

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5014563号
(P5014563)

(45) 発行日 平成24年8月29日 (2012. 8. 29)

(24) 登録日 平成24年6月15日 (2012. 6. 15)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K 31/7032 (2006. 01)

A 6 1 K 31/7032

A 6 1 P 37/06 (2006. 01)

A 6 1 P 37/06

C O 7 H 15/06 (2006. 01)

C O 7 H 15/06

請求項の数 5 (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願2003-511834 (P2003-511834)
 (86) (22) 出願日 平成13年7月9日 (2001. 7. 9)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2001/005942
 (87) 国際公開番号 W02003/006028
 (87) 国際公開日 平成15年1月23日 (2003. 1. 23)
 審査請求日 平成20年6月9日 (2008. 6. 9)

(73) 特許権者 000222783
 東洋水産株式会社
 東京都港区港南2丁目13番40号
 (74) 代理人 100084618
 弁理士 村松 貞男
 (74) 代理人 100092196
 弁理士 橋本 良郎
 (74) 代理人 100091351
 弁理士 河野 哲
 (74) 代理人 100088683
 弁理士 中村 誠
 (72) 発明者 山崎 隆之
 日本国千葉県野田市山崎2712-56
 邦和荘106号室

最終頁に続く

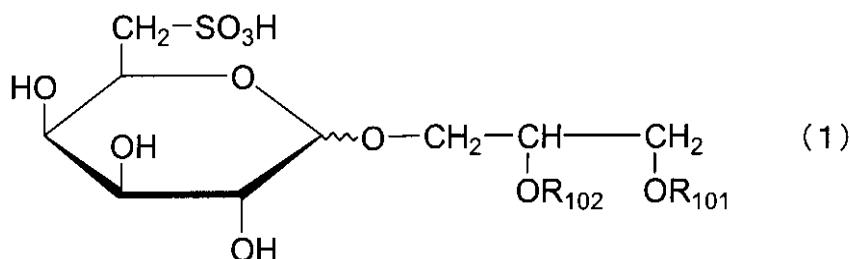
(54) 【発明の名称】 新規な免疫抑制剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の一般式 (1) :

【化 1】



10

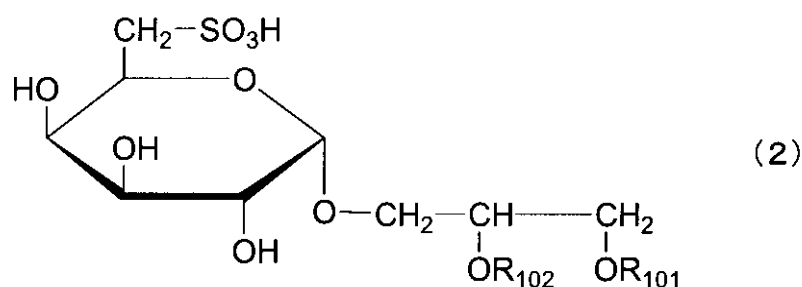
(式中、フコシル部分とグリセリジル部分の結合による構造に従って、当該一般式 (1) の化合物が α - アノマーである場合には、 R_{101} は、炭素数 14 以上 18 以下のアシル残基を表し、 R_{102} は、水素原子または炭素数 14 以上 18 以下のアシル残基を表し、当該一般式 (1) の化合物が β - アノマーである場合には、 R_{101} は、炭素数 14 以上 18 以下のアシル残基を表し、 R_{102} は、水素原子または炭素数 14 以上 16 以下のアシル残基を表す) により表される化合物及びその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも 1 種を有効成分として含有する免疫抑制剤。

【請求項 2】

20

次の一般式 (2) :

【化 2】



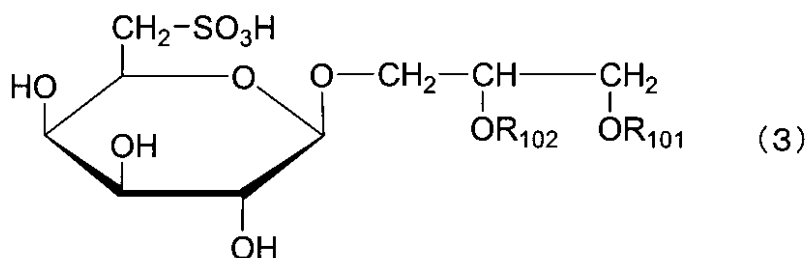
10

(式中、 R_{101} は、炭素数 14 以上 18 以下のアシル残基を表し、 R_{102} は、水素原子または炭素数 14 以上 18 以下のアシル残基を表す) により表される化合物及びその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも 1 種を有効成分として含有する免疫抑制剤。

【請求項 3】

次の一般式 (3) :

【化 3】



20

(式中、 R_{101} は、炭素数 14 以上 18 以下のアシル残基を表し、 R_{102} は、水素原子または炭素数 14 以上 16 以下のアシル残基を表す) により表される化合物及びその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも 1 種を有効成分として含有する免疫抑制剤。

30

【請求項 4】

R_{101} が、 $RCO-$ (式中、 R は、炭素数 13 ~ 17 の飽和アルキル基である) であり、 R_{102} が、水素原子または $RCO-$ (式中、 R は、 R は、当該化合物が α -アノマーである場合には炭素数 13 ~ 17 の飽和アルキル基であり、当該化合物が β -アノマーである場合には炭素数 13 ~ 15 の飽和アルキル基である) である請求の範囲第 1 項ないし第 3 項の何れか 1 項の免疫抑制剤。

【請求項 5】

R_{101} が、 $RCO-$ (式中、 R は、炭素数 13 ~ 17 の飽和アルキル基である) であり、 R_{102} が、水素原子である請求の範囲第 1 項ないし第 3 項の何れか 1 項の免疫抑制剤。

40

【発明の詳細な説明】

技術分野

本発明は、新規な免疫抑制剤に関する。

具体的には、本発明は、スルホコシルアシルグリセロール誘導体、より具体的には、スルホコシルモノアシルグリセロール { 3 - O - (6 - デオキシ - 6 - スルホ - α / β - D - ガラクトピラノシル) - 1 - O - アシルグリセロール } およびスルホコシルジアシルグリセロール { 3 - O - (6 - デオキシ - 6 - スルホ - α / β - D - ガラクトピラノシル) - 1 , 2 - O - ジアシルグリセロール } を有効成分として含有する免疫抑制剤に関する。

背景技術

50

現在臨床においては、化学療法では治癒不可能と判断される疾病においてその原因臓器あるいはその一部分を他者から移植することによって回復を図るという方法が選択され得るようになった。腎臓、肝臓、肺、腸管、心臓、脾臓、角膜など多種の臓器において移植治療が鋭意進められその件数も増え続けている。

また、皮膚組織は元来免疫能の高い組織であるが、他人の皮膚を移植する場合、わずか数週間定着を維持できれば、その後の自己皮膚再生により治癒可能になるため、高度の広範囲火傷や裂傷などにおいては他人の皮膚を移植することにより形態的回復を図る方法が選択される。

こうした各組織及び臓器を他者から移植する場合最も懸念されるのは、被移植者の免疫力に由来する拒絶反応である。

10

そこで、1970年代から欧米を中心に被移植者の拒絶反応を防止し、移植臓器の永続的定着を目的に免疫抑制剤の研究が進められてきた。

また一方で、リウマチ、膠原病などいわゆる自己免疫疾患においても免疫抑制剤はその症状の緩和において重要な薬剤となり得る。

過去にシクロスポリンA、FK506などの免疫抑制剤が開発されている。しかしながら、これらの免疫抑制剤は作用機構も近似し、また慢性毒性が懸念されており、長期延命を目的とする次世代の臓器移植に対しては、異なる化学構造で異なる作用機構が期待できる、より毒性の低い物質が求められている。

天然から得られた含硫糖脂質には、これまで制癌性（佐原ら、British Journal of Cancer, 75(3), 324-332, (1997)）、DNA合成酵素阻害活性（水品ら、Biochemical Pharmacology, 55, 537-541, (1998)、太田ら、Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 46(4), (1998)）、HIV抑制剤（特表平5-501105号公報）と薬理活性が見いだされている。しかしながら、含硫糖脂質、特に、スルホフコシルアシルグリセロール誘導体についての免疫抑制反応に関する知見は未だない。

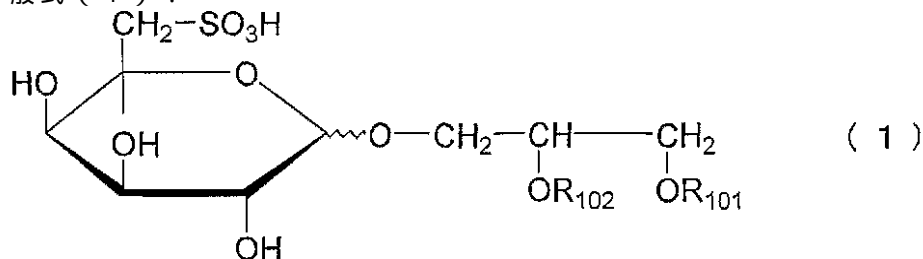
20

発明の開示

本発明は、新規な免疫抑制剤を提供することを目的とする。より詳細には、より毒性が低く、長期投与が可能であり、かつその免疫抑制活性の高い免疫抑制剤を提供することを目的とする。

30

本発明者らは、上記事情に鑑みて研究した結果、特定のスルホフコシルアシルグリセロール誘導体に顕著な免疫抑制活性を認め、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、次の一般式(1)：



40

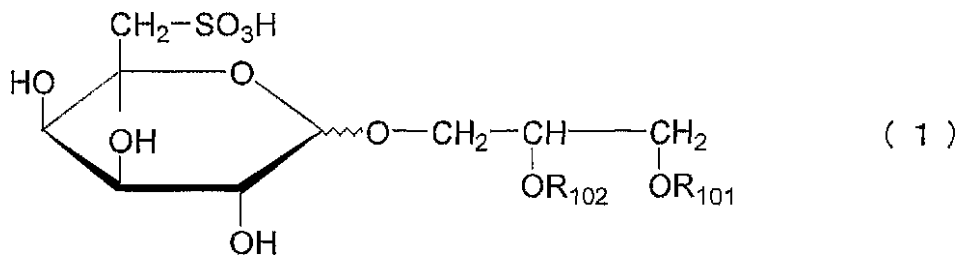
(式中、 R_{101} は、高級脂肪酸のアシル残基を表し、 R_{102} は、水素原子または高級脂肪酸のアシル残基を表す。)により表される化合物及びその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する免疫抑制剤を提供する。

発明を実施するための最良の形態

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

まず、本発明の免疫抑制剤の有効成分である一般式(1)：

50



(式中、 R_{101} は、高級脂肪酸のアシル残基を表し、 R_{102} は、水素原子または高級脂肪酸のアシル残基を表す。)で表されるスルホフコシルアシルグリセロール誘導体について詳細に説明する。

10

上記一般式(1)において、 R_{101} により表される高級脂肪酸のアシル残基を提供する脂肪酸には、直鎖状又は分岐状の、飽和又は不飽和高級脂肪酸が含まれる。より具体的には、 R_{101} により表される直鎖状又は分岐状の高級脂肪酸のアシル残基には、 $R-C(=O)-$ (式中、 R は、炭素数13以上のアルキル基又はアルケニル基を表す。)で表される基が含まれる。このアシル残基： $R-C(=O)-$ の R により表されるアルキル基及びアルケニル基の炭素数は、免疫抑制活性、製造コスト等を考慮すると、13以上25以下(アシル残基としての炭素数は14以上26以下)が好ましく、13~25の奇数(アシル残基としての炭素数14~26の偶数)が更に好ましい。

上記一般式(1)において、 R_{102} は、水素原子または高級脂肪酸のアシル残基を表す。 R_{102} により表される高級脂肪酸のアシル残基は、上述した R_{101} の高級脂肪酸のアシル残基と同義である。 R_{102} は、細胞を用いた免疫抑制活性等の結果から判断すると、水素原子であることが好ましい。

20

一般式(1)において、 R_{101} と R_{102} が共に高級脂肪酸のアシル残基である場合、これらのアシル残基は互いに同じであっても異なってもよいが、製造の容易性の観点から同じであることが好ましい。

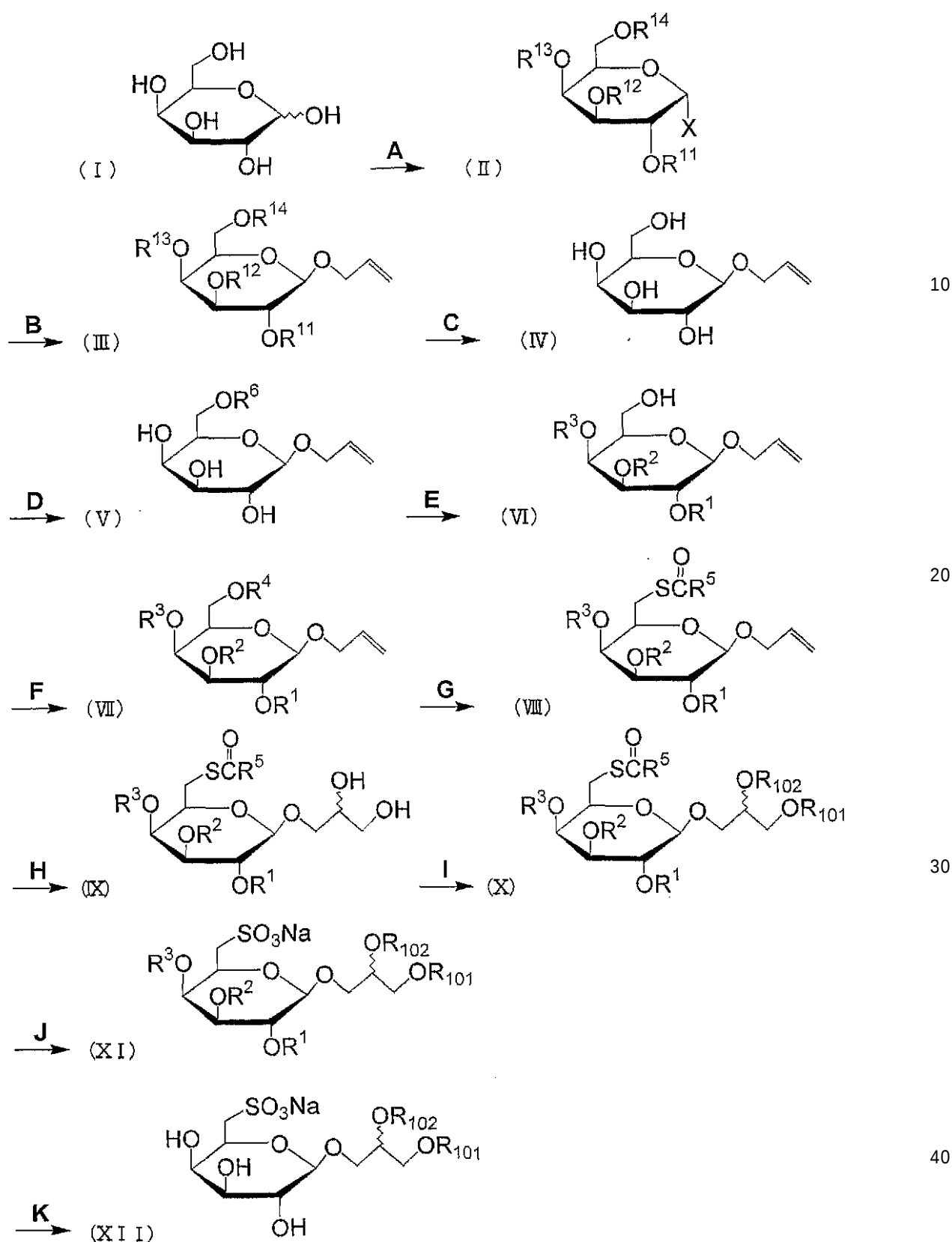
上記一般式(1)において、フコシル部分の糖骨格は、舟形、いす型のいずれの配座をもとり得る。しかしながら、いす型のもののほうが、安定性の観点から好ましい。また、グリセリジル部分の2位の炭素(不斉炭素)における絶対配置は、 S 又は R の何れであってもよい。さらに、フコシル部分とグリセリジル部分の結合により形成される立体異性体は、 α -アノマーおよび β -アノマーのいずれであってもよい。

30

本発明の一般式(1)で表されるスルホフコシルアシルグリセロール誘導体は、例えば、本出願人の出願に係る国際特許出願(WO00/52021号公報)に記載の方法を参照して合成することができる。

また、次のスキーム1に示す(工程A)~(工程J)を経ることにより、本発明の一般式(1)において、 β -アノマーを選択的に製造することができる。

スキーム1



(工程 A) ガラクトースの C 1 ~ C 4 および C 6 炭素に結合する水酸基をアシル系保護基で保護した後、C 1 炭素を臭素のようなハロゲンに置換し、ガラクトース誘導体 (α - アノマー) を得る。(工程 B) ガラクトシル部分の C 1 炭素に結合するハロゲンを 2 - プロペニル基に置換し、隣接基関与によりガラクトース誘導体 (β - アノマー) を選択的に得る。(工程 C) ガラクトシル部分の C 2 ~ C 4 及び C 6 炭素の保護基を脱保護する。(工程 D) ガラクトシル部分の C 6 炭素に結合する水酸基を保護する。(工程 E) ガラクトシル部分の C 2、C 3 および C 4 炭素に結合する水酸基を保護した後、C 6 炭素の保護基を

脱保護する。(工程F)ガラクトシル部分のC6炭素に結合する水酸基を、カルボニルチオ基に変換し得る基(例えば、アルキルスルホニルオキシ基又はアリールスルホニルオキシ基)に置換する。(工程G)ガラクトシル部分のC6炭素をカルボニルチオ化する。(工程H)ガラクトシル部分のC1炭素に結合する2-プロペニル基をジオール化する。(工程I)得られたジオールを所望の高級脂肪酸によってエステル化する。(工程J)ガラクトシル部分のC6炭素のカルボニルチオ基をスルホン酸塩化する。(工程K)得られたスルホン酸塩のC2、C3およびC4炭素の保護基を脱保護することにより、塩の形態にあるスルホフコシルアシルグリセロール誘導体を製造することができる。このようにして得られた塩は、塩酸等の酸による滴定に供することにより、一般式(1)で表されるスルホフコシルアシルグリセロール誘導体にする事ができる。

10

上記工程A~Jをさらに詳細に説明する。

工程AにおけるガラクトースのC1~C4およびC6炭素に結合する水酸基の保護は、過塩素酸のような触媒の存在下に無水酢酸のような酸とのエステル化反応により行うことができる。この反応は、通常、30~40の温度で、30分~3時間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

次に、臭素等のハロゲンを反応させ、ガラクトースのC1炭素に臭素等のハロゲン原子を結合させる。このハロゲン化反応は、水酸基を保護されたガラクトースを赤リンのような触媒の存在下に臭素等のハロゲンと反応させることにより行うことができる。この反応は、通常、20以下の温度で、2~5時間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

20

工程Bにおける2-プロペニル化は、工程Aで得られた式(II)の化合物をジクロロメタン等の溶媒に溶解し、アリルアルコールをシアン化第二水銀等の触媒の存在下に、通常、0~40の温度で、半日~2日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

この反応により、ガラクトシル部分のC1炭素における立体異性体のうち、 β -アノマーが得られる。この β -アノマーの立体配置は、後の反応においても維持され、所望するガラクトシル誘導体(β -アノマー)を製造することができる。

工程Cにおけるガラクトシル部分のC2~C4およびC6炭素の脱保護は、メタノール等の溶媒に溶解した式(III)の化合物をナトリウムメトキシド等のアルカリの存在下に室温で半日~1日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によ

30

工程Dにおいては、式(IV)の化合物のC6炭素に結合する水酸基を保護し、C6炭素に $-OR^6$ (ここで、 R^6 は、アルキル基又は置換シリル基を表す。)が結合した式(V)の化合物を得る。

R^6 により表される基がアルキル基である場合、かさ高い置換基の低級アルキル基が好ましく、その置換基にはメチル基、フェニル基等が含まれる。置換アルキル基の具体例としては、*t*-ブチル基、トリチル基等を挙げることができる。

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

40

工程Dにおいて R^6 がアルキル基である式(V)の化合物を得る場合には、乾燥ピリジン等の有機溶媒に溶解した式(IV)の化合物の溶液に、 R^6-X で表される化合物(式中、 R^6 は上記式(II)の R^6 として規定したアルキル基、Xは塩素原子等のハロゲン原子。)を添加し、*p*-ジメチルアミノピリジン(DMAP)等の触媒の存在下に室温で反応させることにより行うことができる。化合物 R^6-X としては、トリチルクロリドが、製造コスト、反応の容易性の観点から好ましい。

一方、工程Dにおいて R^6 が置換シリル基である式(V)の化合物を得る場合には、化合物 R^6-X として*t*-ブチルジフェニルシリルクロリド等を用い、イミダゾール等の触媒

50

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

工程Eにおいては、式(V)の化合物のC2、C3およびC4炭素に結合する水酸基を保護した後、C6炭素の保護基(-OR⁶)を脱保護し、それぞれ-OR¹、-OR²および-OR³(ここで、R¹～R³は、互いに独立して、アルキル基又は置換シリル基を表わす。)が結合した式(VI)の化合物を得る。

C2、C3およびC4炭素に結合する水酸基の保護は、式(V)の化合物をN,N-ジメチルホルムアミド(DMF)等の有機溶媒に溶解し、式(V)の化合物のC2、C3およびC4炭素に結合する水酸基を水素化ナトリウム等により活性化して、水酸基を保護し得る化合物と室温で反応させることにより行うことができる。

水酸基を保護し得る化合物としては、ベンジルブロミド、p-メトキシベンジルブロミド、t-ブチルジメチルシリルクロリド、トリエチルシリルクロリド等を用いることができる。

これらの水酸基を保護し得る化合物を用いる場合の反応は、それぞれの保護基に適した反応条件により行うことができる。

C6炭素の保護基の脱保護は、R⁶がトリチル基の場合には、p-トルエンスルホン酸のような酸触媒の存在下に、また、R⁶がシリル基の場合には、酸触媒またはテトラブチルアンモニウムフルオリドのようなフッ化物塩の存在下に脱保護できる。

工程Fにおいては、式(VI)の化合物のC6炭素に結合する水酸基を-OR⁴(ここで、R⁴はアルキルスルホニル基又はアリールスルホニル基を表す。)に転化して式(VII)の化合物を得る。

この-OR⁴基への反応は、有機溶媒に溶解した式(VI)の化合物の溶液に、アリールスルホニル基を有する化合物又はアルキルスルホニル基を有する化合物等を添加し、反応させることにより行うことができる。

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

一方、アルキルスルホニル基を有する化合物のアルキル基としては、好ましくは非置換のアルキル基または置換アルキル基(例えば、トリフルオロメチル基)であって、より好ましくは低級アルキル基、さらにより好ましくは炭素数1～2のアルキル基(メチル基、エチル基)が含まれる。アルキルスルホニル基を有する化合物としては、式：R^{4''}-L(式中、R^{4''}はアルキルスルホニル基を表し、Lは脱離基を表す。)で表されるものを用いることができ、その具体例を挙げると、トリフルオロメタンスルホン酸無水物、メタンスルホニルクロリド、エタンスルホニルクロリド等が含まれる。

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

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

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

工程Gにおいて、式(VII)の化合物のスルホニルオキシ基(-OR⁴)をカルボニルチオ基{-SC(=O)R⁵(ここで、R⁵は、水素原子、アルキル基又はアリール基を表す。)}に置換する。

具体的には、有機溶媒中の式(VII)の化合物と、式(VII)の化合物のアルキルスルホニルオキシ基又はアリールスルホニルオキシ基をカルボニルチオ基に置換することのできる化合物(以下、「O-置換基→S-置換基化合物」ともいう。)を反応させること

10

20

30

40

50

により式 (V I I I) の化合物が得られる。

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

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

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

10

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

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

工程 H のジオール化は、t - ブタノールおよび水等の溶媒混液に溶解した式 (V I I I) の化合物の溶液に、四酸化オスミウム等の酸化剤を添加し、トリメチルアミン N - オキシド等の再酸化剤を共存させ、室温で、1 時間 ~ 3 日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程 I において、式 (I X) の化合物のグリセリジル部分の水酸基をエステル化する。

20

この反応は、ジクロロメタン等の適当な有機溶媒に溶解した式 (I X) の化合物の溶液に、最終生成物に対応する高級脂肪酸を添加し、必要に応じて、エチルジメチルアミノプロピルカルボジイミド (E D C I) - D M A P 系等の適当なエステル化剤の存在下に反応させることにより行うことができる。

工程 I の反応において、添加すべき脂肪酸としては、上述した一般式 (1) の R_{101} により表されるアシル残基を有する高級脂肪酸、すなわち、直鎖状又は分岐状の、飽和又は不飽和高級脂肪酸を用いることができる。

工程 I の反応により、式 (X) の化合物において、 R_{101} 及び R_{102} が、添加した高級脂肪酸のアシル残基である本発明の一般式 (1) で表されるジエステル (β - アノマー) と、 R_{101} のみにアシル残基が結合し、 R_{102} が水素原子であるモノエステル (β - アノマー) の混合物が得られる。工程 I の反応においては、所望に応じて、添加すべき高級脂肪酸を 2 種以上用いることもできる。この場合、 R_{101} 及び R_{102} が同じアシル残基または互いに異なるアシル残基である一般式 (1) で表されるジエステル (β - アノマー) と、 R_{101} が互いに異なるアシル残基であるモノエステル (β - アノマー) との混合物が得られる。

30

これらのモノエステルとジエステルの混合物は、必要に応じて、例えば、クロマトグラフィーにより、各々のエステルに単離し、次の工程 J 以降の反応に供することができる。また、脂肪酸の添加量を式 (I X) の化合物の 2 ~ 3 倍モルに設定することにより、モノエステルの生成を極力抑え、ジエステルを優先的に合成することができる。

工程 J のスルホン酸塩化は、式 (X) の化合物の、酢酸および酢酸カリウムを用いて緩衝した有機溶媒溶液に、O X O N E ($2 K H S O_5$ 、 $K H S O_4$ 、 $K_2 S O_4$) 等の酸化剤を添加し、室温で、半日 ~ 2 日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

40

工程 K における式 (X I) の化合物の C 2 ~ C 4 炭素に結合する保護基を脱保護して、所望のスルホフコシルアシルグリセロールの塩が得られる。この脱保護は、用いた保護基および結合する高級脂肪酸のアシル残基に合った脱保護の方法を行うことができる。例えば、保護基がベンジル基であり、 R_{101} 及び R_{102} が飽和の高級脂肪酸のアシル残基である場合、エタノール等の有機溶媒に溶解した式 (X I) の化合物の溶液を、パラジウム - 活性炭 (P d - C) 等の触媒の存在下に水素ガス雰囲気下に室温で反応させることにより行うことができる。また、 R_{101} 及び R_{102} により表される高級脂肪酸のアシル残

50

基の少なくとも一方が不飽和の高級脂肪酸のアシル残基である場合には、用いた保護基に合った脱保護法であり、なおかつ不飽和脂肪酸の二重結合を維持できる方法により行うことができる。例えば、シリル系の保護基の場合は、酸触媒（例えば、トリフルオロ酢酸）で脱保護することができる。

本発明の免疫抑制剤は、上述した本発明の一般式（１）で表されるスルホコシルアシルグリセロール誘導体及びその薬学的に許容される塩からなる群から選択される１種またはそれ以上を有効成分として含有する。上述したように、一般式（１）で表されるスルホコシルアシルグリセロール誘導体には、ガラクトシル部分の配座異性体やグリセリジル部分のＣ２炭素（不斉炭素）における異性体、ガラクトシル部分とグリセリジル部分との立体配置（ α/β ）による立体異性体が含まれる。本発明の免疫抑制剤は、その活性に悪影響を及ぼさない限り、これらの異性体を単独で含有することも、２種以上の異性体の混合物を含有することもできる。また、本発明の免疫抑制剤は、その活性に悪影響を及ぼさない限り、他の免疫抑制活性を有する化合物やそれ以外の薬学的活性を有する化合物と併用して薬学的製剤とすることもできる。

本発明の免疫抑制剤において用い得る薬学的に許容される塩には、例えば、ナトリウム及びカリウムのような一価の陽イオンの塩が含まれるが、これらに限定されるものではない。

以下、本発明の一般式（１）で表されるスルホコシルアシルグリセロール誘導体及びその薬学的に許容される塩からなる群の化合物を「本発明の免疫抑制物質」ともいう。

本発明の免疫抑制物質は、例えば、経口投与、非経口投与とすることができる。本発明の免疫抑制物質は、これらの投与経路に応じて、適切な薬学的に許容される賦形剤又は希釈剤等と組み合わせることにより薬学的製剤とすることができる。

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

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

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

本発明の免疫抑制物質を非経口投与する場合、例えば、注射、経皮投与、直腸投与、および眼内投与等により投与することができる。

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

本発明の免疫抑制物質を溶液、懸濁液、シロップ、エリキシル等の形態にするためには、注射用滅菌水や規定生理食塩水のような薬学的に許容される溶媒を用いることができる。経皮投与は、対象となる皮膚の状態等に応じて軟膏剤、乳化剤、パスタ剤、ハップ剤、リニメント剤、ローション剤、懸濁剤等として投与することができる。

10

20

30

40

50

軟膏剤は、それ自体は既知の方法により、本発明の免疫抑制物質をワセリン、パラフィン等のような疎水性基材または親水ワセリン、マクロゴール等のような親水性基材と練合することにより製剤化することができる。乳化剤その他の経皮投与剤も、通常用いられる方法により製剤化することができる。

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

眼内投与する場合には、点眼剤、眼軟膏等のような眼用製剤等として投与することができる。点眼剤は、それ自体は既知の方法により、滅菌精製水のような水性溶剤に本発明の免疫抑制物質を溶解または懸濁し、必要に応じて保存剤、緩衝剤、界面活性剤等を添加することにより製剤化することができる。

本発明の免疫抑制物質の投与量は、投与形態、投与経路、対象とする疾病の程度や段階に応じて適宜設定、調節することができる。一例を挙げると、経口投与する場合は、免疫抑制物質として、 $1 \sim 100 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重 / 日、好ましくは $1 \sim 10 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重 / 日、注射剤として投与する場合は、免疫抑制物質として、 $1 \sim 50 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重 / 日、好ましくは $1 \sim 5 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重 / 日、経皮投与する場合は、免疫抑制物質として、 $1 \sim 100 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重 / 日、好ましくは $1 \sim 10 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重 / 日、直腸投与する場合は、免疫抑制物質として、 $1 \sim 50 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重 / 日、好ましくは $1 \sim 5 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重 / 日、眼内投与の場合は、免疫抑制物質として、 $0.01 \sim 3\%$ 程度の溶液を1日数回に分けて点眼するなどに設定することができるが、これらに限定されるものではない。

実施例

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

合成例

本発明の免疫抑制剤において用いる有効成分のうち、スルホコシルステアロイルグリセロール誘導体の合成例を以下に示す。

< 例 1 >

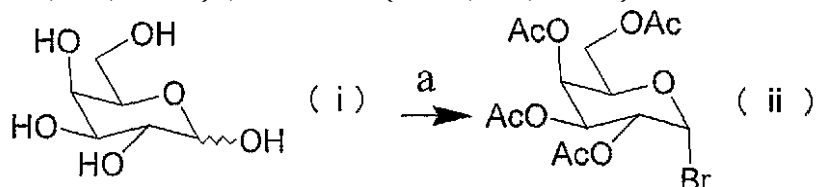
反応 a ; 2, 3, 4, 6 - テトラ - O - アセチル - α - D - ガラクトピラノシル・ブロミド (ii)

無水酢酸 400 mL に 0 条件下、 60% 過塩素酸 2.4 mL を滴下した。溶液を室温に戻した後、撹拌しながら D - ガラクトース 100 g (555 mmol) を液温が $30 \sim 40$ に保たれるように添加した。反応液を 20 に冷却後、赤リン 30.0 g (969 mmol) を添加した。さらに液温を 20 以下に保ちながら臭素 180 g (2.25 mol) を、ついで水 36 mL を滴下した。室温で2時間放置後、クロロホルム 300 mL を加え、ガラスフィルターを用いて濾過した。濾液を冷水 800 mL に注ぎ、分液漏斗でクロロホルム層を分離した。水層をクロロホルム 50 mL で抽出し、クロロホルム層と合わせて、冷水 300 mL で洗浄した。クロロホルム層を飽和炭酸水素ナトリウム溶液 500 mL に注ぎ、分液漏斗で十分振とうし、クロロホルム層を回収した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム) で精製した。得られた結晶状物質は冷ジイソプロピルエーテルを用いて再結晶を行い、純粋な結晶を得た。

収量 164 g (399 mmol)、収率 71.9% 、融点 ; $75 \sim 81$ 、 $[\alpha]_D = +215^\circ$ ($c = 1.78$ CHCl_3)

^1H NMR (400 MHz , CDCl_3 + TMS, δ) ; 6.70 (1H , d, $J = 3.9$, H1), 5.52 (1H , dd, $J = 3.0$ & 0.6 , H4), 5.40 (1H , dd, $J = 10.6$ & 3.3 , H3), 5.05 (1H , dd, $J = 10.6$ & 4.0 , H2), 4.49 (1H , app t, $J = 6.5$, H5), 4.19 (1H , dd, $J = 11.4$ & 6.3 , H6a), 4.11 (1H , dd, $J = 11.4$ & 6.8 , H6b), 2.16 (3H , s, Me), 2.12 (3H , s, Me),

2.07 (3H, s, Me)、2.02 (3H, s, Me)

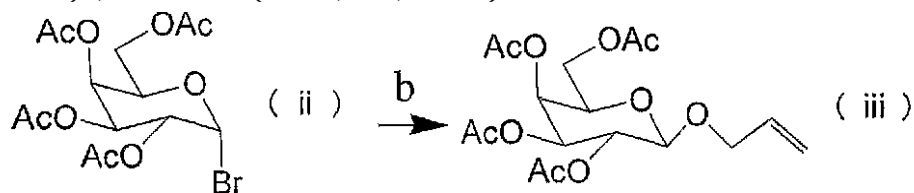


反応 b ; 2, 3, 4, 6 - テトラ - O - アセチル - 1 - O - (2 - プロペニル) - β - D - ガラクトース (i i i)

化合物 (i i) 170 g (413 mmol) をジクロロメタン 350 mL に溶解し、アリルアルコール 60.0 mL (830 mmol) を加えた後、シアン化第二水銀 104 g (412 mmol) を加え、室温で一晩撹拌した。反応液はセライトを用いて吸引濾過し、冷水で洗浄後、飽和食塩水で洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 6 : 1 $\rightarrow$ 3 : 1) で精製し、冷ジイソプロピルエーテルを用いて再結晶を行い、純粋な結晶を得た。

収量 151 g (389 mmol)、収率 94.2%、融点 ; 55 ~ 57、 $[\alpha]_D = -15.4^\circ$ (c 2.26 CHCl₃)

¹H NMR (400 MHz、CDCl₃ + TMS、 δ) ; 5.86 (1H、m、H2)、5.39 (1H、dd、J = 3.4 & 1.0、H4')、5.28 (1H、dq、J = 17.3 & 1.6、H3a)、5.25 (1H、dd、J = 10.5 & 7.9、H2')、5.21 (1H、dq、J = 10.5 & 1.6、H3b)、5.03 (1H、dd、J = 10.5 & 3.4、H3')、4.53 (1H、d、J = 8.0、H1')、4.36 (1H、ddt、J = 13.2 & 4.9 & 1.4、H1a)、4.19 (1H、dd、J = 11.2 & 6.6、H6'a)、4.13 (1H、dd、J = 11.2 & 6.9、H6'b)、4.11 (1H、ddt、J = 13.2 & 6.1 & 1.4、H1b)、3.91 (1H、dt、J = 6.7 & 1.1、H5')、2.16 (3H、s、Me)、2.06 (3H、s、Me)、2.05 (3H、s、Me)、1.99 (3H、s、Me)

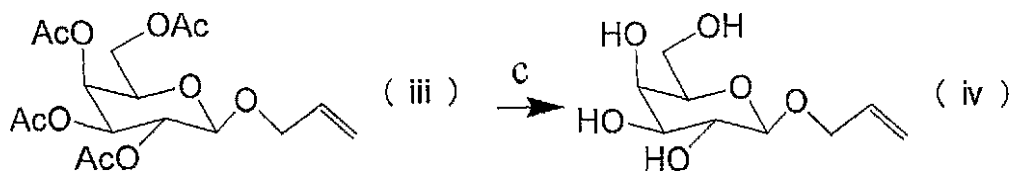


反応 c ; 1 - O - (2 - プロペニル) - β - D - ガラクトース (i v)

化合物 (i i i) 151 g (389 mmol) をメタノール 300 mL に溶解し、撹拌しながら 28% ナトリウムメトキシド・メタノール溶液を 7.50 mL (38.9 mmol) を滴下し、室温で一晩撹拌した。反応液を濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 6 : 1 $\rightarrow$ 3 : 1) で精製し、無色針状結晶を得た。

収量 77.2 g (351 mmol)、収率 90.2%、融点 ; 93 ~ 95、 $[\alpha]_D = -1.21^\circ$ (c 2.28 MeOH)

¹H NMR (400 MHz、CD₃OD、 δ) ; 5.96 (1H、m、H2)、5.32 (1H、dq、J = 17.2 & 1.6、H3a)、5.15 (1H、dq、J = 10.4 & 1.6、H3b)、4.37 (1H、ddt、J = 12.8 & 5.2 & 1.4、H1a)、4.26 (1H、d、J = 7.2、H1')、4.15 (1H、ddt、J = 12.8 & 6.2 & 1.2、H1b)、3.83 (1H、app d、J = 3.2、H4')、3.75 (1H、dd、J = 10.8 & 6.8、H6'a)、3.71 (1H、dd、J = 10.8 & 5.6、H6'b)、3.54 (1H、dd、J = 7.6 & 9.6、H2')、3.49 (1H、app t、J = 6.4、H5')、3.47 (1H、dd、J = 10.0 & 3.2、H3')

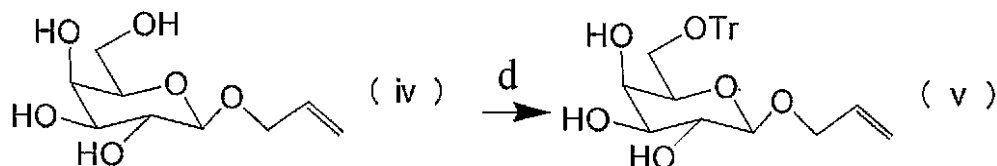


反応 d ; 1 - O - (2 - プロペニル) - 6 - O - トリフェニルメチル - β - D - ガラクトース (v)

化合物 (i v) 77.2 g (351 mmol) を乾燥ピリジン 300 mL に溶解し、その溶液にトリチルクロリド 117 g (420 mmol)、p - ジメチルアミノピリジン (DMAP) 4.29 g (35.1 mmol) を添加し、室温で一晩撹拌した。メタノール約 10 mL を加えて残っているトリチルクロリドを分解した後、濃縮し、冷水を加えて酢酸エチルで抽出した。有機層を合わせて 1.0 N および 0.1 N 塩酸で pH 4 まで中和し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ジクロロメタン : メタノール = 100 : 1 $\rightarrow$ 10 : 1) で精製し、無色粉末結晶を得た。

収量 160 g (346 mmol)、収率 98.6%、融点 ; 75 ~ 78、 $[\alpha]_D = -2.51^\circ$ (c 2.82 CHCl₃)

¹H NMR (400 MHz、CD₃OD、 δ) ; 7.47 ~ 7.44 (6 H、m、Ar)、7.29 ~ 7.19 (9 H、m、Ar)、5.99 (1 H、m、H2)、5.33 (1 H、dq、J = 17.4 & 1.6、H3a)、5.16 (1 H、dq、J = 10.4 & 1.6、H3b)、4.38 (1 H、ddt、J = 12.8 & 5.2 & 1.6、H1a)、4.27 (1 H、d、J = 7.6、H1')、4.20 (1 H、ddt、J = 12.8 & 6.0 & 1.2、H1b)、3.77 (1 H、dd、J = 3.4 & 1.0、H4')、3.56 (1 H、ddd、J = 7.2 & 4.8 & 1.0、H5')、3.52 (1 H、dd、J = 7.6 & 9.6、H2')、3.45 (1 H、dd、J = 9.6 & 7.2、H6'a)、3.44 (1 H、dd、J = 9.6 & 3.2、H3')、3.24 (1 H、(dd、J = 9.6 & 4.8、H6'b)



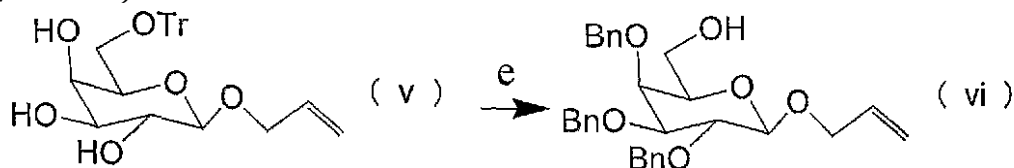
反応 e ; 2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - 1 - O - (2 - プロペニル) - β - D - ガラクトース (v i)

ミネラルオイル中に拡散されている 80% 水素化ナトリウム 22.4 g (748 mmol) を反応器に取り、乾燥ヘキサンでよく洗浄した後ヘキサンを取り除き、乾燥 N, N - ジメチルホルムアミド (DMF) に溶解した化合物 (v) 69.1 g (149 mmol) を氷冷下で滴下し、15 分後室温に戻して、撹拌しながら 1 時間反応した。次に再び氷冷下にてベンジルブロミド 102 g (598 mmol) を滴下し、15 分後室温に戻し、撹拌しながら 3 時間反応した。その後メタノールで過剰の水素化ナトリウムを分解し、冷水を加えて酢酸エチルで抽出した。有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、濾過、減圧濃縮し、油状物質を得た (反応 e - 1)。

次いで油状物質をトルエン : メタノール = 1 : 1 に溶解し、p - トルエンスルホン酸一水和物 9.99 g (52.5 mmol) を添加し、室温で一晩撹拌した。その後冷水を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出した。有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 6 : 1 $\rightarrow$ 3 : 1) で精製し、無色針状結晶を得た (反応 e - 2)。

収量 49.5 g (101 mmol)、収率 71.9%、融点 ; 74 ~ 75、 $[\alpha]_D =$

- 2.82° (c 2.45 CHCl₃)
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃ + TMS, δ); 7.37 ~ 7.27 (15 H, m, Ar), 5.94 (1 H, m, H₂), 5.31 (1 H, dq, J = 17.2 & 1.6, H_{3a}), 5.17 (1 H, dq, J = 10.4 & 1.6, H_{3b}), 4.95 (1 H, d, J = 11.8, Ar-CH₂), 4.94 (1 H, d, J = 10.8, Ar-CH₂), 4.80 (1 H, d, J = 11.6, Ar-CH₂), 4.77 (1 H, d, J = 10.8, Ar-CH₂), 4.73 (1 H, d, J = 11.6, Ar-CH₂), 4.65 (1 H, d, J = 11.8, Ar-CH₂), 4.41 (1 H, d, J = 7.6, H_{1'}), 4.40 (1 H, ddt, J = 12.8 & 5.2 & 1.6, H_{1a}), 4.13 (1 H, ddt, J = 12.8 & 6.0 & 1.6, H_{1b}), 3.86 (1 H, dd, J = 9.6 & 7.6, H_{2'}), 3.77 (1 H, app d, J = 2.4, H_{4'}), 3.76 (1 H, dd, J = 11.2 & 7.2, H_{6'a}), 3.44 (1 H, dd, J = 9.6 & 2.8, H_{3'}), 3.49 (1 H, dd, J = 11.2 & 5.6, H_{6'b}), 3.36 (1 H, app t, J = 6.2, H_{5'})

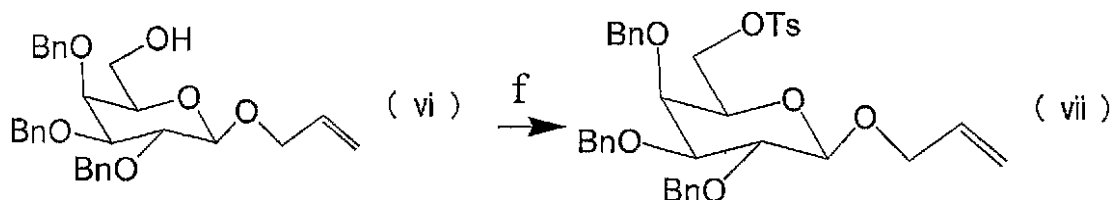


反応 f; 2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - 1 - O - (2 - プロペニル) - 6 - O - (4 - トリルスルホニル) - β - D - ガラクトース (vii)

化合物 (vi) 21.6 g (44.0 mmol) を乾燥ピリジン 200 mL に溶解し、DMAP 538 mg (4.40 mmol)、p - トルエンスルホンクロリド 12.6 g (66.1 mmol) を添加し、室温で一晩撹拌した。その後、冷水を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出した。有機層を合わせて 1.0 N および 0.1 N 塩酸で pH 4 まで中和し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン: 酢酸エチル = 6:1 → 3:1) で精製し、油状物質を得た。

収量 27.5 g 42.6 mmol、収率 96.8%、[α]_D = +3.08° (c 1.17 CHCl₃)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃ + TMS, δ); 7.37 ~ 7.27 (2 H, d, J = 8.3, Ts-SO₂ 側の H), 7.37 ~ 7.26 (15 H, m, Ar), 7.20 ~ 7.18 (2 H, m, Ts-CH₃ 側の H), 5.90 (1 H, m, H₂), 5.30 (1 H, dq, J = 17.2 & 1.5, H_{3a}), 5.17 (1 H, dq, J = 10.4 & 1.3, H_{3b}), 4.91 (1 H, d, J = 11.4, Ar-CH₂), 4.90 (1 H, d, J = 10.8, Ar-CH₂), 4.78 (1 H, d, J = 11.8, Ar-CH₂), 4.73 (1 H, d, J = 10.8, Ar-CH₂), 4.71 (1 H, d, J = 11.8, Ar-CH₂), 4.48 (1 H, d, J = 11.4, Ar-CH₂), 4.36 (1 H, d, J = 7.7, H_{1'}), 4.32 (1 H, ddt, J = 13.0 & 5.1 & 1.4, H_{1a}), 4.08 (1 H, dd, J = 10.0 & 6.4, H_{6'a}), 4.05 (1 H, ddt, J = 13.0 & 6.0 & 1.2, H_{1b}), 3.95 (1 H, dd, J = 10.3 & 6.0, H_{6'b}), 3.79 (1 H, app d, J = 2.4, H_{4'}), 3.79 (1 H, dd, J = 9.6 & 7.8, H_{2'}), 3.59 (1 H, app t, J = 6.4, H_{5'}), 3.49 (1 H, Hdd, J = 9.7 & 2.9, H_{3'}), 2.42 (3 H, s, Me)



反応 g ; 2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - 1 - O - (2 - プロペニル) - 6 - デオキシ - 6 - アセチルチオ - β - D - ガラクトース (v i i i)

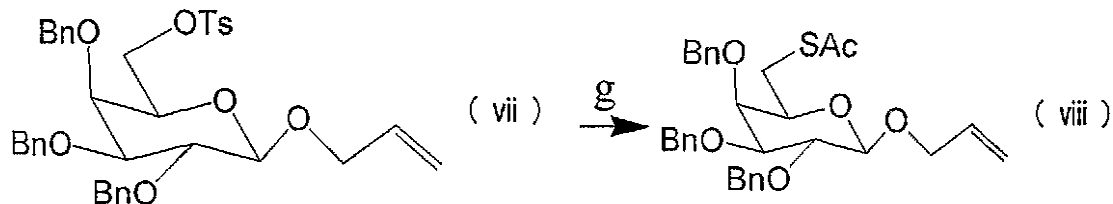
化合物 (v i i) 27.5 g (42.6 mmol) を乾燥 DMF 200 mL に溶解し、チオ酢酸カリウム 7.32 g (64.1 mmol) を添加し、80 にて撹拌しながら一晩反応した。冷水を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出した。飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、得られた結晶をエタノールを用いて再結晶し、白色結晶状物質を得た。

10

収量 16.4 g (29.9 mmol)、収率 70.2 %、融点 : 74 ~ 76 、 $[\alpha]_D = -2.84^\circ$ (c 2.48 CHCl₃)

¹H NMR (400 MHz、CDCl₃ + TMS、δ) ; 7.37 ~ 7.25 (15 H、m、Ar)、5.95 (1 H、m、H2)、5.33 (1 H、dq、J = 17.4 & 1.6、H3a)、5.19 (1 H、dq、J = 10.4 & 1.6、H3b)、5.01 (1 H、d、J = 11.6、Ar - CH₂)、4.94 (1 H、d、J = 11.2、Ar - CH₂)、4.80 (1 H、d、J = 11.8、Ar - CH₂)、4.75 (1 H、d、J = 11.2、Ar - CH₂)、4.74 (1 H、d、J = 11.8、Ar - CH₂)、4.65 (1 H、d、J = 11.6、Ar - CH₂)、4.42 (1 H、ddt、J = 13.2 & 5.2 & 1.6、H1a)、4.36 (1 H、d、J = 7.6、H1')、4.13 (1 H、ddt、J = 13.2 & 6.0 & 1.6、H1b)、3.82 (1 H、dd、J = 9.6 & 7.6、H2')、3.81 (1 H、app d、J = 2.8、H4')、3.50 (1 H、dd、J = 9.6 & 2.9、H3')、3.33 (1 H、app t、J = 6.8、H5')、3.13 (1 H、dd、J = 13.8 & 7.8、H6'a)、3.01 (1 H、dd、J = 13.8 & 5.6、H6'b)、2.31 (3 H、s、Me)

20



30

反応 h ; 3 - O - (2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - 6 - デオキシ - 6 - アセチルチオ - β - D - ガラクトピラノシル) - グリセロール (i x)

化合物 (v i i i) 6.50 g (11.8 mmol) を t - ブチルアルコール : 水 = 4 : 1 溶液 150 mL に溶解し、トリメチルアミン N - オキシド二水和物 2.90 g (26.1 mmol)、0.04 M 四酸化オスミウム - t - ブチルアルコール溶液 15.0 mL を添加し、室温で二晩撹拌した。その後、活性炭を加えて室温で 1.5 時間撹拌し、セライトを用いて吸引濾過した。冷水を加えて酢酸エチルで抽出した後、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮した。得られた結晶をクロロホルムとヘキサンを用いて再結晶し、白色結晶状物質を得た。

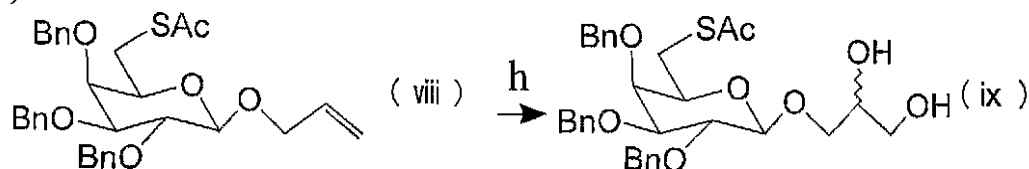
40

収量 4.73 g (8.12 mmol)、収率 68.8 %、融点 ; 108 ~ 110 、 $[\alpha]_D = +8.02^\circ$ (c 1.74 CHCl₃)

¹H NMR (400 MHz、CDCl₃ + TMS、δ) ; 7.37 ~ 7.25 (15 H、m、Ar)、5.03 ~ 4.63 (6 H、m、Ar - CH₂)、4.33 (1 H、m、H1')、3.90 ~ 3.50 (9 H、m、H1a, b & H2 & H3a, b & H2' & H3' & H4')、3.37 (1 H、m、H5')、3.10 (1 H、m、H6'a)、2.98 (1 H、m、H6'b)、2.31 (3 H、app s、

50

Me)



反応 i ; 3 - O - (2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - 6 - デオキシ - 6 - アセチルチオ - β - D - ガラクトピラノシル) - 1 , 2 - ジ - O - ステアロイル - グリセロール (x - 1)

3 - O - (2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - 6 - デオキシ - 6 - アセチルチオ - β - D - ガラクトピラノシル) - 1 - O - ステアロイル - グリセロール (x - 2) 10

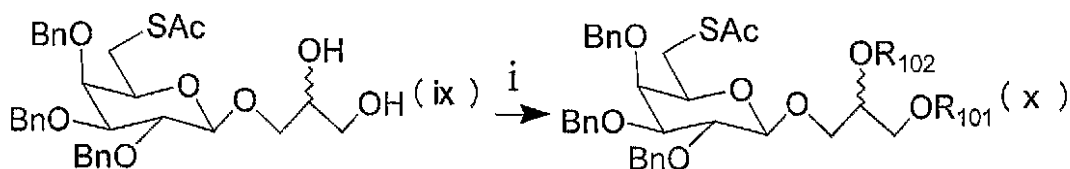
化合物 (ix) 1.00 g (1.72 mmol) を乾燥ジクロロメタン 50 mL に溶解し、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - カルボジイミド塩酸塩 (EDCI) 560 mg (2.92 mmol)、DMAP 336 mg (2.75 mmol)、ステアリン酸 733 mg (2.58 mmol) を添加し、撹拌しながら室温で 5 時間反応した。その後ジクロロメタン 50 mL を加えて飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 7 : 1 $\rightarrow$ 3 : 1) でジエステル、モノエステルを順に溶出させて精製し、白色非結晶状固形物質のジエステル (収量 798 mg 715 μ mol) とモノエステル (収量 784 mg 923 μ mol) を得た (収率 95.2%)。 20

ジエステル (x - 1) 融点 ; 49 ~ 53 、 $[\alpha]_D = +2.70^\circ$ (c 1.63 C H C l ₃)

¹H NMR (400 MHz、C D C l ₃ + TMS、 δ) ; 7.37 ~ 7.25 (15 H、m、Ar)、5.26 (1 H、m、H2)、5.02 ~ 4.62 (6 H、m、Ar - C H ₂)、4.42 ~ 4.11 (3 H、m、H1 a , b & H1 ')、4.07 ~ 4.01 (1 H、m、H3 a)、3.80 ~ 3.76 (2 H、m、H2 ' & H4 ')、3.70 ~ 3.63 (1 H、m、H3 b)、3.49 (1 H、app dd、J = 9.7 & 2.6、H3 ')、3.32 (1 H、app t、J = 6.0、H5 ')、3.14 ~ 3.05 (1 H、m、H6 ' a)、3.00 ~ 2.94 (1 H、m、H6 ' b)、2.31 ~ 2.22 (7 H、m、SAc & COCH ₂)、1.60 ~ 1.57 (4 H、m、COCH ₂ CH ₂)、1.25 (56 H、br、- CH ₂ -)、0.88 (6 H、br t、J = 6.6、Me) 30

モノエステル (x - 2) 融点 ; 46 ~ 49 、 $[\alpha]_D = +4.12^\circ$ (c 1.69 C H C l ₃)

¹H NMR (400 MHz、C D C l ₃ + TMS、 δ) ; 7.35 ~ 7.25 (15 H、m、Ar)、5.03 ~ 4.63 (6 H、m、Ar - CH ₂)、4.32 (1 H、br d、J = 7.7、H1 ')、4.19 ~ 3.69 (7 H、m、H1 a , b & H2 & H3 a , b & H2 ' & H4 ')、3.52 (1 H、app dd、J = 9.7 & 2.6、H3 ')、3.37 (1 H、app t、J = 6.4、H5 ')、3.13 ~ 3.07 (1 H、m、H6 ' a)、3.01 ~ 2.91 (1 H、m、H6 ' b)、2.35 ~ 2.27 (5 H、m、SAc & COCH ₂)、1.64 ~ 1.59 (2 H、m、COCH ₂ CH ₂)、1.25 (28 H、br、- CH ₂ -)、0.88 (3 H、br t、J = 6.6、Me) 40



x-1: R₁₀₁=R₁₀₂=ステアロイル

x-2: R₁₀₁=ステアロイル、R₁₀₂=H

反応 j - 1 ; 3 - O - (2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - 6 - デオキシ - 6 - スルホ - β - D - ガラクトピラノシル) - 1 , 2 - ジ - O - ステアロイル - グリセロール・ナトリウム塩 (x i - 1)

化合物 (x - 1) 500 mg (448 μ mol) を酢酸 20 mL に溶解し、酢酸カリウム 500 mg、OXONE (2 KHSO₅、KHSO₄、K₂SO₄) 826 mg を添加し、室温で一晩撹拌した。その後冷水を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出した。有機層を合わせて水酸化ナトリウム溶液及び飽和炭酸ナトリウム溶液で中和し、さらに飽和食塩水で洗浄して、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 100 : 0 $\rightarrow$ 10 : 1) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た。

10

収量 452 mg (395 μ mol)、収率 88.2%、融点 ; 49 ~ 53、[α]_D = + 2.70° (c 1.63 CHCl₃)

¹H NMR (400 MHz、CDCl₃ + TMS、 δ) ; 7.23 (15 H、br、Ar)、5.27 (1 H、br、H2)、4.84 ~ 3.30 (17 H、br m、Ar - CH₂ & H1a, b & H3a, b & H1' & H2' & H3' & H4' & H5' H6' a, b)、2.14 (4 H、br、COCH₂)、1.46 (4 H、br、COCH₂CH₂)、1.25 (56 H、br、-CH₂-)、0.88 (6 H、br t、J = 6.2、Me)

反応 j - 2 ; 3 - O - (2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - 6 - デオキシ - 6 - スルホ - β - D - ガラクトピラノシル) - 1 - O - ステアロイル - グリセロール・ナトリウム塩 (x i - 2)

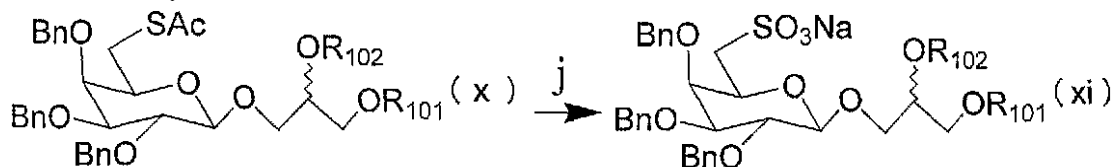
20

化合物 (x - 2) 500 mg (589 μ mol) を酢酸 20 mL に溶解し、酢酸カリウム 500 mg、OXONE 1.09 g (1.77 mmol) を添加し、室温で一晩撹拌した。その後冷水を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出した。有機層を合わせて水酸化ナトリウム溶液及び飽和炭酸ナトリウム溶液で中和し、さらに飽和食塩水で洗浄して、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 100 : 0 $\rightarrow$ 10 : 1) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た。

収量 187 mg (207 μ mol)、収率 35.1%、融点 ; 46 ~ 49、[α]_D = + 4.12° (c 1.69 CHCl₃)

30

¹H NMR (400 MHz、CDCl₃ + TMS、 δ) ; 7.23 (15 H、br、Ar)、4.82 ~ 3.30 (18 H、br m、Ar - CH₂ & H1a, b & H2 & H3a, b & H1' & H2' & H3' & H4' & H5' H6' a, b)、2.11 (2 H、br、COCH₂)、1.44 (2 H、br、COCH₂CH₂)、1.25 (28 H、br、-CH₂-)、0.88 (3 H、br t、J = 6.2、Me)



40

xi-1: R₁₀₁=R₁₀₂=ステアロイル

xi-2: R₁₀₁=ステアロイル、R₁₀₂=H

反応 k - 1 ; 3 - O - (6 - デオキシ - 6 - スルホ - β - D - ガラクトピラノシル - 1 , 2 - ジ - O - ステアロイル - グリセロール・ナトリウム塩 (x i i - 1)

化合物 (x i - 1) 452 mg (395 μ mol) をエタノール 50 mL に溶解し、10%パラジウム - 活性炭 (Pd - C) 1.00 g を添加し、フラスコ内を水素で置換して、撹拌しながら室温で一晩反応した。その後、セライトを用いて吸引濾過紙、減圧濃縮後、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 10 : 1 $\rightarrow$ クロロホルムメタノール : 水 = 65 : 25 : 4) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た。

50

収量 210 mg 240 μmol 、収率 53.8%、融点および比旋光度は未測定

^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD} + \text{D}_2\text{O} + \text{TMS}$, δ); 5.27 (1H, m, H2), 4.45 ~ 4.10 (4H, m, H1a, b & H1' & H3a), 4.02 ~ 3.94 (2H, m, H2' & H4'), 3.74 ~ 3.68 (1H, m, H3b), 3.64 ~ 3.61 (1H, m, H3'), 3.55 ~ 3.49 (1H, m, H5'), 3.45 ~ 3.38 (1H, m, H6'a), 3.18 ~ 3.14 (1H, m, H6'b), 2.36 ~ 2.29 (4H, m, COCH_2), 1.60 (4H, br, COCH_2CH_2), 1.25 (56H, br, $-\text{CH}_2-$), 0.89 (6H, br t, $J = 6.6$, Me)

反応 k-2; 3-O-(6-デオキシ-6-スルホ- β -D-ガラクトピラノシル-1-O-ステアロイル-グリセロール・ナトリウム塩 (xii-2)

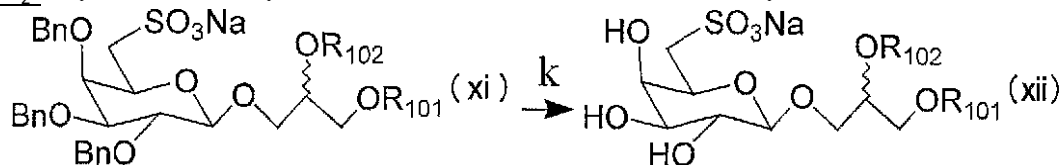
10

化合物 (xii-2) 187 mg (213 μmol) をエタノール 30 mL に溶解し、10% Pd-C 500 mg を添加し、フラスコ内を水素で置換して、撹拌しながら室温で一晩反応した。その後、セライトを用いて吸引濾過紙、減圧濃縮後、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム: メタノール = 10:1 → クロロホルムメタノール: 水 = 65:25:4) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た。

収量 32.0 mg (52.7 μmol)、収率 24.7%、融点および比旋光度は未測定

^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD} + \text{D}_2\text{O} + \text{TMS}$, δ); 4.30 ~ 3.54 (10H, m, H1a, b & H2 & H3a, b & H1' & H2' & H3' & H4' & H5'), 3.30 ~ 3.15 (1H, m, H6'a, b), 2.36 ~ 2.29 (2H, br t, $J = 7.6$, COCH_2), 1.60 (2H, br t, $J = 7.1$, COCH_2CH_2), 1.30 (28H, br, $-\text{CH}_2-$), 0.89 (3H, br t, $J = 6.7$, Me)

20



xii-1: $R_{101} = R_{102} = \text{ステアロイル}$

xii-2: $R_{101} = \text{ステアロイル}$, $R_{102} = \text{H}$

30

<アッセイ 1>

混合リンパ球反応

刺激細胞、反応細胞となるリンパ球をそれぞれ別の健康人から採取した血液より調製した。

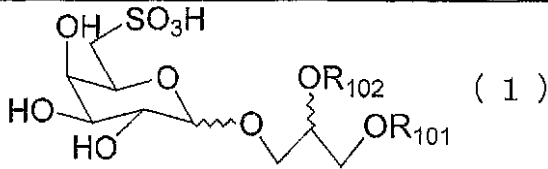
リンパ球のうち反応細胞になるものは、更に選別をかけ、Tリンパ球のみとした。

反応細胞は無処理、刺激細胞は増殖を停止させるために $106/\text{mL}$ の細胞に対して $10\mu\text{g}/\text{mL}$ のマイトマイシンCで処理した。

次に、96穴プレートに反応細胞を 10^5 個/ウェルずつ播種し、被験物質 (以下の表 1 に示す化合物 No. 1 ~ No. 12) を所定濃度の水溶液として添加し、37℃、一時間培養した。その後刺激細胞を 10^5 個/ウェルずつ添加し、 CO_2 インキュベーターで 37℃ 4日間培養した。その培養の後、反応細胞の増殖能を定量するために、 $[^3\text{H}]$ -チミジンを $1\mu\text{Ci}$ /ウェルずつ添加し、16時間培養して細胞核内へ取り込ませた。細胞が取り込んだ $[^3\text{H}]$ -チミジンの量をシンチレーションカウンターで計測した。

40

表 1

化合物名	 (1)	
	R ₁₀₁ -	R ₁₀₂ -
1) α-SFMG14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ CO-	H
2) α-SFMG16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO-	H
3) α-SFMG18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-	H
4) α-SFDG14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ CO-	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ CO-
5) α-SFDG16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO-	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO-
6) α-SFDG18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-
7) β-SFMG14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ CO-	H
8) β-SFMG16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO-	H
9) β-SFMG18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-	H
10) β-SFDG14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ CO-	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ CO-
11) β-SFDG16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO-	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO-
12) β-SFDG18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-

得られた結果を図1および図2に示す。両図とも縦軸は、放射能の強さを示す。

図1は、各濃度(2.5 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、25 μg/mL)の上記化合物No. 1~No. 6を添加した時の細胞への[³H]-チミジンの取り込み量を表すグラフである。図1には、対照試料の[³H]-チミジンの取り込み量も併せて示した。[³H]-チミジンの核内取り込み量が低いほど免疫抑制能が高いことを表す。

図2は、各濃度(5 μg/mL、10 μg/mL、25 μg/mL)の上記化合物No. 7~No. 12を添加した時の細胞への[³H]-チミジンの取り込み量を表すグラフである。図2には、対照試料の[³H]-チミジンの取り込み量も併せて示した。[³H]-チミジンの核内取り込み量が低いほど免疫抑制能が高いことを表す。

図1および図2から明らかなように、試験した化合物は、何れも有意な免疫抑制活性を有する。特に、一般式(1)においてR₁₀₂が水素原子であるスルホコシルモノアシルグリセロールの免疫抑制活性が、スルホコシルジアシルグリセロールのそれよりも高い傾向にあった。なお、化合物No. 12(β-SFDG18:0)は、このアッセイ方法では有意な免疫抑制能が認められなかった。

市販の免疫抑制剤のうち、皮膚移植試験で拒絶反応防止に効果を示すものはFK506など少数が知られているが、低毒性で効果の高い免疫抑制剤は未だ知られていない。

【図面の簡単な説明】

図1は、本発明の一般式(1)の化合物の免疫抑制能を表すグラフである。

図2は、本発明の一般式(1)の化合物の免疫抑制能を表すグラフである。

【図 . 1】

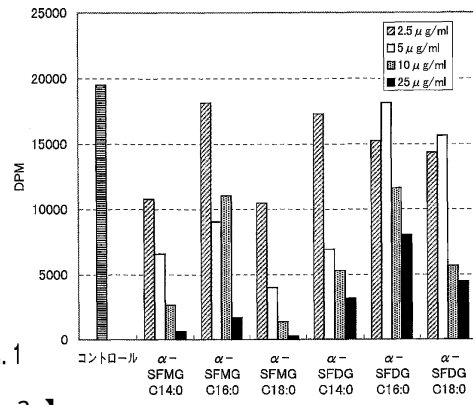


FIG.1

【図 . 2】

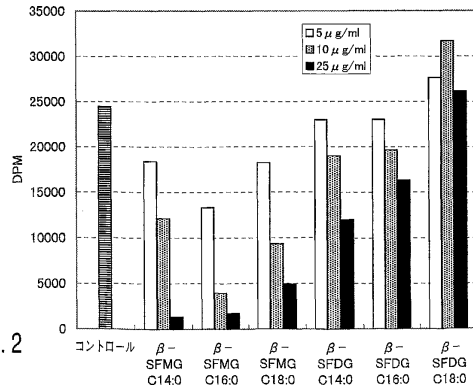


FIG.2

フロントページの続き

- (72)発明者 菅原 二三男
日本国埼玉県新座市畑中 1 - 1 1 - 3 - 2 1 3
- (72)発明者 太田 慶祐
日本国千葉県野田市山崎 2 7 0 1 - 1 チサンマンション野田 4 1 0 号
- (72)発明者 坂口 謙吾
日本国茨城県つくば市中別府 5 9 0 - 1 4 2
- (72)発明者 浅野 紀子
日本国千葉県千葉市稲毛区小仲台 1 - 4 - 1 アイ・ブレイス稲毛 1 - 6 1 1
- (72)発明者 竹ノ内 美香
日本国東京都江戸川区南篠崎 5 - 1 2 - 2 - 7 1 9
- (72)発明者 正木 和好
日本国埼玉県坂戸市横沼 3 4 5 - 1
- (72)発明者 佐藤 昇志
日本国北海道札幌市豊平区福住 2 条 9 丁目 1 3 - 3
- (72)発明者 藤田 龍哉
日本国北海道札幌市南区南沢 1 条 3 丁目 7 - 3
- (72)発明者 佐原 弘益
アメリカ合衆国、カリフォルニア州 バークレー、 ナインス・ストリート・# 5、 2 1 1 2

審査官 新留 素子

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A61K 31/33 ~ 33/44

A61P 1/00 ~ 43/00

C07H

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)