

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5752599号
(P5752599)

(45) 発行日 平成27年7月22日 (2015. 7. 22)

(24) 登録日 平成27年5月29日 (2015. 5. 29)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 F 9/10 (2006. 01)
A 6 1 K 31/685 (2006. 01)
A 6 1 P 29/00 (2006. 01)
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)
A 6 1 P 37/06 (2006. 01)

C O 7 F 9/10 C S P B
A 6 1 K 31/685
A 6 1 P 29/00
A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 P 37/06

請求項の数 25 (全 174 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2011-535207 (P2011-535207)
 (86) (22) 出願日 平成21年11月5日 (2009. 11. 5)
 (65) 公表番号 特表2012-507577 (P2012-507577A)
 (43) 公表日 平成24年3月29日 (2012. 3. 29)
 (86) 国際出願番号 PCT/IL2009/001049
 (87) 国際公開番号 W02010/052718
 (87) 国際公開日 平成22年5月14日 (2010. 5. 14)
 審査請求日 平成24年10月26日 (2012. 10. 26)
 (31) 優先権主張番号 61/193, 220
 (32) 優先日 平成20年11月6日 (2008. 11. 6)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

前置審査

(73) 特許権者 511110474
 ヴァスキュラー バイオジェニックス リ
 ミテッド
 イスラエル, 60376 オル イェフ
 ダ, ヨニ ネタンヤフ ストリート 6
 (74) 代理人 100103816
 弁理士 風早 信昭
 (74) 代理人 100120927
 弁理士 浅野 典子
 (72) 発明者 コヴァレヴスキー-イシャイ, エティ
 イスラエル, 42255 ネタニア,
 ソコロヴ ストリート 68

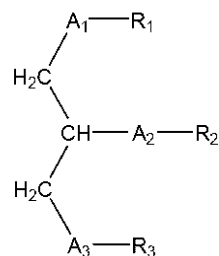
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 酸化脂質化合物およびその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記の式を有する化合物：

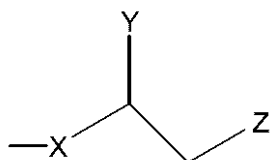


またはその立体異性体、光学異性体、鏡像異性体、ラセミ混合物、または立体異性体混合物、またはその医薬的に許容される塩、ただし、上記式において、

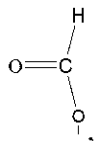
(i) A_1 、 A_2 および A_3 はそれぞれが独立して、O および S からなる群から選択される；

(ii) R_1 は、(2-オクチル) ドデシルである；

(iii) R_2 は、下記の基：



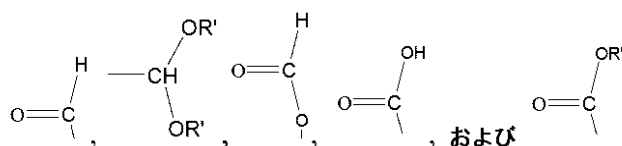
であり、上記式において、XはC₁～C₅のアルキルであり、Yは、



10

—OH、—H、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、アセトキシおよび芳香族官能基からなる群から選択され、

Zは、



からなる群から選択され、ただし、これらの式において、R'はC₁～C₄アルキルである；および

20

(iv) R₃は、H、アシル、ホスファート、ホスホコリン、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン—N—グルタル酸、ホスホセリンおよびホスホイノシトールからなる群から選択される。

【請求項2】

A₁はSであり、A₂およびA₃はそれぞれOである、請求項1に記載の化合物、その立体異性体、光学異性体、鏡像異性体、ラセミ混合物、または立体異性体混合物。

【請求項3】

R₂は、(4-メチルカルボキシ)ブチル、(3-カルボキシ)プロピル、(6-カルボキシ)ヘキサニル、5,6-ジヒドロキシヘキサニル、5,5-ジエトキシペンチルおよび5,5-ジメトキシペンチルからなる群から選択される、請求項1に記載の化合物。

30

【請求項4】

請求項1に記載の化合物、またはその立体異性体、光学異性体、鏡像異性体、ラセミ混合物、または立体異性体混合物であって、化合物が下記の化合物からなる群から選択される、化合物：

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン(VB-221)；および

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(VB-222)。

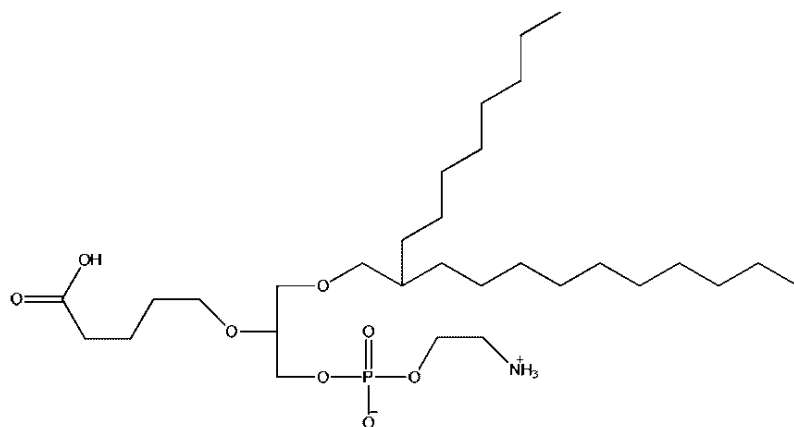
【請求項5】

40

請求項4に記載の化合物、またはその立体異性体、光学異性体、鏡像異性体、ラセミ混合物、または立体異性体混合物であって、化合物が1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン(VB-221)である、化合物。

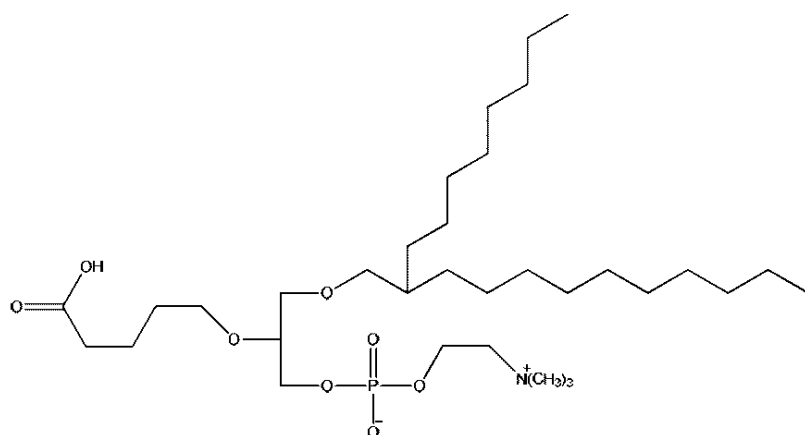
【請求項6】

以下のものからなる群から選択される、請求項1に記載の化合物：



, および

10

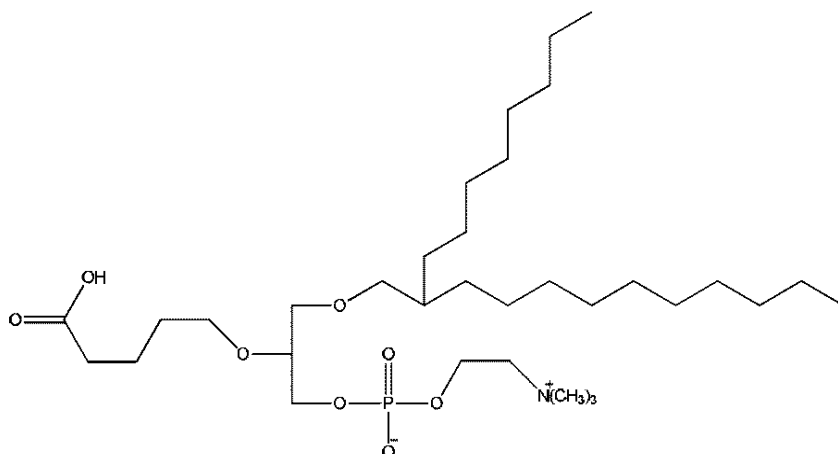


20

【請求項 7】

下記の式を有する、請求項 6 に記載の化合物：

30



40

【請求項 8】

炎症に関連する疾患または障害を処置または防止する方法における使用のための、請求項 1～7 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 9】

インターロイキン-12 およびインターロイキン-23 からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させる方法における使用のための、請求項 1～7 のいずれかに記載の化合物。

50

【請求項 10】

インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害を処置する方法における使用のための、請求項1～7のいずれかに記載の化合物。

【請求項 11】

請求項1～7のいずれかに記載の化合物を有効成分として含み、かつ、医薬的に許容されるキャリアを含む医薬組成物。

【請求項 12】

炎症に関連する疾患または障害の処置または防止における使用のための、請求項11に記載の医薬組成物。

10

【請求項 13】

インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させるための、請求項11に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害の処置における使用のための、請求項11に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

炎症に関連する疾患または障害を処置または防止する方法に使用するための請求項1～7のいずれかに記載の化合物であって、前記方法が、治療効果的な量の化合物をその必要性のある対象に投与することを含む、化合物。

20

【請求項 16】

インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを対象において低下させる方法に使用するための請求項1～7のいずれかに記載の化合物であって、前記方法が、効果的な量の化合物を対象に投与することを含む、化合物。

【請求項 17】

インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害を処置する方法に使用するための請求項1～7のいずれかに記載の化合物であって、前記方法が、効果的な量の化合物をその必要性のある対象に投与することを含む、化合物。

30

【請求項 18】

炎症に関連する疾患または障害を処置または防止するための医薬品の製造における、請求項1～7のいずれかに記載の化合物の使用。

【請求項 19】

インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを対象において低下させるための医薬品の製造における、請求項1～7のいずれかに記載の化合物の使用。

【請求項 20】

インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害を処置するための医薬品の製造における、請求項1～7のいずれかに記載の化合物の使用。

40

【請求項 21】

前記炎症は、特発性の炎症性疾患または炎症性障害、慢性の炎症性疾患または炎症性障害、急性の炎症性疾患または炎症性障害、自己免疫疾患または自己免疫障害、感染性疾患または感染性障害、炎症性の悪性疾患または悪性障害、炎症性の移植関連疾患または移植関連障害、炎症性の変性疾患または変性障害、過敏性に伴う疾患または障害、炎症性の心臓血管疾患または心臓血管障害、炎症性の脳血管疾患または脳血管障害、末梢血管疾患または末梢血管障害、炎症性の腺疾患または腺障害、炎症性の胃腸疾患または胃腸障害、炎症性の皮膚疾患または皮膚障害、炎症性の肝疾患または肝障害、炎症性の神経学的疾患ま

50

たは神経学的障害、炎症性の筋骨格疾患または筋骨格障害、炎症性の腎疾患または腎障害、炎症性の生殖疾患または生殖障害、炎症性の全身疾患または全身障害、炎症性の結合組織疾患または結合組織障害、炎症性腫瘍、壊死、炎症性のインプラント関連疾患またはインプラント関連障害、炎症性老化プロセス、免疫不全疾患または免疫不全障害、および、炎症性の肺疾患または肺障害からなる群から選択される疾患または障害に伴う、請求項 8 または 15 に記載の化合物。

【請求項 22】

前記炎症は、特発性の炎症性疾患または炎症性障害、慢性の炎症性疾患または炎症性障害、急性の炎症性疾患または炎症性障害、自己免疫疾患または自己免疫障害、感染性疾患または感染性障害、炎症性の悪性疾患または悪性障害、炎症性の移植関連疾患または移植関連障害、炎症性の変性疾患または変性障害、過敏性に伴う疾患または障害、炎症性の心臓血管疾患または心臓血管障害、炎症性の脳血管疾患または脳血管障害、末梢血管疾患または末梢血管障害、炎症性の腺疾患または腺障害、炎症性の胃腸疾患または胃腸障害、炎症性の皮膚疾患または皮膚障害、炎症性の肝疾患または肝障害、炎症性の神経学的疾患または神経学的障害、炎症性の筋骨格疾患または筋骨格障害、炎症性の腎疾患または腎障害、炎症性の生殖疾患または生殖障害、炎症性の全身疾患または全身障害、炎症性の結合組織疾患または結合組織障害、炎症性腫瘍、壊死、炎症性のインプラント関連疾患またはインプラント関連障害、炎症性老化プロセス、免疫不全疾患または免疫不全障害、および、炎症性の肺疾患または肺障害からなる群から選択される疾患または障害に伴う、請求項 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 23】

前記炎症は、特発性の炎症性疾患または炎症性障害、慢性の炎症性疾患または炎症性障害、急性の炎症性疾患または炎症性障害、自己免疫疾患または自己免疫障害、感染性疾患または感染性障害、炎症性の悪性疾患または悪性障害、炎症性の移植関連疾患または移植関連障害、炎症性の変性疾患または変性障害、過敏性に伴う疾患または障害、炎症性の心臓血管疾患または心臓血管障害、炎症性の脳血管疾患または脳血管障害、末梢血管疾患または末梢血管障害、炎症性の腺疾患または腺障害、炎症性の胃腸疾患または胃腸障害、炎症性の皮膚疾患または皮膚障害、炎症性の肝疾患または肝障害、炎症性の神経学的疾患または神経学的障害、炎症性の筋骨格疾患または筋骨格障害、炎症性の腎疾患または腎障害、炎症性の生殖疾患または生殖障害、炎症性の全身疾患または全身障害、炎症性の結合組織疾患または結合組織障害、炎症性腫瘍、壊死、炎症性のインプラント関連疾患またはインプラント関連障害、炎症性老化プロセス、免疫不全疾患または免疫不全障害、および、炎症性の肺疾患または肺障害からなる群から選択される疾患または障害に伴う、請求項 18 に記載の使用。

【請求項 24】

対象がヒトである、請求項 15～17 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 25】

対象がヒトである、請求項 19 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、そのいくつかの実施形態において、新規な酸化脂質、および、酸化脂質を、内因性の酸化脂質に伴う炎症を処置または防止するために用いる方法に関連する。本発明の実施形態の方法は、疾患および障害（例えば、アテローム性動脈硬化および関連障害、自己免疫疾患または自己免疫障害、ならびに、増殖性疾患または増殖性障害など）に伴う炎症を処置または防止することにおいて利用することができる。

【背景技術】

【0002】

酸化リン脂質が、様々な医学的状態の処置において、例えば、心臓血管疾患、脳血管疾患、ならびに、炎症性疾患および炎症性障害などの処置において有用であるとして以前か

10

20

30

40

50

ら記載されている。

【0003】

国際特許出願番号PCT/IL2004/000453（公開番号WO04/106486）は、本譲受人によるものであるが、酸化脂質を内因性の酸化脂質に伴う炎症の防止および処置のために記載する。1つの例示的なそのような化合物が記載され、CI-201として知られている（これはまた、この技術分野ではVB-201として示される）。

【0004】

国際特許出願番号PCT/IL01/01080（公開番号WO02/41827）は、本譲受人によるものであるが、酸化脂質をアテローム性動脈硬化および関連疾患の防止および処置のために記載する。

10

【0005】

国際特許出願番号PCT/IL05/000735（公開番号WO06/006161）は、本譲受人によるものであるが、カラムクロマトグラフィーの使用を伴わない、治療的に有益な酸化リン脂質の工業的調製のために適用可能な合成経路を記載する。

【0006】

さらなる背景技術には、国際特許出願番号PCT/IL02/00005（公開番号WO02/053092）および同PCT/IL08/000013（公開番号WO08/084472）が含まれる（これらもまた、本譲受人によるものである）。

【0007】

上記の引用刊行物のすべてが、全体が本明細書中に示されるかのように参照によって組み込まれる。

20

【0008】

上記の引用刊行物のすべてが、アルキル鎖、酸化された部分によって置換されるアルキル鎖、および、リン酸含有基が結合する炭素骨格鎖を含むエーテル化された酸化脂質を記載する。酸化された部分によって置換されるアルキル鎖が好ましくは、エーテル結合を介して炭素骨格に結合する（したがって、化合物が「エーテル化された酸化脂質」と呼ばれる）。これは、そのような結合により、当該化合物に、上述の刊行物で詳しく記載される望ましい薬理学的性質が与えられるからである。

【発明の概要】

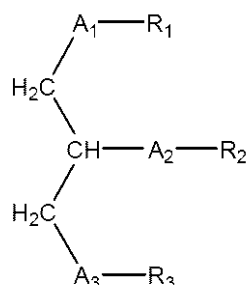
【0009】

本発明者らは、今回、新規な酸化リン脂質を設計し、かつ、その調製および試験を首尾よく行っている。

30

【0010】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、下記の式を有する化合物：

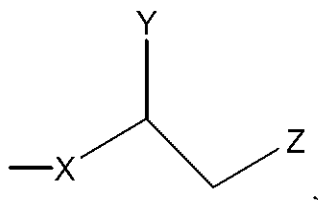


40

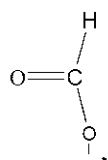
またはその医薬的に許容される塩が提供され、ただし、上記式において、

(i) A_1 、 A_2 および A_3 はそれぞれが独立して、OおよびSからなる群から選択される；

(ii) R_1 は、長さが2個～28個の炭素であるアルキル鎖、および、下記の基：

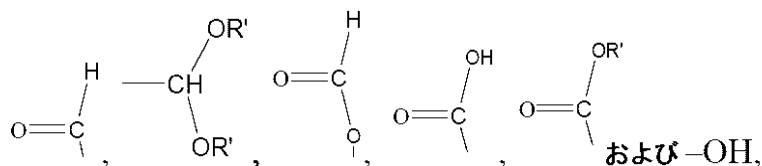


(式中、XはC₁～C₅の鎖であり、Yは、



10

—OH、—H、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、アセトキシおよび芳香族官能基からなる群から選択される；および、
Zは、



20

からなる群から選択され、ただし、これらの式において、R'はC₁～C₄アルキルである)

からなる群から選択される；

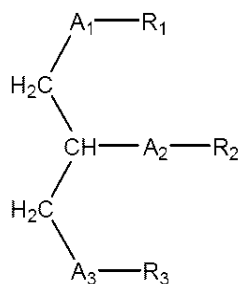
(iii) R₂は、(4-メチルカルボキシ)ブチル、(3-カルボキシ)プロピル、(6-カルボキシ)ヘキサニル、(2-カルボキシ)エチル、5, 6-ジヒドロキシヘキサニル、5, 5-ジエトキシペンチルおよび5, 5-ジメトキシペンチルからなる群から選択される；および

30

(iv) R₃は、H、アシル、アルキル、ホスファート、ホスホコリン、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン—N—グルタル酸、ホスホセリンおよびホスホイノシトールからなる群から選択される。

【0011】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、下記の式を有する化合物：



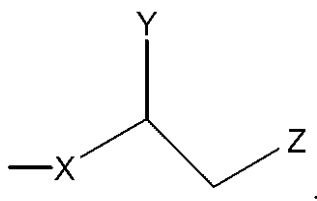
40

またはその医薬的に許容される塩が提供され、ただし、上記式において、

(i) A₁、A₂およびA₃はそれぞれが独立して、OおよびSからなる群から選択される；

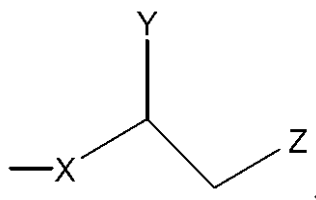
(ii) R₁およびR₂はそれぞれが独立して、長さが2個～28個の炭素であるアルキル鎖、および、下記の基：

50

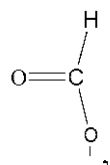


からなる群から選択され、ただし、 R_1 および R_2 の少なくとも一方が、

10

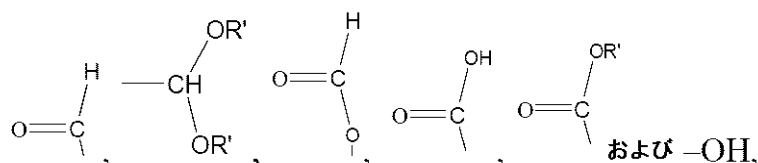


であり、上記式において、Xは $C_{1 \sim 25}$ の鎖であり、Yは、



20

—OH、—H、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、アセトキシおよび芳香族官能基からなる群から選択される；および、
Zは、



30

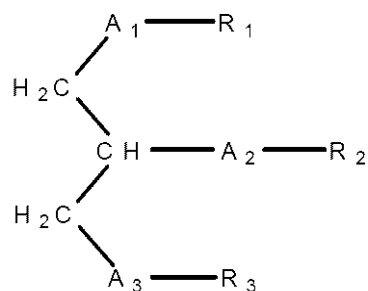
からなる群から選択され、ただし、これらの式において、 R' は $C_{1 \sim 4}$ アルキルである；および

(iii) R_3 は、H、ホスファート、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン—N—グルタル酸およびホスホセリンからなる群から選択される。

【0012】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、下記の式を有する化合物：

40



またはその医薬的に許容される塩が提供され、ただし、上記式において、

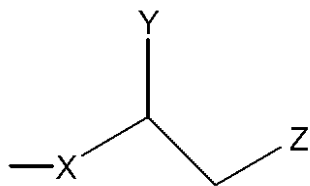
(i) A_1 、 A_2 および A_3 はそれぞれが独立して、OおよびSからなる群から選択さ

50

れる；

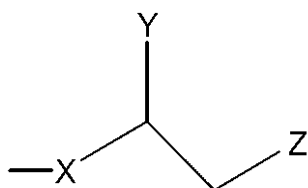
(i i) R_1 は、ドデシル、オクタデシル、オクチル、エイコサニル、c i s - 9 - ヘキサデセニル、(2 - オクチル) ドデシルおよび(15 - カルボキシ) ペンタデシルからなる群から選択される；

(i i i) R_2 は、長さが2個～28個の炭素であるアルキル鎖、および、下記の基：



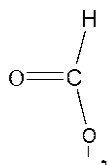
10

からなる群から選択され、ただし、 R_1 が他の(15 - カルボキシ) ペンタデシルであるならば、 R_2 は、



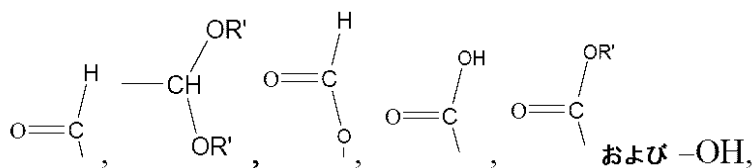
20

であり、上記式において、Xは $C_{1 \sim 25}$ の鎖であり、Yは、



-OH、-H、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、アセトキシおよび芳香族官能基からなる群から選択される；および、
Zは、

30



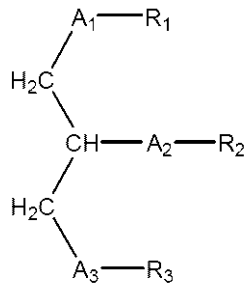
からなる群から選択され、ただし、これらの式において、 R' は $C_{1 \sim 4}$ アルキルである；および

(i v) R_3 は、H、アシル、アルキル、ホスファート、ホスホコリン、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸、ホスホセリンおよびホスホイノシトールからなる群から選択される。

40

【0013】

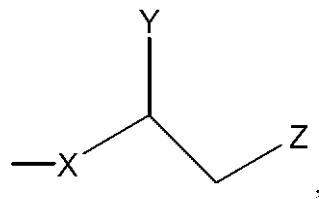
本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、下記の式を有する化合物：



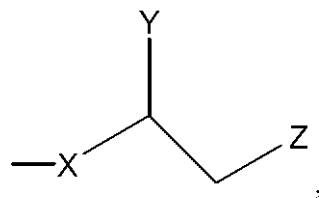
またはその医薬的に許容される塩が提供され、ただし、上記式において、

(i) A_1 は S であり、かつ、 A_2 および A_3 はそれぞれが O である；

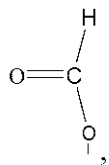
(ii) R_1 および R_2 はそれぞれが独立して、長さが 2 個～28 個の炭素であるアルキル鎖、および、下記の基：



からなる群から選択され、ただし、 R_1 および R_2 の少なくとも一方が、

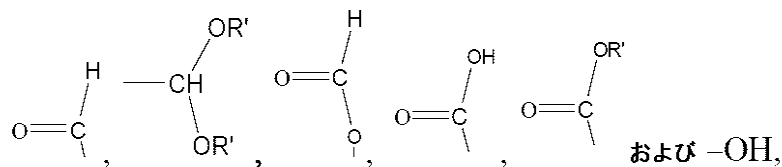


であり、上記式において、X は C_{1-25} の鎖であり、Y は、



—OH、—H、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、アセトキシおよび芳香族官能基からなる群から選択される；および、

Z は、



からなる群から選択され、ただし、これらの式において、 R' は C_{1-4} アルキルである；および

(iii) R_3 は、H、アシル、アルキル、ホスファート、ホスホコリン、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン—N—グルタル酸、ホスホセリンおよびホスホイノシトールからなる群から選択される。

【0014】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、下記の化合物からなる群から選択され

10

20

30

40

50

る化合物が提供される：

- 1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスファート (C I-201-PA)；
- 1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン；
- 1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (C I-208)；
- 1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (C I-202)；
- 1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (C I-206)； 10
- 1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロール-3-ホスホコリン (C I-205)；
- 1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニルグリセロール-3-ホスホコリン (C I-203)；
- 1-ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (C I-209)；
- 1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸 (C I-210)；
- 1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (C I-213)； 20
- 1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (C I-214)；
- 1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (C I-215)；
- 1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (C I-216)；
- 1-ヘキサデシル-2-(2-カルボキシ)エチルグリセロール-3-ホスホコリン (C I-217)；
- 1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (1-S-C I-201)； 30
- 1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (1-S-C I-202)；
- 1-ヘキサデシル-2-(5,6-ジヒドロキシ)ヘキサニルグリセロール-3-ホスホコリン (di-OH)；
- 1-(cis-9-ヘキサデセニル)-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン；
- 1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール；
- 1-ヘキサデシル-2-(5',5'-ジエトキシペンチル)グリセロール-3-ホスホコリン (diEtAc)； 40
- 1-ヘキサデシル-2-(5',5'-ジメトキシペンチル)グリセロール-3-ホスホコリン (diMeAc)；
- 1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (C I-207)；
- 1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン；
- 1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (C I-219)；
- 1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン； (C I-220)； 50

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン(VB-221)；

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン(VB-222)；および

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホセリン(VB-223)。

【0015】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、本明細書中の化合物を有効成分として含み、かつ、医薬的に許容されるキャリアを含む医薬組成物が提供される。

【0016】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、内因性の酸化脂質に伴う炎症を処置または防止する方法であって、本明細書中に記載される治療効果的な量の化合物をその必要性のある対象に投与し、それにより、内因性の酸化脂質に伴う炎症を対象において処置または防止することを含む方法が提供される。

【0017】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを対象において低下させる方法であって、本明細書中に記載される効果的な量の化合物を対象に投与することを含む方法が提供される。

【0018】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害を処置する方法であって、本明細書中に記載される効果的な量の化合物をその必要性のある対象に投与することを含む方法が提供される。

【0019】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、内因性の酸化脂質に伴う炎症を処置または防止するための医薬品の製造における、本明細書中に記載される化合物の使用が提供される。

【0020】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを対象において低下させるための医薬品の製造における、本明細書中に記載される化合物の使用が提供される。

【0021】

本発明のいくつかの実施形態の一局面によれば、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害を処置するための医薬品の製造における、本明細書中に記載される化合物の使用が提供される。

【0022】

本発明のいくつかの実施形態によれば、 R_1 は、長さが2個～28個の炭素であるアルキル鎖である。

【0023】

本発明のいくつかの実施形態によれば、本明細書中に記載される化合物は、内因性の酸化脂質に伴う炎症を処置または防止する方法における使用のために特定される。

【0024】

本発明のいくつかの実施形態によれば、本明細書中に記載される化合物は、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させるための方法における使用のために特定される。

【0025】

本発明のいくつかの実施形態によれば、本明細書中に記載される化合物は、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレ

10

20

30

40

50

ベルを低下させることが有益である疾患または障害を処置する方法における使用のために特定される。

【0026】

本発明のいくつかの実施形態によれば、医薬組成物は包装材で包装され、内因性の酸化脂質に伴う炎症の処置または防止における使用のために包装材の内部または表面において印刷で特定される。

【0027】

本発明のいくつかの実施形態によれば、医薬組成物は包装材で包装され、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させるために包装材の内部または表面において印刷で特定される。

10

【0028】

本発明のいくつかの実施形態によれば、医薬組成物は包装材で包装され、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害の処置における使用のために包装材の内部または表面において印刷で特定される。

【0029】

本発明のいくつかの実施形態によれば、炎症は、特発性の炎症性疾患または炎症性障害、慢性の炎症性疾患または炎症性障害、急性の炎症性疾患または炎症性障害、自己免疫疾患または自己免疫障害、感染性疾患または感染性障害、炎症性の悪性疾患または悪性障害、炎症性の移植関連疾患または移植関連障害、炎症性の変性疾患または変性障害、過敏性に伴う疾患または障害、炎症性の心臓血管疾患または心臓血管障害、炎症性の脳血管疾患または脳血管障害、末梢血管疾患または末梢血管障害、炎症性の腺疾患または腺障害、炎症性の胃腸疾患または胃腸障害、炎症性の皮膚疾患または皮膚障害、炎症性の肝疾患または肝障害、炎症性の神経学的疾患または神経学的障害、炎症性の筋骨格疾患または筋骨格障害、炎症性の腎疾患または腎障害、炎症性の生殖疾患または生殖障害、炎症性の全身疾患または全身障害、炎症性の結合組織疾患または結合組織障害、炎症性腫瘍、壊死、炎症性のインプラント関連疾患またはインプラント関連障害、炎症性老化プロセス、免疫不全疾患または免疫不全障害、および、炎症性の肺疾患または肺障害からなる群から選択される疾患または障害に伴う。

20

【0030】

別途定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術的用語および／または科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載される方法および材料と類似または同等である方法および材料を本発明の実施または試験において使用することができるが、例示的な方法および／または材料が下記に記載される。矛盾する場合には、定義を含めて、本特許明細書が優先する。加えて、材料、方法および実施例は例示にすぎず、限定であることは意図されない。

30

【図面の簡単な説明】

【0031】

本明細書では本発明のいくつかの実施形態を単に例示し添付の図面を参照して説明する。特に詳細に図面を参照して、示されている詳細が例示として本発明の実施形態を例示考察することだけを目的としていることを強調するものである。この点について、図面について行う説明によって、本発明の実施形態を実施する方法は当業者には明らかになるであろう。

40

【0032】

【図1】図1は、様々な用量のCI-202により処理された細胞におけるIL12/23p40産生を示すグラフである（それぞれの棒が3つのサンプルを表す）； $P < 0.004$ （コントロール（ $0 \mu\text{g/ml}$ ）との比較でのそれぞれの用量について）。

【0033】

【図2】図2は、CI-201、CI-202およびホスファチジルコリン（PC）により処理された細胞における、処理後2時間、3時間および4時間でのIL12/23p4

50

0 の mRNA 発現を示すグラフである。

【0034】

【図3】図3は、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($18.5\mu\text{M}$ または $37\mu\text{M}$) の CI-202、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($17\mu\text{M}$ または $34\mu\text{M}$) の CI-201、ホスファチジルコリン (PC) および PBS/1%エタノール (sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す；ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【0035】

【図4A-4B】図4A-4Bは、それぞれが、様々な用量の CI-202 の毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

10

【0036】

【図5】図5は、PBSまたは $4\text{mg}/\text{ml}$ の CI-202 により処置されたマウスにおけるMOG誘導実験的自己免疫脳脊髄炎の発症を示すグラフである。

【0037】

【図6】図6は、CI-202 (CI-201のエタノールアミン類似体) 処置マウスおよびコントロールマウスにおけるコラーゲン誘導関節炎の発症を示すグラフである。

【0038】

【図7】図7は、様々な用量の CI-203 により処理された細胞における IL12/23p40 産生 (それぞれの棒が6つのサンプルを表す)、および、コントロール ($0\mu\text{g}/\text{ml}$) との比較での P 値を示すグラフである。

20

【0039】

【図8】図8は、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($1.6\mu\text{M}$ または $33\mu\text{M}$) の (R)-CI-203 ((R)-CI-203) およびラセミ状 CI-203 (rac-CI-203)、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($1.7\mu\text{M}$ または $34\mu\text{M}$) の (R)-CI-201 ((R)-CI-201) および (S)-CI-201 ((S)-CI-201)、ならびに、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($1.3\mu\text{M}$ または $26\mu\text{M}$) のホスファチジルコリン (Ph. Ch.) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す；ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

30

【0040】

【図9A-9B】図9A-9Bは、それぞれが、様々な用量の CI-203 の毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

【0041】

【図10】図10は、様々な用量の CI-209 により処理された細胞における IL12/23p40 産生 (それぞれの棒が5つのサンプルを表す)、および、コントロール ($0\mu\text{g}/\text{ml}$) との比較での P 値 ($10\mu\text{g}/\text{ml}$ および $20\mu\text{g}/\text{ml}$ の用量については $P<0.008$ であり、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$ および $5\mu\text{g}/\text{ml}$ の用量については $P<0.016$ である) を示すグラフである。

【0042】

40

【図11】図11は、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($38\mu\text{M}$) の CI-209、CI-201またはホスファチジルコリン (PC)、あるいは、PBS/1%エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す；ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【0043】

【図12A-12B】図12A-12Bは、それぞれが、様々な用量の CI-209 の毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

【0044】

【図13】図13は、様々な用量の CI-210 により処理された細胞における IL12/23p40 産生 (それぞれの棒が4つのサンプルを表す)、および、コントロール (0

50

$\mu\text{g}/\text{ml}$) との比較での P 値 ($10\mu\text{g}/\text{ml}$ および $20\mu\text{g}/\text{ml}$ の用量については $P < 0.029$ であり、 $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$ および $5\mu\text{g}/\text{ml}$ の用量については $P < 0.057$ である) を示すグラフである。

【0045】

【図14】図14は、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($31\mu\text{M}$) の C I - 210、C I - 201 または ホスファチジルコリン (PC)、あるいは、PBS / 1% エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1 / 2 がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【0046】

【図15A-15B】図15A-15Bは、それぞれが、様々な用量の C I - 210 の毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

10

【0047】

【図16】図16は、様々な用量の C I - 216 により処理された細胞における IL12 / 23p40 産生 (それぞれの棒が4つのサンプルを表す)、および、コントロール ($0\mu\text{g}/\text{ml}$) との比較での P 値を示すグラフである。

【0048】

【図17】図17は、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($17\mu\text{M}$ または $34\mu\text{M}$) の C I - 215、あるいは、ホスファチジルコリン (PC) または PBS / 1% エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1 / 2 がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

20

【0049】

【図18】図18は、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($15\mu\text{M}$ または $30\mu\text{M}$) の C I - 216、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($17\mu\text{M}$ または $34\mu\text{M}$) の C I - 201、ホスファチジルコリン (PC) あるいは PBS / 1% エタノール (sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1 / 2 がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【0050】

【図19】図19は、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($38\mu\text{M}$) の C I - 206 または ホスファチジルコリン (PC)、あるいは、PBS / 1% エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1 / 2 がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

30

【0051】

【図20】図20は、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($35\mu\text{M}$) の C I - 205、C I - 201 または ホスファチジルコリン (PC)、あるいは、PBS / 1% エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1 / 2 がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【0052】

【図21A-21B】図21A-21Bは、それぞれが、様々な用量の C I - 206 の毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

40

【0053】

【図22A-22B】図22A-22Bは、それぞれが、様々な用量の C I - 205 の毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

【0054】

【図23】図23は、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($34\mu\text{M}$) の C I - 208、C I - 201 または ホスファチジルコリン (PC) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; α -チューブリン (α -Tub) がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【0055】

50

【図24A-24B】図24A-24Bは、それぞれが、様々な用量のC I-208の毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

【0056】

【図25A-25B】図25A-25Bは、それぞれが、様々な用量のC I-213の毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

【0057】

【図26A-26B】図26A-26Bは、それぞれが、様々な用量のC I-214の毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

【0058】

【図27】図27は、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($18\mu\text{M}$ または $36\mu\text{M}$)のC I-217、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($17\mu\text{M}$ または $34\mu\text{M}$)のC I-201、ホスファチジルコリン (PC) あるいはPBS/1%エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

10

【0059】

【図28】図28は、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($31\mu\text{M}$)のC I-219、および、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($34\mu\text{M}$)のC I-201、あるいは、ホスファチジルコリン (PC)、あるいは、PBS/1%エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

20

【0060】

【図29】図29は、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($34\mu\text{M}$)のC I-220、および、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($34\mu\text{M}$)のC I-201、あるいは、ホスファチジルコリン (PC)、あるいは、PBS/1%エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【0061】

【図30A-30B】図30A-30Bは、それぞれが、様々な用量のC I-201-P Aの毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

30

【0062】

【図31】図31は、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($17\mu\text{M}$ または $34\mu\text{M}$)の1-S-C I-201 (C I-S-201)、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($17\mu\text{M}$ または $34\mu\text{M}$)のC I-201、ホスファチジルコリン (PC)、あるいは、PBS/1%エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【0063】

【図32】図32は、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($18\mu\text{M}$ または $36\mu\text{M}$)の1-S-C I-202 (C I-S-202)、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($18.5\mu\text{M}$ または $37\mu\text{M}$)のC I-202、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($17\mu\text{M}$ または $34\mu\text{M}$)のC I-201、ホスファチジルコリン (PC)、あるいは、PBS/1%エタノール (Sol) により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン (p-チロシン) を示すウエスタンブロットの写真を示す; ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

40

【0064】

【図33A-33B】図33A-33Bは、それぞれが、様々な用量のdi-OHの毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

【0065】

【図34】図34は、di-OH処置マウスおよびコントロールマウスにおけるアテロー

50

△性動脈硬化病変部の面積を示すグラフである。

【0066】

【図35】図35は、diMeAc処置マウスおよびコントロールマウスにおけるアテローム性動脈硬化病変部の面積を示すグラフである。

【0067】

【図36A-36B】図36A-36Bは、それぞれが、様々な用量のdiEtAcの毒性を試験する個々の実験の結果を示すグラフである。

【0068】

【図37】図37は、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($1.7\mu\text{M}$ 、 $8.3\mu\text{M}$ 、 $16.7\mu\text{M}$ または $33.3\mu\text{M}$)のVB-223、あるいは、PBS/1%エタノール(Sol)により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン(p-チロシン)を示すウエスタンブロットの写真を示す；ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

10

【0069】

【図38】図38は、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($1.6\mu\text{M}$ 、 $8\mu\text{M}$ 、 $16\mu\text{M}$ または $32\mu\text{M}$)のVB-221、あるいは、PBS/1%エタノール(Sol)により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン(p-チロシン)を示すウエスタンブロットの写真を示す；ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【0070】

20

【図39】図39は、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ または $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($1.7\mu\text{M}$ 、 $8.4\mu\text{M}$ 、 $16.8\mu\text{M}$ または $33.6\mu\text{M}$)のVB-222、あるいは、PBS/1%エタノール(Sol)により処理されたサンプルにおけるホスホチロシン(p-チロシン)を示すウエスタンブロットの写真を示す；ERK1/2がタンパク質負荷のためのコントロールとして示される。

【発明を実施するための形態】

【0071】

本発明は、そのいくつかの実施形態において、新規な酸化脂質、および、酸化脂質を、内因性の酸化脂質に伴う炎症を処置または防止するために用いる方法に関連する。本明細書で記載される酸化脂質は、疾患および障害（例えば、アテローム性動脈硬化および関連障害、自己免疫疾患または自己免疫障害、ならびに、増殖性疾患または増殖性障害など）に伴う炎症を処置または防止することにおいて利用することができる。

30

【0072】

本発明の原理および操作は、図面および付随する説明を参照してより良く理解されることができる。

【0073】

本発明の少なくとも1つの実施形態を詳細に説明する前に、本発明は、その適用において、下記の説明に示される細部、または、実施例によって例示される細部に限定されないことを理解しなければならない。本発明は他の実施形態が可能であり、あるいは、様々な方法で実施、または、実行される。また、本明細書中において用いられる表現法および用語法は説明のためであって、限定として見なされるべきでないことを理解しなければならない。

40

【0074】

実験的証拠および臨床的証拠により、酸化されたLDL(oxLDL)およびLDL成分に対する原因的役割がアテローム性動脈硬化における過度な炎症性応答の病因において示される。斑に関連した酸化LDLに対する細胞性免疫反応性および体液性免疫反応性の両方が明らかにされており、これは、アテローム発生における重要な抗酸化LDL自己免疫成分を示唆している。従って、LDL、酸化LDLおよびその成分は、心臓疾患、脳血管疾患および末梢血管疾患を防止および治療するための多数の治療法の標的となっている。

50

【0075】

炎症を処置することにおける酸化リン脂質の役割が、例えば、本譲受人による国際特許出願番号PCT/IL2004/000453（公開番号WO04/106486）および米国特許出願第11/528657号（米国特許出願公開第2007-0099868号）に開示される（これらの両方が、全体が本明細書中に示されるかのように参照によって組み込まれる）。

【0076】

CI-201（これはまた、本明細書中およびこの技術分野ではVB-201として示される）は、現在、様々な炎症状態（例えば、アテローム性動脈硬化など）を処置するための臨床試験の進んだ段階にある有望な酸化リン脂質である。

10

【0077】

酸化脂質に伴う炎症ならびに様々な疾患および障害の処置を改善するために、本発明者らは、改善された抗炎症効果および／または改善された薬理学的成績を示すために設計される新規な酸化リン脂質および構造的に関連する化合物を調製している。

【0078】

改善された抗炎症効果は、炎症プロセスのための知られているインビトロモデルおよびインビボモデルによって容易に求めることができ、また、本明細書中下記でさらに詳述されるように、処置されるべき疾患についての改善された治療効果によって示すことができる。改善された薬理学的成績には、改善された生物学的安定性、生物学的利用能、低下した毒性、ならびに、さらには、製造、配合および／または貯蔵における改善された安定性が含まれる。これらの特徴もまた、当業者によって容易に認識される実験、および、本明細書中下記でさらに詳述されるような実験によって明らかにすることができる。

20

【0079】

下記の実施例の節において明らかにされるように、本発明を実施に移しているとき、本明細書中に記載される新たに設計された酸化脂質は、内因性の酸化LDLに対する免疫応答および／または炎症性応答に伴うサイトカイン産生を調節し、それにより、炎症性応答を炎症性疾患において、例えば、アテローム性動脈硬化およびリウマチ様関節炎（これらに限定されない）などにおいて軽減し得ることを示すことが実際に確認された。

【0080】

下記の実施例の節においてさらに明らかにされるように、本明細書中に記載される新たに設計された酸化脂質は、CI-201と同様にチロシンのリン酸化を調節し、したがって、このことは、これらの新たに設計された酸化脂質が、CI-201によって示されることが以前に示された生物学的効果（例えば、抗炎症効果）をともに有することを示している。

30

【0081】

下記の実施例の節においてさらに明らかにされるように、本明細書中に記載される化合物は、毒性を示したとしても軽微であり、これらの化合物が実質的に無毒である用量において生物学的効果を示す。

【0082】

図1および図2は、炎症促進性サイトカインであるインターロイキン-12およびインターロイキン-23のp40サブユニットの産生が例示的化合物CI-202によって阻害されることを示す。図3は、CI-202によるチロシンリン酸化の調節を、CI-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。図4Aおよび図4BはCI-202の毒性プロファイルを示す。図5は、CI-202が、マウスの自己免疫脳脊髄炎モデル（ヒトの多発性硬化症および急性播種性脳脊髄炎の実験的モデル）において治療効果的であることを示す。図6は、CI-202がマウスの関節炎モデルにおいて治療効果的であることを示す。

40

【0083】

図7は、炎症促進性サイトカインであるインターロイキン-12およびインターロイキン-23のp40サブユニットの産生が例示的化合物CI-203によって阻害されるこ

50

とを示す。図8は、C I-203によるチロシンリン酸化の調節を、C I-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。図9Aおよび図9BはC I-203の毒性プロファイルを示す。

【0084】

図10は、炎症促進性サイトカインであるインターロイキン-12およびインターロイキン-23のp40サブユニットの産生が例示的化合物C I-209によって阻害されることを示す。図11はC I-209によるチロシンリン酸化の調節を示す。図12Aおよび図12BはC I-209の毒性プロファイルを示す。

【0085】

図13は、炎症促進性サイトカインであるインターロイキン-12およびインターロイキン-23のp40サブユニットの産生が例示的化合物C I-210によって阻害されることを示す。図14はC I-210によるチロシンリン酸化の調節を示す。図15Aおよび図15BはC I-210の毒性プロファイルを示す。

10

【0086】

図16は、炎症促進性サイトカインであるインターロイキン-12およびインターロイキン-23のp40サブユニットの産生が例示的化合物C I-216によって阻害されることを示す。図18は、C I-216によるチロシンリン酸化の調節を、C I-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。

【0087】

図17はC I-215によるチロシンリン酸化の調節を示す。

20

【0088】

図19は例示的化合物C I-206によるチロシンリン酸化の調節を示す。図21Aおよび図21BはC I-206の毒性プロファイルを示す。

【0089】

図20は、例示的化合物C I-205によるチロシンリン酸化の調節を、C I-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。図22Aおよび図22BはC I-205の毒性プロファイルを示す。

【0090】

図23は、例示的化合物C I-208によるチロシンリン酸化の調節を、C I-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。図24Aおよび図24BはC I-208の毒性プロファイルを示す。

30

【0091】

図25Aおよび図25B、ならびに、図26Aおよび図26Bは、例示的化合物のC I-213およびC I-214の毒性プロファイルをそれぞれ示す。

【0092】

図27は、例示的化合物C I-217によるチロシンリン酸化の調節を、C I-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。

【0093】

図28は、例示的化合物C I-219によるチロシンリン酸化の調節を、C I-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。

40

【0094】

図29は、例示的化合物C I-220によるチロシンリン酸化の調節を、C I-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。

【0095】

図30Aおよび図30Bは例示的化合物C I-201-PAの毒性プロファイルを示す。

【0096】

図31は、例示的化合物1-S-C I-201によるチロシンリン酸化の調節を、C I-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。

【0097】

50

図32は、例示的化合物1-S-CI-202によるチロシンリン酸化の調節を、CI-201によって示されるチロシンリン酸化の調節と類似しているとして示す。

【0098】

図34は、例示的化合物di-OHがマウスのアテローム性動脈硬化モデルにおいて治療効果的であることを示す。図33Aおよび図33Bはdi-OHの毒性プロファイルを示す。

【0099】

図35は、例示的化合物diMeAcがマウスのアテローム性動脈硬化モデルにおいて治療効果的であることを示す。図36Aおよび図36BはdiEtAc (diMeAcに非常に近い化合物)の毒性プロファイルを示す。

【0100】

図37～図39は、例示的化合物のVB-223、VB-221およびVB-222によるチロシンリン酸化の調節をそれぞれ示す。

【0101】

したがって、本明細書中に記載される例示的化合物は、インビトロ試験によって生物学的に活性であることが示されており、また、これらの化合物のいくつかは、インビボにおいて治療的効果的であることが確認されている。インビボで未だ試験されていない酸化脂質の成績は、好適な動物モデルにおいて、例えば、本明細書中下記の実施例の節、ならびに、国際特許出願番号PCT/IL2004/000453 (公開番号WO04/106486) および米国特許出願第11/528657号 (米国特許出願公開第2007-0099868号) に記載される動物モデルなどにおいて、また、例えば、Singh他、Clinical Chemistry、51:12、2252～2256 (2005) (これは、全体が本明細書中に示されるように組み込まれる) に記載されるように設計されるモデルにおいてさらに試験することができる。

【0102】

本明細書中に記載される酸化脂質の生物学的安定性が、エーテル結合および／またはスルフィド結合が、ほとんどの脂質に存在するエステル結合に代わって存在することに起因して改善される。生物学的安定性は典型的には、化合物の治療効果を改善する。酸化脂質の生物学的安定性は、例えば、ホスホリパーゼCによるその酵素分解を、ELISA測定または吸光度測定を使用してアッセイすることによって求めることができる。

【0103】

したがって、本明細書中に記載される酸化脂質は好都合なことに、改善された治療パラメーターおよび／または薬理学的パラメーターに関して、改善された効果を、内因性の酸化脂質に伴う炎症を処置または防止することにおいて示すとして認識することができる。

【0104】

したがって、本発明の実施形態の一局面によれば、本明細書中に記載されるような新規な酸化脂質 (例えば、酸化リン脂質) が提供される。

【0105】

例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスファート (本明細書ではCI-201-PAとしても言及する) である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンである。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (本明細書ではCI-208としても言及する) である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (本明細書ではCI-202としても言及する) である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (本明細書ではCI-206としても言及する) である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロール-3-ホスホコリン (本明細書ではCI-205とし

ても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではC I-203としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではC I-209としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸(本明細書ではC I-210としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではC I-213としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(本明細書ではC I-214としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではC I-215としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(本明細書ではC I-216としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(2-カルボキシ)エチル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではC I-217としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書では1-S-C I-201としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(本明細書では1-S-C I-202としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(5,6-ジヒドロキシ)ヘキサニル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではd i-OHとしても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-(c i s-9-ヘキサデセニル)-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリンである。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロールである。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(5',5'-ジエトキシペンチル)-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではd i E t A cとしても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(5',5'-ジメトキシペンチル)-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではd i M e A cとしても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではC I-207としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンである。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではC I-219としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(本明細書ではC I-220としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン(本明細書ではV B-221としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(本明細書ではV B-222としても言及する)である。例示的实施形態によれば、酸化脂質は、1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホセリン(本明細書ではV B-223としても言及する)である。

【0106】

本明細書中で使用される接頭辞「1-S-」は、化合物がグリセロールの誘導体の代わりに1-チオグリセロールの誘導体であるように、グリセロール骨格の1位(s n-1)における酸素原子がイオウ原子によって置換される化合物を示す。

10

20

30

40

50

【0107】

「C I -」および「V B -」の接頭辞は本明細書中では互換的に使用される。

【0108】

置換基に依存して、本明細書中に記載される化合物のそれぞれにおけるいくつかの炭素原子がキラルまたは非キラルであり得る。例えば、本明細書中上記で記載される例示的化合物において、グリセロール骨格の2位における炭素原子がキラルである。本明細書中に記載される化合物に存在するキラルな炭素原子はどれも、R配置またはS配置であり得るか、あるいは、ラセミ体として存在し得るかのどちらかである。したがって、本発明の実施形態は、可能な立体異性体、光学異性体およびエナンチオマーのすべてを含めて、キラルな炭素原子および非キラルな炭素原子のどのような組み合わせも包含する。

10

【0109】

下記の実施例の節において明らかにされるように、本発明の実施形態の化合物は、出発物質の立体配置を保持しながら合成することができる。本発明の実施形態の化合物はさらに、酸化された基の立体化学に関して選択的に合成することができる。従って、適切な出発物質および適切な合成条件を選択することによって、生じる化合物の光学純度（例えば、キラルな炭素および／またはラセミ状炭素の含有）および得られる立体異性体を決定することができる。ラセミ混合物が得られる場合、知られている技術を使用して、光学異性体または立体異性体を分離することができる。そのような技術が、例えば、Paula Yurkanis Bruiceによる「Organic chemistry」（第4版、180頁～185頁および214頁、Prentice Hall、Upper Saddle River、NJ 07458）に記載される。

20

【0110】

上記の化合物はそのある種の新規な構造的要素に従って特徴づけられ得る。

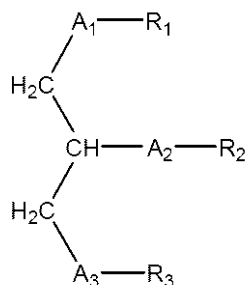
【0111】

したがって、上記の酸化脂質のいくつかは、酸化された側鎖がその2位に結合するグリセロール骨格を含み、ただし、この場合、酸化された側鎖は、（4-メチルカルボキシ）ブチル、（3-カルボキシ）プロピル、（6-カルボキシ）ヘキサニル、（2-カルボキシ）エチル、5, 6-ジヒドロキシヘキサニル、5, 5-ジエトキシペンチルおよび5, 5-ジメトキシペンチルからなる群から選択される。

【0112】

したがって、本発明のいくつかの実施形態によれば、下記の式によってまとめて表わされる化合物：

30

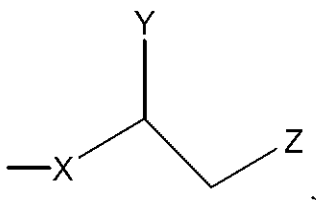


40

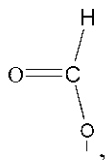
またはその医薬的に許容される塩が提供され、ただし、上記式において、

(i) A_1 、 A_2 および A_3 はそれぞれが独立して、OおよびSからなる群から選択される；

(ii) R_1 は、長さが2個～28個の炭素であるアルキル鎖、および、下記の基：

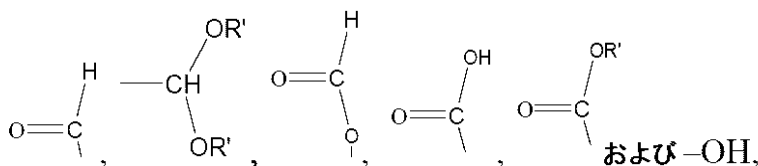


(式中、XはC₁～C₅の鎖であり、Yは、



10

—OH、—H、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、アセトキシおよび芳香族官能基からなる群から選択される；および、
Zは、



20

からなる群から選択され、ただし、これらの式において、R'はC₁～C₄アルキルである)

からなる群から選択される；

(iii) R₂は、(4-メチルカルボキシ)ブチル、(3-カルボキシ)プロピル、(6-カルボキシ)ヘキサニル、(2-カルボキシ)エチル、5, 6-ジヒドロキシヘキサニル、5, 5-ジエトキシペンチルおよび5, 5-ジメトキシペンチルからなる群から選択される；および

30

(iv) R₃は、H、アシル、アルキル、ホスファート、ホスホコリン、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸、ホスホセリンおよびホスホイノシトールからなる群から選択される。

【0113】

いくつかの実施形態によれば、R₁は、長さが2個～28個の炭素であるアルキル鎖である。

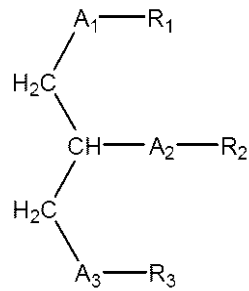
【0114】

本明細書中上記で記載される酸化脂質のいくつかは、これらの酸化脂質が、ホスファート、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸およびホスホセリンからなる群から選択されるホスホリル成分をその3位に含むという点で特徴づけられ得るか、または、3位においてリン酸化されず、かつ、置換されないとして特徴づけられ得る(すなわち、水素原子が3位に存在する)。

40

【0115】

したがって、本発明のいくつかの実施形態によれば、下記の式によってまとめて表わされる化合物：

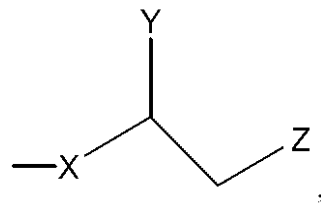


またはその医薬的に許容される塩が提供され、ただし、上記式において、

10

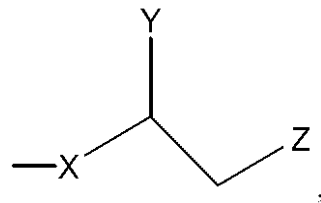
(i) A_1 、 A_2 および A_3 はそれぞれが独立して、O および S からなる群から選択される；

(ii) R_1 および R_2 はそれぞれが独立して、長さが2個～28個の炭素であるアルキル鎖、および、下記の基：



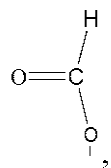
20

からなる群から選択され、ただし、 R_1 および R_2 の少なくとも一方が、



であり、上記式において、Xは $C_{1 \sim 25}$ の鎖であり、Yは、

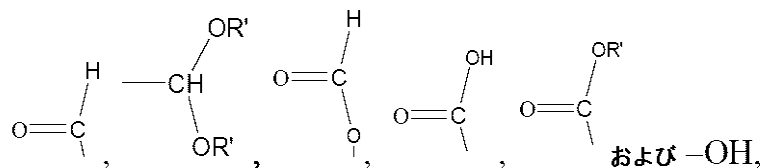
30



—OH、—H、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、アセトキシおよび芳香族官能基からなる群から選択される；および、

Zは、

40



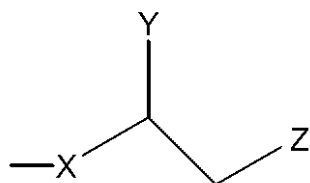
からなる群から選択され、ただし、これらの式において、 R' は $C_{1 \sim 4}$ アルキルである；および

(iii) R_3 は、H、ホスファート、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン—N—グルタル酸およびホスホセリンからなる群から選択される。

【0116】

50

いくつかの実施形態によれば、 R_1 は、長さが 2 個～28 個の炭素であるアルキル鎖である。そのような実施形態においては、 R_2 は、



であることを理解しなければならない。

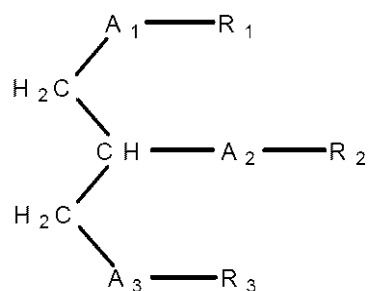
10

【0117】

本明細書中上記で記載される酸化脂質のいくつかは、これらの酸化脂質が、ドデシル、オクタデシル、オクチル、エイコサニル、*cis*-9-ヘキサデセニル、(2-オクチル)ドデシルおよび(15-カルボキシ)ペンタデシルからなる群から選択される側鎖をその 1 位に含むという点で特徴づけられ得る。

【0118】

したがって、本発明のいくつかの実施形態によれば、下記の式によってまとめて表わされる化合物：



20

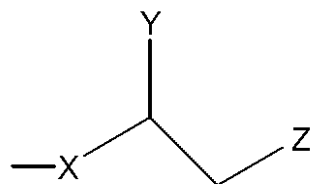
またはその医薬的に許容される塩が提供され、ただし、上記式において、

(i) A_1 、 A_2 および A_3 はそれぞれが独立して、O および S からなる群から選択される；

30

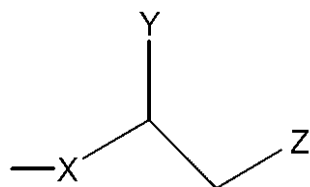
(ii) R_1 は、ドデシル、オクタデシル、オクチル、エイコサニル、*cis*-9-ヘキサデセニル、(2-オクチル)ドデシルおよび(15-カルボキシ)ペンタデシルからなる群から選択される；

(iii) R_2 は、長さが 2 個～28 個の炭素であるアルキル鎖、および、下記の基：



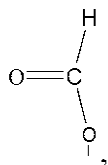
40

からなる群から選択され、ただし、 R_1 が他の(15-カルボキシ)ペンタデシルであるならば、 R_2 は、



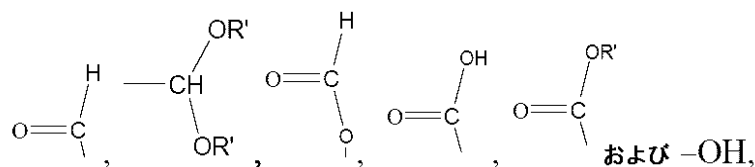
50

であり、上記式において、XはC₁～C₅の鎖であり、Yは、



—OH、—H、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、アセトキシおよび芳香族官能基からなる群から選択される；および、

Zは、

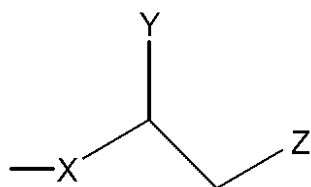


からなる群から選択され、ただし、これらの式において、R'はC₁～C₄アルキルである；および

(iv) R₃は、H、アシル、アルキル、ホスファート、ホスホコリン、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン—N—グルタル酸、ホスホセリンおよびホスホイノシトールからなる群から選択される。

【0119】

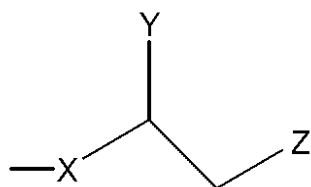
本明細書中に記載される(15-カルボキシ)ペンタデシル基は、Xが、炭素が13個のアルキル鎖であり、Yが水素であり、かつ、Zが—C(=O)OHである本明細書中に記載される下記成分：



に対応することを理解しなければならない。

【0120】

同様に、(4-メチルカルボキシ)ブチル、(3-カルボキシ)プロピル、(6-カルボキシ)ヘキサニル、(2-カルボキシ)エチル、5,6-ジヒドロキシヘキサニル、5,5-ジエトキシペンチルおよび5,5-ジメトキシペンチルは、Zが((3-カルボキシ)プロピル、(6-カルボキシ)ヘキサニルおよび(2-カルボキシ)エチルに関しては)—C(=O)OHであり、または、Zが(5,5-ジエトキシペンチルおよび5,5-ジメトキシペンチルに関しては)—CH(OR')₂であり、または、Zが(5,6-ジヒドロキシヘキサニルに関しては)—OHである下記成分：



に対応する。

【0121】

本明細書中上記で記載される酸化脂質のいくつかは、これらの酸化脂質がイオウ原子を

10

20

30

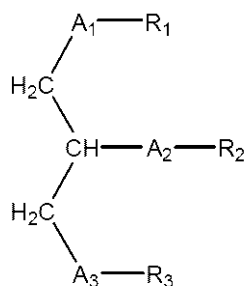
40

50

その 1 位に含み、かつ、酸素原子をその 2 位および 3 位に含むという点で特徴づけられ得る。

【0122】

したがって、本発明のいくつかの実施形態によれば、下記の式によって表わされる化合物：

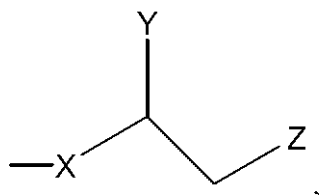


10

またはその医薬的に許容される塩が提供され、ただし、上記式において、

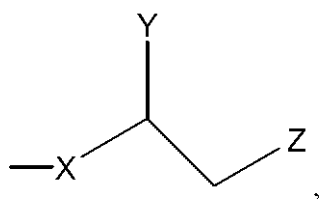
(i) A_1 は S であり、かつ、 A_2 および A_3 はそれぞれが O である；

(ii) R_1 および R_2 はそれぞれが独立して、長さが 2 個～28 個の炭素であるアルキル鎖、および、下記の基：



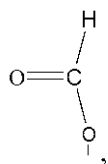
20

からなる群から選択され、ただし、 R_1 および R_2 の少なくとも一方が、

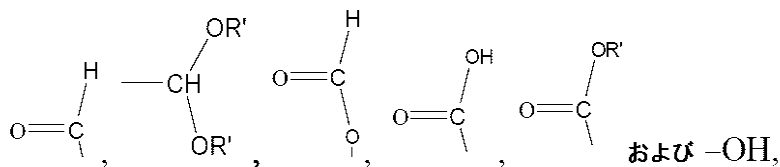


30

であり、上記式において、X は C_{1-25} の鎖であり、Y は、



—OH、—H、アルキル、アルコキシ、ハロゲン、アセトキシおよび芳香族官能基からなる群から選択される；および、
Z は、



からなる群から選択され、ただし、これらの式において、 R' は C_{1-4} アルキルである；および

50

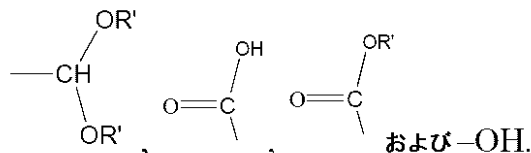
(iii) R_3 は、H、アシル、アルキル、ホスファート、ホスホコリン、ホスホエタノールアミン、ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸、ホスホセリンおよびホスホイノシトールからなる群から選択される。

【0123】

いくつかの実施形態によれば、 R_1 は、長さが2個～28個の炭素であるアルキル鎖である。

【0124】

本発明のいくつかの実施形態によれば、本明細書中上記で記載される変数Zは、



10

からなる群から選択される。

【0125】

本発明の選択可能な実施形態によれば、変数Yは、Hおよび-OHからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、Zが-OHおよび/または-O-C(=O)Hであるとき、Yは-OHである。いくつかの実施形態において、Zが、-C(=O)H、-CH(OR')₂、-C(=O)OHおよび/または-C(=O)OR'であるとき、YはHである。

20

【0126】

例示的实施形態によれば、R' は、飽和している非置換C₁～₄アルキルである。場合により、R' は、エチルおよびメチルからなる群から選択される。

【0127】

選択可能な実施形態によれば、本明細書中に記載される、長さが2個～28個の炭素であるアルキル鎖は、別途具体的に示されない限り、飽和している。場合により、このアルキル鎖は、別途具体的に示されない限り、非置換である。

【0128】

選択可能な実施形態によれば、本明細書中に記載される変数Xは、別途具体的に示されない限り、長さが1個～25個の炭素である飽和したアルキル鎖である。場合により、このアルキル鎖は、別途具体的に示されない限り、非置換である。

30

【0129】

本明細書中で使用される用語「アルキル」は、直鎖基および分枝鎖基を含む飽和または不飽和の脂肪族炭化水素を示す。好ましくは、アルキル基は1個～20個の炭素原子を有する。数値範囲、例えば「1個～20個」が本明細書で述べられる場合は常に、それは基（この場合はアルキル基）が1個の炭素原子、2個の炭素原子、3個の炭素原子などの20個までの炭素原子を含むということを意味する。さらに好ましくは、アルキル基は、1個～10個の炭素原子を有する中程度のサイズのアルキルである。最も好ましくは、他に示さない限り、アルキル基は、1個～4個の炭素原子を有するアルキルである。アルキル基は、置換または非置換であり得る。置換されるとき、置換基は、例えば、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、複素脂環、ハロ、ヒドロキシ、アルコキシ、アリーロキシ、チオヒドロキシ、チオアルコキシ、チオアリーロキシ、シアノ、ニトロ、アジド、スルホニル、スルフィニル、スルフォンアミド、ホスホニル、ホスフィニル、オキソ、カルボニル、チオカルボニル、尿素、チオ尿素、O-カルバミル、N-カルバミル、O-チオカルバミル、N-チオカルバミル、C-アミド、N-アミド、C-カルボキシ、O-カルボキシおよびアミノであり得る。いくつかの実施形態では、アルキルは非置換である。

40

【0130】

本明細書中で使用される用語「シクロアルキル」基は、環の1つまたは複数が完全共役のπ電子系を有しない、すべて炭素からなる単環基または縮合環（すなわち、隣接炭素原

50

子対を共有する環) 基を示す。シクロアルキル基の非限定な例には、シクロプロパン、シクロブタン、シクロペンタン、シクロペンテン、シクロヘキサン、シクロヘキサジエン、シクロヘプタン、シクロヘプタトリエンおよびアダマンタンがある。シクロアルキル基は、置換または非置換であり得る。置換されるとき、置換基は、例えば、アルキル、アリール、ヘテロアリール、複素脂環、ハロ、ヒドロキシ、アルコキシ、アリールオキシ、チオヒドロキシ、チオアルコキシ、チオアリールオキシ、シアノ、ニトロ、アジド、スルホニル、スルフィニル、スルフォンアミド、ホスホニル、ホスフィニル、オキソ、カルボニル、チオカルボニル、尿素、チオ尿素、O-カルバミル、N-カルバミル、O-チオカルバミル、N-チオカルバミル、C-アミド、N-アミド、C-カルボキシ、O-カルボキシおよびアミノであり得る（これらの用語は本明細書中で定義される）。

10

【0131】

「アリール」基（本明細書において「芳香族官能基」としても言及される）は、完全共役の π 電子系を有する、すべて炭素からなる単環基または縮合多環（すなわち、隣接炭素原子対を共有する環）基を示す。アリール基の非限定的な例には、フェニル、ナフタレニルおよびアントラセニルがある。アリール基は、置換または非置換であり得る。置換されるとき、置換基は、例えば、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、複素脂環、ハロ、ヒドロキシ、アルコキシ、アリールオキシ、チオヒドロキシ、チオアルコキシ、チオアリールオキシ、シアノ、ニトロ、アジド、スルホニル、スルフィニル、スルフォンアミド、ホスホニル、ホスフィニル、オキソ、カルボニル、チオカルボニル、尿素、チオ尿素、O-カルバミル、N-カルバミル、O-チオカルバミル、N-チオカルバミル、C-アミド、N-アミド、C-カルボキシ、O-カルボキシおよびアミノであり得る（これらの用語は本明細書中で定義される）。

20

【0132】

「ヘテロアリール」基は、例えば、窒素、酸素およびイオウなどの1個または複数個の原子を環（1つまたは複数）に有し、さらには完全共役の π 電子系を有する単環基または縮合環（すなわち、隣接炭素原子対を共有する環）基を示す。ヘテロアリール基の非限定的な例には、ピロール、フラン、チオフエン、イミダゾール、オキサゾール、チアゾール、ピラゾール、ピリジン、ピリミジン、キノリン、イソキノリンおよびプリンが含まれる。ヘテロアリール基は、置換または非置換であり得る。置換されるとき、置換基は、例えば、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、複素脂環、ハロ、ヒドロキシ、アルコキシ、アリールオキシ、チオヒドロキシ、チオアルコキシ、チオアリールオキシ、シアノ、ニトロ、アジド、スルホニル、スルフィニル、スルフォンアミド、ホスホニル、ホスフィニル、オキソ、カルボニル、チオカルボニル、尿素、チオ尿素、O-カルバミル、N-カルバミル、O-チオカルバミル、N-チオカルバミル、C-アミド、N-アミド、C-カルボキシ、O-カルボキシおよびアミノであり得る（これらの用語は本明細書中で定義される）。

30

【0133】

「複素脂環」基は、例えば、窒素、酸素およびイオウなどの1個または複数個の原子を環（1つまたは複数）に有する単環基または縮合環基を示す。環はまた、1つまたは複数の二重結合を有することができる。しかしながら、環は完全共役の π 電子系を有しない。複素脂環基は、置換または非置換であり得る。置換されるとき、置換基は、例えば、孤立電子対、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、複素脂環、ハロ、ヒドロキシ、アルコキシ、アリールオキシ、チオヒドロキシ、チオアルコキシ、チオアリールオキシ、シアノ、ニトロ、アジド、スルホニル、スルフィニル、スルフォンアミド、ホスホニル、ホスフィニル、オキソ、カルボニル、チオカルボニル、尿素、チオ尿素、O-カルバミル、N-カルバミル、O-チオカルバミル、N-チオカルバミル、C-アミド、N-アミド、C-カルボキシ、O-カルボキシおよびアミノであり得る（これらの用語は本明細書中で定義される）。代表的な例はピペリジン、ピペラジン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラン、モルホリン及びその類似物である。

40

【0134】

50

「ヒドロキシ」基は－OH基を示す。

【0135】

「アジド」基は－N＝N基を示す。

【0136】

「アルコキシ」基は、本明細書中で定義されるように、－O－アルキル基および－O－シクロアルキル基の両方を示す。

【0137】

「アリールオキシ」基は、本明細書中で定義されるように、－O－アリール基および－O－ヘテロアリール基の両方を示す。

【0138】

「チオヒドロキシ」基は－SH基を示す。

【0139】

「チオアルコキシ」基は、本明細書中で定義されるように、－S－アルキル基および－S－シクロアルキル基の両方を示す。

【0140】

「チオアリールオキシ」基は、本明細書中で定義されるように、－S－アリール基および－S－ヘテロアリール基の両方を示す。

【0141】

「カルボニル」または「アシル」基は、本明細書中で定義されるように、－C(＝O)－R基（式中、Rは、水素、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アリール、（環の炭素を通して結合された）ヘテロアリール、または（環の炭素を通して結合された）ヘテロ脂環状である）を示す。

【0142】

「アルデヒド」基は、Rが水素であるカルボニル基を示す。

【0143】

「チオカルボニル」基は－C(＝S)－R基（式中、Rは本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0144】

「C－カルボキシ」基は－C(＝O)－O－R基（式中、Rは本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0145】

「O－カルボキシ」基はRC(＝O)－O－基（式中、Rは本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0146】

「アセトキシ」基はCH₃C(＝O)－O－を示す。

【0147】

「オキソ」基は＝O基を示す。

【0148】

「カルボン酸」基は、Rが水素であるC－カルボキシル基を示す。

【0149】

「ハロ」または「ハロゲン」基は、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を示す。

【0150】

「スルフィニル」基は－S(＝O)－R基（式中、Rは本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0151】

「スルホニル」基は－S(＝O)₂－R基（式中、Rは本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0152】

「スルホンアミド」基は－S(＝O)₂－NR₂基またはRS(＝O)₂－NR－基（式中、Rは各々本明細書中で定義される通りである）を示す。

10

20

30

40

50

【0153】

「O-カルバミル」基は —OC(=O)—NR_2 基（式中、Rは各々本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0154】

「N-カルバミル」基は ROC(=O)—NR 基（式中、Rは各々本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0155】

「O-チオカルバミル」基は —OC(=S)—NR_2 基（式中、Rは各々本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0156】

「N-チオカルバミル」基は ROC(=S)NR 基（式中、Rは各々本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0157】

「アミノ」基は —NR_2 基（式中、Rは各々本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0158】

「C-アミド」基は —C(=O)—NR_2 基（式中、Rは各々本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0159】

「N-アミド」基は RC(=O)—NR 基（式中、Rは各々本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0160】

「尿素」基は —NRC(=O)—NR_2 基（式中、Rは各々本明細書中で定義される通りである）を示す。

【0161】

「ニトロ」基は —NO_2 基を示す。

【0162】

「シアノ」基は $\text{—C}\equiv\text{N}$ 基を示す。

【0163】

用語「ホスホニル」または「ホスホネート」は —P(=O)(OR)_2 基を示し、式中、Rは上述の通り定義される。

【0164】

用語「ホスフィニル」は —PR_2 基（式中、Rは各々上述の通り定義される）を示す。

【0165】

用語「チオ尿素」は、 —NR—C(=S)—NR 基（式中、Rは各々上述の通り定義される）を示す。

【0166】

本実施形態はさらに、本明細書中上記に記載される化合物の任意の薬学的に受容可能な塩、プロドラッグ、水和物および溶媒和物を包含する。

【0167】

用語「プロドラッグ」は、活性な化合物（活性な元の薬物）にインビボで変換される薬剤を示す。プロドラッグは典型的には、元の薬物の投与を容易にするために有用である。プロドラッグは、例えば、経口投与による生体利用性を有する場合があるが、元の薬物は生体利用性を有しない。プロドラッグはまた、医薬組成物において、元の薬物と比較したとき、改善された溶解性を有し得る。プロドラッグはまた、活性な化合物の持続した放出をインビボで達成するために使用される。プロドラッグの非限定的な一例が、エステル（「プロドラッグ」）として投与される、1つまたは複数のカルボン酸部分を有する本明細書に記載の化合物である。そのようなプロドラッグはインビボで加水分解され、それにより、遊離化合物（元の薬物）をもたらす。選択されたエステルは、プロドラッグの溶解性特性および加水分解速度の両方に影響を及ぼし得る。

10

20

30

40

50

【0168】

表現「薬学的に受容可能な塩」は元の化合物の荷電化学種およびその対イオンを示し、この場合、対イオンは、元の化合物の溶解性特性を変化させ、かつ／または、元の化合物による生物に対する何らかの著しい刺激を軽減し、一方で、投与された化合物の生物学的な活性および性質を妨げないために典型的には使用される。薬学的に受容可能な塩の非限定的な一例が、カルボキシラートアニオンおよびカチオン（例えば、アンモニウム、ナトリウムおよびカリウムなど、これらに限定されない）である。

【0169】

用語「溶媒和物」は、溶質（本実施形態の化合物）および溶媒によって形成され、それにより、溶媒が溶質の生物学的活性を妨害しない、様々な化学的量論（例えば、二、三、四、五、六など）の複合体を示す。好適な溶媒には、例えば、エタノールおよび酢酸などが含まれる。

10

【0170】

用語「水和物」は、溶媒が水である、本明細書中上記で定義されるような溶媒和物を示す。

【0171】

本明細書中下記において詳しく記載されるように、本実施形態の新しく設計された化合物は非常に有益な免疫調節活性を発揮し、従って、様々な治療的適用において利用することができる。これらの化合物を治療的適用において利用することは、それ自体でのその投与、あるいは、本発明の化合物が好適なキャリアまたは賦形剤と混合される医薬組成物の一部としてのその投与のいずれかを伴う。

20

【0172】

従って、本発明の実施形態の別の側面によれば、有効成分として、本明細書において記載される化合物のいずれかを含み、かつ、薬学的に受容可能なキャリアを含む医薬組成物が提供される。

【0173】

本明細書中で使用される「医薬組成物」は、本明細書中に記載される1つまたは複数の有効成分と、生理学的に好適なキャリアおよび賦形剤などの他の化学的成分との調製物を示す。医薬組成物の目的は、化合物を生物に投与することを容易にすることである。

【0174】

本明細書中において、用語「有効成分」は、生物学的作用を説明することができる上述の化合物（酸化脂質）を示す。

30

【0175】

以降、交換可能に使用することができる表現「生理学的に受容可能なキャリア」および表現「薬学的に受容可能なキャリア」は、生物に対する著しい刺激を生じさせず、投与された化合物の生物学的な活性および性質を妨げないキャリアまたは希釈剤を示す。アジュバントはこれらの表現に含まれる。

【0176】

本明細書中において、用語「賦形剤」は、有効成分の投与をさらに容易にするために医薬組成物に添加される不活性な物質を示す。賦形剤の非限定的な例には、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、様々な糖および様々なタイプのデンプン、セルロース誘導体、ゼラチン、植物油およびポリエチレングリコールが含まれる。

40

【0177】

薬物の配合および投与に関する様々な技術を「Remington's Pharmaceutical Sciences」(Mack Publishing Co.、Easton、PA、最新版)（これは参考として本明細書中に組み込まれる）に見出すことができる。

【0178】

好適な投与経路には、例えば、経口送達、直腸送達、経粘膜送達（特に、経鼻腔送達）、腸送達または非経口送達（筋肉内注射、皮下注射および髄内注射、ならびにくも膜下注

50

射、直接的な心室内注射、静脈内注射、腹腔内注射、鼻腔内注射または眼内注射を含む）を挙げることができる。

【0179】

あるいは、医薬組成物は、例えば、医薬組成物を患者の組織領域内に直接注射することによって、全身的な様式ではなく、局所的な様式で投与することができる。

【0180】

本発明の任意選択的な実施形態において、医薬組成物は、粘膜投与を介した免疫応答および／または炎症性応答を調節するために設計される。

【0181】

本発明の別の任意選択的な実施形態において、医薬組成物は、経口投与を介した免疫応答および／または炎症性応答を調節するために設計される。

10

【0182】

任意選択的には、本発明の実施形態の医薬組成物は、本明細書中上記で詳述されたように、鼻腔投与または腹腔内投与のために設計される。

【0183】

本発明の実施形態の医薬組成物は、この分野で十分に知られているプロセスによって、例えば、従来の混合、溶解、造粒、糖衣錠作製、研和、乳化、カプセル化、包括化または凍結乾燥のプロセスによって製造することができる。

【0184】

従って、本発明の実施形態に従って使用される医薬組成物は、薬学的に使用され得る調製物への有効成分の加工を容易にする、賦形剤および補助剤を含む1つまたは複数の生理学的に受容可能なキャリアを使用して、従来の様式で配合することができる。適正な配合は、選ばれた投与経路に依存する。

20

【0185】

注射の場合、医薬組成物の有効成分は、水溶液において、例えば、生理学的に適合し得る緩衝液（ハンクス溶液、リンゲル溶液または生理学的塩の緩衝液など）において配合することができる。経粘膜投与の場合、透過しなければならないバリアに対して適切な浸透剤が配合において使用される。そのような浸透剤はこの分野では一般に知られている。

【0186】

経口投与の場合、医薬組成物は、活性な化合物を、この分野で十分に知られている薬学的に受容可能なキャリアと組み合わせることによって容易に配合することができる。そのようなキャリアにより、医薬組成物を、患者によって経口摂取される錠剤、ピル、糖衣錠、カプセル、液剤、ゲル、シロップ、スラリー剤、懸濁物などとして配合することが可能になる。経口使用される薬理学的調製物は、固体の賦形剤を使用し、得られた混合物を場合により粉碎し、そして錠剤または糖衣錠コアを得るために所望する場合には好適な補助剤を添加した後、顆粒の混合物を加工して作製することができる。好適な賦形剤は、具体的には、ラクトース、スクロース、マンニトールまたはソルビトールを含む糖などの充填剤；セルロース調製物、例えば、トウモロコシデンプン、コムギデンプン、コメデンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントゴム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロースなど；および／またはポリビニルピロリドン（PVP）などの生理学的に受容可能なポリマーである。所望する場合には、架橋されたポリビニルピロリドン、寒天、またはアルギン酸もしくはその塩（アルギン酸ナトリウムなど）などの崩壊剤を加えることができる。

30

40

【0187】

糖衣錠コアには、好適なコーティングが施される。この目的のために、高濃度の糖溶液を使用することができ、この場合、糖溶液は、場合により、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル、ポリエチレングリコール、二酸化チタン、ラッカー溶液および好適な有機溶媒または溶媒混合物を含有することができる。色素または顔料が、活性な化合物の量を明らかにするために、または活性な化合物の量の種々の組合せを特徴づけるために、錠剤または糖衣錠コーティングに添加され得る。

50

【0188】

経口使用され得る医薬組成物には、ゼラチンから作製されたプッシュ・フィット型カプセル、ならびにゼラチンおよび可塑剤（グリセロールまたはソルビトールなど）から作製された軟いシールをされたカプセルが含まれる。プッシュ・フィット型カプセルは、充填剤（ラクトースなど）、結合剤（デンプンなど）、滑剤（タルクまたはステアリン酸マグネシウムなど）および場合により安定化剤と混合された有効成分を含有し得る。軟カプセルでは、有効成分を好適な液体（脂肪油、流動パラフィンまたは液状のポリエチレングリコールなど）に溶解または懸濁させることができる。さらに、安定化剤を加えることができる。経口投与される配合物はすべて、選ばれた投与経路に好適な投薬形態でなければならない。

10

【0189】

口内投与の場合、組成物は、従来の様式で配合された錠剤またはトローチの形態を取ることができる。

【0190】

鼻吸入による投与の場合、本発明の実施形態に従って使用される有効成分は、好適な噴射剤（例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタンまたは二酸化炭素）の使用により加圧パックまたはネブライザーからのエアロゾルスプレー提示物の形態で都合よく送達される。加圧されたエアロゾルの場合、投薬量単位は、計量された量を送達するためのバルブを備えることによって決定することができる。ディスペンサーで使用される、例えば、ゼラチン製のカプセルおよびカートリッジを、本発明の化合物と好適な粉末基剤（ラクトースまたはデンプンなど）との粉末混合物を含有して配合することができる。

20

【0191】

本明細書中に記載される医薬組成物は、例えば、ボーラス注射または連続注入による非経口投与のために配合することができる。注射用配合物は、単位投薬形態で、例えば、添加された保存剤を場合により伴うアンプルまたは多回用量容器で提供され得る。組成物は、油性ビヒクルまたは水性ビヒクルにおける懸濁物または溶液剤またはエマルションにすることができ、そして懸濁剤、安定化剤および／または分散剤などの配合剤を含有することができる。

【0192】

非経口投与される医薬組成物には、水溶性形態の活性な調製物の水溶液が含まれる。さらに、有効成分の懸濁物を適切な油性または水系の注射懸濁物として調製することができる。好適な親油性の溶媒またはビヒクルには、脂肪油（ゴマ油など）、または合成脂肪酸エステル（オレイン酸エチルなど）、トリグリセリドまたはリポソームが含まれる。水性の注射用懸濁物は、懸濁物の粘度を増大させる物質、例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ソルビトールまたはデキストランなどを含有することができる。場合により、懸濁物はまた、高濃度の溶液の調製を可能にするために有効成分の溶解性を増大させる好適な安定化剤または薬剤を含有することができる。

30

【0193】

あるいは、有効成分は、使用前に好適なビヒクル（例えば、滅菌されたパイロジェン非含有水に基づく溶液）により構成されるための粉末形態にすることができる。

40

【0194】

本発明の実施形態の医薬組成物はまた、例えば、カカオバターまたは他のグリセリドなどの従来の坐薬基剤を使用して、坐薬または停留浣腸剤などの直腸用組成物で配合することができる。

【0195】

本発明の実施形態に関連して使用される好適な医薬組成物には、意図された目的を達成するために効果的な量で有効成分が含有される組成物が含まれる。より詳細には、治療効果的な量は、障害（例えば、アテローム性動脈硬化）の症状を防止もしくは緩和もしくはは改善するために、または処置されている対象の生存を延ばすために効果的な有効成分の量

50

を意味する。

【0196】

治療効果的な量の決定は、特に本明細書中に示される詳細な開示を考慮に入れて十分に当業者の能力の範囲内である。

【0197】

本発明の実施形態の方法において使用される任意の調製物に関して、治療効果的な量または用量はインビトロアッセイおよび細胞培養アッセイから最初に推定することができる。例えば、用量は、所望する濃度または力価を達成するために動物モデルにおいて組み立てることができる。そのような情報は、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定するために使用することができる。

10

【0198】

本明細書中に記載される有効成分の毒性および治療効力は、インビトロで、細胞培養または実験動物において標準的な薬学的手法により決定することができる（例えば実施例の部分において後述される）。これらのインビトロアッセイおよび細胞培養アッセイから得られたデータは、ヒトにおける使用に対する投薬量範囲を決定するために使用することができる。投薬量は、用いられる投薬物形態および利用される投与経路に依存して変化し得る。正確な配合、投与経路および投薬量は、患者の状態を考慮して個々の医師によって選ぶことができる（例えば、Fingl他、1975、「The Pharmacological Basis of Therapeutics」、第1章、1頁を参照のこと）。

20

【0199】

投薬量および投薬間隔は、炎症（血管形成）を誘導または抑制するために十分な有効成分の血漿レベルまたは脳内レベル（最小有効濃度、MEC）をもたらすように個々に調節することができる。MECはそれぞれの調製物について異なるが、インビトロでのデータから推定することができる。MECを達成するために必要な投薬量は、個々の特性および投与経路に依存する。様々な検出アッセイを、血漿濃度を測定するために使用することができる。

【0200】

処置される状態の重篤度および応答性に依存して、投薬は単回投与または多数回の投与にすることができ、この場合、処置期間は、数日から数週間まで、または治療が達成されるまで、または疾患状態の軽減が達成されるまで続く。

30

【0201】

投与される組成物の量は、当然のことではあるが、処置されている対象、苦痛の重篤度、投与様式、処方医の判断などに依存する。

【0202】

本発明の実施形態の組成物は、所望する場合には、有効成分を含有する1つ以上の単位投薬形態物を含有し得る、FDA承認キットなどのパックまたはディスペンサーデバイスで提供することができる。パックは、例えば、金属箔またはプラスチック箔を含むことができ、例えば、ブリスターパックなどである。パックまたはディスペンサーデバイスには、投与に関する説明書が伴い得る。パックまたはディスペンサーはまた、医薬品の製造または使用または販売を規制する政府当局により定められた形式で容器に関連する通知によって規定され得る。この場合、そのような通知は、組成物の形態またはヒトもしくは動物への投与の当局の承認を反映する。そのような通知は、例えば、処方薬物または承認された製品添付文書に関する米国食品医薬品局により承認されたラベル書きであり得る。適合し得る薬学的キャリアに配合された本明細書中に記載された調製物を含む組成物もまた、本明細書中上記でさらに詳述されているように、指示された状態の処置のために調製され、適切な容器に入れられ、かつ、表示され得る。

40

【0203】

従って、本発明の任意選択的な実施形態において、医薬組成物は、内因性の酸化脂質に関連する炎症の治療または防止における使用のために、包装材料に充填され、包装材料の表面

50

または内部において活字で識別される。そのような炎症に関連する疾患および障害の代表的な例の一覧が本明細書中下記に示される。

【0204】

代替として、または、加えて、医薬組成物は包装材で包装され、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させるために、ならびに／あるいは、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害の処置における使用のために包装材の内部または表面において印刷で特定される。

【0205】

本明細書中下記において詳しくさらに記載されるように、本発明の実施形態の医薬組成物はさらに、本明細書中に記載された炎症の治療または防止において有用であるさらなる化合物を含むことができる。

【0206】

下記の実施例の節において詳しく記載されるように、本発明の実施形態の新しく設計された化合物の代表例が、免疫応答および炎症と関連したサイトカインのレベルを調節することにおいて効果的であることが見出されている。これらの結果は、これらの化合物が内因性の酸化脂質に関連する炎症および免疫応答を抑制するために有効であることを示唆している。

【0207】

従って、本発明の実施形態の別の例によれば、内因性の酸化脂質に関連する炎症を治療または防止する方法が提供される。本発明の実施形態のこの側面による方法は、治療効果的な量の1つまたは複数の本明細書に記載される酸化脂質をその必要性のある対象に投与することによって行われる。

【0208】

本明細書中で使用される表現「内因性の酸化脂質」は、炎症過程および他の細胞媒介プロセスもしくは体液媒介プロセスの結果として体内に存在するか、または形成される1つまたは複数の酸化脂質を示す。

【0209】

用語「方法」は、所与の課題を達成するための様式、手段、技術および手順を示し、これらには、限定されないが、化学、薬理学、生物学、生化学および医学の技術分野の実施者に知られているか、または、知られている様式、手段、技術および手順から、化学、薬理学、生物学、生化学および医学の技術分野の実施者によって容易に開発されるそのような様式、手段、技術および手順が挙げられる。

【0210】

本明細書中で使用される表現「治療（処置）または防止する」には、疾患の進行を妨げること、実質的に阻害すること、遅くすること、または逆転させること、あるいは、疾患の臨床的症状を実質的に緩和すること、あるいは、疾患の臨床的症状の出現を実質的に防止することが包含される。

【0211】

そのような処置のために好適な対象の例には、本明細書中下記で詳述されるように、炎症に関連する疾患または障害に罹患している対象が含まれる。本発明の実施形態による好適な個々の対象は哺乳動物を含み、例えば、イヌ、ネコ、ヒツジ、ブタ、ウマおよびウシなどである。任意選択的には、本発明の実施形態による個々の対象はヒトである。

【0212】

本明細書中で使用される表現「内因性の酸化脂質に伴う炎症」は、1つまたは複数の酸化脂質（例えば、酸化LDL、酸化された膜脂質など）のインビボでの形成および存在に伴う炎症を表す。

【0213】

炎症は、傷害に対する身体の防御的応答である。いくつかのサイトカインが、炎症性反

10

20

30

40

50

応を媒介することにおいて重要な役割を果たしており、それらの中には、インターロイキン-12およびインターロイキン-23（IL-12およびIL-23）が含まれる。過度な炎症は有害であることが多く、無数の疾患および障害に関わるか、または、無数の疾患および障害を引き起こす。本明細書中上記で詳しく説明されるように、過度な炎症性応答が典型的には、酸化脂質エピトープに関連する。

【0214】

したがって、本発明の選択可能な実施形態によれば、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを対象において低下させる方法が提供される。

【0215】

本発明のさらなる選択可能な実施形態によれば、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害を処置するための方法が提供される。

【0216】

上記の方法は、本明細書中に記載されるような1つまたは複数の治療効果的な量の酸化脂質をその必要性のある対象に投与することによって達成される。

【0217】

本発明の実施形態の別の局面によれば、医薬品の製造における、本明細書中に記載される少なくとも1つの酸化脂質の使用が提供される。医薬品のための選択可能な配合物が本明細書中に記載される。

【0218】

いくつかの実施形態において、医薬品は、本明細書中でさらに詳しく記載されるように、内因性の酸化脂質に伴う炎症を処置または防止するためのものである。

【0219】

いくつかの実施形態において、医薬品は、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを対象において低下させるためのものである。

【0220】

いくつかの実施形態において、医薬品は、インターロイキン-12およびインターロイキン-23からなる群から選択されるサイトカインのレベルを低下させることが有益である疾患または障害を処置するためのものである。

【0221】

本明細書中に記載される酸化脂質の抗炎症効果は、内因性の酸化LDLまたは何らかの他の内因性の酸化脂質が関与する炎症随伴疾患または炎症随伴障害を処置または防止することにおいて利用することができる。そのような疾患および障害には、例えば、アテローム性動脈硬化、アテローム性動脈硬化性心臓血管疾患、脳血管疾患、末梢血管疾患、狭窄症、再狭窄およびステント内狭窄（これらに限定されない）を含めて、プラーク形成に伴う疾患または障害、ならびに、自己免疫疾患または自己免疫障害、神経変性疾患または神経変性障害、増殖性疾患または増殖性障害および老化プロセスが含まれる。

【0222】

従って、炎症に関連する疾患または障害、ひいては内在性酸化脂質に関連し、それ故本発明の方法によって治療可能である疾患または障害の代表例は、特発性炎症性疾患または特発性炎症性障害、慢性の炎症性疾患または炎症性障害、急性の炎症性疾患または炎症性障害、自己免疫疾患または自己免疫障害、感染性疾患または感染性障害、炎症性の悪性疾患または悪性障害、炎症性の転移関連疾患または転移関連障害、炎症性の変性疾患または変性障害、過敏性に関連する疾患または障害、炎症性の心臓血管疾患または心臓血管障害、炎症性の脳血管疾患または脳血管障害、末梢血管疾患または末梢血管障害、炎症性の腺疾患または腺障害、炎症性の胃腸疾患または胃腸障害、炎症性の皮膚疾患または皮膚障害、炎症性の肝臓疾患または肝臓障害、炎症性の神経学的疾患または神経学的障害、炎症性の筋骨格疾患または筋骨格障害、炎症性の網膜疾患または網膜障害、炎症性の生殖系疾患

10

20

30

40

50

または生殖系障害、炎症性の全身性疾患または全身性障害、炎症性の結合組織疾患または結合組織障害、炎症性腫瘍、壊死、炎症性の移植関連疾患または移植関連障害、炎症性の老化作用、免疫不全疾患または免疫不全障害、増殖性疾患および増殖性障害、ならびに、炎症性の肺疾患または肺障害などの様々な疾患および障害であり、これらは以下で詳述される。

【0223】

過敏症の非限定的な例には、I型過敏症、II型過敏症、III型過敏症、IV型過敏症、即時過敏症、抗体媒介過敏症、免疫複合体媒介過敏症、Tリンパ球媒介過敏症、遅延型過敏症、ヘルパーTリンパ球媒介過敏症、細胞傷害性Tリンパ球媒介過敏症、TH1リンパ球媒介過敏症およびTH2リンパ球媒介過敏症が挙げられる。

10

【0224】

炎症性の心臓血管疾患または心臓血管障害の非限定的な例には、閉塞性の疾患または障害、アテローム性動脈硬化、心臓弁膜疾患、狭窄、再狭窄、ステント内狭窄、心筋梗塞、冠状動脈疾患、急性冠状動脈症候群、うっ血性心不全、狭心症、心筋性虚血、血栓症、ヴェーゲナー肉芽腫症、高安動脈炎、川崎症候群、抗第VII因子による自己免疫疾患または自己免疫障害、壊死性小血管脈管炎、微視的多発性血管炎、チャージ・ストラウス症候群、少免疫型巣状壊死性糸球体腎炎、半月体形成性糸球体腎炎、抗リン脂質症候群、抗体誘導による心不全、血小板減少性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、心臓自己免疫性、シャガス病またはシャガス障害、および抗ヘルパーTリンパ球自己免疫性が挙げられる。

【0225】

狭窄は脈管構造の閉塞性疾患であり、アテローム斑および高まった血小板活性によって一般には引き起こされ、冠状動脈系脈管構造に最も重大な影響を及ぼす。

20

【0226】

再狭窄は、狭窄性脈管構造における閉塞の軽減の後に多い進行性の再閉塞である。脈管構造の開通性のために、ステントの機械的な支持が要求される場合、ステント内再狭窄が生じることがあり、処置された血管を再び閉塞させる。

【0227】

脳血管疾患または脳血管障害の非限定的な例には、卒中、脳血管の炎症、脳出血および椎骨動脈不全が挙げられる。

【0228】

末梢血管疾患または末梢血管障害の非限定的な例には、壊疽、糖尿病性血管障害、虚血性腸疾患、血栓症、糖尿病網膜症および糖尿病性腎症が挙げられる。

30

【0229】

自己免疫疾患または自己免疫障害の非限定的な例には、免疫応答（例えば、自己抗原などに対する自己抗体または細胞媒介免疫性など）によって引き起こされる疾患のすべてが挙げられる。代表的な例には、慢性的な慢性関節リウマチ、若年性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、強皮症、混合性結合組織病、結節性動脈周囲炎、多発性筋炎／皮膚筋炎、シェーグレン症候群、ベーチェット病、多発性硬化症、自己免疫性糖尿病、橋本病、乾癬、原発性粘液水腫、悪性貧血、重症筋無力症、慢性の活動型肝炎、自己免疫性溶血性貧血、特発性血小板減少性紫斑病、ブドウ膜炎、脈管炎およびヘパリン誘導血小板減少が挙げられる。

40

【0230】

炎症性の腺疾患または腺障害の非限定的な例には、膵臓疾患または膵臓障害、I型糖尿病、甲状腺疾患または甲状腺障害、グレーブズ病、甲状腺炎、自発性自己免疫甲状腺炎、橋本甲状腺炎、特発性粘液水腫、卵巣自己免疫性、自己免疫性抗精子不妊症、自己免疫性前立腺炎およびI型自己免疫多腺性症候群が挙げられる。

【0231】

炎症性の胃腸疾患または胃腸障害の非限定的な例には、大腸炎、回腸炎、クローン病、慢性炎症性腸管疾患、炎症性腸症候群、慢性炎症性腸疾患、セリアック病、潰瘍性大腸炎、潰瘍、皮膚潰瘍、床ずれ、胃潰瘍、消化性潰瘍、口内潰瘍、鼻咽頭潰瘍、食道潰瘍、十

50

二指腸潰瘍および胃腸潰瘍が挙げられる。

【0232】

炎症性の皮膚疾患または皮膚障害の非限定的な例には、ざ瘡、自己免疫性水疱性皮膚疾患、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、落葉状天疱瘡、接触性皮膚炎および蕁麻疹が挙げられる。

【0233】

炎症性の肝臓疾患または肝臓障害の非限定的な例には、自己免疫性肝炎、肝硬変および胆汁性肝硬変が挙げられる。

【0234】

炎症性の神経学的疾患または神経学的障害の非限定的な例には、多発性硬化症、アルツハイマー病、パーキンソン病、重症筋無力症、運動神経障害、ギラン・バレー症候群、自己免疫性神経障害、ランバート・イートン筋無力症候群、異所性新生物性の神経学的疾患または神経学的障害、異所性新生物性の小脳萎縮、非異所性新生物性の強直人間症候群、進行性小脳萎縮、ラスムセン脳炎、筋萎縮性側索硬化症、シドナム舞踏病、ジル・ド・ラ・トゥレット症候群、自己免疫性多内分泌腺症、免疫異常神経障害、後天的神経筋緊張症、多発性関節拘縮症、ハンチントン病、AIDS関連痴呆、筋萎縮性側索硬化症（AM L）、発作、炎症性の網膜疾患または網膜障害、炎症性の眼疾患または眼障害、眼神経炎、海綿様脳症、片頭痛、頭痛、群発性頭痛および強直人間症候群が挙げられる。

10

【0235】

炎症性の結合組織疾患または結合組織障害の非限定的な例には、自己免疫性筋炎、原発性シェーグレン症候群、平滑筋の自己免疫疾患または自己免疫障害、筋炎、腱炎、靱帯の炎症、軟骨炎、関節の炎症、滑膜の炎症、手根管症候群、関節炎、慢性関節リウマチ、変形性関節炎、強直性脊椎炎、骨格性の炎症、自己免疫性の耳疾患または耳障害、および、内耳の自己免疫疾患または自己免疫障害が挙げられる。

20

【0236】

炎症性の腎臓疾患または腎臓障害の非限定的な例には、自己免疫性間質性腎炎および／または腎臓ガンが挙げられる。

【0237】

炎症性の生殖器疾患または生殖器障害の非限定的な例には、反復性流産、卵巣嚢、あるいは月経関連疾患または月経関連障害が挙げられる。

30

【0238】

炎症性の全身性疾患または全身性障害の非限定的な例には、全身性エリテマトーデス、全身性硬化症、敗血症性ショック、毒性ショック症候群および悪液質が挙げられる。

【0239】

感染性疾患または感染性障害の非限定的な例には、慢性の感染性疾患または感染性障害、亜急性の感染性疾患または感染性障害、急性の感染性疾患または感染性障害、ウイルス性の疾患または障害、細菌性の疾患または障害、原生動物による疾患または障害、寄生虫による疾患または障害、真菌による疾患または障害、マイコプラズマによる疾患または障害、壊疽、敗血症、プリオンによる疾患または障害、インフルエンザ、結核、マラリア、後天的免疫不全症候群、および重症の急性呼吸症候群が挙げられる。

40

【0240】

炎症性の移植関連疾患または移植関連障害の非限定的な例には、移植片拒絶反応、慢性の移植片拒絶反応、亜急性の移植片拒絶反応、急性の移植片拒絶反応、超急性の移植片拒絶反応、および移植片対宿主の疾患または障害が挙げられる。インプラントの例としては、補綴インプラント、乳房インプラント、シリコーンインプラント、歯科インプラント、陰茎インプラント、心臓インプラント、人工関節、骨折修復デバイス、骨置換インプラント、薬物送達インプラント、カテーテル、ペースメーカー、人工心臓、人工心臓弁、薬物放出インプラント、電極および呼吸チューブが挙げられる。

【0241】

炎症性腫瘍の非限定的な例には、悪性腫瘍、良性腫瘍、充実腫瘍、転移性腫瘍および非

50

充実腫瘍が挙げられる。

【0242】

炎症性の呼吸器疾患または呼吸器障害の非限定的な例には、喘息、アレルギー性喘息、気腫、慢性閉塞性肺疾患または慢性閉塞性肺障害、類肉腫症および気管支炎が挙げられる。

【0243】

増殖性疾患または増殖性障害の一例がガンである。

【0244】

様々な疾患および症候群を治療または防止することにおけるリン脂質およびリン脂質代謝産物の関わりが、近年、報告されており（例えば、老化の酸化的ストレス（Onorato JM他、Annals N Y Acad Sci、1998（11月20日）、854：277～90）、慢性関節リウマチ（RA）（Paimela L. 他、Ann Rheum Dis、1996（8月）、55（8）：558～9）、若年性関節リウマチ（Savolainen A他、1995、24（4）：209～11）、炎症性腸疾患（IBD）（Sawai T他、Pediatr Surg Int、2001（5月）、17（4）：269～74）および腎臓ガン（Noguchi S他、Biochem Biophys Res Commun、1992（1月31日）、182（2）：544～50））、従って、これらは、これらの疾患または障害の治療または防止における酸化リン脂質の酸化脂質アナログの有益な使用をさらに裏付けている。

【0245】

本発明の実施形態の方法によれば、酸化脂質は様々な経路によって対象に投与することができ、そのような経路には、例えば、経口送達、直腸送達、経粘膜（特に、経鼻腔）送達、腸管送達または非経口送達（筋肉内注射、皮下注射および髄内注射、ならびにくも膜下経路、直接的な心室内経路、静脈内経路、腹腔内経路、鼻腔内経路または眼内経路を含む）が含まれる。しかしながら、本明細書中を通して詳しく記載されているように、また、下記の実施例の節においてさらに明らかにされるように、好ましい投与経路には、経口経路、粘膜経路、鼻腔経路、皮内（皮下）経路および腹腔内経路が含まれる。

【0246】

従って、1つの実施形態において、0.1mg/kg～100mg/kgの本明細書中に記載される酸化脂質が、長期にわたる療法または交互に行われる療法で、毎週、1回～3回、好適なキャリア（例えば、PBSまたはグリセロールなど、これらに限定されない）において腹腔内に投与される。

【0247】

別の実施形態において、0.1mg/kg～100mg/kgの本明細書中に記載される酸化脂質が、長期にわたる療法または交互に行われる療法で、毎週、1回～3回、好適なキャリア（例えば、PBSまたはグリセロールなど、これらに限定されない）において鼻腔に投与される。

【0248】

さらに別の実施形態において、0.1mg/kg～100mg/kgの本明細書中に記載される酸化脂質が、長期にわたる療法または交互に行われる療法で、毎週、1回～3回、好適なキャリア（例えば、PBSまたはグリセロールなど、これらに限定されない）において皮下に投与される。

【0249】

さらにもう1つの実施形態において、0.1mg/kg～100mg/kgの本明細書中に記載される酸化脂質が、長期にわたる療法または交互に行われる療法で、毎週、1回～3回、好適なキャリア（例えば、PBSまたはグリセロールなど、これらに限定されない）において経口投与される。

【0250】

本明細書中に記載される医薬組成物および方法はさらに、本明細書中上記で示されたように、内因性の酸化脂質に関連する炎症を治療または防止することができる1つまたは複

10

20

30

40

50

数のさらなる化合物の投与を伴うことができる。

【0251】

従って、本発明の実施形態による方法は、酸化脂質の投与前に、または酸化脂質の投与と同時に、または酸化脂質の投与後に、そのようなさらなる化合物の1つまたは複数の治療効果的な量を同時投与することを伴うことができ、一方で、本発明の実施形態による医薬組成物は、本発明の化合物に加えて、そのようなさらなる化合物を含むことができる。

【0252】

本明細書中、上記で示される内因性の酸化脂質に関連する炎症を治療または防止することができ、かつ、従って、本発明のこの実施形態に関連して使用可能なさらなる化合物の代表的な例には、限定されないが、HMG Co A レダクターゼ阻害剤（スタチン）、粘膜アジュバント、コルチコステロイド、ステロイド系抗炎症性薬物、非ステロイド系抗炎症性薬物、鎮痛剤、増殖因子、トキシシン、コレステリルエステル輸送タンパク質（CEPT）阻害剤、ペルオキシソーム、増殖性活性化受容体（PPAR）アゴニスト、アテローム性動脈硬化防止薬、抗増殖性薬剤、エゼチミド、ニコチン酸、スクアレン阻害剤、Apo E Milano、HSP、 β -2-糖タンパク質I、ならびにそれらの任意の誘導体およびアナログが挙げられる。

【0253】

HMG Co A レダクターゼ阻害剤（スタチン）は、コレステロール産生速度を調節する酵素を阻害し、かつ、血液に存在するLDL-コレステロールの肝臓によるクリアランスを増大させることによってLDL-コレステロールレベルを効果的に低下させる広く知られている薬物である。一般に処方されているスタチンの非限定的な例には、アトルバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、プラバスタチンおよびシンバスタチンが挙げられる。

【0254】

エゼチミドは、トリグリセリドまたは脂溶性ビタミンの吸収に影響を及ぼすことなく、腸管上皮の刷子縁における食事性コレステロールおよび胆汁性コレステロールの吸収を強力かつ選択的に阻害する新しいクラスのコレステロール吸収阻害剤の最初のものである。従って、エゼチミドは肝臓への全体的なコレステロール送達を低下させ、それにより、LDL受容体の増大した発現を二次的に誘導し、その結果、血漿からのLDL-Cの増大した除去をもたらす。

【0255】

ペルオキシソームは、ほぼすべての真核生物細胞に存在する単膜オルガネラである。ペルオキシソームの最も重要な代謝プロセスの1つは長鎖脂肪酸および超長鎖脂肪酸の β -酸化である。ペルオキシソームはまた、胆汁酸合成、コレステロール合成、プラスマロゲン合成、アミノ酸代謝およびプリン代謝にも関与する。

【0256】

ニコチン酸は、総コレステロール、LDL-コレステロールおよびトリグリセリドのレベルを低下させ、同時に、HDL-コレステロールレベルを上昇させる、既知の薬剤である。3タイプのニコチン酸系薬物が存在する：即時放出、徐放性および長期にわたる放出。ニコチン酸またはナイアシン（すなわち、水溶性ビタミンB）は、ビタミン要求量を十分に上回る用量で与えられたとき、すべてのリポタンパク質を改善する。

【0257】

スクアレン（ β -カロテンに構造的に類似するイソプレノイド化合物）はコレステロールの合成における中間代謝産物である。ヒトにおいて、食事性スクアレンの約60パーセントが吸収される。スクアレンは、一般には超低密度リポタンパク質と会合して血清中において輸送され、ヒト組織にあまねく分配され、最大濃度は、スクアレンが皮膚表面脂質の主要な成分の1つである皮膚においてである。スクアレン阻害剤（例えば、モノオキシゲナーゼおよびシンターゼ）はコレステロール生合成阻害剤として役立つ。

【0258】

増殖性活性化受容体（PPAR）アゴニスト（例えば、フィブラート）は、脂質および

10

20

30

40

50

グルコースの代謝において重要な役割を果たし、かつ、肥満に関連づけられる代謝性疾患（例えば、高脂血症、インスリン抵抗性および冠状動脈疾患など）に関係している、核受容体スーパーファミリーの脂肪酸活性化メンバーである。フィブラートは、上昇した血漿トリグリセリドおよび血漿コレステロールを低下させることにおいて一般に効果的であり、PPARアゴニストとして作用する。フィブラートの最も顕著な作用には、血漿中のトリグリセリド高含有リポタンパク質（TRL）の低下が含まれる。LDL-コレステロール（LDL-C）のレベルは一般に、上昇したベースライン血漿中濃度とともに個体において低下し、HDL-コレステロール（HDL-C）レベルは通常、ベースライン血漿中濃度が低いときに増大する。一般に処方されているフィブラートの非限定的な例には、ベザフィブラート、ジェムフィブログイルおよびフェノフィブラートが挙げられる。

10

【0259】

コレステリルエステル輸送タンパク質（CEPT）阻害剤は、マクロファージ内および動脈壁内におけるコレステリルエステルの蓄積を低下させ、従って、泡沫細胞の形成を低下させ、かつ、コレステロール吸収に影響を及ぼすことによって、アテローム発生において大きな役割を果たしている。最も有望な現在知られているCEPT阻害剤はアビシミベである。

【0260】

ApoA-I Milanoは、典型的には、リン脂質との組換え複合体（ETC-216）として使用され、冠状動脈のアテローム性動脈硬化の著しい退行をもたらす。

【0261】

粘膜アジュバントの同時投与は、粘膜表面を通過する感染性因子の侵入を防止することにおいて極めて有益であることが示されている。粘膜免疫応答の誘導の初期段階において、経口投与または鼻腔投与された抗原の取り込みが、特異な1組の抗原サンプリング細胞（誘導部位の濾胞結合上皮（FAE）に存在するM細胞）を介して達成される。取り込みが成功した後、抗原は、その下に存在する樹状細胞（DC）によって直ちにプロセッシングされ、提示される。

20

【0262】

非ステロイド系抗炎症性薬物の非限定的な例には、下記の薬物が挙げられる：オキシカム系、例えば、ピロキシカム、イソキシカム、テノキシカム、スドキシカムおよびCP-14304など；サリチル酸系、例えば、アスピリン、ジサルシド、ベノリラート、トリリサート、サファプリン、ソルプリン、ジフルーニサルおよびフェンドサルなど；酢酸誘導体、例えば、ジクロフェナク、フェンクロフェナク、インドメタシン、スリンダク、トルメチン、イソキセパク、フロフェナク、チオピナク、ジドメタシン、アセメタシン、フェンチアザク、ゾメピラク、クリンダナク、オキセピナク、フェルピナクおよびケトロラクなど；フェナム酸系、例えば、メフェナム酸、メクロフェナム酸、フルフェナム酸、ニフルム酸およびトルフェナム酸など；プロピオン酸誘導体、例えば、イブプロフェン、ナプロキセン、ベノキサプロフェン、フルピプロフェン、ケトプロフェン、フェノプロフェン、フェンブフェン、インドプロプフェン、ピルプロフェン、カルプロフェン、オキサプロジン、プラノプロフェン、ミロプロフェン、チオキサプロフェン、スプロフェン、アルミノプロフェンおよびチアプロフェン酸など；ピラゾール系、例えば、フェニルブタゾン、オキシフェンブタゾン、フェブラゾン、アザプロパゾンおよびトリメタゾンなど。

30

【0263】

ステロイド系抗炎症性薬物の非限定的な例には、限定されないが、下記の薬物が挙げられる：コルチコステロイド系、例えば、ヒドロコルチゾン、ヒドロキシトリウムシノロン、 α -メチルデキサメタゾン、リン酸デキサメタゾン、二プロピオン酸ベクロメタゾン、吉草酸クロベタゾール、デソニド、デスオキシメタゾン、酢酸デスオキシコルチコステロン、デキサメタゾン、ジクロリゾン、二酢酸ジフロラゾン、吉草酸ジフルコルトロン、フルアドレノロン、フルクロロロンアセトニド、フルドロコルチゾン、ピバル酸フルメタゾン、フルオシノロンアセトニド、フルオシノニド、フルコルチンブチルエステル、フルオコルトロン、酢酸フルプレドニデン（フルプレドニリデン）、フルルアンドレノロン、ハ

40

50

ルシノニド、酢酸ヒドロコルチゾン、酪酸ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、トリアムシノロンアセトニド、コルチゾン、コルトドキソン、フルセトニド、フルドロコルチゾン、二酢酸ジフルオロゾン、フルルアドレノロン、フルドロコルチゾン、二酢酸ジフルロゾン、フルルアドレノロンアセトニド、メドリゾン、アムシナフェル、アムシナフィド、ベタメタゾンおよびそのエステルの残り、クロロプレドニゾン、酢酸クロロプレドニゾン、クロコルテロン、クレシノロン、ジクロリゾン、ジフルルプレドナート、フルクロロニド、フルニソリド、フルオロメタロン、フルペロロン、フルプレドニゾロン、吉草酸ヒドロコルチゾン、シクロペンチルプロピオン酸ヒドロコルチゾン、ヒドロコルタマート、メプレドニゾン、パラメタゾン、プレドニゾロン、プレドニゾン、ニプロピオン酸ベクロメタゾン、トリアムシノロン、およびそれらの混合物。

10

【0264】

鎮痛剤（痛み緩和剤）の非限定的な例には、アスピリンおよび他のサリチル酸系（例えば、サリチル酸コリンまたはサリチル酸マグネシウムなど）、イブプロフェン、ケトプロフェン、ナプロキセンナトリウム、ならびにアセトアミノフェンが挙げられる。

【0265】

増殖因子は、数々の機能を有するホルモンであり、そのような機能には、接着分子産生の調節、細胞増殖を変化させること、血管形成を増大させること、コラーゲン合成を高めること、骨代謝を調節すること、および、特定領域への細胞の遊走を変化させることが含まれる。増殖因子の非限定的な例には、インスリン様増殖因子-1（IGF-1）、トランスフォーミング増殖因子- β （TGF- β ）および骨形態形成タンパク質（BMP）などが挙げられる。

20

【0266】

トキシンの非限定的な例には、コレラトキシン（これはまた、アジュバントとして役立つ）が挙げられる。

【0267】

抗増殖性薬剤の非限定的な例には、下記の薬剤が挙げられる：アルキル化剤、例えば、ナイトロジェンマスタード類、エチレンイミン類およびメチルメラミン類、アルキルスルホナート、ニトロソウレア類ならびにトリアゼン類など；代謝拮抗剤、例えば、葉酸アナログ、ピリミジンアナログおよびプリンアナログなど；天然産物、例えば、ビンカアルカロイド、エポドフィロトキシン、抗生物質、酵素、タキサン系および生物学的応答修飾剤など；種々の薬剤、例えば、白金配位錯体、アントラセンジオン系、アントラサイクリン系、置換ウレア、メチルヒドラジン誘導体、または副腎皮質抑制剤など；あるいは、ホルモンまたはアンタゴニスト、例えば、副腎皮質ステロイドアナログ、プロゲステンアナログ、エストロゲンアナログ、抗エストロゲンアナログ、アンドロゲンアナログ、抗アンドロゲンアナログまたは性腺刺激ホルモン放出ホルモンアナログなど。化学療法剤の具体的な例には、例えば、ナイトロジェンマスタード類、エポドフィロトキシン、抗生物質、白金配位錯体、ブレオマイシン、ドキソルビシン、パクリタキセル、エトポシド、4-OHシクロホスファミドおよびシス白金が挙げられる。

30

【0268】

HSPファミリーは、高度に保存された構造を持ちそれらの分子量によって識別される約25個のタンパク質からなる。ほぼすべての人間が、微生物の熱ショックタンパク質60（HSP60）に対する細胞性免疫反応および体液性免疫反応を有する。大きな程度の抗原相同性が、微生物（細菌および寄生虫）HSP60と、ヒトHSP60との間に存在するので、微生物に対する免疫性の「代償」は、ストレスを受けた動脈の内皮細胞によって発現されるヒトHSP60と交差反応し得る危険があることである。変化した自己HSP60に対する真の自己免疫性はこのプロセスを同様に開始させることがある（Wick 他、自己免疫疾患としてのアテローム性動脈硬化；最新情報、TRENDS in Immunology, 2001, 22(12):665~669）。HSPは、いくつかの実験的な自己免疫疾患（関節炎、I型糖尿病）において標的的自己抗原として関係している。抗HSP65抗体ならびに抗HSP60抗体がヒトにおけるアテローム性病変に明らか

40

50

に関連している。ウサギおよびマウスにおいて行われた研究では、組換えタンパク質を用いた免疫化、または、結核菌のHSP65高含有調製物を用いた免疫化によるHSP65誘導の免疫応答が生じることにより、アテローム発生が高まることが示される。可能な抗原性の候補物としてHSP65に向かわせ、それにより、粘膜「寛容化」の誘導による非応答性の状態を生じさせる自己免疫プロセスが、これらの応答を阻止するために用いられているので、本発明者らのグループは、初期のアテローム性動脈硬化が、BSAまたはPBSのいずれかを与えたマウスと比較して、HSP65を与えたマウスにおいて弱められたことを報告した(Harats他、熱ショックタンパク質65による経口寛容性は結核菌誘導のアテローム性動脈硬化病変および高脂肪餌由来のアテローム性動脈硬化病変を弱める、J Am Coll Cardiol、2002、40:1333~1338)。これは、HSPを用いた鼻腔ワクチン接種により、アテローム性動脈硬化に関連する炎症プロセスが低下することを明らかにしたMaronによってさらに裏付けられた(Maron他、熱ショックタンパク質-65の粘膜投与は低密度リポタンパク質受容体欠損マウスの大動脈弓におけるアテローム性動脈硬化および炎症を低下させる、Circulation、2002、106:1708~1715)。

10

【0269】

β -2-糖タンパク質I (β -2 GPI) は、前血栓性の抗リン脂質抗体に対する標的として役立つことが示されているリン脂質結合タンパク質である。免疫媒介反応を行わせ、かつ、マウスのアテローム性動脈硬化を増強することが最近になって明らかにされている。 β -2 GPI に対する β -抗体は、単球および内皮細胞を活性化する能力を有しており、アテローム性動脈硬化を促進させたアテローム性動脈硬化を生じさせやすいマウスにおいて β -2 GPI に対する免疫応答を誘導することができる。 β -2 GPI 反応性のリンパ節および脾臓細胞をLDL受容体欠損マウスに移したとき、マウスは脂肪縞形成を促進させた。これは、 β -2 GPI 特異的リンパ球に対する直接的な前アテローム発生的な役割をもたらしている。抗原を事前に経口投与により与えることによって β -2 GPI に対する免疫学的寛容性を誘導することにより、アテローム硬化性病変の程度の著しい減少がもたらされた。従って、 β -2 GPI はアテローム硬化性病変における候補の作用因子であり、斑進行の免疫調節因子としておそらくは用いることができる。 β -2 GPI を経口投与により与えることにより、 β -2 GPI に対するリンパ節細胞の反応性が、ヒトタンパク質に対して免疫化されたマウスにおいて阻害された。IL-4およびIL-10の産生が、それぞれのタンパク質を用いて抗原刺激したとき、 β -2 GPI に対して免疫化された β -2 GPI 寛容マウスのリンパ節細胞においてアップレギュレーションされた。従って、 β -2 GPI の経口投与は、マウスにおけるアテローム発生を抑制する効果的な手段である(George他、 β -2-糖タンパク質Iを用いた経口寛容性によるLDL受容体欠損マウスにおける初期アテローム性動脈硬化の抑制、Cardiovasc Res、2004、62(3):603~9)。

20

30

【0270】

本明細書中に記載される酸化脂質は、化学技術分野において知られているいずれかの好適な方法に従って調製することができる。例えば、本明細書中に記載されるリン脂質を、国際特許出願番号PCT/IL05/000735(公開番号WO06/006161)または米国特許出願第11/650973号(米国特許出願公開第2007-0112211号)に記載される手順に従って調製することができる。

40

【0271】

明確にするため別個の実施形態の文脈で説明されている本発明の特定の特徴が、単一の実施形態に組み合わせて提供されることもできることは分かるであろう。逆に、簡潔にするため単一の実施形態で説明されている本発明の各種の特徴は別個にまたは適切なサブコンビネーションで、あるいは本発明の他の記載される実施形態において好適なように提供することもできる。種々の実施形態の文脈において記載される特定の特徴は、その実施形態がそれらの要素なしに動作不能である場合を除いては、それらの実施形態の不可欠な特徴であると見なされるべきではない。

50

【0272】

本明細書中上記に描かれるような、および、下記の請求項の節において特許請求されるような本発明の様々な実施形態および態様のそれぞれは、実験的裏付けが下記の実施例において見出される。

【実施例】

【0273】

次に下記の実施例が参照されるが、下記の実施例は、上記の説明と一緒に、本発明を非限定様式で例示する。

【0274】

材料および方法

10

材料：

酢酸（氷酢酸）をBio-Labから得た；

クリスタルバイオレットをSigmaから得た；

ジチオスレイトール（DTT）をBio-Labから得た；

ウシ胎児血清（熱不活化物）をBiological Industries（イスラエル）から得た；

メタノール（無水）をBio-Labから得た；

MOGペプチド35-55をSigma-Aldrichから得た；

マウスGM-CSF（顆粒球マクロファージコロニー刺激因子）をPeprotech（イスラエル）から得た；

20

ペニシリン／ストレプトマイシン溶液をBiological Industries（イスラエル）から得た；

赤血球溶解緩衝液をBiological Industries（イスラエル）から得た；および

L-グルタミンを含むRPMI-1640培地をBiological Industries（イスラエル）から得た。

【0275】

COSTAR（登録商標）無菌24ウェル組織培養処理プレートをCorningから得た。

【0276】

30

リン酸塩緩衝化生理的食塩水（PBS）を、カルシウムもマグネシウムも含まないダルベッコリン酸塩緩衝化生理的食塩水の10x濃縮物（Biological Industries、イスラエル）を二回蒸留水により希釈することによって調製した。

【0277】

細胞を、5%CO₂を含む空気で37℃でインキュベーションした。

【0278】

分光法による測定を、Tecan SUNRISEプレートリーダーおよびMagellanバージョン6.3データ取得ソフトウェアを使用して行った。595nmにおける吸収を、Tecan SpectraFluor 595nm帯域フィルターを使用して求めた。

40

【0279】

インビトロ研究のために、試験化合物を100mg/mlの濃度にエタノールに溶解し、その後、1mg/mlの濃度にPBSで希釈した。

【0280】

チロシンリン酸化アッセイ：

マウスのマクロファージまたは骨髄由来細胞（BMDC）におけるチロシンリン酸化をアッセイした。

【0281】

マウスの初代マクロファージをチオグリコラート刺激後の7週齢～8週齢のメスのC57BL/6マウスの腹膜から単離した。細胞を、RPMI-1640培地における0.5

50

%ウシ胎児血清 (FBS) により一晩、事前に飢餓培養した。マウスの初代骨髄由来細胞を、冷RPMI-1640を使用して骨髄をメスのS/JLマウス的大腿骨および脛骨から流し出すことによって単離した。細胞懸濁物を調製し、赤血球を、赤血球溶解緩衝液を使用して除き、リン酸塩緩衝化生理的食塩水 (PBS) および0.5%ウシ血清アルブミン (BSA) をマウスB220マイクロビーズおよびマウスCD90マイクロビーズ (Miltenyi Biotec) とともに含有する緩衝液において4℃で15分間インキュベーションした。その後、細胞を洗浄し、同じ緩衝液に再懸濁し、LDカラムまたはLSカラムによるMidi-Macs分離装置 (Miltenyi Biotec) でB細胞およびT細胞を枯渇させた。枯渇化处理された骨髄細胞を計数し、洗浄し、L-グルタミン、 β -メルカプトエタノール、10%ウシ胎児血清、抗生物質 (ペニシリン/ストレプトマイシン) および2 ng/mlのマウス顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) を含むRPMI-1640培地において 10^6 細胞/mlの濃度で播種した。培地を1日おきに取り換えた。培養後5日目~6日目に細胞を集め、計数し、前記培地において24時間播種し (10^6 細胞/ml)、その後、RPMI-1640培地における0.5%ウシ胎児血清 (FBS) による飢餓培養を一晩行った。

10

【0282】

その後、マクロファージまたはBMDCを、1%エタノールを含むリン酸塩緩衝化生理的食塩水 (PBS) における $1\mu\text{g/ml}$ 、 $10\mu\text{g/ml}$ または $20\mu\text{g/ml}$ の試験化合物により10分間処理した。 $1\mu\text{g/ml}$ または $20\mu\text{g/ml}$ のホスファチジルコリンあるいは溶媒 (1%エタノールを含むPBS) のどちらかによる処理を陰性コントロールとして使用した。 $1\mu\text{g/ml}$ 、 $10\mu\text{g/ml}$ または $20\mu\text{g/ml}$ のCI-201 (1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホコリン) による処理を陽性コントロールとして使用した。

20

【0283】

その後、リン酸化チロシンを有するタンパク質を、モノクローナル抗ホスホチロシン抗体を使用してウエスタンブロットによって観察した。ERK1/2または α -チューブリンに対するウエスタンブロッティングをタンパク質負荷のためのコントロールとして行った。

【0284】

インビトロ毒性アッセイ：

30

チオグリコラート誘発のマウス腹膜マクロファージを洗浄し、計数し、RPMI-1640、L-グルタミン、10%FBSおよび抗生物質 (ペニシリン/ストレプトマイシン) を含有する培地において三連のウェルで播種した (24ウェルプレートにおいてウェルあたり 2×10^5 個~ 3×10^5 個の細胞)。24時間の回収期間の後、試験化合物 (またはコントロール) を、 $2\mu\text{g/ml}$ 、 $10\mu\text{g/ml}$ 、 $20\mu\text{g/ml}$ 、 $50\mu\text{g/ml}$ 、 $100\mu\text{g/ml}$ または $150\mu\text{g/ml}$ の用量で細胞培地に加えた。このとき、体積を溶媒で補うことによって、添加体積をすべての処理において等しく保った。

【0285】

化合物を加えた後、細胞をさらに24時間インキュベーションし、その後、細胞を洗浄し、10%メタノール/10%酢酸の溶液により固定処理し、クリスタルバイオレット (20%エタノールにおいて0.4%) により染色した。細胞数を、光学濃度を595nmで求めることによって測定した。ビヒクル (1%エタノールを含むPBS) とインキュベーションされた細胞をコントロールとして使用し、コントロールに対して、処理サンプルにおける細胞数を正規化した。

40

【0286】

データが、平均±標準偏差として示される。ビヒクル処理の細胞に対する統計学的有意性を、スチューデントt検定を使用して計算し、0.05未満のp値を、統計学的有意性を示すと見なした。

【0287】

インビトロでのIL12/23p40産生アッセイ：

50

骨髄由来細胞（BMDC）を、チロシンリン酸化アッセイについて本明細書中上記で記載されるように、メスのC57BLマウスの大腿骨および脛骨から得て、培養し、培養後5日～6日で 10^6 細胞/mlの濃度で播種した。

【0288】

その後、試験化合物を、 $1\mu\text{g/ml}$ 、 $2.5\mu\text{g/ml}$ 、 $5\mu\text{g/ml}$ 、 $10\mu\text{g/ml}$ または $20\mu\text{g/ml}$ の濃度で1時間、細胞に加えた。細胞は、 $10\mu\text{g/ml}$ のペプチドグリカン（PGN）との24時間のインキュベーションによってIL12/23p40産生のために活性化された。上清からのサイトカイン産生をELISAによって測定した。試験化合物を伴わない活性化細胞をコントロールとして使用した。

【0289】

インビトロでのIL12/23p40のmRNA発現アッセイ：

骨髄由来細胞の培養物を本明細書中上記で記載されるように調製した。培養後5日目～6日目に、細胞培養物をMSカラムまたはLSカラム（Miltenyi Biotec h）でのマウスCD11cマイクロビーズによりCD11c+の樹状細胞について濃縮した（ $>90\%$ ）。CD11c+の樹状細胞を、 $10\mu\text{g/ml}$ のペプチドグリカンだけにより、または、活性化の1時間前に加えられる $20\mu\text{g/ml}$ の試験化合物の存在下での $10\mu\text{g/ml}$ のペプチドグリカンにより、1時間、2時間および3時間刺激した。RNAを、RNeasyミニキット（Qiagen、Valencia、CA）を使用して細胞から抽出した。cDNA調製のために、 $1\mu\text{g}$ のRNAを、第1鎖緩衝液において 70°C で10分間、オリゴdTと一緒にした。ジチオスレイトールおよびdNTPおよびsuper-script逆転写酵素（SS-1I）（Invitrogen、Carlsbad、CA）を 42°C で50分間加え、反応を 70°C でのさらに15分間のインキュベーションによって終了させた。すべてのリアルタイムPCR反応を、LightCycler Taqmanマスター（Roche Diagnostics、Mannheim、ドイツ）を使用して行い、LightCycler装置（Roche）で泳動した。プライマーを伴う調製済みプローブセットをIL12/23p40アッセイおよびGAPDHアッセイのために使用した（Applied Biosystems、それぞれ、アッセイ#Mm01288992__m1および同Mm99999915__g1）。後者が、RNAレベルを正規化するために役立った。 $20\mu\text{g/ml}$ のCI-201およびホスファチジルコリン（PC）を陽性コントロールおよび陰性コントロールとしてそれぞれ使用した。

【0290】

インビボでのミエリン乏突起膠細胞糖タンパク質（MOG）誘導実験的自己免疫脳脊髄炎（EAE）アッセイ：

C57BL/6マウスに、 $200\mu\text{l}$ の最終体積における示された量の試験化合物を免疫化の5日前から開始して5日間連続して経口投与した。

【0291】

EAE誘導のために、マウスを、 1.5mg/ml のMOGペプチド35-55（MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK）および 2.5mg/ml のCFA（完全フロイントアジュバント）を含有するエマルジョンにより皮下に免疫化した（ $100\mu\text{l}$ のエマルジョンがそれぞれの脇腹に注入された）。百日咳毒素（ $500\mu\text{l}$ のPBSにおいて 500ng ）を免疫化の直後および48時間後に腹腔内投与した。

【0292】

EAEの発症を平均臨床スコアによって評価した。

【0293】

インビボでのコラーゲン誘導関節炎（CIA）アッセイ：

オスのDBA/1マウスを、尾の基部における、完全フロイントアジュバント（CFA）を含有するコラーゲン注入（0日目）、および、脇腹における追加免疫注入（21日目）によって、関節炎を誘導するために免疫化した。マウスを36日目まで関節炎の発症について追跡した。試験化合物およびコントロール物質の胃管法による投与を22日目に開

10

20

30

40

50

始し、毎日行った（週に6回）。

【0294】

関節炎の発症を関節炎臨床スコアによって評価した。

【0295】

インビボでのアテローム性動脈硬化性病変アッセイ：

12週齢～16週齢のオスのLDL-RDマウスに、PBSまたは示された量の試験化合物を含むPBSの0.2mlを5回の処置のために1日に1回、1日おきに経口投与した。マウスには5週間にわたって西洋食を与え、その後、マウスを屠殺した。

【0296】

代替として、14週齢～16週齢のApoE KOマウスに、PBSまたは示された量の試験化合物を含むPBSの0.2mlを5回の処置のために1日に1回、1日おきに経口投与し、マウスを、8週が終了するまでに屠殺した。

【0297】

アテローム性動脈硬化性病変部の定量化を、いくつかの改変とともに、以前に記載されたように[Paigne他、マウスにおけるアテローム性動脈硬化性病変部の定量的評価、Atherosclerosis、1987、68：231-240]、大動脈洞における病変サイズを計算することによって行った。簡単に記載すると、心臓および大動脈を動物から取り出し、周辺部の脂肪を注意深く除いた。心臓を、Optimal Cutting Temperature (OCT) ゲルに包埋し、凍結した。大動脈洞の病変を、大動脈洞全体(400μm)にわたって、3枚～8枚のオイルレッドO染色された連続切片(10μmの厚さ)から求めた。病変面積を、コンピューター分析法(Image Pro Plusソフトウェア[バージョン4.5.1.29]、Medical Cybernetics Corporation)を使用して計算した。

【0298】

実施例1

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン(CI-202)および1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンおよび(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを、(R)-(1-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール)を出発物質として使用して本明細書中下記に記載されるように合成した。(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンおよび(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(S)-(1-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール)が出発物質として用いられる。

【0299】

(S)-1-ヘキサデシルグリセロールの合成。11グラムの(R)-(1-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール)、20グラムの粉末化された水酸化カリウムおよび27.96グラムの臭化ヘキサデシルを150mlのトルエンにおいて攪拌し、6時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約40mlにした。反応混合物を室温に冷却し、100mlの水を加え、反応混合物を75mlのジクロロメタンにより3回抽出した。一緒にした有機相を50mlの水により洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。残渣を90：10：5(体積/体積)のメタノール：水：濃塩酸の混合物の200mlに溶解し、生じた溶液を2時間還流した。室温に冷却した後、100mlの水を加えた。生成物を100mlのジクロロメタンにより3回抽出し、100mlの水、100mlの炭酸ナトリウム飽和水溶液、再び100mlの水により順次洗浄した。その後、溶媒を減圧下で除き、生成物をヘキサン(200ml)から結晶化させて、21.69グラムの純粋な(S)-1-ヘキサデシルグリセロ

ールを得た。これを減圧下のデシケーターにおいて乾燥した。収率が82%であった。

【0300】

(R)-1-ヘキサデシル-3-トリチル-グリセロールの合成。20グラムの(S)-1-ヘキサデシル-グリセロールおよび21.29グラムのトリフェニルクロロメタンを369mlの乾燥テトラヒドロフラン(THF)および93mlの乾燥アセトニトリルに溶解した。17.75mlのトリエチルアミンを加え、反応混合物を17時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、水(100グラム)に注ぎ、分液漏斗に移し、メチルtert-ブチルエーテルにより抽出した。有機相を200mlの水により、次いで200mlの希硫酸(1.5%)により2回、次いで200mlの水により、次いで200mlの飽和重炭酸ナトリウム水溶液により、次いで再び200mlの水により順次洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、36.86グラムの粗生成物を残渣として得た。この残渣を熱ヘキサン(200ml)に溶解し、生じた溶液を4℃で一晩冷却した。沈殿した生成物をろ過し、これにより、30.71グラムの(R)-1-ヘキサデシル-3-トリチル-グリセロールを得た。

10

【0301】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチル-グリセロールの合成。19.94グラムの1-ヘキサデシル-3-トリチル-グリセロール、6.98グラムの6-ブロモ-1-ヘキセンおよび15グラムの粉末化された水酸化カリウムを350mlのヘキサンにおいて攪拌し、8時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。反応混合物を室温に冷却し、分液漏斗に移し、200mlの水により2回洗浄し、その後、溶媒を減圧下で除いた。残渣を150mlのヘキサンに溶解し、再び200mlの水により洗浄した。有機相を4℃で一晩保った。その間に、副生成物の沈殿が生じた。ろ過し、溶媒を減圧下で除くことにより、19.86グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチル-グリセロールを得た。収率が86.6%であった。

20

【0302】

(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールの合成。150.16グラム(702mmol)の過ヨウ素酸ナトリウムを、温度計および滴下漏斗を備える三口丸底フラスコにおいて500mlの水に懸濁した。7.21グラム(85.8mmol)の重炭酸ナトリウムおよび2.47グラム(15.6mmol)の過マンガン酸カリウムを加え、懸濁物を40℃の温度に加熱した。50グラム(78mmol)の(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチル-グリセロールを500mlのtert-ブタノールに溶解し、この溶液を1時間かけて過ヨウ素酸ナトリウムおよび過マンガン酸カリウムの混合物に加えた。(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチル-グリセロールを過ヨウ素酸ナトリウムおよび過マンガン酸カリウムに加えた後、反応混合物を40℃の温度で3時間加熱した。1.5時間後、さらに0.62グラム(3.9mmol)の過マンガン酸カリウムを、反応混合物のピンク色を維持するために加えた。3時間の期間が終了したとき、反応混合物を室温に冷却し、分液漏斗に移し、200mlのヘキサンにより抽出した。有機相を、15グラムのNa₂S₂O₅を100mlの水に溶解した溶液により洗浄した。希塩酸(13mlの水に0.65mlの濃度のHCl)を有機相に加え、200mlの溶媒を減圧下で蒸留した。残留する透明な溶液を80℃の温度に6時間加熱し、さらに250mlの体積の溶媒を留去した。残渣を100mlの水および10mlの30%NaOH溶液により処理し、これにより、12のpHを得た。沈殿したトリフェニルメタノールをろ過により除き、10mlの水により4回洗浄した。ろ液を50mlのヘキサンおよび50mlの酢酸エチルの混合物により抽出して、残留するトリフェニルメタノールおよび他の不純物を除いた。水相において、1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールのナトリウム塩を8.45ml(101.4mmol)の濃塩酸によりプロトン化した。生じた遊離カルボン酸を100mlのヘキサンにより抽出した。蒸発乾固および100mlのヘキサンとの共蒸発により、27.00グラムの粗(S)-1-ヘキサデシル-2

30

40

50

ー（４－カルボキシ）ブチルーｓｎ－グリセロールを得た。粗生成物を、７ｍｌのアセトンおよび６８ｍｌのヘキサンの混合物に溶解し、０℃に冷却することによって結晶化させた。沈殿物をろ過し、７ｍｌの冷ヘキサンにより２回洗浄し、乾燥した。２０．９０グラムの（Ｓ）－１－ヘキサデシル－２－（４－カルボキシ）ブチルーｓｎ－グリセロールを灰白色の固体として得た。収率が６４．３％であった。

【０３０３】

（Ｓ）－１－ヘキサデシル－２－（４－メチルカルボキシ）ブチルーｓｎ－グリセロールの合成。１５．０グラム（３６．０ｍｍｏｌ）の（Ｓ）－１－ヘキサデシル－２－（４－カルボキシ）ブチルーｓｎ－グリセロールを１００ｍｌのメタノールに溶解し、３ｍｌの濃塩酸を加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。トリエチルアミンを、反応混合物のｐＨが７に達するまで加えた。溶液を分液漏斗に移し、２００ｍｌのヘキサンにより２回抽出した。有機相を水により洗浄した。蒸発乾固および１００ｍｌのヘキサンとの共蒸発により、１４．９２グラムの（Ｓ）－１－ヘキサデシル－２－（４－メチルカルボキシ）ブチルーｓｎ－グリセロールを得た。収率が９６．２％であった。

【０３０４】

（Ｒ）－１－ヘキサデシル－２－（４－メチルカルボキシ）ブチルーｓｎ－グリセロー３－ホスホエタノールアミンの合成。２．８８グラムの（Ｓ）－１－ヘキサデシル－２－（４－メチルカルボキシ）ブチルーｓｎ－グリセロールおよび３ｍｌのトリエチルアミンを３０ｍｌのＴＨＦに溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、２ｍｌのＰＯＣｌ_３を２０ｍｌのテトラヒドロフランに溶解した氷冷溶液に１５分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに１０分間続け、室温でさらに４５分間続けた。反応混合物を氷冷し、１．２１ｍｌのエタノールアミンおよび５．６ｍｌのトリエチルアミンを５０ｍｌのＴＨＦに溶解した溶液を２０分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともに１０分間続け、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を２４ｍｌの酢酸および１０ｍｌの水の混合物に溶解し、７０℃に１時間加熱した。混合物を５０ｍｌのクロロホルムにより３回抽出し、有機相を５０ｍｌの水により２回洗浄し、溶媒を減圧下で除いて、４．０グラムの（Ｒ）－１－ヘキサデシル－２－（４－メチルカルボキシ）ブチルーｓｎ－グリセロー３－ホスホエタノールアミンを黄色のワックスとして得た。

【０３０５】

１－ヘキサデシル－２－（４－メチルカルボキシ）ブチルーグリセロー３－ホスホエタノールアミンのＮＭＲによる特徴づけ：

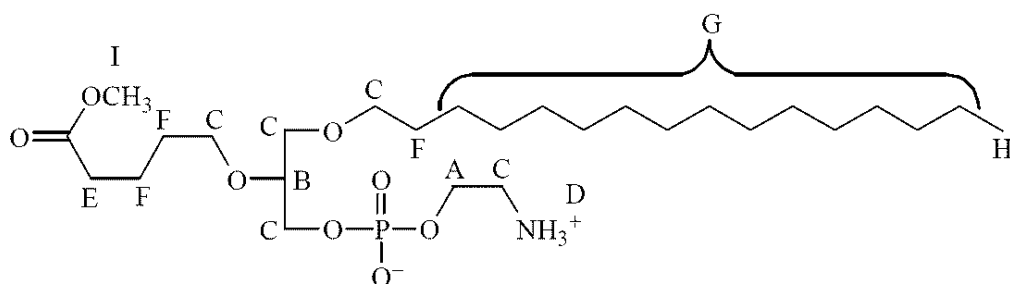
１－ヘキサデシル－２－（４－メチルカルボキシ）ブチルーグリセロー３－ホスホエタノールアミンのサンプルを重水素化クロロホルム（ＣＤＣｌ_３）に溶解した。その後、スペクトルを３００ＭＨｚで測定した。サンプルを¹H－ＮＭＲ分光法および¹³C－ＮＭＲ分光法の両方によって測定した。

【０３０６】

結果は１－ヘキサデシル－２－（４－メチルカルボキシ）ブチルーグリセロー３－ホスホエタノールアミンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【０３０７】

１－ヘキサデシル－２－（４－メチルカルボキシ）ブチルーグリセロー３－ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：



^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.28 ppm)

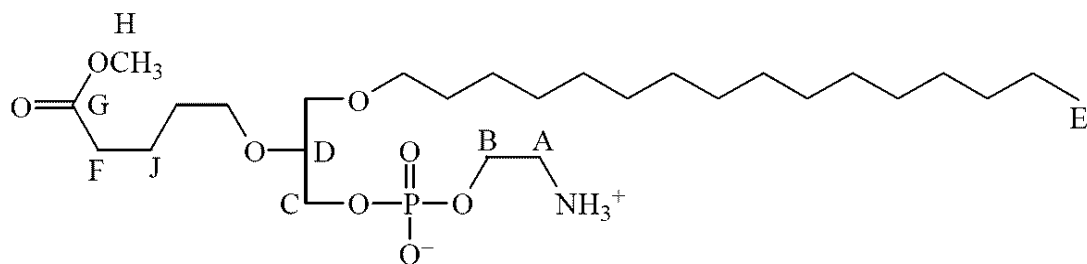
δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
6.905	3 H, br, s	D
4.200	2 H, br, s	A
3.594	3H, s	I
3.336 – 3.562	10 H, m, 5 x CH_2	C
3.291 – 3.313	1 H, m	B
2.250 - 2.299	2 H, t, $J = 7.35$ Hz	E
1.454 - 1.620	6 H, m, 3 x CH_2	F
1.185	26 H, m, 13 x CH_2	G
0.807	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.75$ Hz	H

10

20

【 0 3 0 8 】

1－ヘキサデシル－2－（4－メチルカルボキシ）ブチル－グリセロ－3－ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された ^1H ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



30

^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.0 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
174.08	G
79.00	D
72.01	
70.38	
70.13	
66.25-66.34	C
62.34-62.43	B
51.61	H
40.42-40.51	A
33.87	F
32.05	
29.81	
29.65	
29.47	
26.20	
22.77	
21.74	J
20.74	
14.00	E

10

20

【0309】

1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの質量分析法による特徴づけ：

1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン ($\text{C}_{27}\text{H}_{56}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が 553.7092 であった。

30

【0310】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI+-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 554$ を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは 1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの化学構造と一致している。

【0311】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン (CI-202) の合成。3.5 グラムの (R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを 8:2 (v/v) のメタノール:10% 水酸化ナトリウム溶液の混合物の 100 ml に溶解した。混合物を室温で 5 時間攪拌した。反応液の pH を、リン酸二水素ナトリウムおよびギ酸を加えることによって 4 に調節した。水 (100 ml) およびクロロホルム (100 ml) を加えた。抽出後、相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除いて、3.0 グラムの粗 (R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを得た。粗生成物をシリカゲル (120 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。生成物を、60:35:5 の体積比での

40

50

クロロホルム：メタノールおよび水の混合物により溶出した。望ましい生成物を含有する分画物からの溶媒を減圧下で除き、残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、2.11グラムの純粋な(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンをワックスとして得た。このワックスを減圧下において五酸化リンで乾燥した。

【0312】

CI-202のNMRによる特徴づけ：

CI-202のサンプルを重水素化クロロホルム(CDCl_3)に溶解した。その後、スペクトルを300MHzで測定した。サンプルを ^1H -NMR分光法および ^{13}C -NMR分光法の両方によって測定した。

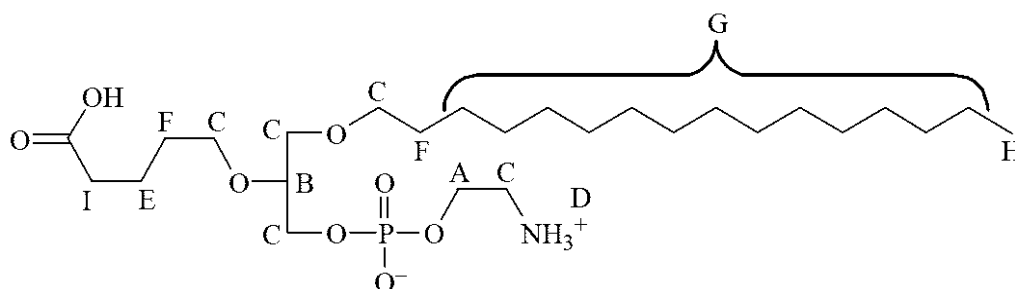
10

【0313】

結果は1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(CI-202)の構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0314】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された ^1H ピークの帰属は下記の通りであった：



20

^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.26 ppm)

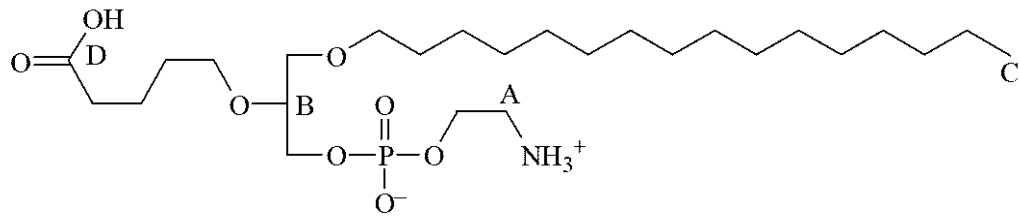
δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
8.140	3 H, br, s	D
4.144	2 H, br, s	A
3.838-4.037	2H, m	C
3.612-3.697	2H, m	C
3.385- 3.530	6 H, m, 3 x CH_2	C
3.256	1 H, br, s	B
2.302-2.348	2H, t, CH_2 , $J = 6.9\text{Hz}$	I
1.672-1.710	2 H, m	E
1.518 - 1.606	4 H, m, 2 x CH_2	F
1.254	26 H, m, 13 x CH_2	G
0.879	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.75\text{ Hz}$	H

30

40

【0315】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.004 ppm)

10

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
177.16	D
77.868	B
71.776	
70.218	
69.814	
66.161	
62.205	
40.533	A
33.818	
31.916	
29.714	
29.664	
29.549	
29.359	
29.156	
26.080	
22.679	
21.732	
14.109	C

20

30

【0316】

CI-202の質量分析法による特徴づけ：

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン ($\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が539.36であった。

【0317】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 538$ を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (CI-202) の化学構造と一致している。

40

【0318】

インビトロでの IL12/23p40 産生：

IL12/23p40のインビトロでの産生に対するCI-202の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0319】

図1に示されるように、CI-202は、骨髓由来細胞によるIL12/23p40の産生を用量依存的様式で阻害した。

【0320】

IL12/23p40のmRNA発現：

インビトロでのIL12/23p40のmRNA発現に対するCI-202の影響を、

50

本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0321】

図2に示されるように、CI-202は、全試験期間（CI-202投与後2時間～4時間）中、IL12/23p40のmRNA発現を阻害した。CI-202による阻害はCI-201による阻害と同程度であった。

【0322】

チロシンリン酸化：

初代マクロファージにおけるインビトロでのチロシンリン酸化に対するCI-202の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0323】

図3に示されるように、10 µg/ml（18.5 µM）のCI-202による処理はチロシンリン酸化の誘導をもたらし、これに対して、20 µg/ml（37 µM）のCI-202への暴露はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こした。これらの変化は、10 µg/ml（17 µM）および20 µg/ml（34 µM）の陽性コントロールCI-201によってそれぞれ誘導される影響と非常に類似している。

【0324】

CI-202の毒性：

CI-202の毒性を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように評価した。

【0325】

図4Aおよび図4Bに示されるように、CI-202の著しい毒性が、50 µg/mlを越える用量でのみ検出された。CI-202のLD₅₀が50 µg/ml～100 µg/mlの間にある。

【0326】

ミエリン乏突起膠細胞糖タンパク質（MOG）誘導の実験的自己免疫脳脊髄炎（EAE）の発症：

マウスにおけるインビボでのミエリン乏突起膠細胞糖タンパク質（MOG）誘導の実験的自己免疫脳脊髄炎（EAE）の発症に対するCI-202の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0327】

図5に示されるように、4 mg/mlのCI-202の投与は疾患の発症を遅らせ、EAEの臨床発現を軽減させた。

【0328】

コラーゲン誘導関節炎（CIA）の発症：

マウスにおけるインビボでのコラーゲン誘導関節炎の発症に対するCI-202の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0329】

図6に示されるように、0.4 mg/mlのCI-202の投与は、試験期間を通して関節炎の重篤度を著しく低下させた。関節炎のピーク臨床スコアが、コントロールのマウスに対して42%低下した。

【0330】

実施例2

1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニルグリセロール-3-ホスホコリン（CI-203）

（R）-1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを、（R）-（-）-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを出発物質として使用して本明細書中下記で記載されるように合成した。（S）-1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニルグリセロール-3-ホスホコリンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、（S）-（+）-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールが出発物質として用いられる。

10

20

30

40

50

【0331】

(R)－1－ヘキサデシル－3－トリチル－グリセロールの合成：(R)－(－)－2，2－ジメチル－1，3－ジオキソラン－4－メタノールを使用して(S)－ヘキサデシル－グリセロールを最初に調製することによって、(R)－1－ヘキサデシル－3－トリチル－グリセロールを実施例1で記載されるように調製した。

【0332】

(R)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－3－トリチル－グリセロールの合成：5グラムの(R)－1－ヘキサデシル－3－トリチル－グリセロールおよび2mlの7－プロモヘプタン酸エチルを70mlのベンゼンに溶解した。23グラムの粉末化されたKOHを加え、反応混合物を攪拌し、14時間還流した。その間、反応で形成される水を共沸蒸留によって除いた。反応混合物を室温に冷却し、70mlの水により3回洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下で除き、得られた残渣を25mlの熱ヘキサンに溶解し、溶液を4℃に一晚冷却した。沈殿した副生成物をろ過し、溶媒を減圧下で除いて、5グラムの(R)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－3－トリチル－グリセロールを白色の固体として得た。

【0333】

(S)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－グリセロールの合成：5グラムの(R)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－3－トリチル－グリセロールを90mlのエタノールに溶解した。20mlの濃塩酸をゆっくり加え、混合物を攪拌し、4時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、氷に注ぎ、100mlのジエチルエーテルにより3回抽出した。有機相を、100mlの水、100mlの飽和重炭酸ナトリウム溶液、再び100mlの水により洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウムをろ過した後、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を熱n－ヘキサンに溶解し、その後、混合物を4℃で一晩保った。沈殿物をろ過した後、溶媒を減圧下で除いて、3.1グラムの黄色のオイルを得た。この残渣をシリカゲルカラム(140グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。生成物を300mlのCHCl₃：酢酸エチル(6：4、v/v)により溶出した。溶媒を減圧下で除いて、1.34グラムの無色のオイルを得た。減圧下において五酸化リンで乾燥することにより、(S)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－グリセロールを無色の固体として得た。

【0334】

(R)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－sn－グリセロ－ホスホエタノールアミンの合成：1.34グラムの(S)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－グリセロールおよび1.2mlのトリエチルアミンを15mlのTHFに溶解した。この溶液を、0.8mlのPOCl₃を10mlのTHFに溶解した氷冷溶液に15分かけて滴下により加えた。溶液を冷却とともにさらに10分間攪拌し、室温でさらに45分間攪拌した。反応混合物を氷で冷却し、0.52mlのエタノールアミンおよび2.4mlのトリエチルアミンを25mlのTHFに溶解した溶液を15分かけて滴下により加えた。反応混合物の攪拌を、氷浴で冷却を行いながら10分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を24mlの酢酸および10mlの水の混合物に溶解し、その後、70℃の温度に1時間加熱した。その後、混合物を50mlのクロロホルムにより3回抽出し、50mlの水により2回洗浄した。溶媒を減圧下で除くことにより、1.87グラムの(R)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－sn－グリセロ－3－ホスホエタノールアミンを黄色のオイルとして得た。

【0335】

(R)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－sn－グリセロ－3－ホスホコリンの合成：1.87グラムの(R)－1－ヘキサデシル－2－(6－エチルカルボキシ)ヘキサニル－sn－グリセロ－3－ホスホエタノールアミンを50mlのイソプロパノールおよび18mlのジクロロメタンの混合物に溶解した。2.17グ

ラムの炭酸カリウムを10mlの水に溶解した溶液を、反応液を35℃～40℃の温度で保ちながら5分かけて滴下により加えた。1.52mlの硫酸ジメチルを10mlのイソプロパノールに溶解した溶液を10分かけて40℃の温度で滴下により加えた。反応液を40℃の温度で90分間保ち、その後、水を加え、混合物を50mlのクロロホルムにより2回抽出した。有機相を50mlの水により洗浄し、溶媒を減圧下で除いて、1.8グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(6-エチルカルボキシ)ヘキサニル-s n-グリセロ-3-ホスホコリンをワックスとして得た。

【0336】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン(CI-203)の合成：1.8グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(6-エチルカルボキシ)ヘキサニル-s n-グリセロ-3-ホスホコリンを50mlのメタノールに溶解した。10%水酸化ナトリウムの溶液を加え、反応混合物を室温で5時間攪拌した。反応液のpHを、リン酸二水素ナトリウムを加えることによって4～5の範囲に調節した。70mlの水および70mlのクロロホルムを加えた。水相および有機相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除いて、1.29グラムの白色のワックスを得た。この残渣をシリカゲル(62グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。生成物を60:35:5の体積比でのCHCl₃:メタノール:H₂Oにより溶出した。溶媒を減圧下で除いた後、残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、1.0グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニル-s n-グリセロ-3-ホスホコリンを白色のワックスとして得た。

【0337】

1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニル-グリセロ-3-ホスホコリンのNMRによる特徴づけ：

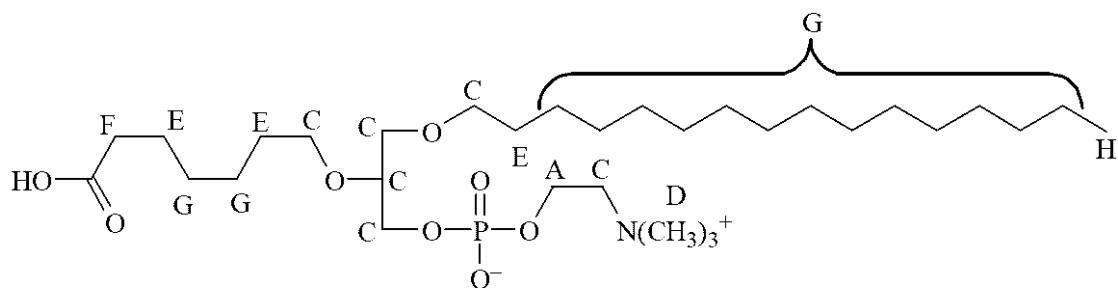
サンプルを重水素化クロロホルム(CDCl₃)に溶解した。¹H NMRスペクトルおよび¹³C NMRスペクトルを300MHzで測定した。

【0338】

結果は1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0339】

1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：

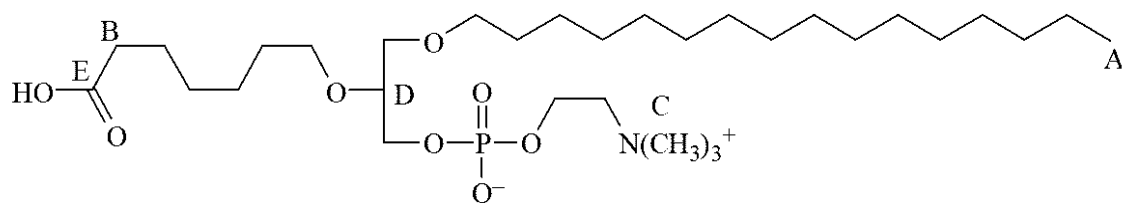


^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.260 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.279	2H, br, s	A
3.375-3.539	11 H, m, 5 x CH_2 + CH	C
3.242	9H, s, 3 x CH_3	D
2.302	2 H, t, CH_2 , $J = 6.15\text{Hz}$	F
1.543-1.556	6H, m	E
1.256-1.374	30 H, m, 15 x CH_2	G
0.879	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.75\text{ Hz}$	H

【 0 3 4 0 】

1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された $^1\text{ } ^3\text{C}$ ピークの帰属は下記の通りであった：



^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.002 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
176.60	E
78.166	D
71.749	
70.368	
70.116	
65.972	
59.777	
54.390	C
34.120	B
31.925	
29.732	
29.597	
29.526	
29.368	
28.412	
26.109	
25.373	
24.665	
22.685	
14.111	A

10

20

【0341】

1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニルグリセロール-3-ホスホコリンの質量分析法による特徴づけ：

1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニルグリセロール-3-ホスホコリン ($\text{C}_{31}\text{H}_{64}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が 609.82 であった。

【0342】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 609$ を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは 1-ヘキサデシル-2-(6-カルボキシ)ヘキサニルグリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

30

【0343】

インビトロでの IL12/23p40 産生：

IL12/23p40 のインビトロでの産生に対する CI-203 の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0344】

図7に示されるように、CI-203 は、骨髓由来細胞による IL12/23p40 の産生を用量依存的様式で阻害した。

40

【0345】

チロシンリン酸化：

骨髓由来細胞におけるインビトロでのチロシンリン酸化に対する CI-203 の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。CI-203 の R-エナンチオマーおよびラセミ状 CI-203 の両方を試験した。CI-201 の R-エナンチオマーおよび S-エナンチオマーの両方をコントロールとして使用した。

【0346】

図8に示されるように、(R)-CI-203 およびラセミ状 CI-203 の両方の $20 \mu\text{g/ml}$ ($33 \mu\text{M}$) による処理はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こし

50

、これに対して、 $1\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ ($1.7\text{ }\mu\text{M}$) の C I - 2 0 3 による処理は明瞭な影響がなかった。(R) - C I - 2 0 3 およびラセミ状 C I - 2 0 3 の影響は、C I - 2 0 1 の R - エナンチオマーおよび S - エナンチオマーの両方によって誘導される影響と類似していた。

【0347】

C I - 2 0 3 の毒性：

C I - 2 0 3 の毒性を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように評価した。

【0348】

図 9 A および図 9 B に示されるように、C I - 2 0 3 の著しい毒性が $100\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ の用量でのみ認められた。C I - 2 0 3 の LD_{50} が $50\text{ }\mu\text{g}/\text{ml} \sim 100\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ の間にある。

【0349】

実施例 3

1 - ドデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロール - 3 - ホスホコリン (C I - 2 0 9)

(R) - 1 - ドデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - s n - グリセロール - 3 - ホスホコリンを、(R) - (-) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールを出発物質として使用して本明細書中下記に記載されるように合成した。(S) - 1 - ドデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロール - 3 - ホスホコリンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(S) - (+) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールが出発物質として用いられる。

【0350】

(S) - 1 - ドデシル - グリセロールの合成：11 グラムの (R) - (-) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノール、20.6 グラムの粉末化された水酸化カリウムおよび 24.08 グラムの臭化ドデシルを 300 ml のベンゼンにおいて攪拌し、14 時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。その後、反応混合物を室温に冷却し、150 ml の水を加えた。その後、反応混合物を 150 ml のメチル tert - ブチルエーテル (MTBE) により 3 回抽出し、一緒にした有機相を 100 ml の水により洗浄し、その後、溶媒を減圧下で除き、これにより、29.71 グラムの明褐色のオイルを得た。この残渣を 100 ml のメタノールに溶解した。6 ml の濃塩酸を加え、生じた溶液を、透明な溶液が得られるまで還流し、その後、室温に冷却し、100 ml の水を加えた。生成物を 150 ml のクロロホルムにより抽出し、150 ml の水、150 ml の重炭酸ナトリウム飽和水溶液、再び 150 ml の水により順次洗浄した。溶媒を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、ろ過し、減圧下で除き、これにより、23.77 グラムの粗生成物を得た。粗生成物を 200 ml のヘキサンから 4℃で結晶化させて、19.83 グラムの純粋な (S) - 1 - ドデシル - グリセロールを白色の結晶として得た。

【0351】

(R) - 1 - ドデシル - 3 - トリチル - グリセロールの合成：19.83 グラムの (S) - 1 - ドデシル - グリセロールおよび 21.0 グラムのトリフェニルクロロメタンを 250 ml の乾燥テトラヒドロフラン (THF) および 60 ml の乾燥アセトニトリルの混合物に加えた。22 ml の乾燥トリエチルアミンを加え、反応混合物を窒素下で 17 時間還流した。その後、反応混合物を室温に冷却し、5 ml のトリエチルアミンおよび 10 グラムの水を加えた。混合物を分液漏斗に移し、100 ml の MTBE により抽出した。有機相を、150 ml の水、150 ml の希 H_2SO_4 (1.5%)、150 ml の水、150 ml の濃重炭酸ナトリウム水溶液、再び 150 ml の水により順次洗浄した。その後、溶液を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。残渣、すなわち、40.63 グラムの褐色のオイルを 200 ml の酢酸エチルに溶解し、-20℃に数日間冷却した。混合物を -10℃の温度で遠心分離し、母液を捨てた。固体は室温で融解した。この固体をシリカゲルカラム (195 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。18

． 57 グラムの純粋な (R) - 1 - ドデシル - 3 - トリチル - グリセロールが、クロロホルムおよびヘキサンの混合物、それに続く、9 : 1 (v / v) のクロロホルム : 酢酸エチルの混合物によって溶出された。収率が 48.5 % であった。

【0352】

(S) - 1 - ドデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - グリセロールの合成 : 18.57 グラムの (R) - 1 - ドデシル - 3 - トリチル - グリセロール、4 ml の 6 - ブロモ - 1 - ヘキセンおよび 22.57 グラムの粉末化された水酸化カリウムを 100 ml のベンゼンにおいて攪拌し、9 時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。反応混合物を室温に冷却し、100 ml の水を加え、溶液を分液漏斗に移した。溶液を 50 ml のジエチルエーテルにより 4 回抽出し、一緒にした有機相からの溶媒を減圧下で除き、これにより、19.31 グラムの残渣を得た。残渣を 100 ml のメタノールに溶解し、その後、6 ml の濃 HCl (37 %) を加えた。反応混合物を 4 時間還流し、室温に冷却し、この温度で 96 時間以上にわたって攪拌した。反応混合物を、溶媒を減圧下で除くことによって約 50 ml に濃縮し、50 ml の水を加えた。溶液を分液漏斗に移し、100 ml の MTBE により 2 回抽出した。その後、溶媒を減圧下で除いた。残渣 (18.85 グラム) をヘキサンに溶解し、得られた溶液を氷浴で 30 分間冷却した。沈殿物をろ過により除き、冷却されたヘキサンにより洗浄し、ろ液からの溶媒を減圧下で除いた。残渣 (15.23 グラム) を熱ヘキサンに再び溶解し、4 °C に一晩冷却した。ろ過し、溶媒をろ液から除いた後、ろ液をシリカゲル (77.34 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。溶出を、クロロホルムおよび酢酸エチルの 1 : 1 (v / v) 混合物、それに続く、純クロロホルム、次いで、3 % アセトンを含むクロロホルムにより行った。10.03 グラムの純粋な (S) - 1 - ドデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - グリセロールを得た。収率が 78.1 % であった。

【0353】

(R) - 1 - ドデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンの合成 : 5.75 グラムの (S) - 1 - ドデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - sn - グリセロール (これはデシケーターにおいて P₂O₅ で乾燥された) および 3.11 ml のトリエチルアミンを 50 ml の THF に溶解した。この溶液を、1.7 ml の POCl₃ を 20 ml の THF に溶解した氷冷溶液に 30 分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに 30 分間続け、その後、室温でさらに 45 分間続けた。その後、反応混合物を氷浴で冷却し、その後、1.3 ml のエタノールアミンおよび 3.3 ml のトリエチルアミンを 30 ml の THF に溶解した溶液を 15 分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴で 30 分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、ろ液からの溶媒を減圧下で除いた。残渣を 36 ml の酢酸および 15 ml の水の混合物に溶解し、70 °C に 1 時間加熱し、室温に冷却した。溶液をクロロホルム : メタノールの 2 : 1 (v / v) 混合物の 50 ml により 2 回抽出し、薄い重炭酸ナトリウム溶液により洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、8.54 グラムの粗生成物を得た。この粗生成物をシリカゲル (55 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。4.99 グラムの純粋な (R) - 1 - ドデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンが、クロロホルム、それに続く、クロロホルムと、2.5 % ~ 40 % のメタノールとの混合物によって溶出された。収率が 63.85 % であった。

【0354】

(R) - 1 - ドデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリンの合成 : 4.99 グラムの (R) - 1 - ドデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンを 35 ml のメタノールおよび 100 ml のジクロロメタンの混合物に溶解した。10 グラムの炭酸カリウムを 20 ml の水に溶解した溶液を加えた。その後、2.5 ml の硫酸ジメチルを 1 時間かけて滴下により加え、反応液を室温で一晩攪拌した。薄層クロマトグラフィーによって明らかにされるように、いくらかの出発物質が反応混合物に依然として存在していた。さらに 1 ml の硫酸ジメチルを加え、反応混合物を 40 °C に 5 時間加熱した。その後、反応混合物を室温に冷却し、100

mlの水を加え、その後、クロロホルム：メタノールの2：1（v/v）混合物の100mlにより3回抽出した。有機相からの溶媒を減圧下で除き、これにより、5.8グラムの粗（R）-1-ドデシル-2-（5'-ヘキセニル）-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを得た。

【0355】

（R）-1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリン（CI-209）の合成：2.76グラムの重炭酸ナトリウムを、5.18グラムの（R）-1-ドデシル-2-（5'-ヘキセニル）-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを100mlの水に溶解した溶液に加えた。その後、20.4グラムの過ヨウ素酸ナトリウムを100mlの水に溶解した溶液を加えた。270mgの過マンガン酸カリウムを82mlの水に溶解した溶液を滴下漏斗に入れ、反応混合物のピンク色を維持するために必要に応じて滴下により加えた。合計で58mlの過マンガン酸塩溶液を反応期間中に加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応液のpHを、20グラムのリン酸二水素ナトリウム、次いで3mlの80%リン酸を加えることによっておよそ4に調節した。反応混合物をクロロホルム：メタノールの2：1混合物の50mlにより3回抽出し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。残渣をクロロホルムに溶解し、水により洗浄した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、4.89グラムの粗生成物を得た。粗生成物をシリカゲル（58.2グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。1.81グラムの純粋な（R）-1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンが、クロロホルム、それに続く、クロロホルムと、10%～60%のメタノールとの混合物により溶出された。収率が33.76%であった。

【0356】

CI-209の合成のためのさらなる合成経路を下記のように行った：

（R）-1-ドデシル-2-（5'-ヘキセニル）-3-アセチル-グリセロールの合成：（R）-1-ドデシル-3-トリチル-グリセロール（67グラム）（これは本明細書中上記で記載されるように調製された）、6-ブプロモ-1-ヘキセン（26.14グラム）および粉末化されたKOH（35グラム）をベンゼン（200ml）において攪拌し、9時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約100mlにした。反応混合物を室温に冷却し、水（150ml）を加えた。溶液を分液漏斗に移し、ジエチルエーテルにより抽出した（150ml、3回）。一緒にした有機相を水により洗浄し（150ml、3回）、その後、溶媒を減圧下で除いた。残渣（78グラム）を酢酸（200ml）に溶解し、溶液を氷浴で冷却した。この冷却された溶液に、40mlの無水酢酸（40ml）および1mlの70%過塩素酸の混合物を加えた。反応混合物を室温にし、その後、室温で一晩攪拌した。氷を加え、その後、ジエチルエーテル（400ml）および水（400ml）を加えた。有機相を分離し、溶媒を減圧下で除いた。残渣を熱ヘキサンに溶解し、溶液を4℃の温度で一晩貯蔵した。沈殿した副生成物をろ過により除き、ろ液からの溶媒を減圧下で除いて、55グラムの油状の褐色生成物を得た。この粗生成物をシリカゲルカラム（350グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。純粋な（R）-1-ドデシル-2-（5'-ヘキセニル）-3-アセチル-グリセロールが、1：1（v/v）のクロロホルム：ヘキサンの混合物（1500ml）、それに続く、クロロホルム（1500ml）により溶出された。生成物を含有する分画物から溶媒を除くことにより、52グラムの生成物を得た。

【0357】

（S）-1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-グリセロールの合成：過ヨウ素酸ナトリウム（150グラム）、過マンガン酸カリウム（2.5グラム）および炭酸水素ナトリウム（10グラム）を水（500ml）に懸濁した。（R）-1-ドデシル-2-（5'-ヘキセニル）-3-アセチル-グリセロール（52グラム）をtert-ブタノール（500ml）に溶解した溶液を1時間かけて水性懸濁物に加え、その後、反応混合物を室温で一晩攪拌した。混合物をセライトのパッドでろ過し、セライトのパッドをt

ert-ブタノールによりさらに洗浄した。溶液をヘキサンにより抽出した（100ml、3回）。一緒にした有機相を重亜硫酸ナトリウム水溶液（100mlの水に15グラム）により2回洗浄し、次いで水（100ml）により洗浄した。溶媒を減圧下で濃縮し、100mlの水および10mlの30%NaOHにより処理して、12のpHにした。混合物を室温で一晩攪拌した。混合物を、残留する不純物を除くために、ヘキサン：MTBEの8：2（v/v）混合物（200ml）により抽出した。塩基性水溶液をHCl（6ml）により酸性化してpH1にし、その後、ヘキサン：酢酸エチルの7：3（v/v）混合物により抽出した（100ml、3回）。一緒にした有機相を硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。残渣（30グラムの黄色オイル）をシリカゲルカラム（500グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。純粋な（S）-1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-グリセロールが、クロロホルム：ヘキサンの1：1（v/v）混合物（1000ml）、それに続く、クロロホルム（1000ml）、次いで、クロロホルム：酢酸エチルの混合物（9：1（v/v）から1：1（v/v）に）により溶出された。生成物を含有する分画物から溶媒を除くことにより、13.4グラムの生成物を得た。

10

【0358】

（S）-1-ドデシル-2-（4-メチルカルボキシ）ブチル-sn-グリセロールの合成：（S）-1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-sn-グリセロール（13.38グラム）を100mlのメタノールに溶解し、2mlの濃塩酸を加えた。反応混合物を室温で5時間攪拌した。水（50ml）を加え、溶液を分液漏斗に移し、クロロホルムにより抽出した（100ml、3回）。一緒にした有機相を、水（100ml）、濃重炭酸ナトリウム（100ml）、再び水（100ml）により洗浄した。無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で蒸発させることにより、13.9グラムの粗生成物を残渣として得た。この残渣をシリカゲルカラム（200グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。純粋な（S）-1-ドデシル-2-（4-メチルカルボキシ）ブチル-グリセロールが、クロロホルム、それに続く、クロロホルム：酢酸エチルの混合物（9：1（v/v）から7：3（v/v）に）により溶出された。生成物を含有する分画物から溶媒を除くことにより、10.7グラムの純粋な生成物を得た。

20

【0359】

（R）-1-ドデシル-2-（4-メチルカルボキシ）ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホコリンの合成：10.7グラムの（S）-1-ドデシル-2-（4-メチルカルボキシ）ブチル-sn-グリセロール（これはベンゼンとの共沸蒸留によって乾燥された）および5.2mlの乾燥トリエチルアミンをTHF（50ml）に溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、POCl₃（3.2ml）を50mlのTHFに溶解した氷冷溶液に90分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに15分間続け、その後、室温でさらに45分間続けた。その後、反応混合物を氷浴で冷却し、その後、エタノールアミン（22ml）およびトリエチルアミン（7.2ml）を50mlのTHFに溶解した溶液を、攪拌を行いながら60分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴で30分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、ろ液からの溶媒を減圧下で除いた。残渣（14グラムの黄色オイル）を酢酸（120ml）および水（50ml）の混合物に溶解し、70℃に1時間加熱し、室温に冷却した。溶液をクロロホルム：メタノールの2：1（v/v）混合物により抽出し（100ml、3回）、一緒にした有機相を水により洗浄し（100ml、2回）、溶媒を減圧下で除き、これにより、15グラムの（R）-1-ドデシル-2-（4-メチルカルボキシ）ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンをオレンジ色のオイルとして得た。（R）-1-ドデシル-2-（4-メチルカルボキシ）ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン（14グラム）をイソプロパノール（100ml）およびジクロロメタン（55ml）の混合物に溶解した。炭酸カリウム（22グラム）を水（100ml）に溶解した溶液を、反応混合物を35℃～40℃で保ちながら滴下により加えた。硫酸ジメチル（14ml）をイソプロパノール（50ml）に溶解した溶液を40℃で滴下により加えた。混合物を40℃で2時間攪拌

30

40

50

し、室温に冷却し、室温で一晩攪拌した。水（80 ml）を加え、混合物をクロロホルムにより抽出した（100 ml、3回）。一緒にした有機相を水（100 ml）により洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、粗（R）-1-ドデシル-2-（4-メチルカルボキシ）ブチル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（14.6 g）をオレンジ色のワックスとして得た。

【0360】

（R）-1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（CI-209）の合成：（R）-1-ドデシル-2-（4-メチルカルボキシ）ブチル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン（14.6 g）を8：2（v/v）のメタノール：10% NaOH溶液（100 ml）に溶解し、反応混合物を室温で5時間攪拌した。反応液のpHを、リン酸二水素ナトリウムおよびギ酸を加えることによって5に調節した。水（150 ml）、クロロホルム（150 ml）およびメタノール（50 ml）を加えた。水相および有機相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除き、これにより、15 gをワックスとして得た。このワックスをシリカゲル（224 g）でのクロマトグラフィーによって精製した。生成物を、クロロホルム（600 ml）、それに続く、クロロホルム：メタノールの8：2（v/v）混合物（600 ml）により、次いで、クロロホルム：メタノール：H₂Oの混合物（60：35：5、v/v）によって溶出した。溶媒を、所望される生成物を含有する分画物から減圧下で除いた後、残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、10.5 gの（R）-1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-s n-グリセロ-3-ホスホコリンを白色のワックスとして得た。

【0361】

1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-グリセロ-3-ホスホコリンのNMRによる特徴づけ：

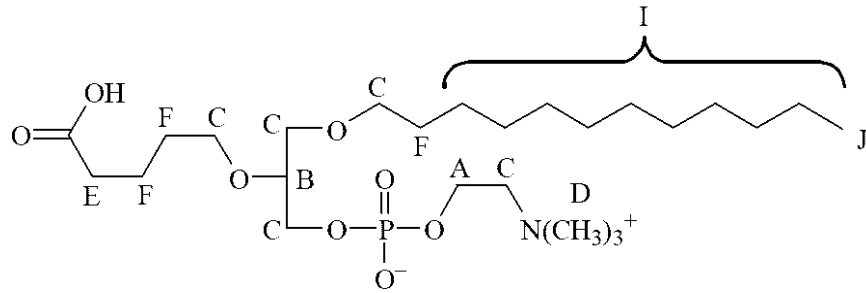
サンプルを数滴の重水素化メタノールとともに重水素化クロロホルム（CDCl₃）に溶解した。¹H NMRスペクトルおよび¹³C NMRスペクトルを300 MHzで測定した。

【0362】

結果は1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0363】

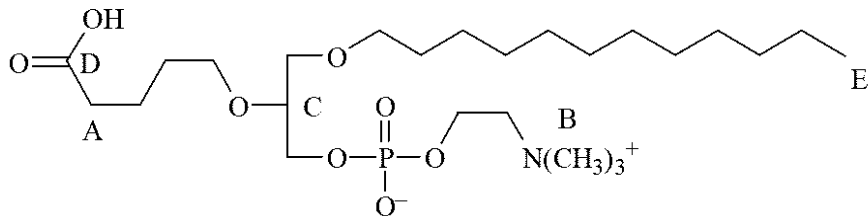
1-ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：

^1H NMR ^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.282 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.264	2 H, br, s	A
3.775	1 H, m	B
3.381 – 3.671	10 H, m, 5 x CH_2	C
3.251	9 H, s, 3 x CH_3	D
2.261	2 H, t,	E
1.535 – 1.582	6 H, m 3 x CH_2	F
1.258	18 H, m, 9 x CH_2	I
0.880	3 H, t, 1 x CH_3 , J = 6.6 Hz	J

【 0 3 6 4 】

1－ドデシル－2－（4－カルボキシ）ブチルグリセロール－3－ホスホコリンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：

 ^{13}C NMR ^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 78.020 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
178.51	D
78.446	C
72.200	
70.535 – 70.642	
66.805 – 66.812	
65.997 – 66.070	
59.515 – 59.580	
54.419	B
35.578	A
32.310	
30.015	
29.892	
29.730	
26.449	
23.037	
22.685	
14.224	E

【 0 3 6 5 】

1－ドデシル－2－（4－カルボキシ）ブチルグリセロール－3－ホスホコリンの質量分

10

20

30

40

50

析法による特徴づけ：

1-ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン ($C_{25}H_{52}NO_8P$) についての計算質量が 525.3431 であった。

【0366】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[M-H]^-$ に対応する、 $m/z = 524$ を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは 1-ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

【0367】

インビトロでの IL12/23p40 産生：

IL12/23p40 のインビトロ産生に対する CI-209 の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0368】

図 10 に示されるように、CI-209 は、骨髄由来細胞による IL12/23p40 の産生を用量依存的様式で阻害した。

【0369】

チロシンリン酸化：

初代マクロファージ細胞におけるインビトロでのチロシンリン酸化に対する CI-209 の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0370】

図 11 に示されるように、 $20 \mu g/ml$ の CI-209 による処理はホスホチロシンレベルにおける増大を誘導し、これに対して、 $20 \mu g/ml$ の CI-201 による処理はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こした。

【0371】

CI-209 の毒性：

CI-209 の毒性を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように評価した。

【0372】

図 9A および図 9B に示されるように、行われた 2 回の実験において、CI-209 の毒性が、試験された用量のいずれにおいても認められなかった。したがって、CI-209 の LD_{50} は $150 \mu g/ml$ ($286 \mu M$) を越えていた。

【0373】

実施例 4

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸 (CI-210)

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸を、(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを出発物質として使用して本明細書中下記で記載されるように合成した。(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸が、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンが出発物質として用いられる。

【0374】

(R)-および (S)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの合成が本明細書中上記において実施例 1 に記載される。

【0375】

1.85 グラム ($3.33 mmol$) の (R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを $175 ml$ のジク

10

20

30

40

50

クロロメタンに溶解し、1.39 ml のトリエチルアミンを加えた。この溶液を、0.42 グラムの無水グルタル酸を175 ml のジクロロメタンに溶解した溶液に15分かけて滴下により加えた。添加が完了した後、反応混合物を室温で1時間攪拌した。20 グラムのリン酸水素ナトリウムを100 ml の水に溶解した溶液を加え、反応混合物を激しく20 分間攪拌した。反応混合物を分液漏斗に移し、相を分離し、水相を100 ml のクロロホルムにより2回抽出した。一緒にした有機相を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。1.16 グラムの粗生成物が得られ、これをシリカゲル(60 グラム)で精製した。生成物を、200 ml のクロロホルム、それに続く、9:1 (v/v)、8:2 (v/v) および7:3 (v/v) の比率でのクロロホルム:メタノールの混合物、次いで、200 ml のクロロホルム:メタノール(1:1、体積比)により溶出した。生成物を含有する分画物からの溶媒を減圧下で除き、残渣をクロロホルムに溶解し、無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、131.4 mg の純粋な(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸(CI-210)を灰白色のワックスとして得た。

【0376】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸のNMRによる特徴づけ：

サンプルを数滴の重水素化メタノールとともに重水素化クロロホルム(CDCl_3)に溶解した。 ^1H NMRスペクトルおよび ^{13}C NMRスペクトルを300 MHzで測定した。

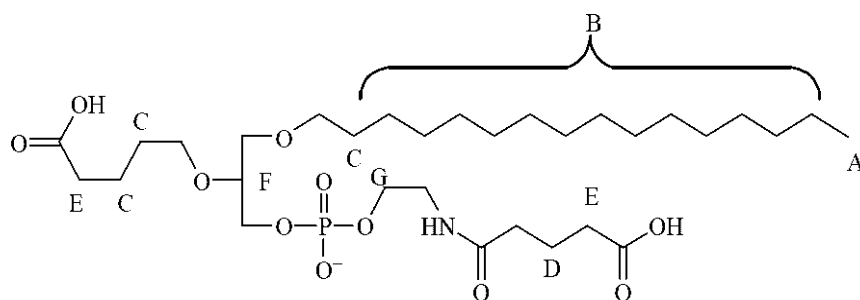
【0377】

結果は1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸の構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0378】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸の構造に従う、観測された ^1H ピークの帰属は下記の通りであった：

^1H NMR

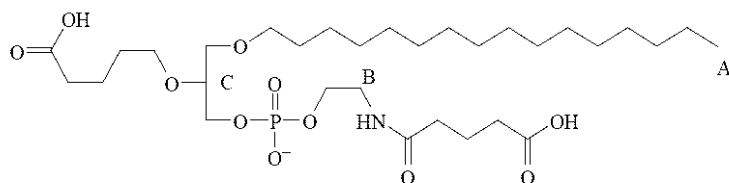


^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.28 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
3.945	2 H, br, s	G
3.896	1 H, br, s	F
3.585–3.608	4 H, m, 2 x CH_2	
3.385–3.431	4 H, m, 2 x CH_2	
3.058–3.130	2 H, m, CH_2	
2.332	4 H, m, 2 x CH_2	E
1.933	2 H, m, CH_2	D
1.533–1.673	6 H, m, 3 x CH_2	C
1.255	26 H, m, 13 x CH_2	B
0.879	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.45$ Hz	A

【0379】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸の構造に従う、観測された¹³Cピークの帰属は下記の通りであった：

¹³C NMR

10

¹³C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 77.062 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
177.78	
177.37	
174.31	
78.656	C
71.836	
70.343	
69.841	
65.463 – 65.790	
64.541 – 64.861	
45.732	B
35.075	
33.872	
33.213	
31.951	
30.938	
29.748	
29.698	
29.572	
29.391	
29.084	
26.142	
22.710	
21.566	
20.985	
14.128	A

20

30

【0380】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸の質量分析法による特徴づけ：

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸 (C₃₁H₅₉NO₁₁P) についての計算質量が652.7746であった。

40

【0381】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン [M-H]⁻ に対応する、m/z = 652 を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-グルタル酸 (CI-210) の化学構造と一致している。

【0382】

インビトロでの IL12/23p40 産生：

IL12/23p40 のインビトロ産生に対する CI-210 の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

50

【0383】

図13に示されるように、CI-210は、骨髓由来細胞によるIL12/23p40の産生を用量依存的様式で阻害した。

【0384】

チロシンリン酸化：

初代マクロファージ細胞におけるインビトロでのチロシンリン酸化に対するCI-210の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0385】

図14に示されるように、20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のCI-210による処理はホスホチロシンレベルにおける増大を誘導し、これに対して、20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のCI-201による処理はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こした。

10

【0386】

CI-210の毒性：

CI-210の毒性を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように評価した。

【0387】

図15Aおよび図15Bに示されるように、CI-210の著しい毒性が100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (156.6 μM)以上の用量で認められた。CI-210のLD₅₀はおおよそ150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (235 μM)であった。

【0388】

20

実施例5

1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(CI-216)および1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン(CI-215)

(R)-1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンおよび(R)-1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを、(R)-()-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを出発物質として使用して本明細書中下記に記載されるように合成した。(S)-1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンおよび(S)-1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(S)-()-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールが出発物質として用いられる。

30

【0389】

(S)-1-オクタデシル-グリセロールの合成：20mlの(R)-()-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール、27gの粉末化された水酸化カリウムおよび59gの1-ブromoオクタデカンを250mlのベンゼンにおいて攪拌し、6時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約200mlにした。その後、反応混合物を室温に冷却し、この温度で一晩攪拌した。200mlの水を加え、反応混合物を200mlのジメチルエーテルにより2回抽出し、一緒にした有機相を200mlの水により洗浄し、その後、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を90:10:5(v/v)のメタノール:水:濃塩酸の混合物の100mlに溶解し、生じた溶液を1時間還流し、その後、室温に冷却し、200mlの水を加えた。生成物を200mlのクロロホルムにより2回抽出し、200mlの水、200mlの炭酸ナトリウム飽和水溶液、再び200mlの水により順次洗浄した。その後、溶媒を減圧下で除き、粗生成物を500mlのヘキサンから結晶化させて、39.5gの純粋な(S)-1-オクタデシル-グリセロールを得た。これを減圧下のデシケターにおいて酸化リンにより乾燥した。

40

【0390】

(R)-1-オクタデシル-3-トリチル-グリセロールの合成：39g(113

50

mmol) の (S) - 1 - オクタデシル - グリセロールおよび 40 グラム (137 mmol) のトリフェニルクロロメタンを 500 ml の乾燥 THF および 130 ml の乾燥アセトニトリルの混合物に加えた。32 ml の乾燥トリエチルアミンを加え、反応混合物を 17 時間還流した。その後、反応混合物を室温に冷却し、氷 (1 キログラム) に注ぎ、分液漏斗に移し、200 ml のジエチルエーテルにより 2 回抽出した。有機相を 200 ml の水により、次いで 100 ml の希 H_2SO_4 (1.5%) により 2 回、次いで 200 ml の水により、次いで 200 ml の濃重炭酸ナトリウム水溶液により、次いで再び 200 ml の水により順次洗浄した。その後、溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。残渣、すなわち、褐色のオイルを 250 ml の酢酸エチルに溶解し、 $-20^\circ C$ に一晚冷却した。混合物を $-10^\circ C$ の温度で遠心分離し (3500 回転/分) (3500 RPM)、その後、母液を捨てた。残留する固体をヘキサンに溶解し、一晚冷蔵した ($5 \pm 3^\circ C$)。沈殿物のろ過により、50 グラムの純粋な (R) - 1 - オクタデシル - 3 - トリチル - グリセロールを得た。

10

【0391】

(R) - 1 - オクタデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - 3 - トリチル - グリセロールの合成：50 グラム (89.2 mmol) の (R) - 1 - オクタデシル - 3 - トリチル - グリセロールおよび 18 グラム (102 mmol) の 5 - ヘキセニル - 1 - メタンスルホナートを 150 ml のベンゼンに溶解した。20 グラムの粉末化された KOH を加え、反応混合物を攪拌し、6 時間還流した。その間、反応で形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約 50 ml にした。反応混合物を室温に冷却し、200 ml の水を加えた。混合物を 200 ml のジエチルエーテルにより 3 回抽出し、一緒にした有機相を 200 ml の水により 3 回洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、50 グラムの (R) - 1 - オクタデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - 3 - トリチル - グリセロールをオレンジ色のオイルとして得た。

20

【0392】

(S) - 1 - オクタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロールの合成：145 グラムの $NaIO_4$ を 500 ml の水に溶解した。この溶液に、14 グラムの K_2CO_3 および 2.4 グラムの $KMnO_4$ を加え、懸濁物を $40^\circ C$ の温度に加熱した。50 グラムの (R) - 1 - オクタデシル - 2 - (5' - ヘキセニル) - 3 - トリチル - グリセロールを 500 ml の tert - ブタノールに溶解した溶液を 1.5 時間かけて滴下により加え、混合物をさらに 4 時間加熱した。さらなる量の $KMnO_4$ 溶液を、ピンク色を維持するために必要に応じて加えた。反応混合物を室温に冷却し、この温度で一晩攪拌した。重亜硫酸ナトリウムを、ピンク色、次いで褐色の色が消失し、反応混合物が黄色になるまで少量ずつ加えた。この溶液を室温で 30 分間攪拌した後、100 ml の 10% 硫酸を滴下により加え、溶液を分液漏斗に移し、200 ml のヘキサンにより 3 回抽出した。有機相を、15 グラムの $Na_2S_2O_5$ を 100 ml の溶解した溶液により 2 回洗浄し、次いで 200 ml の水により洗浄した。有機相を、約 500 ml の溶媒を減圧下で除くことによって濃縮した。残留する溶液に対して、15 ml の水および 1.5 ml の濃塩酸を加え、得られた混合物を 6 時間還流し、その後、室温に冷却し、溶媒を減圧下で除くことによって再び濃縮した。残留物の pH を、100 ml の水および 10 ml の 30% NaOH 溶液を加えることによって 12 に調節した。沈殿物をろ過により除き、10 ml の水により 4 回洗浄した。ろ液をヘキサン：酢酸エチルの 1：1 (v/v) 混合物の 100 ml により抽出した。水相を、8 ml の濃塩酸を加えることによって 1 の pH に酸性化し、その後、100 ml のヘキサンにより抽出した。無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除き、粗生成物を 1：9 (v/v) のアセトン：ヘキサンの混合物から $5 \pm 3^\circ C$ で一晚再結晶することにより、19 グラムの純粋な (S) - 1 - オクタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロールを灰白色の固体として得た。

30

40

【0393】

(S) - 1 - オクタデシル - 2 - (4 - メチルカルボキシ) ブチル - グリセロールの合成：17 グラムの (S) - 1 - オクタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グ

50

リセロールを100mlのメタノールに溶解した。2mlの濃HCl(37%)を加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。溶媒を減圧下で除き、100mlの水を得られた残渣に加えた。混合物を70mlのクロロホルムにより3回抽出した。一緒にした有機相を、70mlの水、70mlの濃重炭酸ナトリウム溶液、再び70mlの水により洗浄した。その後、溶液を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、減圧下で蒸発させ、14グラムの(S)-1-オクタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロールを白色のワックスとして得た。

【0394】

(R)-1-オクタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの合成：7グラムの(S)-1-オクタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール(これはベンゼンとの共沸蒸留によって乾燥された)および7mlのトリエチルアミンを60mlのTHFに溶解した。この溶液を、4.3mlのPOCl₃を40mlのTHFに溶解した氷冷溶液に30分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに15分間続け、室温でさらに45分間続けた。その後、反応混合物を氷浴で冷却し、その後、3mlのエタノールアミンおよび13mlのトリエチルアミンを60mlのTHFに溶解した溶液を30分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴で15分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を72mlの酢酸および30mlの水の混合物に溶解し、70℃の温度に1時間加熱した。混合物を80mlのクロロホルムにより3回抽出し、100mlの水により2回洗浄した。溶媒を減圧下で除くことにより、10グラムの(R)-1-オクタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを黄色のオイルとして得た。

【0395】

(R)-1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(CI-216)の合成：3グラムの(R)-1-オクタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンをメタノールおよび10%水酸化ナトリウム水溶液の8:2(v/v)混合物の100mlに溶解し、反応混合物を室温で5時間攪拌した。その後、反応混合物のpHをギ酸の添加によっておよそ4に調節した。その後、100mlの水および100mlのクロロホルムを加えた。相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、その後、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣(3グラム)をシリカゲル(55グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。クロロホルムおよびヘキサンの混合物、それに続く、クロロホルムおよびメタノールの混合物、最後に、クロロホルム、メタノールおよび水の混合物を使用して、760mgの(R)-1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンをカラムから溶出した。

【0396】

1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンのNMRによる特徴づけ：

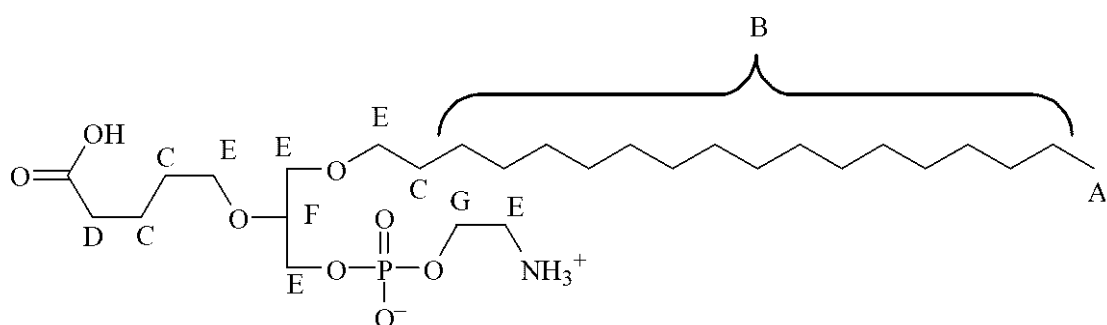
サンプルを数滴の重水素化メタノールとともに重水素化クロロホルム(CDCl₃)に溶解した。¹H NMRスペクトルおよび¹³C NMRスペクトルを600MHzで測定した。

【0397】

結果は1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0398】

1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：

^1H NMR

10

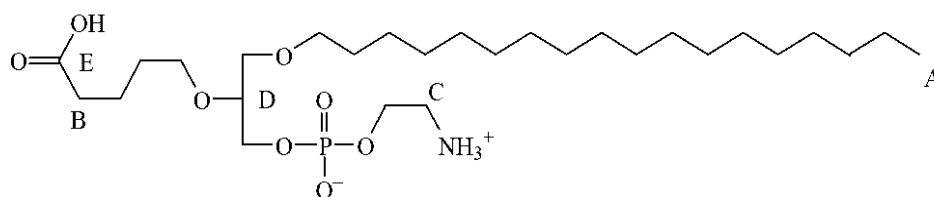
 ^1H NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.341 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.113	2 H, br s	G
3.858	1 H, m	F
3.670	2 H, m, CH_2	E
3.614	2 H, m, CH_2	E
3.562	2 H, m, CH_2	E
3.480	2 H, t, $J = 5.7$ Hz, CH_2	E
3.422	2 H, m, CH_2	E
2.334	2 H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_2	D
1.692	2 H, tt, $J = 7.2$ Hz, CH_2	C
1.604	2 H, tt, $J = 6.6$ Hz, CH_2	C
1.545	2 H, tt, $J = 6.6$ Hz, CH_2	C
1.259-1.312	30 H, m, 15 x CH_2	B
0.881	3 H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3	A

20

【0399】

1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：

 ^{13}C NMR

30

^{13}C NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.281 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
177.251	E
78.072	D
71.962	
70.306	
70.005	
66.007	
61.995	
40.537	C
34.061	B
32.030	
29.815	
29.764	
29.727	
29.645	
29.459	
29.314	
26.178	
22.778	
21.877	
14.140	A

10

20

【0400】

1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの質量分析法による特徴づけ：

1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン ($\text{C}_{28}\text{H}_{58}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が567であった。

【0401】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 566$ を有する分子イオンを示した。正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI+-MS) は、カチオン化された分子イオン $[\text{M}+\text{Na}]^+$ に対応する、 $m/z = 590$ を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン ($\text{CI}-216$) の化学構造と一致している。

30

【0402】

(R)-1-オクタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンの合成：6グラムの(R)-1-オクタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを50mlのイソプロパノールおよび18mlのジクロロメタンの混合物に溶解し、混合物を35℃～40℃の範囲における温度に加熱した。7.5グラムの炭酸カリウムを10mlの水に溶解した溶液を、温度を35℃～40℃で保ちながら滴下により加えた。その後、5mlの硫酸ジメチルを10mlのイソプロパノールに溶解した溶液を40℃の温度で滴下により加えた。反応液を40℃で2時間保ち、その後、室温で一晩保った。100mlの水を加え、その後、混合物を100mlのジクロロメタンにより3回抽出した。有機相を100mlの水により洗浄し、溶媒を減圧下で除いて、6グラムの(R)-1-オクタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを黄色のオイルとして得た。

40

【0403】

(R)-1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリン ($\text{CI}-215$) の合成：6グラムの(R)-1-オクタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを8：2 (v/v) のメ

50

タノール：１０％水酸化ナトリウム水溶液の混合物の１００ｍｌに溶解し、反応混合物を室温で５時間攪拌した。その後、反応混合物のｐＨをギ酸の添加によっておよそ４に調節した。その後、１００ｍｌの水および１００ｍｌのクロロホルムを加えた。相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、その後、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣（５．３グラム）をシリカゲル（１１２グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。クロロホルムおよびヘキサンの混合物、それに続く、クロロホルムおよびメタノールの混合物、最後に、クロロホルム、メタノールおよび水の混合物を使用して、生成物を溶出した。溶媒を、生成物を含有する分画物から減圧下で除くことにより、２．８グラムの（Ｒ）－１－オクタデシル－２－（４－カルボキシ）ブチル－sn－グリセロール３－ホスホコリン（ＣＩ－２１５）を白色のワックスとして得た。

10

【０４０４】

１－オクタデシル－２－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロール３－ホスホコリンの¹H NMRによる特徴づけ：

サンプルを数滴の重水素化メタノールとともに重水素化クロロホルム（CDCl₃）に溶解した。¹H NMRスペクトルおよび¹³C NMRスペクトルを６００MHzで測定した。

【０４０５】

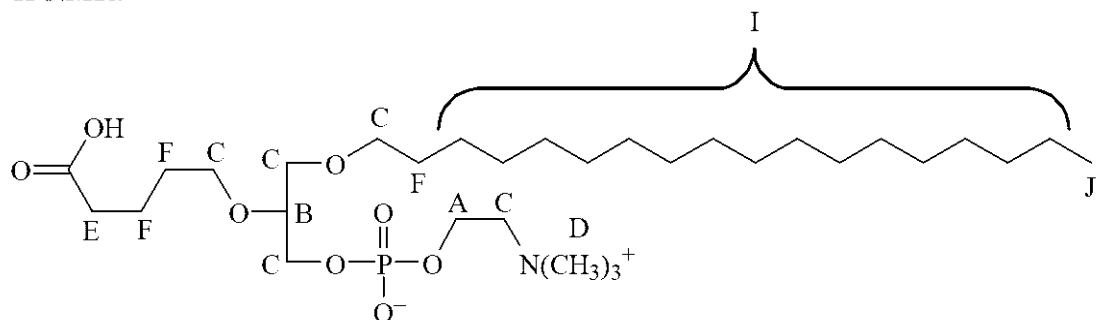
結果は１－オクタデシル－２－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロール３－ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

20

【０４０６】

１－オクタデシル－２－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロール３－ホスホコリンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：

¹H NMR:



30

¹H NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 7.343 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.267	2 H, br, s	A
3.775	1 H, m	B
3.657	2 H, m, CH ₂	C
3.623	2 H, m, CH ₂	C
3.505 – 3.562	4 H, m, CH ₂	C
3.413	2 H, m, CH ₂	C
3.227	9 H, s, 3 x CH ₃	D
2.358	2 H, dt, J ₁ = 7.2 Hz, J ₂ = 3 Hz	E
1.699	2 H, tt CH ₂	F
1.602	2 H, tt CH ₂	F
1.542	2 H, tt CH ₂	F
1.259 – 1.312	30 H, m, 15 x CH ₂	I
0.881	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 7.2 Hz	J

40

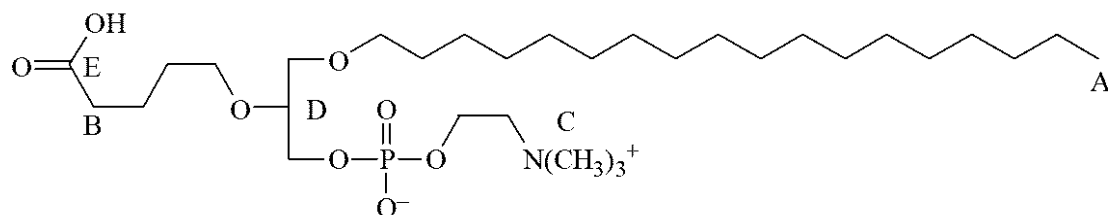
【０４０７】

１－オクタデシル－２－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロール３－ホスホコリンの構

50

造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：

^{13}C NMR



^{13}C NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.285 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
176.580	E
78.216	D
71.936	
70.477	
69.961	
66.613	
65.926	
59.155	
54.424	C
34.117	B
32.026	
29.802	
29.767	
29.750	
29.717	
29.625	
29.452	
29.346	
26.164	
22.774	
22.073	
14.133	A

【0408】

1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの質量分析法による特徴づけ：

1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン ($\text{C}_{31}\text{H}_{64}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が 609 であった。

【0409】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 610$ を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは 1-オクタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (CI-215) の化学構造と一致している。

【0410】

インビトロでの IL12/23p40 産生：

IL12/23p40 のインビトロ産生に対する CI-216 の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0411】

図 16 に示されるように、 $20\text{ }\mu\text{g/ml}$ の CI-216 は、骨髓由来細胞による IL12/23p40 の産生を阻害した。

【0412】

チロシンリン酸化：

初代マクロファージ細胞におけるインビトロでのチロシンリン酸化に対するC I-215およびC I-216の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0413】

図17に示されるように、 $10\mu\text{g/ml}$ ($17\mu\text{M}$)のC I-215による処理はホスホチロシンレベルにおける増大を誘導し、これに対して、 $20\mu\text{g/ml}$ ($34\mu\text{M}$)のC I-215による処理はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こした。

【0414】

同様に、図18に示されるように、 $10\mu\text{g/ml}$ ($15\mu\text{M}$)のC I-216による処理はチロシンリン酸化の誘導をもたらし、これに対して、 $20\mu\text{g/ml}$ ($30\mu\text{M}$)のC I-216に対する暴露はホスホチロシン濃度における低下を引き起こした。これらの変化は、 $10\mu\text{g/ml}$ ($17\mu\text{M}$)および $20\mu\text{g/ml}$ ($34\mu\text{M}$)の陽性コントロールC I-201によってそれぞれ誘導される影響と非常に類似していた。

【0415】

実施例6

1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(C I-206)および1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロール-3-ホスホコリン(C I-205)

(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンおよび(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを、(R)-(1-2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノール)を出発物質として使用して本明細書中下記に記載されるように合成した。(S)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンおよび(S)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロール-3-ホスホコリンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(S)-(1-2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノール)が出発物質として用いられる。

【0416】

(R)-1-ヘキサデシル-3-トリチル-グリセロールの合成。(S)-1-ヘキサデシル-グリセロールを、(R)-(1-2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノール)を使用して最初に調製することによって、(R)-1-ヘキサデシル-3-トリチル-グリセロールを実施例1に記載されるように調製した。

【0417】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4'-ペンテニル)-3-トリチル-グリセロールの合成。7.35グラムの(R)-1-ヘキサデシル-3-トリチル-グリセロールおよび1.87mlの5-ブロモ-1-ペンテンを150mlのベンゼンに溶解した。3グラムの粉末化されたKOHを加え、反応混合物を攪拌し、10時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。ベンゼンを、ほぼ乾固するまで蒸留した。反応混合物を室温に冷却し、100mlのジエチルエーテルを加え、混合物を水により洗浄し(50ml、3回)、硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣(7.8グラム)を20mlのヘキサンに溶解し、4℃に一晩冷却した。沈殿した副生成物をろ過により除き、溶媒を減圧下で除いて、7.75グラムの生成物を黄色のオイルとして得た。

【0418】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-3-トリチル-グリセロールの合成。7.75グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(4'-ペンテニル)-3-トリチル-グリセロールを280mlのt-ブタノールに溶解した。3.2グラムの炭酸カリウムを90mlの水に溶解した溶液を加えた。その後、34グラムの過ヨウ素酸ナトリウムを250mlの水に溶解した溶液の50mlと、470mgの過マンガン酸カリウムを10mlの水に溶解した溶液の2mlとを加えた。混合物を攪拌し、残る量の

過ヨウ素酸塩溶液を10分かけて加えた。さらなる量の過マンガン酸塩溶液を、ピンク色を維持するために必要に応じて加えた。混合物を40℃に4.5時間加温し、室温に冷却し、室温で一晩攪拌した。重亜硫酸ナトリウムを少量ずつ加えた。混合物の色が褐色に変わり、その後、固体が消失し、色が黄色になった。その後、混合物を30分間攪拌し、25mlの10%硫酸溶液を滴下により加えた。溶液をジエチルエーテルにより抽出した(100ml、3回)。一緒にした有機相を50mlの水により洗浄し、次いで、20mlの重亜硫酸ナトリウム溶液(これは5グラムの重亜硫酸ナトリウムから20mlの水において調製された)により2回洗浄し、次いで、50mlの水により2回洗浄し、その後、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、減圧下で蒸発させ、11グラムの生成物を黄色のワックスとして得た。

10

【0419】

(S)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロールの合成。11グラムの1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-3-トリチルグリセロールを100mlのギ酸に溶解し、混合物を室温で2時間攪拌した。その後、ギ酸を減圧下で除いた。トルエン：ヘキサン1：1溶液の100mlを加え、混合物を室温で攪拌した。溶液をメタノール：10%NaOH水溶液の8：2(v/v)混合物の100mlにより2回抽出した。塩基性溶液を、4～5の範囲のpHが得られるまでリン酸二水素ナトリウムにより酸性化した。100mlのジエチルエーテルおよび100mlの水を加え、相を分離し、水相を100mlのジエチルエーテルにより2回洗浄した。その後、一緒にした有機相を100mlの水および100mlのブラインにより洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除いて、8グラムの生成物を得た。生成物をアセトン：ヘキサンの1：9混合物から結晶化させて、2.4グラムの(S)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロールを得た。

20

【0420】

(S)-1-ヘキサデシル-2-(3-メチルカルボキシ)プロピルグリセロールの合成。2.4グラムの(S)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロールを50mlのメタノールに溶解した。1mlの濃HClを加え、混合物を室温で6時間攪拌し、その後、4℃で一晩放置した。溶媒を減圧下で除き、50mlの水を加え、混合物を50mlのクロロホルムにより3回抽出した。有機相を、50mlの水、50mlの濃重炭酸ナトリウム、再び50mlの水により洗浄した。混合物を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除いて、2.9グラムの生成物を得た。生成物を減圧下において五酸化リンにより乾燥した。

30

【0421】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-メチルカルボキシ)プロピル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの合成。2.9グラムの(S)-1-ヘキサデシル-2-(3-メチルカルボキシ)プロピルグリセロールおよび3mlのトリエチルアミンを30mlのTHFに溶解した。この溶液を、2mlのPOCl₃を20mlのTHFに溶解した氷冷溶液に15分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに10分間続け、室温でさらに45分間続けた。1.3mlのエタノールアミンおよび6mlのトリエチルアミンを50mlのTHFに溶解した溶液を、氷冷された反応混合物に15分かけて滴下により加えた。攪拌を0℃で10分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。残渣を24mlの酢酸および10mlの水の混合物に溶解し、70℃に1時間加熱した。混合物を50mlのクロロホルムにより3回抽出し、50mlの水により2回洗浄した。溶媒を減圧下で除くことにより、3.8グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-メチルカルボキシ)プロピル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを褐色のオイルとして得た。

40

【0422】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(CI-206)の合成：0.8グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-メチルカルボキシ)プロピル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノール

50

アミンを 8 : 2 (v/v) のメタノール : 10 % 水酸化ナトリウム水溶液の 20 ml に溶解した。10 % 水酸化ナトリウム溶液を加え、混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物の pH を、リン酸二水素ナトリウムを加えることによって 4 ~ 5 の範囲に調節した。50 ml の水および 50 ml のクロロホルムを加えた。相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除いて、684 mg の粗生成物を残渣として得た。この残渣をシリカゲル (30 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。生成物を 60 : 35 : 5 の体積比でのクロロホルム : メタノール : 水の混合物により溶出した。溶媒を減圧下で除き、残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、314 mg の (R) - 1 - ヘキサデシル - 2 - (3 - カルボキシ) プロピル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンを白色のワックスとして得た。これを減圧下において五酸化リンにより乾燥した。

10

【0423】

1 - ヘキサデシル - 2 - (3 - カルボキシ) プロピル - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンの NMR による特徴づけ：

サンプルを重水素化クロロホルム (CDCl_3) に溶解した。 ^1H -NMR スペクトルおよび ^{13}C -NMR スペクトルを 300 MHz で測定した。

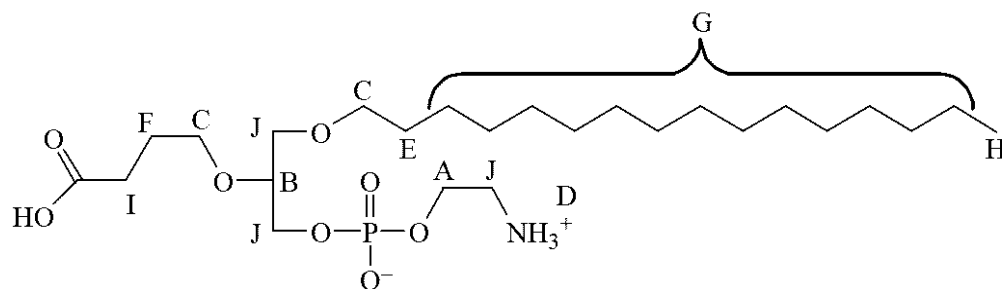
【0424】

結果は 1 - ヘキサデシル - 2 - (3 - カルボキシ) プロピル - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (CI-206) の構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

20

【0425】

CI-206 の構造に従う、観測された ^1H ピークの帰属は下記の通りであった：



30

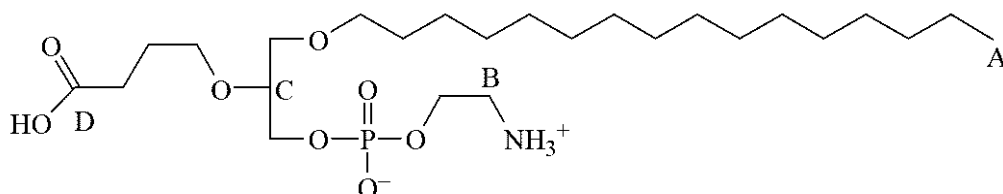
^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.338 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.137	2H, br, s	A
3.828-3.900	1H, m	B
3.620-3.726	6H, m	J
3.371-3.489	4 H, m, 2 x CH_2	C
2.302-2.518	2H, m	I
1.838-1.895	2 H, m	F
1.525-1.574	2H, m	E
1.258	26 H, m, 13 x CH_2	G
0.881	3 H, t, 1 x CH_3 , J = 6.75 Hz	H

40

【0426】

CI-206 の構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.256 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
176.760	D
77.850-77.951	C
71.938	
70.268	
69.376	
66.045	
62.068	
40.408	B
35.035	
32.017	
30.886	
29.803	
29.698	
29.631	
29.456	
26.150	
25.231	
22.774	
22.149	
14.160	A

【0427】

1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの質量分析法による特徴づけ：

1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン ($\text{C}_{25}\text{H}_{52}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が525.6560であった。

【0428】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 524$ を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン ($\text{CI}-206$) の化学構造と一致している。

【0429】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-メチルカルボキシ)プロピル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンの合成。2. 8グラムの (R)-1-ヘキサデシル-2-(3-メチルカルボキシ)プロピル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを50mlのイソプロパノールおよび18mlのジクロロメタンの混合物に溶解した。3. 7グラムの炭酸カリウムを10mlの水に溶解した溶液を、反応混合物を35℃～40℃の範囲における温度で保ちながら滴下により加えた。2. 52mlの硫酸ジメチルを10mlのイソプロパノールに溶解した溶液を5分かけて40℃で滴下により加えた。その後、反応混合物を40℃で90分間保ち、室温に冷却し、室温で一晩攪拌した。水を加え、混合物を50mlのクロロホルムにより3回抽出した。有機相を50mlの水により洗浄し、溶媒を減

圧下で除いて、3グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-メチルカルボキシ)プロピル-s n-グリセロ-3-ホスホコリンを褐色のオイルとして得た。

【0430】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン(CI-205)の合成：3グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-メチルカルボキシ)プロピル-s n-グリセロ-3-ホスホコリンをメタノール：10%水酸化ナトリウム水溶液の8：2(v/v)混合物の50mlに溶解し、混合物を室温で一晩攪拌した。反応液のpHを、リン酸二水素ナトリウムを加えることによって4～5の範囲に調節した。50mlの水および50mlのクロロホルムを加え、得られた溶液を分液漏斗に移した。相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除いて、2.3グラムの粗生成物を残渣として得た。この残渣をシリカゲル(110グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。生成物を60：35：5の体積比でのクロロホルム：メタノール：水の混合物により溶出した。溶媒を減圧下で除いた後、残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、677mgの(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン(CI-205)を白色のワックスとして得た。これを減圧下において五酸化リンにより乾燥した。

10

【0431】

1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロ-3-ホスホコリンのNMRによる特徴づけ：

20

サンプルを重水素化クロロホルム(CDC1₃)に溶解した。¹H-NMRスペクトルおよび¹³C-NMRスペクトルを300MHzで測定した。

【0432】

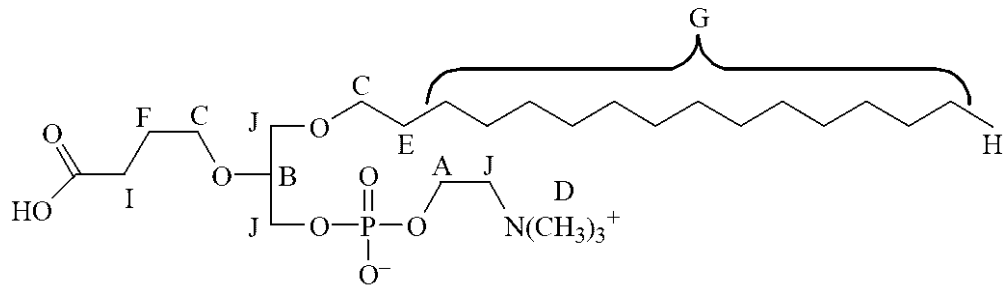
結果は1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0433】

1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：

30

【表 17】



10

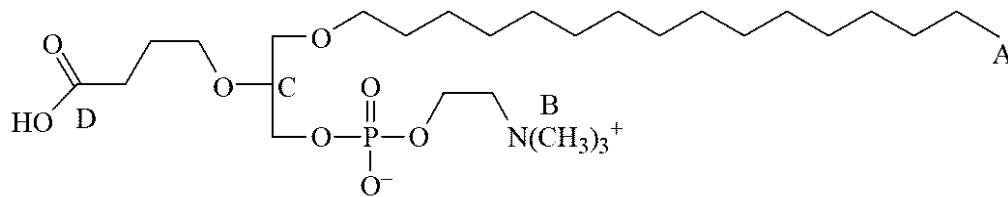
 ^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.338 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.272	2H, br, s	A
3.940-3.995	1H, m	B
3.583 – 3.728	6H, m	J
3.377-3.482	4 H, m, 2 x CH_2	C
3.241	9H, s, 3 x CH_3	D
2.304-2.510	2H, m	I
1.801-1.904	2 H, m	F
1.517-1.560	2H, m	E
1.256	26 H, m, 13 x CH_2	G
0.880	3 H, t, 1 x CH_3 , J = 6.75 Hz	H

20

【0434】

1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロ-3-ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された ^1H ^3C ピークの帰属は下記の通りであった：



30

¹³C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 77.231 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
176.790	D
78.082-78.186	C
71.888	
70.389	
69.298	
66.494	
65.922	
59.115-59.178	
54.327	B
31.992	
31.280	
29.772	
29.732	
29.673	
29.598	
29.431	
26.115	
25.462	
22.753	
14.148	A

10

20

【0435】

1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンの質量分析法による特徴づけ：

1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (C₂₈H₅₈NO₈P) についての計算質量が567.7358であった。

【0436】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン [M-H]⁻ に対応する、m/z = 566 を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは1-ヘキサデシル-2-(3-カルボキシ)プロピルグリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

30

【0437】

チロシンリン酸化：

初代マクロファージにおけるインビトロでのチロシンリン酸化に対するCI-205およびCI-206の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0438】

図19に示されるように、20 μg/ml のCI-206による処理はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こした。

40

【0439】

同様に、図20に示されるように、20 μg/ml のCI-205による処理は、20 μg/ml の陽性コントロールCI-201による処理が引き起こしたように、ホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こした。

【0440】

CI-205およびCI-206の毒性：

CI-205およびCI-206の毒性を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように評価した。

【0441】

50

図21Aおよび図21Bに示されるように、CI-206の著しい毒性が $50\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の用量で検出された。CI-206の LD_{50} が $50\mu\text{g}/\text{ml} \sim 100\mu\text{g}/\text{ml}$ の間にある。

【0442】

図22Aおよび図22Bに示されるように、CI-205の著しい毒性が2回の実験では $100\mu\text{g}/\text{ml}$ の用量で検出され、1回のみの実験では $20\mu\text{g}/\text{ml} \sim 50\mu\text{g}/\text{ml}$ の用量で検出された。CI-205の LD_{50} が $50\mu\text{g}/\text{ml} \sim 100\mu\text{g}/\text{ml}$ の間にある。

【0443】

実施例7

1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン(CI-207)および1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン

(R)-1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンおよび(R)-1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを、(R)-(-)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを出発物質として使用して本明細書中下記に記載されるように合成した。(S)-1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンおよび(S)-1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(S)-(+)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールが出発物質として用いられる。

【0444】

(S)-1-オクチルグリセロールの合成：21mlの(R)-(-)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール、29グラムの粉末化された水酸化カリウムおよび32mlの1-ブロモオクタンを150mlのベンゼンにおいて攪拌し、6時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約100mlにした。その後、反応混合物を室温に冷却し、200mlの水を加えた。その後、反応混合物を150mlのジメチルエーテルにより3回抽出し、一緒にした有機相を100mlの水により洗浄し、その後、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をメタノール：水：濃塩酸の90：10：5(v/v)混合物の100mlに溶解し、生じた溶液を2時間還流し、その後、室温に冷却し、100mlの水を加えた。生成物を150mlのクロロホルムにより3回抽出し、150mlの水、150mlの重炭酸ナトリウム飽和水溶液、再び100mlの水により順次洗浄した。溶媒を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除き、これにより、34グラムの(S)-1-オクチルグリセロールを得た。

【0445】

(R)-1-オクチル-3-トリチルグリセロールの合成：34グラムの(S)-1-オクチルグリセロールおよび61グラムのトリフェニルクロロメタンを500mlの乾燥THFおよび130mlの乾燥アセトニトリルの混合物に加えた。46mlの乾燥トリエチルアミンを加え、反応混合物を17時間還流した。その後、反応混合物を室温に冷却し、氷(1キログラム)に注いだ。混合物を分液漏斗に移し、200mlのジエチルエーテルにより3回抽出した。有機相を150mlの水により、次いで100mlの希 H_2SO_4 (1.5%)により2回、次いで200mlの水により、次いで200mlの濃重炭酸ナトリウム水溶液により、次いで再び200mlの水により順次洗浄した。その後、溶液を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣、すなわち、80グラムの褐色のオイルを500mlの熱ヘキサンに溶解し、4℃の温度で一晩保った。沈殿物をろ過により除き、ろ液からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をシリカゲルでのクロマトグラフィーによって精製した。得られる純粋な(R)-1-オクチル-3-トリチルグリセロールが、クロロホルムと、10%ヘキサンとの混合物、クロロホルム

10

20

30

40

50

と、5%ヘキサンとの混合物、それに続く、クロロホルムと、酢酸エチル（5%および10%）との混合物によって溶出された。収率が73%であった。

【0446】

(R)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチルグリセロールの合成：18.7グラムの(R)-1-オクチル-3-トリチルグリセロール、5.5グラムの6-ブロモ-1-ヘキセンおよび22グラムの粉末化された水酸化カリウムを100mlのベンゼンにおいて攪拌し、9時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約30mlにした。反応混合物を室温に冷却し、100mlの水を加えた。得られた混合物を分液漏斗に移し、ジエチルエーテルにより抽出した。一緒にした有機相を200mlの水により2回洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、20.2グラムの(R)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチルグリセロールを得た。

10

【0447】

(S)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロールの合成：20.2グラムの(R)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチルグリセロールを100mlのメタノールに溶解し、10mlの濃塩酸(32%)を加え、得られた反応混合物を4時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、室温で一晩攪拌した。100mlの水を加え、溶液を100mlのジエチルエーテルにより2回抽出した。一緒にした有機相を、100mlの水、100mlの飽和重炭酸ナトリウム水溶液、再び100mlの水により洗浄した。溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣(20.1グラム)を250mlのヘキサンに溶解し、得られた溶液を4℃の温度で96時間貯蔵し、これにより、トリフェニルカルビノールのほとんどを沈殿させた。ろ過し、溶媒をろ液から除いた後、残留する生成物(12グラム)をシリカゲル(91.4グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。純粋な(S)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロール(5.7グラム)を、クロロホルム、それに続く、5%のアセトンを含むクロロホルムにより溶出した。収率が52%であった。

20

【0448】

(R)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンの合成：4.9グラムの(S)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロール(これはデシケーターにおいてP₂O₅で乾燥された)および2.65mlのトリエチルアミンを40mlのTHFに溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、1.4mlのPOCl₃を20mlのTHFに溶解した氷冷溶液に30分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに30分間続け、室温でさらに45分間続けた。その後、反応混合物を氷浴で冷却し、その後、1.1mlのエタノールアミンおよび2.8mlのトリエチルアミンを30mlのTHFに溶解した溶液を、攪拌を行いながら15分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴で35分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、固体を15mlのTHFにより2回洗浄し、ろ液からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣(5.6グラム)を36mlの酢酸および15mlの水の混合物に溶解し、70℃の温度に1時間加熱した。室温に冷却した後、溶液を分液漏斗に移し、クロロホルム：メタノールの2：1(v/v)混合物により2回抽出し、薄い重炭酸ナトリウム溶液により洗浄し、その後、溶媒を減圧下で除き、これにより、4.6グラムの粗(R)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンを得た。この粗生成物をシリカゲル(59グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。2.6グラムの純粋な生成物が、クロロホルム、それに続く、クロロホルムと、10%~40%のメタノールとの混合物により溶出された。収率が75.9%であった。

30

40

【0449】

(R)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリンの合成：2.1グラムの(R)-1-オクチル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンを、6グラムの炭酸カリウムを伴う100mlのエ

50

タノールの溶液に溶解した。8 ml の硫酸ジメチルを加え、反応混合物を 40℃ の温度に 6 時間加熱した。反応混合物を室温に冷却し、100 ml の水を加えた。その後、混合物を 100 ml のクロロホルムにより 2 回抽出した。有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。粗生成物をシリカゲル (59 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。2.0 グラムの純粋な (R) - 1 - オクチル - 2 - (5' - ヘキセニル) - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリンが、クロロホルム、それに続く、クロロホルムと、20% ~ 60% のメタノールとの混合物により溶出された。収率が 86.4% であった。

【0450】

(R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (CI - 207) の合成: 172 mg の重炭酸ナトリウムを 17 ml の水に溶解した溶液を、700 mg の (R) - 1 - オクチル - 2 - (5' - ヘキセニル) - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリンを 28 ml の水に溶解した溶液に加えた。その後、3.0 グラムの過ヨウ素酸ナトリウムを 28 ml の水に溶解した溶液を加えた。40 mg の過マンガン酸カリウムを 12 ml の水に溶解した溶液を滴下漏斗に入れ、反応混合物のピンク色を維持するために必要に応じて反応混合物に滴下により加えた。過マンガン酸塩溶液のおよそ半量を反応期間中に加えた。室温で 3 時間撹拌した後、6 グラムのリン酸二水素ナトリウムを加え、反応混合物をクロロホルム: メタノールの 2: 1 (v/v) 混合物の 50 ml により 3 回抽出した。一緒にした有機相を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、360 mg の粗生成物を得た。粗生成物をシリカゲル (12.23 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。119 mg の純粋な (R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリンが、クロロホルム、それに続く、10% ~ 60% のメタノールを含むクロロホルムにより溶出された。

【0451】

本明細書中上記で記載されるように調製される (S) - 1 - オクチル - 2 - (5' - ヘキセニル) - 3 - トリチル - グリセロールを使用する代替合成を下記のように行った:

(S) - 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロールの合成: 77 グラムの NaIO_4 を 300 ml の水に溶解した。この溶液に、9 グラムの NaHCO_3 および 1.26 グラムの KMnO_4 を加え、懸濁物を 40℃ に加熱した。21 グラムの (S) - 1 - オクチル - 2 - (5' - ヘキセニル) - 3 - トリチル - グリセロールを 300 ml の tert - ブタノールに溶解した溶液を 1 時間かけて反応混合物に滴下により加え、混合物をさらに 3 時間加熱した。さらなる量の KMnO_4 溶液を、ピンク色を維持するために必要に応じて加えた。反応混合物を室温に冷却し、セライトでろ過し、セライトを tert - ブタノールにより洗浄した。100 ml の 10% 硫酸溶液を滴下により加え、溶液を分液漏斗に移し、200 ml のヘキサンにより 3 回抽出した。有機相を、20 グラムの $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ を 100 ml の水に溶解した溶液により洗浄し、次いで 200 ml の水により洗浄した。有機相を、体積が約 150 ml に減少するまで、溶媒を減圧下で除くことによって濃縮した。15 ml の水および 2 ml の濃 HCl を残留する溶液に加えて、得られた混合物を 6 時間還流し、その後、室温に冷却し、溶媒を減圧下で除くことによって再び濃縮した。残留物の pH を、100 ml の水および 10 ml の 30% NaOH 溶液を加えることによって 12 に調節した。沈殿物をろ過により除き、20 ml の水により 4 回洗浄した。ろ液をヘキサン: 酢酸エチルの 1: 1 (v/v) 混合物の 100 ml により抽出した。水相を 10 ml の濃 HCl の添加によって 1 の pH に酸性化し、100 ml のヘキサンにより 3 回抽出した。無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除くことにより、7.4 グラムの粗生成物を黄色のオイルとして得た。粗生成物をシリカゲル (100 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。4.8 グラムの純粋な (S) - 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロールが、クロロホルム、それに続く、5% ~ 50% の酢酸エチルを含むクロロホルムにより溶出された。収率が 39.7% であった。

【0452】

(S) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロールの合成：1. 14 グラムの (S) - 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - s n - グリセロールを 20 ml のジクロロメタンに溶解した。748 mg のジフェニルジアゾメタン（これは、J. Organic Chem. (1959)、24:560～561に記載されるように調製された）を加え、暗赤色の反応混合物を、溶液が無色になるまで室温で約3時間攪拌した。溶媒を減圧下で除いた。残渣（1.9グラム）をシリカゲル（43グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。1.08グラムの純粋な (S) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロールが、クロロホルム、それに続く、5%～20%の酢酸エチルを含むクロロホルムにより溶出された。収率が61.4%であった。

10

【0453】

(R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンの合成：1グラムの (S) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロール（これはベンゼンとの共沸蒸留によって乾燥された）および0.885 ml のトリエチルアミンを 30 ml の THF に溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、0.235 ml の POCl_3 を 20 ml の THF に溶解した氷冷溶液に15分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに15分間続け、室温でさらに45分間続けた。その後、反応混合物を氷浴で冷却し、その後、0.154 ml のエタノールアミンおよび0.885 ml のトリエチルアミンを 50 ml の THF に溶解した溶液を、攪拌を行いながら15分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴で15分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を 24 ml の酢酸および 10 ml の水の混合物に溶解し、70℃に1時間加熱した。混合物を 80 ml のクロロホルムにより3回抽出し、50 ml の水により2回洗浄した。溶媒を減圧下で除くことにより、1.12グラムの (R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンを黄色のオイルとして得た。

20

【0454】

(R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリンの合成：1. 12グラムの (R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンを 65 ml のメタノールおよび 18 ml のジクロロメタンの混合物に溶解し、混合物を 35℃～40℃の範囲における温度に加熱した。1.3グラムの炭酸カリウムを 10 ml の水に溶解した溶液を、反応混合物を 35℃～40℃の温度で保ちながら滴下により加えた。その後、7.2 ml の硫酸ジメチルを 10 ml のメタノールに溶解した溶液を 40℃で滴下により加えた。反応混合物を 40℃の温度で2時間保ち、その後、室温で一晩保った。50 ml の水を加え、その後、混合物を 50 ml のクロロホルムにより3回抽出した。有機相を 50 ml の水により洗浄し、溶媒を減圧下で除いて、1グラムの (R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリンを黄色のオイルとして得た。

30

【0455】

(R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン (CI - 207) の合成：ガス状 HCl を、1グラムの (R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリンを 40 ml のクロロホルムに溶解した氷冷溶液に90分間吹き込んだ。生じた溶液を氷浴でさらに2時間攪拌した。その後、反応混合物の pH を、リン酸二水素ナトリウムを加えることによっておよそ6に調節した。50 ml の水を加え、混合物を 60 ml のクロロホルムにより3回抽出した。一緒にした有機相を 60 ml の水により洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、0.370グラムの (R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリンを得た。収率が50.2%であった。

40

【0456】

50

(R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンの合成：ガス状 H C l を、5 グラムの (R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - ベンズヒドリルカルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン（これは本明細書中上記で記載されるように調製された）を 4 0 m l のクロロホルムに溶解した氷冷溶液に 9 0 分間吹き込んだ。H C l の添加が完了した後、反応混合物を氷浴でさらに 2 時間攪拌した。反応混合物の p H を、リン酸水素二ナトリウムの水溶液を加えることによっておよそ 6 に調節した。混合物をクロロホルムにより抽出し（5 0 m l、3 回）、一緒にした有機相を水（1 0 0 m l）により洗浄した。溶媒を減圧下で除き、これにより、3 . 5 グラムの褐色のオイルを得た。このオイルをシリカゲル（6 8 . 5 グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。生成物を、クロロホルム、それに続く、クロロホルム：メタノールの 8：2（v / v）混合物、次いで、クロロホルム：メタノール：H₂O の 7 0 0：2 6：4 5（v / v）混合物により溶出した。溶媒を、所望される生成物を含む分画物から減圧下で除いた後、得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、1 5 0 m g の (R) - 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリンを黄色のワックスとして得た。

【 0 4 5 7 】

1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロ - 3 - ホスホコリン（C I - 2 0 7）の N M R による特徴づけ：

サンプルを数滴の重水素化メタノール（C D₃ O D）とともに重水素化クロロホルム（C D C l₃）に溶解した。その後、スペクトルを 3 0 0 M H z で測定した。サンプルを¹H - N M R 分光法および¹³C - N M R 分光法の両方によって測定した。

【 0 4 5 8 】

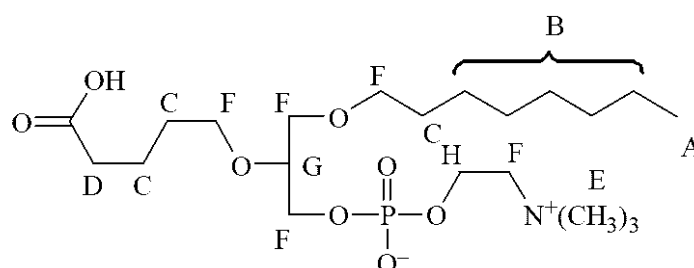
結果は 1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロ - 3 - ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【 0 4 5 9 】

1 - オクチル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロ - 3 - ホスホコリンの構造に従う、観測された¹H ピークの帰属は下記の通りであった：

¹H - N M R

¹H N M R



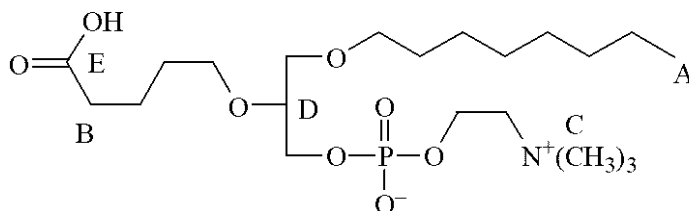
¹H N M R (300 M H z, 参照溶媒 (C D C l₃) = 7.33 p p m)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.268	2 H, br s	H
3.942 - 3.969	1H, m	G
3.394 - 3.673	10 H, m, 5 x CH ₂	F
3.234	9 H, s, 3 x CH ₃	E
2.307	2 H, t, J = 7.2 Hz	D
1.518 - 1.652	6 H, m, 3 x CH ₂	C
1.270	10 H, m, 5 x CH ₂	B
0.879	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.75 Hz	A

【 0 4 6 0 】

^{13}C -NMR

1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



10

^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 76.99 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
177.530	E
77.895	D
71.646	
69.964	
69.762	
65.207	
65.642	
59.013	
54.080	C
34.629	B
31.664	
29.404	
29.273	
29.179	
29.101	
25.856	
22.482	
22.009	
13.890	A

20

【0461】

1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの質量分析法による特徴づけ：

1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン ($\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が469であった。

【0462】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 468$ を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

【0463】

1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンのNMRによる特徴づけ：

サンプルを数滴の重水素化メタノール (CD_3OD) とともに重水素化クロロホルム (CDCl_3) に溶解した。その後、スペクトルを600 MHzで測定した。サンプルを ^1H -NMR分光法および ^{13}C -NMR分光法の両方によって測定した。

【0464】

結果は1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0465】

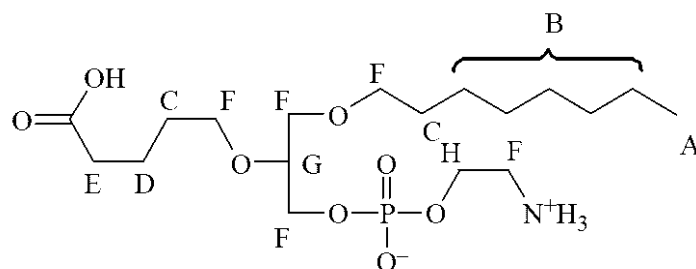
30

40

50

1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：

¹H NMR



10

¹H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 7.361 ppm)

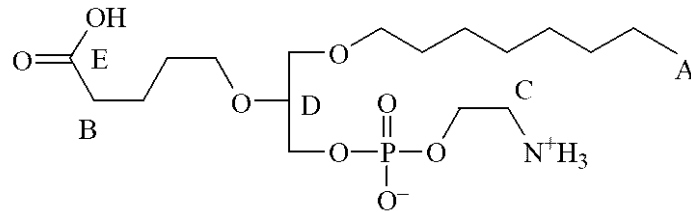
δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.136	2 H, br s	H
3.883 – 3.901	1H, m	G
3.420 – 3.766	10 H, m, 5 x CH ₂	F
2.344	2 H, t, J = 7.2 Hz	E
1.673-1.719	2H, m, CH ₂	D
1.588-1.632	2H, m, CH ₂	C
1.527 – 1.561	2H, m, CH ₂	C
1.272-1.290	10 H, m, 5 x CH ₂	B
0.882	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.9 Hz	A

20

【 0 4 6 6 】

¹ ³ C – NMR

1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された¹ ³ Cピークの帰属は下記の通りであった：



^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 79.344 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
178.820	E
77.895	D
79.996	
73.980	
72.367	
72.066	
68.205	
64.103	
42.529	C
35.874	B
33.953	
32.948	
31.699	
31.557	
31.471	
31.383	
31.327	
28.162	
27.320	
24.785	
23.819	
23.691	
16.123	A

【0467】

1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの質量分析法による特徴づけ：

1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン ($\text{C}_{18}\text{H}_{38}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が427であった。

【0468】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 426$ を有する分子イオンを示した。正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI+-MS) を使用して行われた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 428$ を有する分子イオン、および、カチオン化された分子イオン $[\text{M}+\text{Na}]^+$ に対応する、 $m/z = 450$ を有する分子イオンを示した。したがって、MS スペクトルは1-オクチル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの化学構造と一致している。

【0469】

実施例8

1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン ($\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_8$)

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを、(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロールから本明細書中下記で記載されるように合成した。(S)-1-ヘ

キサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンが、同じ手順を使用して(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロールから合成される。

【0470】

(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロールおよび(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロールの合成が実施例1に記載される。

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリン(CI-208)の合成: 8.60グラム(19.97mmol)の(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール(これは実施例1に記載されるように調製された)および2.63グラム(26mmol)のトリエチルアミンを500mlのTHFに溶解した溶液を、3.90グラム(26mmol)のPOCl₃を100mlのTHFに溶解した氷冷溶液に25分かけて滴下により加えた。攪拌を冷浴でさらに10分間続け、室温でさらに45分間続けた。1.6mlのエタノールアミンおよび6.4mlのトリエチルアミンを500mlのTHFに溶解した溶液を、激しい攪拌のもと、氷冷された反応混合物に滴下により加えた。攪拌を氷浴でさらに10分間続け、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。残渣を24mlの酢酸および100mlの水の混合物に溶解し、70℃に1時間加熱した。反応混合物を室温に冷却し、250mlのジクロロメタンにより2回抽出した。その後、溶媒を減圧下で除いた。残渣を500mlのイソプロパノールおよび180mlのジクロロメタンの混合物に溶解した。50グラムの炭酸カリウムを100mlの水に溶解した溶液を加えて、11を越えるpHが得られるようにした。溶液を、100mlのイソプロパノールにおける11.15グラムのメチルトシラートを45分かけて滴下により加えている期間中、35℃~40℃の範囲における温度で保った。さらに90分の後、混合物を塩酸により酸性化し、100mlの水および550mlのジクロロメタンを加え、相を分離した。有機相を100mlの水により洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。粗生成物をシリカゲルカラムでのクロマトグラフィーによって精製した。11.0グラム(18.46mmol)の(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンが、クロロホルム、それに続く、クロロホルム、メタノールおよび水の混合物によって溶出された。収率が92.45%であった。

【0471】

1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン(CI-208)のNMRによる特徴づけ:

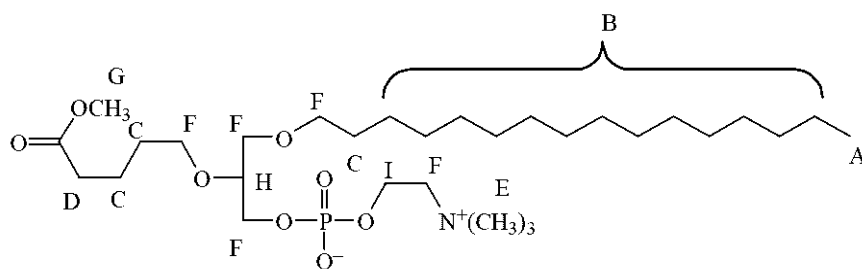
サンプルを数滴の重水素化メタノール(CD₃OD)とともに重水素化クロロホルム(CDCl₃)に溶解した。その後、スペクトルを300MHzで測定した。サンプルを¹H-NMR分光法および¹³C-NMR分光法の両方によって測定した。

【0472】

結果は1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0473】

1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった:

^1H NMR

10

 ^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 7.27 ppm)

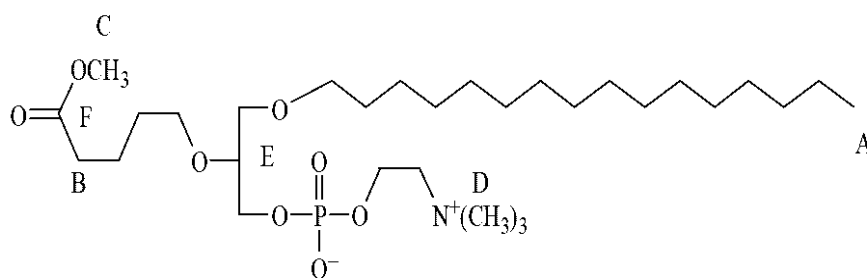
δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.303	2 H, br s	I
3.821 – 3.840	1H, m	H
3.648	3H, s, 1 x CH ₃	G
3.383 – 3.606	10 H, m, 5 x CH ₂	F
3.340	9 H, s, 3 x CH ₃	E
2.334	2 H, t, J = 7.5 Hz	D
1.530 – 1.657	6 H, m, 3 x CH ₂	C
1.253	26 H, m, 13 x CH ₂	B
0.879	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.3 Hz	A

20

【 0 4 7 4 】

 ^{13}C - NMR

1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



30

¹³C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 77.03 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
174.23	F
77.97	E
71.74	
70.65	
69.84	
66.16	
65.40	
59.44	
54.35	D
51.51	C
33.66	B
31.93	
29.74	
29.62	
29.47	
29.38	
26.14	
22.70	
21.68	
14.13	A

10

【0475】

20

1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン(CI-208)の質量分析法による特徴づけ:

1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン(C₃₀H₆₂NO₈P)についての計算質量が595.79であった。

【0476】

高速原子衝撃(FAB+)を使用して行われた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン[M+H]⁺に対応する、m/z = 596.324を有する分子イオンを示した。MSスペクトルは1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

【0477】

30

チロシンリン酸化:

初代マクロファージにおけるインビトロでのチロシンリン酸化に対するCI-208の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0478】

図23に示されるように、20 μg/mlのCI-208による処理はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こした。この低下は、20 μg/mlのCI-201コントロールによる処理によって引き起こされる低下よりも強い。

【0479】

CI-208の毒性:

CI-208の毒性を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように評価した。

40

【0480】

図24Aおよび図24Bに示されるように、CI-208の毒性が50 μg/ml以上の用量で検出されたが、20 μg/mlの用量での毒性が2回の実験の一方でのみ検出された。CI-208のLD₅₀が50 μg/ml ~ 100 μg/mlの間にあるようであった。

【0481】

実施例9

1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン(CI-213)および1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-

50

2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(CI-214)

(R)-1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホコリンおよび(R)-1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを、(R)-(+) -3-ベンジルオキシ-1, 2-プロパンジオールを出発物質として使用して本明細書中下記に記載されるように合成した。(S)-1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンおよび(S)-1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(S)-(-)-3-ベンジルオキシ-1, 2-プロパンジオールが出発物質として用いられる。

10

【0482】

1-トリチル-3-ベンジル-s n-グリセロールの合成。5グラム(27.44mmol)の(R)-(+) -3-ベンジルオキシ-1, 2-プロパンジオールおよび10グラム(35.87mmol)のトリフェニルクロロメタンを100mlの乾燥THFおよび25mlの乾燥アセトニトリルに加えた。8mlの乾燥トリエチルアミンを加え、反応混合物を17時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、氷(100グラム)に注ぎ、分液漏斗に移し、100mlのジエチルエーテルにより3回抽出した。有機相を100mlの水により、次いで100mlの希H₂SO₄(1.5%)により2回、次いで100mlの水により、次いで100mlの濃重炭酸ナトリウム溶液により、次いで再び100mlの水により順次洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、11グラムの1-トリチル-3-ベンジル-s n-グリセロールを黄色のオイルとして得た。収率が94%であった。

20

【0483】

1-トリチル-2-(5'-ヘキセニル)-3-ベンジル-s n-グリセロールの合成：11グラムの1-トリチル-3-ベンジル-s n-グリセロールおよび5.7グラムの5-ヘキセニル-1-メタンスルホナートを110mlのベンゼンに溶解した。6グラムの粉末化されたKOHを加え、反応混合物を攪拌し、12時間還流した。その間、反応で形成される水を共沸蒸留によって除いた。反応混合物を室温に冷却し、100mlの水により3回洗浄した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。残渣を150mlの熱ヘキサンの溶解し、4℃で一晩保った。その期間中に、副生成物の沈殿が生じた。ろ過し、溶媒を減圧下でろ液から除くことにより、13グラムの1-トリチル-2-(5'-ヘキセニル)-3-ベンジル-s n-グリセロールを褐色のオイルとして得た。

30

【0484】

2-(5'-ヘキセニル)-3-ベンジル-s n-グリセロールの合成：13グラムの1-トリチル-2-(5'-ヘキセニル)-3-ベンジル-s n-グリセロールを100mlのメタノールに溶解した。4mlの濃塩酸(37%)を加え、溶液を4時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、氷(100グラム)に注ぎ、分液漏斗に移し、100mlのジエチルエーテルにより3回抽出した。有機相を、100mlの水、100mlの飽和重炭酸ナトリウム溶液、再び100mlの水により順次洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、14.5グラムの粗生成物を得た。粗生成物をシリカゲルカラム(150グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。3.17グラムの2-(5'-ヘキセニル)-3-ベンジル-s n-グリセロールが、ジクロロメタン、それに続く、ジクロロメタンおよび酢酸エチルの混合物によって溶出された。収率が46.8%であった。

40

【0485】

1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(5'-ヘキセニル)-3-ベンジル-s n-グリセロールの合成。3グラムの2-(5'-ヘキセニル)-3-ベンジル-s

50

n-グリセロールを100mlのベンゼンに溶解した。3グラムのKOHを加え、反応混合物を共沸蒸留によって2時間乾燥した。この混合物に、5.35グラムの16-プロモヘキサデカン酸tert-ブチルを100mlのベンゼンに溶解した溶液を3時間かけて滴下により加えた。添加が完了した後、反応混合物をさらに12時間還流した。溶媒の体積を徐々に減らして約20mlにした。反応混合物を室温に冷却し、100mlの水および100mlのtert-ブタノールを加えた。反応混合物のpHを、濃HClを加えることによっておよそ1に調節した。混合物を室温で2時間攪拌し、100mlのジエチルエーテルにより3回抽出した。一緒にした有機相を、pHが中性になるまで、100mlの水により数回洗浄した。無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除くことにより、6グラムの褐色のオイルを得た。このオイルをヘキサン：酢酸エチルの1：1（v/v）混合物の100mlに溶解した。この溶液をメタノール：10%NaOH水溶液の8：2（v/v）混合物の100mlにより2回抽出した。塩基性溶液を、NaH₂PO₄を加えることによって4～5のpHに酸性化した。100mlのジエチルエーテルおよび100mlの水を加え、その後、相を分離した。水相を100mlのジエチルエーテルにより2回抽出し、有機相と一緒にした。有機相を100mlの水および100mlのブラインにより洗浄した。無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除くことにより、5.3グラムの1-（15'-カルボキシ）ペンタデシル-2-（5'-ヘキセニル）-3-ベンジル-s n-グリセロールを黄色のオイルとして得た。収率が90%であった。

10

【0486】

1-（15'-カルボキシ）ペンタデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-3-ベンジル-s n-グリセロールの合成。5.3グラムの1-（15'-カルボキシ）ペンタデシル-2-（5'-ヘキセニル）-3-ベンジル-s n-グリセロールを130mlのtert-ブタノールに溶解し、1.2グラムの重炭酸ナトリウムを40mlの水に溶解した溶液を加えた。その後、1mlの水における54mgのKMnO₄を加えた。20グラムのNaIO₄を115mlの水に溶解し、その後、この溶液を10分かけて反応混合物に加えた。216mgのKMnO₄を4mlの水に溶解した溶液のさらなる量を、反応液のピンク色を維持するために必要に応じて加えた。攪拌を室温で6時間続け、その後、反応混合物を4℃で一晩保った。重亜硫酸ナトリウムを、反応混合物の色が明黄色になるまで加えた。混合物を30分間攪拌し、25mlの10%硫酸溶液を滴下により加え、混合物を100mlのジエチルエーテルにより3回抽出した。一緒にした有機相を100mlの水により、次いで、25グラムの重亜硫酸ナトリウムを100mlの水に含有する溶液の100mlにより2回、次いで100mlの水により2回、順次洗浄した。無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除くことにより、5.3グラムの粗1-（15'-カルボキシ）ペンタデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-3-ベンジル-s n-グリセロールを黄色のワックスとして得た。

20

30

【0487】

（S）-1-（15'-カルボキシ）ペンタデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-s n-グリセロールの合成。5.0グラムの1-（15'-カルボキシ）ペンタデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-3-ベンジル-s n-グリセロールを50mlのメタノールに溶解し、10mlの85%ギ酸を加えた。5グラムのパラジウム黒を加え、反応混合物を窒素下で60℃に24時間加熱した。反応混合物を室温に冷却し、セライトでろ過した。セライトをメタノールにより洗浄し、次いで水により洗浄した。洗浄液をろ液と一緒にし、ろ液からの溶媒を減圧下で除いた。残渣（5グラム）を10mlの10%水酸化ナトリウム水溶液および40mlのメタノールの混合物に溶解し、得られた混合物を室温で2時間攪拌した。反応混合物をヘキサン：トルエンの1：1（v/v）混合物の50mlにより洗浄した。反応混合物のpHをリン酸二水素ナトリウムの添加によって5に調節し、その後、混合物を50mlのクロロホルムにより3回抽出した。有機相を50mlのブラインにより洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。粗生成物（4グラム）を9：1（v/v）のヘキサン：アセトンの混合物から再結晶し、これにより、3グラムの（S）-1-（15'-カルボキシ）ペンタデシル-2-（4-カルボキシ

40

50

) ブチル-s n-グリセロールを無色の固体として得た。収率が72%であった。

【0488】

(S)-1-(15'-メチルカルボキシ)ペンタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-s n-グリセロールの合成。3グラムの(S)-1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロールを50mlのメタノールに溶解した。1mlの濃塩酸(37%)を加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物を減圧下で約10mlに濃縮し、50mlの水を加え、その後、混合物を50mlのクロロホルムにより3回抽出した。一緒にした有機相を、50mlの水、50mlの濃重炭酸ナトリウム溶液および50mlの水により順次洗浄した。無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除くことにより、3グラムの(S)-1-(15'-メチルカルボキシ)ペンタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-s n-グリセロールを黄色のオイルとして得た。

10

【0489】

(R)-1-(15'-メチルカルボキシ)ペンタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの合成。2.8グラムの(S)-1-(15'-メチルカルボキシ)ペンタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-s n-グリセロールおよび2.5mlの乾燥トリエチルアミンを30mlのTHFに溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、1.65mlのPOCl₃を20mlのTHFに溶解した氷冷溶液に20分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴でさらに10分間続け、室温でさらに45分間続けた。1.1mlのエタノールアミンおよび5mlのトリエチルアミンを50mlのTHFに溶解した溶液を、攪拌を行いながら、氷冷された反応混合物に60分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴でさらに10分間続け、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を24mlの酢酸および100mlの水の混合物に溶解し、70℃に1時間加熱した。反応混合物を室温に冷却し、50mlのクロロホルムにより3回抽出し、有機相を50mlの水により2回洗浄した。溶媒を減圧下で除くことにより、4グラムの粗(R)-1-(15'-メチルカルボキシ)ペンタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを褐色のオイルとして得た。

20

【0490】

(R)-1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(CI-214)の合成。1.5グラムの(R)-1-(15'-メチルカルボキシ)ペンタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンをメタノール:10%水酸化ナトリウム水溶液の8:2(v/v)混合物の50mlに溶解し、得られた混合物を室温で5時間攪拌した。反応液のpHを、リン酸二水素ナトリウムおよびギ酸を加えることによって4に調節した。100mlの水および100mlのクロロホルムを加えた。抽出後、相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、500mgの粗(R)-1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを得た。粗生成物をシリカゲル(15グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。溶出を、100mlのクロロホルム、それに続く、100mlのクロロホルム:メタノールの混合物(体積比で9:1および8:2)、次いで200mlのクロロホルム:メタノール:水の混合物(体積比で70:26:4および60:35:5)により行った。所望される生成物を含有する分画物からの溶媒を減圧下で除き、残渣をクロロホルムに溶解し、無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧によって除いて、88mgの純粋な(R)-1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(CI-214)を黄色のワックスとして得た。

30

40

【0491】

1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンのNMRによる特徴づけ:

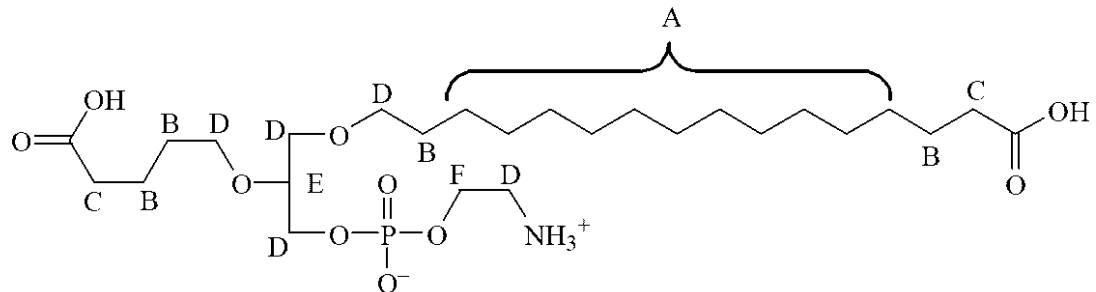
50

サンプルを数滴の重水素化メタノールとともに重水素化クロロホルム (CDCl_3) に溶解した。その後、スペクトルを 300 MHz で測定した。

【0492】

結果は 1 - (15' - カルボキシ) ペンタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

^1H NMR



10

^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.44 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.37	2 H, br, s	F
3.93 - 3.98	1 H, m	E
3.42 - 3.85	10 H, m, 5 x CH_2	D
2.27 - 2.36	4 H, m, 2 x CH_2	C
1.54 - 1.70	8 H, m, 4 x CH_2	B
1.27	22 H, m, 11 x CH_2	A

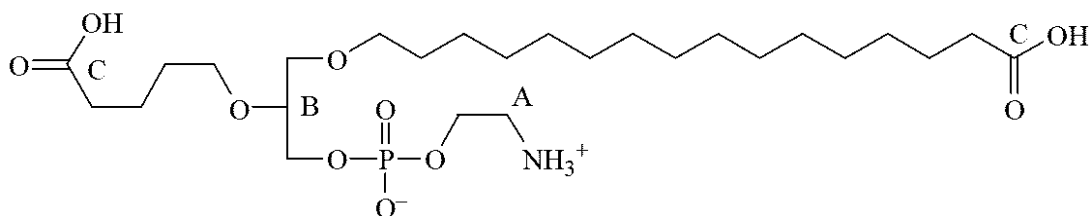
20

【0493】

^{13}C - NMR

1 - (15' - カルボキシ) ペンタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：

30



¹³C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 77.614 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
177.250	C
177.125	C
78.174	B
72.097	
70.388	
70.199	
65.850	
61.841	
40.788	A
34.424	
34.228	
29.851	
29.698	
29.527	
29.392	
26.289	
25.198	
21.945	

10

【0494】

1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンの質量分析法による特徴づけ： 20

1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (C₂₆H₅₂NO₁₀P) についての計算質量が 569.6655 であった。

【0495】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI⁻MS) を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン [M-H]⁻ に対応する、m/z = 568 を有する分子イオンを示した。

【0496】

加えて、m/z = 570 を有する分子カチオンが、正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI⁺MS) によって観測された (この分子イオンは、プロトン化された分子イオン [M+H]⁺ に対応する)。 30

【0497】

したがって、MS スペクトルは 1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンの化学構造と一致している。

【0498】

(R)-1-(15'-メチルカルボキシ)ペンタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンの合成。1.2グラムの (R)-1-(15'-メチルカルボキシ)ペンタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを 60 ml のメタノールおよび 20 ml のジクロロメタンの混合物に溶解した。2グラムの炭酸カリウムを 10 ml の水に溶解した溶液を加え、溶液を加熱し、35℃～40℃の範囲における温度で保った。1.25 ml の硫酸ジメチルを 10 ml のメタノールに溶解した溶液を滴下により加えた。添加が完了した後、反応混合物を 40℃でさらに 90 分間攪拌し、その後、室温に冷却し、室温で一晩攪拌した。100 ml の水を加え、100 ml のクロロホルムによる抽出を 3 回行った。一緒にした有機相を 100 ml の水により洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、900 mg の (R)-1-(15'-メチルカルボキシ)ペンタデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを褐色のオイルとして得た。 40

【0499】

50

(R) - 1 - (15' - カルボキシ) ペンタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (C I - 213) の合成。1. 88 グラムの (R) - 1 - (15' - メチルカルボキシ) ペンタデシル - 2 - (4 - メチルカルボキシ) ブチル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリンをメタノール：10%水酸化ナトリウム水溶液の8：2 (v/v) 混合物の50 ml に溶解し、得られた混合物を室温で5時間攪拌した。反応液のpHを、リン酸二水素ナトリウムおよびギ酸を加えることによって4に調節した。100 ml の水および100 ml のクロロホルムを加えた。相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、860 mg の粗 (R) - 1 - (15' - カルボキシ) ペンタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - ホスホコリンを得た。粗生成物をシリカゲル (20 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。溶出を、100 ml のクロロホルム、それに続く、100 ml のクロロホルム：メタノールの混合物 (体積比で9：1および8：2)、次いで200 ml のクロロホルム：メタノール：水の混合物 (体積比で70：26：4および60：35：5) により行った。所望される生成物を含有する分画物からの溶媒を減圧下で除き、残渣をクロロホルムに溶解し、無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、105 mg の純粋な (R) - 1 - (15' - カルボキシ) ペンタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (C I - 213) を黄色のワックスとして得た。

10

【0500】

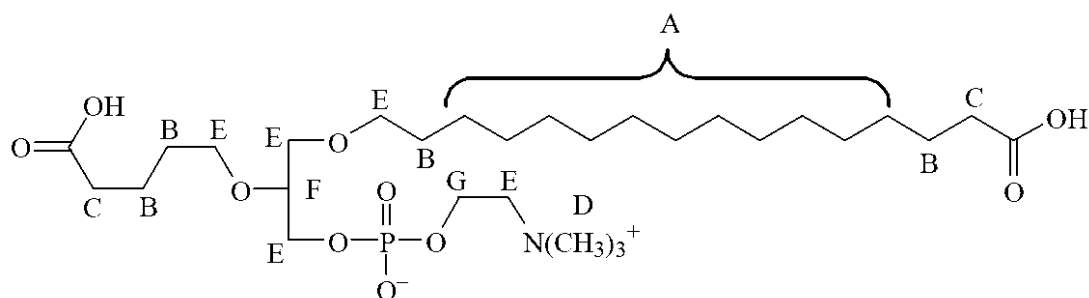
1 - (15' - カルボキシ) ペンタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロ - 3 - ホスホコリンのNMRによる特徴づけ：

20

サンプルを数滴の重水素化メタノールとともに重水素化クロロホルム (CDCl₃) に溶解した。スペクトルを300 MHzで測定した。

【0501】

結果は1 - (15' - カルボキシ) ペンタデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロ - 3 - ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

¹H NMR

30

¹H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 7.38 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.27	2 H, br, s	G
3.94 - 4.00	1 H, m	F
3.36 - 3.89	10 H, m, 5 x CH ₂	E
3.23	9 H, s, 3 x CH ₃	D
2.26 - 2.37	4 H, m, 2 x CH ₂	C
1.52 - 1.72	8 H, m, 4 x CH ₂	B
1.26	22 H, m, 11 x CH ₂	A

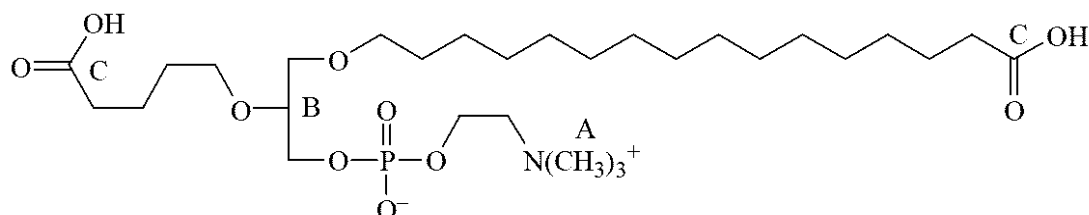
40

【0502】

¹³C - NMR

50

1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



10

^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.35 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
176.90	C
176.72	C
78.21	B
71.92	
70.37	
70.01	
66.58	
65.87	
59.14	
54.34	A
34.31	
34.07	
29.66	
29.56	
29.52	
29.36	
29.24	
26.12	
25.06	
21.98	

20

30

【0503】

1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミンの質量分析法による特徴づけ：

1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン ($\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{NO}_{10}\text{P}$) についての計算質量が 611.7453 であった。

【0504】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して行われた質量スペクトルは、 $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 610$ を有する分子イオンを示した。

40

【0505】

加えて、正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI+-MS) は、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 612$ を有する分子イオンを示し、これには、カチオン化されたイオン $[\text{M}+\text{Na}]^+$ に対応する、 $m/z = 634$ を有する分子カチオンが付随した。

【0506】

したがって、MSスペクトルは1-(15'-カルボキシ)ペンタデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

【0507】

CI-213およびCI-214の毒性：

50

C I - 2 1 3 および C I - 2 1 4 の毒性を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように評価した。

【0508】

図25Aおよび図25Bに示されるように、C I - 2 1 3 は、著しい毒性を、試験された用量の範囲（すなわち、最大150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (245.2 μM)) において明確に示さなかった。細胞数における統計学的に有意な減少が100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (163.5 μM) の用量で1回のみの実験で検出された。

【0509】

同様に、図26Aおよび図26Bに示されるように、C I - 2 1 4 は、著しい毒性を、試験された用量の範囲（すなわち、最大150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (263.3 μM)) において明確に示さなかった。細胞数における統計学的に有意な減少が100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (175.5 μM) の用量で1回のみの実験で検出された。

【0510】

これらの結果は、C I - 2 1 3 および C I - 2 1 4 の両方の LD_{50} が150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ よりも高いことを示している。

【0511】

実施例10

1-ヘキサデシル-2-(2-カルボキシ)エチルグリセロール-3-ホスホコリン (C I - 2 1 7)

(R)-1-ヘキサデシル-2-(2-カルボキシ)エチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを、(R)-(-)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを出発物質として使用して本明細書中下記で記載されるように合成した。(S)-1-ヘキサデシル-2-(2-カルボキシ)エチルグリセロール-3-ホスホコリンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(S)-(+)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールが出発物質として用いられる。

【0512】

(S)-1-ヘキサデシル-sn-グリセロールの合成：40グラムの(R)-(-)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール、80グラムの粉末化された水酸化カリウムおよび100グラムの臭化ヘキサデシルを350mlのベンゼンにおいて攪拌し、7時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約50mlにした。反応混合物を室温に冷却し、300mlの氷冷された水を加え、混合物を150mlのジクロロメタンにより4回抽出した。一緒にした有機相を水により洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をメタノール：水：濃塩酸の90：10：5 (v/v) 混合物の500mlに溶解し、生じた溶液を2時間還流した。室温に冷却した後、200mlの水を加えた。生成物を200mlのクロロホルムにより3回抽出し、200mlの水、200mlの炭酸ナトリウム飽和水溶液、再び200mlの水により順次洗浄した。溶媒を減圧下で除き、生成物を4℃で450mlの石油エーテルから結晶化させ、これにより、69.93グラムの純粋な(S)-1-ヘキサデシル-sn-グリセロールを得た。収率が73%であった。

【0513】

1-ヘキサデシル-3-トリチルグリセロールの合成：18.47グラムの(S)-1-ヘキサデシル-sn-グリセロールおよび19グラムのトリフェニルクロロメタンを250mlの乾燥THFおよび58mlの乾燥アセトニトリルの混合物に溶解した。17mlのトリエチルアミンを加え、反応混合物を17時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、氷(20グラム)およびトリエチルアミン(5ml)に注ぎ、分液漏斗に移し、ジエチルエーテルにより抽出した。有機相を200mlの水により、次いで200mlの希硫酸(1.5%)により2回、次いで200mlの水により、次いで200mlの重炭酸ナトリウム飽和水溶液により、次いで再び200mlの水により順次洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、41.79グラムの粗生成物を残渣として得た。この残渣を300mlの酢酸エチルに溶解し、-20℃で一晩冷却した。

混合物を -10°C で遠心分離し(3500回転/分)、母液を捨てた。得られた固体は融解し、これをヘキサンに溶解し、一晚冷蔵した($5\pm 3^{\circ}\text{C}$)。沈殿物をろ過することにより、18.97グラムの純粋な(R)-1-ヘキサデシル-3-トリチル-sn-グリセロールを灰白色の固体として得た。

【0514】

3-ヘキセニル-1-メタンスルホナートの合成: 100mlの乾燥ジクロロメタンにおける20mlのcis-3-ヘキセン-1-オールおよび40mlの乾燥トリエチルアミンの混合物を氷浴で冷却した。20mlのメタンスルホニルクロリドを50mlのジクロロメタンに溶解した溶液を75分かけて滴下により加え、その後、混合物を 4°C で2時間保った。氷(50グラム)を加え、混合物を室温で30分間攪拌し、その後、100mlのクロロホルムにより2回抽出した。有機相を、50mlの水、50mlの10%硫酸溶液、50mlの水、50mlの10%重炭酸ナトリウム水溶液により洗浄し、その後、50mlの水により2回洗浄した。溶媒を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、減圧下で除いた。得られた残渣(34.90グラム)をシリカゲル(85.37グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。18.83グラムの3-ヘキセニル-1-メタンスルホナートをクロロホルムおよびヘキサンの1:1(v/v)混合物による溶出によって得た。

【0515】

(S)-1-ヘキサデシル-2-(3'-ヘキセニル)-グリセロールの合成。10.60グラムの(R)-1-ヘキサデシル-3-トリチル-sn-グリセロールを50mlのベンゼンおよび50mlの石油エーテルの混合物に溶解した。16.65グラムの粉末化されたKOHを加え、反応混合物を窒素下で加熱還流した。10mlの3-ヘキセニル-1-メタンスルホナートを50mlのベンゼンおよび200mlの石油エーテルに溶解した溶液を、反応で形成される水を共沸蒸留によって除きながら10時間以上かけて、還流している反応混合物に滴下により加えた。添加が完了した後、攪拌を2時間続けた。反応混合物を室温に冷却し、200mlの水を加えた。混合物を200mlのジエチルエーテルにより3回抽出し、一緒にした有機相を200mlの水により3回洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、11.88グラムの粗(R)-1-ヘキサデシル-2-(3-ヘキセニル)-3-トリチル-sn-グリセロールを得た。この1-ヘキサデシル-2-(3-ヘキセニル)-3-トリチル-sn-グリセロールを100mlのメタノールに溶解し、4mlの濃HClを加え、生じた溶液を4時間還流した。100mlの水を加え、混合物を100mlのジエチルエーテルにより4回抽出した。一緒にした有機相を100mlの水により洗浄し、無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をヘキサンに溶解し、 4°C で一晩貯蔵した。沈殿物をろ過し、溶媒を減圧下で除くことにより、10.08グラムの粗生成物を得た。この生成物をシリカゲル(95.91グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。3.71グラムの生成物、すなわち、(S)-1-ヘキサデシル-2-(3'-ヘキセニル)-sn-グリセロールが、ヘキサンおよびクロロホルムの1:1(v/v)混合物、それに続く、クロロホルム、次いで、2%のアセトンを含むクロロホルムにより溶出された。

【0516】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(3'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンの合成: 2.08グラムの(S)-1-ヘキサデシル-2-(3'-ヘキセニル)-sn-グリセロール(これはデシケーターにおいて P_2O_5 で乾燥された)および1.2mlのトリエチルアミンを60mlのTHFに溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、0.84mlの POCl_3 および0.7mlのトリエチルアミンを40mlのTHFに溶解した氷冷溶液に55分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに10分間続け、室温でさらに45分間続けた。その後、反応混合物を氷浴で冷却し、その後、0.55mlのエタノールアミンおよび2.0mlのトリエチルアミンを15mlのTHFに溶解した溶液を25分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴で30分間続け、その後、室温で一晩続けた。さらに0.18mlのエタノールアミンを加え、反応混合物を室温で2時間攪拌した。反応混合物をろ過し、ろ液からの溶媒を減圧下で除いた。得

られた残渣を48mlの酢酸および20mlの水の混合物に溶解し、77℃に1時間加熱し、室温に冷却した。溶液をクロロホルム：メタノールの2：1（v/v）混合物の100mlにより3回抽出し、希重炭酸ナトリウム溶液および100mlの水により洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、2.57グラムの（R）-1-ヘキサデシル-2-（3'-ヘキセニル）-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンを得た。

【0517】

（R）-1-ヘキサデシル-2-（3'-ヘキセニル）-sn-グリセロ-3-ホスホコリンの合成：6.8グラムの炭酸カリウムを、2.54グラムの（R）-1-ヘキサデシル-2-（3'-ヘキセニル）-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンを100mlのメタノールおよび100mlのジクロロメタンに溶解した溶液に加えた。その後、3mlの硫酸ジメチルを滴下により加え、反応混合物を室温で7時間攪拌した。さらに1mlの硫酸ジメチルを加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。26.4グラムのリン酸二水素ナトリウムを反応混合物に加え、その後、100mlの水を加え、その後、混合物をクロロホルム：メタノールの2：1（v/v）混合物の100mlにより3回抽出した。一緒にした有機相を100mlの水により洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、3.44グラムの粗（R）-1-ヘキサデシル-2-（3'-ヘキセニル）-sn-グリセロ-3-ホスホコリンを得た。

【0518】

（R）-1-ヘキサデシル-2-（2-カルボキシ）エチル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン（CI-217）の合成：3.4グラムの（R）-1-ヘキサデシル-2-（3'-ヘキセニル）-sn-グリセロ-3-ホスホコリンを200mlの水に溶解した溶液を35℃に加熱し、4.33グラムの重炭酸ナトリウムを加えた。その後、13.5グラムの過ヨウ素酸ナトリウムを90mlの水に溶解した溶液を滴下漏斗に入れ、滴下により加えた。180mgの過マンガン酸カリウムを10mlの水に溶解した溶液を第2の滴下漏斗に入れ、反応混合物のピンク色を維持するために必要に応じて滴下により加えた。合計で約4mlの過マンガン酸塩溶液を加えた。反応混合物を35℃～40℃で5時間攪拌し、その後、室温で一晩攪拌した。反応液のpHを、リン酸二水素ナトリウム、次いでリン酸（80%）を加えることによっておよそ3に調節した。反応混合物を100mlのクロロホルムにより3回抽出し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、50mlの重亜硫酸ナトリウム溶液により2回洗浄し、その後、50mlの水により洗浄した。有機相を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、2.78グラムの粗生成物を得た。粗生成物をシリカゲル（30.89グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。1.98グラムの純粋な（R）-1-ヘキサデシル-2-（2-カルボキシ）エチル-sn-グリセロ-3-ホスホコリンが、ヘキサンと、20%～50%のクロロホルムとの混合物、それに続く、クロロホルム、次いで、クロロホルムと、10%～80%のメタノールとの混合物により溶出された。

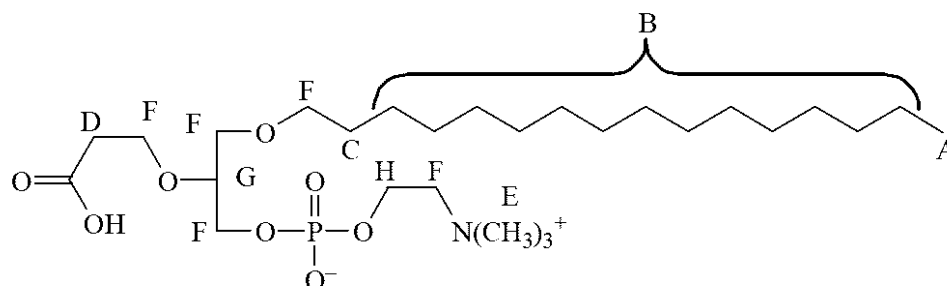
【0519】

1-ヘキサデシル-2-（2-カルボキシ）エチル-グリセロ-3-ホスホコリンのNMRによる特徴づけ：

サンプルを数滴の重水素化メタノールとともに重水素化クロロホルム（ CDCl_3 ）に溶解した。スペクトルを600MHzで測定した。

【0520】

結果は1-ヘキサデシル-2-（2-カルボキシ）エチル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

^1H NMR

10

 ^1H NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.27 ppm)

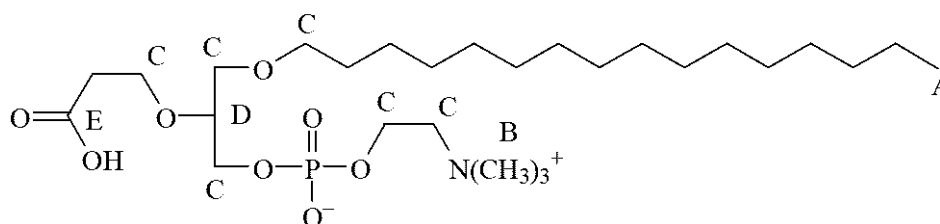
δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.052	2 H, br, s	H
3.72	1 H, m	G
3.66	2 H, m, CH_2	F
3.469	2 H, m, CH_2	F
3.400	2 H, m, CH_2	F
3.299	2 H, m, CH_2	F
3.227	2 H, m, CH_2	F
3.012	9 H, s, 3 x CH_3	E
2.351	2 H, m, CH_2	D
1.347	2 H, m, CH_2	C
1.059	26 H, m, 13 x CH_2	B
0.675	3 H, t, $J = 7.2$ Hz, CH_3	A

20

【0521】

 ^{13}C - NMR

1-ヘキサデシル-2-(2-カルボキシ)エチルグリセロール-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



30

^{13}C NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.817 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
173.126	E
78.990	D
72.220	C
70.695	C
66.932	C
66.584	C
66.271	C
59.509	C
54.487	B
35.945	
35.651	
32.291	
30.040	
29.880	
29.707	
26.432	
23.013	
14.211	A

10

【0522】

1-ヘキサデシル-2-(2-カルボキシ)エチルグリセロール-3-ホスホコリンの質量分析法による特徴づけ： 20

1-ヘキサデシル-2-(2-カルボキシ)エチルグリセロール-3-ホスホコリン ($\text{C}_{27}\text{H}_{56}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が554であった。

【0523】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI⁻MS) を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 553$ を有する分子イオンを示した。

【0524】

加えて、正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI⁺MS) によって行われた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 555$ を有する分子イオンを示し、これには、カチオン化された分子イオン $[\text{M}+\text{Na}]^+$ に対応する、 $m/z = 577$ を有する分子イオンが付随した。 30

【0525】

したがって、MSスペクトルは1-ヘキサデシル-2-(2-カルボキシ)エチルグリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

【0526】

チロシンリン酸化：

初代マクロファージにおけるインビトロでのチロシンリン酸化に対するCI-217の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0527】

図27に示されるように、 $20\text{ }\mu\text{g/ml}$ ($36\text{ }\mu\text{M}$) のCI-217による処理はホスチロシンレベルにおける低下を引き起こし、これに対して、 $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ ($18\text{ }\mu\text{M}$) のCI-217による処理は影響がほとんどなかった。これらの結果は、 $20\text{ }\mu\text{g/ml}$ ($34\text{ }\mu\text{M}$) および $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ ($17\text{ }\mu\text{M}$) の陽性コントロールCI-201によるそれぞれの処理の結果と非常に類似していた。 40

【0528】

実施例11

1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン (CI-219) および 1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホエタノールアミン (CI-220) 50

(R) - 1 - エイコサニル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - s n - グリセロール - 3 - ホスホコリンおよび (R) - 1 - エイコサニル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - s n - グリセロール - 3 - ホスホエタノールアミンを、(R) - (-) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールを出発物質として使用して本明細書中下記で記載されるように合成した。(S) - 1 - エイコサニル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロール - 3 - ホスホコリンおよび (S) - 1 - エイコサニル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロール - 3 - ホスホエタノールアミンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(S) - (+) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールが出発物質として用いられる。

【0529】

(S) - 1 - エイコサニル - s n - グリセロールの合成：8.6 ml (76.08 mmol) の (R) - (-) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノール、15 g の粉末化された水酸化カリウムおよび 27.5 g (76.08 mmol) の 1 - ブロモエイコサンを 150 ml のベンゼンにおいて攪拌し、6 時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約 70 ml にした。その後、反応混合物を室温に冷却し、150 ml の水を加えた。その後、反応混合物を 150 ml のジエチルエーテルにより 3 回抽出し、一緒にした有機相を 100 ml の水により洗浄し、その後、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を 90 : 10 : 5 (v/v) のメタノール：水：濃塩酸の混合物の 105 ml に溶解し、生じた溶液を、溶液が透明になるまで還流した。その後、溶液を室温に冷却し、100 ml の水を加えた。生成物を 150 ml のクロロホルムにより抽出し、150 ml の水、150 ml の炭酸ナトリウム飽和水溶液、再び 150 ml の水により順次洗浄した。その後、溶媒を減圧下で除き、生成物を 200 ml のヘキサンから結晶化させ、これにより、21.0 g の純粋な 1 - エイコサニル - s n - グリセロールを得た。これを減圧下のデシケーターにおいて酸化リンにより乾燥した。収率が 81.5 % であった。

【0530】

(R) - 1 - エイコサニル - 3 - トリチル - s n - グリセロールの合成。20 g の 1 - エイコサニル - s n - グリセロールおよび 18 g のトリフェニルクロロメタンを 400 ml の乾燥テトラヒドロフラン (THF) および 100 ml の乾燥アセトニトリルの混合物に加えた。15 ml の乾燥トリエチルアミンを加え、反応混合物を 17 時間還流した。その後、反応混合物を室温に冷却し、水 (500 g) に注ぎ、分液漏斗に移し、200 ml のジエチルエーテルにより 3 回抽出した。有機相を 150 ml の水により、次いで 150 ml の希 H_2SO_4 (1.5 %) により 2 回、次いで 150 ml の水により、次いで 150 ml の濃重炭酸ナトリウム水溶液により、次いで再び 150 ml の水により順次洗浄した。その後、溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣、すなわち、褐色のオイルを 300 ml の酢酸エチルに溶解し -20 °C で一晩冷却した。混合物を -10 °C で遠心分離し (3500 回転/分)、母液を捨てた。得られた固体をヘキサンに溶解し、一晩冷蔵した (5 ± 3 °C)。沈殿物をろ過することにより、26.0 g の純粋な (R) - 1 - エイコサニル - 3 - トリチル - s n - グリセロールを灰白色の固体として得た。収率が 79 % であった。

【0531】

(R) - 1 - エイコサニル - 2 - (5' - ヘキセニル) - 3 - トリチル - s n - グリセロールの合成：26 g の (R) - 1 - エイコサニル - 3 - トリチル - s n - グリセロールおよび 10 g の 5 - ヘキセニル - 1 - メタンスルホナートを 150 ml のベンゼンに溶解した。12 g の粉末化された KOH を加え、反応混合物を攪拌し、6 時間還流した。その間、反応で形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約 75 ml にした。反応混合物を室温に冷却し、200 ml の水を加えた。混合物を 150 ml のジエチルエーテルにより 3 回抽出し、一緒にした有機相を 150 ml の水により 3 回洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣、すなわち、28 g の褐色のオイルをシリカゲルカラム (200 g) で精製した。28 g の生成物が明黄色

のオイルとしてクロロホルムにより溶出された。収率が87.5%であった。

【0532】

(S)-1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールの合成：70グラムの NaIO_4 を250mlの水に溶解した。この溶液に、6グラムの NaHCO_3 および1.2グラムの KMnO_4 を加え、懸濁物を40℃に加熱した。25グラムの(R)-1-エイコサニル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチル-sn-グリセロールを250mlのtert-ブタノールに溶解した溶液を90分かけて滴下により加え、混合物をさらに6時間加熱した。さらなる量の KMnO_4 溶液を、ピンク色を維持するために必要に応じて加えた。反応混合物を室温に冷却し、セライトでろ過し、その後、セライトを50mlのtert-ブタノールにより洗浄した。100mlの10%硫酸溶液を加え、溶液を分液漏斗に移し、200mlのヘキサンにより3回抽出した。有機相を、20グラムの $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ を100mlの溶解した溶液により洗浄し、次いで100mlの水により洗浄した。有機相を、約400mlの溶媒を減圧下で除くことによって濃縮した。残留する溶液に対して、15mlの水および2mlの濃 HCl を加え、得られた混合物を6時間還流した。その後、混合物を室温に冷却し、溶媒を減圧下で除くことによって再び濃縮した。残留物のpHを、100mlの水および10mlの30% NaOH 溶液を加えることによって12に調節した。沈殿物をろ過し、20mlの水により4回洗浄した。ろ液をヘキサン：酢酸エチルの1：1(v/v)混合物の100mlにより抽出した。水相を、10mlの濃 HCl を加えることによって1のpHに酸性化し、その後、100mlのヘキサンにより3回抽出した。無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除き、その後、粗生成物を1：9(v/v)のアセトン：ヘキサンの混合物から5±3℃で一晩再結晶することにより、9.0グラムの純粋な(S)-1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールを得た。収率が53.1%であった。

【0533】

(S)-1-エイコサニル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロールの合成：8.9グラムの(S)-1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールを50mlのメタノールに溶解した。1mlの濃 HCl (32%)を加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。溶媒を減圧下で除き、50mlの水を得られた残渣に加えた。混合物を50mlのクロロホルムにより3回抽出した。一緒にした有機相を、50mlの水、50mlの飽和重炭酸ナトリウム溶液、再び50mlの水により洗浄した。その後、溶液を硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、減圧下で蒸発させ、8.9グラムの(S)-1-エイコサニル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロールを白色のワックスとして得た。

【0534】

(R)-1-エイコサニル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの合成：8.9グラムの1-エイコサニル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール(ベンゼンとの共沸蒸留によって乾燥されたもの)および8mlのトリエチルアミンを70mlのTHFに溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、5.36mlの POCl_3 を40mlのTHFに溶解した氷冷溶液に30分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに30分間続け、室温でさらに45分間続けた。その後、反応混合物を氷浴で冷却し、その後、3.5mlのエタノールアミンおよび16mlのトリエチルアミンを50mlのTHFに溶解した溶液を、攪拌を行いながら30分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴で30分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣(14グラムの黄色のオイル)を72mlの酢酸および30mlの水の混合物に溶解し、70℃に1時間加熱した。得られた混合物を150mlのクロロホルムにより3回抽出し、150mlの水により2回洗浄した。溶媒を減圧下で除くことにより、13グラムの(R)-1-エイコサニル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを黄色のオイルとして得た。

【0535】

(R)－1－エイコサニル－2－（４－カルボキシ）ブチル－sn－グリセロ－3－ホスホエタノールアミン（C I－2 2 0）の合成：４グラムの（R）－1－エイコサニル－2－（４－メチルカルボキシ）ブチル－sn－グリセロ－3－ホスホエタノールアミンを１００m lのメタノールおよび１０％水酸化ナトリウム水溶液の８：２（v／v）混合物に溶解し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物のp Hを、ギ酸を加えることによっておよそ４に調節した。その後、１５０m lの水および１５０m lのクロロホルムを加えた。相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、その後、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をシリカゲル（７０グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。クロロホルムおよびヘキサン混合物、それに続く、クロロホルムおよびメタノールの混合物、最後に、クロロホルム、メタノールおよび水の混合物を使用して、８３５m gの（R）－1－エイコサニル－2－（４－カルボキシ）ブチル－sn－グリセロ－3－ホスホエタノールアミン（C I－2 2 0）をカラムから溶出した。収率が２１％であった。

10

【０５３６】

１－エイコサニル－2－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロ－3－ホスホエタノールアミンのNMRによる特徴づけ：

サンプルを数滴の重水素化メタノール（C D₃ O D）とともに重水素化クロロホルム（C D C l₃）に溶解した。その後、スペクトルを６００M H zで測定した。サンプルを¹H－NMR分光法および¹³C－NMR分光法の両方によって測定した。

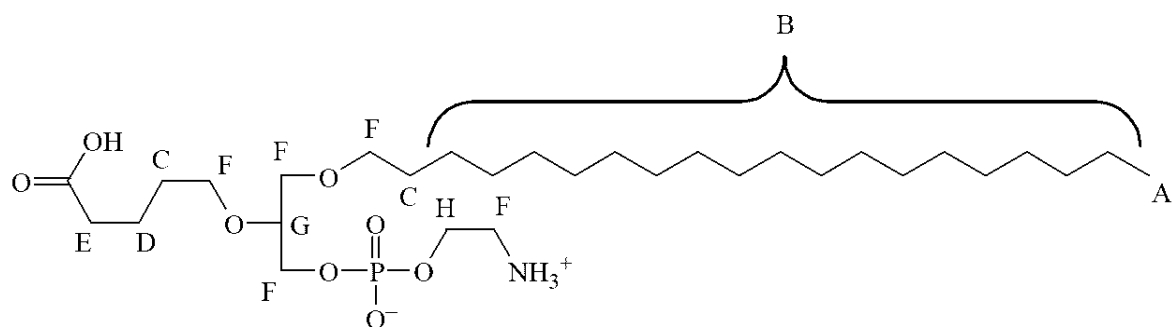
20

【０５３７】

結果は１－エイコサニル－2－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロ－3－ホスホエタノールアミンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【０５３８】

１－エイコサニル－2－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロ－3－ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：



30

¹H NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 7.357 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.107	2 H, br, s	H
3.858 – 3.876	1 H, m	G
3.398 – 3.745	10 H, m, 5 x CH ₂	F
2.346	2 H, t, J = 7.2 Hz	E
1.666 – 1.737	2 H, m	D
1.599 – 1.631	2 H, m	C
1.535 – 1.569	2 H, m	C
1.260	34 H, m, 17 x CH ₂	B
0.882	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.9 Hz	A

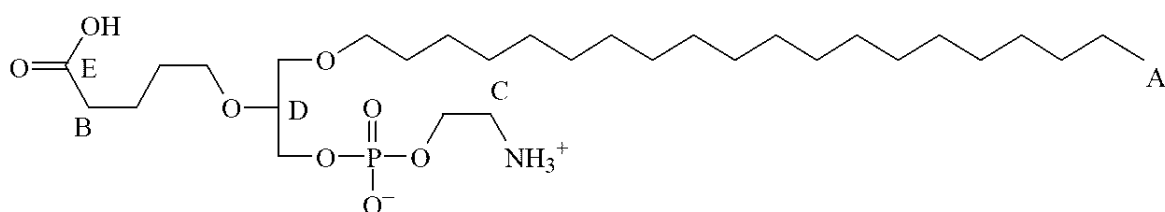
40

【０５３９】

１－エイコサニル－2－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロ－3－ホスホエタノール

50

アミンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



^{13}C NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.318 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
177.352	E
78.023 – 78.075	D
71.977	
70.293	
70.019	
65.968	
61.913	
40.525	C
34.108	B
32.045	
29.825	
29.778	
29.730	
29.659	
29.476	
29.320	
26.186	
22.794	
21.884	
14.154	A

【0540】

1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの質量分析法による特徴づけ：

1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン ($\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が 595.42 であった。

【0541】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI⁻MS) を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化されたイオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 594$ を有する分子イオンを示した。

【0542】

正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI⁺MS) を使用して行われた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 596$ を有する分子イオンを示し、これには、カチオン化された分子イオン $[\text{M}+\text{Na}]^+$ に対応する、 $m/z = 618$ を有する分子イオンが付随した。

【0543】

したがって、MS スペクトルは 1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの化学構造と一致している。

【0544】

(R)-1-エイコサニル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンの合成：9グラムの (R)-1-エイコサニル-2-(4-メチルカル

10

20

30

40

50

ボキシ) ブチルー s n -グリセロ-3-ホスホエタノールアミンを 40 ml のイソプロパノールおよび 18 ml のジクロロメタンの混合物に溶解し、混合物を 35℃~40℃に加熱した。10.3 グラムの炭酸カリウムを 20 ml の水に溶解した溶液を、反応混合物を 35℃~40℃で保ちながら滴下により加えた。その後、7.2 ml の硫酸ジメチルを 10 ml のイソプロパノールに溶解した溶液 (10 ml) を 40℃で滴下により加えた。反応混合物を 40℃で 2 時間保ち、その後、室温で一晩保った。150 ml の水を加え、混合物を 150 ml のクロロホルムにより 3 回抽出した。有機相を 150 ml の水により洗浄し、溶媒を減圧下で除いて、8 グラムの (R)-1-エイコサニル-2-(4-メチルカルボキシ) ブチルー s n -グリセロ-3-ホスホコリンをワックスとして得た。

【0545】

(R)-1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ) ブチルー s n -グリセロ-3-ホスホコリン (CI-219) の合成: 8 グラムの (R)-1-エイコサニル-2-(4-メチルカルボキシ) ブチルー s n -グリセロ-3-ホスホコリンをメタノール: 10% 水酸化ナトリウム水溶液の 8: 2 (v/v) 混合物の 100 ml に溶解し、反応混合物を室温で 5 時間攪拌した。その後、反応混合物の pH を、リン酸二水素ナトリウム、次いでギ酸を加えることによっておよそ 5 に調節した。その後、100 ml の水および 150 ml のクロロホルムを加えた。相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、その後、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣 (7.5 グラム) をシリカゲル (150 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。クロロホルム、それに続く、クロロホルムおよびメタノールの混合物、最後に、クロロホルム、メタノールおよび水の混合物を使用して、生成物を溶出した。溶媒を、生成物を含有する分画物から減圧下で除くことにより、4 グラムの (R)-1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ) ブチルー s n -グリセロ-3-ホスホコリンを白色の固体として得た。収率が 51.1% であった。

【0546】

1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ) ブチルーグリセロ-3-ホスホコリンの NMR による特徴づけ:

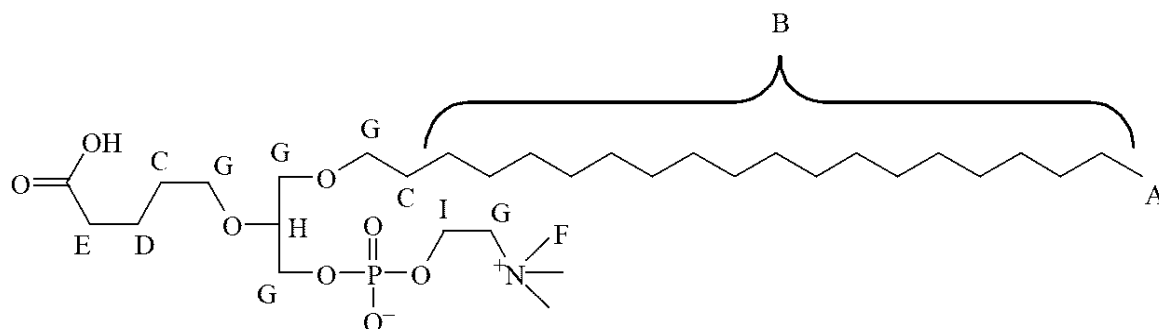
サンプルを数滴の重水素化メタノール (CD_3OD) とともに重水素化クロロホルム (CDCl_3) に溶解した。その後、スペクトルを 600 MHz で測定した。サンプルを ^1H -NMR 分光法および ^{13}C -NMR 分光法の両方によって測定した。

【0547】

結果は 1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ) ブチルーグリセロ-3-ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0548】

1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ) ブチルーグリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された ^1H ピークの帰属は下記の通りであった:



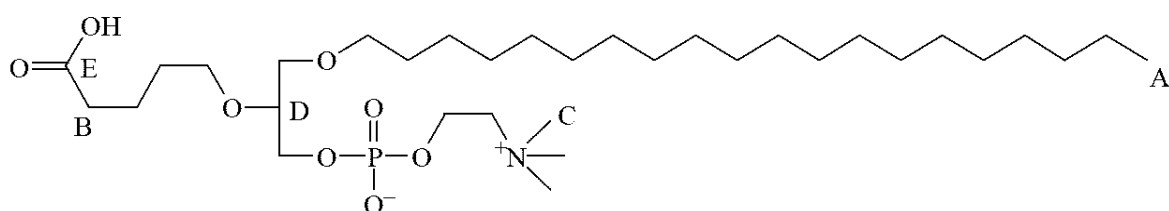
¹H NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 7.246 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.264	2 H, br, s	I
3.834 – 3.872	1 H, m	H
3.404 – 3.679	10 H, m, 5 x CH ₂	G
3.224	9 H, s, 3 x CH ₃	F
2.188	2 H, dt, J ₁ = 2.4 Hz, J ₂ = 7.2 Hz	E
1.503 – 1.561	2 H, m	D
1.431 – 1.465	2 H, m	C
1.359 – 1.394	2 H, m	C
1.095 – 1.136	34 H, m, 17 x CH ₂	B
0.716	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 7.2 Hz	A

10

【 0 5 4 9 】

1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された¹³Cピークの帰属は下記の通りであった：



20

¹³C NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 77.386 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
176.589	E
78.209 – 78.263	D
71.974	
70.467	
70.034	
66.615	
65.856 – 65.892	
59.151 – 59.183	
54.382	C
34.053	B
32.062	
29.835	
29.787	
29.736	
29.662	
29.490	
29.387	
26.190	
22.810	
22.023	
14.156	A

30

40

【 0 5 5 0 】

50

1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンの質量分析法による特徴づけ：

1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン ($C_{33}H_{68}NO_8P$) についての計算質量が 637.47 であった。

【0551】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[M-H]^-$ に対応する、 $m/z = 637$ を有する分子イオンを示した。

【0552】

加えて、正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI+MS) を使用して行われた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[M+H]^+$ に対応する、 $m/z = 638$ を有する分子イオンを示し、これには、カチオン化された分子イオン $[M+Na]^+$ に対応する、 $m/z = 660$ を有する分子イオンが付随した。

10

【0553】

したがって、MS スペクトルは 1-エイコサニル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

【0554】

チロシンリン酸化：

初代マクロファージにおけるインビトロでのチロシンリン酸化に対する CI-219 および CI-220 の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

20

【0555】

図 28 に示されるように、 $20 \mu g/ml$ の CI-219 による処理はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こし、これに対して、 $10 \mu g/ml$ の CI-219 による処理は、影響があるにしても、非常に小さかった。 $20 \mu g/ml$ の CI-219 の影響は、 $20 \mu g/ml$ の CI-201 の影響と類似していた。

【0556】

同様に、図 29 に示されるように、 $20 \mu g/ml$ の CI-220 による処理はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こし、これに対して、 $10 \mu g/ml$ の CI-220 による処理は、影響があるにしても、非常に小さかった。 $20 \mu g/ml$ の CI-220 の影響は、 $20 \mu g/ml$ の CI-201 の影響と類似していた。

30

【0557】

実施例 12

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスファート (CI-201-PA)

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスファートを、(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロールから本明細書中下記に記載されるように合成した。(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスファートが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロールが用いられる。

40

【0558】

(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロールおよび (R)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロールの合成が実施例 1 に記載される。

【0559】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスファートの合成：(S)-1-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール (1.44 g) (これは、実施例 1 に記載される手順に従って調製された) およびトリエチルアミン (1.5 ml) を THF (15 ml) に溶解した溶液

50

を、攪拌を行いながら、 POCl_3 (1 ml) を THF (15 ml) に溶解した氷冷溶液に 20 分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに 30 分間続け、室温でさらに 1 時間続けた。溶媒を減圧下で蒸発させた。得られた残渣を、飽和した重炭酸ナトリウムの氷冷された溶液 (100 ml) に溶解し、反応混合物を氷浴で 45 分間攪拌した。溶液の pH を HCl (32%) の添加によって 4~5 の範囲に調節した。混合物をクロロホルムにより抽出し (50 ml、3 回)、有機相を水 (50 ml) により洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。混合物をクロロホルムに溶解し、シリカゲル (30 グラム) で精製した。クロロホルム、それに続く、クロロホルムと、10%~50% のメタノールとの混合物を使用して、470 mg の純粋な 1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチルグリセロール-3-ホスファートを溶出した。

10

【0560】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチルグリセロール-3-ホスファート (CI-201-PA) の NMR による特徴づけ：

サンプルを重水素化クロロホルム (CDCl_3) に溶解した。その後、 ^1H -NMR スペクトルおよび ^{13}C -NMR スペクトルを 300 MHz で測定した。

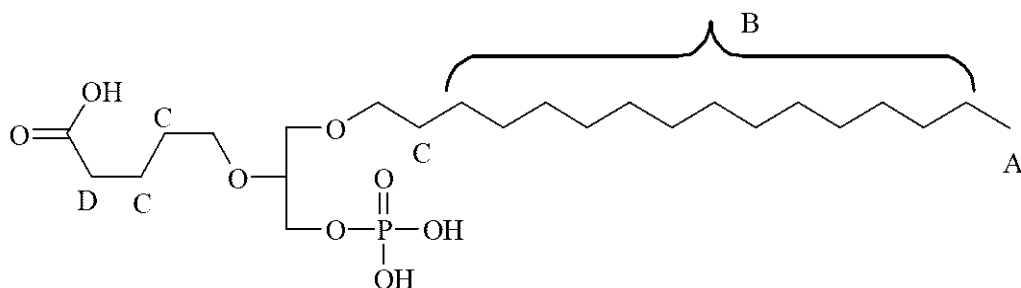
【0561】

結果は 1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチルグリセロール-3-ホスファートの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0562】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチルグリセロール-3-ホスファートの構造に従う、観測された ^1H ピークの帰属は下記の通りであった：

20



30

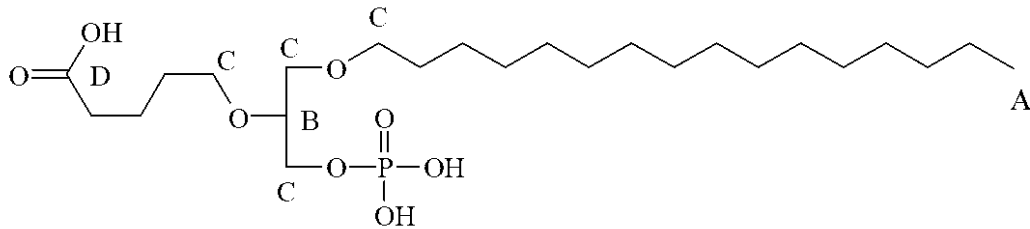
^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.29 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
3.900	2 H, m	
3.658 – 3.680	3 H, m, CH_2 and CH	
3.413	4 H, m, 2 x CH_2	
2.336	2 H, m	D
1.539- 1.609	6 H, m, 3 x CH_2	C
1.255	26 H, m, 13 x CH_2	B
0.880	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.75$ Hz	A

40

【0563】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチルグリセロール-3-ホスファートの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.113 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
178.54	D
78.057	B
71.791	C
70.624	C
69.837	C
65.271	C
33.931	
33.766	
31.970	
30.952	
29.775	
29.649	
29.413	
29.048	
26.156	
22.729	
21.571	
14.138	A

10

20

【0564】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスファートの質量分析法による特徴づけ：

30

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスファート ($\text{C}_{24}\text{H}_{49}\text{O}_8\text{P}$) についての計算質量が 496.3165 であった。

【0565】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化されたイオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 495$ を有する分子イオンを示した。したがって、MS スペクトルは 1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスファート (CI-201-PA) の化学構造と一致している。

【0566】

40

CI-201-PA の毒性：

CI-201-PA の毒性を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように評価した。

【0567】

図 30A および図 30B に示されるように、毒性が $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の用量で CI-201-PA について検出された。LD₅₀ がおよそ $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度では、毒性が 2 回の実験の一方でのみ認められた。

【0568】

実施例 13

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン

50

(1-S-CI-201) および 1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (1-S-CI-202)

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホコリンおよび 1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンを、(R)-2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノール p-トルエンスルホナートを出発物質として使用して本明細書中下記で記載されるように合成した。3-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-グリセロ-1-ホスホコリンおよび 3-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-グリセロ-1-ホスホエタノールアミンが、(S)-2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノール p-トルエンスルホナートを出発物質として使用して、同じ手順を使用して合成される。

10

【0569】

1-S-ヘキサデシル-sn-グリセロールの合成：48 ml の 1-ヘキサデカンチオールを 150 ml のベンゼンにおいて攪拌し、水を共沸蒸留によって除きながら還流した。溶媒の体積を徐々に減らして約 125 ml にした。エタノールにおけるナトリウムエチラート溶液の 58 ml を加え、混合物を窒素下で 30 分間攪拌した。100 ml の乾燥ベンゼンにおける 30 グラムの (R)-2, 2-ジメチル-1, 3-ジオキソラン-4-メタノール p-トルエンスルホナートを加え、混合物を 3 時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、室温で一晩攪拌した。反応混合物を水に注ぎ、150 ml のジエチルエーテルにより 3 回抽出した。有機相を 150 ml の水により 2 回洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を 9:1:0.5 (v/v) のメタノール：水：濃 HCl の混合物の 100 ml に溶解し、生じた溶液を 2 時間還流し、その後、室温に冷却した。反応混合物を水に注ぎ、200 ml のクロロホルムにより 3 回抽出し、その後、200 ml の水、200 ml の飽和重炭酸ナトリウム溶液、再び 200 ml の水により洗浄した。溶媒を減圧下で除き、これにより、70 グラムのオレンジ色の固体を得た。この残渣を 400 ml のヘキサンから 2 回再結晶して、30 グラムの 1-S-ヘキサデシル-sn-グリセロール (30 g) を白色の固体として得た。

20

【0570】

1-S-ヘキサデシル-3-トリチル-sn-グリセロールの合成：28 グラムの 1-S-ヘキサデシル-グリセロールおよび 31 グラムのクロロトリフェニルメタンを 370 ml の乾燥 THF および 100 ml の乾燥アセトニトリルの混合物に入れた。25 ml の乾燥トリエチルアミンを加え、反応混合物を 17 時間還流した。その後、反応混合物を室温に冷却し、氷 (1 キログラム) に注ぎ、分液漏斗に移し、200 ml のジエチルエーテルにより 3 回抽出した。有機相を 200 ml の水により、次いで 200 ml の希硫酸 (1.5%) により 2 回、次いで 200 ml の水により、次いで 200 ml の濃重炭酸ナトリウム溶液により、次いで 200 ml の水により洗浄した。その後、溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、60 グラムの褐色のオイルを得た。このオイルを 150 ml の酢酸エチルに溶解し、得られた溶液を -20 °C で一晩保った。その後、混合物を (-10 °C で) 遠心分離し、母液を捨てた。得られた固体を 4 °C でヘキサンから再結晶した。ろ過後、36 グラムの 1-S-ヘキサデシル-3-トリチル-sn-グリセロールを白色の固体として得た。

30

40

【0571】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-t-ブチル-カルボキシ) ブチル-sn-グリセロールの合成：10 グラムの 1-S-ヘキサデシル-3-トリチル-sn-グリセロールを 150 ml のベンゼンおよび 50 ml の石油エーテルの混合物に溶解し、その後、20.48 グラムの粉末化された KOH を加えた。反応混合物を攪拌し、還流した。10 ml の吉草酸 t-ブチルを 200 ml の石油エーテルに溶解した溶液を、形成される水を共沸蒸留によって除きながら約 10 時間かけて、還流された溶液に滴下により加えた。添加が完了した後、反応混合物をさらに 1 時間還流して、溶媒の体積を減らした。その後、反応混合物を室温に冷却し、100 ml の氷冷された水および 20 ml のギ酸の混合物を加えた

50

。その後、反応混合物を100mlのクロロホルムにより2回抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、15.65グラムの明褐色のオイルを得た。得られたオイルを160mlのメチルtert-ブチルエーテル(MTBE)および20mlのメタノールの混合物に溶解した。3mlの濃HClを加え、生じた溶液を4時間還流し、その後、室温に冷却し、室温で一晩攪拌した。反応混合物を100mlの炭酸ナトリウム飽和水溶液により洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いて、14.10グラムの明褐色のオイルを得た。このオイルをシリカゲルカラム(91グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。ヘキサン、それに続く、ヘキサンおよびクロロホルムの混合物、次いで、クロロホルムおよびアセトンの混合物を使用して、生成物をカラムから溶出した。溶媒を減圧下で除いて、6.84グラムの1-S-ヘキサデシル-2-(4-tert-ブチル-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールを得た。

10

【0572】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールの合成：6.84グラムの1-S-ヘキサデシル-2-(4-tert-ブチル-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールを80mlのエタノールに溶解した。3.7グラムのKOHを5mlの水に溶解した溶液を加え、混合物を攪拌し、6時間還流した。混合物を室温に冷却した後、16mlの水および100mlの8:2(v/v)のヘキサン：酢酸エチルの混合物を加えた。相を分離し、50mlの水および5mlのギ酸を有機相に加えた。クロロホルムにより抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除くことにより、3.89グラムの1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールを明褐色のオイルとして得た。

20

【0573】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロールの合成：3.89グラムの1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールを100mlのメタノールに溶解し、1mlの濃塩酸を加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌し、100mlのクロロホルムにより2回抽出した。有機相を50mlの水により2回洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、その後、溶媒を減圧下で除いて、3.75グラムの残渣を得た。この残渣をシリカゲルカラム(49グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。クロロホルム、それに続く、クロロホルムおよびアセトンの混合物を使用して、生成物をカラムから溶出した。溶媒を減圧下で除いて、2.94グラムの純粋な1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロールを得た。

30

【0574】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンの合成：2.83グラムの1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロールおよび1.7mlのトリエチルアミンを20mlのベンゼンおよび120mlのTHFの混合物に溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、1.14mlのPOCl₃および0.98mlのトリエチルアミンを20mlのTHFに溶解した氷冷溶液に60分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに10分間続け、室温でさらに45分間続けた。その後、1.02mlのエタノールアミンおよび2.8mlのトリエチルアミンを50mlのTHFに溶解した溶液を、氷冷された反応混合物に40分かけて滴下により加えた。攪拌を0℃で10分間続け、その後、室温で一晩続けた。その後、反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。残渣(4.23グラム)を48mlの酢酸および20mlの水の混合物に溶解し、70℃に1時間加熱した。その後、溶液は50mlの2:1(v/v)のクロロホルム：メタノールの混合物による3回の抽出を受けた。有機溶媒を減圧下で除いて、4.05グラムの粗1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンを得た。

40

【0575】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホ

50

エタノールアミンの合成：0.97グラムの1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを50mlのメタノールに溶解した。7mlの10%水酸化ナトリウム溶液を加え、得られた溶液を室温で8時間攪拌した。2mlのギ酸を加え、その後、混合物を50mlのクロロホルムにより3回抽出した。一緒にした有機溶媒を減圧下で除いて、0.70グラムのワックス状残渣を得た。この残渣をシリカゲル(32グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。クロロホルム、それに続く、クロロホルムおよびメタノールの混合物を使用して、生成物をカラムから溶出した。溶媒を減圧下で除いて、0.625グラムの純粋な1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(1-S-CI-202)を得た。

10

【0576】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(1-S-CI-202)のNMRによる特徴づけ：

サンプルを ^{13}C -NMR分光法によって測定した。

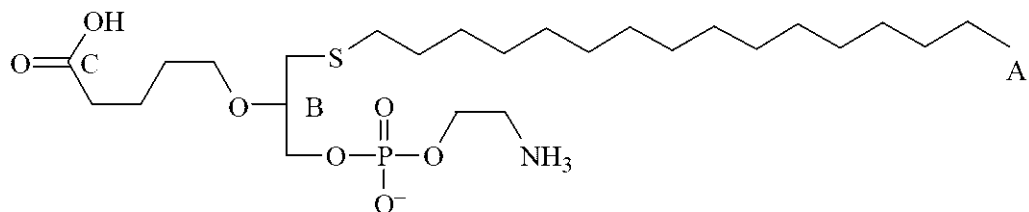
【0577】

結果は1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(1-S-CI-202)の構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0578】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(1-S-CI-202)の構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：

20



^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.724 ppm)

30

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
179.382	C
78.616	B
69.824	
66.630	
62.304	
53.954	
40.447	
35.308	
33.130	
32.680	
32.072	
29.877	
29.514	
29.165	
22.824	
22.277	
14.179	A

40

【0579】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(1-S-CI-201)の質量分析法による特徴づけ：

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(1-S-CI-201)の質量分析法による特徴づけ：

50

ールアミン ($C_{26}H_{54}NO_7PS$) についての計算質量が 555.75 であった。

【0580】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化されたイオン $[M-H]^-$ に対応する、 $m/z = 554$ を有する分子イオンを示した。

【0581】

正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI+MS) を使用して行われた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[M+H]^+$ に対応する、 $m/z = 556$ を有する分子イオン、および、カチオン化された分子イオン $[M+Na]^+$ に対応する、 $m/z = 578$ を有するイオンを示した。

10

【0582】

したがって、MS スペクトルは 1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン (1-S-CI-202) の化学構造と一致している。

【0583】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ) ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンの合成：3.48 グラムの 1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ) ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンを 35 ml のメタノールおよび 100 ml のジクロロメタンの混合物に溶解した。10 グラムの炭酸カリウムを 20 ml の水に溶解した溶液を加えた。その後、3.5 ml の硫酸ジメチルを加え、反応液を室温で一晩攪拌した。反応液の pH を 1 ml のギ酸の添加によって 4 に調節した。混合物を 75 ml の 2:1 (v/v) のクロロホルム：メタノールの混合物により 3 回抽出し、その後、溶媒を除くことにより、3.72 グラムの粗 1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ) ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを得た。

20

【0584】

(R)-1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンの合成：3.72 グラムの 1-S-ヘキサデシル-2-(4-メチルカルボキシ) ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを 100 ml のメタノールに溶解した。10 ml の 10% 水酸化ナトリウム溶液を加え、得られた溶液を室温で一晩攪拌した。1.2 ml のギ酸を加え、混合物を 100 ml の 2:1 (v/v) のクロロホルム：メタノールの混合物により 3 回抽出した。一緒にした有機溶媒を減圧下で除いて、2.92 グラムの残渣を得た。この残渣の 2.46 グラムをシリカゲル (54 グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。クロロホルムおよびヘキサンの混合物、それに続く、クロロホルム、次いで、クロロホルムおよびメタノールの混合物を使用して、生成物をカラムから溶出した。溶媒を減圧下で除いて、1.21 グラムの純粋な 1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリン (1-S-CI-201) を得た。

30

【0585】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン (1-S-CI-201) の NMR による特徴づけ：

40

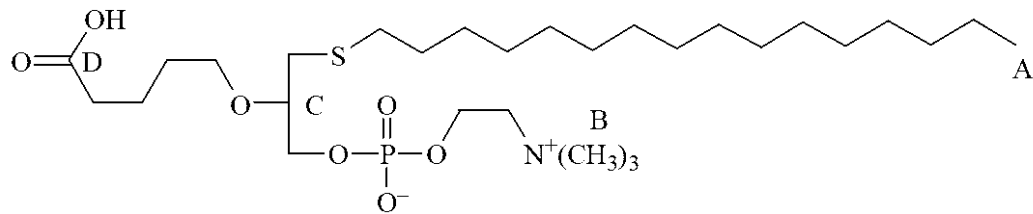
サンプルを ^{13}C -NMR 分光法によって測定した。

【0586】

結果は 1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン (1-S-CI-201) の構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0587】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ) ブチル-グリセロール-3-ホスホコリン (1-S-CI-201) の構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 75.948 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
175.904	D
76.958	C
68.150	
64.677-64.749	
57.613-57.676	
52.612	B
52.185	
33.133	
31.379	
31.076	
30.314	
28.096	
27.745	
27.345	
21.069	
20.499	
12.427	A

【0588】

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン(1-S-CI-201)の質量分析法による特徴づけ:

1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン($\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{NO}_7\text{PS}$)についての計算質量が597であった。

【0589】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法(ESI-MS)を使用して行われた質量スペクトルは、脱プロトン化されたイオン $[\text{M}-\text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 596$ を有する分子イオンを示した。

【0590】

正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法(ESI+MS)を使用して行われた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 598$ を有する分子イオン、および、カチオン化された分子イオン $[\text{M}+\text{Na}]^+$ に対応する、 $m/z = 620$ を有するイオンを示した。

【0591】

したがって、MSスペクトルは1-S-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン(1-S-CI-201)の化学構造と一致している。

【0592】

チロシンリン酸化:

初代マクロファージにおけるインビトロでのチロシンリン酸化に対する1-S-CI-201および1-S-CI-202の影響を本明細書中上記に記載されるように求めた。

【0593】

図31に示されるように、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($34\mu\text{M}$)の1-S-CI-201による処理は、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($34\mu\text{M}$)の陽性コントロールCI-201が引き起こしたように、ホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こした。しかしながら、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ ($17\mu\text{M}$)の1-S-CI-201による処理は、影響があるにしても、非常に小さく、これに対して、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ ($34\mu\text{M}$)のCI-201はホスホチロシンレベル

における増大を引き起こした。

【0594】

同様に、図32に示されるように、 $20\mu\text{g}/\text{ml}$ ($36\mu\text{M}$)の1-S-CI-202による処理はホスホチロシンレベルにおける低下を引き起こし、これに対して、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ ($18\mu\text{M}$)の1-S-CI-202による処理はホスホチロシンレベルにおける増大を引き起こした。これらの結果は、CI-201およびCI-202のそれぞれの $10\mu\text{g}/\text{ml}$ および $20\mu\text{g}/\text{ml}$ についてそれぞれ得られる結果と非常に類似していた。

【0595】

実施例14

1-ヘキサデシル-2-(5,6-ジヒドロキシ)ヘキサニル-グリセロール-3-ホスホコリン (di-OH)

(R)-1-ヘキサデシル-2-(5,6-ジヒドロキシ)ヘキサニル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを、(R)-(-)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを出発物質として使用して本明細書中下記に記載されるように合成した。

(S)-1-ヘキサデシル-2-(5,6-ジヒドロキシ)ヘキサニル-グリセロール-3-ホスホコリンが、(S)-(+)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを出発物質として使用して、同じ手順を使用して合成される。

【0596】

1-ヘキサデシル-sn-グリセロールの合成： 19.4ml の(R)-(-)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール、 49g の粉末化されたKOHおよび 4.8g の臭化ヘキサデシルを 500ml のトルエン(500ml)において攪拌し、6時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約 100ml にし、反応混合物を室温に冷却した。冷却された反応混合物を 500ml のジクロロメタンに溶解し、 200ml の水により2回洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を 500ml のメタノール：水：濃 H_2SO_4 の90:10:5 (v/v)混合物に溶解し、生じた溶液を30分間還流し、室温に冷却し、 500ml のジクロロメタンにより抽出した。抽出液を、中性になるまで、 100ml の水により2回、次いで 100ml の5%炭酸ナトリウム水溶液により、次いで再び 100ml の水により洗浄した。溶媒を減圧下で除き、粗生成物を 4°C でヘキサンから再結晶し、これにより、 35.3g の純粋な1-ヘキサデシル-sn-グリセロールを得た。収率が76%であった。

【0597】

1-ヘキサデシル-3-トリチル-sn-グリセロールの合成： 35.3g の1-ヘキサデシル-sn-グリセロール、 37.3g のトリフェニルクロロメタンおよび 22.44g の乾燥トリエチルアミンを 470ml の乾燥テトラヒドロフランおよび 120ml の乾燥アセトニトリルの混合物に溶解した溶液を、窒素雰囲気下、15時間還流した。室温に冷却した後、反応混合物をろ過した。ろ液を氷(500g)に注ぎ、その後、 200ml のクロロホルムにより3回抽出した。有機相を 500ml の水により、次いで 500ml の0.15N HClにより、次いで 500ml の飽和 NaHCO_3 水溶液により、次いで再び水により順次洗浄した。抽出液を Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。得られた黄色の残渣を 500ml の温ヘキサンに溶解し、得られた透明な溶液を一晩冷蔵した($5\pm3^\circ\text{C}$)。この期間中に、沈殿が生じた。沈殿物をろ過した後、ろ液からの溶媒を減圧下で除き、これにより、 58.3g の1-ヘキサデシル-3-トリチル-sn-グリセロールを得た。収率が95%であった。

【0598】

(S)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロールの合成： 36.3g の1-ヘキサデシル-3-トリチル-sn-グリセロールおよび 11.5g の5-ヘキセニル-メタンスルホナート(これは、乾燥ピリジンにおいて5-ヘキセン-1-オールおよびメタンスルホニルクロリドから調製された)を 500ml のトル

10

20

30

40

50

エンに溶解した。20グラムの粉末化されたKOHを加え、反応混合物を攪拌し、8時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約100mlにし、反応混合物を室温に冷却した。冷却された反応混合物を500mlのジクロロメタンに溶解し、200mlの水により2回洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。生じた1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチルグリセロールを500mlのメタノール：水：濃HCl(32%)の90：10：5(v/v)混合物に溶解し、得られた溶液を3時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、500mlの水を加え、その後、混合物を250mlのジクロロメタンにより3回抽出した。一緒にした有機相を100mlの水により2回洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を250mlのヘキサンに溶解し、得られた溶液を-20℃で48時間貯蔵し、これにより、トリフェニルカルビノールのほとんどを沈殿させた。ろ過し、溶媒をろ液から除いた後、残留する生成物をシリカゲルでのクロマトグラフィーによって精製した。11.65グラムの純粋な(S)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロールが1：1(v/v)のクロロホルム：石油エーテルにより溶出された。収率が45%であった。

【0599】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンの合成：11.65グラムの1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロールおよび3.23グラムのトリエチルアミンを650mlの乾燥THFに溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、5.34グラムのオキシ塩化リンを130mlのTHFに溶解した氷冷溶液に滴下により加えた。添加を、反応液における温度が15℃を超えないような速度で行った。攪拌を冷却とともにさらに10分間続け、室温でさらに45分間続けた。その後、反応混合物を氷浴で冷却し、2.10mlのエタノールアミンおよび9.73mlのトリエチルアミンをTHFに溶解した溶液を、攪拌を行いながら30分かけて滴下により加えた。攪拌を氷浴で20分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣(15.93グラム)を240mlの酢酸および100mlの水の混合物に溶解した。生じた溶液を70℃に1時間加熱し、室温に冷却し、250mlのクロロホルム：メタノールの2：1(v/v)混合物により2回抽出した。有機相からの溶媒を減圧下で除き、これにより、12.50グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンを得た。

【0600】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリンの合成：(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-3-ホスホエタノールアミンを650mlのイソプロパノールおよび220mlのジクロロメタンに溶解した。66.5グラムのK₂CO₃を130mlの水に溶解した溶液を加え、反応混合物を40℃に加熱した。13.3mlの硫酸ジメチルを130mlのイソプロパノールに溶解した溶液を、反応液における温度が35℃~40℃を超えないような速度で(45分かけて)滴下により加えた。添加が完了した後、攪拌を40℃で90分間続けた。その後、反応混合物を室温に冷却し、クロロホルム：メタノールの2：1(v/v)混合物の500mlにより3回抽出し、有機相からの溶媒を減圧下で除き、これにより、12.50グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリンを得た。

【0601】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(5,6-ジヒドロキシーヘキシル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリンの合成：8.57グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリンを80mlのギ酸に溶解した。18.7mlの30%過酸化水素を加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。250mlの水を加え、溶液を分液漏斗に移し、100mlのクロロホルム：メタノールの2：1(v/v)混合物により5回抽出した。有機相からの溶媒を減圧下で除き、得られた残渣を150mlのメタノールに溶解した。55mlの水酸化ナトリウム水溶液(10%)を加え、

10

20

30

40

50

反応混合物を室温で2時間攪拌した。150mlの水における3mlの濃HCl（32%）の冷混合物を加え、得られた溶液を分液漏斗に移し、生成物を100mlのクロロホルム：メタノールの2：1（v/v）混合物により5回抽出した。有機相からの溶媒を減圧下で除き、得られた粗生成物をシリカゲルでのクロマトグラフィーによって精製した。4.5グラムの純粋な（R）-1-ヘキサデシル-2-（5,6-ジヒドロキシ-ヘキシル）-sn-グリセロ-3-ホスホコリン（di-OH）が、クロロホルムと、4%～60%のメタノールとの混合物により溶出された。収率が50%であった。

【0602】

1-ヘキサデシル-2-（5,6-ジヒドロキシ-ヘキシル）-グリセロ-3-ホスホコリンのNMRによる特徴づけ：

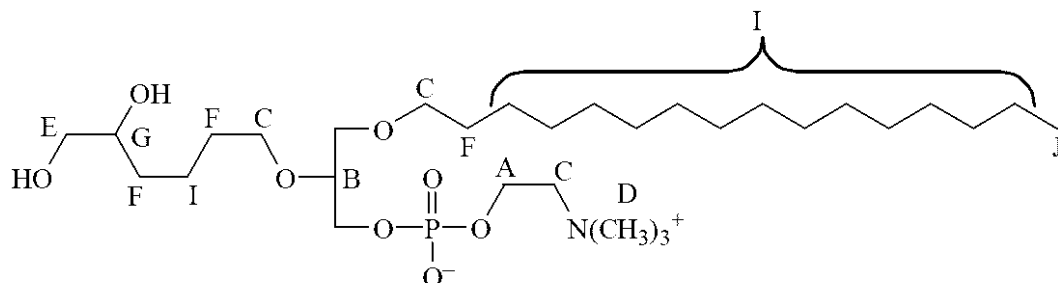
サンプルを重水素化クロロホルム（CDCl₃）に溶解した。¹H-NMRスペクトルおよび¹³C-NMRスペクトルを300MHzで測定した。

【0603】

結果は1-ヘキサデシル-2-（5,6-ジヒドロキシ）ヘキサニル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0604】

1-ヘキサデシル-2-（5,6-ジヒドロキシ）ヘキサニル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：

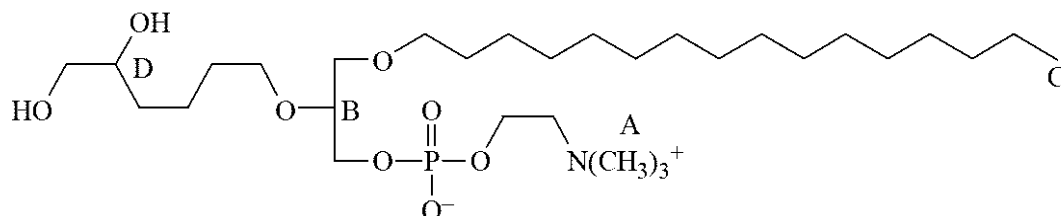


¹H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 7.299 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.300	2 H, br, s	A
3.930	2 H, m	E
3.880 – 3.898	1H, m	B
3.653 – 3.784	2 H, m	G
3.477 – 3.566	10 H, m, 5 x CH ₂	C
3.320	9 H, s, 3 x CH ₃	D
1.506-1.532	6H, m 3 x CH ₂	F
1.246	28 H, m, 14 x CH ₂	I
0.872	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.75 Hz	J

【0605】

1-ヘキサデシル-2-（5,6-ジヒドロキシ）ヘキサニル-グリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された¹³Cピークの帰属は下記の通りであった：



¹³C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 77.700 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
78.691	B
72.734	
72.443	D
70.993	
70.661	
67.645	
66.843	
66.690	
60.067	
55.007	A
33.669	
33.512	
32.612	
30.586	
30.411	
30.258	
30.051	
26.779	
23.373	
23.176	
14.800	C

10

20

【0606】

1-ヘキサデシル-2-(5, 6-ジヒドロキシ)ヘキサニル-グリセロール-3-ホスホコリンの質量分析法による特徴づけ：

1-ヘキサデシル-2-(5, 6-ジヒドロキシ)ヘキサニル-グリセロール-3-ホスホコリン (C₃₀H₆₄NO₈P) についての計算質量が597.4370であった。

【0607】

30

高速原子衝撃法 (FAB+) を使用して得られた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン [M+H]⁺ に対応する、m/z = 598.400 を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは1-ヘキサデシル-2-(5, 6-ジヒドロキシ)ヘキサニル-グリセロール-3-ホスホコリン (di-OH) の化学構造と一致している。

【0608】

di-OHの毒性：

di-OHの毒性を本明細書中上記で記載されるように評価した。

【0609】

図33Aおよび図33Bに示されるように、di-OHの毒性が20 μg/ml以上の用量で検出された。di-OHのLD₅₀は20 μg/ml ~ 50 μg/mlの間である。

40

【0610】

アテローム性動脈硬化性病変アッセイ：

アテローム性動脈硬化性病変に対するdi-OHのインビボ効力を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように、オスのLDL-RDマウスにおいて試験した。di-OHを1 mg/マウスの用量 (これは60 mg/kgの用量に等しい) で投与した。

【0611】

図34に示されるように、1 mg/マウスのdi-OHは、コントロール (PBS) と

50

比較したとき、アテローム性動脈硬化性病変の面積を25%減少させた。

【0612】

これらの結果は、di-OHがアテローム性動脈硬化に対して効果的であることを示している。

【0613】

実施例15

1-(cis-9-ヘキサデセニル)-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン

(R)-1-(cis-9-ヘキサデセニル)-2-(4-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリンを、(R)-(1)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを出発物質として使用して本明細書中下記に記載されるように合成した。(S)-1-(cis-9-ヘキサデセニル)-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホコリンが、(S)-(1)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを出発物質として使用して、同じ手順を使用して合成される。

【0614】

1-(cis-9-ヘキサデセニル)-sn-グリセロールの合成：5.32グラムの(R)-(1)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール、12.26グラムの粉末化された水酸化カリウムおよび10グラムのcis-9-ヘキサデセニル-メタンスルホナートを250mlのベンゼンにおいて攪拌し、10.5時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約50mlにした。反応混合物を室温に冷却し、50mlの水を加え、混合物を100mlのジエチルエーテルにより3回抽出した。一緒にした有機相を100mlの水により洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。残渣(12.01グラム)を200mlのメタノール：水：濃塩酸の90：10：3(v/v)混合物に溶解し、生じた溶液を室温で一晩攪拌し、その後、1時間還流した。室温に冷却した後、100mlの水を加えた。生成物を75mlのジエチルエーテルにより3回抽出し、100mlの水、100mlの重炭酸ナトリウム飽和水溶液、再び100mlの水により順次洗浄した。Na₂SO₄で乾燥した後、溶媒を減圧下で除き、これにより、9.104グラムの粗1-(cis-9-ヘキサデセニル)-sn-グリセロールを得た。粗生成物をシリカゲル(30グラム)のカラムでのクロマトグラフィーによって精製した。9.07グラムの純粋な1-(cis-9-ヘキサデセニル)-sn-グリセロールが、クロロホルム、それに続く、クロロホルムおよび5%メタノールの混合物によって溶出された。収率が91.8%であった。

【0615】

(S)-1-(cis-9-ヘキサデセニル)-3-トリチル-sn-グリセロールの合成：9.07グラムの1-(cis-9-ヘキサデセニル)-sn-グリセロールを乾燥THF(160ml)および乾燥アセトニトリル(40ml)の混合物に溶解した。10.52グラムのトリフェニルクロロメタンおよび10mlのトリエチルアミンを加え、反応混合物を15時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、氷(100グラム)に注ぎ、分液漏斗に移し、100mlのクロロホルムにより3回抽出した。有機相を、100mlの水、100mlの希硫酸(1.0%)、100mlの水、100mlの重炭酸ナトリウム飽和水溶液、再び100mlの水により順次洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を熱ヘキサン(100ml)に溶解し、生じた溶液を4℃で36時間冷却した。沈殿した副生成物をろ過し、溶媒を減圧下で除くことにより、14.57グラムの粗生成物を得た。粗生成物をシリカゲル(200グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。9.81グラムの純粋な1-(cis-9-ヘキサデセニル)-3-トリチル-sn-グリセロールがクロロホルムにより溶出された。収率が61.1%であった。

【0616】

(S)-1-(cis-9-ヘキサデセニル)-2-(4-tert-ブチル-カルボキシ)ブチル-sn-グリセロールの合成：8.83グラムの1-(cis-9-ヘキサ

デセニル) - 3 - トリチル - sn - グリセロールをベンゼン (170 ml) および石油エーテル (100 ml) の混合物に溶解した。粉末化された KOH (23.1 g) を加え、反応混合物を加熱して穏やかに還流した。吉草酸 tert - ブチル (20 ml) を石油エーテル (420 ml) に溶解した溶液を、形成される水を共沸蒸留によって除きながら 25 時間かけて滴下により加えた。室温に冷却した後、反応混合物の pH を、ギ酸 (10 ml) を加えることによっておよそ 6 に調節した。混合物をジエチルエーテルにより抽出し (100 ml、3 回)、有機相を水 (100 ml) により洗浄した。溶媒を減圧下で除くことにより、17.72 g のオイル状の生成物を得た。この残渣をメタノール (50 ml) に溶解し、4 ml の濃 HCl (32%) を加え、反応混合物を 5.5 時間還流した。室温に冷却した後、50 ml の水を加え、混合物をジエチルエーテルにより抽出した (50 ml、3 回)。一緒にした有機相を水 (50 ml) により洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、14.26 g の粗生成物を得た。2.93 g の純粋な 1 - (cis - 9 - ヘキサデセニル) - 2 - (4 - tert - ブチル - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロールがシリカゲル (110 g) でのクロマトグラフィーによって精製された。生成物が、クロロホルム : ヘキサンの混合物 (体積比で 1 : 1)、それに続く、クロロホルムと、3% に至るまでの酢酸エチルとの混合物により溶出された。所望される生成物を含有する分画物からの溶媒を減圧下で除いた。収率が 39.2% であった。

【0617】

(R) - 1 - (cis - 9 - ヘキサデセニル) - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロール - 3 - ホスホコリンの合成 : 1.59 g の (S) - 1 - (cis - 9 - ヘキサデセニル) - 2 - (4 - tert - ブチル - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロール (これはベンゼンとの共沸蒸留によって乾燥された) および 0.7 ml のトリエチルアミンを THF (45 ml) に溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、POCl₃ (0.5 ml) およびトリエチルアミン (0.05 ml) を THF (20 ml) に溶解した氷冷溶液に 18 分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに 10 分間続け、室温でさらに 45 分間続けた。反応混合物を氷浴で冷却し、エタノールアミン (0.38 ml) およびトリエチルアミン (3.25 ml) を THF (54 ml) に溶解した溶液を、攪拌を行いながら 65 分かけて滴下により加えた。攪拌を、冷却を行いながら 10 分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、THF により洗浄し (10 ml、2 回)、溶媒を減圧下で除いた。残渣 (2.1 g) を酢酸 (48 ml) および水 (20 ml) の混合物に溶解し、70 °C に 1 時間加熱した。ジエチルエーテルによる抽出 (50 ml、2 回)、水による洗浄 (50 ml、2 回)、および、減圧下での溶媒の除去により、2.15 g の粗生成物を明褐色のオイルとして得た。このオイルをメタノール (35 ml) およびジクロロメタン (100 ml) の混合物に溶解した。炭酸カリウム (10 g) を水 (20 ml) に溶解した溶液を加え、反応混合物を室温で 10 分間攪拌した。硫酸ジメチル (2.5 ml) を加え、反応混合物を室温で 6 時間攪拌した。さらに 1 ml の硫酸ジメチルを加え、反応混合物を室温で 48 時間攪拌した。混合物をクロロホルムにより抽出し (50 ml、3 回)、一緒にした有機相からの溶媒を減圧下で除いて、2.48 g のワックス状の生成物を得た。この残渣をメタノール (100 ml) に溶解し、水酸化リチウム (0.19 g) を水 (6 ml) に溶解した溶液 (pH 11) を加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物の pH を、ギ酸を加えることによって 4 ~ 5 に調節し、その後、混合物をクロロホルムにより抽出した (100 ml、3 回)。一緒にした有機相からの溶媒を減圧下で除いた。薄層クロマトグラフィーによる分析は約 60% の転換率を示した。得られた残渣をエタノール (100 ml) に溶解し、水酸化リチウム (0.2 g) を水 (5 ml) に溶解した溶液 (pH 11) を加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物の pH を、ギ酸 (0.22 ml) を加えることによって 4 ~ 5 に調節し、その後、混合物を 2 : 1 (v/v) のクロロホルム : メタノールより抽出した (100 ml、3 回)。一緒にした有機相を無水 Na₂SO₄ で乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、2.18 g の粗生成物を得た。1.14 g の純粋な (R) - 1 - (cis - 9 - ヘキサデセニル) - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グ

10

20

30

40

50

リセロー３－ホスホコリンが、クロロホルム、それに続く、クロロホルムと、１０％～８０％のメタノールとの混合物により溶出された。

【０６１８】

１－（*c i s*－９－ヘキサデセニル）－２－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロー３－ホスホコリンのＮＭＲによる特徴づけ：

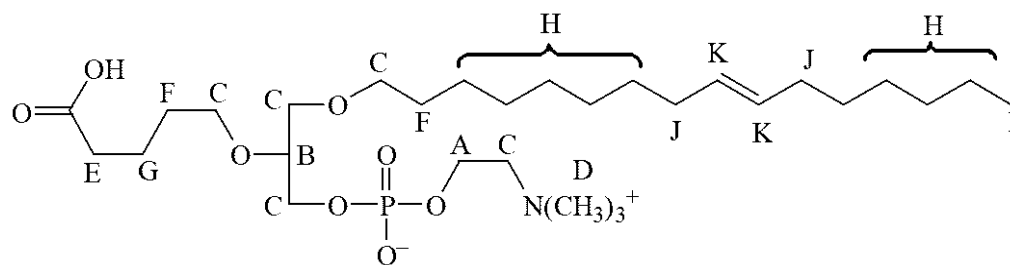
サンプルを重水素化クロロホルム（ CDCl_3 ）に溶解した。 ^1H －ＮＭＲスペクトルおよび ^{13}C －ＮＭＲスペクトルを３００ＭＨｚで測定した。

【０６１９】

結果は１－（*c i s*－９－ヘキサデセニル）－２－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロー３－ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、１－（*c i s*－９－ヘキサデセニル）－２－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロー３－ホスホコリンの構造を完全に裏付けた。

【０６２０】

１－（*c i s*－９－ヘキサデセニル）－２－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロー３－ホスホコリンの構造に従う、観測された ^1H ピークの帰属は下記の通りであった：



^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.26 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
5.340	2 H vinyl, dt, $J_1 = 3.9\text{Hz}$, $J_2 = 1.5\text{Hz}$	K
3.896	2 H, m	A
3.690	1H, m	B
3.400 - 3.626	10 H, m, 5 x CH_2	C
3.307	9 H, s, 3 x CH_3	D
2.335	2 H, t = 6.9 Hz	E
1.983 – 2.023	4 H, allyl	J
1.6576 – 1.721	2 H, m	G
1.526 – 1.622	4 H, m, 2 x CH_2	F
1.288	18 H, m, 9 x CH_2	H
0.884	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 7.2\text{Hz}$	I

【０６２１】

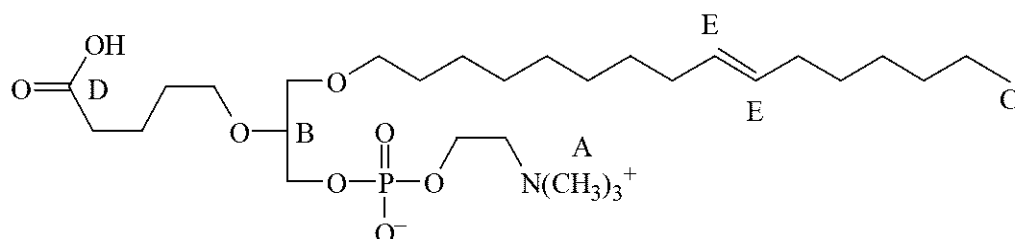
１－（*c i s*－９－ヘキサデセニル）－２－（４－カルボキシ）ブチル－グリセロー３－ホスホコリンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：

10

20

30

40



^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.257 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
178.41	D
130.02	E
129.87	E
77.876	B
71.868	
70.200	
69.940	
65.439	
65.368	
52.725	A
33.896	
31.854	
29.838	
29.799	
29.669	
29.609	
29.568	
29.361	
29.146	
29.049	
27.273	
26.139	
22.724	
21.514	
14.137	C

【0622】

1-(cis-9-ヘキサデセニル)-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの質量分析法による特徴づけ：

1-(cis-9-ヘキサデセニル)-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリン ($\text{C}_{29}\text{H}_{58}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が 579.3900 であった。

【0623】

高速原子衝撃法 (FAB+) を使用して得られた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 580.3995$ を有する分子イオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは 1-(cis-9-ヘキサデセニル)-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

【0624】

実施例 16

(S) - 1 - ヘキサデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロール

(S) - 1 - ヘキサデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - sn - グリセロールを、
(R) - (-) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールを出発物質
として使用して実施例 1 で記載されるように合成した。(S) - (+) - 2, 2 - ジメチル - 1, 3 - ジオキソラン - 4 - メタノールを出発物質として使用する (R) - 1 - ヘキサデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロールの合成もまた、実施例 1 に記載される。

【0625】

(S) - 1 - ヘキサデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロールの NMR に
よる特徴づけ：

サンプルを数滴の重水素化メタノール (CD_3OD) とともに重水素化クロロホルム (CDCl_3) に溶解した。その後、スペクトルを 600 MHz で測定した。サンプルを ^1H - NMR 分光法および ^{13}C - NMR 分光法の両方によって測定した。

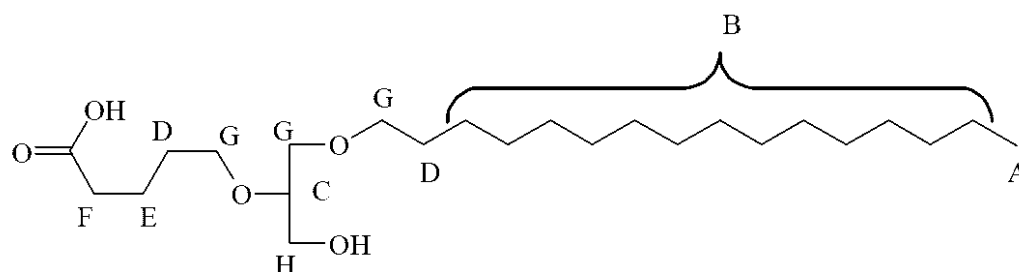
【0626】

結果は 1 - ヘキサデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロールの構造要素に
ついての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0627】

1 - ヘキサデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロールの構造に従う、観測
された ^1H ピークの帰属は下記の通りであった：

^1H NMR



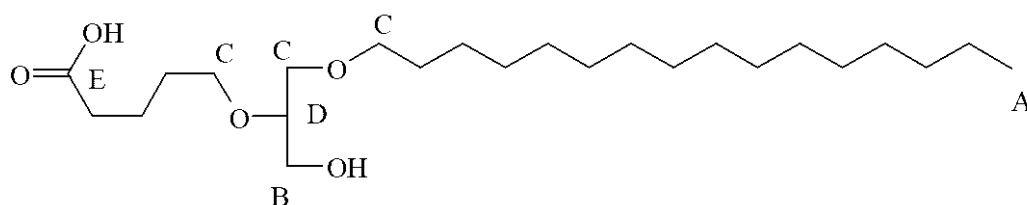
^1H NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.26 ppm)

δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
3.721	1 H, m	C
3.655	2 H, m	H
3.480 - 3.573	4 H, m, 2 x CH_2	G
3.431	2 H, m	G
2.403	2 H, t, $J = 7.2$ Hz	F
1.750	2 H, tt, CH_2	E
1.653	2 H, tt, CH_2	D
1.555	2 H, tt, CH_2	D
1.254	26 H, m, 13 x CH_2	B
0.880	3 H, t, 1 x CH_3 , $J = 7.2$ Hz	A

【0628】

^{13}C - NMR

1 - ヘキサデシル - 2 - (4 - カルボキシ) ブチル - グリセロールの構造に従う、観測
された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



^{13}C NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.014 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
176.95	E
78.495	D
71.914	
70.921	
69.685	C
63.068	B
33.302	
31.937	
29.708	
29.682	
29.633	
29.609	
29.473	
29.372	
29.242	
26.099	
22.701	
21.609	
14.127	A

【0629】

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロールの質量分析法による特徴づけ：

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール ($\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{O}_5$) についての計算質量が416.635であった。

【0630】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI+-MS) を使用して行われた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 417.0$ を有する分子イオンを示した。したがって、MSスペクトルは1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロールの化学構造と一致している。

【0631】

実施例17

1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジメトキシペンチル)-グリセロ-3-ホスホコリン (diMeAc) および1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジエトキシペンチル)-グリセロ-3-ホスホコリン (diEtAc)

(R)-1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジエトキシペンチル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリンおよび(R)-1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジメトキシペンチル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリンを、本明細書中下記で記載されるように(R)-1-ヘキサデシル-2-(5, 6-ジヒドロキシヘキサニル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリンから調製した。同じ手順を使用して、(S)-1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジエトキシペンチル)-グリセロ-3-ホスホコリンおよび(S)-1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジメトキシペンチル)-グリセロ-3-ホスホコリンが(S)-1-ヘキサデシル-2-(5, 6-ジヒドロキシヘキサニル)-グリセロ-3-ホスホコリンから調製される。

【0632】

(R)－1－ヘキサデシル－2－(5, 6－ジヒドロキシヘキサニル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリンおよび(S)－1－ヘキサデシル－2－(5, 6－ジヒドロキシヘキサニル)－グリセロ－3－ホスホコリンの合成が実施例14に記載される。

【0633】

(R)－1－ヘキサデシル－2－(5'－オキソペンチル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリンの合成：2グラムの過ヨウ素酸ナトリウムを、(R)－1－ヘキサデシル－2－(5', 6'－ジヒドロキシヘキサニル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリン(2グラム)を水(200ml)に溶解した氷冷溶液に加え、反応混合物を冷却とともに30分間攪拌し、室温で一晩攪拌した。反応混合物を分液漏斗に移し、クロロホルム：メタノールの2：1(v/v)混合物により抽出し(100ml, 3回)、一緒にした有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、無水Na₂SO₄で乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除いた。得られた粗生成物をシリカゲル(21グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。1.2グラムの純粋な(R)－1－ヘキサデシル－2－(5'－オキソペンチル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリンが、クロロホルム、それに続く、クロロホルムと、40%～60%のメタノールとの混合物により溶出された。収率が63%であった。

【0634】

(R)－1－ヘキサデシル－2－(5', 5'－ジエトキシペンチル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリン(dietAc)の合成：反応を窒素下で行った。(R)－1－ヘキサデシル－2－(5'－オキソペンチル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリン(50mg, 0.088mmol)をエタノール(10ml)に溶解した。オルトギ酸トリエチル(0.053ml, 0.0476グラム, 0.32mmol)および3滴の濃硫酸(95%～97%)を加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物を、ジクロロメタン(75ml)の助けをかりて分液漏斗に移した。溶液を、水(75ml)、2.5%重炭酸ナトリウム水溶液(75ml)および水(75ml)により順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒をろ過し、減圧下で除くことにより、50mgの(R)－1－ヘキサデシル－2－(5', 5'－ジエトキシペンチル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリンを得た。収率が88.4%であった。

【0635】

(R)－1－ヘキサデシル－2－(5', 5'－ジメトキシペンチル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリン(dimAc)の合成：反応を窒素下で行った。(R)－1－ヘキサデシル－2－(5'－オキソペンチル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリン(55mg, 0.097mmol)をメタノール(10ml)に溶解した。オルトギ酸トリメチル(0.043ml, 0.0414グラム, 0.39mmol)および3滴の濃硫酸(95%～97%)を加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。ジクロロメタン(75ml)を加え、反応混合物を分液漏斗に移した。溶液を、水(75ml)、2.5%重炭酸ナトリウム水溶液(75ml)、再び水(75ml)により順次洗浄した。無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除くことにより、36.8mgの(R)－1－ヘキサデシル－2－(5', 5'－ジメトキシペンチル)－sn－グリセロ－3－ホスホコリンを得た。収率が62%であった。

【0636】

1－ヘキサデシル－2－(5', 5'－ジエトキシペンチル)－グリセロ－3－ホスホコリン(DietAc)のNMRによる特徴づけ：

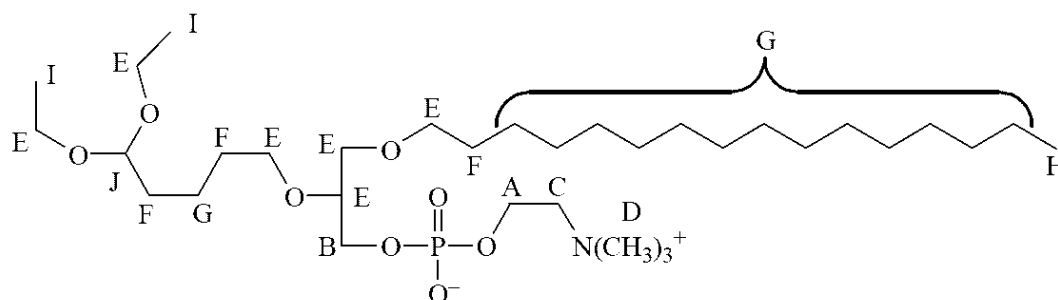
サンプルを重水素化クロロホルム(CDCl₃)に溶解した。¹H-NMRスペクトルおよび¹³C-NMRスペクトルを300MHzで測定した。

【0637】

結果は1－ヘキサデシル－2－(5', 5'－ジエトキシペンチル)－グリセロ－3－ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0638】

1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジエトキシペンチル)-グリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：



10

¹H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl₃) = 7.270 ppm)

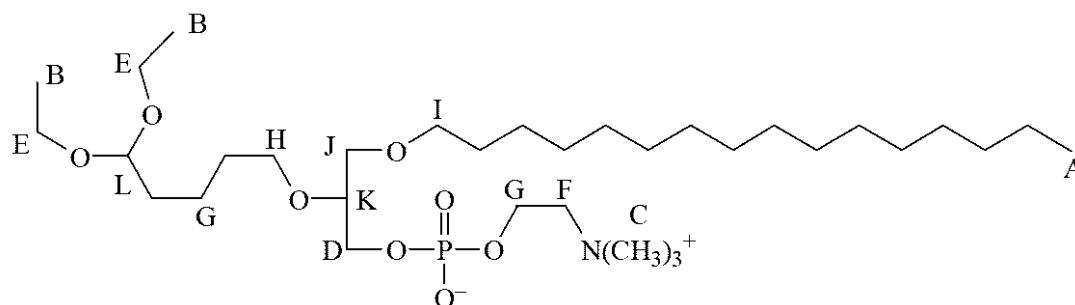
δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.459	1 H, t, J = 5.6 Hz	J
4.309	2H, br, s	A
3.859	2H, t, J = 5.4 Hz	C
3.808	2H, br, s	B
3.430-3.679	11H, m, 5 x CH ₂ + CH	E
3.388	9H, s, 3 x CH ₃	D
1.509-1.587	6H, m	F
1.256	28H, 14 x CH ₂	G
1.195	6H, t, 2 x CH ₃ , J = 7.05 Hz	I
0.881	3 H, t, 1 x CH ₃ , J = 6.6 Hz	H

20

【0639】

1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジエトキシペンチル)-グリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された¹³Cピークの帰属は下記の通りであった：

30



40

^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.0046 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
102.980	L
78.2741	K
71.7498	J
71.0295	I
70.2381	H
65.5827	G
64.9656	F
61.0510	E
59.1392	D
54.6214	C
33.5956	
31.9161	
30.0866	
29.8112	
29.7010	
29.3441	
26.1672	
22.6671	
21.3484	
15.3929	B
14.0619	A

10

20

【0640】

1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジエトキシペンチル)-グリセロール-3-ホスホコリン (D i E t A c) の質量分析法による特徴づけ:

1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジエトキシペンチル)-グリセロール-3-ホスホコリン ($\text{C}_{33}\text{H}_{70}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が639.88であった。

【0641】

30

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI+-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[\text{M}+\text{H}]^+$ に対応する、 $m/z = 640$ を有する分子イオン (これには、カチオン化された分子イオン $[\text{M}+\text{Na}]^+$ に対応する、 $m/z = 662$ を有するイオンが付随する)、および、脱エトキシ化された分子イオン $[\text{M}-\text{OEt}]^+$ に対応する、 $m/z = 594$ を有するイオンを示した。したがって、質量分析法によるスペクトルは1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジエトキシペンチル)-グリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

【0642】

1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジメトキシペンチル)-グリセロール-3-ホスホコリン (D i M e A c) のNMRによる特徴づけ:

40

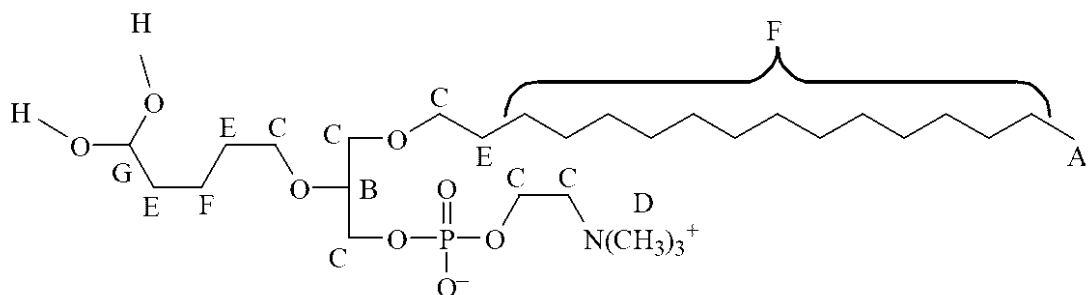
サンプルを重水素化クロロホルム (CDCl_3) に溶解した。 ^1H -NMRスペクトルおよび ^{13}C -NMRスペクトルを300MHzで測定した。

【0643】

結果は1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジメトキシペンチル)-グリセロール-3-ホスホコリン (D i M e A c) の構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0644】

1-ヘキサデシル-2-(5', 5'-ジメトキシペンチル)-グリセロール-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された ^1H ピークの帰属は下記の通りであった:



^1H NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.28 ppm)

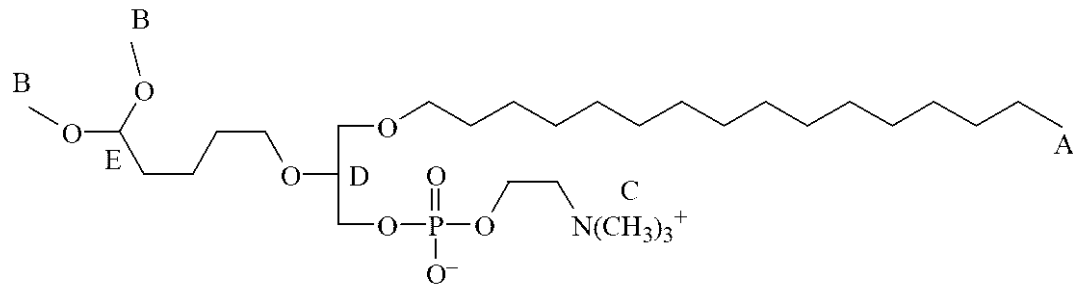
δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.337	1 H, t, $J = 5.7$ Hz	G
3.855	2H, br, s	A
3.834 – 3.855	4H, m, 2 x CH_2	C
3.703	1H, m	B
3.529 – 3.591	4H, m	C
3.430-3.464	2H, m, CH_2	C
3.388	9H, s, 3 x CH_3	D
3.302	6H, s, 2 x CH_3	H
1.506-1.605	6H, m	E
1.256	28H, 14 x CH_2	F
0.880	3H, t, 1 x CH_3 , $J = 6.9$ Hz	A

【0645】

1-ヘキサデシル-2-(5',5'-ジメトキシペンチル)-グリセロール-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：

10

20



^{13}C NMR (300 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.000 ppm)

10

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
104.50	E
78.133	D
71.686	
70.845	
70.121	
66.330	
64.974	
59.187	
54.411	C
52.721	B
52.692	B
32.324	
31.884	
29.963	
29.756	
29.554	
29.320	
26.112	
25.348	
22.646	
21.165	
14.071	A

20

30

【0646】

アテローム性動脈硬化性病変アッセイ：

アテローム性動脈硬化性病変に対する diMeAc のインビボ効力を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように、 $\text{ApoE}^{-/-}$ マウスにおいて試験した。 diMeAc を $1\text{ mg}/\text{マウスの用量}$ (これは $40\text{ mg}/\text{kg}$ の用量に等しい) で投与した。

【0647】

40

図35に示されるように、 $1\text{ mg}/\text{マウスの}$ diMeAc は、コントロール (PBS) と比較したとき、アテローム性動脈硬化性病変の面積を 23% 減少させた。

【0648】

これらの結果は、 diMeAc がアテローム性動脈硬化に対して効果的であることを示している。

【0649】

diEtAc の毒性：

diEtAc の毒性を本明細書中上記で記載されるように評価した。

【0650】

図36Aおよび図36Bに示されるように、 diEtAc は $20\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の用量

50

で毒性を示した。d i E t A c の LD_{50} は $20 \mu g/ml \sim 50 \mu g/ml$ の間である。 $10 \mu g/ml$ の濃度において、毒性が2回の実験の1回のみで認められた。

【0651】

実施例18

1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホセリン(VB-223)

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホセリンを、本明細書中下記で記載されるように(S)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロールから調製した。同じ手順を使用して、(S)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-グリセロール-3-ホスホセリンが(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-グリセロールから調製される。

10

【0652】

(S)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロールおよび(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-グリセロールの合成が実施例14に記載される。

【0653】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロール-3-ホスファートの合成：1.0グラムの(S)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-グリセロール(これはベンゼンとの共沸蒸留によって乾燥された)および乾燥ピリジン(1ml)をTHF(60ml)に溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、POCl₃(0.3ml)をTHF(12ml)に溶解した氷冷溶液に滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに3時間続けた。冷却された反応混合物に、重炭酸ナトリウム(2.44グラム)を水(24ml)に溶解した溶液を加え、混合物を氷浴でさらに30分間攪拌した。反応混合物のpHを、10%塩酸をゆっくり加えることによっておよそ1に調節した。ジエチルエーテルにより抽出し(150ml、3回)、一緒にした有機相を水により洗浄し(150ml、2回)、無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除くことにより、1.43グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロール-3-ホスファートを得た。

20

【0654】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロール-3-ホスホ-N-ボクセル-セリン-ベンズヒドリルエステルの合成：1.30グラムの(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロール-3-ホスファートおよび0.95グラムのN-ボクセル-セリン-ベンズヒドリルエステル(これはデシケーターにおいてP₂O₅により乾燥された)をピリジン(30ml)に溶解した。2, 4, 6-トリイソプロピルベンゼンスルホンクロリド(2.99グラム)を加え、反応混合物を窒素下において室温で20時間攪拌した。水(50ml)を加え、混合物を分液漏斗に移した。抽出をヘキサン：酢酸エチルの8：2(v/v)混合物により行い(50ml、3回)、一緒にした有機相を無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をヘキサン：酢酸エチルの8：2(v/v)混合物(50ml)に溶解し、冷却された希酢酸(5%)により洗浄した。その後、溶媒を減圧下で除き、これにより、1.33グラムの粗(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロール-3-ホスホ-N-ボクセル-セリン-ベンズヒドリルエステルを得た。

30

40

【0655】

(R)-1-ヘキサデシル-2-(4-カルボニル)ブチル-sn-グリセロール-3-ホスホ-N-ボクセル-セリン-ベンズヒドリルエステルの合成：過ヨウ素酸ナトリウム(3.0グラム)、過マンガン酸カリウム(0.05グラム)、炭酸ナトリウム(0.15グラム)および炭酸カリウム(0.03グラム)を水(100ml)に溶解した。この溶液に、(R)-1-ヘキサデシル-2-(5'-ヘキセニル)-sn-グリセロール-3-ホスホ-N-ボクセル-セリン-ベンズヒドリルエステル(0.90グラム)をtert-ブタノール(100ml)に溶解した溶液を室温で30分かけて滴下により加えた。

50

添加が完了した後、反応混合物を室温で2時間攪拌した。さらなる量の過マンガン酸カリウム（0.02グラム）を加え、反応混合物を90分間攪拌した。リン酸二水素ナトリウム（10グラム）を水（100ml）に溶解した溶液を加え、反応混合物をクロロホルムにより抽出した（100ml、3回）。一緒にした有機相をブライン（100ml）により洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、1.02グラムの粗（R）-1-ヘキサデシル-2-（4-カルボニル）ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホ-N-Boc-L-セリン-ベンズヒドリルエステルを得た。

【0656】

（R）-1-ヘキサデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリン（VB-223）の合成：1.02グラムの（R）-1-ヘキサデシル-2-（4-カルボニル）ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホ-N-Boc-L-セリン-ベンズヒドリルエステルをジクロロメタン（100ml）に溶解した。この溶液を氷浴で冷却し、HClガスで30分間飽和させた。反応混合物をさらに1時間攪拌した。その後、反応混合物をリン酸二水素ナトリウムの水溶液の添加によって中和し、その後、クロロホルム：メタノールの2：1（v/v）混合物により抽出した（100ml、3回）。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥し、溶媒を減圧下で除いた。得られた粗生成物（0.72グラム）をシリカゲル（12.60グラム）でのクロマトグラフィーによって精製した。0.60グラムの純粋な（R）-1-ヘキサデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホ-L-セリンが、ヘキサン：クロロホルムの1：1（v/v）混合物、それに続く、クロロホルム、次いで、クロロホルムと、10%メタノールとの混合物により溶出された。

【0657】

チロシンリン酸化：

初代マクロファージにおけるインビトロでのチロシンリン酸化に対するVB-223の影響を本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0658】

図37に示されるように、5μg/ml、10μg/mlおよび20μg/ml（8.3μM、16.7μMおよび33.3μM）のVB-223による処理、ならびに、もしかすると、1μg/ml（1.7μM）のVB-223による処理もまた、チロシンリン酸化の誘導を生じさせる。

【0659】

実施例18

1-（2-オクチル）ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-グリセロ-3-ホスホコリン（VB-221）および1-（2-オクチル）ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン（VB-222）

（R）-1-（2-オクチル）ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンおよび（R）-1-（2-オクチル）ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-sn-グリセロ-3-ホスホコリンを、（R）-（-）-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールを出発物質として使用して本明細書中下記で記載されるように合成した。（S）-1-（2-オクチル）ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンおよび（S）-1-（2-オクチル）ドデシル-2-（4-カルボキシ）ブチル-グリセロ-3-ホスホコリンが、同じ手順を使用して合成され、しかし、この場合には、（S）-（+）-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノールが出発物質として用いられる。

【0660】

メタンスルホン酸2-オクチルドデシルエステル：2-オクチル-1-ドデカノール（20ml、56.14mmol）および無水トリエチルアミン（16ml、112.28mmol）を乾燥ジクロロメタン（60ml）に溶解した。この溶液を0℃に冷却し、乾燥ジクロロメタン（40ml）におけるメタンスルホンクロリド（5.2ml、67.36mmol）を滴下により加えた。添加が完了した後、混合物を0℃で3時間攪拌し

10

20

30

40

50

、その後、一晚冷蔵した（ $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ ）。反応混合物を氷（ 500g ）に注ぎ、室温に加温し、エーテルにより抽出した（ 150ml 、3回）。有機相を、水（ 150ml ）、 $2\%\text{H}_2\text{SO}_4$ （ 150ml ）、水（ 150ml ）、飽和重炭酸ナトリウム（ 150ml ）、再び水（ 150ml ）により順次洗浄した。有機相を無水 Na_2SO_4 で乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、 22.8g のメタンスルホン酸2-オクチルードデシルエステルを黄色のオイルとして得た。

【0661】

1-（2-オクチル）ドデシルグリセロール：（R）-（-）-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール（ 8.3ml 、 66.59mmol ）、粉末化された水酸化カリウム（ 12g ）およびメタンスルホン酸2-オクチルードデシルエステル（ 22.77g 、 60.50mmol ）をベンゼン（ 250ml ）において攪拌し、5時間還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約 150ml にした。反応混合物を室温に冷却し、室温で一晩攪拌した。 200ml の水を加え、混合物をジエチルエーテルにより抽出した（ 200ml 、3回）。一緒にした有機相を水（ 200ml ）により洗浄し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を 105ml のメタノール：水：濃塩酸の $90:10:5$ （ v/v ）混合物に溶解し、生じた溶液を30分間還流した。溶液を室温に冷却した後、水（ 100ml ）を加えた。生成物をクロロホルムにより抽出し（ 100ml 、3回）、水（ 150ml ）、炭酸ナトリウム飽和水溶液（ 100ml ）、再び水（ 100ml ）により順次洗浄した。溶媒を減圧下で除き、粗生成物をシリカゲル（ 400g ）のカラムでのクロマトグラフィーによって精製した。 17g の純粋な1-（2-オクチル）ドデシルグリセロールが、クロロホルム、それに続く、クロロホルムおよび $10\%\sim 30\%$ の酢酸エチルの混合物によって、無色のオイルとして溶出された。収率が 75.5% であった。

【0662】

（S）-1-（2-オクチル）ドデシル-3-トリチルグリセロール： 17g の1-（2-オクチル）ドデシルグリセロール（これはベンゼンとの共沸蒸留によって乾燥された）を乾燥THF（ 400ml ）および乾燥アセトニトリル（ 160ml ）の混合物に溶解した。トリフェニルクロロメタン（ 15.8g ）および乾燥トリエチルアミン（ 14ml ）を加え、反応混合物を17時間還流した。反応混合物を室温に冷却し、氷（ 1kg ）に注ぎ、分液漏斗に移し、ジエチルエーテルにより抽出した（ 200ml 、3回）。一緒にした有機相を、水（ 200ml ）、希 H_2SO_4 （ 1.5% ）（ 100ml 、2回）、水（ 200ml ）、濃重炭酸ナトリウム水溶液（ 200ml ）、再び水（ 200ml ）により順次洗浄した。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除き、得られた粗生成物をシリカゲル（ 350g ）のカラムでのクロマトグラフィーによって精製した。 26g の純粋な（S）-1-（2-オクチル）ドデシル-3-トリチルグリセロールが、ヘキサン、それに続く、ヘキサンおよびクロロホルム（ $50\%\sim 100\%$ ）の混合物によって、黄色のオイルとして溶出された。収率が 92.7% であった。

【0663】

1-（2-オクチル）ドデシル-2-（5'-ヘキセニル）-3-トリチルグリセロール：1-（2-オクチル）ドデシル-3-トリチルグリセロール（ 26g 、 42.28mmol ）および5-ヘキセニル-1-メタンスルホナート（ 9.4g 、 50.73mmol ）をベンゼン（ 150ml ）に溶解した。粉末化された KOH （ 17g ）を加え、反応混合物を5.5時間にわたって加熱還流した。その間、形成される水を共沸蒸留によって除いた。溶媒の体積を徐々に減らして約 50ml にした。反応混合物を室温に冷却した後、 200ml の水を加え、混合物をジエチルエーテルにより抽出した（ 100ml 、3回）。一緒にした有機相をブラインにより洗浄し（ 100ml 、3回）、溶媒を減圧下で除き、これにより、 22.8g の粗生成物を得た。 21g の純粋な1-（2-オクチル）ドデシル-2-（5'-ヘキセニル）-3-トリチルグリセロールが、粗生成物をシリカゲル（ 300g ）でのクロマトグラフィーによって精製す

ることによって得られた。生成物が、黄色のオイルとして、クロロホルムにより溶出された。収率が71.2%であった。

【0664】

(S)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール：過ヨウ素酸ナトリウム(58グラム)、過マンガン酸カリウム(960mg)および炭酸カリウム(7グラム)を水(250ml)に懸濁した。1-(2-オクチル)ドデシル-2-(5'-ヘキセニル)-3-トリチル-グリセロール(21グラム)をtert-ブタノール(250ml)に溶解した溶液を2.5時間かけて滴下により加えた。その後、反応混合物を一晩攪拌した(過マンガン酸塩溶液を、ピンク色を維持するために必要に応じて加えた)。混合物をセライトのパッドでろ過し、セライトのパッドをtert-ブタノールによりさらに洗浄した。10mlの硫酸(10%)を滴下により加え、その後、得られた溶液をヘキサンにより抽出した(200ml、3回)。一緒にした有機相を、重亜硫酸ナトリウム(20グラム)を水(100ml)に溶解した溶液により2回洗浄し、次いで水(200ml)により洗浄した。溶媒を減圧下で濃縮して、150mlの体積にした。20mlの水および5mlの濃HClを加え、得られた混合物を6時間還流した。混合物を室温に冷却した後、溶媒を減圧下で除き、得られた残渣を30%水酸化ナトリウム(10ml)および水(100ml)の混合物により処理し、反応混合物が12のpHに達した。沈殿したトリフェニルメタノールをろ過し、水により洗浄した(10ml、4回)。ろ液をヘキサン：酢酸エチルの1：1(v/v)混合物(100ml)により抽出した。塩基性溶液を濃HCl(10ml)により酸性化して1のpHにし、ヘキサン(100ml)により抽出した。有機溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、8.5グラムの(S)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロールを黄色のオイルとして得た。収率が60%であった。

【0665】

(S)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4'-カルボキシメチル)ブチル-グリセロール：(S)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール(8.39グラム)をメタノール(100ml)に溶解した。2mlの濃HCl(32%)を加え、溶液を室温で一晩攪拌した。水(100ml)を加え、混合物をクロロホルムにより抽出した(100ml、3回)。一緒にした有機相を、水(100ml)、濃重炭酸ナトリウム溶液(100ml)および水(100ml)により順次洗浄し、その後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下で除くことにより、8.48グラムの(S)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロールを黄色のオイルとして得た。収率が98%であった。

【0666】

(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロー-3-ホスホエタノールアミン：(S)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-グリセロール(8.48グラム)およびトリエチルアミン(7.3ml)を乾燥THF(50ml)に溶解した。この溶液を、攪拌を行いながら、POCl₃(4.85ml)をTHF(50ml)に溶解した氷冷溶液に60分かけて滴下により加えた。攪拌を冷却とともにさらに15分間続け、室温でさらに45分間続けた。この反応混合物を氷で冷却し、エタノールアミン(3.2ml)およびトリエチルアミン(15ml)を乾燥THF(50ml)に溶解した溶液を、攪拌を行いながら60分かけて滴下により加えた。攪拌を氷において10分間続け、その後、室温で一晩続けた。反応混合物をろ過し、ろ液からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣を酢酸(24ml)および水(10ml)の混合物に溶解し、70℃に1時間加熱した。反応混合物を室温に冷却し、クロロホルムにより抽出した(80ml、3回)。一緒にした有機相を水により洗浄し(50ml、2回)、溶媒を減圧下で除いた。残渣(11グラム)をシリカゲル(220グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。4.25グラムの純粋な(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-sn-グリセロー-3-ホスホエタノールアミンが、クロロホルム、それに続く、クロロホルム

と、5%～20%のメタノールとの混合物、最後に、70：26：4のクロロホルム：メタノール：水の混合物により溶出された。収率が40%であった。

【0667】

(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(VB-222)：(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン(1.2グラム)を100mlのメタノール：10%水酸化ナトリウム溶液の8：2(v/v)混合物に溶解した。反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応液のpHをリン酸二水素ナトリウムの添加によって5に調節した。水(100ml)およびクロロホルム(100ml)を加えた。相を分離し、有機相からの溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除いた。粗生成物(1.2グラム)をシリカゲル(23グラム)でのクロマトグラフィーによって精製した。生成物が、8：2(v/v)のクロロホルム：メタノールの混合物、それに続く、70：26：4の体積比でのクロロホルム：メタノール：水の混合物、次いで、60：35：5の体積比でのクロロホルム：メタノール：水の混合物により溶出された。所望される生成物を含有する分画物からの溶媒を減圧下で除き、得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、500mgの純粋な(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-s n-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンをワックスとして得た。収率が42.65%であった。

10

20

【0668】

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンのNMRによる特徴づけ：

サンプルを数滴の重水素化メタノール(CD₃OD)とともに重水素化クロロホルム(CDC₃Cl₃)に溶解した。その後、スペクトルを600MHzで測定した。サンプルを¹H-NMR分光法および¹³C-NMR分光法の両方によって測定した。

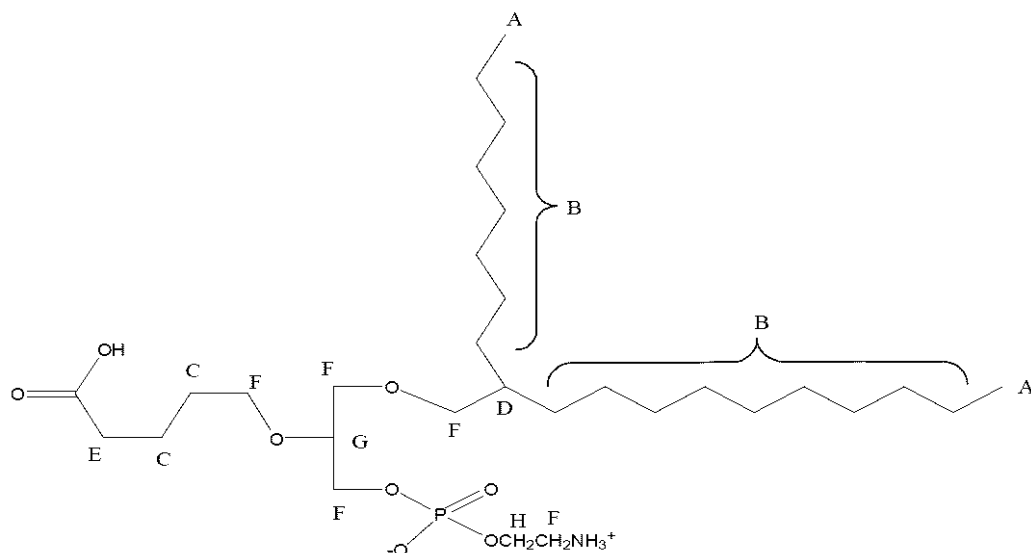
【0669】

結果は1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

30

【0670】

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された¹Hピークの帰属は下記の通りであった：



10

^1H NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.313 ppm)

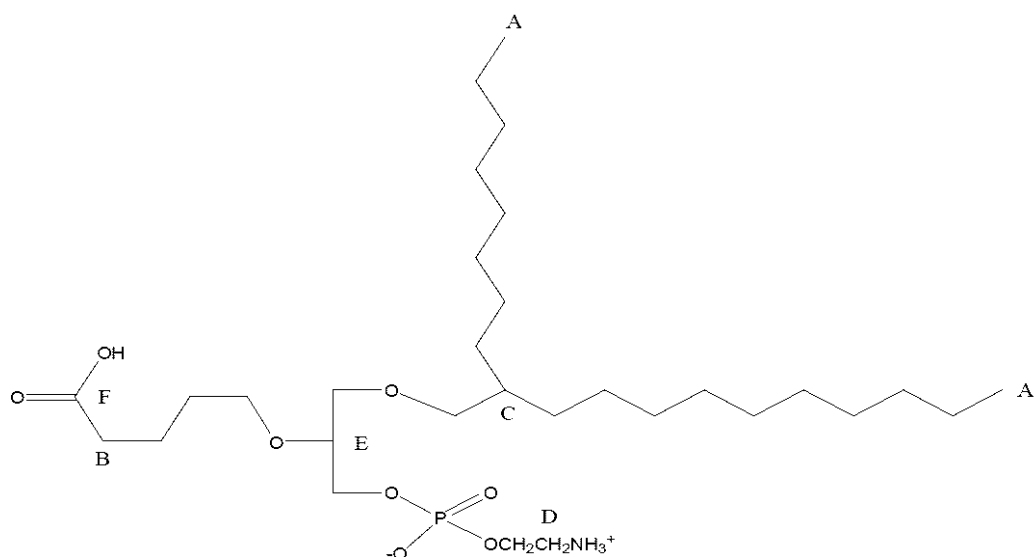
δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.117	2 H, br, s	H
3.835 – 3.844	1 H, m	G
3.394 – 3.718	10 H, m, 5 x CH_2	F
2.329	2 H, m	E
1.680 – 1.700	1 H, m	D
1.595 – 1.606	2 H, m	C
1.533	2 H, m	C
1.261- 1.300	32 H, m, 16 x CH_2	B
0.882	6 H, t, 2 x CH_3 , $J = 6.9$ Hz	A

20

【0671】

30

1 – (2 – オクチル) ドデシル – 2 – (4 – カルボキシ) ブチル – グリセロ – 3 – ホスホエタノールアミンの構造に従う、観測された ^1H ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



^{13}C NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.189 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
177.505	F
78.1013 – 78.152	E
75.103	
71.013	
70.085	
66.144	
61.989	
40.344	D
38.229	C
33.945	B
31.999	
31.350	
31.305	
31.227	
30.191	
29.792	
29.743	
29.439	
29.291	
26.883	
22.751	
21.792	
21.661	
14.138	A

【0672】

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミンの質量分析法による特徴づけ：

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン ($\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が 595.42 であった。

【0673】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI+-MS) を使用して行われた質量ス

10

20

30

40

50

ペクトルは、プロトン化された分子イオン $[M+H]^+$ に対応する、 $m/z = 596$ を有する分子イオンを示し、これには、カチオン化されたイオン $[M+Na]^+$ に対応する、 $m/z = 618$ を有する分子イオンが付随した。

【0674】

したがって、MSスペクトルは1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミンの化学構造と一致している。

【0675】

(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリン：(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (2.62グラム) をイソプロパノール (18ml) およびジクロロメタン (40ml) の混合物に溶解した。炭酸カリウム (3グラム) を水 (10ml) に溶解した溶液を、反応混合物を35℃～40℃の温度で保ちながら滴下により加えた。硫酸ジメチル (2.1ml) をイソプロパノール (10ml) に溶解した溶液を40℃で滴下により加えた。反応混合物を40℃で2時間保ち、その後、室温に冷却し、室温で一晩保った。水 (100ml) を加え、混合物をクロロホルムにより抽出した (100ml、3回)。一緒にした有機相を水 (100ml) により洗浄し、溶媒を減圧下で除き、これにより、2.78グラムの(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリンを白色のワックスとして得た。

【0676】

(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリン (VB-221)：(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-メチルカルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリン (2.78グラム) を100mlのメタノール：10%水酸化ナトリウム水溶液の8：2 (v/v) 混合物に溶解し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応液のpHを、リン酸二水素ナトリウムを加えることによって5に調節した。水 (100ml) およびクロロホルム (100ml) を加えた。相を分離し、溶媒を減圧下で除いた。得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、溶媒を減圧下で除いた。残渣 (2.7グラム) をシリカゲル (50グラム) でのクロマトグラフィーによって精製した。非極性の不純物を8：2 (v/v) のクロロホルム：メタノールにより溶出した。その後、生成物を、70：26：4の体積比でのクロロホルム：メタノール：水の混合物、それに続く、60：35：5の体積比でのクロロホルム：メタノール：水の混合物により溶出した。溶媒を減圧下で除いた後、得られた残渣をクロロホルムに溶解し、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下で除き、これにより、800mgの純粋な(R)-1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリンを白色のワックスとして得た。収率が29.4%であった。

【0677】

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリンのNMRによる特徴づけ：

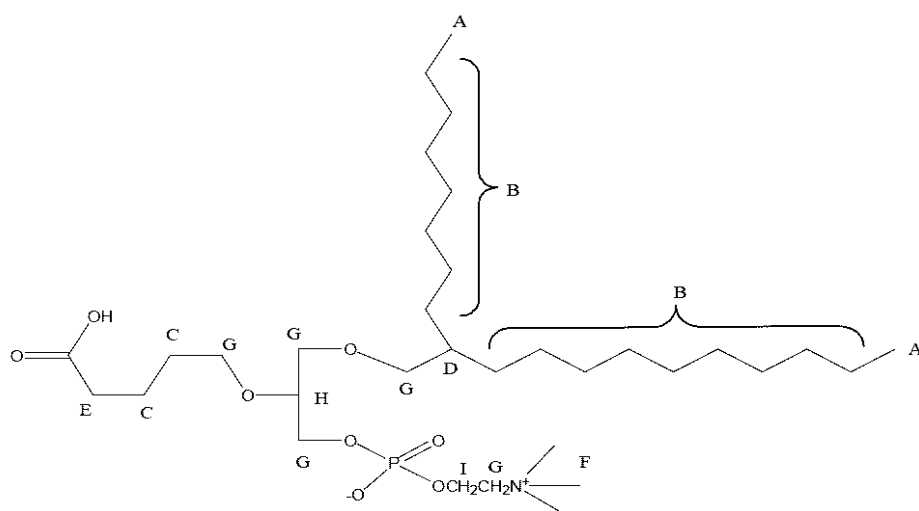
サンプルを数滴の重水素化メタノール (CD_3OD) とともに重水素化クロロホルム ($CDCl_3$) に溶解した。その後、スペクトルを600MHzで測定した。サンプルを ^1H -NMR分光法および ^{13}C -NMR分光法の両方によって測定した。

【0678】

結果は1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリンの構造要素についての予想されたシグナルを示し、したがって、その構造を完全に裏付けた。

【0679】

1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチル-*s n*-グリセロ-3-ホスホコリンの構造に従う、観測された ^1H ピークの帰属は下記の通りであった：



10

^1H NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 7.352 ppm)

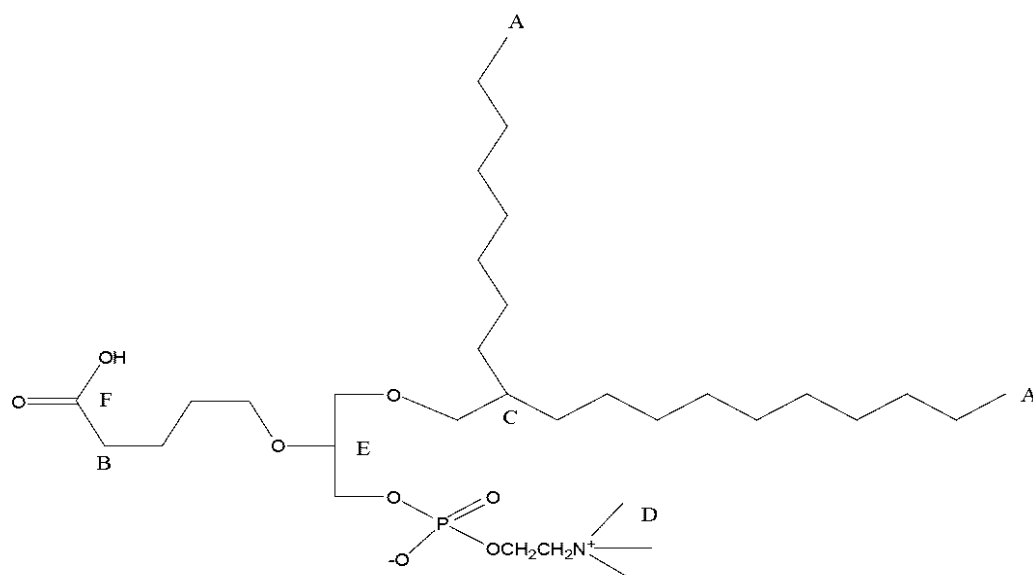
δ [ppm]	説明	帰属 (上記式を参照のこと)
4.259	2 H, br, s	I
3.983 – 3.983	1 H, m	H
3.607 – 3.833	6 H, m, 3 x CH_2	G
3.432 – 3.493	2H, m	G
3.304 – 3.320	2H, m	G
3.281	9 H, s, 3 x CH_3	F
2.350	2 H, m	E
1.875	1H, m	D
1.710	2 H, m	C
1.602	2 H, m	C
1.262 – 1.313	32 H, m, 16 x CH_2	B
0.883	6 H, t, 2 x CH_3 , $J = 6.9$ Hz	A

20

30

【0680】

1 – (2 – オクチル) ドデシル – 2 – (4 – カルボキシ) ブチル – sn – グリセロ – 3 – ホスホコリンの構造に従う、観測された ^{13}C ピークの帰属は下記の通りであった：



10

^{13}C NMR (600 MHz, 参照溶媒 (CDCl_3) = 77.308 ppm)

δ [ppm]	帰属(上記式を参照のこと)
176.700	F
78.289 – 78.344	E
75.122	
71.137	
70.087	
66.662	
66.011- 66.046	
59.052 – 59.086	
54.420	D
38.274	C
34.150	B
32.032	
31.397	
31.356	
30.216	
29.809	
29.766	
29.466	
29.370	
26.930	
22.782	
22.102	
14.142	A

20

30

40

【0681】

質量分析法による特徴づけ：

1 – (2 – オクチル) ドデシル – 2 – (4 – カルボキシ) ブチル – sn – グリセロ – 3 – ホスホコリン ($\text{C}_{33}\text{H}_{68}\text{NO}_8\text{P}$) についての計算質量が 637.87 であった。

【0682】

エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (ESI-MS) を使用して得られた質量スペクトルは、脱プロトン化された分子イオン $[\text{M} - \text{H}]^-$ に対応する、 $m/z = 636$ を有

50

する分子イオンを示した。

【0683】

正のエレクトロスプレーイオン化質量分析法（ESI+-MS）を使用して得られた質量スペクトルは、プロトン化された分子イオン $[M+H]^+$ に対応する、 $m/z = 638$ を有する分子イオンを示し、これには、カチオン化された分子イオン $[M+Na]^+$ に対応する、 $m/z = 660$ を有するイオンが付随した。

【0684】

したがって、MSスペクトルは1-(2-オクチル)ドデシル-2-(4-カルボキシ)ブチルグリセロール-3-ホスホコリンの化学構造と一致している。

【0685】

チロシンリン酸化：

初代マクロファージにおけるインビトロでのチロシンリン酸化に対するVB-221およびVB-222の影響を、本明細書中上記において材料および方法の節で記載されるように求めた。

【0686】

図38に示されるように、 $5\mu\text{g/ml}$ 、 $10\mu\text{g/ml}$ および $20\mu\text{g/ml}$ ($8\mu\text{M}$ 、 $16\mu\text{M}$ および $32\mu\text{M}$) のVB-221による処理はチロシンリン酸化の誘導をもたらす。

【0687】

同様に、図39に示されるように、 $10\mu\text{g/ml}$ および $20\mu\text{g/ml}$ ($16.8\mu\text{M}$ および $33.6\mu\text{M}$) のVB-222による処理はチロシンリン酸の誘導をもたらす。

【0688】

本発明はその特定の実施形態によって説明してきたが、多くの別法、変更および変形があることは当業者には明らかであることは明白である。従って、本発明は、本願の請求項の精神と広い範囲の中に入るこのような別法、変更および変形すべてを包含するものである。

【0689】

本明細書で挙げた刊行物、特許および特許出願はすべて、個々の刊行物、特許および特許出願が各々あたかも具体的にかつ個々に引用提示されているのと同程度に、全体を本明細書に援用するものである。さらに、本願で引用または確認したことは本発明の先行技術として利用できるという自白とみなすべきではない。節の見出しが使用されている程度まで、それらは必ずしも限定であると解釈されるべきではない。

10

20

30

【図 1】

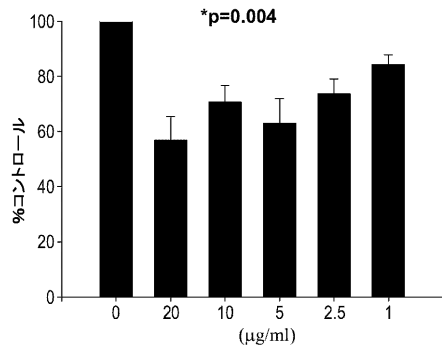


FIG. 1

【図 5】

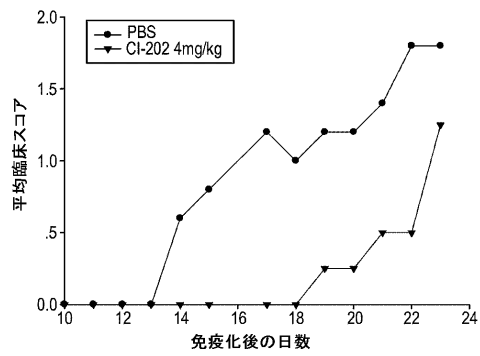


FIG. 5

【図 7】

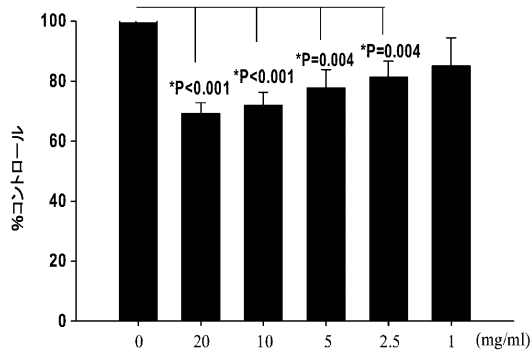


FIG. 7

【図 6】

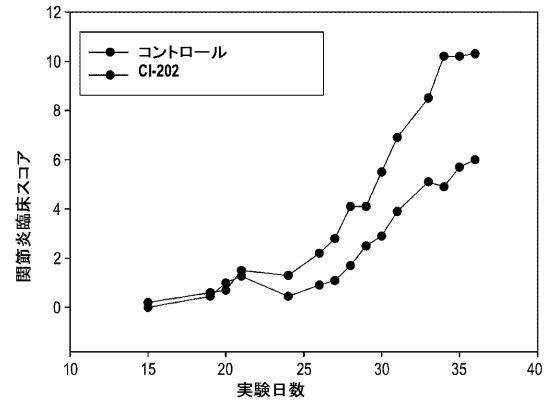


FIG. 6

【図 13】

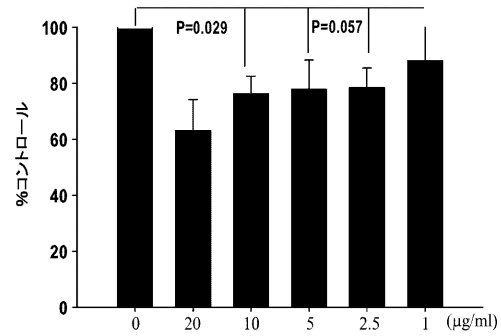


FIG. 13

【図 10】

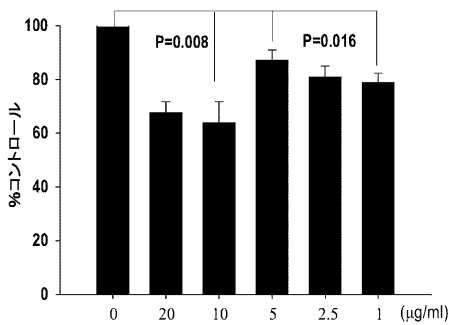


FIG. 10

【図 16】

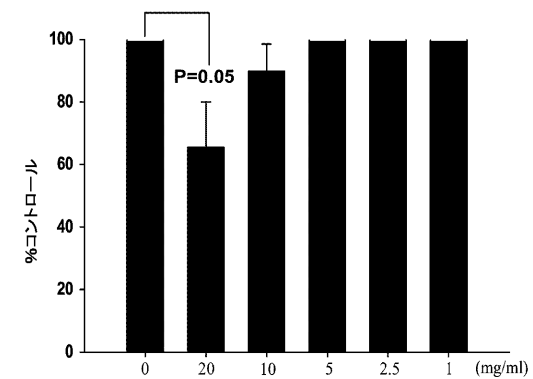


FIG. 16

【図 2】

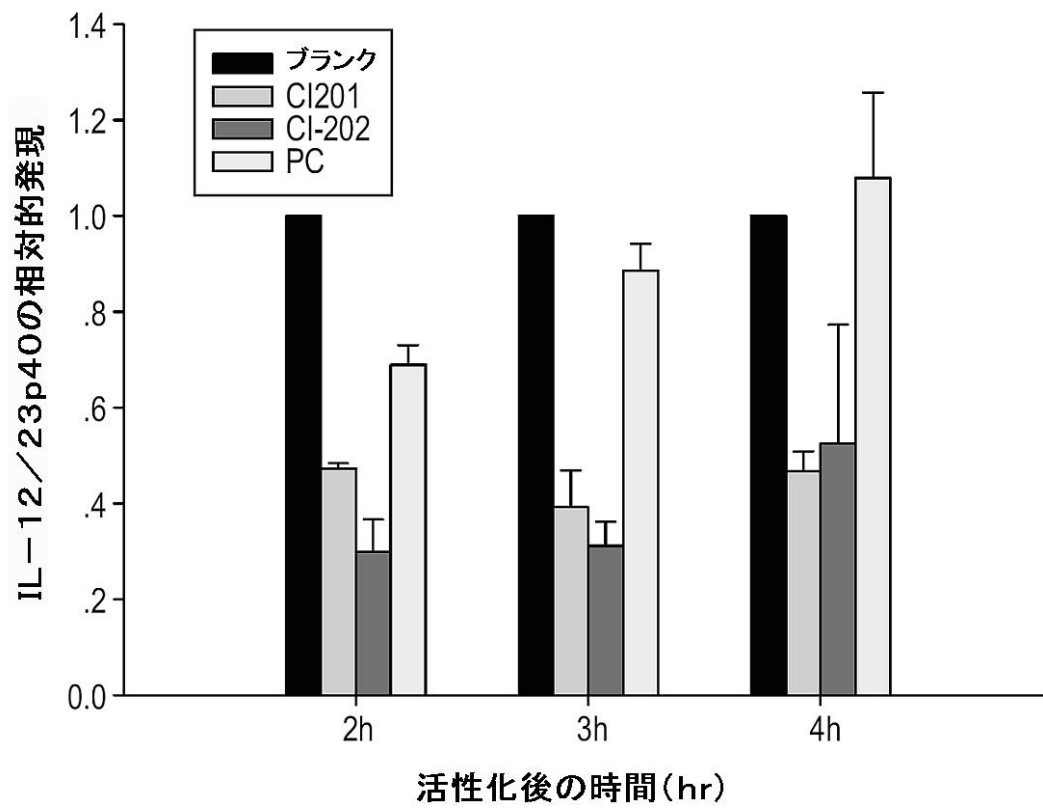


FIG. 2

【図 3】

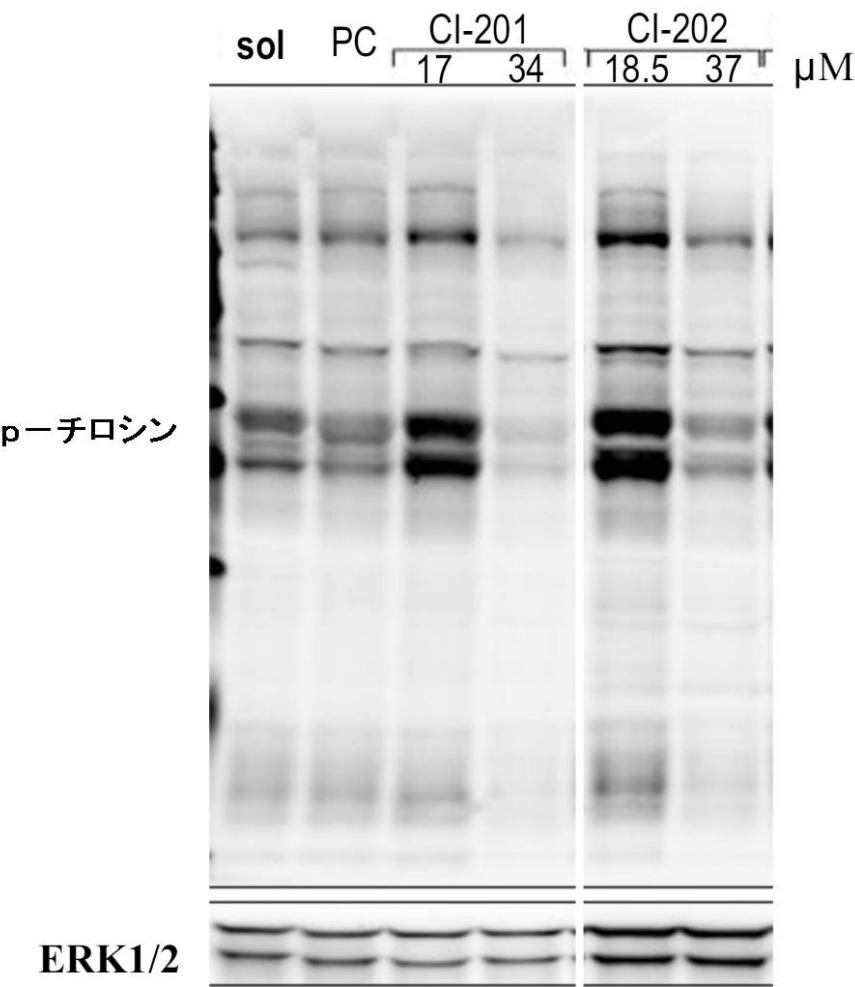


FIG. 3

【図 4 A - 4 B】

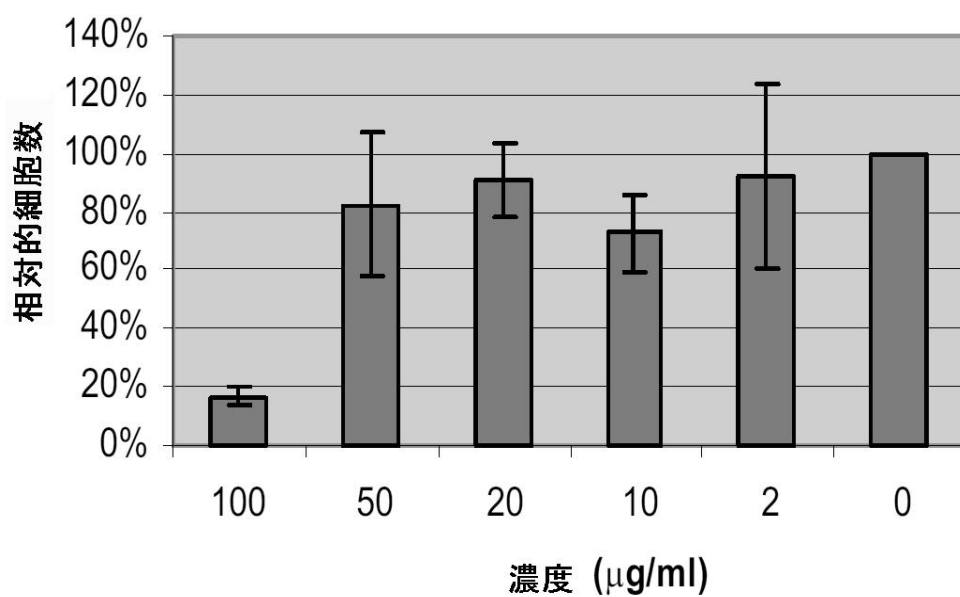


FIG. 4A

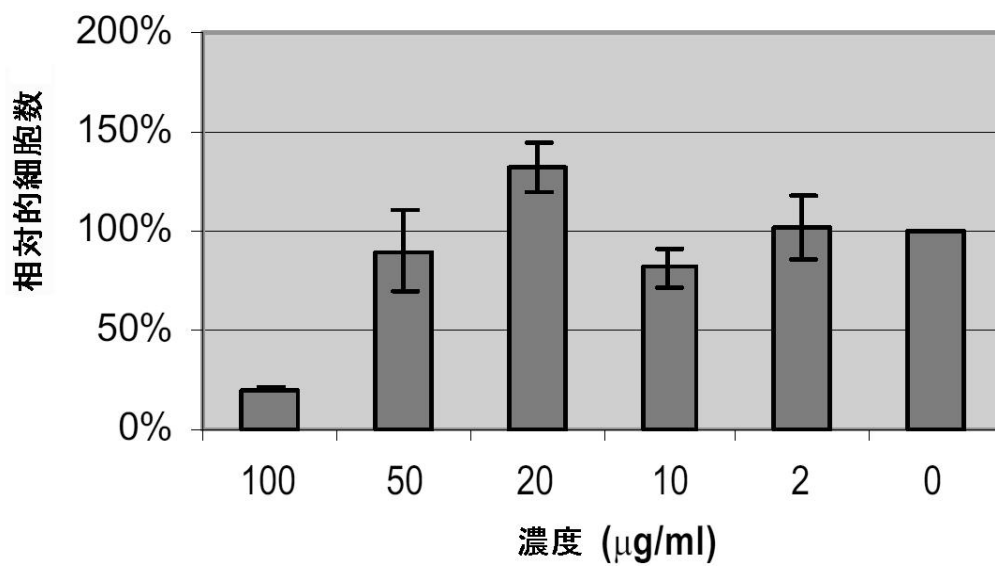


FIG. 4B

【図 8】

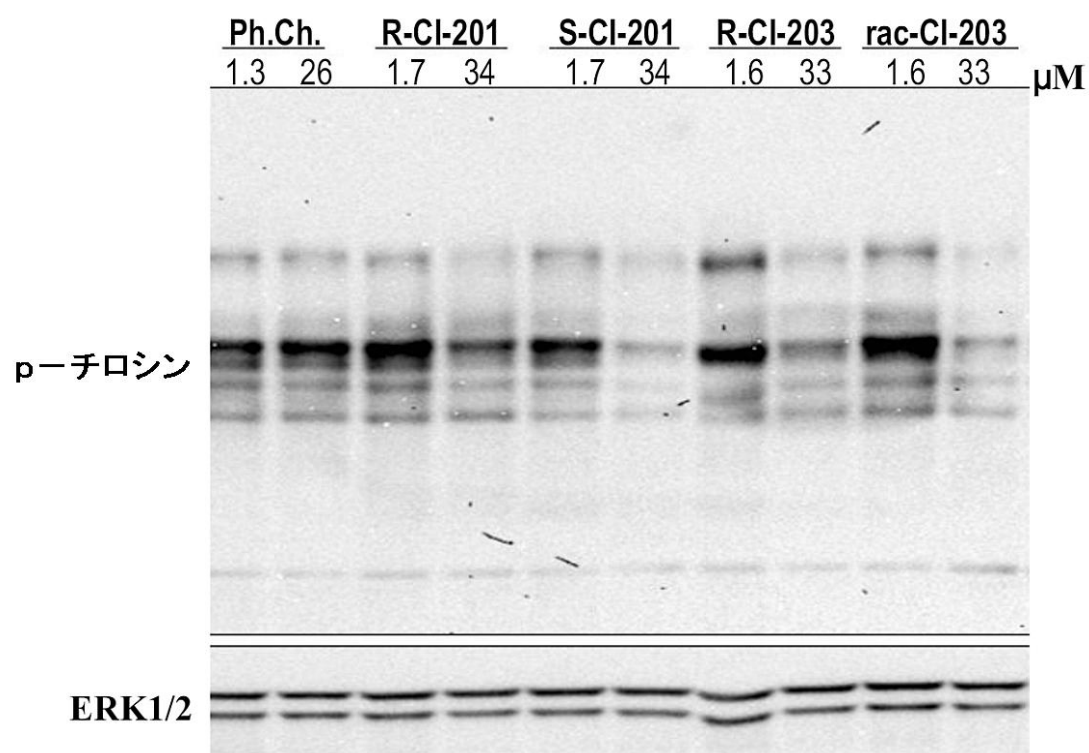


FIG. 8

【図 9 A - 9 B】

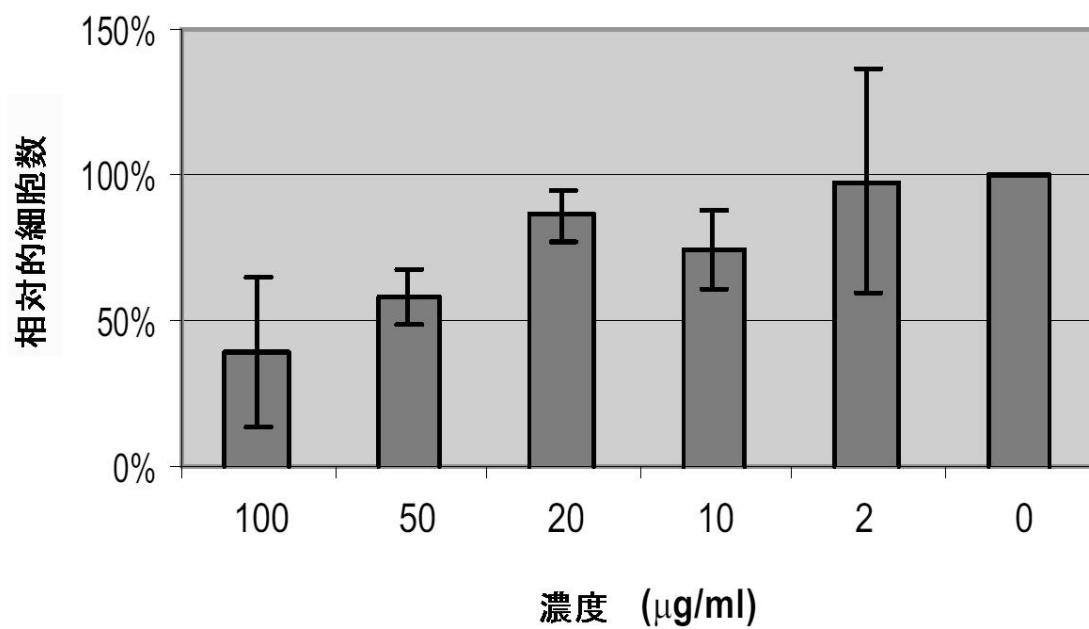


FIG. 9A

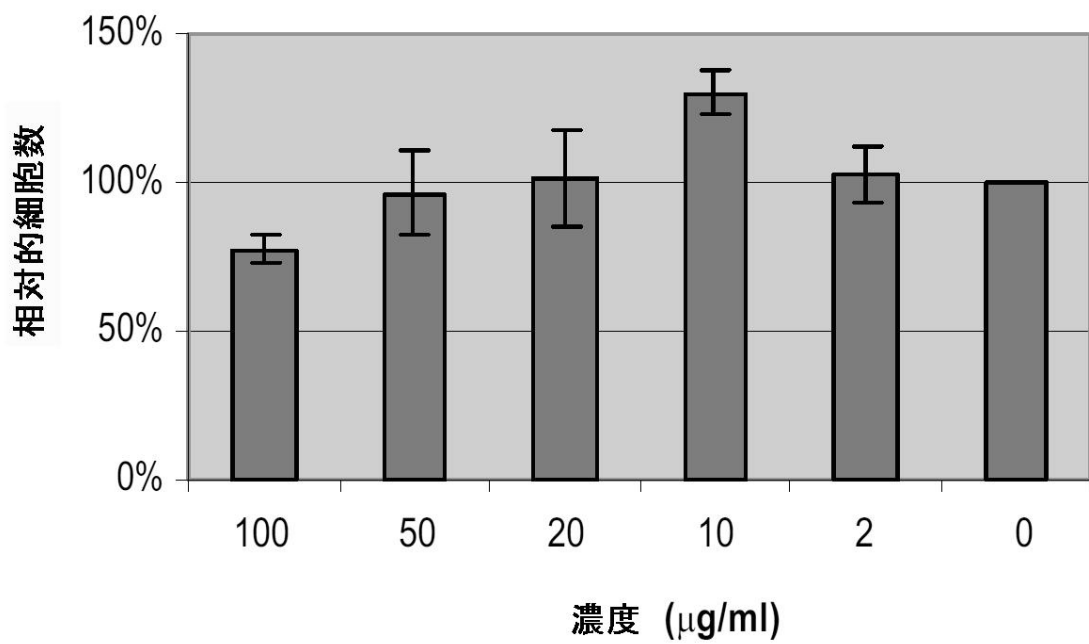


FIG. 9B

【図 1 1】

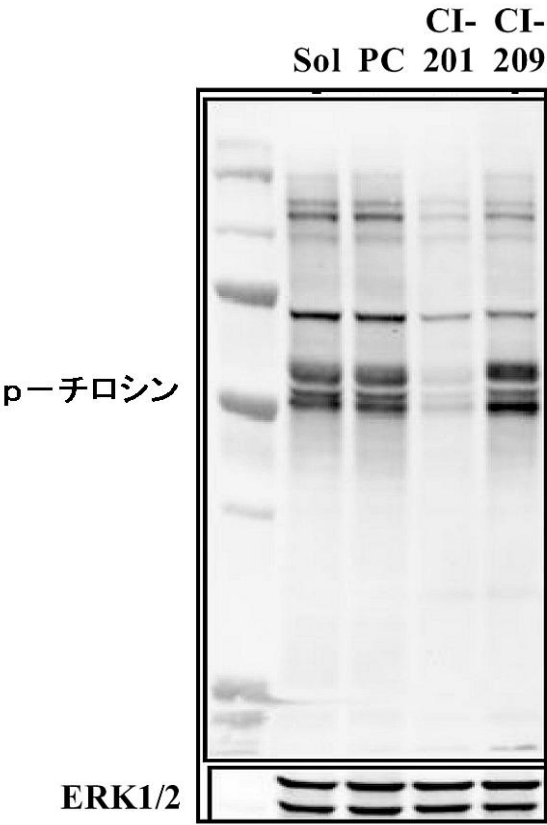


FIG. 11

【図 12 A - 12 B】

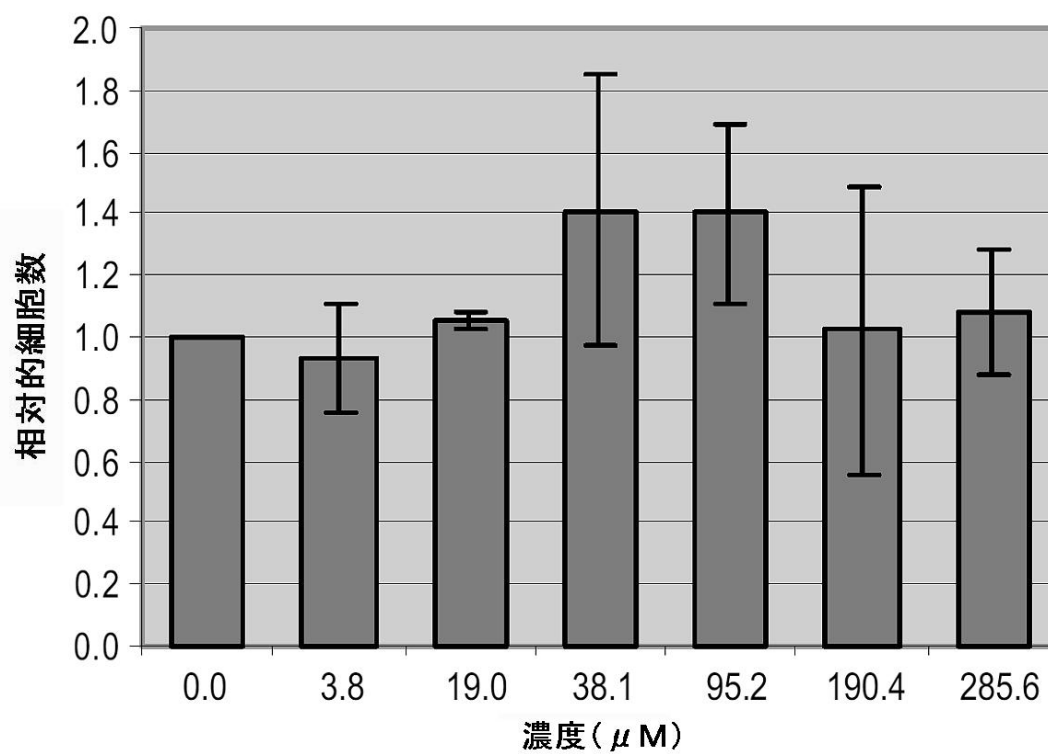


FIG. 12A

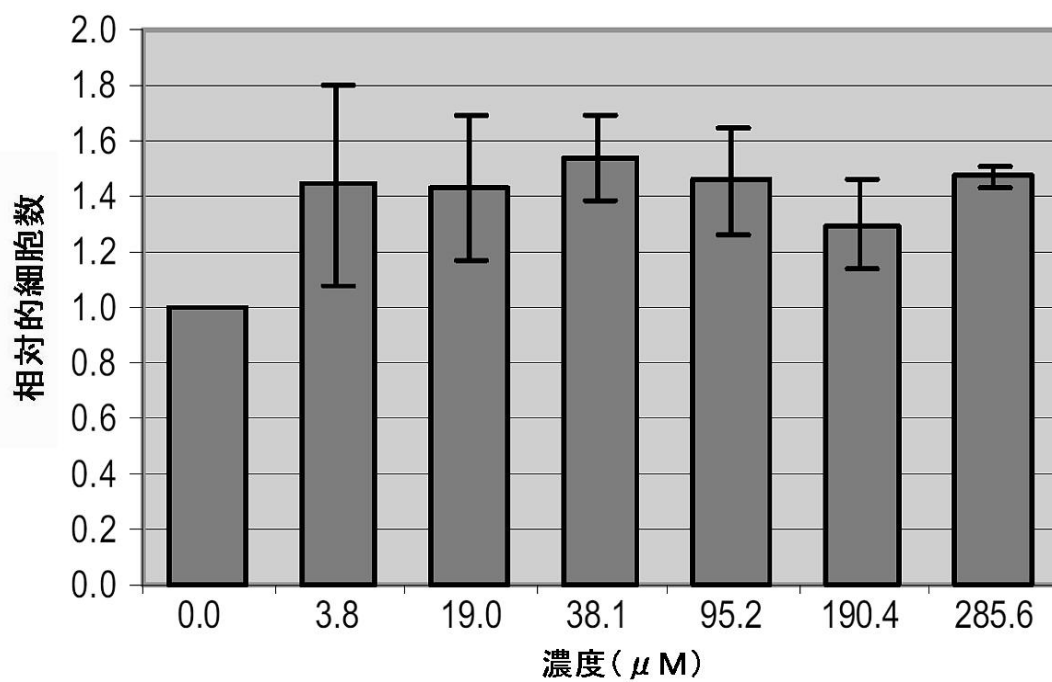


FIG. 12B

【図 14】

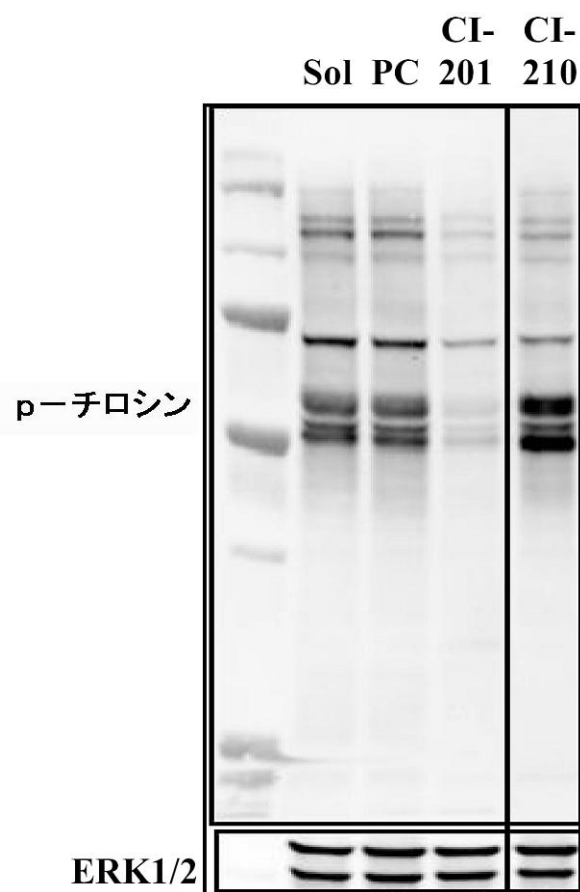


FIG. 14

【図 15 A - 15 B】

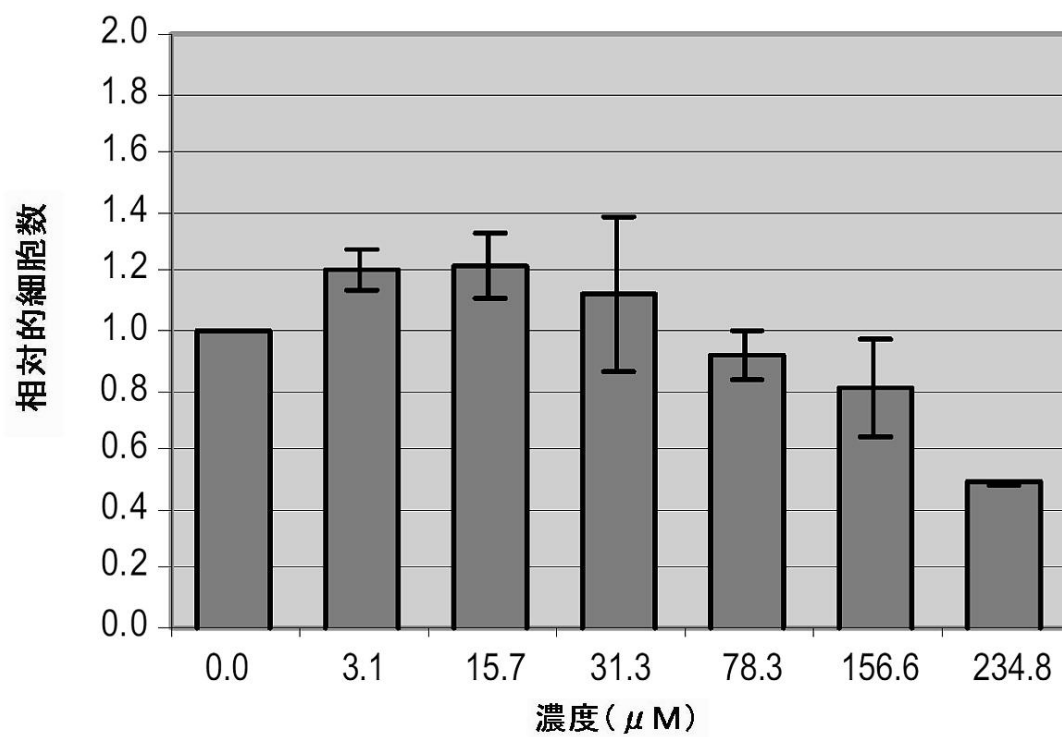


FIG. 15A

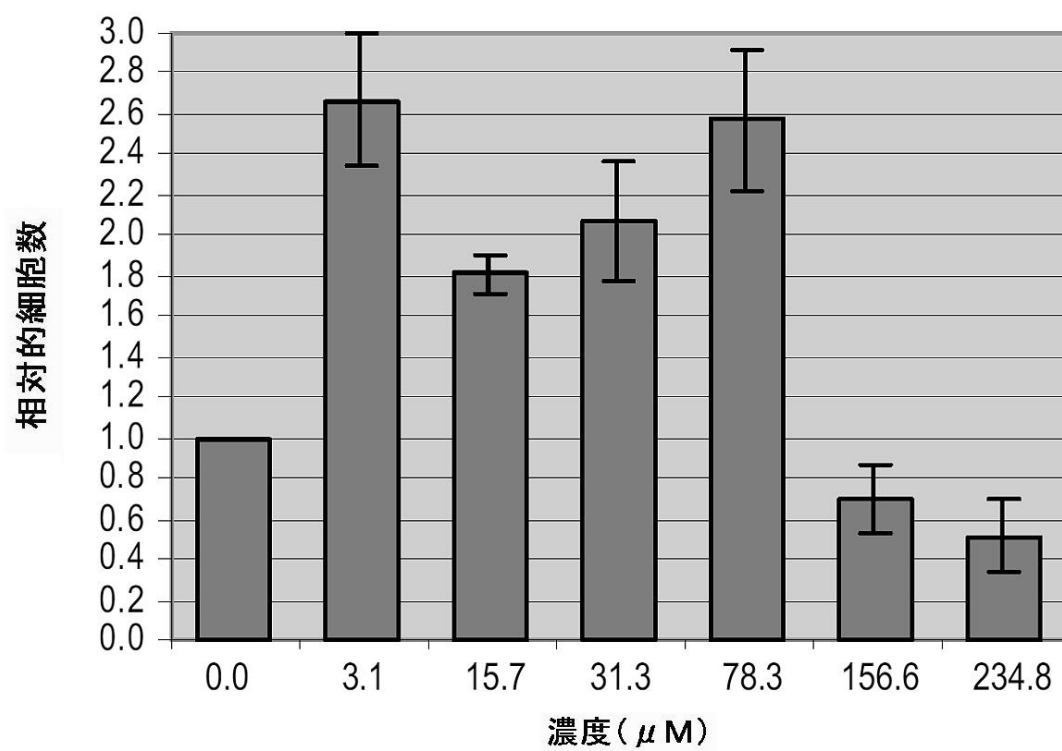


FIG. 15B

【図 17】

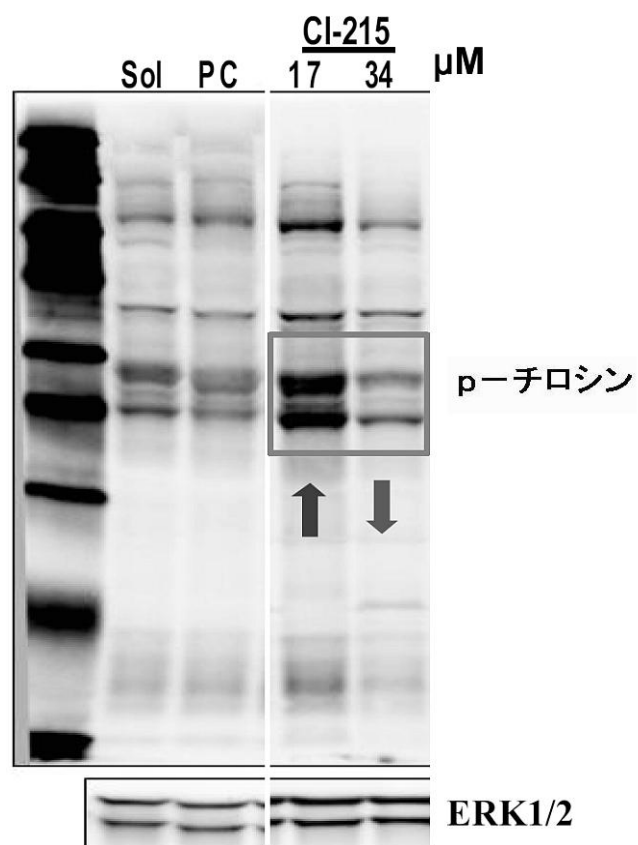


FIG. 17

【図 18】

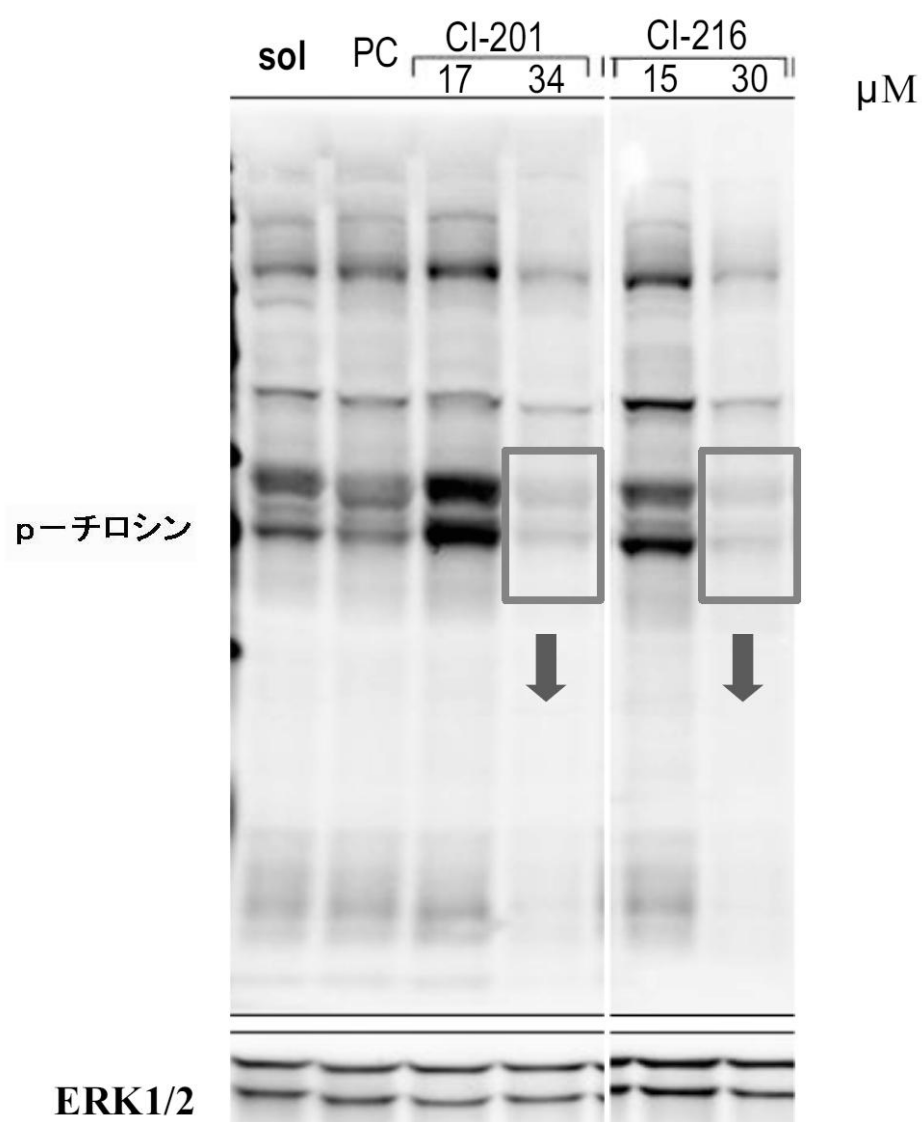


FIG. 18

【図 19】

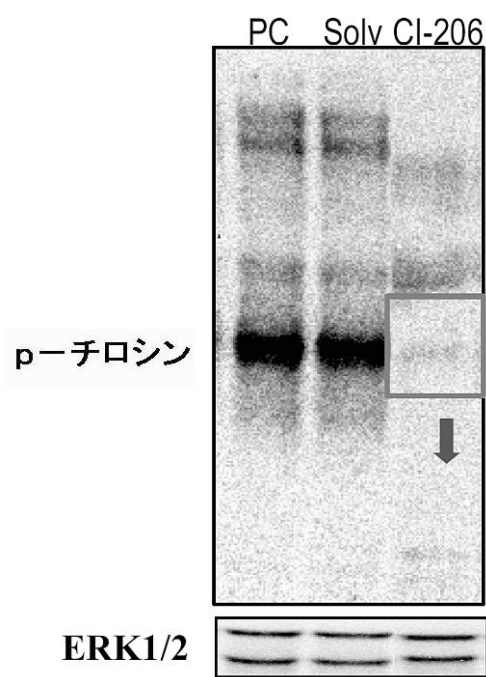


FIG. 19

【図 20】

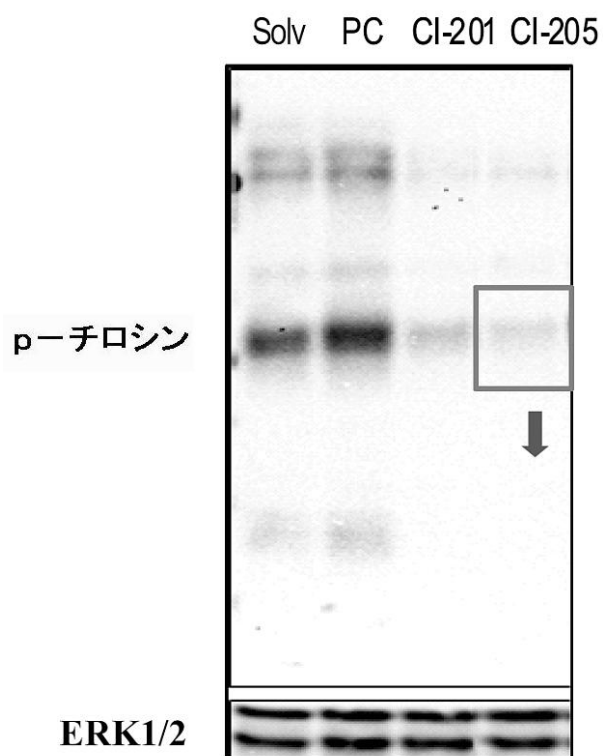


FIG. 20

【図 2 1 A - 2 1 B】

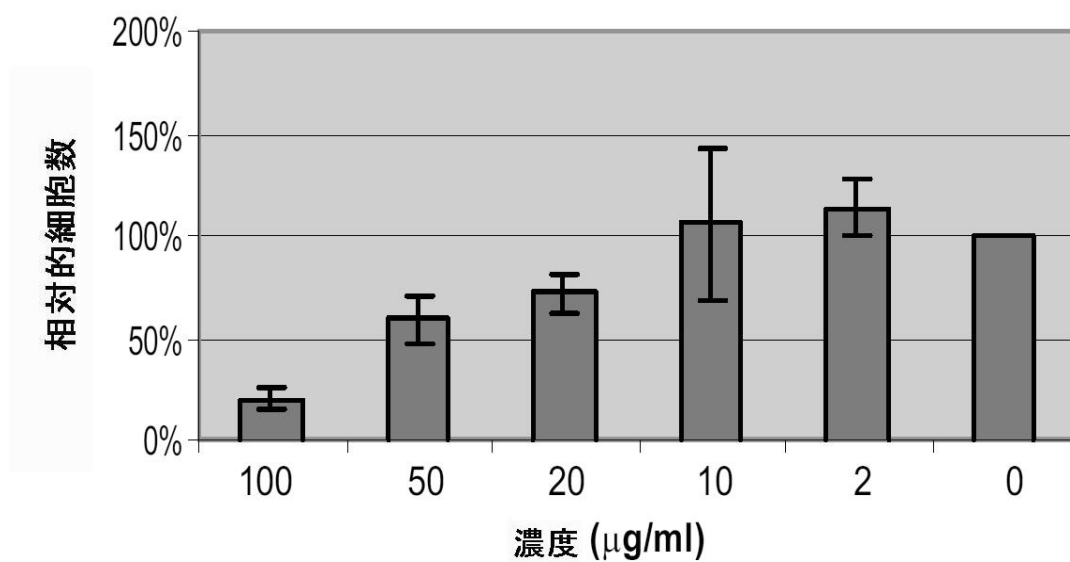


FIG. 21A

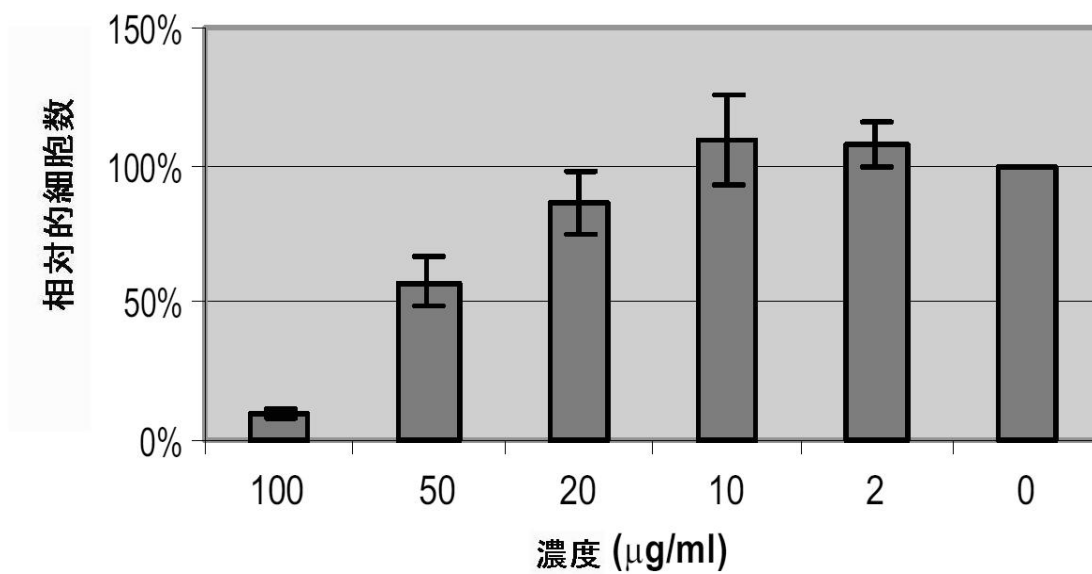


FIG. 21B

【図 2 2 A - 2 2 B】

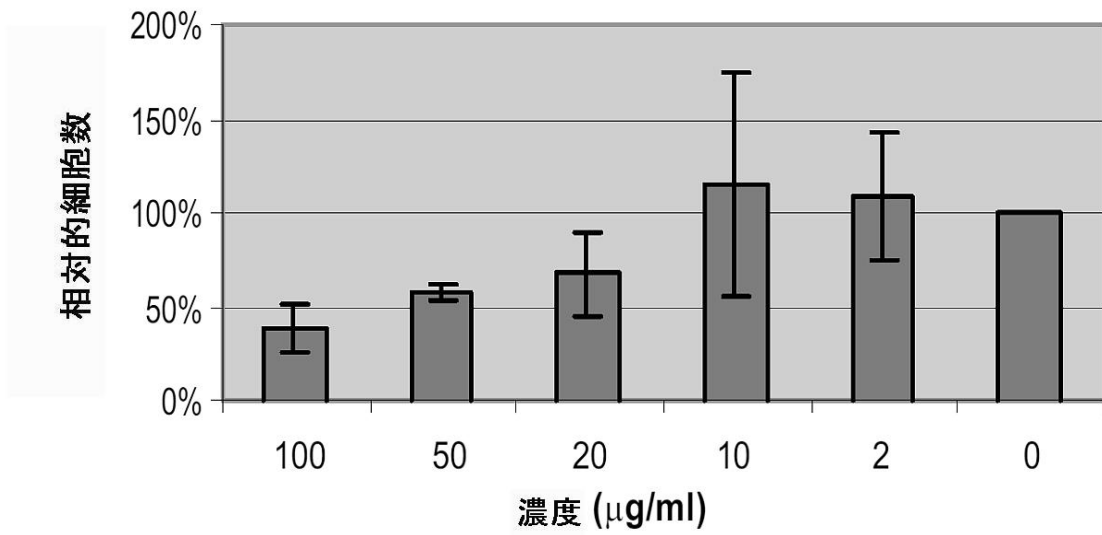


FIG. 22A

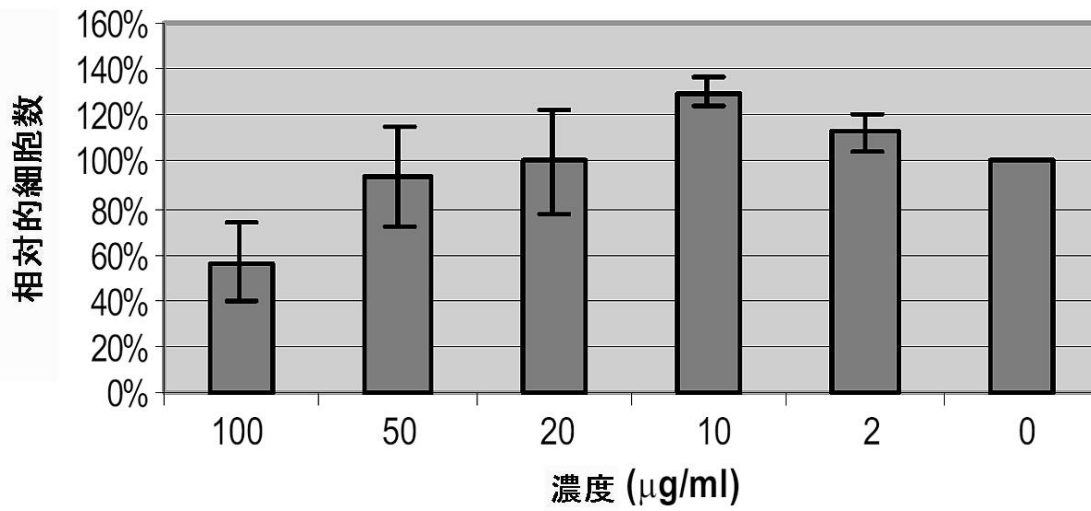


FIG. 22B

【図 2 3】

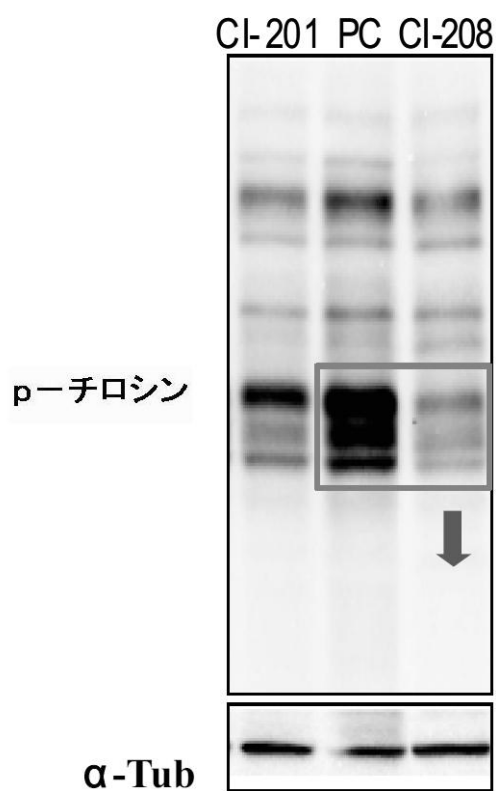


FIG. 23

【図 2 4 A - 2 4 B】

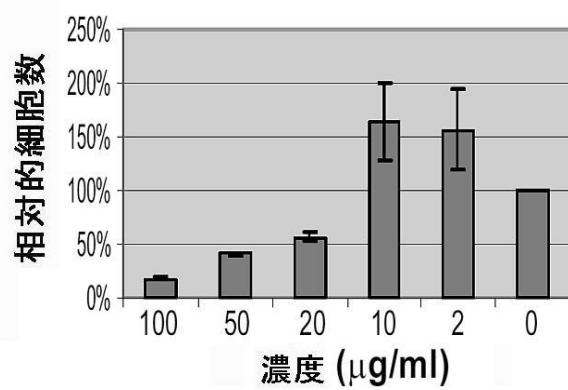


FIG. 24A

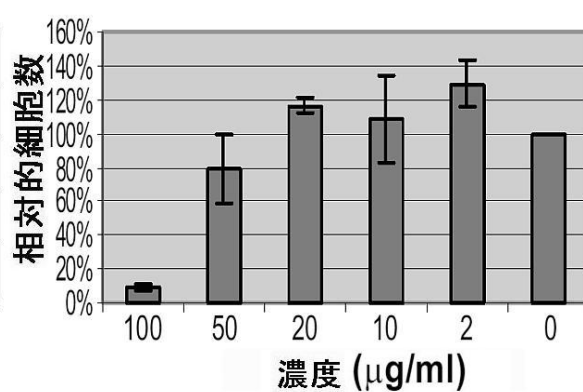


FIG. 24B

【図 25 A - 25 B】

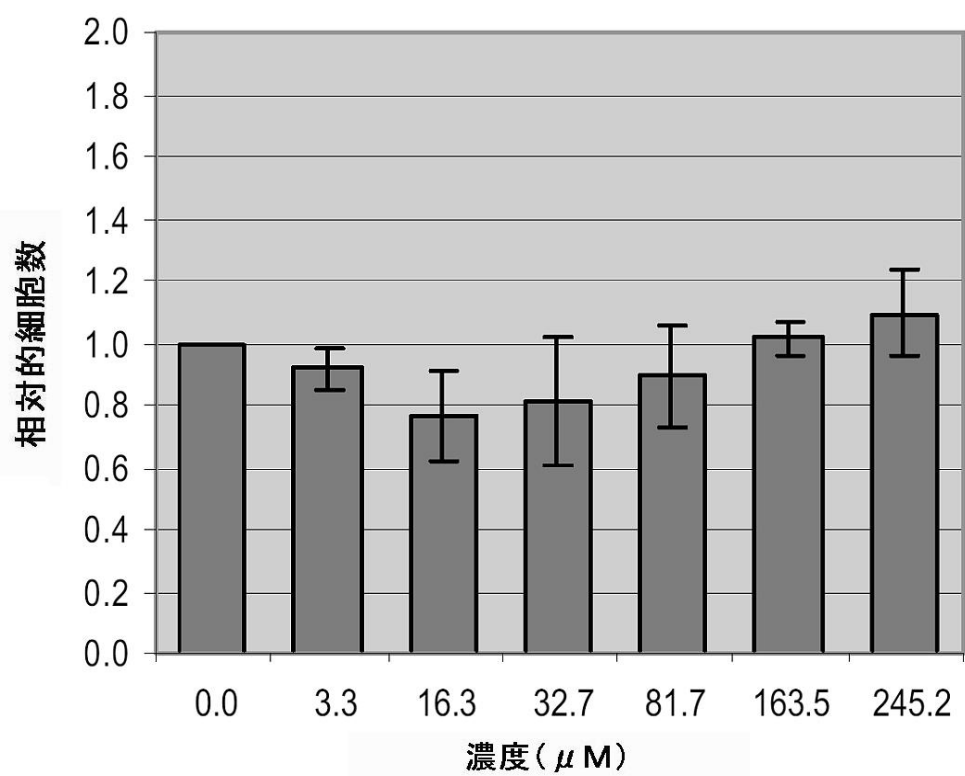


FIG. 25A

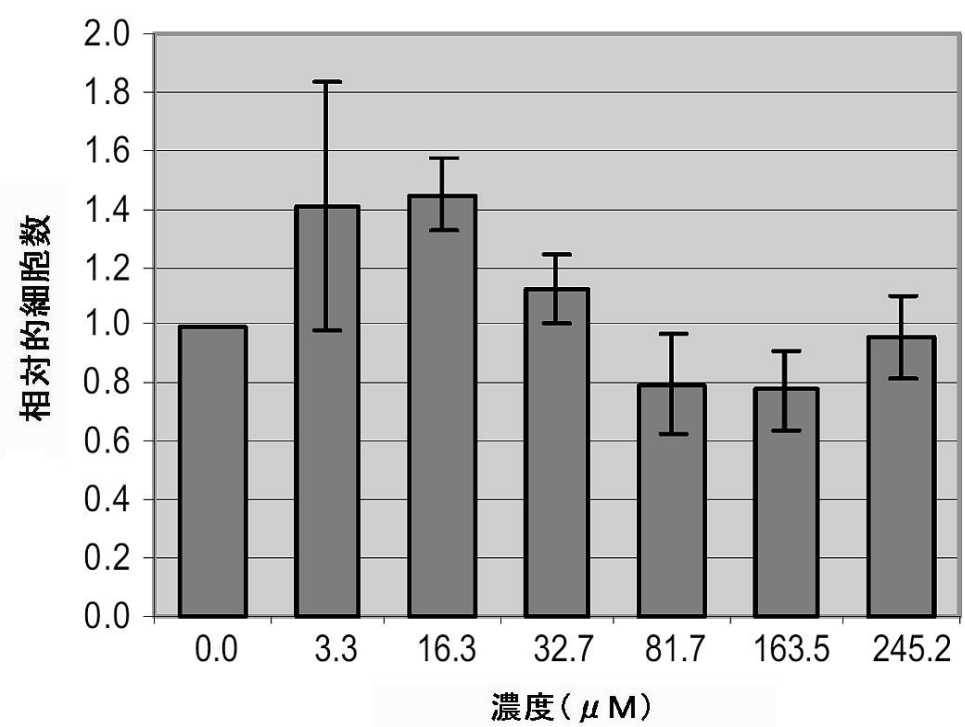


FIG. 25B

【図 26 A - 26 B】

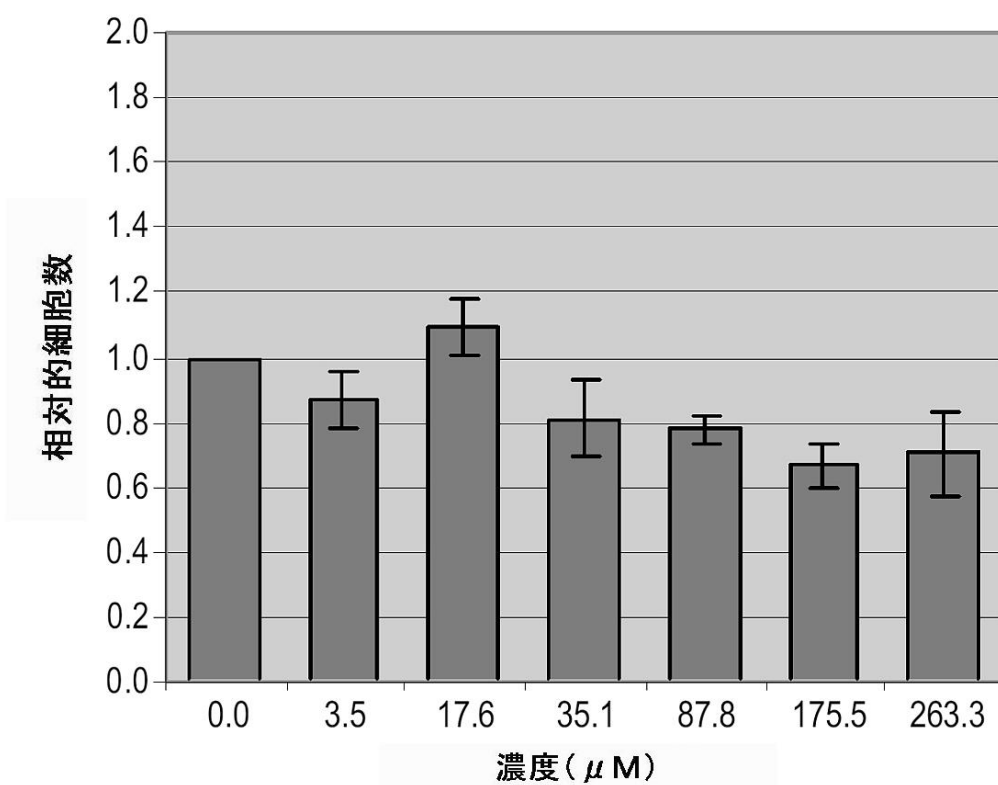


FIG. 26A

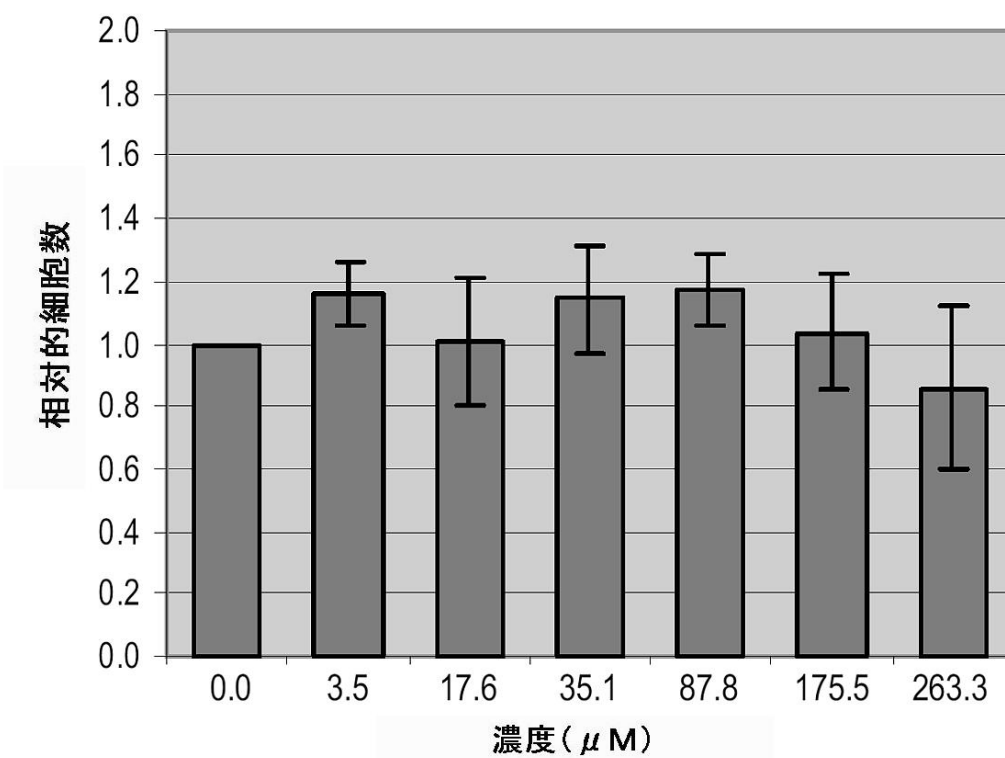


FIG. 26B

【図 27】

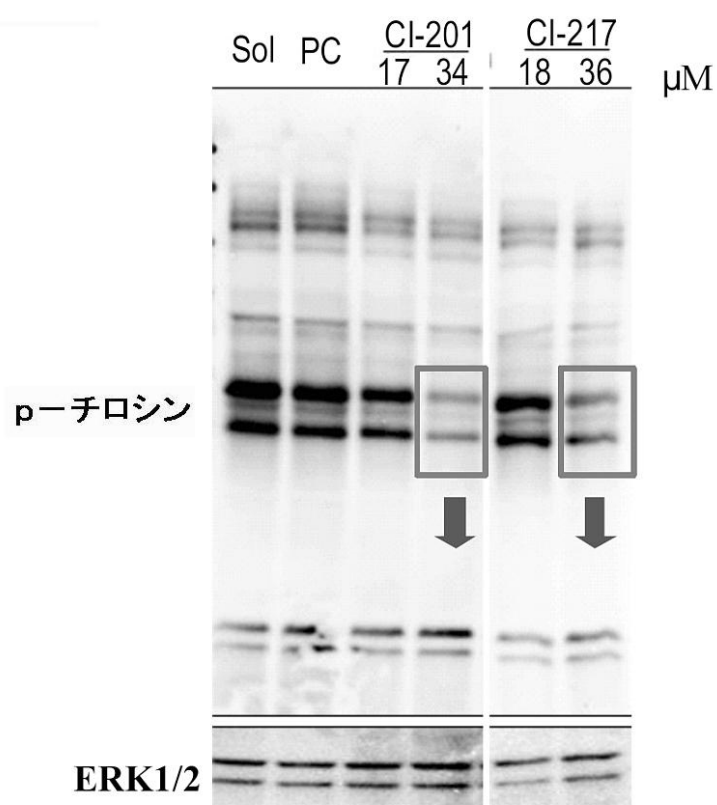


FIG. 27

【図 28】

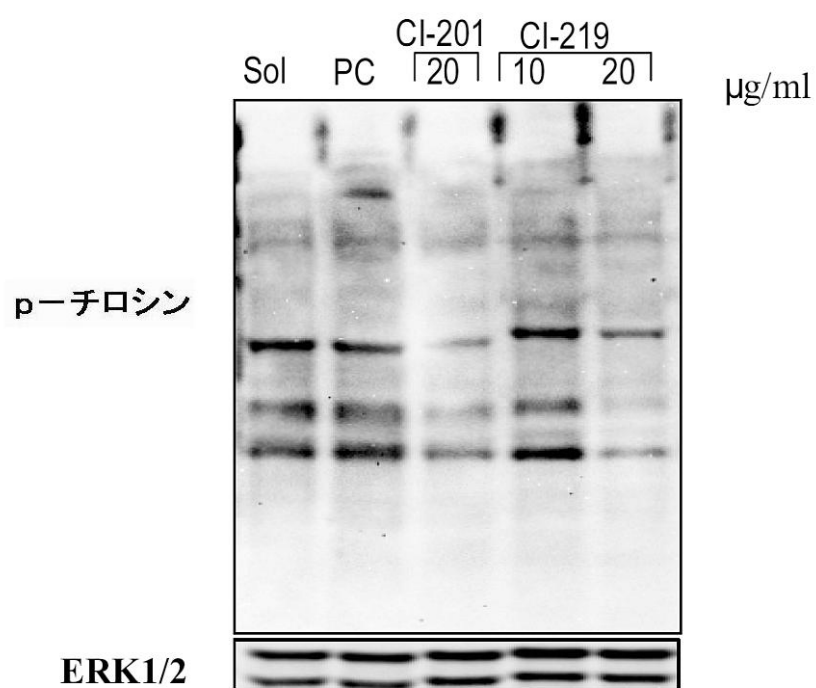


FIG. 28

【図 29】

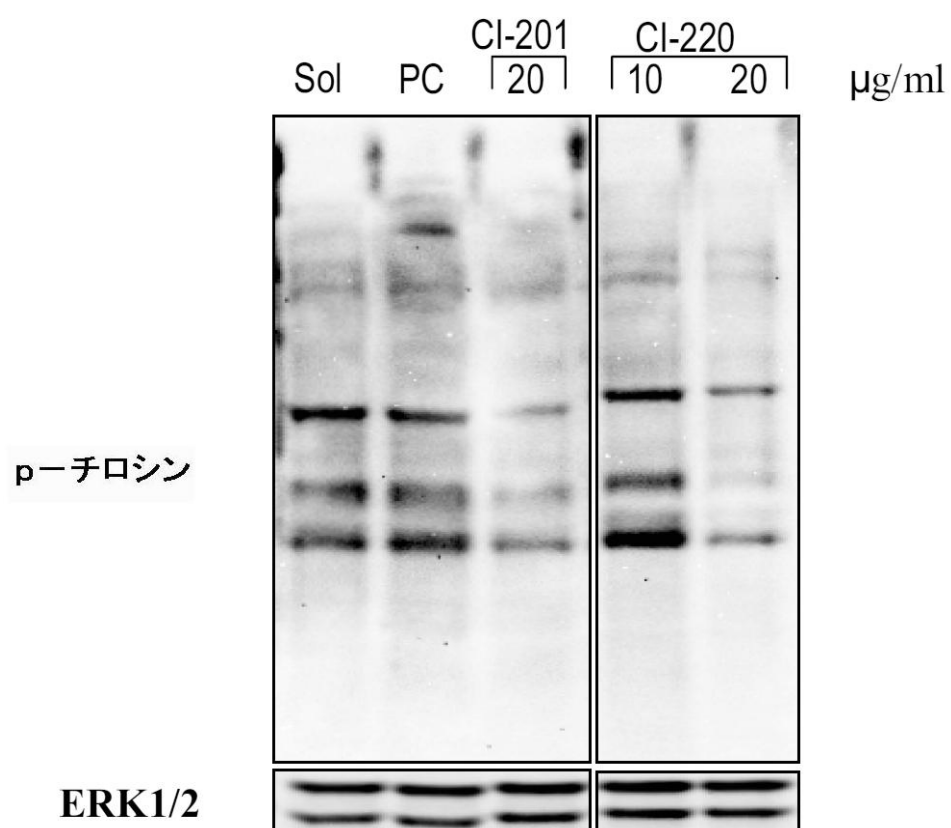


FIG. 29

【図 30A - 30B】

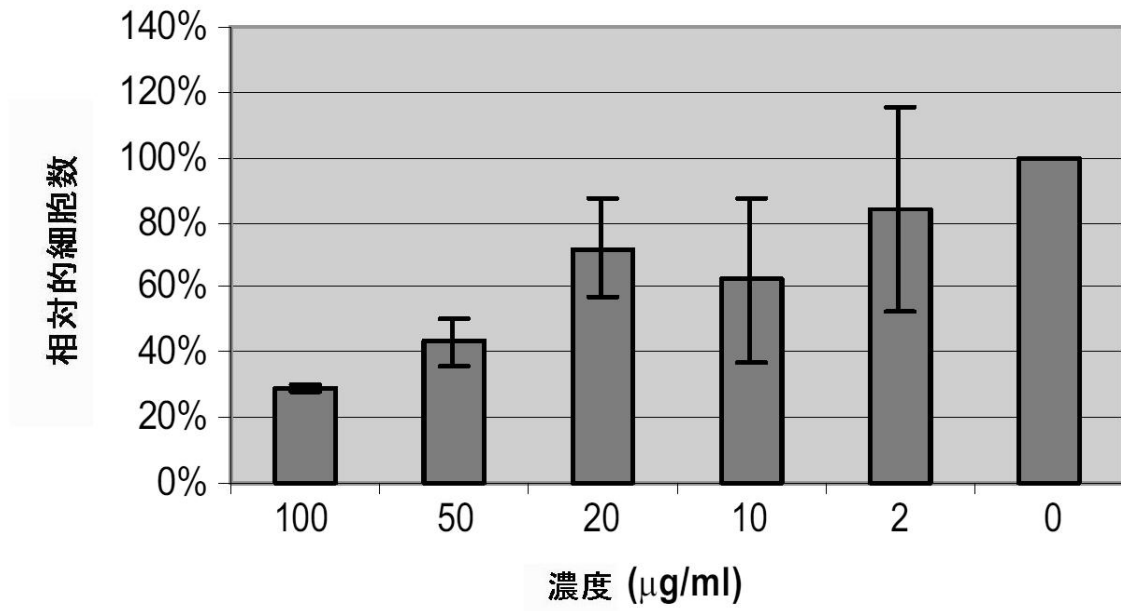


FIG. 30A

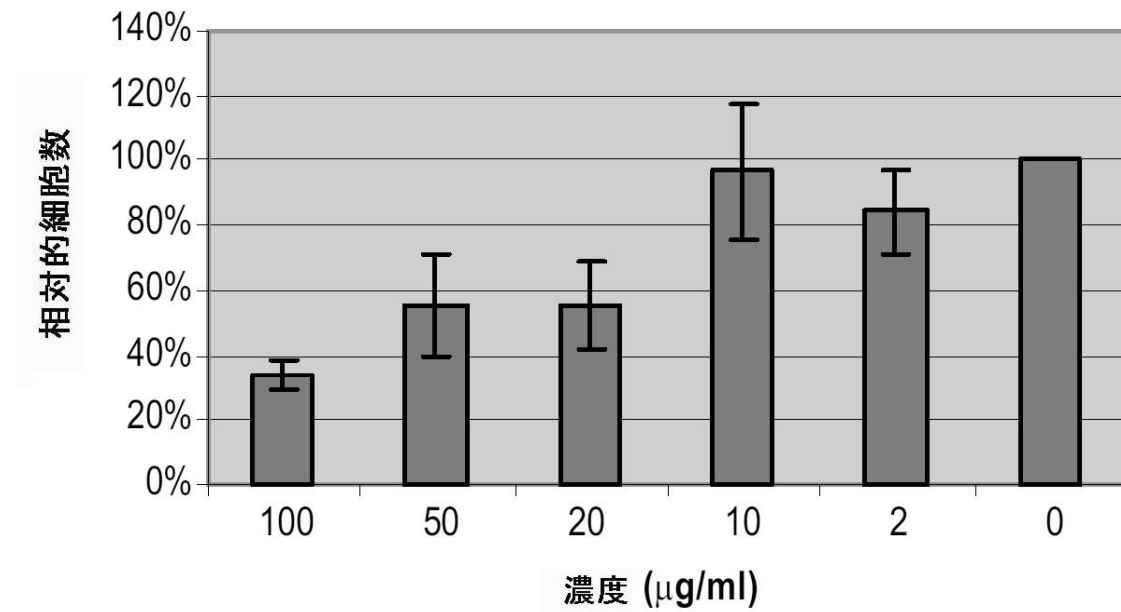


FIG. 30B

【図 3 1】

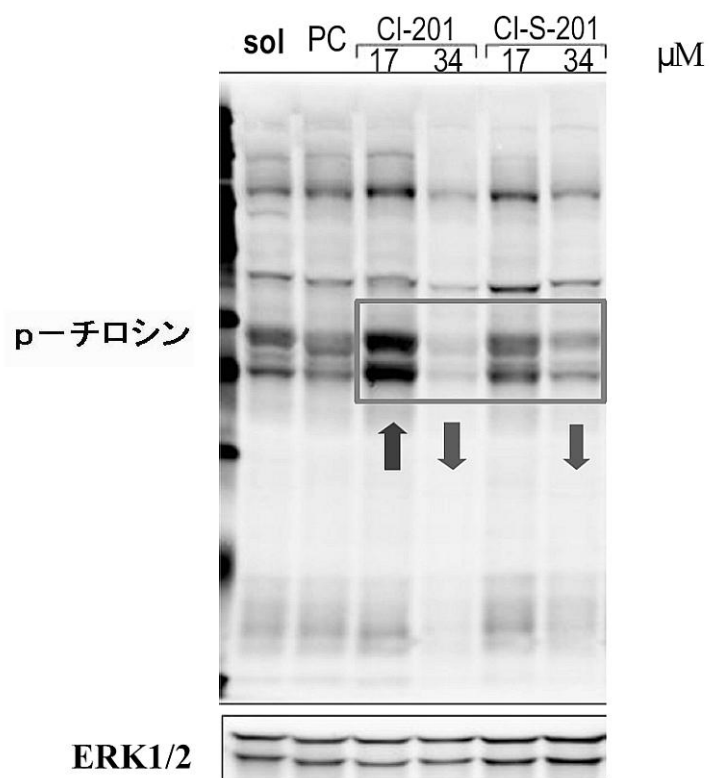


FIG. 31

【図 3 2】

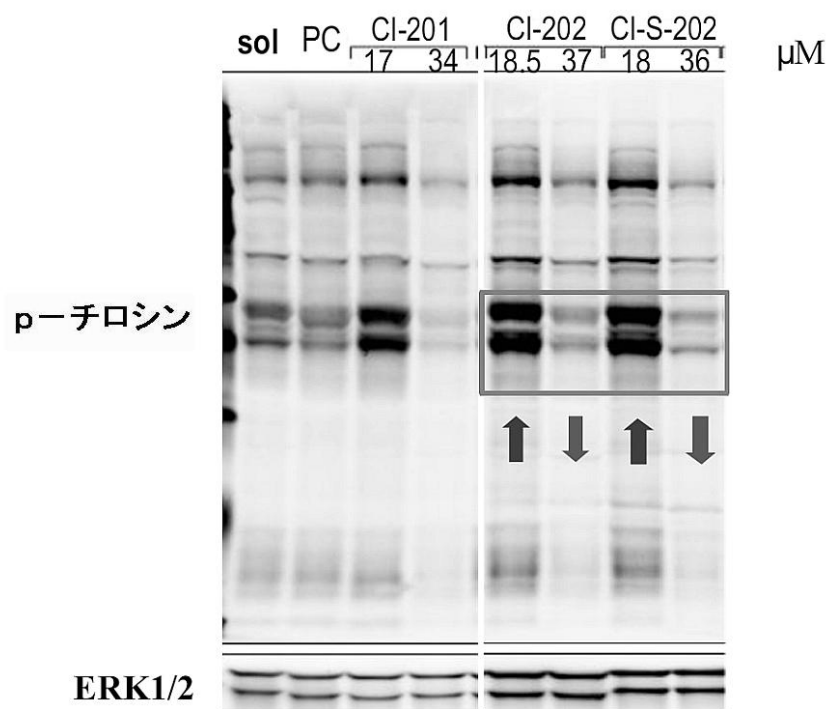


FIG. 32

【図 3 3 A - 3 3 B】

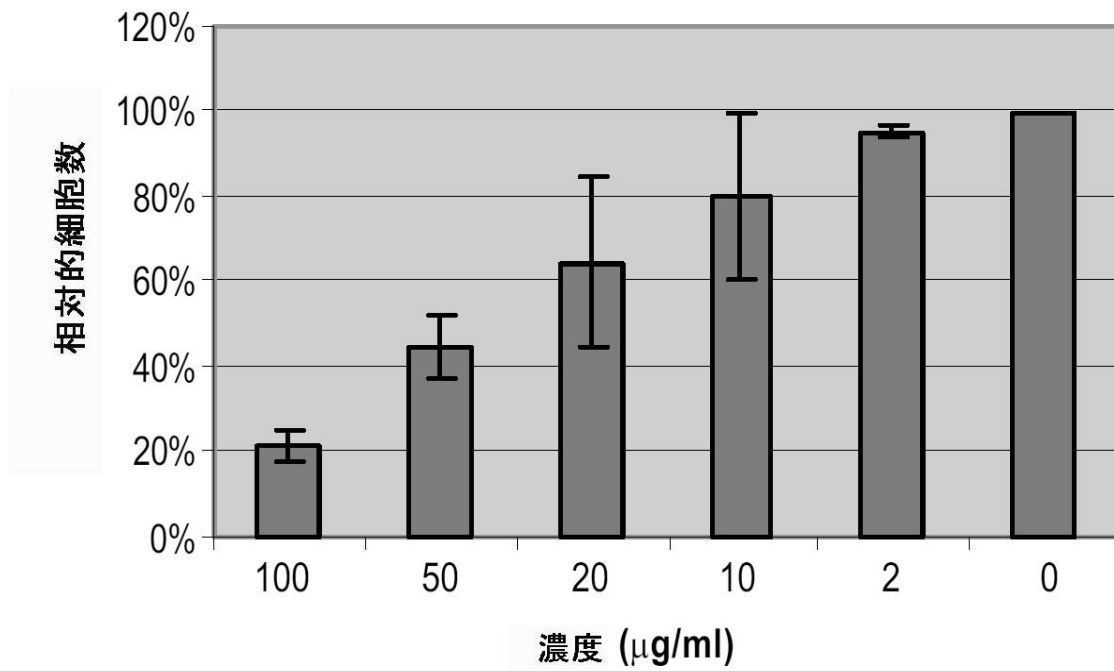


FIG. 33A

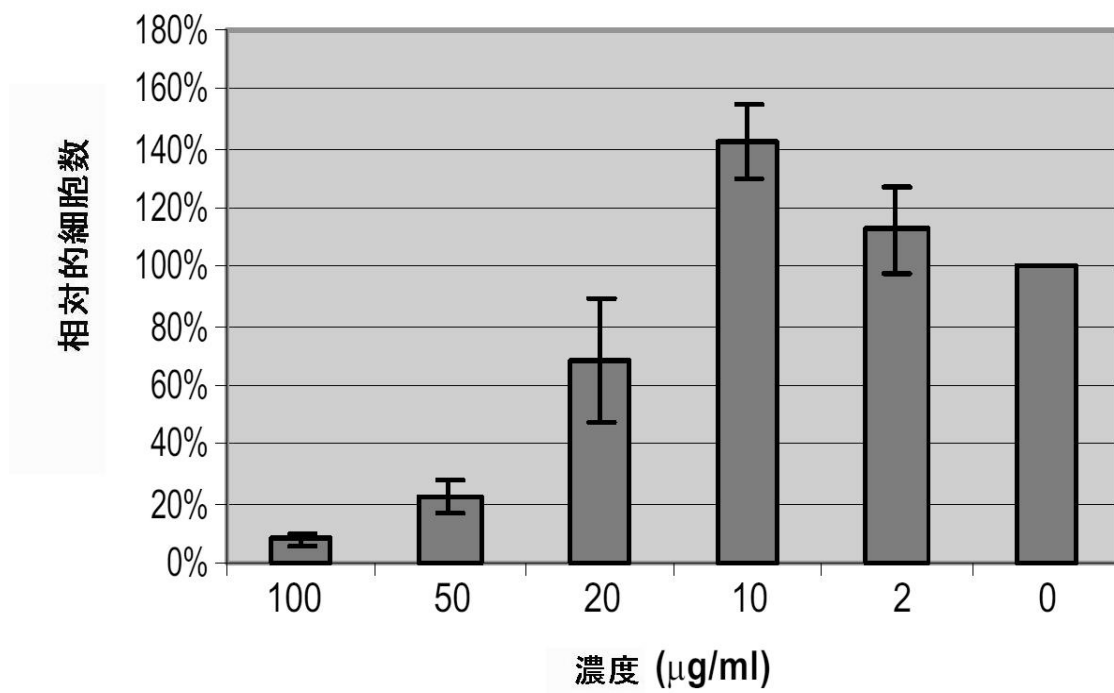


FIG. 33B

【図 3 4】

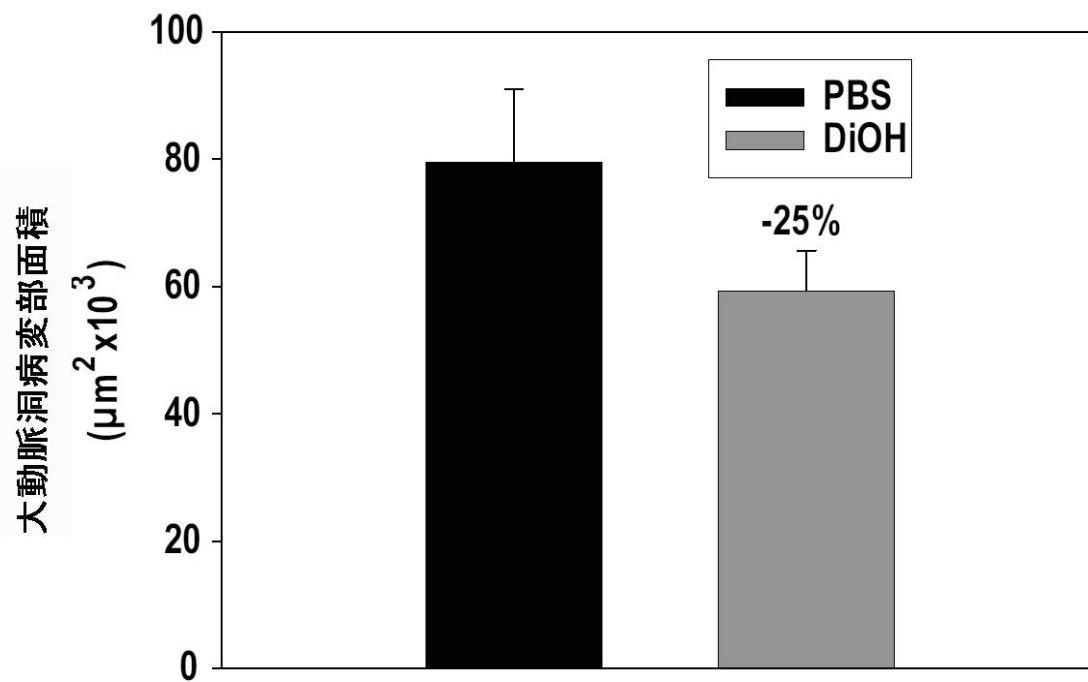


FIG. 34

【図 3 5】

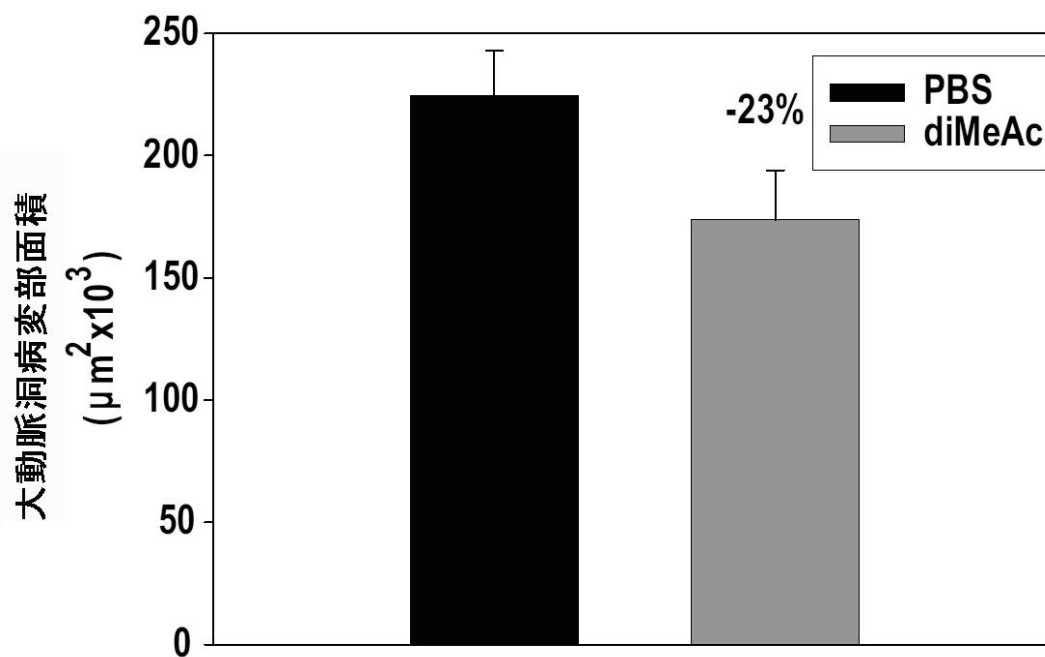


FIG. 35

【図 3 6 A - 3 6 B】

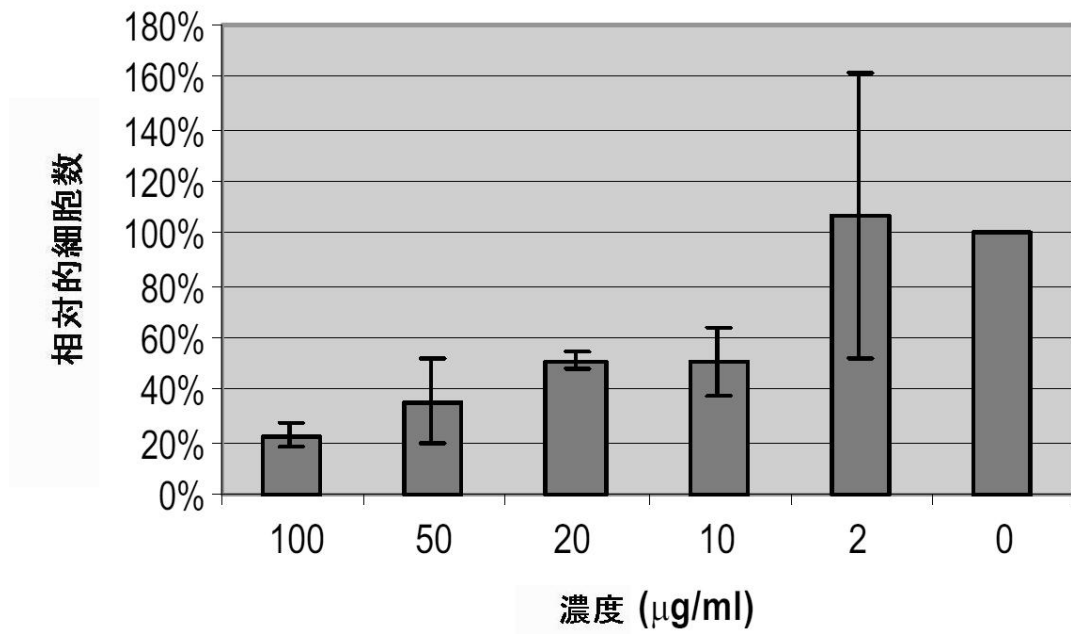


FIG. 36A

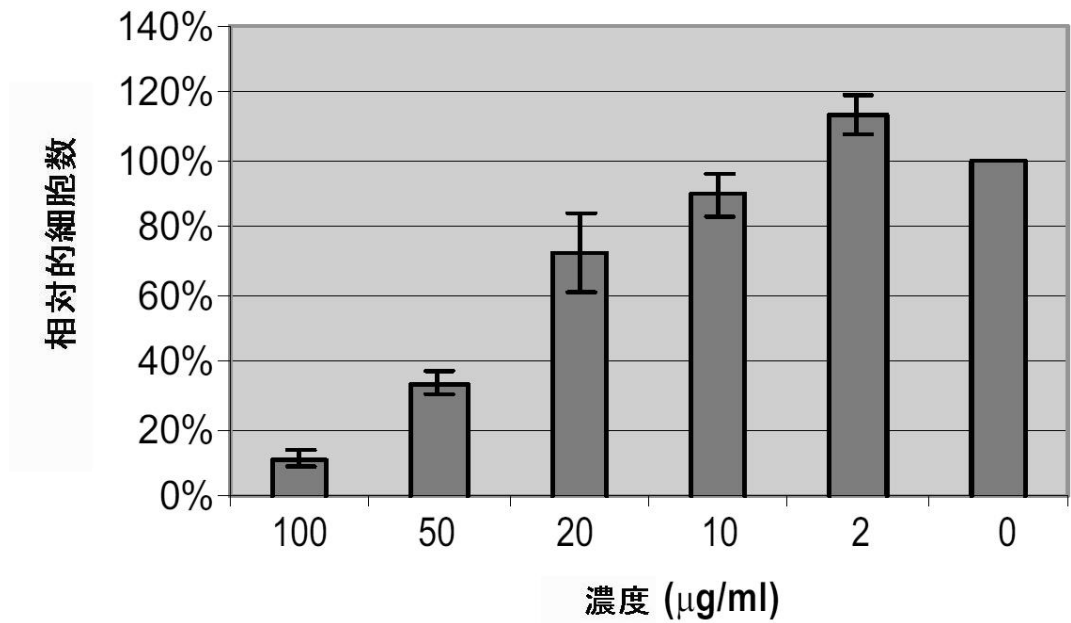


FIG. 36B

【図 3 7】

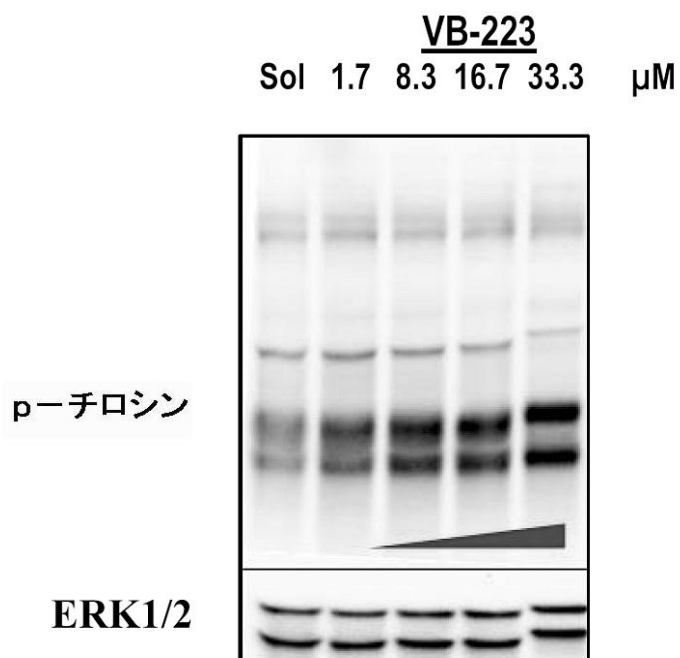


FIG. 37

【図 3 8】

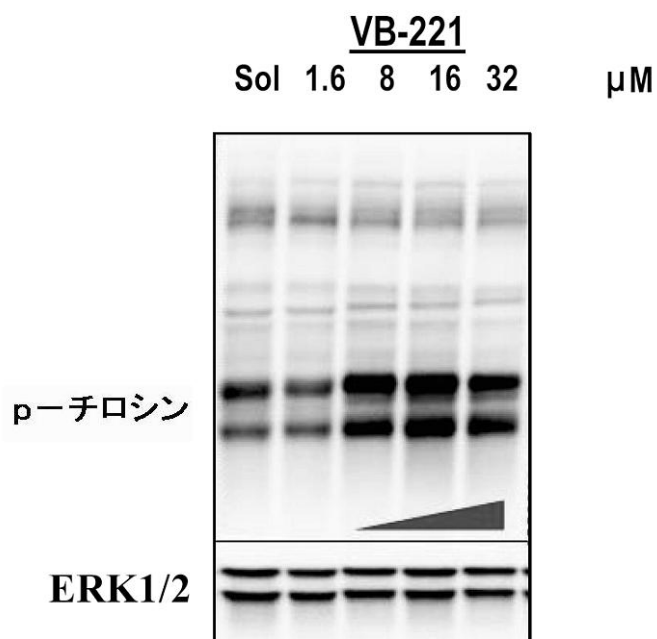


FIG. 38

【図 39】

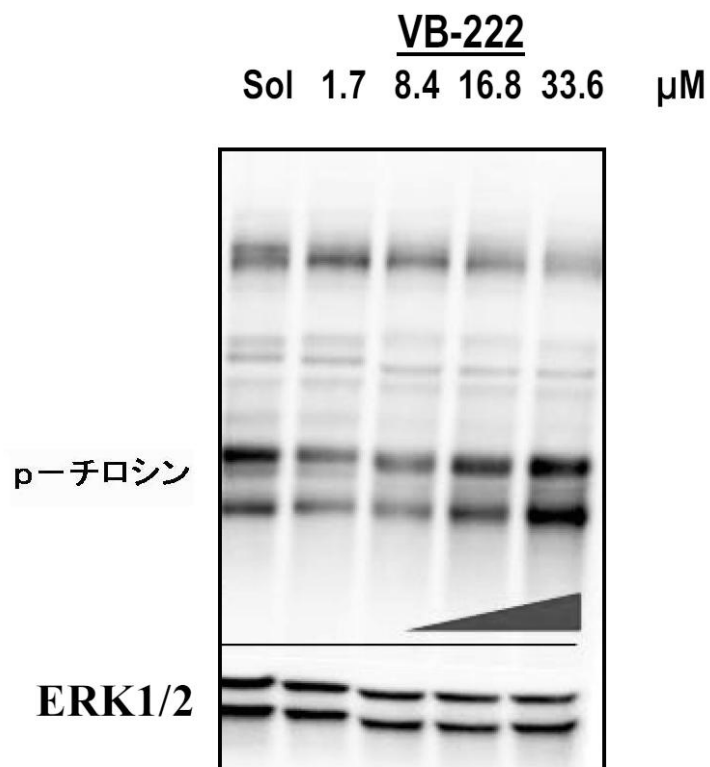


FIG. 39

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P	37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/08
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P	21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12
A 6 1 P	15/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00
A 6 1 P	19/04 (2006.01)	A 6 1 P 19/04
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10

- (72)発明者 ジニウク, ジーヴ
イスラエル, 7 6 2 3 1 レチョヴォト, ゴロディスキー ストリート 1 1 / 5
- (72)発明者 ハルペリン, ギデオン
イスラエル, 9 0 8 3 6 ハルーアダル, ハトメール ストリート 6
- (72)発明者 メンデル, イツハク
イスラエル, 7 6 3 4 9 レチョヴォト, ジポラ トヴ ストリート 5 / 8
- (72)発明者 フェイジュ, エレズ
イスラエル, 5 0 2 9 5 ヘメド, ピー. オー. ボックス 1 7 0
- (72)発明者 ヤコヴ, ニヴァ
イスラエル, 6 9 7 0 5 テルーアヴィヴ, ハダル ヨセフ ストリート 2 2 / 1 5
- (72)発明者 ブレイトバート, エヤル
イスラエル, 7 3 1 2 7 ハシュモナئم, ハイツァ ストリート 2 7

審査官 天野 皓己

- (56)参考文献 国際公開第2 0 0 8 / 0 8 4 4 7 2 (WO, A 1)
- 特開平0 5 - 3 3 9 3 8 7 (JP, A)
- 特表2 0 0 5 - 5 0 5 4 9 9 (JP, A)
- 特開昭5 4 - 0 4 1 8 0 7 (JP, A)
- 特開平0 8 - 0 5 9 5 4 5 (JP, A)
- 特開昭5 9 - 1 7 5 4 4 5 (JP, A)
- 特開昭5 9 - 0 9 3 0 2 2 (JP, A)
- 特開平0 7 - 2 5 8 2 6 1 (JP, A)
- 特開2 0 0 8 - 0 3 7 7 6 3 (JP, A)
- 特表2 0 0 7 - 5 3 1 7 0 6 (JP, A)
- 特表2 0 0 8 - 5 0 5 8 8 5 (JP, A)
- 特表2 0 0 4 - 5 3 7 4 9 8 (JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- C 0 7 F 9 / 1 0
- A 6 1 K 3 1 / 6 8 5
- A 6 1 P 1 / 0 4

A 6 1 P 1 / 1 6
A 6 1 P 9 / 0 0
A 6 1 P 9 / 1 0
A 6 1 P 1 1 / 0 0
A 6 1 P 1 3 / 1 2
A 6 1 P 1 5 / 0 0
A 6 1 P 1 7 / 0 0
A 6 1 P 1 9 / 0 4
A 6 1 P 2 1 / 0 0
A 6 1 P 2 5 / 0 0
A 6 1 P 2 9 / 0 0
A 6 1 P 3 1 / 0 4
A 6 1 P 3 5 / 0 0
A 6 1 P 3 7 / 0 6
A 6 1 P 3 7 / 0 8
A 6 1 P 4 3 / 0 0

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)