

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3740017号
(P3740017)

(45) 発行日 平成18年1月25日(2006.1.25)

(24) 登録日 平成17年11月11日(2005.11.11)

(51) Int. Cl.

F I

C07H 15/04 (2006.01)	C07H 15/04	D
A61K 31/7032 (2006.01)	A61K 31/7032	
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 35/00	
A61P 43/00 (2006.01)	A61P 43/00	111
C07H 15/06 (2006.01)	C07H 15/06	

請求項の数 6 (全 17 頁)

(21) 出願番号 特願2000-602245 (P2000-602245)
 (86) (22) 出願日 平成12年2月21日(2000.2.21)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2000/000972
 (87) 国際公開番号 W02000/052020
 (87) 国際公開日 平成12年9月8日(2000.9.8)
 審査請求日 平成13年8月15日(2001.8.15)
 (31) 優先権主張番号 特願平11-51396
 (32) 優先日 平成11年2月26日(1999.2.26)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 000222783
 東洋水産株式会社
 東京都港区港南2丁目13番40号
 (74) 代理人 100058479
 弁理士 鈴江 武彦
 (74) 代理人 100084618
 弁理士 村松 貞男
 (74) 代理人 100092196
 弁理士 橋本 良郎
 (74) 代理人 100091351
 弁理士 河野 哲
 (74) 代理人 100088683
 弁理士 中村 誠

最終頁に続く

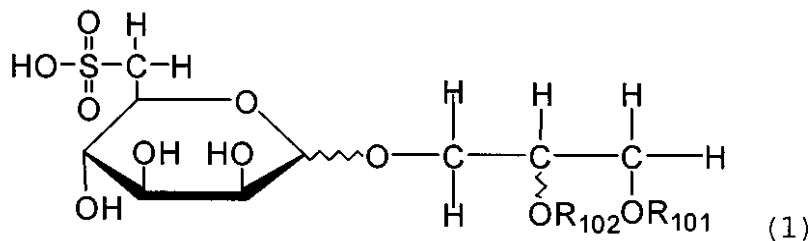
(54) 【発明の名称】 新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体およびその医薬としての用途

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

次の一般式(1)：

【化1】



10

(式中、 R_{101} は、 $CH_3(CH_2)_nCO-$ (n は12~24の整数。)で表されるアシル残基であり、 R_{102} は、水素原子又は $CH_3(CH_2)_nCO-$ (n' は12~24の整数。)で表されるアシル残基である)により表される新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体。

【請求項2】

一般式(1)の R_{102} が水素原子である請求項1に記載のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体。

【請求項3】

20

一般式(1)のスルホラムノースとグリセロールとの結合が結合である請求項2に記載のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体。

【請求項4】

請求項1～3のいずれか1項に記載される一般式(1)の化合物およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する医薬。

【請求項5】

DNA合成酵素阻害剤である請求項4に記載の医薬。

【請求項6】

制癌剤である請求項4に記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

技術分野

本発明は、新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体に関する。本発明の新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、医薬、具体的には、DNA合成酵素阻害剤および制癌剤として有用である。

背景技術

藻類、高等植物等の天然物に含まれる含硫糖脂質には、生理活性を有するものがあることが知られている。

例えば、太田らの文献(Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 46(4), (1998))には、紅藻スギノリから得られる特定のスルホキノボシルアシルグリセロール誘導体が、高等生物DNA合成酵素およびの阻害活性並びにHIV由来逆転写酵素阻害活性を示すことが記載されている。

また、水品らの文献(Biochemical Pharmacology, 55, 537-541, (1998))には、シダ植物から得られる特定のスルホキノボシルアシルグリセロール誘導体が、子ウシDNA合成酵素型およびラットDNA合成酵素型への阻害活性を示すが、HIV由来逆転写酵素活性には影響を及ぼさないことが記載されている。

一方、佐原らの文献(British Journal of Cancer, 75(3), 324-332, (1997))には、ウニ体内成分から得られるスルホキノボシルモノアシルグリセロール画分が、イン・ビボおよびイン・ビトロで制癌作用を示すことが記載されている。

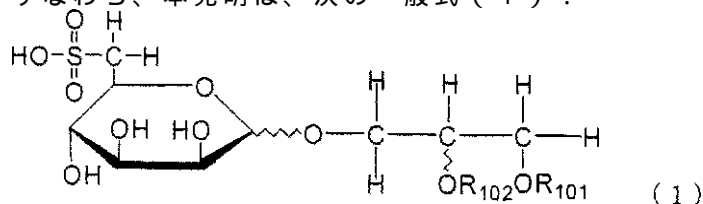
しかしながら、これら太田ら、水品らおよび佐原らの何れの文献に開示される含硫糖脂質も、その構成糖が - キノボース(6-デオキシ- - グルコース)のものであるスルホキノボシルアシルグリセロール誘導体であり、構成糖がラムノース(6-デオキシマンノース)であるものは知られていない。

さらに、特表平5-501105号には、スルホキノボシルジアシルグリセロール誘導体が抗ウイルス活性、具体的には、抗ヒト免疫不全ウイルス活性を有することが記載されているが、DNA合成酵素阻害活性や抗癌活性を有することは記載されていない。

発明の開示

そこで、本発明は、構成糖としてラムノースを有する新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体およびその医薬としての用途を提供することを目的とする。

すなわち、本発明は、次の一般式(1)：



(式中、R₁₀₁は、高級脂肪酸のアシル残基を表し、R₁₀₂は、水素原子又は高級脂肪酸のアシル残基を表す。)により表される化合物を提供する。

また、本発明は、一般式(1)により表される化合物およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する医薬も提供する。

発明を実施するための最良の形態

10

20

30

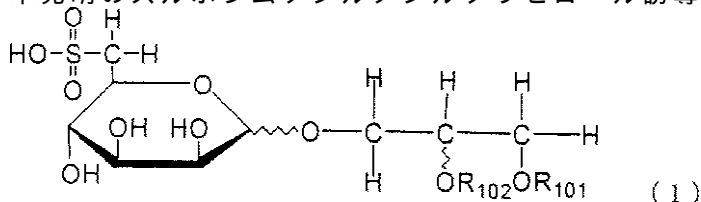
40

50

本明細書において、保護基の「炭素数」とは、当該保護基を非置換としてみなした場合の炭素原子の数をいう。従って、例えば、 R^1 により表される基が置換アルキル基である場合、その炭素数とは、当該アルキル基に置換する置換基の炭素原子を含まない、アルキル基の骨格部分の炭素原子の数をいう。保護基がアルキル基以外の場合についても同様である。

まず、本発明の一般式(1)で表されるスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体(以下、「本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体」ともいう)について詳細に説明する。

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、次の一般式(1)：



10

(式中、 R_{101} は、高級脂肪酸のアシル残基を表し、 R_{102} は、水素原子又は高級脂肪酸のアシル残基を表す。)により表されるものである。

上記一般式(1)において、 R_{101} は、高級脂肪酸のアシル残基を表す。 R_{101} により表される高級脂肪酸のアシル残基を提供する脂肪酸には、直鎖状又は分岐状の、飽和又は不飽和高級脂肪酸が含まれる。

20

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を医薬として用いる場合、 R_{101} は、特に、胃癌および大腸癌等の固形癌に対する制癌活性の観点から直鎖状飽和高级脂肪酸のアシル残基が好ましく、 $CH_3(CH_2)_nCO-$ (n は、12~24の整数(好ましくは、12~24の偶数))により表される基が更に好ましい。本発明者らは、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体において、 R_{101} により表される基： $CH_3(CH_2)_nCO-$ の n の値が24を越えた場合にも制癌活性があることを予測している。しかしながら、そのような長鎖のアシル残基を有するスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、製造コスト等の観点から実用的でない。

上記一般式(1)において、 R_{102} は、水素原子又は高級脂肪酸のアシル残基を表す。高級脂肪酸のアシル残基を提供する脂肪酸には直鎖状又は分岐状の、飽和又は不飽和高级脂肪酸が含まれ、具体的には、 R_{101} において述べたものが含まれる。

30

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を医薬として用いる場合、 R_{102} は、特に、胃癌および大腸癌等の固形癌に対する制癌活性の観点から水素原子であることが好ましい。

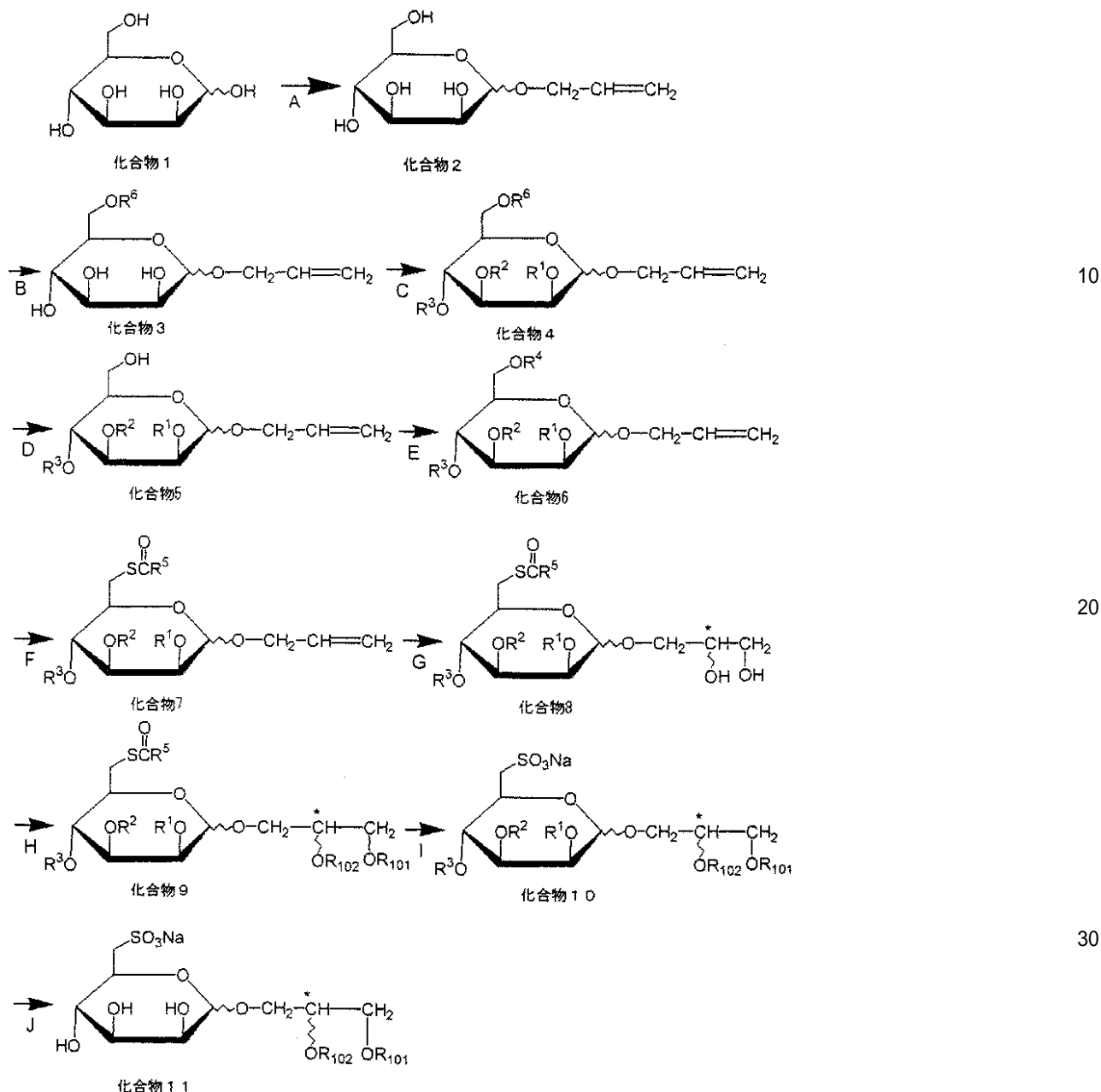
上記一般式(1)において、スルホラムノシドの糖骨格は、舟形、いす型のいずれの配置をもとり得る。しかしながら、いす型のもののほうが、安定性の観点から好ましい。また、スルホラムノースとグリセロールとの結合は、結合であっても結合であってもよい。しかしながら、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を医薬として用いる場合、特に、製造の容易性の観点から、結合であることが好ましい。また、グリセロール部分の2位の炭素(不斉炭素)における絶対配置は、S又はRの何れであってもよい

40

。本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体の製造方法を以下に説明する。

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、次のスキーム1に示す反応式に従い、(工程A)~(工程J)を経て製造することができる。

スキーム 1



(工程 A) D-マンノースの C 1 炭素に結合する水酸基を 2 - プロペニル化する。(工程 B) マンノースの C 6 炭素の水酸基を保護する。(工程 C) マンノースの C 2、C 3 および C 4 炭素に結合する水酸基を保護する。(工程 D) 先に保護した C 6 炭素の保護基を脱保護する。(工程 E) C 6 炭素に結合する水酸基をカルボニルチオ基に変換し得る基 (例えば、アルキルスルホニルオキシ基又はアリールスルホニルオキシ基) に置換する。(工程 F) C 6 炭素をカルボニルチオ化する。(工程 G) C 1 炭素に結合する 2 - プロペニル基をジオール化する。(工程 H) 得られたジオールの両方又は 1 位の水酸基のみを所望の高級脂肪酸によりエステル化する。(工程 I) C 6 炭素のカルボニルチオ基をスルホン酸塩化する。(工程 J) 得られたスルホン酸塩の C 2、C 3 および C 4 炭素の保護基を脱保護することにより、塩の形態にある、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を製造することができる。このようにして得られた塩は、塩酸等の酸による滴定に供することにより、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体にする事ができる。上記工程 A ~ J をさらに詳細に説明する。

工程 A の 2 - プロペニル化は、マンノースとアリールアルコールをトリフルオロメタンスルホン酸等の強酸の存在下に、通常、室温 ~ 100、好ましくは 80 ~ 90 の温度で

10

20

30

40

50

、通常、半日～2日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Bにおいては、C6炭素に結合する水酸基を保護し、C6炭素に $-OR^6$ を結合させる(ここで、 R^6 は、アルキル基又は置換シリル基を表す。)

水酸基を保護し得る化合物としては、 R^6 により表される基がアルキル基又は置換シリル基になるような化合物を用いることができる。

R^6 により表されるアルキル基には、好ましくはかさ高い、置換のアルキル基が含まれる。置換基にはメチル基、フェニル基等が含まれる。置換アルキル基の具体例としては、*t*-ブチル基、トリチル基等を挙げることができる。

R^6 により表される基が置換シリル基である場合、置換シリル基の置換基には、低級アルキル基、好ましくは炭素数1～4のアルキル基(例えば、メチル基、エチル基、イソプロピル基、*t*-ブチル基)、およびアリアル基、好ましくは炭素数6のアリアル基(例えば、フェニル基)等が含まれる。 R^6 により表される置換シリル基は、好ましくは3置換のシリル基であり、より好ましくは*t*-ブチルジフェニルシリル基等が含まれる。

工程Bにおける水酸基の保護は、 R^6 がアルキル基である化合物3を得る場合、乾燥ピリジン等の有機溶媒に溶解した化合物2の溶液に、 R^6-X で表される化合物(式中、 R^6 は上で規定したアルキル基、Xは塩素原子等のハロゲン原子。)を添加し、*p*-ジメチルアミノピリジン(DMAP)等の触媒の存在下に室温で反応させることにより行うことができる。化合物 R^6-X としては、トリチルクロリドが、製造コスト、反応の容易性の観点から好ましく用いられる。

R^6 が置換シリル基である化合物3を得る場合、化合物 R^6-X として*t*-ブチルジフェニルシリルクロリド等を用い、イミダゾール等の触媒の存在下、室温で、通常、半日～2日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Cにおいては、C2、C3およびC4炭素に結合する水酸基を保護し、それぞれ $-OR^1$ 、 $-OR^2$ および $-OR^3$ (ここで、 $R^1 \sim R^3$ は、互いに独立して、アルキル基又は置換シリル基を表す。)にする。これらの水酸基の保護は、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)等の有機溶媒に溶解した化合物3の、C2、C3およびC4炭素に結合する水酸基を水酸化ナトリウム等により活性化し、水酸基を保護し得る化合物を室温で反応させることにより行うことができる。

水酸基を保護し得る化合物としては、ベンジルブロミド、*p*-メトキシベンジルブロミド、*t*-ブチルジメチルシリルクロリド、トリエチルシリルクロリド等を用いることができる。ベンジルブロミドは、特に、 R_{101} 、 R_{102} により表されるアシル残基が飽和のものである場合において保護基の安定性の観点から好ましく用いることができる。これらの水酸基を保護し得る化合物を用いる場合の反応は、それぞれの保護基に適した反応条件により行うことができる。

工程DにおけるC6炭素に結合する保護基の脱保護は、メタノール等の有機溶媒に溶解した化合物4の溶液を、*p*-トルエンスルホン酸等の触媒の存在下に室温で、通常、12時間～1日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Eにおいては、化合物5のC6炭素の水酸基に、 R^4 、すなわちアルキルスルホニル基又はアリアルスルホニル基を結合させることにより、当該水酸基を $-OR^4$ に転化して化合物6を得る。

この $-OR^4$ 基への反応は、有機溶媒に溶解した化合物5の溶液に、アルキルスルホニル基を有する化合物又はアリアルスルホニル基を有する化合物等を添加し、反応させることにより行うことができる。アルキルスルホニル基を有する化合物のアルキル基としては、好ましくは非置換のアルキル基であって、より好ましくは低級アルキル基、さらにより好ましくは炭素数1～2のアルキル基(メチル基、エチル基)が含まれる。アルキルスルホニル基を有する化合物としては、式： $R^{4'}$ -X(式中、 $R^{4'}$ はアルキルスルホニル基を表し、Xはハロゲン原子を表す。)で表されるものを用いることができ、その具体例を挙

10

20

30

40

50

げると、メタンスルホニルクロリド、エタンスルホニルクロリド等が含まれる。

一方、アリアルスルホニル基を有する化合物のアリアル基としては、非置換又は置換のアリアル基であって、好ましくは炭素数6のアリアル基（例えば、フェニル基）が含まれる。置換したアリアル基の場合、その置換基としては、p-メチル基、p-メトキシ基等が含まれる。アリアルスルホニル基を有する化合物としては、式： $R^4 - X$ （式中、 R^4 はアリアルスルホニル基を表し、 X はハロゲン原子を表す。）で表されるものを用いることができ、その具体例を挙げると、p-トルエンスルホニルクロリド、p-メトキシベンゼンスルホニルクロリド、ベンゼンスルホニルクロリド等が含まれる。

これらのアルキルスルホニル基又はアリアルスルホニル基を有する化合物のうち、トシル基を有するものが反応の容易性の観点から好ましい。

工程Eの反応において、有機溶媒としては、ピリジン、ジクロロメタン等を用いることができる。

上記の反応は、必要に応じて、DMA P等の触媒の存在下に室温で、通常、2時間～1日間で行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Fにおいて、化合物6のスルホニルオキシ基（ $-OR^4$ ）をカルボニルチオ基{ $-SC(=O)R^5$ （ここで、 R^5 は、水素原子、アルキル基又はアリアル基を表す。）}に置換する。

この反応では、有機溶媒中の化合物6のアルキルスルホニルオキシ基又はアリアルスルホニルオキシ基をカルボニルチオ基に置換することのできる化合物（以下、「O-置換基S-置換基化合物」ともいう。）を反応させることにより化合物7が得られる。

O-置換基 S-置換基化合物には、チオカルボン酸のアルカリ金属塩およびアルカリ土類金属塩が含まれる。チオカルボン酸には、チオギ酸、並びに低級チオカルボン酸、好ましくは炭素数1～5の脂肪族炭化水素が置換した脂肪族チオカルボン酸（例えば、チオ酢酸、チオプロピオン酸）、および好ましくは炭素数6～10の芳香族炭化水素が置換した芳香族チオカルボン酸（例えば、チオ安息香酸）等が含まれる。

これらのチオカルボン酸と塩を形成するアルカリ金属には、カリウム、ナトリウム等が含まれ、アルカリ土類金属には、マグネシウム、カルシウム等が含まれる。

上記O-置換基 S-置換基化合物のうち、チオ酢酸の塩は、反応の安定性の点および後の工程において硫黄原子を酸化しやすい点から好ましく用いることができる。

反応に用いる有機溶媒には、アルコール、好ましくは低級アルコール（例えば、メタノール、エタノール、プロパノール）、N,N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等が含まれる。

上記反応は、通常、室温ないし用いる溶媒の沸点において、通常、1時間～1日間攪拌することにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Gのジオール化は、t-ブタノールおよび水等の溶媒混液に溶解した化合物7の溶液に、四酸化オスミウム等の酸化剤を添加し、トリメチルアミンN-オキシド等の再酸化剤を共存させ、室温で、通常1時間～1日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Hのエステル化反応により、所望の脂肪酸がグリセロールとエステル結合したスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を得ることができる。この反応は、ジクロロメタン等の適当な有機溶媒に溶解した化合物8の溶液に、最終生成物に対応する脂肪酸を添加し、必要に応じて、エチルジメチルアミノプロピルカルボジイミド（EDCI）-DMA P系等の適当な触媒の存在下に反応させることにより行うことができる。

工程Hの反応において、添加すべき脂肪酸としては、上述した一般式（I）の R_{101} により表されるアシル残基を有する高級脂肪酸を用いることができる。

工程Hの反応により、化合物9において、 R_{101} および R_{102} が、添加した高級脂肪酸のアシル残基である本発明の一般式（1）で表されるジアシルエステルと、 R_{101} のみに高級脂肪酸のアシル残基が結合したモノアシルエステルの混合物が得られる。工程Hの反応においては、所望に応じて、添加すべき高級脂肪酸を2種以上用いることもできる。この場合、 R_{101} および R_{102} が同じアシル残基または異なるアシル残基である一般式（1）で表

10

20

30

40

50

されるジアシルエステルと、 R_{101} が互いに異なるアシル残基であるモノエステルとの混合物が得られる。

これらのモノエステルとジエステルの混合物は、必要に応じて、例えば、クロマトグラフィーにより、各々のエステルに単離し、次の工程Iの反応に供することができる。

また、所望により、上記工程Hで得られたモノエステルに対して R_{101} のアシル残基とは別のアシル残基を有する脂肪酸を反応させることにより、 R_{102} と R_{101} とが異なるアシル残基であるジエステルを得ることもできる。この更なるエステル化の反応条件は、脂肪酸が異なること以外は、工程Hのものと同じ条件に設定することができる。

工程Iのスルホン酸塩化は、酢酸および酢酸カリウムを用いて緩衝した有機溶媒中の化合物9の溶液に、OXONE ($2KHSO_5$ 、 $KHSO_4$ 、 K_2SO_4)、等の酸化剤を添加し、室温で12~24時間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程JのC2~C4炭素に結合する保護基の脱保護は、用いた保護基および結合する高級脂肪酸のアシル残基に合った脱保護の方法で行うことができる。例えば、保護基がベンジル基であり、 R_{101} および R_{102} が飽和の高級脂肪酸のアシル残基である場合、エタノール等の有機溶媒に溶解した化合物10の溶液を、パラジウム-活性炭(Pd-C)等の触媒の存在下に水素ガス雰囲気下に室温で反応させることにより行うことができる。また、 R_{101} および R_{102} により表される高級脂肪酸のアシル残基の少なくとも一方が不飽和の高級脂肪酸のアシル残基である場合には、用いた保護基に合った脱保護法であり、なおかつ不飽和脂肪酸の二重結合を維持できる方法により行うことができる。例えば、シリル系の保護基の場合は、酸触媒(例えば、トリフルオロ酢酸)で脱保護することができる。

なお、出発物質であるマンノースは溶液中で - アノマーおよび - アノマーの構造をとりうるため、各工程の生成物は、 - および - アノマーの混合物となる。これらの混合物は、クロマトグラフィーに供すること等により分離することができる。

次に、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する医薬について説明する。

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体には、ラムノースとグリセロールの結合が 結合又は 結合である異性体、グリセロールのC2炭素(不斉炭素)における異性体等が含まれる。本発明の医薬は、その活性に悪影響を及ぼさない限り、これらの異性体を単独で含有することも、2種以上の異性体の混合物を含有することもできる。

本発明において、医薬としての用途には、DNA合成酵素阻害剤および制癌剤が含まれる。

本発明の医薬において用い得る薬学的に許容される塩には、例えば、ナトリウムおよびカリウムのような一価の陽イオンの塩が含まれるが、これらに限定されるものではない。以下、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群の化合物を「本発明の医薬活性物質」ともいう。

本発明の医薬活性物質は、例えば、経口投与、非経口投与することができる。本発明の医薬活性物質は、これらの投与経路に応じて、適切な薬学的に許容される賦形剤又は希釈剤等と組み合わせることにより薬学的製剤にすることができる。

経口投与に適した剤型としては、固体、半固体、液体又は気体等の状態のものが含まれ、具体的には、錠剤、カプセル剤、粉末剤、顆粒剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。

本発明の医薬活性物質を錠剤、カプセル剤、粉末剤、顆粒剤、溶液剤、懸濁剤等に製剤化するためには、それ自体は既知の方法を用いて、本発明の医薬活性物質をバインダー、錠剤崩壊剤、潤滑剤等と混合し、さらに、必要に応じて、希釈剤、緩衝剤、浸潤剤、保存剤、フレーバー剤等と混合することにより行うことができる。一例を挙げると、上記バインダーには、結晶セルロース、セルロース誘導体、コーンスターチ、ゼラチン等が、錠剤崩壊剤には、コーンスターチ、馬鈴薯デンプン、カルボキシメチルセルロースナトリウム等が、潤滑剤には、タルク、ステアリン酸マグネシウム等が含まれ、さらには、ラクトース、マンニトール等のような従来用いられている添加剤等を用いることができる。

10

20

30

40

50

また、本発明の医薬活性物質は、液体、微細粉末の形態のものを、気体又は液体の噴霧剤と共に、又は必要に応じて浸潤性付与剤のような既知の助剤と共に、エアロゾル容器、ネブライザーのような非加圧容器に充填し、エアロゾル剤又は吸入剤の形態で投与することもできる。噴霧剤としては、ジクロロフルオロメタン、プロパン、窒素等の加圧ガスを用いることができる。

本発明の医薬活性物質を非経口投与する場合、例えば、直腸投与および注射等により投与することができる。

直腸投与には、例えば、坐薬として投与することができる。坐薬は、それ自体は既知の方法により、本発明の医薬活性物質を、体温で融解するが室温では固化しているカカオバター、カーボンワックス、ポリエチレングリコールのような賦形剤と混合し、成形することにより製剤化することができる。

10

注射による投与としては、皮下、皮内、静脈内、筋肉内等に投与することができる。これらの注射用製剤は、それ自体は既知の方法により、本発明の医薬活性物質を、植物性油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸のエステル、プロピレングリコールのような水性又は非水性の溶媒中に溶解、懸濁又は乳化し、さらに、所望により、可溶化剤、浸透圧調節剤、乳化剤、安定剤および保存料のような従来用いられている添加剤と共に製剤化することができる。

本発明の医薬活性物質を溶液、懸濁液、シロップ、エリキシル等の形態にするためには、注射用滅菌水や規定生理食塩水のような薬学的に許容される溶媒を用いることができる。本発明の医薬活性物質は、薬学的に許容される他の活性を有する化合物と併用して薬学的製剤とすることもできる。

20

本発明の医薬活性物質の投与量は、投与形態、投与経路、対象とする疾病の程度や段階等に応じて適宜設定、調節することができる。一例を挙げると、経口投与する場合は、医薬活性物質として、1~10mg/kg体重/日、注射剤として投与する場合は、医薬活性物質として、1~5mg/kg体重/日、直腸投与する場合は、医薬活性物質として、1~5mg/kg体重/日に設定することができるが、これらに限定されるものではない。

本発明の医薬活性物質を制癌剤として用いる場合、本発明の医薬活性物質が効果を奏することのできる癌には、悪性腫瘍としての性質を有するものが含まれ、例えば、ヒトを含むほ乳類の腺癌、上皮癌、肉腫、神経膠腫、黒色腫、リンパ腫等のような固形癌、および白血病等のような液性癌がある。

30

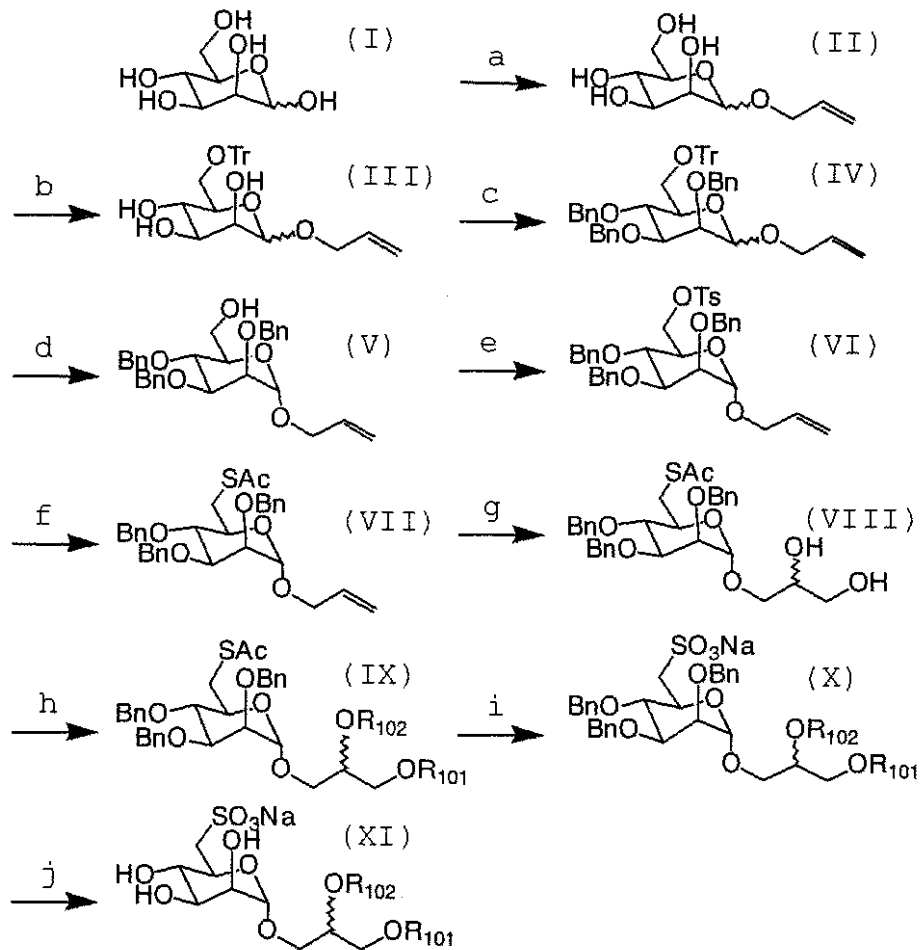
実施例

以下、本発明を例を挙げて説明する。しかしながら、本発明は、これらの例に限定されるものではない。

合成例

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体の製造例を次のスキーム2に示す。

スキーム 2



10

20

Tr=トリチル基、Bn=ベンジル基、Ts=トシル基、AcS=アセチルチオ基、R₁₀₁は高級脂肪酸のアシル残基を、R₁₀₂は水素又は高級脂肪酸のアシル残基を表す。

反応条件

- a; アリルアルコール、トリフルオロメタンスルホン酸、90℃
 b; ピリジン、トリチルクロリド、p-ジメチルアミノピリジン(DMAP)、室温
 c; 水素化ナトリウム、ベンジルプロピト、N,N-ジメチルホルムアミド、室温
 d; メタノール、p-トルエンсульホン酸一水和物、室温
 e; ピリジン、p-トルエンсульホンクロリド、DMAP、室温
 f; エタノール、チオ酢酸カリウム、還流
 g; t-ブタノール、水、四酸化オスミウム、トリメチルアミンN-オキシド二水和物、室温
 h; シクロヘキサタン、脂肪酸、DMAP、
 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩、室温
 i; 酢酸、酢酸カリウム、OXONE、室温
 j; エタノール、パラジウム-炭素、水素、室温

30

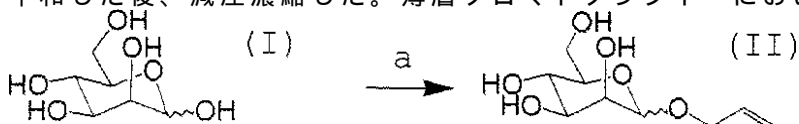
上記スキーム2では、工程hにより得られるモノエステルとジエステルの混合物は、クロマトグラフィーにより分離し、各々のエステルを工程iに供することができる。

40

<例1>

工程a; 1-O-(2-プロペニル)-D-マンノース(II)

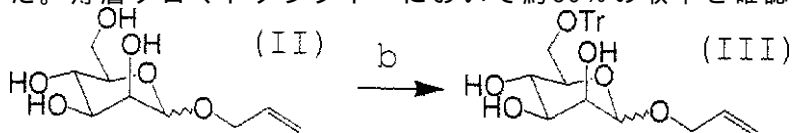
D-マンノース(I) 50.5g (281mmol)をアリルアルコール125mLに加え十分に溶解し、その溶液に氷冷下にてトリフルオロメタンスルホン酸0.5mLを徐々に添加した。その後油浴下90℃で撹拌しながら48時間反応させた。反応が十分進行した段階でトリエチルアミン1mLで中和した後、減圧濃縮した。薄層クロマトグラフィーにおいて約70%の収率を確認した。



50

工程b; 1-0-(2-プロペニル)-6-0-トリフェニルメチル-D-マンノース (III)

化合物 (II) 50.0g (227mmol) を乾燥ピリジン200mLに溶解し、その溶液にトリチルクロリド82.3g (295mmol)、p-ジメチルアミノピリジン (DMAP) 1.0g (8.20mmol) を添加し、撹拌しながら室温で48時間反応した。その後冷水300mLを加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出(300mL × 3回)し、有機層を合わせて1.0N塩酸でpH 4まで中和し、飽和食塩水で洗浄(300mL × 2回)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(ジクロロメタン:メタノール=20:1)で精製し、淡黄色油状物質を得た。薄層クロマトグラフィーにおいて約80%の収率を確認した。



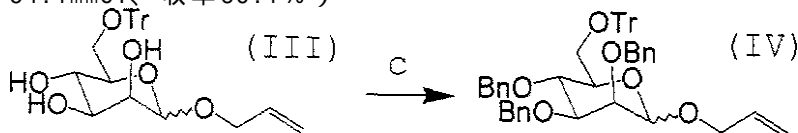
10

工程c; 2,3,4-トリ-0-ベンジル-1-0-(2-プロペニル)-6-0-トリフェニルメチル-D-マンノース (IV)

ミネラルオイル中に拡散されている80%水素化ナトリウム7.40g (247mmol) を反応器に取り、乾燥ヘキサン100mLでよく洗浄した後ヘキサンを取り除き、乾燥N,N-ジメチルホルムアミドに溶解した化合物 (III) 29.4g (63.6mmol) を氷冷下にて徐々に添加し、15分後室温に戻し、撹拌しながら1時間反応した。

次に再び氷冷下にてベンジルブロミド41.8g (244mmol) を徐々に添加し、15分後室温に戻し、撹拌しながら3時間反応した。その後メタノール100mL、冷水100mLを加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出(300mL × 3回)し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄(300mL × 2回)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=10:1)で精製し、淡黄色油状物質を得た(収量39.6g 54.1mmol、収率86.1%)

20



工程d; 2,3,4-トリ-0-ベンジル-1-0-(2-プロペニル)-D-マンノース (V)

化合物 (IV) 39.6g (54.1mmol) をメタノール300mLに溶解し、p-トルエンスルホン酸一水和物15.0g (78.9mmol) を添加し、撹拌しながら一晩反応した。その後冷水400mLを加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出(300mL × 3回)し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄(300mL × 2回)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=6:1 4:1)で精製し、無色透明油状物質を得た(19.7g 40.2mmol、収率74.3%)。[α]_D = +31.2° (c 1.03, CHCl₃)

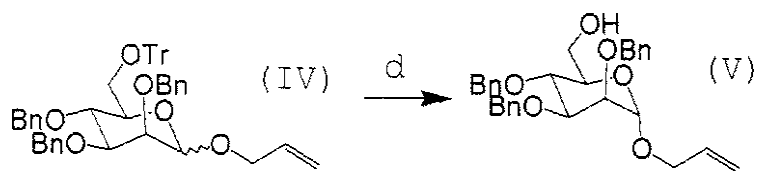
30

IR (流動パラフィン、cm⁻¹); 3430 (OH)、3050 & 3020 (Ar)、1940 & 1860 & 1800 & 1710 (一置換Ar)、1630 (末端二重結合)、1590 & 1575 & 1485 (Ar)、1110~970 (CO)、905 & 825 & 790 (-ヘキソース)

¹H NMR (300MHz、CDCl₃+TMS、); 7.39~7.20 (15H、m、Ar)、5.85~5.72 (1H、m、-CH=CH₂)、5.17 (1H、dd、J=1.5 & 8.6、-CH=CH₂)、5.11 (1H、dd、J=1.5 & 5.2、-CH=CH₂)、4.94~4.49 (6H、m、Ar-CH₂)、4.83 (1H、d、J=1.5、H-1)、4.12~3.64 (8H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a、b & -O-CH₂-CH=CH₂)

40

¹³C NMR (300MHz、CDCl₃、); 138.2 & 138.1 & 137.9 (Ar-ipso)、133.4 (-CH=CH₂)、128.1~127.3 (Ar) : 117.0 (-CH=CH₂)、97.0 (C-1)、79.8 & 74.9 & 74.5 & 74.4 & 72.6 & 72.2 & 71.9 & 67.5 (Ar-CH₂-O & -O-CH₂-CH=CH₂ & C-2 & C-3 & C-4 & C-5)、61.7 (C-6)



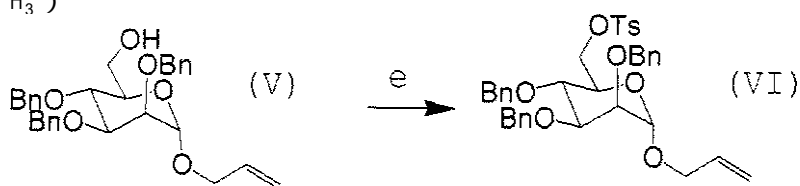
工程 e ; 2,3,4-トリ-O-ベンジル-1-O-(2-プロペニル)-6-O-(4-トリルスルホニル)-D-マンノース (VI)

化合物 (V) 7.93g (16.2mmol) を乾燥ピリジン100mL に溶解し、DMAP 100mg (818 μ mol)、p-トルエンスルホニルクロリド5.69g (29.8mmol) を添加し、攪拌しながら室温で一晩反応した。その後、冷水200mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出(200mL \times 3回)し、有機層を合わせて1.0N および0.1N 塩酸でpH 4まで中和し、飽和食塩水で洗浄(300mL \times 2回)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(ヘキサン：酢酸エチル = 4 : 1)で精製し、無色透明油状物質を得た(収量9.96g 15.5mmol、収率95.68%) [α]_D = +34.1° (c 1.62、CHCl₃)

IR (流動パラフィン、cm⁻¹) ; 3030 & 3000 (Ar)、1950 & 1855 & 1805 & 1695 (一置換Ar)、1635 (末端二重結合)、1590 & 1575 & 1485 (Ar)、1120 ~ 980 (C-O)、900 & 850 & 775 (ヘキソース)

¹H NMR (300MHz、CDCl₃+TMS、) ; 7.78 (2H、d、Ts、Me側のH)、7.36 ~ 7.24 (15H、m、Ar)、7.19 (1H、d、J = 3.2、Ts SO₂側のH)、7.17 (1H、d、J = 1.9、Ts SO₂側のH)、5.85 ~ 5.72 (1H、m、-CH=CH₂)、5.18 (1H、dd、J = 1.5 & 13.7、-CH=CH₂)、5.18 (1H、dd、J = 1.5 & 6.9、-CH=CH₂)、4.88 (1H、d、J = 10.7、Ar-CH₂)、4.71 (1H、d、J = 12.4、Ar-CH₂)、4.66 (1H、d、J = 12.4、Ar-CH₂)、4.58 (2H、s、Ar-CH₂)、4.46 (1H、d、J = 10.7、Ar-CH₂)、4.79 (1H、d、J = 1.6、H-1)、4.29 ~ 3.76 (8H、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a、b & -O-CH₂-CH=CH₂)、2.40 (3H、s、Ts CH₃)

¹³C NMR (300MHz、CDCl₃、) ; 144.6 (Ts SO₂側の ipso)、138.2 & 138.1 & 137.9 (Ar-ipso)、133.4 (-CH=CH₂)、132.96 (Ts Me側の ipso)、129.7 (TsのAr)、128.4 ~ 127.6 (Ar)、117.5 (-CH=CH₂) ; 96.8 (C-1)、80.0 & 75.1 & 74.3 & 74.0 & 72.6 & 72.0 & 70.1 & 69.2 & 67.9 (Ar-CH₂-O & -O-CH₂-CH=CH₂ & C-2 & C-3 & C-4 & C-5 & C-6)、21.6 (Ts C H₃)



工程 f ; 2,3,4-トリ-O-ベンジル-1-O-(2-プロペニル)-6-デオキシ-6-アセチルチオ-D-マンノース (VII)

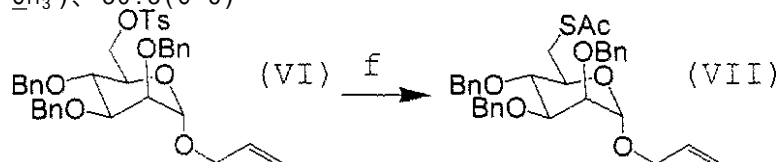
化合物 (VI) 9.90g (15.4mmol) を乾燥エタノール100mL に溶解し、チオ酢酸カリウム3.52g (30.8mmol) を添加し、還流条件下で攪拌しながら4時間反応した。その後、冷水200mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出(200mL \times 3回)し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄(200mL \times 2回)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(ヘキサン：酢酸エチル = 10 : 1)で精製し、淡黄色油状物質を得た(収量7.81g 14.2mmol、収率92.2%)。 [α]_D = +32.1° (c 1.05、CHCl₃)

IR (流動パラフィン、cm⁻¹) ; 3120 & 3040 (Ar)、1950 & 1870 & 1800 (一置換Ar)、1680 (SCOCH₃)、1640 (末端二重結合)、1595 & 1575 & 1490 (Ar)、1135 ~ 910 (C-O)、830 & 785 (ヘキソース)

¹H NMR (300MHz、CDCl₃+TMS、) ; 7.40 ~ 7.16 (15H、m、Ar)、5.86 ~ 5.74 (1H、m、-CH=CH₂)、5.23 ~ 5.13 (2H、m、-CH=CH₂)、4.96 ~ 4.56 (6H、m、Ar-CH₂)、4.70 (1H、d、J = 1.5、H-1)、4.16 ~ 3.56 (7H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a & -O-CH₂-CH=CH₂)、3.13 ~ 3.06 (1H、m、H-6b)、2.30 (3H、s、Ts CH₃)

¹³C NMR (300MHz、CDCl₃、) ; 194.8 (SCO)、138.1 & 138.0 (Ar-ipso)、133.3 (-CH=CH

2)、128.2~127.4 (Ar)、117.3 (-CH=CH₂)、96.7 (C-1)、79.8 & 77.3 & 75.1 & 74.4 & 72.5 & 72.0 & 67.5 (Ar-CH₂-O & -O-CH₂-CH=CH₂ & C-2 & C-3 & C-4 & C-5)、31.0 (SCOCH₃)、30.3 (C-6)



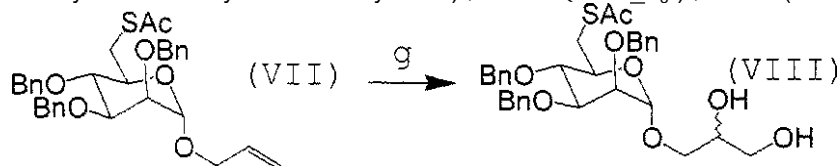
工程g; 3-0-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-6-デオキシ-6-アセチルチオ-D-マンノピラノシル)-グリセロール (VIII)

化合物 (VII) 7.72g (14.1mmol) を t-ブタノール : 水 = 4 : 1 溶液 80mL に溶解し、トリメチルアミン N-オキシド二水和物 2.5g (22.5mmol)、四酸化オスミウム-t-ブタノール溶液 (0.04M) 20mL を添加し、攪拌しながら室温で 24 時間反応した。その後活性炭 15g を加え、攪拌しながら室温で 2 時間放置し、四酸化オスミウムを吸着させた後、吸引濾過した。次に冷水 200mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (200mL × 3 回) し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄 (300mL × 2 回) 後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 1 : 1) で精製し、淡黄色油状物質を得た (収量 6.91g 11.9mmol、収率 84.4%)。[α]_D = +43.3° (c 1.02, CHCl₃)

IR (流動パラフィン、cm⁻¹); 3400 (OH)、3060 & 3020 (Ar)、1950 & 1870 & 1800 (一置換 Ar)、1670 (SCOCH₃)、1595 & 1575 & 1490 (Ar)、1130~950 (C-O)、905 & 830 & 785 (-ヘキソース)

¹H NMR (300MHz、CDCl₃+TMS、); 7.39~7.25 (15H、m、Ar)、4.94~4.58 (7H、m、Ar-C H₂ & H-1)、3.82~3.38 (9H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a & Gly-H-1a, b & Gly-H-3a, b)、3.05 (1H、dd、J=7.7 & 13.6、H-6b)、2.33 (3H、s、SCOCH₃)

¹³C NMR (300MHz、CDCl₃、); 195.4 (SCO)、138.1 & 138.0 & 137.9 (Ar-ipso)、128.4~127.7 (Ar)、98.4 & 98.3 (C-1 (R or S))、79.6 & 75.3 & 74.6 & 72.8 & 72.3 & 71.2 & 70.6 & 70.5 & 69.1 & 68.8 & 63.51 & 63.47 (Ar-CH₂-O & C-2 & C-3 & C-4 & C-5 & Gly-C-1 & Gly-C-2 & Gly-C-3)、31.1 (SCOCH₃)、30.5 (C-6)



工程h; 3-0-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-6-デオキシ-6-アセチルチオ-D-マンノピラノシル)-1,2-ジ-O-ステアロイル-グリセロール (IX-1) および 3-0-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-6-デオキシ-6-アセチルチオ-D-マンノピラノシル)-1-O-ステアロイル-グリセロール (IX-2)

化合物 (VIII) 556mg (955 μmol) を乾燥ジクロロメタン 20mL に溶解し、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩 (EDCI) 490mg (2.56mmol)、DMAP 10mg (81.8 μmol)、ステアリン酸 360mg (1.27mmol) を添加し、攪拌しながら室温にて 3 時間反応した。その後ジクロロメタン 100mL を加え反応を停止し、飽和食塩水で洗浄 (50mL × 2 回) し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 8 : 1 3 : 1) でジエステルおよびモノエステルを分離精製した (収量ジエステル 345mg 309 μmol; モノエステル 375mg 442 μmol、収率 (双方合わせて) 81.9%)

ジエステル体; 白濁したろう状物質。[α]_D = +20.8° (c 6.36, CHCl₃)

IR (CHCl₃、cm⁻¹); 1720 (OCOCH₂)、1690 (SCOCH₃)、1490 (Ar)、1120~1020 (C-O)

¹H NMR (300MHz、CDCl₃+TMS、); 7.37~7.26 (15H、m、Ar)、5.21~5.14 (1H、m、Gly-H-2)、4.95~4.59 (7H、m、Ar-CH₂ & H-1)、4.31~3.05 (10H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b & Gly-H-3a, b)、2.35 (3H、s、SCOCH₃)、2.30 (4H、m、OCO

10

20

30

40

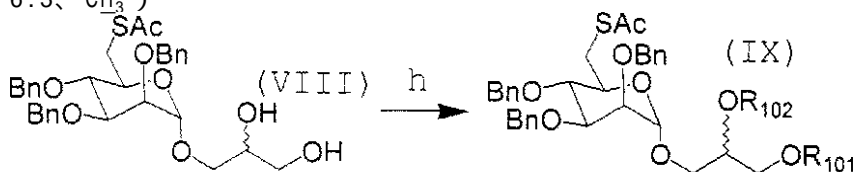
50

CH₂), 1.60 (4H, m, OCOCH₂CH₂), 1.26 (56H, br, -CH₂-), 0.89 (6H, t, J = 6.5, CH₃)

モノエステル体; 無色透明油状物質。[α]_D = +28.4° (c 4.79, CHCl₃)

IR (CHCl₃, cm⁻¹); 3350 (OH), 1700 (OCOCH₂), 1680 (SCOCH₃), 1490 (Ar), 1120 ~ 980 (C-O), 900 & 850 & 775 (ヘキソース)

¹H NMR (300MHz, CDCl₃+TMS,); 7.37 ~ 7.25 (15H, m, Ar), 4.95 ~ 4.59 (7H, m, Ar-C H₂ & H-1), 4.16 ~ 3.36 (10H, m, H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b & Gly-H-2 & Gly-H-3a, b), 3.08 (1H, dd, J = 7.8 & 13.4, H-6b), 2.36 ~ 2.31 (5H, m, SCOCH₃ & OCOCH₂), 1.62 (2H, m, OCOCH₂CH₂), 1.25 (28H, br, -CH₂-), 0.88 (3H, t, J = 6.3, CH₃)



(IX-1; R₁₀₁ = R₁₀₂ = ステアロイル;
IX-2; R₁₀₁ = ステアロイル, R₁₀₂ = H)

工程 i-1; 3-O-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-6-デオキシ-6-スルホ-β-D-マンノピラノシル)-1,2-ジ-O-ステアロイル-グリセロール・ナトリウム塩 (X-1)

化合物 (IX-1) 307mg (275 μmol) を酢酸 15mL に溶解し、酢酸カリウム 513mg、OXONE (2KHSO₅、KHSO₄、K₂SO₄) 504mg を添加し、攪拌しながら室温にて一晩反応した。その後冷水 50mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (50mL × 5回) し、有機層を合わせて飽和炭酸水素ナトリウム溶液で中和後、飽和食塩水で洗浄 (100mL × 2回) し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム: メタノール = 10:1) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た (収量 304mg 266 μmol、収率 96.7%)。融点; 58 ~ 60 °C。[α]_D = +4.0° (c 1.51, CHCl₃)

IR (CHCl₃, cm⁻¹); 3030 (Ar), 1720 (OCOCH₂), 1490 (Ar), 1200 (SO₃), 1180 ~ 980 (C-O)

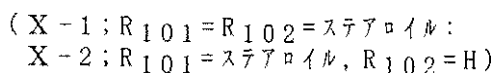
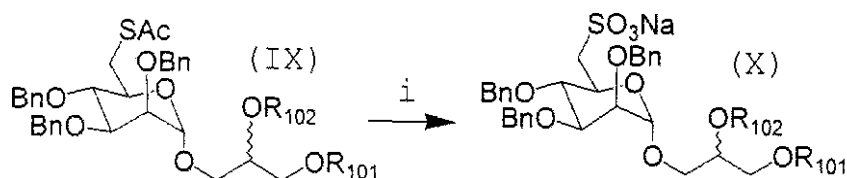
¹H NMR (300MHz, CDCl₃+TMS,); 7.27 ~ 7.22 (15H, m, Ar), 5.30 ~ 5.24 (1H, m, Gly-H-2), 4.96 ~ 4.50 (7H, m, Ar-CH₂ & H-1), 4.34 ~ 3.21 (10H, m, H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b & Gly-H-3a, b), 2.71 (4H, br, OCOCH₂), 2.22 (4H, br, OCOCH₂CH₂), 1.52 (4H, br, OCOCH₂CH₂CH₂), 1.26 (52H, br, -CH₂-), 0.88 (6H, t, J = 6.6, CH₃)

工程 i-2; 3-O-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-6-デオキシ-6-スルホ-β-D-マンノピラノシル)-1-O-ステアロイル-グリセロール・ナトリウム塩 (X-2)

化合物 (IX-2) 401mg (473 μmol) を酢酸 20mL に溶解し、酢酸カリウム 500mg、OXONE (2KHSO₅、KHSO₄、K₂SO₄) 416mg を添加し、攪拌しながら室温にて一晩反応した。その後冷水 50mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (50mL × 5回) し、有機層を合わせて飽和炭酸水素ナトリウム溶液で中和後、飽和食塩水で洗浄 (100mL × 2回) し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム: メタノール = 8:1) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た (収量 196mg 224 μmol、収率 47.4%)。融点; 57 ~ 59 °C。[α]_D = +5.4° (c 2.76, CHCl₃)

IR (CHCl₃, cm⁻¹); 3400 (OH), 3060 & 3020 (Ar), 1720 (OCOCH₂), 1490 (Ar), 1200 (SO₃), 1180 ~ 1020 (C-O), 900 & 850 & 775 (ヘキソース)

¹H NMR (300MHz, CD₃OD+CDCl₃+TMS,); 7.27 ~ 7.21 (15H, m, Ar), 4.87 ~ 4.51 (7H, m, Ar-CH₂ & H-1), 4.24 ~ 3.23 (11H, m, H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b & Gly-H-2 & Gly-H-3a, b), 2.23 (2H, br, OCOCH₂), 1.50 (2H, br, OCOCH₂CH₂), 1.25 (28H, br, -CH₂-), 0.88 (3H, t, J = 6.6, CH₃)



工程 j-1; 3-O-(6-デオキシ-6-スルホ-D-マンノピラノシル)-1,2-ジ-O-ステアロイル-グリセロール・ナトリウム塩 (XI-1)

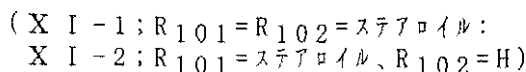
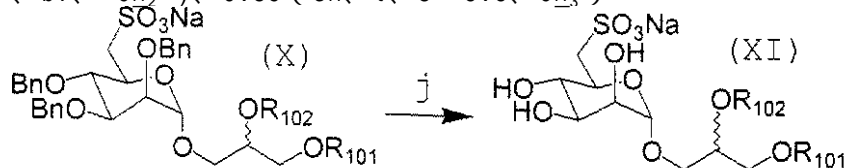
化合物 (X-1) 282mg (247 μmol) をエタノール 30mL に溶解し、10% パラジウム-炭素 (Pd-C) 1.00g を添加し、フラスコ内を水素で置換し、攪拌しながら室温で一晩反応した。反応液を吸引濾過し、減圧濃縮後、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 10 : 1 クロロホルム : メタノール : 水 = 70 : 30 : 4) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た (収量 86.5mg 99.1 μmol、収率 40.1%)。

¹H NMR (300MHz, CD₃OD+TMS,); 5.31~5.30 (1H, m, Gly-H-2)、4.49-2.94 (11H, m, H-1 & H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b & Gly-H-3a, b)、2.36-2.28 (4H, br, OCOCH₂), 1.60-1.58 (4H, br, OCOCH₂CH₂), 1.52 (4H, br, OCOCH₂CH₂CH₂), 1.26 (52H, br, -CH₂-), 0.88 (6H, t, J=6.6, CH₃)

工程 j-2; 3-O-(6-デオキシ-6-スルホ-D-マンノピラノシル)-1-O-ステアロイル-グリセロール・ナトリウム塩 (XI-2)

化合物 (X-2) 163mg (186 μmol) をエタノール 15mL に溶解し、10% Pd-C 1.00g を添加し、フラスコ内を水素で置換し、攪拌しながら室温で一晩反応した。反応液を吸引濾過し、減圧濃縮後、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 10 : 1 クロロホルム : メタノール : 水 = 70 : 30 : 4) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た (収量 68.5mg 113 μmol、収率 60.7%)。[α]_D = +15.4° (c 0.26, CH₃OH)

¹H NMR (300MHz, CD₃OD+CDCl₃+TMS,); 4.78 (1H, m, H-1)、4.09-3.22 (10H, m, H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a & Gly-H-1a, b & Gly-H-2 & Gly-H-3a, b)、2.96 (1H, dd, J = 14.3 & 9.1, H-6b)、2.37 (2H, br, OCOCH₂), 1.63 (2H, br, OCOCH₂CH₂), 1.27 (28H, br, -CH₂-), 0.89 (3H, t, J=6.6, CH₃)



< 例 2 >

上記例 1 の工程 h において用いたステアリン酸の代わりに、ミリスチン酸を用いたこと以外は例 1 と同様に工程 h~j の反応を行い、3-O-(6-デオキシ-6-スルホ-D-マンノピラノシル)-1-O-ミリストイル-グリセロール・ナトリウム塩を合成した (収量 70.3mg 128 μmol、収率 71.4%)。[α]_D = +32.7° (c 0.52, CH₃OH)

< 例 3 >

上記例 2 と同様に、ステアリン酸の代わりに、パルミチン酸を用いることにより、3-O-(6-デオキシ-6-スルホ-D-マンノピラノシル)-1-O-パルミトイル-グリセロール・ナトリウム塩を合成した (収量 78.4mg 136 μmol、収率 75.7%)。[α]_D = +29.4° (c 0.51, CH₃OH) 本発明の一般式 (1) で表される化合物についての生理学的アッセイを行った。

< アッセイ 1 >

DNA合成酵素 型に対する阻害効果検定を次の方法により行った。

ウシ胸腺から抗体カラムによって単一に精製されたDNA合成酵素 型 0.05U および被験化合物

10

20

30

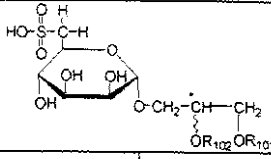
40

50

物(DMSOに溶解した、下記表1に示すスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体(以下、「SRAG」と省略する)SRAG1、SRAG2、SRAG3、SRAG4)をそれぞれ混合し、更に酵素反応に必要な無機塩類緩衝液、 $[^3\text{H}]$ ラベルされたdTTP、鋳型DNA鎖を含む反応用コンパウンドを加え、37℃で60分間インキュベートした。

酵素反応を止めた後、反応後生成物を専用フィルターに定着させ、液体シンチレーションカウンターにより測定した。酵素合成されたdTTP量を、 $[^3\text{H}]$ 放射線量(cpm)として結果を算出した。なお、用いたスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、何れも、グリセロールの2位の炭素における絶対配置がSであるものとRであるものの混合物である。得られた結果を IC_{50} として次の表1に併せて示す。

表1: DNA合成酵素 α 型に対する阻害効果

化合物			DNA合成酵素阻害活性 IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
	R101	R102	
SRAG1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CO}-$	H	13.0
SRAG2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}-$	H	3.3
SRAG3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}-$	H	2.0
SRAG4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}-$	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}-$	0.1

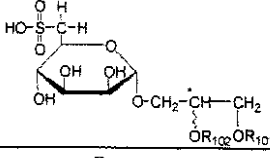
上記表1から明らかなように、試験した化合物はいずれもDNA合成酵素 α 型に対する有意な阻害活性を有している。

<アッセイ2>

DNA合成酵素 α 型に対する阻害効果検定を次の方法により行った。

ラット由来のDNA合成酵素 α 遺伝子を通常の遺伝子組み換え法により大腸菌に組み込み、生産させたDNA合成酵素 α 型標品0.05UをDNA合成酵素 α 型の代わりに用いた他はアッセイ1と同様の方法により、DNA合成酵素 α 型に対する被験化合物(MDSOに溶解した上記表1に示す化合物SRAG1、SRAG2、SRAG3)の阻害効果を検定した。得られた結果を次の表2に示す。

表2: DNA合成酵素 β 型に対する阻害効果

化合物			DNA合成酵素阻害活性 IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
	R101	R102	
SRAG1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CO}-$	H	50<
SRAG2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}-$	H	16.6
SRAG3	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}-$	H	6.71

上記表2から明らかなように、試験した化合物のうちSRAG1は試験した濃度では阻害効果を示さなかったが、SRAG2およびSRAG3はいずれもDNA合成酵素 β 型に対する有意な阻害活性を有している。

上記アッセイ1およびアッセイ2で示された通り、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体はDNA合成酵素阻害剤として活性のあるものであった。

次の2つのアッセイにおいて用いた大腸癌および胃癌細胞は、本発明の医薬活性物質が効果を奏することのできる癌細胞の一例である。即ち、これらのアッセイは、本発明の医薬活性物質が効果を奏し得る癌細胞を限定することを意図するものではない。

<アッセイ3>

大腸癌培養細胞に対する制癌テストを次の方法で行った。

大腸癌細胞DLD-1を、RPMI1640培地(10%子ウシ血清含有)で維持、継代した。被験化合物(上記表1に示す化合物SRAG1~SRAG3)をそれぞれ培地に懸濁、希釈し、 3×10^3 個/ウエルの細胞と共に、96穴シャーレで培養した。48時間培養後、MTTアッセイ(Mosmann, T:J

10

20

30

40

50

ournal of immunological method, 65, 55-63(1983))を行い、生存率を比較した。
得られた結果を IC_{50} として次の表3に示す。

表3：大腸癌細胞に対する制癌活性

化合物	SRAG1	SRAG2	SRAG3
IC_{50} ($\mu g/mL$)	42.5	30	14

上記表3から明らかなように、試験した化合物は、何れも有意な大腸癌細胞に対する制癌活性を有する。

試験した化合物は、各々単独で、従来技術の欄で述べた佐原ら(British Journal of Cancer, 75(3), 324-332(1997))が開示するスルホキノボシルアシルグリセロール誘導体の混合物と同レベル又はそれ以上の制癌活性を有するとみられる。

<アッセイ4>

胃癌培養細胞に対する制癌テストを、大腸癌細胞DLD-1の代わりに胃癌細胞NUGC-3を用いた以外はアッセイ3と同じ方法で行った。

得られた結果を IC_{50} として次の表4に示す。

表4：胃癌細胞に対する制癌活性

化合物	SRAG1	SRAG2	SRAG3
IC_{50} ($\mu g/mL$)	45	40	28.5

上記表4から明らかなように、試験した化合物は、何れも有意な胃癌細胞に対する制癌活性を有する。

試験した化合物は、各々単独で、従来技術の欄で述べた佐原ら(British Journal of Cancer, 75(3), 324-332(1997))が開示するスルホキノボシルアシルグリセロール誘導体混合物と同レベル又はそれ以上の制癌活性を有するとみられる。

産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明によれば、一般式(1)により表される新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体が提供される。

また、本発明によれば、一般式(1)により表されるスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する医薬が提供される。

フロントページの続き

- (72)発明者 山崎 隆之
日本国千葉県野田市山崎2712-56 邦和荘106号室
- (72)発明者 菅原 二三男
日本国埼玉県新座市畑中1-11-3-213
- (72)発明者 太田 慶祐
日本国千葉県野田市山崎2701-1 チサンマンション野田410号
- (72)発明者 正木 和好
日本国埼玉県坂戸市横沼345-1
- (72)発明者 中山 小太郎
日本国千葉県四街道市さちが丘2-16-4
- (72)発明者 坂口 謙吾
日本国茨城県つくば市中別府590-142
- (72)発明者 佐藤 昇志
日本国北海道札幌市豊平区福住2条9丁目13-3
- (72)発明者 佐原 弘益
日本国北海道札幌市南区常盤5条2丁目99-66
- (72)発明者 藤田 龍哉
日本国北海道札幌市南区南沢1条3丁目7-3

審査官 中木 亜希

- (56)参考文献 Biol.Pharm.Bull. , 1999年 2月, Vol.22, No.2, p.111-116
Chem.Pharm.Bull. , 1998年, Vol.46, No.4, p.684-686
Biochemical Pharmacology , 1998年, Vol.55, p.537-541
British Journal of Cancer , 1997年, Vol.75, No.3, p.324-332

- (58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)
C07H 15/04-15/06
REGISTRY(STN)
CA(STN)
CAOLD(STN)