

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3723227号
(P3723227)

(45) 発行日 平成17年12月7日(2005.12.7)

(24) 登録日 平成17年9月22日(2005.9.22)

(51) Int. Cl.⁷

F I

C07H 19/10
A61K 31/7084
A61P 11/00
A61P 11/10
A61P 27/02

C07H 19/10
A61K 31/7084
A61P 11/00
A61P 11/10
A61P 27/02

請求項の数 18 (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平11-510156
(86) (22) 出願日 平成10年7月24日(1998.7.24)
(65) 公表番号 特表2001-510484(P2001-510484A)
(43) 公表日 平成13年7月31日(2001.7.31)
(86) 国際出願番号 PCT/US1998/015445
(87) 国際公開番号 W01999/005155
(87) 国際公開日 平成11年2月4日(1999.2.4)
審査請求日 平成12年11月13日(2000.11.13)
(31) 優先権主張番号 60/054,147
(32) 優先日 平成9年7月25日(1997.7.25)
(33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 500297524
インスパイアー ファーマシューティカルズ、インコーポレイティド
アメリカ合衆国、ノース カロライナ 27703、ダーハム、エンペラー プールバード 4222、スイート 470
(74) 代理人 100077517
弁理士 石田 敬
(74) 代理人 100092624
弁理士 鶴田 準一
(74) 代理人 100127085
弁理士 越阪部 倫子
(74) 代理人 100082898
弁理士 西山 雅也

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ジ (ウリジン5') - テトラホスフェート及びその塩の大規模生産のための方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

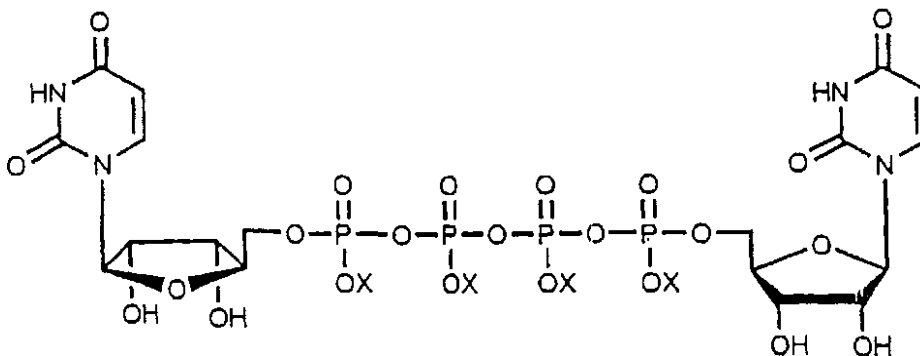
P¹, P⁴ - ジ (ウリジン5') - テトラホスフェート・四ナトリウム塩。

【請求項2】

式 I :

【化1】

式 I

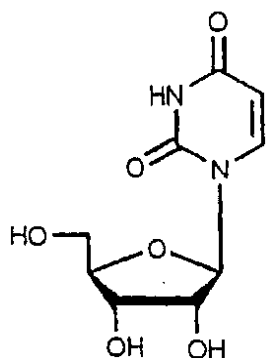
(式中、XはNa, NH₄及びHからなる群から選択され、但し全てのX基がHであることはない)

の化合物又はその医薬として許容される塩を合成するための方法であって、

a) 式II a - d :

【化2】

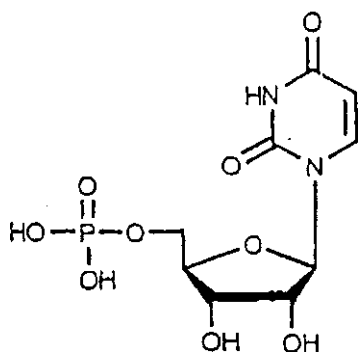
式II a : ウリジン



10

【化3】

式II b : UMP

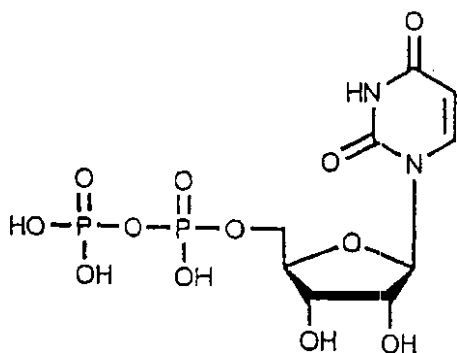


20

及びその塩 ;

【化4】

式II c : UDP

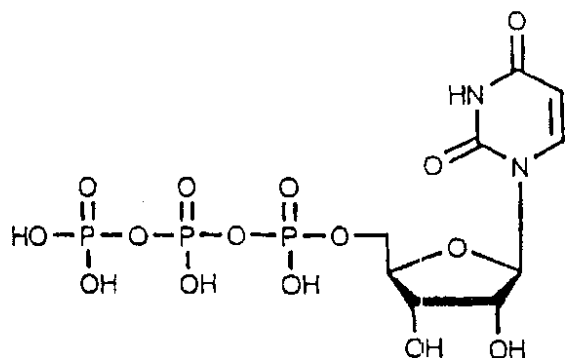


40

及びその塩 ;

【化5】

式II d : UTP



10

及びその塩；

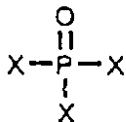
のウリジン又はウリジンヌクレオチド化合物を、極性非プロトン性有機溶媒及び疎水性アミンに溶解し；

b) 式IV a - b ；

【化6】

式IV a : 一リン酸化剤

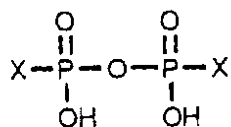
20



(式中、Xはハロゲンである)；

【化7】

式IV b : ニリン酸化剤

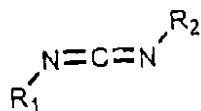


30

(式中、Xは酸素、ヒドロキシ、ハロゲンからなる群から選択される)及びその塩のうち
の1のリン酸化剤でリン酸化して式Iの化合物を生成し、又は前記ウリジンヌクレオチド
化合物のリン酸基を、式III a - c ；

【化8】

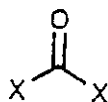
式III a : カルボジイミド



40

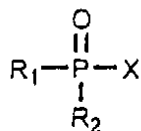
(式中、R₁及びR₂は、独立して、C₁-C₈のアルキル、シクロアルキル、及びアリアル
からなる群から選択され、ここで該アルキル、シクロアルキル、又はアリアルはヒドロキ
シ又はアミノ基で任意に置換される)；

【化 9】
式 III b : 活性化カルボニル



(式中、Xは、独立して、イミダゾール、テトラゾール及びハロゲンからなる群から選択される) ;

【化 10】
式 III c : 活性化リン



(式中、Xはハロゲンであり、R₁及びR₂は各々独立して、C₁-C₈のアルキル、シクロアルキル、C₁-C₈のアルコキシ、アリール、及びハロゲンからなる群から選択され、ここで、該アルキル、シクロアルキル、アルコキシ、又はアリールはヒドロキシ、アミノ、アルコキシ、又はハロゲン基で任意に置換される)

のうちの1の活性化剤で活性化し、式 II b - dの適切な化合物と反応させて式 Iの化合物を生成し ; そして

c) 式 Iの化合物及びその医薬として許容される塩をイオン交換クロマトグラフィーにより精製することを含む、前記方法。

【請求項 3】

前記 III aの化合物が、ジシクロヘキシルカルボジイミド及び1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドヒドロクロライドからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 2に記載の方法。

【請求項 4】

前記式 III bの化合物が、カルボニルジイミダゾール及びカルボニルジトリアゾールからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 2に記載の方法。

【請求項 5】

前記式 III cの化合物が、ジフェニルホスホクロリデート、フェニルホスホジクロリデート、フェニルホスホン酸ジクロライド及びジフェニルホスフィン酸クロライドからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 2に記載の方法。

【請求項 6】

前記式 IV aの化合物がオキシ塩化リンであることを特徴とする、請求項 2に記載の方法。

【請求項 7】

前記式 IV bの化合物が、ピロホスホリルクロライド及びピロホスフェートからなる群から選択されることを特徴とする、請求項 2に記載の方法。

【請求項 8】

請求項 2に記載の式 II cの化合物を、極性非プロトン性有機溶媒及び疎水性アミンに溶解し、請求項 2に記載の式 III a - cからの活性化剤で処理し、そして次にクロマトグラフィーにより精製することを含む、請求項 2に記載の方法。

【請求項 9】

請求項 2に記載の式 II bの化合物を、極性非プロトン性有機溶媒及び疎水性アミンに溶解し、請求項 2に記載の式 III a - cのうちの1つからの活性化剤で処理し、そして次に請求項 2に記載の式 II dの化合物と反応させ、そして次にクロマトグラフィーにより精製することを含む、請求項 2に記載の方法。

【請求項 10】

10

20

30

40

50

請求項 2 に記載の式 II d の化合物を、極性非プロトン性有機溶媒及び疎水性アミンに溶解し、請求項 2 に記載の式 III a - c のうちの 1 つからの等モル量の活性化剤で処理し、そして次に請求項 2 に記載の式 II b の化合物と反応させ、そして次にクロマトグラフィーにより精製することを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 1 1】

過剰な活性化剤を用いることを特徴とする、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 1 2】

請求項 2 に記載の式 II b の化合物を、極性非プロトン性有機溶媒及び疎水性アミンに溶解し、請求項 2 に記載の式 III a - c のうちの 1 つからの活性化剤で処理し、そして次に請求項 2 に記載の式 IV b の適切な化合物と反応させ、そして次にクロマトグラフィーにより精製することを含む、請求項 2 に記載の方法。

10

【請求項 1 3】

請求項 2 に記載の式 II a の化合物を、極性非プロトン性有機溶媒及び疎水性アミンに溶解し、請求項 2 に記載の式 IV a - b のうちの 1 つからのリン酸化剤で処理し、そして次にクロマトグラフィーにより精製することを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

請求項 2 に記載の式 II b の化合物を、極性非プロトン性有機溶媒及び疎水性アミンに溶解し、請求項 2 に記載の式 IV b からのリン酸化剤で処理し、そして次にクロマトグラフィーにより精製することを含む、請求項 2 に記載の方法。

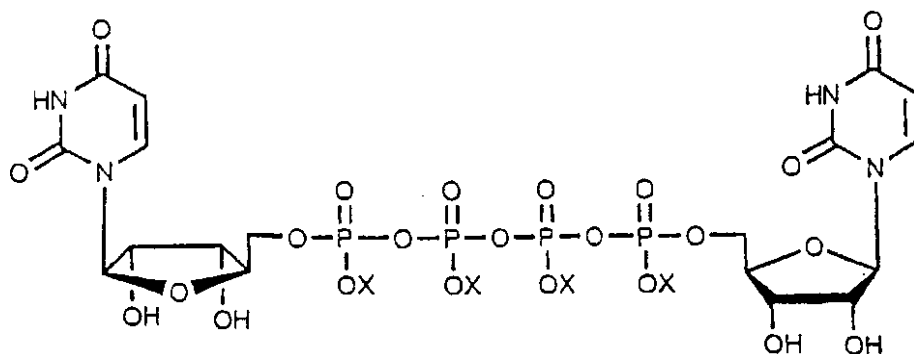
【請求項 1 5】

有効に慢性の閉塞性の肺疾患を治療する量の以下の式 I :

20

【化 1 1】

式 I



30

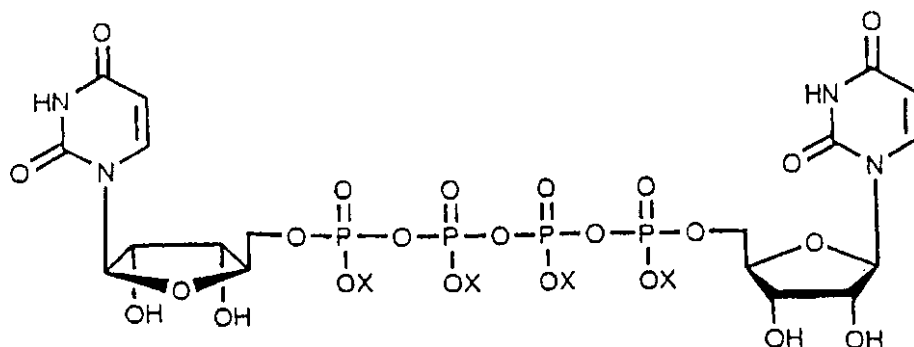
(式中、X は Na である)

の化合物を含む、慢性の閉塞性の肺疾患を治療するための医薬組成物。

【請求項 1 6】

有効に粘液分泌を取り除く量の以下の式 I :

【化 1 2】

式 I

10

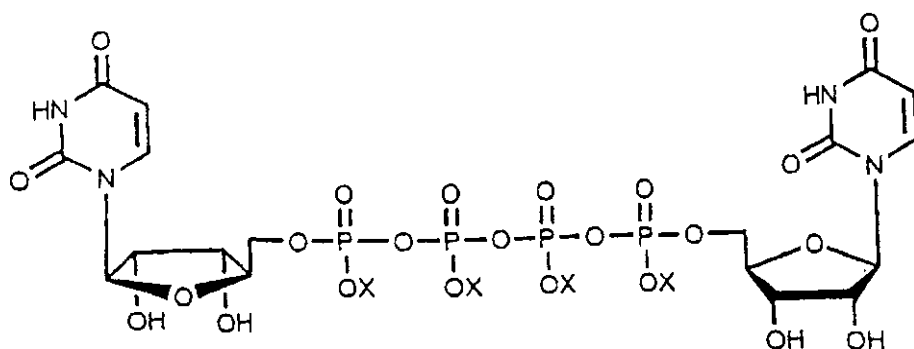
(式中、XはNa, NH₄及びHからなる群から選択され、但し全てのX基がHであることはない)

の化合物を含む、鼻涙管閉塞を治療するための医薬組成物。

【請求項 1 7】

喀痰の誘導を容易にするのに有効な量の以下の式 I :

【化 1 3】

式 I

20

30

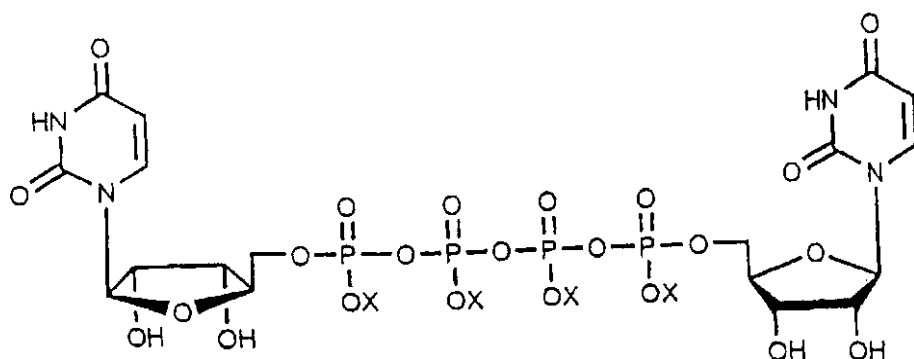
(式中、XはNa, NH₄及びHからなる群から選択され、但し全てのX基がHであることはない)

の化合物を含む、喀痰誘導を容易にするための医薬組成物。

【請求項 1 8】

喀出を容易にするのに有効な量の以下の式 I :

【化 1 4】

式 I

40

50

(式中、XはNa, NH₄及びHからなる群から選択され、但し全てのX基がHであることはない)

の化合物を含む、喀出を容易にするための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

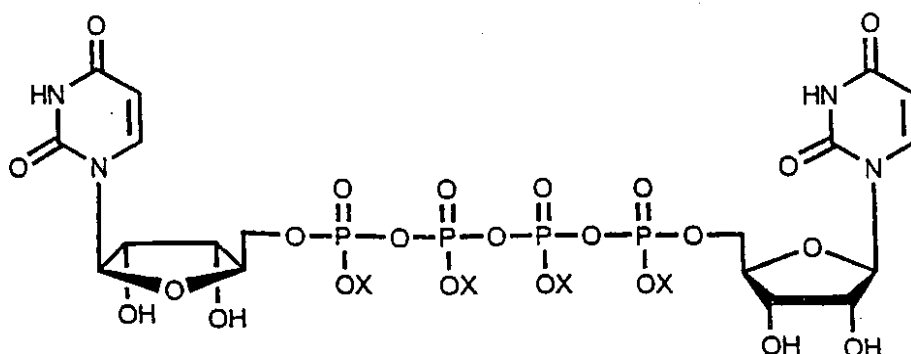
技術分野

本発明は、新規の塩を含む治療用ジヌクレオチドの生産のための方法に関する。より詳しくは、本発明は、従来の製造方法に優る利点を有するP¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、即ちジウリジンテトラホスフェート(U₂P₄)の合成のための方法に関する。

発明の背景

P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェートは次の構造式：

式 I



(式中、XはNa, NH₄又はHであり、但し全てのX基がHではない)のジヌクレオチドである。

P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート(式中、Xは水素である)の遊離酸は、以前に、ウリジンとのP¹, P⁴-5'-エステルであるウリジン5'-(四リン酸五水素)として開示されている(CAS Registry Number:59985-21-6;C.Vallejoら、Biochimica et Biophysica Acta 438, 305 (1976)及びH.Costeら、J.Biol.Chem.262, 12096 (1987))。

プリンジヌクレオチド、例えばジアデノシンテトラホスフェート(A₂P₄)の合成のために異なる方法が開示されている(E.Rappaport et al,Proc.Natl.Acad.Sci,78, 838, (1981);A.Guranowski et al,Biochemistry,27, 2959, (1988);C.Lobaton et al,Eur.J.Biochem.,50, 495, 1975;K.Ng and L.Orgel,Nucl.Acids Res.,15, 3573, (1987))。しかしながら、これはピリミジンヌクレオチドであるU₂P₄については開示されていない。プリンヌクレオチド及びピリミジンヌクレオチドは類似しているように見えるが、プリンヌクレオチド合成のために用いる方法はウリジンのようなピリミジンのために必ずしも作用しない。

ジウリジンテトラホスフェートは慢性の閉塞性肺疾患(COPD)のような種々の病気の治療において有益な特性を有することが示されている。例えば、それらは、種々の理由、例えば嚢胞性繊維症、慢性気管支炎、喘息、気管支拡張症、術後粘液貯留、肺炎、一次毛様体運動障害のために治療の必要なヒトを含む哺乳動物のような被検体の肺からの粘液分泌物の浄化(M.J.Stutts,IIIら、米国特許5,635,160;PCT国際公報W0 96/40059)並びに固定患者における肺炎の予防及び治療(K.M.Jacobus及びH.J.Leighton、米国特許5,763,447)を容易にすることが証明されている。更なる治療的使用には、副鼻腔炎(PCT国際公報W0 98/03177)、中耳炎(PCT国際公報W0 97/29756)、乾性眼、網膜剥離、鼻涙管閉塞の治療、粘液分泌の増加及び上皮表面の水和作用による腔の乾燥症による女性不妊症及び過敏症の治療、並びに運動家の能力の増加がある。

U₂P₄は、哺乳動物、例えばこれらに限らないが、イヌ、ネコ及びウマにおける獣医学的製品としての利用性も有する。

先行技術の方法は、ジウリジンテトラホスフェートの生産のための唯一のプロトコルを記

10

20

30

40

50

述する。この方法は極めて時間がかかり、5日間、続き、そして少量のジウリジンテトラホスフェートを生産する(C.Vallejoら、Biochimica et Biophysica Acta 438, 305(1976)、Silleroら、Eur J Biochem 76, 332(1972))。この技術に従って、ジウリジンテトラホスフェートは、無水ピリジン(10ml)の媒体中でのウリジン5'-モノホスホモルホリデート(0.54mmol)のピロリン酸のトリエチルアミン塩(0.35mmol)との反応により合成された30で5日後、エバポレーションにより反応混合物からピリジンを除去し、その残留物をガラス-蒸留水(8mL)に再度懸濁し、その懸濁液をDEAE-セルロースカラム(37.5×2.6cm)に適用し、重炭酸アンモニウムpH8.6の直線勾配(0.06~0.25M)の3.2Lで分画された、0.17~0.19Mの重炭酸アンモニウム間に溶出するピークは、クエン酸緩衝液pH5.0での電気泳動により、ホスホジヒステラーゼIでの処理後、次の基準：アルカリホスファターゼに対する不感受性、塩基に対するリンの比及び加水分解の産物(UTP+UMP)の分析により U_2P_4 としてキャラクタライズされた。収率又は分光データは供されなかった。これにより、ジウリジンテトラホスフェートの合成のための先行技術の手順は冗長であり、部分的にキャラクタライズされただけのジウリジンテトラホスフェートを少量しか生産しなかった。本発明は、より効果的かつ便利に行うことができ、ジウリジンテトラホスフェート及びその塩の大規模生産に適用できるこの医学的に役立つ化合物を生産するための方法にある。

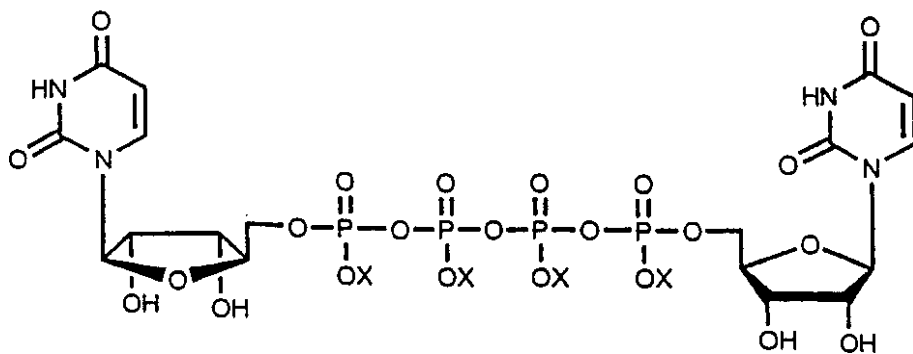
10

発明の概要

本発明は、治療用ジヌクレオチド、 P^1, P^4 -ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート(式I)の合成のための新規方法を供し、大量での生産への適用性を証明する。本発明の方法は、ジウリジンテトラホスフェートを合成するために必要とされる時間を、好ましくは3日又はそれ未満に実質的に減少させる。これらの方法により調製された P^1, P^4 -ジ(ウリジン5')-テトラホスフェートの新規アンモニウム及びナトリウム塩は安定で、可溶性で、非毒性で、そして製造の間での取り扱いが容易である。テトラアンモニウム塩が好ましく；テトラナトリウム塩が最も好ましい。

20

式 I



30

(式中、Xは、Na, NH_4 又はHであり、但し全てのX基がHであることはない)

式Iの化合物及びその医薬として許容される塩を合成する方法は、一般に、次のステップ：1)極性、非プロトン性有機溶媒及び疎水性アミン中に式IIa-dのウリジン又はウリジンヌクレオチド化合物を溶解し；2)式IVa-bのリン酸化剤でリン酸化し及び/又は式IIIa-cの活性化剤で活性化し；そして3)イオン交換クロマトグラフィーにより精製することにより行われる。

40

本発明の別の態様は、種々の病状、例えばこれらに限らないが、慢性の閉塞性肺疾患、副鼻腔炎、中耳炎、鼻涙管閉塞、乾燥性眼疾患、網膜剥離、肺炎、及び膈の乾燥症により引き起こされる女性不妊及び過敏症を治療する方法である。

本発明の別の態様は、医薬として許容される担体と一緒に式Iの化合物を含む医薬組成物である。

発明の詳細な記載

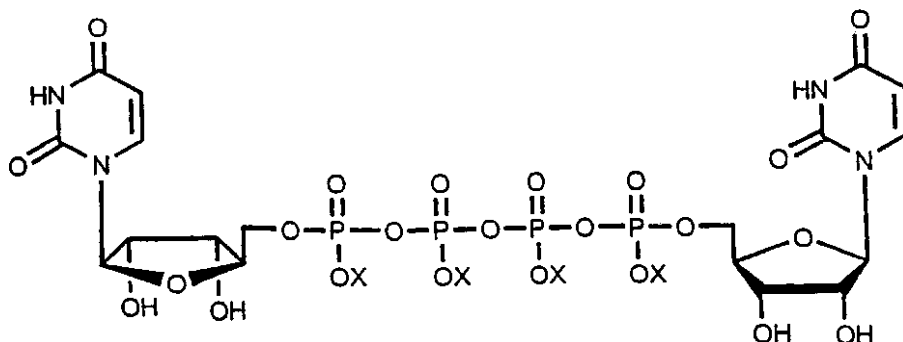
本発明は、治療用ジヌクレオチド、 P^1, P^4 -ジ(ウリジン5')-テトラホスフェートの合成のための新規方法を供し、大量での生産への適用性を証明する。本発明の方法は、

50

P^1 , P^4 -ジ(ウリジン5')-テトラホスフェートを合成するために必要とされる時間を、好ましくは3日又はそれ未満に実質的に減少させる。これらの方法により調製された P^1 , P^4 -ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート(式I)のアンモニウム及びナトリウム塩は安定で、可溶性で、非毒性で、そして製造の間での取り扱いが容易である。

本発明は、式I:

式 I



(式中、Xは、Na, NH_4 又はHであり、但し全てのX基がHであることはない)

の化合物を更に供する。

P^1 , P^4 -ジ(ウリジン5')-テトラホスフェートのナトリウム及びアンモニウム塩は多くの利点を有する。ナトリウム及びアンモニウム塩は、リン酸エステルの加水分解を触媒する二価カチオン(例えば Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+})のものとは比べて優れた長期安定性プロフィールを供する。 P^1 , P^4 -ジ(ウリジン5')-テトラホスフェートの四ナトリウム塩は肺及び眼に対して非刺激性である。他のカチオンは、肺、眼、及び他の粘膜上皮を刺激し得、又はヒトの体により十分に許容されない。これらの無機ナトリウム及びアンモニウム塩は疎水性アミン塩、例えばトリ-及びテトラブチルアンモニウム及び類似の塩と比べて優れた水溶解性を与える。高い水溶性は種々の濃度の医薬製剤における柔軟性のため重要な利点である。 P^1 , P^4 -ジ(ウリジン5')-テトラホスフェートのテトラアンモニウム及びテトラナトリウム塩は、有機溶媒を用いない水性のイオンクロマトグラフィーにより直ちに精製される点でも有利である。更に、これらの塩は、いくつかのアミン塩で油又はガム状であるのと比べて飛散性(fluffy)の白色固体として容易に取り扱われる。テトラナトリウム塩が好ましい。

式Iの化合物は、種々の理由、例えば嚢胞性繊維症、慢性気管支炎、喘息、気管支拡張症、術後粘液貯留、肺炎、一次毛様体運動障害のために治療の必要なヒトを含む哺乳動物のような被検体の肺からの粘液分泌物の浄化(M.J.Stutts, IIIら、米国特許5,635,160; PCT国際公報W0 96/40059)並びに固定患者における肺炎の予防及び治療(K.M.Jacobus及びH.J.Leighton、米国特許5,763,447)を容易にするために用いることができる。更なる治療的使用には、副鼻腔炎(PCT国際公報W0 98/03177)、中耳炎(PCT国際公報W0 97/29756)、乾性眼、網膜剥離、鼻涙管閉塞の治療、粘液分泌の増加及び上皮表面の水和作用による腔の乾燥症による女性不妊症及び過敏症の治療、並びに運動家の能力の増加がある。

式Iの化合物は、吸入又は噴霧により経口的、局所的、非経口的に手順中に、直腸に、又は腔に、慣用的な非毒性医薬として許容される担体、アジュバント及びビヒクルを含む投与単位製剤で投与することができる。本明細書に用いる用語“局所的”には、パッチ、ゲル、クリーム、軟膏、坐剤、ペッサリー、又は鼻、耳もしくは眼用の液滴がある。本明細書に用いる用語“非経口”には、皮下、注入、静脈内、筋内、胸骨内注入又は注射技術がある。更に、一般式Iの化合物及び医薬として許容される担体を含む医薬製剤を供する。一般式Iの1又は複数の化合物が1又は複数の非毒性の医薬として許容される担体又は希釈剤もしくはアジュバント、及び必要に応じて他の活性成分と合わせて存在し得る。1つのこのような担体は、糖であろう。ここでは、その化合物は、グラシフィケーション(glucosylation)の間にマトリックス中に親密に組み込んでよく、又は担体(例えばラクトース、スクロース、トレハロース、マンニトール)もしくは肺もしくは気道デリバリー

10

20

30

40

50

のための他の許容される賦形剤と単に混合してもよい。

一般式 I の 1 又は複数の化合物は、別個にもしくは一緒に、又は粘液溶解剤、例えば DNase (Pulmozyme[®]) もしくはアセチルシステイン、抗生物質、例えばこれらに限らないが、吸入化 Tobramycin[®] ; 非ステロイド性抗炎症剤、抗ウイルス剤、ワクチン、うっ血除去剤及びコルチコステロイドと別個にもしくは一緒に投与することができる。

一般式 I の化合物を含む医薬組成物は、経口的使用に適した形態、例えば錠剤、カプレット、ロゼンジ、水性もしくは油性懸濁液、分散性粉末もしくは粒子、エマルション、硬質もしくは軟質カプセル、又はシロップもしくはエリキシルとして用いることができる。経口的使用を意図した組成物は、医薬組成物の製造のために当該技術分野で周知であるいずれかの方法に従って調製することができる。これらの組成物は、医薬としてエレガントで味のよい調製物を供するために、甘味剤、芳香剤、着色剤及び防腐剤からなる群から選択される 1 又は複数の剤を含み得る。錠剤は、錠剤の製造のために適した非毒性の医薬として許容される賦形剤との混合物で活性成分を含む。これらの賦形剤は、例えば不活性希釈剤、例えば炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、リン酸カルシウム又はリン酸ナトリウム ; 顆粒化及び分解剤、例えばコーンスターチ、又はアルギン酸 ; 結合剤、例えばデンプン、ゼラチン又はアカシア ; 及び滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸又はタルクであり得る。錠剤は、コートしなくても、又は胃腸管内での分散及び吸収を遅らせてそれによりより長期にわたる持続活性を供するために周知の技術によりコートしてもよい。例えば時間遅延材料、例えばグリセリルモノステアレート又はグリセリルジステアレートを用いることができる。

経口的使用のための製剤は、活性成分が、不活性固体希釈剤、例えば炭酸カルシウム、リン酸カルシウムもしくはカオリンと混合されている硬質ゼラチンカプセルとして、又は活性成分が水もしくは油媒体、例えばピーナッツ油、液体パラフィンもしくはオリーブ油と混合されている軟質ゼラチンカプセルとして供してもよい。

水性懸濁液は、水性懸濁液の製造のために適した賦形剤との混合物において活性材料を含む。このような賦形剤は、懸濁剤、例えばナトリウムカルボキシメチルセルース、メチルセルロース及びナトリウムアルギネートである。分散又は湿潤剤は、天然のホスファチドもしくはアリレンオキシドの脂肪酸との縮合産物、又はエチレンオキシドの長鎖脂肪族アルコールとの縮合産物、又はエチレンオキシドの、脂肪酸及びヘキシトールからの部分エステルとの縮合産物、又はエチレンオキシドの、脂肪酸及びヘキシトール無水物由来の部分エステルとの縮合産物であり得る。当業者は、上述の一般的記載により包含される多くの特定の賦形剤及び湿潤剤を認めるであろう。水性懸濁液は、1 又は複数の防腐剤、例えばエチルもしくは n - プロピル p - ヒドロキシベンゾエート、1 もしくは複数の着色剤、1 もしくは複数の芳香剤、及び 1 もしくは複数の甘味剤、例えばスクロースもしくはサッカリンを含み得る。

水の添加による水性懸濁液の調製のために適した分散性粉末及び粒子は、分散又は湿潤剤、懸濁剤及び 1 又は複数の防腐剤との混合物において活性成分を供する。適切な分散又は湿潤剤及び懸濁剤は、先に既に言及したものにより例示される。更なる賦形剤、例えば甘味剤、芳香剤、及び着色剤も存在し得る。

式 I の化合物は、滅菌媒体中で非経口的に投与することができる。その薬剤は、用いるピヒクル及び濃度により、ピヒクル内に懸濁し又は溶解することができる。有利には、局所麻酔剤のようなアジュバント、防腐剤及び緩衝剤をピヒクルに溶かすことができる。滅菌注入調製物は、非毒性の非経口的に許容される希釈剤又は溶媒中の滅菌注入溶液又は懸濁液であり得る。用いることができる許容されるピヒクル及び溶媒は、滅菌水、塩類溶液、又はリンガー溶液である。一般式 I の化合物は、薬剤の耳、直腸、又は腔内投与のための坐剤の形態で投与してもよい。これらの組成物は、薬剤を、通常の温度で固体であるが、体温で液体であり、それゆえ溶けて薬剤を放出するであろう適切な非刺激性賦形剤と混合することにより調製することができる。このような材料はココアバター及びポリエチレングリコールである。

式 I の化合物の溶液は、体内のいずれかの部位での術中設置により投与することができる

10

20

30

40

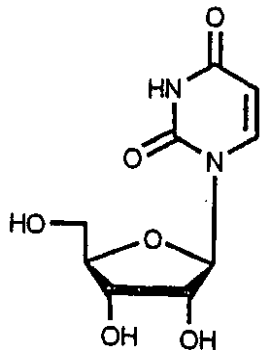
50

約 1 ~ 約 400mg、好ましくは 10 ~ 300mg、最も好ましくは 25 ~ 250mg の範囲の単一投与レベルが上述の呼吸条件の治療に役立つ。約 0.0005 ~ 約 5 mg、好ましくは 0.001 ~ 3 mg、最も好ましくは 0.025 ~ 1 mg の範囲の単一投与レベルが上述の眼病状態の治療に役立つ。担体材料と組み合わせて単一投与形態を作ることができる活性成分の量は、治療するホスト及び特定の投与の態様に極めて依存するであろう。しかしながら、いずれの特定の被検体についての特定の投与レベルも、種々の因子、例えば用いる特定の化合物の活性、年齢、体重、全般的な健康状態、性別、食事、投与の時間、投与の経路、及び排泄の比率、薬剤の組合せ及び治療を行う特定の病気の激しさに依存するであろう。

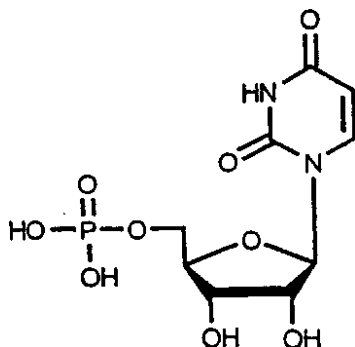
下記の合成方法は、 P^1 、 P^4 -ジ(ウリジン 5')-テトラホスフェートを生産するためのいくつかの合成ストラテジーを包含する。一般に、全ての方法は、極性非プロトン性有機溶媒(例えばジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、ジオキサン、N-メチルピロリドン、トリメチルホスフェート)及び疎水性アミン(例えばトリエチルアミン、トリブチルアミン、トリオクチルアミン、2,4,6-コリジン、テトラブチルアンモニウム、トリ-及びテトラ-アルキルアミン、ヘテロ環式アミン)中に溶解する、出発材料として式 II a - d からのウリジン又はウリジンヌクレオチド化合物を用いる。その産物は、各々、式 IV からのリン酸化剤(例えばリンオキシクロライド、ピロリン酸、ピロホスホリルクロライド)でリン酸化し、又は式 III からの活性化剤(例えばカルボニルジイミダゾール、アルキル又はアリールカルボジイミド、アルキル又はアリールホスホクロリデート)でリン酸基を活性化し、次に当業者に公知である種々の精製手段、例えばこれらに限ら

ないが、イオンクロマトグラフィー(例えば DEAE Sephadex、DEAE セルロース、Dowex 50、アニオン及びカチオン交換樹脂)を行うことにより得られる。ピリミジン-D-リボフラノシル出発材料ウリジン、ウリジン 5'-モノホスフェート(UMP)、ウリジン 5'-ジホスフェート(UDP)、及びウリジン 5'-トリホスフェート(UTP)は各々以下の式 II a - d に遊離酸として示される。これらの材料は、全て、種々の塩形態で大量に市販されている。

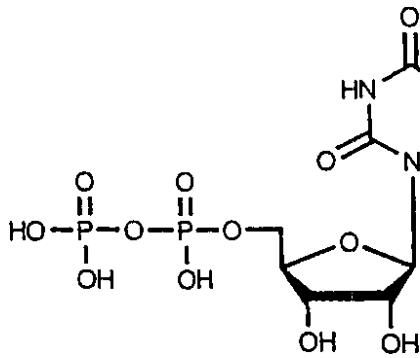
式 II a : ウリジン



式 II b : UMP

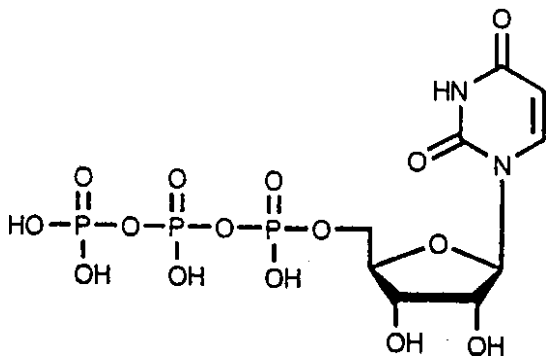


及びその塩 ;

式 II c : UDP

10

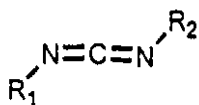
及びその塩；

式 II d : UTP

20

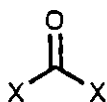
及びその塩。

活性剤カルボジイミド、活性化カルボニル、及び活性化リン化合物は各々以下の一般式 II la - c に示される。

式 III a : カルボジイミド

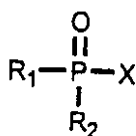
30

(式中、 R_1 及び R_2 は $\text{C}_1 - \text{C}_8$ アルキル又はシクロアルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_8$ の任意に置換されたアルキル又はシクロアルキル(例えばヒドロキシ及びアミノ基)；アリール又は任意に置換されたアリール(例えばヒドロキシ及びアミノ基)である)式 III a の好ましい化合物はジシクロヘキシルカルボジイミド及び1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミドヒドロクロライドである。

式 III b : 活性化カルボニル

40

(式中、 X はイミダゾール、テトラゾール、及びノ又はハロゲンである)。式 III b の好ましい化合物はカルボニルジイミダゾール及びカルボニルジトリアゾールである。

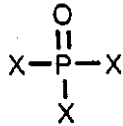
式 III c : 活性化リン

50

(式中、 R_1 及び R_2 は $C_1 - C_8$ アルキル又はシクロアルキル、 $C_1 - C_8$ の任意に置換されたアルキル、アルコキシ又はシクロアルキル(例えばヒドロキシ及びアミノ基);アリール、アルコキシ又は任意に置換されたアリール、アリールオキシ又はアルコキシ(例えばヒドロキシ及びアミノ基)及び/又はハロゲンであり;そしてXはハロゲンである)。好ましい式IIIcの化合物は、ジフェニルホスホクロリデート、フェニルホスホジクロリデート、フェニルホスホン酸ジクロライド及びジフェニルホスフィン酸クロライドである。

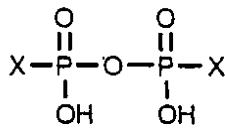
一及び二リン酸化剤は以下に一般式IVa - bに示す。

式IV a : 一リン酸化剤



(式中、Xはハロゲンである)。好ましい式IVaの化合物はオキシ塩化リンである。

式IV b : 二リン酸化剤



(式中、Xは、酸素、ヒドロキシ、又はハロゲンである)及びその塩。好ましい式IVbの化合物はピロホスホリルクロライド及びピロホスフェートである。

当業者は、本発明が以下の実施例に限定されないこと、及び以下の実施例におけるステップを変えることができることを認めるであろう。

実施例 1

ウリジン 5' - ジホスフェートを用いるジウリジンテトラホスフェート、四ナトリウム塩の生産のための方法

ウリジン 5' - ジホスフェート二ナトリウム塩 (Yamasa, Choshi, Japan; 600グラム) を脱イオン水 (5.4 L) に溶かした。その溶液を Dowex 50W x 4 H^+ (Dow Chemical) カラムに流した。ウリジン 5' - ジホスフェートを含む画分をプールし、トリブチルアミン (Aldrich, St. Louis; 300 mL) で中和した。その中和した画分を、55~60 の浴温でのロータリーエバポレーターを用いて油に濃縮した。その油を乾燥ジメチルホルムアミド (Aldrich, 3 L) に溶かし、次にロータリーエバポレーター (55~60 の浴温) を用いて油に濃縮した。このステップを2回、くり返した。その油を再びジメチルホルムアミド (3 L) に溶かし、1, 1 - カルボニルジイミダゾール (Aldrich; 100 g) を加えた。その溶液を2 1/2時間、50 に加熱した。更なる量の活性化剤 (33グラム) を加え、加熱を更に2 1/2時間、続けた。その溶液を再びロータリーエバポレーター (55~60 の浴温) 上で油に濃縮した。生じた油を0.2M NH_4HCO_3 と等しい伝導度まで脱イオン水に溶かした。次にその溶液を Sephadex DEAE-A25 (Pharmacia, Uppsala, Sweden; 1.0M $NaHCO_3$ 中で予め膨潤し、2カラム容量の脱イオン H_2O で洗ったもの) に充填した。そのカラムを以下の順番で次の溶液: 60 L の0.25M NH_4HCO_3 、120 L の0.275M NH_4HCO_3 、40 L の0.30M NH_4HCO_3 及び40 L の0.35M NH_4HCO_3 で溶出した。十分な量の純粋なジウリジンテトラホスフェートを有する画分をHPLC分析により測定してプールし、そしてロータリーエバポレーター (55~60 の浴温) で濃縮した。生じた残留物を脱イオン水 (1.5 L) に溶かしてロータリーエバポレーターで濃縮した。このステップを15回、又は過剰な重炭酸緩衝液が除去されるまでくり返した。生じた油を十分な量の脱イオン水に溶かして約10%の溶液を形成し、その溶液をDowex 50W x 4 Na^+ (Dow) カラムに詰めて脱イオン水で溶出した。 U_2P_4 を含む画分をプールし、約10~15%溶液に濃縮し、それを凍結乾燥して白色固体として U_2P_4 テトラナトリウムを生成した (150 g、ウリジン 5' - ジホスフェートに基づいて約25%収率)。

10

20

30

40

50

P¹, P⁴ - ジ (ウリジン 5') - テトラホスフェート、四ナトリウム塩の構造解析

文献での非アデニル化ジヌクレオチドの適切な分光データの欠如のため、P¹, P⁴ - ジ (ウリジン 5') - テトラホスフェート、四ナトリウム塩の全構造解析を、近代的な分析技術を用いることにより行った。その分子量は質量分析により 878 [m / z 855, (M - Na₄)] であると決定され、分子式 C₁₈H₂₂N₄O₂₃P₄ · 4Na であることを確認した。C₁₈H₂₂N₄O₂₃P₄ · 3Na [(M - Na⁺) : 計算値 854.9318] について測定した正確な質量は 854.9268 であった。その測定した質量は理論値と 5.0 ミリマス単位 (5.9 ppm) だけ異なり、99.7% の信頼レベルであった。カール・フィッシャー水分分析は 1.73% H₂O の値を供し、分子式の更なる確認を元素分析から得た : 分子式 : C₁₈H₂₂N₄O₂₃P₄ · 4.2Na · 1.1H₂O (FW = 902.4 g / mol) に基づいて、計算値 : Na = 10.70、測定値 : 10.81% ; C : P 比計算値 : 1.74、測定値 : 1.80 10

。赤外スペクトルは 3422 cm⁻¹ において広いシグナル、1702 cm⁻¹ においてシグナルを示し、このことは、ヒドロキシル (O - H ストレッチ) 及びカルボニル (C = O ストレッチ) 官能基の存在を示した。更に、ホスフェート P = O ストレッチが 1265 cm⁻¹ で観察された。水中での UV スペクトルは、262 nm の ϵ_{max} 、及び 17,004 の吸収率 () を示した。25 ° での比施光度 (C = 1 , H₂O) は、偏光計により - 9.56 ° であると決定された。

NMR スペクトルは、¹H NMR (D₂O, TMS) 4.11 (m, 2H) , 4.14 (m, 1H) , 4.25 (m, 1H) , 4.27 (m, 1H) , 5.84 (d, J = 8.1 Hz, 1H) , 5.86 (d, J = 5.4 Hz, 1H) , 7.81 (d, J = 8.1 Hz) ; ¹³C NMR (D₂O, TMS) 65.1 (d, J = 5.5 Hz) , 69.7, 73.5, 83.4 (d, J = 9.4 Hz) , 88.1, 102.8, 141.5, 152.9, 167.5 ; ³¹P NMR (D₂O, H₃PO₄ std) - 22, 32 (m) , -10.75 (m) である。¹H 共役 ³¹P スペクトルは、¹H カップリングの導入のため - 10.75 ppm において多重項の広がりを示した。20

それゆえこの多重項は P と確認した。- 22.23 ppm で多重項への ¹H カップリングの効果はなし、これを P としてデフォルトにより割り当てた。核オーバーハウザー効果 (NOE) を、H₂・及び H₃・糖プロトンに対して H₆ について観察された。H₆ が糖プロトンに対して NOE を示すことができないので、H₆ が確認される。更に、N₁ 置換が確認される。なぜなら N₃ 置換化構造が可能なピリミジン - 糖 NOE はなりからである。

更なる 2 次元 NMR 実験を連結度を確認するために行った。HMQC は、C₅ に対する H₅ 及び C₆ に対する H₆ についての連結度を示し、C₅ 及び C₆ を確認する。COSY 及び NOE 連結度は H₆ に対する H₅ について観察され、H₅ を確認した。HMBC3 - 結合連結度は、C₁・に対する H₆、H₁・に対する C₆、C₂ に対する H₁・、C₂ に対する H₆ について観察された。これにより、これらのデータは、H₁、C₂ 及び N₁ 置換を確認する。H₂・に対する H₁・の COSY 連結度 30

は H₂・、及び C₁・に対する H₁・の HMQC 連結度を確認し、C₂・に対する H₂・は C₁・及び C₂・を確認する。更に、HMBC は、C₄ に対する H₅ からの 2 - 結合 J 連結度を示し、C₄ を確認する。mult = 1.5 での ¹³C DEPT スペクトルは、全ての他の炭素に対して逆方向の 65.1 の炭素を示す。この観察結果は、C₅・がメチレンであることを確認する。³¹P の 65.1 及び 83.4 の炭素へのカップリングは C₅・及び C₄・を確認する。なぜなら、C₄・は唯一の連結したメチレンであるからである。更に、HMQC は、H₅・に対する C₅・及び H₄・に対する C₄・についての連結性を示し、H₄・及び H₅・を確認する。NOE は、H₄・に対する H₁・、H₂・に対する H₆ 及び H₃・に対する H₁ について観察され、アノマー糖配列を確認する。結論として、P¹, P⁴ - ジ (ウリジン 5') - テトラホスフェート、四ナトリウム塩を 150 g 規模で合成して 5 時間の全反応時間で、市販の出発材料から 25% 収率を供した。粗生成物はイオン交換クロマトグラフィーにより効率よく精製され、その反応生成物の構造は、質量分析、NMR 及び他の分析技術を用いて明白に証明された。40

実施例 2

ウリジン 5' - モノホスフェートを用いるジウリジンテトラホスフェートテトラナトリウム塩の生産のための方法

ウリジン 5' - モノホスフェート (Sigma, Milwaukee, 3.0 g, 9.26 mmol) を乾燥 DMF (10 mL) 及びトリブチルアミン (Aldrich, 2 mL) に溶かした。その溶液を真空下で 40 ° で油にエバポレートした。その残留物を乾燥 DMF (Aldrich, 8 mL) に溶かして溶液を形成した。カルボニルジイミダゾール (Aldrich, 1.65 g, 10.18 mmol) をこの溶液に加えた。その反応を 1 時間、50 ° に加熱した。以下の実施例 3 に記載される DMF (5 mL) 及びトリブチル 50

アミン (2 mL) 中の無水トリブチルアンモニウム塩として調製したウリジン 5' - トリホスフェート (Yamasa, 5.60 g, 10.18 mmol) を反応溶液に加えた。その混合物を 3 日間、50 で攪拌し、この時、溶液を真空下で油にエバポレートし、水 (5 mL) に溶かし、カラム (300 × 50 mm) クロマトグラフィー (Sephadex DEAE-A25, 40 ~ 120 μ, Aldrich, 1.0 M NaHCO₃ 中で予め膨潤し、2 カラム容量の脱イオン H₂O で洗ったもの) により精製した (H₂O 0.3 M NH₄HCO₃ 勾配)。その純粋な画分を真空下で 35 に濃縮し、H₂O を加え、5 回、再びエバポレートして白色固体 (2.37 g, 30% 収率) としてジウリジンテトラホスフェートテトラアンモニウム塩を得た: 標準と同じ滞留時間での HPLC による 92.11% 純度。更に、そのテトラアンモニウム塩を FABMS により分析して質量 [C₁₈H₂₅N₄O₂₃P₄ (M-H⁺)⁻: 計算値 788.9860] 788.9857 を得て、遊離酸について C₁₈H₂₆N₄O₂₃P₄ の親の式を確認した。

10

実施例 3 A

ウリジン 5' - トリホスフェート (UTP) を用いるジウリジンテトラホスフェートの生産のための方法

水 (5 mL) 中のウリジン 5' - トリホスフェート (UTP) トリナトリウム塩 (ProBioSint, Varese, Italy; 5.86 g, 0.01 mol) の溶液をそのトリブチルアミン形態で BioRad AG-MP50 (Aldrich) 強力カチオン交換樹脂のカラムに流し (50 mL ベット容量)、蒸留水 (約 300 mL) で溶出した。この溶液にトリブチルアミン (Aldrich; 5 mL) を加え、その懸濁液を、その水性画分の pH が 8 まで上がるまで振とうした。その層を分離し、その水溶液を少量になるまでエバポレートし、次に、一晩、凍結乾燥した。その残留物を乾燥ジメチルホルムアミド (Aldrich; 20 mL) に溶かし、その溶液を 0.1 mmHg でエバポレートした。その乾燥したトリブチルアミン塩を無水アセトンで 100 mL に構成し、ストック溶液 (UTP 中 0.1 M) を供した。ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) (Baker, Phillipsburg; 0.227 g, 1.2 mmol) を先の UTP 溶液 (10 mL, 1.0 mmol) のアリコートに加え、その溶液を室温で 30 分、攪拌した。その混合物を、ウリジン 5' - モノホスフェートのトリエチルアミン塩 (2.0 mmol, トリエチルアミン (0.5 mL) をウリジン 5' - モノホスフェート (UMP) の溶液 (Sigma; DMF 中 0.648 g)) に加え、エバポレートして乾燥させることにより調製したものに加えた。次にこの懸濁液を乾燥するまでエバポレートし、乾燥 DMF 中に残留物を 5.0 mL、作り上げ 40 で 24 時間、放置した。その反応混合物を、0 ~ 1.0 M 重炭酸アンモニウムの勾配、5 mL / 分、30 分、溶出する半調製用イオン交換クロマトグラフィーにより分離した。ジヌクレオチドテトラホスフェートは 21 ~ 23 分で溶出し; その産物 (UTP に基づいて 76.5% 収率) を、P¹, P⁴ - ジ (ウリジン 5') - テトラホスフェートの標準溶液のものと λ_{\max} 263 nm での紫外線吸光度を比較することにより定量した。

20

30

実施例 3 B

ウリジン 5' - トリホスフェート (UTP) 及び過剰な活性化剤を用いるジウリジンテトラホスフェートの生産のための方法

UTP の、P¹, P⁴ - ジ (ウリジン 5') - テトラホスフェートへの変換は、トリブチルアミン塩 (0.1 mmol) の大過剰の DCC (0.1 g, 0.5 mmol) での活性化により増強することができ; この場合、析出したジシクロヘキシウレアはる過により除去し、その反応混合物をエーテル (10 mL) で抽出し、その残留物を乾燥 DMF に溶かし、その後、トリブチルアミン UMP (0.2 mmol) で処理した。上述の実施例 3 A の通り、反応混合物のクロマトグラフィー分離及び紫外線吸収による定量に基づいて、ウリジンテトラホスフェート産物は混合物中のウリジレート種の 50.7% を構成し、これは 95.9% の UTP からの変換に相当した。

40

実施例 4 A

カルボニルジイミダゾールで活性化されたウリジン 5' - モノホスフェートを用いてジウリジンテトラホスフェートの生産のための方法

ウリジン 5' - モノホスフェート (UMP) (0.324 g, 1.0 mmol) を乾燥 DMF (5 mL) 及びトリブチルアミン (237 μL, 1 mmol) の混合物に溶かし、その溶液を乾燥するまでエバポレートし、次に更に 2 回、DMF で処理して無水トリブチルアミン塩を供した。その残留物を DMF (5 mL) に溶かし、カルボニルジイミダゾール (CDI) (0.81 g, 5 mmol) を加えた。その溶液を 3 時間、放置し、次にメタノール (324 mL, 8 mmol) を加えて過剰な CDI を破

50

壊した。その溶液を1時間、放置した、トリブチルアミンピロホスフェート (Sigma、0.228 g、0.5 mmol) を加え、その懸濁液を室温で窒素下で撹拌した。3時間後、その反応を水で停止させ、その混合物を上述の実施例 3 A の通り HPLC にかけて。263 nm での吸光度により定量した P¹, P⁴-ジ(ウリジン 5')-テトラホスフェートの収率は 9.3% であった。

実施例 4 B

ジフェニルホスホクロライドで活性化されたウリジン 5' - モノホスフェートを用いるジウリジンテトラホスフェートの生産のための方法

本質的に上述の通り調製した UMP の無水トリブチルアミン塩を乾燥ジオキサン (5 mL) 及び DMF (1 mL) の混合物に溶かした。ジフェニルホスホクロリデート (0.3 mL) 及びトリブチルアミン (0.3 mL) を加え、その溶液を室温で 3 時間、放置した。その溶液をエバポレートし、その残留物をエーテル (約 10 mL) を共に振とうし、次に 4 で 30 分、放置した。そのエーテルをデカントして除き、その残留物を DMF (3 mL) 中トリブチルアミンピロホスフェート (0.228 g、0.5 mmol) の溶液に溶かした。その溶液を窒素下で室温で保存した。3 時間後、その反応を水で止め、その混合物を先の実施例 3 A の通り HPLC にかけて。その 263 nm での吸光度により定量した P¹, P⁴-ジ(ウリジン 5')-テトラホスフェートの収率は 9.6% であった。

10

実施例 5

ウリジン・リンオキシクロライド及びピコホスフェートを用いるジウリジンテトラホスフェートの生産のための方法

ウリジン (Aldrich、0.244 g、1 mmol) をトリメチルホスフェート (Aldrich、5 mL) に溶かし、トリブチルアミン (466 μL、2 mmol) を加えた。その溶液をリンオキシクロライド (0.153 g (93.2 μL)、1 mmol) の添加の間、0 で撹拌し、生じた懸濁液を 0 で 3 時間、撹拌した。トリブチルアミンピロホスフェート (0.228 g) を加え、その懸濁液を室温で 3 時間、撹拌した。その反応を 1.0 M 重炭酸トリエチルアミン水溶液で止め、その混合物をメチルクロライドで抽出してトリメチルホスフェートを除去した。その水溶液を先の実施例 3 A の通り HPLC にかけて。263 nm でのその吸光度により定量した P¹, P⁴-ジ(ウリジン 5')-テトラホスフェートへのウリジンの変換率は 6.83% であった。

20

実施例 6

ウリジン 5' - モノホスフェート及びピロホスホリルクロライドを用いるジウリジンテトラホスフェートの生産のための方法

ウリジン 5' - モノホスフェート (UMP) (64.8 mg、0.2 mmol) を乾燥ピリジン (1 mL) に溶かし、ピロホスホリルクロライド (13.9 μL (25 mg)、0.1 mmol) を加えながら、氷中で撹拌した。その溶液はほぼすぐにくもり、次に豊富な半結晶性白色沈殿が形成され、それは 1 ~ 2 分以内に粘着性の塊になった。その混合物を一晩、室温に保存し、水で反応を止め、先の実施例 3 A の通り HPLC にかけて。263 nm でのその吸光度により定量した P¹, P⁴-ジ(ウリジン 5'-テトラホスフェート)の収率は 15.8% であった。実質的な量の P¹, P³-ジ(ウリジン 5'-トリホスフェート) (25.4%) を、主要副産物として得た。

30

実施例 7

P¹, P⁴-ジ(ウリジン 5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩の水安定性及び溶解性

水中での P¹, P⁴-ジ(ウリジン 5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩の溶解度を、溶液が濁るまで固体の部分を周知の量の脱イオン水に加えることにより測定した。これにより、水中での最大溶解度は約 900 mg/ml と決定された。低 (5) 及び高 (40) 温でインキュベートした固体又は水溶液の安定性研究は、HPLC 分析により決定して、1.5% 未満の分解が 3 ヶ月にわたっておこったことを示した。これにより、P¹, P⁴-ジ(ウリジン 5')-テトラホスフェートの四ナトリウム塩は医薬としての適用に適した優れた溶解度及び安定性プロフィールを有すると決定された。

40

実施例 8

動物中での P¹, P⁴-ジ(ウリジン 5')-テトラホスフェート、テトラナトリウムの毒

50

性

P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩の非臨床的毒物学的プロフィールを、細菌の逆変異アッセイ、試験管内哺乳動物細胞遺伝子テスト、試験管内哺乳動物細胞遺伝子変異テスト、及びマウスにおける微小核の細胞遺伝学アッセイを含む一群の遺伝子毒物学アッセイにおいて評価した。ウサギにおける研究を、6週間にわたる複数の毎日の投与の後に、局所的な視覚上の許容性及び半長期的な視覚上の許容性を検査した。更に、P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩を、ラット及びイヌにおける2回の単一投与急性吸入毒性研究、並びにイヌにおける1回の単一投与急性静脈内毒性研究においてもテストした。

これらの研究の結果は、P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩が一連の遺伝子毒物学アッセイにおいて非遺伝子毒性であることを示す。視覚上の毒物学的研究において悪影響は見い出されなかった。単一投与吸入(ラット、イヌ)及び静脈内(イヌ)毒性研究において低い程度の急性毒性が見られた。それゆえ、P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩は、ヒトに投与するために広い安全性の余裕を有する優れた毒物学的プロフィールを有すると決定された。

10

実施例 9

正常なヒト有志者における P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート)、四ナトリウム塩の安全性及び効能

P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩を、75人の正常な健康な男性有志者におけるフェーズI、ダブル・ブラインド、プラシーボ・コントロール、上昇投与量、安全性及び許容性研究において評価した。40人の非喫煙者及び35人の喫煙者を、P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩(20~400mg)の単一エーロゾル投与を与えた12人、及びプラシーボ(通常の塩類溶液)を与えた4人から構成される16人の有志者の5の投与群において評価した。プラシーボ又はアクティブなイヌにおいて、FEV₁, FVC, MMEF、臨床研究、12-リードECG、又は尿検査結果に大きな変化はなかった。喫煙者において、P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩は、投与5分以内に喀出された喀痰の重量が2倍~7倍、投与量依存で増加し、喀痰をはく刺激は喀痰収集の次の時間までにならって持続した。P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩が非喫煙者において喀出を導く効果も観察された。結論として、P¹, P⁴-ジ(ウリジン5')-テトラホスフェート、四ナトリウム塩は安全であり、正常な男性被検体において十分許容され、プラシーボと比べた時に喀出を刺激するのに有効である。

20

30

フロントページの続き

(51) Int.Cl.⁷

A 6 1 P 27/16

F I

A 6 1 P 27/16

(74)代理人 100081330

弁理士 樋口 外治

(72)発明者 ヤークサ, ベンジャミン アール.

アメリカ合衆国, ノースカロライナ 2 7 6 0 8, ローリー, ハサウェイ ロード 1 3 3 0

(72)発明者 ペンダーガスト, ウィリアム

アメリカ合衆国, ノースカロライナ 2 7 7 1 3, デュラム, ウィリアムズバーグ ウェイ 5 8
1 5

審査官 伊藤 幸司

(56)参考文献 米国特許第 0 5 6 3 5 1 6 0 (U S , A)

国際公開第 9 6 / 0 4 0 0 5 9 (W O , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, D B名)

C07H

A61K

CA(STN)

REGISTRY(STN)

MEDLINE(STN)

BIOSIS(STN)

EMBASE(STN)