

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4262480号  
(P4262480)

(45) 発行日 平成21年5月13日(2009.5.13)

(24) 登録日 平成21年2月20日(2009.2.20)

(51) Int.Cl.

**C07H 15/00** (2006.01)  
**A61K 31/7028** (2006.01)  
**A61K 47/36** (2006.01)  
**A61K 47/44** (2006.01)  
**A61K 51/00** (2006.01)

F 1

C07H 15/00  
A61K 31/7028  
A61K 47/36  
A61K 47/44  
A61K 49/02

C

請求項の数 17 (全 42 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-563162 (P2002-563162)  
(86) (22) 出願日 平成13年11月29日 (2001.11.29)  
(65) 公表番号 特表2004-518704 (P2004-518704A)  
(43) 公表日 平成16年6月24日 (2004.6.24)  
(86) 國際出願番号 PCT/US2001/044590  
(87) 國際公開番号 WO2002/062810  
(87) 國際公開日 平成14年8月15日 (2002.8.15)  
審査請求日 平成16年11月24日 (2004.11.24)  
(31) 優先権主張番号 60/250,238  
(32) 優先日 平成12年11月29日 (2000.11.29)  
(33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 598051381  
ブラック インターナショナル ピー. ヴ  
イ.  
B R A C C O I N T E R N A T I O N A  
L B. V.  
オランダ国, アムステルダム, ストラ  
ウインスキーラーン 3051  
S t r a w i n s k y l a a n 3051  
, A M S T E R D A M, N e t h e r l  
a n d s  
(74) 代理人 100108877  
弁理士 鴨田 哲彰

最終頁に続く

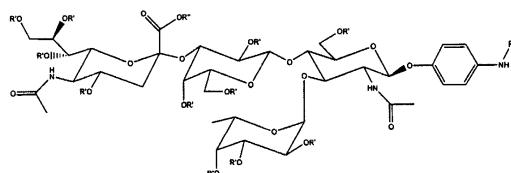
(54) 【発明の名称】結合能を有するシアリル・ルイスX類似物

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

次の構造式のシアリル・ルイスX類似物または薬剤として許容されるその塩を含む化合物;

## 【化1】



10

式中、

Rは、水素、COCH<sub>3</sub>または<sup>14</sup>COCH<sub>3</sub>であり、

R'は、水素またはアシルであり、

R''は、水素またはメチルである。

## 【請求項2】

Rは水素であり、R'はアシルであり、R''はメチルである請求項1に記載の化合物。

## 【請求項3】

RはCOCH<sub>3</sub>であり、R'およびR''は、水素である請求項1に記載の化合物。

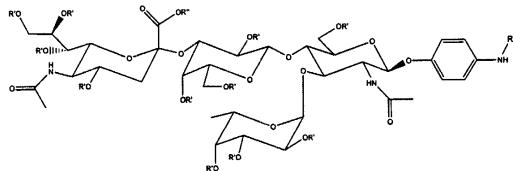
## 【請求項4】

Rは、<sup>14</sup>COCH<sub>3</sub>であり、R'およびR''は水素である請求項1に記載の化合物。

20

## 【請求項 5】

(a) シアリル・ルイスX類似物 (Sルイス<sup>X</sup>) 部分、(b) リポーター部分、(c) 該 S ルイス<sup>X</sup> 部分をリポーター部分と接合するリンカー、からなり、前記シアリル・ルイスX類似物部分が、次の構造式の残基からなるセレクチン結合リガンド接合体；  
 【化 2】



10

式中、

R は、水素、COCH<sub>3</sub> または <sup>14</sup>COCH<sub>3</sub> であり、

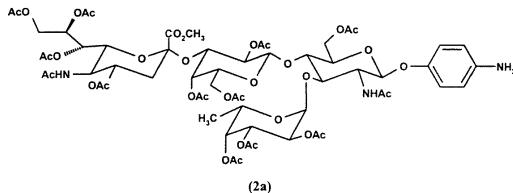
R' は、水素またはアシルであり、

R" は、水素またはメチルである。

## 【請求項 6】

前記シアリル・ルイスX類似部分が、次の構造式の残基からなる、請求項 5 に記載のセレクチン結合リガンド接合体。

## 【化 3】



20

## 【請求項 7】

前記リポーター部分が、細胞障害剤または治療剤である請求項 5 に記載の接合体。

## 【請求項 8】

前記リポーター部分が診断用造影剤からなる請求項 5 に記載の接合体。

## 【請求項 9】

前記リポーター部分が、選択的に常磁性、超常磁性または放射性金属にキレート化されている、1以上の大環状または非大環状の金属キレート化リガンドのラジカル基である請求項 5 に記載の接合体。

30

## 【請求項 10】

前記金属キレート化リガンドのラジカル基が、放射線療法に有用な放射性金属にキレート化されている請求項 9 に記載の接合体。

## 【請求項 11】

前記金属キレート化リガンドのラジカル基が、画像診断または診断に有用な放射性金属にキレート化されている請求項 9 に記載の接合体。

## 【請求項 12】

前記診断用造影剤が超音波コントラスト剤である請求項 8 に記載の接合体。

40

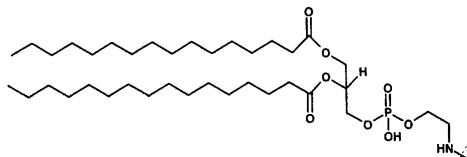
## 【請求項 13】

前記リポーター部分が、ミクロ胞またはガス充填リポソームの形態にあるリン脂質部分からなる請求項 8 に記載の接合体。

## 【請求項 14】

前記リン脂質部分が次の構造式 (I) のリン脂質からなる請求項 13 に記載の接合体。

## 【化4】



## 【請求項15】

薬剤として許容されるキャリアー中に溶解または分散された請求項5に記載の接合体を含む薬剤用化合物または薬剤として許容されるその化合物の塩。

## 【請求項16】

(a) グルコサミニル残基、フコシル残基およびガラクトシル残基を結合させて、三糖を生成し、(b) 該三糖にシアリル残基を結合させて、四糖を生成する工程からなる、請求項1に記載のシアリル・ルイスX類似物の生成方法。

10

## 【請求項17】

前記(a)の工程が、(i) グルコサミニル残基とフコシル残基とを結合させて、二糖を生成し、(ii) 該二糖にガラクトシル残基を結合させて、三糖を生成する工程からなる請求項16に記載のシアリル・ルイスX類似物の生成方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

20

## 【技術分野】

本発明は、結合能を有するシアリル・ルイスX(sialyl Lewis X; シアリルLe<sup>X</sup> またはSLe<sup>X</sup>とも記す。)類似物、および、炎症および関連疾患の治療のためのこれらの化合物の使用方法に関する。

## 【0002】

## 【発明の背景】

細胞接着は、炎症および癌転移といった複雑なプロセスにおいて重要な役割を果たす。外傷および感染を受けると、損傷組織はサイトカインとして知られる活性化因子を放出する。放出されたサイトカインは、血管内皮細胞に信号を送り、血管内皮細胞は、形状を変え、細胞接着タンパク質であるセレクチンを細胞表面に発現させる。セレクチンは、血液中の白血球の表面に存在するシアリルLe<sup>X</sup>などの炭水化物抗原に結合することによって、白血球の内皮細胞への接着を促進する。次に、白血球は血管内皮細胞を通過して移動し、血管壁を通って、外傷および感染部位に到達して、炎症主患部を形成する。

30

## 【0003】

特定の状況で、内皮細胞への白血球の接着が異常または過剰となり、その結果、組織を修復する代わりに損傷せることがある。アテローム性動脈硬化症、血液凝固、リウマチ、関節炎、乾せん症、皮膚炎、癌、再かん流障害および感染症をはじめとする多数の炎症性疾患および関連疾患では、異常な細胞接着によることが特徴とされる。このため、こうした疾患に伴う症状を緩和することのできる接着過程の阻害因子が求められている。

## 【0004】

セレクチンへの高い結合能を示すシアリルLe<sup>X</sup>類似物は、白血球の接着過程を阻害し、障害部位への白血球の侵入を防ぎ、それにより炎症に伴う症状を抑えるか、消失させると考えられている。近年、改善された結合能を示すSLe<sup>X</sup>類似物を開発するための努力がなされてきた。モノマーのSLe<sup>X</sup>類似物のE-セレクチンおよびL-セレクチンへの結合は一般に弱く(すなわち、わずか1~2mMの範囲)、ターゲティングをはじめとする多くの応用に適さないことが多い。これに対し、架橋した二量体のシアリルLe<sup>X</sup>類似物は、2個のモノマーを結合させている架橋の性質によって、モノマーの約5倍の結合能を示すことが報告されている。多価リポソームを用いたシアリルLe<sup>X</sup>模倣物は、セレクチンを介する細胞接着阻害測定では、照査標準の100倍の結合能を示している。さらに、PEG修飾リポソームに封入したシアリルLe<sup>X</sup>-PEG-DSPE誘導体は、ELISA測定でE-セレクチンを介する細胞接着の阻害因子として、モノマー類似物の5000

40

50

倍の効力を有することが明らかになっている。

#### 【0005】

##### 【発明の概要】

多価シアリル  $L e^X$  化合物が示す結合能が、モノマー類似物と比較して非常に高いことは、オリゴ糖の多価性が、これらの化合物のセレクチンを介する細胞接着への阻害能力を高めることを示している。結合能を高いレベルとすることにより、これらの多価化合物を、治療薬としてさらに有効なものとし、ターゲティングへの応用にも有用なものとしうる。

#### 【0006】

本発明は、シアリル・ルイス  $X$  および関連類似物のアミノフェニルグリコシドをはじめとする、一群の結合能を有する四糖化合物を提供する。これらの化合物は、接合可能な求核性のアミノ基を有するため、多重結合の  $SL e^X$  化合物を生成するのに有用である。また、本発明の化合物は、天然のシアリル  $L e^X$  を超えるセレクチンへの結合能を示し、セレクチンを介する細胞接着を阻害することにより炎症および関連疾患を治療する手段として用いることができる。

10

#### 【0007】

また、本発明は、(1)  $SL e^X$  類似物の部分、(2) リンカー、および(3) リポーター部分を含むセレクチン結合リガンド接合体であることに特徴がある。リポーター部分は、一般に、診断用の造影剤、細胞障害物質または治療物質を含む。好ましい実施形態において、リポーターは、(a) 常磁性、超常磁性の放射性または非放射性金属に選択的にキレート化される 1 以上の大環状または非大環状金属キレート化リガンド、(b) リン脂質部分、または(c) 細胞障害物質または化学療法物質を含む。リポーター部分の性質によつては、該接合体は、MRI、超音波または放射線診断法を用いた細胞を視覚化する造影剤として用いることができる。また、該接合体は、放射線療法用物質、化学療法用物質または細胞障害物質として使用でき、さらには、細胞接着過程を阻害することにより、炎症性疾患、感染症および関連疾患の治療手段として用いることもできる。

20

#### 【0008】

さらに、本発明は、製薬において許容されるキャリアと組み合わせた、治療に効果的な量の  $SL e^X$  類似物または接合体を含む製剤を提供する。好ましいキャリアには、食塩水、緩衝食塩水、ブドウ糖、水、グリセロール、エタノールおよびこれらの組合せが挙げられるが、これらに限定されない。該製剤は投与法に合わせることができ、また、丸剤、錠剤、カプセル剤、スプレー剤、粉末剤または液剤の形状をとることができる。

30

#### 【0009】

本発明のその他の特徴および利点は、次の詳細な説明および請求項により明らかにされる。

#### 【0010】

##### 【詳細な説明】

多量体シアリル  $L e^X$  化合物の製造には、接合可能な末端基を有する  $SL e^X$  類似物が有用であるとの知見を得た。このため、シアリル・ルイス  $X$  および関連類似物のアミノフェニルグリコシドの合成のための計画を企図した。これらの化合物は、天然のシアリル  $L e^X$  よりも高い結合能を有し、幅広い応用が可能である。

40

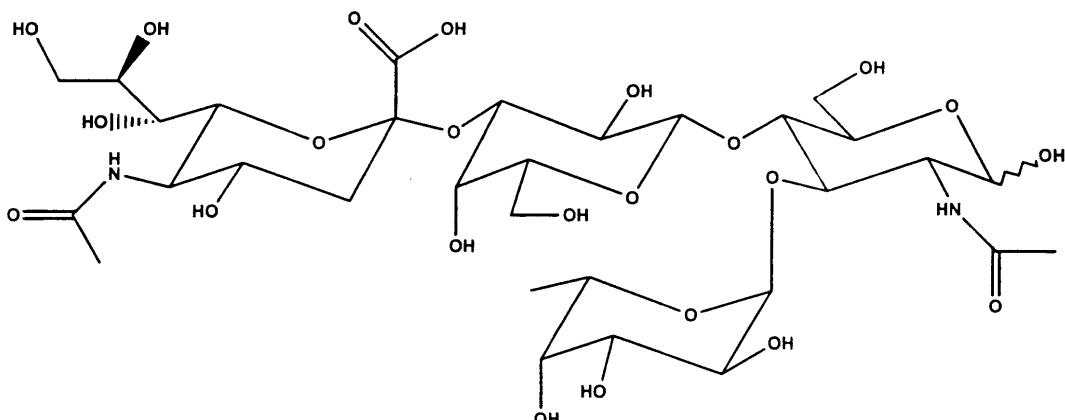
#### 【0011】

##### シアリル・ルイス $X$ 類似物

シアリル・ルイス  $X$  の構造を式(A)に示す。本発明は、構造式(1)の結合能を有する一群のシアリル・ルイス  $X$  類似物を提供する。これらの類似物は、接合可能な求核性アミノ基を有し、高い結合能を有する多量体  $SL e^X$  化合物を製造しやすくする。

#### 【0012】

##### 【化11】

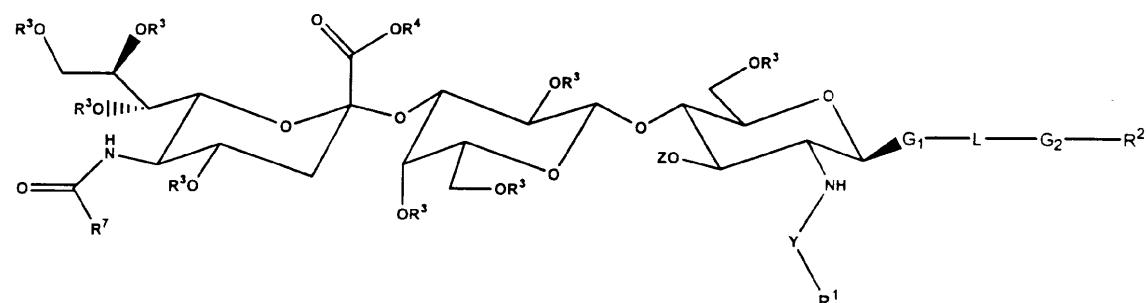


10

(A)

【0013】

【化12】



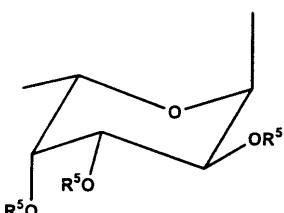
20

(1)

上の構造式(1)において、

Zは、水素、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アシル、または、

【化13】



30

Yは、C(O)、SO<sub>2</sub>、HNC(O)、OC(O)、またはSC(O)であり、G<sub>1</sub>およびG<sub>2</sub>は、それぞれ別個にC(R<sup>9</sup>)<sub>2</sub>、NR<sup>10</sup>、O、またはSであり、

Lは、アルキリデン、シクロアルキリデン、アリリデン、またはビニリデンであり、

R<sup>2</sup>は、水素、C(O)R<sup>8</sup>、SO<sub>2</sub>R<sup>8</sup>、C(S)R<sup>8</sup>、COCH<sub>3</sub>、または<sup>14</sup>COCH<sub>3</sub>であり、R<sup>4</sup>は、水素、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、アリール、アリールアルキル、置換アリール、または置換アリールアルキルであり、R<sup>3</sup>およびR<sup>5</sup>は、それぞれ別個に水素、ベンジル、メトキシベンジル、ジメトキシベンジル、またはC<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アシルであり、R<sup>1</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>8</sup>、R<sup>9</sup>およびR<sup>10</sup>は、それぞれ別個に水素、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、アリール、置換アリール、またはフェニルC<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルケニル基である。アリール基は、1個の芳香族性五員環または六員環、融合した芳香族性五員環/六員環、または2個の融合した芳香族性六員環を有し、この環はヒドロカルビル、モノオキサヒドロカルビル、モノチアヒドロカルビル、モノアザヒドロカルビル、またはジアザヒドロカルビル環である。置換アリール基は、ハロ、トリフルオロメチル、ニトロ、C<sub>1</sub> - C<sub>18</sub> アルキル、C<sub>1</sub>

40

50

- C<sub>18</sub> アルコキシ、アミノ、モノ-C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> アルキルアミノ、ジ-C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> アルキルアミノ、ベンジルアミノ、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> アルキルベンジルアミノ、C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> チオアルキル、またはC<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> アルキルカルボキサミド基をもつ置換基を有するアリール基であるか、R<sup>1</sup> Yがアリロキシカルボニルまたはクロロアセチルである。

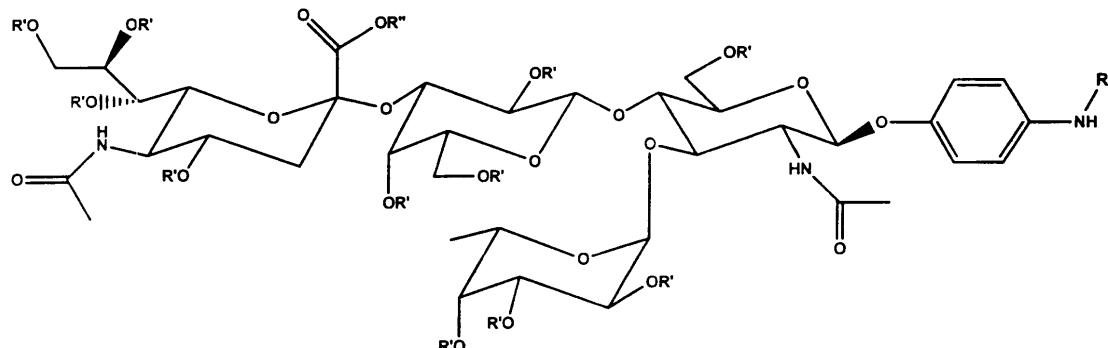
[ 0 0 1 4 ]

好ましい実施形態において、Yはカルボニル[C(=O)]、R<sup>1</sup>は水素またはメチルであり、Zはヒドロキシリル基が遊離しているか保護基(ベンジルまたはC<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>アシリル)で遮断されている-L-フコシリルである。

〔 0 0 1 5 〕

本発明の特に好ましい実施形態において、化合物は構造式(2)の四糖であり、

### 【化 1 4】



(2)

2a: R=H, R'=Ac, R"=CH<sub>3</sub>; 3a: R=COCH<sub>3</sub>, R'=R"=H; 3b: R=<sup>14</sup>COCH<sub>3</sub>, R'=R"=H

式中、

R は、水素、 $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$  または  $^{14}\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$  であり、

R' は、水素またはアシルであり、

R" は、水素またはメチルである。

[ 0 0 1 6 ]

本明細書で化合物 2 a と記載する一つの実施形態において、R は水素、R' はアシル、R" はメチルである。別の実施形態において、R は  $\text{C}_2\text{OCH}_3$  、R' および R" は水素である（化合物 3 a）。また、別の実施形態において、R は  $^{14}\text{C}_2\text{OCH}_3$  、R' および R" は水素である（化合物 3 b）。

〔 0 0 1 7 〕

本発明の  $SLe^+$  類似物は、製薬業界で一般に用いられる毒性のない酸添加塩または金属錯体をはじめとして、製薬において許容できる塩の形状をとることができる。酸添加塩の例としては、酢酸、乳酸、パモ酸、マレイン酸、クエン酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、コハク酸、安息香酸、パルミチン酸、スペリン酸、サリチル酸、酒石酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、またはトリフルオロ酢酸などの有機酸、タンニン酸、カルボキシメチルセルロースなどのポリマー酸、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸などの無機酸が挙げられる。金属錯体としては、亜鉛、鉄などが挙げられる。

〔 0 0 1 8 〕

多量体のシアリル・ルイス<sup>X</sup> 接合体

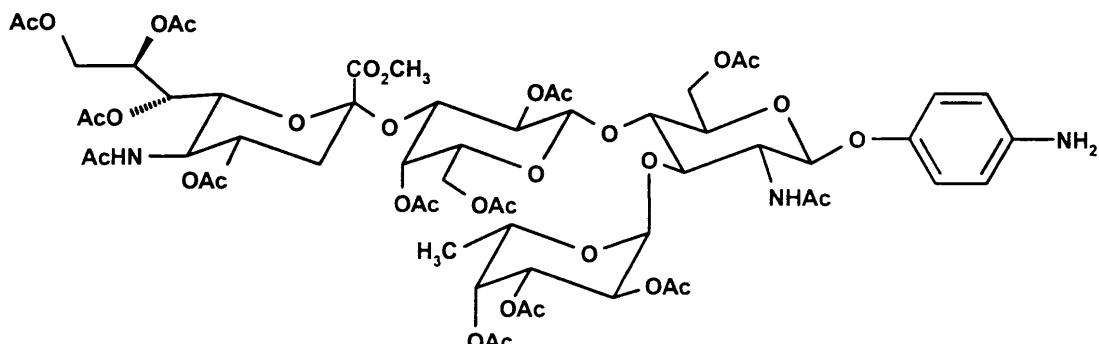
本発明の S L e<sup>×</sup> 類似物化合物は、従来の抗炎症薬または抗感染薬または抗癌薬をはじめとする診断用薬または治療薬を、組織障害のある特定部位に到達させるために用いることができる。これらの化合物を用いて、薬剤または診断用薬を生体内のセレクチン受容体に到達させることによって、低用量であっても障害部位に高濃度の薬剤または診断用薬をもたらすことができる。こうしたターゲティングにより、その薬剤または診断用薬の有効性は高まり、副作用は抑えられる。

## 【0019】

ターゲティングは、送達される薬剤にセレクチン結合リガンドを共有結合させることによってなされる。このため、本発明は、(1) SLe<sup>X</sup>類似物部分、(2) リンカー、および(3) リポーター部分からなるセレクチン結合リガンド接合体により特徴づけられる。シアリルLe<sup>X</sup>類似物部分は、上記の構造式(1)が示す化合物をはじめとして、1個またはそれ以上の結合能を有するシアリルLe<sup>X</sup>残基からなる。好ましい実施形態において、シアリルLe<sup>X</sup>部分は、下記の構造式(2a)の残基からなる。

## 【0020】

## 【化15】



(2a)

10

20

## 【0021】

リポーター部分は、一般に診断用造影剤または治療薬を含む。本発明の一つの実施形態において、リポーター部分は、1個またはそれ以上の大環状または非大環状の金属キレート化リガンドラジカルを含有し、そのため選択的に常磁性、超常磁性の放射性または非放射性金属にキレート化され、これにより診断用造影手段により体の外側から検出することができるか、治療効果または放射線治療効果を提供することができる。これらのリガンドおよびリガンドにキレート化される金属の構造は、使用目的によって異なってよい。放射性核種に結合するリガンドの多くは四座配位であり、4個の窒素および/またはイオウ金属配位原子(すなわち、N<sub>4</sub>、N<sub>3</sub>-S、N<sub>2</sub>-S<sub>2</sub>など)の組合せを含有する。たとえば、N<sub>4</sub>キレート剤に関しては、米国特許第6,143,274号、第6,093,382号、第5,608,110号、第5,665,329号、第5,656,254号、および第5,688,487号に記載がある。いくつかのN<sub>3</sub>-Sキレート剤に関しては、PCT/CA94/00395号、PCT/CA94/00479号、PCT/CA95/00249号および米国特許第5,662,885号、第5,976,495号および第5,780,006号に記載がある。また、リポーター部分は、MAMA(モノアミドモノアミンジチオール)、DADS(N<sub>2</sub>-Sジアミンジチオール)CODADSなどのN<sub>3</sub>-SおよびN<sub>2</sub>-S<sub>2</sub>系を含むキレート化リガンドメルカブト-アセチル-アセチル-グリシル-グリシン(MAG3)の誘導体も含みうる。これらのリガンド系およびその他の亜型に関しては、Liu and Edwards, Chem Rev. 1999, 99, 2235-2268、および本明細書の参照文献に記載がある。これまでの特許、特許出願および参考文献の開示内容はすべて参考として本明細書に組み込まれる。

30

40

## 【0022】

また、リポーター部分は、四座配位の配列にある金属へは供与されないリガンド原子を含む錯体からもなる。これらには、テクネチウムおよびレニウムジオキシムのボロン酸付加物が含まれ、その例は、米国特許第5,183,653号、第5,387,409号および第5,118,797号に記載があり、この開示内容はすべて参考として本明細書に組み込まれる。

## 【0023】

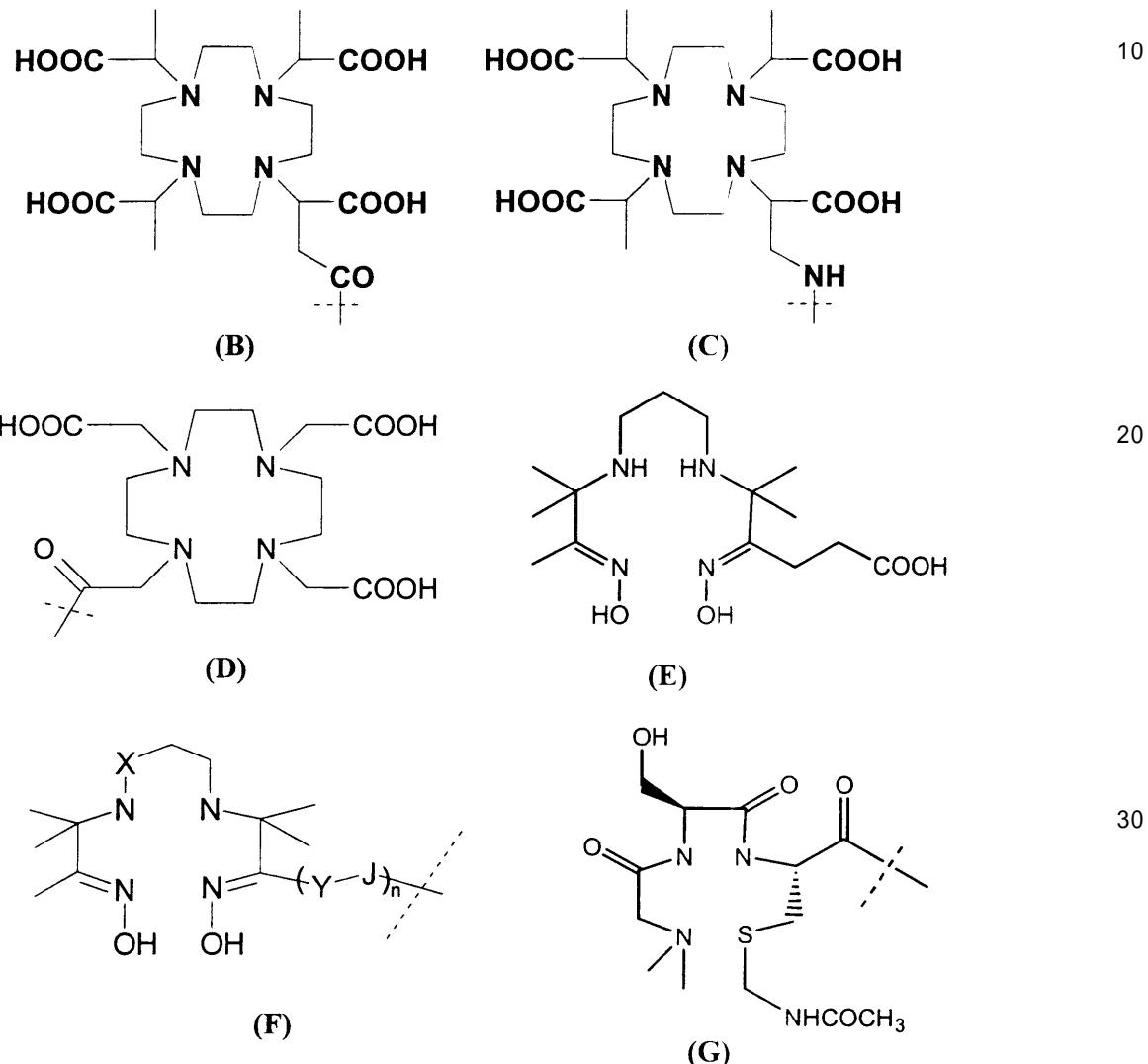
好ましい金属キレート化リガンドラジカルには、下記の式(B)、(C)および(D)(常磁性Gd<sup>3+</sup>などのランタニド類および<sup>177</sup>Luなどの放射性ランタニド類)のもの、および式(E)、(F)および(G)(放射性<sup>99m</sup>Tc)が含まれる。これらの金属キレート化リガンドラジカルおよびその他の金属キレート化物質に関しては、米国特許第6,09

50

3,382号および第5,608,110号に記載があり、これらの開示内容はすべて参照として本明細書に組み込まれる。また、式(D)のキレート化リガンドラジカルに関しては、たとえば米国特許第6,143,274号に記載があり、式(F)のキレート化リガンドラジカルに関しては、たとえば米国特許第5,627,286号および第6,093,382号に記載があり、式(G)のキレート化リガンドラジカルに関しては、たとえば米国特許第5,662,885号、第5,780,006号および第5,976,495号に記載がある。

【0024】

【化16】



【0025】

上記の式(F)において、XはCH<sub>2</sub>またはOのいずれかであり、Yは分岐性または非分岐性のいずれかのC<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>アルキルである。Yは、アリール、アリロキシ、アリールアミノ、アリールアミノアシルである。Yはアラルキルである。上記において、アリール基に結合する1個または複数のアルキル基は、分岐性または非分岐性のアルキル基、分岐性または非分岐性のC<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>ヒドロキシまたはポリヒドロキシアルキル基、またはポリアルコキシアルキルまたはポリヒドロキシ-ポリアルコキシアルキル基である。Jは、C(=O)-、OC(=O)-、SO<sub>2</sub>-、NC(=O)-、NC(=S)-、N(Y)、NC(=NCH<sub>3</sub>)-、NC(=NH)-、N=N-、合成または天然のアミノ酸由來のホモポリアミドまたはヘテロポリアミンであり、いずれもnは1~100である。これらの構造のその他の亜型は、たとえば米国特許第6,093,382号に記載がある。

【0026】

本発明の金属錯体は、診断用および/または治療用の薬剤として有用である。常磁性また

は超常磁性金属からなる接合体は、M R I に用いる診断用薬剤として有用である。この接合体に用いることのできる常磁性金属の例として、クロミウム(III)、マンガン(II)、鉄(II)、鉄(III)、コバルト(II)、ニッケル(II)、銅(II)、プラセオジム(II)、ネオジム(III)、サマリウム(III)、ガドリニウム(III)、テルビウム(III)、ジスプロシウム(III)、ホルミウム(III)、エルビウム(III)およびイッテルビウム(III)が挙げられるが、これに限定されない。クロミウム(III)、マンガン(II)、鉄(III)およびガドリニウム(III)。

#### 【0027】

放射性金属からなる接合体は、放射線による造影または放射線療法に有用である。好ましい放射性同位元素として、<sup>99m</sup>Tc、<sup>51</sup>Cr、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>111</sup>In、<sup>168</sup>Yb、<sup>175</sup>Yb、<sup>140</sup>La、<sup>90</sup>Y、<sup>88</sup>Y、<sup>153</sup>Sm、<sup>166</sup>Ho、<sup>165</sup>Dy、<sup>166</sup>Dy、<sup>62</sup>Cu、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>97</sup>Ru、<sup>103</sup>Ru、<sup>186</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>203</sup>Pb、<sup>211</sup>Bi、<sup>212</sup>Bi、<sup>213</sup>Bi、<sup>214</sup>Bi、<sup>105</sup>Rh、<sup>109</sup>Pd、<sup>117m</sup>Sn、<sup>149</sup>Pm、<sup>161</sup>Tb、<sup>177</sup>Lu、<sup>198</sup>Auおよび<sup>199</sup>Auが挙げられる。金属の選択は、治療または診断のいずれを目的とするかによって決定する。たとえば、診断目的において好ましい放射性核種としては、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>99m</sup>Tcおよび<sup>111</sup>Inが挙げられる。治療目的において好ましい放射性核種としては、<sup>64</sup>Cu、<sup>90</sup>Y、<sup>105</sup>Rh、<sup>111</sup>In、<sup>117m</sup>Sn、<sup>149</sup>Pm、<sup>153</sup>Sm、<sup>161</sup>Tb、<sup>166</sup>Dy、<sup>166</sup>Ho、<sup>175</sup>Yb、<sup>177</sup>Lu、<sup>186</sup>/<sup>188</sup>Reおよび<sup>199</sup>Auが挙げられる。

#### 【0028】

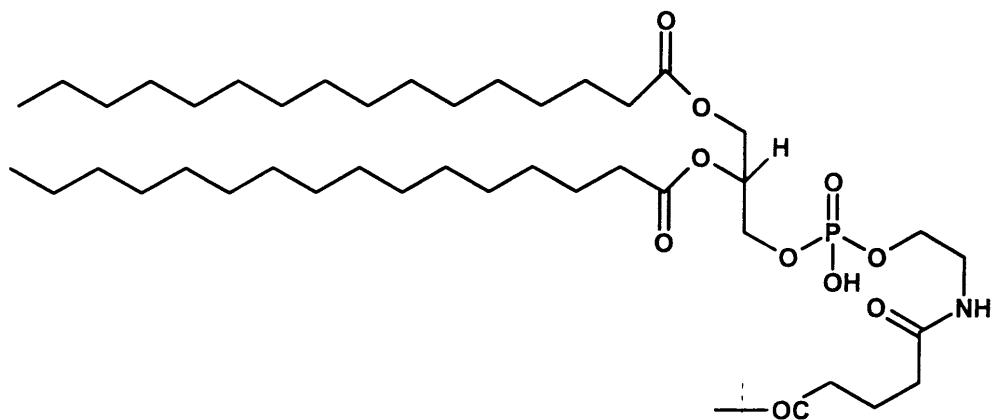
これに代わる実施形態において、リポーター部分は微小気泡の形態またはガス充填リポソームと記載される形態を取りうるリン脂質部分であってもよい。好適なリン脂質構造の種類は当分野では既知である。好ましい実施形態において、リン脂質部分は下記の構造(H)または(I)を有する。これに関しては、本明細書に参照として組み込まれる米国特許第5,686,060号に記載がある。

#### 【0029】

#### 【化17】

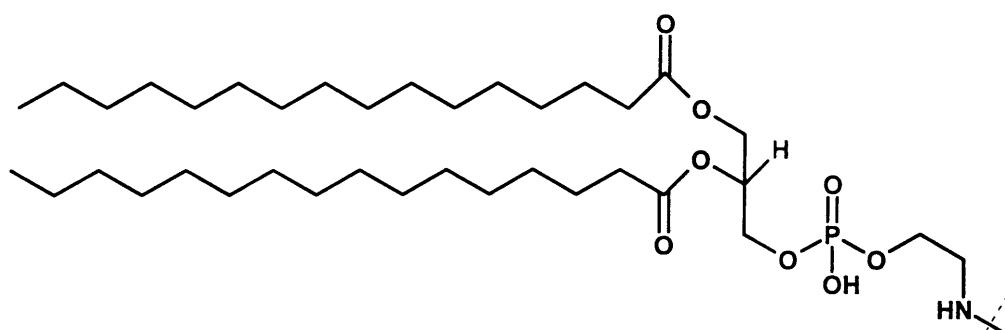
10

20



10

(H)



20

(I)

## 【0030】

これらのリン脂質は、ジステロイルフォスファチジルコリン（D S P C）、ジパルミトイ  
ルフォスファチジルグリセロール（D P P G）、P E G - 4 0 0 0、パルミチン酸および  
S F <sub>6</sub>、またはC F <sub>4</sub> およびC <sub>4</sub> F <sub>10</sub>などのフッ化炭素といった不活性ガスの存在下で  
ガス充填気泡に封入される。こうしたガス充填微小気泡は、超音波画像検査の診断用薬剤  
として有用である。

30

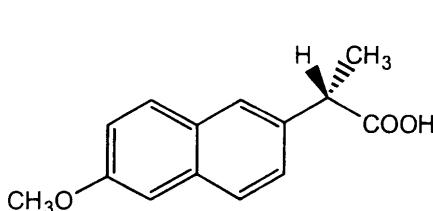
## 【0031】

本発明のもう一つの実施形態において、リポーター部分は、細胞障害物質または化学療法  
剤である。多岐にわたる化学療法剤をS L e<sup>x</sup>部分と結合させてターゲティングに用いる  
ことができる。たとえば、結合可能な抗炎症薬としては、免疫調節剤、血小板活性化因子  
(P A F)拮抗剤、シクロオキシゲナーゼ阻害薬、リポキシゲナーゼ阻害薬およびロイコ  
トリエン拮抗薬が挙げられる。好ましいリポーター部分は、シクロスボリンA、ナプロキ  
セン（J）、インドメタシン（K）、F K - 5 0 6、ミコフェノール酸などを含む。

40

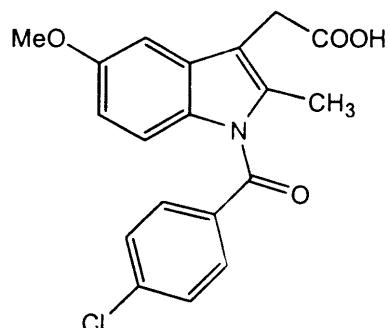
## 【0032】

## 【化18】



ナプロキセン

(J)



インドメタシン

10

(K)

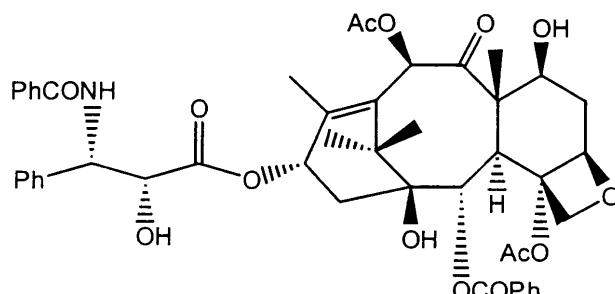
## 【0033】

同様に、スーパーオキシドジスムター $\epsilon$ などの抗酸化剤は、意図された糖化合物によってターゲティングを行うことによって、再かん流障害の治療に有用である。また、S L e $\times$ 部分は、誘導体化されたパクリタキセル(タキソール(L))、ドセタクセルおよびピンクリスチニン、ピンプラスチニン、ドラスタチニン、ダウノマイシン、ドキソルビシン、プレオマイシン、ハリコンドリンなどのピンカアルカロイドといった抗癌薬と結合させることもできる。

## 【0034】

20

## 【化19】



タキソール

30

(L)

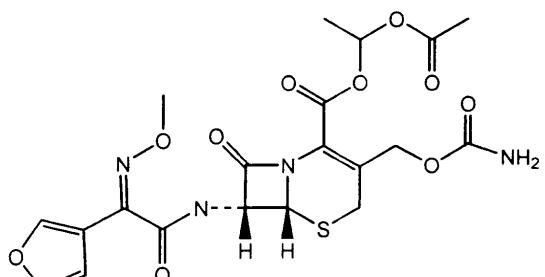
## 【0035】

同様に、感染症のデュアルモードの治療を目的として、S L e $\times$ 部分をキノロン、抗生物質、ペニシリンなどの抗生剤、セフロキシム(M)などのセファロスボリン系剤、リネゾリド(N)、シクロスボリン、バンコマイシンなどのオキサゾリジノン系剤、または、より一般的にはグラム陽性菌またはグラム陰性菌または広域スペクトルを有する抗生物質と、好適な官能性によって結合させ、抗生物質を直接感染部位に放出させ、病原体の細胞接着を阻害することもできる。その他の好適な化学療法剤に関しては、米国特許第6,093,382号に記載がある。

40

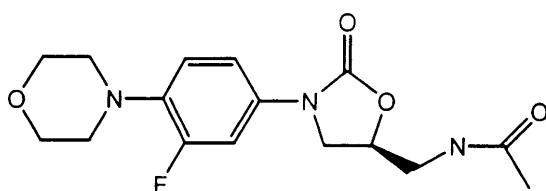
## 【0036】

## 【化20】



セフロキシム

(M)



リネゾリド

(N)

10

## 【0037】

薬剤またはその他の生物活性分子の接合に関する一般的な原則は、接合部位に生体内で内因性アミダーゼ、プロテアーゼ、エステラーゼ、またはたとえばエンドヌクレアーゼおよびフォスファターゼなどのその他の酵素によって開裂できる箇所を作ることである。より高活性のカルボキシエステル、リン酸エステル、またはより容易に開裂できるカルボキサミドまたはスルフォンアミドを用いる戦略は、この種の代謝活性化または放出を利用する前駆薬の使用において知られている。酵素を介する酸化または還元作用の生体内活性化/放出を利用する放出システムも同様に有用である。

20

## 【0038】

セレクチン受容体ターゲティングは、水様液に擬集物として存在する両親媒性物質または二重性（極性：非極性）の分子によっても実現しうる。両親媒性物質として、非極性脂質、極性脂質、モノおよびジグリセリド、スルファチド、リソレシチン、リン脂質、サブチニン、胆汁酸および塩が挙げられる。これらの分子は、エマルジョンおよび発泡体、ミセル、不溶性単分子層、液晶形、リン脂質分散コロイドおよびラメラ構造（本明細書では正しくはリポソームと呼ぶ）として存在し、治療薬または診断用薬を送達するのに用いる。こうした薬剤において、送達される治療薬または診断用薬は、セレクチン受容体に結合するSLe<sup>x</sup>類似物化合物とともに、液体充填リポソームの一部として組み込まれる。こうして、目的の薬剤を充填したリポソームは、セレクチンとSLe<sup>x</sup>類似物化合物の相互作用によって、組織障害のある部位に直接送達される。リポソームが損傷を受けた細胞の近くに達すると、受動拡散、能動拡散または目的の作用部位への送達を容易にしうるあらゆる内因性または外因性の過程によって、リポソームは、選択された治療薬または診断用薬を送達させうる。これには、リポソームをターゲットで崩壊させるために用いられる、酵素による分解、熱刺激、物理的処置または振動、または、ターゲット領域においてリポソームの崩壊を誘発するあらゆる形態の超音波などの、あらゆる過程または照射技術が含まれる。好適なリポソームの調製およびリポソームをターゲット物質と結合させる方法は、当該分野では既知であり、たとえば米国特許第4,957,773号、第4,603,044号、第4,501,728号、第4,037,028号および第4,235,871号に記載があり、これらはすべて本明細書に参照として組み込まれる。

30

## 【0039】

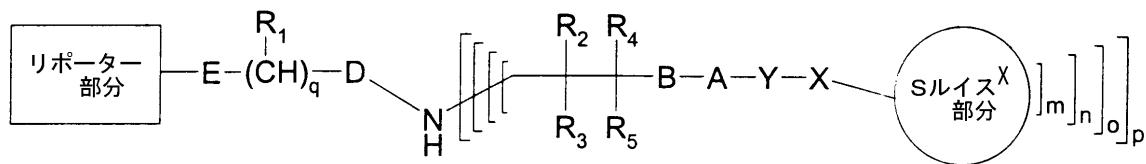
セレクチン結合部分（すなわちSLe<sup>x</sup>残基）は、直接または間接的にリポーター部分に結合する。この結合は、種々の公知の方法によって実現されるが、セレクチン結合リガンドの受容体への結合能を阻害してはならず、また、リポーター部分の活性または機能を実質的に低下させてはならない。これは、従来から知られている種々のリンカーを用いることにより実現しうる。このリンカーは、リポーターをSLe<sup>x</sup>部分に共有結合させうる化学的な部分であればよい。このリンカーは、リポーター部分をセレクチン結合部分から物理的に遊離させるか、または隔離するものでなければならない。好ましい実施形態において、シアリルSLe<sup>x</sup>部分とリポーター部分とを結合しているリンカー残基は、式（O）に示す構造を有している。

40

50

【0040】

【化21】



10

式中、

Xは、O、S、または $[CH(R_1)]_z - [N(R_6)]_w$  - であって、

zは、1ではなく、0または2~10であり、wは0~1であり、

Yは、アルキリデン、シクロアルキリデン、アリリデンまたはビニリデンであり、

Aは $-C(=O)-$ 、 $- (C=S) -$ 、または $- [CH(R_1)]_t - [N(R_6)]_w$  - であって、

tは0~10、wは0~1であり、

Bは、Aが $-C(=O)-$ または $- (C=S) -$ の場合には、O、Sまたは $N(R')$ であるか、Aが $- [CH(R_1)]_t - [N(R_6)]_w$  - の場合には、 $-C(=O)-$ または $- (C=S) -$ であって、

20

tは0~10、wは0~1であり、

Dは、 $-C(=O)-$ 、 $- (C=S) -$ 、または $- [CH(R_1)]_z - [N(R_6)]_w$  - であって、

zは、1ではなく0または2~10であり、wは0~1であり、

Eは、 $-C(=O)-$ 、 $- (C=S) -$ 、または $- [CH(R_1)]_u - [N(R_6)]_w$  - であって、

uは0~10、wは0~1であり、

qは、Dが $-C(=O)-$ または $- (C=S) -$ の場合には、0~10、Dが $- [CH(R_1)]_z - [N(R_6)]_w$  - で、zが0、wが0~1の場合には、2~10、Dが $- [CH(R_1)]_z - [N(R_6)]_w$  - で、zが2~10、wが0~1の場合には、0~10であり、

30

m、n、oおよびpはそれぞれ別個に1~3であり、

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>は、それぞれ別個に、アルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシ、アルコキシアルキル、シクロアルキル、シクロアルコキシ、アリールまたはアリロキシである。

40

【0041】

こうしたリンカー部分の構成、リポーターおよびターゲティングを行うベクターへのリンカーハーの接合に関しては周知であり、米国特許第6,093,382号に記載があり、これはすべて本明細書に参照として組み込まれる。複数のターゲティングおよび/またはリポーター部分を有し、ターゲティング機能とリポーター機能、複数のターゲティング機能間、および/または複数のリポーター機能間の距離をコントロールすることのできる望ましい多量体アセンブリのその他の構成方法は、当該分野では公知である。

【0042】

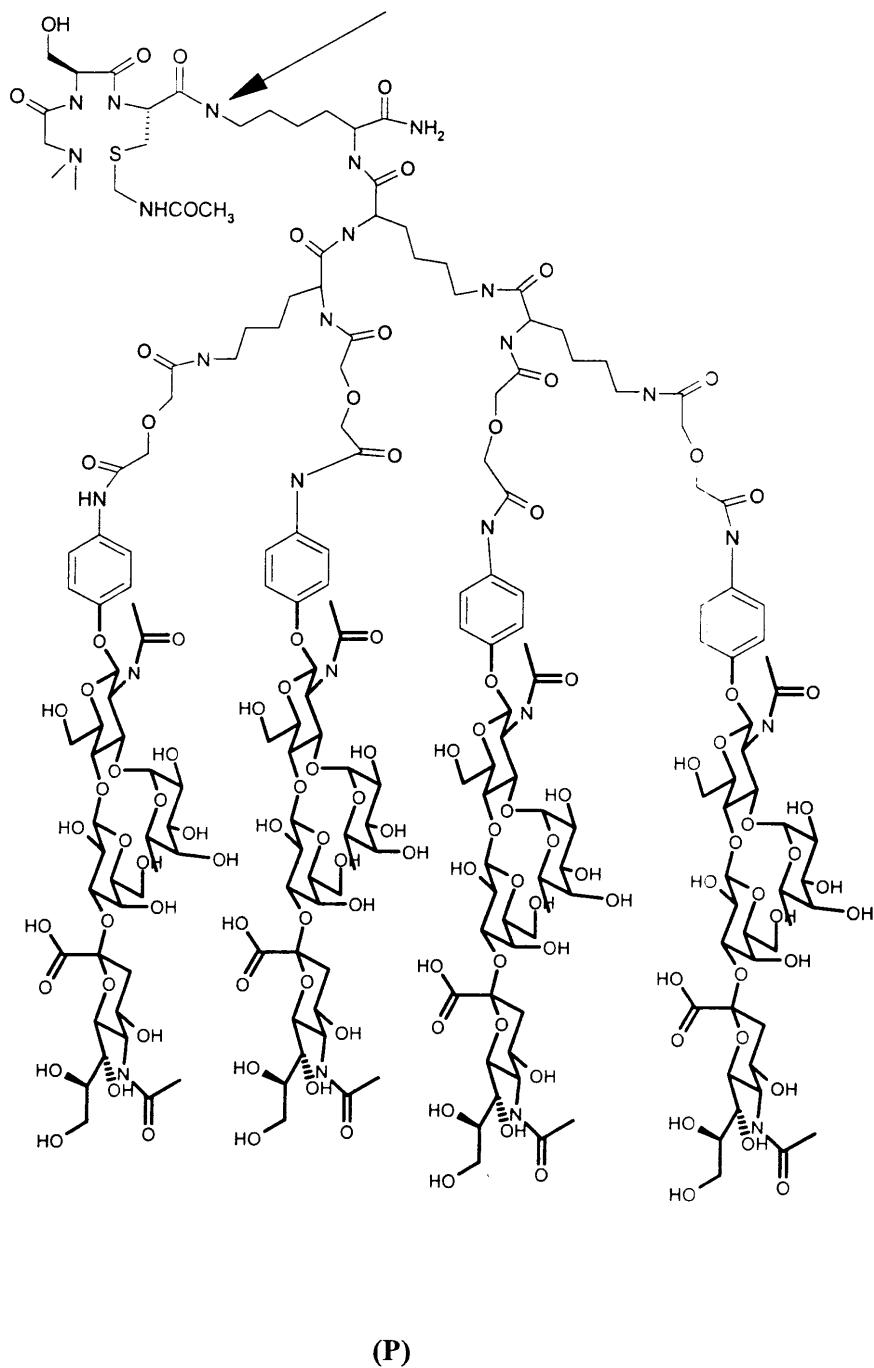
多量体ペプチドのコアを多量体構造の構成の足場として使用する方法 (Veprek, P. and Jezek, J (1999) J. Peptide Sci. 5,5) は、直交またはほぼ直交する保護基を用いる戦略を使用する、溶液または固相における合成法のいずれによっても容易に実現される。同様に、こうした保護基を用いる戦略によって、リポーターおよびターゲティングするリガンドの導入を調節することができる。ターゲティング機能およびリポーターを有する多量体構造のコア末端間の距離を、オリゴマーのアミドからなるリンカーハーの化学作用を用いて調節する方法は、当該分野では公知であり (Rose, K. and Vizzavona, J. (1999) J. Am. Che

50

m. Soc. 121, 7034, Roy R, Zanini, D. Meunier, S.J and Romanowska, A. (1993) J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1869)、その結果、ターゲットに対する系の親和性を調節しうる (Glick, G.D. and Knowles, J.R. (1991) J. Am. Chem. Soc. 113, 4701)。本明細書で言及するこれらの参考文献は、すべて本明細書に参照として組み込まれる。

【0043】

【化22】



【0044】

構造 (P) は、3 個のリジンが分岐したペプチドのコア、グリコール酸スペーサー、および4 個のシアリル  $\text{Le}^X$  誘導体を含むシアリル  $\text{Le}^X$  類似物部分と接合したリポータリーガンドラジカル G (放射線による造影のため放射性同位元素  $^{99m}\text{Tc}$  をキレート化するために用いる) からなり、上述の方法および系を用いて生成することができる。この物質は、 $^{99m}\text{Tc}$  を用いてキレート化されると、炎症部位および感染部位の造影に有用となる。その他のリポーター基も、構造 P の基部であるリジン (矢印で示す) の - アミノ基と反応することのできる混合カルバメート (リポーターが利用可能なアミノ基を有する場合)

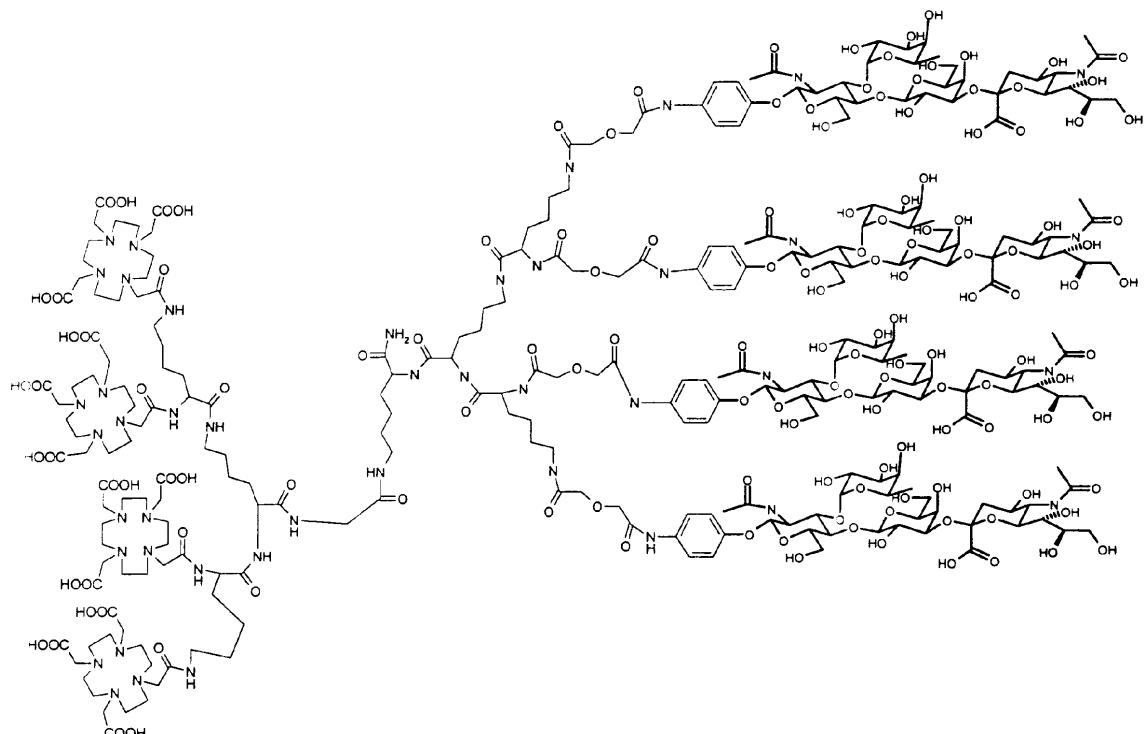
または混合した炭酸エステル（リポーターが利用可能なヒドロキシル基を有する場合）などの適切な活性化誘導体を調製することにより、シアリル  $L e^X$  類似物部分と接合させることができる。同様に、上記のリポーター機能、化学療法剤、抗炎症薬中に存在する場合に、リジンの -アミノ基と直接反応するか、好適な活性化後に反応することができる。あるいは、シアリル  $L e^X$  類似物部分のコアとなるリジンの -アミノ基は、ビス - p - ニトロフェニルカルボネート、ホスゲンまたは当該分野で公知の同等物、または塩化チオカルボニルを用いた処理により、それぞれターゲティング機能とリポーター機能、複数のターゲティング機能間、および / または複数のリポーター機能間の距離をコントロールすることのできる反応性カルバメート、またはイソシアネート、またはイソチオシアネートに転換することができる。これらの反応性求電子体は、アミノ基を生ずるリポーターの官能化反応に用いることができ、これは該求電子体と反応しうるアミノ基を生ずるスペーサーまたはリンカーにより官能化されたリポーターも含むことができる。

## 【0045】

上述の方法を適用することにより、同分子内に複数のリポーターおよび複数の  $S L e^X$  残基を生ずる物質を調製することもできる。こうした系の例として、この大環状高分子を  $^{113}In$  などの放射性金属のキレート化に用いる場合には放射線造影に、この大環状高分子をたとえばガドリニウムといった非放射性同位元素のキレート化に用いる場合にはMRI 造影に有用である化合物（Q）が挙げられる。

## 【0046】

## 【化23】



## 【0047】

ターゲティング構造に結合しつづけることが期待できる化学療法剤の接合位置の特徴

細胞障害物質または化学療法剤がターゲティング構造に結合しつづけ、その機能を果たすことが予測される場合、一般原則は、その部位において置換基が薬剤の活性に対する有害な影響をできるだけもたらなさいことを示すQ SAR（量的構造 - 活性関係）に予め基づいて、薬剤の結合部位を決定すべきであるということである。こうした原則は、たとえば薬剤の乱用に対する蛍光偏光測定法に用いられる薬剤の接合体の合成において十分に確立されている。

10

20

30

40

50

## 【0048】

細胞接着阻害測定法

リガンド - 受容体相互作用の阻害を生体内でスクリーニングするための多くの直接および間接的な方法は、すでに利用可能であり当業者に知られている。これらの方法は、特定の化合物が  $SLe^X$  を生ずる細胞が特定のセレクチンを発現する細胞に対して接着することを阻害する能力を有するかどうかの測定に用いることができる。

## 【0049】

いくつかのセレクチン受容体遺伝子はクローニングされており、そのため、COS細胞、CHO細胞、アデノウイルスで変形させたヒト腎細胞など、多岐にわたる細胞に挿入および発現させることができ、その結果、rELAM（組換え型ELAM-1）などの組換え型セレクチン受容体を測定において用いることができる。また、 $SLe^X$  を通常は発現しない細胞は、変形された細胞にリガンドを合成する能力を付与する1個またはそれ以上のグリコシルトランスフェラーゼ遺伝子で変形されうる（たとえばLoweら、Cell, 63: 475-484 (1990) 参照）。いくつかの測定法においては、標識  $SLe^X$  を生ずる細胞および固体面に固定化される細胞表面セレクチンまたは組換えセレクチンを発現する活性化細胞とともに、阻害化合物または阻害剤を培養する。次に、適切な洗浄後にその表面に結合した標識を検出することによって、細胞接着の阻害を測定することができる。

10

## 【0050】

典型的には、意図された  $SLe^X$  類似物化合物の生体外測定は、意図された化合物の  $SLe^X$  を含む細胞へのセレクチンの結合を競争的に阻害する能力を検出するという競争測定である。セレクチンを含む細胞は、典型的には活性化した血小板または活性化した内皮細胞に、有用とされる組換えセレクチンを加えたものである。  $SLe^X$  を有する細胞は、一般的には白血球またはHL-60細胞である。

20

## 【0051】

その他の測定法には、相互作用の結果、 $SLe^X$  リガンドを生ずる細胞またはセレクチンを生ずる細胞のいずれに種々の生理学的变化の有無があったかを検出するものがある。好適な測定法の例としては、結合によって誘発される転写活性の変化の測定（たとえばPCT公報第3712820号参照）、特別な細胞効果を介された種々の細胞の検出（たとえばPCT公報第90/00503号参照）、および個々の細胞の膜電位の変化の検出（たとえば米国特許第4,343,782号参照）が挙げられ、これらはすべて参考として本明細書に組み込まれる。あるいは、単離された受容体またはリガンドの構造上の変化を検出することもでき（たとえば米国特許第4,859,609号参照）、これも本明細書に参考として組み込まれる。さらに、 $SLe^X$  を発現する細胞を堅固な支持体と結合したセレクチンと結合させ、結合した細胞を溶解して、結合細胞のみに存在したタンパク質を測定することもできる。

30

## 【0052】

リガンド、セレクチン受容体または  $SLe^X$  化合物をはじめとするあらゆる測定成分は、膜（たとえばニトロセルロース）、マイクロタイタ用シャーレ（たとえばPVCまたはポリスチレン）、またはガラス玉などの固体表面に結合させることができる。生体分子を固体表面に固定する方法の多くは、従来から知られている。目的の成分をその表面に共有結合または非共有結合させることができる。種々の化合物を種々の表面に結合させる方法は周知であり、公知資料に詳細な説明がある。たとえば、*Immobilized Enzymes*, Inchiyo Chibata, Halsted Press, New York (1978)、Cuatrecasas, J. Biol. Chem., 245:3059 (1970)、および米国特許第4,447,576号および第4,254,082号を参考にすることもできる、これらは本明細書に参考として組み込まれる。

40

## 【0053】

天然および合成のいずれをも含む種々の有機および無機ポリマーを、固体表面用の材料として用いることができる。ポリマーの例として、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ(4-メチルブテン)、ポリスチレン、ポリメタクリレート、ポリ(エチレンテレフタレート)、レーヨン、ナイロン、ポリ(ビニルブチレート)、シリコーン、ポリフォルムアルデヒド、セルロース、酢酸セルロース、ニトロセルロースなどが挙げられる。その他、使

50

用できる材料として、紙、ガラス、セラミックス、金属、メタロイド、半導体材料、サーメットなどが挙げられる。また、タンパク質などゲルを形成するような物質、すなわちゼラチン、リボポリサッカリド、ケイ酸塩、アガロースおよびポリアクリルアミド、またはいくつかの水相を形成するデキストラン、ポリアルキレングリコール（2～3個の炭素原子のアルキレン）などのポリマー、または界面活性剤、すなわちリン脂質、長鎖（12～24個の炭素原子）のアルキルアンモニウム塩など両親媒性化合物といった物質も挙げられる。固体表面が多孔性である場合、系の性状によって様々な孔径を用いることができる。

#### 【0054】

この測定に用いる標識は、この分野で周知の方法を用いて、目的の測定成分に直接または間接的に結合させることができ、結合細胞に内在するタンパク質であってもよい。種々の標識を用いることができ、測定成分はいくつかの方法のいずれかにより標識化される。標識の選択は、要求される感度、化合物との接合のしやすさ、安定性に関する要件および利用可能な器具によって異なる。最も一般的な検出方法は、<sup>3</sup>H、<sup>125</sup>I、<sup>35</sup>S、<sup>14</sup>Cまたは<sup>32</sup>Pで標識化された成分などを用いたオートラジオグラフィーの使用である。放射性同位元素の選択は、合成のしやすさ、安定性の変動および選択した同位元素の半減期を原因とする調査優先性によって異なる。その他の非放射性の標識には、標識化した抗体、フルオロホア、化学ルミネセンス剤、酵素に結合するリガンド、および標識化したリガンドと特異的に結合する抗体が含まれる。

#### 【0055】

好適な蛍光標識として、フルオレセインおよびその誘導体、ローダミンおよびその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロンなどが挙げられる。化学ルミネセンス成分として、ルシフェリン（発光酵素）および2,3-ジヒドロフラジネジオン、すなわちルミノールが挙げられる。標識として用いることのできる酵素は、主としてヒドロラーゼ（加水分解酵素）、特にフォスファターゼ（リン酸酵素）、エステラーゼ（エステル分解酵素）およびグリコシダーゼ、またはオキシドレダクターゼ（酸化還元酵素）、特にペルオキシダーゼ（過酸化酵素）である。また、標識として、接着を阻害しなければならない細胞に存在する酵素またはその他のタンパク質を使用できる。その結果、その酵素の量が結合量を測定するための標識として用いられる。ミエロペルオキシダーゼは、HL-60中に存在するこうしたタンパク質の1つであり、後述する結合阻害試験で用いる標識として有用である。使用されうる種々の信号生成系の検討に関しては、米国特許第4,391,904号に記載があり、これは本明細書に参照として組み込まれる。

#### 【0056】

##### 薬剤用化合物

本発明はまた、治療に有効な量の意図されたSL<sub>e</sub><sup>X</sup>類似物または接合体化合物または製剤に使える塩を、製剤に使えるキャリアまたは投与経路に適した希釈液に溶解または分散させた薬剤用化合物を提供する。次の記載から理解されるように、治療に有効な量はきわめて幅広い。炎症関連疾患の治療に用いる場合、シリルSL<sub>e</sub><sup>X</sup>がセレクチンを生成する細胞表面に結合することを阻害しうる量で十分であり、好ましくは1/2以上阻害しうる量である。基本的な細胞接着を阻害するための量は、約5～約60mg/kgである。

#### 【0057】

本発明の成分は、経口的または非経口的（すなわち、筋肉注射、腹腔注射、静脈注射または皮下注射またはインプラント）、経鼻的、経膣的、経直腸的、経舌下的または局所的に投与することができる。製剤については従来から周知であり、たとえばRemington's Pharmaceutical Sciences（18版）、A.Gennaro編、1990、Mack Publishing Company、Easton、PAおよびLanger、Science、249: 1527-1533（1990）を参照できる。経口投与を目的とした成分は、固体または液体の形状をとり、薬剤用化合物の製造に関する従来技術によって生成できる。これらの成分には、より口当たりのよい薬剤とするため、任意で甘味剤、風味剤、着色料、香料および/または保存剤を含有させることができる。固形の経口投与用剤型として、カプセル剤、錠剤、丸薬、粉剤および顆粒剤が挙げられる。こうした固形の

10

20

30

40

50

剤型においては、活性成分は、少なくとも1つの製薬に使用可能な不活性キャリアまたは添加剤と混合される。これらには、たとえば炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、セルロース、デンプン、リン酸カルシウム、リン酸ナトリウム、カオリンなどの不活性希釈剤が含まれる。結合剤、緩衝剤および/または潤滑剤（すなわち、ステアリン酸マグネシウム）を用いることもできる。錠剤および丸薬はさらに腸溶性コーティングを施すことができる。

【0058】

液体の経口投与用剤型として、製薬に使用できるエマルション、溶液、懸濁液、シロップおよび軟ゼラチンカプセル剤が挙げられる。これらの剤型は、従来から一般に使用される水性媒体または油性媒体などの不活性の希釈剤を含有しうる。こうした不活性の希釈剤以外に、成分には保湿剤、乳化剤および懸濁剤などの添加剤を含めることができる。10

【0059】

好ましくは、薬剤用化合物は静脈内に投与する。非経口投与のための製薬として、無菌の水性溶液または非水性溶液、懸濁液またはエマルションが挙げられる。種々の水性のキャリア、すなわち、水、緩衝水、0.4%生理食塩水などを使用することができる。その他、好適なキャリアの例としては、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、ゼラチン、水素添加したナフタレン、およびオレイン酸メチルなどの注射可能な有機エステルが挙げられる。こうした製剤は、保存剤、保湿剤、緩衝剤、乳化剤および分散剤などの補助物質を含有することができる。生体適合性および生体分解性のあるラクチドポリマー、ラクチド/グリコリドコポリマー、またはポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンコポリマーを用いて、成分の放出を制御することができる。その他、本発明の成分を腹腔内へ送達するシステムで生理的に有用なものとして、エチレン-酢酸ビニルコポリマー粒子、浸透ポンプ、インプラント注入システムおよびリポソームが挙げられる。20

【0060】

液剤は、たとえば細菌除去フィルターによる濾過、成分への殺菌剤の組込み、または成分への照射または成分の加熱により、滅菌することができる。あるいは、無菌固形成分の形状で製造し、使用直前に滅菌水または何らかの滅菌した注射液に溶解させることもできる。

【0061】

液剤に用いるSLe<sup>X</sup>類似物化合物の濃度は、一般に少なくとも約1重量%で、最大で10~30重量%であり、選択した投与法に適合する液体容量、粘度などによって選択される。経口投与では、一般に有効成分（すなわち、SLe<sup>X</sup>類似物化合物）が10~95%、好ましくは約20%である（上記のRemington's supra参照）。

【0062】

エアロゾルによる投与法では、意図されたSLe<sup>X</sup>類似物化合物を、好ましくは界面活性剤または噴射剤とともに細かくして供給する。SLe<sup>X</sup>類似物化合物の典型的な割合は、約0.5~約30重量%であり、好ましくは約1~約10重量%である。界面活性剤は当然非毒性でなければならず、噴霧剤に溶解可能であることが好ましい。こうした添加剤の代表例は、カプロン酸、オクタン酸、ラウリン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノレイン酸、リノレン酸、オレステリン酸、オレイン酸などの6~22個の炭素原子を含む脂肪酸とエチレングリコール、グリセロール、エリスリトール、アラビトール、マンニトール、ソルビトール、ソルビトール由来のヘキシトール無水物などの脂肪族多価アルコールまたはその環状無水物とのエステルまたは部分エステル、および、これらのエステル由来のポリオキシエチレンおよびポリオキシプロピレン誘導体である。混合または天然のグリセリドなどの混合エステルを使用することができる。界面活性剤は、約0.1~20重量%、好ましくは約0.25~5重量%を成分に含めることができる。成分の残部は、通常、噴霧剤である。液化噴霧剤は典型的には室温でガスであり、圧力下で液化する。好適な液化噴霧剤としては、ブタンおよびプロパンなど、5個までの炭素原子を含む低級アルカン、および好ましくはフッ化またはフッ化塩化アルカンがある。上記の混合物を用いることもできる。エアロゾルを生成するには、好適なバルブを備えた容器に、微細化した化合4050

物および界面活性剤を含有する適切な噴霧剤を充填する。このように、成分はバルブの作動によって放出されるまで高圧で維持される。

【0063】

上述の通り、本発明の成分の有効成分量は多岐にわたる。投与される特定の S L e<sup>X</sup> 化合物、投与時間、投与経路、製剤の性質、排泄率、治療対象となる特定の疾患およびその重症度および、患者の年齢、体重、健康状態および性別をはじめとする種々の因子に応じて、調節すべき正確な個々の添加量を当業者は判断しうる。一般に、1日あたり 10 μg / kg・体重 ~ 100 mg / kg・体重の用量を1回または数回に分けて投与する。必要とされる用量は、種々の投与経路によって効率が異なることから幅広いといえる。たとえば、経口投与は一般に静脈注射による投与よりも高用量を必要とすると考えられる。これらの種々の用量は、従来から周知である標準的な適正化の実験的手法を用いて調節することができる。一般に、治療に有効な正確な用量は、上述の因子を考慮して医師の参加のもとで決定する。

【0064】

S L e<sup>X</sup> 化合物は、たとえば米国特許第5,672,659号および第5,595,760号に記載のあるように、徐放性成分に含めて投与することができる。即放性成分を使用するか、徐放性成分を使用するかについては、治療する病態による。病態が急性または超急性疾患からなる場合、即放タイプによる治療が徐放性成分によるよりも好ましい。あるいは、予防的治療または長期にわたる治療の場合は、徐放性成分の方が一般には好ましい。

【0065】

本発明の薬剤用化合物は、種々の疾患に起因する細胞接着を遮断または阻害するために用いることができる。たとえば、多数の炎症性疾患は、セクレチンが血管内皮細胞および血小板に発現することに関係する。治療すべき炎症性反応は、特異的または非特異的防御系のいずれかまたはその両方に対する反応である。特異的防御系反応の例として、ウイルスなどの抗原への抗体反応、および遅延型過敏反応が挙げられる。非特異的防御系反応の例として、一般に免疫記憶が機能しない白血球を介する炎症性反応が挙げられる。こうした細胞には、マクロファージ、好酸球および好中球が含まれる。非特異的反応の例としては、ハチ刺され直後の腫れ、および細菌感染部位への末梢単核 (PMN) 白血球の凝集 (たとえば、細菌性肺炎における肺浸潤および膿瘍における膿形成) が挙げられる。

【0066】

その他、治療可能な疾患としては、たとえばリウマチ様関節炎、虚血後の白血球を介する組織障害 (再かん流障害)、凍傷またはショック、急性の白血球を介する肺障害 (たとえば、成人呼吸困難症候群)、喘息、感染症、血栓性疾患 (たとえば、卒中、心筋梗塞、深部静脈血栓症、肺塞栓など)、外傷性ショック、敗血性ショック、腎炎、およびアトピー性皮膚炎、乾せん症および炎症性腸疾患をはじめとする急性および慢性炎症が挙げられる。アテローム性硬化症および凝血などの種々の血小板を介する症状も治療することができる。また、腫瘍の転移は循環する癌細胞の接着を阻害することによって、阻害または予防することができる。たとえば、結腸のメラノーマ (黒色腫) およびカルチノーマ (癌腫) が挙げられる。

【0067】

哺乳類における炎症性反応の複雑性に照らせば、意図された薬剤用化合物がさらに他の細胞接着分子の機能を阻害することが知られている化合物を含むことができることは、当業者には容易に理解しうる。たとえば、接着分子のインテグリンファミリー (integrin family) に属する物質は、感染部位における白血球の管外遊出において役割を果たす。セレクチン受容体をはじめとする細胞間の接着分子受容体の検討およびその免疫機能に果たす役割に関しては、Springer, Nature, 346: 425-434 (1990) を参照できる。また、意図された薬剤用化合物を用いた治療が奏効するかどうかは、治療すべき条件の進行状況によっても決定される。異なる接着分子は、疾患または条件の経過において、様々な因子によって増加または減少するため、炎症状態が異なればそれに応じた薬剤用化合物が治療に要求されることは、当業者に理解できることである。

10

20

30

40

50

## 【0068】

S Le<sup>X</sup> 類似物化合物を含む薬剤用化合物は、予防処置として、治療処置としても、投与することができる。治療目的で用いる場合、組成物はすでに上述のような疾患を来たした患者に、セレクチンを発現する細胞と S Le<sup>X</sup> を表面に生ずる細胞との結合を阻害するのに十分な量（すなわち、疾患およびその合併症を治癒させるか、少なくとも部分的に症状を抑えるのに十分な量）だけ投与される。上述の通り、この目的を果たすための正確な有効量は、特に疾患の重症度および患者の体重および全身状態によって異なるが、一般に 70 kg の患者では 1 日あたり S Le<sup>X</sup> 類似物化合物を約 0.5 mg ~ 約 10,000 mg であり、さらに一般的には 1 日あたり約 5 mg ~ 約 2,000 mg である。

## 【0069】

予防目的で用いる場合、意図された成分を含む組成物は、特定の疾患を来すおそれがあるか、さもなければリスクを有する患者に投与される。この目的で用いる場合も、正確な量は患者の健康状態および体重によって異なるが、一般に 70 kg の患者では 1 日あたり約 0.5 mg ~ 約 5,000 mg、さらに一般的には体重 70 kg に対して 1 日あたり約 5 mg ~ 約 2,000 mg である。

## 【0070】

意図された S Le<sup>X</sup> 類似物または接合体化合物の接着阻害量を評価するもう一つの方法は、その結合の強さを S Le<sup>X</sup> 自体の結合の強さと比較する方法である。この比較に便利な方法に、比較する 2 つの物質の IC<sub>50</sub>（結合を半分に阻害するのに必要な濃度）を使用し、S Le<sup>X</sup> の量および IC<sub>50</sub> が 2 倍の S Le<sup>X</sup> 類似物化合物の量に用いられている阻害量に基づくものである。

## 【0071】

成分の 1 回投与または反復投与は、医師が選択する用量および投与法で実現することができる。どのような場合でも、製剤は、患者の治療が奏効するのに十分な量の S Le<sup>X</sup> 類似物または接合体化合物を提供する必要がある。

## 【0072】

また、本発明の化合物は診断用の薬剤として使用することもできる。たとえば、標識化した化合物は炎症を有すると考えられる患者において、炎症または主要の転移の部位を確かめるために用いることができる。この使用目的のため、化合物は <sup>125</sup>I、<sup>14</sup>C またはトリチウムで標識化される。あるいは、上述の通り、本発明の S Le<sup>X</sup> 接合体化合物は、MR I、超音波または放射線造影技術に有用な診断用の薬剤を含むリポーター部分と、結合させることができる。MR I 用の常磁性金属錯体の投与量は、約 0.05 ~ 約 0.3 mmol / kg・体重である。放射性薬剤用化合物では、ある臓器を診断のため造影するなどという使用目的によって、従来から公知の方法で投与量を選択できる。投与量は約 2 ~ 200 mCi または、その放射性薬剤が有する生体内の線量によって制限される量である。

## 【0073】

化合物の合成

本発明の S Le<sup>X</sup> 類似物は多数の方法で生成することができる。代表的な合成方法を、下記の実施例の反応式 1 ~ 9 で概説する。この概説は、S Le<sup>X</sup> 類似物 4 - (アセタミド) フェニル (メチル 5 - アセタミド - 3,5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラヌロネート) - (2 - > 3) - O - ( - D - ガラクトピラノシリル) - (1 - > 4) - O - ( - L - フコピラノシリル - (1 - > 3) ) - 2 - デオキシ - 2 - (アセタミド) - - D - グルコピラノシドの生成方法を説明するものであるが、異なる適切な素材を最初の材料として用いれば本発明のその他の類似物が得られる。このように、本明細書で述べる合成方法は、一般的な性質のものである。

## 【0074】

式 2 a の四糖の合成は、2 つの基本的な段階からなる。第 1 に、4 個の異なる保護された单糖サブユニット（グルコサミニル、フコシリル、ガラクトシリルおよびシアリル残基）を合成する。次に、このモノマーを結合させて、最終的な四糖化合物を得る。4 つのモノマーアユニットは好ましくは、グルコサミニル、フコシリルおよびガラクトシリル残基を最初に組

10

20

30

40

50

み合わせ、その後シアリル残基を追加するという3+1手法を用いて結合させる。あるいは、保護されたフコシル-グルコシドおよびシアリル-ガラクトシドを生成し、次にこの2個の二糖を結合させるという2+2手法を用いることができる。

【0075】

本発明を以下の実施例で説明するが、実施例ではSLe<sup>X</sup>類似物の合成および結合特性が記載される。ただし、これらの実施例は本発明を制限するものではない。

【0076】

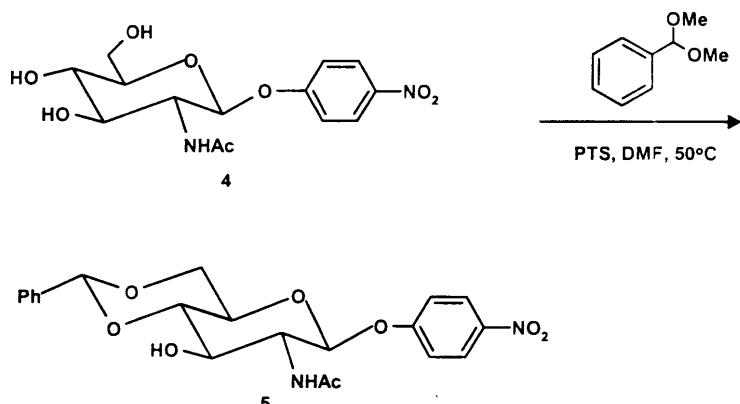
シアリル・ルイス<sup>X</sup>類似物4-(アセタミド)フェニル(メチル5-アセタミド-3,5-ジデオキシ-D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピラヌロネート)-(2->3)-O-(D-ガラクトピラノシル)-(1->4)-O-(L-フコピラノシル-(1->3))-2-デオキシ-2-(アセタミド)-D-グルコピラノシドの合成方法の概説

a. 4個の保護された単糖ユニットの合成：

i) 4-ニトロフェニル2-アセタミド-4,6-ベンジリジン2-デオキシ-D-グルコピラノシド(化合物5)の合成

【化24】

式1



式1に示すように、ベンジリジンが保護する(4-ニトロフェニル)2-アセタミド-2-デオキシ-D-グルコピラノシド(化合物4)を、ベンズアルデヒドジメチルアセタールで、97%収率のDMFにおけるPTSによる触媒下で処理することにより(実施例2参照)、4-ニトロフェニル2-アセタミド-4,6-ベンジリジン2-デオキシ-D-グルコピラノシド(化合物5)を得て、フコシル供与体(化合物9)と結合させる際のグリコシル受容体として用いた。

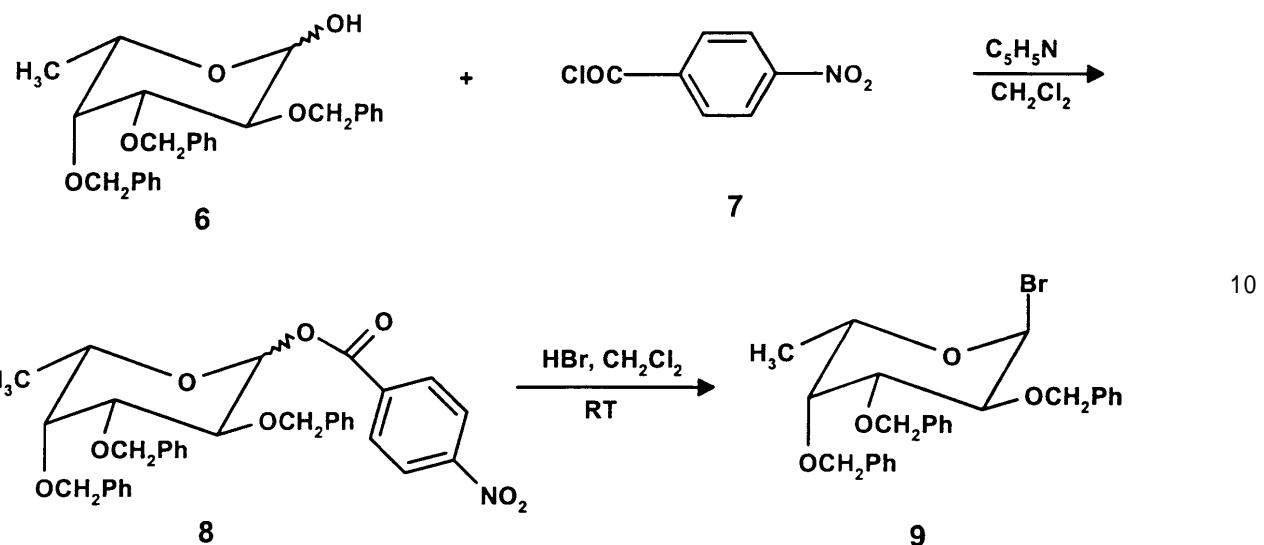
【0077】

ii) 2,3,4-トリ-O-ベンジル-L-フコピラノシルプロミド(化合物9)の合成

【化25】

40

式 2

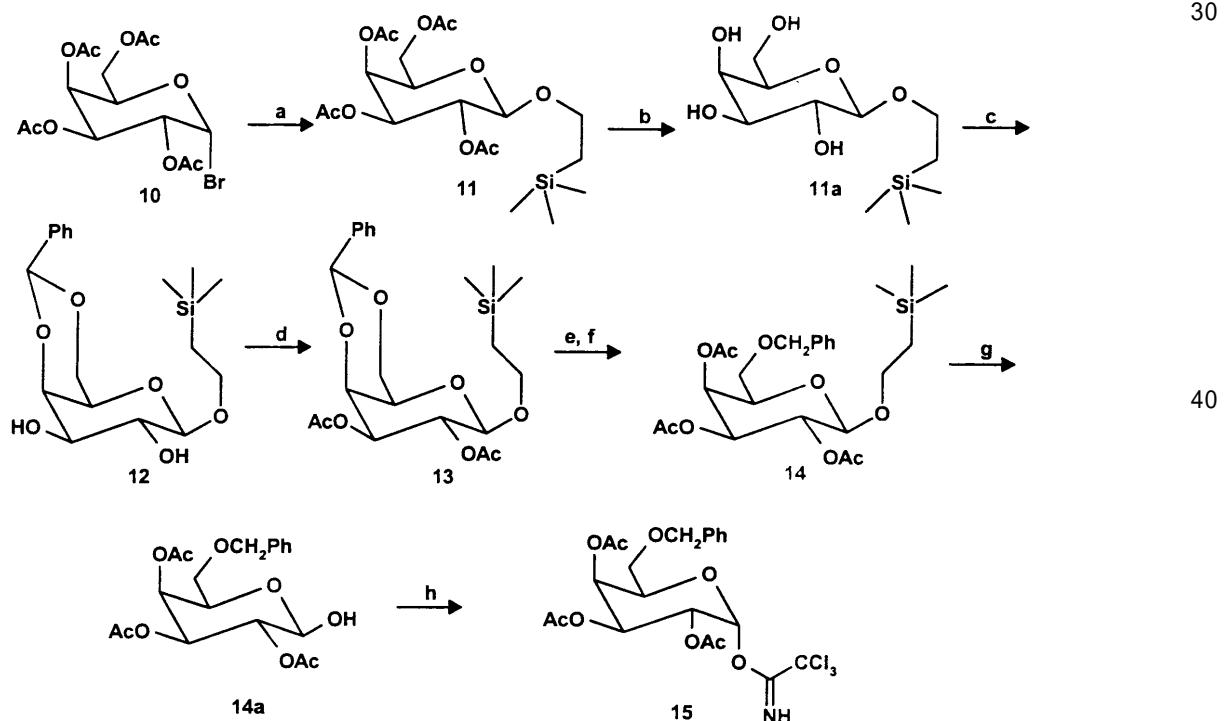


式 2 は、フコシル供与体（化合物 9）の調製方法を示す。2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - L - フコピラノース（化合物 6）を、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中のピリジンの存在下で、4 - 塩化ニトロベンゾイル（化合物 7）を用いて処理し、80 % 収率の および エピマー混合物である中間生成物（化合物 8）を得た。混合物 8 の CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中の HBr による臭素化により、95 % 収率でフコシル - プロミドを得た。このプロミドは不安定であったため、すぐに次の段階で使用した。

【0078】  
 iii) 2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - - D - ガラクトピラノシリルトリクロロアセチミド（化合物 15）の合成

【化 26】

式 3



式 3 では以下の試薬を用いた。

50

[ 0 0 7 9 ]

- a)  $(\text{CH}_3)_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{HgO}$ ,  $\text{HgBr}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$   
b)  $\text{NaOMe}$ ,  $\text{MeOH}$   
c)  $\text{PhCH}(\text{OCH}_3)_2$ ,  $\text{PTS}$ ,  $\text{DMF}$   
d)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{N(Et)}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$   
e)  $\text{BH}_3$ ,  $\text{NMe}_3$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{THF}$ , モレキュラーシープ4  
f)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{N(Et)}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$   
g)  $\text{TFA}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  および  
h)  $\text{CCl}_3\text{CN}$ ,  $\text{DBU}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 。

[ 0 0 8 0 ]

式 3 は、ガラクトピラノシリル供与体（化合物 14）の生成方法を示す。まず、2, 3, 4, 6-テトラ-O-アセチル- -D-ガラクトピラノシリルブロミド（化合物 10）を、 $\text{CaSO}_4$ 、 $\text{HgO}$ および $\text{HgBr}_2$ の存在下で、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中の1-（トリメチルシリル）-エタノールと反応させ、74%収率でガラクトシド 11を得た。メタノール中のナトリウムメトキシドで脱アセチル化し、DMF中のPTSの存在下でベンジリジン化して、84%収率で保護されたジオール 12を得た。このジオール 12 を、 $\text{NEt}_3$ の存在下で $\text{AC}_2\text{O}$ でアセチル化して、82%収率でジアセタート 13を得た。THF中の $\text{AlCl}_3$ の存在下で、 $\text{BH}_3\text{-NMe}_3$ で処理することにより、化合物 13 のケタール環を開環し、同時に中間生成物のヘミアセタールを還元した後、ピリジン中の $\text{AC}_2\text{O}$ でアセチル化して、49%収率で直交的に保護されたガラクトシド化合物 14を得た。化合物 14 を TFA で加溶媒分解し、続いて $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中のDBUの存在下で $\text{CCL}_3\text{CN}$ と反応させることにより、75%収率で 2, 3, 4-トリ-O-アセチル-6-O-ベンジル- -D-ガラクトピラノシリルトリクロロアセチミデート（化合物 15）を得た。6.58 (d,  $j_{1,2} = 3.5\text{ Hz}$ ) および 8.63 ( $\text{C} = \text{NH}$ ) でプロトン NMR 測定を行い、化合物 15 のアノマー配置は であることを確認した。

【 0 0 8 1 】

iv) メチル 5 - アセタミド - 4 , 7 , 8 , 9 - テトラ - O - アセチル - 3 , 5 - ジデオキシ - S - フェニル - 2 - チオ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピロノスロネート (化合物 19)

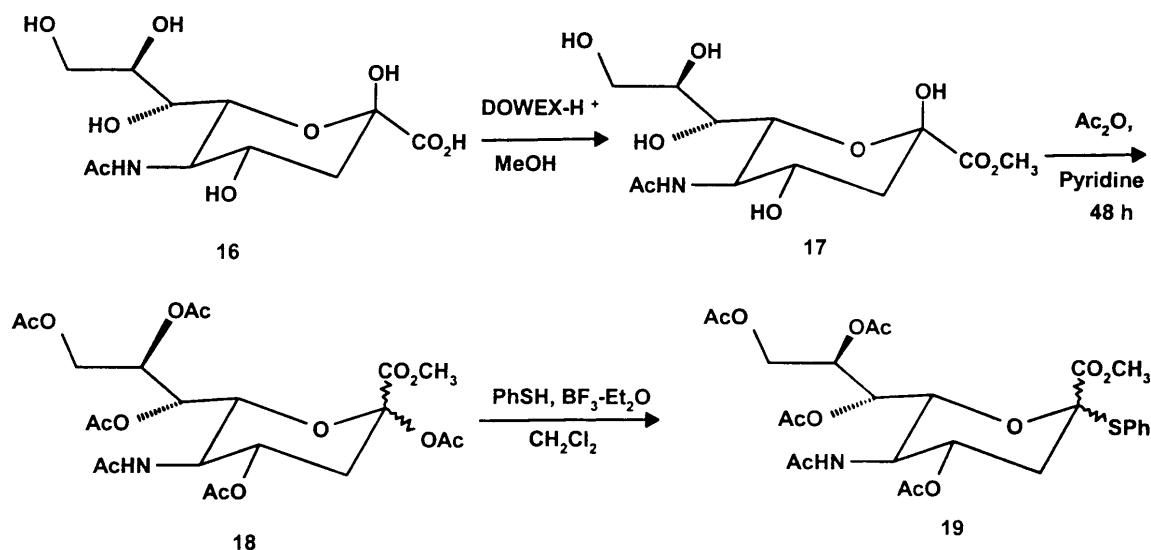
【化 2 7】

10

20

30

文4



40

式 4 は、シアル酸部分に基づくフェニルチオ单糖 19 の生成方法を示す。5 - アセタミド - 3 , 5 - ジデオキシ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピロノスロン酸 (化合物 16 ) を、Dowex - 50 - H<sup>+</sup> の存在下で MeOH で処理し、98 % 収率で対応す

50

るメチルエステル化合物17に変換した。エステル(化合物17)のフェニルチオグリコシド(化合物19)への変換は、Sharma and Eby, Carbohydrate Res., 127: 201-210 (1984)に記載されている方法で実現した。化合物17をピリジン中のAc<sub>2</sub>Oで過アセチル化して、89%収率で、NMRスペクトルによればアノマーの混合物(3.3/1.0)であるアセチル化メチルエステル18を得た。化合物18をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中のBF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>Oの存在下で、チオフェノールで処理して、92%収率でアノマーの混合物(80/20)である、メチル5-アセタミド-4,7,8,9-テトラ-O-アセチル-3,5-ジデオキシ-S-フェニル-2-チオ-D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロビロノスロネート(化合物19)を得た。

【0082】

10

b. 保護されたモノマーの結合による接合可能なアミノフェニル四糖(化合物2a)の入手:

4個のモノマーユニットの合成を終了し、次に、これらを結合して所望の接合可能なアミノフェニル四糖2aを合成する。モノマーをグルコサミニル残基、フコシル残基、ガラクトシル残基、最後にシアリル残基という順序で組み合わせる3+1手法が、最も有効かつ許容可能な合成方法である。

【0083】

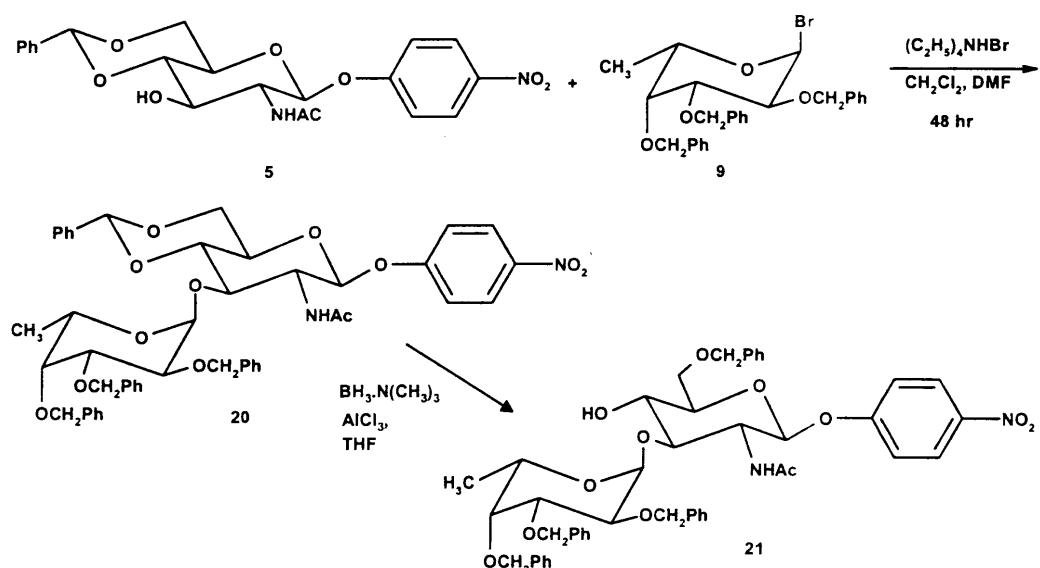
i) 保護されたグルコサミンと保護された臭化フコシルを糖化して、二糖ユニット21を得る。

【0084】

20

【化28】

式5



式5は、二糖ユニット21の合成方法を示す。4-ニトロフェニル2-アセタミド-4,6-ベンジリデン-2-デオキシ-S-D-グルコピラノシド(化合物5)を、DMFおよびCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>の混合物中のTEABおよびモレキュラーシーブ4の存在下で、2,3,4-O-トリベンジル-2-臭化フコピラノシリル(化合物9)と結合させ、69%収率で二糖20を得た。5.06でのプロトンNMR測定で、二糖20中のフコースユニットのアノマー配置はであることを確認した。THF中のAlCl<sub>3</sub>の存在下でBH<sub>3</sub>-NMe<sub>3</sub>で処理することにより、化合物20のアセタール環を開環し、同時に中間生成物のヘミアセタールを還元して、50%収率で直交的に保護された4-ニトロフェニル6-O-ベンジル-2-デオキシ-2-アセタミド-(3->1)-(2,3,4-O-トリ-O-ベンジル-2-デオキシ-L-フコピラノシリル)-D-グルコピラノシド(化合物21)を得た。

40

50

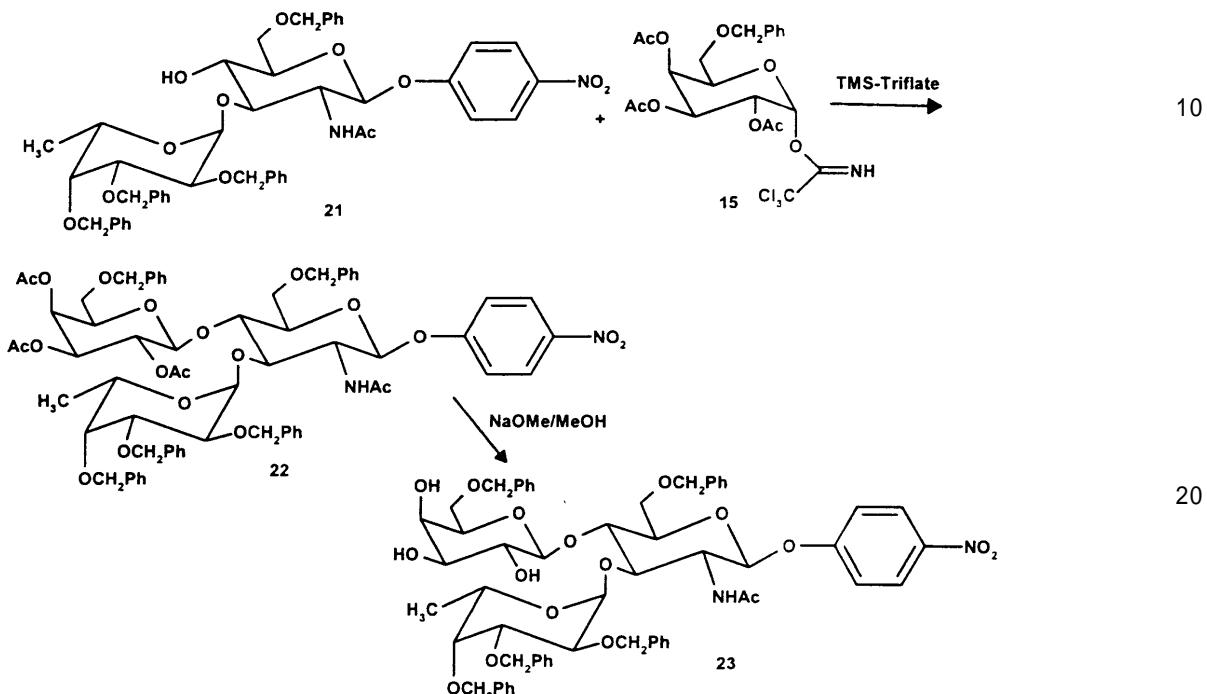
## 【0085】

ii) 二糖21を保護されたガラクトピラノシリトリクロロアセチミデートで糖化して、三糖23を得る。

## 【0086】

## 【化29】

式6



三糖ユニット23を式6に示すように調製した。4 - ニトロフェニル6 - O - ベンジル - 2 - デオキシ - 2 - アセタミド - (3 - > 1) - (2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル) - - D - グルコピラノシド(化合物21)および2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシリトリクロロアセチミデート(化合物15)をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>に溶解した溶液を、-5で1時間、0で48時間、TMS - OTfで処理して、63%収率で4 - ニトロフェニル6 - O - ベンジル - 2 - デオキシ - 2 - アセタミド - (4 - > 1) - (6 - O - ベンジル - 2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - - D - ガラクトピラノシリル) - (3 - > 1) - (2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル) - - D - グルコピラノシド(化合物22)を得た。メタノール中のNaOMeで脱アセチル化を行い、89%収率で4 - ニトロフェニル6 - O - ベンジル - 2 - デオキシ - 2 - アセタミド - (4 - > 1) - (6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシリル) - (3 - > 1) - (2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル) - - D - グルコピラノシド(化合物23)を得た。

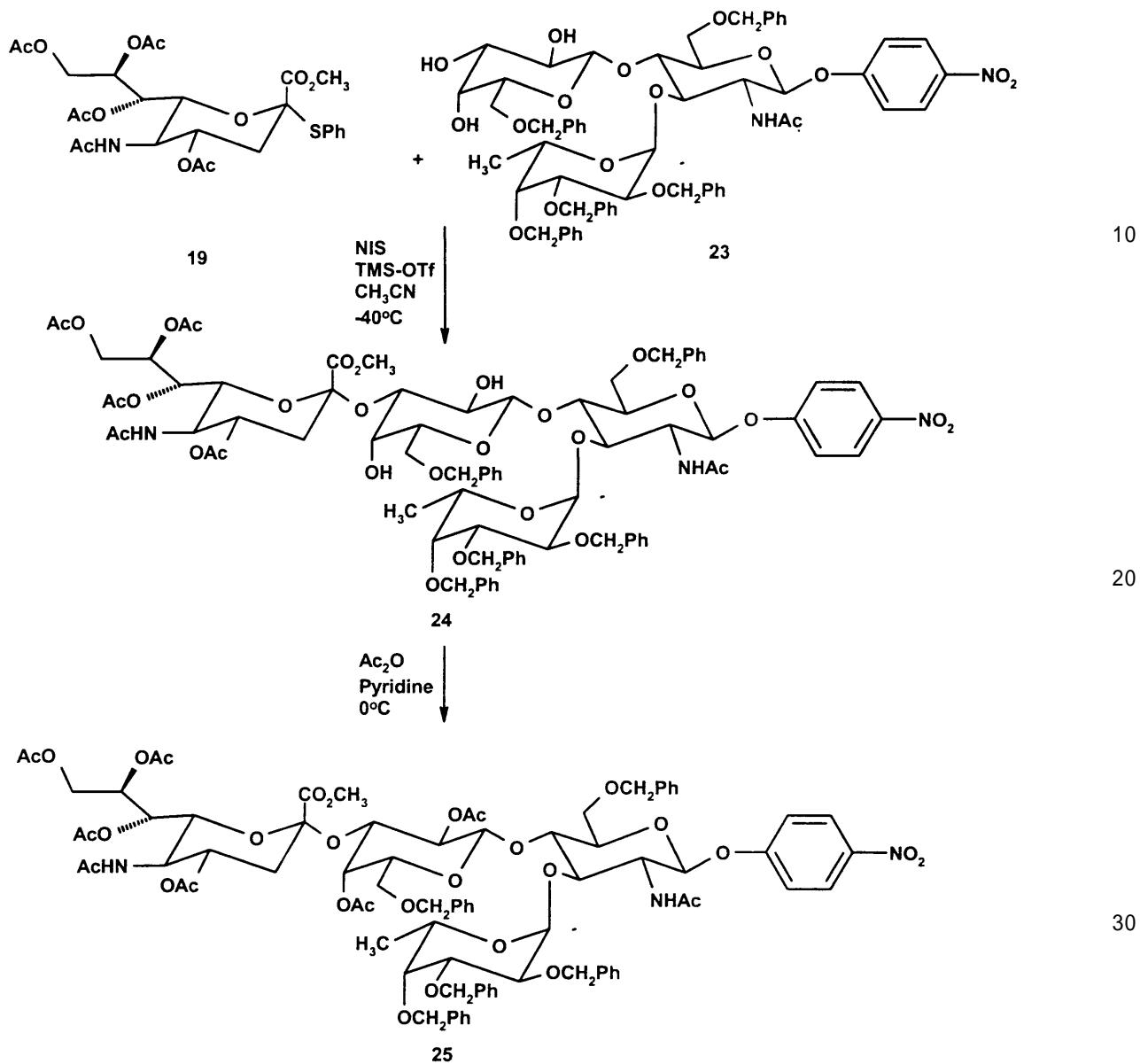
## 【0087】

iii) NIS - TMS - OTfにより、三糖23と保護されたチオフェニルシリアル酸メチルエステルユニットとの糖化を促進し、四糖25を得る。

## 【0088】

## 【化30】

式7



四糖ユニット25の合成を実現するため、最終的な結合を式7に示す通り行った。メチル5-アセタミド-4,7,8,9-テトラ-O-アセチル-3,5-ジデオキシ-S-フェニル-2-チオ-D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピロノスロネート(化合物19)および4-ニトロフェニル6-O-ベンジル-2-デオキシ-2-アセタミド-(4-1)-(6-O-ベンジル-2-D-ガラクトピラノシリル)-(3-1)-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-2-L-フコピラノシリル)-2-D-グルコピラノシド(化合物23)をアセトニトリルに溶解した溶液を、-40まで冷却し、次に、NISおよびTMS-OTfで処理して、65%収率で4-ニトロフェニル(メチル5-アセタミド-4,7,8,9-テトラ-O-アセチル-3,5-ジデオキシ-2-D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピラノスロネート)-(2->3)-(6-O-ベンジル-2-D-ガラクトピラノシリル)-(1->4)-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-2-L-フコピラノシリル)(1->3))-2-アセタミド-6-O-ベンジル-2-デオキシ-2-D-グルコピラノシド(化合物24)を得た。3つのヒドロキシリル基のうち最も束縛されていない基が反応すると、ほぼ例外なく所望のグリコシル結合が得られることは言及に値する。この知見はTeradaら、J. Carbohydr. Chem., 8:285 (1989) の報告<sup>21</sup>とも矛盾しない。ピリジン中のAc<sub>2</sub>Oを用いて0でアセチル化して、78%収率で所望の4

-ニトロフェニル(メチル5-アセタミド-4,7,8,9-テトラ-O-アセチル-3,5-ジデオキシ-D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピラノスロネート)-(2->3)-(6-O-ベンジル-2,4-ジ-O-アセチル-D-ガラクトピラノシリル)-(1->4)-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-L-フコピラノシリル)-(1->3))-2-アセタミド-6-O-ベンジル-2-デオキシ-D-グルコピラノシド(化合物25)を得た。

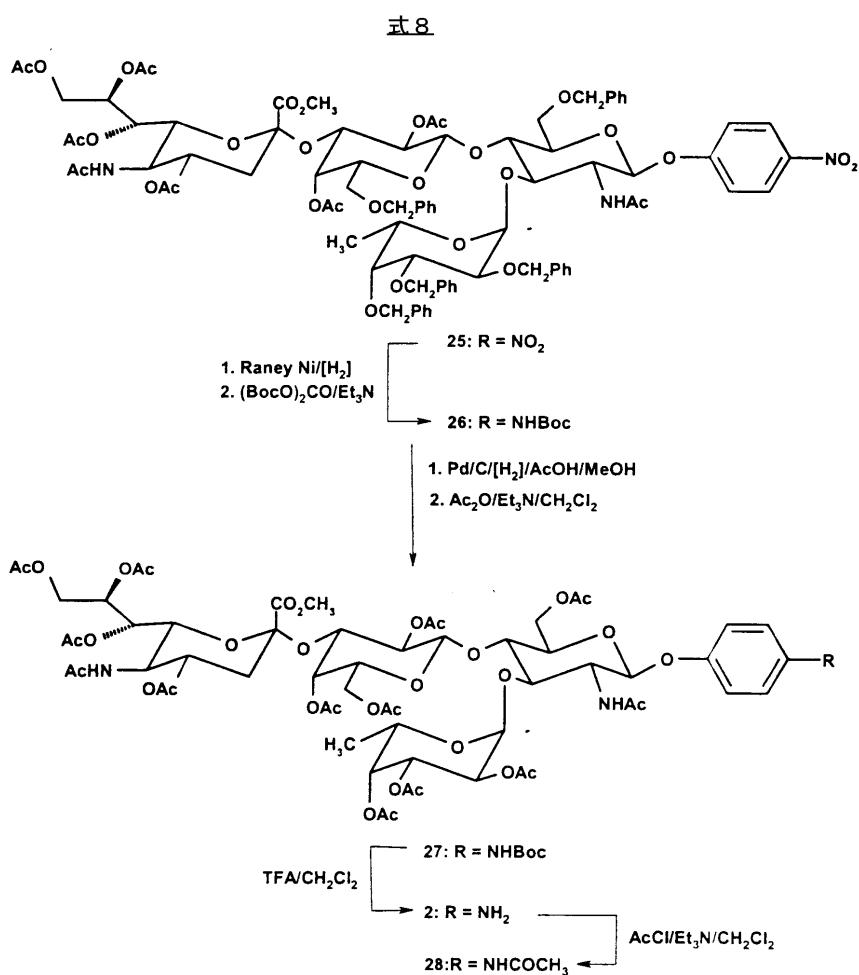
【0089】

c. 化合物25の官能基を脱保護および再保護し、四糖ユニットに有効なNを結合させる。

【0090】

【化31】

10



20

30

四糖ユニット25は、塩基に不安定なエステル保護基と、塩基に安定なベンジル保護基の両方を有する。これは、実施した化学処理の性質および特定の保護基のモノマーのみがすぐに利用可能であったことによる。我々の意図は、ニトロ基を場合によっては還元し、その結果得られたアミノ基を多官能性の足場に接合させるのに用いることができるようすることであった。この目的を達するためには、均一な塩基に不安定な保護基が、最終分子中のすべてのヒドロキシルに付いていること、すなわち過アセチル保護が望ましい。この目的は、式8に記載の手法に従うことにより実現した。

【0091】

混合し保護した四糖25を、メタノール中のラネー・ニッケルを用いて、50psiで水素添加し、その結果得られたアミン生成物をBoc-カルボネートおよびTHF中のEt<sub>3</sub>Nで処理して、75%収率でカルバメート26を得た。化合物26をメタノール混合物中のPd(OH)<sub>2</sub>および酢酸といった触媒で水素添加分解により脱ベンジル化し、次に

40

50

$\text{Et}_3\text{N}$  の存在下で  $\text{Ac}_2\text{O}$  でアセチル化して、86% 収率で過アセチル化カルバメート 27を得た。化合物 27 を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中で TFA 脱保護し、99% 収率で所望の接合可能な保護されたシアリル・ルイス<sup>X</sup>類似物 2aを得た。さらに、 $\text{Et}_3\text{N}$  の存在下で  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中の塩化アセチルを用いてアセチル化を行い、86% 収率で相当するアセタミド 28を得た。これは活性化した親電子性物質と接合がすばやくできることを示した。

## 【0092】

d. 過アセチル化アセタミド-フェニルシアリル・ルイス<sup>X</sup>エステル類似物を、完全に脱保護したシアリル・ルイス<sup>X</sup>酸 3a に変換する。

## 【0093】

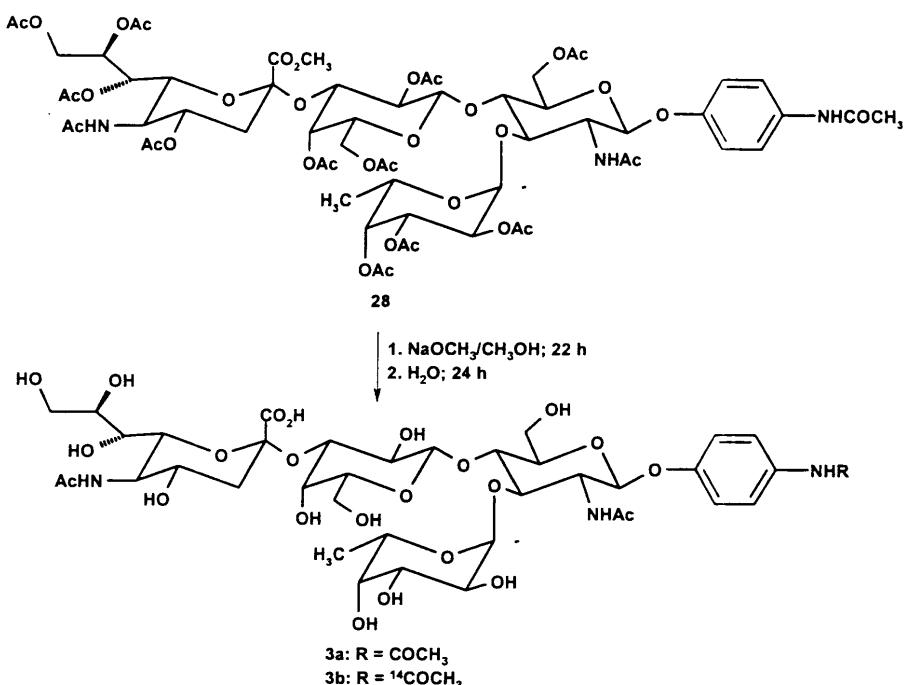
過アセチル化誘導体 28 の脱保護方法を式 9 に示す。メタノール中のナトリウムメトキシドを用いた第一処理で、Zemplin 脱アセチル化を行い、次に、アルカリ環境で水で処理して、83% 収率で所望の 4-(アセタミド)フェニル(5-アセタミド-3,5-ジデオキシ-D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピラノスロン酸-(2->3)-(-D-ガラクトピラノシリル)-(1->4)-(-L-フコピラノシリル)-(1->3))-2-アセタミド-2-デオキシ-D-グルコピラノシド(化合物 3a)を得た。この接合可能な四糖は、逆相 HPLC で純度 100% であることを確認し、高分解能質量分析法および NMR データによって完全に同定した。

## 【0094】

## 【化32】

10

式9



20

## 【0095】

30

e.  $^{14}\text{C}$ -アセタミド-フェニルシアリル・ルイス<sup>X</sup>酸 3b の合成

本明細書に記載したアセタミド-フェニル類似物 3a の合成方法に従うが、最後から 2 番目の N-アセチル化工程で、塩化アセチルの代わりに  $\text{CH}_3^{14}\text{COCl}$  を用いて、Vitracax Co. 社 (660 S. Jefferson St., Placentia, CA92670) の方法で放射性標識類似物 3b を合成した。この生成物の化学的純度は > 99%、放射化学的純度は > 99%、特異活性は 50 mCi/mmol であった。

## 【0096】

## 実施例 1

p-ニトロフェニル 2-アセタミド-4,6-ベンジリジン 2-デオキシ-D-グルコピラノシド(化合物 5)の合成

40

50

この化合物の生成は、J. Roger et al., Carbohydrate Res., 6:184-196 (1968) の記載、および下記の通り行った。

【0097】

p - ニトロフェニル - 2 - アセタミド - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド ( 化合物 4 ) ( 10.0 g, 30 mmol ) 、ベンズアルデヒドジメチルアセタール ( 10.0 g ) および PTS . H<sub>2</sub>O ( 0.18 g ) を DMF ( 50 mL ) 中で混合して、50 で約 3 時間攪拌した。この反応混合物の TLC によって、この出発材料が完全にベンジリジン誘導体に変換されていることが確認された。この混合物を室温まで冷却し、ゆっくりと氷水 ( 700 mL ) に加えて攪拌した。形成された白色の固形物を濾過によって採集し、水で洗浄して真空中で乾燥し、p - ニトロフェニル 2 - アセタミド - 4 , 6 - ベンジリジン 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド ( 化合物 5 ) ( 12.2 g、収率 97 % ) を得た。TLC 分析 ( シリカゲル、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 中の 5 % MeOH ) では、スポットは 1 つ ( R<sub>f</sub> 0.5、出発材料の 0.25 と比較 ) であり、したがって、生成物が実質的に純度が高いことが示された。このため、この材料を次の工程に用いた。MS : ( M + Na )<sup>+</sup> = 454; <sup>1</sup>H-NMR ( CDCl<sub>3</sub> - DMSO-d<sub>6</sub> ) : 1.91 ( s, 3H, NCOCH<sub>3</sub> ), 3.5 - 4.0 ( m, 5H ), 4.32 ( dd, 1H ), 5.05 ( bs, 1H, OH ), 5.42 ( d, 1H, J = 7.62 Hz, C<sub>1</sub>-H ), 5.58 ( s, 1H, CH(Ph) ), 7.16 ( d, 2H, J = 9.38, Ar-H ), 7.36 ( m, 3H, Ar-H ), 7.49 ( m, 2H, Ar-H ), 8.18 ( d, 2H, J = 9.38 Hz, Ar-H )。スペクトルを 100 % DMSO-d<sub>6</sub> で操作すると、5.61 ( J = 4.69 Hz ) で OH プロトンが二重線で現れ、ベンジリジンプロトン ( OCHO ) は 5.73 ( s ) でわずかに低磁場にシフトした。

【0098】

実施例 2

2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - 1 - O - p - ニトロベンゾイル - - L - フコピラノース ( 化合物 8 ) の合成

この化合物の合成は、M. Dejter-Juszynski と H. M. Flowers, Carbohydrate Res., 18:219-216 (1971) の記載、および下記の通り行った。

【0099】

乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ( 100 mL ) 中の 2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - L - フコピラノース ( 化合物 6 ) ( 6.0 g, 13.45 mmol ) の溶液を冷却し ( 5 ) 、ピリジン ( 7.5 mL ) を加えた後、p - 塩化ニトロベンゾイル ( 化合物 7 ) ( 3.15 g, 17 mmol ) を 5 分間にわたってゆっくりと分けて添加した。添加後、この混合物を 5 で 5 ~ 10 分間、次に室温で 18 時間攪拌した。この混合物を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ( 100 mL ) で希釈し、この溶液を冷却 1N HCl、水、冷却水性 NaHCO<sub>3</sub> 、水の順序で連続して洗浄し、乾燥および濃縮して、ゴム様の生成物 ( 9.0 g ) を得た。TLC 分析 ( シリカゲル、ヘキサン - EtOAc 3 : 1 ) を行い、大きなピーク ( R<sub>f</sub> 0.6 ) および小さなピーク ( R<sub>f</sub> 0.48 ) の存在を確認したが、出発材料は認められなかった。これは、および異性体の混合物が、エステルとして存在する場合には分離することによると思われる。生成物をシリカゲル ( 400 g ) のカラムでクロマトグラフィーにかけ、ヘキサン中の 5 ~ 30 % EtOAc で溶離して、50 mL の留分を採集した。留分 65 ~ 75 からは、ゴム様物質の 2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - 1 - O - p - ニトロベンゾイル - - L - フコピラノースを得た ( 6.7 g、収率 85 % )。留分 80 ~ 96 からは、2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - 1 - O - p - ニトロベンゾイル - - L - フコピラノースを得た ( 1.13 g、収率 15 % )。

【0100】

および異性体の両方から同じ - ブロミド ( 化合物 9 ) が得られたため、カラム精製は省略し、その代わりに混合物のままで使用することを決定した。この場合、2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - L - フコピラノース ( 化合物 6 ) ( 25 g, 55 mmol ) を上述の通り p - 塩化ニトロベンゾイル ( 化合物 7 ) で処理し、この粗製材料 ( 33.0 g )

を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 mL) に溶解し、シリカゲルの短いカラムで簡単に濾過を行った。これにより、色材およびその他の極性物質を除去した。この方法により、ゴム様物質のエステルのアノマー混合物（化合物 8）(25.7 g、収率 80%) で得た。

#### 【0101】

異性体の特性：TLC :  $R_f$  0.6 (異性体)；シリカゲル、ヘキサン -  $\text{EtOA}$  c 3 : 1)。MS (ESI) :  $m/z$  601.3 ( $\text{M} + \text{NH}_4$ )<sup>+</sup>；<sup>1</sup>H - NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 1.18 (d, 3H,  $J = 6.45\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ ) , 3.78 (d, 1H, -C<sub>2</sub>H - O) , 3.98 - 4.09 (m, 2H, -CHO) , 4.29 (dd, 1H,  $J = 3.52\text{ Hz}$ ,  $J = 9.97\text{ Hz}$ ,  $\text{OCH}_2$ ) , 4.70 - 5.10 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) , 6.60 (d, 1H,  $J = 3.5\text{ Hz}$ , C<sub>1</sub> - H) , 7.2 - 7.5 (15H, m, Ar - H) , 8.12 (d, 2H, Ar - H) , 8.27 (d, 2H, Ar - H) ; <sup>13</sup>C - NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 16.67 ( $\text{CH}_3$ ) , 69.8 (CH) , 72.94 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ) , 73.34 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ) , 74.96 ( $\text{OCH}_2\text{Ph}$ ) , 75.16 (OCH) , 77.00 (OCH) , 78.47 (OCH) , 92.84 (O - C H - O) , 123.51 , 127.54 , 127.71 , 127.83 , 128.29 , 128.37 , 130.82 , 135.6 , 137.9 , 138.2 , 138.3 (芳香族炭素) , 150.6 (ArC - NO<sub>2</sub>) , 163.30 (C = O)。

#### 【0102】

異性体の特性：TLC : 0.48 (異性体) (シリカゲル、ヘキサン -  $\text{EtOAc}$  c 3 : 1)；MS (ESI) :  $m/z$  601.3 ( $\text{M} + \text{NH}_4$ )<sup>+</sup>；<sup>1</sup>H - NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 1.21 (d, 3H,  $J = 6.45\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ ) , 3.71 (m, 3H,  $\text{OCH}$ ) , 4.72 - 5.05 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ) , 5.82 (d, 1H,  $J = 7.62\text{ Hz}$ , C<sub>1</sub> - H) , 7.18 - 7.41 (m, 15H, Ar - H) , 8.12 (m, 2H, d,  $J = 8.8\text{ Hz}$ , ArH) , 8.24 (d, 2H,  $J = 8.8\text{ Hz}$ , ArH) ; <sup>13</sup>C - NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 16.73 ( $\text{CH}_3$ ) , 71.85 ( $\text{OCH}$ ) , 73.14 ( $\text{OCH}_2$ ) , 74.84 ( $\text{OCH}_2$ ) , 75.27 ( $\text{OCH}_2$ ) , 75.82 (OCH) , 77.60 (OCH) , 82.96 (OCH) , 95.35 (OC<sub>1</sub> - O) , 123.45 , 127.66 , 127.86 , 128.00 , 128.15 , 128.32 , 128.55 , 131.17 , 138.05 , 138.20 (芳香族炭素) , 150.72 (芳香族C - NO<sub>2</sub>) , 163.28 (C = O)。

#### 【0103】

##### 実施例 3

2, 3, 4 - トリ - O - ベンジル - - L - 臭化フコピラノシリル（化合物 9）の合成

この化合物の合成は、M. Deiter-Juszynski と H.M. Flowers, Carbohydrate Res., 18:219 - 216 (1971) の記載、および下記の通り行った。

#### 【0104】

HBr を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) に溶解した飽和溶液を、無水 HBr を 0 で 30 分間、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  に通すことにより生成した。この溶液を、0 ~ 5 の  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (150 mL) に 2, 3, 4 - トリ - O - ベンジルフコピラノース - p - ニトロベンゾエートの - イソマー（化合物 8）(6.5 g, 11 mmol) を溶解した冷却溶液に添加し、この混合物を 5 で 30 ~ 40 分間攪拌した。沈殿した p - ニトロ安息香酸を濾過によって取り出し、濾過物を冷却した飽和  $\text{NaHCO}_3$  および水で連続して中性になるまで洗浄した。この抽出物を乾燥させ ( $\text{MgSO}_4$ )、室温で溶媒を真空によって除去して、粘度のきわめて高い液体の - 臭化フコピラノシリルだけを得た (5.3 g、収率 95%)。

#### 【0105】

同じく、フコピラノシリル - p - ニトロベンゾエート（化合物 8）(583 mg, 1 mmol) の異性体を、HBr の  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) との飽和溶液を用いて 5 で 30 分間処理して、 - 臭化フコピラノシリル (550 mg) を得た。この生成物の NMR スペクトルは、以前に - フコピラノシリル p - ニトロベンゾエートから得た - プロミドのスペクトルと同じであった。しかし、このプロミドは不安定であったため、そのままで即刻次

10

20

30

40

50

の工程で用いた。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 1.17 (d, 3H, J = 6.45 Hz, CH<sub>3</sub>), 3.6-4.2 (m, OCH), 4,8-5.02 (m, OCH<sub>2</sub>), 6.53 (d, 1H, OCHBr), 7.2-7.5 (15H, Ar-H); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 16.61 (CH<sub>3</sub>), 72.36 (OCH), 73.23 (OCH<sub>2</sub>), 74.00 (OCH<sub>2</sub>), 75.59 (OCH<sub>2</sub>), 76.57 (OCH), 74.49 (OCH), 80.02 (OCH), 95.26 (OCHBr), 127.97, 128.09, 128.23, 128.32, 128.43, 128.75, 128.86 (芳香族炭素)。

## 【0106】

実施例4

10

2-(トリメチルシリル)エチル-2,3,4,6-テトラ-O-アセチル- -D-ガラクトピラノシド(化合物11)の合成

この化合物の合成は、K. J. Ahlforsら、J. Org. Chem., 53:5629-5647 (1998) の記載、および下記の通り行った。

## 【0107】

アセトプロモ -D-ガラクトース(10)(25g, 60mmol)、1-(トリメチルシリル)エタノール(10.72g, 13.0mL, 91mmol)およびCaSO<sub>4</sub>(20g)を0 のCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(500mL)に混合した混合物に、赤色酸化水銀(13.2g)および臭化水銀(500mg)を添加した。次に、この赤色のスラリーを室温で48時間攪拌した。無機塩を濾過し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>溶液を水性NaHCO<sub>3</sub>、水で洗浄して、乾燥した(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。溶媒を蒸発させ、きわめて粘度の高い油を得た。これをカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、ヘキサン-酢酸エチル、9:1、8:2、7:3)で精製した。化合物を含有する留分を採集し、溶媒を蒸発させて、高粘度の油である化合物11を得た(20.0g、収率73.5%)。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 0.01 (s, 9H, SiMe<sub>3</sub>), 0.98 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si), 1.96, 2.03 および 2.12 (s, 9H, COCH<sub>3</sub>), 3.57 および 3.99 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si), 3.90 (m, 1H, H-5), 4.13 および 4.20 (dd, 2H, H-6), 4.48 (d, 1H, J = 7.8 Hz, H-1), 5.01 (dd, 1H, H-3), 5.20 (dd, 1H, H-2), 5.39 (dd, 1H, H-4)。MS : (M+Na)<sup>+</sup> = 471.5。

20

## 【0108】

実施例5

30

2-(トリメチルシリル)エチル- -D-ガラクトピラノシド(化合物11a)の合成  
この化合物の合成は、K. J. Ahlforsら、J. Org. Chem., 53:5629-5647 (1998) の記載、および下記の通り行った。

## 【0109】

2-(トリメチルシリル)エチル-2,3,4,6-テトラ-O-アセチル- -D-ガラクトピラノシド(化合物11)(20.0g, 44.6mmol)をメタノール(150mL)を溶解した溶液に、ナトリウムメトキシドのメタノール溶液(メタノール200mL中にナトリウム200mg)を添加し、室温で3時間攪拌した。次に、この反応混合物を、Dowex 50×8-400イオン交換(H<sup>+</sup>)樹脂で中和し、濾過した。メタノールを蒸発させ、残留物をエーテル(500mL)に溶解して、室温で15分間放置した。沈殿した固体を濾過し、真空中で乾燥させて、化合物11aを得た(12.0g、収率96%)。<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O) : 0.01 (s, 9H, SiMe<sub>3</sub>), 1.02 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si), 3.44 (dd, 1H, H-2), 3.57 および 3.99 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si), 3.59 (dd, 1H, H-3), 3.78 (m, 5H, H-6), 3.88 (dd, 1H-4), 4.35 (d, 1H, H-1); MS : (M+Na)<sup>+</sup> = 303.1。

40

## 【0110】

実施例6

50

2 - (トリメチルシリル)エチル 4 , 6 - O - ベンジリデン - - D - ガラクトピラノシド (化合物 12) の合成

この化合物の合成は、K. J. Ahlforsら, J. Org. Chem., 53: 5629-5647 (1998) の記載、および下記の通り行った。

【0111】

2 - (トリメチルシリル)エチル - - D - ガラクトピラノシド (28.0 g, 100 mol) およびベンズアルデヒドジメチルアセタール (18.24 g, 120 mmol) を DMF (60 mL) に溶解した溶液に、PTS (500 mg) を添加し、この混合物を 50 °C で 16 時間加熱した。DMF を真空中で除去し、生成物を酢酸エチル (200 mL) に溶解し、NaHCO<sub>3</sub>、水で洗浄して、乾燥した (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。酢酸エチルを除去して、ガラス状の固体である 2 - (トリメチルシリル)エチル 4 , 6 - O - ベンジリデン - - D - ガラクトピラノシド (化合物 12) を得た (24.0 g、収率 87%)。さらなる精製を行わず、これを次の工程に用いた。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 0.02 (s, 9H, SiMe<sub>3</sub>) , 0.98 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si) , 3.57 および 3.99 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si) , 3.42 (brs, 1H, H-5) , 3.65 (dd, 1H, H-3) , 3.72 (dd, 1H, H-2) , 4.05 (dd, 1H, H-6) , 4.27 (d, 1H, H-1) , 4.16 (dd, 1H, H-4) , 4.31 (dd, 1H, H-6) , 5.52 (s, 1H, PhCH) , 7.25 および 7.5 (m, 5H, ArH) ; MS : (M+Na)<sup>+</sup> = 391.5。

【0112】

実施例 7

2 - (トリメチルシリル)エチル - 2 , 3 - ジ - O - アセチル - 4 , 6 - O - ベンジリデン - - D - ガラクトピラノシド (化合物 13) の合成

2 - (トリメチルシリル)エチル 4 , 6 - O - ベンジリデン - - D - ガラクトピラノシド (化合物 12) (23.0 g, 62.5 mmol) をピリジン (100 mL) に溶解した溶液に、無水酢酸 (100 mL) を添加し、この混合物を室温で 16 時間攪拌した。ピリジンおよび無水酢酸を真空中で除去した。トルエン (4 × 75 mL) を添加し、蒸発させて残留物からピリジンおよび無水酢酸をすべて除去した。この残留物をシリカゲル (7 : 3 ヘキサン / 酢酸エチル) のクロマトグラフィーに通し、シロップ状の 2 - (トリメチルシリル)エチル - 2 , 3 - ジ - O - アセチル - 4 , 6 - O - ベンジリデン - - D - ガラクトピラノシド (化合物 13) を得た (23.0 g、収率 82%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 0.03 (s, 9H, SiMe<sub>3</sub>) , 0.98 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si) , 2.05 (s, 6H, COCH<sub>3</sub>) , 3.5 (bs, 1H, H-5) , 3.57 および 4.05 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si) , 4.1 (dd, 1H, H-6) , 4.42 (dd, 1H, H-2) , 4.52 (d, 1H, J = 7.8 Hz, H-1) , 4.95 (dd, 1H, H-3) , 5.38 (dd, 1H, H-4) , 5.5 (s, 1H, CHPh) , 7.32 - 7.58 (m, 5H, ArH) ; MS : (M+Na)<sup>+</sup> = 475。

【0113】

実施例 8

2 - (トリメチルシリル)エチル 2 , 3 , 4 - トリ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシド (化合物 14) の合成

2 - (トリメチルシリル)エチル - 2 , 3 - ジ - O - アセチル - 4 , 6 - O - ベンジリデン - - D - ガラクトピラノシド (化合物 13) (4.97 g, 11 mmol) を無水 THF (25 mL) に溶解した溶液に、モレキュラーシーブ 4 (AW-300, 5 g) を添加し、この混合物を室温で 1 時間攪拌した。次に、BH<sub>3</sub> - NMe<sub>3</sub> 複合体 (4.8 g, 6 mmol) を添加し、反応混合物を室温でさらに 30 分間攪拌した。次に、溶液を冷却し (0 °C) 、無水塩化アルミニウム (8.8 g, 6 mmol) を 2 回に分けて添加した。塩化アルミニウムの添加中に反応混合物は発熱を伴うようになり、攪拌を室温で継続した。TLC (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - EtOAc, 8 : 2) により、反応が終了したことを確認し (4 時間) 、混合物を濾過して、濾過物を Dowex 50 (H<sup>+</sup>) 樹脂で処理し、濾過、

10

20

30

40

50

濃縮した。この残留物をメタノール (3 × 100 mL) で同時蒸発させた。シロップ状の残留物を水 (40 mL) に溶解し、酢酸エチル (3 × 75 mL) で抽出した。酢酸エチルの蒸発によって得た高粘度の油を、シリカゲルのクロマトグラフィー (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - EtOAc, 8 : 2) に通した。所望の化合物を含む留分を一つにし、溶媒を除去して、2 - (トリメチルシリル)エチル - 2, 3 - ジ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシドを得た (2.45 g、収率 49%)。この生成物 (2.48 g) をピリジン (10 mL) に溶解した溶液を、無水酢酸 (10 mL) で処理し、室温で一晩攪拌した。トルエン (3 × 50 mL) を添加し、残留物から蒸発させて、ピリジンおよび無水酢酸をすべて除去した。この残留物をシリカゲル (7 : 3 ヘキサン : 酢酸エチル) のクロマトグラフィーに通し、無色の油の 2 - (トリメチルシリル)エチル - 2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシド (化合物 14) を得た (2.43 g、収率 90%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 0.03 (s, 9H, SiMe<sub>3</sub>), 0.98 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si), 1.98, 2.01, 2.05 (s, 9H, COCH<sub>3</sub>), 3.5 (bs, 1H, H-5), 3.57 および 4.05 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si), 4.1 (dd, 1H, H-6), 4.42 (dd, 1H, H-2), 4.48 (d, 1H, J = 7.8 Hz, H-1), 5.03 (dd, 1H, H-3), 5.20 (dd, 1H, H-2), 5.39 (dd, 1H, H-4), 4.5 (q, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 7.32 - 7.58 (m, 5H, ArH); MS : (M + Na)<sup>+</sup> = 518.9。

## 【0114】

10

実施例 9

2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシルトリクロロアセチミデート (化合物 15) の合成

2 - (トリメチルシリル)エチル 2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシド (化合物 14) (4.96 g, 10 mmol) を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) に溶解した攪拌溶液を 0 に冷却し、TFA (7.5 mL) を添加した。この反応混合物を室温まで温め、次に 18 時間攪拌した。CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> および TFA を回転式蒸発器で除去し、残留物をトルエン (3 × 25 mL) で同時蒸発させた。生成物を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> に溶解し、NaHCO<sub>3</sub> (5 mL) の飽和溶液で処理した。有機層を乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮し、真空下で 24 時間乾燥させ、2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノース (化合物 14a) (3.7 g、収率 94%) ; MS : (M + Na)<sup>+</sup> = 419.1 を得た。さらなる精製を加えずに、この生成物を次の工程に用いた。

20

## 【0115】

30

2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノース (化合物 14a) (3.7 g, 9.3 mmol) を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL) に溶解した冷却溶液 (-5) に、トリクロロアセトニトリル (4.5 mL) および DBU (250 mL) を添加した。この混合物を 0 で 1 時間、室温で 3 時間攪拌した。混合物をシロップ状まで濃縮し、次にシリカゲル (ヘキサンETOAc, 7 : 3) のクロマトグラフィーにかけ、非晶質の固体である 2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシルトリクロロアセチミデート (化合物 15) (3.8 g、収率 80%) を得た。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 2.00, 2.01, 2.05 (s, 9H, COCH<sub>3</sub>), 4.5 (dd, 2H, CH<sub>2</sub>Ar), 6.58 (d, 1H, J = 3.5 Hz, H-1), 7.29 (m, 5H, ArH), 8.63 (s, 1H, NH); MS : (M + Na)<sup>+</sup> = 561.8。

40

## 【0116】

実施例 10

メチル 5 - アセタミド - 3, 5 - ジデオキシ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロソネート (化合物 17) の合成

この化合物の合成は、R. Kuhnら, Chem. Ber., 99:611-617, (1966) の記載、および下記

50

の通り行った。

【0117】

5 - アセタミド - 3 , 5 - ジデオキシ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロソン酸 (化合物16) (10 g, 32.36 mmol) とメタノール (1000 mL) のスラリーに、Dowex H<sup>+</sup> 50×8-400イオン交換樹脂 (30.0 g、メタノールで洗浄し、真空で一晩25度で乾燥) を添加し、この混合物を室温で12時間攪拌した。反応混合物を濾過し、樹脂をメタノール (75 mL) で洗浄した。濾過物および洗浄液を合わせ、さらにメタノール (500 mL) を添加して、溶液をさらに1時間室温で攪拌した。メタノールを回転式蒸発器で除去し、メチルエステル17 (10.2 g、収率98%)を得た。融点 (MP) : 178-179 (lit<sup>17</sup> 融点178-180) ; <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) : 1.76 (t, 1H, H-3a), 1.91 (s, 3H, NHCOCH<sub>3</sub>), 2.05 (dd, 1H, H-3e), 4.32 (1H, dd), 5.05 (1H, bs, OH), 5.42 (1H, d, J = 7.62 Hz, C<sub>1</sub>-H), 5.58 (1H, s, O-CH(Ph)-O), 7.16 (2H, d, J = 9.38, Ar-H, A2B2系の一部), 7.36 (3H, m, Ar-H), 7.49 (2H, m, Ar-H), 8.18 (2H, d, J = 9.38 Hz, Ar-H)。

【0118】

実施例11

メチル5 - アセタミド - 2 , 4 , 7 , 8 , 9 - ペンタ - O - アセチル - 3 , 5 - ジデオキシ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロソネット (化合物18) の合成

この化合物の合成は、M. N. SharmaとR. Eby, Carbohydrate Res., 127:201-210 (1984) の記載、および下記の通り行った。

【0119】

乾燥ピリジン (100 mL) および無水酢酸 (100 mL) の混合物を冷却し (0) 、メチル5 - アセタミド - 3 , 5 - ジデオキシ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロソネット (化合物17) (10 g, 31.0 mmol) を添加し、この混合物を0度で4時間、室温で48時間攪拌した。ピリジンおよび無水酢酸を真空下で除去した。トルエン (4×75 mL) を添加し、残留物から蒸発させてピリジンおよび無水酢酸をすべて除去し、結果得られた泡状の固形物を真空下で乾燥した。ヘキサン - 酢酸エチルから再結晶化し、過アセチル化生成物18を得た (14.7 g、収率89%)。融点 (MP) : 156-158 (lit<sup>18</sup> 融点157-158) ; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) : 2.01, 2.02, 2.04, 2.05, 2.07 (5s, 15H, 5COCH<sub>3</sub>), 2.45 (dd, H-3ax), 2.62 (dd, J<sub>3eq,4</sub> = 5.1 Hz, J<sub>gem</sub> = 13.4 Hz, H-3eq), 3.78 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) および 3.80 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4.19 (dd, J<sub>8,9</sub> = 7.2 Hz, J<sub>9,9'</sub> = 12.6 Hz, H-9), 4.20 (dd, J<sub>5,6</sub> = 10.1 Hz, J<sub>6,7</sub> = 2.2 Hz, H-6), 4.43 (dd, J<sub>8,9'</sub> = 2.4 Hz, H-9'), 4.97 (t, J<sub>4,5</sub> = J<sub>5,6</sub> = 10.1 Hz, H-5), 5.15 ((ddd, H-8)), 5.27 (ddd, H-4), 5.39 (dd, J<sub>7,8</sub> = 6.4 Hz, H-7) および 5.54 (m, H-8), 4.90-5.44 (ddd, H-4)。アノマー比 (a:b) は、メチルエステル信号の強度比から予測した; MS : (M+H)<sup>+</sup> = 534。

【0120】

実施例12

メチル5 - アセタミド - 4 , 7 , 8 , 9 - テトラ - O - アセチル - 3 , 5 - ジデオキシ - S - フェニル - 2 - チオ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピロノスロネット (化合物19) の合成

この化合物の合成は、M. N. SharmaとR. Eby, Carbohydrate Res., 127:201-210 (1984) の記載、および下記の通り行った。

【0121】

メチル5 - アセタミド - 2 , 4 , 7 , 8 , 9 - ペンタ - O - アセチル - 3 , 5 - ジデオキ

10

20

40

50

シ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロソネート ( 化合物 18 ) ( 10.66 g , 20 mmol ) を無水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( 200.0 mL ) に溶解した冷却溶液 ( 0 ) に、チオフェノール ( 2.2 mL , 20.2 mmol ) および三フッ化ホウ素エーテラート ( 3.0 mL , 25 mmol ) を添加し、この混合物を室温で一晩攪拌した。次に、反応混合物を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( 200 mL ) で希釈し、重炭酸ナトリウムの飽和溶液および水で連続的に洗浄し、乾燥 (  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ) および濃縮した。この結果得られた高粘度の油を、ヘキサン ( 300 mL ) とすり混ぜ、生成した固体物を濾過し、ヘキサン - 酢酸エチルから再結晶化して、メチル 5 - アセタミド - 4 , 7 , 8 , 9 - テトラ - O - アセチル - 3 , 5 - ジデオキシ - S - フェニル - 2 - チオ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロビロノスロネート ( 化合物 19 ) ( 1.32 g 、収率 92 % ) を得た。融点 ( MP ) : 180 - 82 ( lit 181 - 82 ) ;  $^1\text{H}$  NMR (  $\text{CDCl}_3$  ) : ( dd ,  $J_{3\text{eq}}, 4 = 5.1\text{ Hz}$  ,  $J_{\text{gem}} = 13.9\text{ Hz}$  , H - 3 eq - ) , 2.89 ( dd ,  $J_{3\text{eq}}, 4 = 4.8\text{ Hz}$  ,  $J_{\text{gem}} = 12.8\text{ Hz}$  , H - 3 eq - ) , 4.90 ( ddd , H - 4 ) , 5.44 ( ddd , H - 4 ) , 3.56 ( s , 3H ,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$  ) および 3.67 ( s , 3H ,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$  ) 。アノマー比 ( a : b ) はメチルエステル信号の強度比から予測した ; MS : (  $\text{M} + \text{H}$  )<sup>+</sup> = 584 。

## 【 0122 】

## 実施例 13

4 - ニトロフェニル 4 , 6 - ベンジリデン - 2 - デオキシ - 2 - アセタミド - ( 3 - > 1 ) - ( 2 , 3 , 4 トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル ) - - D - グルコピラノシド ( 化合物 20 ) の合成

4 - ニトロフェニル 2 - アセタミド - 4 , 6 - ベンジリジン 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド ( 化合物 5 ) ( 4.3 g , 10 mmol ) 、 T E A B ( 2.2 g , 10 mmol ) および粉末モレキュラーシーブ ( 4 A<sup>0</sup> , 15 g ) と  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( 25 mL ) および D M F ( 10 mL ) との攪拌混合物に、 2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - - 臭化フコピラノシリル ( 化合物 9 ) ( 7.5 g , 15 mmol ) を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( 15 mL ) に溶解した溶液を添加し、この混合物を窒素雰囲気下、室温で 50 時間攪拌した。メタノール ( 2 mL ) を添加して、攪拌をさらに 2 時間継続した。次に、この溶液を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( 100 mL ) で希釈し、セライトのパッドで濾過し、濾過ケーキを  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( 100 mL ) で洗浄した。集めた濾過物を固体の重炭酸ナトリウムで処理し、濾過して、濾過物を濃縮した。糊状の残留物を水 ( 100 mL ) ですり混ぜた。一晩 ( 12 時間 ) 攪拌した後、固体物を採集して乾燥した。この物質をヘキサン ( 300 mL ) で懸濁させ、 3 ~ 4 時間攪拌した。その結果得られた固体物を濾過によって採集し、ヘキサン ( 300 mL ) で再懸濁させ、 2 ~ 3 時間攪拌した。こうして得た固体物を採集して乾燥させた ( 8.45 g ) 。この物質をメタノールから再結晶化させ、白色固体物の 4 - ニトロフェニル 4 , 6 - ベンジリデン - 2 - デオキシ - 2 - アセタミド - ( 3 - > 1 ) - ( 2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル ) - - D - グルコピラノシド ( 化合物 20 ) ( 5.85 g 、収率 69 % ) を得た。 T L C :  $R_f$  0.45 ( シリカゲル、  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  / ヘキサン /  $\text{MeOH}$  9 / 1 / 0.25 ) ; N M R (  $\text{CDCl}_3$  ) : 0.83 ( d , 3H ,  $J = 6.41\text{ Hz}$  ,  $\text{CH}_3$  ) , 1.61 ( s , 3H ,  $\text{NCOCH}_3$  ) , 3.60 - 5.00 ( m ,  $\text{OCH}$  ,  $\text{OCH}_2$  ) , 5.06 ( d , 1H ,  $J = 3.5\text{ Hz}$  , フコシリル残留物に対して  $\text{C}_1$  - H ) , 5.53 ( s , 1H ,  $\text{OCHO}$  ) , 5.68 ( d , 1H ,  $J = 8.2\text{ Hz}$  , グルコサミン残留物の  $\text{C}_1$  - H ) , 7.03 ( d , 2H ,  $J = 9.38\text{ Hz}$  , Ar - H ) , 7.20 - 7.60 ( m , Ar - H ) , 8.17 ( d , 2H , d ,  $J = 9.38\text{ Hz}$  , Ar - H ) ; MS : (  $\text{M} + \text{H}$  )<sup>+</sup> = 847 。元素分析 : 確認 : C , 68.16 ; H , 5.89 ; N 3.22 % 。  $\text{C}_{48}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_{12}$  で算出 ; C , 68.07 ; H , 5.95 ; N , 3.31 ; O , 22.67 % 。

## 【 0123 】

## 実施例 14

4 - ニトロフェニル 6 - O - ベンジル - 2 - デオキシ - 2 - アセタミド - ( 3 - > 1 ) -

(2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- - L-フコピラノシル) - - D-グルコピラノシド(化合物21)の合成

4-ニトロフェニル4, 6-ベンジリデン-2-デオキシ-2-アセタミド-(3->1)-(2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- - L-フコピラノシル) - - D-グルコピラノシド(化合物20)(5.0g, 5.9mmol)を無水THF(50.0mL)に溶解した溶液に、モレキュラーシーブ4(AW-300, 5g)を添加し、この混合物を室温で1時間攪拌した。次に、BH<sub>3</sub>-NMe<sub>3</sub>複合体(4.82g, 36mmol)を添加し、反応混合物をさらに30分間室温で攪拌した。次に、溶液を冷却(0)し、無水塩化アルミニウム(5.3g, 39.8mmol)を2回に分けて添加した。反応混合物は、塩化アルミニウムの添加中に発熱を伴い、攪拌を50で継続した。反応混合物のTLCにより、反応が終了したことを確認し(2時間)、混合物を濾過して、濾過物をDowex 50(H<sup>+</sup>)樹脂で処理し、濾過、濃縮した。この残留物をメタノール(3×100mL)で同時蒸発させた。シロップ状の残留物を水(100mL)に溶解し、沈殿した固体物を濾過して乾燥させた。次に、シリカゲルのクロマトグラフィー(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-酢酸エチル, 8:2)に通した。目的の化合物を含む留分を一つにし、溶媒を除去して、4-ニトロフェニル6-O-ベンジル-2-デオキシ-2-アセタミド-(3->1)-(2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- - L-フコピラノシル) - - D-グルコピラノシド(化合物21)を得た(2.52g、収率50.4%)。MS: (M+H)<sup>+</sup> = 849。

#### 【0124】

##### 実施例15

4-ニトロフェニル6-O-ベンジル-2-デオキシ-2-アセタミド-(4->1)-(6-O-ベンジル-2, 3, 4-トリ-O-アセチル- - D-ガラクトピラノシル) - (3->1)-(2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- - L-フコピラノシル) - - D-グルコピラノシド(化合物22)の合成

4-ニトロフェニル6-O-ベンジル-2-デオキシ-2-アセタミド-(3->1)-(2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- - L-フコピラノシル) - - D-グルコピラノシド(化合物21)(1.5g, 1.8mmol)および2, 3, 4-トリ-O-アセチル-6-O-ベンジル- - D-ガラクトピラノシルトリクロロアセチミデート(化合物15)(1.5g, 2.8mmol)をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(20.0mL)に溶解した溶液を-5に冷却した。TMS-OTf(30μL)をこの溶液に添加し、-5で1時間、0で48時間で攪拌した。反応混合物を、NaHCO<sub>3</sub>(1mL)の飽和溶液で処理し、有機層を分離し、水層をさらにCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(3×5mL)で抽出する。有機層を集めて乾燥させ、濃縮した。残留物をエーテル(15mL)で混ぜ、沈殿した出発材料21を濾過した。濾過物を濃縮し、残留物をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc, 8:2)で精製した。生成物を含む留分を採集し、蒸発させて結晶質の固体物である6-O-ベンジル-2-デオキシ-2-アセタミド-(4->1)-(6-O-ベンジル-2, 3, 4-トリ-O-アセチル- - D-ガラクトピラノシル) - (3->1)-(2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- - L-フコピラノシル) - - D-グルコピラノシド(化合物22)を得た。さらに、メタノールから結晶化させ、純粋な生成物を得た(1.38g、収率63%)。MS: (M+H)<sup>+</sup> = 1244.5。

#### 【0125】

##### 実施例16

4-ニトロフェニル6-O-ベンジル-2-デオキシ-2-アセタミド-(4->1)-(6-O-ベンジル- - D-ガラクトピラノシル) - (3->1)-(2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- - L-フコピラノシル) - - D-グルコピラノシド(化合物23)の合成

4-ニトロフェニル6-O-ベンジル-2-デオキシ-2-アセタミド-(4->1)-(6-O-ベンジル-2, 3, 4-トリ-O-アセチル- - D-ガラクトピラノシル) - (3->1)-(2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- - L-フコピラノシル) - -

10

20

30

40

50

D - グルコピラノシド ( 化合物 22 ) ( 1.38 g , 1.11 mmol ) をメタノール ( 100 mL ) に溶解させ、この溶液をナトリウム 100 mg およびメタノール 5 mL からなるメトキシドナトリウム溶液を用いて室温で 6 時間処理した。反応混合物をイオン交換樹脂 Dowex H<sup>+</sup> で中和し、濾過して、濾過物を濃縮した。残留物をフラッシュクロマトグラフィー ( シリカゲル、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH , 8 : 2 ) で精製して、4 - ニトロフェニル 6 - O - ベンジル - 2 - デオキシ - 2 - アセタミド - ( 4 - > 1 ) - ( 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシリル ) - ( 3 - > 1 ) - ( 2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル ) - - D - グルコピラノシド ( 化合物 23 ) ( 1.10 g 、収率 89% ) を得た。 TLC : R<sub>f</sub> = X ( シリカゲル、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : メタノール 8 : 2 ) ; MS : ( M + NH<sub>4</sub> )<sup>+</sup> = 1118.5 。

10

## 【 0126 】

## 実施例 17

4 - ニトロフェニル ( メチル 5 - アセタミド - 4 , 7 , 8 , 9 - テトラ - O - アセチル - 3 , 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロネート - ( 2 - > 3 ) - ( 6 - O - ベンジル - 2 , 4 - ジ - O - アセチル - - D - ガラクトピラノシリル ) - ( 1 - > 4 ) - ( 2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル ) ( 1 - > 3 ) ) - アセタミド - 6 - O - ベンジル - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド ( 化合物 25 ) の合成

## 【 0127 】

## 工程 ( i ) :

20

4 - ニトロフェニル ( メチル 5 - アセタミド - 4 , 7 , 8 , 9 - テトラ - O - アセチル - 3 , 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロネート - ( 2 - > 3 ) - ( 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシリル ) - ( 1 - > 4 ) - ( 2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル ) ( 1 - > 3 ) ) - 2 - アセタミド - 6 - O - ベンジル - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド ( 化合物 24 ) の合成

メチル 5 - アセタミド - 4 , 7 , 8 , 9 - テトラ - O - アセチル - 3 , 5 - ジデオキシ - S - フェニル - 2 - チオ - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロネート ( 化合物 19 ) ( 1.6 g , 2.74 mmol ) および 4 - ニトロフェニル 6 - O - ベンジル - 2 - デオキシ - 2 - アセタミド - ( 4 - 1 ) - ( 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシリル ) - ( 3 - 1 ) - ( 2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル ) - - D - グルコピラノシド ( 化合物 23 ) ( 1.0 g , 9.0 mmol ) を乾燥アセトニトリル ( 25.0 mL ) に溶解した溶液に、モレキュラーシーブ 4 ( 1.0 g ) を添加し、この混合物を室温で 1 時間攪拌した。この混合物を攪拌しながら冷却 ( - 40 ) し、NIS ( 1.3 g , 5.8 mmol ) および TMS - OTf ( 0.012 g , 100 μL , 0.54 mmol ) を添加し、攪拌を - 40 で 24 時間継続した。反応混合物に Et<sub>3</sub>N ( 300 μL ) を添加し、濾過して、アセトニトリル ( 5 mL ) で洗浄した。濾過物および洗浄液を合わせ、濃縮し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ( 100 mL ) で抽出し、水性 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>7</sub> および水で連続的に洗浄して、乾燥させた ( Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> )。この溶液を濃縮し、残留物をシリカゲルのクロマトグラフィーにかけて ( 6 : 4 および次に 5 : 5 、エーテル : EtOAc ) 、淡い茶色の固形物である 4 - ニトロフェニル ( メチル 5 - アセタミド - 4 , 7 , 8 , 9 - テトラ - O - アセチル - 3 , 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロネート - ( 2 - > 3 ) - ( 6 - O - ベンジル - - D - ガラクトピラノシリル ) - ( 1 - > 4 ) - ( 2 , 3 , 4 - トリ - O - ベンジル - - L - フコピラノシリル ) ( 1 - > 3 ) ) - 2 - アセタミド - 6 - O - ベンジル - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド ( 化合物 24 ) ( 0.98 g 、収率 65% ) を得た。

30

## 【 0128 】

## 工程 ( ii ) :

化合物 24 をアセチル化して化合物 25 を得る。

## 【 0129 】

40

乾燥ピリジン (10.0 mL) および無水酢酸 (10.0 mL) の冷却混合物 (0) に、化合物 24 (1.0 g, 0.63 mmol) を添加し、この混合物を 0 で 4 時間、室温で 24 時間攪拌した。ピリジンおよび無水酢酸を真空下で除去した。トルエン (4 × 5 mL) を添加し、残留物から蒸発させて、ピリジンおよび無水酢酸をすべて除去し、その結果得られた泡状の固形物をシリカゲル (エーテル : EtOAc, 5 : 5) のクロマトグラフィーにかけて、4-ニトロフェニル (メチル 5-アセタミド-4, 7, 8, 9-テトラ-O-アセチル-3, 5-ジデオキシ- -D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピラノスロネット- (2->3)- (6-O-ベンジル-2, 4-ジ-O-アセチル- -D-ガラクトピラノシリル)- (1->4)- (2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- -L-フコピラノシリル) (1->3))- 2-アセタミド-6-O-ベンジル-2-デオキシ- -D-グルコピラノシド (化合物 25) (0.82 g、収率 78%) を得た。HRMS : 確認、(M+Na) = 1680.6178; C<sub>85</sub>H<sub>99</sub>N<sub>3</sub>O<sub>31</sub> で算出 : 1680.6157。 10

## 【0130】

実施例 18

4-(N-t-ブチルオキシカルボニルアミノ)フェニル (メチル 5-アセタミド-4, 7, 8, 9-テトラ-O-アセチル-3, 5-ジデオキシ- -D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピラノスロネット)- (2->3)- (6-O-ベンジル-2, 4-ジ-O-アセチル- -D-ガラクトピラノシリル)- (1->4)- (2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- -L-フコピラノシリル) (1->3))- 2-アセタミド-6-O-ベンジル-2-デオキシ- -D-グルコピラノシド (化合物 26) の合成 20

4-ニトロフェニル (メチル 5-アセタミド-4, 7, 8, 9-テトラ-O-アセチル-3, 5-ジデオキシ- -D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピラノスロネット- (2->3)- (6-O-ベンジル-2, 4-ジ-O-アセチル- -D-ガラクトピラノシリル)- (1->4)- (2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- -L-フコピラノシリル) (1->3))- 2-アセタミド-6-O-ベンジル-2-デオキシ- -D-グルコピラノシド (化合物 25) (498 mg, 0.3 mmol) をメタノールに溶解した溶液にラネーニッケル (100 mg) を添加し、この混合物を室温、50 psi で 16 時間かけて水素添加した。触媒を濾過によって除去し、メタノールを真空中で除去した。残留物を THF (10 mL) に溶解して、氷浴で冷却し、Boc-カルボネート (100 mg) および Et<sub>3</sub>N (140 mg) を添加して、混合物を室温で 24 時間攪拌した。溶媒を真空中で除去し、生成物を含む残留物を、酢酸エチルおよびヘキサンを溶出液に用いたシリカゲルのカラムクロマトグラフィーで精製した。留分を TLC で分析し、純粋な生成物を含む留分を一つにし、溶媒を除去して、4-(N-t-ブチルオキシカルボニルアミノ)フェニル (メチル 5-アセタミド-4, 7, 8, 9-テトラ-O-アセチル-3, 5-ジデオキシ- -D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピラノスロネット)- (2->3)- (6-O-ベンジル-2, 4-ジ-O-アセチル- -D-ガラクトピラノシリル)- (1->4)- (2, 3, 4-トリ-O-ベンジル- -L-フコピラノシリル) (1->3))- 2-アセタミド-6-O-ベンジル-2-デオキシ- -D-グルコピラノシド (化合物 26) (370 mg、収率 75%) を得た。MS : 1728 (M+H)<sup>+</sup>。 30

## 【0131】

実施例 19

4-(N-t-ブチルオキシカルボニルアミノ)フェニル (メチル 5-アセタミド-4, 7, 8, 9-テトラ-O-アセチル-3, 5-ジデオキシ- -D-グリセロ-D-ガラクト-2-ノヌロピラノスロネット)- (2->3)- (2, 4, 6-トリ-O-アセチル- -D-ガラクトピラノシリル)- (1->4)- (2, 3, 4-トリ-O-アセチル- -L-フコピラノシリル) (1->3))- 2-アセタミド-6-O-アセチル-2-デオキシ- -D-グルコピラノシド (化合物 27) の合成

化合物 26 (350 mg, 0.2 mmol) をメタノール (50 mL) に溶解した溶液に、酢酸 (2.0 mL) および過酸化パラジウム (150 mg) を添加し、この混合物を 5 50

0 p s i で 48 時間水素添加した。触媒を濾過によって除去し、残留物を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 mL) に溶解した。この溶液に、 $\text{Et}_3\text{N}$  (1.0 mL) および無水酢酸 (204 mg, 0.2 mmol) を添加し、混合物を室温で 16 時間攪拌した。試薬および溶媒を真空中で除去し、残留物を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (25 mL) に溶解して、水 (2 × 15 mL) で洗浄して、乾燥した。溶媒の除去によって無色の固体を得た。これを、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  およびメタノールの混合物を溶出液として用いたシリカゲルのカラムクロマトグラフィーで精製した。留分を TLC で分析し、純粋な生成物を含む留分を一つにし、溶媒を除去して、無色の固体である 4 - (N - t - ブチルオキシカルボニルアミノ) フェニル (メチル 5 - アセタミド - 4, 7, 8, 9 - テトラ - O - アセチル - 3, 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロネット) - (2 - > 3) - (2, 4, 6 - トリ - O - アセチル - - D - ガラクトピラノシリル) - (1 - > 4) - (2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - - L - フコピラノシリル) (1 - > 3) ) - 2 - アセタミド - 6 - O - アセチル - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド (化合物 27) (260 mg、収率 86%) を得た。MS : 1488 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>。

## 【0132】

実施例 20

4 - (アセタミド) フェニル (メチル 5 - アセタミド - 4, 7, 8, 9 - テトラ - O - アセチル - 3, 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロネット) - (2 - > 3) - (2, 4, 6 - トリ - O - アセチル - - D - ガラクトピラノシリル) - (1 - > 4) - (2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - - L - フコピラノシリル) (1 - > 3) ) - 2 - アセタミド - 6 - O - アセチル - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド (化合物 28) の合成

## 【0133】

## 工程 (i) :

4 - (アミノ) フェニル (メチル 5 - アセタミド - 4, 7, 8, 9 - テトラ - O - アセチル - 3, 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロネット) - (2 - > 3) - (2, 4, 6 - トリ - O - アセチル - - D - ガラクトピラノシリル) - (1 - > 4) - (2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - - L - フコピラノシリル) (1 - > 3) ) - 2 - アセタミド - 6 - O - アセチル - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド (化合物 2a) の合成

化合物 27 (222 mg, 0.15 mmol) を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.0 mL) に溶解した溶液を、TFA (20 mL) で処理し、この混合物を 16 時間攪拌した。 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  および TFA を真空中で除去し、残留物をヘキサンで混ぜて、4 - (アミノ) フェニル (メチル 5 - アセタミド - 4, 7, 8, 9 - テトラ - O - アセチル - 3, 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロネット) - (2 - > 3) - (2, 4, 6 - トリ - O - アセチル - - D - ガラクトピラノシリル) - (1 - > 4) - (2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - - L - フコピラノシリル) (1 - > 3) ) - 2 - アセタミド - 6 - O - アセチル - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシド (化合物 2a) (205 mg、収率 99%) を得た。

## 【0134】

## 工程 (ii) :

化合物 2a をアセチル化して化合物 28 を得る。

## 【0135】

化合物 2 (28 mg, 0.02 mmol) を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.0 mL) に溶解した溶液を、氷浴で冷却し、塩化アセチル (11 mg, 0.14 mmol) および  $\text{Et}_3\text{N}$  (1.0 mg, 0.075 mmol) で処理した。混合物を 18 時間攪拌しつづけた。溶媒および試薬を真空中で除去し、残留物をメタノールおよび  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  を用いたシリカゲル (5 g) の小さなカラムで濾過した。目的の化合物を含む留分を一つにし、溶媒を除去して、4 - (アセタミド) フェニル (メチル 5 - アセタミド - 4, 7, 8, 9 - テトラ - O - アセチル - 3, 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロネ

10

20

30

40

50

ート) - (2 - > 3) - (2, 4, 6 - トリ - O - アセチル - - D - ガラクトピラノシリル) - (1 - > 4) - (2, 3, 4 - トリ - O - アセチル - - L - フコピラノシリル) (1 - > 3)) - 2 - アセタミド - 6 - O - アセチル - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシリド (化合物 28) (25 mg、収率 87%) を得た。MS: (M + H)<sup>+</sup> 1430。

## 【0136】

## 実施例 21

4 - (アセタミド) フェニル (5 - アセタミド - 3, 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロン酸) - (2 - > 3) - ( - D - ガラクトピラノシリル) - (1 - > 4) - ( - L - フコピラノシリル) (1 - > 3)) - 2 - アセタミド - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシリド (化合物 3a) の合成

化合物 28 (20 mg, 0.014 mmol) をメタノール (1.0 ml) に溶解した溶液に、メトキシドナトリウム (5.4 mg, 0.1 mmol) を添加し、この混合物を室温で 22 時間攪拌した。反応混合物を冷却し、水 (0.1 ml) を添加して、攪拌を 24 時間継続した。次に、溶液の pH を Dowex 50 (H<sup>+</sup>) を用いた処理によって 6 に調節し、濾過した。濾過物から溶媒を除去することにより、無色の固体物 (11 mg) を得た。これを分取高速液体クロマトグラフィー (HPLC) (カラム、Vydac C-18 (半製品)；溶出液、2%メタノール水溶液；流速 4.0 mL / 分、検出、UV 254 nm) で精製した。留分を分析用 HPLC で分析し、目的の生成物を含む留分を一つにして、凍結乾燥して、無色の固体物である 4 - (アセタミド) フェニル (5 - アセタミド - 3, 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロン酸) - (2 - > 3) - ( - D - ガラクトピラノシリル) - (1 - > 4) - ( - L - フコピラノシリル) (1 - > 3)) - 2 - アセタミド - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシリド (化合物 3a) (7 mg、収率 52%) を得た。HPLC: 保持時間 9.9 分 (カラム、Vydac C-18, 4.6 x 25 cm；溶出液、60 分間 0 - 60% CH<sub>3</sub>CN；流速 1.0 ml / 分；検出、UV 254 nm)；HRMS: 確認: 954.3453; C<sub>39</sub>H<sub>59</sub>N<sub>3</sub>O<sub>24</sub> で算出: 954.3566。

## 【0137】

## 実施例 22

4 - (C<sup>14</sup>C - アセタミド) フェニル (5 - アセタミド - 3, 5 - ジデオキシ - - D - グリセロ - D - ガラクト - 2 - ノヌロピラノスロン酸) - (2 - > 3) - ( - D - ガラクトピラノシリル) - (1 - > 4) - ( - L - フコピラノシリル) (1 - > 3)) - 2 - アセタミド - 2 - デオキシ - - D - グルコピラノシリド (化合物 3b) の合成

化合物 3a の調製方法に従うが、CH<sub>3</sub>COCl の代わり CH<sub>3</sub><sup>14</sup>COC1 を用いて、VITRAX Co. 社 (660S. Jefferson St., Placentia, CA) により、<sup>14</sup>C で識別した化合物 3b を調製した。HPLC: 保持時間 4.008 および 4.200 分 (カラム、Microsorb C-18, 5 μM x 25 cm；溶出液、水: MeOH [97:3]；流速 1.0 ml / 分；検出、それぞれ放射能および UV 240 nm)；特異活性: 50 mCi / mmol；放射化学的純度: HPLC で > 99%；化学的純度: 240 nm の HPLC で > 99%；全活性: 100 μCi；包装: 25 mCi / mL H<sub>2</sub>O: EtOH, [2:1] クリンプシールバイアル。

## 【0138】

## 実施例 23

N - アセチル化誘導体の結合特性の評価:

放射性同位体で識別したアセタミド - フェニルシアリル・ルイス<sup>X</sup> 類似物 3b の生体内におけるヒト大動脈内皮細胞への結合能を評価した。この類似物は濃度 0.1 ~ 0.2 mM で活性化細胞に相当に結合するが、これは、S. A. DeFreesら, J. Am. Chem. Soc., 117: 66-79 (1995) に発表されている天然のシアリル・ルイス<sup>X</sup> (式 A) の生体内の K<sub>d</sub> の値 1 ~ 2 mM の 10 倍である。TNF - で刺激した細胞で認められた結合は、刺激を加えなかった対照細胞の 2 倍となった。これにより、E - セレクチン量が TNF - の刺激によってこれらの細胞で増加していることが示唆された。結合部位は天然のシアリル・ルイ

10

20

30

40

50

ス<sup>×</sup>に特異的であった。なぜなら、濃度10mMにおける冷却した標識化されていないシアリル・ルイス<sup>×</sup>（式A）は、濃度0.2mMで結合数の50%近くが置換されたからである。このように、接合可能な類似物3bは、このE-セレクチン結合測定では天然のシアリル・ルイス<sup>×</sup>より優れていることを確認できた。

【0139】

上記の知見は、モノマーのシアリル・ルイス<sup>×</sup>類似物のE-セレクチンへの結合は、このmMの範囲内だけで起こり、したがって、これをターゲティングに応用するには弱すぎるという考え方を裏付けるものである。このモノマーに多官能性の足場を結合させるか、リン脂質部分に結合させて、リポソーム構造を形成する必要があると思われる。こうした共有または非共有結合した多価構造を有するため、結合の強さがターゲティングに応用するのに十分なだけ増幅した化合物を作成することは可能である。我々が合成に成功した接合可能な4-アミノフェニルシアリル・ルイス<sup>×</sup>類似物2aは、こうした応用にきわめて好適である。

【0140】

略号

本明細書では、以下の略号を用いている。

【0141】

Boc-カルボネット：ジ-tert-ブチルジカルボネット

DBU：1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデセン-7

D MF：N,N-ジメチルフォルムアミド

HRMS：高分解能質量スペクトル

MP：融点

MS：質量スペクトル

NIS：N-ヨードスクシニミド

PTs·H<sub>2</sub>O：p-トルエンスルホン酸一水塩

RT：室温

TEAB：臭化テトラエチルアンモニウム

TEA：トリフルオロ酢酸

THF：テトラヒドロフラン

TLC：薄層クロマトグラフィー

TMS-OTf：トリメチルシリルトリフルロメタンスルホネット

TNF-：組織壊死因子

【0142】

その他の実施形態

本発明を好ましい実施形態を引用して説明してきたが、当業者にとってはその基本的特徴は明らかであり、発明の本質や範囲から外れない限りにおいて、本発明に種々の変更および改善を加え、種々の使用および条件に適応させることができる。当業者は、通常の実験により、本明細書に記載の特定の実施例と等価の多くの物質を認識または確認することができる。こうした等価物質は、本発明の範囲に含まれる。

【0143】

本明細書に記載のすべての発行物および特許は、本明細書に参照として組み込まれる。

10

20

30

40

---

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
C 0 7 H 15/18 (2006.01) A 6 1 K 43/00  
C 0 7 H 15/18

- (72)発明者 ランガナサン, ラマチャンドラ  
アメリカ合衆国, 0 8 5 4 0, ニュージャージー州, プリンストン, セイレ ドライブ 1 9 6 番地
- (72)発明者 ラマリンガム, コンダレダイア  
アメリカ合衆国, 0 8 8 1 0, ニュージャージー州, デイトン, リバティ ドライブ 4 6 番地
- (72)発明者 ピライ, ラドハクリシュナ  
アメリカ合衆国, 0 8 5 1 2, ニュージャージー州, クランベリー, ウォールナット コート 1 2 番地
- (72)発明者 マリネッリ, エドムンド アール.  
アメリカ合衆国, 0 8 6 4 8 - 3 5 1 2, ニュージャージー州, ローレンスピル, エルドリッジ  
アヴェニュー 1 9 0 番地, 1 階
- (72)発明者 スヴェンソン, ロルフ  
アメリカ合衆国, 0 8 5 4 0, ニュージャージー州, プリンストン, フィールドソン ロード 3 5 番地

審査官 植原 克典

- (56)参考文献 特開平07-109301 (JP, A)  
特表平07-503254 (JP, A)  
特表平10-502931 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07H 15/00 - 15/26  
CA/REGISTRY(STN)