

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4151765号
(P4151765)

(45) 発行日 平成20年9月17日(2008.9.17)

(24) 登録日 平成20年7月11日(2008.7.11)

(51) Int.Cl.		F I
C07D 473/00	(2006.01)	C07D 473/00
C07D 473/34	(2006.01)	C07D 473/34 351
A61K 31/52	(2006.01)	A61K 31/52
A61P 37/00	(2006.01)	A61P 37/00
A61P 35/00	(2006.01)	A61P 35/00

請求項の数 23 (全 70 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平8-501429
(86) (22) 出願日	平成7年6月21日(1995.6.21)
(65) 公表番号	特表平10-501533
(43) 公表日	平成10年2月10日(1998.2.10)
(86) 国際出願番号	PCT/CA1995/000356
(87) 国際公開番号	W01995/035297
(87) 国際公開日	平成7年12月28日(1995.12.28)
審査請求日	平成14年5月31日(2002.5.31)
(31) 優先権主張番号	08/264,028
(32) 優先日	平成6年6月22日(1994.6.22)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	バイオケム・ファーマ・インコーポレーテッド カナダ国ケベック州エイチ7ブイ・4エイ7, ラバル, アルマン・フラッピエ・ブール パール 275
(74) 代理人	弁理士 社本 一夫
(74) 代理人	弁理士 今井 庄亮
(74) 代理人	弁理士 増井 忠式
(74) 代理人	弁理士 栗田 忠彦

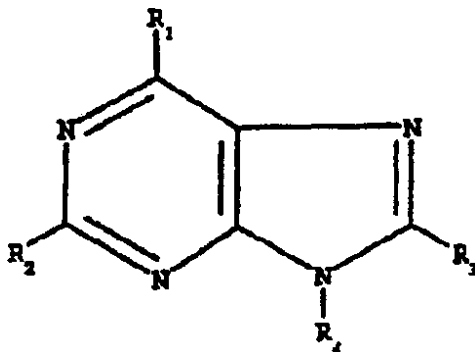
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫調節活性を有する新規な置換プリンル誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式 I



[式中、

R₁は、式 N R⁵ R⁶ (式中、R⁵およびR⁶は、独立して、C₁₋₄アルキルおよび非置換アミノから成る群より選択される、但し、R⁵およびR⁶はともにアミノではないという条件付きである) によって表わされる置換アミノであり；

R₂およびR₃は、独立して、水素；C₁₋₄アルキル；アミノ；および置換または非置換チオールから成る群より選択され；そして

R₄は、場合により、1個またはそれ以上のヘテロ原子によって中断された且つ場合により、1個またはそれ以上の = O または = S によって置換された式 (C H₂)₅₋₂₀ - X^{1,2} (

式中、 X^{12} は、ヒドロキシ、アミノアルキル基、およびアミノ酸から成る群より選択される)を有する直鎖状炭素鎖から成る群より選択される]を有する化合物またはその製薬的に受容される塩。

【請求項2】

R_4 が $(CH_2)_{5-8} - X^{12}$ (式中、 X^{12} はOHである)である請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

R_4 が $(CH_2) - L - O - CO - X^{12}$ (式中、Lは、場合により、1個またはそれ以上のOまたはSによって中断された直鎖状炭素鎖である)である請求項1に記載の化合物。

【請求項4】

X^{12} が $(CH_2)_m NH_2$ (式中、mは1~6の整数である)である請求項1に記載の化合物。 10

【請求項5】

mが2である請求項4に記載の化合物。

【請求項6】

X^{12} が、D-またはL-立体配置で天然に存在するアミノ酸である請求項3に記載の化合物。

【請求項7】

前記アミノ酸が、アルギニン、グリシン、アラニン、グルタミン酸、バリン、オルニチン、またはシトルリンから成る群より選択される請求項6に記載の化合物。

【請求項8】 20

前記アミノ酸がD-アルギニンである請求項7に記載の化合物。

【請求項9】

前記アミノ酸がL-アルギニンである請求項7に記載の化合物。

【請求項10】

Lが、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_m-$ 、 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_m-$ 、および $-(CH_2)_m-NH-(CH_2)_m-$ (式中、nは3~6の整数であり、そしてmは1~3の整数である)から選択される請求項3に記載の化合物。

【請求項11】

R_1 が、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-N(NH_2)CH_3$ から成る群より選択される請求項1に記載の化合物。 30

【請求項12】

R_2 が NH_2 である請求項1に記載の化合物。

【請求項13】

R_3 がSHまたはSCH₃である請求項1に記載の化合物。

【請求項14】

R_1 が $N(CH_3)_2$ であり； R_2 および R_3 が水素であり；そして R_4 がペンチルオキシカルボニル-D-アルギニンまたはその製薬的に受容される塩である請求項1に記載の化合物。

【請求項15】 40

化合物#V N-(6-N,N-ジメチルアミノプリン-9-イル)ペンタノール；
 化合物#1 N,N-ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニル-D-アルギニン；
 化合物#2 N,N-ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニル-L-アルギニン；
 化合物#3a N-(6-N-メチルアミノプリン-9-イル)ペンタノール；
 化合物#7 ヒドラジノプリニルペントキシカルボニル-D-アルギニン；
 化合物#7a N-(6-ヒドラジノプリン-9-イル)-5-ペンタノール；
 化合物#8 ヒドラジノプリニルペントキシカルボニル-L-アルギニン；
 化合物#14 N,N-ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニルグリシン；
 化合物#15 N,N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-7-エトキシエトキシカルボニル-D-アルギニン；
 化合物#37 N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-7-ペントキシカルボニル 50

- ル - D - シトルリン ;
- 化合物 # 40 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - チオエトキシエトキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 48 N - (2 - アミノ、 6 - N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 49 N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - メチルチオプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 50 N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - メチルチオプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 54 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - D - オルニチン ; 10
- 化合物 # 55 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - L - オルニチン ;
- 化合物 # 56 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - L - バリン ;
- 化合物 # 57 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - D - バリン ;
- 化合物 # 58 N - (N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニルエチルアミン塩酸塩 ;
- 化合物 # 63 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - ブトキシカルボニル - D - アルギニン ; 20
- 化合物 # 64 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - ブトキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 66 N - (6 - N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 6 - ヘキサノール ;
- 化合物 # 67 N - (6 - N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 8 - ヘキシルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 68 N - (6 - N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 8 - ヘキシルオキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 72 N - (6 - N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 5 - ペンチルアミン塩酸塩 ; 30
- 化合物 # 78 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エチルアミノエトキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 79 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エチルアミノエトキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 83 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - チオエトキシエトキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 85 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エトキシエトキシエタノール ;
- 化合物 # 86 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エトキシエトキシカルボニル - D - アルギニン ; および 40
- 化合物 # 87 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エトキシエトキシカルボニル - L - アルギニン ;
- から成る群より選択される請求項 1 に記載の化合物。
- 【請求項 16】
- 化合物 # V N - (6 - N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) ペンタノール ;
- 化合物 # 1 N, N - ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 2 N, N - ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 3 a N - (6 - N - メチルアミノプリン - 9 - イル) ペンタノール ;
- 化合物 # 7 ヒドラジノプリニルペントキシカルボニル - D - アルギニン ; 50

化合物 # 7 a N - (6 - ヒドラジノプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール ; および
 化合物 # 8 ヒドラジノプリニルペントキシカルボニル - L - アルギニン ;
 から成る群より選択される請求項 1 5 に記載の化合物。

【請求項 1 7】

化合物 # 1 N 2 - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカル
 ボニル - D - アルギニンである請求項 1 6 に記載の化合物。

【請求項 1 8】

薬学的に許容しうる量の請求項 1、1 5 または 1 7 に記載の化合物を含む、免疫不全症を
 治療するための薬剤組成物。

【請求項 1 9】

薬学的に許容しうる量の請求項 1、1 5 または 1 7 に記載の化合物を含む、ヒトを含めた
 哺乳動物において細胞障害性 T リンパ球の数を増加させるための薬剤組成物。

【請求項 2 0】

薬学的に許容しうる量の請求項 1、1 5 または 1 7 に記載の化合物を含む、ヒトを含めた
 哺乳動物における癌増殖を抑制するための薬剤組成物。

【請求項 2 1】

薬学的に許容しうる量の請求項 1 7 に記載の化合物をシクロホスファミドとの組合わせで
 含む、ヒトを含めた哺乳動物における乳癌を抑制するための薬剤組成物。

【請求項 2 2】

請求項 1、1 5 または 1 7 に記載の化合物を 5 - フルオロウラシルとの組合わせで含む癌
 の治療用の薬剤組成物。

【請求項 2 3】

前記癌が結腸癌である請求項 2 2 に記載の薬剤組成物。

【発明の詳細な説明】

発明の分野

本発明は置換プリニル化合物を含む。特に、本発明は 6 - 置換プリニルアルコキシカルボ
 ニルアミノ酸化合物、より詳しくはアルギニン誘導体に関する。

発明の背景

免疫系の主要な機能は身体を疾患から保護することである。免疫系は細菌、ウイルス、そ
 の他の病原菌による作用に起因するような疾患からのみでなく、癌と、免疫不均衡、日和
 見性感染症又は自己免疫障害に起因する疾患状態とからも保護する。

薬剤的に誘導される刺激又は抑制による免疫系の調節は疾患の治療のための重要なアプ
 ローチを提供する。免疫系を非特異的に刺激する化合物は特に著しく医薬的に重要であり、
 長年にわたる研究努力の対象である。研究結果はしばしば、免疫調節化合物が弱い免疫刺
 激剤であって、このためあまり効果的でないか、又は強力な免疫刺激剤であって、このた
 め効果的ではあるが、この強力な免疫刺激活性のために有害であるかのいずれかであるこ
 とを示す。

免疫系を非特異的に刺激する多くの種類の化合物の中には、当該技術分野において周知の
 ヌクレオシドが存在する。例えば、7 - チア - 8 - オキソグアノシンはマウスにおける抗
 ウイルス剤として D . F . S m e e 等によって *Journal of Biologic*
al Response Modifiers, 9, 24 ~ 32, 1990 に述べられて
 いる。この化合物の活性はこの化合物が免疫系における NK 細胞と B 細胞とを活性化して
 、インターフェロンを誘導することができることに由来する。しかし、P . G . H i g g
 i n s 等によって、*Antiviral Chemistry and Chemoth*
erapy, 2, 61 ~ 63, 1991 に報告されているような、その後の抗ウイルス研
 究は殆ど有望な結果を開示していない。1つの問題は経口による生体適合性の欠損であっ
 た。

改良された薬物を開発しようと試みて、他のヌクレオシドが合成され、研究されている。
 例えば、D . F . S m e e 等は *Antimicrobial Agents and C*
hemotherapy, 35, 152 ~ 157, 1991 において、7 - デアザグアノ

10

20

30

40

50

シンが経口投与後に重要な免疫刺激かつ抗ウイルス活性を有することを報告している。しかし、これらの結果は予備的である。多くのヌクレオシド化合物に関して、毒性は重要な問題であり、これも厳密に分析しなければならない。

特定の種類のヌクレオシド免疫刺激剤がイノシンと他の同様なヒポキサンチン含有化合物とから得られている。周知の例はイソプリノシン、イノシン含有複合体である。イソプリノシンは免疫調節剤として完全に研究されており、C. D. Simone等によってThymus, 19, 51~55, 1992において“ゴールドスタンダード (gold standard)”と呼ばれている。ヒポキサンチン(イノシン)含有化合物の活性に関する論理的根拠の一部は、アデノシンをイノシンに転化させる酵素であるアデノシンデアミナーゼの欠損が重症複合免疫不全症(SCID)を生じると言う観察から生じる。

10

イソプリノシンは全く無害であるが、効果的な免疫調節剤ではなく、この免疫薬理学的性質を改良するために、J. W. Hadden等によって、International Journal of Immunopharmacology, 13, 49~54, 1991(増補1)に報告されるように、多くの類似体が合成されている。特に、かれらはイノシン 5'-モノホスフェート及びメチルイノシンモノホスフェート(MIMP)としてのプロドラッグを述べている(イノシンは、複合体化されないかぎり、殆どインビボ活性を有さない)。しかし、MIMPはあまり活性な免疫調節剤ではない。

イソプリノシンの無毒性を維持するが、免疫刺激活性を強化しようと試みて、ペンタメチレン架橋によって共有結合した、ヒポキサンチンとアミノ酸L-アルギニンの両方を含む免疫調節剤を合成した。化合物, ST789(ヒポキサンチンペンチルオキシカルボニル L-アルギニン、以前にはPCF39)はThymusの最新号, 19, S1~S112(1992)に完全に述べられている。L-アルギニンは免疫活性化に役割を果たすことが知られ、例えばタフトシン、サブスタンスP、チモペンチン及びスプレノペンチンのような、多くの免疫調節ペプチドの末端に存在するので、L-アルギニンを選択した。ST789はヨーロッパ特許出願第#91830284号、公報第#464,009号(1992年1月2日発行)にさらに述べられている。天然生成L-アミノ酸から成るオリゴペプチドがL-アルギニンに置換したST789の類似体も、このヨーロッパ公報に述べられている。しかし、この分子のプリン塩基部分はヒポキサンチンのままである。

20

イソプリノシンとの免疫学的比較は行われなかったが、同様なパターンが現れた。これらの化合物は無毒性であるが、せいぜい、免疫刺激剤を調節するにすぎない。例えば、ST789又はその類似体が、例えば細胞毒性Tリンパ球(CDB⁺T細胞)のような、重要な免疫細胞サブセットを刺激しようと言う証拠は存在しなかった。このサブセットはウイルス感染症及び癌からの身体の防御に重要な役割を果たす。

30

P. Cornaglia-FerrarisはInternational Journal of Immunopharmacology, 13, 1005~1012, 1991にST789のさらに他の類似体を述べている。この発表された化合物では、L-アルギニンがボンベシンカルボキシ末端ジペプチドL-ロイシルL-メチオニンによって置換される。プリン塩基はヒポキサンチンのままである。実際に、プリン塩基がメチレン鎖によってアミノ酸又はオリゴペプチドに共有結合するこの種類の化合物では、ヒポキサンチン以外のプリン塩基を包含する化合物に関するデータが殆ど報告されていない。さらに、哺乳動物系における生理的に活性なアミノ酸の必要性のために、現在までに報告されている全ての研究が(中性)L-配置のアミノ酸を述べている。天然生成プリン塩基であるアデニン及びグアニンによるヒポキサンチンの置換についての簡単な説明の1つはR. Stradi等によって、F1. Farma, 45, 39~47, 1990に報告されるが、重要な生理的活性については表示されていない。

40

上述したように、アデノシンデアミナーゼ(及び暗に、イノシン)は正常な免疫状態を維持するために必要である。それ故、1993年12月21日に発行された米国特許第5,272,151号では、M. Marzi等は、ST789においてヒポキサンチンをキサンチンオキシダーゼ阻害剤アロプリノールに置換することを報告している。この置換の結果、ST689(アロプリノールペンタノール)を生じる。この置換物は、イノシンがキ

50

サンチンに異化され、次に哺乳動物においてキサンチンオキシダーゼ酵素の存在下で尿酸に異化されるので、インピボにおいてイノシンの濃度を高めると期待される。しかし、米国特許第5,272,151号に報告されている免疫学的分析の大部分では、アロプリノールは免疫抑制性であることが認められ、ST689はST789よりも著しく大きく免疫刺激性ではなかった。

レバミゾールは悪性黒色腫に対して用いられる別の免疫調節剤である。悪性黒色腫のアジュバントレバミゾール療法を開始した後にラバミゾールが重大な血小板減少症を誘導することが現在発見されている [Med. Pediatr. Oncol. 1995年4月, 24(4), 262~4]。

多くの免疫細胞サブセットを刺激する能力を有し、それによって著しい免疫調節活性を有するが、同時に毒性を欠いている化合物の必要性があることを、先行技術が示している。

10

発明の概要

本発明によると、インピトロとインピボの両方において有意な免疫刺激能力を有する化合物を提供する。

詳しくは、インピトロとインピボにおいて細胞毒性のT細胞の量を増加させる活性を有する化合物を提供する。

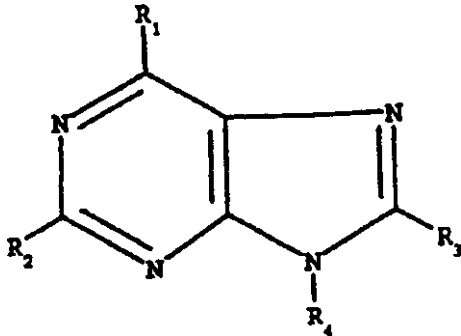
本発明の別の態様では、有意な毒性を有さず、特に、有意な又は強力な免疫刺激に付随した毒性を有さない免疫調節化合物を提供する。

本発明の別の態様では、天然の塩基ではないプリン誘導体を有する免疫調節化合物を提供する。

20

本発明の他の態様では、腫瘍増殖に対する抑制剤 (control) として作用する化合物を提供する。

本発明は式 (I) :



30

で示される化合物又はその製薬的に受容される誘導体を包含する、上記式中、 R_1 は水素； $C_1 - C_{16}$ アルキル；ハロゲン；置換又は非置換チオール；置換又は非置換アミノ；及び OR^8 (式中、 R^8 は水素、 $C_1 - C_{16}$ アルキル、 $C_1 - C_8$ アシル及び $C_7 - C_{18}$ アリールから成る群から選択される) から成る群から選択される；

R_2 と R_3 は水素； $C_1 - C_4$ アルキル；アミノ；置換又は非置換チオール；及びハロゲンから成る群から独立的に選択される；

R_4 は任意に1個以上のヘテロ原子によって中断され、任意に1個以上の $=O$ 又は $=S$ によって置換される式： $(CH_{0-2})_{0-20} - X^{12}$ (式中、 X^{12} はヒドロキシ、アミノアルキル基、アミノ酸又は、2~8アミノ酸のペプチドから成る群から選択される) で示される線状又は環状炭素鎖から成る群から選択される；

40

但し、 R_1 が NH_2 であり、 R_4 がペンチルオキシカルボニル-L-アルギニンであるときに、 R_2 は水素ではなく、 R_1 が OH であり、 R_4 がペンチルオキシカルボニル-L-アルギニンであるときに、 R_2 は NH_2 ではない。

本明細書では下記定義を用いる：本明細書で用いる“アルキル”なる用語は直鎖又は分枝鎖ラジカルの両方を意味し、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、t-ブチル、イソブチル、ペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、ヘプチル、4,4-ジメチルペンチル、オクチル、2,2,4-トリメチルペンチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、これらの種々な分枝鎖異性体を意味する。鎖は飽和又は不飽和のいずれで

50

もよく、例えば二重結合及び三重結合を含むことができる。アルキルは中断されることも、例えば1個以上のハロゲン、酸素、ヒドロキシ、シリル、アミノ、又は他の受容される置換基によって置換されることもできる。

本明細書で用いる“芳香環又は非芳香環”なる用語は、中断されない又は例えばO、S、SO、SO₂及びNのような1個以上のヘテロ原子によって中断された5員若しくは6員芳香環又は非芳香環を包含する、又はこれらの環は非置換であることも、例えばハロゲン、アルキル、アシル、ヒドロキシ、アリール及びアミノによって置換されることもでき、前記ヘテロ原子と置換基は例えばアルキル、アシル、アリール、アラルキルによって置換されることもできる。

本明細書で用いる“アシル”なる用語は、式 - COR (式中、Rは例えばアルキル、アミノ、ハロゲン、チオール、酸素、ヒドロキシ、及び水素のような任意の置換基であることができる)で示されるカルボニル基を意味する。

10

本明細書で用いる“アリール”なる用語は、環部分が炭素数6~10である単環式又は二環式芳香族基、例えばフェニル、ナフチル、置換フェニル又は置換ナフチル(フェニル又はナフチルのいずれの置換基も例えばC₁-C₄アルキル、ハロゲン、C₁-C₄アルコキシ、ヒドロキシ又はニトロであることができる)を意味する。

本明細書で用いる“アラルキル”なる用語は、アリール置換基を有する上記アルキル基、例えばベンジル、p-ニトロベンジル、フェネチル、ジフェネチルメチル及びトリフェニルメチルを意味する。

本明細書で用いる“置換アミノ”なる用語は、例えばC₁-C₈アルキル、C₁-C₈アシル、C₆-C₁₂アリール、ヒドロキシ及び水素のような1個以上の置換基によって置換されるアミノを意味する。

20

本明細書で用いる“アミノ酸”なる用語は、天然生成アミノ酸の全て、それらのD-及びL-配置であるようなアミノ酸、並びに例えばホモシステイン、オルニチン、ノルロイシン及びγ-アラニンのような、周知の非ネイティブ、合成及び修飾アミノ酸を包含し、網羅する。非天然アミノ酸のリストはD. C. RobertsとF. Vellaccioによる“The Peptides”, 5巻, 1983, Academic Press, 第6章に見いだすことができる。

本明細書で用いる場合の“線状又は環状”なる用語は、例えば、芳香環又は非芳香環によって任意に中断されることができる線状鎖を包含する。環状鎖は例えば該環の前又は後のいずれかに存在する炭素鎖に結合することができる、例えば芳香環又は非芳香環を包含する。

30

本明細書で用いる“製薬的に受容される誘導体”なる用語は、式I化合物の製薬的に受容される塩、エステル又はこのようなエステルの塩、或いはレシipientへの投与時に式I化合物又はその活性代謝産物若しくは残基を直接又は間接に与えることができる任意の他の化合物を包含する。

【図面の簡単な説明】

図1はシクロホスファミド又は化合物#1又は両方で治療されたマウスの腫瘍増殖の変化を説明する。

図2は図1と同じ方法(regimen)で治療されたマウスの体重変化を説明する。

40

図3はシトキサン又は化合物#1又は両方で治療されたマウスの腫瘍量(tumor volume)の変化を説明する。

図4は図3と同じ方法で治療されたマウスの体重変化を説明する。

図5は5FU、5FUとラバミゾール、及び5FUと化合物#1によって治療されたマウスの腫瘍量の変化を説明する。

図6は高用量の化合物#1で治療された雄Fisherラットの増殖曲線を説明する。

図7は高用量の化合物#1で治療された雌Fisherラットの増殖曲線を説明する。

発明の説明

本発明の1態様では、式I [式中、R₄は(CH₀₋₂)₁₋₈-X¹²であり、X¹²はOHである]で示される化合物を提供する。

50

本発明の他の態様では、式 I [式中、 R_4 は $(CH_2)_n - L - O - CO - X^{12}$ であり、 L は 1 個以上の O 、 S 又は NH で任意に中断される線状又は環状炭素鎖である] で示される化合物を提供する。

好ましくは、 X^{12} は $(CH_2)_n NH_2$ であることができ、 n は 1 ~ 6 の整数である。より好ましくは、 n は 2 である。

より好ましくは、 X^{12} は D - 又は L - 配置の天然生成アミノ酸であることができる。好ましくは、これらのアミノ酸はアルギニン、グリシン、アラニン、グルタミン酸、バリン、オルニチン又はシトルリン、又はこれらの保存置換体 (conservative substitutions) から成る群から選択されることができる。

なお一層好ましくは、アミノ酸は L - アルギニンである。さらに一層好ましくは、アミノ酸は D - アルギニンである。

本発明の代替え実施態様では、 X^{12} は 2 ~ 8 アミノ酸のペプチドであることができる。

好ましくは、このようなペプチドは $Val - Pro - Leu$ 、又は $Ile - Pro - Ile$ 、又はこれらの保存置換体であることができる。

本発明の他の実施態様では、 L は $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2)_m - H - (CH_2)_m-$ 及び $(CH_2)_m - C - C - (CH_2)_m-$ [式中、 H は O 、 S 又は NH であり、 n は 1 ~ 6 の整数であり、 m は 1 ~ 3 の整数である] から選択されることができる。

好ましくは、 L はフェニル、シクロヘキシル、ジオキソラニル、オキサチオラニル及びシクロペンチルから選択されることができる。

本発明の他の代替え実施態様 (alternative) では、 R_1 が $C_1 - C_{16}$ アルキルであるときに、 R_1 は 1 個以上のヘテロ原子によって任意に中断され、及び 1 個以上のヘテロ原子、ヒドロキシ、ハロゲン、 $C_1 - C_{16}$ アルキル、 $C_1 - C_{16}$ アシル、 $C_6 - C_{12}$ アリール、ニトロ、又は置換若しくは非置換アミノによって任意に置換される芳香環又は非芳香環であることができる。

より好ましくは、 R_1 は OH 、 OCH_3 、 SH 又は SCH_3 であることができる。

或いは、 R_1 は水素、ハロゲン、 $C_1 - C_6$ アルキル、非置換又は置換アミノ、 OH 、及び $OC_1 - C_6$ アルキル、 SH 又は $SC_1 - C_6$ アルキルから成る群から選択されることができる。

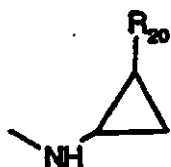
好ましくは、 R_1 はクロロであることができる。

或いは、 R_1 は式 NR^5R^6 [式中、 R^5 と R^6 は水素、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、 $C_1 - C_4$ アシル、置換又は非置換アミノ、及び $C_6 - C_{10}$ アリールから成る群から独立的に選択される] によって示されることができる。

好ましくは、 R_1 は下記要素：



又は



[式中、 R_{20} は H 又はメチルである]

から成る群から選択されることができる。

さらにより好ましくは、 R_1 は $-N(CH_3)_2$ であることができる。さらにより好ましく

10

20

30

40

50

は、 R_1 は $-NHNH_2$ であることができる。さらにより好ましくは、 R_1 は $-NHCH_3$ であることができる。さらにより好ましくは、 R_1 は $-NH_2$ であることができる。さらにより好ましくは、 R_1 は $-N(NH_2)CH_3$ であることができる。

最も好ましくは、 R_1 は $-N(CH_3)_2$ であることができる。

本発明の他の代替実施態様では、 R_2 と R_3 はCl、Br、I及びFから成る群から独立的に選択されることができる。

好ましくは、 R_2 と R_3 は独立的にCl又はBrである。

より好ましくは、 R_2 はH、Cl又は NH_2 であることができる。

より好ましくは、 R_3 はH、Br、又はSH若しくは SCH_3 であることができる。

最も好ましくは、本発明の化合物は式I [式中、 R_1 は $N(CH_3)_2$ であり； R_2 と R_3 は両方とも水素であり； R_4 はペンチルオキシカルボニル-D-アルギニンである] によって表される化合物又はその製薬的に受容される誘導体である。

本発明の好ましい化合物は下記化合物から選択される：

化合物# I I I N - (6 - クロロプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール；

化合物# V N - (6 - N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - ペンタノール；

化合物# 1 N , N - ジメチルアミノプリニルペンチルオキシカルボニル D - アルギニン；

化合物# 2 N , N - ジメチルアミノプリニルペンチルオキシカルボニル L - アルギニン；

化合物# 3 N - モノメチルアミノプリニルペンチルオキシカルボニル D - アルギニン；

化合物# 3 a N - (6 - N - メチル - アミノプリン - 9 - イル) - ペンタノール；

化合物# 4 N - モノメチルアミノプリニルペンチルオキシカルボニル L - アルギニン；

化合物# 5 アミノプリニルペンチルオキシカルボニル D - アルギニン；

化合物# 5 a N - (6 - アミノプリン - 9 - イル) 5 - ペンタノール；

化合物# 6 アミノプリニルペンチルオキシカルボニル L - アルギニン；

化合物# 7 ヒドラジノプリニルペンチルオキシカルボニル D - アルギニン；

化合物# 7 a N - (6 - ヒドラジノプリン - 9 - イル) 5 - ペンタノール；

化合物# 8 ヒドラジノプリニルペンチルオキシカルボニル L - アルギニン；

化合物# 9 クロロプリニルペンチルオキシカルボニル D - アルギニン；

化合物# 10 クロロプリニルペンチルオキシカルボニル L - アルギニン；

化合物# 11 ヒドロキシプリニルペンチルオキシカルボニル D - アルギニン；

化合物# 12メルカプトプリニルペンチルオキシカルボニル D - アルギニン；

化合物# 13メルカプトプリニルペンチルオキシカルボニル L - アルギニン；

化合物# 14 N , N - ジメチルアミノプリニルペンチルオキシカルボニルグリシン；

化合物# 15 N , N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 ' - エトキシ - エトキシカルボニル - D - アルギニン；

化合物# 16 (2 S , 4 S) - 2 - (N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - (メチルオキシカルボニル - D - アルギニン) - 1 , 3 - ジオキソラン；

化合物# 17 N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - プロモプリニルペンチルオキシカルボニル L - アルギニン；

化合物# 18 N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - プロモプリン - 9 - イル) 7 - ペンチルオキシカルボニル - D - アルギニン；

化合物# 19 N - 9 - プリニル - 5 - ペンタノール；

化合物# 20 N - 9 - プリニル - 7 - ペンチルオキシカルボニル - D - アルギニン；

化合物# 21 N - 9 - プリニル - 7 - ペンチルオキシカルボニル - L - アルギニン；

化合物# 22 N , N - ジメチルアミノプリニルペンチルオキシカルボニル L - バリル L - プロリル L - ロイシン；

化合物# 23 N , N - ジメチルアミノプリニルペンチルオキシカルボニル L - イソロイシル L - プロリル L - イソロイシン；

化合物# 24 N - (6 - シクロプロピルアミノプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール；

10

20

30

40

50

- 化合物 # 25 N - (6 - シクロプロピルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 26 N - (6 - シクロプロピルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 27 N - (6 - アゼチジンプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 28 N - (6 - アゼチジンプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 29 N - (6 - アゼチジンプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 30 トランス - (N - 6 - クロロプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシル - メタノール ; 10
- 化合物 # 31 トランス - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシル - メタノール ;
- 化合物 # 32 トランス - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシル - メチルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 33 トランス - (N - 6 - ヒドロキシプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシル - メタノール ;
- 化合物 # 34 トランス - (N - 6 - メトキシプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシル - メタノール ;
- 化合物 # 35 シス - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシル - メタノール ; 20
- 化合物 # 36 シス - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシル - メチルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 37 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペントオキシカルボニル - D - シトルリン ;
- 化合物 # 38 N - (6 - メチルアジリジンプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 39 ラセミ N - (6 - メチルアジリジンプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 40 N , N - (6 - ジメチルアミノプリニル - 9 - イル) - 7 - チオエトキシ - エトキシカルボニル - D - アルギニン ; 30
- 化合物 # 41 メタ - (N - 6 - ジメチルアミノプリニル - 9 - イル) - メチル - ベンジルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 42 5 - (N - 6 - ジメチルアミノプリニル - 9 - イル) - 3 - ペンチニル - 1 - オキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 43 ラセミ N - [6 - (1 - メチル - 2 - アセトキシ) - エチルアミノプリン - 9 - イル] - 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 44 ラセミ N - [6 - (1 - メチル - 2 - アセトキシ) エチルアミノプリン - 9 - イル] - 7 - ペンチルオキシ - カルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 45 N - (2 , 6 - ジクロロプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 46 N - (2 , 6 - ジクロロプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - D - アルギニン ; 40
- 化合物 # 47 N - (2 , 6 - ジクロロプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 48 N - (2 - アミノ , 6 - N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 49 N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - メチルチオプリン - 9 - イル) 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 50 N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - メチルチオプリン - 9 - イル) 7 - ペントキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 51 N - (6 - メトキシプリン - 9 - イル) 5 - ペンタノール ; 50

- 化合物 # 5 2 N - (6 - メトキシプリン - 9 - イル) 7 - ペントキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 5 3 N - (2 - クロロ - 6 - メトキシプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 5 4 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) 7 - ペントキシカルボニル - D - オルニチン ;
- 化合物 # 5 5 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) 7 - ペントキシカルボニル - L - オルニチン ;
- 化合物 # 5 6 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) 7 - ペントキシカルボニル - L - バリン ; 10
- 化合物 # 5 7 N - (6 - ジメチルアミノ - 9 - イル) 7 - ペントキシカルボニル - D - バリン ;
- 化合物 # 5 8 N (N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニルエチルアミン塩酸塩 ;
- 化合物 # 5 9 N - (6 - メルカプトプリン - 9 - イル) - ペンタノール ;
- 化合物 # 6 0 N - (6 - N - メチルチオプリン - 9 - イル) - ペンタノール ;
- 化合物 # 6 1 N - (6 - クロロプリン - 9 - イル) 4 - ブタノール ;
- 化合物 # 6 2 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) 4 - ブタノール ;
- 化合物 # 6 3 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 6 - ブトキシカルボニル - D - アルギニン ; 20
- 化合物 # 6 4 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 6 - ブトキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 6 5 N - (6 - クロロプリン - 9 - イル) - 6 - ヘキサノール ;
- 化合物 # 6 6 N - (6 - N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 6 - ヘキサノール ;
- 化合物 # 6 7 N - (6 - N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 8 - ヘキシルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 6 8 N - (6 - N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 8 - ヘキシルオキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 6 9 シス - (N - 6 - ヒドロキシプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシル - メタノール ; 30
- 化合物 # 7 0 シス - (N - 6 - ヒドロキシプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシル - メチルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 7 1 トランス - (N - 6 - ヒドロキシプリン - 9 - イル) - 4 - メチル - シクロヘキシル - メチルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 7 2 N - (6 - N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 5 - ペンチルアミン塩酸塩 ;
- 化合物 # 7 3 N - (6 - メチルアジリジンプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 7 4 (2 S , 4 S) - 2 - (N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - ヒドロキシメチル - 1 , 3 - ジオキソラン ; 40
- 化合物 # 7 5 (1 S , 3 R) 及び (1 R , 3 S) - 1 - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) メチル - 3 - シクロペンタンメタノール ;
- 化合物 # 7 6 (1 S , 3 R) 及び (1 R , 3 S) - 1 - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) メチル - 3 - (メチルオキシカルボニル - D - アルギニン) シクロペンタン ;
- 化合物 # 7 7 N , N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エチルアミノエタノール ;
- 化合物 # 7 8 N , N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エチルアミノエトキシカルボニル - D - アルギニン ; 50

- 化合物 # 79 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エチルアミノエトキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 80 5 - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 3 - ペンチン - 1 - オール ;
- 化合物 # 81 5 - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 3 - ペンチニル - 1 - オキシカルボニル - L - アルギニン ;
- 化合物 # 82 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - チオエトキシ - エタノール ;
- 化合物 # 83 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - チオエトキシ - エトキシカルボニル - L - アルギニン ; 10
- 化合物 # 84 (2 S , 4 S) 及び (2 R , 4 R) - 2 - (N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - (メトキシカルボニル - D - アルギニン) - 1 , 3 - オキサチオラン ;
- 化合物 # 85 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エトキシ - エトキシエタノール ;
- 化合物 # 86 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エトキシ - エトキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 87 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エトキシ - エトキシカルボニル - L - アルギニン ; 及び
- 化合物 # 88 N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - プロモプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール。 20

より好ましくは、本発明の化合物は下記化合物から選択される :

- 化合物 # I I I N - (6 - クロロプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # V N - (6 - N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - ペンタノール ;
- 化合物 # 1 N, N - ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニル D - アルギニン ;
- 化合物 # 2 N, N - ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニル L - アルギニン ;
- 化合物 # 3 N - モノメチルアミノプリニルペントキシカルボニル D - アルギニン ;
- 化合物 # 3 a N - (6 - N - メチル - アミノプリン - 9 - イル) - ペンタノール ;
- 化合物 # 5 アミノプリニルペントキシカルボニル D - アルギニン ; 30
- 化合物 # 5 a N - (6 - アミノプリン - 9 - イル) 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 6 アミノプリニルペントキシカルボニル L - アルギニン ;
- 化合物 # 7 ヒドラジノプリニルペントキシカルボニル D - アルギニン ;
- 化合物 # 7 a N - (6 - ヒドラジノプリン - 9 - イル) 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 8 ヒドラジノプリニルペントキシカルボニル L - アルギニン ;
- 化合物 # 11 ヒドロキシプリニルペントキシカルボニル D - アルギニン ;
- 化合物 # 19 N - 9 - プリニル - 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 20 N - 9 - プリニル - 5 - ペンチルオキシカルボニル - D - アルギニン ;
- 化合物 # 51 N - (6 - メトキシプリン - 9 - イル) 5 - ペンタノール ;
- 化合物 # 59 N - (6 - メルカプトプリン - 9 - イル) 5 - ペンタノール ; 及び 40
- 化合物 # 60 N - (6 - N - メチルチオプリン - 9 - イル) - ペンタノール。

最も好ましくは、本発明の化合物は N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - D - アルギニンである。

本明細書では、下記略号と定義を用いる :

- P H A - フィトヘマグルチニン
- C o n A - コンカナバリン A
- C Y - シクロホスファミド
- P W M - ポークウィードマイトジェン
- L P S - リポ多糖
- D E A D - ジエチルアゾジカルボキシレート 50

PBS - リン酸塩緩衝化生理食塩水

TBDPSCl - tert - ブチルジフェニルシリルクロリド

CTX - シトキサン

本明細書で用いる“保存置換体”なる用語は、保存的であるアミノ酸の修飾及び置換を意味する、即ち、アミノ酸又はペプチドの二次構造及びヒドロパチック (hydropathic) 特性に与える影響が最小である置換を意味する。これらは例えば Dayhoff によって Atlas of Protein Sequence and Structure 5, 1978 に、及び Argos によって EMBO J., 8, 779~785, 1989 に述べられるような置換を包含する。例えば、下記群に属するアミノ酸が保存的变化 (conservative change) を表す: ala, pro, gly, glu, asp, gln, asn, ser, thr; cys, ser, tyr, thr; val, ile, leu, met, ala, phe; lys, arg, his; 及び phe, tyr, trp, his。好ましい置換は対応 L - アミノ酸に代わる D - 異性体の置換をも包含する。

10

驚くべきことに、十分に確立された先行技術とは対照的に、ST789 と同様な種類の免疫刺激剤の設計にヒポキサンチン又はその他の天然生成プリン塩基 (例えば、アデニン又はグアニン) を用いる必要がないことが判明した。実際に、生物学的系では生じない 6 - 置換プリン塩基によってヒポキサンチンに置き換えると同等以上に大きい免疫刺激度を与えることができる。さらに、アミノ酸が (天然の) L - 配置である必要がないことも驚くべきことに判明した。

天然生成アミノ酸の呼称がラセミ混合物又は D - エナンチオマーの使用を排除しないことは理解されるであろう、本発明の 1 実施態様では、D - 配置のアミノ酸を用いることが特に好ましい。

20

本発明の化合物は、治療されるべき哺乳動物における細胞毒性 T リンパ球の数を増加させるインビトロ及びインビボ活性を有することが驚くべきことに判明した。

本発明の化合物は、驚くべきことに腫瘍増殖に対して有効であることもさらに判明した。

本発明の化合物は悪性黒色腫の治療におけるレバミゾールの非毒性の代替物である。

マウスにおいて対照群に比べて試験したときに、本発明の化合物はシクロホスファミド又は 5 - フルオロウラシルと組合せて用いると、特に乳癌及び結腸癌に対して腫瘍増殖を有意に抑制する。

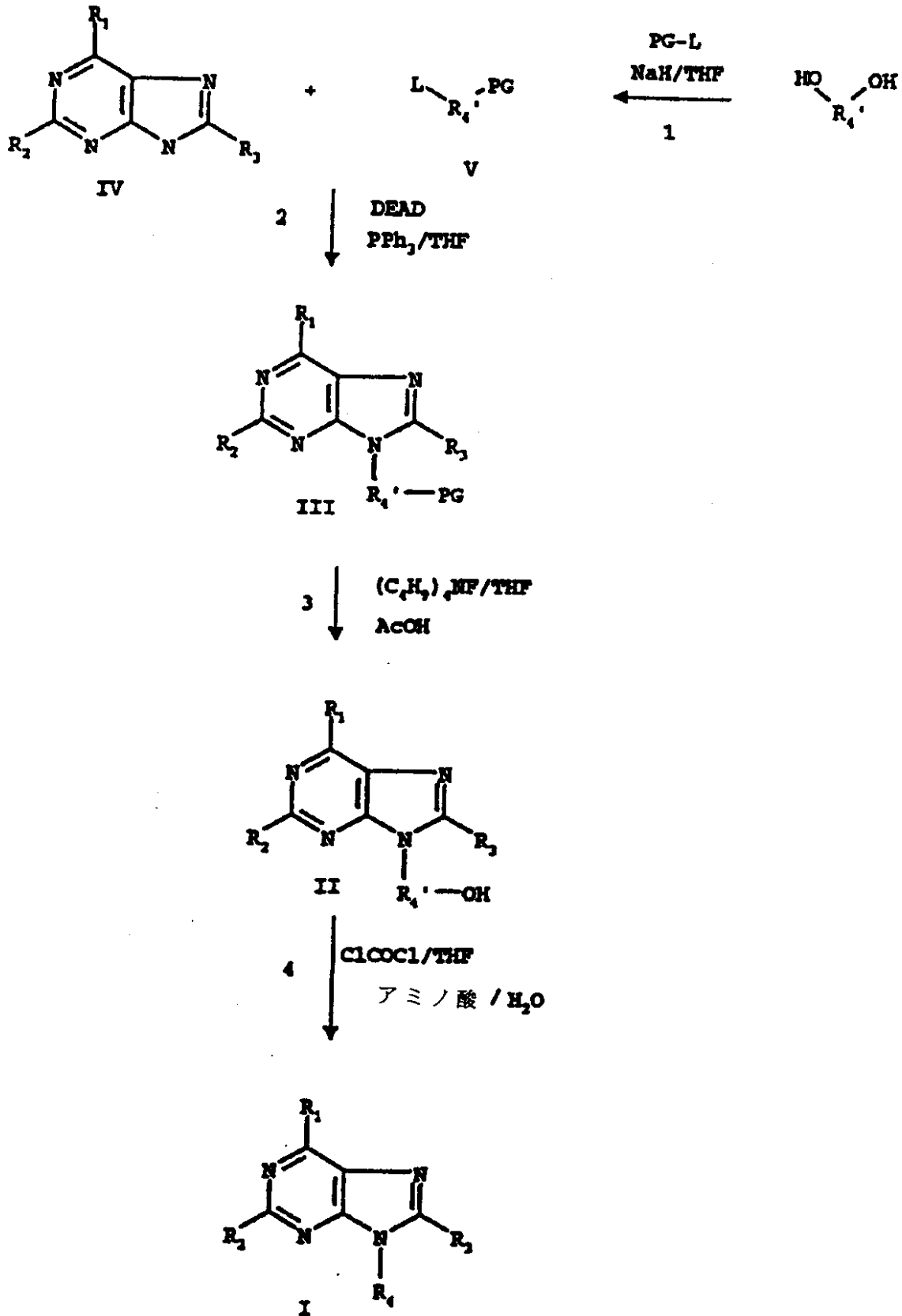
本発明の化合物は当該技術分野で周知の合成方法を用いて製造することができる。したがって、例えば、R. Stradi 等によって Il Farmaco, 45, 39~47, 1990 に述べられている合成方法に従うことができる、但しクロロプリン中間体から塩素原子をヒドロキシル以外の適当な置換基によって排除しなければならない。しかし、下記実施例に概略を述べるように、出発物質として 6 - クロロプリンを用いることによってプリン環が既に形成されている場合には、この合成方法の改良方法を実施することが好ましい。これはプリン環を形成する必要性を回避し、それによって所望の免疫刺激剤のより効果的かつより高収率の製造を可能にする。この好ましい合成経路については、スキーム 1 に概略を述べる。

30

スキーム 1 において、 R_4' は上記で定義したような $(CH_{0.2})_{1-8} - O - CO - X^{12}$ であり、この R_4' を例えば NaH / THF のような塩基の存在下で保護基と反応させて、化合物 V を製造する。L は当業者に周知である脱離基を表す。任意の適当な脱離基を用いることができる。Pg は当業者に周知の保護基である。任意の適当な保護基を用いることができる。

40

スキーム 1



化合物 V を例えば DEAD と $\text{PPh}_3 / \text{THF}$ の存在下で化合物 IV とカップリングさせて、化合物 III を製造する。化合物 IV は当該技術分野で周知の方法を用いて製造することができる。さらに、 R_1 はこの工程の前に又は後の工程で当該技術分野で周知の方法を用いて加えることができる。

化合物 III を当業者に周知の方法を用いて、例えば OTBDPS 保護基に対しては (C

$(\text{H}_9)_4\text{NF} / \text{THF}$ と AcOH によって脱保護して、化合物 II を製造する。この化合物をさらに任意にアミノ酸又は、1～8アミノ酸長さのペプチドと例えば $\text{ClCOCl} / \text{THF}$ と H_2O の存在下で反応させる。得られる化合物は式 I 化合物である。

R_4 がアミノ酸でもペプチド鎖でもない式 I 化合物は、工程1～3を用いて付加的な工程4なしに合成することができることを当業者は理解するであろう。

本発明の化合物がその製薬的に受容される誘導体及び類似体の全てと、異性体及びエナンチオマーの全てとを包含することは、当業者によって理解されるであろう。

本発明の他の態様は式 I 化合物又は製薬的製剤の薬物の製造への使用である。

本発明の他の態様は、免疫不全の治療又は腫瘍増殖の抑制のためへの式 I 化合物、薬剤組成物又はその製薬的に受容される誘導体を投与する段階を含む、哺乳動物好ましくはヒトの10
治療方法である。

本明細書における治療への言及が明確な感染症又は症候群の予防並びに治療に及び、それ故、腫瘍の増殖(outgrowth)の抑制も包含することは、当業者によって理解されるであろう。

さらに、治療に用いるための本発明の化合物の必要量が選択した特定の化合物によってのみでなく、投与経路、治療されるべき状態の性質及び患者の年齢と状態によっても変化し、結局は主治医又は獣医の判断に任せられることはさらに理解されるであろう。

しかし、一般には、適当な用量は約0.1～約250mg/kg体重/日の範囲内である。好ましくは、用量は約1～約100mg/kg/日の範囲である。より好ましくは、約2～約20mg/kgである。最も好ましくは、約2.5mg/kgである。さらに最も好ましくは、約450mg/m²である。20

望ましい用量は、単回量で又は適当な間隔をおいて、例えば1日につき2、3、4回以上の分割量(subdose)として投与される分割投与量として便利に提供される。

化合物は例えば単位投与形につき10～1500mg、好都合には20～1000mg、最も好都合には50～700mgの有効成分を含有する単位投与形で便利に投与される。理想的には、活性化化合物のピーク血漿濃度に達するように有効成分は投与されるべきである。これは例えば任意に生理食塩水中の有効成分の溶液の静脈注射によって、又はボラス(bolus)として投与されて達成されることができ、望ましい血液中レベルは連続注入によって又は間欠的注入によって維持されることができ、30

治療に用いるために、本発明の化合物を加工していない化合物として投与することができるが、有効成分を薬剤製剤として提供することが好ましい。

したがって、本発明は式 I 化合物又はその製薬的に受容される誘導体をその1種以上の製薬的に受容されるキャリアーと、任意に、他の治療的成分と共に含む薬剤製剤をさらに提供する。キャリアー(単数又は複数)は製剤の他の成分と適合性であるという意味で“受容される”ものであり、レシピエントに対して有害であってはならない。

薬剤製剤は局所、経口、直腸、鼻腔若しくは非経口(筋肉内、皮下及び静脈内を含む)投与に適した製剤、又は吸入若しくは吹付けによる投与に適した形状の製剤を包含する。製剤は適当な場合には個別の投与単位として便利に提供され、製薬技術分野で周知の方法のいずれかによって製造されることができ、全ての方法は活性化化合物を液体キャリアー又は微粉状固体キャリアー又は両方と一緒にし、必要な場合には生成物を所望の製剤に成形する工程を包含する。40

表皮への局所投与のためには、本発明による化合物を軟膏、クリーム若しくはローションとして、又は経皮パッチとして処方することができる。このような経皮パッチは例えばリナロール(linalool)、カルバクロール、チモール、シトラール、メントール及びt-アネトールのような透過促進剤を含有することができる。軟膏及びクリームは例えば、適当な増粘剤及び/又はゲル化剤を添加した水性又は油性基剤を用いて処方することができる。ローションは水性又は油性基剤を用いて処方することができ、一般に1種以上の乳化剤、安定剤、分散助剤、沈殿防止剤、増粘剤又は着色剤をも含有する。

経口投与に適した薬剤製剤は例えばカプセル剤、カシェー又は錠剤のような個別の単位として便利に提供されることができ、各圧縮パックは例えばジクロロジフルオロメタン、50

トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、又は他の適当なガスのような、適当な噴射剤を含むことができる。圧縮エーロゾルの場合には、計量した量を投与するためにバルブを備えることによって、投与単位を決定することができる。或いは、吸入又は吹付けによる投与のために、本発明による化合物は例えば化合物と適当な粉末基剤（例えば、ラクトース又は澱粉）との粉末ミックスのような乾燥粉末組成物の形状をとることができる。本発明による組成物は、それから吸入器若しくは吹き付け器によって粉末が投与されることができる、例えばカプセル若しくはカートリッジ又は例えばゼラチン若しくはプリスターパックに入れた単位投与形で提供されることができる。必要な場合には、有効成分を持続放出するために適した上記製剤を用いることができる。本発明の化合物は他の治療剤、例えば他の免疫調節剤又は腫瘍抑制剤と組合せて用いることもできる。

10

したがって、本発明は他の態様では式（I）化合物又はその生理的に受容される誘導体を他の治療有効剤と共に含む組合せを提供する。

このような治療有効剤は腫瘍の治療に用いられる細胞毒性剤を包含する。このような細胞毒性剤はシクロホスファミド又は5 - フルオロウラシル（5 - FU）を含有する。

腫瘍の治療に用いられるシクロホスファミド用量は好ましくは約10 ~ 1000 mg / m²の範囲である。より好ましくは、約100 ~ 約500 mg / m²である。最も好ましくは、約350 mg / m² / 日である。

また、腫瘍の治療に用いられる5 - フルオロウラシル用量は好ましくは約0.1 ~ 約250 mg / kgの範囲である。好ましくは、約1 ~ 約50 mg / kgである。より好ましくは、約5 ~ 約20 mg / kgである。最も好ましくは、約12 mg / kg（500 mg / m²）である。

20

癌治療の技術分野に熟練した人々によって理解されるように、このような用量は治療すべき悪性腫瘍の種類、疾患の段階、腫瘍の反応性等によって変化する。

上述した組合せは薬剤組成物の形状で用いるために便利に提供されることができ、したがって、上記で定義された組合せをその製薬的に受容されるキャリアーと共に含む薬剤組成物は本発明の他の態様を構成する。

このような組合せの個々の成分は分離した薬剤製剤又は複合薬剤製剤として連続的に又は同時に投与することができる。

式（I）の化合物又はその製薬的に受容される誘導体を第2治療剤と組合せて用いる場合に、各化合物の用量は化合物を単独で用いた場合の用量と同じであることも異なることも考えられる。適当な用量は当業者によって容易に判定されるであろう。

30

本発明の他の実施態様では、本発明の化合物の製薬的に受容される量を投与する工程を含む免疫不全の治療方法又は腫瘍増殖の抑制方法を提供する。

このような腫瘍は好ましくは悪性黒色腫、乳癌及び結腸癌を包含する。

より好ましくは、シクロホスファミドと組合せて本発明の化合物の製薬的に受容される量を投与する工程を含む乳癌の治療方法を提供する。

最も好ましくは、5 - フルオロウラシルと組合せて本発明の化合物の製薬的に受容される量を投与する工程を含む結腸癌の治療方法を提供する。

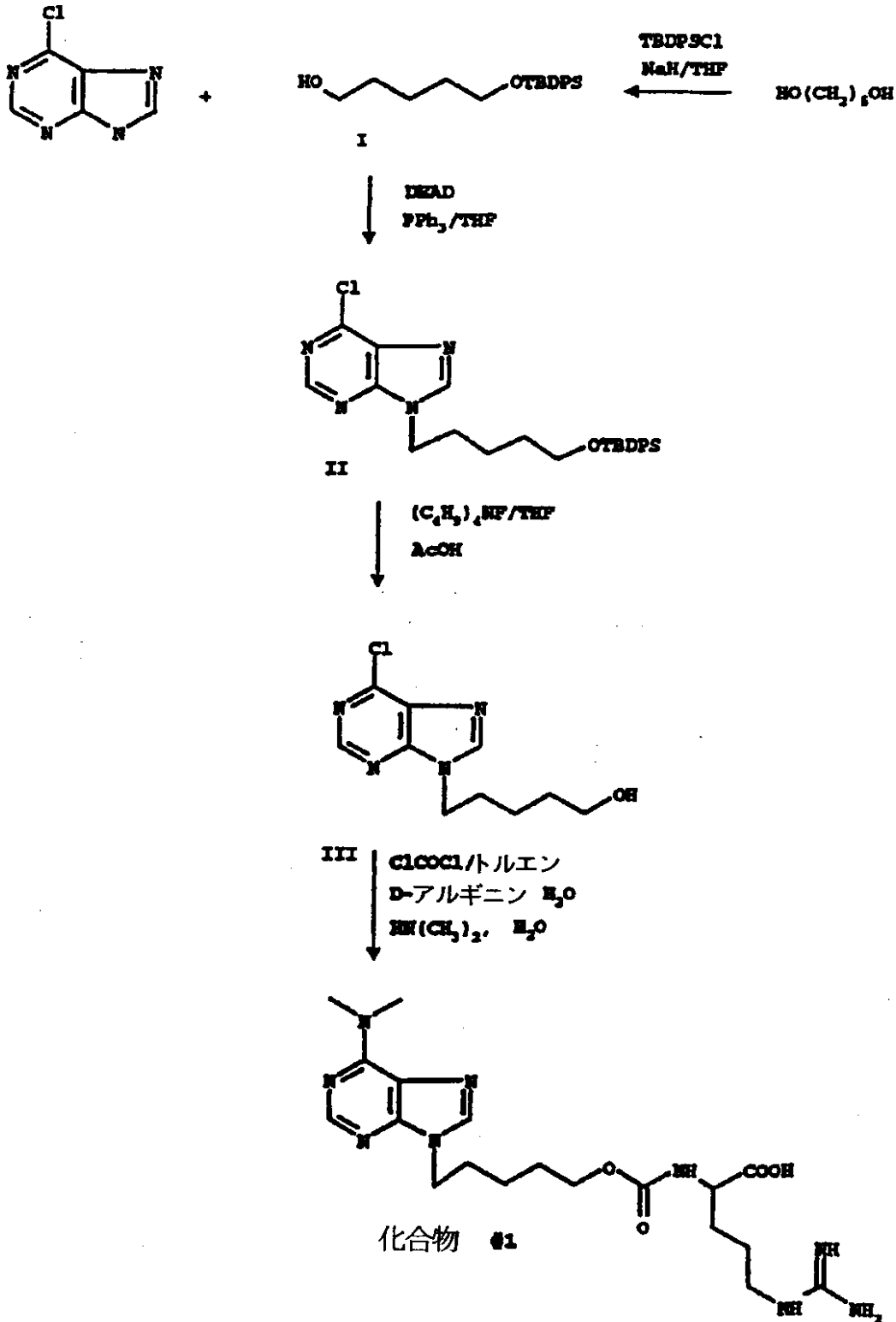
本発明を下記実施例によってさらに説明するが、下記実施例は本発明の限定を意図するものではない。温度は全て摂氏度である。

40

実施例

式I化合物を以下で概略を述べる方法を用いて合成し、免疫学的活性に関して試験した。

実施例 1 a N, N - ジメチルアミノプリニルペンチカルボニルD - アルギニン - 化合物 # 1 の合成



工程 1 :

(a) 保護された 1 , 5 - ペンタンジオールの合成

4 . 0 g (3 6 . 3 ミリモル) のペンタンジオールを 7 5 m l の乾燥テトラヒドロフランに溶解し、アルゴン流下で撹拌した。水素化ナトリウム (1 . 4 g , 5 7 . 8 ミリモル) を加え、この懸濁液を 3 0 分間撹拌し、次に、2 5 m l の乾燥テトラヒドロフラン中に溶解した t e r t - ブチルジフェニルシリルクロリド (8 . 0 m l , 3 0 . 8 ミリモル) をジオール溶液に滴加した。この反応物を周囲温度、アルゴン下において一晩撹拌した。次に、懸濁液を 1 0 0 m l のエーテル上に注入した。このエーテル性懸濁液を 1 0 % 炭酸カリウム (1 0 0 m l) と、ブライン (1 0 0 m l) とによって洗浄し、硫酸マグネシウムによって乾燥させた。真空中で溶媒を除去して、1 0 . 3 g (3 0 . 1 ミリモル) の生成

10

20

30

40

50

物を98%の収率で得て、これをさらに精製せずに用いた。

(b) 化合物Iと6-クロロプリンとのカップリング

100mlの乾燥テトラヒドロフラン中のトリフェニルホスフィン(4.7g, 17.9ミリモル)と6-クロロプリン(2.3g, 15.1ミリモル)との攪拌溶液に、アルゴン流下で、ジエチルアゾジカルボキシレート(DEAD, 2.8ml, 17.9ミリモル)を加えた。10分間後に、20mlの乾燥テトラヒドロフラン中に溶解した化合物I(4.7g, 13.7ミリモル)をこの反応物に滴加し、この反応物を次に周囲温度、アルゴン下において一晩攪拌した。真空中で溶媒を除去して、粗生成物を溶離剤として30%酢酸エチル-ヘキサンを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した(R=0.30)。生成物、化合物II(3.7g, 7.6ミリモル)が無色油状物として55%収率で得られた。

10

工程2: シリル保護基の除去

2.3g(4.4ミリモル)を40mlの乾燥テトラヒドロフラン中に溶解し、アルゴン流下で攪拌した。テトラブチルアンモニウムフルオリド(5.3ml, 5.1ミリモル)を加え、周囲温度、アルゴン下において一晩攪拌した。この溶液に氷酢酸(90.31ml, 5.3ミリモル)を加え、真空中で溶媒を除去した。粗生成物を溶離剤として10%メタノール-酢酸エチルを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した(Rf=0.20)。生成物を最小量の塩化メチレンに入れ、セライト(Celite)に通して濾過して、シリカを除去した。溶媒を真空下で除去し、生成物を乾燥させて、化合物III(1.0g, 4.2ミリモル)を95%収率で得た。

20

工程3: 化合物IIIのD-アルギニンとのカップリング

1.0g(4.2ミリモル)の6-クロロプリニルペンタノール、化合物IIIを75mlの乾燥テトラヒドロフラン中に溶解し、アルゴン流下で攪拌した。トルエン性ホスゲン(4.4ml, 8.3ミリモル)を加え、反応をTLC(メタノールで展開)で監視し、中間体のクロロホルメートが支配的な生成物になるまで(6~10時間)続けた。真空中で溶媒を除去して、残渣を50mlの乾燥テトラヒドロフラン中に入れた。5mlの水に溶解したD-アルギニン(0.94g, 5.4ミリモル)をクロロホルメート懸濁液に加えた。さらに5mlのアリコートの水を用いて、アルギニン溶液を含有していたビーカーをすすぎ洗いして、この水を反応物に加えた。反応物を周囲温度において一晩攪拌し、次にトルエン(60ml)によって抽出した。トルエンを水(60ml)によって逆抽出し、一緒にした水性部分を5%炭酸水素ナトリウムの添加によって弱アルカリ性pHにした。水を真空中で除去し、残渣をメタノール(10ml)に溶解した。濾過後に、メタノール性溶液を500mlの激しく攪拌したアセトンに滴加した。沈殿を濾過によって回収し、アセトンで数回洗浄した。この濾液は未反応の化合物IIIを含有した。沈殿を乾燥させ、次に水(50ml)に溶解し、この水溶液にジメチルアミン(40%水溶液, 5.0ml, 40ミリモル)を加えて、反応物を周囲温度において3時間攪拌した。溶媒を真空下で除去し、粗生成物を溶離剤としてメタノールを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した(Rf=0.25)。一緒にした生成物画分を減量し(約5ml)、4において2時間貯蔵した。この溶液を10分間遠心分離して(375xg)、シリカを除去し、上清を500mlの激しく攪拌したエーテルに滴加した。沈殿を濾過によって回収し、乾燥させて、N,N-ジメチルアミノプリニルペンタキシカルボニルD-アルギニン、化合物#1(0.79g, 1.8ミリモル)を43%収率で得た。

30

40

mp = (軟化119) = 123 ~ 125。

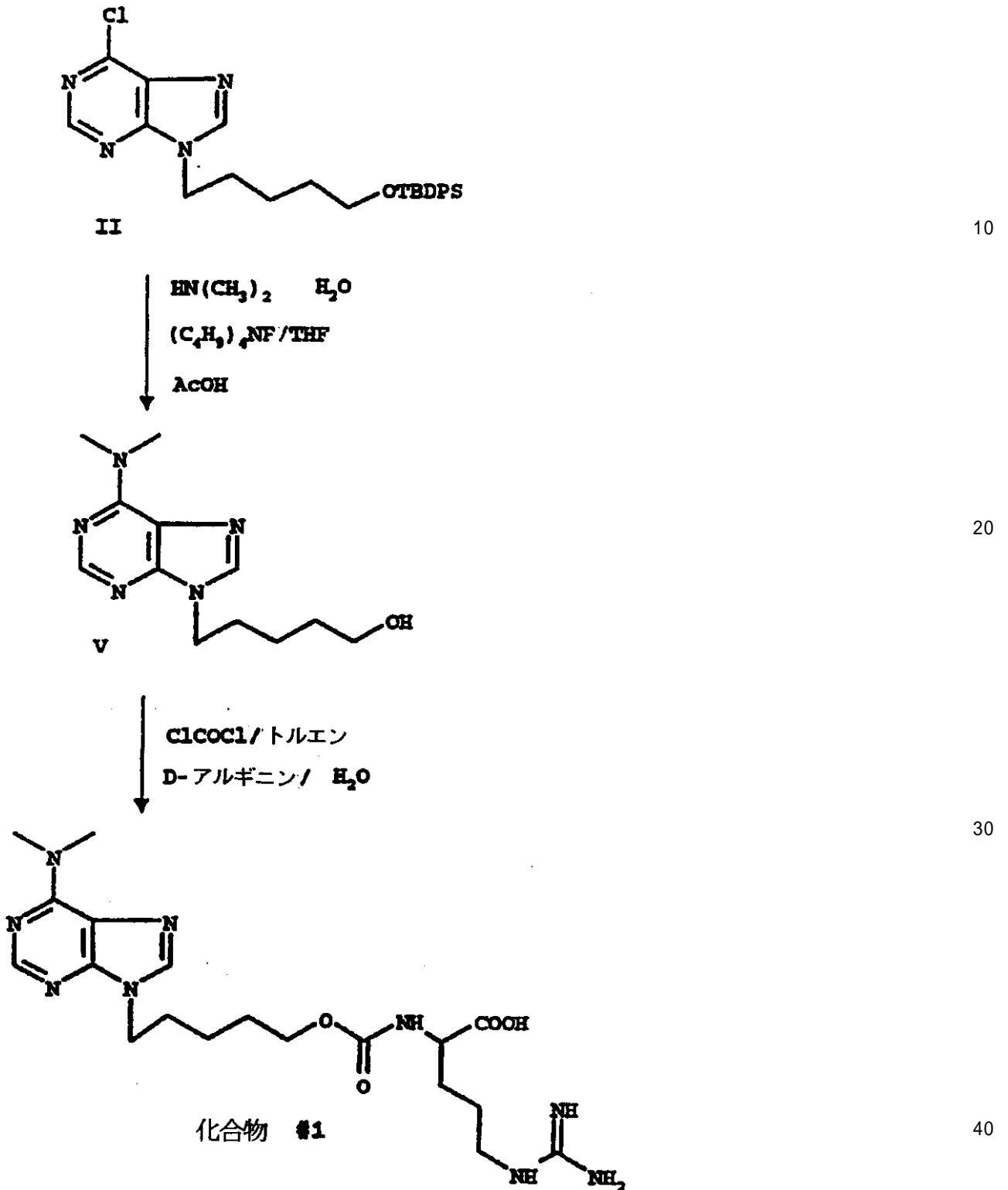
Rfシリカ(メタノール) = 0.30

¹HNMR(DMSO-d₆, 300MHz, ppm単位); 9.40(1H, br, s, COOH); 8.20(1H, s, プリン); 8.15(1H, s, プリン); 8.0-7.3(4H, b, グアニジン); 6.33(1H, d, NH); 4.13(2H, t, N-CH₂); 3.86(2H, t, O-CH₂); 3.63(1H, m, C H); 3.36(6H, s, b, N-(CH₃)₂); 3.02(2H, b, C H); 1.8-1.2(10H, m, C H₂ C H₂-(CH₂)₃-)。

MS(高分解FAB, グリセロール); m/e, 450.25780; M+H⁺, (C₁₉H₃₂O₄N₉)として算出, 450.25773。

50

実施例 1 b N, N - ジメチルアミノプリニルペンタキシカルボニル D - アルギニン - 化合物 # 1 の代替え合成



工程 1 : 保護された 6 - クロロプリニルペンタノール, 化合物 II (実施例 1 a に述べたように製造) を水性ジメチルアミンと反応させた後に、脱保護して化合物 V を得て、これを D - アルギニンとカップリングさせて(このカップリング反応は実施例 1 a に述べたとおりである)、生成物を得ることによって、化合物 # 1 の別法合成を行った。スペクトル特性とクロマトグラフィー特性は実施例 1 a に述べた合成から得られた生成物と同じであった。

保護された 6 - クロロプリニルペンタノール, 化合物 II とジメチルアミンとの反応の典型的な例は次の通りである : 20 ml のテトラヒドロフラン中に溶解した 0.13 g (0

．26ミリモル)の化合物IIに、ジメチルアミン(40%水溶液, 0.5ml, 10.0ミリモル)を加えた。この反応物を周囲温度において18時間攪拌し、溶媒を真空中で除去した。粗生成物を溶離剤として50%酢酸エチル-ヘキサンを用いてフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した(Rf = 0.27)。生成物の化合物V(0.12g, 0.30ミリモル)が94%収率で得られた。

実施例2: N,N-ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニルL-アルギニン-化合物#2の合成

化合物#1のL-エナンチオマー(化合物#2)を実施例1bに上述したように合成して、50mgの生成物を白色固体として得た。

mp(軟化118) = 123 ~ 125

スペクトル特性は化合物#1と同じであった。

実施例3: N-モノメチルアミノプリニルペントキシカルボニルD-アルギニン-化合物#3の合成

ジメチルアミンの代わりにメチルアミン(40%水溶液)を用いて6-メチルアミノプリニルペンタノール化合物#3aを得たこと以外は、実施例1bに上述したように化合物#3を合成した。これを次に実施例1aに述べたようにD-アルギニンとカップリングさせて、32mgの生成物を得た。

mp(軟化127) = 133

Rfシリカ(メタノール) = 0.20

¹HNMR(DMSO-d₆, 300MHz, ppm);

9.30(1H, b, COOH), 8.21(1H, s, プリン); 8.13(1H, s, プリン); 7.8-7.2(4H, b, グアニジン); 6.29(1H, d, NH); 4.13(2H, t, N-CH₂); 3.86(2H, t, O-CH₂); 3.61(1H, m, C-H); 3.17(1H, m, CH₃-N-H); 3.02(3H, b, HN-CH₃); 2.97(2H, b, C-H); 1.9-1.2(10H, m, C-H, C-H, -(CH₂)₃-)

実施例4: N-モノメチルアミノプリニルペントキシカルボニルL-アルギニン-化合物#4の合成

化合物#3のL-エナンチオマー(化合物#4)を実施例3に上述したように合成して、44mgの生成物を白色固体として得た。

mp(軟化123) = 132 ~ 134

Rfシリカ(メタノール) = 0.20

スペクトル特性は化合物#3と同じであった。

実施例5: アミノプリニルペントキシカルボニルD-アルギニン-化合物#5の合成

実施例1bに上述したように、但し、保護された6-クロロプリニルペンタノール、化合物IIをジメチルアミンとではなく、アンモニアガスと反応させて、化合物#5を合成した。このようにして、6-アミノプリニル(アデニン)生成物を脱保護してアルコール化合物#5aを得た。これを次にD-アルギニンとカップリングさせて、260mgの生成物を白色固体として得た。化合物IIとアンモニアとの反応の典型的な例は次の通りである: 0.42g(0.88ミリモル)の化合物IIを75mlの無水エタノール中に溶解し、この溶液を氷浴上に置いた。この急冷した溶液に通してアンモニアガスを10分間バブルさせ、飽和溶液をポンペ(150mlシリンダー)に移した。アンモニアガスをこの溶液に通してさらに1分間バブルさせ、ポンペを密封し、ポンペを120℃油浴中で一晩加熱した。溶媒を真空中で除去して、0.40g(0.88ミリモル)の生成物を95%収率で得た。この生成物をさらに精製せずに用いた。

化合物#5の特性:

mp(軟化143) = 150

Rfシリカ(メタノール) = 0.20

¹HNMR(DMSO-d₆, 300MHz, ppm); 9.40(1H, b, COOH); 8.14(1H, s, プリン); 8.13(1H, s, プリン);

8.0-7.0(6H, m, グアニジン, -NH₂); 6.36(1H, b, NH); 4.13(2H, t, N-CH₂); 3.87(2H, t, O-CH₂);

3.65(1H, m, C-H); 3.03(2H, b, c-H); 1.9-1.2(10H, m, C-H, C-H, -(CH₂)₃-)

実施例6: アミノプリニルペントキシカルボニルL-アルギニン-化合物#6の合成

化合物#5のL-エナンチオマー(化合物#6)を実施例5に上述したように合成して、

93 mg の生成物を白色固体として得た。

mp (軟化 143) = 153 ~ 155

Rf シリカ (メタノール) = 0.22

スペクトル特性は化合物 # 5 と同じであった。

実施例 7 : ヒドラジノプリニルペントキシカルボニル D - アルギニン - 化合物 # 7 の合成

化合物 # 7 を実施例 1 a に上述したように、但しジメチルアミンの代わりに対応アルコール化合物 # 7 a からのヒドラジンをを用いて合成した。したがって、典型的な例では、5 ml の 95% エタノール中に溶解した 50 mg (0.11 ミリモル) の 6 - クロロプリニルペントキシカルボニル D - アルギニンをヒドラジン水化物 (12 μ l、0.40 ミリモル) と周囲温度において一晩反応させた。次に、反応物を 3 時間かけて 0 に徐々に冷却し、生成した結晶を濾過によって回収し、冷エタノールによって洗浄した。白色固体生成物 (32 mg、0.07 ミリモル) が 65% 収率で得られた。

mp (軟化 130) = 134

Rf シリカ (メタノール) = 0.27

¹HNMR (DMSO-d₆, 300MHz, ppm); 9.20 (1H, b, COOH), -8.23 (1H, s, プリン); 8.14 (1H, s, プリン); 7.4 (3H, b, グアニジン); 6.6 (2H, b, NH₂); 6.43 (1H, d, NH); 4.14 (2H, t, N-CH₂); 3.87 (2H, t, O-CH₂); 3.64 (1H, m, C H); 3.04 (2H, b, C H); 1.8-1.3 (10H, m, C H, C H, -(CH₂)₃-)

実施例 8 : ヒドラジノプリニルペントキシカルボニル L - アルギニン - 化合物 # 8 の合成

化合物 # 7 の L - エナンチオマー (化合物 # 8) を実施例 7 に上述したように合成して、40 mg の生成物を白色固体として得た。

mp (軟化 130) = 134

Rf シリカ (メタノール) = 0.27

スペクトル特性は化合物 # 7 と同じであった。

実施例 9 : クロロプリニルペントキシカルボニル D - アルギニン - 化合物 # 9 の合成

6 - クロロプリニルペンタノール (化合物 III) と D - アルギニンとのカップリング反応によって、化合物 # 9 を実施例 1 a に上述したように (カップリング反応後のジメチルアミンの添加を省略して) 合成した。これは 622 mg の生成物を白色固体として生成した。

mp (軟化 137) = 145 ~ 148

Rf シリカ (メタノール) = 0.35

¹HNMR (DMSO-d₆, 300MHz, ppm); 9.15 (1H, b, COOH); 8.78 25 (1H, s, プリン); 8.74 (1H, s, プリン); 7.8-7.2 (4H, b, グアニジン); 6.33 (1H, d, NH); 4.29 (2H, t, N-CH₂); 3.88 (2H, t, O-CH₂); 3.64 (1H, m, C H); 3.04 (2H, b, C H); 1.95-1.20 (10H, m, C H, C H, -(CH₂)₃-)

実施例 10 : クロロプリニルペントキシカルボニル L - アルギニン - 化合物 # 10 の合成

化合物 # 9 の L - エナンチオマー (化合物 # 10) を実施例 9 に上述したように合成して、65 mg の生成物を白色固体として得た。

mp (軟化 137) = 143 ~ 146

Rf シリカ (メタノール) = 0.26

スペクトル特性は化合物 # 9 と同じであった。

実施例 11 : ヒドロキシプリニルペントキシカルボニル D - アルギニン - 化合物 # 11 の合成

化合物 # 11 を実施例 9 に上述したように合成した、但し 6 - クロロプリニルペンタノール中間体 (化合物 III) に対して最初に塩基触媒による加水分解を実施して、D - アルギニンとのカップリングの前に、6 - ヒドロキシプリニル (ヒポキサンチン) ペンタノール化合物 # 11 a を得た。したがって、典型的な例では、398 mg (1.7 ミリモル) の化合物 III を 25 ml の水に溶解した。水酸化ナトリウム (1.0 m, 3.4 ml) を加え、反応物を 90 分間還流させた。冷却後に、反応物を酸性化し (5% 塩酸)、溶媒

を真空中で除去し、粗生成物を溶離剤として30%メタノール-酢酸エチルを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した(Rf = 0.32)。生成物、化合物#11a(290mg、1.3ミリモル)が白色固体として79%収率で得られた。その後のD-アルギニンとのカップリングは148mgの化合物#11を白色固体として生じた。

mp(軟化163) = 182

Rfシリカ(メタノール) = 0.22

¹HNMR(DMSO-d₆, 300MHz, ppm); 9.28(1H, b, COOH); 8.10(1H, s, プリン); 8.04(1H, s, プリン); 7.8-7.2(4H, b, グアニジン); 6.38(1H, d, NH); 4.32(1H, b, OH); 4.13(2H, t, N-CH₂); 3.87(2H, t, O-CH₂); 3.61(1H, m, C H); 3.04(2H, b, C H); 1.8-1.1(10H, m, C H₂, C H₂, -(CH₂)₃-)

10

実施例 1 2 : メルカプトプリニルペントキシカルボニルD-アルギニン-化合物#12の合成

化合物#12を実施例1aに述べたように、但しジメチルアミンの代わりにチオ尿素を用いて合成した。したがって、典型的な例では、5mlの無水エタノールに溶解した80mg(0.18ミリモル)の6-クロロプリニルペントキシカルボニルD-アルギニンをチオ尿素(16mg、0.21ミリモル)と5時間の還流下で反応させた。この反応物を0において一晩保存し、生じた結晶を濾過し、冷無水エタノールによって洗浄した。この生成物を無水エタノールから再結晶して白色固体(48mg、0.11ミリモル)を61%収率で得た。

mp(軟化180) = 200

20

Rfシリカ(メタノール) = 0.50

¹HNMR(DMSO-d₆, 300MHz, ppm); 9.15(1H, b, COOH); 8.29(1H, s, プリン); 8.18(1H, s, プリン); 7.5-7.3(4H, b, グアニジン); 6.39(1H, d, NH); 4.13(2H, t, N-CH₂); 3.87(2H, t, O-CH₂); 3.65(1H, m, C H); 3.04(2H, b, C H); 1.90-1.23(10H, m, C H₂, C H₂, -(CH₂)₃-)

実施例 1 3 : メルカプトプリニルペントキシカルボニルL-アルギニン-化合物#13の合成

化合物#12のL-エナンチオマー(化合物#13)を実施例12に上述したように合成して、42mgの生成物を白色固体として得た。

mp(軟化180) = 200

Rfシリカ(メタノール) = 0.50

30

スペクトル特性は化合物#12と同じであった。

実施例 1 4 : N,N-ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニルグリシン-化合物#14の合成

化合物#14を実施例1bに上述したように合成した、但しカップリング反応はアルギニンとではなくグリシン(68mg、0.91ミリモル)と、より小さい規模で行い、3当量の炭酸ナトリウム(アルコールに対して)の添加によってグリシンの遊離塩基をその場で得た。粗生成物を溶離剤として50%メタノール-酢酸エチルを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィーによって精製した(Rf = 0.35)。生成物を塩化メチレンに溶解した後に濾過して、シリカを除去した。溶媒を真空中で除去して、30mgの生成物を白色固体として得た。

40

mp(軟化100) = 126

Rfシリカ(1:1メタノール-酢酸エチル) = 0.35

¹HNMR(DMSO-d₆, 300MHz, ppm); 8.20(s, 1H, プリン); 8.16(s, 1H, プリン); 6.05(1H, t, NH); 4.14(2H, t, N-CH₂); 3.86(2H, t, O-CH₂); 3.33(6H, s, b, N-(CH₃)₂); 3.18(2H, d, C H₂); 1.80(2H, m, CH₂); 1.55(2H, m, CH₂); 1.26(2H, m, CH₂);

実施例 1 5 : N,N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-7'-エトキシ-エトキシカルボニル-D-アルギニン-化合物#15の合成

工程1 : N,N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-5-エトキシエトキシ-t-ブチルジフェニルシラン

無水THF(2.9ml)中のアルコール(0.201g、1当量)の溶液に、室温、ア

50

ルゴン下において6-クロロプリン(90 mg、0.58ミリモル)と、 Ph_3P (0.199 g、1.3当量)と、DEAD(0.12 ml、1.3当量)とを連続的に加えた。この黄色溶液を室温において15時間攪拌した。THFを蒸発させて、残渣をクロマトグラフィーして(6:4、ヘキサン/EtOAc)、 $(\text{EtO}_2\text{CNH})_2$ と、カップリングしたプリンとの混合物を得た。THF(6 ml)中のこの混合物の溶液に、室温において、40% $\text{Me}_2\text{NH}/\text{H}_2\text{O}$ (0.70 ml、10当量)を加えた。この溶液を室温において45分間攪拌してから、飽和 NaHCO_3 水溶液/ CH_2Cl_2 中に注入した。相を分離し、水相を CH_2Cl_2 (2X)によって抽出した。一緒にした有機抽出物を MgSO_4 上で乾燥させ、固形物を濾別し、溶媒を蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル、2:8 Hex/AcOEt)によって精製して、カップリングしたジメチルアミノプリン0.16 g(55%)を得た。

10

工程2: N,N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-5-エトキシエタノール-化合物#85

無水THF(3.2 ml)中のシラン(0.16 g、0.32ミリモル)の溶液に、室温、アルゴン下において $n\text{Bu}_4\text{NF}$ 1.0 M/THF(0.32 ml、1.1 eq)を加えた。この溶液を室温において3時間攪拌し、溶媒を真空中で蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル、4:1、AcOEt/MeOH)によって直ちに精製して、72 mg(89%)のアルコール化合物#85を透明な油状物として得た。 $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: 8.29(s, 1H, プリン), 7.80(s, 1H, プリン), 4.33(t, 2H, CH_2), 3.82(t, 2H, CH_2), 3.68(t, 2H, CH_2), 3.55(t, 2H, CH_2), 3.50(m, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$)-

20

工程3: N,N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-7-エトキシエトキシカルボニル-D-アルギニン-化合物#15

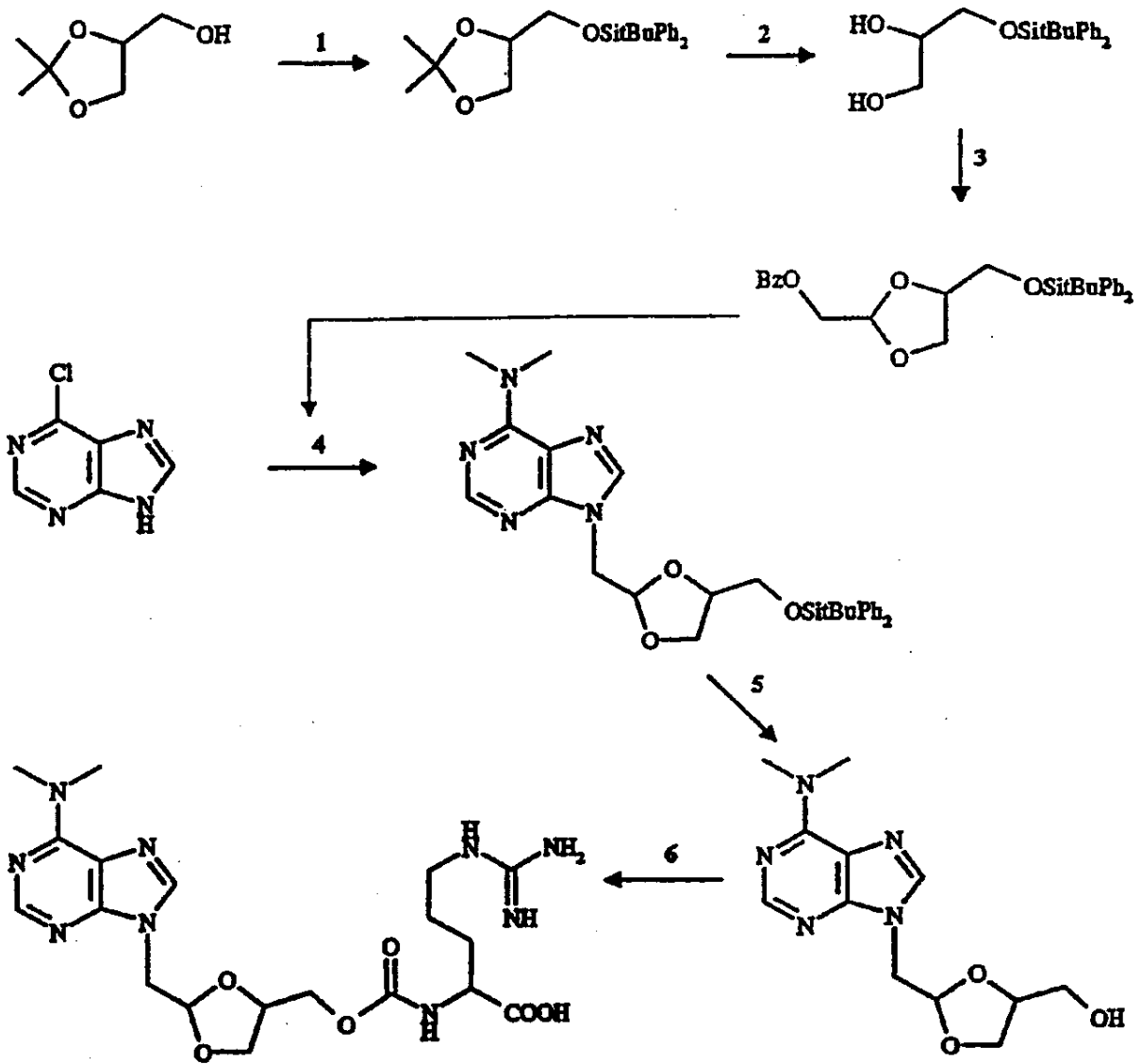
無水THF(4.8 ml)中のアルコール化合物#85(72 mg、0.29ミリモル)の溶液に、室温、アルゴン下において COCl_2 /トルエン1.93 M(0.30 ml、2当量)を加え、この溶液を室温において5時間攪拌した。THFを真空中で蒸発させて、残渣をTHF(3.6 ml)に再溶解した。この溶液に、水中D-アルギニンの溶液(65 mg、1.3 eq/0.5 ml H_2O)を加えた。D-アルギニン溶液を含有していたフラスコを0.5 mlの H_2O ですすぎ洗いし、反応混合物を室温において15時間攪拌した。次に、これをトルエンで抽出し、トルエン相を H_2O によって逆抽出した。一緒にした水層をpH 7.5~8.0にして(NaHCO_3 5%)、水を蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル、100% MeOH)によって精製した。該化合物を含有する画分を蒸発させ、残渣を最少量のMeOHに溶解した。次に、 Et_2O を加え、溶媒をデカントして、白色ガムを得て、これを高度真空下で乾燥させた。該化合物が白色固体(42 mg、33%)として得られた。

30

$^1\text{H NMR}(\text{DMSO}-d_6)$: 8.25(B, 1H, プリン), 8.14(a, 1H, プリン), 6.5(bd, 1H, NH), 4.37(t, 2H, CH_2 リンカー), 4.03(m, 2H, CH_2 リンカー), 3.81(m, 2H, CH_2 リンカー), 3.72(m, 1H, C H), 3.60(m, 2H, CH_2 linker), 3.55-3.89(m, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 3.05(m, 2H, C H₂), 1.78-1.39(m, 4H, C H₂, C H₂)

実施例16: (2S, 4S)-2-(N,N-ジメチルアミノプリン-9-イル)-4-(メチルオキシカルボニル-D-アルギニン)-1,3-ジオキサラン-化合物#16

40



化合物 #16

工程 1 : (4S) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - t - ブチルジフェニルシリルメタノール

無水 CH_2Cl_2 (76 ml) 中の (4S) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノール (1 g, 7.57 ミリモル) の溶液に、室温、アルゴン下においてイミダゾール (1.03 g, 2 eq) と t - BuPh₂SiCl (1.95 ml, 1.1 eq) とを連続的に加えた。直ちに白色沈殿が形成された。この懸濁液を室温において 1 時間攪拌し、次に飽和 NaHCO_3 水溶液に注入した。相を分離し、水層を CH_2Cl_2 (2X) によって抽出した。一緒にした有機抽出物を MgSO_4 上で乾燥させ、固形物を濾別し、溶媒を蒸発させて、2.80 g (100%) のシランを透明な油状物として得た。

工程 2 : (2S) - 3 - t - ブチルジフェニルシリルプロパントリオール

THF / H_2O の 4 : 1 混合物 (15 ml) 中のシラン (1.01 g, 2.73 ミリモル) の溶液に、室温において、TFAA (0.5 ml, 2.4 eq) を加え、この溶液を 50 °C において 5 時間加熱した。次に、これを飽和 NaHCO_3 水溶液 / CH_2Cl_2 中に注入し、相を分離した。水層を CH_2Cl_2 (2X) によって抽出し、一緒にした有機抽出物を MgSO_4 上で乾燥させた。溶媒を蒸発させ、残渣をフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル、1 : 1 Hex / EtOAc) によって精製して、0.62 g (70%) のジオールを透明な油状物として得た。

工程 3 : (2S, 4S) - 2 - ベンゾイルオキシメチル - 4 - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 1, 3 - ジオキソラン

無水トルエン (19 ml) 中のジオール (0.62 g、1.89 ミリモル) とアルデヒド (0.31 g、1 eq) との溶液に、室温、アルゴン下において、触媒量 (cat.amount) の PPTS を加えた。この溶液を 18 時間還流させ、その後、これを飽和 NaHCO_3 水溶液 / CH_2Cl_2 中に注入した。相を分離し、水層を CH_2Cl_2 (2 X) によって抽出した。一緒にした有機抽出物を MgSO_4 上で乾燥させ、溶媒を蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル、9 : 1, Hex / EtOAc) によって精製して、0.49 g (55%) のジオキソランの 5 : 1 (シス / トランス) 混合物を得た。
 工程 4 : (2 S, 4 S) - 2 - ヒドロキシメチル - 4 - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 1, 3 - ジオキソラン

無水 MeOH (10.3 ml) 中のベンゾエート (0.49 g、1.03 ミリモル) の溶液に、室温、アルゴン下において、 $\text{MeONa} / \text{MeOH}$ 4.37 M (24 μl 、0.1 eq) を加えた。この溶液を 18 時間攪拌し、その後、これを飽和 $\text{NH}_4\text{Cl} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中に注入した。相を分離し、水層を CH_2Cl_2 (2 X) によって抽出した。一緒にした有機抽出物を MgSO_4 上で乾燥させ、固形物を濾別し、溶媒を蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル、3 : 1, Hex / EtOAc) によって精製して、シス - アルコール (0.26 g、67%) を透明な油状物として得た。

工程 5 : (2 S, 4 S) - 2 - (N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 1, 3 - ジオキソラン

実施例 15、工程 1 と同様な方法を用いて、この化合物を製造した。

工程 6 : (2 S, 4 S) - 2 - (N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - ヒドロキシメチル - 1, 3 - ジオキソラン

実施例 15、工程 2 と同様な方法を用いて、この化合物を製造した。

精製 : 10% MeOH / EtOAc

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 8.32 (s, 1H, プリン), 7.75 - (s, 1H, プリン), 5.33 (dd, 13, J=2.0, 6.6, H-2 - ジオキソラン), 5.33 (bs, 1H, OH), 4.45 (dd, 1H, J=6.6, 14.3, CH_2 - プリン), 4.20 (dd, 1H, J=2.0, 14.3, CH_2 - プリン), 4.20 (m, 1H, H-4 - ジオキソラン), 4.05 (d, 2H, J=7.2, H-5), 3.78 (d, 1H, J=13.0; CH_2 - OH), 3.53 (bs, 6H, (CH_3)₂N), 3.40 (d, 1H, J=13.0, CH_2 - OH).

工程 7 : (2 S, 4 S) - 2 - (N, N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - (メチルオキシカルボニル - D - アルギニン) - 1, 3 - ジオキソラン - 化合物 # 16

実施例 15、工程 3 と同様な方法を用いて、化合物 # 16 を製造した。

精製 : MeOH 100%

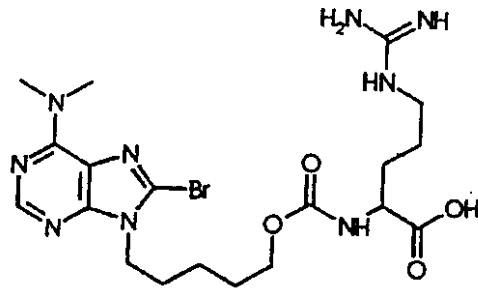
$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) : 8.43 (s, 1H, プリン), 8.11 (s, 1H, プリン), 6.6 (m, 1H, NH), 5.28 (m, 1H, H-2 - ジオキソラン), 4.39 (m, 2H, CH_2 - プリン), 4.26 (m, 1H, H-4 - ジオキソラン), 3.97 - 3.81 (m, 3H, C H_2 CH_2 - OCO - D - アルギニン), 3.71 (m, 2H, H-5 - ジオキソラン), 3.39 (bs, 6H, (CH_3)₂N), 3.07 (m, 2H, C H_2), 1.70 - 1.45 (m, 4H, C H_2 , C H_2)

実施例 17 : N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - プロモプリニル - 9 - イル) - ペントキシカルボニル L - アルギニン - 化合物 # 17 の合成

10

20

30

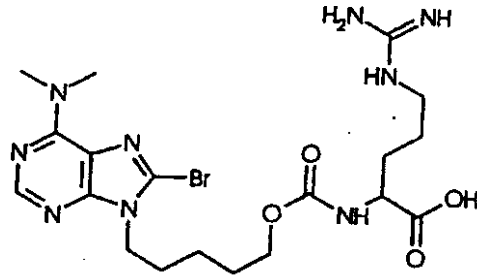


$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz, δ ppm): 9.5 (1H, s, b, COOH), 8.19 (1H, s, プリン), 8.1-7.2 (4H, b, グアニジン), 6.30 (1H, d, NH), 4.11 (2H, t, N- CH_2), 3.87 (2H, t, CH_2 -O), 3.64 (1H, m, C^αH), 3.39 (6H, s, b, N-(CH_3) $_2$), 3.02 (2H, m, C^βH), 1.8-1.2 (10H, m, C^γH , -(CH_2) $_3$ -).

mp (軟化 115 ~ 118 °) = 124 ~ 127

Rf シリカ (70% メタノール - 酢酸エチル) = 0.25

実施例 18: N-(6-ジメチルアミノ-8-ブロモプリン-9-イル)-7-ペントキシカルボニル D-アルギニン-化合物 # 18 の合成

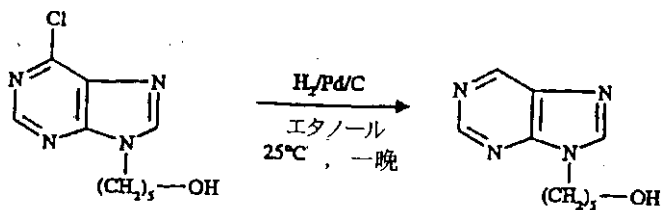


$^1\text{H NMR}$ (DMSO - d_6 , 400 MHz, δ ppm); 9.08 (1H, br s, COOH); 8.18 (1H, s, プリン); 7.9-7.3 (4H, br s, グアニジン); 6.34 (1H, d, NH); 4.10 (2H, t, N- CH_2); 3.86 (2H, m, O- CH_2); 3.55 (1H, m, C^αH); 3.35 (br s, N-(CH_3) $_2$); 3.03 (2H, m, C^βH_2); 1.9-1.2 (10H, m, (CH_2) $_3$, $\text{C}^\gamma\text{H}_2$, C^βH_2).

mp (軟化 116) = 122 ~ 125

Rf シリカ (70% メタノール - 酢酸エチル) = 0.25

実施例 19: N-9-プリニル-5-ペンタノール-化合物 # 19



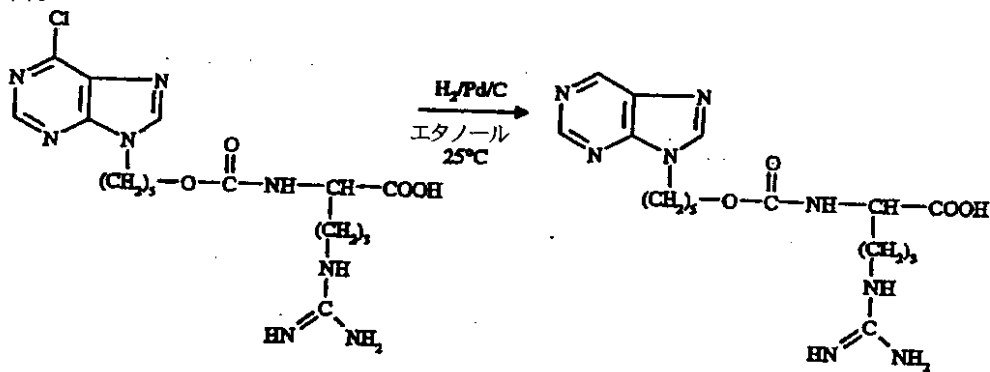
$^1\text{H NMR}$ δ (CDCl $_3$ ppm): 9.12 (s, 1H, purine), 8.96 (s, 1H, purine), 8.10 (s, 1H, プリン), 4.30 (t, 2H, CH_2 -O), 3.63 (t, 2H, CH_2 -N), 1.97 (m, 3H, CH_2 and OH), 1.62 (m, 2H, CH_2), 1.47 (m, 2H, CH_2)

$^{13}\text{C NMR}$ (δ CDCl $_3$ ppm): 153.09, 151.96, 149.15, 145.80, 134.60, 62.78, 44.38, 32.47, 30.27, 23.57.

精製: 5% MeOH / AcOEt

Rf (シリカ) 0.29 (5% MeOH / AcOEt)

実施例 20: N-9-プリニル-7-ペンチルオキシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 20



10

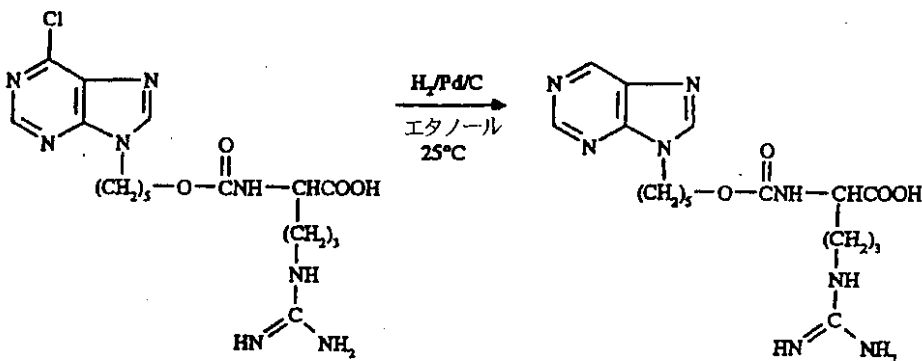
$^1\text{H NMR } \delta$ (DMSO ppm): 9.10 (s, 1H, プリン), 8.93 (s, 1H, プリン), 8.64 (s, 1H, プリン), 7.77 (bs, 4H, グアニジン), 6.25 (bs, 1H, NH), 4.28 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 3.87 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.58 (m, 1H, C^αH), 3.09 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 1.20-1.90 (m, 10H, $5 \times \text{CH}_2$).

精製: メタノール

20

Rf (シリカ) = 0.23 (メタノール)

実施例 21: N-9-プリニル-7-ペンチルオキシカルボニル-L-アルギニン-化合物 # 21



30

$^1\text{H NMR } \delta$ (DMSO ppm): 9.13 (s, 1H, プリン), 8.94 (s, 1H, プリン), 8.66 (s, 1H, プリン), 8.25 (bs, 1H, NH), 7.44 (bs, 3H, グアニジン), 6.82 (bs, 1H, NH), 4.28 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 3.88 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.72 (m, 1H, C^αH), 3.07 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 1.19-1.95 (m, 10H, $5 \times \text{CH}_2$).

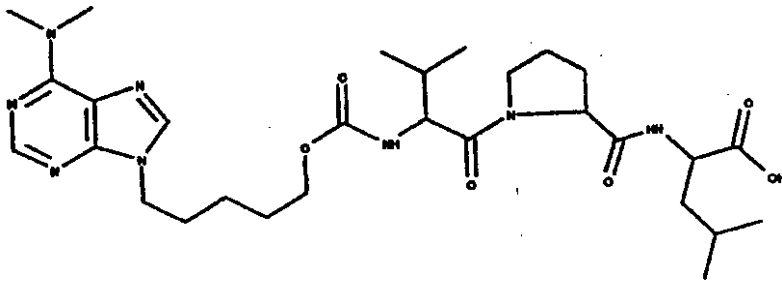
$^{13}\text{C NMR } (\delta \text{ CD}_3\text{OD ppm}): 179.47, 159.21, 158.95, 153.79, 153.41, 140.07, 135.42, 66.06, 57.37, 45.38, 42.66, 31.88, 30.93, 30.11, 26.67, 24.65.$

40

精製: メタノール

Rf (シリカ) = 0.23 (メタノール)

実施例 22: N,N-ジメチルアミノプリニルペンチルオキシカルボニル-L-バリル-L-プロリル-L-ロイシン-化合物 # 22 の合成



$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz, δ ppm) 8.22 (1H, s, プリン); 8.05 (1H, s, プリン); 4.60 (1H, t, C^αH); 4.3-3.6 (8H, m, N-CH_2 , $\text{C}^\delta\text{H}_2$, $\text{CH}_2\text{-O}$, 2 x C^αH); 3.51 (6H, s, b, $\text{N-(CH}_3)_2$); 2.2-1.2 (14H, m, $(\text{CH}_2)_3$, 2 x C^βH_2 , C^βH , $\text{C}^\gamma\text{H}_2$, C^γH); 1.0-0.8 (12H, m, 2 x $\text{C}^\beta\text{-CH}_3$, 2 x $\text{C}^\gamma\text{-CH}_3$).

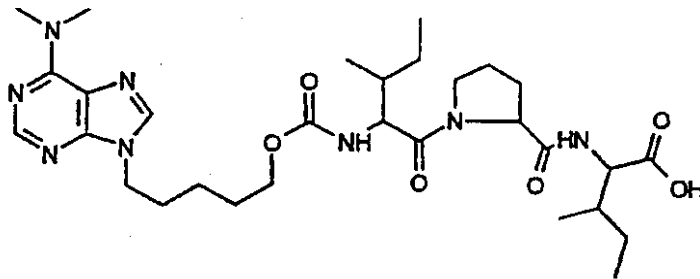
10

mp = 168

Rf シリカ (40% メタノール - 酢酸エチル) = 0.40

実施例 23: N,N-ジメチルアミノプリニルペントキシカルボニル L-イソロイシル L-プロリル L-イソロイシン - 化合物 # 23 の合成

20



$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz, δ ppm); 8.21 (1H, s, プリン); 8.03 (1H, s, プリン); 4.62 (1H, t, C^αH); 4.22 (4H, m); 4.03 (2H, m); 3.89 (1H, m, C^αH); 3.67 (1H, d, C^αH); 3.50 (6H, s, b, $\text{N-(CH}_3)_2$); 2.1-1.0 (16H, m, $(\text{CH}_2)_3$, C^βH_2 , 2 x C^βH , 3 x $\text{C}^\gamma\text{H}_2$); 0.95 (6H, d, 2 x $\text{C}^\beta\text{CH}_3$); 0.87 (6H, t, 2 x $\text{C}^\gamma\text{-CH}_3$).

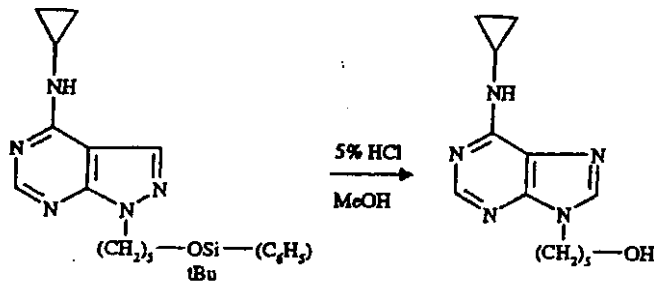
30

mp (軟化 83 ~ 86) = 93

Rf シリカ (40% メタノール - 酢酸エチル) = 0.35

実施例 24: N-(6-シクロプロピルアミノプリン-9-イル)-5-ペンタノール - 化合物 # 24 の合成

40



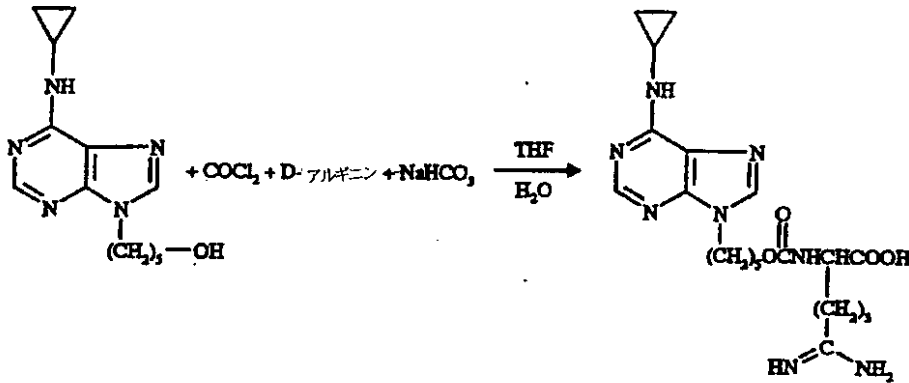
$^1\text{H NMR}$ (δ CDCl_3 ppm): 8.46 (s, 1H, プリン), 7.77 (s, 1H, プリン), 6.42 (bs, 1H, NH), 4.22 (t, 2H, CH_2), 3.09 (bs, 1H, OH), 1.94 (m, 2H, CH_2), 1.63 (m, 2H, CH_2), 1.45 (m, 2H, CH_2), 0.94 (m, 2H, CH_2), 0.69 (m, 2H, CH_2).

無色油状物

$R_f = 0.3$ (10%メタノール/酢酸エチル)

質量スペクトル: $\text{H}^+ = 262$ (HRMS)

実施例 25: N-(6-シクロプロピルアミノプリン-9-イル)-7-ペンチルオキシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 25 の合成



$^1\text{H NMR}$ (δ DMSO ppm): 8.22 (s, 1H, プリン), 8.14 (s, 1H, purine), (bs, 4H, グアニジン), 6.28 (d, 1H, NH), 4.13 (t, 2H, CH_2), 3.87 (m, 2H, CH_2), 3.62 (m, 1H, C^αH), 3.02 (m, 2H, CH_2),

1.2-1.8 (m, 11H, $5 \times \text{CH}_2$ と CH), 0.69 (m, 2H, CH_2), 0.67 (m, 2H, CH_2).

$^{13}\text{C NMR}$ (δ , DMSO , ppm): 175.53, 158.20, 157.63, 155.79, 152.62, 150.91, 141.03, 119.92, 63.69, 55.38, 43.12, 41.14, 30.10, 29.44, 28.49, 25.49, 24.38, 22.91, 6.78.

mp: 軟化 147、溶融 151

$R_f = 0.34$ (MeOH)

質量スペクトル: $\text{H}^+ = 462$ (HRMS)

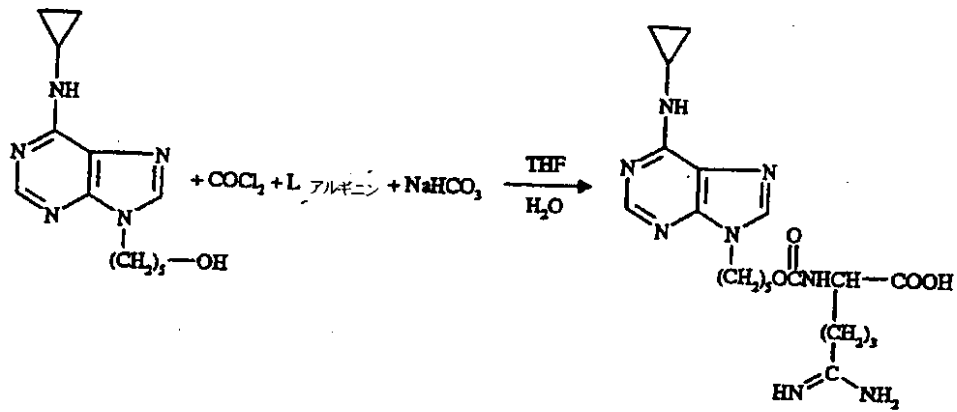
実施例 26: N-(6-シクロプロピルアミノプリン-9-イル)-7-ペンチルオキシカルボニル-L-アルギニン-化合物 # 26 の合成

10

20

30

40



10

¹H NMR (δ DMSO : ppm): 8.23 (s, 1H, プリン), 8.14 (s, 1H, プリン), 7.51 (bs, 4H, グアニジン), 6.31 (d, 1H, NH), 4.16 (t, 2H, CH₂), 3.87 (t, 2H, CH₂), 3.62 (m, 1H, C^{OH}H), 3.02 (m, 2H, CH₂), 1.2-1.85 (m, 11H, 5xCH₂ と CH), 0.72 (m, 2H, CH₂), 0.68 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (δ, CD₃OD : ppm): 179.41, 159.19, 158.95, 157.66, 154.09, 151.00, 143.00, 121.10, 66.12, 57.34, 45.33, 42.67, 31.90, 31.25, 30.14, 26.63, 25.11, 24.61, 8.14.

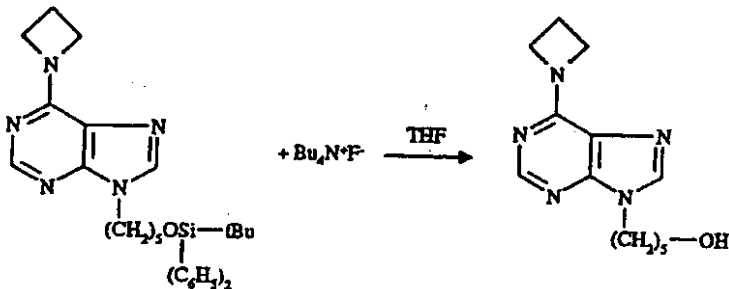
20

mp : 144 ~ 146

Rf = 0.35 (MeOH)

質量スペクトル: M⁺ = 462 (HRMS)

実施例 27: N-(6-アゼチジンプリン-9-イル)-5-ペンタノール-化合物 # 27 の合成



30

¹H NMR (δ, CDCl₃ : ppm): 8.25 (s, 1H, プリン), 7.66 (s, 1H, プリン), 4.44 (m, 4H, CH₂), 4.10 (t, 2H, CH₂), 3.55 (t, 2H, CH₂), 3.21 (bs, 1H, OH), 2.48 (m, 2H, CH₂), 1.84 (m, 2H, CH₂), 1.54 (m, 2H, CH₂), 1.38 (m, 2H, CH₂).

¹³C NMR (δ, CDCl₃ : ppm): 155.11, 153.42, 150.39, 140.37, 120.38, 62.79, 44.05, 32.57, 30.45, 30.22, 23.45, 18.23, 18.12.

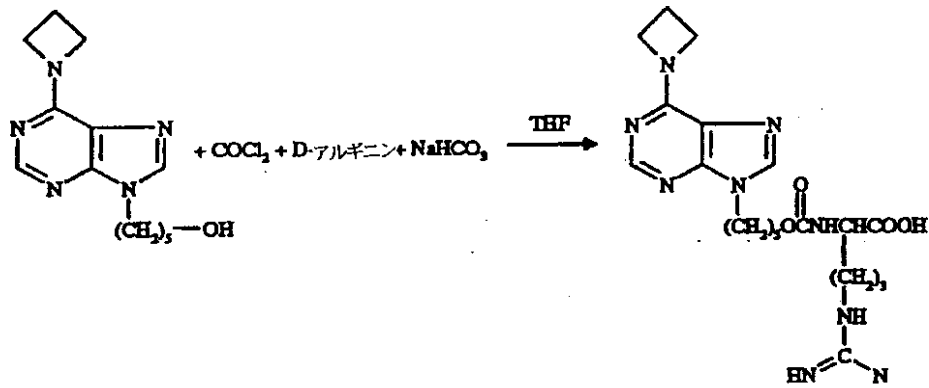
40

mp : 104 ~ 106

Rf = 0.33 (10% MeOH / AcOEt)

質量スペクトル: M⁺ = 262 (HRMS)

実施例 28: N-(6-アゼチジンプリン-9-イル)-7-ペンチルオキシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 28 の合成



10

$^1\text{H NMR}$ (δ , CD_3OD ppm): 7.96 (s, 1H, プリン), 7.89 (s, 1H, プリン), 4.27 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 4.02 (t, 2H, CH_2), 3.79 (m, 3H, CH_2 and C^αH), 2.99 (m, 2H, CH_2), 2.32 (m, 2H, CH_2), 1.17-1.71 (m, 10H, $5 \times \text{CH}_2$).

$^{13}\text{C NMR}$ (δ , CD_3OD ppm): 181.56, 159.38, 159.14, 156.16, 153.89, 151.22, 143.21, 120.92, 66.30, 57.15, 48.71, 45.24, 42.66, 31.51, 31.26, 30.15, 26.96, 24.64, 18.87.

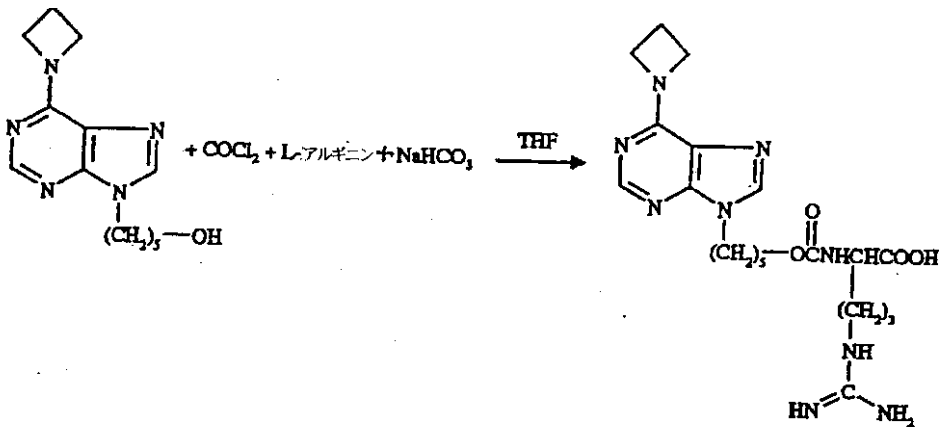
20

mp: 190 ~ 192

Rf = 0.25 (メタノール)

質量スペクトル: $M^+ = 462$ (HRMS)

実施例 29: N-(6-アゼチジンプリン-9-イル)-7-ペンチルオキシカルボニル-L-アルギニン-化合物 # 29 の合成



30

$^1\text{H NMR}$ (δ , CD_3OD ppm): 7.93 (s, 1H, プリン), 7.88 (s, 1H, プリン), 4.27 (m, 4H, $2 \times \text{CH}_2$), 4.01 (t, 2H, CH_2), 3.79 (m, 3H, CH_2 and C^αH), 2.97 (m, 2H, CH_2), 2.32 (m, 2H, CH_2), 1.15-1.74 (m, 10H, $5 \times \text{CH}_2$).

40

$^{13}\text{C NMR}$ (δ , CD_3OD ppm): 179.44, 159.18, 158.95, 156.16, 153.89, 151.21, 143.20, 120.93, 66.12, 57.33, 48.69, 45.26, 42.65, 31.88, 31.33, 31.23, 30.16, 26.63, 24.61, 18.50.

mp (軟化 175) 187 において熔融

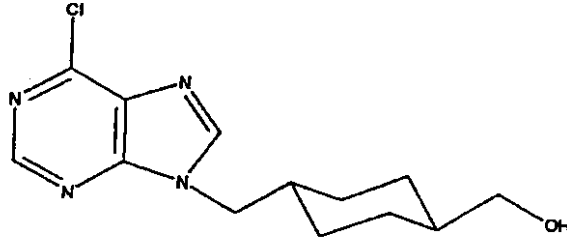
Rf = 0.27 (メタノール)

質量スペクトル: $M^+ = 462$ (HRMS)

実施例 30: トランス-(N-6-クロロプリン-9-イル)-4-メチル-シクロヘ

50

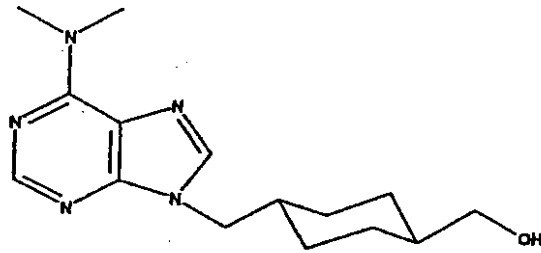
キシル - メタノール - 化合物 # 30 の合成



$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz, δ ppm); 8.73 (1H, s, プリン), 8.05 (1H, s, プリン); 4.12 (2H, d, N- CH_2); 3.43 (2H, d, O- CH_2); 1.89 (1H, m, CH); 1.84-1.64 (4H, m, CH_2 -シクロヘキサン); 1.56 (1H, br s, OH); 1.45 (1H, m, CH); 1.14-0.85 (4H, m, CH_2 -シクロヘキサン).
mp (軟化 176) = 178
Rf = 0.4 (酢酸エチル)

10

実施例 31: トランス - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - メチル - シクロヘキシル - メタノール - 化合物 # 31 の合成



$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz, δ ppm); ; 8.29 (1H, s, プリン), 7.63 (1H, s, プリン); 3.97 (2H, d, N- CH_2); 3.49 (6H, br s, N- $(\text{CH}_3)_2$); 3.38 (2H, d, O- CH_2); 2.46 (1H, br s, OH); 1.84 (1H, br m, CH -シクロヘキサン); 1.71 (4H, m, 2 x CH_2 -シクロヘキサン); 1.40 (1H, m, CH -シクロヘキサン); 0.90 (4H, m, CH_2 -シクロヘキサン).
 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz, δ ppm); 154.9, 152.3, 150.6, 138.7, 120.1, 68.2, 49.7, 40.2, 38.5, 38.2, 29.9, 28.6.

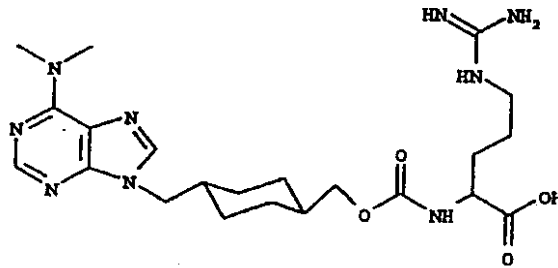
20

mp = 151 ~ 153

Rf = 0.44 (10%メタノール - 酢酸エチル)

実施例 32: トランス - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - メチル - シクロヘキシル - メチルオキシカルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 32 の合成

30



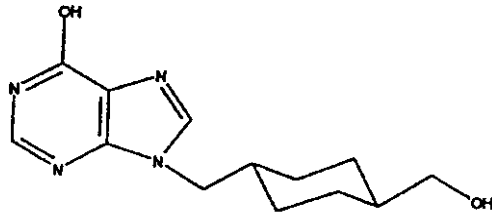
$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400MHz, δ ppm); 9.4 (1H, br s, COOH); 8.19 (1H, s, プリン); 8.11 (1H, s, プリン); 8.0-7.2 (4H, br, グアニジン); 6.28 (1H, d, NH); 3.96 (2H, d, N-CH₂); 3.69 (2H, d, O-CH₂); 3.61 (1H, m, C ^{α} H); 3.43 (6H, br s, N-CH₂)₂; 3.00 (2H, br, C ^{δ} H₂); 1.9-0.8 (14H, m, C ^{β} H₂, C ^{γ} H₂, 2 x CH-シクロヘキサン, 4 x CH₂-シクロヘキサン).

$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 400MHz, δ ppm); 174.8, 156.8, 155.0, 153.8, 151.2, 150.0, 139.6, 118.7, 78.7, 67.9, 54.6, 48.2, 48.1, 37.1, 36.5, 29.3, 28.8, 27.8, 24.6.

mp = (軟化 157) = 164 ~ 166

Rf = 0.35 (メタノール)

実施例 33: トランス-(N-6-ヒドロキシプリン-9-イル)-4-メチル-シクロヘキシル-メタノール-化合物 # 33 の合成 20



$^1\text{H NMR}$ (CD₃OD, 400MHz, δ ppm); 8.05 (2H, s, プリン); 4.10 (2H, d, N-CH₂); 3.35 (2H, d, O-CH₂); 2.0-0.9 (10 H, m, 2 x CH-シクロヘキサン, 4 x CH₂-シクロヘキサン)

$^{13}\text{C NMR}$ (CD₃OD, 400MHz, δ ppm); 156.7, 148.1, 144.1, 140.2, 122.7, 66.1, 48.7, 39.2, 37.5, 28.7, 27.6.

mp > 200

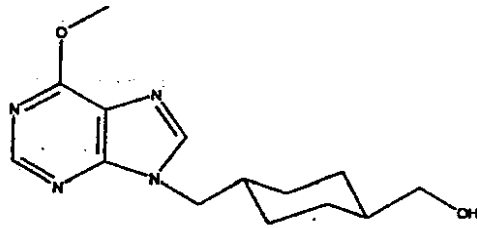
Rf = 0.35 (20%メタノール-酢酸エチル)

実施例 34: トランス-(N-6-メトキシプリン-9-イル)-4-メチル-シクロヘキシル-メタノール-化合物 # 34 の合成

10

20

30

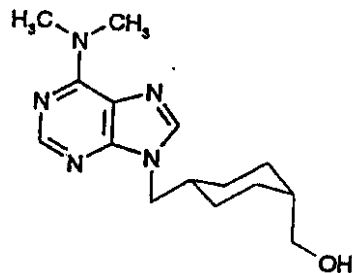


¹H NMR (CDCl₃, 300MHz, δ ppm); 8.52 (1H, s, プリン); 7.84 (1H, s, プリン); 4.17 (3H, s, O-CH₃); 4.12 (2H, d, N-CH₂); 3.43 (2H, d, O-CH₂); 1.89 (1H, t, CH); 1.84-1.64 (4H, m, CH₂-シクロヘキサン); 1.56 (1H, t, OH); 1.45 (1H, m, CH); 1.14-0.85 (4H, m, CH₂-シクロヘキサン)。

mp (軟化 159) = 162

Rf = 0.25 (酢酸エチル)

実施例 35: シス-(N-6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-4-メチル-シクロヘキシル-メタノール-化合物 # 35 の合成



¹H NMR (CDCl₃, 300MHz, δ ppm); ; 8.31 (1H, s, プリン); 7.66 (1H, s, プリン); 4.08 (2H, d, N-CH₂); 3.55 (2H, d, O-CH₂); 3.50 (6H, br s, N-(CH₃)₂); 3.28 (1H, br s, OH); 2.12 (1H, m, CH); 1.67 (1H, m, CH); 1.5±1.3 (8H, m, CH₂-シクロヘキサン)。

¹³C NMR (CDCl₃, 300MHz, δ ppm); 155.4, 152.7, 151.1, 139.1, 120.5, 65.9, 47.7, 39.1, 38.3, 36.3, 26.6, 25.4.

mp = 153 ~ 156

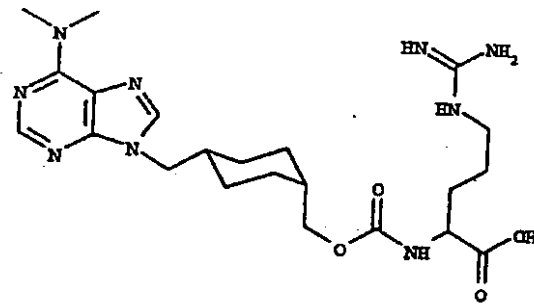
Rf = 0.3 (10%メタノール-酢酸エチル)

実施例 36: シス-(N-6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-4-メチル-シクロヘキシル-メチルオキシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 36 の合成

10

20

30



$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400MHz, δ ppm); 9.28 (1H, br s, COOH); 8.19 (1H, s, プリン) ; 8.13 (1h, s, プリン ; 8.0-7.2 (4H, br, グアニジン ; 6.34 (1H, d, NH); 4.10 (2H, d, N-CH₂); 3.85 (2H, d, O-CH₂); 3.65 (1H, m, C $^{\alpha}$ H); 3.44 (6H, br s, N-(CH₃)₂); 3.02 (2H, m, C $^{\delta}$ H₂); 2.09 (1H, m, CH); 1.8-1.2 (14H, m, C $^{\beta}$ H₂, C $^{\gamma}$ H₂, 2 x CH-シクロヘキサン), 4 x CH₂-シクロヘキサン

10

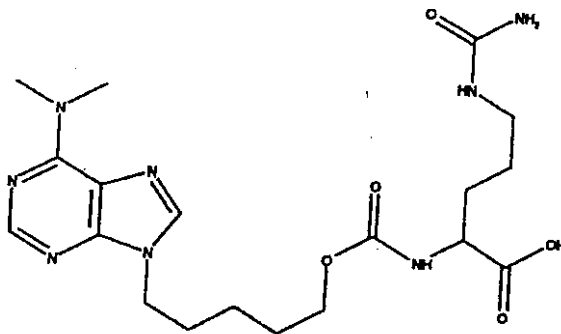
$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6 , 400MHz, δ ppm); 175.2, 157.7, 155.2, 154.1, 151.8, 150.2, 139.9, 119.3, 66.4, 55.3, 46.1, 48.0, 34.9, 34.7, 29.9, 25.5, 25.1, 24.4.

20

mp (軟化 153) = 168 ~ 170

Rf = 0.35 (メタノール)

実施例 37 : N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-7-ペントキシカルボニル-D-シトルリン-化合物 # 37 の合成



30

$^1\text{H NMR}$ (DMSO - d_6 , 400 MHz, δ ppm); 8.19 (1H, s, プリン) , 8.15 (1H, s, プリン) , 6.21 (1H, d, NH); 6.11 (1H, s, NCO-NH); 5.42 (2H, s, NH₂) 4.14 (2H, t, N-CH₂); 3.86 (2H, m, O-CH₂); 3.56 (1H, m, C $^{\alpha}$ H); 3.35 (6H, br s, N-(CH₃)₂); 2.87 (2H, m, C $^{\delta}$ H₂); 1.9-1.2 (10H, m, (CH₂)₃, C $^{\gamma}$ H₂, C $^{\beta}$ H₂).

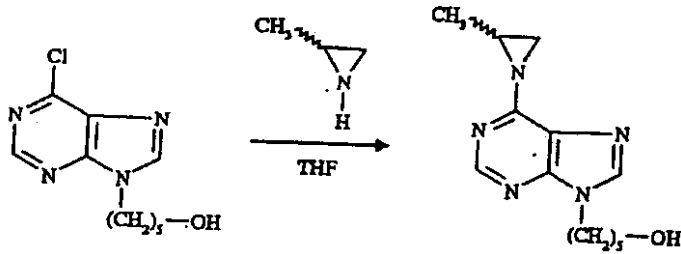
40

$^{13}\text{C NMR}$ (CD₃OD, 400 MHz, δ ppm); 173.6, 158.4, 155.0, 153.8, 151.2, 149.7, 139.3, 118.7, 62.8, 54.8, 42.3, 37.4, 29.8, 28.5, 27.6, 25.7, 22.0.

mp (軟化 172 ~ 176) = 178 ~ 181

Rf = 0.20 (40%メタノール-酢酸エチル)

実施例 38 : N-(6-メチルアジリジンプリン-9-イル)-5-ペンタノール-化合物 # 38 の合成



$^1\text{H NMR}$ (δ , CDCl_3 ppm): 8.54 (s, 1H, プリン), 7.90 (s, 1H, プリン), 4.22 (t, 2H, CH_2), 3.61 (t, 2H, CH_2), 2.78 (m, 1H, CH), 2.65 (d, 1H, CH_2), 2.40 (d, 1H, CH_2), 2.39 (bs, 1H, OH), 1.94 (m, 2H, CH_2), 1.59 (m, 2H, CH_2), 1.50 (d, 3H, CH_3), 1.40 (m, 2H, CH_2).

10

$^{13}\text{C NMR}$ (δ , CDCl_3 ppm): 163.30, 152.99, 151.99, 142.80, 126.11, 62.81, 44.48, 35.97, 34.89, 32.51, 30.38, 23.50, 18.48.

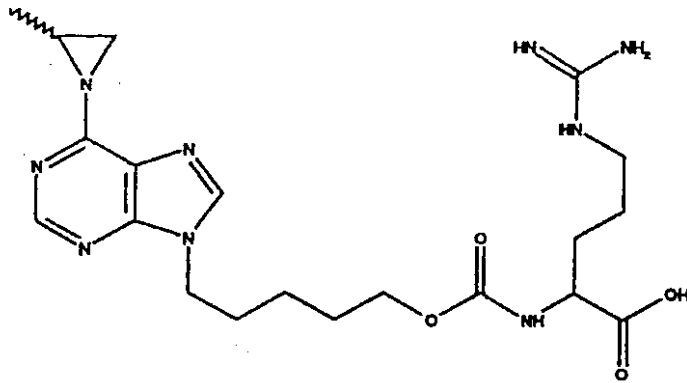
低融点。

Rf = 0.4 (20% MeOH / AcOEt)

質量スペクトル: $M^+ = 262$

実施例 39: N-(6-メチルアジリジンプリン-9-イル)-7-ペンチルオキシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 39 の合成

20



30

$^1\text{H NMR}$ (CD_3OD ppm): 8.29 (s, 1H, プリン), 8.14 (s, 1H, プリン), 4.10 (t, 2H, CH_2), 3.79 (m, 3H, $1 \times \text{CH}_2$ and $\text{C}^{\alpha}\text{H}$), 2.97 (m, 2H, CH_2), 2.62 (m, 1H, CH), 2.45 (d, 1H, CH_2), 2.19 (d, 1H, CH_2), 1.2-1.76 (m, 13H, $5 \times \text{CH}_2$ と $1 \times \text{CH}_3$).

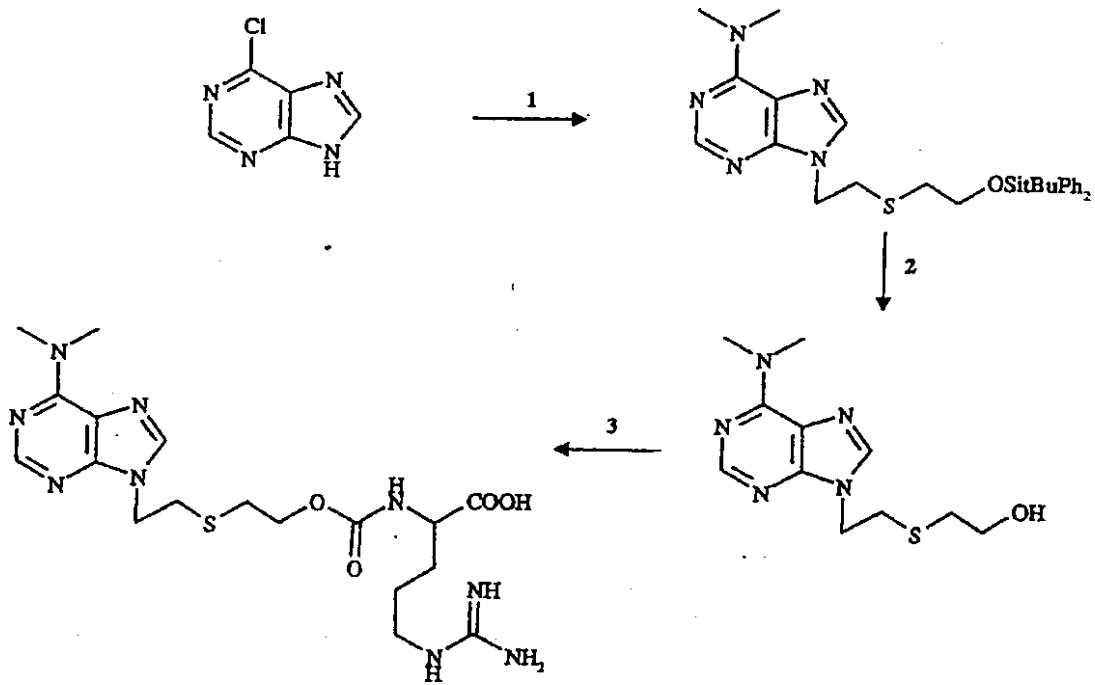
mp: (軟化 190) 200 において溶融。

Rf: 0.4 (メタノール)

質量スペクトル: $M^+ = 462$

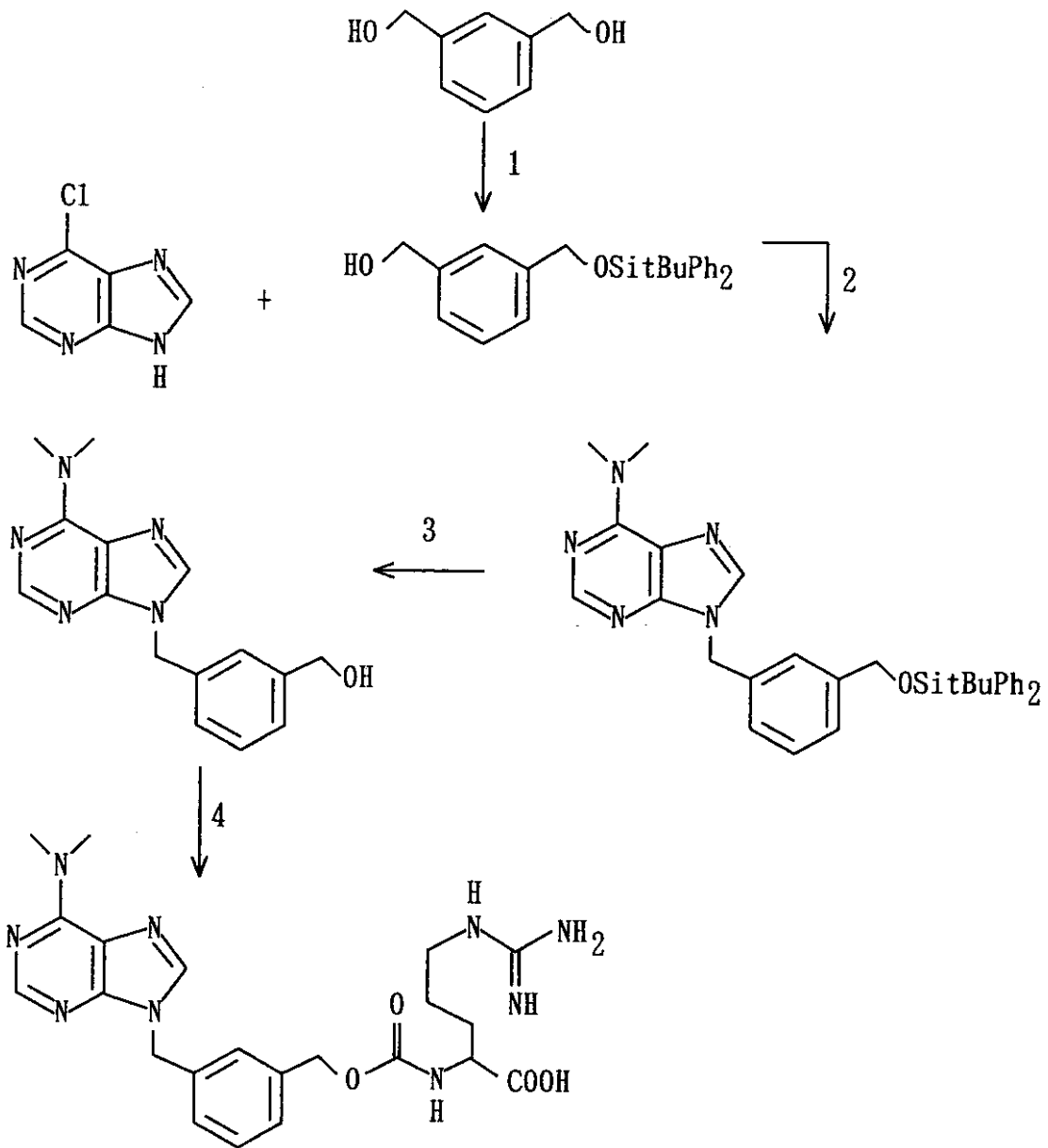
実施例 40: N,N-(6-ジメチルアミノプリニル-9-イル)-7-チオエトキシ-エトキシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 40

40



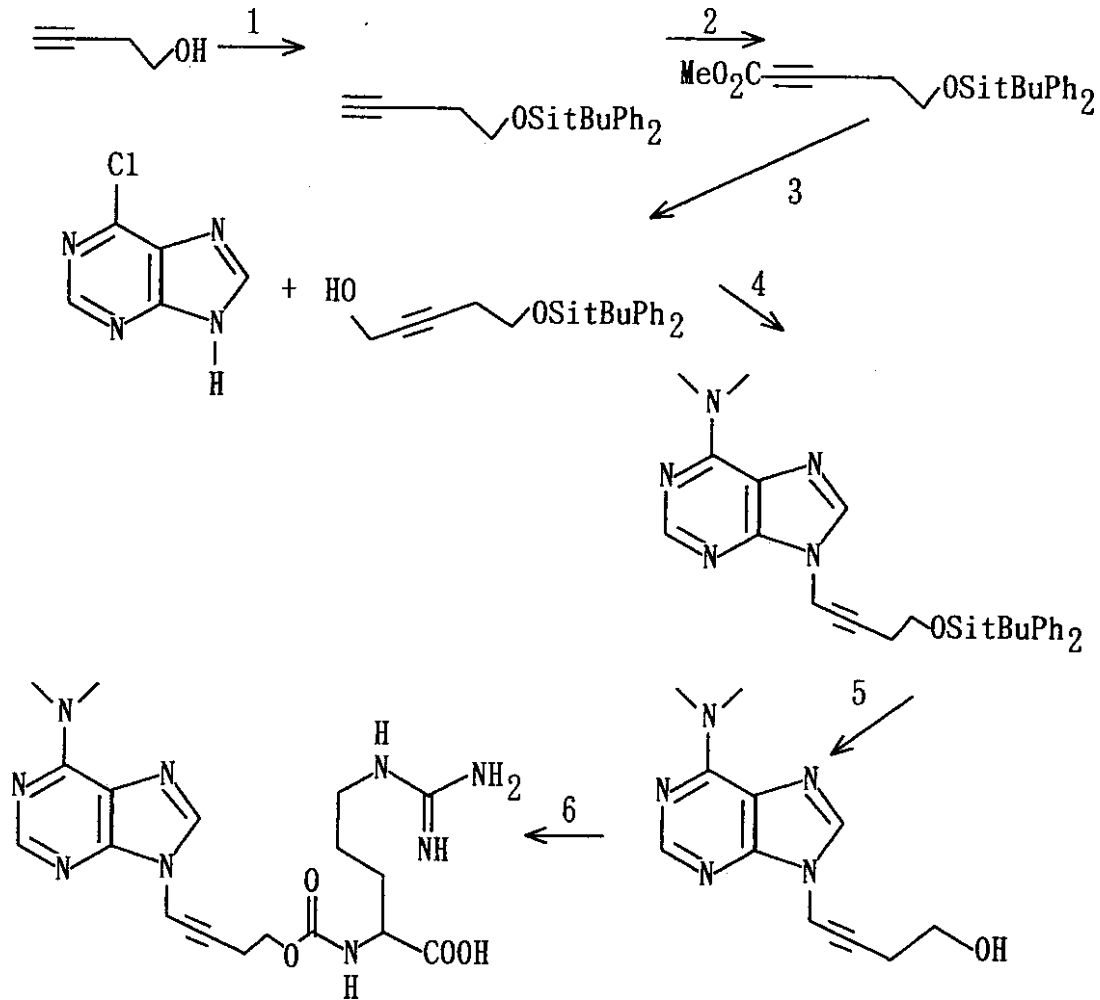
実施例 4 1 メタ (N - 6 - ジメチルアミノピリニル - 9 - イル) メチルベンジルオキシ
カルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 4 1

20



化合物 # 41

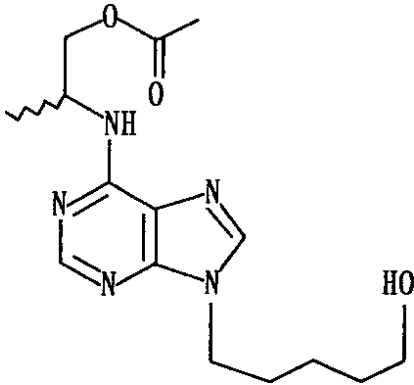
実施例 4 2 5 - (N - 6 - ジメチルアミノプリニル - 9 - イル) - 3 - ペンチニル - 1 - オキシカルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 4 0



10

20

実施例 43 N - [6 - (1 - メチル - 2 - アセトキシ) エチルアミノプリン - 9 - イル] - 5 - ペンタノール - 化合物 # 43 - の合成



30

^1H NMR (, CDCl_3 単位 p p m) : 8.36(s, 1H, プリン), 7.76(s, 1H, プリン), 6.58 (bs, 1H, NH), 5.18(m, 1H, OH), 4.22(t, 2H, CH_2), 3.92(bs, 1H, CH), 3.63(t, 2H, CH_2), 2.05(s, 3H, CH_3), 1.3-1.9(m, 4 $\times\text{CH}_2$, 1 $\times\text{CH}_3$).

40

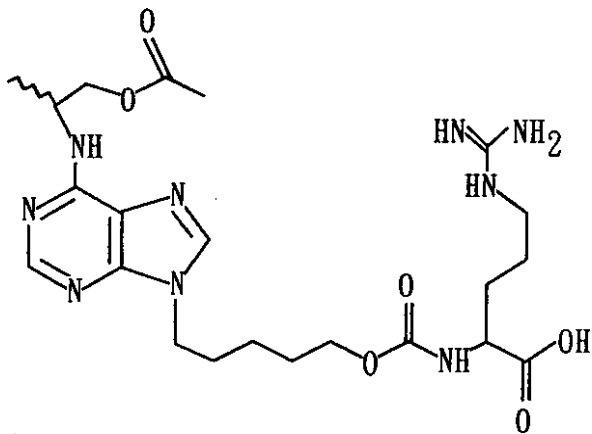
173.04, 156.6, 155.8, 154.2, 142.8, 120.5, 71.66, 68.61, 63.10, 45.43, 33.54, 31.42, 24.54, 21.69, 18.25.

低融点

$R_f = 0.5$ 15%メタノール/酢酸エチル

質量スペクトル: $M^+ = 322$

実施例 44 N - [6 - (1 - メチル - 2 - アセトキシ) エチルアミノプリン - 9 - イル] - 7 - ペンチルオキシ - カルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 44 - の合成



10

^1H NMR (, CD_3OD 単位 ppm) : 異性体混合物 , 8.05(s, 1H, プリン) , 7.89(s, 1H, プリン) , 4.92(m, 1H, CH) , 4.03(t, 2H, CH_2) , 3.78(m, 3H, CH_2 および C-H) , 3.46(d, 2H, CH_2) , 2.99(m, 2H, CH_2) , 1.8(s, 3H, CH_3) , 1.1-1.79(m, 13H, $5\times\text{CH}_2$ および $1\times\text{CH}_3$) .

^{13}C NMR (, CD_3OD 単位 ppm) : 異性体混合物 , 179.50, 159.19, 158.97, 156.88, 154.21, 154.14, 142.85, 142.75, 120.95, 68.13, 66.91, 66.11, 57.36, 45.32, 42.65, 31.89, 31.73, 31.25, 30.15, 30.04, 26.67, 24.61, 21.56, 18.09 .

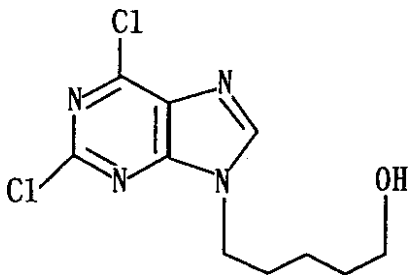
融点 : (177 で軟化) 185 で融解

R_f : 0.35 (メタノール)

質量スペクトル : $M^+ = 522$

20

実施例 45 N - (2 , 6 - ジクロロプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール - 化合物 # 45 - の合成



^1H NMR (, CDCl_3 単位 ppm) : 8.11(s, 1H, プリン) , 4.29(t, 2H, CH_2) , 3.66(t, 2H, CH_2) , 2.00(m, 2H, CH_2) , 1.64(m, 2H, CH_2) , 1.48(m, 2H, CH_2) , 1.3(t, 1H, OH) .

30

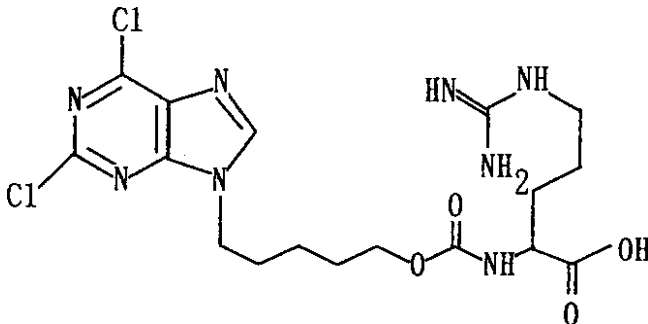
^{13}C NMR (, CDCl_3 単位 ppm) : 163.3, 150.2, 149.3, 148.01, 128.00, 63.20, 44.80, 29.70, 26.00, 22.4 .

融点 : 133 - 135

R_f : 0.4 5%メタノール/酢酸エチル

質量スペクトル : $M^+ = 260$ (HRMS)

実施例 46 N - (2 , 6 - ジクロロプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 46 - の合成



40

^1H NMR (, DMSO 単位 ppm) : 9.33(s, 1H, COOH) , 8.75(s, 1H, プリン) , 7.3-7.8 (bs, 4H, ギアニジン) , 6.28(d, 1H, NH) , 4.23(t, 2H, CH_2) , 3.86(t, 2H, CH_2) , 3.61(m, 1H, C-H) , 3.015(m, 2H, CH_2) , 1.2-1.9(m, 10H, $5\times\text{CH}_2$) .

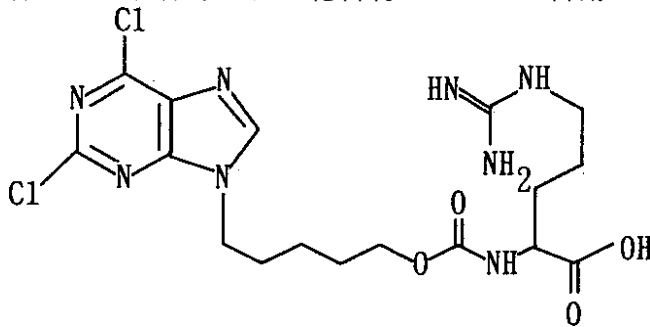
50

融点：136 で軟化し147 で融解

R_f ：0.46 (メタノール)

質量スペクトル： M^+ = 476

実施例47 N-(2,6-ジクロロプリン-9-イル)-7-ペンチルオキシカルボニル-L-アルギニン-化合物#47-の合成



10

^1H NMR (, CD_3OD 単位 ppm) : 8.38(s, 1H, プリン), 4.12(t, 2H, CH_2), 3.80(m, 3H, CH_2 および C H), 2.97(m, 2H, CH_2), 1.2-1.8(m, 10H, $5 \times \text{CH}_2$).

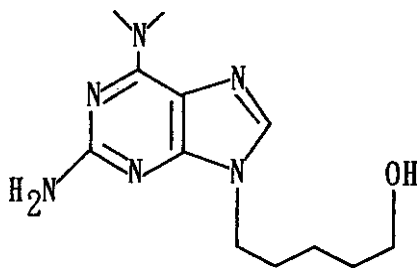
融点：137 で軟化し、147 で融解

R_f ：0.45 (メタノール)

質量スペクトル： M^+ = 476

実施例48 N-(2-アミノ-6-N,N-ジメチルアミノプリン-9-イル)-5-ペンタノール-化合物#48

20



^1H NMR (, CDCl_3 単位 ppm) : 7.46(s, 1H, プリン), 4.70(bs, 2H, NH_2), 4.04(t, 2H, CH_2), 3.65(t, 2H, CH_2), 3.46(bs, 6H, $2 \times \text{CH}_3$), 1.95(m, 2H, CH_2), 1.65(m, 2H, CH_2), 1.42(m, 2H, CH_2).

30

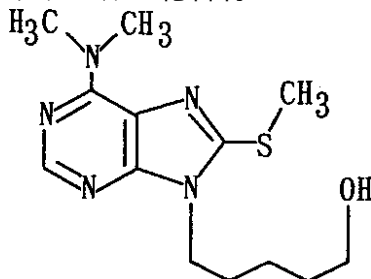
^{13}C NMR (, CD_3OD 単位 ppm) : 158.27, 154.08, 150.74, 136.12, 112.96, 60.28, 41.97, 36.50, 30.71, 28.38, 21.64.

融点：139 - 141

R_f ：0.55 (15%メタノール/酢酸エチル)

質量スペクトル： M^+ = 265

実施例49 N-(6-ジメチルアミノ-8-メチルチオプリン-9-イル)-5-ペンタノール-化合物#49



40

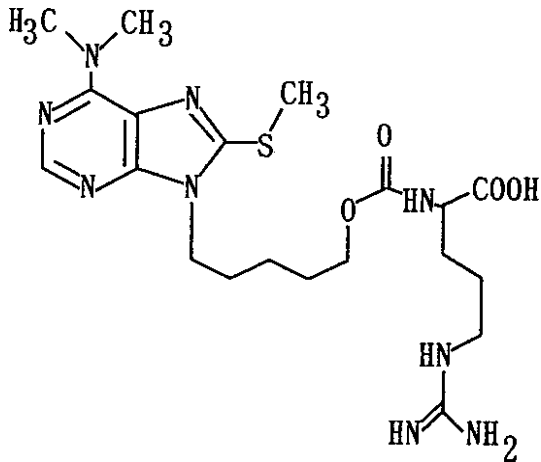
^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz, 単位 ppm) : 8.24(1H, s, プリン), 4.08(2H, t, N-CH_2), 3.61(2H, t, O-CH_2), 3.49(6H, br s, $\text{N-(CH}_3)_2$), 2.07(3H, s, S-CH_3), 1.81(2H, p, CH_2), 1.67(1H, br s, OH), 1.59(2H, p, CH_2), 1.39(2H, p, CH_2).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz, 単位 ppm) : 152.30, 151.69, 150.29, 146.

50

47, 119.39, 61.58, 41.77, 37.45, 31.28, 28.08, 21.81, 13.43.

実施例 50 N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - メチルチオプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 50 - の合成



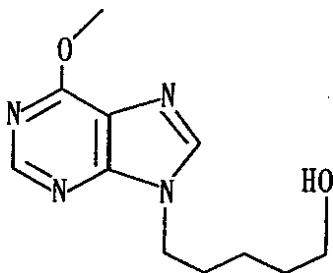
10

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz, 単位 ppm) : 8.13(1H, s, プリン), 8.0-7.2(4H, br, グアニジン), 6.32(1H, d, NH), 4.01(2H, t, N- CH_2), 3.86(2H, t, O- CH_2), 3.65(1H, m, C H), 3.41(6H, br s, N-(CH_3) $_2$), 3.02(2H, br, C H $_2$), 1.8-1.2(10H, m, C H $_2$, C H $_2$, -(CH $_2$)-).

^{13}C NMR (CDCl $_3$, 400 MHz, 単位 ppm) : 175.09, 156.83, 155.01, 152.01, 151.87, 150.46, 146.70, 118.84, 62.82, 54.61, 41.66, 39.91, 37.32, 29.26, 27.80, 27.69, 24.62, 22.05, 13.38.

20

実施例 51 N - (6 - メトキシプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール - 化合物 # 51 の合成



30

^1H NMR (CDCl $_3$, 400 MHz, 単位 ppm) : 8.43(1H, s, プリン), 7.86(1H, s, プリン), 4.18(2H, t, N- CH_2), 4.09(3H, s, O- CH_3), 3.55(2H, t, O- CH_2), 3.09(1H, br s, OH), 1.86(2H, m, CH $_2$), 1.53(2H, m, CH $_2$), 1.37(2H, m, CH $_2$).

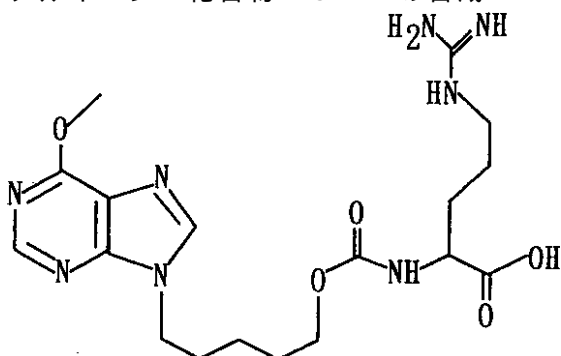
^{13}C NMR (CDCl $_3$, 400 MHz, 単位 ppm) : 160.0, 150.9, 141.2, 120.4, 60.9, 53.2, 43.1, 30.9, 28.8, 22.0.

融点 = 150

R $_f$ = 0.30 (15%メタノール - 酢酸エチル)

実施例 52 N - (6 - メトキシプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 52 - の合成

40



^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz, 単位 ppm) : 8.51(1H, s, プリン), 8.39

50

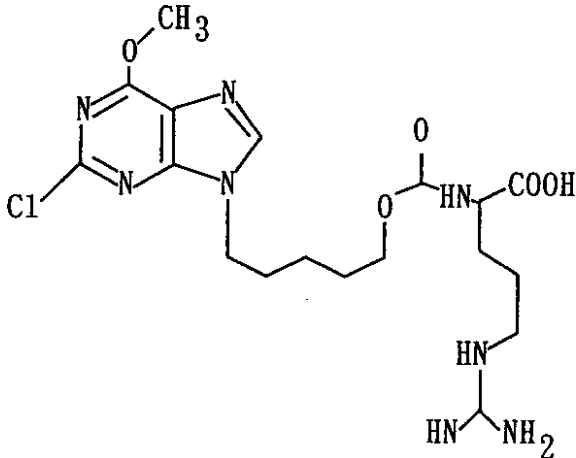
(1H, s, プリン), 8.0-7.3(4H, br, グアニジン), 6.29(1H, d, NH), 4.22(2H, t, N-CH₂), 4.08(3H, s, O-CH₃), 3.86(2H, t, O-CH₂), 3.62(1H, m, C H), 3.02(2H, br, C H₂), 1.8-1.2(10H, m, C H₂, C H₂, (CH₂)₃).

¹³C NMR (CDCl₃, 400 MHz, 単位 ppm) : 205.9, 175.8, 160.6, 157.7, 155.8, 152.4, 151.8, 120.9, 63.7, 55.4, 54.2, 43.6, 39.1, 30.1, 29.3, 28.5, 25.5, 22.9.

融点 (132 軟化) = 148

R_f = 0.35 (40%メタノール - 酢酸エチル)

実施例 53 N-(2-クロロ-6-メトキシプリン-9-イル)-7-ペンチルオキシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 53 - の合成



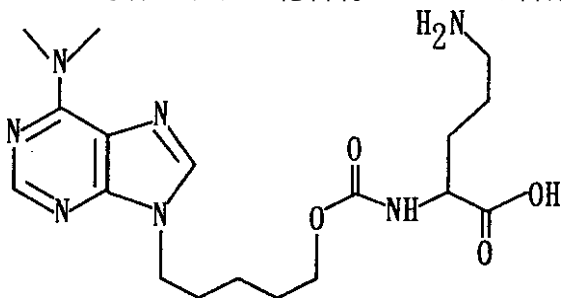
¹H NMR (, DMSO 単位 ppm) : 9.41(bs, 1H, COOH), 8.42(s, 1H, プリン), 7.3-7.8(bd, 4H, グアニジン), 6.28(d, 1H, NH), 4.08(s, 3H, CH₃), 3.87(t, 2H, CH₂), 4.18(t, 2H, CH₂), 4.08(s, 3H, CH₃), 3.87(t, 2H, CH₂), 4.08(s, 3H, CH₃), 3.87(t, 2H, CH₂), 3.61(m, 1H, C H), 3.04(m, 2H, CH₂), 1.22-1.87(m, 10H, 5xCH₂).

融点 : 128 で軟化し、141 で融解

R_f : 0.45 (メタノール)

質量スペクトル : M⁺ = 471

実施例 54 N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-7-ペントキシカルボニル-D-オルニチン-化合物 # 54 - の合成



¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, 単位 ppm) : 8.20(1H, s, プリン), 8.12(1H, s, プリン), 6.21(1H, d, NH), 4.10(2H, t, N-CH₂), 3.87(2H, t, O-CH₂), 3.59(1H, m, C H), 3.4(br, N-(CH₃)₂, NH₂), 2.70(2H, m, C H₂), 1.9-1.2(10H, m, (CH₂)₃, C H₂, C H₂).

¹³C NMR (CD₃OD, 400 MHz, 単位 ppm) : 176.3, 156.2, 153.8, 150.7, 148.8, 138.9, 118.5, 63.5, 54.2, 42.5, 38.0, 37.0, 28.6, 28.3, 27.2, 22.4, 21.7.

融点 (185 軟化) = 189 - 190

R_f = 0.20 (メタノール)

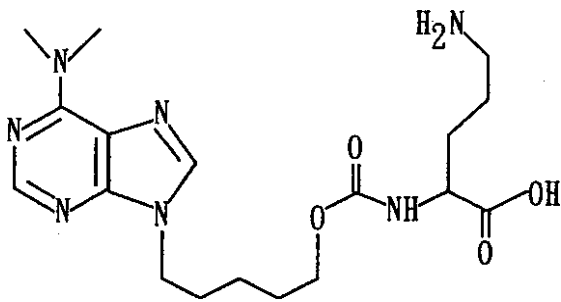
実施例 55 N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-7-ペントキシカルボニル-L-オルニチン-化合物 # 55 - の合成

10

20

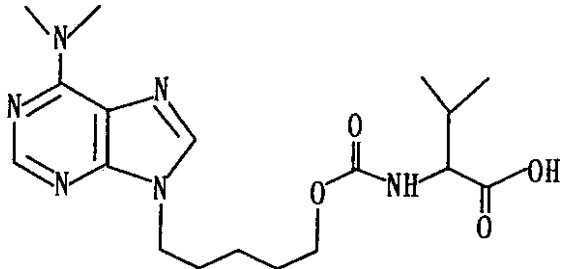
30

40



分光特性は化合物 # 54 と同一であった。

実施例 56 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - L - プロリン - 化合物 # 56 - の合成 10



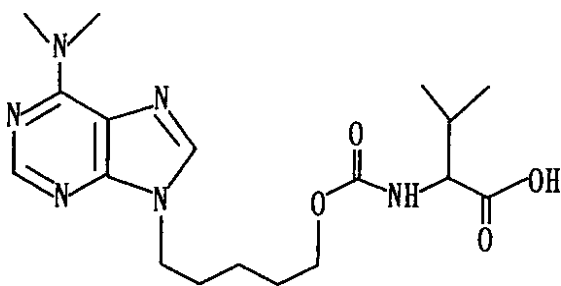
^1H NMR (DMSO - d_6 , 400 MHz , 単位 ppm) : 8.19(1H,s,プリン) , 8.16(1H,s,プリン) , 6.30(1H,d,NH) , 4.13(2H,t,N-CH₂) , 3.87(2H,m,O-CH₂) , 3.64(1H,m,C-H) , 3.4(1H,br,s,N-(CH₃)₂) , 1.80(2H,p,CH₂) , 1.25(2H,p,CH₂) , 0.79(3H,d,C-H₃) , 0.75(3H,d,C-H₃) 20

^{13}C NMR (CD₃OD , 400 MHz , 単位 ppm) : 174.6, 156.7, 153.7, 150.5, 148.9, 138.6, 118.6, 63.4, 59.2, 42.3, 36.7, 29.6, 28.3, 27.3, 21.7, 17.5, 15.9.

融点 (140 で軟化) = 172 - 176

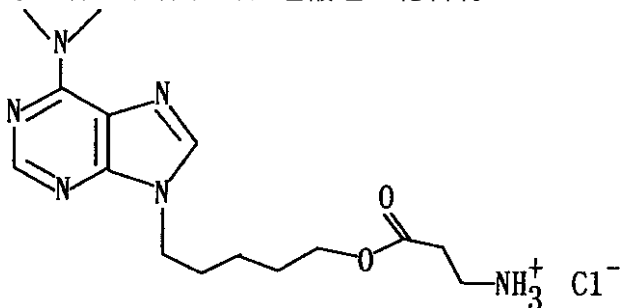
R_f = 0.20 (30%メタノール - 酢酸エチル)

実施例 57 N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペントキシカルボニル - D - プロリン - 化合物 # 57 - の合成 30



分光特性は化合物 # 56 と同一であった。

実施例 58 N (N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - ペンチルオキシカルボニルエチルアミン塩酸塩 - 化合物 # 58 - の合成 40

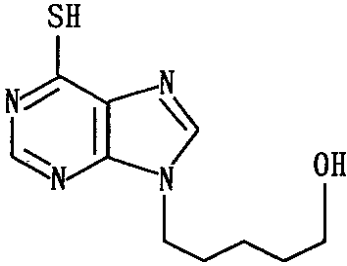


^1H NMR (DMSO 単位 ppm) : 8.40(s,1H,プリン) , 8.43(s,1H,プリン) , 8.04(bs,3H,NH₃) , 4.24(t,2H,CH₂) , 4.02(t,2H,CH₂) , 2.99(m,2H,CH₂) , 2.67(t,2H,CH₂) , 1.83(m,2H,CH₂) , 1.62(m,2H,CH₂) , 1.28(m,2H,CH₂) . 50

R_f : 0.3 10%メタノール/酢酸エチル

質量スペクトル: $M^+ = 321$

実施例 59 N-(6-メルカプトプリン-9-イル)ペンタノール-化合物 # 59 - の合成



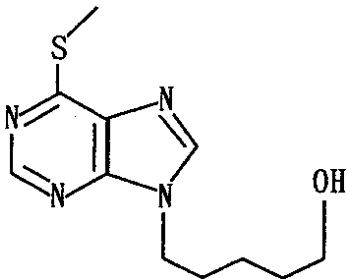
10

^1H NMR (DMSO 単位 ppm): 8.30(s, 1H, プリン), 8.18(s, 1H, C₂-プリン), 4.34(t, 1H, OH), 4.15(t, 2H, CH₂-O), 3.34(t, 2H, CH₂-N), 1.82(m, 2H, CH₂), 1.42(m, 2H, CH₂), 1.24(m, 2H, CH₂).

R_f : 0.57 30%メタノール/酢酸エチル

質量スペクトル: $M^+ = 239$

実施例 60 N-(6-メチルチオプリン-9-イル)ペンタノール-化合物 # 60 - の合成



20

^1H NMR (CDCl₃ 単位 ppm): 8.74(s, 1H, プリン), 7.95(s, 1H, プリン), 4.27(t, 2H, CH₂-N), 3.65(t, 2H, CH₂-O), 2.74(s, 3H, SCH₃), 1.94(m, 2H, CH₂), 1.60(m, 2H, CH₂), 1.43(m, 2H, CH₂).

^{13}C NMR (CD₃OD 単位 ppm): 163.23, 153.42, 149.96, 145.89, 132.48, 63.08, 45.60, 33.62, 31.24, 24.54, 12.29.

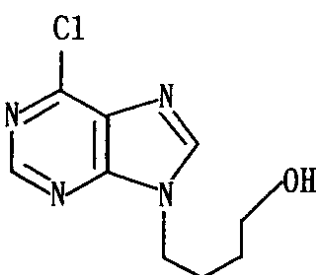
30

融点: 95 - 97

R_f : 0.22 (酢酸エチル)

質量スペクトル: $M^+ = 253$

実施例 61 N-(6-クロロプリン-9-イル)-4-ブタノール-化合物 # 61 - の合成

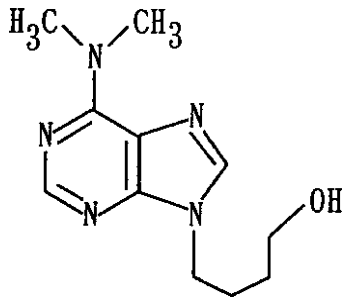


40

^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz, 単位 ppm): 8.66(1H, s, プリン), 8.16(1H, s, プリン), 4.33(2H, t, N-CH₂), 3.67(2H, t, O-CH₂), 3.04(1H, br s, OH), 2.01(2H, p, CH₂), 1.55(2H, p, CH₂).

融点 = 97

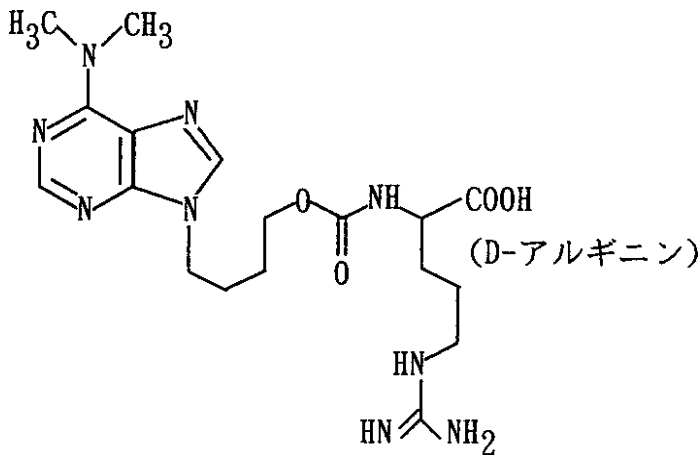
実施例 62 N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-4-ブタノール-化合物 # 62 - の合成



^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz, 単位 ppm) : 8.24(1H, s, プリン), 7.68(1H, s, プリン), 4.33(2H, t, N-CH₂), 3.89(1H, br s, OH), 3.64(2H, t, O-CH₂), 3.46(6H, br, N-(CH₃)₂), 1.92(2H, p, CH₂), 1.53(2H, p, CH₂).

融点 = 78

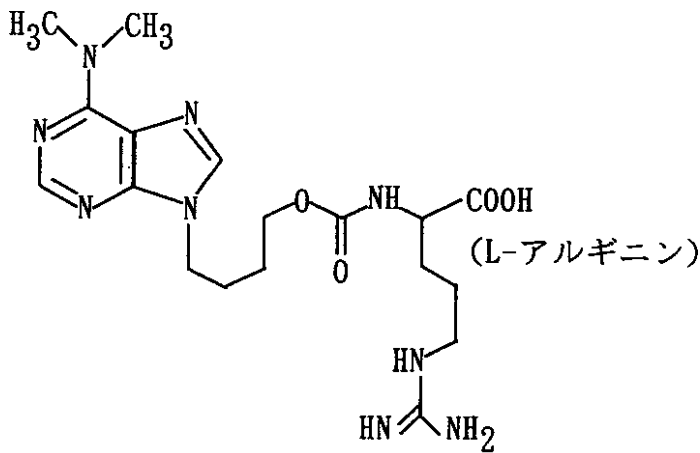
実施例 63 N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-4-ブトキシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 63 - の合成



^1H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz, 単位 ppm) : 8.20(1H, s, プリン), 8.18(1H, s, プリン), 8.1-7.3(4H, br, ギアニジン), 6.40(1H, d, NH), 4.16(2H, t, N-CH₂), 3.91(2H, t, O-CH₂), 3.65(1H, m, C-H), 3.4(6H, br, N-(CH₃)₂), 3.02(2H, m, C-H), 1.9-1.3(8H, m, C-H, -(CH₂)₂-).

融点 (85 で軟化) = 140 - 142

実施例 64 N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-4-ブトキシカルボニル-L-アルギニン-化合物 # 63 - の合成



分光特性は化合物 # 63 と同一であった。

融点 (85 で軟化) = 139 - 142

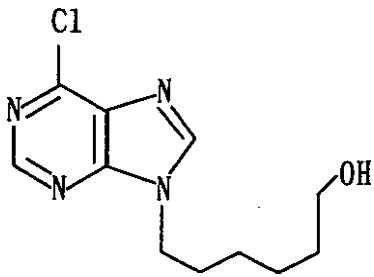
実施例 65 N-(6-クロロプリン-9-イル)-6-ヘキサノール-化合物 # 65 - の合成

10

20

30

40



^1H NMR (, CDCl_3 単位 ppm) : 8.69(s, 1H, プリン), 8.11(s, 1H, プリン), 4.27(t, 2H, CH_2), 3.58(t, 2H, CH_2), 2.21(bs, 1H, OH), 1.91(m, 2H, CH_2), 1.43(m, 2H, CH_2), 1.35(m, 4H, $2\times\text{CH}_2$).

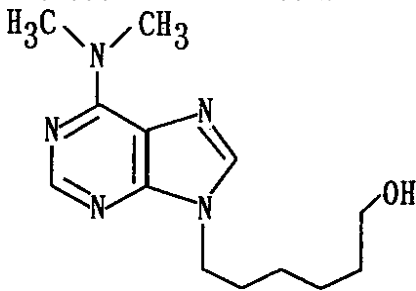
^{13}C NMR (, CDCl_3 単位 ppm) : 152.45, 151.60, 145.69, 132.16, 112.00, 63.00, 44.96, 32.86, 30.39, 26.87, 25.67.

融点 = 84 - 86

$R_f = 0.5$ 10% (メタノール / 酢酸エチル)

質量スペクトル : $M^+ = 255$

実施例 66 N-(6-N,N-ジメチルアミノプリン-9-イル)-6-ヘキサノール-化合物 # 66 - の合成



^1H NMR (, CDCl_3 単位 ppm) : 8.35(s, 1H, プリン), 7.71(s, 1H, プリン), 4.17(t, 2H, CH_2), 3.61(t, 2H, CH_2), 3.53(bs, 6H, $2\times\text{CH}_3$), 1.89(m, 2H, CH_2), 1.71(bs, 1H, OH), 1.55(m, 2H, CH_2), 1.45(m, 4H, $2\times\text{CH}_2$).

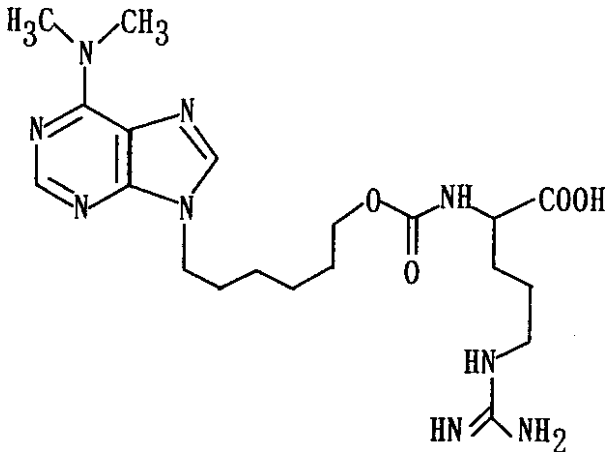
^{13}C NMR (, CDCl_3 単位 ppm) : 154.44, 152.90, 150.95, 138.72, 120.53, 63.04, 44.08, 39.28, 32.95, 30.61, 26.80, 25.64.

融点 75 - 77

$R_f = 0.48$ 10% メタノール - 酢酸エチル

質量スペクトル : $M^+ = 264$

実施例 67 N-(6-N,N-ジメチルアミノプリン-9-イル)-8-ヘキシルオキシシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 67 - の合成



^1H NMR (, CD_3OD 単位 ppm) : 7.98(s, 1H, プリン), 7.31(s, 1H, プリン), 3.98(t, 2H, CH_2), 3.78(m, 3H, CH_2 および C-H), 3.27(bs, 6H, $2\times\text{CH}_3$), 2.96(t, 2H, CH_2), 1.1-1.78(m, 12H, $6\times\text{CH}_2$).

10

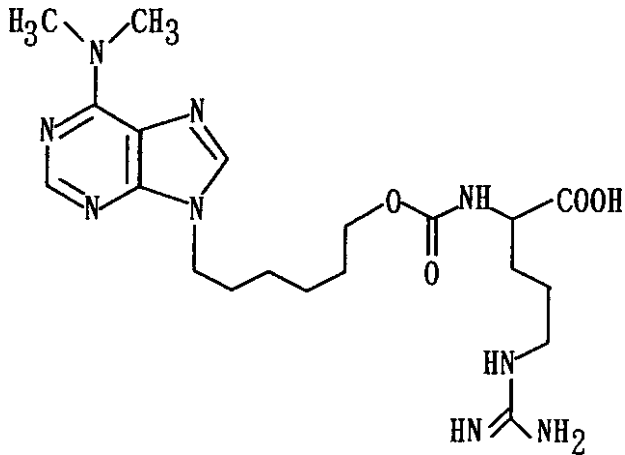
20

30

40

50

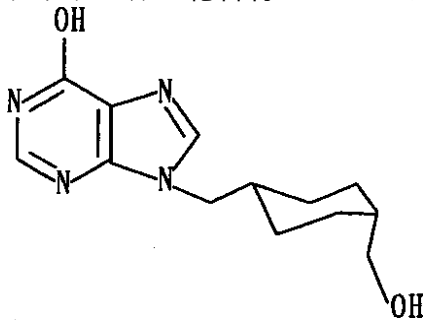
実施例 68 N - (6 - N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 8 - ヘキシルオキシカルボニル - L - アルギニン - 化合物 # 68 - の合成



10

^1H NMR (, CD_3OD 単位 ppm) : 8.00(s, 1H, プリン), 7.82(s, 1H, プリン), 4.00(t, 2H, CH_2), 3.80(m, 3H, CH_2 および C H), 3.29(bs, 6H, $2\times\text{CH}_3$), 2.97(t, 2H, CH_2), 1.13-1.72(m, 12H, $6\times\text{CH}_2$).

実施例 69 シス (N - 6 - ヒドロキシプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシルメタノール - 化合物 # 69 - の合成



20

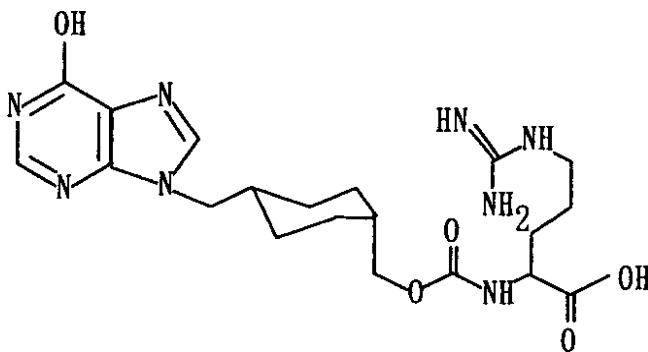
^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz , 単位 ppm) : 8.08(1H, s, プリン), 8.07(1H, s, プリン), 4.21(2H, d, N- CH_2), 3.49(2H, d, O- CH_2), 2.16(1H, m, CH), 1.7-1.2(9H, m, CH_2 -シクロヘキサン, CH).

30

融点 > 200

$R_f = 0.3$ (20%メタノール - 酢酸エチル)

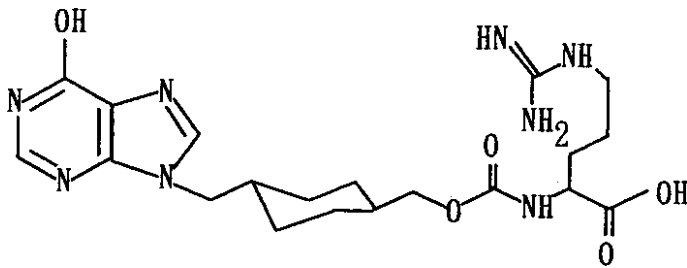
実施例 70 シス (N - 6 - ヒドロキシプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシルメチルオキシカルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 70 - の合成



40

^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz , 単位 ppm) : 8.10(1H, s, プリン), 8.09(1H, s, プリン), 4.24(2H, d, N- CH_2), 3.65(1H, m, C H), 3.52(2H, d, O- CH_2), 2.95(2H, m, C H_2), 2.2-1.2(14H, m, $2\times\text{CH}$ -シクロヘキサン, $4\times\text{CH}_2$ -シクロヘキサン, C H_2 , C H_2).

実施例 71 トランス (N - 6 - ヒドロキシプリン - 9 - イル) - 4 - メチルシクロヘキシルメチルオキシカルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 71 - の合成

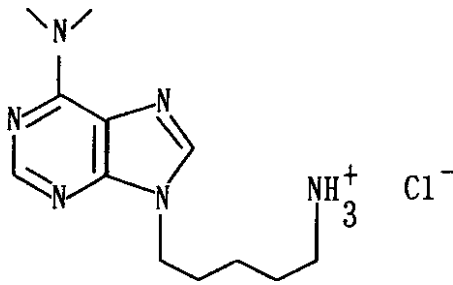


^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz, 単位 ppm) : 8.09(2H, s, プリン), 4.12(2H, d, N-CH_2), 3.68(1H, m, C-H), 3.36(2H, d, O-CH_2), 3.01(2H, m, C-H_2), 2.0-0.9(14H, m, $2\times\text{CH-シクロヘキサン}$, $4\times\text{CH}_2$ -シクロヘキサン, C-H_2 , C-H_2).

融点 > 200

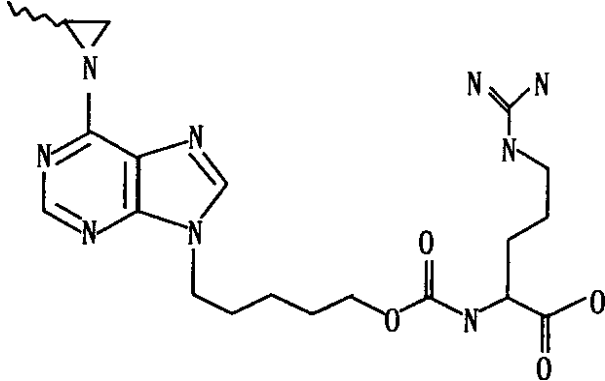
$R_f = 0.2$ (メタノール)

実施例 72 N-(6-N,N-ジメチルアミノプリン-9-イル)-5-ペンチルアミン塩酸塩-化合物 # 72 - の合成



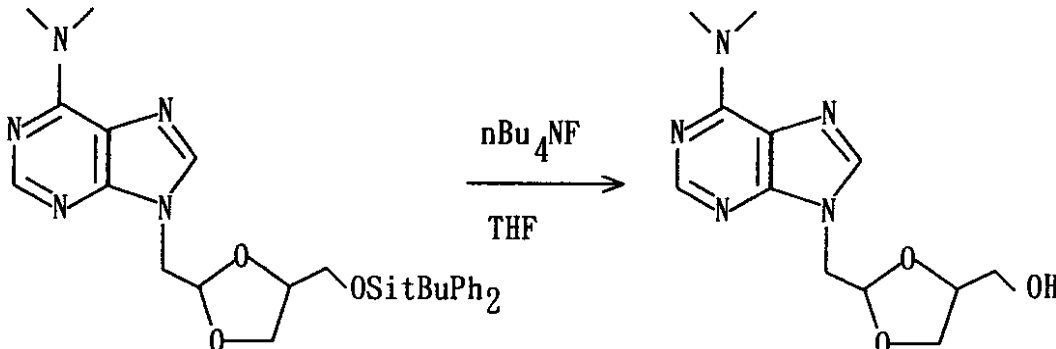
^1H NMR (, DMSO 単位 ppm) : 8.20(s, 1H, プリン), 8.16(s, 1H, プリン), 7.84(bs, 3H, NH_3), 4.14(t, 2H, CH_2), 3.44(bs, 6H, $2\times\text{CH}_3$), 2.73(t, 2H, CH_2), 1.81(m, 2H, CH_2), 1.56(m, 2H, CH_2), 1.25(m, 2H, CH_2).

実施例 73 N-(6-メチルアジリジンプリン-9-イル)-7-ペンチルオキシカルボニル-L-アルギニン-化合物 # 73 - の合成



化合物 # 73 の分光データは化合物 # 39 について報告したデータに類似した。

実施例 74 (2S, 4S)-2-(N,N-ジメチルアミノプリン-9-イル)-4-ヒドロキシメチル-1,3-ジオキソラン-化合物 # 74



^1H NMR (CDCl_3) : 8.32(s, 1H, プリン), 7.75(s, 1H, プリン), 5.33(dd, 1H, $J=2.0$)

10

20

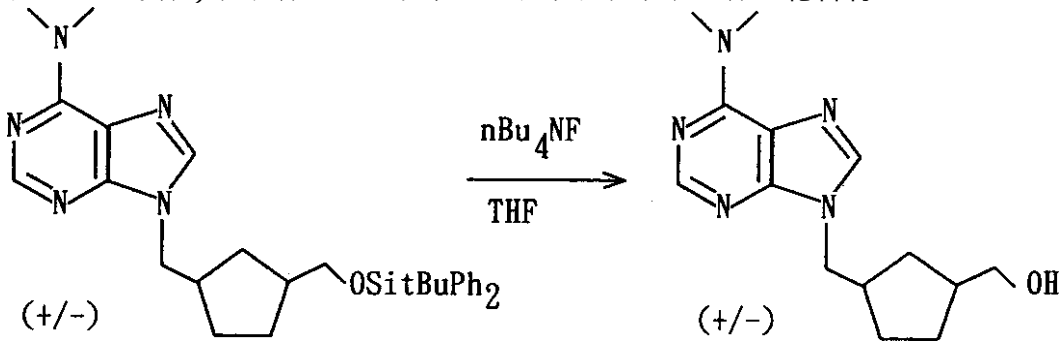
30

40

50

, 6.6 (H-2-ジオキソラン), 5.33 (bs, 1H, OH), 4.45 (dd, 1H, J=6.6, 14.3, CH₂-プリン), 4.02 (dd, 1H, J=2.0, 14.3, CH₂-プリン), 4.20 (m, 1H, H-4-ジオキソラン), 4.05 (d, 2H, J=7.2, H-5), 3.78 (d, 1H, J=13.0, CH₂-OH), 3.53 (bs, 6H, (CH₃)₂N), 3.40 (d, 1H, J=13.0, CH₂-OH).

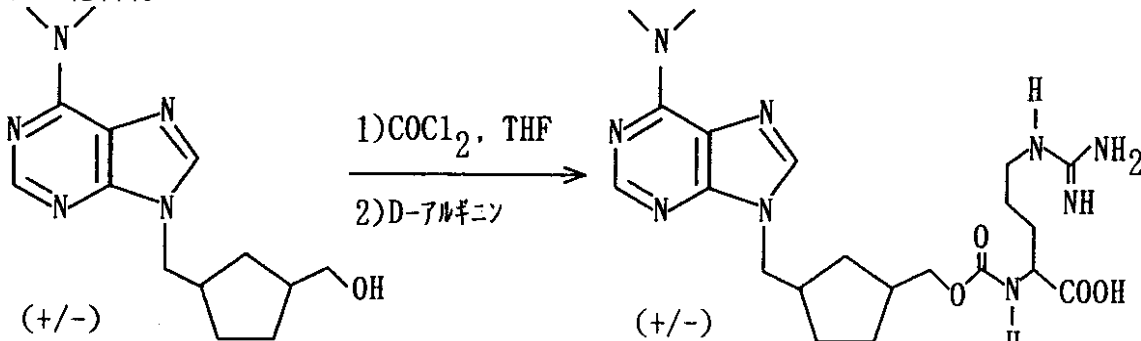
実施例 75 (1S, 3R) および (1R, 3S) - 1 - (N-6-ジメチルアミノプリン-9-イル)メチル-3-シクロペンタンメタノール-化合物 # 75



10

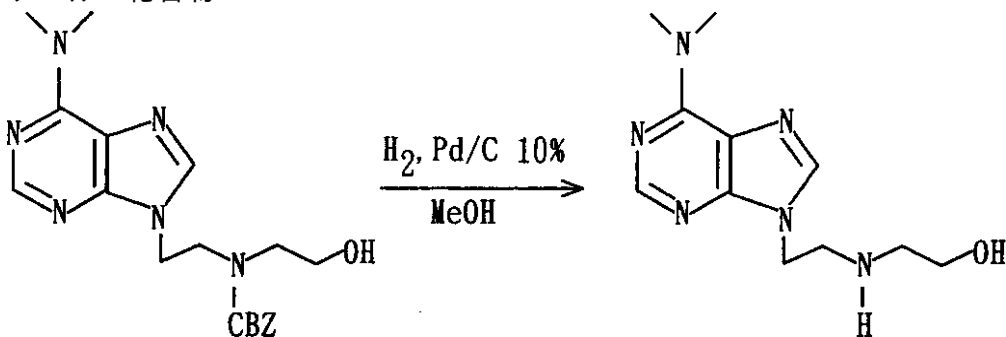
¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 8.32 (s, 1H, プリン), 7.71 (s, 1H, プリン), 4.18 (dd, 1H, J=8.6, 13.7), 4.06 (dd, 1H, J=6.7, 13.7), 3.61-3.53 (m, 8H), 3.00 (bs, 1H, OH), 2.48 (m, 1H), 2.17 (m, 1H), 1.88-1.68 (m, 3H), 1.53 (m, 1H), 1.43 (m, 1H), 1.08 (m, 1H).

実施例 76 (1S, 3R) および (1R, 3S) - 1 - (N-6-ジメチルアミノプリン-9-イル)メチル-3-(メチルオキシカルボニル-D-アルギニン)シクロペンタン-化合物 # 76



20

実施例 77 N, N - (6-ジメチルアミノプリン-9-イル) - 7 - エチルアミノエタノール-化合物 # 77

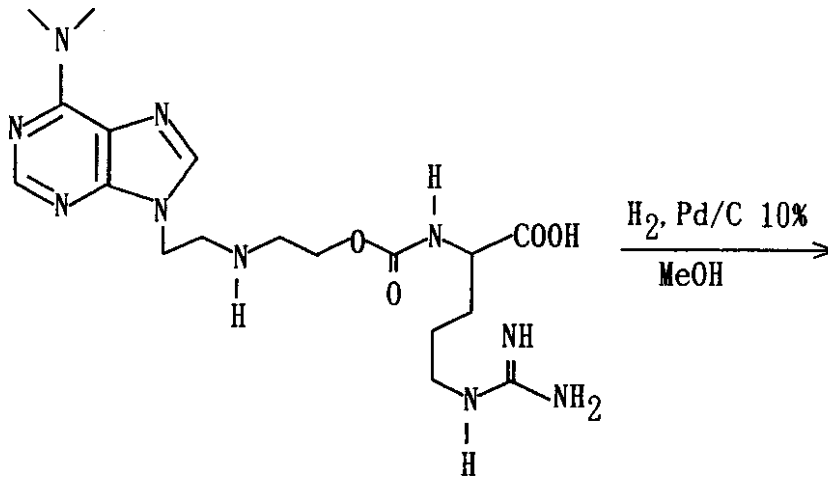


30

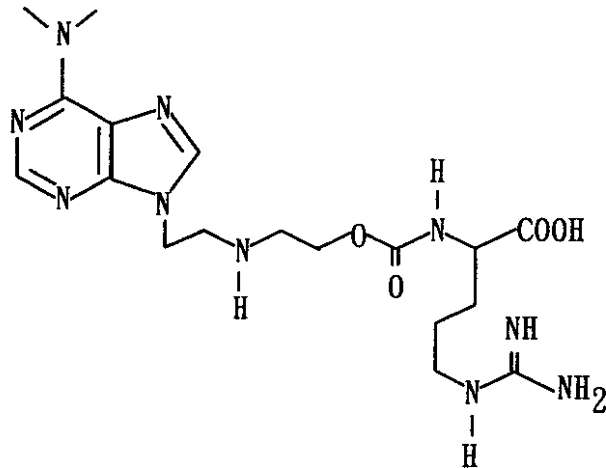
40

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.34 (s, 1H, プリン), 7.79 (s, 1H, プリン), 4.29 (t, 2H, J=5.8, -CH₂-), 3.62 (m, 2H, -CH₂-), 3.54 (bs, 6H, (CH₃)₂N), 3.11 (t, 2H, J=5.8, -CH₂-), 2.81 (t, 2H, J=5.2, -CH₂-), 2.05 (bs, 2H, NH および OH).

実施例 78 N, N - (6-ジメチルアミノプリン-9-イル) - 7 - エチルアミノエトキシカルボニル-D-アルギニン-化合物 # 78



10

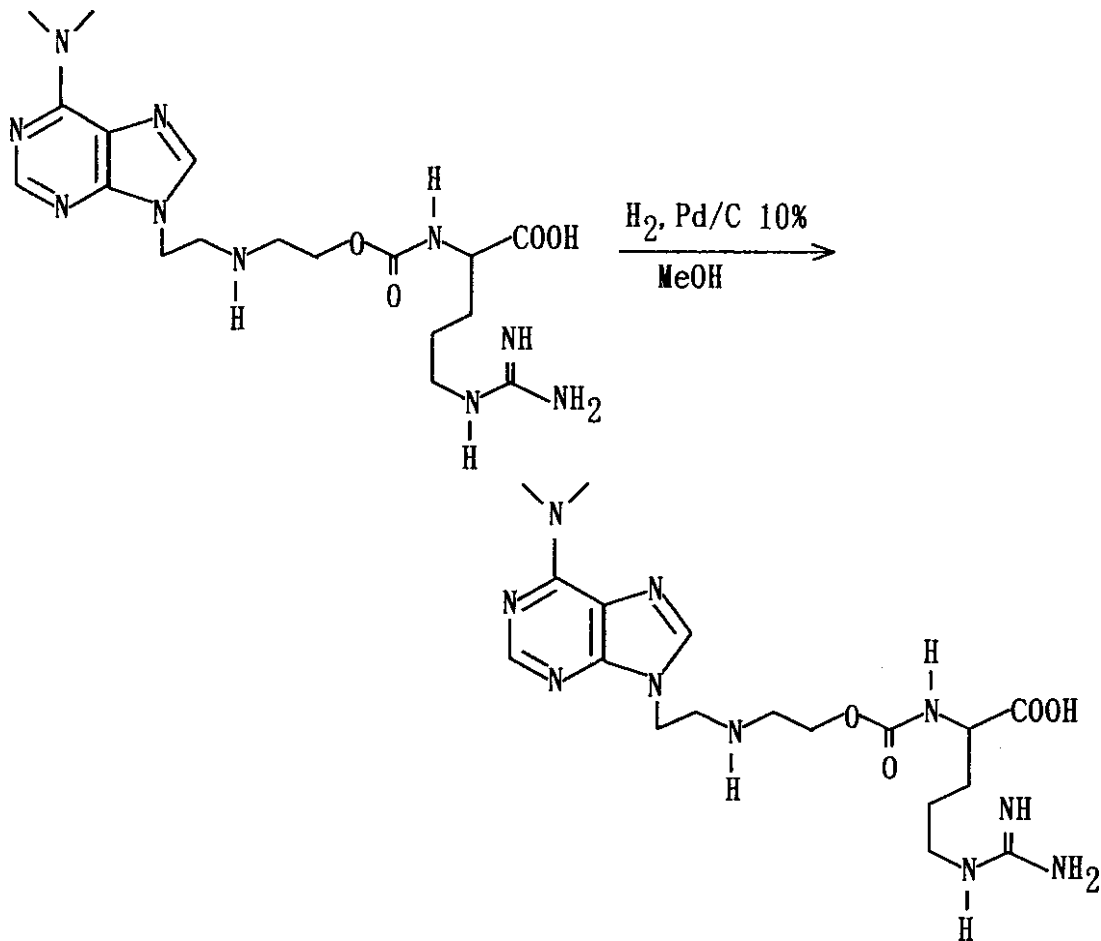


20

^1H NMR (CDCl₃, 300 MHz): 9.36(m, 1H), 8.19(s, 1H, プリン), 8.11(s, 1H, プリン), 6.38(d, 1H, J=7.0, NHカルバメート), 4.17(t, 2H, J=6.1, -CH₂-), 3.91-3.87(m, 2H, -CH₂-), 3.65(m, 1H, CH-COOH), 3.43(bs, 6H, (CH₃)₂N), 3.03-3.01(m, 2H, CH₂-NHC(NH)NH₂), 2.90(t, 2H, J=6.1, -CH₂-), 2.68(t, 2H, J=5.6, -CH₂-), 1.64-1.44(m, 4H, CH₂-CH₂-CH₂NHC(NH)NH₂).

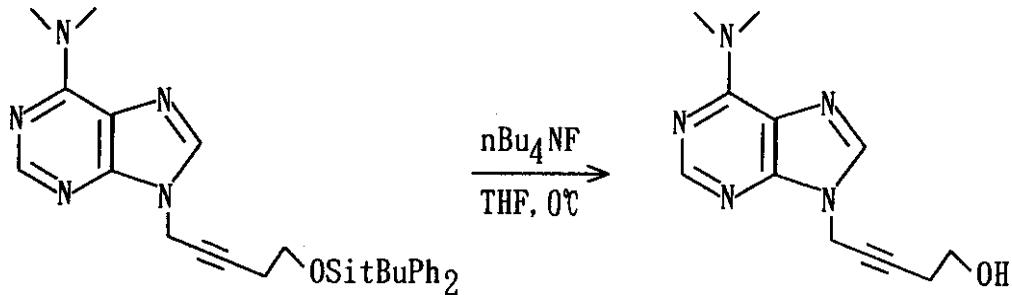
実施例 79 N,N-(6-ジメチルアミノプリン-9-イル)-7-エチルアミノエトキシカルボニル-L-アルギニン-化合物 # 79

30



分光特性は化合物 # 78 と同一であった。

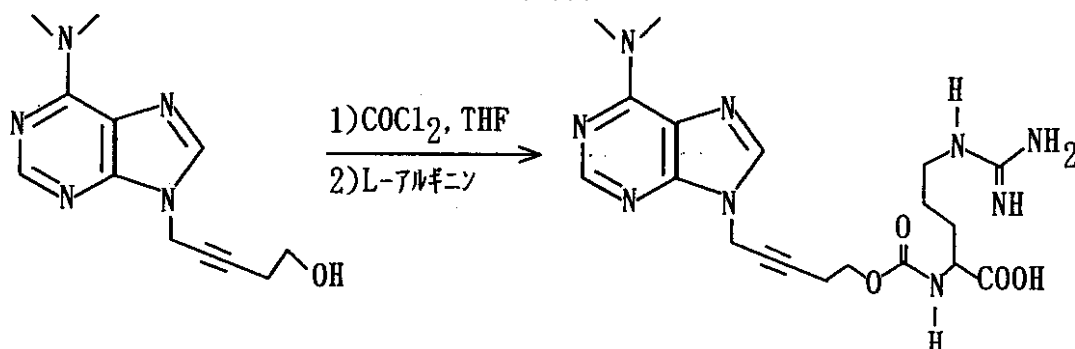
実施例 80 5 - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 3 - ペンチン - 1 - オール - 化合物 # 80



$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : 8.34(s, 1H, H-2プリン), 7.89(s, 1H, H-8プリン), 4.91(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.74(t, 2H, $J=6.2$, $\text{CH}_2\text{-OH}$), 3.52(bs, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{N}$), 2.87(bs, 1H, OH), 2.50(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}$).

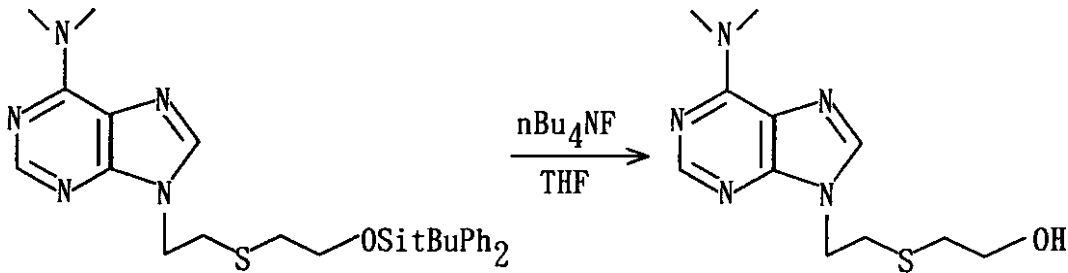
実施例 81 5 - (N - 6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 3 - ペンチニル - 1 - オキシカルボニル - L - アルギニン - 化合物 # 81

40



分光特性は化合物 # 40 と同一であった。

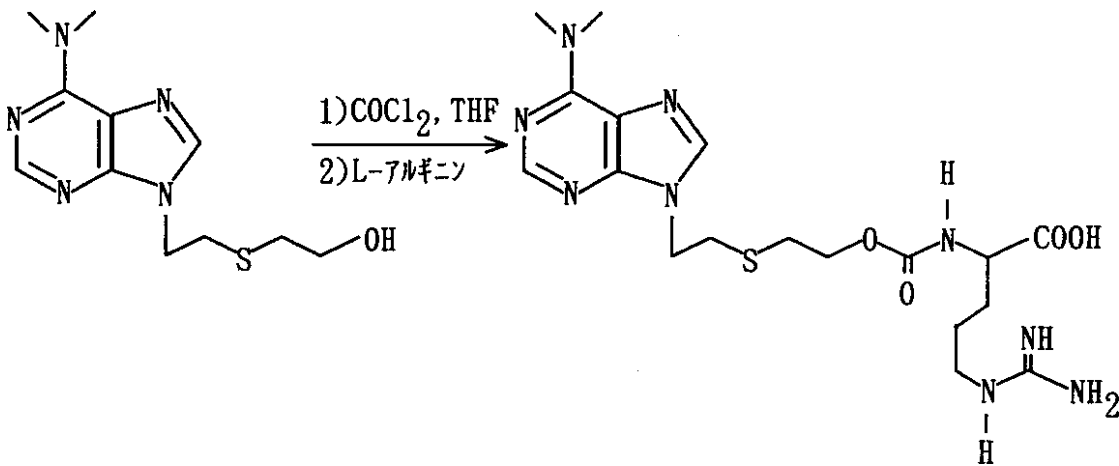
実施例 8 2 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - チオエトキシエタノール - 化合物 # 8 2



¹H NMR (CDCl₃) : 8.30(s, 1H, プリン), 7.75(s, 1H, プリン), 4.41(t, 2H, J=6.5, CH₂ リンカー), 4.11(bs, 1H, OH), 3.73(t, 2H, J=6.5, CH₂ リンカー), 3.51(bs, 6H, (CH₃)₂N), 2.99(t, 2H, J=6.5, CH₂ リンカー), 2.68(t, 2H, J=6.5, CH₂ リンカー).

10

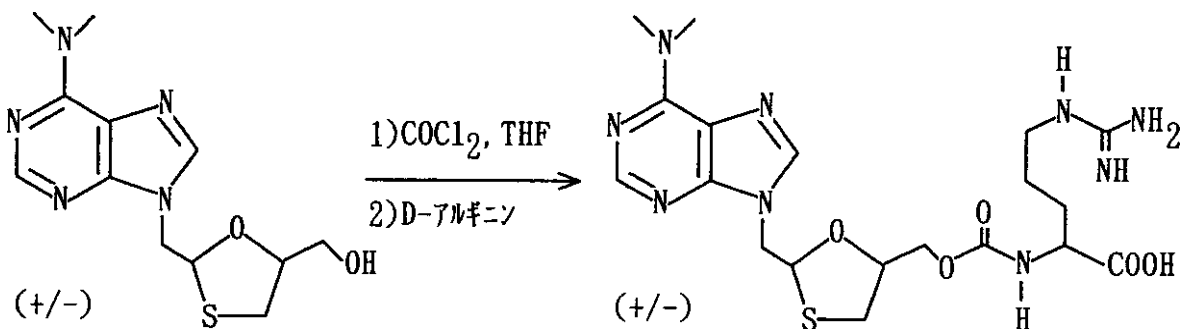
実施例 8 3 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - チオエトキシカルボニル - L - アルギニン - 化合物 # 8 3



20

分光特性は化合物 # 4 0 と同一であった。

実施例 8 4 (2 S , 4 S) および (2 R , 4 R) - 2 - (N , N - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 4 - (メトキシカルボニル - D - アルギニン) - 1 , 3 - オキサチオラン - 化合物 # 8 4

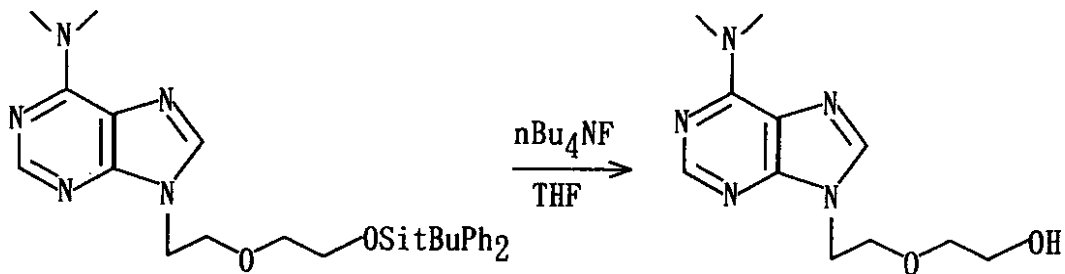


30

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) : 8.49(s, 1H, プリン), 8.47(s, 1H, プリン), 6.60(bs, 1H, NHカルバメート), 6.22(m, 1H, H-2-オキサチオラン), 4.26-4.03(m, 3H), 3.63-3.00(m, 11H), 2.78-2.69(m, 2H, H-5-オキサチオラン), 1.53-1.40(m, 4H, CH₂-CH₂-CH₂NH-C(NH)NH₂).

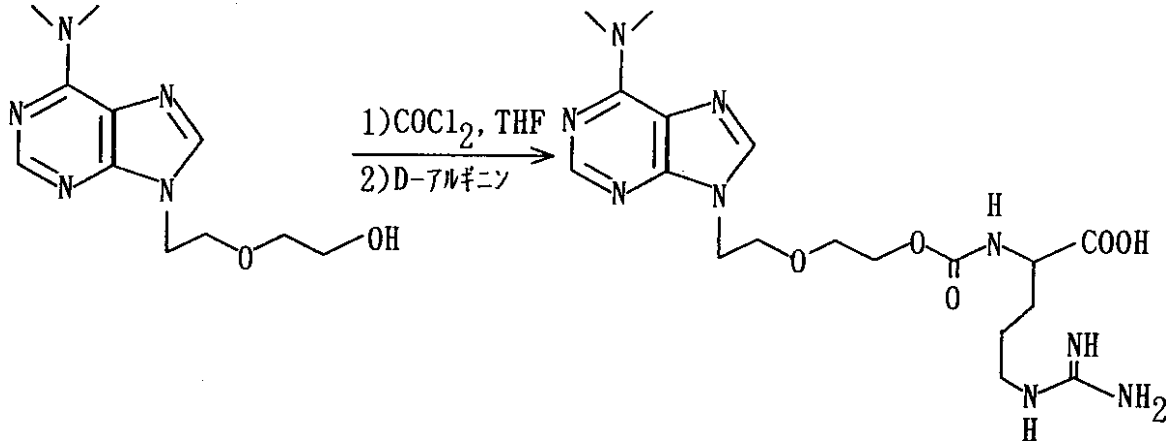
40

実施例 8 5 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エトキシエタノール - 化合物 # 8 5



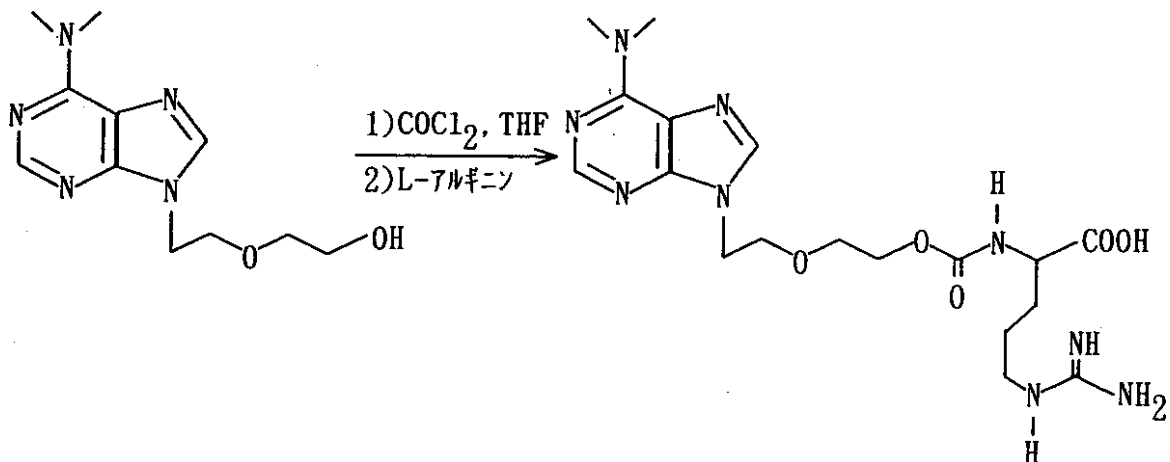
$^1\text{H NMR (CDCl}_3\text{)}$: 8.29(s, 1H, プリン), 7.80(s, 1H, プリン), 4.33(t, 2H, CH_2), 3.82(t, 2H, CH_2), 3.68(t, 2H, CH_2), 3.55(t, 2H, CH_2), 3.50(m, 6H, $\text{N(CH}_3\text{)}_2$).

実施例 86 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エトキシエトキシカルボニル - D - アルギニン - 化合物 # 86



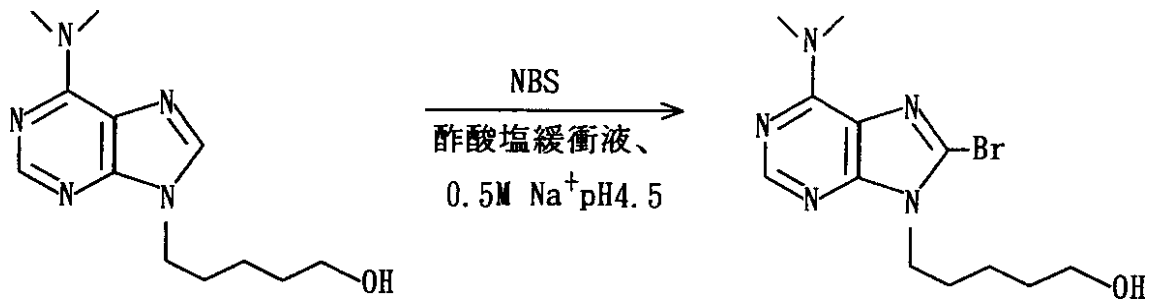
$^1\text{H NMR (DMSO-d}_6\text{)}$: 8.25(s, 1H, プリン), 8.14(s, 1H, プリン), 6.5(bd, 1H, NH カルバメート), 4.37(t, 2H, CH_2 リンカー), 4.03(m, 2H, CH_2 リンカー), 3.81(m, 2H, CH_2 リンカー), 3.72(m, 1H, CH-COOH), 3.60(m, 2H, CH_2 リンカー), 3.55-3.89(m, 6H, $\text{N(CH}_3\text{)}_2$), 3.05(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH-C(NH)NH}_2$), 1.78-1.39(m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{NH-C(NH)NH}_2$).

実施例 87 N, N - (6 - ジメチルアミノプリン - 9 - イル) - 7 - エトキシエトキシカルボニル - L - アルギニン - 化合物 # 87



分光特性は化合物 # 86 と同一であった。

実施例 88 N - (6 - ジメチルアミノ - 8 - プロモプリン - 9 - イル) - 5 - ペンタノール - 化合物 # 88



¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz) : 8.27(s, 1H, プリン), 4.18(t, 2H, J=7.2, CH₂), 3.64(t, 2H, J=6.3, CH₂), 3.48(bs, 6H, N(CH₃)₂), 2.02(bs, 1H, OH), 1.85(五重線, 2H, J=7.2, CH₂), 1.63(五重線, 2H, J=6.3, CH₂), 1.46(m, 2H, CH₂).

10

生物学的データ

in vitroスクリーニング :

実施例 89 : 脾臓細胞懸濁液でのマイトジェン増殖

分裂促進性レクチン(マイトジェン)は、特定の細胞表面炭水化物決定基を結合し且つ架橋し、そしてリンパ系細胞を多クローン性に刺激するタンパク質である。抗原かまたはマイトジェンによるリンパ球活性化は、細胞内変化を引き起こし、続いてリンパ芽球を発生させる。*in vitro*でのリンパ球のマイトジェン刺激は、特定の抗原によるそれらの刺激後に*in vivo*で起こる連続した事柄に似ていると考えられる。PHA、ConAおよびPWM、LPSマイトジェンは、T細胞およびB細胞活性それぞれの測定に用

20

いることができる。
簡単にいうと、C57BL/6マウスからの脾臓単核白血球を、マイトジェン存在下または不存在下において試験薬物と一緒にまたは不含でインキュベートした。72時間後または5日後に、³Hチミジン取込みは、細胞の形質転換および増殖の指標として記録された。細胞2×10⁶個/ml(細胞2×10⁵個/ウェル)の懸濁液100μlを、PHAまたはConAまたはPWMまたはLPSの存在下において以下の濃度でインキュベートした。

PHA = 0.01% 最終濃度 - 0.001%

ConA = 2 μg/ml - 1 μg/ml

PWM = 0.2x - 0.02x

LPS = 5 μg/ml - 2 μg/ml

30

細胞を、薬物の存在下または不存在下で72時間インキュベートした。トリチウム化チミジン(³H)0.5μCiまたは1μCiを、それぞれインキュベーションの最後の18時間または6時間にウェルごとに加えた。細胞を採取し且つベータカウンターで計数した。

表1
(マイトジェン増殖)

化合物番号	T (ConA) (M)	B (LPS) (M)
ST-789	0	1.5 ~ 3 x (10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁵)
#1	2 ~ 4 x (10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁵)	2 x (10 ⁻⁶)
#2	2 ~ 4 x (10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁵)	0
#3	2 ~ 6 x (10 ⁻¹² ~10 ⁻⁶)	2 ~ 2.5 x (10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁶)
#7	2 ~ 6 x (10 ⁻¹² ~10 ⁻⁸)	0
#9	2 ~ 3.5 x (10 ⁻¹² ~10 ⁻⁶)	

実施例90： 細胞障害性Tリンパ球（CTL）および混合リンパ球反応（MLR）検定
混合リンパ球反応は、同種移植拒絶の *in vitro* 対応反応である。簡単にいうと、
T細胞応答は、任意の種の2種類の異系繁殖個体からの2種類の同系繁殖系から得られた
細胞を培養中に *in vitro* 混合した場合に得られた。一方向応答にするために、ど
ちらかの細胞種の増殖をX線照射またはマイトマイシンC処理によって阻止することが
できる。

4日間のインキュベーション後、³Hチミジン取込みおよび細胞障害性検定（CTL）を
行った。

C57B1/6マウス3匹およびDBA/2マウス3匹を殺し、そしてリンホライトMを
用いてリンパ球を調製した。細胞濃度をそれぞれの溶解について細胞10 × 10⁶個/m
lに調整した。DBA/2細胞に3000ラドを照射した。C57細胞1ml + DBA/
2細胞1ml + 3種類の異なる濃度の薬物1mlを一緒に5日間インキュベートした。正
の対照は、最終濃度15 ng/mlのIL-2であった。5日後、CTLおよびMLR試
験を行った。

MLR

細胞を再懸濁させ、細胞懸濁液100 μlをプレートの96ウェルそれぞれに加え、20
μCi/mlのチミジン50 μlを6時間加えた。次に、細胞を集め、そしてベータカウ
ンターを用いて計数した。

CTL

P815標的細胞をCr⁵¹によって標識した。標識後、細胞を再懸濁させて細胞5 × 10⁴
個/mlにした。エフェクター細胞を、細胞2.5 × 10⁶個/mlに調整した後、1：
2および1：4に希釈して、必要なエフェクター対標的比率を得た。

50 : 1 (細胞 2.5×10^6 個 / ml : 細胞 5×10^4 個 / ml)

25 : 1 (細胞 1.25×10^6 個 / ml : 細胞 5×10^4 個 / ml)

12.5 : 1 (細胞 0.625×10^6 個 / ml : 細胞 5×10^4 個 / ml)

標的細胞 $100 \mu\text{l}$ + T細胞 $100 \mu\text{l}$ を4時間インキュベートした後、ガンマカウンターを用いて上澄み $100 \mu\text{l}$ を計数した。

表2

(CTLおよびMLR検定)

化合物番号	CTL (M)	MLR (M)
ST 689	++++ (10^{-7} M) ^P	$1.6x$ (10^{-5} M) ^P
ST 789	++ (10^{-7})	$2-3x(10^{-9}-10^{-5})$
#III	+++ (10^{-7} M)	$1.5-2.5x$ ($10^{-9}-10^{-5}$ M)
#V	+++ (10^{-7} M)	$1.5-2x$ ($10^{-7}-10^{-5}$ M)
#1	++++ (10^{-9})	$1.5-4x(10^{-9}-10^{-5})$
#2	0	$1.5-2x(10^{-7}-10^{-5})$
#3	+ (10^{-5})	$1.5x(10^{-9}-10^{-5})$
#3a	+++ ($10^{-9}-10^{-7}$ M)	$1.5-2.9x$ ($10^{-9}-10^{-5}$ M)
#5	+ (10^{-7})	$1.5-2x(10^{-7}-10^{-5})$
#5a	++ ($10^{-7}-10^{-5}$ M)	$1.5-2x$ ($10^{-9}-10^{-6}$ M)
#6	+++ (10^{-9})	$1.5-3x(10^{-9}-10^{-5})$
#7	+++ (10^{-9})	$1.5-2x(10^{-9}-10^{-6})$
#7a	++++ (10^{-9} M) ^P	$2x$ ($10^{-9}-10^{-5}$ M) ^P
#8	++++ (10^{-9})	$1.5-2x(10^{-9}-10^{-5})$
#11	++ (10^{-7})	$2-2.5x(10^{-7}-10^{-5})$
#19	++ (10^{-7} M) ^P	0^P
#20	++ (10^{-5})	
#51	++ (10^{-7} M)	$1.5-2x$ ($10^{-9}-10^{-6}$ M)
#59	++ (10^{-9} M)	$2-2.4x$ ($10^{-9}-10^{-5}$ M)
#60	+ (10^{-7} M)	$1.7-2x$ ($10^{-9}-10^{-5}$ M)

CTL活性について表わされたデータは、IL-2と比較した増加%としてである。IL-2は100%である。0は20%未満であり、+は20~40%であり、++は40~60%であり、そして+++は60~80%であり、そして++++は80+である。P=予試験結果。

10

20

30

40

50

in vivo/ex vivoスクリーニング実施例 91： 免疫表現型決定

in vitro薬物分析後、薬物を全血に対して薬物安定性および細胞障害性について評価した。更に、in vivo/ex vivo分析を、正常なおよびシクロホスファミドで免疫抑制された動物および5Fuで処置された動物について行った。細胞免疫表現型決定は、マウスの被処置血液および脾臓について行われた。以下の細胞表面抗原を分析した。

CD3 (全T細胞)、CD4 (Tヘルパー/インデューサー、クラスII制限T細胞に結合する)、CD8a (細胞障害性T細胞、CTL付着)、CD11a (T、B、NK、若干の幹細胞、CTL付着抗LFA-1)、MAC-1 (単球/マクロファージ)、NK (ナチュラルキラー細胞)、Ly5 (B細胞)、CD45 (全白血球、タンパク質チロシンリン酸)およびTCR (T細胞受容体)。

C57BL/6マウス(6~8週令)に4日間連続して毎日注射し、5日目に殺し、そして免疫表現型決定を血液および脾臓細胞について行った。

細胞をPBS中で2回洗浄し、RPMI 2%FBS 1ml中に再懸濁させ、そして単クローン性抗体と一緒に氷上で45分間インキュベートした。細胞を1回洗浄し、1%パラホルムアルデヒドによって固定した後、XLクーラー(Coulter)^R カウンターを用いて分析した。結果を表3aおよび3bで示す。

表 3 a

化合物 # 1 処置マウス (N=10) の血液細胞での免疫表現型決定

細胞マーカー		対照	25 mg/kg	50 mg/kg
CD8+	平均	6.66	10.11	8.65
	STD	2.09	2.69	1.39
	P		0.005	0.02
CD45+	平均	6.01	5.90	8.14
	STD	0.98	1.39	1.35
	P		0.5	0.005
NK+	平均	3.43	5.84	3.25
	STD	0.76	2.08	0.57
	P		0.02	0.289
CD3+	平均	9.60	13.71	9.68
	STD	2.79	2.68	3.59
	P		0.015	0.4

10

20

30

表 3 b

化合物 # 1 処置マウス (N = 10) の脾臓細胞での免疫表現型決定

細胞マーカー		対照	25 mg/kg	50 mg/kg
TCR+	平均	38.93	39.78	45.09
	STD	3.83	7.61	7.34
	P		0.421	0.035
Ly5	平均	55.49	54.08	50.35
	STD	3.44	7.30	6.72
	P		0.37	0.034

10

20

表 4

シクロホスファミドと組合わせた化合物 # 1 によって処置されたマウス
(N = 4) の血液細胞での免疫表現型決定

細胞マーカー		シクロホスファミド 100mg/kg	CY+cpd#1 25 mg/kg	CY+cpd#1 50 mg/kg
CD8+	平均	15.05	13.25	20.8
	STD	3.89	0.07	0.85
	P		0.33	0.05
CD45+				

30

40

脾臓：効果なし

表 5 a

5フルオロウラシルと組合わせた化合物 # 1 によって処置されたマウス
(N = 4) の血液細胞での免疫表現型決定

細胞マーカー		5FU (80 mg/kg)	5FU+cpd#1 25 mg/kg	5FU+cpd#1 50 mg/kg
CD8+ CD45+	平均	6.66	10.11	8.65
	STD	2.09	2.69	1.39
	P		0.005	0.022
NK+	平均	3.24	3.58	4.12
	STD	0.66	1.01	0.74
	P		0.38	0.01

表 5 b

5フルオロウラシルと組合わせた化合物 # 1 によって処置されたマウス
(N = 4) の脾臓細胞での免疫表現型決定

細胞マーカー		5FU (80 mg/kg)	5FU+cpd#1 25 mg/kg	5FU+cpd#1 50 mg/kg
CD4+ CD45-	平均	10.0	13.19	12.06
	STD	1.98	3.19	2.27
	P		0.015	0.04
NK+	平均	4.22	3.32	3.17
	STD	0.5	0.45	0.36
	P		0.0005	0.0001

抗腫瘍評価プロトコル

以下の手順を用いて、化合物の腫瘍増殖抑制について試験した。

10

20

30

40

50

実施例 9 2 : 乳癌の増殖に対するシクロホスファミドと組合わせた化合物 # 1 の効果

B a l b / C マウス (n - 5 / G r) を、D A - 3 乳癌細胞系と一緒に用いた。マウスを - 2 ~ 1 3 日間処置した。被験動物の腫瘍獲得 / 腫瘍大きさおよび体重について 0 日から 2 1 日まで 3 週間監視した。D 0 は腫瘍細胞接種日であり且つ D 2 1 は実験終了日であった。

効果のパラメーターは、腫瘍増殖および増殖速度の阻害 [腫瘍を最長軸 (長さ) および垂直最短軸 (幅) に沿って測定しそして腫瘍体積 (T . V . ± S . E .) を、式 T . V . = 長さ (c m) × (幅 c m) ² / 2 によって計算した。] と体重減少に評価によって測定された。

対照未処置および薬物処置群の腫瘍獲得および腫瘍大きさの間の差の統計的有意性は、カイ自乗およびスチューデント t 検定をそれぞれ用いて、 p < 0 . 0 5 で決定される有意性によって推定される。

10

マウスを以下の 5 群に分けた。

G r . 1 - 正常食塩水 (0 . 2 m l / マウス、腹腔内、D 2 に開始)

G r . 2 - C Y (1 0 0 m g / k g 、 D 0 に 1 回の静脈内ボラス)

G r . 3 - 化合物 # 1 (2 5 m g / k g 、腹腔内、D 2 に開始)

G r . 4 - 化合物 # 1 (5 0 m g / k g 、腹腔内、D 2 に開始)

G r . 5 - C Y (1 0 0 m g / k g 、 D 0 に静脈内 + 化合物 # 1 5 0 m g / k g 、腹腔内、D 2 に開始)

結果を表 6 並びに図 1 および 2 で示す。

20

表6

腫瘍増殖に対する化合物#1処置の効果

群/日	4	6	8	10
Gr. 1 : 食塩水	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Gr. 2 : CY@100mg/kg	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5
Gr. 3 : #1@25 mg/kg	2 / 5 ⁺	2 / 5 ⁺	3 / 5	4 / 5
Gr. 4 : #1@50 mg/kg	3 / 5	3 / 5	3 / 5	3 / 5
Gr. 5 : CY@100mg/kg + #1@50 mg/kg	4 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5

10

20

腫瘍獲得 = 腫瘍があるマウス数 / 全マウス数

30

+ カイ自乗検定によって $p < 0.05$

実施例93 : DA-3乳癌に対するシクロホスファミド(シトキサン)(CTX、20 mg/kg)との組み合わせの化合物#1の評価

化合物#1(25および50 mg/kg、腹腔内、毎日)およびCTX(20 mg/kg、1回の静脈内ボラス)の組み合わせを、第4日の定着したDA-3腫瘍に対して評価した。

結果は、化合物#1(25 mg/kgにおいて)およびCTXの併用処置について有意の効果を示さなかった。しかしながら、一時的であるが有意な効果が、CTXおよび50 mg/kgの化合物#1によって9日目から18日目まで見られた(図3)。正の抗腫瘍作用の衰退は、腫瘍増殖の後期においてTサプレッサー細胞が発生するためであると考えられる。有意の体重減少は見られなかった(図4)。

40

実施例94 : DA-3乳癌に対するシクロホスファミド(シトキサン)(CTX、28 mg/kg)との組み合わせの化合物#1の評価

もう一つの実験において、CTX処置を延長した。Balb/cマウスに、DA-3腫瘍細胞 5×10^5 個を第0日に皮下注射した。4日目に定着腫瘍が見られたら、腫瘍がある動物を無作為抽出し($n = 11$ /群)、そしてCTX(28 mg/kgで)静脈内ボラス注射によって4日目、11日目および18日目に注射した。化合物#1による処置は、2日目を開始して28日目まで50 mg/kgを毎日腹腔内注射する標準的な処置計画を用いて開始された。

50

この実験の結果(表7)は、腫瘍増殖の11日目から30日目までの間において、化合物#1(BCH-1393)+CTX併用処置の極めて統計的に有意の($p, 0.001 \sim p < 0.005$)抗腫瘍作用を示す。有意の体重減少は見られなかった(表8)。

実施例95： 結腸癌に対する5FUとの組合わせの化合物#1の評価

6~8週令のC57BL/6マウス($n=7 \sim 9$ /群)に、MC38結腸腺癌細胞 3×10^5 個を第0日に皮下注射した。7日目に、腫瘍があるマウスを無作為抽出し、そして20mg/kgの5FUを単独でかまたはレバミソール(levamisole)20mg/kg、腹腔内と組合わせて、若しくは化合物#1 25および50mg/kg、腹腔内と組合わせて4週間にわたって注射した。この期間中、被験動物は、1週間に5日間連続して処置され、2日間処置されず、そして再び5日間連続して4週間処置された。

この実験の結果は、対照未処置群と比較して、化合物#1(50および25mg/kgで)+5FU(20mg/kg)後の有意の用量依存性抗腫瘍作用を示す(図5)。5FU+化合物#1(50mg/kgで)の抗腫瘍作用は、5FU+レバミソールのそれよりも顕著であった。弱い抗腫瘍反応は、5FU(20mg/kg)単独または5FU(20mg/kg)およびレバミソール(20mg/kg)による処置後に見られた。これは、20mg/kgが、MC38結腸腺癌に対する5FUの最適以下の用量であるということによるかもしれない。

実施例96： 化合物#1の*in vivo*毒性

この研究の目的は、フィッシャー(Fisher)雄および雌ラットにおいて反復静脈内注射後の化合物#1の毒性用量を見つけることであった。

雄ラット3匹および雌ラット3匹の群に、5日間連続して毎日静脈内注射した。第一群に500mg/kg、第二群に250mg/kg、そして第三群に125mg/kgを与えた。更に、雄1匹および雌1匹に1000mg/kgを注射した。未処置群(雄および雌)を実験に含めた。全ての用量に対して、0.1ml/100gの一定量を用いた。注射は、第0日に開始され、そして4日目まで(5日間)続けられた。処置期間中、体重変化を毎日記録し、そして注射後少なくとも1時間は薬物作用の徴候についてラットを観察した。8日目に、ラットを安楽死させ、そして内部臓器の肉眼検査を行った。

1000mg/kgを静脈内注射された両方のラット(雄1匹および雌1匹)は、重症の結腸痙攣を示し、10分以内に致死した。500mg/kgの場合、全てのラットは、胴体部分の単収縮、前足の振せんおよび跳躍症状を有することが観察された。これらの徴候は1時間未満続き、それぞれ5回の注射後に同様であった。被験動物の成長曲線は、対照と比較した場合、影響されなかった。二つの低い方の用量(250mg/kgおよび125mg/kg)については、投薬中のどの時点でも異常な徴候が見られなかったし且つ成長曲線は正常であった(図6および7)。これらの被験毒物の剖検では、薬物による変化は見られなかった。

化合物#1は、フィッシャーラットにおいて静脈内注射された場合、十分に許容された。連続5日間注射された250mg/kgの用量は、毒性の徴候を生じなかった。化合物は、1000mg/kgの用量で結腸痙攣を引き起こし且つ致死性であった。500mg/kgの用量は、若干の短期間の異常な徴候を生じたが、被験動物の成長に対して致死作用はなかった。

結論

データから、*in vitro*において、本発明の化合物、特に、化合物#1は、T細胞(CTLを含む)およびB細胞を活性化すると考えられる。

*in vivo*において、本発明の化合物、特に、化合物#1は、CTLの数を増加させる。

本発明の化合物、特に、化合物#1は、十分に許容されると考えられる。

化合物#1は、*in vivo*のマウス乳癌に対して、シクロホスファミドとの組合わせで腫瘍増殖を阻害すると考えられる。

化合物#1は、*in vivo*のマウス結腸腺癌に対して、5FUとの組合わせで腫瘍増殖を阻害すると考えられる。

表7

balb-cマウス、DA-3細胞5.0 x 10⁵個皮下p#28、試験化合物#1、シトキサン細胞の注射は1995年4月17日、化合物#1による処置は4月20日に開始し、シトキサンによる測定および処置は4月21日に開始した。
 腫瘍の大きさのデータは腫瘍があるマウスのみを含む。

日数	4	7	9	11	14	16	18	21	23	25	28	30
Gr#1食塩水腹腔内(3-28日) SEM マウス数	3.5 1.37 n=11/11	11.6 2.11 n=11/11	20.3 3.22 n=11/11	34.4 3.76 n=11/11	61.9 7.39 n=11/11	69.5 6.00 n=11/11	77.3 7.51 n=11/11	99.9 10.39 n=11/11	127.3 13.92 n=11/11	160.7 22.70 n=11/11	182.9 21.9 n=11/11	206.9 21.8 n=11/11
Gr#2CTX28mg/kg腹腔内(4, 11, 18日) SEM P値 マウス数	4.2 1.45 0.7017 n=11/11	10.5 2.37 0.7422 n=11/11	18.6 0.81 0.7392 n=11/11	30.7 4.83 0.5506 n=11/11	50.6 7.93 0.3110 n=11/11	54.5 6.98 0.1182 n=11/11	63.4 8.43 0.2337 n=11/11	88.6 8.99 0.4226 n=11/11	93.4 8.49 0.0503 n=11/11	106.3 8.91 0.0372 n=11/11	130.9 12.42 0.0519 n=11/11	151.6 13.99 0.0453 n=11/11
Gr#3BCH-1393 50mg/kg静脈内(3-28日) SEM P値 マウス数	2.7 1.01 0.6460 n=11/11	10.2 2.87 0.7141 n=11/11	18.1 4.46 0.6927 n=11/11	29.2 6.82 0.5064 n=11/11	50.1 10.21 0.3588 n=11/11	58.5 12.90 0.4499 n=11/11	66.3 15.45 0.5316 n=11/11	94.2 18.63 0.7936 n=11/11	131.4 36.55 0.9174 n=11/11	130.9 29.51 0.4335 n=11/11	152.5 28.68 0.4087 n=11/11	187.2 35.09 0.6383 n=11/11
Gr#4BCH-1393 50mg/kg腹腔内(3-28日) +CTX28mg/kg静脈内(4, 11, 18日) SEM P値 マウス数	3.6 1.40 0.9625 n=11/11	6.5 1.85 0.0883 n=11/11	12.6 3.44 0.1186 n=11/11	20.2 3.77 0.0085 n=10/11	29.5 5.58 0.0014 n=10/11	41.7 6.46 0.0031 n=10/11	44.9 6.52 0.0025 n=10/11	63.4 9.50 0.0102 n=10/11	69.6 9.90 0.0019 n=10/11	85.4 12.57 0.0056 n=10/11	104.2 13.38 0.0039 n=10/11	115.8 15.05 0.0017 n=10/11

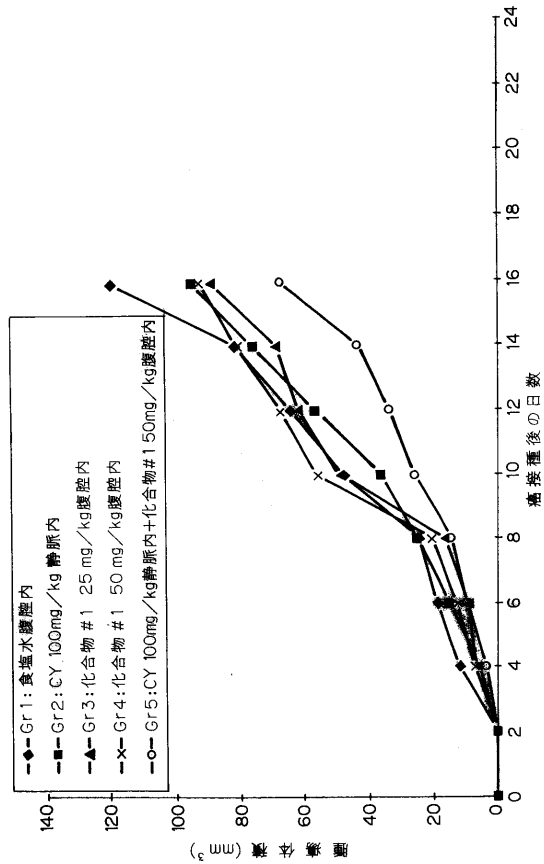
表 8

balb-cマウス、DA-3細胞5.0 x 10⁵ 個皮下p#28、シトキサンを含む試験化合物#1
 細胞の注射は1995年4月17日、化合物#1による処置は4月20日に開始し、
 シトキサンによる測定および処置は4月21日に開始した。
 体重のデータ (群中の全マウスを含む)

日数	4	7	9	11	14	16	18	21	23	25	28	30	
Gr#1食塩水腹腔内(3-28日) sem マウス数	19.2 0.25 n=11/11	19.7 0.34 n=11/11	19.5 0.32 n=11/11	19.6 0.30 n=11/11	19.2 0.31 n=11/11	19.8 0.31 n=11/11	19.5 0.27 n=11/11	19.6 0.27 n=11/11	19.6 0.27 n=11/11	19.7 0.26 n=11/11	19.8 0.25 n=11/11	19.8 0.31 n=11/11	
Gr#2CTX28mg/kg腹腔内(4,11,18日) sem p値 マウス数	19.2 0.22 1.0000 n=11/11	19.8 0.28 0.8471 n=11/11	19.8 0.31 0.4488 n=11/11	19.9 0.40 0.6040 n=11/11	19.2 0.31 1.0000 n=11/11	19.7 0.29 0.8403 n=11/11	19.6 0.27 0.8209 n=11/11	19.8 0.25 0.6406 n=11/11	19.8 0.25 0.6406 n=11/11	19.7 0.26 1.0000 n=11/11	20.1 0.27 0.5141 n=11/11	20.3 0.29 0.2721 n=11/11	20.4 0.30 0.431291 n=11/11
Gr#3BCH-1393 50mg/kg静脈内(3-28日) sem p値 マウス数	18.6 0.27 0.1704 n=11/11	19.1 0.33 0.2144 n=11/11	19.3 0.39 0.7352 n=11/11	18.9 0.33 0.1309 n=11/11	18.9 0.33 0.5701 n=11/11	19.5 0.35 0.5836 n=11/11	18.9 0.37 0.2023 n=11/11	19.3 0.32 0.4121 n=11/11	19.3 0.32 0.4121 n=11/11	19.3 0.34 0.3254 n=11/11	19.5 0.35 0.5887 n=11/11	19.7 0.39 0.8530 n=11/11	20.0 0.41 1.000 n=11/11
Gr#4BCH-1393 50mg/kg腹腔内(3-28日) +CTX28mg/kg静脈内(4,11,18日) sem p値 マウス数	18.7 0.29 0.2721 n=11/11	19.2 0.17 0.1904 n=11/11	19.1 0.16 0.3463 n=11/11	19.0 0.18 0.0954 n=10/11	18.6 0.23 0.1947 n=10/11	19.5 0.15 0.3263 n=10/11	19.3 0.19 0.4353 n=10/11	18.9 0.20 0.0506 n=10/11	18.9 0.20 0.0506 n=10/11	18.8 0.17 0.0117 n=10/11	19.5 0.20 0.4592 n=10/11	19.4 0.23 0.2201 n=10/11	19.3 0.26 0.1050 n=10/11

FIGURE 1

腫瘍体積変化、腫瘍があるマウスのみに関するデータ



【 図 3 】

FIGURE 3

腫瘍体積の変化

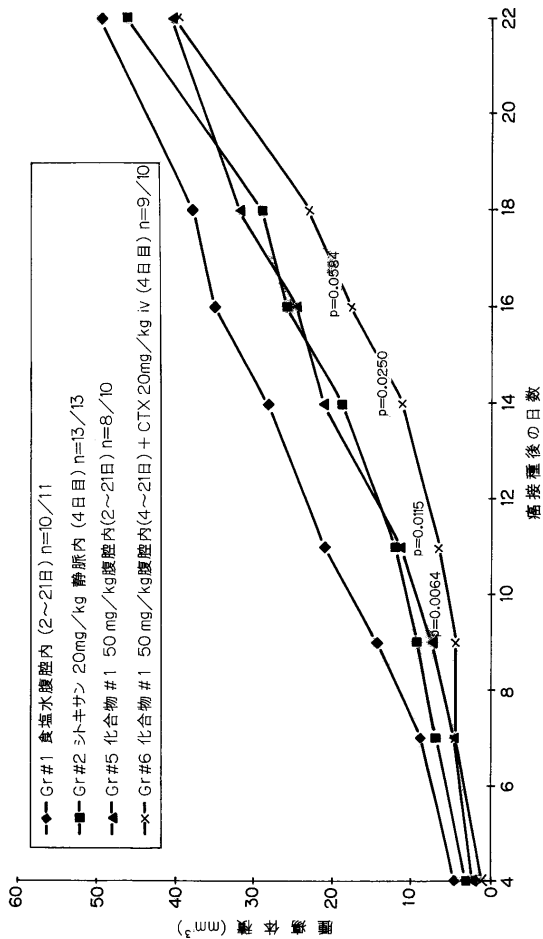


FIGURE 4

【 図 4 】

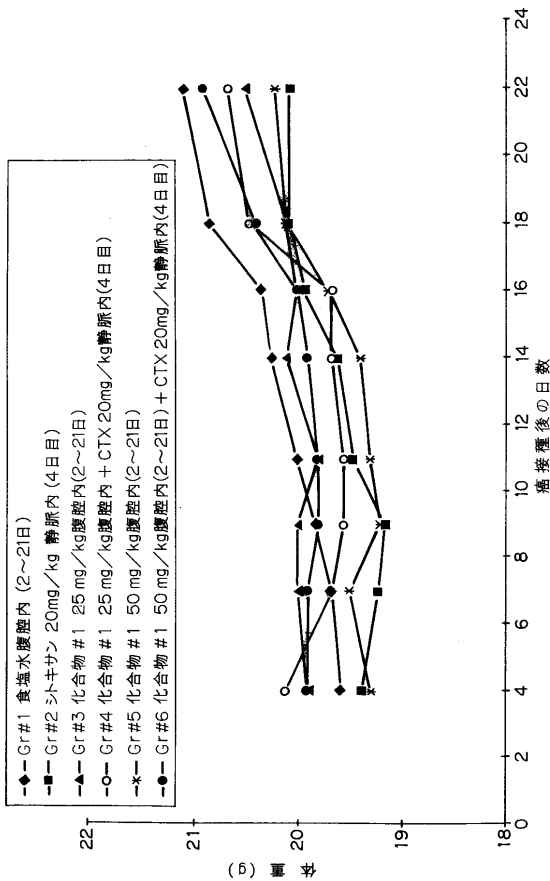


FIGURE 2

【 図 2 】

体重変化

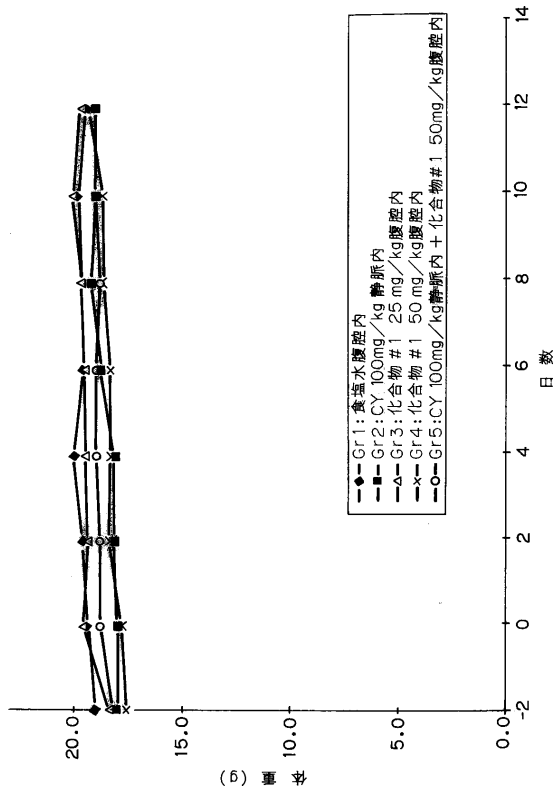


FIGURE 5

腫瘍体積の変化

【図5】

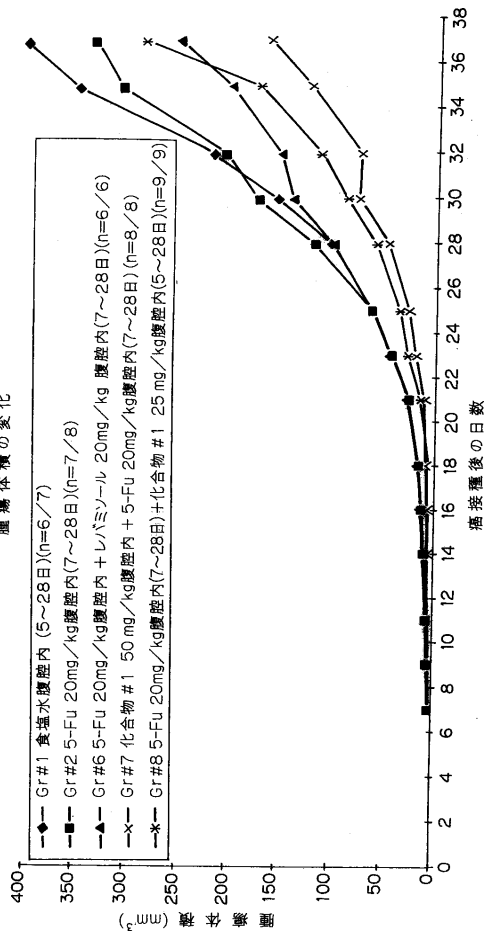


FIGURE 7

化合物 # 1 で処置されたフィッシュャー雄ラットおよび対照 (5回静脈内注射) の成長曲線 '95年 6月 3日

【図7】

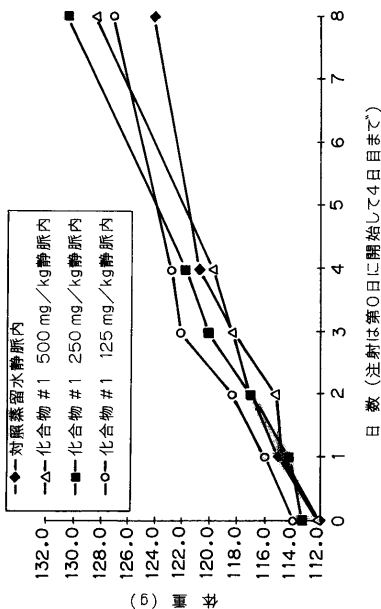
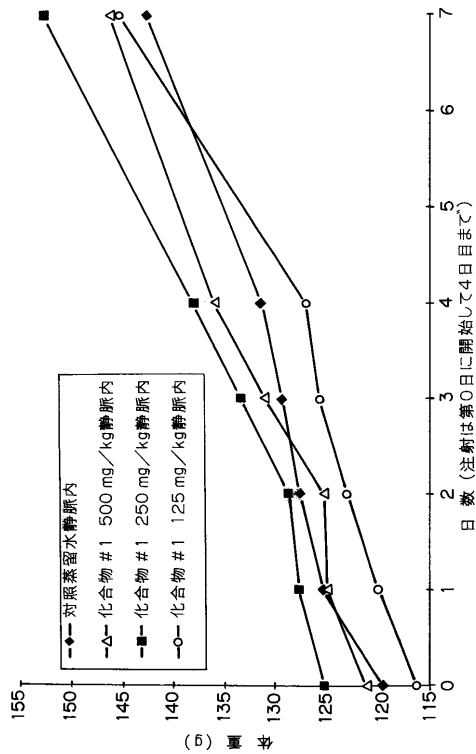


FIGURE 6

化合物 # 1 で処置されたフィッシュャー雄ラットおよび対照 (5回静脈内注射) の成長曲線 '95年 6月 3日

【図6】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 A 6 1 K 31/505 (2006.01) A 6 1 K 31/505
 A 6 1 K 31/675 (2006.01) A 6 1 K 31/675

(74)代理人

弁理士 小林 泰

(74)代理人

弁理士 村上 清

(72)発明者 ペニー, クリストファー

カナダ国ケベック州エイチ9エイ・3シー1, ドラール - デ - ソルメオー, ステファニー・ストリート 141

(72)発明者 ザシャーリー, ブーロ

カナダ国ケベック州エイチ7エヌ・4エイ1, ラバル - デ - ラビッド, ドゥ・ラルジャンティエール 595, アパートメント 301

(72)発明者 ガーニョン, リン

カナダ国ケベック州エイチ7エム・3イー5, ラバル, ドゥ・ラ・ピクトアール 1973

(72)発明者 アツアルド, ジョルジョ

カナダ国ケベック州エイチ7ケイ・3エム1, ラバル, プリュダンティール・ストリート 2740

(72)発明者 コノリー, ティモシー

カナダ国ケベック州エイチ3エム・2エル6, モントリオール, ドゥ・サン - カスタン・アブニュー - 12245

(72)発明者 サン - ドニ, イブ

カナダ国ケベック州エイチ7エル・3ジー9, モントリオール, サン - ユベール・ストリート 3727

(72)発明者 カディーム, サラム

カナダ国ケベック州エイチ7エックス・1エイチ6, ラバル, サント - ドロテ・ブルバール 454

(72)発明者 エリ, ギュイ

カナダ国ケベック州エイチ9エイチ・5ビー5, カーランド, エイカース・ストリート 79

審査官 高原 慎太郎

(56)参考文献 特開昭58-077882(JP,A)

特開平04-230298(JP,A)

特表平02-503006(JP,A)

特開昭61-200989(JP,A)

特開昭63-297381(JP,A)

特開昭52-065296(JP,A)

特表平02-501924(JP,A)

特表平09-509397(JP,A)

II Farmaco, 1990年, Vol.45, No.1, p.39-47

Thymus, 1992年, Vol.19, Suppl.1, p.S31-S42

J.Am.Chem.Soc., 1961年, Vol.83, No.3, p.630-635

J.Med.Chem., 1994年 1月 7日, Vol.37, No.1, p.177-183

J.Med.Chem., 1993年, Vol.36, No.22, p.3431-3436

Biochemistry, 1965年, Vol.4, No.1, p.71-76

Antiviral Chemistry & Chemotherapy, 1991年, Vol.2, No.6, p.329-336

Journal of Pharmaceutical Sciences, 1965年, Vol.54, No.12, p.1774-1781

Journal of Pharmaceutical Sciences, 1967年, Vol.56, No.9, p.1075-1081

Mol.Biol., 1993年, Vol.27, No.1, p.174-184

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07D473/

C07K 5/

A61K 31/

REGISTRY(STN)

CAplus(STN)

CAOLD(STN)