

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-536645

(P2018-536645A)

(43) 公表日 平成30年12月13日(2018.12.13)

(51) Int.Cl.

**A61K 31/16 (2006.01)**  
**A61P 37/04 (2006.01)**  
**A61P 31/00 (2006.01)**  
**A61P 31/16 (2006.01)**  
**A61K 31/198 (2006.01)**

F 1

A 61 K 31/16  
A 61 P 37/04  
A 61 P 31/00  
A 61 P 31/16  
A 61 K 31/198

テーマコード(参考)

4 C 076  
4 C 085  
4 C 086  
4 C 206

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 90 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-521336 (P2018-521336)  
(86) (22) 出願日 平成28年10月28日 (2016.10.28)  
(85) 翻訳文提出日 平成30年4月24日 (2018.4.24)  
(86) 國際出願番号 PCT/JP2016/082896  
(87) 國際公開番号 WO2017/073797  
(87) 國際公開日 平成29年5月4日 (2017.5.4)  
(31) 優先権主張番号 特願2015-212222 (P2015-212222)  
(32) 優先日 平成27年10月28日 (2015.10.28)  
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)  
(31) 優先権主張番号 特願2016-91808 (P2016-91808)  
(32) 優先日 平成28年4月28日 (2016.4.28)  
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(71) 出願人 000000066  
味の素株式会社  
東京都中央区京橋1丁目15番1号  
(74) 代理人 100080791  
弁理士 高島 一  
(74) 代理人 100125070  
弁理士 土井 京子  
(74) 代理人 100136629  
弁理士 鎌田 光宣  
(74) 代理人 100121212  
弁理士 田村 弥栄子  
(74) 代理人 100174296  
弁理士 當麻 博文  
(74) 代理人 100137729  
弁理士 赤井 厚子

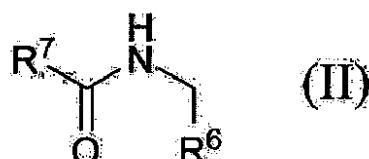
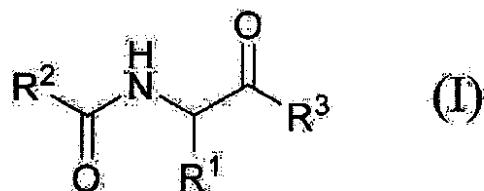
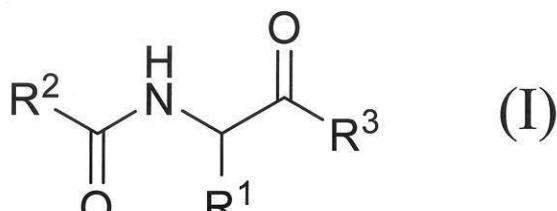
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】免疫賦活剤

## (57) 【要約】

免疫賦活作用に優れた免疫賦活剤、特にワクチンアジュバントとして有用な化合物、当該化合物を含む医薬組成物、当該化合物と抗原を含むワクチンの提供。

一般式 (I) :



[式中、各記号は、本明細書で定義した通りである。] で表される化合物又はその塩の少なくとも1種、あるいは、一般式 (II) :



N - ドコサノイル - L - バリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - リジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、  
 及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、請求項 1、2 及び 5 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の免疫賦活剤。

【請求項 9】

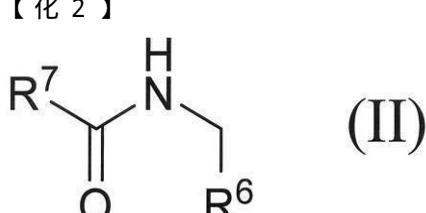
一般式 (I) で表される化合物又はその塩が、  
 10  
 N - アセチル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン *tert* - プチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - プロリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - セリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 20  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸メチルエステル  
 及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、請求項 1 又は 7 記載の免疫賦活剤。

【請求項 10】

一般式 (II) :

【化 2】



〔式中、

R<sup>6</sup> は、アルギニン側鎖を示し；

R<sup>7</sup> は、C<sub>1 - 3</sub> 7 アルキル基を示す〕

で表される化合物又はその塩の少なくとも 1 種を含む、免疫賦活剤。

【請求項 11】

R<sup>7</sup> が、C<sub>1 - 2 - 2 - 4</sub> アルキル基である、請求項 10 記載の免疫賦活剤。

10

20

30

40

50

## 【請求項 1 2】

一般式 (I I) で表される化合物又はその塩が、N-ヘキサデカノイルアグマチン又はその塩である、請求項 1 0 又は 1 1 記載の免疫賦活剤。

## 【請求項 1 3】

一般式 (I I) で表される化合物又はその塩が、N-ドコサノイルアグマチン又はその塩である、請求項 1 0 又は 1 1 記載の免疫賦活剤。

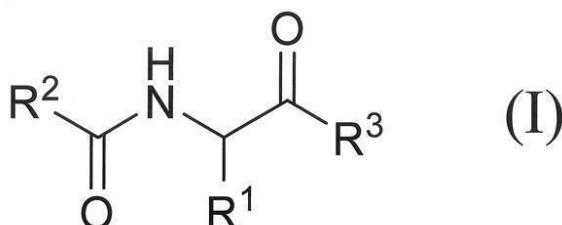
## 【請求項 1 4】

前記免疫賦活剤がワクチンアジュバントである、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の免疫賦活剤。

## 【請求項 1 5】

一般式 (I) :

## 【化 3】



10

20

## 〔式中、

R<sup>1</sup> は、アミノ酸側鎖（但し、シスチン側鎖を除く）を示し；

R<sup>2</sup> は、C<sub>1 ~ 3</sub> アルキル基を示し；

R<sup>3</sup> は、水酸基、C<sub>1 ~ 6</sub> アルコキシ基又は -NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>（式中、R<sup>4</sup> 及び R<sup>5</sup> は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は C<sub>1 ~ 6</sub> アルキル基を示す）を示す] で表される化合物又はその塩の少なくとも 1 種、並びに

-シクロデキストリンを含む、医薬組成物。

## 【請求項 1 6】

R<sup>1</sup> が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、水素原子、イソロイシン側鎖、ロイシン側鎖、リジン側鎖、フェニルアラニン側鎖、及び、バリン側鎖からなる群より選択される、請求項 1 5 記載の医薬組成物。

30

## 【請求項 1 7】

R<sup>1</sup> が、ヒスチジン側鎖、プロリン側鎖、及び、セリン側鎖からなる群より選択される、請求項 1 5 記載の医薬組成物。

## 【請求項 1 8】

R<sup>2</sup> が、C<sub>1 ~ 2</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基である、請求項 1 5 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

30

## 【請求項 1 9】

R<sup>3</sup> が、水酸基又は C<sub>1 ~ 6</sub> アルコキシ基である、請求項 1 5 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

40

## 【請求項 2 0】

R<sup>3</sup> が、水酸基、C<sub>1 ~ 6</sub> アルコキシ基又は -NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>（式中、R<sup>4</sup> 及び R<sup>5</sup> は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は C<sub>1 ~ 4</sub> アルキル基を示す）である、請求項 1 5 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

## 【請求項 2 1】

一般式 (I) で表される化合物又はその塩が、

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニン、

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンメチルエステル、

N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン t e r t - プチルエステル、

N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン、

50

N - ドコサノイルグリシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - リジンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - イソロイシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - バリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - リジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、  
 及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、請求項 15、16 及び 18 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

一般式 (I) で表される化合物又はその塩が、

N - アセチル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン tert - ブチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - プロリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - セリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸メチルエステル

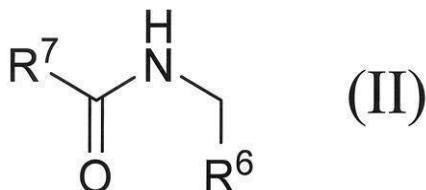
及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、請求項 15 又は 20 記載の医薬組成物。

【請求項 23】

一般式 (II) :

【化 4】



10

20

30

40

50

〔式中、

R<sup>6</sup> は、アルギニン側鎖を示し；

R<sup>7</sup> は、C<sub>1-3</sub> アルキル基を示す〕

で表される化合物又はその塩の少なくとも1種、並びに

-シクロデキストリンを含む、医薬組成物。

【請求項24】

R<sup>7</sup> が、C<sub>1-2</sub>-C<sub>2-4</sub> アルキル基である、請求項23記載の医薬組成物。

【請求項25】

一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ヘキサデカノイルアグマチン又はその塩である、請求項23又は24記載の医薬組成物。 10

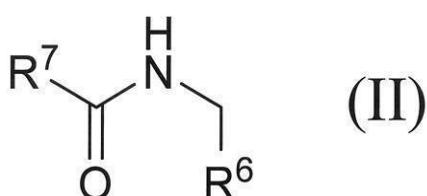
【請求項26】

一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ドコサノイルアグマチン及びその塩である、請求項23又は24記載の医薬組成物。

【請求項27】

一般式(II)：

【化5】



20

〔式中、

R<sup>6</sup> は、アルギニン側鎖を示し；

R<sup>7</sup> は、C<sub>1-3</sub> アルキル基を示す〕

で表される化合物又はその塩の少なくとも1種、並びに

ヒドロキシプロピル- - -シクロデキストリンを含む、医薬組成物。

【請求項28】

30

R<sup>7</sup> が、C<sub>1-2</sub>-C<sub>2-4</sub> アルキル基である、請求項27記載の医薬組成物。

【請求項29】

一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ヘキサデカノイルアグマチン又はその塩である、請求項27又は28記載の医薬組成物。

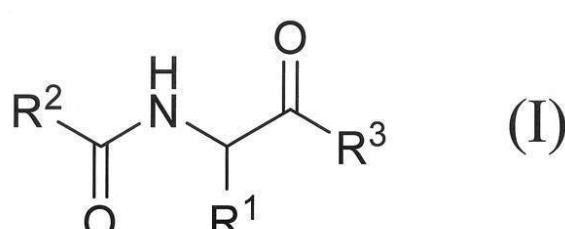
【請求項30】

一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ドコサノイルアグマチン又はその塩である、請求項27又は28記載の医薬組成物。

【請求項31】

一般式(I)：

【化6】



40

〔式中、

R<sup>1</sup> は、アミノ酸側鎖(但し、シスチン側鎖を除く)を示し；

50

R<sup>2</sup> は、C<sub>1</sub> - C<sub>7</sub> アルキル基を示し；

R<sup>3</sup> は、水酸基、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルコキシ基又は - N R<sup>4</sup> R<sup>5</sup> (式中、R<sup>4</sup> 及び R<sup>5</sup> は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル基を示す) を示す) で表される化合物又はその塩の少なくとも 1 種、並びに抗原を含む、ワクチン。

【請求項 3 2】

R<sup>1</sup> が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、水素原子、イソロイシン側鎖、ロイシン側鎖、リジン側鎖、フェニルアラニン側鎖、及び、バリン側鎖からなる群より選択される、請求項 3 1 記載のワクチン。

【請求項 3 3】

R<sup>1</sup> が、ヒスチジン側鎖、プロリン側鎖、及び、セリン側鎖からなる群より選択される、請求項 3 2 記載のワクチン。

【請求項 3 4】

R<sup>2</sup> が、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基である、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 3 5】

R<sup>3</sup> が、水酸基又は C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルコキシ基である、請求項 3 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 3 6】

R<sup>3</sup> が、水酸基、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルコキシ基又は - N R<sup>4</sup> R<sup>5</sup> (式中、R<sup>4</sup> 及び R<sup>5</sup> は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基を示す) である、請求項 3 1 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 3 7】

一般式 (I) で表される化合物又はその塩が、

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニン、

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンメチルエステル、

N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン t e r t - プチルエステル、

N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン、

N - ドコサノイルグリシンメチルエステル、

N - ドコサノイル - L - ロイシンメチルエステル、

N - ドコサノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、

N - ドコサノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、

N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - リジンメチルエステル、

N - ドコサノイル - L - イソロイシンメチルエステル、

N - ドコサノイル - L - バリンメチルエステル、

N - ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル、

N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンメチルエステル、

N - ヘキサデカノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - リジンメチルエステル、

N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、

及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、請求項 3 1、3 2 及び 3 4 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載のワクチン。

【請求項 3 8】

一般式 (I) で表される化合物又はその塩が、

N - アセチル - L - ロイシンメチルエステル、

N - ヘキサノイル - L - ロイシンメチルエステル、

N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル、

N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン t e r t - プチルエステル、

N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド、

10

20

30

40

50

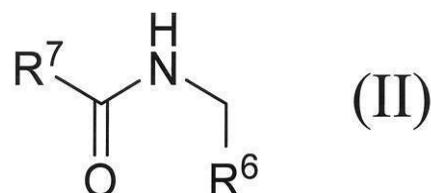
N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - プロリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - セリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸メチルエステル  
 及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、請求項 3 1 又は 3 6 記載のワクチン。

【請求項 3 9】

一般式 (II) :

【化 7】



〔式中、

R<sup>6</sup> は、アルギニン側鎖を示し；

R<sup>7</sup> は、C<sub>1</sub> - C<sub>7</sub> アルキル基を示す〕

で表される化合物又はその塩の少なくとも 1 種、並びに  
抗原を含む、ワクチン。

【請求項 4 0】

R<sup>7</sup> が、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基である、請求項 3 9 記載のワクチン。

【請求項 4 1】

一般式 (II) で表される化合物又はその塩が、N - ヘキサデカノイルアグマチン又は  
その塩である、請求項 3 9 又は 4 0 記載のワクチン。

【請求項 4 2】

一般式 (II) で表される化合物又はその塩が、N - ドコサノイルアグマチン又はその  
塩である、請求項 3 9 又は 4 0 記載のワクチン。

【請求項 4 3】

皮下投与用又は経鼻投与用である、請求項 3 1 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載のワクチン  
。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、免疫賦活作用に優れた免疫賦活剤、特にワクチンアジュバントとして有用な  
化合物、当該化合物を含む医薬組成物、当該化合物と抗原を含むワクチン等に関する。

10

20

30

40

50

## 【背景技術】

## 【0002】

ワクチンには病原体を弱毒化した生ワクチン、病原体を不活化した全粒子ワクチン、病原体を分解して特定の成分だけを抽出、精製したスプリットワクチンがある。この中でスプリットワクチンは、その免疫賦活能を高めるために、アジュバントと呼ばれる化合物・組成物を添加する必要がある。また、近年研究開発が進んでいる粘膜ワクチン、癌ワクチンやある種のアレルギーに対するワクチンでも、その効果の発現にはアジュバントの添加が必要だと言われている。国内で承認されているアジュバントとしては、現状、沈降性アジュバントとしてアルミニウム塩（水酸化アルミニウムゲル等）、油性アジュバントとしてスクアレン、そもそも免疫原性があるグラム陰性菌細胞壁外膜の構成成分であるリポ多糖LPSの改変体であるMPLがある。世界レベルでのアジュバント研究開発でも、CpGやPoly(I:C)などに由来する核酸、Toll-like receptor (TLR)を活性化するバクテリア構成成分の改変体や免疫系を刺激するサイトカイン類の改変体などに着目して進んでいる。しかし、国内承認済み、研究開発途上にあるものを含めて、これら既存のアジュバントには次のような課題があった。

10

## 【0003】

沈降性アジュバントのアルミニウム塩では、インフルエンザHAワクチンや口蹄疫ワクチンなど、いくつかのワクチンでアジュバント効果に疑問が呈されている。また、アルミニウム塩は安全性の面からも、接種部位に肉芽形成がしばしば見られること、高IgE血症を引き起こすことが知られている。また、スクアレンなどの油性アジュバントでは、乳化による粘性の増加により接種時に疼痛が起きたり、体内に分散しにくく接種部位に留まる性質を持つことから接種部位が硬結したりすることがある。一方、MPLは免疫原性を持つLPSの改変体ゆえに、ワクチンとの同時接種により強い炎症反応を惹起したり、疼痛や発熱を伴ったりする場合がある。さらに、開発途上にあるアジュバントにおいても、アレルギー誘導や強い炎症反応、発熱の惹起など、安全性に課題があるとされる。また核酸アジュバントでは、医薬品として合成する際の課題、例えば、有効なアジュバント効果を奏すことができるとされる鎖長まで化学合成することが困難であることなど、新たな課題が浮上している。このようにアジュバントでは、有効性と安全性を兼ね備えることが求められているが、従来の国内承認済み及び研究開発途上にあるアジュバントではそれらの要求を完全には満たしていないのが現状である。

20

## 【0004】

一方、米国アレルギー感染症研究所（NIAID）では、ワクチンアジュバントの安全性について次の12点を挙げている。1)自己免疫応答を誘導しない、2)ヒト抗原と交叉反応性をもつ抗原を含まない、3)アレルギー性過敏反応を誘発しない、4)化学的に純粋に合成されるべきである、5)発癌性を持たない、6)目的とする免疫応答以外は誘導しない、7)生体内で速やかに代謝されるべき物質であるべきである、8)接種方法に関わらず安全であるべきである、9)催奇形性・生殖毒性を持ってはならない、10)一年以上の保存安定性を持つべきである、11)目的に沿って選択されるべきである、12)低い頻度で発生し得る副反応は受容されるべきである。また、欧洲のワクチン審査担当機関であるEMA（European Medicines Agency）によるガイドラインでは、非臨床のアジュバント単独毒性試験として、1)接種局所の組織傷害・肉芽腫形成、2)過敏性反応・アナフィラキシー、3)発熱、4)全身毒性、5)生殖機能毒性、6)遺伝毒性（合成アジュバントのみ）を挙げている。米国、欧洲で共通する部分、しない部分はあるが、少なくともこれから開発されるワクチンアジュバントはこうした要求を満たすべきと考えられる。

30

## 【0005】

一方、特許文献1には、抗炎症薬及び免疫調整剤として、N-（テトラコセノイル）-L-リジン、N-（テトラコセノイル）-L-メチオニン、N-（テトラコセノイル）-L-スレオニンが開示されているが、免疫調節作用（例えば、抗体産生の増強等）を有することは実証されていない。特許文献2及び3には、N-パルミトイyl-L-セリン、N

40

50

- ラウロイル - L - セリン及びそのメチルエステル体、N - オレオイル - L - セリン、N - パルミトレイル - L - セリン、N - パルミトイール - L - システイン、N - パルミトイール - L - グリシン、N - ラウロイル - L - グリシン及びそのメチルエステル体、N - ラウロイル - 4 - ヒドロキシ - L - プロリンが、カンナビノイドに対する末梢レセプターの変調に係わる疾病（例えば、免疫系障害に関連した病気、炎症性疾患）の治療薬として開示されているが、免疫調節作用（例えば、抗体産生の増強等）を有することは実証されていない。特許文献4及び5には、ロイシンと - 3 及び / 又は - 6 多価不飽和脂肪酸との混合物が、免疫機能の増強作用（NK細胞の活性化、抗体産生の増強）を有することが開示されているが、縮合した化合物での開示はない。

また、免疫調節作用を有する化合物として、ジアシルシスチン誘導体が知られている。  
特許文献6の実施例25には、アシル基がウンデシル基（C<sub>11</sub>アルキル）で置換されたカルボニル基であるジアシルシスチン化合物が開示されており、特許文献7の実施例3には、アシル基が不飽和炭化水素基（C<sub>17</sub>アルケニル）で置換されたカルボニル基であるジアシルシスチン化合物が開示されているが、いずれも本発明化合物とは異なり、またそのアジュバント活性は十分とは言えない。

ところで、非特許文献1には、ヒドロキシプロピル - - シクロデキストリン（以下、HP - - CDとも称する）が免疫応答を増強することが報告されている。また、特許文献8には、HP - - CDがアジュバントであるキチン粒子による免疫応答を増強することや、特許文献9や10には、HP - - CDがワクチン抗原（インフルエンザワクチンやポリオウィルス）の安定化効果を有することが記載されている。更に、特許文献11には、HP - - CDが、トリアゾール系抗真菌剤の溶解性を増す基剤（solubilizer）として知られていることや、特許文献12には、HP - - CDがサポニンアジュバントとして知られているQS-21を溶解させることも記載されている。しかし、アシルアグマチンとHP - - CDとの組みあわせはこれまでに知られておらず、分散状態にあるアシルアグマチンがHP - - CD共存下におくことで溶解状態になり得、そのような溶解状態でもなお高い免疫賦活効果を示すことはこれまでに知られていない。

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0006】

【特許文献1】国際公開第02/94764号

【特許文献2】国際公開第96/18600号

【特許文献3】国際公開第03/06007号

【特許文献4】国際公開第2009/157759号

【特許文献5】国際公開第2009/157767号

【特許文献6】特開平4-230359号公報

【特許文献7】特開昭59-219262号公報

【特許文献8】国際公開第2009/142988号

【特許文献9】国際公開第2015/034924号

【特許文献10】国際公開第2016/012385号

【特許文献11】国際公開第2014/191080号

【特許文献12】国際公開第99/10008号

#### 【非特許文献】

#### 【0007】

【非特許文献1】M. Onishi et al., J. Immunol. 2015, 194, 2673-82

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0008】

本発明の目的は、免疫賦活作用に優れた免疫賦活剤、特にワクチンアジュバントとして有用な化合物、当該化合物を含む医薬組成物、当該化合物と抗原を含むワクチンを提供す

10

20

30

40

50

ることである。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意検討した結果、下記の一般式(I)で示される化合物(以下、化合物(I)と称することもある)及びその塩、並びに、一般式(II)で示される化合物(以下、化合物(II)と称することもある)及びその塩が、抗原特異的なIgG1サブクラス抗体産生を増強できるという優れた免疫賦活作用を有することを見出し、当該知見に基づいてさらに研究を進めることによって本発明を完成するに至った。また、本発明者らは、化合物(I)、化合物(II)及びそれらの塩が、抗原特異的なIgG2aサブクラス抗体産生を増強できることやIgE抗体の産生の誘導を抑えられる場合があることも見出した。さらに本発明者らは、分散状態にある化合物(II)又はその塩が、ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリンを共存させることにより溶解状態になり得、しかもそのような溶解状態でもなお高い免疫賦活効果を示し得ることを見出した。

10

すなわち、本発明は以下の通りである。

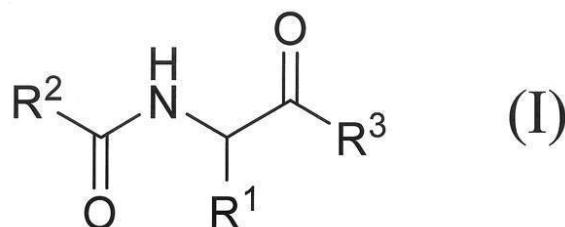
【0010】

[1] 一般式(I)：

【0011】

【化1】

20



【0012】

[式中、

R<sup>1</sup>は、アミノ酸側鎖(但し、シスチン側鎖を除く)を示し；

R<sup>2</sup>は、C<sub>1-3</sub>アルキル基を示し；

R<sup>3</sup>は、水酸基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又は-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>(式中、R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基を示す)を示す]

30

で表される化合物又はその塩の少なくとも1種を含む、免疫賦活剤。

[2] R<sup>1</sup>が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、水素原子、イソロイシン側鎖、ロイシン側鎖、リジン側鎖、フェニルアラニン側鎖、及び、バリン側鎖からなる群より選択される、[1]記載の免疫賦活剤。

[3] R<sup>1</sup>が、アルギニン側鎖、及び、グルタミン側鎖からなる群より選択される、[2]記載の免疫賦活剤。

[4] R<sup>1</sup>が、ヒスチジン側鎖、プロリン側鎖、及び、セリン側鎖からなる群より選択される、[1]記載の免疫賦活剤。

[5] R<sup>2</sup>が、C<sub>1-2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基である、[1]～[4]のいずれかに記載の免疫賦活剤。

40

[6] R<sup>3</sup>が、水酸基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシ基である、[1]～[5]のいずれかに記載の免疫賦活剤。

[7] R<sup>3</sup>が、水酸基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又は-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>(式中、R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はC<sub>1-4</sub>アルキル基を示す)である、[1]～[5]のいずれかに記載の免疫賦活剤。

[8] 一般式(I)で表される化合物又はその塩が、

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン、

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル、

50

N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン t e r t - プチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン、  
 N - ドコサノイルグリシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - リジンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - イソロイシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - バリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - リジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、  
 及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、[ 1 ]、[ 2 ] 及び [ 5 ] ~ [ 7 ] のいずれかに記載の免疫賦活剤。

[ 9 ] 一般式 ( I ) で表される化合物又はその塩が、

N - アセチル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ( 2 - オクタデシルエイコサノイル ) - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン t e r t - プチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - プロリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - セリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸メチルエステル

及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、[ 1 ] 又は [ 7 ] 記載の免疫賦活剤。

[ 10 ] 一般式 ( II ) :

【 0013 】

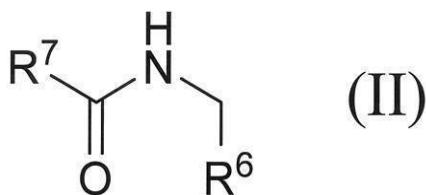
10

20

30

40

## 【化2】



## 【0014】

〔式中、

R<sup>6</sup>は、アルギニン側鎖を示し；R<sup>7</sup>は、C<sub>1-3</sub>アルキル基を示す〕

10

で表される化合物又はその塩の少なくとも1種を含む、免疫賦活剤。

[11] R<sup>7</sup>が、C<sub>12-24</sub>アルキル基である、[10]記載の免疫賦活剤。

[12] 一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ヘキサデカノイルアグマチン又はその塩である、[10]又は[11]記載の免疫賦活剤。

[13] 一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ドコサノイルアグマチン又はその塩である、[10]又は[11]記載の免疫賦活剤。

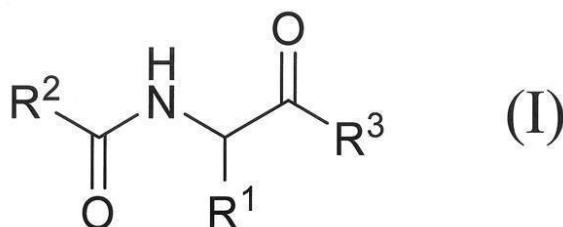
[14] 前記免疫賦活剤がワクチンアジュバントである、[1]～[13]のいずれかに記載の免疫賦活剤。

[15] 一般式(I)：

20

## 【0015】

## 【化3】



## 【0016】

30

〔式中、

R<sup>1</sup>は、アミノ酸側鎖(但し、シスチン側鎖を除く)を示し；R<sup>2</sup>は、C<sub>1-3</sub>アルキル基を示し；R<sup>3</sup>は、水酸基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又は-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>(式中、R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はC<sub>1-6</sub>アルキル基を示す)を示す〕

で表される化合物又はその塩の少なくとも1種、並びに

-シクロデキストリンを含む、医薬組成物。

[16] R<sup>1</sup>が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、水素原子、イソロイシン側鎖、ロイシン側鎖、リジン側鎖、フェニルアラニン側鎖、及び、バリン側鎖からなる群より選択される、[15]記載の医薬組成物。[17] R<sup>1</sup>が、ヒスチジン側鎖、プロリン側鎖、及び、セリン側鎖からなる群より選択される、[15]記載の医薬組成物。[18] R<sup>2</sup>が、C<sub>12-24</sub>アルキル基である、[15]～[17]のいずれかに記載の医薬組成物。[19] R<sup>3</sup>が、水酸基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシ基である、[15]～[18]のいずれかに記載の医薬組成物。[20] R<sup>3</sup>が、水酸基、C<sub>1-6</sub>アルコキシ基又は-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>(式中、R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はC<sub>1-4</sub>アルキル基を示す)である、[15]～[18]のいずれかに記載の医薬組成物。

[21] 一般式(I)で表される化合物又はその塩が、

40

50

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニン、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンメチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン t e r t - プチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン、  
 N - ドコサノイルグリシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - リジンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - イソロイシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - バリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - リジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、  
 及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、[15]、[16]及び[18]～[20]のいずれかに記載の医薬組成物。

[22] 一般式 (I) で表される化合物又はその塩が、

N - アセチル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン t e r t - プチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - プロリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - セリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸メチルエステル

及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、[15]又は[20]記載の医薬組成物。

[23] 一般式 (II) :

【0017】

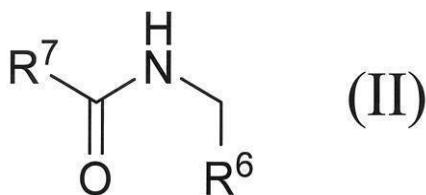
10

20

30

40

【化4】



【0018】

〔式中、

R<sup>6</sup>は、アルギニン側鎖を示し；R<sup>7</sup>は、C<sub>1-37</sub>アルキル基を示す〕

10

で表される化合物又はその塩の少なくとも1種、並びに

-シクロデキストリンを含む、医薬組成物。

〔24〕R<sup>7</sup>が、C<sub>12-24</sub>アルキル基である、〔23〕記載の医薬組成物。

〔25〕一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ヘキサデカノイルアグマチン又はその塩である、〔23〕又は〔24〕記載の医薬組成物。

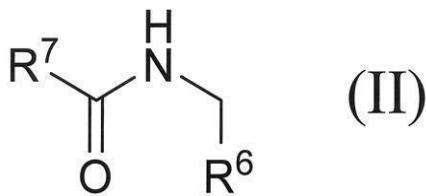
〔26〕一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ドコサノイルアグマチン及びその塩である、〔23〕又は〔24〕記載の医薬組成物。

〔27〕一般式(II)：

【0019】

20

【化5】



【0020】

〔式中、

R<sup>6</sup>は、アルギニン側鎖を示し；

30

R<sup>7</sup>は、C<sub>1-37</sub>アルキル基を示す〕

で表される化合物又はその塩の少なくとも1種、並びに

ヒドロキシプロピル- - -シクロデキストリンを含む、医薬組成物。

〔28〕R<sup>7</sup>が、C<sub>12-24</sub>アルキル基である、〔27〕記載の医薬組成物。

〔29〕一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ヘキサデカノイルアグマチン又はその塩である、〔27〕又は〔28〕記載の医薬組成物。

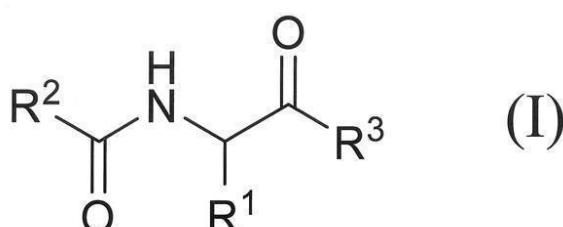
〔30〕一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N-ドコサノイルアグマチン又はその塩である、〔27〕又は〔28〕記載の医薬組成物。

〔31〕一般式(I)：

【0021】

40

【化6】



【0022】

〔式中、

50

R<sup>1</sup> は、アミノ酸側鎖（但し、シスチン側鎖を除く）を示し；

R<sup>2</sup> は、C<sub>1-3</sub> アルキル基を示し；

R<sup>3</sup> は、水酸基、C<sub>1-6</sub> アルコキシ基又は -NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>（式中、R<sup>4</sup> 及び R<sup>5</sup> は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は C<sub>1-6</sub> アルキル基を示す）を示す】

で表される化合物又はその塩の少なくとも 1 種、

並びに抗原を含む、ワクチン。

[32] R<sup>1</sup> が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、水素原子、イソロイシン側鎖、ロイシン側鎖、リジン側鎖、フェニルアラニン側鎖、及び、バリン側鎖からなる群より選択される、[31] 記載のワクチン。

[33] R<sup>1</sup> が、ヒスチジン側鎖、プロリン側鎖、及び、セリン側鎖からなる群より選択される、[31] 記載のワクチン。

[34] R<sup>2</sup> が、C<sub>1-2</sub>-C<sub>4</sub> アルキル基である、[31] ~ [33] のいずれかに記載のワクチン。

[35] R<sup>3</sup> が、水酸基又は C<sub>1-6</sub> アルコキシ基である、[31] ~ [34] のいずれかに記載のワクチン。

[36] R<sup>3</sup> が、水酸基、C<sub>1-6</sub> アルコキシ基又は -NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>（式中、R<sup>4</sup> 及び R<sup>5</sup> は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は C<sub>1-4</sub> アルキル基を示す）である、[31] ~ [34] のいずれかに記載のワクチン。

[37] 一般式（I）で表される化合物又はその塩が、

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン、

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル、

N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン t e r t - ブチルエステル、

N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン、

N-ドコサノイルグリシンメチルエステル、

N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル、

N-ドコサノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル、

N-ドコサノイル-L-グルタミン酸 1-メチルエステル、

N<sup>2</sup>-ドコサノイル-L-リジンメチルエステル、

N-ドコサノイル-L-イソロイシンメチルエステル、

N-ドコサノイル-L-バリンメチルエステル、

N-ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル、

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル、

N-ヘキサデカノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル、

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステル、

N-ヘキサデカノイル-L-グルタミン酸 1-メチルエステル、

及び、それらの塩

からなる群より選ばれる、[31]、[32] 及び [34] ~ [36] のいずれかに記載のワクチン。

[38] 一般式（I）で表される化合物又はその塩が、

N-アセチル-L-ロイシンメチルエステル、

N-ヘキサノイル-L-ロイシンメチルエステル、

N-(2-オクタデシルエイコサノイル)-L-ロイシンメチルエステル、

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシン t e r t - ブチルエステル、

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド、

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド、

N-ヘキサデカノイル-L-ヒスチジンメチルエステル、

N-ヘキサデカノイル-L-プロリンメチルエステル、

N-ヘキサデカノイル-L-セリンメチルエステル、

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシルエステル、

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシルエステル、

10

20

30

40

50

N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシリエステル、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシリエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシリエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸メチルエステル  
 及び、それらの塩

10

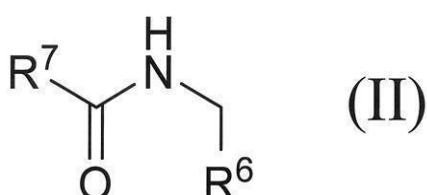
20

からなる群より選ばれる、[31]又は[36]記載のワクチン。

[39]一般式(II)：

【0023】

【化7】



【0024】

〔式中、

R<sup>6</sup>は、アルギニン側鎖を示し；

R<sup>7</sup>は、C<sub>1</sub> - C<sub>7</sub>アルキル基を示す〕

で表される化合物又はその塩の少なくとも1種、並びに

抗原を含む、ワクチン。

[40]R<sup>7</sup>が、C<sub>12</sub> - C<sub>24</sub>アルキル基である、[39]記載のワクチン。

[41]一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N - ヘキサデカノイルアグマチン又はその塩である、[39]又は[40]記載のワクチン。

[42]一般式(II)で表される化合物又はその塩が、N - ドコサノイルアグマチン又はその塩である、[39]又は[40]記載のワクチン。

[43]皮下投与用又は経鼻投与用である、[31]～[42]のいずれかに記載のワクチン。

【発明の効果】

【0025】

化合物(I)、化合物(II)及びそれらの塩は、抗原特異的なIgG1サブクラス抗体産生の増強作用(免疫賦活作用)を有するので、免疫賦活剤として有用である。特に、化合物(I)、化合物(II)及びそれらの塩は、従来のアルミニウムゲルアジュバントと同等かそれ以上の免疫賦活作用を有する。また化合物(I)、化合物(II)及びそれらの塩は、IgG2aサブクラス抗体産生の増強作用(免疫賦活作用)も示す。更に化合物(I)、化合物(II)及びそれらの塩は、IgE抗体の産生の誘導を抑制し、従来のアルミニウムゲルアジュバントで課題となっているアレルギー誘導活性が抑えられる場合があり、効果的で且つ安全なワクチンアジュバントとなり得る。

また本発明によれば、生理食塩水に容易に溶解又は分散し得る、化合物(I)又はその塩、あるいは化合物(II)又はその塩、並びに - シクロデキストリンを含む医薬組成物が提供される。また、生理食塩水に容易に溶解又は分散し得る、化合物(II)又はその塩、並びにヒドロキシプロピル - - シクロデキストリンを含む医薬組成物が提供される。当該医薬組成物は、抗原特異的なIgG1サブクラス抗体産生の増強作用(免疫賦活

40

50

作用)に優れ、免疫賦活剤として用いられる。

また本発明によれば、化合物(I)又はその塩、あるいは化合物(II)又はその塩、並びに抗原を含むワクチンが提供される。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】実施例1における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(II)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)のアジュバント活性(IgG1产生量)の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Alum」はAlum投与群を示し、「SZ62」はSZ62投与群を示す。

【図2】実施例2における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(II)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)のアジュバント活性(IgG2a产生量)の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Alum」はAlum投与群を示し、「SZ62」はSZ62投与群を示す。

【図3】実施例3における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(II)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)のアレルギー誘導活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Alum」はAlum投与群を示し、「SZ62」はSZ62投与群を示す。

【図4】実施例4における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(II)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)の経鼻インフルエンザワクチンアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はインフルエンザワクチン単独投与群を示し、「Poly(I:C)」はPoly(I:C)投与群を示し、「0.2μg」はSZ62(0.2μg)投与群を示し、「1μg」はSZ62(1μg)投与群を示す。

【図5】実施例5における、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン(SZ61:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基が水酸基である化合物)、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(II)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩(SZ63:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物の塩)、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル(SZ64:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がグルタミン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>17</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がtert-ブチルオキシである化合物)、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン(SZ65:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がグルタミン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>17</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基が水酸基である化合物)のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Alum」はAlum投与群を示し、「SZ61」はSZ61投与群を示し、「SZ62」はSZ62投与群を示し、「SZ63」はSZ63投与群を示し、「SZ64」はSZ64投与群を示し、「SZ65」はSZ65投与群を示す。

【図6】実施例6における、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン(SZ61:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基が水酸基である化合物)、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(II)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩(SZ63:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物の塩)、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル(SZ64:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がグルタミン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>17</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がtert-ブチルオキシである化合物)、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン(SZ65:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がグルタミン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>17</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基が水酸基である化合物)のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。

10

20

30

40

50

基が  $C_{1,7}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基が水酸基である化合物) のアレルギー誘導活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Alum」はAlum投与群を示し、「SZ61」はSZ61投与群を示し、「SZ62」はSZ62投与群を示し、「SZ63」はSZ63投与群を示し、「SZ64」はSZ64投与群を示し、「SZ65」はSZ65投与群を示す。

【図7】実施例7における、N-ドコサノイルグリシンメチルエステル (SZ69:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基が水素原子であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{2,1}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル (SZ70:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がロイシン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{2,1}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)、N-ドコサノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル (SZ71:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がフェニルアラニン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{2,1}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)、N-ドコサノイル-L-グルタミン酸1-メチルエステル (SZ72:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がグルタミン酸側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{2,1}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-L-リジンメチルエステル トリフルオロ酢酸塩 (SZ73:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がリジン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{2,1}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物の塩)、N-ドコサノイル-L-イソロイシンメチルエステル (SZ76:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がイソロイシン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{2,1}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)、N-ドコサノイル-L-バリンメチルエステル (SZ77:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がバリン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{2,1}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Alum」はAlum投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup>投与群を示し、「SZ69」はSZ69投与群を示し、「SZ70」はSZ70投与群を示し、「SZ71」はSZ71投与群を示し、「SZ72」はSZ72投与群を示し、「SZ73」はSZ73投与群を示し、「SZ76」はSZ76投与群を示し、「SZ77」はSZ77投与群を示す。

【図8】N-ヘキサデカノイルアグマチン (SZ62:一般式(II)の  $R^7$  に対応する基が  $C_{1,5}$  アルキル基である化合物)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル 塩酸塩 (SZ63:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がアルギニン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{1,5}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物の塩)、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン tert-ブチルエステル (SZ64:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がグルタミン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{1,7}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がtert-ブチルオキシである化合物)、N-ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル (SZ78:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基が水素原子であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{1,5}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル (SZ79:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がロイシン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{1,5}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステル トリフルオロ酢酸塩 (SZ81:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がリジン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{1,5}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル (SZ80:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がフェニルアラニン側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{1,5}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステル トリフルオロ酢酸塩 (SZ82:一般式(I)の  $R^1$  に対応する基がグルタミン酸側鎖であり、  $R^2$  に対応する基が  $C_{1,5}$  アルキル基であり、  $R^3$  に対応する基がメトキシである化合物)のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Al-

10

20

30

40

50

U M」はAlum投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup>投与群を示し、「SZ 6 2」はSZ 6 2投与群を示し、「SZ 6 3」はSZ 6 3投与群を示し、「SZ 6 4」はSZ 6 4投与群を示し、「SZ 7 8」はSZ 7 8投与群を示し、「SZ 7 9」はSZ 7 9投与群を示し、「SZ 8 0」はSZ 8 0投与群を示し、「SZ 8 1」はSZ 8 1投与群を示し、「SZ 8 2」はSZ 8 2投与群を示す。

【図9】実施例9における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ 6 2:一般式(II))のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル(SZ 6 4:一般式(I))のR<sup>1</sup>に対応する基がグルタミン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>17</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がtert-ブチルオキシである化合物)、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ 7 0:一般式(I))のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>21</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)、N-ドコサノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル(SZ 7 1:一般式(I))のR<sup>1</sup>に対応する基がフェニルアラニン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>21</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)のアレルギー誘導活性の評価試験の結果を示すグラフである。「saline」はOVA単独投与群を示し、「Alum」はAlum投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup>投与群を示し、「SZ 6 2」はSZ 6 2投与群を示し、「SZ 6 4」はSZ 6 4投与群を示し、「SZ 7 0」はSZ 7 0投与群を示し、「SZ 7 1」はSZ 7 1投与群を示す。

【図10】実施例10における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ 6 2:一般式(II))のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ 7 0:一般式(I))のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>21</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)のTh1応答の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup>投与群を示し、「SZ 6 2」はSZ 6 2投与群を示し、「SZ 7 0」はSZ 7 0投与群を示す。本グラフは、左から順に「Saline」、「Addavax」、「SZ 6 2」、「SZ 7 0」をくり返し示す。

【図11】実施例10における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ 6 2:一般式(II))のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ 7 0:一般式(I))のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>21</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)のTh2応答の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup>投与群を示し、「SZ 6 2」はSZ 6 2投与群を示し、「SZ 7 0」はSZ 7 0投与群を示す。本グラフは、左から順に「Saline」、「Addavax」、「SZ 6 2」、「SZ 7 0」をくり返し示す。

【図12】実施例11における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ 6 2:一般式(II))のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)の分散性検討試験の結果を示すグラフである。「saline」は生理食塩水を示し、「5% CD」は5% - シクロデキストリン(CD)添加生理食塩水を示し、「10% HP - - CD」は10% 2-ヒドロキシプロピル - - CD (HP - - CD)添加生理食塩水を示し、「5% CD + SZ 6 2」はN-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ 6 2:一般式(II))のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)に5% CD添加生理食塩水を加え攪拌して調製したサンプルを示し、「10% HP - - CD + SZ 6 2」はSZ 6 2に10% HP - - CD添加生理食塩水を加え攪拌して調製したサンプルを示す。

【図13】実施例12における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ 6 2:一般式(II))のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)のアジュバント活性の評価試験の結果(5% CD添加生理食塩水時、10% HP - - CD添加生理食塩水時)を示すグラフである。「saline」はOVA単独投与群を示し、「5% CD」は5%

10

20

30

40

50

C D 添加生理食塩水投与群を示し、「10%HP- - CD」は10%HP- - CD添加生理食塩水投与群を示し、「5% CD + SZ 62」はSZ 62に5% CD添加生理食塩水を加え攪拌したものを投与した群を示し、「10%HP- - CD + SZ 62」はSZ 62に10%HP- - CD添加生理食塩水を加え攪拌したものを投与した群を示す。

【図14】実施例13における、N-アセチル-L-ロイシンメチルエステル(SZ 83:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>1</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)、N-ヘキサノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ 84:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>5</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)、N-(2-オクタデシルエイコサノイル)-L-ロイシンメチルエステル(SZ 86:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>3</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンtert-ブチルエステル(SZ 89:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がtert-ブチルオキシである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド(SZ 90:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がアミノである化合物)の1次免疫後のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「SZ 83」はSZ 83投与群を示し、「SZ 84」はSZ 84投与群を示し、「SZ 86」はSZ 86投与群を示し、「SZ 89」はSZ 89投与群を示し、「SZ 90」はSZ 90投与群を示す。

【図15】実施例14における、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド(SZ 92:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がジエチルアミノである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-ヒスチジンメチルエステル(SZ 94:一般式(I)のR<sup>2</sup>に対応する基がヒスチジン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-プロリンメチルエステル(SZ 95:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がプロリン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-セリンメチルエステル(SZ 96:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がセリン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)の1次免疫後のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「SZ 92」はSZ 92投与群を示し、「SZ 94」はSZ 94投与群を示し、「SZ 95」はSZ 95投与群を示し、「SZ 96」はSZ 96投与群を示す。

【図16】実施例15における、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシルエステル(SZ 97:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がヘキシルオキシである化合物)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシルエステル塩酸塩(SZ 99:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がヘキシルオキシである化合物の塩)、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド(SZ 106:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がグルタミン酸側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>21</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がジエチルアミノである化合物)の1次免疫後のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「SZ 97」はSZ 97投与群を示し、「SZ 99」はSZ 99投与群を示し、「SZ 106」はSZ 106投与群を示す。

【図17】実施例16における、N-ドコサノイルアグマチン塩酸塩(SZ 108:一般式(II)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>21</sub>アルキル基である化合物の塩)、N<sup>2</sup>-ヘキサデ

10

20

30

40

50

カノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド塩酸塩 (SZ110 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1-5</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がジエチルアミノである化合物) の 1 次免疫後のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」は OVA 単独投与群を示し、「SZ108」は SZ108 投与群を示し、「SZ110」は SZ110 投与群を示す。

【図 18】実施例 17 における、N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル塩酸塩 (SZ121 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>2-1</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がヘキシルオキシである化合物の塩)、N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシルエステル (SZ124 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>2-1</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がヘキシルオキシである化合物)、N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (SZ125 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>2-1</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がジエチルアミノである化合物) の 1 次免疫後のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」は OVA 単独投与群を示し、「SZ121」は SZ121 投与群を示し、「SZ124」は SZ124 投与群を示し、「SZ125」は SZ125 投与群を示す。

【図 19】実施例 18 における、N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミド塩酸塩 (SZ128 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>2-1</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がアミノである化合物)、N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド塩酸塩 (SZ129 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>2-1</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がジエチルアミノである化合物の塩)、N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル塩酸塩 (SZ130 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>5</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がヘキシルオキシである化合物)、N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル (SZ134 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がグルタミン酸側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1-5</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がヘキシルオキシである化合物)、N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシルエステル (SZ135 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がグルタミン酸側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>2-1</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がヘキシルオキシである化合物)、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミンメチルエステル (SZ136 : 一般式 (I) の R<sup>2</sup> に対応する基がグルタミン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1-5</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がメトキシである化合物) の 1 次免疫後のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」は OVA 単独投与群を示し、「SZ128」は SZ128 投与群を示し、「SZ129」は SZ129 投与群を示し、「SZ130」は SZ130 投与群を示し、「SZ134」は SZ134 投与群を示し、「SZ135」は SZ135 投与群を示し、「SZ136」は SZ136 投与群を示す。

【図 20】実施例 19 における、N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル (SZ86 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>3-7</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がメトキシである化合物)、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド (SZ90 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1-5</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がアミノである化合物)、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (SZ92 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1-5</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がジエチルアミノである化合物)、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシルエステル塩酸塩 (SZ99 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1-5</sub> アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がヘキシルオキシである化合物)、N<sup>2</sup> - ドコサノイ

10

20

30

40

50

ル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド (SZ106 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がグルタミン酸側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>2</sub> 1 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がジエチルアミノである化合物) の 2 次免疫後のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA 単独投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup> 投与群を示し、「SZ86」はSZ86 投与群を示し、「SZ90」はSZ90 投与群を示し、「SZ92」はSZ92 投与群を示し、「SZ99」はSZ99 投与群を示し、「SZ106」はSZ106 投与群を示す。

【図 21】実施例 19 における、N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル (SZ86 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>3</sub> 7 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がメトキシである化合物) 、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド (SZ90 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1</sub> 5 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がアミノである化合物) 、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (SZ92 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1</sub> 5 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がジエチルアミノである化合物) 、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシリエステル塩酸塩 (SZ99 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がアルギニン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1</sub> 5 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がヘキシリオキシである化合物の塩) 、N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド (SZ106 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がグルタミン酸側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>2</sub> 1 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がジエチルアミノである化合物) の 2 次免疫後のアレルギー誘導活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA 単独投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup> 投与群を示し、「SZ86」はSZ86 投与群を示し、「SZ90」はSZ90 投与群を示し、「SZ92」はSZ92 投与群を示し、「SZ99」はSZ99 投与群を示し、「SZ106」はSZ106 投与群を示す。

【図 22】実施例 19 における、N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル (SZ86 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>3</sub> 7 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がメトキシである化合物) 、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド (SZ90 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1</sub> 5 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がアミノである化合物) 、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (SZ92 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1</sub> 5 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がジエチルアミノである化合物) の 2 次免疫後のアジュバント活性とアレルギー誘導活性の相対値を示すグラフである。「Saline」はOVA 単独投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup> 投与群を示し、「SZ86」はSZ86 投与群を示し、「SZ90」はSZ90 投与群を示し、「SZ92」はSZ92 投与群を示す。

【図 23】実施例 20 における、N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル (SZ86 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>3</sub> 7 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がメトキシである化合物) 、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド (SZ90 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1</sub> 5 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がアミノである化合物) 、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (SZ92 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1</sub> 5 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がジエチルアミノである化合物) 、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシリエステル (SZ97 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup> に対応する基が C<sub>1</sub> 5 アルキル基であり、R<sup>3</sup> に対応する基がヘキシリオキシである化合物) 、N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド (SZ106 : 一般式 (I) の R<sup>1</sup> に対応

10

20

30

40

50

する基がグルタミン酸側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>2</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がジエチルアミノである化合物)、N-ドコサノイルアグマチン塩酸塩(SZ108:一般式(I)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>2</sub>アルキル基である化合物の塩)の2次免疫後のアジュバント活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup>投与群を示し、「SZ86」はSZ86投与群を示し、「SZ90」はSZ90投与群を示し、「SZ92」はSZ92投与群を示し、「SZ97」はSZ97投与群を示し、「SZ106」はSZ106投与群を示し、「SZ108」はSZ108投与群を示す。

【図24】実施例20における、N-(2-オクタデシルエイコサノイル)-L-ロイシンメチルエステル(SZ86:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>3</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がメトキシである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド(SZ90:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>1</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がアミノである化合物)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド(SZ92:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>1</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がジエチルアミノである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシリエステル(SZ97:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>1</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がヘキシルである化合物)、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド(SZ106:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がグルタミン酸側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>2</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がジエチルアミノである化合物)、N-ドコサノイルアグマチン塩酸塩(SZ108:一般式(I)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>2</sub>アルキル基である化合物の塩)の2次免疫後のアレルギー誘導活性の評価試験の結果を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup>投与群を示し、「SZ86」はSZ86投与群を示し、「SZ90」はSZ90投与群を示し、「SZ92」はSZ92投与群を示し、「SZ97」はSZ97投与群を示し、「SZ106」はSZ106投与群を示し、「SZ108」はSZ108投与群を示す。

【図25】実施例20における、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド(SZ90:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>1</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がアミノである化合物)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド(SZ92:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>1</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がジエチルアミノである化合物)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシリエステル(SZ97:一般式(I)のR<sup>1</sup>に対応する基がロイシン側鎖であり、R<sup>2</sup>に対応する基がC<sub>1</sub>アルキル基であり、R<sup>3</sup>に対応する基がヘキシルオキシである化合物)2次免疫後のアジュバント活性とアレルギー誘導活性の相対値を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup>投与群を示し、「SZ90」はSZ90投与群を示し、「SZ92」はSZ92投与群を示し、「SZ97」はSZ97投与群を示す。

【図26】実施例21における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(I)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>1</sub>アルキル基である化合物)の2次免疫後のアジュバント活性(抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体)を示すグラフである。「Saline」はOVA単独投与群を示し、「Alum」はAlum投与群を示し、「Addavax」はAddavax<sup>TM</sup>投与群を示し、「CpG」はCpG-ODN<sup>TM</sup>投与群を示し、「MPL」はMPL投与群を示し、「SZ62」はSZ62投与群を示し、「SZ62+CpG」はSZ62とCpG投与群を示し、「Addavax+CpG」はAddavax<sup>TM</sup>+CpG投与群を示し、「SZ62+MPL」はSZ62とMPL投与群を示し、「Alum+MPL」はAlum+MPL投与群を示す。

【図27】実施例21における、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(

10

20

30

40

50

I I ) の R<sup>7</sup> に対応する基が C<sub>1-5</sub> アルキル基である化合物 ) の 2 次免疫後のアジュvant活性 ( 抗 OVA 特異的 IgG2a サブクラス抗体 ) を示すグラフである。 「 s a l i n e 」 は OVA 単独投与群を示し、 「 A l u m 」 は A l u m 投与群を示し、 「 A d d a v a x 」 は A d d a v a x<sup>T M</sup> 投与群を示し、 「 C p G 」 は C p G - O D N<sup>T M</sup> 投与群を示し、 「 M P L 」 は M P L 投与群を示し、 「 S Z 6 2 」 は S Z 6 2 投与群を示し、 「 S Z 6 2 + C p G 」 は S Z 6 2 と C p G 投与群を示し、 「 A d d a v a x + C p G 」 は A d d a v a x<sup>T M</sup> + C p G 投与群を示し、 「 S Z 6 2 + M P L 」 は S Z 6 2 と M P L 投与群を示し、 「 A l u m + M P L 」 は A L U M + M P L 投与群を示す。

【図 28】実施例 2 1 における、 N - ヘキサデカノイルアグマチン ( S Z 6 2 : 一般式 ( I I ) の R<sup>7</sup> に対応する基が C<sub>1-5</sub> アルキル基である化合物 ) の 2 次免疫後のアレルギー誘導活性の評価試験を示すグラフである。 「 s a l i n e 」 は OVA 単独投与群を示し、 「 A l u m 」 は A l u m 投与群を示し、 「 A d d a v a x 」 は A d d a v a x<sup>T M</sup> 投与群を示し、 「 C p G 」 は C p G - O D N<sup>T M</sup> 投与群を示し、 「 M P L 」 は M P L 投与群を示し、 「 S Z 6 2 」 は S Z 6 2 投与群を示し、 「 S Z 6 2 + C p G 」 は S Z 6 2 と C p G 投与群を示し、 「 A d d a v a x + C p G 」 は A d d a v a x<sup>T M</sup> + C p G 投与群を示し、 「 S Z 6 2 + M P L 」 は S Z 6 2 と M P L 投与群を示し、 「 A l u m + M P L 」 は A L U M + M P L 投与群を示す。

【図 29】実施例 2 2 における、 N - ヘキサデカノイルアグマチン ( S Z 6 2 : 一般式 ( I I ) の R<sup>7</sup> に対応する基が C<sub>1-5</sub> アルキル基である化合物 ) の 1 次免疫後の全身炎症性の評価試験を示すグラフである。 「 s a l i n e 」 は OVA 単独投与群を示し、 「 A l u m 」 は A l u m 投与群を示し、 「 A d d a v a x 」 は A d d a v a x<sup>T M</sup> 投与群を示し、 「 C p G 」 は C p G - O D N<sup>T M</sup> 投与群を示し、 「 M P L 」 は M P L 投与群を示し、 「 S Z 6 2 」 は S Z 6 2 投与群を示し、 「 S Z 6 2 + C p G 」 は S Z 6 2 と C p G 投与群を示し、 「 A d d a v a x + C p G 」 は A d d a v a x<sup>T M</sup> + C p G 投与群を示し、 「 S Z 6 2 + M P L 」 は S Z 6 2 と M P L 投与群を示し、 「 A d d a v a x + M P L 」 は A d d a v a x<sup>T M</sup> + M P L 投与群を示す。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0 0 2 7】

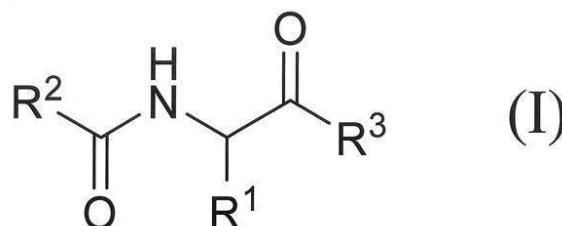
本発明の免疫賦活剤は、下記一般式 ( I ) で表される化合物又はその塩の少なくとも 1 種、あるいは、下記一般式 ( I I ) で表される化合物又はその塩の少なくとも 1 種を含む。

##### 【0 0 2 8】

一般式 ( I ) :

##### 【0 0 2 9】

##### 【化 8】



##### 【0 0 3 0】

[ 式中、

R<sup>1</sup> は、アミノ酸側鎖 ( 但し、シスチン側鎖を除く ) を示し；

R<sup>2</sup> は、C<sub>1-3</sub> アルキル基を示し；

R<sup>3</sup> は、水酸基、C<sub>1-6</sub> アルコキシ基又は - N R<sup>4</sup> R<sup>5</sup> ( 式中、R<sup>4</sup> 及び R<sup>5</sup> は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は C<sub>1-6</sub> アルキル基を示す ) を示す ]

##### 【0 0 3 1】

一般式 ( I I ) :

10

20

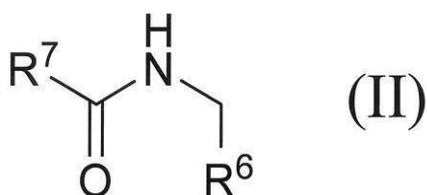
30

40

50

【0032】

【化9】



【0033】

〔式中、

10

$R^6$  は、アルギニン側鎖を示し；  
 $R^7$  は、C<sub>1</sub> - 3<sub>7</sub> アルキル基を示す〕

【0034】

以下、一般式(I)及び一般式(II)の各基について説明する。

【0035】

一般式(I)における $R^1$ は、アミノ酸側鎖(但し、シスチン側鎖を除く)である。

【0036】

$R^1$ における「アミノ酸側鎖」とは、R - CH(NH<sub>2</sub>) - COOHで表される - アミノ酸のRの部分を意味し、例えば、アラニン側鎖(メチル)、アルギニン側鎖(3 - グアニジルプロピル)、アスパラギン側鎖(カルバモイルメチル)、アスパラギン酸側鎖(カルボキシメチル)、システイン側鎖(スルフヒドリルメチル)、グルタミン側鎖(2 - カルバモイルエチル)、グルタミン酸側鎖(2 - カルボキシエチル)、水素原子(グリシン側鎖)、ヒスチジン側鎖(1H - イミダゾール - 4 - イルメチル)、イソロイシン側鎖(sec - ブチル)、ロイシン側鎖(イソブチル)、リジン側鎖(4 - アミノブチル)、メチオニン側鎖(2 - (メチルチオ)エチル)、フェニルアラニン側鎖(ベンジル)、セリン側鎖(ヒドロキシメチル)、スレオニン側鎖(1 - ヒドロキシエチル)、トリプトファン側鎖(3 - インドリルメチル)、チロシン側鎖(4 - ヒドロキシベンジル)、バリン側鎖(イソプロピル)等が挙げられる。また $R^1$ における「アミノ酸側鎖」はプロリン側鎖(一般式(I)におけるNと結合して5員環を形成しているプロピル)を含む。中でも、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、水素原子、イソロイシン側鎖、ロイシン側鎖、リジン側鎖、フェニルアラニン側鎖、バリン側鎖が好ましく、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、イソロイシン側鎖、ロイシン側鎖、フェニルアラニン側鎖、バリン側鎖がより好ましく、免疫賦活作用により優れ、アレルギー誘導活性がより低いことから、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、ロイシン側鎖が更に好ましく、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖が特に好ましく、アルギニン側鎖が最も好ましい。アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、ヒスチジン側鎖、ロイシン側鎖、セリン側鎖、プロリン側鎖が好ましい。ヒスチジン側鎖、セリン側鎖、プロリン側鎖が好ましい。

20

30

30

【0037】

$R^1$ における「アミノ酸側鎖」は、シスチン側鎖及びシステイン側鎖を除くことが好ましい。

40

【0038】

一般式(I)における $R^2$ は、C<sub>1</sub> - 3<sub>7</sub> アルキル基である。

【0039】

$R^2$ における「C<sub>1</sub> - 3<sub>7</sub> アルキル基」とは、直鎖又は分岐鎖の炭素原子数1 ~ 3<sub>7</sub>のアルキル基を意味し、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec - ブチル、tert - ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、1 - エチルプロピル、ヘキシル、イソヘキシル、1, 1 - ジメチルブチル、2, 2 - ジメチルブチル、3, 3 - ジメチルブチル、2 - エチルブチル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル、ヘキサデシル、ヘptaデシル、2 - ヘプチルデシル、4, 6, 6 - トリメチル - 1 - (1, 3, 3

50

- トリメチルブチル)ヘプチル、オクタデシル、ノナデシル、イコシル、エイコシル、ヘンイコシル、ヘンエイコシル、ドコシル、トリコシル、テトラコシル、ペンタコシル、ヘキサコシル、ヘプタコシル、オクタコシル、ノナコシル、1-テトラデシルペンタデシル、トリアコンチル、ヘントリアコンチル、ドトリアコンチル、トリトリアコンチル、1-ヘキサデシルヘプタデシル、テトラトリアコンチル、ペントトリアコンチル、ヘキサトリアコンチル、ヘプタトリアコンチル、1-オクタデシルノナデシル等が挙げられる。中でも、C<sub>12</sub>-<sub>24</sub>アルキル基が好ましく、C<sub>15</sub>-<sub>21</sub>アルキル基がより好ましく、直鎖のC<sub>15</sub>-<sub>21</sub>アルキル基が特に好ましく、ペンタデシル、ヘプタデシル、ヘンイコシルが最も好ましい。

## 【0040】

10

一般式(I)におけるR<sup>3</sup>は、水酸基、C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルコキシ基又は-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>(式中、R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はC<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルキル基を示す)である。

## 【0041】

20

R<sup>3</sup>における「C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルコキシ基」とは、直鎖又は分岐鎖の炭素原子数1~6のアルコキシ基を意味し、例えば、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロピルオキシ、ブトキシ、イソブチルオキシ、sec-ブチルオキシ、tert-ブチルオキシ、ペンチルオキシ、イソペンチルオキシ、ネオペンチルオキシ、ヘキシルオキシ等が挙げられる。中でも、原料のアミノ酸アルキルエステルの入手等の観点から、C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルコキシ基が好ましく、メトキシがより好ましい。

## 【0042】

30

R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>における「C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルキル基」とは、直鎖又は分岐鎖の炭素原子数1~6のアルキル基を意味し、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、1-エチルプロピル、ヘキシル、イソヘキシル、1,1-ジメチルブチル、2,2-ジメチルブチル、3,3-ジメチルブチル、2-エチルブチル等が挙げられる。中でも、安価で入手し易い観点から、C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルキル基が好ましく、tert-ブチル、エチル、メチルがより好ましく、エチル、メチルが特に好ましい。

## 【0043】

R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、好ましくは、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はC<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルキル基であり、より好ましくは、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はメチル基である。

R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、同一であっても又は異なってもよいが、同一であることが好ましい。

## 【0044】

R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、好ましくは、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はC<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルキル基であり、より好ましくは、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はエチル基である。

## 【0045】

40

R<sup>3</sup>は、好ましくは水酸基又はC<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルコキシ基であり、より好ましくは水酸基又はC<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルコキシ基であり、特に好ましくは水酸基又はメトキシであり、最も好ましくはメトキシである。

## 【0046】

R<sup>3</sup>は、好ましくはC<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルコキシ基又は-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>(式中、R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はC<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルキル基を示す)であり、より好ましくはC<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルコキシ基又は-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>(式中、R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はC<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルキル基を示す)であり、特に好ましくはC<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルコキシ基又は-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>(式中、R<sup>4</sup>及びR<sup>5</sup>は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はエチルを示す)であり、最も好ましくはメトキシ、アミノ、ジエチルアミノである。

## 【0047】

50

一般式(II)におけるR<sup>6</sup>は、アルギニン側鎖である。

【0048】

一般式(II)におけるR<sup>7</sup>は、C<sub>1-3</sub>アルキル基である。

【0049】

R<sup>7</sup>における「C<sub>1-3</sub>アルキル基」とは、直鎖又は分岐鎖の炭素原子数1~37のアルキル基を意味し、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、1-エチルプロピル、ヘキシル、イソヘキシル、1,1-ジメチルブチル、2,2-ジメチルブチル、3,3-ジメチルブチル、2-エチルブチル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル、ヘキサデシル、ヘptaデシル、2-ヘプチルデシル、4,6,6-トリメチル-1-(1,3,3-トリメチルブチル)ヘプチル、オクタデシル、ノナデシル、イコシル、エイコシル、ヘンイコシル、ヘンエイコシル、ドコシル、トリコシル、テトラコシル、ペンタコシル、ヘキサコシル、ヘptaコシル、オクタコシル、ノナコシル、1-テトラデシルペンタデシル、トリアコンチル、ヘントリアコンチル、ドトリアコンチル、トリトリアコンチル、1-ヘキサデシルヘptaデシル、テトラトリアコンチル、ペンタトリアコンチル、ヘキサトリアコンチル、ヘptaトリアコンチル、1-オクタデシルノナデシル等が挙げられる。中でも、C<sub>12-24</sub>アルキル基が好ましく、C<sub>15-21</sub>アルキル基がより好ましく、直鎖のC<sub>15-21</sub>アルキル基が特に好ましく、ペンタデシルが最も好ましい。

10

【0050】

好適な化合物(I)としては、

R<sup>1</sup>が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、水素原子、イソロイシン側鎖、ロイシン側鎖、リジン側鎖、フェニルアラニン側鎖又はバリン側鎖であり、

R<sup>2</sup>が、C<sub>12-24</sub>アルキル基であり、

R<sup>3</sup>が、水酸基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシ基である

20

化合物(I)である。

【0051】

より好適な化合物(I)としては、

R<sup>1</sup>が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、イソロイシン側鎖、ロイシン側鎖、フェニルアラニン側鎖又はバリン側鎖であり、

30

R<sup>2</sup>が、C<sub>12-24</sub>アルキル基であり、

R<sup>3</sup>が、水酸基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシ基である

化合物(I)である。

【0052】

特に好適な化合物(I)としては、

R<sup>1</sup>が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖又はロイシン側鎖であり、

R<sup>2</sup>が、C<sub>12-24</sub>アルキル基であり、

R<sup>3</sup>が、水酸基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシ基である

化合物(I)である。

【0053】

40

最も好適な化合物(I)としては、

R<sup>1</sup>が、アルギニン側鎖であり、

R<sup>2</sup>が、C<sub>12-24</sub>アルキル基であり、

R<sup>3</sup>が、水酸基又はC<sub>1-6</sub>アルコキシ基である

化合物(I)である。

【0054】

50

他の好適な化合物(I)としては、

R<sup>1</sup>が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、ヒスチジン側鎖、ロイシン側鎖、セリン側鎖又はプロリン側鎖であり、

R<sup>2</sup>が、C<sub>1-3</sub>アルキル基であり、

$R^3$  が、水酸基、 $C_{1-6}$  アルコキシ基又は $-NR^4R^5$  (式中、 $R^4$  及び $R^5$  は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は $C_{1-6}$  アルキル基を示す) である化合物 (I) である。

#### 【0055】

他のより好適な化合物 (I) としては、

$R^1$  が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、ヒスチジン側鎖、ロイシン側鎖、セリン側鎖又はプロリン側鎖であり、

$R^2$  が、 $C_{1-3}$  アルキル基であり、

$R^3$  が、水酸基、 $C_{1-6}$  アルコキシ基又は $-NR^4R^5$  (式中、 $R^4$  及び $R^5$  は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は $C_{1-4}$  アルキル基を示す) である化合物 (I) である。

10

#### 【0056】

他の特に好適な化合物 (I) としては、

$R^1$  が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、ヒスチジン側鎖、ロイシン側鎖、セリン側鎖又はプロリン側鎖であり、

$R^2$  が、 $C_{1-2}$  アルキル基であり、

$R^3$  が、水酸基、 $C_{1-6}$  アルコキシ基又は $-NR^4R^5$  (式中、 $R^4$  及び $R^5$  は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又は $C_{1-4}$  アルキル基を示す) である化合物 (I) である。

20

#### 【0057】

他の最も好適な化合物 (I) としては、

$R^1$  が、アルギニン側鎖、グルタミン側鎖、グルタミン酸側鎖、ヒスチジン側鎖、ロイシン側鎖、セリン側鎖又はプロリン側鎖であり、

$R^2$  が、 $C_{1-2}$  アルキル基であり、

$R^3$  が、水酸基、 $C_{1-6}$  アルコキシ基又は $-NR^4R^5$  (式中、 $R^4$  及び $R^5$  は、同一又は異なって、それぞれ水素原子又はエチルを示す) である化合物 (I) である。

30

#### 【0058】

化合物 (I) 及び化合物 (II) の塩は、薬理学的に許容されるものであれば特に制限されないが、例えば、金属塩、アンモニウム塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩等が挙げられる。金属塩の好適な例としては、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、バリウム塩等のアルカリ土類金属塩；マグネシウム塩、アルミニウム塩等が挙げられる。有機塩基との塩の好適な例としては、例えば、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、2,6-ルチジン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、シクロヘキシリルアミン、ジシクロヘキシリルアミン、 $N,N'$ -ジベンジルエチレンジアミン等との塩が挙げられる。無機酸との塩の好適な例としては、例えば、塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸等との塩が挙げられる。有機酸との塩の好適な例としては、例えば、ギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、フタル酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、 $p$ -トルエンスルホン酸等との塩が挙げられる。中でも、医薬品の実用性の観点から、塩酸との塩、酢酸との塩、ナトリウム塩が好ましい。

40

#### 【0059】

好適な化合物 (I) 又はその塩の具体例としては、

$N^2$ -ヘキサデカノイル-L-アルギニン、

$N^2$ -ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル、

$N^2$ -オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル、

$N^2$ -オクタデカノイル-L-グルタミン、

$N$ -ドコサノイルグリシンメチルエステル、

$N$ -ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル、

50

N - ドコサノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - リジンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - イソロイシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - バリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - リジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル、  
 及び、それらの塩  
 等が挙げられる。

中でも、免疫賦活作用により優れ、アレルギー誘導活性がより低いことから、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニン、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンメチルエステルの塩（好ましくは、塩酸塩）、  
 N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン t e r t - プチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - イソロイシンメチルエステル、  
 N - ドコサノイル - L - バリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンメチルエステル、及び  
 N - ヘキサデカノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル  
 が好ましく、

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニン、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンメチルエステルの塩（好ましくは、塩酸塩）、  
 N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン t e r t - プチルエステル、  
 N<sup>2</sup> - オクタデカノイル - L - グルタミン、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンメチルエステル、及び  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンメチルエステル  
 がより好ましく、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニン、及び  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンメチルエステルの塩（好ましくは、塩酸塩）  
 が特に好ましい。

### 【0060】

好適な化合物（I）又はその塩のその他の具体例としては、  
 N - アセチル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン t e r t - プチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - プロリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - セリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシルエステル、

10

20

30

40

50

N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシリエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシリエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸メチルエステル  
 及び、それらの塩  
 等が挙げられる。

10

中でも、免疫賦活作用により優れ、アレルギー誘導活性がより低いことから、

N - アセチル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサノイル - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン t e r t - プチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - プロリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - セリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシリエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシリエステルの塩（好ましくは、塩酸塩）  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミドの塩（好ましくは、塩酸塩）、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシリエステルの塩（好ましくは、塩酸塩）、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシリエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミドの塩（好ましくは、塩酸塩）、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミドの塩（好ましくは、  
 塩酸塩）、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシリエステルの塩（好ましくは、塩酸塩）、  
 N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル、  
 N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸メチルエステル  
 が好ましく、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン t e r t - プチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - プロリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - セリンメチルエステル、  
 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシリエステル、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシリエステルの塩（好ましくは、塩酸塩）  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド、  
 N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミドの塩（好ましくは、  
 塩酸塩）、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシリエステルの塩（好ましくは、塩酸塩）、  
 N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシリエステル、  
 N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド、  
 40  
 50

$N^2$  - ドコサノイル - L - アルギニンアミドの塩（好ましくは、塩酸塩）、  
 $N^2$  - ドコサノイル -  $N^1$ ,  $N^1$  - ジエチル - L - アルギニンアミドの塩（好ましくは、  
 塩酸塩）

がより好ましい。

【0061】

好適な化合物（II）又はその塩の具体例としては、N - ヘキサデカノイルアグマチン及びその塩等が挙げられる。

【0062】

好適な化合物（II）又はその塩の他の具体例としては、N - ドコサノイルアグマチン及びその塩（好ましくは、塩酸塩）等が挙げられる。

10

【0063】

（化合物（I）、化合物（II）及びそれらの塩の合成）

化合物（I）、化合物（II）及びそれらの塩（以下、本発明化合物と総称することもある）の製造方法は、特に限定されるものではなく、既知の方法又はこれに準じる方法を適宜組み合わせることにより製造することができる。

例えば、化合物（I）は、必要に応じて側鎖を保護したアミノ酸又はアミノ酸アルキルエステルを  $R^2$  - COCl（式中、 $R^2$  は前記と同義である）と塩基の存在下にて反応させ、あるいはアミノ酸アルキルエステルを  $R^2$  - COOH（式中、 $R^2$  は前記と同義である）と縮合剤の存在下（場合により、塩基の存在下）にて反応させ、必要に応じて側鎖の保護基の脱保護やエステル化を行うことにより製造することができ、また、化合物（II）は、必要に応じて側鎖を保護したアグマチンを  $R^7$  - COCl（式中、 $R^7$  は前記と同義である）と塩基の存在下にて反応させ、あるいは  $R^7$  - COOH（式中、 $R^7$  は前記と同義である）と縮合剤の存在下（場合により、塩基の存在下）にて反応させ、必要に応じて側鎖の保護基の脱保護を行うことにより製造することができる。

20

$R^2$  - COCl の使用量は、アミノ酸又はアミノ酸アルキルエステル 1 当量に対して、通常 1 ~ 5 当量、好ましくは 1 ~ 2 当量である。

$R^2$  - COOH の使用量は、アミノ酸アルキルエステル 1 当量に対して、通常 1 ~ 5 当量、好ましくは 1 ~ 2 当量である。

30

$R^7$  - COCl の使用量は、アグマチン 1 当量に対して、通常 1 ~ 5 当量、好ましくは 1 ~ 2 当量である。

$R^7$  - COOH の使用量は、アグマチン 1 当量に対して、通常 1 ~ 5 当量、好ましくは 1 ~ 2 当量である。

30

縮合剤としては、例えば、1,3 - ジシクロヘキシルカルボジイミド、1 - シクロヘキシル - 3 - モルホリノエチルカルボジイミド、1 - シクロヘキシル - 3 - (4 - ジエチルアミノシクロヘキシル)カルボジイミド、1,3 - ジエチルカルボジイミド、1,3 - ジイソプロピルカルボジイミド、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド等のカルボジイミド類又はその塩等が挙げられる。

縮合剤の使用量は、アミノ酸アルキルエステル、あるいはアグマチン 1 当量に対して、通常 1 ~ 5 当量、好ましくは 1 ~ 2 当量である。

40

塩基としては、例えば、水酸化アルカリ金属類（例えば、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等）、水酸化アルカリ土類金属類（例えば、水酸化マグネシウム、水酸化カルシウム等）、炭酸アルカリ金属類（例えば、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等）、炭酸水素アルカリ金属類（例えば、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム等）、有機塩基類（例えば、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、ピリジン、4 - ジメチルアミノピリジン、ピコリン、N - メチルピロリジン、N - メチルモルホリン、N, N - デミチルアニリン、1, 5 - デアザビシクロ [4.3.0] - 5 - ノネン、1, 4 - デアザビシクロ [2.2.2] オクタン、1, 8 - デアザビシクロ [5.4.0] - 7 - ウンデセン、テトラメチルグアニジン等）、有機リチウム類（例えば、メチルリチウム、n - ブチルリチウム、sec - ブチルリチウム、tert - ブチルリチウム等）、リチウムアミド類（例えば、リチウムジイソプロピルアミド等）等が挙げ

50

られる。

塩基の使用量は、アミノ酸又はアミノ酸アルキルエステル、あるいはアグマチン 1 当量に対して、通常 1 ~ 10 当量、好ましくは 1 ~ 4 当量である。

上記反応のうち  $R^2$  - COOH 又は  $R^7$  - COOH を用いる反応は、所望により、縮合促進剤の存在下で行ってもよい。

縮合促進剤としては、例えば、1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt) 又はその水和物等が挙げられる。

縮合促進剤の使用量は、アミノ酸アルキルエステル、あるいはアグマチン 1 当量に対して、通常 0.01 ~ 10 当量、好ましくは 1 ~ 2 当量である。

【0064】

また、上記反応では、 $R^2$  - COCl 又は  $R^7$  - COCl の代わりに、 $R^2$  - COOH の混合酸無水物又は  $R^7$  - COOH の混合酸無水物を用いてもよい。該混合酸無水物は、例えば、まず、 $R^2$  - COOH 又は  $R^7$  - COOH と、クロロ炭酸アルキル（例えば、クロロ炭酸メチル、クロロ炭酸エチル、クロロ炭酸イソブチル）等とを塩基の存在下に反応させることにより得ることができる。

【0065】

上記反応は、反応に不活性な溶媒中で行うことが好ましい。このような溶媒としては、反応が進行する限り特に限定されないが、例えば、エーテル類（例えば、1,4-ジオキサン、テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル、tert-ブチルメチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、エチレングリコールジメチルエーテル）、エステル類（例えば、ギ酸エチル、酢酸エチル、酢酸ブチル）、ハロゲン化炭化水素類（例えば、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、トリクロロエチレン）、炭化水素類（例えば、ヘキサン、ベンゼン、トルエン）、アミド類（例えば、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド）、スルホキシド類（例えば、ジメチルスルホキシド）等が挙げられる。これらの溶媒は、2種以上を適宜の割合で混合して用いてもよい。また、上記反応のうち  $R^2$  - COCl（式中、 $R^2$  は前記と同義である）や  $R^7$  - COCl（式中、 $R^7$  は前記と同義である）を用いる反応の溶媒には、更に、アルコール系溶媒（イソプロピルアルコールなど）も挙げることができる。

反応温度は、通常、-80 ~ 150 であり、好ましくは、10 ~ 100 である。

反応時間は、通常、0.5 ~ 48 時間であり、好ましくは、10 ~ 30 時間である。

【0066】

$R^3$  が -  $NR^4R^5$  である化合物（I）の製造方法としては、上記と同様の方法で得られた、必要に応じて側鎖が保護されたアシルアミノ酸アルキルエステル体のエステル部を加水分解し、 $NHR^4R^5$ （式中、 $R^4$  及び  $R^5$  は前記と同義である）でアミド体とした後、必要に応じて側鎖の保護基を脱保護する方法や、必要に応じて側鎖が保護されたアミノ酸を  $NHR^4R^5$  でアミド体とし更に上記の方法でアシル化し、必要に応じて側鎖の保護基を脱保護する方法が挙げられる。また当該製造方法としては、必要に応じて側鎖が保護され、アミノ基が保護されたアミノ酸を用い、 $NHR^4R^5$  でアミド体とした後、アミノ基の保護基を脱保護し、上記の方法でアシル化し、必要に応じて側鎖の保護基を脱保護する方法も挙げられる。

【0067】

上記のような方法により生成した本発明化合物が遊離体である場合、常法に従って、例えば、無機酸、有機酸、無機塩基又は有機塩基等との塩とすることができ、本発明化合物が塩の形態である場合は、常法に従って、遊離体又は他の塩に変換することもできる。

【0068】

上記のような方法により生成した本発明化合物は、例えば、カラムクロマトグラフィー、再結晶、溶媒洗浄等の通常の分離手段により単離、精製することができる。

【0069】

本発明化合物が、光学異性体、立体異性体、位置異性体、回転異性体を含有する場合には、これらも本発明化合物として含有されるとともに、自体公知の合成手法、分離手法（

10

20

30

40

50

濃縮、溶媒抽出、カラムクロマトグラフィー、再結晶、溶媒洗浄等)によりそれを単品として得ることができる。例えば、本発明化合物に光学異性体が存在する場合には、該化合物から分割された光学異性体も本発明化合物に包含される。

【0070】

本発明化合物の光学異性体は自体公知の方法により製造することができる。具体的には、光学活性な合成中間体を用いる、又は、最終物のラセミ体を常法に従って光学分割することにより光学異性体を得る。

【0071】

本発明化合物は結晶であってもよく、結晶形が单一であっても結晶形混合物であっても本発明化合物に包含される。結晶は、自体公知の結晶化法を適用して、結晶化することにより製造することができる。

【0072】

本発明化合物は、水和物、非水和物、溶媒和物、無溶媒和物のいずれであってもよい。

【0073】

同位元素(例、<sup>2</sup>H、<sup>3</sup>H、<sup>13</sup>C、<sup>14</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>35</sup>S)等で標識された化合物(I)及び化合物(II)も、本発明化合物に包含される。

【0074】

本発明化合物は、抗原特異的なIgG1サブクラス抗体産生の増強作用(免疫賦活作用)を有するので、免疫賦活剤として有用である。また、抗原特異的なIgG2aサブクラス抗体産生を増強できる。本発明の免疫賦活剤は、本発明化合物そのものであってよく、あるいは、本発明化合物を、薬理学的に許容し得る担体等を用いて製剤化することにより得られるものであってもよい。

【0075】

本発明の免疫賦活剤が含有してもよい薬理学的に許容し得る担体としては、製剤素材として慣用の各種有機あるいは無機担体物質が用いられ、固体製剤における賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤；液状製剤における溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤、無痛化剤等として配合される。また必要に応じて、防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤等の製剤添加物を用いることもできる。

【0076】

本発明の免疫賦活剤は、本発明化合物に加え、-シクロデキストリンを更に含んでよい。

【0077】

本発明において-シクロデキストリンとは、6個のD-グルコースが1-4結合で環状構造を形成してなる環状オリゴ糖をいう。

【0078】

本発明において用いられる-シクロデキストリンは、誘導体の形態であってもよい。そのような誘導体としては、-シクロデキストリンの骨格を有するものであれば特に制限されないが、例えば、-シクロデキストリンに、メチル化等の化学修飾やマルトシリ化等の酵素修飾を施した誘導体等が挙げられる。

【0079】

本発明において用いられる-シクロデキストリンは、例えば、澱粉をシクロデキストリングルカノトランスフェラーゼによって酵素変換すること等によって製造できるが、それに限定されるものでなく、自体公知の方法で製造すればよい。また市販品を用いてもよく、簡便であることから好ましい。

【0080】

本発明の免疫賦活剤における化合物(I)又はその塩と-シクロデキストリンとの重量比(化合物(I)又はその塩:-シクロデキストリン)は、特に制限されないが、1:0.0002~2.0000が好ましく、1:0.002~0.2がより好ましい。

また本発明の免疫賦活剤における化合物(II)又はその塩と-シクロデキストリンとの重量比(化合物(II)又はその塩:-シクロデキストリン)は、特に制限されな

10

20

30

40

50

いが、1：0.0002～2.0000が好ましく、1：0.002～0.2がより好ましい。

【0081】

本発明の免疫賦活剤は、本発明化合物（好ましくは、化合物（II）又はその塩）に加え、ヒドロキシプロピル- - - シクロデキストリンを更に含んでよい。

【0082】

本発明においてヒドロキシプロピル- - - シクロデキストリンとは、7個のD-グルコースが1～4結合で環状構造を形成してなる環状オリゴ糖である - - シクロデキストリンにおいて、少なくとも1個以上の水酸基がヒドロキシプロピル基で置換されたものをいい、特に、上記ヒドロキシプロピル基が2 - ヒドロキシプロピル基である2 - ヒドロキシプロピル- - - シクロデキストリンが好ましい。

10

【0083】

本発明において用いられるヒドロキシプロピル- - - シクロデキストリンは、 - - シクロデキストリンの骨格を有し、側鎖に少なくとも1個以上のヒドロキシプロピル基を有するものであれば特に制限されず、例えば、メチル化等の化学修飾やマルチル化等の酵素修飾等が施されていてもよい。

【0084】

本発明において用いられるヒドロキシプロピル- - - シクロデキストリンは、例えば、 - - シクロデキストリンをアルカリ条件下で酸化プロピレンと反応させること等によって製造できるが、それに限定されるものでなく、自体公知の方法で製造すればよい。また市販品を用いてもよく、簡便であることから好ましい。

20

【0085】

本発明の免疫賦活剤における化合物（II）又はその塩とヒドロキシプロピル- - - シクロデキストリンとの重量比（化合物（II）又はその塩：ヒドロキシプロピル- - - シクロデキストリン）は、化合物（II）又はその塩が溶解状態になり得れば特に制限されないが、1：0.0002～2.0000が好ましく、1：0.004～0.4がより好ましい。

【0086】

本発明の免疫賦活剤は、本発明化合物（I）又は本発明化合物（II）に加え、カルボキシメチルセルロース、ポリソルベート（Tween 80等）及びポリエチレングリコール（マクロゴール等）からなる群より選択される少なくとも一種を更に含んでよい。

30

【0087】

本発明の免疫賦活剤における化合物（I）又はその塩とカルボキシメチルセルロースとの重量比（化合物（I）又はその塩：カルボキシメチルセルロース）は、特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.005～0.5がより好ましい。

また本発明の免疫賦活剤における化合物（II）又はその塩とカルボキシメチルセルロースとの重量比（化合物（II）又はその塩：カルボキシメチルセルロース）は、特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.005～0.5がより好ましい。

40

【0088】

本発明の免疫賦活剤における化合物（I）又はその塩とポリソルベートとの重量比（化合物（I）又はその塩：ポリソルベート）は、特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.005～0.5がより好ましい。

また本発明の免疫賦活剤における化合物（II）又はその塩とポリソルベートとの重量比（化合物（II）又はその塩：ポリソルベート）は、特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.005～0.5がより好ましい。

【0089】

本発明の免疫賦活剤における化合物（I）又はその塩とポリエチレングリコールとの重量比（化合物（I）又はその塩：ポリエチレングリコール）は、特に制限されないが、1

50

: 0 . 0 0 0 5 ~ 5 . 0 0 0 0 が好ましく、 1 : 0 . 0 0 5 ~ 0 . 5 がより好ましい。

また本発明の免疫賦活剤における化合物(II)又はその塩とポリエチレングリコールとの重量比(化合物(II)又はその塩:ポリエチレングリコール)は、特に制限されないが、1 : 0 . 0 0 0 5 ~ 5 . 0 0 0 0 が好ましく、1 : 0 . 0 0 5 ~ 0 . 5 がより好ましい。

#### 【0090】

本発明の免疫賦活剤の剤形としては、例えば、錠剤(糖衣錠、フィルムコーティング錠、舌下錠、口腔内崩壊錠を含む)、カプセル剤(ソフトカプセル、マイクロカプセルを含む)、顆粒剤、散剤、トローチ剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤等の経口剤；及び注射剤(例、皮下注射剤、静脈内注射剤、筋肉内注射剤、腹腔内注射剤、点滴剤)、外用剤(例、経皮製剤、軟膏剤)、坐剤(例、直腸坐剤、腔坐剤)、ペレット、点滴剤、点眼剤、経肺剤(吸入剤)等の非経口剤が挙げられる。また、これらの製剤は、速放性製剤又は徐放性製剤などの放出制御製剤(例、徐放性マイクロカプセル)であってもよい。

10

#### 【0091】

本発明の免疫賦活剤を経口剤とする場合は、必要により、味のマスキング、腸溶性あるいは持続性を目的として、コーティングを行ってもよい。コーティングに用いられるコーティング基剤としては、公知の各種コーティング基剤が挙げられる。

20

#### 【0092】

本発明の免疫賦活剤は、製剤技術分野において慣用の方法、例えば、第十六改正日本薬局方に記載の方法等により製造することができる。

20

#### 【0093】

本発明の免疫賦活剤は、成人用に加えて、小児用の製剤とすることもできる。

#### 【0094】

本発明の免疫賦活剤の投与対象は、免疫系を有する動物であれば特に制限されず、例えば、ほ乳類(例、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、サル等)、鳥類(例、ニワトリ、アヒル、ガチョウ等)等が挙げられる。本発明の免疫賦活剤は、これらに対し、経口的又は非経口的(例、局所、直腸、静脈投与)に安全に投与することができる。

#### 【0095】

本発明化合物は、後述の実施例に示されるように優れたアジュバント活性を有していることから、本発明の免疫賦活剤は、アジュバント(特にワクチンアジュバント)として有用である。

30

本発明において「アジュバント」とは、抗原と組み合わせることで抗体産生の増大、免疫応答の増強を起こす物質の総称である。

#### 【0096】

本発明の免疫賦活剤をアジュバントとして用いる場合、その剤形は、例えば、水性又は非水性(例、油性等)の溶液、懸濁液、エマルション等であってよい。これらは、本発明化合物と薬理学的に許容し得る担体(例、溶剤、懸濁化剤等)とを混合し、例えば、手振り、機械的振盪、超音波分散、ホモミキサーによる分散、自己乳化、膜乳化、D相乳化法、真空乳化法、超高压乳化法等の方法により調製できる。

40

#### 【0097】

本発明の免疫賦活剤は、他のアジュバントと併用してもよい。他のアジュバントとしては、例えば、フロイント不完全アジュバント(Freund's Incomplete Adjuvant)、フロイント完全アジュバント(Freund's Complete Adjuvant)、モンタナイトISA、微粒子(例えば、尿酸結晶、シリカ、水酸化アルミニウムゲル(例、Alum等)、ポリスチレン、アスベスト、酸化チタン、黒酸化ニッケル、ハイドロキシアパタイト等)、TLR(Toll様受容体)アゴニスト(例、TLR1 / TLR2アゴニスト(例、Pam3CSK4等)、TLR2 / TLR6アゴニスト(例、MALP-2等)、TLR3アゴニスト(例、ポリイノシンポリシチジル酸(Poly I : C)等)、TLR4アゴニスト(例、リポ多糖類(LPS)、モノホ

50

スホリル脂質 (MPL) 等)、TLR5アゴニスト (例、フラジエリン等)、TLR7 / TLR8アゴニスト (例、イミキモド (R-837)、レシキモド (R-848) 等)、TLR9アゴニスト (例、シゾフィラン-CpG複合体、CpG-ODNs等)、TLR11アゴニスト (例、プロフィリン等)、上記以外のTLRアゴニスト (例、BCG-CWS、OK-432、IC31、1018ISS等) )、イヌリン (例、Adavax (登録商標) )、コレラ毒素Bサブユニット (CTB)、リシン、キトサン、サポニン (例、QS-21等)、スクアレン (例、MF59 (Addavax (登録商標) )等)、-ガラクトシルセラミド、リポペプチド (例、Pam2CSK4、マクロファージ活性リポペプチド-2等)、長鎖ペプチド (例、NY-ESO-1等)、デオキシコール酸、リポソーム (例、デオキシコール酸含有リポソーム、リン脂質含有リポソーム等)、ナノ粒子 (例、-PGAナノ粒子、ポリ乳酸ナノ粒子、ポリスチレンナノ粒子等)、カルボマー、モポリマー、ISCOM、バイオポリマー、-シクロデキストリン、-シクロデキストリン、界面活性剤 (例、ベンザルコニウム型陽イオン性界面活性剤、スルホン酸型陰イオン性界面活性剤、糖型非イオン性界面活性剤、スルホベタイン型両イオン性界面活性剤、肺サーファクタント、サーファクチン等)、脂質 (例、飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸、カチオン性脂質、アニオン性脂質、リン脂質、スフィンゴ脂質、レシチン等)、シトルリン、核酸 (例、ssDNA、dsDNA、ssRNA、dsRNA等)、c-GMP-AMP、VLP (ウイルス様粒子) (例、アルファウイルス等)、結核菌アジュバント、抗酸菌分泌抗原 (例、Ag85B等)、プロバイオティクス乳酸菌 (例、ラクトバチラスプランタルム、ラクトバチルスカゼイ、ラクトバチラスラクティス等)、サイトカイン (例、インターロイキン-1、インターロイキン-2、インターロイキン-7、インターロイキン-12、インターロイキン-15、インターロイキン-18、TNF-、GM-CSF、INF-等)、CLR (C型レクチン受容体)アゴニスト (例、-グルカン、Man9GlcNAc2、TDM、糸状アクトチン等)、cGAS/STINGアゴニスト (例、cGAMP、cdiGMP、cdiAMP、DMXAA等)、RIG-1受容体アゴニスト (例、5'-PPP ssRNA等)、NLR (ヌクレオチド結合オリゴマー化領域)様受容体アゴニスト (例、ペプチドグリカン、KF156、FK565、ムラブチド等)、IRF3アゴニスト、CD22アゴニスト等が挙げられる。

## 【0098】

本発明の免疫賦活剤は、水酸化アルミニウムゲル (例、Alum等)、TLR (Tol1様受容体)アゴニスト (例、TLR1 / TLR2アゴニスト (例、Pam3CSK4等)、TLR2 / TLR6アゴニスト (例、MALP-2等)、TLR3アゴニスト (例、ポリイノシンポリシチジル酸 (Poly I : C)等)、TLR4アゴニスト (例、リポ多糖類 (LPS)、モノホスホリル脂質 (MPL)等)、TLR5アゴニスト (例、フラジエリン等)、TLR7 / TLR8アゴニスト (例、イミキモド (R-837)、レシキモド (R-848) 等)、TLR9アゴニスト (例、シゾフィラン-CpG複合体、CpG-ODNs等)、TLR11アゴニスト (例、プロフィリン等)、上記以外のTLRアゴニスト (例、BCG-CWS、OK-432、IC31、1018ISS等) )、サポニン (例、QS-21等)、スクアレン (例、MF59 (Addavax (登録商標) )等)、-ガラクトシルセラミド、リポペプチド (例、Pam2CSK4、マクロファージ活性リポペプチド-2等)、リポソーム、核酸 (例、ssDNA、dsDNA、ssRNA、dsRNA等)、cGAS/STINGアゴニスト (例、cGAMP、cdiGMP、cdiAMP、DMXAA等)、RIG-1受容体アゴニスト (例、5'-PPP ssRNA等) 及びNLR (ヌクレオチド結合オリゴマー化領域)様受容体アゴニスト (例、ペプチドグリカン、KF156、FK565、ムラブチド等) からなる群より選択される少なくとも1種との併用が好ましく、中でも、ポリイノシンポリシチジル酸 (Poly I : C)、TLR (Tol1様受容体)アゴニスト、モノホスホリル脂質 (MPL)、CpG-ODNs、核酸 (例、ssDNA、dsDNA、ssRNA、dsRNA等)、cGAS/STINGアゴニスト、RIG-1受容体アゴニスト及びNLR様受容体アゴニストからなる群より選択される少なくとも1種との併用がより好ましい。

10

20

30

40

50

50

## 【0099】

本発明は、本発明化合物及び抗原を含有するワクチンも提供する。本発明化合物及び抗原を含有するワクチンは、本発明化合物及び抗原を含有する医薬組成物の一実施態様である。

## 【0100】

本発明のワクチンに含まれる本発明化合物（すなわち、化合物（I）又はその塩、化合物（II）又はその塩）は、本発明の免疫賦活剤に含まれる本発明化合物と同様のものを用いてよい。

## 【0101】

本発明において用いられる抗原は、免疫反応を誘導し得る物質であれば特に限定されないが、例えば、アレルゲン、病原体抗原、生体内の自己抗原、腫瘍抗原等が挙げられる。

## 【0102】

本発明において用いられるアレルゲンは、花粉アレルゲン、食物アレルゲン、又はハウスタストアレルゲンであり得る。花粉アレルゲンとしては特に制限されないが、例えば、スギ花粉アレルゲン、ヒノキ花粉アレルゲン、ブタクサアレルゲン、カモガヤアレルゲン等が挙げられる。食物アレルゲンとしては特に制限されないが、例えば、カゼイン、ラクトアルブミン、ラクトグロブリン、オボムコイド、オボアルブミン、コンアルブミン等が挙げられる。ハウスタストアレルゲンとしては特に制限されないが、例えば、ダニ類アレルゲン、ネコアレルゲン等が挙げられる。

## 【0103】

本発明において用いられる病原体抗原は、病原性ウイルス抗原、病原性微生物抗原、又は病原性原生動物抗原であり得る。病原性ウイルス抗原としては特に限定されないが、例えば、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、肝炎ウイルス（例、A型、B型、C型、D型及びE型肝炎ウイルス）、インフルエンザウイルス（例：A型、B型及びC型インフルエンザウイルス 例えば、“Surveillance Report Influenza virus characterisation, Summary Europe, September 2015”（[http://ecdc.europa.eu/en/publications/surveillance\\_reports/influenza\\_pages/influenza\\_virus\\_characterisation.aspx](http://ecdc.europa.eu/en/publications/surveillance_reports/influenza_pages/influenza_virus_characterisation.aspx)）に記載されている抗原等）、単純ヘルペスウイルス、西ナイル熱ウイルス、ヒトパピローマウイルス、ウマ脳炎ウイルス、ヒトT細胞白血病ウイルス（例、HTLV-I）、ポリオウイルス、水痘帶状疱疹ウイルス、ムンプスウイルス、ロタウイルス、ノロウイルス、RSウイルス、麻疹ウイルス、エボラウイルス等のウイルスの抗原が挙げられるが、特にインフルエンザウイルスの抗原が好ましく用いられる。病原性微生物抗原としては特に制限されないが、例えば、病原性細菌（例、ヘモフィルスB型インフルエンザ菌（Hib）、肺炎球菌、破傷風菌、ジフテリア菌、百日咳菌、コレラ菌、サルモネラ菌、チフス菌、クラミジア、ミコバクテリア、レジオネラ）、病原性酵母（例、アスペルギルス、カンジダ）等に発現している抗原が挙げられる。病原性原生動物抗原としては特に制限されないが、例えば、マラリア、住血吸虫等に発現している抗原が挙げられる。

## 【0104】

本発明において用いられる生体内の自己抗原としては特に制限はされないが、例えば、アルツハイマー病やクロイツ・フェルトヤコブ病等の神経疾患におけるアミロイド、プリオൺ；動脈硬化症や高血圧症等の循環器疾患におけるApoB100、アンジオテンシンI、アンジオテンシンII；I型糖尿病や気管支喘息等の自己免疫・アレルギー疾患におけるインスリン、IL-5；慢性関節リウマチにおけるIL-6、TNF- 等が挙げられる。

## 【0105】

本発明において用いられる腫瘍抗原は、上皮性及び非上皮性腫瘍を含む固形腫瘍の抗原、又は造血組織における腫瘍の抗原であり得る。固形腫瘍抗原としては特に限定されないが、例えば、MART-1/Melan-A、Mage-1、Mage-3、gp100

10

20

30

40

50

、チロシナーゼ、チロシナーゼ関連タンパク質2（trp2）、CEA、PSA、CA-125、erb-2、Muc-1、Muc-2、TAG-72、AES、FBP、C-レクチン、NY-ESO-1、galectin-4/NY-CO-27、Pec60、HER-2/erbB-2/neu、テロメラーゼ、G250、Hsp105、点変異ras癌遺伝子、点変異p53癌遺伝子、癌胎児性抗原等が挙げられる。造血組織における腫瘍（例、白血病）の抗原としては特に限定されないが、例えば、proteinase 3、WT-1、hTERT、PRAME、PML/RAR-a、DEK/CAN、シクロフィリンB、TEL-MAL1、BCR-ABL、OFA-iLRP、Survivin、idiotype、Sperm protein 17、SPAN-Xb、CT-27、MUC1等が挙げられる。

10

## 【0106】

本発明のワクチンにおける抗原の含有量は、ワクチンとして機能する有効量であればよく、当該量は当業者であれば、例えば実験動物を使用する試験等に基づき、過度の実験を必要とすることなく決定することができる。具体的には、本発明のワクチンにおける抗原の含有量は、ワクチンの総重量に基づき、通常1～100μgである。

## 【0107】

本発明のワクチンにおける本発明化合物の含有量は、例えば抗原の種類、投与対象、投与形態及び投与ルート等に応じて適宜調節すればよく特に制限されないが、経口投与、筋肉内投与、経皮投与、皮内投与、皮下投与、腹腔内投与の場合は、ワクチンの総重量に基づき、通常2μg～20mgであり、好ましくは20μg～200μgである。気管内投与、鼻腔投与（経鼻投与）、眼内投与、膣内投与、直腸投与、静脈内投与、小腸内投与、吸入投与の場合は、ワクチンの総重量に基づき、通常0.01μg～1mgであり、好ましくは0.1μg～100μgである。

20

## 【0108】

本発明のワクチンは、本発明化合物及び抗原に加え、薬理学的に許容し得る担体を含有してもよい。本発明のワクチンが含有してもよい薬理学的に許容し得る担体の例としては、本発明の免疫賦活剤が含有してもよい薬理学的に許容し得る担体として例示したものと同様のものが挙げられる。

## 【0109】

本発明のワクチンは、さらに他のアジュバントを含有してもよい。当該他のアジュバントの例としては、本発明の免疫賦活剤と併用し得るアジュバントとして例示したものと同様のものが挙げられる。

30

## 【0110】

本発明のワクチンは、本発明化合物及び抗原に加え、-シクロデキストリンを含有してもよい。本発明のワクチンに含まれ得る-シクロデキストリンは、本発明の免疫賦活剤に含まれ得る-シクロデキストリンと同様のものを用いてよい。

## 【0111】

本発明のワクチンにおける-シクロデキストリンの含有量は特に制限されないが、0.005～20重量%が好ましく、0.05～5重量%がより好ましい。

## 【0112】

本発明のワクチンにおける化合物（I）又はその塩の含有量と-シクロデキストリンの含有量の重量比（化合物（I）又はその塩：-シクロデキストリン）は特に制限されないが、1：0.0002～2.0000が好ましく、1：0.002～0.2がより好ましい。

40

また本発明のワクチンにおける化合物（II）又はその塩の含有量と-シクロデキストリンの含有量の重量比（化合物（II）又はその塩：-シクロデキストリン）は特に制限されないが、1：0.0002～2.0000が好ましく、1：0.002～0.2がより好ましい。

## 【0113】

本発明のワクチンは、本発明化合物（好ましくは、化合物（II）又はその塩）及び抗

50

原に加え、ヒドロキシプロピル - - - シクロデキストリンを含有してもよい。本発明のワクチンに含まれ得るヒドロキシプロピル - - - シクロデキストリンは、本発明の免疫賦活剤に含まれ得るヒドロキシプロピル - - - シクロデキストリンと同様のものを用いてよい。

【0114】

本発明のワクチンにおけるヒドロキシプロピル - - - シクロデキストリンの含有量は特に制限されないが、0.005～20重量%が好ましく、0.05～5重量%がより好ましい。

【0115】

本発明のワクチンにおける化合物(II)又はその塩の含有量とヒドロキシプロピル - - - シクロデキストリンの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩:ヒドロキシプロピル - - - シクロデキストリン)は、化合物(II)又はその塩が溶解状態になり得れば特に制限されないが、1:0.005～5.0000が好ましく、1:0.004～0.4がより好ましい。

【0116】

本発明のワクチンは、本発明化合物及び抗原に加え、カルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)及びポリエチレングリコール(マクロゴール等)からなる群より選択される少なくとも一種を更に含有してもよい。本発明のワクチンに含まれ得るカルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)、ポリエチレングリコール(マクロゴール等)は、本発明の免疫賦活剤に含まれ得るカルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)、ポリエチレングリコール(マクロゴール等)と同様のものを用いてよい。

【0117】

本発明のワクチンにおけるカルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)、ポリエチレングリコール(マクロゴール等)、それぞれの含有量は特に制限されないが、0.005～20重量%が好ましく、0.05～5重量%がより好ましい。

【0118】

本発明のワクチンにおける化合物(II)又はその塩の含有量とカルボキシメチルセルロースの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩:カルボキシメチルセルロース)は特に制限されないが、1:0.0005～5.0000が好ましく、1:0.005～0.5がより好ましい。

また本発明のワクチンにおける化合物(II)又はその塩の含有量とカルボキシメチルセルロースの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩:カルボキシメチルセルロース)は特に制限されないが、1:0.0005～5.0000が好ましく、1:0.005～0.5がより好ましい。

【0119】

本発明のワクチンにおける化合物(II)又はその塩の含有量とポリソルベートの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩:ポリソルベート)は特に制限されないが、1:0.0005～5.0000が好ましく、1:0.005～0.5がより好ましい。

また本発明のワクチンにおける化合物(II)又はその塩の含有量とポリソルベートの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩:ポリソルベート)は特に制限されないが、1:0.0005～5.0000が好ましく、1:0.005～0.5がより好ましい。

【0120】

本発明のワクチンにおける化合物(II)又はその塩の含有量とポリエチレングリコールの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩:ポリエチレングリコール)は特に制限されないが、1:0.0005～5.0000が好ましく、1:0.005～0.5がより好ましい。

また本発明のワクチンにおける化合物(II)又はその塩の含有量とポリエチレングリコールの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩:ポリエチレングリコール)は特に制限されないが、1:0.0005～5.0000が好ましく、1:0.005～0.5

10

20

30

40

50

がより好ましい。

【0121】

本発明のワクチンは、本発明の免疫賦活剤及び抗原を含有するものであってもよい。

【0122】

本発明のワクチンの剤形の例としては、本発明の免疫賦活剤の剤形として例示したものと同様のものが挙げられる。

【0123】

本発明のワクチンは、製剤技術分野において慣用の方法、例えば、第十六改正日本薬局方に記載の方法等により製造することができる。例えば、本発明化合物と所望の抗原とを混合し、必要により乳化又は分散させること、あるいは、所望の抗原を含有するワクチンに本発明化合物を添加し、必要により乳化又は分散させること等により調製することができる。

10

【0124】

本発明のワクチンの投与対象は、免疫系を有する動物であれば特に制限されず、その例としては、本発明の免疫賦活剤の投与対象として例示したものと同様のものが挙げられる。

【0125】

本発明のワクチンの投与は、単回投与であってよく、又は複数回の連続投与であってもよい。本発明のワクチンを連続投与する場合、投与期間は特に限定されず、例えば抗原の種類、投与対象、投与形態及び投与ルート等に応じて、適宜設定すればよいが、通常1～90日間の範囲であり、好ましくは1～30日間の範囲である。

20

【0126】

本発明のワクチンの投与ルートは特に限定されないが、本発明のワクチンは、経口投与、筋肉内投与、経皮投与、皮内投与、皮下投与、腹腔内投与、気管内投与、鼻腔投与（経鼻投与）、眼内投与、腔内投与、直腸投与、静脈内投与、小腸内投与、吸入投与から選択されるルートで投与されることが好ましく、皮下投与又は鼻腔投与（経鼻投与）で投与されることが特に好ましい。また、本発明のワクチンは、皮内投与で投与されることが特に好ましい。

【0127】

本発明のワクチンを対象に投与することにより、アレルギー症、感染症又は腫瘍等を予防又は治療することができる。

30

【0128】

本発明は、本発明化合物及び - シクロデキストリンを含む医薬組成物（以下、便宜上、本発明の医薬組成物Aと称することもある）も提供する。

【0129】

本発明の医薬組成物Aに含まれる本発明化合物（すなわち、化合物（I）又はその塩、化合物（II）又はその塩）は、本発明の免疫賦活剤に含まれる本発明化合物と同様のものを用いてよい。

【0130】

本発明の医薬組成物Aに含まれる - シクロデキストリンは、本発明の免疫賦活剤に含まれ得る - シクロデキストリンと同様のものを用いてよい。

40

【0131】

本発明の医薬組成物Aにおける本発明化合物の含有量は特に制限されないが、0.1～99.9重量%が好ましく、1～99重量%がより好ましい。

【0132】

本発明の医薬組成物Aにおける - シクロデキストリンの含有量は特に制限されないが、0.005～20重量%が好ましく、0.05～5重量%がより好ましい。

【0133】

本発明の医薬組成物Aにおける化合物（I）又はその塩の含有量と - シクロデキストリンの含有量の重量比（化合物（I）又はその塩： - シクロデキストリン）は特に制限

50

されないが、1：0.0002～2.0000が好ましく、1：0.002～0.2がより好ましい。

また本発明の医薬組成物Aにおける化合物(II)又はその塩の含有量と-シクロデキストリンの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩：-シクロデキストリン)は特に制限されないが、1：0.0002～2.0000が好ましく、1：0.002～0.2がより好ましい。

【0134】

本発明の医薬組成物Aは、本発明化合物及び-シクロデキストリンに加え、薬理学的に許容し得る担体を含有してもよい。本発明の医薬組成物Aが含有してもよい薬理学的に許容し得る担体の例としては、本発明の免疫賦活剤が含有してもよい薬理学的に許容し得る担体として例示したものと同様のものが挙げられる。

10

【0135】

本発明は、本発明化合物及びヒドロキシプロピル-シクロデキストリンを含む医薬組成物(以下、便宜上、本発明の医薬組成物Bと称することもある)も提供する。

【0136】

本発明の医薬組成物Bに含まれる本発明化合物(好ましくは、化合物(II)又はその塩)は、本発明の免疫賦活剤に含まれる本発明化合物と同様のものを用いてよい。

【0137】

本発明の医薬組成物Bに含まれるヒドロキシプロピル-シクロデキストリンは、本発明の免疫賦活剤に含まれるヒドロキシプロピル-シクロデキストリンと同様のものを用いてよい。

20

【0138】

本発明の医薬組成物Bにおける本発明化合物の含有量は特に制限されないが、0.1～9.9重量%が好ましく、1～9.9重量%がより好ましい。

【0139】

本発明の医薬組成物Bにおけるヒドロキシプロピル-シクロデキストリンの含有量は特に制限されないが、0.005～2.0重量%が好ましく、0.05～5重量%がより好ましい。

【0140】

本発明の医薬組成物Bにおける化合物(II)又はその塩の含有量とヒドロキシプロピル-シクロデキストリンの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩：ヒドロキシプロピル-シクロデキストリン)は、化合物(II)又はその塩が溶解状態になり得れば特に制限されないが、1：0.0002～2.0000が好ましく、1：0.004～0.4がより好ましい。

30

【0141】

本発明の医薬組成物Bは、本発明化合物及びヒドロキシプロピル-シクロデキストリンに加え、薬理学的に許容し得る担体を含有してもよい。本発明の医薬組成物Bが含有してもよい薬理学的に許容し得る担体の例としては、本発明の免疫賦活剤が含有してもよい薬理学的に許容し得る担体として例示したものと同様のものが挙げられる。

40

【0142】

本発明は、本発明化合物、並びに、カルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)及びポリエチレングリコール(マクロゴール等)からなる群より選択される少なくとも一種を含む医薬組成物(以下、便宜上、本発明の医薬組成物Cと称することもある)も提供する。

【0143】

本発明の医薬組成物Cに含まれる本発明化合物(すなわち、化合物(I)又はその塩、化合物(II)又はその塩)は、本発明の免疫賦活剤に含まれる本発明化合物と同様のものを用いてよい。

【0144】

本発明の医薬組成物Cに含まれるカルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)及びポリエチレングリコール(マクロゴール等)からなる群より選択される少なくとも一種を含む医薬組成物(以下、便宜上、本発明の医薬組成物Cと称することもある)も提供する。

50

een 80等)、ポリエチレングリコール(マクロゴール等)は、本発明の免疫賦活剤に含まれ得るカルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)、ポリエチレングリコール(マクロゴール等)と同様のものを用いてよい。

【0145】

本発明の医薬組成物Cにおける本発明化合物の含有量は特に制限されないが、0.1～99.9重量%が好ましく、1～99重量%がより好ましい。

【0146】

本発明の医薬組成物Cにおけるカルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)、ポリエチレングリコール(マクロゴール等)の、それぞれの含有量は特に制限されないが、0.005～20重量%が好ましく、0.05～5重量%がより好ましい。

10

【0147】

本発明の医薬組成物Cにおける化合物(I)又はその塩の含有量とカルボキシメチルセルロースの含有量の重量比(化合物(I)又はその塩：カルボキシメチルセルロース)は特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.005～0.5がより好ましい。

また本発明の医薬組成物Cにおける化合物(II)又はその塩の含有量とカルボキシメチルセルロースの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩：カルボキシメチルセルロース)は特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.05～0.5がより好ましい。

20

【0148】

本発明の医薬組成物Cにおける化合物(I)又はその塩の含有量とポリソルベートの含有量の重量比(化合物(I)又はその塩：ポリソルベート)は特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.005～0.5がより好ましい。

また本発明の医薬組成物Cにおける化合物(II)又はその塩の含有量とポリソルベートの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩：ポリソルベート)は特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.005～0.5がより好ましい。

20

【0149】

本発明の医薬組成物Cにおける化合物(I)又はその塩の含有量とポリエチレングリコールの含有量の重量比(化合物(I)又はその塩：ポリエチレングリコール)は特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.005～0.5がより好ましい。

30

また本発明の医薬組成物Cにおける化合物(II)又はその塩の含有量とポリエチレングリコールの含有量の重量比(化合物(II)又はその塩：ポリエチレングリコール)は特に制限されないが、1：0.0005～5.0000が好ましく、1：0.005～0.5がより好ましい。

【0150】

本発明の医薬組成物Cは、本発明化合物、並びに、カルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)及びポリエチレングリコール(マクロゴール等)からなる群より選択される少なくとも一種に加え、薬理学的に許容し得る担体を含有してもよい。本発明の医薬組成物Cが含有してもよい薬理学的に許容し得る担体の例としては、本発明の免疫賦活剤が含有してもよい薬理学的に許容し得る担体として例示したものと同様のものが挙げられる。

40

【0151】

本発明の医薬組成物A、B及びCの剤形の例としては、本発明の免疫賦活剤の剤形として例示したものと同様のものが挙げられる。

【0152】

本発明の医薬組成物A、B及びCは、製剤技術分野において慣用の方法、例えば、第十六改正日本薬局方に記載の方法等により製造することができる。

50

## 【0153】

本発明の医薬組成物A、B及びCの投与対象の例としては、本発明の免疫賦活剤の投与対象として例示したものと同様のものが挙げられる。

## 【0154】

本発明の医薬組成物Aは、本発明化合物と - - シクロデキストリンとが分離されて包装されたキットの態様で提供されてもよい。

## 【0155】

本発明の医薬組成物Bは、本発明化合物とヒドロキシプロピル - - シクロデキストリンとが分離されて包装されたキットの態様で提供されてもよい。

## 【0156】

本発明の医薬組成物Cは、本発明化合物とカルボキシメチルセルロース、ポリソルベート(Tween 80等)及びポリエチレングリコール(マクロゴール等)からなる群より選択される少なくとも一種とが分離されて包装されたキットの態様で提供されてもよい。

10

## 【0157】

本発明の医薬組成物A、B及びCは、それぞれ抗原特異的なIgG1およびIgG2aサブクラス抗体産生の増強作用(免疫賦活作用)を有し、例えば、免疫賦活剤、アジュバント(例えば、ワクチンアジュバント等)等として用いてよい。

## 【実施例】

## 【0158】

以下に、合成例及び実施例に基づいて本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらの合成例及び実施例により限定されるものではなく、本発明の範囲を逸脱しない範囲で変化させてもよい。また、本発明において使用する試薬や装置、材料は特に言及されない限り、商業的に入手可能である。

20

## 【0159】

## (1) 本発明化合物の合成

## 〔合成例1〕

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニン(SZ61)の合成

L - アルギニン(5.00g、28.7mmol)に水(17.9ml)、イソプロピルアルコール(53.8ml)を加え、27%水酸化ナトリウム水溶液を用いてpHを1に調整した。液温を27.8~28.3、pHを10.5~11.5の範囲に保ちつつ、パルミトイクリド(9.58ml、31.6mmol)および27%水酸化ナトリウム水溶液(4.68ml、31.6mmol)を90分間かけて滴下し、28で1時間攪拌した。その後、27%水酸化ナトリウム水溶液を用いてpHを12に調整し、52に昇温し、濃塩酸を用いてpHを6に調整し、1時間かけて10まで冷却した。得られた懸濁液を濾過し、濾別した固体を水(150ml)、イソプロピルアルコール(100ml)で洗浄することで、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニン(10.7g、26.0mmol、収率91%)を得た。

30

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz, CD<sub>3</sub>COOD) : 0.91(t, 3H, J=6.8Hz), 1.28-1.42(m, 24H), 1.65(m, 2H), 1.73(m, 2H), 1.80-2.04(m, 2H), 2.37(t, 2H, J=7.6Hz), 3.30(m, 2H), 4.64(m, 1H)

40

ESIMS(m/z) : 413.4([M+2H]<sup>2+</sup>), 825.7([M+H]<sup>+</sup>), 823.9([M-H]<sup>-</sup>).

40

## 【0160】

## 〔合成例2〕

## N - ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62)の合成

アグマチン硫酸塩(5.00g、21.9mmol)に水(34.5ml)、イソプロピルアルコール(20.3ml)を加え、27%水酸化ナトリウム水溶液を用いてpHを11に調整した。冷却装置を用いて10に冷却した後、液温を10.5~11.5、

50

pHを10.8~11.3の範囲に保ちつつ、パルミトイルクロリド(6.64ml、21.9mmol)および27%水酸化ナトリウム水溶液(3.24ml、21.9mmol)を40分間かけて滴下し、10で30分間、室温で1時間搅拌した。その後、60に昇温し、イソプロピルアルコール(10ml)を加え、27%水酸化ナトリウム水溶液を用いてpHを12に調整し、搅拌しながら室温まで冷却した。得られた懸濁液を濾過し、濾取した固体を水で洗浄することで、粗生成物(6.2g)を得た。これをメタノールに溶解して陰イオン交換樹脂(アンバーライトIRA400 OH)で処理し、溶離液を減圧濃縮することで、N-ヘキサデカノイルアグマチン(4.30g、11.7mmol、収率53%)を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 0.92(t, 3H, J=6.8Hz), 1.25-1.38(m, 24H), 1.55-1.65(m, 6H), 2.19(t, 2H, J=7.6Hz), 3.16-3.23(m, 4H).

ESIMS(m/z) : 369.3([M+H]<sup>+</sup>), 737.7([2M+H]<sup>+</sup>), 413.2([M+HCOO]<sup>-</sup>).

【0161】

〔合成例3〕

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル 塩酸塩(SZ63)の合成

合成例1と同様にして合成したN<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン(300mg、0.73mmol)をメタノールに溶解し、塩化チオニルを2mL駒込ピペットで3滴加え、50で23時間搅拌した。室温まで冷却後、減圧濃縮することで、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル 塩酸塩(200mg、0.43mmol、収率79%)を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.90(t, 3H, J=6.8Hz), 1.24-1.32(m, 24H), 1.62(m, 2H), 1.71(m, 2H), 1.78-2.02(m, 2H), 2.31(t, 2H, J=7.6Hz), 3.23(m, 1H), 3.41(m, 1H), 3.77(s, 3H), 4.50(m, 1H), 7.02-7.12(m, 2H), 7.92(brs, 1H).

ESIMS(m/z) : 427.4([M+H]<sup>+</sup>), 853.7([2M+H]<sup>+</sup>), 471.2([M+HCOO]<sup>-</sup>).

【0162】

〔合成例4〕

N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン tert-ブチルエステル(SZ64)の合成

L-グルタミン tert-ブチルエステル塩酸塩(300mg、1.27mmol)に対し、N,N-ジメチルホルムアミド(12.7ml)、ステアリン酸(536mg、1.89mmol)を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(362mg、1.89mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(255mg、1.89mmol)、トリエチルアミン(0.53ml、3.81mmol)を加え、氷浴を外して室温にて21.5時間搅拌した。10%クエン酸水溶液30mlを加えて反応を停止した後、酢酸エチル60ml、50mlで抽出した。合わせた有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(50ml)で2回、15%食塩水(50ml)で1回洗浄し、無水硫酸マグネシウムを加えて乾燥後、濾過を行い、濾液を減圧濃縮した。その後、得られた固体を酢酸エチル/ヘキサン(1/1、v/v)(20ml)でスラリー洗浄することで、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン tert-ブチルエステル(387.3mg、0.83mmol、収率83%)を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88(t, 3H, J=7.0Hz), 1.20-1.30(m, 28H), 1.47(s, 9H),

10

20

30

40

50

1.63 (m, 2H), 1.87 (m, 1H), 2.14 - 2.27 (m, 3H), 2.31 (m, 2H), 4.48 (m, 1H), 5.33 (brs, 1H), 6.30 (d, 1H,  $J = 7.6$  Hz), 6.57 (brs, 1H).

ESIMS (m/z) : 469.35 ([M + H]<sup>+</sup>).

#### 【0163】

##### 〔合成例5〕

##### N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン (SZ65) の合成

合成例4と同様にして合成したN<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン tert-ブチルエステル (200mg, 0.43mmol) に対し、ジクロロメタン (2.15mL)、トリイソプロピルシラン (0.44mL, 2.13mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いてトリフルオロ酢酸 (2.15mL) を加え、氷浴を外して室温にて2時間攪拌した。その後、トルエンとともに減圧濃縮し、酢酸エチル/ヘキサン (1/1) でスラリー洗浄することでN<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン (161mg, 0.31mmol、収率71%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO) : 0.85 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz), 1.18 - 1.28 (m, 28H), 1.47 (m, 2H), 1.72 (m, 1H), 1.91 (m, 1H), 2.07 - 2.14 (m, 4H), 4.13 (m, 1H), 6.75 (brs, 1H), 7.27 (brs, 1H), 8.03 (d, 1H,  $J = 7.6$  Hz).

ESIMS (m/z) : 411.20 ([M - H]<sup>-</sup>), 823.55 ([2M - H]<sup>-</sup>).

#### 【0164】

##### 〔合成例6〕

##### N-ドコサノイルグリシンメチルエステル (SZ69) の合成

グリシンメチルエステル 塩酸塩 (500mg, 3.98mmol) に対し、N,N-ジメチルホルムアミド (39.8mL)、ベヘン酸 (2.03g, 5.97mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (1.14g, 5.97mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (807mg, 5.97mmol)、トリエチルアミン (1.67mL, 12.0mmol) を加え、氷浴を外して室温にて19.5時間攪拌した。その後、反応混合物に10%クエン酸水溶液 (25mL)、酢酸エチル (70mL) を加えて濾過し、濾取した固体をヘキサン/酢酸エチル (2/3, v/v) (30mL)、ジエチルエーテル (30mL)、水 (30mL) を用いてスラリー洗浄した。得られた固体1.31gのうち643mgを取り、これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) によって精製することで、N-ドコサノイルグリシンメチルエステル (308mg, 0.75mmol、収率38%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz), 1.25 - 1.30 (m, 36H), 1.64 (m, 2H), 2.24 (t, 2H,  $J = 7.6$  Hz), 3.77 (s, 3H), 4.05 (d, 2H,  $J = 5.2$  Hz), 5.91 (s, 1H).

ESIMS (m/z) : 412.4 ([M + H]<sup>+</sup>), 823.8 ([2M + H]<sup>+</sup>).

#### 【0165】

##### 〔合成例7〕

##### N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル (SZ70) の合成

L-ロイシンメチルエステル 塩酸塩 (500mg, 2.75mmol) に対し、N,N-ジメチルホルムアミド (28mL)、ベヘン酸 (1.41g, 4.13mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (791mg, 4.13mmol)、1-ヒドロキシ

10

20

30

40

50

ベンゾトリアゾール ( 558 mg, 4.13 mmol ) 、トリエチルアミン ( 1.15 ml, 8.26 mmol ) を加え、氷浴を外して室温にて 20 時間攪拌した。その後、反応混合物に 10 % クエン酸水溶液 ( 25 ml ) 、酢酸エチル ( 70 ml ) を加えて濾過し、濾取した固体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( ヘキサン / 酢酸エチル ) によって精製した。最後に、得られた固体を酢酸エチル ( 10 ml ) 、メタノール ( 10 ml ) でスラリー洗浄することで、N - ドコサノイル - L - ロイシンメチルエステル ( 176 mg, 0.38 mmol, 収率 14 % ) を白色固体として得た。

<sup>1</sup> H - NMR ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub> ) : 0.88 ( t, 3H, J = 6.8 Hz ), 0.94 ( m, 6H ), 1.25 - 1.29 ( m, 36H ), 1.48 - 1.68 ( m, 5H ), 2.21 ( t, 2H, J = 7.6 Hz ), 3.73 ( s, 3H ), 4.66 ( dt, 1H, J = 4.8 Hz, 8.8 Hz ), 5.76 ( d, 1H, J = 8.0 Hz ).  
ESIMS ( m/z ) : 468.4 ([M + H]<sup>+</sup>), 935.9 ([2M + H]<sup>+</sup>).

### 【0166】

#### 〔合成例 8〕

N - ドコサノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル ( SZ71 ) の合成

L - フェニルアラニンメチルエステル 塩酸塩 ( 500 mg, 2.32 mmol ) に対し、N, N - ジメチルホルムアミド ( 23 ml ) 、ベヘン酸 ( 1.18 g, 3.48 mmol ) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて、1 - エチル - 3 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) カルボジイミド塩酸塩 ( 667 mg, 3.48 mmol ) 、1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール ( 470 mg, 3.48 mmol ) 、トリエチルアミン ( 0.97 ml, 6.95 mmol ) を加え、氷浴を外して室温にて 20 時間攪拌した。その後、10 % クエン酸水溶液 ( 30 ml ) と酢酸エチル ( 70 ml ) を加えて濾過し、濾取した固体をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( ヘキサン / 酢酸エチル ) によって精製することで、N - ドコサノイル - L - フェニルアラニンメチルエステル ( 300 mg, 0.60 mmol, 収率 26 % ) を白色固体として得た。

<sup>1</sup> H - NMR ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub> ) : 0.88 ( t, 3H, J = 6.8 Hz ), 1.20 - 1.32 ( m, 36H ), 1.58 ( m, 2H ), 2.16 ( t, 2H, J = 7.2 Hz ), 3.10 ( dd, 1H, J = 8.4 Hz, 14.0 Hz ), 3.16 ( dd, 1H, J = 6.0 Hz, 14.0 Hz ), 3.73 ( s, 3H ), 4.91 ( dt, 1H, J = 7.6 Hz, 6.0 Hz ), 5.83 ( d, 1H, J = 7.6 Hz ), 7.08 - 7.10 ( m, 2H ), 7.22 - 7.31 ( m, 3H ).  
ESIMS ( m/z ) : 502.5 ([M + H]<sup>+</sup>).

### 【0167】

#### 〔合成例 9 - 1〕

N - ドコサノイル - L - グルタミン酸 5 - tert - ブチル - 1 - メチルエステルの合成

L - グルタミン酸 5 - tert - ブチル - 1 - メチルエステル 塩酸塩 ( 543 mg, 2.14 mmol ) に対し、N, N - ジメチルホルムアミド ( 14.3 ml ) 、ベヘン酸 ( 875 mg, 2.57 mmol ) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて 1 - エチル - 3 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) カルボジイミド塩酸塩 ( 493 mg, 2.57 mmol ) 、1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール ( 347 mg, 2.57 mmol ) 、トリエチルアミン ( 0.60 ml, 4.3 mmol ) を加え、氷浴を外して室温にて 22 時間攪拌した。その後、酢酸エチル ( 25 ml ) を加えて濾過し、濾取した固体を酢酸エチル ( 10 ml ) で 3 回、メタノール ( 10 ml ) で 3 回洗浄することで、N - ドコサノイル - L - グルタミン酸 5 - tert - ブチル - 1 - メチルエステル ( 281 mg, 0.52 mmol, 収率 24 % ) を白色固体として得た。

<sup>1</sup> H - NMR ( 400 MHz, CDCl<sub>3</sub> ) : 0.88 ( t, 3H, J = 7.5 Hz ), 1.20 - 1.32 ( m, 36H ), 1.58 ( m, 2H ), 2.16 ( t, 2H, J = 7.2 Hz ), 3.10 ( dd, 1H, J = 8.4 Hz, 14.0 Hz ), 3.16 ( dd, 1H, J = 6.0 Hz, 14.0 Hz ), 3.73 ( s, 3H ), 4.91 ( dt, 1H, J = 7.6 Hz, 6.0 Hz ), 5.83 ( d, 1H, J = 7.6 Hz ), 7.08 - 7.10 ( m, 2H ), 7.22 - 7.31 ( m, 3H ).  
ESIMS ( m/z ) : 502.5 ([M + H]<sup>+</sup>).

. 0 Hz), 1.25 - 1.28 (m, 36 H), 1.44 (s, 9 H),  
 1.62 (m, 2 H), 1.96 (m, 1 H), 2.12 (m, 1 H), 2  
 .20 (t, 2 H, J = 7.6 Hz), 2.30 (m, 2 H), 3.74 (s,  
 3 H), 4.59 (dt, 1 H, J = 5.2 Hz, 8.0 Hz),  
 6.19 (d, 1 H, J = 7.6 Hz).  
 E S I M S (m/z) : 540.5 ([M + H]<sup>+</sup>), 1079.9 ([2M + H]<sup>+</sup>).

## 【0168】

## 〔合成例9-2〕

N - ドコサノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル (S Z 72) の合成

10

合成例9-1で合成したN - ドコサノイル - L - グルタミン酸 5 - tert - ブチル - 1 - メチルエステル (200 mg, 0.37 mmol) に対し、ジクロロメタン (3.7 ml)、トリイソプロピルシラン (0.38 ml, 1.85 mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いてトリフルオロ酢酸 (3.7 ml) を加え、氷浴を外して室温にて45分間攪拌し、トルエンとともに減圧濃縮することでN - ドコサノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル (178 mg, 0.37 mmol、収率99%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup> H - N M R (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (t, 3 H, J = 6.8 Hz), 1.20 - 1.30 (m, 36 H), 1.62 (m, 2 H),  
 2.02 (m, 1 H), 2.28 (m, 1 H), 2.36 (t, 2 H, J = 7.6 Hz), 2.56 (m, 2 H), 3.83 (s, 3 H), 4.76 (dt, 1 H, J = 5.3 Hz, 8.0 Hz),  
 6.83 (d, 1 H, J = 7.6 Hz).

E S I M S (m/z) : 484.4 ([M + H]<sup>+</sup>), 482.2 ([M - H]<sup>-</sup>)

## 【0169】

## 〔合成例10-1〕

N<sup>6</sup> - (tert - ブトキシカルボニル) - N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - リジンメチルエステルの合成

20

N<sup>6</sup> - (tert - ブトキシカルボニル) - L - リジンメチルエステル 塩酸塩 (300 mg, 1.0 mmol) に対し、N, N - ジメチルホルムアミド (6.7 ml)、ベヘン酸 (412 mg, 1.2 mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (232 mg, 1.2 mmol)、1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール (164 mg, 1.2 mmol)、トリエチルアミン (0.28 ml, 2.0 mmol) を加え、氷浴を外して室温にて22時間攪拌した。その後、酢酸エチル (10 ml) を加えて濾過し、濾取した固体を酢酸エチル (10 ml) で3回洗浄することで、N<sup>6</sup> - (tert - ブトキシカルボニル) - N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - リジンメチルエステル (75.8 mg, 0.13 mmol、収率13%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup> H - N M R (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (t, 3 H, J = 6.8 Hz), 1.25 - 1.30 (m, 36 H), 1.44 (s, 9 H),  
 1.49 (m, 2 H), 1.59 - 1.72 (m, 3 H), 1.84 (m, 1 H), 2.22 (t, 2 H, J = 7.6 Hz), 3.10 (m, 2 H),  
 3.74 (s, 3 H), 4.56 - 4.63 (m, 2 H), 6.01 (d, 1 H, J = 6.4 Hz).

E S I M S (m/z) : 583.5 ([M + H]<sup>+</sup>).

## 【0170】

## 〔合成例10-2〕

N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - リジンメチルエステル トリフルオロ酢酸塩 (S Z 73) の合成

50

合成例 10 - 1 で合成した  $N^6$  - (tert-ブトキシカルボニル) -  $N^2$  - ドコサノイル - L - リジンメチルエステル (73.8 mg, 0.13 mmol) に対し、ジクロロメタン (1.3 ml)、トリイソプロピルシラン (0.13 ml, 0.63 mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いてトリフルオロ酢酸 (1.3 ml) を加えた後、氷浴を外して室温にて 50 分間攪拌した。その後、トルエンとともに減圧濃縮することで  $N^2$  - ドコサノイル - L - リジンメチルエステル トリフルオロ酢酸塩 (78.8 mg, 0.13 mmol、収率 100%) を白色固体として得た。

$^1$ H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (t, 3H, J = 6.8 Hz), 1.25 - 1.30 (m, 36H), 1.60 (m, 2H), 1.73 (m, 2H), 1.94 (m, 2H), 2.35 (dd, 2H, J = 6.4 Hz, 8.4 Hz), 3.13 - 3.23 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 4.73 (dt, 1H, J = 4.4 Hz, 8.8 Hz), 6.87 - 7.00 (m, 3H).  
ESIMS (m/z) : 483.4 ([M + H]<sup>+</sup>), 482.2 ([M - H]<sup>-</sup>)

### 【0171】

#### 〔合成例 11〕

N - ドコサノイル - L - イソロイシンメチルエステル (SZ76) の合成

L - イソロイシンメチルエステル 塩酸塩 (500 mg, 2.75 mmol) に対し、N, N - ジメチルホルムアミド (28 ml)、ベヘン酸 (1.41 g, 4.13 mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (792 mg, 4.13 mmol)、1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール (558 mg, 4.13 mmol)、トリエチルアミン (1.15 ml, 8.25 mmol) を加え、氷浴を外して室温にて 18 時間攪拌した。その後、酢酸エチル (70 ml) を加えて濾過し、濾液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン / 酢酸エチル) によって精製することで目的物を主成分とする生成物を得た。これをジクロロメタン (70 ml) に溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (20 ml) で 3 回、水 (30 ml)、15% 食塩水 (30 ml) で 1 回洗浄し、有機層を減圧濃縮した。残渣 886 mg のうち 200 mg を取り、PTLC (ヘキサン / 酢酸エチル) によって精製することで、N - ドコサノイル - L - イソロイシンメチルエステル (112 mg, 0.24 mmol、収率 39%) を白色固体として得た。

$^1$ H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.86 - 0.94 (m, 9H), 1.11 - 1.33 (m, 37H), 1.43 (m, 1H), 1.63 (m, 2H), 1.87 (m, 1H), 2.21 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 3.73 (s, 3H), 4.62 (dd, 1H, J = 4.8 Hz, 8.8 Hz), 5.91 (d, 1H, J = 8.4 Hz).  
ESIMS (m/z) : 468.4 ([M + H]<sup>+</sup>), 935.9 ([2M + H]<sup>+</sup>)

### 【0172】

#### 〔合成例 12〕

N - ドコサノイル - L - バリンメチルエステル (SZ77) の合成

L - バリンメチルエステル 塩酸塩 (500 mg, 2.98 mmol) に対し、N, N - ジメチルホルムアミド (29.8 ml)、ベヘン酸 (1.52 g, 4.47 mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて 1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (857 mg, 4.47 mmol)、1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール (604 mg, 4.47 mmol)、トリエチルアミン (1.25 ml, 8.94 mmol) を加え、氷浴を外して室温にて 18 時間攪拌した。その後、酢酸エチル (70 ml) を加えて濾過し、濾液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン / 酢酸エチル) によって精製後、得られた固体をジエチルエーテル (30 ml) でスラリー洗浄することで、N - ドコサノイル - L - バリンメチルエス

テル ( 331 mg、0.73 mmol、収率 25% ) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.86-0.95 (m, 9H), 1.25-1.33 (m, 36H), 1.64 (m, 2H), 2.15 (d, s, e, p, 1H, J = 4.8 Hz, 6.8 Hz), 2.23 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 3.74 (s, 3H), 4.59 (dd, 1H, J = 4.8 Hz, 8.8 Hz), 5.88 (d, 1H, J = 8.4 Hz). ESI-MS (m/z) : 454.4 ([M + H]<sup>+</sup>), 907.8 ([2M + H]<sup>+</sup>).

### 【0173】

#### 〔合成例13〕

N-ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル (SZ78) の合成

グリシンメチルエステル 塩酸塩 (65.3 mg、0.52 mmol) に対し、N,N-ジメチルホルムアミド (5.2 ml)、パルミチン酸 (200 mg、0.78 mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (150 mg、0.78 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (105 mg、0.78 mmol)、トリエチルアミン (0.22 ml、1.56 mmol) を加え、氷浴を外して室温にて19時間攪拌した。その後、反応溶液にシリカゲルを加えて溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)によって精製することで、N-ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル (99.3 mg、0.30 mmol、収率 58%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (t, 3H, J = 6.8 Hz), 1.25-1.30 (m, 24H), 1.64 (m, 2H), 2.23 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 3.77 (s, 3H), 4.06 (d, 2H, J = 4.8 Hz), 5.91 (s, 1H). ESI-MS (m/z) : 328.2 ([M + H]<sup>+</sup>), 655.6 ([2M + H]<sup>+</sup>).

### 【0174】

#### 〔合成例14〕

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル (SZ79) の合成

L-ロイシンメチルエステル 塩酸塩 (94.5 mg、0.52 mmol) に対し、N,N-ジメチルホルムアミド (5.2 ml)、パルミチン酸 (200.0 mg、0.78 mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (150 mg、0.78 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (105 mg、0.78 mmol)、トリエチルアミン (0.22 ml、1.56 mmol) を加え、氷浴を外して室温にて22時間攪拌した。反応溶液にシリカゲルを加えて溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)によって精製後、PTLC(ヘキサン/酢酸エチル)によって精製することで、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル (184 mg、0.48 mmol、収率 92%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (t, 3H, J = 6.8 Hz), 0.94 (m, 6H), 1.25-1.30 (m, 24H), 1.50-1.68 (m, 5H), 2.21 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 3.73 (s, 3H), 4.66 (dt, 1H, J = 5.2 Hz, 8.4 Hz), 5.78 (d, 1H, J = 8.0 Hz). ESI-MS (m/z) : 384.3 ([M + H]<sup>+</sup>), 767.7 ([2M + H]<sup>+</sup>).

### 【0175】

#### 〔合成例14B〕

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル (SZ79)

ヘキサデカン酸 (5.0 g、20 mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノ

10

20

30

40

50

プロピル)カルボジイミド塩酸塩(5.6 g、29 mmol)及び1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(3.9 g、29 mmol)のN,N-ジメチルホルムアミド(150 mL)の溶液に、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(10 g、78 mmol)を滴下して加えた。添加後、混合物を室温で15分間攪拌した。L-ロイシンメチルエステル 塩酸塩(5.3 g、29 mmol)を上記の混合物に加え、25で一晩攪拌した。混合物を水に流し込み、沈殿物を15分間攪拌した。白色固体を濾取し、水、酢酸エチルで洗浄し、減圧下乾燥することにより、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ79、5.5 g、収率74%)を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 5.85 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 4.63 - 4.68 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.21 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.50 - 1.68 (m, 5H), 1.20 - 1.30 (m, 24H), 0.86 - 0.95 (m, 9H). MS: 384.3 [M + H]<sup>+</sup>.

### 【0176】

#### 〔合成例15〕

N-ヘキサデカノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル(SZ80)の合成

L-フェニルアラニンメチルエステル 塩酸塩(112 mg、0.52 mmol)に対し、N,N-ジメチルホルムアミド(5.2 mL)、パルミチン酸(200 mg、0.78 mmol)を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(150 mg、0.78 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(105 mg、0.78 mmol)、トリエチルアミン(0.22 mL、1.56 mmol)を加え、氷浴を外して室温にて19時間攪拌した。反応溶液にシリカゲルを加えて溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)によって精製後、PTLC(ヘキサン/酢酸エチル)によって精製することでN-ヘキサデカノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル(164 mg、0.39 mmol、収率76%)を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (t, 3H, J = 6.8 Hz), 1.25 - 1.32 (m, 24H), 1.56 - 1.60 (m, 2H), 2.16 (t, 2H, J = 8.0 Hz), 3.10 (dd, 1H, J = 5.6 Hz, 13.6 Hz), 3.15 (dd, 1H, J = 5.6 Hz, 13.6 Hz), 3.73 (s, 3H), 4.91 (dt, 1H, J = 7.6 Hz, 6.0 Hz), 5.83 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 7.07 - 7.10 (m, 2H), 7.24 - 7.31 (m, 3H). ESI MS (m/z) : 418.3 ([M + H]<sup>+</sup>), 835.7 ([2M + H]<sup>+</sup>).

### 【0177】

#### 〔合成例16-1〕

N<sup>6</sup>-(tert-ブトキシカルボニル)-N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステルの合成

N<sup>6</sup>-(tert-ブトキシカルボニル)-L-リジンメチルエステル 塩酸塩(154 mg、0.52 mmol)に対し、N,N-ジメチルホルムアミド(5.2 mL)、パルミチン酸(200 mg、0.78 mmol)を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(150 mg、0.78 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(105 mg、0.78 mmol)、トリエチルアミン(0.22 mL、1.56 mmol)を加え、氷浴を外して室温にて22時間攪拌した。反応溶液にシリカゲルを加えて溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)によって精製することでN<sup>6</sup>-(tert-ブトキシカルボニル)-N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステル(254 mg、0.51 mmol、収率98%)を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.86 (t, 3H, J = 6.8 Hz), 1.25 - 1.32 (m, 24H), 1.56 - 1.60 (m, 2H), 2.16 (t, 2H, J = 8.0 Hz), 3.10 (dd, 1H, J = 5.6 Hz, 13.6 Hz), 3.15 (dd, 1H, J = 5.6 Hz, 13.6 Hz), 3.73 (s, 3H), 4.91 (dt, 1H, J = 7.6 Hz, 6.0 Hz), 5.83 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 7.07 - 7.10 (m, 2H), 7.24 - 7.31 (m, 3H). ESI MS (m/z) : 418.3 ([M + H]<sup>+</sup>), 835.7 ([2M + H]<sup>+</sup>).

. 8 Hz), 1.23 - 1.35 (m, 26 H), 1.42 (s, 9 H), 1.47 (m, 2 H), 1.57 - 1.67 (m, 3 H), 1.81 (m, 1 H), 2.20 (t, 2 H,  $J$  = 7.6 Hz), 3.08 (m, 2 H), 3.72 (s, 3 H), 4.57 (m, 1 H), 4.64 (br s, 1 H), 6.16 (d, 1 H,  $J$  = 7.2 Hz).  
ESIMS (m/z) : 499.40 ([M + H]<sup>+</sup>).

## 【0178】

## 〔合成例16-2〕

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステル トリフルオロ酢酸塩 (SZ81)  
の合成

10

合成例16-1で合成したN<sup>6</sup>- (tert-ブトキカルボニル) - N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステル (250 mg, 0.50 mmol) に対し、ジクロロメタン (5 ml)、トリイソプロピルシラン (0.52 ml, 2.5 mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いてトリフルオロ酢酸 (5 ml) を加え、氷浴を外して室温にて1.5時間攪拌した。減圧濃縮後、残渣をPTLC (メタノール/酢酸エチル) によって精製することでN<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステル トリフルオロ酢酸塩 (182 mg, 0.35 mmol、収率71%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) : 0.90 (t, 3 H,  $J$  = 7.0 Hz), 1.29 - 1.33 (m, 24 H), 1.45 (m, 2 H), 1.60 - 1.76 (m, 5 H), 1.88 (m, 1 H), 2.24 (t, 2 H,  $J$  = 7.6 Hz), 2.92 (t, 2 H,  $J$  = 7.6 Hz), 3.72 (s, 3 H), 4.42 (dd, 1 H,  $J$  = 5.2 Hz, 9.2 Hz).

20

ESIMS (m/z) : 399.3 ([M + H]<sup>+</sup>), 797.7 ([2M + H]<sup>+</sup>).

## 【0179】

## 〔合成例17-1〕

N-ヘキサデカノイル-L-グルタミン酸 5-tert-ブチル-1-メチルエステル  
の合成

30

L-グルタミン酸 5-tert-ブチル-1-メチルエステル 塩酸塩 (132 mg, 0.52 mmol) に対し、N,N-ジメチルホルムアミド (5.2 ml)、パルミチン酸 (200 mg, 0.78 mmol) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いて1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (150 mg, 0.78 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (105 mg, 0.78 mmol)、トリエチルアミン (0.22 ml, 1.56 mmol) を加え、氷浴を外して室温にて22時間攪拌した。反応溶液にシリカゲルを加えて溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) によって精製することでN-ヘキサデカノイル-L-グルタミン酸 5-tert-ブチル-1-メチルエステル (214 mg, 0.47 mmol、収率90%) を白色固体として得た。

40

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.88 (t, 3 H,  $J$  = 6.8 Hz), 1.25 - 1.29 (m, 24 H), 1.44 (s, 9 H), 1.63 (m, 2 H), 1.95 (m, 1 H), 2.13 (m, 1 H), 2.21 (t, 2 H,  $J$  = 8.0 Hz), 2.31 (m, 2 H), 3.75 (s, 3 H), 4.60 (dt, 1 H,  $J$  = 5.2 Hz, 8.0 Hz), 6.17 (d, 1 H,  $J$  = 7.6 Hz).  
ESIMS (m/z) : 456.4 ([M + H]<sup>+</sup>), 911.8 ([2M + H]<sup>+</sup>).

## 【0180】

## 〔合成例17-2〕

50

## N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル ( S Z 8 2 ) の合成

合成例 17 - 1 で合成した N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸 5 - t e r t - プチル - 1 - メチルエステル ( 210 mg, 0.46 mmol ) に対し、ジクロロメタン ( 4.6 mL )、トリイソプロピルシラン ( 0.47 mL, 2.3 mmol ) を室温にて加えた後、氷浴を用いて冷却した。続いてトリフルオロ酢酸 ( 4.6 mL ) を加え、氷浴を外して室温にて 1.5 時間攪拌した。減圧濃縮後、残渣を P T L C ( ヘキサン / 酢酸エチル ) によって精製することで N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸 1 - メチルエステル ( 117 mg, 0.29 mmol, 収率 63 % ) を白色固体として得た。

<sup>1</sup> H - N M R ( 400 MHz, CD<sub>3</sub>OD ) : 0.90 ( t, 3 H, J = 7.0 Hz ), 1.29 - 1.32 ( m, 24 H ), 1.61 ( m, 2 H ), 1.93 ( m, 1 H ), 2.14 ( m, 1 H ), 2.24 ( t, 2 H, J = 7.4 Hz ), 2.39 ( t, 2 H, J = 7.4 Hz ), 3.72 ( s, 3 H ), 4.44 ( dd, 1 H, J = 5.2 Hz, 9.2 Hz ). E S I M S ( m / z ) : 400.2 ([M + H]<sup>+</sup>), 799.6 ([2M + H]<sup>+</sup>), 398.1 ([M - H]<sup>-</sup>), 797.5 ([2M - H]<sup>-</sup>).

【 0181 】

## 〔 合成例 18 〕

## N - アセチル - L - ロイシンメチルエステル ( S Z 8 3 ) の合成

ヘキサデカン酸に代えて酢酸を使用したこと以外は、合成例 14 B と同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup> H - N M R ( CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz ) : 6.14 ( d, 1 H, J = 10.0 Hz ), 4.67 - 4.58 ( m, 1 H ), 3.72 ( s, 3 H ), 2.12 ( s, 3 H ), 1.67 - 1.40 ( m, 3 H ), 0.94 - 0.91 ( m, 6 H ). M S : 188.1 [M + H]<sup>+</sup>.

【 0182 】

## 〔 合成例 19 〕

## N - ヘキサノイル - L - ロイシンメチルエステル ( S Z 8 4 ) の合成

ヘキサデカン酸に代えてヘキサン酸を使用したこと以外は、合成例 14 B と同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup> H - N M R ( CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz ) : 5.87 ( d, 1 H, J = 7.8 Hz ), 4.63 - 4.69 ( m, 1 H ), 3.73 ( s, 3 H ), 2.22 ( t, 2 H, J = 5.4 Hz ), 1.50 - 1.69 ( m, 5 H ), 1.25 - 1.36 ( m, 4 H ), 0.87 - 0.97 ( m, 9 H ). M S : 244.2 [M + H]<sup>+</sup>.

【 0183 】

## 〔 合成例 20 〕

## N - ( 2 - オクタデシルエイコサノイル ) - L - ロイシンメチルエステル ( S Z 8 6 ) の合成

L - ロイシンメチルエステル 塩酸塩 ( 205 mg, 1.13 mmol )、2 - オクタデシルエイコサン酸 ( 492 mg, 0.87 mmol )、1 - エチル - 3 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) カルボジイミド塩酸塩 ( 217 mg, 1.13 mmol ) 及び 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール ( 153 mg, 1.13 mmol ) のジクロロメタン ( 20 mL ) の溶液に、トリメチルアミン ( 364 μL, 1.13 mmol ) を加えた。添加後、混合物を室温で一晩攪拌した。混合物をジクロロメタン ( 120 mL ) に流し込み、水 ( 20 mL )、飽和炭酸水素ナトリウム ( 50 mL ) で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィーカラム ( ヘキサン / 酢酸エチル ) によって精製することで、N - ( 2 - オクタデシルエイコサノイル ) - L - ロイシンメチルエステル ( S Z 8 6, 4.3 g, 収率 90 % ) を黄色固体として得た。

10

20

30

40

50

<sup>1</sup> H - N M R ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) : d 5 . 7 7 ( d , 1 H , J = 8 . 4 H z ) , 4 . 7 0 ( m , 1 H ) , 3 . 7 5 ( s , 3 H ) , 2 . 0 6 ( m , 1 H ) , 1 . 6 9 - 1 . 5 6 ( m , 7 H ) , 1 . 4 3 - 1 . 2 8 ( m , 6 4 H ) , 0 . 9 7 ( d d , 6 H , J = 1 . 9 H z , 6 . 0 H z ) , 0 . 9 0 ( d , 6 H , J = 6 . 6 H z ) .

## 【 0 1 8 4 】

## 〔 合成例 2 1 〕

N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン tert - ブチルエステル ( S Z 8 9 ) の合成  
L - ロイシンメチルエステル 塩酸塩に代えて L - ロイシン tert - ブチルエステル  
を使用したこと以外は、合成例 1 4 B と同様の方法で、表題化合物を得た。 10

<sup>1</sup> H N M R ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) : d 5 . 8 2 ( d , 1 H , J = 8 . 4 H z ) , 4 . 5 5 ( m , 1 H ) , 2 . 2 4 ( t , 2 H , J = 8 . 4 H z ) , 1 . 7 1 - 1 . 5 9 ( m , 4 H ) , 1 . 5 3 - 1 . 4 6 ( m , 1 0 H ) , 1 . 3 2 - 1 . 2 7 ( m , 2 4 H ) , 0 . 9 7 ( d d , 6 H , J = 0 . 8 H z , 6 . 0 H z ) , 0 . 9 0 ( d , 3 H , J = 7 . 2 H z ) .

## 【 0 1 8 5 】

## 〔 合成例 2 2 〕

N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド ( S Z 9 0 ) の合成

L - ロイシンメチルエステル 塩酸塩に代えて L - ロイシンアミドを使用したこと以外  
は、合成例 1 4 B と同様の方法で、表題化合物を得た。 20

<sup>1</sup> H - N M R ( C D C l <sub>3</sub> , 4 0 0 M H z ) : 6 . 3 2 ( b r s , 1 H ) , 5 . 9 7 ( d , 1 H , J = 7 . 8 H z ) , 5 . 4 8 ( b r s , 1 H ) , 4 . 5 0 - 4 . 5 2 ( m , 1 H ) , 2 . 2 1 ( t , 2 H , J = 7 . 6 H z ) , 1 . 5 2 - 1 . 7 0 ( m , 5 H ) , 1 . 2 1 - 1 . 3 1 ( m , 2 4 H ) , 0 . 8 6 - 0 . 9 6 ( m , 9 H ) .  
M S : 3 6 9 . 3 [ M + H ] <sup>+</sup> .

## 【 0 1 8 6 】

## 〔 合成例 2 3 〕

N <sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N <sup>1</sup> , N <sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド ( S Z 9 2 ) の合  
成 30

化合物 N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン ( 合成例 2 7 - 1 、 1 . 5 g 、 4 . 1 m m o l ) 、 1 - エチル - 3 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) カルボジイミド塩酸塩 ( 1 . 2 g 、 6 . 9 m m o l ) 及び 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール ( 8 2 0 m g 、 6 . 9 m m o l ) の N , N - ジメチルホルムアミド ( 5 0 m L ) の溶液に、 N , N - ジイソプロピルエチルアミン ( 2 . 1 g 、 1 6 m m o l ) を加えた。添加後、混合物を 1 5 分間攪拌し、ジエチルアミン塩酸塩 ( 6 6 0 m g 、 6 . 9 m m o l ) を混合物に加えた後、一晩、 2 5 で攪拌した。混合物を水に流し込み、 1 5 分間攪拌した。白色固体を濾取し、水、酢酸エチルで洗浄し、 in vivo で乾燥することで、 N <sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N <sup>1</sup> , N <sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド ( S Z 9 2 、 1 . 7 g 、 収率 6 8 % ) を白色固体として得た。 40

<sup>1</sup> H - N M R ( C D C l <sub>3</sub> , 3 0 0 M H z ) : 6 . 2 3 ( d , 1 H , J = 8 . 7 H z ) , 4 . 9 6 - 5 . 0 3 ( m , 1 H ) , 3 . 2 2 - 3 . 5 4 ( m , 4 H ) , 2 . 2 2 ( t , 2 H , J = 7 . 8 H z ) , 1 . 5 3 - 1 . 7 3 ( m , 5 H ) , 1 . 2 1 - 1 . 3 1 ( m , 2 7 H ) , 1 . 1 2 ( t , 3 H , J = 6 . 9 H z ) 0 . 8 6 - 0 . 9 9 ( m , 9 H ) .  
M S : 4 2 5 . 4 [ M + H ] <sup>+</sup> .

## 【 0 1 8 7 】

## 〔 合成例 2 4 〕

N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル ( S Z 9 4 ) の合成

10

20

30

40

50

L-ロイシンメチルエステル 塩酸塩に代えてL-ヒスチジンメチルエステルを使用したこと以外は、合成例14Bと同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 7.56 (s, 1H), 7.09 (d, 1H, J = 7.2 Hz), 6.80 (s, 1H), 4.78 - 4.83 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.04 - 3.16 (m, 2H), 2.23 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.58 - 1.63 (m, 2H), 1.24 (m, 24H), 0.87 (t, 3H, J = 6.8 Hz).  
MS : 408.3 [M + H]<sup>+</sup>.

【0188】

10

〔合成例25〕

N-ヘキサデカノイル-L-プロリンメチルエステル (SZ95) の合成

L-ロイシンメチルエステル 塩酸塩に代えて、L-プロリンメチルエステルを使用したこと以外は、合成例14Bと同様の方法で表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) : 4.38 - 4.50 (m, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.45 - 3.67 (m, 2H), 2.23 - 2.36 (m, 2H), 2.07 - 2.20 (m, 2H), 1.90 - 2.06 (m, 2H), 1.59 - 1.68 (m, 2H), 1.24 (m, 24H), 0.87 (t, 3H, J = 6.9 Hz).  
MS : 368.3 [M + H]<sup>+</sup>.

20

【0189】

〔合成例26〕

N-ヘキサデカノイル-L-セリンメチルエステル (SZ96) の合成

L-ロイシンメチルエステル 塩酸塩に代えてL-セリンメチルエステルを使用したこと以外は、合成例14Bと同様の方法で表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 6.39 (d, 1H, J = 6.0 Hz), 4.67 - 4.71 (m, 1H), 3.91 - 4.00 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.54 (br s, 1H), 2.27 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.61 - 1.68 (m, 2H), 1.24 (s, 24H), 0.88 (t, 3H, J = 6.4 Hz).  
MS : 358.3 [M + H]<sup>+</sup>.

30

【0190】

〔合成例27-1〕

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンの合成

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル (合成例14B、4.5g、12mmol) のメタノール (50mL) / ジクロロメタン (5mL) の溶液に、1M水酸化リチウム水溶液 (15mL、15mmol) を滴下して加えた後、混合物を3時間、室温で攪拌した。混合物を濃縮し、残渣を水に溶解し、酢酸エチルで2回抽出した。水層を濃塩酸でpH1~2に酸性化し、沈殿物を15分間攪拌した。白色固体を濾取り、水で洗浄し、減圧下で乾燥することで、化合物N-ヘキサデカノイル-L-ロイシン (3.6g、収率84%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 10.44 (br s, 1H), 6.09 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 4.61 - 4.63 (m, 1H), 2.24 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 1.56 - 1.73 (m, 5H), 1.20 - 1.30 (m, 24H), 0.86 - 0.96 (m, 9H). MS : 370.3 [M + H]<sup>+</sup>.

40

【0191】

〔合成例27-2〕

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシルエステル (SZ97) の合成

N-ヘキサデカノイル-L-ロイシン (3.0g、8.1mmol)、1-エチル-3

50

- (3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(2.3g、12mmol)のN,N-ジメチルホルムアミド(50mL)の溶液に添加した(98mg、0.80mmol)。添加後、混合物を15分間攪拌した。ヘキサンオール(1.2g、12mmol)を混合物に加えた後、一晩、25で攪拌した。混合物を水に流し込み、ジクロロメタンで抽出し、有機層を水、塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル:酢酸エチル=4:1~2:1、v:v)により精製することで、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシリエステル(SZ97、350mg、収率10%)を無色油状物として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): 5.87 (d, 1H, J=8.7 Hz), 4.63-4.66 (m, 1H), 4.12 (t, 2H, J=6.6 Hz), 2.21 (t, 2H, J=7.8 Hz), 1.52-1.71 (m, 7H), 1.22-1.36 (m, 30H), 0.84-0.97 (m, 12H).  
MS: 454.4 [M+H]<sup>+</sup>.

## 【0192】

## 〔合成例28-1〕

## N-ニトロ-L-アルギニンヘキシリエステルの合成

N-ニトロ-L-アルギニン(4.0g、18mmol)を飽和塩化水素/ヘキサンオール(60mL)に溶解し、100で1時間加熱した。混合物を濃縮し、残渣を超音波処理し、スパチュラで15分間、メタノール(20mL)/ジエチルエーテル(60mL)中で掻き取った。白色固体を濾取し、ジエチルエーテルで洗浄し、減圧下で乾燥することで、N-ニトロ-L-アルギニンヘキシリエステル(4.5g、収率89%)を白色固体として得た。

MS: 304.1 [M+H]<sup>+</sup>.

## 【0193】

## 〔合成例28-2〕

N-ニトロ-N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシリエステルの合成

ヘキサデカン酸(2.0g、7.9mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(2.3g、12mmol)及び1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(1.6g、12mmol)のN,N-ジメチルホルムアミド(60mL)の溶液に、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(4.1g、32mmol)を加えた後、15分間攪拌し、N-ニトロ-L-アルギニンヘキシリエステル(3.6g、12mmol)を混合物に加えた。混合物を一晩、25で攪拌した。混合物を水に流し込んだ。白色固体を濾取し、水、酢酸エチルで洗浄し、in vivoで乾燥することで、N-ニトロ-N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシリエステル(2.4g、収率61%)を白色固体として得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 8.79 (br s, 1H), 7.81 (br s, 2H), 6.37 (d, 1H, J=3.2 Hz), 4.62 (m, 1H), 4.13-4.19 (m, 2H), 3.68 (br s, 1H), 3.30 (br s, 1H), 2.27 (t, 2H, J=6.4 Hz), 1.55-1.95 (m, 10H), 1.18-1.31 (m, 30H), 0.86-0.92 (m, 6H).

## 【0194】

## 〔合成例28-3〕

N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシリエステル 塩酸塩(SZ99)の合成

N-ニトロ-N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシリエステル(2.4g、4.7mmol)のメタノール(50mL)の溶液に、4~5滴の濃塩酸及びパラジウム/鉄(240mg)を加えた後、混合物を水素下(50psi)、50で一晩攪拌した。パラジウム/鉄を濾過により除去し、濾液を濃縮することで、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシリエステル 塩酸塩(SZ99、2.1g、収率91%)を白

10

20

30

40

50

色固体として得た。

<sup>1</sup> H - NMR (CD<sub>3</sub>OD, 300 MHz) : 4.37 - 4.42 (m, 1H), 4.13 (t, 2H, J = 6.3 Hz), 3.22 (t, 2H, J = 7.2 Hz), 2.27 (t, 2H, J = 7.2 Hz), 1.58 - 1.92 (m, 8H), 1.21 - 1.41 (m, 30H), 0.89 - 0.95 (m, 6H).  
MS : 497.4 [M + H]<sup>+</sup>.

【0195】

〔合成例29〕

N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミドの合成 (SZ 106) 10

ヘキサノールに代えてジエチルアミンを使用したこと以外は、合成例39-1乃至39-5と同様の方法で表題化合物を得た。

<sup>1</sup> H - NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) : 4.87 (m, 1H), 3.56 - 3.63 (m, 1H), 3.43 - 3.51 (m, 2H), 3.24 - 3.30 (m, 1H, J = 7.2 Hz), 2.38 (dt, 2H, J = 1.6 Hz, 6.0 Hz), 2.21 - 2.25 (dt, 2H, J = 2.0 Hz, 6.0 Hz), 1.93 - 2.00 (m, 1H), 1.79 - 1.86 (m, 1H), 1.60 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 1.24 - 1.28 (m, 39H), 1.11 (t, 3H, J = 6.8 Hz), 1.09 (t, 3H, J = 6.4 Hz).  
MS : 525.4 [M + H]<sup>+</sup>.

【0196】

〔合成例30〕

N - ドコサノイルアグマチン塩酸塩 (SZ 108) の合成

ドコサン酸 (2.7g、8.0 mmol) のジクロロメタン (15mL) の溶液に、N, N - ジメチルホルムアミド (5滴) を加え、塩化オキサリル (1.2mL) を追加した。室温で20分間攪拌した後、反応混合物を濃縮し、テトラヒドロフラン (5mL) に溶解した。アグマチン硫酸塩 (2.7g、12mmol)、2 - プロパノール (15mL) 及び水 (20mL) の混合物を、27%水酸化ナトリウム水溶液に加えてpH 11に調整した。その後、前記テトラヒドロフラン溶液を、アグマチン硫酸塩溶液に滴下して加え、あわせて27%水酸化ナトリウム水溶液を添加してpH = 11を維持した。混合物を室温で2時間攪拌した。形成された固体を濾過し、テトラヒドロフラン (30mL) に溶解した。溶液に、塩化水素 / テトラヒドロフラン (1mol / L、30mL) を滴下して加えた。30分間、室温で攪拌した後、混合物を濃縮することで、N - ドコサノイルアグマチン塩酸塩 (SZ 108、2.94g、収率66%) を白色固体として得た。 30

<sup>1</sup> H - NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) : 3.31 - 3.30 (m, 2H), 3.20 (t, 2H, J = 6.4 Hz), 2.29 - 2.25 (m, 1H), 2.18 - 2.20 (m, 1H), 1.61 - 1.58 (m, 4H), 1.29 (s, 40H), 0.89 (t, 3H, J = 6.4 Hz).  
MS : 453.3 [M + H]<sup>+</sup>

【0197】

〔合成例31-1〕

N - ニトロ - N<sup>2</sup> - t e r t - プトキシカルボニル - N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミドの合成

N - ニトロ - N<sup>2</sup> - t e r t - プトキシカルボニル - L - アルギニン (10.0g、31.4mmol) 及びトリエチルアミン (3.48g、34.5mmol) の無水テトラヒドロフラン (130mL) の溶液を - 25 に冷却し、クロロギ酸エチル (3.76g、34.5mmol) を加えた。20分間攪拌した後、ジエチルアミン (2.75g、34.5mmol) を加えた。 40

37.6 mmol) の無水テトラヒドロフラン (20 mL) の溶液を加えた。混合物を -25 で 20 分間維持し、室温に 18 時間温めた。混合物を濃縮し、酢酸エチル (300 mL) で希釈し、10% クエン酸水溶液 (150 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム (150 mL) 及び塩水 (150 mL) で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮することで、N - ニトロ - N<sup>2</sup> - tert - プトキシカルボニル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ディエチル - L - アルギニンアミド (9.12 g、収率 78%) を黄色油状物として得た。

<sup>1</sup> H - NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) : 4.55 - 4.52 (m, 1H), 3.61 - 3.51 (m, 2H), 3.35 - 3.20 (m, 4H), 1.78 - 1.69 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.23 - 1.27 (m, 3H), 1.10 - 1.15 (m, 3H).

【0198】

〔合成例 31-2〕

N - ニトロ - N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ディエチル - L - アルギニンアミドの合成

N - ニトロ - N<sup>2</sup> - tert - プトキシカルボニル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ディエチル - L - アルギニンアミド (9.12 g、24.4 mmol) の塩化水素 / メタノール (120 mL) の溶液を、室温で 1 時間攪拌した。混合物を濃縮することで、N - ニトロ - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ディエチル - L - アルギニンアミド 塩酸塩 (10.5 g、収率 100%) を黄色固体として得た。

<sup>1</sup> H - NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) : 4.41 (t, 1H, J = 6.0 Hz), 3.61 - 3.47 (m, 2H), 3.41 - 3.26 (m, 4H), 1.91 (br s, 2H), 1.75 (br s, 2H), 1.25 (t, 3H, J = 7.2 Hz), 1.15 (t, 3H, J = 7.2 Hz).

【0199】

〔合成例 31-3〕

N - ニトロ - N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ディエチル - L - アルギニンアミドの合成

化合物ヘキサデカン酸 (2.8 g、11 mmol)、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (4.5 g、24 mmol)、1 - ヒドロキシベンゾトリニアゾール (3.2 g、24 mmol) の N, N - ジメチルホルムアミド (100 mL) の溶液に、トリエチルアミン (4.8 g、47 mmol) を加えた。添加後、混合物を室温で 15 分間攪拌した。N - ニトロ - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ディエチル - L - アルギニンアミド 塩酸塩 (5.0 g、16 mmol) を混合物に加えた。その後、混合物を室温で 6 時間攪拌した。混合物を水 (200 mL) で希釈し、酢酸エチル (200 mL × 3) で抽出した。有機層を合わせて塩水 (200 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン / メタノール = 50 / 1) によって精製することで、N - ニトロ - N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ディエチル - L - アルギニンアミド (3.6 g、収率 44%) を無色油状物として得た。

<sup>1</sup> H - NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) : 7.94 (br s, 1H), 6.84 - 6.82 (m, 1H), 4.90 - 4.85 (m, 1H), 3.79 - 3.49 (m, 2H), 3.36 - 3.21 (m, 4H), 2.27 (t, 2H, J = 7.5 Hz), 1.66 - 1.60 (m, 4H), 1.58 - 1.20 (m, 29H), 1.13 (t, 3H, J = 6.9 Hz), 0.89 (t, 3H, J = 6.9 Hz).

【0200】

〔合成例 31-4〕

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ディエチル - L - アルギニンアミド 塩酸塩 (SZ 110) の合成

10

20

30

40

50

N - ニトロ - N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド (3.6 g、6.9 mmol) のメタノール (50 mL) の溶液に、濃塩酸 (0.5 mL) 及びパラジウム / 鉄 (10%、1.0 g) を加え、混合物を 50 度で一晩、水素下 (50 psi) で攪拌した。混合物を濾過し、濾液を濃縮することで、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド 塩酸塩 (SZ110、3.5 g、収率 100%) を黄色固体として得た。

<sup>1</sup>H - NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) : 4.80 (dd, 1H, J = 4.8 Hz, 8.0 Hz), 3.50 - 3.43 (m, 4H), 3.23 - 3.19 (m, 2H), 2.25 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 1.75 - 1.60 (m, 6H), 1.35 - 1.31 (m, 27H), 1.11 (t, 3H, J = 7.2 Hz), 0.90 (t, 3H, J = 7.2 Hz).  
MS : 468.2 [M + H]<sup>+</sup>.

### 【0201】

#### 〔合成例32〕

N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシリエステル 塩酸塩 (SZ121) の合成  
ヘキサデカン酸に代えてドコサン酸を使用したこと以外は、合成例 28 - 1 乃至 28 - 3 と同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H - NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) : 4.42 - 4.39 (m, 1H), 4.13 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 3.23 - 3.19 (m, 2H), 2.26 - 2.22 (m, 2H), 1.93 - 1.86 (m, 1H), 1.77 - 1.61 (m, 7H), 1.39 - 1.32 (m, 42H), 0.92 - 0.87 (m, 6H). MS : 581.3 [M + H]<sup>+</sup>.

### 【0202】

#### 〔合成例33〕

N - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシリエステル (SZ124) の合成  
ヘキサデカン酸に代えてドコサン酸を使用したこと以外は、合成例 27 - 1 乃至 27 - 2 と同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H - NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 5.82 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 4.66 - 4.61 (m, 1H), 4.13 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 2.22 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.68 - 1.60 (m, 7H), 1.56 - 1.49 (m, 1H), 1.38 - 1.28 (m, 41H), 0.95 - 0.86 (m, 12H). MS : 538.3 [M + H]<sup>+</sup>.

### 【0203】

#### 〔合成例34〕

N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (SZ125) の合成  
ヘキサデカン酸に代えてドコサン酸を使用したこと以外は、合成例 23 と同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H - NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 6.20 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 5.01 - 4.95 (m, 1H), 3.54 - 3.47 (m, 1H), 3.42 - 3.36 (m, 2H), 3.30 - 3.20 (m, 1H), 2.19 (t, 2H, J = 7.6 Hz), 1.68 - 1.54 (m, 4H), 1.40 - 1.34 (m, 1H), 1.26 (s, 38H), 1.11 (t, 3H, J = 7.2 Hz), 0.99 (d, 3H, J = 6.0 Hz), 0.93 - 0.86 (m, 6H). MS : 509.3 [M + H]<sup>+</sup>.

### 【0204】

#### 〔合成例35〕

40

50

**N<sup>2</sup> - ドコサノイル - L - アルギニンアミド 塩酸塩 (SZ128) の合成**

塩化アンモニウム及びヘキサデカン酸それぞれに代えてジエチルアミン及びドコサン酸を使用したこと以外は、合成例31-1乃至31-4と同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) : 4.37 (dd, 1H, J = 5.2 Hz, 8.0 Hz), 3.2-3.19 (m, 2H), 2.26 (t, 2H, J = 7.2 Hz), 1.90-1.83 (m, 1H), 1.72-1.59 (m, 5H), 1.32-1.20 (m, 36H), 0.90 (t, 3H, J = 7.2 Hz).  
MS : 496.3 [M + H]<sup>+</sup>.

10

## 【0205】

## 〔合成例36〕

**N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup> , N<sup>1</sup> - ジエチル - L - アルギニンアミド 塩酸塩 (SZ129) の合成**

ヘキサデカン酸に代えてドコサン酸を使用したこと以外は、合成例31-1乃至31-4と同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) : 8.05 (d, 1H, J = 8.2 Hz), 7.78-7.76 (m, 1H), 7.31-7.26 (m, 4H), 4.64 (dd, 1H, J = 5.2 Hz, 8.0 Hz), 3.41-3.32 (m, 3H), 3.20-3.06 (m, 3H), 2.10 (t, 2H, J = 7.2 Hz), 1.63-1.38 (m, 6H), 1.32-1.20 (m, 36H), 1.13 (t, 3H, J = 7.2 Hz), 0.85 (t, 3H, J = 6.8 Hz).  
MS : 552.3 [M + H]<sup>+</sup>.

20

## 【0206】

## 〔合成例37〕

**N<sup>2</sup> - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシリエステル 塩酸塩 (SZ130) の合成**

ヘキサデカン酸に代えてヘキサン酸を使用したこと以外は、合成例28-1乃至28-3と同様の方法で表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) : 4.41-4.38 (m, 1H), 4.13 (t, 2H, J = 6.0 Hz), 3.23-3.19 (m, 2H), 2.26 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 1.95-1.86 (m, 1H), 1.78-1.60 (m, 7H), 1.38-1.30 (m, 10H), 0.93-0.89 (m, 6H).  
MS : 357.1 [M + H]<sup>+</sup>.

30

## 【0207】

## 〔合成例38〕

**N - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル (SZ134) の合成**

ドコサン酸に代えてヘキサデカン酸を使用したこと以外は、合成例39-1乃至39-5と同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 6.22 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.66-4.63 (m, 1H), 4.14 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 2.46-2.41 (m, 2H), 2.25-2.21 (m, 3H), 1.97-1.91 (m, 1H), 1.68-1.61 (m, 4H), 1.38-1.29 (m, 31H), 0.91-0.86 (m, 6H).  
MS : 470.2 [M + H]<sup>+</sup>.

40

## 【0208】

## 〔合成例39-1〕

50

## N - ベンジルオキシカルボニル - 5 - t e r t - プチル - L - グルタメートの合成

5 - t e r t - プチル - L - グルタメート ( 1 5 g 、 7 6 m m o l ) の水 ( 1 1 0 m L ) 及びジオキサン ( 5 0 m L ) の溶液に、炭酸ナトリウム ( 8 . 0 g 、 7 6 m m o l ) を加え、クロロギ酸ベンジル ( 1 3 g 、 7 6 m m o l ) のジオキサン ( 6 0 m L ) の溶液を 0 度で 3 時間追加した。室温で一晩攪拌した後、混合物を酢酸エチル ( 5 0 m L × 2 ) で抽出した。水層を pH 2 に 6 N 塩酸で酸性化し、酢酸エチル ( 5 0 m L × 3 ) で抽出した。有機層を塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮することで、N - ベンジルオキシカルボニル - 5 - t e r t - プチル - L - グルタミン酸塩 ( 1 2 g 、 収率 4 7 % ) を黄色油状物として得た。

<sup>1</sup> H - N M R ( C D C l <sub>3</sub> , 3 0 0 M H z ) : 7 . 3 5 ( b r s , 5 H ) , 5 . 7 6 ( d , 1 H , J = 7 . 2 H z ) , 5 . 1 2 ( s , 2 H ) , 4 . 4 1 - 4 . 3 8 ( m , 1 H ) , 2 . 4 3 - 2 . 3 5 ( m , 2 H ) , 2 . 2 4 - 2 . 1 1 ( m , 1 H ) , 2 . 0 3 - 1 . 9 6 ( m , 1 H ) 1 . 4 4 ( s , 9 H ) .

## 【 0 2 0 9 】

## 〔 合成例 3 9 - 2 〕

## N - ベンジルオキシカルボニル - 5 - t e r t - プチル - L - グルタメートヘキシリエステルの合成

化合物 N - ベンジルオキシカルボニル - 5 - t e r t - プチル - L - グルタメート ( 2 . 0 g 、 6 m m o l ) 、トリエチルアミン ( 0 . 6 7 g 、 6 . 6 m m o l ) 及び乾燥テトラヒドロフラン ( 3 0 m L ) の溶液に、クロロギ酸エチル ( 0 . 7 2 g 、 6 . 6 m m o l ) を - 2 5 度で加えた。30 分間その温度で攪拌した後、ヘキサノール ( 0 . 9 2 g 、 9 . 0 m m o l ) を反応物に加え、18 時間、室温で攪拌した。混合物を酢酸エチル ( 1 0 0 m L ) で希釈し、水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー ( 石油エーテル / 酢酸エチル = 5 / 1 ) によって精製することで、N - ベンジルオキシカルボニル - 5 - t e r t - プチル - L - グルタメートヘキシリエステル ( 1 . 4 g 、 5 6 % ) を黄色油状物として得た。

<sup>1</sup> H - N M R ( C D C l <sub>3</sub> , 4 0 0 M H z ) : 7 . 3 5 - 7 . 3 0 ( m , 5 H ) , 5 . 4 4 ( d , 1 H , J = 3 . 6 H z ) , 5 . 1 0 ( s , 2 H ) , 4 . 4 1 - 4 . 3 7 ( m , 1 H ) , 4 . 1 4 - 4 . 1 1 ( m , 2 H ) , 2 . 4 3 - 2 . 2 7 ( m , 2 H ) , 2 . 2 1 - 2 . 1 3 ( m , 1 H ) , 1 . 8 6 - 1 . 8 0 ( m , 1 H ) , 1 . 6 4 - 1 . 5 0 ( m , 2 H ) , 1 . 4 2 ( s , 9 H ) , 1 . 3 0 - 1 . 2 5 ( m , 6 H ) , 0 . 9 0 - 0 . 8 3 ( m , 3 H ) .

## 【 0 2 1 0 】

## 〔 合成例 3 9 - 3 〕

## 5 - t e r t - プチル - L - グルタメートヘキシリエステルの合成

化合物 N - ベンジルオキシカルボニル - 5 - t e r t - プチル - L - グルタメートヘキシリエステル ( 1 2 g 、 2 7 m m o l ) の混合物に、パラジウム / 鉄 ( 1 . 2 g ) を、酢酸エチル ( 1 5 0 m L ) 中で加えた。混合物を 4 時間、室温で水素雰囲気下 ( 5 0 p s i ) 、攪拌した。懸濁物を濾過し、濾液を濃縮することで、5 - t e r t - プチル - L - グルタメートヘキシリエステル ( 6 . 8 g 、 収率 8 6 % ) を黄色油状物として得た。

<sup>1</sup> H - N M R ( C D C l <sub>3</sub> , 4 0 0 M H z ) : 4 . 1 4 - 4 . 0 3 ( m , 2 H ) , 3 . 4 7 - 3 . 4 3 ( m , 1 H ) , 2 . 3 6 - 2 . 3 4 ( m , 2 H ) , 2 . 0 7 - 1 . 9 7 ( m , 1 H ) , 1 . 8 4 - 1 . 7 5 ( m , 1 H ) , 1 . 6 7 - 1 . 6 0 ( m , 4 H ) , 1 . 4 4 ( s , 9 H ) , 1 . 3 9 - 1 . 2 3 ( m , 6 H ) , 0 . 8 9 ( t , 3 H , J = 7 . 2 H z ) .

## 【 0 2 1 1 】

## 〔 合成例 3 9 - 4 〕

## N - ドコサノイル - 5 - t e r t - プチル - L - グルタメートヘキシリエステルの合成

10

20

30

40

50

ドコサン酸のジクロロメタン (30 mL) の溶液に、N, N - ジメチルホルムアミドを5滴加え、塩化オキサリル (0.89 g, 7.0 mmol) を追加した。混合物を室温で1時間攪拌した。混合物を濃縮し、残渣をテトラヒドロフラン (10 mL) に溶解した。得られた溶液を、5 - tert - ブチル - L - グルタメートヘキシリエステル (2.0 g, 5.9 mmol) 及びトリエチルアミン (2.6 g, 2.6 mmol) のテトラヒドロフラン (30 mL) の溶液に0で加えた。結果として得られた混合物を、室温で2時間攪拌した。混合物を酢酸エチル (100 mL) で希釈し、水 (50 mL)、塩水 (50 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル / 酢酸エチル = 5 / 1) によって精製することで、N - ドコサノイル - 5 - tert - ブチル - L - グルタメートヘキシリエステル (3.0 g、収率86%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup> H - NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 6.18 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 4.60 - 4.57 (m, 1H), 4.12 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 2.30 - 2.10 (m, 6H), 2.04 - 1.91 (m, 1H), 1.65 - 1.60 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.36 - 1.27 (m, 41H), 0.90 - 0.86 (m, 6H).

## 【0212】

## 〔合成例39-5〕

## N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル (SZ135) の合成

N - ドコサノイル - 5 - tert - ブチル - L - グルタメートヘキシリエステル (1.5 g, 2.5 mmol) のジクロロメタン (15 mL) の溶液に、トリフルオロ酢酸 (15 mL) を氷 - 水浴下で加えた。混合物を2時間、室温で攪拌した。反応混合物をジクロロメタン (100 mL) で希釈し、水 (30 mL × 2)、塩水 (30 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濃縮した。残渣をメタノール (10 mL) 中で砕き、濾過した。固体物を乾燥することで、N - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル (SZ135 1.0 g、収率81%) を白色固体として得た。

<sup>1</sup> H - NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 6.24 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 4.70 - 4.58 (m, 1H), 4.14 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 2.54 - 2.38 (m, 2H), 2.28 - 2.23 (m, 3H), 2.01 - 1.84 (m, 1H), 1.62 - 1.40 (m, 4H), 1.38 - 1.36 (m, 43H), 0.90 - 0.82 (m, 6H).

## 【0213】

## 〔合成例40〕

N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - グルタミンメチルエステル (SZ136) の合成

L - グルタミンtert - ブチルエステル 塩酸塩及びステアリン酸それぞれに代えて L - グルタミンメチルエステル 塩酸塩及びヘキサデカン酸を使用したこと以外は、合成例4と同様の方法で、表題化合物を得た。

<sup>1</sup> H - NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) : 6.44 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 6.31 (brs, 1H), 5.39 (brs, 1H), 4.63 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.38 - 2.20 (m, 5H), 2.01 - 1.95 (m, 1H), 1.62 (m, 2H), 1.28 (m, 24H), 0.90 (t, 3H, J = 6.8 Hz).

ESIMS: 366.3 [M + H]<sup>+</sup>.

## 【0214】

## (2) アジュバント活性試験

〔実施例1〕 N - ヘキサデカノイルアグマチン (SZ62) のアジュバント活性 (IgG 1 産生量) の評価試験

10

20

30

40

50

8週齢雌性BALB/cマウスを群分け( $N = 6$ )した後、各群に対し、マウス1匹あたり(1)抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン(OVA)10 $\mu$ g(OVA単独投与群)、(2)生理食塩水に溶解したOVA10 $\mu$ g及び水酸化アルミニウムゲルアジュvant 2.56 $\mu$ mol(0.2mg)(Alum投与群、陽性対照)(3)OVA10 $\mu$ g及び5%シクロデキストリン(以下、単にCDと称する)添加生理食塩水に溶解したN-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62)0.256 $\mu$ mol(SZ62投与群)を、それぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。1週間後、上記(1)~(3)と同様の溶液を再度、背部皮下投与し、二次免疫を実施した。二次免疫の2週間後に、麻酔下にて全採血し、得られた血清サンプルについて抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体の測定を行った。

10

### 【0215】

#### [IgG1サブクラス抗体、IgG2aサブクラス抗体の測定意義]

免疫担当細胞の一つであるヘルパーT細胞にはいくつか種類があり、その種類によって誘導される免疫機能が異なる。一般的にTh1細胞と呼ばれる細胞は、細胞性免疫の誘導に関わるとされ、例えば、ウイルス感染細胞などを発見し、キラーT細胞などが直接攻撃する機能を誘導する。一方で、Th2細胞は液性免疫の誘導に関わるとされ、例えば、B細胞からのIgE産生を誘導する。このTh1細胞とTh2細胞は、どちらかが高まればどちらかが抑制されるという関係にあるといわれており、例えば、Th1/Th2のバランスをTh1優位にすることができる、アレルギーの発症を抑制することができると考えられている。IgG抗体にはいくつかサブクラスがあり、マウスの場合、IgG1サブクラス抗体はTh2型の免疫機能に関与し、IgG2aサブクラス抗体はTh1型の免疫機能に関与しているといわれている。これらのサブクラス抗体産生を測定することで、誘導される免疫がTh1型かTh2型かをある程度把握することができるといわれている。

20

### 【0216】

実施例1、並びに下記の実施例5、7、8における抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体の測定方法は以下のとおりである。

### 【0217】

#### [抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体の測定方法]

96ウェルプレートに5 $\mu$ g/ml OVAを1ウェルあたり100 $\mu$ lずつ加え、一晩4にてインキュベートした。インキュベート後、1ウェルあたり200 $\mu$ lのPBS-T(PBS+0.05%(v/v)Tween20)にて3回洗浄し、1ウェルあたり100 $\mu$ lの5%FCS/PBS溶液にて室温で1~2時間、ブロッキングした。その後、1ウェルあたり200 $\mu$ lのPBS-Tにて3回洗浄し、1ウェルあたり100 $\mu$ lの希釈済みの血清サンプルもしくはコントロールとして同量の5%FCS/PBS溶液を添加し、37にて1時間インキュベートした。その後、1ウェルあたり200 $\mu$ lのPBS-Tにて5回洗浄し、1ウェルあたり100 $\mu$ lの希釈済みのビオチン化抗マウスIgG1抗体を添加し、37で45分インキュベートした。その後、1ウェルあたり200 $\mu$ lのPBS-Tにて5回洗浄し、1ウェルあたり100 $\mu$ lの希釈済みの抗ビオチン-HRP抗体を添加し、さらに37で30分インキュベートした。その後、1ウェルあたり200 $\mu$ lのPBS-Tにて5回洗浄し、1ウェルあたり100 $\mu$ lのTMB基質溶液を添加し、室温にて10~15分反応させた。その後、1ウェルあたり50 $\mu$ lの反応停止液(2N硫酸溶液)を加えて呈色反応を停止させ、マイクロプレートリーダーを用いて吸光度(OD Value = 450nm)を測定した。

30

### 【0218】

結果を図1に示す。

### 【0219】

図1に示される結果から明らかなように、Alum投与群(図中:Alum)、SZ62投与群(図中:SZ62)の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生は、OVA単独投与群(図中:Saline)に比べて有意に増加した。この結果から、N-ヘキサデ

40

50

カノイルアグマチン (S Z 6 2) には A l u m と同等のアジュバント活性があることが確認された。

【 0 2 2 0 】

〔実施例 2〕 N - ヘキサデカノイルアグマチン (S Z 6 2) のアジュバント活性 (I g G 2 a 産生量) の評価試験

実施例 1 で得られた血清サンプルについて、抗 O V A 特異的 I g G 2 a サブクラス抗体の測定を行った。

【 0 2 2 1 】

〔抗 O V A 特異的 I g G 2 a サブクラス抗体の測定方法〕

96 ウェルプレートに 5  $\mu$  g / ml O V A を 1 ウェルあたり 1 0 0  $\mu$  l ずつ加え、一晩 10  
4 にてインキュベートした。インキュベート後、1 ウェルあたり 2 0 0  $\mu$  l の P B S - T (P B S + 0.05% (v / v) Tween 20) にて 3 回洗浄し、1 ウェルあたり 1 0 0  $\mu$  l の 5% F C S / P B S 溶液にて室温で 1 ~ 2 時間、ブロッキングした。その後、1 ウェルあたり 2 0 0  $\mu$  l の P B S - T にて 3 回洗浄し、1 ウェルあたり 1 0 0  $\mu$  l の希釈済みの血清サンプルもしくはコントロールとして同量の 5% F C S / P B S 溶液を添加し、37 にて 1 時間インキュベートした。その後、1 ウェルあたり 2 0 0  $\mu$  l の P B S - T にて 5 回洗浄し、1 ウェルあたり 1 0 0  $\mu$  l の希釈済みのビオチン化抗マウス I g G 2 a 抗体を添加し、37 で 45 分インキュベートした。その後、1 ウェルあたり 2 0 0  $\mu$  l の P B S - T にて 5 回洗浄し、1 ウェルあたり 1 0 0  $\mu$  l の希釈済みの抗ビオチン - H R P 抗体を添加し、さらに 37 で 30 分インキュベートした。その後、1 ウェルあたり 2 0 0  $\mu$  l の P B S - T にて 5 回洗浄し、1 ウェルあたり 1 0 0  $\mu$  l の T M B 基質溶液を添加し、室温にて 10 ~ 15 分反応させた。その後、1 ウェルあたり 50  $\mu$  l の反応停止液 (2 N 硫酸溶液) を加えて呈色反応を停止させ、マイクロプレートリーダーを用いて吸光度 (O D 　 V a l u e = 4 5 0 n m) を測定した。 20

【 0 2 2 2 】

結果を図 2 に示す。

【 0 2 2 3 】

図 2 に示される結果から明らかなように、A l u m 投与群 (図中 : A l u m) 、S Z 6 2 投与群 (図中 : S Z 6 2) の抗 O V A 特異的 I g G 2 a サブクラス抗体産生は、O V A 単独投与群 (図中 : S a l i n e) に比べて有意に増加した。この結果から、N - ヘキサデカノイルアグマチン (S Z 6 2) には A l u m と同等のアジュバント活性があることが確認された。 30

【 0 2 2 4 】

〔実施例 3〕 N - ヘキサデカノイルアグマチン (S Z 6 2) のアレルギー誘導活性の評価試験

実施例 1 で得られた血清サンプルについて抗 O V A 特異的 I g E 抗体の測定を行った。実施例 3 ならびに実施例 6 、9 における抗 O V A 特異的 I g E 抗体の測定方法は以下のとおりである。

【 0 2 2 5 】

〔抗 O V A 特異的 I g E 抗体の測定方法〕

D S ファーマバイオメディカル株式会社製の D S マウス I g E E L I S A (O V A) キットを用いた。プロトコールを以下に簡単に示す。 40

血清サンプルおよび検量線作成用の標準試薬に緩衝液を加えて希釈し、攪拌後、室温で 10 分間静置する。I g E キャプチャー抗体が予め結合したプレートにサンプルおよび標準液を加え、攪拌後、室温で 60 分間静置する。洗浄液で 3 回洗浄し、H R P 標識 O V A を加えて、室温で 30 分間静置する。洗浄液で 3 回洗浄し、基質液を加えて、暗所室温にて 30 分間静置する。反応停止液を加えて攪拌し、直ちに吸光度 (O D 　 V a l u e = 4 5 0 n m) を測定する。

【 0 2 2 6 】

結果を図 3 に示す。

## 【0227】

図3に示される結果から明らかなように、既報どおりALUM投与群(図中: ALUM)の抗OVA特異的IgE抗体産生は、OVA単独投与群(図中: Saline)に比べて有意に増加した。これに対し、SZ62投与群(図中: SZ62)では抗OVA特異的IgE抗体産生の増加は観察されなかった。これらの結果から、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62)は、接種によるアレルギー誘発が課題となっている水酸化アルミニウムゲルアジュバントと比較して、アレルギー誘導活性が低いことが明らかとなった。

## 【0228】

(3) 経鼻インフルエンザワクチンアジュバントとしての評価試験

〔実施例4〕N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62)の経鼻インフルエンザワクチンアジュバント活性の評価試験

8週齢雌性BALB/cマウスを群分け(N=6)した後、各群に対し、マウス1匹あたり(1)抗原として生理食塩水で希釈したインフルエンザワクチン(インフルエンザH Aワクチン「生研」、デンカ生研株式会社製)20μl(インフルエンザワクチン単独投与群)、(2)生理食塩水で希釈したインフルエンザワクチン20μl及び陽性対照のアジュバントとしてPoly(I:C)5μg(Poly(I:C)投与群)、(3)生理食塩水で希釈したインフルエンザワクチン20μl及びアジュバントとしてN-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62)0.2μg(SZ62(0.2μg)投与群)、(4)生理食塩水で希釈したインフルエンザワクチン20μl及びアジュバントとしてN-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62)1.00μg(SZ62(1μg)投与群)を、それぞれ経鼻投与して、一次免疫を実施した。2週間後、上記(1)~(4)と同様の溶液を再度、経鼻投与し、二次免疫を実施した。二次免疫の2週間後に、麻酔下にて鼻腔洗浄を実施した。鼻腔洗浄液は、マウスの胸部を開き気管を露出させて切開後、アトム静脈カテーテル節付を挿入し1mLの生理食塩水を注入した。そして、鼻から出てきた液を1000gで3分間遠心後、上清を回収し、これを鼻腔洗浄液サンプルとした。鼻腔洗浄液サンプルについては抗インフルエンザIgA抗体の測定を行った。測定方法は以下のとおりである。

## 【0229】

〔抗インフルエンザIgA抗体の測定方法〕

96ウェルプレートに0.5μg/mlのインフルエンザワクチン(インフルエンザH Aワクチン「生研」、デンカ生研株式会社製)を1ウェルあたり100μlずつ加え、一晩4にてインキュベートした。インキュベート後、1ウェルあたり200μlのPBS-T(PBS+0.05%(v/v)Tween20)にて3回洗浄し、1ウェルあたり100μlの5%FCS/PBS溶液にて室温で1~2時間、ブロッキングした。その後、1ウェルあたり200μlのPBS-Tにて3回洗浄し、1ウェルあたり100μlの希釈済みの血清サンプル、鼻腔洗浄液サンプル、およびコントロールとして同量の5%FCS/PBS溶液を添加し、37にて1時間インキュベートした。その後、1ウェルあたり200μlのPBS-Tにて5回洗浄し、1ウェルあたり100μlの希釈済みのビオチン化抗マウスIgA抗体を添加し、37で45分インキュベートした。その後、1ウェルあたり200μlのPBS-Tにて5回洗浄し、1ウェルあたり100μlの希釈済みの抗ビオチン-HRP抗体を添加し、さらに37で30分インキュベートした。その後、1ウェルあたり200μlのPBS-Tにて5回洗浄し、1ウェルあたり100μlのTMB基質溶液を添加し、室温にて10~15分反応させた。その後、1ウェルあたり50μlの反応停止液(2N硫酸溶液)を加えて呈色反応を停止させ、マイクロプレートリーダーを用いて吸光度(OD Value = 450nm)を測定した。

## 【0230】

鼻腔洗浄液中のIgA抗体産生の評価結果を図4に示す。

## 【0231】

図4に示される結果から明らかなように、SZ62(1μg)投与群(図中: 1μg)の鼻腔洗浄液中の抗インフルエンザIgA抗体の産生は、インフルエンザワクチン単独投

10

20

30

40

50

与群（図中：S a l i n e）に比べて有意に増加した。一方、陽性対照のアジュバントとして用いたPoly（I : C）投与群（図中：Poly（I : C））のIgA抗体の產生は、インフルエンザワクチン単独投与群に比べて増加したが、有意な増加は見られなかつた。これらの結果から、N-ヘキサデカノイルアグマチン（S Z 6 2）は、投与部位の鼻粘膜上にインフルエンザワクチンに対するIgAを誘導するアジュバントであることが確認された。

【0232】

〔実施例5〕N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン（S Z 6 1）、N-ヘキサデカノイルアグマチン（S Z 6 2）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩（S Z 6 3）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（S Z 6 4）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン（S Z 6 5）のアジュバント活性の評価試験

本試験は、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン（S Z 6 1）、N-ヘキサデカノイルアグマチン（S Z 6 2）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩（S Z 6 3）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（S Z 6 4）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン（S Z 6 5）を使用したこと以外は、実施例1と同様の手順で行った。結果を図5に示す。

【0233】

図5に示される結果から明らかのように、Alum投与群（図中：Alum）、S Z 6 1投与群（図中：S Z 6 1）、S Z 6 2投与群（図中：S Z 6 2）、S Z 6 3投与群（図中：S Z 6 3）、S Z 6 4投与群（図中：S Z 6 4）、S Z 6 5投与群（図中：S Z 6 5）の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体產生は、OVA単独投与群（図中：S a l i n e）に比べて有意に増加した。これらの結果から、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン（S Z 6 1）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩（S Z 6 3）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（S Z 6 4）及びN<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン（S Z 6 5）もN-ヘキサデカノイルアグマチン（S Z 6 2）と同様にAlumと同等以上のアジュバント活性を持つことがわかった。

【0234】

〔実施例6〕N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン（S Z 6 1）、N-ヘキサデカノイルアグマチン（S Z 6 2）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩（S Z 6 3）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（S Z 6 4）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン（S Z 6 5）のアレルギー誘導活性の評価試験

本試験は、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン（S Z 6 1）、N-ヘキサデカノイルアグマチン（S Z 6 2）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩（S Z 6 3）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（S Z 6 4）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン（S Z 6 5）を使用したこと以外は、実施例3と同様の手順で行った。結果を図6に示す。

【0235】

図6に示される結果から明らかのように、既報どおりALUM投与群（図中：Alum）の抗OVA特異的IgE抗体產生は、OVA単独投与群（図中：S a l i n e）に比べて有意に増加した。これに対し、S Z 6 1投与群（図中：S Z 6 1）、S Z 6 2投与群（図中：S Z 6 2）、S Z 6 3投与群（図中：S Z 6 3）、S Z 6 4投与群（図中：S Z 6 4）、S Z 6 5投与群（図中：S Z 6 5）では抗OVA特異的IgE抗体產生の有意な増加は観察されなかつた。これらの結果から、N-ヘキサデカノイルアグマチン（S Z 6 2）だけでなく、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニン（S Z 6 1）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩（S Z 6 3）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（S Z 6 4）及びN<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミン（S Z 6 5）も、接種によるアレルギー誘発が課題となっている水酸

10

20

30

40

50

化アルミニウムゲルアジュバントと比較して、アレルギー誘導活性が低いことが明らかとなつた。

【0236】

〔実施例7〕N-ドコサノイルグリシンメチルエステル(SZ69)、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ70)、N-ドコサノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル(SZ71)、N-ドコサノイル-L-グルタミン酸1-メチルエステル(SZ72)、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-L-リジンメチルエステルトリフルオロ酢酸塩(SZ73)、N-ドコサノイル-L-イソロイシンメチルエステル(SZ76)、N-ドコサノイル-L-バリンメチルエステル(SZ77)のアジュバント活性の評価試験

本試験は、N-ドコサノイルグリシンメチルエステル(SZ69)、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ70)、N-ドコサノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル(SZ71)、N-ドコサノイル-L-グルタミン酸1-メチルエステル(SZ72)、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-L-リジンメチルエステルトリフルオロ酢酸塩(SZ73)、N-ドコサノイル-L-イソロイシンメチルエステル(SZ76)、N-ドコサノイル-L-バリンメチルエステル(SZ77)を使用し、陽性対照のアジュバントAddavax<sup>TM</sup>(In vivo Gen)投与群を設けたこと以外は、実施例1と同様の手順で行った。結果を図7に示す。

10

【0237】

図7に示される結果から明らかなように、Addavax<sup>TM</sup>投与群(図中: Addavax)、SZ69投与群(図中: SZ69)、SZ70投与群(図中: SZ70)、SZ72投与群(図中: SZ72)、SZ73投与群(図中: SZ73)、SZ76投与群(図中: SZ76)、SZ77投与群(図中: SZ77)の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生は、OVA単独投与群(図中: saline)に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、SZ71投与群の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生も1.1umと同等であることがわかった。これらの結果から、N-ドコサノイルグリシンメチルエステル(SZ69)、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ70)、N-ドコサノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル(SZ71)、N-ドコサノイル-L-グルタミン酸1-メチルエステル(SZ72)、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-L-リジンメチルエステルトリフルオロ酢酸塩(SZ73)、N-ドコサノイル-L-イソロイシンメチルエステル(SZ76)、N-ドコサノイル-L-バリンメチルエステル(SZ77)は1.1umと同等以上のアジュバント活性を持つことがわかった。

20

30

40

【0238】

〔実施例8〕N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩(SZ63)、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル(SZ64)、N-ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル(SZ78)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ79)、N-ヘキサデカノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル(SZ80)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステルトリフルオロ酢酸塩(SZ81)、N-ヘキサデカノイル-L-グルタミン酸1-メチルエステル(SZ82)のアジュバント活性の評価試験

本試験は、N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル塩酸塩(SZ63)、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル(SZ64)、N-ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル(SZ78)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ79)、N-ヘキサデカノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル(SZ80)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステルトリフルオロ酢酸塩(SZ81)、N-ヘキサデカノイル-L-グルタミン酸1-メチルエステル(SZ82)を使用し、陽性対照のアジュバントAddavax<sup>TM</sup>(In vivo Gen)投与群を設けたこと以外は、実施例7と同様の手順で行った。結果を図8に示す。

50

## 【0239】

図8に示される結果から明らかなように、Addavax<sup>TM</sup>投与群（図中：Addavax）、SZ62投与群（図中：SZ62）、SZ63投与群（図中：SZ63）、SZ64投与群（図中：SZ64）、SZ80投与群（図中：SZ80）、SZ82投与群（図中：SZ82）の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生は、OVA単独投与群（図中：saline）に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかつたものの、SZ78投与群（図中：SZ78）、SZ79投与群（図中：SZ79）、SZ81投与群（図中：SZ81）の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生はA1umと同等であることがわかった。これらの結果から、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンメチルエステル 塩酸塩（SZ63）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（SZ64）、N-ヘキサデカノイルグリシンメチルエステル（SZ78）、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンメチルエステル（SZ79）、N-ヘキサデカノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル（SZ80）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-リジンメチルエステル トリフルオロ酢酸塩（SZ81）、N-ヘキサデカノイル-L-グルタミン酸 1-メチルエステル（SZ82）もN-ヘキサデカノイルアグマチン（SZ62）と同様にA1umと同等以上のアジュバント活性を持つことがわかった。  
10。

## 【0240】

〔実施例9〕N-ヘキサデカノイルアグマチン（SZ62）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（SZ64）、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル（SZ70）、N-ドコサノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル（SZ71）のアレルギー誘導活性の評価試験  
20

本試験は、N-ヘキサデカノイルアグマチン（SZ62）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（SZ64）、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル（SZ70）、N-ドコサノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル（SZ71）を使用し、陽性対照のアジュバントAddavax<sup>TM</sup>（In vivo Gen）投与群を設けたこと以外は、実施例6と同様の手順で行った。結果を図9に示す。

## 【0241】

図9に示される結果から明らかなように、既報どおりA1um投与群（図中：A1um）の抗OVA特異的IgE抗体産生は、OVA単独投与群（図中：saline）に比べて有意に増加した。また、Addavax<sup>TM</sup>投与群（図中：Addavax）の抗OVA特異的IgE抗体産生も、OVA単独投与群（図中：saline）に比べて有意に増加した。これに対し、SZ62投与群（図中：SZ62）、SZ64投与群（図中：SZ64）、SZ70投与群（図中：SZ70）、SZ71投与群（図中：SZ71）では抗OVA特異的IgE抗体産生の有意な増加は観察されなかつた。これらの結果から、N-ヘキサデカノイルアグマチン（SZ62）、N<sup>2</sup>-オクタデカノイル-L-グルタミンtert-ブチルエステル（SZ64）、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル（SZ70）、N-ドコサノイル-L-フェニルアラニンメチルエステル（SZ71）は、接種によるアレルギー誘発が課題となっている水酸化アルミニウムゲルアジュバントや既存のアジュバント成分を含むAddavax<sup>TM</sup>と比較して、アレルギー誘導活性が低いことが明らかとなつた。  
30  
40

## 【0242】

## (4) Th1/Th2応答評価試験

〔実施例10〕N-ヘキサデカノイルアグマチン（SZ62）、N-ドコサノイル-L-ロイシンメチルエステル（SZ70）のTh1/Th2応答評価試験

8週齢雌性BALB/cマウスを群分け（N=6）した後、各群に対し、マウス1匹あたり（1）抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン（OVA）10μg（OVA単独投与群）、（2）生理食塩水に溶解したOVA10μg及びAddavax<sup>TM</sup>（生理食塩水と1:1で混合）（Addavax<sup>TM</sup>投与群）（3）OVA10μg及び5%  
50

C D 添加生理食塩水に溶解した (N - ヘキサデカノイルアグマチン (S Z 6 2) 0 . 2 5 6  $\mu\text{m}\text{o}\text{l}$  (S Z 6 2 投与群)、(4) O V A 1 0  $\mu\text{g}$  及び 5 % C D 添加生理食塩水に溶解した N - ドコサノイル - L - ロイシンメチルエステル (S Z 7 0) 0 . 2 5 6  $\mu\text{m}\text{o}\text{l}$  (S Z 7 0 投与群) を、それぞれ後背部皮下投与して、一次免疫を実施した。10日後、上記 (1) ~ (4) すべてのマウスから鼠蹊部リンパ節を採取し、リンパ節細胞を単離して 10 % F B S 含有 R P M I 1 6 4 0 培地で培養した。そこに O V A を 0 . 1  $\mu\text{g}$ 、1  $\mu\text{g}$ 、1 0  $\mu\text{g}$ 、1 0 0  $\mu\text{g}$  をそれぞれ添加して 40 時間後、細胞上清を回収し、E L I S A によって上清中の I F N - および I L - 4 を測定した

#### 【0 2 4 3】

I F N - および I L - 4 の測定結果をそれぞれ、図 1 0 、1 1 に示す。 10

#### 【0 2 4 4】

図 1 0 に示される結果から明らかなように、A d d a v a x <sup>T M</sup> 投与群 (図中: A d d a v a x) 、S Z 6 2 投与群 (図中: S Z 6 2) 、S Z 7 0 投与群 (図中: S Z 7 0) のリンパ節細胞からの I F N - 産生は、O V A の容量依存的に増加していることがわかった。

#### 【0 2 4 5】

図 1 1 に示される結果から明らかなように、A d d a v a x <sup>T M</sup> 投与群 (図中: A d d a v a x) のリンパ節細胞からの I L - 4 の産生は O V A の容量依存的に増加した。一方、S Z 6 2 投与群 (図中: S Z 6 2) 、S Z 7 0 投与群 (図中: S Z 7 0) のリンパ節細胞から I L - 4 産生の増加は見られなかった。これらの結果から、N - ヘキサデカノイルアグマチン (S Z 6 2) 、N - ドコサノイル - L - ロイシンメチルエステル (S Z 7 0) は、T h 1 型の免疫を誘導するアジュバントである可能性があることがわかった。 20

#### 【0 2 4 6】

##### (5) 分散性検討試験

[実施例 1 1] N - ヘキサデカノイルアグマチン (S Z 6 2 : 一般式 (I I) の R <sup>7</sup> に対応する基が C <sub>1 5</sub> アルキル基である化合物) の分散性検討試験

N - ヘキサデカノイルアグマチン (S Z 6 2 : 一般式 (I I) の R <sup>7</sup> に対応する基が C <sub>1 5</sub> アルキル基である化合物) 0 . 2 5 6  $\mu\text{m}\text{o}\text{l}$  をジルコニアビーズ入りの 2 m L のチューブに分取し、5 % C D 添加生理食塩水または 1 0 % 2 - ヒドロキシプロピル - - シクロデキストリン (以下、単に H P - - C D とも称する) 添加生理食塩水を 1 m L 加えて搅拌した。その後、マイクロプレートリーダーを用いて吸光度 (O D V a l u e = 6 5 0 n m) を測定し、分散性の指標として濁度を算出した。濁度の測定方法は以下の通りである。 30

#### 【0 2 4 7】

##### (濁度の測定方法)

S Z 6 2 0 . 2 5 6  $\mu\text{m}\text{o}\text{l}$  をジルコニアビーズ入りの 2 m L のチューブに分取し、5 % C D 添加生理食塩水または 1 0 % H P - - C D 添加生理食塩水を 1 m L 加えて 6 0 0 0 r p m で 1 回あたり 3 . 1 5 秒間の条件で 3 回激しく搅拌した。その後、2 0 0  $\mu\text{L}$  ずつ 9 6 ウエルプレートに分取し、マイクロプレートリーダーを用いて吸光度 (O D V a l u e = 6 5 0 n m) を測定した。またコントロールとしてカオリナイト 1 m g を蒸留水 1 L に溶解し、マイクロプレートリーダーを用いて吸光度 (O D V a l u e = 6 5 0 n m) を測定した後、その吸光度 (O D V a l u e = 6 5 0 n m) を濁度 1 と定義し、各サンプルの濁度を、カオリナイトの測定値との比から算出した。 40

#### 【0 2 4 8】

濁度の測定結果を図 1 2 に示す。

#### 【0 2 4 9】

図 1 2 に示される結果から明らかなように、1 0 % H P - - C D 添加生理食塩水を加えて搅拌した S Z 6 2 の濁度は、5 % C D 添加生理食塩水を加えて搅拌した S Z 6 2 の濁度よりも、有意に低値であった。

#### 【0 2 5 0】

## (6) アジュバント活性試験

〔実施例12〕N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(II)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)のアジュバント活性の評価試験

8週齢雌性BALB/cマウスを群分け(N=6)した後、各群に対し、マウス1匹あたり(1)抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン(OVA)5μg(OVA単独投与群)、(2)5%C D添加生理食塩水に溶解したOVA5μg、(3)10%HP- -CD添加生理食塩水に溶解したOVA5μg、(4)5%C D添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg及びSZ62 0.256μmol、(5)10%HP- -CD添加生理食塩水に溶解したOVA5μg及びSZ62 0.256μmolを、それぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。1週間後、上記(1)~(5)と同様の溶液又は分散液を再度、背部皮下投与し、二次免疫を実施した。二次免疫の2週間後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体の測定を行った。結果を図13に示す。

## 【0251】

図13に示される結果から明らかなように、5%C D添加生理食塩水で分散したSZ62を投与した群と10%HP- -CD添加生理食塩水で溶解したSZ62を投与した群の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生は、OVA単独投与群(図中:saline)に比べて有意に増加した。この結果は、10%HP- -CD添加生理食塩水で溶解したSZ62もアジュバント活性を有することを示している。一般的に、液状担体を用いて薬剤を製剤化する場合には薬剤を液状担体に可溶化することが重要とされており、SZ62をワクチンアジュバント製剤として用いるためには、5%C D添加生理食塩水で分散するより、10%HP- -CD添加生理食塩水で溶解することが好ましいと考えられる。

## 【0252】

## (7) アジュバント活性試験

〔実施例13〕N-アセチル-L-ロイシンメチルエステル(SZ83)、N-ヘキサノイル-L-ロイシンメチルエステル(SZ84)、N-(2-オクタデシルエイコサノイル)-L-ロイシンメチルエステル(SZ86)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンtert-ブチルエステル(SZ89)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド(SZ90)のアジュバント活性の評価試験

8週齢雌性BALB/cマウスを群分け(N=6)した後、各群に対し、マウス1匹あたり(1)抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン(OVA)5μg(OVA単独投与群)、(2)5%C D添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg及びSZ83 0.256μmol(SZ83投与群)、(3)5%C D添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg及びSZ84 0.256μmol(SZ84投与群)、(4)5%C D添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg及びSZ86 0.256μmol(SZ86投与群)、(5)5%C D添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg及びSZ89 0.256μmol(SZ89投与群)、(6)5%C D添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg及びSZ90 0.256μmol(SZ90投与群)を、それぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。12日後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体の測定を行った。結果を図14に示す。

## 【0253】

〔抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体および抗OVA特異的IgG2aサブクラス抗体濃度測定方法〕

96ウェルプレートに5μg/mlOVAを1ウェルあたり100μlずつ加え、一晩4にてインキュベートした。インキュベート後、1ウェルあたり200μlのPBS-T(PBS+0.05%(v/v)Tween20)にて3回洗浄し、1ウェルあたり100μlの5%FCS/PBS溶液にて室温で1~2時間、ブロッキングした。その後、1ウェルあたり200μlのPBS-Tにて3回洗浄し、1ウェルあたり100μlの希

10

20

30

40

50

釀済みの血清サンプルもしくはコントロールとして同量の 5 % F C S / P B S 溶液を添加し、37 にて 1 時間インキュベートした。抗体濃度を算出するためには、2 % F C S / P B S 溶液で希釀した抗 O V A 特異的 Ig G 1 サブクラスのスタンダードを 1 ウェルあたりそれぞれ 1 0 0 n g / m l 、 5 0 n g / m l 、 2 5 n g / m l 、 1 2 . 5 n g / m l 、 6 . 2 5 n g / m l 、 3 . 1 2 5 n g / m l 、 1 . 5 6 n g / m l 、 0 . 7 8 1 n g / m l 、 0 . 3 9 1 n g / m l 、 0 . 1 9 5 n g / m l 、 0 . 0 9 8 n g / m l 、 0 n g / m l 10 になるように添加し、また、抗 O V A 特異的 Ig G 2 a サブクラス抗体を測定する場合は、抗 O V A 特異的 Ig G 2 a サブクラス抗体のスタンダードを 1 ウェルあたりそれぞれ 5 0 n g / m l 、 2 5 n g / m l 、 1 2 . 5 n g / m l 、 6 . 2 5 n g / m l 、 3 . 1 2 5 n g / m l 、 1 . 5 6 n g / m l 、 0 . 7 8 1 n g / m l 、 0 . 3 9 1 n g / m l 、 0 . 1 9 5 n g / m l 、 0 . 0 9 8 n g / m l 、 0 . 0 4 9 n g / m l 、 0 n g / m l 20 になるように添加した。その後、サンプルと同様に 1 ウェルあたり 2 0 0  $\mu$  l の P B S - T にて 5 回洗浄し、1 ウェルあたり 1 0 0  $\mu$  l の希釀済みのビオチン化抗マウス Ig G 1 抗体を添加し、37 で 45 分インキュベートした。その後、1 ウェルあたり 2 0 0  $\mu$  l の P B S - T にて 5 回洗浄し、1 ウェルあたり 1 0 0  $\mu$  l の希釀済みの抗ビオチン - H R P 抗体を添加し、さらに 37 で 30 分インキュベートした。その後、1 ウェルあたり 2 0 0  $\mu$  l の P B S - T にて 5 回洗浄し、1 ウェルあたり 1 0 0  $\mu$  l の T M B 基質溶液を添加し、室温にて 10 ~ 15 分反応させた。その後、1 ウェルあたり 5 0  $\mu$  l の反応停止液 (2 N 硫酸溶液) を加えて呈色反応を停止させ、マイクロプレートリーダーを用いて吸光度 (O D V a l u e = 4 5 0 n m) を測定した。測定した O D V a l u e からスタンダードカーブを描き、濃度を算出した。 20

#### 【 0 2 5 4 】

図 14 に示される結果から明らかなように、S Z 8 3 投与群 (図中: S Z 8 3) 、S Z 8 4 投与群 (図中: S Z 8 4) 、S Z 8 6 投与群 (図中: S Z 8 6) 、S Z 8 9 投与群 (図中: S Z 8 9) 、S Z 9 0 投与群 (図中: S Z 9 0) の抗 O V A 特異的 Ig G 1 サブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、N - アセチル - L - ロイシンメチルエステル (S Z 8 3) 、N - ヘキサノイル - L - ロイシンメチルエステル (S Z 8 4) 、N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル (S Z 8 6) 、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシン t e r t - プチルエステル (S Z 8 9) 、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド (S Z 9 0) はアジュバント活性を持つ可能性を示唆している。 30

#### 【 0 2 5 5 】

〔実施例 14 〕 N <sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N <sup>1</sup> , N <sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (S Z 9 2) 、N - ヘキサデカノイル - L - ヒスチジンメチルエステル (S Z 9 4) 、N - ヘキサデカノイル - L - プロリンメチルエステル (S Z 9 5) 、N - ヘキサデカノイル - L - セリンメチルエステル (S Z 9 6) のアジュバント活性の評価試験

8 週齢雌性 B A L B / c マウスを群分け (N = 6) した後、各群に対し、マウス 1 匹あたり (1) 抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン (O V A) 5  $\mu$  g (O V A 単独投与群) 、(2) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 9 2 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l (S Z 9 2 投与群) 、(3) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 9 4 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l (S Z 9 4 投与群) 、(4) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 9 5 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l (S Z 9 5 投与群) 、(5) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 9 6 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l (S Z 9 6 投与群) を、それぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。12 日後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗 O V A 特異的 Ig G 1 サブクラス抗体の測定を行った。結果を図 15 に示す。 40

#### 【 0 2 5 6 】

図 15 に示される結果から明らかなように、S Z 9 2 投与群 (図中: S Z 9 2) の抗 O V A 特異的 Ig G 1 サブクラス抗体産生は、O V A 単独投与群 (図中: s a l i n e) に 50

比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、S Z 9 4 投与群（図中：S Z 9 4）、S Z 9 5 投与群（図中：S Z 9 5）、S Z 9 6 投与群（図中：S Z 9 6）の抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド（S Z 9 2）、N-ヘキサデカノイル-L-ヒスチジンメチルエステル（S Z 9 4）、N-ヘキサデカノイル-L-プロリンメチルエステル（S Z 9 5）、N-ヘキサデカノイル-L-セリンメチルエステル（S Z 9 6）はアジュバント活性を持つ可能性を示唆している。

#### 【0 2 5 7】

〔実施例15〕N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシルエステル（S Z 9 7）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシルエステル塩酸塩（S Z 9 9）、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド（S Z 1 0 6）のアジュバント活性の評価試験

8週齢雌性B A L B / cマウスを群分け（N=6）した後、各群に対し、マウス1匹あたり（1）抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン（O V A）5μg（O V A単独投与群）、（2）5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5μg及びS Z 9 7 0.256μm o l（S Z 9 7 投与群）、（3）5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5μg及びS Z 9 9 0.256μm o l（S Z 9 9 投与群）、（4）5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5μg及びS Z 1 0 6 0.256μm o l（S Z 1 0 6 投与群）を、それぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。12日後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体の測定を行った。結果を図16に示す。

#### 【0 2 5 8】

図16に示される結果から明らかなように、S Z 9 9 投与群（図中：S Z 9 9）の抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体産生は、O V A単独投与群（図中：s a l i n e）に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、S Z 9 7 投与群（図中：S Z 9 7）、S Z 1 0 6 投与群（図中：S Z 1 0 6）の抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシルエステル（S Z 9 7）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシルエステル塩酸塩（S Z 9 9）、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド（S Z 1 0 6）はアジュバント活性を持つ可能性を示唆している。

#### 【0 2 5 9】

〔実施例16〕N-ドコサノイルアグマチン塩酸塩（S Z 1 0 8）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-アルギニンアミド塩酸塩（S Z 1 1 0）のアジュバント活性の評価試験

8週齢雌性B A L B / cマウスを群分け（N=6）した後、各群に対し、マウス1匹あたり（1）抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン（O V A）5μg（O V A単独投与群）、（2）5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5μg及びS Z 1 0 8 0.256μm o l（S Z 1 0 8 投与群）、（3）5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5μg及びS Z 1 1 0 0.256μm o l（S Z 1 1 0 投与群）を、それぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。12日後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体の測定を行った。結果を図17に示す。

#### 【0 2 6 0】

図17に示される結果から明らかなように、S Z 1 0 8 投与群（図中：S Z 1 0 8）の抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体産生は、O V A単独投与群（図中：s a l i n e）に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、S Z 1 1 0 投与群（図中：S Z 1 1 0）の抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、N-ドコサノイルアグマチン塩酸塩（S Z 1 0 8）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-アルギニンアミド塩酸塩（S Z 1 1

10

20

30

40

50

0 ) はアジュバント活性を持つ可能性を示唆している。

【 0 2 6 1 】

〔実施例 1 7 〕  $N^2$  - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシリエステル塩酸塩 ( S Z 1 2 1 ) 、  $N$  - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシリエステル ( S Z 1 2 4 ) 、  $N^2$  - ドコサノイル -  $N^1$  ,  $N^1$  - ジエチル - L - ロイシンアミド ( S Z 1 2 5 ) のアジュバント活性の評価試験

8 週齢雌性 B A L B / c マウスを群分け (  $N = 6$  ) した後、各群に対し、マウス 1 匹あたり ( 1 ) 抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン ( O V A ) 5  $\mu$  g ( O V A 単独投与群 ) 、 ( 2 ) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 1 2 1 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l ( S Z 1 2 1 投与群 ) 、 ( 3 ) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 1 2 4 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l ( S Z 1 2 4 投与群 ) 、 ( 4 ) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 1 2 5 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l ( S Z 1 2 5 投与群 ) を、それぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。12 日後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗 O V A 特異的 I g G 1 サブクラス抗体の測定を行った。結果を図 1 8 に示す。

【 0 2 6 2 】

図 1 8 に示される結果から明らかなように、 S Z 1 2 1 投与群 ( 図中 : S Z 1 2 1 ) の抗 O V A 特異的 I g G 1 サブクラス抗体産生は、 O V A 単独投与群 ( 図中 : S a l i n e ) に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、 S Z 1 2 4 投与群 ( 図中 : S Z 1 2 4 ) 、 S Z 1 2 5 投与群 ( 図中 : S Z 1 2 5 ) の抗 O V A 特異的 I g G 1 サブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、  $N^2$  - ドコサノイル - L - アルギニンヘキシリエステル塩酸塩 ( S Z 1 2 1 ) 、  $N$  - ドコサノイル - L - ロイシンヘキシリエステル ( S Z 1 2 4 ) 、  $N^2$  - ドコサノイル -  $N^1$  ,  $N^1$  - ジエチル - L - ロイシンアミド ( S Z 1 2 5 ) はアジュバント活性を持つ可能性を示唆している。

【 0 2 6 3 】

〔実施例 1 8 〕  $N^2$  - ドコサノイル - L - アルギニンアミド塩酸塩 ( S Z 1 2 8 ) 、  $N^2$  - ドコサノイル -  $N^1$  ,  $N^1$  - ジエチル - L - アルギニンアミド塩酸塩 ( S Z 1 2 9 ) 、  $N^2$  - ヘキサノイル - L - アルギニンヘキシリエステル塩酸塩 ( S Z 1 3 0 ) 、  $N$  - ヘキサデカノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル ( S Z 1 3 4 ) 、  $N$  - ドコサノイル - L - グルタミン酸ヘキシリエステル ( S Z 1 3 5 ) 、  $N^2$  - ヘキサデカノイル - L - グルタミンメチルエステル ( S Z 1 3 6 ) の 1 次免疫後のアジュバント活性の評価試験

8 週齢雌性 B A L B / c マウスを群分け (  $N = 6$  ) した後、各群に対し、マウス 1 匹あたり ( 1 ) 抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン ( O V A ) 5  $\mu$  g ( O V A 単独投与群 ) 、 ( 2 ) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 1 2 8 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l ( S Z 1 2 8 投与群 ) 、 ( 3 ) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 1 2 9 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l ( S Z 1 2 9 投与群 ) 、 ( 4 ) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 1 3 0 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l ( S Z 1 3 0 投与群 ) 、 ( 5 ) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 1 3 4 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l ( S Z 1 3 4 投与群 ) 、 ( 6 ) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 1 3 5 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l ( S Z 1 3 5 投与群 ) 、 ( 7 ) 5 % C D 添加生理食塩水に溶解又は分散した O V A 5  $\mu$  g 及び S Z 1 3 6 0 . 2 5 6  $\mu$  m o l ( S Z 1 3 6 投与群 ) を、それぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。12 日後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗 O V A 特異的 I g G 1 サブクラス抗体の測定を行った。結果を図 1 9 に示す。

【 0 2 6 4 】

図 1 9 に示される結果から明らかなように、 S Z 1 2 8 投与群 ( 図中 : S Z 1 2 8 ) および S Z 1 2 9 投与群 ( 図中 : S Z 1 2 9 ) の抗 O V A 特異的 I g G 1 サブクラス抗体産生は、 O V A 単独投与群 ( 図中 : s a l i n e ) に比べて有意に増加した。また、有意差

10

20

30

40

50

は認められなかったものの、S Z 1 3 0 投与群（図中：S Z 1 3 0）、S Z 1 3 4 投与群（図中：S Z 1 3 4）、S Z 1 3 5 投与群（図中：S Z 1 3 5）、S Z 1 3 6 投与群（図中：S Z 1 3 6）の抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-L-アルギニンアミド塩酸塩（S Z 1 2 8）、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-アルギニンアミド塩酸塩（S Z 1 2 9）、N<sup>2</sup>-ヘキサノイル-L-アルギニンヘキシリエステル塩酸塩（S Z 1 3 0）、N-ヘキサデカノイル-L-グルタミン酸ヘキシリエステル（S Z 1 3 4）、N-ドコサノイル-L-グルタミン酸ヘキシリエステル（S Z 1 3 5）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-グルタミンメチルエステル（S Z 1 3 6）はアジュバント活性を持つ可能性を示唆している。

10

#### 【0 2 6 5】

〔実施例19〕N-（2-オクタデシルエイコサノイル）-L-ロイシンメチルエステル（S Z 8 6）、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド（S Z 9 0）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド（S Z 9 2）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシリエステル塩酸塩（S Z 9 9）、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド（S Z 1 0 6）のアジュバント活性とアレルギー誘導性評価試験

8週齢雌性B A L B / cマウスを群分け（N=6）した後、各群に対し、マウス1匹あたり（1）抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン（O V A）5 μ g（O V A単独投与群）、（2）生理食塩水に溶解したO V A 1 0 μ g及びAddavax<sup>TM</sup>（生理食塩水と1:1で混合）（Addavax<sup>TM</sup>投与群）、（3）5% C D添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5 μ g及びS Z 8 6 0 . 2 5 6 μ m o l（S Z 8 6 投与群）、（4）5% C D添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5 μ g及びS Z 9 0 0 . 2 5 6 μ m o l（S Z 9 0 投与群）、（5）5% C D添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5 μ g及びS Z 9 2 0 . 2 5 6 μ m o l（S Z 9 2 投与群）、（6）5% C D添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5 μ g及びS Z 9 9 0 . 2 5 6 μ m o l（S Z 9 9 投与群）、（7）5% C D添加生理食塩水に溶解又は分散したO V A 5 μ g及びS Z 1 0 6 0 . 2 5 6 μ m o l（S Z 1 0 6 投与群）を、それぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。1週間後、上記（1）～（7）と同様の溶液又は分散液を再度、背部皮下投与し、二次免疫を実施した。二次免疫の2週間後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体の測定を行った。その結果を図20に示す。

20

30

#### 【0 2 6 6】

図20に示される結果から明らかなように、Addavax<sup>TM</sup>投与群（図中：Addavax）、S Z 9 2 投与群（図中：S Z 9 2）の抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体産生は、O V A単独投与群（図中：Saline）に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、S Z 8 6 投与群（図中：S Z 8 6）、S Z 9 0 投与群（図中：S Z 9 0）、S Z 9 9 投与群（図中：S Z 9 9）、S Z 1 0 6 投与群（図中：S Z 1 0 6）の抗O V A特異的I g G 1サブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、N-（2-オクタデシルエイコサノイル）-L-ロイシンメチルエステル（S Z 8 6）、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド（S Z 9 0）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド（S Z 9 2）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシリエステル塩酸塩（S Z 9 9）、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド（S Z 1 0 6）はアジュバント活性を持つことを示唆している。

40

#### 【0 2 6 7】

アレルギー誘導性試験は、Addavax<sup>TM</sup>、N-（2-オクタデシルエイコサノイル）-L-ロイシンメチルエステル（S Z 8 6）、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド（S Z 9 0）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>、N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド（S Z 9 2）、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-アルギニンヘキシリエステル塩酸塩（

50

SZ99) 及び N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド (SZ106) を使用したこと以外は、実施例 3 と同様の手順で行った。結果を図 21 に示す。

### 【0268】

図 21 に示される結果から明らかなように、Addavax<sup>TM</sup> 投与群 (図中: Addavax) の抗 OVA 特異的 IgE 抗体産生は、OVA 単独投与群 (図中: saline) に比べて有意に増加した。これに対し、SZ86 投与群 (図中: SZ86)、SZ90 投与群 (図中: SZ90)、SZ92 投与群 (図中: SZ92)、SZ99 投与群 (図中: SZ99)、SZ106 投与群 (図中: SZ106) では抗 OVA 特異的 IgE 抗体産生の有意な産生増加は観察されなかった。これらの結果から、N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル (SZ86)、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド (SZ90)、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (SZ92)、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - アルギニンヘキシルエステル塩酸塩 (SZ99) 及び N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド (SZ106) は、接種によるアレルギー誘発することが知られている Addavax<sup>TM</sup> と比較して、アレルギー誘導活性が低いことが明らかとなった。

10

### 【0269】

(8) アレルギーを誘導しないアジュバントの評価

〔アレルギーを誘導しないアジュバントを評価する指標の定義〕

水酸化アルミニウムゲルアジュバントや Addavax<sup>TM</sup> は、抗原特異的な抗体産生を増強する一方、アレルギーを誘導してしまうことが課題である。そこで、アレルギーを誘導しないアジュバントの指標 (Effective Index) を以下のように定義し、実施例 19 における各投与群の指標を算出した。すなわち、各群の抗 OVA 特異的 IgG1 サブクラス抗体濃度の平均値を各群の抗 OVA 特異的 IgE 抗体濃度の平均値で割った値を、Addavax<sup>TM</sup> 投与群の抗 OVA 特異的 IgG1 サブクラス抗体濃度の平均値を Addavax<sup>TM</sup> 投与群の抗 OVA 特異的 IgE 抗体濃度の平均値で割った値を 1 として相対比較した。その結果を図 22 に示す。

20

### 【0270】

図 22 に示される結果から明らかなように、SZ86 投与群 (図中: SZ86)、SZ90 投与群 (図中: SZ90)、SZ92 投与群 (図中: SZ92) の Effective Index は、Addavax<sup>TM</sup> 投与群の 1 よりも大きいことが明らかとなった。これらの結果は、N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル (SZ86)、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド (SZ90)、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (SZ92) は、Addavax<sup>TM</sup> に比べてアレルギーを誘導しない優れたアジュバントであることを示唆している。

30

### 【0271】

〔実施例 20〕 N - (2 - オクタデシルエイコサノイル) - L - ロイシンメチルエステル (SZ86)、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - L - ロイシンアミド (SZ90)、N<sup>2</sup> - ヘキサデカノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - ロイシンアミド (SZ92)、N - ヘキサデカノイル - L - ロイシンヘキシルエステル (SZ97)、N<sup>2</sup> - ドコサノイル - N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup> - ジエチル - L - グルタミン酸 1 - アミド (SZ106)、N - ドコサノイルアグマチン塩酸塩 (SZ108) の 2 次免疫後アジュバント活性とアレルギー誘導性評価試験

40

8 週齢雌性 BALB/c マウスを群分け (N = 6) した後、各群に対し、マウス 1 匹あたり (1) 抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン (OVA) 5 µg (OVA 単独投与群)、(2) 生理食塩水に溶解した OVA 10 µg 及び Addavax<sup>TM</sup> (生理食塩水と 1 : 1 で混合) (Addavax<sup>TM</sup> 投与群) (3) 5 % CD 添加生理食塩水に溶解又は分散した OVA 5 µg 及び SZ86 0.256 µmol (SZ86 投与群)、(4) 5 % CD 添加生理食塩水に溶解又は分散した OVA 5 µg 及び SZ90 0.256 µmol (SZ90 投与群)、(5) 5 % CD 添加生理食塩水に溶解又は分散し

50

たOVA 5 µg 及び SZ 92 0.256 µmol (SZ 92 投与群)、(6) 5% CD 添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA 5 µg 及び SZ 97 0.256 µmol (SZ 97 投与群)、(7) 5% CD 添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA 5 µg 及び SZ 106 0.256 µmol (SZ 106 投与群)、(8) 5% CD 添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA 5 µg 及び SZ 108 0.256 µmol (SZ 108 投与群)をそれぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。1週間後、上記(1)~(8)と同様の溶液又は分散液を再度、背部皮下投与し、二次免疫を実施した。二次免疫の2週間後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体の測定を行った。その結果を図23に示す。

## 【0272】

10

図23に示される結果から明らかなように、Addavax<sup>TM</sup>投与群(図中: Addavax)、SZ 92投与群(図中: SZ 92)、SZ 97投与群(図中: SZ 97)の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生は、OVA単独投与群(図中: saline)に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、SZ 86投与群(図中: SZ 86)、SZ 90投与群(図中: SZ 90)、SZ 106投与群(図中: SZ 106)、SZ 108投与群(図中: SZ 108)の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、N-(2-オクタデシルエイコサノイル)-L-ロイシンメチルエステル(SZ 86)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド(SZ 90)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド(SZ 92)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシルエステル(SZ 97)、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド(SZ 106)及びN-ドコサノイルアグマチン塩酸塩(SZ 108)はアジュvant活性を持つことを示唆している。

20

## 【0273】

アレルギー誘導性試験は、Addavax<sup>TM</sup>、N-(2-オクタデシルエイコサノイル)-L-ロイシンメチルエステル(SZ 86)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド(SZ 90)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド(SZ 92)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシルエステル(SZ 97)、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド(SZ 106)及びN-ドコサノイルアグマチン塩酸塩(SZ 108)を使用したこと以外は、実施例3と同様の手順で行った。結果を図24に示す。

30

## 【0274】

図24に示される結果から明らかなように、Addavax<sup>TM</sup>投与群(図中: Addavax)の抗OVA特異的IgE抗体産生は、OVA単独投与群(図中: saline)に比べて有意に増加した。これに対し、SZ 86投与群(図中: SZ 86)、SZ 90投与群(図中: SZ 90)、SZ 92投与群(図中: SZ 92)、SZ 97投与群(図中: SZ 97)、SZ 106投与群(図中: SZ 106)、SZ 108投与群(図中: SZ 108)では抗OVA特異的IgE抗体産生の有意な産生増加は観察されなかった。これらの結果から、N-(2-オクタデシルエイコサノイル)-L-ロイシンメチルエステル(SZ 86)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド(SZ 90)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド(SZ 92)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシルエステル(SZ 97)、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド(SZ 106)及びN-ドコサノイルアグマチン塩酸塩(SZ 108)は、接種によるアレルギー誘発することが知られているAddavax<sup>TM</sup>と比較して、アレルギー誘導活性が低いことが明らかとなった。

40

## 【0275】

アレルギーを誘導しないアジュvantの評価は、N-(2-オクタデシルエイコサノイル)-L-ロイシンメチルエステル(SZ 86)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド(SZ 90)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド(SZ 92)、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシルエステル(SZ 97)

50

、N<sup>2</sup>-ドコサノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-グルタミン酸1-アミド(SZ106)及びN-ドコサノイルアグマチン塩酸塩(SZ108)を使用したこと以外は、実施例19と同様の手順で行った。結果を図25に示す。

#### 【0276】

図25に示される結果から明らかなように、SZ90投与群(図中:SZ90)、SZ92投与群(図中:SZ92)、SZ97投与群(図中:SZ97)のEffective Indexは、Addavax<sup>TM</sup>投与群の1よりも大きいことが明らかとなった。これらの結果は、N-ヘキサデカノイル-L-ロイシンアミド(SZ90)、N<sup>2</sup>-ヘキサデカノイル-N<sup>1</sup>, N<sup>1</sup>-ジエチル-L-ロイシンアミド(SZ92)及びN-ヘキサデカノイル-L-ロイシンヘキシリエステル(SZ97)は、Addavax<sup>TM</sup>に比べてアレルギーを誘導しない優れたアジュバントであることを示唆している。  
10

#### 【0277】

##### (9) コンビネーションアジュバントとしての評価

##### 〔コンビネーションアジュバント〕

1990年代より、複数のアジュバントを混合したコンビネーションアジュバントが開発されてきた。例えば、水酸化アルミニウム塩、水中油滴乳濁液、リポソームなどのアジュバントは、モノホスホリル脂質(MPL)、QS-21、ビタミンEなどの免疫賦活剤などの分子と組み合わせることにより、より強く効果的な免疫応答を得ることができる事が知られている。MPLと水酸化アルミニウム塩は子宮頸がんワクチンのアジュバント(A504)として導入されており、Addavax<sup>TM</sup>とCpGとの組み合わせは癌ワクチンアジュバントとして研究されている。アジュバントの組み合わせを考える時に重要なこととして、複数のアジュバントを組み合わせれば必ずしも良好な効果が得られるわけではなく、組み合わせによっては競合障害を起こしてしまうことが知られている。  
20

以下の実施例において、本発明化合物に対し、一般的にコンビネーションアジュバントとして検討されているMPL又はCpGを組み合わせることで良好な効果が得られるかどうかを検討した。

#### 【0278】

〔実施例21〕N-ヘキサデカノイルアグマチン(SZ62:一般式(I1)のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物)とMPL又はCpGとの混合物を投与した時の2次免疫後のアジュバント活性およびアレルギー誘導性の評価試験  
30

8週齢雌性BALB/cマウスを群分け(N=6)した後、各群に対し、マウス1匹あたり(1)抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン(OVA)5μg(OVA単独投与群)、(2)生理食塩水に溶解したOVA10μg及び水酸化アルミニウム塩(Alum投与群)、(3)生理食塩水に溶解したOVA10μg及びAddavax<sup>TM</sup>(生理食塩水と1:1で混合)(Addavax<sup>TM</sup>投与群)、(4)生理食塩水に溶解したOVA10μg及び5μgCpG(CpG投与群)、(5)生理食塩水に溶解したOVA10μg及び5μgMPL(MPL投与群)、(6)5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg及びSZ62 0.256μmol(SZ62投与群)、(7)5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg、SZ62 0.256μmol及び5μgCpG(SZ62+CpG投与群)、(8)生理食塩水に溶解したOVA10μg、Addavax<sup>TM</sup>(生理食塩水と1:1で混合)及び5μgCpG(Addavax<sup>TM</sup>+CpG投与群)、(9)5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg、SZ62 0.256μmol及び5μgMPL(SZ62+MPL投与群)、(10)生理食塩水に溶解したOVA10μg、水酸化アルミニウム塩(Alum)及び5μgMPL(Alum+MPL投与群)をそれぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。1週間後、上記(1)~(10)と同様の溶液又は分散液を再度、背部皮下投与し、二次免疫を実施した。二次免疫の2週間後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについて抗OVA特異的IgG1サブクラスおよび抗OVA特異的IgG2aサブクラス抗体、抗OVA特異的IgEの測定を行った。その結果をそれぞれ図26、図27、図28に示す。測定方法は、それぞれ、実施例18および実施例3と同様に  
40

行った。

【0279】

図26に示される結果から明らかなように、Addavax<sup>TM</sup>投与群（図中Addavax）、MPL投与群（図中：MPL）、SZ62+CpG投与群（図中：SZ62+CpG）、Addavax<sup>TM</sup>+CpG投与群（図中：Addavax+CpG）、SZ62+MPL投与群（図中：SZ62+MPL）、Alum+MPL投与群（図中：Alum+MPL）の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生は、OVA単独投与群（図中：saline）に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、Alum投与群（図中：Alum）及びSZ62投与群（図中：SZ62）の抗OVA特異的IgG1サブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、SZ62は、CpGやMPLと組み合わせることにより、良好な効果があることを示している。

10

【0280】

図27に示される結果から明らかなように、CpG投与群（図中：CpG）、SZ62+CpG投与群（図中：SZ62+CpG）、Addavax<sup>TM</sup>+CpG投与群（図中：Addavax+CpG）、Alum+MPL投与群（図中：Alum+MPL）の抗OVA特異的IgG2aサブクラス抗体産生は、OVA単独投与群（図中：saline）に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、Alum投与群（図中：Alum）、Addavax<sup>TM</sup>投与群（図中Addavax）、MPL投与群（図中：MPL）、SZ62投与群（図中：SZ62）及びSZ62+MPL投与群（図中：SZ62+MPL）の抗OVA特異的IgG2aサブクラス抗体産生も増加傾向を示すことがわかった。これらの結果は、SZ62は、CpGやMPLと組み合わせることにより、良好な効果があることを示している。

20

【0281】

図28に示される結果から明らかなように、Addavax<sup>TM</sup>投与群（図中：Addavax）及びAddavax<sup>TM</sup>+CpG投与群（図中：Addavax+CpG）の抗OVA特異的IgE抗体産生は、OVA単独投与群（図中：saline）に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、SZ62+CpG投与群（図中：SZ62+CpG）及びSZ62+MPL投与群（図中：SZ62+MPL）の抗OVA特異的IgE抗体産生は増加傾向を示した。しかしながら、これらの結果は、SZ62+CpG投与群（図中：SZ62+CpG）の抗OVA特異的IgE抗体産生は、Addavax<sup>TM</sup>+CpG投与群（図中：Addavax+CpG）よりも低値であることから、副作用が少ないコンビネーションアジュvantとしてCpGと組み合わせるには、SZ62のほうがAddavax<sup>TM</sup>より優れていることを唆している。

30

【0282】

（10）アジュvant投与後の全身性の炎症の評価

〔実施例22〕N-ヘキサデカノイルアグマチン（SZ62：一般式（II）のR<sup>7</sup>に対応する基がC<sub>15</sub>アルキル基である化合物）とMPL又はCpGとの混合物を投与した時の1次免疫後の全身炎症性の評価試験

8週齢雌性BALB/cマウスを群分け（N=6）した後、各群に対し、マウス1匹あたり（1）抗原として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン（OVA）5μg（OVA単独投与群）、（2）生理食塩水に溶解したOVA10μg及びAddavax<sup>TM</sup>（生理食塩水と1：1で混合）（Addavax<sup>TM</sup>投与群）、（3）生理食塩水に溶解したOVA10μg及び水酸化アルミニウム塩（Alum投与群）、（4）生理食塩水に溶解したOVA10μg及び5μgCpG（CpG投与群）、（5）生理食塩水に溶解したOVA10μg及び5μgMPL（MPL投与群）、（6）5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg及びSZ62 0.256μmol（SZ62投与群）、（7）5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg、SZ62 0.256μmol及び5μgCpG（SZ62+CpG投与群）、（8）生理食塩水に溶解したOVA10μg、Addavax<sup>TM</sup>（生理食塩水と1：1で混合）及び5μgCpG（A

40

50

ddavax<sup>TM</sup> + CpG投与群)、(9)5%CD添加生理食塩水に溶解又は分散したOVA5μg、SZ62 0.256μmol及び5μgMPL(SZ62 + MPL投与群)、(10)生理食塩水に溶解したOVA10μg、Addavax<sup>TM</sup>(生理食塩水と1:1で混合)及び5μgMPL(Addavax<sup>TM</sup> + MPL投与群)をそれぞれ背部皮下投与して、一次免疫を実施した。3時間後に、麻酔下にて採血を行い、得られた血清サンプルについてELISA法を用いてTNF- $\alpha$ の測定を行った。その結果を図29に示す。

#### 【0283】

図29に示される結果から明らかなように、CpG投与群(図中:CpG)及びAddavax<sup>TM</sup> + CpG投与群(図中:Addavax + CpG)の血清中のTNF- $\alpha$ 産生は、OVA単独投与群(図中:saline)に比べて有意に増加した。また、有意差は認められなかったものの、Addavax<sup>TM</sup>投与群(図中:Addavax)、SZ62 + CpG投与群(図中:SZ62 + CpG)、Addavax<sup>TM</sup> + MPL投与群(図中:Addavax + MPL)のTNF- $\alpha$ 産生は増加傾向を示した。しかしながら、これらの結果は、SZ62 + CpG投与群(図中:SZ62 + CpG)およびSZ62 + MPL投与群(図中:SZ62 + MPL)のTNF- $\alpha$ 産生は、それぞれ、Addavax<sup>TM</sup> + CpG投与群(図中:Addavax + CpG)およびAddavax<sup>TM</sup> + MPL投与群(図中:Addavax + MPL)よりも低値であることから、副作用が少ないコンビネーションアジュバントとしてCpG又はMPLと組み合わせるには、SZ62のほうがAddavax<sup>TM</sup>より優れていることを示唆している。

10

20

30

#### 【産業上の利用可能性】

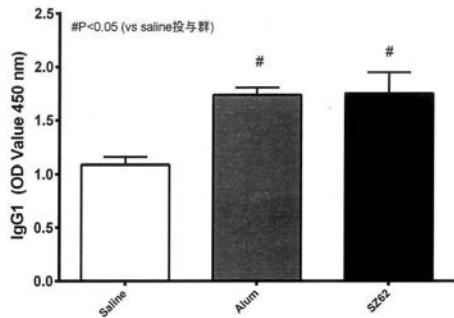
#### 【0284】

本発明化合物は、抗原特異的なIgG1サブクラス抗体、及び/又はIgG2aサブクラス抗体産生の増強作用(免疫賦活作用)を有するので、免疫賦活剤として有用である。特に、本発明化合物は、従来のアルミニウムゲルアジュバントと同等かそれ以上の免疫賦活作用を有しており、さらに、本発明化合物は、IgE抗体の産生の誘導を抑制し、従来のアルミニウムゲルアジュバントで課題となっているアレルギー誘導活性が抑えられる場合があり、効果的で且つ安全なアジュバントとなり得る。さらに、粘膜上にIgA抗体産生を誘導することから、本発明化合物は現在研究開発が進んでいる粘膜ワクチンアジュバントにもなりうる。また、既存のアジュバントと組み合わせることにより、免疫の応答を高めるコンビネーションアジュバントとしての開発も期待できる。

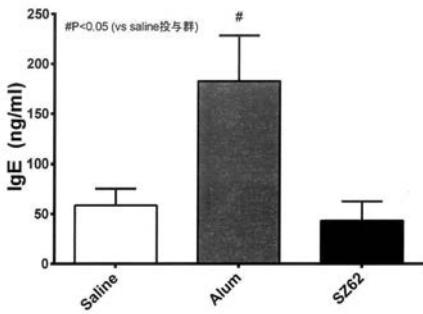
#### 【0285】

本出願は、日本で出願された特願2015-212222(出願日:2015年10月28日)及び日本で出願された特願2016-091808(出願日:2016年4月28日)を基礎としており、それらの内容は本明細書に全て包含されるものである。

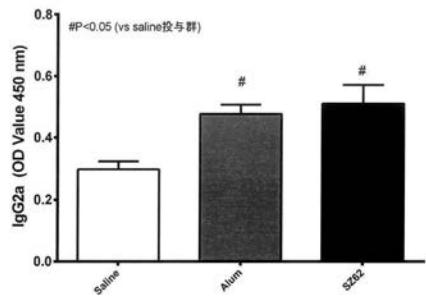
【図1】



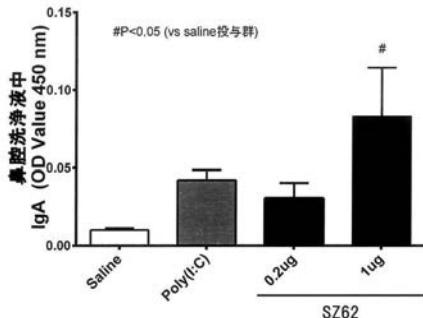
【図3】



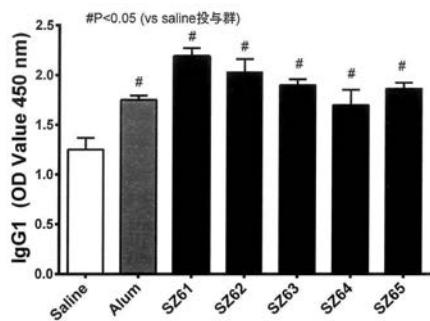
【図2】



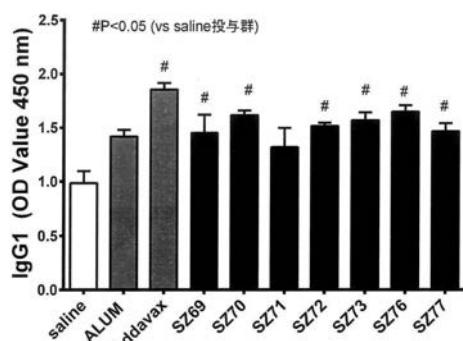
【図4】



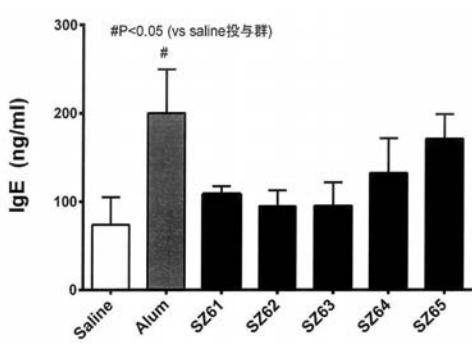
【図5】



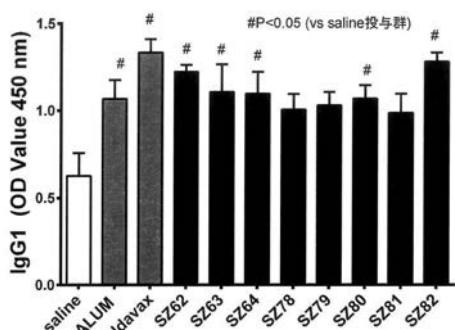
【図7】



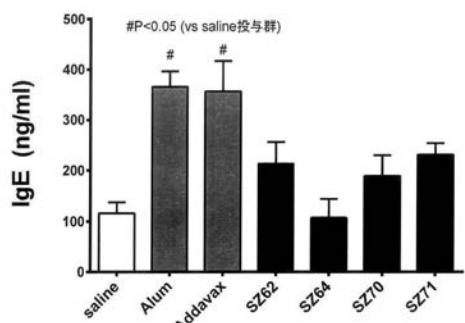
【図6】



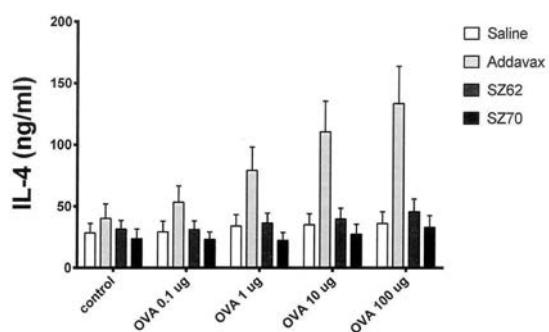
【図8】



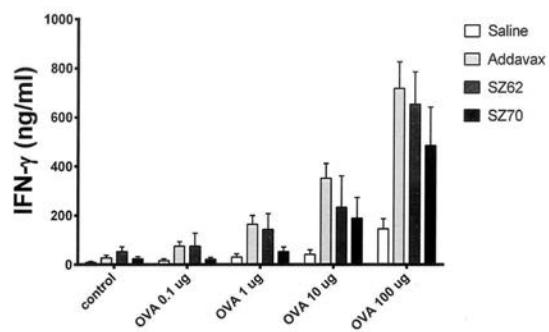
【図9】



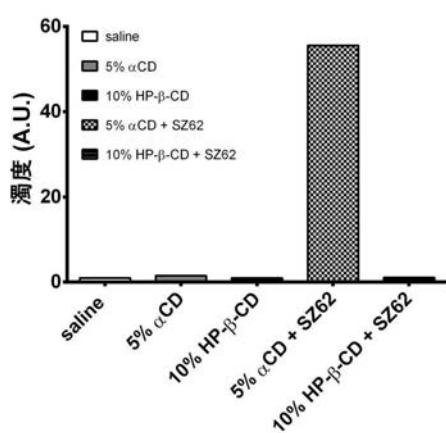
【図11】



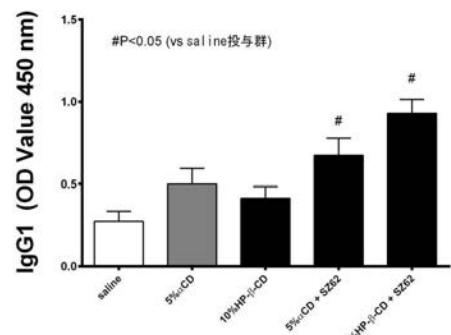
【図10】



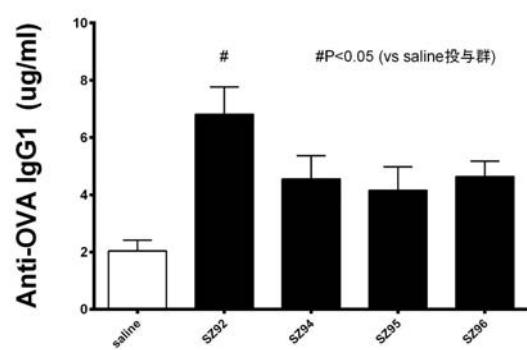
【図12】



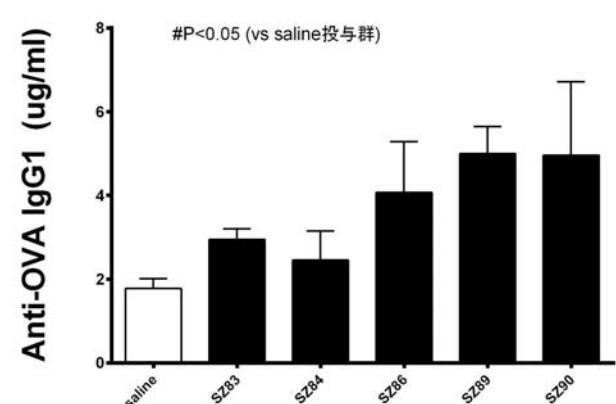
【図13】



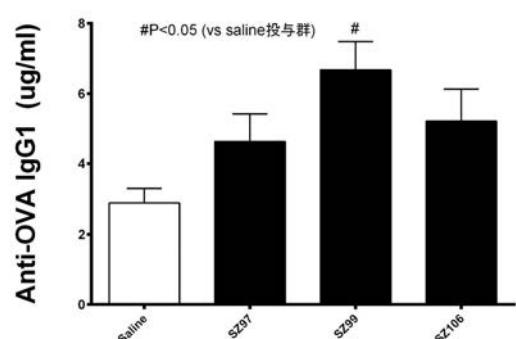
【図15】

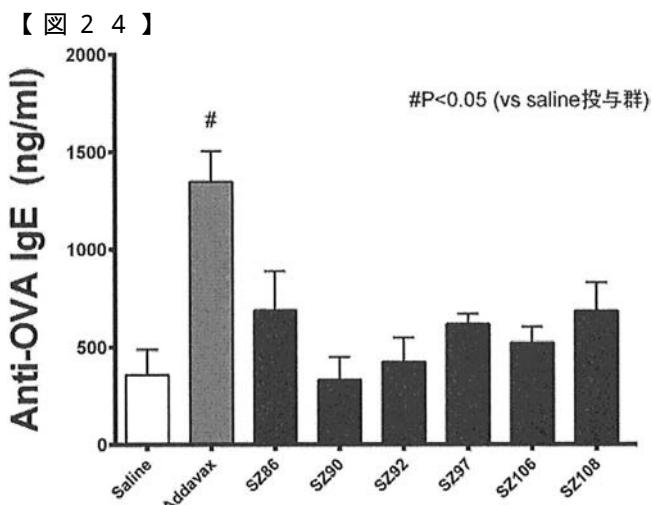
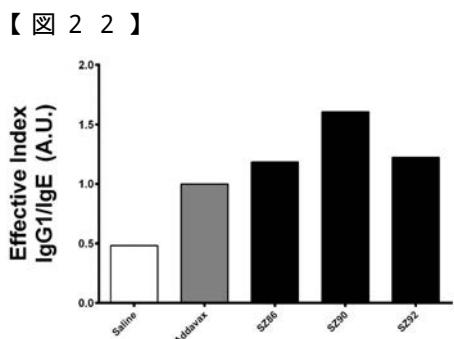
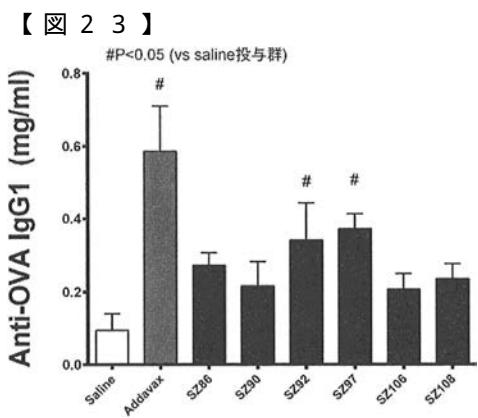
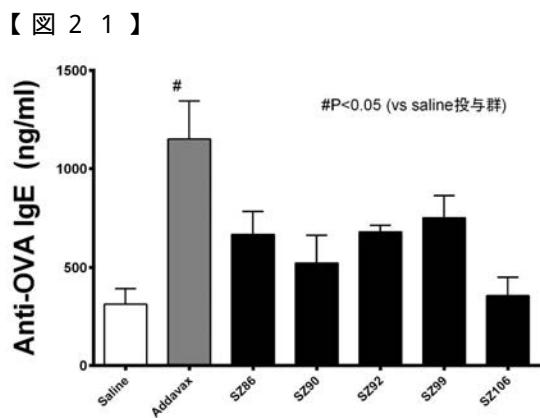
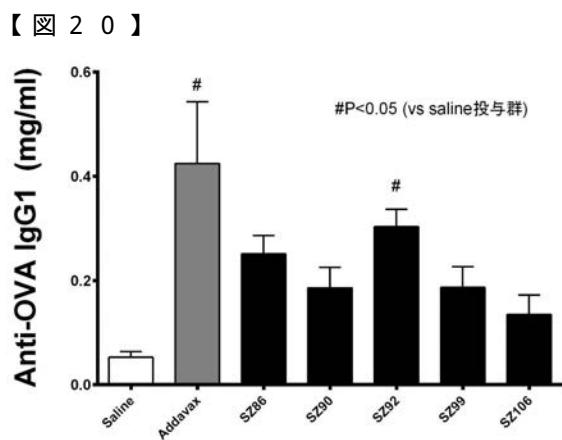
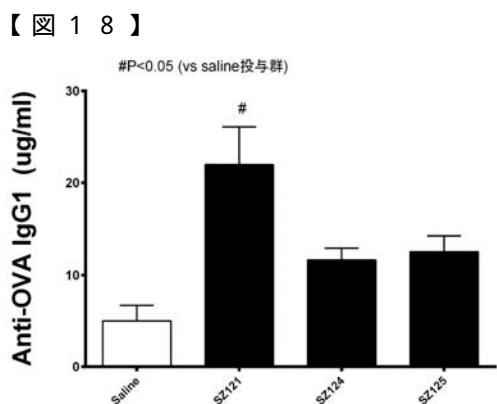
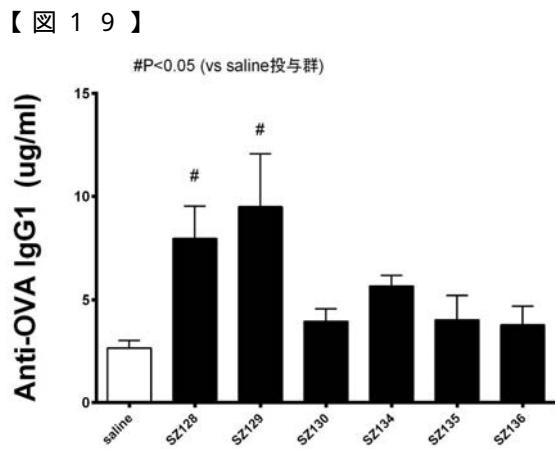
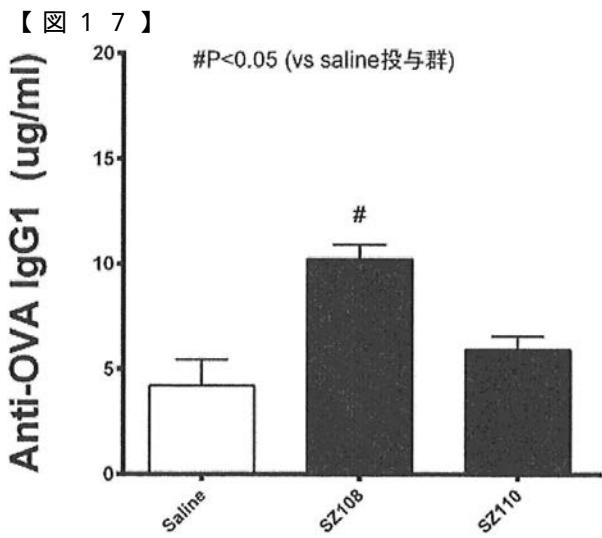


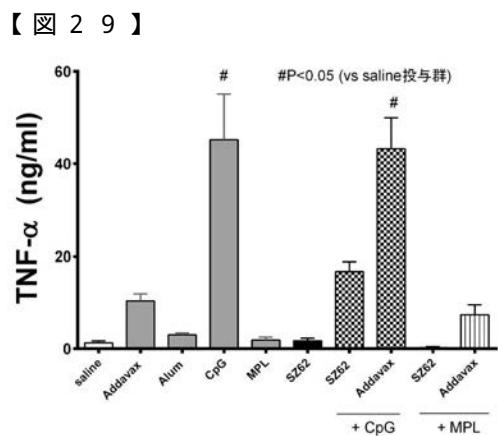
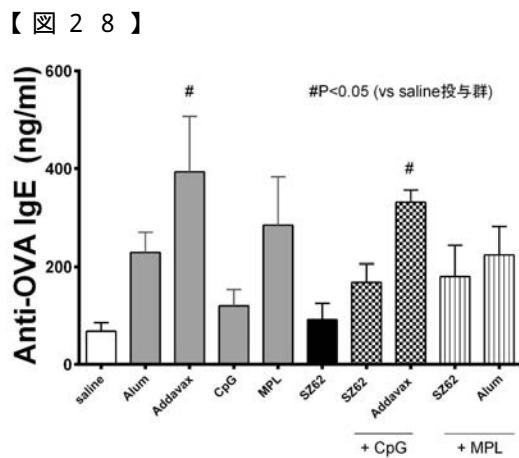
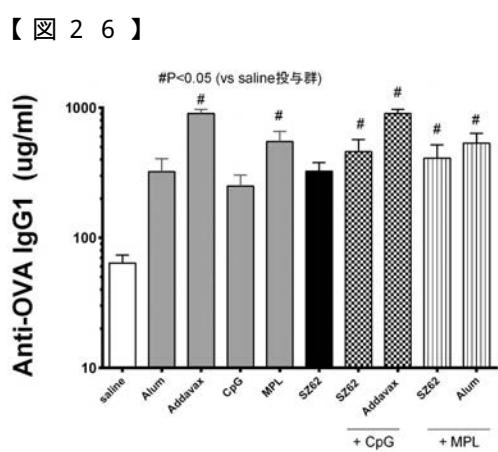
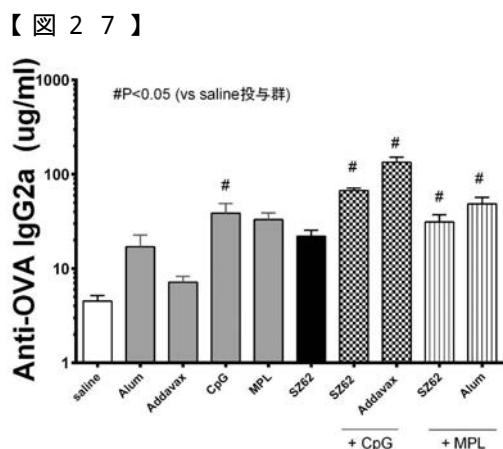
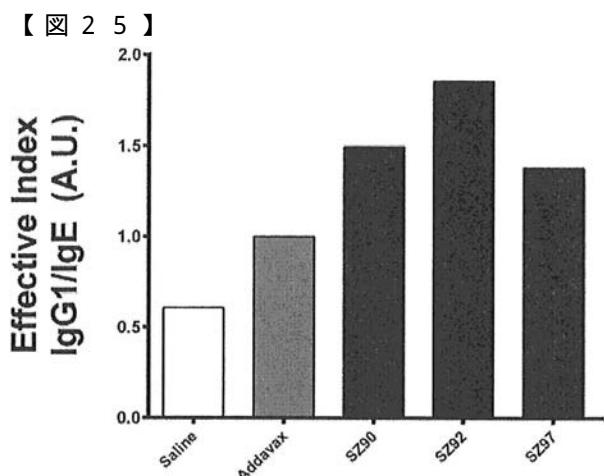
【図14】



【図16】







## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/JP2016/082896

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. C07C233/49 A61K31/195  
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
C07C A61K

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, SCISEARCH, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/014956 A1 (QUEENSLAND INST MED RES [AU]; JACKSON DAVID [AU]; ZENG WEIGUANG [AU]) 19 February 2004 (2004-02-19) page 51 - page 52; claim 14 page 9, line 8 - line 10 page 65	1-7, 31-36,43
Y	page 51 - page 52; claim 14 page 9, line 8 - line 10 page 65	15-20
X	----- WO 02/094764 A1 (CRODA INT PLC [GB]; COUPLAND KEITH [GB]) 28 November 2002 (2002-11-28) examples 1-5 page 8 - page 9 page 8, line 30 - page 9, line 1 page 16, line 9 - line 11	1-7, 31-36,43
Y	----- ----- -/-	15-20

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

6 April 2017

21/04/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel: (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Domingues, Helena

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/JP2016/082896

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2012/154739 A1 (UWM RES FOUNDATION INC [US]; GOETZ FREDERICK WILLIAM [US]; KLAVER REBE) 15 November 2012 (2012-11-15) page 9, paragraph 35 claims 1-4,14 page 2; figure 5; example 2 -----	15-20
A	----- MOTOYASU ONISHI ET AL: "Hydroxypropyl-[beta]-Cyclodextrin Spikes Local Inflammation That Induces Th2 Cell and T Follicular Helper Cell Responses to the Coadministered Antigen", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 194, no. 6, 13 February 2015 (2015-02-13), pages 2673-2682, XP055341714, US ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.1402027 the whole document -----	21,22 10-14, 23-30, 39-43
A	WO 2008/123684 A1 (SEONG GONG JE [KR]; KIM CHAN YUN [KR]; LEE JONG EUN [KR]; HONG SAMIN []) 16 October 2008 (2008-10-16) page 7, paragraph bridging - page 8 -----	10-14, 23-30, 39-43
A	MOLDERINGS GERHARD J ET AL: "Agmatine (decarboxylatedl-arginine): Physiological role and therapeutic potential", PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS, vol. 133, no. 3, 1 March 2012 (2012-03-01) , pages 351-365, XP028889491, ISSN: 0163-7258, DOI: 10.1016/J.PHARMTHERA.2011.12.005 the whole document -----	10-14, 23-30, 39-43
A	MEHFUZ ZAMAN ET AL: "Immunostimulation by Synthetic Lipopeptide-Based Vaccine Candidates: Structure-Activity Relationships", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 4, 1 January 2013 (2013-01-01), XP055342186, DOI: 10.3389/fimmu.2013.00318 the whole document -----	1-9, 15-22, 31-38,43

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP2016/082896

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
  
  
  
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
  
  
  
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

## Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/JP2016/082896

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-9, 15-22, 31-38(completely); 43(partially)

Concerns aspects related to an immunostimulating agent comprising at least one compound represented by the formula (I); and to compositions comprising such compounds and an antigen or an alpha-CD.  
---

2. claims: 10-14, 23-30, 39-42(completely); 43(partially)

Concerns aspects related to an immunostimulating agent comprising at least one compound represented by the formula (II); and to a pharmaceutical composition comprising such compounds and an alpha-CD or H-beta-CD.  
---

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No  
PCT/JP2016/082896

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2004014956	A1 19-02-2004	AT 516308	T 15-07-2011	
		AU 2003250586	A1 25-02-2004	
		BR 0313154	A 02-08-2005	
		CA 2494192	A1 19-02-2004	
		CN 1688606	A 26-10-2005	
		CN 101121754	A 13-02-2008	
		DK 1543039	T3 31-10-2011	
		EP 1543039	A1 22-06-2005	
		EP 2301972	A1 30-03-2011	
		ES 2369664	T3 02-12-2011	
		HK 1113163	A1 07-12-2012	
		JP 4619120	B2 26-01-2011	
		JP 5265511	B2 14-08-2013	
		JP 2006513140	A 20-04-2006	
		JP 2010155832	A 15-07-2010	
		KR 20050053608	A 08-06-2005	
		US 2007066534	A1 22-03-2007	
		US 2010092500	A1 15-04-2010	
		WO 2004014956	A1 19-02-2004	
WO 02094764	A1 28-11-2002	AU 2002256799	B2 16-11-2006	
		CA 2446944	A1 28-11-2002	
		CN 1514822	A 21-07-2004	
		EP 1389180	A1 18-02-2004	
		EP 1914223	A1 23-04-2008	
		GB 2376685	A 24-12-2002	
		JP 4845332	B2 28-12-2011	
		JP 2004528387	A 16-09-2004	
		NZ 529023	A 25-06-2004	
		US 2004242663	A1 02-12-2004	
		WO 02094764	A1 28-11-2002	
WO 2012154739	A1 15-11-2012	US 2014086961	A1 27-03-2014	
		WO 2012154739	A1 15-11-2012	
WO 2008123684	A1 16-10-2008	KR 100854207	B1 26-08-2008	
		US 2010130783	A1 27-05-2010	
		WO 2008123684	A1 16-10-2008	

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 31/223 (2006.01)	A 6 1 K 31/223	
A 6 1 K 31/401 (2006.01)	A 6 1 K 31/401	
A 6 1 K 31/4172 (2006.01)	A 6 1 K 31/4172	
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	H
A 6 1 K 39/145 (2006.01)	A 6 1 K 39/145	
A 6 1 K 47/40 (2006.01)	A 6 1 K 47/40	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, T, J, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R, O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA

(特許序注: 以下のものは登録商標)

1. TWEE N

(74) 代理人 100151301

弁理士 戸崎 富哉

(74) 代理人 100152308

弁理士 中 正道

(72) 発明者 田中 賢治

神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社内

(72) 発明者 栗原 重一

神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社内

(72) 発明者 黒澤 渉

神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社内

(72) 発明者 海塙 洋

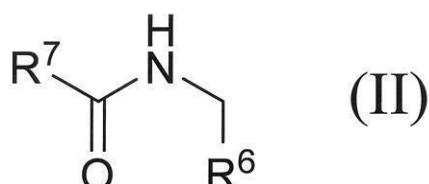
神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社内

F ターム(参考) 4C076 AA22 BB16 BB25 CC07 CC31 CC35 DD23 DD23D EE39 EE39A

FF11

4C085	AA03	BA01	BA55	BB15	CC08	EE01	EE06	FF12	GG04	GG10
4C086	AA01	AA02	BC07	BC38	GA16	MA01	MA02	MA04	MA05	MA59
					MA66	NA05	NA14	ZB09	ZB32	ZC75
4C206	AA01	AA02	GA03	GA37	HA32	KA17	MA01	MA02	MA04	MA05
					MA79	MA86	NA05	NA14	ZB09	ZB32
									ZB33	ZC75

【要約の続き】



〔式中、各記号は、本明細書で定義した通りである。〕で表される化合物又はその塩の少なくとも1種を含む、免疫賦活剤。