(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2006-514070
(P2006-514070A)
(43)公表日　平成18年4月27日(2006.4.27)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 31/357	(2006.01)	A61K 31/357		4C071
C07D 493/04	(2006.01)	C07D 493/04	106A	4C086
A61P 31/14	(2006.01)	A61P 31/14		

審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 20 頁）

(21)出願番号　特願2004-566657 (P2004-566657)
(86)(22)出願日　平成15年12月22日 (2003.12.22)
(85)翻訳文提出日　平成17年9月6日 (2005.9.6)
(86)国際出願番号　PCT/US2003/041720
(87)国際公開番号　WO2004/062575
(87)国際公開日　平成16年7月29日 (2004.7.29)
(31)優先権主張番号　60/438,475
(32)優先日　平成15年1月7日 (2003.1.7)
(33)優先権主張国　米国(US)

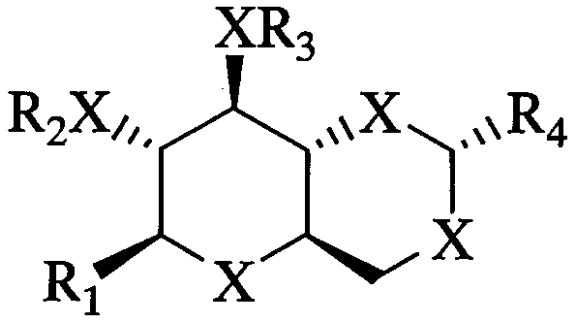
(71)出願人　505257556
ケミン・ファーマ・ヨーロッパ・ビー・ブイ・ビー・エイ
アメリカ合衆国アイオワ州５０３１７，デ・モインズ，マウリー・ストリート　２１００
(74)代理人　100089705
弁理士　社本　一夫
(74)代理人　100076691
弁理士　増井　忠弐
(74)代理人　100075270
弁理士　小林　泰
(74)代理人　100080137
弁理士　千葉　昭男

最終頁に続く

(54)【発明の名称】Ｃ型肝炎及びウシウイルス性下痢のウイルスのようなフラビウイルス科に分類される種によって引き起こされる感染の治療に有用な二環式炭水化物化合物

(57)【要約】
出願人は、Ｃ型肝炎ウイルスの感染の治療に対して二環式炭水化物の使用を記載する。異なる二環式炭水化物は、ＤＮＡウイルス、レトロウイルス及びフラビウイルス科、ヒト及び動物のＲＮＡ病原体の重要なファミリーに対してインビトロで試験した。有意な活性は、ウシウイルス性下痢ウイルス（ＢＶＤＶ）に対して観察された。ＢＶＤＶのようなペスチウイルスはＣ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）と多くの類似性を共有するので、一般な二環式炭水化物及び好ましくはより特異的な二環式炭水化物がＣ型肝炎ウイルスの感染の治療となると期待される。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
式：
【化１】



［式中、R_1が、－アルキル、－アリール及び－ベンジルからなる群から選択され；
R_2及びR_3が、－アルキル及び－アリールからなる群から選択され；
R_4が、－アリールであり；
Ｘが、Ｏ、Ｎ及びＳからなる群から選択される］
を有する二環式炭水化物、又はその薬学的に活性な誘導体の有効量を投与する工程を含む、フラビウイルス科（Ｆｌａｖｉｖｉｒｉｄａｅ）に分類される種によって引き起こされる感染を治療する方法。
【請求項２】
R_1がフェニル及びベンジルからなる群から選択され、R_2及びR_3がプロピル、ｉ－プロピル及びブチルからなる群から選択され、R_4がファニルであり、及びＸがＯであり、又はその薬学的に受容可能な塩である、請求項１に定義される方法。
【請求項３】
感染がＣ型肝炎である、請求項１に定義される方法。
【請求項４】
感染がウシウイルス性下痢である、請求項１に定義される方法。
【請求項５】
有効量の請求項１の化合物を投与する工程を含む、（＋）センスＲＮＡウイルスによって引き起こされる感染を治療する方法。
【請求項６】
感染がＣ型肝炎である、請求項４に定義される方法。
【請求項７】
感染がウシウイルス性下痢である、請求項３に定義される方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
発明の背景
本発明は、一般的に、フラビウイルス科（Ｆｌａｖｉｖｉｒｉｄａｅ）に分類される種によって引き起こされる感染の治療に有用な二環式炭水化物化合物に関し、より具体的には、Ｃ型肝炎、ウシウイルス性下痢、ブタコレラ（ｃｌａｓｓｉｃａｌ　ｓｗｉｎｅ　ｆｅｖｅｒ）、ウェストナイル熱、及びデング熱ウイルスによって引き起こされる感染の治療又は改善に有用なそのような化合物に関する。
【背景技術】
【０００２】
Ｃ型感染は、輸血に関連した肝炎の大部分の原因が当時認定されたった２種の肝炎ウイルス、Ａ型肝炎及びＢ型肝炎によって引き起こされないとことが見出された１９７５年に疾患の別の実体であるとして最初に認定された。疾患は、「非Ａ非Ｂ型肝炎」と呼ばれ、チンパンジーに伝染可能であることが示された。しかしながら、１９８９年になって、非

Ａ非Ｂ型肝炎ウイルスのウイルスゲノムのクローニングとシークエンシングが初めて報告され、そのウイルスは、「Ｃ型肝炎ウイルス」（ＨＣＶ）と新たに命名された。即座に続いたＨＣＶに対する抗体の試験とそのような抗体のスクリーニングは、依然として主要な診断方法である。

【０００３】

Ｃ型肝炎ウイルスは、フラビウイルス科とウイルス学的及び遺伝学的特徴を共有する。そのゲノム構成はフラビウイルス（ｆｌａｖｉｖｉｒｕｓ）やペスチウイルス（ｐｅｓｔｉｖｉｒｕｓ）のゲノム構成と類似し、これらのウイルス、特にペスチウイルスとわずかに配列の同一性を共有する。これらのウイルスグループの各々は、フラビウイルス科に分類される別々の属：フラビウイルス属、ペスチウイルス属及びＣ型肝炎ウイルス属を含む。Ｃ型肝炎ウイルスは、直径が約５０ｎｍの球形のエンベロープウイルスである。ＨＣＶのゲノムは、ポジティブセンスの一本鎖の直鎖のＲＮＡである。それはセグメント化されていない。５’の非コード（ＮＣ）領域は、約３４０ヌクレオチドからなる。直近の下流は、約９０００ヌクレオチドの一つの大きなオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）である。最終に、約１００ヌクレオチドからなる３’ＮＣが存在する。ＨＣＶのゲノムは、非常に異種（ｈｅｔｅｒｏｇｅｎｅｏｕｓ）である。ゲノムの最も高度に保存された領域は、５’ＮＣ領域と３’ＮＣ領域部分である。ＯＲＦの最も高度に保存された領域は、キャプシド遺伝子である。対象的に、ゲノムの最も異種な部分は、エンベロープタンパク質をコードする遺伝子である。それらの遺伝的不均一性に基づいて、ＨＣＶ株は、主要グループ、ウイルスのいわゆる型や遺伝子型（及び別々の種として暫定的に分類された）に分けることができる。型には、ＨＣＶの分離ウイルス（ｉｓｏｌａｔｅ）は、無数のサブタイプにグループ分けされている。つまり、個々の分離ウイルスは、緊密に関連するが、しかし異なるウイルスの「擬種（ｑｕａｓｉｓｐｅｃｉｅｓ）」又は「群れ（ｓｗａｒｍｓ）」を含むウイルスゲノムの異種な群からなる。いくつかのＨＣＶの遺伝子型は、地理的には制限されているように見える；他は世界的な分布を有する。ＨＣＶのより広範な遺伝的解析は、型、サブタイプ、及び分離ウイルスへの分離ウイルスの階層的な分類は、幾分人工的であり、ウイルスはおそらく遺伝的な多様性の連続体として存在する。ＨＣＶの遺伝的多様性の帰結は、高い割合（８０％を超える）の慢性感染や繰返し晒された患者において再感染に対する免疫の欠如へと導く、宿主の免疫の監督を逃れる能力を有するウイルスである。慢性化と実質的な免疫の欠如は、配列において変化するウイルスの擬種の少数群の出現におそらくは起因する（ｗｗｗ．ＨＥＰＮＥＴ．ｃｏｍ，ｔｈｅ Ｈｅｐａｔｉｔｉｓ Ｉｎｆｏｍａｔｉｏｎ Ｎｅｔｗｏｒｋ；Ｃｈａｌｌａｎｄ Ｒ．，Ｙｏｕｎｇ Ｒ．Ｊ．（１９９７）Ａｎｔｉｖｉｒａｌ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｙ．Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ ＆ Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｓｅｒｉｅｓ．Ｓｐｅｋｔｒｕｍ Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，Ｏｘｆｏｒｄ，ｐｐ．８７－９２；Ｃａｎｎ Ａ．Ｊ．（１９９７）Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｖｉｒｏｌｏｇｙ．Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ．Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ｐｐ．２３０－２３５）。医療でまだ対処されていないという要求を生じさせる他の重要なフラビウイルス科は、ウェストナイルウイルスとデング熱の原因となるウイルスである。

【０００４】

したがって、現在利用できる治療と比較して、より少ないか又は減少した副作用であって、より効率的にフラビウイルス感染を治療するために使用することができる新規な生物的に活性な分子を発見し開発するための強力な医療の要求が存在する。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

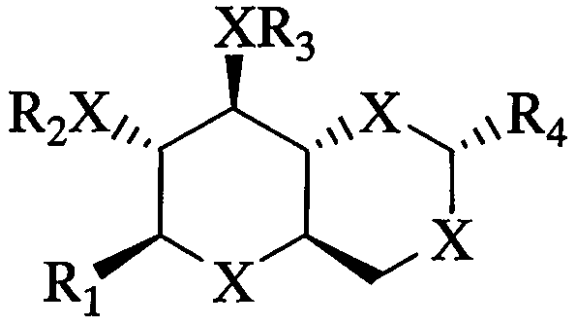
【０００５】

発明の概要

一般式：

【０００６】

【化１】



【０００７】
［式中、R_1はアリールであり、R_2及びR_3はアルキル又はアリールのいずれかであり、R_4はアリールであり、及びＸはＯ、Ｎ又はＳのいずれかである］
を有するある種の二環式の炭水化物が、Ｃ型肝炎、ウシウイルス性下痢、ブタコレラ、ウェストナイル熱及びデング熱ウイルスを含むフラビウイルス科によって引き起こされる感染に対する活性を有することを発見した。他の二環式炭水化物化合物がフラビウイルス科によって引き起こされる感染の治療に有用であろうと当業者に想起されるであろうが、代表的な、現在好ましい二環式炭水化物が本出願に記載される。
【課題を解決するための手段】
【０００８】
フラビウイルス科は、ヒト及び動物のＲＮＡウイルス性病原体の重要なファミリーである（Ｒｉｃｅ ＣＭ．１９９６．Ｆｌａｖｉｖｉｒｉｄａｅ：ｔｈｅ ｖｉｒｕｓｅｓ ａｎｄ ｔｈｅｉｒ ｒｅｐｌｉｃａｔｉｏｎ．Ｉｎ：Ｆｉｅｌｄｓ ＢＮ，Ｋｎｉｐｅ ＤＭ，Ｈｏｗｌｅｙ ＰＭ，ｅｄｓ．Ｆｉｅｌｄｓ ｖｉｒｏｌｏｇｙ．Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ：Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ－Ｒａｖｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ．ｐｐ９３１－９６０）。フラビウイルス科の３種の現在認定されている属が、伝染、宿主範囲及び病原性において明確な相違を示す。この伝統的フラビウイルスの一員は、黄熱ウイルス、デング熱ウイルス及びペスチウイルス、例えば、ウシウイルス性下痢のウイルス（ＢＶＤＶ）やブタコレラウイルス（ＣＳＦＶ）である。ごく最近、このファミリーの特徴付けられた一員は、共通でありヒト特有の病原体、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）である。フラビウイルス科は、（＋）センスＲＮＡゲノム極性を有する一本鎖ＲＮＡウイルスである。（＋）センスＲＮＡを有する他のウイルスファミリーは、ピコルナウイルス科（Ｐｉｃｏｒｎａｖｉｒｉｄａｅ）、トガウイルス科（Ｔｏｇａｖｉｒｉｄａｅ）、カリシウイルス科（Ｃａｌｉｃｉｖｉｒｉｄａｅ）及びコロナウイルス科（Ｃｏｒｏｎａｖｉｒｉｄａｅ）を含む。
【０００９】
本発明の化合物は天然の形態又は塩として使用することができる。化合物が十分に塩基であるか又は酸であり、安定な非毒性の酸又は塩基性の塩を形成する場合、塩としての化合物の投与が適切であるかもしれない。薬学的に許容できる塩の例は、生理学的に許容できる陰イオンを形成する酸、例えば、酢酸、アスコルビン酸、安息香酸、クエン酸、エトグルタル酸、グリセロリン酸、マロン酸、メタンスルホン酸、コハク酸、及び酒石酸とともに形成される有機酸付加塩である。重炭酸塩、炭酸塩、塩酸塩、硝酸塩、及び硫酸塩を含む適切な無機塩も同様に形成され得る。
【００１０】
本発明の化合物は、適切な賦形剤と一緒に化合物を含有する医薬組成物において都合よく投与することができ、該組成物は、ウイルス感染との奮闘に有用である。製剤が内部の又は外部のウイルス感染を治療するために使用されるかどうかに依存して、本発明の化合物及び組成物は、非経口、局所、膣内、経口、又は腸内に投与することができる。
【００１１】
非経口投与の場合、活性な化合物又はその塩の溶液は、水、場合によっては、非毒性の

界面活性剤と混合して調製することができる。分散剤もまた、グリセリン、液体ポリエチレングリコール、トリアセチン、及びその混合物中、及び油中に調製することができる。

【００１２】

化合物の有効な投薬量は、それらのインビトロでの活性を比較することによって決定することができる。ヒトへの有効な投薬量を外挿する方法は、当該技術分野において既知である。

【００１３】

化合物は、好ましくは単位投薬量形態で投与され；例えば、単位投薬量形態当たり活性成分の０．１－２０００ｍｇ、好ましくは１００－１０００ｍｇ、最も好ましくは１００－５００ｍｇを含有する。所望の投薬は、好ましくは、１回の投薬、又は適切な間隔、例えば、１日当たり２回、３回、４回若しくはより細かな投薬回数で投与される分けた投薬として提供してもよい。細かな投薬そのものは、さらに、例えば、多くの不連続で大雑把な間隔の投与、例えば、吸入器からの多数の吸入剤の投与、又は眼に複数の滴下による適用によって分けてもよい。

【００１４】

内部感染の場合、組成物を哺乳動物の体重１ｋｇ当たり約１－３０ｍｇ、好ましくは１－１０ｍｇのフリーベースとして計算された投薬量レベルで経口又は非経口で投与することができる。

【００１５】

本明細書に開示された化合物及び組成物の投与のための正確な処方は、治療される個々の患者への必要性、治療形体、及び、当然に主治医の専門家の診断に必然的に依存するであろう。本発明の化合物は、治療を必要とする動物に投与することができる。大抵の場合、これはヒトであろうが、家畜や愛玩用動物の治療もまた、本発明の範囲内に含まれるので、明確に予期される。

【実施例】

【００１６】

方法と材料

式Ａの化合物の合成

化合物は次のように合成した：

１．化合物Ａ１及び化合物Ａ２の合成

化合物Ａ１及び化合物Ａ２の合成は図２に図解される。

【００１７】

化合物１．１の合成

２，３，４，６－テトラ－Ｏ－ベンジル－Ｄ－グルコース（１０．０ｇ、１８．５ｍｍｏｌ）のCH_2Cl_2（１２５ｍｌ）とＤＭＦ（６．２５ｍｌ）の溶液に、臭化オキサリル（CH_2Cl_2の１０Ｍ溶液２．５ｍｌ、１．３５当量）をＲＴ（室温）で滴下した。これは、激しい気体形成が伴う。反応混合物はＡｒ雰囲気下でＲＴで６０分間攪拌する。その後、反応混合物は氷水（１２５ｍｌ）中に注がれる。層を分離した後、有機層を氷水（２×１２５ｍｌ）で洗浄する。$MgSO_4$上での乾燥、ろ過、及び真空で蒸発後、化合物１．１（図１）を黄色油状物として得て、さらに精製せずに次の反応工程に使用する。

【００１８】

式：$C_{34}H_{35}BrO_5$

分子量：６０３．５５

Ｒｆ：０．５３（シクロヘキサン／酢酸エチル　８５：１５）

【００１９】

【化２】

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 7.37 (3H, m), 7.33 (5H, m), 7.31 (5H, m), 7.28 (5H, m), 7.15 (2H, m), 6.43 (1H, d, J = 3.7), 4.98 (1H, d, J = 5.0), 4.83 (2H, dd, app. t, J = 10.9), 4.58 (1H, d, J = 12.1), 4.50 (1H, d, J = 10.7), 4.46 (2H, d, J = 12.1), 4.06 (1H, m), 4.03 (1H, dd, app. t, J = 9.2), 3.80 (1H, m), 3.78 (1H, m), 3.76 (1H, d, J = 4.6), 3.65 (1H, dd, J = 11.0, 2.0), 3.54 (1H, dd, J = 9.2, 3.7)

【００２０】

化合物１．２の合成

化合物１．１（理論上は１８．５ｍｍｏｌ）の乾燥Et_2O（２５０ｍｌ）の溶液に、０℃に冷却した塩化ベンジルマグネシウム（Et_2Oの１Ｍ－ｏｐｌの１５０ｍｌ、８当量）をゆっくり添加する。混合物を０℃で１時間拡販し、その後、温度を室温までゆっくりと戻す。室温で一晩攪拌した後、反応混合物をH_2O（５００ｍｌ）とＡｃＯＨに注ぎ、層を分離する。その後、有機層を３×５００ｍｌの飽和$NaHCO_3$溶液と２５０ｍｌの飽和ＮａＣｌ溶液で洗浄する。$MgSO_4$上での乾燥、ろ過、真空での蒸発により、粗生成物を生ずる。これをカラムクロマトグラフィー（６０－２３０メッシュシリカ、勾配：トルエン：シクロヘキサン８：２、トルエン、シクロヘキサン：酢酸エチル９：１）で精製し、無色油状物として６．４７ｇの化合物１．２（２工程で５７％）を生ずる。

【００２１】

式：$C_{41}H_{42}O_5$

分子量：６１４．７８

Ｒｆ：０．１５（シクロヘキサン／ジエチルエーテル　９：１）

$[a]_D^{20}$＝＋８５．３°；$[a]_{365}^{20}$＝＋８８．１°（クロロホルム中ｃ＝０．６０）

【００２２】

【化３】

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 7.36 (5H, m), 7.34 (5H, m), 7.31 (5H, m), 7.29 (5H, m), 7.26 (2H, m), 7.22 (3H, m), 4.96 (1H, d, J = 11.0), 4.95 (1H, d, J = 11.0), 4.91 (1H, d, J = 11.0), 4.84 (1H, d, J = 10.8), 4.69 (1H, d, J = 11.0), 4.62 (1H, d, J = 10.8), 4.59 (1H, d, J = 12.2), 4.52 (1H, d, J = 12.2), 3.74 (1H, dd, app. t, J = 9.0), 3.69 (1H, m), 3.68 (1H, m), 3.66 (1H, dd, app. t, J = 9.3), 3.52 (1H, ddd, J = 18.3, 9.2, 2.3), 3.37 (1H, dd, app. t, J = 9.0), 3.36 (1H, m), 3.17 (1H, dd, J = 14.3, 2.0), 2.75 (1H, dd, J = 14.3, 8.8)

APT-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): d (ppm) 138.9 (C), 138.7 (C), 138.5 (C), 138.3 (C), 138.2 (C), 129.7 (CH), 128.6 (CH), 128.6 (CH), 128.5 (CH), 128.4 (CH), 128.2 (CH), 128.0 (CH), 127.9 (CH), 127.8 (CH), 127.7 (CH), 127.6 (CH), 126.2 (CH), 87.5 (CH), 81.8 (CH), 80.1 (CH), 79.0 (CH), 78.7 (CH), 75.7 (CH_2), 75.2 (CH_2), 75.1 (CH_2), 73.5 (CH_2), 69.0 (CH_2), 38.0 (CH_2)

【００２３】

化合物１．３の合成

化合物１．２（６．０ｇ、９．７６ｍｍｏｌ）の無水ＥｔＯＨ（２４０ｍｌ）の溶液に、Ｐｄ／Ｃ（６００ｍｇ、１０ｍｏｌ％）を室温で添加する。Ｐａｒｒ装置で５時間、４気圧のH_2気体下で震とうする。セライト（登録商標）上でのろ過と真空での濃縮によって、２．６２ｇの白黄色の泡状物として残渣を生じる。カラムクロマトグラフィー（６０－２３０メッシュ、CH_2Cl_2：ＭｅＯＨ　９：１）による精製によって、白色の泡状物として２．４６ｇの化合物１．３を生ずる（９９％）。

【００２４】
式：$C_{13}H_{18}O_5$
分子量：２５４．２８
Ｒｆ：０．１４（ジクロロメタン／メタノール　９：１）
【００２５】
【化４】
IR(KBr): (cm^{-1}) 3381, 2922, 2360, 2341, 1641, 1603, 1496, 1454, 1379, 1308, 1226, 1079, 1031, 897, 754, 701, 668

ES-MS: 272 = $[254 + NH_4]^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 7.29 (2H, d, J = 7.0), 7.22 (2H, dd, app. t, J = 7.3), 7.14 (1H, m), 3.75 (1H, dd, J = 11.9, 2.4), 3.60 (1H, dd, J = 11.8, 5.4), 3.35 (1H, m), 3.32 (1H, m), 3.25 (1H, dd, app. t, J = 9.4), 3.15 (1H, m), 3.12 (1H, m), 3.09 (1H, dd, app. t, J = 9.3), 2.69 (1H, dd, J = 14.5, 8.5)

APT-NMR (125 MHz, CD_3OD): d (ppm) 139.1 (C), 129.4 (CH), 127.6 (CH), 125.6 (CH), 80.4 (CH), 80.1 (CH), 78.6 (CH), 73.7 (CH), 70.6 (CH), 61.6 (CH_2), 37.4 (CH_2)

【００２６】
化合物１．４の合成
化合物１．３（１．０ｇ、３．９３ｍｍｏｌ）のジメチルホルムアミド（３８．６ｍｌ）の溶液に、ベンズアルデヒドジメチルアセタール（７０８μｌ、１．２当量）とＤ（＋）－１０－カンフルスルホン酸（２７４ｍｇ、０．３当量）を室温で連続的に添加する。反応混合物をＡｒ雰囲気下で室温で２時間攪拌する。精査をＥｔＯＡｃ（１５０ｍｌ）で希釈することによって開始する。その後、溶液を１Ｎ　ＮａＯＨ溶液（２×１５０ｍｌ）、飽和$NaHCO_3$溶液（２×１００ｍｌ）、及び飽和ＮａＣｌ溶液（２×１００ｍｌ）で洗浄する。$MgSO_4$上での乾燥、ろ過、及び真空での濃縮により、１．５２ｇの白色の固体残渣として生ずる。カラムクロマトグラフィー（６０－２３０メッシュシリカ、CH_2Cl_2：ＭｅＯＨ　９９：１）による精製によって、白色固体として９４０ｍｇの化合物１．４（７０％）を生ずる。
【００２７】
式：$C_{20}H_{22}O_5$
分子量：３４２．３９
Ｒｆ：０．２０（シクロヘキサン：酢酸エチル　６：４）
融点：４３－４４℃
［ａ］$_D^{20}$＝－６．９°；［ａ］$_{365}^{20}$＝－１０．７°（クロロホルム中ｃ＝０．６０）
【００２８】

【化５】

IR(KBr): (cm^{-1}) 3478, 3031, 2871, 2360, 1604, 1497, 1454, 1385, 1317, 1299, 1271, 1212, 1124, 1099, 1077, 998, 973, 919, 673, 699, 668, 655, 625, 552, 510

ES-MS: 343 = $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 7.49 (2H, m), 7.38 (3H, m), 7.31 (2H, m), 7.28 (2H, m), 7.25 (1H, m), 5.51 (1H, s), 4.28 (1H, dd, J = 10.5, 4.8), 3.74 (1H, dd, app. t, J = 8.7), 3.68 (1H, dd, app. t, J = 10.0), 3.58 (1H, ddd, J = 9.6, 8.2, 2.6), 3.43 (1H, dd, app. t, J = 9.2), 3.39 (1H, m), 3.38 (1H, dd, J = 10.5, 4.0), 3.18 (1H, dd, J = 14.4, 2.5), 2.93 (1H, br s), 2.79 (1H, dd, J = 14.4, 7.9), 2.69 (1H, br s)

APT-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): d (ppm) 138.0 (C), 137.1 (C), 129.8 (CH), 129.4 (CH), 128.4 (CH), 128.2 (CH), 126.4 (CH), 126.3 (CH), 101.9 (CH), 81.1 (CH), 80.3 (CH), 75.5 (CH), 73.8 (CH), 70.1 (CH), 68.9 (CH_2), 37.9 (CH_2)

【００２９】

化合物Ａ１の合成

化合物１．４（１００ｍｇ、０．２９２ｍｍｏｌ）の溶液に、０℃に冷却したＮａＨ（５１ｍｇ、６０％分配、４当量）を添加する。その後、混合物をＡｒ雰囲気下で０℃で３０分間攪拌する。次いで、ｎ－プロピルブロマイド（１３３μｌ、５当量）をゆっくり滴下して添加する。０℃で１０分後、攪拌を室温で一晩続ける。ＴＬＣ分析後、追加の２当量のＮａＨと１当量のｎ－ＰｒＢｒを添加する。室温で４時間攪拌後、反応混合物をH_2O（２５ｍｌ）に注ぎ、続いて３×３０ｍｌのEt_2Oで抽出する。合わせた有機層を５０ｍｌの飽和ＮａＣｌ溶液で洗浄し、$MgSO_4$上で乾燥する。ろ過と真空での濃縮により、１４４ｍｇの白色結晶残渣を生ずる。カラムクロマトグラフィー（２３０－４００メッシュシリカ、ペンタン：エーテル　９：１）による精製によって、化合物Ａ１を白色結晶生成物（１１７ｍｇ、９４％）として得る。

【００３０】

式：$C_{26}H_{34}O_5$

分子量：４２６．５５

Ｒｆ：０．２５（ペンタン：エーテル　９：１）

融点：７６－７７℃

$[a]_D^{20}$＝－４１．４°；$[a]_{365}^{20}$＝－１２７．６°（クロロホルム中ｃ＝１．０２）

【００３１】

【化６】

IR (KBr): (cm^{-1}) 2963 (m), 2918 (m), 2873 (m), 1454 (m), 1369 (m), 1121 (s), 1104 (s), 1089 (s), 1030 (m), 1008 (m), 968 (m), 951 (m), 748 (s), 697 (s), 652 (m)

EI-MS: (m/z) 43 (86), 91 (100), 115 (39), 149 (26), 176 (17), 217 (5), 251 (3), 277 (32), 208 (1), 335 (3), 366 (2), 426 (8) [M^+], 427 (2) [M^++1]

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 7.48-7.46 (2H, m), 7.38-7.33 (3H, m), 7.30-7.20 (5H, m), 5.52 (1H, s), 4.24 (1H, dd, J = 10.4, 5.0), 3.92 (1H, dt, J = 8.8, 6.6), 3.86 (1H, dt, J = 9.3, 6.6), 3.65 (1H, dd, app t, J = 10.4), 3.64 (1H, dt, J = 9.3, 6.8), 3.57-3.48 (4H, m), 3.29 (1H, ddd, app dt, J = 10.0, 5.0), 3.15 (1H, dd, 14.3, 2.0), 3.08 (1H, dd, J = 9.3, 8.3), 2.70 (1H, dd, J = 14.3, 8.7), 1.62 (4H, m), 0.98 (3H, t, J = 7.4), 0.93 (3H, t, J = 7.4)

APT-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): d (ppm) 139.5 (C), 138.5 (C), 130.5 (CH), 129.7 (CH), 129.1 (CH), 129.0 (CH), 127.1 (CH), 126.9 (CH), 101.8 (CH), 84.4 (CH), 83.2 (CH), 82.6 (CH), 81.6 (CH), 76.1 (CH_2), 75.7 (CH_2), 71.1 (CH), 69.8 (CH_2), 39.1 (CH_2), 24.5 (CH_2), 24.5 (CH_2), 11.6 (CH_3), 11.6 (CH_3)

【００３２】

化合物Ａ２の合成

化合物１．４（１００ｍｇ、０．２９２ｍｍｏｌ）の溶液に、０℃に冷却したＮａＨ（５１ｍｇ、６０％分配、４当量）を添加する。混合物を０℃でＡｒ雰囲気下で３０分間攪拌する。その後、ｎ－ブチルブロマイド（１５７μｌ、５当量）をゆっくり滴下して添加する。０℃で１０分間攪拌後、攪拌を室温で一晩続ける。ＴＬＣ分析後、追加の２当量のＮａＨと１当量のｎ－ＢｕＢｒを添加する。室温で５時間攪拌後、反応混合物をH_2O（２５ｍｌ）に注ぎ、処理した３×３０ｍｌのEt_2Oで溶液を抽出する。合わせた有機層を５０ｍｌの飽和ＮａＣｌ溶液で洗浄し、$MgSO_4$上で乾燥する。ろ過と真空での濃縮により、１６８ｍｇの白黄色残渣を生ずる。カラムクロマトグラフィー（２３０－４００メッシュシリカ、ペンタン：エーテル　９２：８）による精製によって、１２５ｍｇの白色結晶の化合物Ａ２（９４％）を生ずる。

【００３３】

式：$C_{28}H_{38}O_5$

分子量：４５４．６０

Ｒｆ：０．２４（ペンタン：エーテル　９２：８）

融点：６９－７０℃

［ａ］$_D^{20}$＝－３８．７°；［ａ］$_{365}^{20}$＝－１２０．８°（クロロホルム中ｃ＝０．９８）

【００３４】

【化７】

IR (KBr): (cm^{-1}) 2963 (s), 2929 (s), 2873 (s), 1454 (m), 1375 (m), 1172 (m), 1092 (s), 1030 (m), 1008 (m), 968 (m), 748 (m), 697 (s)

EI-MS: (m/z) 57 (75), 91 (100), 129 (49), 177 (12), 189 (19), 235 (2), 291 (36), 307 (4), 363 (2), 454 (5) [M^+]

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 7.49-7.47 (2H, m), 7.38-7.34 (3H, m), 7.31-7.21 (5H, m), 5.52 (1H, s), 4.24 (1H, dd, J = 10.4, 5.0), 3.96 (1H, dt, J = 8.9, 6.6), 3.90 (1H, dt, J = 9.4, 6.6), 3.71-3.64 (2H, m), 3.59 (1H, dt, J = 8.9, 6.6), 3.55-3.48 (3H, m), 3.29 (1H, ddd, app dt, J = 9.5, 5.0), 3.15 (1H, dd, J = 14.3, 1.9), 3.08 (1H, dd, app t, J = 8.8), 2.97 (1H, dd, J = 14.3, 8.7), 1.65-1.55 (4H, m), 1.49-1.35 (4H, m), 0.96 (3H, t, J = 7.4), 0.90 (3H, t, J = 7.4)

APT-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): d (ppm) 140.0 (C), 139.0 (C), 131.0 (CH), 130.2 (CH), 129.6 (CH), 129.5 (CH), 127.6 (CH), 127.4 (CH), 102.4 (CH), 84.9 (CH), 83.7 (CH), 83.1 (CH), 82.1 (CH), 74.7 (CH_2), 74.3 (CH_2), 70.4 (CH), 64.5 (CH_2), 39.6 (CH_2), 34.0 (CH_2), 33.9 (CH_2), 20.8 (CH_2), 20.7 (CH_2), 15.4 (CH_3), 15.3 (CH_3)

【００３５】

２．化合物Ａ３の合成

化合物Ａ３の合成は図３に図解される。

【００３６】

化合物２．１の合成

（β）－Ｄ－グルコース　ペンター－アセテート（２４．６ｇ、６３．０ｍｍｏｌ）に臭化水素の酢酸（３３ｗｔ％、１００ｍｌ）溶液を添加した。濃い茶色がすぐに現われる。反応混合物をアルゴン雰囲気下で室温で３０分間攪拌した。その後、溶媒を真空下でトルエン（４×５０ｍｌ）とともに共沸蒸留により除去し、緑茶色の固体の化合物２．１を生じた。粗生成物をさらに精製せずに次の反応工程に使用した。

【００３７】

式：$C_{14}H_{19}O_9Br$

分子量：４１１．２０

Ｒｆ：０．４６（シクロヘキサン／酢酸エチル　１：１）

【００３８】

【化８】

IR (KBr): 2962, 2360, 2342, 1748, 1435, 1369, 1218, 1162, 1112, 1079, 1042, 911, 752, 668, 601, 563 cm^{-1}

ES-MS: 433 = [410 + Na]$^+$, 435 = [412 + Na^+]

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 6.61 (1H, d, J = 4.0), 5.56 (1H, dd, app. t, J = 9.7), 5.16 (1H, dd, app. t, J = 9.7), 4.84 (1H, dd, J = 10.0, 4.0), 4.33 (1H, m), 4.30 (1H, m), 4.13 (1H, dd, J = 12.3, 1.5), 2.11 (3H, s), 2.10 (3H, s), 2.05 (3H, s), 2.03 (3H, s)

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): d (ppm) 170.37, 169.70, 169.64, 169.31, 86.34, 71.91, 70.39, 69.94, 66.94, 60.76, 20.48, 20.48, 20.38, 20.38

【００３９】

化合物２．２の合成

臭化フェニルマグネシウム（ジエチルエーテルの３Ｍ溶液２００ｍｌ、６００ｍｍｏｌ、９．５当量）の、０℃に冷却した乾燥ジエチルエーテル（５００ｍｌ）の溶液に、乾燥ジエチルエーテル（５００ｍｌ）中の臭化化合物１．１（理論値６３．０ｍｍｏｌ）の溶液をカニュレーションにより添加した。反応混合物をアルゴン雰囲気下で７２時間室温で攪拌した。その後、反応混合物を水（２０００ｍｌ）に注ぎ入れ、酢酸（２００ｍｌ）を添加し、マグネシウム塩を溶解した。二層を分離し、有機層を水（３×５００ｍｌ）で洗浄した。合わせた水層を減圧下で濃縮し、薄茶色の固体残渣を生じた。この残渣をピリジン（５００ｍｌ）で溶解した。０℃で、無水酢酸（３４０ｍｌ）をゆっくり添加した。ＤＭＡＰ（２００ｍｇ、１．６４ｍｍｏｌ）を添加した後、アルゴン雰囲気下で室温で２０時間攪拌を続けた。次に、反応混合物を減圧下で濃縮し、トルエン（１×２５０ｍｌ）とともに共沸蒸発し、ジエチルエーテル（３ｌ）を添加した。得られた有機層を飽和ＮａＨＣＯ$_3$溶液（２×１ｌ）、１Ｎ　ＨＣｌ溶液（２×１ｌ）、及び水（２×１ｌ）で洗浄した。ＭｇＳＯ$_4$上での乾燥、減圧下での濃縮により、２５．１ｇの薄茶色の結晶を生じた。これらを２－プロパノールから再結晶によって精製し、白色結晶として１６．１ｇの化合物２．２（６３％）を得た。

【００４０】

式：Ｃ$_{20}$Ｈ$_{24}$Ｏ$_9$

分子量：４０８．４０

Ｒｆ：０．４２（シクロヘキサン／酢酸エチル　１：１）

融点：１４９－１５０℃

【００４１】

【化９】

IR (KBr): 2956, 1753, 1433, 1368, 1224, 1104, 1036, 978, 916, 764, 738, 702, 603 cm^{-1}

ES-MS: 431 = [408 + Na]$^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 7.39 (5H, m), 5.24 (1H, dd, app. t, J = 9.4), 5.24 (1H, dd, app. t, J = 9.8), 5.14 (1H, dd, app. t, J = 9.8), 4.40 (1H, d, J = 9.9), 4.30 (1H, dd, J = 17.2, 4.7), 4.16 (1H, dd, J = 12.2, 1.5), 3.85 (1H, m), 2.09 (3H, s), 2.06 (3H, s), 2.01 (3H, s), 1.80 (3H, s)

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): d (ppm) 170.60, 170.25, 169.36, 168.70, 136.01, 128.75, 128.28, 126.96, 80.08, 75.94, 74.06, 72.44, 68.39, 62.17, 20.61, 20.48, 20.21

【００４２】

化合物１．３の合成

テトラアセテートの化合物２．２（１６．０８ｇ、３９．４ｍｍｏｌ）の、テトラヒドロフラン（２３２ｍｌ）とメタノール（２３２ｍｌ）の混合物の溶液に、無水炭酸カリウム（１．３６ｇ、９．８４ｇ、０．２５当量）を添加した。混合物を室温でアルゴン雰囲気下で３時間攪拌した。シリカゲル（４０ｍｌ）を添加し、溶媒を減圧下で除去した。生成物の化合物１．３をカラムクロマトグラフィー（ジクロロメタン／メタノール　８５／１５）によって精製し、９．５０ｇの生成物の化合物２．３（９９％）を得る。

【００４３】

式：Ｃ$_{12}$Ｈ$_{16}$Ｏ$_5$

分子量：２４０．２６

Ｒｆ：０．１２（ジクロロメタン／メタノール　９：１）

【００４４】

【化１０】

IR (KBr): 3368, 2919, 2360, 1636, 1496, 1455, 1082, 1042, 891, 764, 701, 595 cm^{-1}

ES-MS: 258 = $[240 + NH_4]^+$, 263 = $[240 + Na]^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 7.44 (2H, d, J = 7.1), 7.35 (2H, dd, app. t, J = 7.6), 7.30 (1H, m), 4.15 (1H, d, J = 9.4), 3.90 (1H, dd, J = 12.1, 1.6), 3.72 (1H, dd, J = 12.0, 5.2), 3.51 (1H, dd, app. t, J = 8.7), 3.45 (1H, dd, app. t, J = 9.4), 3.43 (3H, m), 3.40 (1H, dd, app. t, J = 9.2)

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): d (ppm) 139.30, 127.43, 82.41, 80.70, 78.23, 74.98, 70.40, 61.41

【００４５】

化合物２．４の合成

テトロールの化合物２．３（１．１５ｇ、４．７９ｍｍｏｌ）の乾燥アセトニトリル（３ｍｌ）にアルゴン雰囲気下で、カンフルスルホン酸（２７９ｍｇ、１．２０ｍｍｏｌ、０．２５当量）とベンズアルデヒドジメチルアセタール（１．４４ｍｌ、９．５８ｍｍｏｌ、２当量）を添加した。反応混合物を室温で３時間攪拌した。その後、混合物をトリエチルアミン（０．３３７ｍｌ、２．４０ｍｍｏｌ）の添加によって中和した。反応混合物を減圧下で濃縮し、２．７０ｇの薄黄色の油状物を生ずる。カラムクロマトグラフィー（CH_2Cl_2／ｉＰｒＯＨ　１／１）による精製によって、１．５３ｇの化合物２．４（９７％）を白色固体として得る。

【００４６】

式：$C_{19}H_{20}O_5$

分子量：３２８．３６

Ｒｆ：０．２７（シクロヘキサン／酢酸エチル　１：１）

融点：１１４－１１５℃

$[a]_D^{20}$＝＋９．３°；$[a]_{365}^{20}$＝＋１０．０°（クロロホルム中ｃ＝１．１３）

【００４７】

【化１１】

IR (KBr): 3433, 2874, 2357, 1651, 1496, 1455, 1385, 1313, 1272, 1211, 1109, 1029, 1009, 913, 765, 733, 700 cm^{-1}

ES-MS: 346 = $[328 + NH_4]^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$): [d (ppm); J (Hz)] 7.53 (2H, m), 7.40 (5H, m), 7.39 (3H, m), 5.59 (1H, s), 4.37 (1H, dd, J = 10.3, 5.9), 4.30 (1H, d, J = 9.3), 3.91 (1H, dd, app. t, J = 8.6), 3.79 (1H, dd, app. t, J = 10.3), 3.67 (1H, dd, app. t, J = 9.3), 3.65 (1H, m), 3.63 (1H, m)

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): d (ppm) 137.50, 136.84, 129.14, 128.65, 128.52, 128.20, 127.29, 126.12, 101.73, 82.41, 80.90, 75.43, 74.60, 70.60, 68.70

【００４８】

化合物２．５の合成

ジオールの化合物２．４（５００ｍｇ；１．５２３ｍｍｏｌ）の乾燥ピリジン（１５ｍｌ）の氷で冷却した溶液に、連続してＤＭＡＰ（２０ｍｇ；０．１５ｍｍｏｌ；０．１当量）とAc_2O（５ｍｌ）を添加する。冷却を止め、反応混合物をアルゴン雰囲気下で１

８時間室温で攪拌する。その後、ピリジンとAc_2Oをトルエンを用いて減圧下で共沸的に除去する。残渣をカラムクロマトグラフィー（Ｍｅｒｃｋ　ｋｉｅｓｅｌｇｅｌ；シクロヘキサン／ＥｔＯＡｃ：８５／１５）によって精製する。化合物２．５を９５％収率で得る（５９５ｍｇ；１．４４３ｍｍｏｌ）。

【００４９】

式：$C_{23}H_{24}O_5$

分子量：４１２．４

Ｒｆ：０．２１（シクロヘキサン／ＥｔＯＡｃ：８５／１５）

融点：＞１５０℃昇華

$[a]_D^{20}$：－７８．４６°（ｃ＝１．０１０；$CHCl_3$）

ＩＲ（ＫＢｒ－ディスク、フィルム）：

【００５０】

【化１２】

(cm^{-1}) 3065 (w); 3033 (w); 2948 (w); 2873 (w); 2863 (w); 1749 (s); 1370 (m); 1238 (s); 1212 (s); 1105 (s); 1063 (m); 1031 (m); 999 (m); 767 (m); 701 (m)

MS (m/z): 43 (100); 91 (17); 105 (26); 107 (13); 189 (9); 219 (11); 352 (3); 369 (<1)

^{1}H-NMR (500MHz; CD_3COCD_3) : [d (ppm); J (Hz)] 7.46 (2H; m); 7.39 (2H; m); 7.34 (6H; m); 5.69 (1H; s); 5.42 (1H; dd(app.t); J=9.5); 5.19 (1H; dd(app.t); J=9.5); 4.67 (1H; d; J=9.8); 4.31 (1H; dd; J=4.6, 9.9); 4.98 (1H; dd(app.t); J=9.4); 3.87 (1H; dd(app.t); J=10.0); 3.82 (1H; ddd; J=4.6, 9.5, 10.0); 1.95 (3H; s); 1.76 (3H; s)

APT (125MHz; CD_3COCD_3) : d (ppm) 20.3 (CH_3); 20.7 (CH_3); 69.1 (CH_2); 71.7 (CH); 73.8 (CH); 74.3 (CH); 79.6 (CH); 81.2 (CH); 102.1 (CH); 127.2 (CH); 128.2 (CH); 128.8 (CH); 129.0 (CH); 129.3 (CH); 129.6 (CH); 138.3 (C); 138.7 (C); 169.2 (C); 170.3 (C)

【００５１】

化合物２．６の合成

化合物２．５（４００ｍｇ；０．９７０ｍｍｏｌ）を乾燥トルエン（５ｍｌ）に溶解し、トルエン中のＰｅｔａｓｉｓ試薬（Cp_2TiMe_2）の０．５Ｍ溶液（８．１５ｍｌ；４．０７４ｍｍｏｌ；４．２当量）を滴下して添加する。反応混合物を遮光し、Ａｒ雰囲気下で６０分間７０℃で加熱する。その後、反応混合物を減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー（Ｍｅｒｃｋ　ｋｉｅｓｅｌｇｅｌ；シクロヘキサン／CH_2Cl_2／ＥｔＯＡｃ：５０／５０／１）によって精製する。

【００５２】

化合物Ａ３の合成

エノールエーテル２．６（３２０ｍｇ；０．７８３ｍｍｏｌ）の乾燥ＥｔＯＡｃ（１７ｍｌ）の溶液に乾燥Et_3N（１．７ｍｌ）を添加する。その後、Ｐｄ／Ｃ（１０％ｗｔパラジウム；３２０ｍｇ）を添加し、反応混合物をH_2雰囲気下に置いた。室温で２２時間攪拌後、結晶をセライト上でろ過により取り出し、ＥｔＯＡｃで洗浄する。ろ過物の濃縮後に得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（Ｍｅｒｃｋ　ｋｉｅｓｅｌｇｅｌ；ペンタン／CH_2Cl_2／エーテル：５０／５０／１）によって精製する。化合物Ａ３を８２％の収率（２６５ｍｇ；０．６４２ｍｍｏｌ）で得る。

【００５３】

式：$C_{25}H_{32}O_5$

分子量：０．２２（ペンタン／CH_2Cl_2／エーテル：５０／５０／１）

融点：９８－１００℃

$[a]_D^{20}$：－３１．０２°（ｃ＝１．１００；$CHCl_3$）

【００５４】

【化１３】

IR (KBr-disc, film) : (cm^{-1}) 3066 (w); 3035 (w); 2972 (s); 2925 (m); 2902 (m); 2869 (m); 1454 (m); 1380 (m); 1170 (m); 1106 (s); 1076 (s); 1028 (s); 1001 (m); 764 (m); 748 (m); 700 (s)

MS (m/z): 43 (100); 91 (62); 105 (69); 107 (56); 115 (20); 149 (88); 196 (4); 238 (12); 263 (7); 369 (<1); 412 (<1; $M^{+\circ}$)

^{1}H-NMR (500MHz; CD_3COCD_3) : [d (ppm); J (Hz)] 7.51 (2H; m); 7.27-7.43 (8H; m); 5.65 (1H; s); 4.25 (1H; d; J=9.2); 4.23 (1H; dd; J=5.0, 10.2); 4.01 (1H; h; J=6.1); 3.76 (1H; dd(app.t); J=10.1); 3.66 (1H; dd(app.t); J=9.2); 3.62 (1H; dd(app.t); J=9.2); 3.55 (1H; ddd; J=5.0, 9.1, 9.9); 3.28 (1H; dd; J=8.3, 9.2); 3.19 (1H; h; J=6.1); 1.14 (6H; 2d(app.t); J=5.9); 0.96 (3H; d; J=6.1); 0.44 (3H; d; J=6.1)

APT (125MHz; CD_3COCD_3) : d (ppm) 21.9 (CH_3); 22.7 (CH_3); 23.0 (CH_3); 23.6 (CH_3); 69.4 (CH_2); 71.6 (CH); 72.8 (CH); 73.3 (CH); 80.9 (CH); 81.5 (CH); 83.1 (CH); 83.8 (CH); 101.7 (CH); 126.9 (CH); 128.6 (CH); 128.8 (CH); 128.8 (CH); 129.4 (CH); 139.3 (C); 140.7 (C)

【００５５】

生物活性の化合物のスクリーニング

様々な病原性ウイルス、例えばヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）、単純疱疹ウイルス（ＨＳＶ）、ワクシニアウイルス（ＶＶ）、水痘帯状疱疹ウイルス（ＶＺＶ）及びヒトサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）に対して化合物をスクリーニングした。ＣＭＶを除いた全てのウイルスに対してEC_{50}（ヒトＣＥＭ細胞培養のＨＩＶ誘導による細胞変性、ヒト胚線維芽細胞E_6ＳＭ細胞培養のＨＳＶ及びＶＶ誘導による細胞変性、及びヒト胎児肺のＨＥＬ細胞培養のＶＺＶ誘導による細胞変性を５０％阻害するのに要求する有効化合物濃度）を決定した。ＣＭＶに対してIC_{50}で発現した抗ウイルス活性を決定するために、９６ウェルマイクロプレートで増殖したヒト胎児肺の線維芽細胞（ＨＥＬ）を２０ＰＦＵウイルス／ウェルで感染させた。

【００５６】

３７℃で２時間インキュベート後、感染細胞に連続希釈した試験化合物を含有する培養液０．１ｍｌで補充した。７日目、Ｇｉｅｍｓａ溶液で細胞を染色後、プラークを顕微鏡でカウントした。最小の抗ウイルス濃度は、ウイルス誘導によるプラーク形成を５０％まで阻害するのに要求される投薬量として表した。

【００５７】

同様に化合物をフラビウイルスに対してスクリーニングした。ＨＣＶに対するスクリーニングのために適当なインビトロアッセイがないという事実により、それがＣ型肝炎ウイルスと多くの類似性を共有するので、出願人はウシウイルス性下痢ウイルス（ＢＶＤＶ）に対してスクリーニングすることに決定した。抗ウイルス活性は、Ｍａｄｉｎ　Ｄａｒｂｙウシ腎細胞（ＭＤＢＫ細胞）についてＢＶＤＶのＰｅ５１５菌を用いてアッセイした。抗ウイルス活性と細胞毒性の両者は、ＭＴＳ方法の手法により決定した。EC_{50}は、ウイルスで誘導した細胞変性の効果を５０％まで減少するのに要求される濃度である。ＭＴＣ（最小毒性濃度）は、細胞の代謝において≧２０％の減少を引き起こす濃度として定義された。

【００５８】

化合物はまた、マウス白血病細胞（Ｌ１２１０／０）、マウス乳腺癌腫細胞（ＦＭ３Ａ）、及びヒトＴリンパ球（Ｍｏｌｔ４／Ｃ８、ＣＥＭ／０）の増殖を通じて抗腫瘍活性を調べた。

【００５９】
ＮＣＣＬＳ文献Ｍ７－Ａ４、Ｖｏｌ．１７　Ｎｏ．２、Ｍ２７－Ａ、Ｖｏｌ．１７　Ｎｏ．９及びＭ３８－Ｐ、Ｖｏｌ．１８　Ｎｏ．１３に基づいて、抗細菌及び抗真菌スクリーニングを実行するためのマイクロ希釈法を、自動化されたリーダー－インキュベーターであるＢｉｏｓｃｒｅｅｎ　Ｃ　Ａｎａｌｙｓｅｒ（Ｌａｂｓｙｓｔｅｍｓ、フィンランド）を用いて開発した。それは、垂直の光度測定（光学不透明度）によって連続して増殖を測定し、データを処理し、そして結果のプリントアウトを提供する。細菌については、出願人は、第一の標的として：黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）ＡＴＣＣ２９２１３、腸球菌ファエカリス（Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ　ｆａｅｃａｌｉｓ）ＡＴＣＣ２９２１２、大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ）ＡＴＣＣ２５９２２及びグラム陰性桿菌（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ　ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ）ＡＴＣＣ２７８５３を選択した。カンジダ・アルビカンス（Ｃａｎｄｉｄａ　ａｌｂｉｃａｎｓ）ＡＴＣＣ２４４３３及びクリプトコッカス・ネオフォルマンス（Ｃｒｙｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｎｅｏｆｏｒｍａｎｓ）ＡＴＣＣ９０１１２を酵母の標的として選択した。皮膚糸状菌の毛瘡白癬菌（Ｔｒｉｃｈｏｐｈｙｔｏｎ　ｍｅｎｔａｇｒｏｐｈｙｔｅｓ）（ＡＴＣＣ９５３３と侵襲性糸状菌のアスペルギルス・フミガーツス（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｆｕｍｉｇａｔｕｓ）ＡＴＣＣ２８９５を糸状菌として選択した。最適なインキュベーションに必要な全てのパラメータはＢｉｏｌｉｎｋソフトウェア（Ｌａｂｓｙｓｔｅｍｓ、フィンランド）にプログラムすることができる。全ての細菌のスクリーニングのインキュベーションは、３５℃で１６時間であった。カンジダ及びクリプトコッカスに対するスクリーニングのインキュベーションパラメータは、それぞれ３５℃で２４時間と４８時間であり、侵襲性真菌アスペルギルス・フミガーツスは３０℃で３日間インキュベートし、そして、皮膚糸状菌の毛瘡白癬菌は３０℃で５日間インキュベートした。細菌のための成長培地として、カチオン調整Ｍｕｅｌｌｅｒ－Ｈｉｎｔｏｎブロース（Ｏｘｏｉｄ、ベルギー）を使用した。真菌感受性試験のために、合成培地：グルタミン含有、重炭酸塩を含まず、ｐＨ指示薬（Ｏｘｏｉｄ）を含み、１％グルコースを添加したＲＰＭＩ１６４０が推奨される。１０倍の化合物濃度の２５μｌを各ウェルにピペットで入れる。各２５μｌの試験化合物に２２５μｌの成長培地を添加した。抗細菌及び抗酵母スクリーニング用の測定手法として、成長曲線下の領域で使用し、自動的にＢｉｏｌｉｎｋソフトウェアにより決定される。病原性糸状菌に対するスクリーニングについては、出願人はエンドポイントＯＤ測定を使用した。内部精度管理については、各微生物に対する参照抗体を試験の設定に入れた。

【００６０】
結果及び考察
第一セットのスクリーニング（表１）において、二環式炭水化物の抗ウイルス活性をＨＩＶ－１、ＨＩＶ－２、ＨＳＶ－１、ＨＳＶ－２、ＶＶ、ＣＭＶ及びＶＺＶに対して調べた。化合物Ａ３だけがＶＡＶに対して活性を示した。

【００６１】

【表１】

表１－HIV-1、HIV-2、HSV-1、HSV-2、VV、CMV及びVZVに対するスクリーニングの結果

化合物	[a]EC_{50}（μg／ml）							
	HIV-1 (III_B) (CEM)	HIV-2 (ROD) (CEM)	HSV-1 (KOS) (E_6SM)	HSV-2 (G) (E_6SM)	VV (E_6SM)	CMV Davis,AD-169 (HEL)	VZV (HEL)	
							OKA	YS
化合物A1	>20	>4	>16	>16	>16	>20	ND	ND
化合物A2	>20	>20	>16	>16	>16	>20	ND	ND
化合物A3	>20	>4	>8	>8	ND	>5	1.1	ND

[a]５０％　ヒトリンパ球ＣＥＭ細胞培養におけるＨＩＶ誘導の細胞変性、ヒト胚線維芽細胞E_6ＳＭ細胞培養におけるＨＳＶ及びＶＶ誘導の細胞変性、及び胎児肺ＨＥＬ細胞培養におけるＣＭＶ及びＶＺＶ誘導の細胞変性を５０％まで阻害するために要求される有効濃度又は化合物濃度

【００６２】

【表２】

表２－BVDV及びMDBK細胞に対するスクリーニングの結果

化合物	EC_{50}(μg/ml)BVDV	MTC(μg/ml)MDBK
化合物A1	23/4/3.2	>100/>100/>100
化合物A2	7/53/54	>100/>100/>100
化合物A3	<0.8	>100
リバビリン	40	-

【００６３】

第二セットのウイルススクリーニング（表２）は、ウシ腎（ＭＤＢＫ）細胞における抗ウシウイルス性下痢ウイルス（ＢＶＤＶ－菌Ｐｅ５１５）活性を調べるために実行した。化合物Ａ１はそれぞれ２３、４、及び３．２μｇ／ｍｌのED_{50}を示した。化合物Ａ２はそれぞれ７、５３、及び５４μｇ／ｍｌのED_{50}を示した。両化合物を用いた繰返しの試験は全て独立した３回の実験であった。化合物Ａ３はEC_{50}　＜０．８μｇ／ｍｌを示した。リバビリンはＨＣＶによって引き起こされる感染を治療するために現在使用される貴重な基準である。表２の結果から、化合物Ａ１、Ａ２及びＡ３はリバビリンより非常に活性であることは明らかである。

【００６４】

ＭＴＣは、化合物Ａ１、Ａ２及びＡ３で処理した場合、ＭＤＢＫ細胞い対して最高濃度（１００μｇ／ｍｌ）で達しなかった。

化合物Ａ１の抗腫瘍活性は、Ｌ１２１０／０、ＦＭ３Ａ／０、Ｍｏｌｔ４／Ｃ８及びＣＥＭ／０に対してスクリーニングした。試験した全ての細胞株に対して、化合物Ａ１は抗腫瘍活性を示さなかった。化合物Ａ２は、試験した細胞株に対して適度の抗腫瘍活性を示した（表３）。

【００６５】

【表３】

表３－L1210/0、FM3A/0、Molt4/C8、及びCEM/0に対する抗腫瘍スクリーニングの結果

化合物	IC_{50}(μg/ml)			
	L1210/0	FM3A/0	Molt4/C8	CEM/0
化合物A1	>200	>200	>200	>200
化合物A2	82±7	22±0	19±1	27±2
化合物A3	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

【００６６】

抗細菌活性は、参照の細菌；黄色ブドウ球菌、腸球菌ファエカリス、大腸菌及びグラム陰性桿菌に対して試験した（表４）。化合物のいずれも選択した微生物に対していかなる有意な抗細菌効果を示さなかった。両化合物の最小の阻害濃度は約２５μｇ／ｍｌであった。

【００６７】

【表４】

表４－グラム陽性種およびグラム陰性種に対する抗細菌スクリーニングの結果

化合物	MIC(μg/ml)			
	黄色ブドウ球菌 ATCC 29213	腸球菌ファエカリス ATCC 29212	大腸菌 ATCC 25922	グラム陰性桿菌 ATCC 27853
化合物 A1	>25	>25	>25	>25
化合物 A2	>25	>25	>25	>25
化合物 A3	>25	>25	>25	>25

【００６８】

抗真菌活性を２つの病原性酵母と糸状菌に対してスクリーニングした（表５）。いずれの化合物も選択した微生物に対していかなる有意な抗真菌効果を示さなかった。両化合物の最小の阻害濃度は約２５μｇ／ｍｌであった。

【００６９】

【表５】

表５－病原性真菌に対するスクリーニングの結果

化合物	MIC(μg/ml)			
	C.アルビカンス ATCC 24433	C.ネオフォルマンス ATCC 90112	毛瘡白癬菌 ATCC 9533	A.フミガーツス ATCC 2895
化合物 A1	>25	>25	>25	>25
化合物 A2	>25	>25	>25	>25
化合物 A3	>25	>25	>25	>25

【００７０】

結果

ＤＮＡウイルス及びレトロウイルスに対する第一セットのスクリーニングにおいては、有意な抗ウイルス活性は観察されなかった。しかしながら、ＢＶＤＶ（ＲＮＡウイルス）に対する第二セットのスクリーニングにおいては、出願人は、化合物Ａ１とＡ３の有意な抗ウイルス活性、及び化合物Ａ２の適度な活性を明確に見出した。これまでに試験した他の二環式炭水化物はＢＶＤＶに対して活性を示さなかった。さらに、有意な抗腫瘍、又は抗微生物活性は観察されなかった。ＢＶＤＶ及びＨＣＶは多くの類似性を共有するため、化合物Ａ１と化合物Ａ３、及びおそらくは他の二環式炭水化物は、ＨＣＶに対して強力でしかも選択的な抗ウイルス特性を有する。加えて、化合物Ａ１、化合物Ａ２及び化合物Ａ３はまた、他のフラビウイルス科、例えば、ウェストナイル熱ウイルスやデング熱ウイルスに対しても活性を示し得る。スクリーニングから、化合物Ａ１、Ａ２及びＡ３は、例えばＨＣＶによって引き起こされる感染を治療するために使用される現在貴重な基準であるリバビリンと比較して、フラビウイルス科に対してより強力な抗ウイルス活性を示すことは明らかである。

【００７１】

本発明は、その好ましい態様に関して記載しているが、添付の特許請求の範囲によって定義されるように、本発明の意図される全範囲内にある変化や修飾が本明細書においてなし得るので、それほど制限されるべきでないこともまた理解されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【００７２】

【図１】図１は、本発明の二環式炭水化物の化学構造であり、式Ａとして示される。

【図２】図２は、化合物Ａ１と化合物Ａ２の合成スキームの概略的描写である。

【図３】図３は、化合物Ａ３の合成スキームの概略的描写である。

【図１】

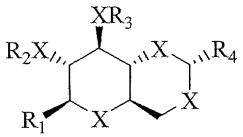
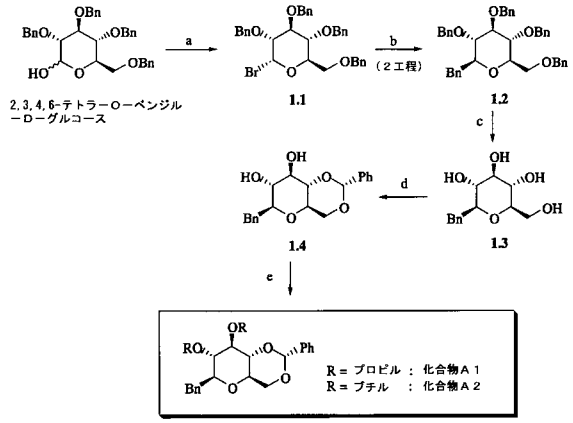
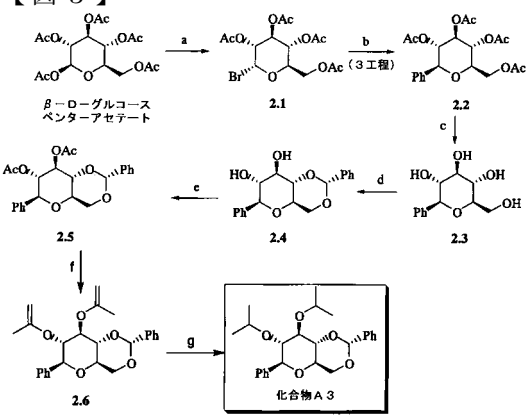


FIG. 1

【図２】



【図３】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US03/41720

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(7) : C07H 15/00; C07D 498/02
US CL : 514/23; 224.2, 230.5
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
U.S. : 514/23; 224.2, 230.5

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y/P	US 2004/0180838 A1 (SAS et al) 16 September 2004 (16.09.2004), see entire document.	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
01 October 2004 (01.10.2004)

Date of mailing of the international search report
02 NOV 2004

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer
Howard V Owens

Telephone No. 703-308-1235

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100096013
弁理士 富田 博行
(74)代理人 100091638
弁理士 江尻 ひろ子
(72)発明者 サス，ベネディクト
ベルギー国 ９１９０ ステケネ，クワッケルシュトラート ７１
(72)発明者 ヴァン・ヘメル，ヨハン
ベルギー国ベー－２６００ アントヴァーペン，サント－テレシアシュトラート ４４
(72)発明者 ヴァンデンケルックホブ，ヤン
ベルギー国ベー－３２７１ ツィヒェム，フォッセロットシュトラート １４０
(72)発明者 ペイス，エリック
ベルギー国 ２４９０ バレン，オッセンベルク ８１
(72)発明者 ヴァン・ダー・エイッケン，ヨハン
ベルギー国ベー－９４００ ニノブ，デンターホウテムラーン ２６１，ユニバーシティ・オブ・ゲント
(72)発明者 ルッテンス，バート
ベルギー国ベー－９０００ ゲント，カルパーシュトラート １１，ユニバーシティ・オブ・ゲント
(72)発明者 バルザリニ，ヤン
ベルギー国ベー－３０００ レウベン，ミンダーブローダースシュトラート １０，レガ・インスティトゥート
(72)発明者 デ・クレルク，エリック
ベルギー国ベー－３０００ レウベン，ミンダーブローダースシュトラート １０，レガ・インスティトゥート
(72)発明者 ネイツ，ヨハン
ベルギー国ベー－３０００ レウベン，ミンダーブローダースシュトラート １０，レガ・インスティトゥート

Ｆターム(参考) 4C071 AA01 BB01 CC03 EE23 FF17 GG01 HH05 JJ01 KK01 LL01
4C086 AA01 AA02 CA01 GA16 MA01 MA04 MA52 MA55 MA56 MA63
NA14 ZB33