

明 細 書

発明の名称：新規カルバメート糖脂質およびその用途

技術分野

[0001] 本発明は、新規カルバメート糖脂質及びその用途に関する。より詳細には、本発明は、糖の6位にカルバメートを有する6-カルバメート糖脂質、その製造方法、及びその医薬用途に関する。

背景技術

[0002] 免疫系には、生体において自己の正常細胞と異常細胞とを区別し、異常細胞のみを排除するための巧みな監視機能が存在する。しかしその監視機能が破綻すると、突然変異等によって生まれる異常細胞を排除することが出来ず、生体内での存在ならびに増殖を許してしまう。この増殖してしまった異常細胞塊が腫瘍、即ち癌である。

[0003] 癌の治療法は、外科手術による癌の摘出、あるいは抗癌剤の使用が主である。しかしながらこれらの治療法は患者にとって、摘出手術や抗癌剤の副作用による身体的な、あるいは手術痕による精神的な負担をかけることが少なくない。

[0004] その様な背景の中、免疫療法による治療が注目を集めている。免疫療法は、患者自身の免疫細胞数を増やし、さらに活性化することにより癌細胞を攻撃するという治療法である。外科的手術に比べ、治療に伴う患者への身体的負担が小さい上、治療に伴う患者の社会生活への影響は最小限に留めることが出来る。また、免疫療法と外科手術を併用する治療法も行われている。免疫療法によって腫瘍を小さくしてから摘出するため、患者への身体的負担は軽減される。また手術痕もわずかですむため、精神的な負担も大幅に軽減される。

[0005] ナチュラルキラー（以下NK）T細胞は、他のリンパ球系列（T，B，NK細胞）と異なる特徴を示す、新規リンパ球系列に属する免疫細胞である。NK T細胞内には細胞障害性パーフォリン顆粒が存在することからNK細胞

と類縁である（非特許文献1）。しかしNK T細胞は、NK細胞マーカーのみならずT細胞受容体（TCR）をも発現していることから、決定的に異なる新たな細胞群である（非特許文献2）。NK T細胞は、免疫賦活作用を亢進させるヘルパーT（Th）-1型細胞によって産生されるTh-1型サイトカイン（主にインターフェロン（IFN）- γ ）と、免疫抑制作用を亢進させるTh-2型細胞によって産生されるTh-2型サイトカイン（主にインターロイキン（IL）-4）の両方を産生する能力を有している（非特許文献3）。即ちNK T細胞は免疫系の活性化も沈静化も誘導することができることから、免疫系のバランス調節役を担っている可能性が示唆されている（非特許文献4）。従ってNK T細胞の働きを制御することができれば、免疫系のバランス異常によって引き起こされる様々な疾患、特に癌を治療することが可能となる。

[0006] NK T細胞の特性として最も着目されているのは、NK T細胞に発現しているTCRの α 鎖が、ある1つの種の間では全個体で同一であるという点である。これは即ち、同種間の生物が持つNK T細胞は全て同一の物質を認識して活性化されるということを示している。この α 鎖はヒトではV α 24、マウスではV α 14であり、両種間で非常に高い相同性を持っている。また、 α 鎖と対をなす β 鎖もごく限られた種類しか知られていない。このため、このTCRは「不可変型TCR」とも呼ばれている。また、T細胞のTCRが蛋白断片を認識するのに対して、NK T細胞のTCRは糖脂質を認識することも特徴的である。

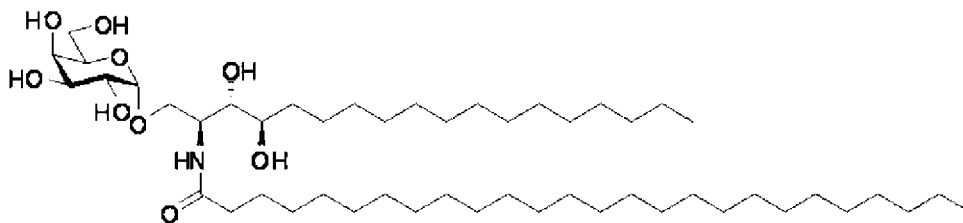
[0007] 生体内には、様々な種類のスフィンゴ糖脂質の存在が知られている。生体内の一般的なスフィンゴ糖脂質は、様々な糖あるいは糖鎖がセラミドに β -結合しており、様々な器官の細胞膜中に存在している。

[0008] 一方、糖がセラミドに α -結合しているスフィンゴ糖脂質が、強力な免疫賦活作用および抗腫瘍活性を有することが知られている。アゲラスフィン類に代表される α -ガラクトシルセラミドは、海綿の一種であるAgelas mauritianusの抽出液より単離された糖脂質であり、NK T細胞を強く活性化するこ

とが報告された（非特許文献5）。 α -ガラクトシルセラミドは、樹状細胞（DC）などに代表される抗原提示細胞（APC）に取り込まれた後、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）クラスⅠ分子に類似したCD1dタンパク質によって細胞膜上に提示される。NK T細胞は、こうして提示されたCD1dタンパク質と α -ガラクトシルセラミドとの複合体を、TCRを用いて認識することにより活性化され、様々な免疫反応を開始する。

[0009] これまでに様々な類縁体が合成され、その構造と活性との相関関係が調査されてきている。一連の合成類縁体の中ではキリンビール株式会社によって開発されたKRN7000（化合物1、 α -GalCer）が非常に強い抗腫瘍活性を示すこと、さらには、対応する β -体（ β -GalCer）には免疫賦活活性は見られないことが明らかとなっている（特許文献1、非特許文献6）。なおKRN7000は、スフィンゴシン塩基が長鎖脂肪酸によりアシル化されて形成されたセラミドに、ガラクトースが α -配置で結合したスフィンゴ糖脂質である。

[0010] [化1]



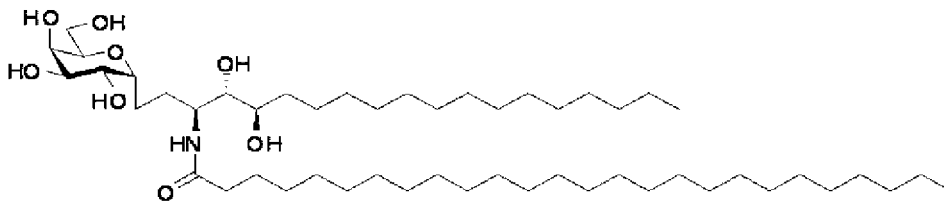
化合物1 (KRN7000, α -GalCer)

[0011] 近年、このようなNK T細胞の機能に着目し、KRN7000を有効成分として含有する癌の治療薬が開発されている。しかしながら、KRN7000の投与によって活性化されたNK T細胞は、癌治療のために有用であり免疫賦活活性を誘導するサイトカインであるIFN- γ を産生すると同時に、免疫抑制作用を誘導するサイトカインであるIL-4も同時に産生してしまう。その結果、両者の働きが相殺されてしまい、癌治療に対する効果が十分に得られないという問題があった。

[0012] 辻らのグループは、マウスのNK T細胞を強力に活性化し、IFN- γ を

優先的に産生させる糖脂質、 α -C-GalCerを開発した（化合物2、特許文献2、非特許文献7）。しかしながら、 α -C-GalCerはヒトのNK細胞に対してはサイトカイン産生を殆ど誘導しないため、臨床応用は難しいと考えられている。近年、この問題を解決すべく、ヒトの系でも強い活性を示す化合物が開発されている（非特許文献8）。

[0013] [化2]



化合物2 (α -C-GalCer)

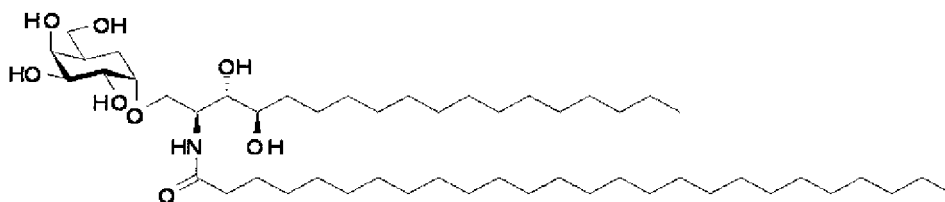
[0014] 2007年、ヒトのCD1d/KRN7000/TCRの結晶構造解析が報告された（非特許文献9）。報告によると、KRN7000の糖部分はCD1dの外側にTCRに向けて提示されており、一方セラミド部分はCD1dの大きな疎水性ポケットにはまりこんでいることが明らかとなった。また、KRN7000の糖のピラン環上酸素原子や6位水酸基は、CD1dおよびTCRのいずれのアミノ酸残基とも水素結合を形成していないことがわかった。

[0015] 一方、我々は独自に、カルバ糖を有する新規合成糖脂質、RCAI-56（化合物3）を開発し、当該化合物がNK細胞を強力に活性化して多量のIFN- γ の産生を誘導することを見出した（非特許文献10）。さらに我々は、糖脂質の糖部分の6-位水酸基を修飾した新規合成糖脂質、RCAI-61（化合物4）を開発し、当該化合物がRCAI-56よりも調製が容易で、かつ多量のIFN- γ の産生を誘導することを見出した（非特許文献11）。RCAI-56やRCAI-61はマウスならびにヒト（in vitro）の系に於いても強い活性を示すことから臨床応用が期待されている。

[0016] しかし、RCAI-56の合成は多段階を要し、RCAI-61の合成は複雑な糖の修飾を伴うことから、より簡便に調製が可能でありながら、RCAI-56やRCAI-61と同等あるいはそれ以上の免疫賦活活性を有す

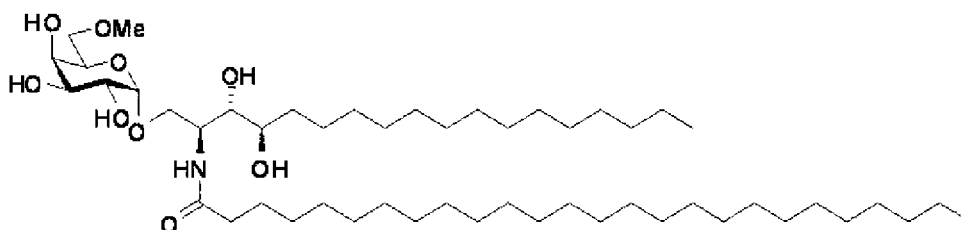
る新規類縁体の開発が望まれている。さらに、RCAI-61には水への溶解性が低いという問題点があるので、水への溶解性の改善が望まれている。

[0017] [化3]



化合物3 (RCAI-56)

[0018] [化4]

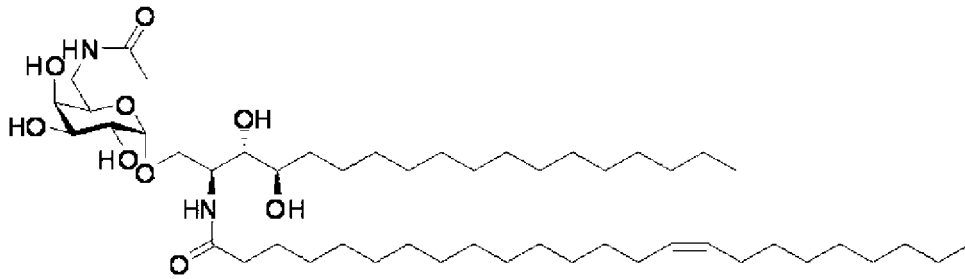


化合物4(RCAI-61)

[0019] 2006年にSavageらによって、KRN7000の糖部分の6-位水酸基をアセトアミド基へと変換した糖脂質、PBS-57（化合物5）が開発され、当該化合物はDMSOへの溶解性が向上している上に、KRN7000よりも強い活性を示す（非特許文献12）。さらに近年、この化合物が強いアジュバント活性を示すことが報告された（特許文献3～5）。さらに、Calenberghらによって、KRN7000の糖部分の6-位水酸基をベンズアミドへと変換した糖脂質（化合物6）が開発された（非特許文献13）。ベンズアミド類縁体はIL-4の産生誘導活性が弱いため、相対的に大きく偏ったIFN- γ の産生を誘導する。ただしいずれの報告においても、6-位をアミド基へと変換した類縁体を合成するためには6位水酸基を爆発性のあるアジド基へと変換する工程を経るため、工業的規模で合成する際には安全性が問題となる。

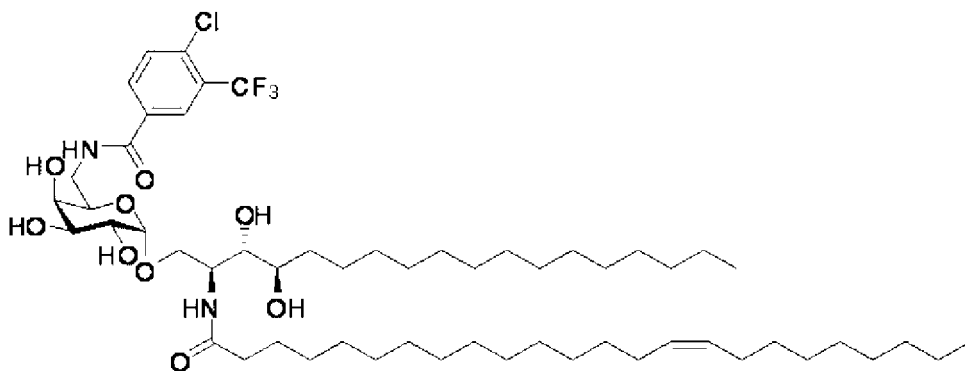
[0020]

[化5]



化合物5 (PBS-57)

[0021] [化6]

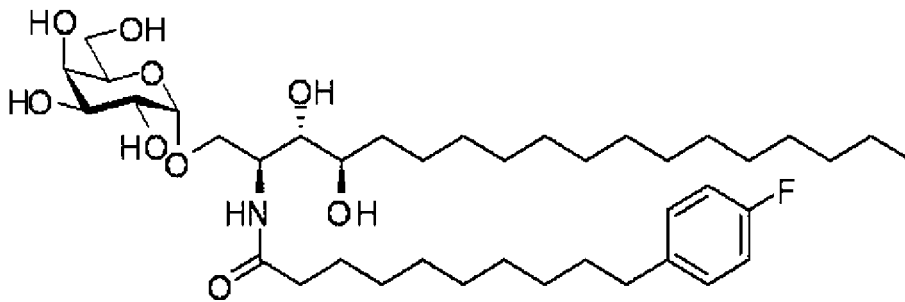


化合物6

[0022] 糖部分ではなくアシル側鎖を修飾した類縁体も数多く合成され、その活性が調査されている。2010年にWongらはアシル側鎖上に芳香環を有する類縁体の開発を報告した（非特許文献14）。CD1dの疎水性ポケット内部の芳香環を有するアミノ酸残基との $\pi-\pi$ スタッキング相互作用によってリガンドとCD1dとの親和性が高められた糖脂質、7DW8-5（化合物7）は、KRN7000よりも強いアジュバント活性を誘導することが報告されている。

[0023]

[化7]



化合物7(7DW8-5)

[0024] 特許文献6及び非特許文献15には、KRN7000誘導体として、6一位にカルバメートを有する合成糖脂質が開示されている。

他にも、6一位の水酸基をアミド結合に変換した類縁体が数多く報告されている（特許文献7～9、非特許文献16～22）。

先行技術文献

特許文献

- [0025] 特許文献1：国際公開第98／44928号
特許文献2：国際公開第03／105769号
特許文献3：国際公開第2010／023498号
特許文献4：国際公開第2010／040710号
特許文献5：米国特許出願公開第2009／0162385号明細書
特許文献6：米国特許出願公開第2009／0275483号明細書
特許文献7：国際公開第2008／080926号
特許文献8：国際公開第2007／118234号
特許文献9：国際公開第2004／094444号

非特許文献

- [0026] 非特許文献1：Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1998, 95, 5690-5693
非特許文献2：J. Immunol. 1995, 155, 2972-2983
非特許文献3：J. Immunol. 1998, 161, 3271-3281
非特許文献4：Science, 1997, 278, 1623-1626

- 非特許文献5 : Science, 1997, 278, 1626-1629
- 非特許文献6 : J. Med. Chem. 1995, 38, 2176-2187
- 非特許文献7 : J. Exp. Med. 2003, 198, 1631-1641
- 非特許文献8 : Immunology, 2009, 127, 216-225
- 非特許文献9 : Nature, 2007, 448, 44-49
- 非特許文献10 : Bioorg. Med. Chem. 2009, 17, 6360-6373
- 非特許文献11 : Tetrahedron Lett. 2008, 49, 6827-6830
- 非特許文献12 : J. Immunol. Method, 2006, 312, 34-39
- 非特許文献13 : J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 16468-16469
- 非特許文献14 : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, 107, 13010-13015
- 非特許文献15 : J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 12348-12354
- 非特許文献16 : EMBO Journal, 2011, 30, 2294-2305
- 非特許文献17 : J. Org. Chem., 2011, 76, 320-323
- 非特許文献18 : Immunity 2009, 31, 60-71
- 非特許文献19 : Tetrahedron 2009, 65, 6390-6395
- 非特許文献20 : Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008, 18, 3052-3055
- 非特許文献21 : Nature Immunol., 2007, 8, 1105-1113
- 非特許文献22 : Org. Lett., 2002, 4, 1267-1270

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0027] 本発明はこのような実情に鑑みてなされたものであり、その解決しようとする課題は抗腫瘍活性剤あるいはワクチンアジュバントとして有効な新規化合物及び該化合物の合成に有用な中間体並びにそれらの製造方法を提供することにある。また、かかる新規化合物を含有する医薬を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

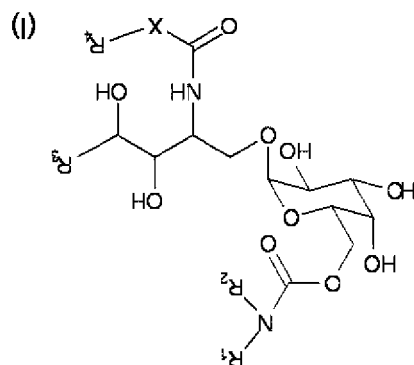
- [0028] 発明者らは、上記課題を解決するため研究を重ねた結果、糖脂質の糖部分6-位水酸基をカルバメートへと変換した類縁体が、特異的な免疫調節能を

有していること、癌ならびに感染症の治療に極めて有効であること、強いアジュバント活性を有していることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0029] 即ち、本発明は、以下を提供する。

[1] 式(1)

[0030] [化8]



[0031] (式中、

Xはアルキル基あるいは-NH-を示し；

R₁及びR₂は同一又は異なって、水素原子、アルキル基、水酸基、アルコキシ基、又は置換基を有しても良いアリール基を示し、R₁及びR₂は、隣接する窒素原子と一緒になって5～6員環を形成してもよく；

R₃は炭素数1～20の炭化水素基を示し；

R₄は炭素数1～30の炭化水素基を示す)で表される化合物、又はその塩。

[2] Xがメチレンあるいは-NH-である、上記[1]記載の化合物又は

その塩。

[3] R₁が水素原子、C₁～₆アルキル基、水酸基、C₁～₆アルコキシ基、又は置換基を有しても良いC₆～₁₂アリール基である、上記[1]記載の化合物又はその塩。

[4] R₂が水素原子、C₁～₆アルキル基、水酸基、C₁～₆アルコキシ基、又は置換基を有しても良いC₆～₁₂アリール基である、上記[1]記載の化合物又はその塩。

[5] R₁及びR₂が隣接する窒素原子と一緒になって形成してもよい5～6員環が、5～6員の含窒素飽和複素環である、上記[1]記載の化合物又は

その塩。

[6] R_3 が $C_{1\sim20}$ アルキル基、 $C_{2\sim20}$ アルケニル基又は $C_{2\sim20}$ アルキニル基である、上記 [1] 記載の化合物又はその塩。

[7] R_4 が $C_{1\sim30}$ アルキル基、 $C_{2\sim30}$ アルケニル基又は $C_{2\sim30}$ アルキニル基である、上記 [1] 記載の化合物又はその塩。

[8] 上記 [1] ～ [7] のいずれかに記載の化合物又はその塩を含有する、医薬。

[9] 上記 [1] ～ [7] のいずれかに記載の化合物又はその塩を含有する、選択的 $IFN-\gamma$ 産生誘導剤。

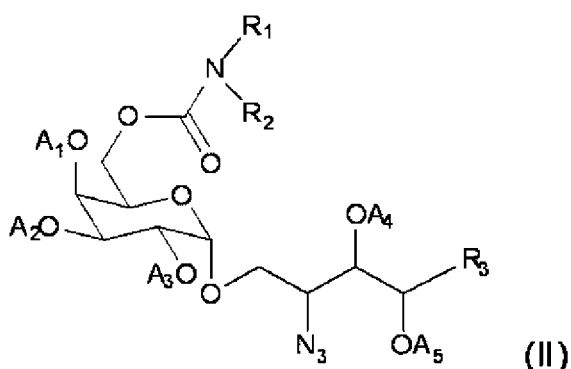
[10] 上記 [1] ～ [7] のいずれかに記載の化合物又はその塩を含有する、選択的 $IFN-\gamma$ 産生誘導剤であって、樹状細胞にパルスした形態で用いることを特徴とする剤。

[11] 上記 [1] ～ [7] のいずれかに記載の化合物又はその塩をパルスしたヒト樹状細胞。

[12] 上記 [11] 記載のヒト樹状細胞を含有する、選択的 $IFN-\gamma$ 産生誘導剤。

[13] 式 (II)

[0032] [化9]



[0033] (式中、

$A_1 \sim A_5$ は同一又は異なって、水酸基の保護基を示し；

R_1 及び R_2 は同一又は異なって、水素原子、アルキル基、水酸基、アルコキシ基、又は置換基を有していても良いアリール基を示し、 R_1 及び R_2 は、隣

接する窒素原子と一緒に becoming 5～6員環を形成してもよく；

R₃は炭素数1～20の炭化水素基を示す）で表される化合物、又はその塩。

[14] R₁及びR₂が同一又は異なって、水素原子、C_{1～6}アルキル基、水酸基、C_{1～6}アルコキシ基、又は置換基を有していても良いC_{6～12}アリール基であるか、R₁及びR₂が隣接する窒素原子と一緒に becoming 5～6員の含窒素飽和複素環を形成してもよい、上記[13]記載の化合物又はその塩。

[15] R₃がC_{1～20}アルキル基、C_{2～20}アルケニル基又はC_{2～20}アルキニル基である、上記[13]記載の化合物又はその塩。

[16] 上記[1]～[7]のいずれかに記載の化合物又はその塩の有効量を、その投与が必要な対象に投与することを含む、選択的にIFN- γ の産生を誘導する方法。

[17] 上記[1]～[7]のいずれかに記載の化合物又はその塩の有効量を、その投与が必要な対象に投与することを含む、選択的にIFN- γ の産生を誘導する方法であって、当該化合物又はその塩を樹状細胞にパルスする工程を含む方法。

発明の効果

[0034] 糖脂質の糖部分の6一位水酸基を疎水性官能基であるアルキルエーテルへと変換した類縁体は、KRN7000よりもIFN- γ に偏ったサイトカインの産生を誘導するが、溶解性が低いことが問題であった。一方で、カルバメート基はアルキル基よりも親水性である。さらに、水酸基からカルバメート基へは容易に変換することができる。アミド基の場合の様に、爆発の恐れのある試薬の使用や官能基を経由することも無い。

したがって、本発明によって開発された、糖部分の6一位水酸基をカルバメート結合に変換した糖脂質は、合成が非常に容易である上にKRN7000よりもIFN- γ に偏ったサイトカインの産生を誘導することができるため、本発明は癌治療ならびにアジュバント作用を誘導する上で有効な薬剤、その製造方法およびその用途を提供することができる。

さらに本発明の糖脂質を樹状細胞にパルスし、その樹状細胞を投与するこ

とにより、 $\text{IFN-}\gamma$ 産生をより増強することができる。

図面の簡単な説明

[0035] [図1]糖脂質（ KRN7000 又は RCAI-123 ）をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中の $\text{IFN-}\gamma$ 濃度の変化を示すグラフである。

[図2]糖脂質（ KRN7000 又は RCAI-123 ）をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中の IL-4 濃度の変化を示すグラフである。

[図3]糖脂質（ KRN7000 又は RCAI-123 ）をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中の IL-12 濃度の変化を示すグラフである。

[図4]糖脂質（ KRN7000 又は RCAI-121 、 RCAI-122 、 RCAI-131 ）をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中の $\text{IFN-}\gamma$ 濃度の変化を示すグラフである。

[図5]糖脂質（ KRN7000 又は RCAI-132 、 RCAI-139 、 RCAI-140 、 RCAI-141 ）をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中の $\text{IFN-}\gamma$ 濃度の変化を示すグラフである。

[図6]糖脂質（ KRN7000 又は RCAI-123 、 RCAI-124 、 RCAI-137 、 RCAI-138 、 RCAI-140 ）をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中の $\text{IFN-}\gamma$ 濃度の変化を示すグラフである。

[図7]糖脂質（ KRN7000 又は RCAI-121 、 RCAI-122 、 RCAI-131 ）をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中の IL-4 濃度の変化を示すグラフである。

[図8]糖脂質（ KRN7000 又は RCAI-132 、 RCAI-139 、 RCAI-140 、 RCAI-141 ）をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中の IL-12 濃度の変化を示すグラフである。

CAI-140、RCAI-141)をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中のIL-4濃度の変化を示すグラフである。

[図9]糖脂質(KRN7000又はRCAI-123、RCAI-124、RCAI-137、RCAI-138、RCAI-140)をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中のIL-4濃度の変化を示すグラフである。

[図10]糖脂質(KRN7000又はRCAI-121、RCAI-122、RCAI-131)をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中のIL-12濃度の変化を示すグラフである。

[図11]糖脂質(KRN7000又はRCAI-132、RCAI-139、RCAI-140、RCAI-141)をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中のIL-12濃度の変化を示すグラフである。

[図12]糖脂質(KRN7000又はRCAI-123、RCAI-124、RCAI-137、RCAI-138、RCAI-140)をパルスした樹状細胞をマウスに静脈内投与した後の、表示時間経過後におけるマウス血漿中のIL-12濃度の変化を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0036] 以下、本発明をその好適な実施形態に即して詳細に説明する。

先ず、本明細書において使用する式中の記号の定義を説明する。

[0037] Xはアルキレン基あるいは-NH-を示す。「アルキレン基」は、例えば、炭素数1～8の直鎖又は分岐状のアルキレン基であり、具体的にはメチレン、エチレン、トリメチレン、テトラメチレン、ペンタメチレン、ヘキサメチレン、ヘプタメチレン、オクタメチレン、プロピレン、エチルエチレン、ジメチルメチレン、ジメチルトリメチレン等が挙げられる。

[0038] R₁及びR₂は同一又は異なって、水素原子、アルキル基、水酸基、アルコ

キシ基、又は置換基を有していても良いアリール基を示し、 R_1 及び R_2 は、隣接する窒素原子と一緒になって5～6員環を形成してもよい。

[0039] 「アルキル基」は、例えば、 $C_{1\sim 24}$ 、より好ましくは $C_{1\sim 16}$ 、更に好ましくは $C_{1\sim 10}$ 、特に好ましくは $C_{1\sim 6}$ の直鎖又は分岐状のアルキル基であり、具体的にはメチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、ヘキシル、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、ヘプタデシル、オクタデシル等が挙げられる。 R_1 及び R_2 のアルキル基として好ましくは $C_{1\sim 6}$ アルキル基（例、メチル、エチル）である。

[0040] 「アルコキシ基」は、例えば、 $C_{1\sim 24}$ 、より好ましくは $C_{1\sim 16}$ 、更に好ましくは $C_{1\sim 10}$ 、特に好ましくは $C_{1\sim 6}$ の直鎖又は分岐状のアルコキシ基であり、具体的には、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、*tert*-ブトキシ等が挙げられる。 R_1 及び R_2 のアルコキシ基として好ましくは $C_{1\sim 6}$ アルコキシ基（例、メトキシ）である。

[0041] 「置換基を有していても良いアリール基」における「アリール基」とは、例えば、 $C_{6\sim 14}$ 、より好ましくは $C_{6\sim 12}$ の単環～三環性のアリール基であり、具体的には、フェニル、ナフチル、アントリル、フェナントリル等が挙げられる。 R_1 及び R_2 のアリール基として好ましくは $C_{6\sim 12}$ アリール基（例、フェニル）である。該「アリール基」が有していても良い置換基としては、ハロゲン原子（例、塩素原子、フッ素原子、臭素原子、ヨウ素原子）；アルキル基（例、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、ヘキシル）；ハロゲノアルキル基（例、トリフルオロメチル）；アルコキシ基（例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、*tert*-ブトキシ）；水酸基；アミノ基；アルキルアミノ基（例、メチルアミノ、ジメチルアミノ、エチルアミノ、ジエチルアミノ）；シクロアルキルアミノ基等が挙げられる。置換基の位置及び数は特に限定されず、置換可能な位置に、1

個～置換可能な最大数の置換基を有していても良い。

- [0042] R_1 及び R_2 が、隣接する窒素原子と一緒に形成してもよい 5～6 員環は、例えば、5～6 員の含窒素飽和複素環であり、具体的には、ピロリジン、ピペリジン、モルホリン、チオモルホリン、ピペラジン等が挙げられる。好ましくはピロリジン、ピペリジン、及びモルホリンである。
- [0043] R_3 は炭素数 1～20 の炭化水素基を示す。「炭素数 1～20 の炭化水素基」とは、 $C_{1\sim 20}$ アルキル基、 $C_{2\sim 20}$ アルケニル基、 $C_{2\sim 20}$ アルキニル基、 $C_{3\sim 20}$ シクロアルキル基、 $C_{3\sim 20}$ シクロアルケニル基、 $C_{6\sim 20}$ のアリール基をも包含する概念であり、直鎖状、分岐状及び環状のいずれの形態であってもよく、また飽和炭化水素基でも不飽和炭化水素基でもよく、不飽和結合を分子内及び末端のいずれに有していても良い。中でも、 R_3 としては、 $C_{1\sim 20}$ アルキル基、 $C_{2\sim 20}$ アルケニル基、及び $C_{2\sim 20}$ アルキニル基が好ましく、 $C_{12\sim 14}$ アルキル基が更に好ましい。 R_3 としては、具体的には、例えば、 $-C_{14}H_{29}$ 等が挙げられる。
- [0044] R_4 は炭素数 1～30 の炭化水素基を示す。「炭素数 1～30 の炭化水素基」とは、 $C_{1\sim 30}$ アルキル基、 $C_{2\sim 30}$ アルケニル基、 $C_{2\sim 30}$ アルキニル基、 $C_{3\sim 30}$ シクロアルキル基、 $C_{3\sim 30}$ シクロアルケニル基、 $C_{6\sim 30}$ アリール基をも包含する概念であり、直鎖状、分岐状及び環状のいずれの形態であってもよく、また飽和炭化水素基でも不飽和炭化水素基でもよく、不飽和結合を分子内及び末端のいずれに有していても良い。中でも、 R_4 としては、 $C_{1\sim 30}$ アルキル基、 $C_{2\sim 30}$ アルケニル基、及び $C_{2\sim 30}$ アルキニル基が好ましく、 $C_{10\sim 30}$ アルキル基が更に好ましく、 $C_{15\sim 25}$ アルキル基が更に好ましい。 R_4 としては、具体的には、例えば、 $-C_{16}H_{33}$ 、 $-C_{24}H_{49}$ 等が挙げられる。
- [0045] R_3 及び R_4 で示される炭化水素基は、置換基を有していても良い。 R_3 及び R_4 で示される炭化水素基が置換基を有する場合、置換基としては、ハロゲン原子（好ましくは塩素原子、フッ素原子）；メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、tert-ブトキシ等のアルコキシ基（好ましくは炭素数 1～24、より好ましくは炭素数 1～16、更に好ましくは

炭素数 1 ～ 10、特に好ましくは炭素数 1 ～ 4) ; フェノキシ等のアリールオキシ基 (好ましくは炭素数 6 ～ 14) ; 水酸基 ; アミノ基 ; メチルアミノ、ジメチルアミノ、エチルアミノ、ジエチルアミノ等のアルキルアミノ基 ; シクロアルキルアミノ基 ; アセトアミド等のアルキルカルボニルアミノ基 ; シクロアルキルカルボニルアミノ基 ; ベンゾイルアミノ等のアリールカルボニルアミノ基 (好ましくは、アリール部分の炭素数が 6 ～ 14 のアリール基である、アリールカルボニルアミノ基) 等の電子供与性基、更にはカルボキシル基 ; アルコキシカルボニル基 ; アシル基 (アシル基としては後述の通りである。好ましくはアルキル部分が炭素数 1 ～ 24 の直鎖又は分岐状のアルキル基である、アルキルカルボニル基) ; カルバモイル基 ; トリフルオロメチル等の電子求引性基が例示される。置換基の位置及び数は特に限定されず、置換可能な位置に、1 個～置換可能な最大数の置換基を有していても良い。置換基が 1 以上存在する場合には、それらは同一であっても異なっても良い。

[0046] 本明細書において「アシル基」とは、例えば、ホルミル基 ; アルキルカルボニル基 (例えば、アルキル部分が、炭素数 1 ～ 24 (好ましくは炭素数 1 ～ 12) の直鎖若しくは分岐状のアルキル基である、アルキルカルボニル基 (例えば、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、ピバロイル、ヘキサノイル)) ; シクロアルキルカルボニル基 (例えば、シクロアルキル部分が、炭素数 3 ～ 10 のシクロアルキル基である、シクロアルキルカルボニル基) ; アルケニルカルボニル基 (例えば、アルケニル部分が炭素数 2 ～ 12 の直鎖若しくは分岐状のアルケニル基である、アルケニルカルボニル基 (例えば、アクリロイル、メタクリロイル)) ; アリールカルボニル基 (例えば、アリール部分が、炭素数 6 ～ 14 のアリール基である、アリールカルボニル基 (例えば、ベンゾイル、ナフトイル)) 等をいう。アリールカルボニル基におけるアリール基とは、例えば、単環～3 環式芳香族炭化水素基を示し、具体的に例えば、フェニル、ナフチル、アントリル、フェナントリルが例示される。中でも、アシル基としては

、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ベンゾイル、ナフトイル等が好ましく、アセチル、ベンゾイルがより好ましい。

[0047] 上記アルキルアミノ基、アルキルカルボニルアミノ基のアルキル部分としては、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、ヘキシル、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、ヘプタデシル、オクタデシル等の直鎖又は分岐状のアルキル基（好ましくは炭素数1～24、より好ましくは炭素数1～16、更に好ましくは炭素数1～10、特に好ましくは炭素数1～4）が例示される。

上記シクロアルキルアミノ基、シクロアルキルカルボニルアミノ基のシクロアルキル部分としては、シクロペンチル、シクロヘキシル等のシクロアルキル基（好ましくは炭素数3～24、より好ましくは炭素数3～16、更に好ましくは炭素数3～10、特に好ましくは炭素数3～6）が例示される。

上記アルコキシカルボニル基のアルコキシ部分としては上記アルコキシ基と同様のものが例示される。

[0048] 上記した置換基は、置換可能な位置に、更に、ハロゲン、アルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、フェニル基、アルコキシ基、水酸基、アミノ基、アルキルアミノ基及びシクロアルキルアミノ基のうちの少なくとも1種で置換されていても良い。

該ハロゲン、アルコキシ基、アルキルアミノ基、シクロアルキルアミノ基としては上記と同様のものが例示される。

該アルキル基としては、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、ヘキシル、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、ヘプタデシル、オクタデシル等のアルキル基（好ましくは炭素数1～24、より好ましくは炭素数1～16、更に好ましくは炭素数1～10、特に好ましくは炭素数1

～4) が例示される。

該シクロアルキル基としては、シクロペンチル、シクロヘキシル等のシクロアルキル基（好ましくは炭素数3～24、より好ましくは炭素数3～16、更に好ましくは炭素数3～10、特に好ましくは炭素数3～6）が例示される。

該アルケニル基としては、ビニル、プロペニル、ブテニル等のアルケニル基（好ましくは炭素数2～24、より好ましくは炭素数2～16、更に好ましくは炭素数2～10、特に好ましくは炭素数2～4）が例示される。

該アルキニル基としては、エチニル、プロパルギル、ブチニル、ペンチニル等のアルキニル基（好ましくは炭素数2～24、より好ましくは炭素数2～16、更に好ましくは炭素数2～10、特に好ましくは炭素数2～4）が例示される。

[0049] $A_1 \sim A_5$ は、同一又は異なって水素原子又は水酸基の保護基を示す。「水酸基の保護基」としては、例えば、ベンジル、4-メトキシベンジル（即ち、p-メトキシベンジル（PMB））、メトキシエトキシメチル、テトラヒドロピラニル、トリメチルシリル（TMS）、t-ブチルジメチルシリル（TBS又はTBDS）、t-ブチルジフェニルシリル（TBDS）、t-ブトキシカルボニル、トリクロロエトキシカルボニル、アセチル、ピバロイル等が挙げられる。

[0050] 本発明においては、糖（ガラクトピラノース）の環状構造に由来する立体異性体の中で α -体を採用する。

化合物（I）及び化合物（II）が糖の環状構造以外の構造（例えば、糖の環状構造以外の部分の不斉炭素等）に由来する立体異性体を有する場合には、いずれの異性体も本発明に包含され、2種以上の異性体の任意の割合の混合物（ラセミ体を含む）であっても良い。

特に、化合物（I）には、糖の環状構造以外の部分の不斉炭素に由来する光学異性体が存在するが、本発明においては、単一の光学活性体であっても、2種以上の光学活性体の任意の割合の混合物（ラセミ体を含む）であって

も良い。 $-\text{NHC}(=\text{O})\text{X}-\text{R}_4$ が結合する不斉炭素はS配置が好ましく、 $-\text{NHC}(=\text{O})\text{X}-\text{R}_4$ が結合する不斉炭素に隣接しOHが結合する不斉炭素はR配置が好ましい。 R_3 が結合する不斉炭素はR配置が好ましい。

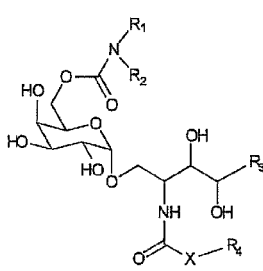
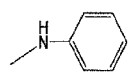
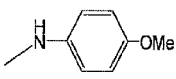
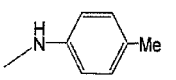
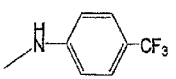
また、化合物(II)には、糖の環状構造以外の部分の不斉炭素に由来する光学異性体が存在するが、本発明においては、単一の光学活性体であっても、2種以上の光学活性体の任意の割合の混合物(ラセミ体を含む)であっても良い。 N_3 が結合する不斉炭素はS配置が好ましい。 $-\text{OA}_4$ が結合する不斉炭素は、R配置が好ましい。 $-\text{OA}_5$ が結合する不斉炭素はR配置が好ましい。

[0051] 化合物(I)及び化合物(II)の塩としては、薬学的に許容され得る塩が好ましく、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、リン酸塩等の無機酸塩；コハク酸塩、フマル酸塩、酢酸塩、メタンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩等の有機酸塩；ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；マグネシウム塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩、アルキルアンモニウム塩等のアンモニウム塩等を挙げることができる。

[0052] 本発明における好適な化合物(I)の具体例を表1に示すが、これらに限定されるものではない。

[0053]

[表1]

				
	-NR ₁ R ₂	-X-	-R ₃	-R ₄
RCAI-123	-NMe ₂	-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-124	-NHMe	-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-137	-NHOH	-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-138	-NHOMe	-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-148	-NH ₂ Et	-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-149	-NEt ₂	-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-121		-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-122		-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-131		-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-132		-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-139		-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-140		-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-141		-CH ₂ -	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₂₄ H ₄₉
RCAI-150	-NMe ₂	-NH-	-C ₁₄ H ₂₉	-C ₁₆ H ₃₃

[0054] 次に、本発明の化合物（I）及び（II）の製造方法について説明する。

化合物（I）及び（II）は下記スキームに記載の方法又はこれに準ずる方法に従って製造することが可能であるが、これらに限定されるものではなく、所望に応じて適宜修飾できる。かかる修飾としては、アルキル化、アシ

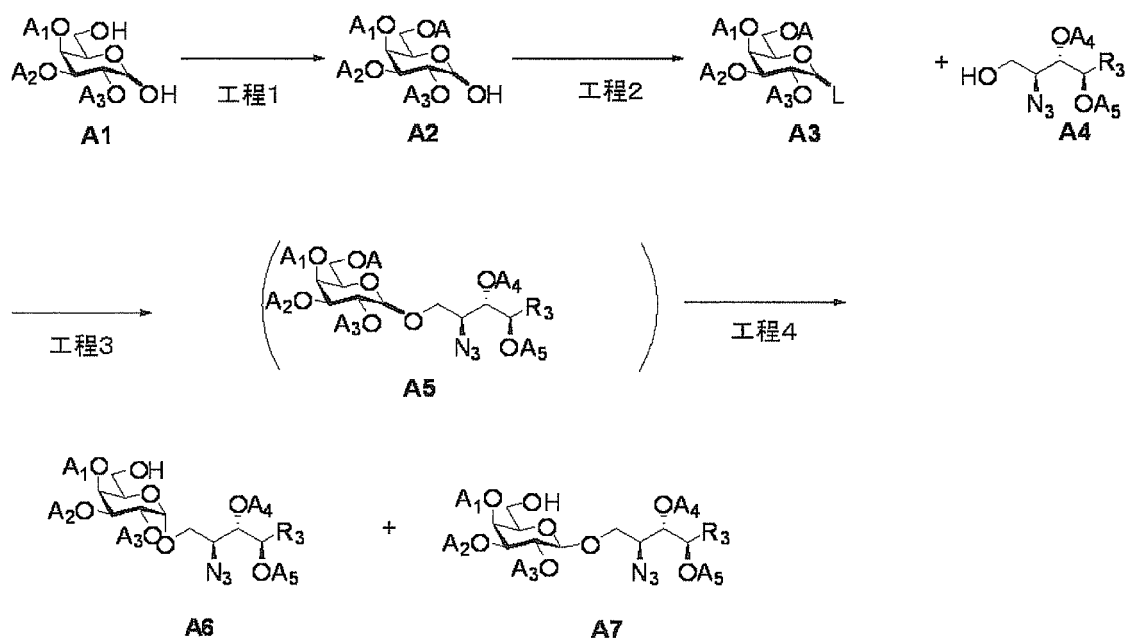
ル化、アミノ化、イミノ化、ハロゲン化、還元、酸化等が挙げられ、通常当分野で用いられる反応又は方法が利用される。その際、官能基の種類によっては、当該官能基を原料もしくは中間体の段階で適当な保護基（容易に当該官能基に転化可能な基）に置き換えておくことが製造技術上効果的な場合がある。保護基の化学的特性、その導入の手法、及びその除去は例えばT. Greene and P. Wuts “Protective Groups in Organic Synthesis” (3rded.), John Wiley & Sons NY (1999)に詳述されている。

[0055] 原料化合物は、特に述べない限り、市販されているものを容易に入手できるか、あるいは、自体公知の方法又はこれらに準ずる方法に従って製造することができる。

[0056] 本発明化合物の合成スキームを以下に示す（詳細な反応は実施例に準じる）。尚、スキーム中、具体的な基、化合物で記載されている場合があるが、代替可能な基、化合物が用いられ得ることは当業者には明らかである。

スキーム 1

[0057] [化10]



[0058] (各式中、Aは水酸基の保護基を示し、Lは脱離基を示す。その他の記号は前述と同義を示す。)

Aで示される水酸基の保護基は、A₁～A₅について前述したものと同様な

ものが挙げられる。Lで示される脱離基としては、例えばトリクロロアセトイミドイルオキシ、リン酸エステル $[-OP(O)(OPh)_2]$ など、ハロゲン (Br、F など) 等が挙げられる。

[0059] [工程 1]

工程 1 は、化合物 A 1 の 6 位の水酸基を保護する工程である。具体的には化合物 A 1 を塩基の存在下、有機溶媒中で保護試薬と反応させる。塩基としてはピリジン、2, 6-ルチジン、トリエチルアミン等のアミノ化合物が挙げられる。保護試薬としては、有機ケイ素試薬が好適であり、例えば、トリフルオロメタンスルホン酸 *tert*-ブチルジメチルシリル、*tert*-ブチルジメチルシリルクロリド等が使用できる。溶媒としては、本反応を阻害しない溶媒であればいずれを使用してもよく、溶媒としては、例えば、N, N-ジメチルホルムアミド (DMF)、テトラヒドロフラン (THF)、ヘキサメチルリン酸トリアミド (HMPA)、若しくはこれらの混合溶媒等が用いられる。塩基の使用量は、化合物 A 1 に対し、通常 1 ~ 2 当量である。保護試薬の使用量は、化合物 A 1 の水酸基 1 個当り、通常 1 ~ 5 当量、好ましくは 1 ~ 2 当量である。溶媒の使用量は、化合物 A 1 に対して通常 10 ~ 50 倍容量、好ましくは 10 ~ 20 倍容量である。本工程では好ましくは、4-(N, N-ジメチルアミノ)ピリジン (DMAPI) 等の触媒の存在下で行う。当該触媒の使用量は触媒量で十分である。

反応温度は通常 -20℃ ~ 室温、好ましくは 0℃ ~ 室温であり、反応時間は通常 1 ~ 48 時間、好ましくは 12 ~ 24 時間である。反応終了後、反応液を減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィーにより精製することで化合物 A 2 を高収率で得ることができる。

原料化合物 A 1 は、文献既知の手法 (Carbohydr. Res., 1979, 73, 273) により合成することができる。

[0060] [工程 2]

工程 2 は、化合物 A 2 の 1 位の水酸基を脱離基 L に変換し、化合物 A 3 を得る工程である。例えば脱離基が、トリクロロアセトイミドイルオキシであ

る場合、塩基の存在下、化合物A 2にトリクロロアセトニトリルを反応させて、化合物A 3を得ることができる。

トリクロロアセトニトリルの使用量は化合物A 2に対し通常1～10当量である。塩基としては、例えば、炭酸セシウム、ジアザビスクロウンデセン（DBU）、ジアザビスクロノネン（DBN）等が挙げられる。塩基の使用量は、化合物A 2に対し、通常0.01～2当量である。溶媒としては、例えば、ジクロロメタン、ジエチルエーテル、THF等が挙げられる。溶媒の使用量は、化合物A 2 1 mmol に対し、通常0.5～100 ml である。反応温度は、通常0～50℃、好ましくは室温であり、反応時間は通常30分～24時間である。

化合物A 3は常法によって単離することができ、例えば、溶媒によって希釈し、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水等で洗浄し、無水炭酸カリウム等で乾燥、濾過、濃縮することにより化合物A 3を得ることができる。必要により、更に精製しても良い。

[0061] [工程3]

工程3は、化合物A 3と化合物A 4とを、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル、モレキュラーシーブの存在下、反応させて化合物A 5を得る工程である。原料化合物A 4は、文献既知の手法（Eur. J. Org. Chem., 1998, 291）により合成することができる。

化合物A 3の使用量は、化合物A 4に対して、通常0.1～10当量である。トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリルの使用量は、化合物A 3に対して、通常0.01～3当量である。モレキュラーシーブの使用量は、化合物A 3 1 mmol に対して、通常1～2 g である。溶媒としては、例えば、ジクロロメタン、トリクロロメタン、THF、ジオキサン、酢酸エチル等が挙げられる。溶媒の使用量は、化合物A 3 1 mmol に対して、通常1～100 ml である。反応温度は、通常-78～60℃、反応時間は、通常0.1～24時間である。

化合物A 5は、常法によって単離することができ、例えば、反応終了後、

反応液を減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィーにより精製することで化合物 A 5 を単離することができる。

[0062] [工程 4]

工程 4 は、6 位の水酸基の保護基を脱保護する工程である。脱保護方法は、保護基の種類により公知の方法から選択されるが、例えば保護基 A が T B S 基の場合は、溶媒中で化合物 A 5 をテトラブチルアンモニウムフルオリドまたは酸と反応させる。

酸としては、トリフルオロ酢酸、p-トルエンスルホン酸、塩酸等の強酸が好適に使用される。酸の使用量は、化合物 A 5 に対して通常触媒量～10 当量、好ましくは 1～2 当量である。

テトラブチルアンモニウムフルオリドの使用量は、化合物 A 5 に対して通常 2 当量～20 当量である。

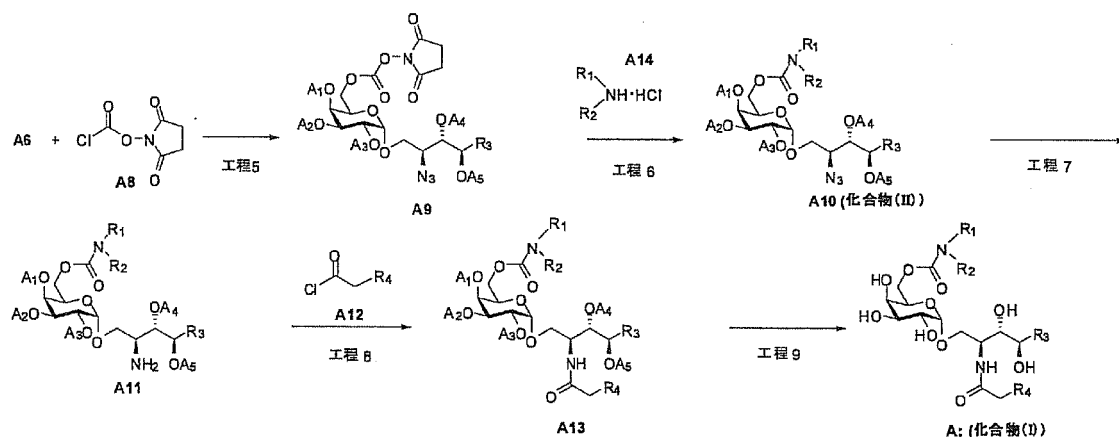
反応温度は通常－20～60℃、好ましくは室温であり、反応時間は通常 1～24 時間、好ましくは 2～12 時間である。

溶媒としては水溶性溶媒が好ましく、テトラヒドロフランが特に好ましい。溶媒の使用量は、化合物 A 5 に対して通常 1～100 倍容量である。

反応終了後、極性の異なる溶媒を用いたカラムクロマトグラフィーにより α -体である化合物 A 6 及び β -体である化合物 A 7 へと分離精製する。

スキーム 2

[0063] [化11]



[0064] (各式中、各記号は前述と同義を示す。)

[0065] [工程 5]

工程 5 は、塩基の存在下、化合物 A 6 と化合物 A 8 とを反応させて化合物 A 9 を得る工程である。原料化合物 A 8 は、文献既知の手法 (Synthesis, 1993, 103) により合成することができる。

化合物 A 8 の使用量は、化合物 A 6 に対して、通常 1 ～ 10 当量、好ましくは 1 ～ 5 当量である。

塩基としては、例えば、ピリジン、トリエチルアミン等が挙げられ、ピリジンが好ましい。塩基の使用量は、化合物 A 6 に対し、通常 1 ～ 10 当量である。溶媒としては、本反応を阻害しない溶媒であればいずれを使用してもよく、溶媒としては、例えば、N, N-ジメチルホルムアミド (DMF)、テトラヒドロフラン (THF)、ヘキサメチルリン酸トリアミド (HMPA)、若しくはこれらの混合溶媒等が用いられる。THF と DMF の混合溶媒が好ましい。溶媒の使用量は、化合物 A 6 1 mmol に対し、通常 0.5 ～ 100 ml である。反応温度は、-20℃～室温、好ましくは 0 ～ 4℃であり、反応時間は通常 30 分～24 時間である。反応終了後、反応液を減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィーにより精製することで化合物 A 9 を高収率で得ることができる。

[0066] [工程 6]

工程 6 は、塩基の存在下、化合物 A 9 と化合物 A 14 とを反応させて化合物 A 10 を得る工程である。化合物 A 10 は化合物 (I I) に包含される。原料化合物 A 14 は、R₁ 及び R₂ によって異なるが、通常文献既知の手法により合成することができるか、商業的に入手可能である。

化合物 A 14 の使用量は、化合物 A 9 に対して、通常 1 ～ 10 当量であり、好ましくは 2 当量である。

塩基としては、例えば、4-(ジメチルアミノ)ピリジン (DMAP)、ジイソプロピルエチルアミン、DABCO 等が挙げられる。塩基の使用量は、化合物 A 9 に対して、通常 1 ～ 10 当量であり、好ましくは 5 当量である。溶媒としては、例えば、N, N-ジメチルホルムアミド (DMF)、TH

F、HMPA、若しくはこれらの混合溶媒等が挙げられる。溶媒の使用量は、化合物A9 1mmolに対して、通常0.5～50mlである。反応温度は、通常－20～60℃、好ましくは室温で、反応時間は通常10分～24時間である。反応終了後、反応液を減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィーにより精製することで化合物A10を高収率で得ることができる。

[0067] [工程7]

工程7は、化合物A10中のアジド基を還元してアミノ基へ変換し、化合物A11を得る工程である。具体的には化合物A10を、有機溶媒中で還元剤、次いで塩基と反応させる。還元剤としては、トリメチルホスフィン、トリブチルホスフィン、トリフェニルホスフィン等のホスフィン化合物が挙げられる。溶媒としては、本反応を阻害しない溶媒であればいずれを使用してもよく、例えば、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、テトラヒドロフラン(THF)、ヘキサメチルリン酸トリアミド(HMPA)、若しくはこれらの混合溶媒等が用いられる。還元剤の使用量は、化合物A10のアジド基1個当たり、通常1～5当量、好ましくは1～2当量である。反応温度は通常－20～60℃、好ましくは室温であり、反応時間は通常1～48時間、好ましくは12～24時間である。反応終了後、水酸化ナトリウム水溶液等の塩基性水溶液で処理を行った後、化合物A11の単離精製は、常法により行うことができる。例えば、酢酸エチル等の溶媒で抽出する。得られた有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水等で洗浄し、無水炭酸カリウム等で乾燥する。溶液をろ過後、ろ液を減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィーにより精製することができる。

[0068] [工程8]

工程8は、化合物A11のアミノ基をアシル化して化合物A13を得る工程である。具体的には、化合物A11を溶媒中で、必要により塩基存在下で化合物A12と反応させる。原料化合物の化合物A12は文献既知の手法(Org. Lett., 2006, 8, 3375)により合成することができる。

溶媒としては、本反応を阻害しないものであれば特に限定さないが、例え

ばハロゲン溶媒（例えば、ジクロロメタン、クロロホルム）が好適に使用される。

必要に応じて塩基を添加してもよい。当該塩基としては、ピリジン、トリエチルアミン等が挙げられ、トリエチルアミンが好適である。

溶媒の使用量は、化合物 A 1 1 に対して通常 5 ～ 1 0 0 倍容量、好ましくは 2 0 ～ 5 0 倍容量である。

塩基の使用量は、化合物 A 1 1 に対して通常 1 0 ～ 5 0 当量、好ましくは 1 0 ～ 2 0 当量である。

化合物 A 1 2 の使用量は、化合物 A 1 1 に対して通常 1 ～ 2 0 当量、好ましくは 1 ～ 2 当量である。

反応温度は通常 - 2 0 ℃ ～ 室温、好ましくは 0 ～ 4 ℃ であり、反応時間は通常 1 ～ 2 4 時間、好ましくは 6 ～ 1 2 時間である。

反応終了後、化合物 A 1 3 の単離精製は、常法により行うことができる。例えば、反応液を水で希釈し、ジエチルエーテル等のエーテル溶媒、酢酸エチル等のエステル溶媒等で抽出する。得られた有機層を、ピリジンを塩基として用いた場合は飽和硫酸銅水溶液で洗浄した後、水、飽和食塩水等で洗浄し、無水硫酸マグネシウム等で乾燥する。溶液をろ過後、ろ液を減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー等により精製することにより化合物 A 1 3 を得ることができる。

[0069] [工程 9]

工程 9 は、化合物 A 1 3 の水酸基の保護基 A₁ ～ A₅ を脱保護して化合物 A（化合物（I））を得る工程である。脱保護方法は保護基の種類により公知の方法から選択されるが、例えば、ベンジル基の場合は、化合物 A 1 3 を溶媒中で水素及び還元触媒の存在下に反応させる。

溶媒としては、アルコール溶媒とハロゲン溶媒との混合溶媒が好適であり、より好ましくはエタノールとクロロホルムとの混合溶媒である。溶媒の使用量は、化合物 A 1 3 に対して通常 1 0 ～ 1 0 0 倍容量、好ましくは 1 0 ～ 5 0 倍容量である。

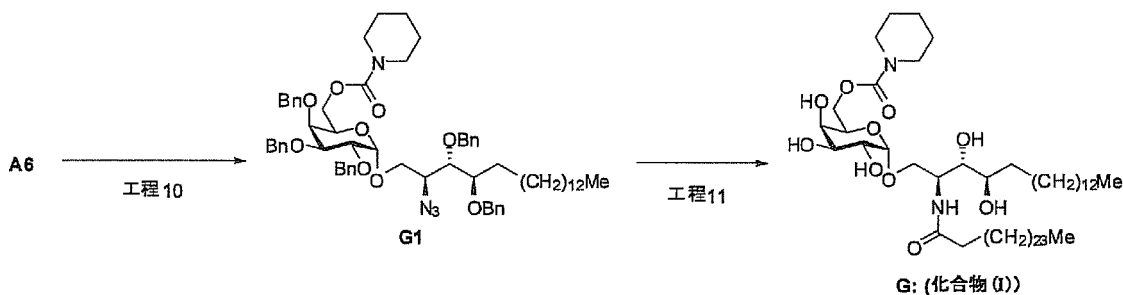
還元触媒としては、水酸化パラジウム、水酸化パラジウム-活性炭、酸化白金、ラネーニッケル等が挙げられる。還元触媒の使用量は、化合物 A 13 に対して通常触媒量で十分である。

反応時間は通常 1 ～ 24 時間、好ましくは 12 ～ 24 時間である。反応温度は 0℃ ～ 室温、好ましくは室温である。

反応終了後、反応液をろ過し、ろ液を減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィーにより精製することにより目的とする化合物 A を収率よく得ることができる。

スキーム 3

[0070] [化12]



[0071] [工程 10]

工程 10 は、化合物 A 6 の 6 位の水酸基をカルボニル化し、さらにピペリジンと結合させて化合物 G 1 を得る工程である。具体的には、化合物 A 6 を溶媒中で、カルボニル化試薬と反応させ、反応後ピペリジンと反応させる。

カルボニル化試薬としては、例えば、ホスゲン、またはその二量体、三量体、クロル炭酸エステル等が用いられる。

溶媒としては、本反応を阻害しないものであれば特に限定さないが、例えばハロゲン溶媒（例えば、塩化メチレン、ジクロロメタン、クロロホルム）が好適に使用される。

必要に応じて塩基を添加してもよい。当該塩基としては、ピリジン、トリエチルアミン等が挙げられ、ピリジンが好適である。

溶媒の使用量は、化合物 A 6 に対して通常 5 ～ 100 倍容量、好ましくは 20 ～ 50 倍容量である。

塩基の使用量は、化合物 A 6 に対して通常 1 ～ 50 当量、好ましくは 2 ～ 20 当量である。

反応温度は、通常 0 ～ 50℃、好ましくは室温で、反応時間は通常 30 分 ～ 24 時間である。

化合物 G 1 は、常法によって単離することができる、例えば、反応終了後、反応液を減圧濃縮し、残渣をクロマトグラフィーにより精製することによって化合物 G 1 を単離することができる。

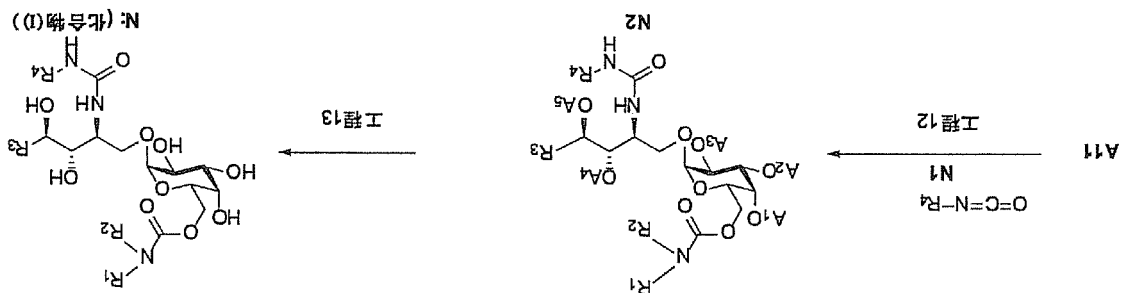
[0072] [工程 11]

工程 11 は化合物 G 1 を化合物 G に変換する工程である。化合物 G は化合物 (1) に包含される。

当該工程は出発化合物を化合物 A 10 の代わりに化合物 G 1 とすること以外は、工程 7 ～ 9 と同様に行う。

スキーム 4

[0073] [化13]



[0074] [工程 12]

工程 12 は、化合物 A 11 のアミノ基をカルバモイルアミノ化して化合物 N 2 を得る工程である。具体的には、化合物 A 11 を溶媒中で、必要により塩基存在下で化合物 N 1 と反応させる。原料化合物の化合物 N 1 は既知の手法により合成することができるし、商業的にも入手可能である。

溶媒としては、本反応を阻害しないものであれば特に限定されないが、例えばハロゲン溶媒（例えば、ジクロロメタン、クロロホルム）が好適に使用される。

必要に応じて塩基を添加してもよい。当該塩基としては、ピリジン、トリ

エチルアミン等が挙げられる。

溶媒の使用量は、化合物 A 1 1 に対して通常 5 ～ 1 0 0 倍容量、好ましくは 2 0 ～ 5 0 倍容量である。

塩基の使用量は、化合物 A 1 1 に対して通常 1 0 ～ 5 0 当量、好ましくは 1 0 ～ 2 0 当量である。

化合物 N 1 の使用量は、化合物 A 1 1 に対して通常 1 ～ 2 0 当量、好ましくは 1 ～ 1 0 当量である。

反応温度は通常 - 2 0 ℃ ～ 室温であり、反応時間は通常 1 ～ 2 4 時間である。

反応終了後、化合物 N 2 の単離精製は、常法により行うことができる。例えば、反応液を水で希釈し、ジエチルエーテル等のエーテル溶媒、酢酸エチル等のエステル溶媒等で抽出する。得られた有機層を、ピリジンを塩基として用いた場合は飽和硫酸銅水溶液で洗浄した後、水、飽和食塩水等で洗浄し、無水硫酸マグネシウム等で乾燥する。溶液をろ過後、ろ液を減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー等により精製することにより化合物 N 2 を得ることができる。

[0075] [工程 1 3]

工程 1 3 は化合物 N 2 を化合物 N に変換する工程である。化合物 N は化合物 (I) に包含される。

当該工程は出発化合物を化合物 A 1 3 の代わりに化合物 N 2 とすること以外は、工程 9 と同様にして行う。

[0076] 本発明に係る化合物 (I) 又はそれらの塩 (以下、「本発明のカルバメート糖脂質」ともいう) を投与することにより、N K T 細胞を活性化して I F N - γ 産生を選択的、優先的に誘導することが可能となる。しかも従来の α - ガラクトシルセラミドとは異なり I L - 4 の産生増加が抑制されているので、病状を悪化させることなく癌又は感染症等の予防又は治療が可能になる。本発明の糖脂質が有するカルバメート基はアミド基に比べて代謝されにくく、N K T 細胞を長時間かつ強力に活性化させることが可能である。さらに

、 α -ガラクトシルセラミドに比べて、少量の投与でもNK T細胞を強力に活性化でき、IFN- γ の産生量を増大させることが可能である。

[0077] 本発明のカルバメート糖脂質をヒト樹状細胞にパルスし、該樹状細胞を対象に投与することにより、より強力なIFN- γ 産生誘導作用を得ることができる。ここで使用されるヒト樹状細胞は、本発明のカルバメート糖脂質を介してNK T細胞を活性化し得るヒト由来の樹状細胞(hDC)であれば特に制限はなく、ミエロイド系の樹状細胞(DC1)、リンパ系の樹状細胞(DC2)のいずれであってもよいが、好ましくはDC1である。hDCは自体公知のいかなる方法によって調製されてもよく、ヒトの表皮、リンパ系組織のT細胞領域、末梢非リンパ系組織、輸入リンパ、真皮などから分離することもできるが、好ましくは、例えば、ヒト末梢血等から密度勾配遠心法などにより単球、骨髓球などを分離し、GM-CSFおよびIL-4存在下で約7～約10日間培養して、調製することができる。

[0078] 本発明のカルバメート糖脂質によるhDCのパルスは周知慣用の手法により行えばよく、例えば、本発明のカルバメート糖脂質を約100～約200 ng/mlの濃度で含有する培地(例えば、RPMI-1640培地等)中で、hDCを約12～約48時間培養することにより実施することができる。当該パルスは、上記未成熟のhDCをGM-CSFおよびIL-4存在下で培養・成熟させる過程で、培地に本発明の糖脂質を添加することにより行ってもよい。

[0079] NK T細胞の活性化の有無およびその程度は、自体公知のいかなる方法によっても測定することができるが、例えば、活性化したNK T細胞が産生するサイトカインの量を指標として、NK T細胞の活性化を評価することができる。活性化したNK T細胞が産生するサイトカインとしては、IFN- γ 、IL-4、GM-CSF、IL-10等が挙げられるが、本発明の糖脂質は選択的にIFN- γ の産生を誘導する。

[0080] NK T細胞におけるサイトカインの産生は、例えば、該サイトカインに対する抗体を用いて測定することができる。例えば、細胞培養上清を用いてE

L I S A 法、R I A 法、F I A 法、E I A 法などの慣用のイムノアッセイによりNK T細胞の活性化を評価することもできるが、好ましい一実施態様においては、抗サイトカイン抗体を固定化した固相にNK T細胞含有試料を接触させ、固液分離後に固相に結合したサイトカインを、標識した抗サイトカイン抗体を用いてサンドイッチ法により検出・計数する方法が用いられる。標識剤としては酵素、蛍光物質、発光物質、色素、放射性同位元素などが挙げられる。ビオチン化した抗サイトカイン抗体と標識剤を結合した（ストレプト）アビジンとを用いてもよい。標識剤としてアルカリフォスファターゼ等の酵素を用いたアッセイ系は、E L I S P O T の名で、サイトカイン産生細胞の検出用として知られている。

[0081] 本発明のカルバメート糖脂質により予防又は治療可能な疾患としては、I F N - γ の産生増大によって直接的または間接的に予防又は治療的效果が期待されるものであれば特に限定はなく、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ネコ、ウシ、イヌ、ウマ、ヤギ、サル、ヒト）の各種癌（例えば、乳癌、大腸癌、肺癌、前立腺癌、食道癌、胃癌、肝臓癌、胆道癌、脾臓癌、腎癌、膀胱癌、子宮癌、精巣癌、甲状腺癌、膵臓癌、脳腫瘍、卵巣癌、皮膚癌、血液腫瘍（例、成人T細胞白血病、慢性骨髄性白血病、悪性リンパ腫など）など）；各種感染症、例えば、ウイルス性疾患（例、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、D型肝炎ウイルスによるウイルス性肝炎、ヘルペス症、後天性免疫不全症候群（A I D S）など）、細菌感染症（例、薬剤耐性結核、非定形抗酸菌感染症など）、真菌症（例、カンジダ症など）等が挙げられる。

[0082] また、本発明のカルバメート糖脂質は、その薬効を損なわない限り、他の薬剤、例えば、既存の抗癌剤、抗ウイルス薬、抗菌剤、抗真菌剤などと併用することができる。この際、投与時期は限定されず、これらを投与対象に対し、同時に投与してもよいし、時間差をおいて投与してもよい。投与量は、临床上用いられている用量を基準として適宜選択することができる。また、本発明のカルバメート糖脂質と併用薬の配合比は、投与対象、投与ルート、対象疾患、症状、組み合わせ等に応じて適宜選択することができる。

[0083] 既存の抗癌剤としては、例えば、化学療法剤、ホルモン療法剤、免疫療法剤などが挙げられる。

化学療法剤としては、例えばアルキル化剤（例、サイクロフォスファミド、イフォスファミド、ニムスチン、ラニムスチン、カルボコン等）、代謝拮抗剤（例、メソトレキセート、5-フルオロウラシル、テガフル、カルモフル、UFT、ドキシフルリジン、シタラビン、エノシタビン、メルカプトプリン、メルカプトプリンリボシド、チオグアニン等）、抗癌性抗生物質（例、マイトマイシン、アドリアマイシン、ダウノルビシン、エピルビシン、ピラルビシン、イダルビシン、ブレオマイシン、ペプロマイシン、アクチノマイシン等）、植物由来抗癌剤（例、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシン、エトポシド、カンプトテシン、イリノテカン等）、シスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、エストラムスチン等が挙げられる。

[0084] ホルモン療法剤としては、例えば副腎皮質ホルモン薬（例、プレドニゾロン、プレドニゾン、デキサメタゾン、酢酸コルチゾン等）、エストロゲン薬（例、エストラジオール、エチニルエストラジオール、ホスフェストロール、クロロトリアニセン等）、抗エストロゲン薬（例、エピチオスタノール、メピチオスタン、タモキシフェン、クロミフェン等）、黄体ホルモン薬（例、カプロン酸ヒドロキシプロゲステロン、ジドロゲステロン、メドロキシプロゲステロン、ノルエチステロン、ノルエチンドロン等）、LHRH誘導体（例、酢酸リュープロレリン等）等が挙げられる。

[0085] 免疫療法剤としては、例えば微生物又は細菌成分（例、ムラミルジペプチド誘導体、ピシバニール等）、免疫増強活性のある多糖類（例、レンチナン、シゾフィラン、クレスチン等）、遺伝子工学的手法で得られるサイトカイン（例、インターフェロン、インターロイキン2（IL-2）、インターロイキン12（IL-12）、腫瘍壊死因子（TNF）等）、コロニー刺激因子（例、顆粒球コロニー刺激因子、エリスロポエチン等）等が挙げられる。

[0086] 抗ウイルス薬としては、例えば、核酸合成阻害型抗ウイルス薬（例：アシ

クロビル、ガンシクロビル、ビダラビン、ホスカルネット、ジドブジン、ラミブジン、ジダノシン等)、細胞内進入抑制型抗ウイルス薬(例:アマンタジン、ザナミビル、オセルタミビル等)、宿主感染防御能亢進型抗ウイルス薬(例:インターフェロン、イソプリノシン等)等が挙げられる。

[0087] 抗菌剤としては、例えば、ペニシリン系抗生物質(例:サワシリン、パセトシン、ヤマシリン、バカシル、ビクシリン、ペントレックス等)、セフェム系抗生物質(例:ケフレックス、ケフラル、セフゾン、トミロン、セフスパン、パンスポリン等)、マクロライド系抗生物質(例:エリスロシン、クラリス、クラリシッド、ルリッド、ジョサマイシン等)、テトラサイクリン系抗生物質(例:ミノマイシン、ビブラマイシン、ヒドラマイシン、レダマイシン等)、ホスホマイシン系抗生物質(例:ホスミシン、ユーコシン等)、アミノグリコシド系抗生物質(例:カナマイシン等)、ニューキノロン系抗菌剤(例:クラビット、タリビッド、バクシダール、トスキサシン、オゼックス等)等が挙げられる。

[0088] 抗真菌薬としては、例えば、ポリエン系抗真菌薬(例:トリコマイシン、アムホテリシンB、ナイスタチン等)、イミダゾール系抗真菌薬(例:エコナゾール、ミコナゾール、クロトリマゾール等)、トリアゾール系抗真菌薬(例:フルコナゾール、イトラコナゾール等)、アリルアミン系抗真菌薬(例:ブテナフィン、塩酸テルビナフィン等)、フルシトシン(5-F C)系抗真菌薬(例:フルシトシン等)等が挙げられる。

[0089] 本発明のカルバメート糖脂質をヒトに投与する場合、それ自体又はそれを薬理的に許容される担体、賦形剤、希釈剤等と混合し、経口投与剤(例えば、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤)、非経口投与剤(例えば、注射剤)、坐剤(例えば、直腸坐剤、膣坐剤)等の医薬組成物として経口的又は非経口的に安全に投与することができる。これらの製剤は、従来公知の方法により製造することができる。

[0090] 注射剤としては、皮下注射、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射又は点滴剤等が挙げられる。注射剤は、本発明の糖脂質を可溶化剤(例えば、 β -

シクロデキストリン類)、分散剤(例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム)、保存剤(例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン、ベンジルアルコール、クロロブタノール)、等張化剤(例えば、塩化ナトリウム、グリセリン、ソルビトール、ブドウ糖)等とともに常法にしたがって水性注射剤にすることもできる。また、植物油(例えば、オリーブ油、ゴマ油、ラッカセイ油、綿実油、コーン油)、プロピレングリコール等に溶解、懸濁又は乳化して油性注射剤にすることもできる。

[0091] 経口投与剤は、本発明のカルバメート糖脂質に、例えば、賦形剤(例えば、乳糖、白糖、デンプン)、崩壊剤(例えば、デンプン、炭酸カルシウム)、結合剤(例えば、デンプン、アラビアゴム、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース)又は滑沢剤(例えば、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール)等を適宜添加して圧縮成形し、次いで必要に応じてヒドロキシプロピルメチルセルロース等のコーティングを施すことにより製造することもできる。坐剤は、本発明のカルバメート糖脂質と、非刺激性の賦形剤(例えば、ポリエチレングリコール、高級脂肪酸のグリセライド)とを混合して製造することができる。

[0092] 本発明のカルバメート糖脂質の投与量は、年齢、体重、症状、剤形、投与方法、投与期間などにより異なるが、例えば、患者(成人、体重約60kg)一人あたり、通常、1日0.1~1mg/kg、好ましくは0.5~1mg/kg、より好ましくは0.8~1mg/kgを1回から数回に分けて経口又は非経口投与される。

[0093] IFN- γ 産生を誘導する為に、本発明のカルバメート糖脂質を樹状細胞にパルスし、該樹状細胞を患者に投与することもできる。従って、本願発明は、本発明のカルバメート糖脂質をパルスした樹状細胞を含有する選択的IFN- γ 産生誘導剤を提供する。

該剤は、常套手段にしたがって、本発明のカルバメート糖脂質でパルスした有効量の上記hDCを医薬として許容される担体と混合するなどして、経

口／非経口製剤として製造することができる。該剤は、通常は、注射剤、懸濁剤、点滴剤等の非経口製剤として製造される。当該非経口製剤に含まれ得る医薬上許容される担体としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などの注射用の水性液を挙げることができる。本発明の剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤、酸化防止剤などと配合しても良い。該剤を水性懸濁液剤として製剤化する場合、上記水性液に約 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 細胞／m l となるように、本発明のカルバメート糖脂質でパルスしたhDCを懸濁させればよい。このようにして得られる製剤は、安定で低毒性であるので、ヒトに対して安全に投与することができる。投与対象はhDCの由来する患者本人であること（即ち、自家移植）が好ましいが、投与されるhDCに対して適合性があることが予測されるヒトであれば、これに限定されない。投与方法は特に限定されず、経口又は非経口的に投与することができるが、好ましくは注射もしくは点滴投与であり、静脈内投与、皮下投与、皮内投与、筋肉内投与、腹腔内投与、患部直接投与などが挙げられる。本発明の剤の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、通常、成人の患者（体重60kgとして）においては、例えば、非経口投与の場合、1回につきhDC量として約 $6 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 細胞を、約1～約2週間隔で、約4～約8回投与するのが好都合である。

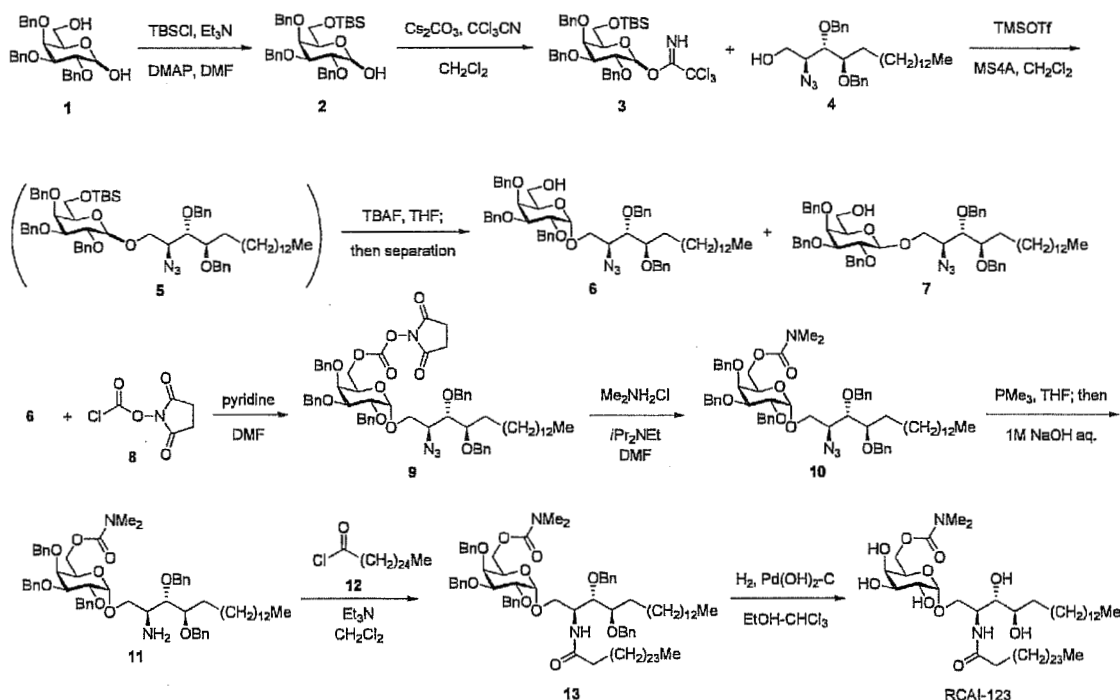
実施例

[0094] 以下、本発明を実施例、試験例によって更に具体的に説明するが、本発明は以下に限定されるものではない。

[0095] 実施例1：RCAI-123（化合物Aに包含される）の合成および精製方法

[0096]

[化14]



[0097] 化合物 2 の合成

化合物 1 は文献既知の手法(Carbohydr. Res., 1979, 73, 273)により合成することができる。化合物 1 (6.03 g, 13.4 mmol)およびトリエチルアミン(9.3 mL, 67 mmol)のN, N-ジメチルホルムアミド(120 mL)溶液に、tert-ブチルジメチルシリルクロリド(2.21 g, 14.7 mmol)と4-(N, N-ジメチルアミノ)ピリジン(163 mg, 1.33 mmol)を0℃下で加えた。反応混合物を室温下で15時間攪拌した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(80 g, ヘキサン：酢酸エチル=10：1)により精製し、化合物 2 (7.04 g, 93%, α-体：β-体=約3：2の混合物)を無色油状物として得た。

IR (film): $\nu_{\max}$ = 3420 (br m, OH), 1610 (w), 1585 (w), 1495 (m), 1255 (m, t-Bu, Si-Me), 1100 (br s, C-O), 840 (br s), 735 (br s), 700 (s) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 7.38–7.19 (15H, m), 5.26 (0.6H, dd, J =

4.0, 2.0 Hz, α -1-H), 4.65 (0.4H, t, J = 7.0 Hz, β -1-H), 2.94 (0.4H, d, J = 7.0 Hz, β -OH), 2.86 (0.6H, d, J = 2.0 Hz, α -OH), 0.88 (9H, s, t-Bu), 0.04 (3H, s, SiMe), 0.03 (3H, s, SiMe) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{33}H_{44}O_6SiNa)$: 587.2799; Found: 587.2799.

[0098] 化合物 3 の合成

化合物 2 (2.02 g, 3.58 mmol) のジクロロメタン (50 mL) 溶液に、トリクロロアセトニトリル (3.65 mL, 36.1 mmol) と炭酸セシウム (590 mg, 1.81 mmol) を室温下で加えた。反応混合物を室温下で 16 時間攪拌した後、水を加え、ジクロロメタンで抽出した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄した後、無水炭酸カリウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去し、目的とする化合物 3 (2.6 g, α -体 : β -体 = 約 2 : 1 の混合物) を橙色油状物として得た。この化合物は、これ以上精製せずに次の操作に用いた。

IR (film): $\nu_{\max}$ = 3340 (w, NH), 1730 (m, C=O), 1670 (s, C=N), 1605 (w), 1590 (w), 1500 (m), 1255 (m, t-Bu, Si-Me), 1105 (br s, C-O), 1060 (br s, C-O), 840 (s), 735 (s), 700 (s) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 8.61 (0.33H, s, β -NH), 8.51 (0.67H, s, α -NH), 7.38–7.25 (15H, m), 6.51 (0.67H, d, J = 3.5 Hz, α -1-H), 5.75 (0.33H, d, J = 8.0 Hz, β -1-H), 0.87 (3H, s, β -t-Bu), 0.86 (6H, s, α -t-Bu), 0.04 (1H, s, β -SiMe), 0.03 (1H, s, β -SiMe), 0.01 (2H, s, α -SiMe), 0.00 (2H, s, α -SiMe) ppm.

[0099] 化合物 5 の合成

化合物 4 は文献既知の手法 (Eur. J. Org. Chem., 1998, 291) により合成することができる。化合物 4 (1.51 g, 2.88 mmol)、上記の過程で得られた化合物 3 (2.6 g) およびモレキュラーシーブ (4 Å, 粉末, 9.3 g) の無水ジクロロメタン (50 mL) 懸濁液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル (26 μL , 0.14 mmol) を 40 °C (オイルバス温度) 下で加えた。反応混合物を 40 °C (オイルバス温度) 下で 15 分間攪拌した後、室温まで冷却し、濾過し

た。濾過後、濾液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、有機層を無水炭酸カリウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(50 g, ヘキサン : 酢酸エチル = 20 : 1)により精製し、化合物 5 (2.69 g, 87%, α -体 : β -体 = 約 3 : 1 の混合物)を無色油状物として得た。

IR (film): $\nu_{\max}$ = 2100 (s, N_3), 1605 (w), 1585 (w), 1495 (m), 1255 (m, t-Bu, Si-Me), 1105 (br s, C-O), 1060 (br s, C-O), 840 (br s), 735 (s), 700 (s) cm^{-1} .

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 4.89 (0.75H, d, J = 3.5 Hz, α -1' -H), 4.34 (0.25H, d, J = 7.5 Hz, β -1' -H), 0.88 (3H, t, J = 6.5 Hz, 18- H_3), 0.87 (2.25H, s, β -t-Bu), 0.86 (6.75H, s, α -t-Bu), 0.019 (0.75H, s, β -SiMe), 0.016 (0.75H, s, β -SiMe), 0.009 (2.25H, s, α -SiMe), 0.002 (2.25H, s, α -SiMe) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{65}H_{91}N_3O_8SiNa)$: 1092.6468; found: 1092.6464.

[0100] 化合物 6、7 の合成

上述の過程で得られた化合物 5 (2.69 g, 2.51 mmol, α -体 : β -体 = 約 3 : 1 の混合物)のテトラヒドロフラン(50 mL)溶液に、テトラブチルアンモニウムフルオリドのテトラヒドロフラン溶液(1.0 M, 5.0 mL, 5.0 mmol)を室温下で加えた。反応混合物を室温下で 3 時間攪拌した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順に洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(30 g)により精製し、化合物 6 (α -体, ヘキサン : 酢酸エチル = 5 : 1, 1.67 g, 70%)と化合物 7 (β -体, ヘキサン : 酢酸エチル = 3 : 1, 612 mg, 25%)をそれぞれ無色油状物として得た。

α -体 : n_D^{24} = 1.5171.

$[\alpha]_D^{25}$ = +24.8 (c = 1.00, $CHCl_3$).

IR (film): $\nu_{\max}$ = 3480 (br m, OH), 2100 (s, N₃), 1605 (w), 1585 (w), 1500 (m), 1100 (br s, C-O), 1060 (br s, C-O), 735 (br s), 700 (s) cm⁻¹.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.41–7.20 (25H, m), 4.96 (1H, d, J = 12 Hz), 4.91 (1H, d, J = 3.0 Hz), 4.87 (1H, d, J = 12 Hz), 4.81 (1H, d, J = 12 Hz), 4.75 (1H, d, J = 12 Hz), 4.70 (1H, d, J = 12 Hz), 4.66 (1H, d, J = 12 Hz), 4.63 (1H, d, J = 12 Hz), 4.61 (1H, d, J = 12 Hz), 4.57 (1H, d, J = 12 Hz), 4.50 (1H, d, J = 12 Hz), 4.66 (1H, dd, J = 10, 3.5 Hz), 3.99–3.95 (2H, m), 3.85 (1H, br s), 3.75–3.68 (4H, m), 3.63 (1H, dd, J = 12, 3.5 Hz), 3.64–3.60 (1H, m), 3.40 (1H, ddd, J = 12, 8.5, 5.0 Hz), 1.69–1.60 (2H, m), 1.57–1.50 (2H, m), 1.44–1.34 (1H, m), 1.34–1.21 (22H, m), 0.88 (3H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for [M+Na]⁺(C₅₉H₇₇N₃O₈Na): 978.5603; found: 978.5601.

β -体:

$n_D^{24} = 1.5177$.

$[\alpha]_D^{25} = -0.48$ (c = 1.02, CHCl₃).

IR (film): $\nu_{\max}$ = 3460 (br m, OH), 2100 (s, N₃), 1605 (w), 1585 (w), 1495 (m), 1090 (br s, C-O), 735 (br s), 700 (s) cm⁻¹.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.47–7.21 (25H, m), 4.96 (1H, d, J = 12 Hz), 4.94 (1H, d, J = 12 Hz), 4.81 (1H, d, J = 12 Hz), 4.79 (1H, d, J = 12 Hz), 4.74 (1H, d, J = 12 Hz), 4.68 (1H, d, J = 12 Hz), 4.65 (1H, d, J = 12 Hz), 4.64 (1H, d, J = 12 Hz), 4.57 (1H, d, J = 12 Hz), 4.51 (1H, d, J = 12 Hz), 4.34 (1H, d, J = 8.0 Hz), 4.12 (1H, dd, J = 10, 7.5 Hz), 3.89–3.84 (2H, m), 3.77 (1H, dd, J = 10, 3.0 Hz), 3.78–3.75 (1H, m), 3.72–3.65 (2H, m), 3.62 (1H, br quint., J = 4.0 Hz), 3.51 (1H, dd, J = 10, 3.0 Hz), 3.45 (1H, ddd, J = 11, 8.5, 4.0 Hz), 3.30 (1H, br t, J = 6.5 Hz), 1.71–1.63 (1H, m), 1.58–1.50 (2H, m), 1.44–1.34 (2H, m), 1.33–1.22 (22H, m), 0.88 (3H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for [M+Na]⁺(C₅₉H₇₇N₃O₈Na): 978.5603; found: 978.5595.

[0101] 化合物 9 の合成

化合物 8 は文献既知の手法(Synthesis, 1993, 103)により合成することができる。化合物 6 (1.05 g, 1.10 mmol) とピリジン(444 μ L, 5.49 mmol) のテトラヒドロフラン-N, N-ジメチルホルムアミド(1:1, 40 mL) 溶液に、化合物 8 (589 mg, 3.32 mmol) を 0 °C 下で加えた。反応混合物を室温下で 16 時間攪拌した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を、水、飽和硫酸銅水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順に洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(30 g, ヘキサン: 酢酸エチル = 5 : 1) により精製し、化合物 9 (1.23 g, quant.) を無色油状物として得た。

$n_D^{22} = 1.5171$.

$[\alpha]_D^{22} = +26.4$ ($c = 1.03$, CHCl_3).

IR (film): $\nu_{\max} = 2100$ (s, N_3), 1815 (s, C=O), 1790 (s, C=O), 1750 (br s, C=O), 1605 (w), 1585 (w), 1495 (m), 1230 (br s), 1100 (br s, C-O), 740 (br s), 700 (s) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.40\text{--}7.22$ (25H, m), 4.97 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 3.5$ Hz), 4.88 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.78 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.76 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.68 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.66 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.63 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.58 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.57 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.52 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.32 (1H, dd, $J = 11$, 7.5 Hz), 4.04 (1H, dd, $J = 10$, 3.0 Hz), 4.01 (1H, dd, $J = 11$, 5.0 Hz), 4.01–3.96 (2H, m), 3.94–3.91 (1H, m), 3.83–3.81 (1H, m), 3.78–3.69 (3H, m), 3.63–3.60 (1H, m), 2.76 (4H, s), 1.70–1.62 (1H, m), 1.59–1.51 (1H, m), 1.44–1.35 (1H, m), 1.35–1.20 (23H, m), 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{64}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Na})$: 1119.5670; found: 1119.5671.

[0102] 化合物 10 の合成

化合物 9 (122 mg, 0.111 mmol) とジイソプロピルエチルアミン (97 μ L, 0.557 mmol) の N, N-ジメチルホルムアミド (5 mL) 溶液に、ジメチルアミン塩酸塩 (18 mg, 0.221 mmol) を室温下で加えた。反応混合物を室温下で 17 時間攪拌した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順に洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (30 g, ヘキサン : 酢酸エチル = 5 : 1) により精製し、化合物 10 (101 mg, 89%) を無色油状物として得た。

$n_D^{24} = 1.5178$.

$[\alpha]_D^{26} = +24.6$ ($c = 1.04$, CHCl_3).

IR (film): $\nu_{\max} = 2300$ (s, N_3), 1710 (s, C=O), 1605 (w), 1500 (m), 1100 (br s, C-O), 1060 (br s, C-O), 735 (br s), 700 (s) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.40\text{--}7.19$ (25H, m), 4.96 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.91 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), 4.87 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.79 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.74 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.68 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.66 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.62 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.60 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.57 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.49 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.13 (1H, dd, $J = 11$, 7.0 Hz), 4.09–4.06 (2H, m), 3.99 (1H, dd, $J = 10$, 3.0 Hz), 3.97 (1H, dd, $J = 10$, 2.0 Hz), 3.93 (1H, br t, $J = 7.0$ Hz), 3.86–3.85 (1H, m), 3.74 (1H, dd, $J = 6.5$, 4.5 Hz), 3.70 (1H, dd, $J = 10$, 6.5 Hz), 3.69–3.65 (1H, m), 3.61 (1H, quint.-like, $J = 4.0$ Hz), 2.84 (3H, s), 2.70 (3H, s), 1.70–1.62 (1H, m), 1.57–1.50 (2H, m), 1.44–1.35 (1H, m), 1.33–1.20 (22H, m), 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{62}\text{H}_{82}\text{N}_4\text{O}_3\text{Na})$: 1049.5980; found: 1049.5964.

[0103] 化合物 11 の合成

化合物 10 (217 mg, 0.211 mmol) の無水テトラヒドロフラン (10 mL) 溶液に、トリメチルホスフィンのテトラヒドロフラン溶液 (1.0 M, 1.1 mL, 1.1 mmol) を 0 °C 下で加えた。反応混合物を室温下で 15 時間攪拌した後、水酸化ナ

トリウム水溶液(1.0 M, 2.2 mL, 2.2 mmol)を加えた。室温下でさらに6時間攪拌した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で順に洗浄した後、無水炭酸カリウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(NHシリカ、30 g, ヘキサン：酢酸エチル=1：1)により精製し、化合物11(161 mg, 76%)を無色油状物として得た。

$n_D^{24} = 1.5173$.

$[\alpha]_D^{24} = +24.3$ ($c = 1.02$, CHCl_3).

IR (film): $\nu_{\max} = 3380$ (w, NH), 1710 (br s, C=O), 1600 (w), 1500 (m), 1140 (br s, C-O), 1100 (br s, C-O), 1060 (br s, C-O), 735 (br s), 695 (s) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.40\text{--}7.23$ (25H, m), 4.96 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 3.5$ Hz), 4.86 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.78 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.75 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.70 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.66 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.63 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.61 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.54 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.50 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.14–4.07 (2H, m), 4.07 (1H, dd, $J = 10, 4.0$ Hz), 3.96–3.92 (3H, m), 3.87 (1H, br s), 3.72–3.69 (1H, m), 3.55–3.52 (1H, m), 3.39 (1H, br t, $J = 9.0$ Hz), 3.19–3.15 (1H, m), 2.83 (3H, s), 2.68 (3H, s), 1.72–1.62 (1H, m), 1.62–1.51 (2H, m), 1.51–1.42 (1H, m), 1.34–1.20 (22H, m), 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{62}\text{H}_{85}\text{N}_2\text{O}_9$): 1001.6255; found: 1001.6241.

[0104] 化合物13の合成

化合物12は文献既知の手法(Org. Lett., 2006, 8, 3375)により合成することができる。化合物11(151 mg, 0.151 mmol)とトリエチルアミン(105 μL , 0.757 mmol)の無水ジクロロメタン(10 mL)溶液に、化合物12(70 mg, 0.17 mmol)の無水ジクロロメタン(2 mL)溶液を0℃下で加えた。反応混合物を室温下で18時間攪拌した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を

、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順に洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(30 g, ヘキサン：酢酸エチル = 4 : 1)により精製し、化合物 1 3 (183 mg, 88%)を無色固体として得た。

$[\alpha]_D^{24} = +18.4$ ($c = 1.08$, CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.40\text{--}7.21$ (25H, m), 5.98 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 4.96 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.90 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), 4.83 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.79 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.78 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.76 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.64 (2H, d, $J = 12$ Hz), 4.58 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.51 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.45 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.20–4.15 (1H, m), 4.11 (2H, d, $J = 6.5$ Hz), 4.07 (1H, dd, $J = 10, 4.0$ Hz), 3.93–3.85 (4 H, m), 3.84 (1H, dd, $J = 7.5, 2.5$ Hz), 3.74 (1H, dd, $J = 11, 4.0$ Hz), 3.49 (1H, dt, $J = 8.5, 2.5$ Hz), 2.83 (3H, s), 2.73 (3H, s), 1.99 (1H, quint., $J = 7.5$ Hz), 1.92 (1H, quint., $J = 7.5$ Hz), 1.69–1.40 (6H, m), 1.40–1.18 (66H, m), 0.88 (6H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{88}\text{H}_{134}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na})$: 1401.9936; found: 1401.9930.

[0105] R C A I – 1 2 3 の合成

化合物 1 3 (179 mg, 0.130 mmol)のエタノール–クロロホルム(4:1, 10 mL)溶液に、水酸化パラジウム–活性炭(20%, wet, 44 mg)を室温下で加えた。水素雰囲気下、室温下で15時間攪拌した後、クロロホルム–メタノール混合溶媒(5:1)で希釈した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(6 g, クロロホルム：メタノール = 25 : 2)により精製し、R C A I – 1 2 3 (101 mg, 84%)を無色粉末として得た。

Mp 130–132°C.

$[\alpha]_D^{26} = +49.8$ ($c = 0.30$, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\text{max}} = 3420$ (br s, OH), 3280 (w, NH), 1690 (br s, C=O), 1640 (s, C=O), 1545 (br m), 1210 (br m), 1150 (br m, C–O), 1080 (br s, C–

0), 720 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): δ = 8.47 (1H, d, J = 8.5 Hz), 5.50 (1H, d, J = 4.0 Hz), 5.27–5.22 (1H, m), 4.82 (1H, dd, J = 11, 7.0 Hz), 4.74 (1H, dd, J = 11, 5.0 Hz), 4.64 (1H, dd, J = 11, 5.0 Hz), 4.59 (1H, dd, J = 9.5, 4.0 Hz), 4.46 (1H, dd, J = 7.0, 6.0 Hz), 4.37–4.26 (5H, m), 2.82 (3H, s), 2.81 (3H, s), 2.31–2.24 (1H, m), 1.96–1.85 (2H, m), 1.84–1.78 (2H, m), 1.72–1.63 (1H, m), 1.47–1.16 (66H, m), 0.85 (6H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{53}\text{H}_{104}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na})$: 951.7589; found: 951.7597.

[0106] 実施例 2 : R C A I – 1 2 4 (化合物 B) の合成および精製方法

R C A I – 1 2 4 を、実施例 1 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I – 1 2 4 の物性値を以下に示す。

Mp 146–147°C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{27} = +44.2$ (c = 0.32, pyridine).

IR (KBr): ν_{max} = 3340 (br s, OH, NH), 1700 (br s, C=O), 1640 (s, C=O), 1550 (br s), 1275 (br s), 1160 (br m, C–O), 1070 (br s, C–O), 720 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): δ = 8.51 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.75 (1H, q, J = 4.0 Hz), 5.49 (1H, d, J = 4.0 Hz), 5.22–5.17 (1H, m), 4.91 (1H, dd, J = 11, 7.5 Hz), 4.78 (1H, dd, J = 11, 4.5 Hz), 4.62 (1H, dd, J = 11, 4.5 Hz), 4.59 (1H, dd, J = 9.5, 4.0 Hz), 4.54 (1H, dd, J = 7.5, 4.5 Hz), 4.40–4.29 (4H, m), 4.26 (1H, br t, J = 9.0 Hz), 2.87 (3H, d, J = 4.0 Hz), 2.48–2.38 (2H, m), 2.31–2.22 (1H, m), 1.96–1.84 (2H, m), 1.84–1.74 (2H, m), 1.72–1.62 (1H, m), 1.46–1.16 (66H, m), 0.85 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.84 (3H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{52}\text{H}_{102}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na})$: 937.7432; found: 937.7422.

[0107] 実施例 3 : R C A I – 1 3 7 (化合物 C) の合成および精製方法

R C A I – 1 3 7 は、実施例 1 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I - 1 3 7 の物性値を以下に示す。

Mp 177-179°C.

$[\alpha]_D^{27} = +43.1$ (c = 0.33, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3340$ (br s, OH, NH), 1730 (br s, C=O), 1640 (br s, C=O), 1540 (br m), 1280 (br m), 1130 (br s, C-O), 1080 (br s, C-O), 1040 (br s, C-O), 720 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): $\delta = 11.26$ (1H, br s), 11.05 (1H, s), 8.55 (1H, d, J = 8.5 Hz), 5.46 (1H, d, J = 3.5 Hz), 5.20-5.15 (1H, m), 5.00 (1H, dd, J = 11, 7.5 Hz), 4.85 (1H, dd, J = 11, 4.5 Hz), 4.62 (1H, dd, J = 11, 4.5 Hz), 4.59 (1H, dd, J = 10, 4.5 Hz), 4.59-4.44 (1H, m), 4.36-4.25 (5H, m), 2.51-2.39 (2H, m), 2.28-2.21 (1H, m), 1.96-1.84 (2H, m), 1.84-1.74 (2H, m), 1.72-1.63 (1H, m), 1.46-1.16 (66H, m), 0.85 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.84 (3H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{51}\text{H}_{100}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{Na})$: 939.7225; found: 939.7247.

[0108] 実施例 4 : R C A I - 1 3 8 (化合物 D) の合成および精製方法

R C A I - 1 3 8 は、実施例 1 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I - 1 3 8 の物性値を以下に示す。

Mp 140-142°C.

$[\alpha]_D^{27} = +45.2$ (c = 0.31, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3320$ (br s, OH, NH), 1730 (br s, C=O), 1645 (br s, C=O), 1630 (s, C=O), 1545 (m), 1270 (br m), 1130 (br m, C-O), 1070 (br s, C-O), 720 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): $\delta = 11.69$ (1H, s), 8.51 (1H, d, J = 8.5 Hz), 5.50 (1H, d, J = 3.5 Hz), 5.24-5.19 (1H, m), 4.97 (1H, dd, J = 11, 8.0 Hz), 4.81 (1H, dd, J = 11, 4.5 Hz), 4.63 (1H, dd, J = 10, 4.5 Hz), 4.59 (1H, dd, J = 10, 4.0 Hz), 4.53 (1H, dd, J = 7.0, 4.5 Hz), 4.34-4.25 (5H, m), 3.85 (3H, s), 2.42 (2H, dt, J = 7.5, 3.0 Hz), 2.30-2.23 (1H, m), 1.96-1.84 (2H, m), 1.84-1.75 (2H, m), 1.71-1.62 (1H,

m), 1.47-1.16 (66H, m), 0.846 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.845 (3H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{52}H_{102}N_2O_{11}Na)$: 953.7381; found: 953.7346.

[0109] 実施例 5 : R C A I - 1 4 8 (化合物 E) の合成および精製方法

R C A I - 1 4 8 は、実施例 1 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I - 1 4 8 の物性値を以下に示す。

Mp 138-140°C.

$[\alpha]_D^{27} = +42.8$ ($c = 0.30$, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3340$ (br s, OH, NH), 1700 (br s, C=O), 1640 (br s, C=O), 1545 (br s), 1270 (br m), 1140 (br m, C-O), 1080 (br s, C-O), 1040 (br s, C-O), 720 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): $\delta = 8.46$ (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.78 (1H, t, $J = 5.0$ Hz), 5.48 (1H, d, $J = 3.5$ Hz), 5.19-5.14 (1H, m), 4.90 (1H, dd, $J = 11, 7.5$ Hz), 4.77 (1H, dd, $J = 11, 5.0$ Hz), 4.61 (1H, dd, $J = 11, 5.0$ Hz), 4.58 (1H, dd, $J = 10, 3.5$ Hz), 4.54 (1H, dd, $J = 7.5, 5.0$ Hz), 4.37-4.29 (4H, m), 4.25 (1H, br t, $J = 8.5$ Hz), 3.38-3.32 (2H, m), 2.46-2.38 (2H, m), 2.28-2.20 (1H, m), 1.95-1.84 (2H, m), 1.84-1.76 (2H, m), 1.72-1.61 (1H, m), 1.48-1.16 (66H, m), 1.14 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.849 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.846 (3H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{53}H_{104}N_2O_{10}Na)$: 951.7589; found: 951.7573.

[0110] 実施例 6 : R C A I - 1 4 9 (化合物 F) の合成および精製方法

R C A I - 1 4 9 は、実施例 1 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I - 1 4 9 の物性値を以下に示す。

Mp 151-153°C.

$[\alpha]_D^{27} = +45.2$ ($c = 0.31$, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3310$ (br s, OH, NH), 1680 (br s, C=O), 1645 (br s, C=O), 1540 (br m), 1285 (m), 1140 (m, C-O), 1080 (br s, C-O), 1045 (br

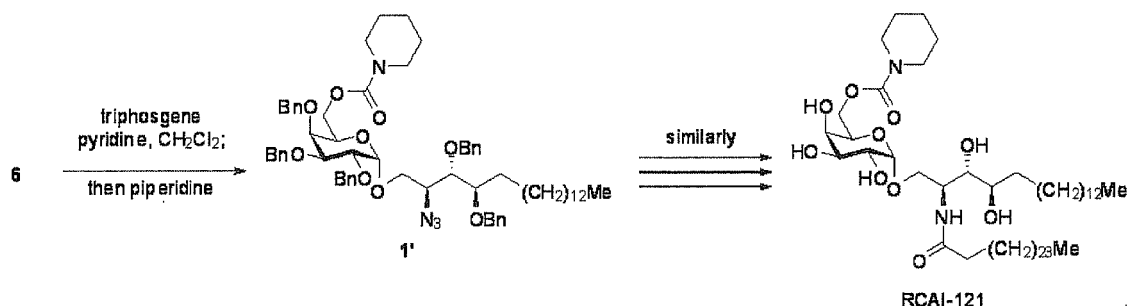
m, C-O), 720 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): δ = 8.45 (1H, d, J = 9.0 Hz), 5.53 (1H, d, J = 3.5 Hz), 5.28–5.23 (1H, m), 4.84 (1H, dd, J = 11, 7.5 Hz), 4.77 (1H, dd, J = 11, 5.0 Hz), 4.64 (1H, dd, J = 11, 5.5 Hz), 4.59 (1H, dd, J = 9.5, 4.0 Hz), 4.50 (1H, dd, J = 7.5, 5.5 Hz), 4.37–4.28 (4H, m), 4.35 (1H, dd, J = 7.5, 4.0 Hz), 3.34–3.20 (4H, m), 2.49–2.39 (2H, m), 2.32–2.25 (1H, m), 1.96–1.86 (2H, m), 1.82 (2H, dq, J = 7.5, 2.5 Hz), 1.72–1.64 (1H, m), 1.48–1.16 (66H, m), 1.07 (4H, br s), 0.850 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.848 (3H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{55}\text{H}_{108}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na})$: 979.7902; found: 979.7913.

[0111] 実施例 7 : RCAI-121 (化合物 G に包含される) の合成および精製方法

[0112] [化15]



[0113] 化合物 1' の合成

上記の過程で得られた化合物 6 (250 mg, 0.261 mmol) とピリジン (106 μL , 1.31 mmol) の無水ジクロロメタン (10 mL) 溶液に、トリホスゲン (52 mg, 0.175 mmol) を 0 $^{\circ}\text{C}$ 下で加えた。反応混合物を室温下で 1 時間攪拌した後、ピペリジン (129 μL , 1.30 mmol) を加えた。室温下でさらに 15 時間攪拌した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を、水、1 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順に洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (30 g, ヘキサン : 酢酸エチル = 6 : 1) により精製し、化合物 1' (267 mg, 96%) を無色油状物として得た。

$n_D^{24} = 1.5173$.

$[\alpha]_D^{24} = +25.6$ ($c = 1.02$, CHCl_3).

IR (film): $\nu_{\max} = 2100$ (s, N_3), 1700 (s, C=O), 1605 (w), 1585 (w), 1495 (m), 1265 (s), 1235 (s), 1100 (br s, C-O), 1060 (br s, C-O), 735 (br s), 700 (s) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.39\text{--}7.22$ (25H, m), 4.96 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.91 (1H, d, $J = 3.5$ Hz), 4.87 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.79 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.74 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.68 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.63 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.61 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.57 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.49 (1H, d, $J = 12$ Hz), $4.16\text{--}4.06$ (3H, m), 3.99 (1H, dd, $J = 10, 2.5$ Hz), $3.98\text{--}3.92$ (2H, m), 3.85 (1H, br s), $3.76\text{--}3.65$ (3H, m), $3.63\text{--}3.60$ (1H, m), $3.43\text{--}3.17$ (4H, m), $1.71\text{--}1.63$ (1H, m), $1.58\text{--}1.22$ (31H, m), 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{65}\text{H}_{86}\text{N}_4\text{O}_9\text{Na})$: 1089.6293; found: 1089.6301.

[0114] R C A I - 1 2 1 の合成および精製方法

化合物 10 から R C A I - 1 2 3 への変換と同様の方法により、化合物 1' から化合物 R C A I - 1 2 1 を合成・精製した。

R C A I - 1 2 1 の物性値を以下に示す。

Mp $126\text{--}128^\circ\text{C}$.

$[\alpha]_D^{27} = +45.0$ ($c = 0.30$, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3380$ (br s, OH, NH), 1685 (br s, C=O), 1645 (br s, C=O), 1540 (br m), 1265 (m), 1240 (m), 1150 (br m, C-O), 1080 (br s, C-O), 1040 (br m, C-O), 720 (br m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): $\delta = 8.49$ (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 5.52 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), $5.29\text{--}5.24$ (1H, m), 4.86 (1H, dd, $J = 11, 7.5$ Hz), 4.79 (1H, dd, $J = 11, 5.0$ Hz), 4.65 (1H, dd, $J = 11, 5.5$ Hz), 4.60 (1H, dd, $J = 9.5, 4.0$ Hz), 4.49 (1H, dd, $J = 7.0, 5.5$ Hz), $4.37\text{--}4.27$ (4H, m), 4.35 (1H, dd, $J = 7.0, 4.0$ Hz), 3.43 (4H, br s), $2.50\text{--}2.40$ (2H,

m), 2.32–2.24 (1H, m), 1.97–1.85 (2H, m), 1.82 (2H, dq_{int.}, J = 7.5, 3.0 Hz), 1.72–1.63 (1H, m), 1.58–1.18 (72H, m), 0.85 (6H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{56}H_{108}N_2O_{10}Na)$: 991.7902; found: 991.7896.

[0115] 実施例 8 : R C A I – 1 2 2 (化合物 H) の合成および精製方法

R C A I – 1 2 2 は、実施例 7 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I – 1 2 2 の物性値を以下に示す。

Mp 149–152°C.

$[\alpha]_D^{27} = +43.8$ (c = 0.33, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3300$ (br s, OH, NH), 1690 (br s, C=O), 1640 (br s, C=O), 1540 (br m), 1250 (br m), 1080 (br s, C–O), 1040 (br m, C–O), 865 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): $\delta = 8.48$ (1H, d, J = 8.5 Hz), 5.52 (1H, d, J = 4.0 Hz), 5.26–5.21 (1H, m), 4.90 (1H, dd, J = 11, 8.0 Hz), 4.77 (1H, dd, J = 11, 4.5 Hz), 4.65 (1H, dd, J = 11, 5.0 Hz), 4.60 (1H, dd, J = 10, 4.5 Hz), 4.50 (1H, dd, J = 8.0, 5.0 Hz), 4.38 (1H, dd, J = 9.5, 3.5 Hz), 4.38–4.34 (1H, m), 4.32–4.26 (2H, m), 4.31 (1H, dd, J = 11, 5.0 Hz), 2.48–2.39 (2H, m), 2.30–2.23 (1H, m), 1.96–1.85 (2H, m), 1.81 (2H, dq_{int.}, J = 7.5, 3.5 Hz), 1.73–1.63 (1H, m), 1.47–1.16 (66H, m), 0.849 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.847 (3H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{55}H_{106}N_2O_{11}Na)$: 993.7694; found: 993.7693.

[0116] 実施例 9 : R C A I – 1 3 1 (化合物 I) の合成および精製方法

R C A I – 1 3 1 は、実施例 7 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I – 1 3 1 の物性値を以下に示す。

Mp 119–120°C.

$[\alpha]_D^{27} = +41.1$ (c = 0.32, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3340$ (br s, OH, NH), 1685 (br s, C=O), 1645 (br s, C=

0), 1540 (br m), 1080 (br s, C-O), 1040 (br s, C-O), 720 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): δ = 8.50 (1H, d, J = 8.5 Hz), 5.52 (1H, d, J = 3.5 Hz), 5.28–5.23 (1H, m), 4.86 (1H, dd, J = 11, 7.0 Hz), 4.79 (1H, dd, J = 11, 4.5 Hz), 4.67 (1H, dd, J = 10, 5.0 Hz), 4.63–4.59 (1H, m), 4.51 (1H, br t, J = 6.0 Hz), 4.39–4.27 (5H, m), 3.42–3.27 (4H, m), 2.58–2.38 (2H, m), 2.31–2.24 (1H, m), 1.96–1.86 (2H, m), 1.81 (2H, dq, J = 7.5, 3.5 Hz), 1.72–1.63 (1H, m), 1.63–1.30 (4H, m), 1.46–1.16 (66H, m), 0.85 (6H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{55}\text{H}_{106}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na})$: 977.7745; found: 977.7779.

[0117] 実施例 10 : R C A I – 1 3 2 (化合物 J) の合成および精製方法

R C A I – 1 3 2 は、実施例 7 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I – 1 3 2 の物性値を以下に示す。

Mp 149–151°C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +41.7$ ($c = 0.31$, pyridine).

IR (KBr): ν_{max} = 3340 (br s, OH, NH), 1710 (br s, C=O), 1645 (br s, C=O), 1605 (w), 1545 (br s), 1505 (w), 1240 (br m), 1150 (br m, C-O), 1070 (br s, C-O), 720 (w) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): δ = 10.56 (1H, s), 8.51 (1H, d, J = 8.5 Hz), 7.96 (2H, br d, J = 7.5 Hz), 7.36 (2H, t, J = 7.5 Hz), 7.06 (1H, t, J = 7.5 Hz), 5.49 (1H, d, J = 3.5 Hz), 5.19–5.14 (1H, m), 5.00 (1H, dd, J = 11, 8.0 Hz), 4.78 (1H, dd, J = 11, 4.0 Hz), 4.62–4.56 (1H, m), 4.61 (1H, dd, J = 11, 5.5 Hz), 4.57 (1H, dd, J = 8.0, 4.0 Hz), 4.38–4.30 (4H, m), 4.30–4.24 (1H, m), 2.43 (2H, dt, J = 7.0 Hz), 2.27–2.20 (1H, m), 1.97–1.86 (2H, m), 1.84–1.74 (2H, m), 1.71–1.62 (1H, m), 1.46–1.16 (66H, m), 0.853 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.849 (3H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{57}\text{H}_{104}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Na})$: 999.7589; found: 999.7600.

[0118] 実施例 11 : R C A I – 1 3 9 (化合物 K) の合成および精製方法

R C A I - 1 3 9 は、実施例 7 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I - 1 3 9 の物性値を以下に示す。

Mp 154-156°C.

$[\alpha]_D^{26} = +42.2$ (c = 0.31, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3360$ (br s, OH, NH), 1705 (br s, C=O), 1665 (br s, C=O), 1530 (br s), 1250 (s), 1150 (m, C-O), 1070 (br s, C-O), 830 (m), 760 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): $\delta = 10.44$ (1H, s), 8.55 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.88 (2H, br d, J = 7.0 Hz), 7.00 (2H, d, J = 9.0 Hz), 5.50 (1H, d, J = 4.0 Hz), 5.21-5.15 (1H, m), 5.01 (1H, dd, J = 12, 8.0 Hz), 4.80 (1H, dd, J = 12, 4.0 Hz), 4.64-4.56 (3H, m), 4.38-4.31 (4H, m), 4.27 (1H, br t, J = 7.0 Hz), 3.65 (3H, s), 2.44 (2H, dt, J = 7.0, 2.0 Hz), 2.28-2.21 (1H, m), 1.96-1.85 (2H, m), 1.85-1.75 (2H, m), 1.71-1.62 (1H, m), 1.46-1.16 (66H, m), 0.849 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.846 (3H, t, J = 7.0 Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+(\text{C}_{58}\text{H}_{106}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{Na})$: 1029.7694; found: 1029.7670.

[0119] 実施例 1 2 : R C A I - 1 4 0 (化合物 L) の合成および精製方法

R C A I - 1 4 0 は、実施例 7 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I - 1 4 0 の物性値を以下に示す。

Mp 149-150°C.

$[\alpha]_D^{27} = +39.4$ (c = 0.31, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3320$ (br s, OH, NH), 1710 (br s, C=O), 1645 (br s, C=O), 1545 (br s), 1240 (br m), 1075 (br s, C-O), 1040 (m, C-O), 820 (m) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): $\delta = 10.49$ (1H, s), 8.56 (1H, d, J = 8.0 Hz), 7.87 (2H, br d, J = 7.0 Hz), 7.16 (2H, d, J = 8.5 Hz), 5.49 (1H, d, J = 3.5 Hz), 5.20-5.14 (1H, m), 5.00 (1H, dd, J = 11, 7.5 Hz), 4.78 (1H, dd, J = 11, 4.0 Hz), 4.64-4.56 (3H, m), 4.39-4.31 (4H, m),

4.27 (1H, br t, $J = 6.5$ Hz), 2.44 (2H, t, $J = 7.0$ Hz), 2.27–2.17 (1H, m), 2.20 (3H, s), 1.96–1.85 (2H, m), 1.85–1.74 (2H, m), 1.71–1.62 (1H, m), 1.46–1.16 (66H, m), 0.849 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.846 (3H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{58}H_{106}N_2O_{10}Na)$: 1013.7745; found: 1013.7739.

[0120] 実施例 13 : R C A I – 1 4 1 (化合物M) の合成および精製方法

R C A I – 1 4 1 は、実施例 7 と同様の方法により合成・精製した。

R C A I – 1 4 1 の物性値を以下に示す。

Mp 163–165°C.

$[\alpha]_D^{29} = +36.1$ ($c = 0.30$, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3400$ (br s, OH), 3300 (br m, NH), 1710 (br s, C=O), 1640 (br s, C=O), 1620 (br s, C=O), 1545 (br s), 1330 (s), 1245 (br m), 1165 (m, C–O), 1130 (br s, C–O), 1070 (br s, C–O), 840 (m) cm^{-1} .

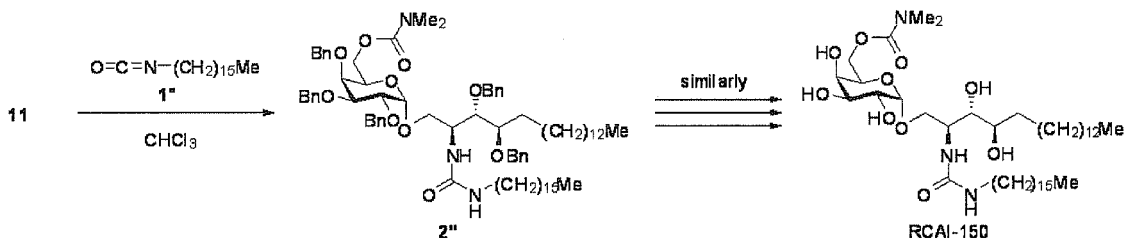
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): $\delta = 10.97$ (1H, s), 8.60 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 8.03 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.65 (2H, d, $J = 8.5$ Hz), 5.50 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), 5.18–5.13 (1H, m), 5.03 (1H, dd, $J = 11, 8.5$ Hz), 4.78 (1H, dd, $J = 11, 3.5$ Hz), 4.61 (1H, dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz), 4.61–4.58 (2H, m), 4.40–4.32 (4H, m), 4.26 (1H, dd, $J = 8.5, 2.5$ Hz), 2.44 (2H, t, $J = 7.0$ Hz), 2.26–2.19 (1H, m), 1.95–1.85 (2H, m), 1.83–1.73 (2H, m), 1.71–1.61 (1H, m), 1.46–1.16 (66H, m), 0.849 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.845 (3H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{58}H_{103}N_2O_{10}F_3Na)$: 1067.7463; found: 1067.7469.

[0121] 実施例 14 : R C A I – 1 5 0 (化合物Nに包含される) の合成および精製方法

[0122]

[化16]



[0123] 化合物 2' ' の合成

上記の過程で得られた化合物 1 1 (119 mg, 0.119 mmol) のクロロホルム (5 mL) 溶液に、市販のヘキサデシルイソシアナート (化合物 1' ' , 111 μL , 0.357 mmol) を 0°C 下で加えた。反応混合物を室温下で 14 時間攪拌した後、水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で順に洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。濾過後、濾液を減圧濃縮して溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (30 g, ヘキサン : 酢酸エチル = 3 : 1) により精製し、化合物 2' ' (147 mg, 97%) を無色固体として得た。

Mp $79.5\text{--}81.0^\circ\text{C}$.

$[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +21.3$ ($c = 1.02$, CHCl_3).

IR (KBr): $\nu_{\text{max}} = 3420$ (m, NH), 3340 (m, NH), 1710 (s, C=O), 1650 (s, C=O), 1545 (s), 1495 (m), 1290 (m), 1190 (br s, C-O), 1100 (br s, C-O), 1060 (br s, C-O), 740 (br s), 695 (s) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.39\text{--}7.15$ (25H, m), 5.13 (1H, br s), 4.98 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.90 (1H, br d, $J = 9.0$ Hz), 4.84 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.81 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), 4.78 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.74 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.73 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.68 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.62 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.58 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.57 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.48 (1H, d, $J = 12$ Hz), 4.17 (1H, dd, $J = 11, 5.0$ Hz), $4.09\text{--}4.03$ (3H, m), 3.99 (1H, br t, $J = 6.5$ Hz), $3.96\text{--}3.88$ (1H, m), 3.90 (1H, dd, $J = 10, 3.0$ Hz), 3.86 (1H, br s), 3.74 (1H, dd, $J = 8.0, 3.0$ Hz), 3.68 (1H, dd, $J = 11, 3.0$ Hz), 3.59 (1H, dt, $J = 8.0, 3.0$ Hz), $3.07\text{--}3.01$

(2H, m), 2.84 (3H, s), 2.73 (3H, s), 1.72–1.53 (3H, m), 1.50–1.40 (1H, m), 1.40–1.18 (52H, m), 0.88 (6H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{79}H_{117}N_3O_{10}Na)$: 1290.8637; found: 1290.8606.

[0124] RCAI-150の合成および精製方法

化合物13からRCAI-123への変換と同様の方法により、化合物2' 'からRCAI-150を合成・精製した。

化合物RCAI-150の物性値を以下に示す。

Mp 140–142°C.

$[\alpha]_D^{27} = +52.8$ ($c = 0.32$, pyridine).

IR (KBr): $\nu_{\max} = 3480$ (br s), 3440 (br m), 3350 (br s), 1690 (s, C=O), 1670 (s, C=O), 1620 (s, C=O), 1590 (br m), 1215 (m), 1080 (br s, C-O) cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5): $\delta = 6.79$ (1H, t, $J = 5.5$ Hz), 6.70 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 5.51 (1H, d, $J = 4.0$ Hz), 5.12–5.08 (1H, m), 4.81 (1H, dd, $J = 11, 7.5$ Hz), 4.71 (1H, dd, $J = 11, 5.0$ Hz), 4.61 (1H, dd, $J = 10, 5.0$ Hz), 4.57 (1H, dd, $J = 9.0, 3.5$ Hz), 4.41 (1H, dd, $J = 7.0, 5.0$ Hz), 4.36 (1H, dd, $J = 10, 3.5$ Hz), 4.30–4.22 (4H, m), 3.52–3.39 (2H, m), 2.81 (6H, br s), 2.30–2.22 (1H, m), 1.92–1.80 (2H, m), 1.68–1.60 (1H, m), 1.57 (2H, quint., $J = 7.0$ Hz), 1.44–1.16 (48H, m), 0.85 (6H, t, $J = 7.0$ Hz) ppm.

HR-ESIMS: Calcd for $[M+Na]^+(C_{44}H_{87}N_3O_{10}Na)$: 840.6289; found: 840.6276.

[0125] 試験例1：カルバメート糖脂質の生物活性試験

$\alpha\text{-GalCer}$ (KRN7000)、RCAI-123、RCAI-124、RCAI-137、RCAI-138、RCAI-148、RCAI-149、RCAI-121、RCAI-122、RCAI-131、RCAI-132、RCAI-139、RCAI-140、RCAI-141、ならびにRCAI-150のそれぞれについて、1 mg/mLの濃度のジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液を調製した。1匹のマウスにつき200

μL を尾静脈内に投与した際、投与量が $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重になるように、上記のDMSO溶液を0.5%のtween 20 (Bio-Rad)を含有するリン酸緩衝液 (Invitrogen)を用いて5倍に希釈し、さらにリン酸緩衝液を用いて20倍に希釈した。

1群3匹のC57BL/6マウスに、調製したRCAI-123、RCAI-124、RCAI-137、RCAI-138、RCAI-148、RCAI-149、RCAI-121、RCAI-122、RCAI-131、RCAI-132、RCAI-139、RCAI-140、RCAI-141、およびRCAI-150の溶液 $200\mu\text{L}$ をそれぞれ尾静脈内に注射した(1匹あたり約 $2\mu\text{g}$ 投与)。対照物質として $\alpha\text{-GalCer}$ (KRN7000)を用い、同様の方法により投与量が $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重となるように調製した $\alpha\text{-GalCer}$ (KRN7000)の溶液 $200\mu\text{L}$ を尾静脈内に注射した。投与直前、および投与後1、3、6、12、24、32、48、60、および72時間経過後の血液を眼下静脈叢より $80\mu\text{L}$ 採取し、血漿を調製した。

RCAI-123の投与直前、および投与後の血漿中の各サイトカインの含有量を、ELISA法の1つであるCytometric Bead Array (CBA) システム (BD Biosciences) で測定した。

投与直前、および1、3、6、12、24、32、48、60、72時間経過後の血漿中の $\text{IFN-}\gamma$ の含有量の測定結果(平均値)及びその標準偏差(STDEV)を図1に示す。投与直前、および投与後3、6、12時間経過後の血漿中の IL-4 の含有量の測定結果(平均値)及びその標準偏差(STDEV)を図2に示す。投与直前、および投与後3、6、12時間経過後の血漿中の IL-12 の含有量の測定結果(平均値)及びその標準偏差(STDEV)を図3に示す。

上記結果より、RCAI-123は $\alpha\text{-GalCer}$ (KRN7000)と同程度の $\text{IFN-}\gamma$ の産生を誘導する一方で、 $\alpha\text{-GalCer}$ (KRN

7000) に比べて少量の IL-4 の産生を誘導したことから、IFN- γ に偏ったサイトカイン産生誘導活性を有することが示された。即ち、 α -GalCer (KRN7000) の糖部分 6-位水酸基をカルバメート結合へと変換することによって、Th1 型に偏ったサイトカインの産生を誘導できる新規化合物が開発された。

[0126] 試験例 2 : カルバメート糖脂質をパルスした樹状細胞の生物活性試験
(樹状細胞の調製)

C57BL/6J マウス大腿骨より骨髓細胞を採取し、red blood cell lysing buffer (SIGMA) で溶血後、単核球を調製した。更に human γ -globulin (SIGMA) を用いて Fc γ 受容体陽性細胞をパニング法により除去し、未分化な細胞を濃縮した。

濃縮した未分化単核球を $2.7 \times 10^5 / \text{cm}^2$ の密度で 5 ng/mL 濃度の GM-CSF (R&D) を含む RPMI 1640 (10% FBS) 培地 (Invitrogen) で 37°C 、5% CO_2 の条件下、5 日間培養することにより、CD11c 陽性樹状細胞を含む細胞に分化誘導させた。

分化誘導した細胞から目的の CD11c 陽性樹状細胞を回収するために、細胞を $400 \mu\text{L}$ の RPMI 1640 (10% FBS) に懸濁、 $100 \mu\text{L}$ の CD11c microbeads (Miltenyi biotech) を加え、 4°C で 15 分間インキュベートした。MACS buffer で洗浄後、LS column を用いてポジティブセレクションにより CD11c 陽性である樹状細胞を回収した。

回収した樹状細胞は $3.1 \times 10^5 / \text{cm}^2$ の密度で 100 ng/mL 濃度の糖脂質を含む RPMI 1640 (10% FBS) 培地で 37°C 、5% CO_2 の条件下、24 時間培養することで糖脂質をパルスした。糖脂質溶液の調製は始めに 1 mg/mL 濃度のジメチルスルホキシド (DMSO) 溶液を調製した。これを 0.5% の tween 20 (Bio-Rad) を含有するリン酸緩衝液 (Invitrogen) を用いて 5 倍に希釈し、さらにリン酸緩衝液を用いて 2 倍に希釈した。

糖脂質をパルスした樹状細胞は、リン酸緩衝液で洗浄後、 2.5×10^6 cells/mL濃度になるようにリン酸緩衝液で調製し、 $200 \mu\text{L}$ すなわち 5×10^5 cellsをC57BL/6マウスの尾静脈内に注射した（1群3匹）。

[0127] 糖脂質としては、RCA1-121、RCA1-122、RCA1-123、RCA1-124、RCA1-131、RCA1-132、RCA1-137、RCA1-138、RCA1-139、RCA1-140及びRCA1-141のカルバメート糖脂質を、対照物質として α -GalCer（KRN7000）を用いた。

投与直前、および投与後1、3、6、12、24、32、48、60、および72時間経過後の血液を眼下静脈叢より $80 \mu\text{L}$ 採取し、血漿を調製した。

投与直前、および投与後1、3、6、12、24、32、48、60、72時間経過後の血漿中のIFN- γ の含有量を、サンドウィッチELISA法（ENDOGEN）により測定した。IFN- γ 産生量の測定結果（平均値）及びその標準偏差（STDEV）を図4～6に示す。

投与直前、および投与後1、3、6、12、24、32、48、60、72時間経過後の血漿中のIL-4の含有量を、ELISA法の1つであるCytometric Bead Array（CBA）システム（BD Biosciences）で測定した。IL-4産生量の測定結果（平均値）及びその標準偏差（STDEV）を図7～9に示す。

投与直前、および投与後1、3、6、12、24、32、48、60、72時間経過後の血漿中のIL-12の含有量を、CBAシステム（BD Biosciences）で測定した。IL-12産生量の測定結果（平均値）及びその標準偏差（STDEV）を図10～12に示す。

上記結果より、本発明のカルバメート糖脂質を樹状細胞にパルスし、そのパルスされた樹状細胞を生体に投与することにより、より強力なIFN- γ 産生を選択的に誘導することができる。

産業上の利用可能性

[0128] 本発明によって開発された、糖部分の6-位水酸基をカルバメート結合に変換した糖脂質は、合成が非常に容易である上にKRN7000よりもIFN- γ に偏ったサイトカインの産生を誘導することができるため、本発明は癌治療ならびにアジュバント作用を誘導する上で有効な薬剤、その製造方法およびその用途を提供することができる。

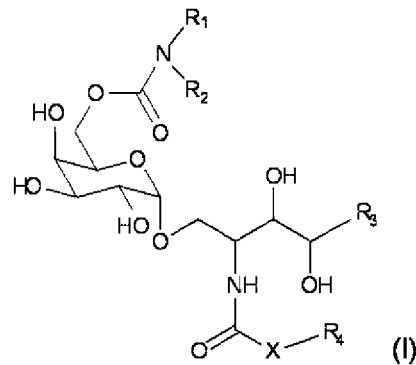
さらに本発明の糖脂質を樹状細胞にパルスし、その樹状細胞を投与することにより、IFN- γ 産生をより増強することができる。

[0129] 本出願は、日本で出願された特願2012-101384（出願日2012年4月26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。

請求の範囲

[請求項1] 式(1)

[化1]



(式中、

Xはアルキレン基あるいは—NH—を示し；

R_1 及び R_2 は同一又は異なって、水素原子、アルキル基、水酸基、アルコキシ基、又は置換基を有していても良いアリール基を示し、 R_1 及び R_2 は、隣接する窒素原子と一緒になって5～6員環を形成してもよく；

 R_3 は炭素数1～20の炭化水素基を示し；

R_4 は炭素数1～30の炭化水素基を示す)で表される化合物、又はその塩。

[請求項2] Xがメチレンあるいは—NH—である、請求項1記載の化合物又はその塩。

[請求項3] R_1 が水素原子、 $C_{1\sim6}$ アルキル基、水酸基、 $C_{1\sim6}$ アルコキシ基、又は置換基を有していても良い $C_{6\sim12}$ アリール基である、請求項1記載の化合物又はその塩。

[請求項4] R_2 が水素原子、 $C_{1\sim6}$ アルキル基、水酸基、 $C_{1\sim6}$ アルコキシ基、又は置換基を有していても良い $C_{6\sim12}$ アリール基である、請求項1記載の化合物又はその塩。

[請求項5] R_1 及び R_2 が隣接する窒素原子と一緒になって形成してもよい5～6員環が、5～6員の含窒素飽和複素環である、請求項1記載の化

合物又はその塩。

[請求項6] R_3 が $C_{1\sim20}$ アルキル基、 $C_{2\sim20}$ アルケニル基又は $C_{2\sim20}$ アルキニル基である、請求項 1 記載の化合物又はその塩。

[請求項7] R_4 が $C_{1\sim30}$ アルキル基、 $C_{2\sim30}$ アルケニル基又は $C_{2\sim30}$ アルキニル基である、請求項 1 記載の化合物又はその塩。

[請求項8] 請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその塩を含有する、医薬。

[請求項9] 請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその塩を含有する、選択的 IFN- γ 産生誘導剤。

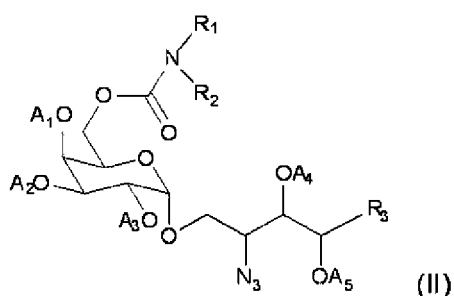
[請求項10] 請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその塩を含有する、選択的 IFN- γ 産生誘導剤であって、樹状細胞にパルスした形態で用いることを特徴とする剤。

[請求項11] 請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の化合物又はその塩をパルスしたヒト樹状細胞。

[請求項12] 請求項 1 1 記載のヒト樹状細胞を含有する、選択的 IFN- γ 産生誘導剤。

[請求項13] 式 (I I)

[化2]



(式中、

$A_1 \sim A_5$ は同一又は異なって、水酸基の保護基を示し；

R_1 及び R_2 は同一又は異なって、水素原子、アルキル基、水酸基、アルコキシ基、又は置換基を有していても良いアリール基を示し、 R_1 及び R_2 は、隣接する窒素原子と一緒になって 5 ～ 6 員環を形成し

てもよく；

R_3 は炭素数1～20の炭化水素基を示す）で表される化合物、又はその塩。

[請求項14] R_1 及び R_2 が同一又は異なって、水素原子、 $C_{1\sim6}$ アルキル基、水酸基、 $C_{1\sim6}$ アルコキシ基、又は置換基を有していても良い $C_{6\sim12}$ アリール基であるか、 R_1 及び R_2 が隣接する窒素原子と一緒になって5～6員の含窒素飽和複素環を形成してもよい、請求項13記載の化合物又はその塩。

[請求項15] R_3 が $C_{1\sim20}$ アルキル基、 $C_{2\sim20}$ アルケニル基又は $C_{2\sim20}$ アルキニル基である、請求項13記載の化合物又はその塩。

[請求項16] 請求項1～7のいずれか1項に記載の化合物又はその塩の有効量を、その投与が必要な対象に投与することを含む、選択的にIFN- γ の産生を誘導する方法。

[請求項17] 請求項1～7のいずれか1項に記載の化合物又はその塩の有効量を、その投与が必要な対象に投与することを含む、選択的にIFN- γ の産生を誘導する方法であって、当該化合物又はその塩を樹状細胞にパルスする工程を含む方法。