における取り込み試験(BODIPY FLとカップリングしたCJ-15801及びパントテン酸誘導体)

BODIPY誘導体化合物1～8及び10の20mg/mLストック溶液を、DMSOを用いて調製した。結核菌株H37Rv(クイーンズランド大学から供給)を遠心分離し、培地を除去し、ペレットをPBS/0.02％チロキサポールで再懸濁し、1mLアリコートをエッペンドルフチューブに移し、遠心分離し、上清を除去し、ペレットを1mLのBODIPY誘導体(最終濃度50μg/ml)で再懸濁し、撹拌しながら、光から保護して、室温で45分間インキュベートした。インキュベーション後、試料を遠心分離し、ペレットをPBS(3×100μL)で洗浄し、試料を96ウェルマイクロプレートに移して、マイクロプレートリーダー(Agilent社)で蛍光強度を評価した。25μLをスライドガラス上にスポッティングした後、加熱ブロック上90℃で10分間乾燥させた。細胞を、10％ホルマリンに30分間浸漬することによって固定した。次いで、スライドを風乾し、DAKO封入剤(Agilent社)で封入した後、蛍光顕微鏡法で観察した。

【０８７２】

結果

化合物のセットを、結核菌株H37Rvを使用して試験した。この株は、遺伝子操作が容易なために生物医学的目的で広く研究されてきたが、より重要なことには、細胞は結核の動物モデルにおいて完全な病原性及び薬物に対する感受性を保持している。

【０８７３】

上記のように、細菌を50μg/mL(約80μM)の化合物1～8、10及び対照PBS(リン酸緩衝生理食塩水)と室温で45分間インキュベートすることによって、取り込み実験を実施した。

【０８７４】
結果を図9に示す。
【０８７５】
結果は、エナミドケタール誘導体(化合物1～4)がエナミドジオール(化合物5～8)と比較して高い強度を示すこと、及びエナミドケタール誘導体のRエナンチオマー(化合物1及び2)がそのS対応物(化合物3及び4)よりも好ましいことを示した。化合物1及び2は、最高の蛍光シグナルを示し、化合物2は化合物1と比較しておよそ2.5倍高い強度を示した。興味深いことに、図9(b)の像に示されるように、細菌の形状は、化合物2の場合に明確であり、蛍光が極に局在化している。パントテン酸誘導体10は最小の取り込みを示した。
【０８７６】
線虫試験
線虫における取り込み試験(イベルメクチンB1a、イベルメクチンとカップリングしたパントテン酸誘導体及びBODIPY-イベルメクチン複合体)
マッセー大学の羊牧場から得た、野生型線虫(回虫、条虫及び吸虫)の混合培養物を、化合物14、化合物15及び対照としての市販のイベルメクチンB1aと、20時間インキュベートした。従ったプロトコルは、以前使用したC.エレガンスプロトコルと同じである。
【０８７７】
結果
化合物14は、市販のイベルメクチンB1aと比較して増強した線虫に対する活性を示した。化合物14で処理した線虫は、イベルメクチンB1aについての50μMと比較して、5μMで麻痺を示した。化合物15は、イベルメクチンB1aの活性プロファイルと同様の活性プロファイルを示した(図8)。
【０８７８】
参考文献

EP 0 068 485
US 9,108,942
WO 2012/064632
WO 2012/097454
WO 2019/060634

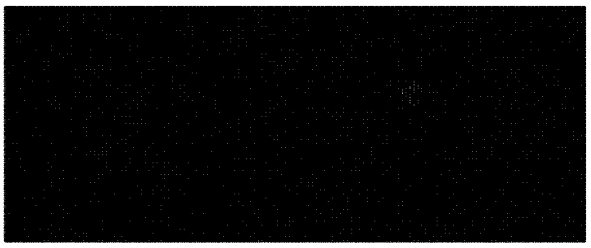
Akinnusi, T.O. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, 19, 2696.
Aragon *et al.*, *Mol. Biochem. Parasitol.* **2009**, 164, 57.
Bird *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.* **1955**, 3, 298.
Bork, S. *et al.*, *Parasitology.* **2005**, 130 (5), 489.
Clarke, K. M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 11234.
Date *et al.*, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2007**, 59, 505.
Fricker, G. *et al.*, *Pharm Res.* **1999**, 16 (10), 1570-5.
Gießler *et al.*, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2010, 3611.
Green and Wuts; 3rd Edition; John Wiley and Sons, 1999.
Han, C. *et al.*, *Org. Lett.* **2004**, 6, 28.
Kayser *et al.*, *Expert Opin. Investig. Drugs* **2003**, 12, 197.
Kirk, K. *et al.*, Transport and Trafficking in the Malaria infected Erythrocyte, pp 55-66. John Wiley & Sons, Chichester.
Landfear Clinical Pharmacology Therapeutics **2010**, 87, 122.
Ma *et al.*, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 6349.
Meier, J. L. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128 (37), 12174-12184.
Miller, D. S., *Am. J. Physiol.* **1995**, 269 (2 Pt 2), R370-9.
Paxton, R. J. *et al.*, *Journal of Apicultural Research.* **2010**, 49 (1), 80-84.
Ravoet, J. *et al.*, *Journal of Invertebrate Pathology.* **2015**, 130, 21-27.
Saliba, K.J., *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 10190.
Schwarz, R. S. *et al.*, *Journal of Eukaryotic Microbiology.* **2015**, 62 (5), 567-583;
Sewell, A. L., *et al.*, *Org. Lett.* **2011**, 13, 800.
Shakya, G. et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136 (48), 16792-16799.
Sparr *et al.*, *Antimicrobial Agents Chemotherapy* **2013**, 57, 4689.
Spry, C. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 143, 1139.
Storz, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134 (39), 16143-16146.
Tognazzo, M. *et al.*, *PLoS ONE.* **2012**, 7(11): e49137.

Van der Westhuyzen *et al.*, *Chemistry & Biology* **2012**, 19, 559.
Woelfle *et al.*, *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2011**, *9*, 1260.
Yamagishi, J. *et al.*, *BMC Genom.* **2014**, 15 (1), 678.
Zabrodski *et al.*, *Synlett,* **2015**, 26, 461.
Zhao *et al.*, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8, 3328.

【図面】

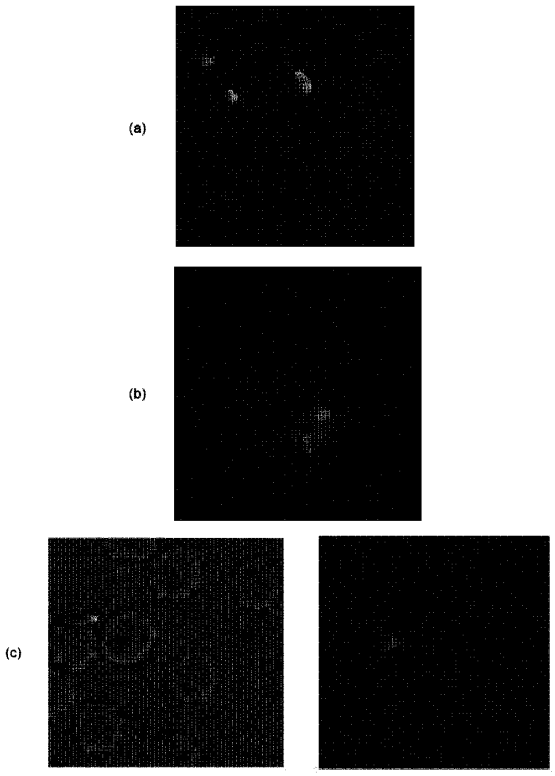
【図１】

Figure 1



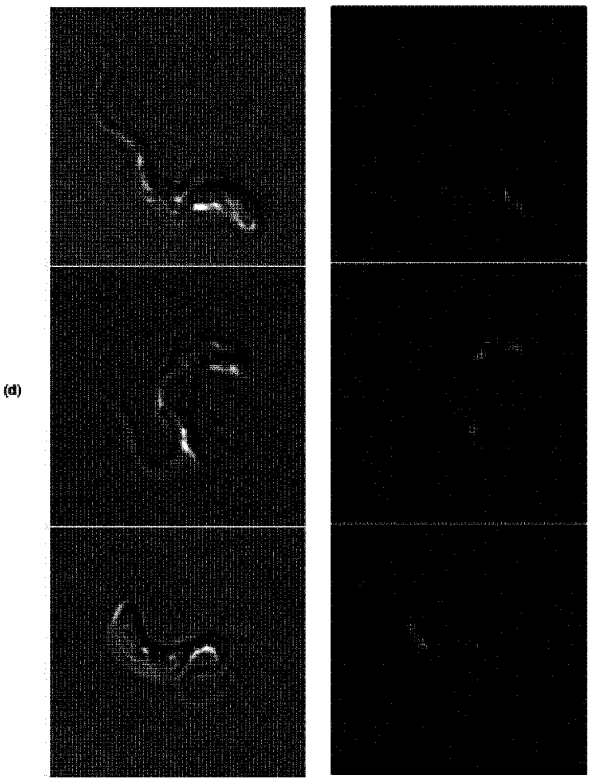
【図２－１】

Figure 2



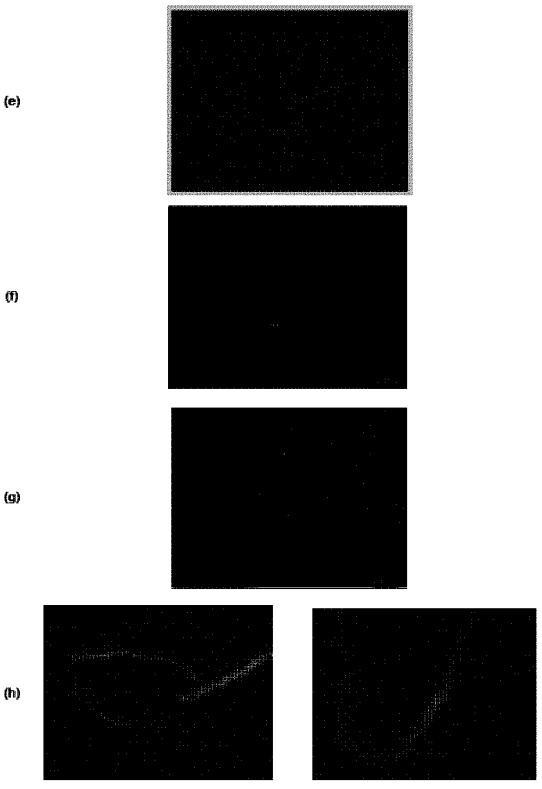
【図２－２】

Figure 2 continued

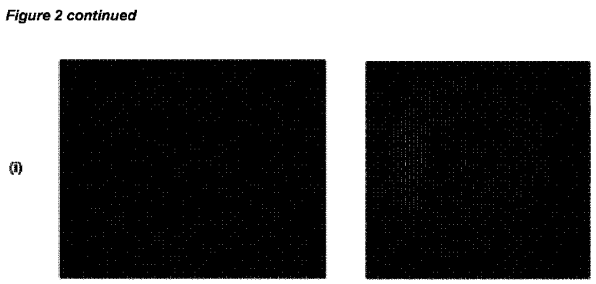


【図２－３】

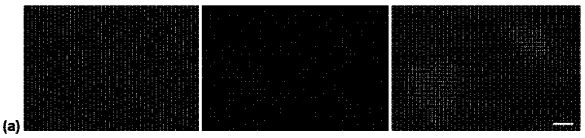
Figure 2 continued



【図２－４】



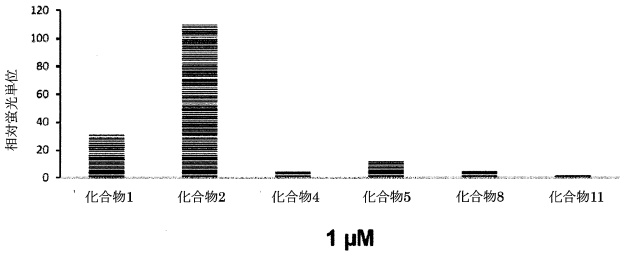
【図３（ａ）】



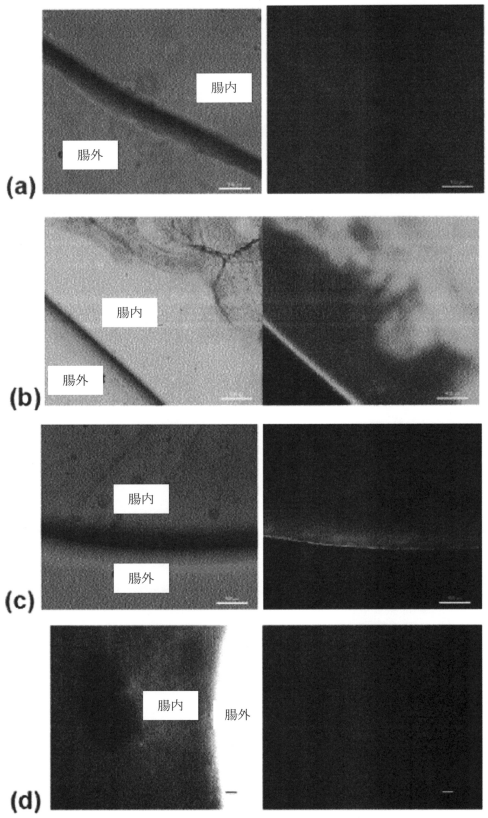
【図３（ｂ）】



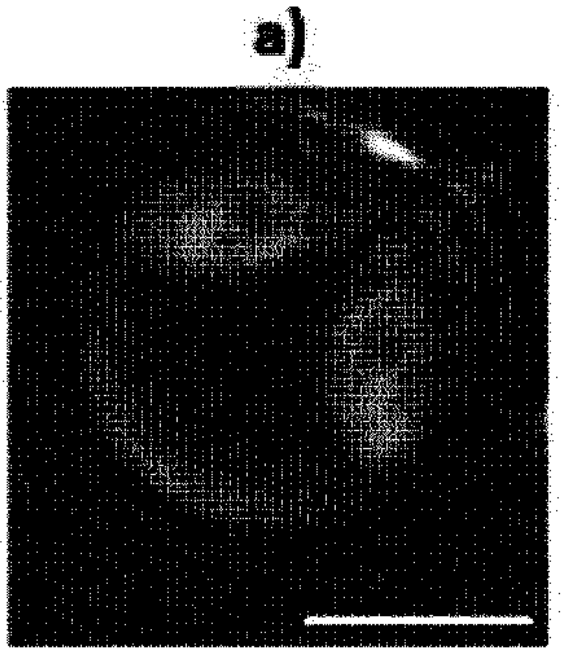
【図４】



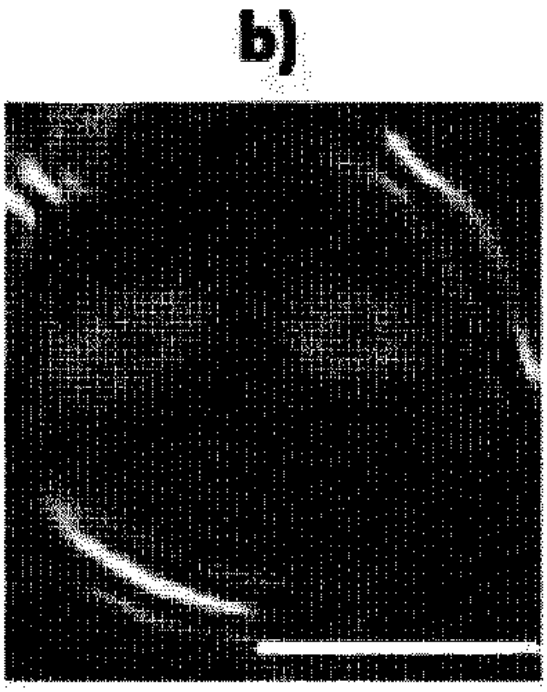
【図５】



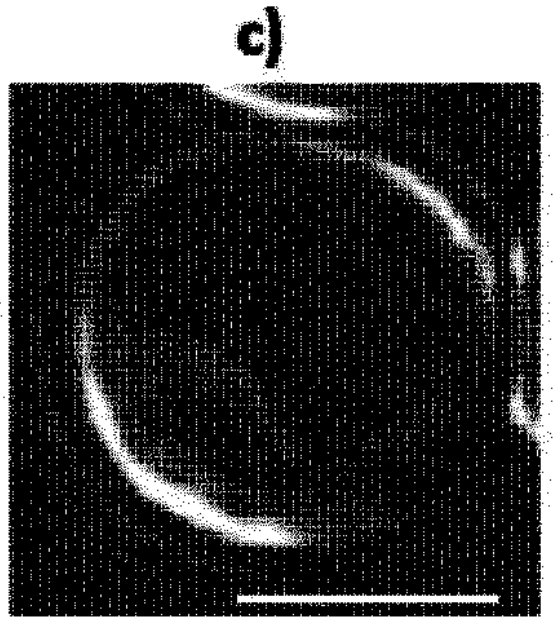
【図６ａ）】



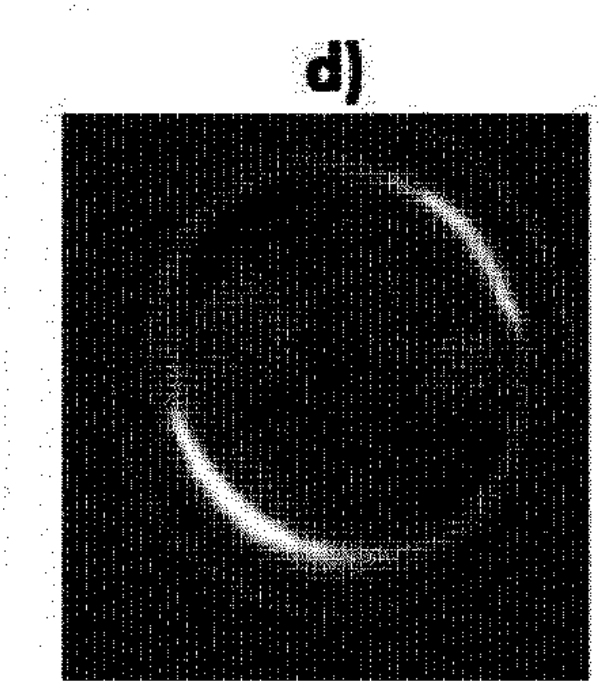
【図６ｂ）】



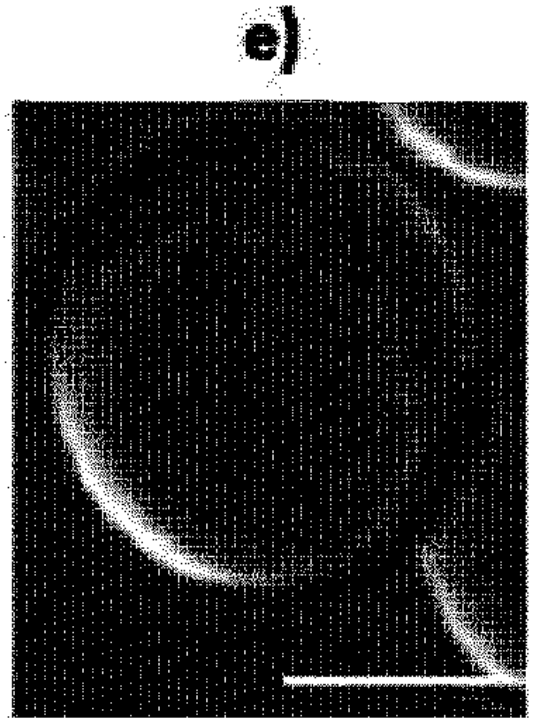
【図６ｃ）】



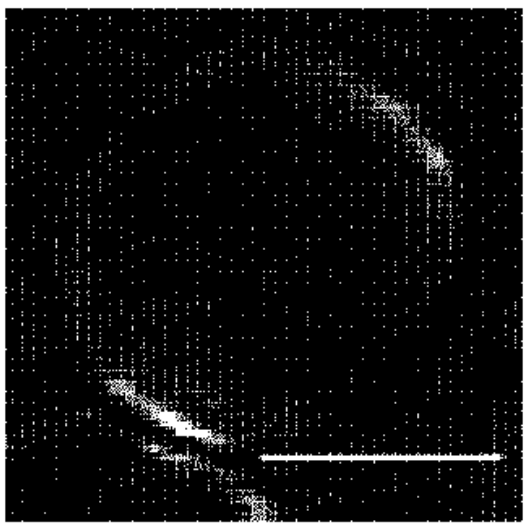
【図６ｄ）】



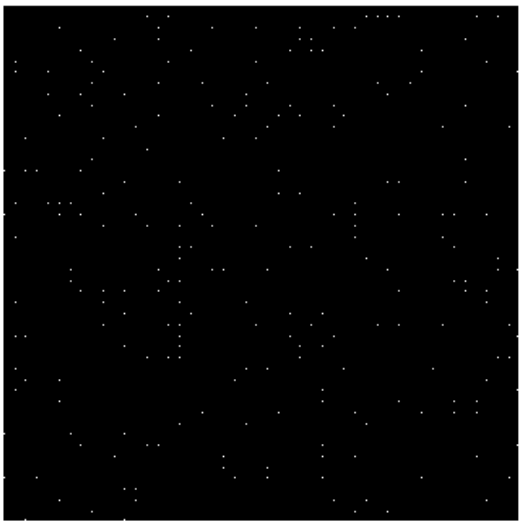
【図６ｅ）】



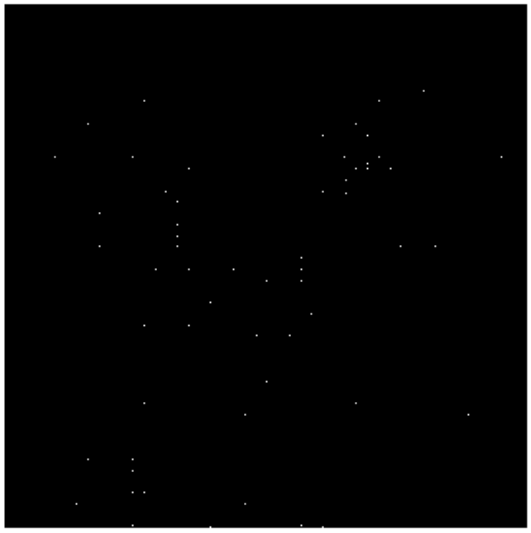
【図７（ａ）】



【図７（ｂ）】

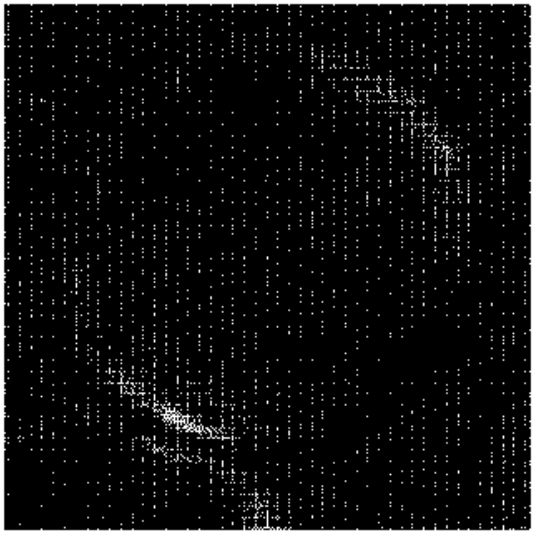


【図７（ｃ）】



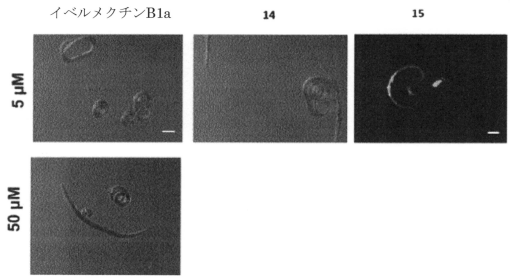
(c)

【図７（ｄ）】

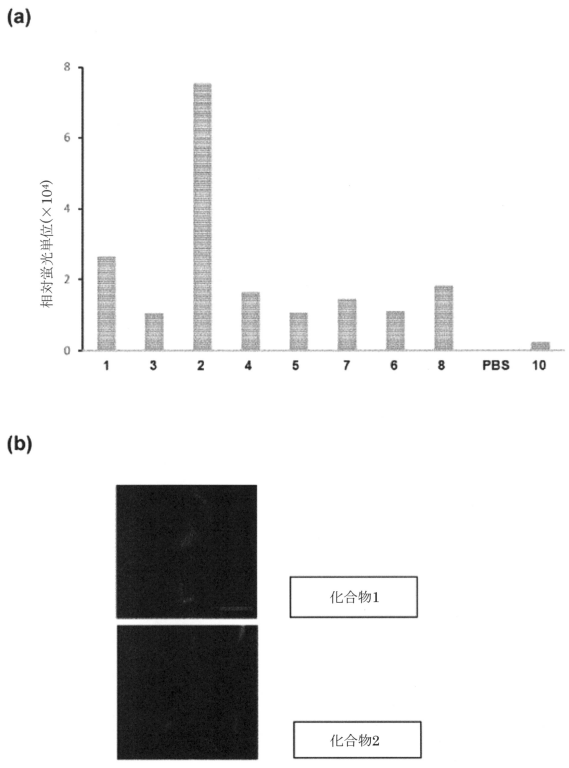


(d)

【図８】



【図９】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/086120

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K47/54 A61K47/55 A61P31/04 A61P33/10
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SPRY CHRISTINA ET AL: "Structure-activity analysis of CJ-15,801 analogues that interact withPlasmodium falciparumpantothenate kinase and inhibit parasite proliferation", EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 143, 25 August 2017 (2017-08-25), pages 1139-1147, XP085306003, ISSN: 0223-5234, DOI: 10.1016/J.EJMECH.2017.08.050	27-61
Y	the whole document	59-61
	----- -/--	

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
31 March 2020	09/04/2020

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Birikaki, Lemonia

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2019/086120

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHONG HAN ET AL: "Copper-Mediated Synthesis of N -Acyl Vinylogous Carbamic Acids and Derivatives:? Synthesis of the Antibiotic CJ-15,801", ORGANIC LETTERS, vol. 6, no. 1, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 27-30, XP055052152, ISSN: 1523-7060, DOI: 10.1021/ol0360041 whole document and in particular Schemes 1 and 2	27,29, 35-42, 45-49,54
X	ALAN L. SEWELL ET AL: "Fast and Flexible Synthesis of Pantothenic Acid and CJ-15,801", ORGANIC LETTERS, vol. 13, no. 4, 18 February 2011 (2011-02-18), pages 800-803, XP055052154, ISSN: 1523-7060, DOI: 10.1021/ol103114w abstract Scheme 7	27,29, 35-46, 49,54
Y	WO 2012/097454 A1 (UNIV MCGILL [CA]; AUCLAIR KARINE [CA]; VONG KENWARD [CA]) 26 July 2012 (2012-07-26) cited in the application claims 1-17	59-61
X	LINDY HOLDEN-DYE ET AL: "Anthelmintic drugs and nematicides: studies in Caenorhabditis elegans", WORMBOOK, 16 December 2014 (2014-12-16), pages 1-29, XP055478099, DOI: 10.1895/wormbook.1.143.2	1,3-26
A	the whole document	2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2019/086120

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012097454 A1	26-07-2012	CA 2860706 A1	26-07-2012
		EP 2665738 A1	27-11-2013
		US 2014038914 A1	06-02-2014
		WO 2012097454 A1	26-07-2012

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
A01N	*55/08 (2006.01)*	A01N	55/08	
A61P	*33/10 (2006.01)*	A61P	33/10	
A61P	*33/12 (2006.01)*	A61P	33/12	
A61K	*38/02 (2006.01)*	A61K	38/02	
A61K	*31/7088(2006.01)*	A61K	31/7088	
A61K	*31/715 (2006.01)*	A61K	31/715	
A61K	*31/7016(2006.01)*	A61K	31/7016	
A61P	*31/04 (2006.01)*	A61P	31/04	
A61P	*31/06 (2006.01)*	A61P	31/06	
A61K	*31/7048(2006.01)*	A61K	31/7048	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

ト・５７・レベル・１・トランスフェクション・ホールディングス・リミテッド内

(72)発明者　エゼキュエル・シルヴァ・ニゲンダ
ニュージーランド・１０１０・オークランド・グラフトン・シモンズ・ストリート・５７・レベル・１・トランスフェクション・ホールディングス・リミテッド内

(72)発明者　ショーン・ナイアル・オバーン
ニュージーランド・１０１０・オークランド・グラフトン・シモンズ・ストリート・５７・レベル・１・トランスフェクション・ホールディングス・リミテッド内

(72)発明者　リカルド・ロペス－ゴンザレス
ニュージーランド・１０１０・オークランド・グラフトン・シモンズ・ストリート・５７・レベル・１・トランスフェクション・ホールディングス・リミテッド内

(72)発明者　ロドルフォ・マルケス
ニュージーランド・１０１０・オークランド・グラフトン・シモンズ・ストリート・５７・レベル・１・トランスフェクション・ホールディングス・リミテッド内

Ｆターム（参考）　4C076　AA95 BB01 BB11 BB13 BB14 BB15 BB16 BB21 BB22 BB24
BB25 BB27 BB29 BB30 BB31 BB32 CC32 CC34 CC41 DD59 DD60
DD62 EE59 FF31 FF68
4C084　AA02 AA03 BA03 CA62 MA05 NA13 ZB351 ZB391
4C086　AA01 AA02 EA01 EA15 EA16 MA02 MA05 NA13 ZB35 ZB39
4H011　AC01 BB08 BB09 BB16