



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201315391 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：101123273

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 06 月 28 日

(51)Int. Cl. : *A23L1/227 (2006.01)*

(30)優先權：2011/06/28 日本 2011-142890

(71)申請人：味之素股份有限公司 (日本) AJINOMOTO CO., INC. (JP)
日本

(72)發明人：加藤由美子 KATO, YUMIKO (JP)；水越利巳 MIZUKOSHI, TOSHIMI (JP)；鈴木裕美子 SUZUKI, YUMIKO (JP)；佐藤誠一 SATO, SEIICHI (JP)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：16 項 圖式數：0 共 75 頁

(54)名稱

羊毛硫胺酸衍生物的製造方法

(57)摘要

本發明係關於表示 CaSR 促效藥活性之新穎羊毛硫胺酸衍生物的製造方法、以及使用於用以製造該羊毛硫胺酸衍生物之中間體化合物、其中間體化合物之 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑及飲品原料。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201315391 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：101123273

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 06 月 28 日

(51)Int. Cl. : *A23L1/227 (2006.01)*

(30)優先權：2011/06/28 日本 2011-142890

(71)申請人：味之素股份有限公司 (日本) AJINOMOTO CO., INC. (JP)
日本

(72)發明人：加藤由美子 KATO, YUMIKO (JP)；水越利巳 MIZUKOSHI, TOSHIMI (JP)；鈴木裕美子 SUZUKI, YUMIKO (JP)；佐藤誠一 SATO, SEIICHI (JP)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：16 項 圖式數：0 共 75 頁

(54)名稱

羊毛硫胺酸衍生物的製造方法

(57)摘要

本發明係關於表示 CaSR 促效藥活性之新穎羊毛硫胺酸衍生物的製造方法、以及使用於用以製造該羊毛硫胺酸衍生物之中間體化合物、其中間體化合物之 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑及飲品原料。

發明專利說明書

(本申請書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101123273

※申請日：101年06月28日

※IPC分類：

A23L 1/227

(2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

羊毛硫胺酸衍生物的製造方法

二、中文發明摘要：

本發明係關於表示 CaSR 促效藥活性之新穎羊毛硫胺酸衍生物的製造方法、以及使用於用以製造該羊毛硫胺酸衍生物之中間體化合物、其中間體化合物之 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑及飲食品原料。

三、英文發明摘要：

四、指定代表圖：

(一) 本案指定代表圖為：無

(二) 本代表圖之元件符號簡單說明：無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：無

六、發明說明

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於表示 CaSR 促效藥活性之新穎羊毛硫胺酸衍生物的製造方法、以及使用於用以製造該羊毛硫胺酸衍生物之中間體化合物、其中間體化合物之 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑及飲食品原料。

【先前技術】

近年來，因飲食生活的多樣化等，消費者對味覺的要求逐漸升高，隨此對於僅以甜味、鹹味、酸味、苦味、鮮味所表示之 5 種基本味道不能表現之厚度、廣度、持續性、統合等之前述基本味道之周邊風味，可賦予亦增強其之味覺「濃郁味道」之優異的濃郁風味賦予劑的需求升高。

另一方面，鈣感受性受體 (Calcium Sensing Receptor:CaSR)亦稱為鈣受體，但該受體訊號係調節各種生物體內機能，具有 CaSR 促效藥活性之物質係可作為濃郁風味賦予劑使用(專利文獻 1、非專利文獻 1)。

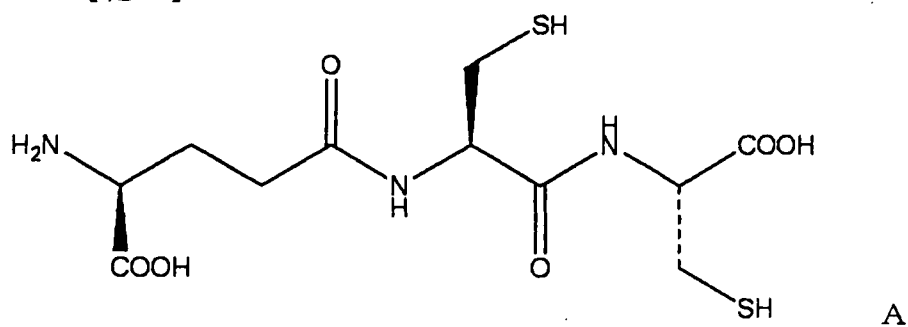
另外，自古以來已知穀胱甘肽作為具有濃郁風味賦予活性之化合物。然而，穀胱甘肽係於分子內含有含硫胺酸之半胱胺酸，所以有安定性或臭味等方面上之課題。

因此，尋求提供表示 CaSR 促效藥活性之新穎羊毛硫胺酸衍生物的製造方法、以及使用於用以製造該羊毛硫胺酸衍生物之中間體化合物、其中間體化合物之 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑及飲食品原料。

非專利文獻 2 係揭示以後述式 A 所表示之化合物之合成方法。

非專利文獻 3 係揭示關於由半胱胺酸衍生物轉換成羊毛硫胺酸衍生物之反應。非專利文獻 4 係揭示關於含絲胺酸硫酸酯之胜肽衍生物之反應。

【化 1】



先前技術文獻

[專利文獻]

[專利文獻 1]國際公開第 2007/055393 號手冊

[專利文獻 2]特開 2011-115186 號公報

[非專利文獻]

[非專利文獻 1]The Journal of Biological Chemistry(2010), 285(2), 1016-22

[非專利文獻 2]Amino Acids(1999), 17, 257-265

[非專利文獻 3]J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1991
903-904

[非專利文獻 4]J. Chem. Soc., Perkintrans.1 2002
682-686

【發明內容】

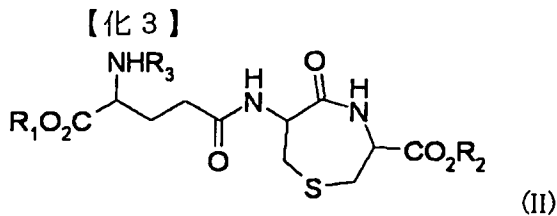
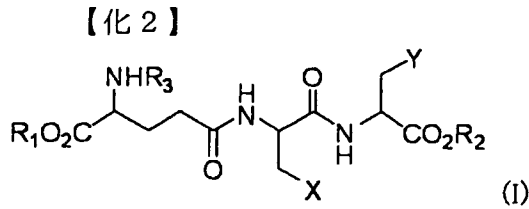
發明所欲解決之課題

本發明係以提供表示 CaSR 促效藥活性之新穎羊毛硫胺酸衍生物的製造方法、以及使用於用以製造該羊毛硫胺酸衍生物之中間體化合物、其中間體化合物之 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑及飲食品原料為課題。

本發明者係至今探索各種化合物之結果，發現新穎化合物之羊毛硫胺酸衍生物具有高 CaSR 促效藥活性以及極佳之濃郁風味賦予效果，藉由添加所發現之化合物，發現可得到濃郁風味增強之適合的飲食品原料。因此，在此本發明者得到關於該新穎羊毛硫胺酸衍生物的製造方法、以及使用於用以製造該羊毛硫胺酸衍生物之中間體化合物、其中間體化合物之 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑及飲食品原料，使本發明完成。

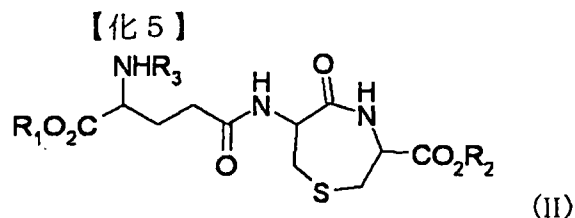
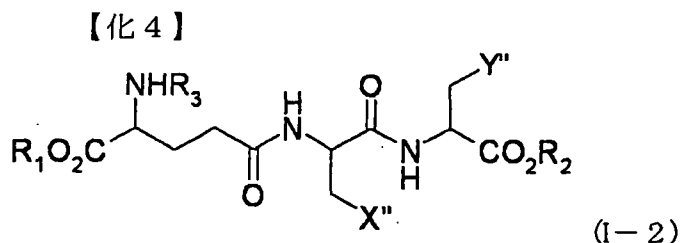
課題之解決手段

亦即，本發明係提供包含藉由使於鹼性條件下反應，使後述以一般式(I)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽變換成以式(II)所表示之化合物(後述亦稱為「化合物(II)」)或其化學上所容許的鹽之步驟之化合物(II)或其化學上所容許的鹽的製造方法。



前述式 (I) 及式 (II) 中， R_1 及 R_2 係可分別相同或相異，氫原子或可被取代之低級烷基， R_3 係氫原子、可被取代之烷氧基羰基、可被取代之磺醯基或醯基， X 及 Y 係可為相同或相異， X 係 SR_4 、 OR_5 或鹵原子， Y 雖表示 SR_6 、 OR_7 或鹵原子，但在此 X 及 Y 中至少一方為 SR_4 或 SR_6 ， R_4 及 R_6 係表示可分別相同或相異，氫原子、醯基、可被取代之低級烷基、 PO_3H_2 或 SO_3H ， R_5 及 R_7 係表示可分別相同或相異，醯基、可被取代之低級烷基、 PO_3H_2 或 SO_3H 。

另外，本發明係包含將後述以一般式 (I-2) 所表示之化合物或其化學上所容許的鹽，藉由環化反應，變換成以式 (II) 所表示之化合物或其化學上所容許的鹽之步驟之化合物 (II) 或其化學上所容許的鹽的製造方法。



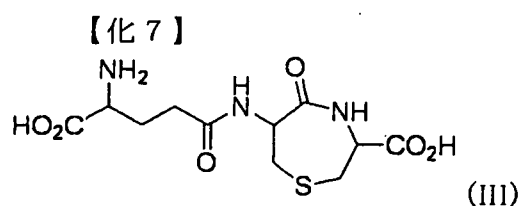
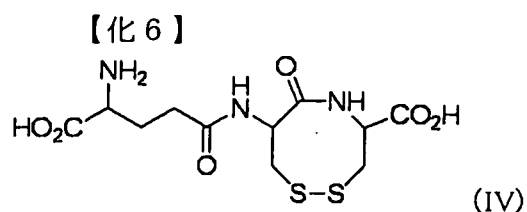
(式中， R_1 及 R_2 係可分別相同或相異，氫原子或可被取代之低級烷基，

R_3 係氫原子、可被取代之烷氧基羰基、可被取代之磺醯基或醯基，

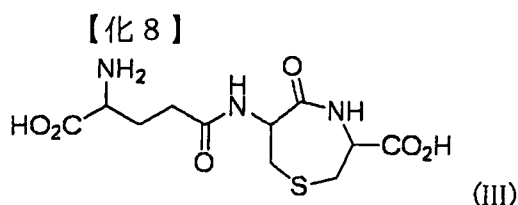
X'' 及 Y'' 係 SH 、 SR_4 、 OR_5 或鹵原子， X'' 及 Y'' 中一方為 SH ，並且另一方非 SH ，

R_4 及 R_5 係表示可分別相同或相異，醯基、可被取代之低級烷基、 PO_3H_2 或 SO_3H 。)

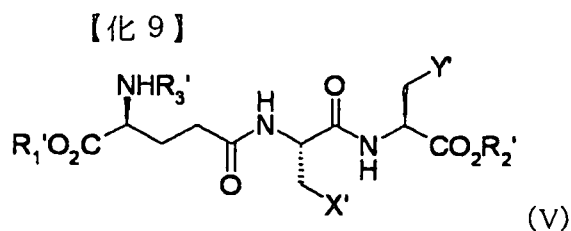
另外，本發明係提供藉由使於鹼性條件下反應，使後述以式(IV)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽變換成化合物(III)或其化學上所容許的鹽所表示之化合物之步驟為特徵之化合物(III)或其化學上所容許的鹽的製造方法。



另外，本發明亦提供包含以式(II)所表示之化合物中之 R_1 、 R_2 及 / 或 R_3 為氫原子以外的基時，自以式(II)所表示之化合物，將該氫原子以外的基之保護基去保護之步驟之以式(III)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽的製造方法。



進而，本發明亦提供後述以式(V)所表示之化合物、或其化學上所容許的鹽。



前述式(V)中， R_1' 及 R_2' 係可分別相同或相異，氫原子或可被取代之低級烷基， R_3' 係氫原子、可被取代之烷

氧基羰基或可被取代之磺醯基，X'及 Y'中任一方為 SH，另一方為 OR₅'，R₅'係表示氫原子、醯基、可被取代之低級烷基、PO₃H₂或 SO₃H。但是 X'為 SH時，Y'並非 OH。

另外，本發明亦提供使用於用以製造前述以式(V)所表示之化合物、或其化學上所容許的鹽之 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑、飲食品原料。

用以實施發明之最佳型態

後述係詳述關於本發明。

本發明中，所謂「可被取代」係指可為經修飾的取代基或具有 1 個或多個原子之取代基，作為該取代基，雖可為該領域常用的通常的取代基中任一個皆可，但除了特別規定之外，可舉例如鹵原子、低級烷基、鹵化低級烷基、低級鏈烯基、芳基、羥基、甲氧基、乙氧基、乙醯氧基、羧基、硝基、胺基等，以低級烷基、低級鏈烯基、芳基為宜。

本發明中，所謂「低級烷基」係指直鏈、支鏈或環狀之碳數 1~6 個之烷基，具體上可舉例如甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、叔丁基等，以列舉甲基、乙基等為宜。

所謂「烷氧基羰基」係指烷基-O-(CO)-，在此所謂烷基係前述碳數 1-6 之烷基，可列舉甲基、乙基、丙基、叔丁基等，以 Boc 基尤佳。另外，作為具有取代基時之取代基係除了前述的取代基之外，以例如苯基、9H-芴基等為

宜。

所謂「醯基」係指烷基-O-，在此所謂烷基係與前述相同。另外，作為具有取代基時之取代基係除了前述的取代基之外，以例如 C₁₋₃ 烷基等為宜。

本發明中，一般式(I)或(II)中，以後述者為宜。

X 係 SR₄，Y 係 OR₇。

X 係 OR₅，Y 係 SR₆。

X 係 SR₄，Y 係 SR₆。

X 係 SR₄，Y 係 SR₆，R₄ 及 R₆ 係 SO₃H。

X 及 Y 係可為相同或相異，表示 SH 或 OH，但在此 X 及 Y 中至少一方係表示 SH。

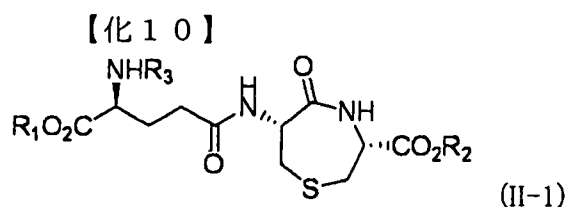
X 係 SR₄，Y 係 SR₆，R₄ 或 R₆ 中任一為氫原子。

X 係 SR₄，Y 係 SR₆，R₄ 及 R₆ 皆為氫原子。

本發明中，一般式(I)或(II)中，以後述者尤佳。

X 係 SR₄，Y 係 SR₆，R₄ 及 R₆ 為 SO₃H，R₁、R₂ 及 R₃ 中任一為氫原子。另外，X' 或 Y' 為 SH 時，一般式(I)或(I-2)所表示之 2 種化合物隔著雙硫鍵而成之二聚化之化合物(氧化型二聚物)亦包含在本發明。

對於一般式(II)中之 3 個不對稱碳，雖任一為立體配置之化合物皆可，但以後述式(II-1)所表示之配置為宜。



本發明中，作為「化學上所容許的鹽」，具體上可舉例如對於羧基等之酸性基係銨鹽、與鈉、鉀等之鹼金屬鹽，與鈣、鎂等之鹼土類金屬鹽、鋁鹽、鋅鹽、與三乙基胺、乙醇胺、嗎啉、吡啶、哌啶、哌嗪、二環己基胺、四丁基銨鹽等之有機胺鹽、與精胺酸、賴胺酸等之鹼性胺基酸鹽。另外，對於鹼性基，可列舉與鹽酸、硫酸、磷酸、硝酸、氫溴酸等之無機酸鹽、與醋酸、檸檬酸、苯甲酸、馬來酸、富馬酸、酒石酸、琥珀酸、鞣酸、酪酸、hibenzate、雙羥萘酸、庚酸、癸酸、茶綠酸、水楊酸、乳酸、草酸、苦杏仁酸、蘋果酸等之有機羧酸鹽、與甲磺酸、苯磺酸、對甲苯磺酸等之有機磺酸鹽。

本發明之化合物(II)或其他化學上所容許的鹽的製造方法係可藉由例如有機合成化學的方法所達成。

於本發明之化合物(II)或其他化學上所容許的鹽的製造方法所使用之溶劑，只要通常所使用者即可，無特別的限定，但以使用水性溶劑為宜。另外，於本發明之化合物(II)或其他化學上所容許的鹽的製造方法中，所謂「使於鹼性條件下反應」係指以氫氧化鈉、氫氧化鉀、三乙基胺等之鹼使反應液之 pH 成鹼性狀態下反應，該鹼性反應液之 pH 係大體上於 pH8.0~14，以 pH9.0~13 為宜，以 pH9.5~12.5 尤佳。另外，反應可於室溫，但以加熱為宜。尤其，於一般式(I)中，X 及 Y 為 SH 或 OH 時，以加熱為宜。加熱時，只要該領域通常所使用之溫度及加熱時間即可，並無特別的限定，但以 40°C~100°C 之溫度為

宜，以 60°C ~ 100°C 之溫度範圍尤佳，進而以 80°C ~ 100°C 之溫度範圍更好。另外，加熱時間係以 1 小時 ~ 20 小時為宜，以 2 小時 ~ 12 小時尤佳，進而以 3 小時 ~ 8 小時更好。

將本發明之式 (I -2) 所表示之化合物或其化學上所容許的鹽，藉由環化反應，變換成化合物 (II) 或其化學上所容許的鹽之步驟中，反應液之 pH 雖無特別限定，但大體上於 pH8.0 ~ 14，以 pH9.0 ~ 13 為宜，以 pH9.5 ~ 12.5 尤佳。另外，此時所使用之溶劑係只要通常所使用者即可，並無特別限定，但可列舉水、甲醇、乙醇、異丙醇、二噁烷、四氫呋喃、甲苯等。溫度係以 0°C ~ 100°C 之溫度為宜，以 40°C ~ 100°C 之溫度範圍尤佳，進而以 80°C ~ 100°C 之溫度範圍更好。式 (I -2) 中，作為 R₁、R₂ 及 R₃ 所表示之適合基係可列舉式 (I) 中 R₁、R₂、R₃ 之適合基，另外，作為 X" 之適合基係可列舉巯基、磷醯氧基、磺醯氧基、甲磺醯氧基、氯原子、溴原子、碘原子等，Y" 之適合基係可列舉巯基、磷醯氧基、磺醯氧基、甲磺醯氧基、氯原子、溴原子、碘原子等。

另外，R₁、R₂、R₃ 係氫原子，Xw" 及 Y" 係巯基之化合物之加熱反應中，於前述鹼性條件下加熱之前，於弱酸性條件下進行加熱為宜。溫度並無特別的限制，但以 40°C ~ 100°C 之溫度為宜，以 60°C ~ 100°C 之溫度範圍尤佳，進而以 60°C ~ 80°C 之溫度範圍更好。反應液之 pH 係大體上於 pH3 ~ 6，以 pH3.5 ~ 5.5 為宜，以 pH4.0 ~ 5.0 尤

佳。進而，加熱反應初期係以添加 2 價或 3 價之金屬鹽為宜，以鐵、鈣、鎂、鋅鹽尤佳。添加金屬鹽時，加熱反應中途，加入具有螯合能之化合物等為宜，可列舉 EDTA(乙二胺四乙酸)、EGTA(乙二醇二乙醚二胺四乙酸)、檸檬酸、各種螯合樹脂等。如此地只要有鹼性條件下之加熱步驟，於其他步驟，具有弱酸性條件下之加熱步驟者，亦包含於本發明之製作方法。

使本發明之以式(IV)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽變換成以化合物(III)所表示之化合物之步驟中所使用之溶劑雖無特別限定，但以使用水性溶劑為宜。

使本發明之以式(IV)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽變換成以化合物(III)所表示之化合物之步驟係可以非專利文獻 3 所記載之方法進行，但此時所謂的「使於鹼性條件下反應」係指以氫氧化鈉、氫氧化鉀、三乙基胺等之鹼使反應液之 pH 成鹼性狀態下反應，該鹼性反應液之 pH 係大體上於 pH8.0~14，以 pH9.0~13 為宜，以 pH9.5~12 尤佳。另外，反應可於室溫，但以加熱為宜。加熱時，只要該領域通常所使用之溫度及加熱時間即可，並無特別的限制，但以 40℃~100℃ 之溫度為宜，以 60℃~100℃ 之溫度範圍尤佳，進而以 80℃~100℃ 之溫度範圍更好。另外，加熱時間係以 1 小時~20 小時為宜，以 2 小時~12 小時尤佳，進而以 3 小時~8 小時更好。另外，加熱反應時，亦可加入二硫蘇糖醇(DTT)等之巰類、三(2-羧乙基)膦(TCEP(Tris(2-carboxyethyl)phosphine))等之膦

類。

包含式(II)所表示之化合物中 R_1 、 R_2 及 / 或 R_3 係氫以外的基時，自以式(II)所表示之化合物，將該氫以外的基之保護基去保護之步驟之以式(III)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽的製造方法中，去保護係可適時地應用記載於 *Protective Groups in Organic Synthesis* 第 3 版 (T.W.Green, P.G.M.Wuts 著, JOHN WILLY & SONS, INC. 發行) 之方法。

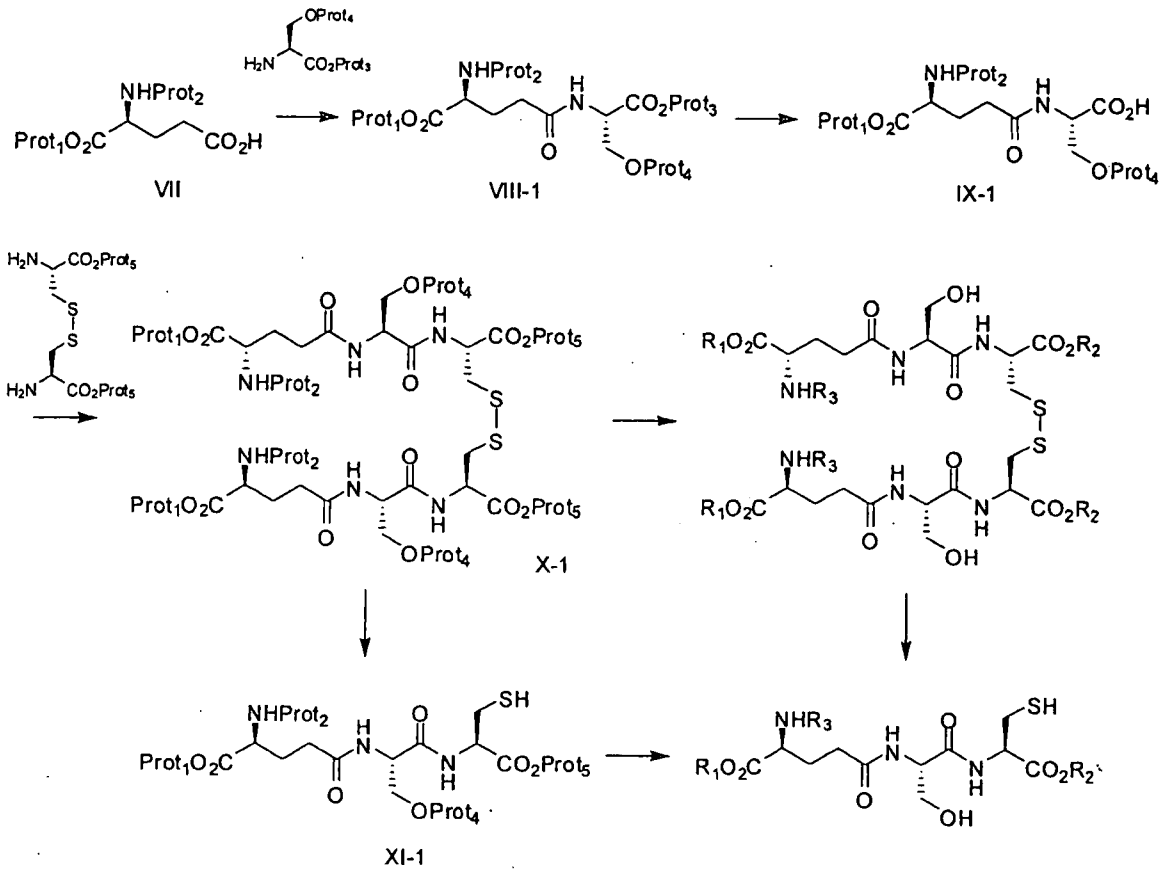
另外，本發明之化合物(II)或其化學上所容許的鹽的製造方法亦可藉由例如含有適當的起始原料之飲食品原料處理而達成。例如將含有 γ -Glu-Cys-Cys 或 γ -Glu-Ser-Cys、或此等衍生物之微生物培養液等，進行加熱處理，亦可於反應系得到羊毛硫胺酸衍生物。如此方法亦為本發明之另一種型態。

本發明之方法中使用的化合物(I)(包含本發明之化合物(I-2)及(V)，以下亦簡稱本發明之化合物(I))或其化學上所容許的鹽係可例如藉由有機合成化學的方法而製造。

例如 X 係可被取代之氧原子，Y 係可被取代之硫原子之前述化合物(I)係可依據後述合成流程圖 I 而合成。

流程圖 I

【化 1 1】



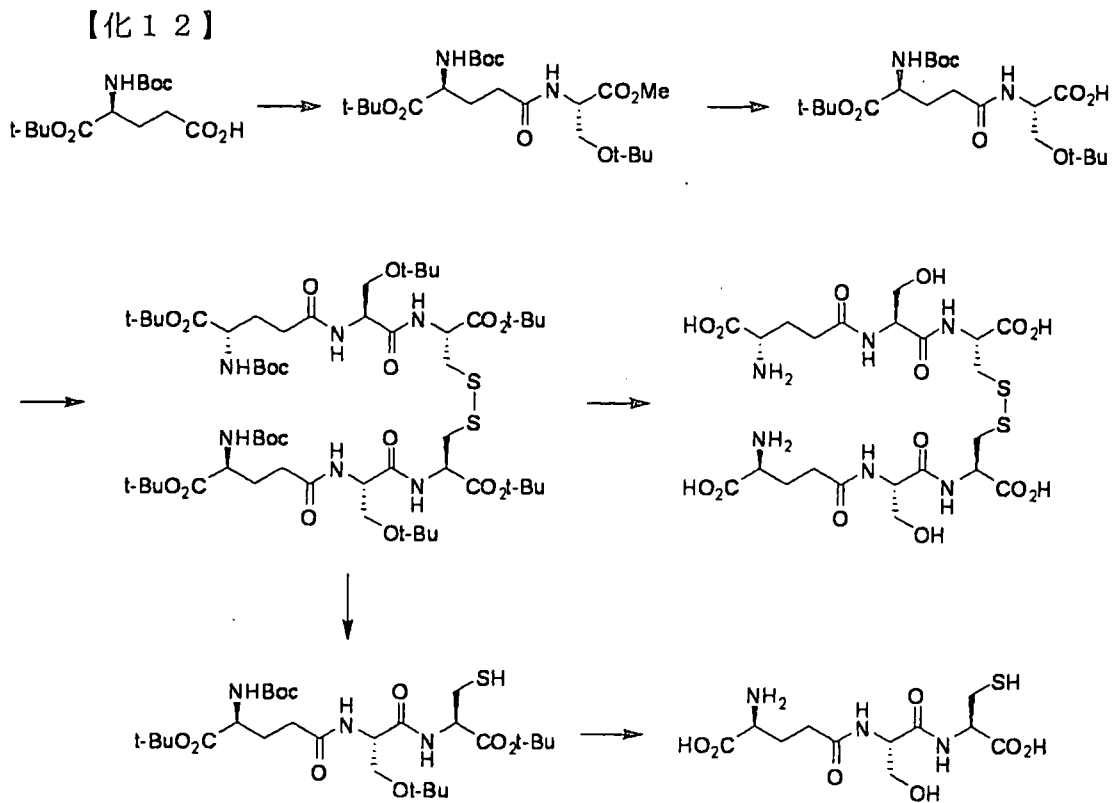
(式中，Prot1 至 Prot5 係表示分別獨立之適當的保護基。)

詳細敘述時，首先將麩胺酸衍生物 (VII) 與絲胺酸衍生物，藉由通常使用之縮合劑而得到二胜肽 (VIII-1)。接著將化合物 (VIII-1) 水解所得之羧酸 (IX-1) 與胱胺酸衍生物進行縮合而成三胜肽 (X-1)。對於三胜肽 (X-1)，藉由直接去保護，可得到氧化型二聚物之化合物 (I)。另一方面，將化合物 (X-1) 之雙硫鍵，藉由例如使用磷衍生物進行還原，可得到硫醇化合物 (XI-1)，藉由去除化合物 (XI-1) 之保護基，可得到還原型化合物 (I)。還原型化合物亦可藉由將氧化型化合物 (I)，使用與前述相同的磷衍生物進行還

原而得。如此操作所得之一般式(I)所表示之化合物係藉由已知之分離手段，例如減壓濃縮、溶劑萃取、晶析、層析等而可離析精製。

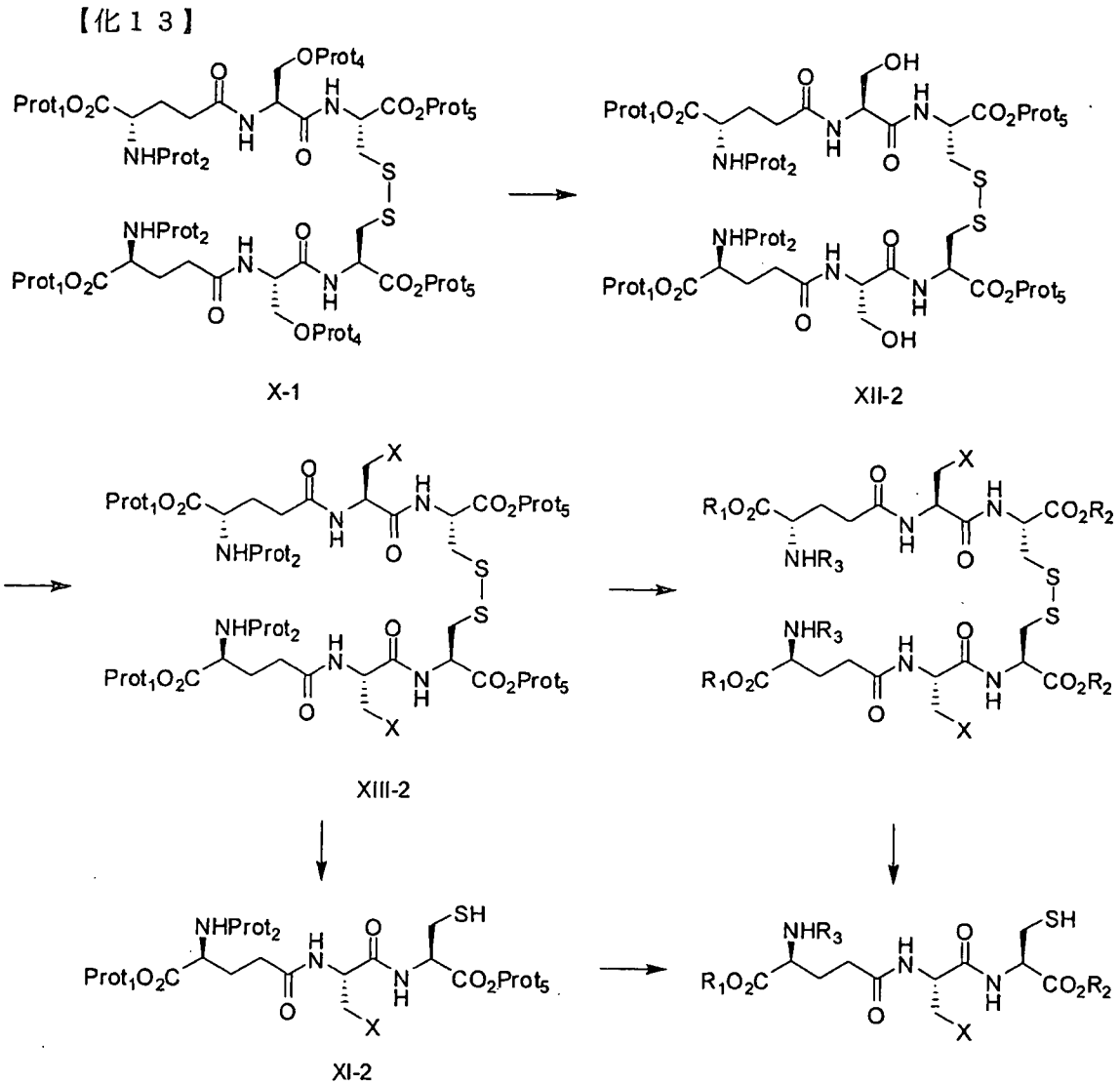
另外，作為化合物(I)或(V)之一例， R_1 、 R_2 及 R_3 (R_1' 、 R_2' 及 R_3')係氫原子， X (X')係羥基， Y (Y')係巰基(包含其氧化型二聚物)之化合物係可依據例如後述合成流程圖II而製造。

流程圖 II



X 係可被取代之氧原子、鹵原子， Y 係可被取代之硫原子之前述化合物(I)係可依據後述合成流程圖III而合成。

流程圖 III



(式中，Prot1 至 Prot5 係表示分別獨立之適當的保護基。)

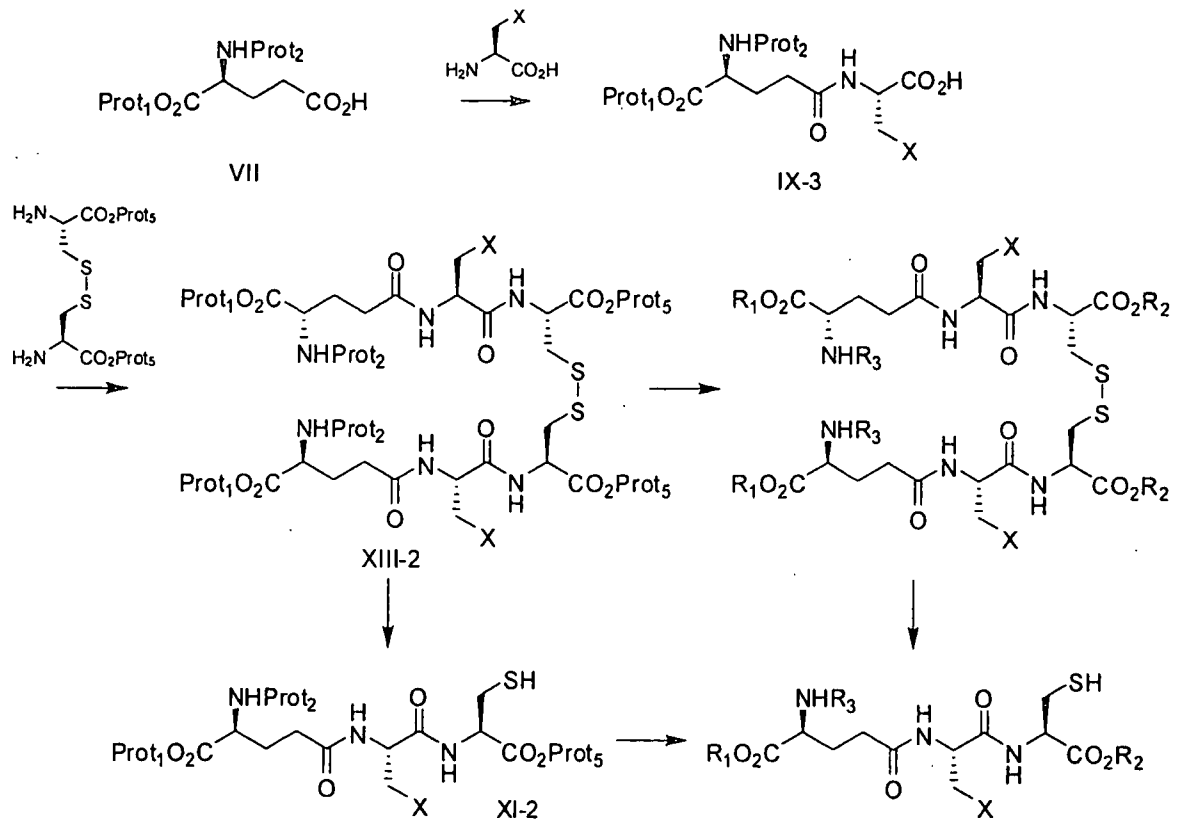
詳細敘述時，將流程圖 I 所得之化合物 (X-1) 之保護基 4 (Prot4) 去保護之化合物 (XII)，藉由通常所使用的試劑，例如磷醯氯、磺醯氯而衍生出磷酸衍生物、磺酸衍生物，使用鹵素及磷衍生物等而可衍生出鹵素衍生物。將所得之 (XIII-2) 藉由直接去保護，可得到氧化型二聚物之化合物 (I)。另一方面，將化合物 (XIII-2) 之雙硫鍵，藉由例

如使用磷衍生物進行還原，可得到硫醇化合物(XI-2)，藉由去除化合物(XI-2)之保護基，可得到還原型化合物(I)。還原型化合物(I)亦可藉由將氧化型化合物(I)，使用與前述相同的磷衍生物進行還原而得。如此操作所得之以一般式(I)所表示之化合物係藉由已知之分離手段，例如減壓濃縮、溶劑萃取、晶析、層析等而可離析精製。

X 係可被取代之氧原子、鹵原子，Y 係可被取代之硫原子之前述化合物(I)係可依據後述合成流程圖IV而合成。

流程圖 IV

【化 1 4】



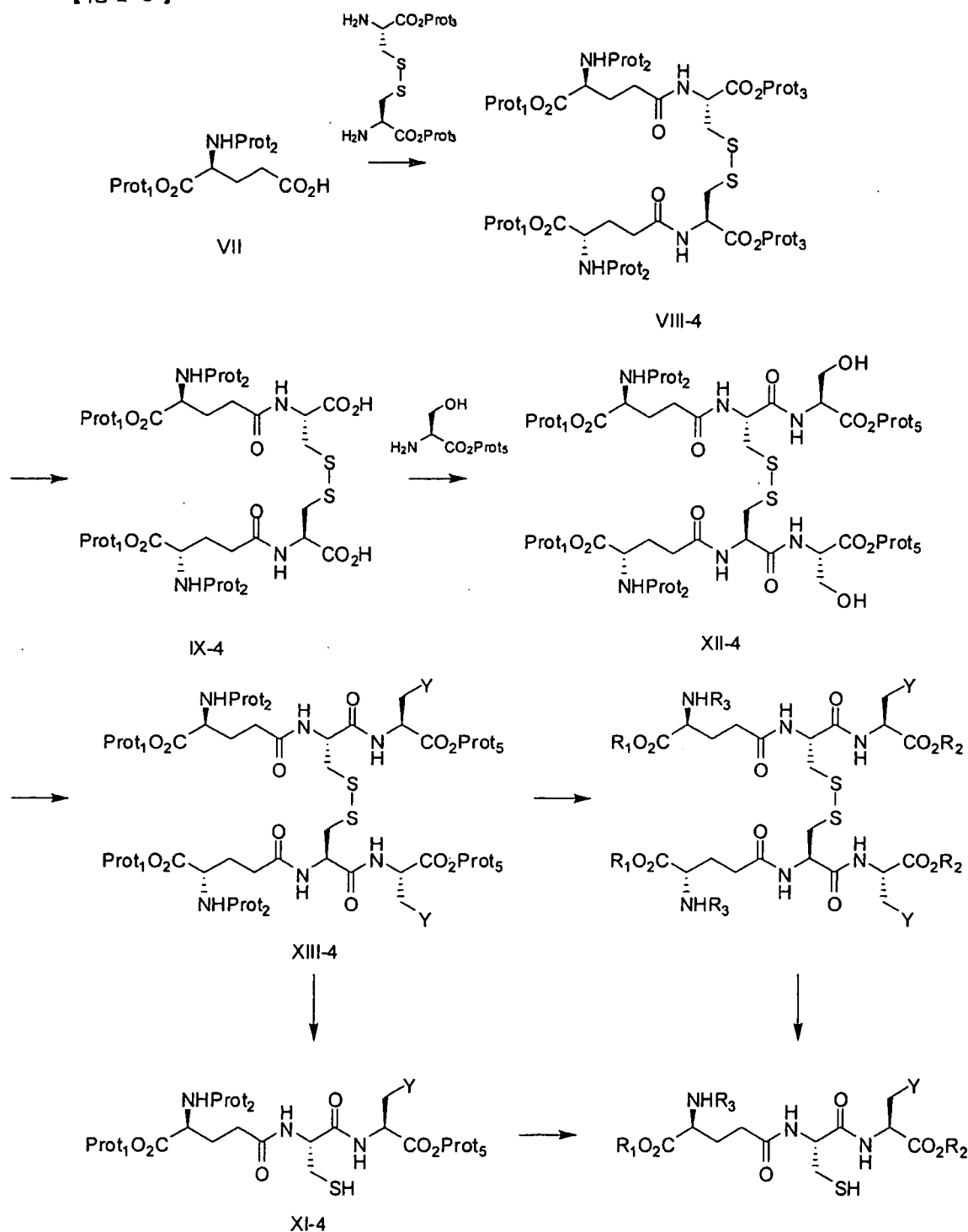
詳細敘述時，首先將麩胺酸衍生物(VII)與取代丙胺酸

衍生物，藉由通常使用之縮合劑而得到二胜肽 (IX -3)。接著將化合物 (IX -3) 與胱胺酸衍生物進行縮合而成三胜肽 (X III -2)。對於三胜肽 (X III -2)，藉由直接進行去保護，可得到氧化型二聚物之化合物 (I)。另一方面，將化合物 (X III -2) 之雙硫鍵，藉由例如使用磷衍生物進行還原，可得到硫醇化合物 (X I -2)，藉由去除化合物 (X I -2) 之保護基，可得到還原型化合物 (I)。還原型化合物亦可藉由將氧化型化合物 (I)，使用與前述相同的磷衍生物進行還原而得。如此操作所得之以一般式 (I) 所表示之化合物係藉由已知之分離手段，例如減壓濃縮、溶劑萃取、晶析、層析等而可離析精製。

X 係可被取代之硫原子，Y 係可被取代之氧原子、鹵原子之前述化合物 (I) 係可依據後述合成流程圖 V 而合成。

流程圖 V

【化 1 5】



(式中，Prot1 至 Prot5 係表示分別獨立之適當的保護基。)

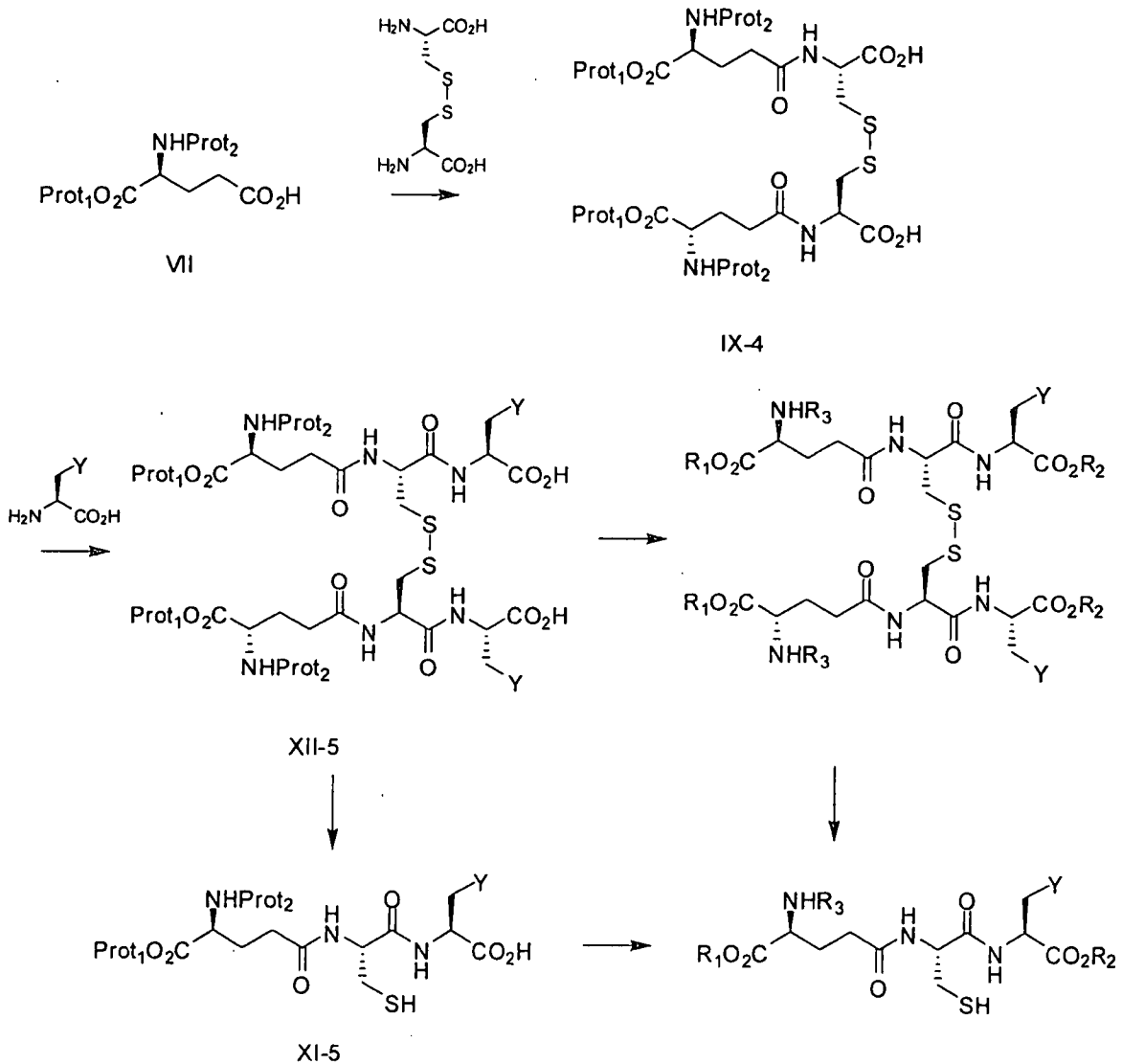
詳細敘述時，首先將麩胺酸衍生物 (VII) 與胱胺酸衍生物，藉由通常使用之縮合劑而得到二胜肽 (VIII-4)。接著將

化合物(VIII-4)水解所得之羧酸(IX-1)與絲胺酸衍生物進行縮合而成三胜肽(XII-4)。將三胜肽(XII-4)，藉由通常所使用的試劑，例如磷醯氯、磺醯氯而衍生出磷酸衍生物、磺酸衍生物，使用鹵素及磷衍生物等而可衍生出鹵素衍生物。將所得之(XIII-4)藉由直接進行去保護，可得到氧化型二聚物之化合物(I)。另一方面，將化合物(XIII-4)之雙硫鍵，藉由例如使用磷衍生物進行還原，可得到硫醇化合物(XI-4)，藉由去除化合物(XI-4)之保護基，可得到還原型化合物(I)。還原型化合物(I)亦可藉由將氧化型化合物(I)，使用與前述相同的磷衍生物進行還原而得。如此操作所得之以一般式(I)所表示之化合物係藉由已知之分離手段，例如減壓濃縮、溶劑萃取、晶析、層析等而可離析精製。

X係可被取代之硫原子，Y係可被取代之氧原子、鹵原子之前述化合物(I)，亦可依據後述合成流程圖VI而合成。

流程圖 VI

【化 1 6】

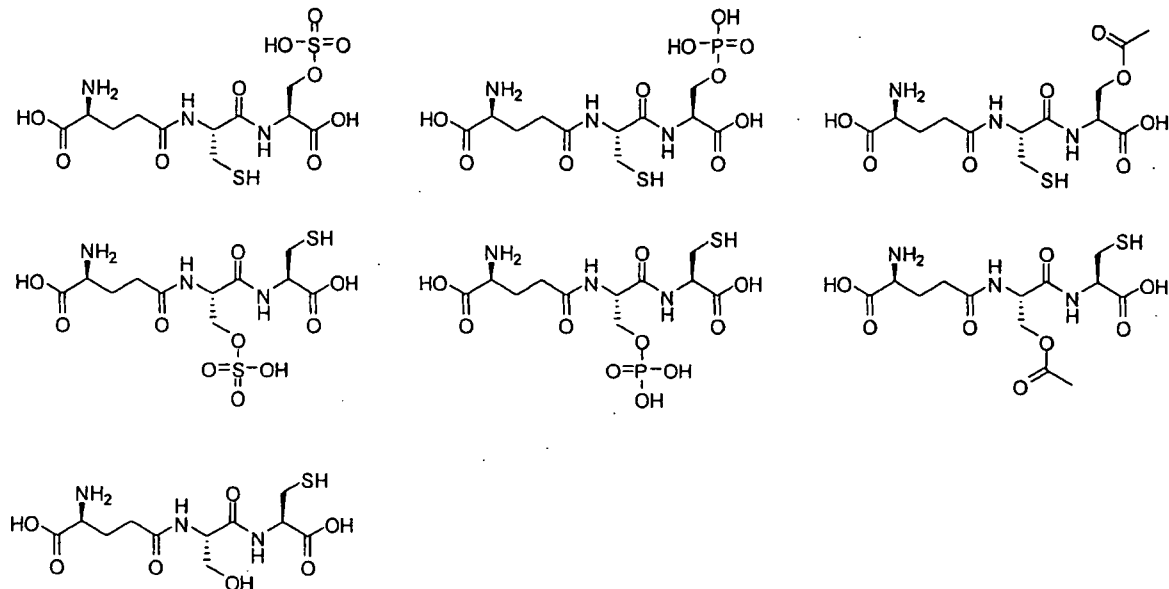


詳細敘述時，首先將麩胺酸衍生物 (VII) 與胱胺酸衍生物，藉由通常使用之縮合劑而得到二胜肽 (IX - 4)。接著將化合物 (IX - 4) 與取代丙胺酸衍生物進行縮合而成三胜肽 (XII - 5)。將三胜肽 (XII - 5)，藉由直接進行去保護，可得到氧化型二聚物之化合物 (I)。另一方面，將化合物 (XII - 5) 之雙硫鍵，藉由例如使用磷衍生物進行還原，可得到硫醇

化合物(X I -5)，藉由去除化合物(X I -5)之保護基，可得到還原型化合物(I)。還原型化合物亦可藉由將氧化型化合物(I)，使用與前述相同的磷衍生物進行還原而得。如此操作所得之以一般式(I)所表示之化合物係藉由已知之分離手段，例如減壓濃縮、溶劑萃取、晶析、層析等而可離析精製。

本發明之以式(V)所表示之化合物、或其化學上所容許的鹽係以後述的化合物、或其化學上所容許的鹽為宜。

【化17】

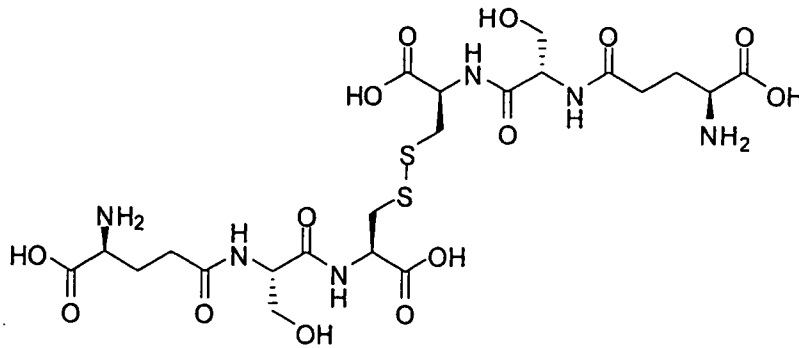


本發明之以式(V)所表示之化合物、或其化學上所容許的鹽係以 γ -Glu-Ser-Cys、 γ -Glu-Ser(SO₃H)-Cys、 γ -Glu-Ser(PO₃H₂)-Cys、 γ -Glu-Ser(Ac)-Cys、 γ -Glu-Cys-Ser-(SO₃H)、 γ -Glu-Cys-Ser(PO₃H₂)、 γ -Glu-Cys-Ser(Ac)為宜。在此，Ser(SO₃H)係指絲胺酸硫

酸酯， $\text{Ser}(\text{PO}_3\text{H}_2)$ 係指磷酸絲胺酸， $\text{Ser}(\text{Ac})$ 係指 O-乙醯絲胺酸。

進而，作為本發明之式(V)所表示之化合物，例如 X'或 Y'為 SH 時，2 個式(V)所表示之化合物係隔著雙硫鍵而二聚體化之化合物(氧化型二聚物)亦包含於本發明。作為該氧化型二聚物係可舉例如後述之化合物。

【化 18】



藉由本發明之製造方法所得之以式(II)或(III)所表示之化合物係藉由已知之分離手段，例如減壓濃縮、溶劑萃取、晶析、層析等而可離析精製。

藉由本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物，因為具有優異的 CaSR 促效藥活性、優異的濃郁風味賦予效果，所以可作為 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑使用。因此，可將中間體化合物之以式(V)所表示之化合物、或其化學上所容許的鹽，使用於用以製造 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑及飲食品原料。將中間體化合物之以式(V)所表示之化合物、或其化學上所容許的鹽，使用於製造 CaSR 促效藥時，因應需要，亦可使 CaSR 促效藥含有醫

藥上所容許的載體、稀釋劑等，另外，作為羊毛硫胺酸衍生物的量係相對於 CaSR 促效藥的重量，可使用添加成含有 10ppb~99.9%，以 0.05ppm~99.9%為宜，以 0.1ppm~99.9%尤佳。同樣地，將中間體化合物之以式(V)所表示之化合物、或其化學上所容許的鹽，使用於製造濃郁風味賦予劑及飲食品原料時，亦可於此等中添加可以食用之各種食品添加物等，另外，作為羊毛硫胺酸衍生物的量係相對於濃郁風味賦予劑及飲食品原料的重量，可使用添加成含有 10ppb~99.9%，以 0.05ppm~99.9%為宜，以 0.1ppm~99.9%尤佳。

另外，藉由本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物係藉由與選自麩胺酸鈉(MSG)等之胺基酸類、肌核苷單磷酸(IMP)等之核酸類、氯化鈉等之無機鹽類、檸檬酸等之有機酸類、各種酵母萃取物等之至少 1 種其他的調味原料組合使用，與單獨使用其他調味原料時相比較，可提供濃郁風味更加增加之適宜的調味料。將藉由本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物，與前述其他調味原料組合使用時之濃度，只要是該業者，經由官能評估等之檢討而可適當地設定，但若舉一例時，對於最終濃度，使含有 0.1ppm~500ppm 程度之本發明之羊毛硫胺酸衍生物即可。

本發明中所謂「濃郁」係意味著以甜味(sweet taste)、鹹味(salty taste)、酸味(sour taste)、苦味(bitter taste)、鮮味(umami)所表示之 5 種基本味道(five basic tastes)不

能表現的風味，不僅基本風味，亦增強厚度 (thickness)、廣度 (growth(mouthfulness))、持續性 (continuity)、統合 (harmony) 等基本風味之周邊風味 (marginal tastes) 之風味。在此，所謂「賦予濃郁風味」係指以甜味、鹹味、酸味、苦味、鮮味所表示之 5 種基本風味增強，以及隨其而賦予厚度、廣度、統合等之基本風味之周邊風味。另外，亦可將此以呈味增強作用表現。因此，藉由本發明之製造方法所製造之化合物亦可作為呈味增強劑 (Flavor Enhancer) 表現。藉由本發明之製造方法所製造之化合物亦可作為甜味增強劑、鹹味增強劑、酸味增強劑、苦味增強劑或鮮味增強劑使用。

另外，味覺係隨著食用後時間經過而改變，依剛食用後之順序，稱為先味 (initial taste)、中味 (middle taste) 及後味 (after taste)。此等係相對的概念，大體上先味、中味及後味係分別為食用後 0 至 2 秒，2 秒 至 5 秒，及 5 秒後感到的呈味。另外，合併先味及中味，稱為「先中味」，合併中味及後味，稱為「中後味」。另外，0 至 5 秒，稱為「先中味」，2 秒以後至約 30 秒前後為「中後味」。對於分為 3 區之評估，因為對食用者之評估難以集中，所以一般常用分為 2 區之評估。

具有 CaSR 活性之物質對濃郁風味及呈味模式之效果係可藉由依據人類之味覺試驗等之方法而確認。作為如此的依據人類味覺官能試驗，可舉例如專利文獻 2(特開 2011-115186 號公報)之實施例 13 所示之試驗，但不受此

等限定。

本說明書中，所謂「CaSR」係指鈣感受性受體 (Calcium Sensing Receptor)，屬於 7 次膜貫通型受體之 C 類者，亦稱為鈣受體。本說明書中，所謂「CaSR 促效藥」係指鍵結於前述 CaSR，將 CaSR 活性化之物質。另外，本說明書中，所謂「CaSR 活性化」係指配位基鍵結於 CaSR，將鳥糞嘌呤核苷酸結合蛋白活性化，傳遞訊息。另外，鍵結於 CaSR，稱此將 CaSR 活性化之性質為「CaSR 促效藥活性」。

作為前述 CaSR，可舉例如依以 GenBank Accession No. NM_000388 所註冊之人 CaSR 基因所編碼之人 CaSR 為宜。另外，CaSR 係不受限於藉由前述序列之基因所編碼之蛋白質，只要編碼具有 CaSR 機能之蛋白質中，藉由具有與前述序列相同性為 60% 以上，以 80% 以上為宜，以 90% 以上更好之基因所編碼之蛋白質即可。另外，CaSR 機能係使此等基因於細胞表現，藉由測定添加鈣時之電流變化或細胞內鈣離子濃度變化而可調查。

前述 CaSR 係不特別限制該來源，不僅前述之人 CaSR，可列舉包含小鼠、大鼠、狗等之所有動物來源之 CaSR。

如前所述，CaSR 活性係可利用包含表現 CaSR 或其片斷之活細胞、表現 CaSR 或其片斷之細胞膜、CaSR 或其片斷之蛋白質之 *in vitro* 等而確認。

後述係表示使用活細胞之一例，但並非局限於此者。

使 CaSR 於非洲爪蛙卵母細胞或倉鼠母細胞或人胎兒

腎臟細胞等之培養細胞表現。此以將保持外來基因之質體中精選 CaSR 基因者，導入質體的狀態或以其為模板之 cRNA 而變成可能。反應的檢測係可使用電氣生理學方法或細胞內鈣上升之螢光指示試劑。

CaSR 的表現係最初藉由鈣或特異的活性化劑之反應而確認。對於 5mM 程度濃度之鈣，使用觀察到細胞內電流之卵母細胞或觀察到螢光指示試劑之螢光之培養細胞。改變鈣濃度，測定濃度依賴性。接著，將試驗物質調製成 $1\ \mu\text{M} \sim 1\text{mM}$ 程度，添加於卵母細胞或培養細胞，測定於前述試驗物質存在下之 CaSR 活性，測定前述試驗物質之 CaSR 促效藥活性。

另外，更具體上，作為 CaSR 促效藥活性試驗，可舉例如 WO2007/055393 國際公開手冊記載之試驗例所表示之試驗，但不受此等限制。

與依據本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物所併用之胺基酸或胜肽，亦可併用 WO2007/055393 國際公開手冊記載之胜肽類。

依據本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物係可直接，或與飲食品所容許之載體或其他的調味原料混合，成為調味料。作為其他的調味原料，可舉例如香料、糖類、甘味料、食物纖維類、維生素類、麩胺酸鈉(MSG)等之胺基酸類、肌核苷單磷酸(IMP)等之核酸類、氯化鈉等之無機鹽類、檸檬酸等之有機酸類，亦可再列舉各種酵母萃取物。

依據本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物亦包含鹽的形態。依據本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物，可形成鹽的形態時，該鹽係只要化學上、藥理學上所容許之可食性鹽即可，可舉例如對羧基等之酸性基係銨鹽、與鈉、鉀等之鹼金屬鹽，與鈣、鎂等之鹼土類金屬鹽、鋁鹽、鋅鹽、與三乙基胺、乙醇胺、嗎啉、吡啶、哌啶、哌嗪、二環己基胺等之有機胺鹽、與精胺酸、賴胺酸等之鹼性胺基酸鹽。另外，對於鹼性基，可列舉與鹽酸、硫酸、磷酸、硝酸、氫溴酸等之無機酸鹽、與醋酸、檸檬酸、苯甲酸、馬來酸、富馬酸、酒石酸、琥珀酸、鞣酸、酪酸、hibenzate、雙羥萘酸、庚酸、癸酸、茶綠酸、水楊酸、乳酸、草酸、苦杏仁酸、蘋果酸等之有機羧酸鹽、與甲磺酸、苯磺酸、對甲苯磺酸等之有機磺酸鹽。

依據本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物、CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑、或飲食品原料係不受限於乾燥粉末、糊狀料、溶液等之物性，可以所有形態使用。

依據本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物、CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑、或飲食品原料係可摻混於食品、飲料、調味料等之各種飲食品使用。

將依據本發明之製造方法所製造之羊毛硫胺酸衍生物、CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑、或飲食品原料，摻混於食品、飲料、調味料等之各種飲食品使用時之最終羊毛硫胺酸衍生物的量及所併用之胺基酸或胜肽的量，只要

是可以得到所需效果的量，並無特別限制，但作為羊毛硫酸胺酸衍生物的量及/或胺基酸或胜肽的量，以食品、飲料或調味料等之總質量為基準，對於各個的程度為 10ppb~99.9%，以 0.05ppm~99.9%為宜，以 0.1ppm~99.9%尤佳。

依據本發明之製造方法所製造之羊毛硫酸胺酸衍生物、CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑、或飲食品原料所摻混的食品、飲料、調味料等之各種飲食品，亦可使再摻混飲食品上所容許之所有固體或液體之載體、適當的調味原料等。

作為前述載體，可舉例如葡萄糖、乳糖、蔗糖、澱粉、甘露糖醇、糊精、脂肪酸甘油酯、聚乙二醇、羥乙基澱粉、乙二醇、聚乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯、明膠、白蛋白、胺基酸、水、生理食鹽水等。

前述調味原料係只要該業界所使用之任一種調味原料皆可，雖無特別限制，但更具體上係列舉已前述者。

前述載體、其他調味原料等係任一種其含量並無特別限制。

前述調味原料中，酵母萃取物係對成為來源的菌體、其培養條件、萃取處理方法中任一種皆無特別限定，可使用任意的酵母萃取物，進一步施以加熱處理、酵素處理、濃縮、粉末化處理等者亦可。

後述係列舉實施例更詳細地說明本發明，但此等並非限定本發明者。

【實施方式】

實施例

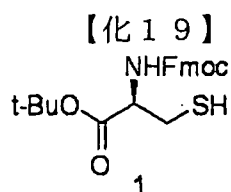
(參考例)以式(III)所表示之化合物(式(II)中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物)之製造

將(Fmoc-L-Cys-Ot-Bu)₂(N,N'-difluorenylmethoxycarbonyl-L-cystine di-t-butylester, 4.81mmol)，溶解於四氫呋喃(58.5ml)與水(1.5ml)。冰冷下加入三丁基磷(5.28mmol)，恢復成室溫，攪拌4小時。將反應液冷卻，加入10%檸檬酸水溶液(60ml)。將濁白液恢復成室溫，以醋酸乙酯(60ml)萃取。將有機層以60ml的食鹽水洗淨後，得到濃縮之油狀殘渣。將殘渣以矽膠管柱(正己烷-醋酸乙酯)精製，得到油狀物之化合物1。

產率 97%。

ESI MS m/z 422.4(M+Na)⁺

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.50(9H, s), 2.99(2H, m), 4.23(1H, t, J=6.8 Hz), 4.41(2H, m), 4.54(1H, m), 5.68(1H, d, J=7.2Hz), 7.32(2H, m), 7.41(2H, t, J=7.2Hz), 7.61(2H, d, J=7.6Hz), 7.77(2H, d, J=7.2Hz)。



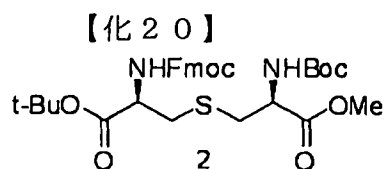
化合物 2 之合成

將化合物 1(6.04mmol)溶解於無水二甲基甲醯胺(60ml)，加入 Boc-iodo-D-Ala-OMe(N-t-butoxycarbonyl-3-iodo-D-alanine methylester)(6.20mmol)後，加入碳酸鉀(6.02mmol)，於室溫下攪拌一晚。將反應液冷卻，加入 10%檸檬酸水溶液(50ml)及水(30ml)後，以醋酸乙酯(60ml)萃取後，再將水層以醋酸乙酯(60ml)萃取。合併有機層，以 10%檸檬酸水溶液(50ml)、食鹽水(50ml)依序洗淨，濃縮有機層。將所得之油狀殘渣以矽膠管柱(正己烷-醋酸乙酯)精製，得到油狀物之化合物 2。

產率 66%。

ESI MS m/z 601.2(M+H)⁺

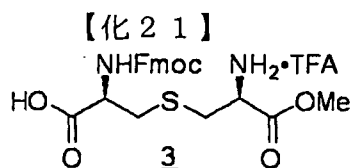
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.45(9H, s), 1.49(9H, s), 3.01(4H, m), 3.73(3H, s), 4.24(1H, t, J=7.2Hz), 4.39(2H, d, J=7.2Hz), 4.48-4.55(2H, m), 5.37(1H, brd, J=6.8Hz), 5.80(1H, brd, J=6.8 Hz), 7.32(2H, m), 7.40(2H, t, J=7.2Hz), 7.63(2H, m), 7.77(2H, d, J=7.6Hz)。



化合物 4 之合成

(步驟 1)將化合物 2(4.01mmol)溶解於 70ml 之二氯甲烷，加入三氟乙酸(70ml)，於室溫下攪拌 1 小時後，將反應液濃縮，可得到含化合物 3 之殘渣。假設產率為

100%，直接使用於後述反應。

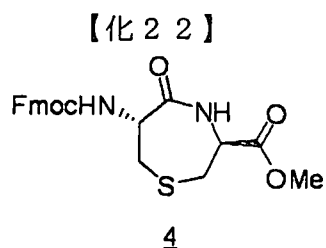


(步驟 2)於冰冷下，於化合物 3(相當於 4.01mmol)加入無水二甲基甲醯胺(60ml)成爲均勻液，於其中滴入二異丙基乙基胺(8.04mmol)。恢復成室溫後，加入羰基二咪唑(8.10mmol)，直接攪拌一晚。於冷卻條件下，加入 10%檸檬酸水溶液(50ml)於反應液，恢復成室溫後，以醋酸乙酯(100ml)萃取，將水層再以醋酸乙酯萃取，合併有機層。將此有機層以 10%檸檬酸水溶液(50ml×2)、食鹽水洗淨 1 次後，進行濃縮而得油狀殘渣。將所得之殘渣使用矽膠管柱(正己烷-醋酸乙酯)精製，得到油狀物之化合物 4。

產率 39%(2 個步驟)

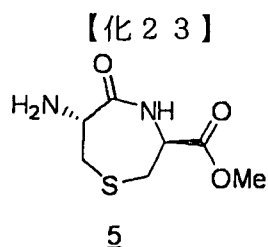
ESI MS m/z 448.5(M+Na)⁺

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 2.71(1H, dd, J=9.2, 14.4Hz), 2.78-2.90(2H, m), 3.02(1H, d, J=14.4Hz), 3.86(3H, s), 4.20(1H, t, J=6.8 Hz), 4.40(2H, d, J=6.8Hz), 4.56(1H, dd, J=5.6, 9.2Hz), 4.68(1H, m), 6.30(1H, d, J=5.6 Hz), 7.32(2H, t, J=7.6Hz), 7.40(2H, t, J=7.6Hz), 7.60(2H, d, J=7.6Hz), 7.77(2H, d, J=7.6Hz)。



化合物 6 之合成

(步驟 1)於化合物 4(1.54 mmol)中加入 10%嗎啉-二甲基甲醯胺溶液(14 ml)，於室溫下攪拌 30 分鐘。將反應液濃縮，可得到含化合物 5 之殘渣。假設產率為 100%，直接使用於後述反應。



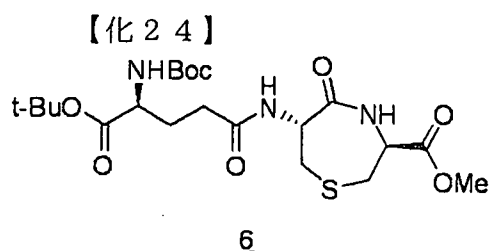
(步驟 2)將 Boc-Glu-OtBu(N-叔丁氧基羰基-L-麩胺酸 α -叔丁基酯)(1.70 mmol)，溶解於無水二甲基甲醯胺(9 ml)，加入 HOBt·H₂O(1-羥基苯并三唑水合物(1.85 ml)與WSC·HCl(1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺鹽酸鹽)(1.90 mmol)，於室溫下攪拌 15 分鐘。於其中加入懸浮於二甲基甲醯胺(20 ml)之化合物 5 (相當於 1.54 mmol)，使於室溫下反應一晚。將反應液進行濃縮後，加入醋酸乙酯(50 ml)及水(50 ml)於殘渣，進行分液，將水層再以醋酸乙酯(50 ml)萃取。合併有機層，以碳酸氫鈉水(50 ml)及食鹽

水 (50ml) 洗淨後，進行濃縮。將所得之糊狀殘渣以矽膠管柱 (正己烷-醋酸乙酯) 精製，得到油狀物之 6。

產率 81% (2 個步驟)

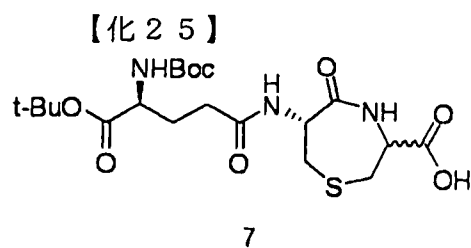
ESI MS m/z 490.0 (M+H)⁺

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.44 (9H, s), 1.46 (9H, s), 1.90 (1H, m), 2.17 (1H, m), 2.32 (2H, m), 2.60 (1H, dd, $J=10.5, 14.1$ Hz), 2.92-2.98 (2H, m), 3.18 (1H, dd, $J=6.0, 14.7$ Hz), 3.84 (3H, s), 4.46 (1H, m), 4.80 (1H, m), 5.19 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 6.32 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 7.09 (1H, brs)。



化合物 8a 及 8b 之合成

(步驟 1) 將化合物 6 (1.25 mmol) 溶解於四氫呋喃溶液 (30ml)，於冰冷下攪拌，加入 0.2M 氫氧化鋰水溶液 (2.50 mmol)。30 分鐘後，使用 10% 檸檬酸水溶液，中和成約 pH6。恢復成室溫，將反應液濃縮後，以醋酸乙酯 (20ml×3) 進行萃取。將水層再以醋酸乙酯萃取 (20ml×3)，合併有機層，以食鹽水 (10ml) 洗淨後，將有機層濃縮而得到化合物 7。假設產率為 100%，直接使用於後述反應。



(步驟 2)於化合物 7 (相當於 1.25mmol)，加入 4N 鹽酸 / 二噁烷溶液 (25ml)，使於室溫下反應一晚後，將反應液進行濃縮。所得之糊狀殘渣係使用強鹼性離子交換樹脂 (AMBERLITE IRA400 OH AG)，進行精製，得到 2 個分離部份。藉由將先溶出的分離部份的一部份，進一步以逆相分離 HPLC (管柱：野村化學社製 Develosil RPAQUEOUS-AR-5，沖提液：含 0.1% 蟻酸的水 / 乙腈系線性梯度) 精製，得到麥芽糖狀物質之化合物 8a。另一方面，藉由將之後溶出之分離部份濃縮，可得到白色固體，進而溶解此固體於水後，將藉由冷凍乾燥所得之殘渣，以少量水洗淨漿料，得到白色固體之化合物 8b。

化合物 8a

ESI MS m/z 318.3 (M-H)⁻

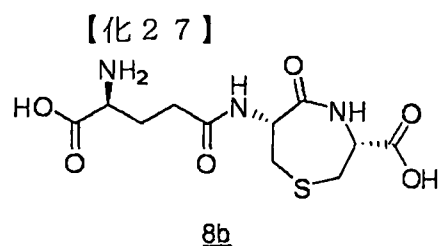
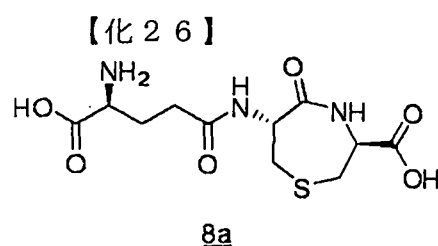
¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 2.13(2H, m), 2.50(2H, t, J=7.8Hz), 2.64(1H, d, J=15.0Hz), 2.83(1H, dd, J=10.8, 15.0Hz), 3.02(1H, dd, J=2.4, 15.0Hz), 3.15(1H, dd, J=5.4, 15.0Hz), 3.83(1H, t, J=6.0Hz), 4.55(1H, dd, J=2.4, 5.4Hz), 4.91(1H, dd, J=2.4, 10.8Hz)。

化合物 8b

產率 26%(2 個步驟)

ESI MS m/z 318.0(M-H)⁻

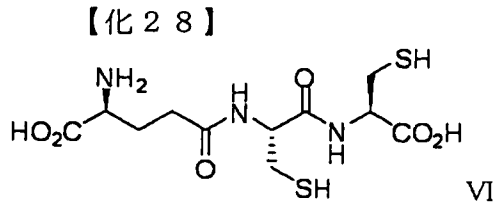
¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 2.12(2H, m), 2.48(2H, t, J=7.2Hz), 2.72(1H, d, J=14.4Hz), 2.76(1H, dd, J=10.2, 14.4Hz), 2.89(1H, dd, J=9.6, 14.4Hz), 3.05(1H, d, J=14.4Hz), 3.78(1H, t, J=6.0Hz), 4.42(1H, d, J=9.6Hz), 4.91(1H, d, J=10.2Hz)。



實施例 1：使用以式 VI 所表示之化合物之以式 (III) 所表示之化合物 (式 (II) 中，R₁、R₂ 及 R₃ 中任一個皆為氫之化合物) 之合成 (1)

將參考非專利文獻 2 而合成之 γ -Glu-Cys-Cys(VI) 溶解於超純水，調製濃度為 53ppm 之 pH3.3 樣品水溶液。採取部份之此 pH3.3 標準品水溶液，加入氫氧化鈉水溶液，調整成 pH10 後，分注 100 μ l 於 1.5ml 微試管。將經

分注的水溶液於經加溫成 90°C 之水浴加熱 6 小時。



將所得之加熱處理樣品以後述之逆相液相層析儀分離後，導入質量分析裝置，定量樣品中所含之以式(III)所表示之化合物。作為定量時之樣品，使用以前述參考例之方法合成之以式(III)所表示之化合物。

後述逆相液相層析儀之分離條件係如後述。

(1)HPLC：Agilent Technologies 1200 系列

(2)分離管柱：Develosil RPAQUEOUS 內徑為 2.0mm，長度為 250mm，(野村化學社製)

(3)注入量：2 μ L

(4)管柱溫度：25°C

(5)沖提液 A：0.1%醋酸/乙腈 = 98/2

(6)沖提液 B：0.1%醋酸/乙腈 = 10/90

(7)流速：0.2ml/min

(8)沖提條件：成份溶出係使用沖提液 A 及沖提液 B 之混合液進行。沖提液 B 對混合液之比率係如後所述。0 分鐘(0%)、20 分鐘(60%)、20.1 分鐘(0%)、30 分鐘(0%)

依據質量分析計之定量條件如後所述。

(1)質量分析裝置：Applied Biosystems API4000

(2)偵測模式：Selected Ion Monitoring(正離子模式)

(3)選擇離子：

	第一質量分析器	第二質量分析器
	Q1	Q3
化合物 III	320.2	190.9

(4)碰撞能量(CE)：19(V)

(5)定量法：使用以式(III)所表示之化合物之樣品(於前述參考例合成之化合物)，依據外部標準法進行。

實施例 2：使用以式 VI 所表示之化合物之以式(III)所表示之化合物(式(II)中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物)之合成(2)

於實施例 1 調製之 pH3.3 樣品水溶液(8ml)，加入氫氧化鈉水溶液，調整成 pH12 後，分注 $100\mu\text{l}$ 於 1.5ml 微試管，將依據與實施例 1 相同的方法，加熱處理 6 小時，製作樣品後，進行化合物 III 之定量。

產率

反應產率係如後所述。

[表 1]

	產率(%)
實施例 1	10.4
實施例 2	13.0

實施例 3：使用以式 VI 所表示之化合物之以式(III)所表示

之化合物(式(II)中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物)之合成(3)

將 γ -Glu-Cys-Cys(VI) 溶解於超純水，調製濃度為 0.3mM(106ppm)之 pH3.3 樣品水溶液。於 pH3.3 樣品水溶液(0.5ml)，加入 200ppm 硝酸鐵(III)水溶液(0.5ml)後，使用氫氧化鈉水溶液，調整成 pH10。將此水溶液於經加溫成 90°C 之水浴再加熱 5 小時。對此加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。

實施例 4：使用以式 VI 所表示之化合物之以式(III)所表示之化合物(式(II)中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物)之合成(4)

於實施例 3 調製之 pH3.3 樣品水溶液(0.5ml)，加入 400ppm 碳酸鈣水溶液(0.5ml)後，使用氫氧化鈉水溶液，調整成 pH10。將此水溶液於經加溫成 90°C 之水浴再加熱 3 小時。對此加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。

實施例 5：使用以式 VI 所表示之化合物之以式(III)所表示之化合物(式(II)中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物)之合成(5)

將 γ -Glu-Cys-Cys(VI) 溶解於超純水，調製濃度為 106ppm 之 pH3.3 樣品水溶液。於 pH3.3 樣品水溶液(0.5ml)，加入 10ppm 硝酸鋅水溶液(0.5ml)後，使用氫氧化鈉水溶液，調整成 pH10。將此水溶液於經加溫成 90°C

之水浴再加熱 6 小時。對此加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。

藉由添加金屬鹽，化合物 III 產率升高之結果係如後所示。

[表 2]

	化合物 III 生成產率升高之效果(%)
實施例 3	139
實施例 4	131
實施例 5	123

實施例 6：使用以式 VI 所表示之化合物之以式 (III) 所表示之化合物 (式 (II) 中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物) 之合成 (6)

取用部份實施例 1 調製之 pH3.3 樣品水溶液 (8ml)，加入氫氧化鈉水溶液，調整成 pH4.6 後，於經加溫成 60℃ 之水浴加熱 1 小時。之後，使用氫氧化鈉調成 pH10 後，於經加溫成 90℃ 之水浴再加熱，製作加熱處理樣品。對所得之加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。

實施例 7：使用以式 VI 所表示之化合物之以式 (III) 所表示之化合物 (式 (II) 中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物) 之合成 (7)

取用部份實施例 1 調製之 pH3.3 樣品水溶液 (8ml)，加入氫氧化鈉水溶液，調整成 pH4.6 後，於經加溫成 90

°C 之水浴加熱 1 小時。之後，使用氫氧化鈉調成 pH10 後，於經加溫成 90°C 之水浴再加熱，製作加熱處理樣品。對所得之加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。

實施例 8：使用以式 VI 所表示之化合物之以式 (III) 所表示之化合物 (式 (II) 中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物) 之合成 (8)

將參考非專利文獻 2 而合成之 γ -Glu-Cys-Cys(VI) 溶解於超純水，調製濃度為 106ppm 之 pH3.3 樣品水溶液。於此 pH3.3 樣品水溶液 (3ml)，加入 0.1mM 氯化鈣水溶液 (3ml) 後，使用氫氧化鈉水溶液，調整成 pH4.6。將此水溶液於經加溫成 60°C 之水浴加熱 1 小時。於此加熱水溶液 (5ml)，加入 5mM EDTA 水溶液 (0.05ml) 後，使用氫氧化鈉調成 pH10 後，於經加溫成 90°C 之水浴再加熱，製作加熱處理樣品。對所得之加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。

實施例 9：使用以式 VI 所表示之化合物之以式 (III) 所表示之化合物 (式 (II) 中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物) 之合成 (9)

於實施例 5 調製之 pH3.3 樣品水溶液 (3ml)，加入 0.6mM 氯化鈣水溶液 (3ml) 後，使用氫氧化鈉水溶液，調整成 pH4.6。將此水溶液於經加溫成 60°C 之水浴加熱 1 小時。於此加熱水溶液 (5ml)，加入 5mM EDTA 水溶液

(0.05ml)後，使用氫氧化鈉成爲 pH10 後，於經加溫成 90℃ 之水浴再加熱，製作加熱處理樣品。對所得之加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。

反應收率係如後所示。

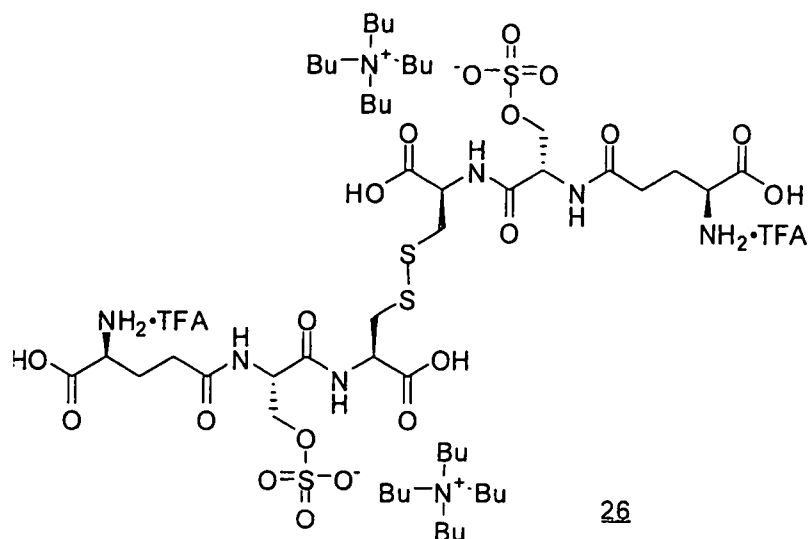
[表 3]

	化合物III之產率 (%)
實施例 6	13.6
實施例 7	13.2
實施例 8	18.5
實施例 9	26.1

實施例 10：使用以式 V 所表示之化合物之以式 (III) 所表示之化合物 (式 (II) 中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆爲氫之化合物) 之合成 (10)

將以後述實施例 25 所得之化合物 26，溶解於超純水，調製濃度爲 0.1mM(154ppm)水溶液後，加入 26mM 之 TCEP(1ml)水溶液。於所得之水溶液，加入氫氧化鈉水溶液，調整成 pH8 後，以經加溫成 90℃ 之水浴加熱 12 小時，製作加熱處理樣品。對所得之加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。

【化 2 9】



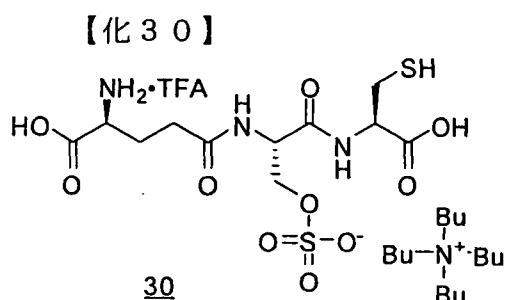
實施例 11：使用以式 V 所表示之化合物之以式 (III) 所表示之化合物 (式 (II) 中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物) 之合成 (11)

於以實施例 10 調製之化合物 26 之 0.1mM 水溶液，加入 26mM 之 TCEP 水溶液 (1ml)。於所得之水溶液，加入氫氧化鈉水溶液，調整成 pH10 後，以經加溫成 90°C 之水浴加熱 4 小時，製作加熱處理樣品。對所得之加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。

實施例 12：使用以式 V 所表示之化合物之以式 (III) 所表示之化合物 (式 (II) 中， R_1 、 R_2 及 R_3 中任一個皆為氫之化合物) 之合成 (12)

將以後述實施例 29 所得之化合物 30，溶解於超純水，調製濃度為 0.1mM (77ppm) 水溶液後，加入 26mM 之 TCEP 水溶液。於所得之水溶液，加入氫氧化鈉水溶液

後，調整成 pH10 後，以經加溫成 90°C 之水浴加熱 6 小時，製作加熱處理樣品。對所得之加熱處理樣品，進行化合物 III 之定量。



反應收率係如後所示。

[表 4]

	產率(%)
實施例 10	7.9
實施例 11	42.1
實施例 12	43.4

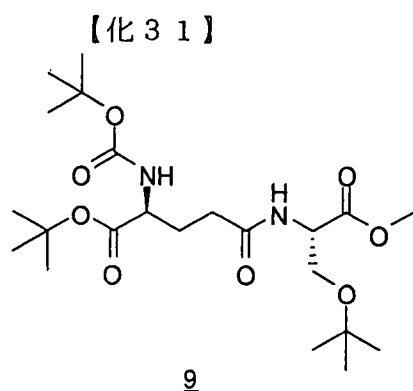
本發明之製造方法係藉由中間體化合物，將可提供極適用於作為 CaSR 促效藥、濃郁風味賦予劑及飲食品原料之羊毛硫胺酸衍生物，於產業上亦非常適用。

實施例 13：以式(V)所表示之化合物或其氧化型二聚物 9 ~ 14 之合成

於 Boc-Glu-Ot-Bu(N-叔丁氧基羰基麩胺酸叔丁基酯) (455mg, 1.50mmol) 之乙腈溶液 (15ml)，加入 HOAt (1-羥

基-7-偶氮苯并三唑)(226mg, 1.66mmol)與 WSC·HCl(315mg, 1.64mmol), 於室溫下攪拌 1 小時。於反應液中加入 H-Ser(t-Bu)-OMe(350mg, 1.65mmol) 及 三 乙 基 胺 (0.3ml, 2.15mmol), 再攪拌 15 小時。藉由減壓將反應液濃縮成約 2ml 後, 加入醋酸乙酯。將有機層以 10%檸檬酸水溶液, 接著飽和碳酸氫鈉水溶液分離洗淨, 將有機層以無水硫酸鈉乾燥後, 藉由減壓濃縮乾燥而得無色麥芽糖狀物質之化合物 9(637mg)。在此, 化合物 9 之式中, Boc 係指叔丁氧基羰基殘基 (-COO-t-Bu)。

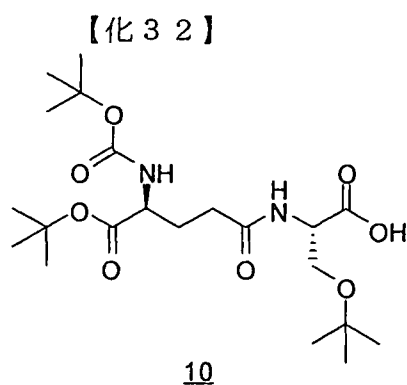
產率 92%; ESI MS m/z 461.2(M+H)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.19(9H, s), 1.47(9H, m), 1.49(9H, s), 1.88(2H, m), 2.10(2H, m), 2.38(2H, t, J=7.6Hz), 3.63(1H, dd, J=3.6, 9.6Hz), 3.75(3H, s), 3.80(1H, dd, J=4.4, 9.6Hz), 4.00(1H, m), 4.61(1H, dd, J=3.6, 4.4Hz)。



將化合物 9(620mg, 1.35mmol)溶解於甲醇(5ml)後, 於冰冷下加入 1N 氫氧化鈉水溶液(2.5ml, 2.50mmol), 於室溫下攪拌 2 小時。藉由減壓濃縮約至 3ml 後, 加入 10%

檸檬酸水溶液，使 pH 成充份的酸性後，以醋酸乙酯進行分離萃取。將有機層以無水硫酸鈉乾燥後，藉由減壓濃縮乾燥而得無色麥芽糖狀物質之化合物 10(578mg)。

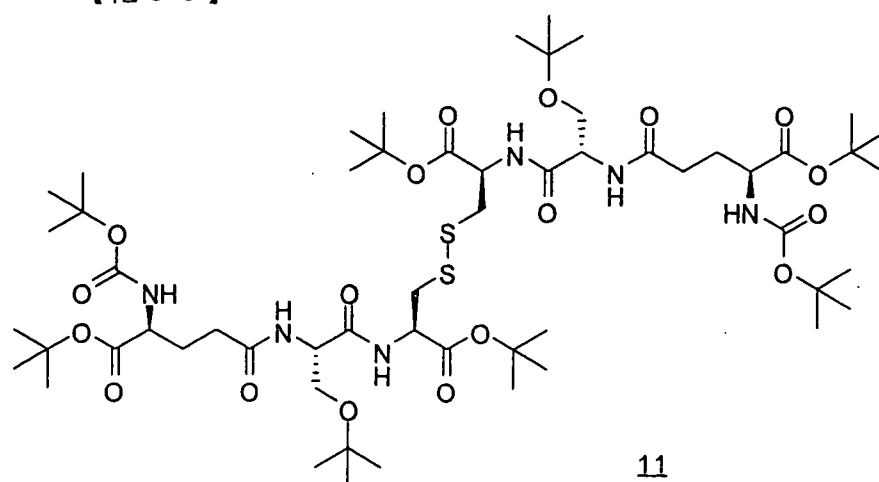
產率 96%；ESI MS m/z 447.2(M+H)⁺；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.20 (9H, s), 1.47(9H, s), 1.49(9H, s), 1.89(2H, m), 2.10(2H, m), 2.39(2H, t, J=7.6Hz), 3.65(1H, dd, J=3.6, 9.2Hz), 3.82 (1H, dd, J=4.4, 9.2Hz), 4.00(1H, m), 4.57(1H, dd, J=3.6, 4.4Hz)。



於化合物 10(357mg, 0.80mmol)之乙腈溶液(10ml)，加入 HOAt (122mg, 0.90mmol) 與 WSC · HCl(170mg, 0.89mmol)，於室溫下攪拌 1 小時。於反應液中加入(H-Cys-Ot-Bu)₂ · 2HCl(胱胺酸叔丁基酯鹽酸鹽)(170mg, 0.40mmol)及三乙基胺(0.2ml, 1.43mmol)，再攪拌 15 小時。藉由減壓將反應液濃縮成約 2ml 後，加入醋酸乙酯。將有機層以 10%檸檬酸水溶液，接著飽和碳酸氫鈉水溶液分離洗淨，將有機層以無水硫酸鈉乾燥後，藉由減壓濃縮乾燥而得白色固體之化合物 11(441mg)。

產率 91% ; ESI MS m/z 1232.7($M+Na$)⁺ ; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.22(18H, s), 1.47(18H, m), 1.49(18H, s), 1.50(18H, s), 1.90(2H, m), 2.11(2H, m), 2.39(4H, m), 3.06(2H, m), 3.21(2H, m), 3.64(4H, m), 4.02(2H, m), 4.55(2H, m), 4.64(2H, m)。

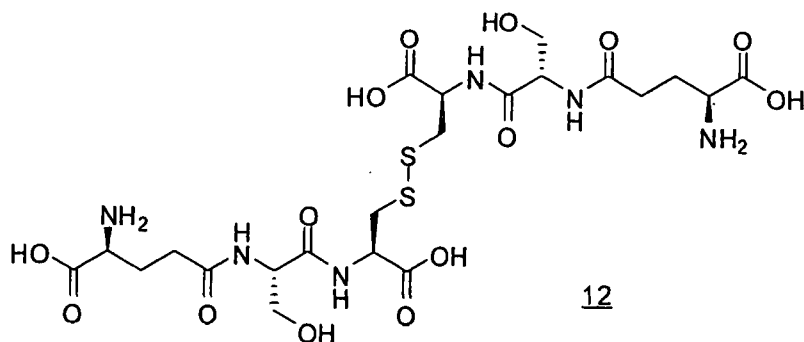
【化 3 3】



將化合物 11(82mg, 0.068mmol)溶解於 4N 鹽酸二噁烷溶液 (2ml)後，於冰冷下攪拌 4 小時。藉由減壓去除溶劑及過剩的試劑，得到白色固體之化合物 12 鹽酸鹽。

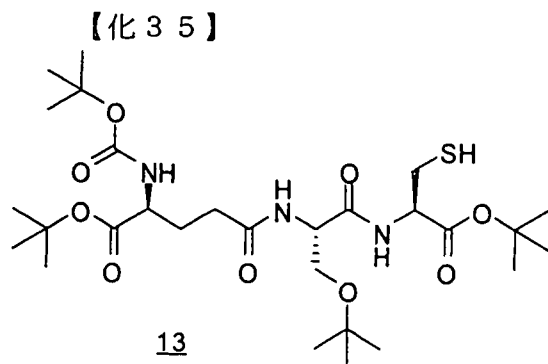
產率 100% ; ESI MS m/z 673.3($M+H$)⁺ ; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 2.21(2H, m), 2.29(2H, m), 2.64(4H, m), 3.10(2H, m), 3.30(2H, m), 3.85(4H, m), 4.10(2H, m), 4.54(2H, m), 4.77(2H, m)。

【化 3 4】



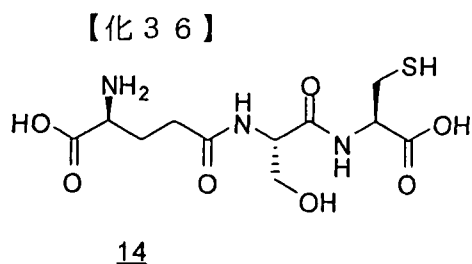
將化合物 12 (100mg, 0.083mmol) 溶解於檸檬酸緩衝溶液 / 甲醇混合溶液 (pH5)(3ml) 後，加入 TCEP·HCl(三(2-羧乙基)膦鹽酸鹽)(30mg, 0.10mmol)，於室溫下攪拌 0.5 小時。於反應液加入醋酸乙酯後，以飽和碳酸氫鈉水溶液分離洗淨。將有機層以無水硫酸鈉乾燥後，藉由減壓濃縮乾燥而得化合物 13(82mg)。

產率 82% ; ESI MS m/z 628.4(M+Na)⁺ ; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.23(9H, s), 1.47(9H, s), 1.49(9H, s), 1.50(9H, s), 1.90(1H, m), 2.14(1H, m), 2.40(2H, t, J=7.6Hz), 2.91(1H, dd, J=5.6, 14.0Hz), 2.98(1H, dd, J=4.8, 14.0Hz), 3.63(1H, dd, J=5.6, 8.8Hz), 3.71(1H, dd, J=4.8, 8.8Hz), 4.01(1H, m), 4.48-4.63 (2H, m)。



藉由將化合物 13 (59 mg, 0.097 mmol) 溶解於 4N 鹽酸二噁烷溶液 (2 ml) 後，於冰冷下攪拌 4 小時，得到白色固體之化合物 14 鹽酸鹽。

產率 100%；ESI MS m/z 338.0 (M+H)⁺；¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 2.12 (2H, m), 2.50 (2H, m), 2.89 (2H, m), 3.80 (2H, m), 3.85 (1H, m), 4.08 (1H, m), 4.56 (1H, m)。

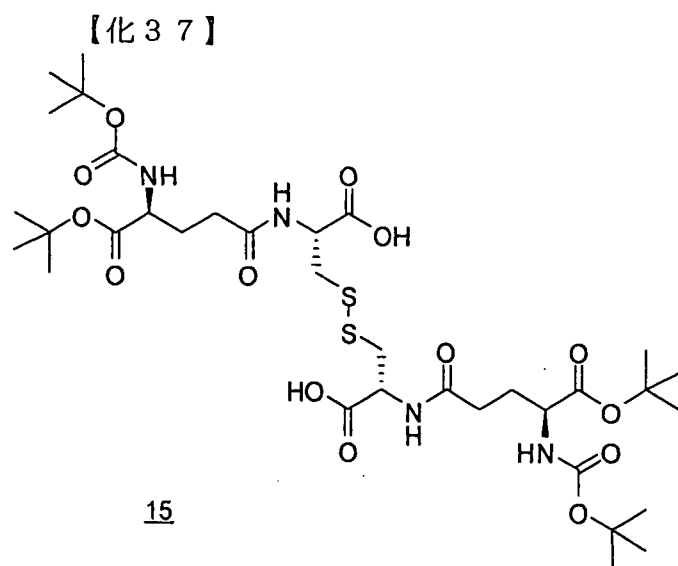


對於如此所得之化合物 14，可藉由例如將羧基轉換成磷酸酯、磺酸酯等之活性化酯，使用於式 (III) 所表示之化合物或其化學上所容許的鹽之製造方法。

實施例 14：以式 (V) 所表示之化合物之氧化型二聚物之化合物 15 之合成

於 Boc-Glu-Ot-Bu (0.305g, 1.01mmol) 之四氫呋喃溶液 (9ml)，加入三乙基胺 (0.21ml, 1.51mmol) 與氯化三甲基乙醯 (0.185ml, 1.50mmol)，於 0°C 下攪拌 0.5 小時。於反應液中加入胱胺酸 (0.24g, 1.00mmol) 及三乙基胺 (0.28ml, 2.01mmol) 水溶液，於 0°C 下再攪拌 2 小時。藉由減壓濃縮後，加入 10% 檸檬酸水溶液，以醋酸乙酯萃取。將醋酸乙酯層以無水硫酸鈉脫水後，藉由減壓而濃縮乾燥。藉由將殘渣使用 HPLC 分離 (管柱：Waters 社製 XBridge 1.9 i.d. x 5cm，含 0.1% 甲酸的水/乙腈系線性梯度) 而精製，得到白色固體之化合物 15 (0.25g)。

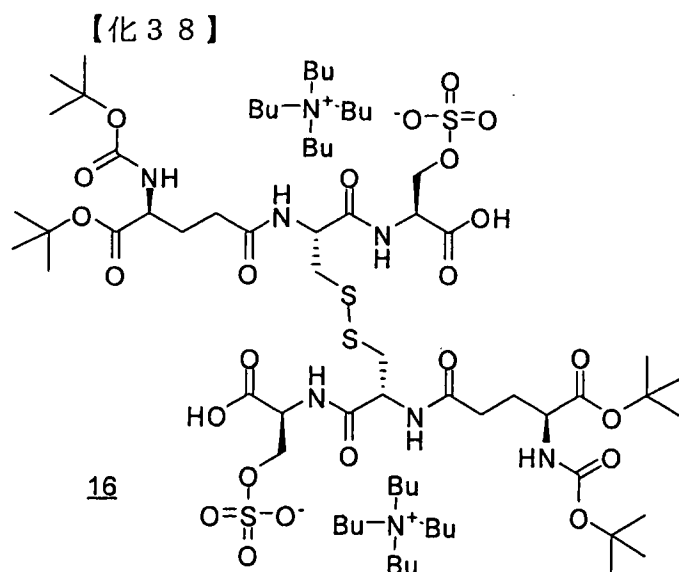
產率 61%；ESI MS m/z 811.0 (M+H)⁺；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.46 (18H, s), 1.49 (18H, s), 1.90 (1H, m), 2.11 (2H, m), 2.38 (4H, m), 3.03 (2H, dd, J=8.8, 13.9Hz), 3.29 (2H, dd, J=4.4, 13.9Hz), 4.01 (2H, m), 4.75 (2H, dd, J=4.4, 8.8Hz)。



實施例 15：以式(V)所表示之化合物之氧化型二聚物之化合物 16 之合成

於化合物 15 (0.1g, 0.12mmol) 之四氫呋喃溶液 (3ml)，加入氯化三甲基乙醯 (46 μ l, 0.37mmol) 與三乙基胺 (55 μ l, 0.39mmol)，於冰冷下攪拌 0.5 小時。於反應液中加入絲胺酸硫酸酯 (93mg, 0.50mmol)、10% 四丁基氫氧化銨水溶液 (1.4ml, 0.54mmol) 及三乙基胺 (70 μ l, 0.50mmol)，再攪拌 1 小時。於反應液加入水後，以 10% 檸檬酸水溶液調整成 pH5~6，以正丁醇萃取。將藉由減壓有機層而濃縮乾燥所得之殘渣，以 HPLC (管柱：Waters 社製 XBridge 1.9 i.d. \times 5cm，含 0.1% 甲酸的水/乙腈系線性梯度) 精製，得到無色麥芽糖狀物質之化合物 16 (35mg)。

產率 17%；ESI MS m/z 1384 (M-Bu₄N)⁻；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.04 (24H, t, J=7.2Hz), 1.41-1.49 (52H, m), 1.68 (16H, m), 1.93 (2H, m), 2.15 (2H, m), 2.41 (4H, m), 2.96 (2H, dd, J=9.6, 14.0Hz), 3.26 (18H, m), 4.00 (2H, dd, J=4.4, 9.6Hz), 4.37 (4H, m), 4.67 (2H, t, J=3.2Hz), 4.83 (2H, dd, J=4.4, 9.6Hz)。



實施例 16：以式(V)所表示之化合物 17 之合成

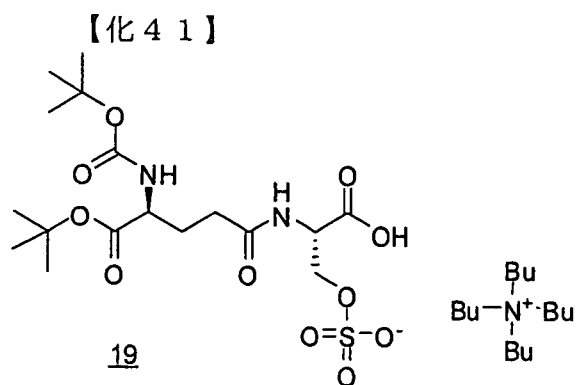
將化合物 16 (35 mg, 0.021 mmol) 溶解於甲醇 (0.2 ml)，加入水 (0.1 ml) 及 TCEP (15 mg, 0.06 mmol)，於室溫下攪拌 0.5 小時。於反應液加入水後，以醋酸乙酯萃取。藉由將有機層減壓而濃縮乾燥，得到無色麥芽糖狀物質之化合物 17 (28 mg)。

產率 80%； ESI MS m/z 571.7 ($M-Bu_4N$)⁻； ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.05 (12H, t, $J=7.2$ Hz), 1.43 (8H, m), 1.47 (9H, s), 1.49 (9H, s), 1.69 (8H, m), 1.92 (1H, m), 2.14 (1H, m), 2.44 (2H, m), 2.87-2.99 (2H, m), 3.26 (8H, m), 4.00 (1H, dd, $J=4.8, 8.8$ Hz), 4.32-4.41 (2H, m), 4.66 (1H, m), 4.83 (1H, m)。

實施例 18：化合物 19 之合成

於 Boc-Glu-Ot-Bu (0.15g, 0.49mmol) 之四氫呋喃溶液 (6ml)，加入三乙基胺 (0.105ml, 0.75mmol) 與氯化三甲基乙醯 (95 μ l, 0.77mmol)，於 0 $^{\circ}$ C 下攪拌 0.5 小時。於反應液中加入絲胺酸硫酸酯 (0.186g, 1.01mmol)、10% 四丁基氫氧化銨水溶液 (2.6ml, 1.00mmol) 及三乙基胺 (0.14ml, 1.01mmol) 水溶液，於 0 $^{\circ}$ C 再攪拌 0.5 小時。於反應液，使用 10% 檸檬酸水溶液調整成約 pH5，藉由減壓而濃縮約至 10ml 後，以正丁醇萃取。將正丁醇層藉由減壓濃縮乾燥後，將殘渣以 HPLC (管柱：Waters 社製 XBridge 1.9 i.d. \times 5cm，含 0.1% 甲酸的水/乙腈系線性梯度) 精製，得到化合物 19 (0.227g)。

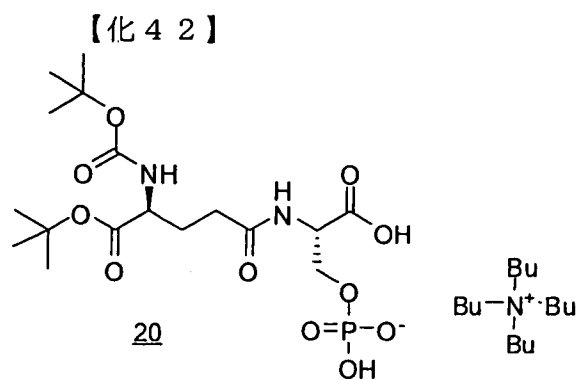
產率 64%；ESI MS m/z 469.0 (M-Bu₄N)⁻；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.04 (12H, m), 1.46 (26H, m), 1.69 (8H, m), 1.93 (1H, m), 2.10 (1H, m), 2.39 (2H, m), 3.26 (8H, m), 3.98 (1H, m), 4.29 (1H, m), 4.35 (1H, m), 4.66 (1H, m)。



實施例 19：化合物 20 之合成

除了使用磷酸絲胺酸以取代絲胺酸硫酸酯以外，藉由與實施例 18 相同的方法合成化合物 20。

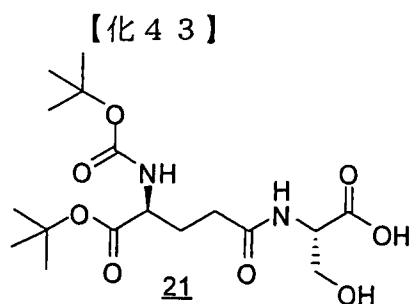
產率 59%；ESI MS m/z 469.0(M-Bu₄N)⁻；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.04(12H, m), 1.46(26H, m), 1.68(8H, m), 1.93(1H, m), 2.09(1H, m), 2.40(2H, m), 3.27(8H, m), 3.98(1H, m), 4.16(1H, m), 4.27(1H, m), 4.57(1H, m)。



實施例 20：化合物 21 之合成

除了使用絲胺酸以取代絲胺酸硫酸酯以外，藉由與實施例 18 相同的方法合成化合物 21。

產率 79%； m/z 413.0(M+Na)⁺；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.46(9H, s), 1.49(9H, s), 1.89(1H, m), 2.13(1H, m), 2.40(2H, t, J=7.6Hz), 3.85(1H, dd, J=3.6, 11.2Hz), 3.91(1H, dd, J=4.8, 11.2Hz), 4.00(1H, dd, J=4.4, 6.9Hz), 4.52(1H, dd, J=3.6, 4.8Hz)。

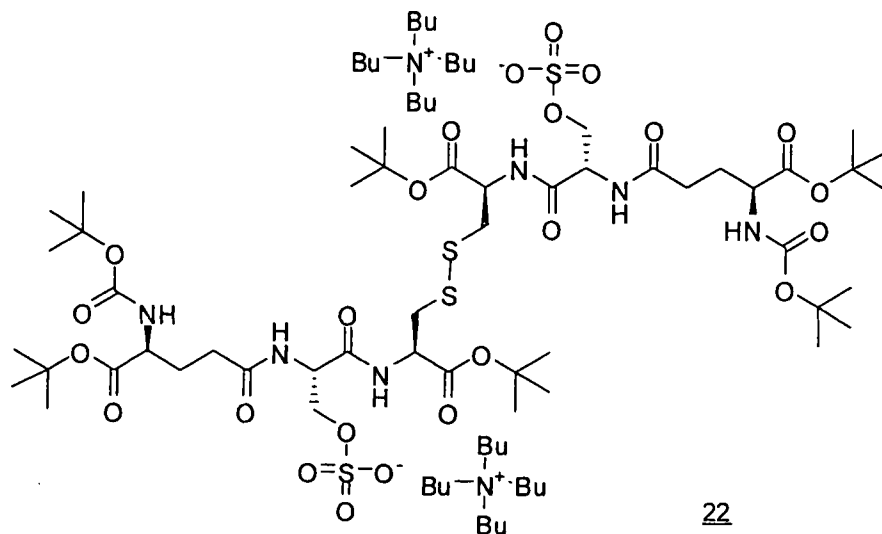


實施例 21：以式(V)所表示之化合物之氧化型二聚物之化合物 22 之合成

於依據實施例 18 所得之化合物 19(0.11g, 0.15mmol) 之 THF 溶液(3ml)，加入 HOSu(N-羥基琥珀醯亞胺)(18mg, 0.16mmol)與 WSC·HCl(30mg, 0.16mmol)，攪拌 1 小時。於反應液中加入 (H-Cys-Ot-Bu)₂·2HCl (33mg, 0.078mmol) 及三乙基胺(22 μl, 0.16mmol)之乙腈溶液(2ml)，再攪拌 2 小時。於藉由減壓所得之濃縮液，添加 10%檸檬酸水溶液，調整成 pH5 後，以醋酸乙酯萃取。將有機層以無水硫酸鈉脫水後，藉由減壓而濃縮乾燥。將殘渣以 HPLC(管柱：Waters 社製 XBridge 1.9 i.d. × 5cm，含 0.1%甲酸的水/乙腈系線性梯度)精製，得到化合物 22(26mg)。

產率 19%；ESI MS m/z 1496.0(M-Bu₄N)⁻；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.45(24H, m), 1.41-1.50(70H, m), 1.67(16H, m), 1.95(2H, m), 2.11(2H, m), 3.07(2H, dd, J=8.0, 13.6Hz), 3.21-3.28(18H, m), 3.98(2H, m), 4.27(4H, m), 4.61(2H, m), 4.68(2H, m)。

【化 4 4】

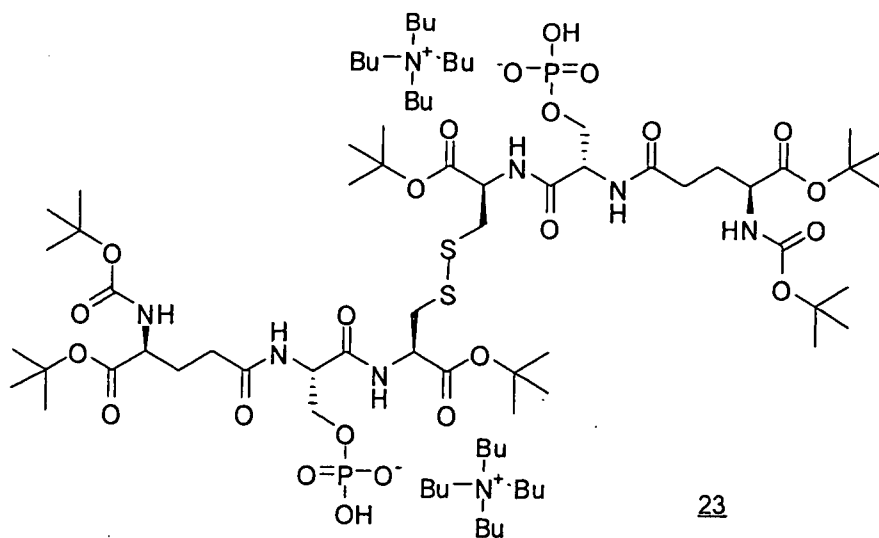


實施例 22：以式(V)所表示之化合物之氧化型二聚物之化合物 23 之合成

除了使用實施例 19 之化合物 20 以取代化合物 19 以外，藉由與實施例 21 相同的反應而得到化合物 23。

產率 11%；ESI MS m/z 1255.0($M-2Bu_4N$)⁻；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.05(24H, t, $J=7.2$ Hz), 1.41-1.49(70H, m), 1.69(16H, m), 1.92(2H, m), 2.92(2H, m), 2.41(4H, m), 3.10(2H, dd, $J=9.2, 14.0$ Hz), 3.26(18H, m), 3.98(2H, dd, $J=4.8, 9.2$ Hz), 4.16(2H, m), 4.27(2H, m), 4.57(2H, m), 4.69(2H, m)。

【化 4 5】

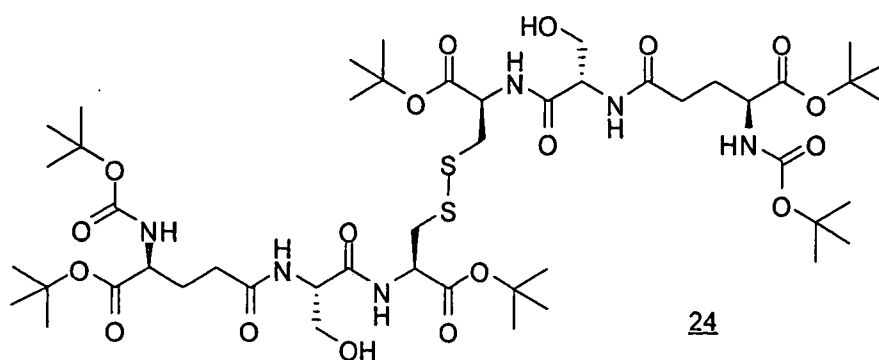


實施例 23：以式 (V) 所表示之化合物之氧化型二聚物之化合物 24 之合成

除了使用實施例 20 之化合物 21 以取代化合物 19 以外，藉由與實施例 21 相同的反應而得到化合物 24。

產率 95%；ESI MS m/z 1119.2($M+Na$)⁺；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.47(18H, s), 1.49(36H, s), 1.91(2H, m), 2.13(2H, m), 2.41(4H, m), 3.07(2H, m), 3.23(2H, m), 3.82(4H, m), 4.00(2H, m), 4.51(2H, m), 4.64(2H, m)。

【化 4 6】

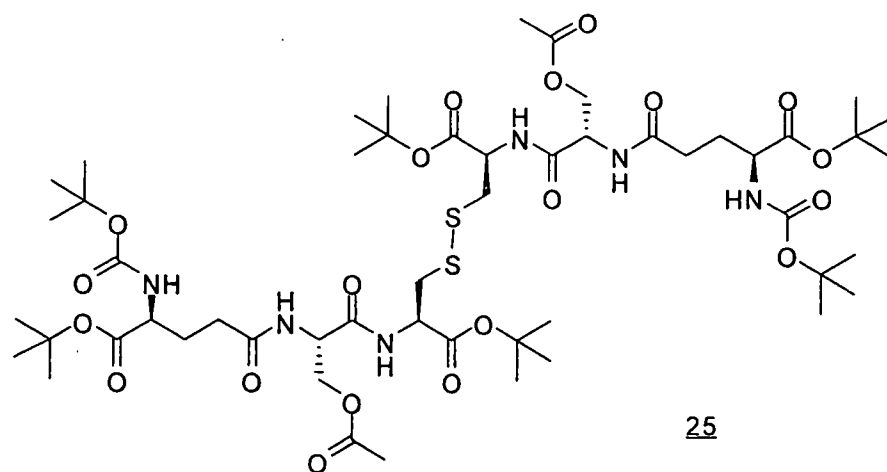


實施例 24：以式(V)所表示之化合物之氧化型二聚物之化合物 25 之合成

於依據實施例 23 所得之化合物 24(40mg, 0.1mmol)之吡啶溶液(0.2ml)，加入醋酸酐(0.1ml)，於冰冷下攪拌 2 小時。藉由減壓去除溶劑與過剩的試劑後，將殘渣以 HPLC 分離(管柱：Waters 社製 XBridge 1.9 i.d. × 5cm，含 0.1%甲酸的水/乙腈系線性梯度)而精製，得到白色固體之化合物 25(16mg)。

產率 37%；ESI MS m/z 1203.1(M+Na)⁺；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.46(18H, s), 1.47(36H, s), 1.90(2H, m), 2.08(6H, s), 2.10(2H, m), 2.40(4H, m), 3.02(2H, m), 3.24(2H, m), 4.00(2H, m), 4.32(2H, m), 4.39(2H, m), 4.64(2H, m), 4.76(2H, m)。

【化 4 7】



實施例 25：以式(V)所表示之化合物之氧化型二聚物之化

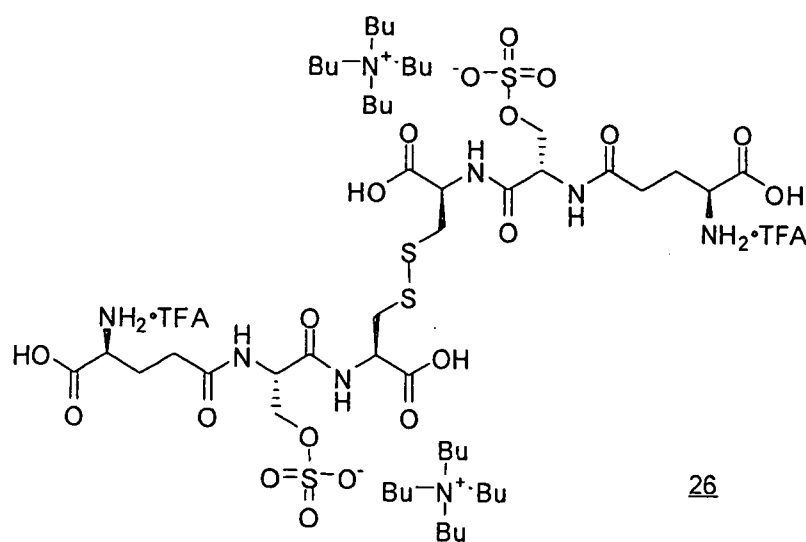
化合物 26 之合成

將實施例 21 之化合物 22(5mg, 0.0029mmol), 溶解於 95%三氟乙酸水溶液(0.2ml), 於冰冷下攪拌 2 小時。藉由減壓濃縮乾燥而得化合物 26(4.5mg)。在此, TFA 係表示三氟乙酸。

產率 100%; ESI MS m/z 1072.0(M-2TFA-Bu₄N)⁻;

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 1.05(24H, t, J=7.6Hz), 1.46(16H, m), 1.75(16H, m), 2.36(4H, m), 2.73(4H, m), 3.18(2H, dd, J=8.8, 14.4Hz), 3.30 (8H, m), 3.45(2H, dd, J=4.4, 14.4Hz), 4.22(2H, t, J=6.4Hz), 4.43(2H, d, J=4.8Hz), 4.86(2H, t, J=4.8Hz)。

【化 4 8】



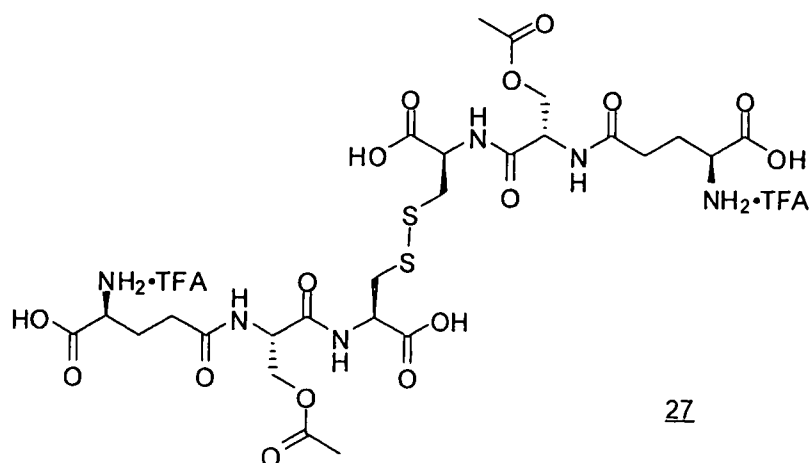
實施例 26: 以式(V)所表示之化合物之氧化型二聚物之化合物 27 之合成

除了使用實施例 24 之化合物 25 以取代實施例 22 之

化合物 23 以外，藉由與實施例 25 相同的反應而得到化合物 27。

ESI MS m/z 756.9 ($M+H$)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 2.08(6H, s), 2.19(4H, s), 2.60(4H, m), 3.05(2H, m), 3.25(2H, m), 4.03(2H, m), 4.36(4H, m), 4.76(4H, m)。

【化 49】

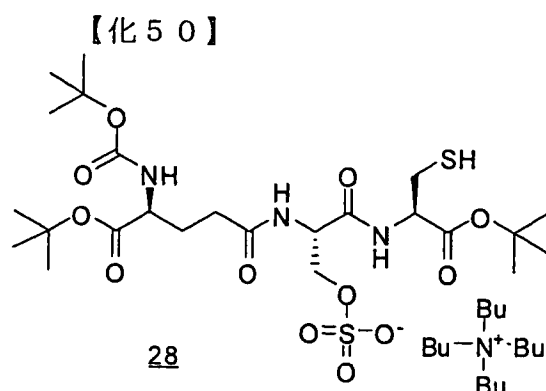


實施例 27：以式(V)所表示之化合物 28 之合成

將實施例 21 之化合物 22(5mg, 0.0029mmol)溶解於甲醇(0.2ml)後，加入水(0.5ml)及 TCEP(2mg, 0.008mmol)，於室溫下攪拌 10 分鐘。於反應液加入水後，以醋酸乙酯萃取後，藉由減壓而濃縮乾燥，得到無色麥芽糖狀物質之化合物 28(4mg)。

產率 80%；ESI MS m/z 627.9 ($M-Bu_4N$)⁻；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.05(12H, t, $J=7.2$ Hz), 1.44(8H, m), 1.50(9H, s), 1.56(18H, s), 1.68(8H, m), 1.93(1H, m), 2.13(1H, m), 2.42(2H, m), 3.04(1H, m), 3.25(9H, m),

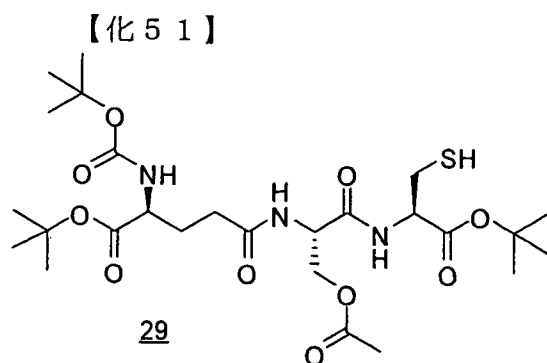
3.99(1H, m), 4.25-4.31(2H, m), 4.54-4.64(2H, m)。



實施例 28：以式(V)所表示之化合物 29 之合成

除了使用實施例 24 之化合物 25 以取代化合物 22 以外，藉由與實施例 27 相同的方法而得到化合物 29。

產率 77%；ESI MS m/z 592.0(M+H)⁺；¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.47(9H, s), 1.49(9H, s), 1.50(9H, s), 1.87(1H, m), 2.08(3H, s), 2.10(1H, m), 2.39(2H, t, J=7.2Hz), 2.90(1H, dd, J=6.4, 14.0Hz), 2.97(1H, dd, J=4.8, 14.0Hz), 4.02(1H, m), 4.30(1H, dd, J=6.4, 11.2Hz), 4.37(1H, dd, J=4.8, 11.2Hz), 4.53(1H, dd, J=4.8, 6.4Hz), 4.72(1H, dd, J=4.8, 6.4Hz)。

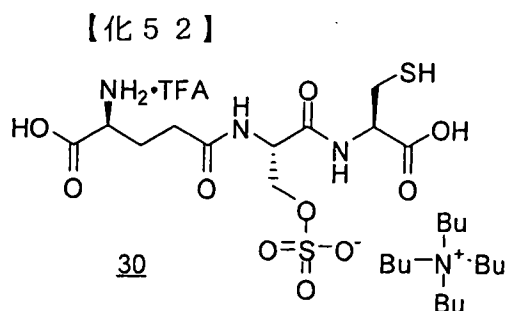


實施例 29：以式(V)所表示之化合物 30 之合成

將實施例 27 之化合物 28(4mg, 0.0046mmol)，溶解於 95%三氟乙酸水溶液(0.2ml)，於冰冷下攪拌 2 小時。藉由減壓濃縮乾燥而得化合物 30(3.5mg)。

產率 99%；ESI MS m/z 415.9(M-TFA-Bu₄N)⁻；

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1.05(12H, t, J=7.2Hz), 1.41(8H, m), 1.67(8H, m), 2.18(1H, m), 2.28(1H, m), 2.61(2H, t, J=7.2Hz), 2.92(1H, dd, J=6.0, 14.0Hz), 3.03(1H, dd, J=4.4, 14.0Hz), 4.07(1H, t, J=6.4Hz) 4.26(1H, dd, J=6.8, 11.2Hz), 4.33(1H, dd, J=3.6, 11.2Hz), 4.66(1H, dd, J=4.4, 6.0Hz), 4.70(1H, dd, J=3.6, 6.4Hz)。

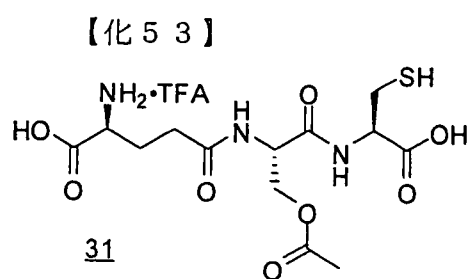


實施例 30：以式(V)所表示之化合物 31 之合成

除了使用實施例 28 之化合物 29 以取代化合物 28 以外，藉由與實施例 29 相同的方法而得到化合物 31(8mg)。

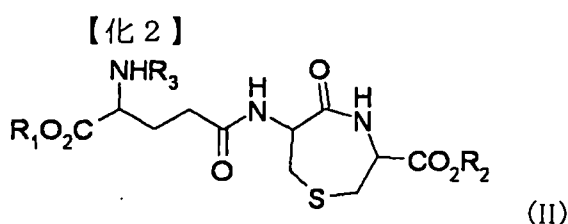
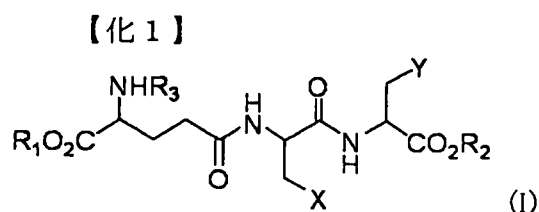
產率 96%；ESI MS m/z 377.8(M-H)⁻；¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 2.08(3H, s), 2.19(2H, m), 2.60(2H, s), 2.92-3.11(2H, m), 3.84(1H, m), 4.04-4.08(2H, m), 4.64(1H,

m), 4.74(1H, m)。



七、申請專利範圍

1. 一種化合物(II)或其化學上所容許的鹽的製造方法，其特徵係包含藉由使於鹼性條件下反應，使後述以一般式(I)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽變換成以式(II)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽之步驟，



(式中， R_1 及 R_2 係可分別相同或相異，氫原子或可被取代之低級烷基，

R_3 係氫原子、可被取代之烷氧基羰基、可被取代之磺醯基或醯基，

X 及 Y 係可為相同或相異， X 係 SR_4 、 OR_5 或鹵原子， Y 雖表示 SR_6 、 OR_7 或鹵原子，但在此 X 及 Y 中至少一方為 SR_4 或 SR_6 ，

R_4 及 R_6 係表示可分別相同或相異，氫原子、醯基、可被取代之低級烷基、 PO_3H_2 或 SO_3H ，

R_5 及 R_7 係表示可分別相同或相異，醯基、可被取代之低級烷基、 PO_3H_2 或 SO_3H)。

2. 如申請專利範圍第 1 項之製造方法，其中 X 係 SR_4 ，Y 係 OR_7 。

3. 如申請專利範圍第 1 項之製造方法，其中 X 係 OR_5 ，Y 係 SR_6 。

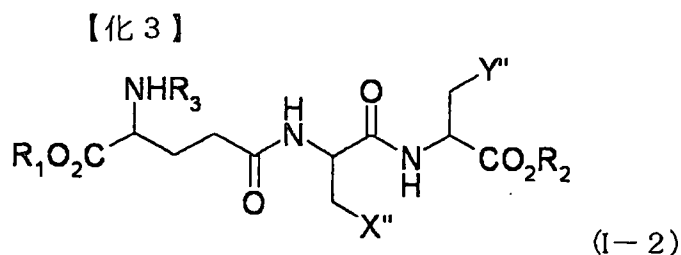
4. 如申請專利範圍第 1 項之製造方法，其中 X 係 SR_4 ，Y 係 SR_6 。

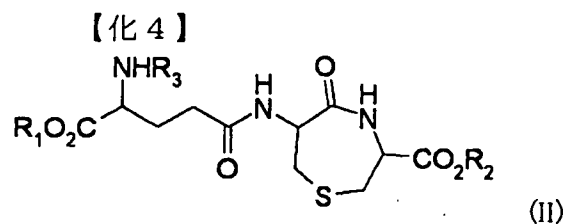
5. 如申請專利範圍第 1 項之製造方法，其中 X 及 Y 係可為相同或相異，表示 SH 或 $O-PO_3H_2$ 或 $O-SO_3H$ ，但在此 X 及 Y 中至少一方係表示 SH。

6. 如申請專利範圍第 1 項之製造方法，其中 X 係 SR_4 ，Y 係 SR_6 ， R_4 或 R_6 中任一種為氫原子。

7. 如申請專利範圍第 1 項之製造方法，其中 X 係 SR_4 ，Y 係 SR_6 ， R_4 及 R_6 皆為氫原子。

8. 一種化合物 (II) 或其化學上所容許的鹽的製造方法，其特徵係包含將後述以一般式 (I-2) 所表示之化合物或其化學上所容許的鹽，藉由環化反應，變換成以式 (II) 所表示之化合物或其化學上所容許的鹽之步驟，





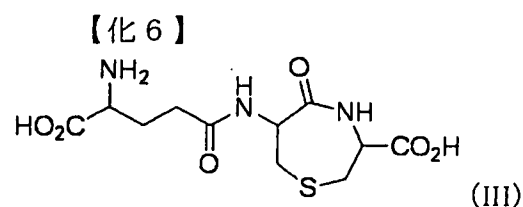
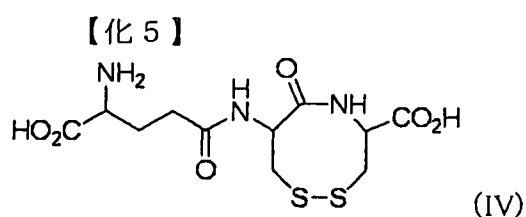
(式中， R_1 及 R_2 係可分別相同或相異，氫原子或可被取代之低級烷基，

R_3 係氫原子、可被取代之烷氧基羰基、可被取代之磺醯基或醯基，

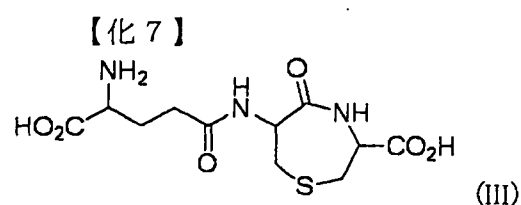
X " 及 Y " 係 SH 、 SR_4 、 OR_5 或鹵原子， X " 及 Y " 中一方為 SH ，並且另一方非 SH ，

R_4 及 R_5 係表示可分別相同或相異，醯基、可被取代之低級烷基、 PO_3H_2 或 SO_3H)。

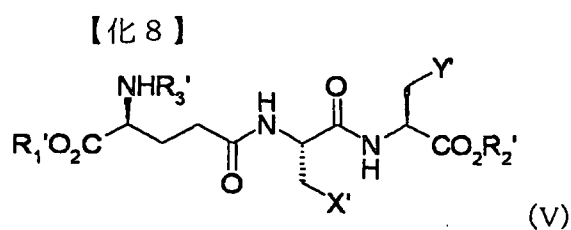
9. 一種化合物 (III) 或其化學上所容許的鹽的製造方法，其特徵係藉由使於鹼性條件下反應，使後述以式 (IV) 所表示之化合物或其化學上所容許的鹽變換成以化合物 (III) 所表示之化合物或其化學上所容許的鹽，



10. 一種以式(III)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽的製造方法，其特徵係包含如申請專利範圍第1項至第8項中任一項之以式(II)所表示之化合物中之 R_1 、 R_2 及/或 R_3 為氫原子以外的基時，自以式(II)所表示之化合物或其化學上所容許的鹽，將該氫原子以外的基之保護基去保護之步驟



11. 一種後述以式(V)所表示之化合物、或其化學上所容許的鹽，其特徵係



(式中， R_1' 及 R_2' 係可分別相同或相異，氫原子或可被取代之低級烷基，

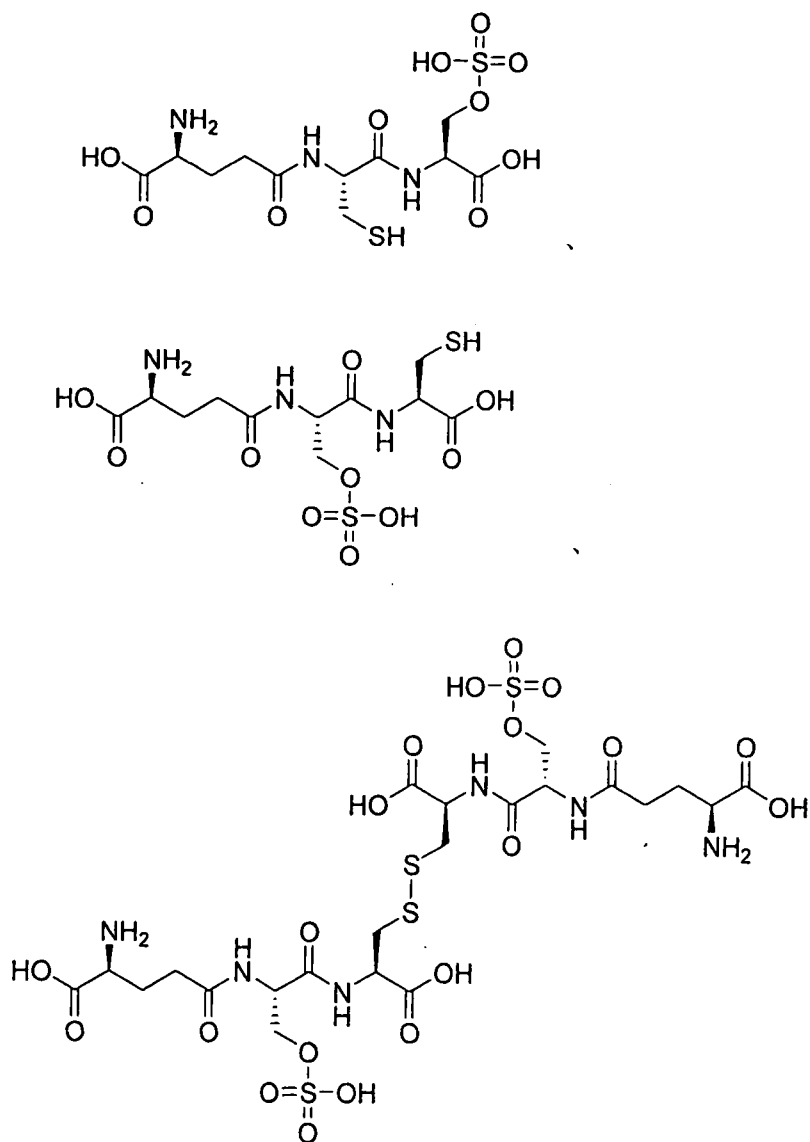
R_3' 係氫原子、可被取代之烷氧基羰基或可被取代之磺醯基，

X' 及 Y' 中任一方為SH，另一方為 OR_5' ， R_5' 係表示氫原子、醯基、可被取代之低級烷基、 PO_3H_2 或 SO_3H ；但是 X' 為SH時， Y' 並非OH)。

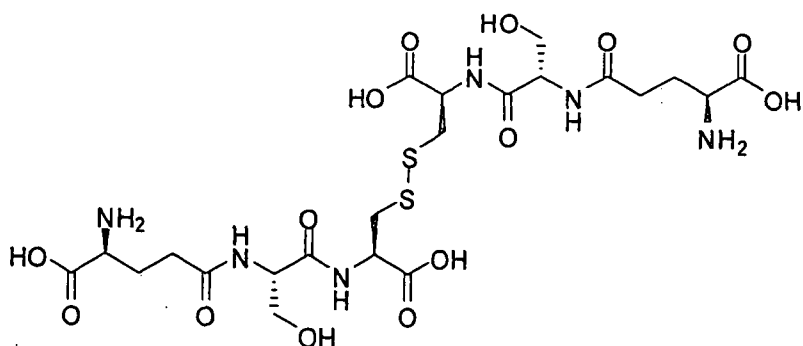
12. 如申請專利範圍第 11 項之化合物、或其化學上所容許的鹽，其為 γ -Glu-Ser-Cys。

13. 一種後述任一種化合物、或其化學上所容許的鹽，其特徵係

【化 9】



或



14. 一種如申請專利範圍第 11、12 或 13 項中任一之化合物、或其化學上所容許的鹽之使用，其特徵係用以製造 CaSR 促效藥。

15. 一種如申請專利範圍第 11、12 或 13 項中任一之化合物、或其化學上所容許的鹽之使用，其特徵係用以製造濃郁風味賦予劑。

16. 一種如申請專利範圍第 11、12 或 13 項中任一之化合物、或其化學上所容許的鹽之使用，其特徵係用以製造飲食品原料。