

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6438417号  
(P6438417)

(45) 発行日 平成30年12月12日(2018.12.12)

(24) 登録日 平成30年11月22日(2018.11.22)

(51) Int.Cl.

C07F 9/09 (2006.01)

F 1

C07F 9/09

V

請求項の数 10 (全 85 頁)

(21) 出願番号 特願2015-562366 (P2015-562366)  
 (86) (22) 出願日 平成26年3月14日 (2014.3.14)  
 (65) 公表番号 特表2016-511281 (P2016-511281A)  
 (43) 公表日 平成28年4月14日 (2016.4.14)  
 (86) 國際出願番号 PCT/IB2014/000494  
 (87) 國際公開番号 WO2014/140787  
 (87) 國際公開日 平成26年9月18日 (2014.9.18)  
 審査請求日 平成28年12月15日 (2016.12.15)  
 (31) 優先権主張番号 61/801,641  
 (32) 優先日 平成25年3月15日 (2013.3.15)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)  
 (31) 優先権主張番号 13306056.6  
 (32) 優先日 平成25年7月23日 (2013.7.23)  
 (33) 優先権主張国 歐州特許庁(EP)

(73) 特許権者 512205706  
 セレニス セラピューティクス ホールディング エスパー  
 フランス国 31130 パルマ, ジョルジュ ポンピドー アヴニュ 33-43  
 パト. デ  
 (74) 代理人 100079108  
 弁理士 稲葉 良幸  
 (74) 代理人 100109346  
 弁理士 大貫 敏史  
 (74) 代理人 100117189  
 弁理士 江口 昭彦  
 (74) 代理人 100134120  
 弁理士 内藤 和彦

前置審査

最終頁に続く

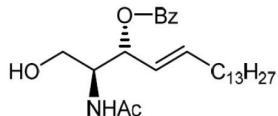
(54) 【発明の名称】スフィンゴミエリンおよびジヒドロスフィンゴミエリンの合成のための方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

N - アシル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、式

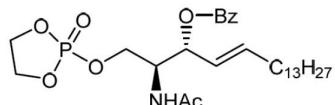
## 【化 1】



[式中、A c は、3 ~ 36 個の炭素および 0 ~ 6 個の炭素 - 炭素二重結合を有する脂肪酸残基であり、B z はベンゾイルである]

を有する化合物を、テトラメチルエチレンジアミンの存在下で、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホランと反応させて、下記式：

## 【化 2】



を有する化合物を生成し、

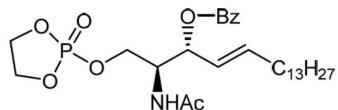
前記 N - アシル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るのに

10

20

有効な条件下で、下記式：

【化3】



を有する化合物を、トリメチルアミンと反応させることを含み、

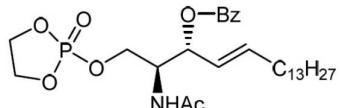
ここで、

アシルがA cであり、

下記式：

10

【化4】



を有する化合物が、精製も単離もされない、方法。

【請求項2】

N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、請求項1に記載の方法を実施することと、前記N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、前記N - アシル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンのベンゾイル基を除去することと  
を含む、方法。

20

【請求項3】

アシルがパルミトイylである、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

前記トリメチルアミンが、液体として加えられる、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記トリメチルアミンが、気体状態として加えられる、請求項3に記載の方法。

【請求項6】

N - パルミトイyl - D - エリトロ - 3 - O - ベンゾイル - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

30

N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - 1 - O - (2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン) - D - エリトロ - セラミドを得るために、テトラメチルエチレンジアミンの存在下で、N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホランと反応させることと、

N - パルミトイyl - D - エリトロ - 3 - O - ベンゾイル - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - 1 - O - (2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン) - D - エリトロ - セラミドを、トリメチルアミンと反応させることと、

を含み、

40

ここで、N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - 1 - O - (2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン) - D - エリトロ - セラミドが精製も単離もされない、方法。

【請求項7】

N - パルミトイyl - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - 1 - O - (2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン) - D - エリトロ - セラミドを得るために、テトラメチルエチレンジアミンの存在下で、N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホランと反応させることと、

N - パルミトイyl - D - エリトロ - 3 - O - ベンゾイル - スフィンゴミエリンを得るの

50

に有効な条件下で、N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) - D - エリトロ - セラミドを、トリメチルアミンと反応させることと、

N - パルミトイyl - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、N - パルミトイyl - D - エリトロ - 3 - O - ベンゾイル - スフィンゴミエリンを、ナトリウムメトキシドと反応させることと、

を含み、

ここで、N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) - D - エリトロ - セラミドが精製も単離もされない、方法。

**【請求項 8】**

10

前記トリメチルアミンが、液体として加えられる、請求項6または7に記載の方法。

**【請求項 9】**

前記トリメチルアミンが、気体状態として加えられる、請求項6または7に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記方法がキログラム規模で行われる、請求項4、6および7のいずれか一項に記載の方法。

**【発明の詳細な説明】**

**【技術分野】**

**【0001】**

20

**先行出願の参照**

本出願は、それぞれの全体が参照により本明細書に援用される、2013年3月15日に出願された米国仮特許出願第61/801,641号、および2013年7月23日に出願された欧州特許出願第13306056.6号の利益を主張するものである。

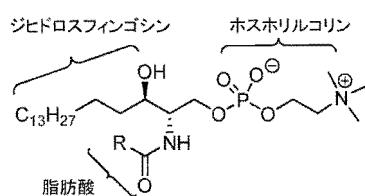
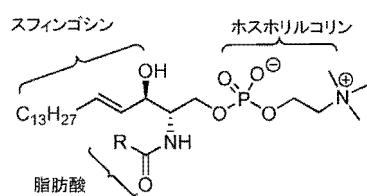
**【背景技術】**

**【0002】**

**発明の背景**

スフィンゴミエリンは、生体膜および血漿リポタンパク質の主なリン脂質成分である。スフィンゴミエリンは、セラミドコア（アミド結合を介して脂肪酸に結合されたスフィンゴシン）およびホスホリルコリン頭部基（式1、左）からなる。ジヒドロスフィンゴミエリンは、スフィンゴミエリンの飽和同族体であり、飽和セラミドコア、すなわち、アミド結合を介して脂肪酸に結合されたジヒドロスフィンゴシン（式I、右）を有する。

**【化1】**



30

40

式1

**【0003】**

天然のスフィンゴミエリンに典型的に見られるスフィンゴシンは、D - エリトロの立体化学的配置を有する不飽和炭化水素鎖を有するD - エリトロ - スフィンゴシン18 - 炭素アミノアルコールである。このスフィンゴシンのIUPAC名は、(2S, 3R, E) - 2 - アミノオクタデカ - 4 - エン - 1 , 3 - ジオール（化合物A）である。ジヒドロスフィンゴシン、D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンは、IUPAC名(2S, 3R) -

50

2 - アミノオクタデカン - 1 , 3 - ジオール（化合物 B ）を有するその飽和同族体である。

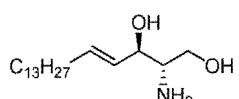
【 0 0 0 4 】

市販のスフィンゴミエリンは、通常、天然のスフィンゴミエリンの混合物を含む天然産物である。この混合物の実際の組成は、生物学的供給源に応じて変化し、様々な脂肪酸鎖長を含有する。N - パルミトイール - スフィンゴミエリンは、天然のスフィンゴミエリンの主成分である。

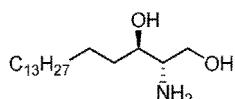
【 0 0 0 5 】

I U P A C 名 N - (( 2 S , 3 R , E ) - 1 , 3 - ジヒドロキシオクタデカ - 4 - エン - 2 - イル) パルミトイアミドを有する、パルミトイールスフィンゴミエリンの異性体の 1 つである N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリン（化合物 C ）は、主な天然の異性体であると考えられる。その対応するジヒドロスフィンゴミエリンである、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物 D ）は、I U P A C 名 ( 2 S , 3 R ) - 3 - ヒドロキシ - 2 - パルミトイアミドオクタデシル ( 2 - ( トリメチルアンモニオ ) エチル ) ホスフェートを有する。

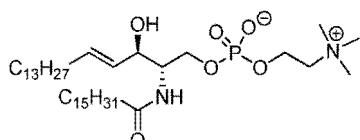
【 化 2 】



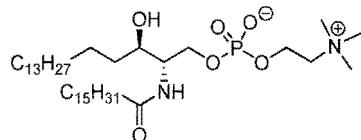
化合物A



化合物B



化合物C



化合物D

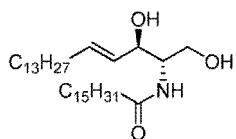
【 0 0 0 6 】

スフィンゴミエリンのこの天然源の工業的および経済的に関連する合成の代替手段は、まだ開発されていない。当該技術分野において公知の合成経路は、スフィンゴミエリンの大規模合成、特に、12 ~ 25 個の炭素を有する脂肪酸による大規模合成に有用ではなかった。

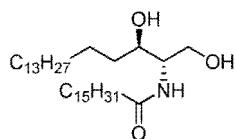
【 0 0 0 7 】

セラミド N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物 E ）および N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン（化合物 F ）はそれぞれ、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンおよび N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンの合成の中間体である。

【 化 3 】



化合物E



化合物F

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

10

20

30

40

50

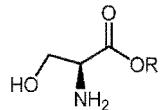
## 【0008】

## 発明の概要

一実施形態において、本発明は、D-エリトロ-スフィンゴシンを合成するための方法であって、

a) 以下の構造：

## 【化4】



10

(式中、Rが、C1～5アルキル基、またはその塩である)を有するL-セリンエステルのアミノ基を、tert-ブトキシカルボニル基で保護して、Boc保護されたL-セリンエステルを得る工程と；

b) (S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸の対応するC1～C5アルキルエステルを得るのに有効な条件下で、ベンゼンスルホン酸の存在下で、Boc保護されたL-セリンエステルを、2,2-ジメトキシプロパンと反応させる工程と；

c) (S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシ-ホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを得るのに有効な条件下で、n-ブチルリチウムの存在下で、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸の対応するC1～C5アルキルエステルを、メチルホスホン酸ジメチル(dimethyl methylphosphonate)と反応させる工程と；

d) (S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを得るのに有効な条件下で、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシ-ホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを、1-テトラデカナールと反応させる工程と；

e) (2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを得るのに有効な条件下で、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを、水素化ホウ素ナトリウムおよび三塩化セリウムと反応させる工程と；

f) D-エリトロ-スフィンゴシンを得るのに有効な条件下で、(2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンのtert-ブトキシカルボニル(Boc)保護基を除去する工程と

を含む方法を提供する。

## 【0009】

40

さらなる実施形態において、本発明は、N-パルミトイyl-D-エリトロ-スフィンゴシンを合成するための方法であって、

a) (1R,2R,5R)-エチル-((2-ヒドロキシピナン-3-イレン)アミノ)アセテートを得るのに有効な条件下で、(1R,2R,5R)-(+)-2-ヒドロキシ-3-ピナノンを、エチルグリシネートと反応させる工程と；

b) (2S,3R,E)-エチル3-ヒドロキシ-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-ヒドロキシ-2,6,6-トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン-3-イリデン)アミノ)オクタデカ-4-エノエートおよび(2S,3R,E)-イソプロピル3-ヒドロキシ-2-((E)-((1S,2S,5S)-2-ヒドロキシ-2,6,6-トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン-3-イリデン)アミノ)オクタデカ-

50

4 - エノエートの一方または両方を得るのに有効な条件下で、クロロチタントリイソプロポキシドおよびトリエチルアミンの存在下で、(1R, 2R, 5R) - エチル - ((2 - ヒドロキシビナン - 3 - イレン) アミノ) アセテート(化合物IIIB)を、2 - (E) - ヘキサデセン - 1 - アールと反応させる工程と；

c) (2R, 3R, E) - エチル 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエートおよび(2R, 3R, E) - プロピル 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエートの一方または両方を得るのに有効な条件下で、(2S, 3R, E) - エチル 3 - ヒドロキシ - 2 - ((E) - ((1S, 2S, 5S) - 2 - ヒドロキシ - 2, 6, 6 - トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン - 3 - イリデン) アミノ) オクタデカ - 4 - エノエートおよび(2S, 3R, E) - イソプロピル 3 - ヒドロキシ - 2 - ((E) - ((1S, 2S, 5S) - 2 - ヒドロキシ - 2, 6, 6 - トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン - 3 - イリデン) アミノ) オクタデカ - 4 - エノエートの一方または両方を、10  
塩酸と反応させる工程と；

d) D - エリトロ - スフィンゴシンを得るのに有効な条件下で、(2R, 3R, E) - エチル 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエートおよび(2R, 3R, E) - プロピル 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエートの一方または両方を、水素化ホウ素ナトリウムと反応させる工程と；

e) N - パルミトイyl - D - エリトロ - スフィンゴシンを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - スフィンゴシンを、パルミチン酸と反応させる工程と  
を含む方法を提供する。20

#### 【0010】

さらに別の実施形態において、本発明は、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a) D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - スフィンゴシンを、脂肪酸と反応させる工程と；

b) 1 - O - トリチル - D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - セラミドを、トリチル化試薬と反応させる工程と；

c) 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、1 - O - トリチル - D - エリトロ - セラミドを、ベンゾイル化試薬と反応させる工程と；30

d) 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドのトリチル基を除去して、D - エリトロ - 3 - O - ベンゾイル - セラミドを得る工程と；

e) 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - (2 - オキソ - 1, 3, 2 - ジオキサホスホラン) セラミドを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1, 3, 2 - ジオキサホスホラン(CCP)と反応させる工程と；

f) N - アシル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - (2 - オキソ - 1, 3, 2 - ジオキサホスホラン) セラミドを、トリメチルアミンと反応させる工程と；

g) N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、N - アシル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンのベンゾイル基を除去する工程と  
を含む方法を提供する。40

#### 【0011】

特定の実施形態において、本発明は、D - エリトロ - 3 - O - ベンゾイル - セラミドを合成するための方法であって、

a) 1 - O - トリチル - D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - セラミドを、トリチル化試薬と反応させる工程と；

b) 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、1 - O - トリチル - D - エリトロ - セラミドを、ベンゾイル化試薬と反応さ50

せる工程と；

c ) 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドのトリチル基を除去する工程と

を含む方法を提供する。

#### 【0012】

さらに別の実施形態において、本発明は、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a ) 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) セラミドを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ( C C P ) 10 と反応させる工程と；

b ) 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) セラミドを、トリメチルアミンと反応させる工程と；

c ) N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドのベンゾイル基を除去する工程とを含む方法を提供する。

#### 【0013】

さらに別の実施形態において、本発明は、N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a ) D - エリトロ - ジヒドロセラミドを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを、脂肪酸と反応させる工程と；

b ) 1 - O - トリチル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - ジヒドロセラミドを、トリチル化剤と反応させる工程と；

c ) 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドを得るのに有効な条件下で、1 - O - トリチル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドを、ベンゾイル化剤と反応させる工程と；

d ) 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドのトリチル基を除去する工程と；

e ) 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) ジヒドロセラミドを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ( C C P ) 30 と反応させる工程と；

f ) N - アシル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) ジヒドロセラミドを、トリメチルアミンと反応させる工程と；

g ) N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、N - アシル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンのベンゾイル基を除去する工程とを含む方法を提供する。

#### 【0014】

さらに別の実施形態において、本発明は、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a ) N - ( ( 2 S , 3 R , E ) - 1 - ( ( 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン - 2 - イル ) オキシ ) - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エン - 2 - イル ) パルミトイールアミドを得るのに有効な条件下で、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンを、ハロニアリノ酸エチレンと反応させる工程と；

b) 2 - プロモエチル( ( 2 S , 3 R , E ) - 3 - ヒドロキシ - 2 - パルミトアミドオクタデカ - 4 - エン - 1 - イル) ホスホロプロミデートを得るのに有効な条件下で、N - ( ( 2 S , 3 R , E ) - 1 - ( ( 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン - 2 - イル) オキシ) - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エン - 2 - イル) パルミトイアルアミドを、臭素と反応させる工程と；

c) N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、2 - プロモエチル( ( 2 S , 3 R , E ) - 3 - ヒドロキシ - 2 - パルミトアミドオクタデカ - 4 - エン - 1 - イル) ホスホロプロミデートを、トリメチルアミンと反応させる工程と

を含む方法を提供する。

10

#### 【 0 0 1 5 】

特定の実施形態において、本発明は、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a) N - ( ( 2 S , 3 R ) - 1 - ( ( 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン - 2 - イル) オキシ) - 3 - ヒドロキシオクタデカン - 2 - イル) パルミトアミドを得るのに有効な条件下で、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを、クロロ亜リン酸エチレンと反応させる工程と；

b) 2 - プロモエチル( ( 2 S , 3 R ) - 3 - ヒドロキシ - 2 - パルミトアミドオクタデシル) ホスホロプロミデートを得るのに有効な条件下で、N - ( ( 2 S , 3 R ) - 1 - ( ( 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン - 2 - イル) オキシ) - 3 - ヒドロキシオクタデカン - 2 - イル) パルミトアミドを、臭素と反応させる工程と；

c) N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、2 - プロモエチル( ( 2 S , 3 R ) - 3 - ヒドロキシ - 2 - パルミトアミドオクタデシル) ホスホロプロミデートを、トリメチルアミンと反応させる工程と

を含む方法を提供する。

20

#### 【 0 0 1 6 】

さらなる実施形態において、本発明は、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a) 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン) セラミドを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ( C C P ) と反応させる工程と；

b) N - アシル - 3 - D - エリトロ - ベンゾイル - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン) セラミドを、トリメチルアミンと反応させる工程と；

c) N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、3 - O - D - エリトロ - ベンゾイル - スフィンゴミエリンのベンゾイル基を除去する工程と

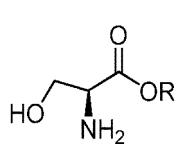
を含む方法を提供する。

#### 【 0 0 1 7 】

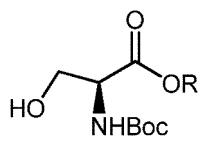
さらに別の実施形態において、本発明は、本発明の方法のための中間体として有用な以下の化合物：

40

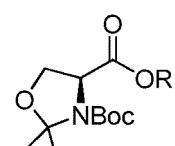
【化5】



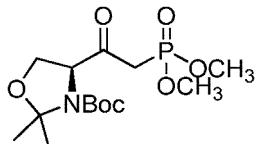
L-セリンエステル  
化合物Ia,およびその塩 ;



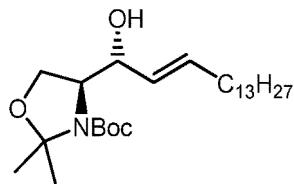
Boc-L-Ser-OR  
化合物Ib ;



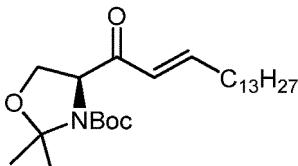
化合物Ic ;



(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-ジメトキシホスホリル)-1-オキソ-エチル-2,2-ジメチルオキサゾリジン  
化合物Id ;

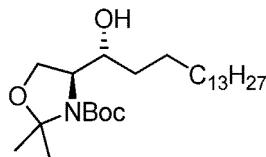


(2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン  
化合物If ;



(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン  
化合物Ig ;

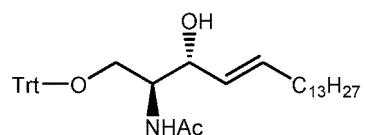
10



((S)-tert-ブチル4-((R)-1-ヒドロキシヘキサデシル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン-3-カルボキシレート  
化合物IIa ;

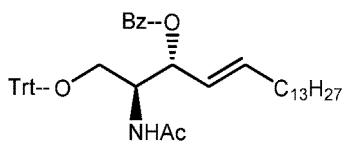
20

【化 6】



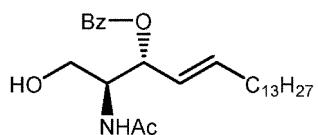
## 1-O-トリチル-D-エリトロ-セラミド 化合物Vc-Trt

•  
,

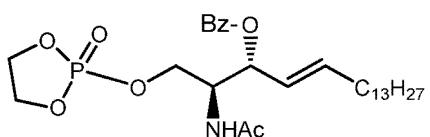


1-O-ベンゾイル-3-O-トリチル-D-エリトロ-  
セラミド  
化合物Vd-Bz-Trt

- 3 -

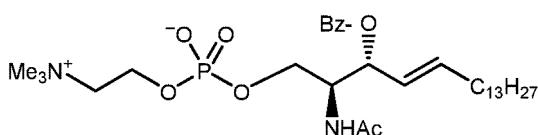


### 1-O-ベンゾイル-D-エリトロ-セラミド 化合物Ve-Bz



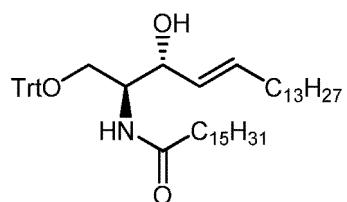
3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-1-O-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン)-セラミド  
化合物Vf-Bz

10



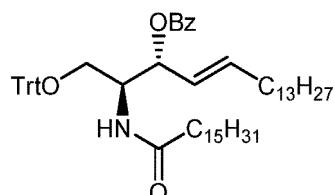
化合物Vg-Bz

•



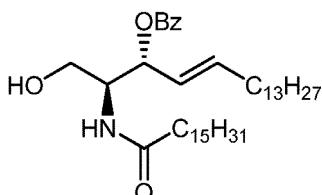
### N-パルミトイール-1-O-トリチル-D-エリトロ-スフィンゴシン 化合物Vla

20



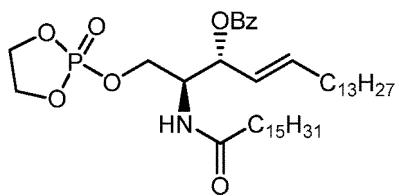
N-パルミトイール-1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン  
化合物Vlb

•  
,



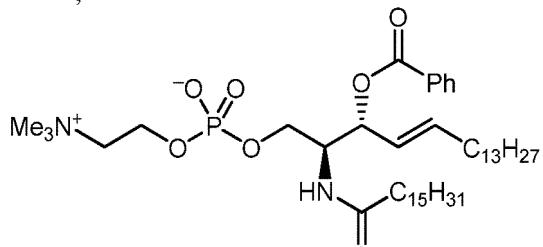
### N-パルミトイル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン 化合物VIc

30



N-パルミトイル3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-1-O-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン)-スフィンゴシン化合物VId

1

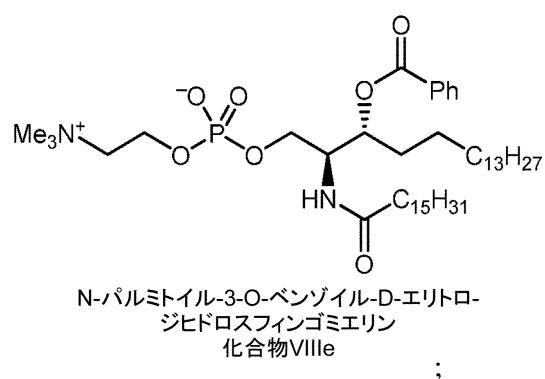
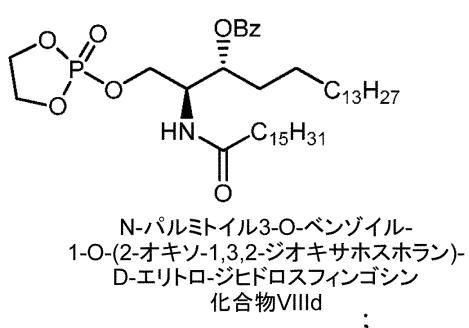
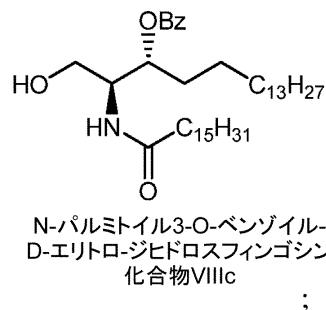
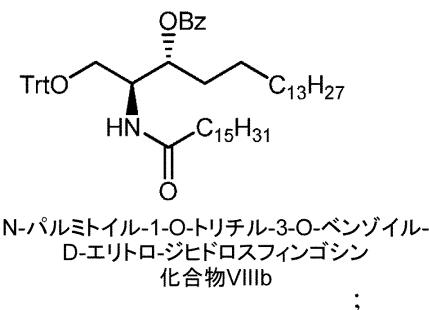
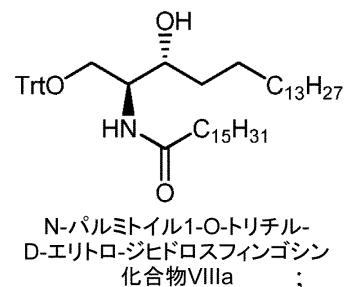
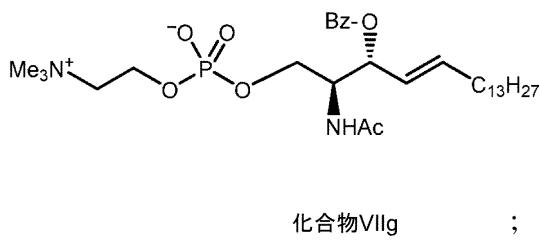
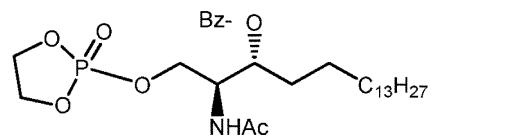
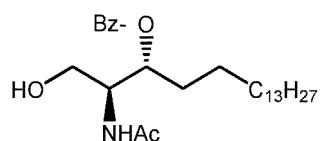
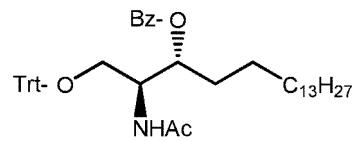
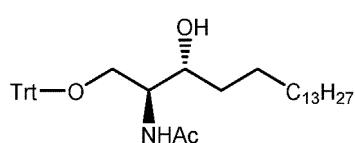


N-パルミトイyl3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-  
スフィンゴミエリン  
化合物Vle

•

40

## 【化7】



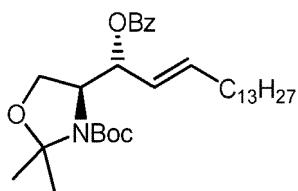
10

20

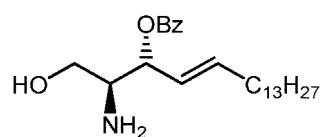
30

40

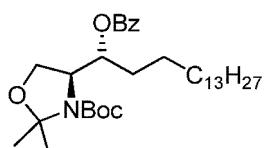
## 【化 8】



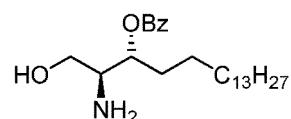
(2S,3R,4E)-3-(tert.-ブトキカルボニル)-4-(1-ベンゾイル-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン  
化合物IXa ;



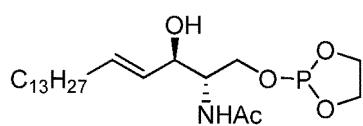
D-エリトロ-3-O-ベンゾイル-スフィンゴシン  
化合物IXb ;



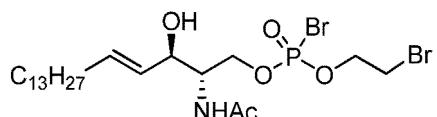
(S)-tert-ブチル4-((R)-1-(ベンゾイルオキシ)ヘキサデシル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン-3-カルボキシレート  
化合物XIIa ;



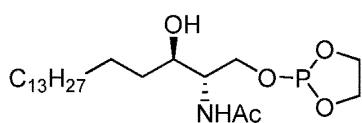
3-O-ベンゾイル-  
D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン  
化合物XIIb ;



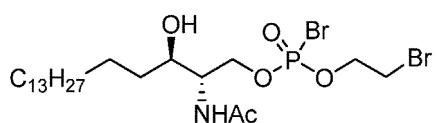
化合物XIIIa ;



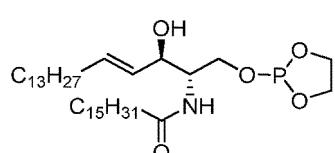
化合物XIIIb ;



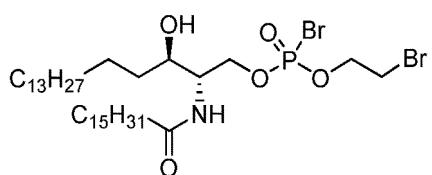
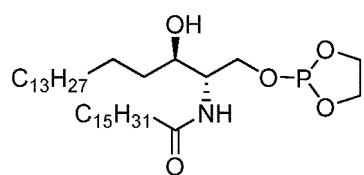
化合物XIVa ;



化合物XIVb ;



N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-ジオキサホスホラン-2-イル)オキシ)-3-ヒドロキシオクタデカ-4-エン-2-イル)パルミトアミド ; 2-ブロモエチル((2S,3R,E)-3-ヒドロキシ-2-パルミトアミドオクタデカ-4-エン-1-イル)ホスホロブロミデート ;



N-((2S,3R)-1-((1,3,2-ジオキサホスホラン-2-イル)オキシ)-3-ヒドロキシオクタデカン-2-イル)パルミトアミド ; および 2-ブロモエチル((2S,3R)-3-ヒドロキシ-2-パルミトアミドオクタデシル)ホスホロブロミデート ,

(式中、A c が、3 ~ 3 6 個の炭素および 0 ~ 6 個の炭素 - 炭素二重結合を有する脂肪酸残基であり ;

10

20

30

40

50

R が、C 1 ~ 5 アルキル基である)を提供する。

**【図面の簡単な説明】**

**【0018】**

【図1】天然の卵スフィンゴミエリンの<sup>1</sup>H NMRスペクトルである。

【図2】本発明の方法にしたがって合成されるN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの<sup>1</sup>H NMRスペクトルである。

【図3】本発明の方法にしたがって合成されるN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの<sup>1</sup>H NMRスペクトルである。

【図4】R - メトキシフェニル(methoxyphenyl)酢酸と天然の卵スフィンゴミエリンとの反応混合物から採取された試料の<sup>1</sup>H NMRスペクトルである。 10

【図5】R - メトキシフェニル(methoxyphenyl)酢酸と本発明の方法にしたがって合成されるN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンとの反応混合物から採取された試料の<sup>1</sup>H NMRスペクトルである。

【図6】R - メトキシフェニル酢酸と本発明の方法にしたがって合成されるN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンとの反応混合物から採取された試料の<sup>1</sup>H NMRスペクトルである。

【図7】1当量の卵スフィンゴミエリンおよびR - (-) - MPAメトキシフェニル酢酸(R - MPA)とS - (+) - メトキシフェニル酢酸(S - MPA)との1.2当量のラセミ混合物、1.2当量のジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、および触媒量の4 - ジメチルアミノピリジン(DMAP)(下部)の反応混合物から採取された試料の<sup>1</sup>H NMRスペクトルおよびR - MPA(上部)およびS - MPA(真ん中)エステルにおけるH2水素ピークの選択励起を示す1D - TOCSY(1次元全相関分光法(1 Dimensional-Total Correlation Spectroscopy))スペクトルである。 20

【図8】粗製のN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン(化合物V1c)の薄層クロマトグラフィープレートの写真である。「粗生成物」と記されたカラムにおいて、「A」として特定されたスポットは、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシン(化合物E)であり、「B」として特定されたスポットは、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン(化合物V1c)であり、「C」として特定されたスポットは、N - パルミトイール - 1 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン(ベンゾイル基の移動の生成物)であり、「D」として特定されたスポットは、トリフェニルメタノール(トリチル-OH)であり、「E」として特定されたスポットは、N - パルミトイール - 1, 3 - O, O - デベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンである。 30

**【発明を実施するための形態】**

**【0019】**

**発明の詳細な説明**

本発明は、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法を提供する。本発明は、D - エリトロ - スフィンゴシンの合成のための方法も提供する。本発明は、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを合成するための方法も提供する。本発明は、D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンの合成のための方法も提供する。本発明は、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンおよびN - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを合成するための方法も提供する。 40

**【0020】**

本発明は、キログラム規模でD - エリトロ - スフィンゴシンを合成するための方法も提供する。特定の実施形態において、D - エリトロ - スフィンゴシンは、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンである。

**【0021】**

本発明は、キログラム規模でD - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを合成するための方法も提供する。特定の実施形態において、D - エリトロ - スフィンゴシンは、N - パル 50

ミトイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンである。

【0022】

本発明は、スフィンゴミエリンを合成するための方法を提供する。本方法は、実質的に鏡像異性的に純粋な化合物の大規模な合成および実質的に鏡像異性的に純粋な中間体の使用を可能にする。「実質的に鏡像異性的に純粋な」化合物は、約 10 mol % 以下のその対応する反対の鏡像異性体、別の実施形態において、約 5 mol % 以下のその対応する反対の鏡像異性体、別の実施形態において、約 2 mol % 以下のその対応する反対の鏡像異性体、および別の実施形態において、約 1 mol % 以下のその対応する反対の鏡像異性体、および別の実施形態において、約 0.1 mol % 以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。ある実施形態において、本発明は、12 ~ 25 個の炭素の脂肪酸鎖長を有するスフィンゴミエリンを調製するための方法を提供する。10

【0023】

本発明は、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法を提供する。本発明の特定の実施形態において、D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、好適な L - セリンエステル（メチル、エチル、i - プロピル、n - プチルなど）を用いて、大きい、商業的に関連する規模で合成され得る。本発明の方法は、D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成に有用である。

【0024】

本発明は、D - エリトロ - スフィンゴシンの合成に有用な方法も提供する。

【0025】

本発明は、中間体として有用な化合物を含む、本明細書に記載される方法を用いて合成可能な化合物も提供する。20

【0026】

本発明は、本明細書に開示される方法の中間体または生成物を合成するのに有用な、本明細書に開示される方法の各個別の工程をさらに提供する。

【0027】

本明細書に記載されるように、スフィンゴミエリンは、極性頭部基に結合されたセラミドコアを有する。

【0028】

セラミドコアは、アミド結合を介して脂肪酸に結合されたスフィンゴシンを含む。「セラミド - C<sub>n</sub>」という用語が使用される場合、n は整数であり、脂肪酸残基中の炭素 (C) の数を指し、例えば、セラミド - C<sub>16</sub> は、パルミトイルなどの、16 - 炭素脂肪酸残基を有するセラミドコアを指し、セラミド - C<sub>18</sub> は、ステアロイルなどの、18 - 炭素脂肪酸残基を有するセラミドコアを指す。30

【0029】

「セラミド」または「セラミドコア」が、脂肪酸炭素鎖の長さを特定せずに使用される場合、脂肪酸鎖炭素が、任意の好適な長さであり得ることが理解されるべきである。

【0030】

本明細書において使用される際、「スフィンゴミエリン」という用語は、ホスホリルコリン官能基に結合されたセラミドコアを表す。40

【0031】

脂肪酸は、飽和または不飽和のいずれかであり得る長い脂肪族末端を有するカルボン酸である。不飽和脂肪酸は、1つまたは複数の炭素 - 炭素二重結合を有し、各炭素 - 炭素二重結合は、シスまたはトランス配置で存在し得る。脂肪酸残基は、脂肪酸から、脂肪酸のカルボキシリル基の - OH 基を差し引いたものである。本明細書において使用される際、「AC」という用語は、脂肪酸残基を指す。

【0032】

本発明の特定の実施形態において、脂肪酸または脂肪酸残基は、3 ~ 36 個の炭素および 0 ~ 6 個の炭素 - 炭素二重結合を有する。本発明の特定の実施形態において、脂肪酸または脂肪酸残基は、4 ~ 28 個の炭素および 0 ~ 6 個の炭素 - 炭素二重結合を有する。本50

発明のさらなる実施形態において、脂肪酸または脂肪酸残基は、11～25個の炭素および0～6個の炭素-炭素二重結合を有する。本発明のさらに他の実施形態において、脂肪酸または脂肪酸残基は、11～25個の炭素および1個または2個の炭素-炭素二重結合を有する。本発明のさらなる実施形態において、脂肪酸または脂肪酸残基は、14～20個の炭素および0～6個の炭素-炭素二重結合を有する。本発明のさらに他の実施形態において、脂肪酸または脂肪酸残基は、15～17個の炭素および0～6個の炭素-炭素二重結合を有する。本発明の特定の実施形態において、脂肪酸は、パルミチン酸であり、脂肪酸残基は、パルミトイである。

#### 【0033】

また、好適な脂肪酸としては、以下に限定はされないが、-3、または-6、または-9脂肪酸などのオメガ脂肪酸；および以下に限定はされないが、リノール酸(LA)、-リノレン酸(ALA)、n-3脂肪酸、例えば、エイコサペンタエン酸(EPA)およびドコサヘキサエン酸(DHA)などの必須脂肪酸が挙げられる。

#### 【0034】

本発明に有用な好適な脂肪酸としては、以下に限定はされないが、プロピオン酸、酪酸、吉草酸、カプロン酸、エナント酸、カブリル酸、ペラルゴン酸、カプリン酸、ウンデシル酸、ラウリン酸、トリデシル酸、ミリストン酸、ペントデシル酸、パルミチン酸、マルガリン酸、ステアリン酸、ノナデシル酸、アラキジン酸、ヘンイコシル酸、ベヘン酸、トリコシル酸、リグノセリン酸、ペントコシル酸(pentacosylic acid)、セロチニ酸、ヘプタコシル酸(heptacosylic acid)、モンタン酸、ノナコシル酸(nonacosylic acid)、メリシン酸、ヘントリアコンチル酸(henatriacontylic acid)、ラッセル酸、フィリニ酸(psyllic acid)、ゲダ酸、セロプラスチン酸、ヘキサトリアコンチル酸(hexatriacontylic acid)、ミリストレイン酸、パルミトレイン酸、サピエン酸、オレイン酸、エライジン酸、バクセン酸、リノール酸、リノエライジン酸、-リノレン酸、およびエルカ酸が挙げられる。

#### 【0035】

脂肪酸が、一価不飽和脂肪酸である場合、脂肪酸は、以下に限定はされないが、オレイン酸、エライジン酸、ミリストレイン酸、パルミトレイン酸、サピエン酸、オレイン酸、エライジン酸、バクセン酸、およびエルカ酸などのシス-またはトランス-一価不飽和脂肪酸であり得る。

#### 【0036】

本明細書において使用される際、「 $C_{13}H_{27}-$ 」および「 $C_{15}H_{31}-$ 」はそれぞれ、 $CH_3(CH_2)_{12}-$ および $CH_3(CH_2)_{14}-$ を意味する。

#### 【0037】

本明細書において使用される際、「アシル」という用語は、一般式- $C(O)R$ の基を指し、ここで、Rが、2～35個の炭素および0～6個の炭素-炭素二重結合を有するアルキル基である。

#### 【0038】

本発明の特定の化合物は、塩の形態であり得る。ある実施形態において、塩は、薬学的に許容できる塩である。薬学的に許容できる塩は、例えば、酸-付加塩および塩基-付加塩を含む。酸-付加塩を形成する酸は、有機酸または無機酸であり得る。塩基-付加塩を形成する塩基は、有機塩基または無機塩基であり得る。ある実施形態において、薬学的に許容できる塩は、金属塩である。ある実施形態において、薬学的に許容できる塩は、アンモニウム塩である。

#### 【0039】

酸-付加塩は、本発明の化合物の遊離塩基形態への酸の付加から生じ得る。ある実施形態において、酸は、有機である。ある実施形態において、酸は、無機である。好適な酸の非限定的な例としては、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硝酸、亜硝酸、硫酸、亜硫酸、リン酸、ニコチン酸、イソニコチン酸、乳酸、サリチル酸、4-アミノサリチル酸、酒石酸、アスコルビン酸、ゲンチジン(gentisic)酸、グルコン酸、グルクロン(glucaroni

10

20

30

40

50

c)酸、サッカリン(saccaric)酸、ギ酸、安息香酸、グルタミン酸、パントテン酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、フマル酸、コハク酸、クエン酸、シュウ酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、メチルマレイン酸、グリコール酸、リンゴ酸、ケイ皮酸、マンデル酸、2-フェノキシ安息香酸、2-アセトキシ安息香酸、エンボン酸、フェニル酢酸、N-シクロヘキシリスルファミン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、エタン-1,2-ジスルホン酸、4-メチルベンゼンスルホン酸、ナフトレン-2-スルホン酸、ナフトレン-1,5-ジスルホン酸、2-ホスホグリセリン酸、3-ホスホグリセリン酸、グルコース-6-リン酸、およびアミノ酸が挙げられる。

## 【0040】

10

好適な酸-付加塩の非限定的な例としては、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、亜硝酸塩、硫酸塩、亜硫酸塩、リン酸塩、リン酸水素塩、リン酸二水素塩、炭酸塩、重炭酸塩、ニコチン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、4-アミノサリチル酸塩、酒石酸塩、アスコルビン酸塩、ゲンチジン酸塩、グルコン酸塩、グルクロン(glucarone)酸塩、サッカリン(saccharate)酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、パントテン酸塩、酢酸塩、プロピオン酸塩、酪酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、メチルマレイン酸塩、グリコール酸塩、リンゴ酸、ケイ皮酸塩、マンデル酸塩、2-フェノキシ安息香酸塩、2-アセトキシ安息香酸塩、エンボン酸塩、フェニル酢酸塩、N-シクロヘキシリスルファミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、エタン-1,2-ジスルホン酸塩、4-メチルベンゼンスルホン酸塩、ナフトレン-2-スルホン酸塩、ナフトレン-1,5-ジスルホン酸塩、2-ホスホグリセリン酸塩、3-ホスホグリセリン酸塩、グルコース-6-リン酸塩、およびアミノ酸塩が挙げられる。

20

## 【0041】

金属塩は、カルボキシル基を有する本発明の化合物への無機塩基の付加から生じ得る。無機塩基は、例えば、水酸化物イオン、炭酸イオン、重炭酸イオン、またはリン酸イオンなどの塩基性対イオンと対になった金属カチオンからなる。金属は、アルカリ金属、アルカリ土類金属、遷移金属、または主族金属であり得る。好適な金属の非限定的な例としては、リチウム、ナトリウム、カリウム、セシウム、セリウム、マグネシウム、マンガン、鉄、カルシウム、ストロンチウム、コバルト、チタン、アルミニウム、銅、カドミウム、および亜鉛が挙げられる。

30

## 【0042】

好適な金属塩の非限定的な例としては、リチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、セシウム塩、セリウム塩、マグネシウム塩、マンガン塩、鉄塩、カルシウム塩、ストロンチウム塩、コバルト塩、チタン塩、アルミニウム塩、銅塩、カドミウム塩、および亜鉛塩が挙げられる。

## 【0043】

40

アンモニウム塩は、カルボキシル基を有する本発明の化合物へのアンモニアまたは有機アミンの付加から生じ得る。好適な有機アミンの非限定的な例としては、トリエチルアミン、ジイソプロピルアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、モルホリン、N-メチルモルホリン、ピペリジン、N-メチルピペリジン、N-エチルピペリジン、ジベンジルアミン、ピペラジン、ピリジン、ピラゾール(pyrazole)、イミダゾール、ピラジン、ピペラジン(piperazine)、エチレンジアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン、プロカイン、クロロプロカイン、コリン、ジシクロヘキシリアミン、およびN-メチルグルカミンが挙げられる。

## 【0044】

50

好適なアンモニウム塩の非限定的な例としては、トリエチルアンモニウム塩、ジイソプロピルアンモニウム塩、エタノールアンモニウム塩、ジエタノールアンモニウム塩、トリエタノールアンモニウム塩、モルホリニウム塩、N-メチルモルホリニウム塩、ピペリジ

ニウム塩、N-メチルピペリジニウム塩、N-エチルピペリジニウム塩、ジベンジルアンモニウム塩、ピペラジニウム塩、ピリジニウム塩、ピラゾリウム(pyrazolium)塩、イミダゾリウム塩、ピラジニウム塩、エチレンジアンモニウム塩、N,N'-ジベンジルエチレンジアンモニウム塩、プロカイン塩、クロロプロカイン塩、コリン塩、ジシクロヘキシリアンモニウム塩、およびN-メチルグルカミン塩が挙げられる。

## 【0045】

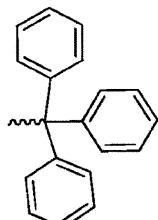
参照される数値表示に関連して使用される際の「約」という用語は、参照される数値表示プラスまたはマイナスその参照される数値表示の10%以下を意味する。例えば、「約50」という用語は、45~55の範囲を包含する。

## 【0046】

一般的な方法

「Trt」は、構造：

## 【化9】



10

20

を有するトリチル(トリフェニルメチル)保護基を表す。

## 【0047】

本明細書において使用される際、トリチル化試薬としては、以下に限定はされないが、塩化トリチルおよび臭化トリチルなどのハロゲン化トリチルが挙げられる。

## 【0048】

トリチル保護基の除去は、典型的に、以下のように進行する：トリチル保護されたスフインゴミエリンを、有機溶媒に溶解させ、酸を加える。反応は、1~16時間にわたって約22の温度で進行する。反応混合物を、塩基の添加によって中和する。有機溶媒は、プロトン性極性溶媒、非プロトン性極性溶媒、またはそれらの混合物であり得る。一実施形態において、有機溶媒は、プロトン性極性溶媒であり、メタノール、エタノール、n-プロパノール、またはイソプロパノールである。一実施形態において、有機溶媒は、非プロトン性極性溶媒である。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩素化されており、塩化メチレン、クロロホルム、または四塩化炭素である。別の実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩素化されておらず、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、または酢酸エチルである。酸は、トリチル保護基の除去に好適であることが当業者に知られている任意の酸、例えば、酢酸、トリフルオロ酢酸、塩酸およびp-トルエンスルホン酸であり得る。本発明の特定の実施形態において、酸は、p-トルエンスルホン酸である。特定の実施形態において、塩基は、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基である。

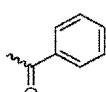
30

40

## 【0049】

「Bz」が、構造：

## 【化10】



を有するベンゾイル保護基を表す。

## 【0050】

本明細書において使用される際、ベンゾイル化試薬としては、以下に限定はされないが

50

、塩化ベンゾイルおよび臭化トリチルなどのハロゲン化ベンゾイルが挙げられる。

【0051】

ベンゾイル保護基の除去は、典型的に、以下のように進行する：ベンゾイル保護されたスフィンゴミエリンを、プロトン性極性溶媒に溶解させ、塩基を加える。反応は、約22で8～24時間にわたって進行する。一実施形態において、プロトン性極性溶媒は、メタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノール、またはそれらの混合物である。さらに別の実施形態において、塩基は、ナトリウムメトキシド、炭酸カリウム、水酸化リチウムである。特定の実施形態において、塩基は、ナトリウムメトキシドである。

【0052】

D-エリトロ-スフィンゴシン

10

特定の実施形態において、本発明は、スキームI（式中、Rが、C1～5アルキル基である）の化合物Iaのものなどの、L-セリンエステルを用いてD-エリトロ-スフィンゴシンを合成するための方法を提供する。特に定義されない限り、本明細書において使用される際の「アルキル」という用語は、アルカンからの水素原子の除去から得られる直鎖状、分枝鎖状、または環状の飽和基を指す。代表的な直鎖状アルキル基としては、-メチル、-エチル、-n-プロピル、-n-ブチル、および-n-ペンチルが挙げられる。代表的な分枝鎖状アルキル基としては、-イソプロピル、-sec-ブチル、-イソブチル、-tert-ブチル、-イソペンチル、-ネオペンチル、1-メチルブチル、2-メチルブチル、3-メチルブチル、1,1-ジメチルプロピルおよび1,2-ジメチルプロピルが挙げられる。代表的な環状アルキル基としては、シクロペンチル、およびシクロプロピルが挙げられる。

20

【0053】

本発明の特定の実施形態において、L-セリンエステルは、L-セリンメチルエステルである。別の実施形態において、L-セリンエステルは、L-セリンエチルエステルである。さらに別の実施形態において、L-セリンエステルは、L-ブチルエステルである。

【0054】

本発明の一実施形態において、D-エリトロ-スフィンゴシンは、以下の工程：

a) L-セリンエステル（化合物Ia）のアミノ基を、tert-ブトキシカルボニル基で保護して、Boc保護されたL-セリンエステル（化合物Ib）を得る工程と；

30

b) (S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸（化合物Ic）の対応するC1～C5アルキルエステルを得るのに有効な条件下で、ベンゼンスルホン酸の存在下で、Boc保護されたL-セリンエステルを、2,2-ジメトキシプロパンと反応させる工程と；

c) (S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシ-ホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン（化合物Id）を得るのに有効な条件下で、n-ブチルリチウムの存在下で、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸（化合物Ic）の対応するC1～C5アルキルエステルを、メチルホスホン酸ジメチルと反応させる工程と；

d) (S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン（化合物Ie）を得るのに有効な条件下で、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシ-ホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを、1-テトラデカナールと反応させる工程と；

40

e) (2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン（化合物If）を得るのに有効な条件下で、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを、水素化ホウ素ナトリウムおよび三塩化セリウムと反応させる工程と；

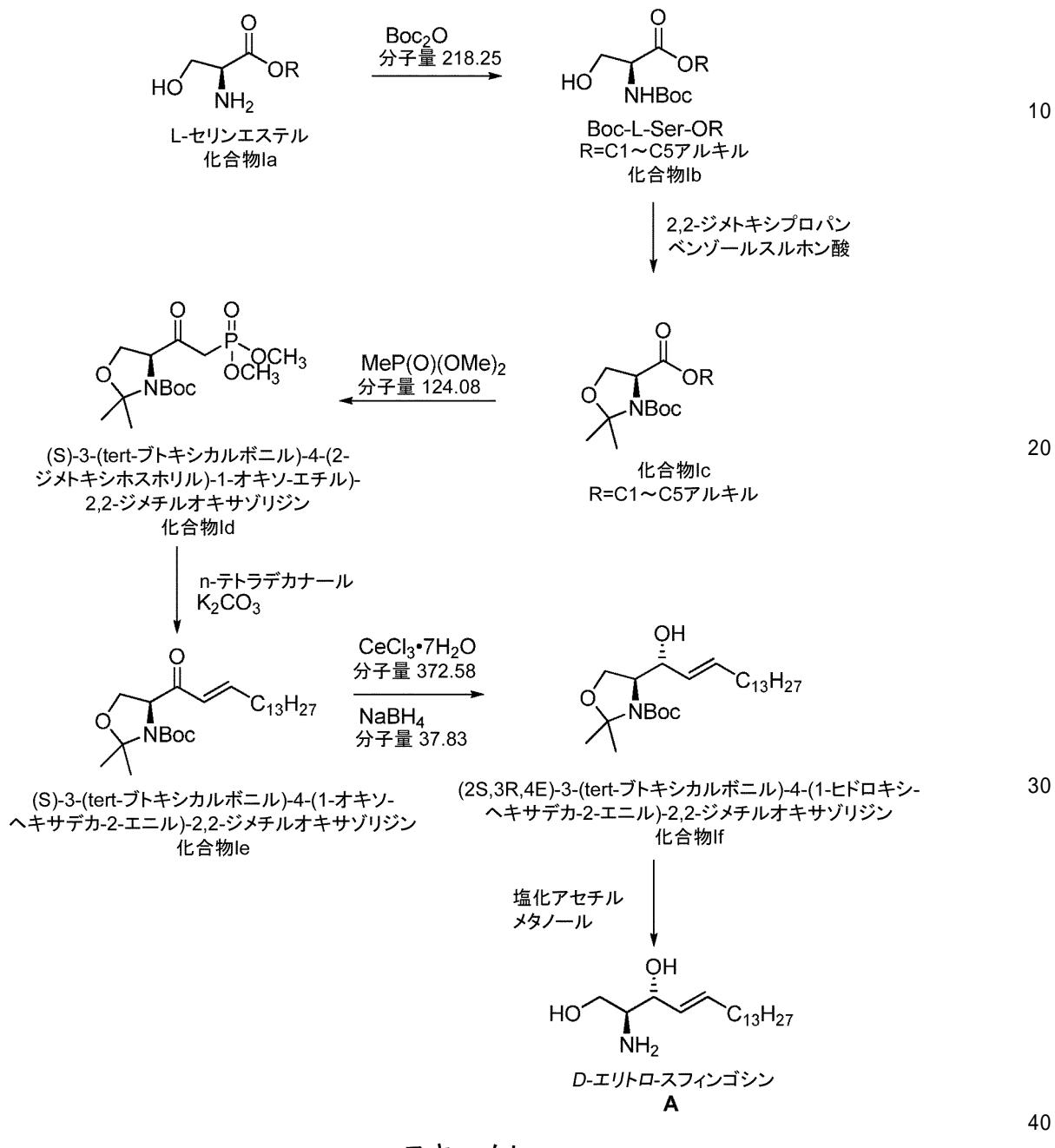
f) (2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒド

50

ロキシ - ヘキサデカ - 2 - エニル ) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジンの t e r t - プトキシカルボニル ( B o c ) 保護基を除去して、 D - エリトロ - スフィンゴシン ( 化合物 A ) を得る工程と

を含む、スキーム I に示される方法によって合成される。

【化 1 1】



### スキームI

#### 【 0 0 5 5 】

本発明の一態様において、 L - セリンエステル (スキーム I の化合物 I a ) のアミノ基を、トリエチルアミンまたはピリジンなどの塩基の存在下で、 t e r t - プトキシカルボニル ( B o c ) 基で保護して、 B o c 保護された L - セリンエステル ( 化合物 I b ) を得る。次に、反応を、水の添加によってクエンチすることができ、反応生成物、化合物 I b を、有機層から回収する。

#### 【 0 0 5 6 】

B o c 保護基の上記の添加は、約 6 ~ 24 時間にわたって約 22 ℃ の温度で、非プロト

ン性有機溶媒中で進行し得る。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩素化炭化水素、例えば、塩化メチレン、クロロホルムまたは四塩化炭素である。別の実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩素化されておらず、例えば、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、または酢酸エチルである。塩基は、典型的に、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基である。反応生成物、化合物 I b を、上記の非プロトン性有機溶媒を含むがこれに限定されない有機溶媒で、有機層から抽出することができる。

#### 【0057】

本発明の別の態様において、Boc 保護された L - セリンエステル（化合物 I b ）を、ベンゼンスルホン酸の存在下で、2 , 2 - ジメトキシプロパンと反応させて、(S) - 3 - (tert - プトキシカルボニル) - 2 , 2 - ジメチル - 4 - オキサゾリジンカルボン酸（化合物 I c ）の対応する C1 ~ C5 アルキルエステルを得る。反応は、有機溶媒中で、1 ~ 3 時間にわたって還流温度で進行し得る。一実施形態において、有機溶媒は、非極性であり、トルエン、ベンゼンまたはヘキサンである。別の実施形態において、有機溶媒は、極性有機溶媒であり、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、または酢酸エチルである。次に、反応物を、塩基で中和することができ、溶媒を蒸発させる。次に、水および有機溶媒を、残りの残渣に加えることができ、反応生成物を、有機溶媒を用いて、有機層から抽出することができる。塩基は、典型的に、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基である。反応生成物を、上記の有機溶媒を含むがこれらに限定されない有機溶媒で、有機層から抽出することができる。

#### 【0058】

本発明の別の態様において、(S) - 3 - (tert - プトキシカルボニル) - 2 , 2 - ジメチル - 4 - オキサゾリジンカルボン酸エステル（化合物 I c ）を、メチルホスホン酸ジメチルの存在下で、n - ブチルリチウムと反応させて、(S) - 3 - (tert - プトキシカルボニル) - 4 - (2 - (ジメトキシホスホリル) - 1 - オキソ - エチル) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジン（化合物 I d ）を得る。反応を、水でクエンチすることができ、pHを、有機酸の添加によって調整する。生成物を、有機相から回収することができる。反応は、約 2 ~ 4 時間にわたって約 - 70 ~ - 80 の温度で、有機溶媒中で進行し得る。特定の実施形態において、有機溶媒は、極性有機溶媒であり、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、または酢酸エチルである。特定の実施形態において、酸は、クエン酸または酢酸である。

#### 【0059】

本発明のさらなる実施形態において、(S) - 3 - (tert - プトキシカルボニル) - 4 - (2 - (ジメトキシホスホリル) - 1 - オキソ - エチル) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジン（化合物 I d ）を、塩基の存在下で、テトラデカナールと反応させて、(S) - 3 - (tert - プトキシカルボニル) - 4 - (1 - オキソ - ヘキサデカ - 2 - エニル) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジン（化合物 I e ）を得る。一実施形態において、塩基は、炭酸カリウムである。反応は、室温、例えば、約 22 で、有機溶媒および水の存在下で進行し得る。反応は、攪拌しながら 8 ~ 14 時間にわたって進行し得る。生成物、(S) - 3 - (tert - プトキシカルボニル) - 4 - (1 - オキソ - ヘキサデカ - 2 - エニル) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジン（化合物 I e ）を、有機相から回収することができる。特定の実施形態において、有機溶媒は、極性有機溶媒であり、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、または酢酸エチルである。

#### 【0060】

本発明のさらに別の実施形態において、(S) - 3 - (tert - プトキシカルボニル) - 4 - (1 - オキソ - ヘキサデカ - 2 - エニル) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジン（化合物 I e ）を、水素化ホウ素ナトリウムおよび塩化セリウム七水和物の存在下で還元して、(2S, 3R, 4E) - 3 - (tert - プトキシカルボニル) - 4 - (1 - ヒドロキシ - ヘキサデカ - 2 - エニル) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジン（化合物 I f ）を得る。例えば、化合物 I e および塩化セリウム七水和物を、有機溶媒中で攪拌し、混合物を、- 20 ~ - 15 に冷却する。水素化ホウ素ナトリウムを、1 ~ 6 時間にわたって混合

10

20

30

40

50

物に加える。水素化ホウ素ナトリウムの添加の後、反応は、15～90分間にわたって進行することができ、その時点で、それを、1～3時間にわたって約22℃に温める。22

に達した後、混合物を、30～90分間攪拌することができる。一実施形態において、有機溶媒は、プロトン性極性溶媒であり、メタノール、エタノール、n-プロパノール、またはイソプロパノールである。特定の実施形態において、水素化ホウ素ナトリウムを、固体として加える。他の実施形態において、水素化ホウ素ナトリウムを、水溶液として加える。本発明の特定の実施形態において、溶媒の少なくとも一部を、蒸発によって除去し、沈殿した塩をろ過し、有機溶媒で洗浄する。生成物、化合物Ifを、得られたろ液の有機相から回収することができる。

#### 【0061】

本発明の特定の実施形態において、(2S, 3R, 4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物If)を、脱保護して、D-エリトロ-スフィンゴシンを得る。反応は、以下のように進行し得る：メタノールを、約0℃に冷却し、塩化アセチルを、約15～60分間にわたって加える。次に、溶液を温めて、メタノール塩酸塩溶液を生成する。(2S, 3R, 4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン)を、メタノールに溶解させ、メタノール塩酸塩溶液を、約15～60分間にわたって加える。反応物を、塩基の添加によって中和することができる。次に、溶媒を、除去することができ、得られたD-エリトロ-スフィンゴシンを、残渣から回収することができる。塩基は、以下に限定はされないが、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基であり得る。

#### 【0062】

本発明の特定の実施形態において、D-エリトロ-スフィンゴシン(化合物A)を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

#### 【0063】

本発明の特定の実施形態は、L-セリンメチルエステルを用いてD-エリトロ-スフィンゴシンを合成する方法も提供する。

#### 【0064】

本発明の特定の実施形態において、L-セリンメチルエステル(化合物Ia、R=メチルである)を、酢酸エチルに懸濁させ、約2℃に冷却し、約1.15モル当量のトリエチルアミンを加えた後、酢酸エチル中の約1.15モル当量の二炭酸ジ-tert-ブチルを加える。反応混合物を、約22℃に温め、8～12時間攪拌する。精製水を加え、相を分離する。反応生成物Boc-L-Ser-OMe(化合物Ib、R=メチルである)を、有機層から酢酸エチルで抽出することができ、得られた画分を、減圧下で乾燥させる。

#### 【0065】

本発明の特定の実施形態において、Boc-L-Ser-OMe(化合物Ib、R=メチルである)を、テトラヒドロフランに溶解させ、3～4当量の2,2-ジメトキシプロパンを加えた後、テトラヒドロフラン中の約0.10当量のベンゼンスルホン酸の溶液を加え、テトラヒドロフランの一部を蒸留して取り除きながら、反応物を加熱還流させた。反応物を、約22℃でトリエチルアミンによってpH6.5まで中和する。溶媒を蒸留して取り除き、水およびヘキサンを加える。反応生成物、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸メチルエステル(化合物Ic、R=メチルである)を、ヘキサン層から単離することができる。

#### 【0066】

本発明の別の態様において、2当量のメチルホスホン酸ジメチルを、テトラヒドロフランに溶解させ、得られた混合物を、約-70～-80℃に冷却する。混合物を約-70～-80℃に保持しながら、ヘプタン中の約2当量のn-ブチルリチウムを、1～3時間にわたって加える。約1時間攪拌した後、混合物を約-70～-80℃に保持しながら、テトラヒドロフラン中の1当量の(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-

10

20

30

40

50

-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸メチルエステルを、30~90分間にわたって加える。混合物を、30~60分間にわたって約0に温め、次に、15~60分間攪拌する。反応を、テトラヒドロフラン中の水の添加によってクエンチし、pHを、クエン酸溶液の添加によってpH6~7に調整する。以下に限定はされないが、酢酸エチルまたはジエチルエーテルなどの有機溶媒を加え、生成物、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物Id)を、有機層から回収する。

#### 【0067】

本発明のさらなる態様において、1当量の(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物Id)および約2当量の炭酸カリウムを、約22で、アセトニトリル中で攪拌した後、約0.5当量の1-テトラデカナールおよび水を加える。反応は、攪拌しながら8~14時間にわたって進行する。塩をろ過して取り除き、ヘキサンで洗浄し、生成物、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物Ie)を、有機相から回収する。

#### 【0068】

本発明のさらに他の態様において、1当量の(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物Ie)および約1.1~1.5当量の塩化セリウム七水和物を、メタノール中で攪拌し、混合物を-20~-15に冷却する。約1.5当量の水素化ホウ素ナトリウムおよび約0.01当量のNaOHの水溶液を約0に冷却し、約4~6時間にわたって(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン混合物に加える。約15~60分間のさらなる攪拌の後、混合物を、1~3時間にわたって約22に加熱した後、30~90分間攪拌する。メタノールを減圧下で除去し、得られた水性懸濁液をろ過する。得られた固体を、トルエンなどの有機溶媒で洗浄する。水層を、トルエンなどの有機溶媒で少なくとも2回抽出する。有機層を組み合わせて、生成物、(2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物If)を、有機層から回収する。

#### 【0069】

本発明の特定の実施形態において、(2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物If)を、D-エリトロ-スフィンゴシンに転化する。反応は、以下のように進行する：メタノールを約0に冷却し、約2当量の塩化アセチルを、約15~60分間にわたって加えて、メタノール塩酸溶液を生成する。次に、溶液を室温に温める。(2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン)をメタノールに溶解させ、メタノール塩酸塩溶液を、約15~60分間にわたって加える。反応物を、トリエチルアミンの添加によって中和する。次に、溶媒を除去することができ、得られたD-エリトロ-スフィンゴシンを、残渣から回収することができる。

#### 【0070】

特定の実施形態において、本発明は、D-エリトロ-スフィンゴシンを合成するための方法であって、

a) L-セリンメチルエステルまたはその塩のアミノ基を、tert-ブトキシカルボニル基で保護して、Boc-L-Ser-OMeを得る工程と；

b) (S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸メチルエステルを得るのに有効な条件下で、ベンゼンスルホン酸の存在下で、Boc-L-Ser-OMeを、2,2-ジメトキシプロパンと反応させる工程と；

10

20

30

40

50

c) (S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシ-ホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを得るのに有効な条件下で、n-ブチルリチウムの存在下で、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸メチルエステルを、メチルホスホン酸ジメチルと反応させる工程と；

d) (S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを得るのに有効な条件下で、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシ-ホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを、1-テトラデカナールと反応させる工程と；

e) (2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを得るのに有効な条件下で、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを、水素化ホウ素ナトリウムおよび三塩化セリウムと反応させる工程と；

f) (2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンのtert-ブトキシカルボニル(Boc)保護基を除去して、D-エリトロ-スフィンゴシンを得る工程と

を含む方法を提供する。

10

20

#### 【0071】

#### D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン

特定の実施形態において、本発明は、化合物Iaのものなどの、好適なL-セリンエステルを用いてD-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンを合成するための方法を提供する。本発明の特定の実施形態において、Rが、1～5個の炭素を有するアルキル基である。特に定義されない限り、本明細書において使用される際の「アルキル」という用語は、アルカンからの水素原子の除去から得られる直鎖状、分枝鎖状、または環状の飽和基を指す。代表的な直鎖状アルキル基としては、-メチル、-エチル、-n-プロピル、-n-ブチル、-n-ペンチル、およびn-ヘプチルが挙げられる。代表的な分枝鎖状アルキル基としては、-イソプロピル、-sec-ブチル、-イソブチル、-tert-ブチル、-イソペンチル、-ネオペンチル、1-メチルブチル、2-メチルブチル、3-メチルブチル、1,1-ジメチルプロピルおよび1,2-ジメチルプロピルが挙げられる。代表的な環状アルキル基としては、シクロヘキシリル、シクロペンチル、およびシクロプロピルが挙げられる。

30

#### 【0072】

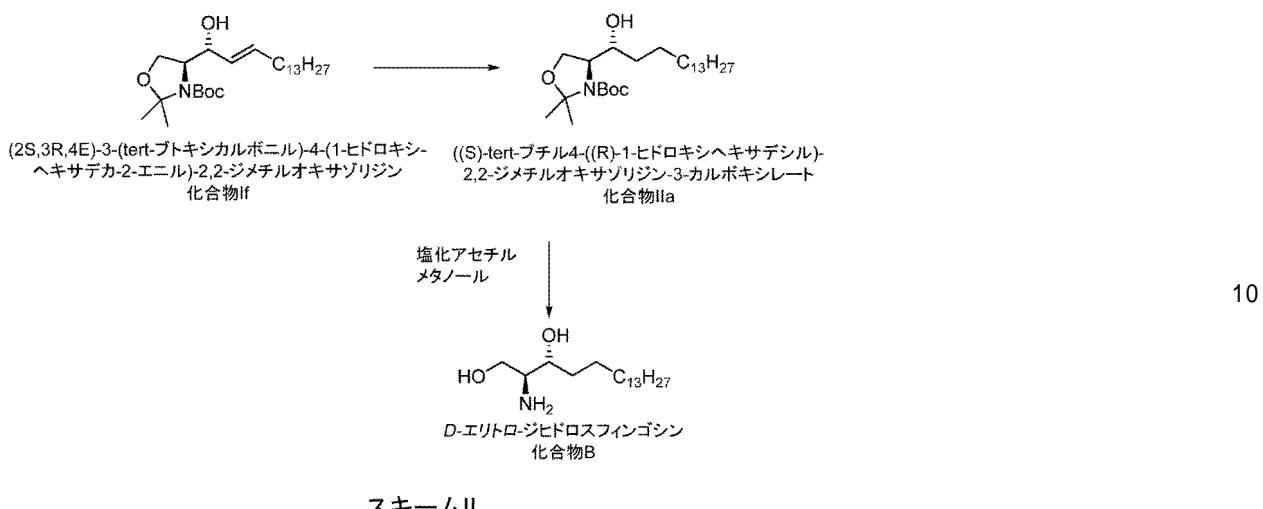
本発明の特定の実施形態において、L-セリンエステルは、L-セリンメチルエステルである。別の実施形態において、L-セリンエステルは、L-セリンエチルエステルである。さらに別の実施形態において、L-セリンエステルは、L-セリンブチルエステルである。

#### 【0073】

40

本発明の一実施形態において、D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンは、スキームIに示される方法によって合成される。反応は、以下の工程を含む：

## 【化12】



## 【0074】

化合物Ifを還元剤と反応させて、その対応する飽和化合物、化合物IIaを得る。H<sub>2</sub>、ならびに、以下に限定はされないが、パラジウム(0) / 炭素触媒ルテニウム(II)触媒、例えば、Ru(OAc)<sub>2</sub>(BINAP)、[{RuCl( $\mu$ -Cl)(<sup>6</sup>-C<sub>6</sub>Me<sub>6</sub>)<sub>2</sub>]、またはRu(OH)<sub>x</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>などの触媒の存在下で、以下に限定はされないが、第一級または第二級アルコール、THF、または2-メチル-THFなどの有機溶媒中で、反応を行う。

20

## 【0075】

特定の実施形態において、化合物Ifを、還流状態で、[{RuCl( $\mu$ -Cl)(<sup>6</sup>-C<sub>6</sub>Me<sub>6</sub>)<sub>2</sub>}の存在下で、約80°で、イソプロピルアルコール中のH<sub>2</sub>と反応させる。反応混合物をクエンチし、出発アリルアルコール、化合物Ifが、以下に限定はされないが、HPLC、薄層クロマトグラフィー、またはIRなどの、当業者に周知の方法を用いてもはや検出されないとき、後処理(work-up)にかける。特定の実施形態において、H<sub>2</sub>をガスとして加え、加圧下で、水素化容器中で反応を行う。

30

## 【0076】

粗製または精製された、このように得られる化合物IIaを、約0°でメタノールに溶解させ、塩化アセチルを、約15~60分間にわたって加え、メタノール塩酸を生成する。出発材料(または転化)が、クロマトグラフィー方法などの方法によってもはや検出されないとき、反応物を、以下に限定はされないが、トリエチルアミンもしくはピリジンなどの有機塩基、またはナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムおよびアンモニウムの重炭酸塩または炭酸塩などの、水溶液中の無機塩基であり得る塩基で処理する。さらに、反応混合物を、塩素化溶媒、酢酸エチルまたはジエチルエーテル、THF、t-ブチルメチルエーテル、イソプロピルエーテルなどのエーテルなどの溶媒で抽出する。次に、溶媒を除去し、得られたD-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンを遊離塩基として回収する。塩基を塩酸で処理して、対応する塩酸塩を生成することができる。

40

## 【0077】

## D-エリトロ-スフィンゴシン

別の実施形態において、本発明は、スキームIIIに示されるように、N-パルミトイル-D-エリトロ-スフィンゴシンを合成するための方法を提供する。

## 【0078】

さらに別の実施形態において、本発明は、N-パルミトイル-D-エリトロ-スフィンゴシンを合成するための方法であって、

a) (1R, 2R, 5R)-エチル-((2-ヒドロキシピナン-3-イレン)アミノ)アセテート(化合物IIIb)を得るのに有効な条件下で、(1R, 2R, 5R)-(10)

+ ) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ピナノン(化合物IIIa)を、エチルグリシネートと反応させる工程と；

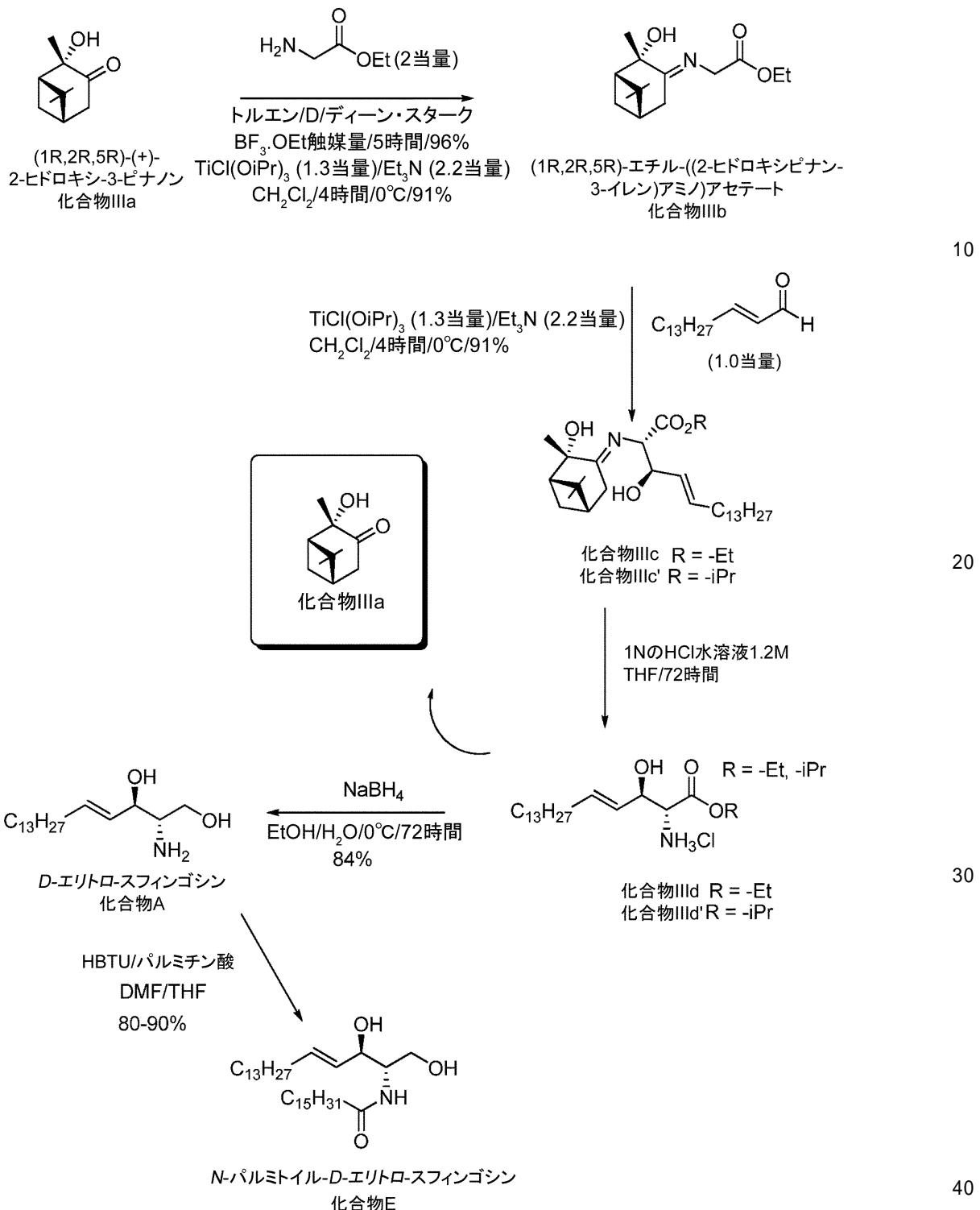
b) クロロチタントリイソプロポキシドおよびトリエチルアミンの存在下で、(1R, 2R, 5R) - エチル - ((2 - ヒドロキシピナン - 3 - イレン)アミノ)アセテート(化合物IIIb)を、2 - (E) - ヘキサデセン - 1 - アールと反応させて、(2S, 3R, E) - エチル - 3 - ヒドロキシ - 2 - ((E) - ((1S, 2S, 5S) - 2 - ヒドロキシ - 2, 6, 6 - トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン - 3 - イリデン)アミノ)オクタデカ - 4 - エノエート(化合物IIIc)および(2S, 3R, E) - イソブロピル - 3 - ヒドロキシ - 2 - ((E) - ((1S, 2S, 5S) - 2 - ヒドロキシ - 2, 6, 6 - トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン - 3 - イリデン)アミノ)オクタデカ - 4 - エノエート(化合物IIIc')の一方または両方を得る工程と；  
10

c) (2R, 3R, E) - エチル2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエート(化合物IIId)および(2R, 3R, E) - イソブロピル2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエート(化合物IIId')の一方または両方を得るのに有効な条件下で、(2S, 3R, E) - エチル - 3 - ヒドロキシ - 2 - ((E) - ((1S, 2S, 5S) - 2 - ヒドロキシ - 2, 6, 6 - トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン - 3 - イリデン)アミノ)オクタデカ - 4 - エノエート(化合物IIIc)および(2S, 3R, E) - イソブロピル - 3 - ヒドロキシ - 2 - ((E) - ((1S, 2S, 5S) - 2 - ヒドロキシ - 2, 6, 6 - トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン - 3 - イリデン)アミノ)オクタデカ - 4 - エノエート(化合物IIIc')の一方または両方を得る工程と；  
20

d) D - エリトロ - スフィンゴシン(化合物A)を得るのに有効な条件下で、(2R, 3R, E) - エチル2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエートおよび(2R, 3R, E) - イソブロピル2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエートの一方または両方を、水素化ホウ素ナトリウムと反応させる工程と；

e) N - パルミトイル - D - エリトロ - スフィンゴシン(化合物E)を得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - スフィンゴシンを、パルミチン酸と反応させる工程とを含む方法を提供する。

## 【化13】



## スキームIII

## 【0079】

D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン

さらに別の実施形態において、本発明は、スキームIVに示されるように、D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンを合成するための方法であって、

a) (1R, 2R, 5R)-エチル-((2-ヒドロキシピナン-3-イレン)アミノ)アセテート(化合物IIIb)を得るのに有効な条件下で、(1R, 2R, 5R)-

+ ) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ピナノン(化合物ⅢⅠa)を、エチルグリシネートと反応させる工程と；

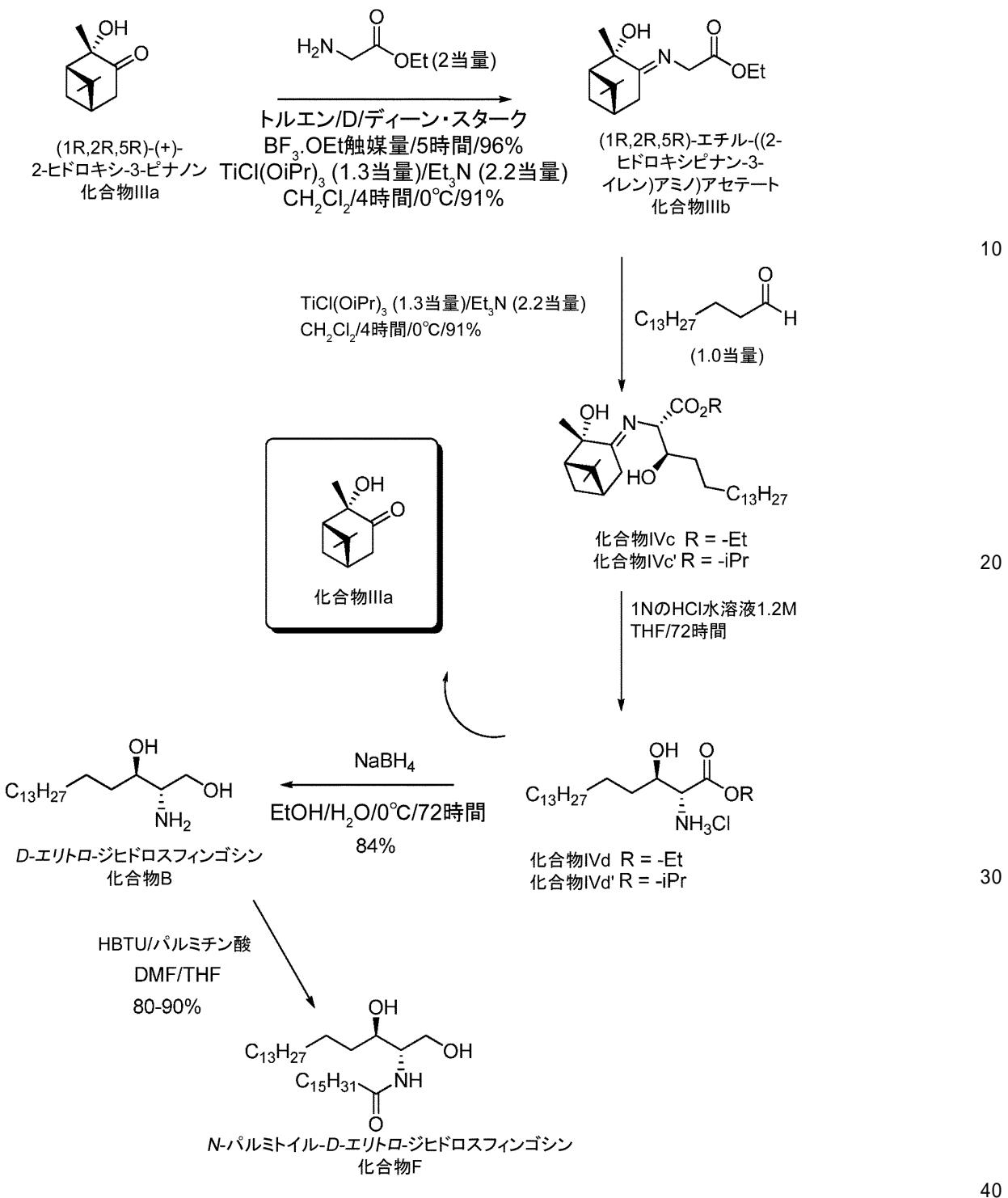
b) (2S, 3R, E)-エチル3-ヒドロキシ-2-((1S, 2S, 5S)-2-ヒドロキシ-2, 6, 6-トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン-3-イリデン)アミノ)オクタデカノエート(化合物Ⅴc)および(2S, 3R, E)-イソプロピル3-ヒドロキシ-2-((1S, 2S, 5S)-2-ヒドロキシ-2, 6, 6-トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン-3-イリデン)アミノ)オクタデカノエート(化合物Ⅴc')の一方または両方を得るのに有効な条件下で、クロロチタントリイソプロポキシドの存在下で、(1R, 2R, 5R)-エチル-((2-ヒドロキシピナン-3-イレン)アミノ)アセテート(化合物ⅢⅠb)を、ヘキサデカナールと反応させる工程と；

c) (2R, 3R, E)-エチル2-アミノ-3-ヒドロキシオクタデカノエート(化合物Ⅴd)および(2R, 3R, E)-イソプロピル2-アミノ-3-ヒドロキシオクタデカノエート(化合物Ⅴd')の一方または両方を得るのに有効な条件下で、(2S, 3R, E)-エチル3-ヒドロキシ-2-((1S, 2S, 5S)-2-ヒドロキシ-2, 6, 6-トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン-3-イリデン)アミノ)オクタデカノエート(化合物Ⅴc)および(2S, 3R, E)-イソプロピル3-ヒドロキシ-2-((1S, 2S, 5S)-2-ヒドロキシ-2, 6, 6-トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン-3-イリデン)アミノ)オクタデカノエート(化合物Ⅴc')の一方または両方を、塩酸と反応させる工程と；

d) D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン(化合物B)を得るのに有効な条件下で、(2R, 3R, E)-エチル2-アミノ-3-ヒドロキシオクタデカノエート(化合物Ⅴd)および(2R, 3R, E)-[イソプロピル2-アミノ-3-ヒドロキシオクタデカノエート(化合物Ⅴd')]の一方または両方を、水素化ホウ素ナトリウムと反応させる工程と；

e) N-パルミトイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン(化合物F)を得るのに有効な条件下で、D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン(化合物B)を、パルミチン酸と反応させる工程と  
を含む方法を提供する。

## 【化14】



スキームIV

## 【0080】

## N-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンの合成

さらなる実施形態において、本発明は、スキームVに示されるように、N-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a) D-エリトロ-セラミド（化合物Vb）を得るのに有効な条件下で、D-エリトロ-

-スフィンゴシンを、脂肪酸（化合物Va）と反応させる工程と；

b) D-エリトロ-セラミド（化合物Vb）の第一級ヒドロキシル基を、第1の保護基

で保護して、化合物 V c を得る工程と；

c ) 化合物 V c の第二級ヒドロキシリル基を、第 2 の保護基で保護して、化合物 V d を得る工程と；

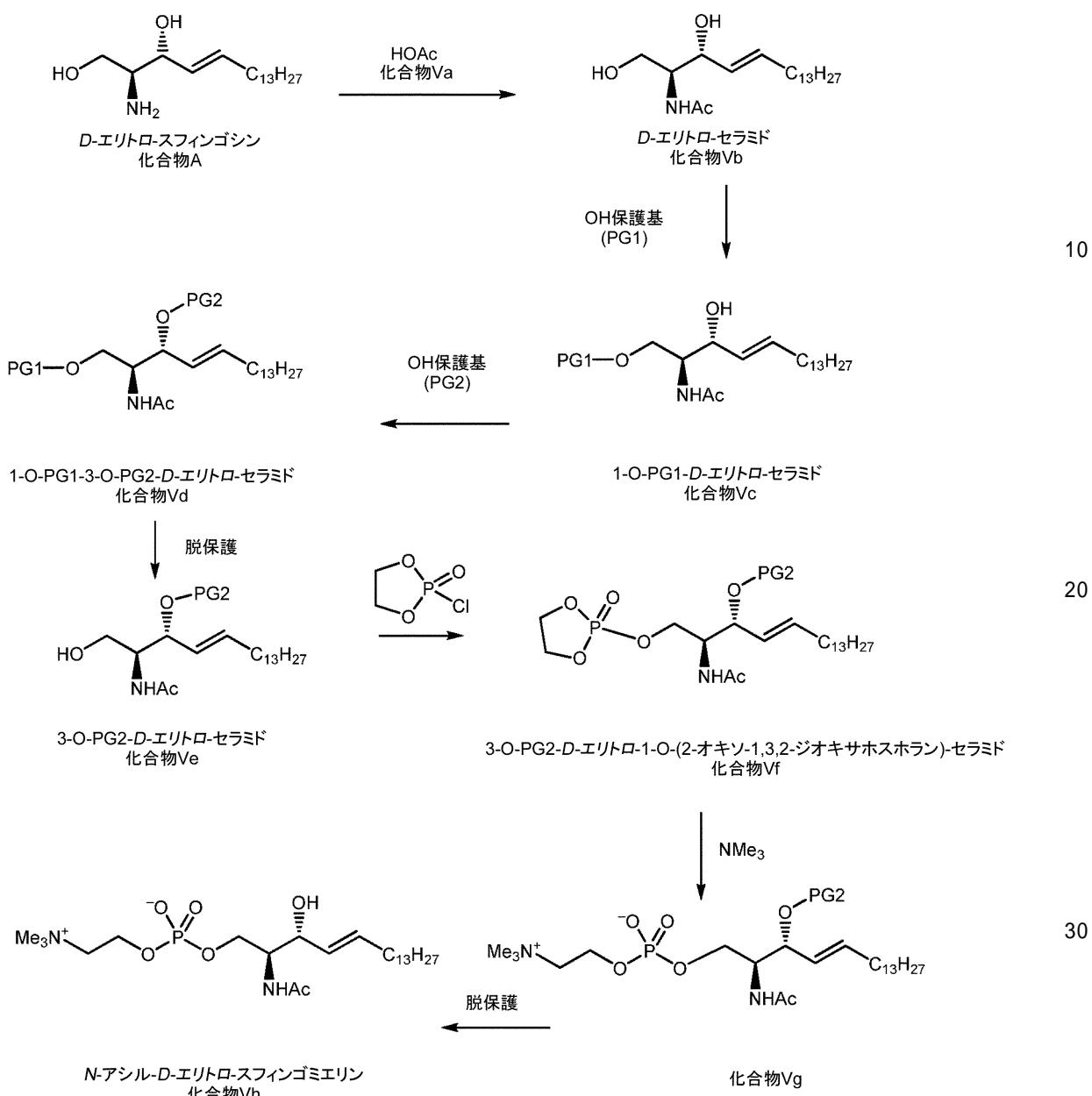
d ) 化合物 V d の第 1 の保護基を除去して、化合物 V e を得る工程と；

e ) 化合物 V f を得るのに有効な条件下で、化合物 V e を、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ( C C P ) と反応させる工程と；

f ) 化合物 V g を得るのに有効な条件下で、化合物 V f を、トリメチルアミンと反応させる工程と；

g ) ナトリウムメトキシドを用いて、化合物 V g の第 2 の保護基を除去して、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン ( 化合物 V h ) を得る工程と  
10 を含む方法を提供する。

## 【化15】



スキームV

HOAcが脂肪酸である  
Acが、3~36個の炭素および0~6個の炭素-炭素二重結合を有する脂肪酸残基である

PG1およびPG2が、当該技術分野において公知の任意の好適な保護基である。  
特定の実施形態において、PG1が、トリフェニルメチル(Trt)である。特定の実施形態において、PG2が、ベンゾイル(Bz)である

## 【0081】

*N*-アシル-*D*-エリトロ-セラミドの合成

本発明の特定の実施形態において、*N*-アシル-*D*-エリトロ-セラミドを得るために、脂肪酸による*D*-エリトロ-スフィンゴシンの*N*-アシル化は、スキームVに示される工程を含む。工程は、以下のとおりである：*D*-エリトロ-スフィンゴシン（化合物A）、脂肪酸（化合物V<sub>a</sub>）、およびアミド形成剤を、非プロトン性有機溶媒に懸濁させ、混合物を約0~5℃の温度で冷却する。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、テ

トラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2-メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明の特定の実施形態において、アミド形成剤は、O-ベンゾトリアゾール-N,N,N',N'-テトラメチル-ウロニウム-ヘキサフルオロホスフェート(HBTU)である。

#### 【0082】

以下に限定はされないが、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基を、D-エリトロ-スフィンゴシン(化合物A)と、脂肪酸(化合物Va)と、アミド形成剤との混合物に加える。特定の実施形態において、有機塩基は、非プロトン性有機溶媒中であり、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2-メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明のさらなる実施形態において、有機塩基を、約15~90分間にわたって加える。次に、混合物を、約0~22の温度で1~15時間攪拌する。本発明の特定の実施形態において、反応は、約0~5の温度で進行する。本発明の他の実施形態において、反応は約22で進行する。本発明のさらに他の実施形態において、反応はおよそ室温で進行する。

#### 【0083】

約1~15時間攪拌した後、生成物、化合物Vbを、酸の添加によって沈殿させる。本発明の特定の実施形態において、酸は、クエン酸、酢酸、またはシュウ酸などの有機酸である。酸を加えるとき、酸は水溶液中であり得る。酸を加えるとき、反応物は、約22であり得る。得られた懸濁液を、約0~5の温度で30~120分間攪拌することができる。本発明の特定の実施形態において、懸濁液を約22で攪拌する。

#### 【0084】

攪拌した後、懸濁液をろ過する。次に、得られた生成物、化合物Vbを、水に再懸濁させることができ、その後、それをろ過し、洗浄することができる。再懸濁を、少なくとももう1回繰り返すことができる。得られた生成物、D-エリトロ-セラミド(化合物Vb)を、水、アセトン、またはそれらの混合物で洗浄することができる。

#### 【0085】

##### 保護されたD-エリトロ-セラミドの合成

本発明の特定の実施形態において、D-エリトロ-セラミドの第一級ヒドロキシル基を保護した後、第二級ヒドロキシルの保護、次に、第一級ヒドロキシルの脱保護を行う。本発明のさらなる実施形態において、保護および脱保護工程は、第一級ヒドロキシル保護されたD-エリトロ-セラミドの単離または精製を伴わずに進行する。

#### 【0086】

本発明の特定の実施形態において、D-エリトロ-セラミドを、以下に限定はされないが、塩化トリチルおよび臭化トリチルなどのハロゲン化トリチルなどのトリチル化試薬と反応させることによって、第一級ヒドロキシル基をトリチル基で保護する。本発明の特定の実施形態において、1-O-保護されたD-エリトロ-セラミドを、以下に限定はされないが、塩化ベンゾイルおよび臭化トリチルなどのハロゲン化ベンゾイルなどのベンゾイル化試薬と反応させることによって、第二級ヒドロキシル基をベンゾイル基で保護する。本発明のさらなる実施形態において、第一級ヒドロキシル基をトリチル基で保護し、第二級ヒドロキシルをベンゾイル基で保護する。

#### 【0087】

本発明の特定の実施形態において、第一級ヒドロキシル基の保護は、以下のように進行する:D-エリトロ-セラミド(化合物Vb)および塩化トリチルを、塩基の存在下で、有機溶媒に懸濁させる。反応は、約10~60時間にわたって約25~55の温度で進行して、トリチル保護されたD-エリトロ-セラミド(1-O-トリチル-D-エリトロ-セラミド化合物Vc、ここで、PG1=-Trtである)が得られる。有機溶媒は、非極性または極性溶媒であり得る。本発明の一実施形態において、有機溶媒は、非極性溶媒であり、トルエン、ベンゼン、ヘキサンまたはそれらの混合物である。一実施形態において、有機溶媒は、非プロトン性極性溶媒である。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩化メチレン、クロロホルムまたは四塩化炭素である。別の実施形態において、

10

20

30

40

50

非プロトン性有機溶媒は、塩素化されておらず、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、または酢酸エチルである。塩基は、典型的に、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基である。

#### 【 0 0 8 8 】

本発明の特定の実施形態において、例えば、塩化トリチルを用いた、第一級ヒドロキシル基の保護により、粗反応生成物の約 10 mol % 以下の 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - セラミドが得られる。本発明のさらなる実施形態において、例えば、塩化トリチルを用いた、第一級ヒドロキシル基の保護により、粗反応生成物の約 7 mol % 以下の 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - セラミドが得られる。本発明のさらに他の実施形態において、例えば、塩化トリチルを用いた、第一級ヒドロキシル基の保護により、粗反応生成物の約 5 mol % 以下の 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - セラミドが得られる。本発明のさらに他の実施形態において、例えば、塩化トリチルを用いた、第一級ヒドロキシル基の保護により、粗反応生成物の約 1 mol % 以下の 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - セラミドが得られる。10

#### 【 0 0 8 9 】

本発明のさらなる実施形態において、第二級ヒドロキシル基の保護は、以下のように直接進行する：上記の反応混合物を約 0 ~ 5 ℃ に冷却し、塩化ベンゾイルおよび塩基を加える。反応は、約 1 ~ 16 時間にわたって約 0 ~ 5 ℃ の温度で進行する。反応生成物、3 - ベンゾイルおよび 1 - トリチル保護された D - エリトロ - セラミド（化合物 Vd ; PG1 = - Tir であり； PG2 = - Bz である）を、上記の非プロトン性有機溶媒を含むがこれに限定されない有機溶媒で有機層から抽出することができる。次に、蒸発、例えば、減圧下での濃縮を含むがこれに限定されない、当業者に公知の好適な方法によって、有機溶媒を除去する。特定の実施形態において、塩基は、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基である。20

#### 【 0 0 9 0 】

本発明のさらに他の実施形態において、第一級ヒドロキシル基の脱保護は、以下のように直接進行する：上記の反応からの残渣を、有機溶媒に溶解させ、酸を加える。反応は、1 ~ 16 時間にわたって約 22 ℃ の温度で進行する。反応混合物を、塩基の添加によって中和する。有機溶媒は、プロトン性極性溶媒、非プロトン性極性溶媒、またはそれらの混合物であり得る。一実施形態において、有機溶媒は、プロトン性極性溶媒であり、メタノール、エタノール、n - プロパノール、またはイソプロパノールである。一実施形態において、有機溶媒は、非プロトン性極性溶媒である。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩素化されており、塩化メチレン、クロロホルム、または四塩化炭素である。別の実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩素化されておらず、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、または酢酸エチルである。酸は、トリチル保護基の除去に好適であることが当業者に知られている任意の酸、例えば、酢酸、トリフルオロ酢酸、塩酸および p - トルエンスルホン酸であり得る。本発明の特定の実施形態において、酸は、p - トルエンスルホン酸である。特定の実施形態において、塩基は、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基である。30

#### 【 0 0 9 1 】

本発明の特定の実施形態において、上記の脱保護生成物（化合物 Ve ; PG2 = - Bz である）を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。40

#### 【 0 0 9 2 】

ベンゾイル保護された N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るための、3 - ベンゾイル保護された D - エリトロ - セラミドのリン酸化およびアミノ化

本発明のさらなる実施形態において、3 - ベンゾイル保護された D - エリトロ - セラミド、（化合物 Ve ; PG2 = - Bz である）を、以下のようにリン酸化する：3 - ベンゾイル保護された D - エリトロ - セラミドを、有機溶媒に溶解させ、有機塩基を加える。約 4 ~ 9 ℃ に冷却した後、有機溶媒中の 2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホ50

スホランの溶液を加える。反応は、約2～6時間にわたって約4～22の温度で進行して、3-O-ベンゾイル-1-O-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン)-セラミド(化合物Vf、ここで、PG2=Bzである)が生成される。本発明の特定の実施形態において、反応は、約15分間～2時間にわたって約4～9で進行し、次に、約22に温められ、さらに2～4時間にわたって進行する。有機溶媒は、非極性溶媒、極性溶媒、またはそれらの混合物であり得る。本発明の一実施形態において、有機溶媒は、非極性溶媒であり、トルエン、ベンゼン、ヘキサンまたはそれらの混合物である。一実施形態において、有機溶媒は、アセトニトリル、酢酸エチル、テトラヒドロフラン、またはそれらの混合物などの非プロトン性極性溶媒である。有機塩基は、典型的に、テトラメチルエチレンジアミンまたはトリエチルアミンである。本発明の特定の実施形態において、有機塩基は、テトラメチルエチレンジアミンである。

## 【0093】

特定の実施形態において、3-O-ベンゾイル-1-O-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン)-セラミド(化合物Vf、PG2=-Bzである)のアミノ化を、リン酸化されたベンゾイル保護されたD-エリトロ-セラミド出発材料の精製または単離を伴わずに進行する。上記の反応が約2～6時間にわたって進行した後、さらなる有機溶媒およびトリメチルアミンを加え、反応混合物を60～70に加熱し、反応を10～16時間にわたって進行させたところ、3-ベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリン(化合物Vg、PG2=-Bzである)が得られる。有機溶媒は、非極性溶媒、極性溶媒またはそれらの混合物であり得る。本発明の一実施形態において、有機溶媒は、非極性溶媒であり、トルエン、ベンゼン、ヘキサンまたはそれらの混合物である。一実施形態において、有機溶媒は、アセトニトリル、酢酸エチル、テトラヒドロフラン、またはそれらの混合物などの非プロトン性極性溶媒である。特定の実施形態において、トリメチルアミンを液体として加える。他の実施形態において、トリメチルアミンを気体形態で加える。特定の実施形態において、液体トリメチルアミンは無水である。特定の実施形態において、トリメチルアミンを、その沸点未満に冷却し、液体として加える。特定の実施形態において、反応物を、液体トリメチルアミンの添加の前に、約-10～0に冷却する。さらなる実施形態において、反応物を、液体トリメチルアミンの添加の前に、約-10に冷却する。

## 【0094】

本発明の特定の実施形態において、3-ベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンを、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

## 【0095】

N-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンを得るための、3-O-ベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンの脱保護

3-O-ベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンからのベンゾイル保護基の除去は、以下のように進行する：3-O-ベンゾイル保護されたスフィンゴミエリンを、プロトン性極性溶媒に溶解させ、塩基を加える。反応は、約22で8～24時間にわたって進行する。本発明の特定の実施形態において、非プロトン性溶媒および水を反応混合物に加え、N-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリン(化合物Vh)を有機層から回収する。一実施形態において、プロトン性極性溶媒は、メタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノール、またはそれらの混合物である。さらに別の実施形態において、塩基は、ナトリウムメトキシドである。

## 【0096】

本発明のさらなる実施形態において、N-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンを、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

## 【0097】

本発明の特定の実施形態において、得られたN-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミ

10

20

30

40

50

エリンは、少なくとも約 85 % の鏡像異性体純度を有し、約 15 % 以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。本発明のさらなる実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約 90 % の鏡像異性体純度を有し、約 10 % 以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約 95 % の鏡像異性体純度を有し、約 5 % 以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約 98 % の鏡像異性体純度を有し、約 2 % 以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。

#### 【0098】

別の実施形態において、本発明は、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

- a) D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - スフィンゴシンを、脂肪酸と反応させる工程と；
- b) 1 - O - トリチル - D - エリトロ - セラミドを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - セラミドを、トリチル化試薬と反応させる工程と；
- c) 1 - O - トリチル - 3 - O - D - エリトロ - ベンゾイル - セラミドを得るのに有効な条件下で、1 - O - トリチル - D - エリトロ - セラミドを、ベンゾイル化試薬と反応させる工程と；
- d) 1 - O - トリチル - 3 - O - D - エリトロ - ベンゾイル - セラミドのトリチル基を除去して、D - エリトロ - 3 - O - ベンゾイル - セラミドを得る工程と；
- e) 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - (2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン) セラミドを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミドを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン (CCP) と反応させる工程と；
- f) N - アシル - D - エリトロ - 3 - O - ベンゾイル - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - (2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン) セラミドを、トリメチルアミンと反応させる工程と；
- g) N - アシル - D - エリトロ - 3 - O - ベンゾイル - スフィンゴミエリンのベンゾイル基を、ナトリウムメトキシドで除去して、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得る工程と

を含む方法を提供する。

#### 【0099】

N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成

さらに別の実施形態において、本発明は、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

- a) N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンを得るのに有効な条件下で、O - ベンゾトリアゾール - N , N , N' , N' - テトラメチル - ウロニウム - ヘキサフルオロ - ホスフェートおよびトリエチルアミンの存在下で、D - エリトロ - スフィンゴシンを、パルミチン酸と反応させる工程と；
- b) N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンを保護して、トリチル基と反応させて、N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - D - エリトロ - スフィンゴシンを得る工程と；
- c) N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - D - エリトロ - スフィンゴシンを、ベンゾイル基で保護して、N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンを得る工程と；
- d) パラ - トルエンスルホン酸の存在下で、N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンのトリチル基を除去して、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンを得る工程と；
- e) N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - (2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン) - スフィンゴシンを得るのに有効な条件下で、N - パ

10

20

30

40

50

ルミトイル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホランと反応させる工程と；

f ) N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) - スフィンゴシンを、トリメチルアミンと反応させる工程と；

g ) N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンのベ

ンゾイル基を、ナトリウムメトキシドで除去して、N - パルミトイyl - D - エリトロ - ス

フィンゴミエリンを得る工程と

を含む方法を提供する。

10

#### 【 0 1 0 0 】

本発明の特定の実施形態において、N - パルミトイyl - D - エリトロ - スフィンゴミエリンが、スキーム V I に示されるように合成される。

#### 【 0 1 0 1 】

1 当量のパルミチン酸、1 当量のD - エリトロ - スフィンゴシン（化合物 A ）、および 1 . 1 0 当量のO - ベンゾトリアゾール - N , N , N ' , N ' - テトラメチル - ウロニウム - ヘキサフルオロ - ホスフェート（H B T U ）を、テトラヒドロフランおよびジメチルホルムアミドに懸濁させ、約 0 ~ 5 ℃ に冷却する。2 ~ 3 当量のトリエチルアミンを加え、混合物を、約 0 ~ 5 ℃ で約 1 ~ 1 2 時間攪拌する。混合物を約 2 2 ℃ に温める。クエン酸の水溶液を加え、混合物を約 2 2 ℃ で 1 5 ~ 9 0 分間攪拌する。得られた懸濁液をろ過し、ケーキを、室温で、水に懸濁させる。懸濁液をろ過し、水およびアセトンで洗浄する。次に、得られた生成物、N - パルミトイyl - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物 E ）を乾燥させることができる。

20

#### 【 0 1 0 2 】

第一ヒドロキシルの保護のため、1 当量のN - パルミトイyl - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物 E ）を、ピリジンおよび塩化メチレンに懸濁させる。塩化メチレン中の約 1 . 0 5 当量の塩化トリチルの溶液を加えた後、さらなる塩化メチレンを加える。反応混合物を 5 0 ~ 6 0 時間にわたって約 2 5 ℃ で攪拌する。

#### 【 0 1 0 3 】

本発明の特定の実施形態において、第一級ヒドロキシル基の保護により、粗反応生成物の 1 0 m o l % 未満のN - パルミトイyl - 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - スフィンゴシンが得られる。本発明のさらなる実施形態において、第一級ヒドロキシルの保護により、粗反応生成物の約 7 m o l % 以下のN - パルミトイyl - 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - スフィンゴシンが得られる。本発明のさらに他の実施形態において、第一級ヒドロキシルの保護により、粗反応生成物の約 5 m o l % 以下のN - パルミトイyl - 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - スフィンゴシンが得られる。本発明のさらに他の実施形態において、第一級ヒドロキシルの保護により、粗反応生成物の約 1 m o l % 以下のN - パルミトイyl - 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - スフィンゴシンが得られる。

30

#### 【 0 1 0 4 】

第二ヒドロキシル基の保護のために、化合物 V I a を含む反応混合物を約 2 ℃ に冷却する。約 0 . 1 0 当量のN , N - ジメチルアミノピリジン、約 1 . 5 0 当量の塩化ベンゾイyl およびさらなる塩化メチレンを加える。薄層クロマトグラフィー（T L C ）分析が、約 5 % 未満の出発材料N - パルミトイyl - 1 - O - トリチル - スフィンゴシンの存在を示すまで、反応を、攪拌しながら約 2 ℃ で進行させる。酢酸エチルおよびクエン酸水溶液および塩化ナトリウム溶液を、反応混合物に加え、N - パルミトイyl - 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物 V I b ）を有機相から回収する。

40

#### 【 0 1 0 5 】

トリチル保護基を除去するために、N - パルミトイyl - 1 - O - トリチル - 3 - O - ベ

50

ンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物V I b）を、メタノールおよび塩化メチレンに溶解させ、2に冷却する。メタノール中の0.57当量のパラ - トルエンスルホン酸一水和物の溶液を用いて、pHを2.5に調整する。TLC分析が、5%未満の出発材料1-O-トリチル - 3-O-ベンゾイル - スフィンゴシンの存在を示すまで、反応を、攪拌しながら約22で進行させる。トリエチルアミンを加えて、pHを約7.0に調整する。反応混合物を蒸発乾固させ、得られた粗製のN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンを約40でヘキサンに懸濁させ、約0に冷却する。約30~60分後、固体を、ろ過によって単離し、ヘキサンで洗浄する。次に、得られた生成物、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物V I c）を、シリカゲルクロマトグラフィーなどの適切な方法によって精製することができる。  
10

## 【0106】

1当量のN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物V I c）をトルエンに溶解させ、約0.6~1当量のテトラメチルエチレンジアミン（TMEDA）を加え、混合物を約4~9に冷却する。アセトニトリル中の約1~2当量の2 - クロロ - 2 - オキソ - 1,3,2 - ジオキサホスホラン（CCP）を加えた後、さらなるアセトニトリルを加える。反応物を約22に温め、攪拌を1~3時間にわたって続ける。さらなるアセトニトリルを加え、温度を約-10~0に低下させる。気体トリメチルアミンを、その沸点未満に冷却し、約40~60当量のこの液体トリメチルアミンを加える。反応混合物を約60~70に加熱し、10~16時間にわたって進行させたところ、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン（化合物V I e）が得られる。反応物を約-30に冷却し、得られた懸濁液をろ過する。粗製のN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを、シリカゲルクロマトグラフィーによってさらに精製する。  
20

## 【0107】

1当量のN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンをメタノールに溶解させ、約0.2当量のナトリウムメトキシドを加え、混合物を約22で20~26時間攪拌する。塩化メチレンおよび水を加え、塩酸の添加によって、pHを約7に調整する。N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリン（化合物C）を有機層から回収する。  
30

## 【0108】

本発明のさらなる実施形態において、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンを、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

## 【0109】

本発明の特定の実施形態において、得られたN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンは、少なくとも約85%の鏡像異性体純度を有し、約15%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。本発明のさらなる実施形態において、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約90%の鏡像異性体純度を有し、約10%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約95%の鏡像異性体純度を有し、約5%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約98%の鏡像異性体純度を有し、約2%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。  
40

## 【0110】

本発明の方法に関連した、第二級アルコール（3-OH）を保護するためのベンゾイル基の使用が、第二級アルコール（3-OH）から第一級アルコール（1-OH）への保護基の移動の程度を最小限に抑えるという意外かつ予想外の利益を提供することが分かった。  
50

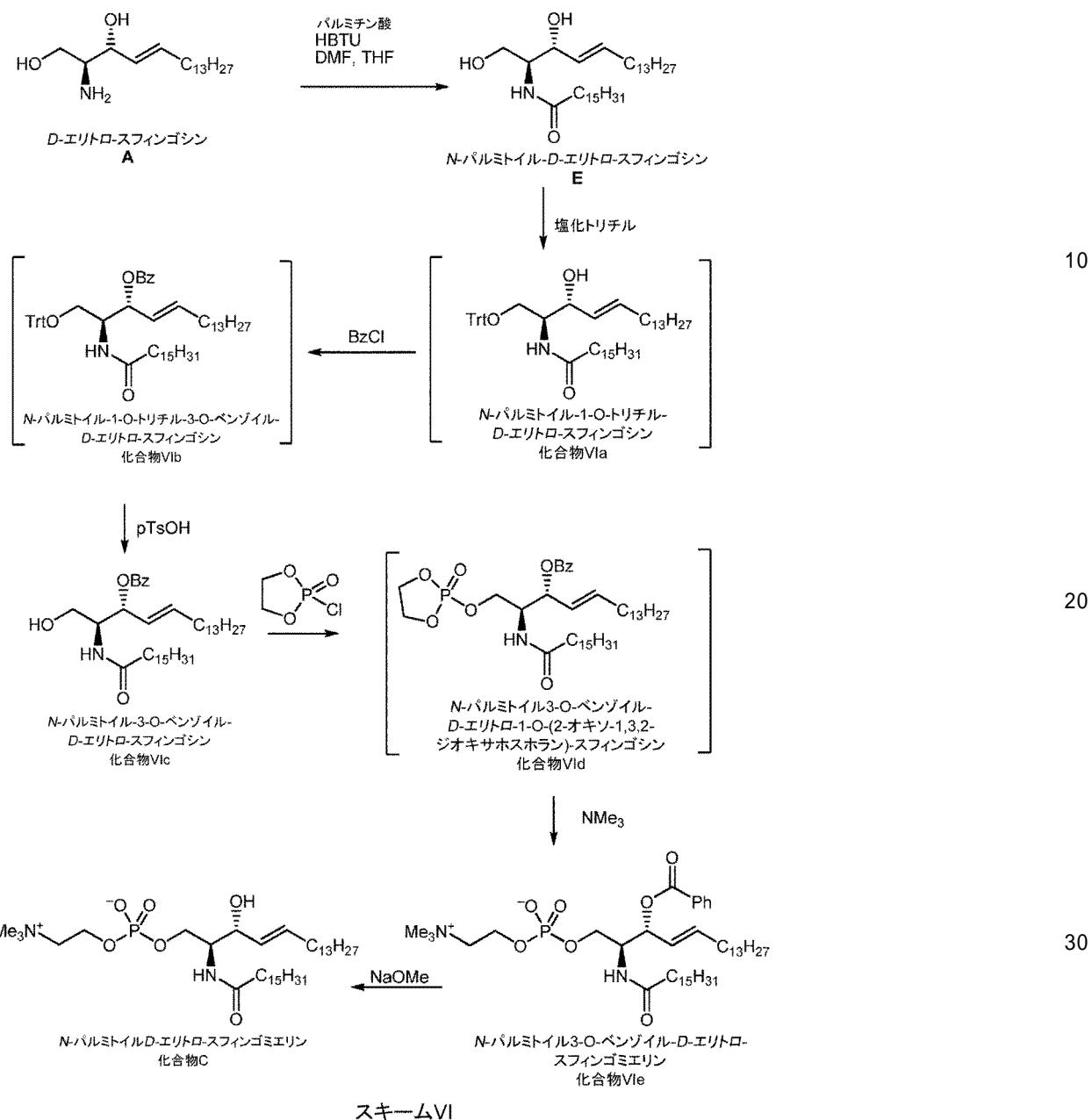
**【0111】**

図8は、粗製のN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物V I c）の薄層クロマトグラフィープレートの写真である。N - パルミトイール - 1 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンは、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物V I c）の約1重量%未満であり、粗反応生成物の約0.5重量%未満である。本発明のさらなる実施形態において、本発明の方法から得られるN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンに対するN - パルミトイール - 1 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンの重量比は、約10 : 90である。本発明のさらに他の実施形態において、本発明の方法から得られるN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンに対するN - パルミトイール - 1 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンの重量比は、約5 : 95である。本発明のさらに他の実施形態において、本発明の方法から得られるN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンに対するN - パルミトイール - 1 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンの重量比は、約2 : 98である。本発明のさらに他の実施形態において、本発明の方法から得られるN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンに対するN - パルミトイール - 1 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンの重量比は、約1 : 99である。

**【0112】**

本発明のさらなる実施形態は、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン、特に、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの大規模合成を可能にする。本発明の特定の実施形態において、本発明の方法は、約1キログラム規模でのN - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成を可能にする。本発明の特定の実施形態において、本発明の方法は、約1～約5キログラム規模でのN - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成を可能にする。本発明のさらなる実施形態において、本発明の方法は、約1～約10キログラム規模でのN - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成を可能にする。本発明のさらなる実施形態において、本発明の方法は、約1～約50キログラム規模でのN - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成を可能にする。本発明のさらに他の実施形態において、本発明の方法は、約1キログラム規模でのN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成を可能にする。本発明のさらに他の実施形態において、本発明の方法は、約1～約5キログラム規模でのN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成を可能にする。本発明のさらに他の実施形態において、本発明の方法は、約1～約10キログラム規模でのN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成を可能にする。本発明の特定の実施形態において、本発明の方法は、約1～約50キログラム規模でのN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成を可能にする。

## 【化16】



## 【0113】

*N*-アシル-*D*-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンの合成

さらなる実施形態において、本発明は、スキームVI I Iに示されるように、*D*-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a) *D*-エリトロ-ジヒドロセラミド(化合物VI I b)を得るのに有効な条件下で、*D*-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンを、脂肪酸(化合物VI I a)と反応させる工程と；

b) *D*-エリトロ-ジヒドロセラミドVI I bの第一級ヒドロキシル基を、第1の保護基で保護して、化合物VI I cを得る工程と；

c) *D*-エリトロ-ジヒドロセラミドの第二級ヒドロキシル基を、第2の保護基で保護して、化合物VI I dを得る工程と；

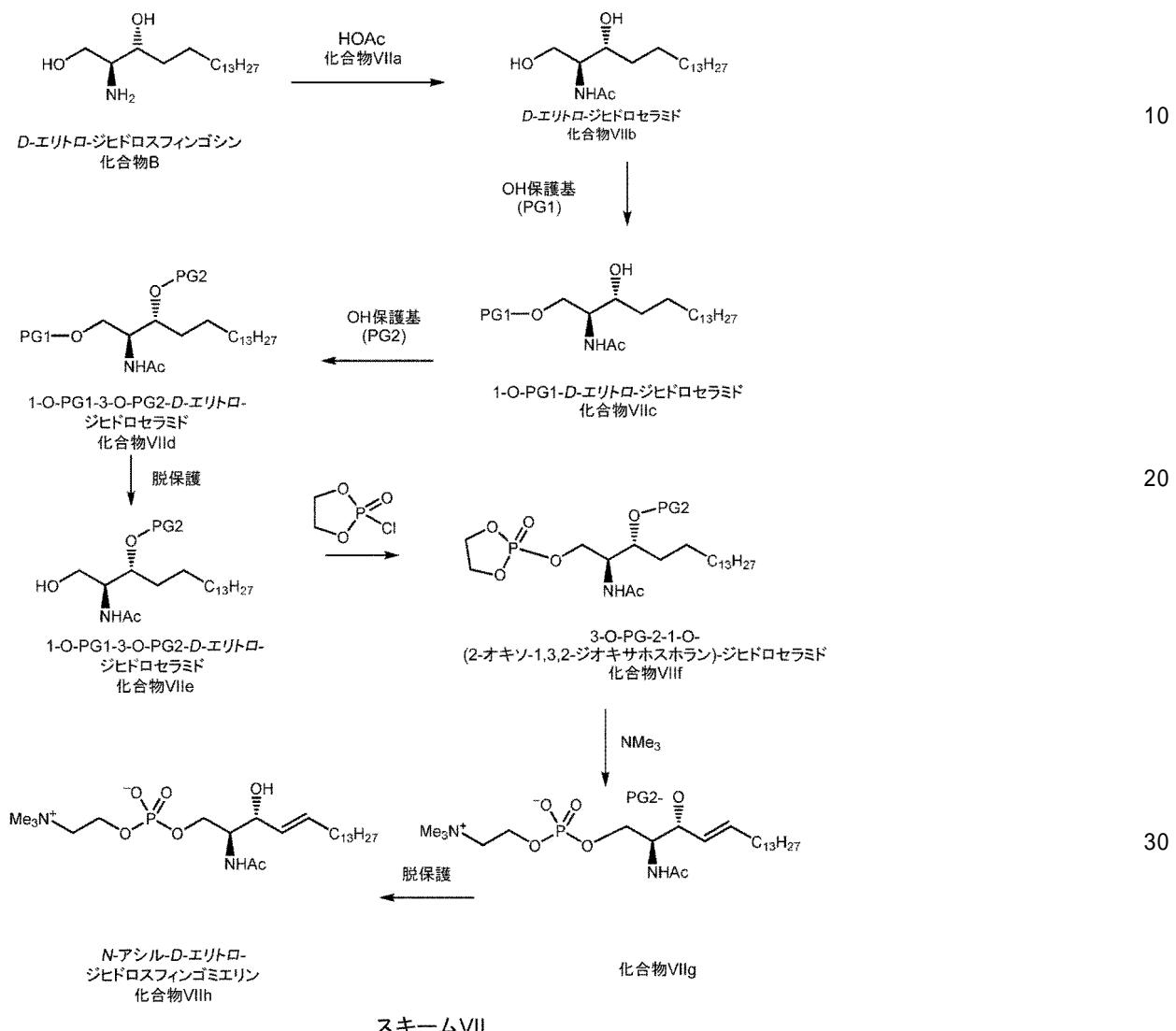
d) 化合物VI I dの第1の保護基を除去して、化合物VI I eを得る工程と；

e) 化合物VI I fを得るのに有効な条件下で、化合物VI I eを、2-クロロ-2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン(CCP)と反応させる工程と；

f) 化合物VII Igを得るのに有効な条件下で、化合物VII Ifを、トリメチルアミンと反応させる工程と；

g) 化合物VII Igの第2の保護基を、ナトリウムメトキシドで除去して、D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物VII h）を得る工程とを含む方法を提供する。

【化17】



スキームVII

HOAcが脂肪酸である  
Acが、3~36個の炭素および0~6個の炭素-炭素二重結合を有する脂肪酸残基である

PG1およびPG2が、当該技術分野において公知の任意の好適な保護基である。

特定の実施形態において、PG1が、トリフェニルメチル(Trt)である。特定の実施形態において、PG2が、ベンゾイル(Bz)である

【0114】

D-エリトロ-ジヒドロセラミドの合成

本発明の特定の実施形態において、D-エリトロ-ジヒドロセラミドを得るための、脂肪酸によるD-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンのN-アシル化は、スキームVII Iに示されるように進行する。工程は、以下のとおりである：D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン（化合物B）、脂肪酸（化合物VII I a）、およびアミド形成剤を、非プロトン性有機溶媒に懸濁させ、混合物を約0~5℃の温度で冷却する。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2-メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明の特定の実施形態において、アミド形成剤は、O-ベンゾトリアゾール-N,N,N',N'-テトラメチル-ウロニウム-

ヘキサフルオロ - ホスフェート (HBTU) である。

**【0115】**

以下に限定はされないが、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基を、D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンと、脂肪酸と、アミド形成剤との混合物に加える。特定の実施形態において、有機塩基は、非プロトン性有機溶媒中であり、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2 - メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明のさらなる実施形態において、有機塩基を、約15 ~ 90分間にわたって加える。次に、混合物を、約0 ~ 22 の温度で1 ~ 15時間攪拌する。本発明の特定の実施形態において、反応は、約0 ~ 5 の温度で進行する。本発明の他の実施形態において、反応は約22 で進行する。本発明のさらに他の実施形態において、反応はおよそ室温で進行する。  
10

**【0116】**

約1 ~ 15時間攪拌した後、生成物、化合物VIIbを、酸の添加によって沈殿させる。本発明の特定の実施形態において、酸は、クエン酸、酢酸、またはシュウ酸などの有機酸である。酸を加えるとき、酸は水溶液中であり得る。酸を加えるとき、反応物は、約22 であり得る。得られた懸濁液を、約0 ~ 5 の温度で30 ~ 120分間攪拌することができる。本発明の特定の実施形態において、懸濁液を約22 で攪拌する。

**【0117】**

攪拌した後、懸濁液をろ過する。次に、得られた生成物、化合物VIIbを、水に再懸濁させることができ、その後、それをろ過し、洗浄することができる。再懸濁を、少なくとももう1回行うことができる。得られた生成物、D - エリトロ - ジヒドロセラミド(化合物VIIb)を、水、アセトン、またはそれらの混合物で洗浄することができる。  
20

**【0118】**

ベンゾイル保護されたD - エリトロ - ジヒドロセラミドの合成

本発明の特定の実施形態において、D - エリトロ - セラミドの第一級ヒドロキシル基を保護した後、第二級ヒドロキシルの保護、次に、第一級ヒドロキシルの脱保護を行う。本発明のさらなる実施形態において、保護および脱保護工程は、第一級ヒドロキシル保護されたN - アシル - D - エリトロ - セラミドの単離または精製を伴わずに進行する。

**【0119】**

本発明の特定の実施形態において、D - エリトロ - ジヒドロセラミドを、以下に限定はされないが、塩化トリチルおよび臭化トリチルなどのハロゲン化トリチルなどのトリチル化試薬と反応させることによって、第一級ヒドロキシル基をトリチル基で保護する。本発明の特定の実施形態において、1 - O - 保護されたD - エリトロ - ジヒドロセラミドを、以下に限定はされないが、塩化ベンゾイルおよび臭化トリチルなどのハロゲン化ベンゾイルなどのベンゾイル化試薬と反応させることによって、第二級ヒドロキシル基をベンゾイル基で保護する。本発明のさらなる実施形態において、第一級ヒドロキシル基をトリチル基で保護し、第二級ヒドロキシルをベンゾイル基で保護する。  
30

**【0120】**

本発明の特定の実施形態において、第一級ヒドロキシル基の保護は、以下のように進行する：D - エリトロ - ジヒドロセラミド(化合物VIIb)および塩化トリチルを、塩基の存在下で、有機溶媒に懸濁させる。反応は、約10 ~ 60時間にわたって約25 ~ 55  
40

の温度で進行して、トリチル保護されたD - エリトロ - ジヒドロセラミド(1 - O - トリチル - D - エリトロ - セラミド化合物VIIc、ここで、PG1 = - Trt である)が得られる。有機溶媒は、非極性または極性溶媒であり得る。本発明の一実施形態において、有機溶媒は、非極性溶媒であり、トルエン、ベンゼン、ヘキサンまたはそれらの混合物である。一実施形態において、有機溶媒は、非プロトン性極性溶媒である。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩化メチレン、クロロホルムまたは四塩化炭素である。別の実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩素化されておらず、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、または酢酸エチルである。塩基は、典型的に、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基である。  
50

## 【0121】

本発明の特定の実施形態において、例えば、塩化トリチルを用いた、第一級ヒドロキシル基の保護により、粗反応生成物の約10mo1%以下のN-パルミトイyl-1,3-O,O-ジトリチル-D-エリトロ-スフィンゴシンが得られる。本発明のさらなる実施形態において、例えば、塩化トリチルを用いた、第一級ヒドロキシル基の保護により、粗反応生成物の約7mo1%以下のN-パルミトイyl-1,3-O,O-ジトリチル-D-エリトロ-スフィンゴシンが得られる。本発明のさらに他の実施形態において、例えば、塩化トリチルを用いた、第一級ヒドロキシル基の保護により、粗反応生成物の約5mo1%以下のN-パルミトイyl-1,3-O,O-ジトリチル-D-エリトロ-スフィンゴシンが得られる。本発明のさらに他の実施形態において、例えば、塩化トリチルを用いた、第一級ヒドロキシル基の保護により、粗反応生成物の約1mo1%以下のN-パルミトイyl-1,3-O,O-ジトリチル-D-エリトロ-スフィンゴシンが得られる。

## 【0122】

本発明のさらなる実施形態において、第二級ヒドロキシル基の保護は、以下のように直接進行する：上記の反応混合物を約0～5℃に冷却し、塩化ベンゾイルおよび塩基を加える。反応は、約1～16時間にわたって約0～5℃の温度で進行する。反応生成物、1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロセラミド（化合物Vd；PG1=-Trtであり；PG2=-Bzである）を、上記の非プロトン性有機溶媒を含むがこれに限定されない有機溶媒で有機層から抽出することができる。次に、蒸発、例えば、減圧下での濃縮を含むがこれに限定されない、当業者に公知の好適な方法によって、有機溶媒を除去する。特定の実施形態において、塩基は、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基である。

## 【0123】

本発明のさらに他の実施形態において、第一級ヒドロキシル基の脱保護は、以下のように直接進行する：上記の反応からの残渣を、有機溶媒に溶解させ、酸を加える。反応は、1～16時間にわたって約22℃の温度で進行する。反応混合物を、塩基の添加によって中和する。有機溶媒は、プロトン性極性溶媒、非プロトン性極性溶媒、またはそれらの混合物であり得る。一実施形態において、有機溶媒は、プロトン性極性溶媒であり、メタノール、エタノール、n-プロパノール、またはイソプロパノールである。一実施形態において、有機溶媒は、非プロトン性極性溶媒である。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩素化されており、塩化メチレン、クロロホルム、または四塩化炭素である。別の実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、塩素化されておらず、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、または酢酸エチルである。酸は、トリチル保護基の除去に好適であることが当業者に知られている任意の酸、例えば、酢酸、トリフルオロ酢酸、塩酸およびp-Toluenesulfonic acidであり得る。本発明の特定の実施形態において、酸は、p-Toluenesulfonic acidである。特定の実施形態において、塩基は、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基である。

## 【0124】

本発明の特定の実施形態において、上記の脱保護生成物（化合物VIIe；PG2=-Bzである）を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

## 【0125】

ベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンを得るための、ベンゾイル保護されたD-エリトロ-ジヒドロセラミドのリン酸化(Phosphorylation)およびアミノ化

本発明のさらなる実施形態において、3-ベンゾイル保護されたD-エリトロ-ジヒドロセラミド、（化合物VIIe；PG2=-Bzである）を、以下のようにリン酸化する：3-ベンゾイル(beznoyl)保護されたD-エリトロ-ジヒドロセラミドを、有機溶媒に溶解させ、アミンを加え、約4～9℃に冷却した後、有機溶媒中の2-クロロ-2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホランの溶液を加える。反応は、約2～6時間にわたって

約4～22の温度で進行して、3-O-ベンゾイル-1-O-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン)-ジヒドロセラミド(化合物VIIf; PG2=-Bzである)が生成される。本発明の特定の実施形態において、反応は、約15分間～2時間にわたって約4～9で進行し、次に、約22に温められ、さらに2～4時間にわたって進行する。有機溶媒は、非極性溶媒、極性溶媒、またはそれらの混合物であり得る。本発明の一実施形態において、有機溶媒は、非極性溶媒であり、トルエン、ベンゼン、ヘキサンまたはそれらの混合物である。一実施形態において、有機溶媒は、アセトニトリル、酢酸エチル、テトラヒドロフラン、またはそれらの混合物などの非プロトン性極性溶媒である。アミンは、典型的に、テトラメチルエチレンジアミンまたはトリエチルアミンである。本発明の特定の実施形態において、アミンは、テトラメチルエチレンジアミンである。

10

#### 【0126】

特定の実施形態において、3-O-ベンゾイル-1-O-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン)-ジヒドロセラミド(化合物VIIf、PG2=Bzである)のアミノ化を、リン酸化されたベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロセラミドの精製または単離を伴わずに行う。上記の反応が約2～6時間にわたって進行した後、さらなる有機溶媒を加え、反応物を約-10～0に冷却する。気体トリメチルアミンをその沸点未満に冷却し、約40～60当量のこの液体トリメチルアミンを加える。反応混合物を約60～70に加熱し、10～16時間にわたって進行させたところ、ベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン(化合物VI Ig、PG2=Bzである)が得られる。有機溶媒は、非極性溶媒、極性溶媒またはそれらの混合物であり得る。本発明の一実施形態において、有機溶媒は、非極性溶媒であり、トルエン、ベンゼン、ヘキサンまたはそれらの混合物である。一実施形態において、有機溶媒は、アセトニトリル、酢酸エチル、テトラヒドロフラン、またはそれらの混合物などの非プロトン性極性溶媒である。特定の実施形態において、トリメチルアミンを液体として加える。他の実施形態において、トリエチルアミンを気体形態で加える。特定の実施形態において、液体トリメチルアミンは無水である。特定の実施形態において、反応物を、液体トリメチルアミンの添加の前に、約-10～0に冷却する。他の実施形態において、反応物を、液体トリメチルアミンの添加の前に、約-10に冷却する。

20

#### 【0127】

本発明の特定の実施形態において、ベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンを、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

30

#### 【0128】

N-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンを得るための、ベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンの脱保護

ベンゾイル保護されたN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンからのベンゾイル保護基の除去は、以下のように進行する：ベンゾイル保護されたジヒドロスフィンゴミエリンを、プロトン性極性溶媒に溶解させ、塩基を加える。反応は、約22で8～24時間にわたって進行する。本発明の特定の実施形態において、非プロトン性溶媒および水を反応混合物に加え、N-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン(化合物VI Ih)を有機層から回収する。一実施形態において、プロトン性極性溶媒は、メタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノール、またはそれらの混合物である。さらに別の実施形態において、塩基は、ナトリウムメトキシドである。

40

#### 【0129】

本発明のさらなる実施形態において、N-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンを、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

#### 【0130】

本発明の特定の実施形態において、得られたN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約85%の鏡像異性体純度を有し、約15%以下のその対

50

応する反対の鏡像異性体を含有する。本発明のさらなる実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約 90 % の鏡像異性体純度を有し、約 10 % 以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約 95 % の鏡像異性体純度を有し、約 5 % 以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約 98 % の鏡像異性体純度を有し、約 2 % 以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。

### 【 0 1 3 1 】

さらに別の実施形態において、本発明は、N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを合成するための方法であって、10

a ) D - エリトロ - ジヒドロセラミドを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを、脂肪酸と反応させる工程と；

b ) 1 - O - トリチル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - ジヒドロセラミドを、トリチル化試薬と反応させる工程と；

c ) 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドを得るのに有効な条件下で、1 - O - トリチル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドを、ベンゾイル化試薬と反応させる工程と；

d ) 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドのトリチル基を除去して、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドを得る工程と；20

e ) 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) - ジヒドロセラミドを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロセラミドを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホランと反応させる工程と；

f ) N - アシル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) ジヒドロセラミドを、トリメチルアミンと反応させる工程と；

g ) N - アシル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンのベンゾイル基を、ナトリウムメトキシドで除去して、N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを得る工程と  
を含む方法を提供する。30

### 【 0 1 3 2 】

N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンの合成

さらに別の実施形態において、本発明は、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a ) N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを得るのに有効な条件下で、D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを、パルミチン酸と反応させる工程と；

b ) N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを得るのに有効な条件下で、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを、トリチル化試薬と反応させる工程と；40

c ) N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを得るのに有効な条件下で、N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを、ベンゾイル化試薬と反応させる工程と；

d ) N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンのトリチル基を除去して、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを得る工程と；

e ) N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) - ジヒドロスフィンゴシンを得るのに有効な条件下で50

、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを、2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ( C C P ) と反応させる工程と；

f ) N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - 1 - O - ( 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ) - ジヒドロスフィンゴシンを、トリメチルアミンと反応させる工程と；

g ) N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンのベンゾイル基を、ナトリウムメトキシドで除去して、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを得る工程と  
10 を含む方法を提供する。

#### 【 0 1 3 3 】

本発明の特定の実施形態において、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンが、スキーム V I I I に示されるように合成される。

#### 【 0 1 3 4 】

1 当量のパルミチン酸、1 当量の D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン ( 化合物 B ) 、および 1 . 10 当量の O - ベンゾトリアゾール - N , N , N ' , N ' - テトラメチル - ウロニウム - ヘキサフルオロ - ホスフェート ( H B T U ) を、テトラヒドロフランおよびジメチルホルムアミドに懸濁させ、約 0 ~ 5 に冷却する。2 ~ 3 当量のトリエチルアミンを加え、混合物を、約 0 ~ 5 で約 1 ~ 1 2 時間攪拌する。混合物を約 2 2 に温める。クエン酸の水溶液を加え、混合物を約 2 2 で 1 5 ~ 9 0 分間攪拌する。得られた懸濁液をろ過し、ケーキを、室温で、水に懸濁させる。懸濁液をろ過し、水およびアセトンで洗浄する。次に、得られた生成物、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン ( 化合物 F ) を乾燥させることができる。  
20

#### 【 0 1 3 5 】

第一ヒドロキシルの保護のため、1 当量の N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロセラミド ( 化合物 F ) を、ピリジンおよび塩化メチレンに懸濁させた。塩化メチレン中の約 1 . 0 5 当量の塩化トリチルの溶液を加えた後、さらなる塩化メチレンを加える。反応混合物を 5 0 ~ 6 0 時間にわたって約 2 5 で攪拌した。

#### 【 0 1 3 6 】

本発明の特定の実施形態において、第一級ヒドロキシルの保護により、粗反応生成物の 1 0 m o 1 % 未満の N - パルミトイール - 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンが得られる。本発明のさらなる実施形態において、第一級ヒドロキシルの保護により、粗反応生成物の 7 m o 1 % 未満の N - パルミトイール - 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンが得られる。本発明のさらに他の実施形態において、第一級ヒドロキシルの保護により、粗反応生成物の 5 m o 1 % 未満の N - パルミトイール - 1 , 3 - , - ジトリチル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンが得られる。本発明のさらに他の実施形態において、第一級ヒドロキシルの保護により、粗反応生成物の 1 m o 1 % 未満の N - パルミトイール - 1 , 3 - O , O - ジトリチル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンが得られる。  
40

#### 【 0 1 3 7 】

第二ヒドロキシルの保護のために、N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン ( 化合物 V I I I a ) を含む、第一ヒドロキシルの保護からの反応混合物を約 2 に冷却する。約 0 . 1 0 当量の N , N - ジメチルアミノピリジン、約 1 . 5 0 当量の塩化ベンゾイルおよびさらなる塩化メチレンを加える。薄層クロマトグラフィー ( T L C ) 分析が、約 5 % 未満の出発材料 N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン ( 化合物 V I I I a ) の含量を示すまで、反応を、攪拌しながら約 2 で進行させる。酢酸エチルおよびクエン酸水溶液および塩化ナトリウム溶液を、反応に加え、N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン ( 化合物 V I I I b ) を有機相から回収する。  
50

## 【0138】

トリチル保護基を除去するために、N - パルミトイyl - 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン（化合物VI I I b）を、メタノールおよび塩化メチレンに溶解させ、2に冷却する。メタノール中の0.57当量のパラ - トルエンスルホン酸一水和物の溶液を用いて、pHを2.5に調整する。TLC分析が、5%未満の出発材料、N - パルミトイyl - 1 - O - トリチル - 3 - O - ベンゾール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン（化合物VI I I b）の含量を示すまで、反応を、攪拌しながら約22で進行させる。トリエチルアミンを加えて、pHを約7.0に調整する。反応混合物を蒸発乾固させ、得られた粗製のN - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン（化合物VI I I c）を、約40でヘキサンに懸濁させ、約0に冷却する。約30~60分後、固体を、ろ過によって単離し、ヘキサンで洗浄する。次に、得られた生成物を、シリカゲルクロマトグラフィーなどの適切な方法によって精製することができる。10

## 【0139】

1当量のN - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン（化合物VI I I c）をトルエンに溶解させ、約0.6~1当量のテトラメチルエチレンジアミンを加え、混合物を約4~9に冷却する。アセトニトリル中の約1~2当量の2 - クロロ - 2 - オキソ - 1,3,2 - ジオキサホスホランを加えた後、さらなるアセトニトリルを加える。反応物を約22に温め、攪拌を1~3時間にわたって続ける。その後、さらなるアセトニトリルを加え、温度を約-10~0に低下させる。気体トリメチルアミンを、その沸点未満に冷却し、約40~60当量のこの液体トリメチルアミンを加える。反応物を約60~70に加熱し、10~16時間にわたって進行させたところ、N - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイルD - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物VI I I e）が得られる。反応物を約-30に冷却し、得られた懸濁液をろ過する。粗製のN - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイルD - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを、シリカゲルクロマトグラフィーによってさらに精製する。20

## 【0140】

1当量のN - パルミトイyl - 3 - O - ベンゾイルD - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物VI I I e）をメタノールに溶解させ、約0.2当量のナトリウムメトキシドを加え、混合物を約22で20~26時間攪拌する。塩化メチレンおよび水を加え、塩酸の添加によって、pHを約7に調整する。N - パルミトイyl - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物D）を有機層から回収する。30

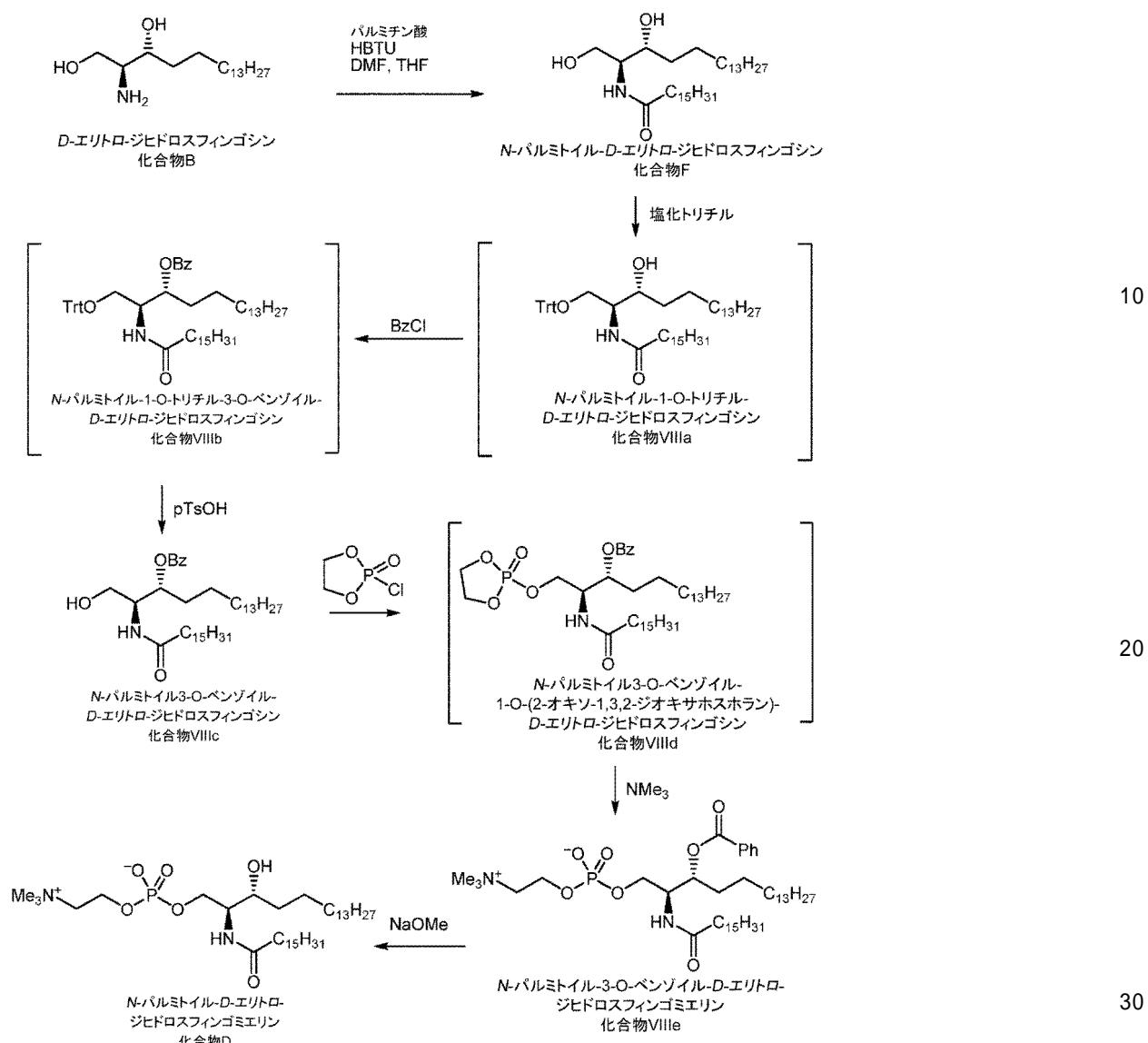
## 【0141】

本発明のさらなる実施形態において、N - パルミトイyl - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

## 【0142】

本発明の特定の実施形態において、得られたN - パルミトイyl - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンは、少なくとも約85%の鏡像異性体純度を有し、約15%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。本発明のさらなる実施形態において、N - パルミトイyl - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約90%の鏡像異性体純度を有し、約10%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - パルミトイyl - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約95%の鏡像異性体純度を有し、約5%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - パルミトイyl - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約98%の鏡像異性体純度を有し、約2%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。40

## 【化18】



スキームVIII

## 【0143】

(2S, 3R, 4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物If)の保護

本発明の別の実施形態において、(2S, 3R, 4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(スキームI中の化合物If)の第二級ヒドロキシル基を保護し、スフィンゴミエリンの合成が、スキームIXに示されるように進行する。

## 【0144】

本発明の特定の実施形態において、スキームIXに示されるように、(2S, 3R, 4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物If)の第二級ヒドロキシル基を、ベンゾイル基で保護して、(2S, 3R, 4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ベンゾイル-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物IXa)を得る。次に、(2S, 3R, 4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ベンゾイル-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンを、メタノールおよび2~3当量の塩化アセチルに溶解させて、塩酸を生成し、tert-ブトキシカルボニル(Boc)保護基を除去したところ、3-O-ベンゾ

イル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物IXb）が得られる。

【0145】

本発明の特定の実施形態において、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物IXc）を得るための、パルミチン酸による3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンのN - アシル化は、スキームIXに示されるように進行する。工程は、以下のとおりである：3 - O ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物IXb）、パルミチン酸、およびアミド形成剤を、非プロトン性有機溶媒に懸濁させ、混合物を約0～5℃の温度で冷却する。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2 - メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明の特定の実施形態において、アミド形成剤は、O - ベンゾトリシアゾール - N , N , N' , N' - テトラメチル - ウロニウム - ヘキサフルオロ - ホスフェート (HBTU) である。  
10

【0146】

以下に限定はされないが、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基を、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンと、パルミチン酸と、アミド形成剤との混合物に加える。特定の実施形態において、有機塩基は、非プロトン性有機溶媒中であり、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2 - メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明のさらなる実施形態において、有機塩基を、約15～90分間にわたって加える。次に、混合物を、約0～22℃の温度で1～15時間攪拌する。本発明の特定の実施形態において、反応は、約0～5℃の温度で進行する。本発明の他の実施形態において、反応は約22℃で進行する。本発明のさらに他の実施形態において、反応はおよそ室温で進行する。  
20

【0147】

約1～15時間攪拌した後、生成物を、酸の添加によって沈殿させる。本発明の特定の実施形態において、酸は、クエン酸、酢酸、またはシュウ酸などの有機酸である。酸を加えるとき、酸は水溶液中であり得る。酸を加えるとき、反応物は、約22℃であり得る。得られた懸濁液を、約0～5℃の温度で30～120分間攪拌することができる。本発明の特定の実施形態において、懸濁液を約22℃で攪拌する。

【0148】

攪拌した後、懸濁液をろ過する。次に、得られた生成物を、水に再懸濁させることができ、その後、それを、ろ過し、洗浄することができる。再懸濁を、少なくとももう1回行うことができる。得られた生成物、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物IXc）を、水、アセトン、またはそれらの混合物で洗浄することができる。  
30

【0149】

本発明の特定の実施形態において、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンまたはその中間体の1つまたは複数を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

【0150】

1当量のN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン（化合物IXc）をトルエンに溶解させ、約0.6～1当量のテトラメチルエチレンジアミン (TMEDA) を加え、混合物を約4～9℃に冷却する。アセトニトリル中の約1～2当量の2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン (CCP) を加えた後、さらなるアセトニトリルを加える。反応物を約22℃に温め、攪拌を1～3時間にわたって続ける。さらなるアセトニトリルを加え、温度を約-10～0℃に低下させる。気体トリメチルアミンを、その沸点未満に冷却し、約40～60当量のこの液体トリメチルアミンを加える。反応混合物を約60～70℃に加熱し、10～16時間にわたって進行させたところ、N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン（化合物IXe）が得られる。反応物を約-30℃に冷却し、得られた懸濁液をろ過する  
40  
50

。粗製のN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン(化合物IXe)を、シリカゲルクロマトグラフィーによってさらに精製する。

【0151】

1当量のN - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン(化合物IXe)をメタノールに溶解させ、約0.2当量のナトリウムメトキシドを加え、混合物を約22度で20~26時間攪拌する。塩化メチレンおよび水を加え、塩酸の添加によって、pHを約7に調整する。N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリン(化合物C)を有機層から回収する。

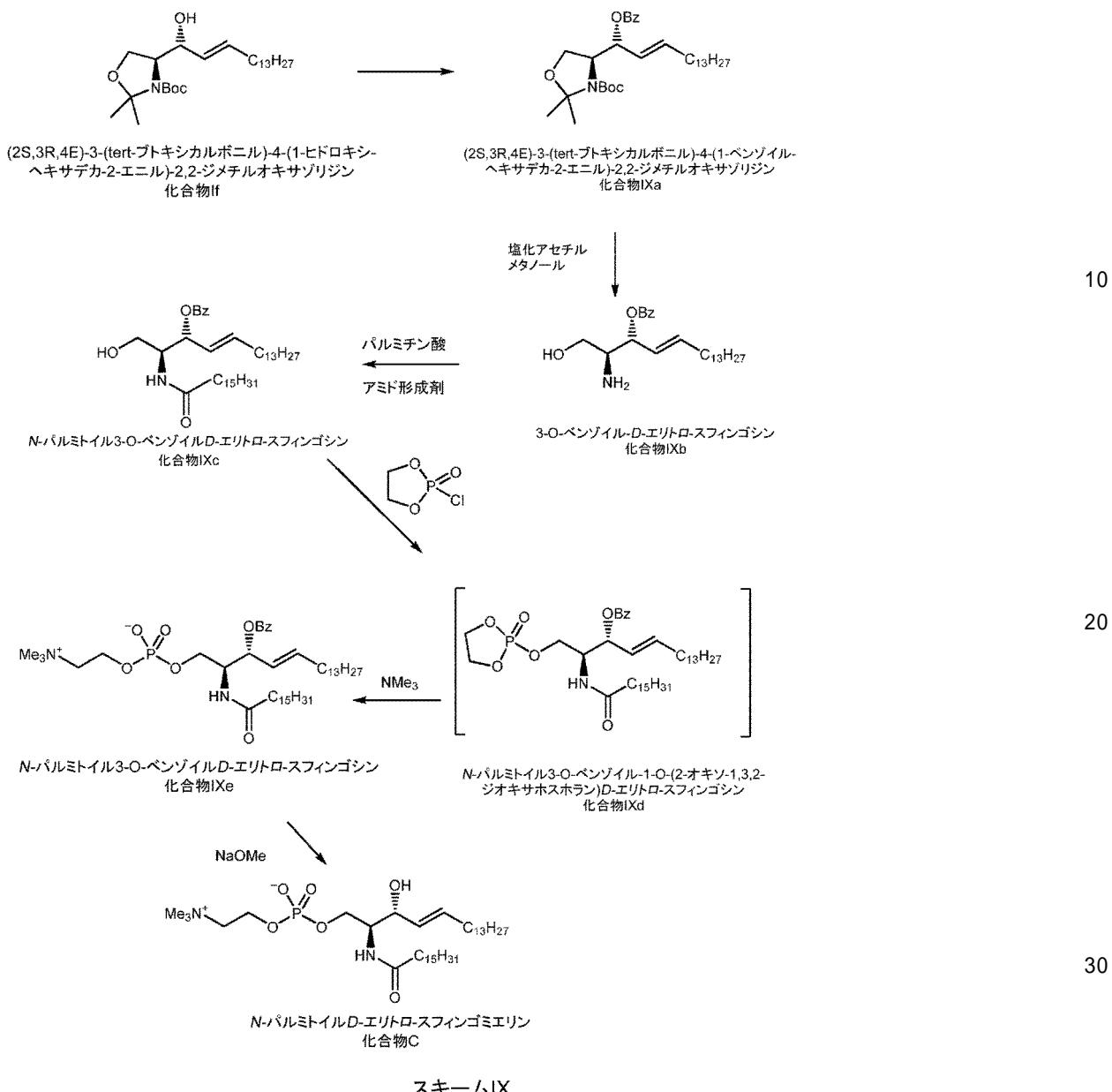
【0152】

本発明のさらなる実施形態において、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリン(化合物C)を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。 10

【0153】

本発明の特定の実施形態において、得られたN - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンは、少なくとも約85%の鏡像異性体純度を有し、約15%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。本発明のさらなる実施形態において、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約90%の鏡像異性体純度を有し、約10%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約95%の鏡像異性体純度を有し、約5%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約98%の鏡像異性体純度を有し、約2%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。 20

## 【化19】



## 【0154】

本発明の特定の実施形態において、N-アシリル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンが、以下に記載されるように調製される。

## 【0155】

本発明の一態様において、(2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(化合物If)の第二級ヒドロキシル基を、以下に限定はされないが、エステルまたはエーテルなどの保護基で保護することができる。本発明の特定の実施形態において、保護基は、以下に限定はされないが、ベンゾイルエステルまたはフルオレニルメチルオキシカルボニルエステルなどのエステルである。本発明のさらなる実施形態において、保護基は、以下に限定はされないが、t-ブチルジフェニルシリルエーテルなどのエーテルである。

## 【0156】

本発明の特定の実施形態において、スキームXに示されるように、(2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシヘキサデカ-2-

10

20

30

40

50

エニル) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジン(化合物 I f )の第二級ヒドロキシル基を、ベンゾイル基で保護して、(2S, 3R, 4E) - 3 - (tert - プトキシカルボニル) - 4 - (1 - ベンゾイル - ヘキサデカ - 2 - エニル) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジン(化合物 X a )を得る。次に、化合物 X a を、メタノールおよび2 ~ 3 当量の塩化アセチルに溶解させて、塩酸を生成し、tert - プトキシカルボニル(BOC)保護基を除去したところ、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン(化合物 X b )が得られる。次に、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンを、好適な脂肪酸およびアミド形成剤の添加によって、N - アシル化することができる。工程は、以下のとおりである：3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン(化合物 X b )、脂肪酸、およびアミド形成剤を、非プロトン性有機溶媒に懸濁させ、混合物を約0 ~ 5 の温度で冷却する。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2 - メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明の特定の実施形態において、アミド形成剤は、O - ベンゾトリニアゾール - N , N , N , N' - テトラメチル - ウロニウム - ヘキサフルオロ - ホスフェート(HBTU)である。  
。

#### 【0157】

以下に限定はされないが、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基を、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン(化合物 X b )と、脂肪酸と、アミド形成剤との混合物に加える。特定の実施形態において、有機塩基は、非プロトン性有機溶媒中であり、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2 - メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明のさらなる実施形態において、有機塩基を、約15 ~ 90分間にわたって加える。次に、混合物を、約0 ~ 22 の温度で1 ~ 15時間攪拌する。本発明の特定の実施形態において、反応は、約0 ~ 5 の温度で進行する。本発明の他の実施形態において、反応は約22 で進行する。本発明のさらに他の実施形態において、反応はおよそ室温で進行する。  
。

#### 【0158】

約1 ~ 15時間攪拌した後、生成物(化合物 X c )を、酸の添加によって沈殿させる。本発明の特定の実施形態において、酸は、クエン酸、酢酸、またはシュウ酸などの有機酸である。酸を加えるとき、酸は水溶液中であり得る。酸を加えるとき、反応物は、約22 であり得る。得られた懸濁液を、約0 ~ 5 の温度で30 ~ 120分間攪拌することができる。本発明の特定の実施形態において、懸濁液を約22 で攪拌する。  
。

#### 【0159】

攪拌した後、懸濁液をろ過する。次に、得られた生成物を、水に再懸濁させることができ、その後、それを、ろ過し、洗浄することができる。再懸濁を、少なくとももう1回行うことができる。得られた生成物、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - セラミド(化合物 X c )を、水、アセトン、またはそれらの混合物で洗浄することができる。

#### 【0160】

本発明の特定の実施形態において、化合物 X c またはその中間体の1つまたは複数を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。  
。

#### 【0161】

1当量の化合物 X c をトルエンに溶解させ、約0 . 6 ~ 1当量のテトラメチルエチレンジアミン(TMEDA)を加え、混合物を約4 ~ 9 に冷却する。アセトニトリル中の約1 ~ 2当量の2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン(CCP)を加えた後、さらなるアセトニトリルを加える。反応物を約22 に温め、攪拌を1 ~ 3時間にわたって続ける。さらなるアセトニトリルを加え、温度を約-10 ~ 0 に低下させる。気体トリメチルアミンを、その沸点未満に冷却し、約40 ~ 60 当量のこの液体トリメチルアミンを加える。反応混合物を約60 ~ 70 に加熱し、10 ~ 16 時間にわたって進行させたところ、N - アシル - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン(化合物 X e )が得られる。反応物を約-30 に冷却し、得られた懸濁液をろ過する。粗  
。

製のN - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン（化合物X e）を、シリカゲルクロマトグラフィーによってさらに精製する。

【0162】

1当量のN - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン（化合物X e）をメタノールに溶解させ、約0.2当量のナトリウムメトキシドを加え、混合物を約22で20～26時間攪拌する。塩化メチレンおよび水を加え、塩酸の添加によって、pHを約7に調整する。N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン（化合物X f）を有機層から回収する。

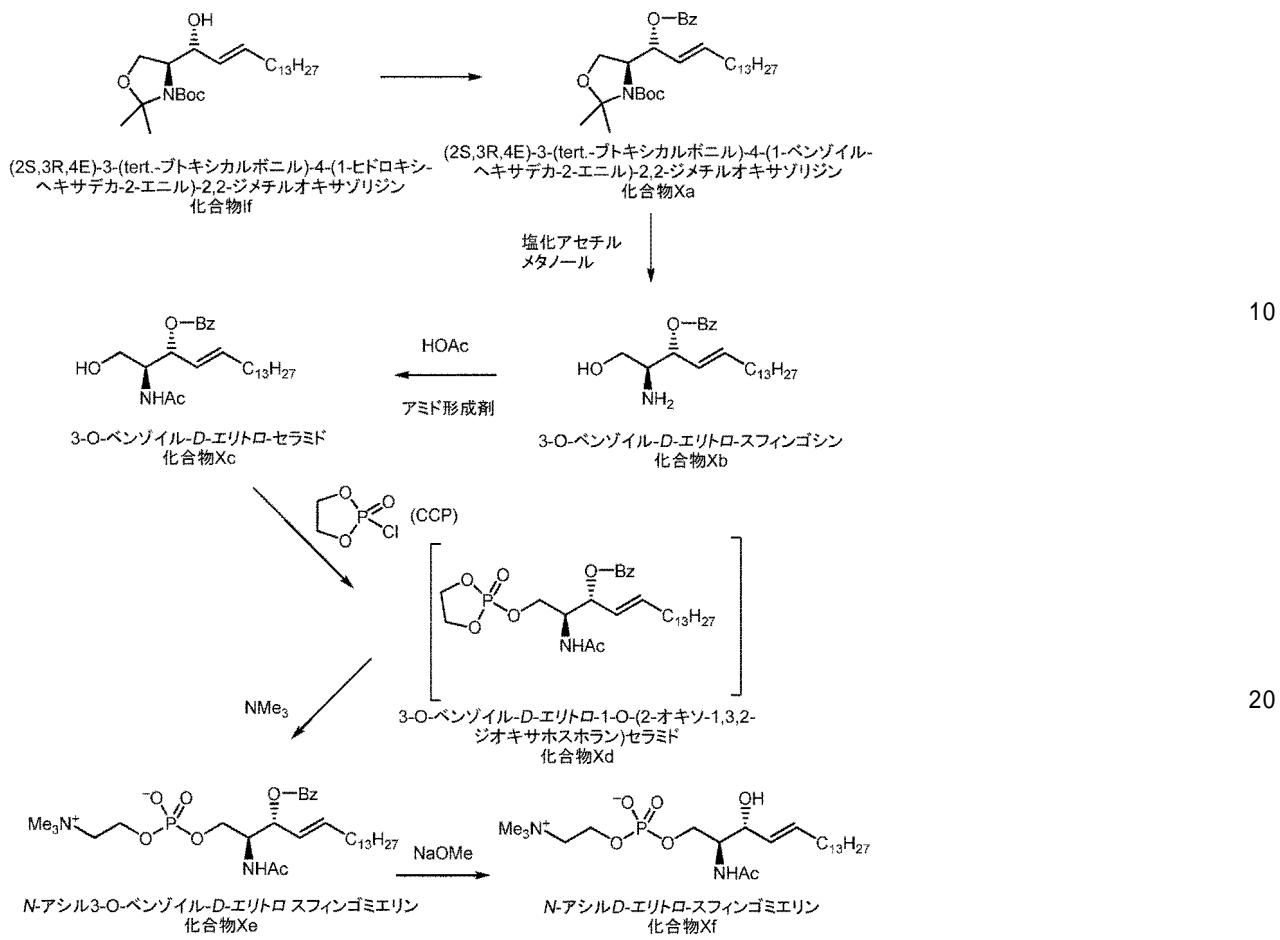
【0163】

本発明のさらなる実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン（化合物X f）を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフイーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。10

【0164】

本発明の特定の実施形態において、得られたN - アシル - D - エリトロ - スフィンゴシンは、少なくとも約85%の鏡像異性体純度を有し、約15%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。本発明のさらなる実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約90%の鏡像異性体純度を有し、約10%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約95%の鏡像異性体純度を有し、約5%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンは、少なくとも約98%の鏡像異性体純度を有し、約5%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。20

## 【化 2 0】



## スキームX

HOAcが脂肪酸である

Acが、3~36個の炭素および0~6個の炭素-炭素二重結合を有する脂肪酸残基である

## 【0165】

(S)-tert-ブチル4-((R)-1-ヒドロキシヘキサデシル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン-3-カルボキシレート(化合物IIa)の保護スフィンゴシン前駆体(S)-tert-ブチル4-((R)-1-ヒドロキシヘキサデシル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン-3-カルボキシレート(スキームII中の化合物IIa)の第二級ヒドロキシル基を保護し、ジヒドロスフィンゴミエリンの合成が、スキームXIに示されるように進行する。

## 【0166】

本発明の特定の実施形態において、スキームXIに示されるように、(S)-tert-ブチル4-((R)-1-ヒドロキシヘキサデシル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン-3-カルボキシレート(化合物IIa)の第二級ヒドロキシル基を、ベンゾイル基で保護して、(S)-tert-ブチル4-((R)-1-(ベンゾイルオキシ)ヘキサデシル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン-3-カルボキシレート(化合物XIa)を得る。次に、化合物XIaを、メタノールおよび2~3当量の塩化アセチルに溶解させて、塩酸を生成し、tert-ブトキシカルボニル(Boc)保護基を除去したところ、3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン(化合物XIb)が得られる。

## 【0167】

本発明の特定の実施形態において、N-パルミトイル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン(化合物XIc)を得るための、パルミチン酸による3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンのN-アシル化は、以下のよう

40

50

に進行する：3-Oベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン（化合物X I b）、パルミチン酸、およびアミド形成剤を、非プロトン性有機溶媒に懸濁させ、混合物を約0～5の温度で冷却する。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2-メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明の特定の実施形態において、アミド形成剤は、O-ベンゾトリニアゾール-N,N,N',N'-テトラメチル-ウロニウム-ヘキサフルオロ-ホスフェート(HBTU)である。

#### 【0168】

以下に限定はされないが、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基を、3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンと、パルミチン酸と、アミド形成剤との混合物に加える。特定の実施形態において、有機塩基は、非プロトン性有機溶媒中であり、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2-メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明のさらなる実施形態において、有機塩基を、約15～90分間にわたって加える。次に、混合物を、約0～22の温度で1～15時間攪拌する。本発明の特定の実施形態において、反応は、約0～5の温度で進行する。本発明の他の実施形態において、反応は約22で進行する。本発明のさらに他の実施形態において、反応はおよそ室温で進行する。

#### 【0169】

約1～15時間攪拌した後、生成物を、酸の添加によって沈殿させる。本発明の特定の実施形態において、酸は、クエン酸、酢酸、またはシュウ酸などの有機酸である。酸を加えるとき、酸は水溶液中であり得る。酸を加えるとき、反応物は、約22であり得る。得られた懸濁液を、約0～5の温度で30～120分間攪拌することができる。本発明の特定の実施形態において、懸濁液を約22で攪拌する。

#### 【0170】

攪拌した後、懸濁液をろ過する。次に、得られた生成物を、水に再懸濁させることができ、その後、それを、ろ過し、洗浄することができる。再懸濁を、少なくとももう1回行うことができる。得られた生成物、N-パルミトイyl-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン（化合物X I c）を、水、アセトン、またはそれらの混合物で洗浄することができる。

#### 【0171】

本発明の特定の実施形態において、N-パルミトイyl-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンまたはその中間体の1つまたは複数を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

#### 【0172】

1当量のN-パルミトイyl-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシン（化合物X I c）をトルエンに溶解させ、約0.6～1当量のテトラメチルエチレンジアミン(TMEDA)を加え、混合物を約4～9に冷却する。アセトニトリル中の約1～2当量の2-クロロ-2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン(CCP)を加えた後、さらなるアセトニトリルを加える。反応物を約22に温め、攪拌を1～3時間にわたって続ける。さらなるアセトニトリルを加え、温度を約-10～0に低下させる。気体トリメチルアミンを、その沸点未満に冷却し、約40～60当量のこの液体トリメチルアミンを加える。反応混合物を約60～70に加熱し、10～16時間にわたって進行させたところ、N-パルミトイyl-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物X I e）が得られる。反応物を約-30に冷却し、得られた懸濁液をろ過する。粗製のN-パルミトイyl-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物X I e）を、シリカゲルクロマトグラフィーによってさらに精製する。

#### 【0173】

1当量のN-パルミトイyl-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴ

10

20

30

40

50

ミエリン（化合物XIe）をメタノールに溶解させ、約0.2当量のナトリウムメトキシドを加え、混合物を約22℃で20～26時間攪拌する。塩化メチレンおよび水を加え、塩酸の添加によって、pHを約7に調整する。N-パルミトイール-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物D）を有機層から回収する。

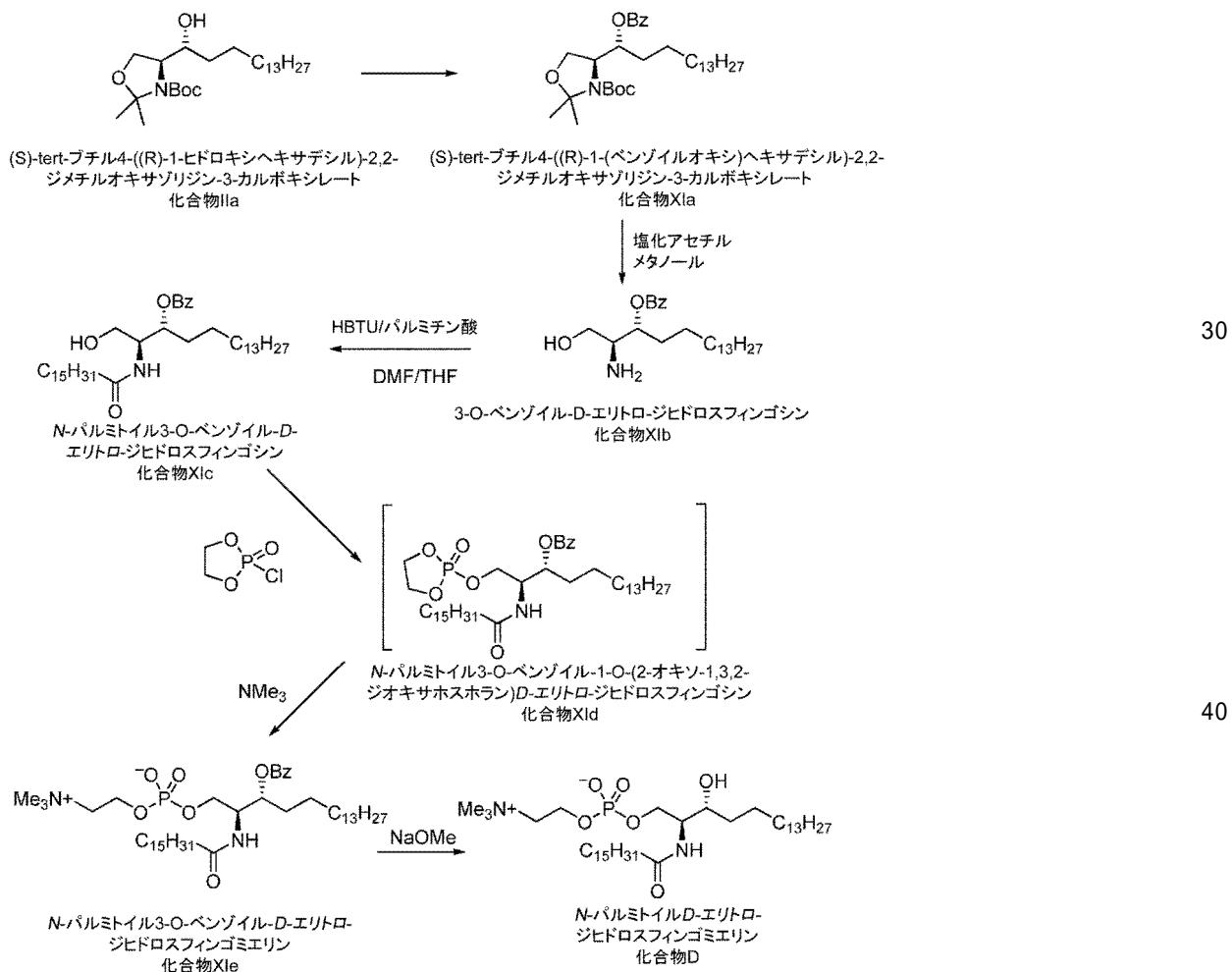
## 【0174】

本発明のさらなる実施形態において、N-パルミトイール-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物D）を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

## 【0175】

本発明の特定の実施形態において、得られたN-パルミトイール-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンは、少なくとも約85%の鏡像異性体純度を有し、約15%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。本発明のさらなる実施形態において、N-パルミトイール-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約90%の鏡像異性体純度を有し、約10%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N-パルミトイール-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約95%の鏡像異性体純度を有し、約5%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N-パルミトイール-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約98%の鏡像異性体純度を有し、約2%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。

## 【化21】



スキームXI

## 【0176】

10

20

30

40

50

本発明の特定の実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンが、以下に記載されるように調製される。

#### 【0177】

本発明の一態様において、(S) - tert - ブチル4 - ((R) - 1 - ヒドロキシヘキサデシル) - 2 , 2 - ジメチルオキサゾリジン - 3 - カルボキシレート(化合物IIa)の第二級ヒドロキシリル基を、以下に限定はされないが、エステルまたはエーテルなどの保護基で保護することができる。本発明の特定の実施形態において、保護基は、以下に限定はされないが、ベンゾイルエステルまたはフルオレニルメチルオキシカルボニルエステルなどのエステルである。本発明のさらなる実施形態において、保護基は、以下に限定はされないが、t - ブチルジフェニルシリルエーテルなどのエーテルである。

10

#### 【0178】

本発明の特定の実施形態において、スキームXIIに示されるように、化合物IIaの第二級ヒドロキシリル基を、ベンゾイル基で保護して、化合物XIIaを得る。次に、化合物XIIaを、メタノールおよび2 ~ 3当量の塩化アセチルに溶解させて、塩酸を生成し、tert - ブトキシカルボニル(Boc)保護基を除去したところ、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン(化合物XIIb)が得られる。次に、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを、好適な脂肪酸およびアミド形成剤の添加によって、N - アシル化することができる。工程は、以下のとおりである：3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン(化合物XIIb)、脂肪酸、およびアミド形成剤を、非プロトン性有機溶媒に懸濁させ、混合物を約0 ~ 5 の温度で冷却する。一実施形態において、非プロトン性有機溶媒は、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2 - メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明の特定の実施形態において、アミド形成剤は、O - ベンゾトリアゾール - N , N , N ' , N ' - テトラメチル - ウロニウム - ヘキサフルオロ - ホスフェート(HBTU)である。

20

#### 【0179】

以下に限定はされないが、トリエチルアミンまたはピリジンなどの有機塩基を、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシン(化合物XIIb)と、脂肪酸と、アミド形成剤との混合物に加える。特定の実施形態において、有機塩基は、非プロトン性有機溶媒中であり、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、2 - メチルテトラヒドロフラン、またはそれらの混合物である。本発明のさらなる実施形態において、有機塩基を、約15 ~ 90分間にわたって加える。次に、混合物を、約0 ~ 22 の温度で1 ~ 15時間攪拌する。本発明の特定の実施形態において、反応は、約0 ~ 5 の温度で進行する。本発明の他の実施形態において、反応は約22 で進行する。本発明のさらに他の実施形態において、反応はおよそ室温で進行する。

30

#### 【0180】

約1 ~ 15時間攪拌した後、生成物(化合物XIIc)を、酸の添加によって沈殿させる。本発明の特定の実施形態において、酸は、クエン酸、酢酸、またはシュウ酸などの有機酸である。酸を加えるとき、酸は水溶液中であり得る。酸を加えるとき、反応物は、約22 であり得る。得られた懸濁液を、約0 ~ 5 の温度で30 ~ 120分間攪拌することができる。本発明の特定の実施形態において、懸濁液を約22 で攪拌する。

40

#### 【0181】

攪拌した後、懸濁液をろ過する。次に、得られた生成物を、水に再懸濁させることができ、その後、それを、ろ過し、洗浄することができる。再懸濁を、少なくとももう1回行うことができる。得られた生成物、3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - ジヒドロセラミド(化合物XIIc)を、水、アセトン、またはそれらの混合物で洗浄することができる。

#### 【0182】

本発明の特定の実施形態において、化合物XIIcまたはその中間体の1つまたは複数を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業

50

者に公知の他の方法によって精製することができる。

【0183】

1当量の化合物XIIcをトルエンに溶解させ、約0.6～1当量のテトラメチルエチレンジアミン(TMEDA)を加え、混合物を約4～9℃に冷却する。アセトニトリル中の約1～2当量の2-クロロ-2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン(CCP)を加えた後、さらなるアセトニトリルを加える。反応物を約22℃に温め、搅拌を1～3時間にわたって続ける。さらなるアセトニトリルを加え、温度を約-10～0℃に低下させる。気体トリメチルアミンを、その沸点未満に冷却し、約40～60当量のこの液体トリメチルアミンを加える。反応混合物を約60～70℃に加熱し、10～16時間にわたって進行させたところ、N-アシル-O-ベンゾイル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン(化合物XIIe)が得られる。反応物を約-30℃に冷却し、得られた懸濁液をろ過する。粗製のN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン(化合物XIIe)を、シリカゲルクロマトグラフィーによってさらに精製する。  
10

【0184】

1当量のN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン(化合物XIIe)をメタノールに溶解させ、約0.2当量のナトリウムメトキシドを加え、混合物を約22～20～26時間搅拌する。塩化メチレンおよび水を加え、塩酸の添加によって、pHを約7に調整する。N-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン(化合物XIIf)を有機層から回収する。  
20

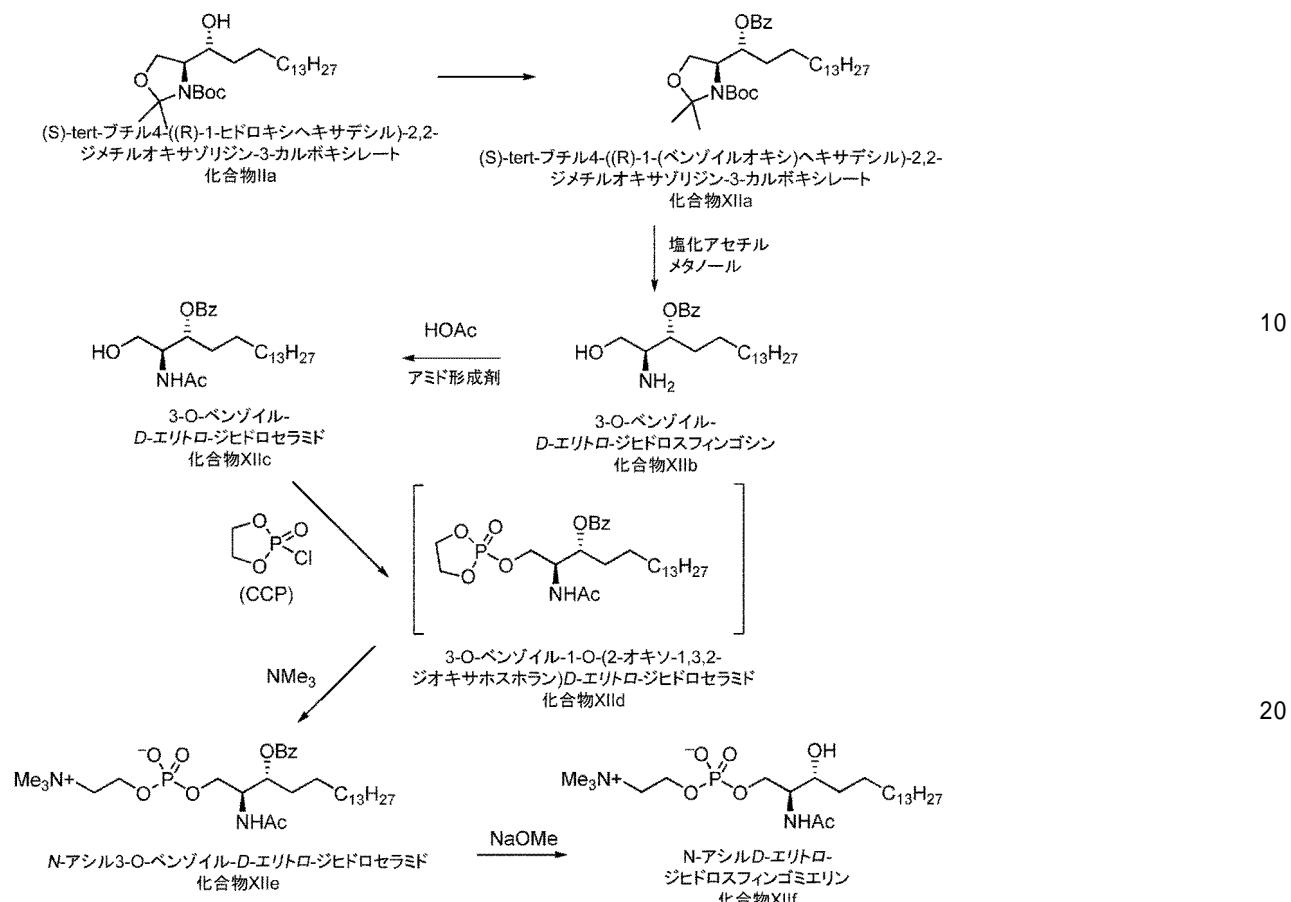
【0185】

本発明のさらなる実施形態において、N-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリン(化合物XIIf)を、再結晶化、シリカゲルクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィーまたは当業者に公知の他の方法によって精製することができる。

【0186】

本発明の特定の実施形態において、得られたN-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴシンは、少なくとも約85%の鏡像異性体純度を有し、約15%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。本発明のさらなる実施形態において、N-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約90%の鏡像異性体純度を有し、約10%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約95%の鏡像異性体純度を有し、約5%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。さらに他の実施形態において、N-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィンゴミエリンは、少なくとも約98%の鏡像異性体純度を有し、約2%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有する。  
30

## 【化22】



スキームXII

HOAcが脂肪酸である  
Acが、3~36個の炭素および0~6個の炭素-炭素二重結合を有する脂肪酸残基である

30

## 【0187】

第二級ヒドロキシル基の保護を伴わないN-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンの合成

本発明の特定の実施形態において、スキームXIIに示されるように、D-エリトロ-セラミド（化合物Vb）を、ハロ亜リン酸エチレンで直接リン酸化する。反応は、大きい誘電率（>20）および大きい双極子モーメントを有する非プロトン性極性溶媒中で、約4~10当量の塩基の存在下で、約2.5~3.5当量のハロ亜リン酸エチレンの存在下で進行する。特定の実施形態において、反応は、約-20~+20で進行する。特定の実施形態において、非プロトン性極性溶媒は、20を超える誘電率を有する。特定の実施形態において、非プロトン性極性溶媒は、クロロホルム、ニトロメタン、アセトニトリル、アセトン、ジメチルスルホキシド、またはそれらの混合物である。特定の実施形態において、ハロホスファイトは、クロロホスファイトである。さらなる実施形態において、反応は、3当量のクロロ亜リン酸エチレンを用いて進行する。他の実施形態において、塩基は、N,N-ジイソプロピルエチルアミンである。さらに他の実施形態において、反応は、5当量のN,N-ジイソプロピルエチルアミンを用いて進行する。

## 【0188】

何らかの特定の機構に制約されるものではないが、このような溶媒は、例えば、ヒドロキシル部分の溶媒和によって、セラミド中の分子内水素結合を妨げるものと考えられる。好適な溶媒としては、以下に限定はされないが、クロロホルム、ニトロメタン、アセトニ

40

50

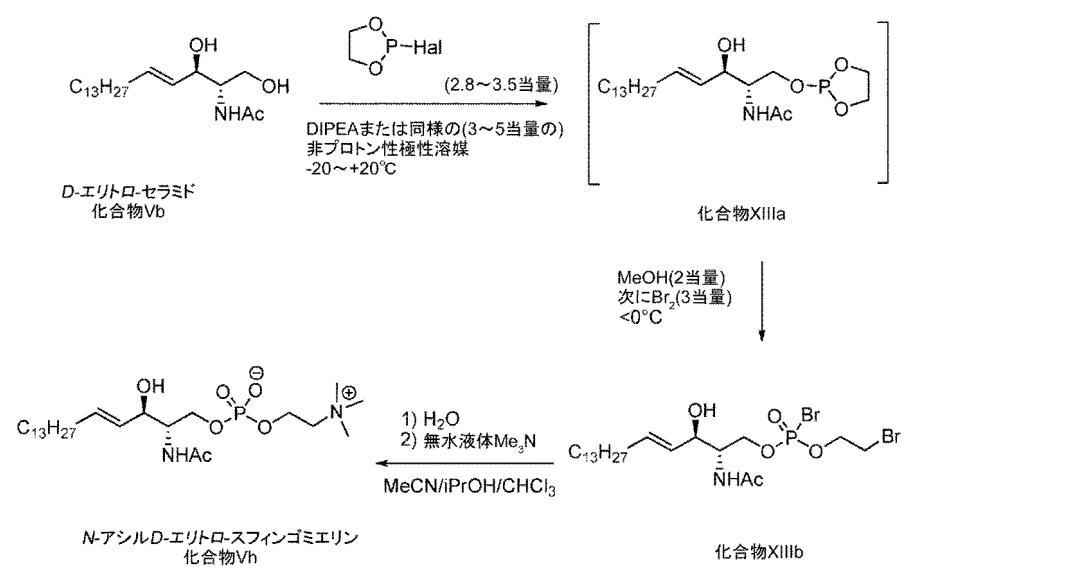
トリル、アセトン、またはジメチルスルホキシドが挙げられる。

【0189】

未反応のハロ亜リン酸エチレンをアルコールでクエンチした後、環状ホスフェート（化合物XIIIa）を、約-50～10℃、一実施形態において、約-20℃の温度で、臭素の存在下で、酸化し、開環させて、臭化セラミド誘導体（化合物XIIIb）を生成し、そのP-Br結合が水の添加によって加水分解される。本発明の特定の実施形態において、アルコールは、メタノールまたはエタノールである。化合物XIIIbを、無水液体トリメチルアミンで四級化して、N-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリン（化合物Vh）を得る。本発明のさらなる実施形態において、N-アシル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンは、N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンである。

10

【化23】



20

スキームXIII

Acが、3~36個の炭素および0~6個の炭素-炭素二重結合を有する脂肪酸残基である

30

【0190】

さらに別の実施形態において、本発明は、N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a) N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-ジオキサホスホラン-2-イル)オキシ)-3-ヒドロキシオクタデカ-4-エン-2-イル)パルミトイールアミドを得るのに有効な条件下で、N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴシンを、クロロ亜リン酸エチレンと反応させる工程と；

b) 2-ブロモエチル((2S,3R,E)-3-ヒドロキシ-2-パルミトイードオクタデカ-4-エン-1-イル)ホスホロブロミデートを得るのに有効な条件下で、N-((2S,3R,E)-1-((1,3,2-ジオキサホスホラン-2-イル)オキシ)-3-ヒドロキシオクタデカ-4-エン-2-イル)パルミトイールアミドを、臭素と反応させる工程と；

c) N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、2-ブロモエチル((2S,3R,E)-3-ヒドロキシ-2-パルミトイードオクタデカ-4-エン-1-イル)ホスホロブロミデートを、トリメチルアミンと反応させる工程と

を含む方法を提供する。

【0191】

第二級ヒドロキシル基の保護を伴わない、N-アシル-D-エリトロ-ジヒドロスフィン

40

50

### ゴミエリンの合成

本発明の特定の実施形態において、スキーム X I V に示されるように、D - エリトロ - ジヒドロセラミド（化合物 V I I b）を、ハロ亜リン酸エチレンで直接リン酸化する。反応は、大きい誘電率（> 20）および大きい双極子モーメントを有する非プロトン性極性溶媒中で、約 4 ~ 10 当量の塩基の存在下で、約 2 . 5 ~ 3 . 5 当量のハロ亜リン酸エチレンの存在下で進行する。特定の実施形態において、反応は、約 - 20 ~ + 20 で進行する。特定の実施形態において、非プロトン性極性溶媒は、20 を超える誘電率を有する。特定の実施形態において、非プロトン性極性溶媒は、クロロホルム、ニトロメタン、アセトニトリル、アセトン、ジメチルスルホキシド、またはそれらの混合物である。特定の実施形態において、ハロホスファイトは、クロロ亜リン酸エチレンである。さらなる実施形態において、反応は、3 当量のクロロ亜リン酸エチレンを用いて進行する。他の実施形態において、塩基は、N , N - デイソプロピルエチルアミンである。さらに他の実施形態において、反応は、5 当量のN , N - デイソプロピルエチルアミンを用いて進行する。

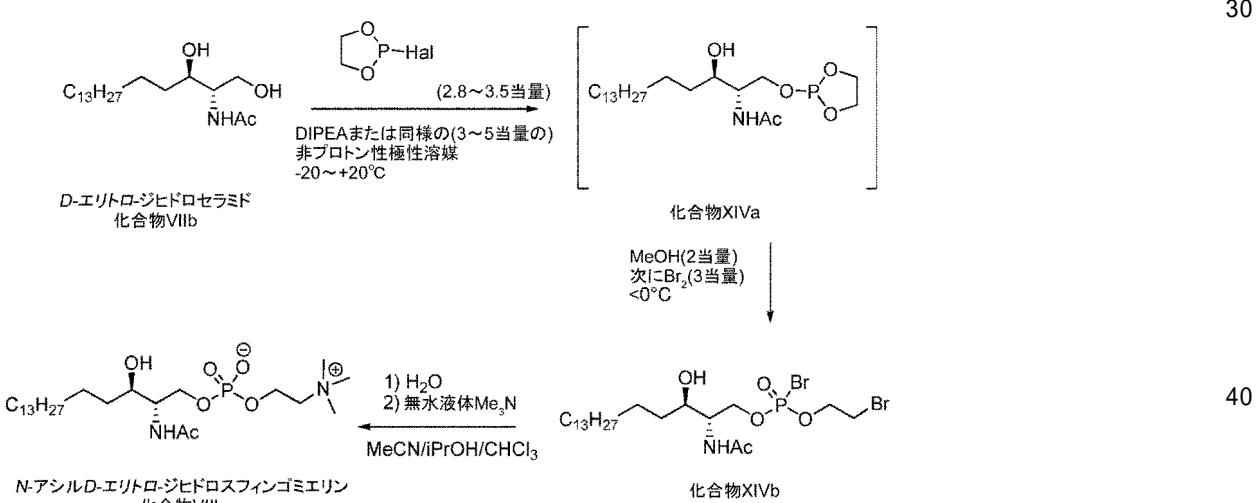
#### 【0192】

何らかの特定の機構に制約されるものではないが、このような溶媒は、ヒドロキシル部分の溶媒和によって、アシルジヒドロセラミド中の分子内水素結合を妨げるものと考えられる。好適な溶媒としては、以下に限定はされないが：クロロホルム、ニトロメタン、アセトニトリル、アセトン、またはジメチルスルホキシドが挙げられる。

#### 【0193】

未反応のハロ亜リン酸エチレンをアルコールでクエンチした後、環状ホスファイト（化合物 X I V a）を、約 - 50 ~ 10（好ましくは、約 - 20）の温度で、臭素の存在下で、同時に、酸化し、開環させて、臭化ジヒドロセラミド誘導体（化合物 X I V b）を生成し、そのP - Br 結合が水の添加によって加水分解される。本発明の特定の実施形態において、アルコールは、メタノールまたはエタノールである。化合物 X I V bを、無水液体トリメチルアミンで四級化して、N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリン（化合物 V I I h）を得る。本発明のさらなる実施形態において、N - アシル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンは、N - パルミトイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンである。

#### 【化24】



Acが、3~36個の炭素および0~6個の炭素-炭素二重結合を有する脂肪酸残基である

#### 【0194】

さらに別の実施形態において、本発明は、N - パルミトイル - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを合成するための方法であって、

a ) N - ( ( 2 S , 3 R ) - 1 - ( ( 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン - 2 - イル ) オ 50

キシ) - 3 - ヒドロキシオクタデカン - 2 - イル) パルミトアミドを得るのに有効な条件下で、N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴシンを、クロロ亜リン酸エチレンと反応させる工程と；

b) 2 - ブロモエチル ((2S, 3R) - 3 - ヒドロキシ - 2 - パルミトアミドオクタデシル) ホスホロブロミデートを得るのに有効な条件下で、N - ((2S, 3R) - 1 - ((1, 3, 2 - ジオキサホスホラン - 2 - イル) オキシ) - 3 - ヒドロキシオクタデカン - 2 - イル) パルミトアミドを、臭素と反応させる工程と；

c) N - パルミトイール - D - エリトロ - ジヒドロスフィンゴミエリンを得るのに有効な条件下で、2 - ブロモエチル ((2S, 3R) - 3 - ヒドロキシ - 2 - パルミトアミドオクタデシル) ホスホロブロミデートを、トリメチルアミンと反応させる工程と  
10 を含む方法を提供する。

#### 【実施例】

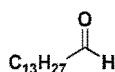
##### 【0195】

実施例1：N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの合成

工程1：2 - (E) - ヘキサデセナールの合成

工程1.1：1 - テトラデカナール

##### 【化25】



10

20

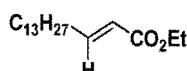
- 30 で、塩化メチレン (1500 mL) 中の 1 - テトラデカノール (110.0 g ; 0.513 mol) およびトリクロロイソシアヌル酸 (178.1 g ; 0.77 mol) の溶液に、(2, 2, 6, 6 - テトラメチルピペリジン - 1 - イル) オキシリル (TEMPO) (800 mg ; 0.051 mol) を加えた。反応混合物を 0 で 1.5 時間攪拌し、セライト上でろ過した。次に、収集した有機相を、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> の飽和溶液 (800 mL)、続いて、HCl 1N (800 mL) で洗浄した。次に、それを MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、ろ過し、減圧下で濃縮したところ、表題化合物、1 - テトラデカナールが、白色の固体 (99.6 g ; 91%) として得られた。

##### 【0196】

30

工程1.2：2 - ヘキサデセン酸エチル

##### 【化26】



無水テトラヒドロフラン (40 mL) 中の NaH (2.4 g, 0.059 mol) の懸濁液に、ホスホノ酢酸トリエチル (9.4 mL, 0.047 mol) を、0 で滴下して加えた。0 で 30 分間攪拌した後、テトラヒドロフラン (40 mL) 中のテトラデカナール (10.0 g, 0.047 mol) の溶液を加え、反応混合物を室温に温め、さらに 3 時間攪拌した。次に、NaCl の飽和溶液 (50 mL) を加え、水層を Et<sub>2</sub>O (3 × 200 mL) で抽出した。有機層を収集し、MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、ろ過し、溶媒を蒸発させた。得られた生成物を、シリカゲルにおけるフラッシュクロマトグラフィー (ヘプタン - 酢酸エチル : 95 / 5) によって精製したところ、表題化合物、2 - ヘキサデセン酸エチルが、無色の液体 (12.3 g ; 92%) として得られた。

Rf = 0.24 (ヘキサン / Et<sub>2</sub>O : 95 / 5)。

GC : tr = 13.13 分間 (ホスホノ酢酸トリエチル) ; tr = 15.80 分間 (1 - テトラデカナール) ; tr = 20.60 分間 (2 - ヘキサデセン酸エチル)

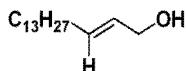
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.87 (t, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.25 (br, 20H) ; 1.28 (t, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.44 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ;  
40 50

2.18 (q d, 2H, CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz); 4.18 (q, 2H, CH<sub>2</sub>); 5.80 (dt, 1H, <sup>3</sup>J = 15.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz); 6.96 (dt, 1H, CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J = 15.5 Hz, <sup>3</sup>J = 6.5 Hz)。

## 【0197】

工程1.3: 2-(E)-ヘキサデセン-1-オール

## 【化27】



10

水素化ジイソブチルアルミニウム (54.5 mL、シクロヘキサン中 1 M、0.054 mol) を、テトラヒドロフラン (20 mL) 中の 2-(E)-ヘキサデセン酸エチル (6.4 g、0.023 mol) の溶液に、0°で、滴下して加えた。TLC によって監視した際に出発材料が完全に消費されるまで、反応混合物を 0°で攪拌した。Et<sub>2</sub>O (50 mL) および酒石酸ナトリウムの飽和溶液 (50 mL) を、別個の 2 つの層がはっきりと見えるまで、連続して加えた。水層を、Et<sub>2</sub>O (2 × 50 mL) で抽出した。有機層を組み合わせて、MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、溶媒を減圧下で除去したところ、表題化合物、2-(E)-ヘキサデセン-1-オールが、白色のろう状の固体 (5.3 g; 97%) として得られた。

Rf = 0.31 (ヘキサン / Et<sub>2</sub>O : 1 / 1)。

20

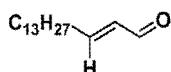
GC: tr = 19.1 分間

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0.87 (t, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.25 (br, 22H); 2.03 (q, 2H, CH<sub>2</sub>, <sup>3</sup>J = 6.0 Hz); 4.09 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 5 Hz); 5.66 (m, 2H)。

## 【0198】

工程1.4: 2-(D)-ヘキサデセン-1-アール

## 【化28】



30

0°で、アルゴン下で、塩化メチレン (30 mL) 中の 2-(E)-ヘキサデセン-1-オール (5.2 g; 0.022 mol) の溶液に、塩化メチレン (30 mL) 中のクロロクロム酸ピリジニウム (PCC) (16.3 g; 0.043 mol) の懸濁液、続いて、セライト (20 g) を加えた。0°で 3 時間攪拌した後、反応混合物を 20 mL のジエチルエーテルで希釈し、シリカのパッド上でろ過した。溶媒を蒸発させ、粗生成物を、シリカゲルにおけるフラッシュクロマトグラフィー (ヘプタン - 酢酸エチル : 95 / 5) によって精製したところ、表題化合物、2-(E)-ヘキサデセン-1-アールが、白色の固体 (2.2 g; 43%) として得られた。

Rf = 0.14 (ヘキサン / Et<sub>2</sub>O : 95 / 5)

40

GC: tr = 18.9 分間

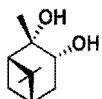
<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 0.88 (t, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.26 (br, 20H); 1.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.35 (qd, 2H, <sup>3</sup>J = 7 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz); 6.1 (ddt, 1H, <sup>3</sup>J = 15.5 Hz, <sup>3</sup>J = 8 Hz, <sup>4</sup>J = 1.5 Hz); 6.85 (td, 1H, <sup>3</sup>J = 15.5 Hz, <sup>3</sup>J = 7 Hz); 9.5 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8 Hz)。

## 【0199】

工程2: (1R, 2R, 5R)-(+)-2-ヒドロキシ-3-ピナノンの合成

工程2.1: (1R, 2R, 3S, 5R)-(-)-ピナンジオール

## 【化29】



17. 3 mL のピリジン、107 mL のアセトンおよび 11.9 mL の脱イオン水に溶解された、S - ( - ) - - ピネン ( 24.3 g ; 0.18 mol ) 、オスミウム酸カリウム二水和物 ( 0.13 g ) 、N - メチルモルホリン - N - オキシド ( 水中 60% ; 0.21 mol ; 41.7 g ) を、250 mL の三つ口フラスコ中で組み合わせた。反応混合物を 60 時間還流させ、次に、メチル *t* e r t - ブチルエーテル ( M T B E ) ( 300 mL ) およびヘキサン ( 60 mL ) で希釈した。次に、水 ( 200 mL ) を加え、有機層をデカントし、10% のクエン酸 ( 3 × 100 mL ) 、NaHCO<sub>3</sub> の飽和溶液 ( 100 mL ) 、塩水 ( 100 mL ) で連続して洗浄し、次に、MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、ろ過した。溶媒を減圧下で除去したところ、表題化合物、1R, 2R, 3S, 5R) - ( - ) - ピナンジオールが、濃いオレンジ色の油 ( 24.5 g ) として得られた。

G C : t r = 12.0 分間 ( ジオール ) ; t r = 10.9 分間 ( 1R, 2R, 5R ) - (+) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ピナノン ; ( 5 ~ 10 % )

## 【0200】

工程 2.2 : ( 1R, 2R, 5R ) - ( + ) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ピナノン

20

## 【化30】



トリエチルアミン ( Et<sub>3</sub>N ) ( 80.2 mL ; 0.58 mol ) を、10 で、ジメチルスルホキシド / 塩化メチレン溶媒混合物 ( 154 mL ; 1/1 ) 中の ( 1R, 2R, 3S, 5R ) - ( - ) - ピナンジオール ( 24.5 g ; 143.9 mmol ) の溶液に加えた。次に、SO<sub>3</sub> · ピリジン ( 68.7 g ; 0.43 mol ) を、温度を 20 未満に維持しながら、30 分間にわたって滴下して加えた。反応混合物を 10 で 2 時間攪拌し、次に、酢酸エチル ( 300 mL ) で希釈した。有機層を、HCl 0.5 N ( 2 \* 150 mL ) 、塩水 ( 150 mL ) で洗浄し、次に、MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、ろ過した。溶媒を減圧下で除去したところ、褐色の油が得られた。粗生成物を、シリカゲルにおけるフラッシュクロマトグラフィー ( メチルシクロヘキサン - 酢酸エチル : 9/1 ) によって精製したところ、表題化合物、( 1R, 2R, 5R ) - ( + ) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ピナノンが、黄色の油 ( 19.2 g ; 2 工程にわたって 63% ) として得られた。

G C : t r = 10.9 分間 ;

蒸留 : 沸点 = 100 ~ 104 ( 3 ~ 4 mmHg )

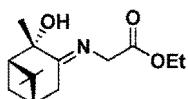
<sup>1</sup>H NMR ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub> ) : 0.90 ( s , 3 H ) ; 1.30 ( s , 3 H ) ; 1.40 ( s , 3 H ) ; 1.70 ( d , 1 H , = 12.0 Hz ) ; 2.10 ( m , 2 H ) ; 2.30 ( s , 1 H ) ; 2.50 ( m , 1 H ) ; 2.60 ( br s , 2 H ) 。

## 【0201】

工程 3 : D - エリトロ - スフィンゴシン塩酸塩

工程 3.1 : ( 1R, 2R, 5R ) - エチル - ( ( 2 - ヒドロキシピナン - 3 - イレン ) アミノ ) アセテート

## 【化31】



NH<sub>3</sub>ガスを、1時間にわたって、トルエン(100mL)中のエチルグリシネート塩酸塩(16.6g; 0.13mol)の懸濁液に通してバブリングした。形成された塩化アンモニウムをろ過して取り除き、(1R, 2R, 5R)-(+) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ピナノン(工程2.2)(10.0g; 0.59mol)を、数滴のBF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>とともに遊離塩基エチルグリシネートの溶液に加えた。次に、反応混合物を、ディーン・スターク装置を用いて、5時間にわたって還流させた。反応の完了の後、溶媒を蒸発させた。得られた生成物を、Et<sub>3</sub>N(エーテル中5%)を含浸させたシリカゲルにおけるフラッシュクロマトグラフィーによって精製し、表題化合物、(1R, 2R, 5R) - エチル - ((2 - ヒドロキシピナン - 3 - イレン)アミノ)アセテートを、Et<sub>2</sub>Oで溶離した。

Rf = 0.35 (シクロヘキサン - 酢酸エチル: 1 / 1)

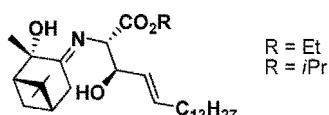
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 0.88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.30 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J = 7.0Hz) ; 1.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.53 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 1.57 (d, 1H, J = 10.0Hz) ; 2.07 (m, 2H) ; 2.36 (dt, 1H, J = 10.0Hz; J = 6.0Hz; J = 1.5Hz) ; 2.50 (d, 2H, J = 1.5Hz; J = 1.0Hz) ; 2.61 (s, 1H, OH) ; 4.17 (s, 2H, =N-CH<sub>2</sub>) ; 4.23 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, J = 7.0Hz)。

NMR <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) (ppm): 180.0 (C-1' クワットエステル) ; 170.2 (C-1' クワットアミド) ; 76.5 (C-2' クワット) ; 60.9 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ; 52.6 (C-2) ; 50.4 (C-3') ; 38.6 (Cクワット) ; 38.3 (C-5) ; 33.7 (C-6) ; 28.2 (CH<sub>3</sub>) ; 28.1 (C-4') ; 27.3 (CH<sub>3</sub>) ; 22.8 (CH<sub>3</sub>) ; 14.2 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>)。

## 【0202】

工程3.2 (2S, 3R, E) - エチル3 - ヒドロキシ - 2 - ((E) - ((1S, 2S, 5S) - 2 - ヒドロキシ - 2, 6, 6 - トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン - 3 - イリデン)アミノ)オクタデカ - 4 - エノエートおよび(2S, 3R, E) - イソプロピル3 - ヒドロキシ - 2 - ((E) - ((1S, 2S, 5S) - 2 - ヒドロキシ - 2, 6, 6 - トリメチルビシクロ[3.1.1]ヘプタン - 3 - イリデン)アミノ)オクタデカ - 4 - エノエート

## 【化32】



R = Et  
R = iPr

40

塩化メチレン(15mL)中のクロロチタントリイソプロポキシド(5.2g; 0.02mol)の溶液、塩化メチレン(8mL)およびトリエチルアミン(6.1mL; 0.044mol)中の2 - (E) - ヘキサデセン - 1 - アール(4.35g; 0.0018)の溶液を、0°で、アルゴン下で、塩化メチレン(9.6mL)中の(1R, 2R, 5R) - エチル - ((2 - ヒドロキシピナン - 3 - イレン)アミノ)アセテート(5.0g; 0.020mol)の溶液に加えた。反応混合物を0°で4時間攪拌した後、次に、それを、塩水(25mL)でクエンチした。水層を、酢酸エチルで抽出し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ；溶媒を減圧下で除去したところ、黄色がかったオレンジ色の油(9.7g)、73/27のイソプロピルおよびエチルエステルの混合物、(2S, 3R, E) - エチル

50

3 - ヒドロキシ - 2 - ( ( E ) - ( ( 1 S , 2 S , 5 S ) - 2 - ヒドロキシ - 2 , 6 , 6 - トリメチルビシクロ [ 3 . 1 . 1 ] ヘプタン - 3 - イリデン ) アミノ ) オクタデカ - 4 - エノエートおよび ( 2 S , 3 R , E ) - イソプロピル 3 - ヒドロキシ - 2 - ( ( E ) - ( ( 1 S , 2 S , 5 S ) - 2 - ヒドロキシ - 2 , 6 , 6 - トリメチルビシクロ [ 3 . 1 . 1 ] ヘプタン - 3 - イリデン ) アミノ ) オクタデカ - 4 - エノエートが得られた。

Rf = 0 . 7 ( シクロヘキサン - 酢酸エチル : 1 / 1 )

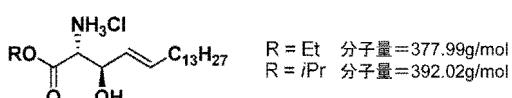
<sup>1</sup>H NMR ( CDCl<sub>3</sub> ) ( ppm ) : 0 . 88 ( t , 3 H , J = 6 . 5 Hz ) ; 1 . 50 ~ 1 . 10 ( m , 28 H , ( CH<sub>2</sub> )<sub>12</sub> + 2CH<sub>3</sub> ) ; 1 . 50 ( s , 3 H , CH<sub>3</sub> ) ; 1 . 53 ( d , 1 H ) ; 2 . 13 ( q , 2 H ) ; 2 . 18 ~ 1 . 95 ( m , 2 H ) ; 2 . 34 ( dt , 1 H ) ; 2 . 51 ( m , 1 H ) ; 3 . 25 ( s , 1 H ) ; 3 . 75 ( s , 1 H ) ; 4 . 15 ( d , 1 H , J = 6 . 7 Hz ) ; 4 . 20 ( dt , 1 H , J = 7 . 0 Hz ; J = 4 . 0 Hz ) ; 4 . 55 ( t , 1 H , J = 6 . 7 Hz ) ; 5 . 05 ( hept , 1 H , J = 6 . 3 Hz , CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ) ; 5 . 55 ( dd , 1 H , J = 15 . 4 Hz ; J = 7 . 1 Hz ) ; 5 . 70 ( dt , 1 H , J = 15 . 4 Hz ; J = 6 . 5 Hz ) 。

### 【 0203 】

工程 3 . 3 : ( 2 R , 3 R , E ) - エチル 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエートおよび ( 2 R , 3 R , E ) - イソプロピル 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエート

### 【 化 33 】

20



HCl 1 . 2 M ( 203 mL ) を、テトラヒドロフラン ( 51 mL ) 中の、前の工程からのイソプロピルおよびエチルエステルの粗混合物、( 2 S , 3 R , E ) - エチル 3 - ヒドロキシ - 2 - ( ( E ) - ( ( 1 S , 2 S , 5 S ) - 2 - ヒドロキシ - 2 , 6 , 6 - トリメチルビシクロ [ 3 . 1 . 1 ] ヘプタン - 3 - イリデン ) アミノ ) オクタデカ - 4 - エノエートおよび ( 2 S , 3 R , E ) - イソプロピル 3 - ヒドロキシ - 2 - ( ( E ) - ( ( 1 S , 2 S , 5 S ) - 2 - ヒドロキシ - 2 , 6 , 6 - トリメチルビシクロ [ 3 . 1 . 1 ] ヘプタン - 3 - イリデン ) アミノ ) オクタデカ - 4 - エノエート ( 14 . 8 g ; 0 . 030 mol ) に滴下して加えた。次に、混合物を室温で 72 時間攪拌した。テトラヒドロフランを蒸発させ、次に、水層を酢酸エチルで抽出した。有機層は、溶媒の除去の後、および ( + ) - 2 - ヒドロキシ - 3 - ピナノン ( 6 . 8 g ) を含有していた。水層を乾燥させたところ、( 2 R , 3 R , E ) - エチル 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエートおよび ( 2 R , 3 R , E ) - イソプロピル 2 - アミノ - 3 - ヒドロキシオクタデカ - 4 - エノエートが、それらの塩酸塩 ( 5 . 7 g ) として得られた。

Rf = 0 . 45 ( Et<sub>2</sub>O - MeOH : 96 / 4 )

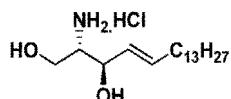
### 【 0204 】

30

工程 3 . 4 : D - エリトロ - スフィンゴシン 塩酸塩

### 【 化 34 】

40



水素化ホウ素ナトリウム ( 4 . 40 g ; 0 . 12 mol ) を、EtOH / H<sub>2</sub>O ( 3 / 1 ) の 40 mL の溶媒混合物中の、上記の工程からのアミノエステル塩酸塩 ( 2 . 2 g ; 0 . 0058 mol ) の懸濁液に加えた。NH<sub>4</sub>Cl の飽和溶液 ( 40 mL ) を加える前

50

に、混合物を 0 ℃ で 72 時間攪拌した。水層を、塩化メチレン (4 \* 100 mL) で抽出し、塩水で洗浄し、MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、ろ過した。溶媒を減圧下で除去したところ、表題化合物、D - エリトロ - スフィンゴシン塩酸塩が、白色の固体 (1.5 g; 86%) として得られた。

Rf = 0.3 (CHCl<sub>3</sub> - MeOH - H<sub>2</sub>O : 13 / 6 / 1)

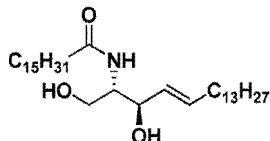
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) (ppm) 0.90 (t, 3H, J = 6.5 Hz); 1.50 ~ 1.20 (m, 22H, (CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>); 2.00 (q, 2H, J = 7.8 Hz); 3.15 (s, 1H, OH); 3.70 (m, 4H); 4.30 (s, 1H, OH); 5.40 (dd, 1H, J = 15.5 Hz; J = 6.3 Hz); 5.80 (dt, 1H, J = 15.5 Hz; J = 7.8 Hz); 8.46 (brs, 3H).

10

### 【0205】

工程 4 : N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシン

#### 【化 35】



パルミチン酸 (1.9 g; 0.074 mmol)、およびテトラヒドロフラン (99 mL) 中の D - エリトロ - スフィンゴシン (2.2 g; 0.074 mmol) の溶液を、ジメチルホルムアミド (15 mL) 中の O - (ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - N, N, N', N' - テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート (3.1 g; 8.1 mmol) の懸濁液に連続して加えた。得られた白色の懸濁液を 0 ℃ に冷却し、トリエチルアミン (2.5 mL; 0.018 mmol) を加えた。反応混合物を室温で 12 時間攪拌した。次に、5% のクエン酸の溶液 (400 mL) を加え、懸濁液をろ過して取り除いた。白色の固体を、室温で水 (60 mL) と混合し、ろ過して取り除き、水で洗浄した。次に、それを、40 ℃ で、減圧下で乾燥させたところ、表題化合物、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシン (3.5 g; 80%) が得られた。

20

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 0.97 (6H, t); 1.10 ~ 1.40 (m, 46H); 1.62 (2H, m); 2.04 (2H, m, CH<sub>2</sub> - CH); 2.21 (t, 2H, J = 8.2 Hz, CH<sub>2</sub> CONH); 2.71 (m, 2H); 3.69 (m, 1H); 3.80 ~ 4.00 (m, 2H); 4.28 (m, 1H, CH(OH)CH); 5.52 (ddt, 1H, J = 15.4 Hz; J = 6.4 Hz; J = 1.0 Hz, CH(OH)CH); 5.77 (dtd, 1H, J = 15.4 Hz; J = 6.7 Hz; J = 1.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH); 6.22 (d, 1H, J = 6.8 Hz, NH).

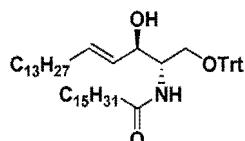
30

### 【0206】

工程 5 : N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン

工程 5.1 : N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - D - エリトロ - スフィンゴシン

#### 【化 36】



40

塩化メチレン (14 mL) 中の N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシン (0.58 g、1.08 mmol)、トリエチルアミン (1.2 mL)、4 - ジメチルアミノピリジン (5 mg)、および塩化トリチル (0.45 g、1.62 mmol) の懸濁液を、60 時間にわたって還流状態で加熱した。揮発性材料を蒸発させ、残渣を酢酸エチルに

50

再溶解させ、混合物を、1Mの塩酸、NaHCO<sub>3</sub>水溶液および塩水で連続して洗浄した。有機相をMgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発させた。残渣を、ヘプタン/酢酸エチル(7:3)中のシリカゲルにおけるクロマトグラフィーにかけたところ、N-パルミトイール-1-O-トリチル-D-エリトロ-スフィンゴシン(0.39g、46%)が、ろう状の固体として得られた。

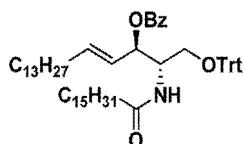
Rf = 0.49 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/酢酸エチル/Et<sub>3</sub>N: 97/3/0.1)

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) 0.88 (6H, t)、1.40~1.15 (46H, m)、1.64 (2H, m)、1.91 (2H, m)、2.20 (2H, t, J = 8.2 Hz)、3.28 (1H, dd, J = 9.6 Hz, J = 4.0 Hz)、3.40~3.35 (2H, m)、4.04 (1H, m)、4.17 (1H, m)、5.24 (1H, d, J = 15.4 Hz, J = 6.2 Hz)、5.62 (1H, dt, J = 15.4 Hz, J = 6.6 Hz)、6.06 (1H, d, J = 7.5 Hz, NH)、7.35~7.20 (9H, m)、7.35~7.45 (6H, m)。

#### 【0207】

工程5.2:N-パルミトイール-1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン

#### 【化37】



20

4-ジメチルアミノピリジン(10mg)および塩化ベンゾイル(0.1ml、0.85mmol)を、窒素下で、ピリジン(5ml)中のN-パルミトイール-1-O-トリチル-D-エリトロ-スフィンゴシン(0.39g、0.50mmol)の溶液に加え、混合物を20時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を、NaHCO<sub>3</sub>水溶液と酢酸エチルとに分液した。有機相を塩水で洗浄し、乾燥させ(MgSO<sub>4</sub>)、蒸発させ、残渣を、ヘプタン/酢酸エチル-ヘキサン(85:15~1:1)中でシリカゲルにおけるクロマトグラフィーにかけたところ、表題化合物、N-パルミトイール-1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン(207mg、60%)が、ろう状の固体として得られた。

30

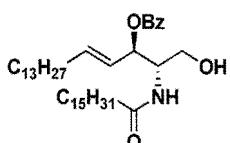
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) 0.88 (6H, t)、1.31~1.23 (46H, m)、1.56 (2H, m)、1.99 (2H, m)、2.08 (2H, t)、3.17 (1H, dd, J = 7.4 Hz, J = 3.9 Hz, CH(H')OH)、3.43 (1H, dd, J = 9.7 Hz, 3.9 Hz, CH(H')OH)、4.47 (1H, m, CH-(NHCOR))、5.43 [1H, dd, J = 15.3 Hz, J = 7.3 Hz, CH(OCOPh)CH=]、5.75~5.60 [2H, m, NH, CH(OCOPh)]、5.86 (1H, dt, J = 15.3 Hz, J = 7.9 Hz, CH<sub>2</sub>CH=)、7.25~7.10 (9H, m)、7.40~7.30 (8H, m)、7.54 (1H, t, J = 7.5 Hz)、7.92 (2H, d, J = 7.3 Hz)。

40

#### 【0208】

工程5.3:N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン

#### 【化38】



50

塩化メチレン(18 mL)およびメタノール(18 mL)中のN-パルミトイyl-1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン(1.10 g、1.24 mmol)およびトルエン-p-スルホン酸一水和物(0.23 g、1.36 mmol)の溶液を、3時間にわたって窒素下で搅拌した。溶媒を蒸発させ、残渣を、NaHCO<sub>3</sub>水溶液と酢酸エチルとに分液した。有機相を、塩水で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣を、シリカゲルにおけるクロマトグラフィーにかけ、ヘプタン/酢酸エチル(1:1)で溶離したところ、表題化合物、N-パルミトイyl-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン(0.64 g; 80%)が得られた。

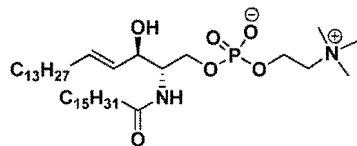
<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) 0.87(6H, t), 1.30~1.10(46H, m), 1.54(2H, m), 1.96(2H, m), 2.14(2H, m), 2.77(2H, br s), 3.71(2H, m, CH<sub>2</sub>O), 4.24(1H, m, CHN), 5.60~5.40[2H, m, CH(O COPh)CH=], 5.79(1H, dt, J=15.0 Hz, J=6.8 Hz, CH<sub>2</sub>CH=), 6.18(1H, d, J=9.6 Hz, NH), 7.38(2H, dd, J=7.6 Hz, J=7.2 Hz), 7.52(1H, dd, J=7.6, J=7.6 Hz), 7.96(1H, d, J=7.2 Hz)。

## 【0209】

工程6：N-パルミトイyl-D-エリトロ-スフィンゴミエリン

## 【化39】

20



乾燥トルエン(5 mL)中のN-パルミトイyl-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン(0.2 g、0.31 mmol)およびテトラメチルエチレンジアミン(TMEDA)(51 μL、0.53 mmol)の溶液を、約8℃に冷却した。この溶液に、0.1 mLのアセトニトリル中の2-クロロ-2-オキソ-1,3,2ジオキサホスホラン(82 mg、0.57 mmol)を滴下して加えた。次に、混合物を室温に温め、4時間搅拌した。アセトニトリル(5 mL)を加えた後、無水トリメチルアミンを加えた。フラスコを14時間にわたって65~70℃に加熱した。次に、系を室温に冷まし、フラスコを開放した。溶媒を減圧下で除去した。

30

## 【0210】

得られた生成物、N-パルミトイyl-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴミエリンを、メタノール(1.5 mL)に溶解させた。ナトリウムメトキシド(メタノール中30%、15 μL)を溶液に加えた。一晩搅拌した後、塩化メチレンおよび水を加えた。pHを調整し、有機層を蒸発乾固させた。粗材料をカラムクロマトグラフィーによって精製したところ、表題化合物、N-パルミトイyl-D-エリトロ-スフィンゴミエリン(66 mg、3工程にわたって30%)が得られた。

40

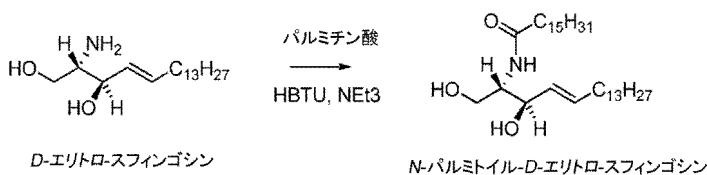
<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD) : 0.90(t, J=1.1 Hz, 6H), 1.26(m, 46H), 1.56(m, (C=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, 2H), 1.99(m, CH=CHCH<sub>2</sub>, 2H), 2.14(t, (C=O)CH<sub>2</sub>, 2H), 3.24(s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 9H), 3.68(m, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N, 2H), 3.91(m, POCH<sub>2</sub>CH, 2H), 4.04(t, CHO, 4H, J=7.7 Hz), 4.14(m, CHN, 2H), 4.28(m, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N, 2H), 5.44(ddt, J=15.4 Hz, J=7.6 Hz, J=1.5 Hz, 2H), 5.71(dt, J=15.4 Hz, J=6.6 Hz, J=0.5 Hz, 1H)。

## 【0211】

実施例2：N-パルミトイyl-D-エリトロ-スフィンゴミエリンの実験室規模の合成

50

工程 1 : N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシン  
【化 4 0】



10

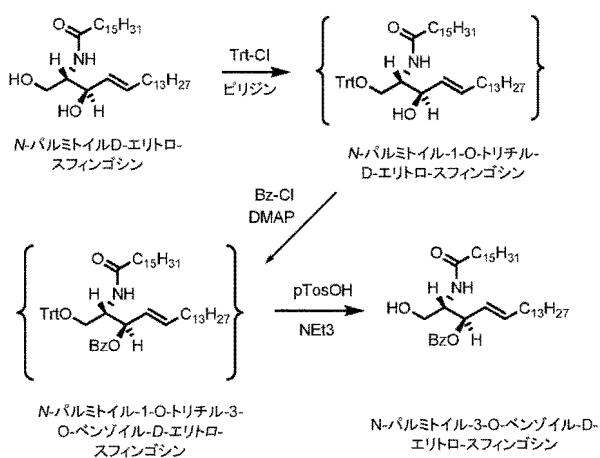
テトラヒドロフラン (890 ml) 中のパルミチン酸 (17.12 g、66.8 mmol) および D - エリトロ - スフィンゴシン (20 g、66.8 mmol) を、140 ml のジメチルホルムアミド中の O - ベンゾトリアゾール - N , N , N' , N' - テトラメチル - ウロニウム - ヘキサフルオロ - ホスフェート (27.84 g、73.4 mmol) の懸濁液に加えた。得られた白色の懸濁液を 0 ~ 5 度冷却し、22.5 ml (160.7 mmol) のトリエチルアミンを、30 ~ 60 分間にわたって加え、混合物を 12 時間にわたって室温で攪拌した。この後、薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析により、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンへの 99 % を超える転化率が示された。クエン酸 5 % (400 ml) を加え、混合物を 0 ~ 5 度 30 分間攪拌し、得られた懸濁液をろ過した。白色ケーキを室温で水 (600 ml) に懸濁させた。懸濁液をろ過し、水で洗浄した。40 度、減圧下で 12 時間乾燥させることにより、32.4 g (収率 90 %) の N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンが得られた。HPLC による純度は、98.1 % であり、HPTLC による純度は、99.2 % であった。

<sup>1</sup>H NMR (ppm, CDCl<sub>3</sub>) : 0.97 (6H, t)、1.1 ~ 1.4 (4H, m)、1.62 (2H, m)、2.04 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH)、2.21 (2H, t, J 8.2 Hz, CH<sub>2</sub>CONH)、2.71 (2H, m)、3.69 (1H, m)、3.8 ~ 4.0 (2H, m)、4.28 (1H, m, CH(OH)CH)、5.52 (1H, ddt, J 15.4, 6.4, 1.0 Hz, CH(OH)CH)、5.77 (1H, dt, J 15.4, 6.7, 1.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH)、6.22 (1H, d, J 6.8 Hz, NH)。

20

## 【0212】

工程 2 : N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン  
【化 4 1】



30

40

工程 2 . 1 N - パルミトイール - 1 - O - トリチル - D - エリトロ - スフィンゴシン  
トルエン (150 ml) 中の N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシン (16.30 g、30.3 mmol) 、ピリジン (250 ml) 、および塩化トリチル (10.

50

15 g、36.4 mmol)の懸濁液を、12時間にわたって52°で加熱した。12時間後のTLC分析により、約5%の未反応のN-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴシンおよび約2~5%のN-パルミトイール-1-O-トリチル-S-O-トリチル-D-エリトロ-スフィンゴシンとともに、N-パルミトイール-1-O-トリチル-D-エリトロ-スフィンゴシンへの90%を超える転化率が示された。懸濁液を0~5°に冷却し、ろ過して、いくらかの塩を除去した。

#### 【0213】

工程2.2:N-パルミトイール-1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン

4-ジメチルアミノピリジン(560mg、4.54mmol)および塩化ベンゾイル(5.8ml、50mmol)を、上記の工程からの粗反応生成物の溶液に加え、混合物を15時間にわたって0~5°で攪拌した。15時間後、TLC分析により、N-パルミトイール-1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンへの97%を超える転化率が示された。反応混合物を、水(130ml)と酢酸エチル(530ml)とに分液した。有機相をpH7に達するまで、水(160ml)で4回洗浄した。有機相を減圧下で蒸発させ、得られた油状の黄色の残渣(34g)を、5°で、塩化メチレン(300ml)およびメタノール(300ml)に溶解させ、その後の脱トリチル化工程に直接使用した。

#### 【0214】

工程2.3:N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン

トルエン-p-スルホン酸一水和物(2.88g、15.15mmol)を、塩化メチレン/メタノール中のN-パルミトイール-1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンの上記の溶液に加えた。混合物を、3時間にわたって18~22°で攪拌した。3時間後、TLC分析により、N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンへの97%を超える転化率が示された。反応混合物を、2.58mlのトリエチルアミンを用いて、0~5°で中和し、塩化メチレンを蒸発させた(40/340ミリバール)。得られた残渣を1時間にわたって0~5°で攪拌した。懸濁液をろ過して取り除き、メタノールで洗浄し、12時間にわたって35°で乾燥させたところ、21.9g(113%)の粗生成物(N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン)が得られた。

#### 【0215】

42°で、メタノール(500ml)および塩化メチレン(5ml)を用いて、再結晶化を行い、溶液を1時間にわたって20~22°で攪拌し、次に、1時間にわたって0~5°に冷却した。ろ過の後、得られたケーキを、メタノール(2×50ml)で洗浄し、減圧下で、35°で12時間乾燥させたところ、13%の非保護N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴシンで汚染された、13.6gのN-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンが得られた。結晶化された材料を、185gのシリカゲルにおけるカラムクロマトグラフィーによってさらに精製した。それを、2.2Lのヘキサン/酢酸エチル5/1、2.2Lのヘキサン/酢酸エチル3/1および最後に4.4Lのヘキサン/酢酸エチル2/1で溶離した。生成物を含有する画分を組み合わせて、40°で蒸発乾固させたところ、12.1g(収率62%)のN-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンが得られた。HPLCによる純度は、97.7%であり、HPTLCによる純度は、99.6%であった。

<sup>1</sup>H NMR(ppm, CDCl<sub>3</sub>): 0.87(6H, t), 1.1~1.3(4.6H, m), 1.54(2H, m), 1.96(2H, m), 2.14(2H, m), 2.77(2H, br s), 3.71(2H, m, CH<sub>2</sub>O), 4.24(1H, m, CHN), 5.4~5.6(2H, m, CH(COOPh)CH=), 5.79(1H, d, J 15.0, 6.8Hz, CH<sub>2</sub>CH=), 6.18(1H, d, J 9.6Hz, NH), 7.38(2H, dd, J 7.6, 7.2Hz), 7.52(1H, dd, J 7.6, 7.6Hz), 7.96(1H, d, J 7.2Hz)

10

20

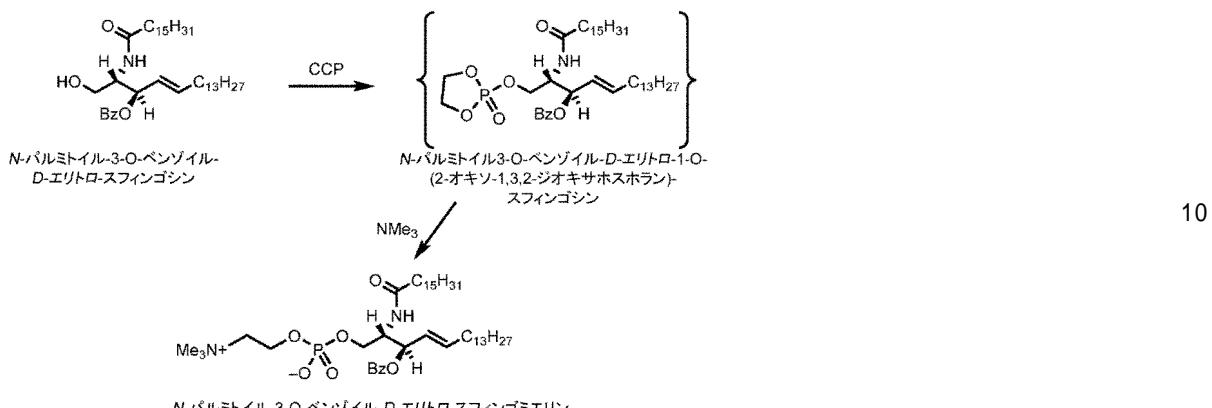
30

40

50

## 【0216】

工程3：N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴミエリン  
【化42】



工程3.1：*N*-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-1-O-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン)-スフィンゴシン

*N*-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン(9.49g、14.8mmol)を、トルエン(200ml)にほぼ完全に溶解させ、圧力反応器中に充填した。テトラメチルエチレンジアミン(2.4ml、15.8mmol)を混合物に加えた。混合物を7℃に冷却した後、アセトニトリル(CCP)(3.90g、27.3mmol)の溶液を加えた。7℃で2時間後、反応物を2時間にわたって21℃に温めた。TLC分析により、中間体*N*-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-1-O-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン)-スフィンゴシンへの*N*-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンの97%を超える転化率が示された。

## 【0217】

30

工程3.2：*N*-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴミエリン

アセトニトリル(200ml)を、反応器に導入した後、0.5~0.7バールの定圧に達するまで、気体トリメチルアミンを導入した。67℃に加熱する間、圧力を1.8~2.0バールに上昇させた。14時間後、TLC分析により、中間体*N*-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-1-O-(2-オキソ-1,3,2-ジオキサホスホラン)-スフィンゴシンのほぼ完全な反応が示された。-5℃に冷却した後、懸濁液をろ過した。粗製の3-O-ベンゾイル-N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンを35℃で乾燥させたところ、9.1g(76%)が得られた。粗材料を、90gのシリカゲルにおけるカラムクロマトグラフィーによってさらに精製した。それを、1.1Lの塩化メチレン/メタノール6/1; 1.1Lの塩化メチレン/メタノール4/1; および最後に4.3Lの塩化メチレン/メタノール3/1で溶離した。生成物を含有する画分を組み合わせて、35℃で蒸発乾固させたところ、8.0g(収率88%)の3-O-ベンゾイル-N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンが得られた。HPLCによる純度は、94.8%であった。

## 【0218】

工程4：*N*-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリン

40

## 【化43】



3-O-ベンジル-N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリン(8.0 g、9.9 mmol)を、メタノール(40ml)に溶解させた。ナトリウムメトキシド(メタノール中30%、5.4M、367μl、2.0mmol)を、溶液に加えて、pH11にした。一晩攪拌した後、TLC分析により、ベンジルエステルのほぼ完全な反応が示された。塩化メチレン(80ml)を加えた後、38mlの水を加え、1.8mlの1Mの塩酸を用いて、pHを6~7に調整した。下層を35で蒸発乾固させ、残渣を8.5mlのメタノールおよび8.5mlの塩化メチレンに取り込んだ。アセトン(95mL)を、透明の溶液に加えた。懸濁液を0で数時間攪拌し、ろ過した。得られた残渣を30で乾燥させたところ、4.3gの表題生成物、N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリン、(62%)が得られた。HPLCによる純度は、98.9%であった。NMR分析に基づいて、シス異性体およびL-トレオ異性体の含量はそれぞれ、1%未満であった。

<sup>1</sup>H NMR (ppm、CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>4</sub>OD) : 0.88 (6H, t, 2×CH<sub>3</sub>)、1.25 (46H, m, 23×CH<sub>2</sub>)、1.56 (2H, m, (C=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)、1.99 (2, m, CH=CHCH<sub>2</sub>)、2.14 (2, t, (C=O)CH<sub>2</sub>)、3.24 (9H, br s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)、3.68 (2H, m, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N)、3.91 (2, m, POCH<sub>2</sub>CH)、4.04 (1H, t, CHO, J 7.7Hz)、4.14 (1H, m, CHN)、4.28 (2H, m, POCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N)、5.42~5.46 (2H, dd, CHCH=CHCH<sub>2</sub>, J 15.3、7.4Hz)、5.65~5.70 (1H, dt, CHCH=CHCH<sub>2</sub>, J 14.6、7.2Hz)

## 【0219】

## 実施例3：パルミトイ尔斯フィンゴミエリンのパイロット規模の合成

## 工程1：Boc-L-Ser-OMe

32.2kgのL-Ser-OMe·HCl(206.97mol)を、630Lの容器中で、288kgの酢酸エチルに懸濁させ、2で冷却した。約2で液体トリエチルアミン(24.1kg、238.17mol、1.15当量)を加えた後、24kgの酢酸エチル中のBoc<sub>2</sub>O(51.9kg、237.80mol、1.15当量)の溶液を加えた。反応混合物を22で温め、一晩攪拌した。TLC分析により、1%未満のL-Ser-OMe·HClの含量が示された。114Lの精製水を加え、相を分離した。洗浄を114Lの精製水で2回繰り返した。3つの水相を組み合わせて、102kgの酢酸エチルで抽出した。TLC分析により、水相中に生成物が存在しないことが示された。2つの有機相を組み合わせて、60で蒸発乾固させた。88kgのトルエンを残渣に加え、60で蒸留して取り除いた。この手順を繰り返した。粗製のBoc-L-Ser-OMeの純度は、TLC分析により95~97%であった。

## 【0220】

## 工程2：(S)-3-(Tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸メチルエステル

粗製のBoc-L-Ser-OMe(約45.4kg、206.97mol)を、630Lの容器中で、22で、256kgのテトラヒドロフランに溶解させた。71.8kgの2,2-ジメトキシプロパン(689.39mol、3.33当量)を加えた後、20kgのテトラヒドロフラン中の3.3kgのベンゼンスルホン酸(20.86mol、

10

20

30

40

50

0.10当量)の溶液を加え、20kgのテトラヒドロフランで洗浄した。反応混合物を加熱還流させ、210Lのテトラヒドロフランを3時間で蒸留して取り除いた。TLC分析により、1~2%のBoc-L-Ser-OMeの含量が示された。22で1.0kgのトリエチルアミン(9.88mol、0.05当量)を用いて、pH 6.5への中和を行った。反応混合物を、60で蒸発乾固させた後、25で、82kgのヘキサンおよび26Lの精製水を加えた。有機相を45Lの精製水で洗浄した。TLC分析により、水相中に生成物が存在しないことが示された。有機相を、60で蒸発乾固させた。トルエン(88kg)を残渣に加え、60で2回蒸留して取り除いた。生成物、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸メチルエステル、(48.89kg、188.55mol、L-Ser-OMe·HC 1からの91%の収率)を、黄色の液体として単離した。TLC分析により、純度が97%であることが分かった。乾燥減量は、4.2%であり、含水量は、0.1%であった。同一性をMSおよび<sup>1</sup>H NMRによって確認した。

#### 【0221】

工程3：(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン

100Lの容器を、15kgのテトラヒドロフランを用いて調整し、50で、減圧下で乾燥させた。メチルホスホン酸ジメチル(4.6kg、37.07mol、2.00当量)を、容器中に導入し、29kgのテトラヒドロフランに溶解させた。混合物を-75に冷却し、混合物を-70~-75に保持しながら、ヘプタン(2.34kgのn-ブチルリチウム、36.58mol、1.98当量)中の25%のn-ブチルリチウムの、9.4kgの溶液を、2時間わたって加えた後、5Lのヘプタンで洗浄した。1時間攪拌した後、混合物を-70~-75に保持しながら、4kgのテトラヒドロフラン中の4.8kgの粗製の(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸メチルエステル(18.51mol)の溶液を、1時間にわたって加えた後、5Lのテトラヒドロフランで洗浄した。反応混合物を40分間にわたって0に温め、30分間攪拌した。

#### 【0222】

TLC分析により、10~15%の(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-2,2-ジメチル-4-オキサゾリジンカルボン酸メチルエステルの含量が示された。20未満で、4.8kgのテトラヒドロフラン中の600mLの精製水の溶液で、クエンチを行った。20未満で、精製水中の20%のクエン酸一水和物の13Lの溶液を用いて、pHを6~7に調整した。10Lの酢酸エチルを加えた後、相を分離した。水相を13kgの酢酸エチルで抽出した。TLC分析により、水相中に生成物が存在しないことが示された。2つの有機相を組み合わせて、60で20Lの体積になるまで蒸発させた。40で、ロータリーエバポレータ中での最後の乾燥により、7.2kg(20.49mol、111%)の表題化合物、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンが、黄色の油として得られた。純度は、TLC分析により約70%であった。乾燥減量は、14.4%であり、含水量は、1.4%であった。同一性をMSによって確認した。

#### 【0223】

工程4：(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン

(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(2-(ジメトキシホスホリル)-1-オキソ-エチル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(21.6kg、61.48mol)および17.0kgの炭酸カリウム(123.0mol、2.00当量)を、攪拌しながら、250Lの容器中で、22で、239kgのアセトニトリルに加えた。1-テトラデカナール(6.53kg、30.75mol、0.50当量)および3.1Lの精製水を加えて、9.0のpHを得た。反応を一晩進行させた後、TLC分析により

10

20

30

40

50

、5～10%の1-テトラデカナールおよび2%のホスホネートの含量が示された。塩をろ過して取り除き、270Lのヘキサンで何回かに分けて洗浄した。組み合わされた有機相を、60で蒸発乾固させた。残渣を48kgのヘキサンに溶解させ、18Lの精製水中の0.9kgの塩化ナトリウムの溶液で2回洗浄した。TLC分析により、水相中に生成物が存在しないことが示された。有機相を、60で蒸発乾固させ、75kgのヘキサンに溶解させた。40で、ロータリーエバボレータ中の最後の乾燥により、16.9kg(38.61mol、ホスホネートを基準にして63%)の表題化合物、(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンが、褐色の油として得られた。純度は、検出方法に応じて、TLCにより約50～86%であり、HPLC分析により81%であった。乾燥減量は、2.2%であり、含水量は、0.05%であった。同一性をMSによって確認した。  
10

## 【0224】

工程5：(2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン

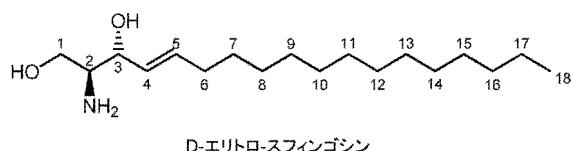
粗製の(S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-オキソ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジン(16.9kg、38.61mol)および15.8kgの塩化セリウム七水和物(42.49mol、1.10当量)を、1000Lの容器中で、305kgのメタノール中で攪拌し、-18に冷却した。8.8Lの精製水(0.2%の苛性ソーダをもたらす)中の2.19kgの水素化ホウ素ナトリウム(57.89mol、1.50当量)および58gの30%の苛性ソーダ(0.44mol)の溶液を、0に冷却し、次に、5時間にわたってケトンに加えた。さらに30分間攪拌した後、TLC分析により、1%未満のケトンの含量が示された。反応混合物を2時間にわたって22に温めた後、1時間攪拌することによって、過剰の水素化ホウ素ナトリウムを非活性化した。メタノール(320L)を、60で蒸留して取り除いた。沈殿した塩をろ過し、44kgのトルエンで2回に分けて洗浄した。ろ液が2つの相に分離し、水相を33kgのトルエンで2回抽出した。TLC分析により、水相および濾液中に生成物が存在しないことが示された。組み合わされた有機相を77Lの酢酸エチルで希釈し、39Lの精製水と、3.9kgのEDTAと、1.9Lの30%の苛性ソーダとの混合物、続いて、39Lの精製水中の1.9kgの塩化ナトリウムで洗浄した。TLC分析により、水相中に生成物が存在しないことが示された。有機相を、60で蒸発乾固させ、18kgのトルエンに溶解させた。60で、ロータリーエバボレータ中の最後の乾燥により、15.95kg(36.28mol、94%)の表題化合物、(2S,3R,4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2,2-ジメチルオキサゾリジンが、黄色の油として得られた。純度は、検出方法に応じて、TLCにより約70～90%であり、HPLC分析により90%であった。乾燥減量は、5.2%であり、含水量は、0.05%であった。同一性をMSによって確認した。  
20  
30

## 【0225】

工程6：D-エリトロ-スフィンゴシン

## 【化44】

40



60Lの容器中で、24kgのメタノールを0に冷却した。30分間にわたって、5.69kgの塩化アセチル(72.48mol、2.00当量)を導入した。この後、2  
50

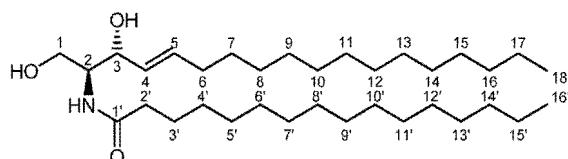
2 に温めて、メタノール塩酸塩溶液を生成した。粗製の(2S, 3R, 4E)-3-(tert-ブトキシカルボニル)-4-(1-ヒドロキシ-ヘキサデカ-2-エニル)-2, 2-ジメチルオキサゾリジン(15.95 kg, 36.28 mol)を、22で、160 Lの容器中で、31 kgのメタノールに溶解させた。メタノール塩酸塩溶液を30分間にわたって加えた。7時間後、TLC分析により、1%未満の出発材料が示された。反応物を、10 kgのメタノール中の7.34 kgのトリエチルアミン(72.54 mol, 2.00当量)の溶液で中和した。反応混合物を、60で蒸発乾固させ、105 kgの塩化メチレン、31 kgの2-プロパノール、および40 Lの精製水に溶解させた。相分離の後、有機相を、40 Lの精製水、続いて、40 Lの脱塩水および7 kgの2-プロパノールで洗浄した。TLC分析により、最初の2つの水相中に生成物が存在せず、第3の水相中に生成物が存在することが示された。生成物を40 Lの塩化メチレンで抽出した。組み合わされた有機相を、60で蒸発乾固させた。残渣を33 kgの酢酸エチルに懸濁させ、再度、蒸発乾固させた。-20で、36 Lの酢酸エチルと7.2 Lのヘキサンとの混合物から結晶化を行った。得られた固体をろ過し、7.2 Lの酢酸エチルと1.4 Lのヘキサンとの混合物、続いて、7.2 Lの純粋な酢酸エチルで何回かに分けて洗浄した。30で乾燥させた後、得られた6.45 kgを、-20で、24 Lの酢酸エチルと8 Lのヘキサンとの混合物から再結晶化させた。固体をろ過し、4.8 Lの酢酸エチルと1.6 Lのヘキサンとの混合物、続いて、6.4 Lの純粋な酢酸エチルで何回かに分けて洗浄した。30で乾燥させた後、得られた5.90 kgを、-20で、16 Lの酢酸エチルと16 Lのヘキサンとの混合物から、再度、再結晶化させた。固体をろ過し、3.2 Lの酢酸エチルと3.2 Lのヘキサンとの混合物、続いて、6.4 Lの純粋な酢酸エチルで何回かに分けて洗浄した。30での最後の乾燥により、5.60 kg(18.71 mol, 52%)の表題化合物、D-エリトロ-スフィンゴシンが、褐色の固体として得られた。純度は、HPTLCにより89.2%であり、HPLC分析により95.6%であり、0.61%のL-トレオ-スフィンゴシンを含んでいた。乾燥減量は、0.4%であり、含水量は、0.6%であった。同一性をMSおよび<sup>1</sup>H NMRによって確認した。

<sup>1</sup>H NMR(600 MHz, ppm, CDCl<sub>3</sub>)、位置：0.88(3H, t) 1.8, 1.2~1.3(20H, m) 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17; 1.37(2H, m) 7, 2.04(2H, m, CH<sub>2</sub>CH) 6; 3.17(1H, m, CH(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>) 2; 3.77(2H, m, CH<sub>2</sub>OH) 1; 4.34(1H, m, CH(OH)CH) 3; 5.46(1H, ddt, J=15.4, 6.4, 1.0 Hz, CH(OH)CH) 4; 5.79(1H, dt, J=15.4, 6.7, 1.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH) 5。

## 【0226】

工程7：N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴシン

## 【化45】



N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴシン

5.50 kgのD-エリトロ-スフィンゴシン(18.36 mol)、4.71 kgのパルミチン酸(18.37 mol, 1.00当量)および7.66 kgのO-ベンゾトリアゾール-N,N,N',N'-テトラメチル-ウロニウム-ヘキサフルオロ-ホスフェート(20.20 mol, 1.10当量)を、250 Lの容器中で、36 kgのジメチル

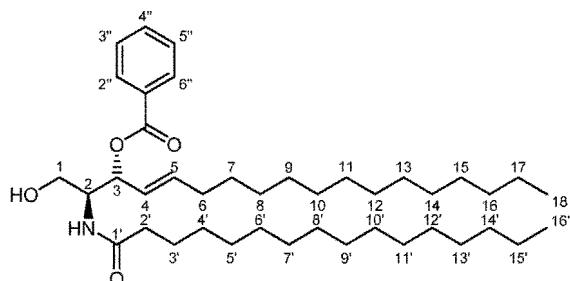
ホルムアミドおよび 118 kg のテトラヒドロフランに懸濁させ、2 に冷却した。5 L のテトラヒドロフラン中のトリエチルアミン (5.06 kg, 50.00 mol, 2.72 当量) を加えて、pH 9.0 にした。90 分後、TLC 分析により、1%未満の D - エリトロ - スフィンゴシンの含量および 1.5%未満のパルミチン酸の含量が示された。反応混合物を 22 に温めた。89 kg の精製水中の 4.7 kg のクエン酸の溶液の添加によって、生成物を沈殿させた。22 で 1 時間後、反応混合物をろ過した。粗生成物を 22 で 1 時間にわたって 154 L の精製水に懸濁させた。ろ過の後、28 L の精製水で 3 回および 28 L のアセトンで 3 回洗浄した。122 kg のアセトン中への懸濁を繰り返し、28 L のアセトンで 3 回洗浄した。35 での最後の乾燥により、6.08 kg (11.31 mol, 62%) の表題化合物、N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンが、わずかに黄色がかった固体として得られた。純度は、HPTLC により 96.2% であり、HPLC 分析により 99.2% であった。乾燥減量は、0.2% であり、含水量は、0.3% であった。同一性を MS および <sup>1</sup>H NMR によって確認した。

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, ppm, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (6H, t) 1.8, 1.6' ; 1.2 ~ 1.4 (44H, m) 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 4', 5', 6', 7', 8', 9', 10', 11', 12', 13', 14', 15' ; 1.37 (2H, m) 7 ; 1.64 (2H, m) 3' ; 2.04 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH) 6 ; 2.23 (2H, t, CH<sub>2</sub>CO) 2' ; 3.71 (1H, dd, CHNH<sub>2</sub>) 2 ; 3.93 (2H, m, CH<sub>2</sub>OH) 1 ; 4.31 (1H, m, CH(OH)CH) 3 ; 5.53 (1H, ddt, J 15.4, 6.4, 1.0 Hz, CH(OH)CH) 4 ; 5.79 (1H, dt, J 15.4, 6.7, 1.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH) 5 ; 6.25 (1H, d) NH.

#### 【0227】

工程 8 : N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン

#### 【化46】



N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシン

第 1 の保護のために、6.08 kg の N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシン (11.31 mol) を、60 L の容器中で、11.91 kg のピリジンおよび 2.5 kg の塩化メチレンに懸濁させた。9.5 kg の塩化メチレン中の塩化トリチル (3.31 kg, 11.87 mol, 1.05 当量) の溶液を加えた後、2.5 kg の塩化メチレンを加えた。反応混合物を 56 時間にわたって 25 で攪拌した。TLC 分析により、3 ~ 5% の N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴシンの含量が示された。

#### 【0228】

第 2 の工程では、反応混合物を 2 に冷却した。N, N - ジメチルアミノピリジン (0.139 kg, 1.14 mol, 0.10 当量) および 2.38 kg の塩化ベンゾイル (16.93 mol, 1.50 当量) を混合物に加えた後、5 kg の塩化メチレンを加えた。2 で 90 分後、TLC 分析により、1%未満の中間体 N - パルミトイール - 1 - O - トリチル D - エリトロ - スフィンゴシンの含量が示された。55 kg の酢酸エチルおよび 33 L の精製水中の 1.7 kg のクエン酸および 3.0 kg の塩化ナトリウムの溶液を用い

て、後処理を行った。有機相を、33 Lの精製水中の1.7 kgのクエン酸および3.0 kgの塩化ナトリウムの溶液で、および30 Lの精製水中の3.5 kgの塩化ナトリウムの溶液で2回、再度洗浄した。TLC分析により、水相中に生成物が存在しないことが示された。有機相を、50 で蒸発乾固させた。生成物、N-パルミトイール-1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンを含有する残渣を、27 kgのトルエンに溶解させ、続いて、50 で蒸発乾固させた。この手順を2回繰り返した。

## 【0229】

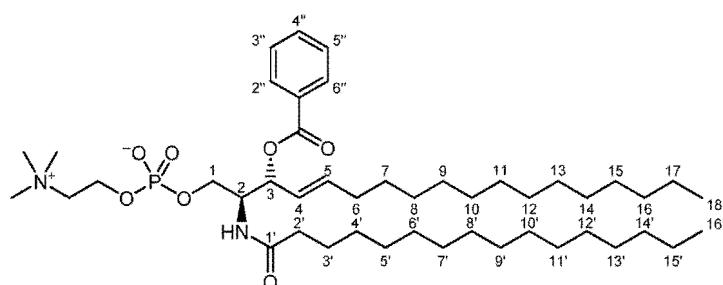
第3の工程では、前の反応からの残渣を、67 kgのメタノールおよび161 kgの塩化メチレンに溶解させ、2 に冷却した。23 kgのメタノール中のパラ-トルエンスルホン酸一水和物(6.41 mol 0.57当量)の溶液によって、pHを2.5に調整した。22 に温め、14時間攪拌した後、TLC分析により、1%未満の中間体N-パルミトイール-1-O-トリチル-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンの含量が示された。969 gのトリエチルアミン(9.58 mol, 0.85当量)の添加により、pHを7.0に上昇させた。反応混合物を、50 で蒸発乾固させた。粗製のN-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンを、40 で、69 kgのヘキサンに懸濁させ、0 に冷却した。40分後、固体をろ過によって単離し、20 kgのヘキサンで洗浄した。35 での乾燥により、5.40 kgが得られ、それを、38 kgの塩化メチレンに溶解させた。この溶液を、175 kgのヘキサンと49 kgの酢酸エチルとの混合物で調整した76 kgのシリカゲルにおけるクロマトグラフィーによって精製した。12 kgの塩化メチレン、502 kgのヘキサンと137 kgの酢酸エチルとの混合物および482 kgのヘキサンと647 kgの酢酸エチルと混合物での溶離を行った。収集した画分は、生成物を含有していなかった。生成物を、451 kgのヘキサンと205 kgの酢酸エチルとの混合物および802 kgのヘキサンと547 kgの酢酸エチルとの混合物で溶離した。溶媒を50 で蒸留して取り除いた。得られた残渣を、40 で24 Lのヘキサンに懸濁させ、0 に冷却した。45分後、表題生成物、N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴシンを、ろ過によって固体として単離し、4.8 Lのヘキサンで何回かに分けて洗浄した。35 での乾燥により、3.15 kg(4.91 mol, 43%)の表題化合物が、白色の固体として得られた。純度は、HPTLCにより100.0%であり、HPLC分析により96.3%であった。乾燥減量は、0.05%であり、含水量は、0.2%であった。同一性をMSおよび<sup>1</sup>H NMRによって確認した。

<sup>1</sup>H NMR(600 MHz, ppm, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88(6H, t) 1.8、1.6'；1.2~1.4(44H, m) 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、4'、5'、6'、7'、8'、9'、10'、11'、12'、13'、14'、15'；1.35(2H, m) 7；1.61(2H, m) 3'；2.05(2H, m, CH<sub>2</sub>CH) 6；2.19(2H, m, CH<sub>2</sub>CO) 2'；3.71(2H, m, CH<sub>2</sub>OH) 1；4.27(1H, m, CHNH) 2；5.54(1H, t, CH(OOCOPh)CH) 3；5.62(1H, ddt, J 15.4, 6.4, 1.0 Hz, CH(OOCOPh)CH) 4；5.85(1H, dt, J 15.4, 6.7, 1.1 Hz, CH<sub>2</sub>CH) 5；6.05(1H, d) NH；7.46(2H, dd, J 7.6, 7.2 Hz) 3'；5'；7.59(1H, dd, J 7.6, 7.6 Hz) 4'；8.04(2H, d, J 7.2 Hz) 2'；6'。

## 【0230】

工程9：N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴミエリン

## 【化47】



10

N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロ-スフィンゴミエリン

1. 60 kg の N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン ( 2 . 50 mol ) および 0 . 20 kg のテトラメチルエチレンジアミン ( T M E D A ) ( 1 . 73 mol 、 0 . 69 当量 ) を、 35 度、 100 L の容器中で、 38 L のトルエンに溶解させた。 6 に冷却した後、 1 L のアセトニトリル中の 2 - クロロ - 2 - オキソ - 1 , 3 , 2 - ジオキサホスホラン ( C C P ) ( 0 . 47 kg 、 3 . 30 mol 、 1 . 32 当量 ) の溶液を、 15 分間の間に加えた後、 3 L のアセトニトリルを加えた。反応混合物を 22 に温めた。 2 時間にわたって攪拌し続けた。 T L C 分析により、 0 . 5 % 未満の N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシンの含量が示された。 32 L のアセトニトリルの添加の後、温度を -10 に低下させた。気体トリメチルアミンを、その沸点未満に冷却し、得られた液体トリメチルアミン ( 7 . 42 kg 、 125 . 53 mol 、 50 . 21 当量 ) を導入した。 15 時間にわたって 65 に加熱することによって、次の反応工程を開始させた。 T L C 分析により、 0 . 5 % 未満の中間体の環の含量が示された。生成物を、 -30 に冷却することによって結晶化させ、ろ過によって単離し、その後、 13 L のアセトニトリルで洗浄した。 35 で乾燥させることにより、 1 . 85 kg のオフホワイトの固体が得られた。 1 . 58 kg の N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴシン ( 2 . 45 mol ) を用いて反応を繰り返したところ、さらなる 1 . 82 kg の粗製の N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンが得られた。両方の粗材料を組み合わせて、 29 L の塩化メチレンおよび 14 . 5 L のメタノールに溶解させた。この溶液を、 337 kg の塩化メチレンと 33 kg のメタノールとの混合物で調整した 72 kg のシリカゲルにおけるクロマトグラフィーによって精製した。 966 kg の塩化メチレンと 95 kg のメタノールとの混合物、 1866 kg の塩化メチレンと 223 kg のメタノールとの混合物、 328 kg の塩化メチレンと 82 kg のメタノールとの混合物、 1345 kg の塩化メチレンと 268 kg のメタノールとの混合物、 530 kg の塩化メチレンと 158 kg のメタノールとの混合物および 371 kg の塩化メチレンと 221 kg のメタノールとの混合物での溶離を行った。収集した画分の体積は 140 L であった。画分 17 ~ 38 の溶媒を、 50 で蒸留して取り除いた。 40 で、ロータリー-エバポレータ中での最後の乾燥により、 3 . 36 kg ( 乾燥基準で 2 . 92 kg 、 3 . 61 mol 、 73 % ) の表題化合物、 N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンが、わずかに黄色がかった固体として得られた。純度は、 H P T L C により 99 . 5 % であり、 H P L C 分析により 98 . 7 % であった。乾燥減量は、 11 . 5 % であり、含水量は、 1 . 7 % であった。同一性を M S および <sup>1</sup> H N M R によって確認した。

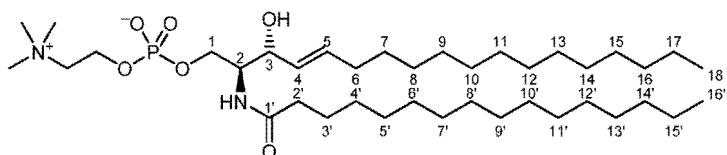
<sup>1</sup> H N M R ( 600 MHz, ppm, C D C l<sub>3</sub> ) : 0 . 88 ( 6 H , t ) 18 . 16 ' ; 1 . 2 ~ 1 . 3 ( 46 H , m ) 7 . 8 、 9 、 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 4 ' 、 5 ' 、 6 ' 、 7 ' 、 8 ' 、 9 ' 、 10 ' 、 11 ' 、 12 ' 、 13 ' 、 14 ' 、 15 ' ; 1 . 56 ( 2 H , m ) 3 ' ; 1 . 99 ( 2 H , m , C H<sub>2</sub> C H ) 6 ; 2 . 16 ( 2 H , m , C H<sub>2</sub> C O ) 2 ' ; 3 . 21 ( 9 H , s , N ( C H<sub>3</sub> )<sub>3</sub> ) N ( 50

$\text{CH}_3)_3$ ; 3.65 (2H, m,  $\text{POCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ )  $\text{CH}_2\text{N}$ ; 3.97 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{OP}$ ) 1; 4.21 (2H, br s,  $\text{POCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ )  $\text{POCH}_2$ ; 4.45 (1H, m,  $\text{CHNH}$ ) 2; 5.50 (1H, m,  $\text{CH}(\text{OCOPh})\text{CH}$ ) 3; 5.54 (1H, m,  $\text{CH}(\text{OCOPh})\text{CH}$ ) 4; 5.82 (1H, dt,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ) 5; 7.39 (1H, d) NH; 7.43 (2H, t, J 7.2 Hz) 3'、5'; 7.55 (1H, t, J 7.2 Hz) 4'、6'。  
【0231】

## 工程10：N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリン

【化48】

10



N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリン

3.36 kg の N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリン (乾燥基準で 2.92 kg、3.61 mol) を、22 で、ロータリーエバボレータ中で、10 L のメタノールに溶解させ、5 L のメタノールを含む 70 L の容器中に移した。メタノール中のナトリウムメトキシドの 138 mL の溶液 (30%、0.75 mol、0.21 当量) を用いて、pH を 11.5 に調整した。22 で 23 時間にわたって攪拌し続けた。TLC 分析により、0.5% 未満の N - パルミトイール - 3 - O - ベンゾイル - D - エリトロ - スフィンゴミエリンの含量が示された。31 L の塩化メチレンおよび 13 L の精製水の導入の後、相分離が起こった。8 L のメタノール、8 L の精製水および 55 mL の 1 M の塩酸を用いて、有機相を pH 7.0 になるまで中和した。TLC 分析により、水相中に生成物が存在しないことが示された。有機相を、35 で蒸発乾固させた。残渣を、6 L の 2 - プロパンオールで 2 回および 12 L の塩化メチレンで 2 回、同時蒸発させた。粗生成物を 2.6 L のメタノールおよび 2.6 L の塩化メチレンに溶解させ、1.2 L のメタノールおよび 1.2 L の塩化メチレンで洗浄しながら、0.2 μm のフィルタに通してろ過した。42 L のアセトンの添加および 0 への冷却によって結晶化を引き起こした。15 時間後、沈殿物を単離し、24 L のアセトンで 4 回に分けて洗浄した。湿潤生成物を、2.5 時間にわたって、22 で、19 L のアセトンに懸濁させた。単離、12 L のアセトンで 4 回に分けて洗浄した後、46 時間にわたって 30 で乾燥させることによって、プロセスを終了させた。白色の粉末としての 2.29 kg (3.25 mol、90%) の N - パルミトイール - D - エリトロ - スフィンゴミエリンが得られた。純度は、HPTLC により 99.2% であり、HPLC 分析により 99.0% であった。含水量は、0.7% であった。同一性を MS および <sup>1</sup>H NMR によって確認した。

20

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, ppm, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (6H, t) 18、16'; 1.2~1.3 (46H, m) 7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、4'、5'、6'、7'、8'、9'、10'、11'、12'、13'、14'、15'; 1.57 (2H, m) 3'; 1.99 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ) 6; 2.15 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ) 2'; 3.23 (9H, s,  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ ) N( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>; 3.65 (2H, m,  $\text{POCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ )  $\text{CH}_2\text{N}$ ; 3.91 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{OP}$ ) 1; 4.05 (1H, t, J 7.7 Hz,  $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}$ ) 3; 4.15 (1H, m,  $\text{CHNH}$ ) 2; 4.26 (2H, m,  $\text{POCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ )  $\text{POCH}_2$ ; 5.45 (1H, dd, J 15.3 Hz, 7.4 Hz,  $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}$ ) 4; 5.69 (1H, dt, J 14.6 Hz, 7.2 Hz,  $\text{CH}$

30

40

50

<sup>2</sup> C H ) 5。

【 0 2 3 2 】

表 1 は、 1 2 0 g 規模 ( 実施例 2 ) における収率および / 中間体 / 生成物の特性を示す。表 2 は、 2 k g 規模 ( 実施例 3 ) についての結果を示す。

【 0 2 3 3 】

【 表 1 】

表1

反応出発 材料	反応生成物	収率	HPLC	HPTLC	LoD	KF
D-エリトロースフィンゴシン	N-パルミトイール-D-エリトロースフィンゴシン	91.6%	98.4%	99.0%	0.1%	0.2%
N-パルミトイール-D-エリトロースフィンゴシン	N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロースフィンゴシン	57.9%	97.1%	-	0.2%	0.2%
N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロースフィンゴシン	N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロースフィンゴミエリン	14.2%	99.0%	98.8%	3.2%	2.8%
N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロースフィンゴミエリン	N-パルミトイール-D-エリトロースフィンゴミエリン	68.5%	98.6%	99.4%	-	4.4%

LoD=乾燥減量、KF=含水量

【 0 2 3 4 】

【 表 2 】

表2

反応出発 材料	反応生成物	収率	HPLC	HPTLC	LoD	KF
D-エリトロースフィンゴシン	N-パルミトイール-D-エリトロースフィンゴシン	61.6%	99.2%	96.2%	0.2%	0.3%
N-パルミトイール-D-エリトロースフィンゴシン	N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロースフィンゴシン	43.4%	96.3%	100.0%	0.05%	0.2%
N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロースフィンゴシン	N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロースフィンゴミエリン	72.7%	99.0%	99.5%	11.5%	1.7%
N-パルミトイール-3-O-ベンゾイル-D-エリトロースフィンゴミエリン	N-パルミトイール-D-エリトロースフィンゴミエリン	90.1%	99.0%	99.2%	< 250 ppm	0.7%

LoD=乾燥減量、KF=含水量

【 0 2 3 5 】

実施例 4 : 光学純度、天然産物卵スフィンゴミエリンとの同一性および絶対配置の確認

5 mm の三重共鳴プローブおよび z 軸勾配を備えた、 <sup>1</sup> H について 5 0 0 M H z および <sup>1</sup> <sup>3</sup> C について 1 2 5 M H z で動作する Varian Inova 分光計を用いて、 N M R スペクトルを得た。溶媒は、クロロホルム - d であり、温度は 2 5 であった。 <sup>1</sup> H および <sup>1</sup> <sup>3</sup> C の化学シフトは、残留溶媒シグナルを基準とし、テトラメチルシラン基準で、 <sup>1</sup> H について 7 . 2 7 p p m および <sup>1</sup> <sup>3</sup> C について 7 7 p p m であった。

【 0 2 3 6 】

1 8 ~ - 1 p p m のスペクトルウインドウで、 9 0 ° パルスで、 4 トランジエント ( transient ) で、プロトンスペクトルを取った。取得時間は 5 秒間であり、緩和遅延 ( relaxation delay ) は 5 秒間であった。アポダイゼーションなしで、 F I D における 9 4 8 4 2 ポイントを、スペクトルにおける 1 3 1 0 7 2 ポイントに変換した。

【 0 2 3 7 】

<sup>1</sup> H - <sup>1</sup> <sup>3</sup> C g H M B C A D スペクトルを、 <sup>1</sup> <sup>3</sup> C における断熱パルスを用いて、標準的な Varian パルスシーケンスで取得し、それを、 8 H z の結合定数のために最適化した。プロトン次元において、 4 0 9 6 ポイントを、 3 7 5 5 H z 、 1 . 2 4 ~ 8 . 7 4 p p

10

20

30

40

50

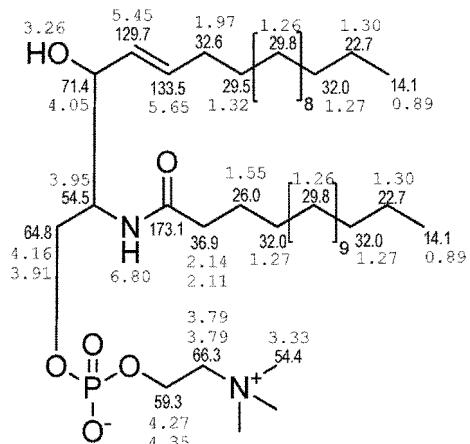
mのスペクトルウインドウにわたって取得し、スペクトルにおける同じ数のポイントに変換し、シフトされたガウス関数( $g f = 0.277$ 、 $g f s = 0.126$ )を用いて重み付けした。炭素次元において、 $2^* 512$ の増分(increment)を、 $10 \sim 190$  ppmのスペクトルウインドウにわたって、それぞれ1トランジエントで取り、シフトされたガウス関数( $g f = 0.019$ 、 $g f s = 0.005$ )を用いて、4096ポイントに変換した。緩和遅延は1秒間であった。

#### 【0238】

N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンにおける化学シフト帰属

化学シフト帰属は、DQCOSYスペクトルに見られる $^1H - ^1H$ カップリングおよび $^1H - ^{13}C$ カップリング、 $^1H - ^{13}C$  gHSQCおよびgHMBCスペクトルに見られる直接結合(one-bond)およびロングレンジ(long-range)に基づいていた。帰属は、スキームXVに示される。

#### 【化49】



スキームXV. 25 でクロロホルム-d中の、N-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンにおける $^1H$ および $^{13}C$ 化学シフトの帰属。

#### 【0239】

帰属は、アミドプロトンである必要がある、炭素に結合していない、6.80におけるプロトンから開始する。gDQCOSYスペクトルにより、スフィンゴシン骨格のシーケンス $6.80 - 3.95 - 4.05 - 5.45 - 5.65 - 1.97$ が示された。gHSQCスペクトルに見られる3つのメチレン基のうち、1つは、66.3で炭素を有し、それが、3.33でトリメチルアミノプロトンと結合する。3.79におけるそのプロトンは、4.27および4.53でプロトンと結合する。残りのメチレン基のプロトンの1つ、4.16は、実際に、3.95とのカップリングを示す。アミド炭素は、2.14および2.11でプロトンとのクロスピーカーを示す。

#### 【0240】

卵スフィンゴミエリンおよび合成スフィンゴミエリンの比較

積分値の精度を最大にするために、3つの試料のプロトンスペクトルを、 $14 \sim 1$  ppmのスペクトルウインドウにわたって、45°パルスで、64トランジエントで取った。取得時間は5秒間であり、緩和遅延は15秒間であった。アポダイゼーションなしで、FIDにおける79872ポイントを、スペクトルにおける131072ポイントに変換した。

#### 【0241】

卵に由来するN-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンおよび本発明の方法によって合成されるN-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンの $^1H$ スペクトルが、図1~3に対応して示される。積分値は、3.33 ppm(9H)におけるトリメチルアンモニウム(trimethylammonium)基のシグナルを基準にしていた。図1中の2.

10

20

30

40

50

5 8ならびに図2および3中の3.00におけるシグナルは水である。2つの合成試料は、約1%の積分値の精度の範囲内で、同一である。天然の試料は、より短い平均アルキル鎖を有し、いくらかの不純物が、NHおよびアルケンシグナルについて顕著である。

#### 【0242】

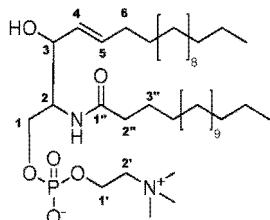
スフィンゴシン骨格は、2つの不斉炭素を有し、ひいては、4つの立体異性体の可能性を有する。合成試料は、ジアステレオマーの混合物についての予測されるシグナルの倍増を示さない。卵スフィンゴミエリンは混合物であるため、卵スフィンゴミエリンに対してこのような評価を行うことはできない。鏡像異性体純度を確認するために、卵に由来するN-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンおよび本発明の方法によって合成されるN-パルミトイール-D-エリトロ-スフィンゴミエリンの試料を、過剰なR-メトキシフェニル酢酸(R-MPA)、ジシクロヘキシリカルボジイミド(DCC)および4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)で、管中で処理し、5.20~5.95 ppmの領域を調査し、これらは、対応して図4~6に示される。5.42における三重線(図5)は、H3(表3の説明を参照)であり、5.49における二重線の二重線は、H4であり、5.73における三重線の二重線は、H5である。図4は、反応混合物が熟成するにつれて、5.53における二重線の増加を示し、この二重線は、図6においても見られる。他のこれらのシグナル、エステルのシグナルの5%を超えるシグナルが存在しないことが分かり、したがって、試料の鏡像異性体純度が、少なくとも95%であるようであること、すなわち、試料が、約5%以下のその対応する反対の鏡像異性体を含有することが分かった。それらのR-MPAエステルにおけるH3~H5のシグナルが同じ化学シフトを有するため、全ての3つの試料の絶対配置は同じである。10 20

#### 【0243】

##### 絶対配置の決定

絶対配置を確認するために、1当量の、卵に由来するパルミトイ尔斯フィンゴミエリンを、R-( - )-メトキシフェニル酢酸(R-MPA)とS-(+)-メトキシフェニル酢酸(S-MPA)との1.2当量のラセミ混合物、1.2当量のジシクロヘキシリカルボジイミド(DCC)、および触媒量の4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)で、NMR管中で処理した。図7(下部)は、この反応混合物の<sup>1</sup>H NMRスペクトルを示す。図7は、R-MPA(上部)およびS-MPA(真ん中)エステルにおけるH2水素ピークの選択的励起が上部にあることを示す1D-TOCSY(1次元全相関分光法)スペクトルも示す。1D-TOCSYスペクトルで測定されたDdRSが、表3に示される。30

#### 【化50】



#### 【0244】

【表3】

表3. 卵スフィンゴミエリンにおけるDdRS

位置	1a	1b	2	3	4	5	6	NH
アルコール	4.16	3.91	3.95	4.05	5.45	5.65	1.97	6.8
R-MPA	3.85	3.45	4.21	5.39	5.47	5.73	1.97	7.54
S-MPA	3.97	3.97	4.3	5.39	5.26	5.44	1.82	7.4
DdRS	-0.12	-0.52	-0.09	0	0.21	0.29	0.15	0.14

10

【 0 2 4 5 】

H 4 ~ H 6 のプラスのD d R S およびH 1 a、H 1 b およびH 2 のマイナスのD d R S は、C 3 における絶対配置がRであることを示す。

【 0 2 4 6 】

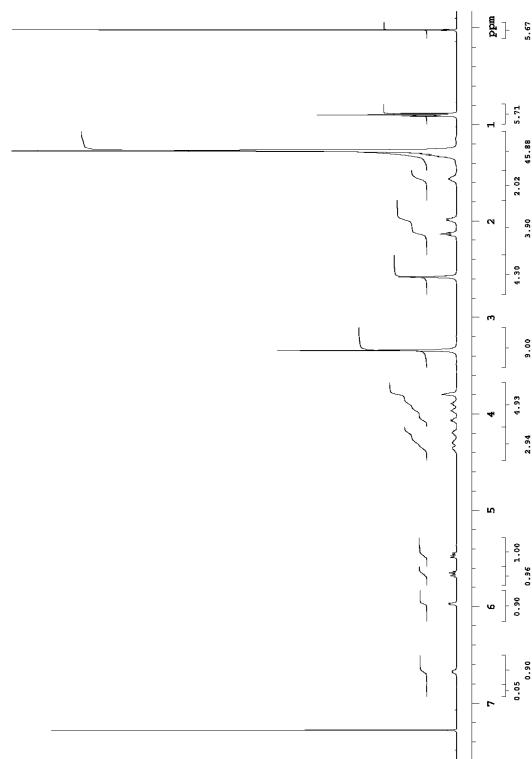
本発明は、本発明のいくつかの態様の例示として意図される実施例に開示される特定の実施形態によって範囲を限定されず、機能的に均等な任意の実施形態が、本発明の範囲内である。実際に、本明細書に示され、記載されるものに加えて、本発明の様々な変更が、当業者に明らかになり、添付の特許請求の範囲に含まれることが意図される。

【 0 2 4 7 】

本出願において開示される各参照文献は、全体が参照により本明細書に援用される。

20

【 図 1 】



【 四 2 】

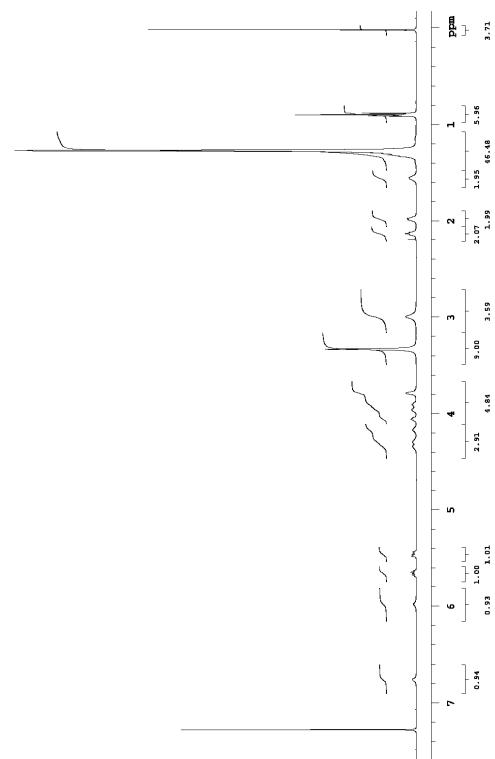


FIG. 2

【図3】

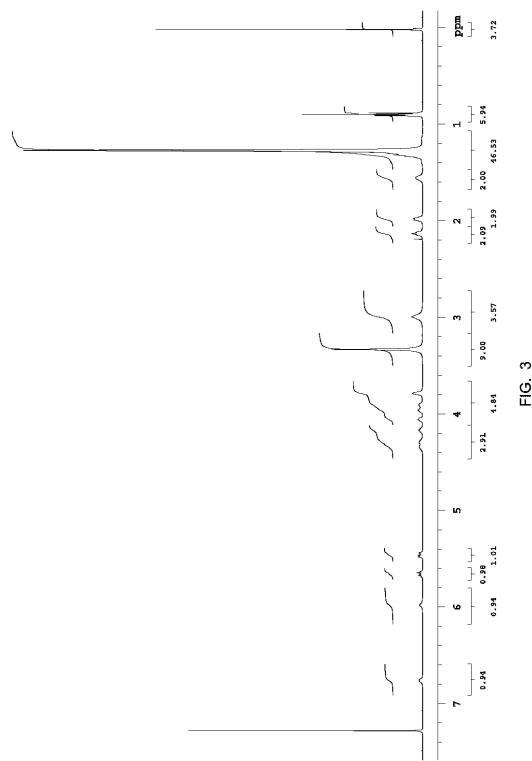
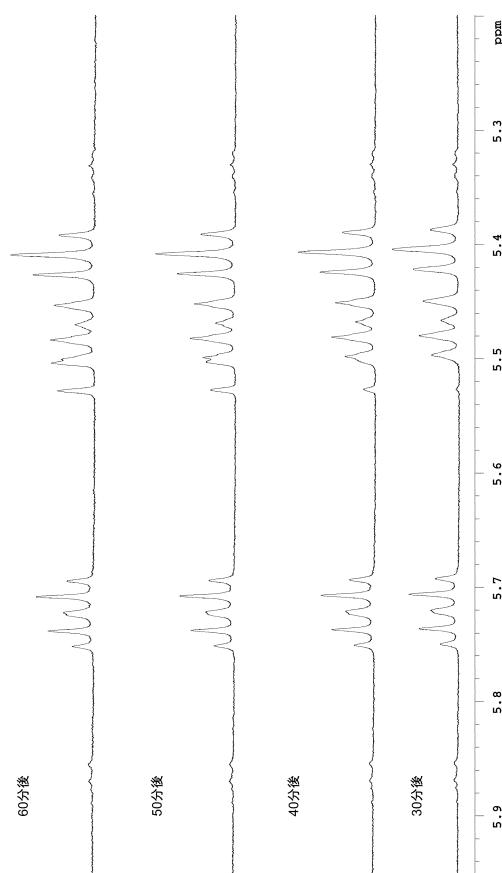


FIG. 3

【図4】



【図5】

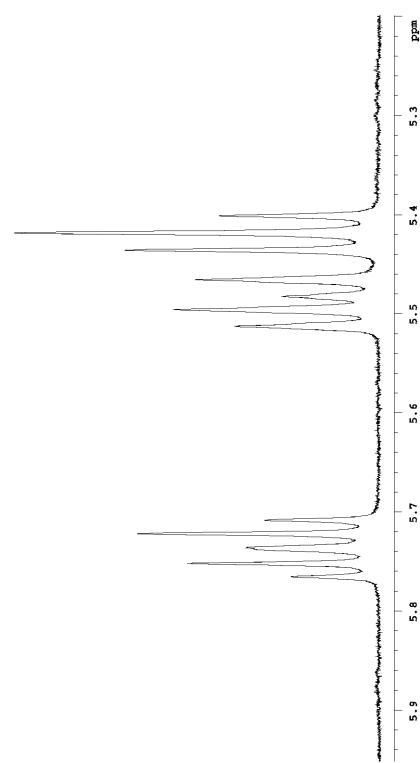


FIG. 5

【図6】

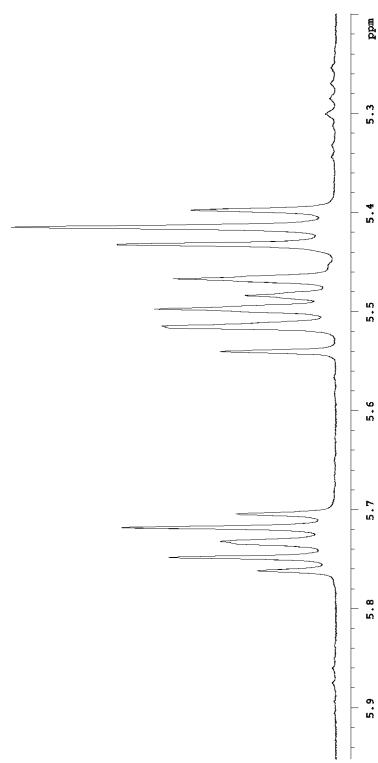
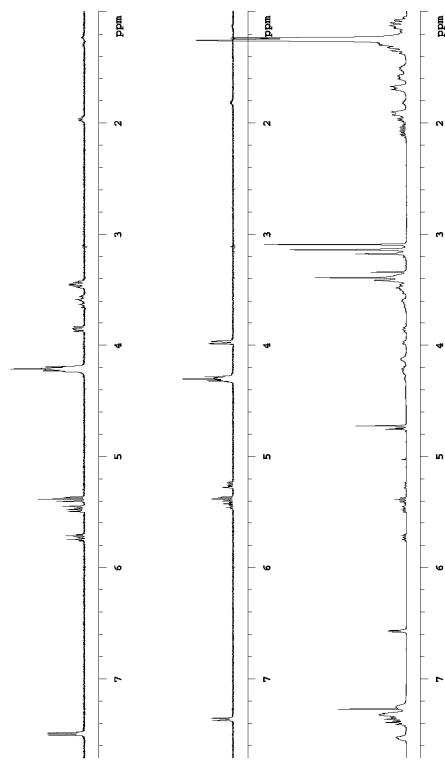


FIG. 6

【図7】



【図8】

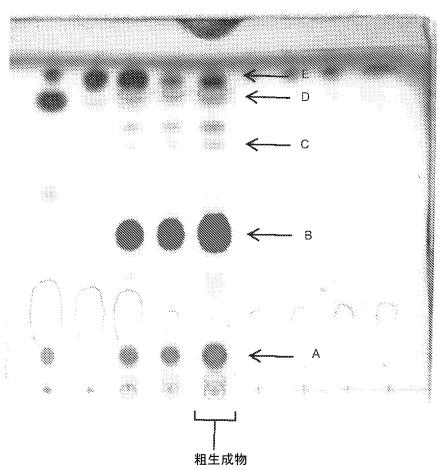


FIG. 7

---

フロントページの続き

- (72)発明者 オニチュ , ダニエラ カルメン  
フランス国 , トゥールーズ エフ - 31000 , リュ サンテ アンヌ 18 , アパルトメント  
302
- (72)発明者 ヘッコフ , ステファン  
ドイツ国 , レラハ 79541 , シュロスシュトラーセ 51ア-
- (72)発明者 オズワルト , ブノワ  
フランス国 , イルザック エフ - 68110 , リュ ポール ウェーバー 9ア-
- (72)発明者 レブマン , ピーター  
スイス国 , ブラッテルン セーエイチ - 4133 , ミューレヴェーク 17/3
- (72)発明者 ペール , アンドレアス  
スイス国 , シオン セーエイチ - 1950 , アヴェニュー ド グラン - シャンセック 2ベ-
- (72)発明者 ゴンザレス , ミゲル  
スイス国 , ニーダードルフ セーエイチ - 4435 , ホルデンヴェーク 22
- (72)発明者 ザウター , パトリック  
スイス国 , エッティンゲン セーエイチ - 4107 , ハウプトシュトラーセ 22

審査官 伊佐地 公美

- (56)参考文献 米国特許第05220043(US, A)  
特開2004-002215(JP, A)  
国際公開第2006/002909(WO, A2)  
SCHMIDT, Von R. R. et al., *Angewandte Chemie*, 1985年, Vol. 97, pp. 60-61  
DONG, Z. et al., *Chemistry and Physics of Lipids*, 1993年, Vol. 66, pp. 41-46  
DUFFIN, G. R. et al., *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 2000  
年, pp. 2237-2242  
BUSHNEV, A. S. et al., *Methods in Enzymology*, 2000年, Vol. 311, pp. 535-547  
SHAPIRO, D. et al., *Journal of the American Chemical Society*, 1962年, Vol. 84, pp.  
1047-1050  
WEIS, A., *Chemistry and Physics of Lipids*, 1999年, Vol. 102, pp. 3-12

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07F  
CAPLUS / REGISTRY (STN)  
CASREACT (STN)