

明 細 書

発明の名称： T L R 4 作動活性を有するアジュバント

技術分野

[0001] 本発明は、ワクチンアジュバントとして有用な化合物、その製造方法、当該化合物を含む医薬組成物、および当該化合物のワクチンアジュバントとしての使用に関するものである。

背景技術

[0002] 微生物が産生するタンパク質由来の部分タンパク質もしくは部分ペプチドからなるワクチンは、化学合成または遺伝子組み換え技術により製造できることから、ワクチンの安全性及び製造方法の点で優れている。一方で、このようなワクチンは、菌体を原料として製造した生ワクチンや不活化ワクチンに比べて薬効が弱い傾向にあり、免疫原性を強化する目的で、アジュバントを添加することがある。ワクチンのアジュバントとしては、アラム (Alum) が多く用いられてきたが、近年では、Toll like receptor 4 (T L R 4) のアゴニストである 3-脱アシル化-4'-モノホスホリルリピッド A (M P L) をアジュバントとして含有するワクチンが承認されている (非特許文献 1)。

[0003] T L R 4 は M D - 2 (myeloid differentiation factor 2、ミエロイド分化因子-2) とヘテロダイマーを作り、T L R 4 経路を活性化させることが知られている。T L R 4 のアゴニストの一つとして知られるリポ多糖 (L P S) には、リン酸化された二糖と脂肪酸側鎖からなるリピッド A (lipid A) 構造が含まれ (非特許文献 2)、このリピッド A が T L R 4 と M D - 2 の両方と相互作用することで、ヘテロダイマー形成に重要な役割を果たしていることが報告されている (非特許文献 3)。

[0004] L P S を解毒処理したものが上記 M P L であり (非特許文献 1)、M P L は L P S と同様、リン酸化された二糖構造と脂肪酸側鎖からなる複数の化合物の混合物である (非特許文献 4)。ここでのリン酸基は、T L R 4 と M D

－ 2 の両方と相互作用することが X 線結晶構造からわかっており（非特許文献 3）、またリピド A からリン酸基を取り除くと活性が大きく減弱することが知られている（非特許文献 2）。また、ここでの脂肪酸の構造も TLR4 アゴニスト活性に重要であり、脂肪酸側鎖の構造によってはアンタゴニスト作用を示すことが報告されている（非特許文献 2）。

[0005] MPL のように生体成分由来の化合物は製造面での課題があることから、MPL を模した合成 TLR4 アゴニストの研究が行われている。例えば、特許文献 1 および 2 では、アミノアルキルグルコサミンリン酸（AGP）について、中心構造であるリン酸化された二糖構造をリン酸化された単糖構造へと変換しており、そこで AGP におけるリン酸基は必須の構造として例示されている。また、AGP の脂肪酸側鎖構造についても詳細な検討がなされており、リピド A の場合と同様に脂肪酸を変換すると TLR4 アゴニスト活性を失うことが報告されている（非特許文献 5）。

一方、AGP を初めとするリン酸基を含んだ構造の合成 TLR4 アゴニストは、製造コスト面や保存時の安定性の面で不利と考えられるが、これまで種々検討されている中で、中心構造に糖及び脂肪酸側鎖を有する TLR4 アゴニストにおいて、リン酸基を含まず、かつ TLR4 アゴニスト活性を保持したワクチンアジュバントの報告はない。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献 1：国際公開 WO 98／50399

特許文献 2：国際公開 WO 01／34617

非特許文献

[0007] 非特許文献 1：サーバリックス インタビューフォーム

非特許文献 2：Microbes Infect. 2002 Jul;4(8):837-51.

非特許文献 3：Nature. 2009 Apr 30;458(7242):1191-5.

非特許文献 4：Regul Toxicol Pharmacol. 2002 Jun;35(3):398-413.

非特許文献 5：J Biol Chem. 2004 Feb 6;279(6):4440-9

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明の課題は、リン酸基を含まなくても、高いアジュバント活性を有する TLR4 アゴニストを提供することにある。

課題を解決するための手段

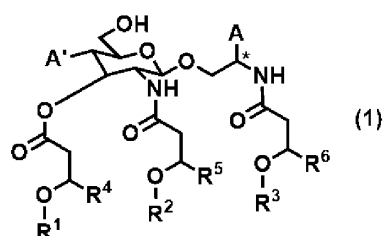
[0009] 発明者らは鋭意検討を行い、高いアジュバント活性を有する TLR4 アゴニストの探索を行った。その結果、側鎖脂肪酸の変換により糖骨格上にリン酸基を含まなくても、TLR4 作動活性を保持する化合物を見出した。更にそれらの化合物が優れたアジュバント活性を有することを見出し、本発明の完成に至った。本発明によれば、下記式(1)で表される TLR4 アゴニスト誘導体(以下、「本発明の化合物」と称することもある)が提供される。

[0010] すなわち、本発明は、以下の通りである。

[0011] [項1]

式(1)：

[化1]



[式中、

A 及び A' は各々独立して、水素、ヒドロキシ又は $-(CH_2)_m-COOH$ を表し、ただし、A 又は A' の少なくとも 1 つは $-(CH_2)_m-COOH$ を表し、

R^1 は $-C(O)(CH_2)_n-X$ 又は $-CH_2-(CH_2)_n-X$ を表し、

R^2 は $-C(O)(CH_2)_o-Y$ 又は $-CH_2-(CH_2)_o-Y$ を表し、

R^3 は $-C(O)(CH_2)_p-Z$ 又は $-CH_2-(CH_2)_p-Z$ を表し、

X、Y、及び Z は各々独立して、メチル、 C_{6-10} アリール(該 C_{6-10} アリ

ールは、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、シアノ、及び C_{1-6} アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい)又は5～10員のヘテロアリアル(該5～10員のヘテロアリアルは、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、シアノ、及び C_{1-6} アルコキシから独立して選択される1～4個の置換基で置換されていてもよい)を表し、ただし、X、Y又はZのうち少なくとも一つは C_{6-10} アリアル(該 C_{6-10} アリアルは、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、シアノ、及び C_{1-6} アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい)又は5～10員のヘテロアリアル(該5～10員のヘテロアリアルは、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、シアノ、及び C_{1-6} アルコキシから独立して選択される1～4個の置換基で置換されていてもよい)を表し、

ここにおいて、Aが $-COOH$ であり*の立体化学がS配置のとき、Yはメチルを表し、

R^4 、 R^5 、及び R^6 は各々独立して、 C_{10-20} アルキルを表し、

mは各々独立して0～6の整数を表し、

n、o、及びpは各々独立して5～20の整数を表す]で示される化合物又はその製薬学的に許容される塩。

[0012] [項2]

mが0である、項1に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩。

[0013] [項3]

R^1 が $-C(O)(CH_2)_n-X$ であり、 R^2 が $-C(O)(CH_2)_o-Y$ であり、 R^3 が $-C(O)(CH_2)_p-Z$ である、項1又は2に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩。

[0014] [項4]

Aが $COOH$ である、項1～3のいずれか一項に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩。

[0015] [項5]

Aが $COOH$ であり、 A' がヒドロキシである、項1～4のいずれか一項

に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩。

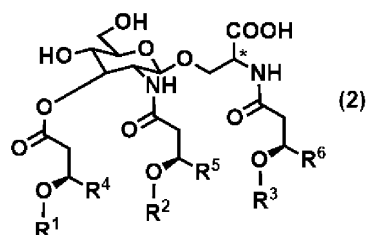
[0016] [項 6]

R^4 、 R^5 、及び R^6 が各々独立して、 C_{10-12} アルキルである、項 1～5 のいずれか一項に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩。

[0017] [項 7]

式 (2) :

[化2]



[式中、

R^1 は $-C(O)(CH_2)_n-X$ を表し、

R^2 は $-C(O)(CH_2)_o-Y$ を表し、

R^3 は $-C(O)(CH_2)_p-Z$ を表し、

X、Y、及びZは各々独立して、メチル、 C_{6-10} アリール又は5～10員のヘテロアリールを表し、ただし、X、Y、又はZのうち少なくとも一つは C_{6-10} アリール又は5～10員のヘテロアリールを表し、

ここにおいて、*の立体化学がS配置のとき、Yはメチルを表し、

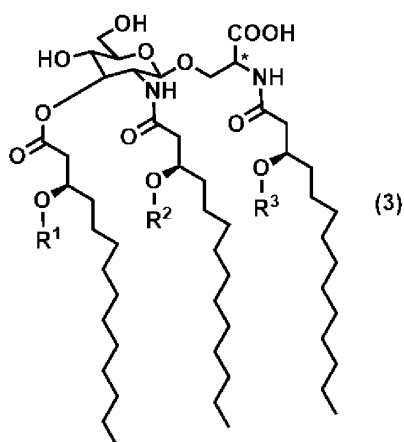
R^4 、 R^5 、及び R^6 が各々独立して、 C_{10-12} アルキルを表し、

n、o、及びpは各々独立して6～10の整数を表す]で示される、項 1 に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩。

[0018] [項 8]

式 (3) :

[化3]



[式中、

R^1 は $-C(O)(CH_2)_n-X$ を表し、

R^2 は $-C(O)(CH_2)_o-Y$ を表し、

R^3 は $-C(O)(CH_2)_p-Z$ を表し、

X、Y、及びZは各々独立して、メチル、 C_{6-10} アリール又は5～10員のヘテロアリールを表し、ただし、X、Y、又はZのうち少なくとも一つは C_{6-10} アリール又は5～10員のヘテロアリールを表し、

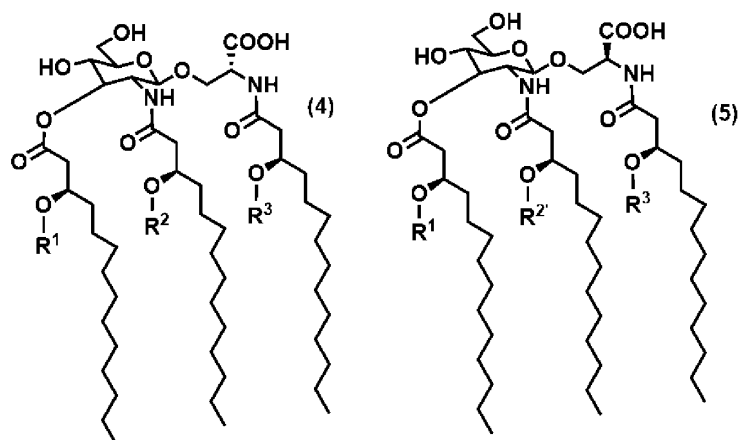
ここにおいて、*の立体化学がS配置のとき、Yはメチルを表し、

n、o、及びpは各々独立して6～10の整数を表す]で示される、項1に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩。

[0019] [項9]

式(4)又は式(5)：

[化4]



[式中、

R¹は-C(O)(CH₂)_n-Xを表し、R²は-C(O)(CH₂)_o-Yを表し、R³は-C(O)(CH₂)_p-Zを表し、R^{2'}は-C(O)(CH₂)_o-CH₃を表し、

X、Y、及びZは各々独立して、メチル、C₆₋₁₀アリール又は5～10員のヘテロアリールを表し、ただし、式(4)においては、X、Y、又はZのうち少なくとも一つはC₆₋₁₀アリール又は5～10員のヘテロアリールを表し、式(5)においては、X又はZの少なくとも一つはC₆₋₁₀アリール又は5～10員のヘテロアリールを表し、

n、o、及びpは各々独立して7～9の整数を表す]で示される、項1に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩。

[0020] [項10]

X、Y、及びZが各々独立して、メチル又はフェニルであり、ただし、X、Y、又はZのうち少なくとも1つはフェニルであり、ここにおいて、Aが-COOHであり*の立体化学がS配置のとき、Yはメチルを表す、項1～9のいずれか一項に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩。

[0021] [項11]

以下の化合物群から選択される、項1に記載の化合物又はその製薬学的に

許容される塩：

(2R) - 2 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル
] アミノ } - 3 - { [3 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデ
カノイル] アミノ } - 5 - ヒドロキシ - 6 - (ヒドロキシメチル) - 4 - (
 { (3R) - 3 - [(9-フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル
 } オキシ) オキサノ-2-イル] オキシ } プロパン酸 (実施例1)、

(2S) - 2 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル
] アミノ } - 3 - { [3 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデ
カノイル] アミノ } - 5 - ヒドロキシ - 6 - (ヒドロキシメチル) - 4 - (
 { (3R) - 3 - [(9-フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル
 } オキシ) オキサノ-2-イル] オキシ } プロパン酸 (実施例2)、

(2R) - 2 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル
] アミノ } - 3 - { [4 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデ
カノイル] オキシ } - 5 - ヒドロキシ - 6 - (ヒドロキシメチル) - 3 - (
 { (3R) - 3 - [(9-フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル
 } アミノ) オキサノ-2-イル] オキシ } プロパン酸 (実施例3)、

(2R) - 2 - ({ [(3R) - 3 - (9-フェニルノナノイル) オキシ
] テトラデカノイル } アミノ) - 3 - { [3 - { [(3R) - 3 - (デカノ
イロキシ) テトラデカノイル] アミノ } - 5 - ヒドロキシ - 6 - (ヒドロキ
シメチル) - 4 - ({ (3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル
 } オキシ) オキサノ-2-イル] オキシ } プロパン酸 (実施例4)、及び

(2S) - 2 - ({ [(3R) - 3 - (9-フェニルノナノイル) オキシ
] テトラデカノイル } アミノ) - 3 - { [3 - { [(3R) - 3 - (デカノ
イロキシ) テトラデカノイル] アミノ } - 5 - ヒドロキシ - 6 - (ヒドロキ
シメチル) - 4 - ({ (3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル
 } オキシ) オキサノ-2-イル] オキシ } プロパン酸 (実施例5)。

[0022] [項12]

項1～11のいずれか一項に記載の化合物又はその製薬学的に許容される

塩を含有する医薬組成物。

[0023] [項 1 3]

脂質製剤である、項 1 2 に記載の医薬組成物。

[0024] [項 1 4]

脂質製剤が、リン脂質を含むリポソーム製剤である、項 1 2 又は 1 3 に記載の医薬組成物。

[0025] [項 1 5]

リン脂質が、1, 2-ジミリスチル-*s n*-グリセロール-3-ホスホコリン及び卵黄ホスファチジルグリセロールである、項 1 4 に記載の医薬組成物。

[0026] [項 1 6]

無機酸、無機酸塩、有機酸、有機酸塩、糖類、緩衝剤、酸化防止剤、及びポリマー類からなる群から選択される 1 以上の添加物を含むリポソーム製剤である、項 1 4 または 1 5 に記載の医薬組成物。

[0027] [項 1 7]

更に抗原を含有する、項 1 2 ～ 1 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

[0028] [項 1 8]

抗原が、病原体由来抗原である、項 1 7 に記載の医薬組成物。

[0029] [項 1 9]

項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩を含む、ワクチンアジュバント。

[0030] [項 2 0]

感染症ワクチンのアジュバントである、項 1 9 に記載のワクチンアジュバント。

[0031] [項 2 1]

病原体由来抗原と併用される、項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の化合物又はその製薬学的に許容される塩を含む、感染症の治療または予防剤。

[0032] [項 2 2]

ワクチンアジュバントとして用いられる、項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の化合物またはその製薬学的に許容される塩。

[0033] [項 2 3]

項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の化合物またはその薬学上許容される塩を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物における抗原に対する特異的免疫応答を増強する方法。

[0034] [項 2 4]

項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載の化合物もしくはその薬学上許容される塩の、ワクチンアジュバントを製造するための使用。

[0035] [項 2 5]

a) 項 1 の式 (1) で示される化合物又はその薬学上許容し得る塩、もしくは式 (1) で示される化合物又はその薬学上許容し得る塩を含有する医薬組成物；および

b) 抗原を含有する医薬組成物を含有するキット。

[0036] [項 2 6]

抗原が、病原体由来抗原である、項 2 5 に記載のキット。

発明の効果

[0037] 本発明の化合物は、側鎖脂肪酸の変換により、糖骨格上にリン酸基を導入することなく、TLR4 作動活性を有する化合物であり、高いアジュバント活性を有する化合物である。糖骨格上にリン酸基を含まないことから、保存時の安定性が高く、またリン酸基の導入工程を省略できることから製造コストを抑えることができ、ワクチンアジュバントとして非常に有用である。

図面の簡単な説明

[0038] [図1]図 1 は、試験例 3 で、実施例 6 および実施例 7 の製剤を筋肉内投与したマウスにおける、免疫マウス血清中のOVA特異的IgG2cをELISAにて測定した結果を示すグラフである。縦軸は、血清中OVA特異的IgG2cの抗体価を示す。横軸は投与したサンプル（括弧内は投与した用量）を示す。1：陰性対照投与

群（リン酸緩衝生理食塩水）、2：実施例6投与群（実施例1の化合物10 μ g/マウス）、3：実施例6投与群（実施例1の化合物100 μ g/マウス）、4：実施例7投与群（実施例2の化合物10 μ g/マウス）、5：実施例7投与群（実施例2の化合物100 μ g/マウス）。

[図2]図2は、試験例3で、参考例16および実施例6の製剤を筋肉内投与したマウスにおける、免疫マウス血清中のOVA特異的IgG2cをELISAにて測定した結果を示すグラフである。縦軸は、血清中OVA特異的IgG2cの抗体価を示す。横軸は投与したサンプル（括弧内は投与した用量）を示す。1：陰性対照投与群（リン酸緩衝生理食塩水）、2：参考例16投与群（参考例9の化合物10 μ g/マウス）、3：参考例16投与群（参考例9の化合物100 μ g/マウス）、4：実施例6投与群（実施例1の化合物10 μ g/マウス）、5：実施例6投与群（実施例1の化合物100 μ g/マウス）

[図3]図3は、試験例4で実施した評価の結果で、実施例6および実施例7の製剤を筋肉内投与したマウスの脾臓細胞における、1型ヘルパーT細胞の割合を示すグラフである。横軸は図1と同じである。

[図4]図4は、試験例4で実施した評価の結果で、参考例16および実施例6の製剤を筋肉内投与したマウスの脾臓細胞における、1型ヘルパーT細胞の割合を示すグラフである。横軸は図2と同じである。

[図5]図5は、試験例4で実施した評価の結果で、実施例6および実施例7の製剤を筋肉内投与したマウスの脾臓細胞における、OVAテトラマー陽性CD8T細胞の割合を示すグラフである。横軸は図1と同じである。

[図6]図6は、試験例4で実施した評価の結果で、参考例16および実施例6の製剤を筋肉内投与したマウスの脾臓細胞における、OVAテトラマー陽性CD8T細胞の割合を示すグラフである。横軸は図2と同じである。

[図7]図7は、試験例4で実施した評価の結果で、実施例6および実施例7の製剤を筋肉内投与したマウスの脾臓細胞における、エフェクターメモリーCD8T細胞の割合を示すグラフである。横軸は図1と同じである。

[図8]図8は、試験例4で実施した評価の結果で、参考例16および実施例6

の製剤を筋肉内投与したマウスの脾臓細胞における、エフェクターメモリーCD8T細胞の割合を示すグラフである。横軸は図2と同じである。

発明を実施するための形態

- [0039] 本明細書における用語について以下に説明する。
- [0040] 本明細書において、「置換されてもよい」もしくは「置換されている」で定義される基における置換基の数は、置換可能であれば特に制限はない。また、特に指示した場合を除き、各々の基の説明はその基が他の基の一部分又は置換基である場合にも該当する。
- [0041] 本明細書において、「ハロゲン」としては、例えば、フッ素、塩素、臭素、又はヨウ素が挙げられる。好ましくはフッ素、又は塩素であり、さらに好ましくは、フッ素である。
- [0042] 「C₁₋₆アルキル」とは、炭素原子数が1～6の直鎖状又は分枝鎖状の飽和炭化水素基を意味する。好ましくは「C₁₋₄アルキル」が挙げられ、更に好ましくは「C₁₋₃アルキル」が挙げられる。「C₁₋₆アルキル」の具体例として、例えば、メチル、エチル、プロピル、1-メチルエチル、ブチル、2-メチルプロピル、1-メチルプロピル、1, 1-ジメチルエチル、ペンチル、3-メチルブチル、2-メチルブチル、2, 2-ジメチルプロピル、1-エチルプロピル、1, 1-ジメチルプロピル、ヘキシル、4-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2-メチルペンチル、1-メチルペンチルが挙げられ、「C₁₋₄アルキル」の具体例としては、「C₁₋₆アルキル」の具体例における炭素原子数が1～4の例示が挙げられる。「C₁₋₃アルキル」の具体例としては、「C₁₋₆アルキル」の具体例における炭素原子数が1～3の例示が挙げられる。
- [0043] 「C₁₋₆アルコキシ」とは「C₁₋₆アルキルオキシ」を意味し、「C₁₋₆アルキル」部分は、前記「C₁₋₆アルキル」と同義である。「C₁₋₆アルコキシ」としては、好ましくは、「C₁₋₄アルコキシ」が挙げられ、更に好ましくは、「C₁₋₃アルコキシ」が挙げられる。「C₁₋₆アルコキシ」の具体例としては、例えば、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、1-メチルエトキシ、ブト

キシ、2-メチルプロポキシ、1-メチルプロポキシ、1, 1-ジメチルエトキシ、ペンチロキシ、3-メチルブトキシ、2-メチルブトキシ、2, 2-ジメチルプロポキシ、1-エチルプロポキシ、1, 1-ジメチルプロポキシ、ヘキシロキシ、4-メチルペンチロキシ、3-メチルペンチロキシ、2-メチルペンチロキシ、1-メチルペンチロキシ、3, 3-ジメチルブトキシ、2, 2-ジメチルブトキシ、1, 1-ジメチルブトキシ又は1, 2-ジメチルブトキシ等が挙げられ、「C₁₋₄アルコキシ」の具体例としては、「C₁₋₆アルコキシ」の具体例における炭素原子数が1~4の例示が挙げられる。「C₁₋₃アルコキシ」の具体例としては、「C₁₋₆アルコキシ」の具体例における炭素原子数が1~3の例示が挙げられる。

[0044] 「C₁₀₋₂₀アルキル」とは、炭素原子数が10~20の直鎖状又は分枝鎖状の飽和炭化水素基を意味する。好ましくは「C₁₀₋₁₅アルキル」が挙げられ、更に好ましくは「C₁₀₋₁₂アルキル」が挙げられる。更により好ましくは直鎖状の「C₁₀₋₁₂アルキル」が挙げられる。直鎖状の「C₁₀₋₂₀アルキル」の具体例として、例えば、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、ヘプタデシル、オクタデシル、ノナデシル、エイコシルが挙げられ、「C₁₀₋₁₅アルキル」の具体例としては、「C₁₀₋₂₀アルキル」の具体例における炭素原子数が10~15の例示が挙げられる。「C₁₀₋₁₂アルキル」の具体例としては、「C₁₀₋₂₀アルキル」の具体例における炭素原子数が10~12の例示が挙げられる。

[0045] 「C₆₋₁₀アリール」とは、炭素原子数が6~10の芳香族炭化水素を意味する。「C₆₋₁₀アリール」の具体例としては、例えば、フェニル、1-ナフチル又は2-ナフチル等が挙げられる。より好ましくはフェニルが挙げられる。

[0046] 「5~10員のヘテロアリール」としては、窒素原子、酸素原子及び硫黄原子からなる群から独立して選ばれる1から4個の原子を含む、単環の5~7員の芳香族複素環基及び2環の8~10員の芳香族複素環基が挙げられる。「5~10員のヘテロアリール」として好ましくは、「5~7員のヘテロ

アリール」であり、より好ましくは、環内に1つ以上の窒素原子を有する5～7員の芳香族複素環（「5～7員の含窒素ヘテロアリール」）が挙げられる。

「5～10員のヘテロアリール」として具体的には、ピリジル、ピリダジニル、イソチアゾリル、ピロリル、フリル、チエニル、チアゾリル、イミダゾリル、ピリミジニル、チアジアゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、ピラジニル、トリアジニル、トリアゾリル、イミダゾリジニル、オキサジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、インドリル、インダゾリル、キノリル、イソキノリル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンズイソオキサゾリル、ベンズイソチアゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンズイミダゾリル、又は6, 11-ジヒドロジベンゾ[b, e]チエピニル等が挙げられる。好ましくは、ピリジル、ピリミジニル、キノリル、及びイソキノリルであり、さらに好ましくは、ピリジルである。

「5～7員のヘテロアリール」の具体的としては、上記「5～10員のヘテロアリール」の具体例における単環の例示が挙げられる。「5～7員の含窒素ヘテロアリール」の具体例としては、上記「5～10員のヘテロアリール」の具体例における、含窒素単環の例示が挙げられる。

[0047] 本発明における C_{6-10} アリールは、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、シアノ、及び C_{1-6} アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい。5～10員のヘテロアリールは、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、シアノ、及び C_{1-6} アルコキシから独立して選択される1～4個の置換基で置換されていてもよい。 C_{6-10} アリール及び5～10員のヘテロアリール上に置換されていてもよい置換基の数として、好ましくは1～3個であり、更に好ましくは1～2個であり、更により好ましくは1個である。

[0048] 式(1)～(5)で表される本発明の化合物の中でも、A、A'、 R^1 、 R^2 、 $R^{2'}$ 、 R^3 、X、Y、Z、 R^4 、 R^5 、 R^6 、m、n、o、pで、好ましい

ものは以下のとおりであるが、本発明の技術的範囲は下記に挙げる化合物の範囲に限定されるものではない。

- [0049] Aとして好ましくは、水素、ヒドロキシ又は $-(CH_2)_m-COOH$ が挙げられる。Aとしてより好ましくは $-(CH_2)_m-COOH$ が挙げられ、更に好ましくは $-COOH$ が挙げられる。
- [0050] A'として好ましくは、水素、ヒドロキシ又は $-(CH_2)_m-COOH$ が挙げられる。A'としてより好ましくはヒドロキシが挙げられる。
- [0051] AおよびA'の組み合わせとして好ましくは、A又はA'の少なくとも1つが $-(CH_2)_m-COOH$ である組み合わせが挙げられる。AおよびA'の組み合わせとしてより好ましくは、Aが $-(CH_2)_m-COOH$ であり、A'がヒドロキシである組み合わせが挙げられる。AおよびA'の組み合わせとして更に好ましくは、Aが $-COOH$ であり、A'がヒドロキシである組み合わせが挙げられる。
- [0052] R¹として好ましくは $-C(O)(CH_2)_n-X$ 又は $-CH_2-(CH_2)_n-X$ が挙げられる。R¹としてより好ましくは $-C(O)(CH_2)_n-X$ が挙げられる。
- [0053] R²として好ましくは $-C(O)(CH_2)_o-Y$ 又は $-CH_2-(CH_2)_o-Y$ が挙げられる。R²としてより好ましくは $-C(O)(CH_2)_o-Y$ が挙げられる。
- [0054] R^{2'}として好ましくは $-C(O)(CH_2)_o-CH_3$ が挙げられる。
- [0055] R³として好ましくは $-C(O)(CH_2)_p-Z$ 又は $-CH_2-(CH_2)_p-Z$ が挙げられる。R³としてより好ましくは $-C(O)(CH_2)_p-Z$ が挙げられる。
- [0056] Xとして好ましくはメチル、C₆₋₁₀アリール（該C₆₋₁₀アリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい）、又は5～10員のヘテロアリール（該5～10員のヘテロアリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される

1～4個の置換基で置換されていてもよい)が挙げられる。Xとしてより好ましくは、メチルまたはC₆₋₁₀アリールが挙げられ、更に好ましくは、メチルまたはフェニルが挙げられ、更により好ましくはフェニルが挙げられる。

[0057] Yとして好ましくはメチル、C₆₋₁₀アリール(該C₆₋₁₀アリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい)、又は5～10員のヘテロアリール(該5～10員のヘテロアリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～4個の置換基で置換されていてもよい)が挙げられる。Yとしてより好ましくは、メチルまたはC₆₋₁₀アリールが挙げられ、更に好ましくは、メチルまたはフェニルが挙げられ、更により好ましくはメチルが挙げられる。

[0058] Zとして好ましくはメチル、C₆₋₁₀アリール(該C₆₋₁₀アリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい)、又は5～10員のヘテロアリール(該5～10員のヘテロアリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～4個の置換基で置換されていてもよい)が挙げられる。Zとしてより好ましくは、メチルまたはC₆₋₁₀アリールが挙げられ、更に好ましくは、メチルまたはフェニルが挙げられ、更により好ましくは、メチルが挙げられる。

[0059] X、Y、およびZの組み合わせとして好ましくは、X、Y又はZのうち少なくとも一つがC₆₋₁₀アリール(該C₆₋₁₀アリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい)又は5～10員のヘテロアリール(該5～10員のヘテロアリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～4個の置換基で置換されていてもよい)であり、ただし、Aが-COOHであり*の立体化学がS配置のとき、Yがメチルを表し、X又はZの少なくとも一つがC₆₋₁₀アリール(該C₆₋₁₀のアリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン

、シアノ、及び C_{1-6} アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい)又は5～10員のヘテロアリール(該5～10員のヘテロアリールは、ヒドロキシ、 C_{1-6} アルキル、ハロゲン、シアノ、及び C_{1-6} アルコキシから独立して選択される1～4個の置換基で置換されていてもよい)である組み合わせが挙げられる。

X、Y、およびZの組み合わせとしてより好ましくは、X、Y又はZのうち少なくとも一つが C_{6-10} アリール又は5～10員のヘテロアリールであり、ただし、Aが-COOHであり*の立体化学がS配置のとき、Yがメチルを表し、X又はZの少なくとも一つが C_{6-10} アリール又は5～10員のヘテロアリールである組み合わせが挙げられる。

X、Y、およびZの組み合わせとして更に好ましくは、X、Y又はZのうち少なくとも一つがフェニルであり、ただし、Aが-COOHであり*の立体化学がS配置のとき、Yがメチルを表し、X又はZの少なくとも一つがフェニルである組み合わせが挙げられる。

X、Y、およびZの組み合わせとして更に好ましくは、Xがフェニルであり、YおよびZがメチルである組み合わせが挙げられる。

[0060] R^4 、 R^5 、及び R^6 として好ましくは、各々独立して、 C_{10-20} アルキルが挙げられ、より好ましくは、 C_{10-15} アルキルが挙げられ、更に好ましくは、 C_{10-12} アルキルが挙げられ、更に好ましくは、 C_{11} アルキルが挙げられる。

[0061] mとして好ましくは、0～6の整数が挙げられ、より好ましくは、0～1の整数が挙げられ、更に好ましくは、0が挙げられる。

[0062] n、o及びpとして好ましくは、各々独立して5～20の整数が挙げられ、より好ましくは、6～10の整数が挙げられ、更に好ましくは、7～9が挙げられ、更に好ましくは、8が挙げられる。

[0063] 式(1)で表される化合物において、好ましい化合物の態様としては、以下のような化合物又はその製薬学的に許容される塩が挙げられる。

[0064] 式(1)で表される化合物の一つの態様としては、以下の(A)が挙げら

れる。

(A)

Aが、水素、ヒドロキシ又は $-(CH_2)_m-COOH$ であり；

A'が、水素、ヒドロキシ又は $-(CH_2)_m-COOH$ であり；

ただし、AまたはA'の少なくとも一方は $-(CH_2)_m-COOH$ であり；

R¹が、 $-C(O)(CH_2)_n-X$ 、又は $-CH_2-(CH_2)_n-X$ であり；

R²が、 $-C(O)(CH_2)_o-Y$ 、又は $-CH_2-(CH_2)_o-Y$ であり；

R³が、 $-C(O)(CH_2)_p-Z$ 、又は $-CH_2-(CH_2)_p-Z$ であり；

X、Y、及びZが、各々独立して、メチル、C₆₋₁₀アリール（該C₆₋₁₀アリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい）、又は5～10員のヘテロアリール（該5～10員のヘテロアリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、C₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～4個の置換基で置換されていてもよい）であり；

ただし、X、Y又はZのうち少なくとも一つはC₆₋₁₀アリール（該C₆₋₁₀アリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～5個の置換基で置換されていてもよい）又は5～10員のヘテロアリール（該5～10員のヘテロアリールは、ヒドロキシ、C₁₋₆アルキル、ハロゲン、シアノ、及びC₁₋₆アルコキシから独立して選択される1～4個の置換基で置換されていてもよい）であり、ここにおいて、Aが $-COOH$ であり*の立体化学がS配置のとき、Yはメチルを表し；

R⁴、R⁵、またはR⁶が、各々独立して、C₁₀₋₂₀アルキルであり；

mが各々独立して、0～6の整数であり；

n、o及びpが、各々独立して、5～20の整数である、

化合物または製薬学的に許容される塩。

[0065] 式(1)で表される化合物の一つの態様としては、以下の(B)が挙げられる。

(B)

A が、 $-\text{COOH}$ であり；

A' がヒドロキシであり；

R¹が、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ であり；

R²が、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_o-\text{Y}$ であり；

R³が、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_p-\text{Z}$ であり；

X、Y、及びZが、各々独立して、メチル、C₆₋₁₀アリール、又は5～10員のヘテロアリールであり；

ただし、X、Y又はZのうち少なくとも一つはC₆₋₁₀アリール、又は5～10員のヘテロアリールであり、ここにおいて、*の立体化学がS配置のとき、Yはメチルを表し；

R⁴、R⁵、またはR⁶が、各々独立して、C₁₀₋₁₂のアルキルであり；

n、o及びpが、各々独立して、6～10の整数である、

化合物または製薬学的に許容される塩。

[0066] 式(1)で表される化合物の一つの態様としては、以下の(C)が挙げられる。

(C)

A が、 $-\text{COOH}$ であり；

A' がヒドロキシであり；

R¹が、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ であり；

R²が、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_o-\text{Y}$ であり；

R³が、 $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_p-\text{Z}$ であり；

X、Y、及びZが、各々独立して、メチル、C₆₋₁₀アリール、又は5～10員のヘテロアリールであり；

ただし、X、Y又はZのうち少なくとも一つはC₆₋₁₀アリール、又は5～10員のヘテロアリールであり、ここにおいて、*の立体化学がS配置のとき、Yはメチルを表し；

R⁴、R⁵、またはR⁶が、各々独立して、ウンデシルであり；

n、o及びpが、各々独立して、6～10の整数である、
化合物または製薬学的に許容される塩。

[0067] 式(1)で表される化合物の一つの態様としては、以下の(D)が挙げられる。

(D)

Aが、-COOHであり；

A'がヒドロキシであり；

R¹が、-C(O)(CH₂)_n-Xであり；

R²が、-C(O)(CH₂)_o-Yであり；

R³が、-C(O)(CH₂)_p-Zであり；

X、Y、及びZが、各々独立して、メチル、C₆₋₁₀のアリール、又は5～10員のヘテロアリールであり；

ただし、X、Y又はZのうち少なくとも一つはC₆₋₁₀アリール、又は5～10員のヘテロアリールであり、ここにおいて、*の立体化学がS配置のとき、Yはメチルを表し；

R⁴、R⁵、またはR⁶が、各々独立して、ウンデシルであり；

n、o及びpが、各々独立して、7～9の整数である、
化合物または製薬学的に許容される塩。

[0068] 式(1)で表される化合物の一つの態様としては、以下の化合物群またはその製薬学的に許容される塩が挙げられる。

(2R)-2-{[(3R)-3-(デカノイロキシ)テトラデカノイル]アミノ}-3-{[3-{[(3R)-3-(デカノイロキシ)テトラデカノイル]アミノ}-5-ヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)-4-{(3R)-3-[(9-フェニルノナノイル)オキシ]テトラデカノイル}オキシ]オキサン-2-イル]オキシ}プロパン酸(実施例1)；

(2S)-2-{[(3R)-3-(デカノイロキシ)テトラデカノイル]アミノ}-3-{[3-{[(3R)-3-(デカノイロキシ)テトラデカノイル]アミノ}-5-ヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)-4-(

{ (3R) - 3 - [(9-フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル } オキシ) オキサノ-2-イル] オキシ} プロパン酸 (実施例2) ;

(2R) - 2 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ } - 3 - { [4 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] オキシ } - 5 - ヒドロキシ - 6 - (ヒドロキシメチル) - 3 - ({ (3R) - 3 - [(9-フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル } アミノ) オキサノ-2-イル] オキシ} プロパン酸 (実施例3) ;

(2R) - 2 - ({ [(3R) - 3 - (9-フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル } アミノ) - 3 - { [3 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ } - 5 - ヒドロキシ - 6 - (ヒドロキシメチル) - 4 - ({ (3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル } オキシ) オキサノ-2-イル] オキシ} プロパン酸 (実施例4) ; 及び

(2S) - 2 - ({ [(3R) - 3 - (9-フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル } アミノ) - 3 - { [3 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ } - 5 - ヒドロキシ - 6 - (ヒドロキシメチル) - 4 - ({ (3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル } オキシ) オキサノ-2-イル] オキシ} プロパン酸 (実施例5) 。

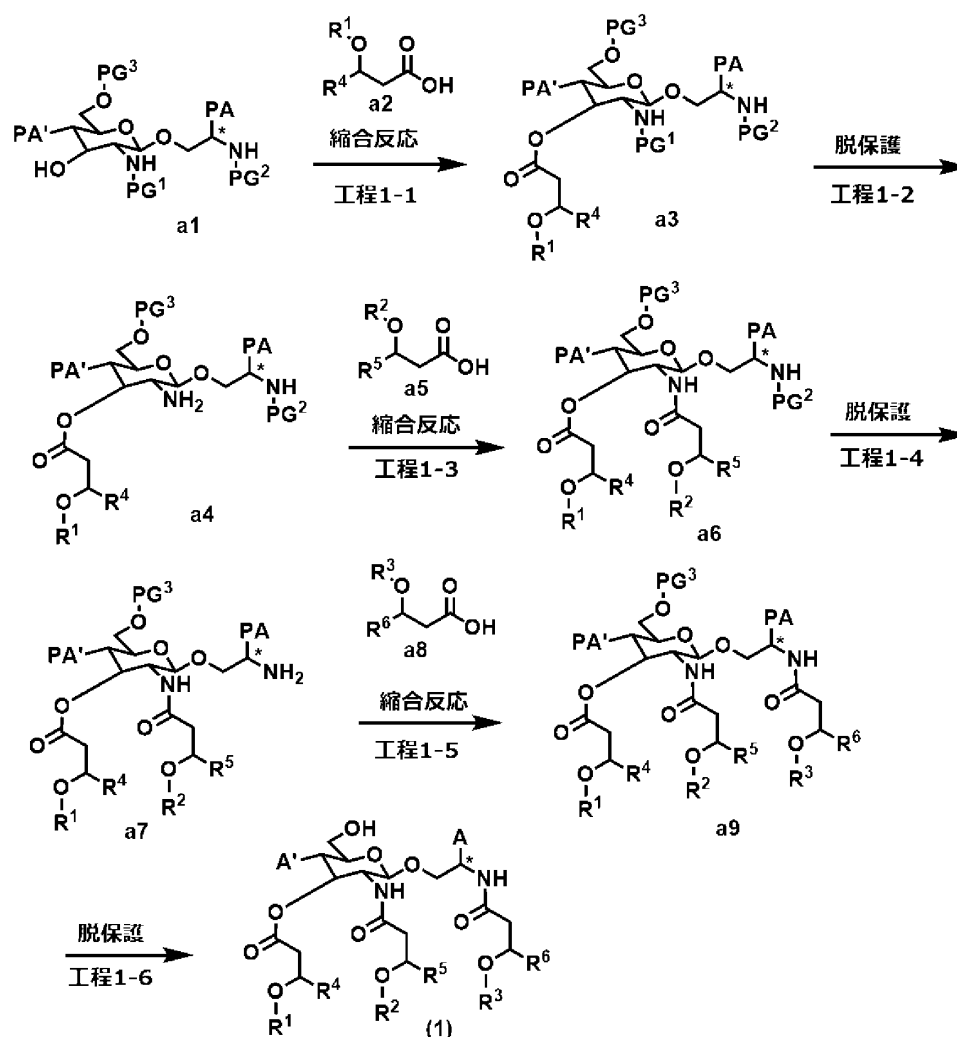
[0069] 本発明の化合物の製造方法について以下に述べるが、本発明の化合物の製造法はこれらに限定されるものではない。

式(1)で表される本発明の化合物は、例えば、下記の製造法1～3により製造することができる。

[0070] 製造法1

式(1)で表される化合物は、例えば下記の製法により製造することができる。

[化5]



(式中、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、A、A'、mは、項1と同義であり、PA及びPA'は、各々独立して、水素、ヒドロキシ、O-PG⁴又は(CH₂)_m-C(O)O-PG⁵を表し、PG¹及びPG²は、各々独立して、アミノ基の保護基を表し、PG³及びPG⁴は、各々独立して、水酸基の保護基、PG⁵はカルボン酸の保護基を表す。)

[0071] 上記PG¹、PG²、PG³、PG⁴、またはPG⁵で表される保護基としては、Protective Groups in Organic Synthesis (Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts著、John Wiley & Sons, Inc.発行、1999年)に記載の保護基を使

用できる。化合物 a 1 は、例えば、WO 98 / 5 0 3 9 9 等に記載されている方法により製造できる。化合物 a 2、a 5、a 8 は後述する製造法 2 及び 3 によって製造できる。

[0072] (工程 1 - 1)

化合物 a 3 は、化合物 a 1 に、適切な縮合剤存在下、適切な溶媒中、化合物 a 2 を反応させることにより製造される。縮合剤としては後記に例示される試薬等から適宜選択されるが、好ましくはカルボジイミド類、より好ましくは 1 - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] - 3 - エチルカルボジイミドメチオジドが挙げられる。好ましくは縮合反応の促進剤として N, N - ジメチル - 4 - アミノピリジン (DMA P) 又は 4 - ピロリジノピリジンと共に用いられる。使用される溶媒は、後記に例示される溶媒等から適宜選択されるが、好ましくはクロロホルム、ジクロロメタンが挙げられる。反応時間は、通常、5 分 ~ 4 8 時間であり、好ましくは 1 時間 ~ 2 4 時間である。反応温度は、通常、- 7 8 °C ~ 1 0 0 °C、好ましくは、0 °C ~ 5 0 °C である。

[0073] (工程 1 - 2)

化合物 a 4 は、化合物 a 3 のアミノの保護基 P G¹ を脱保護することにより製造される。本工程は Protective Groups in Organic Synthesis (Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts 著、John Wiley & Sons, Inc. 発行、1999 年) に記載されている方法等に準じて行うことができる。

[0074] (工程 1 - 3)

化合物 a 6 は、化合物 a 4 に適切な縮合剤存在下、適切な溶媒中、化合物 a 5 を反応させることにより製造される。縮合剤としては後記に例示される試薬等から適宜選択されるが、好ましくは 1 - エトキシカルボニル - 2 - エトキシ - 1, 2 - ジヒドロキノリンが挙げられる。使用される溶媒は、後記に例示される溶媒等から適宜選択されるが、好ましくはクロロホルム、ジクロロメタンが挙げられる。反応時間は、通常、5 分 ~ 4 8 時間であり、好ましくは 1 時間 ~ 2 4 時間である。反応温度は、通常、- 7 8 °C ~ 1 0 0 °C、好ましくは、0 °C ~ 5 0 °C である。

[0075] (工程 1 - 4)

化合物 a 7 は、化合物 a 6 のアミノの保護基 PG^2 を脱保護することにより製造される。本工程は Protective Groups in Organic Synthesis (Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts 著、John Wiley & Sons, Inc. 発行、1999 年) に記載されている方法等に準じて行うことができる。

[0076] (工程 1 - 5)

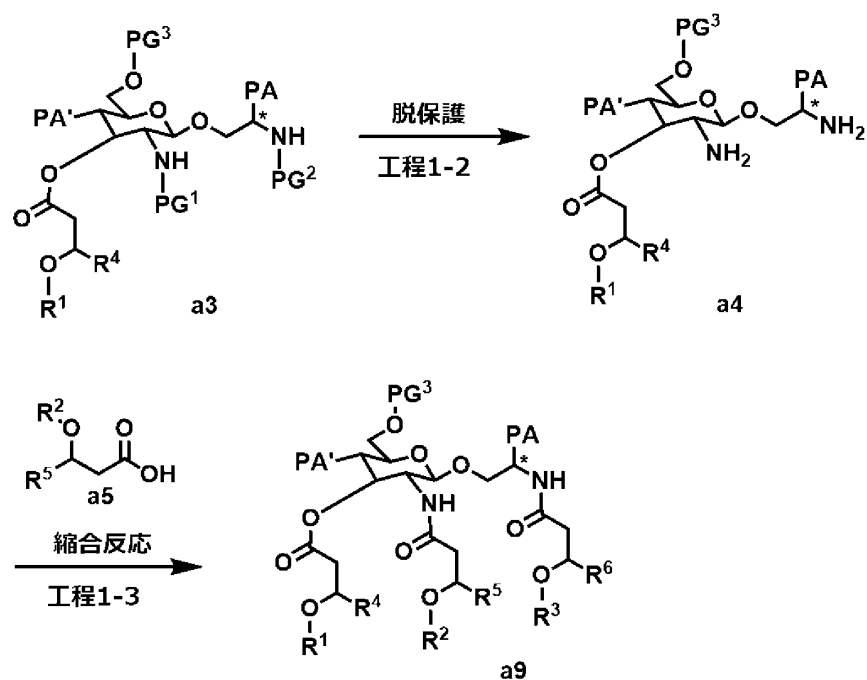
化合物 a 9 は、上記記載の工程 1 - 3 に準じた方法で化合物 a 7 に化合物 a 8 を反応させることにより製造される。

[0077] (工程 1 - 6)

式 (1) で表される化合物は化合物 a 9 の保護基 PG^3 を、 PA 及び PA' に $O-PG^4$ 及び／又は $C(O)OPG^5$ を含む場合は、更に PG^4 及び／又は PG^5 を脱保護することにより製造される。本工程は Protective Groups in Organic Synthesis (Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts 著、John Wiley & Sons, Inc. 発行、1999 年) に記載されている方法等に準じて行うことができる。

[0078] 上記の工程において化合物 a 2、a 5、a 8 との縮合は置換基に応じて同時に行ってもよく、順序を入れ替えてもよい。例えば、 R^2 と R^3 が同一であり、 R^5 と R^6 が同一である場合は、 PG^1 と PG^2 に同一の保護基を用いることができ、下記に示すように工程 1 - 2、工程 1 - 3 の 2 工程によって化合物 a 3 から化合物 a 9 を製造することができる。

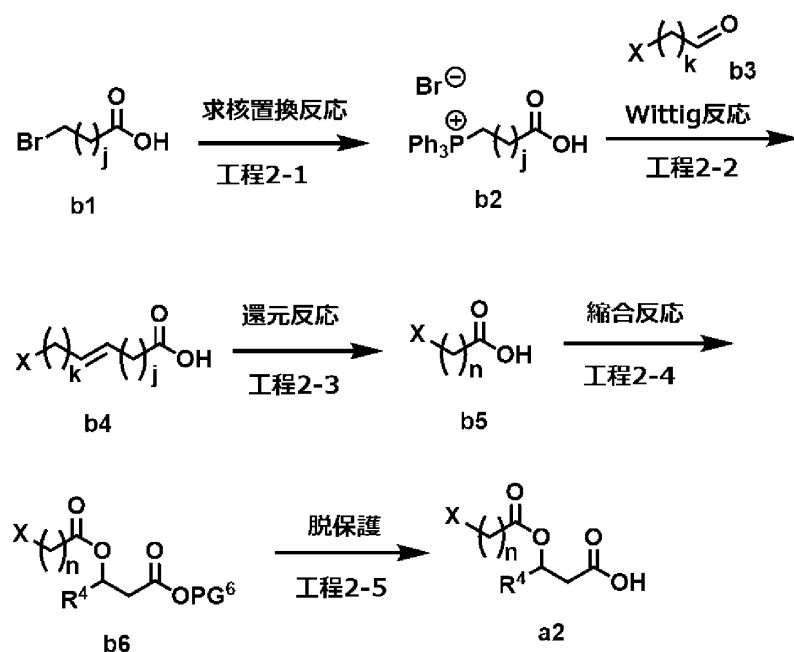
[化6]



[0079] 製造法 2

製造法 1 に記載される化合物 a 2 は、式 (1) の化合物において R^1 が $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ である場合、例えば下記の製法により製造することができる。 R^2 が $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_o-\text{Y}$ である場合の化合物 a 5、 R^3 が $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_p-\text{Z}$ である場合の化合物 a 8 についても同様の製法で製造可能である。

[化7]



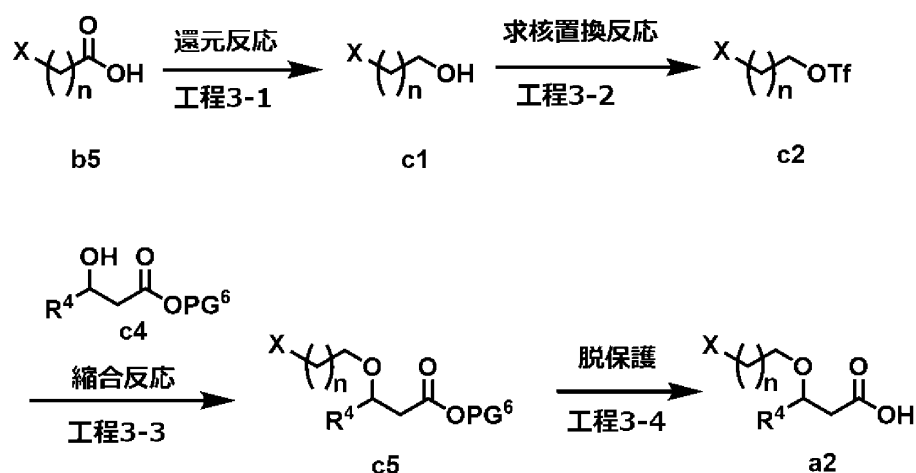
(式中X、R⁴、nは項1と同義であり、jは0～18の整数であり、kはn－j－2であり、PG⁶はカルボン酸の保護基を表す。)

[0080] 工程2－1～工程2－3については、例えばUS2008/0188566に記載の製造法に準じた方法である。また工程2－4および工程2－5については、例えばWO2004/062599に記載の製造法に準じた方法である。

[0081] 製造法3

製造法1に記載される化合物a2は式(1)の化合物においてR¹が－CH₂－(CH₂)_n－Xである場合、例えば下記の製法により製造することができる。R²が－CH₂(CH₂)_o－Yである場合の化合物a5、R³が－CH₂(CH₂)_p－Zである場合の化合物a8についても同様の製法で製造可能である。

[化8]



(式中X、R⁴、nは項1と同義であり、PG⁶はカルボン酸の保護基を表す)

[0082] 工程3-1については、カルボン酸のアルコールへの還元反応であり、例えば実験化学講座第五版14巻p11～p16（日本化学会編、2005年）に記載される方法に準じて製造できる。また工程3-2～工程3-4については、例えばWO01/36433に記載される製造法に準じた方法である。

[0083] 化合物a2は、Bioorg Med Chem Lett, 2015 Feb 1;25(3):547-53.に記載の方法でも製造できる。

[0084] 上記の各製造法の各工程において使用される塩基は、反応や原料化合物の種類等によって適時選択されるべきであるが、例えば重炭酸ナトリウム、重炭酸カリウムのような重炭酸アルカリ類、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムのような炭酸アルカリ類、水素化ナトリウム、水素化カリウムのような金属水素化類、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムのようなアルカリ金属水酸化物、ナトリウムメトキシド、ナトリウムt-ブトキシドのようなアルカリ金属アルコキシド類、ブチルリチウム、リチウムジイソプロピルアミドのような有機金属塩基類、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（DMAP）、1,8-ジアザビシクロ[5

、 4. 0] - 7 - ウンデセン (DBU) のような有機塩基類が挙げられる。

[0085] 上記の各製造法の各工程において使用される縮合剤は、原料化合物の種類等によって適時選択されるべきであるが、例えばシアノリン酸ジエチル、ジフェニルホスホリルアジド等のリン酸エステル類；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 (WSC · HCl)、ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、1 - [3 - (ジメチルアミノ)プロピル] - 3 - エチルカルボジイミドメチオジド等のカルボジイミド類；2, 2' - ジピリジルジスルフィド等のジスルフィド類とトリフェニルホスフィンのようなホスフィン類の組み合わせ；N, N' - ビス (2 - オキソ - 3 - オキサゾリジニル) ホスフィニッククロリド (BOPCl) 等のリンハライド類；アゾジカルボン酸ジエチル等のアゾジカルボン酸ジエステルとトリフェニルホスフィン等のホスフィンの組み合わせ；2 - クロロ - 1 - メチルピリジニウムヨーダイド等の2 - ハロ - 1 - 低級アルキルピリジニウムハライド類；1, 1' - カルボニルジイミダゾール (CDI)；1 - エトキシカルボニル - 2 - エトキシ - 1, 2 - ジヒドロキノリン (EEDQ)；ジフェニルホスホリルアジド (DPPA)；ジエチルホスホリルシアニド (DEPC)；2 - (1H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1, 1, 3, 3 - テトラメチルウロニウム テトラフルオロボレート (TBTU)、2 - クロロ - 1, 3 - ジメチルイミダゾリジニウム テトラフルオロボレート (CIB) 等のテトラフルオロボレート類；2 - (1H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1, 1, 3, 3 - テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロホスフェート (HBTU)、ベンゾトリアゾール - 1 - イルオキシトリス (ジメチルアミノ) ホスホニウム ヘキサフルオロホスフェート (BOP)、ベンゾトリアゾール - 1 - イルオキシトリス (ピロリジノ) ホスホニウム ヘキサフルオロホスフェート (PYBOP)、2 - (7 - アザ - 1H - ベンゾトリアゾール - 1 - イル) - 1, 1, 3, 3 - テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロホスフェート (HATU) 等のホスフェート類等が挙げられる。

[0086] 上記の各製造法の各工程において使用される溶媒は、反応や原料化合物の

種類等によって適時選択されるべきであるが、例えばメタノール、エタノール、イソプロパノールのようなアルコール類、アセトン、メチルケトンのようなケトン類、塩化メチレン、クロロホルムのようなハロゲン化炭化水素類、テトラヒドロフラン（THF）、ジオキサンのようなエーテル類、トルエン、ベンゼンのような芳香族炭化水素類、ヘキサン、ヘプタンのような脂肪族炭化水素類、酢酸エチル、酢酸プロピルのようなエステル類、N，N-ジメチルホルムアミド（DMF）、N-メチル-2-ピロリドンのようなアミド類、ジメチルスルホキシド（DMSO）のようなスルホキシド類、アセトニトリルのようなニトリル類が挙げられ、これらの溶媒は単独又は2種類以上混合して用いることができる。また反応の種類によっては、有機塩基類または有機酸類を溶媒として用いてもよい。

[0087] また、上記製造方法における中間体又は最終生成物は、その官能基を適宜変換すること、また特に、アミノ基、水酸基、カルボニル基、ハロゲン基等から種々の側鎖を伸張すること、及び、その際に必要に応じて上記の保護、脱保護を行うことによって、本発明に含まれる別の化合物へ導く事もできる。官能基の変換及び側鎖の伸張は、通常行われる一般的方法（例えば、Comprehensive Organic Transformations, R. C. Larock, John Wiley & Sons Inc. (1999) 等を参照）によって行うことができる。

[0088] 「製薬学的に許容される塩」としては、酸付加塩及び塩基付加塩が挙げられる。例えば、酸付加塩としては、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、又はクエン酸塩、シュウ酸塩、フタル酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、リンゴ酸塩、酢酸塩、ギ酸塩、プロピオン酸塩、安息香酸塩、トリフルオロ酢酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、para-トルエンスルホン酸塩、カンファースルホン酸塩等の有機酸塩が挙げられ、塩基付加塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、バリウム塩、アルミニウム塩等の無機塩基塩、又はトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、2，6-ピリジン、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、トロメタミン〔トリス（ヒドロキシメチル）メチルアミン〕、*tert*-ブチルアミン、シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N-ジベンジルエチルアミン等の有機塩基塩が挙げられ、さらにはアルギニン、リジン、オルニチン、アスパラギン酸、又はグルタミン酸などの塩基性又は酸性アミノ酸といったアミノ酸塩が挙げられる。

出発化合物及び目的化合物の好適な塩及び医薬として許容しうる塩は、慣用の無毒性塩であり、それらとしては、有機酸塩（例えば酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ギ酸塩又は*para*-トルエンスルホン酸塩など）及び無機酸塩（例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩又はリン酸塩など）のような酸付加塩、アミノ酸（例えばアルギニン、アスパラギン酸又はグルタミン酸など）との塩、アルカリ金属塩（例えばナトリウム塩又はカリウム塩など）及びアルカリ土類金属塩（例えばカルシウム塩又はマグネシウム塩など）などの金属塩、アンモニウム塩、又は有機塩基塩（例えばトリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ピリジン塩、ピコリン塩、ジシクロヘキシルアミン塩又はN, N'-ジベンジリエチレンジアミン塩など）などの他、当業者が適宜選択することができる。

[0089] 本発明化合物の塩を取得したいとき、本発明化合物が塩の形で得られる場合には、そのまま精製すればよく、また、遊離の形で得られる場合には、適当な有機溶媒に溶解もしくは懸濁させ、酸又は塩基を加えて通常の方法により塩を形成させればよい。

また、本発明化合物及びその製薬学的に許容される塩は、水あるいは各種溶媒との溶媒和物の形で存在することもあるが、これらの付加物も本発明に包含される。

[0090] 塩を形成させる温度としては、 -50°C から溶媒の沸点までの範囲、好ましくは 0°C から溶媒の沸点までの範囲、より好ましくは室温から溶媒の沸点までの範囲から選択される。光学純度を向上させるためには、一旦、溶媒の沸点付近まで温度を上げることが望ましい。析出した塩を濾取する際、必要

に応じて冷却し、収率を向上させることができる。光学活性な酸又はアミンの使用量は、基質に対し約0.5～約2.0当量の範囲、好ましくは1当量前後の範囲が適当である。必要に応じ結晶を不活性溶媒中（例えばメタノール、エタノール、2-プロパノール等のアルコール系溶媒、ジエチルエーテル等のエーテル系溶媒、酢酸エチル等のエステル系溶媒、トルエン等の炭化水素系溶媒、アセトニトリル等の非プロトン系溶媒、又は上記溶媒から選択される2種以上の混合溶媒）で再結晶し、高純度の光学活性な塩を得ることもできる。また、必要に応じて光学分割した塩を通常の方法で酸又は塩基で処理し、フリー体として得ることもできる。

[0091] また、式（1）で表される化合物のいずれか1つ又は2つ以上のHを ^2H （D）に変換した重水素変換体も式（1）で表される化合物に包含される。

[0092] また、本発明には、式（1）で表される化合物、又はその製薬学的に許容される塩が含まれる。また、これらの水和物又はエタノール溶媒和物等の溶媒和物も含まれる。さらに、本発明には、本発明化合物（1）のあらゆる互変異性体、存在するあらゆる立体異性体、及びあらゆる様態の結晶形のものも含まれる。

[0093] 本発明化合物（1）の中には、光学活性中心に基づく光学異性体、分子内回転の束縛により生じた軸性又は面性キラリティーに基づくアトロプ異性体、その他の立体異性体、互変異性体、及び幾何異性体などが存在し得るものがあるが、これらを含め、全ての可能な異性体及びそれらの混合物は本発明の範囲に包含される。

[0094] 本発明化合物の光学異性体の混合物は通常の方法に従って製造することができる。製造方法としては例えば、不斉点を有する原料を用いる方法か、又は途中の段階で不斉を導入する方法が挙げられる。例えば、光学異性体の場合、光学活性な原料を用いるか、製造工程の適当な段階で光学分割などを行うことで、光学異性体を得ることができる。光学分割法としては例えば、式（1）で表される化合物又はその中間体が、塩基性官能基を有する場合には、不活性溶媒中（例えばメタノール、エタノール、2-プロパノール等のア

ルコール系溶媒、ジエチルエーテル等のエーテル系溶媒、酢酸エチル等のエステル系溶媒、トルエン等の炭化水素系溶媒、アセトニトリル等の非プロトン系溶媒、又は上記溶媒から選択される2種以上の混合溶媒)、光学活性な酸(例えば、マンデル酸、N-ベンジルオキシアラニン、乳酸等のモノカルボン酸、酒石酸、 α -ジイソプロピリデン酒石酸、リンゴ酸等のジカルボン酸、カンファースルホン酸、ブロモカンファースルホン酸等のスルホン酸)を用いて塩を形成させるジアステレオマー法が挙げられる。式(1)で表される本発明化合物又はその中間体が、カルボキシル基などの酸性官能基を有する場合には、光学活性なアミン(例えば1-フェニルエチルアミン、キニン、キニジン、シンコニジン、シンコニン、ストリキニーネ等の有機アミン)を用いて、塩を形成させることにより、光学分割を行うこともできる。

[0095] 式(1)で表される本発明化合物又はその中間体は、当業者に公知の方法で分離、精製することができる。例えば、抽出、分配、再沈殿、カラムクロマトグラフィー(例えば、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、イオン交換カラムクロマトグラフィーもしくは分取液体クロマトグラフィー)又は再結晶などが挙げられる。

再結晶溶媒としては例えば、メタノール、エタノールもしくは2-プロパノールなどのアルコール系溶媒、ジエチルエーテルなどのエーテル系溶媒、酢酸エチルなどのエステル系溶媒、ベンゼンもしくはトルエンなどの芳香族炭化水素系溶媒、アセトンなどのケトン系溶媒、ジクロロメタンもしくはクロロホルムなどのハロゲン系溶媒、ヘキサンなどの炭化水素系溶媒、ジメチルホルムアミドもしくはアセトニトリルなどの非プロトン系溶媒、水、又はこれらの混合溶媒などを用いることができる。その他の精製方法としては、実験化学講座(日本化学会編、丸善)1巻などに記載された方法などを用いることができる。また、本発明化合物の分子構造の決定は、それぞれの原料化合物に由来する構造を参照して、核磁気共鳴法、赤外吸収法、円二色性スペクトル分析法などの分光学的手法、及び質量分析法により容易に行える。

[0096] 以上説明した各々の製造法における原料、中間体のうち、特にあらためて

その製造法を記載しなかったものについては、市販化合物であるか、又は市販化合物から当業者に公知の方法、もしくはそれに準じた方法によって合成することができる。

[0097] 本発明は、ワクチンアジュバント、好ましくは感染症ワクチンのワクチンアジュバントとして有用な、上に定義した式（１）で示される化合物又はその製薬学的に許容される塩を提供する。

[0098] 本発明はまた、製薬学的に許容し得る希釈剤又は担体を組み合わせて、上に定義した式（１）で示される化合物又はその製薬学的に許容される塩を含む医薬組成物（以下、本発明の医薬組成物という）を提供する。

[0099] 本発明の化合物又はその製薬学的に許容される塩は、免疫賦活活性を有する有効成分の免疫賦活活性を維持もしくは増強するためのアジュバントとして用いることができる。

すなわち、本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、抗原特異的抗体、詳しくは抗原特異的 I g G、さらに詳しくは T h 1 型抗原特異的 I g G（例えば I g G 2 c）を誘導又は亢進する活性を有する。

また、本発明の化合物又はその製薬学的に許容される塩は、細胞傷害性 T 細胞（C T L）を増加させる活性を有する。または、本発明の化合物又はその製薬学的に許容される塩は、哺乳動物における C T L を誘導する活性、もしくは哺乳動物における C T L 誘導を増強する活性を有する。

また、本発明の化合物又はその製薬学的に許容される塩は、C D 4 陽性（すなわち、M H C c l a s s I I 拘束性）及び／又は C D 8 陽性（すなわち、M H C C l a s s I 拘束性）T 細胞を増加させる活性を有する。

また、本発明の化合物又はその製薬学的に許容される塩は、抗原特異的な T 細胞を増加させる活性を有する。

また、本発明の化合物又はその製薬学的に許容される塩は、メモリー T 細胞、詳しくは C D 8 陽性エフェクターメモリー T 細胞を増加させる活性を有する。

また、本発明の化合物又はその製薬学的に許容される塩は、哺乳動物に投

与した場合、CTLを増加させる作用が、同モル数のリン酸構造を含むTLR4アゴニスト活性を有するアジュバント化合物を投与した場合と同程度であるという特徴を有する。

また、本発明の化合物またはその製薬学的に許容される塩は、免疫担当細胞を活性化させる活性を有する。

[0100] 本発明の医薬組成物は抗原を含有し得、その抗原としては腫瘍抗原または病原体由来抗原が挙げられる。当該腫瘍抗原としては、例えば腫瘍抗原タンパク質、又は当該腫瘍抗原タンパク質由来の部分ペプチド等が挙げられ、さらにこれらの抗原と担体との複合体等も本明細書における抗原の範疇に含まれる。また、当該病原体由来抗原としては、例えばウイルスもしくは細菌等の病原体抗原タンパク質、又は当該病原体抗原タンパク質由来の部分ペプチド等が挙げられ、さらにこれらの抗原と担体との複合体等も本明細書における抗原の範疇に含まれる。このような複合体としては、抗原（タンパク質、ペプチドが挙げられるがこれらに限定されない）が担体となるタンパク質と当業者に周知のリンカーを介して化学的に架橋されたもの、抗原がウイルス様粒子（Virus-like Particle；VLP）に含まれるもの等が挙げられる。従って、本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、前記抗原と組合せて用いることで、ウイルスまたは細菌等の感染症、もしくは癌の治療又は予防のための薬剤として有用である。また、本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、前記抗原と組合せて用いることで、ウイルスまたは細菌等の感染症、もしくは癌の治療又は予防効果を増強するアジュバントとして有用である。

[0101] 本発明の医薬組成物の投与経路としては、例えば非経口投与、具体的には、血管内（例えば静脈内）、皮下、皮内、筋肉内、経鼻、リンパ節、経皮投与が挙げられる。

[0102] 一態様において、本発明の医薬組成物は、式（1）で表される化合物又はその薬学上許容される塩及び薬学上許容される希釈剤もしくは担体を含有し得る。

[0103] 本発明の医薬組成物の形態としては、液剤等が挙げられる。

[0104] 本発明の液剤としては、水性溶液製剤もしくは水性懸濁液剤、油性溶液製剤もしくは油性懸濁液剤、脂質製剤、又はエマルション製剤等が挙げられる。

水性溶液製剤もしくは水性懸濁液剤としては、例えば抗原（腫瘍抗原または病原体由来抗原）、及び／又は式（１）で表される化合物又はその薬学上許容される塩を、水に溶解又は分散させた製剤が挙げられる。

油性溶液製剤もしくは油性懸濁液剤としては、例えば抗原（腫瘍抗原または病原体由来抗原）、及び／又は式（１）で表される化合物又はその薬学上許容される塩を、油性成分に溶解又は分散させた製剤が挙げられる。

脂質製剤としては、例えば抗原（腫瘍抗原または病原体由来抗原）、及び／又は式（１）で表される化合物又はその薬学上許容される塩を含有するリポソーム製剤が挙げられる。

エマルション製剤としては、例えば抗原（腫瘍抗原または病原体由来抗原）、及び／又は式（１）で表される化合物又はその薬学上許容される塩を含有する水性の溶液及び油状組成物を含む製剤が挙げられる。

本発明の水性溶液製剤もしくは水性懸濁液剤に使用される添加剤としては、例えば精製水、注射用水、緩衝剤、pH調節剤、安定化剤、等張化剤、可溶化剤又は溶解補助剤等が挙げられる。

本発明の油性溶液製剤もしくは油性懸濁液剤に使用される添加剤としては、例えば緩衝剤、pH調節剤、安定化剤、等張化剤、動植物性油脂、炭化水素類、脂肪酸、脂肪酸エステル類、可溶化剤又は溶解補助剤等が挙げられる。

[0105] 本発明のエマルション製剤としては、水中油型エマルション（O/Wエマルションとも記載する）、油中水型エマルション（W/Oエマルションとも記載する）、水中油中水型エマルション（W/O/Wエマルションとも記載する）又は油中水中油型エマルション（O/W/Oエマルションとも記載する）を用いることができる。本発明のエマルション製剤として好ましくは油

中水型エマルション（W／Oエマルション）または水中油型エマルション（O／Wエマルション）が挙げられる。より好ましくは水中油型エマルション（O／Wエマルション）が挙げられる。

本発明の油中水型エマルション製剤は、公知の方法により水相及び油相を乳化して製造することができる。本発明の油中水型エマルション製剤において、抗原（腫瘍抗原または病原体由来抗原）、及び／又は式（１）で表される化合物又はその薬学上許容される塩は、エマルション中の油相及び水相のいずれか一方又はその両方に含有しうる。

[0106] 本発明の水中油型エマルション製剤は、公知の方法により水相及び油相を乳化して製造することができる。本発明の水中油型エマルション製剤において、抗原（腫瘍抗原または病原体由来抗原）、及び／又は式（１）で表される化合物又はその薬学上許容される塩は、エマルション中の油相及び水相のいずれか一方又はその両方に含有しうる。

[0107] 本発明のリポソーム製剤において、リポソームとは、両親媒性脂質分子の二分子膜（脂質二重層）などの脂質多重層からなる内相を有する微小胞を意味する。ここで脂質多重層は好ましくは脂質二重層である。

[0108] 本発明のリポソーム製剤としては、両親媒性脂質分子を含む。両親媒性脂質分子本発明のリポソーム製剤として、好ましくは１種以上の「リン脂質」を含む。「リン脂質」としては、例えば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、ホスファチジリエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリンなどが挙げられる。「リン脂質」として好ましくは、ホスファチジルコリン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジリエタノールアミン、スフィンゴミエリン、ホスファチジルセリンが挙げられる。「リン脂質」としてより好ましくは、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロールが挙げられる。

[0109] 本発明の化合物を内封するリポソームは、ステロール類を含むことができる。ステロール類としては、コレステロール、 β -シトステロール、スチグ

マステロール、カンペステロール、ブラシカステロール、エルゴステロール、及びフコステロール等が挙げられる。ステロール類として好ましくは、コレステロールが挙げられる。

[0110] 本発明の化合物を内封するリポソームは、医薬的に許容される添加物を含むことができる。添加物として、例えば、無機酸、無機酸塩、有機酸、有機酸塩、糖類、緩衝剤、抗酸化剤、及びポリマー類が挙げられる。無機酸としては、例えば、リン酸、塩酸、及び硫酸が挙げられる。無機酸塩としては、例えば、リン酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム、硫酸アンモニウム、及び硫酸マグネシウムが挙げられる。有機酸としては、例えば、クエン酸、酢酸、コハク酸、及び酒石酸が挙げられる。有機酸塩としては、例えば、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、コハク酸二ナトリウム、及び酒石酸ナトリウムが挙げられる。糖類としては、例えば、グルコース、スクロース、マンニトール、ソルビトール、及びトレハロースが挙げられる。緩衝剤としては、例えば、L-アルギニン、L-ヒスチジン、トロメタモール（トリスヒドロキシメチルアミノメタン、T r i s）及びそれらの塩が挙げられる。抗酸化剤としては、例えば、亜硫酸ナトリウム、L-システイン、チオグリコール酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、アスコルビン酸、及びトコフェロールが挙げられる。ポリマー類としては、例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、及びカルボキシメチルセルロースナトリウムが挙げられる。

[0111] 本明細書に記載の式（１）で表される化合物またはその製薬学的に許容される塩、もしくは本発明の医薬組成物は、上記の病原体由来抗原に加えてさらに他の薬物と組み合わせて用いることができる。

[0112] 本発明の医薬組成物は、他の添加剤を更に含んでもよく、当該添加剤としては、例えば、界面活性剤、抗酸化剤、保存剤、無痛化剤等が挙げられる。

[0113] 式（１）の化合物又はその薬学上許容される塩は、抗原物質（免疫原）と同時又は時間差で投与することができ、その投与量は、温血動物に対し、通

常、約0.1 ng/kg～100 mg/kgの範囲の単位用量であり、これは通常、ワクチンアジュバントとして有効な用量をもたらす。注射剤のような単位投与形態は、通常、例えば1 ng～250 mgの活性成分を含有する。好ましくは、1日あたり1 ng～50 mg/kgの範囲の投与量で用いられる。但し、この1日あたりの用量は、処置を受ける宿主、具体的な投与経路および処置される疾患の重症度によって変更する必要もある。したがって、至適用量は、個別の患者もしくは温血動物を処置する施術者が決定することもできる。

[0114] 本明細書において用いられる「治療」は、疾患の症状のいずれか、幾つか又はすべてを全体的に又は部分的に緩和すること、又は病態の進行を阻止もしくは遅延させることを含む意味で用いられる。

[0115] 本明細書において用いられる「予防」は、疾患の一次予防（疾患の発症を防ぐ）又は二次予防（疾患の発症後、症状が緩和された患者又は病気が治癒した患者に対して再発を防ぐ、再発防止）を含む意味で用いられる。また、感染症において、病原体（細菌、真菌、原虫、ウイルス等）への感染段階と発症段階がある場合は、病原体への感染の予防および感染後の発症の予防の両方の意味を含む。さらに、本明細書において用いられる「予防」は、ヒトから媒介体となる他の生物へ病原体の伝搬を防ぐ意味も含む。

[0116] 本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、in vitroもしくはin vivoで免疫アジュバント活性を有するため、ワクチンアジュバントとして、腫瘍抗原または病原体由来抗原の免疫原性（immunogenicity）を維持もしくは増強させるために有用である。

[0117] 本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、in vitroもしくはin vivoで細胞性免疫のアジュバント活性を有するため、ワクチンアジュバントとして、腫瘍抗原または病原体由来抗原の免疫原性（immunogenicity）を維持もしくは増強させるために有用である。

[0118] 本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、疾患の治療薬もしくは予防剤である免疫賦活物質（免疫刺激物質）、すなわち腫瘍抗原または病原体

由来抗原特異的免疫反応を誘導する物質の作用を維持もしくは向上させるために用いることができる。

本発明の化合物もしくはその薬学上許容される塩、及び腫瘍特異的免疫反応を増強させる物質（腫瘍由来抗原ともいう）または病原体特異的免疫反応を増強させる物質（病原体由来抗原ともいう）を含む医薬組成物も、本発明の一態様である。当該腫瘍抗原または病原体由来抗原としては、特に限定はないが、腫瘍由来抗原タンパク質、病原体由来抗原タンパク質、該腫瘍由来抗原タンパク質に由来する腫瘍由来抗原ペプチド、又は該病原体由来抗原タンパク質に由来する病原体由来抗原ペプチド（部分ペプチド）、さらにこれらと担体との複合体が挙げられる。

[0119] 本発明の特定の実施形態では、本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、感染症の予防のための病原体由来抗原タンパク質又は病原体由来抗原ペプチドと組合せて投与することにより、感染症を治療もしくは予防することができる。また、本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、感染症の治療もしくは予防のための病原体由来抗原タンパク質又は病原体由来抗原ペプチドと組合せて投与することにより、感染症の治療もしくは予防効果を高めることができる。感染症としては、特に限定はないが、例えば、生殖器疣、尋常性疣贅、足底疣贅、B型肝炎、C型肝炎、単純ヘルペスウイルス、伝染性軟属腫、天然痘、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、ヒトパピローマウイルス（HPV）、RSウイルス、ノロウイルス、サイトメガロウイルス（CMV）、水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）、ライノウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス、インフルエンザ、パラインフルエンザなどのウイルス疾患；結核、マイコバクテリウムアビウム、ハンセン病などの細菌性疾患；真菌症、クラミジア、カンジダ、アスペルギルス、クリプトコッカス髄膜炎、ニューモシスチス・カリニ、クリプトスポリジウム症、ヒストプラズマ症、トキソプラズマ症、マラリア、トリパノソーマ感染およびリーシュマニア症等の感染を予防することができる。感染症予防ワクチンの有効成分としては、特に限定はないが、感染症の原因となる細菌、真菌、原虫、ウイル

ス等の微生物・病原体由来の物質が挙げられ、例えば、抗原タンパク質、当該タンパク質由来の抗原ペプチド（部分ペプチド）、多糖、脂質、及びそれらの組合せ等、又は前記微生物・病原体由来の物質及び担体の組合せが挙げられる。

[0120] ウイルス抗原に由来するウイルス抗原ペプチドとしては、特に限定はないが、例えば、インフルエンザマトリックスプロテインペプチド58-66 (Jager E et al., Int. J. Cancer 67:54(1996))、HPV16 E7ペプチド86-93 (van Dr iel WJ et al., Eur. J. Cancer 35:946(1999))、HPV E7ペプチド12-20 (Sc heibenbogen C et al., J. Immunother 23:275(2000))、HPV16 E7ペプチド11-20 (Smith JWI et al., J. Clin. Oncol. 21:1562(2003))、HSV2 gD (Ber man PW et al., Science 227:1490(1985))、CMV gB (Frey SE et al., Infect Dis. 180:1700(1999), Gonczol E. et al., Exp. Opin. Biol. Ther. 1:401(2001)), CMV pp65 (Rosa CL et al., Blood 100:3681(2002), Gonczol E. et al., Exp. Opin. Biol. Ther. 1:401(2001)) 等が挙げられる。

[0121] 本発明の特定の実施形態では、本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、癌免疫療法のための腫瘍抗原タンパク質又は腫瘍抗原ペプチドと組合せて投与することにより、癌を治療もしくは予防することができる。また、本発明の化合物又はその薬学上許容される塩は、癌免疫療法のための腫瘍抗原タンパク質又は腫瘍抗原ペプチドと組合せて投与することにより、癌の治療もしくは予防効果を高めることができる。癌としては、例えば、白血病、骨髓異形成症候群、多発性骨髓腫、悪性リンパ腫、胃癌、大腸癌、肺癌、乳癌、胚細胞癌、肝癌、皮膚癌、膀胱癌、前立腺癌、子宮癌、子宮頸癌、卵巣癌、脳腫瘍、骨癌、脾癌、頭頸部癌、皮膚または眼窩内悪性メラノーマ、直腸癌、肛門部癌、精巣癌、卵管のカルシノーマ、子宮内膜カルシノーマ、子宮頸部カルシノーマ、膣カルシノーマ、外陰部カルシノーマ、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、食道癌、小腸癌、内分泌系癌、甲状腺癌、副甲状腺癌、副腎癌、柔組織肉腫、尿道癌、陰茎癌、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病を含む慢性または急

性白血病、小児固形癌、リンパ球性リンパ腫、腎臓または尿管の癌、腎盂カルシノーマ、中枢神経系（CNS）腫瘍、原発性CNSリンパ腫、腫瘍新脈管形成、脊椎腫瘍、脳幹グリオーム、下垂体アデノーマ、カポシ肉腫、扁平上皮癌、扁平細胞癌、T細胞リンパ腫、多型性膠芽腫、悪性黒色腫、非小細胞肺癌、腎細胞癌およびアスベスト誘発癌等が挙げられる。ここで癌の治療もしくは予防には、転移性疾患および腫瘍再発防止、並びに腫瘍随伴症候群の予防および治療が含まれる。

[0122] 本発明において用いられる担体とは、抗原タンパク質もしくは抗原ペプチドを化学的及び／又は物理的に結合させる物質であり、タンパク質や脂質等が挙げられ、特に限定はないが、例えば、CRM197 (Vaccine, 2013 Oct 1;31(42):4827-33)、KLH (Cancer Immunol Immunother, 2003 Oct;52(10):608-16)、ウイルス様粒子 (PLoS ONE 5(3): e9809) やリポソーム (J Liposome Res, 2004;14(3-4):175-89) が挙げられる。

[0123] 抗原タンパク質は、Molecular Cloning 2nd Edt., Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989)等の基本書に従って、抗原タンパク質をコードするcDNAをクローニングし宿主細胞で発現させることにより調製することができる。

[0124] 抗原ペプチドの合成については、通常のペプチド化学において用いられる方法に準じて行うことができる。該合成方法としては、文献（ペプチド・シンセシス (Peptide Synthesis), Interscience, New York, 1966; ザ・プロテインズ (The Proteins), Vol. 2, Academic Press Inc., New York, 1976) などに記載されている方法が挙げられる。

[0125] 本発明の一態様として、以下を含有するキットを提供する：

a) 式（１）で示される化合物、又はその薬学上許容し得る塩、もしくは式（１）で示される化合物又はその薬学上許容し得る塩を含有する医薬組成物；

b) 腫瘍由来抗原または病原体由来抗原を含有する医薬組成物。

本発明の一態様として、以下を含有するキットを提供する：

a) 式（１）で示される化合物、又はその薬学上許容し得る塩、もしくは式

(1) で示される化合物又はその薬学上許容し得る塩を含有する医薬組成物
;

b) 病原体由来抗原を含有する医薬組成物。

ここで、抗原としては、ワクチンの有効成分として用いられ得る抗原であれば特に限定はないが、上述の抗原タンパク質又は該抗原タンパク質に由来する抗原ペプチド（部分ペプチド）等、さらにこれらと担体との複合体等が挙げられる。

[0126] 本発明の一態様として、ワクチンワクチンアジュバントの製造のための式(1)で示される化合物、又はその薬学上許容し得る塩の使用を提供する。

また、本発明の一態様として、感染症の処置のためのワクチンの製造における、ワクチンアジュバントとしての、上で定義した式(1)で示される化合物、又はその薬学上許容し得る塩の使用を提供する。

[0127] さらに、本発明の一態様として、上で定義した式(1)で示される化合物、又はその薬学上許容し得る塩を、腫瘍由来抗原または病原体由来抗原とともに患者に投与する工程を含む、がんまたは感染症の治療、進行防止又は予防方法を提供する。

また、本発明の一態様として、上で定義した式(1)で示される化合物、又はその薬学上許容し得る塩を、病原体由来抗原とともに患者に投与する工程を含む、感染症の治療、進行防止又は予防方法を提供する。

実施例

[0128] 以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によりなんら限定されるものではない。

[0129] T r o c : 2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル基

T B S : t e r t -ブチルジメチルシリル基

B n : ベンジル基

F m o c : 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル

D B U : ジアザビシクロウンデセン

B o c : t e r t -ブトキシカルボニル

A l k o : p-アルコキシベンジルアルコール

P E G : ポリエチレングリコール

t B u : t e r t-ブチル

H B T U : O- (ベンゾトリアゾール-1-イル) -N, N, N', N' -
テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート

D I P E A : N, N-ジイソプロピルエチルアミン

D M F : N, N-ジメチルホルムアミド

T F A : トリフルオロ酢酸

T I S : トリイソプロピルシラン

T H F : テトラヒドロフラン

T B D P S : t e r t-ブチルジフェニルシリル基

[0130] 高速液体クロマト質量分析 (L C M S) の測定条件は、以下の通りである。
。

L C M S 条件 A

MS 検出器 : L C M S - I T - T O F

H P L C : S h i m a d z u N e x e r a X 2 L C 3 0 A D

カラム : K i n e t e x 1. 7 μ C 1 8 1 0 0 A N e w c o l u
m n 5 0 × 2. 1 m m

流速 : 1. 2 m l / m i n

測定波長 : 2 5 4 / 2 2 0 n m

移動相 : A 液 ; 0. 1 % ギ酸水溶液

B 液 ; アセトニトリル

タイムプログラム :

ステップ 時間 (分)

1 0. 0 1 - 1. 4 0 A 液 : B 液 = 9 0 : 1 0 ~ 5 : 9 5

2 1. 4 0 - 1. 6 0 A 液 : B 液 = 5 : 9 5

3 1. 6 1 - 2. 0 0 A 液 : B 液 = 9 9 : 1

[0131] L C M S 条件 B

MS検出器：ACQUITY（登録商標）SQ detector（Waters社）

HPLC：ACQUITY（登録商標）system

カラム：Waters ACQUITY UPLC（登録商標）BEH C18（1.7 μ m, 2.1 mm $\times$ 30 mm）

流速：0.8 ml/min

測定波長：254/220 nm

移動相：A液：0.06%ギ酸/アセトニトリル

B液：0.06%ギ酸水溶液

タイムプログラム：0.0–1.30 A液：B液=2:98~96:4

カラム温度：25℃

[0132] LCMS条件C

MS検出器：LCMS-IT-TOF

HPLC：Shimadzu Nexera X2 LC 30AD

カラム：なし

流速：1.2 ml/min

測定波長：254/220 nm

移動相：A液；0.1%ギ酸水溶液

B液；アセトニトリル

タイムプログラム：

ステップ 時間（分）

1 0.01–1.40 A液：B液=90:10~5:95

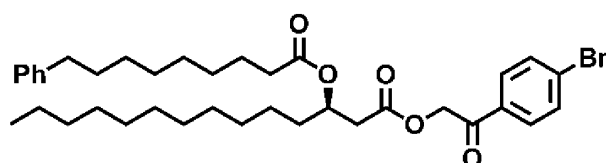
2 1.40–1.60 A液：B液=5:95

3 1.61–2.00 A液：B液=99:1

[0133] 参考例1

2-（4-ブロモフェニル）-2-オキソエチル（3R）-3-〔（9-フェニルノナノイル）オキシ〕テトラデカノエート

[化9]



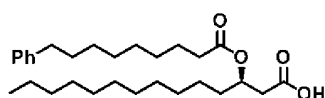
9-フェニルノナン酸 (398 mg) のクロロホルム (5 mL) 溶液に二塩化オキサリル (0.15 mL) と DMF 1 滴を加え室温で3時間攪拌した。その後、公知化合物である2-(4-ブロモフェニル)-2-オキソエチル (3R)-3-ヒドロキシテトラデカノエート (500 mg) とピリジン (2 mL) を加え、室温にて18時間攪拌した。反応溶液を水/酢酸エチルで抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒; ヘキサン: 酢酸エチル) で精製し掲題の化合物 (676 mg) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.73 (2H, dt, $J = 9.0, 2.1$ Hz), 7.60 (2H, dt, $J = 9.0, 2.1$ Hz), 7.27-7.22 (2H, m), 7.17-7.12 (3H, m), 5.29-5.23 (3H, m), 2.77-2.66 (2H, m), 2.57 (2H, t, $J = 7.9$ Hz), 2.28 (2H, t, $J = 7.9$ Hz), 1.70-1.50 (6H, m), 1.35-1.20 (26H, m), 0.86 (3H, dd, $J = 7.9, 5.5$ Hz).

[0134] 参考例2

(3R)-3-[(9-フェニルノナノイル)オキシ]テトラデカン酸

[化10]



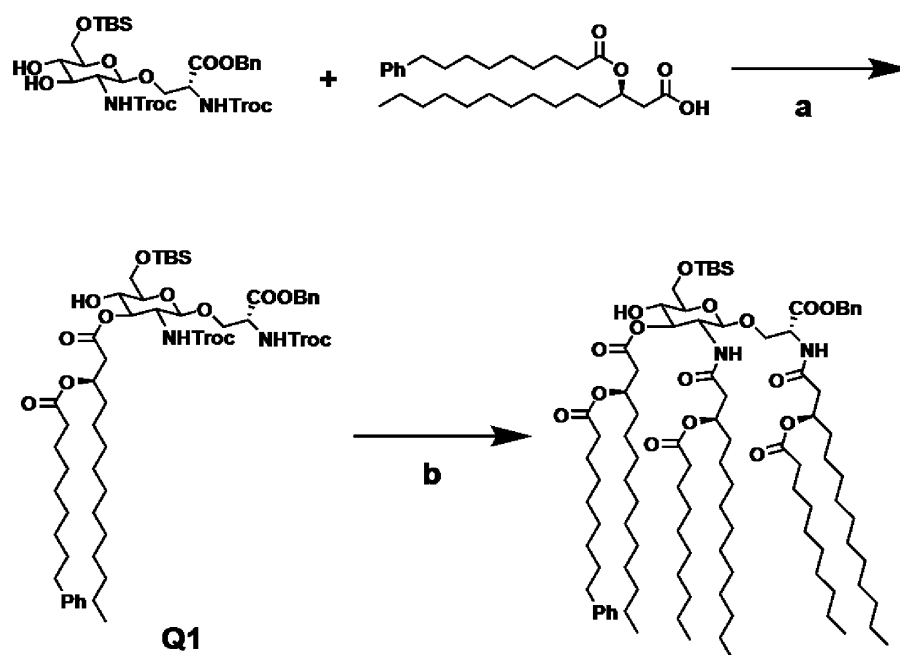
参考例1の化合物 (676 mg) の酢酸 (15 mL) 溶液に亜鉛粉末 (672 mg) を加え、60度で4時間攪拌した。反応溶液をセライトでろ過し、濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒; クロロホルム: メタノール) で精製し掲題の化合物 (451 mg) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.28–7.23 (2H, m), 7.16–7.11 (3H, m), 5.22–5.15 (1H, m), 2.64–2.52 (4H, m), 2.25 (2H, t, $J = 7.6$ Hz), 1.60–1.50 (6H, m), 1.32–1.20 (26H, m), 0.86 (3H, t, $J = 7.0$ Hz).

[0135] 参考例 3

(2R) – 3 – (ベンジロキシ) – 2 – { [(3R) – 3 – (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ } – 3 – オキソプロピル 6 – O – [tert – ブチル (ジメチル) シリル] – 2 – { [(3R) – 3 – (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ } – 2 – デオキシ – 3 – O – { (3R) – 3 – [(9 – フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル } ヘキソピラノシド

[化11]



[0136] a) (2R) – 3 – (ベンジロキシ) – 2 – ({ [(9H – フルオレン – 9 – イル) メトキシ] カルボニル } アミノ) – 3 – オキソプロピル 6 – O – [tert – ブチル (ジメチル) シリル] – 3 – O – [(3R) – 3 – (デカノイロキシ) テトラデカノイル] – 2 – デオキシ – 2 – { [(2, 2, 2 – トリクロロエトキシ) カルボニル] アミノ } ヘキソピラノシド (化合物

Q 1) の合成

(2 R) - 3 - { [6 - ({ [t e r t - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} メチル) - 4, 5 - ジヒドロキシー - 3 - { [(2, 2, 2 - トリクロロエトキシ) カルボニル] アミノ} オキサソ - 2 - イル] オキシ} - 2 - { [(2, 2, 2 - トリクロロエトキシ) カルボニル] アミノ} プロパン酸ベンジル (464 mg)、参考例 2 の化合物 (853 mg)、4 - ピロリジノピリジン (14 mg) をジクロロメタン (40 mL) に溶解させた後、1 - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] - 3 - エチルカルボジイミドメチオジド (550 mg) を 0 度で加えた。反応溶液を室温で 18 時間攪拌した後、水 / クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、濃縮した残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒; ヘキサン: 酢酸エチル) で精製し掲題の化合物 Q 1 (1.62 g) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.30 (5H, m), 7.24-7.15 (2H, m), 7.12-7.06 (3H, m), 5.95 (1H, d, J = 9.8 Hz), 5.26 (1H, d, J = 12.2 Hz), 5.12-5.02 (1H, m), 4.97 (1H, d, J = 11.7 Hz), 4.84-4.60 (5H, m), 4.50-4.40 (2H, m), 4.00-3.87 (2H, m), 3.78 (2H, qd, J = 10.8, 4.6 Hz), 3.60-3.36 (3H, m), 3.20-3.10 (1H, m), 2.57-2.42 (5H, m), 2.20 (2H, t, J = 7.6 Hz), 1.56-1.40 (6H, m), 1.39-1.20 (26H, m), 0.83-0.75 (12H, m), 0.00 (6H, s).

[0137] b) 参考例 3 の化合物の合成

化合物 Q 1 (1.62 g) を酢酸 (18 mL) に溶解させ、亜鉛粉末 (2.79 g) を加えた後室温にて 2 時間攪拌した。反応液をセライトでろ過した後、炭酸水素ナトリウム水溶液で中和しクロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、ろ過、濃縮した。得られた残渣 (1.15 g) と (3 R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカン酸 (1.10 g) をジクロロメタン (70 mL) に溶解させた後、1 - エトキシカルボニル - 2 - エトキシー - 1, 2 - ジヒドロキノリン (746 mg) を加え室温にて 16 時間攪拌した。反応液をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒;

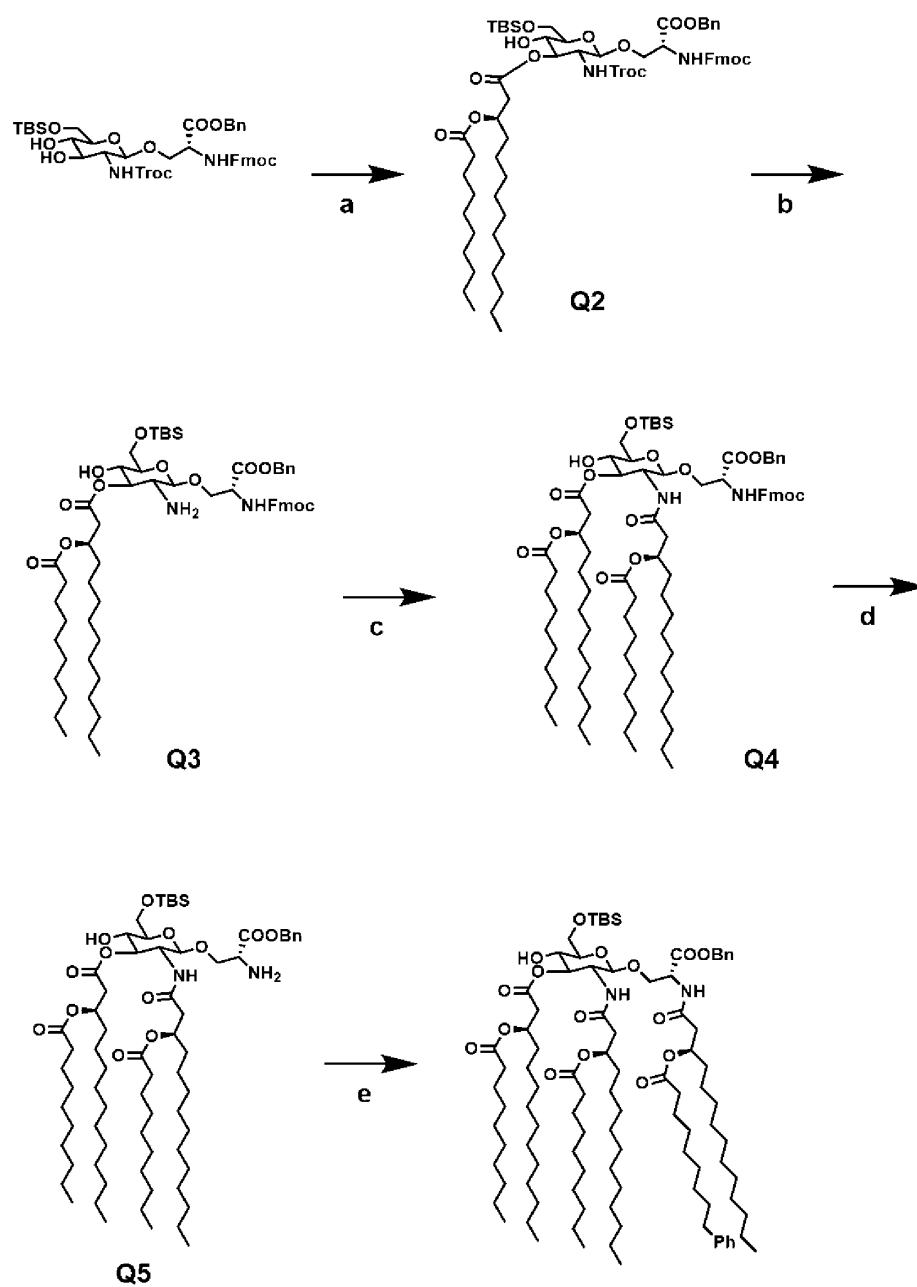
ヘキサン：酢酸エチル）で精製し、掲題の化合物（1.38 g）を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 7.35-7.32 (5H, m), 7.21-7.17 (2H, m), 7.12-7.07 (3H, m), 6.65 (1H, d, J = 8.5 Hz), 5.44 (1H, d, J = 8.5 Hz), 5.22-4.94 (5H, m), 4.69-4.61 (2H, m), 3.91-3.73 (5H, m), 3.65 (1H, q, J = 9.5 Hz), 3.49 (1H, t, J = 11.6 Hz), 3.39 (1H, d, J = 2.4 Hz), 3.11-3.06 (1H, m), 2.54-2.16 (14H, m), 1.51 (14H, s), 1.20 (86H, m), 0.82-0.78 (24H, m), 0.00 (6H, s).

[0138] 参考例 4

(2R) - 3 - (ベンジロキシ) - 3 - オキソ - 2 - ({ (3R) - 3 - [(9 - フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル } アミノ) プロピル 6 - O - [tert - ブチル (ジメチル) シリル] - 3 - O - [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] - 2 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ } - 2 - デオキシヘキソピラノシド

[化12]



[0139] a) (2R)-3-(benzyloxymethyl)-2-({[(9H-fluorenyl-9-yl)methoxycarbonyl]amino}-3-oxopropyl 6-O-tert-butyl(dimethyl)silyl)-3-O-[(3R)-3-(decyloxy)tetradecanoyl]-2-deoxy-2-{{[(2,2,2

ートリクロロエトキシ) カルボニル] アミノ} ヘキソピラノシド (化合物 Q 2) の合成

参考例 3 の a 工程と同様に反応、処理して掲題の化合物 Q 2 を得た。

LCMS (条件 A) : 1271.5 [M+Na⁺]、1.26 min

[0140] b) (2R) - 3 - (ベンジロキシ) - 2 - ({ [(9H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ] カルボニル} アミノ) - 3 - オキソプロピル 2 - アミノ - 6 - O - [tert - ブチル (ジメチル) シリル] - 3 - O - [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] - 2 - デオキシヘキソピラノシド (化合物 Q 3) の合成

化合物 Q 2 (220 mg) を酢酸 (2 mL) に溶解させ、粉末亜鉛 (346 mg) を加えて室温にて 2.5 時間攪拌した。反応溶液をセライトでろ過し、水/酢酸エチルで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒 ; ヘキサン : 酢酸エチル) で精製することにより掲題の化合物 Q 3 (114 mg) を得た。

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.73 (2H, d, J = 7.9 Hz), 7.57 (2H, d, J = 6.7 Hz), 7.38-7.25 (9H, m), 5.88 (1H, d, J = 8.5 Hz), 5.22-5.08 (3H, m), 4.73 (1H, t, J = 9.4 Hz), 4.54 (1H, d, J = 8.5 Hz), 4.40 (1H, dd, J = 10.4, 6.7 Hz), 4.29 (1H, dd, J = 10.7, 7.6 Hz), 4.20 (1H, t, J = 7.3 Hz), 4.10-3.95 (3H, m), 3.90-3.74 (2H, m), 3.55 (1H, t, J = 9.1 Hz), 3.40-3.20 (2H, m), 2.71-2.58 (3H, m), 2.25 (2H, t, J = 7.3 Hz), 1.65-1.30 (6H, m), 1.30-1.10 (30H, m), 0.86-0.80 (15H, m), 0.01 (6H, d, J = 3.0 Hz).

[0141] c) (2R) - 3 - (ベンジロキシ) - 2 - ({ [(9H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ] カルボニル} アミノ) - 3 - オキソプロピル 6 - O - [tert - ブチル (ジメチル) シリル] - 3 - O - [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] - 2 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ} - 2 - デオキシヘキソピラノシド (化

合物Q4)の合成

化合物Q3 (114 mg)、(3R)-3-(デカノイロキシ)テトラデカン酸 (46.6 mg) をジクロロメタン (3 mL) に溶解させた後、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジヒドロキノリン (31.5 mg) を加え室温にて16時間攪拌した。反応液をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒; ヘキサン: 酢酸エチル) で精製し、化合物Q4 (107 mg) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.70 (2H, d, J = 7.9 Hz), 7.59 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.36-7.21 (9H, m), 5.94 (1H, d, J = 9.1 Hz), 5.49 (1H, d, J = 8.5 Hz), 5.25 (1H, d, J = 12.2 Hz), 5.15-5.01 (3H, m), 4.74 (1H, t, J = 10.1 Hz), 4.43 (1H, d, J = 9.1 Hz), 4.33 (1H, dd, J = 10.4, 7.3 Hz), 4.25 (1H, t, J = 8.8 Hz), 4.18 (1H, t, J = 7.3 Hz), 4.03-3.92 (3H, m), 3.83-3.69 (3H, m), 3.53 (1H, t, J = 9.1 Hz), 3.41 (1H, d, J = 2.4 Hz), 3.18-3.10 (1H, m), 2.57-2.37 (3H, m), 2.26-2.21 (5H, m), 1.60-1.40 (8H, m), 1.30-1.10 (60H, m), 0.86-0.79 (21H, m), 0.00 (6H, d, J = 2.4 Hz).

[0142] d) (2R)-2-アミノ-3-(ベンジロキシ)-3-オキソプロピル 6-O-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]-3-O-[(3R)-3-(デカノイロキシ)テトラデカノイル]-2-{[(3R)-3-(デカノイロキシ)テトラデカノイル]アミノ}-2-デオキシヘキソピラノシド (化合物Q5)の合成

化合物Q4 (107 mg) のジクロロメタン (3 mL) 溶液に対し、DBU (4.48 mg) のジクロロメタン溶液 (0.1 mL) を加え、室温にて30分攪拌した。その後、反応溶液を直接シリカゲル上にのせ、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒; クロロホルム: メタノール) で精製することにより化合物Q5 (89 mg) を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.34-7.27 (5H, m), 5.68 (1H, d, J = 9.2 Hz), 5.16 (1H, d, J = 12.2 Hz), 5.10-5.01 (3H, m), 4.75 (1H, dd, J = 11.0,

9.2 Hz), 4.16 (1H, d, $J = 7.9$ Hz), 3.98 (1H, dd, $J = 9.8, 3.1$ Hz), 3.82-3.38 (7H, m), 3.20-3.15 (1H, m), 2.54-2.34 (3H, m), 2.24-2.18 (5H, m), 1.60-1.40 (8H, m), 1.28-1.10 (60H, m), 0.83-0.76 (21H, m), 0.00 (6H, d, $J = 2.4$ Hz).

[0143] e) 参考例4の化合物の合成

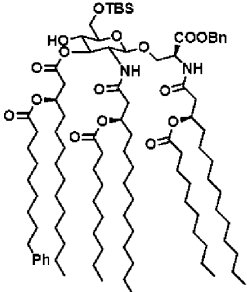
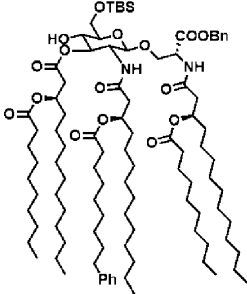
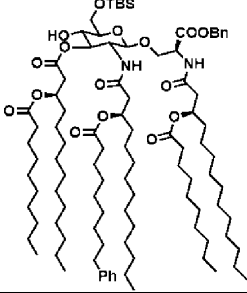
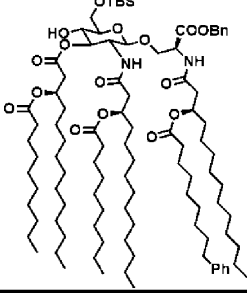
参考例Q5の化合物 (89 mg) と参考例2の化合物 (36.5 mg) のジクロロメタン (3 mL) 溶液に対し、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1, 2-ジヒドロキノリン (21.4 mg) を加え室温にて18時間攪拌した。反応溶液を濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒; ヘキサン: 酢酸エチル) で精製することにより参考例4の化合物 (97 mg) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.37-7.17 (7H, m), 7.12-7.07 (3H, m), 6.68 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 5.45 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 5.22-4.94 (5H, m), 4.70-4.60 (2H, m), 3.90-3.70 (5H, m), 3.65 (1H, td, $J = 9.3, 7.3$ Hz), 3.49 (1H, t, $J = 9.5$ Hz), 3.41 (1H, d, $J = 2.4$ Hz), 3.12-3.07 (1H, m), 2.53-2.36 (7H, m), 2.24-2.15 (7H, m), 1.60-1.40 (14H, m), 1.30-1.10 (86H, d, $J = 9.8$ Hz), 0.82-0.78 (24H, m), 0.00 (6H, s).

[0144] 参考例5～8

対応する原料を用いて、参考例3又は4と同様に反応・処理することで表1に示す化合物を得た。

[表1]

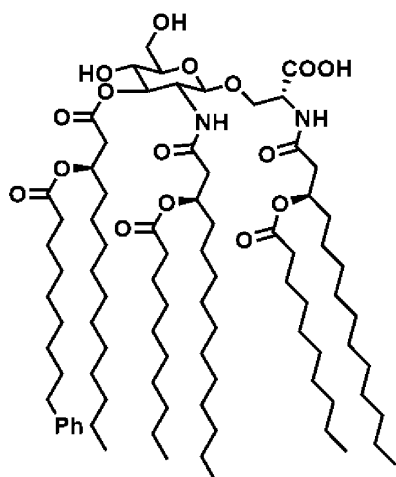
参考例	構造式	¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃)
5		7.30–7.18 (7H, m), 7.11–7.08 (3H, m), 6.98 (1H, d, J = 7.9 Hz), 6.20 (1H, d, J = 7.9 Hz), 5.09–5.02 (5H, m), 4.90 (1H, t, J = 9.8 Hz), 4.67–4.60 (1H, m), 4.53 (1H, d, J = 8.5 Hz), 4.14 (1H, dd, J = 10.7, 3.4 Hz), 3.85–3.56 (5H, m), 3.41–3.33 (1H, m), 3.29–3.20 (1H, m), 2.62–2.19 (14H, m), 1.49 (14H, brs), 1.25 (86H, m), 0.82–0.78 (24H, m), 0.00 (6H, s).
6		7.40–7.31 (7H, m), 7.10–7.08 (3H, m), 6.70–6.67 (1H, m), 5.45 (1H, d, J = 8.4 Hz), 5.21–5.16 (3H, m), 5.10–4.95 (4H, m), 4.69–4.62 (2H, m), 3.91–3.83 (4H, m), 3.80–3.61 (4H, m), 3.54–3.46 (2H, m), 3.12–3.07 (1H, m), 2.56–2.36 (14H, m), 1.50 (14H, brs), 1.18 (86H, m), 0.86–0.79 (24H, m), 0.00 (6H, s).
7		7.36–7.32 (7H, m), 7.10–7.08 (3H, m), 6.70–6.67 (1H, m), 5.49 (1H, d, J = 8.0 Hz), 5.21–4.95 (5H, m), 4.79–4.62 (2H, m), 3.92–3.61 (6H, m), 3.52–3.43 (2H, m), 3.12–3.08 (1H, m), 2.54–2.36 (8H, m), 2.23–2.10 (6H, m), 1.52 (14H, brs), 1.18 (86H, m), 0.85–0.79 (24H, m), 0.00 (6H, s).
8		7.30–7.18 (7H, m), 7.11–7.08 (3H, m), 6.96 (1H, t, J = 11.0 Hz), 6.18 (1H, d, J = 7.9 Hz), 5.12–5.00 (5H, m), 4.90 (1H, dd, J = 11.0, 9.1 Hz), 4.66–4.63 (1H, m), 4.53 (1H, d, J = 7.9 Hz), 4.14 (1H, dd, J = 11.0, 3.0 Hz), 3.85–3.56 (5H, m), 3.40 (1H, s), 3.29–3.24 (1H, m), 2.61–2.19 (14H, m), 1.60–1.42 (14H, m), 1.30–1.10 (86H, m), 0.84–0.78 (24H, m), 0.00 (6H, s).

[0145] 実施例 1

(2R) - 2 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ } - 3 - { [3 - { [(3R) - 3 - (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ } - 5 - ヒドロキシ - 6 - (ヒドロキシメチル) - 4 - ({

(3R) - 3 - [(9 - フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル }
 オキシ) オキサン - 2 - イル] オキシ } プロパン酸

[化13]



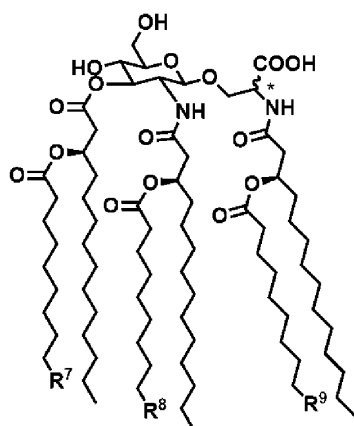
参考例3の化合物 (33 mg)、10%パラジウム炭素 (25.9 mg) にTHF (2 mL) を加え1気圧の水素雰囲気下、室温で8時間撹拌した。反応液をセライトでろ過し、濃縮した後に、THF (1 mL) とTFA (0.1 mL) を加えて、室温で3時間撹拌した。反応終了後、炭酸水素ナトリウム水溶液で中和した後、クロロホルムで抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥後、濃縮した。得られた残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出溶媒; クロロホルム: メタノール) で精製することにより掲題の化合物 (5.1 mg) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (30:1)): 7.19 (2H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.11-7.08 (3H, m), 5.18-5.14 (1H, m), 5.04 (2H, s), 4.83 (1H, t, $J = 9.1$ Hz), 4.51 (1H, s), 4.32 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 3.95-3.60 (4H, m), 3.49 (1H, t, $J = 9.4$ Hz), 3.35-3.26 (2H, m), 2.54-2.37 (6H, m), 2.26-2.18 (8H, m), 1.51 (14H, s), 1.18 (86H, s), 0.81 (15H, t, $J = 6.7$ Hz).

[0146] 実施例2～5

対応する原料を用いて実施例1と同様に反応・処理し、表2に示す化合物を得た。

[表2]



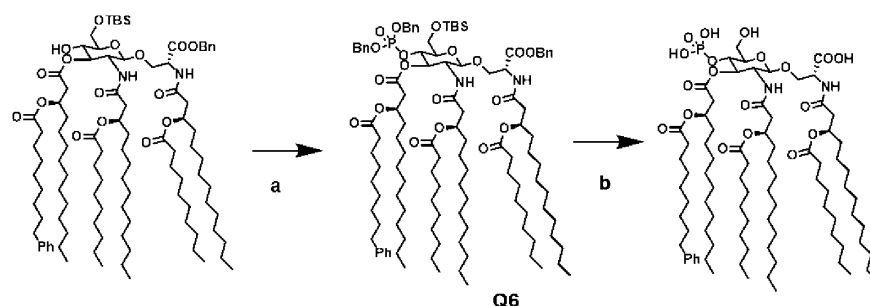
実施例	R ⁷	R ⁸	R ⁹	*の立体化学	¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD (30:1))
2	Ph	Me	Me	S	7.19 (2H, d, J = 6.7 Hz), 7.11–7.08 (3H, m), 5.19–5.00 (3H, m), 4.83 (1H, t, J = 9.8 Hz), 4.37 (2H, d, J = 7.9 Hz), 4.07 (1H, d, J = 9.1 Hz), 3.86–3.60 (4H, m), 3.47 (1H, t, J = 9.4 Hz), 3.35–3.26 (2H, m), 2.57–2.36 (6H, m), 1.53 (14H, s), 1.19 (86H, s), 0.81 (15H, t, J = 7.2 Hz).
3	Me	Ph	Me	R	7.18 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.10–7.08 (3H, m), 5.13–5.06 (3H, m), 4.89 (1H, t, J = 8.0 Hz), 4.44–4.35 (2H, d, J = 3.6 Hz), 4.29 (1H, s), 3.93 (1H, br), 3.86–3.62 (4H, m), 3.38–3.35 (2H, m), 2.54–2.44 (6H, m), 2.33–2.19 (8H, m), 1.57–1.44 (14H, m), 1.30–1.12 (86H, m), 0.81 (15H, t, J = 6.7 Hz).
4	Me	Me	Ph	R	7.18 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.11–7.07 (3H, m), 5.20–5.00 (3H, m), 4.86 (1H, t, J = 9.8 Hz), 4.42–4.35 (2H, m), 3.93 (1H, d, J = 7.9 Hz), 3.84–3.64 (4H, m), 3.46 (1H, t, J = 9.5 Hz), 3.34–3.25 (2H, m), 2.55–2.42 (6H, m), 2.30–2.10 (8H, m), 1.58–1.45 (14H, m), 1.28–1.15 (86H, m), 0.81 (15H, t, J = 6.7 Hz).

5	Me	Me	Ph	S	7.18 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.11–7.07 (3H, m), 5.14–5.02 (3H, m), 4.85 (1H, t, J = 10.1 Hz), 4.38 (1H, d, J = 8.5 Hz), 4.30 (1H, s), 4.08 (1H, d, J = 11.0 Hz), 3.83–3.64 (4H, m), 3.44 (1H, t, J = 9.5 Hz), 3.34–3.28 (3H, m), 2.50–2.10 (14H, m), 1.60–1.40 (14H, m), 1.28–1.12 (86H, m), 0.81 (15H, t, J = 7.0 Hz).
---	----	----	----	---	--

[0147] 参考例9

(2R) – 2 – { [(3R) – 3 – (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ} – 3 – { [3 – { [(3R) – 3 – (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ} – 6 – (ヒドロキシメチル) – 4 – ({ (3R) – 3 – [(9-フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル } オキシ) – 5 – (ホスホノオキシ) オキサノ – 2 – イル] オキシ} プロパン酸

[化14]



[0148] a) (2R) – 3 – (ベンジロキシ) – 2 – { [(3R) – 3 – (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ} – 3 – オキソプロピル 4 – O – [ビス (ベンジロキシ) ホスホリル] – 6 – O – [tert-ブチル (ジメチル) シリル] – 2 – { [(3R) – 3 – (デカノイロキシ) テトラデカノイル] アミノ} – 2 – デオキシ – 3 – O – { (3R) – 3 – [(9-フェニルノナノイル) オキシ] テトラデカノイル } ヘキソピラノシド (化合物Q6) の合成

参考例3の化合物 (400mg) のジクロロメタン (8mL) 溶液に、ジベンジル N, N-ジイソプロピルホスホロアミダイト (231mg) と4

、5-ジシアノイミダゾール（79 mg）を加え、室温で18時間撹拌した。その後、反応溶液に3-クロロ過安息香酸（190 mg）を加え、0度で1時間撹拌した。炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて15分室温にて撹拌した後に、クロロホルムで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させ、濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出溶媒；ヘキサン：酢酸エチル）で精製し、化合物Q6（365 mg）を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.43–7.24 (17H, m), 7.19–7.13 (3H, m), 6.79 (1H, d, J = 8.2 Hz), 5.81 (1H, d, J = 8.2 Hz), 5.29–5.05 (6H, m), 4.96 (4H, dd, J = 18.3, 7.8 Hz), 4.75–4.68 (1H, m), 4.31–4.25 (2H, m), 4.00–3.85 (3H, m), 3.68 (1H, dd, J = 11.4, 5.5 Hz), 3.55 (1H, dt, J = 14.5, 5.6 Hz), 3.31–3.26 (1H, m), 2.61–2.18 (14H, m), 1.70–1.50 (14H, m), 1.35–1.18 (86H, dd, J = 34.3, 27.4 Hz), 0.88 (15H, td, J = 6.7, 2.4 Hz), 0.85 (9H, s), 0.00 (6H, d, J = 5.5 Hz).

[0149] b) 参考例9の合成

化合物Q6（365 mg）のTHF（20 mL）溶液に10%パラジウム炭素（248 mg）と2 mol/L塩酸（0.5 mL）を加え水素雰囲気下（4気圧）室温にて8時間撹拌した。その後、反応液をセライトでろ過して濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出溶媒；クロロホルム：メタノール（メタノールには水2.5%・トリエチルアミン2.5%を添加したものを用いた））で精製し、表題の化合物（140 mg）を得た。

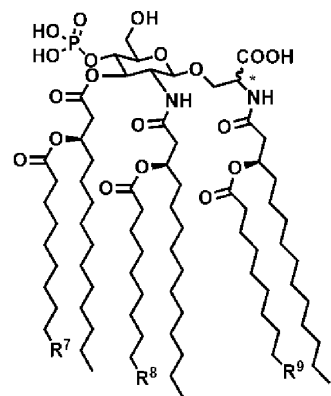
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD(30:1)): 7.19 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.11–7.07 (3H, m), 5.22–4.99 (4H, m), 4.61–4.52 (1H, m), 4.42–4.32 (1H, m), 4.21–4.10 (1H, m), 3.95–3.80 (2H, m), 3.80–3.60 (2H, m), 3.34–3.20 (2H, m), 2.97 (4H, q, J = 7.3 Hz), 2.60–2.30 (6H, m), 2.30–2.10 (8H, m), 1.60–1.40 (14H, m), 1.30–1.10 (86H, m), 0.80 (15H, t, J = 6.7 Hz).

[0150] 参考例10～14

対応する原料を用いて参考例9と同様に反応・処理し、表3に示す化合物

を得た。

[表3]



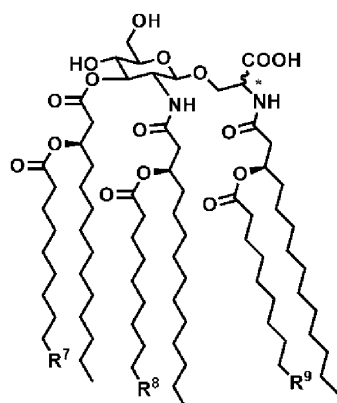
参考 例	R ⁷	R ⁸	R ⁹	*の立 体化学	¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD (30:1))
10	Ph	Me	Me	S	7.18 (2H, d, J = 6.7 Hz), 7.11–7.07 (3H, m), 5.18–5.05 (4H, m), 4.51–4.40 (2H, m), 4.20–4.05 (2H, m), 3.78–3.60 (4H, m), 3.4–3.38 (2H, m), 2.65–2.10 (14H, m), 1.60–1.40 (14H, m), 1.30–1.10 (86H, m), 0.81 (15H, t, J = 6.7 Hz).
11	Me	Ph	Me	R	7.18 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.11–7.09 (3H, m), 5.17–5.00 (4H, m), 4.47 (1H, d, J = 3.6 Hz), 4.32 (1H, s), 4.14–3.84 (4H, m), 3.68–3.57 (2H, m), 3.34–3.25 (3H, m), 2.63–2.35 (8H, m), 2.30–2.12 (6H, m), 1.60–1.40 (14H, m), 1.25–1.10 (86H, m), 0.81 (15H, t, J = 6.7 Hz).
12	Me	Ph	Me	S	7.18 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.11–7.09 (3H, m), 5.27–5.13 (4H, m), 3.66–3.35 (4H, m), 3.08–3.04 (2H, m), 2.51–2.50 (3H, m), 2.20–1.99 (24H, m), 1.60–1.40 (14H, m), 1.31–1.18 (86H, m), 0.78 (15H, t, J = 6.7 Hz).
13	Me	Me	Ph	R	7.20–7.05 (5H, m), 5.20–4.98 (4H, m), 4.43 (1H, d, J = 8.5 Hz), 4.35 (1H, s), 4.12 (1H, q, J = 9.1 Hz), 3.92–3.80 (3H, m), 3.72–3.60 (2H, m), 3.34–3.10 (2H, m), 2.60–2.10 (14H, m), 1.58–1.40 (14H, m), 1.25–1.10 (86H, m), 0.80 (15H, t, J = 6.7 Hz).

14	Me	Me	Ph	S	7.18 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.11–7.07 (3H, m), 5.10–5.02 (4H, m), 4.53 (1H, d, J = 8.5 Hz), 4.33 (1H, s), 4.15–3.90 (4H, m), 3.67–3.59 (2H, m), 3.35–3.33 (2H, m), 3.24–3.20 (1H, m), 2.60–2.15 (14H, m), 1.60–1.40 (14H, m), 1.25–1.10 (86H, m), 0.81 (15H, t, J = 6.7 Hz).
----	----	----	----	---	--

[0151] 参考例 15

対応する原料を用いて実施例 1 と同様に反応・処理し、表 4 に示す化合物を得た。

[表4]



参考例	R ⁷	R ⁸	R ⁹	*の立体化学	¹ H-NMR (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD (30:1))
15	Me	Ph	Me	S	7.18 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.10–7.08 (3H, m), 5.13–5.06 (3H, m), 4.85 (1H, t, J = 8.8 Hz), 4.41–4.11 (3H, m), 3.77–3.64 (4H, m), 3.38–3.35 (2H, m), 2.57–2.42 (6H, m), 2.28–2.11 (8H, m), 1.57–1.44 (14H, m), 1.33–1.08 (86H, m), 0.81 (15H, t, J = 6.7 Hz).

[0152] 試験例 1

ヒトTLR4レポーター遺伝子アッセイ

HEK-Blue™ hTLR4細胞株 (Invivogen社) は、NF-κB 応答エレメントの転写制御下で、ヒトTLR4、MD2、CD14と、分泌型アルカリフォスファターゼ (SEAP) レポーター遺伝子を発現する

安定なコトランスフェクト細胞株である。この細胞株でのTLR4発現は、RT-PCR、フローサイトメトリーにより試験済みである。抗生物質HEK-Blue™ Selectionを使用して、安定に発現する形質転換体を選択した。TLRシグナル伝達はNF- κ Bの転位を導き、プロモーターの活性化はSEAP遺伝子の発現をもたらす。この細胞を0.1% (v/v) DMSO存在下で37℃にて実施例及び参考例で合成された化合物と16～20時間インキュベーションした後、生成したSEAPのレベルを測定することにより、TLR4特異的な活性化を評価した。本発明化合物のヒトTLR4活性化の程度を、ヒトTLR4レポーター遺伝子アッセイを用いて評価し、リポ多糖(LPS)によって誘導されたSEAPの最大レベルの半分をもたらす化合物の濃度(EC₅₀)とした。

[0153] 試験例2

マウスTLR4レポーター遺伝子アッセイ

HEK-Blue™ mTLR4細胞株 (InvivoGen社) は、NF- κ B応答エレメントの転写制御下で、マウスTLR4、MD2、CD14と、分泌型SEAPレポーター遺伝子を発現する安定なコトランスフェクト細胞株である。この細胞株でのTLR4発現は、RT-PCR、フローサイトメトリーにより試験済みである。抗生物質HEK-Blue™ Selectionを使用して、安定に発現する形質転換体を選択した。TLRシグナル伝達はNF- κ Bの転位を導き、プロモーターの活性化はSEAP遺伝子の発現をもたらす。この細胞を0.1% (v/v) DMSO存在下で37℃にて実施例及び参考例で合成された化合物と16～20時間インキュベーションした後、生成したSEAPのレベルを測定することにより、TLR4特異的な活性化を評価した。本発明化合物のマウスTLR4活性化の程度を、マウスTLR4レポーター遺伝子アッセイを用いて評価し、LPSによって誘導されたSEAPの最大レベルの半分をもたらす化合物の濃度(EC₅₀)とした。

[0154] 試験例1及び2の結果を表5及び6に示した。

[表5]

実施例	ヒト TLR4 EC ₅₀ (ng/mL)	マウス TLR4 EC ₅₀ (ng/mL)
1	64	21
2	22	21
3	237	202
4	77	57
5	148	73

[表6]

参考例	ヒト TLR4 EC ₅₀ (ng/mL)	マウス TLR4 EC ₅₀ (ng/mL)
9	68	44
10	20	20
11	708	78
12	>1000	>1000
13	53	21
14	22	22

[0155] 表5の結果から、本発明の実施例化合物はTLR4アゴニスト活性を有することが明らかとなり、また表6に示すリン酸基を有する参考例9～14とおおむね同等以上の活性を有することも明らかとなった。

[0156] リポソーム製剤の調製（実施例6～7、参考例16～17）

1, 2-ジミリスチル-sn-グリセロール-3-ホスホコリン35, 45 mg、卵黄ホスファチジルグリセロール24, 45 mg、表7に記載の化合物6 mgをトリーブチルアルコールに溶解した後、凍結乾燥し、リン酸緩衝生理食塩水3 mLを加えた。この液を、約65℃に加温したエクストルーダー（Mini-Extruder、Avanti Polar Lipids製）を用い、0.1 μmのポリカーボネイトメンブランを通過させ、リポソーム製剤とした。調製量は必要に応じて増減した。なお、参考例17の製剤に

ついてLCMS条件Cにて行ったところ、参考例10の化合物は検出されなかった。参考例10の化合物はリポソーム化されておらず、エクストルーダーのメンブランにてトラップされたものと考えられた。

上記リポソームを精製水で10倍希釈し、動的光散乱法（ZETASIZER Nano-ZS、Malvern製）により、平均粒子径、多分散指数及びゼータ電位を測定した。また、実施例6、7及び参考例16の製剤について高速液体クロマトグラフィ（HPLC）により、定量を行った。

HPLC条件

検出器：UV（205nm）

HPLC：Shimadzu LC 20AD

カラム：XSelect CSH Phenyl-Hexyl 2.5 μ m
75 $\times$ 4.6mm

流速：0.8ml/min

移動相：A液；0.1%トリフルオロ酢酸水溶液

B液；2-プロパノール

タイムプログラム：

ステップ 時間（分）

1	0.0-7.0	A液：B液=20：80
2	7.0-7.5	A液：B液=20：80～5：95
3	7.5-11.0	A液：B液=5：95
4	11.0-11.1	A液：B液=5：95～20：80
5	11.1-15.0	A液：B液=20：80

結果を表7に示した。

[表7]

実施例／ 参考例	化合物	定量値 (mg/mL)	平均粒子径 (Z-average, nm)	多分散指数 (PDI)	ゼータ電位 (mV)
実施例 6	実施例 1	2.1	98.4	0.229	-74.7
実施例 7	実施例 2	2.2	84.6	0.212	-71.4
参考例 16	参考例 9	2.0	123.0	0.122	-64.8
参考例17	参考例10	作成不可能			

[0157] 試験例 3

7 週齢のC57BL/6雄性マウスに、抗原としてのオボアルブミン (OVA) (2 mg/mL)と、実施例 6、実施例 7、又は参考例 16で調製した製剤（実施例 1、実施例 2 または参考例 9 の化合物を0.2または2 mg/mL含有する）の等量混合液（100 μ L/マウス）を、腓腹筋に筋肉内投与し初回免疫とした。さらに2週間後に、等量の同混合液を腓腹筋に筋肉内投与し追加免疫とした。追加免疫から1週間後、イソフルラン吸入麻酔維持下において心臓採血を行い、遠心分離により血清を回収した。血清中のOVA特異的 IgG2c 値を、次のELISA法によって定量した。すなわち、96wellプレートにOVA溶液 (SIGMA) を添加した後、1%スキムミルク (Wako) にてブロッキングを行い、リン酸緩衝液を用いて希釈した血清サンプルを添加後、二次抗体であるヤギ抗マウス IgG2c (Southern Bio) を添加し、SureBlue (登録商標) TMB Microwell Peroxidase Substrate (KPL) 添加後、酵素反応の生成物をマイクロプレートリーダーにて測定し定量した。結果を図1および図2に示す。

実施例 1、実施例 2 および参考例 9 において、陰性対照群と比較して有意に強いOVA特異的 IgG2c 誘導を示した。

[0158] 試験例 4

試験例 3 で調製したオボアルブミン (OVA) (2 mg/mL)と実施例 6、実施例 7、又は参考例 16で調製した製剤（実施例 1、実施例 2 または参考例 9 の化合物を0.2または2 mg/mL含有する）の等量混合液（100 μ L/マウス）をマウスに投与して、その脾臓細胞を調製し、OVAとブレフェルジンA (eBioscience

）を添加後一晩培養した。細胞を回収し、APC標識抗マウスCD3e抗体（invitrogen）、PerCP標識抗マウスCD4抗体（BioLegend）およびFixable Viability Dye eFluor™520（invitrogen）で染色後、Fixation/Permeabilization buffer（invitrogen）で固定した。細胞をPermeabilization buffer（invitrogen）処置後、抗体カクテルBV421標識抗IFN- γ 抗体（BioLegend）、PE-Cy7標識抗IL-2抗体（eBioscience）およびPE標識TNF- α （BioLegend）で染色した。FACS Cant II（BD Biosciences）およびFLOWJOソフトウェア（TreeStar）を用いてデータ取り込みおよび解析を行った。結果を図3および図4に示す。

また別に、上記脾臓細胞を、V450標識抗マウスCD3e抗体（invitrogen）、Alexa Fluor（登録商標）647標識抗マウスCD8抗体（MBL）、PE標識H-2Kb OVA Tetramer-SIINFEKL（MBL）およびFixable Viability dye eFluor 520（invitrogen）で染色した。FACS Cant II（BD Biosciences）およびFLOWJOソフトウェア（TreeStar）を用いてデータ取り込みおよび解析を行った。結果を図5および図6に示す。

更に別に、上記脾臓細胞を、V450標識抗マウスCD3e抗体（invitrogen）、Alexa Fluor（登録商標）647標識抗マウスCD8抗体（MBL）、PE-Cy7標識抗マウスCD44抗体（invitrogen）、PerCP-Cy5.5標識抗マウスCD62L抗体（invitrogen）およびFixable Viability dye eFluor 520（invitrogen）で染色した。FACS Cant II（BD Biosciences）およびFLOWJOソフトウェア（TreeStar）を用いてデータ取り込みおよび解析を行った。結果を図7および図8に示す。

実施例1、実施例2および参考例9の化合物は、OVA特異的1型ヘルパーT細胞、特にOVA特異的multifunctional CD4陽性Tリンパ球の割合や、MHC拘束性OVA特異的CD8陽性Tリンパ球（図5および図6のOVAテトラマー陽性CD8T細胞）の割合、およびCD8陽性エフェクターメモリーTリンパ球の割合を陰性対照群と比較して有意に増加させた。

[0159] 試験例3及び4の結果から、本発明の実施例化合物はアジュバント活性を有することが明らかとなった。

産業上の利用可能性

[0160] 本発明の化合物は、ワクチン製剤の免疫賦活化作用を増強させるアジュバントとして有用である。