

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4607451号
(P4607451)

(45) 発行日 平成23年1月5日 (2011.1.5)

(24) 登録日 平成22年10月15日 (2010.10.15)

(51) Int. Cl.

F I

C 0 7 F 9/113 (2006.01)
A 6 1 K 31/662 (2006.01)
A 6 1 K 31/663 (2006.01)
A 6 1 K 31/665 (2006.01)
A 6 1 P 1/00 (2006.01)

C O 7 F 9/113
A 6 1 K 31/662
A 6 1 K 31/663
A 6 1 K 31/665
A 6 1 P 1/00

請求項の数 38 (全 24 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-515247 (P2003-515247)
(86) (22) 出願日 平成14年7月18日 (2002.7.18)
(65) 公表番号 特表2005-508305 (P2005-508305A)
(43) 公表日 平成17年3月31日 (2005.3.31)
(86) 国際出願番号 PCT/EP2002/007986
(87) 国際公開番号 W02003/009855
(87) 国際公開日 平成15年2月6日 (2003.2.6)
審査請求日 平成17年6月15日 (2005.6.15)
(31) 優先権主張番号 101 34 705.7
(32) 優先日 平成13年7月20日 (2001.7.20)
(33) 優先権主張国 ドイツ (DE)
(31) 優先権主張番号 101 35 395.2
(32) 優先日 平成13年7月25日 (2001.7.25)
(33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

(73) 特許権者 504024195
バイオエージェンシー・アーゲー
B I O A G E N C Y A G
ドイツ国、2 2 5 2 5 ハンブルク、シュ
ナッケンブルクアレー 1 1 6 アー
(74) 代理人 100078662
弁理士 津国 肇
(74) 代理人 100116919
弁理士 齋藤 房幸
(74) 代理人 100141357
弁理士 鈴木 音哉
(72) 発明者 ヨマー, ハッサン
ドイツ国、3 5 3 9 2 ギーセン、ヴィル
ヘルムシュトラッセ 3 7

前置審査

最終頁に続く

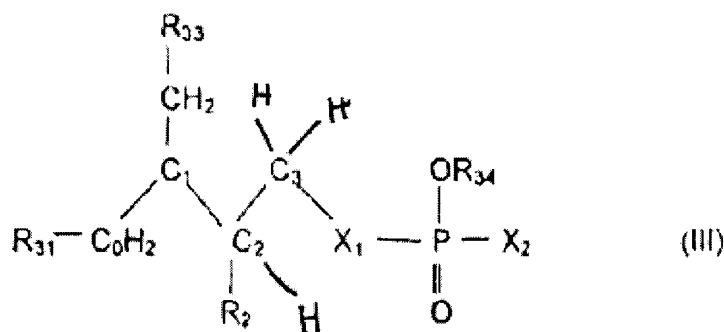
(54) 【発明の名称】 ガンマ/デルタ T 細胞を活性化するための有機リン化合物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般式 (I I I)

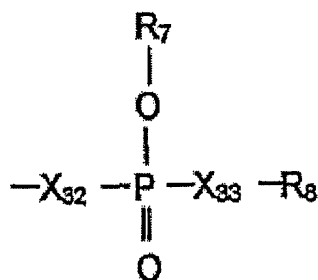
【化 1】



[式中、 R_2 が存在しない場合に R_{31} は存在し、 R_2 が存在する場合に R_{31} は存在せず、 R_{31} と R_2 はOH、ホスファートおよびピロホスファートを含んでなる群から選択され； R_{31} が分子中に存在する場合、二重結合が C_1 と C_2 との間に形成され、そして R_2 が分子中に存在する場合、二重結合が C_0 と C_1 との間に形成され； R_{33} は、水素、OH、ホスファートおよびピロホスファートを含んでなる群から選択され； R_{34} は、水素、炭素数1～26を有するアルキル、炭素数1～26を有するヒドロキシアルキル、アリール、アラールキル、炭素数1～26を有するアルケニル、炭素数1～26を有するアルキニル、シクロアル

キル、ヘテロ環基、ホスファート、シリル、ヌクレオシド、デオキシヌクレオシド、ヌクレオシドーリン酸、ヌクレオシド二リン酸もしくはヌクレオシド三リン酸、有機または無機塩基のカチオンを含んでなる群から選択され； X_2 は、 $-OR_6$ （ここで、 R_6 は R_{34} と同様に定義される）であるか、または

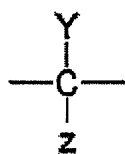
【化 2】



10

{ここで、 R_7 および R_8 は R_{34} と同様に定義され；そして X_1 、 X_{32} および X_{33} は、同一または異なることができ、酸素または基

【化 3】



20

（ここで、 Y と Z は同一または異なることができ、 H 、 OH 、ハロゲン、アミノ、 C_{1-9} アルコキシおよび C_{1-9} アルキルチオを含んでなる群から選択されるか、または一緒になってオキシ基を形成する）であることができる} であることができ、

ここで、ホスファートおよびピロホスファートは置換または非置換であることができ、そして置換のホスファートおよび置換のピロホスファートは、対応するリン酸誘導体と有機または無機塩基との塩化合物、アミノ酸塩、ならびにホスファート基が、 $C_1 \sim C_{26}$ アルキル、アリール、アラルキル、シクロアルキルまたはヘテロ環基と、あるいはヌクレオシドまたはデオキシヌクレオシドと、エステルを形成している残基からなる群より選択され、

30

アリールは、アルコキシ、ハロゲンまたはニトロで置換されることができ、

アラルキルは、アルコキシ、ハロゲンまたはニトロで置換されることができ、

シクロアルキルは、アルキル、アルコキシ、ハロゲンまたはニトロで置換されることができ、

アルコキシは、ヒドロキシル、アミノ、ハロゲンおよびオキシ基ならびにアルコキシ残基で置換されることができ、

アルキルチオは、ヒドロキシル、アミノ、ハロゲンおよびオキシ基ならびにアルコキシ残基で置換されることができ、

シリルは、アルキル残基またはシクロアルキル- (C_{0-26}) -アルキル残基で置換されることができ、

40

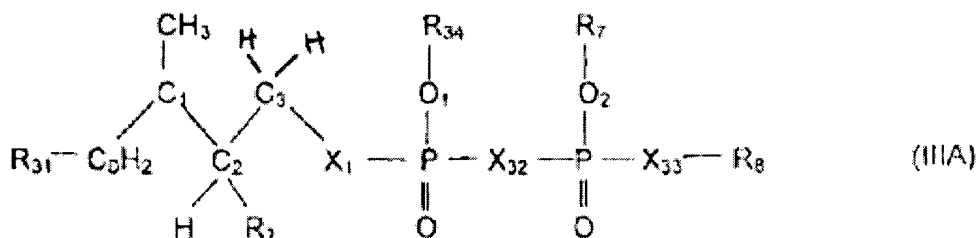
ただし R_2 が存在せず、 R_{33} が水素であり、そして R_{31} が OH である場合、 $-X_1PO(OR_{34})-X_2$ の部分は $-O-PO(OH)-O-PO(OH)_2$ または $-O-PO(OH)_2$ ではない]

の化合物。

【請求項 2】

一般式 (I I I A)

【化 4】



(式中、 R_{31} が存在しかつ R_2 が存在しないか、または R_{31} が存在せずかつ R_2 が存在し、 R_{31} と R_2 はOH、ホスファートおよびピロホスファートを含んでなる群から選択され； R_{31} が分子中に存在する場合、二重結合が C_1 と C_2 との間に形成され、そして R_2 が分子中に存在する場合、二重結合が同様に C_0 と C_1 との間に形成され； R_{34} 、 R_7 および R_8 は同一または異なることができ、請求項1と同様に定義され；そして、 X_1 、 X_{32} および X_{33} は、同一または異なることができ、請求項1と同様に定義される)を有することを特徴とする、請求項1に記載の化合物。

10

【請求項3】

R_{31} がOHであり、 C_1 と C_2 が二重結合で結合されている、請求項2に記載の化合物。

【請求項4】

R_2 がOHであり、 C_0 と C_1 が二重結合で結合されている、請求項2に記載の化合物。

【請求項5】

R_{34} または R_6 または R_7 または R_8 のいずれかがホスファート基であることを特徴とする、請求項1に記載の化合物。

20

【請求項6】

R_{34} または R_7 または R_8 のいずれかがホスファート基であることを特徴とする、請求項2に記載の化合物。

【請求項7】

R_{31} または R_2 または X_2 のいずれかがホスファート基であることを特徴とする、請求項1に記載の化合物。

【請求項8】

R_{31} または R_2 のいずれかがホスファート基であることを特徴とする、請求項2に記載の化合物。

30

【請求項9】

R_{34} 、 R_6 、 R_7 および R_8 が同一または異なることができ、水素、周期表の第I、第IIまたは第III主族に属する金属のカチオン、アンモニウムのカチオン、エチレンジアミン塩のカチオンまたはアミノ酸塩のカチオンであることを特徴とする、請求項1、5および7のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項10】

R_{34} 、 R_7 および R_8 が同一または異なることができ、水素、周期表の第I、第IIまたは第III主族に属する金属のカチオン、アンモニウムのカチオン、エチレンジアミン塩のカチオンまたはアミノ酸塩のカチオンであることを特徴とする、請求項2、6および8のいずれか一項に記載の化合物。

40

【請求項11】

X_1 がOであり、そして X_{32} が存在する場合Oであることを特徴とする、請求項1～10のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項12】

X_1 がC Y Zであり、 X_{32} が存在する場合Oであり、そして X_{33} が存在する場合C Y Zである(ここで、YおよびZは請求項1と同様に定義される)ことを特徴とする、請求項1～10のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項13】

X_1 がOであり、 X_{32} が存在する場合C Y Zであり、そして X_{33} が存在する場合Oであ

50

る（ここで、YおよびZは請求項1と同様に定義される）ことを特徴とする、請求項1～10のいずれか一項に記載の化合物。

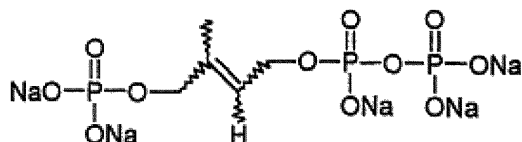
【請求項14】

X_1 、ならびに X_{32} および X_{33} （存在する場合）が、同一または異なることができ、 C 、 H_2 、 CHF 、 $CHCl$ 、 CFC 、 CCl_2 および CF_2 を含んでなる群から選択されることを特徴とする、請求項1～10のいずれか一項に記載の化合物。

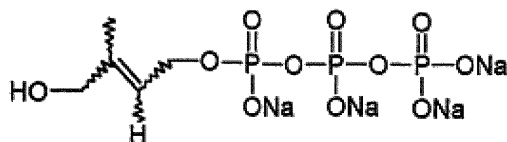
【請求項15】

以下の群：

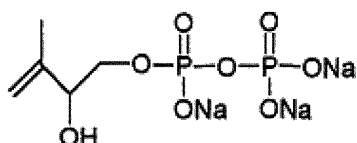
【化5】



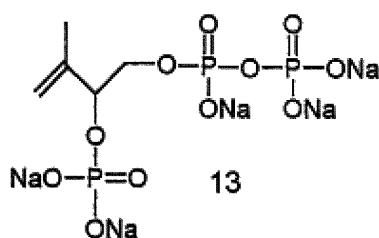
10



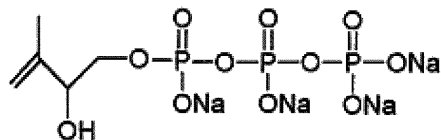
11



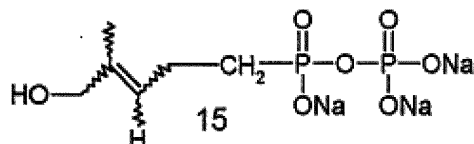
12



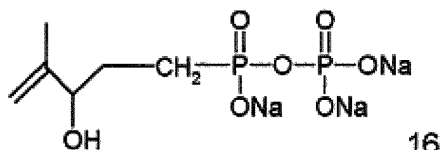
13



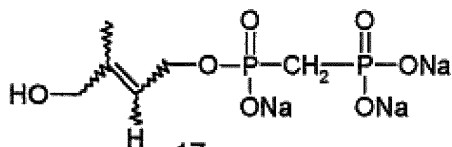
14



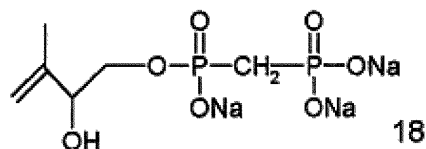
15



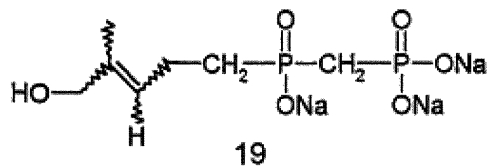
16



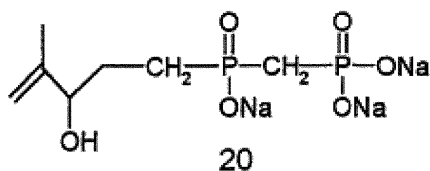
17



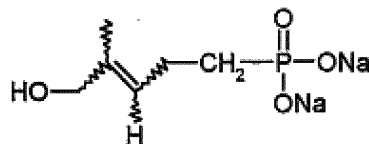
18



19



20



21

から選択される、請求項1に記載の化合物。

【請求項16】

抗菌活性、抗寄生虫活性又は抗ウイルス活性を有することを特徴とする、請求項1～15のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項17】

ガンマ/デルタT細胞を活性化するための薬剤の調製のための、請求項1～15のいずれか一項に記載の化合物のうちの一つの使用。

【請求項18】

請求項1～15のいずれか一項に記載の少なくとも1つの化合物を含有する薬剤。

10

20

30

40

50

【請求項 1 9】

使用される活性成分が4－ヒドロキシ－3－メチルー2－ブテニル1－ピロホスホナートであることを特徴とする、請求項 1 8に記載の薬剤。

【請求項 2 0】

経口、吸入、経静脈、非経口、脳槽内、腔内、腹腔内、局所または経直腸投与のための、請求項 1 8および 1 9のいずれか一項に記載の薬剤。

【請求項 2 1】

ヒト及び動物における疾患の予防および／または処置用の薬剤の調製のための、請求項 1 ～ 1 5のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項 2 2】

ヒトにおける免疫性疾患、自己免疫性疾患および呼吸器疾患、ならびにアレルギーの予防および／または処置用の薬剤の調製のための、請求項 2 1に記載の使用。

【請求項 2 3】

喘息、クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症、骨疾患、および慢性気管支炎、ならびに慢性関節リウマチ、橋本甲状腺炎、重症筋無力症、紅斑性狼瘡、糖尿病、原発性胆汁性肝硬変、活動性慢性肝炎、副腎炎／アジソン病、多発性筋炎、皮膚筋炎、自己免疫性溶血性貧血、心筋炎および心外膜炎、強皮症、ブドウ膜炎、尋常性天疱瘡、類天疱瘡、悪性貧血、自己免疫性萎縮性胃炎および気管支炎を含んでなる群から選択される疾患の予防および／または処置用の薬剤の調製のための、請求項 2 1に記載の使用。

【請求項 2 4】

ウイルス、細菌及び寄生虫により引き起こされる疾患の処置用の薬剤の調製のための、請求項 2 1に記載の使用。

【請求項 2 5】

良性および悪性腫瘍ならびにC型肝炎ウイルス感染症の予防および／または処置用の薬剤の調製のための、請求項 2 1に記載の使用。

【請求項 2 6】

胃腸管の潰瘍形成に対するヘリコバクター根絶療法用の薬剤の調製のための、請求項 2 1に記載の使用。

【請求項 2 7】

免疫学的防御の強化または自己抗原およびアレルゲンに対する免疫学的寛容の誘起用の薬剤の調製のための、請求項 2 1に記載の使用。

【請求項 2 8】

良性および悪性腫瘍がパピローマウイルスによって引き起こされることを特徴とする、請求項 2 5に記載の使用。

【請求項 2 9】

アレルギーおよび気道の疾患の処置用の吸引剤の製造のための、請求項 2 2または 2 3に記載の使用。

【請求項 3 0】

使用される活性成分が4－ヒドロキシ－3－メチルー2－ブテニル1－ピロホスホナートであることを特徴とする、請求項 2 1～2 9のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 3 1】

使用される活性成分が4－ヒドロキシ－3－メチルー2－ブテニル1－ピロホスホナートであり、薬剤がC型肝炎ウイルス感染症の予防および／または処置用であることを特徴とする、請求項 3 0に記載の使用。

【請求項 3 2】

薬剤が、経口、吸入、経静脈、非経口、脳槽内、腔内、腹腔内、局所または経直腸投与に適切である、請求項 2 1～3 1のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 3 3】

薬剤が、免疫系によって外来抗原または自己抗原であると認識されうる物質を追加的に含有することを特徴とする、請求項 2 1～2 7のいずれか一項に記載の使用。

10

20

30

40

50

【請求項 3 4】

請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の少なくとも 1 の化合物の有効量を、薬学的に許容されうる賦形剤と一緒に含有することを特徴とする医薬組成物。

【請求項 3 5】

少なくとも一つの他の薬学的に活性な成分を含有することを特徴とする、請求項 3 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 6】

免疫系によって外来抗原または自己抗原であると認識されうる物質を含有することを特徴とする、請求項 3 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 7】

物質が、ミエリン塩基性タンパク質 (M B P)、神経系の組織の抽出物、I、II、または III 型コラーゲン、サイログロブリン、アセチルコリン受容体タンパク質、DNA、島細胞抽出物、ヒトインシュリン、肝臓抽出物、肝細胞抽出物、副腎皮質抽出物、皮膚抽出物、心臓抽出物、筋肉抽出物、皮膚細胞抽出物、造血系細胞抽出物、眼レンズタンパク質、S-抗原、S-抗原混合物、胃細胞抽出物、壁細胞抽出物、内因子ならびに腸抽出物からなる群より選択されることを特徴とする、請求項 3 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 8】

ガンマ/デルタ T 細胞をインビトロで活性化するための、請求項 1 ～ 1 5 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

ヒトおよび動物において数多くの疾患が免疫系の異常な働きによって引き起こされる。このため、免疫系を調節できる物質に対する要望が高まっている。

【0 0 0 2】

イソプレノイドの生合成において古典的な酢酸/メバロン酸経路がどのように用いられるかは公知であり (Beycia ED, Porter JW, Annu Rev Biochem. 1976; 45: 113-42)、そしてメバロン酸とは独立の、生合成の別法、すなわち 2-メチルー-D-エリスリトール経路 (MEP、DOXP と同義) が公知である (Rohmer M. Nat. Prod. Rep. 1999 Oct; 16 (5): 565-74)。双方の経路は、すべての高級イソプレノイドの共通の前駆体であるピロリン酸イソペンテニル (IPP) をもたらす。酢酸/メバロン酸経路は長い間知られておりまた十分に説明されているが、MEP に沿って生じる生合成反応工程のすべてについては、未だ知られてはいない。

【0 0 0 3】

ヒトガンマ/デルタ T 細胞は MEP に沿った一つまたはいくつかの中間体によって活性化されることが知られている。このことは、ガンマ/デルタ T 細胞群の選択的な増殖およびサイトカイン分泌は、末梢血リンパ球を MEP を有する生物からの抽出物と共にインキュベートする間にもたらされる (Jomaa H, Feurle J, Luhs K, Kunzmann V, Tony HP, Herderich M, Wilhelm M, FEMS Immunol Med Microbiol, 1999 Sep; 25(4): 371-8)。この/これらの活性化物質の正確な化学組成は依然として知られていない。公表されたデータは、ピロリン酸 3-ホルミル-1-ブチルが MEP の仮説的な中間体として生成し、それがガンマ/デルタ T 細胞の活性化において役割を果たしていることを示している (Belmant C, Epinosa E, Poupot R, Peyrat MA, Guiraud M, Poquet Y, Bonneville M, Fournie JJ, J Biol. Chem. 1999 Nov 5; 274(45): 32079-84)。

【0 0 0 4】

本発明の目的は、ガンマ/デルタ T 細胞を刺激し、それによって免疫系に調節効果をもたらすことができる物質を提供することである。

【0 0 0 5】

この目的は、請求項 1 および従属項に規定される 1 以上の物質を含有する医薬によって達成される。

10

20

30

40

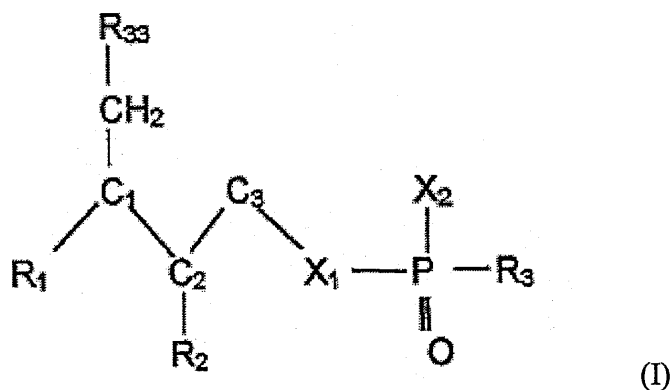
50

【0006】

驚くことに、式（I）の化合物は、ガンマ／デルタT細胞の活性化に極めて好適であることが見出された。

【0007】

【化19】



10

【0008】

〔式中、 R_1 は、メチル残基、ホルミル残基、置換および非置換のヒドロキシメチル残基および $C_0H_2R_{31}$ （ここで、 R_{31} はOH、置換および非置換のホスファートおよび置換および非置換のピロホスファートを含んでなる群から選択され、そして R_{31} と R_2 は分子中

20

に同時には存在できない）を含んでなる群から選択され、

R_{33} は、水素、OH、置換および非置換のホスファートおよび置換および非置換のピロホスファートを含んでなる群から選択され、

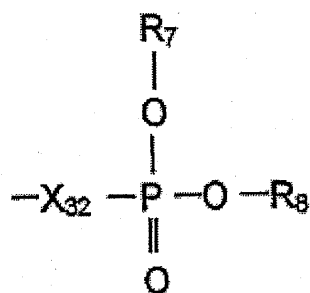
R_3 は、水素、置換および非置換の炭素数1～26のアルキル、置換および非置換の炭素数1～26のヒドロシアルキル、置換および非置換のアリール、置換および非置換のアラルキル、置換および非置換の炭素数1～26のアルケニル、置換および非置換の炭素数1～26のアルキニル、置換および非置換のシクロアルキル、置換および非置換のヘテロ環残基、置換および非置換のホスファート、シリル、ヌクレオシド、ヌクレオシド一、二または三リン酸、デオキシヌクレオシド、有機または無機塩基のカチオン、特に周期表の第I、第IIまたは第III主族の金属、アンモニウム、置換アンモニウムおよびエチレンジアミンまたはアミノ酸から誘導されるアンモニウム化合物、ならびに OR_{34} （ここで、 R_{34} は R_3 と同様に定義される）を含んでなる群から選択され、

30

X_2 は、 X_2 と C_1 との間で環が形成される限り、 X_1 と同様に定義され、また、そうでなければ、 X_2 は、 $-OR_6$ 、

【0009】

【化20】



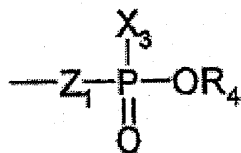
40

【0010】

（ここで、 R_7 および R_8 は R_{34} と同様に定義される）、

【0011】

【化 2 1】



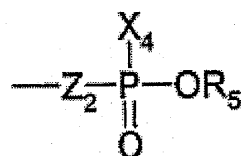
【0 0 1 2】

{ここで、 R_4 は R_3 と同様に定義され、 Z_1 は X_1 と同様に定義され、そして X_3 は、それが C_1 と環を形成する場合は、 X_1 と同様に定義され、また C_1 と環を形成しない場合は、

10

【0 0 1 3】

【化 2 2】



【0 0 1 4】

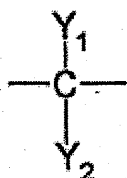
(ここで、 R_5 は R_3 と同様に定義され、そして Z_2 および、 C_1 と環を形成する X_4 は、 X_1 と同様に定義される) に対応する} を含んでなる群から選択され、

20

R_2 は、水素、OH、アルコキシ、フェノキシ、ベンジルオキシ、置換および非置換のホスファートならびに置換および非置換のピロホスファートを含んでなる群から選択され、 X_1 は、酸素または

【0 0 1 5】

【化 2 3】



30

【0 0 1 6】

(ここで、 Y_1 と Y_2 は同一または異なることができ、H、OH、ハロゲン、アミノ残基、 C_{1-9} アルコキシ残基および C_{1-9} アルキルチオ残基を含んでなる群から選択されるか、または一緒になってオキシ基を形成する) であることができ、

そして二重結合が、 C_0 と C_1 との間にまたは C_1 と C_2 との間にまたは C_2 と C_3 との間に存在することができる]。

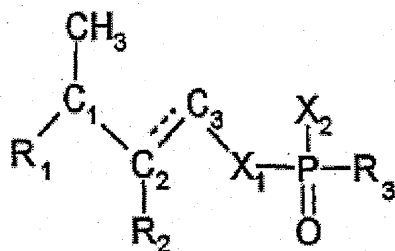
【0 0 1 7】

式 (II) :

【0 0 1 8】

【化 2 4】

40



(II)

【0 0 1 9】

[式中、単結合または二重結合が C_2 と C_3 との間に存在し、

50

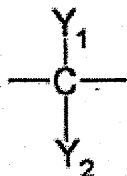
R₁は、メチル残基、ホルミル残基ならびに置換および非置換のヒドロキシメチル残基を含んでなる群から選択され、

R₂は、水素、ヒドロキシル、アルコキシ、フェノキシおよびベンジルオキシ残基、置換および非置換のホスファートならびに置換および非置換のピロホスファートを含んでなる群から選択され、

X₁は、酸素であるかまたは基

【0020】

【化25】



10

【0021】

(ここで、Y₁とY₂は同一または異なることができ、H、OH、ハロゲン、アミノならびにC₁₋₉アルコキシおよびC₁₋₉アルキルチオ残基を含んでなる群から選択されるか、または一緒にオキシ基を形成する)に対応し、

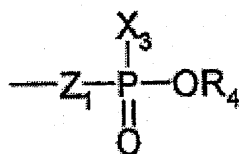
R₃は、水素、置換および非置換の炭素数1~26のアルキル、置換および非置換の炭素数1~26のヒドロシアルキル、置換および非置換のアリール、置換および非置換のアラルキル、置換および非置換の炭素数1~26のアルケニル、置換および非置換の炭素数1~26のアルキニル、置換および非置換のシクロアルキル、置換および非置換のヘテロ環残基、置換および非置換のホスファート、シリル、ヌクレオシド、ヌクレオシド一、二または三リン酸、デオキシヌクレオシド、有機または無機塩基のカチオン、特に周期表の第I、第IIまたは第III主族の金属、アンモニウム、置換アンモニウムならびにエチレンジアミンまたはアミノ酸から誘導されるアンモニウム化合物を含んでなる群から選択され、

20

X₂は、X₂とC₁との間で環が形成される限り、X₁と同様に定義され、また、そうでなければ、X₂は、

【0022】

【化26】



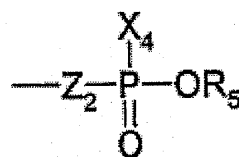
30

【0023】

{ここで、R₄はR₃と同様に定義され、Z₁はX₁と同様に定義され、そしてX₃は、それがC₁と環を形成する場合は、X₁と同様に定義され、またC₁と環を形成しない場合は、基

【0024】

【化27】



40

【0025】

(ここで、R₅はR₃と同様に定義され、そしてZ₂および、C₁と環を形成するX₄は、X₁と同様に定義される)に対応する}に対応する]を有する化合物が好ましい。

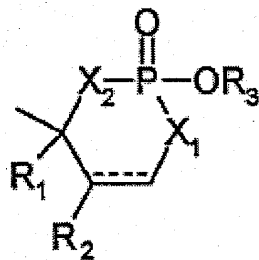
50

【0026】

式 (IIA)

【0027】

【化28】



(IIA)

10

【0028】

(式中、 C_2 と C_3 は単結合または二重結合で一緒に結合され、 R_1 は、メチル基または置換もしくは非置換のヒドロキシメチル基であり、 R_2 は、水素、OH、置換もしくは非置換のホスファートまたは置換もしくは非置換のピロホスファートであり、 X_1 および X_2 は、O、CHF、CHCl、CFCl、 CH_2 、 CF_2 または CCl_2 を含んでなる群から選択され、そして R_3 は、水素、置換および非置換のホスファート、ヌクレオシド、ヌクレオシド一、二または三リン酸、デオキシヌクレオシド、有機または無機塩基のカチオン、特に周期表の第I、第IIまたは第III主族の金属、アンモニウム、置換アンモニウムならびにエチレンジアミンまたはアミノ酸から誘導されるアンモニウム化合物を含んでなる群から選択される)

20

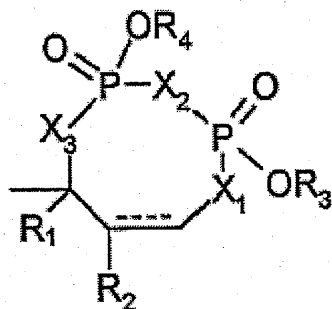
を有する化合物が特に好ましい。

【0029】

式 (IIB)

【0030】

【化29】



(IIB)

30

【0031】

(式中、 C_2 と C_3 は単結合または二重結合で一緒に結合され、 R_1 は、メチル基または置換もしくは非置換のヒドロキシメチル基であり、 R_1 が置換もしくは非置換のヒドロキシメチルである場合、 R_2 はHであり、 R_1 がメチル残基である場合、 R_2 はOH、置換もしくは非置換のホスファートまたは置換もしくは非置換のピロホスファートであり、 X_1 、 X_2 および X_3 は、O、CHF、CHCl、CFCl、 CH_2 、 CF_2 または CCl_2 を含んでなる群から選択され、そして R_3 および R_4 は、水素、置換および非置換のホスファート、ヌクレオシド、ヌクレオシド一、二または三リン酸、デオキシヌクレオシド、有機または無機塩基のカチオン、特に周期表の第I、第IIまたは第III主族の金属、アンモニウム、置換アンモニウムならびにエチレンジアミンまたはアミノ酸から誘導されるアンモニウム化合物を含んでなる群から選択される)

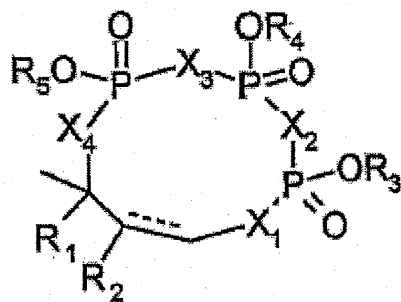
40

を有する化合物もまた好ましい。

【0032】

50

式 (IIC)
 【0033】
 【化30】



(IIC)

10

【0034】

(式中、単結合または二重結合がC₂とC₃との間に存在することができ、R₁は、メチルまたは置換もしくは非置換のヒドロキシメチル基であり、R₂はH、OH、置換もしくは非置換のホスファートまたは置換もしくは非置換のピロホスファートであり、X₁、X₂、X₃およびX₄は、O、CHF、CHCl、CFCl、CH₂、CF₂またはCCl₂を含んでなる群から選択され、そしてR₃、R₄およびR₅は、水素、置換または非置換のホスファート、ヌクレオシド、ヌクレオシド一、二または三リン酸、デオキシヌクレオシド、有機または無機塩基のカチオン、特に周期表の第I、第IIまたは第III主族の金属、アンモニウム、置換アンモニウムおよびエチレンジアミンまたはアミノ酸から誘導されるアンモニウム化合物を含んでなる群から選択される)

20

を有する化合物も同様に好ましい。

【0035】

また、式 (II) および (IIA) ~ (IIC) を有する好ましい化合物は、R₁が置換もしくは非置換のヒドロキシメチル残基、特にヒドロキシメチルそれ自体またはホスファート、ジホスファートまたは二リン酸ヌクレオシドで置換されたヒドロキシメチル残基、例えばウリジン二リン酸で置換されたヒドロキシメチル残基であり、R₂がHであるものである。

【0036】

30

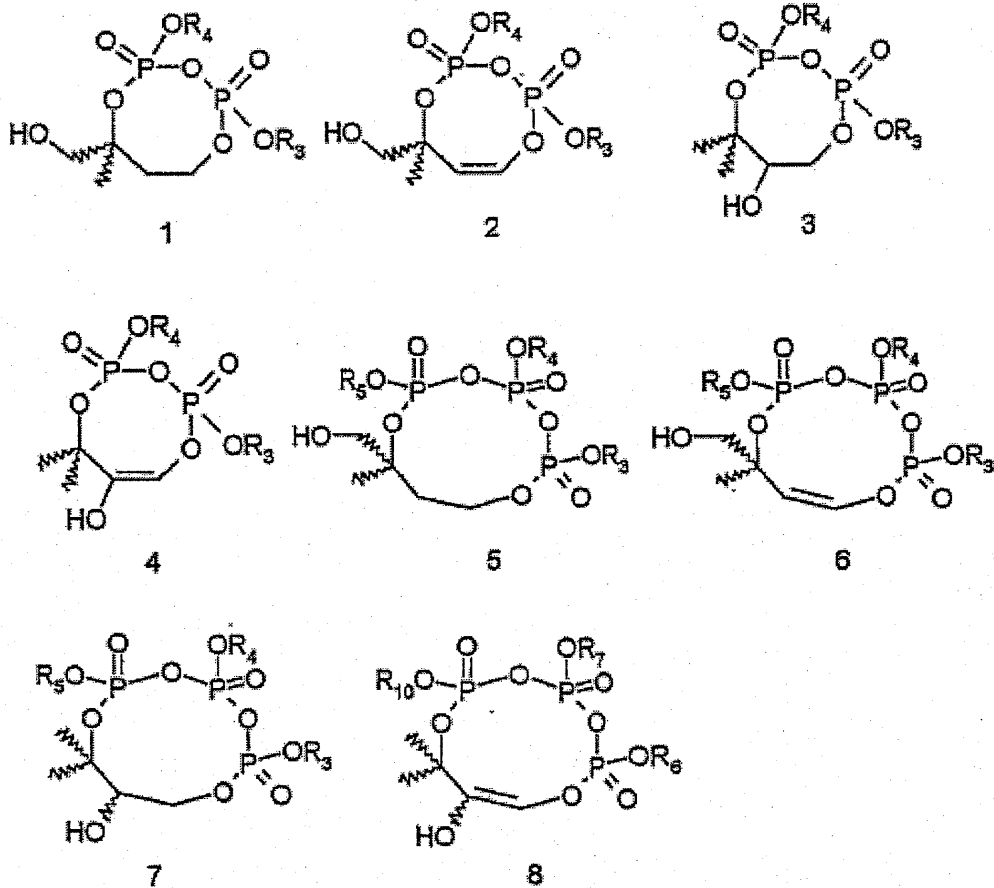
同様に好ましい化合物は、R₁がメチル残基であり、R₂がヒドロキシル残基、置換もしくは非置換のホスファート残基または置換もしくは非置換のジホスファート残基、特にヌクレオシド二リン酸残基、例えばウリジン二リン酸残基である、式 (II) および (IIA) ~ (IIC) を有するものである。

【0037】

以下の化合物が特に好ましい。

【0038】

【化 3 1】



【0039】

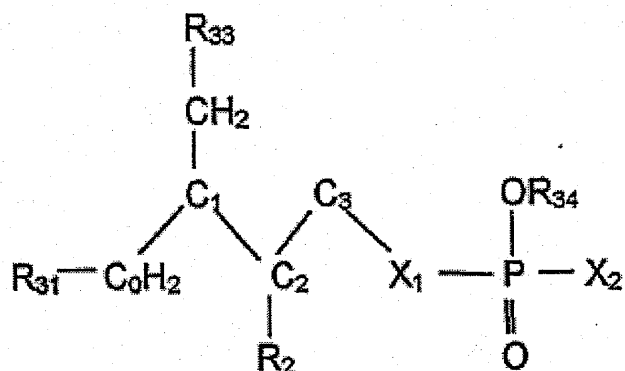
(式中、残基 R₃、R₄ および R₅ は、水素、アンモニウム、ナトリウムおよびカリウムを含んでなる群から選択される)。

【0040】

さらに、好ましい化合物は、以下の式 (III)：

【0041】

【化 3 2】



(III)

【0042】

[式中、R₃₁とR₂は両方ともに分子中に同時には存在できず、OH、置換および非置換のホスファートならびに置換および非置換のピロホスファートを含んでなる群から選択され；R₃₁が分子中に存在する場合、二重結合がC₁とC₂との間に形成され、そしてR₂が分子中に存在する場合、二重結合が同様にC₀とC₁との間に形成され；R₃₃は、水素、O

10

20

30

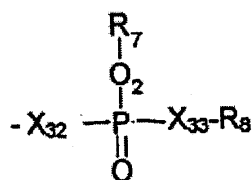
40

50

H、置換および非置換のホスファートならびに置換および非置換のピロホスファートを含んでなる群から選択され； R_{34} は、水素、置換または非置換の炭素数1～26のアルキル、置換または非置換の炭素数1～26のヒドロキシルアルキル、置換または非置換のアリール、置換または非置換のアラルキル、置換または非置換の炭素数1～26のアルケニル、置換または非置換の炭素数1～26のアルキニル、置換または非置換のシクロアルキル、置換または非置換のヘテロ環残基、置換または非置換のホスファート、シリル、ヌクレオシド、ヌクレオシドー、二または三リン酸、有機または無機塩基のカチオン、特に周期表の第I、第IIまたは第III主族の金属、アンモニウム、置換アンモニウムあるいはエチレンジアミンまたはアミノ酸から誘導されるアンモニウム化合物を含んでなる群から選択され； X_2 は、 $-OR_6$ （ここで、 R_6 は R_{34} と同様に定義される）であるか、または

【0043】

【化33】

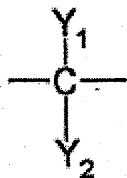


【0044】

{ここで、 R_7 および R_8 は R_{34} と同様に定義され；そして X_1 、 X_{32} および X_{33} は、同一または異なることができ、酸素または基

【0045】

【化34】



【0046】

（ここで、 Y_1 と Y_2 は同一または異なることができ、H、OH、ハロゲン、アミノ残基、 C_{1-9} アルコキシ残基および C_{1-9} アルキルチオ残基を含んでなる群から選択されるか、または一緒にオキシ基を形成する）であることができる} でありうる]

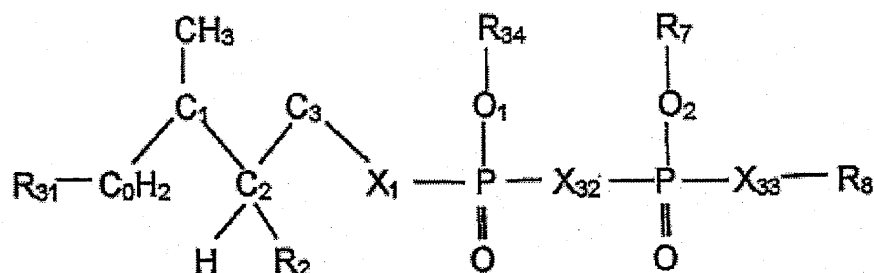
を有するものもまた包含する。

【0047】

特に好ましい化合物は、式(IIIA)

【0048】

【化35】



(IIIA)

【0049】

（式中、 R_{31} と R_2 は分子中に同時には存在できず、OH、置換および非置換のホスファートならびに置換および非置換のピロホスファートを含んでなる群から選択され； R_{31} が分子中に存在する場合、二重結合が C_1 と C_3 との間に形成され、そして R_2 が分子中に存

10

20

30

40

50

在する場合、二重結合が同様に C_0 と C_1 との間に形成され； R_{34} 、 R_7 および R_8 は同一または異なることができ、そして上記と同様に定義され；そして、 X_1 、 X_{32} および X_{33} は、同一または異なることができ、式 (III) に対してと同様に定義される) を有するものである。

【0050】

C_1 、 C_2 および C_3 での水素置換基は、判りやすくするために、式 (I) ~ (IIIA) に明示されていない。しかしながら、炭素原子は4価であるとして理解される。したがって、欠けている置換基は、水素基である。

【0051】

さらに、 R_{31} および R_2 のいずれかがOHまたは置換もしくは非置換のホスファートであり、 R_{34} 、 R_7 および R_8 が置換および非置換のホスファート、ヌクレオシド、デオキシヌクレオシド、ヌクレオシド一、二または三リン酸、有機または無機塩基のカチオン、特に周期表の第I、第IIまたは第III主族の金属、アンモニウム、置換アンモニウムおよびエチレンジアミンまたはアミノ酸から誘導されるアンモニウム化合物を含んでなる群から選択され、そして X_1 、 X_{32} および X_{33} は、同一または異なることができ、そしてO、CH₃、CF₃、CH₂Cl、CF₂Cl、CH₂、CF₂またはCCl₂である、式 (IIIA) を有する化合物が好ましい。

10

【0052】

式 (IIIA) を有する他の好ましい化合物は、ホスファート基がナトリウム、カリウムまたは置換もしくは非置換アンモニウム塩として存在するものである。

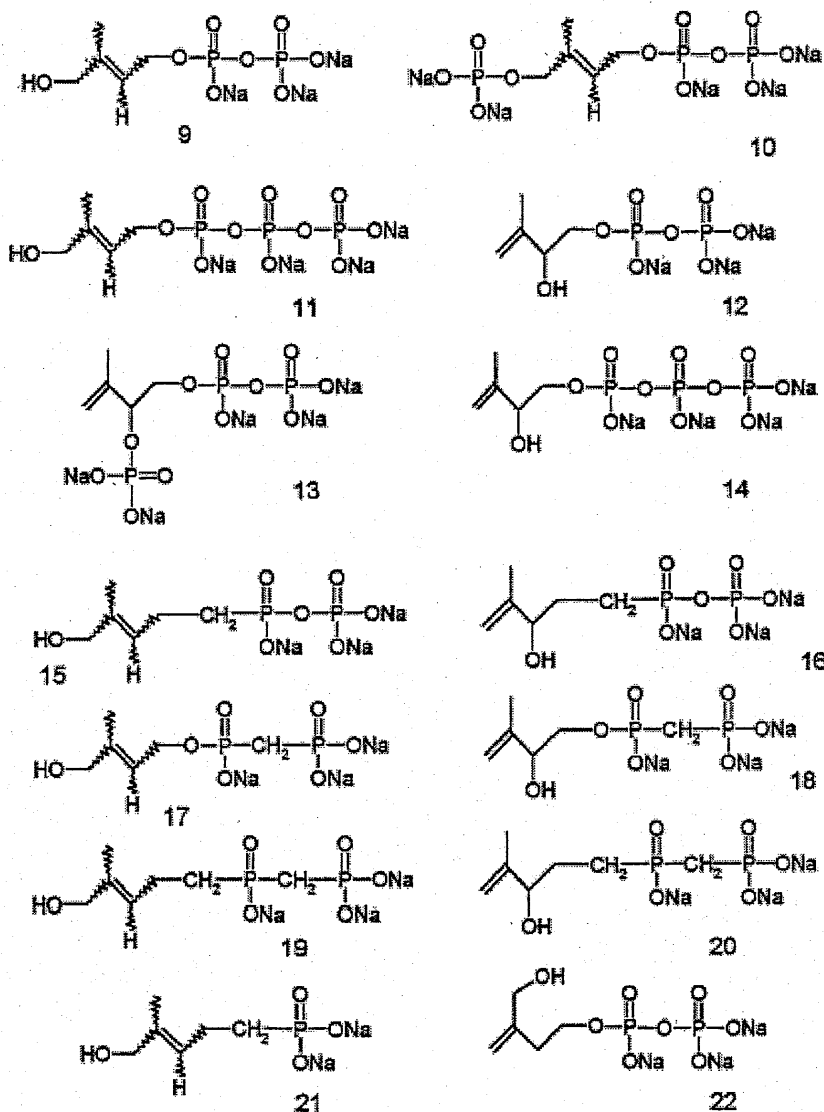
20

【0053】

以下の化合物が最も好適である。

【0054】

【化 3 6】



【0055】

本発明の他の実施態様は、従属項により規定されている。

【0056】

上記の定義の特定のものおよびこれらの好適な実施例は以下に示される。

【0057】

「アルキル」は、特に明記しない限り、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシル等の、炭素数26までを有する直鎖または分枝鎖のアルキル基である。

【0058】

特に明記しない限り、「アルケニル」として、炭素数26までを有する直鎖または分枝鎖のアルケニル基、例えばビニル、プロペニル（例えば、1-プロペニル、2-プロペニル）、1-メチルプロペニル、2-メチルプロペニル、ブテニル、2-エチルプロペニル、ペンテニルおよびヘキセニルが挙げられる。

【0059】

特に明記しない限り、「アルキニル」として、炭素数26までを有する直鎖または分枝鎖のアルキニル基が挙げられる。

【0060】

シクロアルキルは好ましくは、置換されていてもよいC₃~C₇シクロアルキルを意味し；アルキル、アルコキシ（例えば、メトキシ、エトキシ等）、ハロゲン（例えば、フッ素

10

20

30

40

50

、塩素、臭素等)、ニトロなどが可能な置換基として好適である。

【0061】

アリールは、フェニル、ナフチル等の芳香族炭化水素残基であり、例えばアルコキシ（例えば、メトキシ、エトキシ等）、ハロゲン（例えば、フッ素、塩素、臭素等）、ニトロなどのような1以上の好適な置換基を有していてもよい。

【0062】

「アラルキル」として、ベンジル、フェネチル、ベンズヒドリル、トリチルなどのような、モノー、ジーおよびトリフェニルアルキルが挙げられ、その芳香族部分はアルコキシ（例えば、メトキシ、エトキシ等）、ハロゲン（例えば、フッ素、塩素、臭素等）、ニトロなどのような1以上の好適な置換基を有していてもよい。

10

【0063】

「アルコキシ残基」は、特に明記しない限り、メトキシまたはエトキシ残基等のような、炭素数26までを有する直鎖または分枝鎖のアルコキシ残基に関する。それは、例えば、ヒドロキシル、アミノ、ハロゲンおよびオキソ基ならびにメトキシまたはエトキシ残基のようなアルコキシ残基で置換されることができる。

【0064】

特に明記しない限り、「ヒドロキシメチル残基」は、酸素原子に結合した、置換もしくは非置換の $C_1 \sim C_9$ アルキル、アリールまたはアラルキル残基、例えばメトキシメチル、エトキシメチル、フェノキシメチルまたはベンゾキシメチル等を有する残基、あるいは酸素原子に結合した、置換もしくは非置換のホスファートまたはピロホスファート残基、例えばアデノシン二リン酸、ウリジン二リン酸等を有する残基に関する。

20

【0065】

特に明記しない限り、「アルキルチオ残基」は、チオメチルまたはチオエチル残基等のような、炭素数9までを有する直鎖または分枝鎖のアルキルチオ基に関する。それは、例えば、ヒドロキシル、アミノ、ハロゲンおよびオキソ基ならびにメトキシまたはエトキシ残基のようなアルコキシ残基で置換されることができる。

【0066】

「シリル残基」は、例えば上で定義したアルキル残基またはシクロアルキル- (C_{0-26}) -アルキル残基で置換されることができる。

【0067】

「シリル- (C_{0-26}) -アルキル基」は、基本骨格にアルキル残基によりまた結合されるシリル残基である。アルキルおよびシリル基は上で定義したと同様である。

30

【0068】

上記のエステルの場合において、アルカンおよび／またはアレーン部分は、所望ならば、ハロゲン、アルコキシ、ヒドロキシル、ニトロなどのような、1以上の好適な置換基を有していてもよい。

【0069】

置換および非置換のホスファート残基または置換および非置換のピロホスファート残基としては、対応するリン酸誘導体と有機または無機塩基との塩化合物（例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、アルミニウム塩、アンモニウム塩、マグネシウム塩、トリエチルアミン塩、エタノールアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、エチレンジアミン塩、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン塩等）、ならびに、アミノ酸塩（例えば、アルギニン塩、リジン塩、グリシン塩、アラニン塩、オルニチン塩等）、そしてまた、ホスファート基が、置換もしくは非置換の $C_1 \sim C_{26}$ アルキル、置換もしくは非置換のアリール、置換もしくは非置換のアラルキル、置換もしくは非置換のシクロアルキルまたは置換もしくは非置換のヘテロ環残基と、あるいはヌクレオシドまたはデオキシヌクレオシドと、エステルを形成している残基が挙げられる。

40

【0070】

「ヌクレオシド」は、アデノシン、グアノシン、ウリジン、チミジンおよびシチジンを意味するものとして理解され、また、「デオキシヌクレオシド」は、デオキシアデノシン

50

、デオキシグアノシン、デオキシチミジン、デオキシシチジンおよびデオキシウリジンを意味するものとして理解される。

本発明はまた、薬学的な塩および塩のエステルに関する。また、それは、化合物のすべての空間的な異性体を、純粋な物質およびそれらの混合物の両方として包含する。

【0071】

本発明に係る物質は、l y t B遺伝子が欠失されたものを含む、バクテリア、藻類、植物および原生動物から得ることができ、そして精製される（実施例1）。精製は、H P L Cを用いて、または、電気泳動、析出（例えば、バリウム塩として）または他のクロマトグラフ的手法のような、それ自体公知の他の方法により行うことができる。

【0072】

化合物は種々の用途が可能である。したがって、例えば、物質は酵素G c p EおよびL y t Bの活性試験に、ならびにガンマ／デルタT細胞活性化の測定用試験システムにおいて使用することができることが示されている（実施例2、5参照）。

【0073】

本発明に係る物質は、化学的に合成するか（実施例3）、あるいはバクテリア、藻類、植物および原生動物から得て精製することができる（実施例4）。精製は、H P L Cを用いて、または、電気泳動、析出（例えば、バリウム塩として）または他のクロマトグラフ的手法のような、それ自体公知の他の方法により行うことができる。

【0074】

さらに、本発明に係る物質は、それらがM E Pの中間体であるので、G c p EおよびL y t B酵素阻害剤を同定するためのスクリーニング手法において用いることができる。酵素の活性を決定するこの方法は、適切な反応条件下で、酵素基質と産物の濃度における差を測定することに基づいている。活性決定の間に適切な試験物質を酵素と接触させることにより、阻害剤は、観察される酵素活性の減少によって同定することができる。阻害剤は、除草剤として、またヒトおよび動物において抗菌活性、抗寄生虫活性および抗ウイルス活性を有する有効成分として好適である。

【0075】

本発明に係る化合物は、また、医薬の製造において使用することができる。化合物の効能は、ガンマ／デルタT細胞の活性化に基づいている。用途分野に応じて、免疫学的防御機構がそれにより強化され、あるいは免疫学的寛容が自己抗原およびアレルゲンに対して誘起されうる。

【0076】

用途分野は、ヒトおよび動物における、免疫および自己免疫疾患ならびにアレルギーの治療である。これらの例は、アレルギー、多発性硬化症、関節リウマチ、橋本甲状腺炎、重症筋無力症、紅斑性狼瘡、糖尿病、原発性胆汁性肝硬変、活動性慢性肝炎、副腎炎／アジソン病、多発性筋炎、皮膚筋炎、自己免疫性溶血性貧血、心筋炎および心膜の炎症、強皮症、ブドウ膜炎（水晶体ブドウ膜炎、交感性眼炎）、尋常性天疱瘡、類天疱瘡、悪性貧血、自己免疫性萎縮性胃炎、クローン病および潰瘍性大腸炎のような腸の炎症性疾患、ならびに、喘息および気管支病のような肺の炎症性疾患である。

【0077】

好ましい用途分野は、クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症、喘息、慢性気管支炎およびアレルギーである。

【0078】

さらに、本発明に係る物質は、ウイルス、バクテリアおよび寄生虫により引き起こされる疾患の治療に、成功裡に使用することができることが示されている。

【0079】

特に、請求項1およびその従属項に規定された物質は、微生物によって引き起こされる腫瘍の予防および治療に好適である。ヘリコバクターピロリのようなバクテリア（例えば、胃腸管の腫瘍）およびパピローマウイルス（例えば、女性性器の腫瘍）は、この群の微生物に属する。

10

20

30

40

50

【0080】

請求項に定義された化合物は、上記の疾患の一つならびにC型肝炎ウイルス感染症および良性と悪性の腫瘍、特にパピローマウイルスにより引き起こされたものの予防および治療に、また胃腸管の潰瘍形成の場合におけるヘリコバクター根絶療法に、特に好適である。

【0081】

医療目的で、医薬製剤は単独で、または、他の医薬と組み合わせて用いることができ、本発明に係る単離された物質またはその物質を含む生きているまたは死んだ生物のいずれかを含有しうる。それらは、好ましくは、免疫系によって外来抗原または自己抗原であると認識される物質と組み合わせて使用される。

10

【0082】

これらの例は、ミエリン塩基性タンパク質(MBP)および神経系の組織の他の抽出物、I、II、またはIII型コラーゲン、サイログロブリン、アセチルコリン受容体タンパク質、DNA、島細胞抽出物、ヒトインシュリン、肝臓抽出物、肝細胞抽出物、副腎皮質抽出物、皮膚抽出物、心臓抽出物、筋肉抽出物、皮膚細胞抽出物、造血系細胞抽出物、眼レンズタンパク質、S-抗原、S-抗原混合物、胃細胞抽出物、壁細胞抽出物、内因子ならびに腸抽出物である。

【0083】

好ましい投与形態は、経口、吸入、経静脈、非経口、脳槽内、腔内、腹腔内、局所(粉末、軟膏、ドロップ)および直腸投与、ならびに皮膚または粘膜への適用である。

20

【0084】

本発明は、ヒトの疾患、特にアレルギーおよび喘息や慢性気管支炎のような気道の疾患の治療のための、請求項1に規定した物質の少なくとも一つを含む吸入剤の投与を包含する。

【0085】

好適な医薬組成物は、また、錠剤、遅効性錠剤、糖衣錠、カプセル剤、プリミックス剤、粒剤、ペレット剤、ボーラス剤、エアゾール剤、顆粒剤、座薬、溶液剤、濃厚剤、懸濁剤および乳剤、ペースト剤、軟膏、ゲル剤、クリーム剤、ローション剤、粉末剤、煎じ薬ならびに噴霧剤である。医薬処方は、単回投与量の分数または倍数に対応する。服用量単位は、例えば単回投与量の1、2、3もしくは4倍でありうるか、または単回投与量の1/2、1/3もしくは1/4を含みうる。単回投与量は、好ましくは、一回の投与に使用され、通常は一日服用量の全部、半分、三分の一または四分の一に対応する有効成分の量を含む。

30

【0086】

錠剤、糖衣錠、カプセル剤、粒剤および顆粒剤は、(a)充填剤および希釈剤、例えばデンプン、乳糖、甘蔗糖、ブドウ糖、マンニトールおよびケイ酸、(b)結合剤、例えばカルボキシメチルセルロース、アルギナート、ゼラチンおよびポリビニルピロリドン、(c)湿潤剤、例えばグリセリン、(d)崩壊剤、例えば寒天、炭酸カルシウムおよび炭酸ナトリウム、(e)溶解抑制剤、例えばパラフィン、ならびに(f)吸収促進剤、例えば四級アンモニウム化合物、(g)加湿剤、例えばセチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセリン、(h)吸着剤、例えばカオリンおよびベントナイト、ならびに(i)滑沢剤、例えばタルカム、ステアリン酸カルシウムおよびマグネシウムおよび固体状ポリエチレングリコール、または(a)~(i)の下で列挙した物質の混合物のような慣用の賦形剤に加えて、有効成分を含みうる。また、本発明に係る化合物はまた、プラスチック(局所治療用プラスチック鎖)、コラーゲンまたは骨セメントのような他の担体材料に添合することができる。

40

【0087】

錠剤、糖衣錠、カプセル剤、粒剤および顆粒剤は、場合により不透明化剤を含みうる慣用のコーティングおよびエンベロープを備えていてもよく、そして有効成分が、場合により緩徐に、腸管のみで、あるいは好ましくは、腸管の特定の部分で放出されるような形に

50

調製され、包埋する化合物として例えば高分子物質やワックスを用いることが可能である。

【0088】

有効成分はまた、場合により1以上の上記の賦形剤と共に、マイクロカプセルに封入した形態とすることができる。

【0089】

有効成分に加えて、座薬は、慣用の水溶性もしくは水不溶性の賦形剤、例えばポリエチレングリコール、脂肪、例えばカカオ脂、および高級エステル（例えば、C₁₆脂肪酸とC₁₄アルコールとの）、またはこれらの物質の混合物を含有していてもよい。

【0090】

有効成分に加えて、軟膏、ペースト剤、クリーム剤およびゲル剤は、慣用の賦形剤、例えば動物および植物脂、ワックス、パラフィン、デンプン、トラガカント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト、ケイ酸、タルカムおよび酸化亜鉛、またはこれらの物質の混合物を含有することができる。

【0091】

有効成分に加えて、粉末剤および噴霧剤は、慣用の賦形剤、例えば乳糖、タルカム、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウムおよびポリアミド粉末、またはこれらの物質の混合物を含有していてもよい。さらに、噴霧剤はまた、慣用の噴射剤、例えばクロロフルオロカーボン含有していてもよい。

【0092】

有効成分に加えて、溶液剤および乳剤は、溶媒、可溶化剤および乳化剤のような慣用の賦形剤、例えば水、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油、特に綿実油、落花生油、トウモロコシ油、オリーブ油、ヒマシ油およびゴマ油、グリセリン、グリセリンホルマール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコールならびにソルビトールの脂肪酸エステル、またはこれらの物質の混合物を含有していてもよい。

【0093】

所望の効果を達成するために必要な個々の誘導体の量には非常に著しい差がある。一般的に言えば、ヒトおよび動物薬の双方において、所望の結果を達成するために、必要ならば数回の単回投与量の形態で、式(I)の有効成分を24時間ごとに約0.01~約2000μgの合計量を投与した場合、有利であることが判明した。単回投与量は、好ましくは有効成分を約0.01~約2000μgの量で含む。しかしながら、治療される個人のタイプおよび体重、病気の性質および重篤度、製剤の種類および医薬の投与法、ならびに製剤が投与される期間と間隔に応じて、上記の服用量から外れることが必要となりうる。

【0094】

したがって、いくつかの場合において、上記の量より少ない有効成分で管理することが十分であるが、他の場合には、有効成分は上記の量を超える必要がありうる。必要な最適服用量および有効成分の投与法の種類は、当業者が、専門家としての知識に基づいて決定することができる。

【0095】

動物の治療において、本発明に従って使用される化合物は、食物または食物調製物と共に、または飲料水と共に、慣用の濃度および製剤で与えることができる。

【0096】

実施例1

ガンマ/デルタT細胞活性化化合物の精製

種々のガンマ/デルタT細胞活性化化合物を、コリネバクテリウム・アンモニアゲネスから単離した。細胞集団28kgを、50mMギ酸アンモニウム緩衝液(pH8.0)中でダイナックスミル(Dynax mill)で消化した。疎水性ポリスチレンマトリックス上に予備吸収したのち、消化した材料をアニオン交換材上に載せ、段階的なグラジエント(100、

10

20

30

40

50

300、500mMギ酸アンモニウム、pH8.0)で溶出した。300mMでの溶出液をC-18マトリックスを通過させ、次いで限外濾過用の3kDa中空糸を通過させた。濾液を水で30mMギ酸アンモニウムに希釈し、もう一度アニオン交換材上に載せた。次いで、30～500mMギ酸アンモニウムの直線的グラジエントで溶出した。個々の画分をガンマ/デルタT細胞活性化能について試験した。その後、いくつかの活性化合物を、100mMBaCl₂と80%EtOHとの混合物によりバリウム塩として析出させた。析出物を20mMギ酸アンモニウム緩衝液(pH8.0)に溶解し、アニオン交換材上で再度クロマトグラフィーを行った。

【0097】

このようにして、化合物1～6を単離することができた。

10

【0098】

実施例2

濃縮したMEP中間体によるガンマ/デルタT細胞の活性化

リンパ球を、フィコール(Ficoll)密度勾配遠心分離により、健康なドナーの末梢血から得た。各々の試験に対して、そのようにして得られた細胞 2×10^5 個を、25mMHEPES、2mML-グルタミン、0.025mg/mlのゲンタマイシン、100U/mlのヒトインターロイキン-2(IL-2)(すべてLife Technologyより)および10%ヒトAB血清(Bavarian Red Cross)を加えた、0.2mlの量のRPMI-1640培地(Life Technology)に播種した。試験画分を種々の希釈で加え、Sigmaからのイソペンテニルニリン酸(IPP)を陽性対照として最終濃度10 μ Mで用いた。インキュベーションは、5%CO₂、37 $^{\circ}$ Cで、インキュベーター中で行った。72時間後、細胞を採取し、フローサイトメーターで分析した。そのように行なうなかで、Vガンマ9⁺T細胞の表面上でのCD25活性化マーカーの発現を、Beckman-Coulterにより供給されたモノクローナル抗体CD25-PE(B1.49.9)、Vガンマ9-FITC(Immu360)およびCD3-PC5(UCHT1)を用いて測定した。

20

その結果は、IPPよりも、化合物1は約750倍活性であり、一方、IPPよりも、化合物2は約400倍、化合物3、5および6は約100倍活性であることを示した。

【0099】

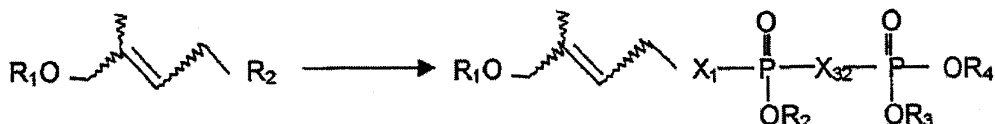
実施例3

合成は、図式1に記載のように行った。

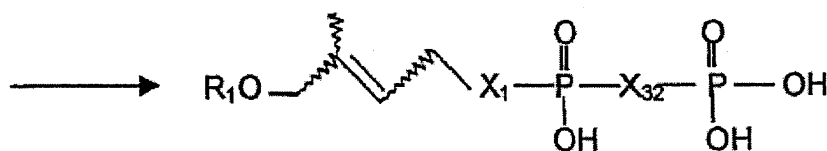
30

【0100】

【化 3 7】

Ia: $R_1 = \text{ベンジル}$; $R_2 = \text{OH}$ Ib: $R_1 = \text{ベンジル}$; $R_2 = \text{Br}$ Ic: $R_1 = \text{アセチル}$; $R_2 = \text{Br}$ IIa: $R_1 = \text{ベンジル}$; $X_1 = X_{32} = \text{O}$; $R_2 - R_4 = \text{H}$ IIb: $R_1 = \text{ベンジル}$, $X_1 = \text{O}$; $X_{32} = \text{CH}_2$ 又は
 CF_2 又は CHF ; $R_2 - R_4 = \text{H}$ IIc: $R_1 = \text{アセチル}$; $X_1 = X_{32} = \text{CH}_2$; $R_2 - R_4 =$
エチル

10



20

IIIa: $X_1 = X_{32} = \text{O}$ IIIb: $X_1 = \text{O}$; $X_{32} = \text{CH}_2$ 又は CF_2 又は CHF IIIc: $X_1 = X_{32} = \text{CH}_2$

【0101】

図式1： 合成プラン

【0102】

1. 化合物Ia～Icの製造

化合物IaおよびIbは、K. Sato, S. Inoue, Y. Takagi, S. Morii, Bull. Chem. Soc. Jpn., 1976, 49(11), 3351-3351に記載された方法と類似の方法で製造した。

30

【0103】

化合物Icの製造は、H. Kunio, H. Kazushige, Chem. Pharm. Bull., 1994, 42, 4, 786-791に記載の方法と類似である。

【0104】

2. 化合物IIa～IIcの合成

化合物IIaは、化合物Ibを原料として、例えば、B. Woodside, Z. Huang, C. Poulter, Org. Synth. 1988, 66, 211-219に記載のような、当業者に公知の時流の方法に従って製造した。

【0105】

化合物IIbは、化合物Iaを原料として製造した。Iaはまず対応するトシラートに変換され、次いで、例えばトリス（テトラ-*n*-ブチルアンモニウム）ヒドロゲノメチレンジホスファートと反応させた。合成は、WO 00/59916およびその中に引用された刊行物中に記載の方法と類似の方法で行った。

40

【0106】

化合物IIcは、次に、化合物Icより製造した。合成は、R.C. McClardおよびT.S. Fijita, J. Am. Chem. Soc., 1987, 109, 5544-5545に記載の方法で行った。

【0107】

化合物IIcは低収率で得ることができ、ただちに、化合物IIIcを得るために加水分解した。

50

【0108】

3. 化合物III a～III cの合成

化合物III a～III cを製造するために、対応する前駆体II aおよびII b 500mgをそれぞれメタノール5mlに溶解し、10モル%の水素化触媒で処理した。次いで、水素を室温で導入し、水素の取り込み量を測定した。適切な量の水素が取り込まれたのち、混合物を濾過し、溶媒を除去した。所望の生成物III aおよびIII bが良好な純度で得られた。さらなる精製はクロマトグラフィー法により達成された。化合物III cは化合物II cより得られた。化合物II c 200mgを、加熱したアルゴンでフラッシュしたフラスコ中で、無水塩化メチレン(3ml)に溶解し、10当量のトリメチルプロモシランを0℃で加えた。0℃で1時間攪拌したのち、室温でさらに12時間攪拌を続けた。最後に、水性の後処理をして所望の生成物III cを得、これをイオン交換クロマトグラフィーで精製した。

10

【0109】

ガンマ/デルタT細胞の活性化を試験するために、異性体的に純粋な化合物または化合物のE/Z混合物のいずれかを使用した。

【0110】

実施例4

ガンマ/デルタT細胞活性化化合物の精製

種々のガンマ/デルタT細胞活性化化合物を、コリネバクテリウム・アンモニアゲネスから単離した。細胞集団28kgを、50mMギ酸アンモニウム緩衝液(pH 8.0)中でダイナックスミルで消化した。疎水性ポリスチレンマトリックス上で予備吸収したのち、消化した材料をアニオン交換材上に載せ、段階的なグラジエント(100、300、500mMギ酸アンモニウム、pH 8.0)で溶出した。300mMでの溶出液をC-18マトリックスを通過させ、次いで限外濾過用の3kDa中空糸を通過させた。濾液を水で30mMギ酸アンモニウムに希釈し、もう一度アニオン交換材上に載せた。次いで、30～500mMギ酸アンモニウムの直線的グラジエントで溶出した。個々の画分をガンマ/デルタT細胞活性化能について試験した。その後、いくつかの活性化化合物を、100mM BaCl₂と80% EtOHとの混合物によりバリウム塩として析出させた。析出物を20mMギ酸アンモニウム緩衝液(pH 8.0)に溶解し、アニオン交換材上で再度クロマトグラフィーを行った。このようにして、化合物1～6、13および14を単離することができた。

20

【0111】

実施例5

濃縮したMEP中間体によるガンマ/デルタT細胞の活性化

リンパ球を、フィコール(Ficoll)密度勾配遠心分離により、健康なドナーの末梢血から得た。各々の試験に対して、そのようにして得られた細胞2×10⁵個を、25mM HEPES、2mM L-グルタミン、0.025mg/mlのゲンタマイシン、100U/mlのヒトインターロイキン-2(IL-2)(すべてLife Technologyより)および10%ヒトAB血清(Bavarian Red Cross)を加えた、0.2mlの量のRPMI-1640培地(Life Technology)に播種した。試験画分を種々の希釈で加え、Sigmaからのイソペンテニルリン酸(IPP)を陽性対照として最終濃度10μMで用いた。インキュベーションは、5%CO₂、37℃で、インキュベーター中で行った。72時間後、細胞を採取し、フローサイトメーターで分析した。そのように行なうなかで、Vガンマ9⁺T細胞の表面上でのCD25活性化マーカーの発現を、Beckman-Coulterにより供給されたモノクローナル抗体CD25-PE(B1.49.9)、Vガンマ9-FITC(Immu360)およびCD3-PC5(UCHT1)を用いて測定した。

40

その結果は、IPPよりも、化合物9は約10,000倍活性であり、IPPよりも、化合物15、17および19は約500倍活性であり、化合物10は約1000倍活性であり、そして化合物12は約50倍活性であることを示した。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 11/04 (2006.01)	A 6 1 P 11/04	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 19/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/00	
A 6 1 P 19/10 (2006.01)	A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	1 0 1
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 37/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/00	
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
C 0 7 F 9/38 (2006.01)	C 0 7 F 9/38	B
C 0 7 F 9/6574 (2006.01)	C 0 7 F 9/38	E
C 1 2 N 9/99 (2006.01)	C 0 7 F 9/6574	Z
C 1 2 P 19/38 (2006.01)	C 1 2 N 9/99	
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 P 19/38	
	C 1 2 Q 1/02	

- (72)発明者 ヴォルフ, オリバー
ドイツ国、6 1 1 9 7 フロールシュタット、フッスハイネ 4 0
- (72)発明者 アルティンツィツェック, ボラン
ドイツ国、3 5 4 6 3 フェルンヴァルトーアンネロート、ヘルゲンヴァルト 3 7
- (72)発明者 エーベルル, マティアス
ドイツ国、3 5 3 9 0 ギーセン、ブルフシュトラッセ 3
- (72)発明者 ヒンツ, マルティン
ドイツ国、3 5 3 9 8 ギーセン、ラーンシュトラッセ 1 0 0
- (72)発明者 コラス, アンークリスティン
ドイツ国、3 5 3 9 0 ギーセン、ノイエンヴェーク 7
- (72)発明者 ライヒェンベルク, アルミン
ドイツ国、3 5 5 1 0 ブッツバッハ、プファイファーガッセ 3 2
- (72)発明者 ヴィースナー, ヨッヘン
ドイツ国、3 5 3 9 4 ギーセン、ツォア・カスターニエ 8

審査官 藤原 浩子

- (56)参考文献 特表2005-505248 (JP, A)
米国特許第05639653 (US, A)
国際公開第97/043437 (WO, A1)
国際公開第2000/072022 (WO, A1)
国際公開第00/017233 (WO, A1)
国際公開第00/072022 (WO, A1)
Belmant, Christian 他, 3-Formyl-1-butyl pyrophosphate a novel mycobacterial metabolite-activating human $\gamma\delta$ T cells, Journal of Biological Chemistry, 1999年, 274(45), 32079-32084
Tanaka, Yoshimasa 他, Natural and synthetic non-peptide antigens recognized by human $\gamma\delta$ T cells, Nature (London), 1995年, 375(6527), 155-8
McClard, Ronald W.; Fujita, Thomas S.; Stremler, Kay E.; Poulter, C. Dale, Novel phosphonylphosphinyl (P-C-P-C-) analogs of biochemically interesting diphosphates. Syntheses and properties of P-C-P-C-, analogs of isopentenyl diphosphate and dimethylallyl di

phosphate, Journal of the American Chemical Society, 1987年, 109(18), 5544-5
Jacob, L.; Julia, M.; Pfeiffer, B.; Rolando, C., Influence of phosphoric ester groups
in geranyldiphosphate biosynthesis, Bulletin de la Societe Chimique de France (Nov.-De
c.), 1990年, 719-33
Sireci, Guido 他, Differential activation of human $\gamma\delta$ cells by nonpeptide phosphoan
tigens, European Journal of Immunology, 2001年, 31(5), 1628-1635
Belmant, Christian 他, A chemical basis for selective recognition of nonpeptide antig
ens by human δ T cells, FASEB Journal, 2000年, 14(12), 1669-1670
Davisson, V. Jo 他, Phosphorylation of isoprenoid alcohols, Journal of Organic Chemis
try, 1986年, 51(25), 4768-79

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07F

CAplus(STN)

REGISTRY(STN)