

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5035940号
(P5035940)

(45) 発行日 平成24年9月26日(2012.9.26)

(24) 登録日 平成24年7月13日(2012.7.13)

(51) Int.Cl.

C07F 9/09	(2006.01)	F 1	C07F 9/09	C S P K
A61K 31/661	(2006.01)		C07F 9/09	U
A61P 1/00	(2006.01)		A61K 31/661	
A61P 3/10	(2006.01)		A61P 1/00	
A61P 5/14	(2006.01)		A61P 3/10	

請求項の数 20 (全 57 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-509335 (P2002-509335)
 (86) (22) 出願日 平成13年7月11日 (2001.7.11)
 (65) 公表番号 特表2004-501985 (P2004-501985A)
 (43) 公表日 平成16年1月22日 (2004.1.22)
 (86) 國際出願番号 PCT/AU2001/000831
 (87) 國際公開番号 WO2002/004472
 (87) 國際公開日 平成14年1月17日 (2002.1.17)
 審査請求日 平成20年7月10日 (2008.7.10)
 (31) 優先権主張番号 PQ 8723
 (32) 優先日 平成12年7月11日 (2000.7.11)
 (33) 優先権主張国 オーストラリア (AU)

(73) 特許権者 503017194
 ファームアクシス・リミテッド
 PHARMAX 1 S LTD
 オーストラリア2061オーストラリアン
 ・キャピタル・テリトリー、キャンベラ、
 マーカス・クラーク・ストリート60番
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 葵
 (74) 代理人 100064610
 弁理士 中嶋 正二
 (72) 発明者 ウィリアム・バトラー・カウデン
 オーストラリア2902オーストラリアン
 ・キャピタル・テリトリー、カムバー、ウ
 ランビ・ビレッジ56番

最終頁に続く

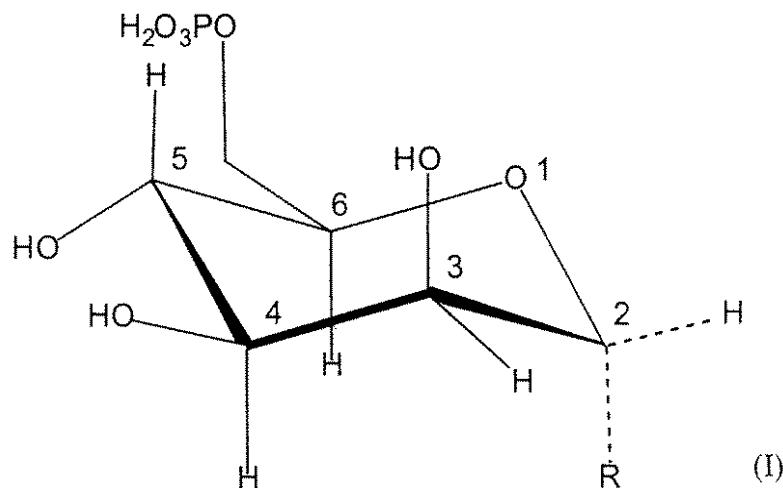
(54) 【発明の名称】新規化合物および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

描写する配置 (2R,5S) の、式 (I)

【化 1】



式中、R は軸結合または赤道結合であって、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、シアノ、ヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラニルオキシアルキル、- (CH₂)_nCH₂OR'、- (CH₂)_nCONH

10

20

R'' 、 $- (CH_2)_n CH_2 NH R''$ および $(CH_2)_n COX$ からなる群から選択され、
但し、 n は両端を含めて0ないし20の整数を表し；

R'' は、H、アルキル、アリールおよびアシルからなる群から選択され；そして
 X は、Y、 OY' および $NY''Y'''$ からなる群から選択され、

但し、Yは、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよび炭水化物からなる群から選択され； Y' はH、アルキル、
アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル
および炭水化物からなる群から選択され；そして

Y'' および Y''' は、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、
アラルキル、ヘテロアラルキルおよびアシルからなる群から独立して選択される；

但し、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘ
テロアラルキルおよびアシルの各々は、場合により置換されてもよく、

但し、Rはメチルではない、
の化合物またはそれらの塩。

【請求項2】

シアノ、置換されていることもあるフェニルおよび置換されていることもあるアルキル
からなる群からRが選択される、請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

Rが、 $OC(O)$ アルキル、 $NHC(O)$ アルキル、 $OP(O_3)H_2$ 、アルコキシまたは
O-炭水化物により置換されているアルキル基である、請求項2に記載の化合物。

【請求項4】

Rが、シアノ、 $- (CH_2)_n CO_2 R'$ 、 $- (CH_2)_n CHO$ 、 $- (CH_2)_n C$
 $H_2 OR''$ 、 $- (CH_2)_n CONHR''$ 、 $- (CH_2)_n CH_2 NH R''$ 、および $- (CH_2)_n CONR''R'''$ からなる群から選択され、

但し、 n は0ないし20から選択され、 R' はH、アルキルまたはアリールであり、 R''
はH、アルキル、アリールまたはアシルであり、そして R''' はH、アルキル、アリール
、またはアシルである、

請求項1に記載の化合物。

【請求項5】

n が0ないし12、好ましくは1ないし6である、請求項1または請求項4に記載の化
合物。

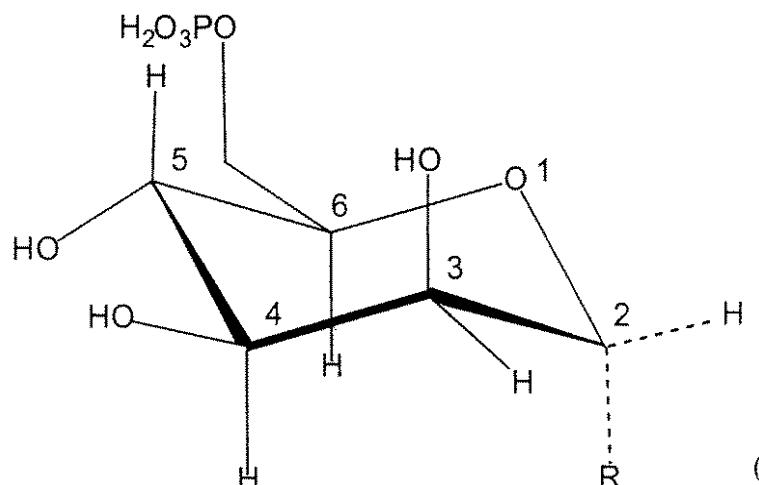
【請求項6】

Rがシアノ；ヒドロキシアルキル；アルコキシアルキル；アリールオキシアルキル；ヒ
ドロキシ-テトラヒドロ-ピラニルオキシアルキル；アミノアルキル；ベンジル；フェニ
ルエチル；フェニル；2-、3-または4-メトキシフェニル；2-、3-または4-メ
チルフェニル；2-、3-または4-ピリジル；2-、4-または5-ピリミジニル；2-
または3-チオフェニル；2-、4-または5-(1,3)オキサゾリル；2-、4-
または5-(1,3)チアゾリル；2-または4-イミダゾリル；3-または5-sym
トリアゾリル； $(CH_2)_n C(O)C_{1-6}$ アルキル； $- (CH_2)_n C(O)A$ リ
ル； $- (CH_2)_n CO_2 C_{1-10}$ アルキル； $- (CH_2)_n CO_2$ アリール； $- (CH_2)_n CONHC_{1-10}$ アルキル； $- (CH_2)_n CONH$ アリールおよび $- (CH_2)_n CON(C_{1-10} \text{アルキル})_2$ からなる群から選択される、請求項1に記載の化
合物。

【請求項7】

描写する配置(2RS)の、式(I)

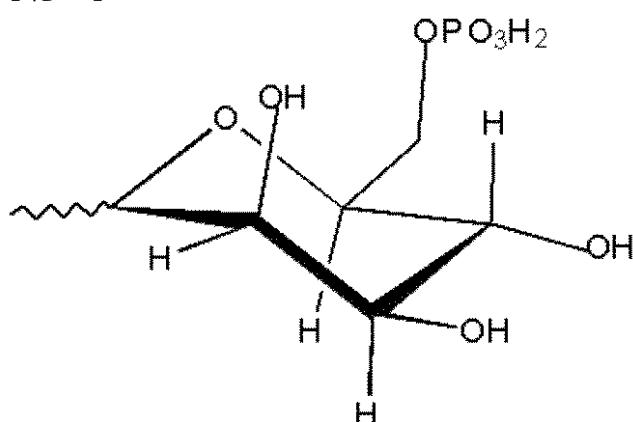
【化2】



式中、Rは軸結合または赤道結合であって、-CH₂CO₂CH₃、-CH₂CO₂C
H₂CH₃、-CH₂CO₂(CH₂)₄CH₃、-CH₂CO₂(CH₂)₂Ph、C
H₂CO₂H、-CH₂CH=CH₂、-(CH₂)₂CH₃、-CN、-C₆H₅、-
C₆H₄OCH₃、-2-ピリジル、-(CH₂)₄CH₃、-(CH₂)₂Ph、-(
CH₂)₃-O-PO₃H₂、-(CH₂)₃-O-CO(CH₂)₅CH₃、-(CH
2)₃OH、-CH₂CONHCH(CO₂H)CH₂Ph、-(CH₂)₃-O-(C
H₂)₅CH₃、-(CH₂)₃NHCO(CH₂)₂CH₃、-CH₂CONHCH(C
O₂H)CH₂CH₂CO₂H、-CH₂CONH(CH₂)₂Ph、-(CH₂)₃
-O-(1'-マルトシリル)、-(CH₂)₂-O-(1'-マルトシリル)、-(CH₂)
₃-NH-Val-Asp-BocLeu、-CH₂COCH₃および-(CH₂)₃
-O-C₆H₄-O-(CH₂)₃-Zからなる群から選択され、

但し、Zは、

【化3】



である、

の化合物またはそれらの塩。

【請求項8】

Tリンパ球遊走が関連する疾患または症状の処置用の医薬組成物であって、描写する配
置(2RS)の、式(I)

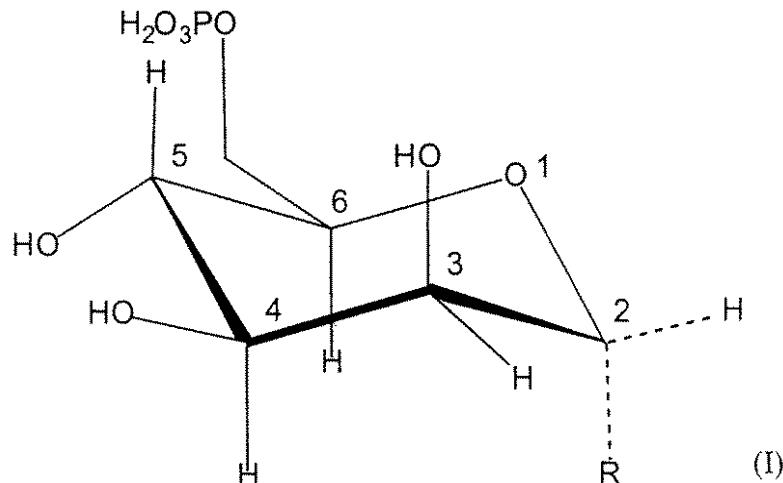
10

20

30

40

【化4】



式中、Rは軸結合または赤道結合であって、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、シアノ、ヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラニルオキシアルキル、- $(CH_2)_nCH_2OR''$ 、- $(CH_2)_nCONR''$ および $(CH_2)_nCOX$ からなる群から選択され、

但し、nは両端を含めて0ないし20の整数を表し；

R''は、H、アルキル、アリールおよびアシルからなる群から選択され；そして

Xは、Y、OY'およびNY''Y'''からなる群から選択され、

但し、Yは、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよび炭水化物からなる群から選択され；Y'はH、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよび炭水化物からなる群から選択され；そして

Y''およびY'''は、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよびアシルからなる群から独立して選択される；但し、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよびアシルの各々は、場合により置換されてもよい、

の化合物またはそれらの塩を含む医薬組成物。

【請求項9】

シアノ、置換されていることがあるフェニルおよび置換されていることがあるアルキルからなる群からRが選択される、請求項8に記載の医薬組成物。

【請求項10】

Rが、OC(O)アルキル、NHC(O)アルキル、OP(O₃H₂)、アルコキシまたはO-炭水化物により置換されているアルキル基である、請求項9に記載の医薬組成物。

【請求項11】

Rが、シアノ、- $(CH_2)_nCO_2R'$ 、- $(CH_2)_nCHO$ 、- $(CH_2)_nC$ H₂OR''、- $(CH_2)_nCONHR''$ 、- $(CH_2)_nCH_2NHR''$ 、および- $(CH_2)_nCONR''R'''$ からなる群から選択され、

但し、nは0ないし20から選択され、R'はH、アルキルまたはアリールであり、R''はH、アルキル、アリールまたはアシルであり、そしてR'''はH、アルキル、アリール、またはアシルである、

請求項8に記載の医薬組成物。

【請求項12】

nが0ないし12、好ましくは1ないし6である、請求項11に記載の医薬組成物。

【請求項13】

Rがシアノ、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、アリールオキシアルキル、ヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラニルオキシアルキル、アミノアルキル、ベンジル、フェニ

10

20

30

30

40

50

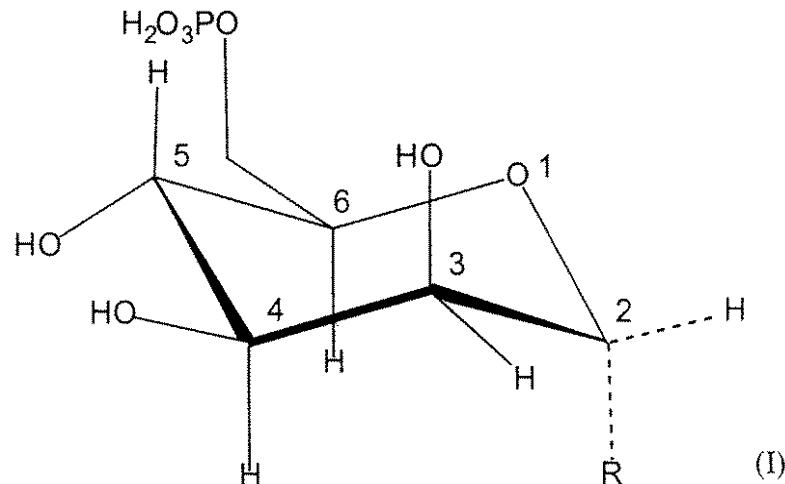
ルエチル、フェニル、2-、3-または4-メトキシフェニル、2-、3-または4-メチルフェニル、2-、3-または4-ピリジル、2-、4-または5-ピリミジニル、2-または3-チオフェニル、2-、4-または5-(1,3)オキサゾリル、2-、4-または5-(1,3)チアゾリル、2-または4-イミダゾリル、3-または5-symトリアゾリル、 $(CH_2)_nC(O)C_{1-6}$ アルキル、 $-(CH_2)_nC(O)Ar$ イール、 $-(CH_2)_nCO_2C_{1-10}$ アルキル、 $-(CH_2)_nCO_2Ar$ イール、 $-(CH_2)_nCONHC_{1-10}$ アルキル、 $-(CH_2)_nCONHAr$ イールおよび $-(CH_2)_nCON(C_{1-10}Ar)$ アルキル)2からなる群から選択される、請求項8に記載の医薬組成物。

【請求項14】

10

Tリンパ球遊走が関連する疾患または症状の処置用の医薬組成物であって、描写する配置(2RS)の、式(I)

【化5】

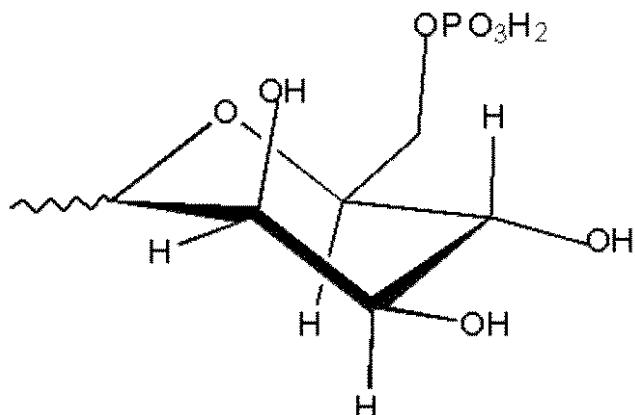


式中、Rは軸結合または赤道結合であって、H、 $-CH_2CO_2CH_3$ 、 $-CH_2CO$
 CH_2CH_3 、 $-CH_2CO_2(CH_2)_4CH_3$ 、 $-CH_2CO_2(CH_2)_2Ph$
 CH_2CO_2H 、 $-CH_2CH=CH_2$ 、 $-(CH_2)_2CH_3$ 、 $-CN$ 、 $-C_6H_5$
 $-C_6H_4OCH_3$ 、 -2 -ピリジル、 $-(CH_2)_4CH_3$ 、 $-(CH_2)_2Ph$ 、
 $-(CH_2)_3-O-PO_3H_2$ 、 $-(CH_2)_3-O-CO(CH_2)_5CH_3$ 、 $-(CH_2)_3-OH$ 、 $-CH_2CONHCH(CO_2H)CH_2Ph$ 、 $-(CH_2)_3-O-(CH_2)_5CH_3$ 、 $-(CH_2)_3-NHCO(CH_2)_2CH_3$ 、 $-CH_2CONHCH(CO_2H)CH_2CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CONH(CH_2)_2Ph$ 、 $-(CH_2)_3-O-(1'-マルトシリル)$ 、 $-(CH_2)_2-O-(1'-マルトシリル)$ 、 $-(CH_2)_3-NH-Va1-Asp-BocLeu$ 、 $-CH_2COCH_3$ および $-(CH_2)_3-O-C_6H_4-O-(CH_2)_3-Z$ からなる群から選択され、
 但し、Zは、

20

30

【化6】



10

である、
の化合物またはそれらの塩を含む医薬組成物。

【請求項15】

疾患または症状が、細胞介在性炎症疾患である、請求項8ないし請求項14のいずれか1つに記載の医薬組成物。

【請求項16】

疾患または症状が、リウマチ性関節炎、多発性硬化症、急性散在性脳脊髄炎、乾癬、クローン病、T細胞介在性皮膚炎、間質性角膜炎、ブドウ膜炎、甲状腺炎、唾液腺炎またはI型糖尿病である、請求項15に記載の医薬組成物。

20

【請求項17】

Tリンパ球遊走が関連する疾患または症状の処置用の医薬の製造における、請求項8ないし請求項14のいずれか1つにおいて定義される化合物の使用。

【請求項18】

疾患または症状が、細胞介在性炎症疾患である、請求項17に記載の使用。

【請求項19】

疾患または症状が、リウマチ性関節炎、多発性硬化症、急性散在性脳脊髄炎、乾癬、クローン病、T細胞介在性皮膚炎、間質性角膜炎、ブドウ膜炎、甲状腺炎、唾液腺炎またはI型糖尿病である、請求項17に記載の使用。

30

【請求項20】

医薬的に許容し得る担体、希釈剤または賦形剤と共に、請求項8ないし請求項14のいずれか1つにおいて定義される化合物を含む、Tリンパ球遊走が関連する疾患または症状の処置用の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野

本発明は、一般に、新規ホスフォテトラヒドロピラン化合物、およびTリンパ球の遊走に依存する疾患の処置におけるその使用に関連する。特に、本発明は、動物およびヒトにおけるTリンパ球介在性炎症疾患の処置におけるこれらの化合物の使用および該化合物を含有する組成物に関連する。

40

【0002】

発明の背景

便宜上、感染に対する哺乳動物の獲得免疫反応は、しばしば抗体（または体液性）反応および細胞介在性反応に分類される。免疫反応のこれらの2つの武器は、異なる細胞タイプによって開始される。従って、抗体免疫反応はBリンパ球またはB細胞と呼ばれる抗体産生リンパ性細胞によって生じ、一方獲得的細胞介在性免疫反応は、主要組織適合複合体（MHC）抗原の文脈における、Tリンパ球またはT細胞による抗原認識の直接的結果である。これらの反応に関わるプロセスおよび感染においてこれらのリンパ性細胞が演じる役

50

割は、今や十分に理解され、そしてこれらの細胞の性質と機能を概説している公開された研究は、容易に入手可能であり、なかでも、出典明示により本明細書の一部とする、Immunology 5th Edition; I.M. Roitt Ed, Blackwell Scientific Publications, Boston, 1998 and Immunobiology: the Immune System in Health and disease 4th Edition, C.A. Janeway, P. Travers, M. Walport and J.D. Capra Eds, Elsevier Science/Garland Publishing, New York, 1999; が含まれる。

【 0 0 0 3 】

T細胞は、絶えず身体中を再循環することにより、免疫学的探査の役割を演じる。ほとんどの再循環は、リンパ節から血流へのリンパ管を介する移動、およびその後の結節性後毛細管静脈 (nodal post capillary venule) を介する節への再入場の中で起こる。残りの再循環は、身体の様々な組織の毛細管を介してT細胞が血流から離れ、これらの組織を通って流出 (draining) リンパ系に、従って局所的流出リンパ節に、遊走するときに起こる。組織を通って再循環する時に、T細胞がそれに対して反応する能力のある特異的抗原に出会うと、それは細胞介在性免疫反応を開始させる。従って、感染性物質の場合、T細胞は、ほとんどの場合、最終的に病原体の除去に至る様式で反応する。しかしながら、いくつかの場合では、この反応は過剰であり得、そして感染性物質近傍の正常宿主組織に損傷を与える結果となる。T細胞が不適切な免疫反応を開始させ得る場合もある。このことは、例えば、T細胞が身体の自己組織成分の1つに反応するときに起こり得る。臨床的に明らかな様式でこのことが起こると、生じる障害は自己免疫疾患と呼ばれる。このプロセスの説明は、出典明示により本明細書の一部とする The Pathogenesis of Infectious Disease, C.A. Mims Ed; Academic Press, New York, 1982 を含む多数の科学および医学出版物に見出しえる。

10

20

30

【 0 0 0 4 】

自己反応性T細胞介在性炎症の直接的結果である、多数のヒトの病理的障害があり、これらの免疫病理的疾患には、多発性硬化症 (MS)、リウマチ性関節炎、急性散在性脳脊髄炎 (ADE) およびI型糖尿病などの自己免疫疾患が含まれる (Klein, J. and Horejsi, Vaclav 1997. Autoimmunity and autoimmune diseases, pp 656-657. In: Immunology (Second Edition), Blackwell Science Ltd., Oxford)。乾癬は、以前はケラチン生成細胞の障害と考えられていたが、現在では皮膚のT細胞介在性免疫疾患であると知られている；乾癬の免疫学的基礎は、Bos および De Rie によって概説されている (Bos, J.D. and De Rie M.A., (1999). The pathogenesis of psoriasis: immunological facts and speculations. Immunology Today, vol. 20, 40-46; 出典明示により本明細書の一部とする)。

【 0 0 0 5 】

今回、式(I)のホスフォテトラヒドロピランである本発明の化合物が、Tリンパ球の血流から組織への遊走を阻害するのに効果的であり得、従ってTリンパ球遊走が介在する疾患または症状の処置に効用を有し得ることが判明した。

【 0 0 0 6 】

発明の概要

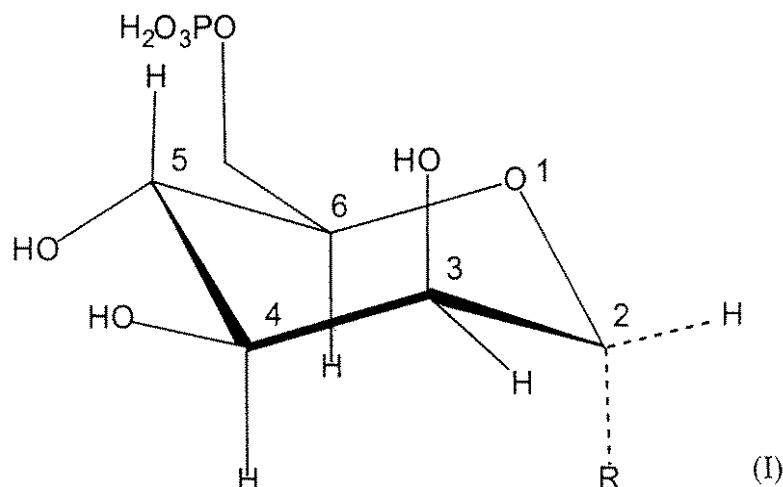
本明細書および続く請求の範囲を通して、文脈が別に要求しない限り、語「含む」および「含む」および「含んでいる」などの変化は、述べられる要素または段階または要素もしくは段階の群を包含することを意図するが、他のいかなる要素または段階または要素もしくは段階の群を排除することを意図しないことが理解される。

40

【 0 0 0 7 】

従って、第1の態様では、本発明は、描写する配置 (2RS) の、式(I)のホスフォテトラヒドロピランまたはそれらの塩、誘導体もしくはプロドラッグを提供する：

【化7】



【0008】

式中、Rは軸結合または赤道結合であって、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、シアノ、ヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラニルオキシアルキル、- $(CH_2)_nCH_2OR''$ 、- $(CH_2)_nCONHR''$ 、- $(CH_2)_nCH_2NHR''$ および $(CH_2)_nCOX$ からなる群から選択され、但し、nは両端を含めて0ないし20の整数を表し；

R''は、H、アルキル、アリールおよびアシルからなる群から選択され；そしてXは、Y、OY'およびNY''Y'''からなる群から選択され、

但し、Yは、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよび炭水化物からなる群から選択され；Y'はH、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよび炭水化物からなる群から選択され；そして

Y''およびY'''は、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよびアシルからなる群から独立して選択される；但し、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよびアシルの各々は、場合により置換されてもよく、但し、Rはメチルではない。

【0009】

好みの実施態様では、nは0-6または1-6などの0-12である。

【0010】

本発明のなおさらなる態様は、それを必要としている対象における炎症疾患または症状の処置方法を提供する。その方法は、式(I)のホスフォテトラヒドロピラン（但し、Rは上記の意味を有し、Hまたは CH_3 でもあり得る）または医薬的に許容し得るそれらの塩、誘導体もしくはプロドラッグの処置有効量を、該対象に投与することを含む。

【0011】

本発明のさらになお別の態様では、医薬的に許容し得る担体、希釈剤または賦形剤と共に、式(I)のホスフォテトラヒドロピラン（但し、Rは上記の意味を有し、Hまたは CH_3 でもあり得る）を含む組成物が提供される。

【0012】

本発明はまた、炎症疾患または症状の処置用の医薬の製造における、式(I)のホスフォテトラヒドロピラン（但し、Rは上記の意味を有し、Hまたは CH_3 でもあり得る）の使用も提供する。

【0013】

図面の簡単な説明

図1は、受動的に移されたアジュバントで誘導された関節炎に対する、25mg/kg/日の用量で送達されたリン酸モノ-(6-プロピル3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロピラン-2-イルメチル)エステルの効果を図示する。

10

20

30

40

50

【0014】

図2は、受動的に移され、誘導された関節炎に対する、37mg/kg/日の用量で送達されたエチル(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロピラン-2-イル酢酸エステルの効果を図示する。

【0015】

発明の詳細な説明

本明細書で使用される用語「アルキル」は、直鎖、分枝または環状の完全飽和炭化水素残基を示す。炭素原子の数が特定されない限り、この用語は、好ましくはC₁~C₂₀アルキルを表す。例えば「プロピル」、「ブチル」、「ペンチル」および「ヘキシル」など、「アルキル」基が総称的な意味で使用される場合、各用語がその全異性体形態(直鎖、分枝または環状)を包含し得ることが理解される。好ましいアルキルはC₁~C₁₈アルキルであり、さらに好ましくは、C₁~C₆アルキルである。直鎖および分枝C₁~C₆アルキルの例には、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソ-ペンチル、1,2-ジメチルプロピル、1,1-ジメチルプロピル、n-ヘキシル、4-メチルペンチル、1-メチルペンチル、2-メチルペンチル、3-メチルペンチル、1,1-ジメチルブチル、2,2-ジメチルブチル、3,3-ジメチルブチル、1,2-ジメチルブチル、1,3-ジメチルブチル、1,2,2,2-トリメチルプロピル、1,1,2-トリメチルプロピルが含まれる。他のアルキル基には、ヘプタニル、オクタニル、ノナニル、デカニル、アンデカニル、ドデカニル、トリデカニル、テトラデカニル、ペンタデカニル、ヘキサデカニル、ヘプタデカニル、オクタデカニル、ノナデカニルおよびアイコサニルが含まれる。環状アルキルの例には、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルが含まれる。

【0016】

場合により、アルキル基は1個またはそれ以上の置換基によりさらに置換され得る。従つて、本明細書で使用される「アルキル」は、場合により置換されたアルキル基を表すことを企図している。適する置換基には：(さらに延長された鎖または分枝鎖を形成するように)アルキル自体、ハロ(フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨード)；ハロアルキル、例えばトリフルオロメチル、トリクロロメチル；ヒドロキシ；メルカプト；フェニル；ベンジル；アミノ；アルキルアミノ；ジアルキルアミノ；アリールアミノ；ヘテロアリールアミノ；アルコキシ、例えば、メトキシ、エトキシ、ブトキシ、プロポキシ；アリールオキシ、例えばフェノキシ；ベンジルオキシ；チオ；アルキルチオ、例えば、メチルチオ、エチルチオ；アシル、例えばアセチル；アシルオキシ、例えば、アセトキシ；カルボキシ(CO₂H)；CO₂アルキル；カルボキシアミド、例えばCONHアルキル、CON(アルキル)₂、CONHアリール、CON(アリール)₂；シアノ、OP(O)₃H₂、OC(O)アルキル、NHC(O)アルキル、O-炭水化物またはケト(但し、アルキル鎖または環のCH₂基は、C=Oで置換される)が含まれ得る。例えばCO₂アルキルのように、置換基の用語の部分として使用される場合の「アルキル」も、本明細書に記載のように、アリール、アラルキル、フェニルおよびベンジルのようにさらに置換されてもよい。

【0017】

用語「アルコキシ」および「アシルオキシ」は、酸素で連結された場合のアルキルおよびアシル基をそれぞれ表す。

【0018】

本明細書で使用される用語「アルケニル」は、少なくとも1個の炭素-炭素二重結合を含有する直鎖、分枝または環状炭化水素残基から形成される基を示し、エチレン的にモノ-、ジ-または多不飽和である、先に定義したようなアルキルまたはシクロアルキル基を含む。炭素原子の数が特定されない限り、この用語は好ましくはC₂~C₂₀アルケニルを表す。アルケニルの例には、エテニル、プロペニル、1-メチルビニル、ブテニル、イソ-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-ペンテニル、シクロペンテニル、1-メチル-シクロペンテニル、1-ヘキセニル、3-ヘキセニル、シクロヘキセニル、1-ヘプテニル、3-ヘプテニル、1-オクテニル、シクロオクテニル、1-ノネニル、2-ノネニ

ル、3-ノネニル、1-デセニル、3-デセニル、1,3-ブタジエニル、1-4,ペントジエニル、1,3-シクロ pentadienyl、1,3-ヘキサジエニル、1,4-ヘキサジエニル、1,3-シクロヘキサジエニル、1,4-シクロヘキサジエニル、1,3-シクロヘキサジエニル、1,3,5-シクロヘキサトリエニルおよび1,3,5,7-シクロオクタヘキサエニルが含まれる。特に好ましいアルケニルは、C₂-C₁₀アルケニル、より好ましくはC₂-C₆アルケニルである。好ましいアルケニルは、直鎖または分枝アルケニルである。アルケニルは、場合によりアルキルについて上記した任意の置換基で置換されてもよく、従って、「アルケニル」は、場合により置換されたアルケニルを表すことも企図している。

【0019】

10

本明細書で使用される用語「アルキニル」は、少なくとも1個の炭素-炭素三重結合を含む、直鎖、分枝または環状炭化水素残基から形成される基を示し、エチン的にモノ-、ジ-または多不飽和である、先に定義したようなアルキルまたはシクロアルキル基を含む。炭素原子の数が特定されない限り、用語は好ましくはC₂-C₂₀アルキニルを表す。例には、エチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、およびブチニル異性体、およびペンチニル異性体が含まれる。特に好ましいアルキニルはC₂-C₁₀アルキニル、より好ましくはC₂-C₆アルキニルである。好ましいアルキニルは、直鎖または分枝アルキニルである。アルキニルは、場合によりアルキルについて上記した任意の置換基で置換されてもよい。アルキニルは、場合によりアルキルについて上記した任意の置換基で置換されてもよく、従って、「アルキニル」は、場合により置換されたアルキニルを表すことも企図している。

【0020】

20

用語「アシル」は、直鎖または分枝アルカノイル(C(=O)アルキル)、アルケノイル(C(=O)アルケニル)、アルキノイル(C(=O)アルキニル)またはアロイル(C(=O)アリール)を示し、エタノイル(アセチル)、プロパノイル、n-ブタノイル、2-メチルプロパノイル、ペンタノイル、2,2-ジメチルプロパノイル、ヘキサノイル、ヘプタノイル、オクタノイル、ノナノイル、デカノイル、アンデカノイル、ドデカノイル、トリデカノイル、テトラデカノイル、ペンタデカノイル、ヘキサデカノイル、ヘプタデカノイル、オクタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル、プロペノイル、ブテノイル、ペンテノイル、パルミトイール、オレオイル、リネオイル、およびベンゾイルなどの基を含み得る。アシルの炭化水素鎖は、場合により1個またはそれ以上の上記のような置換基でさらに置換されてもよく、従って、「アシル」は、場合により置換されたアシルを表すことも企図している。

【0021】

30

本明細書で使用される用語「炭水化物」は、単純な糖類を示し、還元末端を介する、即ちグリコシド結合を介する付着点を有する、单-、二-および三-糖類を含む。そのような炭水化物の例には、1-グルコシル、1-マンノシル、1-ガラクトシル、1-マルトシル、1-ラクトシル、1-イソマルトシル、1-セロビオシル、1-マルトトリオシル、1-イソマルトトリオシルおよび1-セロトリオシルが含まれる。

【0022】

40

用語「アラルキル」は、(好ましくは末端で)アリール基、例えば(C_nH₂)_nフェニル(但し、nは1、2、3、4、5または6である)で置換されたアルキル鎖を示す。

【0023】

用語「ヘテロアラルキル」は、(好ましくは末端で)ヘテロアリール基、例えば(C_nH₂)_nヘテロアリール(但し、nは1、2、3、4、5または6である)で置換されたアルキル鎖を示す。

【0024】

本発明は、式(I)(式中、RはCN、HまたはC-結合有機残基である)に示すホスフォテトラヒドロピラン部分を有する化合物を提供し、有機残基で結合された2個の式(I)に示すホスフォテトラヒドロピラン部分を含有する化合物を含み得る。C-結合有機残

50

基は、少なくともC、H、そして場合により1個またはそれ以上のハロゲン、N、O、PまたはSを含有する部分が含まれる。

【0025】

本発明のある実施態様では、Rは、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキル、シアノまたは $(CH_2)_nCOX$ であり、但し n は両端を含めて0ないし20の整数を表し、XはY、OY'およびNY''Y'''から独立して選択され、但しYはH、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリールから独立して選択され、Y'は、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリールおよび炭水化物から独立して選択され、Y''およびY'''は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリールまたはアシルから独立して選択され、但し、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、ヘテロアラルキルおよびアシルの各々は、場合により置換され得る。
10

【0026】

ある好ましい実施態様では、Rはシアノまたは $-(CH_2)_nCO_2R'$ 、 $-(CH_2)_nCHO$ 、 $-(CH_2)_nCH_2OR''$ 、 $-(CH_2)_nCONHR''$ 、 $-(CH_2)_nCH_2NHR''$ および $-(CH_2)_nCONR''R'''$ からなる群から選択され、但し n は0-20から選択され、R'はH、アルキルまたはアリールであり、R''はH、アルキル、アリールまたはアシルであり、そしてR'''はH、アルキル、アリールまたはアシルである。好ましくは、nは0-12であり、より好ましくは1-6である。他の実施態様では、RはOC(O)アルキル、NHC(O)アルキル、OPO₃H₂、アルコキシまたはO-炭水化物で置換されたアルキル鎖(例えば $(CH_2)_n$ 、但し n は上記の通りである)であり、但し、「アルキル」は本明細書に記載のように置換され得る。
20

【0027】

好ましいR基には：シアノ；ヒドロキシアルキル(例えばヒドロキシメチル、ヒドロキシエチル、ヒドロキシプロピル、ヒドロキシブチル、ヒドロキシベンチル、ヒドロキシヘキシル)；アルコキシアルキル(例えばメトキシ-またはエトキシ-メチル、エチル、プロピル、ブチル、ベンチル、ヘキシルなど)；アリールオキシアルキル(例えばフェノキシ-メチルまたはエチル)；ヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラニルオキシアルキル(例えば(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-テトラヒドロピラン-2-イルオキシ)-または(3,4-ジヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イルオキシ)-メチル、エチルまたはプロピル)；アミノアルキル(例えばアミノメチル、アミノエチル、アミノプロピルなど)；ベンジル；フェニルエチル；フェニル；2-,3-および4-メトキシフェニル；2-,3-および4-メチルフェニル；2-,3-および4-ピリジル；2-,4-および5-ピリミジニル；2-および3-チオフェニル；2-,4-および5-(1,3)オキサゾリル；2-,4-および5-(1,3)チアゾリル；2-および4-イミダゾリル；3-および5-symトリアゾリル； $-(CH_2)_nC(O)C_{1-6}$ アルキル(例えば、nは0、1、2、3、4、5または6であり；そして $-C(O)C_{1-6}$ アルキルは例えばエタノイル(アセチル)、プロパノイル、ブタノイル、ペンタノイルまたはヘキサノイルである)； $-(CH_2)_nC(O)Ar$ アリール(例えば、nは0、1、2、3、4、5または6であり；そして $-C(O)Ar$ アリールは、例えばベンゾイル、2-,3-または4-クロロベンゾイル、2-,3-または4-メトキシベンゾイルまたは2-,3-または4-メチルベンゾイル)； $-(CH_2)_nCO_2C_{1-10}$ アルキル(例えば、nは0、1、2、3、4、5または6であり；そして $-CO_2C_{1-6}$ アルキルは、例えばメチル、エチル、プロピル、ブチル、ベンチルまたはヘキシルエステルである)； $-(CH_2)_nCO_2Ar$ アリール(例えば、nは0、1、2、3、4、5または6であり；そして $-CO_2Ar$ アリールは例え
30
40
50

- (CH₂)_nCONHアリール（例えば、nは0、1、2、3、4、5または6であり；そして-CONHアリールは例えばフェニル、2-、3-または4-クロロフェニル、2-、3-または4-メトキシフェニルまたは2-、3-または4-メチルフェニルアミドである）；- (CH₂)_nCON(C₁₋₁₀アルキル)₂（例えば、nは0、1、2、3、4、5または6であり；そして-CON(C₁₋₁₀アルキル)₂は例えばジメチル、ジエチル、ジプロピル、ジブチル、ジベンチルまたはジヘキシルアミドである）が含まれる。

【0028】

当業者は、ニトリル基はカルボン酸またはアミド基と同じ酸化レベルにあること、そして例えは水性強酸または塩基の処理によるなどの既知方法によって、これらの基に変換できることを認識する。カルボン酸基は、例えは酸性条件下での適切なアルコールによる処理、または適切なアルキルハロゲン化物による処理などの既知方法により、エステル化できる。カルボン酸はまた、酸化レベル1まで還元されてアルデヒドを形成し、続いてさらなる酸化レベルに還元され、アルコールを提供することもできる。適切な還元方法は当分野で既知であり、LiAlH₄、DIBALまたはボランなどのヒドリド試薬による処理を含み得る。対応するアルコールは、標準的な方法を使用してアルキル化またはアシル化できる。適切なアルキル化剤には、例えはメチル、エチルおよびプロピル塩化物、臭化物およびヨウ化物などのアルキルハロゲン化物、および例えは硫酸ジメチルおよび硫酸ジエチルなどのジアルキル硫酸塩が含まれ得る。適切なアシル化剤には、カルボン酸塩化物および無水物が含まれる。カルボン酸は、触媒またはDCCなどのカップリング剤の存在下で適切なアミンで処理することにより、アミドに変換し得る。アミドはまた、酸塩化物を適切なアミンで処理することによっても調製し得る。続いて、アミド（またはニトリル）を、例えはLiAlH₄などの適切な還元剤で還元して、アミンを提供できる。アミンのアシル化またはアルキル化は、上記のように実行できる。これらの基の相互変換のためのさらなる方法は、Comprehensive Organic Transformations, R. Larock, VCH Publishers, 1989, およびAdvanced Organic Chemistry, J. March, Third Edition, Wiley InterScienceなどの参考文献に記載されている。

【0029】

Rがメチレン基を介してピラン環に結合している化合物は、適切なトリフェニルホスフォランを使用して、ヴィティヒ型の方法論によりマンノースで調製できる。例えは、古典的なヴィティヒ方法論は、アルキル、アルケニル、アルキニルなどの基を組み込める。実施例1は、この方法論を使用する、様々なCH₂CO₂アルキル基の6位での組込みを例示説明する。当分野で既知の標準的な方法論を使用して、メチレン鎖の長さを増加させて、エチレン、プロピレンなどを提供できる。

【0030】

アルキレン鎖は、当分野で既知の方法、例えはArndt-Eistert合成により、伸長できる。この手段により、CH₂の挿入を伴って酸塩化物をカルボン酸に変換できる。従って、カルボン酸基は、例えはSO₂Cl₂の処理により、その酸塩化物誘導体に変換できる。酸塩化物誘導体は、ジアゾメタンと反応してジアゾケトンを形成でき、次いでそれをAg₂/H₂Oまたは安息香酸銀およびトリエチルアミンで処理できる。プロセスを繰返し、アルキレン鎖の長さをさらに増大させられる。あるいは、アルデヒド（またはケト）基をヴィティヒ型方法論に処し（例えはPh₃P=CHCO₂Meを使用して）、-不飽和エステルを産生できる。この場合、二重結合の水素化により、2個の炭素原子が増加したアルキレン鎖が提供される。同様の様式で、他のホスフォランをより長い（そして場合により置換、分枝または不飽和である）炭素鎖の生成に使用できる。

【0031】

当業者は、2位での置換基の化学操作は、ヒドロキシ基などの、分子内の他の潜在的に反応性である基の保護を要し得ることも認識する。適切な条件下で使用するための適切な保護基並びにその取付けおよび除去の方法は、当分野で既知であり、Protective Groups in Organic Synthesis, T.W. Greene and P. Wutz, John Wiley and Son, (1991)に記載さ

10

20

30

40

50

れている。これらの保護された誘導体は、本発明のさらなる態様を提供する。

【0032】

用語「塩、誘導体またはプロドラッグ」は、レシピエント (recipient) に投与すると、本明細書に記載の化合物を（直接または間接に）与える能力のある、任意の医薬的に許容し得る塩、エステル、溶媒和物、水和物または任意の他の化合物を含む。しかしながら、医薬的に許容し得る塩の調製に有用であり得るので、医薬的に許容されない塩も本発明の範囲内であることが理解される。

【0033】

適する医薬的に許容し得る塩には、塩酸、硫酸、リン酸、硝酸、炭酸、ホウ酸、スルファミン酸および臭化水素酸などの医薬的に許容し得る無機酸の塩、または酢酸、プロピオン酸、酪酸、酒石酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、フマル酸、マレイン酸、クエン酸、乳酸、粘液酸、グルコン酸、安息香酸、コハク酸、シュウ酸、フェニル酢酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、サリチル酸、スルファニル酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、エデト酸、ステアリン酸、パルミチン酸、オレイン酸、ラウリル酸、パントテイン酸、タンニン酸、アスコルビン酸および吉草酸などの医薬的に許容し得る有機酸の塩が含まれるが、これらに限定されるわけではない。

10

【0034】

塩基の塩には、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウムおよびアルキルアンモニウムなどの医薬的に許容し得る陽イオンと形成されたものが含まれるが、これらに限定されるわけではない。特に、本発明は、その範囲に例えればリン酸基のナトリウムまたはカリウム塩、またはアルキルエステル（例えばメチル、エチル）などの陽イオン塩を含む。

20

【0035】

塩基性窒素含有基は、メチル、エチル、プロピルおよびブチルの塩化物、臭化物およびヨウ化物などの低級アルキルハロゲン化物；硫酸ジメチルおよびジエチルなどの硫酸ジアルキル；などの物質で四級化し得る。

30

【0036】

本発明の化合物は、遊離化合物として、または溶媒和物（例えは、水和物）としてのいずれかの結晶形態であり得、両形態は本発明の範囲内にあると企図している。溶媒和の方法は、当分野で一般的に知られている。

【0037】

式（I）の化合物のプロドラッグであるいかなる化合物も、本発明の範囲および精神の内にある。用語「プロドラッグ」はその最も広い意味で使用され、インビボで本発明の化合物に変換される誘導体を包含する。そのような誘導体は当業者に容易に想起され、例えは、酢酸塩などの、遊離ヒドロキシ基がエステルに変換される化合物、または遊離アミノ基がアミドに変換される化合物が含まれる。本発明の化合物のアシル化の方法は当分野で周知であり、適切な触媒または塩基の存在下で、適切なカルボン酸、無水物または塩化物で処理することを含む。

【0038】

Tリンパ球は、血流から組織（それらが反応できる抗原を含有する組織を含む）へ遊走することが知られている。Tリンパ球遊走のインビボの例には、その組織の1つまたはそれ以上に存在する抗原を有する哺乳動物への、放射性同位元素または蛍光標識された抗原特異的T細胞の静脈注射が含まれる。注射されたT細胞が抗原含有組織に蓄積した程度の評価は、組織に存在する放射能の量を測定すること、または組織学的に組織を分析して浸透した蛍光標識細胞の数を判定することによって成し得る。これを実行に移すためには、動物を強力な免疫学的アジュバントの存在下で「自己」タンパク質または外来タンパク質のいずれかで免疫し、7ないし10日後にそれらの脾臓および/または流出リンパ節を取り出し、そしてこれらの器官からT細胞を単離する。次いでこれらの細胞を放射性または蛍光標識し、そして静脈注射によりナイープの同系動物に移す。「自己」タンパク質の場合、いくつかの抗原特異的T細胞は遊走し、抗原が局在する組織に蓄積する。例えは、CNS

40

50

抗原の場合、細胞は脳および脊髄に局在し、次いでそこに蓄積した標識細胞の数を判定できる。外来抗原の場合、レシピエントに外来抗原貯蔵所 (depot) を与え (例えば、不溶性抗原を皮膚などの組織に注射できる)、細胞は外来抗原を含有する部位に蓄積する。

【0039】

実際にこの実験を行う最も簡単な方法は、細胞介在性 I V 型過敏反応を使用することである。この方法は、当業者に認識され、かつよく理解されており、そしてこの原理は、例えば Immunology 5th Edition; Ivan M. Roitt Ed, Blackwell Scientific Publications, Boston, 1998 などの多くの免疫学の教科書に見出される。ここで、組織のタンパク質を化学的に修飾し、かくして免疫系にとって「外来」組織に「見える」ようにすることによって、ドナー動物は自己タンパク質 (実際には、皮膚が使用に最も簡単な組織である) に対して敏感にされる。このことは、共有結合的に反応する、通常アルキル化剤またはアリール化剤である「ハプテン」と皮膚を反応させることによって成され、かくして皮膚のタンパク質を修飾する。敏感化の 7 ないし 10 日後に、脾臓をドナー動物から採取する。T リンパ球を単離し、放射性または蛍光標識し、静脈注射によってナイーブレシピエント動物に移す。細胞を移すのに先立ち、レシピエント動物の皮膚の一部、通常は簡易化のために耳、を同じハプテンで処理しておく。細胞を移してから短時間の内に、敏感化された T 細胞がハプテン化された組織に蓄積し始め、8 ないし 24 時間後に組織を取り出し、細胞蓄積を評価できる。蛍光標識細胞の場合、その蓄積は組織学的に評価され、放射性標識細胞の場合、蓄積は適切な装置で放射能の減衰を計測することにより評価される。典型的に、本発明の物質は、このモデルにおける T 細胞蓄積を 20 ないし 85 % 阻害できる。このモデルでは、相対的に純粋な T リンパ球集団を移すことが重要である。本発明の物質は、B リンパ球遊走を妨害するとは考えられない。同様の実験を、T 細胞株を使用して実施できる。

10

20

30

40

【0040】

血管内皮細胞 (VEC) は、培養で成長させると、コンフルエントに成長し、内皮細胞下マトリックスを沈着させる。細胞とマトリックスは、血管に見出される同一の成分に類似している (Jaffe, E.A., Nachman, R.L., Becker, C.G. and Minick, C.R., 1973, Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. Journal of Clinical Investigation, vol 52(11), 2745-2756; 出典明示により本明細書の一部とする)。活性化した T 細胞は、身体の組織を通るときと同じように、このマトリックスを通って遊走する。この遊走を、2 つのチャンバーの間にそれを通って細胞が移動できる窓のある境界を含む特別な装置上で、血管内皮細胞を成長させることによって、研究でき、実行に移すことができる。従って、VEC をそのような装置の上部チャンバーで培養すると、それらはコンフルエントに成長し、細胞下マトリックスを窓のある境界の上に沈着させる。活性化した T 細胞をこのチャンバー内で内皮細胞層の上に浮遊させると、それらは VEC 層を通って遊走する。一旦それらが VEC 層の下になると、それらは細胞下マトリックスを分解し、蓄積した細胞の数を測定できる下部チャンバーへ、窓を通って遊走する。従って、このインビトロ血管系を通る T 細胞の遊走能力を阻害できる物質の効力を、T 細胞が存在する培養期間中に一方または両方のチャンバーに物質を置くことにより測定できる。物質の効力は、対照実験装置の下部チャンバー内の T 細胞の数に対する、物質処理した下部チャンバー内の T 細胞 (即ち、遊走した細胞) の数を比較することにより、定量される。

【0041】

この方法は、血管内皮を通る細胞遊走を研究するために一般的に使用され、出典明示により本明細書の一部とする次の出版物を含む、科学および医学文献に詳細に記録されている ; Poggi, A., Costa, P., Socchi, M.R. and Moretta, L., 1997, Phenotypic and functional analysis of CD4+ NKRP1A+ human lymphocytes. Direct evidence that the NKRP1 A molecule is involved in transendothelial migration. European Journal of Immunology, vol 27, 2345-2350; Hauzenberger, E., Hauzenberger, D., Hultenby, K. and Holgersson, J., 2000, Porcine endothelium supports transendothelial migration of

50

human leukocyte subpopulations: anti-porcine vascular cell adhesion molecule antibodies as species-specific blockers of transendothelial monocyte and natural killer cell migration. *Transplantation*. Vol 69(9):1837-1849; Borthwick, N.J., Akbar, A.N., MacCormac, L.P., Lowdell, M., Craigen, J.L., Hassan, I., Grundy, J.E., Salmon, M. and Yong K.L., 1997, Selective migration of highly differentiated primed T cell, defined by low expression of CD45RB, across human umbilical vein endothelial cells: effects of viral infection on transmigration. *Immunology*. Vol 90 (2), 272-280; Mohle, R., Moore, M.A., Nachman, R.L. and Rafii, S., 1997, Transendothelial migration of CD34+ and mature hematopoietic cell: an in vitro study using a human bone marrow endothelial cell line. *Blood*. Vol 89(1), 72-80; Lou, J., Gasche, Y., Zheng, L., Giroud, C., Morel, P., Clements, J., Ythier, A. and Grau, G.E., 1999, Interferon-beta inhibits activated leukocyte migration through human brain microvascular endothelial cell monolayer. *Laboratory Investigation* vol 79(8):1015-1025. 10

【0042】

本発明の化合物は、血管内から周辺の組織へのTリンパ球遊走を阻害し（但し、用語「阻害」は、その一般的の意味、即ち停止、防止、抑止、最小化または減速を包含する）、従って細胞介在性炎症疾患および症状の治療処置に有用であり得る。本発明の化合物で処置され得るそのような炎症疾患または症状の例には、リウマチ性関節炎、多発性硬化症、急性散在性脳脊髄炎、乾癬、クローン病、T細胞介在性皮膚炎、間質性角膜炎、ブドウ膜炎、甲状腺炎、唾液腺炎（sialitis）およびI型糖尿病が含まれる。従って、阻害の用語は、そのような疾患の症状の進行または重篤度を後退させることを意味するとも理解できる。このように、本方法は、医学治療的および／または予防的投与の両者を、適切なものとして包含する。 20

【0043】

本発明の化合物を、ヒトまたは他の哺乳動物対象を処置するために使用し得る。本発明の化合物は、ヒト対象の処置に特に適すると考えられる。非ヒト対象には、靈長類、家畜動物（例えば、ヒツジ、ウシ、ウマ、ヤギ、ブタ）、家内随伴動物（例えば、ネコ、イヌ）、実験室用試験動物（例えば、マウス、ラット、モルモット、ウサギ）、または捕獲した野生動物が含まれる。 30

【0044】

本発明の化合物は、対象に処置有効量で投与される。本明細書で使用される処置有効量とは、所望の効果を少なくとも部分的に達成すること、または処置される特定の疾患または症状の、発病を遅らせること、進行を阻害すること、発病または進行を全部一緒に停止または後退させることを含むと企図している。

【0045】

本明細書で使用される用語「処置有効量」は、所望の投薬法に従って投与されると、所望の治療活性を与える化合物の量に関連する。投与は数分、数時間、数日、数週、数月または数年の間隔でなされてもよく、またはこれらの期間の任意の1つに渡って継続的であってもよい。適切な用量は、投与毎に、体重1kg毎約0.1ngないし投与毎に体重1kg毎約1gの範囲内にある。好ましくは、用量は投与毎に体重1kg毎1ngないし1gの範囲にあり、例えば投与毎に体重1kg毎1mgないし1gの範囲にある。適切には、用量は投与毎に体重1kg毎1mgないし500mgの範囲にあり、例えば投与毎に体重1kg毎1mgないし200mg、または投与毎に体重1kg毎1mgないし100mgの範囲にある。他の適切な用量は、体重1kg毎1mgないし250mgの範囲にあり得、投与毎に体重1kg毎1mgないし10、20、50または100mg、または投与毎に体重1kg毎10mgないし100mgを含む。 40

【0046】

適切な用量および投薬法は、看護する医師によって決定され、処置される特定の症状、症状の重篤度、並びに対象の一般的健康、年齢および体重によって決まり得る。 50

【0047】

有効成分は、単回投与または一連の投与で投与される。有効成分を単独で投与することは可能であるが、それを対象に組成物として、好ましくは医薬組成物として与えるのが好ましい。そのような組成物の製剤は、当業者に周知である。組成物は、適する担体、希釈剤または賦形剤を含有し得る。これらには、あらゆる従来の溶媒、分散媒、充填剤、固体担体、被覆剤、抗真菌および抗菌剤、皮膚浸透剤、界面活性剤、等張および吸収剤などが含まれる。本発明の組成物は、適切な場合に補充の抗炎症剤または他の生理学的に活性な物質も含み得ることが理解される。

【0048】

担体、希釈剤または賦形剤は、組成物の他の成分と適合し、かつ対象に有害でないという意味で、医薬的に「許容し得る」ものでなければならない。組成物には、経口、直腸、鼻腔、局所（口内および舌下を含む）、腔または非経口（皮下、筋肉内、脈管内および皮内を含む）投与に適するものが含まれる。組成物は、利便上、単位投与形態で与えられてもよく、薬学の分野で周知のいかなる方法によっても調製し得る。そのような方法には、1種またはそれ以上の補助成分で構成される担体と有効成分を一緒にする段階が含まれる。一般に、活性成分を液体担体もしくはよく分割された固体担体または両者と均一かつ完全に一緒にし、その後必要なら生成物を成形することにより、組成物は調製される。

10

【0049】

経口投与に適する本発明の組成物は、予め決定した量の有効成分を各々含有するカプセル剤、袋剤（sachet）または錠剤などの別個の単位として；粉末剤または顆粒剤として；水性または非水性液体中の液剤または懸濁剤として；または水中油液体乳剤もしくは油中水液体乳剤として与えられ得る。有効成分は、巨丸剤、舐剤またはペーストとして与えられてもよい。

20

【0050】

錠剤は、場合により1種またはそれ以上の補助成分と共に、圧縮または鋳造により作成し得る。圧縮錠剤は、粉末または顆粒などの自由に流動する形態の有効成分を、場合により結合剤（例えば不活性な希釈剤、防腐剤、崩壊剤（例えばナトリウム澱粉グリコール酸塩、クロスリンクしたポリビニルピロリドン、クロスリンクしたナトリウムカルボキシメチルセルロース）、表面活性剤または分散剤と混合して、適切な機械の中で圧縮することにより調製し得る。鋳造錠剤は、不活性な液体希釈剤で湿らせた粉末化合物の混合物を、適切な機械の中で鋳造することにより作成し得る。錠剤は、場合により被覆されるか、または切れ目を入れられてもよく、そして例えば所望の放出プロフィールを得るために様々な割合でヒドロキシプロピルメチルセルロースを使用して、中の有効成分の遅延または制御放出をもたらすように製剤し得る。錠剤は、胃以外の腸の部分での放出をもたらすために、場合により腸溶性被覆で提供されてもよい。

30

【0051】

口内の局所投与に適する組成物には、味付のベース、通常はショ糖およびアカシアまたはトラガカント・ゴム、の中に有効成分を含むトローチ剤（lozenge）；ゼラチンとグリセリン、またはショ糖とアカシア・ゴムなどの不活性なベースの中に有効成分を含む香錠（pastille）；および適する液体担体の中に有効成分を含む口内洗浄剤が含まれる。

40

【0052】

例えば皮膚用の局所投与用組成物は、ローション、クリーム、ゲル、軟膏などの形態であり得る。

【0053】

直腸投与用組成物は、例えばココアバター、グリセリン、ゼラチンまたはポリエチレングリコールなどの適するベースを用いて、坐剤として与えられ得る。

【0054】

腔投与に適する組成物は、有効成分に加えて当分野で適切であると知られているような担体を含有する、ペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、フォームまたはスプレー製剤として与えられ得る。

50

【0055】

非経口投与に適する組成物には、抗酸化剤、緩衝液、殺菌剤および組成物を企図するレシピエントの血液と等張にするための溶質を含有する、水性および非水性等張滅菌注射液剤；および懸濁化剤および増粘剤を含み得る水性および非水性滅菌懸濁剤が含まれる。組成物は、例えばアンプルおよびバイアルなどの単位用量または複数用量の封止容器中に与えられてもよく、例えば注射用の水などの滅菌液体担体の添加のみを使用の直前に要する凍結乾燥（凍結乾燥）状態で保存されてもよい。即席の注射液剤および懸濁剤は、前述の種類の滅菌粉末剤、顆粒剤および錠剤から調製してもよい。

【0056】

好みしい単位投与組成物は、本明細書で前述したように、有効成分の日用量または単位、10 半日用量、またはそれらの適する小部分を含有するものである。

【0057】

特に前述した有効成分に加えて、本発明の組成物は当該組成物のタイプに関連して当分野で伝統的な他の物質も含み得ることを理解すべきである。例えば、経口投与に適するものは、結合剤、甘味料、増粘剤、香料、崩壊剤、被覆剤、防腐剤、潤滑剤および／または遅延剤などのさらなる物質を含み得る。適する甘味料には、ショ糖、乳糖、ブドウ糖、アスパルテームまたはサッカリンが含まれる。適する崩壊剤には、コーンスターク、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン、キサンゴム、ベントナイト、アルギン酸または寒天が含まれる。適する香料には、はっか油、冬緑油、サクランボ、オレンジまたはキイチゴ香料が含まれる。適する被覆剤には、アクリル酸および／またはメタクリル酸のポリマーまたはコポリマー、および／またはそれらのエステル、ワックス、脂肪族アルコール、ゼイン、セラックまたはグルテンが含まれる。適する防腐剤には、安息香酸ナトリウム、ビタミンE、アルファ-トコフェロール、アスコルビン酸、メチルパラベン、プロピルパラベン、または重亜硫酸ナトリウムが含まれる。適する潤滑剤には、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、オレイン酸ナトリウム、塩化ナトリウムまたはタルクが含まれる。適する遅延剤には、グリセリルモノステアリン酸塩またはグリセリルジステアリン酸塩が含まれる。20

【0058】

本発明の化合物は、獣医学的組成物における使用のために与えられてもよい。これらは、30 当分野で既知の任意の適する手段で調製され得る。そのような組成物の例には、

(a) 経口投与、外用適用（例えば、水性および非水性液剤または懸濁剤を含む液剤投与）、錠剤、巨丸剤、粉末剤、顆粒剤、試料と混合するための小丸剤、舌に適用するためのペースト；

(b) 非経口投与、例えば滅菌液剤または懸濁剤としての皮下、筋肉内または脈管内注射
(c) 局所適用、例えばクリーム、軟膏、ゲル、ローションなど

に適合されたものが含まれる。

【0059】

当業者は、本明細書に記載された発明は、特に記載したもの以外の変化や修正を許容することを理解する。本発明は精神と範囲の内にあるそのような変化や修正をすべて含むことを理解すべきである。本発明はまた、この明細書で言及または指定されたすべての段階、特徴、組成物および化合物を個別的または集合的に含み、そして該段階または特徴の任意の2つまたはそれ以上の、任意かつ全ての組合せを含む。40

【0060】

ここで、発明の例示説明の目的で含まれ、かつ前述の一般性を限定することを企図しない、以下の非限定的実施例を参照して本発明を説明する。

【0061】

実施例

以下の実施例では、温度は摂氏で測定され、薄層クロマトグラム（t_{lc}）は、シリカゲルプレート上で判定され、そして別に特定しない限り、化学試薬は Aldrich から購入された。50

【0062】

実施例1

メチル、エチル、ペンチルおよびフェニルエチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸エステル (式I; R = C₂H₂COOY'; 各々、Y' = -CH₃、-CH₂CH₃、-(CH₂)₄CH₃ および -CH₂CH₂Ph) の調製

D-マンノース (3.6 g、20 mmol) と、von Isler らの方法 (von Isler, O., Gutmann, H., Montavon, M., Ruegg, R., Ryser, G. and Zeller, P., (1957). *Synthesen in der carotinoid-Reihe. Anwendung der Wittig-reaktion zur synthese von estern des bixins and crocetins.* Helvetica Chimica Acta, vol 15, 1242-1249, 出典明示により本明細書の一部とする) で調製したカルボキシメチレントリフェニルホスフォラン (6.68 g、20 mmol) を、ジオキサン (75 ml) 中で3時間還流した。その後、ジオキサンを減圧下で除去し、ジエチルエーテル (250 ml) を油性の残渣に添加し、その上でそれを凝固させた。これを20分間激しく攪拌し、静置させ、エーテルをデカンタした (decant)。洗浄手順をさらに250 mlのエーテルで繰返した。次いで固体をジクロロメタン (100 ml) と15分間激しく攪拌し、固体を濾去し、乾燥させてメチル4,5,6,7,8-ペンタヒドロキシオクト-2-エネオ酸塩 (3.8 g、80%) を得た。

【0063】

この物質 (16.0 g、67.8 mmol) を、メタノール (160 ml) に溶解し、この溶液に乾燥 Dowex 1 イオン交換樹脂 (OH⁻形態; 48 g) を添加し、混合物を4時間室温で攪拌した。Dowex を焼結ガラス漏斗を通して濾過して樹脂を除去し、メタノール (2 × 50 ml) で洗浄し、合わせた濾過物と洗浄物を減圧下で蒸発させて、メチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6'-ヒドロキシメチル) ピラン-2-イル) 酢酸塩を淡黄色シロップとして得た。この物質 (417 mg、1.77 mmol)、塩化トリチル (740 mg、2.66 mmol) およびピリジン (5 ml) の混合物を、60°で8時間攪拌した。室温に冷却後、酢酸無水物 (1 ml、10.6 mmol) を添加し、混合物を一夜攪拌し、その上でそれを氷冷水 (25 ml) に添加し、クロロホルム (3 × 50 ml) で抽出した。有機相を乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲル (0.063 - 0.2 mm) カラム (2 × 30 cm) 上でクロマトグラフィーし、石油スピリット (petroleum spirit) (bp 60 - 80°) : 酢酸エチル (2 : 1) で抽出し、メチル (3,4,5-トリアセトキシ-6-トリチルオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸エステル (786 mg) を得た。

【0064】

この化合物 (786 mg) を室温でジクロロメタン (10 ml) 中で、無水塩化鉄 (257 mg) と2時間攪拌し、その上で水 (10 ml) を添加し、混合物をクロロホルム (3 × 25 ml) で抽出した。有機抽出物を合わせ、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、濾過物を減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲル (0.063 - 0.2 mm) カラム (2 × 30 cm) 上でクロマトグラフィーし、石油スピリット (bp 60 - 80°) : 酢酸エチル (1 : 2) で抽出し、メチル (3,4,5-トリアセトキシ-6-ヒドロキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸エステル (463 mg) を得た。

【0065】

この化合物 (344 mg、0.95 mmol) をトルエン (15 ml) およびピリジン (86.7 mg) に溶解し、混合物を0°に冷却し、その上で乾燥窒素空気下で攪拌しながら酸塩化リン (167.8 mg、1.094 mmol) を滴下添加した。混合物を室温にさせ、2時間攪拌した。混合物を濾過し、減圧下で乾燥するまで蒸発させた。残渣をアセトンと水の1:1混合物 (10 ml) に溶解し、45 - 50°で2時間維持した。乾燥するまで蒸発させた後、残渣を各15 mlのエタノール、メタノールおよび最後にアセトンから1度蒸発させ、メチル (3,4,5-トリアセトキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸エステル (354 mg、81%) を得た。

【0066】

10

20

30

40

50

この化合物 (354mg、0.8mmol) を、ナトリウムメトキシド (86.4mg、1.6mmol) を含有するメタノール (5ml) 中で、室温で一夜搅拌した。減圧下で乾燥させた後、残渣を水 (5ml) に溶解し、強い陽イオン交換樹脂 (Dowex 50 H⁺ 形態) で処理し、ナトリウムイオンを除去した。生じた溶液を濾過し、減圧下で乾燥させ、残渣を2回エタノールから、そして2回メタノールから蒸発させ、メチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸エステル (203mg、80%) E S M S (-ve) 315 (M-H) を得た。

【0067】

類似方法で、以下のものを作成した：

エチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラ 10
ン-2-イル) - 酢酸エステル (80%) E S M S (-ve) 329 (M-H)

フェニルエチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸エステル (64%)

ペンチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラ 11
ン-2-イル) - 酢酸エステル (65%)、E S M S (-ve) 371 (M-H)

【0068】

これらのエステルのモノナトリウム塩は、リン酸塩の濃縮エタノール溶液を1.2等量の無水酢酸ナトリウムで処理することにより容易に調製され、その上で所望の塩を沈殿させ、少量のエタノールで洗浄し、そして乾燥させ、以下のものを得た：

メチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラ 20
ン-2-イル) - 酢酸エステルナトリウム塩 (92%)

エチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラ 21
ン-2-イル) - 酢酸エステルナトリウム塩 (80%)、¹Hnmr (500MHz, D₂O): 1.10
(t, J = 7.5Hz, 3H) 2.71-2.81 (m, 2H), 3.48-3.54 (m, 1H), 3.63-3.69 (m, 1H), 3.7
9-3.93 (m, 2H), 3.95-3.99 (m, 1H), 4.02 (q, J = 7.5Hz, 2H), 4.11-4.16 (m, 1H), 4
.20-4.26 (m, 1H)。

フェニルエチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラ 22
ン-2-イル) - 酢酸エステルナトリウム塩 (93%)

ペンチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラ 23
ン-2-イル) - 酢酸エステルナトリウム塩 (70%) ¹Hnmr (500MHz, D₂O): 1.08
-1.15 (m, 3H) 2.39-2.67 (m, 8H), 3.51-4.08 (m, 9H)。

【0069】

実施例2

(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸 (式I; R = -CH₂COOH) ジナトリウム塩の調製

エチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラ 24
ン-2-イル) - 酢酸エステルナトリウム塩 (実施例1で調製された) (352mg、1
.0mmol) を水 (5ml) に溶解し、水 (1ml) に溶解した水酸化ナトリウム (8
0mg、2mmol) で処理した。室温で一夜搅拌した後、混合物をAmberlite IR 120
陽イオン交換樹脂 (H⁺ 形態) で処理してナトリウムイオンを除去し、溶液を濾過し、減
圧下で乾燥するまで蒸発させて (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチ
ル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸 (220mg、73%) を得た。これを水
(1ml) に溶解し、メタノール (1ml) 中のナトリウムメトキシド (79mg、1.
46mmol) を添加し、混合物を短時間搅拌し、搅拌しながらエタノール (50ml)
に滴下添加した。生じた懸濁物を遠心分離し、上部の液体をデカンタした。遠心管の底の
ペレット物質を新しいエタノール 25ml に再懸濁し、遠心分離した。上部の液体をデカ
ンタした後、ペレットを真空下で乾燥させ、(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォ
ノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸ジナトリウム塩 (200mg
、79%) を得た。

【0070】

この化合物はまた、以下の方法でも調製できた。(3,4,5-トリアセトキシ-6-アセトキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-酢酸(実施例10から)(8.02g、20.6mmol)を乾燥(dry)メタノール(60ml)に溶解し、ナトリウムメトキシド(1.6g)を添加した。反応に続いて薄層クロマトグラフィーを行い、2.5時間後、Dowex 50W X8 H⁺形態イオン交換樹脂を添加し、さらに30分後、反応混合物を濾過し、溶媒を除去した。ピリジン(70ml)中のこの純粋でない物質(4.95mg、12.5mmol)に塩化トリチル(~2.5eq、17.8g)を添加し、混合物を50°で一夜攪拌した。室温に冷却した後、無水酢酸(~10eq、24ml)を添加し、混合物を2.5時間攪拌し、その上でそれを氷冷水(200ml)に添加し、ジクロロメタン(3×200ml)で抽出した。有機相を乾燥させ(硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣を~30gのシリカゲルに吸収させ、シリカゲル(50g)のカラム(70×140mm)上に置き、真空下で5%酢酸エチル/軽油(light petroleum)(800ml、f1)、25%酢酸エチル/軽油(800ml、f2[400ml]、f3[400ml])、100%酢酸エチル(400ml、f4)および25%メタノール/ジクロロメタン(400ml、f5)で抽出した。生成物の酢酸7-アセトキシ-2-オキソ-5-トリチルオキシメチル-ヘキサヒドロ-フロ[3,2-b]ピラン-6-イルエステルは、f4中に見出された(5.87g、54%)。

【0071】

この物質(5.87g、11.1mmol)を室温でジクロロメタン(100ml)中で無水塩化鉄(3.67g)と1.5時間攪拌し、その上で水(100ml)を添加し、混合物をジクロロメタン(2×100ml)で抽出した。有機抽出物を合わせ、乾燥させ(硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣を~15gのシリカゲルに吸収させ、シリカゲル(20g)のカラム(40×90mm)上に置き、真空下で50%酢酸エチル/軽油(400ml、f1)、10%メタノール/ジクロロメタン(400ml、f2)および100%メタノール(200ml、f3)で抽出した。生成物の酢酸7-アセトキシ-5-ヒドロキシメチル-2-オキソ-ヘキサヒドロ-フロ[3,2-b]ピラン-6-イルエステルは、f2に見出された(2.29g、72%)。

【0072】

この化合物(2.11g、7.33mmol)をジクロロメタン(40ml)およびピリジン(0.70g)に溶解し、混合物を0°に冷却し、その上で酸塩化リン(1.1eq、1.4g)を乾燥窒素空気下で攪拌しながら滴下添加した。混合物を室温に温め、6時間攪拌した。混合物を濾過し、減圧下で乾燥するまで蒸発させた。残渣をアセトンと水の1:1混合物(50ml)に溶解し、45-50°で2時間維持した。乾燥するまで蒸発させた後、残渣を50mlのエタノールから蒸発させた。この物質を、ナトリウムメトキシド(~5eq、2.0g)を含有する水(50ml)の中で室温で一夜攪拌し、その後、強い陽イオン交換樹脂(Dowex 50 H⁺形態)で処理してナトリウムイオンを除去した。イオン交換樹脂を濾去し、濾過物を減圧下で乾燥させ、残渣をエタノール(50ml)から蒸発させた。次いでこの物質を最小限の水に溶解し、エタノール(300ml)中の酢酸ナトリウム(0.9g)溶液に滴下添加した。生じた沈殿を遠心分離によってペレットにし、エタノールをデカンタで除き、固体をジエチルエーテル(2×100ml)で洗浄し、乾燥させて(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-酢酸モノナトリウム塩(2.26g、95%)を得た。¹Hnmr(500MHz, D₂O): 2.48-2.62 (m, 2H), 2.88 (dd, J = 4.0, 17.5Hz, 1H), 3.41-3.46 (m, 1H), 3.50-3.60 (m, 2H), 3.95-4.04 (m, 1H); ESMS (-ve) 301 (M-H)。

【0073】

実施例3

リン酸モノ-(6-アリル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステル(式I; R = -CH₂CH=CH₂)およびリン酸モノ-(6-プロピル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステル(式I; R = -(CH₂)₂CH₃)の調製

Giannis と Sandhoff (Tetrahedron Letters, 1985, 26, 1479-1482; 出展明示により本明細書の一部とする) の方法で調製した 2 - アリル - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロピラン - 3,4,5 - トリオール (962 mg, 4.72 mmol) を、ピリジン (10 ml) に溶解した。この溶液に塩化トリチル (2.6 g, 9.4 mmol) を添加し、混合物を 24 時間 40 °で攪拌した。無水酢酸 (2.0 ml, 21 mmol) を添加し、混合物をさらに 18 時間攪拌し、その上で氷冷水 (50 ml) に注ぎ、これをクロロホルム (3 × 50 ml) で抽出した。合わせたクロロホルム抽出物を水 (50 ml) で洗浄し、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で乾燥させた。残渣をシリカゲル (0.06 3 - 0.2 mm) カラム (2 × 40 cm) 上でクロマトグラフィーし、石油スピリット (bp 60 - 80 °) : 酢酸エチル (4 : 1) で抽出し、酢酸 4,5 - ジアセトキシ - 6 - アリル - 2 - トリチルオキシメチル - テトラヒドロピラン - 3 - イルエステル (1.9 g, 70 %) を得た。
10

【0074】

この化合物 (1.9 g, 3.32 mmol) と乾燥塩化鉄 (1.2 g) を室温でジクロロメタン (25 ml) 中で 2 時間攪拌した。反応混合物に水を添加し、これをクロロホルム (3 × 50 ml) で抽出した。合わせたクロロホルム抽出物を水 (50 ml) で洗浄し、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で乾燥するまで蒸発させた。残渣をシリカゲル (0.063 - 0.2 mm) カラム (2 × 30 cm) 上でクロマトグラフィーし、石油スピリット (bp 60 - 80 °) : 酢酸エチル (1 : 1) で抽出し、酢酸 4,5 - ジアセトキシ - 6 - アリル - 2 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロピラン - 3 - イルエステル (9 20 00 mg, 82 %) を得た。この化合物 (900 mg, 2.23 mmol) とピリジン (237 mg, 3.0 mmol) をトルエン (15 ml) に溶解し、窒素空気下、0 °で、この溶液に酸塩化リン (460 mg, 2.9 mmol) を攪拌しながら滴下添加した。添加後、混合物を室温にし、2 時間攪拌した。反応物を濾過し、乾燥するまで減圧下で蒸発させた。残渣をアセトン (10 ml) と水 (10 ml) の 1 : 1 混合物に溶解し、50 ないし 60 °に 2 時間加熱した。混合物を減圧下で乾燥させ、エタノール、メタノールおよびアセトン (25 ml) から各々 1 度残渣を蒸発させ、酢酸 4,5 - ジアセトキシ - 6 - アリル - 2 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 3 - イルエステル (85 1 mg, 76 %) を得た。
30

【0075】

この化合物 (851 mg, 2.08 mmol) をメタノール (10 ml) に溶解し、これにメタノール (5 ml) 中のナトリウムメトキシド (247 mg, 4.57 mmol) を添加し、混合物を 2 時間室温で攪拌した。混合物を減圧下で乾燥させ、残渣を水 (10 ml) に溶解し、陽イオン交換樹脂 (Dowex 50 H⁺ 形態) で処理してナトリウムイオンを除去した。濾過後、混合物を乾燥させ、リン酸モノ - (6 - アリル - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) エステル (580 mg, 98.5 %) を得た。この化合物 (580 mg, 2.04 mmol) を水 (1.0 ml) に溶解し、メタノール (5 ml) 中の酢酸ナトリウム (168 mg, 2.05 mmol) を添加した。さらなる量の水 (1.0 ml) を添加し、生じた混合物をエタノール (50 ml) に攪拌しながら滴下添加した。生じた沈殿を遠心分離により単離し、リン酸モノ - (6 - アリル - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) エステルモノナトリウム塩 (480 mg, 76.3 %) を得た。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 2.16-2.30 (m, 1H), 2.34-2.48 (m, 1H), 3.46-3.54 (m, 1H) 3.62-3.94 (m, 6H), 4.95-5.08 (m, 2H), 5.62-5.76 (m, 1H); ESMS (-ve) 283 (M-H)。
40

【0076】

この化合物 (284 mg, 1 mmol) をメタノール (25 ml) に溶解し、炭上の 10 % パラジウムの存在下、水素空気下で水素の取り込みが止まるまで攪拌した。触媒を濾過により除去し、濾過物を減圧下で乾燥させ、リン酸モノ - (6 - プロピル - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) エステル (定量的 (quantitative)) を得た。この化合物から、上記アリル化合物と類似の方法で、リン酸モノ - (6 - 50

プロピル - 3, 4, 5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) エステルモノナトリウム塩 (79%)、ESMS (-ve) 285 (M-H) を調製した。

【0077】

実施例 4

リン酸モノ - (3, 4, 5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) エステル (式 I ; R = H) モノナトリウム塩

無水トルエン (75 ml) 中の 2, 3, 4, 6 - テトラ - O - アセチル - D - マンノピラノシル臭化物 (3.96 g, 9.64 mmol; Levene と Tipson の方法 (Levene, P.A. and Tipson, R.S., (1931) *Journal of Biological Chemistry*, vol 90, p 89-98. ; 出典明示により本明細書の一部とする) で調製した)、トリブチルスズ水素化物 (4.32 g, 1.3 eq) および AIBN (280 mg, 0.2 eq) の搅拌溶液を、80 °C に 2.5 時間加熱した。冷却の上、シリカ栓を通して反応混合物を濾過し、次いでそれをジクロロメタン (200 ml) 中の 20% メタノールで洗浄した。合わせた濾過物から溶媒を除去し、洗浄して粗生成物を得、それをフラッシュ (flash) シリカカラム (50 g, 3.5 × 60 cm) 上で精製し、100% 軽油 (500 ml) f1 - 軽油中の 5% 酢酸エチル (500 ml) f2 - 軽油中の 10% 酢酸エチル (500 ml) f3, 4 - 軽油中の 25% 酢酸エチル (400 ml) f5 - 軽油中の 50% 酢酸エチル (400 ml) f6 - 100% 酢酸エチル (400 ml) f7 - ジクロロメタン中の 10% メタノール (400 ml) f8 で抽出した。4, 5 - ジアセトキシ - 2 - アセトキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 3 - イル酢酸エステルを f6 から単離した (3.16 g, 99%)。無水メタノール (40 ml) 中のこの化合物 (3.16 g, 9.52 mmol) の搅拌溶液に、ナトリウムメトキシド (101 mg) を添加した。反応を t1c でモニターし、完了したら溶媒を除去し、2 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 3, 4, 5 - トリオール (1.76 g) を得た。

【0078】

この化合物 (1.76 g, 8.54 mmol) を、上記実施例 3 の 2 - アリル - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロピラン - 3, 4, 5 - トリオールと類似の方法でトリチル化およびアセチル化し、4, 5 - ジアセトキシ - 2 - トリチルオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 3 - イル酢酸エステル (2.0 g, 35%) を得た。この化合物を急速真空 (rapid vacuum) シリカカラム (40 g, 7 × 13 cm) 上で精製し、100% 軽油 (700 ml) f1 - 軽油中の 5% 酢酸エチル (1000 ml) f2, 3 - 軽油中の 25% 酢酸エチル (700 ml) f4 - 100% 酢酸エチル (500 ml) f5 - ジクロロメタン中の 10% メタノール (500 ml) f6 で抽出した。生成物を f4 から単離した。この化合物を前記のように脱トリチル化し、4, 5 - ジアセトキシ - 2 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 3 - イル酢酸エステル (81%) を得た。前記のようにリン酸化し、4, 5 - ジアセトキシ - 2 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 3 - イル酢酸エステル (96%) を得た。

【0079】

この化合物 (980 mg, 2.65 mmol) をメタノール (20 ml) に溶解し、ナトリウムメトキシド (364 mg, 2.5 eq.) と室温で 1 時間搅拌した。混合物を乾燥するまで減圧下で蒸発させ、残渣を水 (20 ml) に溶解し、陽イオン交換カラムを通してこれを洗浄してナトリウムイオンを除去した。樹脂をさらなる水 (2 × 10 ml) で洗浄し、合わせた水の洗浄物を減圧下で乾燥させた。残渣を最小限の水に溶解し、酢酸ナトリウム (239 mg, 1.1 eq) のエタノール溶液 (100 ml) にゆっくりと添加した。生じた沈殿を遠心分離で集め、乾燥させてモノ - (3, 4, 5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) リン酸エステルモノナトリウム塩 (500 mg, 71%) を得た。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 3.25 (ddd, J = 1.5, 5.5, 9.5Hz, 1H), 3.47-3.54 (m, 3H), 3.78 (dd, J = 2.0, 12.5Hz, 1H), 3.81-3.85 (m, 1H), 3.86 (dd, J = 5.5, 11.5Hz, 1H), 3.95 (ddd, J = 2.0, 5.5, 12.0Hz, 1H); ESMS (-ve) 243 (M-H)。

【0080】

10

20

30

40

50

実施例 5 6 - シアノ - 3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) リン酸エステル (式 I ; R = CN) およびそのジナトリウム塩の調製
 ニトロメタン (50 ml) 中の 2 , 3 , 4 , 6 - テトラ - O - アセチル - D - マンノピラノシル臭化物 (9.28 g, 22.6 mmol) (上記実施例 4 に記載の通りに調製した) 搅拌溶液に、シアン化水銀 (5.81 g, 1.0 eq) を添加した。反応混合物を 10℃ でモニターし、2 日後にセライト (celite) を通して濾過し、セライトをニトロメタン (2 × 30 ml) で洗浄し、溶媒を除去した。残渣をクロロホルム (60 ml) に取り、臭化ナトリウム溶液 (1 M, 3 × 20 ml)、水 (30 ml) で洗浄し、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、溶媒を減圧下で除去した。残渣をフラッシュシリカカラム (50 g, 3.5 × 60 cm) で精製し、100% 軽油 (300 ml) - 軽油中の 10% 酢酸エチル (400 ml) f1 - 軽油中の 25% 酢酸エチル (400 ml) f2、3 - 軽油中の 50% 酢酸エチル (400 ml) f4 - 100% 酢酸エチル (400 ml) f5 - ジクロロメタン中の 20% メタノール (400 ml) f6 で抽出した。4,5 - ジアセトキシ - 2 - アセトキシメチル - 6 - シアノ - テトラヒドロ - ピラン - 3 - イル酢酸エステルを f3 (2.53 g, 31%) から単離した。

【0081】

無水メタノール (35 ml) 中のこの化合物 (2.17 g, 6.1 mmol) の搅拌溶液に、ナトリウムメトキシド (46 mg) を添加した。反応を 10℃ でモニターし、完了したら溶媒を除去し、3,4,5 - トリヒドロキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - カルボニトリル (1.38 g, 79%) を得た。この化合物 (1.38 g, 6.77 mmol) を上記実施例 3 に記載のようにトリチル化、アセチル化、脱トリチル化、リン酸化および脱アセチル化し、6 - シアノ - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルリン酸エステルを得、これをジナトリウム塩に変換し、6 - シアノ - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルリン酸エステルジナトリウム塩 (72%) を得た。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 3.56-3.65 (m, 1H), 3.70-3.96 (m, 3H), 4.00-4.16 (m, 2H), 4.21-4.30 (m, 1H); ESMS (-ve) 268 (M-H)。

【0082】

実施例 6 6 - フェニル - (式 I ; R = - C₆H₅)、6 - (4' - メトキシフェニル) - (式 I ; R = - C₆H₄OCH₃)、6 - (2' - ピリジル) - (式 I ; R = 2 - ピリジル)、6 - ペンチル - (式 I ; R = - (CH₂)₄CH₃) および 6 - フェニルエチル - (式 I ; R = - CH₂CH₂Ph) 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルリン酸エステルおよびそれらのナトリウム塩の調製
 6 - フェニル - 2 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 3,4,5 - トリオールを、出典明示により本明細書の一部とする Hurd と Holysz (Hurd, C.D. and Holysz, R.P., (1950). Reactions of polyacylglycosyl halides with Grignard reagents. J. Am. Chem Soc., 1950, vol 72, 1732-1738) の方法に従って 2,3,4,6 - テトラ - O - アセチル - D - マンノピラノシル臭化物から調製した。この化合物 (2.4 g, 10 mmol) を、実施例 3 で 2 - アリル - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロピラン - 3,4,5 - トリオールについて記載したのと同じ方法で、トリチル化、アセチル化し、酢酸 4,5 - ジアセトキシ - 6 - フェニル - 2 - トリチルオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 3 - イルエステル (3.1 g, 64%) を得た。この化合物を、上記実施例 3 で酢酸 4,5 - ジアセトキシ - 6 - アリル - 2 - トリチルオキシメチル - テトラヒドロピラン - 3 - イルエステルについて記載したように脱トリチル化、リン酸化および脱アセチル化し、6 - フェニル - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルリン酸エステル (22% 全収率) ESMS (-ve) 319 (M - H) を得た。

【0083】

類似の方法で以下のものが作成された:

6 - (4' - メトキシフェニル) - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン -

2 - イルメチルリン酸エステル (18% 全収率) ESMS (-ve) 349 (M - H)

6 - (2' - ピリジル) - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル

10

20

30

40

50

メチルリン酸エステル(11%全収率)

6-(2'-フェネチル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチルリン酸エステル(19%全収率) ESMS(-ve) 347(M-H)

6-ペンチル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチルリン酸エステル(40%全収率) ESMS(-ve) 313(M-H)。

【0084】

これらのエステルのモノナトリウム塩は、リン酸塩の濃縮エタノール溶液を1.2当量の無水酢酸ナトリウムで処理することにより容易に調製され、その上で所望の塩を沈殿させ、少量のエタノールで洗浄し、乾燥させて以下のものを得た：

6-フェニル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチルリン酸エステルナトリウム塩(89%)。¹Hnmr(500MHz, D₂O): 3.42-3.50(m, 1H), 3.58-3.61(m, 1H), 3.77-3.80(m, 1H) 3.89-3.94(m, 1H), 3.97-4.01(m, 1H), 4.43-4.44(m, 1H), 4.91-4.92(m, 1H), 7.23-7.30(m, 5H); ESMS(-ve) 319(M-H)。 10

6-(4'-メトキシフェニル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチルリン酸エステルナトリウム塩(67%)。¹Hnmr(500MHz, D₂O): 3.42-3.48(m, 1H), 3.60-3.65(m, 1H), 3.67(s, CH₃), 3.77-3.80(m, 1H), 3.85-3.88(m, 1H), 3.97-4.05(m, 1H), 4.38-4.42(m, 1H), 4.85(d, J = 3.0Hz, 1H), 6.84-6.90(m, 2H), 7.22-7.27(m, 2H); ESMS(-ve) 349(M-H)。

【0085】

6-(2'-ピリジル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチルリン酸エステルナトリウム塩(91%) 20

6-(2'-フェネチル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチルリン酸エステルナトリウム塩(94%)、¹Hnmr(500MHz, D₂O): 1.58-1.67(m, 1H), 1.77-1.85(m, 1H), 2.45-2.60(m, 2H) 3.16-3.26(m, 2H), 3.34-3.38(m, 1H), 3.52-3.55(m, 1H), 3.64-3.77(m, 1H), 3.90-3.94(m, 1H), 4.02-4.06(m, 1H), 7.07-7.20(m, 5H); ESMS(-ve) 347(M-H)。

6-ペンチル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチルリン酸エステルナトリウム塩(58%)、¹Hnmr(500MHz, D₂O): 0.71-0.73(m, 3H), 1.10-1.25(m, 6H), 1.26-1.50(m, 2H), 3.40-3.61(m, 3H), 3.66-3.78(m, 2H), 3.84-3.92(m, 1H) 3.93-3.98(m, 1H); ESMS(-ve) 313(M-H)。 30

【0086】

実施例7 リン酸モノ-[3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロピラン-2-イル)-プロピル]エステル(式I; R = -(CH₂)₃-O-PO₃H₂)ジナトリウム塩の調製

Guo らによって記載された方法(Guo et al., 1997; 出典明示により本明細書の一部とする)の変法を使用して、DMF(1200ml)中のメチルマンノシド(52.4g、270mmol)の攪拌溶液に、ナトリウム水素化物(58g、~6eq.)をゆっくりと添加した。攪拌を継続し、~1時間後にテトラブチルアンモニウムヨウ化物(~0.1eq.、10.6g)を添加し、続いて塩化ベンジル(12eq.、373g、410ml)を添加した。60時間室温で攪拌した後、反応混合物をエタノール中の25%濃縮アンモニア溶液(1:3、300ml)に注ぎ、~2時間攪拌し、その後溶媒を減圧下で除去した。残渣をジエチルエーテル(3×700ml)で抽出し、合わせた抽出物を乾燥させ(硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣を軽油(800ml)に取り、約120gのシリカゲルをこの溶液に添加し、このスラリーをシリカゲル(250g)カラム(90×200mm)の上部に添加し、真空下で次のように抽出した: 100%軽油(2400ml、f1[800ml]、f2[1600ml])、10%酢酸エチル/軽油(1600ml、f3[800ml]、f4[800ml])、25%酢酸エチル/軽油(800ml、f5)および100%酢酸エチル(800ml、f6)。メチル2,3,4,6-テトラ-O-ベンジルマンノシドは、f3、4に見出された(82.76g)。f2/5からの純粋でない物質を類似の方法で再度クロマトグラフィーし、さらなる物質を得

40

Guo らによって記載された方法(Guo et al., 1997; 出典明示により本明細書の一部とする)の変法を使用して、DMF(1200ml)中のメチルマンノシド(52.4g、270mmol)の攪拌溶液に、ナトリウム水素化物(58g、~6eq.)をゆっくりと添加した。攪拌を継続し、~1時間後にテトラブチルアンモニウムヨウ化物(~0.1eq.、10.6g)を添加し、続いて塩化ベンジル(12eq.、373g、410ml)を添加した。60時間室温で攪拌した後、反応混合物をエタノール中の25%濃縮アンモニア溶液(1:3、300ml)に注ぎ、~2時間攪拌し、その後溶媒を減圧下で除去した。残渣をジエチルエーテル(3×700ml)で抽出し、合わせた抽出物を乾燥させ(硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣を軽油(800ml)に取り、約120gのシリカゲルをこの溶液に添加し、このスラリーをシリカゲル(250g)カラム(90×200mm)の上部に添加し、真空下で次のように抽出した: 100%軽油(2400ml、f1[800ml]、f2[1600ml])、10%酢酸エチル/軽油(1600ml、f3[800ml]、f4[800ml])、25%酢酸エチル/軽油(800ml、f5)および100%酢酸エチル(800ml、f6)。メチル2,3,4,6-テトラ-O-ベンジルマンノシドは、f3、4に見出された(82.76g)。f2/5からの純粋でない物質を類似の方法で再度クロマトグラフィーし、さらなる物質を得

50

(51.22 g)、合わせた収量は 133.98 g、90 % であった。

【0087】

Wong らによって記載された方法 (Wong et al., 1997; 出典明示により本明細書の一部とする) を使用して、アセトニトリル (250 ml) 中のメチル-2,3,4,6-テトラ-
O-ベンジルマンノシド (61.73 g, 111 mmol) 溶液に、0 で、窒素下でアリルトリメチルシラン (2 eq., 26.4 g, 37.0 ml) を添加し、続いてトリメチルシリルトリフラート (0.5 eq., 12.4 g, 10.1 ml) を添加した。反応混合物を一夜 4 に置き、その上で無水酢酸 (4 eq., 45.7 g, 42 ml) を添加し、2 時間攪拌した後、混合物を飽和重炭酸ナトリウム / ジエチルエーテル (1:1, 800 ml) に注いだ。有機層を除去し、飽和重炭酸ナトリウム溶液 (400 ml) で抽出した。合わせた水性層をジエチルエーテル (400 ml) で再度抽出した。有機層を合わせ、水 (400 ml) で洗浄し、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣を軽油 (400 ml) に取り、これに約 80 g のシリカゲルを添加し、スラリーをシリカゲル (200 g) のカラム (90 x 200 mm) の最上部に注いだ。次いでカラムを 100 % 軽油 (800 ml, f1)、10 % 酢酸エチル / 軽油 (1600 ml, f2 [800 ml], f3 [800 ml])、25 % 酢酸エチル / 軽油 (800 ml, f4)、100 % 酢酸エチル (800 ml, f5) および 10 % メタノール / ジクロロメタン (400 ml, f6) で真空抽出した。生成物の酢酸 6-アリル-3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-テトラヒドロピラン-2-イルメチルエステルは、f2、3、4 に見出された (52.10 g, 82 %)。 20

【0088】

メタノール (500 ml) 中のこの化合物 (83.36 g, 162 mmol) の攪拌溶液に、窒素空気下でナトリウムメトキシド (4.46 g) を添加した。反応混合物を 3 時間攪拌し、その後溶媒を除去した。残渣を水 : ジクロロメタン (300:500 ml) に取り、酸性化した (1 M HCl)。有機層を除去し、水性層をさらにジクロロメタン (300 ml) で抽出した。合わせた有機層を水 (300 ml) で洗浄し、乾燥させ、溶媒を除去し、(6-アリル-3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - メタノール (73.8 g, 96 %) を得た。この化合物 (5.02 g, 10.5 mmol) を乾燥テトラヒドロフラン (50 ml) に窒素下で 0 で溶解し、ボランのテトラヒドロフラン溶液 (~1.0 M, ~4 eq, 42 ml) を添加した。反応混合物を室温に温め、続いて薄層クロマトグラフィーを行った。完了したら、反応混合物を水性水酸化ナトリウム溶液 (1 M, 50 ml) に注ぎ、それに過炭酸ナトリウム (2.99 g, ~4 eq) を添加した。反応混合物を一夜攪拌し、ジエチルエーテル (3 x 100 ml) で抽出した。合わせた有機層を水 (100 ml) で洗浄し、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲル (~40 g) に吸収させ、シリカゲル (50 g) のカラム (70 x 140 mm) の最上部に添加した。次いでカラムを真空下で、100 % ジクロロメタン (800 ml, f1 [400 ml], f2 [400 ml])、2 % メタノール / ジクロロメタン (800 ml, f3 [400 ml], f4 [400 ml])、10 % メタノール / ジクロロメタン (800 ml, f5 [400 ml], f6 [400 ml]) および 100 % メタノール (400 ml, f7) で抽出した。生成物の 3-(3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-ヒドロキシメチル-テトラヒドロピラン-2-イル) - プロパン-1-オルは、f4 と 5 に見出された (4.21 g, 81 %)。 30

【0089】

この物質 (4.16 g, 8.46 mmol) をジクロロメタン (70 ml) に溶解し、窒素下で攪拌し、-10 に冷却した。トリエチルアミン (~20 eq, 17.1 g, 23.4 ml) を添加し、続いて酸塩化リン (~2.2 eq, 2.85 g, 1.70 ml) を添加した。5 時間攪拌し、室温に温めた後、水 / アセトン (1:1, 120 ml) を添加し、さらに 2 時間攪拌を継続した。水性層を分離し、ナトリウムメトキシドで塩基性化し (pH ~12)、ジクロロメタン (2 x 200 ml) で抽出し、次いで濃縮 HCl (pH ~2) で酸性化し、再度ジクロロメタン (2 x 200 ml) で抽出した。合わせた有機層を乾燥 40

させ（硫酸ナトリウム）、濾過し、減圧下で蒸発させ、純粹なリン酸モノ-[3-(3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピル]エステル（3.75g、68%）を得た。

【0090】

この物質（3.75g、5.75mmol）のメタノール（150ml）と蟻酸（1.5ml）の溶液に、炭上の10%パラジウム（~100mg）を添加した。次いで、この溶液を水素（55psi）空気下に置き、一夜震盪した。次いでセライトを通して反応混合物を濾過し、乾燥するまで減圧下で蒸発させ、最小限の量の水に溶解した残渣を、酢酸ナトリウム（1.02g、2.2eq）のエタノール溶液（150ml）に滴下添加した。生じた沈殿を遠心分離し、エタノールをデカンタで除き、残渣をジエチルエーテル（2×80ml）で洗浄し、乾燥させて、リン酸モノ-[3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピル]エステルジナトリウム塩（1.24g、51%）を得た。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 1.10-1.20 (m, 2H), 1.44-1.82 (m, 2H), 3.02-3.12 (m, 1H) 3.17 (dd, J = 13.0, 25.0Hz, 2H), 3.52-3.64 (m, 1H), 3.70-3.90 (m, 2H), 3.91-4.00 (m, 1H), ESMS (-ve) 381 (M-H), 301 (M-PO₃H₂).

【0091】

実施例8 ヘキサン酸3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピルエステルモノナトリウム塩および（式I；R = C₆H₅）₃-O-CO(C₆H₅)₅CH₃の調製

6-アリル-3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-メタノール（実施例7で概説したように調製した）（51.1g、108mmol）を、ジクロロメタン（300ml）に溶解し、イミダゾール（~1.2eq.、9.36g）を添加し、続いてtert-ブチル-ジメチルシリル塩化物（18.3g、121mmol）を添加した。反応混合物を一夜攪拌し、次いで固体を濾去した。濾過物を水（2×250ml）で洗浄し、乾燥させ（硫酸ナトリウム）、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣を40-60軽油（200ml）に取り、これを~50gのシリカゲルに添加し、スラリーをシリカゲルカラム（90×200mm；150g）の最上部に添加した。次いでカラムを100%軽油（1200ml、f1[400ml]、f2[800ml]）、5%酢酸エチル/軽油（800ml、f3）、10%酢酸エチル/軽油（800ml、f4）、および100%酢酸エチル（400ml、f5）で真空抽出した。生成物の（6-アリル-3,4,5-ベンジルオキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメトキシ）-tert-ブチル-ジメチル-シランは、f2、3、4に見出された（52.10g、82%）。

【0092】

この物質（52.01g、88.5mmol）を窒素下で0に置いた乾燥テトラヒドロフラン（~500ml）に溶解し、それにボランのテトラヒドロフラン溶液（1.5M、~1.2eq、92ml）を添加した。反応混合物を室温に温め、続いて薄層クロマトグラフィーを行った。完了したら、反応混合物を水酸化ナトリウムの水性溶液（1M、400ml）に注ぎ、それに過炭酸ナトリウム（55.1g、~4eq）を添加した。反応混合物を7時間攪拌し、ジエチルエーテル（500mlおよび300ml）で抽出した。合わせた有機層を水（400ml）で洗浄し、乾燥させ（硫酸ナトリウム）、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をbp 40-60°の軽油（200ml）に取り、~50gのシリカゲルに添加し、このスラリーをシリカゲルカラム（90×200mm；150g）の最上部に添加した。次いでカラムを100%軽油（1600ml、f1）、5%酢酸エチル/軽油（800ml、f2）、10%酢酸エチル/軽油（800ml、f3）、25%酢酸エチル/軽油（800ml、f4）、100%酢酸エチル（800ml、f5）および10%メタノール/ジクロロメタン（800ml、f6）で真空抽出した。生成物の3-[3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-(tert-ブチル-ジメチルシリルオキシメチル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イル]-プロパン-1-オルをf5と6から単離した（41.58g、78%）。¹Hnmr (500MHz, CDCl₃): 0.04 (s, 3H), 0.04 (s, 3H)

), 0.88 (s, 9H), 1.58-1.70 (m, 4H), 3.56 (dd, J = 2.5, 5.5Hz, 1H), 3.59-3.67 (m, 2H), 3.71 (dt, J = 5.0, 5.5Hz, 1H), 3.77-3.84 (m, 3H), 3.88 (dd, J = 4.5, 10.0, 1H), 3.94-3.98 (m, 1H), 4.55-4.70 (m, 6H), 7.25-7.36 (m, 15H); ESMS (+ve) 607 (M+H), 629 (M+Na)。

【0093】

この化合物 (9.3 g、15.3 mmol) を窒素下に置いたジクロロメタン (50 ml) に溶解し、0 に冷却した。これに、トリエチルアミン (1.5 eq、2.3 g、3.2 ml)、D M A P (触媒量) および塩化ヘキサノイル (1.1 eq、2.28 g、2.4 ml) を添加した。反応混合物を室温に温め、薄層クロマトグラフィーでモニターした。完了したら、反応混合物を水に注ぎ、抽出した。次いで有機層を飽和重炭酸ナトリウム (50 ml) および水 (2 x 50 ml) で洗浄した。次いで有機層を乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣を 40 - 60 軽油 (100 ml) に取り、~10 g のシリカゲルに添加し、生じたスラリーをシリカゲル (50 g) のカラム (70 x 140 mm) の最上部に添加した。次いでカラムを 100 % 軽油 (400 ml, f1)、5 % 酢酸エチル / 軽油 (400 ml, f2)、10 % 酢酸エチル / 軽油 (400 ml, f3)、25 % 酢酸エチル / 軽油 (400 ml, f4)、100 % 酢酸エチル (400 ml, f5) および 10 % メタノール / ジクロロメタン (200 ml, f6) で真空抽出した。生成物のヘキサン酸 3 - [3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - (tert - プチル - ジメチルシラニルオキシメチル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル] - プロピルエステルは、f2 と 3 に見出された (9.79 g, 91 %)。

【0094】

この物質 (9.79 g、13.9 mmol) をテトラヒドロフラン (150 ml) に溶解し、窒素下で室温に置き、テトラブチルアンモニウムフッ化物 (2.1 eq、7.75 g) を添加した。反応を薄層クロマトグラフィーでモニターし、2 時間後に溶媒を除去した。残渣をジエチルエーテル (200 ml) に溶解し、水 (2 x 100 ml) で抽出し、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣を 40 - 60 軽油 (100 ml) に取り、~15 g のシリカゲルに添加し、生じたスラリーをシリカゲル (50 g) のカラム (7 x 140 mm) の最上部に添加した。次いでカラムを 100 % 軽油 (400 ml, f1)、10 % 酢酸エチル / 軽油 (400 ml, f2)、25 % 酢酸エチル / 軽油 (400 ml, f3)、50 % 酢酸エチル / 軽油 (400 ml, f4)、100 % 酢酸エチル (400 ml, f5) および 10 % メタノール / ジクロロメタン (200 ml, f6) で真空抽出した。生成物のヘキサン酸 3 - (3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - プロピルエステルは、f3 と 4 に見出された (7.70 g, 94 %)。

【0095】

この物質 (7.70 g、13.1 mmol) を窒素下に置いたジクロロメタン (50 ml) に溶解し、0 に冷却し、その上でトリエチルアミン (~2.2 eq、2.66 g、3.70 ml) を添加し、続いて酸塩化リン (1.3 eq、2.60 g、1.55 ml) を添加した。反応混合物を一夜攪拌しながら室温に温め、その後固体を濾去した。濾過した物質をジクロロメタン (5 x 10 ml) で洗浄し、濾過物と洗浄物を合わせ、乾燥させ、残渣を水 : アセトン (1 : 1、100 ml) に溶解し、3 時間 45 分で攪拌した。大部分のアセトンを減圧下で混合物から除去し、ジクロロメタン (150 ml) を添加した。水性層をさらにジクロロメタン (150 ml) で抽出し、有機抽出物を合わせ、水 (100 ml) で洗浄し、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させ、所望の生成物であるヘキサン酸 3 - (3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - プロピルエステル (8.61 g、98 %) を得た。この物質 (3.75 mmol) のメタノール (135 ml)、水 (15 ml) および蟻酸 (1.5 ml) の溶液に、炭上の 10 % パラジウム (~1.3 mg) を添加した。次いでこの溶液を水素 (55 psi) 空気下に置き、一夜震盪した。次いでセライトを通して反応混合物を濾過し、溶媒を除去し、最小限の量の水に溶解した残渣を、酢酸ナトリウム (1

10

20

30

40

50

.2 eq、1.27 g)のエタノール溶液(150ml)に滴下添加した。生じた沈殿を遠心分離し、エタノールをデカンタで除き、残渣をジエチルエーテル(2×100ml)で洗浄し、乾燥させ、ヘキサン酸3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピルエステルモノナトリウム塩(4.76g、87%)を得た。¹Hnmr(500MHz, D₂O): 0.66-0.78(m, 2H), 0.98-1.08(m, 2H), 1.08-1.22(m, 3H), 1.36-1.61(m, 2H) 2.18-2.30(m, 1H), 3.40-3.55(m, 3H), 3.57-3.95(m, 5H), 3.95-4.06(m, 1H); ESMS (-ve) 399(M-H), 301(M-C₆H₁₀O)。

【0096】

実施例9 リン酸モノ-[3,4,5-トリヒドロキシ-6-(3-ヒドロキシ-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステルモノナトリウム塩の調製
10
ヘキサン酸3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピルエステル(2.1g、5.25mmol)(実施例8で調製した)を、水(50ml)に溶解し、水性水酸化ナトリウム(1M、4eq、12ml)を添加し、40分間室温で攪拌し、その後溶液をDowex 50W X8 H⁺形態で酸性化した(pH~2)。溶液をジクロロメタン(2×100ml)で洗浄し、溶媒を除去した。次いで残渣を最小限の水に溶解し、エタノール(150ml)およびジエチルエーテル(50ml)中の酢酸ナトリウム(1.2eq、0.34g)の溶液に滴下添加した。生じた沈殿を遠心分離し、エタノールをデカンタで除き、残渣をジエチルエーテル(2×100ml)で洗浄し、乾燥させ、リン酸モノ-[3,4,5-トリヒドロキシ-6-(3-ヒドロキシ-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステルモノナトリウム塩(1.01g、63%)を得た。¹Hnmr(500MHz, D₂O): 1.35-1.46(m, 2H), 1.46-1.58(m, 1H), 1.62-1.72(m, 1H), 3.41-3.50(m, 3H) 3.56(t, J = 9.0Hz, 1H), 3.65-3.70(m, 1H), 3.71-3.79(m, 2H), 3.83-3.96(m, 2H); ESMS (-ve) 301(M-H)。

【0097】

実施例10 3-フェニル-2-[2-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-アセチルアミノ]-プロピオン酸モノナトリウム塩(式I; R = -CH₂-CO-NH-CH(CO₂H)CH₂Ph)の調製
Khan らによって記載された方法(Khan, et al., 1996; 出典明示により本明細書の一部とする)と類似の方法で、アセトニトリル(300ml)中のペンタ-O-アセチルマンノース(30.13g、77.3mmol)の攪拌溶液に、4でヒドラジン-水和物(1.2eq、4.65g、4.51ml)を添加した。反応混合物を冷蔵庫で~16時間4で維持し、その上で、フラッシュシリカゲル(20g)の上にセライト(25g)のあるカラム(40×90mm)を通して濾過し、次いでそれをジクロロメタン(300ml)で洗浄した。濾過物を合わせ、溶媒を減圧下で除去し、残渣をフラッシュシリカ(~30g)に吸収させた。これをフラッシュシリカ(50g)のカラム(70×140)の上に置き、10%酢酸エチル/軽油(400ml、f1)、50%酢酸エチル/軽油(2×600ml、f2と3)、100%酢酸エチル(400ml、f4)および25%メタノール/ジクロロメタン(400ml、f5)で抽出した。ほとんどの所望の生成物、酢酸3,5-ジアセトキシ-2-アセトキシメチル-6-ヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-4-イルエステル(26.89g、77.1mmol)は、f2に見出された。
30

【0098】

この化合物(26.83g、77.1mmol)を、Mata らによって記載された方法(Mata et al., 1992; 出典明示により本明細書の一部とする)に従って、アセトニトリル(200ml)中でメルドラム(Meldrum)の酸(2.1eq、23.9g)およびトリエチルアミン(2eq、15.6g、22.0ml)と、40-50で~60時間攪拌した。次いで、溶媒を除去し、酢酸/水(9:1、300ml)を残渣に添加し、次いで100で~3時間加熱した。溶媒を除去した後、残渣をジクロロメタン(300ml)に溶解し、水(2×300ml)で洗浄し、飽和重炭酸ナトリウム溶液(2×200ml)で抽出した。合わせた重炭酸層を注意深くHCl(5M、~pH=3)で酸性化し、静置すると固体が形成され、濾去して所望の化合物(3,4,5-トリアセトキシ-6-アセトキシメ
40

10

20

30

40

50

チル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - 酢酸 (10.73, 36%) を得た。¹Hnmr (500MHz, CDCl₃): 1.99 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.51 (dd, J = 5.0, 16.0Hz, 1H), 2.69 (dd, J = 8.0, 16.5Hz, 1H), 3.70 (ddd, J = 2.0, 5.5, 9.5Hz, 1H), 4.11, (dd, J = 2.5, 12.5Hz, 1H), 4.13 (dd, J = 5.5, 7.5Hz, 1H), 4.26 (dd, J = 5.5, 12.0Hz, 1H), 5.11 (dd, J = 3.5, 10.0Hz, 1H), 5.23 (t, J = 10.0Hz, 1H), 5.40 (d, J = 3.5Hz, 1H); ESMS (+ve) 413 (M+Na)。

【0099】

この化合物 (5.15 g, 13.3 mmol) を、ジクロロメタン (200 ml) に溶解し、これにフェニルアラニンメチルエステル塩酸塩 (1.1 eq, 3.15 g)、トリエチルアミン (2.3 eq, 3.2 g, 4.3 ml)、ヒドロキシスクシンイミド (1.1 eq, 1.69 g) およびジシクロヘキシカルボジイミド (1.6 eq, 4.72 g) を添加した。反応物を一夜攪拌し、濾過し、次いで水 (2 × 200 ml)、塩酸 (1M, 2 × 200 ml) および水 (2 × 200 ml) で抽出した。有機層を乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣を ~10 g のシリカゲルで吸収させ、シリカゲル (50 g) のカラム (70 × 140 mm) に置き、25% 軽油 / ジクロロメタン (400 ml, f1)、50% 軽油 / ジクロロメタン (800 ml, f2 [400 ml] & f3 [400 ml])、100% ジクロロメタン (800 ml, f4 [400 ml]、f5 [400 ml])、5% メタノール / ジクロロメタン (400 ml, f6)、10% メタノール / ジクロロメタン (400 ml, f7) および 100% メタノール (400 ml, f8) で抽出した。生成物は f6 に見出され、ジエチルエーテル (2 × 200 ml) に溶解し、不溶の反応副産物を濾去し、溶媒を除去し、3 - フェニル - 2 - [2 - (3,4,5 - トリアセトキシ - 6 - アセトキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - プロピオン酸メチルエステル (7.09 g, 97%) を得た。

【0100】

この化合物 (7.87 g, 14.3 mmol) を、無水メタノール (50 ml) に溶解し、ナトリウムメトキシド (550 mg) を添加した。反応に続いて薄層クロマトグラフィーを行い、1 時間後、Dowex 50W X8 H⁺ 形態イオン交換樹脂を添加し、さらに 30 分後、反応混合物を濾過し、溶媒を除去し、3 - フェニル - 2 - [2 - (3,4,5 - トリアセトキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - プロピオン酸メチルエステル (4.80 g, 88%) を得た。ピリジン (50 ml) 中のこの物質 (4.80 mg, 12.5 mmol) に、塩化トリチル (2.5 eq, 8.63 g) を添加し、混合物を 50 ml で一夜攪拌した。室温に冷却後、無水酢酸 (8 eq, 10.5 g) を添加し、混合物を 3 時間攪拌し、その上でそれを氷冷水 (200 ml) に添加し、ジクロロメタン (3 × 200 ml) で抽出した。有機相を乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させ、純粋でない 3 - フェニル - 2 - [2 - (3,4,5 - トリアセトキシ - 6 - トリチルオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - プロピオン酸を得た。

【0101】

この物質の全量を、ジクロロメタン (100 ml) 中で無水塩化鉄 (8.89 g) と室温で 1.5 時間攪拌し、その上で水 (100 ml) を添加し、混合物をクロロホルム (3 × 200 ml) で抽出した。有機抽出物を合わせ、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、濾過物を減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲル (0.063 - 0.2 mm) カラム (2 × 30 cm) 上で真空クロマトグラフィーし、10% 酢酸エチル / 軽油 (300 ml, f1)、100% ジクロロメタン (350 ml, f2)、10% メタノール / ジクロロメタン (350 ml, f3) および 100% メタノール (150 ml, f4) で抽出し、3 - フェニル - 2 - [2 - (3,4,5 - トリアセトキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - プロピオン酸メチルエステル (5.24 g, 82%) を得た。

【0102】

この化合物 (5.02 g, 9.86 mmol) をジクロロメタン (75 ml) およびピリジ

ン (0.86 g) に溶解し、混合物を0°に冷却し、その上で乾燥室素空気下で搅拌しながら酸塩化リン (2.2 eq、3.2 g) を滴下添加した。混合物を室温に温め、一夜搅拌した。混合物を濾過し、乾燥するまで減圧下で蒸発させた。残渣をアセトンと水の1:1混合物 (80 ml) に溶解し、45-50°で2時間維持した。乾燥するまで蒸発させた後、残渣を50 mlのエタノールから蒸発させた。ナトリウムメトキシド (4 eq、2.18 g) および水 (2 ml) を含有するメタノール (100 ml) 中で、この物質を室温で一夜搅拌し、その後それを強い陽イオン交換樹脂 (Dowex 50W H⁺ 形態) で処理してナトリウムイオンを除去した。イオン交換樹脂を濾去し、濾過物を減圧下で乾燥させ、残渣をエタノール (50 ml) から蒸発させ、メチル3-フェニル-2-[2-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-アセチルアミノ]-プロピオン酸を得た。 10

【0103】

次いでこの物質を最小限の水に溶解し、酢酸ナトリウム (7.4 g) のエタノール溶液 (500 ml) に滴下添加した。生じた沈殿を遠心分離でペレットにし、エタノールをデカントで除き、固体をジエチルエーテル (2 x 100 ml) で洗浄し、乾燥させ、3-フェニル-2-[2-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-アセチルアミノ]-プロピオン酸モノナトリウム塩 (2.19 g、47%)を得た。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 2.44-2.66 (m, 2H), 2.86 (dd, J = 4.0, 18.0Hz, 2H), 3.06-3.15 (m, 1H), 3.40-3.46 (m, 1H) 3.48-3.55 (m, 1H), 3.80-3.92 (m, 3H), 3.94-4.02 (m, 1H), 4.47 (dd, J = 1.5, 4.0Hz, 1H), 7.11-7.31 (m, 5H); 20 ESMS (-ve) 448 (M-H)。

【0104】

実施例11 リン酸モノ-[6-(3-ヘキシルオキシ-プロピル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステル (式I; R = - (CH₂)₃-O-(CH₂)₅CH₃ ナトリウム塩の調製 0、窒素空気下、DMF (10 ml) 中の60%ナトリウム水素化物 (320 mg、8 mmol) の懸濁液に、3-[3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-(tert-ブチル-ジメチル-シラニルオキシメチル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イル]-プロパン-1-オル (実施例8) (4 g、6.6 mmol) を添加した。10分後、ヨードヘキサン (1.2 ml、8 mmol) を添加し、生じた溶液を2時間搅拌した。溶媒を減圧下で除去し、油性の残渣に酢酸エチル (100 ml) を添加し、続いてそれを1M塩酸 (2 x 100 ml)、飽和重炭酸ナトリウム (2 x 100 ml) およびブライン (brine) (100 ml) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥するまで蒸発させた。残渣を急速真空シリカゲル (0.040-0.063 mm) カラム上で、軽油 (200 ml)、軽油中の5%酢酸エチル (200 ml)、軽油中の10%酢酸エチル (200 ml)、軽油中の25%酢酸エチル (4 x 200 ml) および軽油中の50%酢酸エチル (200 ml) で抽出して精製し、tert-ブチル-ジメチル[3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-(3-ヘキシルオキシ-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメトキシ]-シラン (シリカ1c、25% EtOAc / 軽油中でRf 0.68、ESMS (+ve) 713 (M+Na⁺) を油として得た (3.5 g、77% 収率)。 30 40

【0105】

この物質 (3.1 g、4.5 mmol) をTHF (20 ml) に溶解し、テトラブチルアンモニウムフッ化物 (2.3 g、9 mmol) を添加した。生じた溶液を一夜搅拌し、減圧下で溶媒を除去し、酢酸エチル (100 ml) を油性の残渣に添加し、続いてそれを1M塩酸 (2 x 100 ml) およびブライン (100 ml) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥するまで蒸発させた。残渣を急速真空シリカゲル (0.040-0.063 mm) カラム上で、軽油 (200 ml)、軽油中の5%酢酸エチル (200 ml)、軽油中の10%酢酸エチル (200 ml)、軽油中の25%酢酸エチル (200 ml)、軽油中の50%酢酸エチル (2 x 200 ml) および100%酢酸エチル (200 ml) で抽出して精製し、[3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-(3-ヘキシルオキシ-プロ

ピル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル] - メタノール (t _{1c} シリカゲル、25% E t O A c / 軽油中で R _f 0.31、E S M S (+ v e) 577 (M + H)、599 (M + N a)) を油として得た (2.2 g、85%)。

【 0106 】

この物質 (2.1 g、3.65 mmol) を乾燥ジクロロメタン (10 ml) およびトリエチルアミン (1 ml、7.29 mmol) に溶解し、混合物を 0 に冷却し、その上で酸塩化リン (0.424 ml、4.56 mmol) を窒素空気下で攪拌しながら滴下添加した。混合物を室温に温め、2時間攪拌した。溶媒を蒸発させ、残渣をエーテルで希釈し、遠心分離し、不溶の塩を除去した。上清を蒸発させ、アセトンと水の 1 : 1 混合物 (20 ml) に再溶解し、45-50 で 2 時間維持した。溶媒を減圧下で除去し、リン酸モノ - [3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - (3 - ヘキシリルオキシ - プロピル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル] エステル、E S M S (+ v e) 679 (M + N a)、(- v e) 655 (M - H)、691 (M + C1) を得た。

【 0107 】

この化合物をメタノール (100 ml) 中の 1% 蟻酸に溶解し、炭素上の 10% パラジウム (100 mg) を添加し、40 psi で一夜水素化した。セライトを通して混合物を濾過し、濾過物を乾燥するまで蒸発させ、リン酸モノ - [6 - (3 - ヘキシリルオキシ - プロピル) - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル] エステル、E S M S (+ v e) 387 (M + H)、409 (M + N a)、(- v e) 385 (M - H)) を得た。これから、水とエタノールの 1 : 1 溶液 (2 ml) にこの化合物を溶解し、この溶液をエタノールに溶解した酢酸ナトリウム (263 mg、3.2 mmol) (50 ml) に滴下添加することにより、モノナトリウム塩を調製した。生じた沈殿を遠心分離により単離し、リン酸モノ - [6 - (3 - ヘキシリルオキシ - プロピル) - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル] エステル、モノナトリウム塩を白色固体として (997 mg、71%) 得た。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 0.72 (t, J = 6.5 Hz, 3H), 1.11-1.20 (m, 6H), 1.38-1.48 (m, 4H), 1.57 (m, 1H), 1.69 (m, 1H), 3.35-3.42 (m, 4H), 3.49 (m, 1H), 3.59 (t, J = 9.5Hz, 1H), 3.68 (dd, J = 3.5, 9.5Hz, 1H), 3.74 (m, 1H), 3.78 (dd, J = 4.0, 10.5Hz, 1H), 3.89-3.93 (m, 2H)。

【 0108 】

実施例 12 リン酸モノ - [6 - (3 - プチリルアミノ - プロピル) - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル] エステル (式 I ; R = - (C H₂)₃ - N H - C O (C H₂)₂ C H₃ モノナトリウム塩の調製 3 - [3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - (tert - プチル - ジメチル - シラニルオキシメチル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル] - プロパン - 1 - オル (実施例 8 から) (2.2 g、3.6 mmol) およびトリエチルアミン (0.56 ml、4 mmol) を、乾燥ジクロロメタン (10 ml) に溶解し、窒素空気下で 0 に冷却した。この溶液に、メタンスルホン酸塩化物 (0.29 ml、3.8 mmol) を添加し、エーテル (40 ml) で希釈する前に、生じた混合物を 2 時間攪拌した。沈殿を遠心分離により除去し、上清を減圧下で蒸発させた。粗製のメシラート (mesylate) をジメチルホルムアミド (10 ml) に溶解し、アジ化ナトリウム (1.17 g、18 mmol) を添加し、混合物を 70 で一夜加熱した。混合物を冷却し、酢酸エチル (100 ml) で希釈し、1 M 塩酸 (2 x 100 ml)、飽和重炭酸ナトリウム (2 x 100 ml) およびブライン (100 ml) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥するまで蒸発させた。残渣を急速真空シリカゲル (0.040 - 0.063 mm) カラム上で、軽油 (200 ml)、軽油中の 5% 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 10% 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 25% 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 50% 酢酸エチル (2 x 200 ml) および 100% 酢酸エチル (200 ml) で抽出して精製し、3 - [3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - (tert - プチル - ジメチル - シラニルオキシメチル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル] - プロピルアジド (t _{1c} シリカゲル、25% E t O A c / 軽油中で R _f 0.80) を油として得た (2.05 g、90%)。

10

20

30

40

50

【0109】

乾燥エーテル (10 ml) に溶解したこの化合物 (3.4 g, 5.4 mmol) を、リチウムアルミニウム水素化物 (614 mg, 16.1 mmol) のエーテル懸濁液 (50 ml) に、0 度室素空気下で添加した。生じた溶液を室温に温め、2時間攪拌した。この反応の間に、シリル保護基も除去した。反応を 2 M 水酸化ナトリウム (5 ml) でクエンチし、水 (50 ml) で希釈し、エーテル (4 x 50 ml) で抽出した。合わせたエーテル状抽出物をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、蒸発させ、粗製の [6-(3-アミノ-プロピル)-3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イル]-メタノール、ESMS (+ve) 606 (M+H) を得た。

【0110】

この粗製の化合物を、テトラヒドロフラン (20 ml) 中で、BOP 試薬 (2.4 g, 5.4 mmol) で活性化した酪酸 (486 mg, 5.4 mmol) およびジイソプロピルエチルアミン (1.7 ml, 10 mmol) と反応させた。2時間後、減圧下で溶媒を除去し、油性の残渣に酢酸エチル (100 ml) を添加し、続いてそれを 1 M 塩酸 (2 x 100 ml)、飽和重炭酸ナトリウム (2 x 100 ml) およびブライン (100 ml) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥するまで蒸発させた。残渣を急速真空シリカゲル (0.040 - 0.063 mm) カラム上で、軽油 (200 ml)、軽油中の 5% 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 10% 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 25% 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 50% 酢酸エチル (200 ml) および 100% 酢酸エチル (3 x 200 ml) で抽出して精製し、N-[3-(3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-ヒドロキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピル]-ブチルアミド (t_{1c} シリカゲル、100% EtOAc 中で R_f 0.38、ESMS (+) 562 (M+H)、584 (M+Na)) を油として得た (1.9 g, 62%)。

【0111】

この化合物 (1.85 g, 3.3 mmol) を乾燥ジクロロメタン (10 ml) およびトリエチルアミン (585 μl, 4.2 mmol) に溶解し、混合物を 0 度に冷却し、その上で酸塩化リン (585 μl, 3.9 mmol) を室素空気下で攪拌しながら滴下添加した。混合物を室温に温め、2時間攪拌した。溶媒を蒸発させ、残渣をエーテルで希釈し、遠心分離し、不溶の塩を除去した。次いで上清を蒸発させ、アセトンと水の 1:1 混合物 (20 ml) に再溶解し、45-50 度で 2 時間維持した。溶媒を減圧下で除去し、リン酸モノ-[3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-(3-ブチリルアミノ-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステル、ESMS (+ve) 642 (M+H)、(-ve) 640 (M-H) を得た。

【0112】

この化合物をメタノール (100 ml) 中の 1% 蟻酸に溶解し、炭素上の 10% パラジウム (100 mg) を添加し、40 psi で一夜水素化した。セライトを通して混合物を濾過し、濾過物を乾燥するまで蒸発させ、リン酸モノ-[6-(3-ブチリルアミノ-プロピル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステル、ESMS (-ve) 370 (M-H) を得た。これから、水とエタノールの 1:1 溶液 (2 ml) にこの化合物を溶解し、この溶液をエタノール (50 ml) に溶解した酢酸ナトリウム (270 mg, 3.3 mmol) に滴下添加することにより、モノナトリウム塩を調製した。生じた沈殿を遠心分離により単離し、リン酸モノ-[6-(3-ヘキシリルオキシ-プロピル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステル、モノナトリウム塩を白色固体として (850 mg, 69%) 得た。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 0.74 (t, J = 7.5Hz, 3H), 1.32-1.54 (m, 4H), 1.66 (m, 2H), 2.06 (t, J = 7.5Hz, 2H), 3.08 (t, J = 5.8Hz, 2H), 3.32-3.92 (m, 7H)。

【0113】

実施例 13 2-[2-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-アセチルアミノ]-ペンタン二酸 (式 I; R = CH₂-CO-NH-CH(CO₂H)CH₂CH₂CO₂H) の調製

10

20

30

40

50

酢酸 6 - アリル - 3 , 4 , 5 - トリス - ベンジルオキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルエステル (実施例 7 から) (5 g 、 9 . 7 mmol) を、ジクロロメタン (50 ml) 、水 (50 ml) 、酢酸 (5 ml) および aliquat336 (1 ml) に溶解し、0 に冷却した。この溶液に、過マンガン酸カリウム (6 . 1 g 、 38 . 7 mmol) を激しく攪拌しながら分注 (portionwise) 添加し、生じた混合物を室温に温め、攪拌を一夜継続した。反応混合物を 0 に冷却し、亜硫酸ナトリウム (10 g) でクエンチし、5 M 塩酸 (50 ml) を添加し、混合物をジクロロメタン (4 × 50 ml) で抽出した。合わせた有機抽出物をブライン (100 ml) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、蒸発させた。残渣を急速真空シリカゲル (0 . 040 - 0 . 063 mm ; 100 g) カラム (70 × 200 mm) 上で、ジクロロメタン (200 ml) 、ジクロロメタン (中の 2 . 5 % メタノール 2 × 200 ml) 、ジクロロメタン中の 5 % メタノール (2 × 200 ml) 、ジクロロメタン中の 10 % メタノール (2 × 200 ml) 、ジクロロメタン中の 20 % メタノール (2 × 200 ml) で抽出して精製し、(6 - アセトキシメチル - 3 , 4 , 5 - トリス - ベンジルオキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - 酢酸 (tlc シリカゲル、10 % MeOH / DCM 中で Rf 0 . 6 、ESMS (- ve) 533 (M - H) 、569 (M + C 1))を得た。
10

【 0114 】

この化合物をメタノール (10 ml) 中のナトリウムメトキシド (1 . 3 g 、 24 mmol) と反応させ、(3 , 4 , 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - 酢酸 (tlc シリカゲル、10 % MeOH / DCM 中で Rf 0 . 5 、ESMS (- ve) 491 (M - H) 、527 (M + C 1)) を、油として得た (3 . 1 g 、 65 %)。
20

【 0115 】

この化合物 (3 g 、 6 mmol) 、BOP 試薬 (2 . 87 g 、 6 . 5 mmol) およびグルタミン酸のトシリル塩、ジベンジルエステル (4 g 、 8 mmol) をテトラヒドロフラン (20 ml) 中で合わせ、ジイソプロピルエチルアミン (3 . 5 ml 、 20 mmol) を添加した。4 時間後、減圧下で溶媒を除去し、油性の残渣に酢酸エチル (100 ml) を添加し、続いてこの混合物を 1 M 塩酸 (2 × 100 ml) 、飽和重炭酸ナトリウム (2 × 100 ml) およびブライン (100 ml) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥するまで蒸発させた。残渣を急速真空シリカゲル (0 . 040 - 0 . 063 mm ; 100 g) カラム (70 × 200 mm) 上で、軽油 (200 ml) 、軽油中の 10 % 酢酸エチル (200 ml) 、軽油中の 20 % 酢酸エチル (200 ml) 、軽油中の 30 % 酢酸エチル (200 ml) 、軽油中の 40 % 酢酸エチル (200 ml) 、軽油中の 50 % 酢酸エチル (4 × 200 ml) および 100 % 酢酸エチル (2 × 200 ml) で抽出して精製し、2 - [2 - (3 , 4 , 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - ペンタン二酸ジベンジルエステル (tlc シリカゲル、50 % EtOAc / 軽油 中で Rf 0 . 34 、ESMS (+ ve) 802 (M + H) 、824 (M + Na)) を、油として得た (1 . 4 g 、 29 %)。
30

【 0116 】

この化合物 (2 . 4 g 、 3 . 0 mmol) を乾燥ジクロロメタン (10 ml) およびトリエチルアミン (557 μl 、 4 mmol) に溶解し、混合物を 0 に冷却し、その上で酸塩化リン (307 μl 、 3 . 3 mmol) を窒素空気下で攪拌しながら滴下添加した。混合物を室温に温め、2 時間攪拌した。溶媒を蒸発させ、残渣をエーテルで希釈し、遠心分離して不溶の塩を除去した。次いで上清を蒸発させ、アセトンと水の 1 : 1 混合物 (20 ml) に再溶解し、45 - 50 で 2 時間維持した。減圧下で溶媒を除去し、2 - [2 - (3 , 4 , 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - ペンタン二酸ジベンジルエステル、ESMS (+ ve) 882 (M + H) を得た。この化合物を 1 % 蟻酸で 1 : 1 メタノールおよび水 (100 ml) に溶解し、炭素上の 10 % パラジウム (100 mg) を添加し、40 psi で一夜水素化した。セライトを通して混合物を濾過し、濾過物を乾燥するまで蒸発させ、2 -
40

[2 - (3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - ペンタン二酸、ESMS (-ve) 430 (M-H) を得た。

【 0117 】

これから、この化合物を水とエタノールの 1 : 1 溶液 (2 ml) に溶解し、この溶液をエタノール (50 ml) に溶解した酢酸ナトリウム (541 mg, 6.6 mmol) に滴下添加することにより、ジナトリウム塩を調製した。生じた沈殿を遠心分離により単離し、2 - [2 - (3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - ペンタン二酸、ジナトリウム塩を白色固体として得た (732 mg, 51%)。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 1.75 (m, 1H), 1.94 (m, 1H) 10, 2.13 (t, J = 8.0Hz, 2H), 2.52 (dd, J = 6.5, 15.0Hz, 1H), 2.64 (dd, J = 8.5, 15.0Hz, 1H), 3.54 (m, 1H), 3.64-3.73 (m, 2H), 3.76 (m, 1H), 3.85-3.97 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 4.21 (m, 1H)。

【 0118 】

類似の方法で以下のものを作成した：

(3 , 4 , 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - 酢酸 (2 g, 4.06 mmol) からの全収率で 300 mg (18%) のリン酸モノ - [3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - 6 - (フェネチルカルバモイル - メチル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル] エステル (式 I ; R = - CH₂ - CO - NH - CH₂ CH₂ Ph)。ESMS (-ve) 404 (M-H)。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 2.28 (dd, J = 5. 20, 14.5Hz, 1H), 2.53 (dd, J = 10.0, 14.5Hz, 1H), 2.68 (t, J = 7.0Hz), 3.33 (m, 2H), 3.42 (m, 1H), 3.58-3.67 (m, 3H), 3.77 (m, 1H), 3.86 (m, 1H), 4.11 (m, 1H), 7.13-7.16 (m, 3H), 7.21-7.25 (m, 2H)。

【 0119 】

実施例 14 リン酸モノ - [3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - 6 - (3 - { 3 - [3 - (3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - プロポキシ] - フエノキシ } - プロピル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル] エステル (式 I ; R = - (CH₂)₃ - O - C₆H₄ - O - (CH₂)₃ - Z、式中、Z は式 I のピラン部分である) の調製

3 - [3 , 4 , 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - (tert - プチル - ジメチル - シラニルオキシメチル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル] - プロパン - 1 - オル (実施例 8 で調製した) (5 g, 8.25 mmol) および四臭化炭素 (3.4 g, 10.3 mmol) を乾燥ジクロロメタンに溶解し、窒素雰囲気下で 0 に冷却した。この溶液に、トリフェニルホスフィン (3.25 g, 12.3 mmol) をほぼ等分で 10 分間かけて添加した。反応混合物を室温に温め、溶媒を減圧下で除去する前に攪拌を 1 時間継続した。粗製の残渣をエーテル (50 ml) で希釈し、続いてそれをデカンタして沈殿したトリフェニルホスフィン酸化物を残した。これを 2 回繰返し、合せたエーテル状の洗浄物を合せ、蒸発させ、残渣を急速真空シリカゲル (0.040 - 0.063 mm; 100 g) カラム (70 × 200 mm) で精製し、軽油 (200 ml)、軽油中の 2.5% 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 5% 酢酸エチル (2 × 200 ml)、軽油中の 20% 酢酸エチル (200 ml) および軽油中の 20% 酢酸エチル (200 ml) で抽出し、tert - プチル - ジメチル [3 , 4 , 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - (3 - プロモ - プロピル) - テトラヒドロピラン - 2 - イルメトキシ] - シラン (t_{lc} シリカゲル、10% EtOAc / 軽油中で R_f 0.42) を油として得た (4.3 g, 78%)。40

【 0120 】

この化合物 (1 g, 1.49 mmol) をジメチルホルムアミド (5 ml) 中でレゾルシノール (78 mg, 0.71 mmol) および炭酸カリウム (823 mg, 6 mmol) と合わせ、70 に 36 時間加熱した。反応混合物を酢酸エチル (100 ml) で希釈し、1 M 塩酸 (3 × 100 ml) およびブライン (100 ml) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、乾燥させた。残渣を急速真空シリカゲル (0.040 - 0.06 50) ml)

3 mm ; 100 g) カラム (70 × 200 mm) 上で、軽油 (200 ml)、軽油中の 5 % 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 10 % 酢酸エチル (2 × 200 ml)、軽油中の 25 % 酢酸エチル (2 × 200 ml)、軽油中の 50 % 酢酸エチル (200 ml) および 軽油中の 100 % 酢酸エチル (200 ml) で抽出して精製し、所望の二付加生成物 (t_{1c} シリカゲル、25 % EtOAc / 軽油中で R_f 0.78、ESMS (+ve) 1309 (M + Na⁺)) を、油として得た (830 mg、91 %)。

【0121】

この化合物をテトラヒドロフラン (5 ml) に溶解し、テトラブチルアンモニウムフッ化物 (666 mg、2.55 mmol) を添加した。生じた混合物を一夜室温で攪拌し、減圧下で溶媒を除去し、酢酸エチル (100 ml) を油性の残渣に添加し、続いてそれを 1 M 塩酸 (2 × 100 ml)、飽和重炭酸ナトリウム (2 × 100 ml)、およびブライン (100 ml) で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、乾燥するまで蒸発させた。残渣を急速真空シリカゲル (0.040 - 0.063 mm; 100 g) カラム (70 × 200 mm) 上で、軽油 (200 ml)、軽油中の 10 % 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 20 % 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 30 % 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 40 % 酢酸エチル (200 ml)、軽油中の 50 % 酢酸エチル (4 × 200 ml) および 100 % 酢酸エチル (2 × 100 ml) で抽出して精製し、[3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-(3-{3-[3-(3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-ヒドロキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロポキシ]-フェノキシ}-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イル]-メタノール (t_{1c} シリカゲル、50 % EtOAc / 軽油中で R_f 0.44、ESMS (+ve) 1081 (M + Na⁺)) を、油として得た (634 mg、94 %)。

【0122】

この化合物 (1.6 g、1.51 mmol) を乾燥ジクロロメタン (25 ml) およびトリエチルアミン (589 μl、4.23 mmol) に溶解し、混合物を 0 °C に冷却し、その上で酸塩化リン (351 μl、3.78 mmol) を窒素空気下で攪拌しながら滴下添加した。混合物を室温に温め、2時間攪拌した。溶媒を蒸発させ、残渣をエーテルで希釈し、遠心分離し、不溶の塩を除去した。次いで上清を蒸発させ、アセトンと水の 1 : 1 混合物 (20 ml) に再溶解し、45-50 °C で2時間維持した。溶媒を減圧下で除去し、リン酸モノ-[3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-(3-{3-[3-(3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロポキシ]-フェノキシ}-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル] エステル、ESMS (+ve) 1219 (M + H)、1241 (M + Na⁺) を得た。

【0123】

この化合物を 1 % 蟻酸で 1 : 1 のテトラヒドロフランと水 (100 ml) に溶解し、炭素上の 10 % パラジウム (100 mg) を添加し、40 psi で一夜水素化した。セライトを通して混合物を濾過し、濾過物を乾燥するまで蒸発させ、リン酸モノ-[3,4,5-トリヒドロキシ-6-(3-{3-[3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロポキシ]-フェノキシ}-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル] エステル、ESMS (-ve) 677 (M - H) を得た。

【0124】

これから、この化合物を水とエタノールの 1 : 1 溶液 (2 ml) に溶解し、エタノール (50 ml) に溶解した酢酸ナトリウム (269 mg、3.28 mmol) にこの溶液を滴下添加することにより、ジナトリウム塩を調製した。生じた沈殿を遠心分離により単離し、リン酸モノ-[3,4,5-トリヒドロキシ-6-(3-{3-[3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロポキシ]-フェノキシ}-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル] エステル、ジナトリウム塩を、白色固体として得た (850 mg、83 %)。¹Hnmr (500MHz, D₂O): 1.35-1.90 (m, 8H), 3.42-4.12 (m, 18H), 6.48 (s, 1H), 6.52 (d, J = 8.0Hz, 2

H), 7.15 (t, J = 8.0Hz, 1H)。

【0125】

実施例15 リン酸モノ- (6 - { 3 - [3,4 - ジヒドロキシ - 6 - ヒドロキシメチル - 5 - (3,4,5 - トリヒドロキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ] - プロピル } - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) エステル (式I ; R = - (CH₂)₃ - O - (1' - マルトシル) の調製

0 で乾燥ピリジン (400ml) 中の (6 - アリル - 3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - メタノールの攪拌溶液 (実施例7で調製した) (22.7g, 47.90mmol) に、ジフェニルホスフォリル塩化物 (20ml, 95.78mmol) を添加し、0 で1時間攪拌を継続した。混合物を徐々に室温に温め、攪拌をさらに1時間継続した。次いで水 (150ml) を添加し、混合物を減圧下で蒸発させた。残渣をクロロホルム (250ml) に溶解し、溶液を水 (100ml) 、5%塩酸 (2×100ml) 、飽和重炭酸ナトリウム (2×100ml) 、水 (100ml) で連続的に洗浄し、乾燥させ (硫酸ナトリウム) 、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲル (0.040 - 0.063mm) カラム (4×30cm) 上でクロマトグラフィーし、石油スピリット (bp 60 - 80°) : 酢酸エチル (3:2) で抽出し、リン酸6 - アリル - 3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルエステルジフェニルエステル (19.5g, 60%) 、t₁cシリカゲルR_f = 0.75 (酢酸エチル / ヘキサン = 2:3) を得た; ¹Hnmr (300MHz, CDCl₃): 2.29 (m, 3H), 3.62 (m, 1H), 3.77 (m, 2H), 3.88 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 4.41-4.63 (m, 8H), 5.00 (m, 2H), 5.72 (m, 1H), 7.12-7.15 (m, 25H)。

【0126】

この化合物 (10.02g, 15.8mmol) を0 で窒素下に置いた乾燥テトラヒドロフラン (~100ml) に溶解し、これをボランのテトラヒドロフラン溶液 (1.0M、~1.5eq、33ml) に添加した。反応混合物を室温に温め、続いて薄層クロマトグラフィーを行った。完了したら、反応混合物を水酸化ナトリウムの水性溶液 (1M、50ml) に注ぎ、それに過炭酸ナトリウム (12.4g、~4eq) を添加した。反応混合物を一夜攪拌し、ジエチルエーテル (2×100ml) で抽出した。合わせた有機層を水 (150ml) で洗浄し、乾燥させ (硫酸ナトリウム) 、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲル (0.040 - 0.063mm) カラム (4×30cm) 上でクロマトグラフィーし、酢酸エチルで抽出し、リン酸ジフェニルエステル3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - (3 - ヒドロキシ - プロピル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルエステル (5.8g, 56%) を得た。

【0127】

この化合物 (4.55g, 6.35mmol) 、テトラメチル尿素 (733mg, 6.31mmol) およびトリフルオロメタンスルホン酸銀 (1.62g, 6.31mmol) をジクロロメタン (150ml) 中、窒素下、分子篩 (4 、 5g) 上、1時間、室温で攪拌し、次いで -20 に冷却した。ヘプタ - O - アセチルマルトシル臭化物 (4.01g, 5.73mmol) (Malet et al., 1995 (出典明示により本明細書の一部とする) の一般的方法に類似の方法で調製した) のジクロロメタン溶液 (150ml) を滴下添加した。混合物を -20 で4時間攪拌し、次いで一夜放置して室温に到達させ、セライトを通して濾過した。濾過物を氷冷水に注ぎ、飽和重炭酸ナトリウム (100ml) 、水 (50ml) 、塩酸 (100ml) 、水 (50ml) 、飽和重炭酸ナトリウム (100ml) および水 (50ml) で連続的に洗浄した。有機相を乾燥させ (硫酸ナトリウム) 、濾過し、減圧下で蒸発させ、粗製のリン酸ジフェニルエステル3,4,5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - { 2 - [3,4 - ジアセトキシ - 6 - アセトキシメチル - 5 - (3,4,5 - トリアセトキシ - 6 - アセトキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ] - プロピル } - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルエステルを得た。

10

20

30

40

50

【0128】

この物質をメタノール(150ml)、水(5ml)および蟻酸(5ml)に溶解し、それに炭上の10%パラジウムを添加した。生じた溶液を水素下(55psi)で48時間震盪した。触媒を濾過により除去し、溶媒を減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲル(0.040-0.063mm)カラム(4×20cm)上でクロマトグラフィーし、酢酸エチル中の10%メタノールで抽出し、リン酸ジフェニルエステルモノ-(6-[2-[3,4-ジアセトキシ-6-アセトキシメチル-5-(3,4,5-トリアセトキシルオキシ-6-アセトキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イルオキシ)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルオキシ]-プロピル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステル(1.6g、26%全収率)を得た。R_f=0.5(酢酸エチル中の10%メタノール)；ESMS(+ve)1095(M+Na)。

【0129】

トリフルオロ酢酸と酢酸の1:1混合物(30ml)中のこの物質(1.6g、1.49mmol)の溶液を水素空気下(40psi)、活性化アダムス触媒(PTO₂(83%); 750mg、2.2mmol)の存在下で3時間震盪した。触媒を濾去し、溶媒を乾燥するまで減圧下で蒸発させ、リン酸モノ-(6-[2-[3,4-ジアセトキシ-6-アセトキシメチル-5-(3,4,5-トリアセトキシ-6-アセトキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イルオキシ)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルオキシ]-プロピル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステル(1.24g、90.5%)、ESMS(-ve)919(M-H)を得た。

【0130】

この物質をメタノール(50ml)および水(5ml)の中でナトリウムメトキシド(9eq)と8時間攪拌した。Dowex 50 X8 H⁺形態イオン交換樹脂でナトリウムイオンを除去した。イオン交換樹脂を濾去し、濾過物を減圧下で乾燥させた。残渣を水(3ml)に溶解し、これを酢酸ナトリウム(1.1eq)のエタノール溶液(50ml)に攪拌しながら滴下添加した。沈殿を濾去し、リン酸モノ-(6-[3-[3,4-ジヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-5-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イルオキシ)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルオキシ]-プロピル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステルモノナトリウム塩(675mg、80%)、¹Hnmr(300MHz, D₂O) 1.40-1.80(m, 4H), 3.10(m, 1H), 3.23(m, 1H), 3.37-4.10(m, 19H), 4.29(m, 1H), 5.20(m, 1H)；ESMS(-ve) 625(M-H)を得た。

【0131】

実施例16 リン酸モノ-(6-[2-[3,4-ジヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-5-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イルオキシ)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルオキシ]-エチル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステルモノナトリウム塩(式I；R=-CH₂-O-(1'-マルトシル)の調製

【0132】

ジクロロメタン(75ml)、水(75ml)および酢酸(15.6ml)中のリン酸6-アリル-3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチルエステルジフェニルエステル(実施例15で調製した)(10g、14.16mmol)に、Aliquat 336(0.93g)を添加し、反応容器を0℃に冷却し、過マンガン酸カリウム(8.3g、52.7mmol)を2回に分けて添加した。氷槽を除去し、反応を24時間室温で攪拌した。亜硫酸ナトリウム(9.31g、57.4mmol)を添加し、混合物を水(150ml)とジクロロメタン(200ml)との間に分配した。水性層をジクロロメタン(150ml)で抽出し、合わせた有機抽出物をブライン(200ml)で洗浄し、乾燥させ(硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲル(0.040-0.063mm)カラム(4×20cm)上でクロマトグラフィーし、酢酸エチル：メタノール(19:1)で抽出し、[3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-(ビ

10

20

30

40

50

ス - フエノキシ - ホスフォリルオキシメチル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル] - 酢酸 (9.6 g、93.8%)を得た。

【0133】

この化合物 (9.0 g、12.45 mmol) と BOP 試薬の (5.84 g、13.16 mmol) テトラヒドロフラン (50 ml) 中の搅拌溶液に、室温でジイソプロピルエチルアミン (2.62 ml、15.03 mmol) を添加した。生じた溶液を 5 分間搅拌し、次いでナトリウムボロ水素化物 (490 mg、12.9 mmol) を添加した。20 分間搅拌した後、溶媒を蒸発させ、残渣を酢酸エチル (300 ml) に取り、5% 塩酸 (2 x 100 ml)、飽和重炭酸ナトリウム (2 x 100 ml) およびブライン (100 ml) で洗浄し、乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、蒸発させた。残渣をシリカゲル (0.040 - 0.063 mm) カラム (4 x 20 cm) でクロマトグラフィーし、石油スピリット (bp 60 - 80°) : 酢酸エチル (1:1) で抽出し、リン酸ジフェニルエステル 3, 4, 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - (2 - ヒドロキシ - エチル) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルエステル (4.9 g、56%)、t_{1c} シリカゲル、R_f 0.42 (酢酸エチル / 石油スピリット bp 60 - 80、1:1) を得た。¹Hnmr (300MHz, CDCl₃): 1.65 (m, 1H), 1.98 (m, 1H), 3.50-3.80 (m, 5H), 4.00-4.30 (m, 3H), 4.45-4.68 (m, 6H), 4.85 (m, 1H), 7.00-7.70 (m, 25H); ESMS (+ve) 711 (M + H), 733 (M + Na)。

【0134】

この化合物 (3.64 g、5.13 mmol)、テトラメチル尿素 (600 mg、5.17 mmol) およびトリフルオロメタンスルホン酸銀 (1.32 g、5.14 mmol) をジクロロメタン (100 ml) に溶解し、窒素下、分子篩 (4、5 g) 上、1 時間、室温で搅拌し、次いで -20 に冷却した。この溶液にジクロロメタン (100 ml) 中のヘプタ - O - アセチルマルトシル臭化物 (実施例 15 で調製した) (5.82 g、5.14 mmol) を滴下添加した。混合物を -20 で 4 時間搅拌し、次いで一夜放置して室温に到達させ、セライトを通して濾過した。濾過物を氷冷水に注ぎ、飽和重炭酸ナトリウム (100 ml)、水 (50 ml)、塩酸 (100 ml)、水 (50 ml)、飽和重炭酸ナトリウム (100 ml)、および水 (50 ml) で連続的に洗浄した。生じた溶液を乾燥させ (硫酸ナトリウム)、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲル (0.040 - 0.063 mm) カラム (4 x 50 cm) 上でクロマトグラフィーし、石油スピリット (bp 60 - 80°) : 酢酸エチル (3:2) で抽出し、リン酸ジフェニルエステル 3, 4, 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - {2 - [3, 4 - ジアセトキシ - 6 - バセトキシメチル - 5 - (3, 4, 5 - トリアセトキシ - 6 - アセトキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ] - エチル} - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチルエステル (3.07 g、34%) を得た。

【0135】

この化合物を、実施例 15 のリン酸ジフェニルエステルモノ - (6 - {2 - [3, 4 - ジアセトキシ - 6 - アセトキシメチル - 5 - (3, 4, 5 - トリアセトキシルオキシ - 6 - アセトキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ] - プロピル} - 3, 4, 5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) エステルと類似の方法で処理して、リン酸モノ - (6 - {2 - [3, 4 - ジヒドロキシ - 6 - ヒドロキシメチル - 5 - (3, 4, 5 - トリヒドロキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ) - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルオキシ] - エチル} - 3, 4, 5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル) エステルモノナトリウム塩を得た (72% 全収率)。¹Hnmr (300 MHz, D₂O) 1.64-2.10 (m, 2H), 3.14 (m, 1H), 3.23 (m, 1H), 3.40-4.20 (m, 19H), 4.30 (m, 1H), 5.25 (m, 1H); ESMS (-ve) 611 (M-H)。

【0136】

実施例 17 3 - (2 - tert - プトキシカルボニルアミノ - 4 - メチル - ペンタノイルアミノ) - N - {2 - メチル - 1 - [3 - (3, 4, 5 - トリヒドロキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - プロピルカルバモイル] - プロピ

10

20

30

40

50

ル} - スクシンアミン酸、モノナトリウム塩の調製

[6 - (3 - アミノ - プロピル) - 3, 4, 5 - トリス - ベンジルオキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル] - メタノール(実施例12から)(3.8 g、6.3 mmol)を、テトラヒドロフラン(10 ml)中で、BOP試薬(2.8 g、6.3 mmol)で活性化したBoc - バリン(1.37 g、6.3 mmol)およびジイソプロピルエチルアミン(1.7 ml、10 mmol)と反応させた。2時間後、溶媒を減圧下で除去し、酢酸エチル(100 ml)を油性の残渣に添加し、続いて1M塩酸(2 × 100 ml)、飽和重炭酸ナトリウム(2 × 100 ml)およびブライン(100 ml)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥するまで蒸発させた。残渣を急速真空シリカゲル(0.040 - 0.063 mm; 100 g)カラム(70 × 200 mm)上で、軽油(200 ml)、軽油中の25%酢酸エチル(200 ml)、軽油中の50%酢酸エチル(2 × 200 ml)、軽油中の75%酢酸エチル(2 × 200 ml)、および100%酢酸エチル(2 × 100 ml)で抽出して精製し、{2 - メチル - 1 - [3 - (3, 4, 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - プロピルカルバモイル] - プロピル} - カルバミン酸tert - プチルエステル(tlcシリカゲル、50%EtOAc / 軽油中でRf 0.13、ESMS(+ve) 713(M+Na))を油として得た(2.4 g、54%)。

【0137】

この化合物(1.2 g、1.7 mmol)をトリフルオロ酢酸およびジクロロメタン(10 ml)の1:1混合物と1時間反応させ、Boc保護基を除去した。反応混合物を乾燥するまで蒸発させ、ジクロロメタン(20 ml)で希釈し、蒸発させてトリフルオロ酢酸のすべてのトレース(trace)を除去した。粗生成物を、BOP試薬(796 mg、1.8 mmol)で活性化したBoc - アスパラギン酸、ガンマ - ベンジルエステル(581 mg、1.8 mmol)およびジイソプロピルアミン(0.869 ml、5 mmol)と、テトラヒドロフラン(20 ml)中で反応させた。2時間後、溶媒を減圧下で除去し、酢酸エチル(100 ml)を油性の残渣に添加し、続いてそれを1M塩酸(2 × 100 ml)、飽和重炭酸ナトリウム(2 × 100 ml)およびブライン(100 ml)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥するまで蒸発させ、3 - tert - プトキシカルボニルアミノ - N - {2 - メチル - 1 - [3 - (3, 4, 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - プロピルカルバモイル] - プロピル} - スクシンアミン酸ベンジルエステル、ESMS(+ve) 896(M+H)を得た。

【0138】

この化合物(約1.7 mmol)をトリフルオロ酢酸およびジクロロメタン(10 ml)の1:1混合物と1時間反応させ、Boc保護基を除去した。反応混合物を乾燥するまで蒸発させ、ジクロロメタン(20 ml)で希釈し、蒸発させてトリフルオロ酢酸のすべてのトレースを除去した。粗生成物を、BOP試薬(796 mg、1.8 mmol)で活性化したBoc - ロイシン(448 mg、1.8 mmol)およびジイソプロピルアミン(0.869 ml、5 mmol)と、テトラヒドロフラン(20 ml)中で反応させた。2時間後、溶媒を減圧下で除去し、酢酸エチル(100 ml)を油性の残渣に添加し、続いてそれを1M塩酸(2 × 100 ml)、飽和重炭酸ナトリウム(2 × 100 ml)およびブライン(100 ml)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥するまで蒸発させた。残渣を急速真空シリカゲル(0.040 - 0.063 mm; 100 g)カラム(70 × 200 mm)上で、軽油(200 ml)、軽油中の25%酢酸エチル(200 ml)、軽油中の50%酢酸エチル(2 × 200 ml)、軽油中の75%酢酸エチル(2 × 200 ml)、および100%酢酸エチル(2 × 100 ml)で抽出し、3 - (2 - tert - プトキシカルボニルアミノ - 4 - メチル - ペンタノイルアミノ) - N - {2 - メチル - 1 - [3 - (3, 4, 5 - トリス - ベンジルオキシ - 6 - ヒドロキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - プロピルカルバモイル] - プロピル} - スクシンアミン酸ベンジルエステル(tlcシリカゲル、EtOAc中でRf 0.42、ESMS(+ve) 1009(M+H)、1031(M+Na))を、白色固体として得た(850 mg、2つの脱

10

20

30

40

50

保護およびカップリングの段階を合わせて 48%)。

【0139】

この化合物 (850 mg、0.84 mmol) を乾燥ジクロロメタン (10 ml) およびトリエチルアミン (0.557 ml、4 mmol) に溶解し、混合物を 0℃ に冷却し、その上で酸塩化リン (0.102 ml、1.1 mmol) を窒素空気下で搅拌しながら滴下添加した。混合物を室温に温め、2時間搅拌した。溶媒を蒸発させ、残渣をエーテルで希釈し、遠心分離して不溶の塩を除去した。次いで上清を蒸発させ、アセトンと水の 1:1 混合物 (20 ml) に再溶解し、45-50℃ で2時間維持した。溶媒を減圧下で除去し、3-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-4-メチル-ペニタノイルアミノ)-N-{2-メチル-1-[3-(3,4,5-トリス-ベンジルオキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピルカルバモイル]-プロピル}-スクシンアミン酸ベンジルエステル、ESMS (-ve) 1088 (M-H) を得た。

【0140】

この化合物を 1% 蟻酸でテトラヒドロフランと水の 1:1 混合物 (100 ml) に溶解し、炭素上の 10% パラジウム (100 mg) を添加し、40 psi で一夜水素化した。セライトを通して混合物を濾過し、濾過物を乾燥するまで蒸発させ、3-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-4-メチル-ペニタノイルアミノ)-N-{2-メチル-1-[3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピルカルバモイル]-プロピル}-スクシンアミン酸、ESMS (-ve) 728 (M-H) を得た。

【0141】

これから、この化合物を水とエタノールの 1:1 溶液 (2 ml) に溶解し、エタノール (50 ml) に溶解した酢酸ナトリウム (270 mg、3.3 mmol) にこの溶液を滴下添加することにより、モノナトリウム塩を調製した。生じた溶液を乾燥するまで蒸発させ、3-(2-tert-ブトキシカルボニルアミノ-4-メチル-ペニタノイルアミノ)-N-{2-メチル-1-[3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピルカルバモイル]-プロピル}-スクシンアミン酸、モノナトリウム塩を、白色固体として得た (490 mg、80%)。¹H NMR (500MHz, D₂O): 0.73-0.84 (m, 12H), 1.28 (s, 9H), 1.35-1.70 (m, 7H), 1.97 (m, 1H), 2.45-2.69 (m, 2H), 3.00-3.19 (m, 2H), 3.45-3.98 (m, 9H), 4.53 (m, 1H)。

【0142】

実施例 18 リン酸モノ-[3,4,5-トリヒドロキシ-6-(2-オキソ-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステル (式 I; R = CH₂COCH₃) の調製

(Rodrigues et al, 2000) により記載された方法の変法を使用して、蒸留水 (400 ml) に溶解した D-マンノース (18 g、100 mmol) の溶液に、重炭酸ナトリウム (12.6 g; 150 mmol) を添加した。2,4-ペンタンジオン (12.32 ml、120 mmol) を溶液に添加し、混合物を 90℃ で 12 時間搅拌した。その後、溶液をジクロロメタン (2 x 250 ml) で洗浄し、水性相を Dowex イオン交換樹脂 (50W-X8, H⁺ 形態) で pH が ~4 で安定するまで処理した。焼結ガラス漏斗を通して樹脂を濾去し、蒸留水 (2 x 500 ml) で洗浄した。合わせた濾過物および洗浄物を減圧下で蒸発させ、粗製の 1-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロパン-2-オン、ESMS (-ve) 219 (M-H) を得た。

【0143】

この物質 (10.9 g、49.5 mmol) をピリジン (200 ml) に溶解し、混合物を 0℃ に冷却し、搅拌しながら、乾燥窒素下で、トリフェニルメチル塩化物 (2.5 eq.、34.4 g) をゆっくりと添加した。反応混合物を 50℃ に温め、16 時間搅拌した。冷却後、無水酢酸 (47 ml) を添加し、溶液をさらに 60 分間 50℃ で搅拌した。次いで混合物を氷水 (200 ml) に注ぎ、溶液をジクロロメタン (3 x 200 ml) で抽出した。合わせた有機層を水 (200 ml)、飽和重炭酸ナトリウム (200 ml) および水

10

20

30

40

50

(200ml) で連続的に洗浄した。有機相を乾燥させ(硫酸ナトリウム)、濾過し、濾過物を減圧下で蒸発させ、酢酸-4,5-ジアセトキシ-6-(2-オキソ-プロピル)-2-トリチルオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-3-イルエステル、ESMS (+ve) 611 (M+Na)を得た。

【0144】

残渣をジクロロメタン(300ml)に溶解し、無水塩化鉄(7.8g)を添加した。室温で2時間攪拌した後、有機溶液を水(3×200ml)で洗浄した。有機層を乾燥させ(硫酸ナトリウム)、濾過し、濾過物減圧下で蒸発させた。残渣を40-60石油スピリット(xxm1)に取り、シリカゲル(0.040-0.063mm; 20g)を添加した。スラリーをシリカゲル(0.040-0.063mm; 100g)カラム(70×200mm)の最上部に添加し、真空により以下のように抽出した：石油スピリット(bp 40-60)(400ml、f1)、5%酢酸エチル/石油スピリット(400ml、f2)、10%酢酸エチル/石油スピリット(400ml、f3)、25%酢酸エチル/石油スピリット(400ml、f4)、50%酢酸エチル/石油スピリット(800ml、f5[400ml]、f6[400ml])、100%酢酸エチル(800ml、f7[400ml]、f8[400ml])、5%メタノール/ジクロロメタン(400ml、f9)、および10%メタノール/ジクロロメタン(400ml、f10)。酢酸-4,5-ジアセトキシ-2-ヒドロキシメチル-6-(2-オキソ-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-3-イルエステルは、f6-f8に見出された(3.1g、18%全収率)。ESMS (+ve) 369 (M+Na)。

10

20

【0145】

この化合物(630mg、1.82mmol)を、ジクロロメタン(20ml)およびトリエチルアミン(2eq、0.5ml)に溶解し、混合物を0℃に冷却し、その上で酸塩化リジン(0.7ml)を乾燥窒素空気下で攪拌しながら滴下添加した。混合物を室温に温め、一夜攪拌した。混合物を濾過し、乾燥するまで減圧下で蒸発させた。残渣をアセトンと水の1:1混合物(10ml)に溶解し、45-50℃で2時間維持した。乾燥するまで蒸発させた後、残渣を40mlのエタノールから蒸発させた。残渣を室温で1時間、ナトリウムメトキシド(約5eq、0.5g)を含有する水の中で攪拌し、その後Dowexイオン交換(50W-X8, H⁺形態)で処理してナトリウムイオンを除去した。焼結ガラス漏斗を通して樹脂を濾去し、蒸留水(2×5ml)で洗浄した。合わせて濾過物および洗浄物を減圧下で蒸発させ、残渣をエタノール(50ml)から蒸発させた。次いでこの物質を最小限の水に溶解し、酢酸ナトリウム(1.1eq、164mg)のエタノール溶液(40ml)に滴下添加した。生じた沈殿を遠心分離でペレットにし、エタノールをデカンタで除き、固体をジエチルエーテル(2×50ml)で洗浄し、乾燥させ、リン酸モノ-[3,4,5-トリヒドロキシ-6-(2-オキソ-プロピル)-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステルモノナトリウム塩(291mg、50%)を得た。

30

【0146】

実施例19 ラット脳内皮細胞層を通過するT-リンパ球遊走の阻害

6ないし8週齢のLewisラットから取ったラット脳毛細血管から、Risauらの方法(Risau, W., Engelhardt, B., and Wekerle, H., (1990). Journal of Cell Biology, vol 110, p 1757-1766, 出典明示により本明細書の一部とする)に従って血管内皮細胞を単離した。内皮細胞のコロニーを、星状膠細胞および周皮細胞から、Thy 1.1介在性補体溶解により、Risauらの方法(前出参照)の後にまた精製した。当分野で既知の方法に従い、20%ウシ胎児血清(FCS)、グルタミン、ピルビン酸塩、非必須アミノ酸、4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸バッファー(HEPES)、カナマイシン、アンフォテリシン、ヘパリン(すべてGibcoから)および150マイクログラム/mlの内皮成長添加物(Collaborative Biomedical products)を含む、高グルコース添加ダルベッコ最小必須培地(DMEM)中で、内皮コロニーを成長させた。

40

【0147】

コンフルエントに到達したら、内皮培養物をリン酸緩衝塩水(PBS)中の0.2%ED

50

T Aで洗浄し、トリプシン処理し(トリプシン - E D T A、0.1%終濃度、Gibco)、洗浄し、再び抗T h y 1.1抗体と共に40分間インキュベートし、洗浄し、全部のT h y 1.1+細胞を溶解するに足る補体(Behringwerke, AG, Marburg, Germany)と共に室温でインキュベートし、洗浄し、マトリゲル(matrigel)-被覆6.5mmトランスウェル(Transwells)、5mm孔サイズ(Corning Costar Corporation, Cambridge, MA)上に播種した。内皮細胞の特性と単層のコンフルエンスを、電気抵抗の測定(World Precision Instruments, New Haven, U.S.A., model EVOM-G)およびF I T C標識ファロイジンでの染色(Sigma)により検査した。

【0148】

本発明の物質のTリンパ球遊走に対する効果を調べるために、ミエリン塩基性タンパク質(M B P)特異的Tリンパ球細胞株を、Ben-Nunらの方法(Ben-Nun, A., Wekerle, H. and Cohen, I.R., (1981) The rapid isolation of clonable antigen-specific T lymphocyte lines capable of mediating autoimmune encephalomyelitis. European Journal of Immunology. 1981, 11(3), 195-199; 出典明示により本明細書の一部とする)に従って、フロイントの完全アジュバント中のM B Pで免疫したLewisラットのリンパ節から生成させた。これらの細胞を、正常Lewisラットから取った照射脾臓細胞または胸腺細胞に由来する抗原提示細胞の存在下での抗原(M B P)再刺激に続いて、I L - 2含有培地中でのその増殖の最初の4日間に、遊走研究に使用した。

【0149】

抗原活性化Tリンパ球をクロム酸ナトリウム(⁵¹Cr、37MBq/ml、Amersham, UK)で、30分間、37で、時折揺らしながら放射線標識し、次いでそれらを3回D M E M培養培地で洗浄し、トランスウェルの上部チャンバーに、5×10⁵個の細胞で、100マイクロリットルの遊走培地中に播種した。試験および対照物質を、上部ウェルに終濃度0.1、1および10mMで含めた。実験の進行を正確に測定するために、細胞遊走を光学顕微鏡でモニターした。実験を培養6時間後に停止させ、その上でメンブレンフィルターの下表面を100マイクロリットルの氷冷P B S中の0.2%E D T Aで2回リinzスし、ウェルの下部チャンバーの内容物に加えた。合わせた物質をシンチレーションバイアルに移し、各チューブの放射能をPackard Auto-Gamma 5650(IL, USA)ガンマカウンターで1分間計数することにより測定した。各試験および対照物質(グルコース6-リン酸)および非処置を、3重に評価した。

【0150】

典型的な実験からの結果を、表1に示す。負の対照(グルコース6-リン酸)の値は、非処置と統計的に異ならなかった。阻害値は、負の対照との比較である。

【表1】

試験物質 [10 mmol/L]	%阻害 ± SEM
エチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸エステル	70 ± 4
ペンチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸エステル	80 ± 4
リン酸モノ- (6-プロピル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル) エステル	64 ± 4
(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル) - 酢酸	32 ± 2
負の対照-グルコース 6-リン酸	0 ± 5

10

20

【0151】

実施例 20 リンパ組織へのリンパ球遊走の阻害

本実施例では、特定病原体不含の 6 - 8 週齢雌 Balb/C マウス [19 - 21 g] 由来の脾臓を使用して、ステンレススチール篩を通して押すことにより、混合リンパ球培養培地 (D M E M プラスグルコース、葉酸、L - アスパラギン、重炭酸ナトリウム、L - グルタミン、ピルビン酸ナトリウム、H E P E S、2 - メルカプトエタノール、ペニシリン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、および 2 % ウシ胎児血清) 中で、通常の方法で、単一細胞浮遊液を調製した。細胞収集に続き、塩化アンモニウム、E D T A および炭酸水素ナトリウムの溶液 (p H 7.3) で処理することにより、赤血球細胞を通常の方法で溶解し、調製物を染色した (Falcon 2350 細胞染色器)。細胞調製の全段階は、氷上で実施した。

30

【0152】

調製物から B リンパ球を無くすために、精製したラット抗マウス C D 4 5 / B 2 2 0 抗体 (RA3-6B2 clone; PharMingen, USA) に、細胞を 1 m l につき細胞 4×10^7 個の濃度で懸濁し、氷上で 20 分間インキュベートした。次いで等量の混合リンパ球培養培地 (上記) を添加し、細胞を遠心分離し ($200 \times g$)、1 m l につき細胞 1×10^7 個の濃度で、磁気ビーズに連結した BioMag ヤギ抗ラット I g G (H & L) (Bio Mag; Perseptive Diagnostics, Polysciences Inc, USA) 中に再懸濁した。氷上 20 分間のインキュベーションに続き、5 分ごとに揺すりながら、磁気分離 (Dynal MPC-6, Dynal, USA) を使用してヤギ抗ラット - I g G / 抗体複合体を除去した。磁気分離手順を 4 回繰返し、約 80 - 90 % の T リンパ球 (F A C S 分析で測定した) を含有する細胞集団を得た。

40

【0153】

次いで細胞をハンクス培地中で洗浄し、5 m l のハンクスに再懸濁し、30 分間、37 度、クロム酸ナトリウム溶液 (^{51}Cr 、34 M B q / m l, Amersham, UK) で放射線標識した。標識細胞を P B S 中で洗浄し、遠心分離し ($200 \times g$)、一部を 3×10^7 個の細胞 / m l の濃度で、P B S (負の対照) または試験化合物を含有する P B S (25 m g / m l) のいずれかに再懸濁し、氷上で保存した。負の対照および処置群の Balb/C マウスに 0.2 m l の容量の標識細胞調製物を側尾部静脈 (lateral tail vein) 注射により受容させた。負の対照のマウスには 6×10^6 個の ^{51}Cr クロム - 標識リンパ球と共に 0.2 % の P B S を受容させ、処置群のマウスには、6 百万個の ^{51}Cr クロム - 標識リンパ球と共に 5 m g の試験化合物の脈管用量を受容させた。手順の間ずっと、トリパンブルー排除

50

アッセイにより細胞生存率を確認した。全群のマウスの体重を合わせた (± 0.5 g) 。

【 0 1 5 4 】

レシピエントのマウスの脾臓を注射の 1.5 時間後に除去し、細胞に伴う放射活性 (C P M) をガムカウンター (Packard Auto-Gamma 5650. IL, USA) により測定した。結果 (脾臓へのリンパ球遊走の阻害) を、負の対照と比較した、処置動物からの脾臓の C P M における減少として表した。

【 0 1 5 5 】

試験した化合物および脾臓へのリンパ球遊走の阻害の程度を、表 2 に示す。

【表 2】

表 2 脾臓へのリンパ球遊走の (負の対照と比較した) 阻害割合

化合物	阻害割合
エチル (3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロピラン-2-イル) 酢酸ナトリウム塩	32.4
(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロピラン-2-イル) 酢酸ジナトリウム塩	85.5
6-シアノ-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロピラン-2-イルメチル) リン酸エステルジナトリウム塩	45.0
モノ- (3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロピラン-2-イルメチル) リン酸エステルモノナトリウム塩	68.0

10

20

30

40

【 0 1 5 6 】

実施例 2 1 インビボでのリンパ外組織への T リンパ球遊走の阻害

本実施例では、1週間前に塩化ピクリル (エタノール中 1 % 、腹部除毛領域の 1 cm² に適用) で過敏化させた特定病原体不含の 6 - 8 週齢雌 Balb/C マウス [19 - 21 g] 由来の脾臓を使用して、ステンレススチール筋を通して押すことにより、混合リンパ球培養培地 (D M E M プラスグルコース、葉酸、 L - アスパラギン、重炭酸ナトリウム、 L - グルタミン、ビルビン酸ナトリウム、 H E P E S 、 2 - メルカプトエタノール、ペニシリン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、および 2 % ウシ胎児血清) 中で、通常の方法で、単一細胞懸濁液を調製した。細胞収集に続き、塩化アンモニウム、 E D T A および炭酸水素ナトリウムの溶液 (pH 7.3) で、 4 度 2 分間処理することにより、赤血球細胞を溶解し、調製物を染色した (Falcon 2350 細胞染色器) 。細胞調製の全段階は、氷上で実施した。

【 0 1 5 7 】

調製物から B リンパ球を無くすために、精製したラット抗マウス C D 4 5 / B 2 2 0 抗体 (RA3-6B2 clone; PharMingen, USA) に、 1 m l につき細胞 4×10^7 個の濃度で細胞を懸濁し、氷上で 20 分間インキュベートした。次いで等量の混合リンパ球培養培地 (上記) を添加し、細胞を遠心分離し (200 \times g) 、磁気ビーズに連結した BioMag ヤギ抗ラット I g G (H & L) (Bio Mag; Perseptive Diagnostics, Polysciences Inc, USA) 中で、 1 m l につき細胞 1×10^7 個の濃度で再懸濁した。氷上 20 分間のインキュベーションに続き、 5 分ごとに揺すりながら、磁気分離 (Dynal MPC-6, Dynal, USA) を使用してヤギ抗ラット - I g G / 抗体複合体を除去した。磁気分離手順を 4 回繰返し、約 85 - 90 % の T リンパ球および 1 % 以下の B リンパ球 (F A C S 分析で測定した) を含有する

50

細胞集団を得た。

【0158】

次いで細胞をハンクス培地中で洗浄し、5 mlのハンクスに再懸濁し、30分間、37で、クロム酸ナトリウム溶液(⁵₁ Cr、34 MBq / ml、Amersham, UK)で放射線標識した。標識細胞をPBS中で洗浄し、遠心分離し(200×g)、3×10⁷個の細胞 / mlの濃度で、PBSに再懸濁した。レシピエントマウス(特定病原体不含の6-8週齢雌Balb/Cマウス[19-21g])を各々4匹のマウスからなる2群に分け、体重を合わせた(±0.5g)。静脈内に0.2%のPBSに懸濁した6×10⁶個のクロム-標識Tリンパ球懸濁液を受容させる直前に、静脈注射により、1つの群に0.2mlの正常塩水に溶解した試験化合物を注射し、1つの群に0.2mlの正常塩水を注射した。手順の間ずっと、トリパンブルー排除アッセイにより注射した細胞の生存率を確認した。注射された細胞がそこへ遊走するのを誘導するために、この手順の1時間前に、各群のマウスの右耳を塩化ピクリル(0.1%、エタノール中)で処理した。実験期間に依存して、試験化合物を注射すればする程、正の対照および塩水は遅い時点で与えることができると理解される。

【0159】

標識T細胞の移動から9ないし10時間後、致死的二酸化炭素吸入によりレシピエントのマウスを安樂死させ、それらの右耳と左耳を取り、耳の各々の細胞に伴う放射能(CPM)を、ガンマカウンター(Packard Auto-Gamma 5650. IL, USA)を使用して測定した。結果(右耳へのリンパ球遊走の阻害)を、負の対照の右耳と比較した、処置動物からの右耳のCPMにおける減少として表した。細胞の非特異的遊走の対照をとるために、各群の平均の決定に先立ち、左耳からの放射能値と同じ動物の右耳で得られたカウントから差し引いた。

【0160】

典型的な実験からの結果を表3に示す。

【表3】

表3 マウス1匹につき試験物質5mg	送達経路	T細胞遊走 の阻害割合
フェニルエチル(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロピラン-2-イル)-酢酸エステル	IV	26.1

【0161】

実施例22 インビボでのリンパ外組織へのTリンパ球遊走の臨床効果の妨害

実施例19で証明されたような、リンパ外組織へのTリンパ球遊走の阻害は、そのような細胞遊走を伴う臨床的徴候を改変し得る。そのような細胞遊走を伴う臨床的サインには、組織の膨張が含まれる。従って、炎症細胞がリンパ外組織に遊走すると、これらの組織は膨張および硬化をこうむる。そのような変化は、大体において、冒された組織における新しく到着した細胞の急速な蓄積に、直接的に起因する。

【0162】

本実施例では、本発明の化合物の抗炎症効果を測定するためのモデルとして、化学ハプテン2,4-ジニトロフルオロベンゼン(DNFB)(Aldrich Chemical Company Inc, USA)との皮膚接触に対するIV型過敏または遅延型過敏(DTH)反応のマウスモデルを使用した。特定病原体不含の8-12週齢雌Balb/Cマウス、体重19-21gを、DNFB溶液(アセトン:オリーブ油(4:1, v/v)中0.5%、30マイクロリットル)を腹部除毛領域の2cm²に適用することにより、Klimukらによって記載されたもの(K

Imuk et al., 1999) と類似の方法で過敏化させた。7日後、動物をジエチルエーテルで麻酔し、8マイクロリットルのDNFB(アセトン:オリーブ油(4:1、v/v)中0.35%)を、右耳介の背側および腹側表面に適用した。意識を回復するのに先立ち、正常塩水中にリン酸モノ-[6-(3-ヘキシルオキシ-プロピル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステル、ナトリウム塩を含有するAlzet 2001小型浸透性ポンプ(Alza Corp., Palo Alto CA, USA)をマウスに腹膜内移植した。送達される用量は、50mg/kg/日であった。この群の対照動物には、同一の小型浸透性ポンプ内で送達される塩水を受容させた。

【0163】

2番目のマウス実験群に、腹膜内に移植された1週間の送達のAlzet 2001小型浸透性ポンプを介して、リン酸モノ-[3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピル]エステルジナトリウム塩を受容させた。この化合物は、40mg/kg/日の用量で送達された。この群の対照動物には、同一の小型浸透性ポンプ内で送達される塩水を受容させた。3番目の実験では、別のマウス群に、腹膜内に置かれた1週間の送達のAlzet 2001小型浸透性ポンプを介して、(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-酢酸ジナトリウム塩を受容させた。この化合物は、45mg/kg/日の用量で送達された。この実験の対照群には、正常塩水を含有する同一の小型浸透性ポンプを受容させた。

【0164】

4番目の実験では、マウス群に、皮下に置かれた1週間の送達のAlzet 2001小型浸透性ポンプを介して、3-フェニル-2-[2-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-アセチルアミノ]-プロピオン酸モノナトリウム塩を受容させた。この化合物は、62mg/kg/日の用量で送達された。この実験の対照群には、正常塩水を含有する同一の小型浸透性ポンプを受容させた。5番目の実験では、マウス群に、皮下に置かれた1週間の送達のAlzet 2001小型浸透性ポンプを介して、ヘキサン酸3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピルエステルナトリウム塩を受容させた。この化合物は、40mg/kg/日の用量で送達された。この実験の対照群には、正常塩水を含有する同一の小型浸透性ポンプを受容させた。

【0165】

抗原投与の24時間後、マウスをジエチルエーテルで軽く麻酔し、ダイアルゲージマイクロメーター(Interapid, Switzerland)を使用して、左右の耳介の厚さを(ミリメーターで)測定した。耳の外側3分の2のみを測定するように注意を払った。DTT反応により開始された耳の厚さの増加を、右耳(抗原投与)の測定から左耳(非処置)の測定を差し引いて判定した。

【0166】

この実験から得られた結果を、表4に概説した。表4では、左および右と標識された列の値は、各々、対照および抗原投与の耳の厚さのミリメートルでの測定である。

表4

リン酸モノ-[6-(3-ヘキシルオキシ-プロピル)-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル]エステルナトリウム塩処置のDTTに対する効果
【表4】

10

20

30

40

対照				処置			
	左	右	差異		左	右	差異
1	0.22	0.37	0.15	1	0.22	0.3	0.08
2	0.2	0.27	0.07	2	0.22	0.32	0.1
3	0.2	0.3	0.1	3	0.2	0.25	0.05
4	0.21	0.34	0.13	4	0.22	0.25	0.03
5	0.22	0.26	0.04	5	0.21	0.26	0.05
平均			0.098				0.062

処置動物における耳膨張の平均減少割合 : 36.7%

10

【0167】

リン酸モノ - [3 - (3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - プロピル] エステルジナトリウム塩処置の DTH に対する効果

【表5】

対照				処置			
	左	右	差異		左	右	差異
1	0.22	0.31	0.09	1	0.21	0.28	0.07
2	0.21	0.31	0.10	2	0.22	0.25	0.03
3	0.21	0.30	0.09	3	0.21	0.23	0.02
4	0.21	0.24	0.03	4	0.22	0.28	0.06
5	0.21	0.33	0.12	5	0.21	0.33	0.12
平均			0.086				0.060

処置動物における耳膨張の平均減少割合 : 30%

20

【0168】

(3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - 酢酸ジナトリウム塩処置の DTH に対する効果

【表6】

対照				処置			
	左	右	差異		左	右	差異
1	0.2	0.29	0.09	1	0.21	0.27	0.06
2	0.21	0.29	0.08	2	0.22	0.27	0.05
3	0.22	0.3	0.08	3	0.21	0.24	0.03
4	0.22	0.29	0.07	4	0.22	0.29	0.07
5	0.21	0.25	0.04	5	0.21	0.26	0.05
6	0.22	0.29	0.07	6	0.23	0.26	0.03
7	0.21	0.23	0.02	7	0.21	0.26	0.05
8	0.21	0.28	0.07	8	0.21	0.27	0.06
9	0.22	0.32	0.1	9	0.21	0.24	0.03
10	0.22	0.28	0.06				
平均			0.068				0.048

30

処置動物における耳膨張の平均減少割合 : 29.4%

40

【0169】

3 - フェニル - 2 - [2 - (3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - プロピオン酸モノナトリウム塩処置の DTH に対する効果

【表7】

対照				処置			
	左	右	差異		左	右	差異
1	0.22	0.35	0.13	1	0.22	0.33	0.11
2	0.22	0.38	0.16	2	0.22	0.31	0.09
3	0.22	0.39	0.17	3	0.23	0.29	0.06
4	0.21	0.34	0.13	4	0.21	0.25	0.04
5	0.22	0.3	0.08	5	0.21	0.25	0.04
平均	0.134			0.068			

処置動物における耳膨張の平均減少割合 : 49.3%

10

【 0 1 7 0 】

ヘキサン酸 3 - (3 , 4 , 5 - トリヒドロキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - プロピルエステルナトリウム塩処置の D T H に対する効果

【 表 8 】

対照				処置			
	左	右	差異		左	右	差異
1	0.23	0.32	0.09	1	0.22	0.29	0.07
2	0.21	0.39	0.18	2	0.21	0.29	0.08
3	0.22	0.37	0.15	3	0.23	0.28	0.05
4	0.23	0.36	0.13	4	0.21	0.27	0.06
5	0.23	0.31	0.08	5	0.22	0.29	0.07
平均	0.126			0.066			

処置動物における耳膨張の平均減少割合 : 47.6%

20

【 0 1 7 1 】

実施例 2 3 中枢神経系の細胞介在性疾患の阻害

実験的自己免疫性脳脊髄炎 (E A E) は、多発性硬化症 (M S) への類似性を有する中枢神経系の炎症疾患である。それ故に、 E A E はこの疾患の動物モデルとしてしばしば使用され、これに対する多数の参考文献が医学および科学文献に見出され、なかんずく、 Patterson, 1976; Alvord 1984 and Steinman, 1983 ; 出典明示により本明細書の一部とする、が含まれる。 E A E の病理は、中枢神経系ニューロンの脱髓を伴う、脳と脊髄へのリンパ球と单球の流入に特徴付けられ (Raine et al., 1980 and Patterson et al., 1981; 出典明示により本明細書の一部とする) 、部分的または完全な麻痺、重篤な場合には死に至る。インビオで C D 4 + T リンパ球を除去すると E A E の誘導を阻害し (Waldor et al., 1985; 出典明示により本明細書の一部とする) 、そして C D 4 + T 細胞株またはコロニーのみが疾患を受動的に移せるので (Holda and Swborg, 1982 and Ben-Nun and Cohen, 1982; 出典明示により本明細書の一部とする) 、神経の抗原に特異的な C D 4 + T リンパ球は反応の開始因子であることが知られている。従って、疾患はその T リンパ球介在性と組織特異的性質により特徴付けられる。本発明の化合物は E A E アッセイで活性を示し、そして従って、本発明の 1 種またはそれ以上の化合物は、多発性硬化症または他の中枢神経系の細胞介在性疾患の処置に有用であり得る。

30

【 0 1 7 2 】

特定の組織への T リンパ球遊走に起因する疾患に対する本発明の物質のインビオでの効果を研究するために、受動的に E A E を移された Lewis ラットモデルで実験を実施した。ここで、実施例 8 に記載のように、 Ben-Nun et al. (1981) の方法に本質的に従って、フロイントの完全アジュバント中の M B P で免疫した Lewis ラットの流出リンパ節から、ミエリン塩基性タンパク質 (M B P) 特異的 T リンパ球細胞株を生成させた。従って、この方法では、ドナー T リンパ球は、体重 150 ないし 200 g の雌 10 ないし 12 週齢 Lewis ラットから生成された。これらのラットに、フロイントの完全アジュバント中のモルモットのミエリン塩基性タンパク質 (M B P ; Deibler et al., 1972; 出典明示により 40

40

50

本明細書の一部とする、の方法に従って調製した) の乳液 (0.05 ml) を各後足の肉球 (footpad) で皮内注射した。アジュバント乳液は、等量の軽鉱物油 (light mineral oil) (Sigma) と、モルモットのミエリン塩基性タンパク質 (0.5 mg / ml) および *Mycobacterium butyricum* (4 mg / ml; Difco) を含有する正常塩水との混合物を乳化して調製した。従って、ラット当りの総用量は、50マイクログラムのMBP および 400マイクログラムの *M. butyricum* であった。

【0173】

注射に続く約 11 日間、ラットを安樂死させ、鈍的 (blunt) 切開により流出リンパ節 (膝窩部および鼠蹊部) を無菌的に取出し、混合リンパ球培養培地に置いた。この培地は、グルコース、蟻酸、L-アスパラギン、重炭酸ナトリウム、L-グルタミン、ピルビン酸ナトリウム、HEPES、2-メルカプトエタノール (5×10^{-5} M)、ペニシリン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、および 2% ウシ胎児血清を添加したダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM; GIBCO, Grand Island, NY) から、通常の方法で調製した。ステンレススチール篩を通して節を穩かに押すことにより、通常の方法でリンパ節から単一細胞懸濁液を調製した。細胞を 2 回培養培地で洗浄し、この手順に続いて、塩化アンモニウム、EDTA および炭酸水素ナトリウムの溶液 (pH 7.3) で処理することにより、いかなる赤血球細胞も通常の方法で溶解させ、調製物を染色した (Falcon 2350 細胞染色器)。細胞を再びリンパ球培養培地で洗浄した。細胞調製の全段階は、氷上で実施した。

【0174】

これらの細胞は、72 時間 37 で、7.5% の二酸化炭素を含有する加湿した空气中で、1 ミリリットルにつき細胞 5 百万個の濃度で、MBP (0.06 mg / ml) の存在下で無菌的に培養した。細胞を収集し、Ficoll (Pharmacia, Uppsala, Sweden) 勾配上で遠心分離することにより、Ben Nun et al. (1981) に記載のものと同一の方法でリンパ芽球を単離した。90% のリンパ芽球を含有する画分を、成長因子を与えるためのコンカナバリン A で刺激したリンパ球の上清 15%、10% ウシ胎児血清、非必須アミノ酸 (Bio-Lab, Jerusalem, Israel); ピルビン酸ナトリウム、2-メルカプトエタノールおよび抗生物質を添加し、抗原添加のないイーグル培地で培養し増殖させた。細胞を細胞 20 万個 / ml の濃度で 100 mm のペトリ皿に播種し、3 または 4 日ごとに再播種した。Lewis レシピエントに移すのに先立ち、細胞を MBP (0.01 mg / ml) および放射した同系の胸腺細胞の存在下で 4 日間再刺激した。

【0175】

これらの細胞は、ナイーブ Lewis ラットに注射すると、500,000 個ほどの少ない細胞でも疾患を誘導する能力を有したので、非常に脳炎誘発性であった。従って、典型的な実験では、約 9 週齢、体重 110 ± 15 グラムの、5 匹の雌 Lewis ラットの群をジエチルエーテルで麻酔し、45 mg / kg / ラット / 日の速度で薬物を送達する濃度で正常塩水に溶解したリン酸モノ- (6-プロピル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル) エステルモノナトリウム塩を含有する小型浸透性ポンプ (Alzet 2002, Alza Corp., Palo Alto CA, USA) を移植した。2 番目の 5 匹の動物群、対照群には、エーテル麻酔下で、正常塩水を含有する Alzet 2002 ポンプを移植した。麻酔から回復する直前に、0.2 ml の正常塩水容量で側尾部静脈注射により、各動物に脳炎誘発性 T 細胞株の 500,000 個の細胞を受容させた。

【0176】

この実験の結果を表 5 に概説する。このように、対照群の全動物 (5 / 5) が臨床的疾患を発現したが、一方薬物処置した動物の 3 / 5 のみが疾患を発現し、これらでは重篤度が対照群で見られるよりも低く、疾患の発病が遅れた。このように、対照群の全ラットは疾患の臨床症状を 4 日目に発現し、この時には薬物処置ラットのいずれにも症状がない。疾患の重篤度を、以下のように 0 ないし 5 の範囲の任意重篤度スケールでスコア付けした: 0、兆候なし; 1、弛緩した尾の末端部半分; 2、尾全体が弛緩; 3、失調症、立直り反射 (righting reflex) の困難; 4、後足の弱さ; 5、後足の麻痺。塩水処置対照群の全動物が 2 日間続けて最大の臨床スコアを有したが、一方症状を発現した 3 匹の薬物処置動

10

20

30

40

50

物のいずれも、最大の臨床スコアを1日以上有さなかった。各群のラットのEAEの重篤度を、疾患指数(DI)として計算した。それは、群の全ラットに関する日々の臨床スコアの平均を、疾患を発現した動物に関する平均発病日で割り、100を掛けたものである。この計算により、発病日並びに臨床的重篤度および疾患の長さを組込んで、疾患のより完全な評価が可能になる。この計算を使用すると、対照群は疾患指数160を有したが、一方処置群は疾患指数40を有した。対照群についての平均最大臨床スコアは2.0であったが、一方処置群についてのそれは1.0であった。

【0177】

表5 Lewisラットにおける、受動的に移されたEAEに対するリン酸モノ-(6-プロピル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステルによる処置の効果

【表9】

日	臨床スコア		塩水	平均	臨床スコア		処置	平均
4	1.5	1.5	1.5	1.5	2	1.6	0	0
5	2	2	2	2	2	2	0	0
6	2	2	2	2	2	2	0	1
7	2	0	0	1	1	0.8	0	0
	DI	160			DI	40		
平均最高臨床スコア 2.0				平均最高臨床スコア 1.0				

10

20

【0178】

同一の実験において、ラットをリンパ球移行後6日目に犠牲にし、組織学的評価のために脊髄を取った。この方法では、ラットを深く麻酔し(ネンブタール)、30mlの塩水、続いて60mlの10%の中性緩衝ホルマリンで灌流した。脊髄を取り出し、10%ホルマリン中で7日間固定し、切片作成のために包埋した。腰椎-仙椎の脊髄を横に切り、縦に切片を作成するために、半分を隣合わせに包埋した。6枚の5ミクロンの切片を、脊髄を通して、各レベルの間が50ミクロンである様々なレベルで切った。切片をヘマトキシリントエオシンで染色し、病変数を定量するために、様々なレベルで最小限30枚の切片を計数した。

30

【0179】

対照群は、平均で約15病変/切片の、非常に重い病変負荷を示した。一方薬物処置群からの動物は平均3.5個の病変を有し、最も冒された動物において1切片につきわずか8病変にすぎなかった。

【0180】

実施例24 中枢神経系の細胞介在性疾患の阻害

実施例20で概説したものと類似のタイプの実験において、特定の組織へのTリンパ球遊走に起因する疾患に対する本発明の物質のインビボでの効果を研究するために、受動的にEAEを移されたLewisラットモデルでさらなる実験を実施した。ここで、フロイントの完全アジュバント中のモルモットMBPで免疫したLewisラットの脾臓から、ミエリン塩基性タンパク質(MBP)特異的Tリンパ球を生成させた。従って、この方法では、ドナーTリンパ球は、体重200ないし250gの雄12ないし20週齢Lewisラットから生成された。これらのラットに、フロイントの完全アジュバント中のモルモットのミエリン塩基性タンパク質(MBP; Deibler et al., 1972; 出典明示により本明細書の一部とする、の方法に従って調製した)の乳液(0.1ml)を各後足の肉球で皮内注射した。アジュバント乳液は、8.5%軽鉱物油(0.8417g/ml(Sigma))プラス、*Mycobacterium butyricum*(4mg/ml; Difco)を含有する15%のモノオレイン酸マンニトール(mannide monooleate)(Sigma)、およびモルモットのミエリン塩基性タンパク質を含有する正常塩水(0.25mg/ml)の等量の混合物を乳化して調製した。従つて、ラット当りの総用量は、25マイクログラムのMBPおよび400マイクログラムの

40

50

M. butyricum であった。

【0181】

注射に続く 10 日間、ラットを安樂死させ、鈍的切開により脾臓を無菌的に取出し、混合リンパ球培養培地に置いた。この培地は、グルコース (4 g / L)、蟻酸 (6 mg / L)、L-アスパラギン (36 mg / L)、重炭酸ナトリウム (2 g / L)、L-アルギニン (116 mg / L)、L-グルタミン (2 mM)、ピルビン酸ナトリウム (1 mM)、HEPES (10 mM)、2-メルカプトエタノール (5×10^{-5} M)、ペニシリン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、および 10% ウシ胎児血清を添加したダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM; GIBCO, Grand Island, NY) から、通常の方法で調製した。ステンレススチール篩を通してそれを穩かに押すことにより、通常の方法で脾臓から単一細胞懸濁液を調製した。細胞を 2 回洗浄し、72 時間、37°C で、5% の二酸化炭素を含有する加湿した空気中で、1 ミリリットルにつき細胞 2 百万個の濃度で、コンカナバリン A (2 マイクログラム / mL) の存在下で無菌的に培養した。細胞を収集し、ハンクス均衡塩 (Hanks balanced salt) 溶液で 2 回洗浄した。細胞をハンクス均衡塩で再懸濁し、各レシピエント動物 (10 - 12 週齢の雌 Lewis ラット; 160 - 180 g) に、0.5 mL の容量の側尾部静脈注射により 40 - 42.5 百万個のリンパ芽球を受容させた。

【0182】

典型的な実験では、4 - 5 匹のレシピエントラットをジエチルエーテルで麻酔し、試験化合物を含有する小型浸透性ポンプ (Alzet 2001, Alza Corp., Palo Alto CA, USA) を移植した。2 番目の 4 匹の動物群、対照群には、エーテル麻酔下で、正常塩水を含有する Alzet 2001 ポンプを移植した。小型浸透性ポンプは、細胞移行の 3 日後に移植した。疾患の重篤度 (臨床スコア) を、以下のように 0 ないし 5 の範囲の任意の重篤度スケールでスコア付けした：0、兆候なし；1、弛緩した尾の末端部半分；2、尾全体が弛緩；3、失調症、立直り反射が困難；4、後足の弱さ；5、後足の麻痺。平均最大臨床スコアを計算し、実施齢 20 に記載したように、各群について疾患指数 (DI) を計算した。これらの実験の結果を表 6、7 および 8 に概説する。

【0183】

表 6 Lewis ラットにおける、受動的に移された EA-E に対する、リン酸モノ - [6 - (3 - ヘキシリオキシ - プロピル) - 3,4,5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イルメチル] エステル、ナトリウム塩、用量 50 mg / kg / 日、皮下、による処置の効果

【表 10】

臨床スコア - 対照					
ラット	1	2	3	4	平均
日					
5	3	5	3	3	3.5
6	4	5	5	4	4.5
7	4	4	5	3	4
8	3	3	4	2	3
9	1	0.5	1	1	0.875
10	1	0	0	0	0.25

DI - 67.2 平均最高臨床スコア 4.5

臨床スコア - 処置				
1	2	3	4	平均
0.5	0.5	1	2	1
3	2	2	4	2.75
2	2	2	4	2.5
2	3	2	2	2.25
1	1	1.5	1.5	1.25
0	0	1	1	0.5

DI - 34.1 平均最高臨床スコア 3

【0184】

表 7 Lewis ラットにおける、受動的に移された EA-E に対する、3 - フェニル - 2 - [2 - (3,4,5 - トリヒドロキシ - 6 - ホスフォノオキシメチル - テトラヒドロ - ピラン - 2 - イル) - アセチルアミノ] - プロピオン酸モノナトリウム塩、用量 62 mg / kg / 日、皮下、による処置の効果

【表 11】

臨床スコア - 対照					
ラット	1	2	3	4	
日					平均
4	0	0	0	1	0.3
5	2	0	1	2	1.3
6	2	1	1	2	1.5
7	2	0.5	0.5	1	1.0
8	1.5	0	0	0.5	0.5
9	0.5	0	0	0	0.1
10	0	0	0	0	0.0

DI - 14.1 平均最高臨床スコア 1.5

臨床スコア - 処置					
1	2	3	4	5	
					平均
0	0	0	0	0	0
0	1	1	2	0	0.8
0.5	1	1	2	0	0.9
0.5	1	0	2	0	0.7
0	1	1	1.5	0	0.7
0	0.5	0	1	0	0.4
0	0.5	0.5	0	0	0.2

DI - 8.13 平均最高臨床スコア 1.0

【0185】

表8 Lewis ラットにおける、受動的に移されたEAEに対する、リン酸モノ-[3-(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-プロピル]エステルジナトリウム塩、用量40mg/kg/日、腹膜内、による処置の効果

【表12】

臨床スコア - 対照					
ラット	1	2	3	4	
日					平均
4	1	2	1.5	0	1.7
5	4	4	2	1	3.2
7	2	4	2.5	1.5	3.4
8	0.5	1	2	0	2.3
9	0	0.5	2	0	0.625
10	0	0	1	0	0.25

DI - 45.0 平均最高臨床スコア 3.0

臨床スコア - 処置				
1	2	3	4	
				平均
0	0	0	0	0
2	0	2	1.5	1.375
2.5	1	3	2	2.125
2	0.5	2.5	2	1.75
1	0	1	1	0.75
0	0	0	0.5	0.125

DI - 18.6 平均最高臨床スコア 2.3

【0186】

実施例25 滑液組織の細胞介在性疾患、受動的に移されたアジュバント誘導炎症の阻害受動的に移されたアジュバント炎症は、活発な炎症を有する動物に由来するT細胞がナイーブ同系レシピエントに移されるTリンパ球介在性疾患である。続いて、ナイーブレシピエントは、続く罹患関節の膨張を伴う滑膜へのリンパ球遊走を含む、疾患の臨床兆候を発現する。この疾患の免疫学的性質およびTリンパ球への依存性は、長年にわたって医学および科学文献で十分に確立されており、これらを叙述している次の刊行物は、出典明示により本明細書の一部とする: Kayashima et al., 1978; Waksman and Wennersten, 1963; Pearson and Wood, 1964 and Whitehouse et al., 1969。

【0187】

この実施例における実験は、特定の組織(滑膜)へのTリンパ球遊走によって直接的に引き起こされる疾患に対する、本発明の物質の効果を研究するために設定した。8ないし10週齢の雄DAラットを、100マイクロリットルの完全フロイントアジュバント(CFA)を尾の基部の皮内に3回注射することにより免疫した。CFAは、乳鉢と乳棒を使用して細かい粉末に挽いた8mg/mlのMycobacterium butyricum (Difco Laboratories, USA)を85%の軽鉱物油(Sigma, USA)および15%のモノオレイン酸マンニトール(Sigma)中で混合し、この懸濁液を、塩水1中で1の割合で乳化することにより調製した。従って、最終の乳液は、4mg/mlのM. butyricumを含有した。

【0188】

免疫から10日後、ラットを安樂死させ、脾臓を無菌的に取出した。混合リンパ球培養培地(MLC)(ダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)プラスグルコース、蟻酸、L-

10

20

30

40

50

アスパラギン、ピルビン酸ナトリウム、HEPES、2-メルカプトエタノール、ペニシリン、ストレプトマイシン、ネオマイシン、および10%ウシ胎児血清)中で、ステンレススチール篩を通して脾臓を押すことにより、通常の方法で単一細胞懸濁液を調製した。1ミリリットルにつき細胞2百万個のリンパ球濃度になるように、2マイクログラム/m¹のコンカナバリンAを含むMLC培地中の培養に細胞を播種した。これらの細胞を、37度、5%の二酸化炭素を含有する空気中で、72時間無菌的に培養した。

【0189】

6ないし8週齢の4または5匹のDAラットの群を、ジエチルエーテルで麻酔し、わき腹の皮下にAlzet 2002(2週間送達)または2001(1週間送達)の小型浸透性ポンプ(Alza Corp., Palo Alto CA, USA)を移植した。1つの処置群に、1週間送達のAlzet 2001小型浸透性ポンプ中のリン酸モノ-(6-プロピル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステルを受容させた。薬物は、25mg/kg/日の用量で送達された。この実験の対照群には、正常塩水を含有する同一の小型浸透性ポンプを受容させた。2番目の実験では、別のDAラット群に、2週間送達のAlzet 2002小型浸透性ポンプ中のエチル(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-酢酸エステルを受容させた。この薬物は、37mg/kg/日の用量で送達された。この群の対照動物には、同一の小型浸透性ポンプ中で送達される塩水を受容させた。各々の場合のポンプは、各動物のわき腹で皮下に移植した。麻酔から回復する期間中に、回収し、ハンクスの均衡塩溶液で2回洗浄した上記のリンパ球を、正常塩水に再懸濁し、側尾部静脈に0.5mlの容量で7千5百万-9千万個の細胞を注射することにより、レシピエントに移した。

【0190】

5ないし8日後、後足の末端関節の特徴的な肥厚化および皮膚の充血が、塩水対照動物において臨床的に明らかになった。両くるぶしの関節の内外(medolateral)幅を日々測定したものをとて、疾患の重篤度を評価し、各群において等級付けした。データをミリメートルで表した内外くるぶし幅の(細胞注射前の幅と比較した)変化の平均(±平均の標準誤差)として表した。

【0191】

図1は、1週間送達Alzet 2001小型浸透性ポンプにより25mg/kg/日の用量でリン酸モノ-(6-プロピル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステルが送達された典型的な実験から得られた結果を示す。1週間の処置期間の終わりに、処置と対照動物の疾患状態に、統計的に非常に重大な差異があった。対照動物は罹患関節に重篤な膨張があったが、一方処置動物は処置期間の終わりにほとんど膨張を示さなかった。

【0192】

図2は、2週間送達Alzet 2002小型浸透性ポンプにより37mg/kg/日の用量でエチル(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-酢酸エステルが送達された典型的な実験から得られた結果を示す。2週間の処置期間の終わりに、処置と対照動物の疾患状態に、統計的に非常に重大な差異があった。対照動物は罹患関節に重篤な膨張があったが、一方処置動物は処置期間の終わりにほとんど膨張を示さなかった。

【0193】

参照文献

Immunology 5th Edition 1998; Ivan M. Roitt Ed, Blackwell Scientific Publications, Boston.

Immunobiology: the Immune System in health and disease 4th Edition 1999, C.A. Janeway P. Travers, M. Walport and J.D. Capra, Eds. Elsevier Science/Garland Publishing New York.

The Pathogenesis of Infectious Disease 1982, C.A. Mims Ed; Academic Press, New York, 1982

10

20

30

40

50

Klein, J. and Horejsi, Vaclav 1997. Autoimmunity and autoimmune diseases, pp 656-657. In: Immunology (Second Edition), Blackwell Science Ltd., Oxford.

Bos, J.D. and De Rie M.A., (1999). The pathogenesis of psoriasis: immunological facts and speculations. *Immunology Today*, 1999, vol. 20: 40-46.

Comprehensive Organic Transformations, R. Larock, VCH Publishers, 1989.

Advanced Organic Chemistry, J. March, Third Edition, Wiley InterScience.

【 0 1 9 4 】

Protective Groups in Organic Synthesis, T.W. Greene and P. Wutz, John Wiley and Son, (1991).

Paterson, P.Y. (1976). In Textbook of Immunopathology (eds Miescher, P.A. and Mueller-Eberhard, H.J.) 179-213 (Grune & Stratton, New York, 1976). 10

Alvord, E.C. Jr. (1984). In Experimental Allergic Encephalomyelitis: A Useful Model for Multiple Sclerosis (ed Alvord, E.C.), 1-511 (Liss, New York, 1984).

Steinman, L. (1993). Autoimmune Disease. *Scientific American*, vol 269: 106-114.

Raine, C.S., Barnett, L.B., Brown, A. and McFarlin, D.E. (1980). Neuropathology of experimental allergic encephalomyelitis in inbred strains of mice. *Lab. Invest.*, vol 43: 150-157.

Paterson, P.Y., Day, E.D. and Whitacre, C.C. (1981). Neuroimmunologic diseases: Effector cell responses and immunoregulatory mechanisms. *Immunol. Rev.*, vol 55: 89-120. 20

【 0 1 9 5 】

Waldor, M.K., Sriram, S., Hardy, R., Herzenberg, L.A., Herzenberg, L.A., Lanier, L., Lim, M. and Steinman, L. (1985). Reversal of experimental allergic encephalomyelitis with monoclonal antibody to a T-cell subset marker. *Science*, vol 227: 415-417.

Holda, J.A. and Swaborg, R.H. Autoimmune effector cells. (1982). II. Transfer of experimental allergic encephalomyelitis with a subset of T-lymphocytes. *European Journal of Immunology*, vol 12: 453-455.

Ben-Nun, A. and Cohen, I.R. (1982). Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mediated by T-cell lines: Process of selection of lines and characterization of the cells. *Journal of Immunology* Vol 129: 303-308. 30

Deibler, G.E., Martenson, B.L. and Kies, M.W., (1972). Large scale preparation of myelin basic protein from central nervous tissue of several mammalian species. *Preparative Biochemistry*, vol 2: 139-165.

【 0 1 9 6 】

von Isler, O., Gutmann, H., Montavon, M., Ruegg, R., Ryser, G. and Zeller, P., (1957). Synthesen in der carotinoid-Reihe. Anwendung der Wittig-reaktion zur synthese von estern des bixin and crocetins. *Helvetica Chimica Acta*, vol 15: 1242-1249

Giannis, A. and Sandhoff, K., (1985). Stereoselective synthesis of -C-allylglycopyranosides. *Tetrahedron Letters*, vol 26(12): 1479-1482. 40

Levene, P.A. and Tipson, R.S., (1931). The ring structure of the mannose pentaacetates. *Journal of Biological Chemistry*, vol 90: p 89-98.

Hurd, C.D. and Holysz, R.P. (1950). Reactions of polyacylglycosyl halides with Grignard reagents. *Journal of the American Chemical Society*, 1950, vol 72: 1732-1738.

Finan, P.A. and Warren C.D., (1962), The purification of acetylglucosyl bromides. *Journal of the Chemical Society*, 2823-2824.

【 0 1 9 7 】

Poggi, A., Costa, P., Socchi, M.R. and Moretta, L., (1997). Phenotypic and funct 50

ional analysis of CD4+ NKRP1A+ human lymphocytes. Direct evidence that the NKRP1 A molecule is involved in transendothelial migration. European Journal of Immunology, vol 27: 2345-2350.

Hauzenberger, E., Hauzenberger, D., Hultenby, K. and Holgersson, J., (2000). Porcine endothelium supports transendothelial migration of human leukocyte subpopulations: anti-porcine vascular cell adhesion molecule antibodies as species-specific blockers of transendothelial monocyte and natural killer cell migration. Transplantation. Vol 69(9): 1837-1849.

Borthwick, N.J., Akbar, A.N., MacCormac, L.P., Lowdell, M., Craigen, J.L., Hassan, I., Grundy, J.E., Salmon, M. and Yong K.L., (1997). Selective migration of highly differentiated primed T cells, defined by low expression of CD45RB, across human umbilical vein endothelial cells: effects of viral infection on transmigration. Immunology. Vol 90(2): 272-280.

【 0 1 9 8 】

Mohle, R., Moore, M.A., Nachman, R.L. and Rafii, S., (1997). Transendothelial migration of CD34+ and mature hematopoietic cells: an in vitro study using a human bone marrow endothelial cell line. Blood. Vol 89(1): 72-80.

Lou, J., Gasche, Y., Zheng, L., Giroud, C., Morel, P., Clements, J., Ythier, A. and Grau, G.E., (1999). Interferon-beta inhibits activated leukocyte migration through human brain microvascular endothelial cell monolayer. Laboratory Investigation vol 79(8): 1015-1025.

Jaffe, E.A., Nachman, R.L., Becker, C.G. and Minick, C.R., (1973). Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. Journal of Clinical Investigation, vol 52(11): 2745-2756.

Risau, W., Engelhardt, B., and Wekerle, H., (1990). Immune function of the blood-brain barrier: Incomplete presentation of protein (auto-)antigens by rat brain microvascular endothelium in vitro. Journal of Cell Biology, vol 110: p 1757-1766

【 0 1 9 9 】

Ben-Nun, A., Wekerle, H. and Cohen, I.R., (1981). The rapid isolation of clonable antigen-specific T lymphocyte lines capable of mediating autoimmune encephalomyelitis. European Journal of Immunology. 1981, 11(3): 195-199.

Kayashima, K., Koga, T. and Onoue, K., 1978. Role of T lymphocytes in adjuvant arthritis II. Different subpopulations of T lymphocytes functioning in the development of disease. Journal of Immunology, vol 120: 1127-1131.

Waksman, B.H. and Wennersten, C., 1963. Passive transfer of adjuvant arthritis in rats with living lymphoid cells of sensitized donors. International Archives of Allergy, vol 23: 129-139.

Pearson, C.M. and Wood, F.D., 1964. Passive transfer of adjuvant arthritis by lymph node or spleen cells. Journal of Experimental Medicine, vol 120: 547-560.

【 0 2 0 0 】

Whitehouse, D.J., Whitehouse, M.W. and Pearson, C.M., 1969. Passive transfer of adjuvant-induced arthritis and allergic encephalomyelitis in rats using thoracic duct lymphocytes. Nature, vol 224: 1322.

Malet, C., Viladot, J.L., Ochoa, A., Gallego, B., Brosa, C. and Planas, A., 1995. Synthesis of 4-methylumbelliferyl- β -D-glucan oligosaccharides as specific chromophoric substrates of (1-3), (1-4)- β -D-glucan 4-glucanohydrolases. Carbohydrate Res., 274: 285-301.

Guo, Z., Zhang, G. and Hui, Y., 1997. A facile regioselective 1,6-O-diacetylation

10

20

30

40

50

n method of methyl-glycopyranosides and their dimethyl phosphonates, Synthetic Communications, vol 27, 1907-1917.

Wong, C.H., Hung, S.C. and Lin, C.C., 1997. One-pot synthesis of 1-allyl and 1-a-allyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- β -D-glycosides from methyl tetra-O-benzyl- β -D-glycosides, Tetrahedron Letters, vol 38, 5419-5422.

Khan, R., Konowicz, P.A., Gardossi, L., Matulova, M. and Gennaro, S., 1996. Regioselective deacetylation of fully acetylated mono- and di-saccharides with hydrazine hydrate, Australian Journal of Chemistry, vol 49, 293-298.

【0201】

Mata, F.Z., Martinez, M.B. and Perez, J.A.G., 1992. Reaction of Meldrum's acid with D-mannose and L-arabinose, Carbohydrate Research, vol 225, 159-161. 10

Klimuk, S.K., Semple, S.C., Scherrer, P. and Hope, M.J., 1999. Contact hypersensitivity: a simple model for the characterization of disease-site targeting by liposomes. Biochimica et Biophysica Acta, vol 1417, 191-201.

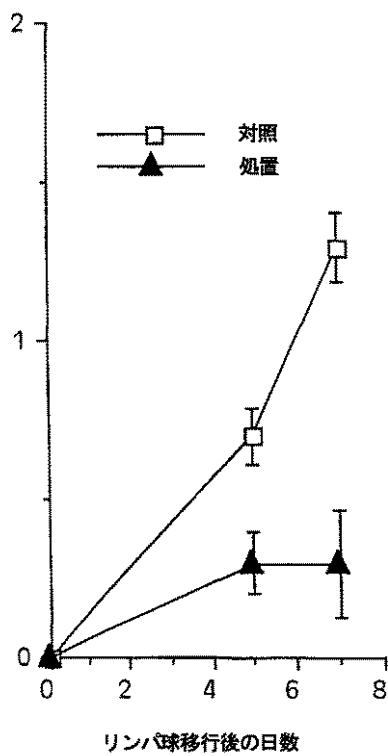
Rodrigues, F., Canac, Y., and Lubineau, A., 2000. A convenient, one-step, synthesis of α -C-glycosidic ketones in aqueous media. Chemical Communications, 2049-2050.

【図面の簡単な説明】

【図1】 リン酸モノ-(6-プロピル-3,4,5-トリヒドロキシ-テトラヒドロ-ピラン-2-イルメチル)エステルが送達された典型的な実験から得られた結果を示す。 20

【図2】 エチル(3,4,5-トリヒドロキシ-6-ホスフォノオキシメチル-テトラヒドロ-ピラン-2-イル)-酢酸エステルが送達された典型的な実験から得られた結果を示す。

【図1】



【図2】

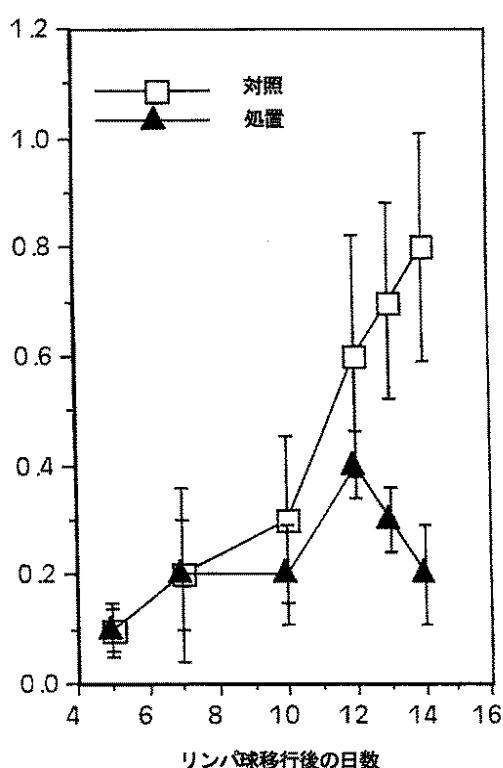


Figure 1

Figure 2

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P	17/00	(2006.01) A 6 1 P 5/14
A 6 1 P	17/06	(2006.01) A 6 1 P 17/00
A 6 1 P	19/02	(2006.01) A 6 1 P 17/06
A 6 1 P	25/00	(2006.01) A 6 1 P 19/02
A 6 1 P	27/02	(2006.01) A 6 1 P 25/00
A 6 1 P	29/00	(2006.01) A 6 1 P 27/02
A 6 1 P	43/00	(2006.01) A 6 1 P 29/00 1 0 1 A 6 1 P 43/00 1 1 1

(72)発明者 パート・マイケル・エシュラー
オーストラリア2 6 1 7 オーストラリアン・キャピタル・テリトリー、ジララング、チュカルバ・
クレセント 1 8 4 番

(72)発明者 ダーレン・レイ・マーチ
オーストラリア2 6 0 5 オーストラリアン・キャピタル・テリトリー、バンクス、リットラー・ブ
レイス 3 番

(72)発明者 ダグラス・ジョン・フランシス
オーストラリア2 6 0 5 オーストラリアン・キャピタル・テリトリー、ギャラン、オギルビー・ブ
レイス 3 番

(72)発明者 センダバ・ガーバ
オーストラリア2 6 1 7 オーストラリアン・キャピタル・テリトリー、カリーン、フローレンタイ
ン・サーキット 4 9 番

(72)発明者 ギャビン・ジェイムズ・バーテル
オーストラリア2 9 0 6 オーストラリアン・キャピタル・テリトリー、コンダー、ジョン・ラッセ
ル・サーキット 5 8 番

(72)発明者 ブレット・チャールトン
オーストラリア2 6 1 5 オーストラリアン・キャピタル・テリトリー、フレイザー、ロジャーズ・
ストリート 2 2 番

審査官 伊藤 幸司

(56)参考文献 國際公開第9 8 / 0 2 8 3 1 8 (WO , A 1)

Magn. Reson. Chem. , 1 9 9 5 年 , 33(3) , pp.231-232

Tetrahedron Letters , 1 9 9 2 年 , 33(46) , pp.6911-6914

Eur. J. Biochem. , 1 9 9 1 年 , 200 , pp.553-561

J. Med. Chem. , 1 9 9 8 年 , 41(23) , pp.4502-4520

Biochemistry , 1 9 9 3 年 , 32(1) , pp.38-47

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B名)

C07F

C07H

A61K

CAPLUS/REGISTRY(STN)