

明 細 書

発明の名称：

セレウリドおよびその誘導体の製造方法、セレウリド製造の為の中間体ならびにセレウリド誘導体

技術分野

[0001] 本発明は、セレウリドおよびその誘導体の製造方法に関する。本発明はまた、セレウリドの製造の為の中間体およびセレウリド誘導体に関する。

背景技術

[0002] 土壤中に生息するバチルスセレウス (*Bacillus cereus*) 菌は、米飯、ピラフ、スパゲティーなどの澱粉系食品中に繁殖して、ヒトなどの動物に対して嘔吐作用を惹起するセレウリドを産生する。全てのセレウス菌がセレウリドを産生するのではなく、セレウリド合成遺伝子を獲得したセレウス菌のみがこの毒性物質を作り出すことも知られている。

[0003] 現在、セレウリドによる食中毒が疑われた場合、その食品の抽出物中のセレウリドをHPLCやLC/MSで同定する方法が行われている。セレウリドの細胞空胞化作用を指標として、細胞を用いるバイオアッセイを行う方法もある。

[0004] このようなセレウリドは、耐熱性、耐酸性、耐消化酵素抵抗性が高く、調理や消化の過程で失活せず、小腸神経系に作用して嘔吐現象を誘発することが知られており、さらに、肝臓障害、ミトコンドリア毒性、細胞の形態変化誘導、アポトーシス誘導等が報告されているが、嘔吐現象の分子機構やその他の毒性についての分子レベルでの研究は進展していない。

[0005] 食中毒の判定等のために、検体中の合成酵素遺伝子の検出による方法（特許文献1および2）も提案されている。

[0006] しかしながら、高価な分析機器や熟練した技術を必要とする方法ではなく、簡便な分析方法の開発が望ましい。

[0007] セレウリドによる食中毒の判定のための定性または定量分析や、さらには

、細胞あるいは分子レベルでの毒性評価や機構の解明の為に、純粋なセレウリド標準品が必要とされることが多い。現在市販されているセレウリドは、セレウス菌の培養液から抽出され、メタノール溶液として入手できる。

[0008] このようなセレウリドを得る方法として、セレウリドとその誘導体を合成する方法も提案されている（非特許文献1および2）。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献1：国際公開3／097821号公報

特許文献2：特許公開2006－6256号公報

非特許文献

[0010] 非特許文献1：Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Vol. 5, No. 23, 2855-2858 (1995)

非特許文献2：Synthesis 2009, No. 13, 2184-2204

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0011] 現在市販されているセレウリドは、非常に高価であり、培養液由来である為に純度もそれ程高くない。簡易に高純度のセレウリドを製造することが望まれている。

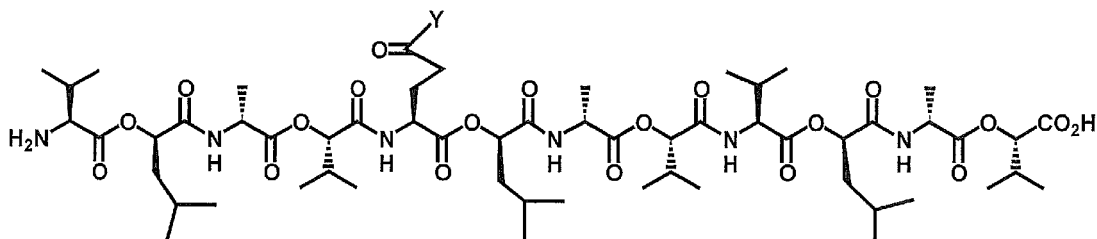
[0012] そこで本発明の目的は、セレウリドおよびその誘導体の製造方法、ならびにセレウリド誘導体を提供することにある。

課題を解決するための手段

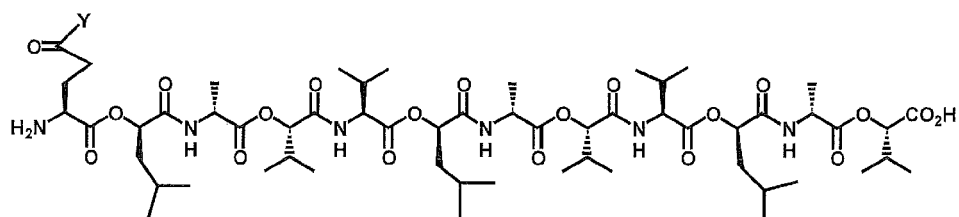
[0013] 本発明者らは、鋭意研究を重ねた結果、以下に示す、セレウリドおよびその誘導体の製造方法、その中間体ならびにセレウリド誘導体により上記目的を達成できることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0014] 即ち、本発明は、以下の式：

[化1]

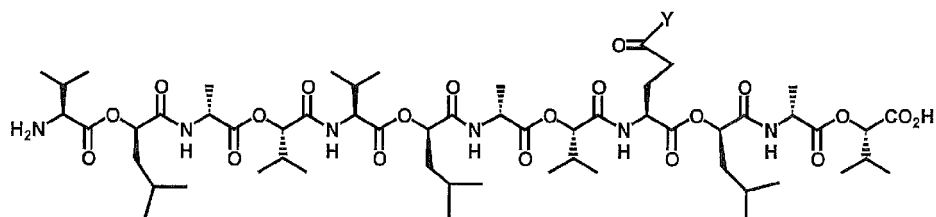


[化2]



および

[化3]

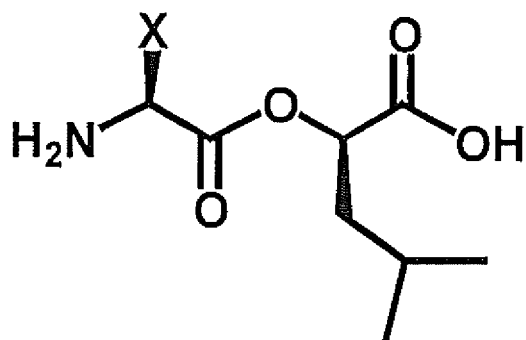


(ここで、Yは、OHまたはNH(CH₂)₅COOHを表わす)

からなる群より選択される、セレウリドまたはその誘導体の前駆体、に関する。

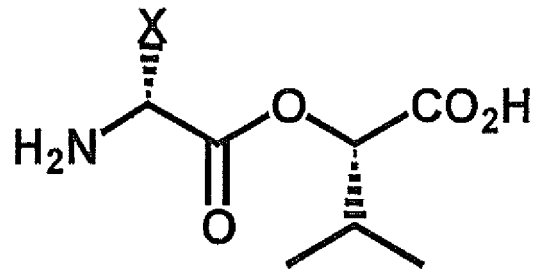
[0015] 本発明はさらに、

[化4]



または

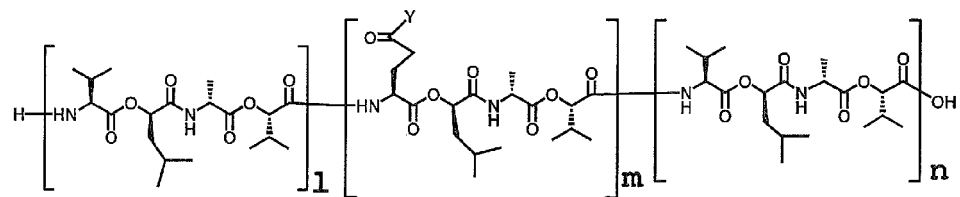
[化5]



(ここで、Xは、イソプロピル、 $(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、または $(\text{CH}_2)_2\text{CONH}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$ を表わす)で表わされるジデプシペプチド、に関する。

[0016] 本発明はさらに、以下に示すデプシペプチド

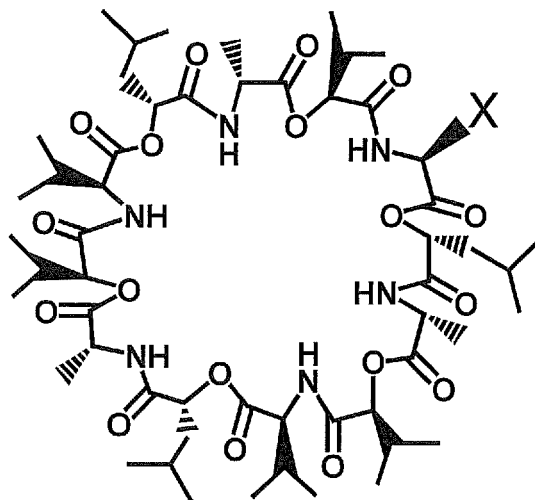
[化6]



(ここで、lは0～2の整数、nは0～2の整数、mは0または1の整数を示し、ここで、l、m、およびnは同時に0にはならず、 $l+m+n$ は2以下である。)に関する。

[0017] 本発明はさらに、

[化7]



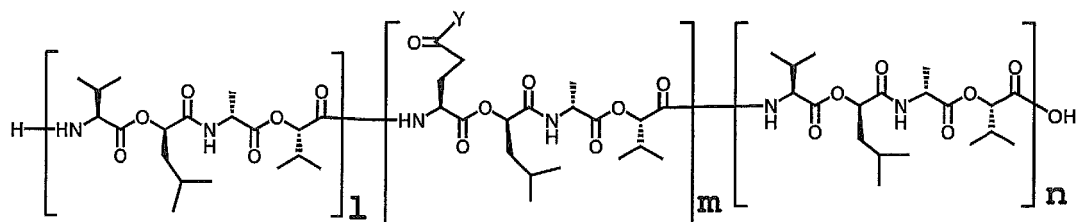
(ここで、Xは、イソプロピル、 $(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、または $(\text{CH}_2)_2\text{CONH}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$ を表わす)

に示すセレウリドまたはその誘導体を製造する方法であって、上記セレウリドまたはその誘導体の前駆体の分子内アミド結合形成による環化反応を含む、製造方法、に関する。

[0018] 上記製造方法において、さらに、上記ジデプシペプチドを調製する工程を含むことが好ましい。

[0019] 上記製造方法において、さらに、上記

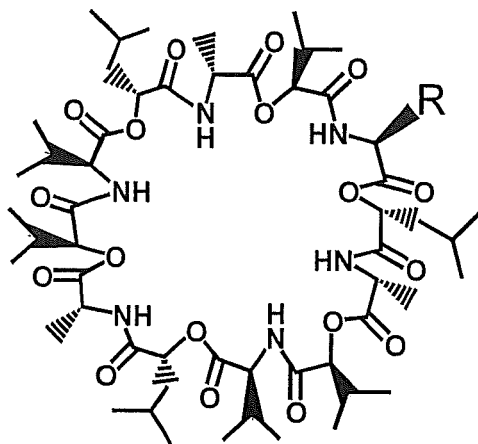
[化8]



のデプシペプチドを調製する工程を含むことが好ましい。

[0020] 本発明はさらに、以下の式：

[化9]



(ここで、Rは、 $(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ または $(\text{CH}_2)_2\text{CONH}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$ を表わす)で示されるセレウリド誘導体、に関する。

発明の効果

[0021] 本発明のセレウリドおよびその誘導体の製造方法によれば、簡易に純度の高いセレウリドまたはその誘導体を得ることができる。さらに、本発明のセレウリド誘導体は、セレウリド検出の為に抗体作成に有用である。

図面の簡単な説明

[0022] [図1]本発明のオクタデプシペプチドの $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) スペクトラムを示す図である。

[図2]本発明のドデカデプシペプチドの $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) スペクトラムを示す図である。

[図3]本発明のドデカデプシペプチドの $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) スペクトラムを示す図である。

[図4]本発明のドデカデプシペプチドの $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) スペクトラムを示す図である。

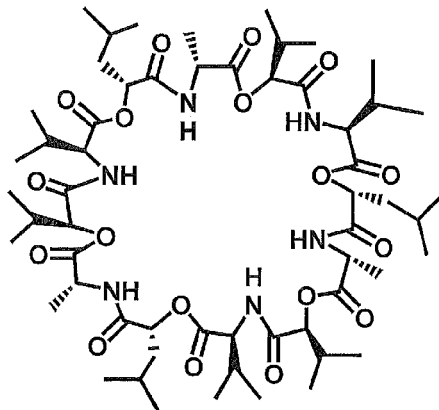
[図5]本発明のセレウリドの $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) スペクトラムを示す図である。

発明を実施するための形態

[0023] セレウリドは、6個のアミノ酸と6個のヒドロキシ酸が、アミド結合とエステル結合で交互に連結した36員環の大環状化合物(マクロライド)であ

り、シクロドデカデプシペプチドとも呼ぶこともできる。セレウリドは、2種類のアミノ酸、L-バリン（L-Val）とD-アラニン（D-Ala）、および2種類の α -ヒドロキシ酸のD-ロイシン酸（D-O-Leu）とL-バリン酸（L-O-Val）から構成される以下のような構造を有している。

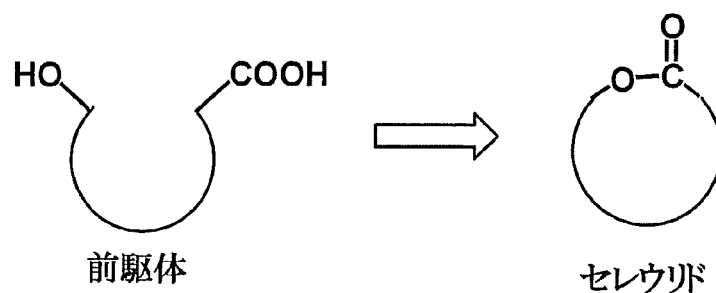
[化10]



[0024] 多くの場合、セレウリドは、 K^+ 、 Na^+ 、 NH_4^+ のイオノフォアとして機能する。このような捕捉作用が生物活性の原因とも考えられる。

[0025] 発明者らは、セレウリドの全合成においては、直線状の前駆体を環化して36員環構造を構築する工程が最も重要な鍵段階と考え、この環化反応を達成する為に、従来、エステル結合の形成による方法が取られていることに着目した。セレウリドと誘導体に関して、従来知られている合成方法は、全て以下の概略図に示すような環化工程を含む。

[化11]



[0026] 本発明では、セレウリドの繰り返し構造単位としての、テトラデプシペプ

チド L-Val-D-0-Leu-D-Ala-L-0-Valに着目した。すなわち、セレウリドは、この繰り返し構造単位が3個連結して環状となったマクロライドであり、(L-Val-D-0-Leu-D-Ala-L-0-Val)₃と書き表すこともできる。

[0027] 本発明は、従来法とは異なり、アミド結合形成による大環状の構築を鍵反応とする新規な製造方法に関するものである。本発明の製造方法における出発原料は全て市販されており、2つのヒドロキシ酸、すなわち、D-ロイシン酸 (D-0-Leu) とL-バリン酸 (L-0-Val) は、市販のD-ロイシンおよびL-バリンから文献既知の方法で調製し、以降のフラグメント合成に用いることができる。

[0028] さらに、本発明では、デプシペプチド合成において、ペプチド鎖が長くなるにつれて立体障害が大きくなり、有機溶媒に対する溶解度が低下して反応収率の低下を招くという問題点に留意し、このような問題を回避するため、まず、繰り返し構造単位のテトラデプシペプチドを合成し、次いで、この構造単位を2つ結合させてオクタデプシペプチド (2 x 構造単位) を得た後、さらにテトラデプシペプチドと結合させて、3構造単位の直鎖状ドデカデプシペプチド (前駆体) を作成し、環化させるという手法を取ることとした。

[0029] 本発明におけるアミド結合構築による、前駆体の分子内環化反応は、縮合剤、溶媒、温度等の種々の反応条件を変えて行い、高い収率を実現するための最適化を図ることも可能である。

[0030] 本発明の方法によれば、セレウリドおよびその誘導体合成を市販の原料 (アミノ酸) に求めることができる。すなわち、セレウリドの合成には、L-バリン、D-ロイシン、D-アラニンを、また、誘導体合成においては、これらに、L-グルタミン酸と6-アミノヘキサン酸を加えて行うことができる。

[0031] 以下、本発明の方法を、フラグメントの合成段階ごとに詳述する。なお、製造に使用する保護基としては、WILEY-Interscience 出版「Protective Groups in Organic Synthesis (1999)」に記載されている保護基等が適宜使用される。

[0032] まず、合成に必要なアミノ酸として、L-バリンは、任意の保護基をつけ

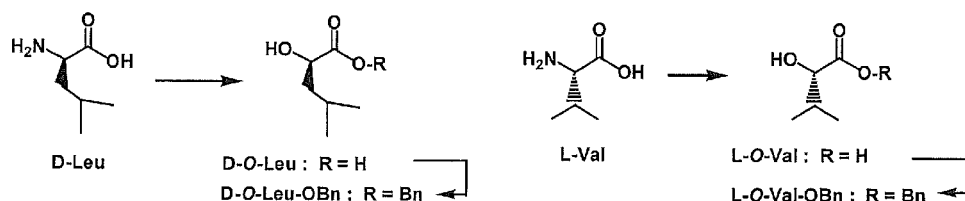
て合成に供することもできるし、保護基をつけた状態での市販品をそのまま用いることもできる。市販品としては、例えば、東京化成製のtert-ブトキシカルボニル基で保護したBoc-L-バリンがある。

[0033] 次にD-ロイシン酸およびL-バリン酸は、それぞれ、D-ロイシンおよびL-バリンより合成することができる。D-ロイシン酸やL-バリン酸のようなヒドロキシ酸は、D-ロイシン酸およびL-バリン酸のアミノ基を水酸基に変換できる方法であればいかなる方法でも使用できる。

[0034] 代表的には、例えば、D-ロイシンまたはL-バリンを、亜硝酸塩と反応させる方法が挙げられる。この反応に先だって、D-ロイシンまたはL-バリンは、硫酸あるいは塩酸のような強酸中に溶解させて用いることが好ましい。

[0035] さらに、このようにして得られたヒドロキシ酸を次の反応に備えて、保護基をつけておくこともできる。保護基としては、ベンジル基などが好ましく用いられる。

[化12]



[0036] 同様にD-アラニンに保護基を付加して次の反応に備えることもできる。

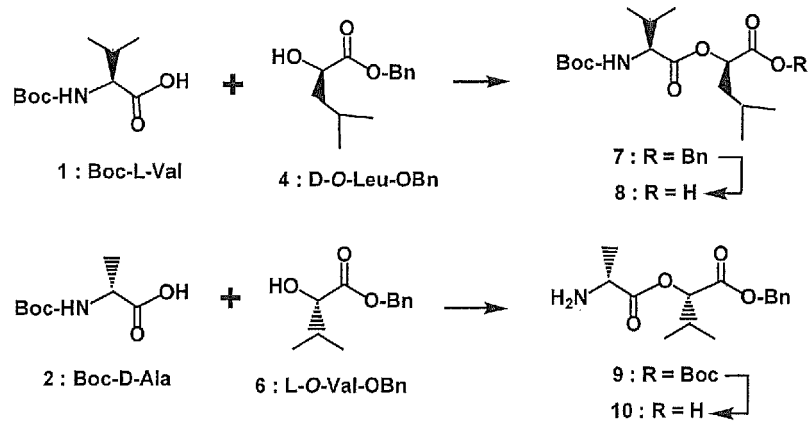
[0037] 次にこのようにして得られたアミノ酸およびヒドロキシ酸を用いて、ジデプシペプチドを合成する。

[0038] ジデプシペプチドは、脱水反応によるエステル化を達成できる条件であれば、どのような条件で合成してもよい。限定はされないが、特に好ましいのは、ジクロロメタン溶液などの溶媒に、ジメチルアミノピリジンなどの強塩基とジシクロヘキシルカルボジイミドを加えて行う反応である。

[0039] L-バリンとD-ロイシン酸とを結合させて、その後、カルボキシル基を保護する基を除去して、次のテトラデプシペプチドの合成に供することが好ましい。一方、D-アラニンとD-バリン酸とを結合させて、その後、アミノ基

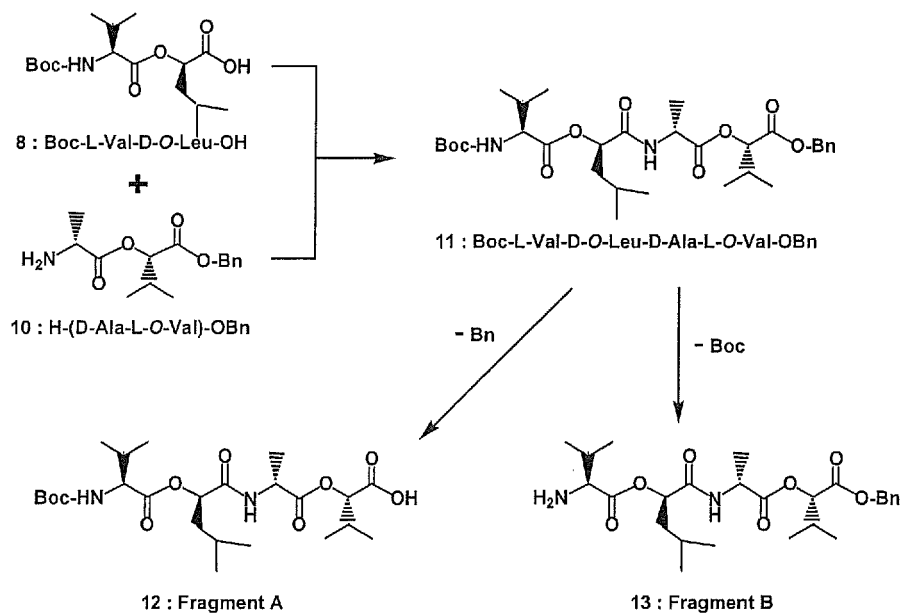
を保護する基を除去して、次のテトラデプシペプチドの合成に供することができる。

[0040] [化13]



[0041] 次に、得られたジデプシペプチドを結合させて、テトラデプシペプチドを合成する。この時、アミド結合を達成できる条件であれば、どのような条件で行ってもよい。好ましくは、中性条件下で、各種縮合剤を作用させる方法を採用することができる。テトラデプシペプチドは、セレウリドの合成の為に繰り返し単位になるものであり、次の合成のしやすさの為に、例えば、末端のそれぞれ別の箇所に保護基を付加したフラグメントAおよびフラグメントBの2種類を作成しておくことも望ましい。

[化14]

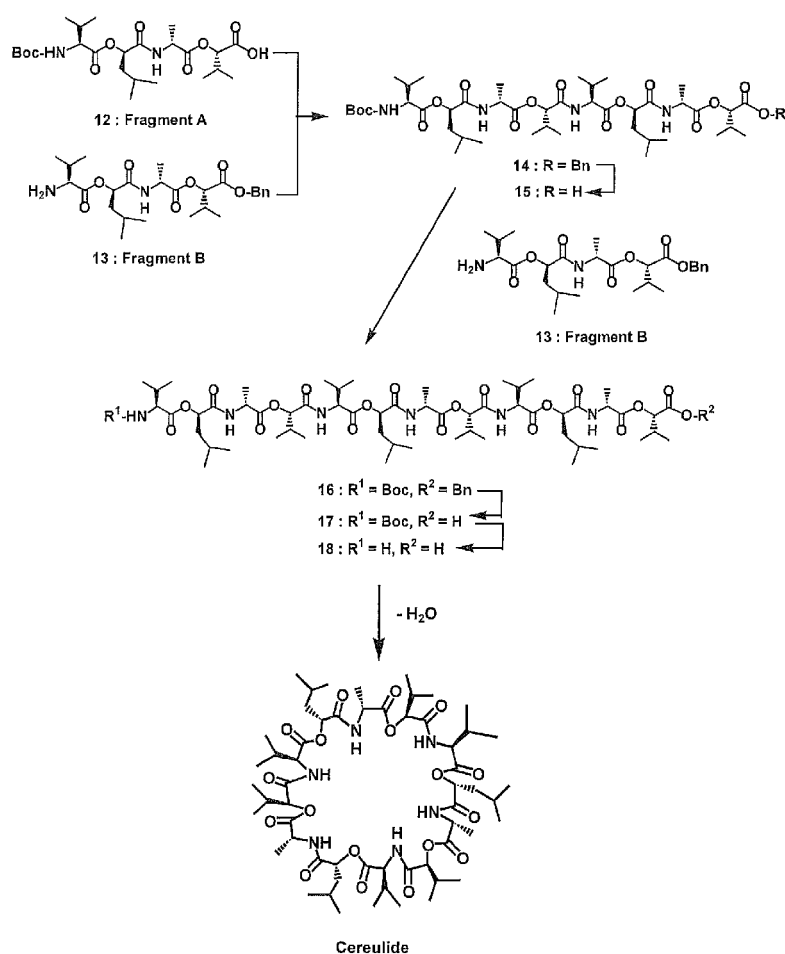


[0042] セレウリド合成の鍵中間体である保護された繰り返し構造単位フラグメント A (12)とフラグメント B (13)を上記の経路で合成した。

[0043] さらに、このようにして得られたフラグメント同士をアミド結合させることによって、オクタデプシペプチドを合成し、さらに、ドデカデプシペプチドを合成する。

[0044] このようにして得られる線状のドデカデプシペプチドを、分子間反応を防ぎつつ、環化させて、セレウリドを合成することが好ましい。

[0045] [化15]



[0046] より詳細には、分子内環化反応は、縮合剤、溶媒、温度等の種々の条件を最適化することで、効率よく進ませることが可能である。

[0047] 縮合剤としては、限定されるものではないが、例えば、ジフェニルホスホリルアジド (DPPA)、ジエチルホスホリルシアニデート、アジドトリス (ジメチルアミノ) ホスホニウムヘキサフルオロリン酸塩等の有機リン化合物、N

-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジハイドロキノリン (EEDQ)、1-イソブチル-2-イソブチル-1,2-ジヒドロキシキノリン等のキノリン系ペプチド縮合剤、O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロホスファート (HATU)、O-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート (HBTU) 等のウロニウム系縮合剤、ジイソプロピルカルボジイミド (DIC)、ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド等のカルボジイミド類、(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ) トリス(ジメチルアミノ) ホスホニウム ヘキサフルオロホスファート、(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ) トリスピロリジノホスホニウム ヘキサフルオロホスファート、プロモトリピロリジノホスホニウム ヘキサフルオロホスファート等のホスホニウム系縮合剤が挙げられる。さらに、これらの縮合剤を1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール(HOAt)や1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBt)のような添加剤と共に使用することもできる。

[0048] この時に用いられる反応溶媒には、塩化メチレン、ジメチルホルムアミド等が挙げられる。

[0049] 環化反応においては、通常の状態では分子間結合が起こる可能性もあることから、高度希釈法により環化反応を行うことが好ましい。

[0050] 本環化反応では、分子内反応が分子間反応に優先し、目的物の単離収率を高くすることが可能である。すなわち、副産物の生成を抑え、分子内環化反応を優先することが好ましい。

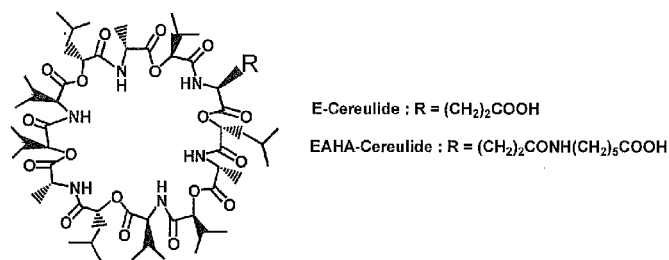
[0051] 本発明は、さらに、セレウリドの誘導体(誘導体)合成に高い応用性を有している。すなわち、繰り返し構造単位中の構成アミノ酸あるいはヒドロキシ酸を適宜変更することにより、簡便な誘導体合成が可能となる。

[0052] 例えば、L-バリンをL-グルタミン酸で置き換えたE-セレウリド、およびE-セレウリドにアミノヘキサン酸を導入したEAHA-セレウリド等の新規な誘導体合成を行うことができる。

[0053] これらの新しい化合物は、抗セレウリド抗体の作製をはじめ、不明な部分の多いセレウリドの生理活性機構解明の有用なツール分子になると期待される。

[0054] すなわち、E-セレウリドは、セレウリド中の一つのL-バリンをL-グルタミン酸に替えた誘導体であり、EAHA-セレウリドはE-セレウリドのオメガカルボキシル基がアミノヘキサン酸で修飾されたものである。これら2つの誘導体は、36員環の外側に炭素鎖を介して反応性に富むカルボキシル基が配置されていて、さらなる化学修飾が可能であり、抗セレウリド抗体作製のためのハプテン分子や標識分子として用いることが可能である。

[化16]

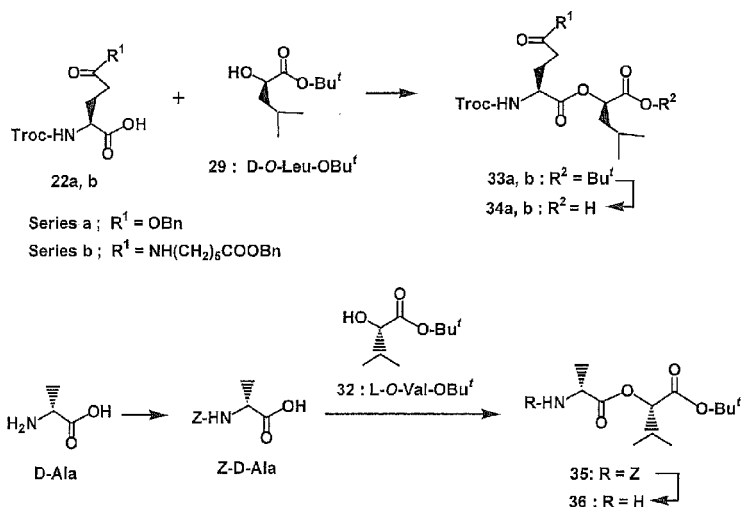


[0055] このようなセレウリド誘導体の合成は、セレウリドの繰り返し単位である、3つのテトラデプシペプチド L-Val-D-0-Leu-D-Ala-L-0-Valの1つを、L-バリンの代わりにL-グルタミン酸{ $R = (CH_2)_2COOH$ }またはL-グルタミン酸+アミノヘキサン酸{ $R = (CH_2)_5COOH$ }として作成することで、行うことができる。

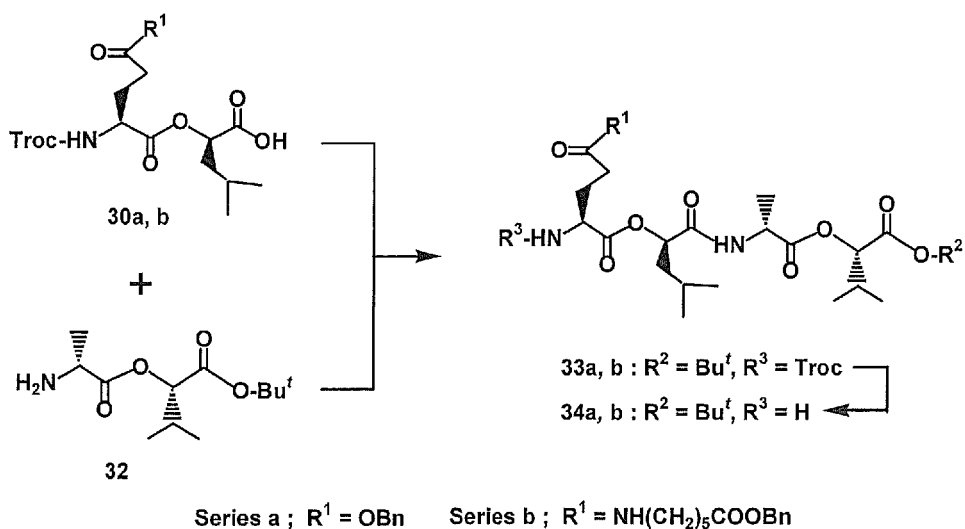
[0056] すなわち、具体的には以下のような方法で行うことが可能である。例えば市販の保護L-グルタミン酸誘導体等を出発物質として、合成できる。

[0057]

[化17]



[化18]



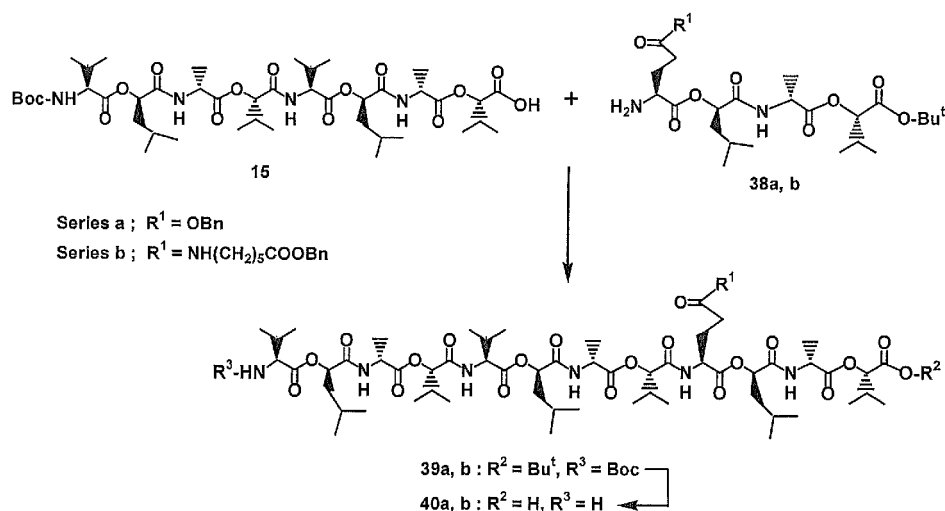
[0058] ジデプシペプチドは、脱水反応によるエステル化を達成できる条件であれば、どのような条件で合成してもよい。限定はされないが、特に好ましいのは、ジクロロメタン溶液などの溶媒に、ジメチルアミノピリジンなどの強塩基とジシクロヘキシルカルボジイミドを加えて行う反応である。

[0059] その後、カルボキシル基を保護する基を除去して、次のテトラデプシペプチドの合成に供することが好ましい。一方、D-アラニンとD-バリン酸とを結合させて、その後、アミノ基を保護する基を除去して、次のテトラデプシペプチドの合成に供することができる。

[0060] 得られたジデプシペプチドを結合させて、テトラデプシペプチドを合成する。この時、アミド結合を達成できる条件であれば、どのような条件で行ってもよい。好ましくは、中性条件下で、各種縮合剤を作用させる方法を採用することができる。次の合成のしやすさの為に、フラグメントCおよびフラグメントDの2種類を作成しておくことが望ましい。

[0061] さらに、このようにして得られたフラグメント同士をアミド結合させることによって、オクタデプシペプチドを合成し、さらに、ドデカデプシペプチドを合成する。その一例を以下に示すが、テトラデプシペプチド同士をつなげる方法、保護基の位置などは適宜変更することができ、これに限定されない。

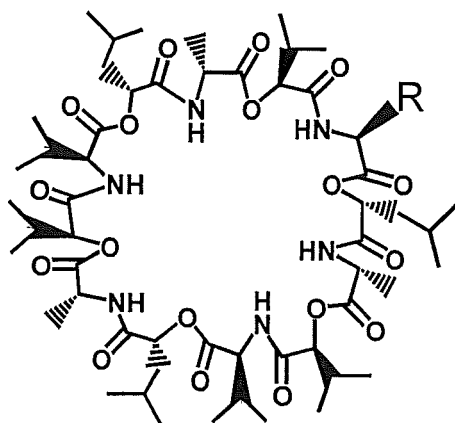
[0062] [化19]



[0063] ここで、デプシペプチドを合成する際に、L-グルタミン酸 (Series a) またはL-グルタミン酸+アミノヘキサン酸 (Series b) を有する34a, bは、フラグメントAとフラグメントBとに挟まれるように結合させてもよく、さらに、保護基の位置を適宜変えることで、34a, bのカルボキシル基末端にフラグメント5のアミノ基末端を結合させることもできる。

[0064] このようにして得られる線状のドデカデプシペプチドは、分子間反応を防ぎつつ、環化させてセレウリド誘導体を合成することが好ましい。

[化20]



[0065] (ここで、Rは、 $(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、または $(\text{CH}_2)_2\text{CONH}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$ を表わす)

[0066] このようなセレウリド誘導体は、容易に修飾が可能であり、抗体の製造の為の抗原の製造に有用である。さらには、セレウリドの生理機能解明のツールとする為に、標識化することも可能である。

[0067] 抗体の製造の為の抗原とするには、セレウリド誘導体のカルボキシル基部分に、ウシアルブミン (BSA) やカプトガニヘモシアニン (KLH) などの高分子を結合させることが好ましい。

[0068] 生理機能解明のツールとなる標識化セレウリドは、例えば、セレウリド誘導体のカルボキシル基部分に、ビオチンなどの標識物質を共有結合させることで達成され得る。

[0069] セレウリドの生理活性を分子レベルで明らかにするためのツールとして、E-セレウリドの側鎖にビオチンを導入した光標識体を合成した。

[0070] 以上の合成の各工程では、いずれも、適宜に、中和工程、精製工程を施した後に、次工程が施されてもよい。上記各工程における各生成物は、単離精製されても、そのまま次の工程に供してもよい。単離精製手段は、洗浄、抽出、再結晶法、各種クロマトグラフィーなどが包含される。各工程における各生成物は、これらの単離精製手段を単独で、あるいは適宜2種以上を組み合わせ使用して行うこともできる。

[0071] 本発明の方法で得られるセレウリドおよびその誘導体は、高収率でかつ純

度が高い為、セレウリドの標品として、有用性が高い。本発明において、セレウリドの標品を含むセレウリド検出キットを提供することもできる。このようなセレウリド検出キットは、セレウリドを溶解する溶媒、培地等とともに提供され得る。さらに、セレウリドのカリウムイオン取り込みの性質を利用したカリウムイオン選択電極、癌細胞へのアポトーシス作用を利用した制癌剤としての応用など幅広く使用することができる。さらに、ドラッグデリバリーシステムなどと組み合わせて、より特異的な癌細胞選択性を持たせることも可能である。

[0072] 本発明のセレウリド誘導体は、そのまま、あるいは薬学的に許容できる塩の形態で、あるいはそれらと薬学的に許容できるキャリアーと混合して当業者に公知の製剤の形で、用いられうる。

[0073] 薬学的に許容できる塩には、無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性アミノ酸との塩などが挙げられる。無機塩基との塩の好適な例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩；ならびにアルミニウム塩、アンモニウム塩などが挙げられる。有機塩基との塩の好適な例としては、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N'-ジベンジルエチレンジアミンなどとの塩が挙げられる。無機酸との塩の好適な例としては、例えば塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸などとの塩が挙げられる。有機酸との塩の好適な例としては、例えばギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸などとの塩が挙げられる。塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアルギニン、リジン、オルニチンなどとの塩が挙げられ、酸性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩が挙げられる。

[0074] 以下に、本発明のセレウリドおよびその誘導体の製造の具体例を実施例の

態様で示すが、本発明はこれに限定されない。

実施例

[0075] 下記実施例において、化合物の分析および分離精製は、以下の機種や試薬を用いて行った。

・ NMR スペクトル：日本電子 JMT C-400/54/SS 400

MHz（日本電子社製）。特に明記しない限り、液体試料はNaClフィルム，固体試料はKBrペレットとして測定し、文中には吸収波長を cm^{-1} で示した。）

また、下記ケミカルシフトは δ 値で示した。

・ 融点：BUCHI Melting point B-545を用いて測定した（すべての融点は補正していない）。

・ IR：JASCO FT/IR-460 plusを用いて測定した。（特に明記しない限り、液体試料はNaClフィルム，固体試料はKBrペレットとして測定し、文中には吸収波長を cm^{-1} で示した。）

・ 質量分析：BRUKER DALTONICS社製 MALDI-TOF-MSを用いて測定した。

・ 薄層クロマト（TLC）：MACHEREY-NAGEL DC-Fertigplatten SIL G-25 UV254 プレートを用い、次の溶媒系を用いて展開した。本文中では以下の記号で示した。

(A) n-ヘキサン：酢酸エチル＝3 : 1

(B) クロロホルム：メタノール＝9 : 1

(C) クロロホルム：メタノール：酢酸＝85 : 15 : 3

(D) クロロホルム：メタノール：トリエチルアミン＝90 : 10 : 3

(E) トルエン：酢酸エチル＝1 : 1

(F) n-ヘキサン：酢酸エチル＝1 : 1

[0076] なお、以下、実施例1から5は、本発明のセレウリドの合成を表わし、実施例6から10は、本発明のセレウリド誘導体の合成を表わす。

（実施例1）

Boc アミノ酸の合成

（1） Boc-L-バリン（1）

市販（東京化成製）品を精製することなく用いた。

・ mp ; 78°C

・ $[\alpha]_D -6.5^\circ$ (c 1.0, AcOH)

[0077] (2) Boc-D-アラニン (2)

氷冷下、炭酸ナトリウム (19.1 g, 179.6 mmol) 水溶液 (150 mL) にD-アラニン (11, 8.0 g, 89.8 mmol) を溶解し、ここに二炭酸ジtert-ブチル (Boc₂O, 21.6 g, 98.8 mmol) のTHF (20 mL) 溶液を滴下した。滴下終了後、反応液を室温に戻し一晩攪拌を続けた。反応液を分液ロートに移し、過剰のBoc₂Oをジエチルエーテル抽出して除去した。水層にクエン酸を加えてpH 3に調整した後、酢酸エチルで3回抽出した。合した有機層を飽和食塩水で1回洗浄し、有機層を無水Na₂SO₄で乾燥、減圧濃縮した後、濃縮残渣を酢酸エチル-ヘキサンより再結晶化して無色結晶の2 (15.51 g, 91.3 %)を得た。

・ TLC ; R_f = 0.48 (C)

・ mp ; 83.5°C

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 1.40-1.45 (12H, m), 4.24-4.38 (1H, m, CHCH₃), 4.98-5.10 (1H, br s, NH)

・ $[\alpha]_D +25.1$ (AcOH, c 2.02, 26.6°C)

・ IR ; 3378, 2995, 2639, 2569, 1736, 1161

[0078] ヒドロキシ酸 (3, 5) とそのベンジルエステル (4, 6) の合成

(3) D-0-ロイシン {(2R)-2-ヒドロキシ-4-メチルペンタン酸} (3) ¹⁾

氷冷下、D-ロイシン (13.11 g, 100 mmol) を1N 硫酸 (150 mL) に溶解し、ここに亜硝酸ナトリウム (10.35 g, 150 mmol) の水溶液 (50 mL) を滴下ロートから滴下した。反応液を氷冷下で3時間攪拌した後、室温下でさらに6時間攪拌して酢酸エチルで3回抽出した。合した有機層を飽和食塩水で1回洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮した。濃縮残渣を酢酸エチル-ヘキサンから再結晶して、無色結晶のD-0-ロイシン 3 (9.60 g, 72.7 %)を得た。

・ TLC ; R_f = 0.33 (C)

- ・ mp ; 80.1°C (lit.¹⁾ 78°C)
- ・ ¹H-NMR (DMSO); 0.36 (3H, d, J = 6.34 Hz, CH(CH₃)₂), 0.38 (3H, d, J = 6.34 Hz, CH(CH₃)₂), 0.85-0.98 (2H, m, CH₂), 1.17-1.32 (1H, m, CH(CH₃)₂), 3.43 (1H, dd J₁ = 8.78, J₂ = 4.88, CHCH₂)
- ・ ¹³C-NMR (DMSO); 21.55, 23.24, 23.97, 42.98, 68.22, 176.41
- ・ [α]_D + 11.7° (MeOH, c 1.03, 22.5 °C) {lit.¹⁾ +11.8° (MeOH, c 1.03)}
- ・ IR ; 3424, 2911, 1713

[0079] (4) L-0-バリリン { (2S)-2-ヒドロキシ-3-メチルブタン酸 } (5)

L-0-バリリン (5) は、市販のL-バリリンを原料として、3 の合成と同様の方法で調整した。すなわち、氷冷下、L-バリリン (11.71 g, 100 mmol) の1 N 硫酸 (150 mL) 溶液に、亜硝酸ナトリウム (10.35 g, 150 mmol) 水溶液 (50 mL) を滴下し、滴下終了後、氷冷下で3時間、次いで室温下で6時間攪拌を続けた。反応液を酢酸エチルで3回抽出し、合した有機層を飽和食塩水で1回洗浄して、混在する微量の硫酸を除き、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮した。濃縮残渣を酢酸エチルーヘキサンから再結晶して、5 (7.07 g, 59.9 %) を無色結晶として得た。

- ・ TLC ; R_f = 0.37 (C)
- ・ mp ; 64.1 °C (lit.²⁾ 66 - 68 °C)
- ・ ¹H-NMR (DMSO); 0.80 (3H, d, J = 3.17 Hz, CH(CH₃)₂), 0.87 (3H, d, J = 3.17 Hz, CH(CH₃)₂), 1.85-1.95 (1H, m, CH(CH₃)₂), 3.72 (1H, d, J = 4.63 Hz, CHCH(CH₃)₂), 5.02 (1H, br, COOH)
- ・ ¹³C-NMR (DMSO); 16.89, 19.05, 31.55, 74.64, 175.51
- ・ [α]_D +16.8° (CHCl₃, c 1.01, 23.5 °C) { lit.²⁾; + 20° (CHCl₃, c 4)}
- ・ IR ; 3433, 2970, 2186, 1714

[0080] (5) D-0-ロイシン ベンジル エステル {ベンジル (2R)-2-ヒドロキシ-4-メチルペンタノエート} (4)

D-0-ロイシン (3, 3.36 g, 25.4 mmol)、ベンジルアルコール (7.9 mL, 76.0 mmol)、パラトルエンスルホン酸・1水和物 (50 mg, 0.26 mmol)、およ

びトルエン(100 mL)の混合物をDean-Stark装置を取り付けたナス型フラスコ中で7時間加熱還流し、共沸分離により発生した水を除いた。TLCで原料の消失を確認した後、反応液を室温に戻し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、次いで飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、エバポレータで減圧濃縮した。濃縮残渣中に含まれるベンジルアルコールをガラスチューブオーブン (bulb to bulb蒸留) 装置を用いて、減圧下 (8 mHg <) で留去した。この残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 90 : 10) により精製して、淡黄色油状物4 (4.95 g, 80.8 %) を得た。

・ TLC ; Rf = 0.38 (A)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.91(3H, d, $J = 4.39$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.94(3H, d, $J = 4.39$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.56-1.62 (2H, m, d, CH_2), 2.60-2.65 (1H, m, OH), 4.18-4.26 (1H, m, CHCH_2), 5.19 (2H, ABq, CH_2Ph), 7.30-7.40 (5H, m, ArH)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 21.52, 23.21, 24.39, 67.25, 69.15, 128.30, 128.30, 128.52, 128.64, 135.21, 175.71)

・ $[\alpha]_D + 15.4^\circ$ (CHCl_3 , c 1.02, 26.8 $^\circ\text{C}$)

・ IR ; 3475, 2956, 2872, 1736, 1607, 1497, 1140

[0081] (6) L-0-バリリン ベンジル エステル{ ベンジル (2S)-2-ヒドロキシ-3-メチルブタノエート} (6)

ベンジルエステル (6) は上記 4 と同様の方法で合成した。

L-0-バリリン (5, 3.0 g, 25.4 mmol)、ベンジルアルコール (7.9 mL, 76.0 mmol)、p-トルエンスルホン酸・1水和物 (50 mg, 0.26 mmol)、およびトルエン (100 mL)、の混合物をDean-Starkの装置を取り付けた反応容器中で7時間加熱還流し、同様の処理と精製を行って、淡黄色油状物の6 (4.57 g, 86.4 %) を得た。

・ TLC ; Rf = 0.44 (A)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.83(3H, d, $J = 6.09$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.01(3H, d, $J = 6.09$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.02-2.14(1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.69 (1H, d, $J = 6.09$,

OH), 4.06–4.11 (1H, m, CHCH), 5.22 (2H, ABq, CH₂Ph), 7.31–7.60 (5H, m, ArH)

・ ¹³C-NMR (CDCl₃); 15.82, 18.77, 32.14, 67.29, 74.98, 128.41, 128.56, 128.64, 135.16, 174.82

・ [α]_D −9.60° (CHCl₃, c 2.19, 26.0°C)

・ IR ; 3505, 3065, 3034, 2965, 2934, 2876, 1733, 1497, 1460, 1137

[0082] (実施例 2)

ジデプシペプチド (7, 8) の合成

(7) Boc-L-Val-D-0-Leu-OBn (7)

氷冷下、D-0-ロイシン ベンジル エステル (4, 5.0 g, 22.5 mmol) および市販のBoc-L-バリン (1, 5.38 g, 24.8 mmol) のジクロロメタン (80 mL) 溶液に、ジメチルアミノピリジン (DMAP, 0.55 g, 4.50 mmol)、次いでN,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC, 5.86 g, 28.4 mmol) を加えた。この反応液を氷冷下で一晩攪拌した後、副成したDCureaを吸引濾過して除き、濾液を減圧濃縮した。濃縮残渣を酢酸エチルに溶かして、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、次いで飽和食塩水で洗浄し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮した。この濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン／酢酸エチル) より精製して、無色固体の 7 (9.30 g, 98 %) を得た。

・ TLC ; R_f = 0.56 (A)

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 0.78–0.92 (12H, m, CH(CH₃)₂), 1.37 (9H, s, tert-Bu), 1.50–1.82 (3H, m), 2.02–2.20 (1H, m, CH(CH₃)₂), 4.18–4.32 (1H, m, CHCH₂CH(CH₃)₂), 4.91 (1H, d, J = 8.78 Hz, NH), 5.04 (1H, dd, J₁ = 10.0 Hz, J₂ = 3.66 Hz), 5.10 (2H, ABq, CH₂Ph), 7.28–7.36 (5H, m, ArH)

・ ¹³C-NMR (CDCl₃); 17.31, 19.04, 21.27, 23.04, 24.49, 28.30, 31.23, 39.62, 58.62, 67.04, 71.59, 79.72, 128.22, 128.41, 128.59, 135.22, 155.49, 170.12, 171.78

・ [α]_D + 15.58° (CHCl₃, c 0.40, 16.6 °C)

・ IR ; 3384, 2964, 2875, 1746, 1717, 1501, 1462, 1177

[0083] (8) Boc-L-Val-D-O-Leu-OH (8) (加水素分解によるベンジル基の除去)

水素添加用フラスコに、Boc-L-Val-D-O-Leu-OBn (7, 2.70 g, 6.40 mmol)、メタノール (30 mL)、および10% パラジウム炭素 (135 mg) の混合物入れ、水素気流 (3 気圧) 下、室温で3時間攪拌した。TLCで反応の進行を確認した後、触媒を濾去し、濾液を減圧濃縮して無色固体の8 (2.14 g, quant) を得た。これは、これ以上精製することなく次の反応に用いた。

・ TLC ; Rf = 0.55 (C)

・ mp ; 95.8°C

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.86-1.06 (12H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.44 (9H, s, tert-Bu), 1.72-1.80 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.80-1.86 (1H, m, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$), 2.14-2.28 (1H, m, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.22-4.33 (1H, m, CHCH_2), 5.00-5.06 (1H, m, NH), 5.06-5.14 (1H, m, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 17.49, 19.06, 21.17, 23.06, 24.54, 28.28, 30.93, 39.62, 52.49, 58.86, 69.99, 71.19, 80.19, 113.79, 121.42, 155.84, 174.30

・ IR ; 3516, 3396, 3093, 2961, 2606, 1726, 1520, 1463, 1409, 1178

[0084] (9) Boc-D-Ala-L-O-Val-OBn (9)⁴⁾

ジデプシペプチド(9) は、7 の合成と同様に行った。すなわち、Boc-D-アラニン (2, 4.46 g, 23.6 mmol)、L-O-バリン ベンジル エステル (6, 4.10 g, 19.7 mmol) およびジクロロメタン (50 mL) を氷冷下に攪拌し、ここにDMAP (0.72 g, 5.90 mmol)、次いで DCC (5.07 g, 24.59 mmol) を加え、氷冷下で一晩攪拌した。副成したDCureaを吸引濾去、濾液を減圧濃縮して、濃縮残渣を酢酸エチルに溶かした。この酢酸エチル溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、次いで飽和食塩水で洗浄し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮した。濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) より精製して、無色固体の9 (7.66 g, quant) を得た。

・ TLC ; Rf = 0.56 (A)

・ mp ; 63.4°C

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.94 (3H, d, $J = 6.83$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.98 (3H, d, $J = 6.83$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.41 (3H, d, $J = 7.07$ Hz, CHCH_3), 1.45 (9H, s, tert-Bu), 2.22–2.34 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.43–4.50 (1H, m, CHCH_3), 4.93 (1H, d, $J = 4.39$, CHCHCH_3), 5.03 (1H, br, NH), 5.18 (2H, ABq, CH_2Ph), 7.28–7.40 (5H, m, ArH)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 17.01, 18.59, 18.70, 28.31, 30.12, 49.33, 66.97, 79.76, 128.32, 128.43, 135.22, 154.91, 169.06, 172.74

・ IR ; 3396, 2976, 1741, 1688, 1509, 1459, 1161

・ $[\alpha]_D - 10.70^\circ$ (CHCl_3 , c 1.02, 27.0°C)

[0085] (10) $\text{H}_2\text{N-D-Ala-L-O-Val-OBn} \cdot \text{TFA}$ (10) (Boc基の除去)

氷冷下、Boc-L-Val-D-O-Leu-OBn (9) (2.43 g, 6.40 mmol) のジクロロメタン (7.5 mL) 溶液に、トリフルオロ酢酸 (TFA, 7.5 mL) を加えた。この反応液を氷冷下で30分間、次いで室温下で30分間攪拌した。TLCでBoc基が除去されたことを確認した後、減圧濃縮して淡黄色油状物の10 (2.41 g, quant) をTFA塩として得た。これは、これ以上精製することなく次の反応に用いた。

・ TLC ; $R_f = 0.51$ (B)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.82 (3H, d, $J = 6.83$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.87 (3H, d, $J = 6.83$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.54 (3H, d, $J = 7.32$ Hz, CHCH_3), 2.12 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.12 (1H, q, $J = 7.32$ Hz, CHCH_3), 4.91 (1H, d, $J = 4.15$, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$), 5.06 (2H, ABq, CH_2Ph), 7.20–7.30 (5H, m, ArH)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 15.54, 16.77, 18.40, 30.05, 49.01, 67.39, 78.35, 128.45, 128.57, 128.60, 134.96, 168.69, 169.70

・ IR ; 3420, 3035, 2970, 1742, 1674, 1527, 1461, 1141

[0086] (実施例3)

(11) テトラデプシペプチド、フラグメントAおよびフラグメントBの合成 (11) Boc-L-Val-D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val-OBn (11) 氷冷下、ジデプシ

ペプチド $\text{H}_2\text{N-D-Ala-L-O-Val-OBn} \cdot \text{TFA}$ 塩 (10, 2.41 g, 6.40 mmol) のアセトニトリル (10 mL) 溶液に、N,N-diisopropylethylamine (DIPEA, 1.12 mL, 6.43 mmol) を加えて中和した後、Boc-L-Val-D-O-Leu-OH (8, 2.14 g, 6.40 mmol) のアセトニトリル溶液 (5 mL) を加え、次いで1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDC) 塩酸塩 (1.35 g, 7.04 mmol) を加えた。氷冷バスを取り除いて、室温で一晩攪拌した後、溶媒を減圧留去した。この残渣を酢酸エチルに溶解して、有機層を10%クエン酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮した。この残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) により精製して、無色油状物の11 (3.56 g, 94 %)を得た。

・ TLC ; $R_f = 0.33$ (A)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.84-1.04 (18H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.41 (9H, s, tert-Bu), 1.64-1.84 (3H, m), 2.06-2.15 (1H, m, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$), 2.18-2.30 (1H, m, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.06-4.17 (1H, m, CHCH_3), 4.52- 4.63 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.86-4.94 (1H, m, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$), 5.00-5.05 (1H, m, NH), 5.08-5.27 (2H, m, CH_2Ph), 5.26-5.34 (1H, m, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$), 7.09-7.14 (1H, br, NH), 7.28-7.38 (5H, m, ArH)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 16.97, 17.24, 18.06, 18.68, 19.17, 21.38, 23.20, 24.33, 28.25, 30.10, 30.44, 34.54, 40.51, 48.53, 59.53, 63.52, 66.96, 72.66, 80.24, 100.55, 128.36, 128.40, 128.55, 135.27, 155.89, 169.11, 169.79, 170.43, 171.77

・ $[\alpha]_D + 16.03$ (CHCl_3 , c 0.62, 23.5 °C)

・ IR ; 3344, 2968, 2878, 1756, 1681, 1530, 1462, 1056

[0087] (12) $\text{H}_2\text{N-L-Val-D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val-OBn} \cdot \text{TFA}$ (12) (フラグメント A)

保護された繰り返し構造単位 (11, 2.43 g, 6.40 mmol) をジクロロメタン (7.5 mL) に溶解し、氷冷下にTFA (7.5 mL) を加え30分間攪拌した後、室温で30分間攪拌した。TLCで反応の終了を確認した後、反応液を減圧濃縮した

。この残渣に少量のトルエンを加え、減圧濃縮して残存するTFAをトルエンとのコエバポレーションにより除いた。この操作を3回繰り返し、淡黄色油状物の12 (2.42 g, quant) を得た。これは、これ以上の精製すること無く次の反応に用いた。

・ TLC ; Rf = 0.59 (C)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.88–1.16 (18H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.52 (3H, d, $J = 7.32$ Hz, CHCH_3), 1.70–1.85 (6H, m), 2.18–2.30 (1H, m, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.38–2.51 (1H, m, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.09–4.15 (1H, m, CHCH_3), 4.58–4.67 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.86–4.94 (1H, m, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$), 5.00–5.05 (1H, m, NH), 5.08–5.27 (2H, m, CH_2Ph), 5.26–5.34 (1H, m, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$), 7.09–7.14 (1H, br, NH), 7.28–7.38 (5H, m, ArH)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 17.04, 17.08, 18.22, 18.35, 18.61, 21.52, 22.98, 24.30, 29.94, 30.14, 40.74, 48.47, 58.90, 67.02, 74.32, 128.32, 128.40, 128.54, 135.16, 168.33, 169.25, 169.40, 172.25

・ IR ; 3221, 2964, 1748, 1675, 1531, 1461, 1156

[0088] (13) Boc-L-Val-D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val-OH (13) (フラグメントB)

保護された繰り返し構造単位(11, 2.70 g, 6.40 mmol) のメタノール溶液 (20 mL) および10% パラジウム炭素 (135 mg) の混合物を中圧水添用フラスコに入れ、水素気流 (3 気圧) 下、室温で4時間攪拌した。TLCで反応の進行を確認した後、溶媒を減圧留去して無色油状物の13 (2.12 g, quant) を得た。これは、精製すること無く次の反応に用いた。

・ TLC ; Rf = 0.18 (C)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.87–1.04 (18H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.42–1.50 (12H, m), 1.60–1.81 (3H, m), 2.09–2.18 (1H, m, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$), 2.25–2.35 (1H, m, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.13–4.23 (1H, m, CHCH_3), 4.52–4.62 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 5.04–5.12 (2H, m), 5.32–5.38 (1H, m, $\text{CHCH}(\text{CH}_3)_2$), 7.34–7.39 (1H, d, $J = 7.56$ Hz, NH)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 16.78, 16.83, 17.87, 18.78, 19.12, 21.20, 23.20, 24.

30, 28.21, 29.93, 30.39, 40.60, 48.28, 59.40, 72.80, 77.21, 80.64, 156.33, 170.45, 171.82, 171.94

・ IR ; 3341, 2968, 2882, 1748, 1688, 1531, 1464, 1371, 1249, 1162, 1057, 1016, 757

[0089] (実施例4)

オクタデプシペプチド、およびドデカデプシペプチドの合成

(14) Boc-(L-Val-D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val)₂-OBn (14)

氷冷下、フラグメントA・TFA 塩 (12, 1.75 g, 3.0 mmol) のアセトニトリル (15 mL) 溶液に、N,N-diisopropylethylamine (DIPEA, 1.03 mL, 5.91 mmol) を加え、次いでフラグメントB (13, 1.49 g, 3.0 mmol) のアセトニトリル (5 mL) 溶液、O-benzotriazole-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU, 1.41 g, 3.71 mmol) および 1-ヒドロキシbenzotriazole (HOBt, 0.40 g, 3.0 mmol) を加えた。反応液を室温に戻して一晩攪拌した後、溶媒を減圧留去した。この残渣を酢酸エチルに溶解し、酢酸エチル層を10%クエン酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウムおよび飽和食塩水で、順次、洗浄して無水硫酸ナトリウムで乾燥した。これを減圧濃縮して、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)によって精製し、無色固体の14 (2.90 g, quant) を得た。

・ TLC ; R_f = 0.14 (A)

・ mp ; 57~59 °C

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 0.84-1.07 (36H, m), 1.43 (9H, s), 1.47 (3H, d, J = 7.56 Hz), 1.49 (3H, d, J = 7.32 Hz), 1.65-1.84 (6H, m), 1.97-2.05 (1H, m), 2.29-2.37 (1H, m), 2.37-2.38 (1H, m), 3.88 (3H, t, J = 6.59 Hz), 4.08-4.13 (1H, m), 4.38 (1H, t, J = 7.81 Hz), 4.58-4.63 (1H, m), 4.85 (1H, d, J = 4.39 Hz), 5.03 (1H, d, J = 5.85 Hz), 5.09-5.20 (4H, m), 5.37 (1H, dd, J = 3.17, 10.0 Hz), 5.04-5.12 (2H, m), 7.30-7.37 (5H, m), 7.68 (1H, d, J = 7.32 Hz), 7.68 (1H, d, J = 7.32 Hz), 7.68 (1H, d, J = 6.10 Hz)

- ・ ^{13}C -NMR (CDCl_3) ; 14.17, 16.43, 16.97, 17.51, 18.64, 18.93, 18.98, 19.31, 19.45, 20.80, 21.05, 21.10, 23.14, 23.36, 24.22, 24.34, 28.22, 29.82, 30.04, 30.09, 40.35, 40.99, 48.25, 49.52, 58.74, 60.34, 60.39, 66.73, 72.41, 72.73, 77.21, 78.68, 80.93, 128.24, 128.28, 128.49, 135.36, 156.45, 169.12, 170.00, 170.42, 170.67, 171.65, 171.91, 172.44
- ・ IR ; 3319, 2966, 2876, 1751, 1656, 1537, 1463, 1185
- ・ $[\alpha]_D^{25} + 12.7^\circ$ (CHCl_3 , c 1.01, 26.5 $^\circ\text{C}$)

[0090] (15) Boc-(L-Val-D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val)₂-OH (15)

保護されたオクタデプシペプチド 14 (1.00 g, 1.02 mmol)、メタノール (30 mL) および10% パラジウム炭素 (50 mg) の混合物を水添用フラスコに入れ、水素気流 (3 気圧) 下、室温で4時間攪拌した。TLCで反応の進行を確認した後、パラジウム触媒を濾去し減圧濃縮して無色油状物の15 (0.88 g, 97%)を得た。これは、精製すること無く次の反応に用いた。

- ・ TLC ; $R_f = 0.67$ (C)
- ・ mp ; 85~87 $^\circ\text{C}$
- ・ ^1H -NMR (CDCl_3) ; 0.80-1.06 (36H, m), 1.43 (9H, s), 1.47 (3H, d, $J = 7.07$ Hz), 1.52 (3H, d, $J = 7.07$ Hz), 1.62-1.84 (6H, m), 1.96-2.08 (1H, m), 2.19-2.38 (3H, m), 3.93 (1H, t, $J = 6.83$ Hz), 4.12-4.22 (1H, m), 4.22-4.31 (1H, m), 4.44-4.61 (1H, m), 4.94-5.02 (2H, m), 5.09 (1H, d, $J = 6.09$ Hz), 7.65 (1H, d, $J = 6.83$ Hz), 7.74 (1H, d, $J = 5.85$ Hz), 7.83 (1H, d, $J = 7.32$ Hz)

[0091] スペクトラムを図1に示す。

- [0092] ・ ^{13}C -NMR (CDCl_3) ; 16.28, 16.65, 16.87, 18.74, 19.01, 19.21, 19.26, 21.04, 23.22, 23.26, 24.35, 28.23, 29.53, 29.93, 30.18, 30.35, 40.41, 40.65, 48.00, 49.37, 59.28, 60.12, 72.69, 77.21, 78.82, 80.84, 156.46, 170.62, 170.71, 170.88, 171.12, 171.22, 171.53, 171.75, 172.33
- ・ IR ; 3060, 2966, 2876, 1751, 1658, 1535, 1465, 1389, 1370, 1301, 1241, 1155, 1058, 1010, 931, 877, 838, 782, 628

[0093] (16) Boc-L-Val-D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val)₃-OBn (16)

氷冷下、フラグメントB (13)・TFA塩・(479 mg, 0.81 mmol) のアセトニトリル (5 mL) 溶液を入れ、DIPEA (0.14 mL, 0.81 mmol) を加えて中和した後、オクタデプシペプチド 15 (720 mg, 0.81 mmol) のアセトニトリル (5 mL) 溶液を加えた。次いで、O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-yl)-N,N',N'-tetraメチルウロニウムヘキサフルオロフォスフェート (HATU, 334 mg, 0.88 mmol) を加えた。反応液を室温に戻して一晩攪拌した後、減圧濃縮して、残渣を酢酸エチルに溶解し、酢酸エチル層を10%クエン酸水溶液、飽和炭酸水素水ナトリウム水溶液および飽和食塩水で、順次、洗浄した。この有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、次いで減圧濃縮して、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー

(ヘキサン/酢酸エチル=7:3) により精製し、無色固体の16 (905 mg, 82 %) を得た。

・TLC ; R_f = 0.33 (F)

・mp ; 71~73 °C

・¹H-NMR (CDCl₃) ; スペクトラムを図2に示す。

・¹³C-NMR (CDCl₃) ; 14.06, 16.27, 16.34, 16.41, 16.53, 17.09, 17.15, 17.68, 18.57, 18.94, 18.98, 19.05, 19.17, 19.20, 19.31, 19.40, 20.69, 20.81, 21.12, 23.03, 23.15, 23.31, 24.20, 24.35, 28.23, 29.74, 30.02, 30.11, 30.15, 30.38, 40.53, 40.90, 41.18, 48.17, 49.36, 49.62, 58.27, 58.73, 60.40, 66.62, 72.41, 72.74, 77.21, 78.88, 79.09, 80.91, 128.20, 128.45, 135.41, 156.56, 169.22, 169.71, 169.96, 170.36, 170.51, 170.56, 170.81, 171.90, 172.45

・[α]_D + 6.12 ° (CHCl₃, c 1.02, 25.9 °C)

・IR; 3320, 2965, 2876, 1751, 1655, 1538, 1466, 1370, 1336, 1242, 1184, 1153, 1058, 1006, 933, 876, 747, 697

[0094] (17) Boc-(L-Val-D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val)₃-OH (17)

保護されたドデカデプシペプチド 16 (133 mg, 97.7 μmol)、メタノール(

5 mL) 10% パラジウム炭素 (7 mg) の混合物を水添添加用の反応容器に入れ、水素気流 (3 気圧) 下、室温で3時間攪拌した。TLCで反応の進行を確認した後、溶媒を減圧留去し、無色固体の17 (120.2 mg, 97 %) を得た。これは、精製すること無く次の反応に用いた。

・ TLC ; Rf = 0.33 (B)

・ mp ; 97~99 °C

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); スペクトラムを図3に示す。

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) ; 16.33, 16.39, 16.48, 16.60, 16.78, 16.88, 18.78, 18.84, 18.94, 19.03, 19.18, 19.24, 19.26, 19.31, 20.92, 21.09, 23.18, 23.34, 24.32, 24.39, 28.28, 29.51, 29.86, 29.92, 30.21, 30.22, 40.52, 40.82, 48.26, 49.35, 49.54, 58.82, 59.06, 60.30, 72.77, 72.82, 73.02, 77.23, 77.58, 78.99, 79.04, 80.89, 156.55, 170.46, 170.65, 170.84, 170.97, 171.21, 171.55, 172.11, 172.36, 172.53

・ IR ; 3319, 3068, 2965, 2938, 2876, 1751, 1658, 1536, 1467, 1389, 1370, 1335, 1308, 1249, 1185, 1154, 1128, 1109, 1058, 1008, 933, 877, 755

[0095] (18) $\text{H}-(\text{L-Val-D-0-Leu-D-Ala-L-0-Val})_3\text{-OH}$ (18) $\cdot \text{TFA}$ 塩氷冷下、17 (181 mg, 142 μmol) のジクロロメタン (2 mL) 溶液に、TFA (2 mL) を加え、1時間、氷冷下で攪拌を続けた。TLCで反応の進行を確認した後、反応液にトルエンを加え減圧濃縮した。TFAを完全に取り除くために、濃縮残渣にトルエンを加え共沸留去した。この操作を3回繰り返して行い、無色固体の18 (181 mg, quant) を得た。これは、精製すること無く次の環化反応に用いた。

・ TLC ; Rf = 0.45 (B)

・ mp ; 118~121 °C

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); スペクトラムを図4に示す。

・ IR; 3310, 3060, 2965, 2882, 2360, 1749, 1659, 1542, 1466, 1389, 1208, 1154, 1059, 1007

[0096] (実施例5)

セレウリドの合成 (環化反応)

(19) セレウリド

アルゴン置換した反応容器に、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA) (9.8 μ L, 45.5 μ mol)を、無水N,N-ジメチルホルムアミド(12 mL)に溶解し、次いで、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(15.7 μ L, 90 μ mol)を加えて、A液を調製した。別途、前駆体 18 (40 mg, 31.5 μ mol)を、無水N,N-ジメチルホルムアミド(8 mL)に溶解したB液を調整した。室温下、マイクロシリンジを用いて、A液にB液を1時間以上かけて滴下し、10日間、室温下で攪拌を続けた。反応液を減圧濃縮してN,N-ジメチルホルムアミドを留去し、残渣を酢酸エチルに溶解して、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、1N 塩酸および飽和食塩水で、順次洗浄した。この有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮して、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=7:3)より精製し、淡黄色固体のセレウリド (5.2 mg, 14%)を得た。これを熱 n-ヘキサンより再結晶して、純粋なセレウリドを無色結晶として得た。

・ TLC ; R_f = 0.23 (F)

・ mp ; 200°C (lit.⁵⁾ 196-199 °C)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) ; 0.85-1.02 (m, 45 H), 1.06 (d, J = 6.59 Hz, 9H), 1.46 (d, J = 7.07 Hz, 9H), 1.59-1.85 (m, 9H), 2.24-2.39 (m, 6H), 4.10 (dd, J = 9.27, 7.81 Hz, 3H), 4.37-4.42 (m, 3H), 5.01 (d, J = 3.17 Hz, 3H), 5.32 (dd, J = 7.81, 5.12 Hz, 3H), 7.81 (d, J = 6.83 Hz, 6H)

スペクトラムを図5に示す。

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) ; 15.75, 16.85, 18.55, 19.28, 21.20, 23.34, 24.37, 28.62, 30.48, 40.54, 48.78, 9.45, 72.69, 78.62, 170.49, 171.07, 171.49, 171.87

・ $[\alpha]_D^{+10.5^\circ\text{C}}$ (CHCl_3 , c 0.78, 25°C) , {lit.⁵⁾ +3.37° (CHCl_3 , c 1.03) }

・ IR; 3303, 2963, 2875, 1744, 1656, 1539, 1467, 1246, 1190, 1149, 1057, 1008

・ MALDI/TOFMS; 1175.576 [M + Na]⁺, 1191.561 [M + K]⁺

[0097] (実施例 6)

6-アミノヘキサン酸 (AHA) および L-グルタミン酸誘導体

(1) 6-アミノヘキサン酸 ベンジルエステル (AHA-OBn, 20) ・ p-TosOH塩
Dean-Stark装置を取り付けたナス型フラスコに、市販の6-アミノヘキサン酸 (AHA, 19) (6.56 g, 50.0 mmol)、ベンジルアルコール (15.6 mL, 150 mmol)、p-TosOH・1水和物 (11.41 g, 60.0 mmol)、およびトルエン (150 mL) を入れ、7時間、加熱還流して発生する水を共沸分離により除いた。TLCで原料の消失を確認した後、反応液を室温に戻してヘキサンを加え、析出した結晶を吸引濾取した。結晶を酢酸エチルでよく洗浄して、無色固体の20 (18.71 g, 95.1 %) を得た。

・ TLC ; R_f = 0.35 (D)

・ mp ; 107.9 °C

・ ¹H-NMR (CD₃OD) ; 1.29-1.44 (2H, m), 1.54-1.69 (4H, m), 2.33-3.34 (5H, m), 2.80-2.90 (2H, m), 3.26-3.34 (2H, m), 5.11 (2H, s), 7.22 (2H, d, J= 7.81), 7.28-7.37 (5H, m), 7.66-7.72 (2H, m)

・ ¹³C-NMR (CD₃OD) ; 21.31, 25.37, 26.79, 28.17, 34.60, 40.50, 67.21, 126.92, 129.92, 129.23, 129.26, 129.55, 129.85, 137.65, 141.75, 143.45, 174.86

・ IR ; 3050, 2945, 2634, 2042, 1730, 1622, 1476, 1248

[0098] (2) Troc-L-グルタミン酸 g-ベンジルエステル (22a)

氷冷下、炭酸水素ナトリウム (3.19 g, 38.0 mmol) 水溶液 (60 mL) に市販 (渡辺化学工業製) のL-グルタミン酸 g-ベンジルエステル 21 (3.00 g, 12.6 mmol) を溶解し、ここに2,2,2-trichloroethyl chloroformate (Troc-Cl) (2.20 mL, 16.0 mmol) のジエチルエーテル (10 mL) 溶液を滴下した。滴下終了後、反応液を室温に戻して、一晩攪拌を続けた。反応液を分液ロート

に移し、過剰のTroc-Clをジエチルエーテル抽出により除き、水層にクエン酸を加えてpH 3に調整した後、酢酸エチルで3回抽出した。合した有機層を飽和食塩水で1回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮して残渣に無色油状物の22a (3.95 g, 75.7 %)を得た。これは、精製すること無く次の反応に用いた。

・ TLC ; Rf = 0.56 (A)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) ; 2.07-2.19 (1H, m), 2.18-2.29 (1H, m), 2.31-2.43 (1H, m), 2.46-2.65 (2H, m), 4.54-4.63 (1H, m), 4.66-4.78 (2H, m), 5.14 (2H, s), 5.72 (1H, d, $J = 8.05\text{Hz}$), 7.30-7.40 (5H, m, ArH)

・ IR ; 3328, 3035, 2955, 2629, 1732, 1452, 1391, 1214

[0099] (3) Troc-L-グルタミン酸 a-tert-ブチルエステル (24)

氷冷下、市販（渡辺化学工業製）のL-グルタミン酸 tert-ブチルエステル 23 (1.00 g, 4.92 mmol) を炭酸水素ナトリウム (827 mg, 9.84 mmol) 水溶液 (10 mL) に溶解し、ここにTroc-Cl (0.80 mL, 5.97 mmol) のジエチルエーテル (3 mL) 溶液を滴下した。22aと同様の反応処理を行って、無色油状物の24 (1.61 g, 86.4 %)を得た。これは、精製すること無く次の反応に用いた。

・ TLC ; Rf = 0.56 (A)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) ; 1.49 (9H, s), 1.92-2.08 (1H, m), 2.18-2.30 (1H, m), 2.36-2.56 (2H, m), 4.27-4.36 (1H, m), 4.64-4.81 (2H, m), 4.73 (1H, d, $J = 7.81\text{Hz}$)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) ; 27.51, 27.93, 29.79, 53.79, 74.61, 83.03, 95.29, 154.21, 170.52, 178.12

・ IR ; 3336, 2980, 1720, 1528, 1452, 1395, 1370, 1230

[0100] (4) Troc-L-グルタミン酸(AHA-OBn) a-tert-ブチルエステル (25)

氷冷下、20 p-Tos-OH塩 (1.83 g, 4.65 mmol) のアセトニトリル (7 mL)

溶液に、DIPEA (1.84 mL, 10.6 mmol) を加えて中和した後、ここに 24 (1.60 g, 4.23 mmol) のアセトニトリル溶液 (3 mL) を加え、次いでEDC 塩酸塩 (972 mg, 5.04 mmol) およびHOBt (571 mg, 4.23 mmol) を加えた。氷冷バスを取り去って、反応液を室温下で一晩攪拌した後、溶媒を減圧留去した。この残渣を酢酸エチルに溶解して、有機層を10% クエン酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮した。この残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム)より精製して、無色油状物の 25 (1.82 g, 74 %) を得た。

・ TLC ; Rf = 0.69 (B)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) ; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) ; 1.30-1.40 (2H, m), 1.43-1.56 (11H, m), 1.62-1.70 (2H, m), 1.91-2.03 (1H, m), 2.17-2.30 (3H, m), 4.37 (2H, t, J = 7.32 Hz), 3.17-3.31 (2H, m), 4.17-4.27 (1H, m), 4.63-4.81 (2H, m), 5.11 (2H, s), 5.90 (1H, d, J = 7.56 Hz), 7.31-7.39 (5H, m)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) ; 24.36, 26.25, 27.91, 28.71, 29.06, 32.42, 34.00, 39.31, 54.15, 66.13, 74.54, 82.71, 95.33, 128.16, 128.18, 128.51, 135.91, 154.56, 170.61, 171.68, 173.39

・ IR ; 3322, 3034, 2938, 2867, 1734, 1651, 1537, 1454, 1369, 1229

[0101] (5) Troc-L-グルタミン酸 (AHA-OBn) (22b)

氷冷下、25 (913 mg, 1.57 mmol) のジクロロメタン (5.0 mL) 溶液に、トリフルオロ酢酸 (5.0 mL) を加えて30分間攪拌し、次いで室温下で2.5時間攪拌した。TLCで反応終了を確認した後、減圧濃縮して淡黄色油状物の22b・TFA塩 (825 mg, quant.) を得た。これは、精製すること無く次の反応に用いた。

・ TLC ; Rf = 0.50 (C)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) ; 1.30-1.39 (2H, m, CH_2), 1.46-1.57 (2H, m, CH_2), 1.59-1.70 (2H, m, CH_2), 2.06-2.14 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2.18-2.29 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2.34-2.46 (4H, m, CH_2), 3.20-3.30 (2H, m, CH_2), 4.32-4.39 (1

H, m, $\underline{\text{CH}}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 4.64–4.90 (2H, m, $\underline{\text{CH}_2}\text{CCl}_3$), 5.12 (2H, s, $\underline{\text{CH}_2}\text{Ph}$), 6.28 (1H, d, $J = 7.32$, NH), 6.36–6.41 (1H, m, NH), 7.30–7.40 (5H, m, ArH)
 • ^{13}C -NMR (CDCl_3) ; 24.24, 26.15, 28.68, 28.99, 32.43, 33.98, 39.71, 54.43, 66.35, 74.65, 95.32, 128.22, 128.30, 128.60, 135.88, 154.52, 172.92, 173.73, 173.76
 • $[\alpha]_D + 8.57^\circ$ (CHCl_3 , c 0.46, 16.4 °C)
 • IR ; 3341, 2942, 2602, 1733, 1626, 1541, 1450, 1230, 736

[0102] D-ロイシン酸および D-バリン酸 tert-ブチルエステル

(6) D-OAc-ロイシン {(2R)-2-アセトキシ-4-メチルペンタン酸} (27) 氷冷下、D-O-ロイシン 26 (3, 3.36 g, 25.4 mmol) に、塩化アセチル (13.4 mL, 154 mmol) を、滴下ロートを用いて加えた。TLCで原料の消失を確認した後、反応液を減圧濃縮した。この濃縮残渣中の塩化アセチルを完全に取り除くために、少量のトルエンとのコエバポレーション操作を3回繰り返して行い、無色油状物の27 (6.52 g, quant.) を得た。これは精製すること無くの反応に用いた。

• TLC ; Rf = 0.61 (C)

• ^1H -NMR (CDCl_3) ; 0.94 (3H, d, $J = 6.34$, $\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$), 0.97 (3H, d, $J = 6.34$, $\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$) 1.64–1.72 (1H, m, $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$), 1.75–1.86 (2H, m, $\underline{\text{CH}_2}\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.15 (3H, s, $\text{CO}\underline{\text{CH}_3}$), 5.01–5.07 (1H, m, $\underline{\text{CH}}\text{CH}_2$)
 • ^{13}C -NMR (CDCl_3) ; 20.53, 21.41, 22.91, 24.57, 39.50, 70.55, 170.79, 176.70

[0103] (7) D-OAc-ロイシン tert-ブチルエステル {tert-ブチル (2R)-2-アセトキシ-4-メチルペンタノエート} (28)

室温下で27 (6.52 g, 37.4 mmol)、tert-ブタノール (40 mL)、およびBoc₂O (8.26 g, 37.8 mmol) の混合物に、DMAP (0.92 g, 7.53 mmol) をゆっくりと加えた。室温で5時間攪拌した後、反応液を減圧濃縮し、濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) より精製して無色油状物の28 (6.56 g, 70.1 %) を得た。

・ TLC ;Rf = 0.54 (A)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.92 (3H, d, $J = 6.83$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.96 (3H, d, $J = 6.58$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.46 (9H, s, tert-Bu), 1.55–1.64 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.69–1.82 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.12 (3H, s, COCH_3), 4.85–4.92 (1H, m, CH_2C H₂)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 20.70, 21.56, 22.99, 24.62, 27.91, 39.71, 71.52, 81.89, 169.94, 170.64

・ IR ; 2963, 2875, 1746, 1465, 1372

[0104] (8) D-0-ロイシン tert-ブチルエステル {tert-ブチル (2R)-2-ヒドロキシ-4-メチルペンタノエート} (29)

D-0Ac-ロイシン tert-ブチルエステル (6.56 g, 28.5 mmol) のメタノール (30 mL) 溶液に、炭酸カリウム (19.68 g, 142.4 mmol) 水溶液 (60 mL) を加え、室温で1日間激しく攪拌した。反応終了後、メタノールを減圧留去し、残渣を分液ロートに移して、ジエチルエーテルで3回抽出した。合した有機層を、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮して無色油状物のD-0-ロイシン tert-ブチルエステル (4.35 g, 81.1

%) を得た。これは、精製すること無く次の反応に用いた。

・ TLC ;Rf= 0.52 (A)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.94 (3H, d, $J = 2.68$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.96 (3H, d, $J = 2.44$ Hz,

$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.49–1.53 (11H, m, tert-Bu and CHCH_2CH), 1.81–1.95 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$),

2.74 (1H, d, $J = 5.85$ Hz, OH), 4.00–4.09 (1H, m, $\text{CHCH}_2(\text{CH}_3)_2$)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 21.59, 23.32, 24.49, 27.99, 43.59, 69.20, 82.23, 175.23

・ $[\alpha]_D - 6.90^\circ$ (CHCl_3 , c 1.06, 14.7 °C)

・ IR; 3493, 2959, 2873, 1729, 1465, 1273

[0105] (9) L-0Ac-バリリン {(2R)-2-アセトキシ-4-メチルペンタン酸} (30)

L-OAc-バリンは、D-OAc-ロイシンと同様の方法で合成した。すなわち、氷冷下でL-O-バリン 5 (5.00 g, 42.3 mmol) に、塩化アセチル (15.0 mL, 211 mmol) を滴下ロートから加えた。TLCで原料の消失を確認した後、反応液を減圧濃縮した。この残渣に少量のトルエンを加え、減圧濃縮して残存する塩化アセチルをトルエンとのコエバポレーションにより除いた。この操作を3回繰り返して、濃縮残渣に無色油状物の 30 (6.73 g, quant) を得た。これは精製すること無く次の反応に用いた。

・ TLC ; Rf = 0.63 (C)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 1.00-1.06 (6H, m, $\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$), 2.16 (3H, s, $\underline{\text{CH}_3}\text{CO}$), 2.20-2.33 (1H, m, $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$), 4.89 (1H, d, J = 4.39 Hz, $\underline{\text{CHCH}}(\text{CH}_3)_2$), 10.64 (1H, br, COOH)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 17.03, 18.70, 20.48, 29.86, 170.92, 175.61

[0106] (1 O) L-OAc-バリン tert-ブチルエステル {tert-ブチル (2S)-2-アセトキシ-3-メチルブタノエート} (31)

L-OAc-バリン tert-ブチルエステルは、D-OAc-ロイシン tert-ブチルエステルと同様の方法で合成した。すなわち、L-OAc-バリン (6.73 g, 42.0 mmol)、tert-ブタノール (40 mL)、 Boc_2O (9.17 g, 42.0 mmol) の混合物を室温下で攪拌し、ここにDMAP (1.03 g, 8.43 mmol) をゆっくりと加えた。室温で2時間攪拌した後、反応液を減圧濃縮し、濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)より精製して無色油状物のL-OAc-バリン tert-ブチルエステル (6.52 g, 71.8 %) を得た。

・ TLC ; Rf = 0.57 (A)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.95-1.01 (6H, m, $\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$), 1.47 (9H, s, tert-Bu), 2.17 (3H, s, $\underline{\text{CH}_3}\text{CO}$), 2.16-2.24 (1H, m, $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$), 4.72 (1H, d, J = 4.39 Hz, $\underline{\text{CHCH}}(\text{CH}_3)_2$)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 17.12, 18.71, 20.64, 27.96, 29.93, 60.37, 81.83, 168.78, 170.77

・ IR ; 2975, 2938, 2880, 1744, 1238

[0107] (11) L-0-バリン tert-ブチルエステル {tert-ブチル (2S)-2-ヒドロキシ-3-メチルブタノエート} (32)

L-0-バリン tert-ブチルエステルは、L-0-ロイシン tert-ブチルエステルと同様に合成した。すなわち、L-0Ac-バリン tert-ブチルエステル (6.52 g, 30.1 mmol) のメタノール (30 mL) 溶液に、炭酸カリウム (20.83 g, 151.0 mmol) 水溶液 (60 mL) を加え、室温で1日間攪拌した。反応終了後、メタノールを減圧留去して、水層をジエチルエーテルで3回抽出した。合した有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧濃縮して無色油状物のL-0-バリン tert-ブチルエステル (3.87 g, 73.7 %) を得た。これは、これ以上精製すること無く次の反応に用いた。

・ TLC ; R_f = 0.54 (A)

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 0.86(3H, d, J = 6.83 Hz, CH(CH₃)₂), 1.02 (3H, d, J = 7.07 Hz, CH(CH₃)₂), 1.50(9H, s, tert-Bu), 3.92 (1H, d, J = 3.41, CHCH(CH₃)₂)

・ ¹³C-NMR (CDCl₃); 15.72, 18.80, 25.58, 28.02, 32.08, 74.88, 82.31, 174.22

・ [α]_D²⁰ + 3.60° (MeOH, c 1.04, 15.1 °C)

・ IR ; 3518, 2970, 2879, 1726, 1465, 1259

[0108] (実施例7)

ジデプシペプチドの合成

(12) Troc-L-グルタミン酸(OBn / AHA-OBn)-D-0-ロイシン tert-ブチルエステル (33)

氷冷下、N-保護L-グルタミン酸誘導体22 (1.12 mmol) およびD-ロイシン tert-ブチルエステル 29 (1.35 mmol) のジクロロメタン (10 mL) 溶液に、DMAP (0.34 mmol)、次いでDCC (1.68 mmol) をゆっくり加えた。この反応液を氷冷下で一晩攪拌した後、副成したDCUreaを吸引濾去して除き、濾液を減圧濃縮した。この濃縮残渣を酢酸エチルに溶かし、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、次いで飽和食塩水で洗浄して、無水硫酸ナトリウムで乾燥

，減圧濃縮した。濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）より精製して、目的とするジデプシペプチド 33 を得た。

[0109] 33a (R = OBn) ;

・収率 ; 35 %

・TLC ; Rf = 0.60 (F)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.91 (3H, d, J = 6.59 Hz), 0.94 (3H, d, J = 6.34 Hz), 1.45 (9H, s), 1.57–1.67 (2H, m), 1.70–1.81 (1H, m), 2.04–2.18 (1H, m), 2.28–2.43 (1H, m), 2.47–2.61 (2H, m), 4.51–4.60 (1H, m), 4.67–4.76 (2H, m), 4.89–4.94 (1H, m), 5.13 (2H, s), 5.69 (1H, d, J = 8.29 Hz), 7.30–7.40 (5H, m)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 21.40, 23.01, 24.62, 26.97, 27.32, 27.88, 29.99, 39.46, 53.53, 66.59, 72.69, 74.45, 74.62, 82.43, 95.24, 128.22, 128.31, 128.57, 135.62, 154.04, 168.94, 172.38

・IR ; 3340, 2959, 1739, 1525, 1453, 1389, 1370, 1259, 1206

[0110] 33b (R = $\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{COOBn}$) ;

・収率 ; 93 %

・TLC ; Rf = 0.42 (F)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.89–0.95 (6H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.30–1.40 (2H, m, CH_2), 1.46 (9H, s, tert-Bu), 1.47–1.55 (2H, m, CH_2), 1.59–1.80 (6H, m), 2.06–2.16 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2.28–2.48 (5H, m), 3.16–3.28 (2H, m, CH_2), 4.39–4.47 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.66–4.77 (2H, m, CH_2CCl_3), 4.90–4.95 (1H, m, NH), 5.11 (2H, s, CH_2Ph), 6.07–6.11 (2H, m, NH), 7.33–7.37 (5H, m, ArH)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 14.18, 21.05, 21.40, 23.03, 24.41, 24.55, 26.32, 27.90, 28.01, 29.07, 32.23, 34.04, 39.38, 39.57, 54.11, 60.39, 66.17, 72.49, 74.61, 82.57, 95.29, 128.20, 128.54, 129.01, 135.96, 154.37, 169.54, 170.86, 171.97, 173.38

・IR ; 3322, 2956, 2871, 1741, 1653, 1537, 1239, 735

[0111] (13) Troc-L-グルタミン酸(0Bn / AHA-0Bn)-D-0-ロイシン (34)

氷冷下、33 (0.85 mmol) のジクロロメタン (3.0 mL) 溶液に、TFA (3.0 mL) をゆっくり加え、氷冷下で30分間、次いで室温下で1.5時間攪拌した。TLCで反応の終了を確認した後、反応液を減圧濃縮して淡黄色油状物の34 (quant.) を得た。これは、精製すること無く次の反応に用いた。

[0112] 34a (R = 0Bn)

・ 収率 ; quant

・ TLC ; Rf = 0.56 (C)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.92 (3H, d, J = 6.10 Hz), 0.95 (3H, d, J = 6.34 Hz), 1.65-1.78 (2H, m), 1.80-1.91 (1H, m), 2.02-2.16 (1H, m), 2.26-2.38 (1H, m), 2.41-2.60 (2H, m), 4.49-4.58 (1H, m), 4.62-4.78 (2H, m), 5.06-5.12 (1H, m), 5.13 (2H, s), 5.74 (1H, d, J = 8.05 Hz), 7.29-7.40 (5H, m)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 21.29, 22.96, 24.62, 27.11, 29.97, 39.34, 53.54, 66.70, 71.61, 74.70, 95.19, 128.26, 128.36, 128.60, 135.55, 154.19, 170.84, 172.50

・ IR ; 3419, 2959, 1736, 1643, 1521, 1452, 1391, 1210, 1099

[0113] 34b (R = $\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{COOBn}$)

・ 収率 ; quant

・ TLC ; Rf = 0.52 (C)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.88-0.99 (6H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.29-1.40 (2H, m, CH_2), 1.44-1.56

(2H, m, CH_2), 1.60-1.67 (2H, m, CH_2), 1.68-1.79 (2H, m, CH_2), 1.82-1.88 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.10-2.19 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2.19-2.30 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 2.35-2.42 (4H, m, CH_2), 3.19-3.28 (2H, m, CH_2), 4.39-4.47 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.67-4.77 (2H, m, CH_2CCl_3), 5.09-5.11 (1H, m, NH), 5.12 (2H, s, CH_2Ph), 6.29 (1H, d,

J = 7.56 Hz, NH), 6.45-6.52 (1H, m, NH), 7.33-7.39 (5H, m, ArH), 8.7

7 (1H, br, COOH)

・ ^{13}C -NMR (CDCl_3); 21.30, 23.03, 24.34, 24.58, 26.17, 28.01, 28.67, 32.07, 34.05, 39.36, 39.53, 54.08, 66.47, 71.82, 74.64, 95.22, 128.21, 128.31, 128.58, 135.66, 154.56, 170.81, 172.67, 173.18, 174.17

・ IR ; 3351, 3062, 2957, 2871, 1734, 1630, 1539, 1453, 1386, 1211, 1099

[0114] (14) カルボベンジルオキシ-D-アラニン (Z-D-Ala)

氷冷下、炭酸ナトリウム (21.45 g, 202 mmol) 水溶液 (225 mL) に市販の D-アラニン (6.00 g, 73.5 mmol) を溶解し、ここにbenzyl chloroformate (Z-Cl) (10.5 mL, 73.5 mmol) のジオキサン (60 mL) 溶液をゆっくり滴下した。滴下終了後、反応液を室温に戻し一晩攪拌を続けた。反応液を分液ロートに移し、過剰のZ-Clをジエチルエーテル抽出で除去した。水層にクエ BR> 棣を加えてpH 3に調整した後、酢酸エチルで3回抽出した。合した有機層を飽和食塩水で1回洗浄し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮した後、濃縮残渣を酢酸エチルーヘキサンより再結晶化して無色結晶のZ-D-アラニン (13.77 g, 91.6 %) を得た。

[0115] ・ TLC ; Rf = 0.51 (C)

・ mp ; 82.9 °C

・ ^1H -NMR (CDCl_3); 1.47(3H, d, J = 7.32 Hz, CH_3), 4.38-4.48(1H, m, CHCH_3), 5.13(2H, s, CH_2Ph), 5.29(1H, br, NH), 7.30-7.38 (5H, m, ArH)

・ ^{13}C -NMR (CDCl_3); 18.36, 49.52, 67.22, 128.10, 128.25, 128.53, 136.05, 155.92, 177.45

・ IR ; 3349, 3046, 1719, 1539, 1252

[0116] (15) Z-D-アラニン-L-0-バリン tert-ブチルエステル (35)

氷冷下、L-0-バリン tert-ブチルエステル 32 (2.50 g, 14.3 mmol) およびZ-D-アラニン

(3.52 g, 15.8 mmol) のジクロロメタン (30 mL) 溶液に、DMAP (0.35 g, 2.9 mmol)、次いでDCC (3.70 g, 17.9 mmol) をゆっくり加えた。この反応液

を氷冷下で一晩攪拌した後、副成したDCUreaを吸引濾過により除き、濾液を減圧濃縮した。この濃縮残渣を酢酸エチルに溶かし、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、次いで飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮した。この濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）より精製して、無色油状物の35（4.26 g, 78.3 %）を得た。

・ TLC ; Rf = 0.36 (A)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.92-1.02 (6H, m, $\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$), 1.46 (9H, s, tert-Bu), 1.47 (3H, d, J = 7.07 Hz, $\text{CH}\underline{\text{CH}_3}$), 2.18-2.29 (1H, m, $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$), 4.46-4.57 (1H, m, $\underline{\text{CHCH}_3}$), 4.75 (1H, d, J = 4.15 Hz, $\underline{\text{CHCH}}(\text{CH}_3)_2$), 5.11 (2H, s, $\underline{\text{CH}_2}$ Ph), 5.35 (1H, d, J = 7.07 Hz, NH), 7.29-7.40 (5H, m, ArH)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 16.93, 18.73, 27.93, 30.00, 49.74, 66.84, 82.22, 128.11, 128.13, 128.50, 136.23, 155.46, 168.05, 172.34

・ IR ; 3342, 2974, 2937, 2879, 1734, 1528, 1254

・ $[\alpha]_D -18.04^\circ$ (CHCl_3 , c 0.875, 15.7 $^\circ\text{C}$)

[0117] (16) D-アラニン-L-0-バリン tert-ブチルエステル (36)・TFA 塩

水素添加用フラスコに、35 (1.96 g, 5.17 mmol)、メタノール (30 mL)、TFA (0.46 mL, 6.2 mmol) および10% パラジウム炭素 (100 mg) の混合物を入れ、水素気流（3気圧）下、室温で3時間攪拌した。TLCで反応の進行を確認した後、触媒を濾去、濾液を減圧濃縮し、濃縮残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム／メタノール）より精製して、淡褐色油状物の36 (1.65 g, 93.3 %)を得た。

・ TLC ; Rf = 0.34 (B)

・ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); 0.96-1.04 (6H, m, $\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$), 1.36 (3H, d, J = 8.54 Hz, $\text{CH}\underline{\text{CH}_3}$), 1.47 (9H, s, tert-Bu), 2.20-2.29 (1H, m, $\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$), 3.66 (1H, q, J = 7.07 Hz, $\underline{\text{CHCH}_3}$), 4.76 (1H, d, J = 4.39 Hz, $\underline{\text{CHCH}}(\text{CH}_3)_2$)

・ $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3); 16.99, 18.80, 20.29, 27.97, 28.01, 30.02, 32.07, 49.97, 82.01, 168.52, 176.24

・ IR ; 3445, 2977, 1747, 1677, 1537, 1464, 1432, 1395, 1371, 1330, 1204

[0118] (実施例 8)

テトラデプシペプチドの合成

(17) Troc-L-グルタミン酸(OBn / AHA-OBn)-D-0-ロイシン-D-アラニン-L-0-バリン tert-ブチルエステル (37)

氷冷下、N末端が保護されたジデプシペプチド36・TFA塩 (289 mg、0.84 mmol) のアセトニトリル (5 mL) 溶液に、DIPEA (0.15 mL、0.84 mmol) を加えて中和した後、C末端が保護されたジデプシペプチド34 (0.84 mmol) のアセトニトリル (5 mL) 溶液を加え、次いでHBTU (352 mg、0.93 mmol) およびHOBt (114 mg、0.84 mmol) を加えた。反応液を室温に戻して一晩攪拌した後、反応液を減圧濃縮した。この濃縮残渣を酢酸エチルに溶解し、酢酸エチル層を10%クエン酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で、順次、洗浄して無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮した。これをシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) より精製して淡黄色油状の37を得た。

[0119] 37a (R = OBn) ;

・ 収率 ; 75 %

・ TLC ; R_f = 0.64 (F)

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 0.85-1.00 (12H, m), 1.45 (9H, s), 1.48 (3H, d, J = 7.32 Hz), 1.60-1.83 (3H, m), 1.99-2.15 (1H, m), 2.15-2.36 (2H, m), 2.41-2.62 (2H, m), 4.43-4.52 (1H, m), 4.60-4.81 (4H, m), 5.14 (2H, s), 5.27 (1H, dd, J = 5.61 Hz, J = 7.56 Hz), 5.98 (1H, d, J = 7.56 Hz), 6.83 (1H, d, J = 7.56 Hz), 7.30-7.40 (5H, m)

・ ¹³C-NMR (CDCl₃); 16.88, 17.72, 18.69, 21.42, 23.09, 24.47, 26.52, 27.94, 30.02, 40.50, 47.95, 53.69, 66.73, 73.49, 74.74, 82.33, 95.18, 128.28, 128.38, 128.59, 135.49, 154.50, 168.28, 169.22, 170.47, 171.91, 172.37

・ IR ; 3421, 2964, 1739, 1674, 1538, 1455, 1391, 1370, 1256

[0120] 37b (R = NH(CH₂)₅CO₂Bn) ;

・ 収率 55 %

・ TLC ; R_f = 0.31 (F)

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 0.85-1.00 (12H, m), 1.30-1.40 (2H, m), 1.45 (9H, s), 1.49 (3H, d, J = 7.32 Hz), 3.19-3.29 (1H, m), 4.39-4.46 (1H, m), 4.62-4.80 (4H, m), 5.11 (2H, s), 5.23 (1H, dd, J = 4.88 Hz, J = 9.02 Hz), 6.03-6.11 (1H, m), 6.59 (1H, d, J = 7.07 Hz), 7.00 (1H, d, J = 7.56 Hz), 7.30-7.40 (5H, m)

・ ¹³C-NMR (CDCl₃); 16.89, 17.59, 18.69, 21.39, 23.12, 24.33, 24.41, 26.25, 26.92, 27.92, 28.96, 30.00, 31.97, 33.99, 39.45, 40.46, 48.12, 54.22, 66.17, 73.24, 74.66, 77.68, 82.28, 95.27, 128.17, 128.22, 128.54, 128.55, 135.90, 154.72, 168.24, 169.68, 170.68, 171.96, 172.26, 173.44

・ IR ; 3335, 2962, 1757, 1680, 1538, 1455, 1108, 736

[0121] (18) L-グルタミン酸(Obn / AHA-Obn)-D-0-ロイシン-D-アラニン-L-0-バリンtert-ブチルエステル (38)

CおよびN-末端が保護されたテトラデプシペプチド 37 (0.24 mmol) の90%酢酸溶液 (3 mL) に、亜鉛 (310.6mg、 4.74 mmol) を加えて、室温で一日攪拌した。反応終了後、反応液に多量の水を加え、酢酸エチルで3回抽出した。合した有機層を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、および飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮して38を得た。

[0122] 38a (R = Obn) ; 淡黄色油状物

・ 収率 ; quant

・ TLC ; R_f = 0.53 (B)

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 0.78-1.03 (12H, m), 1.40-1.50 (12H, m), 1.60-1.82 (3H, m), 2.05-2.32 (3H, m), 2.31-2.59 (2H, m), 4.33-4.45 (1H, m), 4.65-4.81 (2H, m), 5.13 (2H, s), 5.18-5.25 (1H, m), 6.57 (1H, d, J = 7.56

Hz), 6.88 (1H, d, $J = 7.32$ Hz), 7.29–7.38 (5H, m)

- ・ ^{13}C -NMR (CDCl_3); 16.94, 18.20, 18.74, 21.53, 23.13, 24.53, 27.96, 27.97, 30.05, 40.64, 47.72, 55.22, 66.39, 72.93, 77.24, 77.83, 82.38, 126.99, 128.20, 128.57, 135.83, 168.13, 168.97, 169.65, 172.22, 172.89
- ・ IR ; 3346, 2965, 2938, 2875, 1740, 1679, 1538, 1455, 1391, 1370

[0123] 38b ($\text{R} = \text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{COOBn}$) ; 淡黄色アモルファス状固体

- ・ 収率 96 %
- ・ TLC ; $R_f = 0.42$ (C)
- ・ ^1H -NMR (CDCl_3); 0.82–1.02 (12H, m), 1.30–1.39 (2H, m), 1.42–1.55 (15H, m), 1.58–1.84 (5H, m), 1.87–1.99 (1H, m), 2.14–2.29 (2H, m), 2.29–2.42 (4H, m), 3.13–3.29 (2H, m), 3.63–3.76 (1H, m), 4.70 (1H, d, $J = 7.56$ Hz), 4.73 (1H, d, $J = 4.39$ Hz), 5.11 (2H, s), 5.23 (1H, dd, $J = 3.90$ Hz, $J = 9.51$ Hz), 6.12–6.24 (1H, m), 7.04 (1H, d, $J = 7.56$ Hz), 7.29–7.38 (5H, m)
- ・ ^{13}C -NMR (CDCl_3); 14.16, 16.96, 18.00, 18.69, 21.47, 23.10, 24.42, 24.45, 26.32, 27.90, 29.14, 30.01, 32.42, 34.02, 39.25, 40.64, 47.76, 60.39, 66.14, 73.02, 82.39, 128.17, 128.20, 128.53, 135.91, 168.19, 169.73, 172.15, 172.29, 173.41
- ・ IR ; 3317, 3068, 2962, 2873, 1739, 1663, 1637, 1545, 1456, 1370, 1163

[0124] (実施例 9)

ドデカデプシペプチド (前駆体) の合成

(19) Boc-L-バリン-D-O-ロイシン-D-アラニン-L-O-バリン-L-バリン-D-O-ロイシン-D-アラニン-L-O-バリン-L-グルタミン酸(OBn / AHA-OBn)-D-O-ロイシン-D-アラニン-L-O-バリン tert-ブチルエステル (39)

氷冷下、C末端が保護されたテトラデプシペプチド38 (0.155 mmol) および N末端が保護されたオクタデプシペプチド 15 (137 mg、 0.155 mmol) のアセトニトリル(5 mL) 溶液を入れ、ここに、DIPEA (27.0 μL 、 0.155 mmol)、H

OAt (21.1 mg, 0.155 mmol) および HATU (88.2 mg, 0.232 mmol) を加えた。反応液を室温に戻して一晩攪拌した後、減圧濃縮して、残渣を酢酸エチルに溶解し、酢酸エチル層を10%クエン酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で、順次、洗浄した。この有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル＝3：2）より精製して無色油状物の 39 を得た。

[0125] 39a (R = OBn) ;

・ 収率 40 %

・ TLC ; R_f = 0.64 (F)

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 0.74-1.09 (48H, m), 1.32-1.53 (27H, m), 1.60-1.86 (9H, m), 1.92-2.04 (1H, m), 2.13-2.26 (2H, m), 2.27-2.44 (4H, m), 2.45-2.52 (2H, m), 3.84 (1H, dd, J = 5.85 Hz, J = 7.56 Hz), 4.01-4.16 (2H, m), 4.27 (1H, t, J = 7.56 Hz), 4.48-4.56 (1H, m), 4.60 (1H, t, J = 7.56 Hz), 4.65 (1H, d, J = 4.15 Hz), 4.97 (1H, d, J = 2.93 Hz), 5.07 (1H, d, J = 2.68 Hz), 5.27 (1H, dd, J = 3.90 Hz, J = 8.87 Hz), 7.28-7.37 (5H, m), 7.74 (1H, d, J = 7.32 Hz), 7.87 (1H, d, J = 7.32 Hz), 7.96 (1H, d, J = 5.85 Hz), 8.10 (1H, d, J = 7.81 Hz), 8.25 (1H, d, J = 6.10 Hz)

・ ¹³C-NMR (CDCl₃); ¹³C-NMR (CDCl₃); 16.18, 16.34, 16.56, 17.02, 17.57, 18.67, 18.95, 19.00, 19.06, 19.22, 19.30, 20.78, 20.89, 21.17, 23.12, 23.13, 23.36, 24.29, 24.39, 24.42, 26.20, 27.93, 28.26, 29.66, 29.80, 29.98, 30.08, 30.19, 30.41, 40.53, 40.65, 40.76, 48.25, 49.43, 49.63, 52.06, 58.97, 60.40, 66.31, 72.69, 72.75, 73.04, 77.56, 78.65, 79.00, 81.00, 81.79, 128.09, 128.24, 128.47, 135.93, 156.56, 168.44, 169.99, 170.15, 170.44, 170.90, 170.93, 171.92, 172.19, 172.26, 172.44, 172.50

・ IR ; 3316, 2965, 2876, 1748, 1658, 1538, 1460, 1369, 1158

[0126] 38b (R = NH(CH₂)₅COOBn) ;

・収率 73.5 %

・TLC ; R_f = 0.58 (B)

・¹H-NMR (CDCl₃); 0.82-1.09 (48H, m), 1.39-1.53 (33H, m), 1.53-1.89 (1H, m), 1.93-2.05 (1H, m), 2.10-2.44 (9H, m), 3.09-3.28 (2H, m), 3.84 (1H, dd, J = 5.85 Hz, J = 7.56 Hz), 4.03-4.19 (2H, m), 4.30 (1H, t, J = 7.56 Hz), 4.37-4.48 (1H, m), 4.59-4.67 (2H, m), 4.97 (1H, d, J = 3.17 Hz), 5.02 (1H, d, J = 2.93 Hz), 5.07-5.15 (4H, m), 5.20-5.30 (1H, m), 6.53 (1H, s), 7.28-7.40 (5H, m), 7.66 (1H, d, J = 7.32 Hz), 7.87 (1H, d, J = 7.56 Hz), 7.94-8.01 (2H, m), 8.29 (1H, d, J = 6.10 Hz)

・¹³C-NMR (CDCl₃); 16.22, 16.33, 16.52, 17.07, 17.62, 18.63, 18.90, 18.96, 19.05, 19.20, 20.77, 20.85, 21.14, 23.06, 23.11, 23.33, 24.29, 24.37, 24.56, 26.46, 27.46, 27.90, 27.93, 28.24, 29.28, 29.69, 29.78, 29.97, 30.03, 30.16, 32.48, 34.13, 39.36, 40.50, 40.66, 40.75, 48.04, 49.28, 49.63, 52.21, 58.84, 60.39, 66.05, 72.70, 72.77, 73.06, 77.20, 77.54, 77.77, 78.82, 78.98, 80.96, 81.93, 128.13, 128.18, 128.50, 136.03, 156.51, 168.31, 169.85, 170.35, 170.59, 170.86, 170.91, 170.98, 171.87, 172.14, 172.23, 172.47, 173.45

・IR ; 3319, 2965, 2875, 1748, 1656, 1539, 1460, 1370, 1158, 747

[0127] (20) L-バリン-D-0-ロイシン-D-アラニン-L-0-バリン-L-バリン-D-0-ロイシン-D-アラニン-L-0-バリン-L-グルタミン酸(Obn / AHA-Obn)-D-0-ロイシン-D-アラニン-L-0-バリン (40)

氷冷下、39 (69 μmol) のジクロロメタン (2 mL) 溶液に、TFA (2 mL) をゆっくり加え、1時間、氷冷下で攪拌を続けた。TLCで反応の進行を確認した後、反応液にトルエンを加え減圧濃縮した。TFAを完全に取り除くために、濃縮残渣にトルエンを加え共沸留去した。この操作を3回繰り返して行い、淡黄色固体の40を得た。これは、精製すること無く次の環化反応に用いた。

40a (R = Obn) ;

・収率 ; 94 %

• TLC ; Rf = 0.43 (B)

• ^1H -NMR (CDCl_3); 0.83–1.09 (48H, m), 1.39 (3H, d, J = 7.32 Hz), 1.47 (3H, d, J = 7.07 Hz), 1.51 (3H, d, J = 7.56 Hz), 1.58–1.84 (9H, m), 2.10–2.41 (9H, m), 4.10–4.25 (2H, m), 4.26–4.38 (2H, m), 4.57–4.66 (1H, m), 4.73–4.79 (1H, m), 4.86 (1H, d, J = 3.42 Hz), 4.93 (1H, d, J = 2.93 Hz), 5.02 (1H, s), 5.05–5.17 (3H, m), 5.27 (1H, dd, J = 4.39 Hz, J = 7.56 Hz), 7.31–7.41 (5H, m), 7.64 (2H, d, J = 8.54 Hz), 7.74 (1H, d, J = 3.17 Hz), 7.77 (1H, d, J = 7.81 Hz), 8.32 (1H, d, J = 5.61 Hz), 8.64 (1H, d, J = 5.85 Hz)

• ^{13}C -NMR (CDCl_3); 14.98, 15.63, 16.31, 16.70, 17.05, 17.23, 17.44, 17.71, 18.41, 18.54, 18.66, 18.93, 19.12, 19.58, 20.95, 21.11, 21.62, 22.99, 23.10, 23.16, 23.22, 24.33, 24.48, 24.52, 27.84, 29.66, 30.35, 30.54, 40.03, 40.14, 40.38, 50.09, 53.42, 58.74, 66.56, 73.94, 75.13, 78.02, 79.18, 79.24, 82.03, 128.23, 128.58, 128.95, 135.53, 169.15, 170.45, 171.34, 171.54, 171.82, 171.94, 172.12, 172.36, 173.42

• IR ; 3296, 3068, 2965, 2870, 1749, 1661, 1543, 1466, 1372, 1202

[0128] 40b (R = $\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{COOBn}$) ;

• 収率 ; quant

• TLC ; Rf = 0.36 (B)

• ^1H -NMR (CDCl_3); 0.80–1.09 (48H, m), 1.24–1.33 (11H, m), 1.36–1.42 (4H, m), 1.43–1.52 (3H, m), 1.55 (2H, d, J = 7.32 Hz), 1.58–1.88 (9H, m), 2.12–2.40 (9H, m), 3.00–3.14 (2H, m), 3.16–3.30 (1H, m), 3.97 (1H, d, J = 4.63 Hz), 4.05 (1H, dd, J = 7.07 Hz, J = 10.49 Hz), 4.60 (1H, t, J = 7.56 Hz), 4.65–4.79 (4H, m), 4.83 (1H, d, J = 3.41 Hz), 4.88 (1H, d, J = 2.68 Hz), 5.02–5.09 (2H, m), 5.11 (2H, s), 5.33 (1H, dd, J = 3.41 Hz, J = 9.02 Hz), 6.25 (1H, s), 7.29–7.39 (5H, m), 7.54–7.66 (2H, m), 7.82 (1H, d, J = 7.56 Hz), 8.58 (1H, d, J = 7.32 Hz), 9.27 (1H, s)

- ・ ^{13}C -NMR (CDCl_3); 15.37, 15.74, 16.60, 16.74, 16.86, 17.02, 17.39, 17.84, 18.39, 18.46, 18.86, 19.18, 19.38, 20.99, 21.17, 21.28, 22.94, 23.00, 23.24, 24.38, 24.44, 24.49, 26.29, 28.47, 29.04, 29.60, 29.65, 29.83, 30.53, 32.26, 34.00, 39.60, 40.13, 40.40, 47.67, 49.33, 53.17, 58.71, 66.22, 73.03, 75.19, 77.21, 78.90, 128.18, 128.21, 128.24, 128.55, 129.01, 135.89, 169.18, 170.62, 170.78, 171.03, 171.59, 171.63, 172.24, 172.69, 173.26, 173.46
- ・ IR ; 3300, 3081, 2965, 2876, 1748, 1657, 1545, 1462, 1374, 1203

[0129] (実施例 10)

E-セレウリドおよびEAHA-セレウリド (環化反応)

(22) E-セレウリド-OBn (41a) および EAHA-セレウリド-OBn (41b) 前駆体 40 の環化反応は、セレウリド合成の場合と同様の方法で行った。すなわち、アルゴン置換した反応容器に、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA) (9.8 μL , 45.5 μmol)を、無水N,N-ジメチルホルムアミド(12 mL)に溶解し、次いで、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (15.7 μL , 90 μmol) をゆっくり加えて、A液を調製した。

[0130] 別途、前駆体 40 (31 μmol) を、無水N,N-ジメチルホルムアミド (8 mL) に溶解したB液を調整した。

[0131] 室温下、マイクロシリンジを用いて、A液にB液を1時間以上かけてゆっくり滴下し、10日間、室温下で攪拌を続けた。反応液を減圧濃縮してジクロロメタンを留去し、残渣を酢酸エチルに溶解して、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、1N 塩酸および飽和食塩水で、順次、洗浄した。この有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧濃縮して、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (ヘキサン/酢酸エチル)より精製し、淡黄色固体の 41 を得た。

[0132] 41a (R = OBn) ;

- ・ TLC ; R_f = 0.69 (F)
- ・ ^1H -NMR (CDCl_3); 0.78-1.03 (48H, m), 1.40-1.48 (9H, m), 1.58-1.84 (11H, m), 2.10-2.60 (9H, m), 4.00-4.10 (2H, m), 4.25-4.60 (3H, m), 4.91-

5.01 (2H, m), 5.02 (1H, d, $J = 3.17$ Hz), 5.10–5.14 (3H, m), 5.23 (1H, dd, $J = 3.90$ Hz, $J = 5.37$ Hz), 5.26–5.33 (2H, m), 7.31–7.37 (5H, m), 7.62 (1H, d, $J = 6.59$ Hz), 7.74–7.80 (3H, m), 7.84 (1H, d, $J = 5.85$ Hz), 7.96 (1H, d, $J = 7.56$ Hz)

• ^{13}C -NMR (CDCl_3); 15.72, 15.80, 16.77, 16.89, 18.46, 18.52, 18.65, 19.26, 19.32, 21.11, 21.20, 21.73, 23.01, 23.32, 24.32, 24.36, 24.51, 28.52, 28.72, 30.28, 30.39, 30.47, 30.57, 40.39, 48.57, 48.79, 49.03, 51.78, 59.41, 59.55, 66.42, 72.58, 72.78, 73.30, 78.47, 78.64, 78.77, 128.20, 128.23, 128.53, 169.92, 170.42, 170.63, 171.02, 171.06, 171.33, 171.43, 171.53, 171.74, 171.84, 172.04, 172.18

• IR ; 3433, 3310, 2964, 2872, 1742, 1654, 1538, 1463, 1389, 1371, 1198, 1160

• $[\alpha]_D + 7.17^\circ$ (CHCl_3 , c 1.20, 25 °C)

• MALDI/TOFMS; 1295 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 1311 $[\text{M} + \text{K}]^+$

[0133] 41b ($\text{R} = \text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{COOBn}$)

• TLC ; $R_f = 0.23$ (F)

• mp ; 64.7 °C

• ^1H -NMR (CDCl_3); 0.82–1.01 (42H, m), 1.04 (3H, d, $J = 6.34$ Hz), 1.06 (3H, d, $J = 6.10$ Hz), 1.29–1.39 (2H, m), 1.40–1.54 (11H, m), 1.60–1.72 (6H, m), 1.72–1.82 (4H, m), 1.90–2.00 (1H, m), 2.03–2.14 (2H, m), 2.15–2.42 (9H, m), 3.09–3.19 (1H, m), 3.21–3.33 (1H, m), 4.03–4.12 (2H, m), 4.26–4.40 (2H, m), 4.41–4.53 (2H, m), 4.97 (1H, d, $J = 3.17$ Hz), 5.02–5.05 (2H, m), 5.11 (2H, s), 5.15–5.22 (1H, m), 5.25–5.33 (2H, m), 6.42–6.47 (1H, m), 7.29–7.40 (5H, m), 7.63–7.77 (3H, m), 7.84 (1H, d, $J = 7.32$ Hz), 7.91 (1H, d, $J = 7.07$ Hz)

• ^{13}C -NMR (CDCl_3); 15.91, 16.70, 16.99, 18.47, 18.56, 19.07, 19.21, 19.30, 19.35, 21.04, 21.36, 21.50, 23.07, 23.27, 23.34, 24.34, 24.52, 26

.41, 28.61, 28.74, 29.29, 30.29, 30.35, 30.49, 32.51, 34.09, 39.34, 40.27, 40.53, 48.31, 48.62, 48.90, 52.38, 59.10, 59.59, 66.11, 72.82, 73.17, 78.20, 78.61, 78.89, 128.16, 128.52, 135.97, 170.31, 170.43, 170.62, 170.89, 171.06, 171.25, 171.53, 171.68, 171.76, 173.36

・ IR ; 3298, 2963, 1744, 1657, 1538, 1461

・ MALDI/TOFMS; 1409 [M + Na]⁺, 1425 [M + K]⁺

[0134] (22) E-セレウリド およびEAHA-セレウリド (加水素分解反応によるベンジル基の除去)

水素添加用フラスコに、41 (20 mg)、メタノール (5 mL)および10% パラジウム炭素 (2 mg) の混合物を入れ、水素気流 (3 気圧) 下、室温で3時間攪拌した。TLCで反応の進行を確認した後、触媒を濾去、濾液を減圧濃縮しE-セレウリドおよびEAHA-セレウリドを得た。

E-セレウリド ;

・ 収率 ; quant

・ TLC ; R_f = 0.39 (B)

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 0.78-1.12 (48H, m), 1.40-1.54 (9H, m), 1.60-1.90 (8H, m), 2.06-2.16 (1H, m), 2.17-2.42 (6H, m), 2.42-2.63 (3H, m), 4.06-4.15 (2H, m), 4.25-4.35 (1H, m), 4.35-4.43 (1H, m), 4.43-4.56 (2H, m), 4.70-4.82 (1H, m), 4.92-5.04 (1H, m), 5.13-5.31 (1H, m), 6.82(1H, s), 7.60-7.92 (6H, m), 5.07 (1H, d, J = 3.17 Hz), 5.09-5.15 (1H, m), 5.17-5.25 (1H, m), 5.25-5.33 (1H, m), 7.34 (1H, d, J = 5.85 Hz), 7.43-7.50 (1H, m), 7.60-7.82 (4H, m), 8.03 (1H, s)

・ ¹³C-NMR (CDCl₃); 16.28, 16.48, 16.65, 16.85, 16.94, 18.52, 18.56, 18.73, 19.05, 19.17, 19.24, 21.08, 21.34, 21.40, 21.52, 23.08, 23.22, 23.29, 24.39, 24.61, 24.64, 27.93, 28.73, 29.70, 30.12, 30.48, 40.44, 40.50, 48.26, 48.46, 48.57, 52.4

8, 59.42, 72.71, 72.88, 73.57, 77.22, 77.92, 78.22, 78.53, 170.00, 17

0.11, 170.84, 171.16, 171.22, 171.34, 171.45, 171.54, 171.95

・ IR ; 3435, 3316, 2964, 1742, 1654, 1538, 1466, 1383, 1198

・ MALDI/TOFMS; 1205 [M + Na]⁺, 1221 [M + K]⁺

[0135] EAHA-セレウリド ;

・ 収率 ; quant

・ TLC ; Rf= 0.32 (B)

・ ¹H-NMR (CDCl₃); 0.75-1.00 (42H, m), 1.06 (6H, d, J = 5.85 Hz), 1.34-1.58 (13H,

m), 1.58-1.86(11H, m), 1.95-2.10 (1H, m), 2.17-2.42 (10H, m), 3.09-3.26 (1H, m), 3.26-3.44 (1H, m), 4.00-4.12 (1H, m), 4.12-4.22 (1H, m), 4.27-4.40 (2H, m), 4.40-4.50 (2H, m), 4.97 (1H, d, J = 3.17 Hz), 4.99-5.08 (2H, m), 5.13-5.31 (1H, m), 6.82(1H, s), 7.60-7.92 (6H, m)

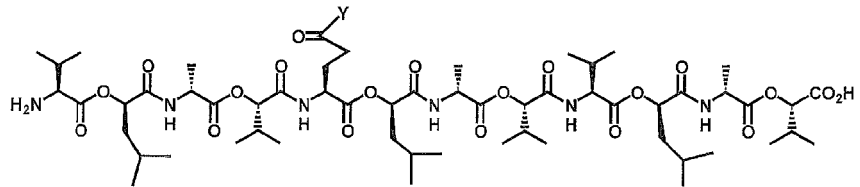
・ IR ; 3304, 2963, 2938, 2875, 1743, 1655, 1539, 1466, 1373, 1197

・ MALDI/TOFMS ; 1319 [M + Na]⁺, 1335 [M + K]⁺

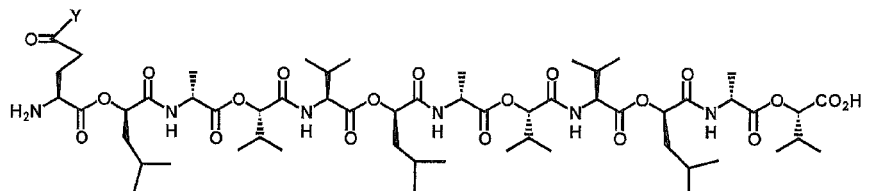
請求の範囲

[請求項1] 以下の式：

[化1]

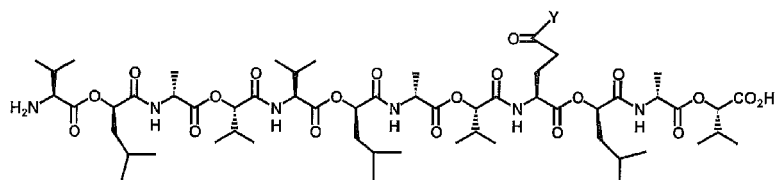


[化2]



および

[化3]

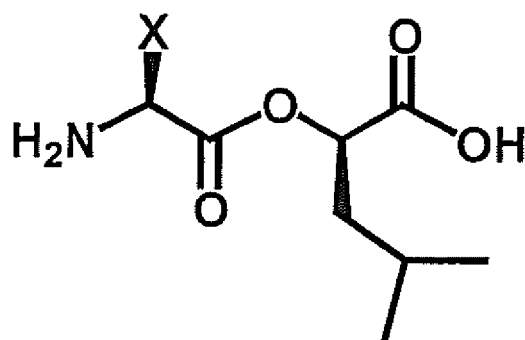
(ここで、Yは、OH、またはNH(CH₂)₅COOHを表わす)

からなる群より選択される、セレウリドまたはその誘導体の前駆体

。

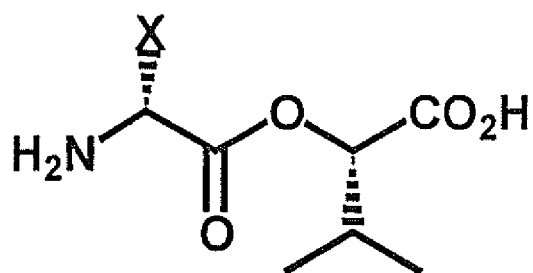
[請求項2]

[化4]



または

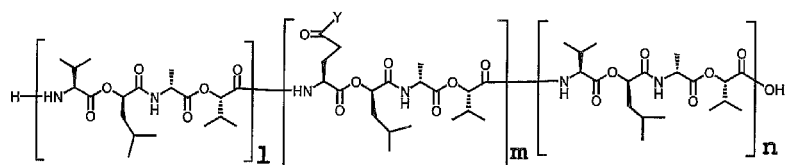
[化5]



(ここで、Xは、イソプロピル、 $(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、または $(\text{CH}_2)_2\text{CONH}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$ を表わす)で表されるジデブシペプチド。

[請求項3] 以下に示すデブシペプチド

[化6]

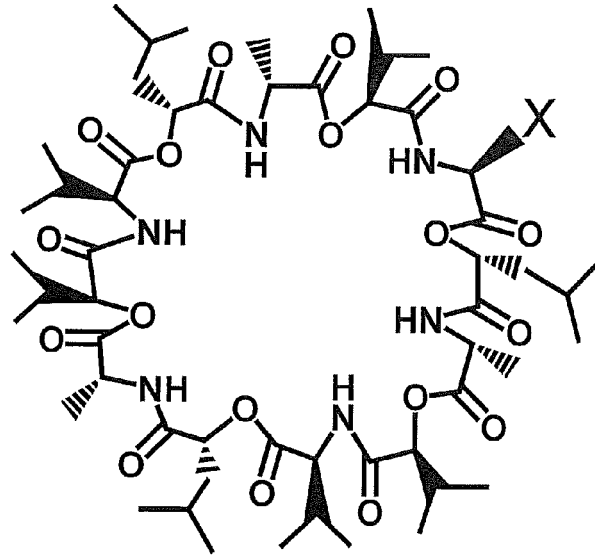


(ここで、Yは、OHまたは $\text{NH}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$ を表わし、lは

0～2の整数、 n は0～2の整数、 m は0または1の整数を示し、但し、 l 、 m 、および n は同時に0にはならず、 $l + m + n$ は2以下である。)

[請求項4]

[化7]



(ここで、 X は、イソプロピル、 $(CH_2)_2COOH$ 、または $(CH_2)_2CONH(CH_2)_5COOH$ を表わす)に示すセレウリドまたはその誘導体を製造する方法であって、請求項1記載のセレウリドまたはその誘導体の前駆体の分子内アミド結合形成による環化反応を含む、製造方法。

[請求項5]

請求項2記載のジデプシペプチドを調製する工程を含む、請求項4記載の製造方法。

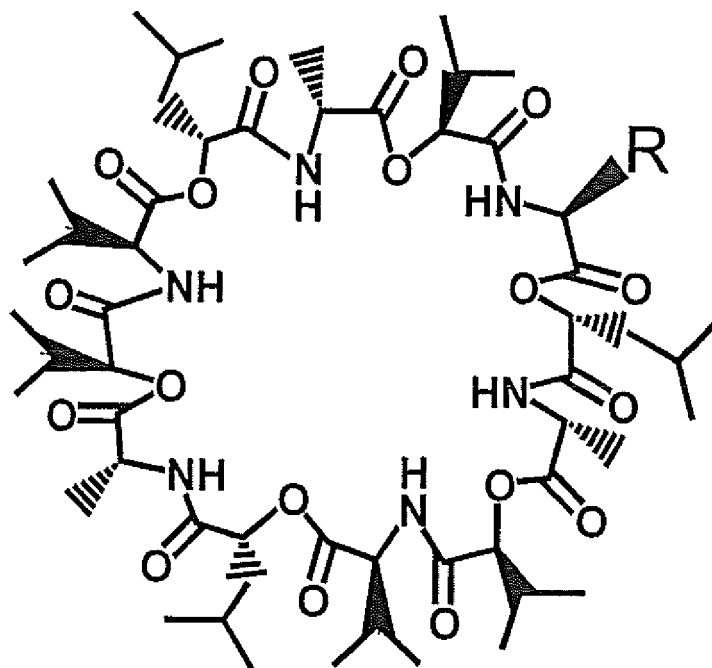
[請求項6]

さらに、請求項3記載のデプシペプチドを調製する工程を含む、請求項5記載の製造方法。

[請求項7]

以下の式：

[化8]



(ここで、Rは、 $(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、または $(\text{CH}_2)_2\text{CONH}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$ を表わす)
で示されるセレウリド誘導体。