

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6486368号  
(P6486368)

(45) 発行日 平成31年3月20日 (2019.3.20)

(24) 登録日 平成31年3月1日 (2019.3.1)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 H 15/18 (2006.01)

C O 7 H 15/18

A 6 1 K 31/7032 (2006.01)

A 6 1 K 31/7032

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/00

H

A 6 1 K 39/002 (2006.01)

A 6 1 K 39/00

K

A 6 1 K 39/02 (2006.01)

A 6 1 K 39/002

請求項の数 48 (全 114 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-540472 (P2016-540472)  
 (86) (22) 出願日 平成26年9月8日 (2014.9.8)  
 (65) 公表番号 特表2016-529321 (P2016-529321A)  
 (43) 公表日 平成28年9月23日 (2016.9.23)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/054617  
 (87) 国際公開番号 W02015/035337  
 (87) 国際公開日 平成27年3月12日 (2015.3.12)  
 審査請求日 平成29年8月7日 (2017.8.7)  
 (31) 優先権主張番号 61/874,946  
 (32) 優先日 平成25年9月6日 (2013.9.6)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 596118493  
 アカデミア シニカ  
 ACADEMIA SINICA  
 台湾, タイペイ 11529, ナンカン,  
 アカデミア ロード 128, セクション  
 2  
 128 Sec 2, Academia  
 Road, Nankang, Taipei  
 11529 TW  
 (74) 代理人 100078282  
 弁理士 山本 秀策  
 (74) 代理人 100113413  
 弁理士 森下 夏樹  
 (74) 代理人 100181674  
 弁理士 飯田 貴敏

最終頁に続く

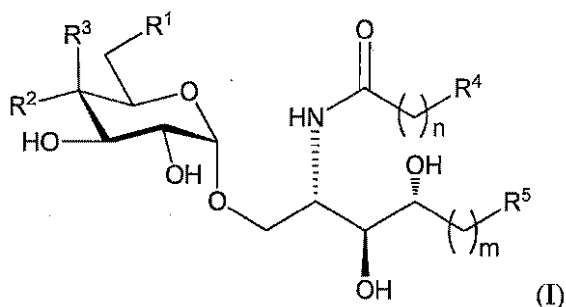
(54) 【発明の名称】 改変されたグリコシル基を含む糖脂質を用いたヒト i N K T 細胞の活性化

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) :

【化 101】



10

(式中:

 $R^1$  は -OH またはハロゲンであり; $R^2$  は -OH またはハロゲンであり; $R^3$  は水素であり;

$R^4$  は、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたアリール、  
 任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意  
 選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基、および任意選択的に

20

置換されたアシルからなる群より選択され；

$R^5$  は、水素、ハロゲン、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアルケニル、任意選択的に置換されたアルキニル、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたアリール、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基、および任意選択的に置換されたアシルからなる群より選択され；

$n$  は 1 ~ 15 (両端を含む) の整数であり；そして

$m$  は 1 ~ 20 (両端を含む) の整数である；

を有するヒト免疫アジュバント化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 2】

10

$R^2$  が -OH である、請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 3】

$R^2$  がハロゲンである、請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 4】

$R^1$  が -OH である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 5】

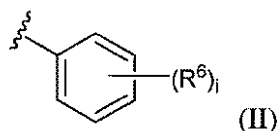
$R^1$  がハロゲンである、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 6】

20

$R^4$  が式 (II)：

【化 102】



(式中：

$i$  は 0、1、2、3、4 または 5 であり；

$R^6$  は独立して、水素、ハロゲン、-CN、-NO<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアルケニル、任意選択的に置換されたアルキニル、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたアリール、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基、および任意選択的に置換されたアシルからなる群より選択される)

30

のものである、請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 7】

$R^6$  がハロゲンである、請求項 6 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 8】

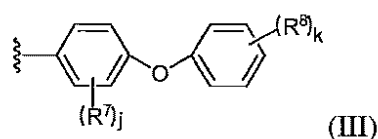
$R^6$  が F である、請求項 6 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 9】

40

$R^4$  が式 (III)：

【化 103】



(式中：

$j$  は 0、1、2、3 または 4 であり；

$k$  は 0、1、2、3、4 または 5 であり；

50

各場合の  $R^7$  および  $R^8$  は独立して、水素、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアルケニル、任意選択的に置換されたアルキニル、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたアリール、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基、および任意選択的に置換されたアシルからなる群より選択される )

のものである、請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 10】

各場合の  $R^7$  および  $R^8$  が独立して、水素またはハロゲンである、請求項 9 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

10

【請求項 11】

$R^7$  が水素であり； $R^8$  が F であり； $k$  が 1、2 または 3 である、請求項 9 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 12】

$R^7$  が F であり； $R^8$  が水素であり； $j$  が 1、2 または 3 である、請求項 9 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 13】

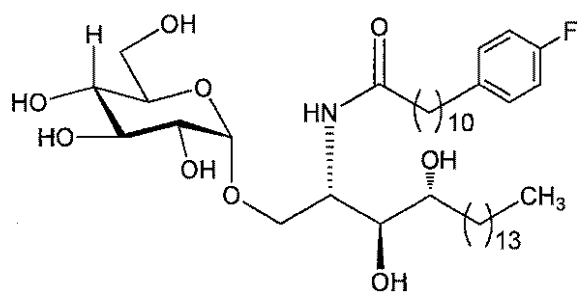
$R^7$  および  $R^8$  がともに F であり； $k$  が 1、2 または 3 であり； $j$  が 1、2 または 3 である、請求項 9 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 14】

20

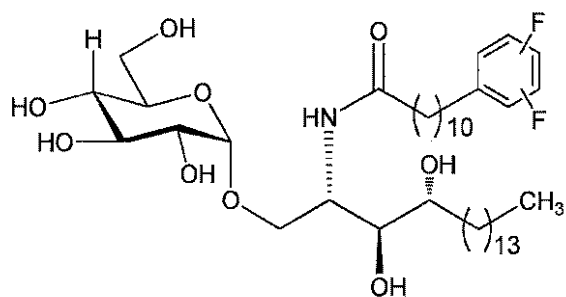
以下のもの：

【化 1 0 4】



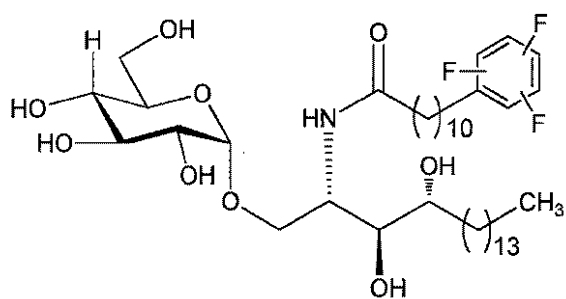
II-1,

10



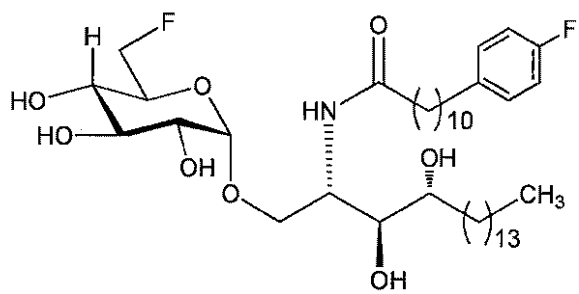
II-2,

20



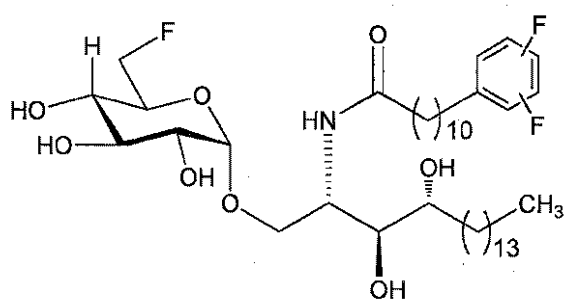
II-3,

30



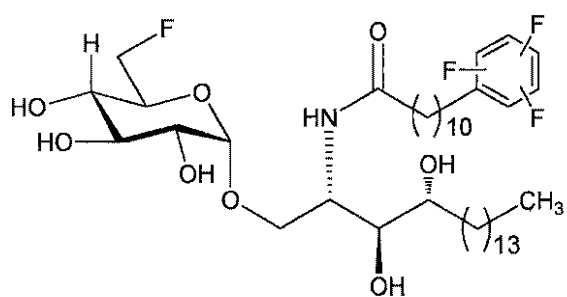
II-4,

40



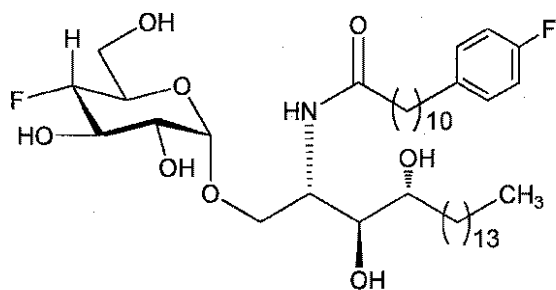
II-5,

【化 1 0 5】



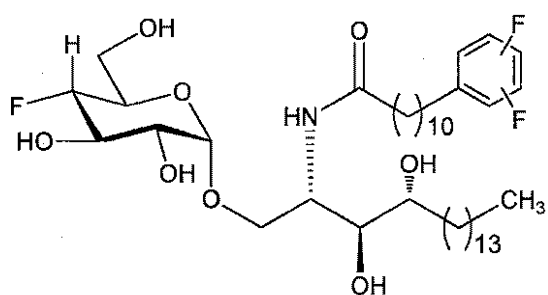
II-6,

10



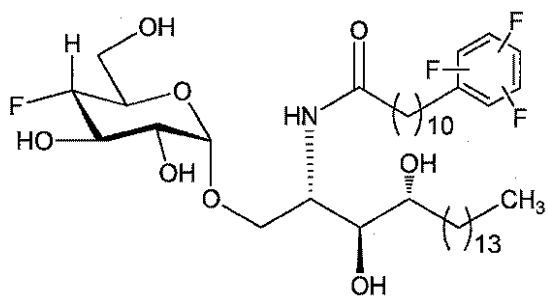
II-7,

20



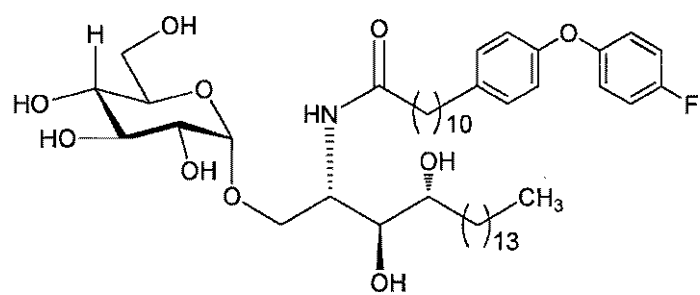
II-8,

30



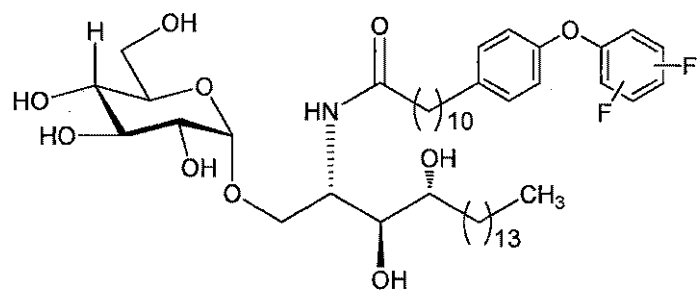
II-9,

【化 1 0 6】



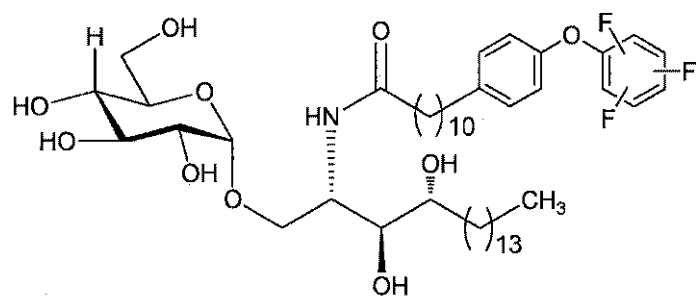
III-1,

10



III-2,

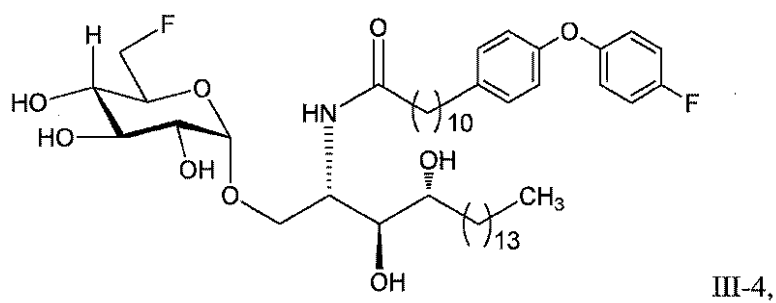
20



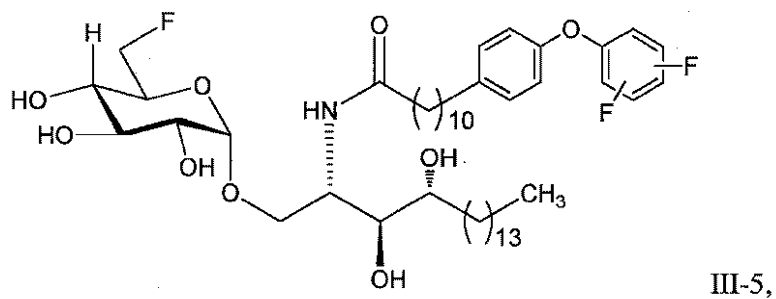
III-3,

30

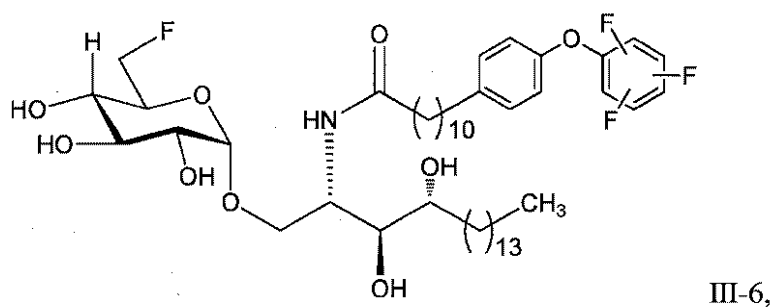
【化 1 0 7】



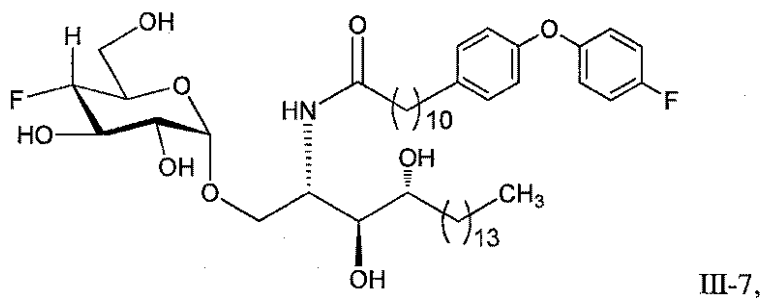
10



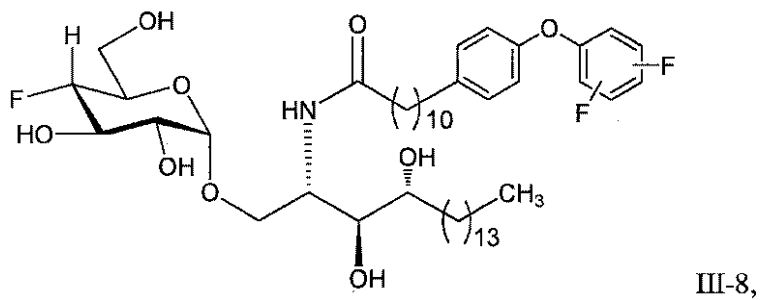
20



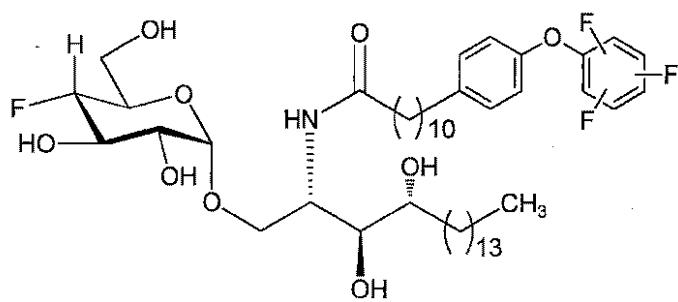
30



40

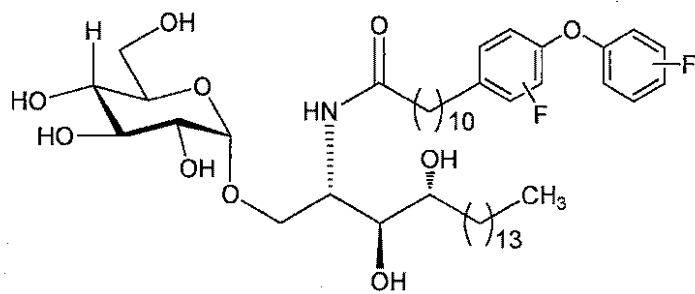


【化 1 0 8】



III-9,

10

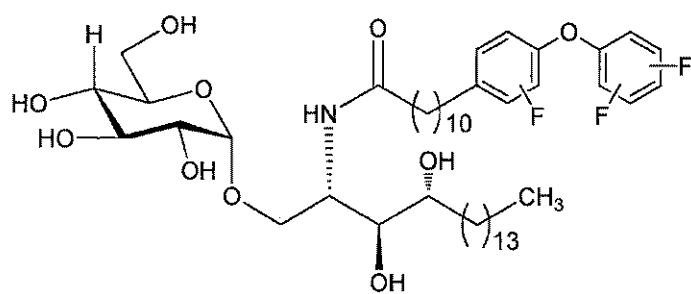


III-13,

20

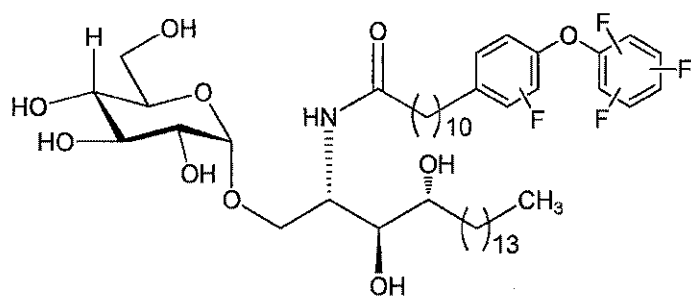


【化 1 0 9】



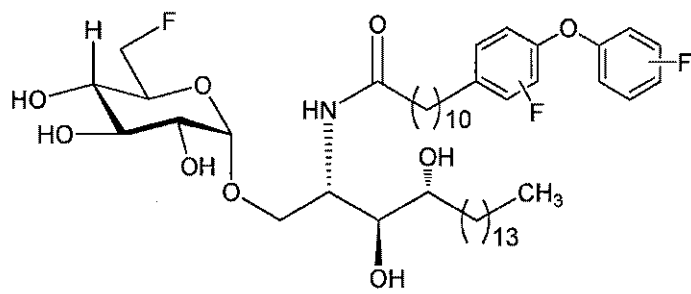
III-14,

10



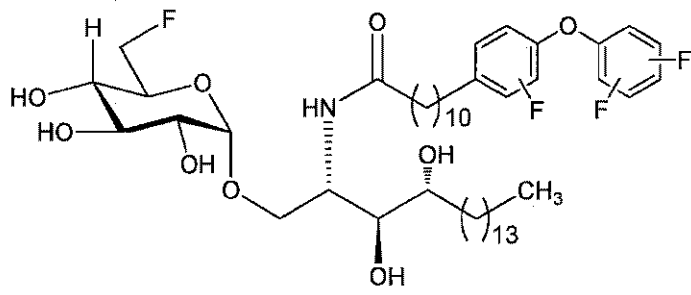
III-15,

20



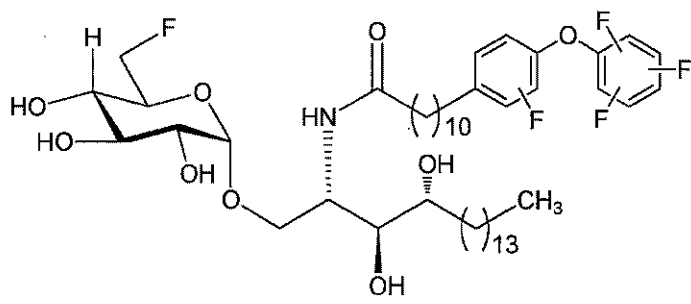
III-16,

30



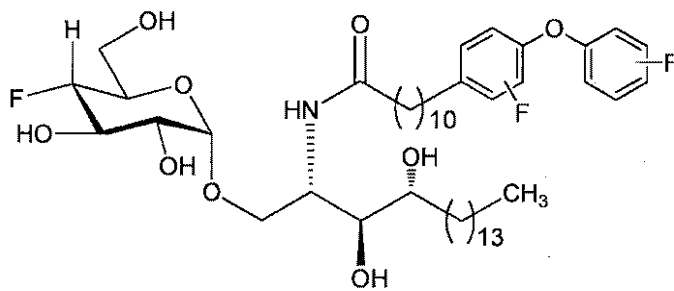
III-17,

40



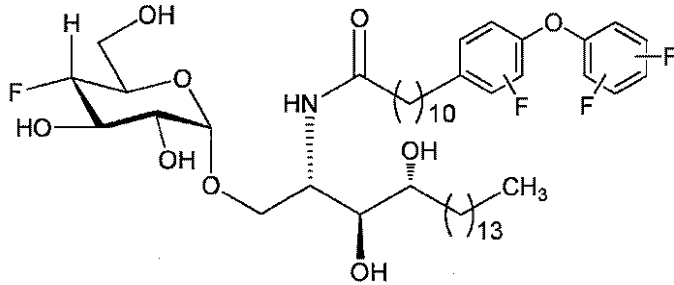
III-18,

## 【化 1 1 0】

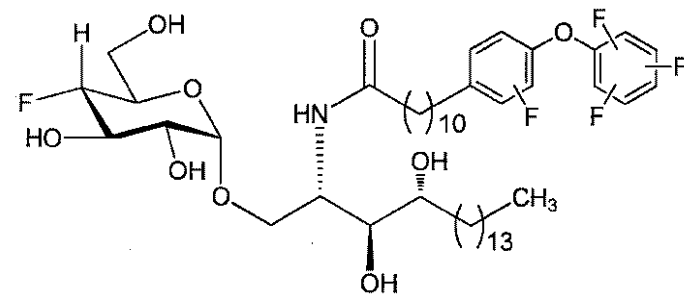


III-19,

10

III-20,  
または

20



III-21

30

のうちの 1 つから選択される、請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

## 【請求項 1 5】

( i ) 抗原とともにヒト被験体に共投与した場合、免疫応答を刺激するのに十分な量の請求項 1 ~ 1 4 のいずれかに記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩および ( i i ) 薬学的に許容され得る賦形剤を含む医薬組成物。

## 【請求項 1 6】

抗原の免疫原性の増大を、それを必要とする被験体において行なうための、請求項 1 に記載の前記一般式 I の化合物またはその薬学的に許容され得る塩を含むアジュバント組成物であって、該抗原とともに共投与されることを特徴とする、アジュバント組成物。

40

## 【請求項 1 7】

免疫応答の刺激を、それを必要とするヒト被験体において行なうための、請求項 1 ~ 1 4 のいずれかに記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩と薬学的に許容され得る担体とを含む免疫アジュバント組成物。

## 【請求項 1 8】

前記アジュバント組成物がワクチンアジュバントである、請求項 1 6 に記載のアジュバント組成物。

## 【請求項 1 9】

前記アジュバント組成物が、ヒトにおいてインバリアントナチュラルキラー T ( i N K T ) 細胞を上昇させることが可能な量で投与されることを特徴とする、請求項 1 6 に記載

50

のアジュバント組成物。

【請求項 20】

前記アジュバント組成物の投与により、ヒトにおいてサイトカインおよび/またはケモカインの生成が増大する、請求項 19 に記載のアジュバント組成物。

【請求項 21】

前記サイトカインの生成が下流の免疫細胞をトランス活性化するのに十分なものである、請求項 20 に記載のアジュバント組成物。

【請求項 22】

前記下流の免疫細胞が、樹状細胞 (DC)、ナチュラルキラー細胞 (NK)、B 細胞、 $CD4^+$  T および  $CD8^+$  T 細胞のうちの 1 種類またはそれより多くを含む、請求項 21 に記載のアジュバント組成物。

10

【請求項 23】

前記サイトカインが Th1 サイトカインを含む、請求項 20 に記載のアジュバント組成物。

【請求項 24】

前記 Th1 サイトカインが：インターフェロン - ガンマ (IFN- $\gamma$ )、GM-CSF、TNF- $\alpha$ 、インターロイキン 2、インターロイキン 12 およびインターロイキン 10 を含む群のうちの少なくとも 1 種類から選択される、請求項 23 に記載のアジュバント組成物。

【請求項 25】

20

前記ケモカインが、RANTES、MIP-1 $\alpha$ 、KC、MCP-1、IP-10 および MIP-1 $\beta$  を含む群のうちの少なくとも 1 種類から選択される、請求項 20 に記載のアジュバント組成物。

【請求項 26】

前記組成物の投与が抗がん効果を有する、請求項 16 に記載のアジュバント組成物。

【請求項 27】

前記がんが、肺がん、乳がん、肝細胞癌、白血病、充実性腫瘍および癌からなる群より選択される、請求項 26 に記載のアジュバント組成物。

【請求項 28】

式 I の化合物の R<sup>4</sup> が置換または非置換のアリールおよび置換または非置換のヘテロアリールから選択され、ヒトにおける Th1 サイトカインの増加が Th2 サイトカインのいずれかの増加を超えている、請求項 16 に記載のアジュバント組成物。

30

【請求項 29】

インバリアントナチュラルキラー T (iNKT) 細胞の生成の上昇を、それを必要とするヒト被験体において行なうための、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩を含む医薬組成物。

【請求項 30】

前記 iNKT レベルの上昇が、グリコシル頭部基としてアルファ - ガラクトース (Gal) を含む等量の糖脂質類似体の投与により得られる上昇と比べた場合、大きくなる、請求項 29 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 31】

サイトカインおよび/またはケモカインの生成の刺激を、それを必要とするヒト被験体において行なうための、サイトカイン/ケモカインの生成を増大させるのに十分な量の請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の化合物またはその薬学的に許容され得る塩を含む医薬組成物。

【請求項 32】

前記サイトカインの生成が下流の免疫細胞をトランス活性化するのに十分なものである、請求項 31 に記載の医薬組成物。

【請求項 33】

前記下流の免疫細胞が、樹状細胞 (DC)、ナチュラルキラー細胞 (NK)、B 細胞、

50

C D 4 <sup>+</sup> T および C D 8 <sup>+</sup> T 細胞のうちの 1 種類またはそれより多くを含む、請求項 3 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 4】

前記サイトカインが T h 1 サイトカインを含む、請求項 3 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 5】

前記サイトカインが：インターフェロン - ガンマ ( I F N - )、G M - C S F、T N F 、インターロイキン 2、インターロイキン 1 2 およびインターロイキン 1 0 から選択される、請求項 3 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 6】

前記ケモカインが：R A N T E S、M I P - 1 、K C、M C P - 1、I P - 1 0 およ 10  
び M I G から選択される、請求項 3 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 7】

ワクチンアジュバントである、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 8】

抗がん治療薬である、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 9】

前記化合物の R <sup>4</sup> が置換または非置換のアリールおよび置換または非置換のヘテロアリールから選択され、該化合物が、ヒトにおいて T h 1 サイトカインを、付随する T h 2 サイトカイン増加を最小限にして増加させることが可能である、請求項 1 6 に記載の医薬組成物。 20

【請求項 4 0】

被験体において抗原による免疫応答を増大させるための、1 種類またはそれより多くの抗原と免疫原性有効量の請求項 1 6 に記載のアジュバント組成物とを含むワクチン組成物。

【請求項 4 1】

前記 1 種類またはそれより多くの抗原が、細菌抗原、ウイルス抗原、真菌抗原、原生動物抗原、プリオン抗原、新生抗原、腫瘍抗原および自己抗原からなる群より選択される、請求項 4 0 に記載のワクチン組成物。

【請求項 4 2】

前記ワクチン組成物が、核酸、タンパク質、ペプチド、糖タンパク質、炭水化物、融合タンパク質、脂質、糖脂質、炭水化物 - タンパク質コンジュゲート；細胞もしくはその抽出物；死細胞もしくは弱毒化細胞もしくはその抽出物；腫瘍細胞もしくはその抽出物；ウイルス粒子；アレルゲンまたはその混合物からなる群より選択される、請求項 4 0 に記載のワクチン組成物。 30

【請求項 4 3】

前記投与される抗原が腫瘍抗原である、請求項 4 0 に記載のワクチン組成物。

【請求項 4 4】

前記抗原の量が 0 . 1 μ g ~ 1 0 0 m g / k g 体重の範囲で投与される、請求項 4 0 に記載のワクチン組成物。

【請求項 4 5】

前記アジュバントの量が 1 0 ~ 1 0 0 μ g / k g 体重の範囲である、請求項 4 0 に記載のワクチン組成物。 40

【請求項 4 6】

前記共投与される組成物が、前記式 I の化合物と薬学的に許容され得る担体とを含む共製剤化された薬学的に許容され得る組成物である、請求項 4 0 に記載のワクチン組成物。

【請求項 4 7】

請求項 1 に記載の前記式 I の化合物を含む製造物品。

【請求項 4 8】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の化合物および使用のための説明書を備えたキット。 50

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## 発明の分野

本発明は、一般的に免疫療法薬の分野に関する。特に、本開示は、ヒトにおいてインバリアントナチュラルキラーT (iNK T) 細胞をモジュレートしてサイトカインおよび/またはケモカインの生成を刺激し、したがって下流の免疫細胞をトランス活性化し、それにより先天性免疫と適応免疫の橋渡しをする糖脂質およびそのバリエーションに関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

## 発明の背景

ナチュラルキラー様T (NK T) 細胞は、がんおよび自己免疫障害などの疾患の処置において数多くの治療的潜在性を有する区別可能なTリンパ球集団である。インバリアントナチュラルキラーT (iNK T) 細胞は、先天性免疫と適応免疫の両方の特長を有する調節性T細胞のサブセットを構成している。MHCクラスIまたはII分子によって提示されたペプチドによって活性化される通常のT細胞とは対照的に、iNK T細胞は、抗原提示細胞 (APC) 上に発現される非古典的MHC I分子であるCD1dと関連して存在する脂質誘導体を認識する。

- GalCer ( - ガラクトシルセラミド) は、a - 結合型ガラクトース、スフィンゴシンおよびアシル尾部で構成された糖脂質であり、アゲラスフィン (海綿 Agelas mauritianus から単離) の構造の最適化によって得られた。これは、インビトロおよびインビボの両方で抗腫瘍活性を示すことがわかっており、マウスとヒトの両方のインバリアントナチュラルキラーT細胞 (iNK T細胞) について、これまで知られている最も強力なリガンドであることが示されている。

## 【0003】

インバリアントNK T細胞 (iNK T細胞) は、インバリアントTCR - 鎖 (マウスではV 14 / J 18、ヒトではV 24 / J 18) を有しており、CD161抗原 (マウスではNK細胞マーカーNK1.1、ヒトではNKR - P1A) を共発現する。(1) Lantz, O.; Bendelac, A. J. Exp. Med. 1994, 180, 1097; (2) Dellabona, P.; Padovan, E.; Casorati, G.; Brockhaus, M.; Lanzavecchia, A. J. Exp. Med. 1994, 180, 1171; (3) Makino, Y.; Kanno, R.; Ito, T.; Higashino, K.; Taniguchi, M. Int. Immunol. 1995, 7, 1157; and (4) Davodeau, F.; Peyrat, M. A.; Necker, A.; Dominici, R.; Blanchard, F.; Leget, C.; Gaschet, J.; Costa, P.; Jacques, Y.; Godard, A.; Vie, H.; Poggi, A.; Romagne, F.; Bonnevillie, M. J. Immunol. 1997, 158, 5603. 該細胞は、抗原提示細胞上のCD1d分子によって提示される GalCerに応答して大量のTh1 (例えば、IFN - , IL - 2) およびTh2 (例えば、IL - 4, IL - 6) サイトカインを分泌する<sup>5-9</sup>。(5) Kawano, T.; Cui, J.; Koezuka, Y.; Toura, I.; Kaneko, Y.; Motoki, K.; Ueno, H.; Nakagawa, R.; Sato, H.; Kondo, E.; Koseki, H.; Taniguchi, M. Science 1997, 278, 1626; (6) Yoshimoto, T.; Paul, W. E. J. Exp. Med. 1994, 179, 1285; (7) Arase, H.; Arase, N.; Nakagawa, K.; Good, R. A.; Onoe, K. Eur. J. Immunol. 1993, 23, 307; (8) Kawakami, K.; Yamamoto, N.; Kinjo, Y.; Miyagi, K.; Nakasone, C.; Uezu, K.; Kinjo, T.; Nakayama, T.; Taniguchi, M.; Saito, A. Eur. J. Immunol.

10

20

30

40

50

2003, 33, 3322; および(9) Nieuwenhuis, E. E.; Matsumoto, T.; Exley, M.; Schleipman, R. A.; Glickman, J.; Bailey, D. T.; Corazza, N.; Colgan, S. P.; Onderdonk, A. B.; Blumberg, R. S. Nat. Med. 2002, 8, 588. 分泌されたこのようなサイトカインにより次いで、下流の免疫細胞、例えば樹状細胞(DC)、ナチュラルキラー細胞(NK)、B細胞、CD4<sup>+</sup> TおよびCD8<sup>+</sup> T細胞がトランス活性化され得、それにより先天性免疫と適応免疫が橋渡しされ得る<sup>10~12</sup>。(10) Eberl, G.; MacDonald, H. R. Eur. J. Immunol. 2000, 30, 985; (11) Eberl, G.; Brawand, P.; MacDonald, H. R. J. Immunol. 2000, 165, 4305; および(12) Kitamura, H.; Ohta, A.; Sekimoto, M.; Sato, M.; Iwakabe, K.; Nakui, M.; Yahata, T.; Meng, H.; Koda, T.; Nishimura, S.; Kawano, T.; Taniguchi, M.; Nishimura, T. Cell. Immunol. 2000, 199, 37.

#### 【0004】

しかしながら、Th1サイトカインとTh2サイトカインの拮抗するバランスにより、さまざまな障害の処置に対する GalCerの臨床適用が制限される場合があり得る<sup>13~16</sup>。(13) Tahir, S. M.; Cheng, O.; Shaulov, A.; Koezuka, Y.; Bublely, G. J.; Wilson, S. B.; Balk, S. P.; Exley, M. A. J. Immunol. 2001, 167, 4046; (14) Dhodapkar, M. V.; Geller, M. D.; Chang, D. H.; Shimizu, K.; Fujii, S.; Dhodapkar, K. M.; Krasovskiy, J. J. Exp. Med. 2003, 197, 1667; (15) Giaccone, G.; Punt, C. J.; Ando, Y.; Ruijter, R.; Nishi, N.; Peters, M.; von Blomberg, B. M.; Scheper, R. J.; van der Vliet, H. J.; van den Eertwegh, A. J.; Roelvink, M.; Beijnen, J.; Zwierzina, H.; Pinedo, H. M. Clin. Cancer Res. 2002, 8, 3702; および(16) Bricard, G.; Cesson, V.; Devereux, E.; Bouzourene, H.; Barbey, C.; Rufer, N.; Im, J. S.; Alves, P. M.; Martinet, O.; Halkic, N.; Cero ttini, J. C.; Romero, P.; Porcelli, S. A.; MacDonald, H. R.; Speiser, D. E. J. Immunol. 2009, 182, 5140.

#### 【先行技術文献】

#### 【非特許文献】

#### 【0005】

【非特許文献1】 Lantz, O.; Bendelac, A. J. Exp. Med. 1994, 180, 1097

【非特許文献2】 Dellabona, P.; Padovan, E.; Casorati, G.; Brockhaus, M.; Lanzavecchia, A. J. Exp. Med. 1994, 180, 1171

【非特許文献3】 Makino, Y.; Kanno, R.; Ito, T.; Higashino, K.; Taniguchi, M. Int. Immunol. 1995, 7, 1157

【非特許文献4】 Davodeau, F.; Peyrat, M. A.; Necker, A.; Dominici, R.; Blanchard, F.; Leget, C.; Gasc het, J.; Costa, P.; Jacques, Y.; Godard, A.; Vie, H.; Poggi, A.; Romagne, F.; Bonneville, M. J. I

10

20

30

40

50

mmunol. 1997, 158, 5603

【非特許文献5】Kawano, T.; Cui, J.; Koezuka, Y.; Toura, I.; Kaneko, Y.; Motoki, K.; Ueno, H.; Nakagawa, R.; Sato, H.; Kondo, E.; Koseki, H.; Taniguchi, M. Science 1997, 278, 1626

【非特許文献6】Yoshimoto, T.; Paul, W. E. J. Exp. Med. 1994, 179, 1285

【非特許文献7】Arase, H.; Arase, N.; Nakagawa, K.; God, R. A.; Onoe, K. Eur. J. Immunol. 1993, 23, 307

【非特許文献8】Kawakami, K.; Yamamoto, N.; Kinjo, Y.; Miyagi, K.; Nakasone, C.; Uezu, K.; Kinjo, T.; Nakayama, T.; Taniguchi, M.; Saito, A. Eur. J. Immunol. 2003, 33, 3322

【非特許文献9】Nieuwenhuis, E. E.; Matsumoto, T.; Exley, M.; Schleipman, R. A.; Glickman, J.; Bailey, D. T.; Corazza, N.; Colgan, S. P.; Onderdonk, A. B.; Blumberg, R. S. Nat. Med. 2002, 8, 588

【非特許文献10】Eberl, G.; MacDonald, H. R. Eur. J. Immunol. 2000, 30, 985

【非特許文献11】Eberl, G.; Brawand, P.; MacDonald, H. R. J. Immunol. 2000, 165, 4305

【非特許文献12】Kitamura, H.; Ohta, A.; Sekimoto, M.; Sato, M.; Iwakabe, K.; Nakui, M.; Yahata, T.; Meng, H.; Koda, T.; Nishimura, S.; Kawano, T.; Taniguchi, M.; Nishimura, T. Cell. Immunol. 2000, 199, 37

【非特許文献13】Tahir, S. M.; Cheng, O.; Shaulov, A.; Koezuka, Y.; Buble, G. J.; Wilson, S. B.; Balk, S. P.; Exley, M. A. J. Immunol. 2001, 167, 4046

【非特許文献14】Dhodapkar, M. V.; Geller, M. D.; Chang, D. H.; Shimizu, K.; Fujii, S.; Dhodapkar, K. M.; Krasovskiy, J. J. Exp. Med. 2003, 197, 1667

【非特許文献15】Giaccone, G.; Punt, C. J.; Ando, Y.; Ruijter, R.; Nishi, N.; Peters, M.; von Blumberg, B. M.; Schepers, R. J.; van der Vliet, H. J.; van den Eertwegh, A. J.; Roelvink, M.; Beijnen, J.; Zwiertzina, H.; Pinedo, H. M. Clin. Cancer Res. 2002, 8, 3702

【非特許文献16】Bricard, G.; Cesson, V.; Devereux, E.; Bouzourene, H.; Barbey, C.; Rufer, N.; Im, J. S.; Alves, P. M.; Martinet, O.; Halkic, N.; Cerottini, J. C.; Romero, P.; Porcelli, S. A.; MacDonald, H. R.; Speiser, D. E. J. Immunol. 2009, 182, 5140

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

発明の概要

したがって、iNK細胞の選択的Th1またはTh2サイトカイン応答を刺激するための多くの類似体が設計された。糖脂質は、マウスおよび人間の両方において著しいTh

10

20

30

40

50

1 偏向を有し、インビボ卓越した腫瘍防除をもたらす。例えば、切断型スフィンゴシン尾部を有するスフィンゴ糖脂質 (GSL) は Th 2 方向に免疫応答を誘導することができ、自己免疫性脳脊髄炎が予防された<sup>17</sup>。Miyamoto, K.; Miyake, S.; Yamamura, T. Nature 2001, 413, 531. 他方で、アシル鎖上にフェニル環を有する GSL によりマウスおよびヒトにおいて Th 1 偏向サイトカインが誘導され、マウスでは乳房、肺および黒色腫瘍に対してより強力な抗がん活性が示された<sup>18, 19</sup>。(18) (Chang, Y. J.; Huang, J. R.; Tsai, Y. C.; Hung, J. T.; Wu, D.; Fujio, M.; Wong, C. H.; Yu, A. L. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2007, 104, 10299 および (19) Wu, T. N.; Lin, K. H.; Chang, Y. J.; Huang, J. R.; Cheng, J. Y.; Yu, A. L.; Wong, C. H. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2011, 108, 17275. 【0007】

CD1d と糖脂質間の二成分系相互作用、ならびに iNKT TCR と CD1d - 糖脂質複合体間の三成分系相互作用を調べることにより、その構造 - 活性相関 (SAR) の基礎となる機構が解明された。GalCer と比較すると、同じグリコシル基を有するフェニル GSL では、より強い二成分系相互作用および三成分系相互作用が示され、より Th 1 偏向性の応答がもたらされ、生物学的応答はマウスおよびヒトの両方において三元複合体の結合アビディティとの有意な相関を有した。19 - 21。(19) Wu, T. N.; Lin, K. H.; Chang, Y. J.; Huang, J. R.; Cheng, J. Y.; Yu, A. L.; Wong, C. H. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2011, 108, 17275; (20) Liang, P. H.; Imamura, M.; Li, X.; Wu, D.; Fujio, M.; Guy, R. T.; Wu, B. C.; Tsuji, M.; Wong, C. H. J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 12348; および (21) Li, X.; Fujio, M.; Imamura, M.; Wu, D.; Vasan, S.; Wong, C. H.; Ho, D. D.; Tsuji, M. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2010, 107, 13010. 【0008】

- ガラクトシル基 (Gal) およびアシル鎖上にフェニル環を有するスフィンゴ糖脂質 (GSL) は、インバリアント NKT (iNKT) 細胞の刺激に対して - ガラクトシルセラミド (GalCer) よりも強力であることがわかった。マウスおよびヒトにおけるその活性は、iNKT TCR と CD1d - GSL 複合体間の三成分系相互作用の結合アビディティと十分に相関していた。【0009】

インバリアントナチュラルキラー T (iNKT) 細胞は、大量のエフェクターサイトカインを産生する能力による著しい免疫調節能を有することが知られている。ヒトインバリアント NKT (iNKT) 細胞を刺激し、ヒトにおけるサイトカインおよびケモカインの生成をモジュレートする改善されたスフィンゴ糖脂質の必要性が存在している。【課題を解決するための手段】

【0010】

したがって、本開示は、- グルコース (- Glc) を有するスフィンゴ糖脂質 (GSL) が - ガラクトース (- Gal) を有するものよりも、ヒトにおいてサイトカインおよびケモカインならびに免疫細胞の増殖および / または活性化の強い (がマウスにおいては弱い) 誘導を示すという予期しない知見に基づいたものである。グリコシル基の 4' - OH 方向の変化により、マウスおよびヒトにおいて異なる生理活性がもたらされた。また、グリコシル基の 6 位における改変により、生物学的応答に対してさまざまな効果が示された。- Glc ならびに 4 位および / または 6 位に F を有する - Glc の誘導体を有する GSL を本明細書において開示する。- Glc および - Glc の誘導体を有する GSL によるケモカインの iNKT 非依存的誘導のための方法を開示する。- Gl

10

20

30

40

50



c およびその - G l c の誘導体を有する G S L を用いたヒトにおける免疫刺激のための方法を提供する。

【 0 0 1 1 】

本開示により、抗原の免疫原性の増大を、それを必要とする被験体において行なうための方法であって、一般式 1 の G S L を含むアジュバント組成物との共投与 ( c o n a d m i n i s t r a t i o n ) または共配合として前記抗原の併用投与を含む方法を提供する。

【 0 0 1 2 】

本発明によれば、G S L を免疫アジュバントとして使用することにより、抗原によって誘導される防御免疫の向上および / またはその持続期間の延長がもたらされ、少なくとも一部において抗原特異的 T h 1 型応答の向上および / または延長の一因となる。

【 0 0 1 3 】

本発明の G S L - a - G l c 含有アジュバントは任意の抗原とともに、特に、感染因子または腫瘍に由来する抗原とともに共同的に投与され得る。好ましくは、アジュバントと抗原は同時に、最も好ましくは単回投薬形態で投与される。

【 0 0 1 4 】

さらなる一実施形態では、本発明により、被験体の疾患を処置するための予防方法および / または治療方法であって、前記被験体に免疫防御性抗原を、G S L を含むアジュバント組成物と一緒に投与することを含む方法を提供する。本明細書において明示しているように、この方法は、種々の感染性疾患または新生物性疾患の予防および / または処置に有用であり得る。

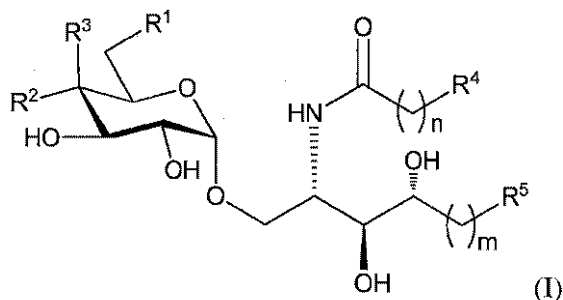
【 0 0 1 5 】

また、本発明の方法との関連において、免疫原性有効量の抗原および式 1 に含まれる G S L から選択される免疫原性有効量のアジュバントならびに任意選択で薬学的に許容され得る担体または賦形剤を含む医薬組成物およびワクチン組成物を提供する。

【 0 0 1 6 】

したがって、一態様において、本開示は、式 ( I ) :

【 化 1 】

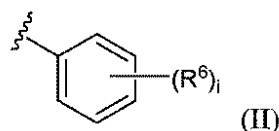


の免疫アジュバント化合物の構造的および機能的典型またはその薬学的に許容され得る塩に関する ; 式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、 $n$  および  $m$  は本明細書に記載のとおりである。

【 0 0 1 7 】

一の実施形態では、 $R^4$  が式 ( I I ) :

【 化 2 】

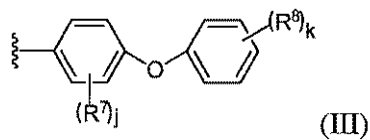


( 式中、 $i$  および  $R^6$  は本明細書に記載のとおりである )  
のものである。

【 0 0 1 8 】

一部の実施形態では、 $R^4$  が式 ( I I I ) :

【化 3】



(式中、 $j$ 、 $k$ 、 $R^7$  および  $R^8$  は本明細書に記載のとおりである) のものである。

【0019】

10

また、本開示の諸態様は、(i) 被験体、例えばヒトに投与したとき免疫応答を刺激するのに十分な量の本明細書に開示した化合物および (ii) 薬学的に許容され得る賦形剤を含む医薬組成物に関する。

【0020】

一部の実施形態では、医薬組成物は抗原とワクチンアジュバントを含む (comprise) ものである。一部の特定の実施形態では、抗原が腫瘍抗原である。

【0021】

一部の実施形態では、医薬組成物は抗がん治療薬を含むものである。

【0022】

医薬組成物の一部の実施形態では、該化合物の  $R^4$  が置換または非置換のアリールおよび置換または非置換のヘテロアリールから選択され、該化合物が、ヒトにおいて  $T_h1$  サイトカインを、随伴する  $T_h2$  サイトカイン増加が最小限で増加させ得るものである。

20

【0023】

本発明の諸態様は、免疫応答の刺激を、それを必要とするヒト被験体において行なうための方法であって：該被験体に治療有効量の本明細書に開示した組成物を投与することを含む方法に関する。

【0024】

一部の態様では、該化合物が、ヒトにおいてインバリアントナチュラルキラー  $T$  (iNKT) 細胞を上昇させ得る量で投与される。

【0025】

30

一部の態様では、該化合物の投与により、ヒトにおいてサイトカインおよび/またはケモカインの生成が増大する。一部の実施形態では、サイトカインの生成が下流の免疫細胞をトランス活性化するのに十分なものである。一部の実施形態では、下流の免疫細胞が、樹状細胞 (DC)、ナチュラルキラー細胞 (NK)、B細胞、 $CD4^+$   $T$  および  $CD8^+$   $T$  細胞のうちの1種類またはそれより多くを含む。

【0026】

一部の態様では、サイトカインが  $T_h1$  サイトカインを含む。一部の実施形態では、 $T_h1$  サイトカインが：インターフェロン-ガンマ (IFN- $\gamma$ )、GM-CSF、TNF、インターロイキン2、インターロイキン12およびインターロイキン10から選択される。

40

【0027】

一部の態様では、ケモカインが：RANTES、MIP-1、KC、MCP-1、IP-10およびMIGから選択される。

【0028】

一部の態様では、該組成物の投与が抗がん効果を有する。一部の実施形態では、がんが、肺がん、乳がん、肝細胞癌、白血病、充実性腫瘍および癌からなる群より選択される。

【0029】

一部の実施形態では、該化合物の  $R^4$  が置換または非置換のアリールおよび置換または非置換のヘテロアリールから選択され、ヒトにおける  $T_h1$  サイトカインの増加が  $T_h2$  サイトカインのいずれかの増加を超えている。

50

## 【 0 0 3 0 】

本発明の諸態様は、インバリアントナチュラルキラー T ( i N K T ) 細胞の生成を上昇させることを、それを必要とするヒト被験体において行なうための方法であって：該被験体に治療有効量の組成物を投与することを含み、該組成物が本明細書に開示した化合物を含むものである方法に関する。一部の実施形態では、i N K T レベルの上昇が、グリコシル頭部基としてアルファ - ガラクトース ( G a l ) を含む等量の糖脂質類似体の投与により得られる上昇と比べた場合、大きくなる。

## 【 0 0 3 1 】

本発明の諸態様は、サイトカインおよび/またはケモカインの生成の刺激を、それを必要とするヒト被験体において行なうための方法であって：該被験体に治療有効量の組成物を投与することを含み、該組成物が、サイトカイン/ケモカインの生成を増大させるのに十分な量の本明細書に開示した化合物を含むものである方法に関する。

10

## 【 0 0 3 2 】

一部の態様では、サイトカインの生成が下流の免疫細胞をトランス活性化するのに十分なものである。一部の実施形態では、下流の免疫細胞が、樹状細胞 ( D C )、ナチュラルキラー細胞 ( N K )、B 細胞、C D 4 + T および C D 8 + T 細胞のうちの 1 種類またはそれより多くを含む。

## 【 0 0 3 3 】

一部の態様では、サイトカインが T h 1 サイトカインを含む。一部の実施形態では、サイトカインが：インターフェロン - ガンマ ( I F N - )、G M - C S F、T N F 、インターロイキン 2、インターロイキン 1 2 およびインターロイキン 1 0 から選択される。

20

## 【 0 0 3 4 】

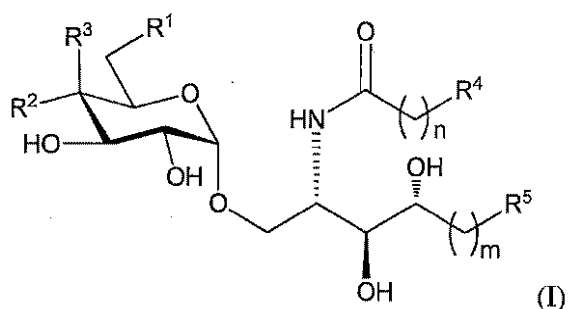
一部の態様では、ケモカインが：R A N T E S、M I P - 1、K C、M C P - 1、I P - 1 0 および M I G から選択される。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

## ( 項目 1 )

式 ( I ) :

## 【 化 1 0 1 】



30

## ( 式中 :

R <sup>1</sup> は - O H またはハロゲンであり ;

R <sup>2</sup> は - O H、水素またはハロゲンであり ;

R <sup>3</sup> は水素またはハロゲンであり ;

各場合の R <sup>4</sup> および R <sup>5</sup> は独立して、水素、ハロゲン、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアルケニル、任意選択的に置換されたアルキニル、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたアリール、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基または任意選択的に置換されたアシルからなる群より選択され ;

n は 1 ~ 1 5 ( 両端を含む ) の整数であり ;

m は 1 ~ 2 0 ( 両端を含む ) の整数である )

40

50

を有する免疫アジュバント化合物またはその薬学的に許容され得る塩。

(項目 2)

$R^2$  が -OH である、項目 1 に記載の化合物。

(項目 3)

$R^2$  がハロゲンである、項目 1 に記載の化合物。

(項目 4)

$R^1$  が -OH である、項目 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物。

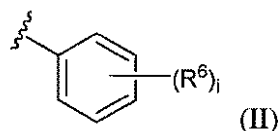
(項目 5)

$R^1$  がハロゲンである、項目 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の化合物。

(項目 6)

$R^4$  が式 (I I) :

【化 1 0 2】



(式中 :

$i$  は 0、1、2、3、4 または 5 であり ;

$R^6$  は独立して、水素、ハロゲン、-CN、-NO<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアルケニル、任意選択的に置換されたアルキニル、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたアリール、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基または任意選択的に置換されたアシルからなる群より選択される )  
のものである、項目 1 に記載の化合物。

(項目 7)

$R^6$  がハロゲンである、項目 6 に記載の化合物。

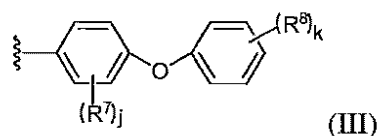
(項目 8)

$R^6$  が F である、項目 6 に記載の化合物。

(項目 9)

$R^4$  が式 (I I I) :

【化 1 0 3】



(式中 :

$j$  は 0、1、2、3 または 4 であり ;

$k$  は 0、1、2、3、4 または 5 であり ;

各場合の  $R^7$  および  $R^8$  は独立して、水素、ハロゲン、-CN、-NO<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアルケニル、任意選択的に置換されたアルキニル、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたアリール、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基または任意選択的に置換されたアシルからなる群より選択される )  
のものである、項目 1 に記載の化合物。

(項目 1 0)

各場合の  $R^7$  および  $R^8$  が独立して、水素またはハロゲンである、項目 9 に記載の化合物。

( 項目 1 1 )

$R^7$  が水素であり ;  $R^8$  が F であり ; k が 1、2 または 3 である、項目 9 に記載の化合物。

( 項目 1 2 )

$R^7$  が F であり ;  $R^8$  が水素であり ; j が 1、2 または 3 である、項目 9 に記載の化合物。

( 項目 1 3 )

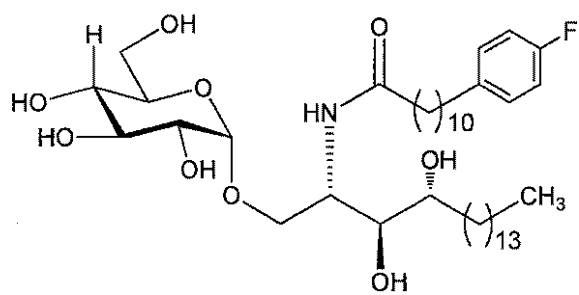
$R^7$  および  $R^8$  がともに F であり ; k が 1、2 または 3 であり ; j が 1、2 または 3 である、項目 9 に記載の化合物。

10

( 項目 1 4 )

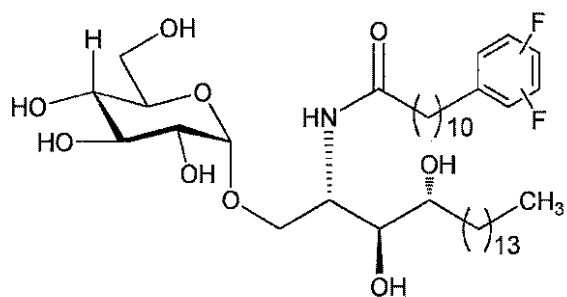
以下のもの :

【化 1 0 4】



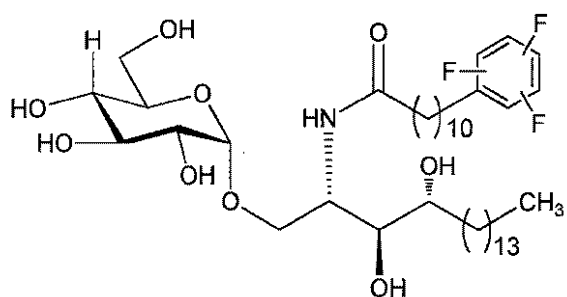
II-1,

10



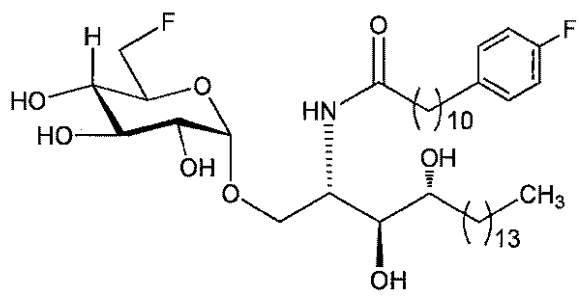
II-2,

20



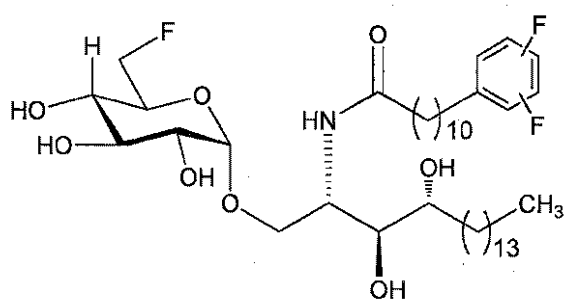
II-3,

30



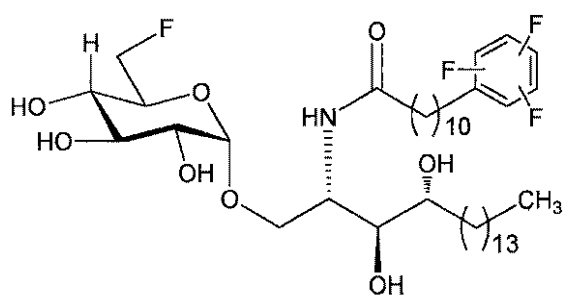
II-4,

40



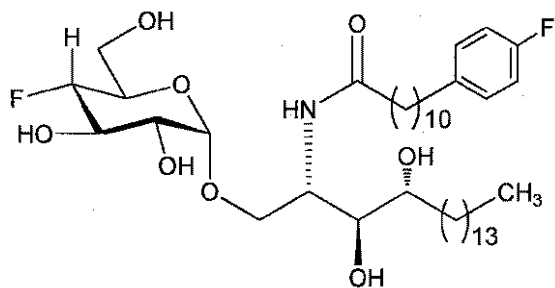
II-5,

【化 1 0 5】

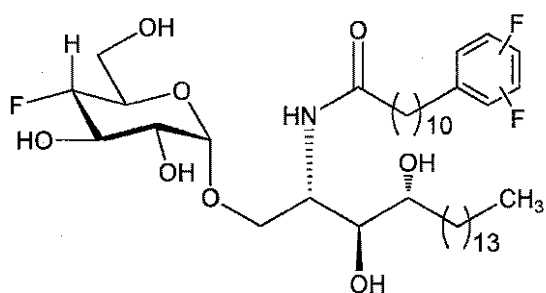


II-6,

10

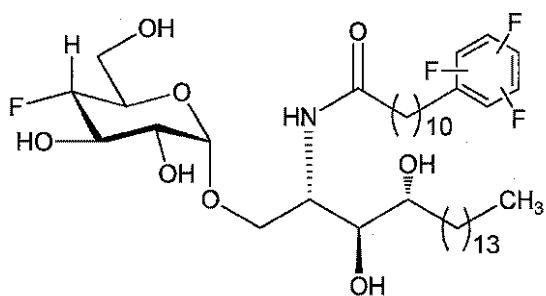


II-7,



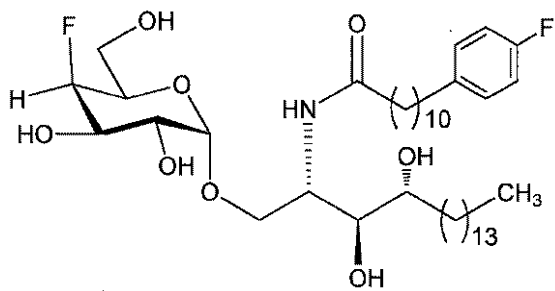
II-8,

20



II-9,

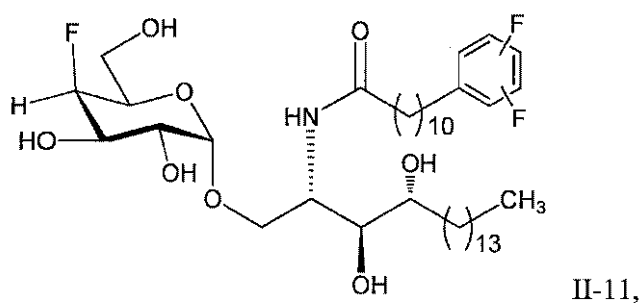
30



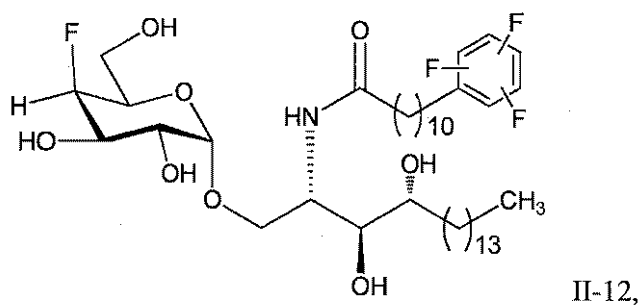
II-10,

40

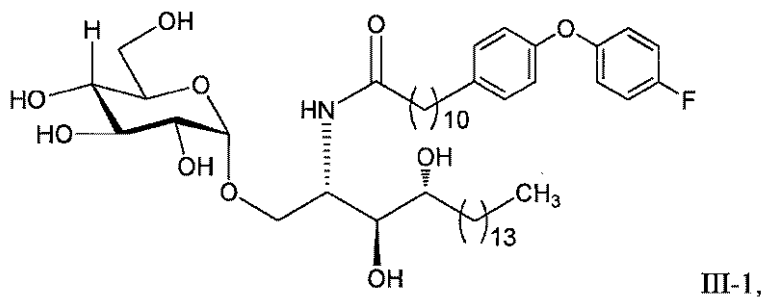
【化 1 0 6】



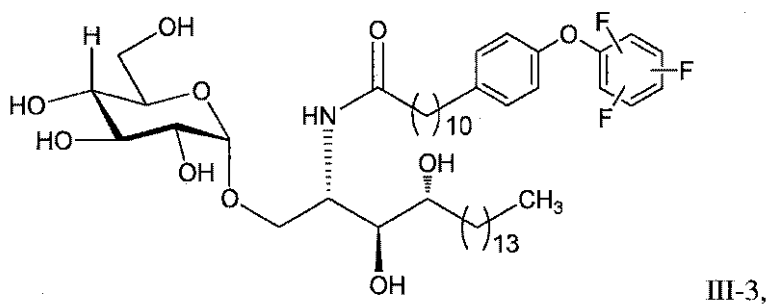
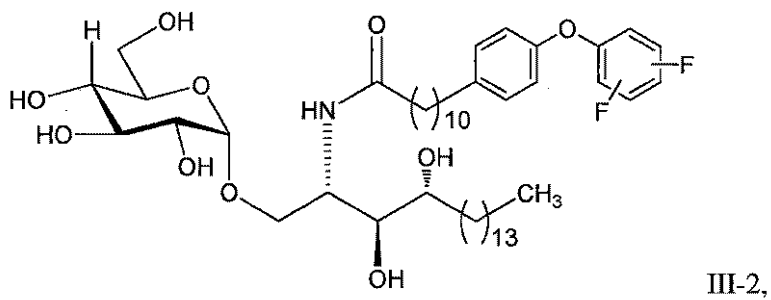
10



20



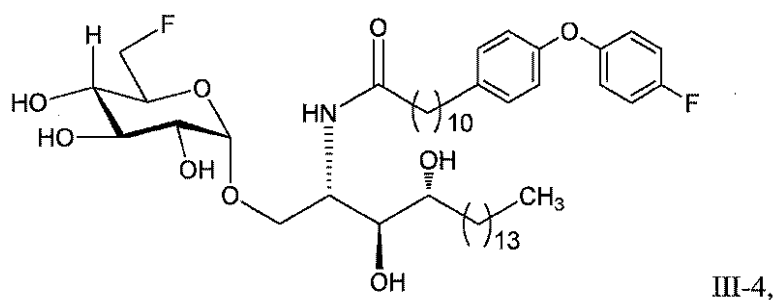
30



40

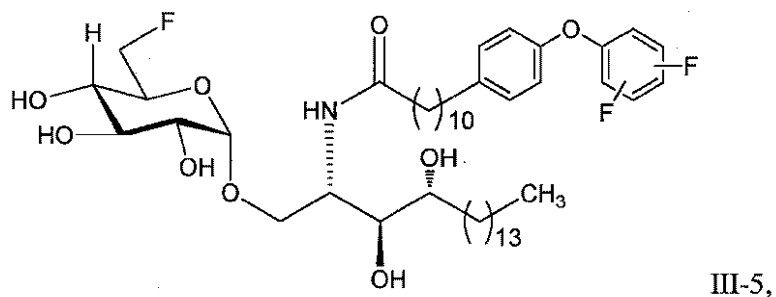


【化 1 0 7】



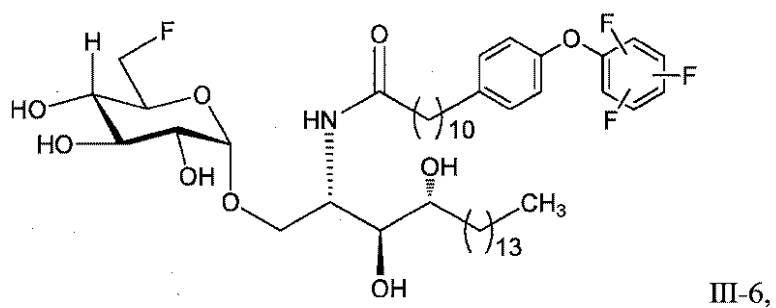
III-4,

10



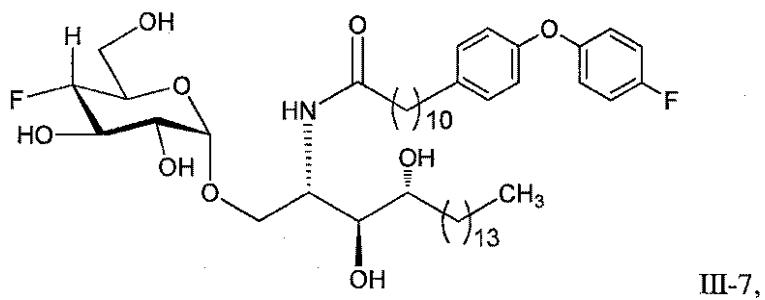
III-5,

20

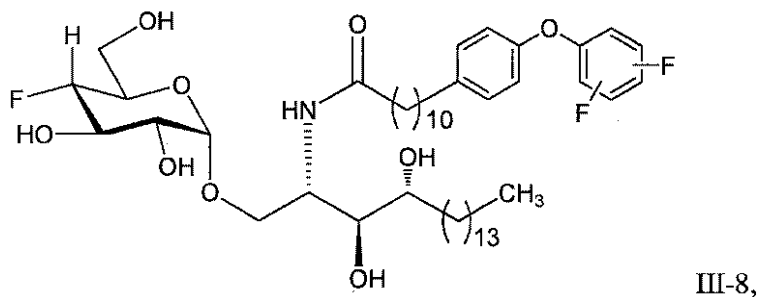


III-6,

30



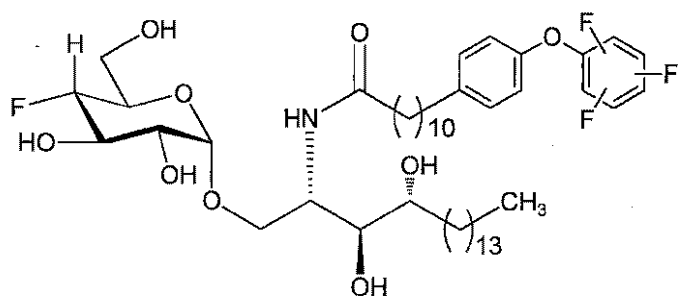
III-7,



III-8,

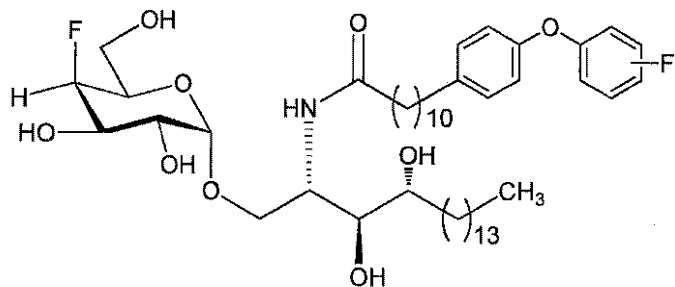
40

【化 1 0 8】



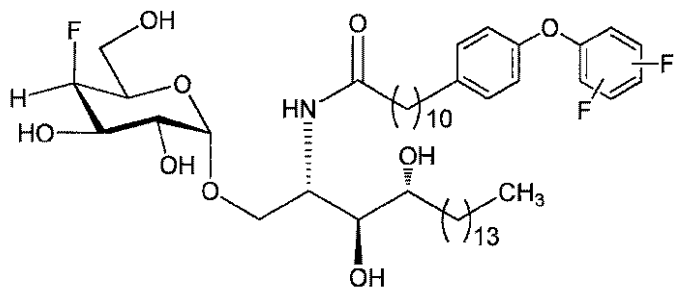
III-9,

10



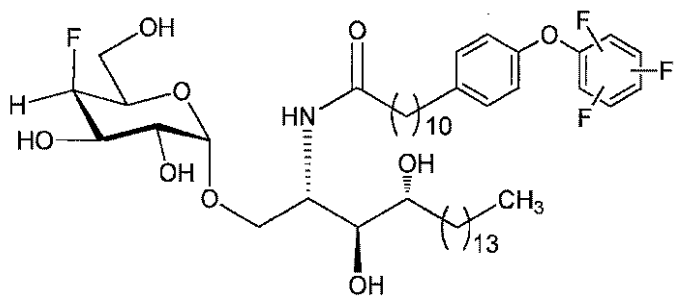
III-10,

20



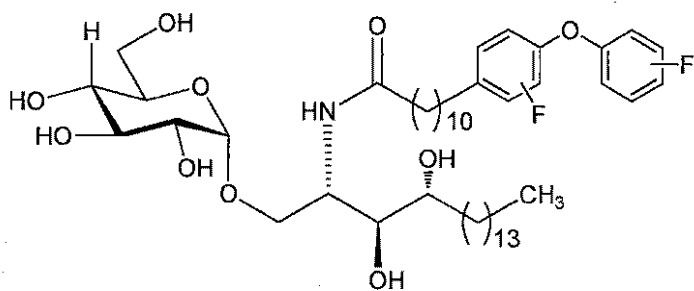
III-11,

30



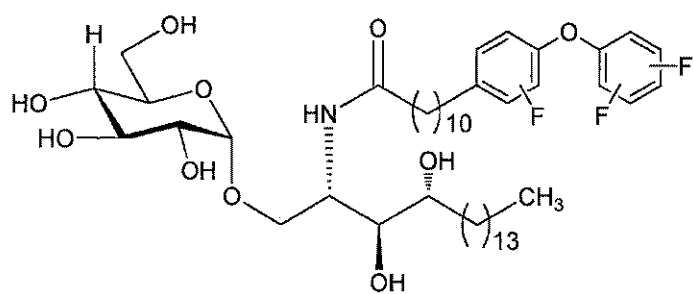
III-12,

40



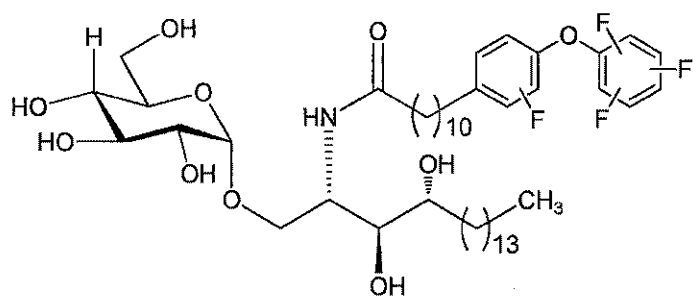
III-13,

【化 1 0 9】



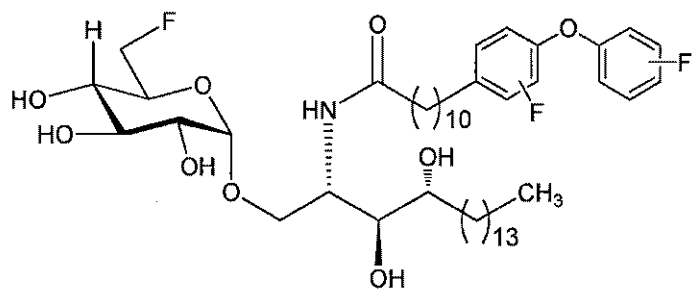
III-14,

10



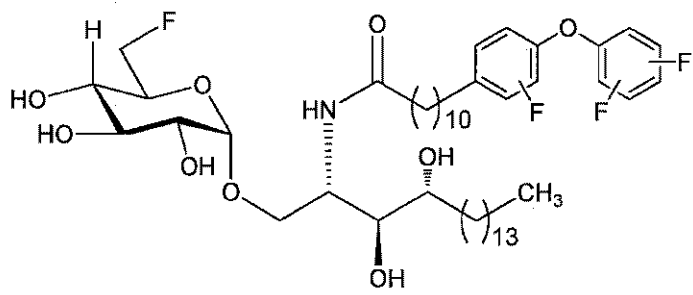
III-15,

20



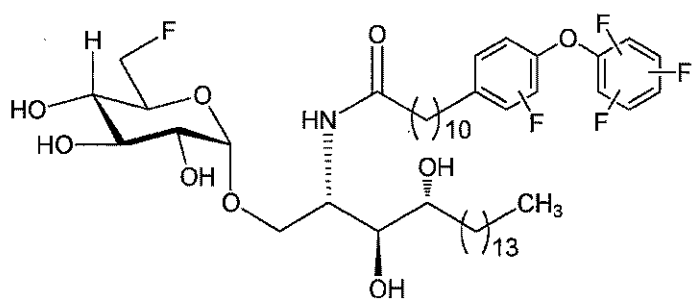
III-16,

30



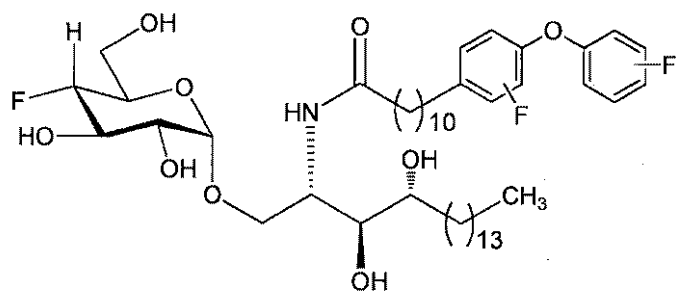
III-17,

40



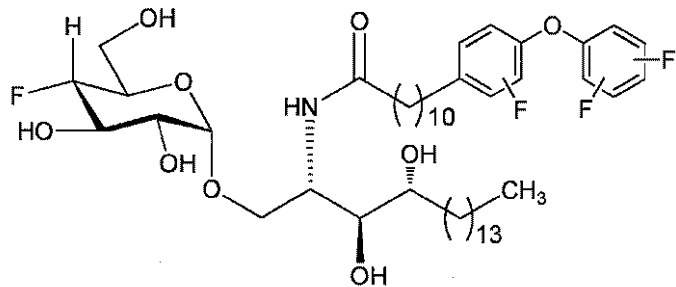
III-18,

【化 1 1 0】



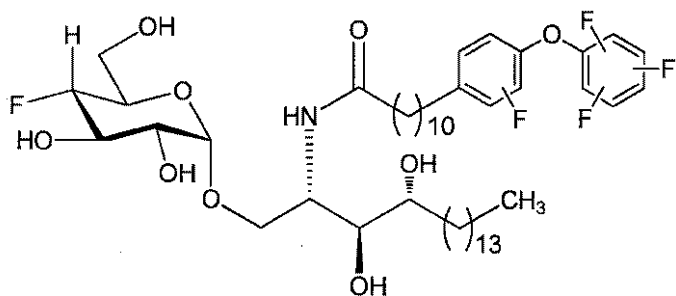
III-19,

10



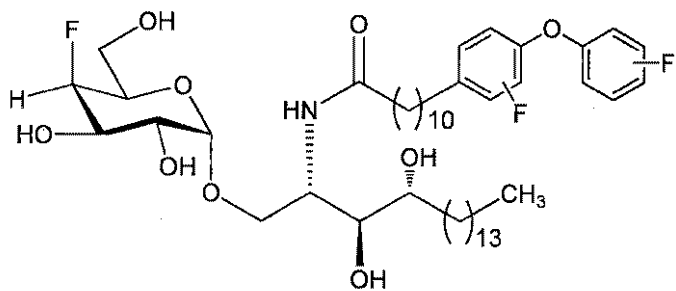
III-20,

20



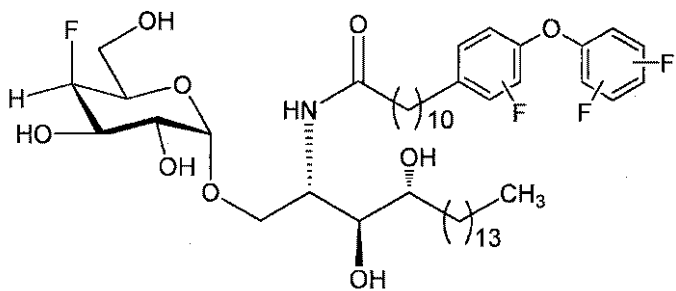
III-21,

30



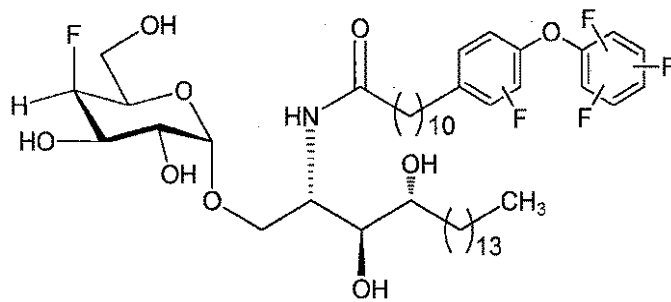
III-22,

40



III-23,

## 【化 1 1 1】



III-24.

10

のうちの1つから選択される、項目1に記載の化合物。

## (項目15)

(i) 抗原とともにヒト被験体に共投与した場合、免疫応答を刺激するのに十分な量の項目1～14のいずれかに記載の化合物および(ii)薬学的に許容され得る賦形剤を含む医薬組成物。

## (項目16)

抗原の免疫原性の増大を、それを必要とする被験体において行なうための方法であって、該抗原を、一般式IのGSL化合物を含むアジュバント組成物とともに共投与することを含む方法。

20

## (項目17)

免疫応答の刺激を、それを必要とするヒト被験体において行なうための方法であって、該被験体に、薬学的に許容され得る担体中の治療有効量の免疫アジュバント組成物を投与することを含み、該組成物が項目1～14のいずれかに記載の化合物を含むものである方法。

## (項目18)

前記アジュバント組成物がワクチンアジュバントである、項目16に記載の方法。

## (項目19)

前記アジュバント組成物が、ヒトにおいてインバリアントナチュラルキラーT(iNKT)細胞を上昇させることが可能な量で投与される、項目16に記載の方法。

30

## (項目20)

前記アジュバント組成物の投与により、ヒトにおいてサイトカインおよび/またはケモカインの生成が増大する、項目19に記載の方法。

## (項目21)

前記サイトカインの生成が下流の免疫細胞をトランス活性化するのに十分なものである、項目20に記載の方法。

## (項目22)

前記下流の免疫細胞が、樹状細胞(DC)、ナチュラルキラー細胞(NK)、B細胞、CD4<sup>+</sup>TおよびCD8<sup>+</sup>T細胞のうちの1種類またはそれより多くを含む、項目21に記載の方法。

40

## (項目23)

前記サイトカインがTh1サイトカインを含む、項目20に記載の方法。

## (項目24)

前記Th1サイトカインが：インターフェロン-ガンマ(IFN-γ)、GM-CSF、TNF-α、インターロイキン2、インターロイキン12およびインターロイキン10を含む群のうちの少なくとも1種類から選択される、項目23に記載の方法。

## (項目25)

前記ケモカインが、RANTES、MIP-1α、KC、MCP-1、IP-10およびMIGを含む群のうちの少なくとも1種類から選択される、項目20に記載の方法。

## (項目26)

50

前記組成物の投与が抗がん効果を有する、項目 16 に記載の方法。

(項目 27)

前記がんが、肺がん、乳がん、肝細胞癌、白血病、充実性腫瘍および癌からなる群より選択される、項目 26 に記載の方法。

(項目 28)

式 I の化合物の R<sup>4</sup> が置換または非置換のアリールおよび置換または非置換のヘテロアリールから選択され、ヒトにおける Th1 サイトカインの増加が Th2 サイトカインのいずれかの増加を超えている、項目 16 に記載の方法。

(項目 29)

インバリアントナチュラルキラー T (iNKT) 細胞の生成の上昇を、それを必要とするヒト被験体において行なうための方法であって：該被験体に治療有効量の医薬組成物を投与することを含み、該組成物が項目 1 ~ 14 のいずれかに記載の化合物を含むものである方法。

10

(項目 30)

前記 iNKT レベルの上昇が、グリコシル頭部基としてアルファ - ガラクトース (Gal) を含む等量の糖脂質類似体の投与により得られる上昇と比べた場合、大きくなる、項目 29 に記載の方法。

(項目 31)

サイトカインおよび/またはケモカインの生成の刺激を、それを必要とするヒト被験体において行なうための方法であって：該被験体に治療有効量の医薬組成物を投与することを含み、該組成物が、サイトカイン/ケモカインの生成を増大させるのに十分な量の項目 1 ~ 14 のいずれかに記載の化合物を含むものである方法。

20

(項目 32)

前記サイトカインの生成が下流の免疫細胞をトランス活性化するのに十分なものである、項目 31 に記載の方法。

(項目 33)

前記下流の免疫細胞が、樹状細胞 (DC)、ナチュラルキラー細胞 (NK)、B 細胞、CD4<sup>+</sup> T および CD8<sup>+</sup> T 細胞のうちの 1 種類またはそれより多くを含む、項目 32 に記載の方法。

(項目 34)

前記サイトカインが Th1 サイトカインを含む、項目 31 に記載の方法。

30

(項目 35)

前記サイトカインが：インターフェロン - ガンマ (IFN -  $\gamma$ )、GM - CSF、TNF、インターロイキン 2、インターロイキン 12 およびインターロイキン 10 から選択される、項目 34 に記載の方法。

(項目 36)

前記ケモカインが：RANTES、MIP - 1 $\alpha$ 、KC、MCP - 1、IP - 10 および MIP - 1 $\beta$  から選択される、項目 31 に記載の方法。

(項目 37)

ワクチンアジュバントである、項目 15 に記載の医薬組成物。

40

(項目 38)

抗がん治療薬である、項目 15 に記載の医薬組成物。

(項目 39)

前記化合物の R<sup>4</sup> が置換または非置換のアリールおよび置換または非置換のヘテロアリールから選択され、該化合物が、ヒトにおいて Th1 サイトカインを、付随する Th2 サイトカイン増加を最小限にして増加させることが可能である、項目 16 に記載の医薬組成物。

(項目 40)

被験体において抗原による免疫応答を増大させるための方法であって、該被験体に、1 種類またはそれより多くの抗原と免疫原性有効量の項目 15 に記載のアジュバント組成物

50

とを含む有効量のワクチンを投与することを含む方法。

(項目 4 1)

前記 1 種類またはそれより多くの抗原が、細菌抗原、ウイルス抗原、真菌抗原、原生動物抗原、プリオン抗原、新生抗原、腫瘍抗原および自己抗原からなる群より選択される、項目 4 0 に記載の方法。

(項目 4 2)

前記ワクチンが、核酸、タンパク質、ペプチド、糖タンパク質、炭水化物、融合タンパク質、脂質、糖脂質、炭水化物 - タンパク質コンジュゲート；細胞もしくはその抽出物；死細胞もしくは弱毒化細胞もしくはその抽出物；腫瘍細胞もしくはその抽出物；ウイルス粒子；アレルゲンまたはその混合物からなる群より選択される、項目 4 0 に記載の方法。

10

(項目 4 3)

前記投与される抗原が腫瘍抗原である、項目 4 0 に記載の方法。

(項目 4 4)

前記抗原の量が  $0.1 \mu\text{g} \sim 100 \text{mg} / \text{kg}$  体重の範囲で投与される、項目 4 0 に記載の方法。

(項目 4 5)

前記アジュバントの量が  $10 \sim 100 \mu\text{g} / \text{kg}$  体重の範囲である、項目 4 0 に記載の方法。

(項目 4 6)

前記共投与される組成物が、式 I の G S L と薬学的に許容され得る担体とを含む共製剤化された薬学的に許容され得る組成物である、項目 4 0 に記載の方法。

20

(項目 4 7)

式 I の G S L を含む製造物品。

(項目 4 8)

項目 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の G S L および使用のための説明書を備えたキット。

【0035】

これらおよび他の態様は、好ましい実施形態の以下の説明から以下の図面を併せて考慮すると自明となろう。しかしながら、本開示の新規な概念の精神および範囲から逸脱することなく変形および修正が行なわれ ( a f f e c t ) 得る。

30

【図面の簡単な説明】

【0036】

以下の図面は本明細書の一部を構成し、本開示の一部の特定の態様のさらなる実例を示すために含めている。本開示の発明は、この図面の 1 つまたはそれより多くを本明細書に提示した具体的な実施形態の詳細説明と合わせて参照することにより、さらによく理解することができる。

【0037】

【図 1 A】図 1 は、Gal または Glc を有する糖脂質の構造を示す。7DW8 - 5 - Man は、Man を有する唯一の化合物である。

【図 1 B】図 1 は、Gal または Glc を有する糖脂質の構造を示す。7DW8 - 5 - Man は、Man を有する唯一の化合物である。

40

【0038】

【図 2】図 2 は、Gal を有する糖脂質類似体が Glc を有するものよりも、マウスにおいては強力であるがヒトにおいては弱い免疫調節物質であったことを示す。B6 野生型および J 18 ノックアウトマウス ( n = 4 ) に、表示した糖脂質 (  $1 \mu\text{g} / \text{マウス}$  ) またはビヒクルを i . v . 注射した。注射の 2 時間後および 18 時間後に収集した血清を、IFN - ( 2 A ) および IL - 4 ( 2 B ) などのサイトカインの分泌について解析した。IFN - および IL - 4 は、それぞれ注射の 18 時間後および 2 時間後にピークになった。( 2 C ) 表示した糖脂質 (  $1 \mu\text{g} / \text{マウス}$  ) またはビヒクル ( P B S 中 1 % D M S O ) で処置した B6 W T マウスを注射後 72 時間目に致死させ、その脾細胞を、C D

50

3 + 細胞の総数の測定のために FACS 解析に供した。(2D) ヒトナイーブ V<sub>24</sub> + iNKT 細胞を、2 日目に 100 ng/ml の表示した糖脂質または DMSO をパルスした自己未成熟 CD14 + DC とともに培養した。3 日目に抗原を除去した後、ヒト iNKT 細胞を IL-2 の存在下で培養した。増殖した iNKT 細胞の数を、9 日目に、Guava Via Count 試薬を用いて計測した。7DW8-5 と 7DW8-5-Glc の差の解析にはスチューデントの t 検定を選択した。p < 0.001, \*\*\*。アッセイは、同様の傾向を有する 2 つの異なるドナーで行なった。

#### 【0039】

【図3】図3は、CD1d-糖脂質複合体の iNKT 細胞との三成分系相互作用を示す。(3A) DN3A4-1.2 V<sub>14</sub> + iNKT ハイブリドーマ細胞および(3B) 7DW8-5 増殖 V<sub>24</sub> + iNKT 細胞を、種々の濃度の表示した二量体 mCD1d-糖脂質および hCD1d-糖脂質複合体とともにそれぞれ 4 で 30 分間インキュベートした。表示した濃度における結合複合体レベルを抗 mIgG1 二次抗体によって検出し、フローサイトメトリーによって解析した。CD1ddi-糖脂質複合体の結合パーセンテージと濃度の関係をマウス(3A) およびヒト(3B) においてプロットした。マウス(3C) およびヒト(3D) における KD 値を、それぞれプロット(3A) および(3B) のスキャッチャード変換により計算した。アッセイは二連で行なった。

10

#### 【0040】

【図4】図4は、mCD1d と hCD1d (対比) のスワップアッセイを示す。(4A) マウス DN3A4-1.2 V<sub>14</sub> + iNKT ハイブリドーマ細胞または(4B) C1 増殖 V<sub>24</sub> + iNKT 細胞に、mCD1d (A20-CD1d 細胞) または hCD1d (HeLa-CD1d 細胞) のいずれかによって提示された表示した糖脂質を 1、0.1 および 0.01 μg/ml でパルスした。18 時間後、上清みを採取し、IL-2 分泌を ELISA アッセイによって(4A) または Beadlyte (登録商標) Human Cytokine キットおよび Luminesx (登録商標) 200 TM 読取システムを使用することにより(4B) 測定した。アッセイは三連で行なった。8-5 は 7DW8-5 の略号とした。

20

#### 【0041】

【図5】図5は、CD1d-GSL-iNKT TCR の三元複合体のコンピュータモデル設計を示す。(5A)/(5B) マウス(5A) およびヒト(5B) の CD1d-C1-iNKT TCR 複合体内の水素結合を示した。水素結合の形成は保存された残基において、例えば、CD1d の ヒト Asp80 (マウス Asp80)、ヒト Thr154 (マウス Thr156)、ヒト Asp151 (マウス Asp153) および iNKT TCR の ヒト Gly96 (マウス Gly96) においてみとめられた。その上、iNKT TCR のマウス Asn30 ならびにヒト Phe29 および Ser30 は、C1 の 3'-OH および/または 4'-OH と H-結合相互作用を形成する重要な残基であった。(5C) グルコースのエクアトリアル 4'-OH は、ヒト iNKT TCR-Phe51 および hCD1d-Trp153 によって捕捉された結晶水とのより強い相互作用によって Phe29 の相互作用の低下を代償しているのかもしれない。(5D) 芳香族相互作用による高エネルギーにより、C34 または C34-Glc のアシル鎖が CD1d 内の A' チャンネルのより低い位置(Cys12 付近)に追いやられることになり、頭部基の向きに対して微妙な乱れがもたらされるのかもしれない。(5E) AutoDock 4.2 を用いた三元複合体のコンピュータ計算による自由エネルギー

30

40

#### 【0042】

【図6】図6は、7DW8-5-Glc によって誘発された用量依存性ケモカイン分泌を示す。B6 野生型マウスに 0.1 または 1 μg/マウスの 7DW8-5-Glc を i.v. 注射した。注射の 2 時間後および 18 時間後に収集した血清を、IP-10 (6A)、KC (6B)、MCP-1 (6C) および MIP-1 (6D) などのケモカイン分泌について解析した。これらのケモカインは注射の 2 時間後にピークになった。

#### 【0043】

50



【図 7】図 7 は、サイトカインおよびケモカインの i N K T 依存性生成を示す。B 6 野生型および J 1 8 ノックアウトマウスに、表示した糖脂質 ( 1  $\mu$  g / マウス ) またはビヒクルを i . v . 注射した。注射の 2 時間後および 1 8 時間後に収集した血清を、I L - 2 ( 7 A )、I L - 6 ( 7 B )、G M - C S F ( 7 C ) および T N F ( 7 D ) などのサイトカインならびに I P - 1 0 ( 7 E )、M I G ( 7 F )、K C ( 7 G ) および M C P - 1 ( 7 H ) などのケモカインについて解析した。M I G だけが注射の 1 8 時間後にピークになったが、その他は注射の 2 時間後にピークになった。

【 0 0 4 4 】

【図 8】図 8 は、表示した糖脂質での刺激後の W T マウス免疫細胞の F A C S 解析を示す。表示した糖脂質 ( 1  $\mu$  g / マウス ) またはビヒクル ( P B S 中 1 % D M S O ) で処置した B 6 W T マウスを注射後 7 2 時間目に致死させ、その脾細胞を F A C S 解析に供した。( 8 A ) 脾細胞の総数、( 8 B ) C D 1 1 C h i 細胞の総数、( 8 C ) C D 1 1 C h i / C D 8 0 + 細胞、( 8 D ) C D 1 1 C h i / C D 8 6 + 細胞、( 8 E ) C D 4 + T 細胞および ( 8 F ) C D 8 + T 細胞。

10

【 0 0 4 5 】

【図 9】図 9 は、表示した糖脂質での刺激後の J 1 8 K O マウス免疫細胞の F A C S 解析を示す。表示した糖脂質 ( 1  $\mu$  g / マウス ) またはビヒクル ( P B S 中 % D M S O ) で処置した B 6 J 1 8 K O マウスを注射後 7 2 時間目に致死させ、その脾細胞を F A C S 解析に供した。( 9 A ) 脾細胞の総数、( 9 B ) C D 1 1 C h i 細胞の総数、( 9 C ) C D 1 1 C h i / C D 8 0 + 細胞、( 9 D ) C D 1 1 C h i / C D 8 6 + 細胞、( 9 E ) C D 4 + T 細胞および ( 9 F ) C D 8 + T 細胞 ( スチューデントの t 検定 : \* , D と比較したとき  $p < 0 . 0 5$  )

20

【 0 0 4 6 】

【図 1 0】図 1 0 は、m C D 1 d と糖脂質の二元複合体の結合強度を示す。( 1 0 A , 1 0 B ) E L I S A プレート上にコートした異なる濃度の m C D 1 d - 糖脂質複合体を、ビオチンとコンジュゲートさせた飽和量の L 3 6 3 抗体とともにインキュベートした後、ストレプトアビジン - H R P 検出および E L I S A 測定を行った。( 1 0 A ) L 3 6 3 抗体結合を反映する O D 値と C D 1 d d i - 糖脂質複合体の濃度の関係をプロットした。( 1 0 B ) L 3 6 3 抗体と表示した m C D 1 d - 糖脂質複合体間の解離定数 ( K D ) を、材料および方法に記載のようにして計算した。( 1 0 C ) L 3 6 3 抗体結合を反映する O D 値と糖脂質の濃度の関係をプロットした。( 1 0 D ) 二元複合体の K D 値を、L 3 6 3 抗体の結合曲線のスキャッチャード変換の線形回帰により計算した ( 1 0 C ) 。

30

【 0 0 4 7 】

【図 1 1】図 1 1 は、インビボ C 1 パルス脾細胞の C D 1 d 二量体染色を示す。B 6 W T 脾細胞 (  $n = 3$  ) を、C 1 ( 1  $\mu$  g / マウス ) の注射の 3 日後に採取し、C D 3、C D 4 5 R および R P E とコンジュゲートさせた表示した二量体複合体で、セ氏 4 度にて 1 時間染色した。( 1 1 A ) C D 3 + / C D 4 5 R - 細胞をゲーティングして二量体染色を解析した。( 1 1 B ) 未負荷二量体を対照として使用した。( 1 1 C ) 7 D W 8 - 5 - G 1 c を負荷した m C D 1 d 二量体は  $1 7 . 1 \pm 0 . 8$  % の C 1 パルス脾細胞を染色された。( 1 1 D ) 7 D W 8 - 5 を負荷した m C D 1 d 二量体は  $3 6 . 2 \pm 5 . 0$  % の C 1 パルス脾細胞を染色した。

40

【 0 0 4 8 】

【図 1 2】図 1 2 は、m C D 1 d と h C D 1 d ( 対比 ) のスワップアッセイを示す。C 1 増殖 V 2 4 + i N K T 細胞に、m C D 1 d ( A 2 0 - C D 1 d 細胞 ) または h C D 1 d ( H e L a - C D 1 d 細胞 ) のいずれかによって提示された表示した糖脂質抗原を、0 . 1 および 0 . 0 1  $\mu$  g / m l でパルスした。1 8 時間後、上清みを、I F N - ( 1 2 A ) 分泌および I L - 4 ( 1 2 B ) 分泌の測定のために採取した。( 1 2 C ) I L - 4 に対する I F N - の比を異なる濃度の糖脂質において計算した。異なる糖脂質の I L - 4 に対する I F N - の比を C 1 のものと、表示した濃度においてスチューデントの t 検定によって比較した ( \* ,  $p < 0 . 0 5$  ; \* \* ,  $p < 0 . 0 1$  ; \* \* \* ,  $p < 0 . 0 0 1$  )

50

)。アッセイは三連で行なった。

【発明を実施するための形態】

【0049】

詳細説明

ナチュラルキラーT細胞(NKT)は、固有の特性、例えば、CD1dによって提示された天然または合成の糖脂質に対する反応性およびインバリアントT細胞抗原受容体(TCR)アルファ鎖の発現を有するTリンパ球のサブセットを表す。NKTは、機能的に区別される通常のT細胞と、ナチュラルキラー細胞とT細胞の両方の特性を共有しており、リガンドにより刺激されると(先天性免疫)、TH1型応答およびTH2型応答の両方を速やかにもたらし得るという点で異なる。逆説的に、NKTの活性化は免疫応答の抑制または刺激のいずれかをもたらすことがあり得る。例えば、TH1サイトカインの生成は、抗腫瘍、抗ウイルス/抗菌およびアジュバント活性を伴う細胞性免疫を促進すると考えられているが、TH2サイトカインの生成は、自己免疫疾患を抑制し、抗体産生を促進すると考えられている。NKTは免疫系において調節的役割を果たしているため、免疫療法の魅力的な標的である。

10

【0050】

上記のように、本開示は、 $\alpha$ -グルコース( $\alpha$ -Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)が $\beta$ -ガラクトース( $\beta$ -Gal)を有するものよりも、ヒトにおいてサイトカインおよびケモカインならびに免疫細胞の増殖および/または活性化の強い(がマウスにおいては弱い)誘導を示すという予期しない知見に基づいたものである。したがって、例示的なGSLを含む方法および組成物を本明細書において提供する。

20

【0051】

本発明の実施には、特に記載のない限り、当該技術分野の技能の範囲内である分子生物学、微生物学、組換えDNAおよび免疫学の慣用的な手法が使用される。かかる手法は文献に十分に説明されている。例えば、Molecular Cloning A Laboratory Manual, 第2版, Sambrook, Fritsch and Maniatis 編(Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989); DNA Cloning, 第I巻および第II巻(D.N. Glover 編, 1985); Culture Of Animal Cells (R.I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); 学術論文 Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J.H. Miller および M.P. Calos 編, 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Methods In Enzymology, 第154巻および第155巻(Wu 編), Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer および Walker 編, Academic Press, London, 1987); Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow および Lanes (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988); ならびに Handbook Of Experimental Immunology, 第I~IV巻(D.M. Weir および C.C. Blackwell 編, 1986)を参照のこと。また、免疫アジュバントの作製方法および使用方法は米国特許第7,488,491号および同第7,928,077号に記載されている。

30

40

【0052】

本明細書で用いる場合、用語「脂質」は、細胞シグナル伝達経路に関与する任意の脂溶性(親油性)分子をいう。本明細書で用いる場合、用語「糖脂質」は、細胞による認識のためのマーカーとしての機能を果たす炭水化物結合型脂質をいう。

50

## 【 0 0 5 3 】

本明細書で用いる場合、用語「グリカン」は多糖またはオリゴ糖をいう。また、グリカンは、本明細書において、複合糖質の炭水化物部分、例えば糖タンパク質、糖脂質、糖ペプチド、グリコプロテオーム、ペプチドグリカン、リポ多糖またはプロテオグリカンの炭水化物部分を示すためにも用いている。グリカンは、通常、単糖間のO - グリコシド結合のみからなる。例えば、セルロースはベータ - 1 , 4 - 結合D - グルコースで構成されたグリカン（またはより特別にはグルカン）であり、キチンはベータ - 1 , 4 - 結合N - アセチル - D - グルコサミンで構成されたグリカンである。グリカンは、単糖残基のホモポリマーであってもヘテロポリマーであってもよく、線状であっても分枝状であってもよい。グリカンは、糖タンパク質およびプロテオグリカンの場合のようにタンパク質に結合した状態でみられ得る。これは、一般的に細胞の外表面上にみられる。O - 結合型およびN - 結合型のグリカンは真核生物において非常によくみられ、あまり一般的ではないが原核生物においてもみられる場合があり得る。N - 結合型グリカンは、シークオンのアスパラギンのR基の窒素（N）に結合した状態でみられる。シークオンはA s n - X - S e rまたはA s n - X - T h r配列であり、ここで、Xはプロリン以外の任意のアミノ酸である。

10

## 【 0 0 5 4 】

本明細書で用いる場合、用語「糖タンパク質」は、グリカン（1種類または複数種）で共有結合により修飾されたタンパク質をいう。糖タンパク質には4つの型：1）N - 結合型糖タンパク質、2）O - 結合型糖タンパク質（ムチン）、3）グルコサミノグリカン（G A G、これはプロテオグリカンとも称される）、4）G P Iアンカー型が存在する。ほとんどの糖タンパク質は、構造の微視的不均一性（同じグリコシル化部位内に結合している多数の異なるグリカン構造）を有するもの、および構造の巨視的不均一性（多数のグリカン結合部位およびグリカン結合の型）を有するものである。

20

## 【 0 0 5 5 】

本明細書で用いる場合、用語「類似体」は、構造が別の化合物のものと関連しているが化学的特性および生物学的特性はかなり異なり得る化合物、例えば薬物をいう。

## 【 0 0 5 6 】

本明細書で用いる場合、用語「抗原」は、免疫応答を誘起し得る任意の物質と定義する。

30

## 【 0 0 5 7 】

本明細書で用いる場合、用語「病原体」は、その宿主に疾患または疾病を引き起こす生物学的因子である。身体には、一部の一般的な病原体（ニューモシスチス属など）に対してヒト免疫系の形態の多くの自然防御が含まれている。

## 【 0 0 5 8 】

本明細書で用いる場合、用語「免疫原」は抗原、または抗原の発生を誘導し得る物質、例えばD N Aワクチンをいう。

## 【 0 0 5 9 】

本明細書で用いる場合、用語「免疫原性」は、免疫原、抗原またはワクチンの免疫応答刺激能をいう。

40

## 【 0 0 6 0 】

本明細書で用いる場合、用語「免疫療法」は、予防目的および/または治療目的を達成するために免疫系を調節するという概念に基づいた一連の処置ストラテジーをいう。

## 【 0 0 6 1 】

他の定義

## 【 0 0 6 2 】

用語「処置する」および「処置」は、本明細書で用いる場合、有害な病状、障害または疾患に罹患している臨床症状を有する個体に、症状の重症度および/または頻度の低減がもたらされるように、症状および/またはその根本的原因が解消されるように、および/または損傷の改善もしくは修復が助長されるように薬剤または配合物の投与をいう。用語

50

「予防する」および「予防」は、特定の有害な病状、障害または疾患に易罹患性であり、したがって症状および／またはその根本的原因の発生の予防に関連している臨床症状のない個体への薬剤または組成物の投与をいう。明示的または含蓄的のいずれかで本明細書において特に記載のない限り、用語「処置」（または「処置する」）が、考えられ得る予防に言及せずに使用されている場合、予防も同様に包含されていることを意図する。

【0063】

「任意選択の置換基」または「任意選択で存在させる添加剤」の場合の「任意選択の」または「任意選択で存在させる」は、続いて記載される構成要素（例えば、置換基または添加剤）を存在させても存在させなくてもよいことを意味し、そのため、その記載は、該構成要素が存在する場合と、存在しない場合を包含している。

10

【0064】

「薬学的に許容され得る」により、生物学的またはその他の様式で望ましくないものでない物質を意図し、例えば、該物質は、任意の望ましくない生物学的効果を引き起こすことなく、または投薬形態配合物の任意のその他の成分と有害な様式で相互作用することなく本発明の製剤に組み込まれ得る。しかしながら、用語「薬学的に許容され得る」を医薬用賦形剤をいうために用いる場合、これは、該賦形剤が毒物学的試験および製造試験の所要の基準を満たしたものであること、および／または米食品医薬品局によって作成された *Inactive Ingredient Guide* に含まれたものであることを意味する。後でさらに詳細に説明するように、「薬理学的に活性な」誘導体または類似体の場合の「薬理学的に活性な」（または単に「活性な」）は、親薬剤と同じ型の薬理学的活性を有する誘導体または類似体をいう。

20

【0065】

本明細書で用いる場合、用語「免疫原」は抗原、または抗原の発生を誘導し得る物質、例えばDNAワクチンをいう。

【0066】

本明細書で用いる場合、用語「免疫原性」は、免疫原、抗原またはワクチンの免疫応答刺激能をいう。

【0067】

本明細書で用いる場合、用語「免疫療法」は、予防目的および／または治療目的を達成するために免疫系を調節するという概念に基づいた一連の処置ストラテジーをいう。

30

【0068】

本明細書で用いる場合、用語「サイトカイン」は、免疫応答の強度および持続期間を、免疫細胞の分化過程（通常、前駆細胞が相違する特殊化された細胞型になる遺伝子発現の変化を伴う）に影響を及ぼすことによって調節する数多くの小型の分泌タンパク質のいずれかをいう。サイトカインは、その推定される機能、細胞分泌または作用標的に基づいて、リンホカイン、インターロイキンおよびケモカインのように種々の名称で呼称されている。例えば、一部の一般的なインターロイキンとしては、限定されないがIL-12、IL-18、IL-2、IFN- $\gamma$ 、TNF、IL-4、IL-10、IL-13、IL-21およびTGF- $\beta$ が挙げられる。「サイトカイン」は、別の細胞集団に対しては細胞間メディエータとして作用する一細胞集団によって放出される一群のタンパク質の総称である。かかるサイトカインの例はリンホカイン、モノカインおよび従来からのポリペプチドホルモンである。サイトカインには、インターフェロン（IFN、とりわけIFN- $\alpha$ ）、インターロイキン（IL、とりわけIL-1、IL-2、IL-4、IL-10、IL-12）、コロニー刺激因子（CSF）、トロポポエチン（TPO）、エリスロポエチン（EPO）、白血病阻止因子（LIF）、kit-リガンド、成長ホルモン（GH）、インスリン様増殖因子（IGF）、副甲状腺ホルモン、チロキシン、インスリン、レラキシン、卵胞刺激ホルモン（FSH）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、黄体形成ホルモン（LH）、造血細胞増殖因子、肝細胞増殖因子、線維芽細胞増殖因子（FGF）、プロラクチン、胎盤性ラクタゲン、腫瘍壊死因子（TNF）、ミューラー阻害物質、マウスゴナドトロピン結合ペプチド、インヒビン、アクチビン、血管内皮増殖因子（VEGF）、

40

50

インテグリン、神経成長因子 (NGF)、血小板増殖因子、トランスフォーミング増殖因子 (TGF)、骨誘導因子などが包含される。

#### 【0069】

本明細書で用いる場合、用語「ケモカイン」は、感染部位で放出され、リンパ球の動員および活性化のための手段をもたらす種々の小型の化学走性サイトカインのいずれかをいう。ケモカインは白血球を感染部位に誘引する。ケモカインは保存されたシステイン残基を有し、該残基によりケモカインは4つの群に割り当てられる。該群は、代表的なケモカインとともに、C-Cケモカイン (RANTES、MCP-1、MIP-1 および MIP-1)、C-X-Cケモカイン (IL-8)、Cケモカイン (リンホタクチン)、ならびに CXXXCケモカイン (フラクタルキン) である。

10

#### 【0070】

本明細書で用いる場合、用語「エピトープ」は、抗体の抗原結合部位またはT細胞受容体と接触する抗原分子の一部と定義する。

#### 【0071】

マウスおよび人間における三元複合体の結合アビディティの差をさらに説明するため、コンピュータモデル設計を、それぞれマウスおよびヒトの CD1d - GalCer - iNKT TCR 複合体 (PDB アクセスコード 3HUJ、3QUX、3QUY、3QUZ および 3HE6) の x 線構造に基づいて行なった<sup>27-29</sup>。(27) Borg, N. A.; Wun, K. S.; Kjer-Nielsen, L.; Wilce, M. C.; Pelllicci, D. G.; Koh, R.; Besra, G. S.; Bhargadwaj, M.; Godfrey, D. I.; McCluskey, J.; Rossjohn, J. Nature 2007, 448, 44; (28) Pelllicci, D. G.; Patel, O.; Kjer-Nielsen, L.; Pang, S. S.; Sullivan, L. C.; Kyparissoudis, K.; Brooks, A. G.; Reid, H. H.; Gras, S.; Lucet, I. S.; Koh, R.; Smyth, M. J.; Mallewaey, T.; Matsuda, J. L.; Gapin, L.; McCluskey, J.; Godfrey, D. I.; Rossjohn, J. Immunity 2009, 31, 47; および (29) Aspeslagh, S.; Li, Y.; Yu, E. D.; Pauwels, N.; Trappeniers, M.; Girardi, E.; Decruy, T.; Van Beneden, K.; Venken, K.; Drennan, M.; Leybaert, L.; Wang, J.; Franck, R. W.; Van Calenbergh, S.; Zajonc, D. M.; Elewaut, D. EMBO J. 2011, 30, 2294.

20

30

#### 【0072】

本明細書で用いる場合、用語「ワクチン」は、完全体の疾患原因生物体 (死滅もしくは弱体化したもの) またはかかる生物体の成分、例えばタンパク質、ペプチドもしくは多糖からなり、該生物体が原因の疾患に対して免疫を付与するために使用される抗原を含む調製物をいう。ワクチン調製物は天然のもの、合成のものまたは組換え DNA 技術によって得たものであり得る。

#### 【0073】

本明細書で用いる場合、用語「免疫学的アジュバント」は、免疫原と共に使用され、該免疫原に対する免疫応答を向上または修飾する物質をいう。具体的には、用語「アジュバント」および「イムノアジュバント」は本発明において互換的に用いており、宿主に単独で投与した場合は非免疫原性であり得るが、別の抗原とともに共同的に投与した場合、該抗原に対する宿主の免疫応答を増大させる化合物または混合物をいう。アジュバント媒介性の免疫応答の向上および/またはその持続期間の延長は、当該技術分野で知られた任意の方法によって、例えば限定されないが、以下: (i) 抗原単独での免疫処置に应答して生成される抗体の数に対してアジュバント/抗原の併用での免疫処置に应答して生成される抗体の数の増加; (ii) 抗原またはアジュバントを認識するT細胞の数の増加; および (iii) 1種類またはそれより多くのI型サイトカインのレベルの増大のうちの1つ

40

50

またはそれより多くによって評価され得る。

【0074】

本発明の例示的なアジュバントは、一般式1で表され得る化合物を含むものである。

【0075】

好ましくは、本発明の例示的なアジュバントはヒトにおける使用に薬学的に許容され得るものである。

【0076】

本発明のアジュバントは、抗原を含む医薬組成物もしくはワクチン組成物の一部として、または独立した製剤（これを、抗原を含む第2の組成物とともに共同的に投与してもよい）として投与され得る。このような任意の組成物において、 $\alpha$ -グルコース（ $\alpha$ -Glc）を有するスフィンゴ糖脂質（GSL）は他のアジュバントおよび/または賦形剤/担体と合わされ得る。このような他のアジュバントとしては、限定されないが、油乳剤および乳化剤系アジュバント、例えば、完全フロイントアジュバント、不完全フロイントアジュバント、MF59もしくはSAF；鉱物ゲル、例えば、水酸化アルミニウム（ミョウバン）、リン酸アルミニウムもしくはリン酸カルシウム；微生物により得られるアジュバント、例えば、コレラ毒素（CT）、百日咳毒素、大腸菌熱不安定性毒素（LT）、変異型毒素（例えば、LTK63もしくはLTR72）、カルメット-ゲラン桿菌（BCG）、*Corynebacterium parvum*、DNA CpGモチーフ、ムラミルジペプチド、もしくはモノホスホリル脂質A；微粒状アジュバント、例えば、免疫賦活複合体（ISCOM）、リポソーム、生分解性マイクロスフェア、もしくはサポニン（例えば、QS-21）；サイトカイン、例えば、IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-12もしくはGM-CSF；合成アジュバント、例えば、非イオン性ブロックコポリマー、ムラミルペプチド類似体（例えば、N-アセチル-ムラミル-L-トレオニル-D-イソグルタミン[thr-MDP]、N-アセチル-ノル-ムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン-L-アラニン-2-[1'-2'-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ]-エチルアミン）、ポリホスファゼン、もしくは合成ポリヌクレオチド、および表面活性物質、例えば、リゾレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、炭化水素乳剤、またはスカシガイヘモシアニン（KLH）が挙げられる。好ましくは、このような追加のアジュバントもまた、ヒトにおける使用に薬学的に許容され得るものである。

【0077】

本発明での意味の範囲において、用語「共同的投与または共投与」は、免疫アジュバントと抗原を1つの組成物で同時に投与すること、または異なる組成物で同時に投与すること、または逐次投与することをいうために用いている。しかしながら、「共同的」とみなされる逐次投与では、抗原とアジュバントは、依然として該アジュバントが該抗原に対する免疫応答を増大させることが可能な時間間隔で投与されなければならない。例えば、抗原がポリペプチドである場合、抗原とアジュバントは同じ日に、好ましくは互いに1時間以内に、最も好ましくは同時に投与される。しかしながら、核酸を被験体に送達し、ポリペプチド抗原を該被験体の細胞内で発現させる場合、アジュバントは核酸投与の24時間以内、好ましくは6時間以内に投与される。

【0078】

本明細書で用いる場合、用語「免疫原性の」は、薬剤が体液性または細胞性の免疫応答、好ましくは両方を誘起し得るものであることを意味する。免疫原性の実体は抗原性でもある。免疫原性組成物は、免疫系を有する動物に投与した場合、体液性もしくは細胞性の免疫応答または両方を誘起する組成物である。

【0079】

用語「抗原」は、免疫系を有する宿主、動物またはヒトに導入されると（直接、または例えばDNAワクチンの場合のように発現されると）、宿主の免疫系によって認識され、免疫応答を誘起し得る任意の因子（例えば、タンパク質、ペプチド、多糖、糖タンパク質、糖脂質、核酸またはその組合せ）をいう。本明細書において定義している場合、抗原誘

導性免疫応答は体液性または細胞媒介性または両方であり得る。因子は、免疫系の抗原認識分子、例えば免疫グロブリン（抗体）またはT細胞抗原受容体（TCR）と特異的に相互作用し得る場合、「抗原性」と称される。本発明での意味の範囲において、抗原は好ましくは「表面抗原」、すなわち、病原体の表面上、または感染細胞の表面上、または腫瘍細胞の表面上に天然に発現されるものである。抗原性である分子は、それ自体が免疫原性、すなわち、アジュバントまたは担体なしで免疫応答を誘起し得るものである必要はない。本明細書で用いる場合、用語「抗原特異的」は、特定の抗原または該抗原の断片を共有して細胞の特定の特質をもたらすような細胞集団の特性をいう。

#### 【0080】

用語「エピトープ」または「抗原決定基」は、B細胞もしくはT細胞のいずれか、または両方によって認識される抗原の任意の部分を用いる。好ましくは、かかるエピトープと免疫グロブリン（抗体）の抗原認識部位またはT細胞抗原受容体（TCR）の相互作用により、抗原特異的免疫応答の誘導がもたらされる。T細胞は、タンパク質がより小さいペプチドに切断され、別の細胞の表面上に存在する「主要組織適合複合体（MHC）」と称される複合体に提示された場合にのみ、該タンパク質を認識する。MHC複合体にはクラスIとクラスIIの2つのクラスが存在し、各クラスは多くの異なる対立遺伝子で構成されている。クラスI MHC複合体は事実上、どの細胞上にもみられ、生成タンパク質由来のペプチドを細胞内部に提示する。したがって、クラスI MHC複合体は、ウイルスに感染した細胞または癌遺伝子の発現の結果、がん性になった細胞を死滅させるのに有用である。CD8と称されるタンパク質を表面上に有するT細胞は、T細胞受容体（TCR）を介してMHCクラスI/ペプチド複合体に特異的に結合する。これにより細胞溶解性エフェクター活性がもたらされる。クラスII MHC複合体は抗原提示細胞（APC）上のみにみられ、APCによりエンドサイトーシスを受けた循環病原体に由来するペプチドを提示するために使用される。CD4と称されるタンパク質を有するT細胞は、TCRを介してMHCクラスII/ペプチド複合体に結合する。これにより、免疫応答を刺激する特定のサイトカインの合成がもたらされる。MHCクラスI提示により免疫系によって有効に認識されるためには、抗原性ポリペプチドは少なくとも約8～10個のアミノ酸のエピトープを含むものでなければならず、一方、MHCクラスII提示により免疫系によって有効に認識されるためには、抗原性ポリペプチドは少なくとも約13～25個のアミノ酸のエピトープを含むものでなければならない。例えば、Fundamental Immunology, 第3版, W. E. Paul 編, 1999, Lippincott - Raven Publを参照のこと。

#### 【0081】

用語「種特異的」抗原は、特定の種のみが存在するか、または特定の種のみ由来する抗原を用いる。したがって、用語「マラリア由来」または「マラリア特異的」抗原は、プラスモジウム（前記プラスモジウムは限定されないが、P. falciparum、P. vivax、P. malariae、P. ovale、P. reichenowi、P. knowlesi、P. cynomolgi、P. brasilianum、P. yoelii、P. berghei、またはP. chabaudiである）を構成するタンパク質のいずれか1種類に由来する少なくとも1つのエピトープ（B細胞および/またはT細胞）を含み、少なくとも5～10個のアミノ酸残基を含むものである天然（例えば、放射線照射したスポロゾイト）または合成（例えば、化学的に作製した多抗原ペプチド[MAP]もしくは組換え合成ポリペプチド）の抗原を用いる。抗原作製のための好ましいプラスモジウムタンパク質はサーカムスポロゾイト（CS）タンパク質であるが、他のタンパク質、例えば、トロンボスポンジン関連接着（匿名）タンパク質（TRAP）（スポロゾイト表面タンパク質2（SSP2）とも称される）、LSA-I、hsp70、SALSA、STARP、Hep17、MSA、RAP-1、RAP-2などもまた使用され得る。

#### 【0082】

用語「ワクチン」は、レシピエントにおいて防御免疫を誘起するために使用され得る組成物（例えば、タンパク質またはベクター、例えば、アデノウイルスベクター、シンドビ

10

20

30

40

50

スウイルスベクターもしくはボックスウイルスベクターなど)をいう。有効であるとは、本発明のワクチンが、免疫処置された集団の一部において免疫を誘起するものでよいことに注意されたい。それは、一部の個体では口バストもしくは防御的な免疫応答が現れないか、または一部の場合では全く免疫応答が現れないことがあり得るからである。この不能性は、個体の遺伝的背景が原因であり得るか、あるいは免疫不全状態(後天性もしくは先天性のいずれか)または免疫抑制(例えば、化学療法での処置もしくは例えば、器官拒絶を抑制するため、あるいは自己免疫状態を抑制するための免疫抑制薬の使用のため)によるものであり得る。ワクチンの有効性は動物モデルにおいて確立され得る。

#### 【0083】

用語「DNAワクチン」は正式でない専門用語であり、本明細書では、組換えベクターによって送達されるワクチンをいうために用いている。択一的な、より説明的な用語として本明細書で用いているのは「ベクターワクチン」である(レトロウイルスおよびレンチウイルスなどのいくつかの潜在的ベクターはRNAウイルスであるため、および一部の場合では、DNAではなく非ウイルスRNAがベクターによって細胞に送達されるため)。一般的に、ベクターはインピボで投与されるが、適切な抗原提示細胞(樹状細胞(DC)など)をエキソピボで形質導入し、該形質導入細胞をインピボ投与することもまた想定される。

#### 【0084】

用語「処置する」は本明細書において、被験体の疾患の少なくとも1つの症状を軽減または緩和することを意味するために用いている。本発明での意味の範囲において、用語「処置する」はまた、潜伏期間、すなわち感染から疾患の臨床発現までの期間を長くすることを意味している場合もあり得る。好ましくは、疾患は感染性疾患(例えば、ウイルス性、細菌性、寄生虫性もしくは真菌性)または悪性腫瘍(例えば、充実性もしくは血液の腫瘍、例えば、肉腫、癌、神経膠腫、芽細胞腫、脾臓がん、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、リンパ腫、白血病、黒色腫など)のいずれかである。

#### 【0085】

用語「防御する」は本明細書において、適宜、被験体の疾患の発症または継続を予防もしくは処置すること、または両方を意味するために用いている。本発明での意味の範囲において、疾患は、感染(例えば、ウイルス性、細菌性、寄生虫性もしくは真菌性)および/または悪性腫瘍(例えば、充実性もしくは血液の腫瘍、例えば、肉腫、癌、神経膠腫、芽細胞腫、脾臓がん、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、リンパ腫、白血病、黒色腫など)からなる群より選択され得る。例えば、本発明によれば、腫瘍特異的抗原を式1の例示的な薬剤を含むアジュバントとともに共同的に治療的に投与することにより抗腫瘍免疫応答が向上し、腫瘍の増殖および転移の遅滞、またはさらには腫瘍退縮がもたらされ得る。

#### 【0086】

用語「防御免疫」は、前記抗原の不活化および/またはその負荷量の低減をもたらし、長期持続性の免疫(これは、例えば抗体の生成による後天性である)の発生をもたらし、同じ抗原または関連抗原に反復して曝露されたときに疾患の発症を予防または遅延させる、宿主動物における免疫応答(能動/後天性もしくは受動/先天性のいずれか、または両方)をいう。「防御免疫応答」には、例えば、病原体もしくは感染細胞の負荷量を削減もしくは低減させるため(あるいは感染の任意の他の測定可能な緩和をもたらすため)、または免疫処置された(ワクチン接種された)被験体における全身腫瘍組織量を低減させるために有効な体液性(抗体)免疫または細胞性免疫または両方が包含される。本発明での意味の範囲において、防御免疫は一部性であってもよい。

#### 【0087】

免疫系は、「先天性」または「自然」免疫系と「後天性」または「適応的」免疫系の2つの一般的な系に分類される。先天性免疫系が最初に感染を制御下に維持し、適応免疫系が適切な応答を発現するための時間を許容すると考えられている。最近の研究により、先天性免疫系の種々の構成要素が適応免疫系の構成要素、例えば、抗原特異的BおよびTリンパ球を誘発して増大させることが示唆された(FearonおよびLocksley(

10

20

30

40

50



上掲) ; K o s , 1 9 9 8 , I m m u n o l . R e s . , 1 7 : 3 0 3 ; R o m a g n a n i , 1 9 9 2 , I m m u n o l . T o d a y , 1 3 : 3 7 9 ; B a n c h e r e a u および S t e i n m a n , 1 9 8 8 , N a t u r e , 3 9 2 : 2 4 5 ) 。

【 0 0 8 8 】

用語「先天性免疫」または「自然免疫」は、抗原と事前に接触することによって生じたものでない先天性免疫応答をいう。先天性免疫系の細胞、例えば、マクロファージおよび樹状細胞 ( D C ) は、外来抗原をパターン認識受容体によって取り込み、このような抗原のペプチド断片を M H C クラス I およびクラス II 分子と結合させ、それぞれナイーブ C D 8 <sup>+</sup> および C D 4 <sup>+</sup> T 細胞を刺激する ( B a n c h e r e a u および S t e i n m a n ( 上掲) ; H o l m s k o v a , 1 9 9 4 , I m m u n o l . T o d a y , 1 5 : 6 7 ; U l e v i t c h および T o b i a s , 1 9 9 5 , A n n u . R e v . I m m u n o l . , 1 3 : 4 3 7 ) 。プロフェッショナルな抗原提示細胞 ( A P C ) はこのような T 細胞と連絡して、ナイーブ C D 4 <sup>+</sup> T 細胞を、それぞれ細胞性免疫および体液性免疫を媒介する T - ヘルパー 1 ( T h 1 ) または T - ヘルパー 2 ( T h 2 ) リンパ球に分化させる ( T r i n c h i e r i , 1 9 9 5 , A n n u . R e v . I m m u n o l . , 1 3 : 2 5 1 ; H o w a r d および O ' G a r r a , 1 9 9 2 , I m m u n o l . T o d a y , 1 3 : 1 9 8 ; A b b a s a , 1 9 9 6 , N a t u r e , 3 8 3 : 7 8 7 ; O k a m u r a a , 1 9 9 8 , A d v . I m m u n o l . , 7 0 : 2 8 1 ; M o s m a n n および S a d , 1 9 9 6 , I m m u n o l . T o d a y , 1 7 : 1 3 8 ; O ' G a r r a , 1 9 9 8 , I m m u n i t y , 8 : 2 7 5 ) 。

【 0 0 8 9 】

用語「後天性免疫」または「適応免疫」は本明細書において、動物の一生の間に確立され、誘導抗原に特異的であり、前記抗原に反復して接触したときの応答の向上が著しい能動または受動の体液性または細胞性免疫を意味するために用いている。適応免疫系の T リンパ球の重要な特長は、細胞表面上の M H C 分子によって提示された微量濃度の病原体由来ペプチドを検出する能力である。

【 0 0 9 0 】

本明細書で用いる場合、用語「免疫応答を増大させる」とは、免疫応答を向上させること、もしくはその持続期間を長くすること、または両方を意味する。薬剤 (例えば、アジュバント) の特性に言及している場合、用語「免疫原性を増大させ [ 得 ] る」とは、抗原の免疫原性を向上させる能力もしくは抗原に対する免疫応答の持続期間を長くする能力、または両方をいう。

【 0 0 9 1 】

語句「免疫応答を向上させる」は、本発明での意味の範囲において、所与の抗原に対する免疫反応性の規模および / または効率を増大させる性質またはプロセスをいい、前記免疫反応性は体液性免疫もしくは細胞性免疫のいずれか、または両方である。免疫応答は、抗原特異的免疫反応性の任意の測定可能なパラメータ (例えば、抗体力価、T 細胞の生成) が少なくとも 2 倍、好ましくは 1 0 倍、最も好ましくは 3 0 倍増大した場合、向上したと考える。

【 0 0 9 2 】

用量または量に適用される用語「治療有効 ( な ) 」は、投与すると所望の活性がそれが必要とする哺乳動物にもたらされるのに十分な化合物または医薬組成物またはワクチンの量をいう。アジュバント含有および抗原含有の組成物またはワクチンに関して本明細書で用いる場合、用語「治療有効量 / 用量」は用語「免疫原性有効量 / 用量」と互換的に用いており、哺乳動物に投与したとき有効な免疫応答がもたらされるのに十分な、化合物 (例えば、抗原および / または - グルコース ( - G l c ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( G S L ) を含むアジュバントあるいは医薬組成物またはワクチンの量 / 用量をいう。

【 0 0 9 3 】

語句「薬学的に許容され得る」は、本発明の組成物との関連で用いる場合、かかる組成物の分子実体および他の成分が、ヒトに投与したとき生理学的に耐容可能であり、典型的

には不都合な反応をもたらさないことをいう。好ましくは、本明細書で用いる場合、用語「薬学的に許容され得る」は、連邦政府もしくは州政府の規制機関によって承認されていること、または米薬局方または他の一般的に認知された薬局方に哺乳動物における使用、より特別にはヒトにおける使用に記載されていることを意味する。

【0094】

本発明の医薬組成物またはワクチン組成物に適用される用語「担体」は、化合物（例えば、抗原および/または  $\alpha$ -グルコース ( $\alpha$ -Glc) を有するスフィンゴ糖脂質 (GSL) を含むアジュバント) とともに投与される希釈剤、賦形剤またはビヒクルをいう。かかる医薬用担体は滅菌液状物、例えば水および油、例えば、石油系、動物系、植物系または合成起源のもの、例えばピーナッツ油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油などであり得る。水または水溶液、生理食塩水溶液および水性のデキストロースおよびグリセロールの溶液が担体として、特に注射用液剤に好ましく使用される。好適な医薬用担体は、E. W. Martin による "Remington's Pharmaceutical Sciences" 第18版に記載されている。

【0095】

用語「ネイティブ (native) 抗体」または「免疫グロブリン」は、通常、2つの同一の軽 (L) 鎖と2つの同一の重 (H) 鎖で構成された約150,000ダルトンのヘテロ四量体の糖タンパク質をいう。各軽鎖は重鎖に1つのジスルフィド共有結合によって連結されているが、ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間でさまざまである。また、各重鎖および軽鎖は規則正しい間隔で鎖内ジスルフィド架橋を有する。各重鎖は、一端に可変ドメイン (VH) を有し、続いていくつかの定常ドメインを有する。各軽鎖は一端に可変ドメイン (VL) を有し、他端に定常ドメインを有し；軽鎖の定常ドメインは重鎖の第1の定常ドメインと並んでおり、軽鎖の可変ドメインは重鎖の可変ドメインと並んでいる。特定のアミノ酸残基が軽鎖の可変ドメインと重鎖の可変ドメイン間のインターフェースを形成すると考えられている (Clothiaら, J Mol Biol., 186:651-663, 1985; NovotnyおよびHaber, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:4592-4596, 1985)。

【0096】

用語「抗体」または「Ab」は、最も広い意味で用いており、具体的には、ネイティブ抗体だけでなく、単独のモノクローナル抗体（例えば、アゴニストおよびアンタゴニスト抗体）、多エピトープ特異性を有する抗体組成物、ならびに抗体断片（例えば、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、scFvおよびFv）（所望の生物学的活性を示すものである限り）も包含している。

【0097】

本明細書で用いる場合、用語「CD1d」は、種々のヒト抗原提示細胞の表面上に発現される糖タンパク質のCD1（分化抗原群1）ファミリーの構成員をいう。CD1dに提示された脂質抗原によりナチュラルキラーT細胞が活性化される。CD1dは深い抗原結合溝を有し、この溝内に糖脂質抗原が結合する。樹状細胞上に発現されるCD1d分子は糖脂質に結合して提示し得る。

【0098】

本明細書で用いる場合、用語「適応免疫系」は、病原体による抗原刺激を排除する高度に特殊化された全身の細胞および全身性過程をいう。適応免疫系の細胞は、リンパ球と称される型の白血球である。B細胞とT細胞はリンパ球の主要な型である。

【0099】

本明細書で用いる場合、用語「T細胞」および「T」は、細胞媒介性免疫において中心的な役割を果たすリンパ球として知られる一群の白血球をいう。T細胞は、B細胞およびNKなどの他のリンパ球型とは、細胞表面上のT細胞受容体 (TCR) と称される特殊化された受容体の存在によって区別され得る。T細胞のいくつかの異なるサブセットが報告されており、各々は相違する機能を有する。ヘルパーT (T<sub>H</sub>) 細胞は適応免疫系の「仲

10

20

30

40

50

介者」である。活性化されたら、該細胞は速やかに分裂し、免疫応答を調節または「ヘルプ」するサイトカインと称される小型のタンパク質を分泌する。受け取るサイトカインシグナルに応じて、この細胞は、 $T_H1$ 、 $T_H2$ 、 $T_H17$ または他のサブセットの1つに分化し、これらは異なるサイトカインを分泌する。

#### 【0100】

本明細書で用いる場合、用語「抗原提示細胞」(APC)は、その表面上に、主要組織適合複合体(MHC)と複合体形成した外来抗原をディスプレイする細胞をいう。T細胞はこの複合体を、自身のTCRを用いて認識し得る。APCは2つのカテゴリー：プロフェッショナルまたは非プロフェッショナルに分類される。樹状細胞(DC)はプロフェッショナルカテゴリーに分類され、CD1との関連においてT細胞に抗原を提示し得る。例示的な実施において、本開示の方法で使用されるDCは、実施の一例ではリンパ球系から、または別の実施では骨髄系の骨髄前駆細胞から分化するいくつかのDCサブセットの任意のものであり得る。

10

#### 【0101】

本明細書で用いる場合、用語「ナイーブ細胞」は、まだ特定の病原体を認識するように特殊化されていない未分化の免疫系細胞(例えばCD4 T細胞)をいう。

#### 【0102】

本明細書で用いる場合、用語「ナチュラルキラー細胞」および「NK」は、インターフェロンによって活性化されてウイルスおよび他の細胞内病原体に対する宿主の先天性防御に寄与する一類型のリンパ球系細胞をいう。

20

#### 【0103】

本明細書で用いる場合、用語「ナチュラルキラーT細胞」(NKT)は、慣用的なTおよびNKの両方と特徴/受容体を共有しているT細胞のサブセットをいう。このような細胞の多くは、自己および外来の脂質および糖脂質に結合する抗原提示分子である非多型性CD1d分子を認識する。NKTのTCRは、CD1d分子によって提示された(シャペロン型)糖脂質抗原を認識し得る。NKTの主な応答は、刺激後のサイトカイン(例えば、IL-4、IFN- およびIL-10)の速やかな分泌であり、したがって多様な免疫応答および病原性過程に影響を及ぼす。NKTは均一な集団または不均一な集団であり得る。例示的な実施の一例では、該集団は「非インバリアントNKT」であり得、これはヒトおよびマウスの骨髄またはヒト肝臓のT細胞集団を含むものであり得、該T細胞集団は、例えば、多様なTCRを発現し、また大量のIL-4およびIFN- も産生し得るCD1d反応性非インバリアントT細胞である。CD1d依存性NKTの最もよく知られたサブセットはインバリアントTCR-アルファ(TCR- )鎖を発現するものである。このようなものは、I型またはインバリアントNKT(iNKT)と称される。このような細胞はヒト(V24i NKT)とマウス(V14i NKT)間で保存されており、多くの免疫学的プロセスに関与している。

30

#### 【0104】

本明細書で用いる場合、用語「サイトカイン」は、免疫応答の強度および持続期間を、免疫細胞の分化過程(通常、前駆細胞が相違する特殊化された細胞型になる遺伝子発現の変化を伴う)に影響を及ぼすことによって調節する数多くの小型の分泌タンパク質のいずれかをいう。サイトカインは、その推定される機能、細胞分泌または作用標的に基づいて、リンホカイン、インターロイキンおよびケモカインのように種々の名称で呼称されている。例えば、一部の一般的なインターロイキンとしては、限定されないがIL-12、IL-18、IL-2、IFN- 、TNF、IL-4、IL-10、IL-13、IL-21およびTGF- が挙げられる。

40

#### 【0105】

本明細書で用いる場合、用語「ケモカイン」は、感染部位で放出され、リンパ球の動員および活性化のための手段をもたらす種々の小型の化学走性サイトカインのいずれかをいう。ケモカインは白血球を感染部位に誘引する。ケモカインは保存されたシステイン残基を有し、該残基によりケモカインは4つの群に割り当てられる。該群は、代表的なケモカ

50

インとともに、C - C ケモカイン ( R A N T E S、M C P - 1、M I P - 1 および M I P - 1 )、C - X - C ケモカイン ( I L - 8 )、C ケモカイン ( リンホタクチン)、ならびに C X X X C ケモカイン ( フラクタルキン) である。

【 0 1 0 6 】

本明細書で用いる場合、用語「 $T_H$  2 型応答」は、特定の型のサイトカイン、インターフェロン、ケモカインが生成されるようなサイトカインの発現パターンをいう。典型的な  $T_H$  2 サイトカインとしては、限定されないが、I L - 4、I L - 5、I L - 6 および I L - 1 0 が挙げられる。

【 0 1 0 7 】

本明細書で用いる場合、用語「 $T_H$  1 型応答」は、特定の型のサイトカイン、インターフェロン、ケモカインが生成されるようなサイトカインの発現パターンをいう。典型的な  $T_H$  1 サイトカインとしては、限定されないが、I L - 2、I F N - 、G M - C S F および T N F - が挙げられる。

【 0 1 0 8 】

本明細書で用いる場合、用語「 $T_H$  1 偏向型」は、 $T_H$  1 サイトカインおよび / またはケモカインの生成が  $T_H$  2 サイトカインおよび / またはケモカインの生成よりも大きくなる程度まで増大する免疫原性応答をいう。

【 0 1 0 9 】

本明細書で用いる場合、用語「抗菌 ( の ) 」は、物質が細菌、真菌またはウイルスなどの微生物を死滅させるか、またはその増殖を抑止するものであることをいう。

【 0 1 1 0 】

本明細書で用いる場合、用語「トキソイド」は、毒性が化学薬品 ( ホルマリン ) または熱処理のいずれかによって弱毒化または抑制されているが、他の特性、典型的には免疫原性は維持されている細菌毒素をいう。トキソイドは、元の毒素に対して免疫応答を誘導するため、または別の抗原に対する応答を増大させるためワクチンに使用される。例えば、破傷風トキソイドは、*C l o s t r i d i u m t e t a n i* によって生成され、破傷風を引き起こすテタノスパスミンから誘導される。破傷風トキソイドは、米国内の多くの血漿センター ( p l a s m a c e n t e r ) で血漿高含有ワクチンの開発のために使用されている。

【 0 1 1 1 】

本明細書で用いる場合、用語「DNA ワクチン」は、細胞内に導入され、その後、特異的抗原性タンパク質に翻訳される DNA 構築物をいう。

【 0 1 1 2 】

本明細書で用いる場合、用語「プラスミド」は、複製能を有する環状の染色体外 DNA をいい、これはクローニングベクターとして使用され得る。

【 0 1 1 3 】

本明細書で用いる場合、用語「微生物 ( “ m i c r o o r g a n i s m ” および “ m i c r o b e ” ) 」は、微視的 ( 小さすぎてヒトの裸眼では見えない ) 生物体をいう。微生物は信じられないほど多様であり、限定されないが細菌および真菌が挙げられる。

【 0 1 1 4 】

本明細書で用いる場合、用語「アジュバントまたは免疫学的アジュバント」は、免疫原とともに使用され、該免疫原に対する免疫応答を向上または修飾する物質をいう。本開示の例示的な化合物 / 類似体の一例では、ワクチンを投与された患者の免疫系を刺激することによりワクチンの効果を修飾または増大させるための免疫学的アジュバントとして、該ワクチンに対してより強力に応答させるために使用される。

【 0 1 1 5 】

本明細書で用いる場合、用語「ミョウバンアジュバント」は免疫アジュバント活性を有するアルミニウム塩をいう。この薬剤は溶液中でタンパク質抗原を吸着して沈殿させるものである ; 生じた沈殿物により、接種部位に形成されたワクチン貯留部からの抗原の低速放出が助長されることによってワクチンの免疫原性が改善される。

10

20

30

40

50

## 【0116】

本明細書で用いる場合、用語「抗腫瘍免疫療法活性薬剤」は、腫瘍を抑止、低減および/または消失させる本開示の例示的な化合物/類似体をいう。

## 【0117】

本明細書で用いる場合、用語「顆粒球 - マクロファージコロニー刺激因子」(GM-CSF)は、白血球、特に顆粒球(好中球、好塩基球および好酸球)、マクロファージ、ならびに骨髄中において血小板の前駆細胞である細胞の生成を刺激するコロニー刺激因子としての機能を果たすサイトカインをいう。

## 【0118】

本明細書で用いる場合、用語「抗原特異的」は、特定の抗原または該抗原の断片の供給により特異的な細胞増殖がもたらされるような細胞集団の特性をいう。

10

## 【0119】

本明細書で用いる場合、用語「フローサイトメトリー」または「FACS」は、流体流中に懸濁させた粒子または細胞の物理的および化学的特性を光学的および電子的検出デバイスによって調べるための手法を意味する。

## 【0120】

ペプチドのアミノ酸残基は、以下、本明細書において以下のとおりに略記するものとする: P フェニルアラニンはPheまたはFであり; ロイシンはLeuまたはLであり; イソロイシンはIleまたはIであり; メチオニンはMetまたはMであり; バリンはValまたはVであり; セリンはSerまたはSであり; プロリンはProまたはPであり; トレオニン ThrまたはTであり; アラニン AlaまたはAであり; チロシン TyrまたはYであり; ヒスチジン HisまたはHであり; グルタミン GluまたはQであり; アスパラギン AsnまたはNであり; リシン LysまたはKであり; アスパラギン酸 AspまたはDであり; グルタミン酸 GluまたはEであり; システイン CysまたはCであり; トリプトファン TrpまたはWであり; アルギニン ArgまたはRであり; グリシン GlyまたはGである。アミノ酸のさらなる説明については、Creighton, T. E. による *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., New York 1983を参照されたい。

20

## 【0121】

哺乳動物および抗酸菌の脂質は、ヒトCD1a、CD1b、CD1cおよびCD1dによって提示されることが知られている。海綿 *Agellasmauritianus* にみられる脂質である - ガラクトシルセラミドは最も広く研究されているCD1dのリガンドである。 - GalCerによるマウス脾臓細胞のインビトロ刺激により、NKTの増殖ならびにそれぞれ $T_H1$ 型応答および $T_H2$ 型応答であるIFN- およびIL-4の両方の生成がもたらされることが示されている。マウス試験では、 - GalCerを有する未成熟樹状細胞(iDC)によって細胞が速やかに活性化され得ること、および活性化されたiNKTがさらにDCの完全な成熟を誘導し得ることが示されている。

30

## 【0122】

- グルコース( - Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)を含むアジュバントの使用

40

## 【0123】

一態様において、本発明により、哺乳動物において抗原の免疫原性を増大させるための方法であって、前記抗原を、式1の - グルコース( - Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)を含むアジュバント組成物とともに共同的に投与することを含む方法を提供する。本発明によれば、 - グルコース( - Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)をアジュバントとして使用することにより、抗原によって誘導される防御免疫の向上および/またはその持続期間の延長がもたらされる。例えば、本明細書に開示するように、 - グルコース( - Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)と、腫瘍抗原もしくはウイルス抗原のT細胞もしくはB細胞エピトープに相当するペプチドまたはこ

50

のような抗原を発現するDNA構築物との共同的投与により、抗原特異的免疫応答が向上する。

【0124】

本発明の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) 含有アジュバントは任意の抗原と、特に、感染因子または腫瘍に由来する抗原と共同的に投与され得る。

【0125】

マウスおよびヒトにおける免疫刺激効果はどちらも、CD1d分子の発現に依存し得、NK T細胞によって媒介される。実際、本発明では、アジュバント活性は、少なくとも一部において、NK T媒介性の抗原特異的Th1型T細胞応答およびCD8+ T細胞 (またはTc) 応答を向上および/または長引かせること能力によるものであることが示されている。

【0126】

免疫療法の観点から、NK T細胞系の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) による活性化は、その他の機構と比べて相違する利点を有するようであり、それは以下の理由のためである：(a) 活性化NK T細胞の細胞傷害性レベルが非常に高く、多種多様な腫瘍細胞または感染細胞に対して有効である；(b) - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) によるNK T細胞の活性化は、個体間で単型であるCD1d分子に完全に依存性であり (Porcellini, Adv. Immunol., 59: 1-98, 1995)、 - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) 含有アジュバントが、MHCのハプロタイプに関係なく、すべての患者に利用され得ることを示す；(c) ヒト患者のDCおよびNK Tの活性化の抗原提示機能は、免疫療法の前に、V14 NK T細胞状態をインジケータとして使用し、マウスにおけるインビボアッセイによって評価され得る。

【0127】

本発明によれば、式1の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) を含むアジュバントと抗原は、2つの別々の製剤として、または同じ組成物の一部としてのいずれかで投与され得る。別々に投与される場合、アジュバントと抗原は逐次または同時のいずれかで投与され得る。本明細書に開示しているように、 - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) アジュバントと抗原の同時投与が好ましく、一般的に、最も効率的な免疫刺激を得ることが可能になる。

【0128】

本発明の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) アジュバントは、その免疫賦活活性を、複数の異なる抗原との組合せで発揮するものであるため、したがって予防適用および治療適用の両方に有用である。したがって、さらなる一態様において、本発明により、哺乳動物の疾患を処置するための予防方法および/または治療方法であって、前記哺乳動物に、抗原と、式1の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) を含むアジュバントを共同的に投与することを含む方法を提供する。この方法は、例えば、種々の感染に対する防御および/または種々の感染の処置ならびに種々の新生物性疾患の処置に有用であり得る。

【0129】

本発明の免疫原性向上方法は感染に対処するために使用され得、感染としては、限定されないが、寄生虫感染 (例えば、プラスモジウム属の種によって引き起こされるものなど)、ウイルス感染 (例えば、インフルエンザウイルス、白血病ウイルス、免疫不全ウイルス (HIVなど)、乳頭腫ウイルス、ヘルペスウイルス、肝炎ウイルス、麻疹ウイルス、ポックスウイルス、ムンプスウイルス、サイトメガロウイルス [CMV]、エプスタイン - バーウイルスによって引き起こされるものなど)、細菌感染 (例えば、ブドウ球菌、連鎖球菌、肺炎球菌、淋菌、ボレリア属、シュドモナス属によって引き起こされるものなど)、および真菌感染 (例えば、カンジダ、白癬菌、ピティロスポリウムによって引き起こされるものなど) が挙げられる。

## 【0130】

本発明の方法はまた、種々のがんの処置にも有用であり、がんとしては、限定されないが、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵臓がん、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、リンパ腫、白血病、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭状癌、乳頭腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸がん、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣細胞腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、および網膜芽細胞腫が挙げられる。

10

## 【0131】

本明細書においてさらに開示するように、本発明の免疫原性向上方法の最大効率、抗原と、 $\alpha$ -グルコース( $\alpha$ -Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)アジュバントを同時に投与した場合に得られる。

## 【0132】

本発明の方法は他の処置と共に使用され得る。例えば、腫瘍特異的抗原と本発明の $\alpha$ -グルコース( $\alpha$ -Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)含有アジュバントを使用する抗がん処置は、化学療法および/または放射線療法および/またはIL-12処置と併用して使用され得る。 $\alpha$ -グルコース( $\alpha$ -Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)含有アジュバントを含む抗ウイルスワクチンはIFN- $\gamma$ 処置と併用して使用され得る。

20

## 【0133】

$\alpha$ -グルコース( $\alpha$ -Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)を含有している医薬組成物およびワクチン組成物

## 【0134】

本発明の方法との関連において、免疫原性有効量の抗原および $\alpha$ -グルコース( $\alpha$ -Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)を含む免疫原性有効量のアジュバントならびに、任意選択でさらなる免疫賦活薬、担体または賦形剤(好ましくは、すべて、薬学的に許容され得るもの)を含む医薬組成物およびワクチン組成物も提供する。前記抗原とアジュバントは、単一の組成物として製剤化されたもの、または2つの別々の組成物(これは同時もしくは逐次投与され得る)として製剤化されたもののいずれかであり得る。

30

## 【0135】

本発明のアジュバントは、スフィンゴ糖脂質の類型、具体的には $\alpha$ -グルコース( $\alpha$ -Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)の類型に属する化合物を含むものであり、該化合物は一般式1で表され得るものである：

## 【0136】

本発明の免疫原性(例えば、ワクチン)組成物に使用される抗原は、真核生物細胞(例えば、腫瘍、寄生虫、真菌)、細菌細胞、ウイルス粒子、またはその任意の一部分(例えば、弱毒化されたウイルス粒子もしくはウイルス成分)に由来するものであり得る。免疫原性応答が指令される物質の抗原性が不十分である場合、該物質は、さらにアルブミンまたはハプテンなどの担体分子に標準的な共有結合手法を用いて、例えば、いくつかの市販の試薬キットの1つを用いてコンジュゲートされ得る。

40

## 【0137】

本発明の好ましい腫瘍抗原の例としては、腫瘍特異的タンパク質、例えば、ErbbB受容体、メラニンA[MART1]、gp100、チロシナーゼ、TRP-1/gp75およびTRP-2(黒色腫のもの)；MAGE-1およびMAGE-3(膀胱癌、頭頸部癌および非小細胞癌のもの)；HPV E6およびE7タンパク質(子宮頸がんのもの)；ムチン[MUC-1](乳がん、膵臓がん、結腸がんおよび前立腺がんのもの)；前立腺特異的抗原[PSA](前立腺がんのもの)；癌胎児性抗原[CEA](結腸がん、乳がん、および消化管がんのもの)ならびにMAGE-2、MAGE-4、MAGE-6、M

50

AGE - 10、MAGE - 12、BAGE - 1、CAGE - 1, 2, 8、CAGE - 3 ~ 7、LAGE - 1、NY - ESO - 1 / LAGE - 2、NA - 88、GnTVおよびTRP2 - INT2などの共有された腫瘍特異的抗原が挙げられる。対象の抗原は任意の動物またはヒトの病原体または腫瘍から誘導され得るため、前述の抗原の列挙は例示的であることを意図している

【0138】

具体的な一実施形態では、本発明の抗原は、前記抗原を発現する組換えウイルスによって提示され得るものである。好ましくは、ウイルスは、組換えアデノウイルス、組換えポックスウイルスおよび組換えシンドビスウイルスからなる群より選択される。

【0139】

開示した組成物中、抗原および - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) アジュバントはどちらも免疫原性有効量で存在させる。具体的な各抗原に対して、最適な免疫原性有効量は、実験により ( 所与の患者の具体的な特徴および / または処置の型を考慮して ) 決定するのがよい。一般的に、この量は、体重 1 kg あたり抗原が 0 . 1 μg ~ 100 mg の範囲である。本発明の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) アジュバントの場合は、最適な免疫原性有効量は、好ましくは体重 1 kg あたりアジュバントが 10 ~ 100 μg の範囲である。

【0140】

また、本発明により、少なくとも1種類の抗原と式1の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) を含むアジュバントとを含むワクチン組成物の調製方法を提供し、前記方法は、該アジュバントと該抗原、ならびに任意選択で1種類またはそれより多くの生理学的に許容され得る担体および / または賦形剤および / または補助物質を混合することを含むものである。

【0141】

製剤および投与

【0142】

本発明により、本発明の治療薬 ( 単一の組成物または2つの別々の組成物 ( これは同時もしくは逐次投与され得る ) のいずれかとしての抗原および - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) アジュバント ) を含有している医薬製剤およびワクチン製剤を提供し、該製剤は、上記の感染性または新生物性疾患の処置および予防のための抗原特異的防御免疫応答を誘起させるための投与に適したものである。本発明の組成物は任意の慣用的な様式で、1種類またはそれより多くの生理学的に許容され得る担体または賦形剤を用いて製剤化され得る。したがって、抗原および / または式1の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) を含むアジュバントは、経皮送達または経粘膜投与、例えば限定されないが、経口、口腔内、鼻腔内、経眼、経膈、経直腸、脳内、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮膚切除 ( 例えば、バイファケイテッドニードルを用いて皮膚の表層を引っ掻くこと ) による皮下経路、吸入 ( 経肺 ) あるいは吹送 ( 口から、もしくは鼻からのいずれか ) による投与のため、または抗原提示細胞へのエキソビボ投与の後、被験体への該細胞の投与のため、または任意の他の標準的な経路での免疫処置のために製剤化され得る。

【0143】

好ましくは、本発明の免疫原性製剤は、非経口で、すなわち、静脈内 ( i . v . ) 、皮下 ( s . c . ) 、腹腔内 ( i . p . ) 、筋肉内 ( i . m . ) 、真皮下 ( s . d . ) もしくは皮内 ( i . d . ) 投与、直接注射 ( 例えば、ボーラス注射、連続輸注により ) 、または遺伝子銃 ( 例えば、ベクターワクチン ( ネイキッドDNAもしくはRNAなど ) を被験体に投与するため ) によって送達され得る。注射用の製剤は単位投薬形態で、例えばアンプルまたは反復用量容器内に、保存料を添加して提示され得る。該組成物は、油性または水性ビヒクル中の賦形剤、懸濁剤、液剤または乳剤などの形態であり得、製剤化薬剤、例えば、懸濁化剤、安定剤および / または分散剤が含有され得る。あるいはまた、活性成分は、使用前に適当なビヒクル、例えば滅菌パイロジェンフリー水で再構成するための粉末形

10

20

30

40

50



態であってもよい。

【0144】

また、本発明では種々の粘膜ワクチン接種ストラテジーが想定される。ワクチンの局所送達によって粘膜が標的化され得るが、免疫原性組成物を粘膜に送達するための種々のストラテジーが使用されている。例えば、具体的な一実施形態では、免疫原性ポリペプチドまたはベクターワクチンは、コレラ毒素、例えばコレラ毒素Bまたはコレラ毒素A/Bキメラと混合物された状態で、または該毒素とのコンジュゲートもしくはキメラ融合タンパク質として投与され得る（例えば、Hajishengallis, J Immunol., 154:4322-32, 1995; JoblingおよびHolmes, Infect Immun., 60:4915-24, 1992; LebensおよびHolmgren, Dev Biol Stand 82:215-27, 1994参照）。別の実施形態では、易熱性エンテロトキシン（LT）との混合物が粘膜ワクチン接種用に調製され得る。他の粘膜免疫処置ストラテジーとしては、マイクロカプセル内への免疫原の封入（例えば、米国特許第5,075,109号；同第5,820,883号および同第5,853,763号参照）ならびに免疫増強性膜質担体の使用（例えば、PCT出願番号WO98/0558参照）が挙げられる。経口投与される免疫原の免疫原性は、赤血球（rbc）またはrbcゴーストを使用すること（例えば、米国特許第5,643,577号参照）、またはブルータンク抗原を使用すること（例えば、米国特許第5,690,938号参照）により向上させることができる。また、標的化対象免疫原の全身投与によっても粘膜免疫処置が施され得る（米国特許第5,518,725号参照）。また、粘膜組織内で発現させるための遺伝子を送達する種々のストラテジー、例えば、キメラライノウイルス（例えば、米国特許第5,714,374号参照）、アデノウイルス、ワクシニアウイルスの使用、または核酸の特異的標的化（例えば、PCT出願番号WO97/05267参照）が使用され得る。

【0145】

経口投与のためには、本発明の製剤は慣用的な手段により、薬学的に許容され得る賦形剤、例えば、結合剤（例えば、アルファー化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンもしくはヒドロキシプロピルメチルセルロース）；充填剤（例えば、ラクトース、微晶質セルロースもしくはリン酸水素カルシウム）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルクもしくはシリカ）；崩壊剤（例えば、イモデンプンもしくはデンプングリコール酸ナトリウム）；または湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）を用いて調製される、例えば錠剤またはカプセル剤の形態であり得る。錠剤を当該技術分野でよく知られた方法によってコーティングしてもよい。また、本発明の組成物を、例えばポリグリコール酸/乳酸（PGA）で製作されたミクロスフェアまたはマイクロカプセル内に導入してもよい（米国特許第5,814,344号；同第5,100,669号および同第4,849,222号；PCT公開公報番号WO95/11010およびWO93/07861参照）。経口投与のための液状調製物は、例えば、液剤、シロップ剤、乳剤もしくは懸濁剤の形態であり得るか、または使用前に水または他の適当なビヒクルで再構成するための乾燥製剤品として提示され得る。かかる液状調製物は慣用的な手段により、薬学的に許容され得る添加剤、例えば、懸濁化剤（例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体または水添食用脂）；乳化剤（例えば、レシチンまたはアカシア）；非水性ビヒクル（例えば、アーモンド油、油性エステル、エチルアルコールまたは分別植物油）；および保存料（例えば、メチルもしくはプロピル-p-ヒドロキシベンゾエートまたはソルビン酸）を用いて調製され得る。また、該調製物に適宜、バッファー塩、フレーバー剤、着色剤および甘味剤を含有させてもよい。経口投与のための調製物は、活性化合物の制御放出がもたらされるように好適に製剤化され得る。

【0146】

吸入による投与のためには、本発明による治療薬は、加圧パックまたはネブライザーからのエアロゾルスプレー提示の形態で、適当な噴射剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他

10

20

30

40

50

の適当なガスの使用を伴って簡便に送達され得る。加圧エーロゾル剤の場合、投薬単位は、定量を送達するための弁を設けることにより決定され得る。吸入器または吹送器における使用のための例えばゼラチン製のカプセル剤およびカートリッジは、該化合物と適当な粉末基剤（ラクトースもしくはデンプンなど）の粉末ミックスを含有させて製剤化され得る。

【0147】

また、本発明の組成物は、例えば、慣用的な坐剤基剤（ココアバターまたは他のグリセリドなど）を含有させた坐剤または停留注腸剤などの経直腸組成物に製剤化され得る。

【0148】

また、先に記載の製剤の他に、該組成物をデポー調製物として製剤化してもよい。かかる長期持続性製剤は、埋め込み（例えば、皮下もしくは筋肉内）または筋肉内注射によって投与され得る。したがって、例えば、該化合物は、適当な高分子物質もしくは疎水性物質を用いて（例えば、許容され得る油中の乳剤として）、またはイオン交換樹脂を用いて、あるいは難溶性誘導体として（例えば、難溶性塩として）製剤化され得る。

【0149】

本明細書に開示しているように、抗原および/または - グルコース（ - Glc ）を有するスフィンゴ糖脂質（GSL）アジュバントは、薬学的に許容され得、活性成分と適合性である賦形剤と混合され得る。好適な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、緩衝生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノール、滅菌等張性水性バッファーなど、およびその組合せである。また、所望により、該調製物にはまた、医薬組成物またはワクチンの有効性を向上させる少量の補助物質、例えば、湿潤剤もしくは乳化剤、pH緩衝剤および/または免疫賦活薬（例えば、 - グルコース（ - Glc ）を有するスフィンゴ糖脂質（GSL）に加えて別のアジュバント）を含めてもよい。本発明の組成物の有効性を向上させ得るさらなる免疫賦活薬の非非限定的な例としては、免疫賦活性の免疫増強性または炎症誘発性サイトカイン、リンホカインもしくはケモカインまたはこれらをコードしている核酸が挙げられる（具体例としては、インターロイキン（IL） - 1、IL - 2、IL - 3、IL - 4、IL - 12、IL - 13、顆粒球 - マクロファージ（GM）コロニー刺激因子（CSF）および他のコロニー刺激因子、マクロファージ炎症性因子、Flt3リガンドが挙げられ、免疫賦活性サイトカインのさらなる例は、タイトル「定義」のセクションを参照のこと）。このようなさらなる免疫賦活分子は、タンパク質として、または該分子の発現をコードしているベクターの発現によって全身もしくは局所に送達され得る。抗原と - グルコース（ - Glc ）を有するスフィンゴ糖脂質（GSL）アジュバントの送達のための上記の手法はまた、さらなる免疫賦活分子の送達にも使用され得る。

【0150】

また、本発明により、本発明の免疫原性製剤の成分のうちの1種類またはそれより多くが充填された1つまたはそれより多くの容器を備えた医薬パックまたはキットを提供する。関連する一実施形態において、本発明により、少なくとも1種類の抗原および - グルコース（ - Glc ）を有するスフィンゴ糖脂質（GSL）含有アジュバントを含む医薬組成物またはワクチン組成物の調製のためのキットを提供し、前記キットは、第1の容器に該抗原、および第2の容器に該アジュバント、ならびに任意選択で、該抗原と該アジュバントを混合するため、および/または該組成物の投与のための使用説明書を備えたものである。また、キットの各容器に任意選択で、1種類またはそれより多くの生理学的に許容され得る担体および/または賦形剤および/または補助物質を含めてもよい。かかる容器（1つまたは複数）に、医薬品または生物製剤品の製造、使用または販売を規制する政府機関によって定められたフォームの通知書を随伴させてもよく、該通知書は、ヒト投与に対する製造、使用または販売の該機関による承認が反映されている。

【0151】

該組成物は、所望により、活性成分（すなわち、抗原および/または - グルコース（ - Glc ）を有するスフィンゴ糖脂質（GSL）含有アジュバント）を含有させた1つ

またはそれより多くの単位投薬形態を含むものであり得るパックまたはディスペンサーデバイスで提示してもよい。パックは、例えば、金属またはプラスチックのホイルを備えたもの、例えばブリスターパックであり得る。パックまたはディスペンサーデバイスに投与のための使用説明書を付随させてもよい。また、適合性のある医薬用担体中に製剤化した本発明の組成物を調製し、適切な容器内に入れ、適応病状の処置のためにラベル表示してもよい。

#### 【0152】

有効用量および安全性評価

#### 【0153】

本発明の方法によれば、本明細書に記載の医薬組成物およびワクチン組成物は患者に免疫原性有効用量で、好ましくは毒性は最小限で投与される。タイトル「定義」のセクションに記載のように、開示した製剤の「免疫原性有効用量」または「治療有効用量」は、有効な免疫応答が処置対象被験体においてもたらされるのに充分であり、したがって健康面の有益性が前記被験体にもたらされるのに十分な抗原および/または - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) アジュバントの量をいう。

#### 【0154】

当該技術分野で十分に確立された方法論 (例えば、生物製剤評価センター ( Center for Biological Evaluation ) (米食品医薬品局) と米国立アレルギー・感染症研究所の共同作業における新規なアジュバントを含有するいくつかのワクチン製剤の評価に関する報告 [ Golden thal r , National Cooperative Vaccine Development Working Group . AIDS Res . Hum . Retroviruses , 1993 , 9 : 545 - 9 ] 参照) に従い、本発明の化合物および組成物の有効用量および毒性はまず、小動物モデル (例えば、マウス) を用いた前臨床試験において決定され、小動物モデルは、抗原および - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) 含有アジュバントの両方が免疫原性であることがわかっており、ヒト臨床試験に提案されるものと同じ経路によって再現可能に免疫処置され得るものである。具体的には、本発明の方法に使用される任意の医薬組成物またはワクチンについて、治療有効用量は、最初に動物モデルから、 $IC_{50}$  (すなわち、症状の最大阻害の半分が達成される試験化合物濃度) を含む循環血漿濃度範囲が得られるように推定され得る。次いで、動物系で作成した用量応答曲線を用いて、ヒトでの最初の臨床試験のための試験用量を決定する。各組成物の安全性の測定において、免疫処置の用量および頻度は、臨床試験における使用に予測されるものに应じたもの、あるいはそれを超えるものであるのがよい。

#### 【0155】

本明細書に開示しているように、本発明の組成物中の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL )、抗原 ( 1 種類または複数種 ) および他の成分の用量は、連続的または断続的に投与される用量が、試験動物での結果および患者の個々の病状を考慮した一定量を超えないことが確実にするように決定される。具体的な用量は、当然、投薬手順、患者または被験体動物の条件、例えば、年齢、体重、性別、感受性、食事、投薬期間、併用薬物、疾患の重篤度に応じて異なる。ある条件下における適切な用量および投薬期間は、上記の指標に基づいた試験によって決定され得、医師の判断および各患者の状況に応じて標準的な臨床手法に従って決定されるのがよい。これとの関連において、抗原の用量は一般的に  $0.1 \mu g \sim 100 mg / kg$  体重の範囲であり、該抗原に対する免疫応答を増大させるのに必要とされる - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) アジュバントの用量は一般的に  $10 \sim 100 \mu g / kg$  体重の範囲である。

#### 【0156】

本発明の - グルコース ( - Glc ) を有するスフィンゴ糖脂質 ( GSL ) 含有免疫原性組成物の毒性および治療有効性は、標準的な製薬手順により実験動物において、例えば、 $LD_{50}$  (集団の 50 % に対して致死性の用量) および  $ED_{50}$  (集団の 50 % にお

10

20

30

40

50

いて治療有効な用量)を測定することにより測定され得る。毒性効果と治療効果の用量比は治療指数であり、 $LD_{50}/ED_{50}$ 比で表示され得る。大きな治療指数を示す組成物が好ましい。毒性副作用を示す治療薬が使用される場合があり得るが(例えば、重度形態のがんまたは生命を脅かす感染を処置する場合)、他の組織および器官に対する潜在的ダメージを最小限にし、それにより副作用を低減させるために、かかる免疫原性組成物を特定の部位(例えば、免疫応答、腫瘍または感染因子の器官補助型複製を媒介するリンパ球系組織)に標的化させる送達系が設計されるように注意を払うべきである。本明細書に開示しているように(背景のセクションおよび実施例も参照のこと)、本発明の $\alpha$ -グルコース( $\alpha$ -Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)アジュバントは、比較的低用量(例えば、 $10 \sim 100 \mu g$ のアジュバント/kg体重)で高度に免疫刺激性であるだけでなく、低毒性を有し、有意な副作用をもたらさないものである。

10

#### 【0157】

上記に明示したように、動物試験で得られたデータはヒトにおける使用のための投薬量範囲を設定するのに使用され得る。ヒトにおける本発明の $\alpha$ -グルコース( $\alpha$ -Glc)を有するスフィンゴ糖脂質(GSL)含有組成物の治療有効投薬量は、好ましくは、 $ED_{50}$ が含まれ、毒性がほとんどまたはまったくない循環濃度範囲内である。該投薬量はこの範囲内で、使用される投薬形態および使用される投与経路に応じて異なり得る。理想的には、単回用量を使用するのがよい。

#### 【0158】

化学構造に関する定義 具体的な官能基および化学用語の定義を以下にさらに詳細に記載する。化学元素は、Periodic Table of the Elements, CAS式, Handbook of Chemistry and Physics, 第75版(中表紙)に従って特定されるものであり、具体的な官能基は、これに記載されたとおり一般的に定義している。さらに、有機化学の一般原則ならびに具体的な官能性部分および反応性は、Thomas Sorrell, Organic Chemistry, University Science Books, Sausalito, 1999; SmithおよびMarch, March's Advanced Organic Chemistry, 第5版, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., New York, 1989;ならびにCarruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 第3版, Cambridge University Press, Cambridge, 1987に記載されている。

20

30

#### 【0159】

本明細書に記載の化合物は、1つまたはそれより多くの不斉中心を含み、したがって種々の異性体形態で、例えば、エナンチオマーおよび/またはジアステレオマーで存在し得るものであってもよい。例えば、本明細書に記載の化合物は、個々のエナンチオマー、ジアステレオマーもしくは幾何異性体の形態であつてもよく、立体異性体の混合物、例えば、ラセミ混合物および1種類またはそれより多くの立体異性体を富化させた混合物の形態であつてもよい。異性体は、混合物から当業者に知られた方法によって、例えば、キラル高圧液体クロマトグラフィー(HPLC)ならびにキラル塩の形成および晶出によって単離され得;あるいは好ましい異性体を不斉合成によって調製してもよい。例えば、Jacquesら, Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilenら, Tetrahedron 33:2725 (1977); Eliel, Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962);およびWilens, Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p.268 (E.L.Eliel編, Univ.of Notre Dame Press, Notr

40

50

e Dame, IN 1972)を参照のこと。本開示はさらに、実質的に他の異性体を含んでいない個々の異性体としての、あるいはまた種々の異性体の混合物としての本明細書に記載の化合物を包含している。

#### 【0160】

値の範囲を記載している場合、これは、各値および該範囲内の下位範囲を包含していることを意図する。例えば、「 $C_{1-6}$ 」は $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_{1-6}$ 、 $C_{1-5}$ 、 $C_{1-4}$ 、 $C_{1-3}$ 、 $C_{1-2}$ 、 $C_{2-6}$ 、 $C_{2-5}$ 、 $C_{2-4}$ 、 $C_{2-3}$ 、 $C_{3-6}$ 、 $C_{3-5}$ 、 $C_{3-4}$ 、 $C_{4-6}$ 、 $C_{4-5}$  および  $C_{5-6}$  を包含していることを意図する。

#### 【0161】

「アルキル」は、1～20個の炭素原子を有する直鎖または分枝状の飽和炭化水素基である原子団（「 $C_{1-20}$  アルキル」）をいう。一部の実施形態では、アルキル基は1～10個の炭素原子を有するもの（「 $C_{1-10}$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は1～9個の炭素原子を有するもの（「 $C_{1-9}$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は1～8個の炭素原子を有するもの（「 $C_{1-8}$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は1～7個の炭素原子を有するもの（「 $C_{1-7}$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は1～6個の炭素原子を有するもの（「 $C_{1-6}$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は1～5個の炭素原子を有するもの（「 $C_{1-5}$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は1～4個の炭素原子を有するもの（「 $C_{1-4}$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は1～3個の炭素原子を有するもの（「 $C_{1-3}$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は1～2個の炭素原子を有するもの（「 $C_{1-2}$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は1個の炭素原子を有するもの（「 $C_1$  アルキル」）である。一部の実施形態では、アルキル基は2～6個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-6}$  アルキル」）である。 $C_{1-6}$  アルキル基の例としては、メチル（ $C_1$ ）、エチル（ $C_2$ ）、*n*-プロピル（ $C_3$ ）、イソ-プロピル（ $C_3$ ）、*n*-ブチル（ $C_4$ ）、*tert*-ブチル（ $C_4$ ）、*sec*-ブチル（ $C_4$ ）、イソ-ブチル（ $C_4$ ）、*n*-ペンチル（ $C_5$ ）、3-ペンタニル（ $C_5$ ）、アミル（ $C_5$ ）、ネオペンチル（ $C_5$ ）、3-メチル-2-ブタニル（ $C_5$ ）、ターシャリーアミル（ $C_5$ ）および *n*-ヘキシル（ $C_6$ ）が挙げられる。アルキル基のさらなる例としては *n*-ヘプチル（ $C_7$ ）、*n*-オクチル（ $C_8$ ）などが挙げられる。特に指定のない限り、各場合のアルキル基は独立して任意選択的に置換されている、すなわち、非置換である（「非置換アルキル」）か、または1つもしくはそれより多くの置換基で置換されている（「置換アルキル」）。一部の特定の実施形態では、アルキル基は非置換の $C_{1-10}$  アルキル（例えば、 $-CH_3$ ）である。一部の特定の実施形態では、アルキル基は置換型 $C_{1-10}$  アルキルである。

#### 【0162】

「アルケニル」は、2～20個の炭素原子、1つまたはそれより多くの炭素-炭素二重結合を有し、三重結合は有しない直鎖または分枝状の炭化水素基である原子団（「 $C_{2-20}$  アルケニル」）をいう。一部の実施形態では、アルケニル基は2～10個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-10}$  アルケニル」）である。一部の実施形態では、アルケニル基は2～9個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-9}$  アルケニル」）である。一部の実施形態では、アルケニル基は2～8個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-8}$  アルケニル」）である。一部の実施形態では、アルケニル基は2～7個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-7}$  アルケニル」）である。一部の実施形態では、アルケニル基は2～6個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-6}$  アルケニル」）である。一部の実施形態では、アルケニル基は2～5個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-5}$  アルケニル」）である。一部の実施形態では、アルケニル基は2～4個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-4}$  アルケニル」）である。一部の実施形態では、アルケニル基は2～3個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-3}$  アルケニル」）である。一部の実施形態では、アルケニル基は2個の炭素原子を有するもの（「 $C_2$  アルケニル」）である。1つまたはそれより多くの炭素-炭素二重結合は内部に存在し

10

20

30

40

50

ていても（例えば、2 - ブテニルの場合）、末端に存在していてもよい（例えば、1 - ブテニルの場合）。 $C_{2-4}$  アルケニル基の例としては、エテニル（ $C_2$ ）、1 - プロペニル（ $C_3$ ）、2 - プロペニル（ $C_3$ ）、1 - ブテニル（ $C_4$ ）、2 - ブテニル（ $C_4$ ）、ブタジエニル（ $C_4$ ）などが挙げられる。 $C_{2-6}$  アルケニル基の例としては、前述の $C_{2-4}$  アルケニル基ならびにペンテニル（ $C_5$ ）、ペンタジエニル（ $C_5$ ）、ヘキセニル（ $C_6$ ）などが挙げられる。アルケニルのさらなる例としては、ヘプテニル（ $C_7$ ）、オクテニル（ $C_8$ ）、オクタトリエニル（ $C_8$ ）などが挙げられる。特に指定のない限り、各場合のアルケニル基は独立して任意選択的に置換されている、すなわち、非置換である（「非置換アルケニル」）か、または1つもしくはそれより多くの置換基で置換されている（「置換アルケニル」）。一部の特定の実施形態では、アルケニル基は非置換の $C_{2-10}$  アルケニルである。一部の特定の実施形態では、アルケニル基は置換型 $C_{2-10}$  アルケニルである。

10

#### 【0163】

「アルキニル」は、2 ~ 20 個の炭素原子、1つまたはそれより多くの炭素 - 炭素三重結合、および任意選択で1つまたはそれより多くの二重結合を有する直鎖または分枝状の炭化水素基である原子団（「 $C_{2-20}$  アルキニル」）をいう。一部の実施形態では、アルキニル基は2 ~ 10 個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-10}$  アルキニル」）である。一部の実施形態では、アルキニル基は2 ~ 9 個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-9}$  アルキニル」）である。一部の実施形態では、アルキニル基は2 ~ 8 個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-8}$  アルキニル」）である。一部の実施形態では、アルキニル基は2 ~ 7 個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-7}$  アルキニル」）である。一部の実施形態では、アルキニル基は2 ~ 6 個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-6}$  アルキニル」）である。一部の実施形態では、アルキニル基は2 ~ 5 個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-5}$  アルキニル」）である。一部の実施形態では、アルキニル基は2 ~ 4 個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-4}$  アルキニル」）である。一部の実施形態では、アルキニル基は2 ~ 3 個の炭素原子を有するもの（「 $C_{2-3}$  アルキニル」）である。一部の実施形態では、アルキニル基は2 個の炭素原子を有するもの（「 $C_2$  アルキニル」）である。1つまたはそれより多くの炭素 - 炭素三重結合は内部に存在していても（例えば、2 - ブチニルの場合）、末端に存在していてもよい（例えば、1 - ブチニルの場合）。 $C_{2-4}$  アルキニル基の例としては、限定されないが、エチニル（ $C_2$ ）、1 - プロピニル（ $C_3$ ）、2 - プロピニル（ $C_3$ ）、1 - ブチニル（ $C_4$ ）、2 - ブチニル（ $C_4$ ）などが挙げられる。 $C_{2-6}$  アルケニル基の例としては、前述の $C_{2-4}$  アルキニル基ならびにペンチニル（ $C_5$ ）、ヘキシニル（ $C_6$ ）などが挙げられる。アルキニルのさらなる例としては、ヘプチニル（ $C_7$ ）、オクチニル（ $C_8$ ）などが挙げられる。特に指定のない限り、各場合のアルキニル基は独立して任意選択的に置換されている、すなわち、非置換である（「非置換アルキニル」）か、または1つもしくはそれより多くの置換基で置換されている（「置換アルキニル」）。一部の特定の実施形態では、アルキニル基は非置換の $C_{2-10}$  アルキニルである。一部の特定の実施形態では、アルキニル基は置換型 $C_{2-10}$  アルキニルである。

20

30

#### 【0164】

「カルボシクリル」または「炭素環式」は、非芳香族環系内に3 ~ 10 個の環内炭素原子（「 $C_{3-10}$  カルボシクリル」）およびゼロ個のヘテロ原子を有する非芳香族の環状炭化水素基である原子団をいう。一部の実施形態では、カルボシクリル基は3 ~ 8 個の環内炭素原子を有するもの（「 $C_{3-8}$  カルボシクリル」）である。一部の実施形態では、カルボシクリル基は3 ~ 6 個の環内炭素原子を有するもの（「 $C_{3-6}$  カルボシクリル」）である。一部の実施形態では、カルボシクリル基は3 ~ 6 個の環内炭素原子を有するもの（「 $C_{3-6}$  カルボシクリル」）である。一部の実施形態では、カルボシクリル基は5 ~ 10 個の環内炭素原子を有するもの（「 $C_{5-10}$  カルボシクリル」）である。例示的な $C_{3-6}$  カルボシクリル基としては、限定されないが、シクロプロピル（ $C_3$ ）、シクロプロペニル（ $C_3$ ）、シクロブチル（ $C_4$ ）、シクロブテニル（ $C_4$ ）、シクロペンチル（ $C_5$ ）、シクロペンテニル（ $C_5$ ）、シクロヘキシル（ $C_6$ ）、シクロヘキセニル（

40

50

C<sub>6</sub>)、シクロヘキサジエニル(C<sub>6</sub>)などが挙げられる。例示的なC<sub>3</sub>~<sub>8</sub>カルボシクリル基としては、限定されないが、前述のC<sub>3</sub>~<sub>6</sub>カルボシクリル基ならびにシクロヘプチル(C<sub>7</sub>)、シクロヘプテニル(C<sub>7</sub>)、シクロヘプタジエニル(C<sub>7</sub>)、シクロヘプタトリエニル(C<sub>7</sub>)、シクロオクチル(C<sub>8</sub>)、シクロオクテニル(C<sub>8</sub>)、38イドロキシ[2.2.1]ヘプタニル(C<sub>7</sub>)、38イドロキシ[2.2.2]オクタニル(C<sub>8</sub>)などが挙げられる。例示的なC<sub>3</sub>~<sub>10</sub>カルボシクリル基としては、限定されないが、前述のC<sub>3</sub>~<sub>8</sub>カルボシクリル基ならびにシクロノニル(C<sub>9</sub>)、シクロノネニル(C<sub>9</sub>)、シクロデシル(C<sub>10</sub>)、シクロデセニル(C<sub>10</sub>)、オクタヒドロ-1H-インデニル(C<sub>9</sub>)、デカヒドロナフタレニル(C<sub>10</sub>)、スピロ[4.5]デカニル(C<sub>10</sub>)などが挙げられる。前述の例に示したように、一部の特定の実施形態では、カルボシクリル基は単環式(「単環式カルボシクリル」)または縮合、橋絡もしくはスピロ環系、例えば二環式の系を含むもの(「二環式カルボシクリル」)のいずれかであり、飽和型であっても部分不飽和であってもよい。「カルボシクリル」にはまた、上記に定義した炭素環式の環が1つまたはそれより多くのアリールまたはヘテロアリール基と縮合しており、結合点が該炭素環式の環上に存在し、かかる場合、炭素数は該炭素環式の環系の指定炭素数に確保される環系も包含される。特に指定のない限り、各場合のカルボシクリル基は独立して任意選択的に置換されている、すなわち、非置換である(「非置換カルボシクリル」)か、または1つもしくはそれより多くの置換基で置換されている(「置換カルボシクリル」)。一部の特定の実施形態では、カルボシクリル基は非置換のC<sub>3</sub>~<sub>10</sub>カルボシクリルである。一部の特定の実施形態では、カルボシクリル基は置換型C<sub>3</sub>~<sub>10</sub>カルボシクリルである。

#### 【0165】

一部の実施形態では、「カルボシクリル」は、3~10個の環内炭素原子を有する単環式の飽和カルボシクリル基(「C<sub>3</sub>~<sub>10</sub>シクロアルキル」)である。一部の実施形態では、シクロアルキル基は3~8個の環内炭素原子を有するもの(「C<sub>3</sub>~<sub>8</sub>シクロアルキル」)である。一部の実施形態では、シクロアルキル基は3~6個の環内炭素原子を有するもの(「C<sub>3</sub>~<sub>6</sub>シクロアルキル」)である。一部の実施形態では、シクロアルキル基は5~6個の環内炭素原子を有するもの(「C<sub>5</sub>~<sub>6</sub>シクロアルキル」)である。一部の実施形態では、シクロアルキル基は5~10個の環内炭素原子を有するもの(「C<sub>5</sub>~<sub>10</sub>シクロアルキル」)である。C<sub>5</sub>~<sub>6</sub>シクロアルキル基の例としては、シクロペンチル(C<sub>5</sub>)およびシクロヘキシル(C<sub>6</sub>)が挙げられる。C<sub>3</sub>~<sub>6</sub>シクロアルキル基の例としては、前述のC<sub>5</sub>~<sub>6</sub>シクロアルキル基ならびにシクロプロピル(C<sub>3</sub>)およびシクロブチル(C<sub>4</sub>)が挙げられる。C<sub>3</sub>~<sub>8</sub>シクロアルキル基の例としては、前述のC<sub>3</sub>~<sub>6</sub>シクロアルキル基ならびにシクロヘプチル(C<sub>7</sub>)およびシクロオクチル(C<sub>8</sub>)が挙げられる。特に指定のない限り、各場合のシクロアルキル基は独立して、非置換である(「非置換シクロアルキル」)か、または1つもしくはそれより多くの置換基で置換されている(「置換シクロアルキル」)。一部の特定の実施形態では、シクロアルキル基は非置換のC<sub>3</sub>~<sub>10</sub>シクロアルキルである。一部の特定の実施形態では、シクロアルキル基は置換型C<sub>3</sub>~<sub>10</sub>シクロアルキルである。

#### 【0166】

「ヘテロシクリル」または「複素環式」は、環内炭素原子および1~4個の環内ヘテロ原子を有し、該ヘテロ原子の各々が窒素、酸素、イオウ、ホウ素、リンおよびケイ素から独立して選択される3~10員の非芳香族環系である原子団(「3~10員のヘテロシクリル」)をいう。一部の特定の実施形態では、ヘテロ原子は、窒素、イオウおよび酸素から独立して選択される。1個またはそれより多くの窒素原子を含むヘテロシクリル基では、結合点は、結合価が許容される場合、炭素原子であっても窒素原子であってもよい。ヘテロシクリル基は、単環式(「単環式ヘテロシクリル」)または縮合、橋絡もしくはスピロ環系、例えば二環式の系(「二環式ヘテロシクリル」)のいずれかであり得、飽和型であっても部分不飽和であってもよい。ヘテロシクリルである二環式の環系は、一方または両方の環に1個またはそれより多くのヘテロ原子を含むものであり得る。「ヘテロシクリル」

ル」にはまた、上記に定義した複素環式の環が1つもしくはそれより多くのカルボシクリル基と縮合しており、結合点が該カルボシクリル上もしくは該複素環式の環上のいずれかに存在する環系、または上記に定義した複素環式の環が1つもしくはそれより多くのアリールもしくはヘテロアリール基と縮合しており、結合点が該複素環式の環上に存在し、かかる場合、環構成員の数に該複素環式の環系の指定の環構成員の数に確保される環系も包含される。特に指定のない限り、各場合のヘテロシクリルは独立して任意選択的に置換されている、すなわち、非置換である（「非置換ヘテロシクリル」）か、または1つもしくはそれより多くの置換基で置換されている（「置換ヘテロシクリル」）。一部の特定の実施形態では、ヘテロシクリル基は非置換の3～10員のヘテロシクリルである。一部の特定の実施形態では、ヘテロシクリル基は置換型の3～10員のヘテロシクリルである。

10

## 【0167】

一部の実施形態では、ヘテロシクリル基は、環内炭素原子および1～4個の環内ヘテロ原子を有し、該ヘテロ原子の各々が窒素、酸素、イオウ、ホウ素、リンおよびケイ素から独立して選択される5～10員の非芳香族環系（「5～10員のヘテロシクリル」）である。一部の実施形態では、ヘテロシクリル基は、環内炭素原子および1～4個の環内ヘテロ原子を有し、該ヘテロ原子の各々が窒素、酸素およびイオウから独立して選択される5～8員の非芳香族環系（「5～8員のヘテロシクリル」）である。一部の実施形態では、ヘテロシクリル基は、環内炭素原子および1～4個の環内ヘテロ原子を有し、該ヘテロ原子の各々が窒素、酸素およびイオウから独立して選択される5～6員の非芳香族環系（「5～6員のヘテロシクリル」）である。一部の実施形態では、5～6員のヘテロシクリルは、窒素、酸素およびイオウから選択される1～3個の環内ヘテロ原子を有するものである。一部の実施形態では、5～6員のヘテロシクリルは、窒素、酸素およびイオウから選択される1～2個の環内ヘテロ原子を有するものである。一部の実施形態では、5～6員のヘテロシクリルは、窒素、酸素およびイオウから選択される1個の環内ヘテロ原子を有するものである。

20

## 【0168】

1個のヘテロ原子を含む例示的な3員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、アジリジニル（aziridinyl）、オキシラニルおよびチオレニルが挙げられる。1個のヘテロ原子を含む例示的な4員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、アゼチジニル、オキセタニルおよびチエタニルが挙げられる。1個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、テトラヒドロフラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチオフェニル、ジヒドロチオフェニル、ピロリジニル、ジヒドロピロリルおよびピロリル-2,5-ジオンが挙げられる。2個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、ジオキサニル、オキサスフラニル、ジスフラニルおよびオキサゾリジン-2-オンが挙げられる。3個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、トリアゾリニル、オキサジアゾリニルおよびチアジアゾリニルが挙げられる。1個のヘテロ原子を含む例示的な6員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、ピペリジニル、テトラヒドロピラニル、ジヒドロピリジニルおよびチアニルが挙げられる。2個のヘテロ原子を含む例示的な6員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、ピペラジニル、モルホリニル、ジチアニルおよびジオキサニルが挙げられる。2個のヘテロ原子を含む例示的な6員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、トリアジンアニル（triazinanyl）が挙げられる。1個のヘテロ原子を含む例示的な7員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、アゼパニル、オキセパニルおよびチエパニルが挙げられる。1個のヘテロ原子を含む例示的な8員のヘテロシクリル基としては、限定されないが、アゾカニル、オキセカニルおよびチオカニルが挙げられる。C<sub>6</sub>アリール環と縮合している例示的な5員のヘテロシクリル基（本明細書において5,6-二環式複素環式の環とも称する）としては、限定されないが、インドリニル、イソインドリニル、ジヒドロベンゾフラニル、ジヒドロベンゾチエニル、ベンゾオキサゾリノニルなどが挙げられる。アリール環と縮合している例示的な6員のヘテロシクリル基（本明細書において6,6-二環式複素環式の環とも

30

40

50



称する)としては、限定されないが、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニルなどが挙げられる。

【0169】

「アリール」は、芳香族環系内に6～14個の環内炭素原子およびゼロ個のヘテロ原子を有する単環式または多環式(例えば、二環式もしくは三環式)の $4n+2$ 芳香族環系である(例えば、環状アレイ内で共有された6、10または14個の電子を有する)原子団(「 $C_{6-14}$ アリール」)をいう。一部の実施形態では、アリール基は6個の環内炭素原子を有するもの(「 $C_6$ アリール」;例えば、フェニル)である。一部の実施形態では、アリール基は10個の環内炭素原子を有するもの(「 $C_{10}$ アリール」;例えば、ナフチル(1-ナフチルおよび2-ナフチルなど))である。一部の実施形態では、アリール基は14個の環内炭素原子を有するもの(「 $C_{14}$ アリール」;例えば、アントラシル)である。「アリール」にはまた、上記に定義したアリール環が1つまたはそれより多くのカルボシクリルまたはヘテロシクリル基と縮合しており、原子団または結合点が該アリール環上に存在し、かかる場合、炭素原子数は該アリール環系の指定の炭素原子数に確保される環系も包含される。特に指定のない限り、各場合のアリール基は独立して任意選択的に置換されている、すなわち、非置換である(「非置換アリール」)か、または1つもしくはそれより多くの置換基で置換されている(「置換アリール」)。一部の特定の実施形態では、アリール基は非置換の $C_{6-14}$ アリールである。一部の特定の実施形態では、アリール基は置換型 $C_{6-14}$ アリールである。

【0170】

「アリールアルキル」は、本明細書に定義したアルキルおよびアリールのサブセットであり、任意選択的に置換されたアリール基で置換された任意選択的に置換されたアルキル基をいう。一部の特定の実施形態では、アラルキルは任意選択的に置換されたベンジルである。一部の特定の実施形態では、アラルキルはベンジルである。一部の特定の実施形態では、アラルキルは任意選択的に置換されたフェネチルである。一部の特定の実施形態では、アラルキルはフェネチルである。

【0171】

「ヘテロアリール」は、芳香族環系内に環内炭素原子および1～4個の環内ヘテロ原子を備えており、該ヘテロ原子の各々が窒素、酸素およびイオウから独立して選択される5～10員の単環式または二環式の $4n+2$ 芳香族環系である(例えば、環状アレイ内で共有された6または10個の電子を有する)原子団(「5～10員のヘテロアリール」)をいう。1個またはそれより多くの窒素原子を含むヘテロアリール基では、結合点は、結合価が許容される場合、炭素原子であっても窒素原子であってもよい。ヘテロアリールである二環式の環系は、一方または両方の環に1個またはそれより多くのヘテロ原子を含むものであり得る。「ヘテロアリール」には、上記に定義したヘテロアリール環が1つまたはそれより多くのカルボシクリルまたはヘテロシクリル基と縮合しており、結合点が該ヘテロアリール環上に存在し、かかる場合、環構成員の数は該ヘテロアリール環系の指定の環構成員の数に確保される環系が包含される。「ヘテロアリール」にはまた、上記に定義したヘテロアリール環が1つまたはそれより多くのアリール基と縮合しており、結合点が該アリール上または該ヘテロアリール環上のいずれかに存在し、かかる場合、環構成員の数は該縮合(アリール/ヘテロアリール)環系の指定の環構成員の数である環系も包含される。一方の環がヘテロ原子を含まないものである二環式のヘテロアリール基(例えば、インドリル、キノリニル、カルバゾリルなど)は、結合点がいずれかの環上、すなわち、ヘテロ原子を有する環上(例えば、2-インドリル)またはヘテロ原子を含んでいない環上(例えば、5-インドリル)のいずれかであり得る。

【0172】

一部の実施形態では、ヘテロアリール基は、芳香族環系内に環内炭素原子および1～4個の環内ヘテロ原子を備えており、該ヘテロ原子の各々が窒素、酸素およびイオウから独立して選択される5～10員の芳香族環系(「5～10員のヘテロアリール」)である。一部の実施形態では、ヘテロアリール基は、芳香族環系内に環内炭素原子および1～4個

の環内ヘテロ原子を備えており、該ヘテロ原子の各々が窒素、酸素およびイオウから独立して選択される5～8員の芳香族環系（「5～8員のヘテロアリール」）である。一部の実施形態では、ヘテロアリール基は、芳香族環系内に環内炭素原子および1～4個の環内ヘテロ原子を備えており、該ヘテロ原子の各々が窒素、酸素およびイオウから独立して選択される5～6員の芳香族環系（「5～6員のヘテロアリール」）である。一部の実施形態では、5～6員のヘテロアリールは、窒素、酸素およびイオウから選択される1～3個の環内ヘテロ原子を有するものである。一部の実施形態では、5～6員のヘテロアリールは、窒素、酸素およびイオウから選択される1～2個の環内ヘテロ原子を有するものである。一部の実施形態では、5～6員のヘテロアリールは、窒素、酸素およびイオウから選択される1個の環内ヘテロ原子を有するものである。特に指定のない限り、各場合のヘテロアリール基は独立して任意選択的に置換されている、すなわち、非置換である（「非置換ヘテロアリール」）か、または1つもしくはそれより多くの置換基で置換されている（「置換ヘテロアリール」）。一部の特定の実施形態では、ヘテロアリール基は非置換の5～14員のヘテロアリールである。一部の特定の実施形態では、ヘテロアリール基は置換型の5～14員のヘテロアリールである。

10

**【0173】**

1個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロアリール基としては、限定されないが、ピロリル、フラニルおよびチオフエニルが挙げられる。2個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロアリール基としては、限定されないが、イミダゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリルおよびイソチアゾリルが挙げられる。3個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロアリール基としては、限定されないが、トリアゾリル、オキサジアゾリルおよびチアジアゾリルが挙げられる。4個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロアリール基としては、限定されないが、テトラゾリルが挙げられる。1個のヘテロ原子を含む例示的な6員のヘテロアリール基としては、限定されないが、ピリジニルが挙げられる。2個のヘテロ原子を含む例示的な6員のヘテロアリール基としては、限定されないが、ピリダジニル、ピリミジニルおよびピラジニルが挙げられる。3個または4個のヘテロ原子を含む例示的な6員のヘテロアリール基としては、限定されないが、それぞれトリアジニルおよびテトラジニルが挙げられる。1個のヘテロ原子を含む例示的な7員のヘテロアリール基としては、限定されないが、アゼピニル、オキセピニルおよびチエピニルが挙げられる。例示的な5, 6 - 二環式ヘテロアリール基としては、限定されないが、インドリル、イソインドリル、インダゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾチオフエニル、イソベンゾチオフエニル、ベンゾフラニル、ベンゾイソフラニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾイソオキサゾリル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンズチアゾリル、ベンゾイソチアゾリル、ベンズチアジアゾリル、インドリジニルおよびプリニルが挙げられる。例示的な6, 6 - 二環式ヘテロアリール基としては、限定されないが、ナフチリジニル、プテリジニル、キノリニル、イソキノリニル、シンノリニル、キノキサリニル、フタラジニルおよびキナゾリニルが挙げられる。

20

30

**【0174】**

「ヘテロアラルキル」は、本明細書に定義したアルキルおよびヘテロアリールのサブセットであり、任意選択的に置換されたヘテロアリール基で置換された任意選択的に置換されたアルキル基をいう。

40

**【0175】**

二価の橋かけ基である本明細書に定義したアルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリール基は、さらに接尾辞 - エン（-ene）を用いて呼称される（例えば、アルキレン、アルケニレン、アルキニレン、カルボシクリレン、ヘテロシクリレン、アリーレンおよびヘテロアリーレン）。

**【0176】**

本明細書で用いる場合、用語「任意選択的に置換された」は、置換されている部分または非置換の部分を用いる。

**【0177】**

50

本明細書に定義したアルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリール基は、任意選択的に置換されたもの（例えば、「置換」もしくは「非置換の」アルキル、「置換」もしくは「非置換の」アルケニル、「置換」もしくは「非置換の」アルキニル、「置換」もしくは「非置換の」カルボシクリル、「置換」もしくは「非置換の」ヘテロシクリル、「置換」もしくは「非置換の」アリールまたは「置換」もしくは「非置換の」ヘテロアリール基）である。一般に、用語「置換された」は、用語「任意選択的に」が前に記載されていようとそうでなかろうと、基（例えば、炭素原子または窒素原子）上に存在する少なくとも1個の水素が許容可能な置換基で、例えば、置換が起こると安定な化合物（例えば、転位、環化、脱離または他の反応によるものなどの変換を自発発生的に起こさない化合物）をもたらす置換基で置き換えられていることを意味する。特に記載のない限り、「置換された」基は、該基の1つまたはそれより多くの置換可能な位置に置換基を有し、任意の所与の構造内の1つより多くの位置が置換されている場合、置換基は各位置において同じであるか、または異なっているかのいずれかである。用語「置換された」は、有機化合物の許容可能なあらゆる置換基での置換を包含していることを想定しており、本明細書に記載の置換基はいずれも安定な化合物の形成をもたらすものである。本発明では、安定な化合物を得るためのかかる任意のあらゆる組合せを想定している。本発明の解釈上、窒素などのヘテロ原子は、水素置換基および/または該ヘテロ原子の結合価を満たし、安定な部分の形成をもたらす本明細書に記載の任意の適当な置換基を有するものであってもよい。

#### 【0178】

炭素原子における例示的な置換基としては、限定されないが、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{aa}$ 、 $-ON(R^{bb})_2$ 、 $-N(R^{bb})_2$ 、 $-N(R^{bb})_3^+X^-$ 、 $-N(OR^{cc})R^{bb}$ 、 $-SH$ 、 $-SR^{aa}$ 、 $-SSR^{cc}$ 、 $-C(=O)R^{aa}$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CHO$ 、 $-C(OR^{cc})_2$ 、 $-CO_2R^{aa}$ 、 $-OC(=O)R^{aa}$ 、 $-OCO_2R^{aa}$ 、 $-C(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-OC(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-NR^{bb}C(=O)R^{aa}$ 、 $-NR^{bb}CO_2R^{aa}$ 、 $-NR^{bb}C(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=NR^{bb})R^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})OR^{aa}$ 、 $-OC(=NR^{bb})R^{aa}$ 、 $-OC(=NR^{bb})OR^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ 、 $-OC(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ 、 $-NR^{bb}C(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=O)NR^{bb}SO_2R^{aa}$ 、 $-NR^{bb}SO_2R^{aa}$ 、 $-SO_2N(R^{bb})_2$ 、 $-SO_2R^{aa}$ 、 $-SO_2OR^{aa}$ 、 $-OSO_2R^{aa}$ 、 $-S(=O)R^{aa}$ 、 $-OS(=O)R^{aa}$ 、 $-Si(R^{aa})_3$ 、 $-OSi(R^{aa})_3$ 、 $-C(=S)N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=O)SR^{aa}$ 、 $-C(=S)SR^{aa}$ 、 $-SC(=S)SR^{aa}$ 、 $-SC(=O)SR^{aa}$ 、 $-OC(=O)SR^{aa}$ 、 $-SC(=O)OR^{aa}$ 、 $-SC(=O)R^{aa}$ 、 $-P(=O)_2R^{aa}$ 、 $-OP(=O)_2R^{aa}$ 、 $-P(=O)(R^{aa})_2$ 、 $-OP(=O)(R^{aa})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{cc})_2$ 、 $-P(=O)_2N(R^{bb})_2$ 、 $-OP(=O)_2N(R^{bb})_2$ 、 $-P(=O)(NR^{bb})_2$ 、 $-OP(=O)(NR^{bb})_2$ 、 $-NR^{bb}P(=O)(OR^{cc})_2$ 、 $-NR^{bb}P(=O)(NR^{bb})_2$ 、 $-P(R^{cc})_2$ 、 $-P(R^{cc})_3$ 、 $-OP(R^{cc})_2$ 、 $-OP(R^{cc})_3$ 、 $-B(R^{aa})_2$ 、 $-B(OR^{cc})_2$ 、 $-BR^{aa}(OR^{cc})$ 、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ ペルハロアルキル、 $C_{2-10}$ アルケニル、 $C_{2-10}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、3～14員のヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリールおよび5～14員のヘテロアリールが挙げられ、このとき該アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリールの各々は独立して、0、1、2、3、4もしくは5つの $R^{dd}$ 基で置換されているか；または炭素原子上の2個の水素が、基 $=O$ 、 $=S$ 、 $=NN(R^{bb})_2$ 、 $=NNR^{bb}C(=O)R^{aa}$ 、 $=NNR^{bb}C(=O)OR^{aa}$ 、 $=NNR^{bb}S(=O)_2R^{aa}$ 、 $=NR^{bb}$ もしくは $=NOR^{cc}$ で置き換えられており；各場合の $R^{aa}$ は独立して、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ ペルハロアルキル、 $C_{2-10}$ アルケニル、 $C_{2-10}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、3～14員のヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリ

ールおよび5～14員のヘテロアリールから選択されるか、または2つのR<sup>a a</sup>基が接続されて3～14員のヘテロシクリルもしくは5～14員のヘテロアリール環を形成しており、このとき該アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリールの各々は独立して、0、1、2、3、4もしくは5つのR<sup>d d</sup>基で置換されており；各場合のR<sup>b b</sup>は独立して、水素、-OH、-OR<sup>a a</sup>、-N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-CN、-C(=O)R<sup>a a</sup>、-C(=O)N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sup>a a</sup>、-SO<sub>2</sub>R<sup>a a</sup>、-C(=NR<sup>c c</sup>)OR<sup>a a</sup>、-C(=NR<sup>c c</sup>)N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sup>c c</sup>、-SO<sub>2</sub>OR<sup>c c</sup>、-SOR<sup>a a</sup>、-C(=S)N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-C(=O)SR<sup>c c</sup>、-C(=S)SR<sup>c c</sup>、-P(=O)<sub>2</sub>R<sup>a a</sup>、-P(=O)(R<sup>a a</sup>)<sub>2</sub>、-P(=O)<sub>2</sub>N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-P(=O)(NR<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、C<sub>1-10</sub>アルキル、C<sub>1-10</sub>ペルハロアルキル、C<sub>2-10</sub>アルケニル、C<sub>2-10</sub>アルキニル、C<sub>3-10</sub>カルボシクリル、3～14員のヘテロシクリル、C<sub>6-14</sub>アリールおよび5～14員のヘテロアリールから選択されるか、または2つのR<sup>b b</sup>基が接続されて3～14員のヘテロシクリルもしくは5～14員のヘテロアリール環を形成しており、このとき該アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリールの各々は独立して、0、1、2、3、4もしくは5つのR<sup>d d</sup>基で置換されており；各場合のR<sup>c c</sup>は独立して、水素、C<sub>1-10</sub>アルキル、C<sub>1-10</sub>ペルハロアルキル、C<sub>2-10</sub>アルケニル、C<sub>2-10</sub>アルキニル、C<sub>3-10</sub>カルボシクリル、3～14員のヘテロシクリル、C<sub>6-14</sub>アリールおよび5～14員のヘテロアリールから選択される、または2つのR<sup>c c</sup>基が接続されて3～14員のヘテロシクリルもしくは5～14員のヘテロアリール環を形成しており、このとき該アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリールの各々は独立して、0、1、2、3、4もしくは5つのR<sup>d d</sup>基で置換されており；各場合のR<sup>d d</sup>は独立して、ハロゲン、-CN、-NO<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-OH、-OR<sup>e e</sup>、-ON(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-N(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-N(R<sup>f f</sup>)<sub>3</sub><sup>+</sup>X<sup>-</sup>、-N(OR<sup>e e</sup>)R<sup>f f</sup>、-SH、-SR<sup>e e</sup>、-SSR<sup>e e</sup>、-C(=O)R<sup>e e</sup>、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>R<sup>e e</sup>、-OC(=O)R<sup>e e</sup>、-OCO<sub>2</sub>R<sup>e e</sup>、-C(=O)N(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-OC(=O)N(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-NR<sup>f f</sup>C(=O)R<sup>e e</sup>、-NR<sup>f f</sup>CO<sub>2</sub>R<sup>e e</sup>、-NR<sup>f f</sup>C(=O)N(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-C(=NR<sup>f f</sup>)OR<sup>e e</sup>、-OC(=NR<sup>f f</sup>)R<sup>e e</sup>、-OC(=NR<sup>f f</sup>)OR<sup>e e</sup>、-C(=NR<sup>f f</sup>)N(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-OC(=NR<sup>f f</sup>)N(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-NR<sup>f f</sup>C(=NR<sup>f f</sup>)N(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-NR<sup>f f</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>e e</sup>、-SO<sub>2</sub>N(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sup>e e</sup>、-SO<sub>2</sub>OR<sup>e e</sup>、-OSO<sub>2</sub>R<sup>e e</sup>、-S(=O)R<sup>e e</sup>、-Si(R<sup>e e</sup>)<sub>3</sub>、-OSi(R<sup>e e</sup>)<sub>3</sub>、-C(=S)N(R<sup>f f</sup>)<sub>2</sub>、-C(=O)SR<sup>e e</sup>、-C(=S)SR<sup>e e</sup>、-SC(=S)SR<sup>e e</sup>、-P(=O)<sub>2</sub>R<sup>e e</sup>、-P(=O)(R<sup>e e</sup>)<sub>2</sub>、-OP(=O)(R<sup>e e</sup>)<sub>2</sub>、-OP(=O)(OR<sup>e e</sup>)<sub>2</sub>、C<sub>1-6</sub>アルキル、C<sub>1-6</sub>ペルハロアルキル、C<sub>2-6</sub>アルケニル、C<sub>2-6</sub>アルキニル、C<sub>3-10</sub>カルボシクリル、3～10員のヘテロシクリル、C<sub>6-10</sub>アリール、5～10員のヘテロアリールから選択され、このとき該アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリールの各々は独立して、0、1、2、3、4もしくは5つのR<sup>g g</sup>基で置換されているか、または2つのR<sup>d d</sup>置換基が接続されて=Oもしくは=Sを形成していてもよく；各場合のR<sup>e e</sup>は独立して、C<sub>1-6</sub>アルキル、C<sub>1-6</sub>ペルハロアルキル、C<sub>2-6</sub>アルケニル、C<sub>2-6</sub>アルキニル、C<sub>3-10</sub>カルボシクリル、C<sub>6-10</sub>アリール、3～10員のヘテロシクリルおよび3～10員のヘテロアリールから選択され、このとき該アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリールの各々は独立して、0、1、2、3、4もしくは5つのR<sup>g g</sup>基で置換されており；各場合のR<sup>f f</sup>は独立して、水素、C<sub>1-6</sub>アルキル、C<sub>1-6</sub>ペルハロアルキル、C<sub>2-6</sub>アルケニル、C<sub>2-6</sub>アルキニル、C<sub>3-10</sub>カルボシクリル、3～10員のヘテロシクリル、C<sub>6-10</sub>アリールおよび5～10員のヘテロアリールから選択されるか、または2つのR<sup>f f</sup>基が接続

10

20

30

40

50

されて3～14員のヘテロシクリルもしくは5～14員のヘテロアリール環を形成しており、このとき該アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリールの各々は独立して、0、1、2、3、4もしくは5つのR<sup>g</sup>基で置換されており；各場合のR<sup>g</sup>は独立して、ハロゲン、-CN、-NO<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>H、-SO<sub>3</sub>H、-OH、-OC<sub>1～6</sub>アルキル、-ON(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-N(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-N(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>3</sub><sup>+</sup>X<sup>-</sup>、-NH(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub><sup>+</sup>X<sup>-</sup>、-NH<sub>2</sub>(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sup>+</sup>X<sup>-</sup>、-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>X<sup>-</sup>、-N(OC<sub>1～6</sub>アルキル)(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-N(OH)(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-NH(OH)、-SH、-SC<sub>1～6</sub>アルキル、-SS(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-C(=O)(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-CO<sub>2</sub>H、-CO<sub>2</sub>(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-OC(=O)(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-OCO<sub>2</sub>(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-C(=O)NH<sub>2</sub>、-C(=O)N(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-OC(=O)NH(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-NHC(=O)(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-N(C<sub>1～6</sub>アルキル)C(=O)(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-NHCO<sub>2</sub>(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-NHC(=O)N(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-NHC(=O)NH(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-NHC(=O)NH<sub>2</sub>、-C(=NH)O(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-OC(=NH)(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-OC(=NH)OC<sub>1～6</sub>アルキル、-C(=NH)N(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-C(=NH)NH(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-C(=NH)NH<sub>2</sub>、-OC(=NH)N(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-OC(NH)NH(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-OC(NH)NH<sub>2</sub>、-NHC(NH)N(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-SO<sub>2</sub>N(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>NH(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>C<sub>1～6</sub>アルキル、-SO<sub>2</sub>OC<sub>1～6</sub>アルキル、-OSO<sub>2</sub>C<sub>1～6</sub>アルキル、-SOC<sub>1～6</sub>アルキル、-Si(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>3</sub>、-OSi(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>3</sub>、-C(=S)N(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、C(=S)NH(C<sub>1～6</sub>アルキル)、C(=S)NH<sub>2</sub>、-C(=O)S(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-C(=S)SC<sub>1～6</sub>アルキル、-SC(=S)SC<sub>1～6</sub>アルキル、-P(=O)<sub>2</sub>(C<sub>1～6</sub>アルキル)、-P(=O)(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-OP(=O)(C<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、-OP(=O)(OC<sub>1～6</sub>アルキル)<sub>2</sub>、C<sub>1～6</sub>アルキル、C<sub>1～6</sub>ペルハロアルキル、C<sub>2～6</sub>アルケニル、C<sub>2～6</sub>アルキニル、C<sub>3～10</sub>カルボシクリル、C<sub>6～10</sub>アリール、3～10員のヘテロシクリル、5～10員のヘテロアリールであるか；または2つのR<sup>g</sup>置換基が接続されて=Oもしくは=Sを形成していてもよく；ここで、X<sup>-</sup>は対イオンである。

#### 【0179】

「ハロ」または「ハロゲン」はフッ素（フルオロ、-F）、塩素（クロロ、-Cl）、臭素（ブロモ、-Br）またはヨウ素（ヨード、-I）をいう。

#### 【0180】

「アシル」は、本明細書で用いる場合、-C(=O)R<sup>a a</sup>、-CHO、-CO<sub>2</sub>R<sup>a a</sup>、-C(=O)N(R<sup>b b</sup>)<sub>2</sub>、-C(=NR<sup>b b</sup>)R<sup>a a</sup>、-C(=NR<sup>b b</sup>)OR<sup>a a</sup>、-C(=NR<sup>b b</sup>)N(R<sup>b b</sup>)<sub>2</sub>、-C(=O)NR<sup>b b</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>a a</sup>、-C(=S)N(R<sup>b b</sup>)<sub>2</sub>、-C(=O)SR<sup>a a</sup>および-C(=S)SR<sup>a a</sup>（ここで、R<sup>a a</sup>およびR<sup>b b</sup>は本明細書に定義したとおりである）からなる群より選択される部分をいう。

#### 【0181】

窒素原子は、結合価が許容される場合、置換型であっても非置換であってもよく、第1級、第2級、第3級および第4級窒素原子が包含される。窒素原子における例示的な置換基としては、限定されないが、水素、-OH、-OR<sup>a a</sup>、-N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-CN、-C(=O)R<sup>a a</sup>、-C(=O)N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sup>a a</sup>、-SO<sub>2</sub>R<sup>a a</sup>、-C(=NR<sup>b b</sup>)R<sup>a a</sup>、-C(=NR<sup>c c</sup>)OR<sup>a a</sup>、-C(=NR<sup>c c</sup>)N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sup>c c</sup>、-SO<sub>2</sub>OR<sup>c c</sup>、-SOR<sup>a a</sup>、-C(=S)N(R<sup>c c</sup>)<sub>2</sub>、-C(=O)SR<sup>c c</sup>、-C(=S)SR<sup>c c</sup>、-P(=

10

20

30

40

50

$O)_2 R^{a a}$ 、 $-P(=O)(R^{a a})_2$ 、 $-P(=O)_2 N(R^{c c})_2$ 、 $-P(=O)(NR^{c c})_2$ 、 $C_{1-10}$  アルキル、 $C_{1-10}$  ペルハロアルキル、 $C_{2-10}$  アルケニル、 $C_{2-10}$  アルキニル、 $C_{3-10}$  カルボシクリル、3～14員のヘテロシクリル、 $C_{6-14}$  アリールおよび5～14員のヘテロアリールが挙げられるか、または窒素原子に結合している2つの $R^{c c}$ 基が連接されて3～14員のヘテロシクリルもしくは5～14員のヘテロアリール環を形成しており、このとき該アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリールの各々は独立して、0、1、2、3、4もしくは5つの $R^{d d}$ 基で置換されており、ここで、 $R^{a a}$ 、 $R^{b b}$ 、 $R^{c c}$ および $R^{d d}$ は上記に定義したとおりである。

#### 【0182】

一部の特定の実施形態では、窒素原子上に存在する置換基は窒素保護基である（アミノ保護基とも称される）。窒素保護基としては、限定されないが、 $-OH$ 、 $-OR^{a a}$ 、 $-N(R^{c c})_2$ 、 $-C(=O)R^{a a}$ 、 $-C(=O)N(R^{c c})_2$ 、 $-CO_2R^{a a}$ 、 $-SO_2R^{a a}$ 、 $-C(=NR^{c c})R^{a a}$ 、 $-C(=NR^{c c})OR^{a a}$ 、 $-C(=NR^{c c})N(R^{c c})_2$ 、 $-SO_2N(R^{c c})_2$ 、 $-SO_2R^{c c}$ 、 $-SO_2OR^{c c}$ 、 $-SOR^{a a}$ 、 $-C(=S)N(R^{c c})_2$ 、 $-C(=O)SR^{c c}$ 、 $-C(=S)SR^{c c}$ 、 $C_{1-10}$  アルキル（例えば、アラルキル、ヘテロアラルキル）、 $C_{2-10}$  アルケニル、 $C_{2-10}$  アルキニル、 $C_{3-10}$  カルボシクリル、3～14員のヘテロシクリル、 $C_{6-14}$  アリールおよび5～14員のヘテロアリール基が挙げられ、該アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アラルキル、アリールおよびヘテロアリールの各々は独立して、0、1、2、3、4もしくは5つの $R^{d d}$ 基で置換されており、ここで、 $R^{a a}$ 、 $R^{b b}$ 、 $R^{c c}$ および $R^{d d}$ は本明細書に定義したとおりである。窒素保護基は当該技術分野でよく知られており、Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. GreeneおよびP. G. M. Wuts, 第3版, John Wiley & Sons, 1999（引用により本明細書に組み込まれる）に記載のものが挙げられる。

#### 【0183】

例えば、アミド基（例えば、 $-C(=O)R^{a a}$ ）などの窒素保護基としては、限定されないが、ホルムアミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、フェニルアセトアミド、3-フェニルプロパンアミド、ピコリンアミド、3-ピリジルカルボキサミド、N-ベンゾイルフェニルアラニル誘導体、ベンズアミド、p-フェニルベンズアミド、o-ニトロフェニルアセトアミド、o-ニトロフェノキシアセトアミド、アセトアセトアミド、(N'-ジチオベンジルオキシアシルアミノ)アセトアミド、3-(p-ヒドロキシフェニル)プロパンアミド、3-(o-ニトロフェニル)プロパンアミド、2-メチル-2-(o-ニトロフェノキシ)プロパンアミド、2-メチル-2-(o-フェニルアゾフェノキシ)プロパンアミド、4-クロロブタンアミド、3-メチル-3-ニトロブタンアミド、o-ニトロシンナミド、N-アセチルメチオニン誘導体、o-ニトロベンズアミド、およびo-(ベンゾイルオキシメチル)ベンズアミドが挙げられる。

#### 【0184】

カルバメート基（例えば、 $-C(=O)OR^{a a}$ ）などの窒素保護基としては、限定されないが、メチルカルバメート、エチルカルバメート(carbamate)、9-フルオレニルメチルカルバメート(Fmoc)、9-(2-スルホ)フルオレニルメチルカルバメート、9-(2,7-ジブromo)フルオレニルメチル(fluorenylmethyl)カルバメート、2,7-ジ-t-ブチル-[9-(10,10-ジオキソ-10,10,10,10-テトラヒドロチオキサンチル)]メチルカルバメート(DBD-Tmoc)、4-メトキシフェナシルカルバメート(Phenoc)、2,2,2-トリクロロエチルカルバメート(Troc)、2-トリメチルシリルエチルカルバメート(Teoc)、2-フェニルエチルカルバメート(hZ)、1-(1-アダマンチル)-1-メチルエチル(Adpoc)、1,1-ジメチル-2-ハロエチルカルバメート、1,1

10

20

30

40

50

- ジメチル - 2 , 2 - ジブロモエチルカルバメート ( D B - t - B O C )、1 , 1 - ジメチル - 2 , 2 , 2 - トリクロロエチルカルバメート ( T C B O C )、1 - メチル - 1 - ( 4 - ビフェニル ) エチルカルバメート ( B p o c )、1 - ( 3 , 5 - ジ - t - ブチルフェニル ) - 1 - メチルエチルカルバメート ( t - B u m e o c )、2 - ( 2 ' - および 4 ' - ピリジル ) エチルカルバメート ( P y o c )、2 - ( N , N - ジシクロヘキシルカルボキサミド ) エチルカルバメート、t - ブチルカルバメート ( B O C )、1 - アダマンチルカルバメート ( A d o c )、ビニルカルバメート ( V o c )、アリルカルバメート ( A l l o c )、1 - イソプロピルアリルカルバメート ( I p a o c )、シンナミルカルバメート ( C o c )、4 - ニトロシンナミルカルバメート ( N o c )、8 - キノリルカルバメート、N - ヒドロキシピペリジニルカルバメート、アルキルジチオカルバメート、ベン  
 ジルカルバメート ( C b z )、p - メトキシベンジルカルバメート ( M o z )、p - ニト  
 ベンジルカルバメート、p - ブロモベンジルカルバメート、p - クロロベンジルカルバメ  
 ート、2 , 4 - ジクロロベンジルカルバメート、4 - メチルスルフィニルベンジルカルバ  
 メート ( M s z )、9 - アントリルメチルカルバメート、ジフェニルメチルカルバメート  
 、2 - メチルチオエチルカルバメート、2 - メチルスルホニルエチルカルバメート、2 -  
 ( p - トルエンスルホニル ) エチルカルバメート、[ 2 - ( 1 , 3 - ジチアニル ) ] メチ  
 ルカルバメート ( D m o c )、4 - メチルチオフェニルカルバメート ( M t p c )、2 ,  
 4 - ジメチルチオフェニルカルバメート ( B m p c )、2 - ホスホニオエチル ( p h o s  
 p h o n i o e t h y l ) カルバメート ( P e o c )、2 - トリフェニルホスホニオイソ  
 プロピルカルバメート ( P p o c )、1 , 1 - ジメチル - 2 - シアノエチルカルバメート  
 、m - クロロ - p - アシルオキシベンジルカルバメート、p - ( ジヒドロキシボリル ) ベ  
 ンジルカルバメート、5 - ベンゾイソオキサゾリルメチルカルバメート、2 - ( トリフル  
 オロメチル ) - 6 - クロモニルメチルカルバメート ( T c r o c )、m - ニトロフェニル  
 カルバメート、3 , 5 - ジメトキシベンジルカルバメート、o - ニトロベンジルカルバメ  
 ート、3 , 4 - ジメトキシ - 6 - ニトロベンジルカルバメート、フェニル ( o - ニトロフェ  
 ニル ) メチルカルバメート、t - アミルカルバメート、S - ベンジルチオカルバメート  
 、p - シアノベンジルカルバメート、シクロブチルカルバメート、シクロヘキシルカルバ  
 メート、シクロペンチルカルバメート、シクロプロピルメチルカルバメート、p - デシル  
 オキシベンジルカルバメート、2 , 2 - ジメトキシシアシルビニルカルバメート、o - ( N  
 , N - ジメチルカルボキサミド ) ベンジルカルバメート、1 , 1 - ジメチル - 3 - ( N ,  
 N - ジメチルカルボキサミド ) プロピルカルバメート、1 , 1 - ジメチルプロピニルカル  
 バメート、ジ ( 2 - ピリジル ) メチルカルバメート、2 - フラニルメチルカルバメート、  
 2 - ヨードエチルカルバメート、イソボルニル ( i s o b o r y n l ) カルバメート、イ  
 ソブチルカルバメート、イソニコチニルカルバメート、p - ( p ' - メトキシフェニルア  
 ザ ) ベンジルカルバメート、1 - メチルシクロブチルカルバメート、1 - メチルシクロヘ  
 キシルカルバメート、1 - メチル - 1 - シクロプロピルメチルカルバメート、1 - メチル  
 - 1 - ( 3 , 5 - ジメトキシフェニル ) エチルカルバメート、1 - メチル - 1 - ( p - フェ  
 ニルアゾフェニル ) エチルカルバメート、1 - メチル - 1 - フェニルエチルカルバメ  
 ート、1 - メチル - 1 - ( 4 - ピリジル ) エチルカルバメート、フェニルカルバメート、p  
 - ( フェニルアゾ ) ベンジルカルバメート、2 , 4 , 6 - トリ - t - ブチルフェニルカル  
 バメート、4 - ( トリメチルアンモニウム ) ベンジルカルバメート、および 2 , 4 , 6 -  
 トリメチルベンジルカルバメートが挙げられる。

# 【 0 1 8 5 】

スルホンアミド基 (例えば、- S ( = O )<sub>2</sub> R<sup>a a</sup>) などの窒素保護基としては、限定  
 されないが、p - トルエンスルホンアミド ( T s )、ベンゼンスルホンアミド、2 , 3 ,  
 6 , - トリメチル - 4 - メトキシベンゼンスルホンアミド ( M t r )、2 , 4 , 6 - トリ  
 メトキシベンゼンスルホンアミド ( M t b )、2 , 6 - ジメチル - 4 - メトキシベンゼン  
 スルホンアミド ( P m e )、2 , 3 , 5 , 6 - テトラメチル - 4 - メトキシベンゼンスル  
 ホンアミド ( M t e )、4 - メトキシベンゼンスルホンアミド ( M b s )、2 , 4 , 6 -  
 トリメチルベンゼンスルホンアミド ( M t s )、2 , 6 - ジメトキシ - 4 - メチルベンゼ

10

20

30

40

50

ンスルホンアミド ( i M d s )、2, 2, 5, 7, 8 - ペンタメチルクロマン - 6 - スルホンアミド ( P m c )、メタンスルホンアミド ( M s )、- トリメチルシリルエタンスルホンアミド ( S E S )、9 - アントラセンスルホンアミド、4 - ( 4', 8' - ジメトキシナフチルメチル ) ペンゼンスルホンアミド ( D N M B S )、ベンジルスルホンアミド、トリフルオロメチルスルホンアミド、およびフェナシルスルホンアミドが挙げられる。

#### 【 0 1 8 6 】

他の窒素保護基としては、限定されないが、フェノチアジニル - ( 1 0 ) - アシル誘導体、N' - p - トルエンスルホニルアミノアシル誘導体、N' - フェニルアミノチオアシル誘導体、N - ベンゾイルフェニルアラニル誘導体、N - アセチルメチオニン誘導体、4, 5 - ジフェニル - 3 - オキサゾリン - 2 - オン、N - ナフタルイミド、N - ジチアスクシンイミド ( D t s )、N - 2, 3 - ジフェニルマレイミド、N - 2, 5 - ジメチルピロール、N - 1, 1, 4, 4 - テトラメチルジシリルアザシクロペンタン付加物 ( S T A B A S E )、5 - 置換 1, 3 - ジメチル - 1, 3, 5 - トリアザシクロヘキサン - 2 - オン、5 - 置換 1, 3 - ジベンジル - 1, 3, 5 - トリアザシクロヘキサン - 2 - オン、1 - 置換 3, 5 - ジニトロ - 4 - ヒドロキシル、N - メチルアミン、N - アリルアミン、N - [ 2 - ( トリメチルシリル ) エトキシ ] メチルアミン ( S E M )、N - 3 - アセトキシピロピルアミン、N - ( 1 - イソプロピル - 4 - ニトロ - 2 - オキソ - 3 - ピロオリン ( p y r o o l i n ) - 3 - イル ) アミン、第 4 級アンモニウム塩、N - ベンジルアミン、N - ジ ( 4 - メトキシフェニル ) メチルアミン、N - 5 - ジベンゾスベリルアミン、N - トリフェニルメチルアミン ( T r )、N - [ ( 4 - メトキシフェニル ) ジフェニルメチル ] アミン ( M M T r )、N - 9 - フェニルフルオレニルアミン ( P h F )、N - 2, 7 - ジクロロ - 9 - フルオレニルメチレンアミン、N - フェロセニルメチルアミノ ( F c m )、N - 2 - ピコリルアミノ N' - オキシド、N - 1, 1 - ジメチルチオメチレンアミン、N - ベンジリデンアミン、N - p - メトキシベンジリデンアミン、N - ジフェニルメチレンアミン、N - [ ( 2 - ピリジル ) メチル ] メチレンアミン、N - ( N', N' - ジメチルアミノメチレン ) アミン、N, N' - イソプロピリデンジアミン、N - p - ニトロベンジリデンアミン、N - サリチリデンアミン、N - 5 - クロロサリチリデンアミン、N - ( 5 - クロロ - 2 - ヒドロキシフェニル ) フェニルメチレンアミン、N - シクロヘキシリデンアミン、N - ( 5, 5 - ジメチル - 3 - オキソ - 1 - シクロヘキセニル ) アミン、N - ボラン誘導体、N - ジフェニルボリン酸誘導体、N - [ フェニル ( ペンタアシルクロム - またはタングステン ) アシル ] アミン、N - 銅キレート、N - 亜鉛キレート、N - ニトロアミン、N - ニトロソアミン、アミン N - オキシド、ジフェニルホスフィンアミド ( D p p )、ジメチルチオホスフィンアミド ( M p t )、ジフェニルチオホスフィンアミド ( P p t )、ジアルキルホスホルアミデート、ジベンジルホスホルアミデート、ジフェニルホスホルアミデート、ベンゼンスルフェンアミド、o - ニトロベンゼンスルフェンアミド ( N p s )、2, 4 - ジニトロベンゼンスルフェンアミド、ペンタクロロベンゼンスルフェンアミド、2 - ニトロ - 4 - メトキシベンゼンスルフェンアミド、トリフェニルメチルスルフェンアミド、および 3 - ニトロピリジンスルフェンアミド ( N p y s ) が挙げられる。

#### 【 0 1 8 7 】

一部の特定の実施形態では、酸素原子上に存在する置換基は酸素保護基である ( ヒドロキシル保護基とも称される )。酸素保護基としては、限定されないが、- R<sup>a a</sup>、- N ( R<sup>b b</sup> )<sub>2</sub>、- C ( = O ) S R<sup>a a</sup>、- C ( = O ) R<sup>a a</sup>、- C O<sub>2</sub> R<sup>a a</sup>、- C ( = O ) N ( R<sup>b b</sup> )<sub>2</sub>、- C ( = N R<sup>b b</sup> ) R<sup>a a</sup>、- C ( = N R<sup>b b</sup> ) O R<sup>a a</sup>、- C ( = N R<sup>b b</sup> ) N ( R<sup>b b</sup> )<sub>2</sub>、- S ( = O ) R<sup>a a</sup>、- S O<sub>2</sub> R<sup>a a</sup>、- S i ( R<sup>a a</sup> )<sub>3</sub>、- P ( R<sup>c c</sup> )<sub>2</sub>、- P ( R<sup>c c</sup> )<sub>3</sub>、- P ( = O )<sub>2</sub> R<sup>a a</sup>、- P ( = O ) ( R<sup>a a</sup> )<sub>2</sub>、- P ( = O ) ( O R<sup>c c</sup> )<sub>2</sub>、- P ( = O )<sub>2</sub> N ( R<sup>b b</sup> )<sub>2</sub>、および - P ( = O ) ( N R<sup>b b</sup> )<sub>2</sub> が挙げられ、ここで、R<sup>a a</sup>、R<sup>b b</sup> および R<sup>c c</sup> は本明細書に定義したとおりである。酸素保護基は当該技術分野でよく知られており、Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene お



よび P. G. M. W u t s , 第 3 版 , J o h n W i l e y & S o n s , 1 9 9 9 ( 引用により本明細書に組み込まれる ) に記載のものが挙げられる。

【 0 1 8 8 】

例示的な酸素保護基としては、限定されないが、メチル、メトキシメチル ( M O M ) 、メチルチオメチル ( M T M ) 、 t - ブチルチオメチル、(フェニルジメチルシリル)メトキシメチル ( S M O M ) 、ベンジルオキシメチル ( B O M ) 、 p - メトキシベンジルオキシメチル ( P M B M ) 、( 4 - メトキシフェノキシ)メチル ( p - A O M ) 、グアイアコールメチル ( G U M ) 、 t - ブトキシメチル、4 - ペンテニルオキシメチル ( P O M ) 、シロキシメチル、2 - メトキシエトキシメチル ( M E M ) 、2 , 2 , 2 - トリクロロエトキシメチル、ビス ( 2 - クロロエトキシ)メチル、2 - (トリメチルシリル)エトキシメチル ( S E M O R ) 、テトラヒドロピラニル ( T H P ) 、3 - プロモテトラヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、1 - メトキシシクロヘキシル、4 - メトキシテトラヒドロピラニル ( M T H P ) 、4 - メトキシテトラヒドロチオピラニル、4 - メトキシテトラヒドロチオピラニル S , S - ジオキシド、1 - [ ( 2 - クロロ - 4 - メチル)フェニル] - 4 - メトキシピペリジン - 4 - イル ( C T M P ) 、1 , 4 - ジオキサン - 2 - イル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオフラニル、2 , 3 , 3 a , 4 , 5 , 6 , 7 , 7 a - オクタヒドロ - 7 , 8 , 8 - トリメチル - 4 , 7 - メタノベンゾフラン - 2 - イル、1 - エトキシエチル、1 - ( 2 - クロロエトキシ)エチル、1 - メチル - 1 - メトキシエチル、1 - メチル - 1 - ベンジルオキシエチル、1 - メチル - 1 - ベンジルオキシ - 2 - フルオロエチル、2 , 2 , 2 - トリクロロエチル、2 - トリメチルシリルエチル、2 - (フェニルセレニル)エチル、t - ブチル、アリル、p - クロロフェニル、p - メトキシフェニル、2 , 4 - ジニトロフェニル、ベンジル ( B n ) 、p - メトキシベンジル、3 , 4 - ジメトキシベンジル、o - ニトロベンジル、p - ニトロベンジル、p - ハロベンジル、2 , 6 - ジクロロベンジル、p - シアノベンジル、p - フェニルベンジル、2 - ピコリル、4 - ピコリル、3 - メチル - 2 - ピコリル N - オキシド、ジフェニルメチル、p , p ' - ジニトロベンズヒドリル、5 - ジベンゾスベリル、トリフェニルメチル、 - ナフチルジフェニルメチル、p - メトキシフェニルジフェニルメチル、ジ ( p - メトキシフェニル)フェニルメチル、トリ ( p - メトキシフェニル)メチル、4 - ( 4 ' - プロモフェナシルオキシフェニル)ジフェニルメチル、4 , 4 ' , 4 " - トリス ( 4 , 5 - ジクロロフタルイミドフェニル)メチル、4 , 4 ' , 4 " - トリス (レブリノイルオキシフェニル)メチル、4 , 4 ' , 4 " - トリス (ベンゾイルオキシフェニル)メチル、3 - (イミダゾール - 1 - イル)ビス ( 4 ' , 4 " - ジメトキシフェニル)メチル、1 , 1 - ビス ( 4 - メトキシフェニル) - 1 ' - ビレニルメチル、9 - アントリル、9 - ( 9 - フェニル)キサンテニル、9 - ( 9 - フェニル - 10 - オキソ)アントリル、1 , 3 - ベンゾチオラン - 2 - イル、ベンゾイソチアゾリル S , S - ジオキシド、トリメチルシリル ( T M S ) 、トリエチルシリル ( T E S ) 、トリイソプロピルシリル ( T I P S ) 、ジメチルイソプロピルシリル ( I P D M S ) 、ジエチルイソプロピルシリル ( D E I P S ) 、ジメチルテキシルシリル、t - ブチルジメチルシリル ( T B D M S ) 、t - ブチルジフェニルシリル ( T B D P S ) 、トリベンジルシリル、トリ - p - キシリルシリル、トリフェニルシリル、ジフェニルメチルシリル ( D P M S ) 、t - ブチルメトキシフェニルシリル ( T B M P S ) 、ホルメート、ベンゾイルホルメート、アセテート、クロロアセテート、ジクロロアセテート、トリクロロアセテート、トリフルオロアセテート、メトキシアセテート、トリフェニルメトキシアセテート、フェノキシアセテート、p - クロロフェノキシアセテート、3 - フェニルプロピオネート、4 - オキソペンタノエート (レブリネート)、4 , 4 - (エチレンジチオ)ペンタノエート (レブリノイルジチオアセタール)、ピバロエート、アダマントエート、クロトネート、4 - メトキシクロトネート、ベンゾエート、p - フェニルベンゾエート、2 , 4 , 6 - トリメチルベンゾエート (メシトエート)、メチルカーボネート、9 - フルオレニルメチルカーボネート ( F m o c ) 、エチルカーボネート、2 , 2 , 2 - トリクロロエチルカーボネート ( T r o c ) 、2 - (トリメチルシリル)エチルカーボネート ( T M S E C ) 、2 - (フェニルスルホニル)エチルカーボネート ( P s e c

10

20

30

40

50

)、2-(トリフェニルホスホニオ)エチルカーボネート(Peoc)、イソブチルカーボネート、ビニルカーボネート、アリルカーボネート、t-ブチルカーボネート(BOC)、p-ニトロフェニルカーボネート、ベンジルカーボネート、p-メトキシベンジルカーボネート、3,4-ジメトキシベンジルカーボネート、o-ニトロベンジルカーボネート、p-ニトロベンジルカーボネート、S-ベンジルチオカーボネート、4-エトキシ-1-ナフチル(napththyl)カーボネート、メチルジチオカーボネート、2-ヨードベンゾエート、4-アジドブチレート、4-ニトロ-4-メチルペンタノエート、o-(ジプロモメチル)ベンゾエート、2-ホルミルベンゼンスルホネート、2-(メチルチオメトキシ)エチル、4-(メチルチオメトキシ)ブチレート、2-(メチルチオメトキシメチル)ベンゾエート、2,6-ジクロロ-4-メチルフェノキシアセテート、2,6-ジクロロ-4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノキシアセテート、2,4-ビス(1,1-ジメチルプロピル)フェノキシアセテート、クロロジフェニルアセテート、イソブチレート、モノスクシノエート、(E)-2-メチル-2-ブテノエート、o-(メトキシアシル)ベンゾエート、-ナフトエート、ニトレート、アルキルN,N,N'-テトラメチルホスホロジアミデート、アルキルN-フェニルカルバメート、ボレート、ジメチルホスフィノチオイル、アルキル2,4-ジニトロフェニルスルフェネート、スルフェート、メタンスルホネート(メシレート)、ベンジルスルホネート、およびトシレート(Ts)が挙げられる。

#### 【0189】

一部の特定の実施形態では、イオウ原子上に存在する置換基はイオウ保護基である(チオール保護基とも称される)。イオウ保護基としては、限定されないが、 $-R^{aa}$ 、 $-N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=O)SR^{aa}$ 、 $-C(=O)R^{aa}$ 、 $-CO_2R^{aa}$ 、 $-C(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=NR^{bb})R^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})OR^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ 、 $-S(=O)R^{aa}$ 、 $-SO_2R^{aa}$ 、 $-Si(R^{aa})_3$ 、 $-P(R^{cc})_2$ 、 $-P(R^{cc})_3$ 、 $-P(=O)_2R^{aa}$ 、 $-P(=O)(R^{aa})_2$ 、 $-P(=O)(OR^{cc})_2$ 、 $-P(=O)_2N(R^{bb})_2$ 、および $-P(=O)(NR^{bb})_2$ が挙げられ、ここで、 $R^{aa}$ 、 $R^{bb}$ および $R^{cc}$ は本明細書に定義したとおりである。イオウ保護基は当該技術分野でよく知られており、Protecting Groups in Organic Synthesis, T.W.Green および P.G.M.Wuts, 第3版, John Wiley & Sons, 1999 (引用により本明細書に組み込まれる)に記載のものが挙げられる。

#### 【0190】

本明細書で用いる場合、用語「脱離基」は、合成有機化学の技術分野におけるその通常の意味で示しており、求核体で置き換えられ得る原子または基をいう。好適な脱離基の例としては、限定されないが、ハロゲン(F、Cl、Br、もしくはI(ヨウ素)など)、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、アルカンスルホニルオキシ、アレーンスルホニルオキシ、アルキル-カルボニルオキシ(例えば、アセトキシ)、アリールカルボニルオキシ、アリールオキシ、メトキシ、N,O-ジメチルヒドロキシルアミノ、ピキシル、およびハロホルメートが挙げられる。一部の 경우에는、脱離基はスルホン酸エステル、例えば、トルエンスルホネート(トシレート, -OTs)、メタンスルホネート(メシレート, -OMs)、p-ブロモベンゼンスルホニルオキシ(ブロシレート(brosylate), -OBS)、またはトリフルオロメタンスルホネート(トリフレート, -OTf)である。一部の 경우에는、脱離基はブロシレート、例えば、p-ブロモベンゼンスルホニルオキシである。一部の 경우에는、脱離基はノシレート(nosylate)、例えば、2-ニトロベンゼンスルホニルオキシである。一部の実施形態では、脱離基はスルホネート含有基である。一部の実施形態では、脱離基はトシレート基である。また、脱離基はホスフィンオキシド(例えば、光延反応中に形成されるもの)または内部脱離基、例えば、エポキシドもしくは環状スルフェートであってもよい。脱離基の他の非限定的な例は水、アンモニア、アルコール、エーテル部分、チオエーテル部分、ハロゲン化亜鉛、マグネシウム部分、ジアゾニウム塩および銅部分である。

## 【0191】

例示的な - GalCer 類似体 (a - Glc を有する GSL) は、ワクチン接種された患者の免疫系を刺激することによりワクチンの効果を加速、向上、持続および / または修飾もしくは増大させるための免疫学的アジュバントとして使用される。例示的な実施の一例では、類似体 C34 がアジュバントとして使用される。本明細書で用いる場合、用語「ミョウバンアジュバント」は免疫アジュバント活性を有するアルミニウム塩、例えば、リン酸アルミニウムおよび水酸化アルミニウムなどをいう。このような例示的な薬剤は溶液中でタンパク質抗原を吸着して沈殿させ得るものである ; 生じた沈殿物により、接種部位に形成されたワクチン貯留部からの抗原の低速放出が助長されることによってワクチンの免疫原性が改善される。さらに、本明細書において想定されるアジュバントとしてはまた、適当な有機アジュバントおよび適当なピロソームも挙げられ得る。一部の特定の実施形態では、例示的な有機アジュバントとしては油系アジュバント、例えば、スクアレン、MF59、QS - 21 および AS03 が挙げられ得る。

10

## 【0192】

本明細書で用いる場合、用語「抗腫瘍免疫療法活性薬剤」は、単独および / または他の相乗的薬剤との併用のいずれかで腫瘍を抑止、低減および / または消失させる本開示のワクチンによって生成する抗体をいう。

## 【0193】

- ガラクトシル基 (Gal) およびアシル鎖上にフェニル環を有するスフィンゴ糖脂質 (GSL) は、マウスおよびヒトの両方のインバリアント NK T (iNK T) 細胞の刺激に対して - ガラクトシルセラミド (GalCer) よりも強力であることが知られていた。マウスおよびヒトにおけるその活性は、iNK T TCR と CD1d - GSL 複合体間の三成分系相互作用の結合アビディティと相関していた。

20

## 【0194】

本開示は、グルコース (Glc) を有する GSL が、Gal を有するものよりもサイトカイン / ケモカインの誘導および免疫細胞の増殖 / 活性化においてヒトに対しては強力であるがマウスに対しては弱いという予期しない知見に関する。グルコース (Glc) および Glc の F 誘導体を有する GSL、ならびにそのヒトにおける免疫賦活活性に対する影響を本明細書において開示する。各種に対する三成分系相互作用の強度と関連する免疫賦活効力を本明細書において記載する。本明細書に開示した mCD1d と hCD1d (対比) のスワップアッセイによって実証されたように、種特異的応答を指示するのは CD1d ではなく iNK T TCR である。Glc を有するスフィンゴ糖脂質 (GSL) は Gal を有する GSL と比べて、ヒトにおいてより強い三成分系相互作用を有するものであり、より Th1 偏向性の免疫を誘発した。Glc を有する GSL は Gal を有する GSL より、マウスにおいて賦活性が低い。種特異的応答は、本明細書に記載の mCD1d と hCD1d (対比) のスワップアッセイに裏付けられたマウス iNK T TCR とヒト iNK T TCR の差に反映される種間の三元複合体の結合アビディティの差によるものである。

30

## 【0195】

このような新規な所見は種における差を示し、グリコシル基にヒトの治療に対してより有効な修飾を有する GSL の新規な設計がもたらされる。

40

## 【0196】

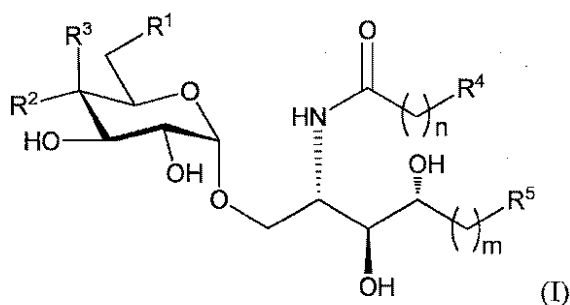
化合物

## 【0197】

本開示は、式 (I) :

## 【0198】

## 【化 4】



10

## 【0199】

例示的な免疫アジュバント化合物またはその薬学的に許容され得る塩に関する；式中、 $R^1$  は - OH またはハロゲンであり； $R^2$  は - OH、水素またはハロゲンであり； $R^3$  は水素またはハロゲンであり； $R^4$  および  $R^5$  は各々、独立して、水素、ハロゲン、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアルケニル、任意選択的に置換されたアルキニル、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたアリール、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基または任意選択的に置換されたアシルからなる群より選択され； $n$  は 1 ~ 15 (両端を含む) の整数であり； $m$  は 1 ~ 20 (両端を含む) の整数である。

20

## 【0200】

化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^2$  が - OH である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^2$  が水素である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^2$  がハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^2$  が F である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^2$  が Cl である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^2$  が Br である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^2$  が I である。

## 【0201】

化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  が - OH である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  がハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  が F である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  が Cl である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  が Br である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  が I である。

30

## 【0202】

化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^3$  が水素である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^3$  がハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^3$  が F である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^3$  が Cl である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^3$  が Br である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^3$  が I である。

## 【0203】

化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  が - OH であり； $R^2$  が - OH、水素またはハロゲンであり； $R^3$  が水素またはハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  が - OH であり； $R^2$  が - OH であり； $R^3$  が水素またはハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  が - OH であり； $R^2$  が水素であり； $R^3$  が水素またはハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  が - OH であり； $R^2$  がハロゲンであり； $R^3$  が水素またはハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  がハロゲンであり； $R^2$  が - OH、水素またはハロゲンであり； $R^3$  が水素またはハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  がハロゲンであり； $R^2$  が - OH であり； $R^3$  が水素またはハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  がハロゲンであり； $R^2$  が水素であり； $R^3$  が水素またはハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^1$  がハロゲンであり； $R^2$  がハロゲンであり； $R^3$  が水素またはハロゲンである。

40

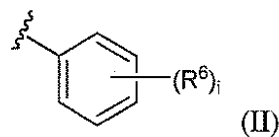
50

## 【0204】

化合物(Ⅰ)の一部の実施形態では、 $R^4$ がフェニルである。一部の実施形態では、 $R^4$ が式(Ⅱ)：

## 【0205】

## 【化5】



10

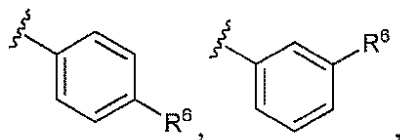
の任意選択的に置換されたフェニルであり、

## 【0206】

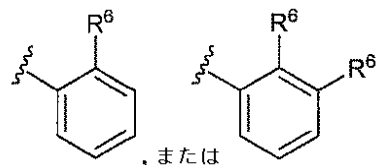
式中、 $i = 0, 1, 2, 3, 4$ または5；各場合の $R^6$ は独立して、水素、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアルケニル、任意選択的に置換されたアルキニル、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたフェニル、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基または任意選択的に置換されたアシルからなる群より選択される。一部の特定の実施形態では、 $i$ が0である。一部の特定の実施形態では、 $i$ が1である。一部の特定の実施形態では、 $i$ が2である。一部の特定の実施形態では、 $i$ が3である。一部の特定の実施形態では、 $i$ が4である。一部の特定の実施形態では、 $i$ が5である。一部の特定の実施形態では、 $i$ が1であり、 $R^6$ がハロゲンである。一部の特定の実施形態では、 $i$ が1であり、 $R^4$ が式：

20

## 【化6】



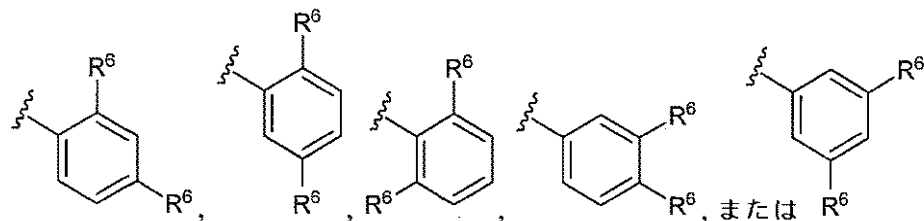
## 【化7】



30

のうちの1つである。一部の特定の実施形態では、 $i$ が2であり、 $R^4$ が式：

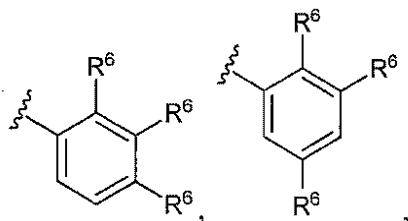
## 【化8】



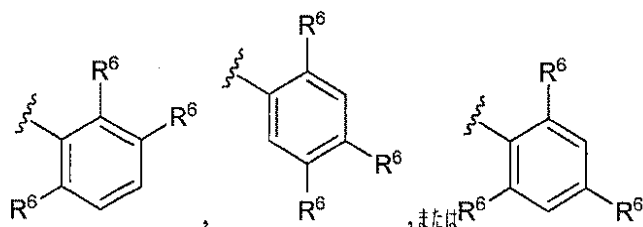
40

のうちの1つである。一部の特定の実施形態では、 $i$ が3であり、 $R^4$ が式：

## 【化 9】



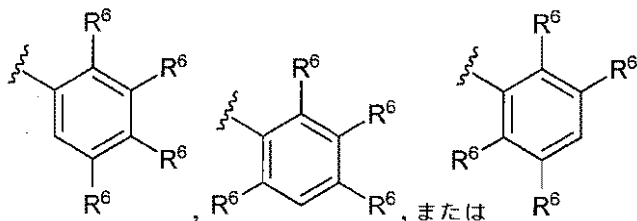
## 【化 10】



10

のうちの1つである。一部の特定の実施形態では、 $i$  が 4 であり、 $R^4$  が式：

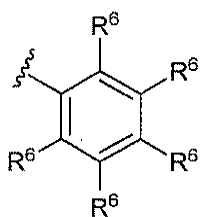
## 【化 11】



20

のうちの1つである。一部の特定の実施形態では、 $i$  が 5 であり、 $R^4$  が式

## 【化 12】



30

のものである。

## 【0207】

化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^6$  がハロゲンである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^6$  が F である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^6$  が Cl である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^6$  が Br である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^6$  が I である。

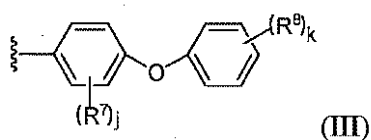
40

## 【0208】

化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^4$  が、任意選択的に置換されたアリールである。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^4$  が式 (III)：

## 【0209】

## 【化 13】

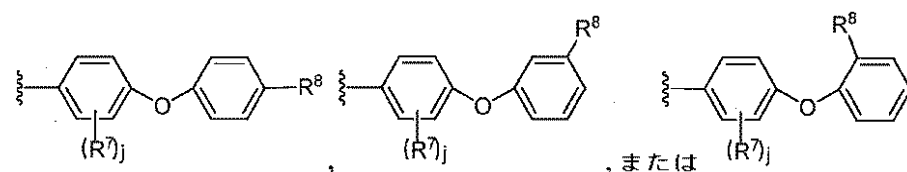


50

のものであり、

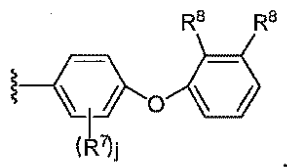
【0210】

式中、 $j$  は 0、1、2、3 または 4 であり； $k$  は 0、1、2、3、4 または 5 であり；各場合の  $R^7$  および  $R^8$  は独立して、水素、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、任意選択的に置換されたアルキル、任意選択的に置換されたアルケニル、任意選択的に置換されたアルキニル、任意選択的に置換されたカルボシクリル、任意選択的に置換されたフェニル、任意選択的に置換されたヘテロシクリル、任意選択的に置換されたヘテロアリール、任意選択的に置換されたアルコキシ、任意選択的に置換されたアミノ基または任意選択的に置換されたアシルからなる群より選択される。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 0 である。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 1 である。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 2 である。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 3 である。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 4 である。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 5 である。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 1 であり、 $R^8$  がハロゲンである。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 1 であり、 $R^4$  が式：

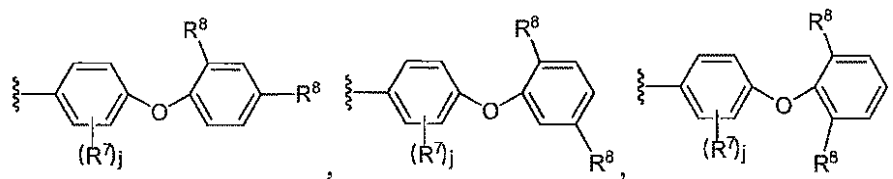


のうちの 1 つである。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 2 であり、 $R^4$  が式：

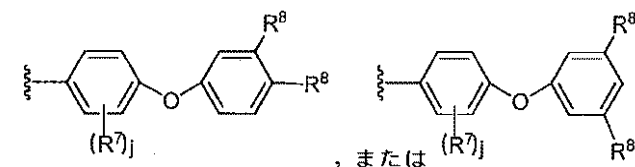
【化 15】



【化 16】

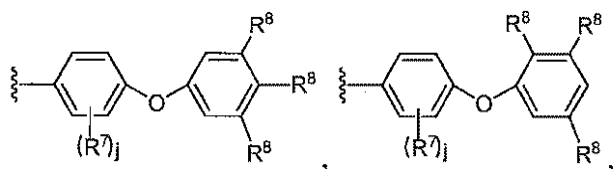


【化 17】

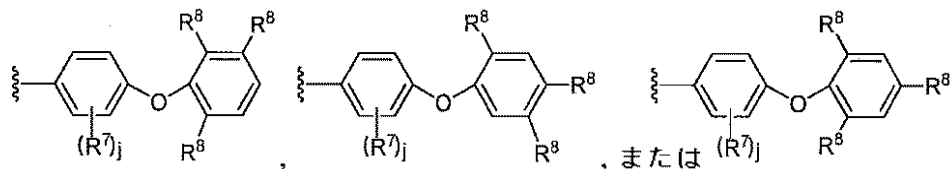


のうちの 1 つである。一部の特定の実施形態では、 $k$  が 3 であり、 $R^4$  が式：

【化 18】

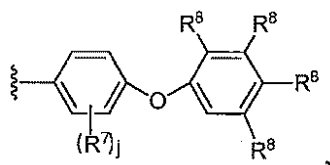


## 【化 19】



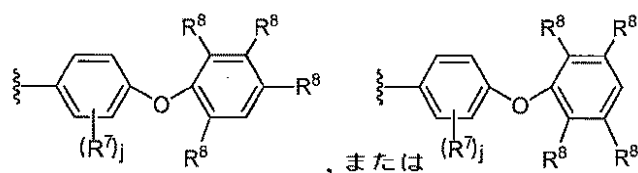
のうちの1つである。一部の特定の実施形態では、 $k$  が4であり、 $R^4$  が式：

## 【化 20】



10

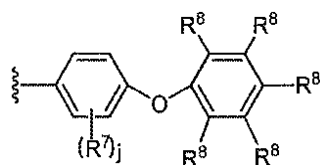
## 【化 21】



20

のうちの1つである。一部の特定の実施形態では、 $k$  が5であり、 $R^4$  が式

## 【化 22】



のものである。

## 【0211】

化合物 (I) の一部の実施形態では、 $n$  が1～15 (両端を含む) の整数である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $n$  が5～15 (両端を含む) の整数である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $n$  が10～15 (両端を含む) の整数である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $n$  が10である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $n$  が11である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $n$  が12である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $n$  が13である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $n$  が14である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $n$  が15である。

30

## 【0212】

化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が1～20 (両端を含む) の整数である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が5～20 (両端を含む) の整数である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が5～15 (両端を含む) の整数である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が10～15 (両端を含む) の整数である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が10である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が11である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が12である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が13である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が14である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $m$  が15である。

40

## 【0213】

化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^7$  が水素であり； $R^8$  がFであり； $k$  が1、2または3である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^7$  がFであり； $R^8$  が水素であり； $j$  が1、2または3である。化合物 (I) の一部の実施形態では、 $R^7$  および  $R^8$  がともにFであり； $k$  が1、2または3であり； $j$  が1、2または3である。

50

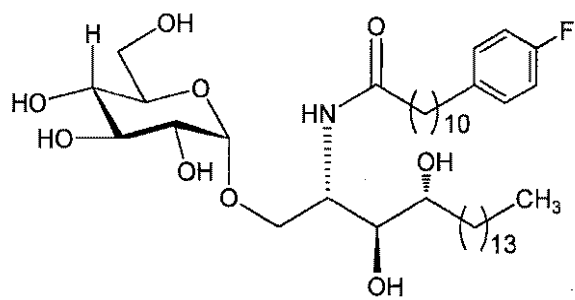


【 0 2 1 4 】

式 ( I ) の一部の実施形態では、提供する化合物は下記の化合物のうちの 1 つである：

【 0 2 1 5 】

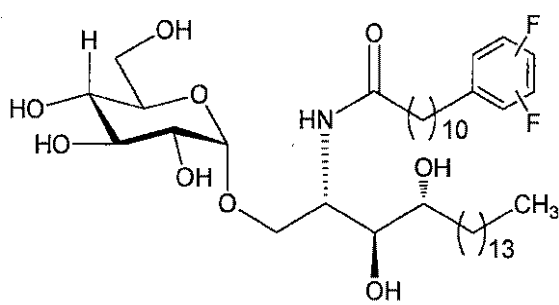
【 化 2 3 】



10

【 0 2 1 6 】

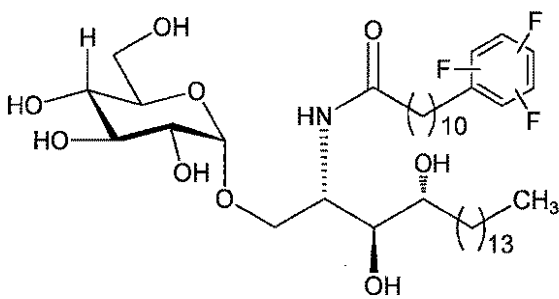
【 化 2 4 】



20

【 0 2 1 7 】

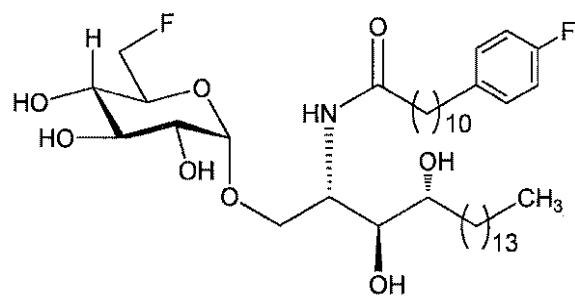
【 化 2 5 】



30

【 0 2 1 8 】

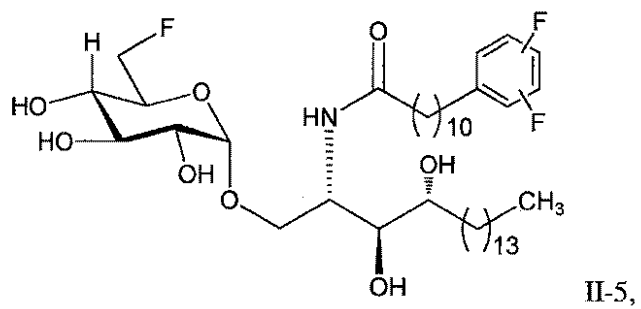
【 化 2 6 】



40

【 0 2 1 9 】

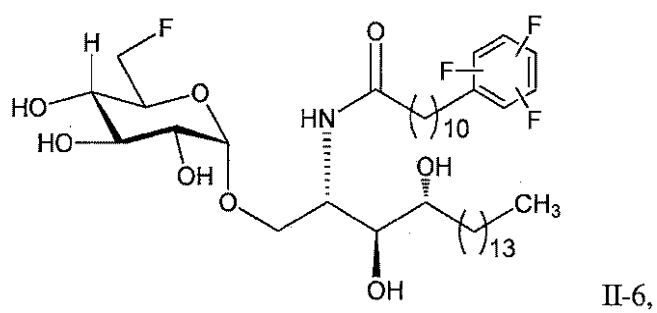
【化 2 7】



10

【 0 2 2 0】

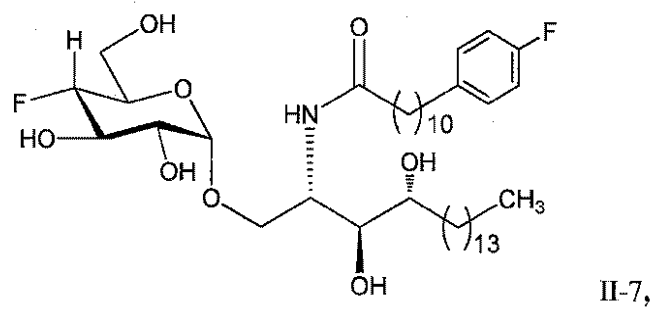
【化 2 8】



20

【 0 2 2 1】

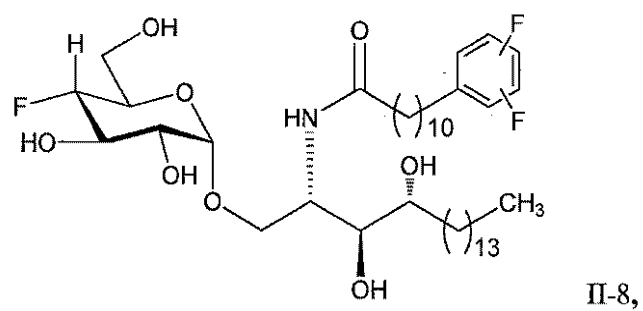
【化 2 9】



30

【 0 2 2 2】

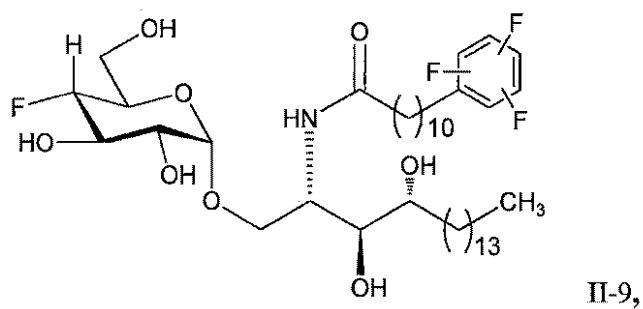
【化 3 0】



40

【 0 2 2 3】

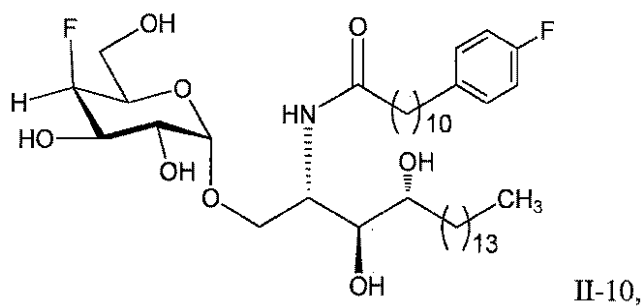
【化 3 1】



10

【 0 2 2 4】

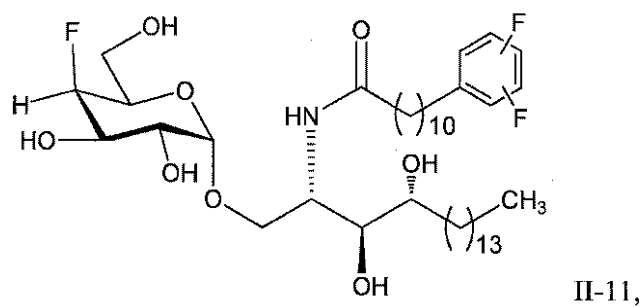
【化 3 2】



20

【 0 2 2 5】

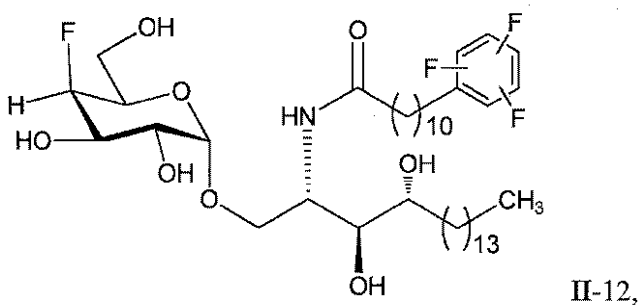
【化 3 3】



30

【 0 2 2 6】

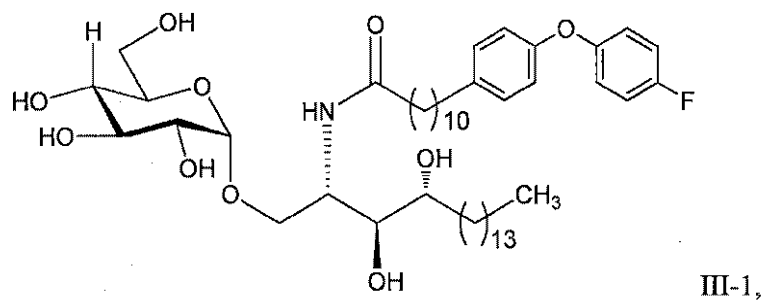
【化 3 4】



40

【 0 2 2 7】

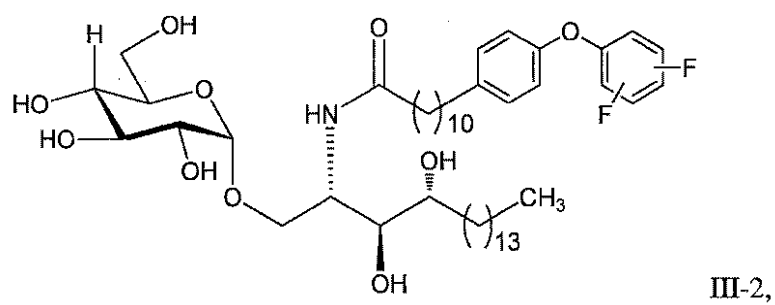
【化 3 5】



10

【 0 2 2 8 】

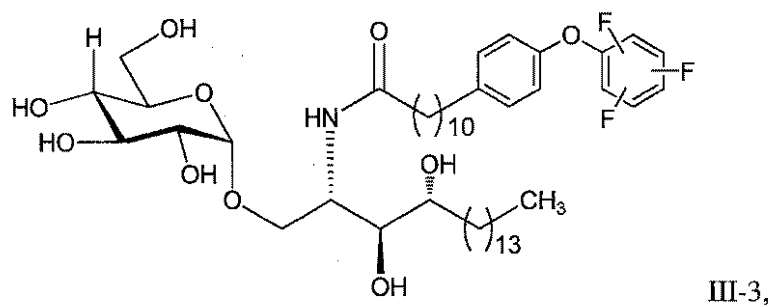
【化 3 6】



20

【 0 2 2 9 】

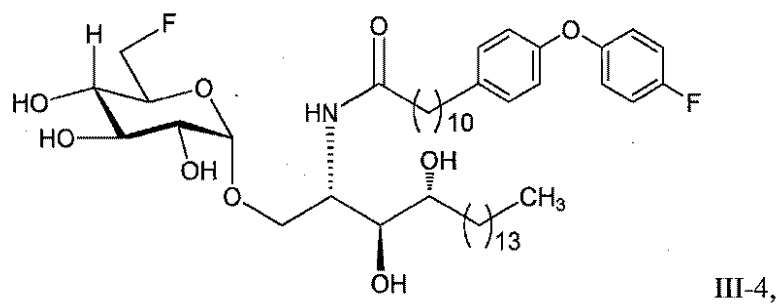
【化 3 7】



30

【 0 2 3 0 】

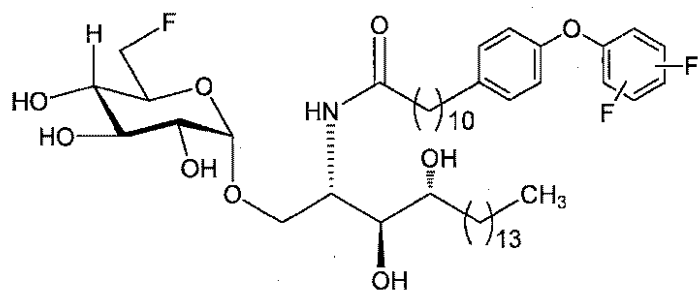
【化 3 8】



40

【 0 2 3 1 】

【化 3 9】

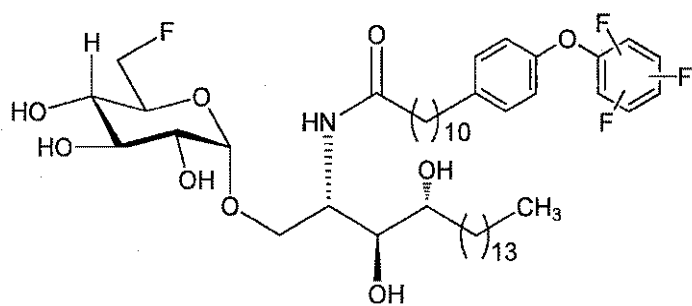


III-5,

10

【 0 2 3 2】

【化 4 0】

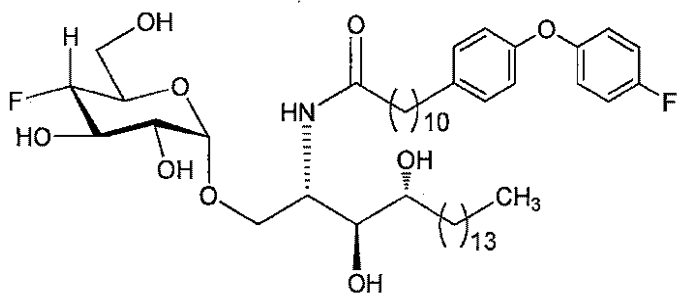


III-6,

20

【 0 2 3 3】

【化 4 1】

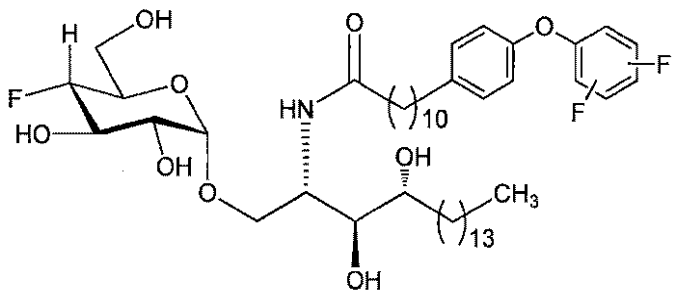


III-7,

30

【 0 2 3 4】

【化 4 2】

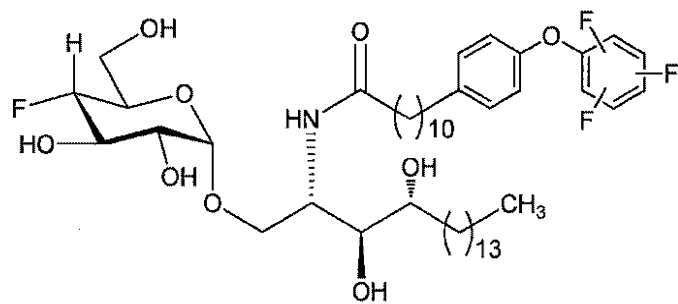


III-8,

40

【 0 2 3 5】

【化 4 3】

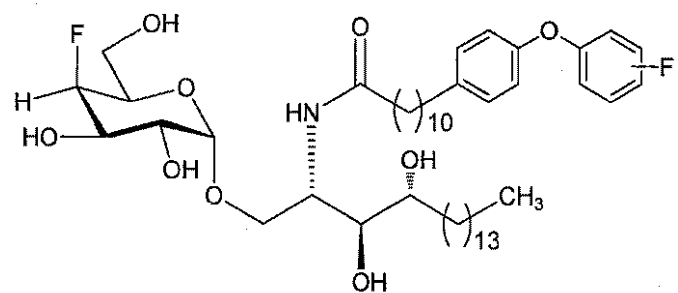


III-9,

10

【 0 2 3 6 】

【化 4 4】

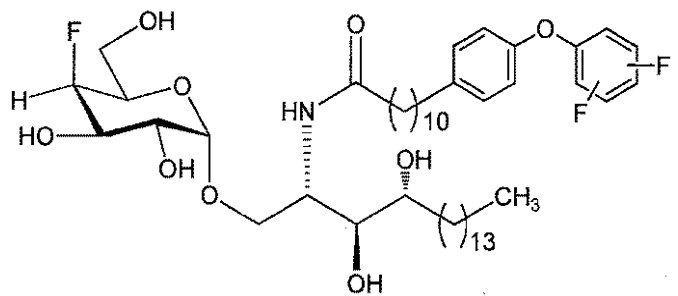


III-10,

20

【 0 2 3 7 】

【化 4 5】

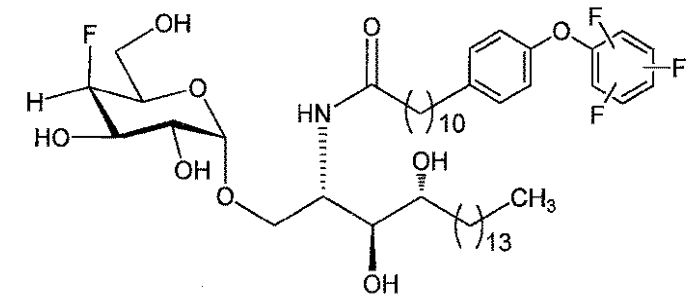


III-11,

30

【 0 2 3 8 】

【化 4 6】

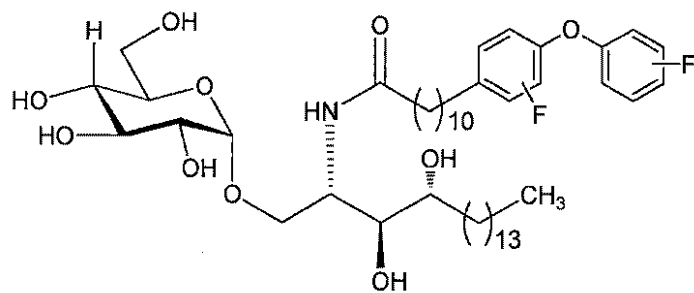


III-12,

40

【 0 2 3 9 】

【化 4 7】

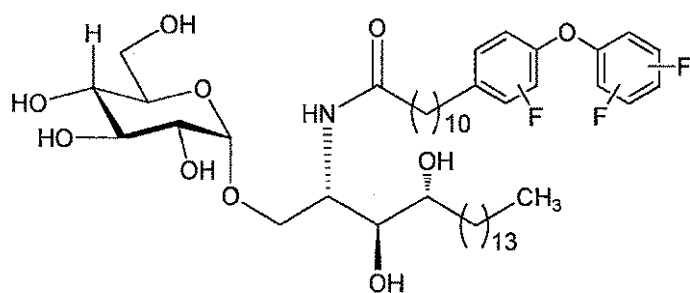


III-13,

10

【 0 2 4 0 】

【化 4 8】

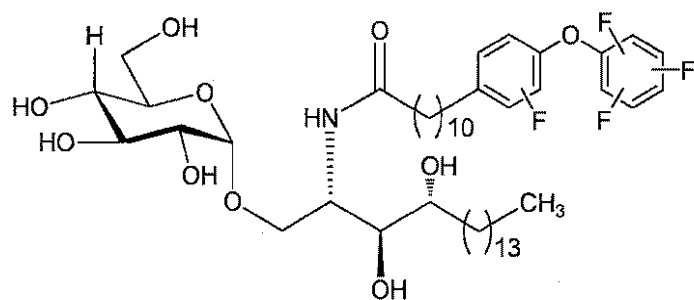


III-14,

20

【 0 2 4 1 】

【化 4 9】

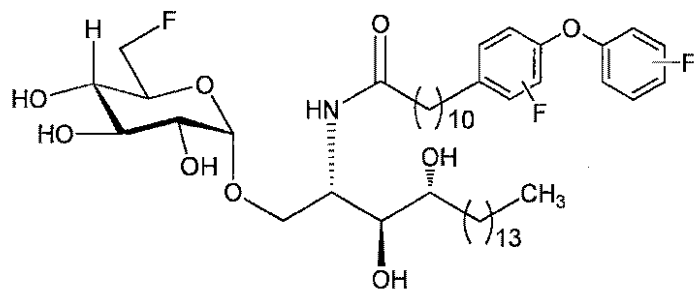


III-15,

30

【 0 2 4 2 】

【化 5 0】

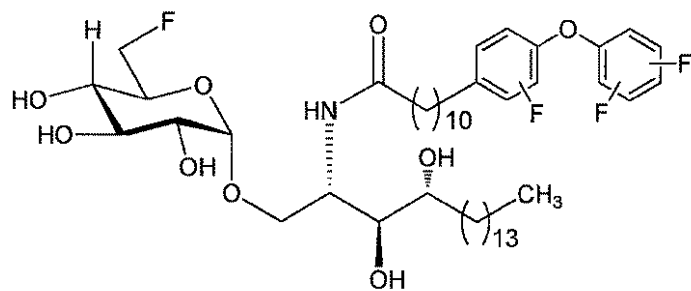


III-16,

40

【 0 2 4 3 】

【化 5 1】

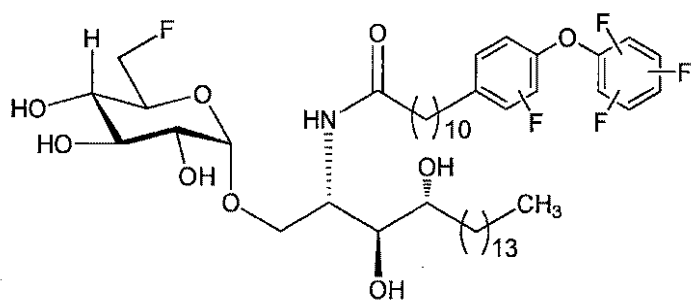


III-17,

10

【 0 2 4 4 】

【化 5 2】

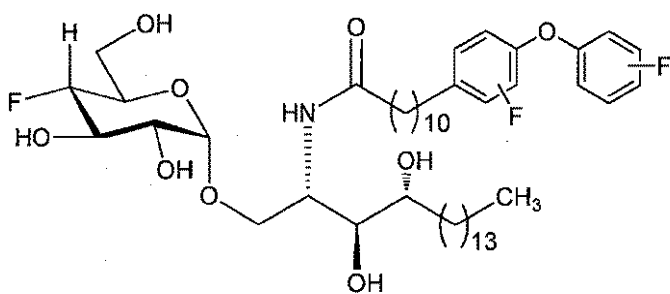


III-18,

20

【 0 2 4 5 】

【化 5 3】

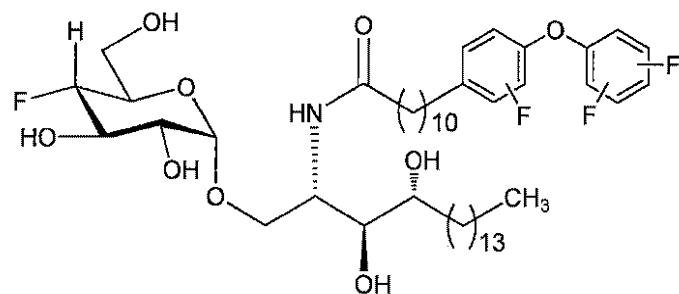


III-19,

30

【 0 2 4 6 】

【化 5 4】



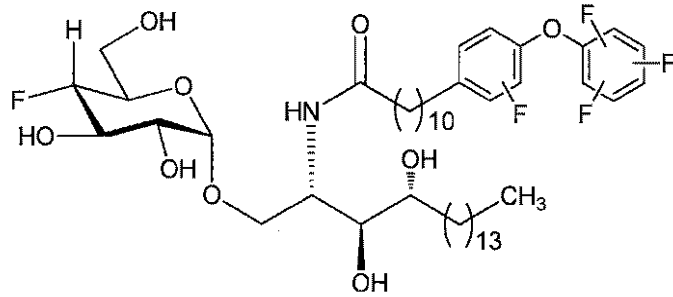
III-20,

40

【 0 2 4 7 】



【化 5 5】

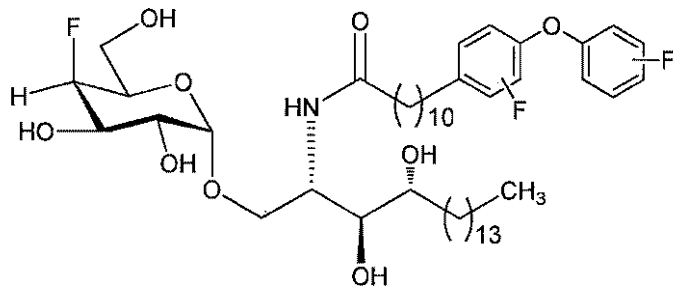


III-21,

10

【 0 2 4 8】

【化 5 6】

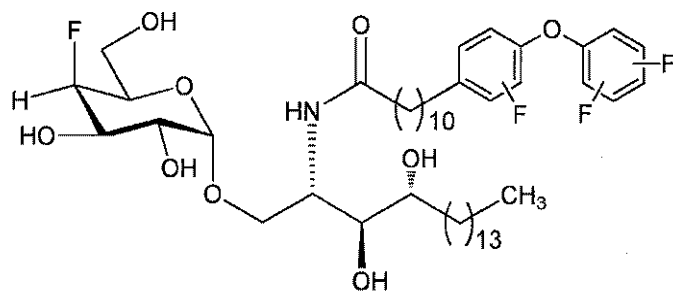


III-22,

20

【 0 2 4 9】

【化 5 7】

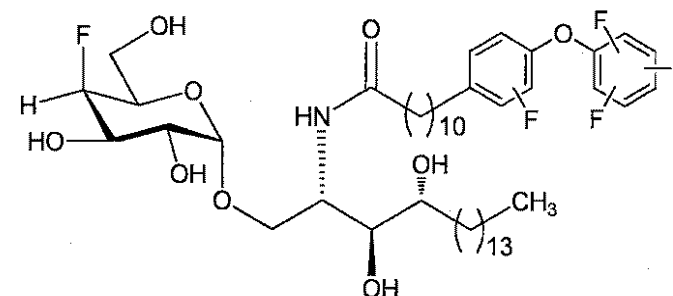


III-23,

30

【 0 2 5 0】

【化 5 8】



III-24.

40

【 0 2 5 1】

医薬組成物

【 0 2 5 2】

本開示により、本明細書に記載の例示的な化合物および薬学的に許容され得る賦形剤を含む医薬組成物を提供する。本明細書に開示した組成物を、医薬組成物または栄養補助食品組成物中に、本開示を読むと当業者によって特定可能なさらなる活性薬剤、担体、ビヒクル、賦形剤または補助薬剤とともに含めてもよい。

50

## 【0253】

医薬組成物は、好ましくは少なくとも1種類の薬学的に許容され得る担体を含むものである。かかる医薬組成物において、本明細書に開示した組成物は、「活性薬剤」とも称される「活性化化合物」を構成する。本明細書で用いる場合、文言「薬学的に許容され得る担体」には、医薬の投与と適合性である溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤ならびに吸収遅延剤などが包含される。また、補助的な活性化化合物を該組成物に組み込んでよい。医薬組成物は、意図される投与経路と適合性であるように製剤化される。投与経路の例としては非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口（例えば、吸入）、経皮（経表面）、経粘膜および経直腸投与が挙げられる。非経口、皮内または皮下適用に使用される液剤または懸濁剤には以下の成分：滅菌希釈剤、例えば注射用水、生理食塩水溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒；抗菌剤、例えばベンジルアルコールまたはメチルパラベン；酸化防止剤、例えばアスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウム；キレート剤、例えばエチレンジアミン四酢酸；バッファー、例えば酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩および張度を調整するための薬剤、例えば塩化ナトリウムまたはデキストロースが含まれ得る。pHは、酸または塩基（塩酸または水酸化ナトリウムなど）を用いて調整され得る。非経口調製物は、アンプル、使い捨てシリンジ、またはガラスもしくはプラスチック製の反復用量バイアル内に封入され得る。

10

## 【0254】

被験体は、本明細書で用いる場合、ヒトおよび非ヒト霊長類（例えば、ゴリラ（*g u e r i l l a*）、マカクザル、マーモセット）、家畜動物（例えば、ヒツジ、ウシ、ウマ、ロバおよびブタ）、愛玩動物（例えば、イヌ、ネコ）、実験用試験動物（例えば、マウス、ウサギ、ラット、モルモット、ハムスター）、捕獲野生動物（例えば、キツネ、シカ）、ならびに本開示の薬剤の恩恵を被り得る任意の他の生物体をいう。本明細書に記載の薬剤の恩恵を被り得る動物の型に制限はない。被験体は、ヒトであるか非ヒト生物体であるかに関係なく、患者、個体、動物、宿主またはレシピエントと称され得る。

20

## 【0255】

注射用途に適した医薬組成物としては、滅菌水性液剤（水溶性の場合）または分散剤および滅菌注射用液剤または分散剤の即時調製のための滅菌粉末が挙げられる。静脈内投与では、適当な担体としては、生理食塩水、静菌水、*C r e m o p h o r E L*（商標）（*B A S F , P a r s i p p a n y , N . J .*）、またはリン酸緩衝生理食塩水（*P B S*）が挙げられる。すべての場合において、組成物は滅菌されているのがよく、易注射針通過性が存在する程度に流動性であるのがよい。該組成物は、製造条件下および保存条件下で安定であるのがよく、微生物（細菌および真菌など）の汚染作用に対して保存されているのがよい。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコールおよび液状ポリエチレングリコールなど）およびその適当な混合物を含有している溶媒または分散媒であり得る。適正な流動性は、例えば、コーティング（レシチンなど）の使用、分散剤の場合は必要とされる粒径の維持、および界面活性剤の使用によって維持され得る。微生物の作用の抑制は、種々の抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって得られ得る。多くの場合、等張剤、例えば、糖類、多価アルコール、例えばマンニトール、ソルビトールまたは塩化ナトリウムを組成物中に含めることが好ましい。注射用組成物の長期吸収は、組成物中に吸収を遅延させる薬剤（例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチン）を含めることによってもたらされ得る。

30

40

## 【0256】

本明細書に記載の組成物の使用

## 【0257】

本発明により、免疫応答の刺激をそれを必要とするヒト被験体において行なうのに有用な組成物、該被験体に治療有効量の本明細書に開示した組成物を投与することを含む方法を提供する。

50

## 【 0 2 5 8 】

本明細書に記載の組成物はまた、インバリアントナチュラルキラー T ( i N K T ) 細胞の生成をそれを必要とするヒト被験体において上昇させるためにも使用され得、該方法は：それを必要とする該被験体に、治療有効量の薬学的に許容され得る組成物を投与することを含むものであり、ここで、該組成物は本明細書に開示した例示的な化合物を含むものである。

## 【 0 2 5 9 】

また、本明細書に記載の例示的な組成物は、サイトカインおよび/またはケモカインの生成の刺激をそれを必要とするヒト被験体において行なうためにも使用され得、該方法は：該被験体に治療有効量の薬学的に許容され得る組成物を投与することを含むものであり、ここで、該組成物はサイトカイン/ケモカインの生成を増大させるのに十分な量の本明細書に開示した化合物を含むものである。

10

## 【 0 2 6 0 】

活性薬剤の「有効」量または「治療有効」量により、有益な効果がもたらされる無毒性であるが十分な該薬剤の量を意図する。「有効」である活性薬剤の量は、個体の年齢および一般健康状態、具体的な活性薬剤（１種類または複数種）などに応じて被験体ごとに異なる。特に記載のない限り、用語「治療有効」量は、本明細書で用いる場合、有害な状態の予防および/または有害な状態の改善に有効な量（すなわち、有害な状態の処置に有効な量に加えて）を包含していることを意図する。

## 【 0 2 6 1 】

20

本明細書において定義している場合、治療有効量の活性化合物（すなわち、有効投薬量）は約 0 . 0 0 1 ~ 1 0 0 g / k g 体重の範囲または必要以上に実験を行なうことなく当業者に自明であり得、理解され得る他の範囲であり得る。当業者には、一部の特定の要素が被験体を有効に処置するために必要とされる投薬量およびタイミングに影響を及ぼすことがあり得ることが認識され、限定されないが、疾患または障害の重症度、以前の処置、被験体の一般健康状態または年齢、および他の疾患の存在が挙げられる。

## 【 0 2 6 2 】

有害な状態は、該用語を本明細書で用いる場合、個体においてよくみられる「通常の」状態であってもよく、指定の疾患と関連していてもそうでなくてもよい病的状態であってもよい。

30

## 【 0 2 6 3 】

本明細書で用いる場合、用語「脂質」は、細胞シグナル伝達経路に關与する任意の脂溶性（親油性）分子をいう。

## 【 0 2 6 4 】

本明細書で用いる場合、用語「糖脂質」は、細胞による認識のためのマーカーとしての機能を果たす炭水化物結合型脂質をいう。

## 【 0 2 6 5 】

別の態様によれば、１つまたはそれより多くのパーツキットが当業者によって想定され得、該パーツキットは、本明細書に開示した方法の少なくとも１つを行なうためのものであり、該パーツキットは２種類またはそれより多くの組成物を備えたものであり、該組成物は、上記の方法の少なくとも１つに従う有効量の本明細書に開示した組成物を単独または組合せで含むものである。

40

## 【 0 2 6 6 】

キットは、場合によっては、活性薬剤、生物学的事象の識別表示、または本開示を読むと当業者によって特定可能な他の化合物を含む組成物もまた含む。また、キットに、有効量の本明細書に開示した組成物または細胞株を含む少なくとも１種類の組成物を備えてもよい。当業者によって特定可能な手順に従って本明細書に開示した少なくとも１つの方法を実施するために使用されるパーツキットの組成物および細胞株。

## 【 0 2 6 7 】

本明細書で用いる場合、用語「特異的（に）結合（する）」とは、結合ペア（例えば、

50

抗体と抗原)間の相互作用をいう。種々の場合において、特異的結合は、約  $10^{-6}$  モル/リットル、約  $10^{-7}$  モル/リットルもしくは約  $10^{-8}$  モル/リットルまたはそれより小さい親和定数によって具体的に示され得る。

【0268】

本発明を読むと当業者には自明であるように、本明細書に記載および図示した個々の各実施形態は独立した成分および特長を有し、これらは、本発明の範囲または精神から逸脱することなく、その他の任意のいくつかの実施形態の特長から容易に分離され得、または該特長と組み合わせられ得る。記載の任意の方法は、記載の事象の順序で行なってもよく、論理的に可能な任意の他の順序で行なってもよい。

【0269】

一態様において、本明細書に記載の免疫組成物は非経口投与され得る(例えば、静脈内注射、皮下注射または筋肉内注射)。あるいはまた、他の投与様式、例えば、坐剤および経口製剤が望ましい場合もあり得る。坐剤では、結合剤および担体としては、例えば、ポリアルカン(polyalkylene)グリコールまたはトリグリセリドが挙げられ得る。経口製剤には、通常使用される賦形剤(ingredient)、例えば、医薬等級のサッカリン、セルロース、炭酸マグネシウムなどが含まれ得る。このような組成物は、液剤、懸濁剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、徐放製剤または散剤の形態であり、10~95%の本明細書に記載の免疫組成物を含有している。

【0270】

免疫組成物は、投薬製剤と適合性である様式で、治療有効で防御的かつ免疫原性であるの量で投与される。投与される量は、処置対象の被験体に依存し、例えば、個体の免疫系が抗体を合成し、必要であれば細胞媒介性免疫応答をもたらし能力などに依存する。投与に必要とされる活性成分の厳密な量は医師の判断に依存する。しかしながら、適当な投薬量範囲は当業者によって容易に決定され得る。初期投与およびブースター投与のための好適なレジメンもまた種々であるが、初期投与に続いて後続投与が含まれ得る。また、ワクチンの投薬量も投与経路に依存し得、宿主の大きさに応じて異なる。

【0271】

本発明の免疫組成物は、抗体生成のための動物において抗体を生成させるためにも使用され得、該抗体は、がんの処置および診断の両方において使用され得る。動物(例えば、マウス、ウサギ、ヤギ、ヒツジまたはウマ)におけるモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体ならびにその断片の作製方法は当該技術分野でよく知られている。例えば、HarlowおよびLane, (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New Yorkを参照のこと。用語「抗体」には、インタクトな免疫グロブリン分子ならびにその断片、例えば、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv(一本鎖抗体)およびdAb(ドメイン抗体; Wardら(1989) Nature, 341, 544)が含まれる。

【0272】

特に定義していない限り、本明細書で用いる科学技術用語はすべて、本発明が属する技術分野の当業者に一般的に理解されているものと同じ意味を有する。矛盾する場合は、本文書(定義を含む)に支配される。本明細書に記載のものと同様または同等の任意の方法および材料が本発明の実施または試験において使用され得るが、次に、好ましい方法および材料に記載する。本明細書に具体的に記載した刊行物および特許はすべて、本発明とともに使用されるかもしれない刊行物に報告されている化学薬品、細胞株、ベクター、動物、機器、統計解析および方法論の説明および開示を含むあらゆる目的のために引用により組み込まれる。本明細書において挙げた参考文献はすべて、当該技術分野の技術水準を示すものであると解釈されたい。本明細書において、本発明が先行発明によりかかる開示の日付を前にする資格がないという是認であると解釈されるべきものはない。

【0273】

本発明の材料および方法を記載する前に、本発明は、記載の具体的な方法論、プロトコ

10

20

30

40

50

ル、材料および試薬に限定されないことを理解されたい（これらは種々であり得るため）。また、本明細書で用いている専門用語は、具体的な実施形態を説明する目的のためのものにすぎず、添付の特許請求の範囲によってのみ限定される本発明の範囲の限定を意図するものではないことも理解されたい。

#### 【0274】

値の範囲を示している場合、該範囲の上限と下限の間の各値（本文中にそうでないことを明記していない限り下限の単位の10分の1まで）および記載の範囲内の任意の他の記載の値または間の値が本発明の範囲に包含されていることは理解されよう。このようなより小さい範囲の上限および下限は、独立してより小さい範囲に含まれ得、また本発明の範囲にも含まれ、記載の範囲で任意の具体的に除外される限界値の対象となる。記載の範囲が限界値の一方または両方を含む場合、含まれた限界値のいずれかまたは両方を除外した範囲

10

#### 【実施例】

#### 【0275】

##### 実施例

以下の実施例は、当業者に完全な本発明ならびに本発明による実施形態をどのようにして作製および使用するかの説明をもたらすために示しており、本発明者らが発見とみなす範囲の限定を意図するものではない。使用した数値（例えば、量、温度など）に関して精度が確実になるよう努力を行なったが、いくつかの実験誤差および偏差を考慮されたい。特に記載のない限り、部は重量部であり、分子量は重量平均分子量であり、温度はセ氏度であり、圧力は大気圧またはほぼ大気圧である。

20

#### 【0276】

総論：全ての試薬の化学薬品は試薬等級として購入し、さらに精製せずに使用した。無水溶媒、例えばジクロロメタン（ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ）、テトラヒドロフラン（THF）、N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）、メタノール（MeOH）、ピリジンはAcrosから購入した。HPLC等級の溶媒クロロホルム（ $\text{CHCl}_3$ ）とメタノールはMerckから購入した。グリコシル化のためのモレキュラーシーブス4（MS4）はAcrosから購入し、火災によって活性化した。反応は、EMシリカゲル60 F254プレートでの分析用薄層クロマトグラフィー（TLC）によってモニタリングし、UV（254nm）下および/または酸性モリブデン酸アンモニウムセリウムもしくはニンヒドリンでの染色によって可視化した。フラッシュカラムクロマトグラフィーはシリカゲル60 Geduran（40~63  $\mu\text{m}$ , Merck）で行なった。最終生成物の精製のためのBiogel LH20はAldrichから購入した。 $^1\text{H}$  NMRスペクトルはBruker Topspin-600（600MHz）分光計で20℃にて記録した。化学シフト（ppm）は $\text{CDCl}_3$ （ $\delta$  = 7.24 ppm）、MeOD（ $\delta$  = 3.31 ppm）およびピリジン- $d^5$ （ $\delta$  = 7.58 ppm）の内部標準シグナルに従って帰属させた。 $^{13}\text{C}$  NMRスペクトルはBruker Topspin-600（150MHz）分光計で取得し、単位 ppmメモリで報告し、校正には $\text{CDCl}_3$ （ $\delta$  = 77.23 ppm）、MeOD（ $\delta$  = 49.15 ppm）のシグナルを使用した。結合定数（J）はHzで報告している。開裂パターンは、以下の略号：s，一重項；d，二重項；t，三重項；dd，二重二重項；m，多重項を使用することにより記載している。 $^1\text{H}$  NMRスペクトルはこの順：化学シフト；多重度；プロトン数；結合定数に報告している。

30

40

#### 【0277】

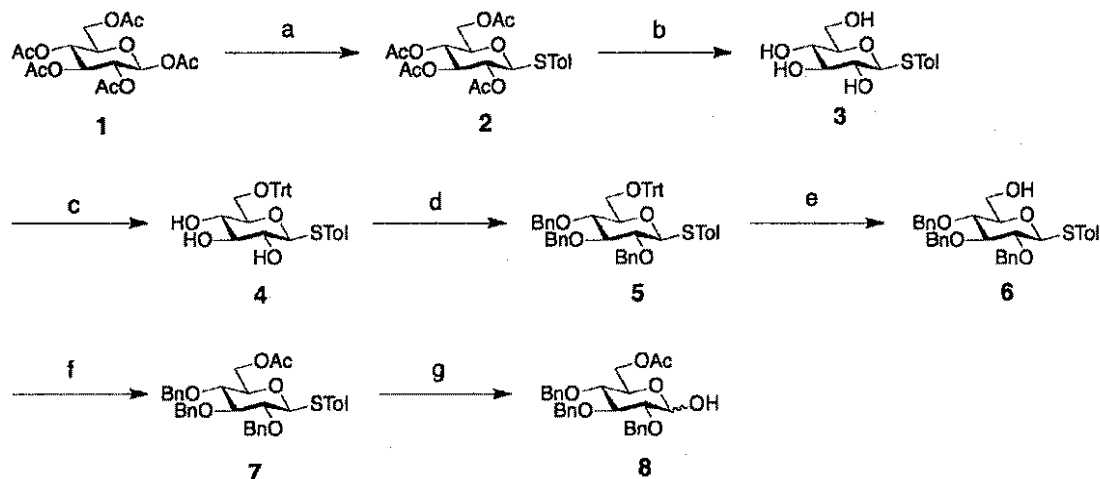
##### 化学合成

#### 【0278】

##### グルコシルドナー8の合成

#### 【0279】

## 【化59】



10

## 【0280】

化合物2: 1, 2, 3, 4, 6 - ペンタ - O - アセチル -  $\alpha$  - D - グルコピラノース 1 (40 g, 102.5 mmol) の 200 mL の乾燥  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の溶液に p - トルエンチオール (15.4 g, 123 mmol) と  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (15.4 mL, 123 mmol) を 0 で添加し、反応液をアルゴン下、周囲温度で 16 時間撹拌した。得られた溶液を直接、飽和  $\text{NaHCO}_3$  溶液とブラインで抽出し、 $\text{MgSO}_4$  上で乾燥させ、エバポレートした。続いて  $\text{AcOEt}$  - ヘキサン溶液中で再結晶を行ない、2 を白色固形物として得た (32.6 g, 70%)。 $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz) 7.36 (2H, d,  $J = 7.2$  Hz), 7.10 (2H, d,  $J = 7.8$  Hz), 5.18 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz), 5.00 (1H, t,  $J = 9.6$  Hz), 4.91 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz), 4.61 (1H, d,  $J = 10.2$  Hz), 4.14-4.20 (2H, m), 3.67 (1H, s), 2.33 (3H, s), 2.07 (3H, s), 2.06 (3H, s), 1.99 (3H, s), 1.96 (3H, s)。 $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz) 170.78, 170.40, 169.59, 169.45, 139.00, 134.04, 129.88, 127.73, 86.03, 75.94, 74.21, 70.10, 68.38, 62.32, 21.39, 20.97, 20.94, 20.79, 20.78。  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_9\text{SNa}^+ [\text{M} + \text{Na}]^+$  の HRMS (ESI - TOF) 計算値 477.1190, 実測値 477.1201。

20

## 【0281】

化合物3: 2 (32.6 g, 71.8 mmol) の 500 mL の乾燥 MeOH 中の溶液に触媒量のナトリウムメトキシド ( $\text{NaOMe}$ ) を添加し、周囲温度で 3 時間撹拌した。反応液を Amberlite IR - 120 の添加によって中和し、濾過し、得られた溶液を濃縮乾固し、3 (20.3 g, 99%) を白色固形物として得、これをさらに精製せずに直接、次の反応に使用した。 $^1\text{H}$  NMR (MeOD, 600 MHz) 7.46 (2H, d,  $J = 7.8$  Hz), 7.12 (2H, d,  $J = 7.8$  Hz), 4.50 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz), 3.85 (1H, d,  $J = 12.6, 1.8$  Hz), 3.66 (1H, dd,  $J = 12.0, 5.4$  Hz), 3.36 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz), 3.24-3.28 (2H, m), 3.17 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz), 2.13 (3H, s)。 $^{13}\text{C}$  NMR (MeOD, 150 MHz) 138.90, 133.66, 131.33, 130.67, 89.79, 82.16, 79.81, 73.82, 71.50, 63.03, 21.24。  $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{SNa}^+ [\text{M} + \text{Na}]^+$  の HRMS (ESI - TOF) 計算値 309.0767, 実測値 309.0772。

30

40

## 【0282】

化合物4: 3 (11.1 g, 38.8 mmol) の 48 mL の乾燥ピリジン中の溶液にトリフェニルメチルクロリド (13.5 g, 46.6 mmol) を添加した。反応液をアルゴン下、60 で 16 時間撹拌した。溶媒の除去後、混合物をシリカゲルでのフラッシュユカラムクロマトグラフィー (ヘキサン:  $\text{AcOEt}$ : MeOH 1:1:0.1) によって精製し、4 (12.3 g, 60%) を白色粉末として得た。 $^1\text{H}$  NMR (MeOD, 600 MHz) 7.56 (2H, d,  $J = 7.8$  Hz), 7.47 (6H, d,  $J = 7.8$  Hz), 7.27 (6H, t,  $J = 7.2$  Hz), 7.22 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz), 7.05 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz), 4.58 (1H

50

, d, J = 9.6 Hz), 3.40-3.43 (2H, m), 3.31 (1H, m), 3.23-3.27 (3H, m), 2.27 (3H, s).  $^{13}\text{C NMR}$  (MeOD, 150 MHz) 145.69, 138.71, 133.62, 131.51, 130.77, 130.16, 128.87, 128.13, 89.46, 87.88, 80.98, 80.02, 73.93, 71.85, 65.14, 21.34.  $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{O}_5\text{SNa}^+ [\text{M} + \text{Na}]^+$  の HRMS (ESI-TOF) 計算値 551.1863, 実測値 551.1876.

# 【0283】

化合物5: 4 (21.1 g, 39.9 mmol) の 200 mL の乾燥 N, N - ジメチルホルムアミド (DMF) 中の溶液に水素化ナトリウム (鉱油中 60%) (5.8 g, 143.6 mmol) を 0 で添加した。反応液を 1 時間撹拌した後、臭化ベンジル (17.2 mL, 143.6 mmol) を添加し、次いでアルゴン下、周囲温度で 16 時間撹拌した。反応液を MeOH によってクエンチし、蒸発乾固させた。残渣を AcOEt で希釈し、溶液を H<sub>2</sub>O とブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、蒸発乾固させた。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: AcOEt 9:1) によって精製し、5 (22.3 g, 70%) を白色粉末として得た。 $^1\text{H NMR}$  (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) 7.60 (2H, d, J = 7.8 Hz), 7.50 (6H, d, J = 7.8 Hz), 7.42 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.34 (2H, t, J = 7.2 Hz), 7.24-7.32 (12H, m), 7.18-7.23 (4H, m), 7.14-7.17 (2H, m), 7.05 (2H, d, J = 7.8 Hz), 6.82 (2H, d, J = 7.8 Hz), 4.91 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.84 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.80 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.74 (1H, d, J = 10.2 Hz), 4.64 (2H, dd, J = 9.6, 5.4 Hz), 4.30 (1H, d, J = 10.2 Hz), 3.74 (1H, t, J = 9.6 Hz), 3.64 (1H, t, J = 8.4 Hz), 3.60 (1H, d, J = 9.6 Hz), 3.55 (1H, t, J = 9.6 Hz), 3.42 (1H, m), 3.25 (1H, dd, J = 10.2, 4.2 Hz), 2.30 (3H, s).  $^{13}\text{C NMR}$  (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) 144.14, 138.57, 138.43, 137.94, 137.90, 133.01, 130.10, 129.96, 129.07, 128.73, 128.67, 128.45, 128.42, 128.31, 128.20, 128.16, 128.15, 128.07, 128.01, 127.89, 127.20, 87.90, 87.07, 86.70, 80.96, 79.04, 78.04, 76.25, 75.61, 75.21, 62.68, 45.18, 21.37.  $\text{C}_{53}\text{H}_{50}\text{O}_5\text{SNa}^+ [\text{M} + \text{Na}]^+$  の HRMS (ESI-TOF) 計算値 821.3271, 実測値 821.3310.

# 【0284】

化合物6: 5 (30.0 g, 37.5 mmol) の 1065 mL の酢酸水溶液 (AcOH: H<sub>2</sub>O 4:1) 中の溶液を 75 で 3 時間撹拌した。溶媒の除去後、残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: AcOEt 2:1) によって精製し、6 (16.7 g, 80%) を白色固形物として得た。 $^1\text{H NMR}$  (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) 7.37-7.41 (4H, m), 7.25-7.33 (13H, m), 7.10 (2H, d, J = 7.8 Hz), 4.91 (1H, d, J = 10.2 Hz), 4.89 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.84 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.83 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.74 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.62 (1H, d, J = 10.2 Hz), 3.83-3.86 (1H, m), 3.65-3.71 (2H, m), 3.54 (1H, t, J = 9.6 Hz), 3.44 (1H, t, J = 9.0 Hz), 3.33-3.36 (1H, m), 2.31 (3H, s), 1.87 (1H, t, J = 6.6 Hz).  $^{13}\text{C NMR}$  (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) 138.51, 138.24, 138.14, 138.02, 132.85, 129.99, 129.63, 128.71, 128.66, 128.63, 128.40, 128.22, 128.16, 128.09, 127.98, 127.94, 87.99, 86.75, 81.27, 79.43, 77.81, 76.01, 75.69, 75.30, 62.34, 21.31.  $\text{C}_{34}\text{H}_{36}\text{O}_5\text{SNa}^+ [\text{M} + \text{Na}]^+$  の HRMS (ESI-TOF) 計算値 579.2176, 実測値 579.2188.

# 【0285】

化合物7: 6 (5.0 g, 9.0 mmol) の 18 mL の乾燥ピリジン中の溶液に無水酢酸 (1.0 mL) を添加した。反応液をアルゴン下、周囲温度で 16 時間撹拌した。溶媒の除去後、残渣を AcOEt で希釈し、溶液を H<sub>2</sub>O とブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させ、蒸発乾固させた。混合物 (mixture) をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: AcOEt 5:1) によって精製し、7 (5.3 g, 99%) を白色固形物として得た。 $^1\text{H NMR}$  (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) 7.44 (2H, d, J

= 7.8 Hz), 7.38 (2H, d, J = 7.8 Hz), 7.26-7.34 (11H, m), 7.22-7.24 (2H, m), 7.08 (2H, d, J = 7.8 Hz), 4.91 (1H, d, J = 10.2 Hz), 4.90 (1H, d, J = 11.4 Hz), 4.83 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.82 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.71 (1H, d, J = 10.2 Hz), 4.57 (1H, d, J = 9.6 Hz), 4.55 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.34 (1H, d, J = 12.0 Hz), 4.17-4.20 (1H, m), 3.67-3.70 (1H, m), 3.49-3.50 (2H, m), 3.45 (1H, t, J = 9.6 Hz), 2.32 (3H, s), 2.03 (3H, s).  $^{13}\text{C}$ NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) 170.90, 138.44, 138.16, 138.13, 137.81, 132.98, 129.85, 128.76, 128.72, 128.68, 128.45, 128.30, 128.26, 128.15, 128.02, 88.00, 86.93, 81.07, 77.74, 76.08, 75.68, 75.32, 63.51, 21.35, 21.09. C<sub>36</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub>Na<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup> の HRMS (ESI-TOF) 計算値 621.2281, 実測値 621.2301.

# 【0286】

化合物 8 : 7 (5.5 g, 9.2 mmol) の 129 mL のアセトン水溶液 (アセトン : H<sub>2</sub>O 4 : 1) 中の溶液に N - プロモスクシンイミド (1.7 g, 9.5 mmol) を添加した。反応液を周囲温度で 1 時間攪拌した。溶媒の除去後、残渣を AcOEt で希釈し、H<sub>2</sub>O、チオ硫酸ナトリウム (NaS<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 水溶液、ブラインで抽出し、次いで MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥させた。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : AcOEt 2 : 1) によって精製し、8 (3.1 g, 69%、/ = 1 : 1) を白色固形物として得た。 $^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) 7.24-7.35 (30H, m), 5.18 (1H, t, J = 3.0 Hz), 4.96 (1H, d, J = 10.2 Hz), 4.94 (2H, d, J = 10.8 Hz), 4.86 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.85 (1H, d, J = 10.2 Hz), 4.84 (1H, d, J = 10.2 Hz), 4.80 (1H, d, J = 10.8 Hz), 4.76 (2H, d, J = 11.4 Hz), 4.71 (1H, dd, J = 7.2, 5.4 Hz), 4.68 (1H, d, J = 12.0 Hz), 4.55 (2H, d, J = 10.8 Hz), 4.34 (1H, dd, J = 12.0, 1.2 Hz), 4.23-4.28 (2H, m), 4.17 (1H, dd, J = 12.0, 4.8 Hz), 4.06-4.09 (1H, m), 3.98 (1H, t, J = 9.6 Hz), 3.67 (1H, t, J = 8.4 Hz), 3.50-3.56 (3H, m), 3.48 (1H, t, J = 9.0 Hz), 3.37-3.40 (2H, m), 3.01 (1H, d, J = 3.0 Hz), 2.02 (3H, s), 2.01 (3H, s).  $^{13}\text{C}$ NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) 138.64, 138.49, 138.39, 137.96, 137.89, 137.81, 128.75, 128.70, 128.68, 128.65, 128.63, 128.33, 128.29, 128.27, 128.22, 128.20, 128.14, 128.06, 127.99, 127.93, 97.62, 91.33, 84.71, 83.20, 81.82, 80.18, 77.39, 75.96, 75.92, 75.23, 75.21, 74.98, 73.47, 73.19, 69.02, 63.35, 63.27, 21.06. C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub>Na<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup> の HRMS (ESI-TOF) 計算値 515.2040, 実測値 515.2052.

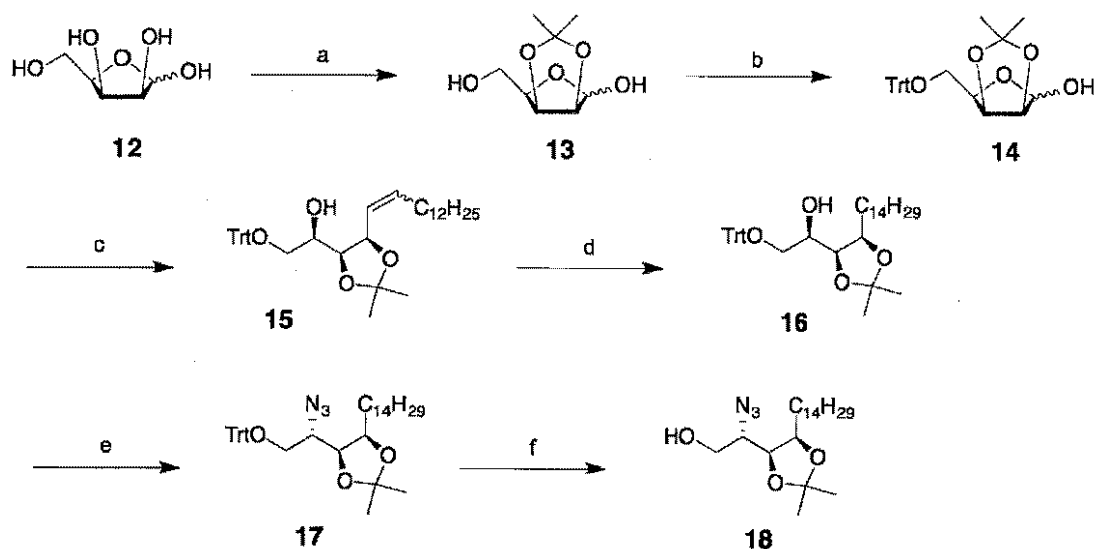
# 【0287】

アクセプタ 18 の合成

# 【0288】



## 【化 6 0】



10

## 【 0 2 8 9 】

化合物 13 : D - リキソース 12 ( 20 g , 133 mmol ) の 200 mL の無水 N , N - ジメチルホルムアミド ( DMF ) 中の溶液に 2 - メトキシプロペン ( 15 mL , 160 mmol ) とカンファー - 10 - スルホン酸 ( CSA ) ( 3 g , 13.3 mmol ) を 0 で添加した。反応液をアルゴン下、周囲温度で 16 時間撹拌した。溶液を、トリエチルアミン ( Et<sub>3</sub>N ) を用いてクエンチし、蒸発乾固させ、直接、シリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー ( ヘキサン : AcOEt : MeOH 1 : 1 : 0.2 ) によって精製し、13 ( 21 g , 83% ) を白色固形物として得た。<sup>1</sup>H NMR ( CDCl<sub>3</sub> , 600 MHz ) : 5.22 ( s , 1H ) , 4.78 ( dd , 1H , J = 6.0 , 3.6 Hz ) , 4.53 ( d , 1H , J = 6.0 Hz ) , 4.17 ( m , 1H , J = 6.6 , 4.8 Hz ) , 3.82 ( dd , 1H , J = 11.7 , 4.8 Hz ) , 3.71 ( dd , 1H , J = 11.7 , 6.6 Hz ) , 1.40 ( s , 3H ) , 1.29 ( s , 3H ) . <sup>13</sup>C NMR ( CDCl<sub>3</sub> , 150 MHz ) : 113.62 , 102.27 , 87.42 , 81.73 , 81.35 , 61.37 , 26.46 , 25.02 . C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>Na<sup>+</sup> [ M + Na ]<sup>+</sup> の HRMS ( ESI - TOF ) 計算値 213.0733 , 実測値 213.0751 .

20

30

## 【 0 2 9 0 】

化合物 14 : 13 ( 21 g , 110 mmol ) の 140 mL の乾燥ピリジン中の撹拌溶液にトリフェニルメチルクロリド ( 37.8 g , 132 mmol ) を添加した。反応液をアルゴン下、60 で 16 時間撹拌した。溶液を濃縮乾固し、残渣を酢酸エチル ( AcOEt ) で溶解させ、H<sub>2</sub>O、ブラインで洗浄し、硫酸マグネシウム ( MgSO<sub>4</sub> ) 上で乾燥させ、次いでエバポレートした。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー ( ヘキサン : AcOEt 1 : 2 ) によって精製し、14 ( 36.5 g , 77% ) を白色粉末として得た。<sup>1</sup>H NMR ( CDCl<sub>3</sub> , 600 MHz ) : 7.46 ( m , 6H ) , 7.27 ( m , 6H ) , 7.21 ( m , 3H ) , 5.36 ( d , 1H , J = 1.8 Hz ) , 4.73 ( dd , 1H , J = 6.0 , 4.8 Hz ) , 4.57 ( d , 1H , J = 6.0 Hz ) , 4.31 ( ddd , 1H , J = 4.8 , 4.8 , 7.8 Hz ) , 3.41 ( dd , 1H , J = 9.6 , 4.8 Hz ) , 3.37 ( dd , 1H , J = 9.6 , 7.8 Hz ) , 2.41 ( m , 1H , J = 1.8 Hz ) , 1.27 ( s , 3H ) , 1.25 ( s , 3H ) . <sup>13</sup>C NMR ( CDCl<sub>3</sub> , 150 MHz ) : 143.95 , 128.82 , 127.75 , 126.95 , 112.48 , 101.22 , 86.85 , 85.41 , 80.11 , 79.70 , 61.85 , 26.02 , 25.09 . C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>Na<sup>+</sup> [ M + Na ]<sup>+</sup> の HRMS ( ESI - TOF ) 計算値 455.1829 , 実測値 455.1833 .

40

## 【 0 2 9 1 】

化合物 15 : 14 ( 8.4 g , 19.4 mmol ) の 40 mL の無水テトラヒドロフラン ( THF ) 中の撹拌溶液にリチウムビス ( トリメチルシリル ) アミド ( LHMDs ) ( 20 mL の THF 中 1 M 溶液 , 20 mmol ) を 0 で添加し、反応液をアルゴン下で 1 時間撹拌した。ウィッティヒ試薬 C<sub>13</sub>H<sub>27</sub>PPh<sub>3</sub>Br ( 20.1 g , 38.2 mmol ) を 0 で添加し、反応液をアルゴン下で 1 時間撹拌した。反応液をアルゴン下で 1 時間撹拌した。反応液をアルゴン下で 1 時間撹拌した。

50

o 1) (1 - ブロモトリデカン ( $C_{13}H_{27}Br$ ) とトリフェニルホスフィン ( $PPH_3$ ) (トルエン中で5日間還流) から調製) の83 mLの無水THF中の攪拌溶液にLHMDS (40 mLのTHF中1 M溶液, 40 mmol) を0 で添加し、反応液をアルゴン下で1時間攪拌し、明るいオレンジ色のイリドを作製した。14の溶液をこのイリドに0 で滴下し、反応液を周囲温度まで昇温させ、アルゴン下で9時間攪拌した。得られた溶液を、MeOHを用いてクエンチし、蒸発乾固させた。残渣をAcOEtで希釈し、 $H_2O$ とブラインで抽出し、 $MgSO_4$ 上で乾燥させ、次いで濃縮した。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: AcOEt 15:1) によって精製し、15 (8.7 g, 75%) を無色の油状物として得た。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz): 7.40-7.45 (m, 9H), 7.25-7.30 (m, 9H), 7.19-7.23 (m, 5H), 5.49-5.57 (m, 3H,  $J = 6.6$  Hz), 4.90 (t, 1H,  $J = 6.6$  Hz), 4.43 (t, 1.5H,  $J = 6.6$  Hz), 4.25 (dd, 0.5H,  $J = 6.6, 4.6$  Hz), 4.20 (dd, 1H,  $J = 6.6, 4.5$  Hz), 3.74 (m, 1H), 3.68 (m, 0.5H), 3.22 (dd, 0.5H,  $J = 9.6, 5.0$  Hz), 3.15 (dd, 1H,  $J = 9.3, 5.1$  Hz), 3.10 (m, 1.5H), 2.37 (m, 1.5H), 1.90-2.00 (m, 2H), 1.75 (m, 1H), 1.47 (m, 5H), 1.37 (m, 5H), 1.19-1.33 (m, 35H), 0.86 (t, 5H,  $J = 7.1$  Hz).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 150 MHz): 144.07, 137.58, 135.56, 128.90, 128.02, 127.24, 125.41, 125.15, 108.58, 108.50, 86.90, 86.84, 79.14, 77.86, 77.74, 73.21, 69.51, 69.43, 65.19, 64.84, 32.45, 32.13, 29.89, 29.86, 29.81, 29.71, 29.69, 29.57, 29.50, 29.47, 29.11, 27.80, 27.59, 27.55, 25.26, 22.91, 14.35.  $C_{40}H_{54}O_4Na^+[M+Na]^+$  のHRMS (ESI-TOF) 計算値621.3914, 実測値621.3919.

#### 【0292】

化合物16: 化合物16は、15 (1 g, 1.7 mmol) (触媒量の水酸化パラジウム担持炭素 (20% Pd) を含む10 mLの無水MeOH中) の接触水素化により調製した。懸濁液を $H_2$ 雰囲気中で4時間攪拌した。溶液をCelite 545に通して濾過して触媒を除去し、蒸発乾固させ、次いでシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: AcOEt 20:1) によって精製し、16 (903 mg, 90%) を白色固形物として得た。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz): 7.43 (m, 6H), 7.27 (m, 6H), 7.21 (m, 3H), 4.12 (dd, 1H,  $J = 6.4, 3.7$  Hz), 4.05 (ddd, 1H,  $J = 9.9, 6.4, 3.6$  Hz), 3.69 (m, 1H,  $J = 6.0, 6.0, 5.8, 3.7$  Hz), 3.18 (m, 2H,  $J = 9.5, 9.5, 6.0, 5.8$  Hz), 2.29 (d, 1H,  $J = 6.0$  Hz), 1.60-1.67 (m, 1H), 1.45-1.49 (m, 1H), 1.43 (s, 3H), 1.34-1.38 (m, 1H), 1.33 (s, 3H), 1.20-1.30 (m, 23H), 0.86 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 150 MHz): 144.09, 128.91, 128.05, 127.26, 107.95, 87.02, 77.67, 69.15, 65.43, 32.15, 29.92, 29.88, 29.83, 29.77, 29.58, 27.60, 26.99, 25.43, 22.92, 14.36.  $C_{40}H_{56}O_4Na^+[M+Na]^+$  のHRMS (ESI-TOF) 計算値623.4071, 実測値623.4112.

#### 【0293】

化合物17: 16 (5 g, 8.3 mmol) と4 モレキュラーシーブ (1 g) の39 mLの無水 $CH_2Cl_2$ 中の溶液に2, 6 - ルチジン (3.5 mL, 30 mmol) を周囲温度で添加した。溶液を-45 まで冷却すると、トリフルオロメタンスルホン酸無水物 ( $Tf_2O$ ) (2.67 mL, 15.9 mmol) を滴下し、反応液をアルゴン下で1時間攪拌した。続いてテトラメチルグアニジニウムアジド (TMGA) (3.9 g, 25 mmol) を添加し、反応液を周囲温度まで昇温させ、アルゴン下で16時間攪拌した。得られた溶液をCelite 545に通して濾過して4 モレキュラーシーブを除去し、残渣を $CH_2Cl_2$ で希釈し、 $H_2O$ とブラインで抽出し、 $MgSO_4$ 上で乾燥させ、次いでエバポレートした。混合物を単にシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン: AcOEt 20:1) によって精製して大部分の不純物を除去し、直接、次の工程に使用した。

## 【0294】

化合物18：17の20 mLの無水 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中の溶液にテトラフルオロ酢酸/無水テトラフルオロ酢酸（TFA/TFAA 1.8 M / 1.8 M ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中)）（14 mL, 24.9 mmol）を4で添加し、アルゴン下で15分間撹拌した。反応液を10 mLの $\text{Et}_3\text{N}$ の添加によってクエンチし、次いで200 mLのメタノール（MeOH）に注入し、さらに15分間撹拌した。溶媒の除去後、残渣をAcOEtで希釈し、 $\text{H}_2\text{O}$ 、飽和 $\text{NaHCO}_3$ 溶液およびブラインで抽出し、次いで $\text{MgSO}_4$ 上で乾燥させた。有機層を真空濃縮し、混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：AcOEt 10：1）によって精製し、18（2 g, 2工程で63%）を黄色油状物として得た。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz) : 4.16 (ddd, 1H,  $J = 9.7, 5.6, 3.6$  Hz), 3.97 (dd, 1H,  $J = 11.6, 4.2$  Hz), 3.94 (dd, 1H,  $J = 9.4, 5.6$  Hz), 3.85 (dd, 1H,  $J = 11.6, 5.4$  Hz), 3.45 (ddd, 1H,  $J = 9.4, 5.4, 4.2$  Hz), 1.50-1.62 (m, 2H,  $J = 9.7, 3.6$  Hz), 1.41 (s, 3H), 1.31-1.37 (m, 6H), 1.22-1.30 (m, 22H), 0.86 (t, 3H,  $J = 6.9, 6.9$  Hz).  $^{13}\text{CNMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz) : 108.66, 77.96, 76.91, 64.18, 61.39, 32.14, 29.90, 29.87, 29.81, 29.80, 29.75, 29.60, 29.58, 28.25, 26.74, 25.77, 22.91, 14.34.  $\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_3\text{H}^+ [\text{M} + \text{H}]^+$  のHRMS (ESI-TOF) 計算値383.3148, 実測値356.3157 ( $-\text{N}_2$ ).

10

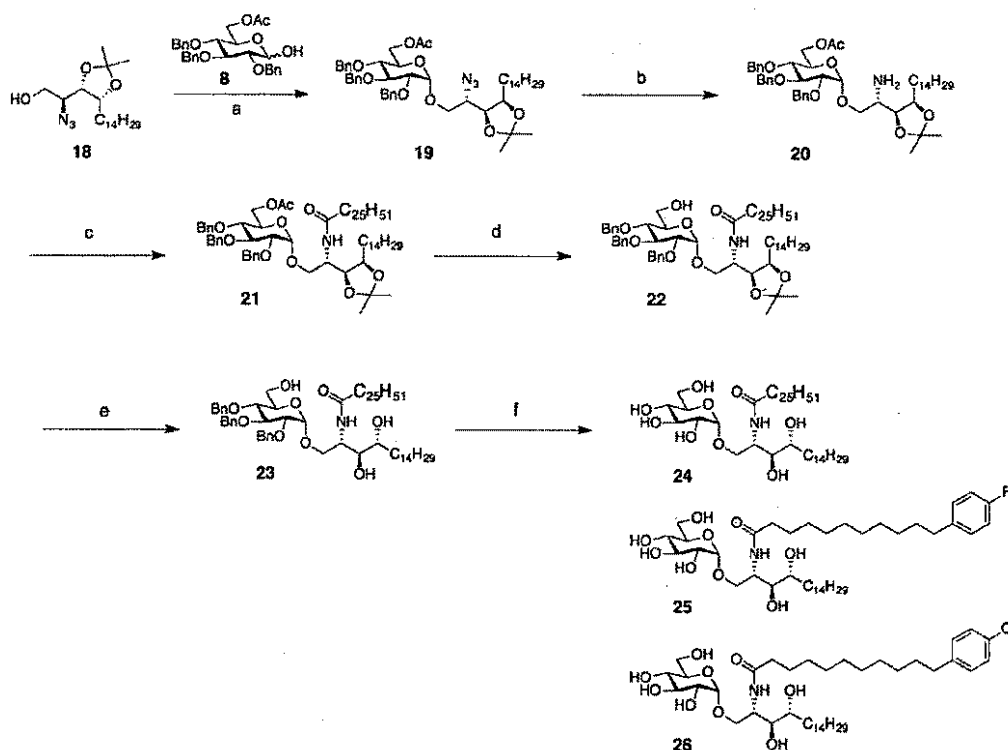
## 【0295】

- グルコシルセラミド類似体24~26の合成

20

## 【0296】

## 【化61】



30

40

## 【0297】

化合物19：グルコシルドナー8（2.9 g, 5.9 mmol）、ジメチルスルフィド（590  $\mu\text{L}$ , 7.8 mmol）、4 モレキュラーシーブ（500 mg）および2-クロロピリジン（1.8 mL, 19.5 mmol）の無水 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ （15 mL）中の溶液にトリフルオロメタンスルホン酸無水物（1 mL, 6 mmol）をアルゴン下で-45にて添加し、反応液を-45で20分間、0で20分間および周囲温度でさらに20分間撹拌した後、アクセプタ18（1.5 g, 3.9 mmol）（5 mLの $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中）を添加した。反応液をアルゴン下、周囲温度で16時間撹拌した。溶液をCeli

50

t e 5 4 5 に通して濾過し、モレキュラーシーブを除去した。溶媒の除去後、残渣を A c O E t で希釈し、溶液を H<sub>2</sub>O とブラインで洗浄し、M g S O<sub>4</sub> 上で乾燥させ、蒸発乾固させた。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：A c O E t 1 0 : 1）によって精製し、1 9 を無色の油状物として得た（2 g , 6 0 %）。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) 7 . 36 (2H, d, J = 7 . 8 Hz) , 7 . 24-7 . 33 (13H, m) , 4 . 97 (1H, d, J = 10 . 8 Hz) , 4 . 86 (1H, d, J = 10 . 8 Hz) , 4 . 85 (1H, d, J = 3 . 6 Hz) , 4 . 78 (1H, d, J = 10 . 8 Hz) , 4 . 72 (1H, d, J = 12 . 0 Hz) , 4 . 68 (1H, d, J = 12 . 0 Hz) , 4 . 54 (1H, d, J = 10 . 8 Hz) , 4 . 21-4 . 26 (2H, m) , 4 . 08-4 . 11 (1H, m) , 4 . 02-4 . 07 (2H, m) , 3 . 97 (1H, dd, J = 9 . 6 , 5 . 4 Hz) , 3 . 84-3 . 87 (1H, m) , 3 . 60 (1H, dd, J = 10 . 8 , 7 . 2 Hz) , 3 . 54 (1H, dd, J = 9 . 6 , 3 . 6 Hz) , 3 . 44-3 . 48 (2H, m) , 2 . 00 (3H, s) , 1 . 57-1 . 61 (1H, m) , 1 . 50-1 . 55 (1H, m) , 1 . 37 (3H, s) , 1 . 22-1 . 35 (27H, m) , 0 . 86 (3H, t, J = 7 . 2 Hz) . <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) 170 . 93 , 138 . 82 , 138 . 58 , 138 . 05 , 128 . 68 , 128 . 61 , 128 . 59 , 128 . 34 , 128 . 31 , 128 . 13 , 127 . 90 , 127 . 86 , 81 . 82 , 80 . 26 , 77 . 97 , 77 . 30 , 75 . 93 , 75 . 61 , 75 . 24 , 72 . 92 , 69 . 50 , 69 . 34 , 63 . 26 , 59 . 99 , 32 . 13 , 29 . 90 , 29 . 87 , 29 . 82 , 29 . 77 , 29 . 57 , 29 . 54 , 28 . 42 , 26 . 73 , 25 . 89 , 22 . 90 , 21 . 03 , 14 . 33 . C<sub>50</sub>H<sub>71</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Na<sup>+</sup>[M+Na]<sup>+</sup> の H R M S ( E S I - T O F ) 計算値 8 8 0 . 5 0 8 3 , 実測値 8 8 0 . 5 1 2 4 .

# 【 0 2 9 8 】

化合物 2 0 : 1 9 ( 2 6 9 m g , 0 . 3 1 m m o l ) のピリジン / H<sub>2</sub>O ( 1 0 : 1 , 1 2 m L ) 中の溶液にトリフェニルホスフィン ( 1 6 5 m g , 0 . 6 3 m m o l ) を添加した。反応液をアルゴン下、4 5 で 1 6 時間撹拌した。溶媒の除去後、残渣を A c O E t で希釈し、H<sub>2</sub>O、ブラインで抽出し、M g S O<sub>4</sub> 上で乾燥させ、次いで蒸発乾固させた。混合物を事前に精製せずに次の工程に使用した。

# 【 0 2 9 9 】

化合物 2 1 : 化合物 2 0 の 3 6 m L の無水 C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> 中の溶液にヘキサコサン酸 ( 1 5 9 m g , 0 . 4 m m o l )、E t<sub>3</sub>N ( 8 8 μ L )、E D C ( 9 0 m g , 0 . 4 7 m m o l ) および H B T u ( 1 7 8 m g , 0 . 4 7 m m o l ) を添加した。反応液をアルゴン下、周囲温度で 1 6 時間撹拌した。溶媒の除去後、残渣を A c O E t で希釈し、H<sub>2</sub>O、ブラインで抽出し、M g S O<sub>4</sub> 上で乾燥させ、次いで蒸発乾固させた。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：A c O E t 4 : 1）によって精製し、2 1 を白色固形物として得た（2 9 3 m g , 7 8 % , 2 工程）。

# 【 0 3 0 0 】

化合物 2 2 : 2 1 ( 2 9 3 m g , 0 . 2 4 m m o l ) の 5 0 m L の共溶媒 ( M e O H : C H<sub>2</sub> C l<sub>2</sub> 1 : 1 ) 中の溶液にナトリウムメトキシド ( 0 . 0 2 4 m m o l ) を添加し、アルゴン下、周囲温度で 6 時間撹拌した。反応液を A m b e r l i t e I R - 1 2 0 によって中和し、濾過した。溶媒の除去後、残渣を事前に精製せずに次の工程に使用した。

# 【 0 3 0 1 】

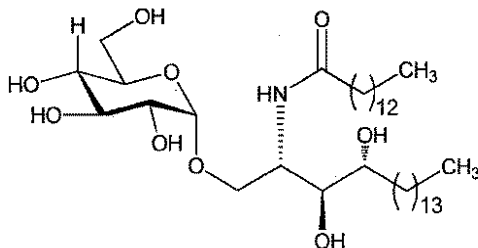
化合物 2 3 : 加水分解した化合物 2 2 を 5 0 m L の酢酸水溶液 ( A c O H : H<sub>2</sub>O 4 : 1 ) に溶解させ、6 0 で 1 6 時間撹拌した。溶媒の除去後、混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：A c O E t : M e O H 1 : 1 : 0 . 1）によって精製した。

# 【 0 3 0 2 】

化合物 2 4

# 【 0 3 0 3 】

## 【化 6 2】



## 【 0 3 0 4】

10

デアセトニド誘導体 23 を、水酸化パラジウム担持炭素 (20% Pd) (触媒量) を含む 50 mL の共溶媒 (MeOH : CHCl<sub>3</sub> 4 : 1) に溶解させ、H<sub>2</sub> 雰囲気中で 16 時間撹拌した。溶液を Celite 545 に通して濾過して触媒を除去し、蒸発乾固させ、混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー (MeOH : CHCl<sub>3</sub> 1 : 9) によって精製し、LH20 (MeOH : CHCl<sub>3</sub> 1 : 1) で溶出し、24 (72 mg, 3 工程で 35%) を白色固形物として得た。<sup>1</sup>H NMR (MeOD-CDCl<sub>3</sub> 1 : 1, 600 MHz) : 4.83 (s, 1H), 4.15 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 3.84 (dd, J = 10.8, 4.2 Hz, 1H), 3.76 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.64-3.70 (m, 2H), 3.60 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 3.51-3.57 (m, 3H), 3.41 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 3.31 (m, 1H), 2.17 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.50-1.65 (m, 4H), 1.19-1.39 (m, 68H), 0.85 (t, J = 6.6 Hz, 6H). <sup>13</sup>C NMR (MeOD-CDCl<sub>3</sub> 1 : 1, 150 MHz) : 175.29, 100.06, 75.05, 74.58, 73.03, 72.75, 72.62, 71.01, 67.78, 62.22, 51.11, 37.07, 32.93, 32.62, 30.49, 30.45, 30.40, 30.35, 30.25, 30.13, 30.05, 30.04, 26.61, 26.58, 23.34, 14.47. C<sub>50</sub>H<sub>99</sub>NO<sub>9</sub>Na<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup> の HRMS (MALDI-TOF) 計算値 880.7223, 実測値 880.7212.

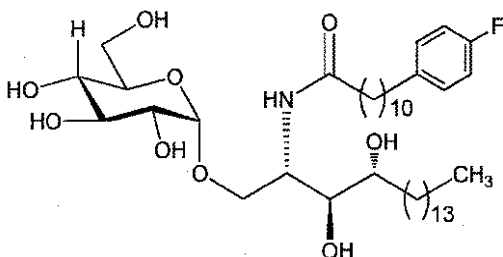
20

## 【 0 3 0 5】

化合物 25

## 【 0 3 0 6】

## 【化 6 3】



30

## 【 0 3 0 7】

化合物 25 を、化合物 24 と同様の手順を用いて合成した。<sup>1</sup>H NMR (MeOD-CDCl<sub>3</sub> 1 : 1, 600 MHz) : 7.09 (dd, J = 8.4, 5.4 Hz, 2H), 6.90 (t, J = 9.0 Hz, 2H), 4.82 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 4.14-4.18 (m, 1H), 3.84 (dd, J = 10.2, 4.8 Hz, 1H), 3.76 (dd, J = 12.0, 2.4 Hz, 1H), 3.64-3.68 (m, 2H), 3.60 (t, J = 9.0 Hz, 1H), 3.51-3.56 (m, 3H), 3.41 (dd, J = 9.6, 3.6 Hz, 1H), 3.31 (m, 1H), 2.54 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.17 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 1.51-1.65 (m, 6H), 1.20-1.39 (m, 36H), 0.85 (t, J = 6.6 Hz, 3H). <sup>13</sup>C NMR (MeOD-CDCl<sub>3</sub> 1 : 1, 150 MHz) : 175.30, 162.67, 161.07, 139.18, 139.16, 130.34, 130.29, 115.46, 115.32, 100.00, 75.03, 74.52, 72.97, 72.68, 72.55, 70.93, 67.71, 62.15, 51.11, 51.03, 37.06, 37.00, 35.72, 32.90, 32.58, 32.32, 30.45, 30.41, 30.35, 30.30, 30.22, 30.15, 30.11, 30.05, 30.00, 29.82, 26.57, 26.53, 23.29, 14.44. C<sub>41</sub>H<sub>72</sub>FN<sub>9</sub>Na<sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup> の HR

40

50

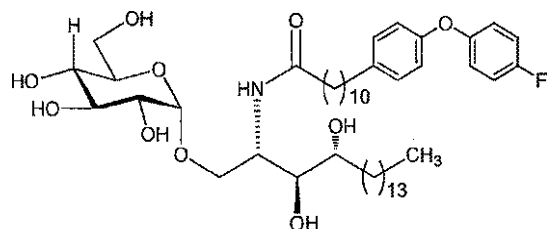
MS (ESI - TOF) 計算値 764.5083, 実測値 764.5066.

【0308】

化合物 26

【0309】

【化64】



10

【0310】

化合物 26 を、化合物 24 と同様の手順を用いて合成した。 $^1\text{H}$  NMR (MeOD- $\text{CDCl}_3$  1:1, 600 MHz) : 7.10 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 6.99 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 6.92 (m, 2H), 6.84 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 4.83 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H), 3.85 (dd,  $J = 10.2, 4.2$  Hz, 1H), 3.77 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H), 3.67 (m, 2H), 3.61 (t,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 3.55 (m, 3H), 3.42 (dd,  $J = 9.0, 3.0$  Hz, 1H), 3.33 (m, 1H), 2.55 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 2.18 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 1.50-1.64 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 36H), 0.85 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (MeOD- $\text{CDCl}_3$  1:1, 150 MHz) : 175.34, 160.27, 158.67, 156.22, 154.38, 138.73, 130.34, 120.76, 120.71, 119.10, 116.87, 116.72, 100.15, 75.10, 74.66, 73.15, 72.85, 72.65, 71.09, 67.80, 62.26, 51.21, 37.09, 35.90, 32.95, 32.68, 32.44, 30.55, 30.51, 30.47, 30.40, 30.35, 30.28, 30.26, 30.17, 30.11, 30.00, 26.67, 26.63, 23.38, 14.47.  $\text{C}_{47}\text{H}_{76}\text{FNO}_{10}\text{Na}^+ [\text{M} + \text{H}]^+$  の HRMS (ESI - TOF) 計算値 834.5526, 実測値 834.5538.

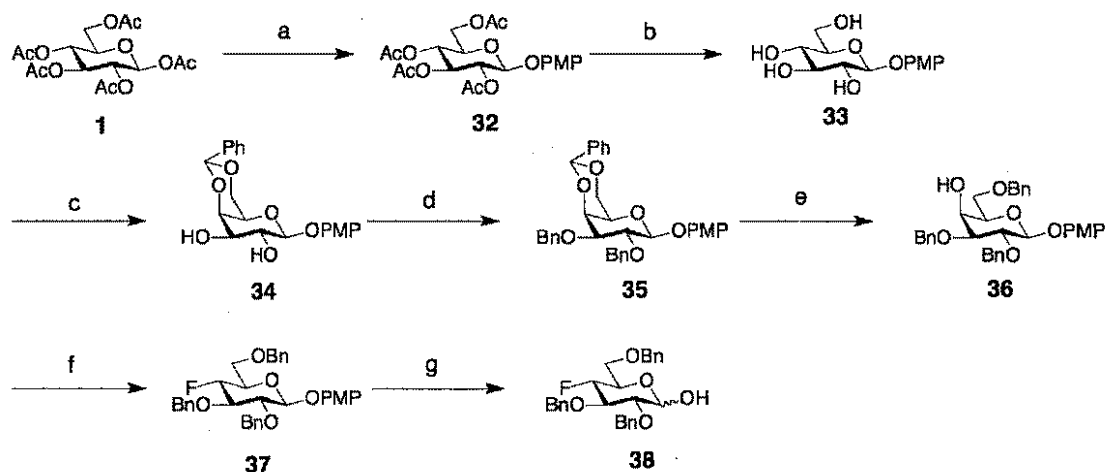
20

【0311】

フッ素化ドナー 38 の合成

【0312】

【化65】



40

【0313】

化合物 32 : 1, 2, 3, 4, 6 - ペンタ - O - アセチル -  $\alpha$  - D - グルコピラノース 1 の乾燥  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の溶液に 4 - メトキシフェノールと  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  を 0 で添加し、反応液をアルゴン下、周囲温度で 16 時間撹拌した。得られた溶液を直接、飽和  $\text{NaHCO}_3$  溶液とブラインで抽出し、 $\text{MgSO}_4$  上で乾燥させ、エバポレートした。生成物

50

を A c O E t - ヘキサン溶液から再結晶させ、32 を白色固形物として得た。

【0314】

化合物33：32の乾燥MeOH中の溶液に触媒量のナトリウムメトキシド(NaOMe)を添加し、周囲温度で3時間撹拌した。反応液をAmberlite IR-120の添加によって中和し、濾過し、得られた溶液を濃縮乾固し、33を白色固形物として得、これをさらに精製せずに直接、次の反応に使用した。

【0315】

化合物34：33の乾燥共溶媒(DMFとCH<sub>3</sub>CN)中の溶液にベンズアルデヒドジメチルアセタールと触媒量のナトリウムメトキシド(NaOMe)を添加した。反応液を周囲温度で16時間撹拌した。溶液をEt<sub>3</sub>Nの添加によって中和し、濃縮した。混合物を酢酸エチルに溶解させ、飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液とブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、エバポレートした。生成物をAcOEt-ヘキサン溶液から再結晶させ、34を白色固形物として得た。

10

【0316】

化合物35：34の乾燥N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)中の溶液に水素化ナトリウム(鉱油中60%)を0で添加した。反応液を1時間撹拌した後、臭化ベンジルを添加し、反応液をアルゴン下、周囲温度で16時間撹拌した。溶液をMeOHによってクエンチし、蒸発乾固させた。残渣をAcOEtで希釈し、溶液をH<sub>2</sub>Oとブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。生成物をAcOEt-ヘキサン溶液から再結晶させ、35を白色固形物として得た。

20

【0317】

化合物36：35のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中の溶液にトリエチルシランとトリフルオロ酢酸(TFA)を0で添加した。反応液を周囲温度で3時間撹拌した。溶液を直接、H<sub>2</sub>O、飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液およびブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。生成物をAcOEt-ヘキサン溶液から再結晶させ、36を白色固形物として得た。

【0318】

化合物37：36のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中の溶液にジエチルアミノ硫黄トリフルオリド(DAST)を添加した。反応液を45で16時間撹拌し、溶液を直接、H<sub>2</sub>O、飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液およびブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、化合物37を無色の油状物として得た。

30

【0319】

化合物38：37の乾燥共溶媒(トルエン, H<sub>2</sub>OおよびCH<sub>3</sub>CN)中の溶液に硝酸セリウムアンモニウム(CeAN)を添加した。反応液を周囲温度で10分間撹拌した。溶液を酢酸エチルで抽出し、H<sub>2</sub>O、飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液およびH<sub>2</sub>Oで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、化合物38を無色の油状物として得た。

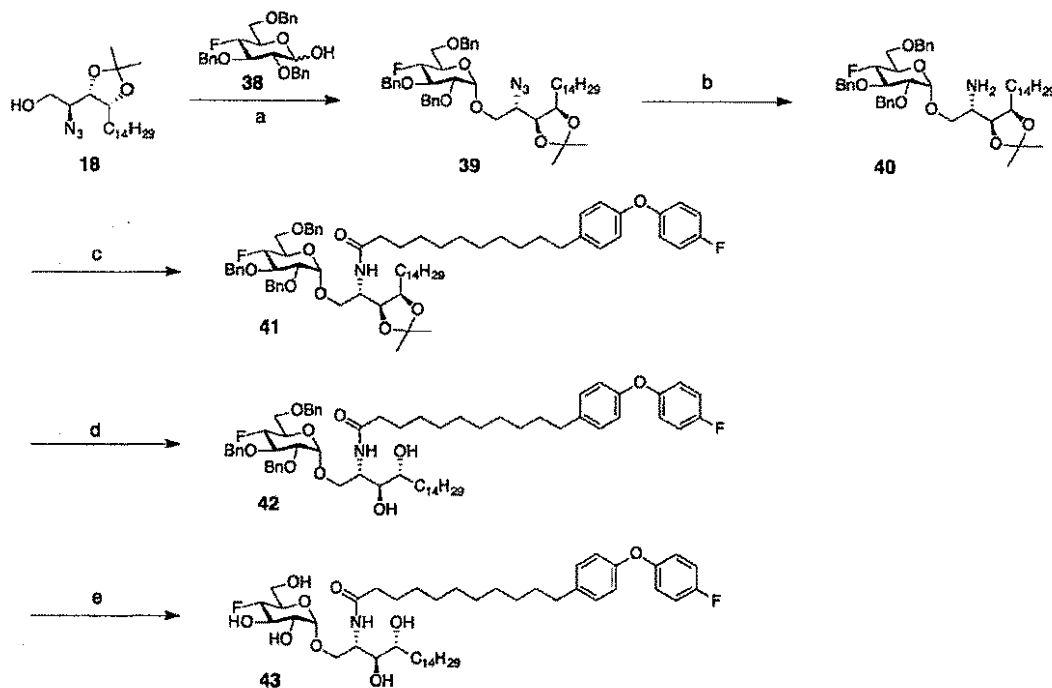
【0320】

フッ素化類似体43の合成

【0321】

40

## 【化 6 6】



10

20

## 【 0 3 2 2 】

化合物 39 : ドナー 38、ジメチルスルフィド、4 モレキュラーシーブおよび 2 - クロロピリジンの無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の溶液に、アルゴン下、- 45 でトリフルオロメタンスルホン酸無水物を添加した。反応液を - 45 で 20 分間、0 で 20 分間および周囲温度でさらに 20 分間撹拌した後、アクセプタ 18 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中) を添加した。反応液をアルゴン下、周囲温度で 16 時間撹拌した。溶液を Celite 545 に通して濾過し、モレキュラーシーブを除去した。溶媒の除去後、残渣を AcOEt で希釈し、溶液を  $\text{H}_2\text{O}$  とブラインで洗浄し、 $\text{MgSO}_4$  上で乾燥させ、蒸発乾固させた。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、39 を得た。

## 【 0 3 2 3 】

化合物 40 : 39 のピリジン /  $\text{H}_2\text{O}$  (10 : 1) 中の溶液にトリフェニルホスフィン を添加した。反応液をアルゴン下、45 で 16 時間撹拌した。溶媒の除去後、残渣を AcOEt で希釈し、 $\text{H}_2\text{O}$ 、ブラインで抽出し、 $\text{MgSO}_4$  上で乾燥させ、次いで蒸発乾固させた。混合物を事前に精製せずに次の工程に使用した。

## 【 0 3 2 4 】

化合物 41 : 化合物 40 の無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の溶液に 4 - (4 - フルオロフェノキシ) フェニルウンデカン酸、 $\text{Et}_3\text{N}$ 、EDC および HBTU を添加した。反応液をアルゴン下、周囲温度で 16 時間撹拌した。溶媒の除去後、残渣を AcOEt で希釈し、 $\text{H}_2\text{O}$ 、ブラインで抽出し、 $\text{MgSO}_4$  上で乾燥させ、次いで蒸発乾固させた。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、41 を得た。

## 【 0 3 2 5 】

化合物 42 : 化合物 41 の酢酸水溶液 ( $\text{AcOH} : \text{H}_2\text{O}$  4 : 1) 中の溶液を 60 で 16 時間撹拌した。溶媒の除去後、混合物を酢酸エチルに溶解させ、飽和  $\text{NaHCO}_3$  溶液とブラインで洗浄し、 $\text{MgSO}_4$  上で乾燥させ、エバポレートした。残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、42 を得た。

## 【 0 3 2 6 】

化合物 43

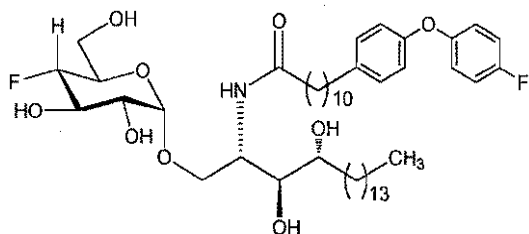
## 【 0 3 2 7 】

30

40



## 【化 6 7】



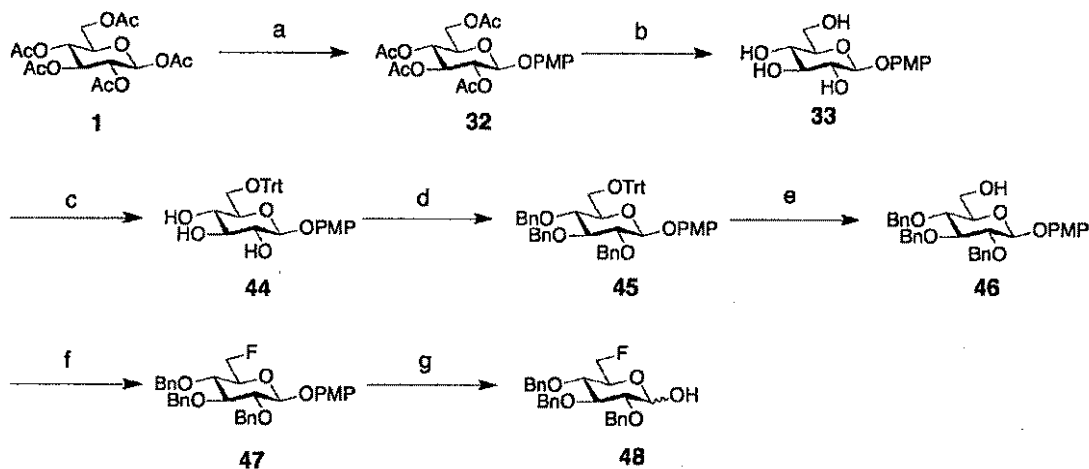
## 【 0 3 2 8 】

デアセトニド誘導体 4 2 を、水酸化パラジウム担持炭素 ( 2 0 % P d ) ( 触媒量 ) を含む共溶媒 ( M e O H : C H C l <sub>3</sub> 4 : 1 ) に溶解させ、H<sub>2</sub> 雰囲気中で 1 6 時間撹拌した。溶液を C e l i t e 5 4 5 に通して濾過して触媒を除去し、蒸発乾固させ、混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、L H 2 0 で溶出し、4 3 を得た。<sup>1</sup>H NMR ( M e O D - C D C l <sub>3</sub> 1 : 1 , 6 0 0 M H z ) : 7 . 0 9 ( 1 H , d , J = 8 . 4 H z ) , 6 . 9 6 - 6 . 9 9 ( 2 H , m ) , 6 . 9 1 - 6 . 9 2 ( 2 H , m ) , 6 . 8 2 - 6 . 8 4 ( 2 H , m ) , 4 . 8 4 ( 1 H , t , J = 3 . 6 H z ) , 4 . 2 5 ( 0 . 5 H , t , J = 9 . 0 H z ) , 4 . 1 5 - 4 . 1 8 ( 2 H , m ) , 3 . 8 2 - 3 . 8 5 ( 2 H , m ) , 3 . 7 5 - 3 . 7 7 ( 1 H , m ) , 3 . 6 9 - 3 . 7 2 ( 1 H , m ) , 3 . 6 4 - 3 . 6 8 ( 2 H , m ) , 3 . 5 0 - 3 . 5 4 ( 2 H , m ) , 3 . 4 4 ( 1 H , d d , J = 9 . 6 , 3 . 6 H z ) , 2 . 5 4 ( 2 H , t , J = 7 . 2 H z ) , 2 . 1 7 ( 2 H , t , J = 7 . 8 H z ) , 1 . 5 0 - 1 . 6 4 ( 7 H , m ) , 1 . 2 2 - 1 . 2 7 ( 4 1 H , m ) , 0 . 8 4 ( 3 H , t , J = 7 . 2 H z ) . <sup>13</sup>C NMR ( M e O D - C D C l <sub>3</sub> 1 : 1 , 1 5 0 M H z ) : 1 7 5 . 2 8 , 1 6 0 . 2 0 , 1 5 8 . 6 1 , 1 5 6 . 1 6 , 1 5 4 . 3 0 , 1 3 8 . 6 7 , 1 3 0 . 2 8 , 1 2 0 . 7 0 , 1 2 0 . 6 4 , 1 1 9 . 0 4 , 1 1 6 . 8 1 , 1 1 6 . 6 6 , 9 9 . 9 4 , 9 0 . 6 1 , 8 9 . 4 1 , 7 5 . 0 4 , 7 2 . 7 2 , 7 2 . 5 9 , 7 2 . 5 6 , 7 2 . 4 2 , 7 2 . 3 7 , 7 0 . 8 2 , 7 0 . 6 6 , 6 7 . 8 2 , 6 1 . 2 1 , 5 1 . 1 0 , 3 7 . 0 5 , 3 5 . 8 3 , 3 2 . 9 1 , 3 2 . 6 1 , 3 2 . 3 6 , 3 0 . 4 6 , 3 0 . 4 3 , 3 0 . 3 9 , 3 0 . 3 3 , 3 0 . 2 7 , 3 0 . 1 9 , 3 0 . 1 8 , 3 0 . 0 9 , 3 0 . 0 3 , 2 9 . 9 2 , 2 6 . 6 3 , 2 6 . 5 5 , 2 3 . 3 2 , 1 4 . 4 1 . C <sub>4 7</sub> H <sub>7 5</sub> F <sub>2</sub> N O <sub>9</sub> H <sup>+</sup> [ M + H ] <sup>+</sup> の H R M S ( E S I - T O F ) 計算値 8 3 6 . 5 4 9 8 , 実測値 8 3 6 . 5 4 8 3 .

## 【 0 3 2 9 】

フッ素化ドナー 4 8 の合成

## 【化 6 8】



## 【 0 3 3 0 】

化合物 4 4 : 3 2 の乾燥ピリジン中の溶液にトリフェニルメチルクロリドを添加した。反応液をアルゴン下、6 0 ° で 1 6 時間撹拌した。溶媒の除去後、混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、4 4 を得た。

## 【 0 3 3 1 】

化合物 4 5 : 4 4 の N , N - ジメチルホルムアミド ( D M F ) 中の溶液に水素化ナトリウム ( 鉱油中 6 0 % ) を 0 ° で添加した。反応液を 1 時間撹拌した後、臭化ベンジルを添

加し、アルゴン下、周囲温度で16時間撹拌した。反応液をMeOHによってクエンチし、蒸発乾固させた。残渣をAcOEtで希釈し、溶液をH<sub>2</sub>Oとブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、45を得た。

#### 【0332】

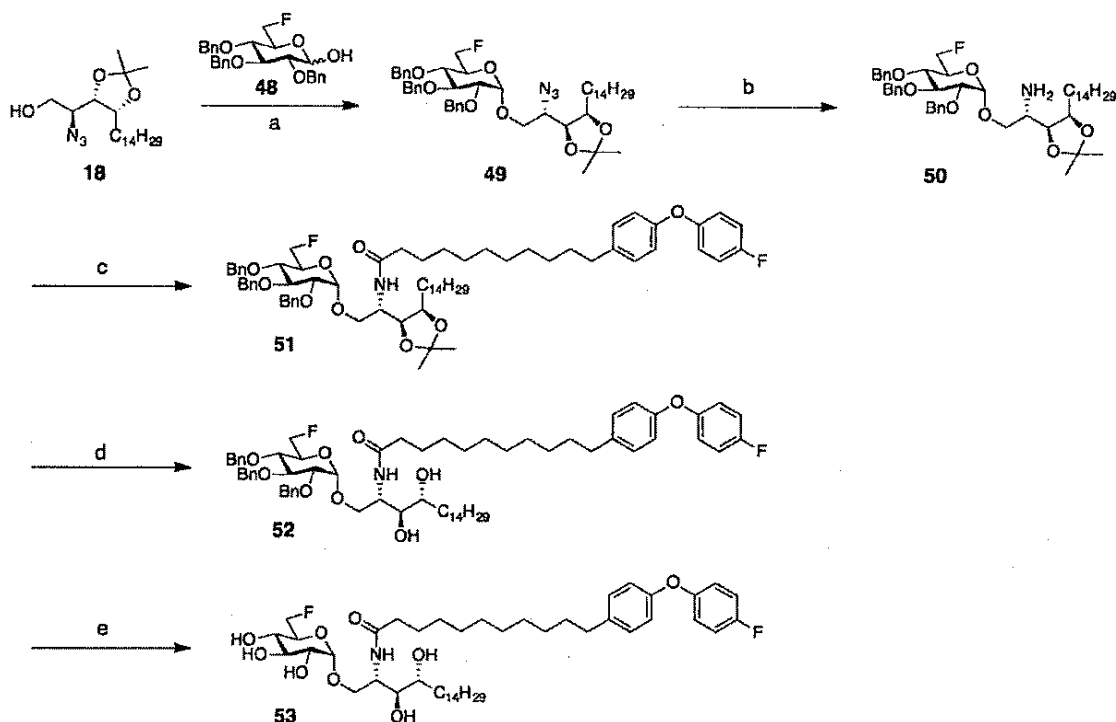
化合物46：45の酢酸水溶液(AcOH:H<sub>2</sub>O 4:1)中の溶液を75で3時間撹拌した。溶媒の除去後、混合物をAcOEtで希釈し、溶液をH<sub>2</sub>Oとブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、46を得た。

#### 【0333】

化合物47：46のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中の溶液にジエチルアミノ硫黄トリフルオリド(DAST)を添加した。反応液を45で16時間撹拌し、溶液を直接、H<sub>2</sub>O、飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液およびブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、化合物を得た。

#### 【0334】

#### 【化69】



#### 【0335】

化合物48：47の乾燥共溶媒(トルエン, H<sub>2</sub>OおよびCH<sub>3</sub>CN)中の溶液に硝酸セリウムアンモニウム(CAN)を添加した。反応液を周囲温度で10分間撹拌した。溶液を酢酸エチルで抽出し、H<sub>2</sub>O、飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液およびH<sub>2</sub>Oで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、化合物48を無色の油状物として得た。

#### 【0336】

フッ素化類似体53の合成

#### 【0337】

化合物49：ドナー48、ジメチルスルフィド、4 モレキュラーシーブおよび2-クロロピリジンの無水CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中の溶液に、アルゴン下、-45でトリフルオロメタンスルホン酸無水物を添加した。反応液を-45で20分間、0で20分間および周囲温度でさらに20分間撹拌した後、アクセプタ18(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中)を添加した。反応液をアルゴン下、周囲温度で16時間撹拌した。溶液をCelite 545に通して

濾過し、モレキュラーシーブを除去した。溶媒の除去後、残渣をAcOEtで希釈し、溶液をH<sub>2</sub>Oとブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、蒸発乾固させた。混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：AcOEt 10：1）によって精製し、49を得た。

#### 【0338】

化合物50：49のピリジン/H<sub>2</sub>O（10：1）中の溶液にトリフェニルホスフィンを添加した。反応液をアルゴン下、45℃で16時間撹拌した。溶媒の除去後、残渣をAcOEtで希釈し、H<sub>2</sub>O、ブラインで抽出し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、次いで蒸発乾固させた。混合物を事前に精製せずに次の工程に使用した。

#### 【0339】

化合物51：化合物50の乾燥CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中の溶液に4-（4-フルオロフェノキシ）フェニルウンデカン酸、Et<sub>3</sub>N、EDCおよびHBTUを添加した。反応液をアルゴン下、周囲温度で16時間撹拌した。溶媒の除去後、混合物をAcOEtで希釈し、H<sub>2</sub>O、ブラインで抽出し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、次いで蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、51を得た。

#### 【0340】

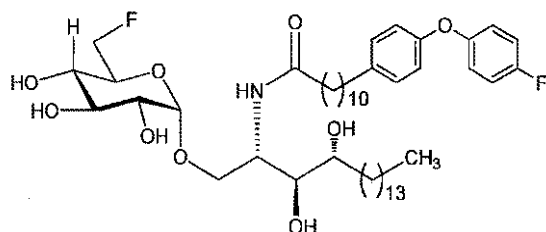
化合物52：化合物51の溶液を酢酸水溶液（AcOH：H<sub>2</sub>O 4：1）に溶解させ、60℃で16時間撹拌した。溶媒の除去後、混合物をAcOEtで希釈し、H<sub>2</sub>O、ブラインで抽出し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、次いで蒸発乾固させた。残渣をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製した。

#### 【0341】

化合物53

#### 【0342】

#### 【化70】



#### 【0343】

デアセトニド誘導体52を、水酸化パラジウム担持炭素（20%Pd）（触媒量）を含む共溶媒（MeOH：CHCl<sub>3</sub> 4：1）に溶解させ、H<sub>2</sub>雰囲気中で16時間撹拌した。溶液をCelite 545に通して濾過して触媒を除去し、蒸発乾固させ、混合物をシリカゲルでのフラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製し、LH20で溶出し、53を得た。<sup>1</sup>H NMR（MeOD-CDCl<sub>3</sub> 1：1, 600 MHz）：7.51（0.6H, d, J = 8.4 Hz）, 7.09-7.11（2H, m）, 6.97-7.00（2H, m）, 6.91-6.94（2H, m）, 6.83-6.85（2H, m）, 4.85（1H, d, J = 3.6 Hz）, 4.49-4.59（2H, m）, 4.15-4.18（1H, m）, 3.85（1H, dd, J = 10.8, 4.8 Hz）, 3.61-3.71（3H, m）, 3.52-3.58（2H, m）, 3.43（1H, d, J = 9.6, 3.6 Hz）, 3.36（1H, t, J = 9.0 Hz）, 2.55（2H, t, J = 7.8 Hz）, 2.18（2H, t, J = 7.8 Hz）, 1.51-1.64（6H, m）, 1.23-1.39（39H, m）, 0.85（3H, t, J = 7.2 Hz）。<sup>13</sup>C NMR（MeOD-CDCl<sub>3</sub> 1：1, 150 MHz）：175.06, 174.98, 159.99, 158.40, 155.94, 154.09, 154.08, 138.48, 130.09, 120.52, 120.46, 118.85, 116.63, 116.47, 100.02, 83.18, 82.04, 74.72, 74.31, 72.44, 72.38, 71.78, 71.67, 69.58, 69.54, 50.88, 50.79, 36.88, 36.83, 35.64, 32.64, 32.42, 32.17, 30.29, 30.24, 30.20, 30.14, 30.08, 30.01, 29.99, 29.91, 29.85, 29.74, 26.42, 26.38, 23.13, 14.26。C<sub>47</sub>H<sub>75</sub>F<sub>2</sub>NO<sub>9</sub>H<sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>のHRMS（ESI-TOF）計算値836.5483, 実測値836.5498。

## 【0344】

生物学的試験

## 【0345】

マウスへの糖脂質類似体の注射

## 【0346】

糖脂質はすべて、100% DMSOに1~2 mg/mlの濃度で溶解させた。インビボ実験では、化合物はすべて、マウスへの100 µlの希釈糖脂質または100 µlの1% DMSOの注射の直前に生理食塩水中で10 µg/mlに希釈した。6~12週齢の無菌C57BL/6雌マウスをNational Laboratory Animal Center (台北, 台湾) から取得した。J18ノックアウト(KO) B6マウスは、谷口克医博(理化学研究所の免疫アレルギー科学総合研究センター(RIKEN Research Center for Allergy and Immunology), 横浜, 日本)の厚意によりご提供頂いた。マウスはすべて、Institute of Cellular and Organismic Biology, Academia Sinica (台北, 台湾)の無菌飼育器に維持した。

10

## 【0347】

マウスのサイトカイン/ケモカイン分泌の測定

## 【0348】

B6 WTまたはJ18 KOマウスにビヒクルまたは0.1もしくは1 µg/マウスの糖脂質を静脈内注射した。注射後2時間目および18時間目に、Beadlyte (登録商標) Mouse Cytokineキット(Millipore, NY)でのサイトカイン/ケモカインの測定およびLuminex (登録商標) 200 (商標) システム(Luminex, Austin, TX)での読取りのため、血清を収集した。

20

## 【0349】

特異的糖脂質刺激後のマウス免疫細胞のFACS解析

## 【0350】

特異的糖脂質(1 µg/マウス)またはビヒクル(PBS中1% DMSO)で処置したB6 WTまたはJ18 KOマウスを注射後72時間目に致死させ、脾臓を採取した。脾臓を70 µmストレーナーで押圧し、赤血球を溶解させた後、有核細胞を、アジド(0.05%)を含有するPBSバッファー中に再懸濁させ、表示した細胞表面抗原を認識する抗体で4にて30分間染色した。洗浄した後、脾細胞をFACS解析に供した。CD3、CD4、CD8、CD11c、CD80およびCD86に対する抗体をBD Bioscience - Pharmingenから取得した。

30

## 【0351】

mCD1dと糖脂質の二元複合体の結合強度

## 【0352】

ELISAプレート上にコートした異なる濃度のmCD1d<sup>d.i</sup>-糖脂質複合体を、ビオチンとコンジュゲートさせた飽和量のL363抗体(BioLegend)とともにインキュベートした後、ストレプトアビジン-HRP検出およびELISA測定を行なった。L363抗体と表示したmCD1d<sup>d.i</sup>-糖脂質複合体間のKDをL363抗体の結合曲線のスキッチャード変換の線形回帰により、GraphPad Prismソフトウェアを用いて計算した。L363は、mCD1d<sup>d.i</sup>-7DW8-5-Glc複合体とmCD1d<sup>d.i</sup>-7DW8-5複合体を同様の結合強度で認識することがわかった。次に、この二元複合体のKDを以下のようにして測定した。異なる濃度の糖脂質を固定量のmCD1d二量体とともに37で一晩インキュベートし、次いで、mCD1d<sup>d.i</sup>-糖脂質複合体を96ウェルELISAプレート上に4で一晩コートした。洗浄および室温(RT)で1時間のBSAでのブロック後、ビオチンとコンジュゲートさせたL363抗体を室温で30分間添加した後、ストレプトアビジン-HRPとともに室温で30分間インキュベーションし、ELISAリーダーで検出を行なった。二元複合体のKD値を、L363抗体の結合曲線のスキッチャード変換の線形回帰により計算した。

40

50

## 【0353】

ヒトiNKT細胞の増殖

## 【0354】

ヒトナイーブV<sub>24</sub><sup>+</sup>iNKT細胞を、100ng/mlの表示した糖脂質またはDMSOをパルスした自己未成熟CD14<sup>+</sup>DCとともに2日目に18時間培養した。3日目、懸濁細胞を新しい皿に移し、50U/mlのIL-2(R&D Systems)の存在下で培養し、新鮮培地を3日間毎に補給した。V<sub>24</sub><sup>+</sup>/V<sub>11</sub><sup>+</sup>細胞のパーセンテージをフローサイトメトリーによって9日目に測定した。増殖後の細胞の総数をGuava ViaCount試薬(Millipore, USA)を用いて計算し、ViaCountモジュールを含むCytosoft(商標)ソフトウェアを有するGuavaシステム(Millipore, USA)によって検出した。

10

## 【0355】

種々のCD1d負荷糖脂質のV<sub>14</sub><sup>+</sup>iNKT細胞に対する結合アビディティ

## 【0356】

簡単には、マウスCD1d:Ig二量体(BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA)に、糖脂質を1:10のモル比で、またはビヒクルを37で一晩負荷した。マウス1.2V<sub>14</sub><sup>+</sup>iNKT細胞を種々の用量の二量体-糖脂質複合体とともに、アジド(0.05%)含有バッファー中で4にて30分間インキュベートした。次いで、この細胞を抗マウスIgG1-PE mAb(A85-1)で4にてさらに30分間染色した後、洗浄し、4%パラホルムアルデヒド(PFA)で固定し、結合されたmCD1d二量体複合体をフローサイトメトリーによって検出した。スキャッチャード変換の結合曲線および線形フィットをGraphpad Prismソフトウェアによってプロットした。

20

## 【0357】

CD1d負荷糖脂質をV<sub>24</sub><sup>+</sup>iNKT細胞との結合アビディティ

## 【0358】

100ng/mlの7DW8-5によって増殖したV<sub>24</sub><sup>+</sup>iNKT細胞に対するヒトCD1d-糖脂質複合体の結合アビディティを既報のようにして測定した<sup>19</sup>。

## 【0359】

ヒトV<sub>24</sub><sup>+</sup>iNKT細胞株および未成熟単球由来樹状細胞の単離および作製

30

## 【0360】

V<sub>24</sub><sup>+</sup>iNKT細胞およびCD14<sup>+</sup>細胞を末梢血細胞から既報のようにして単離した<sup>19</sup>。未成熟DCはCD14<sup>+</sup>細胞から、300U/mlのGM-CSF(R&D Systems)および100U/mlのIL-4(R&D Systems)の存在下で2日間インキュベーション後に作製された。

## 【0361】

7DW8-5またはC1を用いて増殖したV<sub>24</sub><sup>+</sup>iNKT細胞株は以下のようにして作製した。2,000ラドを照射した後、未成熟DCをシンジェニックV<sub>24</sub><sup>+</sup>iNKT細胞とともに100ng/mlの7DW8-5またはC1の存在下で1日、共培養した。脂質の除去後、細胞を50U/mlのIL-2の存在下で10~14日間増殖した。iNKT細胞のさらなる刺激と増殖のために同じ手順を1回繰り返した。7DW8-5またはC1を用いて増殖させたiNKT細胞株はV<sub>24</sub><sup>+</sup>T細胞抗原受容体(>95%純度)を発現していることが示された。

40

## 【0362】

mCD1d対hCD1dのスワップアッセイ

## 【0363】

マウスDN3A4-1.2V<sub>14</sub><sup>+</sup>iNKTハイブリドーマ細胞またはC1増殖V<sub>24</sub><sup>+</sup>iNKT細胞に、mCD1d(A20-CD1d細胞)またはhCD1d(HeLa-CD1d細胞)のいずれかによって提示された表示した糖脂質抗原を1、0.1および0.01μg/mlでパルスした。18時間後、サイトカイン分泌物(1種類ま

50

たは複数種)の測定のために上清みを採取した。V<sub>14</sub><sup>+</sup> iNK T細胞から放出されたIL - 2をELISAアッセイによって測定した。V<sub>24</sub><sup>+</sup> iNK T細胞から分泌されたIFN -  $\gamma$ 、IL - 4およびIL - 2は、Beadlyte (登録商標) Human Cytokineキット (Millipore, NY, USA) およびLuminox (登録商標) 200 (商標) 読取システムを用いて検出した。

【0364】

コンピュータモデル設計およびシミュレーション

【0365】

- GalCerをそのそれぞれのiNK T TCRに提示するヒトおよびマウスの両方のCD1d (hCD1dおよびmCD1d) の結晶構造を、RCSB Protein Data Bank (www.rcsb.org; PDBのコードは3HUI、3QUX、3QUY、3QUZおよび3HE6である) から検索した。これらの結晶構造を、3QUXの主鎖原子を基準にすることにより重ね合わせた。3HE6と3HUIから得た2つの-GalCer三元構造を用いて、異なるGSLで構成されたその他の三元複合体を作成した。C34を含む三元構造を、C1を含むものからMeastro (Schroedinger LLC, USA) 上のアシル鎖を修飾することにより誘導した。C1-GlcおよびC34-Glcを有する三元構造は、それぞれC1およびC34のO4キラリティーを反転させることにより作成した。残りの新しい三元複合体のモデル設計は、それぞれマウスおよびヒトの3QUXおよび3HUIのこれらのGSLおよびCD1d-iNK T TCR構造を用いて構築した。構造はすべて、Protein Preparation Wizard (Schroedinger LLC, USA) を用いて加工し、脂質尾部を、立体衝突が最小限となるように、MacroModelの立体配座サーチを用いてさらに絞り込み、デフォルト法および水溶媒中でのOPLS2005力場によりエネルギー最小化を行なった。GSLのiNK T TCRに対する結合様式を、Autodock4.2により半経験的自由エネルギー力場を用いて再コンピュータ計算し、シミュレーション中の立体配座を評価した。溶媒中の推定結合自由エネルギーを、Autodock4.2で構築された方程式：

【0366】

$$G = V^L (\text{結合} - \text{未結合}) + V^P (\text{結合} - \text{未結合}) + V^{P^L} (\text{結合} - \text{未結合} + S_{conf})$$

によってコンピュータ計算した。

【0367】

式中、Lは「リガンド」を示し；Pは「タンパク質」を示し；Vはペアワイズエネルギー用語、例えば分散/反発力、水素結合および静電気の評価を示し； $S_{conf}$ は結合時の配座エントロピー損失の推定値である。Autodock4の実行に必要なとされる入力ファイルはすべて、MGLToolsで作成した。60×60×60<sup>3</sup>のグリッドボックスおよび種々の原子タイプ別(-typed)エネルギーマップを作成した。各分子ドッキングの実施において、ヒドロキシル基はすべて、自由回転に設定し、2つの脂質尾部は、事前に絞り込んだポーズに割り付けた。Lamarckian遺伝的アルゴリズム(最大数5.0×10<sup>7</sup>のエネルギー評価および27,000世代ならびに交叉率0.8で0.02の変異率)を検索に使用した。結果をMGLToolsで視覚化し、個々の残基に対する水素結合の寄与を組み込み関数によって取得した。グラフ表示はMeastroで仕上げた。

【0368】

結果

【0369】

Glcを有するスフィンゴ糖脂質(GSL)はGalを有するものよりも、ヒトにおいて強力であるがマウスにおいては弱い免疫調節物質である

【0370】

これまで、0.1 μg / マウスの7DW8 - 5は免疫刺激に充分であった<sup>19</sup>が、グル

コース類似体 7DW8-5-Glc によって免疫応答を誘導するには、より高い投薬量 (1  $\mu$ g / マウス) が必要とされた (図 6)。したがって、新しく合成した糖脂質の生物学的活性を B6 マウスにおいて、1  $\mu$ g / マウスの糖脂質の i.v. 注射の 2 時間後および 18 時間後に試験した。図 2 および図 7 に示されるように、マンノース類似体 7DW8-5-Man では、いずれのサイトカイン / ケモカインも誘導されなかった。Glc を有する GSL と比較した場合、Gal を有する GSL の方が、高レベルのサイトカインおよびケモカイン、例えば IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-4、IL-6、GM-CSF、TNF および IP-10 を誘導した。同様の傾向が、異なるグリコシル基を有する GalCer および C34 類似体でもみとめられた (図 2A、2B および図 7)。

#### 【0371】

C1-Glc および C34-Glc はサイトカインおよびケモカインの両方を誘発したが、7DW8-5-Glc が誘導した Th1 および Th2 サイトカインは非常に低レベルであったが、KC、MCP-1、IP-10 および MIG ケモカインは比較的高レベルであった。7DW8-5-Glc によるケモカイン誘導に iNKT 細胞以外の免疫細胞が寄与しているかもしれないという可能性を調べるため、iNKT 細胞を有しない J18 KO マウスに 7DW8-5-Glc または 7DW8-5 を 1  $\mu$ g / マウスで注射した<sup>25</sup>。注射の 2 時間後および 18 時間後に収集したマウスの血清では、7DW8-5 または 7DW8-5-Glc のいずれかによるサイトカインの誘導は示されなかった (図 2A、2B および図 7)。驚くべきことに、7DW8-5 では誘発されなかったが、7DW8-5-Glc では、J18 KO マウスにおいて、いくつかのケモカイン、例えば KC、MCP-1、IP-10 および MIG の分泌が誘発された。このような所見により、J18 KO マウスの iNKT 細胞以外の免疫細胞が、7DW8-5-Glc で処置した WT マウスおよび J18 KO マウスにおいてケモカインの生成に寄与したはずであることが示唆された。

#### 【0372】

次に、本発明者らは、糖脂質刺激の 3 日後に WT マウスにおいて免疫細胞の増殖 / 活性化を解析した。T 細胞、CD4<sup>+</sup> T および CD8<sup>+</sup> T 細胞の総数は、Gal 頭部を有する GSL で処置したマウスの方が Glc を有する GSL で処置したマウスよりも多かった (図 2C、8E および 8F)。これは、マウスにおいて、Glc を有する GSL よりも Gal を有する GSL によって、より多くのサイトカイン / ケモカインが誘導されるという観察結果と合致した (図 2A、2B および 7)。Glc を有する GSL 間での免疫賦活活性のさらなる比較により、C1-Glc および C34-Glc はどちらも、サイトカイン / ケモカインの誘導 (図 2A、2B および 7) ならびに DC の増殖 / 活性化 (図 8B ~ 8D) において 7DW8-5-Glc よりも良好であることが明らかになった。C34-Glc は 7DW8-5-Glc よりも約 2 倍多くの CD80<sup>+</sup> または CD86<sup>+</sup> DC を活性化した (図 8C および 8D) が、これらが誘導した脾細胞および DC の総数は同様であった (図 8A および 8B)。7DW8-5-Glc と比較した場合、C1-Glc は、約 1.3 倍多くの脾細胞および DC を増殖させただけでなく (図 8A および 8B)、約 3.5 倍多くの CD80<sup>+</sup> DC ならびに約 3 倍多くの CD86<sup>+</sup> DC も活性化させた (図 8C および 8D)。DC の増殖 / 活性化の増大が、インビボで 7DW8-5-Glc と比べて C1-Glc および C34-Glc により誘発される免疫原性の方が強いことに寄与しているのかもしれない。対照的に、7DW8-5-Man はいずれの型の免疫細胞も増殖させず (図 2C および 8)、サイトカイン / ケモカインの誘導の欠如と整合した (図 2A、2B および 7)。

#### 【0373】

予期せずに、本発明者らはまた、7DW8-5-Glc が J18 KO マウスにおいてケモカインを誘導することも観察した (図 7)。7DW8-5-Glc または 7DW8-5 の i.v. 注射の 3 日後、J18 KO マウス脾細胞の FACS 解析により、CD11c<sup>hi</sup> 単球由来 DC は有意に増殖し、7DW8-5-Glc によって活性化されるが 7DW8-5 によっては活性化されないことが明らかになった (図 9B ~ 9D)。7DW

10

20

30

40

50

8 - 5 または 7DW8 - 5 - Glc のいずれかでの刺激後、脾細胞、CD4<sup>+</sup> T および CD8<sup>+</sup> T 細胞の総数に有意差はみとめられなかった（図 9A、9E および 9F）。このような所見により、単球が、7DW8 - 5 - Glc で処置した J18 KO マウスにおいて KC、MCP - 1、IP - 10 および MIG などのケモカインの誘導を担っている可能性があることが示された。

#### 【0374】

上記のように、Gal を有する糖脂質類似体は、マウスにおいて、特に 7DW8 - 5 と 7DW8 - 5 - Glc 間の比較では、Glc を有するものよりも強力な免疫調節物質であった。同様の傾向がヒト iNKT 細胞にもあてはまるかどうかを調べるため、末梢血から単離した V24<sup>+</sup> iNKT 細胞を、2 日目に 100 ng / ml の表示した糖脂質をパルスした未成熟 DC とともにインキュベートした。3 日目に抗原を除去した後、ヒト iNKT 細胞を IL - 2 の存在下で培養した。増殖した iNKT 細胞の数を、9 日目に、Guava ViaCount 試薬を用いて計測した。驚くべきことに、7DW8 - 5 - Glc は 7DW8 - 5 よりも、インビトロでのヒト iNKT 細胞の増殖において有意に ( $p = 0.0009$ ) 良好であった（図 2D）。総合すると、このような所見により、Gal を有する GSL の生理活性は、Glc を有する GSL と比べて、マウスにおいてより強力であるが、ヒトにおいてはあまり強力でないことが示唆された。

#### 【0375】

mCD1d と糖脂質間の二成分系相互作用

#### 【0376】

7DW8 - 5 と 7DW8 - 5 - Glc の免疫調節活性の差の理由を理解するため、本発明者らは、mCD1d と特異的糖脂質間の二成分系相互作用の結合強度を、糖脂質と複合体形成した mCD1d に結合し得る L363 mAb を用いて測定した<sup>26</sup>。種々の濃度の固定比率の mCD1d<sup>d i</sup> - 糖脂質複合体を飽和量の L363 - ビオチン抗体とともにインキュベートした後、ストレプトアビジン - HRP 検出および ELISA 測定を行なった（図 10A）。L363 と表示した mCD1d<sup>d i</sup> - 糖脂質複合体間の解離定数 (KD) を、プロット（図 10A）のスキッチャード変換の線形回帰により GraphPad Prism ソフトウェアを用いて計算した。L363 は mCD1d<sup>d i</sup> - 7DW8 - 5 - Glc 複合体を、mCD1d<sup>d i</sup> - 7DW8 - 5 複合体の場合と同様の結合強度で認識することがわかった（図 10B）。次に、本発明者らは、この二元複合体の KD を、異なる濃度の糖脂質を固定量の mCD1d 二量体および L363 - ビオチン抗体とともにインキュベートした後、ストレプトアビジン - HRP 検出および ELISA 測定を行なうことにより調べた（図 10C）。KD を、L363 の検出読み出し情報から作成した結合曲線のスキッチャード変換により計算した（図 10D）。予想どおり、7DW8 - 5 と同一の脂質尾部を有する 7DW8 - 5 - Glc は mCD1d 二量体に GalCer と同様の強度で結合したが、その結合アビディティは GalCer よりも約 20 倍大きかった。これにより、二成分系相互作用の強度は 7DW8 - 5 と 7DW8 - 5 - Glc の免疫賦活能の差の理由にはなり得ないことが示された。

#### 【0377】

CD1d - GSL 複合体と iNKT 細胞間の三成分系相互作用

#### 【0378】

次に、本発明者らは、マウスおよびヒトにおける CD1d - 糖 (glco) 脂質複合体と iNKT TCR 間の三成分系相互作用を測定した。異なる濃度の mCD1d<sup>d i</sup> - 糖脂質と hCD1d<sup>d i</sup> - 糖脂質複合体を、それぞれ固定量の DN3A4 - 1.2 マウス iNKT ハイブリドーマ細胞およびヒト V24<sup>+</sup> / V11<sup>+</sup> iNKT 細胞とともにインキュベートした。表示した濃度における結合複合体レベルを抗 mIgG1 二次抗体によって検出し、フローサイトメトリーによって解析した（図 3A および 3B）。三元複合体の KD を図 3A および 3B のプロットのスキッチャード変換により、GraphPad Prism ソフトウェアを用いて計算した。図 3C に示されるように、mCD1d - 7DW8 - 5 複合体は iNKT TCR と、mCD1d - 7DW8 - 5 - Glc 複合体より



も約10倍強い相互作用を示した。これは、mCD1d-7DW8-5複合体によって染色されたC1パルス脾細胞のパーセンテージ(36.2±5.0%)がmCD1d-7DW8-5-Glc複合体(17.1±0.8%)よりも大きいという観察結果と整合した(図11)。mCD1dと複合体形成させた場合C1(KD:1.240±0.003nM)およびC34(KD:0.735±0.010nM)はともに、iNKT TCRに対して、それぞれC1-Glc(KD:5.137±0.110nM)およびC34-Glc(KD:7.960±1.269nM)よりも強い三成分系相互作用を示した(図3C)。

#### 【0379】

ヒトでは、hCD1dとの複合体の状態で、Glcを有するGSL(C1-GlcのKD:8.550±0.617;C34-Glc:0.378±0.019;7DW8-5-Glc:0.481±0.008nM)は、V24<sup>+</sup>/V11<sup>+</sup>iNKT TCRに対して、Galを有するGSL(C1のKD:16.410±4.200;C34:0.498±0.005;7DW8-5:0.777±0.022nM)よりも強い三成分系相互作用を示した(図3D)。したがって、脂質尾部の型に関係なく、Galを有するGSLはGlcを有するGSLよりも、マウスiNKT TCRとは強い三成分系相互作用を示したが、ヒトiNKT TCRとは弱い三成分系相互作用を示した(図3Cおよび3D)。これは、Galを有するGSLがマウスにおいてより高レベルのサイトカイン/ケモカインおよびより大きな免疫細胞増殖を誘発した(図2A~2C、7および8)が、ヒトにおいて誘発したiNKT細胞増殖は少なかった(図2D)という観察結果の説明となり得る。総合すると、iNKT TCR、CD1dおよびGSL間の三成分系相互作用はCD1dとGSL間の二成分系相互作用よりも糖脂質の生理活性に関連しているようである。

#### 【0380】

iNKT細胞に対するヒトとマウス(対比)のCD1d分子のスワップの効果

#### 【0381】

種特異的応答を説明するため、本発明者らは、ヒトとマウス(対比)のiNKT細胞に対するヒトとマウス(対比)CD1d分子のスワップの異なるグリコシル基を有するGSLの賦活活性に対する効果を調べた。マウスiNKTハイブリドーマ細胞(図4A)またはC1増殖ヒトV24<sup>+</sup>iNKT細胞(図4B)にmCD1d(A20-CD1d)またはhCD1d(HeLa-CD1d)のいずれかによって提示された表示した糖脂質をパルスした。24時間後に上清みを採取し、サイトカイン分泌物を測定した。mCD1dによって提示されようとhCD1dによって提示されようと、Galを有するGSLは、マウスiNKT細胞で、Glcを有するGSLよりも多くのIL-2分泌を誘導した(図4A)。これは、血清サイトカイン分泌の誘導に対して、Galを有するGSLはGlcを有するGSLより強力であるというインビボ所見と整合した(図2および7)。対照的に、ヒトiNKT細胞では、mCD1dまたはhCD1dのいずれかによって提示させた場合、Glcを有するGSLはGalを有するGSLよりも多くのIL-2分泌を誘発した(図4B)。同様の傾向が、ヒトiNKT細胞でのIFN-分泌およびIL-4分泌についても観察された(図12Aおよび図12B)。異なるグリコシル基を有するGSLの種特異的賦活活性は、CD1dではなくマウスとヒト(対比)のiNKT TCRによって指示された。比較において、7DW8-5-Manは、mCD1dによる提示またはhCD1dによる提示に関係なく、マウスおよびヒトiNKT細胞を刺激していずれかのサイトカインを分泌させることができなかった。注目すべきことに、Glcを有するGSLはすべて、IL-4に対するIFN-の比に基づいてC1よりも有意に多くのTh1傾斜型(skewed)応答を誘発した(図12C)。その上、脂質尾部に関係なく、Glcを有するGSLは、ヒトにおいてGalを有するGSLよりもTh1偏向のようであった(図12C)。このような所見により、グリコシル基の4'-OHの修飾によってTh1方向へのヒトiNKT細胞の応答が選択的に誘導され得ることが示された。

10

20

30

40

50

## 【0382】

CD1d - GSL - iNKT TCRの三元複合体の構造モデル設計

## 【0383】

マウスおよび人間における三元複合体の結合アビディティの差をさらに説明するため、コンピュータモデル設計を、それぞれマウスおよびヒトのCD1d - GalCer - iNKT TCR複合体(PDBアクセスコード3HUU、3QUX、3QUY、3QUZおよび3HE6)のX線構造に基づいて行なった<sup>27-29</sup>。

## 【0384】

(1) 糖鎖頭部基の相互作用

## 【0385】

図3Aおよび3Bに示されるように、Manを有するGSLは、CD1dと複合体形成させた場合、マウスおよびヒトのiNKT細胞に結合し得なかった。マンノースの垂直な2'OHはiNKT TCRに立体障害をもたらし(人間ではSer30およびマウスではAsn30)、iNKT TCRに対してガラクトースの2'OHによって元々形成されていた2つの水素結合が失われた。(人間ではGly96とAsp151およびマウスではGly96とAsp153)。Galを有するGSLについて、マウスおよびヒトでのCD1dおよびiNKT TCRに対するC1の結合を、それぞれ図5Aおよび5Bに示した。水素結合(H-結合)相互作用の形成は、ほとんどの保存残基で、例えば、CD1dのヒトAsp80(マウスAsp80)、ヒトThr154(マウスThr156)、ヒトAsp151(マウスAsp153)およびiNKT TCRのヒトGly96(マウスGly96)で観察された。他方で、C1の3'OH/4'OHとヒトおよびマウスのiNKT TCRとのH-結合相互作用はかなり異なっていた。マウスiNKT TCRの残基Asn30はC1の3'-OHおよび4'-OHに対する結合に極めて重要であった。Asn30の自由エネルギーの寄与は、MGLToolsを使用して-2.27~-3.38Kcal/molであると推定された。比較において、ヒトiNKT TCRのSer30はC1の4'-OHからさらに遠く、3'-OHのみとのより弱いH-結合相互作用がもたらされたが、C1の4'-OHとPhe29の主鎖C=O基間にH-結合が形成され得た(図5B)。Ser30とC1の3'-OHおよび4'-OHとPhe29の自由エネルギーの寄与をコンピュータ計算すると約-1.23~-1.63Kcal/molであった。したがって、4'OHのアキシアル(Gal)方向からエクアトリアル(Glc)方向への変化によりiNKT TCRのマウスAsn30およびヒトPhe29とのH-結合相互作用が損なわれ得る。それぞれC1およびC34と比較した場合、C1-GlcおよびC34-GlcにはマウスAsn30とのH-結合相互作用がなく、自由エネルギーの低下がもたらされた(-0.7~-0.9Kcal/mol(MGLToolsによる計算))。これは、ガラクトースをグルコース頭部に変更した場合のKD測定でのマウス三成分系相互作用の低下(図3C)と合致した。これに対して、ヒト三成分系相互作用はグルコースを有するGSLの方が大きかった(図3D)。コンピュータモデル設計に基づき、本発明者らは、グルコースのエクアトリアル4'-OHが、ヒトiNKT TCR-Phe51およびhCD1d-Trp153によって捕捉された結晶水とのより強い相互作用(約-1.84Kcal/mol)によってPhe29相互作用の低下(-0.4Kcal/mol)を代償しているのではないかということを見出した(図5C)。マウスでは疎水性空間の形成および捕捉水分子がないため、三成分系相互作用は、Glcを有するGSLの方がGalを有するものより弱くなり得る。

## 【0386】

(2) 脂質尾部の相互作用

## 【0387】

C34のアシル尾部の2つの芳香族環は、CD1dのPhe70およびTrp63と芳香族相互作用を構成し得る。したがって、C1からC34へのアシル尾部の変更によりCD1dとの相互作用が増大し得る(モデル設計では-1.8~-2.4Kcal/mol)。また、芳香族相互作用による高エネルギーにより、C34またはC34-Glcのア

10

20

30

40

50

シル鎖がCD1d内のA'チャンネルのより低い位置(Cys12付近)に追いやられることになり、頭部基の向きに対して微妙な乱れがもたらされるのかもしれない(図5D)。したがって、マウスiNKT TCRとグルコース頭部のエクアトリアル4'-OH間には適合した(congenial)力がないため、iNKT TCRに対するmCD1d-C34-Glcの結合はmCD1d-C1-Glcよりも少し弱かった(図3C)。これは、なぜマウスにおいてC34-GlcはC1-Glcよりも強力さが低かったがC34はC1よりも卓越していたのかの説明となり得る。

【0388】

(3)AUTODOCK4を用いたコンピュータ計算による自由エネルギー

【0389】

ヒトおよびマウスのCD1d-iNKT TCRに結合している各GSLの自由エネルギーを三連でコンピュータ計算した。各回において、GSLをヒトおよびマウスのCD1d-C1-iNKT TCRにドッキングさせ、最高ランクの自由エネルギーを選択した。図5Eに示されるように、コンピュータ計算された自由エネルギーは一般に、マウス(図3C)およびヒト(図3D)について測定されたKD値の傾向と相関していた。

【0390】

さまざまな手段が、本発明の組成物を製剤化するために使用され得る。製剤化および投与のための手法は“Remington: The Science and Practice of Pharmacy,”第20版, Lippincott William & Wilkins, Philadelphia, PA(1995)において知得され得る。ヒトまたは動物への投与では、調製物は、FDAが求めるものと同等の滅菌性、発熱原性ならびに一般的な安全性および純度基準を満たすものであるのがよい。医薬製剤の投与は本明細書に記載のさまざまな様式で行なわれ得る。

【0391】

サイトカイン誘導およびGSL、CD1dおよびiNKT TCR間の三成分系相互作用

【0392】

GalCerと比較した場合、GlcCerは、マウスiNKT細胞増殖に対する賦活性は低いことが報告されているが、ヒトiNKT細胞増殖の刺激に対してはより強力なようであった<sup>5, 22</sup>。また、本発明者らの試験では、サイトカイン誘導およびGSL、CD1dおよびiNKT TCR間の三成分系相互作用に関して、マウスおよびヒトにおいてGalCerとGlcCerとで活性の差も観察された。さらに、GalまたはGlc頭部を有するフェニルGSLは同様の種特異的活性を示した。したがって、脂質尾部に関係なく、Galを有するGSLはGlcを有するGSLよりも、マウスにおいては良好であったが人間において劣っていた。これにより、マウスとヒトとの間でのCD1dおよびiNKT TCRの高度に相同な配列にもかかわらず、マウスにおける糖脂質の生理活性はヒトにおけるものに置き換えることができないことが示された<sup>30</sup>。

【0393】

種特異的応答は、mCD1dとhCD1d(対比)のスワップアッセイによって実証されたように、マウスと人間のiNKT TCRの違いに最も起因していると思われた。mCD1dまたはhCD1dのいずれかによって提示されたGalを有するGSLはGlcを有するGSLよりも、マウスiNKT細胞の刺激に対しては強力であったが、ヒトiNKT細胞に対する賦活性は低かった。CD1d-GalCer-iNKT TCRの結晶構造によれば、iNKT TCRのCDR1領域内のガラクトース頭部の4'-OHと接触している残基はマウス(Asn30)とヒト(Phe29)間で保存されていなかった<sup>27, 28</sup>。本発明者らのコンピュータモデル設計により、4'-OHのアキシアル方向からエクアトリアル方向の変化によってマウスでは該4'-OHとiNKT TCR-Asn30間の水素結合が失われ得ることが明らかになった。これに対して、グルコースのエクアトリアル4'-OHは、ヒトiNKT TCR-Phe51およびhCD1d-Trp153によって捕捉された結晶水とのより強い相互作用によってPhe29の

10

20

30

40

50

相互作用の低下を代償しているのかもしれない。したがって、G1cを有するGSLによって構成された三成分系相互作用はGalを有するGSLよりも、ヒトにおいては強かったがマウスにおいては弱かった。総合すると、マウスおよびヒトCD1d-GSL-iNKT TCR複合体の構造モデル設計により種特異的生物学的活性に対する良好な説明が得られ、コンピュータ計算された自由エネルギー変化は三元複合体の結合アビディティの測定値の傾向と良好に相関していた。

#### 【0394】

同じ尾部を有するがグリコシル基は異なる本発明者らの類似体ペアとは反対に、種特異的免疫応答はまた、同じグリコシル基を有するが脂質尾部は異なる他の場合でもみられた<sup>31, 32</sup>。同様に、マウスおよび人間の2種類のC-グリコシド類似体の優先的活性を形成するのはCD1dではなくiNKT TCRであり、これは三元複合体の結合強度と良好に相関していた<sup>31</sup>。また、本発明者らの糖脂質でも、三成分系相互作用の方が二成分系相互作用よりも、マウスおよび人間における生物学的応答の予測において重要であった。7DW8-5および7DW8-5-G1cはどちらも、おそらくフェニル環の接触の増大およびCD1d A'ポケットを有するフルオリド原子のため、C1よりもずっと強くmCD1dと結合した<sup>33</sup>。同じ脂質尾部を有するこの2種類の糖脂質がCD1dに対して同様の結合強度を示したにもかかわらず、これらは異なる免疫賦活効力を示した。7DW8-5-G1cは7DW8-5よりも、人間においては良好であったがマウスにおいては劣っており、三元複合体の結合アビディティと良好な関係を有していた。7DW8-5および7DW8-5-G1cに加えて、その他の2組の類似体ペア(C1とC1-G1c(対比)およびC34とC34-G1c(対比))の生理活性もまた、マウスおよび人間において三成分系相互作用の強度と良好に相関していた。すなわち、Galを有するGSLはG1cを有するGSLよりも、マウスにおいては強い三成分系相互作用および免疫賦活活性を示したが人間においてはその傾向が反対であった。したがって、インビトロでの三成分系相互作用の測定は、本発明者らの新しい糖脂質のインビボでの免疫賦活効力を予測するために使用できる可能性がある。

#### 【0395】

G1cを有するGSL間のさらなる比較により、C1-G1cおよびC34-G1cはどちらも、マウスにおけるサイトカイン誘導において7DW8-5-G1cよりも良好であることが明らかになった。しかしながら、マウス三元複合体の結合アビディティはC34-G1cと7DW8-5-G1cで同等であった。このような所見により、KD以外の要素によってインビボでの免疫応答が調節されているのかもしれないことが示唆された。実際、C1-G1cおよびC34-G1cはどちらも、7DW8-5-G1cよりも多くのCD80<sup>+</sup>またはCD86<sup>+</sup> DCを活性化し、これが、マウスにおいてC1-G1cおよびC34-G1cのより強い生理活性に寄与している可能性がある。総合すると、いくつかの要素、例えば、三成分系相互作用の強度および免疫細胞の増殖/活性化がインビボで免疫刺激を調節しているのかもしれない。

#### 【0396】

GalまたはG1cを有するGSLとは対照的に、ManCerおよび7DW8-5-Manは、マウスおよびヒトのどちらにおいてもiNKT細胞増殖<sup>5, 22</sup>、サイトカイン/ケモカインおよび/または免疫細胞の増殖/活性化を誘導することができなかった。これは、iNKT細胞においてCD1d-7DW8-5-Man二量体による染色がなかったことによって実証されたように、マウスiNKT TCRもヒトiNKT TCRもMan頭部を認識できなかったという事実によるものであり得る。7DW8-5-Manと比較した場合、7DW8-5-G1cはマウスにおいて、非常に低レベルではあったがTh1サイトカインおよびTh2サイトカインを誘導することができた。比較において、WTマウスおよびJ18 KOマウスでは7DW8-5-G1cによって大量のKC、MCP-1、IP-10およびMIGケモカインが誘発され、iNKT細胞以外の特定の型の免疫細胞がこのようなケモカイン分泌に寄与している可能性があることを示す。実際、単球は、J18 KOマウスにおいて7DW8-5-G1cによって有意に

増殖／活性化された。単球が刺激に応答してこのようなケモカインを産生しているのかもしれないことが報告されていた<sup>34-37</sup>。これにより、単球が、7DW8-5-Glc処置マウスにおけるケモカイン分泌を担っている可能性があることが示唆される。とはいえ、本発明者らは、J18 KOマウスに存在する他の考えられ得る供給源もまた、ある役割を果たしている可能性があることを排除することができなかった。V10 NK T細胞は、インビトロで GalCerおよび GlcCerに反応してIFN- およびIL-4を産生することができたが<sup>38</sup>、GalCerで処置したJ18 KOマウスの血清中にIFN- は分泌されていなかった<sup>39</sup>。本発明者らは、7DW8-5または7DW8-5-Glcで処置したJ18 KOマウスで、いずれのサイトカインの生成も検出することができなかった。このような所見により、V10 NK T細胞は、マウスにおいて7DW8-5-Glcによって誘発されるケモカインにほとんど寄与していないことが示唆された。

10

## 【0397】

しかしながら、ほとんどのサイトカインおよびケモカイン、例えば、IFN-、IL-2、IL-4、IL-6、GM-CSFおよびTNF は、7DW8-5または7DW8-5-Glcのいずれかで刺激したJ18 KOマウスにおいて生成しなかった。また、CD4<sup>+</sup> TおよびCD8<sup>+</sup> T細胞などの免疫細胞もJ18 KOマウスにおいて増殖しなかった。したがって、iNK T細胞は、7DW8-5または7DW8-5-Glcによる上記のサイトカイン／ケモカイン誘導および免疫細胞増殖において依然として重要な役割因子であった。

20

## 【0398】

要約すると、Glcを有するGSLは Galを有するGSLと比べて、ヒトにおいて、より強い三成分系相互作用を有しており、よりTh1偏向性の免疫を誘発した。しかしながら、マウスにおいては、Glcを有するGSLは Galを有するGSLよりも賦活性が低かった。種特異的応答は、mCD1dとhCD1d（対比）のスワップアッセイに裏付けられたマウスiNK T TCRとヒトiNK T TCRの差に反映される種間の三元複合体の結合アビディティの差によるものであった。これは、マウスおよび人間におけるCD1d-GalCer-iNK T TCR複合体の結晶構造に基づいたコンピュータモデル設計による予測と合致した<sup>27-29</sup>。CD1d-糖脂質複合体とiNK T TCR間の三成分系相互作用に加えて、増殖／活性化された単球もまた、特に Glcを有するGSLの場合、インビボでの免疫応答を調節しているのかもしれない。

30

## 【0399】

本発明者らの試験では、グリコシル基上の4'OH方向の変化によりマウスおよびヒトにおいて異なる生理活性がもたらされた。これは、GalCer頭部の4'OHに導入された芳香族基がマウスにおけるiNK T細胞のサイトカインの生成に影響しているのかもしれないが、ヒトにおけるその効果は調査されなかった報告と整合した<sup>40</sup>。また、グリコシル基の6位における改変でも、生物学的応答に対して多様な効果が示された<sup>29, 41</sup>。このような所見により、本発明者らの研究と合わせると、新しいGSLの今後の設計および合成に対する新たな方向性がもたらされた。

## 【0400】

本出願全体を通して、種々の刊行物、特許および公開特許出願を挙げている。本出願において言及したこれらの刊行物、特許および公開特許出願の発明は、引用により本明細書においてその全体が本発明に組み込まれる。本明細書における刊行物、特許または公開特許出願の列記は、該刊行物、特許または公開特許出願が先行技術であることを許容するものではない。

40

## 【0401】

本明細書において挙げた刊行物および特許出願はすべて、引用により、あたかも個々の各刊行物または特許出願が具体的に個々に示されて引用により組み込まれているのごとく、本明細書に組み込まれる。

## 【0402】

50

前述の本発明は、理解を明瞭にする目的のための実例および実施例により、ある程度詳細に説明しているが、当業者には、本発明の教示に鑑みて、添付の特許請求の範囲の精神および範囲から逸脱することなく一定の変更および修正が行なわれ得ることが容易にわかるであろう。

【図 1 A】

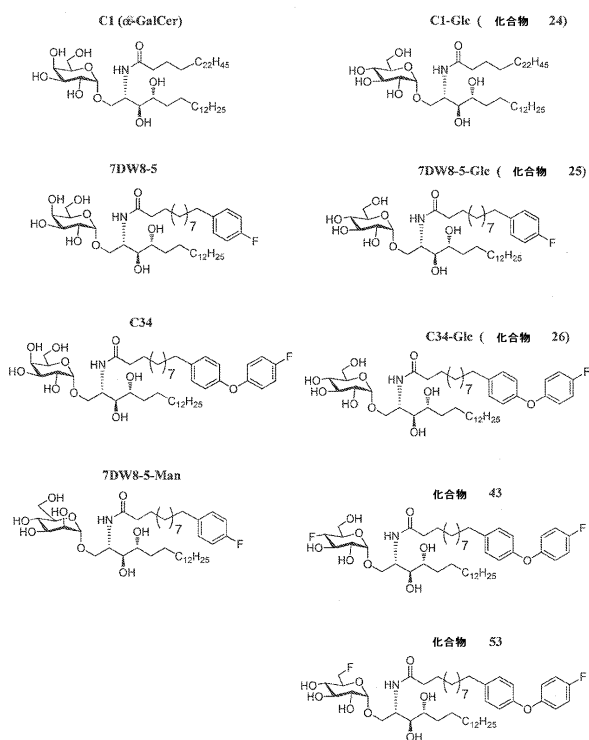


Fig. 1A

【図 1 B】

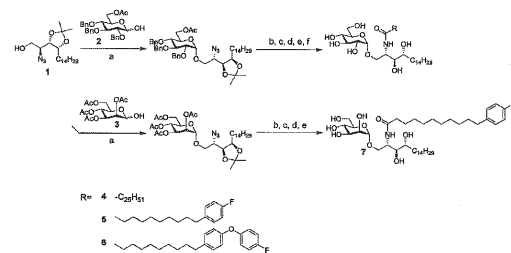


Fig. 1B

【図 2】

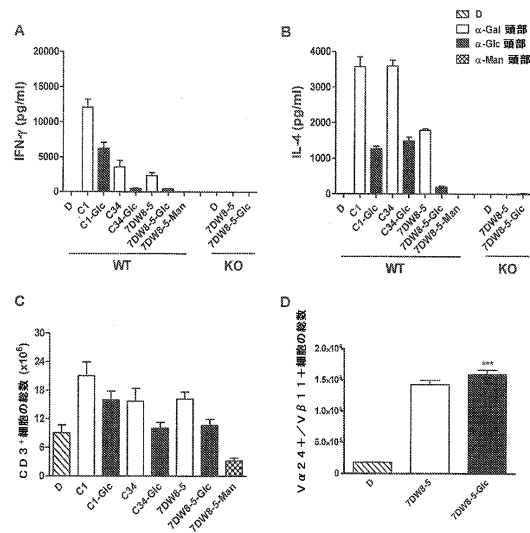


Fig. 2

【図 3】

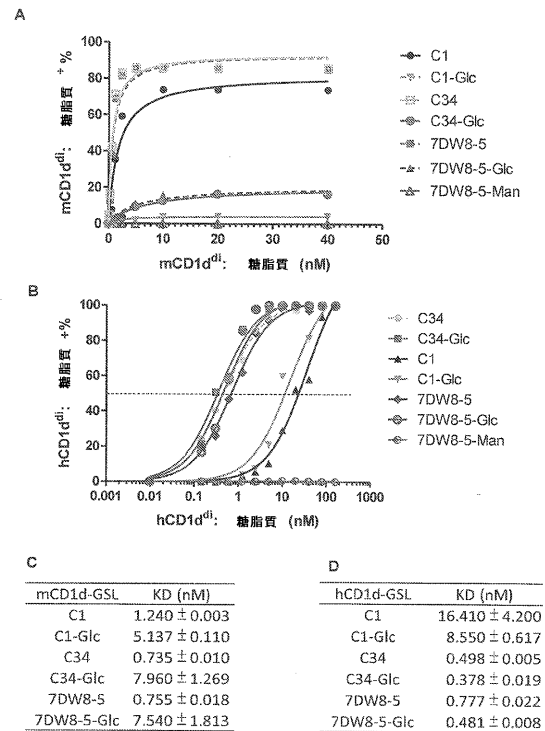


Fig. 3

【図 4】

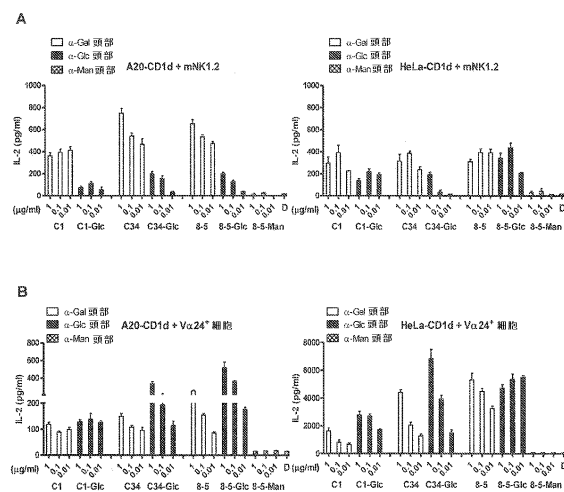


Fig. 4

【図 5】

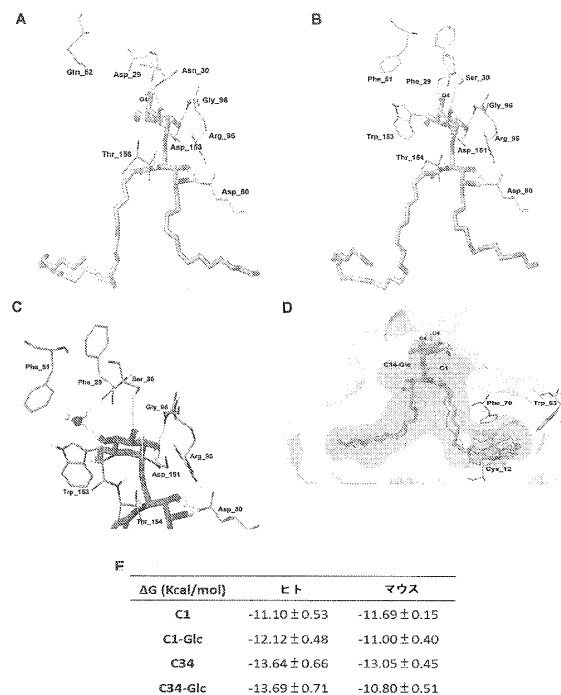


Fig. 5

【図 6】

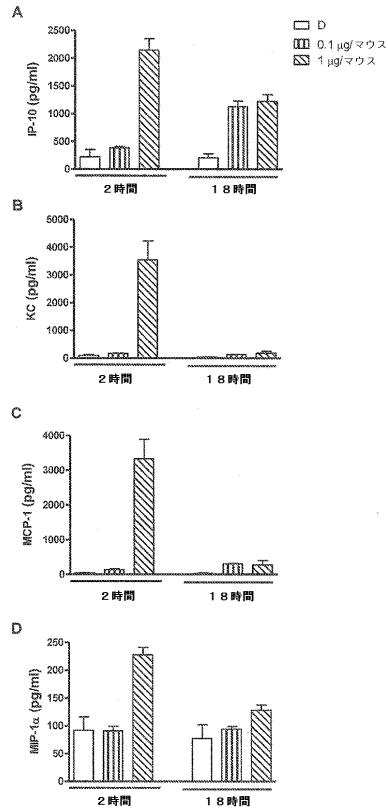


Fig. 6

【図 7】

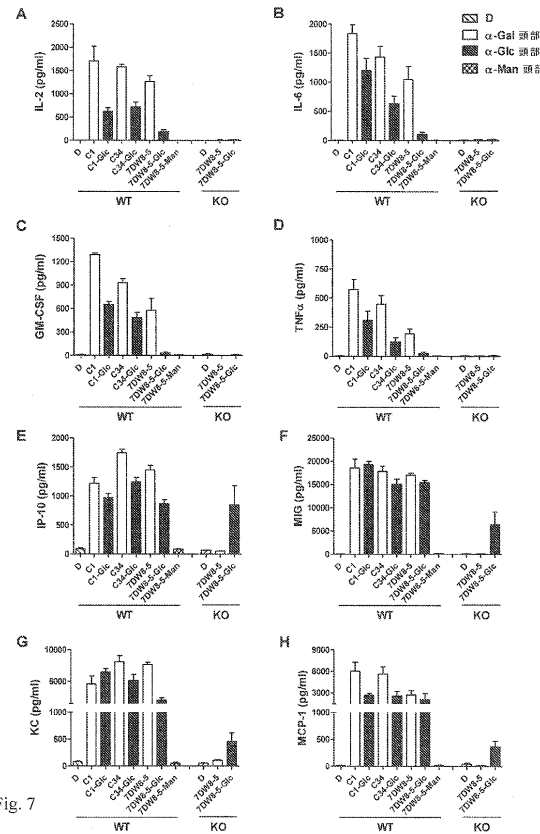


Fig. 7

【図 8】

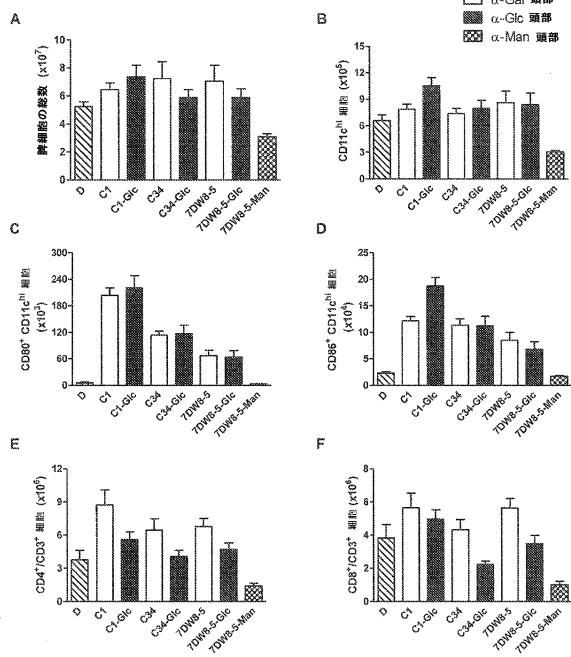


Fig. 8

【図 9】

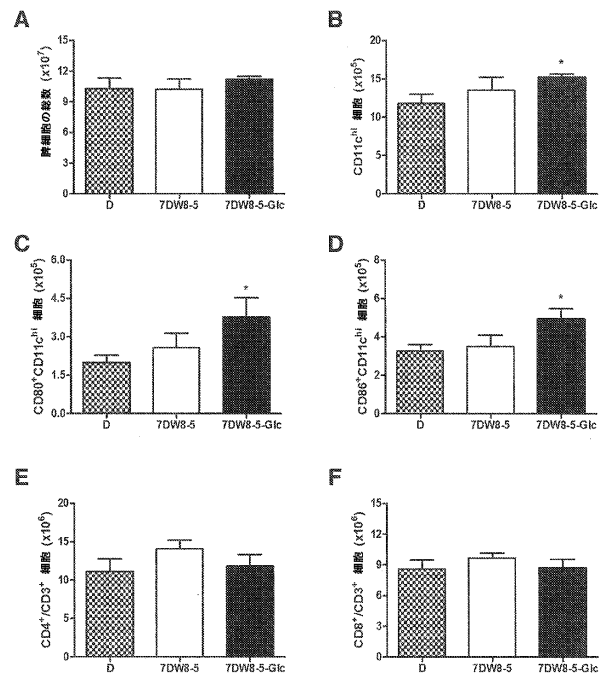


FIG. 9



【図 10】

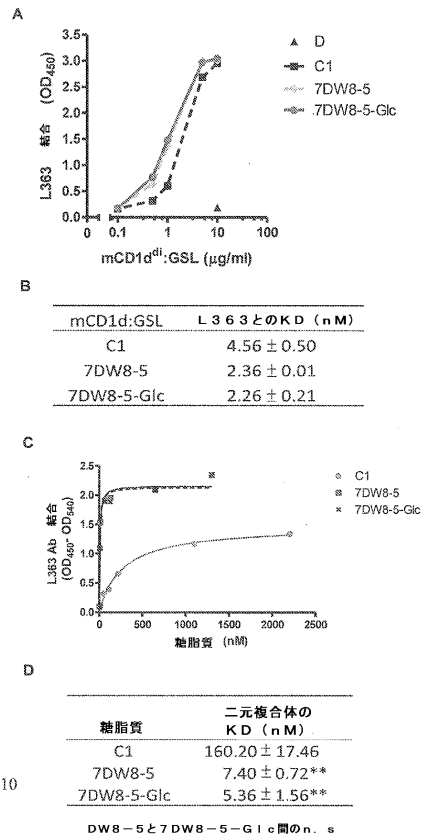


Fig. 10

【図 11】

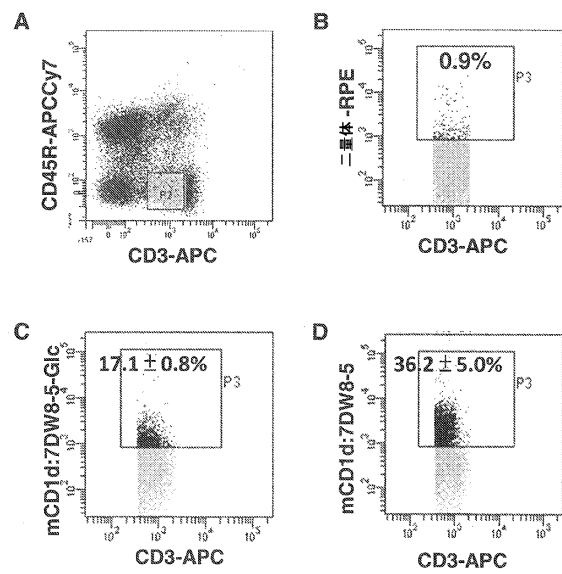


FIG. 11

【図 12】

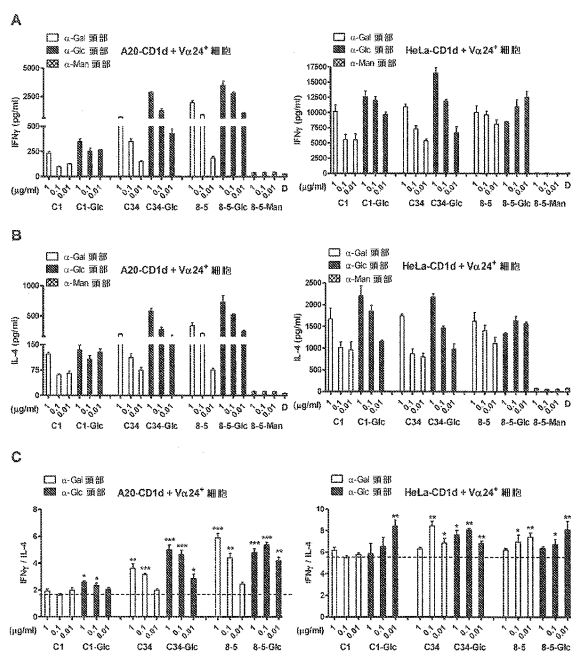


Fig. 12

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

A 6 1 K 39/12 (2006.01)	A 6 1 K 39/02	
A 6 1 K 39/35 (2006.01)	A 6 1 K 39/12	
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/35	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 P 31/10 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	Z
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 33/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 P 35/02	
	A 6 1 P 37/04	

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ウォン, チ-フェイ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 92037, ラ ホヤ, エヌ. トレー バインズ ロード 10550

(72)発明者 ユー, アリス エル.

台湾 11529 ナンカン, アカデミア ロード, セクション 2, レーン 61, アリー 2, 1エスティー フロア, ナンバー 8

(72)発明者 リン, クン-シェン

台湾 235 ニュー タイペイ シティ, ソンゲ ディストリクト, ジンピン ロード, レーン 241, ナンバー 99

(72)発明者 ウー, タイ-ナ

台湾 242 ニュー タイペイ シティ, シンズアン ディストリクト, ワンアン ストリート, レーン 127, 5エフ., ナンバー 11

審査官 神谷 昌克

(56)参考文献 国際公開第2008/133801(WO, A1)

国際公開第2009/119692(WO, A1)

米国特許出願公開第2012/0178705(US, A1)

特表2008-525495(JP, A)

特表2008-511634(JP, A)

特許第3717512(JP, B2)

RAJU, R. et al., Synthesis and evaluation of 3''- and 4''-deoxy-fluoro analogs of the immunostimulatory glycolipid, KRN7000, Bioorganic &amp; Medicinal Chemistry Letters, 2009年, Vol.19, No.15, p.4122-4125

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07H

A61K

CAplus/REGISTRY(STN)