

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6556448号  
(P6556448)

(45) 発行日 令和1年8月7日(2019.8.7)

(24) 登録日 令和1年7月19日(2019.7.19)

(51) Int. Cl. F 1  
C 1 2 P 19/14 (2006.01) C 1 2 P 19/14 Z

請求項の数 3 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2014-260418 (P2014-260418)  
 (22) 出願日 平成26年12月24日(2014.12.24)  
 (65) 公開番号 特開2016-119847 (P2016-119847A)  
 (43) 公開日 平成28年7月7日(2016.7.7)  
 審査請求日 平成29年11月16日(2017.11.16)

特許法第30条第2項適用 (1) 発行日 2014年9月18日 刊行物 生化学 第86巻 臨時増刊号  
 (2) 開催日 2014年10月15日から2014年10月18日 集会名、開催場所 第87回 日本生化学会大会 国立京都国際会館(京都府京都市左京区宝ヶ池)

前置審査

(73) 特許権者 504145283  
 国立大学法人 和歌山大学  
 和歌山県和歌山市栄谷930番地  
 (74) 代理人 110000796  
 特許業務法人三枝国際特許事務所  
 (72) 発明者 山口 真範  
 和歌山県和歌山市栄谷930番地 国立大学法人和歌山大学内

審査官 川合 理恵

最終頁に続く

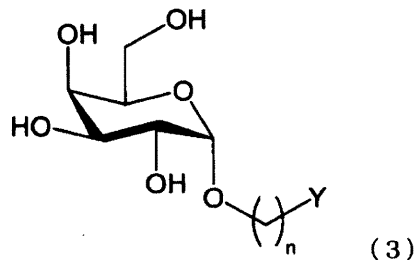
(54) 【発明の名称】 反応性基導入α-ガラクトースの製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

一般式(3)：

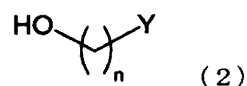
【化1】



[式中、Yは、エチニル基、ビニル基、アジド基、エポキシ基、アルデヒド基、又はオキシシルアミノ基を示し、nは1~10の整数を示す。]

で表される化合物の製造方法であって、ガラクトース及び/又はメリピオースと、一般式(2)：

【化2】



[式中、Yは、エチニル基、ビニル基、アジド基、エポキシ基、アルデヒド基、又はオキ

シルアミノ基を示し、 $n$ は1～10の整数を示す。]

で表される化合物とを、アスペルギルスニガー由来 ガラクトシダーゼの存在下で反応させることを特徴とする製造方法。

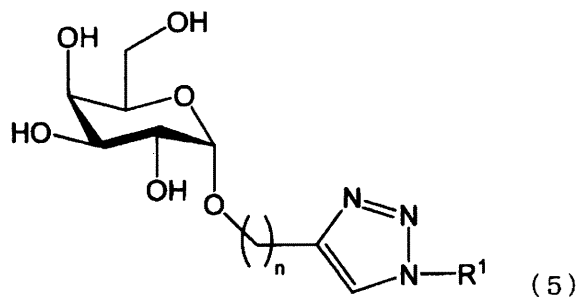
【請求項2】

前記一般式(2)で表される化合物と反応させる対象が前記メリビオースを含む、請求項1に記載の製造方法。

【請求項3】

一般式(5)：

【化3】



[式中、 $R^1$ は有機基を示し、 $n$ は1～10の整数を示す。]

で表される化合物の製造方法であって、

(工程1)ガラクトース及び/又はメリビオースと、一般式(2')：

20

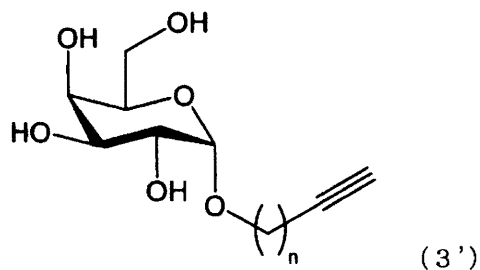
【化4】



[式中、 $n$ は1～10の整数を示す。]

で表される化合物とを、アスペルギルスニガー由来 ガラクトシダーゼの存在下で反応させ、一般式(3')：

【化5】

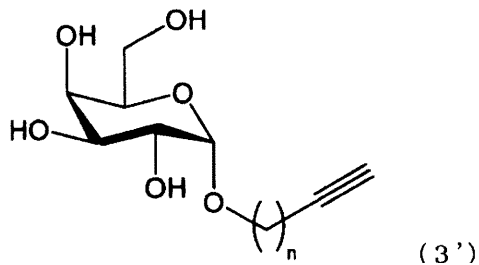


[式中、 $n$ は1～10の整数を示す。]

で表される化合物を得る工程、並びに

(工程2)一般式(3')：

【化6】

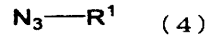


40

[式中、 $n$ は1～10の整数を示す。]

で表される化合物と、一般式(4)：

## 【化7】



[ 式中、 $R^1$  は有機基を示す。 ]

で表される化合物とを反応させる工程を含むことを特徴とする製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、反応性基導入 ガラクトース及びその製造方法、さらには該反応性基導入  
ガラクトースを利用した ガラクトシルセラミド類縁体の製造方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

ガラクトシルセラミドは、樹状細胞の表面に発現するCD1dによって提示され、ナチュラルキラーT細胞（NKT細胞）を活性化する。活性化されたNKT細胞は、様々な免疫反応を賦活し、例えば長期的な抗腫瘍効果を発揮することが明らかになっている（非特許文献1）。また、がん治療においては、多くの場合、放射線治療が行われるが、NKT細胞は放射線の影響を受けないことが知られている（非特許文献2～5）。このため、ガラクトシルセラミドによるNKT細胞活性化は、がん治療方法、特に放射線治療と併用する治療方法として、非常に有用であると考えられている。

## 【0003】

ガラクトシルセラミドは、ガラクトースのアノマー炭素とセラミドの水酸基とが  
グリコシド結合した構造を有している。上記抗腫瘍活性等の生理活性の観点からは、この結合が  
グリコシド結合ではなく、  
グリコシド結合であることが重要であると考えられている。

## 【0004】

ガラクトシルセラミドにおいてセラミド構造の一部を他の構造に置換すると、NKT細胞活性化による抗腫瘍効果が顕著に高まることが報告されている。このことから、より抗腫瘍効果の高い  
ガラクトシルセラミド類縁体の開発が望まれている。

## 【先行技術文献】

## 【非特許文献】

## 【0005】

【非特許文献1】Cancer. Sci., 99, 638 645, 2008.

【非特許文献2】Clin. Cancer. Res., 11, 1910 1917, 2005.

【非特許文献3】J. Immunol., 182, 2492 2501, 2009.

【非特許文献4】Int. J. Cancer., 102,159 165, 2002.

【非特許文献5】Cancer. Immunol. Immunother., 59, 1503 1509, 2010.

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0006】

本発明者等は、ガラクトースと反応性基含有化合物とが  
グリコシド結合した化合物（反応性基導入  
ガラクトース）が得られれば、この反応性基とセラミド類似化合物を  
反応させることにより、簡便に  
ガラクトシルセラミド類縁体が合成できると考えた。

## 【0007】

しかし、この反応性基導入  
ガラクトースを有機合成すべく、ガラクトースの水酸基を保護し、1位にイミデート基などの脱離基を導入し、その1位炭素と、反応性基含有化合物とを反応させることを試みたが、ガラクトースと該化合物とが  
結合したものと  
結合したものの混合物が得られ、それらの精製が容易ではなく収率も芳しくなかった。またさらに、この方法は、目的化合物を得るために煩雑な脱保護の過程が必要であるので、効率的ではなかった。

## 【0008】

そこで、本発明は、ガラクトースと反応性基含有化合物とが  
グリコシド結合した反

10

20

30

40

50

反応性基導入 ガラクトースの、より簡便且つ効率的な製造方法を提供することを課題とする。なお、本発明において、「より効率的」とは、有機合成法における水酸基等の保護、脱離基の導入、又は合成最終段階における保護基の脱保護が不要であること、さらには反応性基導入 ガラクトースの収率がより高いこと、及び/又は反応性基導入 ガラクトースの生成がより低減されており、反応性基導入 ガラクトースがより選択的に生成されること(すなわち生成物中、反応性基導入 ガラクトースに対する反応性基導入 ガラクトースの比がより高いこと)を意味する。

【課題を解決するための手段】

【0009】

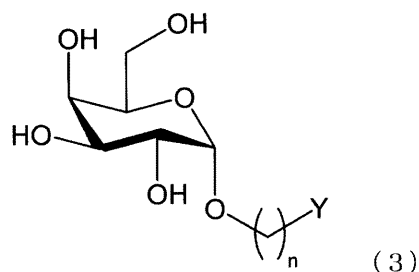
本発明者等は、上記課題を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、ガラクトース供与体と反応性基含有化合物とを、グリコシダーゼの存在下で反応させることにより、反応性基導入 ガラクトースを簡便且つ効率的に製造できることを見出した。即ち、本発明は、以下の態様を包含する。

【0010】

項1. 一般式(3)：

【0011】

【化1】



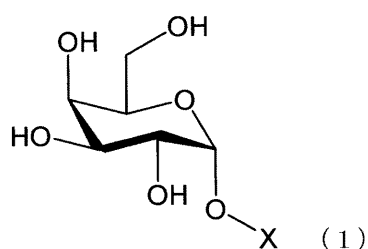
【0012】

[式中、Yは、エチニル基、ビニル基、アジド基、エポキシ基、アルデヒド基、又はオキシルアミノ基を示し、nは1～10の整数を示す。]

で表される化合物の製造方法であって、ガラクトース及び/又は一般式(1)：

【0013】

【化2】



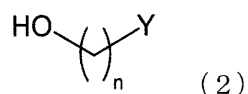
【0014】

[式中、Xは、単糖又はオリゴ糖から一つの水酸基が除かれた基を示す。]

で表される化合物と、一般式(2)：

【0015】

【化3】



【0016】

[式中、Yは、エチニル基、ビニル基、アジド基、エポキシ基、アルデヒド基、又はオキシルアミノ基を示し、nは1～10の整数を示す。]

で表される化合物とを、ガラクトシダーゼの存在下で反応させることを特徴とする製造方法。

【0017】

項2. 前記Xが、六炭糖又は少なくとも1つの六炭糖残基を含むオリゴ糖の六炭糖残基から一つの水酸基が除かれた基である、項1に記載の製造方法。

【0018】

項3. 前記Xが、六炭糖又は少なくとも1つの六炭糖残基を含むオリゴ糖の六炭糖残基から6位の水酸基が除かれた基である、項2に記載の製造方法。

【0019】

項4. 前記一般式(1)で表される化合物がメリビオース、メリビウロース、ガラビオース(16)、メリビオサミン、及びN-アセチルメリビオサミンからなる群より選択される少なくとも1種である、項3に記載の製造方法。

【0020】

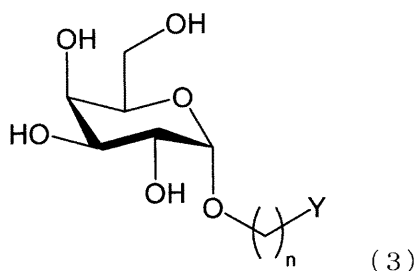
項5. 前記ガラクトシダーゼがアスペルギルス属生物由来である、項1~4のいずれかに記載の製造方法。

【0021】

項6. 一般式(3)：

【0022】

【化4】



【0023】

[式中、Yは、エチニル基、ビニル基、アジド基、エポキシ基、アルデヒド基、又はオキシシルアミノ基を示し、nは1~10の整数を示す。]

30

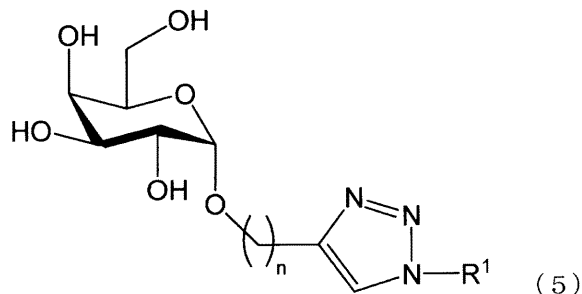
で表される化合物。

【0024】

項7. 一般式(5)：

【0025】

【化5】



【0026】

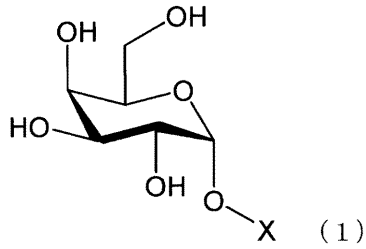
[式中、R<sup>1</sup>は有機基を示し、nは1~10の整数を示す。]

で表される化合物の製造方法であって、

(工程1)ガラクトース及び/又は一般式(1)：

【0027】

【化6】

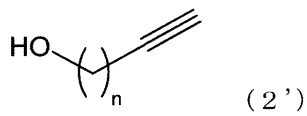


【0028】

[式中、Xは、単糖又はオリゴ糖から一つの水酸基が除かれた基を示す。]  
で表される化合物と、一般式(2'):

【0029】

【化7】

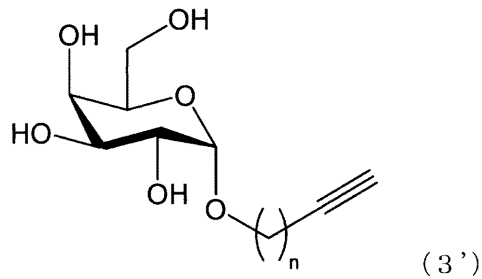


【0030】

[式中、nは1~10の整数を示す。]  
で表される化合物とを、ガラクトシダーゼの存在下で反応させ、一般式(3'):

【0031】

【化8】

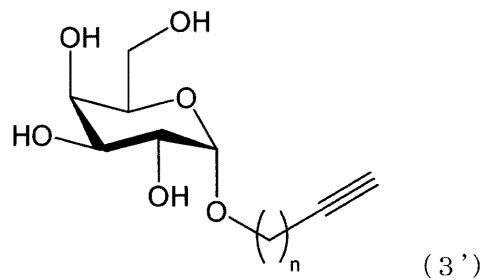


【0032】

[式中、nは1~10の整数を示す。]  
で表される化合物を得る工程、並びに  
(工程2)一般式(3'):

【0033】

【化9】



【0034】

[式中、nは1~10の整数を示す。]  
で表される化合物と、一般式(4):

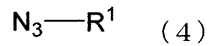
【0035】

10

20

50

【化10】



【0036】

[式中、R<sup>1</sup>は有機基を示す。]

で表される化合物とを反応させる工程を含むことを特徴とする製造方法。

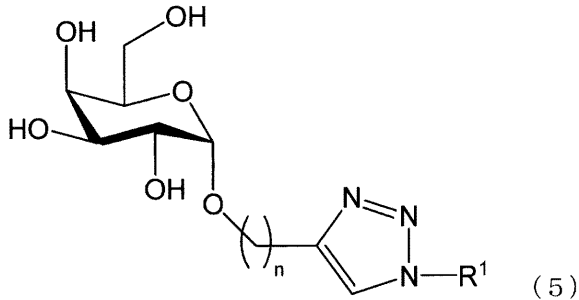
【0037】

項8.

一般式(5)：

【0038】

【化11】



【0039】

[式中、R<sup>1</sup>は有機基を示し、nは1～10の整数を示す。]

で表される化合物。

【発明の効果】

【0040】

本発明によれば、ガラクトースと反応性基含有化合物とがグリコシド結合した反応性基導入ガラクトースを簡便且つ効率的に製造することができる。本発明の製造方法は、ガラクトースと反応性基含有化合物とがグリコシド結合した反応性基導入ガラクトースの生成が低減されているので、その後の精製を簡略化することができる。

【0041】

本発明の製造方法によって得られる反応性基導入ガラクトースをセラミド類似化合物と反応させることにより、多種多様なガラクトシルセラミド類縁体を簡便に製造することができる。このようにして得られたガラクトシルセラミド類縁体は、ガラクトシルセラミドの生理活性に重要なグリコシド結合を有していることから、これと同様の生理活性を発揮することが期待できる。

【0042】

また、反応性基導入ガラクトースと疎水性化合物とを反応させることにより得られる化合物は、親水性を有する部位(ガラクトース残基)と疎水性を有する部位(疎水性化合物)とを両方有しているので、界面活性剤として用いることも可能である。

【発明を実施するための形態】

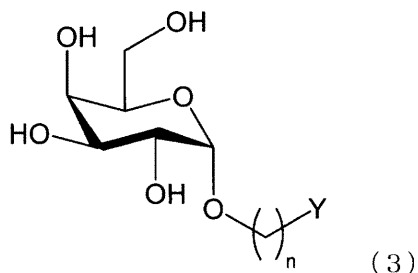
【0043】

#### 1. 反応性基導入ガラクトースの製造方法

本発明は、一般式(3)：

【0044】

## 【化 1 2】



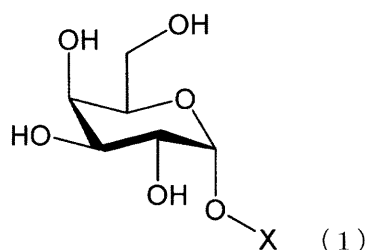
## 【0045】

[式中、Yは、エチニル基、ビニル基、アジド基、エポキシ基、アルデヒド基、又はオキシルアミノ基を示し、nは1～10の整数を示す。]

で表される化合物（本明細書において、「反応性基導入 ガラクトース」と示すこともある）の製造方法であって、ガラクトース及び/又は一般式（1）：

## 【0046】

## 【化 1 3】



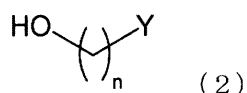
## 【0047】

[式中、Xは、単糖又はオリゴ糖から一つの水酸基が除かれた基を示す。]

で表される化合物（本明細書において、「ガラクトース供与体」と示すこともある）と、一般式（2）：

## 【0048】

## 【化 1 4】



## 【0049】

[式中、Yは、エチニル基、ビニル基、アジド基、エポキシ基、アルデヒド基、又はオキシルアミノ基を示し、nは1～10の整数を示す。]

で表される化合物（本明細書において、「反応性基含有化合物」と示すこともある）とを、ガラクトシダーゼの存在下で反応させることを特徴とする製造方法（本明細書において、「本発明の製造方法」と示すこともある）に関する。以下、これについて説明する。

## 【0050】

Xは、単糖又はオリゴ糖から一つの水酸基が除かれた基を示す。Xとして、好ましくは単糖から一つの水酸基が除かれた基が挙げられる。

## 【0051】

単糖又はオリゴ糖から除かれる水酸基は、ガラクトースの1位炭素とグリコシド結合を形成し得る水酸基である限り特に限定されない。例えば、除かれる水酸基を含む単糖が六炭糖である場合、又はオリゴ糖において除かれる水酸基を含む糖残基が六炭糖残基である場合であれば、反応性基導入ガラクトースをより効率的に製造できるという観点から、除かれる水酸基としては好ましくは6位の水酸基が挙げられる。



## 【 0 0 5 2 】

単糖としては、ガラクトースの1位炭素とグリコシド結合を形成し得る単糖である限り特に限定されない。例えば、七炭糖、六炭糖、五炭糖、四炭糖、三炭糖等が挙げられ、これらの中でも、反応性基導入ガラクトースをより効率的に製造できるという観点から六炭糖が好ましく挙げられる。六炭糖としては、ガラクトース、グルコース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、マンノース、フルクトース、アロース、タロース、グロース、アルトロース、イドース、プシコース、ソルボース、タガトース等が挙げられ、これらの中でも、グルコース、フルクトース等が好ましく挙げられ、グルコースがより好ましく挙げられる。これらはD体又はL体のいずれでもよい。また、これらは一部の水酸基が水素元素等の元素、保護基、官能基（例えば硫酸基）等で置換されていてもよい。

10

## 【 0 0 5 3 】

オリゴ糖は、2分子以上の単糖がグリコシド結合により1分子に連結された糖である。オリゴ糖は、ガラクトースの1位炭素とグリコシド結合を形成し得る単糖残基を含む限り特に限定されない。反応性基導入ガラクトースをより効率的に製造できるという観点から、オリゴ糖は少なくとも1つの六炭糖残基を含むことが好ましい。また、反応性基導入ガラクトースをより効率的に製造できるという観点から、オリゴ糖において除かれる水酸基を含む糖残基は六炭糖残基であることが好ましい。オリゴ糖を構成する単糖の分子数としては、例えば2～20が挙げられ、好ましくは2～10が挙げられ、より好ましくは2～5が挙げられ、さらに好ましくは2～3が挙げられる。オリゴ糖を構成する単糖の種類としては、特に限定されず、上記に示した単糖を採用することができる。またオリゴ糖を構成する単糖の組み合わせも特に限定されない。オリゴ糖の具体例としては、構成する単糖の分子数が2であるオリゴ糖（例えばラクトース、Gal (1 3)GalNAc、Gal (1 4)GlcNAc、Gal (1 6)GlcNAc、スクロース、マルトース、トレハロース、ツラノース、セロビオース等）、構成する単糖の分子数が3であるオリゴ糖（例えばラフィノース、メレジトース、マルトトリオース等）、構成する単糖の分子数が4であるオリゴ糖（例えばアカルボース、スタキオース等）が挙げられる。

20

## 【 0 0 5 4 】

一般式(1)で表される化合物の具体例としては、メリピオース、メリピウロース、ガラクトスクロース、(1 2)ガラビオース、(1 3)ガラビオース、(1 6)ガラビオース、(1 4)ガラビオース、メリピオサミン、N-アセチルメリピオサミン等が挙げられる。これらの中でも、反応性基導入ガラクトースをより効率的に製造できるという観点から、好ましくはメリピオース、メリピウロース、(1 2)ガラビオース、(1 3)ガラビオース、(1 6)ガラビオース、(1 4)ガラビオース、メリピオサミン、N-アセチルメリピオサミン等が挙げられ、より好ましくはメリピオース、メリピウロース、(1 6)ガラビオース、メリピオサミン、N-アセチルメリピオサミン等が挙げられ、よりさらに好ましくはメリピオースが挙げられる。

30

## 【 0 0 5 5 】

ガラクトース供与体としては、反応性基導入ガラクトースをより効率的に製造できるという観点から、好ましくは一般式(1)で表される化合物が挙げられる。

40

## 【 0 0 5 6 】

Yは、エチニル基、ビニル基、アジド基、エポキシ基、アルデヒド基、又はオキシルアミノ基を示す。これらの中でも好ましくはエチニル基が挙げられる。

## 【 0 0 5 7 】

nは1～10の整数である。好ましくは1～5であり、より好ましくは1～3であり、さらに好ましくは1又は2であり、特に好ましくは1である。

## 【 0 0 5 8 】

ガラクトース供与体及び反応性基含有化合物としては、それぞれ1種単独を用いてもよいし、2種以上の組み合わせを用いてもよい。

## 【 0 0 5 9 】

50

ガラクトシダーゼは、EC番号EC 3.2.1.22に分類される酵素であり、その限りにおいて特に限定されない。ガラクトシダーゼとしては、種々の生物由来のものを使用することができる。例えば、アスペルギルス属生物（好ましくはアスペルギルスニガー）、コーヒー豆、Xanthomonas属生物（好ましくはXanthomonas manihotis）等に由来するガラクトシダーゼが挙げられる。これらの中でも、反応性基導入ガラクトースをより効率的に製造できるという観点から、好ましくはアスペルギルス属生物由来、より好ましくはアスペルギルスニガー由来のガラクトシダーゼが挙げられる。また、ガラクトシダーゼは、ガラクトース供与体の種類に応じて、適切なものを選択することもできる。例えば、ガラクトース供与体がメリビオースである場合であれば、ガラクトシダーゼとしてメリビアーゼを用いることが好ましい。ガラクトシダーゼとしては1種単独を用いてもよいし、2種以上の組み合わせを用いてもよい。

#### 【0060】

ガラクトシダーゼは、担体に固定化されたガラクトシダーゼであってもよい。

ガラクトシダーゼを担体に固定化する方法は、公知の方法を採用することができる。担体は、ガラクトシダーゼを固定化できる限りにおいて特に限定されず、例えばガラクトシダーゼに含まれるアミノ基とアミド結合できるカルボキシル基を有する担体が挙げられる。具体例としては、カルボキシル基をN-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）でエステル化したセファロース（担体）の活性化エステル基と、ガラクトシダーゼのアミノ基とをアミド結合させることにより、担体にガラクトシダーゼを固定化することができる。また、他の具体例としては、担体を臭化シアンで活性化して、ガラクトシダーゼのアミノ基とアミド結合させる固定化方法等が挙げられる。

#### 【0061】

反応は、適当な溶媒中で行う。溶媒としては、ガラクトース供与体及び反応性基含有化合物を溶解させることができ、且つガラクトシダーゼが失活しない溶媒であれば特に限定されない。このような溶媒としては、例えば、水、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、酒石酸緩衝液、トリス緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等が挙げられ、好ましくは酢酸緩衝液が挙げられる。

#### 【0062】

反応温度は、ガラクトシダーゼが失活しない温度であれば特に限定されず、ガラクトシダーゼの反応至適温度に従って適宜選択される。例えば、20～60、好ましくは20～45、より好ましくは25～35であることができる。

#### 【0063】

反応時間は、ガラクトシダーゼの酵素活性が十分に発揮できる限り特に限定されない。例えば、1～100時間、好ましくは15～80時間、より好ましくは30～60時間であることができる。

#### 【0064】

反応pHは、ガラクトシダーゼの酵素活性が十分に発揮される限り特に限定されない。例えば、pH3～10、好ましくはpH4～6であることができる。

#### 【0065】

反応における、ガラクトース供与体及び反応性基含有化合物のモル比は、ガラクトシダーゼによる酵素反応が起こる限り特に限定されないが、例えば、ガラクトース供与体1モルに対して、反応性基含有化合物0.1～100、好ましくは0.5～50、より好ましくは1～30、さらに好ましくは2～20モルであることができる。

#### 【0066】

上記反応後、反応によって得られた反応性基導入ガラクトースを含む溶液を、さらに精製工程に供してもよい。精製手段は、公知の方法（分液、蒸留、クロマトグラフィー、再結晶等）を採用できる。

#### 【0067】

上記反応により、簡便且つ効率的に反応性基導入ガラクトースを製造することができる。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 6 8 】

## 2. 反応性基導入 ガラクトースの用途

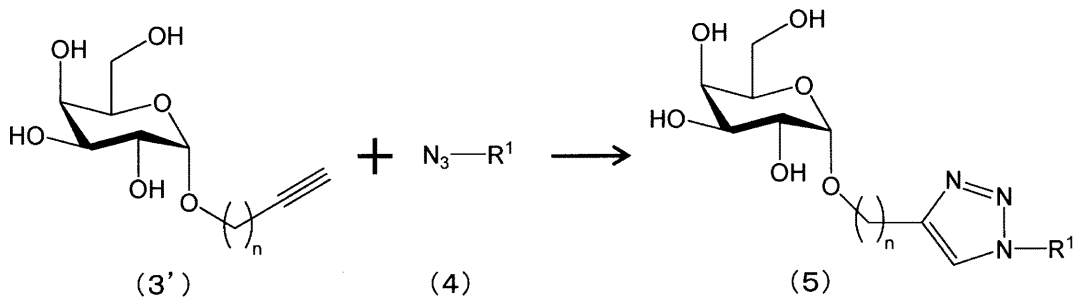
得られた反応性基導入 ガラクトースは、エチニル基、ビニル基、アジド基、エポキシ基、アルデヒド基、オキシルアミノ基等の反応性基を有する。アルキニル基は、アジド基と1, 3 双極子付加環化反応することにより、1, 2, 3 トリアゾール環を形成することが知られている。ビニル基は、チオール基と反応して結合を形成する。エポキシ基はアミノ基やチオール基と反応し結合を形成する。アルデヒド基はアミノ基と反応し、シッフ塩基を形成し、それを還元すると結合を形成する。オキシルアミノ基はケトン基、アルデヒド基と反応し、オキシムを形成する。アジド基は、アルキニル基と1, 3 双極子付加環化反応することにより、1, 2, 3 トリアゾール環を形成することが知られている。反応性基のこれら性質を利用すれば、反応性基導入 ガラクトースと、該反応性基と反応する基（例えば、アジド基、アミノ基、チオール基、ヒドロキシ基、ケトン基、アルデヒド基）を有する化合物とを、容易に連結させることができる。このように、反応性基導入 ガラクトースは、上記反応性基と反応する基を有する化合物であればどのような化合物とも連結させることができるので、反応性基導入 ガラクトースを用いることにより多種多様な ガラクトシルセラミド類縁体や界面活性剤を簡便に製造することができる。

## 【 0 0 6 9 】

例えば、反応性基がエチニル基である場合であれば、以下の反応スキームに従って、一般式(3')で表される化合物と、一般式(4)で表される化合物とを反応させることによって、ガラクトシルセラミド類縁体や界面活性剤(一般式(5)で表される化合物)を簡便に製造することができる。

## 【 0 0 7 0 】

## 【化15】



## 【 0 0 7 1 】

[ 式中、n は前記に同じであり、R<sup>1</sup> は有機基を示す。 ]

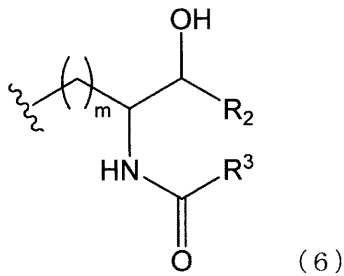
R<sup>1</sup> で示される有機基は、有機化合物から1つの水素が除かれた基であれば特に限定されない。有機化合物としては、アルキニル基と反応する基を有し、且つ一般式(5)で表される化合物がガラクトシルセラミド類縁体や界面活性剤となり得るものであれば特に限定されない。

## 【 0 0 7 2 】

R<sup>1</sup> で示される有機基の具体例としては、例えば一般式(6)：

## 【 0 0 7 3 】

## 【化 1 6】



## 【0074】

[式中、 $R^2$  及び  $R^3$  は同一又は異なって置換基及び/又は不飽和結合を有していてもよい炭化水素鎖を示し、 $m$  は 0 又は 1 ~ 3 の整数を示す。]

炭化水素鎖は直鎖又は分枝鎖のいずれでもよいが、好ましくは直鎖であることができる。炭化水素鎖の炭素数は、特に限定されないが、例えば 1 ~ 30、好ましくは 5 ~ 25、より好ましくは 10 ~ 20 であることができる。

## 【0075】

置換基としては、例えば、ビニル基、アリル基、フェニル基、ナフチル基、ベンジル基、フェネチル基、メトキシ基、エトキシ基、水酸基、硫酸基等が挙げられる。これらの置換基は、フッ素原子等のハロゲン原子等で置換されていてもよい。

## 【0076】

炭化水素が有していてもよい不飽和結合の数は、例えば 1 ~ 3、好ましくは 1 ~ 2 であることができる。

## 【0077】

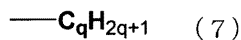
$m$  は、好ましくは 0、1、又は 2、より好ましくは 0 又は 1 であることができる。

## 【0078】

$R^1$  で示される有機基の別の具体例としては、例えば一般式 (7) :

## 【0079】

## 【化 1 7】



## 【0080】

[式中、 $q$  は 1 ~ 40 の整数である]

で表される基が挙げられる。一般式 (7) で表される基は、直鎖又は分枝鎖でもよい。

## 【0081】

$q$  は、好ましくは 5 ~ 30、より好ましくは 8 ~ 25 であり、更に好ましくは 10 ~ 20 である。

## 【0082】

一般式 (7) の好ましい態様としては、例えば一般式 (7a) :

## 【0083】

## 【化 1 8】



## 【0084】

[式中、 $r$  は 1 ~ 39 の整数である]

で表される基が挙げられる。

## 【0085】

$r$  は、好ましくは 4 ~ 29、より好ましくは 7 ~ 24 であり、更に好ましくは 9 ~ 19 である。

## 【0086】

反応は、1, 3 双極子付加反応である。反応は溶媒存在下でも非存在下でも行うこと

10

20

40

50

ができるが、溶媒存在下で行う場合、溶媒は、反応に悪影響を与えない限り特に限定されない。例えば、蒸留水、メタノール、テトラヒドロフラン、ジオキサン、及びノ又はジメチルスルフォキシドを使用することができる。好ましくは適当な触媒の存在下で反応を行うことが好ましい。触媒としては、例えば銅(I)触媒が挙げられる。銅(I)触媒を使用する場合は、例えば、硫酸銅などの2価の銅と、還元剤(例えばヒドロキノン、アスコルビン酸ナトリウム)を系内に導入し、一価の銅を反応させる方法が挙げられる。

【0087】

反応温度は、溶媒の沸点以下であれば特に限定されないが、例えば15~80、好ましくは20~40、より好ましくは27~33であることができる。

【0088】

反応時間は、特に限定されないが、例えば、1~48時間、好ましくは12~36時間であることができる。

【0089】

反応における、一般式(3')で表される化合物と、一般式(4)で表される化合物とのモル比は、特に限定されないが、例えば、一般式(3')で表される化合物1モルに対して、一般式(4)で表される化合物1モル~5モル、好ましくは1モル~3モルであることができる。

【0090】

上記反応後、反応によって得られた、一般式(3')で表される化合物を含む溶液を、さらに精製工程に供してもよい。精製手段は、公知の方法(分液、蒸留、クロマトグラフィー、再結晶等)を採用できる。

【0091】

一般式(5)で表される化合物は、ガラクトシルセラミド類縁体として種々の生理活性、例えば抗腫瘍活性を発揮することが期待できる。また、一般式(5)で表される化合物は、界面活性剤としての利用も期待できる。

【実施例】

【0092】

以下に、実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。

【0093】

実施例1. プロパルギル基導入 ガラクトースの合成1

ガラクトース供与体としてメリピオース(化合物1)を用いて、下記反応式に従ってプロパルギル基導入ガラクトース(化合物3)を合成した。詳細を以下に説明する。

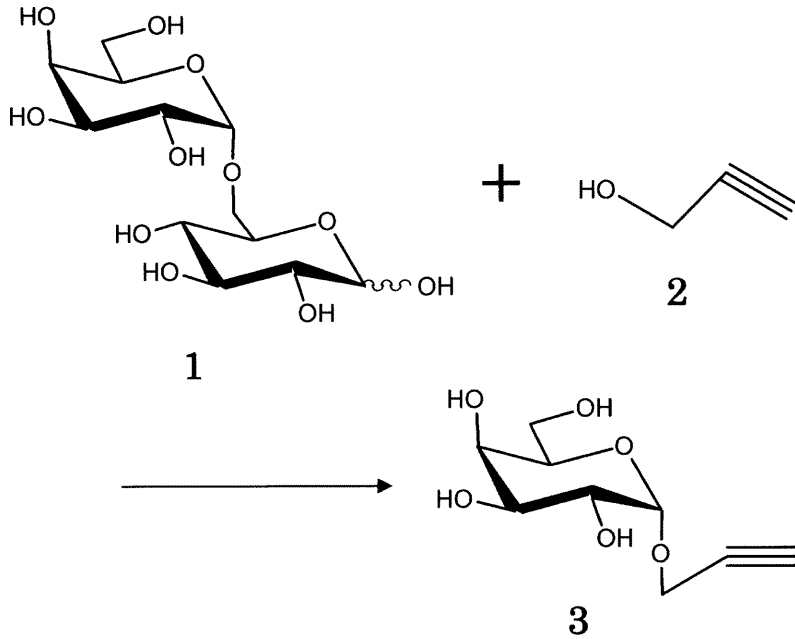
【0094】

10

20

30

## 【化 1 9】



## 【0095】

メリビオース（化合物 1）（500 mg, 1.46 mmol）を酢酸ナトリウムバッファー（pH= 5.0, 50 mM, 4.5 mL）に溶解した。続いて、アスペルギルス ニガー由来 ガラクトシダーゼ（スミチム AGS（新日本化学工業株式会社製））2 mg（60 U）、及びプロパルギルアルコール（化合物 2）1 mL を加え、30℃にて 48 h インキュベートした。反応終了後、減圧濃縮し、得られたシラップをフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー（Fuji Silysia 300 mesh, l = 17 cm）に供し、溶出液（CHCl<sub>3</sub>: MeOH = 10 : 1）にて化合物 3（128.4 mg, 0.59 mmol, 40%）を得た。一方、化合物 3 の 母体は検出されなかった。NMR データを以下に示す。

20

## 【0096】

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) 5.01 (d, 1 H, J = 3.6 Hz), 4.28 (t, 1 H), 3.89 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 3.81-3.64 (m), 2.84 (br d)。

30

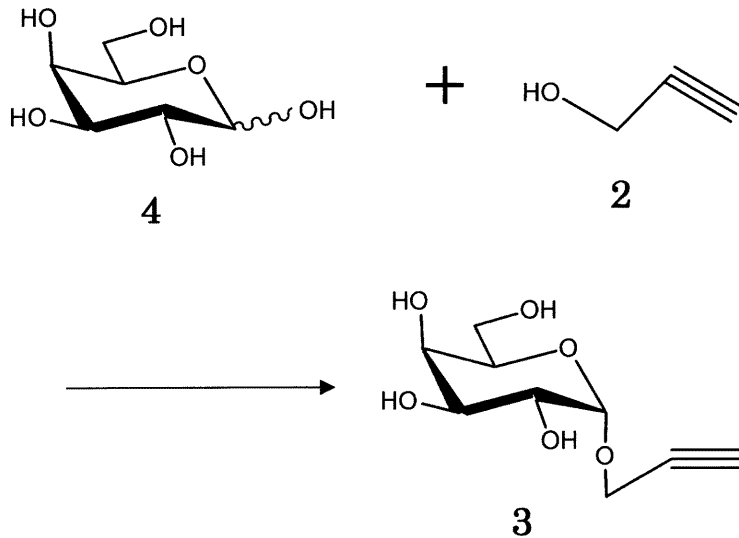
## 【0097】

## 実施例 2 . プロパルギル基導入 ガラクトースの合成 2

ガラクトース供与体としてガラクトース（化合物 4）を用いて、下記反応式に従ってプロパルギル基導入 ガラクトース（化合物 3）を合成した。詳細を以下に説明する。

## 【0098】

## 【化 2 0】



## 【0 0 9 9】

ガラクトース（化合物 4）（500 mg, 2.78 mmol）を酢酸ナトリウムバッファー（pH=5.0, 50 mM, 4.5 mL）に溶解した。続いて、ガラクトシダーゼ（スミチーム A G S（新日本化学工業株式会社製））2 mg（60 U）、プロパルギルアルコール（化合物 2）1 mL を加え、30℃にて 48 h インキュベートした。反応終了後、減圧濃縮し、得られたシラップをフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー（Fuji Silysia 300 mesh, l = 17 cm）に供し、溶出液（CHCl<sub>3</sub> : MeOH = 10 : 1）にて化合物 3（133.3 mg, 0.61 mmol, 22 %）を得た。一方、化合物 3 の 体は検出されなかった。

## 【0 1 0 0】

実施例 3 . プロパルギル基導入 ガラクトースの合成 3

ガラクトシダーゼとして、生コーヒー豆由来 ガラクトシダーゼ（シグマアルドリッチ社製）10 μL（10 Unit）を用いた以外は、実施例 1 と同様にプロパルギル基導入ガラクトース（化合物 3）を合成した。その結果、化合物 3（75 mg, 0.34 mmol, 12 %）を得た。また、同時に化合物 3 の 体（8 mg, 0.04 mmol, 1.3 %）も得られた。すなわち生成物の / の比率は約 10 : 1 であった。

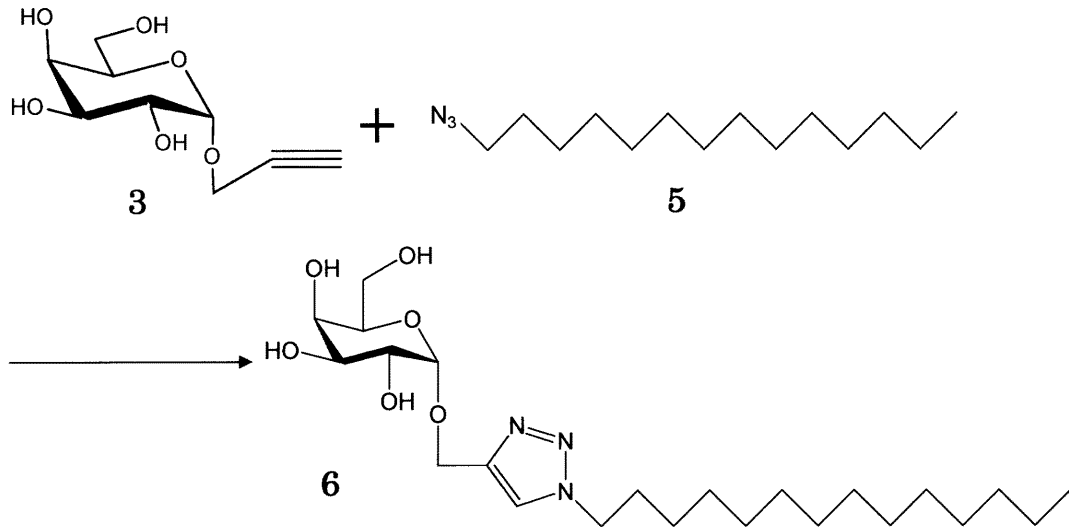
## 【0 1 0 1】

実施例 4 . ガラクトシルセラミド類縁体の合成

下記の反応式に従って、ガラクトシルセラミド類縁体を合成した。

## 【0 1 0 2】

## 【化 2 1】



## 【 0 1 0 3】

プロパルギル基導入 ガラクトース（化合物 3）（231.2 mg, 1.06 mmol）と化合物 5（387.6 mg, 1.62 mmol）をメタノール（5 mL）に溶解し、ヨウ化銅（204mg, 1.07mmol）、DIPEA（2.98mL, 21.2 mmol）を加え、窒素雰囲気下、室温にて24 時間攪拌した。反応終了後、減圧濃縮し、得られたシラップをフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー（Fuji Silysia 300 mesh, l = 22 cm）に供し、溶出液（CHCl<sub>3</sub>: MeOH = 10 : 1）にて化合物 6（480 mg, 1.05 mmol, 99 %）を得た。NMRデータを以下に示す。

20

## 【 0 1 0 4】

<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) 7.99 (s, 1 H), 4.91 (d, 1 H, J = 3.2 Hz), 4.37 (t, 1 H), 3.86 3.64 (m), 1.91 1.86 (m), 1.36 1.26 (m), 0.87 (t, 3 H, J = 6.8 Hz)。

## 【 0 1 0 5】

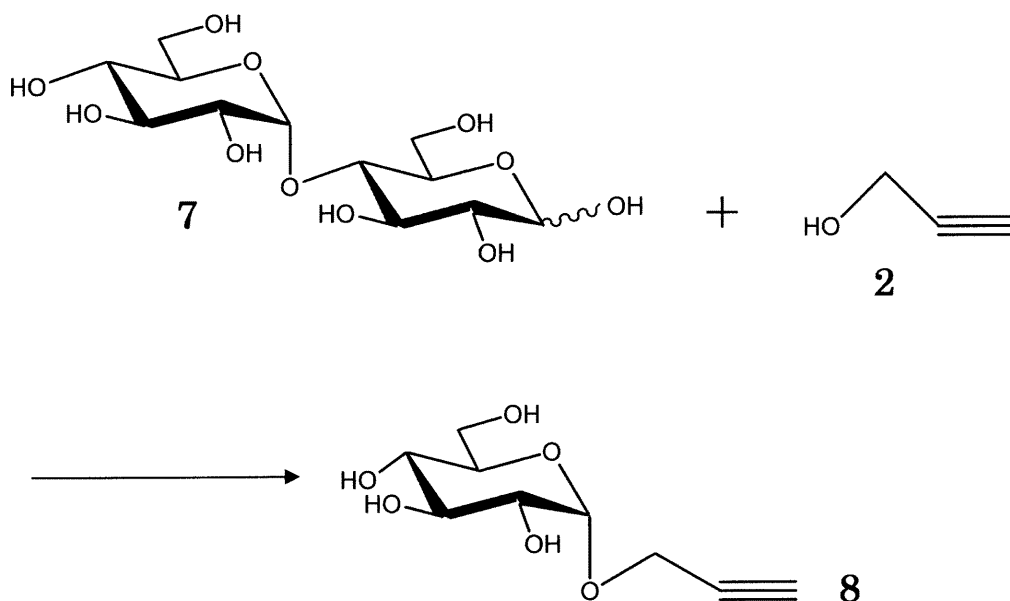
## 比較例 1 . プロパルギル基導入 - グルコースの合成

下記の反応式に従ってプロパルギル基導入 - グルコース（化合物 8）を合成した。詳細を以下に説明する。

30

## 【 0 1 0 6】

## 【化 2 2】



## 【 0 1 0 7】

50



マルトース（化合物7）（500 mg, 1.46 mmol）をクエン酸バッファー（pH= 6.0, 50mM, 4.5 mL）に溶解した。続いて、グルコシダーゼであるトランスグルコシダーゼ（天野エンザイム製）1 mL、及びプロパルギルアルコール（化合物 2）1 mLを加え、30 °Cにて48 h インキュベートした。反応終了後、減圧濃縮し、得られたシラップをフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー（Fuji Silysia 300 mesh, l = 17 cm）に供し、溶出液（CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : MeOH = 5 : 1）にて化合物 8（146 mg, 0.67 mmol, 46 %）を得た。また、同時に化合物 8の 体（52.1 mg, 0.24 mmol, 16 %）も得られた。すなわち生成物の / の比率は約3 : 1であった。

---

フロントページの続き

(56)参考文献 Carbohydr. Res., 1988, Vol. 180, pp. 53 59  
J. Mol. Catal. B Enzym., 2006, Vol. 39, pp. 128 134  
Tetrahedron, 2010, Vol. 66, pp. 750 757

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 1 2 P 1 / 0 0 - 4 1 / 0 0

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )