

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年6月18日(18.06.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/122182 A1

(51) 国際特許分類:

C07C 229/22 (2006.01) *C07K 11/02* (2006.01)
C07C 235/06 (2006.01) *C07K 14/00* (2006.01)
C07C 271/22 (2006.01) *C40B 40/08* (2006.01)
C07K 7/00 (2006.01) *C40B 40/10* (2006.01)

SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/048720

(22) 国際出願日: 2019年12月12日(12.12.2019)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2018-232144 2018年12月12日(12.12.2018) JP

(71) 出願人: 中外製薬株式会社(CHUGAI SEIYAKU
KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒1158543 東京
都北区浮間5丁目5番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 村岡 照茂 (MURAOKA, Terushige);
〒2478530 神奈川県鎌倉市梶原200番地
中外製薬株式会社内 Kanagawa (JP). 田
中 翔太 (TANAKA, Shota); 〒2478530 神奈川
県鎌倉市梶原200番地 中外製薬株
式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 春名 雅夫, 外(HARUNA, Masao et al.);
〒3000847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関
鉄つくばビル6階 Ibaraki (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,
MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS,
MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ,
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,
SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

規則4.17に規定する申立て:

— 出願し及び特許を与えられる出願人の資格に関
する申立て(規則4.17(ii))

添付公開書類:

— 国際調査報告(条約第21条(3))

(54) **Title:** AMINO ACID HAVING FUNCTIONAL GROUP CAPABLE OF INTERMOLECULAR HYDROGEN
BONDING, PEPTIDE COMPOUND CONTAINING SAME AND METHOD FOR PRODUCTION THEREOF

(54) 発明の名称: 分子内水素結合可能な官能基を有するアミノ酸とそれらのアミノ酸
を含むペプチド化合物、およびそれらの製造方法

(57) **Abstract:** The present inventor found that the membrane permeability of a peptide compound can be improved by
employing at least one amino acid which has a side chain capable of forming an intermolecular hydrogen bond, as one
of the amino acids constituting the peptide compound.

(57) 要約: ペプチド化合物を構成するアミノ酸の少なくとも1つを分子内水素結合を形成し得る側鎖を
有するアミノ酸とすることで、ペプチド化合物の膜透過性を改善できることを見出した。



WO 2020/122182 A1

明 細 書

発明の名称：

分子内水素結合可能な官能基を有するアミノ酸とそれらのアミノ酸を含むペプチド化合物、およびそれらの製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、ペプチド化合物の膜透過性を向上させることのできるアミノ酸、および該アミノ酸を含むペプチド化合物、およびそれらの製造方法に関する。

背景技術

[0002] タンパクータンパク相互作用の阻害に代表される、tough targetへのアクセスは低分子化合物と比較して、中分子化合物(分子量：500～2000)が優れている可能性がある。また、抗体と比較して、中分子化合物は細胞内に移行できる点でも優れている可能性がある。生理活性を有する中分子化合物の中でもペプチド医薬品はすでに40種類以上が上市されている価値の高い分子種である(非特許文献1)。

[0003] ペプチド医薬品の代表例として、シクロスポリンAやポリミキシンBが挙げられる。これらの構造に着目してみるとN-メチルアミノ酸に代表される、いくつかの非天然アミノ酸を含むペプチドである点、あるいは、環状ペプチドである点が特徴点として挙げられる。非天然アミノ酸とは、天然でmRNA上にコードされていないアミノ酸のことで、天然由来のシクロスポリンAやポリミキシンBに非天然アミノ酸が含まれていることに加え、これら非天然の構造部位や環状構造が生体内の作用部位と相互作用や体内動態に寄与して薬理活性を発現することは非常に興味深い。

[0004] 近年、中分子ペプチドが体内動態の改善に寄与しうる膜透過性の向上のための条件(ドラッグライクネスを満たすために必要な条件)として、例えば、環状部を有すること、N置換アミノ酸数、アミノ酸残基数の範囲、脂溶性などの条件が報告されている(特許文献1)。また、非天然アミノ酸である

N-メチルアミノ酸に着目し、翻訳合成によりN-メチルペプチドライブラリを作製したとの報告もある（特許文献2）。また、標的と薬物が複合体を形成するためには標的と薬物との相互作用が重要であり、その中で重要であるものが水素結合である（非特許文献3）。水素結合を形成するためにはプロトンドナーが必須であるが、膜透過性に対しては負の影響を与えうる。実際、膜透過性の改善方法のひとつとして、アミノ酸のN-メチル化が奏功することが知られている（特許文献1）。アミノ酸のN-メチル化以外でも、主鎖に含まれるアミド結合を利用してプロトンをマスクすることの膜透過性への影響が考察されている（非特許文献2）。

[0005] 一方で、アミノ酸の側鎖にプロトンとプロトンをマスクできるような官能基を有する非天然アミノ酸をデザインし、そのプロトンをマスクする機能によってペプチドの膜透過性が改善されたという報告はない。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第2013/100132号

特許文献2：国際公開第2012/033154号

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Future Med. Chem. 2009, 1, 1289-1310.

非特許文献2：Angew. Chem. Int. Ed. 2018, 57, 14414-14438.

非特許文献3：最新創薬化学上巻, p87

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 医薬に有用なペプチドの創生には、標的分子とペプチドとの相互作用の向上が必須といえる。標的分子とペプチドとの相互作用の向上には、アミノ酸の主鎖だけでなく、側鎖の構造が標的分子と相互作用することがさらに重要といえる。標的分子との相互作用を改善するためには、20種類の天然アミノ酸からなるペプチドだけでなく、標的分子との相互作用がより強固になる

ようにデザインされた非天然アミノ酸をペプチドに組み込むことがより有利である。特許文献1、および特許文献2に記載の方法では、ペプチドの構成単位であるアミノ酸のアミド結合部位のN-メチル化、アミノ酸残基数、脂溶性の観点からの示唆が記載されている一方で、標的分子との結合に有利であると考えられる水素結合を形成するために必要な酸素原子や窒素原子などに代表されるヘテロ原子がアミノ酸の側鎖に導入された場合の構造特性に関する考察はなされていない。非特許文献1では、ペプチド医薬品や環状ペプチドの環化方法の例示は記載されているものの、膜透過性とアミノ酸の構造との相関の示唆はない。非特許文献2では、ペプチド医薬品の例示はされているが、ペプチドを構成するアミノ酸の構造変換が、医薬への有用性に結びついているという示唆はなく、あくまでも既知化合物の考察がなされているにすぎず、医薬への汎用性は限定的である。

[0009] 本発明は、ペプチド化合物のデザイン、特に膜透過性に与える影響の研究が、アミノ酸各々の構造特性に着目されずに行われてきた状況を鑑みてなされたものであり、ペプチド化合物の膜透過性を改善するアミノ酸、および該アミノ酸を含むペプチド化合物を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明者らは、上記課題の解決手段として、以下を見出し、発明を完成した。すなわち、標的分子との相互作用の向上に必要なヘテロ原子をアミノ酸の側鎖に持ち、さらにそのアミノ酸側鎖上のプロトンを、同一のアミノ酸側鎖内で分子内水素結合によりマスクできるようなアミノ酸側鎖をデザインし、該アミノ酸を含むペプチド化合物を製造して膜透過性を評価したところ、驚くべきことに、該アミノ酸を含むペプチド化合物は、分子内水素結合をしないアミノ酸を含むペプチド化合物と比較して、膜透過性が優れていることを見出した。また、分子内水素結合をする側鎖を有するアミノ酸のデザインは、プロトンドナーとプロトンアクセプターが疑似環状構造、好ましくは4員環、5員環、6員環、あるいは7員環を取りうるような構造が効果を発揮することを見出した。また、該アミノ酸を含むペプチド化合物の膜透過に最

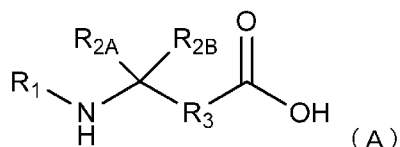
適なペプチドを構成するアミノ酸残基の数、N置換アミノ酸残基の数、N置換アミノ酸残基がペプチド中に含まれる割合、c L o g Pの範囲、芳香環の数を見出した。

[0011] 本発明は、非限定の具体的な一態様において以下を包含する。

〔1〕 2以上のアミノ酸が連結されたペプチド化合物であって、アミノ酸の少なくとも1つがその側鎖内で水素結合を形成し得る、ペプチド化合物。

〔2〕 側鎖内で水素結合を形成し得るアミノ酸が、側鎖内で擬似4～7員環を形成し得る、〔1〕に記載のペプチド化合物。

〔3〕 側鎖内で水素結合を形成し得るアミノ酸が、下記式Aで表される、〔1〕または〔2〕に記載のペプチド化合物：



式中、

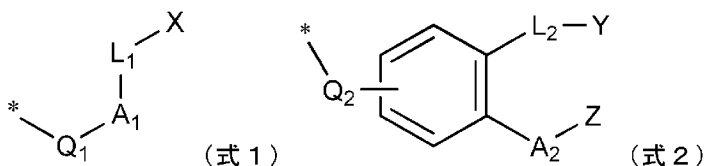
R_1 は、水素、もしくは $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基であり、この場合、 $\text{R}_{2\text{A}}$ および $\text{R}_{2\text{B}}$ は、 $\text{R}_{2\text{A}}$ が水素、もしくは $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基であり、かつ $\text{R}_{2\text{B}}$ は、水素または $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであるか、あるいは、 $\text{R}_{2\text{A}}$ および $\text{R}_{2\text{B}}$ は、それらが結合している炭素原子と一緒に4～6員の環を形成し、あるいは

R_1 は、 R_1 が結合する窒素原子、 $\text{R}_{2\text{A}}$ 、および $\text{R}_{2\text{A}}$ が結合する炭素原子と一緒に4～6員の複素環を形成し、該複素環は、式1もしくは式2で表される基、 --OH 、およびアルコキシ基からなる群より選択される、1つまたは複数の置換基を有していてもよく、この場合、 $\text{R}_{2\text{B}}$ は、水素または $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであり、

R_3 は、単結合、または $\text{--CHR}_4\text{--}$ であり、

R_4 は、水素、もしくは $\text{C}_1\text{--C}_4$ アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基であり、

式 1 および式 2 は、それぞれ下記式：



で表され、式中、

*は、結合点を示し、

Q_1 および Q_2 は、独立して、単結合、 C_1-C_4 アルキレン、または酸素原子を 1 つ含む C_2-C_4 ヘテロアルキレンであり、

A_1 は、 $-O-$ 、または $-S-$ であり、

L_1 は、フッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ ($=O$) からなる群より選択される 1 つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

A_2 は、単結合、 $-O-$ 、または $-S-$ であり、

L_2 は、単結合であるか、またはフッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ ($=O$) からなる群より選択される 1 つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

X は、 $-OH$ 、 $-NR_{Z1}R_{Z2}$ 、もしくは $-CONR_{Z1}R_{Z2}$ であるか、または 1～3 個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくは 1 つまたは複数のハロゲンによって置換されていてもよい 5～6 員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルであり；

R_{Z1} および R_{Z2} は、独立して、水素、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキル、および C_1-C_4 アルキルスルホニルからなる群より選択され、

Y は、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノ、 $-NR_{Z3}R_{Z4}$ 、もしくは $-CONR_{Z3}R_{Z4}$ であるか、または 1～3 個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくはハロゲンによって置換されていてもよい 5～6 員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルであり、

R_{Z3} および R_{Z4} は、独立して、水素、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキル、および

C_1-C_4 アルキルスルホニルからなる群より選択され、

Zは、水素または C_1-C_4 アルキルであり、

但し、 A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ である場合、Zは水素ではなく、

ここで、式Aで表されるアミノ酸は、式1または式2で表される基のいずれかを少なくとも1つ含む。

[4] R_1 が、式1または式2で表される基であり、

R_{2A} および R_{2B} が、独立して水素、もしくは C_1-C_6 アルキルであるか、あるいは、 R_{2A} および R_{2B} は、それらが結合している炭素原子と一緒になって4～6員の環を形成し、

R_3 が、単結合、または $-CHR_4-$ であり、

R_4 が、水素、または C_1-C_4 アルキルである

[3]に記載のペプチド化合物。

[5] R_1 が、 R_1 が結合する窒素原子、 R_{2A} 、および R_{2A} が結合する炭素原子と一緒になって4～6員の複素環を形成し、該複素環は、式1または式2で表される基を有しており、

R_{2B} が、水素または C_1-C_6 アルキルであり、

R_3 が、単結合、または $-CHR_4-$ であり、

R_4 が、水素、または C_1-C_4 アルキルである

[3]に記載のペプチド化合物。

[6] R_1 が、水素、もしくは C_1-C_6 アルキルであり

R_{2A} が、式1もしくは式2で表される基であり、

R_{2B} は、水素または C_1-C_6 アルキルであり、

R_3 が、単結合、または $-CHR_4-$ であり、

R_4 が、水素、または C_1-C_4 アルキルである

[3]に記載のペプチド化合物。

[7] R_1 が、水素、もしくは C_1-C_6 アルキルであり、

R_{2A} および R_{2B} が、独立して水素、もしくは C_1-C_6 アルキルであるか、あるいは、 R_{2A} および R_{2B} は、それらが結合している炭素原子と一緒になっ

て4～6員の環を形成し、

R_3 が、 $-CHR_4-$ であり、

R_4 が、式1もしくは式2で表される基である、

[3]に記載のペプチド化合物。

[8] Q_1 が C_1-C_4 アルキレンであり、

A_1 が $-O-$ または $-S-$ であり、

L_1 が、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

X が $-OH$ である、

[3]～[7]のいずれかに記載のペプチド化合物。

[9] Q_1 が C_1-C_4 アルキレンであり、

A_1 が $-O-$ または $-S-$ であり、

L_1 が、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

X が $-CONR_{Z1}R_{Z2}$ であり、

R_{Z1} が C_1-C_4 アルキルであり、

R_{Z2} が水素である、

[3]～[7]のいずれかに記載のペプチド化合物。

[10] Q_1 が C_1-C_4 アルキレンであり、

A_1 が $-O-$ または $-S-$ であり、

L_1 が、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

X が1～3個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくは1つまたは複数のハロゲンによって置換されていてもよい5～6員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルである、

〔3〕～〔7〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔11〕 Q_1 が単結合であり、

A_1 が $-O-$ または $-S-$ であり、

L_1 が、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ ($=O$) からなる群より選択される 1 つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

X が $-OH$ である、

〔3〕～〔7〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔12〕 Q_1 が CH_2- である、〔3〕～〔11〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔13〕 A_1 が $-O-$ である、〔3〕～〔12〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔14〕 L_1 が、 $-CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH(CF_3)-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2-$ 、 $-(CH_2)_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2C(CH_3)_2-$ 、および $-CH_2CO-$ からなる群より選択される、〔3〕～〔13〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔15〕 Q_2 が C_1-C_4 アルキレンであり、

L_2 が単結合であり、

Y が $-CONR_{Z3}R_{Z4}$ であり、

A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ であり、

Z が C_1-C_4 アルキルである、

〔3〕～〔7〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔16〕 Q_2 が C_1-C_4 アルキレンであり、

L_2 が単結合であり、

Y が $-CONR_{Z3}R_{Z4}$ であり、

A_2 が単結合であり、

Z が水素である、

〔3〕～〔7〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔17〕 Q_2 が C_1-C_4 アルキレンであり、

L_2 が単結合であり、

Y が C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノカルボニルであり、

A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ であり、

Z が C_1-C_4 アルキルである、

〔3〕～〔7〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔18〕 Q_2 が C_1-C_4 アルキレンであり、

L_2 が単結合であり、

Y が $-OH$ であり、

A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ であり、

Z が C_1-C_4 アルキルである、

〔3〕～〔7〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔19〕 Q_2 が $-CH_2-$ である、〔3〕～〔7〕、〔16〕～〔18〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

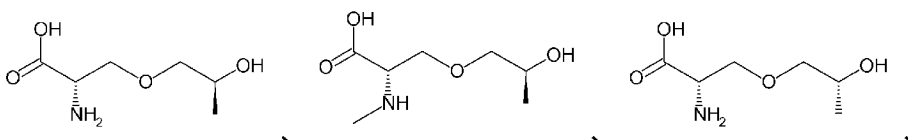
〔20〕 Y が、メチルアミノカルボニル、 $-CON(OH)Me$ 、または $-CONH(OH)$ である、〔3〕～〔7〕、〔15〕、および〔19〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

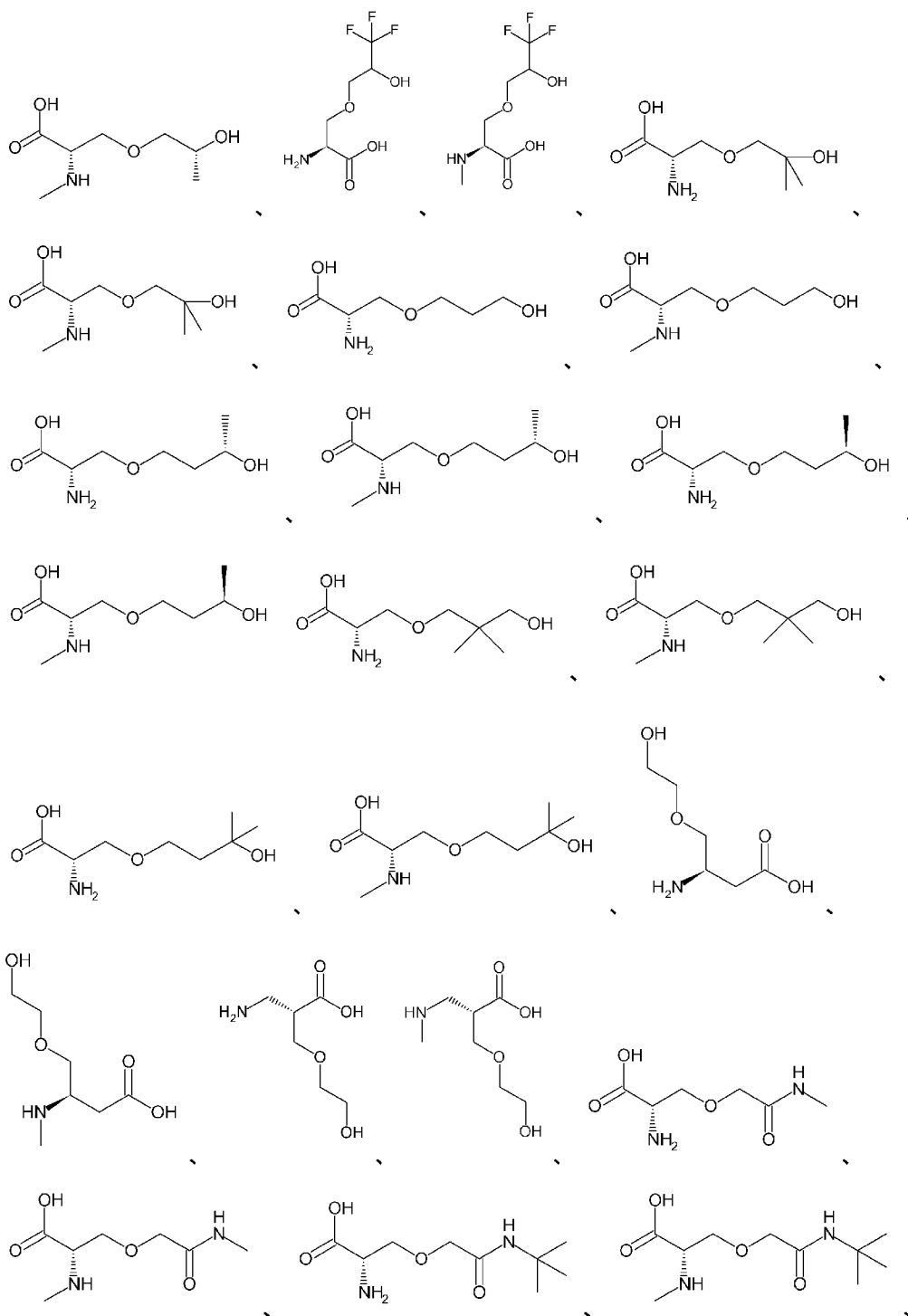
〔21〕 Y が、 $-CON(OH)Me$ である、〔3〕～〔7〕、〔16〕、および〔19〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

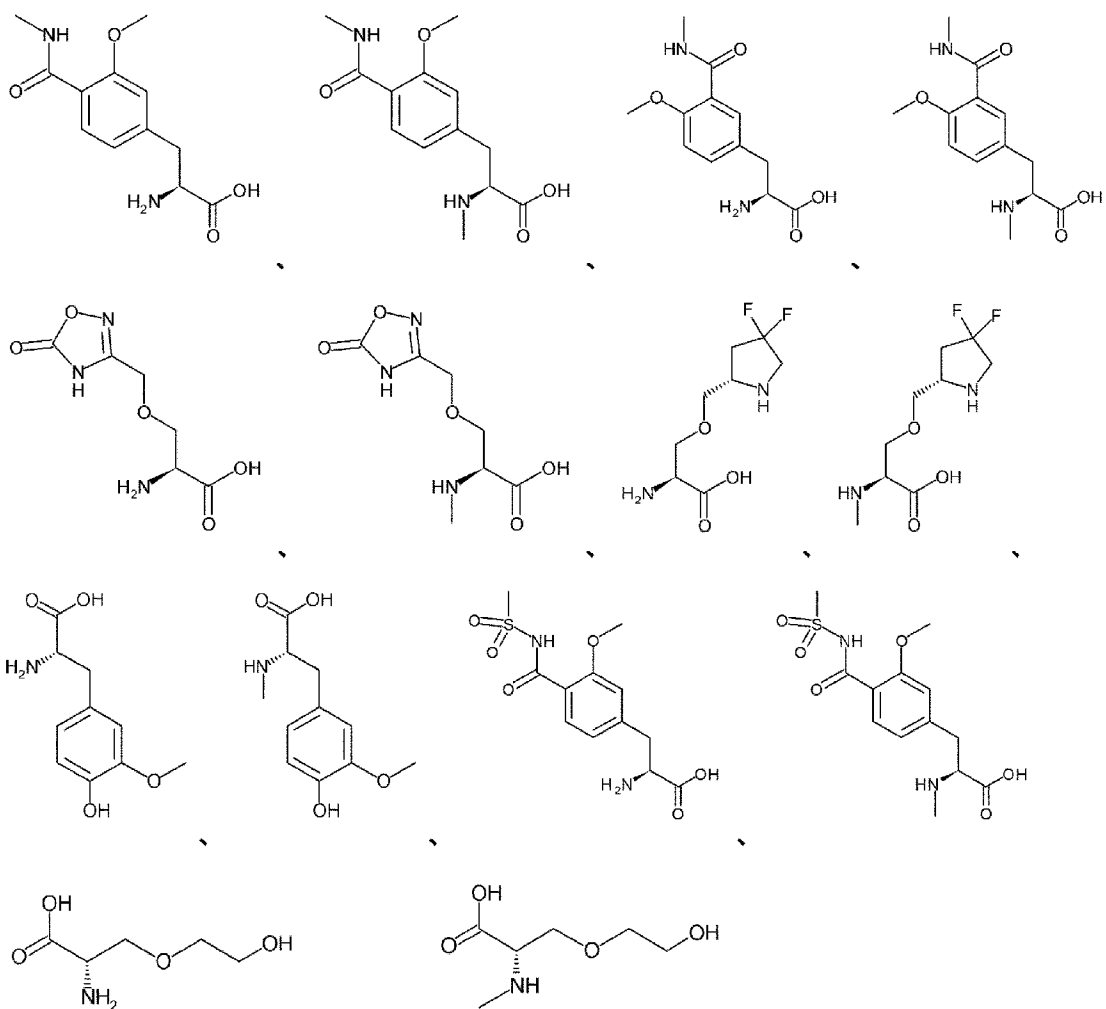
〔22〕 A_2 が $-O-$ である、〔3〕～〔7〕、〔15〕、および〔17〕～〔21〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

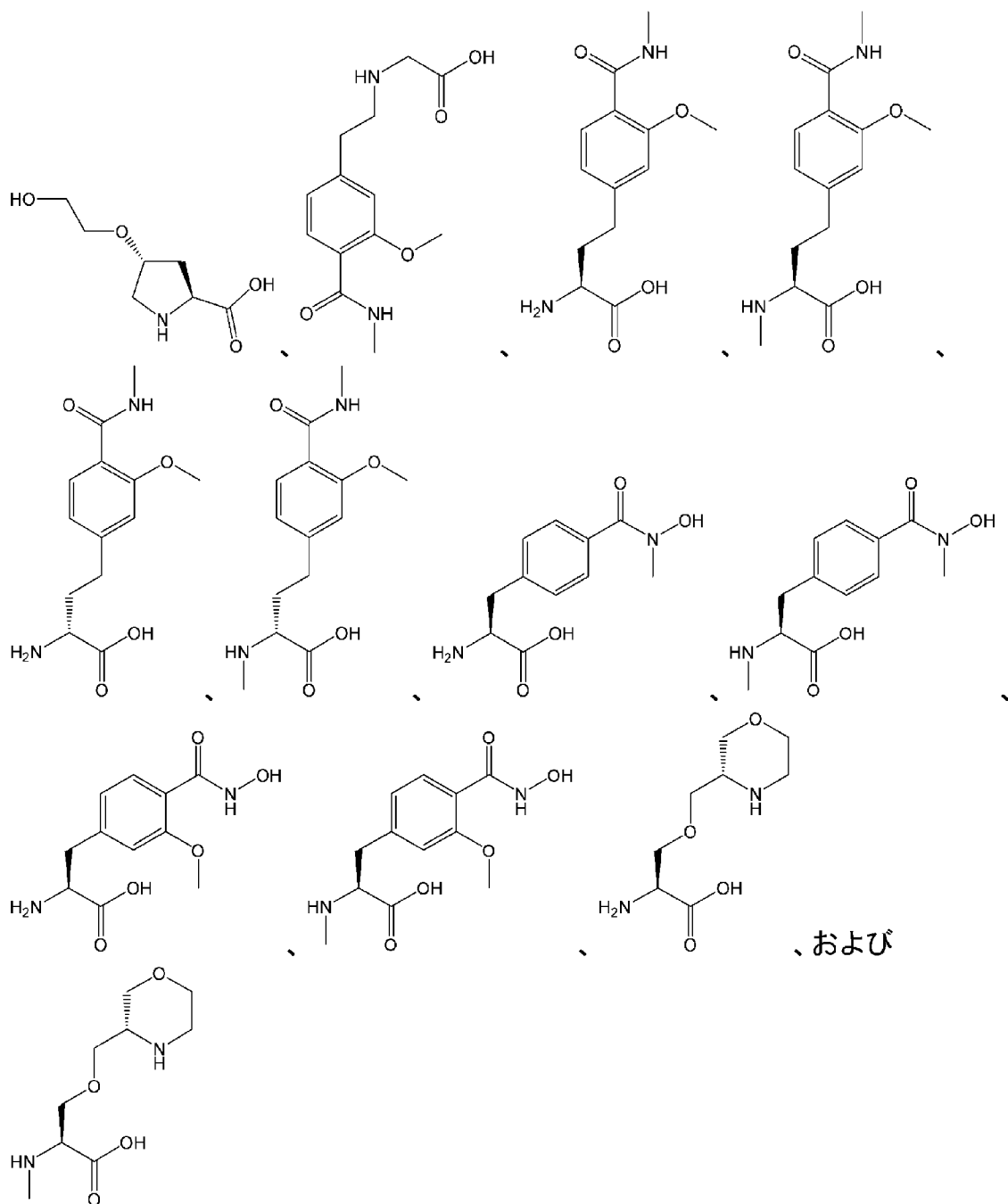
〔23〕 Z がメチルである、〔3〕～〔7〕、〔15〕、〔17〕～〔22〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔24〕 式Aで表されるアミノ酸が以下からなる群：









より選択される、〔３〕に記載のペプチド化合物。

〔２５〕５～３０のアミノ酸から構成される、〔１〕～〔２４〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔２６〕環状である、〔１〕～〔２５〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔２７〕２～１５のアミノ酸から構成される環状部を含む、〔２６〕に記載のペプチド化合物。

〔28〕 2～30のN置換アミノ酸を含む、〔1〕～〔27〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

〔29〕 全アミノ酸数に対するN置換アミノ酸数の割合が30%以上である、〔1〕～〔28〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

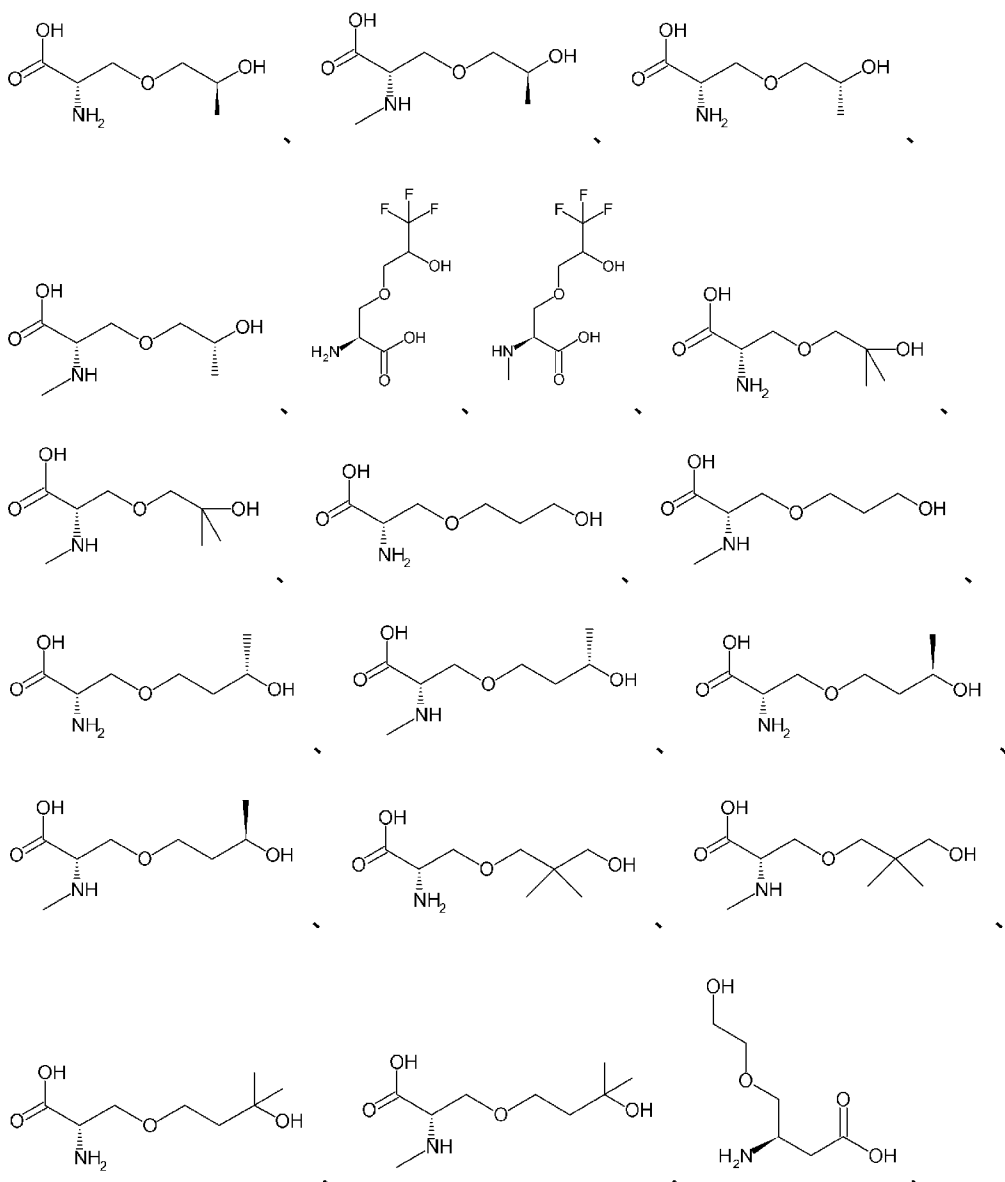
〔30〕 4.0～18のClogPを有する、〔1〕～〔29〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

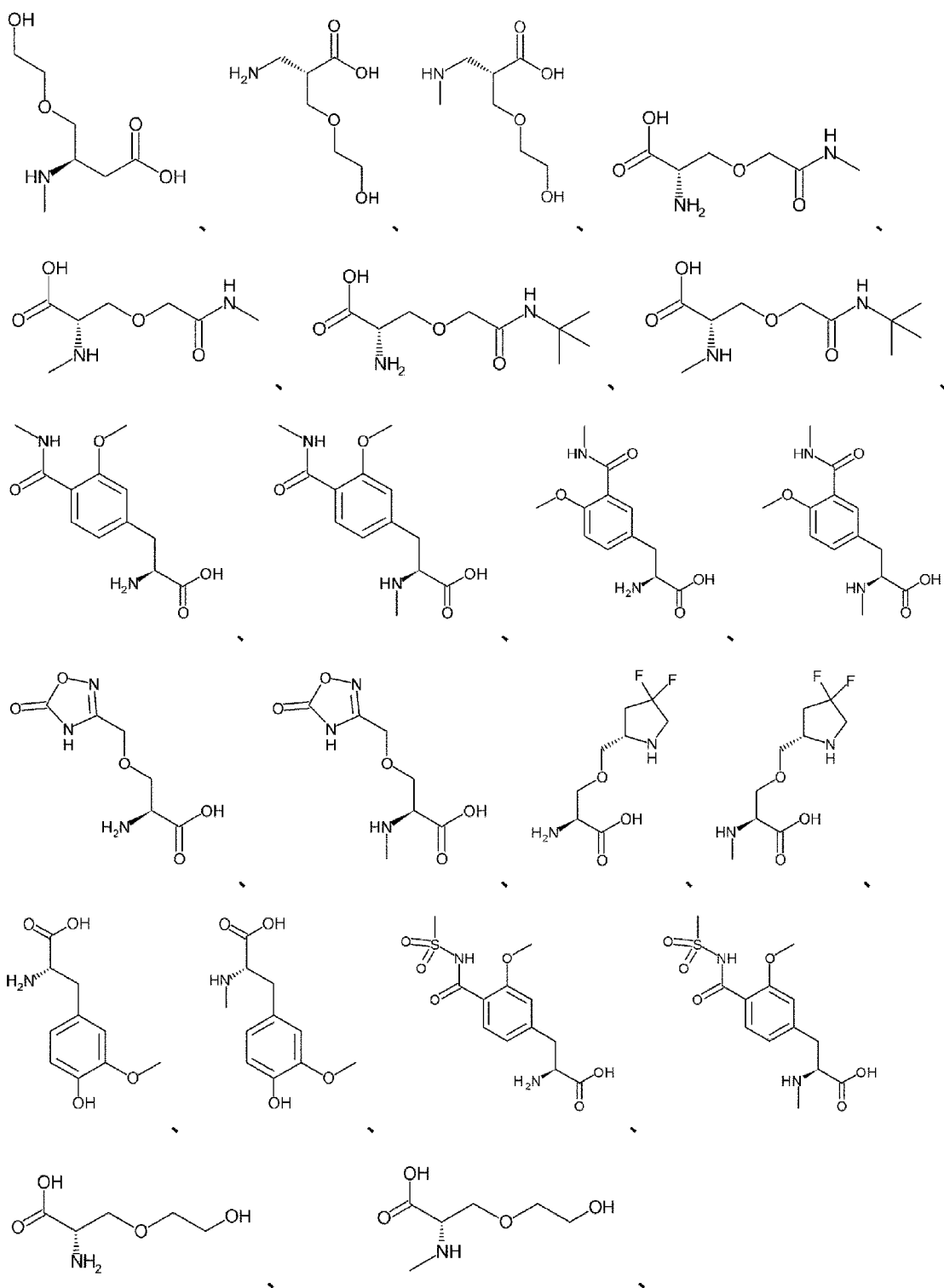
〔31〕 1.0×10^{-7} cm/秒以上の P_{app} を有する、〔1〕～〔30〕のいずれかに記載のペプチド化合物。

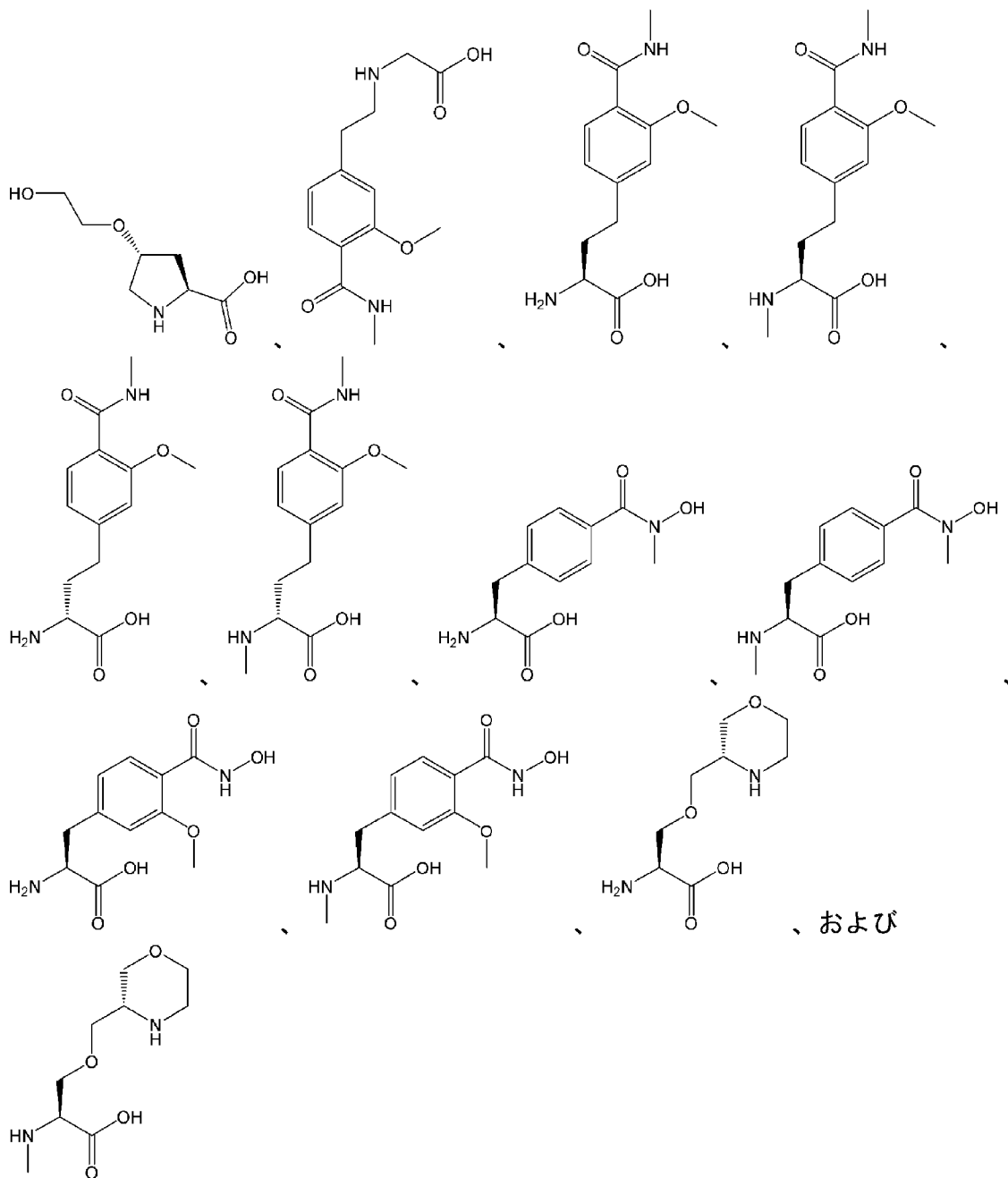
〔32〕 〔1〕～〔31〕のいずれかに記載のペプチドおよび／または当該ペプチドをコードする核酸を含むライブラリ。

〔33〕 〔3〕～〔23〕のいずれかに記載の式Aで表されるアミノ酸。

〔34〕 以下からなる群：







より選択される、〔33〕に記載のアミノ酸。

〔35〕〔33〕または〔34〕に記載のアミノ酸に含まれるアミノ基、および／またはカルボキシル基が保護基で保護されている、保護アミノ酸。

〔36〕アミノ基の保護基が、Fmoc基、Boc基、Cbz基、Alloc基、ノシル基、ジニトロノシル基、t-Bu基、トリチル基、およびクミル基からなる群より選択される、および／または

カルボキシル基の保護基が、メチル基、アリル基、t-Bu基、トリチル

基、クミル基、メトキシトリチル基、およびベンジル基からなる群より選択される、〔35〕に記載の保護アミノ酸。

発明の効果

[0012] 本発明によれば、ペプチド医薬品の探索、具体的には膜透過性に優れ標的分子に特異的に結合するアミノ酸、および該アミノ酸を含むペプチド、またはこれらアミノ酸及びペプチドを供給することが可能となる。

図面の簡単な説明

[0013] [図1-1]Trpの側鎖を有しない環状ペプチド化合物を母集団とした場合のClogP/total AAとPappの関係を示した図である。

[図1-2]Trpの側鎖を有する環状ペプチド化合物を母集団とした場合のClogP/total AAとPappの関係を示した図である。

[図2]環状ペプチド化合物のARCと細胞膜透過性の関係を示した図である。

[図3-1]例えば、Ser(NMe-Aca)の側鎖部分構造でのポテンシャルエネルギー曲面 (Potential energy surface) の図である。

[図3-2]例えば、Ser(NMe-Aca)の側鎖部分構造でのCSDに登録されているX線構造解析の結果を用いた、結晶構造 (Crystal structures) のコンフォメーション分布を示した図である。

[図4-1]例えば、Ser(EtOH)、bAla(3R-MeOEtOH)、bAla(2S-MeOEtOH)の側鎖部分構造でのポテンシャルエネルギー曲面の図である。

[図4-2]例えば、Ser(EtOH)、bAla(3R-MeOEtOH)、bAla(2S-MeOEtOH)の側鎖部分構造でのCSDに登録されているX線構造解析の結果を用いた、結晶構造のコンフォメーション分布を示した図である。

発明を実施するための形態

[0014] 以下に、本明細書の好ましい非限定的な実施態様を説明する。

[0015] 後述する本実施例に記載されるあらゆる要素(element)は、本特許出願の権利化を意図する国における、実施例に記載の内容を限定的に解釈しようとし得るいかなる特許実務、慣習、法令等の制限に縛られることなく、本「発明を実施するための形態」においても同等に記載されていると当然にみなされ

ることを意図して記載される。

[0016] 本明細書におけるいずれかに記載の一又は複数の要素(element)の一部又は全部を任意に組み合わせたものも、当業者の技術常識に基づいて技術的に矛盾しない限り、本明細書に含まれることが意図され、かつ、当業者には当然に理解されるものとして記載される。

[0017] 本明細書では、以下の略号を用いる。A l a (アラニン)、A r g (アルギニン)、A s n (アスパラギン)、A s p (アスパラギン酸)、C y s (システイン)、G l u (グルタミン酸)、G l n (グルタミン)、G l y (グリシン)、H i s (ヒスチジン)、I l e (イソロイシン)、L e u (ロイシン)、L y s (リシン)、M e t (メチオニン)、P h e (フェニルアラニン)、P r o (プロリン)、S e r (セリン)、T h r (トレオニン)、T r p (トリプトファン)、T y r (チロシン)、V a l (バリン)。また、これらに加えて、後述の略号表および表1に記載した略号を用いる。

[0018] (官能基等の定義)

本明細書において「アルキル」とは、脂肪族炭化水素から任意の水素原子を1個除いて誘導される1価の基であり、骨格中にヘテロ原子(炭素及び水素原子以外の原子をいう。)または不飽和の炭素-炭素結合を含有せず、水素及び炭素原子を含有するヒドロカルビルまたは炭化水素基構造の部分集合を有する。該アルキル基は直鎖状、又は分枝鎖状のものを含む。アルキル基としては、炭素原子数1~20(C_1-C_{20} 、以下「 C_p-C_q 」とは炭素原子数が $p \sim q$ 個であることを意味する。)のアルキル基であり、好ましくは C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_5 アルキル基、 C_1-C_4 アルキル基、 C_1-C_3 アルキル基などが挙げられる。アルキルとしては、具体的には、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、イソプロピル、*tert*-ブチル基、*sec*-ブチル基、1-メチルプロピル基、1,1-ジメチルプロピル基、2,2-ジメチルプロピル、1,2-ジメチルプロピル、1,1,2-トリメチルプロピル、1,2,2-トリメチルプロピル、1,1,2,2-テトラメチルプロピル、1-メチルブチル、2-メチルブチル、3-メ

チルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、3, 3-ジメチルブチル、1-エチルブチル、2-エチルブチル、イソペンチル、ネオペンチル等が挙げられる。

[0019] 本明細書における「ヘテロアルキル」は、前記「アルキル」の骨格中に好ましくは1～5個のヘテロ原子を含む基を意味し、好ましくは C_2-C_{10} ヘテロアルキル、 C_2-C_6 ヘテロアルキルなどが挙げられる。ヘテロアルキルとして具体的には、 $-CH_2OCH_3$ 、 $-CH_2OCH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)OCH_3$ 、 $-CH_2CH_2N(CH_3)_2$ などが挙げられる。

[0020] 本明細書における「ハロゲン原子」としては、F、Cl、Br、及びIが挙げられ、F又はClが好ましく例示される。

[0021] 本明細書における「フルオロアルキル」は、前記「アルキル」の1つまたは複数の水素原子がフッ素原子で置換された基を意味し、好ましくは C_1-C_6 フルオロアルキル、 C_1-C_4 フルオロアルキル、 C_1-C_2 フルオロアルキルなどが挙げられる。フルオロアルキルとして具体的には、トリフルオロメチル基、2, 2, 2-トリフルオロエチル基、ペンタフルオロエチル基、2, 2, 3, 3-テトラフルオロプロピル基、ヘプタフルオロプロピル基、トリフルオロメトキシ基、2, 2, 2-トリフルオロエトキシ基、ペンタフルオロエトキシ基、2, 2, 3, 3-テトラフルオロプロポキシ基、ヘプタフルオロプロポキシ基などが挙げられる。

[0022] 本明細書における「アルキルスルホニル」は、前記「アルキル」が結合したスルホニル基（即ち、 $-SO_2$ -アルキル）であることを意味する。アルキルスルホニルとして、好ましくは、 C_1-C_6 アルキルスルホニル、 C_1-C_4 アルキルスルホニルなどが挙げられ、具体的には、メチルスルホニル、エチルスルホニル、*n*-プロピルスルホニル、*i*-プロピルスルホニルなどが挙げられる。

[0023] 本明細書における「アルキルスルホニルアミノ」は、アミノ基（ $-NH_2$ ）

の一つの水素原子が、前記「アルキルスルホニル」で置換された基を意味する。アルキルスルホニルアミノとして、好ましくは、 C_1-C_6 アルキルスルホニルアミノ、 C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノなどが挙げられ、具体的には、メチルスルホニルアミノ、エチルスルホニルアミノ、 n -プロピルスルホニルアミノ、 i -プロピルスルホニルアミノなどが挙げられる。

[0024] 本明細書における「アルケニル基」は、少なくとも1個の二重結合（2個の隣接 sp^2 炭素原子）を有する1価の基である。二重結合および置換分（存在する場合）の配置によって、二重結合の幾何学的形態は、エントゲーゲン（E）またはツザンメン（Z）、シスまたはトランス配置をとることができる。アルケニル基としては、直鎖状または分枝鎖状のものが挙げられ、内部オレフィンを含む直鎖などを含む。好ましくは C_2-C_{10} アルケニル基、さらに好ましくは C_2-C_6 アルケニル基が挙げられる。このようなアルケニルは、具体的には、たとえば、ビニル基、アリル基、1-プロペニル基、2-プロペニル基、1-ブテニル基、2-ブテニル基（シス、トランスを含む）、3-ブテニル基、ペンテニル基、ヘキセニル基などが挙げられる。

[0025] 本明細書において「アルキニル」は、少なくとも1個の三重結合（2個の隣接 sp 炭素原子）を有する、1価の基である。直鎖状または分枝鎖状のアルキニル基が挙げられ、内部アルキレンを含む。好ましくは C_2-C_{10} アルキニル基、さらに好ましくは C_2-C_6 アルキニル基が挙げられる。アルキニルとしては具体的には、たとえば、エチニル基、1-プロピニル基、プロパルギル基、3-ブチニル基、ペンチニル基、ヘキシニル基などが挙げられる。

[0026] 本明細書において「シクロアルキル」とは、飽和または部分的に飽和した環状の1価の脂肪族炭化水素基を意味し、単環、ビスクロ環、スピロ環を含む。好ましくは C_3-C_{10} シクロアルキルが挙げられる。シクロアルキル基は、部分的に不飽和であってもよい。シクロアルキルとしては具体的には、たとえば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、ビスクロ[2.2.1]ヘプチルなどが挙げられる。

- [0027] 本明細書において「アリール」とは1価の芳香族炭化水素環を意味し、好ましくは C_6-C_{10} アリールが挙げられる。アリールとしては具体的には、例えば、フェニル、ナフチルが挙げられる。
- [0028] 本明細書において「ヘテロアリール」とは、環を構成する原子中（本明細書において「環内」ともいう。）に好ましくは1～5個のヘテロ原子を含有する芳香族性の環の1価の基を意味し、部分的に飽和されていてもよい。環は単環、または2個の縮合環（例えば、ベンゼンまたは単環ヘテロアリールと縮合した2環式ヘテロアリール）であってもよい。環を構成する原子の数は好ましくは5～10である（5員～10員ヘテロアリール）。ヘテロアリールとしては具体的には、例えば、イミダゾリル、チアゾリル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾロニル、チアジアゾロニル、テトラゾリル、ピリジル、インドリルなどが挙げられる。
- [0029] 本明細書において、「ヘテロ原子を環内に有する」とは、環を構成する原子中にヘテロ原子を含有することを意味し、そのような環としては、ピリジンなどの芳香族複素環、ピペリジン、モルホリン、ピロリジン、またはアゼチジンなどの非芳香族複素環が例示される。また、前記ヘテロ原子が酸素原子の場合に、「環内に酸素原子を有する」などと表記される。
- [0030] 本明細書において「複素環基」とは、ヘテロ原子（例えばN、O、Sなど）を環内に少なくとも一つ有する基をいい、飽和ヘテロシクリル基、または不飽和ヘテロシクリル基ともいう。ヘテロ原子としてはN又はOが好ましく、ヘテロ原子の数は1又は2個が好ましく、4～6員環であることが好ましい。また複素環基は、アルキル基、フルオロアルキル基、オキソ、ハロゲン原子で置換されていてもよい。複素環基としては、ピリジル基、ピペリジノ基、モルホリノ基、ピロリジノ基、オキサジアゾロニル基、またはアゼチジニル基が好ましく例示される。
- [0031] 本明細書において「アリールアルキル（アラルキル）」とは、アリールとアルキルを共に含む基であり、例えば、前記アルキルの少なくとも一つの水素原子がアリールで置換された基を意味し、好ましくは、「 C_5-C_{10} アリー

ルC₁－C₆アルキル」が挙げられる。たとえば、ベンジルなどが挙げられる。

[0032] 本明細書において「アルキレン」とは、前記「アルキル」からさらに任意の水素原子を1個除いて誘導される二価の基を意味する。アルキレンとしては好ましくはC₁－C₂アルキレン、C₁－C₃アルキレン、C₁－C₄アルキレン、C₁－C₅アルキレン、C₁－C₆アルキレンが挙げられる。アルキレンとして具体的には、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-(\text{CH}_2)_3-$ 、 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-(\text{CH}_2)_4-$ 、 $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-(\text{CH}_2)_5-$ 、 $-(\text{CH}_2)_6-$ などが挙げられる。

[0033] 本明細書において「ヘテロアルキレン」とは、前記「ヘテロアルキル」からさらに任意の水素原子を1個除いて誘導される二価の基を意味しC₂－C₆ヘテロアルキレン、C₂－C₅ヘテロアルキレン、C₂－C₄ヘテロアルキレン、C₂－C₃ヘテロアルキレン、C₂ヘテロアルキレンなどが挙げられる。例えば、ヘテロ原子として酸素原子を基中に含むヘテロアルキレンとして具体的には、 $-\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ 、 $-\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ などが挙げられる。

[0034] 本明細書において「アリーレン」とは、前記アリールからさらに任意の水素原子を1個除いて誘導される2価の基を意味する。アリーレンは、単環でも縮合環でもよい。環を構成する原子の数は特に限定されないが、好ましくは6～10である（C₆－C₁₀アリーレン）。アリーレンとして具体的には、たとえば、フェニレンなどが挙げられる。

[0035] 本明細書において「ヘテロアリーレン」とは、前記ヘテロアリールからさらに任意の水素原子を1個除いて誘導される2価の基を意味する。ヘテロアリーレンは、単環でも縮合環でもよい。環を構成する原子の数は特に限定されないが、好ましくは5～10である（5員～10員ヘテロアリーレン）。ヘテロアリーレンとして具体的には、イミダゾールジイル、ピリジンジイル

、オキサジアゾールジイル、チアゾールジイル、チアジアゾールジイルなどが挙げられる。

[0036] 本明細書において「縮環構造」とは、二つまたはそれ以上の環を有する環式化合物において、複数の環が2個またはそれ以上の原子を共有している環式構造をいう。「2以上の芳香環による縮環構造」とは、二つまたはそれ以上の芳香環を有する環式化合物において、複数の芳香環が2個またはそれ以上の原子を共有している環式構造をいう。限定を意図しないが、縮環構造としては、インドール骨格、ベンゾフラン骨格、ベンゾイミダゾール骨格、キノリン骨格、ビシクロ[4.4.0]デカンなどが例示される。

[0037] 本明細書において、「置換されていてもよい」という修飾語句が付与されている場合、その置換基としては、例えば、アルキル基、フルオロアルキル基、アルコシキ基、フルオロアルコキシ基、アルケニル基、アルケニルオキシ基、アルキニル基、アルキニルオキシ基、シクロアルキル基、アリール基、ヘテロアリール基、ヘテロシクリル基、アリールアルキル基、ヘテロアリールアルキル基、ハロゲン原子、ニトロ基、アミノ基、モノアルキルアミノ基、ジアルキルアミノ基、シアノ基、カルボキシル基、アルコキシカルボニル基、ホルミル基などが挙げられる。

[0038] 本明細書における「複素環」は、環を構成する原子中に好ましくは1～5個のヘテロ原子を含有する、非芳香族の1価または2価の複素環を意味する。複素環は、環中に二重およびまたは三重結合を有していてもよく、環中の炭素原子は酸化されてカルボニルを形成してもよく、単環、縮合環、スピロ環でもよい。環を構成する原子の数は好ましくは3～12であり（3～12員複素環）、より好ましくは4～7であり（4～7員複素環）、さらに好ましくは5～6である（5～6員複素環）。複素環として具体的には、たとえば、ピペラジン、ピロリジン、ピペリジン、モルホリン、ホモモルホリン、(R)-ヘキサヒドロピロロ[1, 2-a]ピラジン、(S)-ヘキサヒドロピロロ[1, 2-a]ピラジン、3-オキソピペラジン、2-オキソピロリジン、アゼチジン、2-オキソイミダゾリジン、オキセタン、ジヒドロフ

ラン、テトラヒドロフラン、ジヒドロピラン、テトラヒドロピラン、テトラヒドロピリジン、チオモルホリン、ピラゾリジン、イミダゾリン、オキサゾリジン、イソオキサゾリジン、チアゾリジン、イミダゾリジン、イソチアゾリジン、チアジアゾリジン、オキサゾリドン、ベンゾジオキサン、ベンゾオキサゾリン、ジオキソラン、ジオキサン、テトラヒドロチオピランなどが挙げられる。

[0039] (ペプチド化合物)

ある局面において、本発明は、2以上のアミノ酸が連結されたペプチド化合物であって、アミノ酸の少なくとも1つ（具体的には、例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上）がその側鎖内で水素結合を形成し得るアミノ酸である、ペプチド化合物に関する。

[0040] ペプチド化合物の構造

本発明における「ペプチド化合物」には、2以上のアミノ酸が連結された、直鎖状または環状のペプチド化合物が含まれる。なお、環状ペプチド化合物は、「環状部を有するペプチド化合物」と同意義である。

[0041] 本明細書における「アミノ酸」には、天然アミノ酸、及び非天然アミノ酸が含まれる。本明細書における「天然アミノ酸」とは、G l y、A l a、S e r、T h r、V a l、L e u、I l e、P h e、T y r、T r p、H i s、G l u、A s p、G l n、A s n、C y s、M e t、L y s、A r g、P r oを指す。非天然アミノ酸は特に限定されないが、 β -アミノ酸、D型アミノ酸、N置換アミノ酸、 α 、 α -二置換アミノ酸、側鎖が天然アミノ酸と異なるアミノ酸、ヒドロキシカルボン酸などが例示される。本明細書におけるアミノ酸としては、任意の立体配置が許容される。アミノ酸の側鎖の選択は特に制限を設けないが、水素原子の他にも例えばアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基、シクロアルキル基、スピロ結合した、シクロアルキル基から自由に選択される。それぞれには置換基が付与されていてもよく、それら置換基も制限されず、例えば、ハロゲン原子、O原子、S原子、N原子、B原子、S i原子、又はP

原子を含む任意の置換基の中から独立して1つ又は2つ以上自由に選択されてよい。すなわち、置換されていてもよいアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基、シクロアルキル基などが例示される。また、本明細書におけるアミノ酸は、後述する「分子内水素結合を形成し得る」側鎖として有していてもよい。非限定の一態様において、本明細書におけるアミノ酸は、同一分子内にカルボキシ基とアミノ基を有する化合物であってよい（この場合であっても、プロリン、ヒドロキシプロリンのようなイミノ酸もアミノ酸に含まれる）。

[0042] ハロゲン由来の置換基としては、フルオロ（ $-F$ ）、クロロ（ $-Cl$ ）、ブロモ（ $-Br$ ）、ヨウド（ $-I$ ）などが挙げられる。

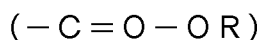
[0043] O原子由来の置換基としては、ヒドロキシル（ $-OH$ ）、オキシ（ $-OR$ ）、カルボニル（ $-C=O-R$ ）、カルボキシル（ $-CO_2H$ ）、オキシカルボニル（ $-C=O-OR$ ）、カルボニルオキシ（ $-O-C=O-R$ ）、チオカルボニル（ $-C=O-SR$ ）、カルボニルチオ基（ $-S-C=O-R$ ）、アミノカルボニル（ $-C=O-NHR$ ）、カルボニルアミノ（ $-NH-C=O-R$ ）、オキシカルボニルアミノ（ $-NH-C=O-OR$ ）、スルホニルアミノ（ $-NH-SO_2-R$ ）、アミノスルホニル（ $-SO_2-NHR$ ）、スルファモイルアミノ（ $-NH-SO_2-NHR$ ）、チオカルボキシル（ $-C(=O)-SH$ ）、カルボキシルカルボニル（ $-C(=O)-CO_2H$ ）が挙げられる。

[0044] オキシ（ $-OR$ ）の例としては、アルコキシ、シクロアルコキシ、アルケニルオキシ、アルキニルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アラルキルオキシなどが挙げられる。

[0045] カルボニル（ $-C=O-R$ ）の例としては、ホルミル（ $-C=O-H$ ）、アルキルカルボニル、シクロアルキルカルボニル、アルケニルカルボニル、アルキニルカルボニル、アリールカルボニル、ヘテロアリールカルボニル、アラルキルカルボニルなどが挙げられる。

[0046] オキシカルボニル（ $-C=O-OR$ ）の例としては、アルキルオキシカル

ボニル、シクロアルキルオキシカルボニル、アルケニルオキシカルボニル、アルキニルオキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、ヘテロアリールオキシカルボニル、アラルキルオキシカルボニルなどが挙げられる。



[0047] カルボニルオキシ ($-O-C=O-R$) の例としては、アルキルカルボニルオキシ、シクロアルキルカルボニルオキシ、アルケニルカルボニルオキシ、アルキニルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、ヘテロアリールカルボニルオキシ、アラルキルカルボニルオキシなどが挙げられる。

[0048] チオカルボニル ($-C=O-SR$) の例としては、アルキルチオカルボニル、シクロアルキルチオカルボニル、アルケニルチオカルボニル、アルキニルチオカルボニル、アリールチオカルボニル、ヘテロアリールチオカルボニル、アラルキルチオカルボニルなどが挙げられる。

[0049] カルボニルチオ ($-S-C=O-R$) の例としては、アルキルカルボニルチオ、シクロアルキルカルボニルチオ、アルケニルカルボニルチオ、アルキニルカルボニルチオ、アリールカルボニルチオ、ヘテロアリールカルボニルチオ、アラルキルカルボニルチオなどが挙げられる。

[0050] アミノカルボニル ($-C=O-NHR$) の例としては、アルキルアミノカルボニル、シクロアルキルアミノカルボニル、アルケニルアミノカルボニル、アルキニルアミノカルボニル、アリールアミノカルボニル、ヘテロアリールアミノカルボニル、アラルキルアミノカルボニルなどが挙げられる。これらに加えて、 $-C=O-NHR$ 中の N 原子と結合した H 原子が、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキルでさらに置換された化合物が挙げられる。

[0051] カルボニルアミノ ($-NH-C=O-R$) の例としては、アルキルカルボニルアミノ、シクロアルキルカルボニルアミノ、アルケニルカルボニルアミノ、アルキニルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、ヘテロアリールカルボニルアミノ、アラルキルカルボニルアミノなどが挙げられる。これらに加えて $-NH-C=O-R$ 中の N 原子と結合した H 原子が、アルキル

、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキルでさらに置換された化合物が挙げられる。

[0052] オキシカルボニルアミノ ($-\text{NH}-\text{C}=\text{O}-\text{OR}$) の例としては、アルコキシカルボニルアミノ、シクロアルコキシカルボニルアミノ、アルケニルオキシカルボニルアミノ、アルキニルオキシカルボニルアミノ、アリールオキシカルボニルアミノ、ヘテロアリールオキシカルボニルアミノ、アラルキルオキシカルボニルアミノなどが挙げられる。これらに加えて、 $-\text{NH}-\text{C}=\text{O}-\text{OR}$ 中の N 原子と結合した H 原子がアルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキルでさらに置換された化合物が挙げられる。

[0053] スルホニルアミノ ($-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}$) の例としては、アルキルスルホニルアミノ、シクロアルキルスルホニルアミノ、アルケニルスルホニルアミノ、アルキニルスルホニルアミノ、アリールスルホニルアミノ、ヘテロアリールスルホニルアミノ、アラルキルスルホニルアミノなどが挙げられる。これらに加えて、 $-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}$ 中の N 原子と結合した H 原子がアルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキルでさらに置換された化合物が挙げられる。

[0054] アミノスルホニル ($-\text{SO}_2-\text{NHR}$) の例としては、アルキルアミノスルホニル、シクロアルキルアミノスルホニル、アルケニルアミノスルホニル、アルキニルアミノスルホニル、アリールアミノスルホニル、ヘテロアリールアミノスルホニル、アラルキルアミノスルホニルなどが挙げられる。これらに加えて、 $-\text{SO}_2-\text{NHR}$ 中の N 原子と結合した H 原子がアルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキルでさらに置換された化合物が挙げられる。

[0055] スルファモイルアミノ ($-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{NHR}$) の例としては、アルキルスルファモイルアミノ、シクロアルキルスルファモイルアミノ、アルケニルスルファモイルアミノ、アルキニルスルファモイルアミノ、アリールスルファモイルアミノ、ヘテロアリールスルファモイルアミノ、アラルキルスル

アモイルアミノなどが挙げられる。さらに、 $-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{NHR}$ 中のN原子と結合した2つのH原子はアルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、およびアラルキルからなる群より独立して選択される置換基で置換されていてもよく、またこれらの2つの置換基は環を形成しても良い。

[0056] S原子由来の置換基として、チオール ($-\text{SH}$)、チオ ($-\text{S}-\text{R}$)、スルフィニル ($-\text{S}=\text{O}-\text{R}$)、スルホニル ($-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}$)、スルホ ($-\text{SO}_3\text{H}$) が挙げられる。

[0057] チオ ($-\text{S}-\text{R}$) の例としては、アルキルチオ、シクロアルキルチオ、アルケニルチオ、アルキニルチオ、アリールチオ、ヘテロアリールチオ、アラルキルチオなどの中から選択される。

[0058] スルフィニル ($-\text{S}=\text{O}-\text{R}$) の例としては、アルキルスルフィニル、シクロアルキルスルフィニル、アルケニルスルフィニル、アルキニルスルフィニル、アリールスルフィニル、ヘテロアリールスルフィニル、アラルキルスルフィニルなどが挙げられる。

[0059] スルホニル ($-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}$) の例としては、アルキルスルホニル、シクロアルキルスルホニル、アルケニルスルホニル、アルキニルスルホニル、アリールスルホニル、ヘテロアリールスルホニル、アラルキルスルホニルなどが挙げられる。

[0060] N原子由来の置換基として、アジド ($-\text{N}_3$ 、「アジド基」ともいう)、シアノ ($-\text{CN}$)、1級アミノ ($-\text{NH}_2$)、2級アミノ ($-\text{NH}-\text{R}$)、3級アミノ ($-\text{NR}(\text{R}')$)、アミジノ ($-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$)、置換アミジノ ($-\text{C}(=\text{NR})-\text{NR}'\text{R}''$)、グアニジノ ($-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$)、置換グアニジノ ($-\text{NR}-\text{C}(=\text{NR}''')-\text{NR}'\text{R}''$)、アミノカルボニルアミノ ($-\text{NR}-\text{CO}-\text{NR}'\text{R}''$) が挙げられる。

[0061] 2級アミノ ($-\text{NH}-\text{R}$) の例としては、アルキルアミノ、シクロアルキルアミノ、アルケニルアミノ、アルキニルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アラルキルアミノなどが挙げられる。

- [0062] 3級アミノ ($-NR(R')$) の例としては、例えばアルキル (アラルキル) アミノなど、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリーール、ヘテロアリーール、アラルキルなどの中からそれぞれ独立して選択される、任意の2つの置換基を有するアミノ基が挙げられ、これらの任意の2つの置換基は環を形成しても良い。
- [0063] 置換アミジノ ($-C(=NR)-NR'R''$) の例としては、N原子上の3つの置換基R、R'、およびR''が、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリーール、ヘテロアリーール、アラルキルの中からそれぞれ独立して選択された基、例えばアルキル (アラルキル) (アリーール) アミジノなどが挙げられる。
- [0064] 置換グアニジノ ($-NR-C(=NR''')-NR'R''$) の例としては、R、R'、R''、およびR'''が、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリーール、ヘテロアリーール、アラルキルの中からそれぞれ独立して選択された基、あるいはこれらが環を形成した基などが挙げられる。
- [0065] アミノカルボニルアミノ ($-NR-CO-NR'R''$) の例としては、R、R'、およびR''が、水素原子、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリーール、ヘテロアリーール、アラルキルの中からそれぞれ独立して選択された基、あるいはこれらは環を形成した基などが挙げられる。
- [0066] B原子由来の置換基として、ボリル ($-BR(R')$) やジオキシボリル ($-B(OR)(OR')$) などが挙げられる。これらの2つの置換基RおよびR'は、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリーール、ヘテロアリーール、アラルキルなどの中からそれぞれ独立して選択されるか、あるいはこれらは環を形成してもよい。
- [0067] 一般には、アミノ酸とは、分子内にアミノ基とカルボキシル基をそれぞれ1つ以上有する分子のことを意味するが、本明細書においては、分子内にヒドロキシル基とカルボキシル基を有するヒドロキシカルボン酸も本発明のアミノ酸に含めることができる。本明細書では、ヒドロキシカルボン酸をヒドロキシアミノ酸ということもある。

- [0068] α アミノ酸は、アミノ酸分子内のアミノ基とカルボキシル基が結合している炭素が同一のものを意味し、該炭素上の置換基をアミノ酸の側鎖という。アミノ酸分子内のアミノ基、カルボキシル基、およびこれらが結合している炭素の一連の部分をアミノ酸の主鎖という。
- [0069] アミノ酸の主鎖アミノ基は、非置換 (NH_2 基) でもよく、置換されているもよい (即ち、 $-\text{NHR}$ 基: R は置換基を有していてもよいアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、シクロアルキルを示し、またプロリンのように N 原子に結合した炭素鎖と α 位の炭素原子とが環を形成していてもよい。)。このような主鎖アミノ基が置換されているアミノ酸を、本明細書において「 N 置換アミノ酸」と称する。本明細書における「 N 置換アミノ酸」としては、好ましくは N -アルキルアミノ酸、 $\text{N}-\text{C}_1-\text{C}_6$ アルキルアミノ酸、 $\text{N}-\text{C}_1-\text{C}_4$ アルキルアミノ酸、 N -メチルアミノ酸、「分子内水素結合を形成し得る」側鎖を有する N 置換アミノ酸が例示されるが、これらに限定されるものではない。
- [0070] 本明細書におけるペプチド化合物を構成する「アミノ酸」にはそれぞれに対応する全ての同位体を含む。「アミノ酸」の同位体は、少なくとも 1 つの原子が、原子番号 (陽子数) が同じで、質量数 (陽子と中性子の数の和) が異なる原子で置換されたものである。本発明のペプチド化合物を構成する「アミノ酸」に含まれる同位体の例としては、水素原子、炭素原子、窒素原子、酸素原子、リン原子、硫黄原子、フッ素原子、塩素原子などがあり、それぞれ、 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、 ^{36}Cl 等が含まれる。
- [0071] 本発明における「直鎖状のペプチド化合物」は、天然アミノ酸および／または非天然アミノ酸がアミド結合あるいはエステル結合で連結されることにより形成されたものであり、環状部を有しない化合物である限り、特に限定されない。直鎖状のペプチド化合物を構成する天然アミノ酸あるいは非天然アミノ酸の総数は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30 個であることができ、好ましい範

囲は6～20個、7～19個、7～18個、7～17個、7～16個、7～15個、8～14個、9～13個である。

[0072] 本発明における「環状ペプチド化合物」は、天然アミノ酸および／または非天然アミノ酸がアミド結合あるいはエステル結合で連結されることにより形成されたものであり、環状部を有する化合物である限り、特に限定されない。環状のペプチド化合物を構成する天然アミノ酸あるいは非天然アミノ酸の総数は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30個であることができ、好ましい範囲は6～20個、7～19個、7～18個、7～17個、7～16個、7～15個、8～14個、9～13個である。

[0073] 本明細書において、ペプチド化合物の「環状部」とは、2以上のアミノ酸残基が連結され、形成されている環状の部分の意味する。また本明細書において、環状ペプチド化合物の部分構造を指す際に使用される「直鎖部」とは、環状部の主鎖構造に含まれない部分であって、該部分の鎖上に少なくとも一つのアミド結合及び／又はエステル結合を有するものをいう。

[0074] 本明細書における環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸の数は限定されないが、例えば、2以上、3以上、4以上、6以上、7以上、8以上、9以上、10以上、11以上、12以上、30以下、20以下、18以下、16以下、15以下、14以下、13以下、12以下、11以下、7、8、9、10、11、12、13、14、15、及び16が挙げられる。膜透過性と代謝安定性の両立を考慮すると、前記環状部を構成するアミノ酸の数は、2～30、2～15、又は5～15が好ましく、5～14、7～14、又は8～14がより好ましく、8～13、9～13、8～12、8～11、又は9～12がさらに好ましく、9～11が特に好ましい。

[0075] 非限定の一態様において、直鎖部のアミノ酸の数（ユニットの数）は0～8であることが好ましく、0～5がより好ましく、0～3がより好ましい。なお、非限定の一態様において、本明細書における「直鎖部」には天然アミノ酸や非天然アミノ酸（化学修飾や骨格変換されたアミノ酸を含む）が含ま

れる場合がある。

[0076] 非限定の一態様において、本明細書におけるペプチド化合物、または環状ペプチド化合物は環状部または直鎖部にエステル結合を有さないものが好ましい。

[0077] 非限定の一態様において、本明細書における環状ペプチド化合物は、環状部又は直鎖部のペプチド部位の側鎖に以下（A）～（C）からなる群より選択される少なくとも一つを有しない環状ペプチド化合物であってよい：

- （A）インドール骨格；
- （B）2以上の芳香環による縮環構造；
- （C）無置換のヒドロキシフェニル基。

このうち、環状部の側鎖に前記（A）、（C）を有しない環状ペプチド化合物が好ましく、環状部の側鎖に前記（B）、（C）を有しない環状ペプチド化合物がより好ましい。前記「2以上の芳香環による縮環構造」は、「縮環構造」であってもよい。

[0078] 非限定の一態様において、本明細書における環状ペプチド化合物の分子量は500～2000であってよい。

[0079] 非限定の一態様において、本明細書における環状ペプチド化合物は、環状部又は直鎖部のペプチド部位の側鎖に（A）メチルチオ基および（B）チオール基からなる群より選択される少なくとも一つ、又は両方を有しない、環状ペプチド化合物であることができる。

[0080] 本発明において、2つのアミノ酸がアミド結合することによりペプチド化合物が形成される場合、第一のアミノ酸中の主鎖のカルボキシル基のOH基が、第二のアミノ酸中の主鎖のアミノ基の窒素原子部分で置換することによってペプチド化合物が形成される。

[0081] 本発明において、2つのアミノ酸がエステル結合することによりペプチド化合物が形成される場合、第一のアミノ酸中の主鎖のカルボキシル基のOH基が、第二のヒドロキシアミノ酸中の主鎖の水酸基の酸素原子部分で置換することによってペプチド化合物が形成される。

- [0082] 本発明において、天然アミノ酸および／または非天然アミノ酸がアミド結合あるいはエステル結合で連結されることによりペプチド化合物が形成される場合、2つ以上のアミノ酸が、アミド結合および／またはエステル結合により、連続して結合していることにより、ペプチド化合物が形成される。
- [0083] 本明細書におけるペプチド化合物のアミド結合及び／又はエステル結合により連結される部位を本明細書において「ペプチド部位」ということがある。ただし、ペプチド化合物が環状である場合には、環化部の結合様式はアミド結合やエステル結合に限定されない。環化部の結合様式としては、例えば、アミド結合、炭素－炭素結合、ジスルフィド結合、エステル結合、チオエステル結合、チオエーテル結合、ラクタム結合、トリアゾール構造を介した結合、フルオロフォア構造を介した結合などの共有結合が挙げられ、これらのうちでは代謝安定性が高いことから、アミド結合が好ましい。すなわち、一態様において、本明細書における環状ペプチド化合物は、環化部にアミド結合を有することが好ましい。「環化部の結合様式」とは、環化反応により環化が形成された部位の結合様式のことである。
- [0084] 本発明における「ペプチド化合物」としては、上述の天然アミノ酸及び非天然アミノ酸の総数の条件に加えて、又は単独で、N置換アミノ酸を少なくとも2つ（好ましくは2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30個、特に好ましくは5、6または7個、好ましい範囲は2～30個、3～30個、6～20個、7～19個、7～18個、7～17個、7～16個、7～15個、8～14個、9～13個）含み、N置換されていないアミノ酸を少なくとも1つ含む、直鎖または環状ペプチドであることができる。「N置換」としてはN原子に結合した水素原子のメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ヘキシル基への置換などが挙げられるがこれに限定されない。N置換アミノ酸として、好ましくは天然アミノ酸に含まれるアミノ基がN－メチル化、N－エチル化、N－プロピル化、N－ブチル化、N－ペンチル化されたアミノ酸が挙げられ、これらを、N－メチルアミノ酸、N－エチルアミノ酸、N－プロピルアミノ酸、N

ーブチルアミノ酸、Nーペンチルアミノ酸という。N未置換アミノ酸をN置換アミノ酸に変換することをN置換化するといひ、Nーアルキル化、Nーメチル化、またはNーエチル化ということがある。本発明におけるペプチド化合物に含まれるN置換アミノ酸数の割合としては、ペプチド化合物を構成する総アミノ酸数の30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上が例示される。

[0085] 非限定の一態様において、本明細書における環状ペプチド化合物のペプチド部位に含まれるN置換アミノ酸の数は、2以上又は3以上が好ましく、4以上、5以上、又は6以上がより好ましく、7以上が更に好ましく、8以上が特に好ましく、また、20以下、15以下、14以下、13以下、12以下、10以下、9以下が好ましく例示される。本明細書における環状ペプチド化合物に含まれるN置換アミノ酸の数としては、環状部を構成するアミノ酸の数の30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上が例示される。ここでいうN置換アミノ酸は、好ましくはNーアルキルアミノ酸、より好ましくはNーメチルアミノ酸であってよい。すなわち、非限定の一態様においては、前記N置換アミノ酸の数は、Nーアルキルアミノ酸の数、又はNーメチルアミノ酸の数として、例示される。環状部を構成するアミノ酸の数が8の場合、N置換アミノ酸の数は3～7が好ましい。環状部を構成するアミノ酸の数が9の場合、N置換アミノ酸の数は3～8が好ましい。環状部を構成するアミノ酸の数が10の場合、N置換アミノ酸の数は3～8が好ましい。環状部を構成するアミノ酸の数が11の場合、N置換アミノ酸の数は4～9が好ましい。環状部を構成するアミノ酸の数が12の場合、N置換アミノ酸の数は4～10が好ましい。環状部を構成するアミノ酸の数が13の場合、N置換アミノ酸の数は4～11が好ましい。環状部を構成するアミノ酸の数が14の場合、N置換アミノ酸の数は5～12が好ましい。

[0086] 本明細書において、ペプチド化合物を構成する「アミノ酸」を「アミノ酸残基」ということがある。

[0087] 本明細書における「ペプチド化合物」には、その薬学的に許容される塩、またはこれらの溶媒和物が含まれてもよい。

[0088] 本明細書において「側鎖」とは、アミノ酸の側鎖、又は環状ペプチド化合物の環状部の側鎖などの文脈で使用され、それぞれの主鎖構造に含まれない部分を意味する。

[0089] 本明細書において「アミノ酸の数」とは、ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基（アミノ酸ユニット）の数のことであり、アミノ酸を連結しているアミド結合、エステル結合、及び環化部の結合を切断した際に生じるアミノ酸ユニットの数を意味する。

[0090] ペプチド化合物の膜透過性

非限定の一態様において、本明細書におけるペプチド化合物、または環状ペプチド化合物は、高い膜透過性を達成するために、中性（例えばpH=7.0）で極度にイオン化される官能基を有しない環状ペプチド化合物であってよい。本明細書で用いるpKaは別段示さない限り実測値のpKaのことを指す。また、後述するADMETPredictorによって求めたpKa値を計算pKaと称する。本明細書で用いるBasic pKaは別段示さない限り実測値のBasic pKaのことを指す。また、後述するADMETPredictorによって求めたBasic pKa値をBasic計算pKaと称する。

[0091] pKa、及びBasic pKaは、常法により求めることができる。例えば、実験化学講座5「熱的測定および平衡」、460頁（日本化学会編、丸善株式会社発行）に記載の方法などにより測定することができる。より具体的には、参照例3-1に記載の方法で測定できる。また、測定しようとするアミノ酸の側鎖のpKa値、及びBasic pKa値が他の官能基の影響を受けて求められにくい時は、目的の官能基のpKa、及びBasic pKaのみが測定できるよう、適宜他の官能基を保護基などで保護して測定することができる。

[0092] 本明細書において「酸性の側鎖」とは、pKaが10以下の側鎖を意味し、「塩基性の側鎖」とは、Basic pKaが4以上の側鎖を意味する。本明細書において、pKaが10を超える側鎖、Basic pKaが4未満の側鎖は、中性の側鎖と定

義される。

[0093] 非限定の一態様において、本明細書におけるペプチド化合物、または環状ペプチド化合物は、分子内水素結合をしまう側鎖を持つアミノ酸以外に分子内水素結合しない酸性の側鎖を有するアミノ酸を含むことができる。この場合、その酸性の側鎖のpKaは3.5～10であってよい。前記酸性の側鎖のpKaは3.5以上であることが好ましく、3.9以上がより好ましく、4.5以上がより好ましく、5.0以上がより好ましく、5.5以上がより好ましく、5.7以上がより好ましい。また前記Basic pKaは、10以下であることが好ましい。前記pKaの範囲としては、3.5～10、3.9～10、4.5～10、5.0～10、又は5.5～10、5.7～10が好ましく例示される。これらpKaを計算値であらわすと、計算pKaは3.5以上であることが好ましく、4.5以上、5.0以上、5.4以上、8.0以上、8.3以上がより好ましい。また計算pKaは、10以下であることが好ましい。前記計算pKaの範囲としては、3.5～10、4.5～10、5.0～10、5.4～10、8.0～10、又は8.3～10が好ましく例示される。

[0094] 非限定の一態様において、本明細書におけるペプチド化合物、または環状ペプチド化合物は、分子内水素結合をしまう側鎖を持つアミノ酸以外に分子内水素結合しない塩基性の側鎖を有するアミノ酸を含むことができる。この場合、その塩基性の側鎖のBasic pKaは4.0～10であってよい。前記塩基性の側鎖のBasic pKaは10以下であることが好ましく、9.5以下、9.0以下、8.5以下、7.5以下、または7.2以下がより好ましく、6.5以下が特に好ましい。また前記Basic pKaは、4.0以上であることが好ましい。前記Basic pKaの範囲としては、4.0～10、4.0～9.5、4.0～9.0、4.0～8.5、4.0～7.5、4.0～7.2、4.0～6.5好ましく例示される。これらBasic pKaを計算値であらわすと、Basic計算pKaは10以下であることが好ましく、9.5以下、9.0以下、8.8以下、8.6以下、8.5以下、7.5以下、または6.5以下がより好ましい。また前記Basic計算pKaは、4.0以上であることが好ましい。前記Basic

計算pKaの範囲としては、4.0～10、4.0～9.5、4.0～9.0、4.0～8.8、4.0～8.6、4.0～8.5、4.0～7.5、4.0～6.5が好ましく例示される。

[0095] 限定を意図しないが、後述の参照例に示されるように、ペプチド部位の側鎖に含まれる芳香環の数、又は割合は、環状ペプチド化合物の膜透過性に影響を与え得る。ペプチド部位の側鎖に含まれる芳香環の数、又は割合が一定数を超えると、高い膜透過性を有する化合物が得られる確率が低下し得る。すなわち、芳香環の数は、膜透過性に負の影響を与えうる。

[0096] 本明細書において、発明の効果に関する文脈で使用される「負の影響」とは、発明の効果を打ち消してしまうような影響をいう。例えば、本来発揮されるはずの発明の効果を100%とした場合に、その効果が30%、20%、10%、又は5%以下になるような場合に「負の影響」があるとすることができる。

[0097] 非限定の一態様において、高い膜透過性のためには、本明細書における環状ペプチド化合物のペプチド部位の側鎖に含まれる芳香環の数は5以下であることが好ましく、0、1、2、又は3が好ましく例示され、0～3、1～3が好ましい範囲として例示される。また、ペプチド部位を構成するアミノ酸の数に対する、ペプチド部位の側鎖に含まれる芳香環の数の割合としては、40%以下が好ましく、35%以下、30%以下、27%以下、25%以下、20%以下が好ましく例示される。

[0098] 本明細書において「芳香環の数」（「Aromatic Ring Count」（ARC）ともいう。）とは、環状ペプチド化合物のペプチド部位の側鎖に含まれる芳香環の数をいい、例えば、フェノール基は1個、インドール骨格のような二環式縮環は2個、アントラセンのような三環式縮環は3個と数える。

[0099] 非限定の一態様において、高い膜透過性のためには、本明細書における環状ペプチド化合物に含んでよい芳香環の数に制限がある一方で、分子内水素結合を形成し得る側鎖を含むアミノ酸は、標的分子との結合に寄与し得る部位である環状部に存在するのが好ましい。すなわち、一態様において、本明

細書におけるペプチド化合物が、環状ペプチド化合物であり、かつ該環状ペプチド化合物の環状部に、分子内水素結合を形成し得る側鎖に芳香環を含むアミノ酸が含まれる場合には、ペプチド化合物の環状部に含まれる芳香環の数として、1、2、又は3が例示され、芳香環数の範囲として1～3又は2～3が例示される。また、本明細書におけるペプチド化合物が、環状ペプチド化合物であり、かつ該環状ペプチド化合物の環状部に、分子内水素結合を形成し得る側鎖に芳香環を含むアミノ酸が含まれる場合には、ペプチド化合物に含まれる芳香環の総数のうち環状部に含まれる芳香環の数の割合としては、30%以上、40%以上、60%以上、80%以上、又は100%が例示される。

[0100] 本発明におけるペプチド化合物の膜透過性は、国際公開第2018/124162号に記載の膜透過性の測定方法により測定することができる。

[0101] 非限定の一態様において、本発明のペプチド化合物の P_{app} は、 $1.0 \times 10^{-7} \text{ cm/秒}$ 以上、 $5.0 \times 10^{-7} \text{ cm/秒}$ 以上、 $8.0 \times 10^{-7} \text{ cm/秒}$ 以上が好ましく、 $9.0 \times 10^{-7} \text{ cm/秒}$ 以上がより好ましく、 $1.0 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$ 以上が更に好ましく、 $3.0 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$ 以上が特に好ましい。

本明細書における「膜透過係数 (P_{app})」は、特に断りがない限り、国際公開第2018/124162号に記載の測定方法（改良法）を用いて測定した値を意味する。

[0102] 非限定の一態様において、本明細書における環状ペプチド化合物の $ClogP$ は、4以上が好ましく、5以上がより好ましく、6以上が更に好ましく、8以上が特に好ましく、18以下、17以下、16以下が好ましく例示され、4～18、5～17、及び6～16が例示される。本明細書における $ClogP$ は、コンピューターで計算した分配係数であって、Daylight Chemical Information Systems, Inc.のDaylight Version 4.9を用いて計算できる。

[0103] 非限定の一態において、本明細書における環状ペプチド化合物の $ClogP/tot$

al aaの下限としては、1.0以上が好ましく、1.1以上がより好ましく、1.2以上が更に好ましい。またClogP/total aaの上限としては、1.8以下、1.7以下、1.6以下、1.5以下が好ましい。ClogP/total aaの範囲としては、1.0～1.8、1.0～1.7、1.1～1.6、及び1.1～1.5が例示される。本明細書において「total aa」（「total AA」とも表記される。）とは、ペプチド化合物のペプチド部位を構成するアミノ酸の数を意味する。例えば、環状部が10個のアミノ酸からなり、直鎖部が1個のアミノ酸からなる環状ペプチド化合物のtotal aaは11である。本明細書においてClogP/total aaとは、ClogPをtotal aaで除することにより算出される。

[0104] ペプチド化合物の代謝安定性

非限定の一態様において、本明細書におけるペプチド化合物は、良好な代謝安定性を有することが好ましい。良好な代謝安定性のためには、ペプチド化合物中に含まれるアミノ酸の数が8以上であることが好ましく、9以上がより好ましく、11以上が更に好ましい。また、一態様において、容易に酸化される可能性のあるチオエーテル結合を有しないことが好ましい。また、一態様において、酸化されやすく代謝安定性の妨げとなり得ることから、メチルチオ基を有しないことが好ましい。

[0105] （分子内水素結合を形成し得るアミノ酸）

非限定の一態様において、本発明のペプチド化合物は、その側鎖内で水素結合（即ち、分子内水素結合）を形成できるアミノ酸を少なくとも1つ、具体的には、例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上含む。

[0106] 本明細書におけるアミノ酸の側鎖には、アミノ酸に含まれる炭素原子（例えば、 α 、 β 、又は γ -炭素原子）に結合している鎖、及び窒素原子に結合している鎖が含まれる。本明細書において、アミノ酸の側鎖の長さは、参照例1に記載の方法により求めることができる。すなわち、アミノ酸単位のN末をアセチル基、C末をメチルアミノ基でキャッピングし、分子モデリングソフトMOE（Chemical Computing Group社）のLowModeMDにより配座を発生

させ、側鎖部位が結合している原子（天然アミノ酸の場合は α -炭素原子（ $C\alpha$ 炭素））から最も遠い同側鎖の原子（水素原子は除く）までの距離を測定することで求めることができる。

[0107] 本明細書において「長側鎖」とは、5.4オングストローム以上の長さの側鎖をいう。分子内水素結合のためにアミノ酸の側鎖は長側鎖であることが好ましい。長側鎖の長さとしては、5.4オングストローム以上が好ましく、5.6オングストローム以上がより好ましく、5.8オングストローム以上がさらに好ましく、6.0オングストローム以上が特に好ましい。前記側鎖の長さの上限は特に限定されないが、20オングストローム以下、15オングストローム以下、13オングストローム以下、12オングストローム以下、11オングストローム以下、10オングストローム以下、9.0オングストローム以下、8.8オングストローム以下、8.5オングストローム以下、及び8.0オングストローム以下が例示される。前記長側鎖の長さの範囲としては、5.4～20オングストローム、6.0～20オングストローム、6.0～15オングストローム、6.0～13オングストローム、6.0～10オングストロームが例示される。

[0108] 非限定の一態様において、「長側鎖」は、(i) その側鎖上にアミド結合を含まないか又は1個のアミド結合を含む側鎖が好ましく、(ii) その側鎖上にアミド結合を含まない側鎖であってもよい。すなわち、非限定の一態様において、その側鎖に2個以上のアミド結合を有さず、かつ、長さが6.0～11オングストロームの長側鎖を有するアミノ酸を環状部に有する環状ペプチド化合物が好ましく例示される。本明細書における長側鎖は、芳香環を有していても、有していなくてもよい。

[0109] 非限定の一態様において、分子内水素結合を形成し得るアミノ酸は長側鎖のアミノ酸であることが好ましい。

[0110] 分子内水素結合の有無は例えばX線構造解析や ^1H NMRによるケミカルシフトにより判別できる。一般的に、温度依存的化学シフト変化量が <2 ppb/Kの場合は明確な水素結合をしており、 >4 ppb/Kの場合は水素結合していないとされ

ている。また実施例3に例示されるような計算化学によるコンフォメーション解析も分子内水素結合を形成する可能性があるか判断するのに用いられる手法である。

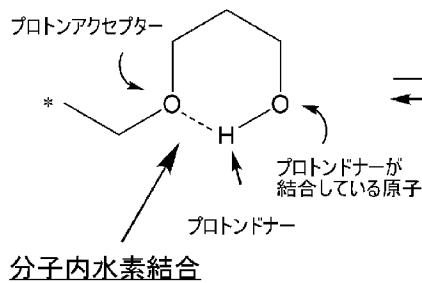
[0111] ある局面において、本発明のペプチド化合物は、その側鎖内で擬似W員環を形成し得るアミノ酸を少なくとも1つ、具体的には、例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上含む。

[0112] 本明細書において「擬似W員環」とは、共有結合による環状構造は有していないが、分子内水素結合により配座が固定されることで擬似的な環状構造を形成することを意味する。「W」は、3以上の自然数から選ばれる環の大きさを表しており、擬似的な環状部分を構成する原子にはプロトンドナーである水素原子およびその水素原子と直接結合している原子、プロトンドナーと水素結合を形成できるプロトンアクセプターの3原子が必ず含まれる。疑似環状構造の環状構造の環の大きさを表すWは、3以上であればよく、好ましくは4～7、または5～7、さらに好ましくは5～6である。以下に例示するSer(nPrOH)の側鎖部分構造の場合は、プロトンドナーである水酸基の水素原子およびその水素原子が直接結合する水酸基の酸素原子、プロトンアクセプターであるエーテル基の酸素原子がそれぞれ前記3原子に該当し、疑似6員環を形成している。また、分子内水素結合は周辺的环境に合わせて環化体と、非環化体とに構造変換できることが特徴であり、生体膜中のような疎水性的环境下ではプロトンドナーをマスクするような環化体構造をとることで、分子内水素結合をする官能基を有する化合物の膜透過性向上が期待できる。一方で、標的分子の阻害剤として、ある化合物が該標的分子と結合する場合を例示すると、分子内水素結合をする官能基を有する該化合物が非環化体構造をとることで、プロトンドナーとプロトンアクセプターの双方もしくはいずれか一方が該標的分子と結合することが期待され、該化合物と標的分子との間で、より効率よく分子間水素結合を形成することが可能となる。下記にはその1例として分子内水素結合をしうる構造の一部が、標的分子のアミド部位と分子間相互結合を形成する模式図を記載している（*はSer（

nPrOH)の α 炭素との、**、および***はそれぞれ標的分子のタンパクとの結合点をあらわす)。

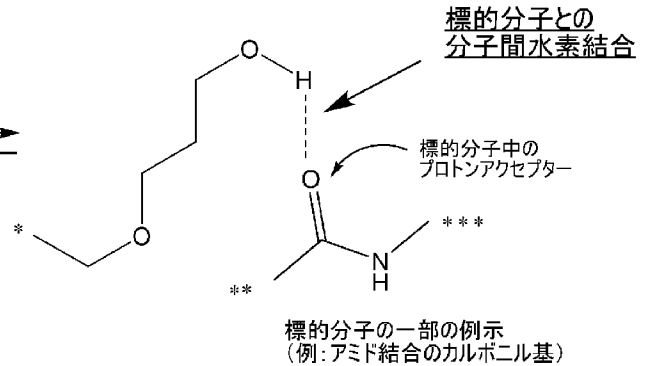
Ser(nPrOH)の側鎖部分構造

【分子内水素結合する構造】



環化体構造 (疑似6員環構造)

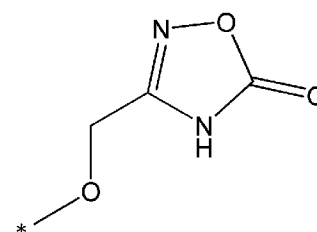
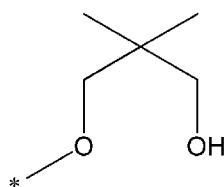
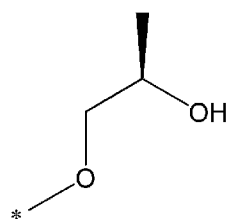
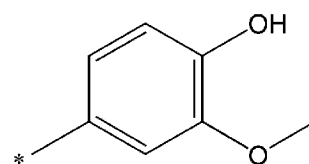
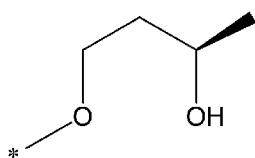
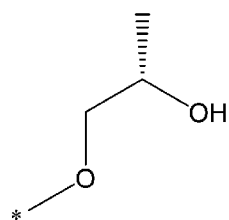
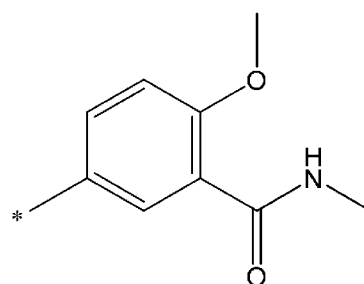
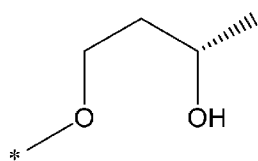
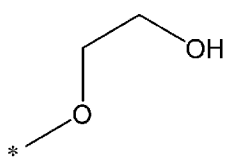
【分子内水素結合しない構造】

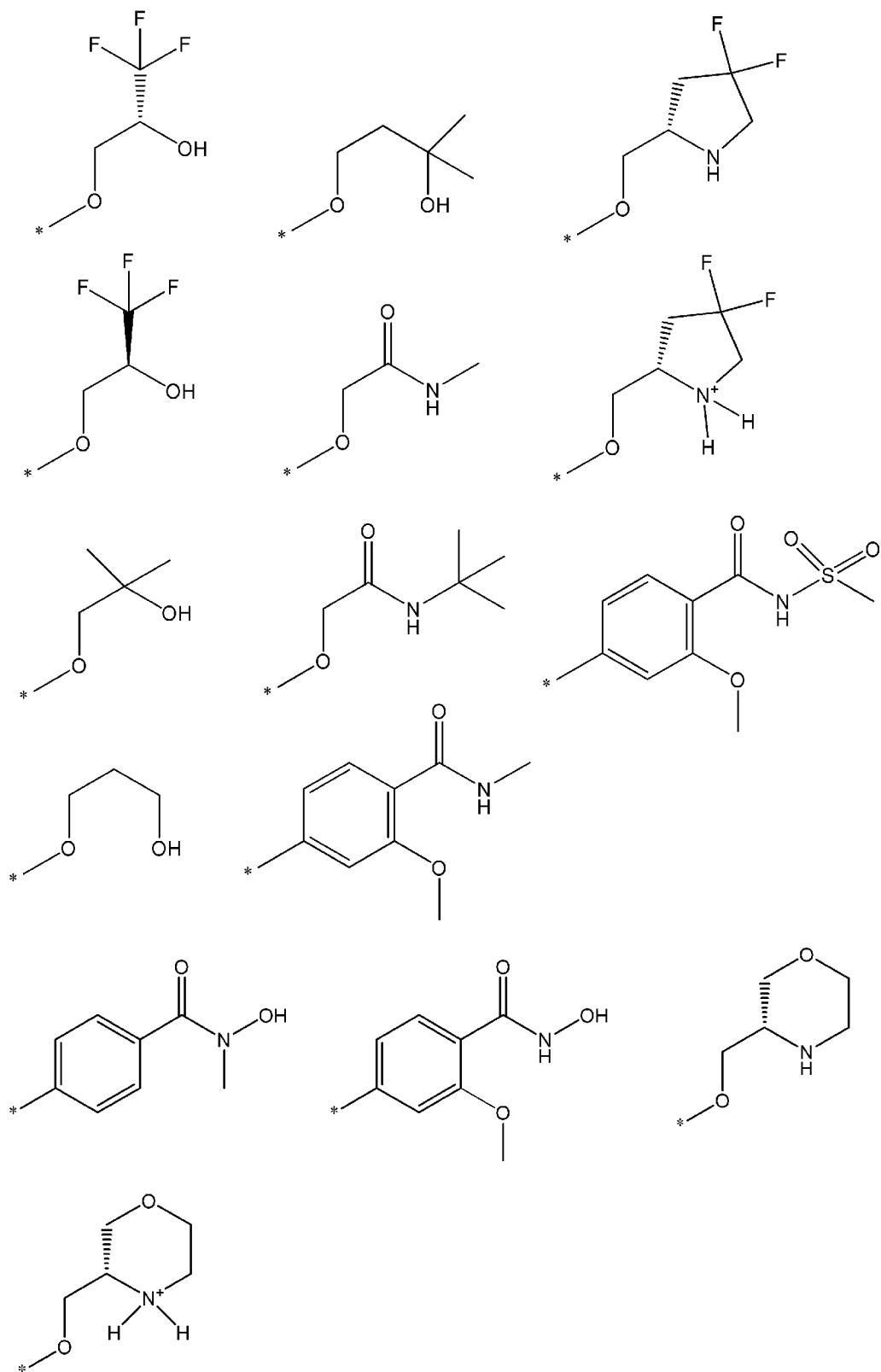


非環化体構造

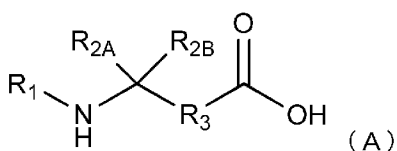
[0113] 非限定の一態様において、分子内水素結合し得る側鎖を有するアミノ酸は、その分子内水素結合を形成する部分構造において疑似4～7員環を形成してもよく、疑似5～7員環を形成することが好ましく、疑似5～6員環を形成することが特に好ましい。

[0114] 非限定の一態様において、本明細書において、分子内水素結合を形成し得る構造として以下が例示される(*は式1のQ₁または式2のQ₂との結合点をあらわす)。





[0115] 非限定の一態様において、側鎖内で水素結合を形成し得るアミノ酸は、下記式Aで表すことができる。



[0116] ある局面において、式 (A) 中、 R_1 は、水素、もしくは $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルであるか、または式 1 もしくは式 2 で表される基であり、この場合、(a) $\text{R}_{2\text{A}}$ および $\text{R}_{2\text{B}}$ は、 $\text{R}_{2\text{A}}$ が水素、もしくは $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルであるか、または式 1 もしくは式 2 で表される基であり、かつ $\text{R}_{2\text{B}}$ は、水素または $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルであるか、あるいは、(b) $\text{R}_{2\text{A}}$ および $\text{R}_{2\text{B}}$ は、それらが結合している炭素原子と一緒にあって 4 ～ 6 員の環を形成する。 R_1 が $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルである場合、 R_1 として好ましくはメチルである。 $\text{R}_{2\text{B}}$ が $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルである場合、 $\text{R}_{2\text{B}}$ はメチルが好ましい。また $\text{R}_{2\text{B}}$ が $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルである場合、 $\text{R}_{2\text{A}}$ は式 1 もしくは式 2 で表される基であるか、または $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルであることが好ましい。また $\text{R}_{2\text{A}}$ および $\text{R}_{2\text{B}}$ が、それらが結合している炭素原子と一緒にあって 4 ～ 6 員の環を形成する場合、該 4 ～ 6 員環として、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルが好ましい。

[0117] 別の局面において、式 (A) 中、 R_1 は、 R_1 が結合する窒素原子、 $\text{R}_{2\text{A}}$ 、および $\text{R}_{2\text{A}}$ が結合する炭素原子と一緒にあって 4 ～ 6 員の複素環を形成し、この場合、 $\text{R}_{2\text{B}}$ は、水素または $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルである。 $\text{R}_{2\text{B}}$ が $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルである場合、 $\text{R}_{2\text{B}}$ はメチルが好ましい。前記 4 ～ 6 員の複素環は、式 1 もしくは式 2 で表される基、 $-\text{OH}$ 、およびアルコキシ基からなる群より選択される、1 つまたは複数の置換基を有していてもよい。また前記 4 ～ 6 員の複素環としては、ピロリジン（即ち、プロリン様の構造）が好ましい。

[0118] R_1 、 $\text{R}_{2\text{A}}$ 、 $\text{R}_{2\text{B}}$ の組み合わせとしては、 $\text{R}_{2\text{A}}$ が式 1 または式 2 で表される基である場合、 R_1 が水素または $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルであり、かつ $\text{R}_{2\text{B}}$ が水素または $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルであることが好ましく、該 $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルはメチルであることが好ましい。また、 R_1 が式 1 または式 2 で表される基である場合、 $\text{R}_{2\text{A}}$ が水素または $\text{C}_1 - \text{C}_6$ アルキルであり、かつ $\text{R}_{2\text{B}}$ は水素、 $\text{C}_1 - \text{C}_6$

アルキルであるか、あるいは R_{2A} と R_{2B} は一緒になって4～6員の環を形成することが好ましく、該 C_1-C_6 アルキルはメチルが好ましい。

[0119] 式(A)中、 R_3 は、単結合、または $-CHR_4-$ であり、ここで R_4 は、水素、もしくは C_1-C_4 アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基である。 R_3 が $-CHR_4-$ である場合、 R_4 として好ましくは水素、または式1もしくは式2で表される基である。

[0120] 式(A)中、式1および／または式2で表される基は2つ以上含まれていてもよいが、式1または式2で表される基のいずれか1つのみが含まれてることが好ましい。式1または式2で表される基のいずれかが1つが含まれている態様として具体的には、たとえば、以下が挙げられる。

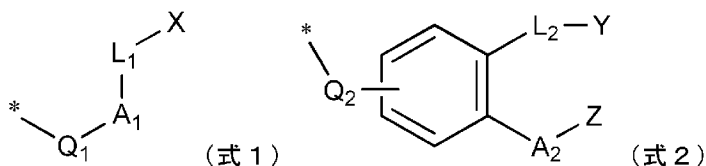
(i) R_1 が、式1または式2で表される基であり、 R_{2A} が水素、または C_1-C_6 アルキル、好ましくは水素であり、 R_{2B} が、水素または C_1-C_6 アルキル、好ましくは水素であり、 R_3 が、単結合、または $-CHR_4-$ であり、 R_4 が、水素、もしくは C_1-C_4 アルキル、好ましくは水素である。

(ii) R_1 が水素または C_1-C_6 アルキルであり、 R_{2A} が式1または式2で表される基であり、 R_{2B} が水素または C_1-C_6 アルキル、好ましくは水素であり、 R_3 が、単結合、または $-CHR_4-$ 、好ましくは単結合であり、 R_4 が、水素、もしくは C_1-C_4 アルキル、好ましくは水素である。

(iii) R_1 が水素または C_1-C_6 アルキルであり、 R_{2A} が水素、または C_1-C_6 アルキル、好ましくは水素であり、 R_{2B} が水素、または C_1-C_6 アルキル、好ましくは水素であり、 R_3 が $-CHR_4-$ であり、 R_4 が式1または式2で表される基である。

(iv) R_1 、 R_1 が結合する窒素原子、 R_{2A} 、および R_{2A} が結合する炭素原子が一緒になって、4～6員の複素環（好ましくはピロリジン環）を形成し、該複素環が式1もしくは式2で表される基を有し、 R_{2B} が、水素または C_1-C_6 アルキル、好ましくは水素であり、 R_3 が、単結合、または $-CHR_4-$ 、好ましくは単結合であり、 R_4 が、水素、もしくは C_1-C_4 アルキル、好ましくは水素である。

[0121] 式1および式2は、それぞれ下記式：



で表され、式中の*は結合点を示す。式Aで表されるアミノ酸は、式1または式2で表される基のいずれかを少なくとも1つ含む。例えば、式Aで表されるアミノ酸は、式1または式2で表される基のいずれか一方を含むことができ、この場合、式A中の R_1 、 R_2 、または R_4 のいずれか1つが式1または式2で表される基である。

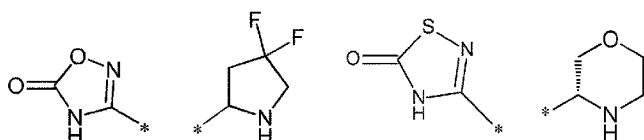
[0122] 式1中、 Q_1 は、単結合、 C_1-C_4 アルキレン、または酸素原子を1つ含む C_2-C_4 ヘテロアルキレンである。 Q_1 が C_1-C_4 アルキレンである場合、 Q_1 として好ましくは $-CH_2-$ もしくは $-(CH_2)_2-$ である。

[0123] 式1中、 A_1 は、 $-O-$ 、または $-S-$ であり、好ましくは $-O-$ である。

[0124] 式1中、 L_1 は、フッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンである。 L_1 として具体的には、 $-CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH(CF_3)-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2-$ 、 $-(CH_2)_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CO-$ などが挙げられる。ある局面において、 L_1 は、非置換の $-(CH_2)_2-$ でないことが好ましい。

[0125] 式1中、 X は、 $-OH$ 、 $-NR_{Z1}R_{Z2}$ 、もしくは $-CONR_{Z1}R_{Z2}$ であるか、または1～3個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくは1つまたは複数のハロゲンによって置換されていてもよい5～6員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルであり、ここで R_{Z1} および R_{Z2} は、独立して、水素、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキル、および C_1-C_4 アルキルスルホニルからなる群より選択される。 X が $-NR_{Z1}R_{Z2}$ である場合、 X は $-NH_2$ 、 $-NHMe$ 、 $-NEt$ 、 $-NH(nPr)$ 、 $-NH(iPr)$ 、 $-NH(tBu)$ が好ましい。

Xが $-\text{CONR}_{Z1}\text{R}_{Z2}$ である場合、Xは $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CONHMe}$ 、 $-\text{CONHEt}$ 、 $-\text{CONH}(n\text{Pr})$ 、 $-\text{CONH}(i\text{Pr})$ 、 $-\text{CONH}(t\text{Bu})$ が好ましい。またXがオキソもしくは1つまたは複数のハロゲンによって置換されていてもよい5～6員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルである場合、該飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルとして4, 5-ジヒドロ-1, 2, 4-オキサジアゾリル、4, 5-ジヒドロ-1, 2, 4-チアジアゾリル、ピロリジルが好ましく、Xとして以下の基：



が好ましい。

[0126] このような $-\text{Q}_1-\text{A}_1-\text{L}_1-\text{X}$ の好ましい組み合わせとして、具体的には、以下が挙げられる。

(i) Q_1 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-\text{CH}_2-$ であり、 A_1 が $-\text{O}-$ または $-\text{S}-$ 、好ましくは $-\text{O}-$ であり、 L_1 が、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、Xが $-\text{OH}$ である。

(ii) Q_1 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-\text{CH}_2-$ であり、 A_1 が $-\text{O}-$ または $-\text{S}-$ 、好ましくは $-\text{O}-$ であり、 L_1 が、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレン、好ましくは、 $-\text{CH}_2-$ であり、Xが $-\text{NR}_{Z1}\text{R}_{Z2}$ であり、 R_{Z1} が C_1-C_4 アルキルであり、 R_{Z2} が水素である。

(iii) Q_1 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-\text{CH}_2-$ であり、 A_1 が $-\text{O}-$ または $-\text{S}-$ 、好ましくは $-\text{O}-$ であり、 L_1 が、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレン、好ましくは、 $-\text{CH}_2-$ であり、Xが $-\text{CONR}_{Z1}\text{R}_{Z2}$ であり、 R_Z

$_1$ が C_1-C_4 アルキルであり、 R_{Z2} が水素である。

(iv) Q_1 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-CH_2-$ であり、 A_1 が $-O-$ または $-S-$ 、好ましくは $-O-$ であり、 L_1 が、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレン、好ましくは、 $-CH_2-$ であり、 X が1~3個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくは1つまたは複数のハロゲン(好ましくはフッ素)によって置換されていてもよい5~6員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルである。

(v) Q_1 が単結合であり、 A_1 が $-O-$ または $-S-$ 、好ましくは $-O-$ であり、 L_1 が、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、 X が $-OH$ である。

[0127] 式2中、 Q_2 は、単結合、 C_1-C_4 アルキレン、または酸素原子を1つ含む C_2-C_4 ヘテロアルキレンである。 Q_2 が C_1-C_4 アルキレンである場合、 Q_2 として好ましくは $-CH_2-$ もしくは $-(CH_2)_2-$ である。

[0128] 式2中、 L_2 は、単結合であるか、またはフッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンである。 L_2 として具体的には、単結合、 $-CH_2-$ 、 $-CO-$ 、 $-(CH_2)_2-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH(CF_3)-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2-$ 、 $-(CH_2)_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CO-$ などが挙げられる。

[0129] 式2中、 Y は、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノ、 $-NR_{Z3}R_{Z4}$ 、もしくは $-CONR_{Z3}R_{Z4}$ であるか、または1~3個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくはハロゲンによって置換されていてもよい5~6員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルであり、ここで R_{Z3} および R_{Z4} は、独立して

、水素、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキル、および C_1-C_4 アルキルスルホニルからなる群より選択される。 Y が $-NR_{Z3}R_{Z4}$ である場合、 Y は $-NH_2$ 、 $NHMe$ 、 $NHEt$ 、 $NH(nPr)$ 、 $NH(iPr)$ 、 $NH(tBu)$ が好ましい。また、 Y が C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノである場合、 Y はメチルスルホニルアミノが好ましい。さらにまた、 Y が C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノである場合、 L_2 は $-CO-$ であることが好ましい。

[0130] 式2中、 A_2 は、単結合、 $-O-$ 、または $-S-$ であり、好ましくは $-O-$ である。

[0131] 式2中、 Z は、水素、または C_1-C_4 アルキルであり、 Z が C_1-C_4 アルキルである場合、該 C_1-C_4 アルキルとして好ましくはメチルである。

[0132] 式2中、 A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ である場合、 Z は水素ではない。すなわち、 $-A_2-Z$ として具体的には、 A_2 が単結合であり、かつ Z が水素であるか、 A_2 が $-O-$ であり、かつ Z が C_1-C_4 アルキルであるか、または A_2 が $-S-$ であり、かつ Z が C_1-C_4 アルキルである。

[0133] このような $-Q_2-$ 、 $-L_2-Y$ 、および $-A_2-Z$ の好ましい組み合わせとして、具体的には、以下が挙げられる。

(i) Q_2 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-CH_2-$ であり、 L_2 がフッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレン、好ましくは $-CO-$ であり、 Y が $-NR_{Z3}R_{Z4}$ 、好ましくはメチルアミノ、 $-N(OH)Me$ 、または $-NH(OH)$ であり、 A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ 、好ましくは $-O-$ であり、 Z が C_1-C_4 アルキル、好ましくはメチルである。

(ii) Q_2 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-CH_2-$ であり、 L_2 が単結合であり、 Y が $-CONR_{Z3}R_{Z4}$ 、好ましくはメチルアミノカルボニルまたは $-CON(OH)Me$ 、または $-CONH(OH)$ であり、 A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ 、好ましくは $-O-$ であり、 Z が C_1-C_4 アルキル、好ましくはメチルである。

(iii) Q_2 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-CH_2-$ であり、 L_2 がフッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレン、好ましくは $-CO-$ であり、 Y が $-NR_{Z3}R_{Z4}$ 、好ましくは $-N(OH)Me$ であり、 A_2 が単結合であり、 Z が水素である。

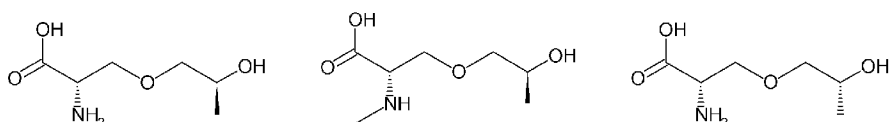
(iv) Q_2 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-CH_2-$ であり、 L_2 が単結合であり、 Y が $-CONR_{Z3}R_{Z4}$ 、好ましくは $-CON(OH)Me$ であり、 A_2 が単結合であり、 Z が水素である。

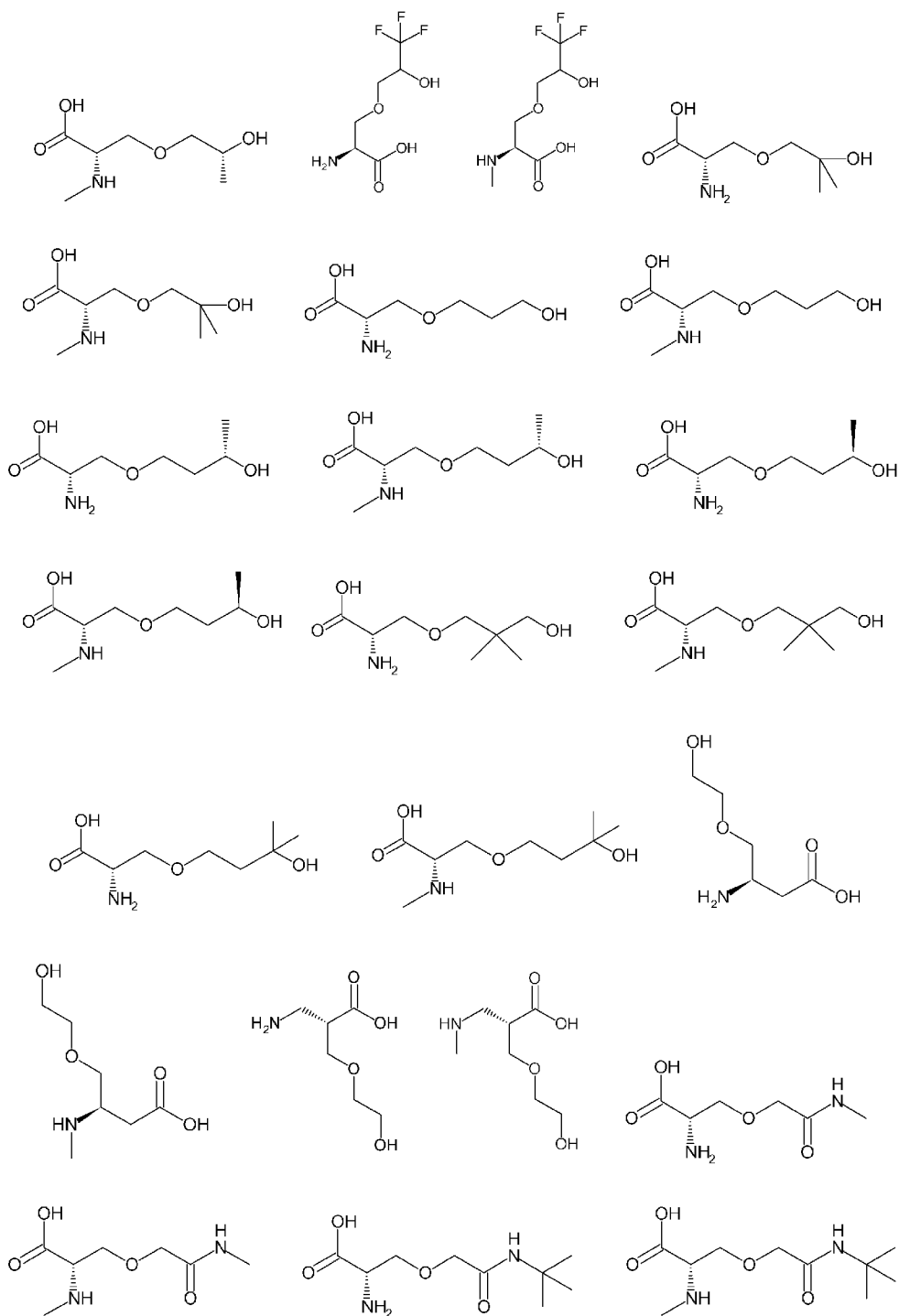
(v) Q_2 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-CH_2-$ であり、 L_2 がフッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ(=O)からなる群より選択される1つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレン、好ましくは $-CO-$ であり、 Y が C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノ、好ましくはメチルスルホニルアミノであり、 A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ 、好ましくは $-O-$ であり、 Z が C_1-C_4 アルキル、好ましくはメチルである。

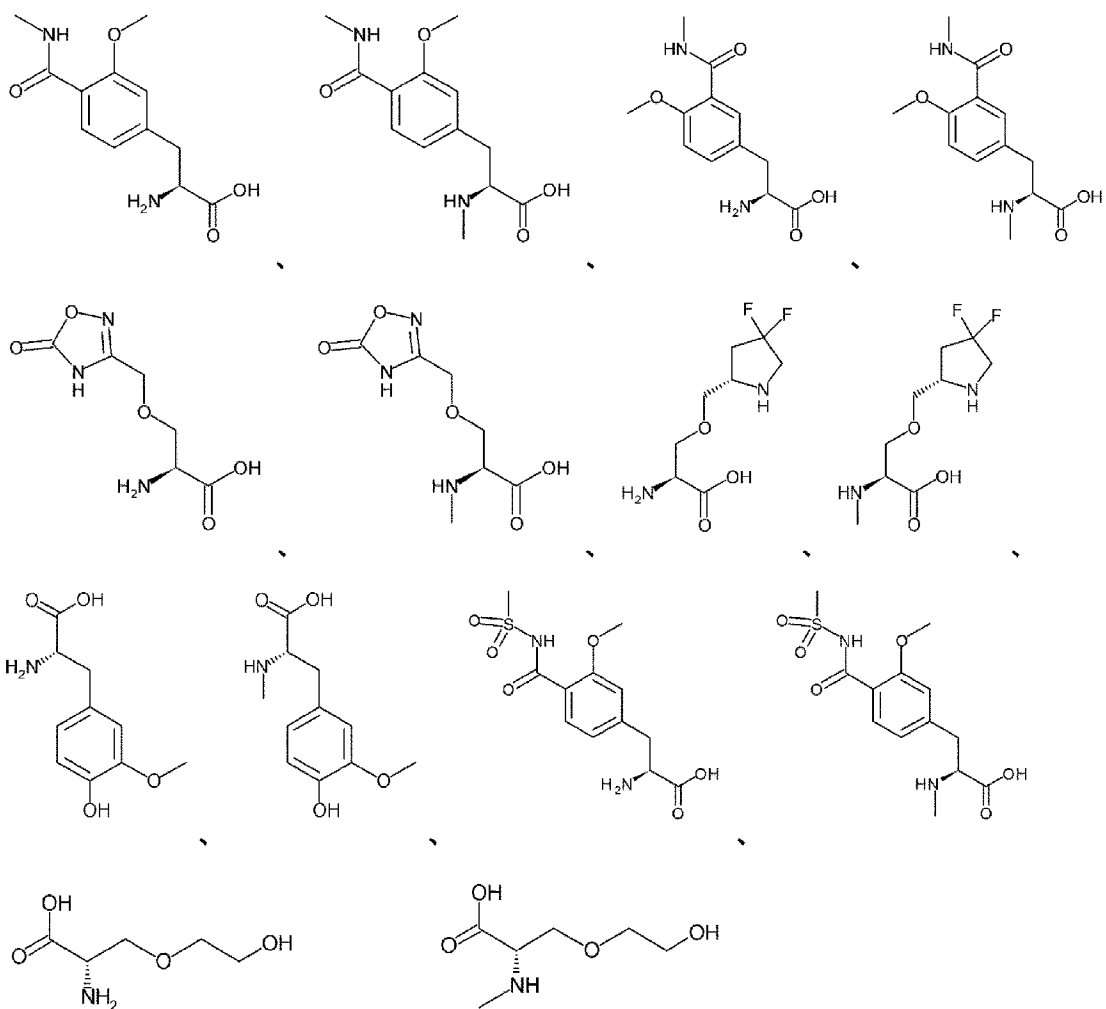
(vi) Q_2 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-CH_2-$ であり、 L_2 が単結合であり、 Y が C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノカルボニル、好ましくはメチルスルホニルアミノカルボニルであり、 A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ 、好ましくは $-O-$ であり、 Z が C_1-C_4 アルキル、好ましくはメチルである。

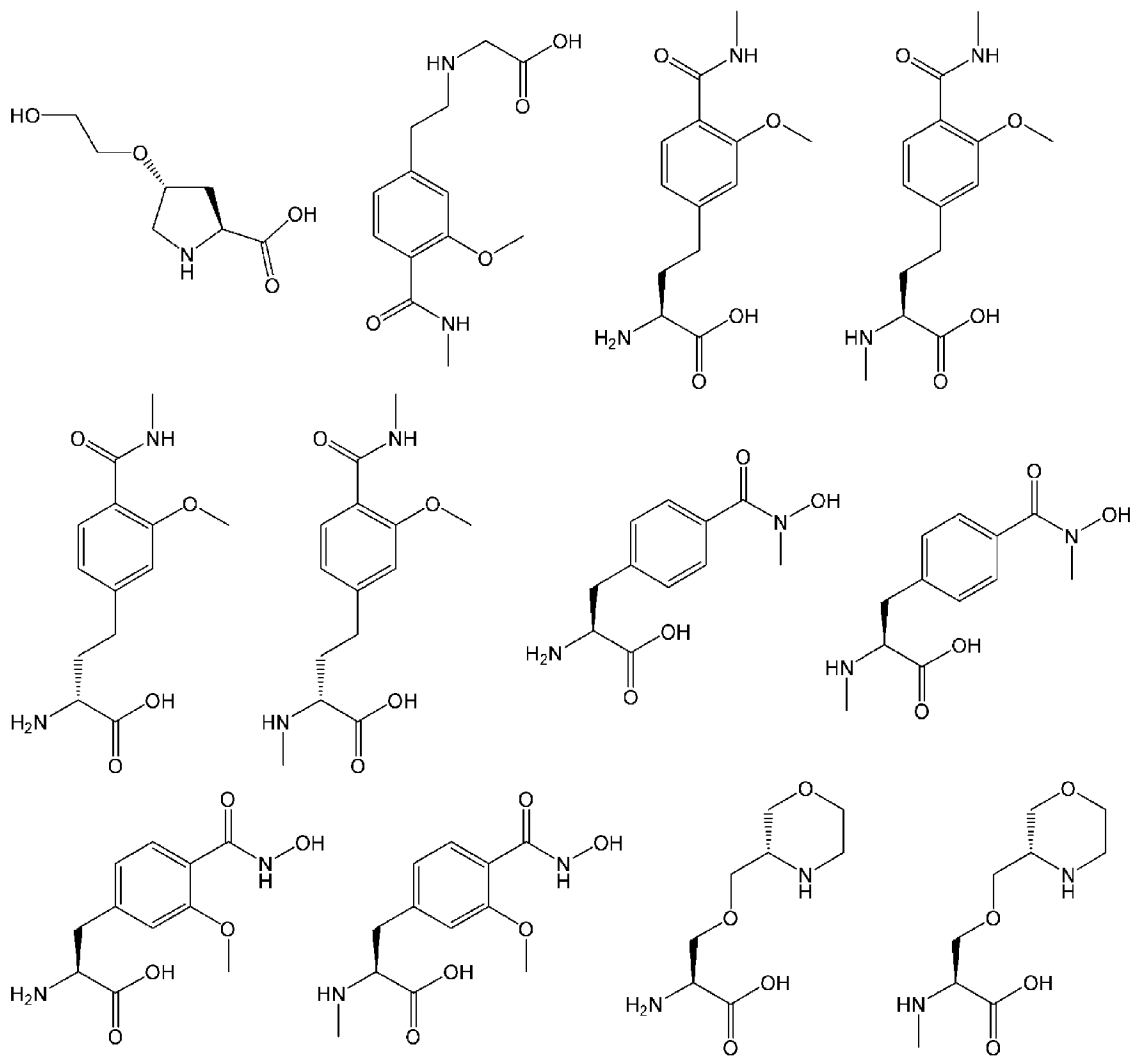
(vii) Q_2 が C_1-C_4 アルキレン、好ましくは、 $-CH_2-$ であり、 L_2 が単結合であり、 Y が $-OH$ であり、 A_2 が $-O-$ 、または $-S-$ 、好ましくは $-O-$ であり、 Z が C_1-C_4 アルキル、好ましくはメチルである。

[0134] このような側鎖内で水素結合を形成し得るアミノ酸、および／または側鎖内で擬似4～7員環を形成し得るアミノ酸としてより具体的には、以下のアミノ酸が挙げられる。

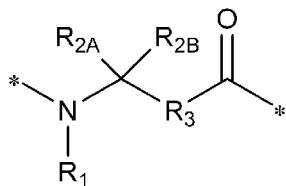








[0135] 非限定の一態様において、本発明の式Aで表されるアミノ酸が、ペプチド化合物に含まれる場合、該アミノ酸の主鎖のアミノ基およびカルボキシル基によって隣接するアミノ酸と連結することが好ましい。この場合、式(A)で表されるアミノ酸は、以下のように表すこともできる(*はペプチド化合物中で、隣接するアミノ酸との結合点をあらわす)。



[0136] 非限定の一態様において、本発明は、前記分子内水素結合を形成し得るアミノ酸のアミノ基、および／またはカルボキシル基が保護基で保護されている保護アミノ酸に関する。保護アミノ酸のアミノ基の保護基としては、F m

oc基、Boc基、Cbz基、Alloc基、ノシル基、ジニトロノシル基、t-Bu基、トリチル基、クミル基などが挙げられる。また保護アミノ酸のカルボキシ基の保護基としては、メチル基、アリル基、t-Bu基、トリチル基、クミル基、メトキシトリチル基、ベンジル基などが挙げられる。例えば、「Greene's, "Protective Groups in Organic Synthesis" (第5版, John Wiley & Sons 2014)」に記載の方法を利用してこれらの保護基を導入することができる。

[0137] 特定の理論に拘束されることを意図しないが、本発明者らは以下のように考える。ペプチドに含まれるアミノ酸の側鎖上のプロトン在水素結合でマスクする手段として、ペプチドの主鎖に含まれるアミド結合を利用する場合、ペプチドのコンフォメーションがペプチドごとに異なることから、側鎖上のプロトンをマスクするような水素結合の形成は偶然に頼らざるを得ない。したがって、側鎖のプロトンを常に水素結合の形成によってマスクすることは難しい。また、隣接するアミノ酸の主鎖に含まれるアミド結合を利用して側鎖のプロトンをマスクするような水素結合を形成させる場合、採用し得る側鎖のバリエーションが限られてしまう。隣接するアミノ酸の主鎖に含まれるアミド結合と水素結合を形成することが想定されるアミノ酸の場合、プロトンドナーの位置は水素結合を形成することが可能な主鎖のアミド結合と近い位置に限定されたものになる。一方、非限定の一態様において、本明細書のアミノ酸はその「側鎖内」で水素結合を形成することが可能なため、側鎖デザインの自由度が高まり得る。例えば、プロトンをマスクし得る水素結合の形成を維持したまま側鎖を長くすることも可能であり、側鎖上のプロトンが標的との相互作用に用いられる可能性が高まり得る。

[0138] (一般的製造方法)

次に本発明の側鎖内で水素結合を形成し得るアミノ酸、およびペプチド化合物の一般的な製造方法について説明する。

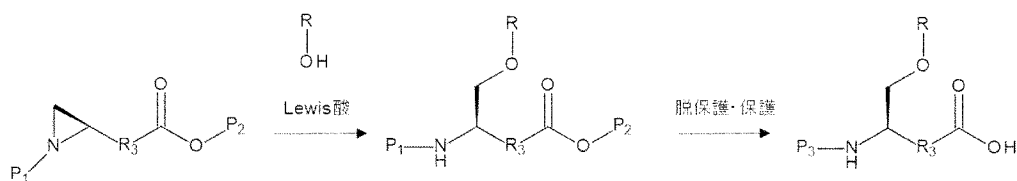
[0139] (分子内水素結合を形成し得るアミノ酸の製造方法)

側鎖に分子内水素結合を有するアミノ酸の製造において、側鎖にエーテル

結合を有するアミノ酸に関しては、以下の2つの合成法により製造できる。

[0140] 製法1：

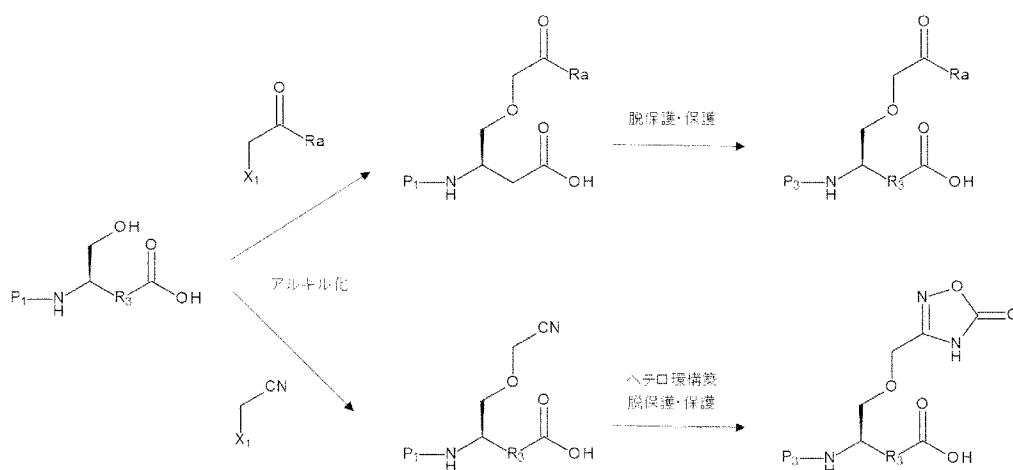
アミノ基とカルボン酸基が保護されたアジリジンを含む化合物と対応する適切な保護基を有するアルコールをLewis酸存在下反応させ、開環反応を行った後、不要な保護基の脱保護を行う。下記一般式中、 P_1 としてはCbz基、Fmoc基、Alloc基、ノシル基(Ns基)などを、 P_2 としてはMe基、アリル基、ベンジル基などを用いることが出来る。開環反応に用いるLewis酸としては触媒量の $BF_3 \cdot OEt_2$ が好ましく例示される。溶媒はジクロロメタンが好ましく例示されるが、試薬として使用するアルコール(ROH)を溶媒として用いることも可能である。R上に反応に関与する可能性のある官能基が含まれる場合、該官能基をLewis酸存在下において安定な保護基で保護することが好ましい。例えばRが水酸基を含む場合はベンジル基などで該水酸基を、2級アミノ基を含む場合はAlloc基などで該アミノ基を保護することが好ましい。開環反応によりアミノ酸の基本骨格を構築した後は保護基の適切な変換を行うことで所望のアミノ酸(P_3 がCbz基、Fmoc基、Boc基、Alloc基、ノシル基(Ns基)などで保護されたアミノ酸あるいは P_3 が水素である無保護のアミノ酸)に変換できる。



[0141] 製法2：

側鎖に水酸基を有する、アミノ基が保護されたアミノ酸と2-ブロモ-N-メチルアセトアミドのような α -ハロカルボニル化合物あるいはブromoアセトニトリルとのアルキル化反応を行った後、適切な官能基変換により下記スキームに示す製造を実施することができる。下記一般式中、 P_1 としてはCbz基、Boc基、Trt基などの塩基性条件下で安定な保護基が好ましい。 α -ハロカルボニル化合物としては、 R_a がNMeやNBuなどであるものが好ましく例示される。 X_1 はハロゲンであり、ブロモ基が好ましい。アルキル

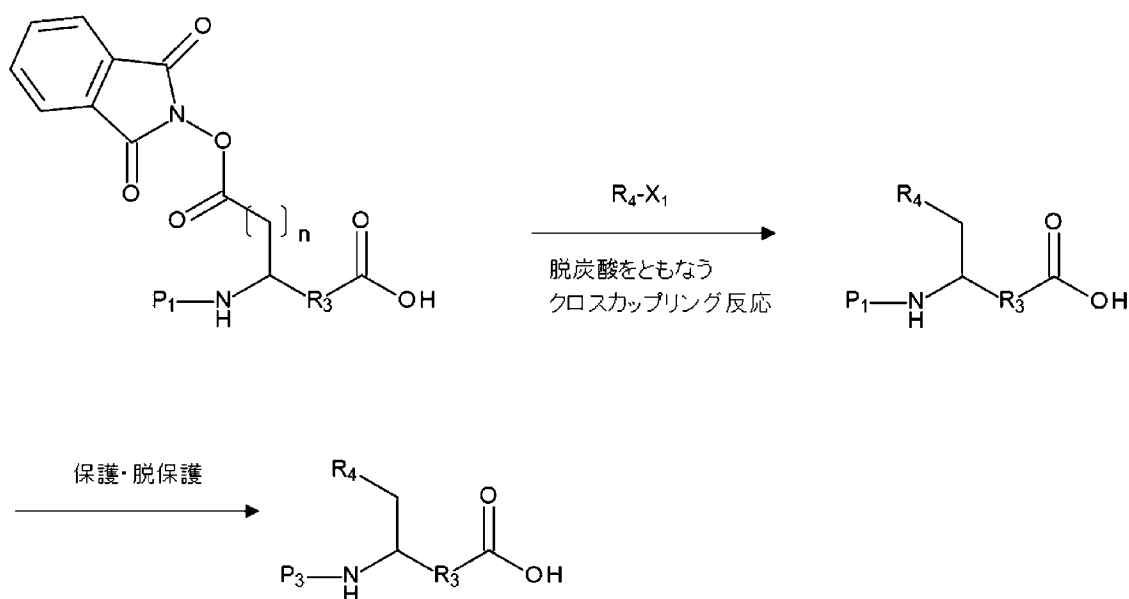
化反応において用いられる塩基はNaH、NaOtBu、NaOt-Pentなどが例示され、側鎖に水酸基を有する、アミノ基が保護されたアミノ酸に対し、2当量以上用いることで選択的に該アミノ酸の水酸基部位をアルキル化することができる。用いる溶媒としてはDMF、DMIなどが好ましく例示される。ブromoアセトニトリルを用いたアルキル化の後、得られたニトリル基を元にヘテロ環を構築することでアミノ酸基本骨格を構築できる。下記スキームには生じたニトリル基にヒドロキシルアミンを作用させた後、CDIで環化したオキサジアゾロン環を構築したものを例示している。アミノ酸の基本骨格を構築した後は保護基の適切な変換を行うことで所望のアミノ酸(P_3 がCbz基、Fmoc基、Boc基、Alloc基、ノシル基(Ns基)などで保護されたアミノ酸あるいは P_3 が水素である無保護のアミノ酸)に変換できる。



[0142] 製法3：

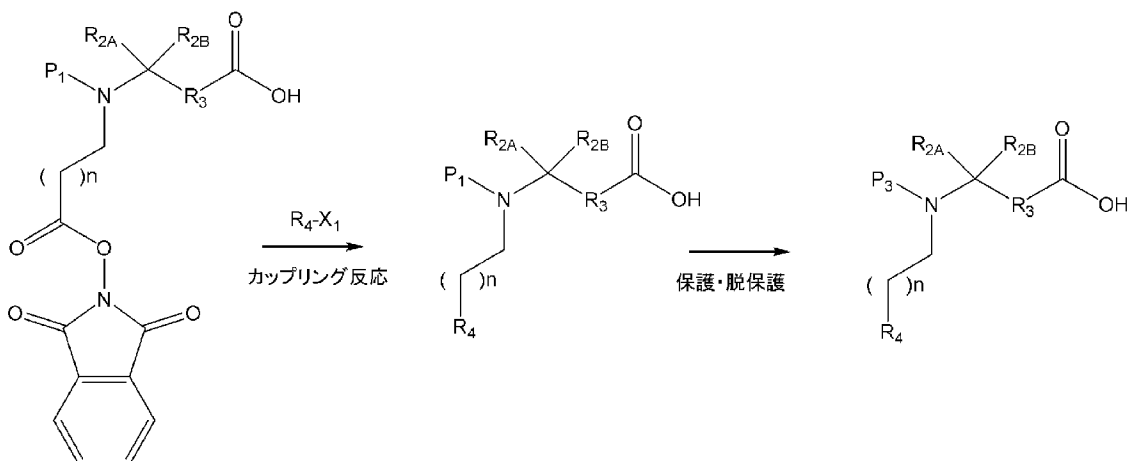
フェニルアラニン誘導体はJackson-Negishi coupling (Journal of Organic Chemistry, 2010, 75, 245)に記載の方法や、相関移動触媒を用いたグリシンtert-ブチルエステルのベンゾフェノンイミンの不斉ベンジル化 (J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 6519) などを用いて製造することができる。また、下記一般式に示すようなN-ヒドロキシフタルイミドエステル(NHPIエステル)と芳香族ヨウ素化合物あるいは芳香族ブromo化合物を原料に用いた脱炭酸をとまなうクロスカップリング反応を行うことでも製造することができる。

。下記一般式中、 n は炭素原子の数を表しており、特に限定はされないが、 $n = 1$ 、もしくは2が好ましい。 P_1 としてはクロスカップリング条件下で安定な基が用いられ、好ましくはFmoc基が例示される。 R_4-X_1 は芳香族ハロゲン化合物であり、 R_4 が芳香族部位を表している。 R_4 にクロスカップリング反応条件下で変換されうる官能基が含まれる場合、クロスカップリング反応条件下において安定な保護基で保護することが好ましい。例えば R_4 に水酸基が含まれる場合、水酸基をテトラヒドロピラニル（THP）基などで保護することが好ましい。 X_1 はハロゲンであり、好ましくはブロモ（Br）基、ヨード（I）基が例示される。クロスカップリング反応に用いる触媒としてはニッケルと亜鉛を触媒として用いるのが好ましく、触媒の配位子としては4,4'-ジ-tert-ブチル-2,2'-ビピリジル（dtbbpy）を用いるのが好ましい。溶媒としてはジメチルアセトアミドを用いるのが好ましい。脱炭酸をともなうクロスカップリング反応によりアミノ酸の基本骨格を構築した後は保護基の適切な変換を行うことで所望のアミノ酸（ P_3 がCbz基、Fmoc基、Boc基、Alloc基、ノシル基（Ns基）などで保護されたアミノ酸あるいは P_3 が水素である無保護のアミノ酸）に変換できる。



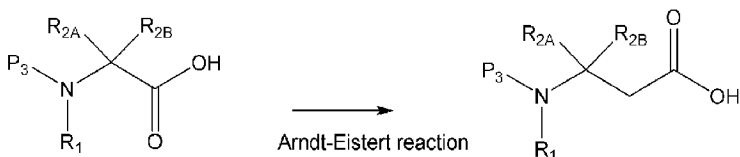
下記のように側鎖部位がアミノ酸のN原子上にあるアミノ酸においても同

様の反応にて製造することができる。



[0143] 製法 4 :

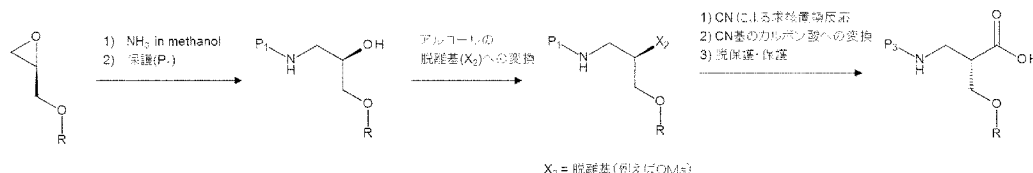
アールト・アイシュタート (Arndt-Eistert) 合成 (人名反応に学ぶ有機合成戦略、p18) を用いることで対応する β -アミノ酸を製造することができる。



[0144] 製法 5 :

β -アミノ酸は、対応する官能基を有するエポキシドに対しアンモニアを用いた開環反応を行い、得られる化合物のアミン部位に保護基を導入し、次いで生じる 2 級アルコールを脱離基に変換した後、求核置換反応による立体反転を伴ったニトリル基への変換を行い、これに続くカルボン酸への変換を行うことで製造できる。下記一般式中、R に反応に関与する官能基が含まれる場合、適切な保護基で保護することが好ましく、例えば R に水酸基が含まれる場合、該水酸基を T r t 基で保護することが好ましい。開環反応後に得られるアミノ基の保護基である P_1 としては C b z 基、B o c 基、A l l o c 基などが好ましく例示される。生じた 2 級アルコールは脱離基 X_2 へと変換され (X_2 としては好ましくはメシル基 (O M s 基) などが例示される)。得られた脱離基をシアノヒドリン ($C N^-$) による求核置換反応により立体反転を伴いながらニトリル基へと誘導し、カルボン酸へと変換することでアミノ酸

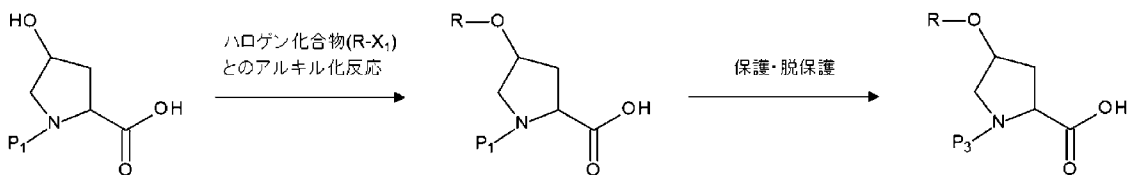
の基本骨格を構築できる。ニトリル基からカルボン酸への変換は例えば酸性条件下における加水分解が例示される。アミノ酸の基本骨格を構築した後は保護基の適切な架けかえを行うことで所望のアミノ酸（ P_3 がC b z基、F m o c基、B o c基、A l l o c基、ノシル基（N s基）などで保護されたアミノ酸あるいは P_3 が水素である無保護のアミノ酸）に変換できる。



[0145] 製法 6

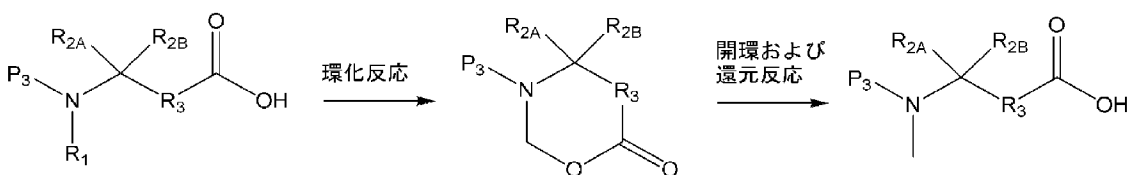
水酸基を有し、かつアミノ基が保護された環状アミノ酸とハロゲン化合物とを、塩基を用いたアルキル化反応に供した後、適切な官能基の変換を行うことにより下記スキームに示すとおり環状アミノ酸を製造することができる。用いる原料の環状アミノ酸としては4～8員環のものが好ましく、下記スキームでは5員環のものを例示した。環状部分に存在する水酸基の位置は特に限定されないが、一般式にあるようにアミノ酸のN原子から2原子以上離れた位置にあることが好ましい。下記一般式中、 P_1 としてはC b z基、B o c基、A l l o c基、ノシル基（N s基）などを用いることが出来る。アルキル化反応に用いる塩基としては水素化ナトリウム（N a H）が好ましく例示され、溶媒はジメチルホルムアミドが好ましく例示される。アルキル化反応において、ハロゲン化合物（R-X）がR上に該反応に関与する可能性のある官能基を有する場合、その官能基を塩基性条件下において安定な保護基で保護することが好ましい。例えばRが水酸基を含む場合はテトラヒドロピラニル（T H P）基、ベンジル（B n）基、t-ブチルジメチルシリル（T B D M S）基などのシリルエーテルなどで該水酸基を保護することが好ましい。また X_1 はハロゲンであり、クロロ（C l）基、ブromo（B r）基、ヨード（I）基が例示される。アルキル化反応によりアミノ酸の基本骨格を構築した後は保護基の適切な変換を行うことで所望のアミノ酸（ P_3 がC b z基、F m o c基、B o c基、A l l o c基、ノシル基（N s基）などで保護さ

れたアミノ酸あるいは P_3 が水素である無保護のアミノ酸)に変換できる。



[0146] 製法 7

上記のアミノ酸は、下記スキームに沿って、酸性条件下、パラホルムアルデヒドを用いた環化反応を行い、続いて得られた環化体を酸性条件下で開環しながら生じるイミンを還元することで、N-メチル化を行うことができる。



[0147] (ペプチド化合物の製造方法)

ペプチド化合物の化学合成方法

本明細書におけるペプチド化合物、または環状ペプチド化合物の化学合成方法としては、液相合成法、Fmoc合成やBoc合成等を用いた固相合成法、及びこれらの組み合わせ等が例示される。Fmoc合成では、主鎖アミノ基がFmoc基により保護され、側鎖官能基が必要に応じてピペリジンや t -Bu基、THP基、Trt基などの塩基性で切断されない保護基で保護され、主鎖カルボン酸を保護しないアミノ酸を基本単位とする。基本単位としては、その他、Fmoc保護されたアミノ基とカルボキシル基を有する組み合わせであれば、特に限定されない。例えばジペプチドを基本単位としてもよい。N末端に配置させる基本単位は、Fmocアミノ酸以外であってもよい。例えば、Bocアミノ酸であってもよく、アミノ基を有しないカルボン酸類縁体であってもよい。主鎖カルボキシル基あるいは主鎖カルボキシル基が適切な保護基で保護された側鎖にカルボキシル基を有するアミノ酸の側鎖カルボキシル基を固相担体の官能基との化学反応により固相に担持させる。続いてピペリジンやDBUなどの塩基によりFmoc基を脱保護し、新たに生じたアミノ基と続いて添加される基本

単位のカルボキシル基を有する保護アミノ酸とを縮合反応させることで、ペプチド結合を生成させる。縮合反応では、カルボキシル基の活性化剤として、DICとHOBtの組み合わせ、DICとHOAtの組み合わせ、HATUとDIPEAとの組み合わせなど様々な組み合わせが可能である。脱Fmoc基とそれに続くペプチド結合生成反応の繰り返しにより、望みのペプチド配列を生成させることができる。望みの配列が得られた後、固相からの切り出しと必要に応じて導入した側鎖官能基の保護基の脱保護が行われる。また、固相からの切り出しを行う前にペプチドの構造変換や環化を行うことも可能である。固相からの切り出しと、脱保護は同一の条件、例えば90:10のTFA/H₂Oで行っても良いし、必要に応じて別々の条件で脱保護しても良い。固相からの切り出しは、1% TFAなどの弱酸での切り出しが可能なものもあれば、保護基としてPdなどを利用して、両者の化学反応の直行性を利用することが可能である。これらの工程の間もしくは最後に、環化などの工程を実施することもできる。例えば、側鎖カルボン酸とN末端主鎖のアミノ基とを縮合させることや、側鎖アミノ基とC末端主鎖のカルボン酸を縮合させることができる。この際、C末端側のカルボン酸と環化させる側鎖カルボン酸の間、もしくはN末端側の主鎖アミノ基またはヒドロキシ基と環化させる側鎖アミノ基の間で反応直行性が必要であり、前述のとおり保護基の直行性を考慮して保護基の選択が行われる。このようにして得られた反応物を逆相カラムや、分子ふるいカラムなどで精製することができる。これらの詳細は、例えばメルク株式会社が平成14年5月1日に発行した固相合成ハンドブックなどに記載されている。固相合成用樹脂は市販されているものを使うことができ、CTC樹脂、Wang樹脂、またはSASRI N樹脂が例示される。

[0148] 本明細書に記載の化合物の製造において、定義した基が実施方法の条件下で望まない化学的変換を受けてしまう場合、例えば、官能基の保護、脱保護等の手段を用いることにより、該化合物を製造することができる。ここで保護基の選択および脱着操作は、例えば、「Greene's, "Protective Groups in Organic Synthesis" (第5版, John Wiley & Sons 2014)」に記載の方法

を挙げることができ、これらを反応条件に応じて適宜用いればよい。また、必要に応じて置換基導入等の反応工程の順序を変えることもできる。たとえば、アミノ基の保護基は、Fmoc、Boc、Cbz、またはAlioc基などが例示される。これらカーバメート基は、アミノ基をカーバメート化剤と塩基触媒存在下、反応させることで導入することができる。カーバメート化剤は、例えばBoc₂O、BocOPh、FmocOSu、FmocCl、CbzCl、AliocCl等が挙げられる。塩基触媒としては例えば炭酸リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸セシウム、炭酸水素セシウム、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化セシウム、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム、N-メチルモルホリン、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N,N-ジメチルアミノピリジン等を挙げることができる。アミノ基の保護基であるカーバメート基は、塩基性条件下、酸性条件下、または加水素分解反応の条件下などで除去することができる。

[0149] ペプチド化合物の翻訳合成方法

本明細書におけるペプチド化合物の翻訳合成方法としては、無細胞翻訳系を用いて合成する方法が例示され、同方法には再構成無細胞翻訳系による合成法が含まれる。排除したい因子を除くことができる点で、再構成無細胞翻訳系を利用するのが好ましい。

[0150] 一局面において、本明細書は、本明細書におけるアミノ酸を少なくとも1種、2種以上、又は3種以上含む、本明細書におけるペプチド化合物の翻訳合成方法を提供する。限定はされないが、このような翻訳合成方法は、以下(i)および(ii)を含んでよい：

(i) 本明細書におけるアミノ酸を少なくとも1種、2種以上、又は3種以上結合したtRNAを用意する工程；

(ii) 前記tRNAのアンチコドンに対応するコドンを少なくとも1つ含む核酸を無細胞翻訳系で翻訳し、前記ペプチド化合物を得る工程。

非限定の一態様において、本明細書における翻訳合成方法は、環状ペプチ

ド化合物の翻訳合成方法であってよい。

[0151] 無細胞翻訳系

本明細書において「無細胞翻訳系」とは、細胞より抽出したリボソームの他、翻訳に関与する蛋白因子群、tRNA、アミノ酸、ATPなどのエネルギー源、その再生系を組み合わせたもので、mRNAを蛋白質に翻訳することが出来るものであれば限定されない。また、翻訳合成反応が進行している間の系も、本明細書における「無細胞翻訳系」に含まれてよい。本明細書における無細胞翻訳系は、ペプチドを翻訳する際の鋳型となる核酸を含んでよく、これら以外にも、開始因子、伸長因子、解離因子、アミノアシルtRNA合成酵素などを含むことができる。これらの因子は、種々の細胞の抽出液から精製することによって得ることができる。因子を精製するための細胞は、例えば原核細胞、または真核細胞を挙げることができる。原核細胞としては、大腸菌細胞、高度好熱菌細胞、または枯草菌細胞を挙げることができる。真核細胞としては、酵母細胞、小麦胚芽、ウサギ網状赤血球、植物細胞、昆虫細胞、または動物細胞を材料にしたものが知られている。またtRNAやアミノアシルtRNA合成酵素（ARS）は天然に存在するものに加え、人工tRNAや非天然アミノ酸を認識する人工アミノアシルtRNA合成酵素を用いることもできる。人工tRNAや人工アミノアシルtRNA合成酵素を用いることにより部位特異的に非天然アミノ酸を導入したペプチドを合成することができる。なお、必要に応じて、無細胞翻訳系にT7 RNA polymeraseなどのRNAポリメラーゼを加えることで、鋳型DNAから転写させることもできる。

[0152] 本明細書において、「無細胞翻訳系がある物質を含む」とは、翻訳合成の開始時に該物質を含んでいなくても、翻訳合成の過程において系内で該物質が合成され含まれることになる態様も含む。例えば、翻訳合成の過程で、アミノ酸がアシル化されたtRNAが合成される場合には、無細胞翻訳系が該アミノアシルtRNAを含むと理解される。

[0153] PURESYSYSTEM（登録商標）（BioComber, Japan）は大腸菌の翻訳に必要な蛋白

因子類、エネルギー再生系酵素、リボソームそれぞれを抽出、精製し、tRNA、アミノ酸、ATP、GTPなどと混合した再構成無細胞翻訳系である。不純物の含有量が少ないだけでなく、再構成系であるため排除したい蛋白因子、アミノ酸を含まない系を容易に作製することができる。((i)Nat Biotechnol. 2001;19:751-5. Cell-free translation reconstituted with purified components. Shimizu Y, Inoue A, Tomari Y, Suzuki T, Yokogawa T, Nishikawa K, Ueda T. (ii)Methods Mol Biol. 2010;607:11-21. PURE technology. Shimizu Y, Ueda T.)。

[0154] 例えば、非天然アミノ酸を導入するコドンとして終止コドンを利用する方法が多く報告されているが、前述のPURESYSTEMを用いることで天然アミノ酸、ARSを除いた合成系を構築できる。これにより、除外する天然アミノ酸をコードするコドンに、非天然アミノ酸を対応付けることが出来る(J Am Chem Soc. 2005;127:11727-35. Ribosomal synthesis of unnatural peptides. Josephson K, Hartman MC, Szostak JW.)。さらにコドンの縮重を解くことにより天然アミノ酸を除外することなく非天然アミノ酸を加えることが出来る(Kwon I, et al. Breaking the degeneracy of the genetic code. J Am Chem Soc. 2003, 125, 7512-3.)。N-メチルアミノ酸を含むペプチドがPURESYSTEMなどの無細胞翻訳系の活用によりリボソームにて合成できる。

[0155] より具体的には、翻訳合成は、例えば、大腸菌の翻訳に必要な蛋白因子類(メチオニルトRNAトランスフォルミラーゼ、EF-G、RF1、RF2、RF3、RRF、IF1、IF2、IF3、EF-Tu、EF-Ts、ARS (AlaRS、ArgRS、AsnRS、AspRS、CysRS、GlnRS、GluRS、GlyRS、HisRS、IleRS、LeuRS、LysRS、MetRS、PheRS、ProRS、SerRS、ThrRS、TrpRS、TyrRS、ValRSから必要なものを選ぶ))、リボソーム、アミノ酸、クレアチンキナーゼ、ミオキナーゼ、無機ピロフォスファターゼ、ヌクレオシド二リン酸キナーゼ、E. coli 由来tRNA、クレアチンリン酸、グルタミン酸カリウム、HEPES-KOH pH7.6、酢酸マグネシウム、スベルミジン、ジチオスレイトール、GTP、ATP、CTP、UTPなどを適宜取捨選択して混合したPURESYSTEM等の公知の無細胞翻訳系にmRNAを加えることによって行うこと

が出来る。また、T7 RNA polymeraseを加えておけば、T7プロモーターを含む鋳型DNAからの転写、翻訳を共役して行なうこともできる。また、所望のアミノアシルtRNA群やアミノアシルtRNA合成酵素（ARS）が許容する非天然アミノ酸群（例えばF-Tyr）を系に添加することによって非天然アミノ酸を含むペプチド化合物を翻訳合成することが出来る（Kawakami T, et al. Ribosomal synthesis of polypeptoids and peptoid-peptide hybrids. J Am Chem Soc. 2008, 130, 16861-3., Kawakami T, et al. Diverse backbone-cyclized peptides via codon reprogramming. Nat Chem Biol. 2009, 5, 888-90.）。さらに、天然のARSに代えて又はこれら加えて、ARSの改変体を系に含めるとともに、非天然アミノ酸群を系に含めることによって、非天然アミノ酸を含むペプチド化合物を翻訳合成することが出来る。あるいは、リボソームやEF-Tuなどの変異体を利用することによって非天然アミノ酸の翻訳導入の効率を高めることも出来る（Dedkova LM, et al. Construction of modified ribosomes for incorporation of D-amino acids into proteins. Biochemistry. 2006, 45, 15541-51., Doi Y, et al. Elongation factor Tu mutants expand amino acid tolerance of protein biosynthesis system. J Am Chem Soc. 2007, 129, 14458-62., Park HS, et al. Expanding the genetic code of Escherichia coli with phosphoserine. Science. 2011, 333, 1151-4.）。

[0156] 非限定の一態様において、本明細書にける無細胞翻訳系（「本明細書における翻訳系」ともいう。）は、ペプチド化合物を製造するための翻訳系であってよく、好ましくは環状ペプチド化合物を製造するための翻訳系である。

[0157] 非限定の一態様において、本明細書における翻訳系は、5～32種類、5～28種類、又は5～20種類の非天然アミノ酸を含んでいてよく、8～20種類、10～20種類、13～20種類が好ましく例示される。一態様において、本明細書における翻訳系に含まれるアミノ酸の種類の数のうち、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上が非天然アミノ酸であってよい。

[0158] 非限定の一態様において、本明細書における翻訳系は、5～28種類、又

は5～20種類のN置換アミノ酸を含んでいてよく、5～18種類、5～15種類が好ましく例示される。一態様において、本明細書における翻訳系に含まれるアミノ酸の種類の数のうち、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上がN置換アミノ酸であってよい。ここでのN置換アミノ酸は、N-アルキルアミノ酸、又はN-メチルアミノ酸を意味してもよいが、その場合であっても、本明細書における翻訳系に他のN置換アミノ酸が含まれることを否定するものではない。

[0159] 非限定の一態様において、本明細書における翻訳系は、該翻訳系を用いて製造されるペプチド化合物に含まれる芳香環の数の平均が一定の範囲内となるように調整されていてもよい。例えば、翻訳合成されるペプチド化合物において、環状部を構成するアミノ酸の数に占める芳香環を有するアミノ酸の数の割合の平均が40%以下、35%以下、30%以下、27%以下、25%以下、若しくは20%以下になるように、又は、8～11個のアミノ酸から構成される環状部を有するペプチド化合物の環状部の側鎖に含まれる芳香環の数の平均が0～3になるように、本明細書における翻訳系を調整してよい。調整方法は特に限定されないが、例えば、翻訳系に含まれるアミノ酸の種類の数に占める芳香環を有するアミノ酸の種類数を調整することが挙げられる。

[0160] 非限定の一態様において、本明細書における翻訳系は、芳香環を有するアミノ酸を含んでいてよく、翻訳系に含まれるアミノ酸の種類の数に占める芳香環を有するアミノ酸の種類数の割合は40%以下が好ましく、35%以下、30%以下、27%以下、25%以下、20%以下が好ましく例示される。

[0161] 非限定の一態様において、本明細書における無細胞翻訳系は、本明細書におけるアミノ酸を少なくとも1種、2種以上、又は3種以上含む、本明細書におけるペプチド化合物を製造するための無細胞翻訳系であってよい。限定はされないが、このような無細胞翻訳系は、以下(i)および(ii)を含んでよい：

(i) 本明細書におけるアミノ酸を少なくとも1種、2種以上、又は3種以上結合したtRNA；

(ii) 前記ペプチド化合物をコードする核酸、

ここで該核酸は前記tRNAのアンチコドンに対応するコドンを少なくとも1つ含んでよい。

[0162] tRNA

非天然アミノ酸のペプチドへの翻訳導入には、直交性を有し効率よくリボソームに取り込まれるtRNA ((i)Biochemistry. 2003;42:9598-608. Adaptation of an orthogonal archaeal leucyl-tRNA and synthetase pair for four-base, amber, and opal suppression. Anderson JC, Schultz PG., (ii) Chem Biol. 2003;10:1077-84. Using a solid-phase ribozyme aminoacylation system to reprogram the genetic code. Murakami H, Kourouklis D, Suga H.) のアミノアシル化が必要である。tRNAをアミノアシル化する方法として以下の5つの方法を用いることができる。

[0163] 細胞内ではtRNAのアミノアシル化のための酵素として、アミノ酸別にアミノアシルtRNA合成酵素 (ARS) が用意されている。そのため第一の方法としては、ある種のARSがN-Me Hisなど非天然アミノ酸を許容することを利用する方法や、非天然アミノ酸を許容する変異アミノアシルtRNA合成酵素を用意し、これを利用する方法が挙げられる ((i)Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99:9715-20. An engineered Escherichia coli tyrosyl-tRNA synthetase for site-specific incorporation of an unnatural amino acid into proteins in eukaryotic translation and its application in a wheat germ cell-free system. Kiga D, Sakamoto K, Kodama K, Kigawa T, Matsuda T, Yabuki T, Shirouzu M, Harada Y, Nakayama H, Takio K, Hasegawa Y, Endo Y, Hirao I, Yokoyama S. (ii)Science. 2003;301:964-7. An expanded eukaryotic genetic code. Chin JW, Cropp TA, Anderson JC, Mukherji M, Zhang Z, Schultz PG. Chin, JW. (iii) Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103:4356-61. Enzymatic aminoacylation of tRNA with unnatural amino acids. Hartman MC, Jose

phson K, Szostak JW.)。第二に、試験管内でtRNAをアミノアシル化しその後アミノ酸を化学修飾する方法も用いることができる (J Am Chem Soc. 2008;130:6131-6. Ribosomal synthesis of N-methyl peptides. Subtelny AO, Hartman MC, Szostak JW.)。第三に、tRNAの3'末端のCCA配列からCAを除いたものと別途調製したアミノアシル化したpdCpAとをRNAリガーゼで結合させることでアミノアシルtRNAを得ることが出来る (Biochemistry. 1984;23:1468-73. T4 RNA ligase mediated preparation of novel "chemically misacylated" tRNAPheS. Heckler TG, Chang LH, Zama Y, Naka T, Chorghade MS, Hecht SM.)。種々の非天然アミノ酸の活性エステルをtRNAに担持させるリボザイムであるフレキシザイムによるアミノアシル化もある (J Am Chem Soc. 2002;124:6834-5. Aminoacyl-tRNA synthesis by a resin-immobilized ribozyme. Murakami H, Bonzagni NJ, Suga H.)。第四に、tRNAとアミノ酸活性エステルとをカチオン性ミセル中で超音波混合する方法も用いることができる (Chem Commun (Camb). 2005;(34):4321-3. Simple and quick chemical aminoacylation of tRNA in cationic micellar solution under ultrasonic agitation. Hashimoto N, Ninomiya K, Endo T, Sisido M.)。第五として、tRNAの3'末端付近に相補的なPNAにアミノ酸活性エステルを結合したものをtRNAに加えることによってアミノアシル化が可能である (J Am Chem Soc. 2004;126:15984-9. In situ chemical aminoacylation with amino acid thioesters linked to a peptide nucleic acid. Ninomiya K, Minohata T, Nishimura M, Sisido M.)。

[0164] より具体的には、以下のような方法を用いてアミノアシルtRNAを作製することができる。所望のtRNA配列をコードし、上流にT7、T3もしくはSP6プロモーターを配置した鋳型DNAを用意し、T7 RNA polymeraseやT3, SP6 RNA polymeraseなどプロモーターに適応したRNAポリメラーゼを利用して転写によってRNAを合成することが出来る。細胞からtRNAを抽出精製し、tRNAの配列の相補配列のプローブを用いて目的の生成tRNAを抽出することも出来る。この際目的のtRNAの発現ベクターで形質転換し

た細胞をソースにすることも出来る。化学合成によって目的の配列のRNAを合成することも出来る。例えば、このようにして得られた3'末端のCCA配列からCAを除いたtRNAと別途調製したアミノアシル化したpdcpAまたはpcpAとをRNAリガーゼで結合させることでアミノアシルtRNAを得ることが出来る（pdcpA法、pcpA法）。当該tRNAは、ペプチド化合物の製造において有用である。あるいは、全長tRNAを用意し、種々の非天然アミノ酸の活性エステルをtRNAに担持させるリボザイムであるフレキシザイムによるアミノアシル化も可能である。また、限定を意図しないが、天然のARS又はその改変体を用いて、アミノアシルtRNAを作製することもできる。天然ARS又はその改変体を用いると、翻訳系内で一旦消費されたアミノアシルtRNAが、天然ARSやその改変体によって再生成され得るため、予め作製したアミノアシルtRNAを翻訳系に大量に存在させる必要がない。このようなARS改変体は、W02016/148044に記載される。これらのアミノアシルtRNAの作製方法を適宜組み合わせることもできる。

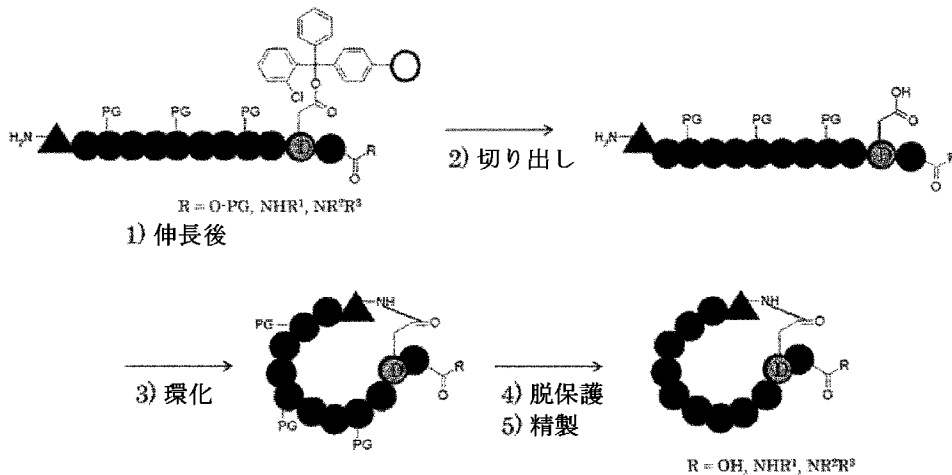
[0165] 環状部の形成

非限定の一態様において、ペプチド化合物の環状部は、直鎖状のペプチド化合物を環化反応に供することにより形成される。

[0166] 本明細書において「環化反応」とは、ペプチド化合物のペプチド部位に環状部を形成させる反応をいう。一態様において、環化反応により環状部が形成されたペプチド化合物を更に化学修飾、又は反応させて得られるペプチド化合物も、本明細書におけるペプチド化合物に含まれる。また、環化反応の前に化学修飾等を行ってもよい。

[0167] スキームAに、本明細書におけるペプチド化合物のペプチド部位の環化反応の一例を示す。黒丸（●）ユニット（主鎖ユニット）、Dユニット（アスパラギン酸ユニット）、三角（▲）ユニット（環化N末端ユニット）はそれぞれペプチド部位を構成するアミノ酸残基を意味する。白丸は固相合成用樹脂をあらわす。スキームAにおいては、環状部とは1つの三角ユニットと9

つの黒丸ユニット及び1つのDユニットからなる部位である。それぞれのユニットは同一のアミノ酸であっても、異なるアミノ酸であってもよい。本発明の環状ペプチドは、例えば、国際公開第2013/100132号に記載の方法によって製造することができる。



スキームA

[0168] 本明細書における「ユニット」とは、本明細書における鎖状ペプチド化合物の合成後環化前のアミノ酸、環化後のアミノ酸、環化後の化学修飾が完了した時点でのアミノ酸のいずれかを意味する。環化後の化学修飾が完了した時点でのアミノ酸残基には、例えば、ペプチド化合物の製造後の化学修飾により、化学変換や骨格変換されたアミノ酸残基が含まれる。

[0169] ライブラリ

非限定の一態様において、本開示におけるペプチド化合物、又はこれらをコードする核酸のライブラリは、それぞれ、本明細書に記載のペプチド化合物、又はこれらをコードする核酸から実質的になるライブラリであってよい。

本明細書におけるライブラリには、本明細書におけるペプチド化合物を含むライブラリ、及び本明細書におけるペプチド化合物をコードする核酸を含むライブラリが含まれる。本明細書におけるライブラリには、本明細書におけるペプチド化合物のライブラリ、ペプチド化合物-核酸複合体のライブラリが含まれ、中でも環状ペプチド化合物、又は環状ペプチド-核酸複合体のライブラリが好ましく、特に環状ペプチド-mRNA複合体のライブラリが

好ましい。ライブラリとしては、ディスプレイライブラリが好ましい。ディスプレイライブラリとしては、ディスプレイを利用したライブラリが例示され、中でも mRNA ディスプレイライブラリ、DNA ディスプレイライブラリ、リボソームディスプレイライブラリが好ましく、mRNA ディスプレイライブラリがより好ましい。

[0170] 特定の理論に拘束されることを意図しないが、本発明者らは以下のように考える。これまでのペプチドライブラリでは、ペプチドを構成するアミノ酸の側鎖に含まれるプロトンドナーを分子内水素結合形成によりマスクさせることは偶然に頼ってきた。特に、構成アミノ酸をランダムに配置して多様性を持たせるようなペプチドライブラリにおいては、アミノ酸の間で狙い通りに水素結合を形成させることは困難であった。本明細書のアミノ酸を含むペプチド化合物であれば、アミノ酸の側鎖に含まれるプロトンドナー部位に水素結合がすでに形成されているアミノ酸を用いているため、ペプチド化合物の側鎖部位において分子内で水素結合を意図的に形成させることが可能になる。本明細書のアミノ酸を用いて得られるペプチド化合物のライブラリは、分子内で水素結合形成することで側鎖のプロトンドナーをマスクし得るペプチド化合物の出現頻度が高い、すなわち膜透過性の高いペプチド化合物を含む確率が高くなり得る。

[0171] 本明細書において、ペプチド化合物は「核酸によりコードされるペプチド化合物」であってよい。本明細書において「核酸によりコードされるペプチド化合物」とは、該核酸を鋳型として翻訳することにより直接合成されるペプチド化合物に限定されず、翻訳後修飾を受けて合成され得るペプチド化合物を含むことがある。例えば、核酸を翻訳することにより直鎖ペプチド化合物が合成され、その後の環化工程により環状ペプチド化合物が合成される場合、該環状ペプチド化合物を、前記核酸によりコードされる環状ペプチド化合物ということがある。また、一態様において、核酸を鋳型として翻訳合成されるペプチド化合物、又はその後に翻訳後修飾を受けたペプチド化合物と該核酸との複合体（ペプチド化合物－核酸複合体）も、核酸によりコードさ

れる（環状）ペプチド化合物に含まれる。

[0172] 非限定の一態様において、本明細書におけるライブラリに含まれるペプチド化合物、又はライブラリに含まれる核酸によりコードされるペプチド化合物に含まれる非天然アミノ酸、N置換アミノ酸、又は芳香環を有するアミノ酸の数の平均は、DNAライブラリを合成する際に、前記アミノ酸に当てたコドンの出現頻度にて調整することができる。例えば10のアミノ酸残基可変箇所を含むペプチドのライブラリでは、アミノ酸が20種類から選択されると仮定した場合、該20種類のうちN置換アミノ酸を10種類とすることで、N置換アミノ酸のコドンユニットが可変箇所1箇所当り10/20(50%)を占めるように合成することができる。このようにして、本明細書における非天然アミノ酸の数、N置換アミノ酸の数、芳香環の数、又は芳香環を有するアミノ酸の数の割合の平均を算出してもよい。

[0173] 本明細書におけるペプチド化合物、及び／又はこれらをコードする核酸のライブラリについて、「～から実質的になる」とは、該ライブラリに含まれるペプチド化合物、及び／又はこれらをコードする核酸のバリエーションの理論上の総数に対する、そこに挙げられたペプチド化合物、及び／又はこれらをコードする核酸のバリエーションの理論上の数の割合が、90%以上、93%以上、95%以上、97%以上、98%以上、又は99%以上であってよいが、これらに限定されるものではない。

[0174] 本明細書におけるライブラリにおいて、ペプチド化合物の「バリエーションの理論上の（総）数」を求める際、実際にペプチド化合物として製造され得ないものは、理論上の（総）数には算入しない。例えば、以下（1）及び（2）のような場合には、該当するアミノ酸は翻訳合成されないことから、このようなアミノ酸を含むペプチド化合物は、理論上の（総）数に算入しない：（1）ペプチド化合物の材料として翻訳液中にアミノ酸が添加されていても、同アミノ酸をコードする核酸を鋳型として含まない場合；（2）ペプチド化合物の鋳型となる核酸には塩基配列を含むが、これに対応するアミノ酸を含まない翻訳液を使用する場合。また、環状ペプチド化合物を製造する

過程での副反応物や未反応物が存在する場合には、これらは前記理論上の（総）数には算入しない。

[0175] 例えば、計 20 種類の天然アミノ酸を用いて、1 種のアミノ酸に対して 1 組のコドンユニットを対応させたコドン表により、前記コドンユニットがランダムに配置された塩基配列から、11 残基のペプチドを翻訳合成する場合において、翻訳開始アミノ酸がメチオニンに固定されていたとすると、バリエーションの理論上の数は、 20^{10} となる。

[0176] 非限定の一態様において、本明細書におけるライブラリは、ペプチド化合物、及び／又はこれらをコードする核酸に加えて、標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物のスクリーニングに必要な他の成分を含んでよい。また、本明細書におけるライブラリの効果に負の影響を与えない範囲で他の成分を含んでよい。

[0177] 本明細書におけるライブラリには、ペプチド化合物、又はこれらをコードする核酸が複数含まれる。本明細書において、ライブラリに含まれるペプチド化合物のバリエーション（種類）の数のことを「多様性」という。本明細書におけるライブラリに含まれるペプチド化合物、又はこれらをコードする核酸の多様性は特に限定されないが、 10^3 以上、 10^4 以上、 10^5 以上、 10^6 以上、 10^7 以上、 10^8 以上、 10^9 以上、 10^{10} 以上、 10^{11} 以上、及び 10^{12} 以上が例示される。これら多様性は、実測値に限定されるものではなく、理論値であってよい。

[0178] 非限定の一態様において、本明細書におけるライブラリに含まれる、又はライブラリに含まれる核酸によりコードされるペプチド化合物の核酸連結部以外のペプチド部位の分子量の平均、又は環状ペプチド化合物の環状部の分子量の平均は 500～2000 であってよい。

[0179] ディスプレイライブラリ

ディスプレイライブラリは表現型であるペプチドとその遺伝子型であるペプチドをコードする RNA もしくは DNA が対応付けられているライブラリである。このライブラリを使用して、標的分子に特異的に結合できるペプチ

ド化合物を同定することができる。例えば、所望の固定した標的にライブラリを接触させ、標的に結合しない分子を洗い流すことで、標的に結合するペプチドの濃縮が可能である(パニング法)。このような過程を経て選択されたペプチドに対応付けられている遺伝子情報を解析することで標的に結合したペプチドの配列を明らかにすることができる。例えば、アミノアシル tRNA のアナログである抗生物質ピューロマイシンがリボソームによる mRNA 翻訳伸長中の蛋白質に非特異的に連結されることを利用する方法が mRNA ディスプレイ (Proc Natl Acad Sci USA, 1997;94:12297-302, RNA-peptide fusions for the in vitro selection of peptides and proteins, Roberts RW, Szostak JW.) ないしは in vitro virus (FEBS Lett, 1997;414:405-8, In vitro virus: bonding of mRNA bearing puromycin at the 3'-terminal end to the C-terminal end of its encoded protein on the ribosome in vitro, Nemoto N, Miyamoto-Sato E, Husimi Y, Yanagawa H.) として報告されている。

[0180] T7 プロモーターなどのプロモーターを含む DNA ライブラリから転写にて得た mRNA のライブラリの 3' 端にピューロマイシンなどのスペーサーを結合しておき、無細胞翻訳系で mRNA をタンパク質に翻訳させるとピューロマイシンがリボソームによってアミノ酸と間違っ てタンパク質に取り込まれ、mRNA とこれにコードされる蛋白質が連結され、mRNA とその産物 に対応付けられたライブラリになる。この過程では大腸菌などの形質転換を 含まないため高い効率が実現され、大規模なディスプレイライブラリを構築 することが出来る。パニングで濃縮、選択された分子についている遺伝子情 報を含むタグである mRNA から cDNA を合成し、PCR 増幅し、塩基配 列を解析することで結合した蛋白の配列を明らかにすることが出来る。

[0181] 無細胞翻訳系を利用したディスプレイライブラリには、mRNA ディスプレイ の他に、ペプチドとピューロマイシンの複合体が結合しているペプチドをコ ードする cDNA からなるライブラリである cDNA ディスプレイ (Nucleic Acid s Res. 2009;37(16):e108, cDNA display: a novel screening method for fu nctional disulfide-rich peptides by solid-phase synthesis and stabili

zation of mRNA-protein fusions. Yamaguchi J, Naimuddin M, Biyani M, Sasaki T, Machida M, Kubo T, Funatsu T, Husimi Y, Nemoto N.), mRNA 翻訳中にリボソームと翻訳産物が比較的安定な複合体であることを利用したリボソームディスプレイ (Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91:9022-6. An in vitro polysome display system for identifying ligands from very large peptide libraries. Mattheakis LC, Bhatt RR, Dower WJ.), bacteriophage endonuclease P2A が DNA と共有結合を形成することを利用した covalent display (Nucleic Acids Res. 2005;33:e10. Covalent antibody display--an in vitro antibody-DNA library selection system. Reiersen H, Loberli I, Lo set GA, Hvattum E, Simonsen B, Stacy JE, McGregor D, Fitzgerald K, Wellschof M, Brekke OH, Marvik OJ.), 微生物のプラスミドの複製開始蛋白 RepA が複製開始点 ori に結合することを利用した CIS display (Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101:2806-10. CIS display: In vitro selection of peptides from libraries of protein-DNA complexes. Odegrip R, Coomber D, Eldridge B, Hederer R, Kuhlman PA, Ullman C, Fitzgerald K, McGregor D.) が知られている。また、DNA ライブラリを構成する DNA の 1 分子毎に転写翻訳系を water-in-oil エマルジョンやリボソームに封入し、翻訳反応を行う in vitro compartmentalization (Nat Biotechnol. 1998;16:652-6. Man-made cell-like compartments for molecular evolution. Tawfik DS, Griffiths AD.) も知られている。適宜、公知の方法を用いて上記方法を使用することができる。

[0182] 核酸ライブラリ

本発明における「核酸」には、デオキシリボ核酸 (DNA)、リボ核酸 (RNA) あるいは、人工塩基を有するヌクレオチド誘導体を含むこともできる。また、ペプチド核酸 (PNA) を含むこともできる。本発明の核酸は、目的とする遺伝情報が保持される限り、これらの核酸のいずれか、あるいは混成とすることもできる。すなわち、DNA-RNA のハイブリッドヌクレオチドや DNA と RNA のような異なる核酸が一本鎖に連結されたキメラ核酸も本発明における核酸に含まれる。

[0183] ペプチド化合物ライブラリに含まれるペプチド化合物の鋳型となる核酸のライブラリとしては、mRNAライブラリ、DNAライブラリ等が例示される。ペプチド配列上でアミノ酸残基を固定しない箇所は塩基を混ぜて合成することによって、核酸ライブラリを得ることができる。例えば、DNAライブラリとしては、A、T、G、C、RNAライブラリとしては、A、U、G、Cのそれぞれ4塩基の混合(N)の3の倍数個の繰り返し、もしくはコドンの一文字目二文字目はN、三文字目はW、M、K、Sなどの2塩基の混合として合成する、さらに導入するアミノ酸の種類を16以下に抑えるのであれば、三文字目を1種類の塩基にする方法もある。また、コドンの3文字に相当するコドンユニットを用意し、これを任意の割合で混合して合成に用いることによってアミノ酸残基の出現頻度を自由に調整できる。

[0184] 無細胞翻訳系を用いてこれら核酸ライブラリを翻訳することができる。無細胞翻訳系を使用する場合、目的の核酸の下流にスペーサーをコードする配列を含むことが好ましい。スペーサー配列としては、グリシンやセリンを含む配列が挙げられるがこれに限定しない。またピューロマイシン、その誘導体などリボソームによる翻訳時にペプチドに取り込まれる化合物と核酸ライブラリの間には、RNA、DNA、ヘキサエチレングリコール（s p c 1 8）のポリマー（例えば5つのポリマー）などで形成されるリンカーを含むことが好ましい。

[0185] ライブラリの製造方法

非限定の一態様において、本開示におけるライブラリの製造は、上述した本開示におけるペプチド化合物の製造方法に準じて行うことができ、適宜公知の方法と組み合わせることができる。一態様において、上述した本開示における無細胞翻訳系を使用して本開示におけるペプチド化合物のライブラリを製造できる。すなわち、本開示におけるライブラリの製造方法には、本開示における無細胞翻訳系を使用してペプチド化合物を合成する工程を含んでよい。一態様において、本開示における無細胞翻訳系において記述した、例示、好ましい範囲、態様が、本開示におけるライブラリの製造方法において

もそのまま適用できる。

[0186] mRNAディスプレイライブラリは、非限定の一態様において、以下のよう
に製造することができる。まずT7プロモーターなどのプロモーターの下
流に所望の配列を配置したDNAのライブラリを化学合成し、これを鋳型に
プライマー伸長反応にて二本鎖DNAにする。これを鋳型にT7 RNA polymerase
などのRNAポリメラーゼを用いてmRNAに転写する。このRNAの3'末端
にアミノアシルtRNAのアナログである抗生物質ピューロマイシンなどが
つながったリンカー（スペーサー）を結合させる。これを上記のPURESYSTEM
など公知の無細胞翻訳系に加え、保温することによってmRNAが翻訳され
、mRNAとこれにコードされるペプチドがピューロマイシンなどを含むリ
ンカーを介して連結される。このようにしてmRNAとその産物が対応付け
られたmRNAとその産物の複合体からなるディスプレイライブラリを構築
することが出来る。リンカーはさらに、当業者に周知のスペーサーを含むこ
とができる。また、必要に応じて、上述の方法や公知の方法により、環化等
の翻訳後修飾を行うことができる。

[0187] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリは、本明細書に記載
されたアミノ酸からなる群より選択される少なくとも1種、2種以上、又は
3種以上のアミノ酸を含むペプチド化合物を含むペプチド化合物ライブラリ
であってよい。このようなライブラリの製造方法としては、以下(i)および(i
i)を含む無細胞翻訳系でペプチド化合物を翻訳合成する工程を含んでよい：

(i) 本明細書に記載されたアミノ酸からなる群より選択される少なくとも
1種、2種以上、又は3種以上のアミノ酸が結合したtRNA；

(ii) 前記ペプチド化合物ライブラリをコードする核酸ライブラリ、
ここで該核酸ライブラリには前記tRNAのアンチコドンに対応するコドン
を少なくとも1つ含む核酸が含まれてよい。

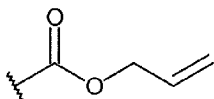
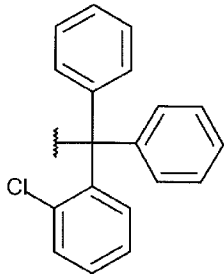
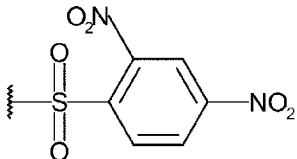
[0188] なお、本明細書において引用された全ての先行技術文献は、参照として本
明細書に組み入れられる。

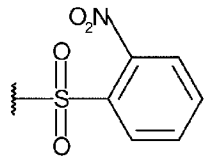
実施例

[0189] 本発明は、以下の実施例によってさらに例示されるが、下記の実施例に限定されるものではない。

[0190] 実施例中では以下の略号表に記載の略号を使用した。

[表1]

略語	名称
2-MeTHF	2-メチルテトラヒドロフラン
AAあるいはAcONH ₄	酢酸アンモニウム
Alloc	アリルオキシカルボニル
	
Alloc-OSu	N-(アリルオキシカルボニルオキシ)スクシンイミド
BF ₃ ·OEt ₂	三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体
Boc ₂ O	二炭酸ジ-tert-ブチル
CDI	カルボニルジイミダゾール
CH ₂ CN	シアノメチル基
Clt	2-クロロトリチル基
	
DBU	1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]-7-ウンデセン
DCE	ジクロロエタン
DCM	ジクロロメタン
DEAD	ジエチルアゾカルボキシレート
DIBAL	水素化ジイソブチルアルミニウム
DIC	ジイソプロピルカルボジイミド
DIPEA	N-エチル-イソプロピルプロパン-2-アミンあるいはN, N-ジイソプロピルエチルアミン
DMF	N, N-ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
DNsまたはジニトロノシル基	2,4-ジニトロベンゼンスルホニル基
	
Et ₃ SiH	トリエチルシラン
EtOH	エタノール
FA	ギ酸

略語	名称
Fmoc-Cl	カルボノクロリド酸(9H-フルオレン-9-イル)メチル
Fmoc-OSu	炭酸(2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル)(9H-フルオレン-9-イル)メチルあるいはN-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド、あるいは炭酸 N-スクシンイミジル 9-フルオレニルメチル
HATU	O-(7-アザ-1H-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ェート
HFIP	1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロイソプロピルアルコール
HOAt	1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール
HOBt	1-ヒドロキシベンゾトリアゾール
LiAlH ₄	水素化アルミニウムリチウム
MeCN	アセトニトリル
MeOH	メタノール
NaHMDS	ナトリウムビス(トリメチルシリル)アミド
NaOtPen	t-ペントキサイドナトリウム
NMP	N-メチル-2-ピロリドン
Nsまたはノシル基	2-ニトロベンゼンスルホニル基
	
PMHS	ポリ(メチルヒドロシロキサン)
PPh ₃	トリフェニルフォスフィン
PPTS	p-トルエンスルホン酸ピリジニウム
T3P	プロピルホスホン酸無水物
TBAF	テトラブチルアンモニウムフルオリド
TBME	t-ブチルメチルエーテル
TFA	トリフルオロ酢酸
TFE	2, 2, 2-トリフルオロエタノール
THF	テトラヒドロフラン
TIPS	トリイソプロピルシラン
TMDS	テトラメチルジシロキサン
TsOH	p-トルエンスルホン酸あるいはトシル酸
WSC・HClあるいは EDCI・HCl	1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩あるいは1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩

[0191] ペプチド合成及び、固相合成に用いる反応溶媒はペプチド合成用（渡辺化学、和光純薬から購入）を用いた。例えばDCM、DMF、NMP、2% DBU in DMF、20% piperidine in DMFなどである。また、水を溶媒として加えない反応では、脱水溶媒、超脱水溶媒、無水溶媒（関東化学、和光純薬などから購入）を用いた。

LC/MSの分析条件は、下記のとおりである。

[0192]

[表2]

分析条件	装置	カラム(I.D.x長さ)(mm)	移動相	勾配(A/B)	流速 (mL/分)	カラム 温度(°C)	波長
SQDAA05	Acquity UPLC/SQD	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)10mM AcONH ₄ ,H ₂ O B)MeOH	95/5=> 0/100(1.0分間) => 0/100(0.4分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SQDAA50	Acquity UPLC/SQD	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)10mM AcONH ₄ ,H ₂ O B)MeOH	50/50=> 0/100(0.7分間) => 0/100(0.7分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SQDFA05	Acquity UPLC/SQD	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)0.1% FA,H ₂ O B)0.1% FA,MeCN	95/5=> 0/100(1.0分間) => 0/100(0.4分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SQDFA40	Acquity UPLC/SQD	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)0.1% FA,H ₂ O B)0.1% FA,MeCN	40/60=> 0/100(1.0分間) => 0/100(0.4分間)	1.0	35	254nm
SQDFA50	Acquity UPLC/SQD	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)0.1% FA,H ₂ O B)0.1% FA,MeCN	50/50=> 0/100(0.7分間) => 0/100(0.7分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SQDAA05-2	Acquity UPLC I-Class /SQD	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)10mM AcONH ₄ ,H ₂ O B)MeOH	95/5=> 0/100(1.0分間) => 0/100(0.4分間)	0.9	35	210-400nm PDA total
SQD2AA05	Acquity UPLC/SQD2	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)10mM AcONH ₄ ,H ₂ O B)MeOH	95/5=> 0/100(1.0分間) => 0/100(0.4分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SQD2AA50	Acquity UPLC/SQD2	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)10mM AcONH ₄ ,H ₂ O B)MeOH	50/50=> 0/100(0.7分間) => 0/100(0.7分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SQD2FA05	Acquity UPLC/SQD2	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)0.1% FA,H ₂ O B)0.1% FA,MeCN	95/5=> 0/100(1.0分間) => 0/100(0.4分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SQD2FA50	Acquity UPLC/SQD2	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)0.1% FA,H ₂ O B)0.1% FA,MeCN	50/50=> 0/100(0.7分間) => 0/100(0.7分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SQD2FA50L	Acquity UPLC/SQD2	Ascentis Express C18 (2.1x50)	A)0.1% FA,H ₂ O B)0.1% FA,MeCN	50/50=> 0/100(4.5分間) => 0/100(0.5分間)	1.0	35	210-400nm PDA total

分析条件	装置	カラム(1.D.x長さ)(mm)	移動相	勾配(A/B)	流速 (mL/分)	カラム 温度(°C)	波長
SMD method5	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA,H ₂ O B)0.05% TFA,MeCN	95/5=> 0/100(2.2分間)=> 0/100(1.0分間) =>95/5(0.1分間)=>95/5(0.3分間)	1.0	40	190-800nm PDA total
SMD method6	Nexera/2020	Speed Core C18 (2.1x50)	A)0.1% FA,H ₂ O B)0.1% FA,MeCN	95/5=> 0/100(1.5分間) => 0/100(0.5分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SMD method7	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA,H ₂ O B)0.05% TFA,MeCN	95/5=> 0/100(1.2分間)=> 0/100(1.0分間) =>95/5(0.1分間)	1.0	40	190-800nm PDA total
SMD method9	Shimadzu LCMS-2020 LC-20ADXR	phenomenex kinetex (3.0x50)	A)0.1% FA,H ₂ O B)0.1% FA,MeCN	90/10=> 0/100(1.2分間)=> 0/100(0.5分間) => 90/10(0.1分間)	1.5	40	190-400nm PDA total
SMD method10	Shimadzu LCMS-2020 LC-30AD	Poroshell HPH-C18 (3.0x50)	A)6.5mM NH ₄ HCO ₃ pH10 B)MeCN	90/10=> 5/95(1.1分間)=> 5/95(0.5分間) =>90/10(0.1分間)	1.2	40	190-400nm PDA total
SMD method11	Shimadzu LCMS-2020 LC-30AD	Kinetex EVO C18 (2.1x50)	A)6.5mM NH ₄ HCO ₃ pH10 B)MeCN	90/10=> 5/95(1.1分間)=> 5/95(0.5分間) =>90/10(0.1分間)	1.0	40	190-400nm PDA total
SMD method12	Shimadzu LCMS-2020 LC-30AD	Poroshell HPH-C18 (3.0x50)	A)6.5mM NH ₄ HCO ₃ pH10 B)MeCN	90/10=> 5/95(1.1分間)=> 5/95(0.5分間) =>90/10(0.1分間)	1.5	40	190-400nm PDA total
SMD method13	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA,H ₂ O B)0.05% TFA,MeCN	95/5=> 0/100(1.1分間)=> 0/100(0.6分間) =>95/5(0.05分間)	1.2	40	190-400nm PDA total
SMD method14	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA,H ₂ O B)0.05% TFA,MeCN	95/5=> 5/95(3.0分間)=> 5/95(0.7分間) =>95/5(0.05分間)	1.2	40	190-400nm PDA total

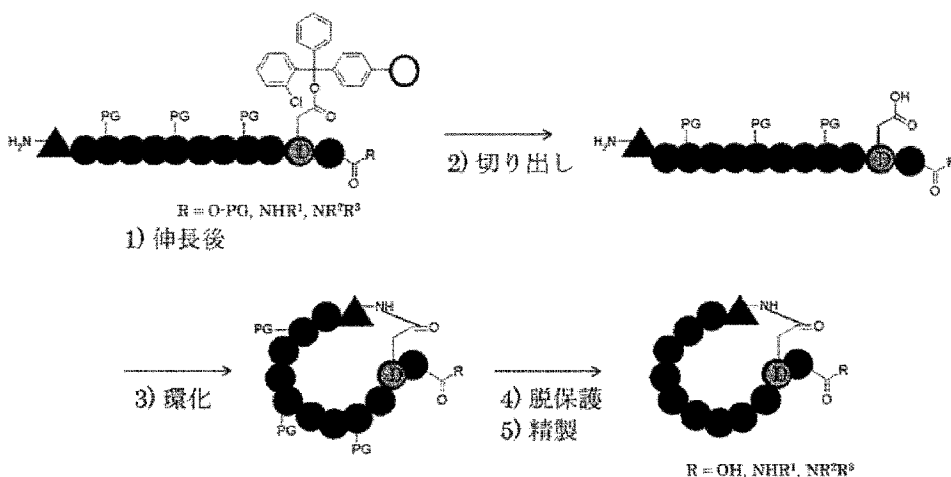
分析条件	装置	カラム(I.D.x長さ)(mm)	移動相	勾配(A/B)	流速 (mL/分)	カラム 温度(°C)	波長
SMD method15	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.1% FA, H ₂ O B)0.1% FA, MeCN	90/10=> 0/100(3.0分間)>=> 0/100(0.7分間) =>95/5(0.05分間)	1.2	40	190-400nm PDA total
SMD method16	Shimadzu LCMS-2020 LC-20ADXR	CORTECS C18 (2.1x50)	A)0.1% FA, H ₂ O B)0.1% FA, MeCN	90/10=> 0/100(1.2分間)>=> 0/100(0.5分間)>=>90/10(0.1分間)	1.0	40	190-400nm PDA total
SMD method18	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA, H ₂ O B)0.05% TFA, MeCN	95/5=> 0/100(2.2分間)>=> 0/100(1.0分間) =>95/5(0.1分間)	1.0	40	190-400nm PDA total
SMD method20	Shimadzu LCMS-2020 LC-30AD	Kinetex EVO C18 (2.1x50)	A)6.5mM NH ₄ HCO ₃ , pH10 B)MeCN	90/10=> 5/95(2.0分間)>=> 5/95(0.7分間) =>90/10(0.1分間)	1.0	40	190-400nm PDA total
SMD method23	Shimadzu LCMS-2020 LC-20ADXR	phenomenex kinetex (3.0x50)	A)0.1% FA, H ₂ O B)0.1% FA, MeCN	90/10=> 0/100(1.1分間)>=> 0/100(0.7分間) => 90/10(0.1分間)	1.5	40	190-400nm PDA total
SMD method28	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA, H ₂ O B)0.05% TFA, MeCN	95/5=> 30/70(3.8分間)>=> 0/100(0.3分間) =>0/100(0.5分間)>=>95/5(0.1分間)	1.2	40	190-400 PDA total
SMD method31	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA, H ₂ O B)0.05% TFA, MeCN	95/5=> 0/100(1.2分間)>=> 0/100(1.0分間) =>95/5(0.1分間)	1.0	40	190-800 PDA total
SMD method32	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA, H ₂ O B)0.05% TFA, MeCN	95/5=> 0/100(1.6分間)>=> 0/100(0.6分間) =>95/5(0.1分間)	1.0	40	190-800 PDA total
SMD method33	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA, H ₂ O B)0.05% TFA, MeCN	95/5=> 0/100(1.2分間)>=> 0/100(1.0分間) =>95/5(0.1分間)	1.0	40	190-400 PDA total
SMD method34	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0x50)	A)0.05% TFA, H ₂ O B)0.05% TFA, MeCN	95/5=> 5/95(2.0分間)>=> 5/95(0.7分間) =>95/5(0.05分間)	1.2	40	190-400 PDA total
SMD method40	Shimadzu LCMS-2020 LC-20ADXR	CORTECS C18 (2.1x50)	A)0.1% FA, H ₂ O B)0.1% FA, MeCN	90/10=> 5/95(3.0分間)>=> 5/95(0.7分間)>=>90/10(0.1分間))	1.0	40	190-400nm PDA total

分析条件	装置	カラム(内径×長さ)(mm)	移動相	勾配(A/B)	流速 (mL/分)	カラム 温度(°C)	波長
SMD method41	Shimadzu LCMS-2020 LC-30AD	Kinetex EVO C18 (2.1×50)	A) 6.5mM NH ₄ HCO ₃ pH10 B) MeCN	90/10=> 5/95(3.0分間)>=> 5/95(0.7分間)>=> 90/10(0.1分間)	1.0	35	190-400nm PDA total
SMD method42	Shimadzu LCMS-2020 LC-30AD	CORTECS C18(2.1×50)	A) 0.05% TFA, H ₂ O B) 0.05% TFA, MeCN	95/5=> 5/95(3.0分間)>=> 5/95(0.7分間) =>95/5(0.1分間)	1.0	45	190-400nm PDA total
SMD method45	Shimadzu Nexera/2020	Ascentis Express C18 (2.1×50)	A) 0.1% FA, H ₂ O B) 0.1% FA, MeCN	95/5=> 0/100(1.5分間) => 0/100(0.5分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SMD method46	Shimadzu Nexera/2020	Ascentis Express C18 (2.1×50)	A) 0.05% TFA, H ₂ O B) 0.05% TFA, MeCN	95/5=> 0/100(4.5分間)>=> 0/100(0.5分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SMD method47	Shimadzu Nexera/2020	Ascentis Express C18 (2.1×50)	A) 0.1% FA, H ₂ O B) 0.1% FA, MeCN	95/5=> 0/100(4.5分間)>=> 0/100(0.5分間)	1.0	35	210-400nm PDA total
SMD method49	Shimadzu LCMS- 2010EV	Shim-Pack XR-ODS (3.0×50)	A) 0.05% TFA, H ₂ O B) 0.05% TFA, MeCN	95/5=> 5/95(3.0分間)>=> 5/95(0.7分間) =>95/5(0.05分間)	1.2	40	190-400nm PDA total
SMD method50	Shimadzu LCMS-2020 LC-30AD	Kinetex EVO C18 (2.1×50)	A) 6.5mM NH ₄ HCO ₃ pH10 B) MeCN	90/10=> 5/95(1.1分間)>=> 5/95(0.5分間)>=> 90/10(0.1分間)	1.0	35	190-400nm PDA total
SMD method51	Shimadzu LCMS-2020 LC-20AD	Shim-Pack XR-ODS (3.0×50)	A) 0.05% TFA, H ₂ O B) 0.05% TFA, MeCN	95/5=> 5/95(1.0分間)>=> 5/95(0.4分間) =>95/5(0.1分間)	1.2	40	190-400nm PDA total
SMD method52	Shimadzu LCMS-2020 LC-20ADXR	Ascentis Express C18 (3.0×50)	A) 0.05% TFA, H ₂ O B) 0.05% TFA, MeCN	95/5=> 5/95(1.1分間)>=> 5/95(0.5分間) =>95/5(0.1分間)	1.0	40	190-400nm PDA total
SQDAAs	Shimadzu Nexera/2020	Ascentis Express C18 (2.1×50)	A) 10mM AcONH ₄ , H ₂ O B) MeOH	70/30=> 0/100(8.75分間)>=> 0/100(1.25分間)	0.5	50	210-400nm PDA total
SQDFAs	Shimadzu Nexera/2020	XSelect CSH C18 (2.1×50)	A) 0.1% FA, H ₂ O B) 0.1% FA, MeCN	70/30=> 10/90(7.5分間)>=> 0/100(2.5分間)	0.5	50	210-400nm PDA total
GC01	Agilent GCMS 7890A-5975	Agilent DB-5ms (0.2×12)	MeCN	50°C(1min)>=> 40°C-300°C(6.25分間)>=> 300°C (1.75分間)	1.0	50	-

[0193] 実施例 1 ペプチド化合物の化学合成

WO 2013/100132に記載の Fmoc 法によるペプチド合成法に従い、下記の基本ルートでペプチドの伸長を行った。すなわち、1) Asp 側鎖のカルボン酸を 2-クロロトリチルレジンに担持させたものの、Asp の N 末からの Fmoc 法によるペプチド伸長反応、2) 2-クロロトリチル

レジンからのペプチドの切り出し過程、3) 切り出し過程によって2-クロロトリチルレジンから外れて生じたAsp側鎖のカルボン酸と、ペプチド鎖N末端（三角ユニット）のアミノ基との縮合によるアミド環化、4) ペプチド鎖に含む側鎖官能基の保護基の脱保護、5) preparative HPLCによる化合物の精製、の5段階の工程である。また、側鎖に酸性官能基を有するアミノ酸を含むペプチド化合物においては、脱保護剤の残留に起因するペプチドの過剰伸長を抑えるため、ペプチド伸長反応時のレジン洗浄に0.08 M トリエチルアミン塩酸塩のジクロロメタン溶液を用いることもできる。本実施例において、特に記述がない限り、この基本ルートをもとにペプチド化合物の合成をおこなった。



[0194] 1-1. ペプチド合成機によるペプチド合成に用いるFmoc-アミノ酸

本明細書内に記載するペプチド合成において、ペプチド合成機による合成には、以下のFmoc-アミノ酸を用いた。側鎖に反応性の官能基を有するアミノ酸の場合、適切な保護基で保護されているものを用いた。なおアミノ酸の略語は下記表3に記載した。

Fmoc-D-Val-OH、Fmoc-MeLeu-OH、Fmoc-MePhe-OH、Fmoc-MeGly-OH、Fmoc-gMeAbu-OH（Fmoc-g-MeAbu-OHと記載する場合もある）、Fmoc-Leu-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-MeAla-OH、Fmoc-MeVal-OH、Fmoc-D-Abu-OH、Fmoc-

Val-OH、Fmoc-MeAbu-OH、Fmoc-MeIle-OH、Fmoc-D-Leu-OH、Fmoc-Ser(tBu)-OH、Fmoc-D-Ala-OH、Fmoc-Tyr(Cl t)-OH、Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Phe(4-CF₃)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Hph-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-b-MeAla-OH、Fmoc-Ala(3-Pyr)-OH、Fmoc-D-MeAla-OH、Fmoc-Phe{#(CH₂)₂}-OH、Fmoc-Ala(Thz)-OH、Fmoc-D-Pro-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Ser(Bn)-OHなどは渡辺化学もしくはChempep社もしくはChem-impex社もしくはBachem社から購入した。またFmoc-nPrGly-OH、Fmoc-MePhe(3-Cl)-OH、Fmoc-MeAla(4-Thz)-OHなどはWO2013/100132に記載の方法にて合成した。また、Fmoc-Thr(THP)-OH(化合物aa01)、Fmoc-nBuGly-OH(化合物aa02)、Fmoc-Ser(iPen)-OH(化合物aa04)、Fmoc-MeHph-OH(化合物aa05)、Fmoc-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH(化合物aa12)、Fmoc-Ser(P h-3-Cl)-OH(化合物aa16)、Fmoc-NIe(6-OTH P)-OH(化合物aa17)、Fmoc-Ser(EtOTH P)-OH(化合物aa22)、Fmoc-MeSer(EtOTH P)-OH(化合物aa27)、Fmoc-Ser(S-2-PrOTH P)-OH(化合物aa34)、Fmoc-MeSer(S-2-PrOTH P)-OH(化合物aa39)、Fmoc-Ser(R-2-PrOTH P)-OH(化合物aa46)、Fmoc-MeSer(R-2-PrOTH P)-OH(化合物aa51)、Fmoc-Ser(tBuOTH P)-OH(化合物aa54)、Fmoc-MeSer(tBuOTH P)-OH(化合物aa55)、Fmoc-Ser(2-Me-2-BuOTH P)-OH(化合物aa62)、Fmoc-MeSer(2-Me-2-BuOTH P)-OH(化合物aa63)

物 a a 6 4)、Fmoc-Hnl (7-F3-6-OH)-OH (化合物 a a 6 8)、Fmoc-Ser (1-CF3-EtOH)-OH (化合物 a a 7 0)、Fmoc-MeSer (1-CF3-EtOH)-OH (化合物 a a 7 1)、Fmoc-Ser (1-CF3-EtOTHP)-OH (化合物 a a 7 2)、Fmoc-Gln (Me)-OH (化合物 a a 7 5)、Fmoc-Ser (NtBu-Aca)-OH (化合物 a a 7 8)、Fmoc-MeSer (NtBu-Aca)-OH (化合物 a a 7 9)、Fmoc-Ser (NMe-Aca)-OH (化合物 a a 8 1)、Fmoc-Ser (nPrOTHP)-OH (化合物 a a 8 5)、Fmoc-Ser (2-Me2-PrOTHP)-OH (化合物 a a 8 9)、Fmoc-Ser (S-2-BuOTHP)-OH (化合物 a a 9 5)、Fmoc-Ser (R-2-BuOTHP)-OH (化合物 a a 1 0 1)、Fmoc-Phe (4-OCIt-3-OMe)-OH (化合物 a a 1 0 4)、Tyr (3-OMe) の側鎖フェノール部位がクロロトリチル基で保護されたもの)、Fmoc-Ser (3-Me-5-Oxo-Odz)-OH (化合物 a a 1 0 9)、Fmoc-bAla (3R-MeOE t OTHP)-OH (化合物 a a 1 1 1)、Fmoc-bAla (2S-MeOE t OTHP)-OH (化合物 a a 1 1 7)、Fmoc-Nva (2R-4-F2-Pyrro (N-Alloc))-OH (化合物 a a 1 2 1)、Fmoc-Ser (S-4-F2-Pyrro (N-Alloc)-Me)-OH (化合物 a a 1 2 6)、Fmoc-Phe (3-OMe-4-CONMe)-OH (化合物 a a 1 2 7)、Fmoc-Phe (4-OMe-3-CONMe)-OH (化合物 a a 1 2 8)、Fmoc-Phe (3-OMe-4-CONHMs)-OH (化合物 a a 1 2 9)、Fmoc-Hyp (2-EtOTHP)-OH (化合物 a a 1 3 3)、Fmoc-(Ph (3-OMe-4-CONMe) Et) Gly-OH (化合物 1 3 4)、Fmoc-Hph (3-OMe-4-CONMe)-OH (化合物 a a 1 3 5)、Fmoc-D-Hph (3-OMe-4-CONMe)-OH (化合物 a a 1 3 6)、Fmoc-MeHph (3-OMe-

4-CONMe)-OH (化合物 aa137)、Fmoc-Phe(4-CONMeOTHP)-OH (化合物 aa139)、Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHOTHP)-OH (化合物 aa140)、Fmoc-Ser(S-(Alloc)Mor-3-Me)-OH (化合物 aa141)などは以下のとおり合成した。

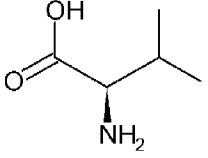
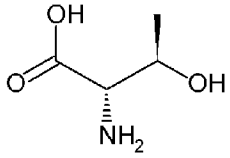
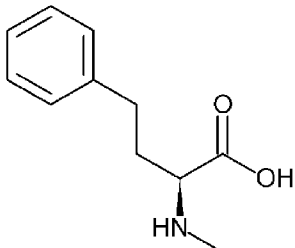
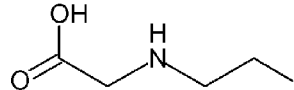
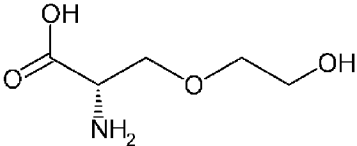
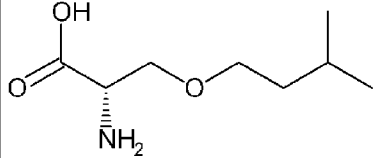
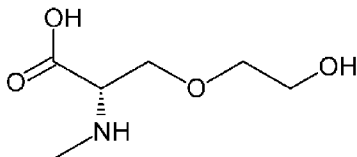
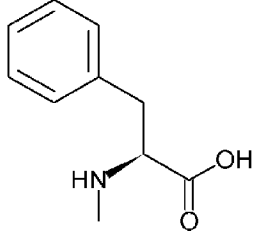
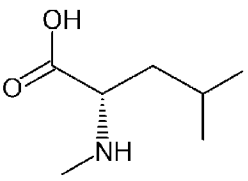
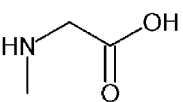
側鎖に3級アルコールを有するアミノ酸(例えば、Ser(tBuOH)、MeSer(tBuOH)、Ser(2-Me-2-BuOH)、MeSer(2-Me-2-BuOH)など)を含む配列に関しては、側鎖の3級アルコール部位をTHPで保護しないFmocアミノ酸を用いても問題無くペプチドは伸長した(例えば、Fmoc-Ser(tBuOH)-OH (化合物 aa53)、Fmoc-Ser(2-Me-2-BuOH)-OH (化合物 aa61)などを用いた)。

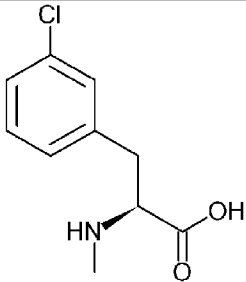
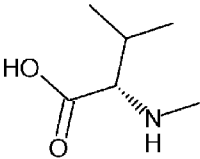
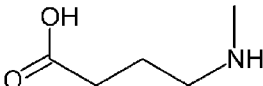
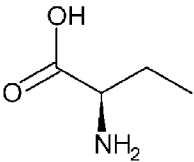
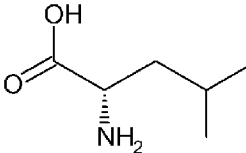
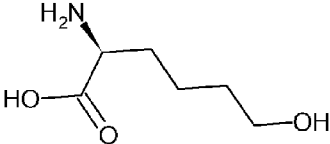
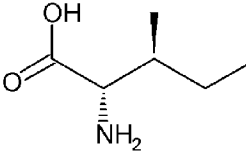
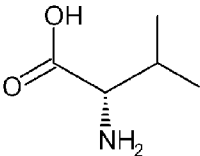
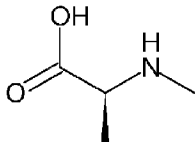
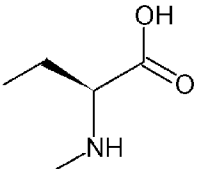
側鎖に2級アルコールであり、かつアルコールが結合している炭素にCF₃基が結合している構造を持つアミノ酸(例えば、Hnl(7-F₃-6-OH)、Ser(1-CF₃-EtOH)など)を含む配列に関しては、側鎖の2級アルコール部位をTHPで保護しないFmocアミノ酸を用いても問題無くペプチドは伸長した(例えば、Fmoc-Hnl(7-F₃-6-OH)-OH (化合物 aa68)、Fmoc-Ser(1-CF₃-EtOH)-OH (化合物 aa70)などを用いた)。

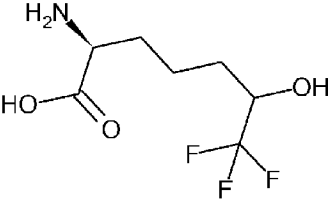
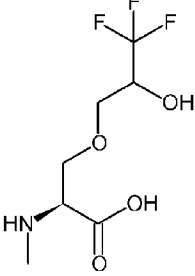
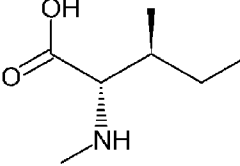
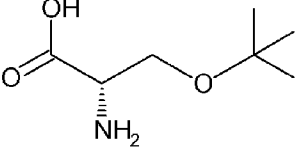
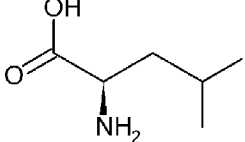
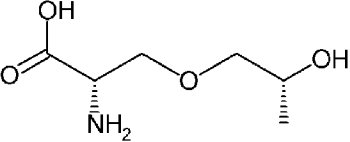
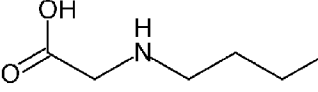
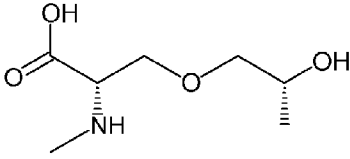
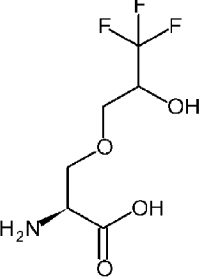
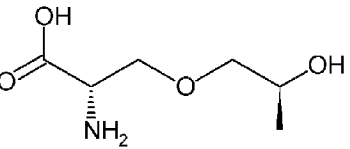
[0195]

[表3]

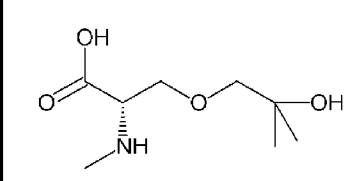
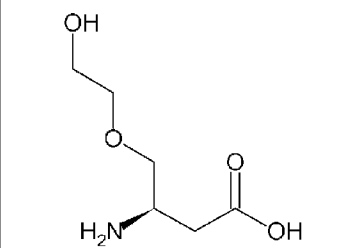
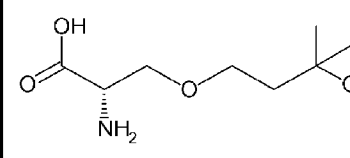
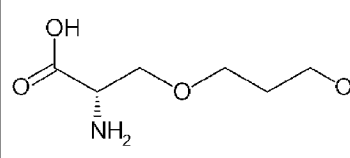
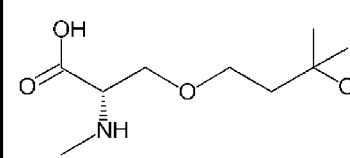
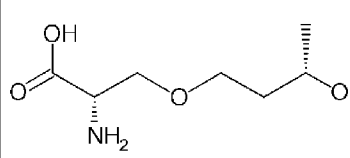
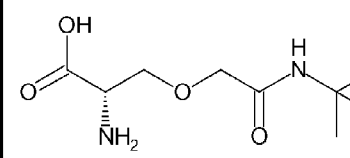
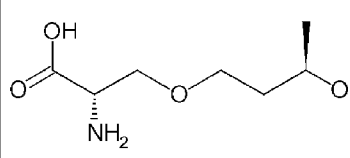
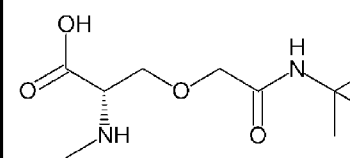
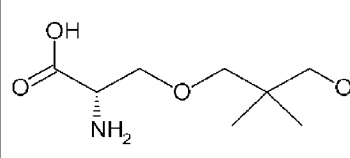
アミノ酸の略語

略語	構造式	略語	構造式
D-Val		Thr	
MeHph		nPrGly	
Ser (EtOH)		Ser (iPen)	
MeSer (EtOH)		MePhe	
MeLeu		MeGly	

略語	構造式	略語	構造式
MePhe (3-Cl)		MeVal	
gMeAbu		D-Abu	
Leu		Nle (6-OH)	
Ile		Val	
MeAla		MeAbu	

略語	構造式	略語	構造式
Hnl (7-F3-6-OH)		MeSer (1-CF3-EtOH)	
Melle		Ser (tBu)	
D-Leu		Ser (R-2-PrOH)	
nBuGly		MeSer (R-2-PrOH)	
Ser (1-CF3-EtOH)		Ser (S-2-PrOH)	

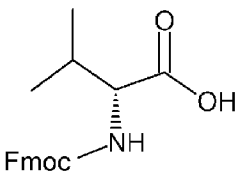
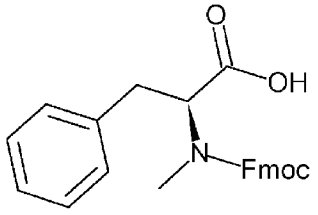
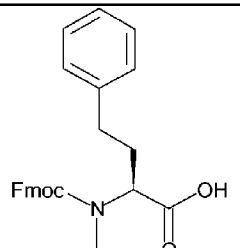
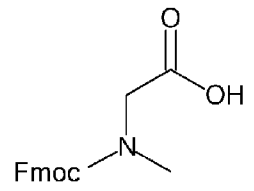
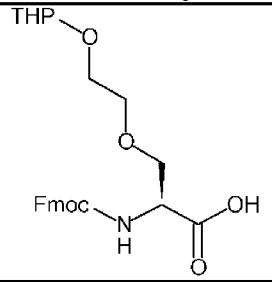
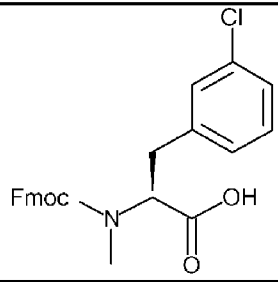
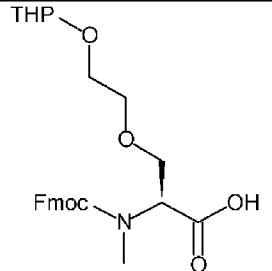
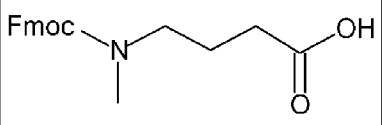
略語	構造式	略語	構造式
MeSer (S-2-PrOH)		Phe	
Tyr (3-OMe)		Gln (Me)	
D-Ala		Phe (4-CF3)	
Tyr		Ser (3-Me-5-Oxo-Odz)	
Ser (NMe-Aca)		Ser (tBuOH)	

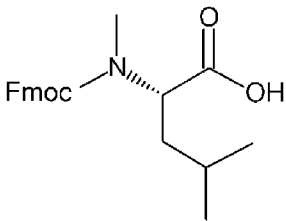
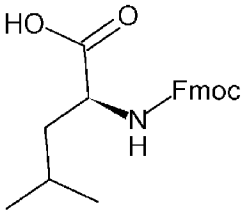
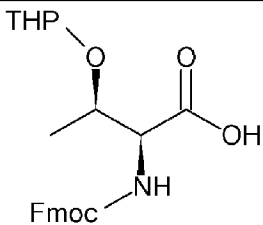
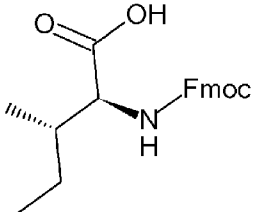
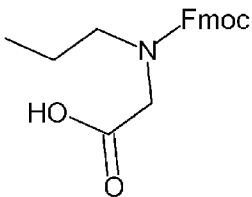
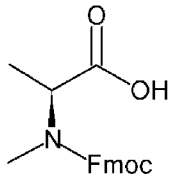
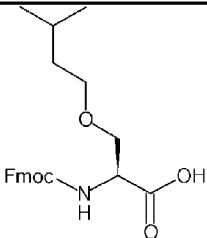
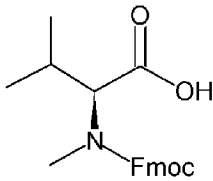
略語	構造式	略語	構造式
MeSer (tBuOH)		bAla (3R-MeOEtOH)	
Ser (2-Me-2-BuOH)		Ser (nPrOH)	
MeSer (2-Me-2-BuOH)		Ser (S-2-BuOH)	
Ser (NtBu-Aca)		Ser (R-2-BuOH)	
MeSer (NtBu-Aca)		Ser (2-Me2-PrOH)	

略語	構造式	略語	構造式
Phe (3-OMe-4-CONMe)		Hph	
Asp		Gly	
MeAsp		b-MeAla	
Phe (4-OMe-3-CONMe)		Ala (3-Pyr)	
Ala		D-MeAla	

略語	構造式	略語	構造式
MeAla (4-Thz)		Ser (Ph-3-Cl)	
Phe {#(CH2)2}		Pro	
Ser (3-F-5-Me-Pyr)		Ser (Bn)	
Ala (4-Thz)		bAla (2S-MeOEtOH))	
D-Pro		Ser (S-4-F2-Pyrro-Me)	

略語	構造式	略語	構造式
Phe (3-OMe-4-CONHMs)		Nva (2-R-4-F2-Pyrro)	
Hyp (2-EtOH)		MeHph (3-OMe-4-CONMe)	
(Ph(3-OMe-4-CONMe)Et)Gly		Phe (4-CONMeOH)	
Hph (3-OMe-4-CONMe)		Phe (3-OMe-4-CONHOH)	
D-Hph (3-OMe-4-CONMe)		Ser (S-Mor-3-Me)	

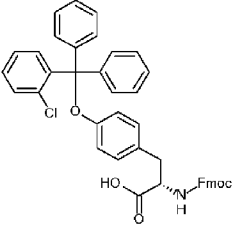
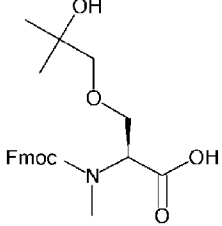
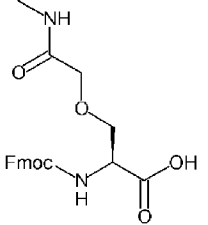
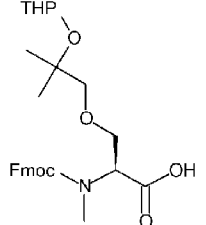
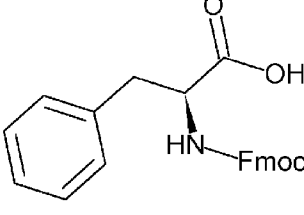
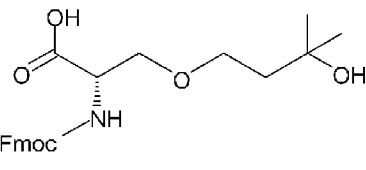
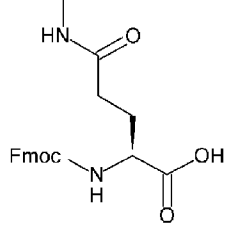
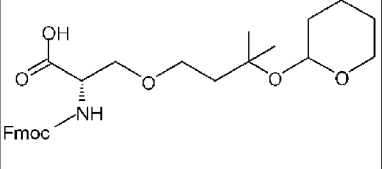
略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-D-Val-OH		Fmoc-MePhe-OH	
Fmoc-MeHph-OH		Fmoc-MeGly-OH	
Fmoc-Ser(EtOTHP)-OH		Fmoc-MePhe(3-Cl)-OH	
Fmoc-MeSer(EtOTHP)-OH		Fmoc-gMeAbu-OH	

略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-MeLeu-OH		Fmoc-Leu-OH	
Fmoc-Thr(THP)-OH		Fmoc-Ile-OH	
Fmoc-nPrGly-OH		Fmoc-MeAla-OH	
Fmoc-Ser(iPen)-OH		Fmoc-MeVal-OH	

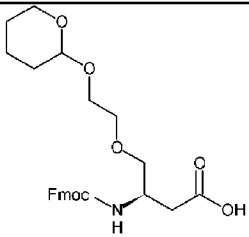
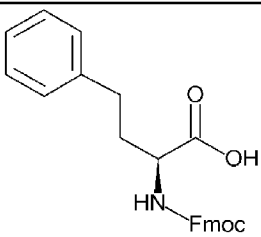
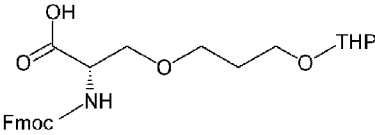
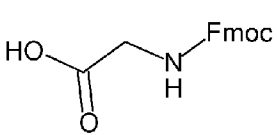
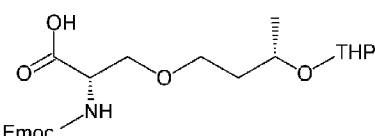
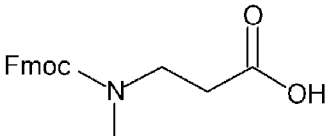
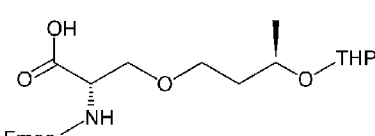
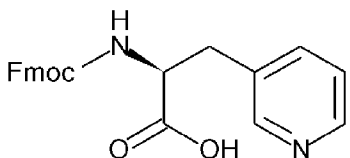
略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-D- Abu-OH		Fmoc- nBuGly- OH	
Fmoc- Nle(6- OTHP)- OH		Fmoc- Ser(1- CF3- EtOH)-OH	
Fmoc-Val- OH		Fmoc- Ser(1- CF3- EtOTHP)- OH	
Fmoc- MeAbu- OH		Fmoc- MeSer(1- CF3- EtOH)-OH	

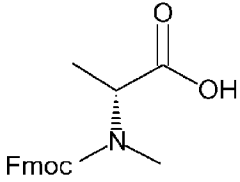
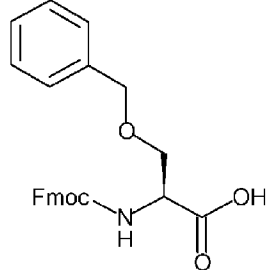
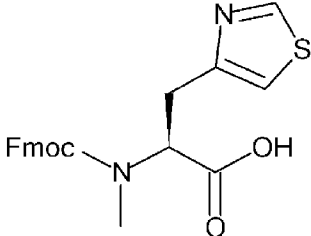
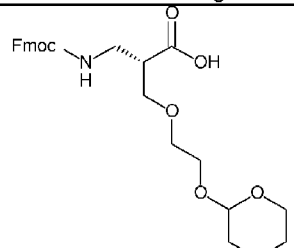
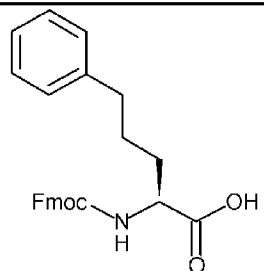
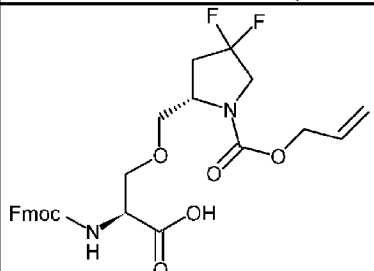
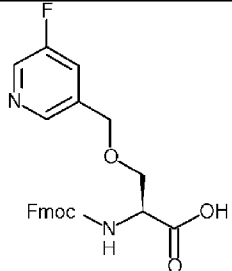
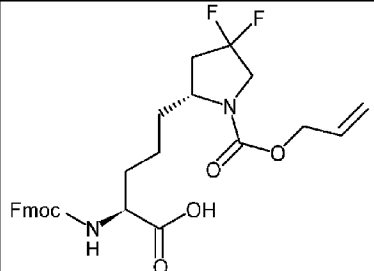
略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-Hnl(7-F3-6-OH)-OH		Fmoc-MeSer(1-CF3-EtOTHP)-OH	
Fmoc-Hnl(7-F3-6-OTHP)-OH		Fmoc-Ser(tBu)-OH	
Fmoc-Melle-OH		Fmoc-Ser(R-2-PrOTHP)-OH	
Fmoc-D-Leu-OH		Fmoc-MeSer(R-2-PrOTHP)-OH	

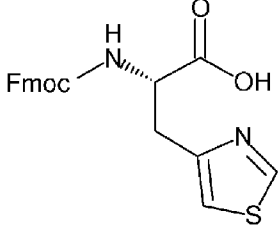
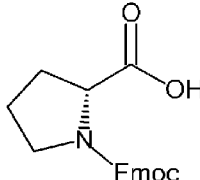
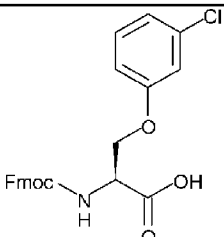
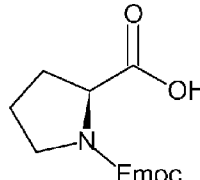
略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-Ser(S-2-PrOTHP)-OH		Fmoc-Phe(4-CF3)-OH	
Fmoc-MeSer(S-2-PrOTHP)-OH		Fmoc-Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)-OH	
Fmoc-Phe(4-OCIt-3-OMe)-OH		Fmoc-Ser(tBuOH)-OH	
Fmoc-D-Ala-OH		Fmoc-Ser(tBuOTHP)-OH	

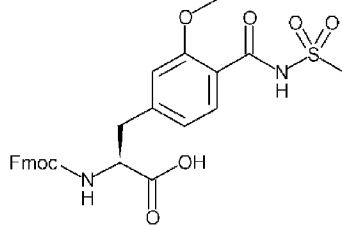
略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-Tyr(Clt)-OH		Fmoc-MeSer(tBuOH)-OH	
Fmoc-Ser(NMe-Aca)-OH		Fmoc-MeSer(tBuOTHP)-OH	
Fmoc-Phe-OH		Fmoc-Ser(2-Me-2-BuOH)-OH	
Fmoc-Gln(Me)-OH		Fmoc-Ser(2-Me-2-BuOTHP)-OH	

略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-MeSer(2-Me-2-BuOH)-OH		Fmoc-Ser(2-Me2-PrOTHP)-OH	
Fmoc-MeSer(2-Me-2-BuOTHP)-OH		Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONMe)-OH	
Fmoc-Ser(NtBu-Aca)-OH		Fmoc-Phe(4-OMe-3-CONMe)-OH	
Fmoc-MeSer(NtBu-Aca)-OH		Fmoc-Ala-OH	

略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-bAla (3R-MeOEtOTHP)-OH		Fmoc-Hph-OH	
Fmoc-Ser(nPrOTHP)-OH		Fmoc-Gly-OH	
Fmoc-Ser(S-2-BuOTHP)-OH		Fmoc-b-MeAla-OH	
Fmoc-Ser(R-2-BuOTHP)-OH		Fmoc-Ala(3-Pyr)-OH	

略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-D-MeAla-OH		Fmoc-Ser(Bn)-OH	
Fmoc-MeAla(4-Thz)-OH		Fmoc-bAla(2S-MeOEtOTHP)-OH	
Fmoc-Phe{#(CH2)2}-OH		Fmoc-Ser(S-4-F2-Pyrro(N-Alloc)-Me)-OH	
Fmoc-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH		Fmoc-Nva(2-R-4-F2-Pyrro(N-Alloc))-OH	

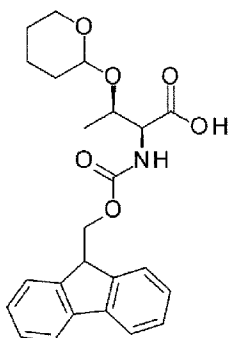
略語	構造式
Fmoc-Ala(4-Thz)-OH	
Fmoc-D-Pro-OH	
Fmoc-Ser(Ph-3-Cl)-OH	
Fmoc-Pro-OH	

略語	構造式
Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHMs)-OH	

略語	構造式	略語	構造式
Fmoc-Hyp(2-EtOTHP)-OH		Fmoc-MeHph(3-OMe-4-CONMe)-OH	
Fmoc-(Ph(3-OMe-4-CONMe)Et)Gly-OH		Fmoc-Phe(4-CONMeOTHP)-OH	
Fmoc-Hph(3-OMe-4-CONMe)-OH		Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHOTHP)-OH	
Fmoc-D-Hph(3-OMe-4-CONMe)-OH		Fmoc-Ser(S-(Alloc)Mor-3-Me)-OH	

[0196] 1-2. ペプチド合成機によるペプチド合成に用いるアミノ酸合成

(2S, 3R)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブタン酸(化合物aa01、Fmoc-Thr(THP)-OH)の合成



(2S, 3R) - 2 - (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 3-ヒドロキシブタン酸一水和物 (Fmoc-Thr-OHの一水和物、東京化成より購入、5.0 g、13.9 mmol) と p-トルエンスルホン酸ピリジニウム (PPTS) (0.175 g、0.70 mmol) の混合物にトルエン (50 mL) を加えて、減圧下トルエンを留去することで共沸により含まれている水分を除去した。得られた残渣に超脱水テトラヒドロフラン (THF) (28 mL) と 3, 4-ジヒドロ-2H-ピラン (8.8 mL、97 mmol) を加え、窒素雰囲気下、50度にて4時間攪拌した。LCMS (SQDFA05) にて原料の消失を確認後、混合物を25度まで冷却し、酢酸エチル (30 mL) を加えた。続いて飽和塩化ナトリウム水溶液 (30 mL) を加えて有機層を洗浄し、水層を酢酸エチル (30 mL) で抽出した。得られた全ての有機層を混合し、これをさらに飽和塩化ナトリウム水溶液 (30 mL) にて2度洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムにて乾燥し、溶媒を減圧下留去し、粗生成物 (9.3 g) を得た。

得られた粗生成物のうち、4.65 g をテトラヒドロフラン (THF) (30 mL) に溶解させ、次いで pH 8.0 に調製した 1.0 M リン酸緩衝液 (30 mL) を加えた。この混合物を 50度で4時間攪拌した。25度まで冷却した後、酢酸エチル (30 mL) を加え、有機層と水層を分離した。水層に酢酸エチル (30 mL) を加えて抽出を行った後、得られた全ての有機層を混合し、飽和塩化ナトリウム水溶液 (30 mL) で2度洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらにポンプにて減圧下、25度で30分乾燥させた。

得られた残渣をジエチルエーテル (50 mL) に溶解させ、次いでヘプタン (50 mL) を加えた。制御した減圧下 (~100 hPa)、ジエチルエーテルのみを留去し、得られた混合物をろ過して固体を得た。このヘプタンでの洗浄操作を2度繰り返した。得られた固体をポンプにて減圧下、25度で2時間乾燥させ、Fmoc-Thr (THP) -OH のナトリウム

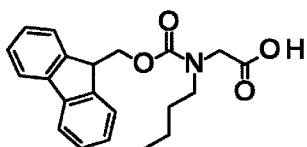
塩 (2.80 g、6.26 mmol) を得た。

得られた全量の Fmoc-Thr (THP)-OH のナトリウム塩に酢酸エチル (50 mL) と pH 2.1 の 0.05 M リン酸水溶液 (140 mL) を加えて、25 度にて 5 分間攪拌した後、有機層と水層を分離した。水層に酢酸エチル (50 mL) を加えて抽出した後、得られた全ての有機層を混合し、飽和塩化ナトリウム水溶液 (50 mL) にて 2 度洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムにて乾燥させ、減圧下溶媒を留去した。残渣をポンプにて減圧下、25 度で 2 時間乾燥させた後、得られた固体を *t*-ブチルメチルエーテル (TBME) (50 mL) に溶解させ、溶媒を減圧下留去した。さらにポンプにて減圧下、25 度で 1 時間乾燥させることで、(2S, 3R)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブタン酸 (化合物 aa01、Fmoc-Thr (THP)-OH、2.70 g、30 mol% の *t*-ブチルメチルエーテル (TBME) が残留) を THP 保護上の不斉炭素に由来するジアステレオマーとして得た。得られた Fmoc-Thr (THP)-OH は -25 度の冷凍庫にて保存した。

LCMS (ESI) $m/z = 424.2$ (M-H) -

保持時間: 0.84 分、0.85 分 (分析条件 SQDFA05)

[0197] N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-ブチルグリシン (化合物 aa02、Fmoc-nBuGly-OH) の合成



水素化ナトリウム (26 g、1.08 mol) のテトラヒドロフラン (THF) 溶液 (500 mL) に *tert*-ブチル (*tert*-ブトキシカルボニル) グリシナート (Boc-Gly-OtBu) (100 g、432.36 mmol) を少しずつ室温で加え、30 分攪拌した後、1-ヨードブタン (239 g、1.30 mol) のジメチルホルムアミド (D

MF) 溶液 (50 mL) を滴下しながら加えた。反応液を 16 時間室温にて攪拌したのち、水を加えた。テトラヒドロフラン (THF) を減圧下除去した後、酢酸エチルを用いて 3 回抽出し、得られた有機溶媒を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) で精製し、tert-ブチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-N-ブチルグリシナート (Boc-nBuGly-OtBu) (130 g) を定量的に得た。

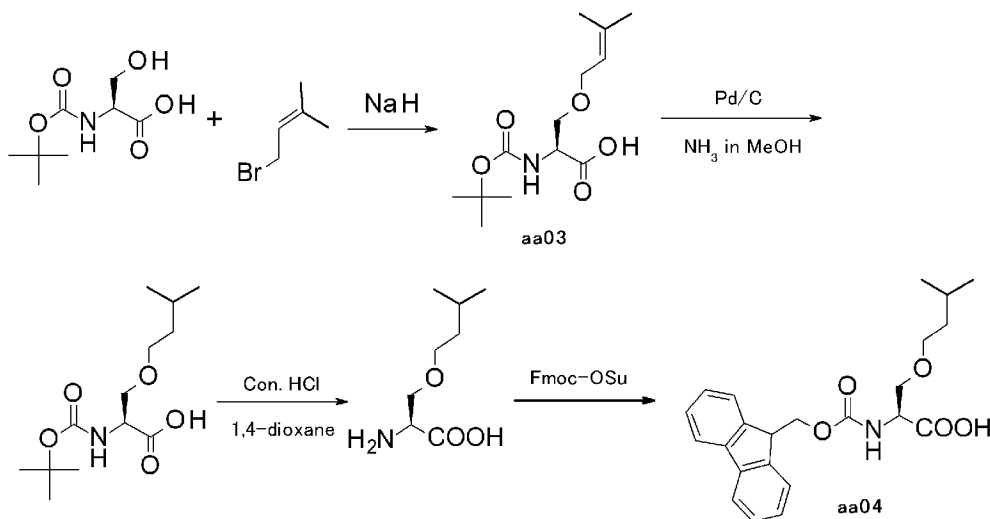
上述の方法で得た tert-ブチル N-(tert-ブトキシカルボニル)-N-ブチルグリシナート (Boc-nBuGly-OtBu) (260 g、904.68 mmol) の 1,4-ジオキサン溶液 (1000 mL) に濃塩酸 (1000 mL) を 0 度にて滴下しながら加えた。反応液を室温に昇温した後、16 時間室温にて攪拌した。反応液を濃縮することでブチルグリシン (H-nBuGly-OH) (200 g) の塩酸塩を粗生成物として得た。

粗生成物であるブチルグリシン (H-nBuGly-OH) (60 g)、炭酸カリウム (188.9 g、1.37 mol)、水/1,4-ジオキサン (1:1) (3000 mL) の混合物を室温にて 30 分間攪拌した後、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ) スクシンイミド (Fmoc-OSu) (183.2 g、543.09 mmol) を少しずつ室温にて加えた。反応液を室温にて 16 時間攪拌した後、エーテルで 3 回洗浄した。得られた水層が pH=3 になるまで 5 M 塩酸水溶液を加えた後、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機溶媒を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去した。得られた粗生成物をエーテルで洗浄することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-ブチルグリシン (化合物 aa02、Fmoc-nBuGly-OH) (121 g) を得た。

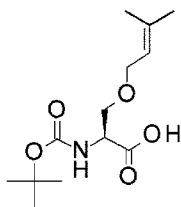
LCMS (ESI) m/z = 354 (M+H) +

保持時間: 0.87 分 (分析条件 SQDFA05)

[0198] Fmoc-Ser(iPen)-OH (化合物 aa04) の合成は、以下のスキームに従って行った。



[0199] N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-(3-メチルブター-2-エン-1-イル)-L-セリン (化合物 aa03) の合成



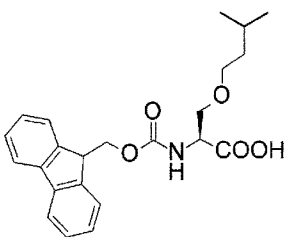
(tert-ブトキシカルボニル)-L-セリン (Boc-Ser-OH) (50 g、234.65 mmol) をジメチルホルムアミド (DMF) (250 mL) に溶解し、氷冷下 (0度) で水素化ナトリウム (22 g、916.67 mmol、60%オイルディスパーション) を加えた。氷冷下で30分撹拌した後、1-ブロモ-3-メチルブター-2-エン (44 g、295.24 mmol) を滴下して加えた。添加後、反応液を25度で16時間撹拌した後、氷水を加えて反応をクエンチし、塩酸水溶液 (5 M) を加えてpHを2から3に調節した。その後、酢酸エチルで2回抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。ろ過後、減圧濃縮により酢酸エチルを除去し、目的物を含む粗生成物を得た。この粗生成物を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル=100/0→80/20) で精製し、N-(tert-ブトキシカルボニル)

—O— (3-メチルブター-2-エン-1-イル) —L-セリン (化合物 a a 03) (32 g、48%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 296$ (M+Na) +

保持時間: 1.39分 (分析条件 SMD method 7)

[0200] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-イソペンチル-L-セリン (化合物 a a 04、Fmoc-Ser(iPen)-OH) の合成



N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-(3-メチルブター-2-エン-1-イル)-L-セリン (化合物 a a 03) (185 g、676.85 mmol)、アンモニアのメタノール溶液 (2M、555 mL)、Pd/C (18.5 g) およびメタノール (1500 mL) を混合し、水素雰囲気下 (5 atm)、室温で16時間攪拌した。固体を濾過により除去した後、減圧濃縮により溶媒を除去することでN-(tert-ブトキシカルボニル)-O-イソペンチル-L-セリン (Boc-Ser(iPen)-OH) (183 g) を得た。

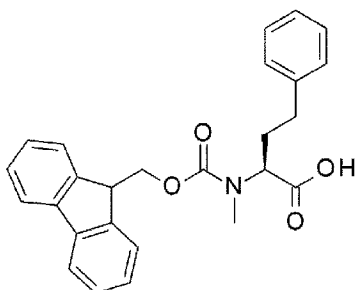
得られたN-(tert-ブトキシカルボニル)-O-イソペンチル-L-セリン (Boc-Ser(iPen)-OH) (175 g) を1,4-ジオキサン (500 mL) に溶解し、濃塩酸 (300 mL) を加えた後、室温で16時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、得られた粗生成物 (122 g) を1,4-ジオキサン/水 (1000 mL/1000 mL) に溶解し、炭酸カリウム (239 g、1.73 mol) およびN-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ) スクシンイミド (Fmoc-OSu) (234 g、694.36 mmol) を加えて室温で16時間攪拌した。その後、反応液をヘキサンで3回洗浄した。洗浄後、塩酸水溶液 (6

M)を加えて水層のpHを2から3に調節し、酢酸エチルで2回抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後に減圧濃縮して溶媒を除去した。得られた粗生成物をエーテル、ヘキサン、酢酸エチルで洗浄し、さらに逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル＝100／0→30／70）で精製してN-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-イソペンチル-L-セリン（化合物aa04、Fmoc-Ser(iPen)-OH）（95 g、41%）を白色固体として得た。

LCMS (ESI) $m/z = 398$ (M+H) +

保持時間：2.29分（分析条件SMD method18）

[0201] (S)-2-（（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）（メチル）アミノ）-4-フェニルブタン酸（化合物aa05、Fmoc-MeHph-OH）の合成



窒素雰囲気下、市販の(S)-2-（（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-4-フェニルブタン酸（100 g、244.11 mmol）のトルエン溶液（1.5 L）にトシル酸（TsOH）（2.575 g、14.95 mmol）、パラホルムアルデヒド（15.96 g、488.77 mmol）を室温にて加え、110℃で16時間撹拌した。有機層に水を加え、水で3回洗浄した後、得られた有機層と得られた水層を酢酸エチルで抽出した有機層をあわせて無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、ろ過、減圧濃縮し、100 gの(S)-5-オキソ-4-フェネチルオキサゾリジン-3-カルボン酸（9H-フルオレン-9-イル）メチルを粗生成物として得た。

上記のように得られた(S)-5-オキソ-4-フェネチルオキサゾリジ

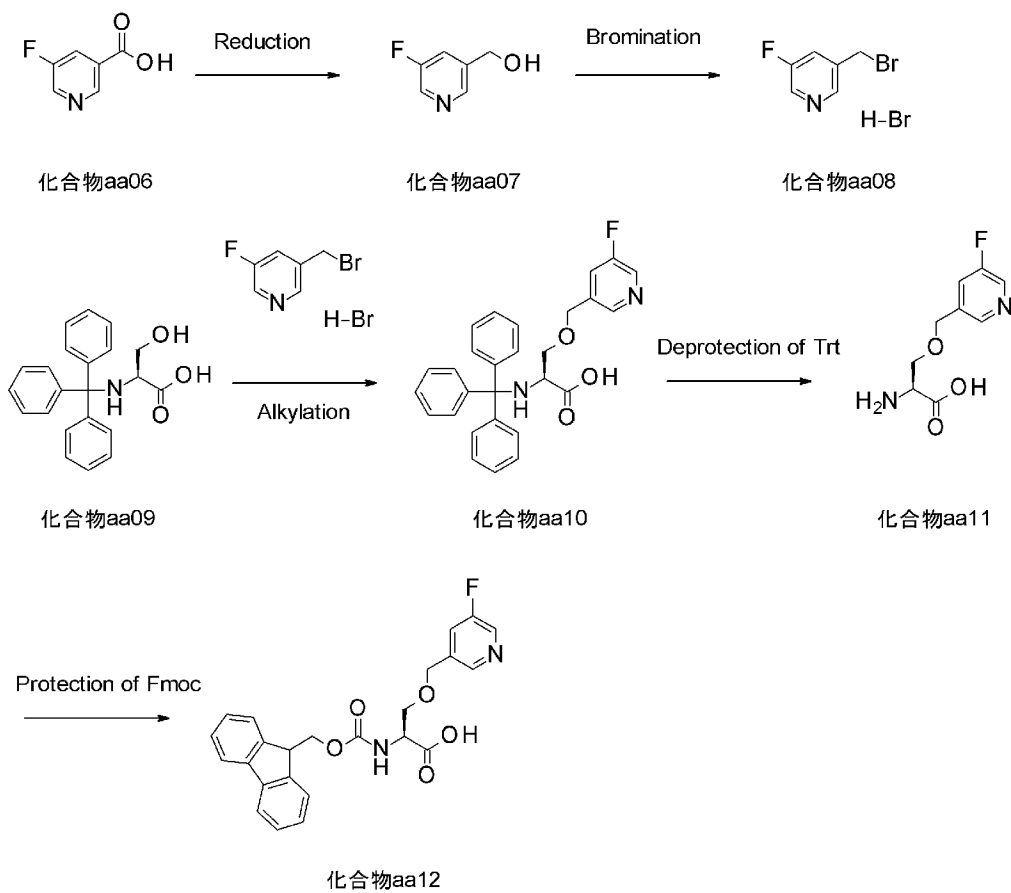
ン-3-カルボン酸(9H-フルオレン-9-イル)(50 g、118.51 mmol)のジクロロメタン溶液(700 mL)にトリエチルシラン(Et_3SiH)、トリフルオロ酢酸(TFA)(700 mL)を加え、25℃で16時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、得られた残渣に炭酸カリウム水溶液を加え、石油エーテルで洗浄した。得られた水層を濃塩酸を用いてpH=3になるように調整し、酢酸エチルで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、ろ過、減圧濃縮し、得られた残渣にメタノール、ヘキサンを加え再び減圧濃縮し、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ-4-フェニルブタン酸(化合物aa05、Fmoc-MeHph-OH)(29.5 g、58%、2工程)を得た。

LCMS(ESI) $m/z = 416$ (M+H) +

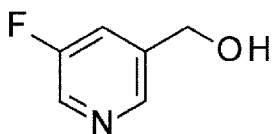
保持時間: 0.95分(分析条件SQDFA05)

[0202] N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-L-セリン(化合物aa12、Fmoc-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH)の合成

N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-L-セリン(化合物aa12、Fmoc-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH)は下記のルートにて合成した。



[0203] (5-フルオロピリジン-3-イル) メタノール (化合物 a a 0 7) の合成



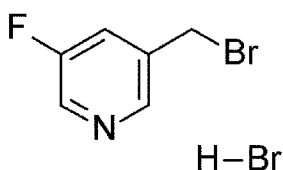
窒素雰囲気下、市販の5-フルオロニコチン酸（化合物 a a 0 6）（14.1 g、100 mmol）にTHF（200 mL）を加え、メカニカルスターラーを用い攪拌した。次いで、トリエチルアミン（19.51 mL、140 mmol）を室温にて加え、固体が完全に溶解するまで攪拌した後、反応液を氷浴を用いて冷却した。その後、エチルクロロフォメート（11.5 mL、120 mmol）を滴下しながら加え、氷浴下30分攪拌した。その後、ドライアイスバスを用い、反応液が−60℃以下になるように冷却し、LiAlH₄（水素化アルミニウムリチウム）のTHF溶液（2.5 M、40 mL、100 mmol）を反応液が−20℃を超えないように、5分以上かけて滴下した。反応液を−78℃で3時間攪拌した後、酢

酸エチル（69 mL）を反応液が -20°C を超えないように加えた。その後、氷浴を用いてさらに1時間攪拌し、水（18 mL）を加え15分室温で攪拌した。反応液をNHシリカゲルを用いてろ過、減圧濃縮することで（5-フルオロピリジン-3-イル）メタノール（化合物aa07）（9.28 g、73%）を黄色の油状成分として得た。

LCMS (ESI) $m/z = 128$ ($M+H$)⁺

保持時間：0.28分（分析条件SQDFA05）

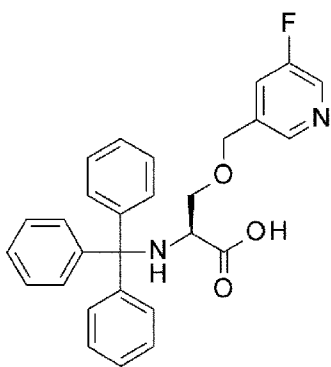
[0204] 3-（ブロモメチル）-5-フルオロピリジン臭化水素酸塩（化合物aa08）の合成



丸底フラスコにアセトン／ドライアイスで冷却したコンデンサーを接続し、窒素雰囲気下、（5-フルオロピリジン-3-イル）メタノール（化合物aa07）（8.21 g、64.6 mmol）、25% HBr 酢酸溶液（96 mL、388 mmol）を加えた。なお、反応は開放系で行い、生じたHBrをトラップするために1M水酸化ナトリウム水溶液を用いている。反応液を室温から 100°C まで徐々に攪拌しながら昇温し、さらに3時間攪拌した。その後反応液を室温まで冷却し、ジイソプロピルエーテル（48 mL）をゆっくりと加えることを3回繰り返し、得られた固体をろ過することで3-（ブロモメチル）-5-フルオロピリジン臭化水素酸塩（化合物aa08）（12.43 g、71%）を灰色の固体として得た。

^1H NMR (Varian 400-MR, 400 MHz , $d\text{-DMSO}$) δ 4.77 (2H, s)、7.85–7.88 (1H, m)、8.55–8.56 (2H, m)

[0205] O-（（5-フルオロピリジン-3-イル）メチル）-N-トリチル-L-セリン（化合物aa10、Trt-Ser（3-F-5-Me-Pyr）-OH）の合成

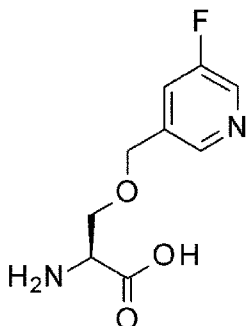


窒素雰囲気下、*t*-ペントキサイドナトリウム (NaOtPen) (13.7 g、125 mmol) に THF (45.8 mL) を加え攪拌したのち、市販のトリチルセリンのトリエチルアミン塩 (Ttt-Ser-OH トリエチルアミン塩) (化合物 aa09) (11.24 g、25 mmol) を3回に分けて加え、30分室温にて攪拌した。反応液を氷浴を用いて15分攪拌し、冷却した後、3-(ブロモメチル)-5-フルオロピリジン臭化水素酸塩 (化合物 aa08) (8.13 g、30 mmol) の DMF 溶液 (16 mL) を滴下しながら加え、さらに DMF (14 mL) を加えた。反応液を氷浴下45分攪拌した後、3-(ブロモメチル)-5-フルオロピリジン臭化水素酸塩 (化合物 aa08) (2.03 g、7.5 mmol) の DMF 溶液 (4.0 mL) を滴下しながら加え、さらに DMF (4.0 mL) を加えた。その後、反応液を室温にてさらに1時間攪拌し、水 (125 mL) を加えた。得られた混合液を *t*-ブチルメチルエーテル (TBME) で洗浄し、有機層を水で抽出した。得られた水層をまとめて、飽和リン酸二水素ナトリウム水溶液 (15 mL) を用いて pH = 7 に調整した後、酢酸エチルを用いて2回抽出した。得られた有機層をまとめて、飽和食塩水を2倍に希釈した溶液を用いて3回洗浄し、その後、飽和食塩水で2回洗浄した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、ろ過、減圧濃縮し、O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-N-トリチル-L-セリン (化合物 aa10、Ttt-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH) (11.07 g、97%) を黄色のアモルファスとして得た。

LCMS (ESI) $m/z = 455$ (M-H) -

保持時間: 0.86分 (分析条件SQDFA05)

[0206] O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-L-セリン (化合物 aa11、H-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH) の合成



O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-N-トリチル-L-セリン (化合物 aa10、Trt-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH) (10.76 g、23.57 mmol) の1,4-ジオキサン溶液 (21.5 mL) に5~10%の塩酸/メタノール溶液 (64.2 mL) を室温にて加えた。10分から20分室温にて反応液を攪拌した後、1,4-ジオキサン (135 mL) を加えた。さらに追加で1,4-ジオキサン (90 mL) を加えた後、下記に示す通り、事前に少量調製した種晶 (5 mg) を加え室温で30分さらに攪拌した。得られた固体をろ過し、ジイソプロピルエーテル (50 mL) で4回洗浄し、減圧下乾燥することで、O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-L-セリン (化合物 aa11、H-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH) (6.58 g、95%) を塩酸塩として得た。

LCMS (ESI) $m/z = 213$ (M-H) -

保持時間: 0.24分 (分析条件SQDAA05)

[0207] O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-L-セリン (化合物 aa11、H-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH) の種晶の調整

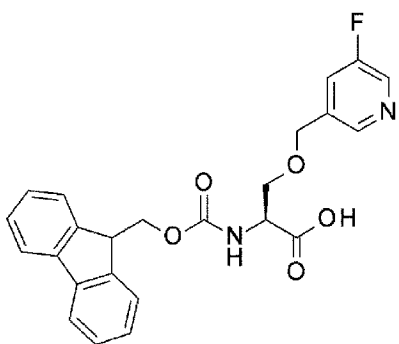
O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-N-トリチル-L-セリン (化合物 aa10、Trt-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH)

−OH) (98 mg、2.69 mmol) の 1,4-ジオキサン溶液 (819 μ L) に 5~10% の塩酸／メタノール溶液 (2.45 mL) を室温にて加え、5時間攪拌した。反応液に 1,4-ジオキサン (6.0 mL) を加え、得られた固体をろ過し、ジイソプロピルエーテルで洗浄、減圧下乾燥することで O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-L-セリン (化合物 aa11、H-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH) (222.5 mg、86%) を塩酸塩として得た。

LCMS (ESI) m/z = 213 (M-H) -

保持時間: 0.24 分 (分析条件 SQDAA05)

[0208] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-L-セリン (化合物 aa12、Fmoc-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH) の合成

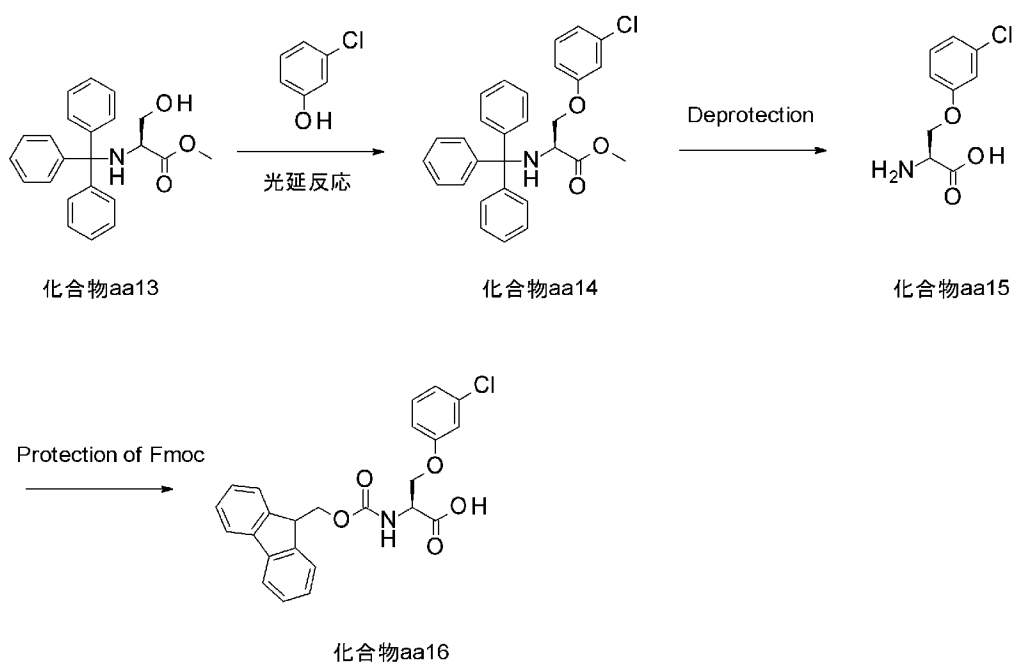


O-((5-フルオロピリジン-3-イル)メチル)-L-セリン (化合物 aa11、H-Ser(3-F-5-Me-Pyr)-OH) の塩酸塩 (6.37 g、22.19 mmol) に水 (42 mL)、1,4-ジオキサン (115 mL)、ジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (13.53 mL、78 mmol) を室温にて加え、攪拌した。その後、反応液に炭酸N-スクシンイミジル9-フルオレニルメチル (Fmoc-Osu) (7.86 g、23.3 mmol) を室温にて加え、室温で攪拌した。原料の消失をLC-MSで確認した後、反応液に水 (56.2 mL) を室温にて加え、25% t-ブチルメチルエーテル (MTBE)／ヘキサン溶液で2回洗浄した。得られた水層を飽和リン酸二水素ナトリウム水溶

液 (NaH_2PO_4) を用いて $\text{pH} = 6.1$ になるように調整した。その後、酢酸エチルで2回抽出し、得られた有機層をまとめて、飽和食塩水を2倍に希釈した溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、ろ過、減圧濃縮し、 $\text{N} - ((9\text{-フルオレン-9-イル})\text{メトキシ})\text{カルボニル} - \text{O} - ((5\text{-フルオロピリジン-3-イル})\text{メチル}) - \text{L-セリン}$ (化合物 **aa12**, $\text{Fmoc-Ser}(3\text{-F-5-Me-Pyr}) - \text{OH}$) (9.47 g, 98%) を黄色の固体として得た。
 LCMS (ESI) $m/z = 437$ ($\text{M} + \text{H}$) +
 保持時間: 0.86分 (分析条件 **SQDAA05**)

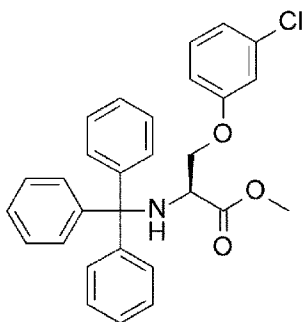
[0209] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-クロロフェノキシ)プロパン酸 (化合物 **aa16**, $\text{Fmoc-Ser}(\text{Ph-3-Cl}) - \text{OH}$) の合成

(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-クロロフェノキシ)プロパン酸 (化合物 **aa16**, $\text{Fmoc-Ser}(\text{Ph-3-Cl}) - \text{OH}$) は下記のルートにて合成した。



[0210] 3-(3-クロロフェノキシ)-2-(トリチルアミノ)プロパン酸 (S)

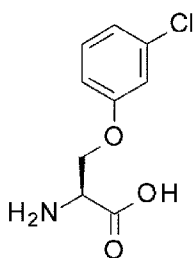
ーメチル (T r t - S e r (P h - 3 - C l) - O M e) (化合物 a a 1 4) の合成



窒素雰囲気下、市販の3-ヒドロキシ-2-(トリチルアミノ)プロパン酸 (S)-ーメチル (化合物 a a 1 3、T r t - S e r - O M e) (6. 0 g、16. 6 mmol) とトリフェニルフォスフィン (P P h ₃) (8. 71 g、33. 2 mmol) のトルエン溶液 (35 mL) に2. 2Mのジエチルアゾカルボキシレート (D E A D) のトルエン溶液 (15. 06 mL、33. 2 mmol) を室温にて加え、反応液を50℃で30分撹拌した。反応液を減圧濃縮した後、得られた残渣を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (10 mM酢酸アンモニウム水溶液/メタノール) にて精製し、3-(3-クロロフェノキシ)-2-(トリチルアミノ)プロパン酸 (S)-ーメチル (T r t - S e r (P h - 3 - C l) - O M e) (化合物 a a 1 4) (4. 43 g、57%) を得た。

¹H NMR (V a r i a n 400-MR、400MHz、d-DMSO) δ 7. 42-7. 44 (6H、m)、7. 28-7. 30 (7H、m)、7. 20-7. 21 (3H、m)、6. 99-7. 01 (2H、m)、6. 83-6. 85 (1H、m)、4. 19-4. 22 (1H、m)、4. 06-4. 08 (1H、m)、3. 49-3. 51 (1H、m)、3. 17 (3H、s)

[0211] (S)-2-アミノ-3-(3-クロロフェノキシ)プロパン酸 (化合物 a a 1 5、H - S e r (P h - 3 - C l) - O H) の合成

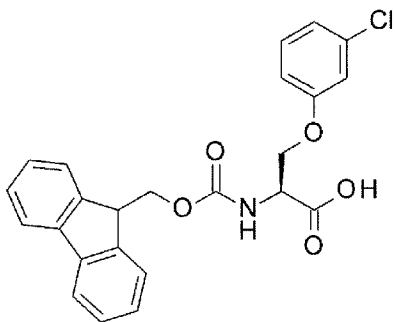


3-(3-クロロフェノキシ)-2-(トリチルアミノ)プロパン酸 (S)-メチル (T r t-S e r (P h-3-C l)-O M e) (化合物 a a 14) (3.9 g、8.26 mmol) の1,4-ジオキサン溶液 (80 mL) に1.0M水酸化リチウム/メタノール溶液 (83 mL) を室温にて加え、反応液を50℃で3時間撹拌した。反応液を減圧濃縮した後、得られた残渣にトリフルオロ酢酸 (T F A) (30 mL) を加え、50℃で10分間撹拌した。その後、反応液を減圧濃縮し、得られた残渣を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル) にて精製し、(S)-2-アミノ-3-(3-クロロフェノキシ)プロパン酸 (化合物 a a 15、H-S e r (P h-3-C l)-O H) (850 mg、48%、2工程) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 216 (M+H) +

保持時間: 0.37分 (分析条件 S Q D F A 05)

[0212] (S)-2-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-クロロフェノキシ)プロパン酸 (化合物 a a 16、F m o c-S e r (P h-3-C l)-O H) の合成



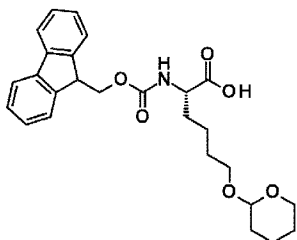
(S)-2-アミノ-3-(3-クロロフェノキシ)プロパン酸 (化合物 a a 15、H-S e r (P h-3-C l)-O H) (850 mg、3.9

4 mmol) と炭酸N-スクシンイミジル9-フルオレニルメチル (Fmoc-Osu) (1.33 g、3.94 mmol) に1,4-ジオキサン (20 mL) と水 (20 mL) を室温にて加えた後、炭酸セシウム (2.569 g、7.88 mmol) を加え、室温で攪拌した。原料の消失をLC-MSで確認した後、水 (20 mL) を加え、ジエチルエーテル (40 mL) で2回洗浄した。得られた水層を5 N塩酸水溶液を用いてpH=2になるまで調整し、酢酸エチルで2回抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、ろ過、減圧濃縮し、得られた残渣を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー (0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル) にて精製し、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-クロロフェノキシ)プロパン酸 (化合物aa16、Fmoc-Ser(Ph-3-Cl)-OH) (1.42 g、82%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 438 (M+H) +

保持時間: 0.91分 (分析条件SQDFA05)

[0213] (2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-6-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ヘキサン酸 (化合物aa17、Fmoc-Nle(6-OTHP)-OH) の合成



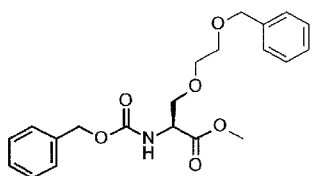
市販で購入した (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-6-ヒドロキシヘキサン酸 (Fmoc-Nle(6-OH)-OH) (3 g、8.12 mmol) とp-トルエンスルホン酸ピリジニウム (PPTS) (408 mg、1.62 mmol) のトルエン溶液 (10 mL) を減圧濃縮し共沸脱水をおこなった。得られ

た残渣をテトラヒドロフラン（15 mL）に溶解しジヒドロピラン（5.41 mL、56.8 mmol）を加え50度にて1時間攪拌した。室温下、反応液に酢酸エチルを加え飽和食塩水で2回有機層を洗浄した後、得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、減圧濃縮した。得られた残渣をテトラヒドロフラン（30 mL）に溶解し、pHを8に調節したリン酸緩衝液（30 mL）を加え50度にて3時間攪拌した。室温下、反応液を酢酸エチルで2度抽出を行い、得られた有機層を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させ、ろ過、減圧濃縮した。得られた残渣をジエチルエーテル（50 mL）に溶解し、そこへヘプタン（50 mL）を加える事で粗生成物を沈殿させ、減圧濃縮を行う事でジエチルエーテルを除去し、残った上澄み溶液をデカンテーションにて取り除いた。この作業を2度繰り返す事で粗生成物を得た。得られた粗生成物をtert-ブチルメチルエーテル（150 mL）に溶解し、0.05 Mリン酸水溶液（150 mL）を加え室温にて1時間攪拌した。有機層を回収し、酢酸エチルで水層を抽出した。得られた有機層を合わせその後、飽和食塩水で2回洗浄し、得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、減圧濃縮し、（2S）-2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-6-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）ヘキサン酸（化合物aa17、Fmoc-Nle（6-OTHP）-OH）（2.925 g、79%）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 454$ (M+H) +

保持時間：0.86分（分析条件SQDFA05）

[0214] メチル N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-O-（2-（ベンジルオキシ）エチル）-L-セリナート（化合物aa18、Cbz-Ser（EtOBn）-OMe）の合成

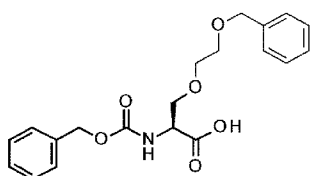


窒素雰囲気下、(S)-アジリジン-1, 2-ジカルボン酸2-メチル1-ベンジル (Cbz-Azy-OMe) (25.0 g、106 mmol) および2-(ベンジルオキシ)エタン-1-オール (23.8 g、156 mmol) をジクロロメタン (100 mL) に溶解し0度に冷却したのち、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (2.00 mL、15.9 mmol) を加えて0度で1時間攪拌した。反応液に水を加えジクロロメタンで2回抽出後、炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で有機層を洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させた。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製し、メチルN-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-L-セリナート (化合物aa18、Cbz-Ser(EtOBn)-OMe) (30.0 g、73%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 388$ (M+H) +

保持時間: 1.13分 (分析条件SMD method9)

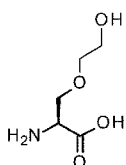
[0215] N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-L-セリン (化合物aa19、Cbz-Ser(EtOBn)-OH) の合成



窒素雰囲気下、水酸化リチウム1水和物 (13.9 g、331 mmol)、塩化カルシウム (129 g、1.24 mol) を水 (321 mL) に溶解させた。そこへメチル N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-L-セリナート (化合物aa18、Cbz-Ser(EtOBn)-OMe) (30.0 g、77.4 mmol) の2-プロパノール/テトラヒドロフラン溶液 (1.28 L/321 mL) を室温で加え3時間攪拌した。2M塩酸水溶液をpH2にな

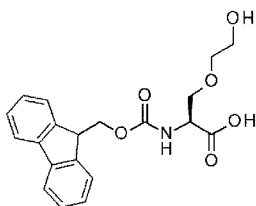
るまで加え、有機層を除去したのち、水層を酢酸エチルで3回抽出した。得られた有機層を混合し無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-L-セリン(化合物aa19、Cbz-Ser(EtOBn)-OH)(30.0 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0216] O-(2-ヒドロキシエチル)-L-セリン(化合物aa20、H-Ser(EtOH)-OH)の合成



水素雰囲気下、N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-L-セリン(化合物aa19、Cbz-Ser(EtOBn)-OH)(34.0 g、91.1 mmol)とパラジウム炭素(6.80 g、20% w/w)をメタノール(500 mL)に溶解させ、室温で16時間撹拌した。反応液をろ過したのち、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、O-(2-ヒドロキシエチル)-L-セリン(化合物aa20、H-Ser(EtOH)-OH)(10.7 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0217] N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-ヒドロキシエチル)-L-セリン(化合物aa21、Fmoc-Ser(EtOH)-OH)の合成



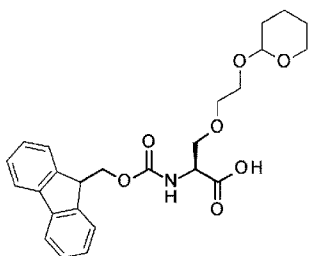
窒素雰囲気下、O-(2-ヒドロキシエチル)-L-セリン(化合物aa20、H-Ser(EtOH)-OH)(5.00 g、33.5 mmol)、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド

(Fmoc-OSu) (12.4 g、36.9 mmol) および炭酸ナトリウム (10.6 g、100 mmol) を水／1, 4-ジオキサン (136 mL／56.0 mL) に溶解させ室温で3時間攪拌した。反応液をt-ブチルメチルエーテルで3回洗浄後、水層に2M塩酸水溶液をpH2になるまで加え、酢酸エチルで3回抽出した、得られた有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させた。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (0.1%ギ酸水溶液／0.1%ギ酸アセトニトリル溶液) にて精製し、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-ヒドロキシエチル)-L-セリン (化合物aa21、Fmoc-Ser(EtOH)-OH) (12.0 g、96%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 372$ (M+H) +

保持時間: 1.31分 (分析条件SMD method33)

[0218] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エチル)-L-セリン (化合物aa22、Fmoc-Ser(EtOTHP)-OH) の合成



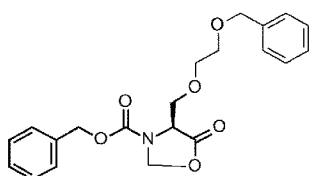
窒素雰囲気下、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-ヒドロキシエチル)-L-セリン (化合物aa21、Fmoc-Ser(EtOH)-OH) (1.6 g、4.31 mmol) と3, 4-ジヒドロ-2H-ピラン (2.728 mL、30.3 mmol) のテトラヒドロフラン (8.616 mL) 溶液に、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム (PPTS) (54.1 mg、0.215 mmol)

1)を加え、50度にて2時間攪拌した。混合物を冷却した後、酢酸エチルを加えた。続いて飽和食塩水にて有機層を3回洗浄し、無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をテトラヒドロフラン(10 mL)に溶解させ、次いで0.05 Mのリン酸緩衝液(100 mL)(1 Mのリン酸2水素ナトリウム(NaH_2PO_4)水溶液(94.3 mL)と1 Mのリン酸水素2ナトリウム(Na_2HPO_4)水溶液(5.7 mL)を混ぜて調製)を加えた。この混合物を室温で10分間攪拌した後、ターブチルメチルエーテルで抽出し、飽和食塩水で有機層を洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー(水/アセトニトリル)で精製し、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エチル)-L-セリン(化合物aa22、Fmoc-Ser(EtOTHP)-OH)(1.75 g、96%)を得た。

LCMS(ESI) m/z = 456 (M+H) +

保持時間: 0.81分(分析条件 SQDFA05)

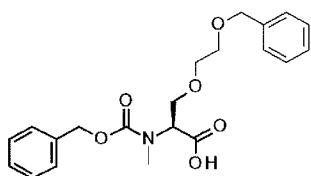
[0219] (S)-4-((2-(ベンジルオキシ)エトキシ)メチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸ベンジル(化合物aa23)の合成



N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-L-セリン(化合物aa19、Cbz-Ser(EtOBn)-OH)(30.0 g、80.3 mmol)、パラホルムアルデヒド(7.20 g)およびパラトルエンスルホン酸(0.83 g、4.82 mmol)をトルエン中(300 mL)に溶解させ110度で16時間攪拌した。室温に冷却後、炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、有機層を混合し無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポン

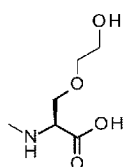
プで減圧下乾燥させ、(S) - 4 - ((2 - (ベンジルオキシ) エトキシ) メチル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 3 - カルボン酸ベンジル (化合物 a a 2 3) (2 7 . 0 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0220] N - ((ベンジルオキシ) カルボニル) - O - (2 - (ベンジルオキシ) エチル) - N - メチル - L - セリン (化合物 a a 2 4、C b z - M e S e r (E t O B n) - O H) の合成



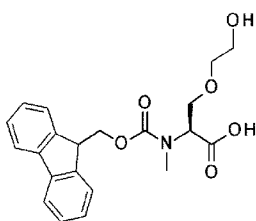
窒素雰囲気下、(S) - 4 - ((2 - (ベンジルオキシ) エトキシ) メチル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 3 - カルボン酸ベンジル (化合物 a a 2 3) (2 7 . 0 g、7 0 . 1 m m o l) のジクロロメタン溶液 (4 5 0 m L) にトリエチルシラン (2 4 . 4 g、2 1 0 m m o l) とトリフルオロ酢酸 (4 5 0 m L) を加え、室温で 4 8 時間攪拌した。反応液を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させたのち、炭酸カリウム水溶液で再溶解し、ジエチルエーテルで洗浄し、濃塩酸を p H 2 になるまで加えたのち、酢酸エチルで 2 回抽出した。得られた有機層を混合し無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N - ((ベンジルオキシ) カルボニル) - O - (2 - (ベンジルオキシ) エチル) - N - メチル - L - セリン (化合物 a a 2 4、C b z - M e S e r (E t O B n) - O H) (2 4 . 0 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0221] O - (2 - ヒドロキシエチル) - N - メチル - L - セリン (化合物 a a 2 5、H - M e S e r (E t O H) - O H) の合成



水素雰囲気下、N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(2-(ベンジルオキシ)エチル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa24、Cbz-MeSer(EtOBn)-OH)(24.0 g、62.0 mmol)とパラジウム炭素(2.40 g、10% w/w)をメタノール(400 mL)に溶解させ、室温で16時間攪拌した。反応液をろ過したのち、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、O-(2-ヒドロキシエチル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa25、H-MeSer(EtOH)-OH)(12.0 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

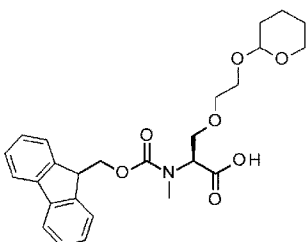
[0222] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-ヒドロキシエチル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa26、Fmoc-MeSer(EtOH)-OH)の合成



窒素雰囲気下、O-(2-ヒドロキシエチル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa25、H-MeSer(EtOH)-OH)(12 g、73.54 mmol)、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド(Fmoc-OSu)(27.3 g、81.0 mmol)および炭酸ナトリウム(27.3 g、258 mmol)を水/1,4-ジオキサン(320 mL/160 mL)に溶解させ室温で3時間攪拌した。反応液をt-ブチルメチルエーテルで3回洗浄後、水層に2M塩酸水溶液をpH2になるまで加え、酢酸エチルで3回抽出した。得られた有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-ヒドロキシエチル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa26、Fmoc-MeSer(EtOH)-OH)を得た。

eSer (EtOH) - OH) (20.0 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0223] N - (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) - N-メチル- O - (2 - ((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) エチル) - L-セリン (化合物 aa 27、Fmoc-MeSer (EtOH) - OH) の合成



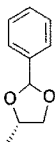
窒素雰囲気下、N - (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) - O - (2-ヒドロキシエチル) - N-メチル-L-セリン (化合物 aa 26、Fmoc-MeSer (EtOH) - OH) (18.0 g、46.7 mmol) のテトラヒドロフラン (100 mL) 溶液に、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム (0.59 g、2.34 mmol) と 3,4-ジヒドロ-2H-ピラン (27.5 g、327 mmol) を加え、50度にて3時間攪拌した。混合物を25度まで冷却し、酢酸エチルを加えた。続いて飽和食塩水にて有機層を洗浄し、無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣 (31 g) のうち、25.0 g をテトラヒドロフラン (200 mL) に溶解させ、次いで pH 6.8 に調製した 1.0 M リン酸緩衝液 (200 mL) を加えた。この混合物を 50度で3時間攪拌した。25度まで冷却した後、酢酸エチルを加え、有機層と水層を分離した。水層に酢酸エチルを加えて抽出を行った後、得られた全ての有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N - (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) - N-メチル- O - (2 - ((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) エチル) - L-セリン (化合物 aa 27、Fmoc-MeSer (EtO

THP) - OH) (20.0 g) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 487$ ($M + NH_4$) +

保持時間: 0.68 分 (分析条件 SMD method 11)

[0224] (4S) - 4 - メチル - 2 - フェニル - 1, 3 - ジオキソラン (化合物 a a 28) の合成

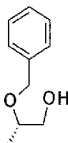


窒素雰囲気下、(S) - プロパン - 1, 2 - ジオール (20.0 g、263 mmol) のトルエン (200 mL) 溶液に、ベンズアルデヒド (29.3 g、276 mmol) および p - トルエンスルホン酸 (0.45 g、2.61 mmol) を加え、130 度にて 16 時間攪拌した。反応液を濃縮し、残渣を順相カラムクロマトグラフィー (ヘキサン / 酢酸エチル) で精製し、(4S) - 4 - メチル - 2 - フェニル - 1, 3 - ジオキソラン (化合物 a a 28) (31.5 g、73%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 165$ ($M + H$) +

保持時間: 0.89 分 (分析条件 SMD method 12)

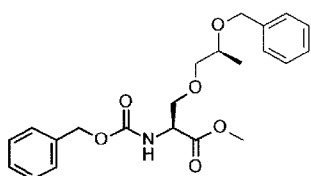
[0225] (2S) - 2 - (ベンジルオキシ) プロパン - 1 - オール (化合物 a a 29) の合成



窒素雰囲気下、(4S) - 4 - メチル - 2 - フェニル - 1, 3 - ジオキソラン (化合物 a a 28) (32 g、194.88 mmol) のジクロロメタン (1.00 L) 溶液に、水素化ジイソブチルアルミニウムの 1 M ヘキサン溶液 (390 mL、390 mmol) を -50 度において加え、当該温度で 15 分攪拌後、室温にて 2 時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液を加え反応を停止したのち、ジクロロメタンで 2 回抽出した。混合した有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減

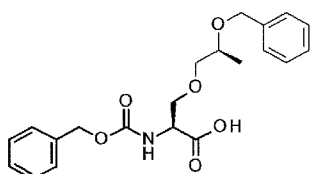
圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、(2S)-2-(ベンジルオキシ)プロパン-1-オール(化合物aa29)(35.5 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0226] メチル N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((S)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリナート(化合物aa30、Cbz-Ser(S-2-PrOBn)-OMe)の合成



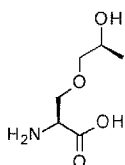
窒素雰囲気下、(S)-アジリジン-1,2-ジカルボン酸2-メチル1-ベンジル(Cbz-Azy-OMe)(25.0 g、106 mmol)および(2S)-2-(ベンジルオキシ)プロパン-1-オール(化合物aa29)(26.5 g、159 mmol)をジクロロメタン(188 mL)に溶解し0度に冷却したのち、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体(2.75 mL)を加えて0度で1時間30分攪拌した。反応液に水を加えジクロロメタンで抽出後、飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で有機層を洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、メチルN-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((S)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリナート(化合物aa30、Cbz-Ser(S-2-PrOBn)-OMe)(30.0 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0227] N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((S)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa31、Cbz-Ser(S-2-PrOBn)-OH)の合成



窒素雰囲気下、水酸化リチウム1水和物（10.5 g）塩化カルシウム（103 g）を水（300 mL）に溶解させた。そこへメチル N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-O-（（S）-2-（ベンジルオキシ）プロピル）-L-セリナート（化合物aa30、Cbz-Ser（S-2-PrOBn）-OMe）（25 g、62.3 mmol）の2-プロパノール／テトラヒドロフラン溶液（1.20 L／300 mL）を室温に加え5時間攪拌した。2M塩酸水溶液をpH2になるまで加え、有機層を除去したのち、水層を酢酸エチルで3回抽出した。得られた有機層を混合し無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-O-（（S）-2-（ベンジルオキシ）プロピル）-L-セリン（化合物aa31、Cbz-Ser（S-2-PrOBn）-OH）（25.0 g）を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

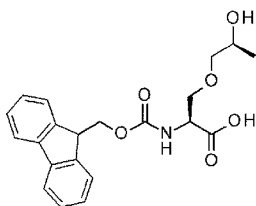
[0228] O-（（S）-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa32、H-Ser（S-2-PrOH）-OH）の合成



水素雰囲気下、N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-O-（（S）-2-（ベンジルオキシ）プロピル）-L-セリン（化合物aa31、Cbz-Ser（S-2-PrOBn）-OH）（3.00 g、7.74 mmol）とパラジウム炭素（0.30 g、10% w/w）をメタノール（50.0 mL）に溶解させ、室温で16時間攪拌した。反応液をろ過したのち、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、O-（（S）-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa32、H-Ser（S-2-PrOH）-OH）（0.78 g）を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0229] N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（

(S) - 2 - ヒドロキシプロピル) - L - セリン (化合物 a a 3 3、F m o c - S e r (S - 2 - P r O H) - O H) の合成

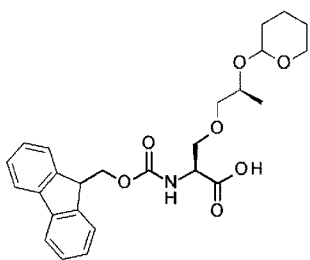


窒素雰囲気下、O - ((S) - 2 - ヒドロキシプロピル) - L - セリン (化合物 a a 3 2、H - S e r (S - 2 - P r O H) - O H) (0.78 g、4.78 mmol)、N - (9 - フルオレニルメトキシカルボニルオキシ) スクシンイミド (F m o c - O S u) (1.61 g、4.78 mmol) および N - エチル - イソプロピルプロパン - 2 - アミン (D I P E A) (0.93 mg、7.17 mmol) を水 / 1, 4 - ジオキサン (8.00 mL / 22.0 mL) に溶解させ室温で 30 分攪拌した。反応液をヘキサン (18.0 mL) / t - ブチルメチルエーテル (6.00 mL) で 2 回洗浄後、水層に 2 M 塩酸水溶液を pH 2 になるまで加え、酢酸エチル (20.0 mL) で 2 回抽出した、得られた有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させた。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (0.1 % ギ酸水溶液 / 0.1 % ギ酸アセトニトリル溶液) にて精製し、N - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) - O - ((S) - 2 - ヒドロキシプロピル) - L - セリン (化合物 a a 3 3、F m o c - S e r (S - 2 - P r O H) - O H) (1.62 g、88 %) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 386 (M+H) +

保持時間 : 0.68 分 (分析条件 S Q D F A 0 5)

[0230] N - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) - O - ((2 S) - 2 - ((テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イル) オキシ) プロピル) - L - セリン (化合物 a a 3 4、F m o c - S e r (S - 2 - P r O T H P) - O H) の合成

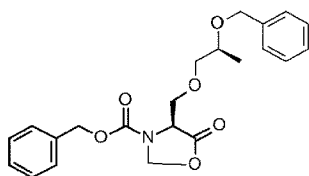


窒素雰囲気下、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((S)-2-ヒドロキシプロピル)-L-セリン(化合物aa33、Fmoc-Ser(S-2-PrOH)-OH)(83 mg、0.22 mmol)のテトラヒドロフラン(1.00 mL)溶液に、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム(2.71 mg、0.01 mmol)と3,4-ジヒドロ-2H-ピラン(0.13 g、1.51 mmol)を加え、50度にて2時間攪拌した。混合物を25度まで冷却し、酢酸エチルを加えた。続いて飽和食塩水にて有機層を洗浄し、無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をテトラヒドロフラン(1.00 mL)に溶解させ、次いでpH6.8に調製した1.0Mリン酸緩衝液(1.00 mL)を加えた。この混合物を50度で3時間攪拌した。25度まで冷却した後、酢酸エチル(175 mL)を加え、有機層と水層を分離した。水層に酢酸エチル(175 mL)を加えて抽出を行った後、得られた全ての有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((2S)-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa34、Fmoc-Ser(S-2-PrOTHP)-OH)(88.0 mg、87%)を得た。

LCMS(ESI) m/z = 468 (M-H) -

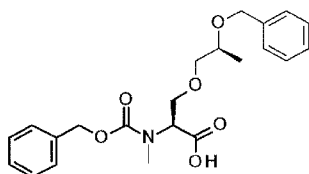
保持時間: 0.86分、0.87分(分析条件SQDFA05)

[0231] (S)-4-(((S)-2-(ベンジルオキシ)プロポキシ)メチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸ベンジル(化合物aa35)の合成



N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((S)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリン(化合物 a a 3 1、C b z-S e r (S-2-P r O B n)-O H)(25.0 g、64.53 mmol)、パラホルムアルデヒド(5.80 g)およびパラトルエンスルホン酸(0.67 g、3.89 mmol)をトルエン中(250 mL)に溶解させ110度で16時間攪拌した。室温に冷却後、炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、有機層を混合し無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、(S)-4-(((S)-2-(ベンジルオキシ)プロポキシ)メチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸ベンジル(化合物 a a 3 5)(18.6 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

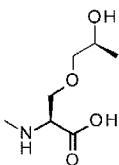
[0232] N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((S)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-N-メチル-L-セリン(化合物 a a 3 6、C b z-M e S e r (S-2-P r O B n)-O H)の合成



窒素雰囲気下、(S)-4-(((S)-2-(ベンジルオキシ)プロポキシ)メチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸ベンジル(化合物 a a 3 5)(18.6 g、46.6 mmol)のジクロロメタン溶液(296 mL)にトリエチルシシラン(16.2 g、139 mmol)とトリフルオロ酢酸(296 mL)を加え、室温で48時間攪拌した。反応液を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させた後、炭酸カリウム水溶液で再溶解し、ジエチルエーテルで洗浄し、濃塩酸をpH2になるまで加えたのち、酢酸エチルで3回抽出した。得られた有機層を混合し無

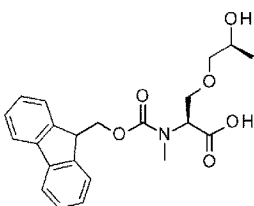
水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、 $N-(\text{(ベンジルオキシ)カルボニル})-O-(\text{(S)}-2-(\text{ベンジルオキシ})\text{プロピル})-N\text{-メチル-L-セリン}$ (化合物 $aa\ 36$ 、 $Cbz\text{-MeSer}(\text{S}-2\text{-PrOBn})\text{-OH}$) (9.4 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0233] $O-(\text{(S)}-2\text{-ヒドロキシプロピル})-N\text{-メチル-L-セリン}$ (化合物 $aa\ 37$ 、 $H\text{-MeSer}(\text{S}-2\text{-PrOH})\text{-OH}$) の合成



水素雰囲気下、 $N-(\text{(ベンジルオキシ)カルボニル})-O-(\text{(S)}-2-(\text{ベンジルオキシ})\text{プロピル})-N\text{-メチル-L-セリン}$ (化合物 $aa\ 36$ 、 $Cbz\text{-MeSer}(\text{S}-2\text{-PrOBn})\text{-OH}$) (9.40 g、23.4 mmol) とパラジウム炭素 (1.80 g、10% w/w) をメタノール (185 mL) に溶解させ、室温で16時間攪拌した。反応液をろ過したのち、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、 $O-(\text{(S)}-2\text{-ヒドロキシプロピル})-N\text{-メチル-L-セリン}$ (化合物 $aa\ 37$ 、 $H\text{-MeSer}(\text{S}-2\text{-PrOH})\text{-OH}$) (3.40 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

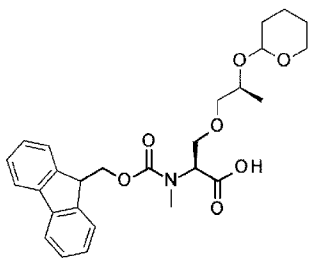
[0234] $N-(\text{(9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル})-O-(\text{(S)}-2\text{-ヒドロキシプロピル})-N\text{-メチル-L-セリン}$ (化合物 $aa\ 38$ 、 $Fmoc\text{-MeSer}(\text{S}-2\text{-PrOH})\text{-OH}$) の合成



窒素雰囲気下、 $O-(\text{(S)}-2\text{-ヒドロキシプロピル})-N\text{-メチル-L-セリン}$ (化合物 $aa\ 37$ 、 $H\text{-MeSer}(\text{S}-2\text{-PrOH})\text{-OH}$) (3.40 g、19.2 mmol)、 $N-(9\text{-フルオレニルメトキ}$

シカルボニルオキシ) スクシンイミド (Fmoc-OSu) (7.12 g、22.1 mmol) および炭酸ナトリウム (7.13 g、67.3 mmol) を水/1, 4-ジオキサン (80.0 mL/40.0 mL) に溶解させ室温で3時間攪拌した。反応液をt-ブチルメチルエーテルで3回洗浄後、水層に2M塩酸水溶液をpH2になるまで加え、酢酸エチルで3回抽出した、得られた有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((S)-2-ヒドロキシプロピル)-N-メチル-L-セリン (化合物aa38、Fmoc-MeSer(S-2-PrOH)-OH) (8.00 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0235] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-メチル-O-((2S)-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン (化合物aa39、Fmoc-MeSer(S-2-PrOTHP)-OH) の合成



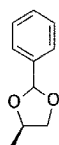
窒素雰囲気下、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((S)-2-ヒドロキシプロピル)-N-メチル-L-セリン (化合物aa38、Fmoc-MeSer(S-2-PrOH)-OH) (80.0 g、20.0 mmol) のテトラヒドロフラン (40.0 mL) 溶液に、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム (0.26 g、1.02 mmol) と3, 4-ジヒドロ-2H-ピラン (11.8 g、140 mmol) を加え、50度にて2時間攪拌した。混合物を25度まで冷却し、酢酸エチルを加えた。続いて飽和食塩水にて有機層を洗浄し、無水

硫酸ナトリウムにて乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣（9.30 g）をテトラヒドロフラン（50.0 mL）に溶解させ、次いでpH 6.8に調製した1.0Mリン酸緩衝液（50.0 mL）を加えた。この混合物を50度で3時間攪拌した。25度まで冷却した後、酢酸エチルを加え、有機層と水層を分離した。水層に酢酸エチルを加えて抽出を行った後、得られた全ての有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（0.5%炭酸水素アンモニウム水溶液／アセトニトリル）にて精製し、N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-N-メチル-L-オ-（（2S）-2-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）プロピル）-L-セリン（化合物aa39、Fmoc-MeSer（S-2-PrOTHP）-OH）（7.00 g、72%）を得た。

LCMS（ESI） $m/z = 501$ （M+NH₄）+

保持時間：0.82分（分析条件SMD method10）

[0236] （4R）-4-メチル-2-フェニル-1,3-ジオキソラン（化合物aa40）の合成

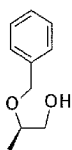


窒素雰囲気下、（R）-プロパン-1,2-ジオール（20 g、262.83 mmol）のトルエン（200 mL）溶液に、ベンズアルデヒド（29.3 g、276 mmol）およびp-トルエンスルホン酸（0.45 g、2.61 mmol）を加え、130度にて16時間攪拌した。反応液を濃縮し、残渣を順相カラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）で精製し、（4R）-4-メチル-2-フェニル-1,3-ジオキソラン（化合物aa40）（31.5 g、73%）を得た。

LCMS（ESI） $m/z = 163$ （M-H）-

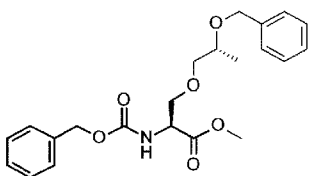
保持時間：7.21分（分析条件GC01）

[0237] (2R)-2-(ベンジルオキシ)プロパン-1-オール（化合物aa41）の合成



窒素雰囲気下、(4R)-4-メチル-2-フェニル-1,3-ジオキソラン（化合物aa40）（32.0 g、195 mmol）のジクロロメタン（1.00 L）溶液に、水素化ジイソブチルアルミニウムの1Mヘキサン溶液（390 mL、390 mmol）を-50度において加え、当該温度で15分攪拌後、室温にて2時間攪拌した。飽和塩化アンモニウム水溶液を加え反応を停止したのち、ジクロロメタンで2回抽出した。混合した有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、(2R)-2-(ベンジルオキシ)プロパン-1-オール（化合物aa41）（35.5 g）を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

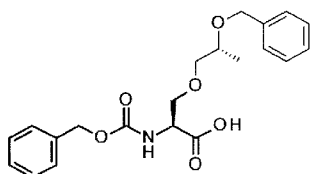
[0238] メチル N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((R)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリナート（化合物aa42、Cbz-Ser(R-2-PrOBn)-OMe）の合成



窒素雰囲気下、(S)-アジリジン-1,2-ジカルボン酸2-メチル1-ベンジル（Cbz-Azy-OMe）（25 g、106.28 mmol）および(2R)-2-(ベンジルオキシ)プロパン-1-オール（化合物aa41）（26.5 g、159 mmol）をジクロロメタン（188 mL）に溶解し0度に冷却したのち、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体（2.75 mL）を加えて0度で1時間30分攪拌した。反応液に水

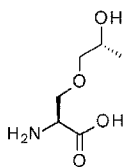
を加えジクロロメタンで抽出後、飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で有機層を洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、メチル N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((R)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリナート (化合物 a a 4 2、C b z-S e r (R-2-P r O B n)-OMe) (50.0 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0239] N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((R)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリン (化合物 a a 4 3、C b z-S e r (R-2-P r O B n)-OH) の合成



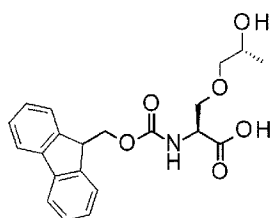
窒素雰囲気下、水酸化リチウム 1 水和物 (10.5 g) 塩化カルシウム (103 g) を水 (300 mL) に溶解させた。そこへメチル N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((R)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリナート (化合物 a a 4 2、C b z-S e r (R-2-P r O B n)-OMe) (25.0 g、62.3 mmol) の 2-プロパノール/テトラヒドロフラン溶液 (1.50 L/150 mL) を室温で加え 5 時間攪拌した。2 M 塩酸水溶液を pH 2 になるまで加え、有機層を除去したのち、水層を酢酸エチルで 3 回抽出した。得られた有機層を混合し無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((R)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリン (化合物 a a 4 3、C b z-S e r (R-2-P r O B n)-OH) (25.0 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0240] O-((R)-2-ヒドロキシプロピル)-L-セリン (化合物 a a 4 4、H-S e r (R-2-P r O H)-OH) の合成



水素雰囲気下、N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((R)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa43、Cbz-Ser(R-2-PrOBn)-OH)(2.87 g、7.41 mmol)とパラジウム炭素(570 mg、20% w/w)をメタノール(50 mL)に溶解させ、室温で16時間攪拌した。反応液をろ過したのち、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を酢酸エチルにて60度で再結晶することで、O-((R)-2-ヒドロキシプロピル)-L-セリン(化合物aa44、H-Ser(R-2-PrOH)-OH)(900 mg、74%)を得た。

[0241] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((R)-2-ヒドロキシプロピル)-L-セリン(化合物aa45、Fmoc-Ser(R-2-PrOH)-OH)の合成



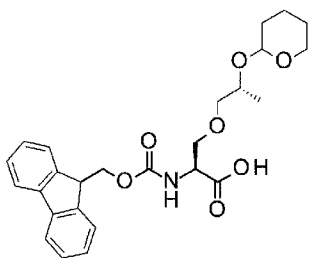
窒素雰囲気下、上述に記載の方法で合成したO-((R)-2-ヒドロキシプロピル)-L-セリン(化合物aa44、H-Ser(R-2-PrOH)-OH)(5.0 g、30.64 mmol)、炭酸水素ナトリウム(7.71 g、91.8 mmol)を水/1,4-ジオキサン(127 mL/52.9 mL)に溶解させ、室温にてN-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド(Fmoc-OSu)(10.85 g、32.2 mmol)を加え4時間攪拌した。反応液に水を加え、t-ブチルメチルエーテルで洗浄した後、水層に濃塩酸をpH3になるまで加え、t-ブチルメチルエーテルで2回抽出した、得られた有機層を飽和食

塩水で洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製することで、N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（（R）-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa45、Fmoc-Ser（R-2-PrOH）-OH）（8 g、68%）を得た。

LCMS（ESI） $m/z = 386$ (M+H) +

保持時間：2.08分（分析条件SMD method49）

[0242] N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（（2R）-2-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）プロピル）-L-セリン（化合物aa46、Fmoc-Ser（R-2-PrOTHP）-OH）の合成



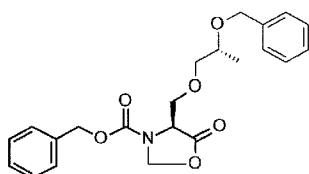
窒素雰囲気下、N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（（R）-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa45、Fmoc-Ser（R-2-PrOH）-OH）（4.4 g、11.4 mmol）のテトラヒドロフラン（50 mL）溶液に、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム（143 mg、5.7 mmol）と3,4-ジヒドロ-2H-ピラン（6.7 g、79.8 mmol）を加え、50度にて3時間攪拌した。混合物を室温にて冷却し、t-ブチルメチルエーテルを加えた後、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、ろ過を行い、得られた溶媒を減圧下留去し、粗生成物（8 g）を得た。得られた粗生成物（800 mg）にテトラヒドロフラン（10 mL）とpH6.8に調製した1.0Mリン酸緩衝液（10 mL）の混合液を加え、50度で3時間攪拌した。反応液を室塩で冷却した後、t-ブチ

ルメチルエーテルを加え、飽和食塩水で洗浄し、ろ過を行った。得られた溶液を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（0.5%炭酸水素アンモニウム水溶液／アセトニトリル）で精製し、得られたフラクションをまとめてアセトニトリルを減圧下留去した。得られた水層にpH 6.8に調製した1.0Mリン酸緩衝液を加え、t-ブチルメチルエーテルで3回抽出し、減圧下溶媒を留去することでN-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（（2R）-2-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）プロピル）-L-セリン（化合物aa46、Fmoc-Ser（R-2-PrOTHP）-OH）（400 mg、2工程65%）を得た。

LCMS（ESI） m/z = 468 （M-H）-

保持時間：0.85分、0.87分（分析条件SQDFA05）

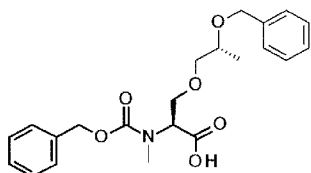
[0243] （S）-4-（（（R）-2-（ベンジルオキシ）プロポキシ）メチル）-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸ベンジル（化合物aa47）の合成



N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-O-（（R）-2-（ベンジルオキシ）プロピル）-L-セリン（化合物aa43、Cbz-Ser（R-2-PrOBn）-OH）（25.0 g、64.5 mmol）、パラホルムアルデヒド（5.80 g）およびパラトルエンスルホン酸（0.67 g、3.89 mmol）をトルエン中（250 mL）に溶解させ110度で16時間攪拌した。室温に冷却後、炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、有機層を混合し無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、（S）-4-（（（R）-2-（ベンジルオキシ）プロポキシ）メチル）-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸ベンジル（化合物aa47）（18.6 g）を粗生成物として得た。

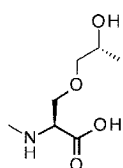
。これを精製することなく次工程に用いた。

[0244] N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((R)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa48、Cbz-MeSer(R-2-PrOBn)-OH)の合成



窒素雰囲気下、(S)-4-(((R)-2-(ベンジルオキシ)プロポキシ)メチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸ベンジル(化合物aa47)(18.6 g、46.6 mmol)のジクロロメタン溶液(296 mL)にトリエチルシラン(16.2 g、139 mmol)とトリフルオロ酢酸(296 mL)を加え、室温で48時間攪拌した。反応液を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させたのち、炭酸カリウム水溶液で再溶解し、ジエチルエーテルで洗浄し、濃塩酸をpH2になるまで加えたのち、酢酸エチルで3回抽出した。得られた有機層を混合し無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((R)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa48、Cbz-MeSer(R-2-PrOBn)-OH)(9.40 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

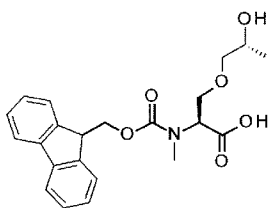
[0245] O-((R)-2-ヒドロキシプロピル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa49、H-MeSer(R-2-PrOH)-OH)の合成



水素雰囲気下、N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-((R)-2-(ベンジルオキシ)プロピル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa48、Cbz-MeSer(R-2-PrOBn)-OH)(9.40 g

、23.4 mmol)とパラジウム炭素(1.80 g、10% w/w)をメタノール(185 mL)に溶解させ、室温で16時間攪拌した。反応液をろ過したのち、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、O-((R)-2-ヒドロキシプロピル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa49、H-MeSer(R-2-PrOH)-OH)(3.40 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

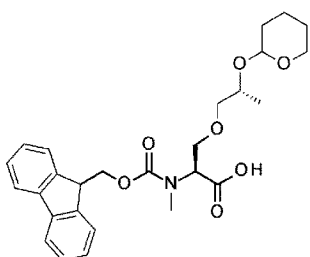
[0246] N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((R)-2-ヒドロキシプロピル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa50、Fmoc-MeSer(R-2-PrOH)-OH)の合成



窒素雰囲気下、O-((R)-2-ヒドロキシプロピル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa49、H-MeSer(R-2-PrOH)-OH)(3.40 g、19.2 mmol)、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド(Fmoc-OSu)(7.12 g、22.1 mmol)および炭酸ナトリウム(7.13 g、67.3 mmol)を水/1,4-ジオキサン(80.0 mL/40.0 mL)に溶解させ室温で3時間攪拌した。反応液をt-ブチルメチルエーテルで3回洗浄後、水層に2M塩酸水溶液をpH2になるまで加え、酢酸エチルで3回抽出した、得られた有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((R)-2-ヒドロキシプロピル)-N-メチル-L-セリン(化合物aa50、Fmoc-MeSer(R-2-PrOH)-OH)(8.00 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0247] N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-メ

チルーOー（（2R）ー2ー（（テトラヒドロー2Hーピランー2ーイル）
オキシ）プロピル）ーLーセリン（化合物a a 5 1、F m o cーM e S e r
（Rー2ーP r O T H P）ーO H）の合成

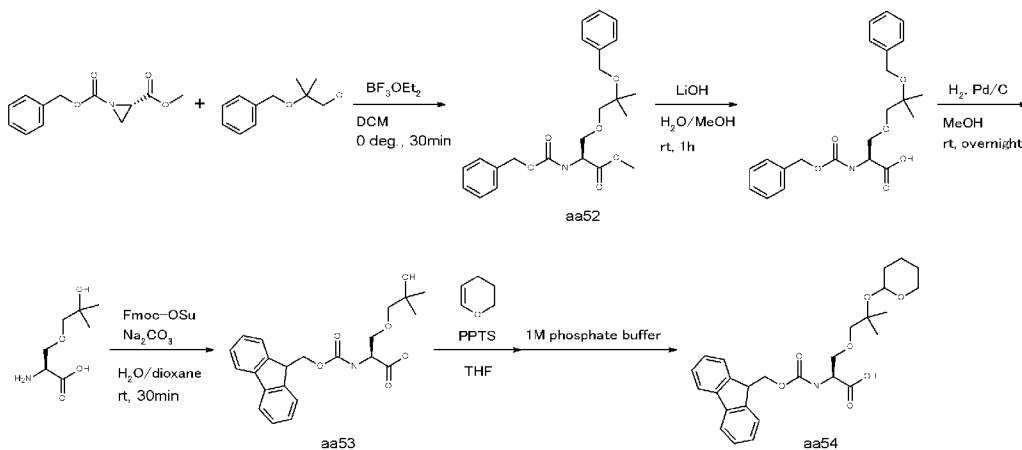


窒素雰囲気下、Nー（（（9Hーフルオレンー9ーイル）メトキシ）カルボニル）ーOー（（R）ー2ーヒドロキシプロピル）ーNーメチルーLーセリン（化合物a a 5 0、F m o cーM e S e r（Rー2ーP r O H）ーO H）（8.00 g、20.0 mmol）のテトラヒドロフラン（40.0 mL）溶液に、pートルエンスルホン酸ピリジニウム（0.26 g、1.02 mmol）と3,4ージヒドロー2Hーピラン（11.8 g、139 mmol）を加え、50度にて2時間攪拌した。混合物を25度まで冷却し、酢酸エチルを加えた。続いて飽和食塩水にて有機層を洗浄し、無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣（9.3 g）をテトラヒドロフラン（100 mL）に溶解させ、次いでpH 6.8に調製した1.0Mリン酸緩衝液（100 mL）を加えた。この混合物を50度で3時間攪拌した。25度まで冷却した後、酢酸エチルを加え、有機層と水層を分離した。水層に酢酸エチルを加えて抽出を行った後、得られた全ての有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、Nー（（（9Hーフルオレンー9ーイル）メトキシ）カルボニル）ーNーメチルーOー（（2R）ー2ー（（テトラヒドロー2Hーピランー2ーイル）オキシ）プロピル）ーLーセリン（化合物a a 5 1、F m o cーM e S e r（Rー2ーP r O T H P）ーO H）（8.50 g）を得た。

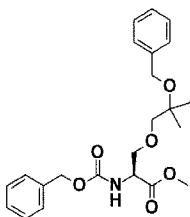
LCMS（ESI） m/z = 501（M+NH₄）+

保持時間：0.82分（分析条件SMD method10）

[0248] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-メチル-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa54、Fmoc-Ser(tBuOTHP)-OH)の合成は、以下のスキームに従って行った。



[0249] メチル O-(2-(ベンジルオキシ)-2-メチルプロピル)-N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-L-セリナート(化合物aa52、Cbz-Ser(tBuOBn)-OMe)の合成



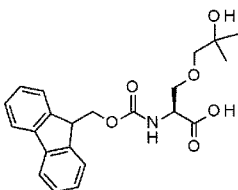
(S)-アジリジン-1,2-ジカルボン酸2-メチル1-ベンジル(Cbz-Azy-OMe)(2.0 g、8.50 mmol)および2-ベンジルオキシ-2-メチルプロパン-1-オール(2.30 g、12.75 mmol)をジクロロメタン(7.5 mL)に溶解し、氷冷下で三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$)(0.160 mL、1.28 mmol)を5分かけて滴下した。氷冷下で30分攪拌後、水(2.0 mL)を加えて10分攪拌して反応を停止し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。ジクロロメタンで水層を抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。ろ過後、有機溶媒を減圧濃縮により除去し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル=10

O／O→75／25)で精製し、メチルO－(2－(ベンジルオキシ)－2－メチルプロピル)－N－((ベンジルオキシ)カルボニル)－L－セリナート(化合物aa52、Cbz－Ser(tBuOBn)－OMe)(2.36 g、67%)を得た。

LCMS(ESI) m/z = 416 (M+H) +

保持時間：0.93 分(分析条件 SQDFA05)

[0250] N－((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)－O－(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)－L－セリン(化合物aa53、Fmoc-Ser(tBuOH)－OH)の合成



メチルO－(2－(ベンジルオキシ)－2－メチルプロピル)－N－((ベンジルオキシ)カルボニル)－L－セリナート(化合物aa52、Cbz－Ser(tBuOBn)－OMe)(2.36 g、5.68 mmol)をメタノール(8.0 mL)に溶解させた。これに、水酸化リチウム水和物(0.477 g、11.36 mmol)を水(8.0 mL)に溶解させた水溶液を添加し、室温で1時間攪拌した。その後、2Mの塩酸水溶液(8.52 mL、17.04 mmol)を加えた。水層を酢酸エチルで3回抽出し、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。ろ過後、酢酸エチルを減圧濃縮により除去し、O－(2－(ベンジルオキシ)－2－メチルプロピル)－N－((ベンジルオキシ)カルボニル)－L－セリン(Cbz－Ser(tBuOBn)－OH)を得た。

上で得られた、O－(2－(ベンジルオキシ)－2－メチルプロピル)－N－((ベンジルオキシ)カルボニル)－L－セリン(Cbz－Ser(tBuOBn)－OH)をメタノール(45 mL)に溶解し、Pd/C(456 mg)を加えて水素雰囲気化、室温で終夜攪拌した。セライトろ過によりPd/Cを除いた後、減圧濃縮によりメタノールを除去することでO－

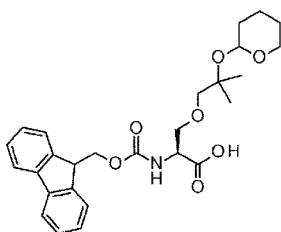
(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-L-セリン (H-Ser(tBuOH)-OH) (1.05 g) を定量的に得た。

得られたO-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-L-セリン (H-Ser(tBuOH)-OH) (1.59 g、8.97 mL) および炭酸ナトリウム (2.85 g、26.9 mmol) を水 (36 mL) および1,4-ジオキサン (15 mL) に溶解し、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ) スクシンイミド (Fmoc-OSu) (3.18 g、9.42 mmol) をゆっくり加えた。室温で30分攪拌後、反応液に水 (40 mL) を加え、t-ブチルメチルエーテル (60 mL) で3回洗浄した。その後、水層に2Mの塩酸水溶液 (26.9 mL、53.8 mmol) を加えて水層のpHを1とした後、t-ブチルメチルエーテル (60 mL) で3回抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過後、t-ブチルメチルエーテルを減圧濃縮して得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (0.1%ギ酸水溶液/0.1ギ酸アセトニトリル溶液) で精製し、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-L-セリン (化合物aa53、Fmoc-Ser(tBuOH)-OH) (2.62 g、73%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 400$ (M+H) +

保持時間: 0.71分 (分析条件 SQDFA05)

[0251] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-メチル-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン (化合物aa54、Fmoc-Ser(tBuOTH P)-OH) の合成

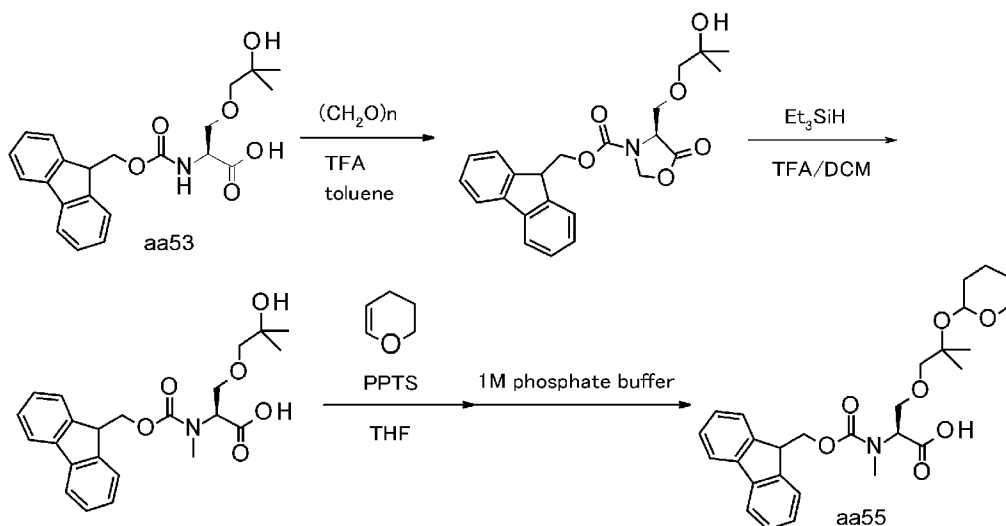


N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-L-セリン(化合物aa53、Fmoc-Ser(tBuOH)-OH)(1.2 g、3.00 mmol)および3,4-ジヒドロ-2H-ピラン(1.90 mL、21.03 mmol)をテトラヒドロフラン(6.0 mL)に溶解し、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム(PPTS)(0.038 g、0.150 mmol)を加えて50度で2時間攪拌した。その後、反応液を酢酸エチル(15 mL)で希釈し、飽和食塩水(15 mL)で3回洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、ろ過し、減圧濃縮により溶媒を除去した。得られた残渣をテトラヒドロフラン(24.0 mL)に溶解し、pH 6.8に調製した1.0 Mリン酸緩衝液(24.0 mL)を加えて50度で3時間攪拌した。反応液を酢酸エチル(45 mL)で希釈後、飽和食塩水(45 mL)で3回洗浄し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。ろ過後、減圧濃縮して得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー(10 mM酢酸アンモニウム水溶液/メタノール)で精製し、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-メチル-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa54、Fmoc-Ser(tBuOTHP)-OH)(1.05 g、72%)を得た。

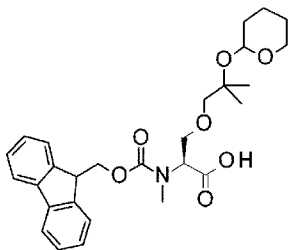
LCMS(ESI) $m/z = 484 (M+H)^+$

保持時間: 0.91分(分析条件SQDFA05)

[0252] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-メチル-O-(2-メチル-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa55、Fmoc-MeSer(tBuOTHP)-OH)の合成は、以下のスキームに従って行った。



[0253] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-メチル-O-(2-メチル-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa55、Fmoc-MeSer(tBuOTHP)-OH)の合成



N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル)-L-セリン(化合物aa53、Fmoc-Ser(tBuOH)-OH)(12 g、30.04 mmol)およびパラホルムアルデヒド(2.75 g、91.67 mmol)をトリフルオロ酢酸(31.4 g、277.78 mmol)およびトルエン(60 mL)に溶解させ、室温で4時間攪拌した。反応液を減圧濃縮後、得られた残渣をジクロロメタンに溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。ろ過後、ジクロロメタンを減圧濃縮により除去することで(S)-4-((2-ヒドロキシ-2-メチルプロポキシ)メチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸(9H-フルオレン-9-イル)メチル(12 g、97%)を得

た。

得られた (S) - 4 - ((2-ヒドロキシ-2-メチルプロポキシ) メチル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 3 - カルボン酸 (9H-フルオレン-9-イル) メチル (1 g、2.43 mmol) をトリフルオロ酢酸/ジクロロメタン (13 mL/13 mL) に溶解し、トリエチルシラン (Et₃SiH) (832 mg、7.16 mmol) を滴下して加えた。室温で16時間攪拌後、反応液を減圧濃縮して得られた残渣を炭酸カリウム水溶液に溶解し、t-ブチルメチルエーテルで洗浄後、水層に塩酸水溶液 (1M) を加えてpHを2に調節した。水層をt-ブチルメチルエーテルで2回抽出した後、有機層を水、飽和食塩水で各2回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。ろ過後、減圧濃縮して得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル=100/0→50/50) で精製し、N- ((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) - O - (2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル) - N-メチル-L-セリン (Fmoc-MeSer (tBuOH) -OH) (700 mg、70%) を得た。

得られたN- ((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) - O - (2-ヒドロキシ-2-メチルプロピル) - N-メチル-L-セリン (Fmoc-MeSer (tBuOH) -OH) (6 g、14.51 mmol) とp-トルエンスルホン酸ピリジニウム (PPTS) (182 mg、0.73 mmol) をテトラヒドロフラン (48 mL) に溶解し、3,4-ジヒドロ-2H-ピラン (8.5 g、101.05 mmol) を窒素雰囲気化、室温で滴下して加えた。反応液を50度で5時間攪拌後、反応液に酢酸エチルを添加し、抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後、減圧濃縮してN- ((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) - N-メチル-O - (2-メチル-2- ((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) プロピル) - L-セリンおよびテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イルN- ((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) - N-メチル-O - (2-メチル-2- ((テ

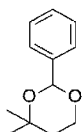
トラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) プロピル) -L-セリナー
トを混合物として得た。

得られた混合物 (50 g) をリン酸緩衝液 (1 M、pH = 6.8、1000 mL) およびテトラヒドロフラン (1000 mL) に溶解させ、50度で4時間攪拌した。その後、反応液を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後に減圧濃縮した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (0~40% 0.5%炭酸水素アンモニウム水溶液/アセトニトリル) で精製し、N-((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) -N-メチル-O-(2-メチル-2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) プロピル) -L-セリン (化合物 aa55、Fmoc-MeSer(tBuOTHP)-OH) (20 g) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 498$ (M+H) +

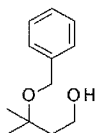
保持時間: 0.94分 (分析条件SMD method20)

[0254] 4, 4-ジメチル-2-フェニル-1, 3-ジオキサン (化合物 aa56)
の合成



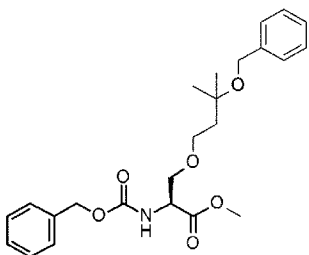
窒素雰囲気下、3-メチルブタン-1, 3-ジオール (40.0 g、384 mmol) のクロロホルム (400 mL) 溶液に、ジメトキシメチルベンゼン (87.6 g、576 mmol) およびp-トルエンスルホン酸 (3.59 g、18.9 mmol) を加え、0度にて1.5時間攪拌した。反応液を濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製し、4, 4-ジメチル-2-フェニル-1, 3-ジオキサン (化合物 aa56) (70.0 g、95%) を得た。

[0255] 3-(ベンジルオキシ)-3-メチルブタン-1-オール (化合物 aa57)
の合成



窒素雰囲気下、上述の方法で得た4, 4-ジメチル-2-フェニル-1, 3-ジオキサン（化合物 a a 5 6）（5. 00 g、26. 0 mmol）のジクロロメタン（130 mL）溶液に、水素化ジイソブチルアルミニウムの1 Mヘキサン溶液（156 mL、156 mmol）を-50度において加え、当該温度で15分攪拌後、室温にて1時間攪拌した。メタノール加え反応を停止したのち、ジクロロメタンで2回抽出した。混合した有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、残渣をカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）で精製し、3-（ベンジルオキシ）-3-メチルブタン-1-オール（化合物 a a 5 7）（2. 00 g、40%）を得た。

[0256] メチル O-（3-（ベンジルオキシ）-3-メチルブチル）-N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-L-セリナート（化合物 a a 5 8、C b z - S e r（2-Me-BuOBn）-OMe）の合成



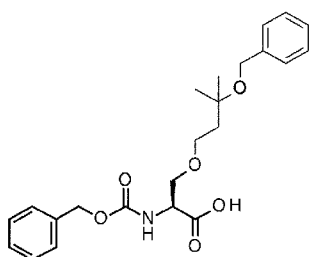
窒素雰囲気下、（S）-アジリジン-1, 2-ジカルボン酸2-メチル1-ベンジル（25 g、106 mmol）および3-（ベンジルオキシ）-3-メチルブタン-1-オール（化合物 a a 5 7）（31. 0 g、159 mmol）をジクロロメタン（113 mL）に溶解し0度に冷却したのち、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体（2. 26 g、15. 9 mmol）を加えて0度で3時間攪拌した。反応液に水を加えジクロロメタンで抽出後、飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で有機層を洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、残渣をカラム

クロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）で精製し、メチル O -（3 -（ベンジルオキシ） - 3 -メチルブチル） - N -（（ベンジルオキシ）カルボニル） - L -セリナート（化合物 $aa58$ 、 $Cbz-Ser(2-Me-BuOBn)-OMe$ ）（28.0 g、55%）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 452$ ($M+Na$) +

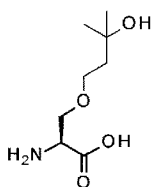
保持時間：1.46分（分析条件SMD method13）

[0257] O -（3 -（ベンジルオキシ） - 3 -メチルブチル） - N -（（ベンジルオキシ）カルボニル） - L -セリン（化合物 $aa59$ 、 $Cbz-Ser(2-Me-BuOBn)-OH$ ）の合成



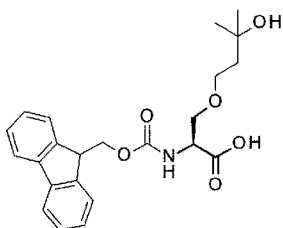
窒素雰囲気下、水酸化リチウム1水和物（11.2 g）塩化カルシウム（110 g）を水（278 mL）に溶解させた。そこへメチル O -（3 -（ベンジルオキシ） - 3 -メチルブチル） - N -（（ベンジルオキシ）カルボニル） - L -セリナート（化合物 $aa58$ 、 $Cbz-Ser(2-Me-BuOBn)-OMe$ ）（28.7 g、68.4 mmol）の2-プロパノール／テトラヒドロフラン溶液（278 mL／1115 mL）を室温に加え5時間攪拌した。2M塩酸水溶液をpH2になるまで加え、有機層を除去したのち、水層を酢酸エチルで3回抽出した。得られた有機層を混合し無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、 O -（3 -（ベンジルオキシ） - 3 -メチルブチル） - N -（（ベンジルオキシ）カルボニル） - L -セリン（化合物 $aa59$ 、 $Cbz-Ser(2-Me-BuOBn)-OH$ ）（28.0 g）を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0258] O -（3 -ヒドロキシ - 3 -メチルブチル） - L -セリン（化合物 $aa60$ 、 $H-Ser(2-Me-BuOH)-OH$ ）の合成



水素雰囲気下、O-(3-(ベンジルオキシ)-3-メチルブチル)-N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-L-セリン(化合物aa59、Cbz-Ser(2-Me-BuOBn)-OH)(28.0 g、67.4 mmol)とパラジウム炭素(6.00 g、20% w/w)をメタノール(500 mL)に溶解させ、室温で16時間攪拌した。反応液をろ過したのち、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させたのちに、メタノール/ジクロロメタン(1/5)から再結晶を行い、O-(3-ヒドロキシ-3-メチルブチル)-L-セリン(化合物aa60、H-Ser(2-Me-BuOH)-OH)(7.00 g、54%)を得た。

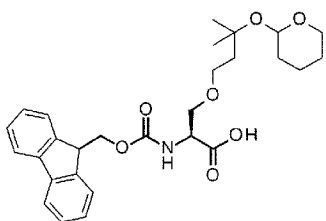
[0259] N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシ-3-メチルブチル)-L-セリン(化合物aa61、Fmoc-Ser(2-Me-BuOH)-OH)の合成



窒素雰囲気下、O-(3-ヒドロキシ-3-メチルブチル)-L-セリン(化合物aa60、H-Ser(2-Me-BuOH)-OH)(2.80 g、14.6 mmol)、炭酸ナトリウム(4.66 g、44.0 mmol)を1,4-ジオキサン(24.5 mL)/水(58.8 mL)に溶解させた後に、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド(Fmoc-OSu)(5.18 g、15.4 mmol)を加え、室温で3時間攪拌した。反応液をt-ブチルメチルエーテルで3回洗浄後、水層に2M塩酸水溶液をpH2になるまで加え、酢酸エチルで3回抽出した、得られた有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち

、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシ-3-メチルブチル)-L-セリン(化合物aa61、Fmoc-Ser(2-Me-BuOH)-OH)(5.80 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0260] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-メチル-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリン(化合物aa62、Fmoc-Ser(2-Me-BuOTHP)-OH)の合成



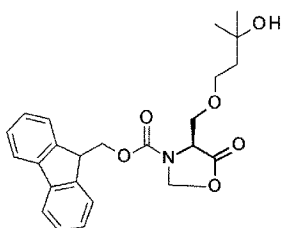
窒素雰囲気下、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシ-3-メチルブチル)-L-セリン(化合物aa61、Fmoc-Ser(2-Me-BuOH)-OH)(6.80 g、16.5 mmol)のテトラヒドロフラン(35.0 mL)溶液に、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム(0.20 g、0.82 mmol)と3,4-ジヒドロ-2H-ピラン(10.3 mL)を加え、50度にて5時間攪拌した。混合物を25度まで冷却し、酢酸エチルを加えた。続いて飽和食塩水にて有機層を洗浄し、無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣(11.0 g)のうち、0.75 gをテトラヒドロフラン(20.0 mL)に溶解させ、次いでpH6.8に調製した1.0Mリン酸緩衝液(20.0 mL)を加えた。この混合物を50度で4時間攪拌した。25度まで冷却した後、酢酸エチルを加え、有機層と水層を分離した。水層に酢酸エチルを加えて抽出を行った後、得られた全ての有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し得られた残渣を、逆相カラムクロマ

トグラフィー（0.5%炭酸水素アンモニウム水溶液／アセトニトリル）にて精製し、N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3-メチル-3-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）ブチル）-L-セリン（化合物aa62、Fmoc-Ser（2-Me-BuOTHP）-OH）（0.60 g、80%）を得た。

LCMS（ESI） $m/z = 498$ (M+H) +

保持時間：0.72分（分析条件SMD method11）

[0261] (S)-4-（（3-ヒドロキシ-3-メチルブトキシ）メチル）-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸（9H-フルオレン-9-イル）メチル（化合物aa63）の合成

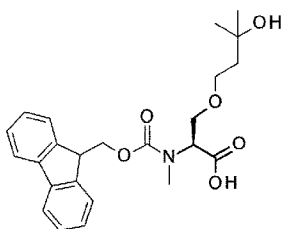


N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3-ヒドロキシ-3-メチルブチル）-L-セリン（化合物aa61、Fmoc-Ser（2-Me-BuOH）-OH）（0.20 g、0.48 mmol）、パラホルムアルデヒド（0.06 g）およびトリフルオロ酢酸（0.64 g、5.62 mmol）をトルエン中（10.0 mL）に溶解させ室温で16時間攪拌した。反応液を減圧下留去し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製し、（S）-4-（（3-ヒドロキシ-3-メチルブトキシ）メチル）-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸（9H-フルオレン-9-イル）メチル（化合物aa63）（0.16 g、80%）を得た。

LCMS（ESI） $m/z = 448$ (M+Na) +

保持時間：2.47分（分析条件SMD method14）

[0262] N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3-ヒドロキシ-3-メチルブチル）-N-メチル-L-セリン（化合物a

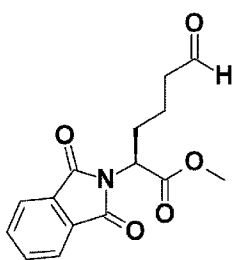
a 6 4、Fmoc-MeSer(2-Me-BuOH)-OH) の合成

窒素雰囲気下、(S)-4-((3-ヒドロキシ-3-メチルブトキシ)メチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸(9H-フルオレン-9-イル)メチル(化合物 a a 6 3)(1.00 g、2.35 mmol)、塩化アルミニウム(0.63 g、4.70 mmol)のジクロロメタン溶液(50.0 mL)に、0度においてトリエチルシラン(0.75 mL)をゆっくり滴下し、室温で2時間攪拌した。反応液をジクロロメタンで希釈し、2 M塩酸水溶液および飽和食塩水で洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー(水/アセトニトリル)にて精製し、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシ-3-メチルブチル)-N-メチル-L-セリン(化合物 a a 6 4、Fmoc-MeSer(2-Me-BuOH)-OH)(0.30 g、30%)を得た。

LCMS(ESI) $m/z = 450$ (M+Na)⁺

保持時間: 2.12分(分析条件SMD method 15)

[0263] (S)-2-((1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-6-オキソヘキサン酸メチル(化合物 a a 6 5) の合成



窒素雰囲気下、市販の(S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-6-ヒドロキシヘキサン酸(Boc-Nle(6-OH)-OH

) (10 g、40.4 mmol) のトルエン／メタノール (90 mL／60 mL) 溶液に 2 M の (トリメチルシリル) ジアゾメタン／ヘキサン溶液 (24.26 mL、48.5 mmol) を滴下しながら室温にて加え、終夜撹拌した。反応液をロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮することで得られた残渣にトルエン／メタノール (90 mL／60 mL) 溶液を加え、溶解させた後、2 M の (トリメチルシリル) ジアゾメタン／ヘキサン溶液 (24.26 mL、48.5 mmol) を滴下しながら室温にて加え、6 時間撹拌した。反応液をロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮することで、粗生成物として (S) - 2 - (tert-ブトキシカルボニル) アミノ - 6 - ヒドロキシヘキサン酸メチル (Boc-Nle (6-OH) -OMe) (13 g) を得た。

得られた粗生成物である (S) - 2 - (tert-ブトキシカルボニル) アミノ - 6 - ヒドロキシヘキサン酸メチル (Boc-Nle (6-OH) -OMe) (13 g) に 4 N 塩酸／1, 4 - ジオキサン溶液 (50 mL、200 mmol) を室温にて加え、6 時間撹拌した。反応液をロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮することで、粗生成物として (S) - 2 - アミノ - 6 - ヒドロキシヘキサン酸メチル (H-Nle (6-OH) -OMe) の塩酸塩 (9.2 g) を得た

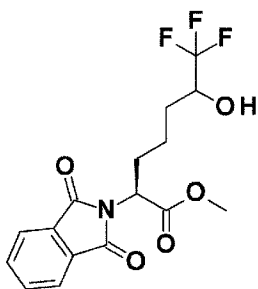
得られた粗生成物である (S) - 2 - アミノ - 6 - ヒドロキシヘキサン酸メチル (H-Nle (6-OH) -OMe) の塩酸塩 (9.2 g) のアセトニトリル溶液 (100 mL) に 1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - カルボン酸エチル (9.74 g、44.4 mmol)、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (DIP EA) (15.52 mL、89 mmol) を室温にて加え、終夜撹拌した。反応液をロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮することで、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (ジクロロメタン／メタノール) で精製することで (S) - 2 - (1, 3 - ジオキソイソインドリン - 2 - イル) - 6 - ヒドロキシヘキサン酸メチル (14.6 g) を得た。

上述の (S) - 2 - (1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル) - 6-ヒドロキシヘキサン酸メチル (7.08 g、24.3 mmol) のジクロロメタン溶液 (100 mL) にデス-マーチンペルヨージナン (CAS # 87413-09-0、11.34 g、26.7 mmol) を0度にて加え、室温にて3時間攪拌した。反応液をジクロロメタンで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液/水 (1/1) の溶液、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、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させ、ろ過を行った後、減圧濃縮することで得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製することで、(S) - 2 - (1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル) - 6-オキソヘキサン酸メチル (化合物 a a 6 5) (3.6 g、4工程51%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 290 (M+H) +

保持時間: 0.70分 (分析条件SQDAA05)

[0264] (2S) - 2 - (1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル) - 7, 7, 7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸メチル (化合物 a a 6 6) の合成



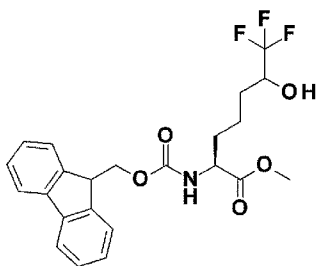
窒素雰囲気下、(S) - 2 - (1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル) - 6-オキソヘキサン酸メチル (化合物 a a 6 5) (3.62 g、12.51 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (50 mL) に0度にて (トリフルオロメチル) トリメチルシラン (1.390 mL、9.39 mmol)、1 Mのテトラブチルアンモニウムフルオリド (TBAF) / テトラヒドロフラン (THF) 溶液 (0.626 mL、0.626 mmol) を加え、0度にて10分間攪拌した。反応液に (トリフルオロメチル)

トリメチルシラン (1.390 mL、9.39 mmol)、1 M のテトラブチルアンモニウムフルオリド (TBAF) / テトラヒドロフラン (THF) 溶液 (0.626 mL、0.626 mmol) を 0 度にて加え、30 分撹拌した。さらに反応液に (トリフルオロメチル) トリメチルシラン (1.390 mL、9.39 mmol)、1 M のテトラブチルアンモニウムフルオリド (TBAF) / テトラヒドロフラン (THF) 溶液 (0.626 mL、0.626 mmol) を 0 度にて加え、2 時間 30 分撹拌した。反応液に 1 N 塩酸水溶液 (37.5 mL) を 0 度にて加え、室温で 20 分間撹拌した後、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過を行い、減圧濃縮することで得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (10 mM 酢酸アンモニウム水溶液 / メタノール) で精製することで、(2S)-2-((1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-7,7,7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸メチル (化合物 aa66) (1.8 g、40%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 358 (M-H) -

保持時間: 0.81 分 (分析条件 SQDAA05)

[0265] (2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-7,7,7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸メチル (化合物 aa67、Fmoc-Hnl (7-F3-6-OH)-OMe) の合成



上述の方法で得た、(2S)-2-((1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-7,7,7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸メチル (化合物 aa66) (3.1 g、8.63 mmol) のメタノール溶液 (30 mL) にヒドラジンの 1 水和物 (1.258 mL、25.9 m

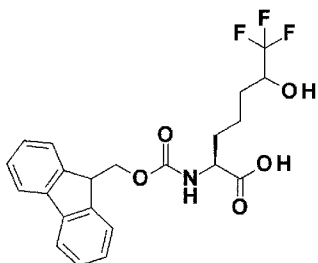
mol)、酢酸(1.482 mL、25.9 mmol)を室温にて加え、終夜撹拌した。メタノールを除去するために、反応液をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、得られた溶液をジメチルスルホキシドで希釈した後、逆相カラムクロマトグラフィー(10 mM酢酸アンモニウム水溶液/メタノール)で精製することで、(2S)-2-アミノ-7,7,7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸メチル(H-HnI(7-F3-6-OH)-OMe)(2 g)を得た。

上記の(2S)-2-アミノ-7,7,7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸メチル(H-HnI(7-F3-6-OH)-OMe)(2 g、8.73 mmol)に水(25 mL)、炭酸ナトリウム(2.93 g、34.9 mmol)、テトラヒドロフラン(50 mL)、炭酸N-スクシンイミジル9-フルオレニルメチル(Fmoc-OSu)(3.53 g、10.47 mmol)を室温にて加え、反応液を2時間撹拌した。テトラヒドロフランを除去するために反応液をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、酢酸エチル、1 N塩酸水溶液を加え、酢酸エチルで2回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムにて乾燥後、ろ過、減圧濃縮した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー(0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル溶液)、順相カラムクロマトグラフィー(ジクロロメタン/メタノール)で精製した後、さらに、逆相カラムクロマトグラフィー(10 mM酢酸アンモニウム水溶液/メタノール)で精製することで得られたフラクションを集め、メタノールを減圧下留去し、酢酸エチルで2回抽出し、飽和硫酸水素カリウム溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機溶媒を減圧下留去しすることで、(2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-7,7,7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸メチル(化合物aa67、Fmoc-HnI(7-F3-6-OH)-OMe)(1.4 g、2工程36%)を得た。

LCMS(ESI) $m/z = 452 \quad (M+H)^+$

保持時間：0.86分（分析条件SQDFA05）

[0266] (2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-7,7,7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸（化合物aa68、Fmoc-Hnl(7-F3-6-OH)-OH）の合成

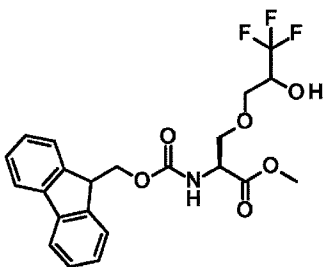


塩化カルシウム（5.16 g、46.5 mmol）の水溶液（7.00 mL）に水酸化リチウムの1水和物（0.521 g、12.40 mmol）を室温にて加え、5分間攪拌した。(2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-7,7,7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸メチル（化合物aa67、Fmoc-Hnl(7-F3-6-OH)-OMe）（1.4 g、3.10 mmol）のイソプロパノール／テトラヒドロフラン溶液（28 mL／7 mL）を室温にて滴下しながら加え、反応液を終夜攪拌した。反応液に1N塩酸水溶液を加え、t-ブチルメチルエーテルで2回抽出し、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた後、ろ過、減圧濃縮を行うことで得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（0.1%ギ酸水溶液／0.1%ギ酸アセトニトリル溶液）にて精製し、(2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-7,7,7-トリフルオロ-6-ヒドロキシヘプタン酸（化合物aa68、Fmoc-Hnl(7-F3-6-OH)-OH）（950 mg、70%）で得た。

LCMS (ESI) $m/z = 438.6$ (M+H)⁺

保持時間：0.76分（分析条件SQDFA05）

[0267] メチルN-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3,3,3-トリフルオロ-2-ヒドロキシプロピル)-L-セリナート（化合物aa69、Fmoc-Ser(1-CF3-EtOH)-OMe

e) の合成

窒素雰囲気下、別途合成した (S) -アジリジン-1, 2-ジカルボン酸 2-メチル 1-((9H-フルオレン-9-イル)メチル) (化合物 aa 73、Fmoc-Azy-OMe) (0.20 g、0.62 mmol) と 3, 3, 3-トリフルオロプロパン-1, 2-ジオール (0.24 g、1.9 mmol) のジクロロメタン溶液 (3.0 mL) に三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) (7.8 μL 、0.062 mmol) を 0 度にて加え、30 分間撹拌した。また、窒素雰囲気下、(S) -アジリジン-1, 2-ジカルボン酸 2-メチル 1-((9H-フルオレン-9-イル)メチル) (化合物 aa 73、Fmoc-Azy-OMe) (5.0 g、15.46 mmol) と 3, 3, 3-トリフルオロプロパン-1, 2-ジオール (6.03 g、46.4 mmol) のジクロロメタン溶液 (77.0 mL) に三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) (0.19 mL、1.55 mmol) を 0 度にて加え、30 分間撹拌した。さらに、窒素雰囲気下、(S) -アジリジン-1, 2-ジカルボン酸 2-メチル 1-((9H-フルオレン-9-イル)メチル) (化合物 aa 73、Fmoc-Azy-OMe) (3.6 g、11.13 mmol) と 3, 3, 3-トリフルオロプロパン-1, 2-ジオール (4.34 g、33.4 mmol) のジクロロメタン溶液 (55.7 mL) に三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) (0.14 mL、1.11 mmol) を 0 度にて加え、30 分間撹拌した。

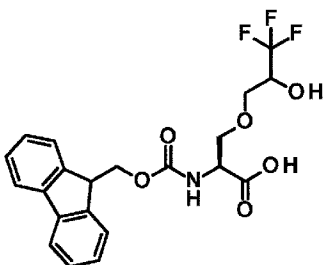
上記 3 つの反応液にそれぞれ飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、全ての反応液を合わせ減圧下、大部分の有機溶媒を留去し、残った溶液に酢酸エチル (300 mL) を加え抽出した。有機層を飽和食塩水溶液で洗浄

した後、有機溶媒を減圧下留去した。得られた残渣を順相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）にて精製し、メチルN-（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3, 3, 3-トリフルオロ-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリナート（化合物aa69、Fmoc-Ser（1-CF₃-EtOH）-OMe）（6.57 g、53%、純度95%）および同化合物（3.1 g、25%、純度87%）を得た。

LCMS（ESI）m/z = 454（M+H）+

保持時間：1.18分（分析条件SMD method45）

[0268] N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3, 3, 3-トリフルオロ-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa70、Fmoc-Ser（1-CF₃-EtOH）-OH）の合成



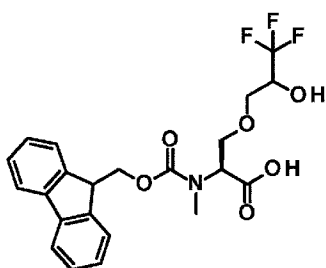
塩化カルシウム（2.06 g、18.5 mmol）を水（5.2 mL）に溶解し、水酸化リチウムの1水和物（207 mg、4.94 mmol）を加え、室温にて10分撹拌した。その溶液にメチルN-（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3, 3, 3-トリフルオロ-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリナート（化合物aa69、Fmoc-Ser（1-CF₃-EtOH）-OMe）（560 mg、1.24 mmol）のテトラヒドロフラン（THF）（5.15 mL）、イソプロパノール（20.6 mL）溶液を加え、室温にて2時間撹拌した。1N塩酸水溶液を加え反応を終結させた。さらに、0.15 g、1.11 g、0.48 g、0.96 gのFmoc-Ser（1-CF₃-EtOH）-OMeをそれぞれ用いて、同様に反応を実施した。全ての反応液を集め、減圧下大部分の溶媒を留去した。得られた溶液に酢酸エチルと水

を加え、抽出した。有機層を減圧下留去した後、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（0.1%ギ酸水溶液／0.1%ギ酸アセトニトリル溶液）にて精製し、N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3,3,3-トリフルオロ-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa70、Fmoc-Ser（1-CF₃-EtOH）-OH）（3.10 g、98%）を得た。

LCMS（ESI）m/z = 462（M+Na）+

保持時間：2.24分（分析条件SMD method46）

[0269] N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-N-メチル-O-（3,3,3-トリフルオロ-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa71、Fmoc-MeSer（1-CF₃-EtOH）-OH）の合成



窒素雰囲気下、N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3,3,3-トリフルオロ-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa70、Fmoc-Ser（1-CF₃-EtOH）-OH）（1.84 g、4.19 mmol）のジクロロメタン溶液（20.9 mL）にパラホルムアルデヒド（151 mg、5.03 mmol）、無水硫酸マグネシウム（1.26 g、10.5 mmol）、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体（BF₃・OEt₂）（526 μL、4.19 mmol）を加え、室温にて3時間攪拌した。不溶物を除去するため反応液をろ過した後、ジクロロメタン（10 mL）で洗浄した。

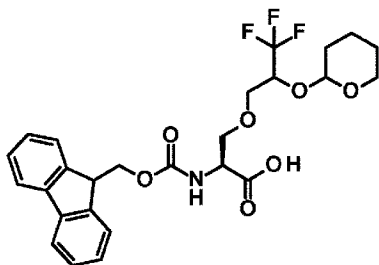
ろ過した反応液にトリエチルシラン（2.0 mL、12.6 mmol）、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体（BF₃・OEt₂）（1.58 mL、12.6 mmol）を加え、室温で30分間攪拌した。反応液を飽

和食塩水で希釈し、ジクロロメタンで抽出した。得られた有機層を減圧濃縮した後、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（0.1%ギ酸水溶液／0.1%ギ酸アセトニトリル溶液）にて精製し、N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-N-メチル-O-（3,3,3-トリフルオロ-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa71、Fmoc-MeSer（1-CF₃-EtOH）-OH）（640 mg、34%）を得た。

LCMS（ESI） m/z = 452 （M-H）-

保持時間：2.33分（分析条件SMD method47）

[0270] N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3,3,3-トリフルオロ-2-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）プロピル）-L-セリン（化合物aa72、Fmoc-Ser（1-CF₃-EtOHP）-OH）の合成



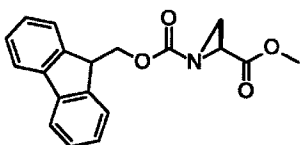
N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3,3,3-トリフルオロ-2-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa70、Fmoc-Ser（1-CF₃-EtOH）-OH）（2.52 g、5.74 mmol）のジクロロメタン溶液（19.12 mL）に3,4-ジヒドロ-2H-ピラン（3.92 mL、43.0 mmol）、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム（0.144 g、0.574 mmol）を加え、40度にて終夜攪拌した。その後、反応液に水を加え、ジクロロメタンにて抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、ろ過し、減圧濃縮により溶媒を除去した。得られた残渣をテトラヒドロフラン（29 mL）に溶解し、1Mのリン酸水溶液（pH=8, 29 mL）を加え50度で3時間攪拌した。反応液を水で

希釈し、酢酸エチルで2回抽出した。有機層を合わせ飽和食塩水にて洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、ろ過し、減圧濃縮により溶媒を除去した。得られた残渣をジクロロメタン（60 mL）とヘプタン（60 mL）に溶解後、ジクロロメタンを減圧濃縮することで油状粗生成物を沈殿させた。ヘプタン溶液をデカンテーションにて除去した。この操作を2度繰り返した。得られた粗生成物を酢酸エチルに溶解し、0.05 Mリン酸水溶液で2回、飽和食塩水で1回洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過後、減圧濃縮しN-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3,3,3-トリフルオロ-2-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）プロピル）-L-セリン（化合物aa72、Fmoc-Ser（1-CF₃-EtOTHP）-OH）（2.89 g、96%）を得た。

LCMS（ESI）m/z = 522（M-H）-

保持時間：1.00分（分析条件SQDAA05-2）

[0271] （S）-アジリジン-1,2-ジカルボン酸2-メチル1-（（9H-フルオレン-9-イル）メチル）（化合物aa73、Fmoc-Azy-OMe）の合成



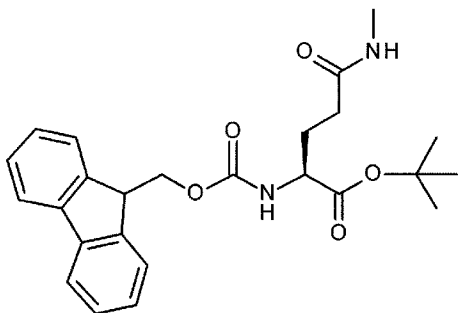
窒素雰囲気下、市販の（S）-1-トリチルアジリジン-2-カルボン酸メチル（Ttt-Azy-OMe）（50 g、145.60 mmol）のクロロホルム／メタノール溶液（145 mL／145 mL）に0度にてトリフルオロ酢酸（33 mL）を滴下しながら加え、反応液を7時間攪拌した。反応液に0度にてN,N-ジイソプロピルエチルアミン（DIP EA）（127 mL）、カルボノクロリド酸（9H-フルオレン-9-イル）メチル（Fmoc-Cl）（36 g、139.16 mmol）の1,4-ジオキサン溶液（145 mL）を滴下しながら加え、反応液を0度に

て1時間30分撹拌した。反応液の溶媒を減圧下留去し、酢酸エチルで希釈した後、水、飽和塩化アンモニウム水溶液で2回、飽和食塩水で2回洗浄した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、減圧下溶媒留去することで得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）で精製することで、（S）-アジリジン-1, 2-ジカルボン酸2-メチル1-（（9H-フルオレン-9-イル）メチル）（化合物aa73、Fmoc-Azy-OMe）（40 g、2工程85%）を得た。

LCMS（ESI） $m/z = 324$ （M+H）+

保持時間：0.86分（分析条件SQDFA05）

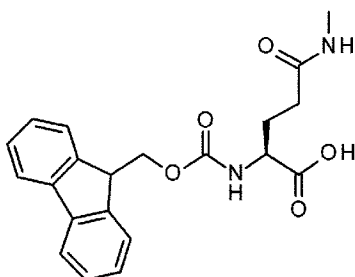
[0272] tert-ブチル N2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-N5-メチル-L-グルタミナート（化合物aa74、Fmoc-Gln（Me）-OtBu）の合成



氷冷下、（S）-4-（（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-5-（tert-ブトキシ）-5-オキソペンタン酸（Fmoc-Glu-OtBu）（20.0 g、47.0 mmol）および1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール（HOAt）（8.8 g）のジメチルホルムアミド（DMF）（300 mL）溶液に、1-（3-ジメチルアミノプロピル）-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（WSC・HCl）（13.5 g）を加え、10分間撹拌した。反応液の温度を5度以下に保ちつつ、2 mol/Lのメチルアミンのテトラヒドロフラン溶液（29.5 mL）を加え、室温で16時間撹拌した。反応液をヘキサン／酢酸エチル（1／1、1400 mL）と塩化アンモニウム水溶液（500

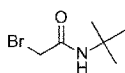
mL) で希釈し、有機層を分離した。有機層を炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧下溶媒留去し、*tert*-ブチル N2-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N5-メチル-L-グルタミナート (化合物 aa74、Fmoc-Gln(Me)-OtBu) (36.2 g) を粗生成物として得た。
LCMS (ESI) $m/z = 439$ (M+H) +
保持時間: 1.05 分 (分析条件 SMD method 23)

[0273] N2-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N5-メチル-L-グルタミン (化合物 aa75、Fmoc-Gln(Me)-OH) の合成



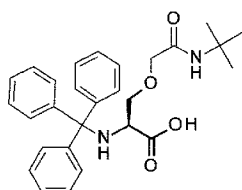
tert-ブチル N2-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N5-メチル-L-グルタミナート (化合物 aa74、Fmoc-Gln(Me)-OtBu) (43.6 g) のジクロロメタン (DCM) (300 mL) 溶液に、氷冷下、トリフルオロ酢酸 (TFA) (300 mL) を滴下し、室温で 16 時間攪拌した。減圧下溶媒留去し、得られた残渣にジエチルエーテルと炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、有機相を分離した。得られた水層を 5 mol/L の塩酸水溶液で pH を 1 から 2 の間に調整し、沈殿した固体をろ取し、N2-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N5-メチル-L-グルタミン (化合物 aa75、Fmoc-Gln(Me)-OH) (26.7 g) を得た。
LCMS (ESI) $m/z = 383$ (M+H) +
保持時間: 1.75 分 (分析条件 SMD method 5)

[0274] 2-ブロモ-N-*tert*-ブチルアセトアミド (化合物 aa76) の合成



窒素雰囲気下、2-ブロモ酢酸（50.0 g、360 mmol）のN，N-ジメチルホルムアミド（80.0 mL）溶液に、2-メチルプロパン-2-アミン（26.7 g、365 mmol）、N-エチルイソプロピルプロパン-2-アミン（DIPPA）（139 g、1.08 mol）およびプロピルホスホン酸無水物（T3P）（229 g、720 mmol）を加え、室温にて2時間攪拌した。反応液に水を加え酢酸エチルで2回抽出し、得られた有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣をヘキサンで洗浄し、2-ブロモ-N-tert-ブチルアセトアミド（化合物aa76、36.5 g）を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

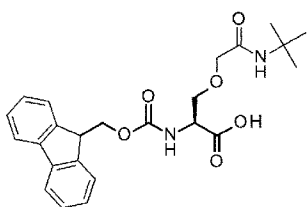
[0275] O-（2-（tert-ブチルアミノ）-2-オキソエチル）-N-トリチル-L-セリン（化合物aa77、Trt-Ser（NtBu-Aca）-OH）の合成



窒素雰囲気下、トリチル-L-セリン（Trt-Ser-OH）のトリエチルアミン塩（1.50 g、4.32 mmol）のジメチルホルムアミド（DMF）（2.00 mL）溶液に、水素化ナトリウム（0.52 g、13.0 mmol、60%オイルディスパーション）を加え、室温で2時間攪拌した。そこへ2-ブロモ-N-tert-ブチルアセトアミド（化合物aa76）（0.96 g）のDMF（1.00 mL）溶液を加え、室温で1時間攪拌した。反応液に水を加え酢酸エチルで2回抽出し、得られた有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、

O- (2- (tert-ブチルアミノ) -2-オキソエチル) -N-トリチル-L-セリン (化合物 aa77、T r t-S e r (N t B u-A c a) -O H) (1.60 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0276] N- (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) -O- (2- (tert-ブチルアミノ) -2-オキソエチル) -L-セリン (化合物 aa78、F m o c-S e r (N t B u-A c a) -O H) の合成



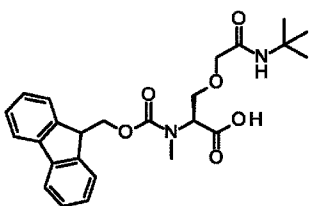
窒素雰囲気下、O- (2- (tert-ブチルアミノ) -2-オキソエチル) -N-トリチル-L-セリン (化合物 aa77、T r t-S e r (N t B u-A c a) -O H) (15.3 g、33.2 mmol) のジクロロメタン (150 mL) / 水 (150 mL) 溶液に、4度にてトリフルオロ酢酸 (11.2 g、99.1 mmol) を加え同温度において2時間攪拌した。水層を分離し、N-エチルイソプロピルプロパン-2-アミン (D I P E A) をpH7になるまで加えた。そこへ1, 4-ジオキサン (150 mL) を加えたのち、N-エチルイソプロピルプロパン-2-アミン (D I P E A) (14.9 g、115 mmol) およびN- (9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ) スクシンイミド (F m o c-O S u) (22.3 g、231 mmol) を加え、25度で16時間攪拌した。反応液に水を加え、ヘキサンで2回洗浄したのち、水層に濃塩酸をpH2になるまで加え、酢酸エチルで2回抽出した。得られた有機層を混合し、飽和食塩水で有機層を洗浄したのち、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し得られた残渣を、逆相カラムクロマトグラフィー (0.1%ギ酸水溶液 / 0.1%ギ酸アセトニトリル溶液) にて精製しN- (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) -O- (2- (tert-ブチルアミノ) -2-オキソエチル) -L-セリン (化合物 aa78、F m

oc-Ser (NtBu-Aca) -OH) (14.2 g, 98%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 441 (M+H) +

保持時間: 1.08分 (分析条件SMD method9)

[0277] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-(tert-ブチルアミノ)-2-オキソエチル)-N-メチル-L-セリン (化合物aa79、Fmoc-MeSer (NtBu-Aca) -OH) の合成

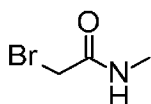


窒素雰囲気下、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-(tert-ブチルアミノ)-2-オキソエチル)-L-セリン (化合物aa78、Fmoc-Ser (NtBu-Aca) -OH) (1.0 g, 2.270 mmol)、パラホルムアルデヒド (203 mg, 6.81 mmol)、((1S, 4R)-7,7-ジメチル-2-オキソビシクロ[2.2.1]ヘプタン-1-イル)メタンスルホン酸 (26 mg, 0.114 mmol) のトルエン溶液 (1.2 mL) を 80度にて1時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルで3回抽出し、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させた後、ろ過、減圧濃縮することで、(S)-4-((2-(tert-ブチルアミノ)-2-オキソエトキシ)メチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸(9H-フルオレン-9-イル)メチル (1.035 g) を粗生成物として得た。

窒素雰囲気下、上述の粗生成物である (S)-4-((2-(tert-ブチルアミノ)-2-オキソエトキシ)メチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸(9H-フルオレン-9-イル)メチル (1.035 g) のジクロロメタン (DCM) 溶液 (2.86 mL) にトリエチルシラ

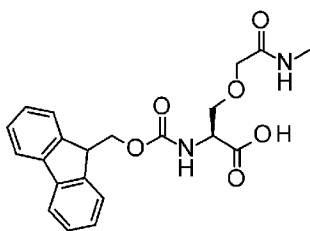
ン (Et_3SiH) (1.096 mL、6.86 mmol) と水 (40 μL) を加え室温にて2分間攪拌した後、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) (0.580 mL、4.57 mmol) を加え、24時間室温にて攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、室温で40分攪拌した後、ジクロロメタン (DCM) で2回抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧濃縮することで得られた残渣にアセトニトリルを加え、ヘキサンで洗浄した。アセトニトリルを減圧下留去することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-(tert-ブチルアミノ)-2-オキソエチル)-N-メチル-L-セリン (化合物 aa79、 $\text{Fmoc-MeSer}(\text{NtBu-Aca})-\text{OH}$) (0.9449 g、2工程92%) を得た
 LCMS (ESI) $m/z = 455$ ($\text{M}+\text{H}$) +
 保持時間: 0.79分 (分析条件 SQDFA05)

[0278] 2-ブロモ-N-メチルアセトアミド (化合物 aa80) の合成



窒素雰囲気下、炭酸カリウム (11.61 g、84 mmol) にジクロロメタン (100 mL) を加えた後、室温にてメチルアミン塩酸塩 (2.84 g、42.0 mmol) を加えた。反応液に0度にて臭化 2-ブロモアセチル (3.47 mL、40 mmol) を滴下しながら加え、室温にて1時間攪拌した。反応液に水 (20 mL) を加え、ジクロロメタンで抽出した後、減圧下濃縮し、オイルポンプで乾燥させ2-ブロモ-N-メチルアセトアミド (化合物 aa80) (5.2 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0279] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-(メチルアミノ)-2-オキソエチル)-L-セリン (化合物 aa81、 $\text{Fmoc-Ser}(\text{NMe-Aca})-\text{OH}$) の合成



窒素雰囲気下、トリチルーL-セリン (T r t -S e r -O H) のトリエチルアミン塩 (1.80 g) のテトラヒドロフラン (T H F) (2.00 mL) 溶液に、1.9 M ナトリウムビス (トリメチルシリル) アミド (N a H M D S) の T H F 溶液 (4.86 mL、9.23 mmol) を 0 度にて加え、15 分間攪拌した。反応液に 2-ブロモ-N-メチルアセトアミド (化合物 a a 8 0) (1.22 g) の T H F (2.00 mL) 溶液を 0 度にて加え、室温で 15 分間攪拌した。反応液を酢酸エチル (300 mL)、水 (60 mL)、1 N 塩酸水溶液 (4.8 mL) の混合液に加え、得られた有機層を減圧下留去し粗生成物を得た。また、窒素雰囲気下、トリチルーL-セリン (T r t -S e r -O H) のトリエチルアミン塩 (1.80 g) のテトラヒドロフラン (T H F) (2.00 mL) 溶液に、1.9 M ナトリウムビス (トリメチルシリル) アミド (N a H M D S) の T H F 溶液 (4.65 mL、8.83 mmol) を 0 度にて加え、15 分間攪拌した。反応液に 2-ブロモ-N-メチルアセトアミド (化合物 a a 8 0) (1.22 g) の T H F (2.00 mL) 溶液を 0 度にて加え、室温で 15 分間攪拌した。反応液を酢酸エチル (300 mL)、水 (60 mL)、1 N 塩酸水溶液 (4.8 mL) の混合液に加え、得られた有機層を減圧下留去し粗生成物を得た。上記 2 つの粗生成物を合わせて、逆相カラムクロマトグラフィー (0.1 % ギ酸水溶液 / 0.1 % ギ酸アセトニトリル溶液) にて精製し、O- (2- (メチルアミノ) -2-オキソエチル) -N-トリチルーL-セリン (T r t -S e r (N M e -A c a) -O H) (2.5 g) を得た。

得られた O- (2- (メチルアミノ) -2-オキソエチル) -N-トリチルーL-セリン (T r t -S e r (N M e -A c a) -O H) (2.4 g

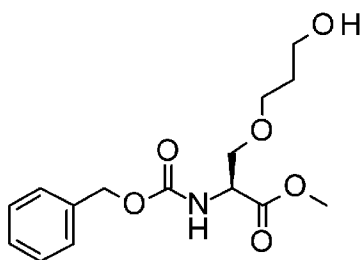
、5.73 mmol) のジクロロメタン (DCM) 溶液 (2.87 mL) にトリフルオロ酢酸 (TFA) (1.325 mL、17.20 mmol) を0度にて加え、30分間攪拌した。反応液に水 (2.87 mL) を加え、得られた水層を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) で精製することで、O-(2-(メチルアミノ)-2-オキソエチル)-L-セリン (H-Ser (NtBu-Aca)-OH) (900 mg) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

得られた粗生成物であるO-(2-(メチルアミノ)-2-オキソエチル)-L-セリン (H-Ser (NtBu-Aca)-OH) (900 mg) に水 (4.2 mL)、N-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン (DIPPA) (2.231 mL、12.77 mmol) の1,4-ジオキサン溶液 (14.0 mL) を室温にて加えた後、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ) スクシンイミド (Fmoc-OSu) (1.723 g、5.11 mmol) を室温にて加え、30分間攪拌した。反応液を酢酸エチル (150 mL)、水 (30 mL)、1N塩酸水溶液 (3.0 mL) の混合液に加え、得られた有機層を減圧下留去した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製し、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-(メチルアミノ)-2-オキソエチル)-L-セリン (化合物 aa81、Fmoc-Ser (NMe-Aca)-OH) (1.8 g) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 399$ (M+H) +

保持時間: 0.63分 (分析条件SQDFA05)

[0280] メチル N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシプロピル)-L-セリナート (化合物 aa82、Cbz-Ser (nPrOH)-OMe) の合成

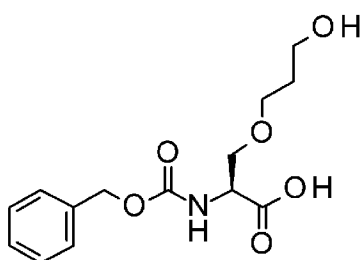


窒素雰囲気下、市販の (S) -アジリジン-1, 2-ジカルボン酸 2-メチル 1-ベンジル (Cbz-Azy-OMe) (500 mg、2.125 mmol) およびプロパン-1, 3-ジオール (810 mg、10.645 mmol) をジクロロメタン (10 mL) に溶解し 0 度に冷却したのち、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) (46 mg、0.324 mmol) を加えて 0 度で 4 時間攪拌した。反応液にジクロロメタンを加え、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製し、メチル N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシプロピル)-L-セリナート (化合物 aa82、Cbz-Ser(nPrOH)-OMe) (390 mg、59%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 334 ($\text{M} + \text{Na}$) +

保持時間: 1.09 分 (分析条件 SMD method 13)

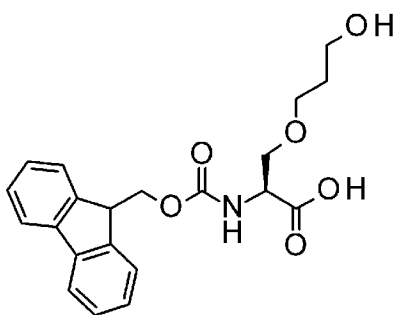
[0281] N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシプロピル)-L-セリン (化合物 aa83、Cbz-Ser(nPrOH)-OH) の合成



窒素雰囲気下、水酸化リチウム (3.14 g、131.049 mmol)、塩化カルシウム (54.54 g、491.434 mmol) に水

(134 mL)、2-プロパノール(538 mL)を室温にて加え、攪拌した後、メチル N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシプロピル)-L-セリナート(化合物aa82、Cbz-Ser(nPrOH)-OMe)(10.2 g、32.762 mmol)のテトラヒドロフラン溶液(134 mL)を室温にて加え、5時間攪拌した。反応液に6N塩酸水溶液をpH3になるまで加え、有機溶媒を減圧下除去した後、水層を酢酸エチルで抽出した。得られ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させ、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシプロピル)-L-セリン(化合物aa83、Cbz-Ser(nPrOH)-OH)(10.6 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0282] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシプロピル)-L-セリン(化合物aa84、Fmoc-Ser(nPrOH)-OH)の合成



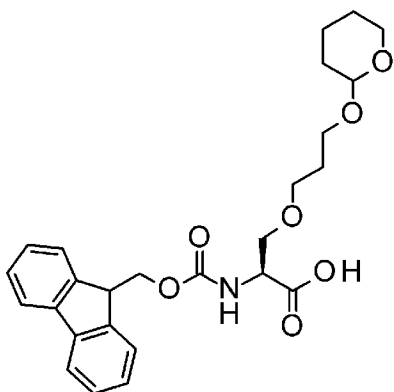
水素雰囲気下(～3 atm)、上述のように得た粗生成物であるN-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシプロピル)-L-セリン(化合物aa83、Cbz-Ser(nPrOH)-OH)(13 g)、10%パラジウム炭素(4.65 g)、メタノール(130 mL)の混合物を室温で16時間攪拌した。反応液をろ過した後、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を酢酸エチルで再結晶することで、O-(3-ヒドロキシプロピル)-L-セリン(H-Ser(nPrOH)-OH)(5.5 g、2工程78%)を得た。

窒素雰囲気下、O-（3-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（H-Ser(nPrOH)-OH）（5.5 g、33.707 mmol）、炭酸水素ナトリウム（8.6 g、102 mmol）の水／1,4-ジオキサン（50 mL／130 mL）溶液にN-（9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ）スクシンイミド（Fmoc-OSu）（11.94 g、35.396 mmol）を室温にて加え、4時間攪拌した。反応液に水を加え、t-ブチルメチルエーテルで2回洗浄した後、水層のpHが3になるまで6N塩酸水溶液を加え、t-ブチルメチルエーテルで抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過後、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させた。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製し、N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa84、Fmoc-Ser(nPrOH)-OH）（8 g、67%）を得た。

LCMS（ESI） m/z = 386 （M+H）+

保持時間：0.61分（分析条件SMD method50）

[0283] N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）プロピル）-L-セリン（化合物aa85、Fmoc-Ser(nPrOTHP)-OH）の合成



窒素雰囲気下、N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（3-ヒドロキシプロピル）-L-セリン（化合物aa84

、Fmoc-Ser(nPrOH)-OH (1 g、2.595 mmol) と 3,4-ジヒドロ-2H-ピラン (1.5 g、17.83 mmol) のテトラヒドロフラン (5 mL) 溶液に、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム (PPTS) (32.6 mg、0.130 mmol) を加え、50度にて4時間攪拌した。反応液を冷却し、t-ブチルメチルエーテルを加え、飽和食塩水で洗浄した後、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。溶媒を減圧下留去することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン (化合物aa85、Fmoc-Ser(nPrOTHP)-OH) とテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリナート (Fmoc-Ser(nPrOTHP)-OTHP) (1.5 g) を混合物として得た。

上述のようにして得たN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン (化合物aa85、Fmoc-Ser(nPrOTHP)-OH) とテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリナート (Fmoc-Ser(nPrOTHP)-OTHP) の混合物 (1.5 g) にテトラヒドロフラン (8 mL)、1Mリン酸緩衝液 (8 mL、pH 8.0) を加え、50度で3時間攪拌した。反応液を冷却し、t-ブチルメチルエーテルを加え、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をジエチルエーテル/ヘプタンで再結晶することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン (化合物aa85、Fmo

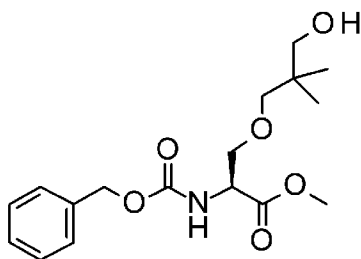
c-Ser (nPrOTHP) -OH) をナトリウム塩 (1 g) として得た。

上述のようにして得た N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン (化合物 aa85、Fmoc-Ser (nPrOTHP) -OH) のナトリウム塩 (5 g) に t-ブチルメチルエーテル (100 mL)、0.05Mリン酸水溶液 (250 mL) を加え、室温で5分間攪拌した。反応液を t-ブチルメチルエーテルで2回抽出した後、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。溶媒を減圧下留去することで、粗生成物として N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン (化合物 aa85、Fmoc-Ser (nPrOTHP) -OH) (4.9 g) を得た。これをさらなる精製をすることなくペプチド合成に用いた。

LCMS (ESI) m/z = 468 (M-H) -

保持時間: 0.84分 (分析条件 SQDFA05)

[0284] メチル N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-O-(3-ヒドロキシ-2,2-ジメチルプロピル)-L-セリナート (化合物 aa86、Cbz-Ser (2-Me2-PrOH) -OMe) の合成



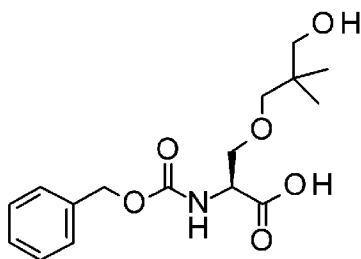
窒素雰囲気下、市販の (S)-アジリジン-1,2-ジカルボン酸 2-メチル 1-ベンジル (Cbz-Azy-OMe) (30 g、127.53 mmol) および 2,2-ジメチルプロパン-1,3-ジオール (26.56 g、255.06 mmol) をジクロロメタン (400 mL) に溶解し、0度に冷却した後、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (BF₃ · E

t₂O) (2.72 g、19.129 mmol) を滴下しながら加え1時間攪拌した。反応液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄した後、得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行い、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製し、メチル N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-O-（3-ヒドロキシ-2,2-ジメチルプロピル）-L-セリナート（化合物aa86、Cbz-Ser（2-Me₂-PrOH）-OMe）（26.7 g、62%）を得た。

LCMS (ESI) m/z = 326 (M+H) +

保持時間：1.12分（分析条件SMD method13）

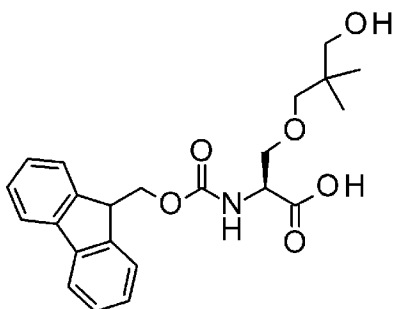
[0285] N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-O-（3-ヒドロキシ-2,2-ジメチルプロピル）-L-セリン（化合物aa87、Cbz-Ser（2-Me₂-PrOH）-OH）の合成



窒素雰囲気下、水酸化リチウムの1水和物（13.16 g、313.505 mmol）、塩化カルシウム（130.48 g、1175.646 mmol）に水（260 mL）、2-プロパノール（1050 mL）を室温にて加え、攪拌した後、メチル N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-O-（3-ヒドロキシ-2,2-ジメチルプロピル）-L-セリナート（化合物aa86、Cbz-Ser（2-Me₂-PrOH）-OMe）（26.6 g、78.376 mmol）のテトラヒドロフラン溶液（260 mL）を室温にて加え、2時間攪拌した。反応液に6N塩酸水溶液をpH3になるまで加え、有機溶媒を減圧下除去した後、水層を酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過を行い、得られた溶媒を減圧下留去することで、N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）

ル)－O－(3－ヒドロキシ－2, 2－ジメチルプロピル)－L－セリン(化合物 a a 8 7、C b z－S e r (2－M e 2－P r O H)－O H) (25. 0 g) を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0286] N－((9H－フルオレン－9－イル)メトキシ)カルボニル)－O－(3－ヒドロキシ－2, 2－ジメチルプロピル)－L－セリン(化合物 a a 8 8、F m o c－S e r (2－M e 2－P r O H)－O H) の合成



水素雰囲気下(～3 a t m)、上述のように得た粗生成物であるN－(ベンジルオキシ)カルボニル)－O－(3－ヒドロキシ－2, 2－ジメチルプロピル)－L－セリン(化合物 a a 8 7、C b z－S e r (2－M e 2－P r O H)－O H) (25. 0 g)、10% パラジウム炭素(5 g、20% w/w)、メタノール(250 m L)の混合物を室温で16時間攪拌した。反応液をろ過した後、溶媒を減圧下留去し、得られた固体を酢酸エチルで3回洗浄することで、O－(3－ヒドロキシ－2, 2－ジメチルプロピル)－L－セリン(H－S e r (2－M e 2－P r O H)－O H) (13. 1 g、2工程87%)を得た。

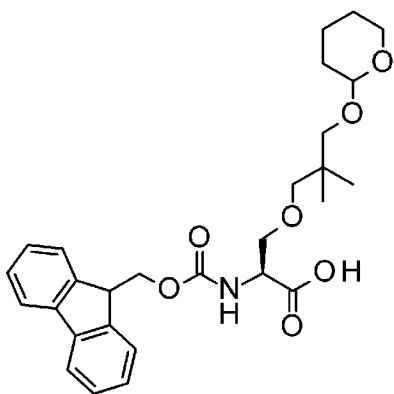
窒素雰囲気下、O－(3－ヒドロキシ－2, 2－ジメチルプロピル)－L－セリン(H－S e r (2－M e 2－P r O H)－O H) (13 g、67. 982 m m o l)、炭酸水素ナトリウム(17. 13 g、203. 946 m m o l)の水/1, 4－ジオキサン(260 m L/104 m L)溶液にN－(9－フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド(F m o c－O S u) (24. 08 g、71. 381 m m o l)を室温にて加え、2時間攪拌した。反応液に水を加え、t－ブチルメチルエーテ

ルで2回洗浄した後、水層に6 N塩酸水溶液をpH 3になるまで加え、*t*-ブチルメチルエーテルで抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過後、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させた。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製し、*N*-（（（9*H*-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-*O*-（3-ヒドロキシ-2,2-ジメチルプロピル）-*L*-セリン（化合物aa88、*Fmoc*-*Ser*（2-*Me*2-*PrOH*）-*OH*）（26.5 g、94%）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 414$ ($M+H$) +

保持時間：1.44分（分析条件SMD method 51）

[0287] *N*-（（（9*H*-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-*O*-（2,2-ジメチル-3-（（テトラヒドロ-2*H*-ピラン-2-イル）オキシ）プロピル）-*L*-セリン（化合物aa89、*Fmoc*-*Ser*（2-*Me*2-*PrOTHP*）-*OH*）の合成



窒素雰囲気下、*N*-（（（9*H*-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-*O*-（3-ヒドロキシ-2,2-ジメチルプロピル）-*L*-セリン（化合物aa88、*Fmoc*-*Ser*（2-*Me*2-*PrOH*）-*OH*）（20 g、48.371 mmol）と3,4-ジヒドロ-2*H*-ピラン（28.48 g、338.598 mmol）のテトラヒドロフラン（161 mL）溶液に、*p*-トルエンスルホン酸ピリジニウム（PPTS）（607.79 mg、2.419 mmol）を加え、50度にて3時間攪拌した。反応液を冷却し、*t*-ブチルメチルエーテルを加え、飽和食塩水で

洗浄した後、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。溶媒を減圧下留去することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2,2-ジメチル-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa89、Fmoc-Ser(2-Me2-PrOTHP)-OH)とテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2,2-ジメチル-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリナート(Fmoc-Ser(2-Me2-PrOTHP)-OTHP)を混合物として得た。

上述のようにして得たN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2,2-ジメチル-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa89、Fmoc-Ser(2-Me2-PrOTHP)-OH)とテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2,2-ジメチル-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリナート(Fmoc-Ser(2-Me2-PrOTHP)-OTHP)の混合物にテトラヒドロフラン(161 mL)、1Mリン酸緩衝液(161 mL、pH 8.0)を加え、50度で3時間攪拌した。反応液を冷却し、t-ブチルメチルエーテルを加え、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をジエチルエーテル/ヘプタンで再結晶することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2,2-ジメチル-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa89、Fmoc-Ser(2-Me2-PrOTHP)-OH)をナトリウム塩(17.1 g)として得た。

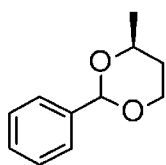
上述のようにして得たN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2,2-ジメチル-3-((テトラヒドロ-2H-

ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa89、Fmoc-Ser(2-Me2-PrOTHP)-OH)のナトリウム塩(8 g)にt-ブチルメチルエーテル(120 mL)、0.05Mリン酸水溶液(350 mL)を加え、室温で5分間攪拌した。反応液をt-ブチルメチルエーテルで抽出し、飽和食塩水で2回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。溶媒を減圧下留去することで、粗生成物としてN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2,2-ジメチル-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)プロピル)-L-セリン(化合物aa89、Fmoc-Ser(2-Me2-PrOTHP)-OH)(7 g)を得た。これをさらなる精製をすることなくペプチド合成に用いた。

LCMS(ESI) m/z = 496 (M-H) -

保持時間: 0.97分(分析条件 SQDFA05)

[0288] (4S)-4-メチル-2-フェニル-1,3-ジオキサン(化合物aa90)の合成



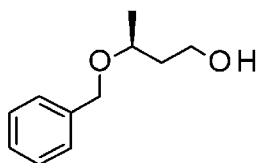
窒素雰囲気下、(S)-ブタン-1,3-ジオール(25 g、277.407 mmol、CAS#24621-61-2)と(ジメトキシメチル)ベンゼン(63.37 g、416.688 mmol)のクロロホルム(CHCl_3)溶液(210 mL)に0度にてp-トルエンスルホン酸(TsOH)(2.64 g、13.880 mmol)を加え、室温にて16時間攪拌した。反応液にジクロロメタンを加え、炭酸ナトリウム水溶液、水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行い、減圧下溶媒留去した。得られた残渣をエタノール(EtOH)(135 mL)に溶解し、水素化ホウ素ナトリウム(NaBH_4)(5.25 g、138.778 mmol)を加え、室温で30分間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム

水溶液（210 mL）を加え、室温で2時間攪拌した後、酢酸エチルを加えて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた後、ろ過を行い、減圧下溶媒留去した。得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）で精製し、（4S）-4-メチル-2-フェニル-1,3-ジオキサン（化合物aa90）（42.7 g、86%）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 179$ (M+H) +

保持時間：1.26分（分析条件SMD method13）

[0289] （S）-3-（ベンジルオキシ）ブタン-1-オール（化合物aa91）の合成



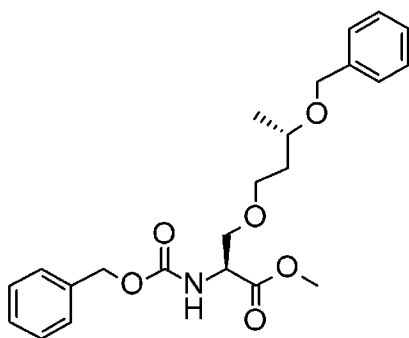
窒素雰囲気下、上述のようにして得た（4S）-4-メチル-2-フェニル-1,3-ジオキサン（化合物aa90）（35 g、196.629 mmol）のジクロロメタン溶液（960 mL）に-50度にて1M 水素化ジイソブチルアルミニウム（DIBAL）のヘキサン溶液（390 mL、390 mmol）を滴下しながら加えた。反応液を-50度で30分間攪拌した後、室温でさらに2時間攪拌した。反応液にメタノール（MeOH）を-30度で加え、反応を停止させた後、水を加えた。反応液がpH=2になるまで6N塩酸水溶液を加えた後、ジクロロメタンで抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。減圧下溶媒を留去し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）で精製し、（S）-3-（ベンジルオキシ）ブタン-1-オール（化合物aa91）（21.6 g、61%）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 181$ (M+H) +

保持時間：1.16分（分析条件SMD method13）

[0290] メチル O-（（S）-3-（ベンジルオキシ）ブチル）-N-（（ベンジ

ルオキシ)カルボニル)－L－セリナート(化合物aa92、Cbz－Ser(S－2－BuOBn)－OMe)の合成

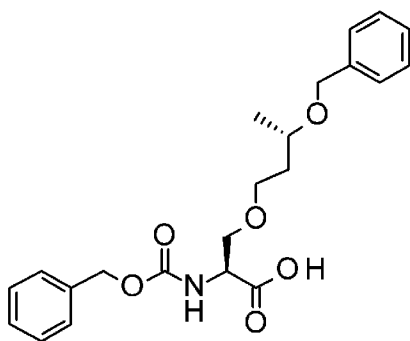


窒素雰囲気下、(S)－アジリジン－1, 2－ジカルボン酸2－メチル1－ベンジル(Cbz－Aziy－OMe)(18.8 g、80.0 mmol)および上述のようにして得た(S)－3－(ベンジルオキシ)ブタン－1－オール(化合物aa91)(21.6 g、120 mmol)をジクロロメタン(190 mL)に溶解し、0度にて三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体(BF₃・Et₂O)(1.51 mL、11.976 mmol)を加えて室温で2時間攪拌した。反応液にジクロロメタンを加え、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー(水／アセトニトリル)にて精製し、メチル O－((S)－3－(ベンジルオキシ)ブチル)－N－((ベンジルオキシ)カルボニル)－L－セリナート(化合物aa92、Cbz－Ser(S－2－BuOBn)－OMe)(15 g、30%)を得た。

LCMS(ESI) m/z = 416 (M+H) +

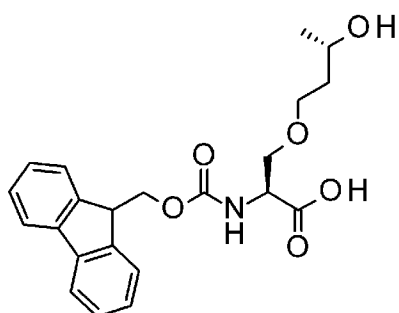
保持時間：1.39分(分析条件SMD method13)

[0291] O－((S)－3－(ベンジルオキシ)ブチル)－N－((ベンジルオキシ)カルボニル)－L－セリン(化合物aa93、Cbz－Ser(S－2－BuOBn)－OH)の合成



窒素雰囲気下、水酸化リチウムの1水和物（6.1 g、145.238 mmol）、塩化カルシウム（60.2 g、542.342 mmol）に水（155 mL）、2-プロパノール（615 mL）を室温にて加え、攪拌した後、上述のようにして得たメチル O-（（S）-3-（ベンジルオキシ）ブチル）-N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-L-セリナート（化合物 aa92、Cbz-Ser（S-2-BuOBn）-OMe）（15 g、36.144 mmol）のテトラヒドロフラン溶液（155 mL）を室温にて加えた。反応液を室温にて5時間攪拌した後、反応液のpHが3になるまで、6N塩酸水溶液を加えた。有機溶媒を減圧下除去した後、水層を酢酸エチルで抽出した。得られ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、ろ過を行った後、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、O-（（S）-3-（ベンジルオキシ）ブチル）-N-（（ベンジルオキシ）カルボニル）-L-セリン（化合物 aa93、Cbz-Ser（S-2-BuOBn）-OH）（16.5 g）を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0292] N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（（S）-3-ヒドロキシブチル）-L-セリン（化合物 aa94、Fmoc-Ser（S-2-BuOH）-OH）の合成



水素雰囲気下（～ 3 atm）、上述のように得た粗生成物である $O - ((S) - 3 - (\text{ベンジルオキシ}) \text{ブチル}) - N - ((\text{ベンジルオキシ}) \text{カルボニル}) - L - \text{セリン}$ （化合物 **aa93**、 $\text{Cbz-Ser}(S-2-\text{BuOBn})-\text{OH}$ ）（16.5 g）、10% パラジウム炭素（8.25 g、50% w/w）、メタノール（280 mL）の混合物を室温で16時間攪拌した。反応液をろ過した後、溶媒を減圧下留去し、得られた固体を酢酸エチルで3回洗浄することで、 $O - ((S) - 3 - \text{ヒドロキシブチル}) - L - \text{セリン}$ （ $\text{H-Ser}(S-2-\text{BuOH})-\text{OH}$ ）（5.85 g）を得た。

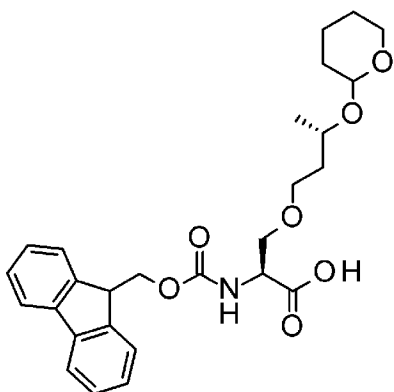
窒素雰囲気下、上述のようにして得た $O - ((S) - 3 - \text{ヒドロキシブチル}) - L - \text{セリン}$ （ $\text{H-Ser}(S-2-\text{BuOH})-\text{OH}$ ）（5.85 g、33.03 mmol）、炭酸水素ナトリウム（8.30 g、98.81 mmol）の水／1，4-ジオキサン（135 mL／55 mL）溶液に $N - (9\text{-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ}) \text{スクシンイミド}$ （ Fmoc-OSu ）（11.7 g、34.6815 mmol）を室温にて加え、2時間攪拌した。反応液に水を加え、 t -ブチルメチルエーテルで2回洗浄した後、水層のpHが3になるまで6N塩酸水溶液を加え、 t -ブチルメチルエーテルで抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過後、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させた。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製し、 $N - ((9\text{H-フルオレン-9-イル}) \text{メトキシ}) \text{カルボニル} - O - ((S) - 3 - \text{ヒドロキシブチル}) - L - \text{セリン}$ （化合物 **aa94**、 $\text{Fmoc-Ser}(S-2-\text{BuOH})-\text{OH}$ ）（8.1 g、61%）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 400 \quad (M+H)^+$

保持時間：1.21分（分析条件 **SMD method13**）

[0293] $N - ((9\text{H-フルオレン-9-イル}) \text{メトキシ}) \text{カルボニル} - O - ((3S) - 3 - ((\text{テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル}) \text{オキシ}) \text{ブチル})$

ル) -L-セリン (化合物 a a 9 5、F m o c - S e r (S - 2 - B u O T H P) - O H) の合成



窒素雰囲気下、上述のようにして得たN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((S)-3-ヒドロキシブチル)-L-セリン (化合物 a a 9 4、F m o c - S e r (S - 2 - B u O H) - O H) (8.10 g、20.292 mmol) と3,4-ジヒドロ-2H-ピラン (11.94 g、141.94 mmol) のテトラヒドロフラン (90 mL) 溶液に、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム (PPTS) (255 mg、1.014 mmol) を加え、50度にて3時間攪拌した。反応液を冷却し、t-ブチルメチルエーテルを加え、飽和食塩水で洗浄した後、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。溶媒を減圧下留去することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3S)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリン (化合物 a a 9 5、F m o c - S e r (S - 2 - B u O T H P) - O H) とテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3S)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリナート (F m o c - S e r (S - 2 - B u O T H P) - O T H P) を混合物として得た。

上述のようにして得たN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3S)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリン (化合物 a a 9 5、F m o c - S

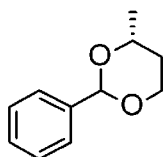
er (S-2-BuOTHP)-OH) とテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル N-((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル)-O-((3S)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) ブチル)-L-セリナート (Fmoc-Ser (S-2-BuOTHP)-OTHP) の混合物にテトラヒドロフラン (90 mL)、1 Mリン酸緩衝液 (90 mL、pH 8.0) を加え、50度で3時間攪拌した。反応液を冷却し、t-ブチルメチルエーテルを加え、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をジエチルエーテル/ヘプタンで再結晶することで、N-((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル)-O-((3S)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) ブチル)-L-セリン (化合物 aa95、Fmoc-Ser (S-2-BuOTHP)-OH) をナトリウム塩 (7.4 g) として得た。

上述のようにして得た N-((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル)-O-((3S)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) ブチル)-L-セリン (化合物 aa95、Fmoc-Ser (S-2-BuOTHP)-OH) のナトリウム塩 (7.4 g) に t-ブチルメチルエーテル (130 mL)、0.05 Mリン酸水溶液 (360 mL) を加え、室温で5分間攪拌した。反応液を t-ブチルメチルエーテルで抽出し、飽和食塩水で2回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。溶媒を減圧下留去することで、粗生成物として N-((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル)-O-((3S)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) ブチル)-L-セリン (化合物 aa95、Fmoc-Ser (S-2-BuOTHP)-OH) (6.9 g) を得た。これをさらなる精製をすることなくペプチド合成に用いた。

LCMS (ESI) m/z = 482 (M-H) -

保持時間: 0.87分、0.88分 (分析条件 SQDFA05)

[0294] (4R)-4-メチル-2-フェニル-1,3-ジオキサン (化合物 a a 9 6) の合成

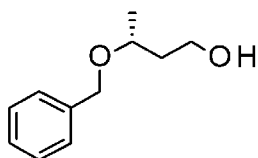


窒素雰囲気下、(R)-ブタン-1,3-ジオール (20 g、221.921 mmol、CAS# 6290-03-5) と (ジメトキシメチル)ベンゼン (50.66 g、332.867 mmol) のクロロホルム (CHCl_3) 溶液 (200 mL) に0度にてp-トルエンスルホン酸 (TsOH) (1.91 g、11.096 mmol) を加え、室温にて16時間攪拌した。反応液にジクロロメタンを加え、炭酸ナトリウム水溶液、水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行い、減圧下溶媒留去した。得られた残渣をエタノール (EtOH) (13 mL) に溶解し、水素化ホウ素ナトリウム (NaBH_4) (4.20 g、110.961 mmol) を加え、室温で30分間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (13 mL) を加え、室温で2時間攪拌した後、酢酸エチルを加えて抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた後、ろ過を行い、減圧下溶媒留去した。得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) で精製し、(4R)-4-メチル-2-フェニル-1,3-ジオキサン (化合物 a a 9 6) (25 g、63%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 179$ ($\text{M}+\text{H}$) +

保持時間: 1.29分 (分析条件 SMD method 13)

[0295] (R)-3-(ベンジルオキシ)ブタン-1-オール (化合物 a a 9 7) の合成

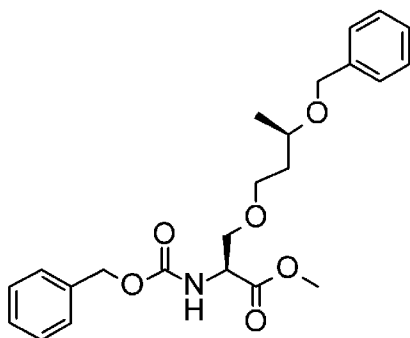


窒素雰囲気下、上述のようにして得た (4R)-4-メチル-2-フェニル-1,3-ジオキサン (化合物 a a 96) (20 g、112.36 mmol) のジクロロメタン溶液 (561 mL) に -50 度にて 1M 水素化ジイソブチルアルミニウム (DIBAL) のヘキサン溶液 (225 mL、225 mmol) を滴下しながら加えた。反応液を -50 度で 30 分間攪拌した後、室温でさらに 2 時間攪拌した。反応液にメタノール (MeOH) を -30 度で加え、反応を停止させた後、水を加えた。反応液が pH = 2 になるまで 6N 塩酸水溶液を加えた後、ジクロロメタンで抽出し、得られ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、ろ過を行った。減圧下溶媒を留去し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) で精製し、(R)-3-(ベンジルオキシ)ブタン-1-オール (化合物 a a 97) (16.6 g、82%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 181$ (M+H) +

保持時間: 1.11 分 (分析条件 SMD method 13)

[0296] メチル O-((R)-3-(ベンジルオキシ)ブチル)-N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-L-セリナート (化合物 a a 98、Cbz-Ser (R-2-BuOBn)-OMe) の合成



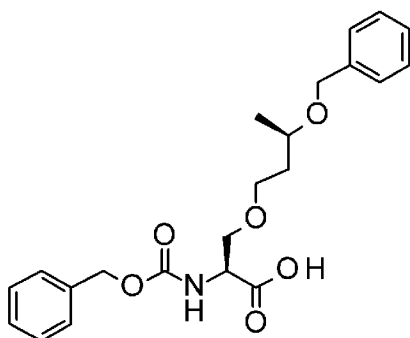
窒素雰囲気下、(S)-アジリジン-1,2-ジカルボン酸 2-メチル 1-ベンジル (Cbz-Azy-OMe) (14.4 g、61.481 mmol) および上述のようにして得た (R)-3-(ベンジルオキシ)ブタン-1-オール (化合物 a a 97) (16.6 g、92.2 mmol) をジクロロメタン (145 mL) に溶解し、0 度にて三フッ化ホウ素ジエ

チルエーテル錯体 ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) (1.31 g、9.222 mmol) を滴下しながら加えて、室温で2時間攪拌した。反応液にジクロロメタンを加え、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と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、ろ過を行った後、溶媒を減圧下留去し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製し、メチル $\text{O}-(\text{R})-3-(\text{ベンジルオキシ})\text{ブチル}-\text{N}-(\text{ベンジルオキシ})\text{カルボニル}-\text{L}-\text{セリナート}$ (化合物 aa98、 $\text{Cbz-Ser}(\text{R}-2-\text{BuOBn})-\text{OMe}$) (13.4 g、52%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 416$ ($\text{M}+\text{H}$) +

保持時間: 1.42分 (分析条件 SMD method 13)

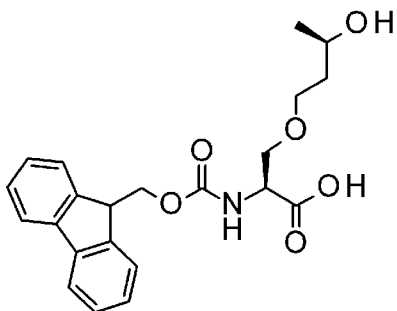
[0297] $\text{O}-(\text{R})-3-(\text{ベンジルオキシ})\text{ブチル}-\text{N}-(\text{ベンジルオキシ})\text{カルボニル}-\text{L}-\text{セリン}$ (化合物 aa99、 $\text{Cbz-Ser}(\text{R}-2-\text{BuOBn})-\text{OH}$) の合成



窒素雰囲気下、水酸化リチウムの1水和物 (5.41 g、128.92 mmol)、塩化カルシウム (53.69 g、483.771 mmol) に水 (134 mL)、2-プロパノール (538 mL) を室温にて加え、攪拌した後、上述のようにして得たメチル $\text{O}-(\text{R})-3-(\text{ベンジルオキシ})\text{ブチル}-\text{N}-(\text{ベンジルオキシ})\text{カルボニル}-\text{L}-\text{セリナート}$ (化合物 aa98、 $\text{Cbz-Ser}(\text{R}-2-\text{BuOBn})-\text{OMe}$) (13.4 g、32.251 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (134 mL) を室温にて加えた。反応液を室温にて5時間攪拌した後、

反応液のpHが3になるまで6N塩酸水溶液を加えた。有機溶媒を減圧下除去した後、水層を酢酸エチルで抽出した。得られ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、ろ過を行った後、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させ、O-((R)-3-(ベンジルオキシ)ブチル)-N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-L-セリン(化合物aa99、Cbz-Ser(R-2-BuOBn)-OH)(13.6 g)を粗生成物として得た。これを精製することなく次工程に用いた。

[0298] N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((R)-3-ヒドロキシブチル)-L-セリン(化合物aa100、Fmoc-Ser(R-2-BuOH)-OH)の合成



水素雰囲気下(～ 3 atm)、上述のように得た粗生成物であるO-((R)-3-(ベンジルオキシ)ブチル)-N-((ベンジルオキシ)カルボニル)-L-セリン(化合物aa99、Cbz-Ser(R-2-BuOBn)-OH)(13.6 g)、10%パラジウム炭素(5.44 g)、メタノール(270 mL)の混合物を室温で16時間攪拌した。反応液をろ過した後、溶媒を減圧下留去し、得られた固体を酢酸エチルで3回洗浄することで、O-((R)-3-ヒドロキシブチル)-L-セリン(H-Ser(R-2-BuOH)-OH)(5.3 g、2工程93%)を得た。

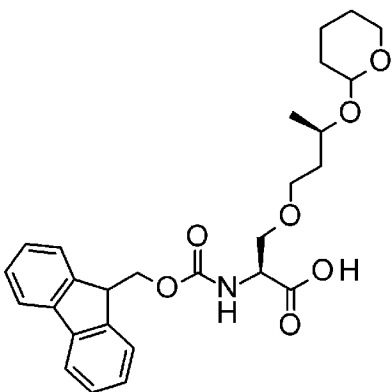
窒素雰囲気下、上述のようにして得たO-((R)-3-ヒドロキシブチル)-L-セリン(H-Ser(R-2-BuOH)-OH)(5.3 g、29.91 mmol)、炭酸水素ナトリウム(7.54 g、89.73 mmol)の水/1,4-ジオキサン(134 mL/57 mL)溶

液にN-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド (Fmoc-OSu) (10.58 g、31.405 mmol) を室温にて加え、2時間攪拌した。反応液に水を加え、t-ブチルメチルエーテルで2回洗浄した後、水層のpHが3になるまで6N塩酸水溶液を加え、t-ブチルメチルエーテルで抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過後、溶媒を減圧下留去し、さらに減圧ポンプで減圧下乾燥させた。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製し、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル-O-((R)-3-ヒドロキシブチル)-L-セリン (化合物aa100、Fmoc-Ser(R-2-BuOH)-OH) (7.4 g、62%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 400$ (M+H) +

保持時間: 1.20分 (分析条件SMD method13)

[0299] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル-O-((3R)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリン (化合物aa101、Fmoc-Ser(R-2-BuOTHP)-OH) の合成



窒素雰囲気下、上述のようにして得たN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル-O-((R)-3-ヒドロキシブチル)-L-セリン (化合物aa100、Fmoc-Ser(R-2-BuOH)-OH) (8.90 g、22.281 mmol) と3,4-ジヒドロ-2H-ピラン (13.12 g、155.971 mmol) のテトラヒドロ

フラン (74 mL) 溶液に、p-トルエンスルホン酸ピリジニウム (PPTS) (280 mg、1.114 mmol) を加え、50度にて3時間攪拌した。反応液を冷却し、t-ブチルメチルエーテルを加え、飽和食塩水で洗浄した後、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。溶媒を減圧下留去することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3R)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリン (化合物aa101、Fmoc-Ser(R-2-BuOTHP)-OH) とテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3R)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリナート (Fmoc-Ser(R-2-BuOTHP)-OTHP) を混合物として得た。

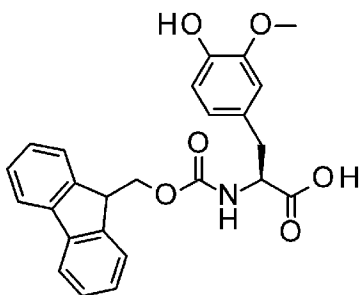
上述のようにして得たN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3R)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリン (化合物aa101、Fmoc-Ser(R-2-BuOTHP)-OH) とテトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3R)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリナート (Fmoc-Ser(R-2-BuOTHP)-OTHP) の混合物にテトラヒドロフラン (74 mL)、1Mリン酸緩衝液 (74 mL、pH 8.0) を加え、50度で3時間攪拌した。反応液を冷却し、t-ブチルメチルエーテルを加え、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をジエチルエーテル/ヘプタンで再結晶することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3R)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリン (化合物aa101、Fmoc-Ser(R-2-BuOTHP)-OH) をナトリウム塩 (10.2 g) として得た。

上述のようにして得たN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3R)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリン(化合物aa101、Fmoc-Ser(R-2-BuOTHP)-OH)のナトリウム塩(10 g)にt-ブチルメチルエーテル(160 mL)、0.05Mリン酸水溶液(440 mL)を加え、室温で5分間攪拌した。反応液をt-ブチルメチルエーテルで抽出し、飽和食塩水で2回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。溶媒を減圧下留去することで、粗生成物としてN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((3R)-3-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)ブチル)-L-セリン(化合物aa101、Fmoc-Ser(R-2-BuOTHP)-OH)(8.8 g)を得た。これをさらなる精製をすることなくペプチド合成に用いた。

LCMS(ESI) m/z = 482 (M-H) -

保持時間: 0.86分、0.88分(分析条件 SQDFA05)

[0300] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロパン酸(化合物aa102、Fmoc-Tyr(3-OMe)-OH)の合成



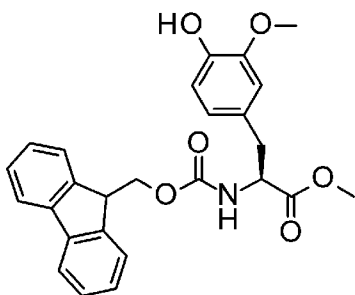
市販の(S)-2-アミノ-3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロパン酸(H-Tyr(3-OMe)-OH)(2.5 g、11.48 mmol)に水(49.9 mL)、炭酸ナトリウム(3.65 g、34.4 mmol)、1,4-ジオキサン(14.9 mL)を室温にて加えた。反応液にN-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)ス

クシンイミド (Fmoc-OSu) (3.10 g、9.18 mmol) の1,4-ジオキサン溶液 (50 mL) を0度にて滴下しながら加え、0度で20分間攪拌した後、反応液にさらにN-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド (Fmoc-OSu) (388 mg、1.15 mmol) を加え20分間攪拌した。反応液に0度にて、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド (Fmoc-OSu) (388 mg、1.15 mmol) を再び加え、40分間攪拌した。反応液に水、t-ブチルメチルエーテル (TBME) を加え、得られた水層を1N 塩酸水溶液を用いて酸性にした後、酢酸エチルで3回抽出した。得られた有機層をまとめて飽和食塩水で洗浄、無水硫酸マグネシウムで乾燥、ろ過を行った後、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル溶液) にて精製し、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロパン酸 (化合物aa102、Fmoc-Tyr(3-OMe)-OH) (3.53 g、93%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 434$ (M+H) +

保持時間: 0.73分 (分析条件SQD2FA05)

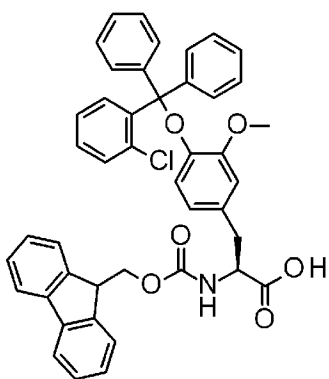
[0301] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)プロパン酸メチル (化合物aa103、Fmoc-Tyr(3-OMe)-OMe) の合成



窒素雰囲気下、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メト

キシ)カルボニル)アミノ)－3－(4－ヒドロキシ－3－メトキシフェニル)プロパン酸(化合物aa102、Fmoc-Tyr(3-OMe)-OH)(2.29 g、5.23 mmol)に室温にてメタノール(20.75 mL)とアセトニトリル(5.40 mL)を加え、0度で10分間攪拌した後、2.0Mトリメチルシリルジアゾメタン(TMSジアゾメタン)のヘキサン溶液(2.62 mL、5.23 mmol)を0度にて滴下しながら加えた。反応液に再び2.0Mトリメチルシリルジアゾメタン(TMSジアゾメタン)のヘキサン溶液(2.62 mL、5.23 mmol)を0度にて滴下しながら加えた後、2.0Mトリメチルシリルジアゾメタン(TMSジアゾメタン)のヘキサン溶液(3.93 mL、7.85 mmol)を0度にて滴下しながらさらに加えた。酢酸(2.0 mL)を加えることで反応を停止させた後、50%飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と酢酸エチルを加え、酢酸エチルで洗浄した。有機層を50%飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で抽出し、得られた水層をまとめて酢酸エチルで3回洗浄した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた後、ろ過を行い、減圧下溶媒留去した。粗生成物として得られた(S)－2－((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)－3－(4－ヒドロキシ－3－メトキシフェニル)プロパン酸メチル(化合物aa103、Fmoc-Tyr(3-OMe)-OMe)(2.39 g)はさらなる精製を行わずに次の工程に用いた。

[0302] (S)－2－(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)－3－(4－((2-クロロフェニル)ジフェニルメトキシ)－3－メトキシフェニル)プロパン酸(化合物aa104、Fmoc-Phe(4-OCIt-3-OMe)-OH)の合成



窒素雰囲気下、粗生成物である (S) - 2 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 3 - (4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル) プロパン酸メチル (化合物 a a 1 0 3、Fmoc-Tyr (3-OMe) -OMe) (2.39 g) にアセトニトリル (10.58 mL)、塩化 2-クロロトリチル (1.656 g、5.29 mmol)、N, N-ジイソプロピルエチルアミン (0.906 mL、5.29 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。反応液に水、t-ブチルメチルエーテルを加え、有機層を減圧下濃縮することで得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (10 mM 酢酸アンモニウム水溶液/メタノール) にて精製し、(S) - 2 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 3 - (4 - ((2-クロロフェニル) ジフェニルメトキシ) - 3-メトキシフェニル) プロパン酸メチル (Fmoc-Phe (4-OClt-3-OMe) -OMe) (2.6 g、68%) を得た。

塩化カルシウム (5.98 g、53.8 mmol) に水 (14.96 mL)、水酸化リチウムの1水和物 (0.603 g、14.36 mmol) を加え、室温で5分間攪拌した。反応液にイソプロパノール (59.8 mL) と (S) - 2 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 3 - (4 - ((2-クロロフェニル) ジフェニルメトキシ) - 3-メトキシフェニル) プロパン酸メチル (Fmoc-Phe (4-OClt-3-OMe) -OMe) (2.6 g、3.59 mmol) のテトラヒドロフラン (THF) 溶液 (14.96 mL) を加え、4時間攪拌した後、0.05 M リン酸水溶液と t-ブチルメチルエーテルを加

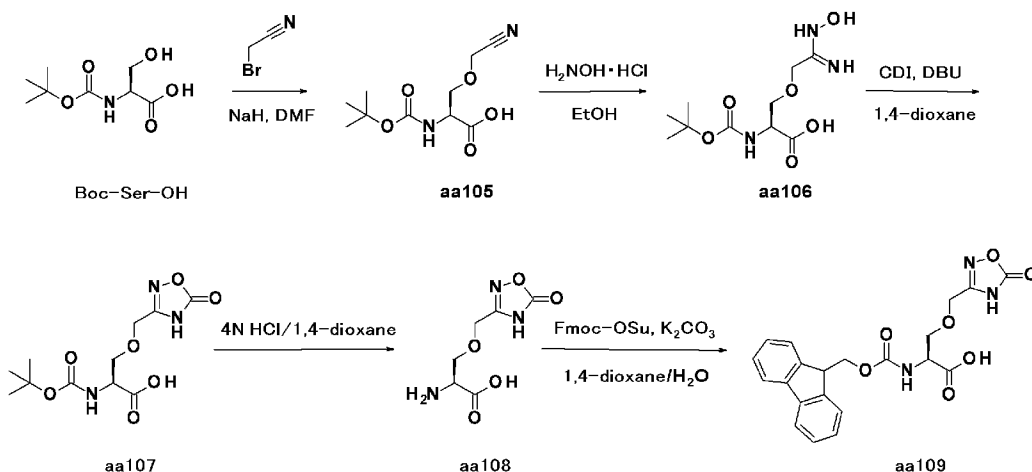
えた。水層を *t*-ブチルメチルエーテルで3回抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過を行った後、減圧下溶媒留去した。粗生成物として得られた (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(4-((2-クロロフェニル)ジフェニルメトキシ)-3-メトキシフェニル)プロパン酸 (化合物 aa104、Fmoc-Phe(4-OClt-3-OMe)-OH) (2.8 g) はさらなる精製を行わずにペプチド合成に用いた。

LCMS (ESI) m/z = 708 (M-H) -

保持時間: 0.74分 (分析条件 SQD2AA50)

[0303] N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)メチル)-L-セリン (化合物 aa109、Fmoc-Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)-OH) の合成

N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)メチル)-L-セリン (化合物 aa109、Fmoc-Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)-OH) は下記のスキームに従って合成した。



窒素雰囲気下、市販の (tert-ブトキシカルボニル)-L-セリン (Boc-Ser-OH) (50 g、243.65 mmol) のジメチルホルムアミド (DMF) 溶液 (1000 mL) に0度にて水素化ナトリウ

ム (34 g、1420 mmol、60%オイルディスパーション) を加え、1時間攪拌した。反応液に2-ブロモアセトニトリル (37.2 mL、536.03 mmol) のジメチルホルムアミド (DMF) 溶液 (50 mL) を滴下しながら0度にて加え、さらに1時間攪拌した。反応液に水を加えた後、酢酸エチルで3回抽出し、得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) にて精製することで、N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-(シアノメチル)-L-セリン (化合物aa105、Boc-Ser(CH₂CN)-OH) (29 g、49%) を得た。

上記のようにして得たN-(tert-ブトキシカルボニル)-O-(シアノメチル)-L-セリン (化合物aa105、Boc-Ser(CH₂CN)-OH) (38.5 g、157.63 mmol) のエタノール (EtOH) 溶液 (400 mL) に室温にてヒドロキシルアミン塩酸塩 (22.4 g、315.26 mmol) およびトリエチルアミン (58.8 mL、425.60 mmol) を加え、85度で2時間攪拌した。減圧下溶媒を留去し、粗生成物であるN-(tert-ブトキシカルボニル)-O-(2-(ヒドロキシアミノ)-2-イミノエチル)-L-セリン (化合物aa106) (107 g) を得た。

窒素雰囲気下、得られた粗生成物であるN-(tert-ブトキシカルボニル)-O-(2-(ヒドロキシアミノ)-2-イミノエチル)-L-セリン (化合物aa106) (12 g) の1,4-ジオキサン溶液 (120 mL) に室温にてカルボニルジイミダゾール (CDI) (3.96 g、24.42 mmol)、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン (DBU) (4.92 g、32.32 mmol) を加え、110度で2時間攪拌した。濃塩酸を用い、反応液をpH=2に調節した後、ジクロロメタン (DCM) で2回抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、ろ液を減圧下濃縮することで、粗生成

物としてN-(tert-ブトキシカルボニル)-O-((5-オキソ-4, 5-ジヒドロ-1, 2, 4-オキサジアゾール-3-イル)メチル)-L-セリン(化合物aa107、Boc-Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)-OH)(1.2 g)を得た。

窒素雰囲気下、得られた粗生成物であるN-(tert-ブトキシカルボニル)-O-((5-オキソ-4, 5-ジヒドロ-1, 2, 4-オキサジアゾール-3-イル)メチル)-L-セリン(化合物aa107、Boc-Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)-OH)(258 mg)の1, 4-ジオキサン溶液(10 mL)に室温にて4 N塩酸/1, 4-ジオキサン溶液(15 mL)を加え、16時間攪拌した。減圧下溶媒を留去し、粗生成物であるO-((5-オキソ-4, 5-ジヒドロ-1, 2, 4-オキサジアゾール-3-イル)メチル)-L-セリン(化合物aa108、H-Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)-OH)(160 mg)を得た。

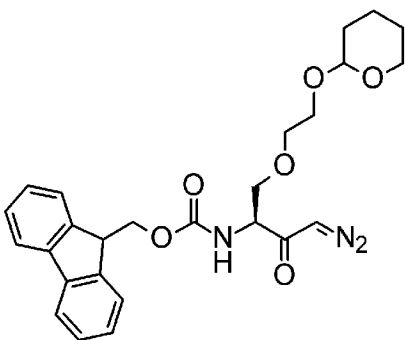
窒素雰囲気下、上記のように得た粗生成物であるO-((5-オキソ-4, 5-ジヒドロ-1, 2, 4-オキサジアゾール-3-イル)メチル)-L-セリン(化合物aa108、H-Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)-OH)(22.4 g)と炭酸カリウム(18.8 g、135.04 mmol)の1, 4-ジオキサン/水(165 mL/110 mL)溶液にN-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド(Fmoc-OSu)(23 g、68.2 mmol)を室温にて加え、3時間攪拌した。反応液をtert-ブチルメチルエーテル/ヘキサン(1/3)で洗浄し、得られた水層を濃塩酸を用いてpH=2になるまで調節した後、ジクロロメタン(DCM)で2回抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー(水/アセトニトリル)にて精製することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((5-オキソ-4, 5-ジヒドロ-1, 2, 4-オキサジアゾール-3-イル)メチル)-L-セリン(化合物aa109、Fmoc-Ser(3-Me-5

—OxO—Odz)—OH) (5.69 g) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 426 (M+H) +

保持時間: 0.72 分 (分析条件 SQD2FA05)

[0304] ((2S)-4-ジアゾ-3-オキソ-1-(2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)ブタン-2-イル)カルバミン酸
(9H-フルオレン-9-イル)メチル(化合物 aa110)の合成



窒素雰囲気下、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エチル)-L-セリン(化合物 aa22、Fmoc-Ser(EtOTHP)-OH) (1.4 g、3.07 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (5.0 mL) に氷と食塩で調製したアイスバスを用いて冷却しながら 4-メチルモルホリン (0.355 mL、3.23 mmol)、クロロギ酸エチル (0.310 mL、3.23 mmol) を加え、1 時間 10 分間攪拌した。続いて、氷と食塩で調製したアイスバスを用いて冷却しながら反応液に別途調整したジアゾメタンのジエチルエーテル溶液を滴下しながら加え、30 分間攪拌した。反応液に酢酸 (0.88 mL、15.37 mmol) を加え、10 分間攪拌した後、酢酸エチル、水を加え、酢酸エチルで抽出し、得られた有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過を行った。ろ液を減圧下溶媒留去することで得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル) で精製し、((2S)-4-ジアゾ-3-オキソ-1-(2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)ブタン-2-イル)カルバミン酸 (9

H-フルオレン-9-イル)メチル(化合物 a a 1 1 0) (1.13 g、77%)を得た。

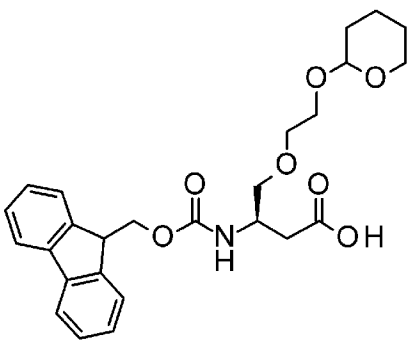
LCMS (ESI) $m/z = 502$ (M+Na) +

保持時間: 0.87分 (分析条件 SQDFA05)

[0305] ジアゾメタンのジエチルエーテル溶液の調整

約50%の水が含まれる1-メチル-3-ニトロ-1-ニトロソグアニジン(5.0 g、東京化成あるいは富士フィルム和光純薬より購入)にジエチルエーテル(17.0 mL)を加え0度にて50%水酸化カリウム水溶液(9.5 mL)を滴下しながら加えた。反応液を1時間攪拌した後、黄色のジエチルエーテル層を先端をなめしたパスツールを用い分離し、得られた溶液をそのまま上記の反応に使用した。

[0306] (3R)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)ブタン酸(化合物 a a 1 1 1、Fmoc-bAla(3R-MeOEtOTHP)-OH)の合成



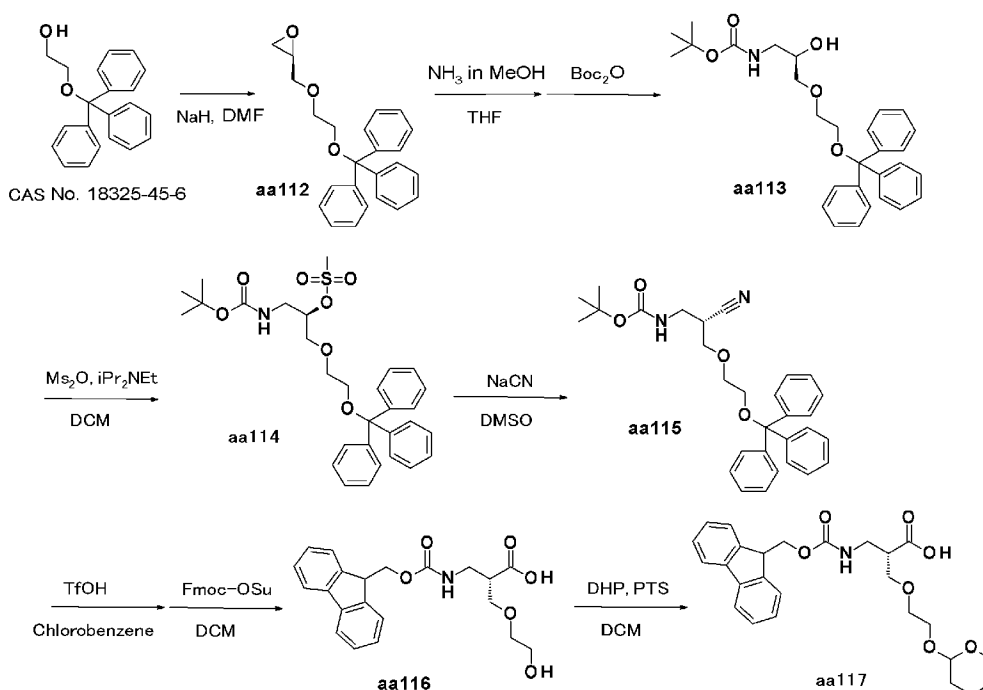
窒素雰囲気下、上述のようにして得た((2S)-4-ジアゾ-3-オキソ-1-(2-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)ブタン-2-イル)カルバミン酸(9H-フルオレン-9-イル)メチル(化合物 a a 1 1 0) (1.7 g、3.55 mmol)のテトラヒドロフラン/水(18 mL/1.8 mL)溶液に、0度にて4-メチルモルホリン(0.974 mL、8.86 mmol)、トリフルオロ酢酸銀(AgOCF₃) (0.078 mL、0.355 mmol)を加えた

後、室温で2時間30分間攪拌した。反応液にジメチルスルホキシド（DMSO）を加え、逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）で精製することで、（3R）-3-（（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-4-（2-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）エトキシ）ブタン酸（化合物aa111、Fmoc-bAla（3R-MeOEtOTHP）-OH）（1.4 g、84%）を得た。

LCMS（ESI）m/z=468（M-H）-

保持時間：0.78分（分析条件SQDFA05）

[0307] （2S）-3-（（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-2-（（2-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）エトキシ）メチル）プロパン酸（化合物aa117）は以下のスキームにより合成した。



[0308] （2S）-3-（（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-2-（（2-（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）エトキシ）メチル）プロパン酸（化合物aa117、Fmoc-bAla（2S-MeOEtOTHP）-OH）の合成

窒素雰囲気下、論文記載の方法 (Beilstein Journal of Organic Chemistry, 2017, 13, 2428-2441.) で合成した 2-(トリチルオキシ)エタン-1-オール (CAS. No. 18325-45-6) (8.8 g、28.9 mmol) と市販の 4-メチルベンゼンスルホン酸 (R)-オキシラン-2-イルメチル (6.0 g、26.3 mmol) のジメチルホルムアミド (DMF) 溶液 (100 mL) に 0 度にて水素化ナトリウム (1.16 g、28.9 mmol、60% オイルディスパーション) を加え、室温にて 12 時間攪拌した。反応液に水を加えた後、酢酸エチルで 2 回抽出し、得られた有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=5/1) にて精製することで、(R)-2-(2-(トリチルオキシ)エトキシ)メチル)オキシラン (化合物 a a 112) (7.32 g、77%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 383 (M+Na) +

保持時間: 1.40 分 (分析条件 SMD method 45)

- [0309] 上記のようにして得た (R)-2-(2-(トリチルオキシ)エトキシ)メチル)オキシラン (化合物 a a 112) (38.5 g、157.63 mmol) に 7 M のアンモニアのメタノール溶液 (196 mL) を室温にて加え、室温で 15 時間攪拌した。反応液を減圧下で溶媒を留去し、得られた残渣に水を加え、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製した。さらに得られたフラクションを集め、その溶液に飽和炭酸水素ナトリウム溶液 (21.4 mL) と二炭酸ジ-tert-ブチル (Boc₂O) (5.55 g) を加え、室温にて 10 分間攪拌した。反応液を減圧下で溶媒を留去し、得られた残渣に水を加え、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=4/1) にて精製することで、(R)-(2-ヒドロキシー-3-(2-(トリチルオキシ)エトキシ)プロピル)カルバミン

酸 *tert*-ブチル（化合物 *aa113*）（4.25 g、70%）を得た。

LCMS (ESI) m/z = 500 (M+Na) +

保持時間：1.40分（分析条件SMD method 45）

[0310] 窒素雰囲気下、得られた（R）-（2-ヒドロキシ-3-（2-（トリチルオキシ）エトキシ）プロピル）カルバミン酸 *tert*-ブチル（化合物 *aa113*）（4.53 g、9.48 mmol）のジクロロメタン溶液（47.4 mL）に室温にてトリエチルアミン（3.97 mL、28.5 mmol）とメタンスルホン酸 無水物（2.48 g、14.2 mmol）を加え、室温で1時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製することで、メタンスルホン酸 （R）-12, 12-ジメチル-10-オキソ-1, 1, 1-トリフェニル-2, 5, 11-トリオキサ-9-アザトリデカン-7-イル（化合物 *aa114*）（4.62 g、88%）を得た。

LCMS (ESI) m/z = 578 (M+Na) +

保持時間：1.47分（分析条件SMD method 45）

[0311] 窒素雰囲気下、得られたメタンスルホン酸 （R）-12, 12-ジメチル-10-オキソ-1, 1, 1-トリフェニル-2, 5, 11-トリオキサ-9-アザトリデカン-7-イル（化合物 *aa114*）（4.41 g、7.93 mmol）のジメチルスルホキシド（DMSO）溶液（39.6 mL）に室温にてシアン化ナトリウム（1.95 g、39.7 mmol）を加え、80度で10時間攪拌した。反応液にアセトニトリルと水を加え、逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製することで、（R）-（2-シアノ-3-（2-（トリチルオキシ）エトキシ）プロピル）カルバミン酸 *tert*-ブチル（化合物 *aa115*）（2.16 g、53%）を得た。

LCMS (ESI) m/z = 509 (M+Na) +

保持時間：1.49分（分析条件SMD method 45）

[0312] 窒素雰囲気下、得られた (R) - (2-シアノ-3-(2-(トリチルオキシ)エトキシ)プロピル)カルバミン酸 tert-ブチル (化合物 aa 115) (3.63 g、7.46 mmol) のクロロベンゼン溶液 (9.3 mL) に 0 度にてトリフルオロメタンスルホン酸 (3.5 mL、39.5 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。続いて室温にて反応液に水 (3.6 mL、201 mmol) を加え、110 度で 3 時間攪拌した。反応液に水 (20 mL) とヘキサン (7 mL) とトルエン (20 mL) を加え、水層を除去した。得られた有機層に水 (12 mL) を加え、洗浄した。得られた水層を集め、アセトニトリル (37.3 mL) と炭酸水素ナトリウム (6.27 g、74.6 mmol) を加え、(1-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド (Fmoc-OSu) (3.77 g、11.2 mmol) を室温にて加え、30 分間攪拌した。さらに Fmoc-OSu (1.26 g、3.73 mmol) を室温にて加え、終夜攪拌した。反応液をろ過した後、tert-ブチルメチルエーテルで抽出した。得られた水層に 6 N 濃塩酸を pH = 1 になるまで加えた後、逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製することで、(S) - 3 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 2 - ((2-ヒドロキシエトキシ) メチル) プロパン酸 (化合物 aa 116) (1.31 g、46%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 386 (M+H) +

保持時間: 1.78 分 (分析条件 SMD method 47)

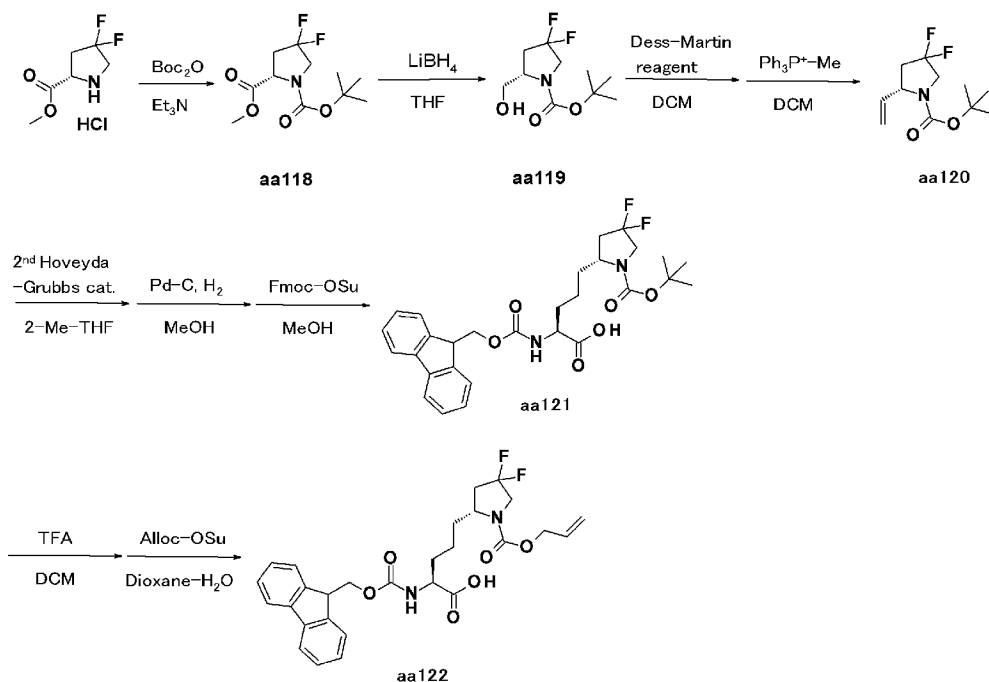
[0313] 窒素雰囲気下、上記で得た (S) - 3 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 2 - ((2-ヒドロキシエトキシ) メチル) プロパン酸 (化合物 aa 116) (1.03 g、2.67 mmol) と 3,4-ジヒドロ-2H-ピラン (0.73 mL、8.02 mmol) のジクロロメタン溶液 (13.4 mL) 溶液にパラトルエンスルホン酸ピリジニウム (PPTS) (67 mg、0.27 mmol) を室温にて加え、40 度にて 10 時間攪拌した。反応液に水を加え、ジクロロ

メタンで抽出した。得られ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、ろ過を行った。得られた粗生成物のテトラヒドロフラン溶液（13.4 mL）に、別途調製したリン酸緩衝液（pH=8、13.4 mL）を加え、50度で20時間攪拌した。反応液に水（50 mL）を加え、t-ブチルメチルエーテル／ヘキサン（40 mL／10 mL）で抽出した。得られ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、ろ過を行った。得られた有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製することで、
 (2S)-3-(((9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonyl)amino)-2-((2-((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)ethoxymethyl)propanoic acid (compound aa117) (1.04 g, 83%)を得た。

LCMS (ESI) m/z = 492 (M+Na) +

保持時間：0.95分（分析条件SQDAA05-2）

[0314] (S)-2-(((9H-fluoren-9-yl)methoxycarbonyl)amino)-5-((R)-1-((arylthio)carbonyl)-4,4-difluoropiperidine-2-yl)pentanoic acid (compound aa122, Fmoc-Nva(2-R-4-F2-Pyrro(N-AlloC))-OH) は以下のスキームにより合成した。



[0315] (S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ - 5 - ((R) - 1 - ((アリルオキシ) カルボニル) - 4 , 4 - ジフルオロピロリジン - 2 - イル) ペンタン酸 (化合物 a a 1 2 2 、 F m o c - N v a (2 - R - 4 - F 2 - P y r r o (N - A l l o c)) - O H) の合成

窒素雰囲気下、市販の (S) - 4 , 4 - ジフルオロピロリジン - 2 - カルボン酸メチル塩酸塩 (CAS. No. 156046-05-8) (6.9 g、34.2 mmol) のジクロロメタン溶液 (68.5 mL) に室温にてトリエチルアミン (11.9 mL、86 mmol) を加えた。反応液に二炭酸ジ-tert-ブチル (Boc_2O) (11.2 g、51.3 mmol) を室温にて加え、1時間攪拌した。反応液に水を加えた後、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン/酢酸エチル) にて精製することで、(S) - 4 , 4 - ジフルオロピロリジン - 1 , 2 - ジカルボン酸 2 - メチル 1 - (tert-ブチル) (化合物 aa118) (6.85 g、75%) を得た。

[0316] 上記のようにして得た (S) - 4 , 4 - ジフルオロピロリジン - 1 , 2 -

ジカルボン酸 2-メチル 1-(tert-ブチル) (化合物 a a 1 1 8) (6.43 g、24.2 mmol) のテトラヒドロフラン (THF) 溶液 (121 mL) に 0 度にてリチウムホウ水素化物／テトラヒドロフラン (THF) 溶液 (6.67 mL、26.7 mmol) を加え、室温で 1.5 時間攪拌した。さらに 0 度にてリチウムホウ水素化物／テトラヒドロフラン (THF) 溶液 (1.5 mL、6.0 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。0 度にて反応液に 10% 塩化ナトリウム水溶液を加えた後、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン／酢酸エチル) にて精製することで、(S)-4,4-ジフルオロ-2-(ヒドロキシメチル)ピロリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (化合物 a a 1 1 9) (5.70 g、99%) を得た。

[0317] 窒素雰囲気下、得られた (S)-4,4-ジフルオロ-2-(ヒドロキシメチル)ピロリジン-1-カルボン酸 tert-ブチル (335 mg、1.41 mmol) のジクロロメタン溶液 (7.0 mL) に市販の 1,1,1-トリアセトキシー-1,1-ジヒドロ-1,2-ベンゾヨードキソール-3(1H)-オン (Dess-Martin reagent) (719 mg、1.69 mmol) を 0 度にて加え、室温で 30 分間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた後、酢酸エチルで抽出し、得られた有機層を水で洗浄した。得られた有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン／酢酸エチル) にて精製し、アルデヒド中間体を得た。

[0318] 窒素雰囲気下、臭化メチルトリフェニルホスホニウム (562 mg、1.57 mmol) のジエチルエーテル溶液 (3.1 mL) に室温にてカリウム 2-メチルプロパン-2-オレート (tBuOK) (177 mg、1.57 mmol) を加え、室温にて 2 時間攪拌した。反応液に、別途調製したアルデヒド中間体 (185 mg、0.786 mmol) のジエチルエーテル溶液 (0.79 mL) を加え、室温にて 1 時間攪拌した。反

応液に10%塩化アンモニウム水溶液を加えた後、酢酸エチルで抽出し、得られた有機層を水で洗浄した。得られた有機層を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（*n*-ヘキサン／酢酸エチル）にて精製し、（*S*）-4,4-ジフルオロ-2-ビニルピロリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル（化合物 *aa120*）（135 mg、74%）を得た。

[0319] 窒素雰囲気下、得られた（*S*）-4,4-ジフルオロ-2-ビニルピロリジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチル（化合物 *aa120*）（3.50 g、15.0 mmol）と（*S*）-2-（（（9*H*-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）ペンター-4-エン酸（CAS#：146549-21-5、*Fmoc-Ally-OH*）（9.52 g、28.2 mmol）を2-メチルテトラヒドロフラン（2-MeTHF）（60 mL）に溶解した。その溶液に第2世代Hoveyda-Grubbs触媒（0.94 g、1.50 mmol）を加え、60度にて終夜撹拌した。室温に冷却した後、セライトろ過し、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー（0.1%ギ酸水溶液／0.1%ギ酸アセトニトリル溶液）にて精製し、粗生成物（7.58 g）を得た。

[0320] 得られた粗生成物（7.58 g）をメタノール（186 mL）に溶解し、10%パラジウム炭素（1.6 g）を加え水素雰囲気下、室温で2日間撹拌した。反応液をセライトろ過し、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣をメタノール（34.9 mL）に溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液（34.9 mL）、*N*-（9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ）スクシンイミド（*Fmoc-OSu*）（7.07 g、20.95 mmol）を加え室温で2時間撹拌した。不溶物を濾別し、ろ液を1M塩酸水溶液にて酸性化した後、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムにて乾燥し、ろ過し、減圧濃縮した。得られた残渣を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー（0.1%ギ酸水溶液／0.1

%ギ酸アセトニトリル溶液)にて精製し、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-5-((R)-1-(tert-ブトキシカルボニル)-4,4-ジフルオロピロリジン-2-イル)ペンタン酸(化合物aa121)(2.54 g、33%)を得た。
 LCMS (ESI) m/z = 567 (M+Na) +
 保持時間: 1.32分(分析条件SMD method45)

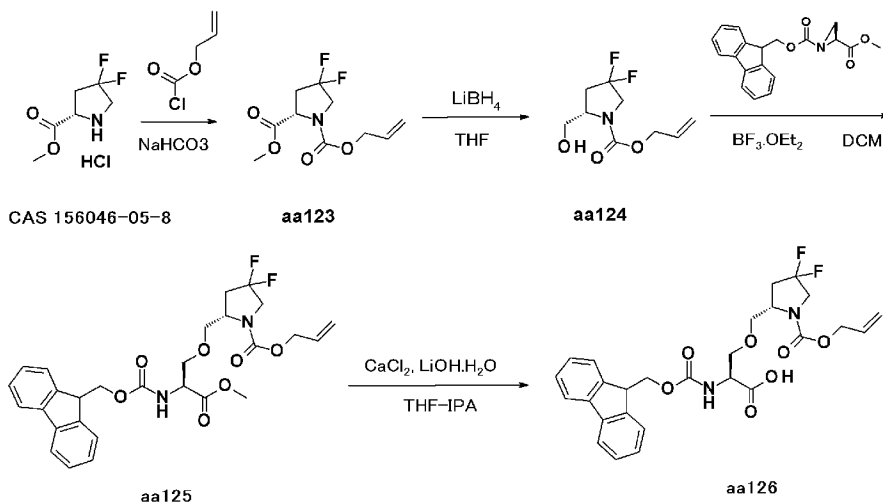
[0321] 得られた(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-5-((R)-1-(tert-ブトキシカルボニル)-4,4-ジフルオロピロリジン-2-イル)ペンタン酸(化合物aa121)(2.17 g、3.98 mmol)をジクロロメタン(DCM)(53.1 mL)に溶解し、トリフルオロ酢酸(9.15 mL、119.8 mmol)を加え室温で1時間30分間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、残渣にトルエンを加え再度減圧下濃縮し、粗生成物(2.66 g)を得た。

[0322] 得られた粗生成物(2.66 g)を1,4-ジオキサン/水(12.67 mL/12.67 mL)溶液に溶解し、炭酸水素ナトリウム(1.92 g、22.80 mmol)とN-(アリルオキシカルボニルオキシ)スクシンイミド(Alloc-OSu)(0.61 mL、3.91 mmol)を室温にて加え、30分間攪拌した。反応液にギ酸とジメチルスルホキシドを加え逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー(0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル溶液)にて精製し、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-5-((R)-1-((アリルオキシ)カルボニル)-4,4-ジフルオロピロリジン-2-イル)ペンタン酸(化合物aa122、Fmoc-Nva(2-R-4-F2-Pyrro(N-Alloc))-OH)(1.97 g、94%)を得た。

LCMS (ESI) m/z = 529 (M+H) +

保持時間: 2.75分(分析条件SMD method47)

[0323] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-((S)-1-((アリルオキシ)カルボニル)-4,4-ジフルオロピロリジン-2-イル)メチル)-L-セリン(化合物aa126、Fmoc-Ser(S-4-F2-Pyrro(N-Alloc)-Me)-OH)は以下のスキームにより合成した。



[0324] 窒素雰囲気下、市販の(S)-4,4-ジフルオロピロリジン-2-カルボン酸メチル塩酸塩(CAS. No. 156046-05-8)(5.08 g、25.2 mmol)の水溶液(11.43 mL)に室温にて炭酸水素ナトリウム(5.29 g、63.0 mmol)を加えた。反応液に室温でクロロギ酸アリル(4.0 mL、37.8 mmol)の1,4-ジオキサン溶液(22.9 mL)を滴下しながら加え、さらに1.5時間攪拌した。反応液に水を加えた後、酢酸エチルで2回抽出し、得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー(n-ヘキサン/酢酸エチル)にて精製することで、(S)-4,4-ジフルオロピロリジン-1,2-ジカルボン酸 2-メチル 1-アリル(化合物aa123)(6.21 g、99%)を得た。

LCMS(ESI) m/z = 250 (M+H) +

保持時間: 0.91分(分析条件SMD method 45)

[0325] 上記のようにして得た(S)-4,4-ジフルオロピロリジン-1,2-

ジカルボン酸 2-メチル 1-アリル (化合物 a a 1 2 3) (6.81 g、27.3 mmol) のテトラヒドロフラン (THF) 溶液 (82.0 mL) に0度にてリチウムホウ水素化物／テトラヒドロフラン (THF) 溶液 (10.24 mL、41.0 mmol) を滴下しながら加え、室温で2時間攪拌した。反応液に0度にて水と2N塩酸水溶液 (20.5 mL、41.0 mmol) を加えた後、酢酸エチルで抽出し、得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン／酢酸エチル) にて精製することで、(S)-4,4-ジフルオロ-2-(ヒドロキシメチル)ピロリジン-1-カルボン酸アリル (化合物 a a 1 2 4) (5.13 g、85%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 222 (M+H) +

保持時間: 0.76分 (分析条件 SMD method 45)

[0326] 窒素雰囲気下、得られた (S)-4,4-ジフルオロ-2-(ヒドロキシメチル)ピロリジン-1-カルボン酸アリル (化合物 a a 1 2 4) (5.1 g、23.06 mmol) と (S)-アジリジン-1,2-ジカルボン酸 2-メチル 1-((9H-フルオレン-9-イル)メチル) (化合物 a a 7 3、Fmoc-Azy-OMe) (4.97 g、15.37 mmol) のジクロロメタン溶液 (36 mL) に0度にて三フッ化ホウ素-エチルエーテルコンプレックス (0.876 mL、6.92 mmol) のジクロロメタン溶液を滴下しながら加え、さらに1.5時間攪拌した。反応液に水を加えた後、ジクロロメタンで抽出し、得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン／酢酸エチル) にて精製することで、(S)-2-(((S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-メトキシ-3-オキソプロポキシ)メチル)-4,4-ジフルオロピロリジン-1-カルボン酸アリル (化合物 1 2 5、Fmoc-Ser (S-4-F2-Pyrro (N-Alloc))

—Me)—OMe) (5.68 g, 68%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 545 (M+H) +

保持時間: 3.02分 (分析条件SMD method 47)

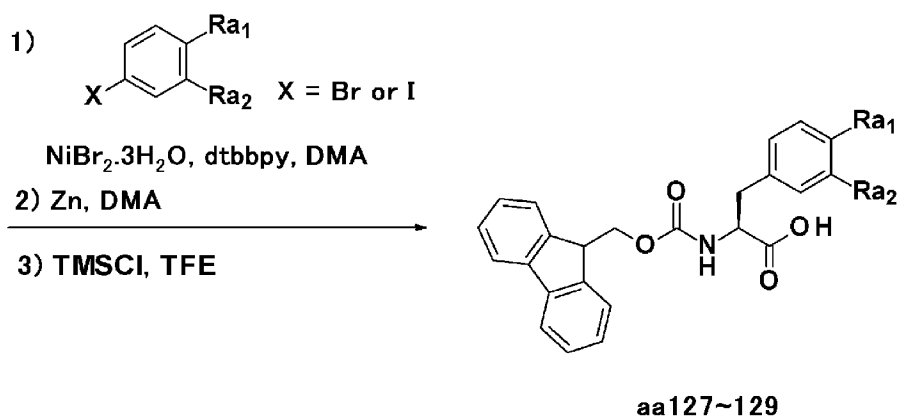
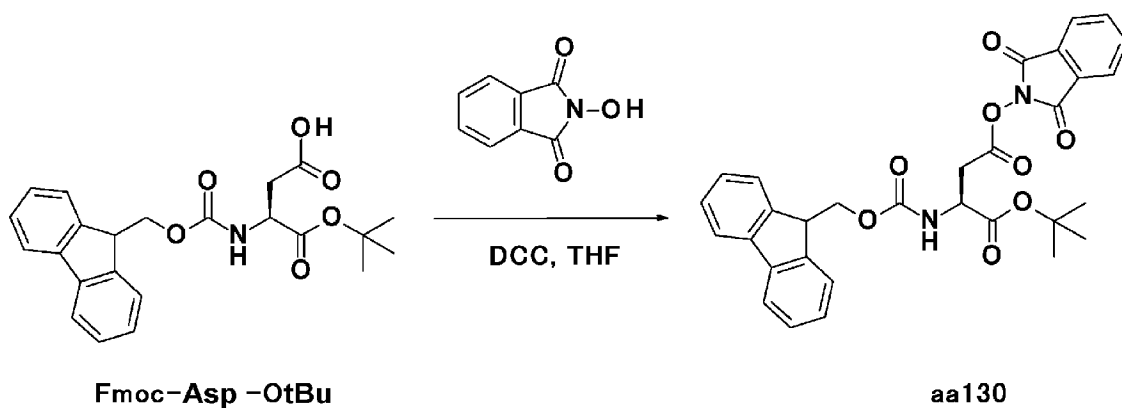
[0327] 窒素雰囲気下、塩化カルシウム (18.7 g, 168 mmol) の水溶液 (46.8 mL) に室温にて水酸化リチウム一水和物 (1.89 g, 44.9 mmol) を加え、室温で5分間攪拌した。イソプロピルアルコール (187 mL) と (S)-2-(((S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-メトキシ-3-オキソプロポキシ)メチル)-4,4-ジフルオロピロリジン-1-カルボン酸アリル (化合物125、Fmoc-Ser(S-4-F2-Pyrro(N-AlloC)-Me)-OMe) (6.12 g, 11.23 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (46.8 mL) を室温にて加え、6.5時間攪拌した。2N塩酸 (33.7 mL, 67.4 mmol) を加えた後、減圧下溶媒を留去し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製することで、N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(((S)-1-((アリルオキシ)カルボニル)-4,4-ジフルオロピロリジン-2-イル)メチル)-L-セリン (化合物aa126、Fmoc-Ser(S-4-F2-Pyrro(N-AlloC)-Me)-OH) (3.76 g, 63%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 531 (M+H) +

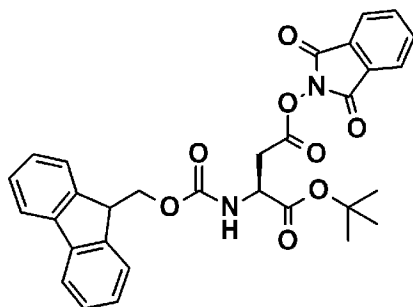
保持時間: 2.69分 (分析条件SMD method 47)

[0328] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)プロパン酸 (化合物aa127、Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONMe)-OH) および (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(4-メトキシ-3-(メチルカルバモイル)フェニル)プロパン酸 (化合物aa128、Fmoc-Phe

e (4-OMe-3-CONMe)-OH) および (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-((メチルスルホニル)カルバモイル)フェニル)プロパン酸 (化合物 aa129、Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHMs)-OH) は以下のスキームに従って合成した。



[0329] (((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-L-アスパラギン酸 4-(1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル) 1-(tert-ブチル) (化合物 aa130) の合成

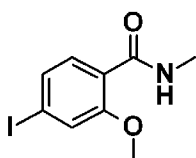


窒素雰囲気下、市販の(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(tert-ブトキシ)-4-オキソブタン酸(Fmoc-Asp-OtBu)(300 g、729.12 mmol)とN-ヒドロキシフタルイミド(130.8 g、801.8 mmol)のテトラヒドロフラン溶液(3000 mL)に室温にてN,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)(181.8 g、1.10 mmol)を滴下しながら加え、3時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮することで得られた残渣にトルエンを加え、ろ過を行った後、得られた固体をトルエンで洗浄した。ろ液を減圧下濃縮することで得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル)にて精製することで、(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-L-アスパラギン酸 4-(1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-1-(tert-ブチル)(化合物aa130)(272 g、67%)を得た。

LCMS(ESI)m/z = 574 (M+NH₄)⁺

保持時間: 1.00分(分析条件SQD2FA05)

[0330] 4-ヨード-2-メトキシ-N-メチルベンズアミド(化合物aa131)の合成



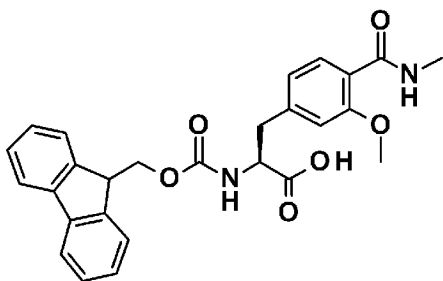
窒素雰囲気下、市販の4-ヨード-2-メトキシ安息香酸(5 g、17.983 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDCI·HCl)(4.15 g、21.148 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBt)(4.15 g、21.148 mmol)のジメチルホルムアミド(DMF)溶液(50 mL)に室温にて2Mのメチルアミンのテトラヒドロフラン(THF)溶液(22.5 mL、45.0 mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)(12.53 mL、94.942 mmol)

）を加え、16時間撹拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで3回抽出した後、得られた有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。得られたろ液を減圧下濃縮し、残渣を順相カラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）にて精製することで、4-ヨード-2-メトキシ-N-メチルベンズアミド（化合物aa131）（3.3 g、63%）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 292$ (M+H) +

保持時間：0.78分（分析条件SMD method50）

[0331] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)プロパン酸（化合物aa127、Fmoc-Phr(3-OMe-4-CO NMe)-OH）の合成



窒素雰囲気下、臭化ニッケル(II)の3水和物($\text{NiBr}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (2.15 g、7.59 mmol)と4,4'-ジ-tert-ブチル-2,2'-ビピリジル(dtbbpy) (2.15 g、7.59 mmol)のジメチルアセトアミド(DMA)溶液(120 mL)を50℃で3時間撹拌した後、室温に冷却することでニッケル触媒溶液を得た。窒素雰囲気下、亜鉛粉末(8.61 g、134.5 mmol)、(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-L-アスパラギン酸 4-(1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-1-(tert-ブチル)（化合物aa130）(14.6 g、26.3 mmol)、4-ヨード-2-メトキシ-N-メチルベンズアミド（化合物aa131）(11.5 g、39.5 mmol)のジメチルアセトアミド(DMA)溶液(12

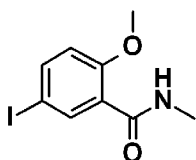
0 mL) を室温で30分間攪拌した後、上述のニッケル触媒溶液を滴下しながら室温にて加え、16時間攪拌した。反応液に10% EDTA・2Na (エチレンジアミン四酢酸の2ナトリウム塩) 水溶液を加え、酢酸エチルで3回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、減圧下溶媒を留去することで得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) にて精製することで、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)プロパン酸 tert-ブチル (Fmoc-Phe (3-OMe-4-CONMe)-OtBu) (9.2 g、84%) を得た。

窒素雰囲気下、上述のように得た (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)プロパン酸 tert-ブチル (Fmoc-Phe (3-OMe-4-CONMe)-OtBu) (11 g、20.8 mmol) とクロロトリメチルシラン (TMSCl) (7.96 mL、62.3 mmol) の2, 2, 2-トリフルオロエタノール (TFE) 溶液 (104 mL) を室温にて1時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製することで、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)プロパン酸 (化合物 aa127、Fmoc-Phe (3-OMe-4-CONMe)-OH) (5.0 g、51%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 475 (M+H)⁺

保持時間: 0.68分 (分析条件 SQDFA05)

[0332] 5-ヨード-2-メトキシ-N-メチルベンズアミド (化合物 aa132) の合成

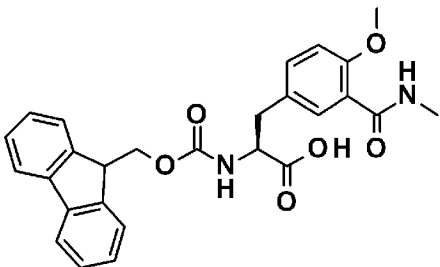


窒素雰囲気下、市販の5-ヨード-2-メトキシ安息香酸 (5 g、17.983 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDCI·HCl) (4.15 g、21.148 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt) (4.15 g、21.148 mmol) のジメチルホルムアミド (DMF) 溶液 (50 mL) に室温にて2Mのメチルアミンのテトラヒドロフラン (THF) 溶液 (22.5 mL、45.0 mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (12.5 mL、94.942 mmol) を加え、16時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで2回抽出した後、得られた有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。得られたろ液を減圧下濃縮し、残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) にて精製することで、5-ヨード-2-メトキシ-N-メチルベンズアミド (化合物 aa132) (3.3 g、63%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 292 (M+H) +

保持時間: 0.79分 (分析条件 SMD method 50)

[0333] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(4-メトキシ-3-(メチルカルバモイル)フェニル)プロパン酸 (化合物 aa128、Fmoc-Phe(4-OMe-3-CO NMe)-OH) の合成



窒素雰囲気下、臭化ニッケル (II) の3水和物 ($\text{NiBr}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (2.86 g、10.50 mmol) と4,4'-ジ-tert-ブチル-2,2'-ビピリジル (dtbbpy) (2.86 g、10.66 mmol) のジメチルアセトアミド (DMA) 溶液 (161 mL) を50℃で

3時間撹拌した後、室温に冷却することでニッケル触媒溶液を得た。窒素雰囲気下、亜鉛粉末（11.4 g、174 mmol）、（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-L-アスパラギン酸 4-（1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル）-1-（tert-ブチル）（化合物aa130）（19.74 g、35.47 mmol）、5-ヨード-2-メトキシ-N-メチルベンズアミド（化合物aa132）（15.5 g、53.2 mmol）のジメチルアセトアミド（DMA）溶液（161 mL）を室温で30分間撹拌した後、上述のニッケル触媒溶液を滴下しながら室温にて加え、16時間撹拌した。反応液に10%EDTA・2Na（エチレンジアミン四酢酸の2ナトリウム塩）水溶液を加え、セライトろ過を行った後、得られたろ液の有機層を分離し、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。混合物をろ過した後、ろ液を減圧下溶媒留去することで得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）にて精製することで、（S）-2-（（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-3-（4-メトキシ-3-（メチルカルバモイル）フェニル）プロパン酸 tert-ブチル（Fmoc-Phe（4-OMe-3-CONMe）-OtBu）（10.2 g、36%）を得た。

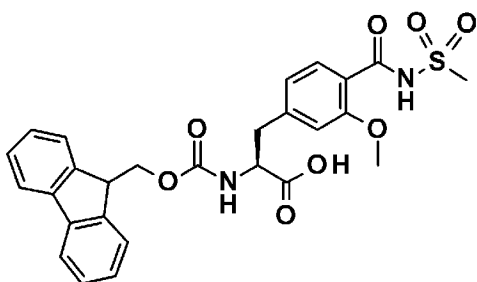
窒素雰囲気下、上述のように得た (S) - 2 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 3 - (4-メトキシ-3-(メチルカルバモイル) フェニル) プロパン酸 tert-ブチル (Fmoc-Phe (4-OMe-3-CONMe) -OtBu) (10.2 g、19.22 mmol) とクロロトリメチルシラン (TMSCl) (7.26 mL、56.8 mmol) の2, 2, 2-トリフルオロエタノール (TFE) 溶液 (96 mL) を室温にて1時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製することで、(S) - 2 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 3 - (4-メトキシ-3-(メチルカル

ルバモイル) フェニル) プロパン酸 (化合物 a a 1 2 8、F m o c - P h e (4 - O M e - 3 - C O N M e) - O H) (6. 1 2 g、3 6 %) を得た。

L C M S (E S I) m / z = 4 7 5 (M + H) +

保持時間 : 0. 7 1 分 (分析条件 S Q D F A 0 5)

[0334] (S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ - 3 - (3 - メトキシ - 4 - ((メチルスルホニル) カルバモイル) フェニル) プロパン酸 (化合物 a a 1 2 9、F m o c - P h e (3 - O M e - 4 - C O N H M s) - O H) の合成



窒素雰囲気下、市販の4-ブロモ-2-メトキシ安息香酸 (4 5 g、1 9 4. 7 6 7 m m o l) のジメチルホルムアミド (DMF) 溶液 (2 2 0 m L) にカルボニルジイミダゾール (C D I) (4 7. 3 7 g、2 9 2. 1 5 1 m m o l) を室温にて加え、2 時間攪拌した。反応液にメタンスルホンアミド (5 5. 5 8 g、5 8 4. 3 1 5 m m o l)、1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] -7-ウンデセン (DBU) (8 8. 9 5 g、5 8 4. 3 0 2 m m o l) を加え、1 6 時間攪拌した後、酢酸エチルを加えた。混合物に2 Nの塩酸水溶液をp H 5になるまで加えた後、得られた有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。得られたろ液を減圧下濃縮し、残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) にて精製することで、4-ブロモ-2-メトキシ-N- (メチルスルホニル) ベンズアミド (5 7. 5 g、9 5 %) を得た。

窒素雰囲気下、臭化ニッケル (I I) の3水和物 (N i B r ₂ · 3 H ₂ O)

(2.93 g、10.78 mmol) と 4, 4'-ジ-tert-ブチル-2, 2'-ビピリジル (dtbbpy) (2.89 g、10.78 mmol) のジメチルアセトアミド (DMA) 溶液 (100 mL) を 50℃ で 3 時間攪拌した後、室温に冷却することでニッケル触媒溶液を得た。窒素雰囲気下、亜鉛粉末 (11.75 g、179.672 mmol)、((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル-L-アスパラギン酸 4-(1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-1-(tert-ブチル) (化合物 aa130) (20.0 g、35.934 mmol)、4-ブロモ-2-メトキシ-N-(メチルスルホニル)ベンズアミド (33.22 g、107.803 mmol) のジメチルアセトアミド (DMA) 溶液 (100 mL) を室温攪拌した後、上述のニッケル触媒溶液を滴下しながら室温にて加え、16 時間攪拌した。反応液に 10% EDTA・2Na (エチレンジアミン四酢酸の 2 ナトリウム塩) 水溶液を加え、酢酸エチルで 3 回抽出した。得られ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させた後、ろ過、減圧濃縮を行うことで得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) にて精製することで、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-3-(3-メトキシ-4-((メチルスルホニル)カルバモイル)フェニル)プロパン酸 tert-ブチル (Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHMs)-OtBu) (5.05 g、19%) を得た。

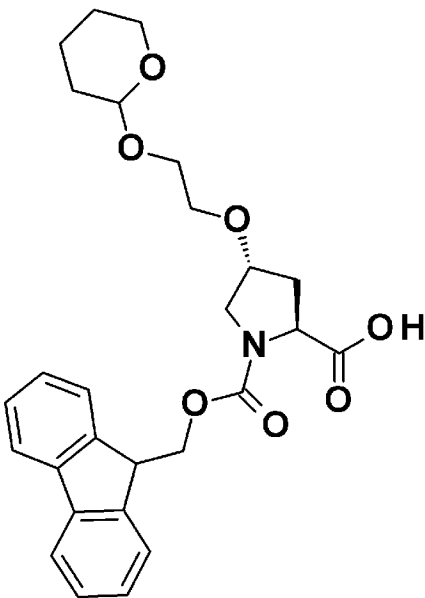
窒素雰囲気下、上述のように得た (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-3-(3-メトキシ-4-((メチルスルホニル)カルバモイル)フェニル)プロパン酸 tert-ブチル (Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHMs)-OtBu) (10.1 g、16.984 mmol) とクロロトリメチルシラン (TMSCl) (5.54 g、50.952 mmol) の 2, 2, 2-トリフルオロエタノール (TFE) 溶液 (100 mL) を室温にて 1 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー

ー（水／アセトニトリル）にて精製することで、（S）－2－（（（9H－フルオレン－9－イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）－3－（3－メトキシ－4－（（メチルスルホニル）カルバモイル）フェニル）プロパン酸（化合物 a a 1 2 9、Fmoc－Phe（3－OMe－4－CONHMs）－OH）（5.06 g、55%）を得た。

LCMS（ESI） m/z = 539（M+H）+

保持時間：0.72分（分析条件SQDFA05）

[0335] （2S, 4R）－1－（（（9H－フルオレン－9－イル）メトキシ）カルボニル）－4－（2－（（テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル）オキシ）エトキシ）ピロリジン－2－カルボン酸（化合物 a a 1 3 3、Fmoc－Hyp（2－EtOTHP）－OH）の合成



窒素雰囲気下、－10℃にて市販の（2S, 4R）－1－（（ベンジルオキシ）カルボニル）－4－ヒドロキシピロリジン－2－カルボン酸（Cbz－Hyp－OH）（12.0 g、45.2 mmol）のジメチルホルムアミド溶液（120 mL）に水素化ナトリウム（NaH）（18.1 g、451.9 mmol、60wt%）を少しずつ加え、－10℃で1時間攪拌した。反応液に2－（2－ブロモエトキシ）テトラヒドロ－2H－ピラン（28.3 g、135.7 mmol）を－10℃にて滴下しながら

加え、反応液を30℃にて3時間攪拌した。反応を炭酸水素ナトリウム水溶液(120 mL)で停止し、酢酸エチル(120 mL)を加え洗浄した。得られた水層に1 N塩酸水溶液をpH=6になるまで加えた後、酢酸エチル(120 mL)で2回抽出した。得られた有機層を飽和食塩水、5%チオ硫酸ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。得られたろ液を減圧下濃縮することで(2S, 4R)-1-(ベンジルオキシ)カルボニル)-4-(2-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)ピロリジン-2-カルボン酸(Cbz-Hyp(2-ETHP)-OH)(10.4 g)を粗生成物として得た。

水素雰囲気下、得られた粗生成物である(2S, 4R)-1-(ベンジルオキシ)カルボニル)-4-(2-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)ピロリジン-2-カルボン酸(Cbz-Hyp(2-ETHP)-OH)(10.1 g)とパラジウム炭素(Pd/C)(3.0 g)のメタノール溶液(100 mL)を室温にて2時間攪拌した。反応液をろ過した後、得られた固体をメタノール(100 mL)で洗浄した。ろ液を減圧下濃縮することで得られた残渣をエーテルで洗浄することで(2S, 4R)-4-(2-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)ピロリジン-2-カルボン酸(H-Hyp(2-ETHP)-OH)(6.1 g)を粗生成物として得た。

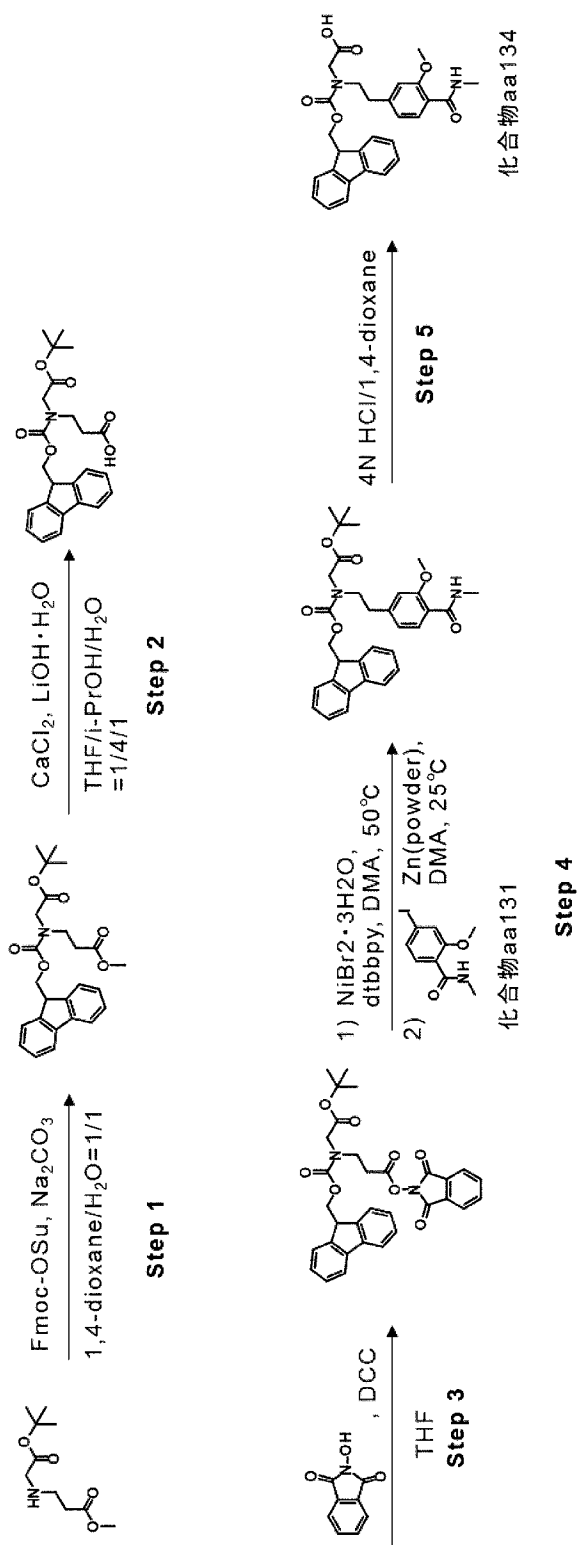
得られた粗生成物である(2S, 4R)-4-(2-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)ピロリジン-2-カルボン酸(H-Hyp(2-ETHP)-OH)(6.1 g)と炭酸水素ナトリウム(5.9 g、70.5 mmol)の1、4-ジオキサン/水=1/1溶液(130 mL)にN-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド(Fmoc-OSu)(7.9 g、23.5 mmol)を加え、室温にて2時間攪拌した。反応液にt-ブチルメチルエーテル(TBME)/ヘキサン=1/3溶液(100 mL)を加え、洗浄する操作を3回行った後、得られた水層に1 N塩酸水溶液をpH=6になるまで

加え、*t*-ブチルメチルエーテル (TBME) (100 mL) で抽出した。得られ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、ろ過を行った。得られたろ液を減圧下濃縮し、残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製することで、(2*S*, 4*R*)-1-((9*H*-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-4-(2-((テトラヒドロ-2*H*-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)ピロリジン-2-カルボン酸 (化合物 *aa133*、Fmoc-Hyp (2-Et OTHP)-OH) (1.88 g、3工程30%) で得た。

LCMS (ESI) m/z = 482 (M+H) +

保持時間: 0.80分 (分析条件SQDFA05)

[0336] N-((9*H*-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェネチル)グリシン (化合物 *aa134*、Fmoc-(Ph (3-OMe-4-CONMe) Et) Gly-OH) の合成

[0337] Step 1

文献記載の方法 (Journal of Medicinal Chemistry (1991), 34 (4), 1297-1301) により調整した3-((2-(tert-ブトキシ)-2-オキソエチル)アミノ

）プロパン酸メチル（31.0 g、142.683 mmol）とN-（9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ）スクシンイミド（Fmoc-OSu）（48.13 g、142.683 mmol）の1,4-ジオキサン溶液（200 mL）に炭酸ナトリウム（30.25 g、285.366 mmol）の水溶液（200 mL）を室温にて加え16時間撹拌した。反応液にアセトニトリルを加え、ろ過をした後、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。

—得られたろ液を減圧下濃縮することで粗生成物として3-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）（2-（tert-ブトキシ）-2-オキソエチル）アミノ）プロパン酸メチル（62 g、36%）を得た。

[0338] Step 2

塩化カルシウム（84.54 g、761.761 mmol）と水酸化リチウムの1水和物（8.52 g、203.136 mmol）に水（250 mL）とイソプロパノール（1000 mL）を加えた後、上述の粗生成物である3-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）（2-（tert-ブトキシ）-2-オキソエチル）アミノ）プロパン酸メチル（62 g、50.784 mmol）のテトラヒドロフラン溶液（250 mL）を0℃にて加え、16時間撹拌した。反応液を減圧下濃縮した後、得られた残渣に水を加え、tert-ブチルメチルエーテル（TBME）で洗浄した。得られた水層に1N塩酸水溶液を溶液のpHが酸性になるまで加えた後、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を水、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。得られたろ液を減圧下濃縮することで粗生成物として3-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）（2-（tert-ブトキシ）-2-オキソエチル）アミノ）プロパン酸（14 g、58%）を得た。

[0339] Step 3

窒素雰囲気下、上述の粗生成物である 3-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル(2-(tert-ブトキシ)-2-オキソエチル)アミノ)プロパン酸(14 g、32.904 mmol)、N-ヒドロキシフタルイミド(5.90 g、36.194 mmol)、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)(7.47 g、36.194 mmol)のテトラヒドロフラン溶液(140 mL)を室温にて16時間攪拌した。反応液をろ過した後、減圧下濃縮することで得られた残渣に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。得られたろ液を減圧下濃縮することで粗生成物として3-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル(2-(tert-ブトキシ)-2-オキソエチル)アミノ)プロパン酸 1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル(14 g、75%)を得た。

[0340] Step 4

窒素雰囲気下、臭化ニッケル(II)の3水和物($\text{NiBr}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)(5.73 g、21.031 mmol)と4,4'-ジ-tert-ブチル-2,2'-ビピリジル(dtbbpy)(5.64 g、21.031 mmol)のジメチルアセトアミド(DMA)溶液(200 mL)を50℃で3時間攪拌した後、室温に冷却することでニッケル触媒溶液を得た。窒素雰囲気下、亜鉛粉末(22.93 g、350.509 mmol)、上述の様に得た粗生成物である3-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル(2-(tert-ブトキシ)-2-オキソエチル)アミノ)プロパン酸 1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル(40.0 g、70.102 mmol)、実施例に記載の通り合成した4-ヨード-2-メトキシ-N-メチルベンズアミド(化合物aa131)(40.81 g、140.204 mmol)のジメチルアセトアミド(DMA)溶液(200 mL)を室温で10分間攪拌した後、上述のニッケル触媒溶液を滴下しながら室温にて加え、16時間攪拌した。反応液に10%EDTA・2Na(エチレンジアミン四酢酸の2ナトリウム塩)水溶液を加え、

ろ過した後、酢酸エチルで3回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、得られたろ液を減圧下濃縮し、残渣を順相カラムクロマトグラフィーにて精製することで、*tert*-ブチル N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェネチル)グリシナート (14 g、37%) を得た。

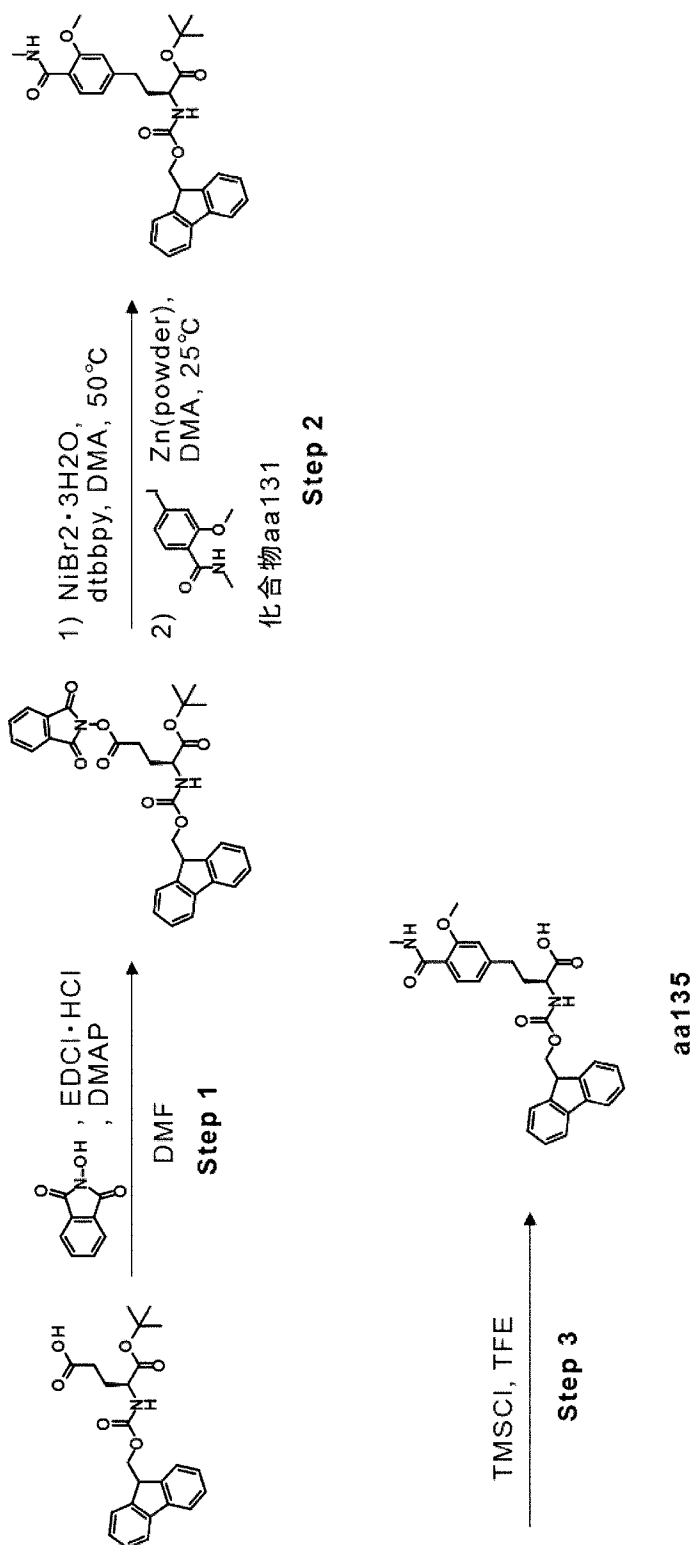
[0341] Step 5

上述の *tert*-ブチル N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェネチル)グリシナート (14.0 g、25.705 mmol) の4N塩酸/1,4-ジオキサン溶液 (65 mL) を室温にて48時間撹拌した。反応液を減圧下濃縮した後、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製することで、N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェネチル)グリシン (化合物 aa134、Fmoc-Ph(3-OMe-4-CONMe)Et)Gly-OH) (6 g、47%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 489 (M+H) +

保持時間: 0.70分 (分析条件 SQDFA05)

[0342] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)ブタン酸 (化合物 aa135、Fmoc-Hph(3-OMe-4-CONMe)-OH) の合成

[0343] Step 1

窒素雰囲気下、市販の(S)-4-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-5-(tert-ブトキシ)-5-オキソペンタン酸(Fmoc-Glu-OtBu)(175 g、411.2

99 mmol)、N-ヒドロキシフタルイミド (67.1 g、411.299 mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (EDCI·HCl) (78.85 g、411.299 mmol)、N,N-ジメチル-4-アミノピリジン (DMAP) (2.51 g、20.565 mmol) のジメチルホルムアミド溶液 (2000 mL) を室温にて16時間攪拌した。反応液に1 M塩酸水溶液を加えた後、t-ブチルメチルエーテル (TBME) で抽出した。得られた有機層を水、50%飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、得られたろ液を減圧下濃縮し、残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) にて精製することで、((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル-L-グルタミン酸 5-(1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-1-(tert-ブチル) (105 g、45%) を得た。

[0344] Step 2

窒素雰囲気下、臭化ニッケル (II) の3水和物 ($\text{NiBr}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (141 mg、0.526 mmol) と4,4'-ジ-tert-ブチル-2,2'-ビピリジル (dtbbpy) (140 mg、0.526 mmol) のジメチルアセトアミド (DMA) 溶液 (5 mL) を50℃で3時間攪拌した後、室温に冷却することでニッケル触媒溶液を得た。窒素雰囲気下、亜鉛粉末 (617 mg、8.75 mmol)、上述の様にして得た((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル-L-グルタミン酸 5-(1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル)-1-(tert-ブチル) (1.0 g、1.75 mmol)、実施例に記載の通り合成した4-ヨード-2-メトキシ-N-メチルベンズアミド (化合物aa131) (1.19 g、3.50 mmol) のジメチルアセトアミド (DMA) 溶液 (5 mL) を室温で1時間攪拌した後、上述のニッケル触媒溶液を滴下しながら室温にて加え、16時間攪拌した。反応液に10% EDTA·2Na (エチレンジアミン四酢酸の2ナトリウム塩) 水溶液を加え、

ろ過した後、酢酸エチルで3回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、得られたろ液を減圧下濃縮し、残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）にて精製することで、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-4-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)ブタン酸 tert-ブチル (550 mg、57%) を得た。

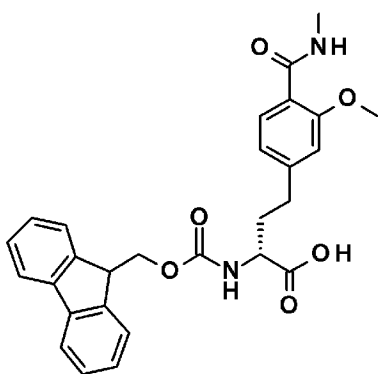
[0345] Step 3

上述の様にして得た (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-4-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)ブタン酸 tert-ブチル (3.00 g、5.508 mmol) のトリフルオロエタノール (TFE) 溶液 (30 mL) に室温にてクロロトリメチルシラン (TMS-Cl) (1.80 g、16.568 mmol) を加え、3時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮した後、得られた残渣を酢酸エチルで精製することで、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-4-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)ブタン酸 (化合物 aa135、Fmoc-Hph (3-OMe-4-CONMe)-OH) (1.9 g、70%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 489 (M+H) +

保持時間: 0.71分 (分析条件 SQDFA05)

[0346] (R)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-4-(3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル)フェニル)ブタン酸 (化合物 aa136、Fmoc-D-Hph (3-OMe-4-CONMe)-OH) の合成

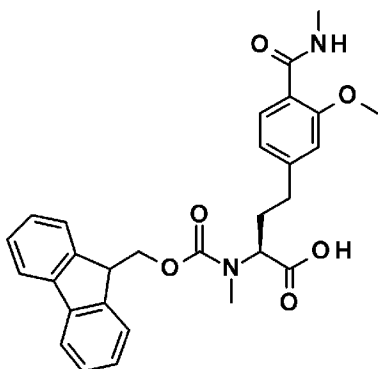


市販の (R) - 4 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 5 - (tert-ブトキシ) - 5-オキソペンタン酸 (Fmoc-D-Glu-OtBu) を用い化合物 a a 1 3 5 の合成と同様な手法により (R) - 2 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - (3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル) フェニル) ブタン酸 (化合物 a a 1 3 6、Fmoc-D-Hph (3-OMe-4-CONMe) -OH) (5 g、3工程20%) で合成した。

LCMS (ESI) m/z = 487 (M-H) -

保持時間: 0.83分 (分析条件SQDFA05)

[0347] (S) - 2 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ) - 4 - (3-メトキシ-4-(メチルカルバモイル) フェニル) ブタン酸 (化合物 a a 1 3 7、Fmoc-MeHph (3-OMe-4-CONMe) -OH) の合成



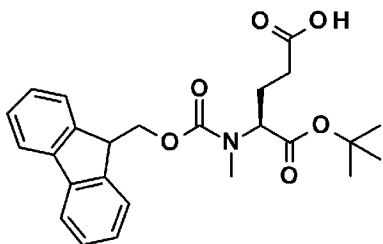
別途合成した (S) - 4 - ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ) - 5 - (tert-ブトキシ) - 5-オキソペンタン酸 (化合物 a a 1 3 8、Fmoc-MeGlu-OtBu

を用い化合物 a a 1 3 5 の合成と同様な手法により (S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ) - 4 - (3 - メトキシ - 4 - (メチルカルバモイル) フェニル) ブタン酸 (化合物 a a 1 3 7、Fmoc - MeHph (3 - OMe - 4 - CONMe) - OH) (2. 8 g、3 工程 2 0 %) で合成した。

LCMS (ESI) m/z = 503 (M+H) +

保持時間 : 0. 7 3 分 (分析条件 SQDFA05)

[0348] (S) - 4 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ) - 5 - (tert - ブトキシ) - 5 - オキソペンタン酸 (化合物 a a 1 3 8、Fmoc - MeGlu - OtBu) の合成



窒素雰囲気下、市販の (S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 5 - (アリルオキシ) - 5 - オキソペンタン酸 (Fmoc - Glu (OAlI) - OH) (100 g、244. 237 mmol)、パラホルムアルデヒド (22 g、733. 333 mmol)、p - トルエンスルホン酸 (TsOH) (0. 42 g、2. 438 mmol) のトルエン溶液 (1000 mL) を 110℃ にて 1. 5 時間攪拌した。反応液を室温にて冷却した後、減圧下濃縮することで得られた残渣に酢酸エチルを加え、炭酸水素ナトリウム水溶液、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、ろ過を行った後、減圧下濃縮することで粗生成物として、(S) - 4 - (3 - (アリルオキシ) - 3 - オキソプロピル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 3 - カルボン酸 (9 H - フルオレン - 9 - イル) メチル (110 g) を得た。

窒素雰囲気下、上述の粗生成物として得られた (S) - 4 - (3 - (アリルオキシ) - 3 - オキソプロピル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 3 - カル

ボン酸 (9H-フルオレン-9-イル) メチル (110 g)、トリエチルシラン (Et_3SiH) (60.6 g、522.565 mmol)、水 (4.7 mL、264.282 mmol) のジクロロメタン溶液 (1100 mL) に0℃にて三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) (74.2 g、522.565 mmol) を加え、16時間攪拌した。反応液に塩化アンモニウム水溶液を加え、酢酸エチルで2回抽出した後、得られた有機層を減圧下濃縮した。残渣に炭酸水素ナトリウム水溶液を加え溶解させた後、ヘキサン/酢酸エチル (5/1) で3回洗浄した。水層に6N塩酸水溶液をpH=2になるまで加え、酢酸エチルで2回抽出した。有機層を水、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、ろ液を減圧下濃縮した。得られた残渣を1%トリフルオロ酢酸 (TFA) のアセトニトリル/水 (1/5) 溶液を用いて再結晶することで、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ)-5-(アリルオキシ)-5-オキソペンタン酸 (Fmoc-MeGlu(OAlI)-OH) (95 g、2工程86%) を得た。

窒素雰囲気下、上述の様に得た (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ)-5-(アリルオキシ)-5-オキソペンタン酸 (Fmoc-MeGlu(OAlI)-OH) (100 g、236.406 mmol) と三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) (0.16 g、2.364 mmol) のジクロロメタン溶液 (260 mL) に0℃にて2, 2, 2-トリクロロアセトイミド酸 tert-ブチル (51 g、472.813 mmol) のシクロヘキサン溶液を加えた後、1時間攪拌した。反応液にピリジンを加え、ろ過を行った後、ろ液を炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮することで得られた残渣をアセトニトリル/水 (1/5) 溶液を用いて再結晶することで、N-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル)-N

ーメチルーLーグルタミン酸 1ー(t e r tーブチル) 5ーアリル (102 g) を定量的に得た。

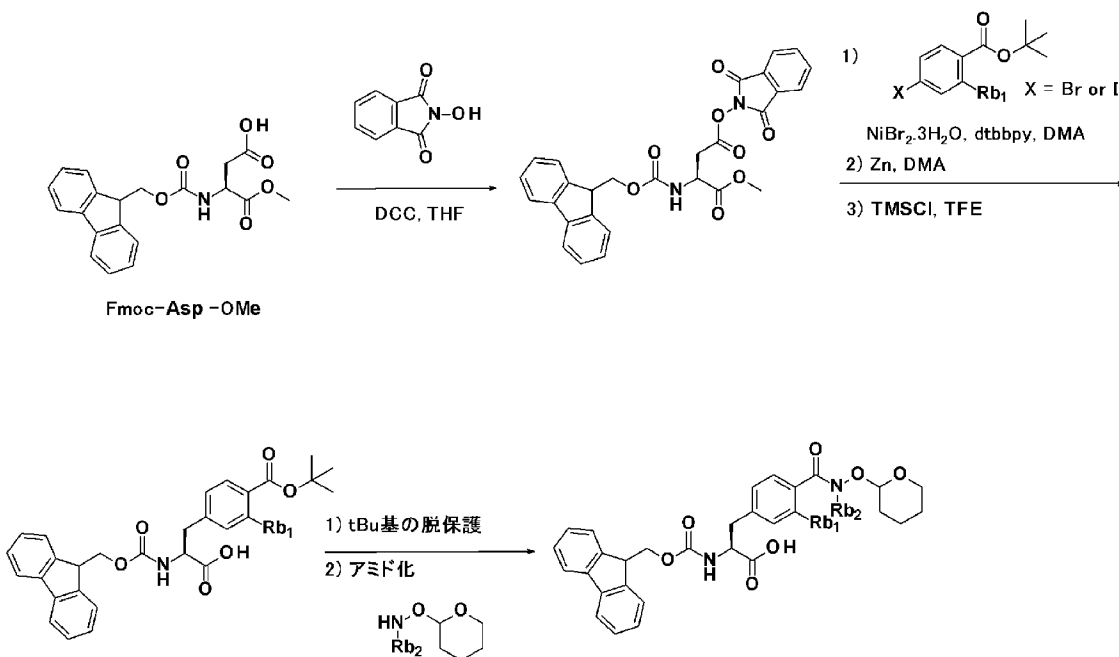
窒素雰囲気下、上述の様にして得たNー((9Hーフルオレンー9ーイル)メトキシ)カルボニル)ーNーメチルーLーグルタミン酸 1ー(t e r tーブチル) 5ーアリル (290 g、605.427 mmol) とテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0) (Pd(PPh₃)₄) (7.0 g、6.054 mmol) のジクロロメタン溶液 (1450 mL) にフェニルシラン (PhSiH₃) (45.77 g、423.799 mmol) を滴下しながら室温にて加え、攪拌した。原料の消失をLCーMSにて確認した後、反応液をろ過し、得られたろ液を減圧下濃縮した。残渣に炭酸ナトリウム水溶液を加え溶解させた後、ヘキサン／tーブチルメチルエーテル (1／3) 溶液で3回洗浄した。水層にリン酸をpH=2になるまで加えた後、tーブチルメチルエーテルで2回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、得られたろ液を減圧下濃縮することで、(S)ー4ー(((9Hーフルオレンー9ーイル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)ー5ー(t e r tーブトキシ)ー5ーオキソペンタン酸 (化合物aa138、Fmoc-MeGlu-OtBu) (247 g、93%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 462 (M+Na) +

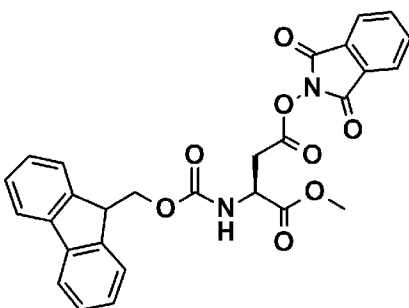
保持時間：1.380分 (分析条件SMD method52)

[0349] (2S)ー2ー(((9Hーフルオレンー9ーイル)メトキシ)カルボニル)アミノ)ー3ー(4ー(メチル((テトラヒドロー2Hーピランー2ーイル)オキシ)カルバモイル)フェニル)プロパン酸 (化合物aa139、Fmoc-Phe(4-CONMeOTHP)ーOH)、(2S)ー2ー(((9Hーフルオレンー9ーイル)メトキシ)カルボニル)アミノ)ー3ー(3ーメトキシー4ー(((テトラヒドロー2Hーピランー2ーイル)オキシ)カルバモイル)フェニル)プロパン酸 (化合物aa140、Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHOTHP)ーOH) は以下のスキーマ

ムに従って合成した。



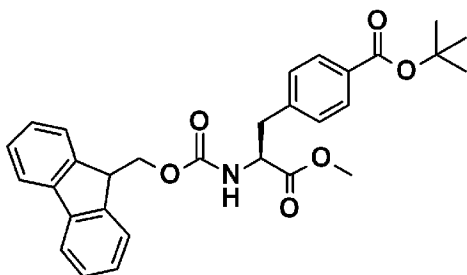
[0350] (((9 H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) -L-アスパラギン酸 1-メチル 4- (1, 3-ジオキソイソインドリン-2-イル) の合成



窒素雰囲気下、市販の (S) -3- (((9 H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ -4-メトキシ-4-オキソブタン酸 (Fmoc-Asp-OMe) (15.0 g、40.6 mmol) と N-ヒドロキシフタルイミド (7.3 g、44.7 mmol)、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) (8.4 g、40.6 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (225 mL) を室温にて、25℃で2時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮することで得られた残渣に酢酸エチルを加え、ろ過を行った後、得られた固体を酢酸エチルで洗浄した。ろ液を減圧下

濃縮することで得られた残渣に酢酸エチル（1.5 L）を加え、50℃で16時間攪拌した。室温に冷却した後、ろ過を行い、固体を酢酸エチルで洗浄した後、ろ液を減圧下濃縮することで、粗生成物である（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-L-アスパラギン酸 1-メチル 4-（1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル）（10.4 g）を得た。

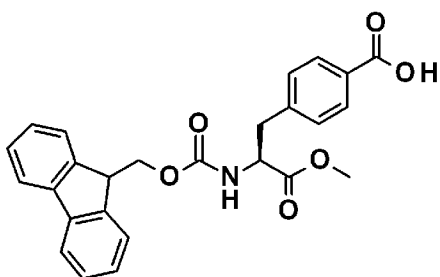
[0351] （S）-4-（2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-3-メトキシ-3-オキソプロピル）安息香酸 tert-ブチル（Fmoc-Phe（4-COtBu）-OMe）の合成



窒素雰囲気下、臭化ニッケル（II）の3水和物（ $\text{NiBr}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ）（1.649 g、6.064 mmol）と4,4'-ジ-tert-ブチル-2,2'-ビピリジル（dtbbpy）（1.627 g、6.064 mmol）のジメチルアセトアミド（DMA）溶液（50 mL）を50℃で3時間攪拌した後、室温に冷却することでニッケル触媒溶液を得た。窒素雰囲気下、亜鉛粉末（6.61 g、101.071 mmol）、（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-L-アスパラギン酸 1-メチル 4-（1,3-ジオキソイソインドリン-2-イル）（10.4 g、20.214 mmol）のジメチルアセトアミド（DMA）溶液（50 mL）に4-ブロモ安息香酸 tert-ブチル（10.4 g、40.447 mmol）を滴下しながら0℃にて加え、室温にて16時間攪拌した。反応液に10% EDTA・2Na（エチレンジアミン四酢酸の2ナトリウム塩）水溶液を0℃にて加え、ろ過を行い、固体を酢酸エチルで洗浄した後、ろ液を酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、

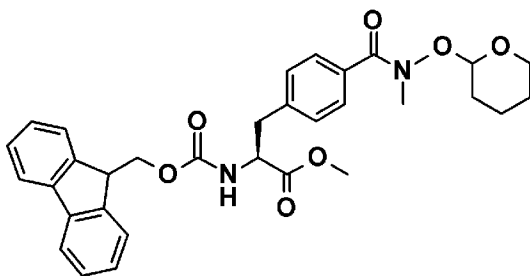
無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、ろ液を減圧下濃縮することで得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）にて精製することで、（S）－4－（2－（（（9H－フルオレン－9－イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）－3－メトキシ－3－オキソプロピル）安息香酸 tert－ブチル（Fmoc－Phe（4－COtBu）－OMe）（11.9 g、76%）を得た。

[0352] （S）－4－（2－（（（9H－フルオレン－9－イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）－3－メトキシ－3－オキソプロピル）安息香酸（Fmoc－Phe（4－COOH）－OMe）の合成



窒素雰囲気下、上述の（S）－4－（2－（（（9H－フルオレン－9－イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）－3－メトキシ－3－オキソプロピル）安息香酸 tert－ブチル（11.9 g、23.7 mmol）のジクロロメタン溶液（238 mL）にトリフルオロ酢酸（TFA）（71.4 mL）を加え、室温にて3時間攪拌した。反応液に水（250 mL）を加えた後、ジクロロメタン（250 mL）で抽出した。有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、ろ液を減圧下濃縮することで、粗生成物として（S）－4－（2－（（（9H－フルオレン－9－イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）－3－メトキシ－3－オキソプロピル）安息香酸（Fmoc－Phe（4－COOH）－OMe）（10.1 g）を得た。

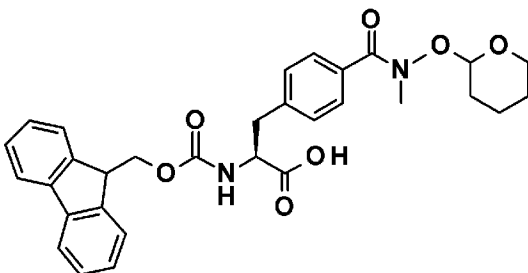
[0353] （2S）－2－（（（（9H－フルオレン－9－イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）－3－（4－（メチル（（テトラヒドロ－2H－ピラン－2－イル）オキシ）カルバモイル）フェニル）プロパン酸メチル（Fmoc－P

h e (4 - CONMeOTHP) - OMe) の合成

窒素雰囲気下、上述の粗生成物である (S) - 4 - (2 - (((9 H - フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 3 - メトキシ-3-オキソプロピル) 安息香酸 (10.1 g、22.6 mmol) と文献記載の方法 (Journal of Organic Chemistry, 2014, 79 (20), 9699-9703) で別途合成した N - メチル- O - (テトラヒドロ-2 H - ピラン-2-イル) ヒドロキシルアミン (14.9 g、113.5 mmol) のジクロロメタン溶液 (100 mL) に O - (7 - アザ-1 H - 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 ヘキサフルオロリン酸塩 (HATU) (12.9 g、34.0 mmol)、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) (4.4 g、34.0 mmol) を室温にて加え、16時間攪拌した。反応液に水 (100 mL) を加え、酢酸エチル (200 mL) で抽出した後、水 (100 mL)、飽和食塩水 (100 mL) で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、ろ液を減圧下濃縮することで得られる残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル / 酢酸エチル) にて精製することで、(2 S) - 2 - (((9 H - フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 3 - (4 - (メチル ((テトラヒドロ-2 H - ピラン-2-イル) オキシ) カルバモイル) フェニル) プロパン酸メチル (Fmoc - Phe (4 - CONMeOTHP) - OMe) (7.2 g、55%) を得た。

[0354] (2 S) - 2 - (((9 H - フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 3 - (4 - (メチル ((テトラヒドロ-2 H - ピラン-2 -

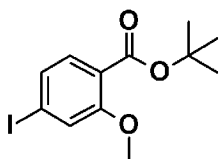
イル) オキシ) カルバモイル) フェニル) プロパン酸 (化合物 a a 1 3 9、
Fmoc-Phe (4-CONMeOTHP) -OH) の合成



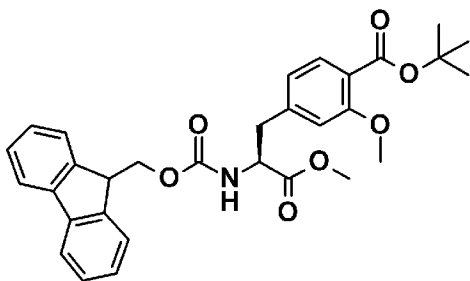
塩化カルシウム (21.46 g、193.33 mmol) と水酸化リチウムの1水和物 (2.16 g、51.47 mmol) に水 (72 mL) を加え、室温にて15分撹拌した後、上述の (2S) -2-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) -3-(4-(メチル ((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) カルバモイル) フェニル) プロパン酸メチル (Fmoc-Phe (4-CONMeOTHP) -OMe) (7.20 g、12.89 mmol) のテトラヒドロフラン/ t-ブタノール (72 mL/288 mL) 溶液を室温にて加え、16時間撹拌した。反応液をろ過し、固体をテトラヒドロフラン (200 mL) で洗浄した後、ろ液を減圧下濃縮し、水 (50 mL) を加え、酢酸エチル (200 mL) で2回抽出した。有機層を0.05Nリン酸水溶液 (350 mL) で洗浄した後、得られた水層を再び酢酸エチル (200 mL) で抽出した。有機層を合わせて、減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) で精製することで、(2S) -2-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) -3-(4-(メチル ((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル) オキシ) カルバモイル) フェニル) プロパン酸 (化合物 a a 1 3 9、Fmoc-Phe (4-CONMeOTHP) -OH) (5.1 g、71%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 545 (M+H) +

保持時間: 0.79分 (分析条件SQDFA05)

[0355] 4-ヨード-2-メトキシ安息香酸 tert-ブチルの合成

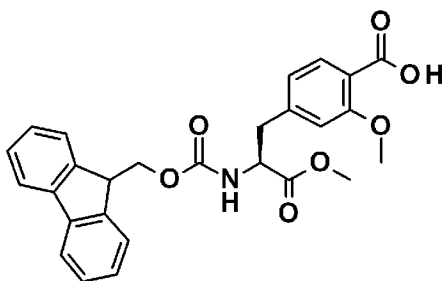
窒素雰囲気下、市販の4-ヨード-2-メトキシ安息香酸（15.0 g、53.948 mmol）のジクロロメタン溶液（60.0 mL）に2, 2-トリクロロアセトイミド酸 tert-ブチル（23.58 g、107.896 mmol）のシクロヘキサン溶液（120 mL）を室温にて滴下しながら加えた後、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体（ $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ）（76.57 mg、0.539 mmol）を滴下しながら加え、室温で2時間撹拌した。反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣にヘキサンを加え、1時間撹拌し、ろ過を行った後、ろ液を減圧下濃縮することで、粗生成物として4-ヨード-2-メトキシ安息香酸 tert-ブチル（21 g）を得た。

[0356] (S)-4-(2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-メトキシ-3-オキソプロピル)-2-メトキシ安息香酸 tert-ブチル (Fmoc-Phe(3-OMe-4-COtBu)-OMe) の合成

窒素雰囲気下、臭化ニッケル（II）の3水和物（ $\text{NiBr}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ）（4.28 g、15.711 mmol）と4, 4'-ジ-tert-ブチル-2, 2'-ビピリジル（dtbbpy）（4.22 g、15.711 mmol）のジメチルアセトアミド（DMA）溶液（150 mL）を50℃で3時間撹拌した後、室温に冷却することでニッケル触媒溶液を得た。窒

素雰囲気下、亜鉛粉末（17.13 g、261.856 mmol）、上述の様に合成した（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-L-アスパラギン酸 1-メチル 4-（1,3-ジオキソイソインドルイン-2-イル）（26.94 g、52.371 mmol）、上述の様に合成した粗生成物である4-ヨード-2-メトキシ安息香酸 tert-ブチル（35.0 g、104.742 mmol）のジメチルアセトアミド（DMA）溶液（150 mL）を室温で10分間攪拌した後、上述のニッケル触媒溶液を滴下しながら室温にて加え、16時間攪拌した。反応液に10% EDTA・2Na（エチレンジアミン四酢酸の2ナトリウム塩）水溶液を加え、ろ過を行った後、得られたろ液を酢酸エチルで2回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた後、ろ過、減圧濃縮を行うことで得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）にて精製することで、（S）-4-（2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-3-メトキシ-3-オキソプロピル）-2-メトキシ安息香酸 tert-ブチル（Fmoc-Phe（3-OMe-4-COtBu）-OMe）（8.4 g、13%）を得た。

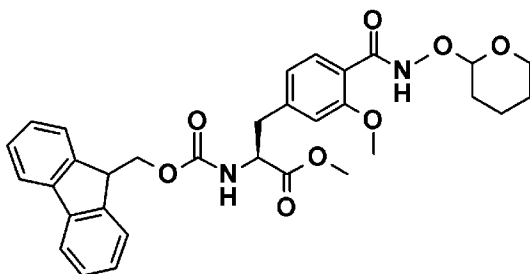
[0357] （S）-4-（2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-3-メトキシ-3-オキソプロピル）-2-メトキシ安息香酸（Fmoc-Phe（3-OMe-4-COOH）-OMe）の合成



窒素雰囲気下、上述のように得た（S）-4-（2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-3-メトキシ-3-オキソプロピル）-2-メトキシ安息香酸 tert-ブチル（Fmoc-

Phe (3-OMe-4-COtBu)-OMe) (26.8 g、50.4 mmol) の1,4-ジオキサン溶液 (30.0 mL) に室温にて4 N 塩酸/1,4-ジオキサン溶液 (268 mL) を加え、1時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮することで得られた残渣をヘキサン/酢酸エチル (5/1) で洗浄することで、粗生成物として (S)-4-(2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-メトキシ-3-オキソプロピル)-2-メトキシ安息香酸 (Fmoc-Phe (3-OMe-4-COOH)-OMe) (22 g) を得た。

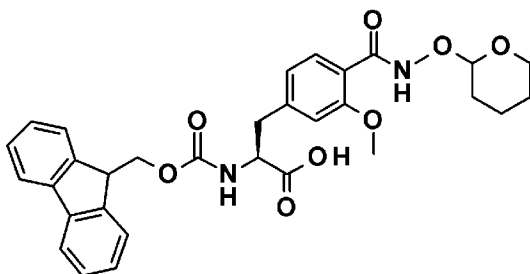
[0358] (2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-(((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)カルバモイル)フェニル)プロパン酸メチル (Fmoc-Phe (3-OMe-4-CONHOTHP)-OMe) の合成



窒素雰囲気下、上述の粗生成物である (S)-4-(2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-メトキシ-3-オキソプロピル)-2-メトキシ安息香酸 (Fmoc-Phe (3-OMe-4-COOH)-OMe) (22.0 g、46.267 mmol) と市販のO-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)ヒドロキシルアミン) (27.1 g、231.337 mmol) のジクロロメタン溶液 (400 mL) にO-(7-アザ-1H-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 ヘキサフルオロリン酸塩 (HATU) (21.11 g、55.521 mmol)、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (7.18 g、55.521 mmol) を室温にて加え、16時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチ

ルで2回抽出した後、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、ろ過を行った後、ろ液を減圧下濃縮することで粗生成物として(2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-(((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)カルバモイル)フェニル)プロパン酸メチル(Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHOTHP)-OMe)(35.0 g)を得た。

[0359] (2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-(((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)カルバモイル)フェニル)プロパン酸(化合物aa140、Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHOTHP)-OH)の合成



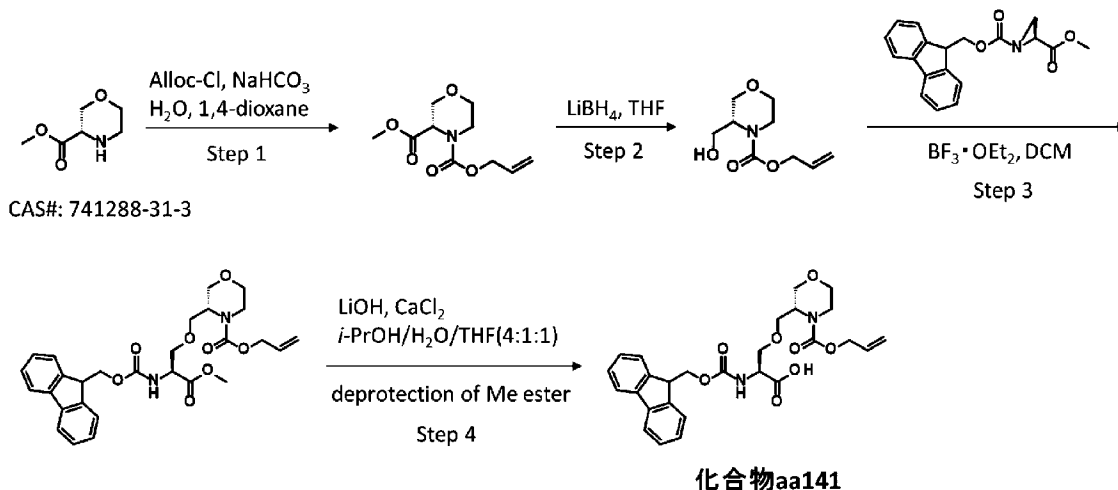
塩化カルシウム(101.40 g、913.631 mmol)と水酸化リチウムの1水和物(5.83 g、243.635 mmol)に水(360 mL)、イソプロパノール(1440 mL)を0℃にて加え、上述の粗生成物である(2S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-(3-メトキシ-4-(((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)カルバモイル)フェニル)プロパン酸メチル(Fmoc-Phe(3-OMe-4-CONHOTHP)-OMe)(35.0 g、60.909 mmol)のテトラヒドロフラン溶液(360 mL)を滴下しながら加えた後、室温にて16時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、有機溶媒を除去した後、得られた水層に2M塩酸水溶液をpH=7になるまで加え、酢酸エチルで2回抽出した。有機層を飽

和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、得られたろ液を減圧下濃縮し、残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）で精製することで、（2S）-2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-3-（3-メトキシ-4-（（（テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル）オキシ）カルバモイル）フェニル）プロパン酸（化合物aa140、Fmoc-Phe（3-OMe-4-CONHOTHP）-OH）（7.3 g、40%）を得た。

LCMS (ESI) m/z = 561 (M+H) +

保持時間：0.77分（分析条件SQDFA05）

[0360] N-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-O-（（（S）-4-（（アリルオキシ）カルボニル）モルホリン-3-イル）メチル）-L-セリン（化合物aa141、Fmoc-Ser（S-（Alloco）Mor-3-Me）-OH）は下記のスキームにより合成した。



[0361] Step 1

窒素雰囲気下、市販の（S）-モルホリン-3-カルボン酸（CAS No. 741288-31-3）（14.0 g、107 mmol）の水溶液（100 mL）に室温にて炭酸水素ナトリウム（20.26 g、241.172 mmol）を加えた。反応液に室温でクロロギ酸アリル（Alloco-Cl）（17.44 g、120.53 mmol）の1,4-ジオキサン溶液（100 mL）を滴下しながら加え、2時間攪拌した。

反応液に水を加えた後、酢酸エチルで抽出し、得られ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、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）にて精製することで、（S）－モルホリン－3，4－ジカルボン酸 3－メチル 4－アリル（19 g、86%）を得た。

[0362] Step 2

上記の様にして得た（S）－モルホリン－3，4－ジカルボン酸 3－メチル 4－アリル（19.5 g、85.067 mmol）のテトラヒドロフラン（THF）溶液（283 mL）に0度にてリチウムホウ水素化物（5.56 g、255.233）／テトラヒドロフラン（THF）溶液を滴下しながら加え、室温で2時間攪拌した。反応液に0度にて水と2N塩酸水溶液を加えた後、酢酸エチルで抽出し、得られ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、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）にて精製することで、（R）－3－（ヒドロキシメチル）モルホリン－4－カルボン酸アリル（10.1 g、59%）を得た。

[0363] Step 3

窒素雰囲気下、上述の（R）－3－（ヒドロキシメチル）モルホリン－4－カルボン酸アリル（7.0 g、34.8 mmol）と特許記載の方法（WO2015/179823）で合成した（S）－アジリジン－1，2－ジカルボン酸 2－メチル 1－（（9H－フルオレン－9－イル）メチル）（7.50 g、23.2 mmol）のジクロロメタン溶液（47 mL）に0度にて三フッ化ホウ素－エチルエーテルコンプレックス（1.48 g、10.45 mmol）のジクロロメタン溶液を滴下しながら加え、2時間攪拌した。反応液に水を加えた後、ジクロロメタンで抽出し、得られ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、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）にて精製することで、（S）－3－（（（S）－2

— ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) — 3-メトキシ-3-オキソプロポキシ) メチル) モルホリン-4-カルボン酸アリル (4.5 g、37%) を得た。

[0364] Step 4

窒素雰囲気下、塩化カルシウム (15.87 g、142.974 mmol) の水溶液 (50 mL) に室温にて水酸化リチウム-水和物 (0.91 g、37.999 mmol) を加え、室温で10分間攪拌した。反応液に上述の様にして得た (S)-3- (((S)-2- (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) — 3-メトキシ-3-オキソプロポキシ) メチル) モルホリン-4-カルボン酸アリル (5.0 g、9.532 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (50 mL)、イソプロパノール (200 mL) を0℃にて加え、室温にて9時間攪拌した後、1M塩酸水溶液を加え、減圧下溶媒を留去した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) にて精製することで、N- (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) —O- (((S)-4- ((アリルオキシ) カルボニル) モルホリン-3-イル) メチル) —L-セリン (化合物aa141、Fmoc-Ser (S- (Alloc) Mor-3-Me) —OH) (2.4 g、49%) を得た。

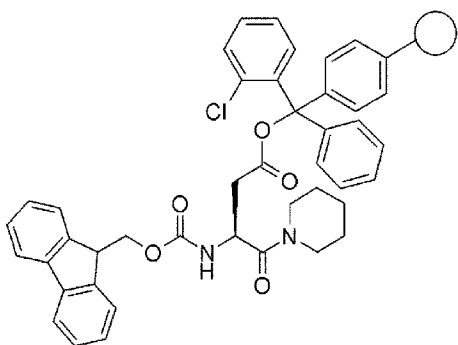
LCMS (ESI) m/z = 511 (M+H) +

保持時間: 0.77分 (分析条件SQDFA05)

[0365] 1-3. ペプチド合成機によるペプチド合成に用いるレジン合成

ペプチド合成機によるペプチド合成に用いるレジンは、以下のとおり合成した。2-クロロトリチルクロライドレジン (100-200 mesh、1% DV B) は渡辺化学工業及びChem-Impex社から購入した。

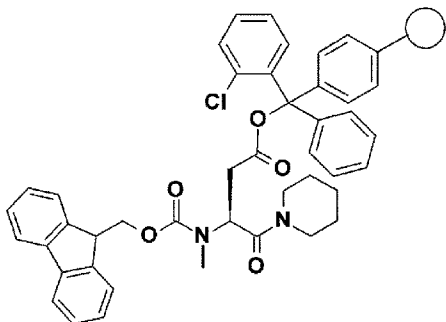
[0366] (S)-3- ((((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) — 4-オキソ-4- (ピペリジン-1-イル) ブタン酸-2-クロロトリチルレジン (化合物pd01、Fmoc-Asp (O-Trt (2-Cl) —resin) —pip) の合成



(S) - 3 - ((((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - オキソ - 4 - (ピペリジン - 1 - イル) ブタン酸 - 2 - クロロトリチルレジン (化合物 pd 01、Fmoc - Asp (O - Trt (2 - Cl) - resin) - pip) は、WO 2013 / 100132 に記載の方法にて合成した。

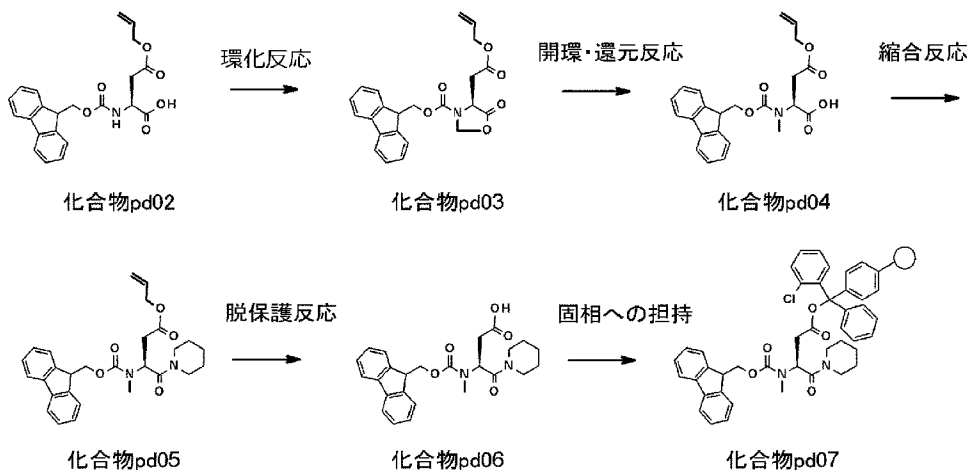
なお、本明細書では、ポリマーやレジンと化合物が結合した場合、ポリマーやレジン部位を○にて表記する場合がある。また、レジン部位の反応点を明確にさせる目的で、○に接続させて反応部位の化学構造を表記させる場合がある。上の構造では、Fmoc - Asp (O - Trt (2 - Cl) - resin) - pip (化合物 pd 01) において、レジン上の 2 - クロロトリチル基が Asp の側鎖カルボン酸とエステル結合を介して結合している様子を示している。

[0367] (S) - 3 - ((((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ) - 4 - オキソ - 4 - (ピペリジン - 1 - イル) ブタン酸 - 2 - クロロトリチルレジン (化合物 pd 07、Fmoc - Me Asp (O - Trt (2 - Cl) - Resin) - pip) の合成

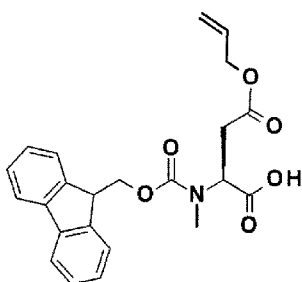


(S) - 3 - ((((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル

ル) (メチル) アミノ) - 4 - オキソ - 4 - (ピペリジン - 1 - イル) ブタン酸 - 2 - クロロトリチルレジン (化合物 pd07、Fmoc-MeAsp (O-Trt (2-Cl) - Resin) - pip) は下記のルートにて合成した。



[0368] (S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ) - 4 - (アリルオキシ) - 4 - オキソブタン酸 (化合物 pd04、Fmoc-MeAsp (OAl) - OH) の合成



窒素雰囲気下、(S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - (アリルオキシ) - 4 - オキソブタン酸 (化合物 pd02、Fmoc-Asp (OAl) - OH) (10.0 g、25.3 mmol) のトルエン溶液 (100 mL) に室温にてパラホルムアルデヒド (1.52 g)、トシル酸 (TsOH) (260 mg、1.51 mmol) を加え、110℃にて16時間攪拌した。その後、室温まで反応液を冷却し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液による洗浄を2回行った。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、ろ過、減圧濃縮し、粗生成物として (S) - 4 - (2 - (アリルオキシ) - 2 - オキソエチル)

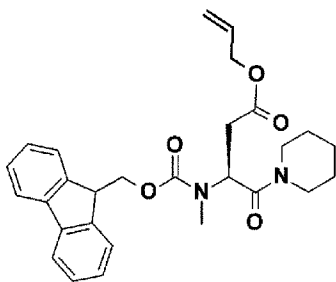
－5－オキソオキサゾリジン－3－カルボン酸（9H－フルオレン－9－イル）メチル（化合物p d 0 3）（8. 0 g）を得た。

窒素雰囲気下、前工程にて得られた（S）－4－（2－（アリルオキシ）－2－オキソエチル）－5－オキソオキサゾリジン－3－カルボン酸（9H－フルオレン－9－イル）メチル（化合物p d 0 3）（5. 0 g、12. 3 mmol）とトリエチルシラン（Et₃SiH）（4. 3 g、37. 0 mmol）のジクロロメタン／トリフルオロ酢酸（TFA）＝1／1（80 mL／80 mL）の溶液を室温にて2日間攪拌した後、反応液を減圧濃縮した。得られた残渣に炭酸カリウム（K₂CO₃）水溶液を加え、石油エーテルで3回洗浄した後、塩酸を用いてpH 3まで調整し、酢酸エチルを用いて3回抽出した。有機層をまとめて、無水硫酸ナトリウムにて乾燥し、ろ過、減圧濃縮し、得られた残渣を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー（0. 1 %ギ酸水溶液／0. 1 %ギ酸アセトニトリル）にて精製し、（S）－2－（（（（9H－フルオレン－9－イル）メトキシ）カルボニル）（メチル）アミノ）－4－（アリルオキシ）－4－オキソブタン酸（化合物p d 0 4、Fmoc－MeAsp（OAl）－OH）（3. 0 g、46 %、2工程）を得た。

LCMS（ESI）m/z＝410（M+H）+

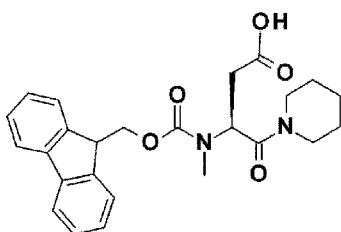
保持時間：0. 84分（分析条件SQDFA05）

[0369] （S）－3－（（（（9H－フルオレン－9－イル）メトキシ）カルボニル）（メチル）アミノ）－4－オキソ－4－（ピペリジン－1－イル）ブタン酸アリル（化合物p d 0 5、Fmoc－MeAsp（OAl）－pip）の合成



窒素雰囲気下、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (WSC I · HCl) (16.5 g、86 mmol) の DMF 溶液 (143 mL) に 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt) (10.6 g、79 mmol) を 0℃ にて加え、続いて (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-(アリルオキシ)-4-オキソブタン酸 (化合物 pd04、Fmoc-MeAsp(OAl)-OH) (29.3 g、71.6 mmol) の DMF/DCM=1/1 の混合溶液 (117 mL) を 0℃ にて滴下しながら加え、30分攪拌した。その後、ピペリジン (8.49 mL、86 mmol) を 0℃ で滴下しながら加え、30分攪拌した。反応の進行を LC-MS にて確認した後、反応液に酢酸エチルを加え、室温まで昇温した。得られた有機層を 2M の塩酸水溶液で 2 回、5% 炭酸水素ナトリウム水溶液で 2 回、飽和食塩水で 2 回洗浄した後、硫酸マグネシウムにて乾燥した。得られた混合物をろ過、減圧濃縮し、(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-オキソ-4-(ピペリジン-1-イル)ブタン酸 (化合物 pd05、Fmoc-MeAsp(OAl)-pip) (33.7 g、99%) を得た。
LCMS (ESI) m/z = 477 (M+H)⁺
保持時間: 1.32 分 (分析条件 SMD method 6)

[0370] (S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-オキソ-4-(ピペリジン-1-イル)ブタン酸 (化合物 pd06、Fmoc-MeAsp-pip) の合成



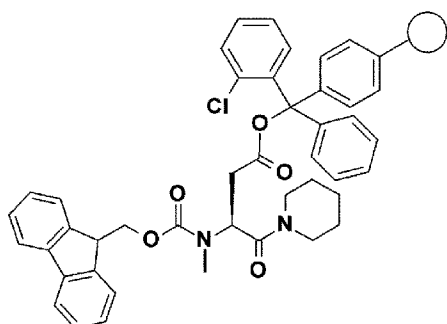
窒素雰囲気下、(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-オキソ-4-(ピペリジン-

1-イル)ブタン酸アリル(化合物pd05、Fmoc-MeAsp(OAl)-pip)(31.4 g、65.9 mmol)、4-メチルベンゼンスルフィン酸ナトリウム(11.2 g、62.6 mmol)、テトラキストリフェニルフォスフィンパラジウム($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$)(761 mg、0.659 mmol)にジクロロメタン(132 mL)を加え、室温で1.5時間攪拌した。その後、反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、t-ブチルメチルエーテル(TBME)で2回洗浄した。得られた水層のpHを6M塩酸水溶液を用い酸性にした後、酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を50%食塩水で2回洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、得られた混合物をろ過、減圧下濃縮した。得られた残渣を逆相シリカゲルカラムクロマトグラフィー(0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル)にて精製し、さらに順相シリカゲルカラムクロマトグラフィー(CO_2H シリカゲル、ヘキサン/酢酸エチル)で精製することで(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-オキソ-4-(ピペリジン-1-イル)ブタン酸(化合物pd06、Fmoc-MeAsp-pip)(17.1 g、60%)を得た。

LCMS(ESI) $m/z = 437$ ($\text{M} + \text{H}$) +

保持時間: 1.10分(分析条件SMDmethod6)

[0371] (S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-オキソ-4-(ピペリジン-1-イル)ブタン酸-2-クロロトリチルレジン(化合物pd07、Fmoc-MeAsp(O-Trt(2-Cl)-resin)-pip)の合成



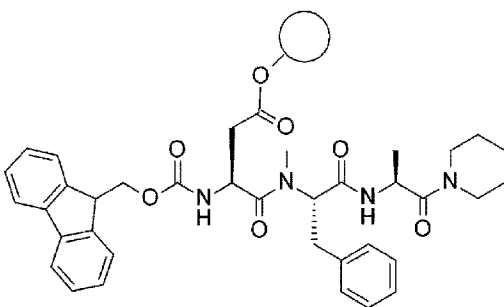
フィルター付きの反応容器に2-クロロトリチルクロライドレジン (1.60 mmol/g、100-200 mesh、1%DVB、渡辺化学から購入、25 g、40.0 mmol) と脱水ジクロロメタン (400 mL) を入れ、室温にて10分間振とうした。窒素圧をかけてジクロロメタンを除いた後、(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-オキソ-4-(ピペリジン-1-イル)ブタン酸(化合物pd06、Fmoc-MeAsp-pip) (8.37 g、20.0 mmol) と脱水ジクロロメタン (400 mL) に脱水メタノール (6.48 mL) 及びジイソプロピルエチルアミン(DIPEA) (16.7 mL) を加えた混合液を反応容器に添加し、30分間振とうした。窒素圧をかけて反応液を除いた後、脱水ジクロロメタン (400 mL) に脱水メタノール (50.0 mL) とジイソプロピルエチルアミン(DIPEA) (16.7 mL) を加えた混合液を反応容器に添加し、1時間30分振とうした。窒素圧をかけて反応液を除いた後、ジクロロメタンを入れ、5分間振とうした。窒素圧をかけて反応液を除いた。このジクロロメタンでのレジンの洗浄を2回繰り返し、得られたレジンを減圧下で一晩乾燥させ、(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-オキソ-4-(ピペリジン-1-イル)ブタン酸-2-クロロトリチルレジンを(化合物pd07、Fmoc-MeAsp(O-Trt(2-Cl))-resin)-pip) (29.9 g) を得た。

得られた(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-オキソ-4-(ピペリジン-1-イル)ブタン酸-2-クロロトリチルレジンを(化合物pd07、Fmoc-MeAsp(O-Trt(2-Cl))-resin)-pip) (10.7 mg) を反応容器に入れ、DMF (200 μ L)、ピペリジン (200 μ L) を加えて室温にて1時間振とうした。その後、反応混合液にDMF (1.6 mL) を加え、400 μ Lを取りだし、その吸光度(301.2

nm) を測定し (Shimadzu、UV-1600PC (セル長1.0 cm) を用いて測定)、(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-4-オキソ-4-(ピペリジン-1-イル)ブタン酸-2-クロロトリチルレジン (化合物pd07、Fmoc-MeAsp(O-Trt(2-Cl)-resin)-pip) のローディング量を0.416 mmol/gと算出した。

なお、同様に合成したローディング量が異なる別ロットについてもペプチド合成に使用した。

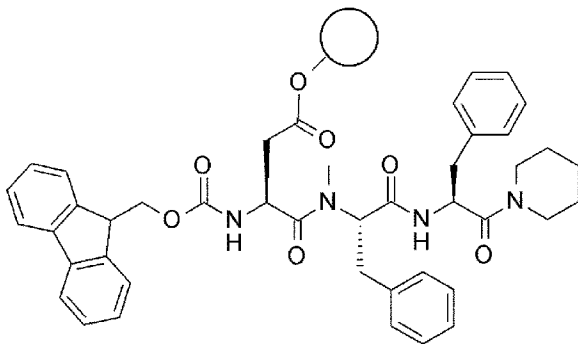
[0372] (S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-4-(メチル((S)-1-オキソ-1-(((S)-1-オキソ-1-(ピペリジン-1-イル)プロパン-2-イル)アミノ)-3-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-4-オキソブタン酸-2-クロロトリチルレジン (化合物pd08、Fmoc-Asp(O-Trt(2-Cl)-resin)-MePhe-Ala-pip) の合成



(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-4-(メチル((S)-1-オキソ-1-(((S)-1-オキソ-1-(ピペリジン-1-イル)プロパン-2-イル)アミノ)-3-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-4-オキソブタン酸-2-クロロトリチルレジン (化合物pd08、Fmoc-Asp(O-Trt(2-Cl)-resin)-MePhe-Ala-pip) は、文献記載の方法にて合成した (文献：国際公開番号：WO2013/100132A1)。

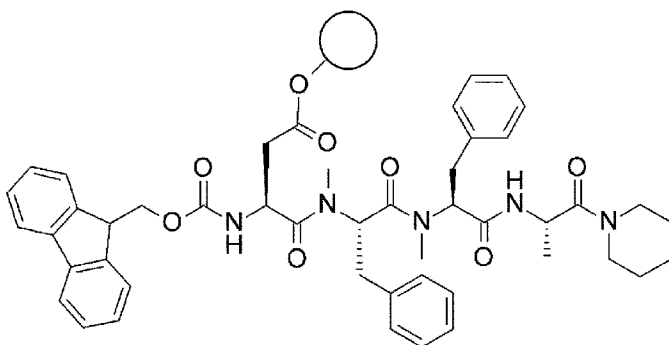
[0373] (S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-4-(メチル((S)-1-オキソ-1-(((S)-1-オ

キソ-3-フェニル-1-(ピペリジン-1-イル)プロパン-2-イル)アミノ)-3-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-4-オキソブタン酸-2-クロロトリチルレジン(化合物pd09、Fmoc-Asp(O-Trt(2-Cl)-resin)-MePhe-Phe-pip)の合成



(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(メチル((S)-1-オキソ-1-(((S)-1-オキソ-3-フェニル-1-(ピペリジン-1-イル)プロパン-2-イル)アミノ)-3-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-4-オキソブタン酸-2-クロロトリチルレジン(化合物pd09、Fmoc-Asp(O-Trt(2-Cl)-resin)-MePhe-Phe-pip)は、文献記載の方法を用い、化合物pd08と同様の手法にて合成した(文献：国際公開番号：WO2013/100132A1)。

[0374] (S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(メチル((S)-1-オキソ-1-(((S)-1-オキソ-1-(((S)-1-オキソ-1-(ピペリジン-1-イル)プロパン-2-イル)アミノ)-3-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-3-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-4-オキソブタン酸-2-クロロトリチルレジン(化合物pd10、Fmoc-Asp(O-Trt(2-Cl)-resin)-MePhe-MePhe-Ala-pip)の合成



(S) - 3 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - (メチル ((S) - 1 - オキソ - 1 - (((S) - 1 - オキソ - 1 - (((S) - 1 - オキソ - 1 - (ピペリジン - 1 - イル) プロパン - 2 - イル) アミノ) - 3 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 3 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 4 - オキソブタン酸 - 2 - クロロトリチルレジン (化合物 p d 1 0 、 F m o c - A s p (O - T r t (2 - C l) - r e s i n) - M e P h e - M e P h e - A l a - p i p) は、WO2013/100132に記載の方法にて合成した。

[0375] 1-4. ペプチドの化学合成

特別な記載がない限り、A01-A10、B01-B10、C01-C17、D01-D17、E01-E08、F01-F08、G01-G11、H01-H11、I01-I06、J01-J06、AP01-AP143、pd30-pd36、pd50-pd70、pd100-pd129、pd162、pd163、pd167、pd177-pd247、pd386-pd395、pd452-pd454、pd482-pd487のペプチド化合物の合成は実施例1の冒頭に記載した基本ルートで、以下の方法にて行った。

[0376] 1) 自動合成機によるペプチド固相合成

WO2013/100132に記載の方法にてペプチド合成機 (Multi
ipep RS; Intavis社製) を用いて、Fmoc法によりペプチ
ド合成を行った。なお、操作の詳細な手順については合成機に付属のマニ
ュアルに従った。

合成機にN末端がFmocで保護されたアスパラギン酸の側鎖カルボン酸部位が結合した2-クロロトリチルレジン（例えば（S）-3-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-4-オキソ-4-（（ピペリジン-1-イル）ブタン酸-2-クロロトリチルレジン（化合物pd01、Fmoc-Asp（O-Trt（2-Cl）-resin）-pip））（1カラムあたり100 mg）と、各種Fmoc-アミノ酸（0.6 mol/L）と1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール（HOAt）もしくはoxyma（0.375 mol/L）のN-メチル-2-ピロリドン（NMP）溶液と、ジイソプロピルカルボジイミド（DIC）のN，N-ジメチルホルムアミド（DMF）溶液（10% v/v）をセットした。Fmoc-Thr（THP）-OH（化合物aa01）はNMP溶液においてoxymaと共存させ、さらにモレキュラシーブス4A1/8（和光純薬工業）もしくはモレキュラシーブス4A1/16（和光純薬工業）を添加してセットした。Fmoc-Thr（THP）-OH（化合物aa01）と同様にアミノ酸側鎖の保護基にTHP基を有するアミノ酸（例えば、Fmoc-Ser（EtOTHP）-OH（化合物aa22）など）もまたNMP溶液においてoxymaと共存させ、さらにモレキュラシーブス4A1/8（和光純薬工業）もしくはモレキュラシーブス4A1/16（和光純薬工業）を添加してセットした。使用するアミノ酸が塩酸塩などの塩を用いる場合、DIPEA/DMF=3/1の溶液をセットし、ペプチド伸長の際に使用するアミノ酸に対して、0.96等量分のDIPEAを上記のDMF溶液として別途添加した。また、側鎖に酸性官能基を有するアミノ酸を含むペプチド化合物においては、脱保護剤の残留に起因するペプチドの過剰伸長を抑えるため、ペプチド伸長反応時のレジン洗浄に0.08 Mトリエチルアミン塩酸塩のジクロロメタン溶液を用いた。

[0377] 2) 伸長したペプチドのレジンからの切り出し

WO2013/100132に記載の方法にて、上記の方法によって得られた固相上に担持された鎖状ペプチドに対し、DCMを加えレジンを再膨潤

させた後、レジンに2, 2, 2-トリフルオロエタノール (TFE) / DCM (1 / 1, v / v, 2 mL) を加えて室温にて2時間振とうした。続いてチューブ内の溶液を合成用カラムでろ過することによりレジンを除き、残ったレジンをさらに2, 2, 2-トリフルオロエタノール (TFE) / DCM (1 / 1, v / v, 1 mL) にて2回洗浄した。得られた全ての切り出し溶液を混合した溶液、あるいはその溶液をさらにジクロロエタン (DCE) (4 mL) で希釈したものを減圧下濃縮した。なお2, 2, 2-トリフルオロエタノール (TFE) / DCM (1 / 1, v / v, 2 mL) による切り出し時には用いたレジン上のモル数 (ローディング量 (mmol / g) に使用したレジン量 (通常は0.10 g) をかけたもの) に対して1.8等量となる容量のDIPEAを添加することも出来る。

[0378] 3) 切り出したペプチドの環化法

切り出し後に減圧下濃縮した残渣をDMF / DCM (1 / 1, v / v, 8 mL) に溶解した。0.5 MのO- (7-アザ-1H-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ェート (HATU) / DMF溶液 (用いたレジン上のモル数 (ローディング量 (mmol / g) に使用したレジン量 (通常は0.10 g) をかけたもの) に対して1.5等量となる容量) と、DIPEA (用いたレジン上のモル数に対して1.8等量) を加え、室温にて2時間以上攪拌した。その後、減圧下溶媒を留去した。目的の環状ペプチドの生成はLCMS測定によって確認した。

[0379] 4) 5) 環状ペプチドが有する側鎖官能基の保護基の脱保護

調製した0.05 Mの硫酸水素テトラメチルアンモニウム / 1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロイソプロピルアルコール (HFIP) 溶液 (2% トリイソプロピルシラン (TIPS)) を4 mL加え、残渣を溶解させた後、室温にて4時間以上攪拌した。一定時間静置した後、ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) (70 μ L) を加え、減圧下溶媒を留去した。

なお、側鎖にAlloc基を有するアミノ酸を含むペプチド (例えばNv

a (2-R-4-F²-Pyrro)、Ser (S-4-F²-Pyrro-Me)などを配列中に含むペプチド)は、塩化亜鉛(用いたレジン上のモル数に対して1.0等量)、テトラキス(トリフェニルフォスフィン)パラジウム(0)(Pd(PPh₃)₄)(用いたレジン上のモル数に対して1.0等量)、ポリ(メチルヒドロシロキサン)(PMHS、CAS#63148-57-2)(用いたレジン上のモル数に対して0.9 M)、テトラヒドロフラン(用いたレジン上のモル数に対して0.1 M)を用いて室温で3時間30分以上攪拌することでAlloc基の脱保護を行った後、反応液に調製した0.05 Mの硫酸水素テトラメチルアンモニウム/1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロイソプロピルアルコール(HFIP)溶液(2%トリイソプロピルシラン(TIPS))を4 mL加え、室温にて4時間以上攪拌した。一定時間静置した後、ジイソプロピルエチルアミン(DIPEA)(70 μL)を加え、減圧下溶媒を留去した。Alloc基の脱保護においては、上記のPMHSを用いる代わりにテトラメチルジシロキサン(TMDS、CAS#3277-26-7)(用いたレジン上のモル数に対して4.0等量)を用いることができる。

いずれの場合においても、減圧下、溶媒を留去した後、DMF、DMSO、もしくは20%メタノール水溶液を加え、不溶物をフィルターろ過にて取り除いた後、preparative-HPLCで精製した。

0.05 Mの硫酸水素テトラメチルアンモニウム/HFIP溶液(2%TIPS)は、HFIP(11.66 mL)、TIPS(0.24 mL)、DCE(0.10 mL)を混合した溶液から4 mLを抜き取り、これに34.3 mgの硫酸水素テトラブチルアンモニウムを溶解させて調製した。この溶液(0.05 Mの硫酸水素テトラメチルアンモニウム/HFIP溶液(2%TIPS))はHFIPの代わりに別のフルオロアルコール、例えば2, 2, 2-トリフルオロエタノール(TFE)なども用いることができる。

[0380] 実施例2 側鎖にドナー(donor)を有し、該ドナー部分に分子内水素結合を有するアミノ酸の膜透過性評価

2-1 側鎖にドナーを有するアミノ酸でドナー部分に分子内水素結合を有するものと有しないものの膜透過性の比較

側鎖にドナーを有するアミノ酸でドナー部分に分子内水素結合を有するものが有しないものよりも良好な膜透過性をもつことを確認するため、それぞれのアミノ酸を含有する2つの環状ペプチドを合成し、国際公開第2018/124162号に記載の改良法により膜透過性を比較した。上記のような2つの環状ペプチドの組み合わせを複数個合成、評価することで一般性を確認した。その結果、(1) Ser (EtOH) と Nie (6-OH)、(2) Ser (1-CF₃-EtOH) と Hnl (7-F₃-6-OH)、(3) Tyr (3-OMe) と Tyr、(4) Ser (S-4-F₂-Pyrro-Me) と Nva (2-R-4-F₂-Pyrro)、(5) Ser (NMe-Aca) と Gln (Me) の組み合わせにおいて側鎖にドナーを有するアミノ酸でドナー部分に分子内水素結合を有するものを含有するペプチドの方が有しないものを含むペプチドよりも良好な膜透過性をもつことが確認できた。

[0381] 比較する2つの環状ペプチドの配列設計はドナーを有する側鎖部分構造以外の膜透過性に関係する要因の影響が最小限になるように行った。

[0382] 例えば、比較するアミノ酸同士が2つの環状ペプチドの同じ位置になるようにそれぞれ挿入し、環状部および直鎖部を構成するアミノ酸の数を同じにした(結果としてtotal AAが同じになる)。2つの環状ペプチド全体の側鎖部分のドナーの数が同じになるように揃えた(評価したいアミノ酸以外に側鎖にドナーを持つアミノ酸の例としてはThrなどが挙げられる)。さらに比較したいアミノ酸以外に側鎖にドナーを持つアミノ酸が存在する場合、その位置が同じになるように設計した。また、2つの環状ペプチド主鎖上のアミド基部分のN-アルキル基の数を揃えた。さらに2つの環状ペプチド主鎖上のアミド基のN-アルキル基(例えばNMe基)とNH基の出現パターン(N-アルキルパターン)、Gly誘導体(例えばMeGly、nBuGlyなどのアルキル-Glyも含む)の位置やProのような環状アミノ酸の

位置を同じにすることで、比較する2つの環状ペプチドのコンフォメーションが同じになるように設計した。参照例4に記載の通り、比較する2つのペプチドのClogP/total AAの値が±0.03の間となるように調節し、Trpを含まないようにした。参照例6に記載の通り、芳香環の数(Aromatic Ring Count: ARC)を揃えた。

[0383] また、本明細書におけるClogPは、コンピューターで計算した分配係数であって、Daylight Chemical Information Systems, Inc.のDaylight Version 4.9を用いて計算した。

[0384] (1) Ser(EtOH)とNie(6-OH)の比較(表4)

上記の概念をもとに設計したSer(EtOH)もしくはNie(6-OH)を含む環状ペプチドを合成し、国際公開第2018/124162号に記載の改良法により膜透過性を比較した。Ser(EtOH)を含む配列の化合物番号がAXX(XXは数字を意味する)、Nie(6-OH)を含む配列の化合物番号がBXX(XXは数字を意味する)である。化合物番号A01とB01がそれぞれ対応する化合物であり、以下同様にAXX、BXXとXXの部分と同じ配列同士がそれぞれ対応している組み合わせである。100個の組み合わせを比較したところ、全ての組み合わせでSer(EtOH)を含有する環状ペプチドの方がNie(6-OH)を含有する環状ペプチドよりも膜透過性に優れていた。

以下、特に記載のない限り同様の方法で解析した。

なお、A01を例にとり、表4、表6、表8、表10、表12および表14のカラムについて説明する。A01は11残基からなる環状ペプチドであり、11残基のアミノ酸で環を形成している。環化部分を1番目のアミノ酸と定義し、A01の場合ではAspが該当する。Aspの隣で環状部を構成するアミノ酸を2番目のアミノ酸と定義し(A01の場合MeLeuが該当)、以下3番目、4番目とN末端まで繰り返す(A01の場合3番目MePhe、4番目Ser(iPen)となり、環状部が11残基からなるためN末端は11番目のD-Val)。またC-termのカラムはC末端のアミ

ノ酸のカルボン酸部位と縮合する官能基を意味しており、p i pはピペリジンを意味している。そして、N末端のアミノ基と環化部のアミノ酸の側鎖カルボン酸をアミド結合により環化させたペプチドであるということを表4、表6、表8、表10、表12および表14で表している。例えば、A01はN末端であるD-V a lのアミノ基と環化部のA s pの側鎖カルボン酸がアミド結合により環化している。本文中に記載の環状ペプチドに関しては特に記述が無い限り、全て同様の手法で表現している。

[0385] (2) S e r (1-C F 3-E t O H) と H n l (7-F 3-6-O H) の比較 (表6)

S e r (1-C F 3-E t O H) を含む配列の化合物番号がC X X、H n l (7-F 3-6-O H) を含む配列の化合物番号がD X Xである。17個の組み合わせを比較したところ、15個の組み合わせでS e r (1-C F 3-E t O H) を含有する環状ペプチドの方がH n l (7-F 3-6-O H) を含有する環状ペプチドよりも膜透過性に優れていた。

[0386] (3) T y r (3-O M e) と T y r の比較 (表8)

T y r (3-O M e) を含む配列の化合物番号がE X X、T y r を含む配列の化合物番号がF X Xである。8個の組み合わせを比較したところ、全ての組み合わせでT y r (3-O M e) を含有する環状ペプチドの方がT y r を含有する環状ペプチドよりも膜透過性に優れていた。

[0387] (4) S e r (S-4-F 2-P y r r o-M e) と N v a (2-R-4-F 2-P y r r o) の比較 (表10)

S e r (S-4-F 2-P y r r o-M e) を含む配列の化合物番号がG X X、N v a (2-R-4-F 2-P y r r o) を含む配列の化合物番号がH X Xである。11個の組み合わせを比較したところ、10個の組み合わせでS e r (S-4-F 2-P y r r o-M e) を含有する環状ペプチドの方がN v a (2-R-4-F 2-P y r r o) を含有する環状ペプチドよりも膜透過性に優れていた。

[0388] (5) S e r (N M e-A c a) と G l n (M e) の比較 (表12)

S e r (N M e - A c a) を含む配列の化合物番号が I X X、G l n (M e) を含む配列の化合物番号が J X X である。6 個の組み合わせを比較したところ、全ての組み合わせで S e r (N t B u - A c a) を含有する環状ペプチドの方が G l n (M e) を含有する環状ペプチドよりも膜透過性に優れていた。

[0389]

[表4]

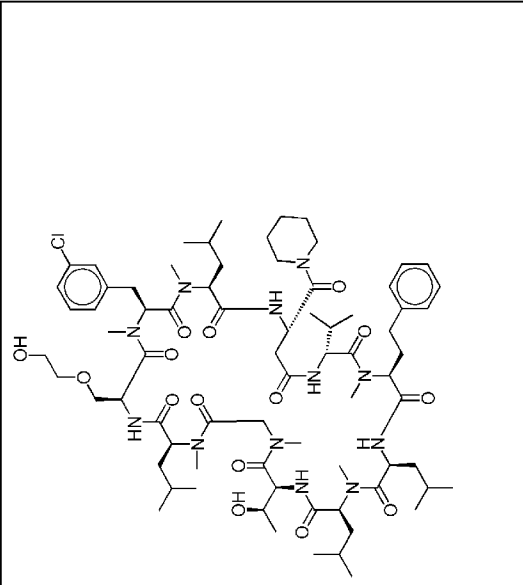
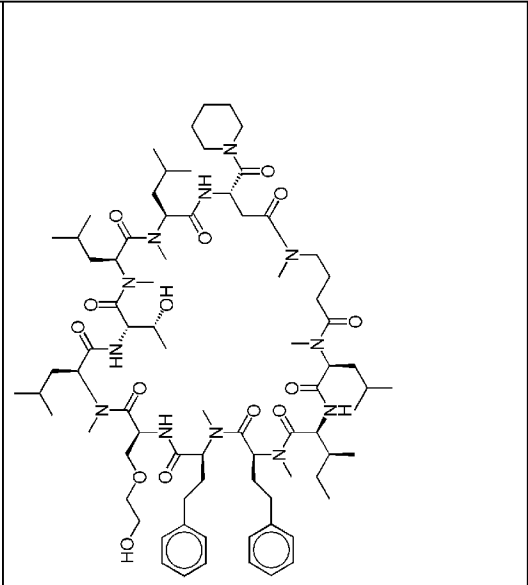
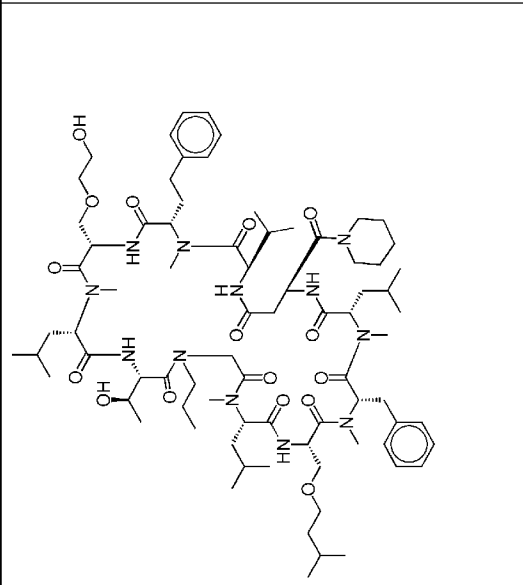
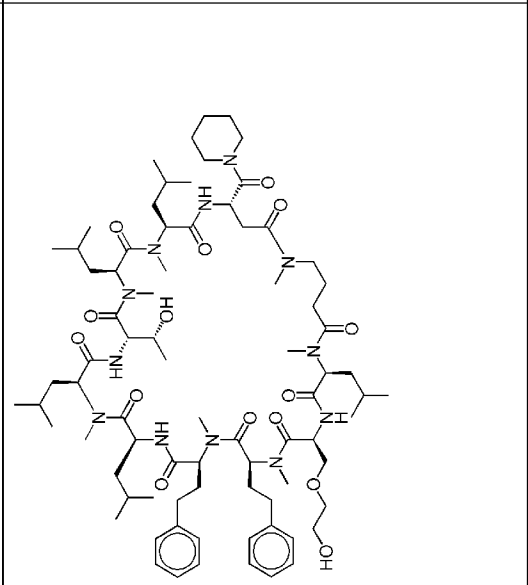
Ser(EtOH)とNie(6-OH)の比較

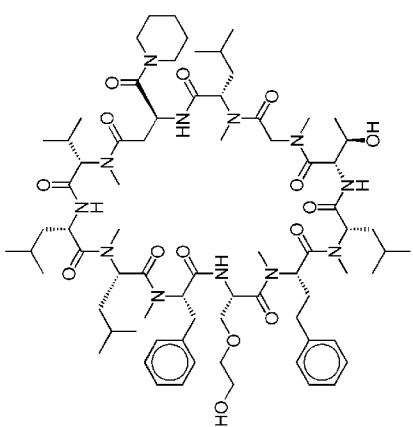
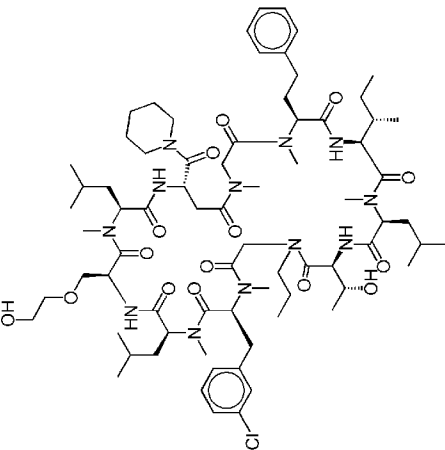
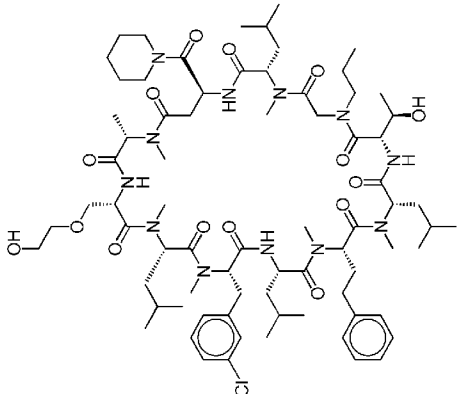
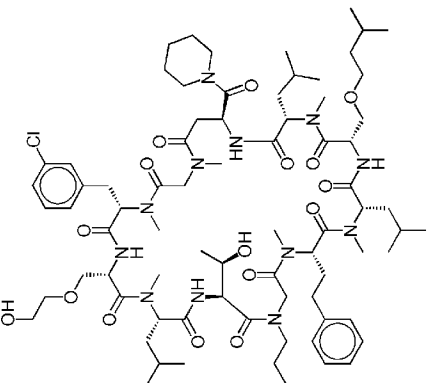
Ser(EtOH)															Nie(6-OH)															
化合物番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	clogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)	化合物番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	clogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)	
A01	D-Val	MeHph	Ser(EtOH)	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Ser(iPen)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.29	6.0E-07	B01	D-Abu	MeHph	Nie(6-OH)	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Ser(iPen)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.30	< 1.1E-07	
A02	D-Val	MeHph	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(EtOH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.23	4.5E-07	B02	D-Abu	MeHph	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Nie(6-OH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.24	1.5E-07	
A03	gMeAbu	MeLeu	Ser(EtOH)	MeHph	MeHph	Leu	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	3.2E-07	B03	gMeAbu	MeVal	Nie(6-OH)	MeHph	MeHph	Leu	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	2.7E-07	
A04	gMeAbu	MeLeu	Ile	MeHph	MeHph	Ser(EtOH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	4.1E-07	B04	gMeAbu	MeLeu	Val	MeHph	MeHph	Nie(6-OH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	7.0E-08	
A05	MeAla	Ser(EtOH)	MeLeu	MePhe(3-Cl)	Leu	MeHph	MeLeu	Thr	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.30	9.0E-07	B05	MeAla	Nie(6-OH)	MeLeu	MeLeu	MePhe(3-Cl)	Val	MeHph	MeLeu	nPrGly	MeLeu	Asp	pip	1.30	2.6E-07	
A06	MeVal	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(EtOH)	MeHph	MeLeu	Thr	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.22	5.3E-07	B06	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Nie(6-OH)	MeHph	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.23	3.9E-07	
A07	MeGly	MePhe(3-Cl)	Ser(EtOH)	MeLeu	Thr	nPrGly	MeHph	MeLeu	Ser(iPen)	MeLeu	Asp	pip	1.27	5.3E-07	B07	MeGly	MePhe(3-Cl)	Nie(6-OH)	MeVal	Thr	nPrGly	MeHph	MeLeu	Ser(iPen)	MeLeu	Asp	pip	1.27	2.1E-07	
A08	MeGly	MeHph	Ile	MeLeu	Thr	nPrGly	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Ser(EtOH)	MeLeu	Asp	pip	1.25	3.2E-07	B08	MeGly	MeHph	Val	MeLeu	Thr	nPrGly	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Nie(6-OH)	MeLeu	Asp	pip	1.25	1.5E-07	
A09	MeVal	Ser(EtOH)	MeLeu	MePhe(3-Cl)	Leu	MeHph	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.28	7.2E-07	B09	MeAbu	MePhe	Leu	MeLeu	MePhe(3-Cl)	Leu	Leu	MeHph	MeLeu	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.29	3.1E-07
A10	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Ser(EtOH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.29	8.0E-07	B10	D-Abu	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Nie(6-OH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.29	2.5E-07	

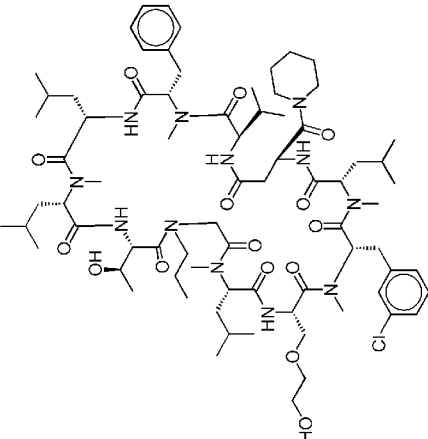
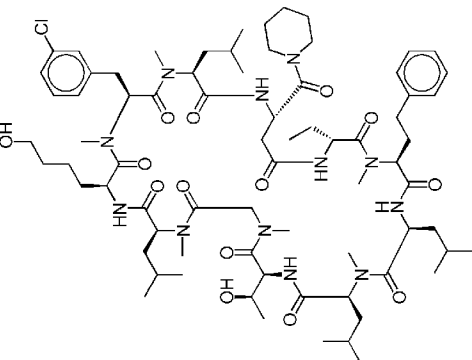
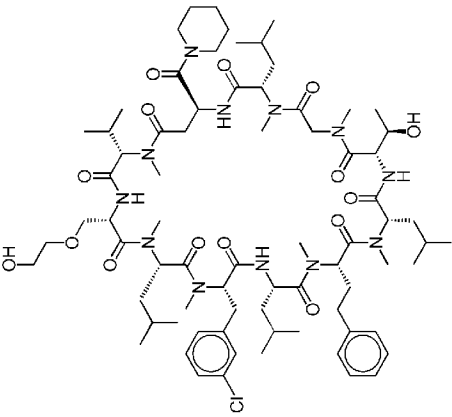
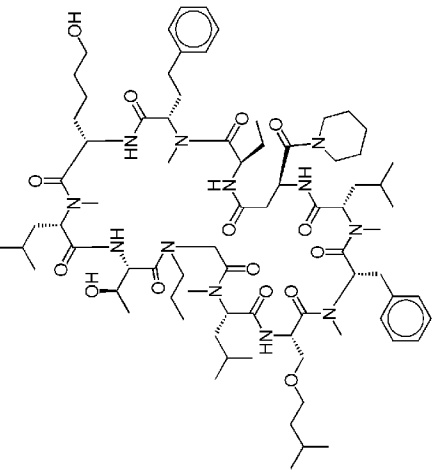
[0390] 環状ペプチドA01～B10の構造を以下に示す。(なお環状ペプチドの

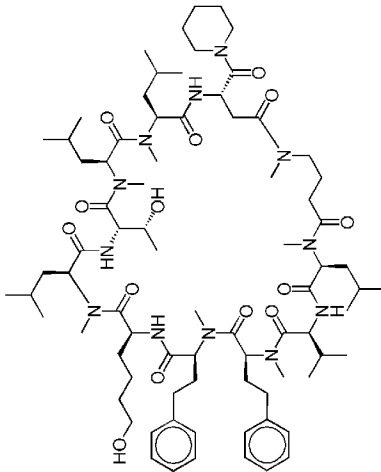
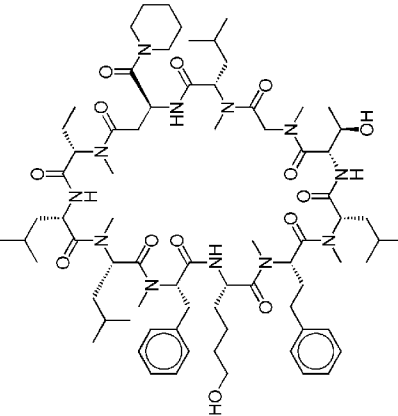
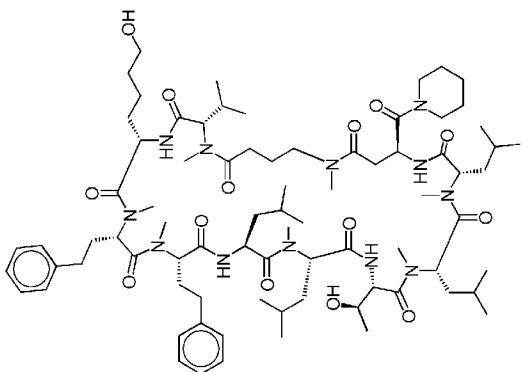
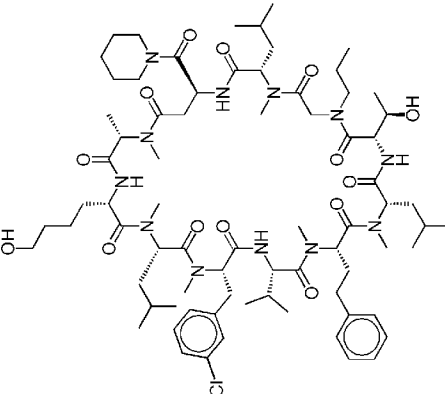
構造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している場合もある)

[0391] [表5]

構造式		
ID	A02	A04
構造式		
ID	A01	A03

	
A06	A08
	
A05	A07

	
A10	B02
	
A09	B01

	
B04	B06
	
B03	B05

[0392]

[表6]

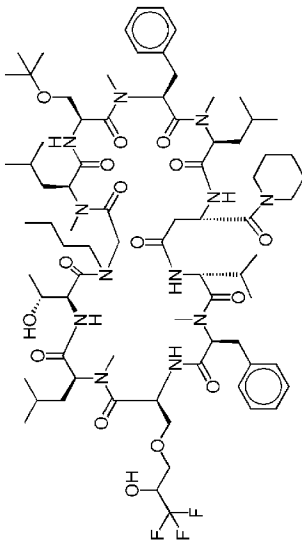
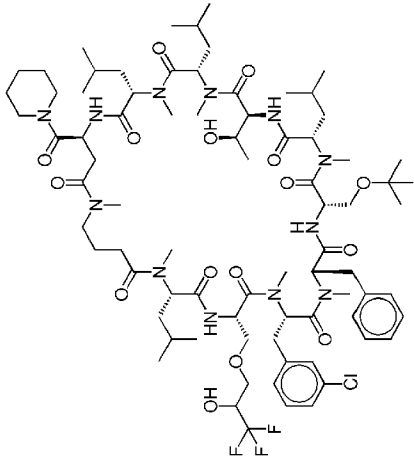
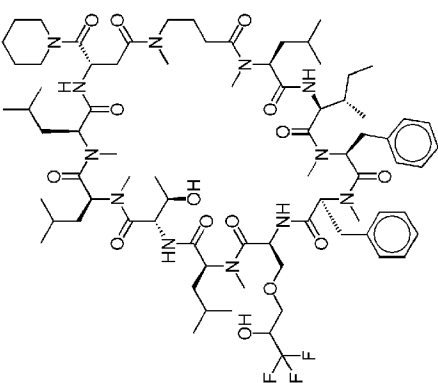
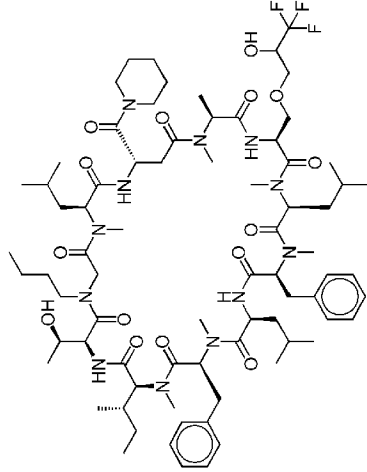
Ser (1-CF3-EtOH) と Hnl (7-F3-6-OH) の比較

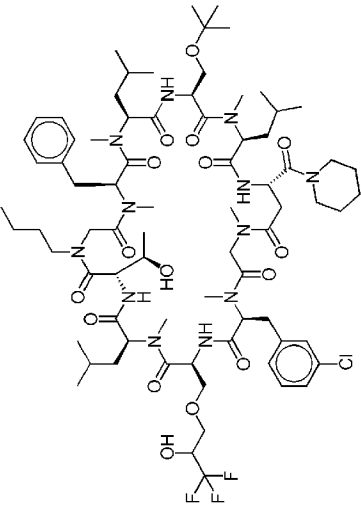
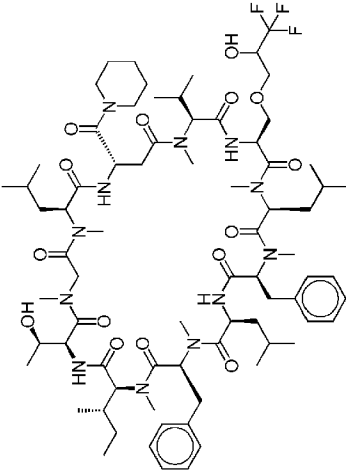
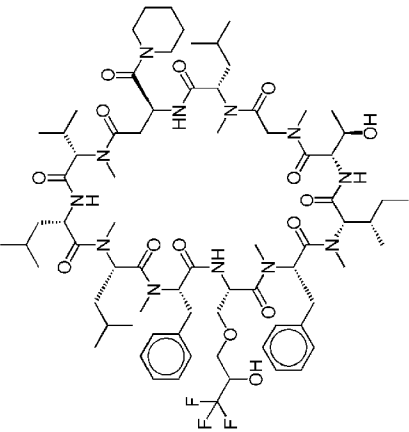
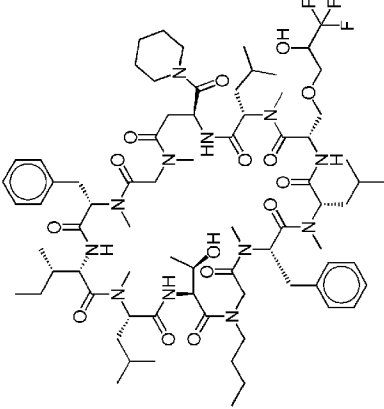
Ser(1-CF3-EtOH)														
化合物番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	clogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)
C01	D-Val	MePhe	Ser(1-CF3-EtOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.30	1.9E-07
C02	gMeAbu	MeLeu	Ser(1-CF3-EtOH)	MePhe(3-C)	MePhe	Ser(Bu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.9E-07
C03	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MePhe	Ser(1-CF3-EtOH)		Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.22	5.0E-07
C04	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.32	2.9E-07
C05	MeVal	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(1-CF3-EtOH)		MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.25	5.7E-07
C06	MeGly	MePhe(3-C)	Ser(1-CF3-EtOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.29	4.8E-07
C07	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Ser(1-CF3-EtOH)		Asp	pip	1.27	4.5E-07
C08	MeVal	Ser(1-CF3-EtOH)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.25	6.0E-07
C09	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(1-CF3-EtOH)		MeVal	Asp	pip	1.31	1.2E-07
C10	D-Leu	MePhe	Leu	MeAbu	Ser(1-CF3-EtOH)		MeAbu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.22	9.5E-07
C11	D-Val	MePhe	Ser(1-CF3-EtOH)	MeLeu	Val	MeGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.29	2.3E-07
C12	gMeAbu	MeLeu	Val	MePhe	MePhe	Ser(Bu)	MeLeu	Ser(1-CF3-EtOH)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.31	2.3E-07
C13	gMeAbu	MeAbu	Ser(1-CF3-EtOH)	MePhe	MePhe	Ser(Bu)	MeLeu	Ile	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.27	2.6E-07
C14	MeAla	Leu	MeAbu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Val	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.23	2.0E-06
C15	MeAla	Ser(1-CF3-EtOH)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Val	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.31	8.3E-07
C16	MeGly	MePhe	Val	MeAbu	Ser(1-CF3-EtOH)		MePhe	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.28	4.1E-07
C17	MeGly	MePhe	Ser(1-CF3-EtOH)	MeLeu	Ile	MeGly	MePhe	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.26	4.1E-06

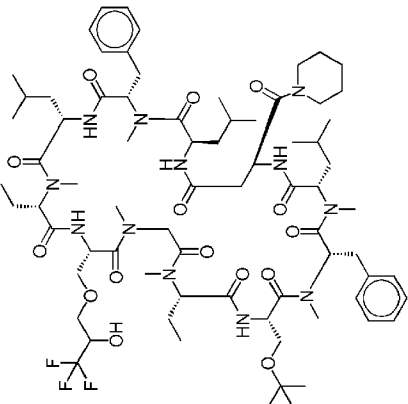
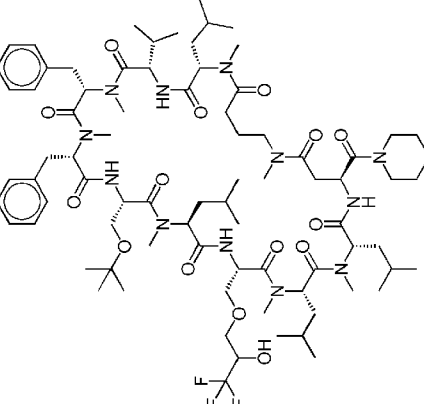
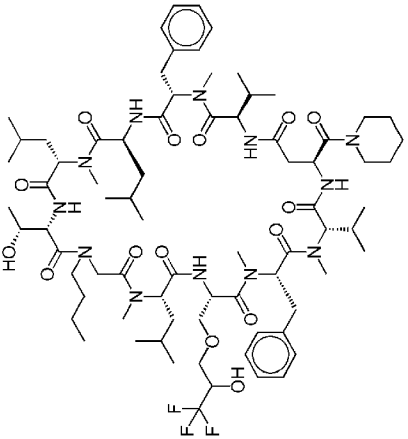
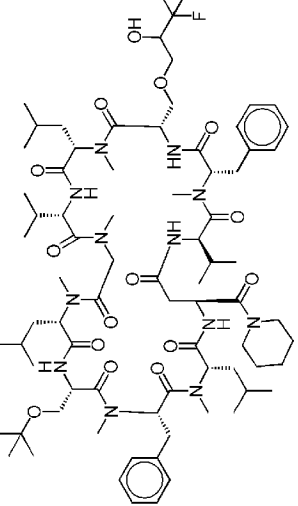
Hnl(7-F3-6-OH)														
化合物番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	clogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)
D01	D-Val	MePhe	Hnl(7-F3-6-OH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.32	7.0E-08
D02	gMeAbu	MeLeu	Hnl(7-F3-6-OH)	MePhe(3-C)	MePhe	Ser(Bu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.24	1.4E-07
D03	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MePhe	Hnl(7-F3-6-OH)		Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	3.3E-07
D04	MeAla	Hnl(7-F3-6-OH)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.33	2.0E-07
D05	MeVal	Leu	MeLeu	MePhe	Hnl(7-F3-6-OH)		MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.27	3.6E-07
D06	MeGly	MePhe(3-C)	Hnl(7-F3-6-OH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.30	2.3E-07
D07	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.29	3.7E-07
D08	MeVal	Hnl(7-F3-6-OH)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.27	5.3E-07
D09	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Hnl(7-F3-6-OH)		MeVal	Asp	pip	1.32	1.3E-07
D10	D-Leu	MePhe	Leu	MeAbu	Hnl(7-F3-6-OH)		MeAbu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.23	8.1E-07
D11	D-Val	MePhe	Hnl(7-F3-6-OH)	MeLeu	Val	MeGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.31	2.1E-07
D12	gMeAbu	MeLeu	Val	MePhe	MePhe	Ser(Bu)	MeLeu	Hnl(7-F3-6-OH)		MeLeu	Asp	pip	1.32	1.3E-07
D13	gMeAbu	MeAbu	Hnl(7-F3-6-OH)	MePhe	MePhe	Ser(Bu)	MeLeu	Ile	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.29	1.4E-07
D14	MeAla	Leu	MeAbu	MePhe	Leu	MePhe	MeVal	Hnl(7-F3-6-OH)		MeGly	Asp	pip	1.24	9.0E-07
D15	MeAla	Hnl(7-F3-6-OH)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Val	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.32	6.1E-07
D16	MeGly	MePhe	Val	MeAbu	Hnl(7-F3-6-OH)		MePhe	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.30	5.1E-07
D17	MeGly	MePhe	Hnl(7-F3-6-OH)	MeLeu	Ile	MeGly	MePhe	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.27	1.0E-06

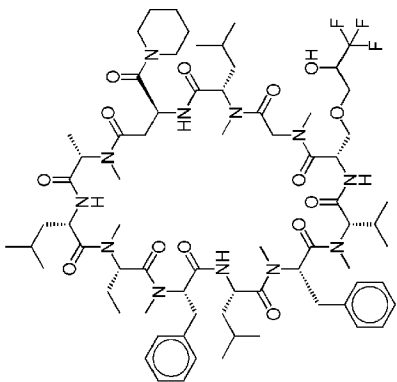
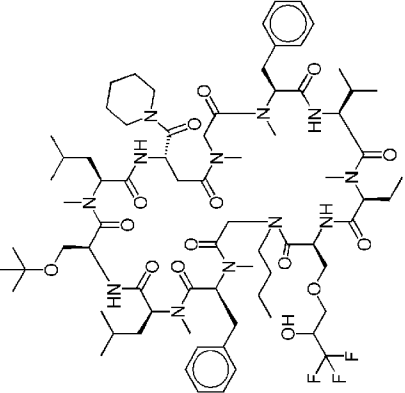
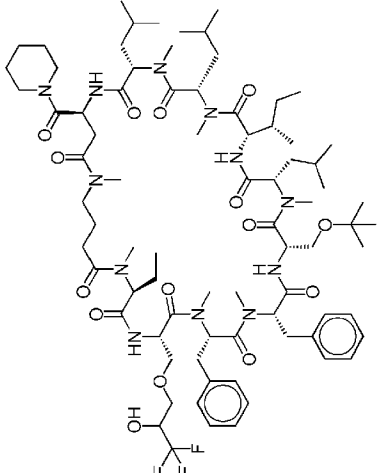
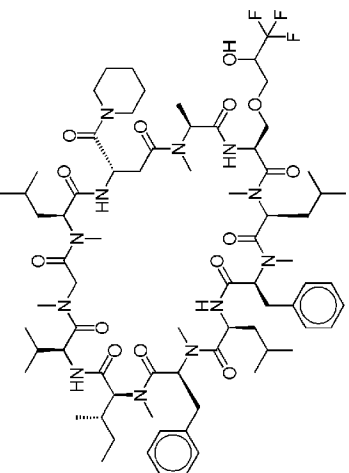
[0393] 環状ペプチドC01～D17の構造を以下に示す。(なお環状ペプチドの構造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している場合もある)

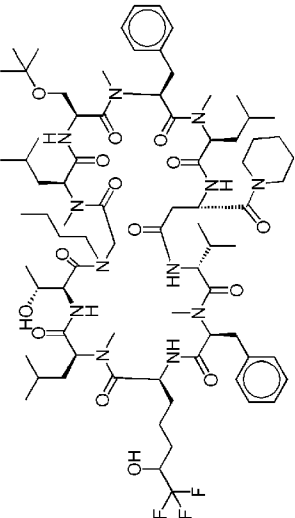
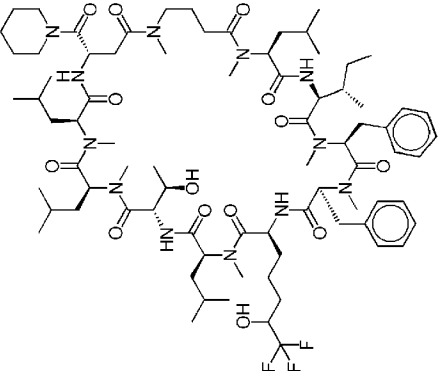
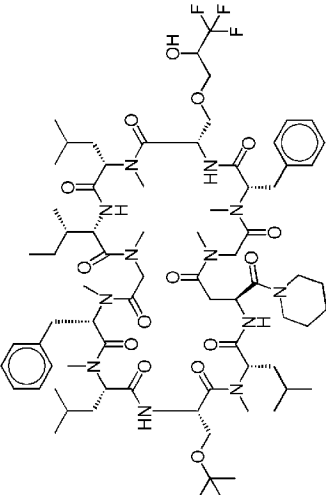
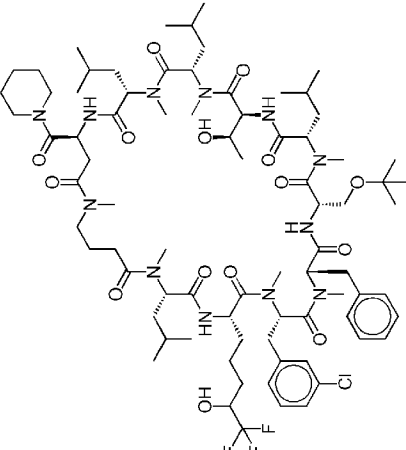
[0394] [表7]

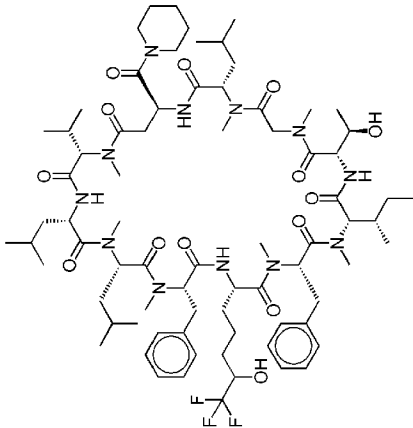
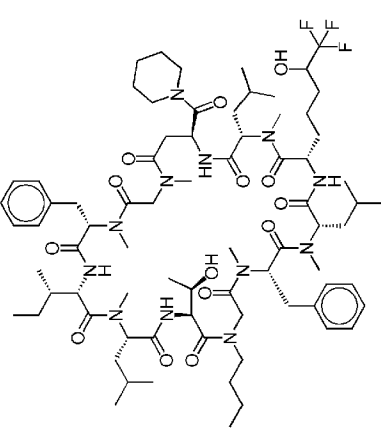
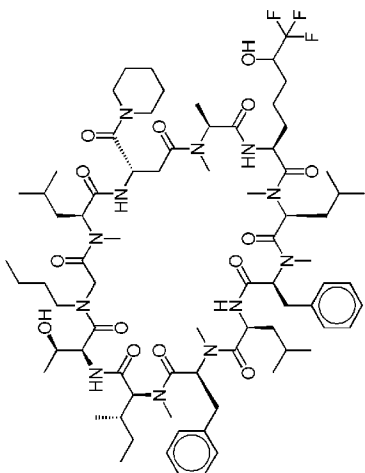
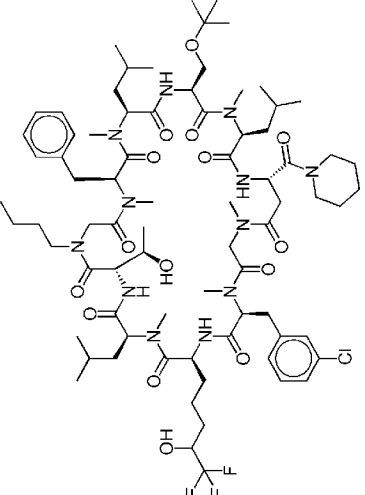
ID	構造式	ID	構造式
C01		C02	
C03		C04	

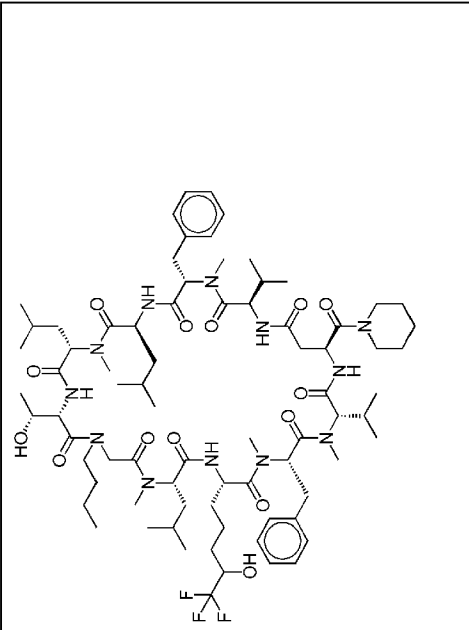
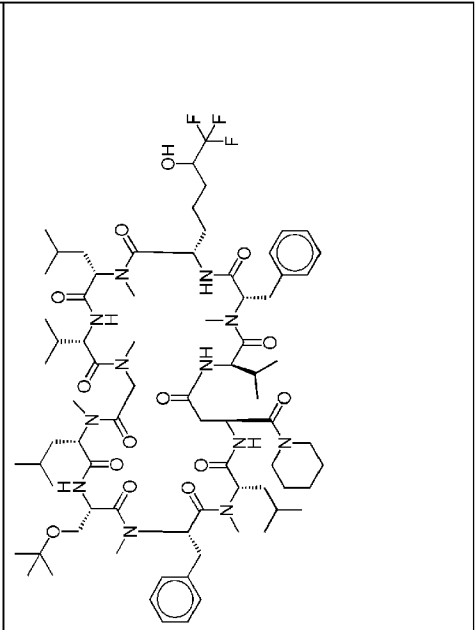
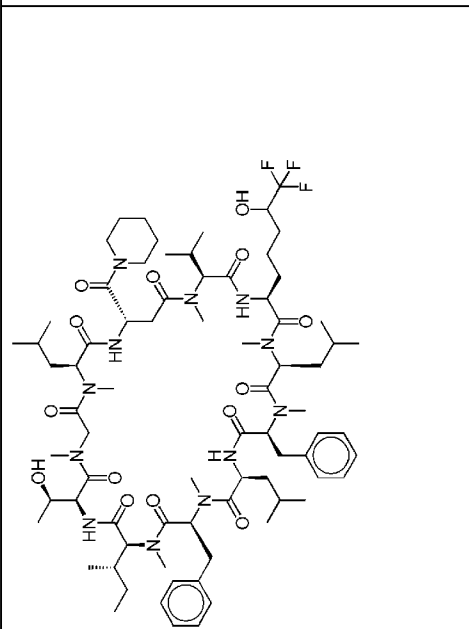
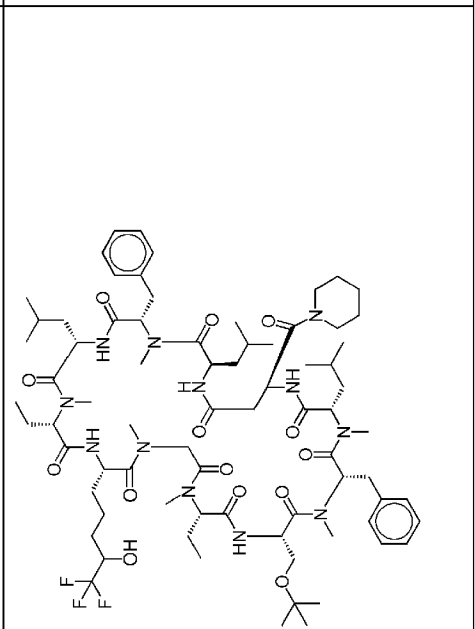
	
C06	C08
	
C05	C07

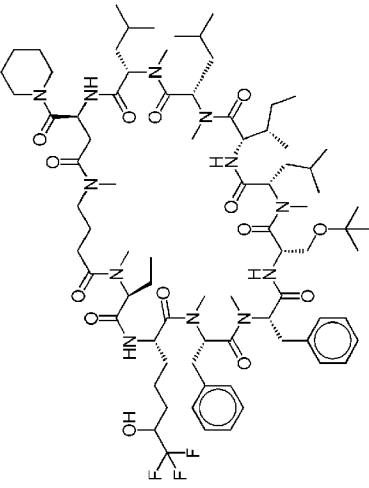
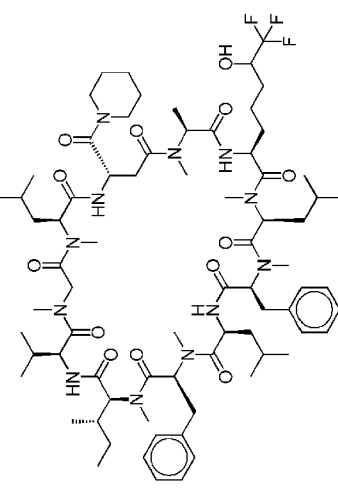
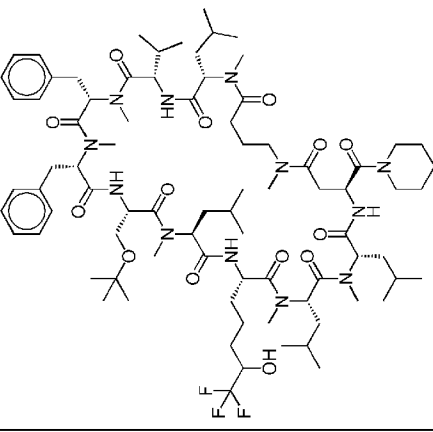
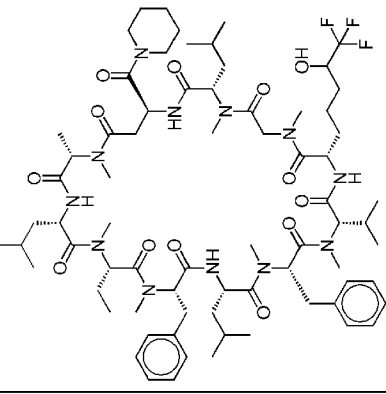
	
C10	C12
	
C09	C11

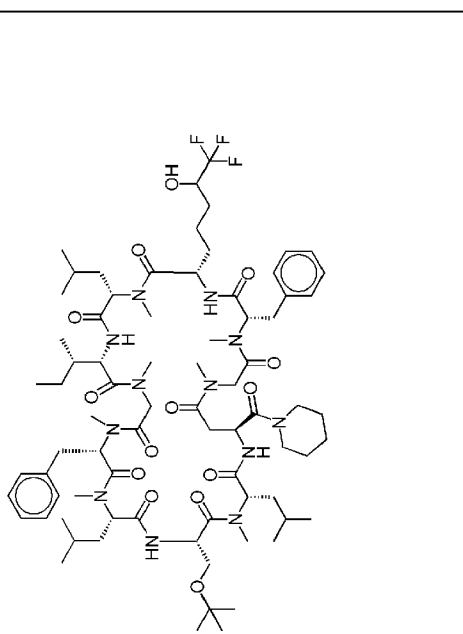
	
C14	C16
	
C13	C15

	
D01	D03
	
C17	D02

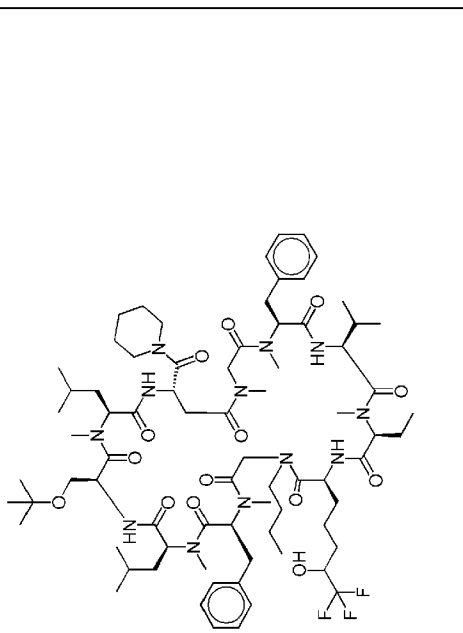
	
D05	D07
	
D04	D06

 Chemical structure of D09: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a p-toluenesulfonyl group, a 4-phenylbutyl group, a 2-hydroxy-2-(trifluoromethyl)ethyl group, and a 2-methyl-2-propylbutyl group. A piperidine ring is also present as a side chain.	 Chemical structure of D11: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a p-toluenesulfonyl group, a 4-phenylbutyl group, a 2-hydroxy-2-(trifluoromethyl)ethyl group, and a 2-methyl-2-propylbutyl group. A piperidine ring is also present as a side chain.
D09	D11
 Chemical structure of D08: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a p-toluenesulfonyl group, a 4-phenylbutyl group, a 2-hydroxy-2-(trifluoromethyl)ethyl group, and a 2-methyl-2-propylbutyl group. A piperidine ring is also present as a side chain.	 Chemical structure of D10: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a p-toluenesulfonyl group, a 4-phenylbutyl group, a 2-hydroxy-2-(trifluoromethyl)ethyl group, and a 2-methyl-2-propylbutyl group. A piperidine ring is also present as a side chain.
D08	D10

	
D13	D15
	
D12	D14



D17



D16

[0395]

[表8]

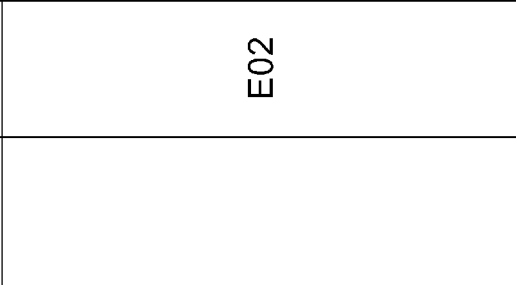
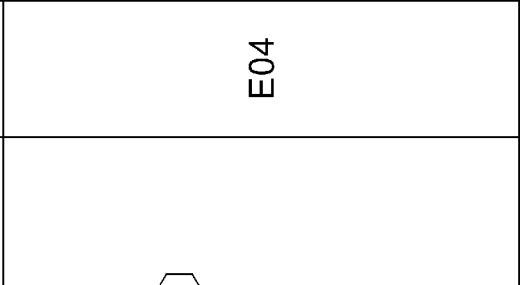
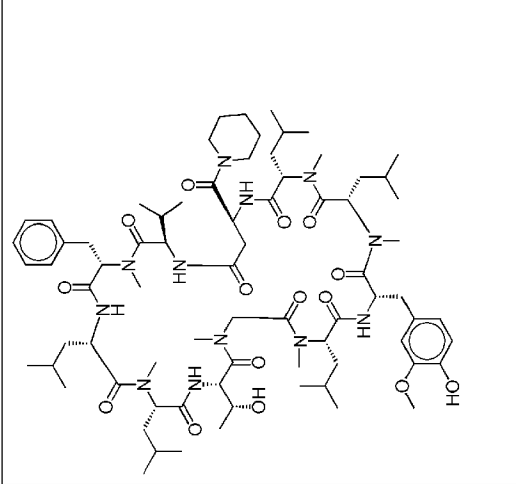
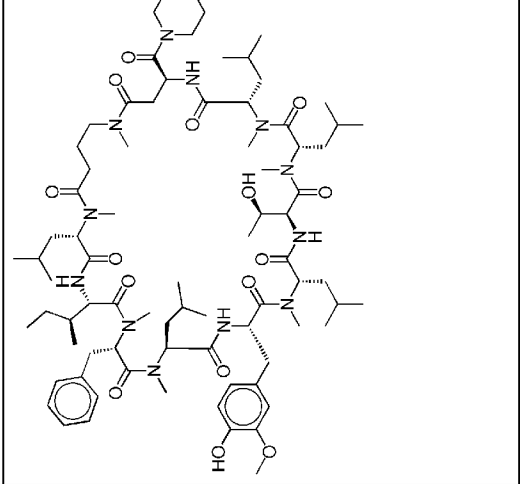
Tyr (3-OMe) と Tyr の比較

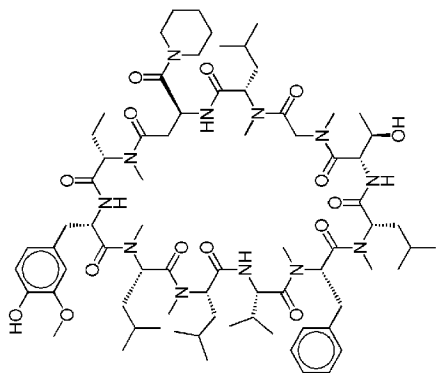
Tyr(3-OMe)											Caco-2 (cm/sec)
化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	
E01	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Tyr(3-OMe)	MeLeu	Asp	1.26
E02	D-Leu	MePhe	Tyr(3-OMe)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp	1.32
E03	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Tyr(3-OMe)	MeLeu	Thr	MeLeu	Asp	1.27
E04	gMeAbu	MeLeu	Tyr(3-OMe)	MePhe	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeLeu	Asp	1.22
E05	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Tyr(3-OMe)	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	Asp	1.27
E06	MeAbu	Tyr(3-OMe)	MeLeu	MeLeu	Val	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	Asp	1.22
E07	MeGly	MeLeu	Tyr(3-OMe)	MeAbu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Leu	Asp	1.24
E08	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Tyr(3-OMe)	Asp	1.33

Tyr											Caco-2 (cm/sec)
化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	
F01	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Tyr	MeLeu	Asp	1.27
F02	D-Leu	MePhe	Tyr	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp	1.34
F03	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Tyr	MeLeu	Thr	MeLeu	Asp	1.29
F04	gMeAbu	MeLeu	Tyr	MeLeu	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeLeu	Asp	1.24
F05	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Tyr	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	Asp	1.29
F06	MeAbu	Tyr	MeLeu	MeLeu	Val	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	Asp	1.24
F07	MeGly	MeLeu	Tyr	MeAbu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Leu	Asp	1.26
F08	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Tyr	Asp	1.34

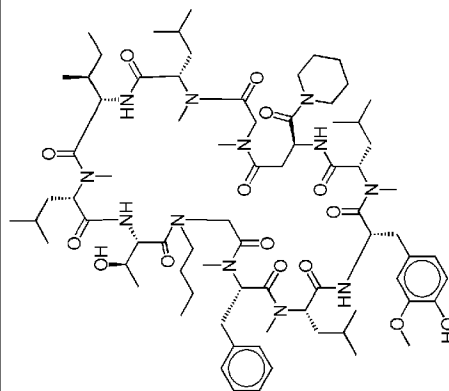
[0396] 環状ペプチドE01～F08の構造を以下に示す。（なお環状ペプチドの構造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している場合もある）

[0397] [表9]

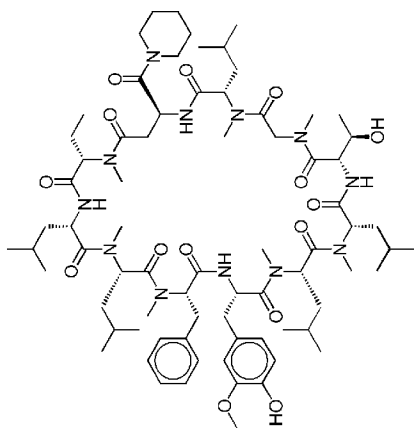
ID	構造式	ID	構造式
E02		E04	
E01		E03	



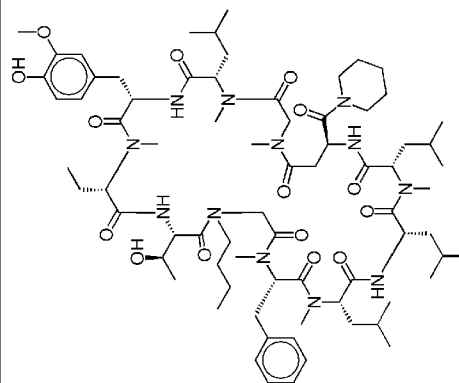
E06



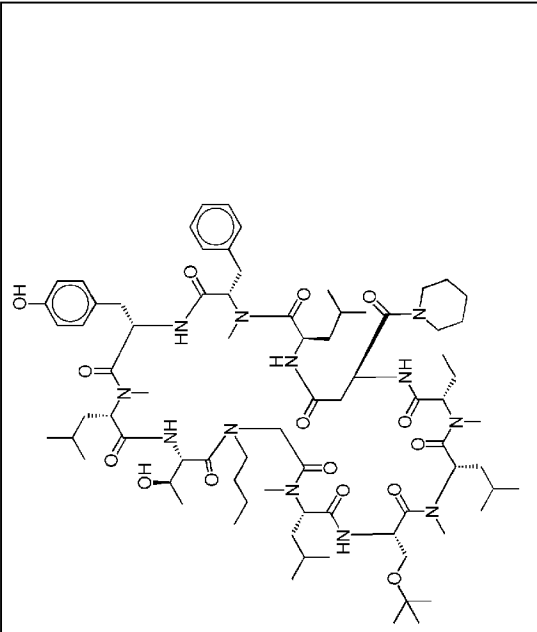
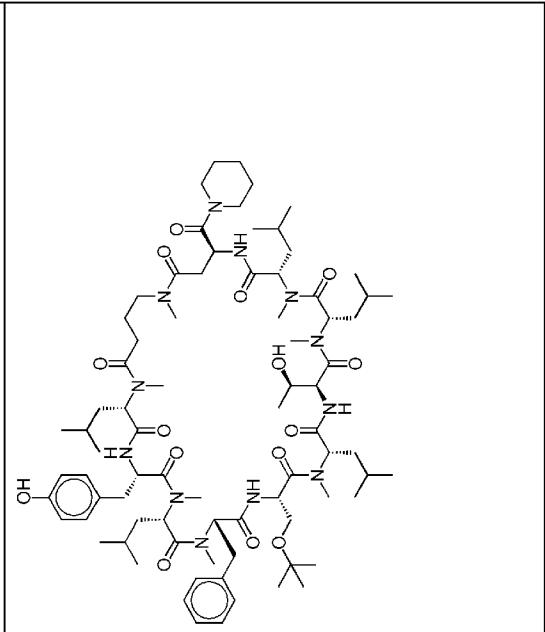
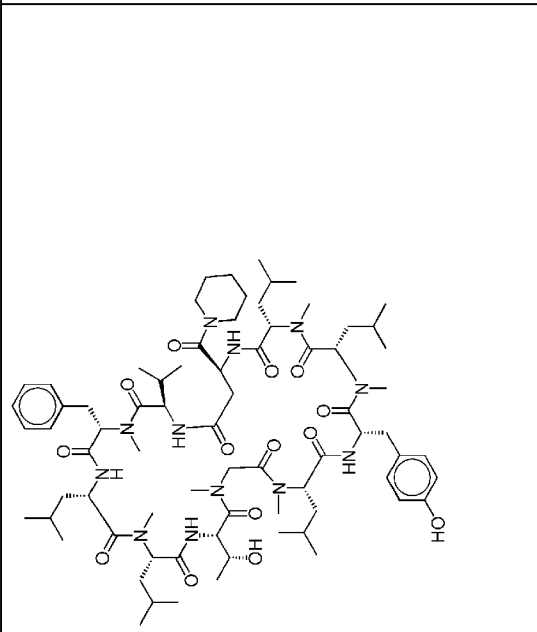
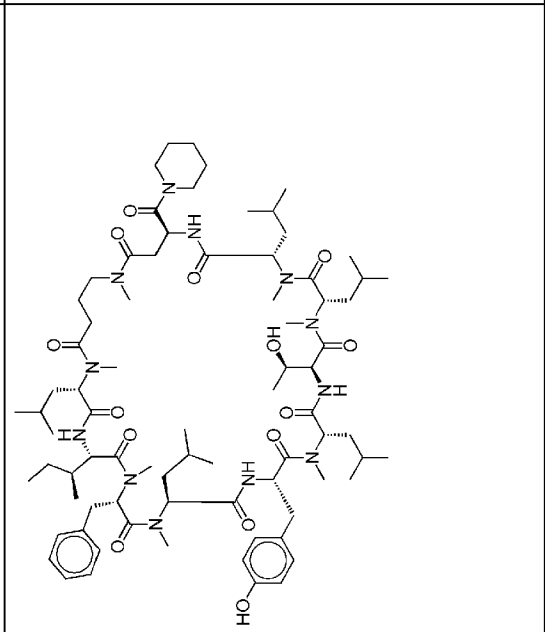
E08

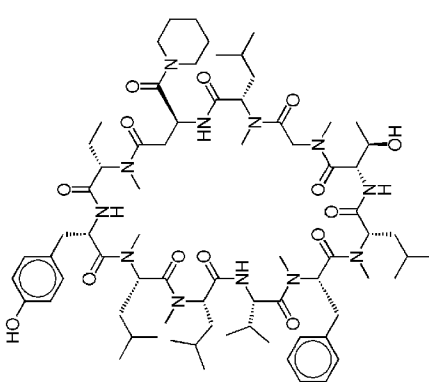
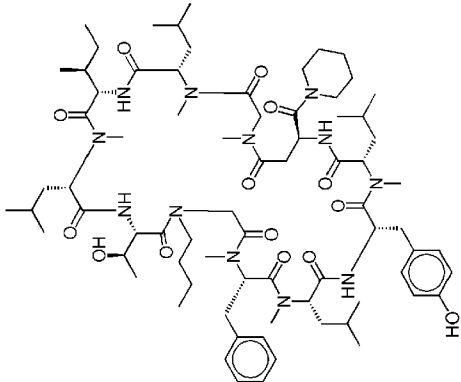
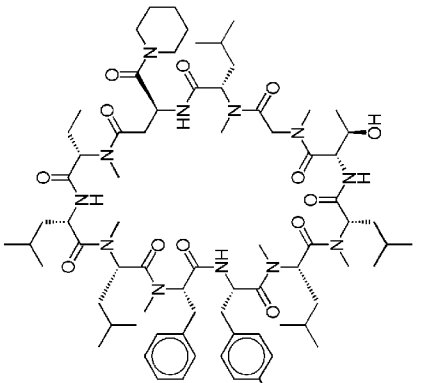
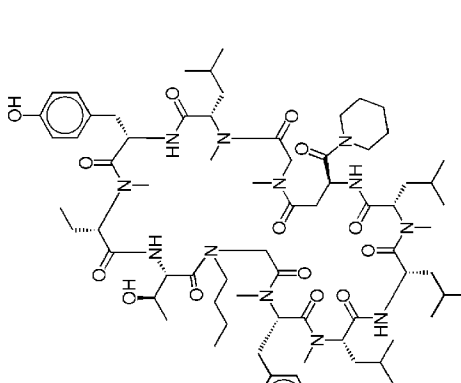


E05



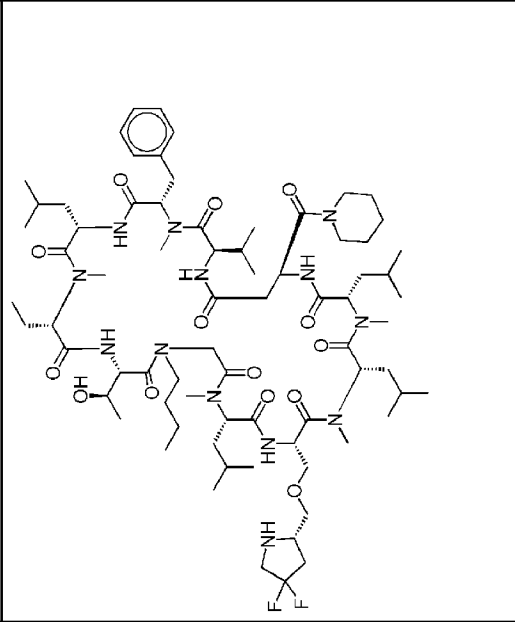
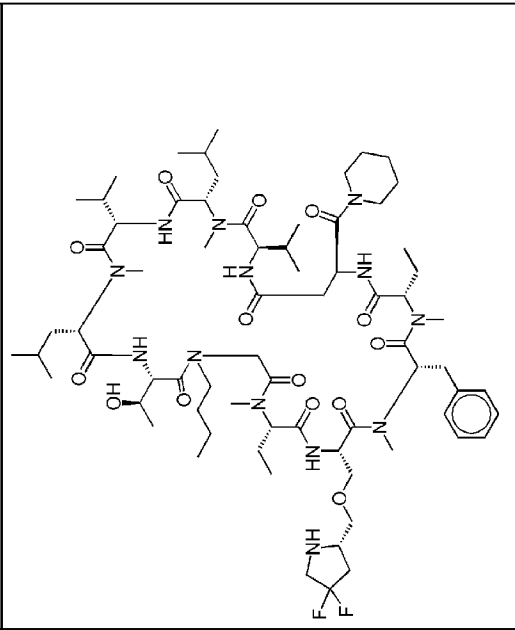
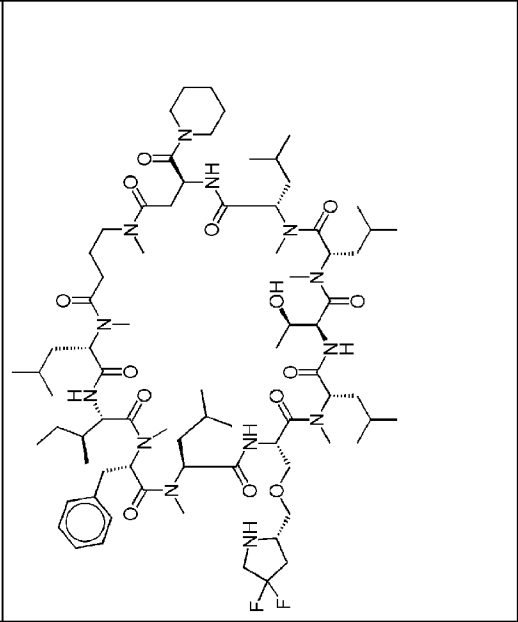
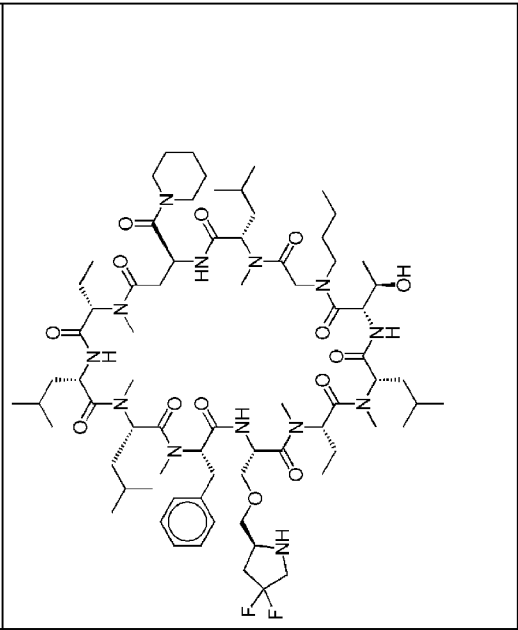
E07

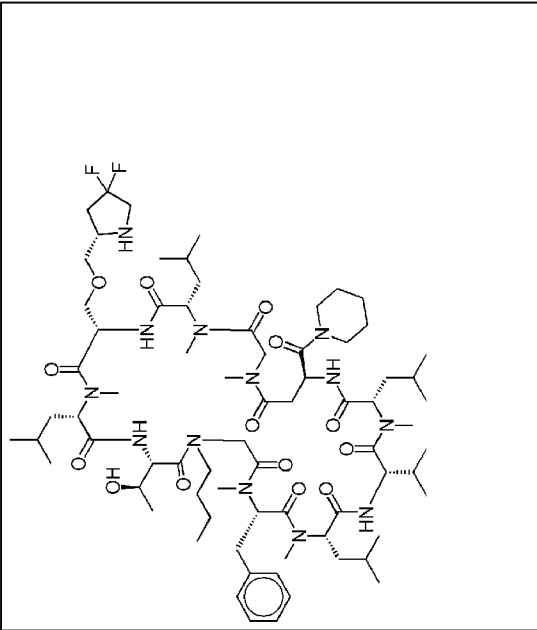
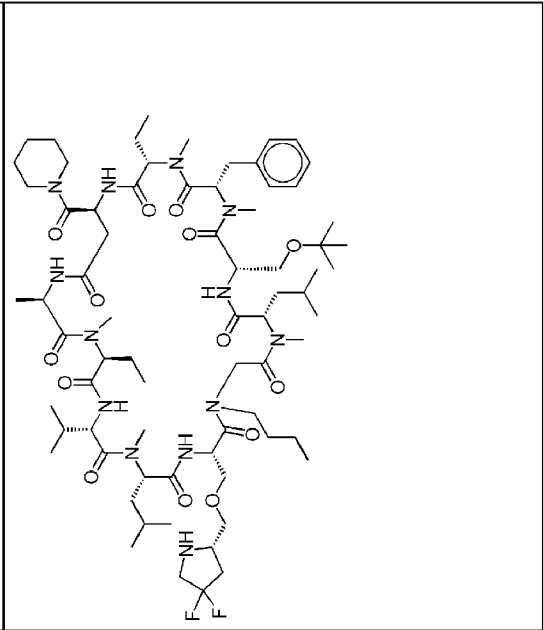
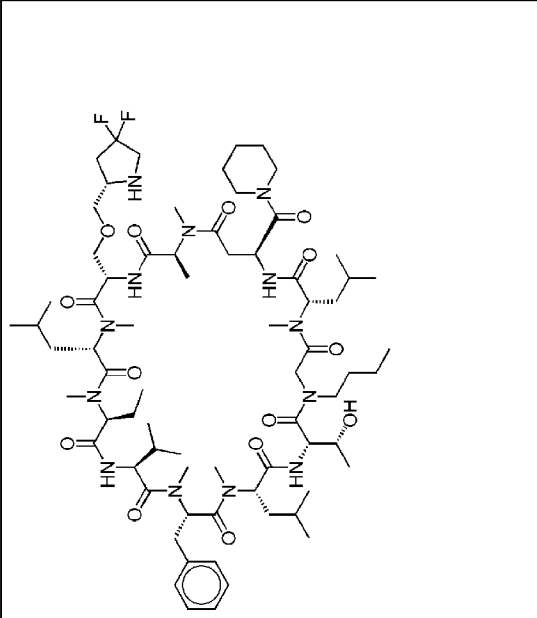
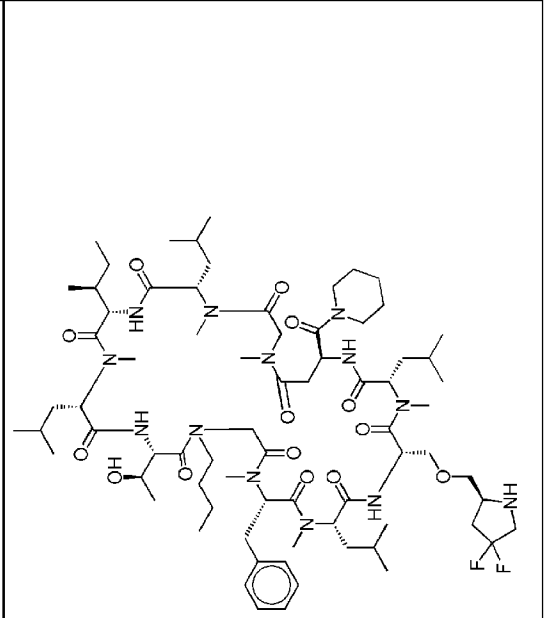
	
F02	F04
	
F01	F03

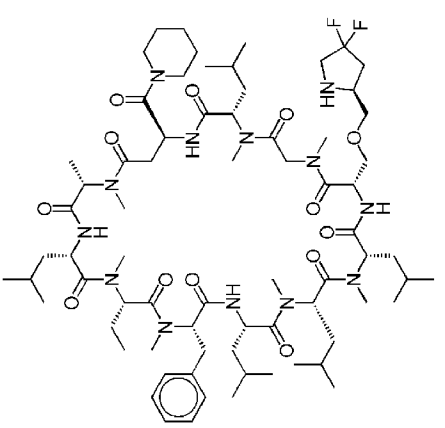
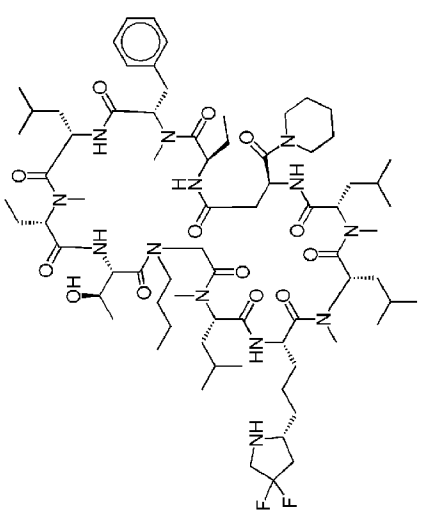
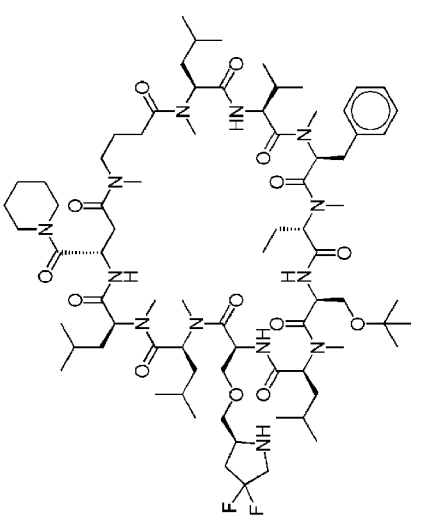
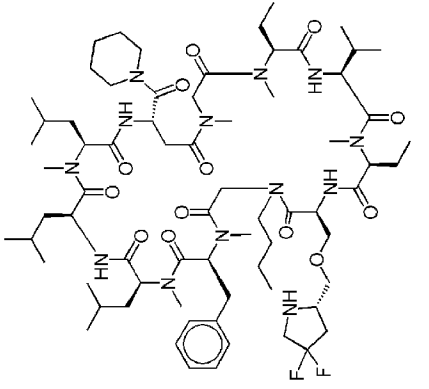
	
F06	F08
	
F05	F07

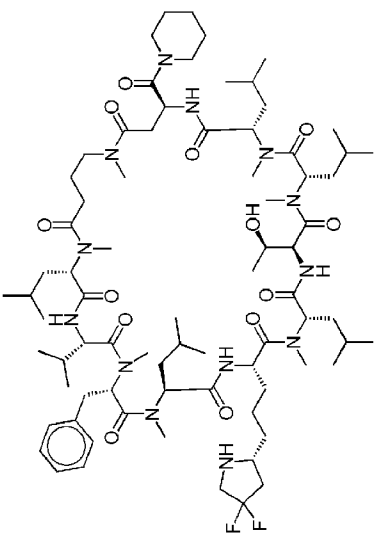
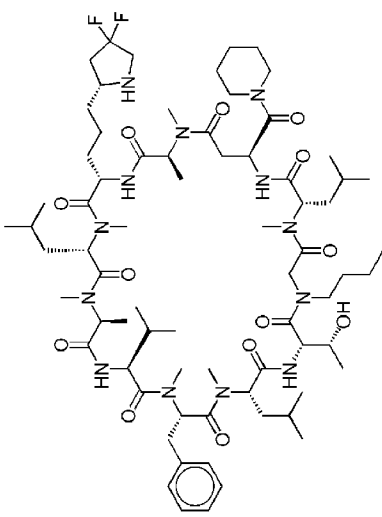
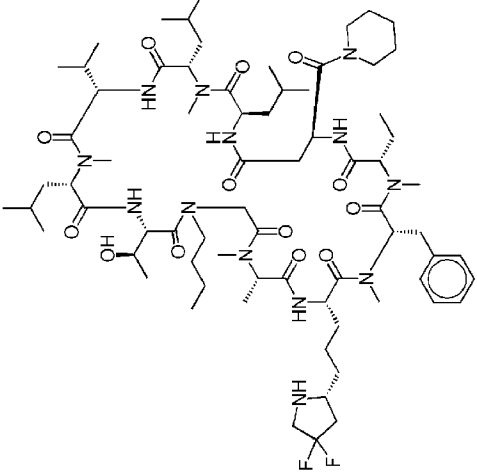
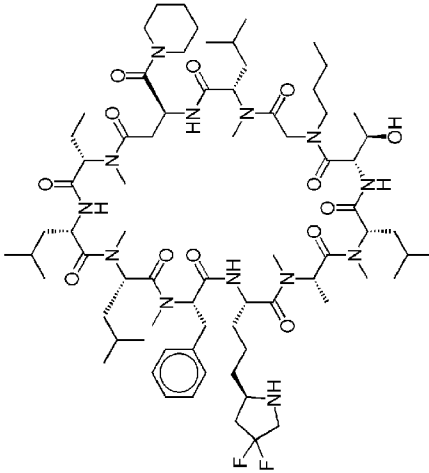
[0398]

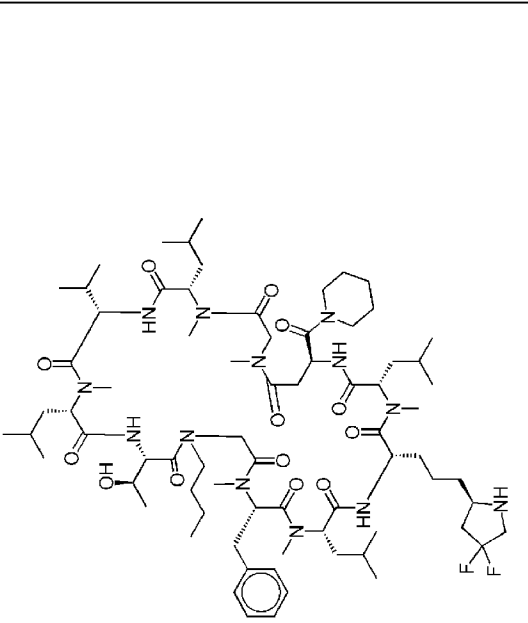
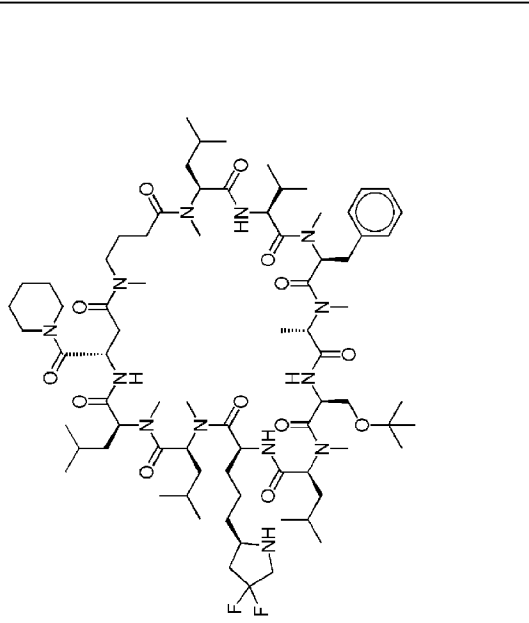
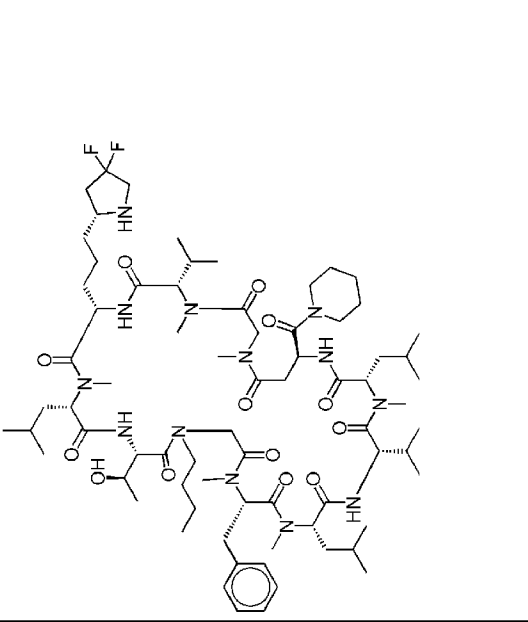
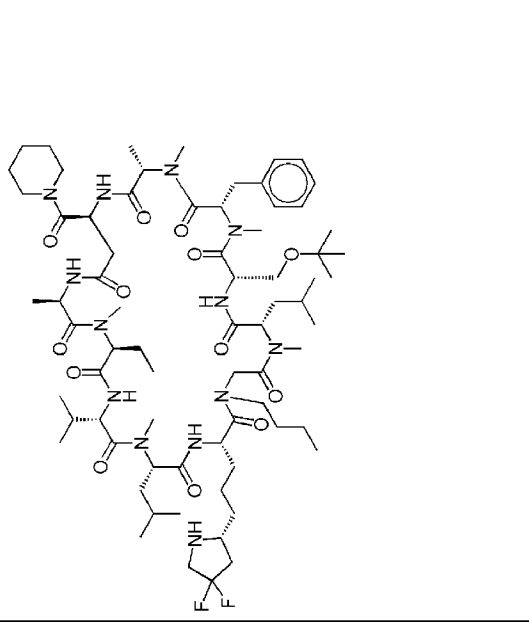
[0400] [表11]

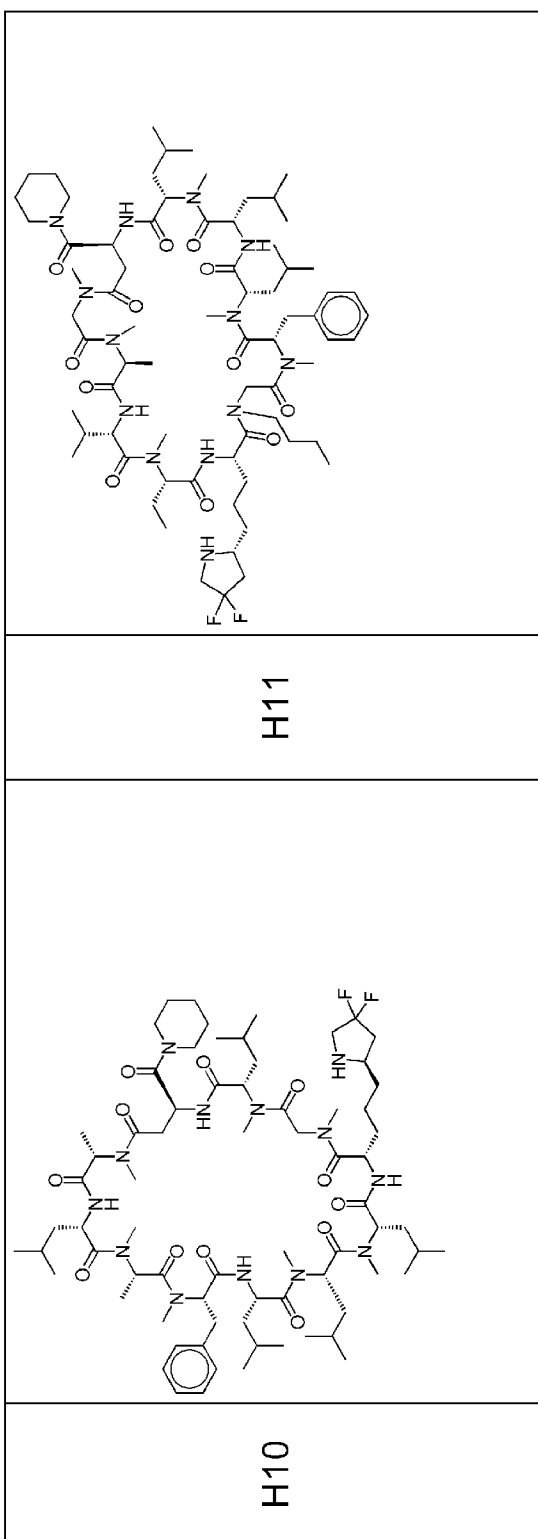
ID	構造式	ID	構造式
G01		G02	
G03		G04	

	
G06	G08
	
G05	G07

	
G10	H01
	
G09	G11

	
H03	H05
	
H02	H04

	
H07	H09
	
H06	H08



[0401]

[表12]

Ser (NMe-Aca) と Gln (Me) の比較

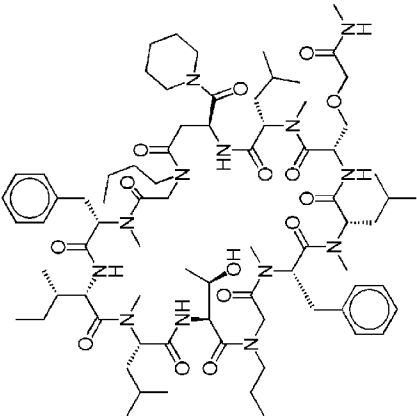
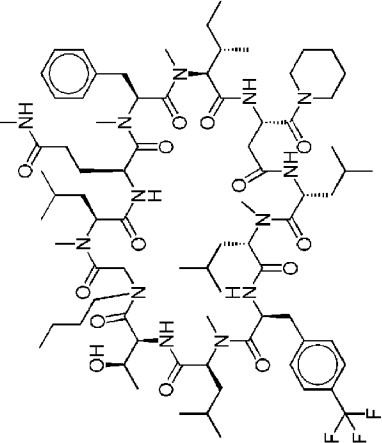
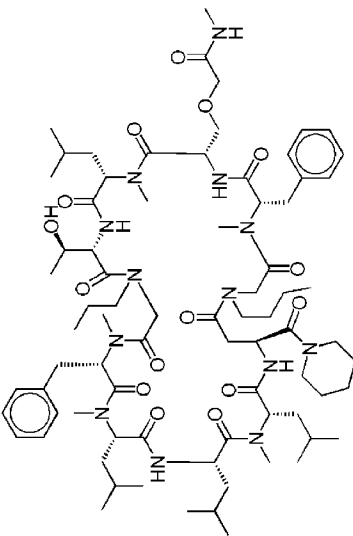
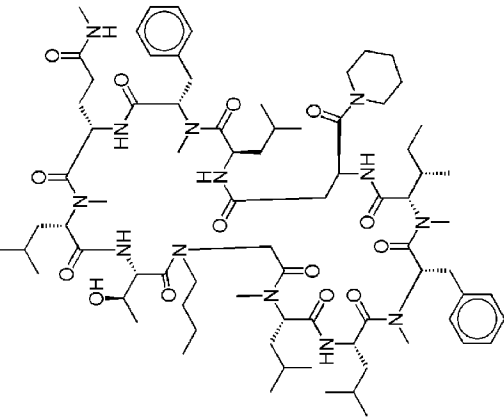
Ser(NMe-Aca)											Caco-2 (cm/sec)
化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	
I01	D-Leu	MePhe	Ser(NMe-Aca)	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Leu	MePhe	MeLeu	1.24
I02	D-Leu	MeLeu	Phe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(NMe-Aca)	MeHph	MeLeu	1.34
I03	MeLeu	Ser(NMe-Aca)	MeLeu	MePhe	Leu	MeHph	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	1.24
I04	MeLeu	Phe	MeLeu	MeLeu	Ser(NMe-Aca)	MeHph	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	1.34
I05	nBuGly	MePhe	Ser(NMe-Aca)	MeLeu	Thr	nPrGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	1.27
I06	nBuGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nPrGly	MePhe	MeLeu	Ser(NMe-Aca)	MeLeu	1.27

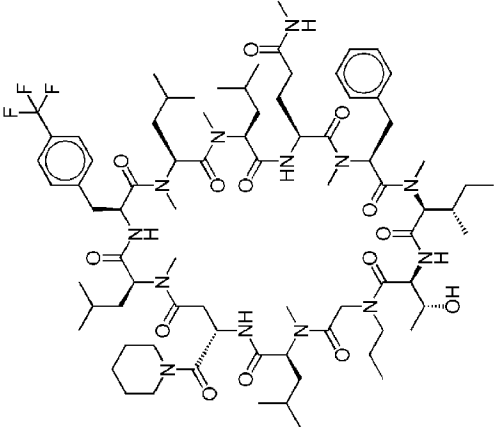
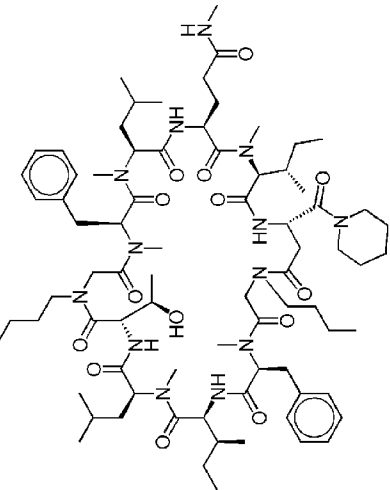
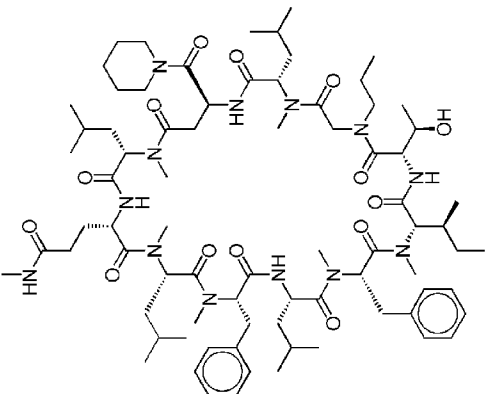
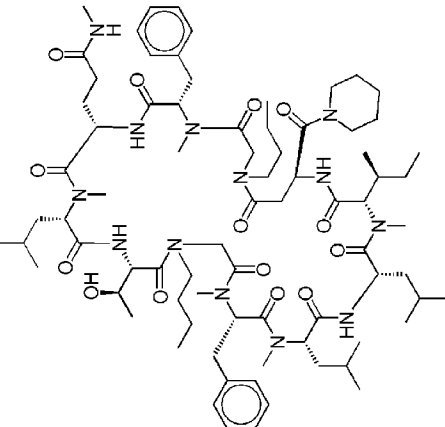
Gln(Me)											Caco-2 (cm/sec)
化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	
J01	D-Leu	MePhe	Gln(Me)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Leu	MePhe	Melle	1.24
J02	D-Leu	MeLeu	Phe(4-CF3)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Gln(Me)	MePhe	Melle	1.32
J03	MeLeu	Gln(Me)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	Melle	Thr	nPrGly	MeLeu	1.24
J04	MeLeu	Phe(4-CF3)	MeLeu	MeLeu	Gln(Me)	nBuGly	Melle	Thr	nPrGly	MeLeu	1.32
J05	nBuGly	MePhe	Gln(Me)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Leu	Melle	1.26
J06	nBuGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Gln(Me)	Melle	1.26

[0402] 環状ペプチドI01～J06の構造を以下に示す。(なお環状ペプチドの構造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している場合もある)

[0403] [表13]

ID	構造式	ID	構造式
I01		I02	
I03		I04	

 Chemical structure of compound I06, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a piperidine ring and a benzyl group.	 Chemical structure of compound J02, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a piperidine ring and a benzyl group.
I06	J02
 Chemical structure of compound I05, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a piperidine ring and a benzyl group.	 Chemical structure of compound J01, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a piperidine ring and a benzyl group.
I05	J01

	
J04	J06
	
J03	J05

[0404] 実施例3に記載の低エネルギーコンフォメーション (Low energy conformation) の計算方法により、Ser (EtOH)、Ser (1-CF₃-EtOH)、Tyr (3-OMe)、Ser (S-4-F₂-Pyrro-Me)、Ser (NMe-Aca) の側鎖部分構造を計算するといずれも最安定

なコンフォメーションが分子内水素結合を有しているコンフォメーションであった。その結果、膜透過性の改善が側鎖に存在するドナーを分子内水素結合でマスクするものによることであることが計算の結果からも確認された。

[0405] 2-2 側鎖にドナー (donor) を有するアミノ酸でドナー部分に分子内水素結合を有するものを含有するペプチドの膜透過性の結果

Ser (tBuOH)、Ser (NtBu-Aca)、bAla (3R-MeOEtOH)、Phe (3-OMe-4-CONMe)、Phe (4-OMe-3-CONMe)、Ser (3-Me-5-Oxo-Odz)、Ser (2-Me-2-BuOH)、Ser (S-2-PrOH)、Ser (R-2-PrOH)、Ser (nPrOH)、Ser (S-2-BuOH)、Ser (R-2-BuOH)、Ser (2-Me₂-PrOH)、bAla (2S-MeOEtOH)、Phe (3-OMe-4-CONHMs)、Hph (3-OMe-4-CONMe)、D-Hph (3-OMe-4-CONMe)、(Ph (3-OMe-4-CONMe) Et) Gly、MeHph (3-OMe-4-CONMe)、Hyp (2-EtOH)、Ser (S-Mor-3-Me)、Phe (4-CONMeOH)、Phe (3-OMe-4-CONHOH) の膜透過性を評価した。結果は下記の通りであった。共に擬似6員環を形成するSer (nPrOH) とSer (2-Me₂-PrOH) の膜透過性を比較するとジェミナルにメチル基が存在するSer (2-Me₂-PrOH) の膜透過性の方がジェミナルにメチル基を有さないSer (nPrOH) よりも良好な傾向がみられた。この理由としてソープ・インゴールド効果による配座自由度の減少やドナー部分付近にジメチル基のような立体的に大きな脂溶性の置換基が存在することで極性表面積 (Polar Surface Area: PSA) が減少しているなどといったことが考えられる。

[0406] 環状ペプチドAP01~AP143、AP200~AP266の膜透過性を評価した結果を以下に示す。

[0407]

[表14]

化合物番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	cdmp/ total AA	Caso-2 (nt/seq)
AP01	D-Val	MePhe	Ser(BuOH)	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Ser(Pan)	MePhe	MeVal	Asp	PP	1.26	1.4E-06
AP02	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(BuOH)	MePhe(3-C)	MeLeu	Asp	PP	1.25	1.3E-06
AP03	gMeAbu	MeLeu	Ser(BuOH)	MePhe	MePhe	Ser(Pan)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	PP	1.22	4.8E-07
AP04	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MePhe	Ser(BuOH)	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Asp	PP	1.26	5.3E-07
AP05	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Asp	PP	1.25	2.8E-06
AP06	MeGly	MePhe	Ser(BuOH)	MeLeu	Thr	nPGly	MePhe(3-C)	MePhe	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	PP	1.22	1.3E-06
AP07	MeGly	MePhe	Ser(BuOH)	MeLeu	Thr	nPGly	MePhe	MeLeu	Ser(BuOH)	MeLeu	Asp	PP	1.21	6.7E-07
AP08	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nPGly	MePhe	MeLeu	Ser(BuOH)	MeLeu	Asp	PP	1.26	1.1E-06
AP09	nPGly	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Ser(BuOH)	MePhe	MeLeu	Asp	PP	1.29	1.9E-06
AP10	D-Val	MePhe	Ser(NBu-Aca)	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Leu	MePhe	MeAla	Asp	PP	1.22	1.1E-06
AP11	D-Leu	MeLeu	Phe	MePhe	Thr	nPGly	MeLeu	Ser(NBu-Aca)	MePhe	MeAla	Asp	PP	1.32	1.7E-07
AP12	D-Leu	MeLeu	Phe	MePhe	Thr	nPGly	MeLeu	Ser(NBu-Aca)	MePhe	MeAla	Asp	PP	1.27	3.2E-07
AP13	D-Leu	MeLeu	Phe	MePhe	Thr	nPGly	MeLeu	Ser(NBu-Aca)	MePhe	MeAla	Asp	PP	1.22	3.9E-07
AP14	MeLeu	Phe	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeAla	Asp	PP	1.22	8.6E-07
AP15	MeLeu	Phe	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeAla	Asp	PP	1.27	2.7E-07
AP16	MeLeu	Ser(NBu-Aca)	MePhe	MeLeu	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeAla	Asp	PP	1.25	7.2E-07
AP17	nBuGly	MePhe	Ser(NBu-Aca)	MeLeu	Thr	nPGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeAla	Asp	PP	1.25	1.0E-06
AP18	nBuGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nPGly	MePhe	MeLeu	Ser(NBu-Aca)	MeAla	Asp	PP	1.25	8.8E-07
AP19	nBuGly	MeLeu	Ile	MePhe	Thr	nPGly	MeLeu	MePhe	Ser(NBu-Aca)	MeAla	Asp	PP	1.29	3.7E-07
AP20	D-Leu	MePhe	bAla(3R-MeOEtOH)	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Leu	MePhe	MeLeu	Asp	PP	1.22	2.1E-07
AP21	D-Leu	MeLeu	Phe	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	bAla(3R-MeOEtOH)	MePhe	MeLeu	Asp	PP	1.16	2.3E-07
AP22	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe(3-C)	MeLeu	nBuGly	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	PP	1.32	4.3E-07
AP23	MeLeu	bAla(3R-MeOEtOH)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	PP	1.28	4.2E-07
AP24	MeLeu	Phe	MeLeu	MeLeu	bAla(3R-MeOEtOH)	MePhe	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Asp	PP	1.25	6.2E-07
AP25	nBuGly	MePhe	bAla(3R-MeOEtOH)	MeLeu	Thr	nPGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	PP	1.25	3.7E-07
AP26	nBuGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nPGly	MePhe	MeLeu	bAla(3R-MeOEtOH)	MeLeu	Asp	PP	1.28	9.1E-07
AP27	D-Val	MeVal	Phe(3-O-Me-4-CONMe)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	PP	1.38	3.8E-07
AP28	D-Leu	MePhe	Val	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Phe(3-O-Me-4-CONMe)	MeLeu	MeLeu	Asp	PP	1.24	3.6E-07
AP29	D-Ala	MePhe	Phe(3-O-Me-4-CONMe)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	MeLeu	Asp	PP	1.24	1.9E-07
AP30	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	Leu	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	PP	1.24	5.2E-07
AP31	MeLeu	Phe(3-O-Me-4-CONMe)	MeLeu	MePhe	Leu	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	PP	1.28	1.3E-06
AP32	MeLeu	Leu	MeLeu	MeLeu	Phe(3-O-Me-4-CONMe)	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	PP	1.31	6.1E-07
AP33	MeGly	MePhe(3-C)	Phe(3-O-Me-4-CONMe)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	PP	1.21	2.0E-07
AP34	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	MeLeu	Phe(3-O-Me-4-CONMe)	MeLeu	Asp	PP	1.28	2.0E-06
AP35	D-Val	MeVal	Phe(4-O-Me-3-CONMe)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	PP	1.38	2.8E-07
AP36	D-Leu	MePhe	Val	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Phe(3-O-Me-3-CONMe)	MeLeu	MeLeu	Asp	PP	1.24	4.0E-07
AP37	D-Ala	MePhe	Phe(4-O-Me-3-CONMe)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	MeLeu	Asp	PP	1.24	2.0E-07
AP38	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	Leu	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	PP	1.24	1.0E-06
AP39	MeLeu	Phe(4-O-Me-3-CONMe)	MeLeu	MePhe	Leu	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	PP	1.28	6.3E-07
AP40	MeLeu	Leu	MeLeu	MeLeu	Phe(4-O-Me-3-CONMe)	MeLeu	MeLeu	Thr	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	PP	1.31	4.9E-07
AP41	MeGly	MePhe(3-C)	Phe(4-O-Me-3-CONMe)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	PP	1.21	2.5E-07
AP42	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe(3-C)	MeLeu	Phe(4-O-Me-3-CONMe)	MeLeu	Asp	PP	1.24	8.2E-07
AP43	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)	MeLeu	MeLeu	Asp	PP	1.28	3.0E-07
AP44	D-Leu	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)	MePhe	MeLeu	Asp	PP	1.23	1.4E-06
AP45	gMeAbu	MeLeu	Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)	MeLeu	MeLeu	nBuGly	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	MeLeu	Asp	PP	1.16	2.2E-07
AP46	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe(3-C)	MeLeu	nBuGly	Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	PP	1.25	5.3E-06
AP47	MeGly	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)	MeLeu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	PP	1.29	4.0E-07
AP48	MeLeu	Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)	MeLeu	MeLeu	Val	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	PP	1.22	3.3E-07
AP49	MeGly	MeLeu	Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe(3-C)	MeLeu	Ile	MeLeu	Asp	PP	1.22	1.1E-07
AP50	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe(3-C)	MeLeu	Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)	MeLeu	Asp	PP	1.22	1.1E-07

化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	clogP/ total AA	Caco-2 (nm/sec)
AP51	D-Val	MePhe	Ser(2-Me-2-BuOH)	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(Pen)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.4E-06
AP52	D-Val	MePhe	Leu	MeVal	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(2-Me-2-BuOH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.7E-06
AP53	gMeAbu	MeLeu	Ser(2-Me-2-BuOH)	MePhe	MePhe	Ser(Pen)	MeVal	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.20	7.4E-07
AP54	gMeAbu	MeVal	Ile	MePhe	MePhe(3-Cl)	Ser(2-Me-2-BuOH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.24	1.4E-06
AP55	MeAla	Ser(2-Me-2-BuOH)	MeLeu	MePhe	Leu	MeHph	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.3E-06
AP56	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Thr	MeHph	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.19	8.3E-07
AP58	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	MeHph	MeLeu	Ser(2-Me-2-BuOH)	MeLeu	Asp	pip	1.18	4.9E-07
AP59	nPGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	MeLeu	Ser(2-Me-2-BuOH)	MeLeu	Asp	pip	1.24	7.8E-07
AP60	D-Val	MeHph	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(Pen)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.26	1.0E-06
AP61	D-Val	MePhe	Ser(S-2-PROH)	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Ser(Pen)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.27	5.1E-07
AP62	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(S-2-PROH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.21	5.5E-07
AP63	gMeAbu	MeLeu	Ser(S-2-PROH)	MePhe	MePhe(3-Cl)	Ser(Pen)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.24	1.4E-07
AP64	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MePhe(3-Cl)	Ser(S-2-PROH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	3.5E-07
AP65	MeAla	Ser(S-2-PROH)	MeLeu	MePhe(3-Cl)	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Asp	pip	1.28	1.2E-06
AP66	MeVal	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(S-2-PROH)	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.20	6.8E-07
AP67	MeGly	MePhe(3-Cl)	Ser(S-2-PROH)	MeLeu	Thr	nPGly	MePhe	MeLeu	Ser(Pen)	MeLeu	Asp	pip	1.25	7.1E-07
AP68	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nPGly	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Ser(S-2-PROH)	MeLeu	Asp	pip	1.23	2.4E-07
AP69	MeVal	Ser(S-2-PROH)	MeLeu	MePhe(3-Cl)	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.26	7.0E-07
AP70	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Ser(S-2-PROH)	MePhe(3-Cl)	MeVal	Asp	pip	1.27	7.5E-07
AP71	D-Val	MePhe	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	Thr	nPGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.25	7.1E-07
AP72	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(R-2-PROH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.21	9.5E-07
AP73	gMeAbu	MeLeu	Ser(R-2-PROH)	MePhe	MePhe(3-Cl)	Ser(Bu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.18	4.4E-07
AP74	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MePhe(3-Cl)	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	3.1E-07
AP75	MeAla	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	MePhe(3-Cl)	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.33	1.1E-06
AP76	MeVal	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(R-2-PROH)	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.20	8.4E-07
AP77	MeGly	MePhe(3-Cl)	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.0E-06
AP78	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	Asp	pip	1.28	2.4E-07
AP79	MeVal	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	MePhe(3-Cl)	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.26	1.1E-06
AP80	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(R-2-PROH)	MePhe(3-Cl)	MeVal	Asp	pip	1.31	3.6E-07
AP81	D-Leu	MePhe	Leu	MeLeu	Ser(R-2-PROH)	MeGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.33	6.9E-07
AP82	D-Val	MePhe	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	Val	MeGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.24	2.5E-06
AP83	gMeAbu	MeLeu	Val	MePhe	MePhe	MeGly	MeLeu	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.25	1.3E-06
AP84	gMeAbu	MeLeu	Ser(R-2-PROH)	MePhe	MePhe	Ser(Bu)	MeLeu	Ile	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.30	5.8E-07
AP85	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Ser(R-2-PROH)	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.30	5.2E-06
AP86	MeAla	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Val	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.26	3.7E-06
AP87	MeGly	MePhe	Val	MeLeu	Ser(R-2-PROH)	nBuGly	MePhe	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.31	1.0E-06
AP88	MeGly	MePhe	Ser(R-2-PROH)	MeLeu	Ile	MeGly	MePhe	MeLeu	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.21	3.3E-06
AP89	D-Leu	MePhe	Ser(nPROH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.30	1.2E-07
AP90	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(nPROH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.21	4.5E-07
AP91	gMeAbu	MeLeu	Ser(nPROH)	MePhe	MePhe(3-Cl)	Leu	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.4E-07
AP92	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MePhe(3-Cl)	Ser(nPROH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.8E-07
AP93	MeVal	Ser(nPROH)	MeLeu	MePhe	Val	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.30	1.1E-06
AP94	MeLeu	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(nPROH)	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.25	3.5E-07
AP95	nBuGly	MePhe	Ser(nPROH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeVal	Ser(Bu)	MeLeu	Asp	pip	1.27	6.9E-07
AP96	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Ser(nPROH)	MeLeu	Asp	pip	1.28	1.7E-07
AP97	MeLeu	Ser(nPROH)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.31	2.1E-07
AP98	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(nPROH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.36	1.6E-07
AP99	D-Val	MePhe	Ser(S-2-BuOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeVal	Ser(Bu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.23	8.6E-07
AP100	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(S-2-BuOH)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.24	5.5E-07

化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	clgP/ total AA	Caco-2 (nm/sec)
AP101	gMeAbu	MeVal	Ser(S-2-BuOH)	MePhe	MePhe(S-3-Cl)	Ser(TBu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.16	5.9E-07
AP102	gMeAbu	MeLeu	Val	MePhe	MePhe(S-3-Cl)	Ser(S-2-BuOH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.21	4.3E-07
AP103	MeAla	Ser(S-2-BuOH)	MeLeu	MePhe(S-3-Cl)	Leu	MePhe	MeVal	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.31	8.9E-07
AP104	MeVal	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(S-2-BuOH)	MePhe	MeVal	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.18	2.9E-06
AP105	MeGly	MePhe(S-3-Cl)	Ser(S-2-BuOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeVal	Ser(TBu)	MeLeu	Asp	pip	1.21	5.5E-07
AP106	MeGly	MePhe	Val	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe(S-3-Cl)	MeLeu	Ser(S-2-BuOH)	MeLeu	Asp	pip	1.28	2.5E-07
AP107	MeVal	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(S-2-BuOH)	MePhe	MeVal	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.33	9.3E-07
AP108	D-Val	MePhe	Ser(R-2-BuOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeVal	Ser(TBu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.23	8.1E-07
AP109	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(R-2-BuOH)	MePhe(S-3-Cl)	MeLeu	Asp	pip	1.24	6.4E-07
AP110	gMeAbu	MeVal	Ser(R-2-BuOH)	MePhe	MePhe(S-3-Cl)	Ser(TBu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.16	2.3E-07
AP111	gMeAbu	MeLeu	Val	MePhe	MePhe(S-3-Cl)	Ser(R-2-BuOH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.21	7.3E-07
AP112	MeAla	Ser(R-2-BuOH)	MeLeu	MePhe(S-3-Cl)	Leu	MePhe	MeVal	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.31	7.3E-07
AP113	MeVal	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(R-2-BuOH)	MePhe	MeVal	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.18	1.7E-06
AP114	MeGly	MePhe	Val	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe(S-3-Cl)	MeLeu	Ser(R-2-BuOH)	MeLeu	Asp	pip	1.26	2.8E-07
AP115	gMeAbu	MeLeu	Ser(R-2-BuOH)	MePhe	MePhe(S-3-Cl)	Ser(TBu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.21	2.7E-07
AP116	MeVal	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(R-2-BuOH)	MePhe	MeVal	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.33	8.9E-07
AP117	D-Abu	MePhe	Ser(2-Me2-PROH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(TBu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.28	3.6E-07
AP118	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(2-Me2-PROH)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.22	1.8E-06
AP119	gMeAbu	MeLeu	Ser(2-Me2-PROH)	MePhe	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.24	3.4E-07
AP120	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MePhe	Ser(2-Me2-PROH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.24	1.1E-06
AP121	MeAla	Ser(2-Me2-PROH)	MeLeu	MePhe	Val	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.29	3.1E-06
AP122	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(2-Me2-PROH)	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.23	2.9E-06
AP123	MeGly	MePhe(S-3-Cl)	Ser(2-Me2-PROH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeVal	Ser(TBu)	MeLeu	Asp	pip	1.26	8.0E-07
AP124	MeGly	MePhe	Val	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Ser(2-Me2-PROH)	MeLeu	Asp	pip	1.24	7.6E-07
AP125	MeLeu	Ser(2-Me2-PROH)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.32	7.4E-07
AP126	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(2-Me2-PROH)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.37	1.4E-07
AP127	D-Leu	MePhe	bAla(2S-MeOEtOH)	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Leu	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.24	3.0E-07
AP128	D-Leu	MeLeu	Phe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	bAla(2S-MeOEtOH)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.29	7.8E-07
AP129	gMeAbu	MeLeu	bAla(2S-MeOEtOH)	MePhe(S-3-Cl)	MeLeu	Leu	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.17	4.6E-07
AP130	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe(S-3-Cl)	MeLeu	bAla(2S-MeOEtOH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.17	4.6E-07
AP131	MeLeu	Phe	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.34	1.1E-06
AP132	MeLeu	MePhe	MeLeu	MeLeu	bAla(2S-MeOEtOH)	MePhe	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Asp	pip	1.29	1.3E-06
AP133	nBuGly	MePhe	bAla(2S-MeOEtOH)	MeLeu	Thr	nPrGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	pip	1.26	1.8E-06
AP134	nBuGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	nPrGly	MePhe	MeLeu	bAla(2S-MeOEtOH)	MeLeu	Asp	pip	1.26	6.2E-07
AP135	D-Val	MeVal	Phe(3-OMe-4-CONHMs)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(TBu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.28	8.8E-07
AP136	D-Leu	MePhe	Val	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Phe(3-OMe-4-CONHMs)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.38	4.7E-07
AP137	D-Ala	MePhe	Phe(3-OMe-4-CONHMs)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(TBu)	Melle	MeLeu	Asp	pip	1.24	<2.9E-07
AP138	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Phe(3-OMe-4-CONHMs)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.24	6.0E-08
AP139	MeLeu	Phe(3-OMe-4-CONHMs)	MeLeu	MePhe	Leu	MeLeu	Melle	Thr	MeGly	MeAbu	Asp	pip	1.24	<2.5E-07
AP140	MeGly	MePhe(S-3-Cl)	Phe(3-OMe-4-CONHMs)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	MeLeu	Ser(TBu)	MeLeu	Asp	pip	1.31	4.9E-07
AP141	gMeAbu	MeLeu	Ala	MeLeu	MePhe	Ser(TBu)	MeLeu	Phe(3-OMe-4-CONHMs)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.25	<2.7E-07
AP142	MeLeu	Ala	MeLeu	MeLeu	Leu	MeLeu	MeVal	Phe(3-OMe-4-CONHMs)	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.34	6.3E-07
AP143	MeGly	MeLeu	Val	MeLeu	Phe(3-OMe-4-CONHMs)	MeGly	MePhe	MeLeu	Abu	MeLeu	Asp	pip	1.20	1.3E-07

化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	dlogPI total AA	Caco-2 (cm/sec)
AP200	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Hph(3-OMe-4- CONMe)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.27	8.8E-07
AP201	D-Leu	MePhe	Hph(3-OMe-4- CONMe)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeAbu	Asp	pip	1.34	3.5E-07
AP202	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Hph(3-OMe-4- CONMe)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.29	1.8E-07
AP203	gMeAbu	MeLeu	Hph(3-OMe-4- CONMe)	MeLeu	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.24	4.1E-07
AP204	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Hph(3-OMe-4- CONMe)	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.29	1.6E-06
AP205	MeAbu	Hph(3-OMe-4- CONMe)	MeLeu	MeLeu	Val	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.24	7.9E-07
AP206	MeGly	MeLeu	Hph(3-OMe-4- CONMe)	MeAbu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	pip	1.26	8.6E-07
AP207	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Hph(3-OMe-4- CONMe)	MeLeu	Asp	pip	1.36	5.1E-07
AP208	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	D-Hph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.27	6.0E-07
AP209	D-Leu	MePhe	D-Hph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeAbu	Asp	pip	1.34	5.6E-07
AP210	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	D-Hph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.29	3.4E-07
AP211	gMeAbu	MeLeu	D-Hph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.24	3.6E-07
AP212	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	D-Hph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.29	6.4E-07
AP213	MeAbu	D-Hph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	MeLeu	Val	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.24	3.4E-07
AP214	MeGly	MeLeu	D-Hph(3-OMe- 4-CONMe)	MeAbu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	pip	1.26	8.4E-07
AP215	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	D-Hph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	Asp	pip	1.35	4.3E-07
AP216	D-Ala	MePhe	Leu	MeAbu	Thr	(Ph(3-OMe-4- CONMe)Et)Gly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.20	9.9E-07
AP217	MeVal	Leu	MeAbu	MePhe	Ala	MeLeu	MeLeu	Thr	(Ph(3-OMe-4- CONMe)Et)Gly	MeLeu	Asp	pip	1.26	1.0E-06
AP218	MeGly	MeLeu	Ile	MeAbu	Thr	(Ph(3-OMe-4- CONMe)Et)Gly	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp	pip	1.21	5.5E-07
AP219	(Ph(3-OMe-4- CONMe)Et)Gly	MeLeu	Leu	MeAbu	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp	pip	1.21	1.3E-06
AP220	D-Leu	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeAla	Ser(tBu)	MeLeu	(Ph(3-OMe-4- CONMe)Et)Gly	Asp	pip	1.26	8.0E-07

化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	dlogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)
AP221	D-Leu	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	(Ph(3-OMe-4- CONMe)EtGly	Ser(tBu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.24	2.8E-07
AP222	D-Ala	MeLeu	Ile	(Ph(3-OMe-4- CONMe)EtGly	Thr	MeAbu	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.20	3.1E-07
AP223	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MeLeu	(Ph(3-OMe-4- CONMe)EtGly	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.26	1.6E-06
AP224	D-Val	MeHph(3-OMe- 4-CONMe)	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Leu	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.27	1.1E-06
AP225	D-Leu	MePhe	Val	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Leu	MeHph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	Asp	pip	1.27	5.7E-07
AP226	D-Val	MeLeu	Val	MeHph(3-OMe- 4-CONMe)	Thr	MeGly	MeLeu	Leu	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.0E-06
AP227	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.24	4.8E-07
AP228	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeHph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	Asp	pip	1.24	8.4E-07
AP229	MeAla	Leu	MeLeu	MeHph(3-OMe- 4-CONMe)	Abu	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.16	4.3E-07
AP230	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MeHph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.24	9.6E-07
AP231	MeGly	MeHph(3-OMe- 4-CONMe)	Val	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp	pip	1.25	1.0E-06
AP232	nBuGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	MeHph(3-OMe- 4-CONMe)	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp	pip	1.30	2.0E-06
AP233	D-MeLeu	MeLeu	Leu	MeLeu	Thr	Hyp(2-EOH)	MeLeu	Ile	MeLeu	Leu	Asp	pip	1.33	3.0E-06
AP234	D-Leu	Pro	Ser(tBu)	MeLeu	Hyp(2-EOH)	MeLeu	Thr	MePhe	Phe	MeLeu	Asp	pip	1.13	1.3E-06
AP235	Leu	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Hyp(2-EOH)	MeLeu	Thr	MePhe	Phe	MeLeu	Asp	pip	1.28	1.5E-06
AP236	D-MeLeu	MeLeu	Hyp(2-EOH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeVal	Phe	Pic(2)	Leu	Asp	pip	1.24	3.8E-06
AP237	D-Val	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeLeu	Leu	Thr	Hyp(2-EOH)	Phe	MeLeu	Asp	pip	1.17	1.3E-06
AP238	D-Leu	Melle	Pro	MeLeu	Ser(tBu)	Hyp(2-EOH)	Thr	MeLeu	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.20	2.0E-06
AP239	D-Val	MePhe	Leu	MeAbu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(S-Mor-3- Me)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.22	1.8E-07
AP240	D-Leu	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MeAbu	Ser(S-Mor-3- Me)	MePhe	MeAbu	Asp	pip	1.18	8.0E-08
AP241	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Ser(S-Mor-3- Me)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.18	5.0E-08
AP242	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(S-Mor-3- Me)	MeAbu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.25	1.2E-06
AP243	MeAla	Ser(S-Mor-3- Me)	MeLeu	MeAbu	Val	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.15	4.6E-07
AP244	MeGly	MeLeu	Ser(S-Mor-3- Me)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Val	MeLeu	Asp	pip	1.19	4.6E-07
AP245	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Ser(S-Mor-3- Me)	MeLeu	Asp	pip	1.24	1.0E-07
AP246	MeAla	Leu	MeAbu	MePhe	Leu	MeLeu	MeLeu	Ser(S-Mor-3- Me)	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.24	2.3E-07
AP247	MeGly	MeAbu	Val	MeAbu	Ser(S-Mor-3- Me)	nBuGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	pip	1.21	6.9E-07

化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	dlogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)
AP248	D-Val	MeVal	Phe(4- CONMeOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.34	2.4E-07
AP249	D-Leu	MePhe	Val	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Phe(4- CONMeOH)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.44	4.0E-08
AP250	D-Ala	MePhe	Phe(4- CONMeOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.30	1.2E-07
AP251	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Phe(4- CONMeOH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.31	3.0E-08
AP252	MeLeu	Phe(4- CONMeOH)	MeLeu	MePhe	Leu	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MeAbu	Asp	pip	1.31	1.3E-07
AP253	MeLeu	Leu	MeLeu	MeLeu	Phe(4- CONMeOH)	MeLeu	MeVal	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.35	1.2E-07
AP254	MeGly	MePhe(3-Cl)	Phe(4- CONMeOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp	pip	1.38	1.5E-07
AP255	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Phe(4- CONMeOH)	MeLeu	Asp	pip	1.28	5.0E-08
AP256	D-Val	MeVal	Phe(3-OMe-4- CONHOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeLeu	Asp	pip	1.23	8.0E-08
AP257	D-Leu	MePhe	Val	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Phe(3-OMe-4- CONHOH)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.33	3.0E-08
AP258	D-Ala	MePhe	Phe(3-OMe-4- CONHOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.19	3.0E-08
AP259	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Phe(3-OMe-4- CONHOH)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.21	2.0E-08
AP260	MeGly	MePhe(3-Cl)	Phe(3-OMe-4- CONHOH)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp	pip	1.28	4.0E-08
AP261	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Phe(3-OMe-4- CONHOH)	MeLeu	Asp	pip	1.17	2.0E-08

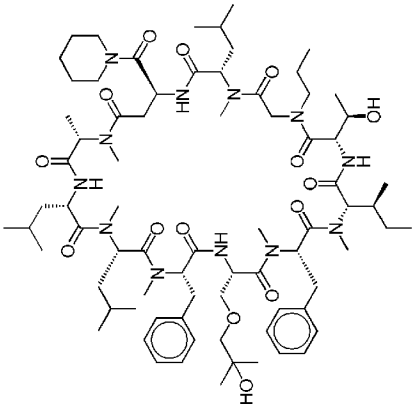
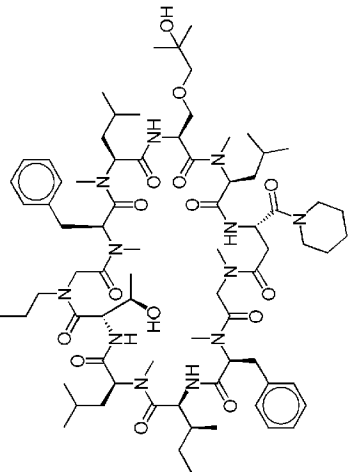
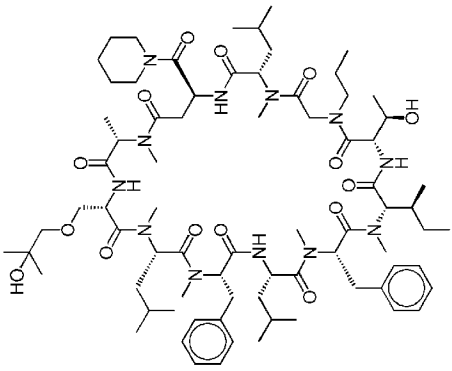
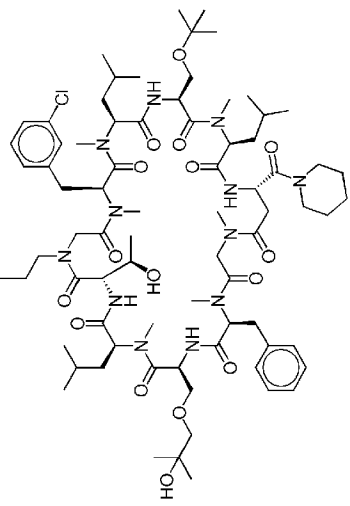
化合物 番号	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	clogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)
AP262						D-MeAla	MeLeu	MeLeu	Thr	MeLeu	Hph(3-OMe-4-CONMe)	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.7E-07
AP263					Leu	MeLeu	Leu	Ile	MeLeu	Hph(3-OMe-4-CONMe)	Thr	MeLeu	Asp	pip	1.29	1.8E-06
AP264				D-MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MePhe	MeLeu	Gly	Melle	Hph(3-OMe-4-CONMe)	Asp	pip	1.17	1.7E-07
AP265		D-Val	Thr	nSuGly	Leu	Pro	MeVal	Hph(3-OMe-4-CONMe)	MePhe	MeLeu	Leu	Melle	Asp	pip	1.25	4.6E-07
AP266	MeAbu	Gly	MeLeu	MeLeu	Val	MeLeu	Hph(3-OMe-4-CONMe)	MePhe	Ile	MeLeu	MeLeu	Thr	Asp	pip	1.28	< 8.95E-08

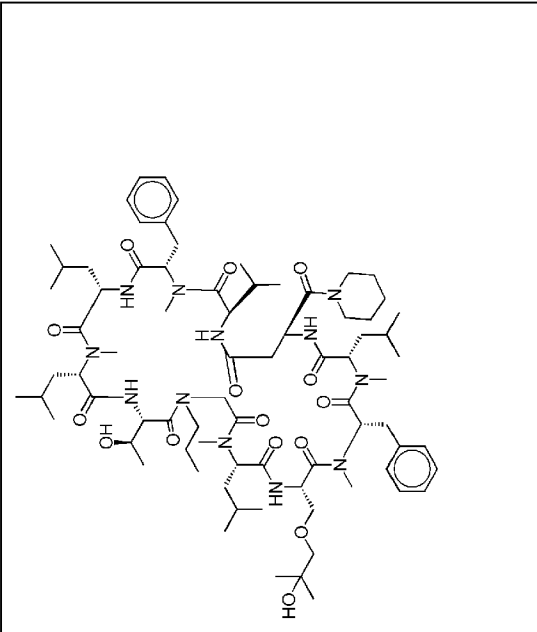
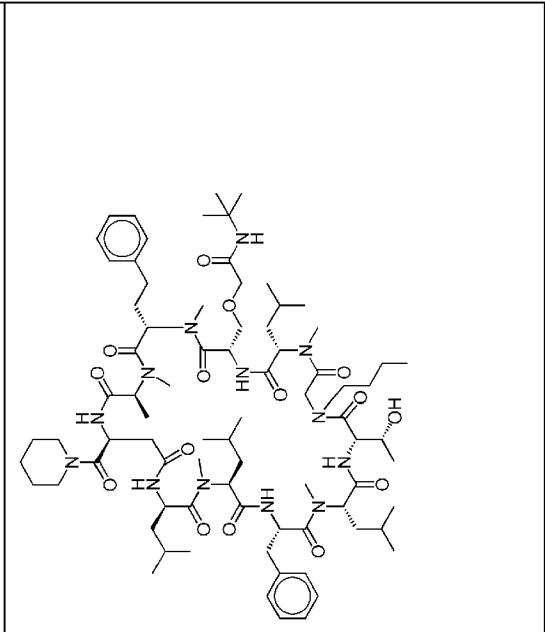
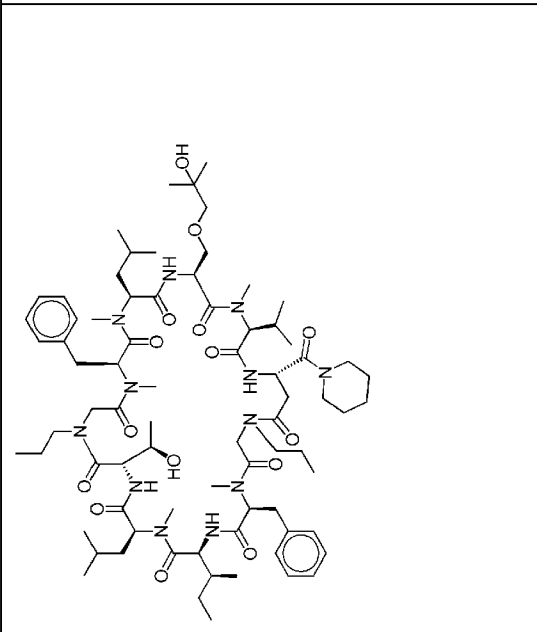
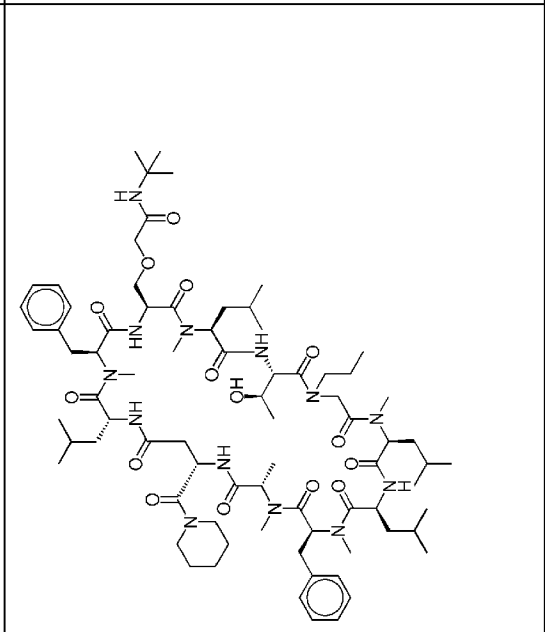
[0408] 実施例3に記載のLow energy conformationの計算方法により、Ser(tBuOH)、Ser(NtBu-Aca)、bAla(3R-MeOEtO

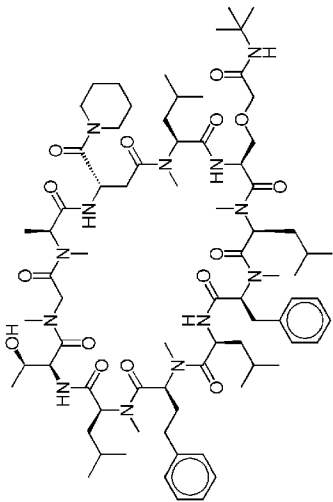
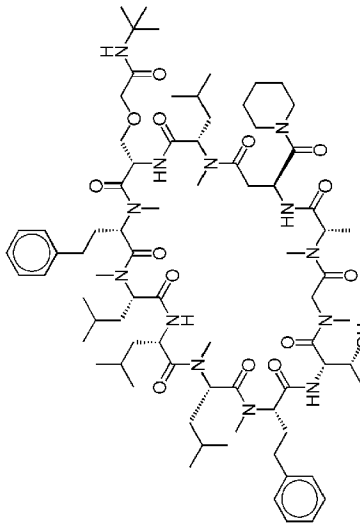
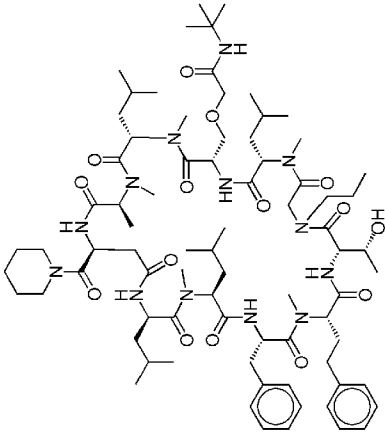
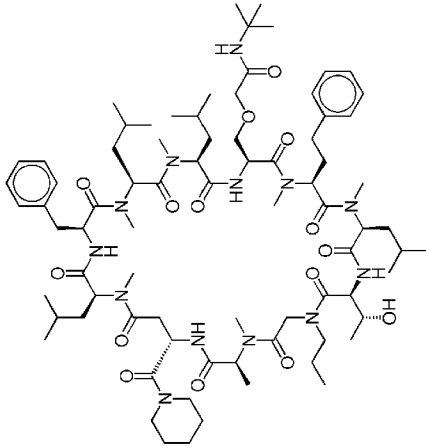
H)、Phe(3-OMe-4-CONMe)、Phe(4-OMe-3-CONMe)、Ser(2-Me-2-BuOH)、Ser(S-2-PrOH)、Ser(R-2-PrOH)、Ser(nPrOH)、Ser(S-2-BuOH)、Ser(R-2-BuOH)、Ser(2-Me-2-PrOH)、bAla(2S-MeOEtOH)、Phe(3-OMe-4-CONHMs)、Hph(3-OMe-4-CONMe)、D-Hph(3-OMe-4-CONMe)、(Ph(3-OMe-4-CONMe)Et)Gly、MeHph(3-OMe-4-CONMe)、Hyp(2-EtOH)、Ser(S-Mor-3-Me)、Phe(4-CONMeOH)、Phe(3-OMe-4-CONHOH)の側鎖部分構造を計算するといずれも最安定なコンフォメーションが分子内水素結合を有しているコンフォメーションであった。またSer(3-Me-5-Oxo-Odz)、の側鎖部分構造を計算すると、分子内水素結合を有するコンフォメーションは最安定コンフォメーションから0.89kJ/mol離れたものであった。そのため、これらのアミノ酸も膜透過する際に分子内水素結合を形成し、分子内水素結合を有しないアミノ酸よりも良好な膜透過性を有していると考えられる。

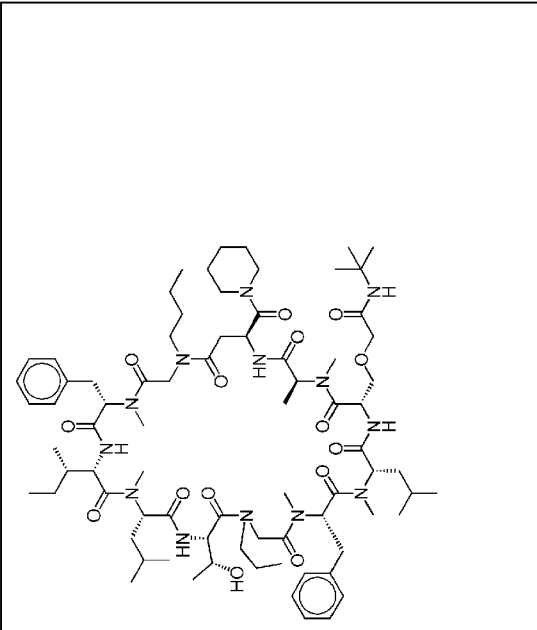
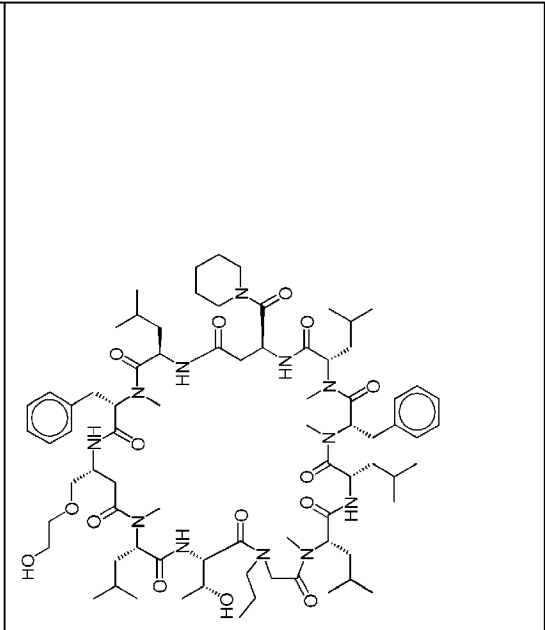
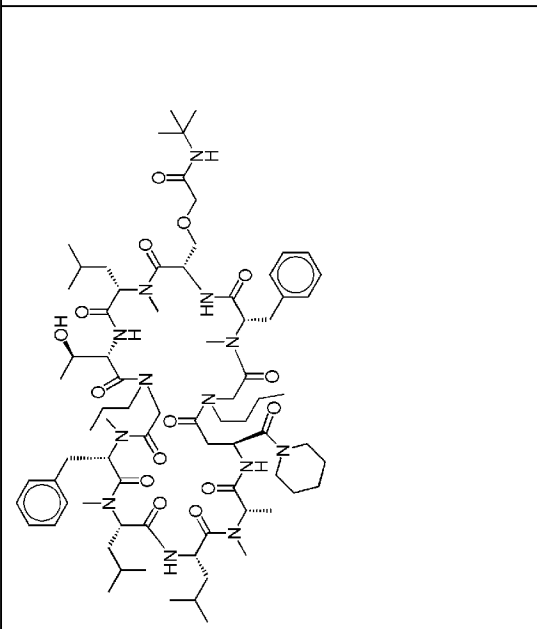
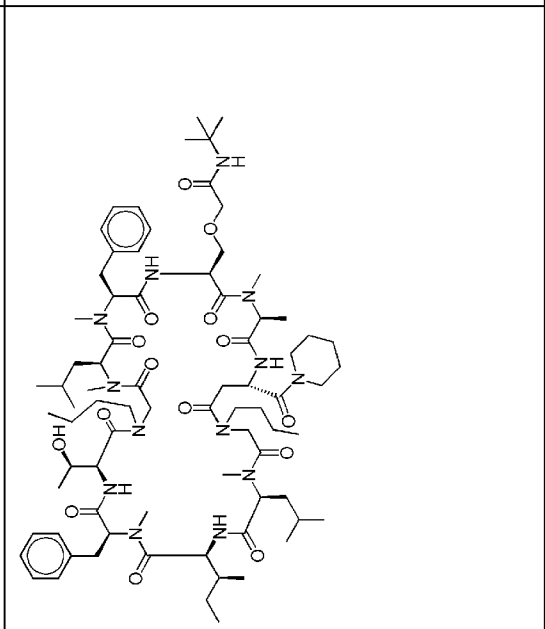
[0409] 膜透過性を評価した環状ペプチドAP01~AP143、AP200~AP266の構造を以下に示す。(なお環状ペプチドの構造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している場合もある)

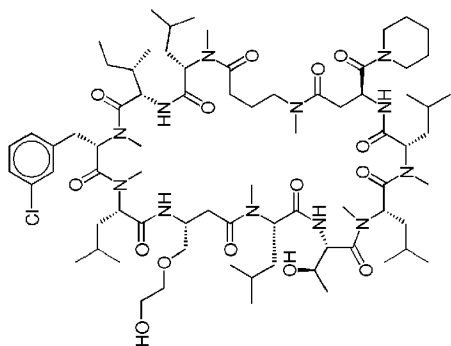
[0410]

	
AP06	AP08
	
AP05	AP07

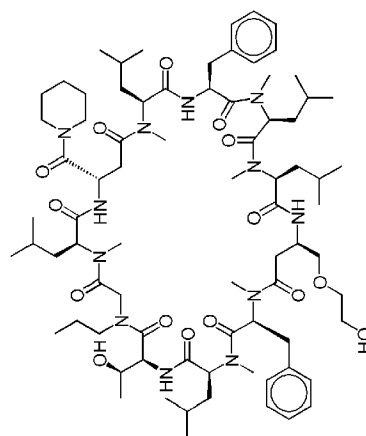
	
AP10	AP12
	
AP09	AP11

	
AP14	AP16
	
AP13	AP15

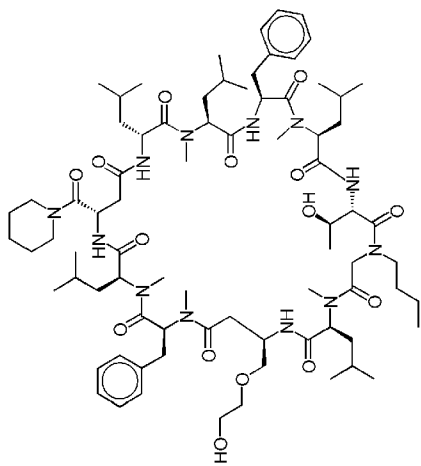
	
AP18	AP20
	
AP17	AP19



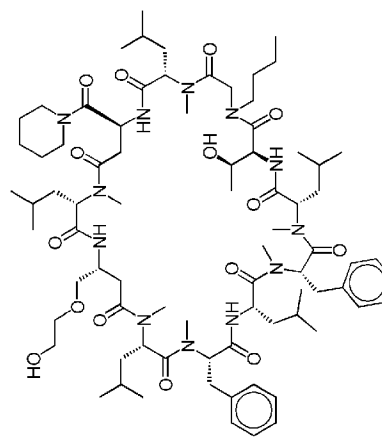
AP22



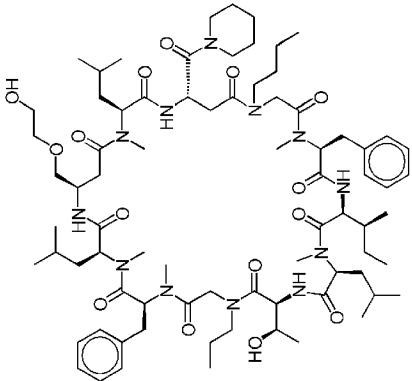
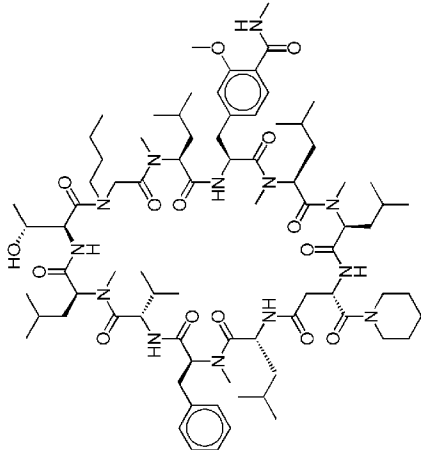
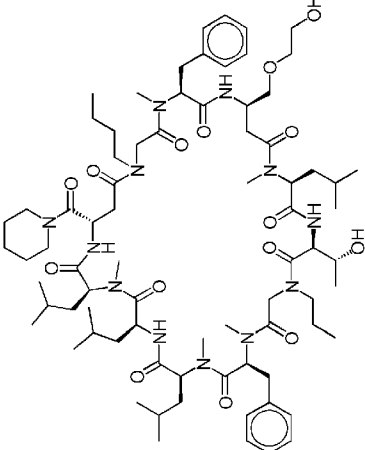
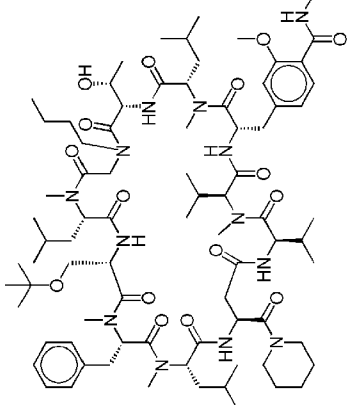
AP24

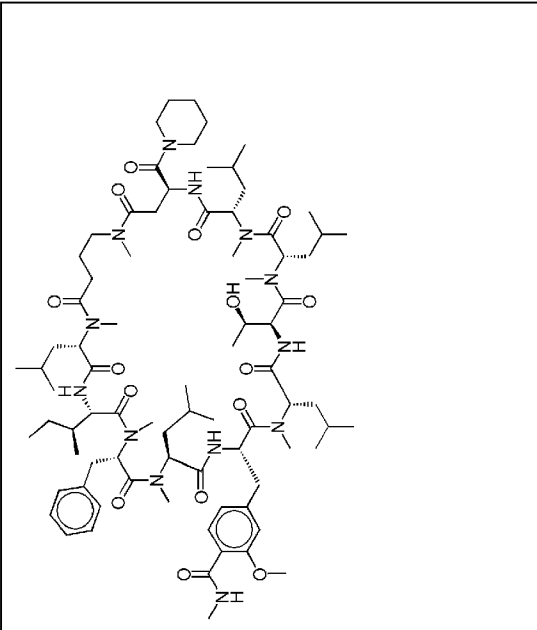
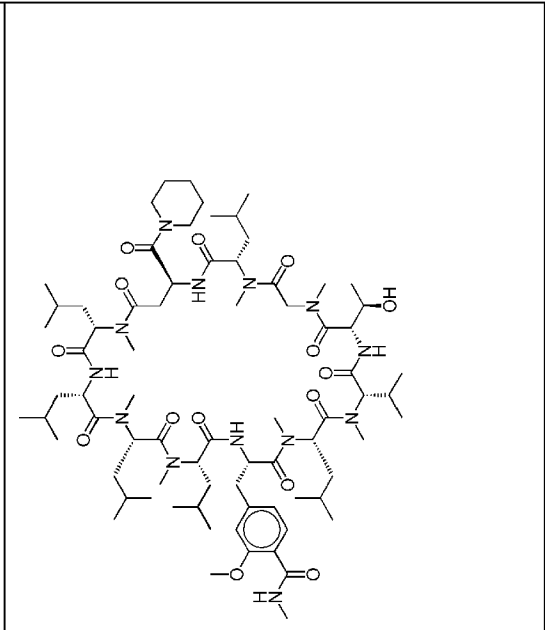
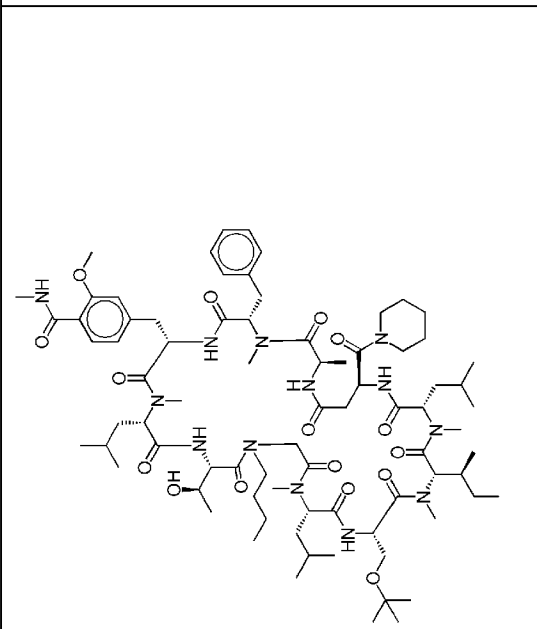
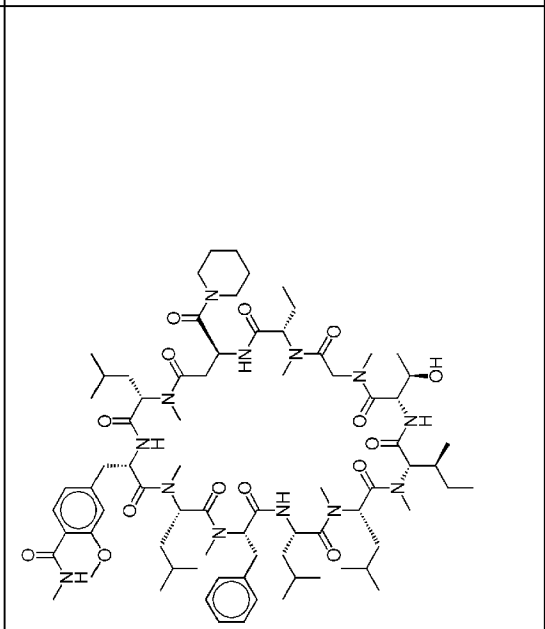


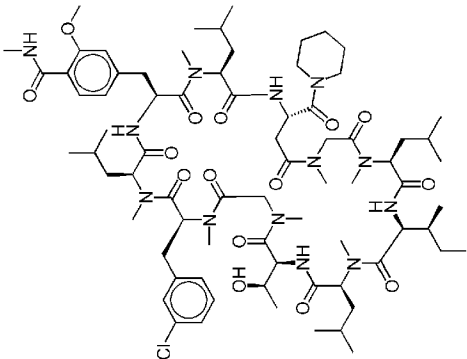
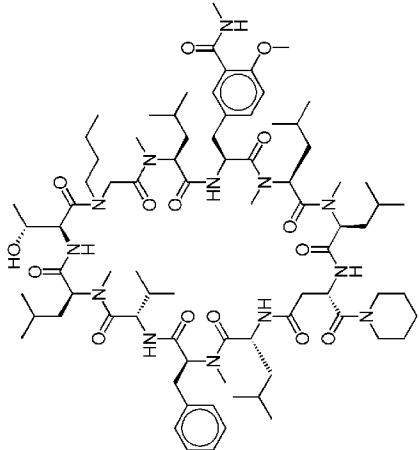
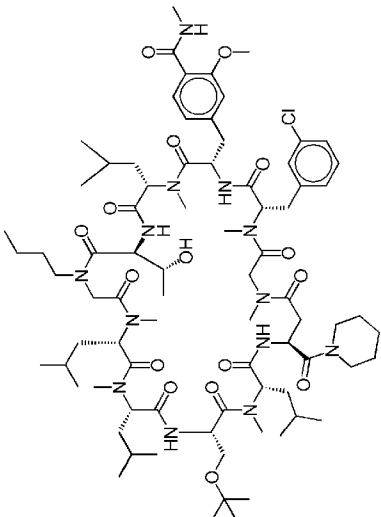
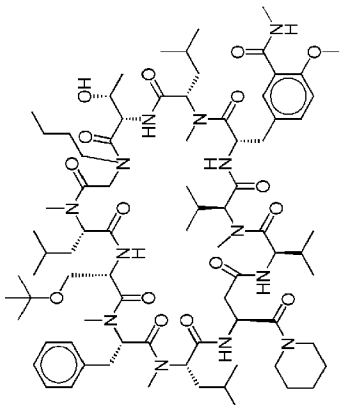
AP21

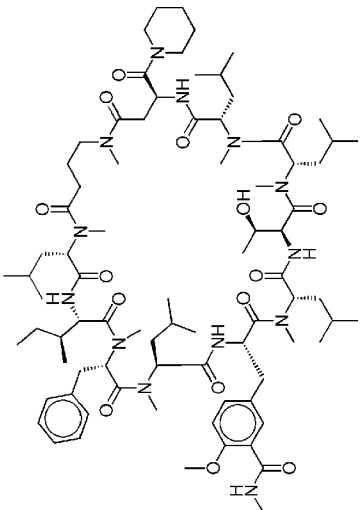
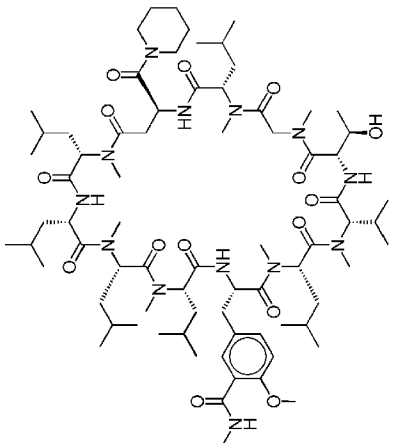
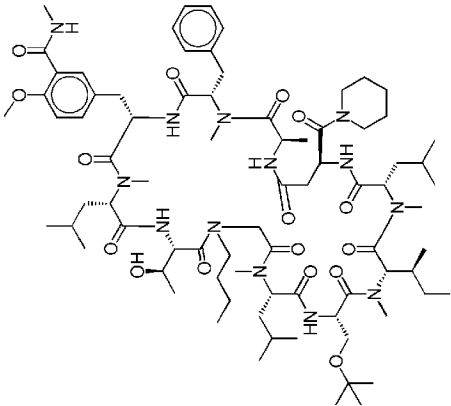
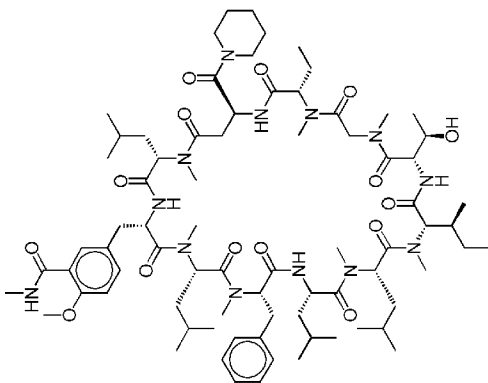


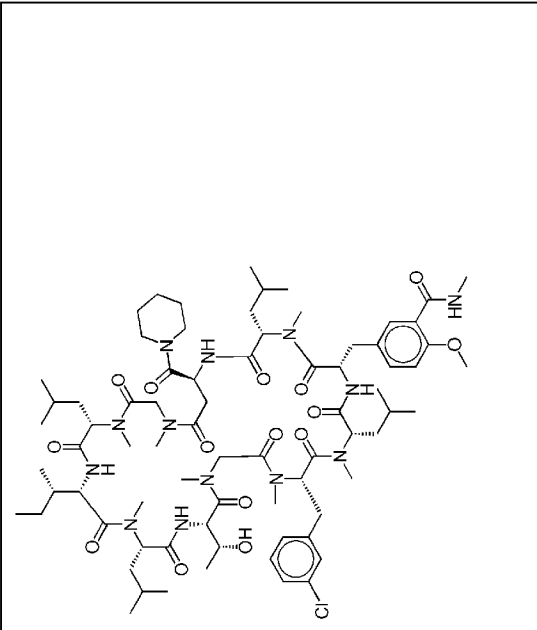
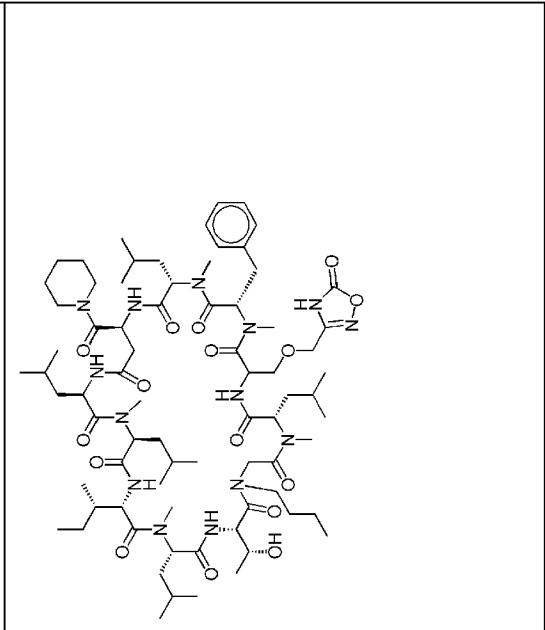
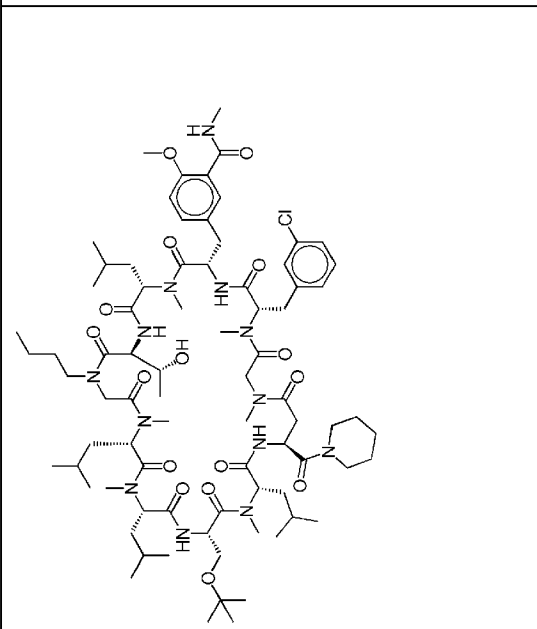
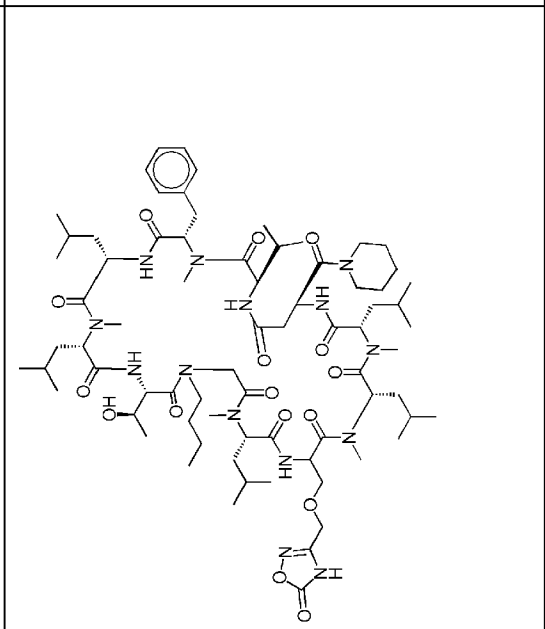
AP23

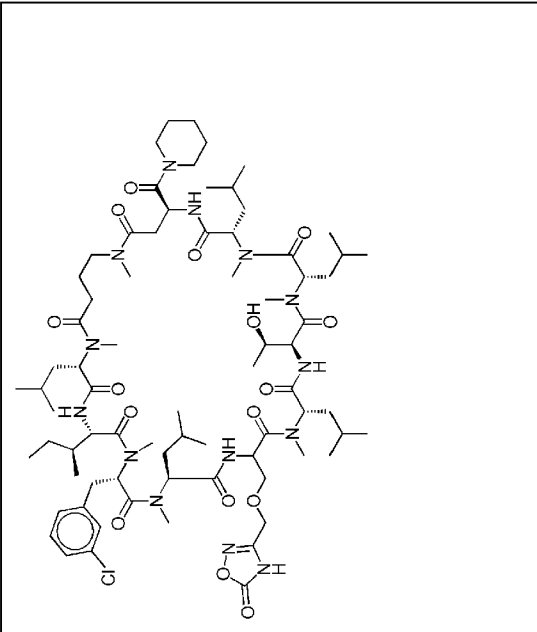
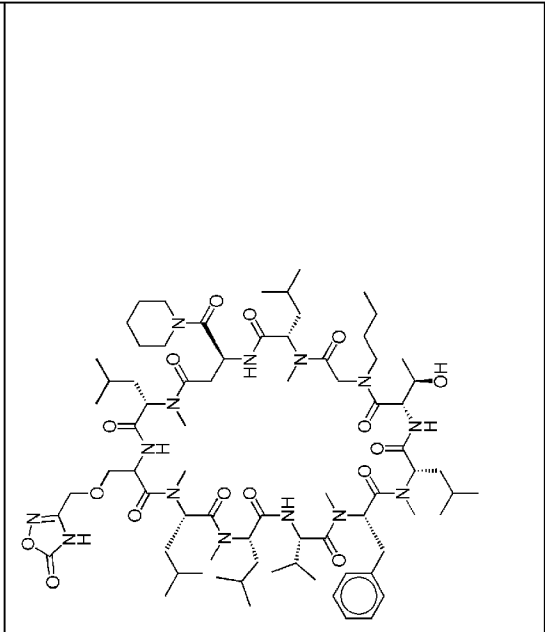
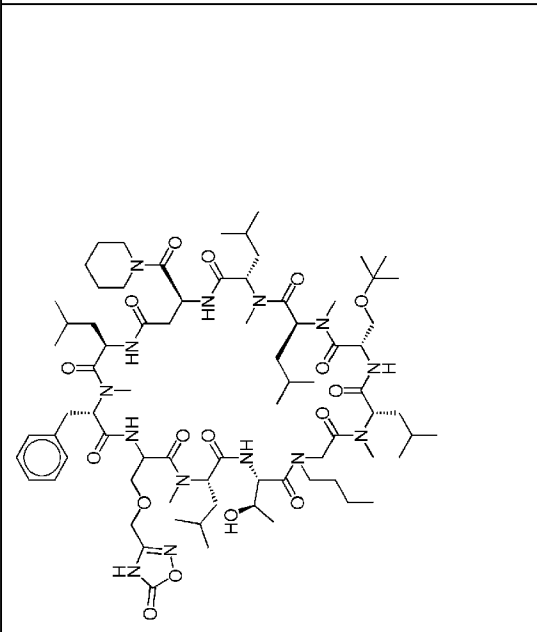
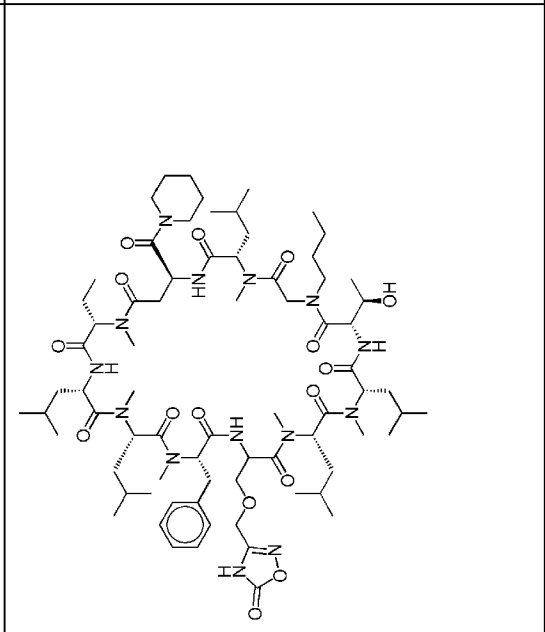
 Chemical structure of AP26, a macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxyl group (OH) and a hydroxymethyl group (CH₂OH).	 Chemical structure of AP28, a macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxyl group (OH) and a hydroxymethyl group (CH₂OH).
AP26	AP28
 Chemical structure of AP25, a macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxyl group (OH) and a hydroxymethyl group (CH₂OH).	 Chemical structure of AP27, a macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxyl group (OH) and a hydroxymethyl group (CH₂OH).
AP25	AP27

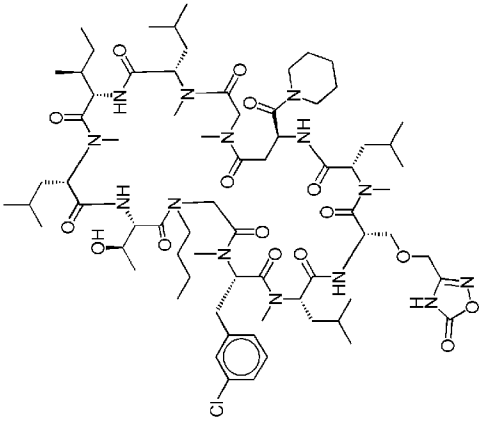
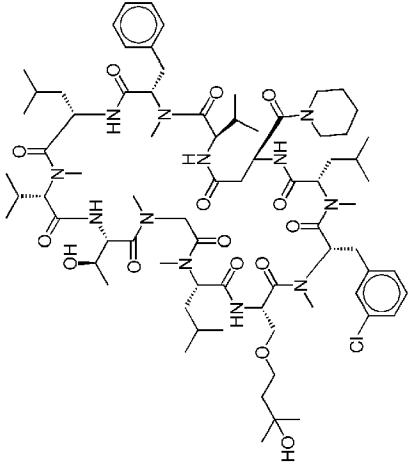
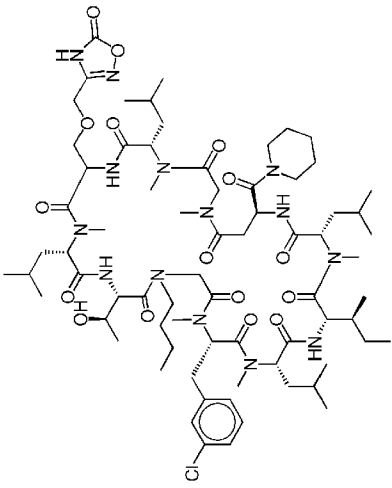
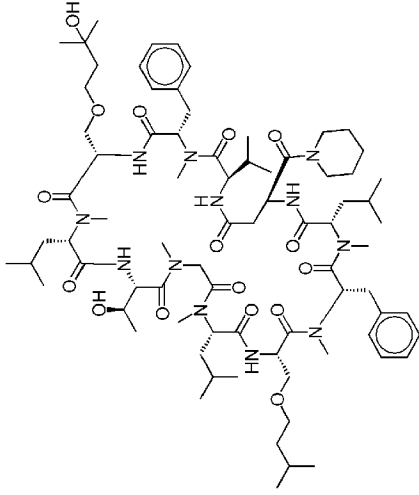
	
AP30	AP32
	
AP29	AP31

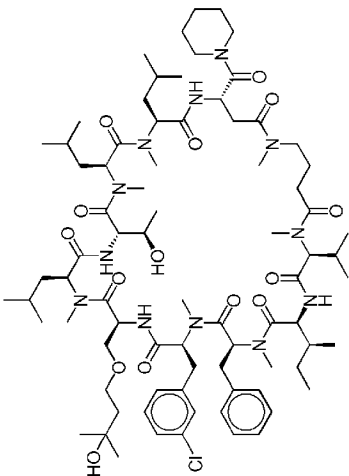
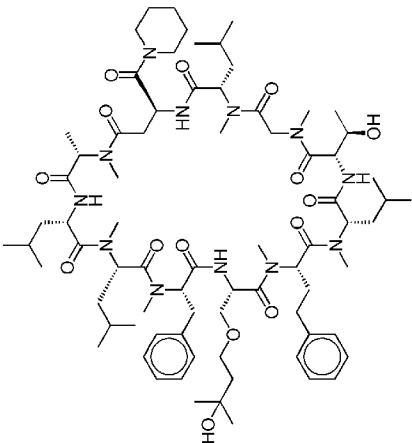
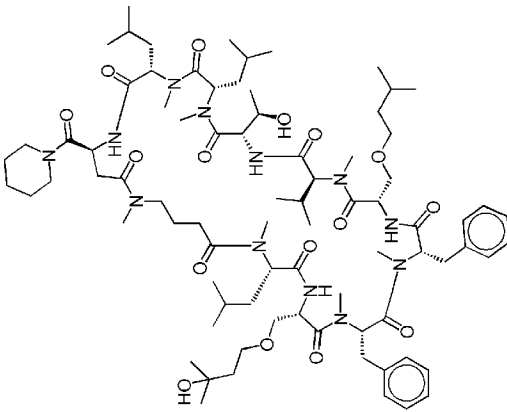
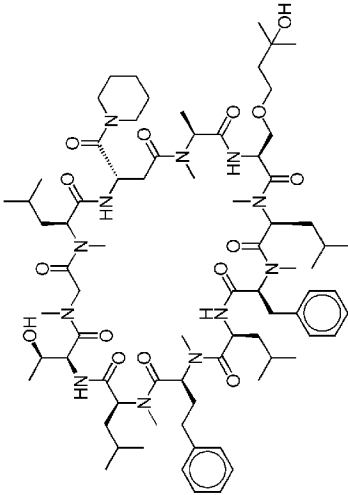
 Chemical structure of AP34, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a p-methoxybenzoyl group, a p-chlorobenzoyl group, and a p-methoxybenzoyl group. The structure also includes a p-methoxybenzoyl group, a p-chlorobenzoyl group, and a p-methoxybenzoyl group.	 Chemical structure of AP36, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a p-methoxybenzoyl group, a p-chlorobenzoyl group, and a p-methoxybenzoyl group. The structure also includes a p-methoxybenzoyl group, a p-chlorobenzoyl group, and a p-methoxybenzoyl group.
AP34	AP36
 Chemical structure of AP33, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a p-methoxybenzoyl group, a p-chlorobenzoyl group, and a p-methoxybenzoyl group. The structure also includes a p-methoxybenzoyl group, a p-chlorobenzoyl group, and a p-methoxybenzoyl group.	 Chemical structure of AP35, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a p-methoxybenzoyl group, a p-chlorobenzoyl group, and a p-methoxybenzoyl group. The structure also includes a p-methoxybenzoyl group, a p-chlorobenzoyl group, and a p-methoxybenzoyl group.
AP33	AP35

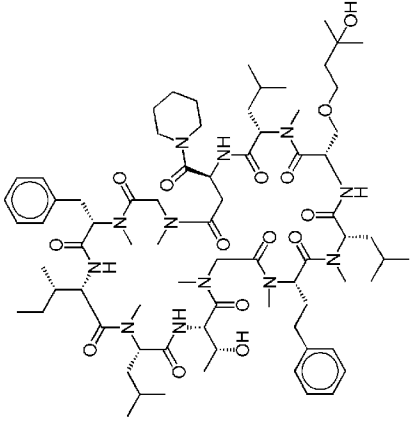
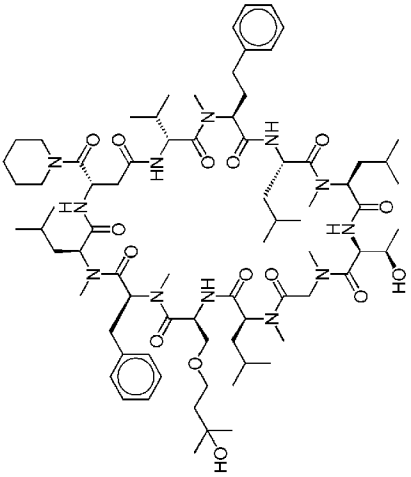
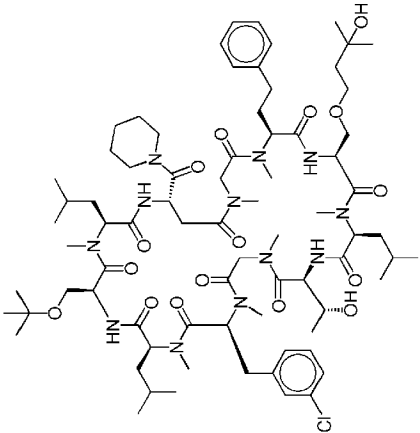
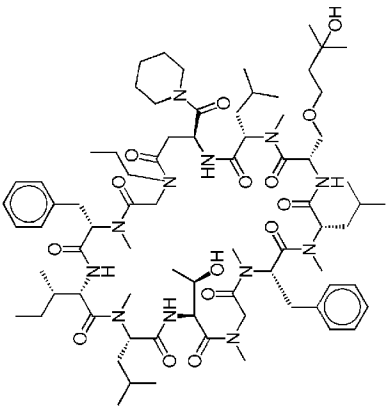
	
AP38	AP40
	
AP37	AP39

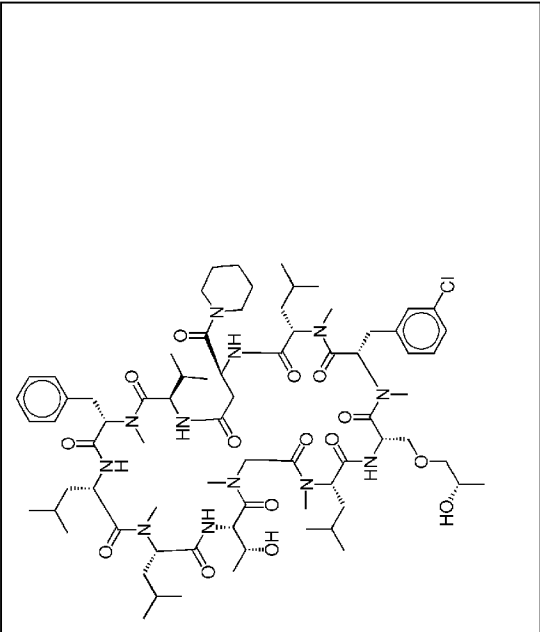
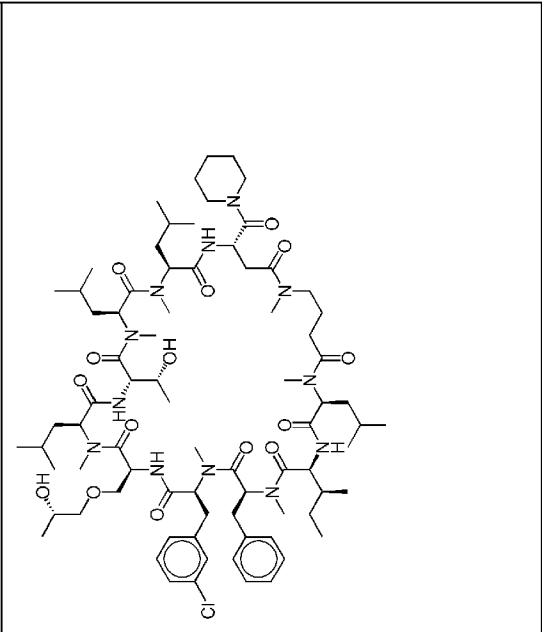
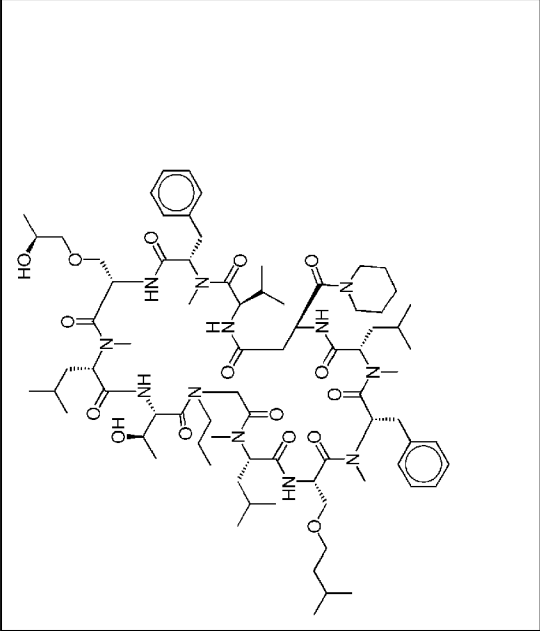
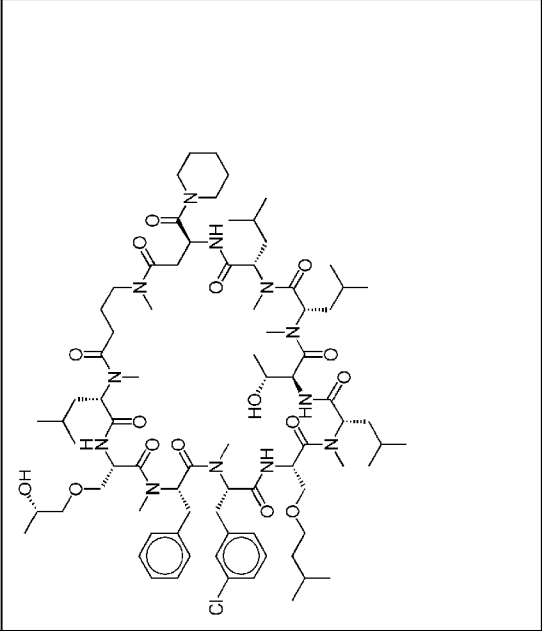
 Chemical structure of compound AP42, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a p-methoxyphenyl group, a p-chlorophenyl group, a 4-methoxybenzamide group, and a 4-chlorophenyl group.	 Chemical structure of compound AP44, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a p-methoxyphenyl group, a p-chlorophenyl group, a 4-methoxybenzamide group, and a 4-chlorophenyl group.
AP42	AP44
 Chemical structure of compound AP41, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a p-methoxyphenyl group, a p-chlorophenyl group, a 4-methoxybenzamide group, and a 4-chlorophenyl group.	 Chemical structure of compound AP43, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a p-methoxyphenyl group, a p-chlorophenyl group, a 4-methoxybenzamide group, and a 4-chlorophenyl group.
AP41	AP43

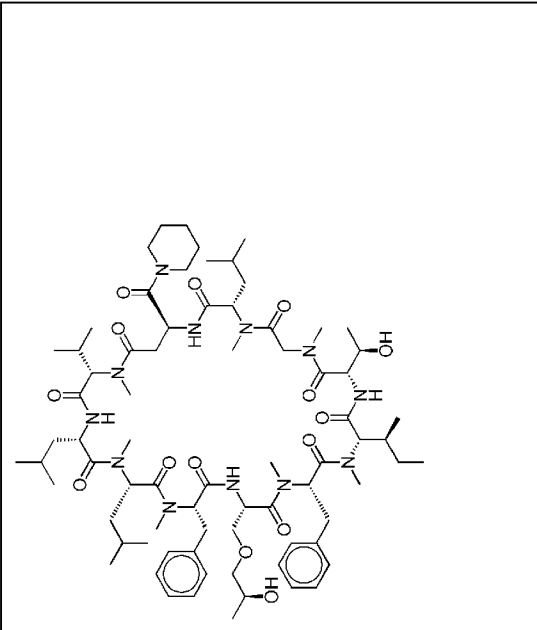
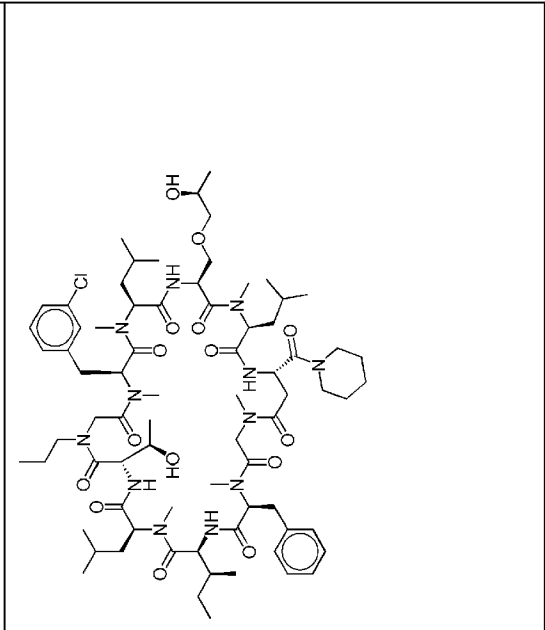
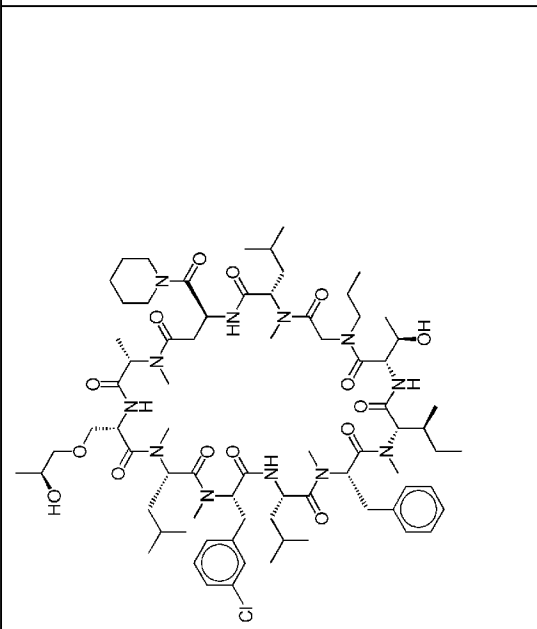
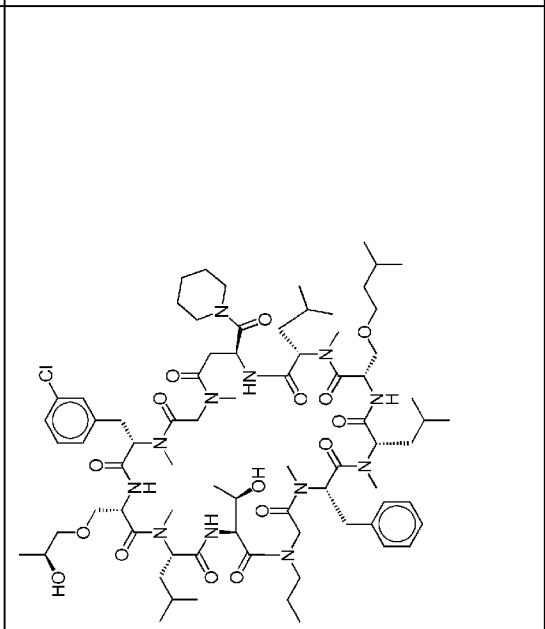
	
AP46	AP48
	
AP45	AP47

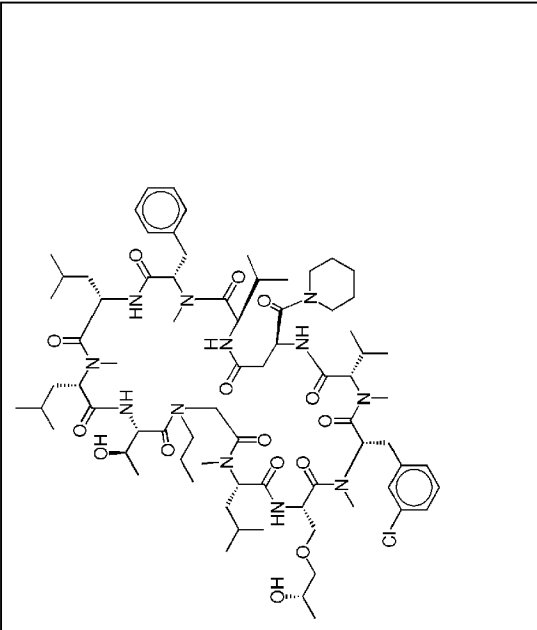
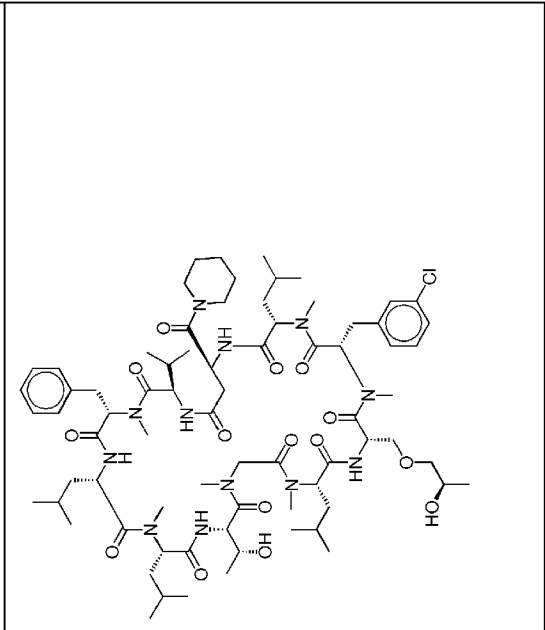
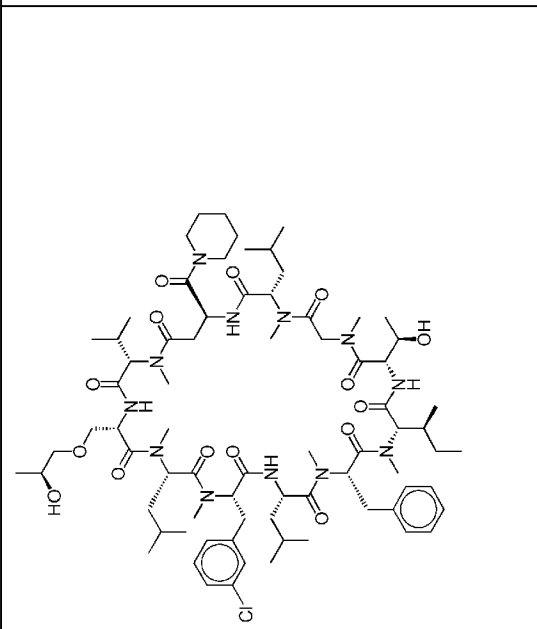
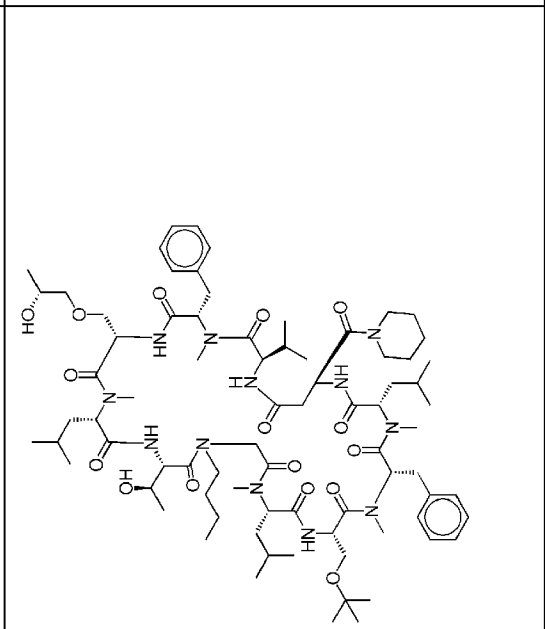
 Chemical structure of AP50, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, and a 1,3,4-oxadiazole ring.	 Chemical structure of AP52, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, and a 1,3,4-oxadiazole ring.
AP50	AP52
 Chemical structure of AP49, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, and a 1,3,4-oxadiazole ring.	 Chemical structure of AP51, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, and a 1,3,4-oxadiazole ring.
AP49	AP51

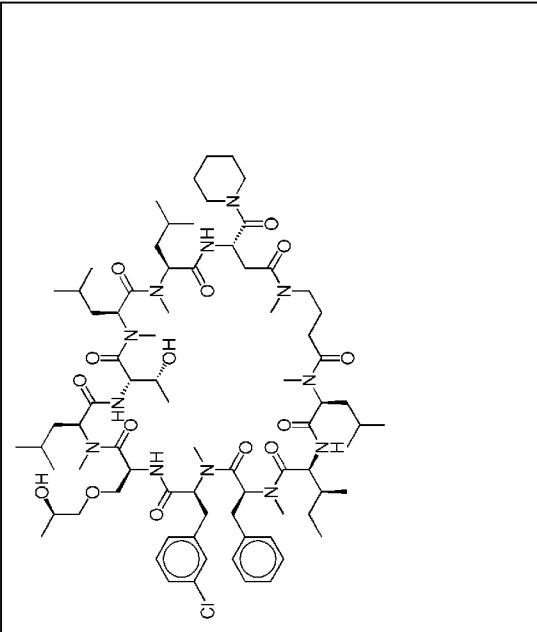
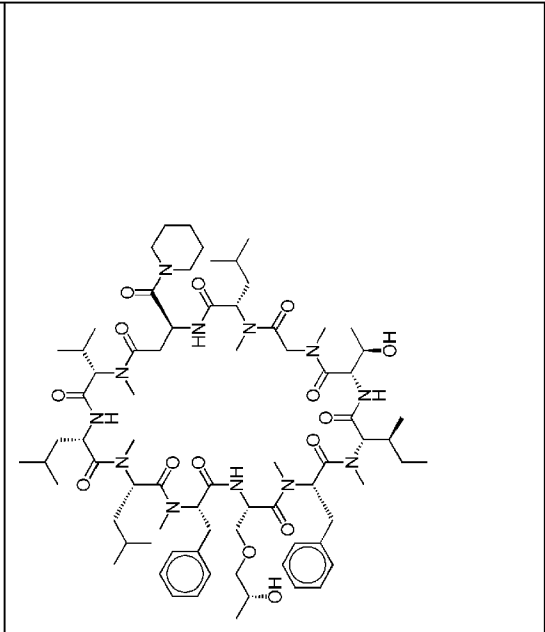
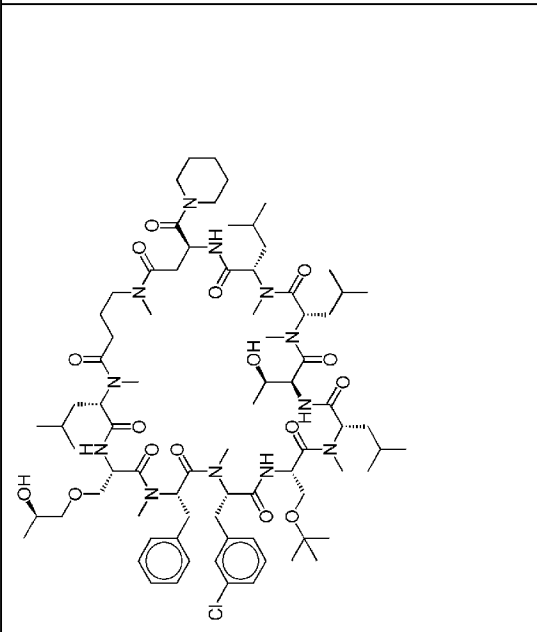
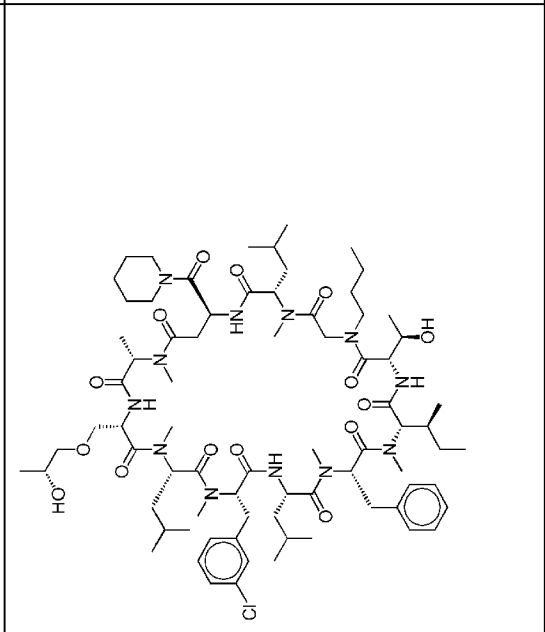
	
AP54	AP56
	
AP53	AP55

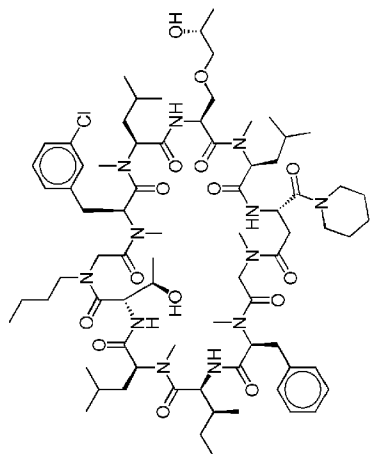
	
AP58	AP60
	
AP57	AP59

	
AP62	AP64
	
AP61	AP63

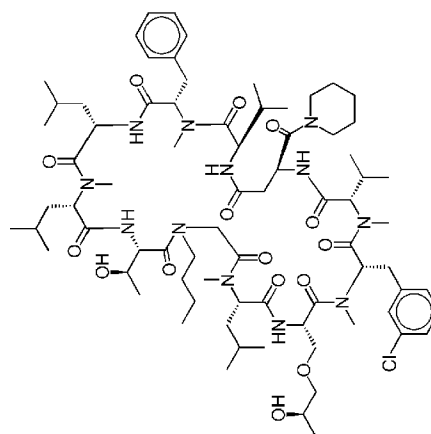
	
AP66	AP68
	
AP65	AP67

 Chemical structure of AP70: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a phenyl group, a p-chlorophenyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP72: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a phenyl group, a p-chlorophenyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a piperidine ring.
AP70	AP72
 Chemical structure of AP69: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a phenyl group, a p-chlorophenyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP71: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a phenyl group, a p-chlorophenyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a piperidine ring.
AP69	AP71

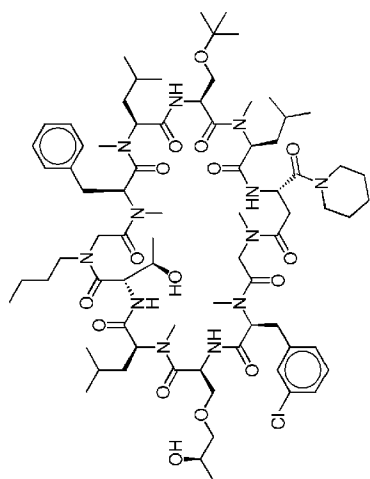
	
AP74	AP76
	
AP73	AP75



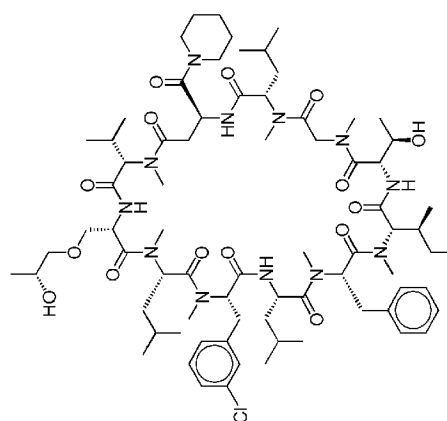
AP78



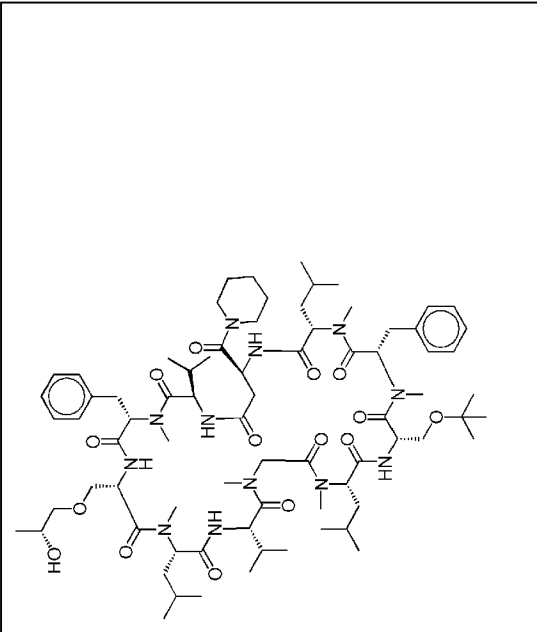
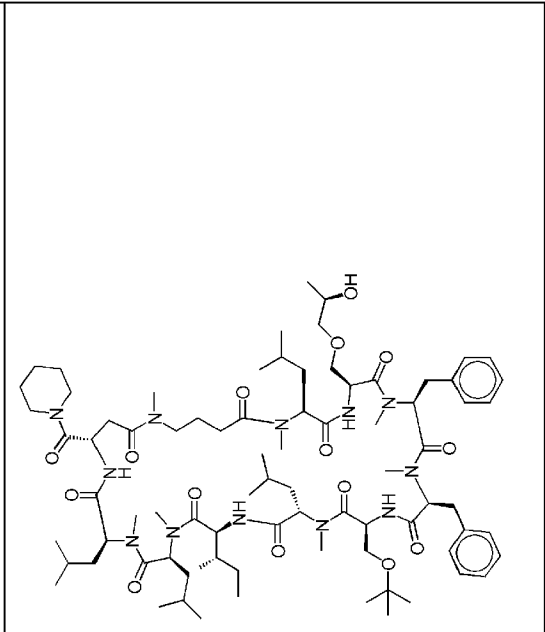
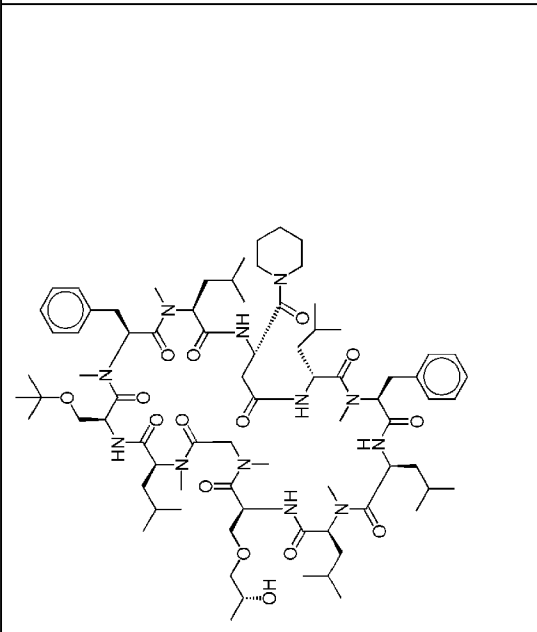
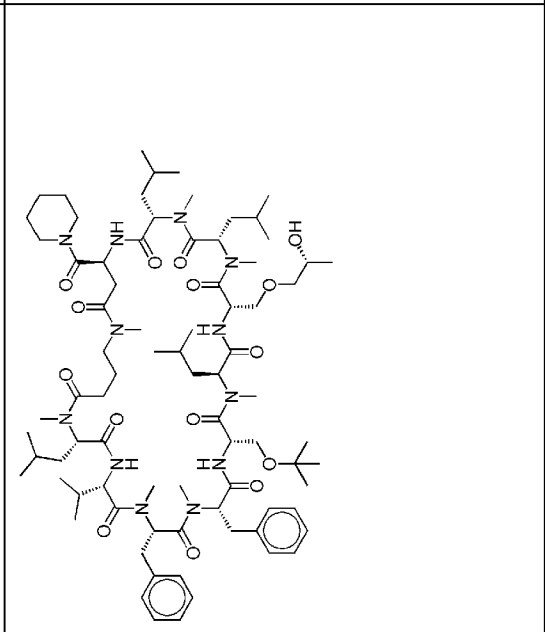
AP80

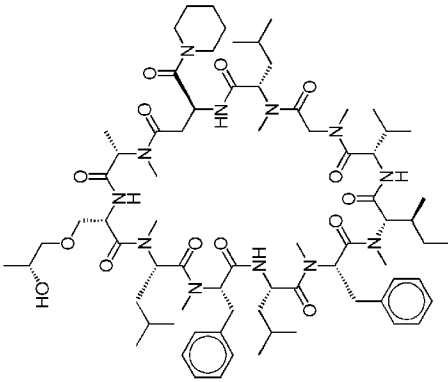
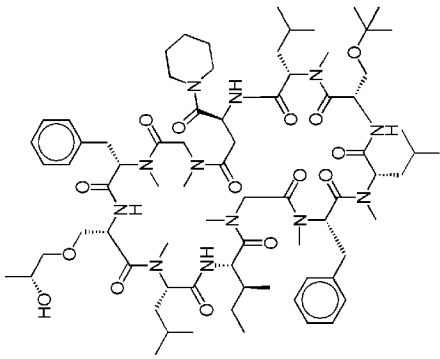
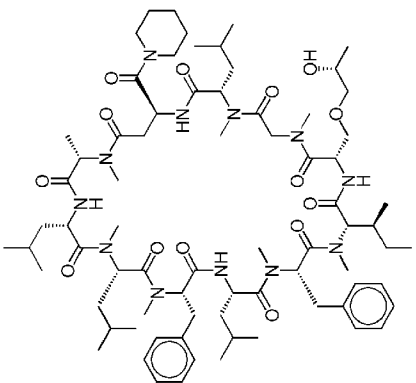
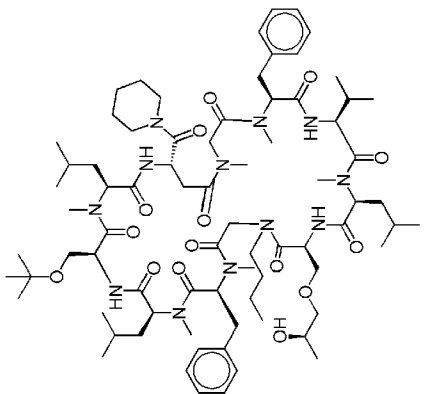


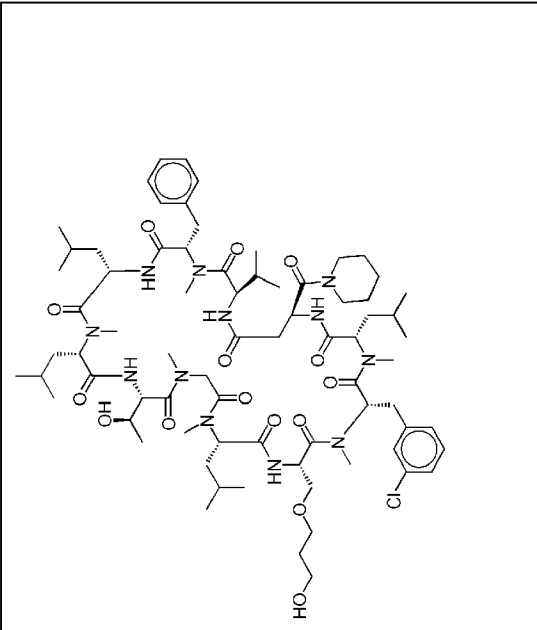
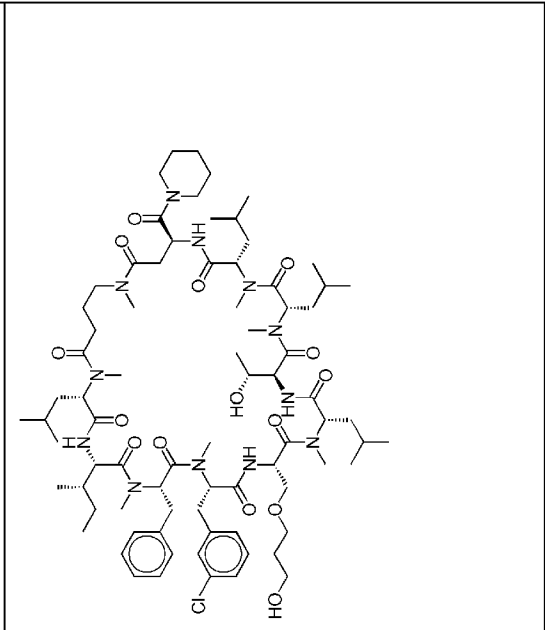
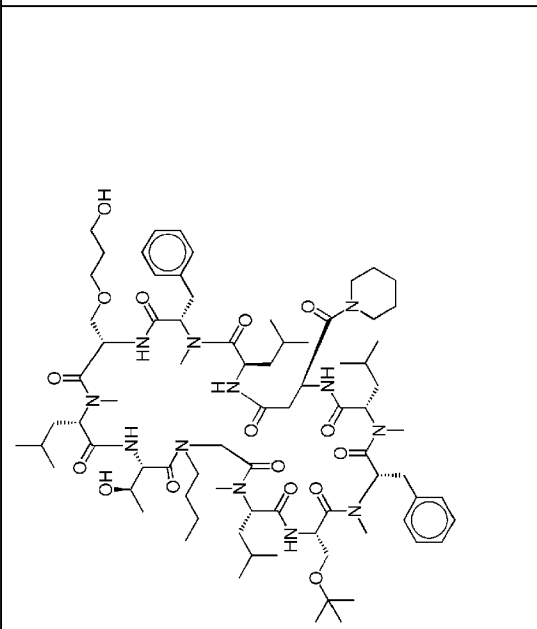
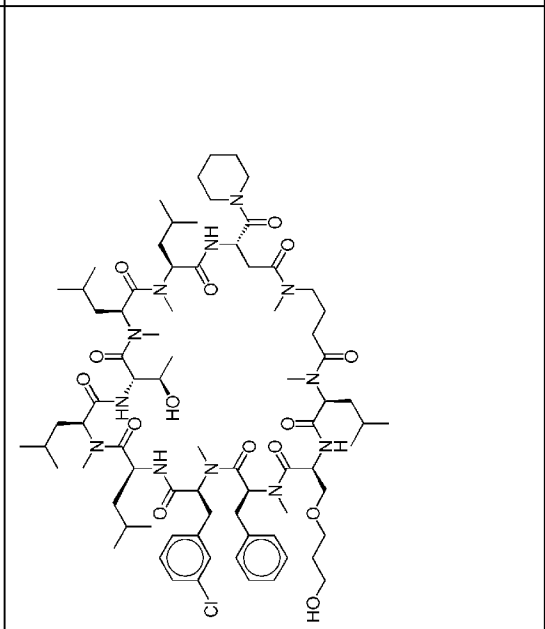
AP77

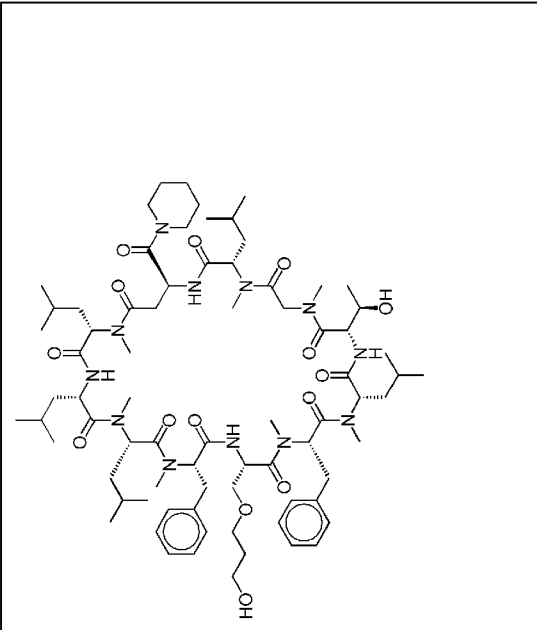
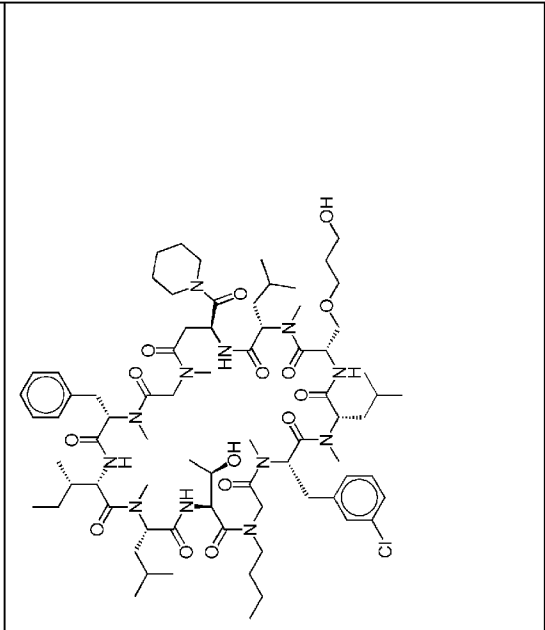
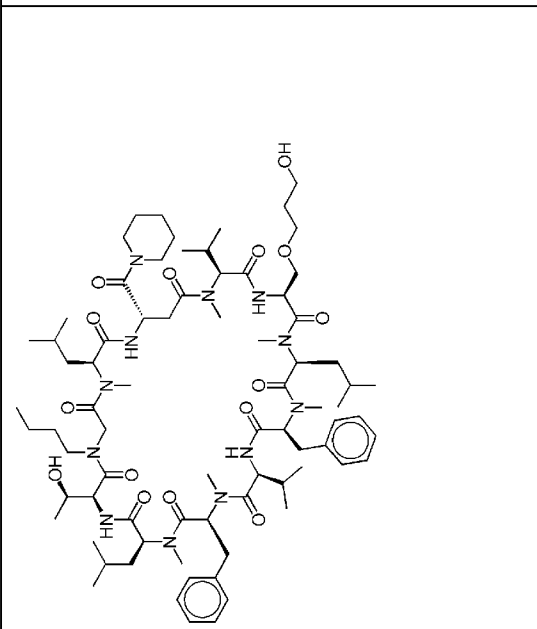
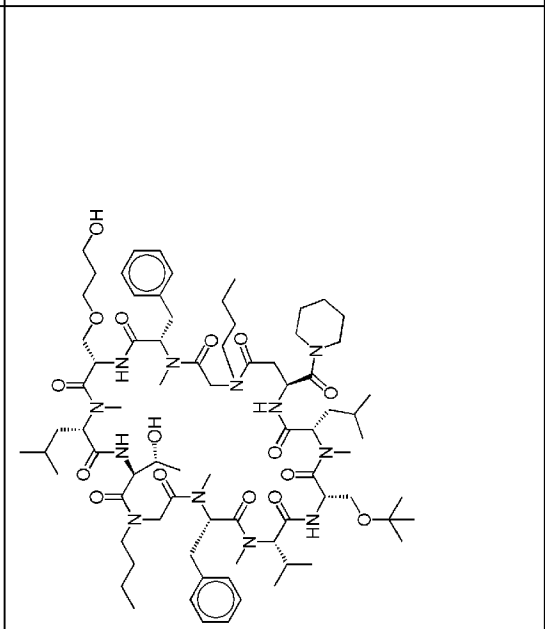


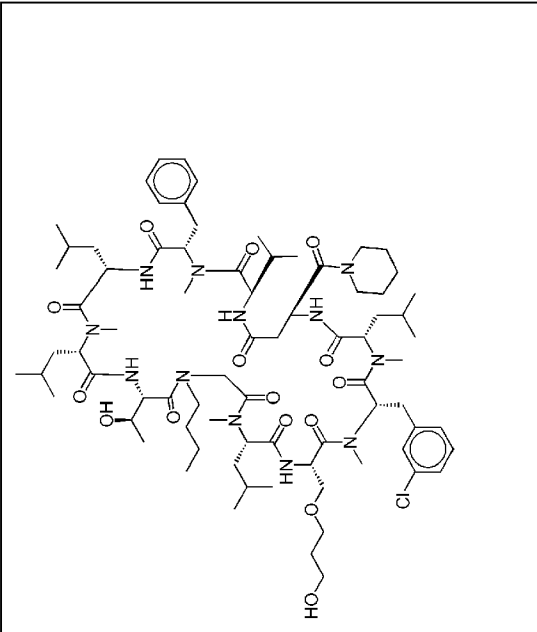
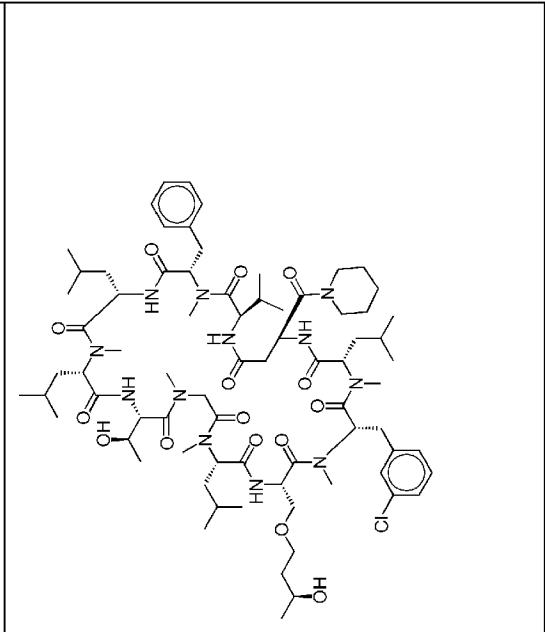
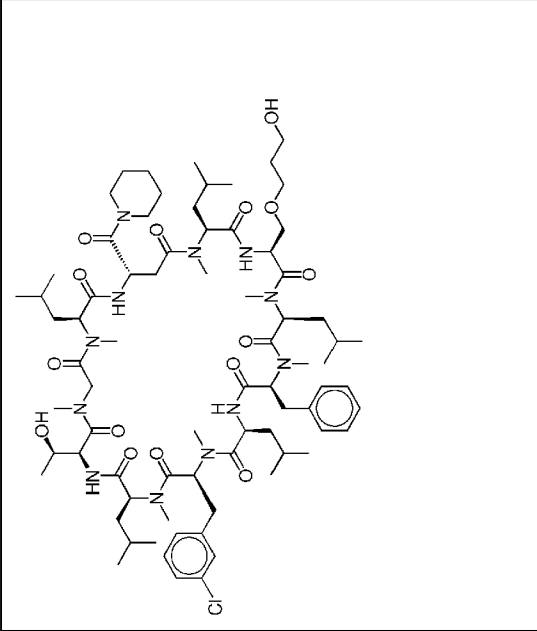
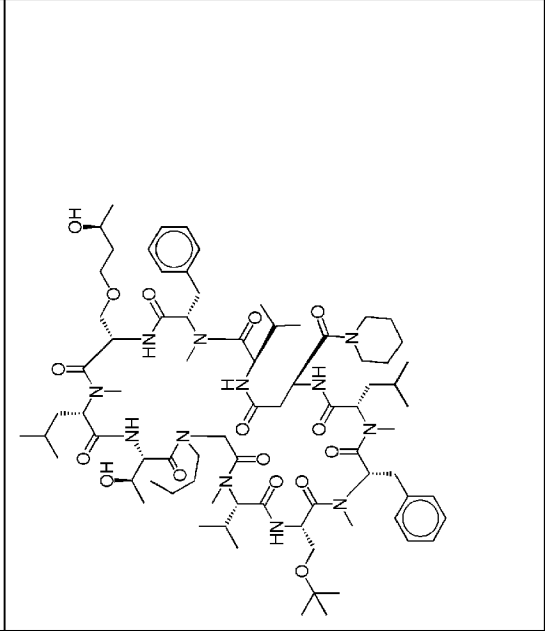
AP79

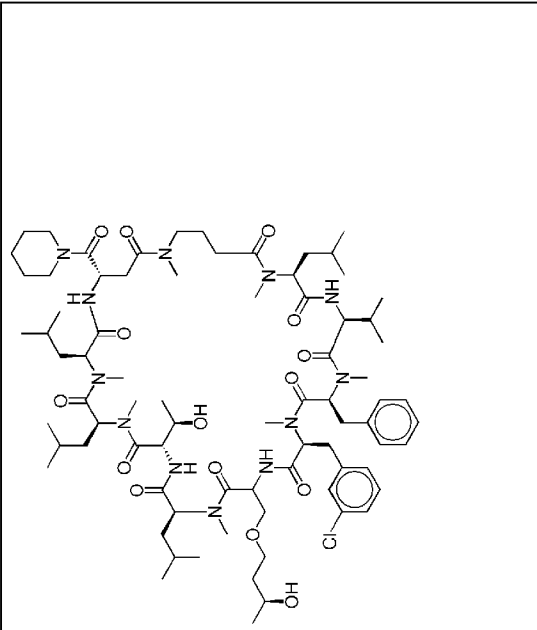
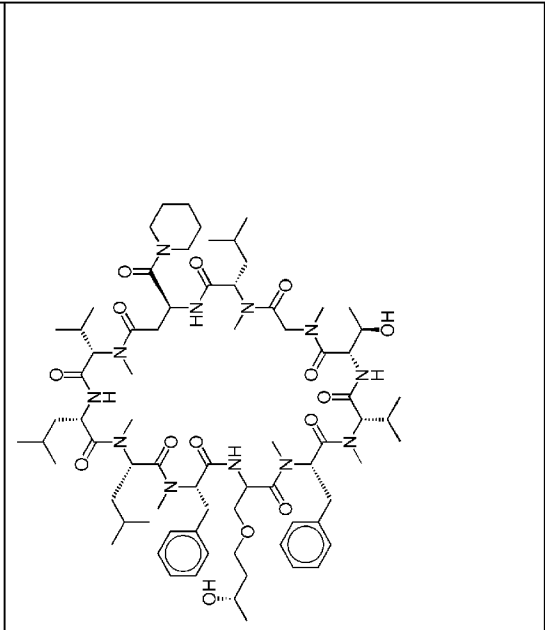
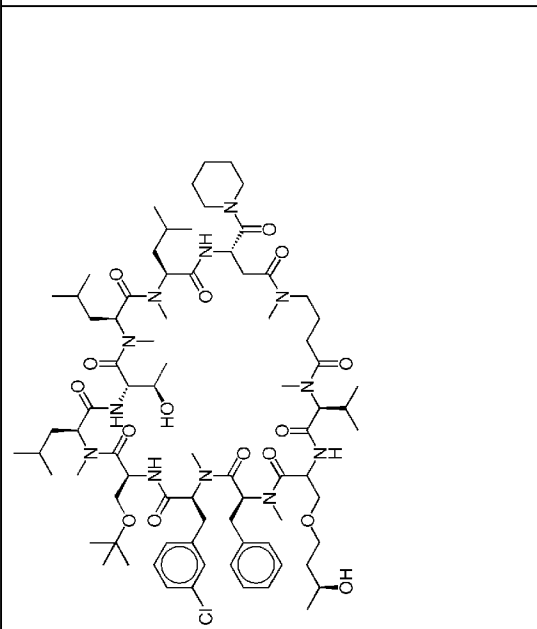
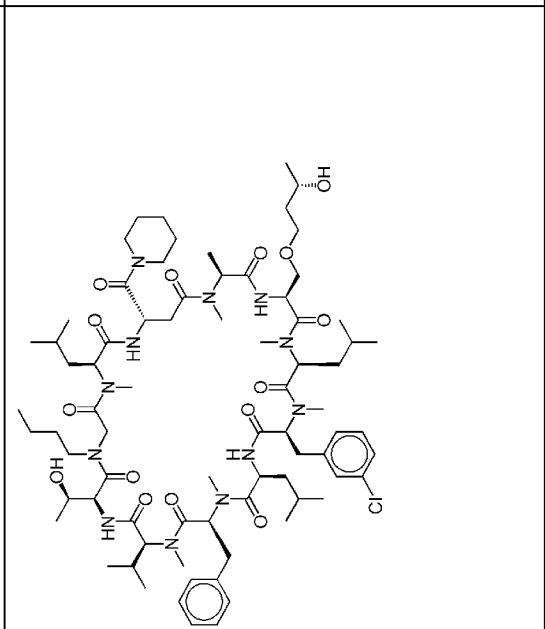
	
AP82	AP84
	
AP81	AP83

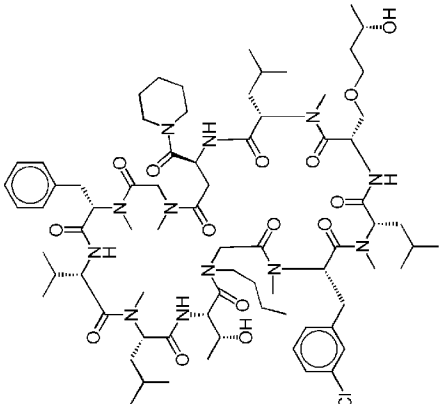
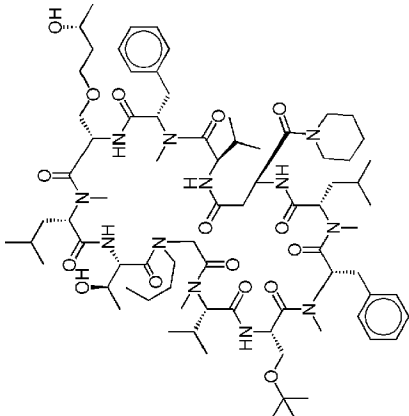
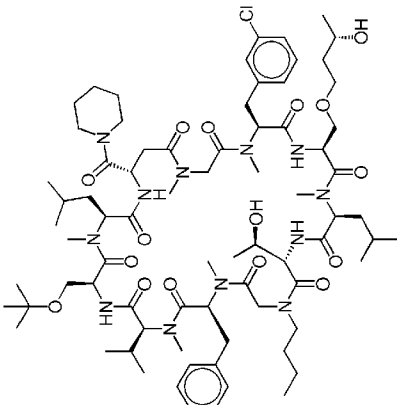
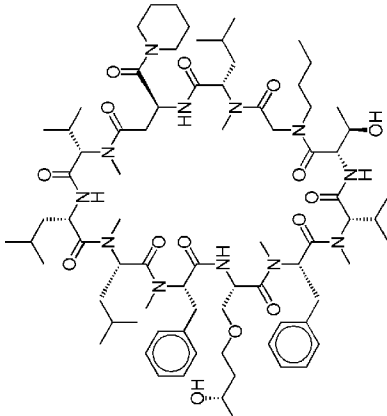
 Chemical structure of AP86, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxymethyl group.	 Chemical structure of AP88, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxymethyl group.
AP86	AP88
 Chemical structure of AP85, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxymethyl group.	 Chemical structure of AP87, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxymethyl group.
AP85	AP87

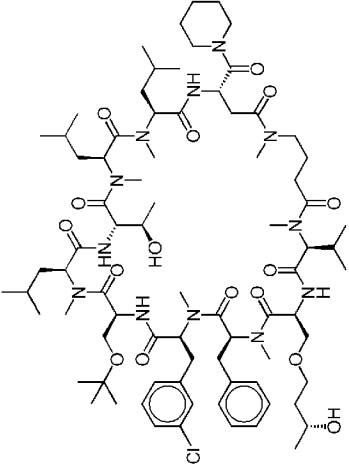
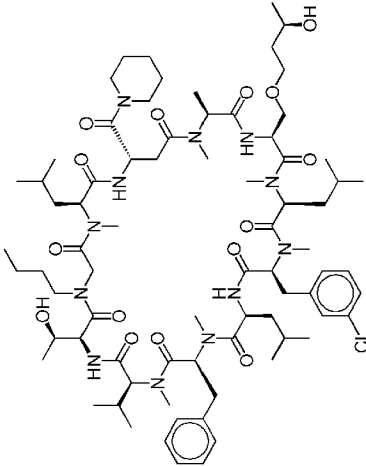
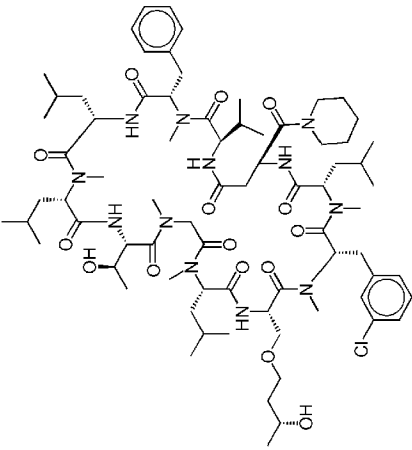
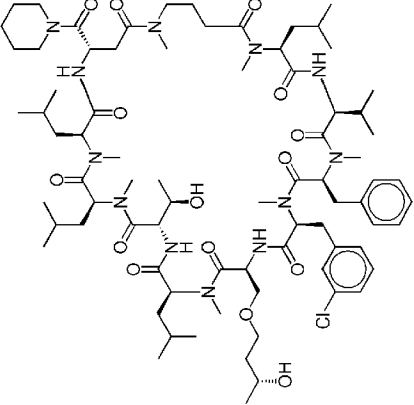
	
AP90	AP92
	
AP89	AP91

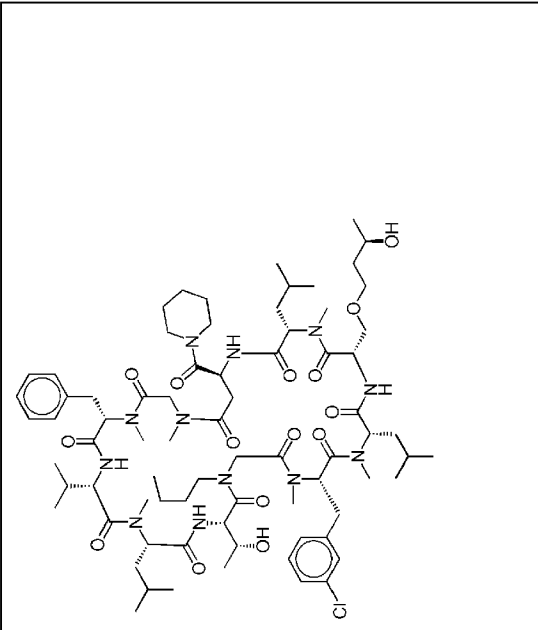
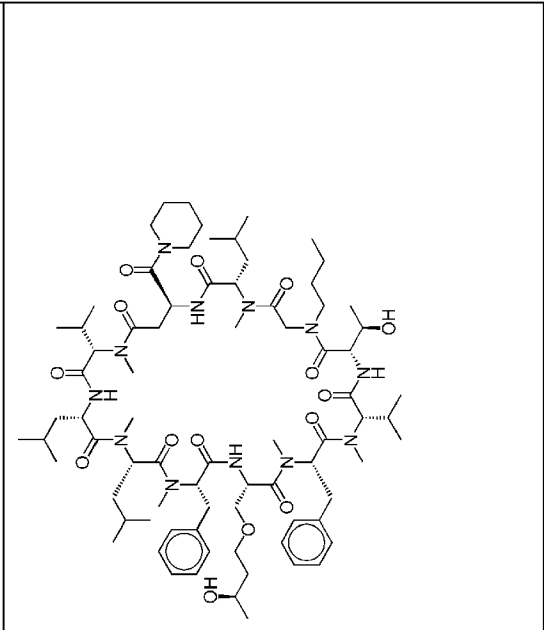
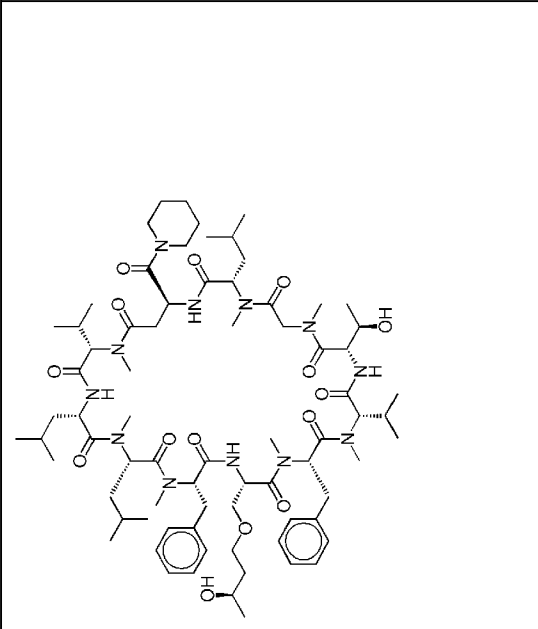
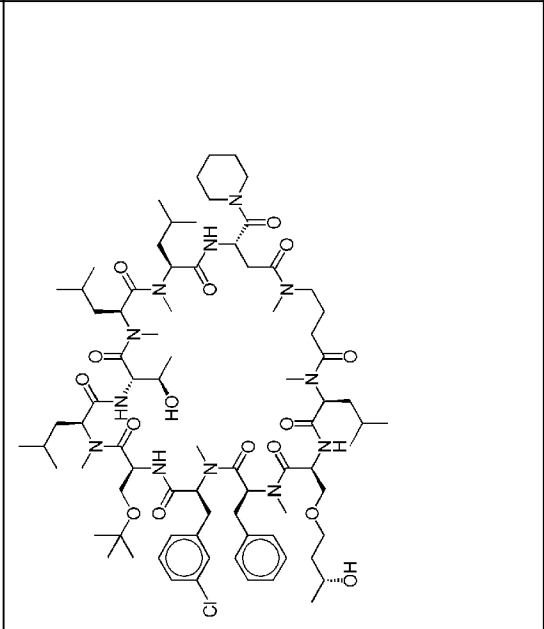
	
AP94	AP96
	
AP93	AP95

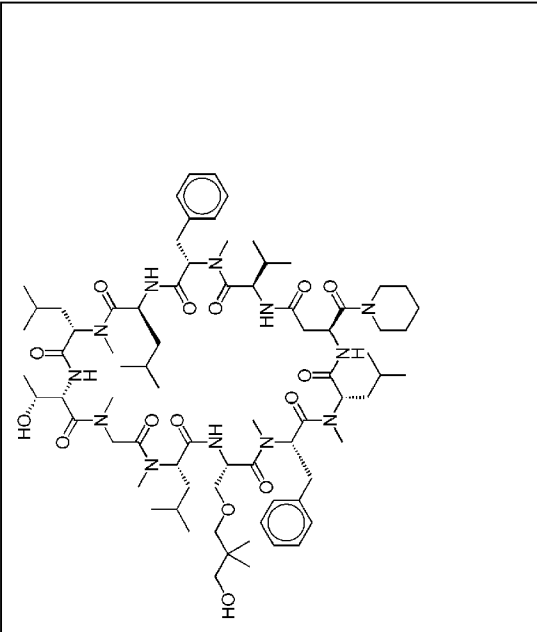
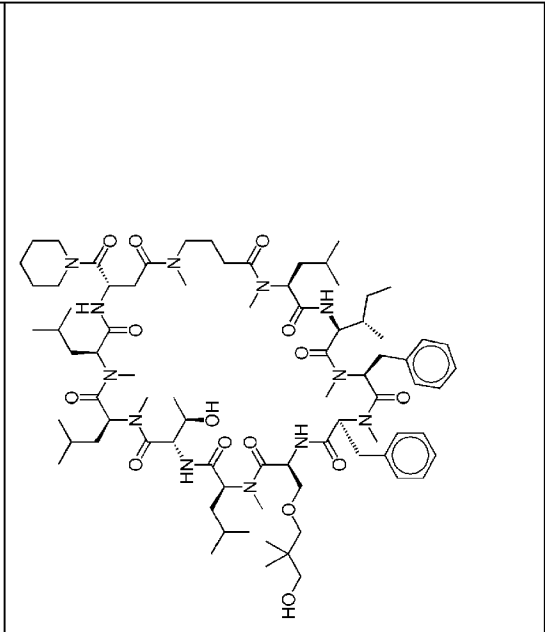
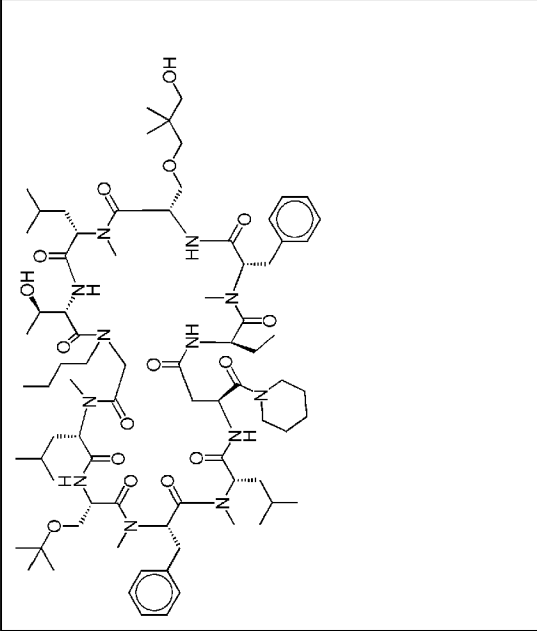
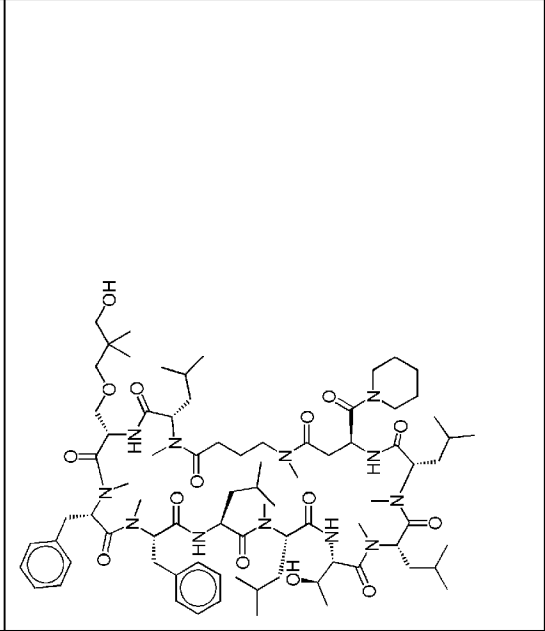
	
AP98	AP100
	
AP97	AP99

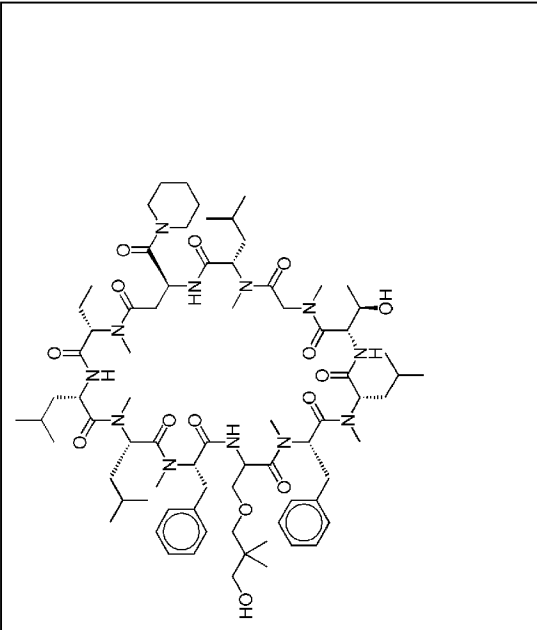
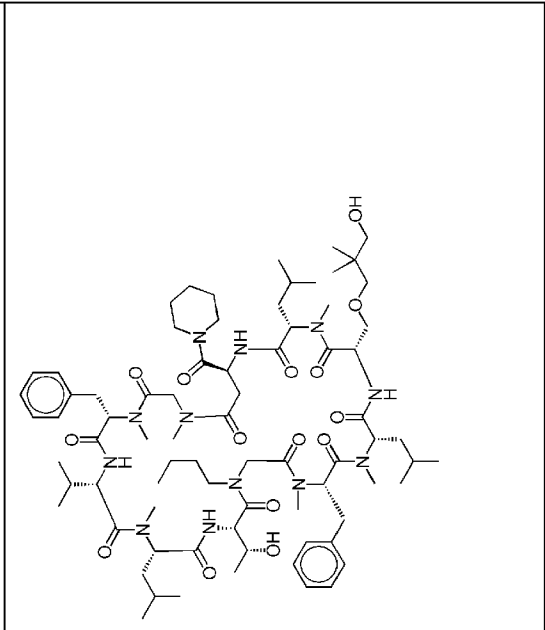
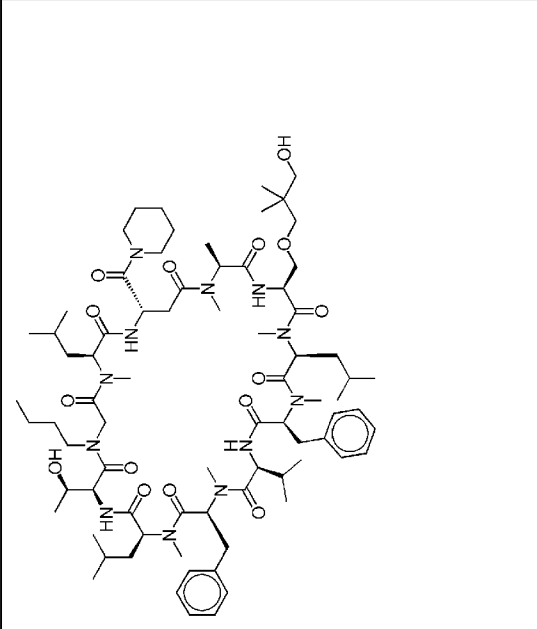
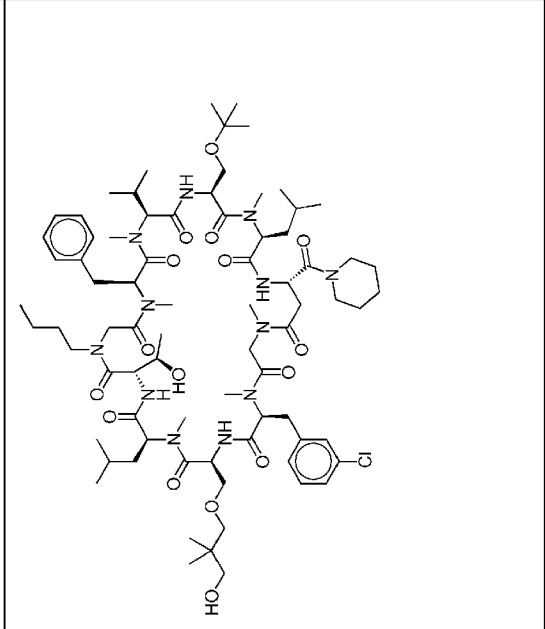
	
AP102	AP104
	
AP101	AP103

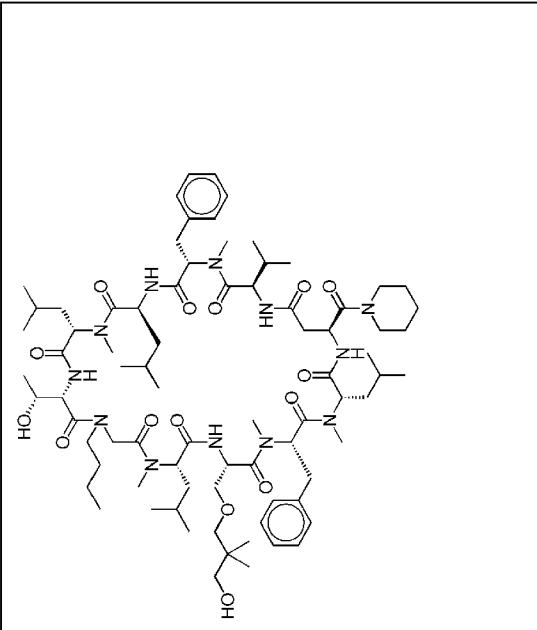
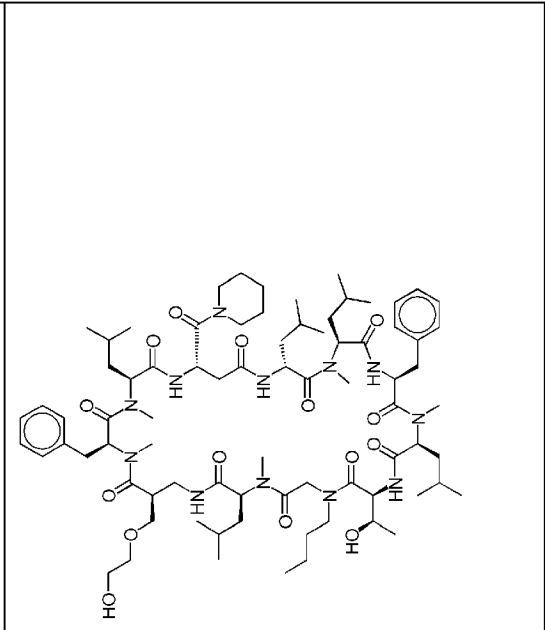
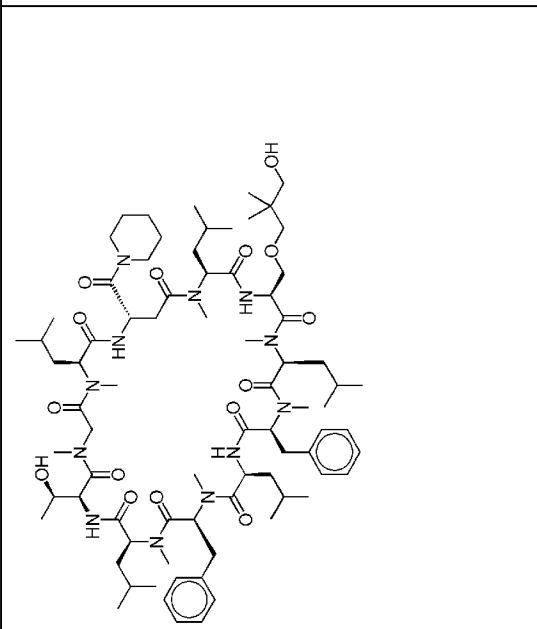
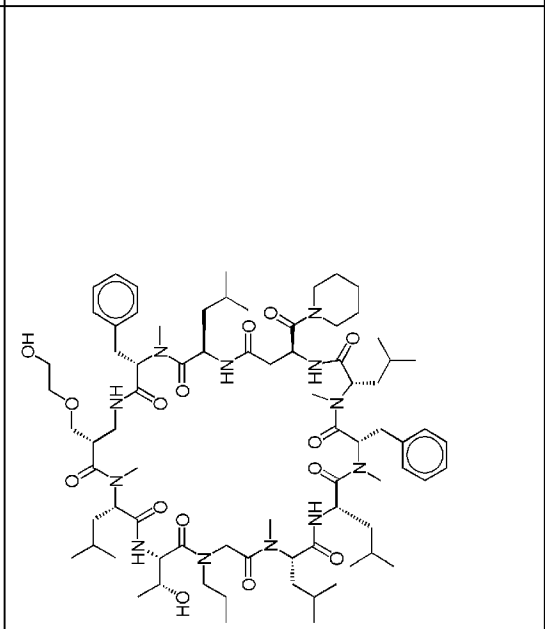
	
AP106	AP108
	
AP105	AP107

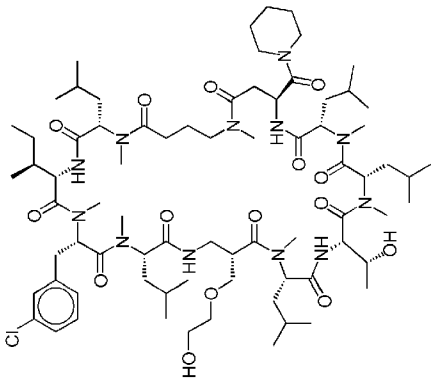
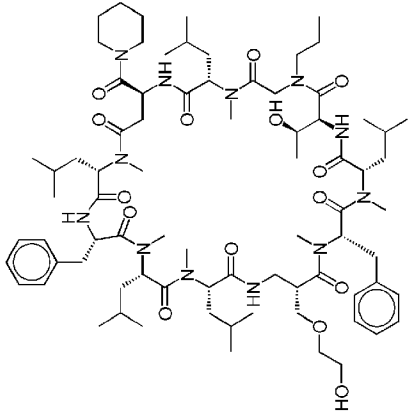
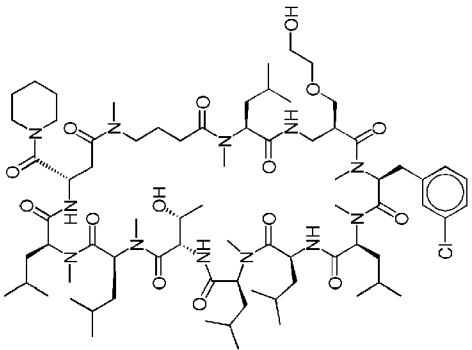
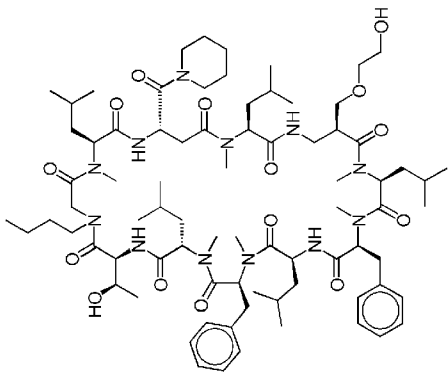
	
AP110	AP112
	
AP109	AP111

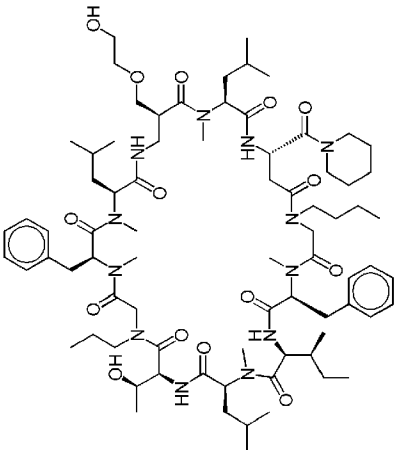
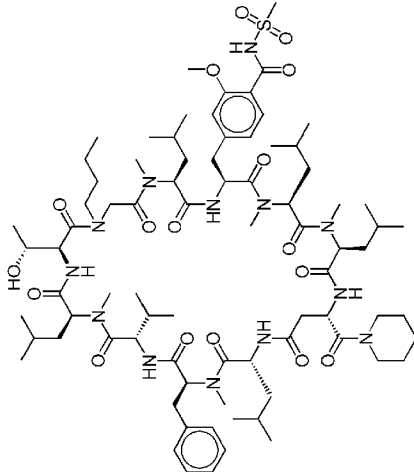
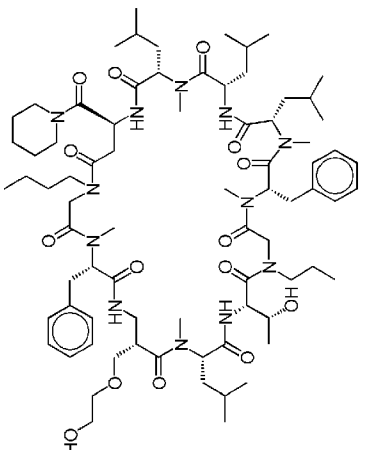
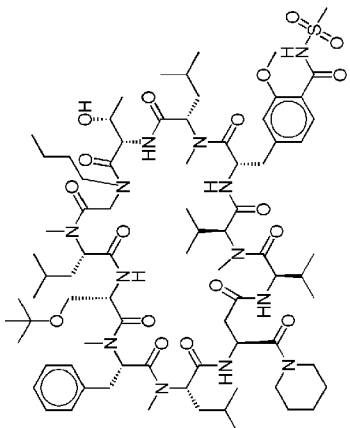
 Chemical structure of AP114: A complex macrocyclic molecule featuring a central ring with multiple amide and ester linkages. It includes a p-chlorophenyl group, a 4-hydroxyphenyl group, and a 4-methoxyphenyl group. The structure is highly branched with various side chains including isopropyl, methyl, and hydroxymethyl groups.	 Chemical structure of AP116: A complex macrocyclic molecule featuring a central ring with multiple amide and ester linkages. It includes a p-chlorophenyl group, a 4-hydroxyphenyl group, and a 4-methoxyphenyl group. The structure is highly branched with various side chains including isopropyl, methyl, and hydroxymethyl groups.
AP114	AP116
 Chemical structure of AP113: A complex macrocyclic molecule featuring a central ring with multiple amide and ester linkages. It includes a p-chlorophenyl group, a 4-hydroxyphenyl group, and a 4-methoxyphenyl group. The structure is highly branched with various side chains including isopropyl, methyl, and hydroxymethyl groups.	 Chemical structure of AP115: A complex macrocyclic molecule featuring a central ring with multiple amide and ester linkages. It includes a p-chlorophenyl group, a 4-hydroxyphenyl group, and a 4-methoxyphenyl group. The structure is highly branched with various side chains including isopropyl, methyl, and hydroxymethyl groups.
AP113	AP115

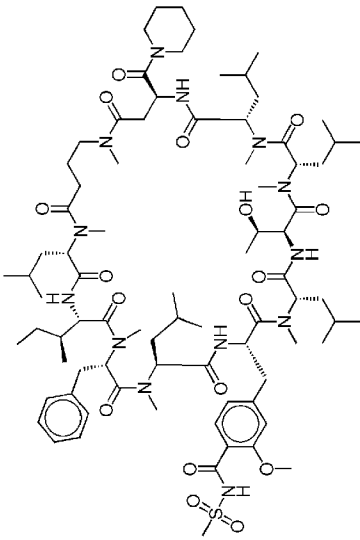
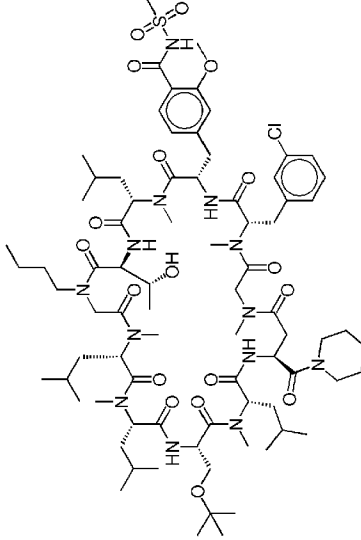
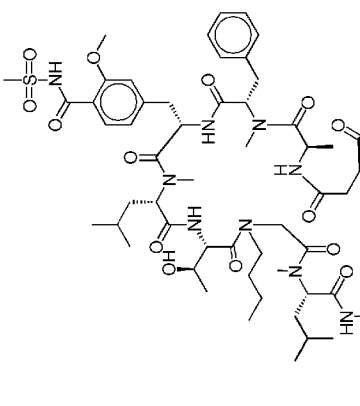
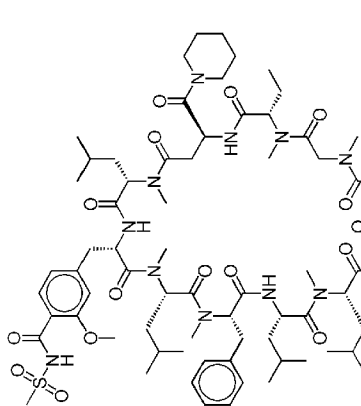
 Chemical structure of AP118: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a benzyl group, a cyclohexylmethyl group, a 2-hydroxy-2-methylpropyl group, and a 2-methoxy-2-methylpropyl group. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.	
AP118	 Chemical structure of AP120: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a benzyl group, a cyclohexylmethyl group, a 2-hydroxy-2-methylpropyl group, and a 2-methoxy-2-methylpropyl group. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.
 Chemical structure of AP117: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a benzyl group, a cyclohexylmethyl group, a 2-hydroxy-2-methylpropyl group, and a 2-methoxy-2-methylpropyl group. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.	
AP117	 Chemical structure of AP119: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a benzyl group, a cyclohexylmethyl group, a 2-hydroxy-2-methylpropyl group, and a 2-methoxy-2-methylpropyl group. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.

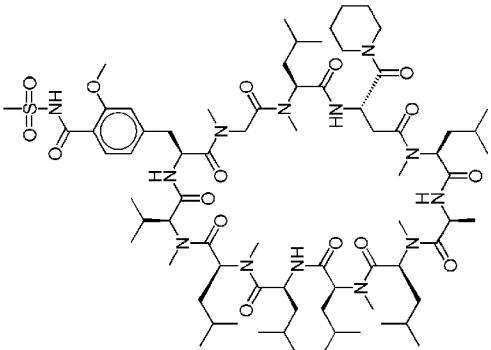
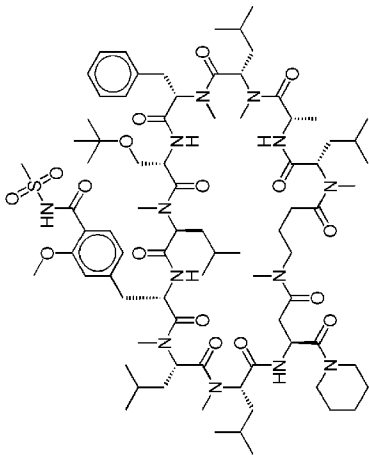
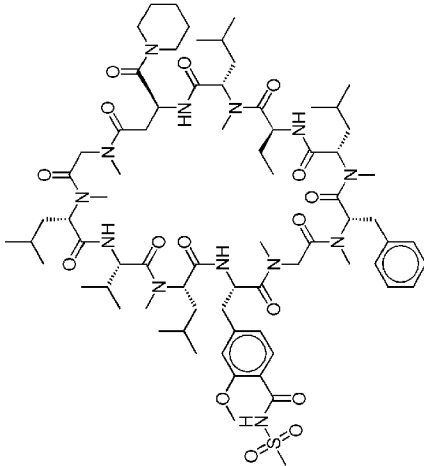
 Chemical structure of AP122, a macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with various side chains including a piperidine ring, a hydroxyl group, a benzyl group, and a tert-butyl group.	 Chemical structure of AP124, a macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with various side chains including a piperidine ring, a hydroxyl group, a benzyl group, and a tert-butyl group.
AP122	AP124
 Chemical structure of AP121, a macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with various side chains including a piperidine ring, a hydroxyl group, a benzyl group, and a tert-butyl group.	 Chemical structure of AP123, a macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with various side chains including a piperidine ring, a hydroxyl group, a benzyl group, and a tert-butyl group.
AP121	AP123

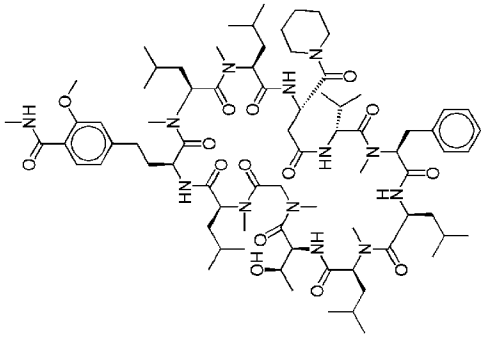
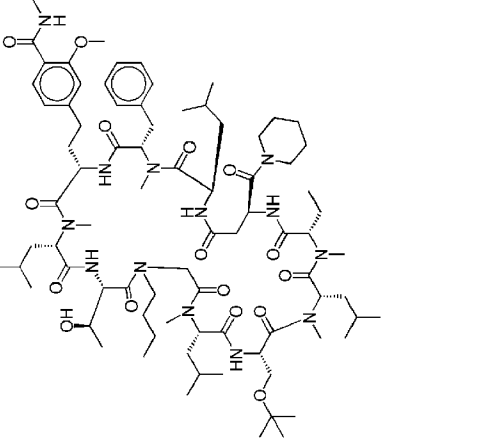
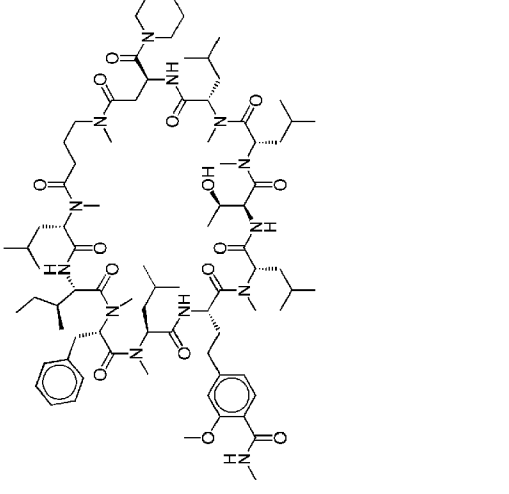
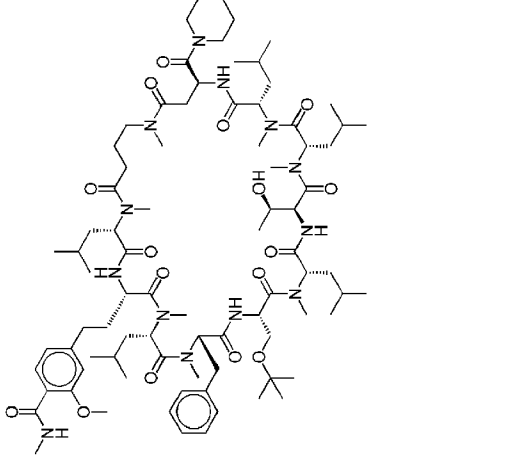
 Chemical structure of AP126, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a benzyl group, a cyclohexylmethyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-methylpropyl group. The structure is shown in a chair-like conformation.	 Chemical structure of AP128, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a benzyl group, a cyclohexylmethyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-methylpropyl group. The structure is shown in a chair-like conformation.
AP126	AP128
 Chemical structure of AP125, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a benzyl group, a cyclohexylmethyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-methylpropyl group. The structure is shown in a chair-like conformation.	 Chemical structure of AP127, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a benzyl group, a cyclohexylmethyl group, a 2-hydroxyethyl group, and a 2-methylpropyl group. The structure is shown in a chair-like conformation.
AP125	AP127

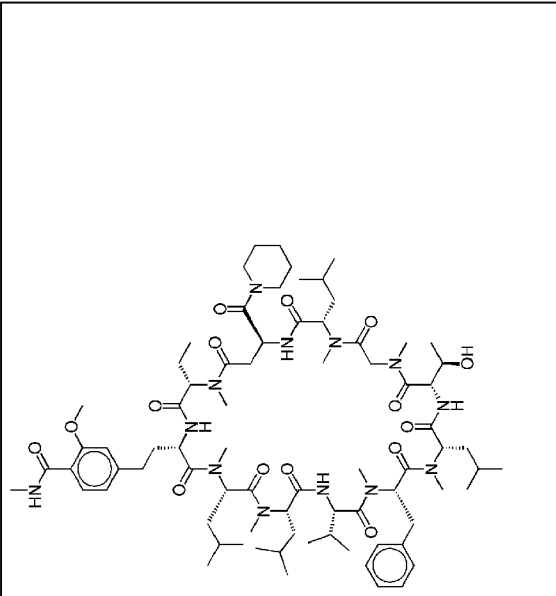
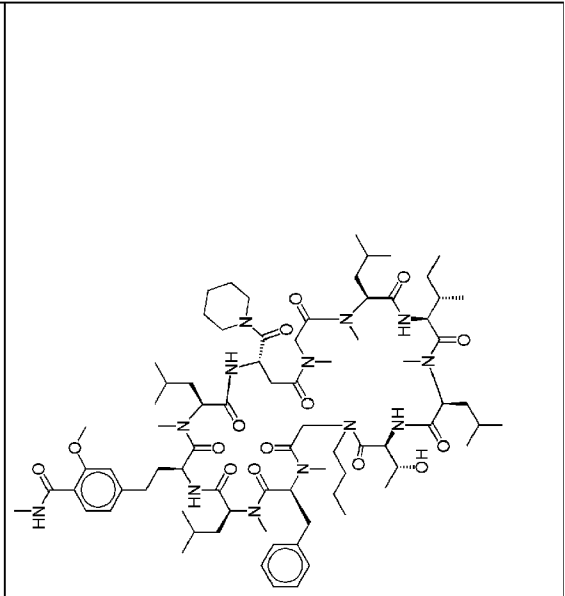
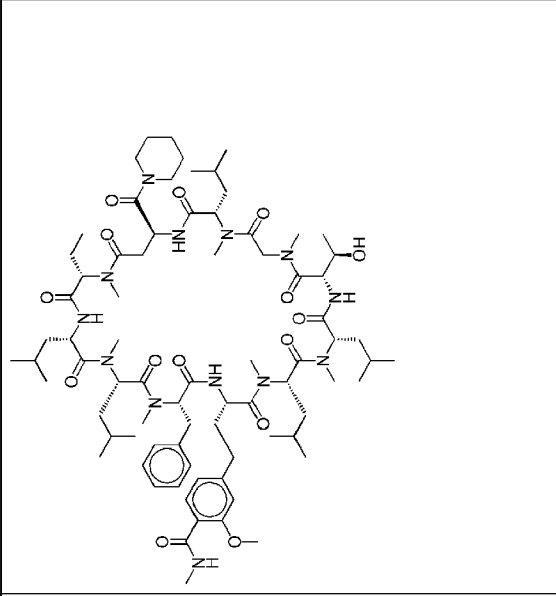
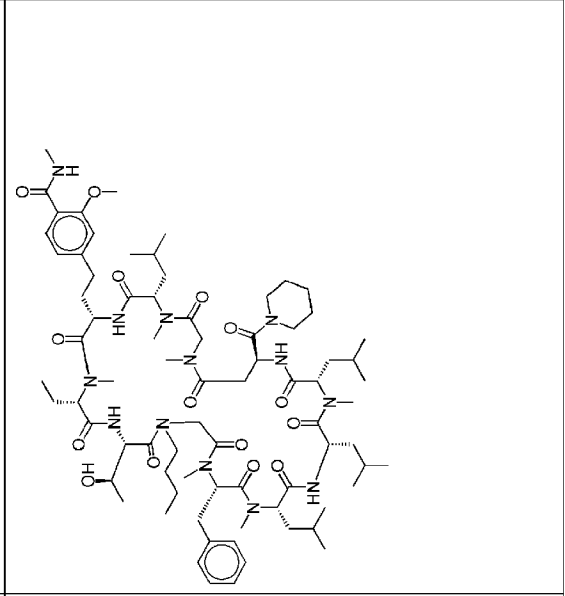
 Chemical structure of AP130, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, a hydroxyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP132, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure with multiple amide bonds, a p-phenylene group, a hydroxyl group, and a piperidine ring.
AP130	AP132
 Chemical structure of AP129, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, a hydroxyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP131, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure with multiple amide bonds, a p-phenylene group, a hydroxyl group, and a piperidine ring.
AP129	AP131

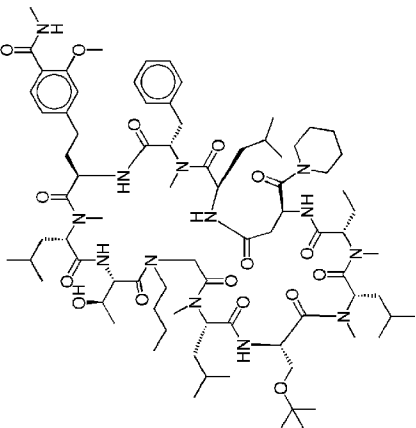
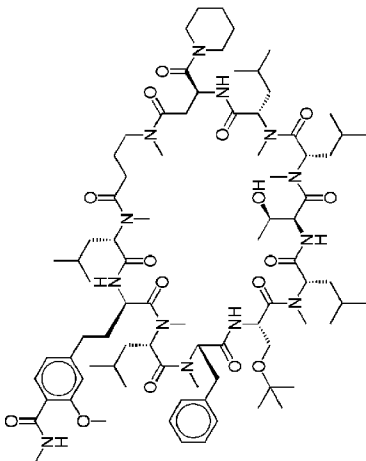
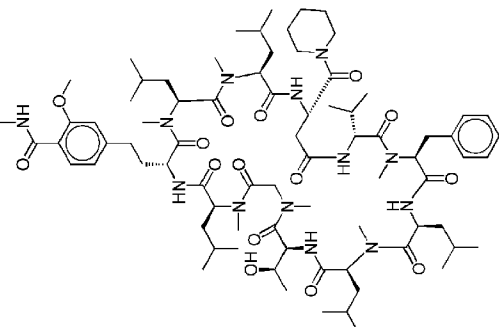
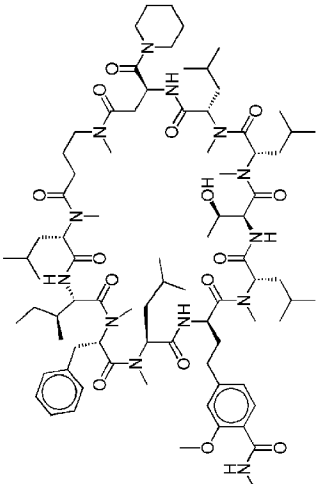
 Chemical structure of AP134, a macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxymethyl group, a phenyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP136, a macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxymethyl group, a phenyl group, and a piperidine ring.
AP134	AP136
 Chemical structure of AP133, a macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxymethyl group, a phenyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP135, a macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxymethyl group, a phenyl group, and a piperidine ring.
AP133	AP135

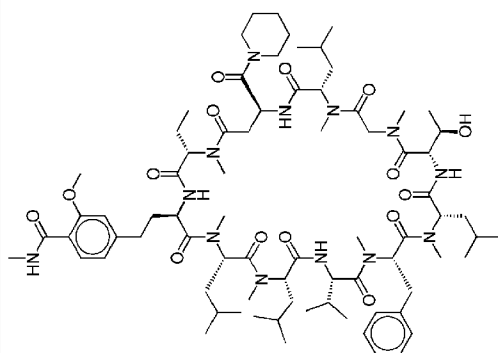
	
AP138	AP140
	
AP137	AP139

 Chemical structure of AP142, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains, including a p-methoxybenzoyl group, a p-methoxyphenyl group, a p-toluenesulfonyl group, and a piperidine ring.	AP142
 Chemical structure of AP141, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains, including a p-methoxybenzoyl group, a p-methoxyphenyl group, a p-toluenesulfonyl group, and a piperidine ring.	AP141
 Chemical structure of AP143, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains, including a p-methoxybenzoyl group, a p-methoxyphenyl group, a p-toluenesulfonyl group, and a piperidine ring.	AP143

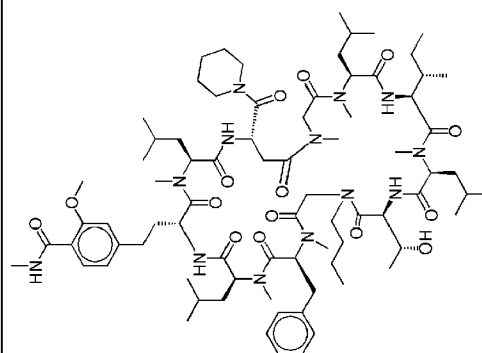
ID	構造式	ID	構造式
AP200		AP201	
AP202		AP203	

	
AP205	AP207
	
AP204	AP206

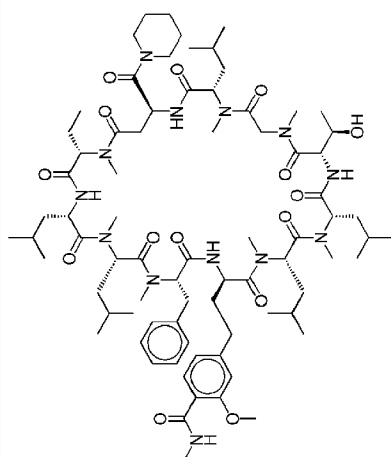
 Chemical structure of AP209, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-methoxyphenyl group, a benzyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP211, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-methoxyphenyl group, a benzyl group, and a piperidine ring.
AP209	AP211
 Chemical structure of AP208, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-methoxyphenyl group, a benzyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP210, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-methoxyphenyl group, a benzyl group, and a piperidine ring.
AP208	AP210



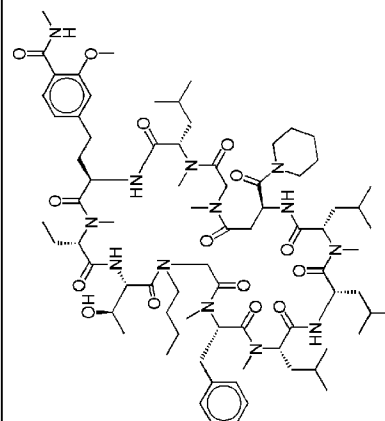
AP213



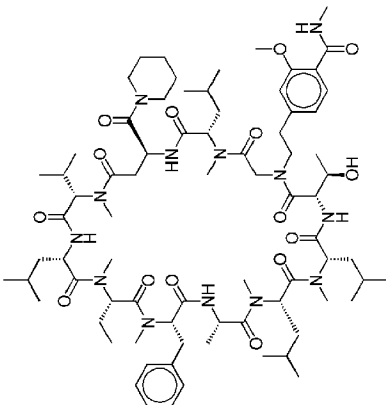
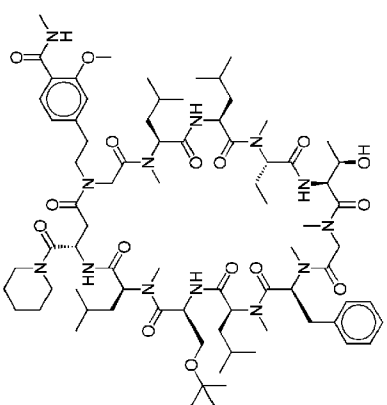
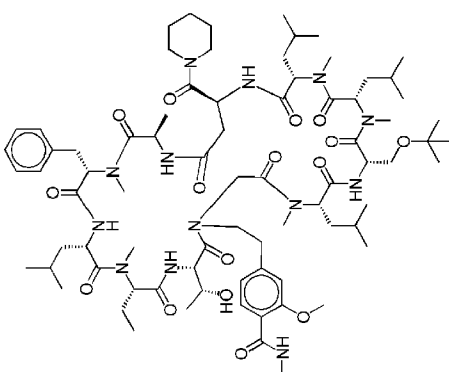
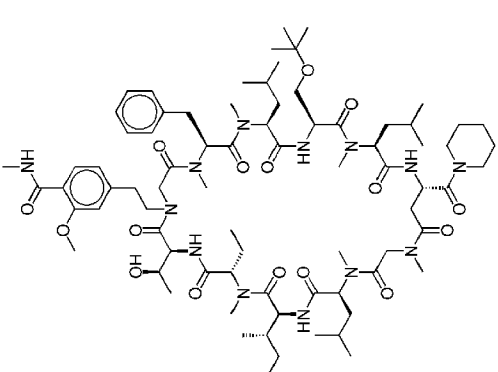
AP215

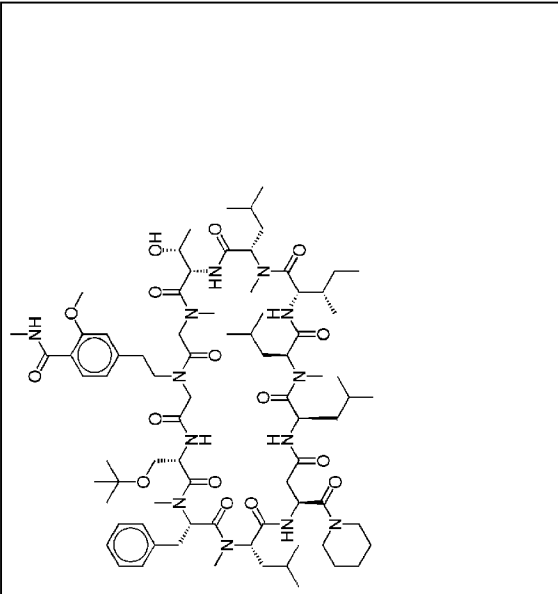
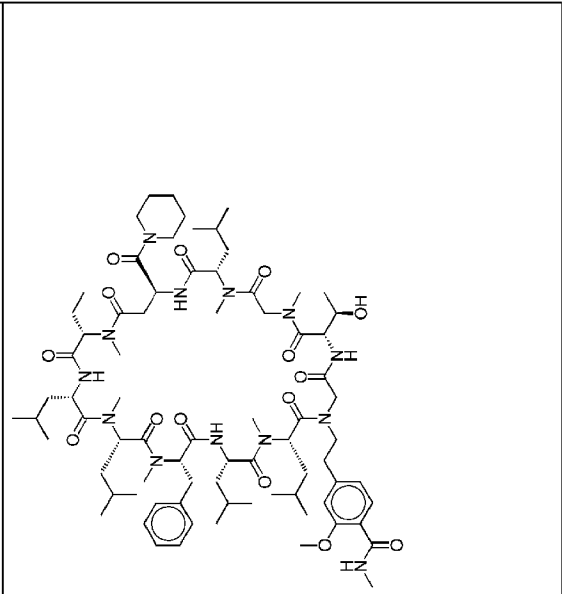
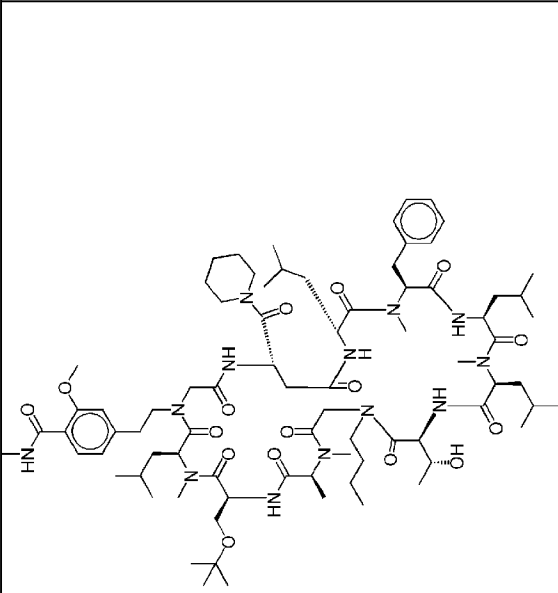
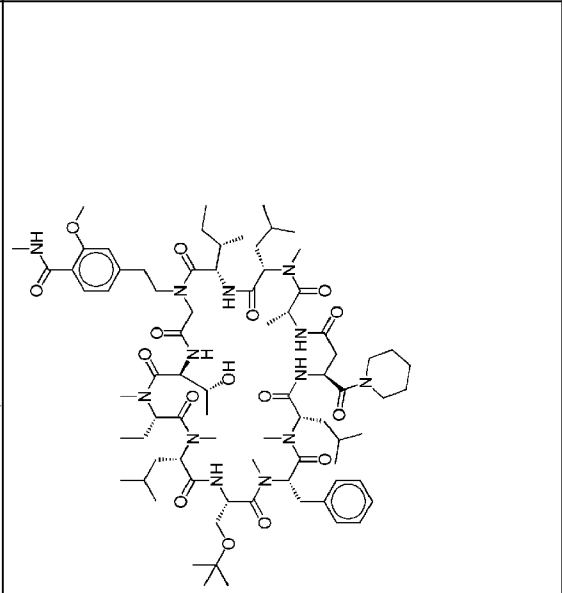


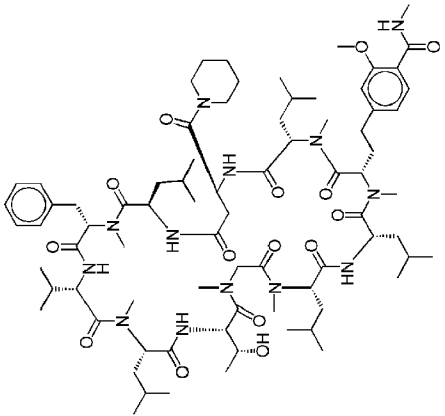
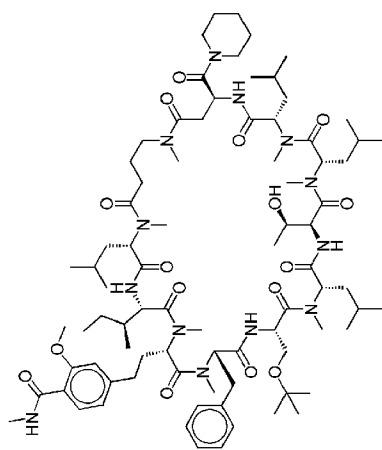
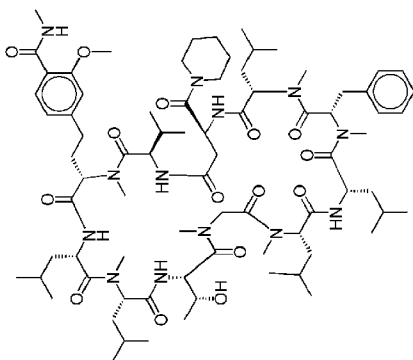
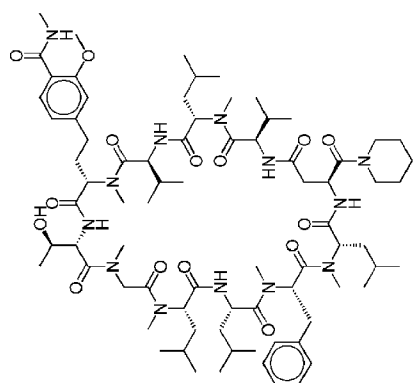
AP212

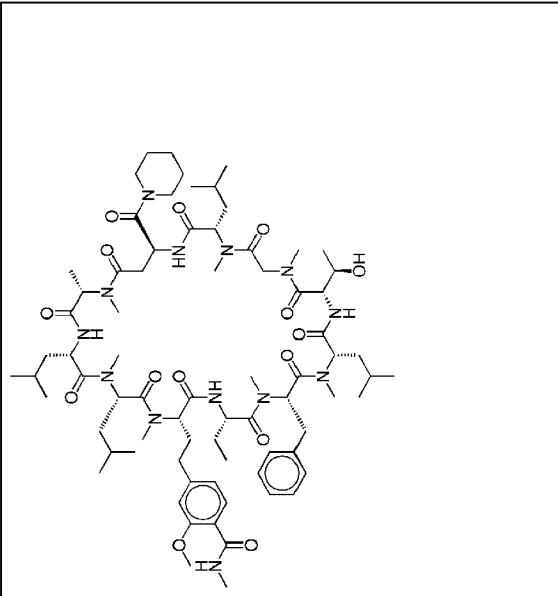
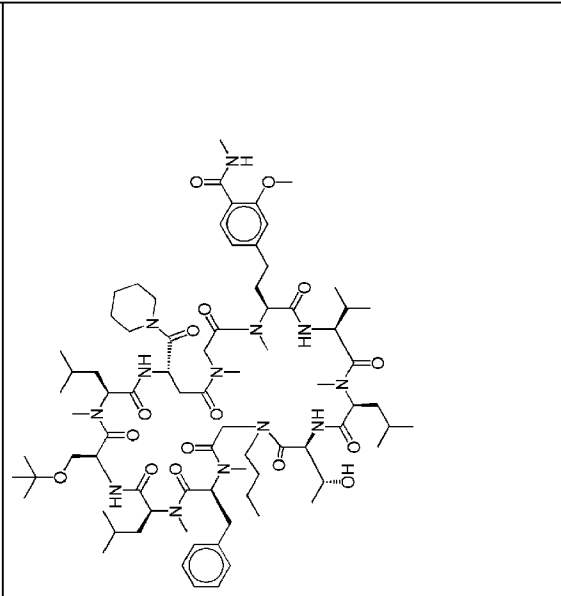
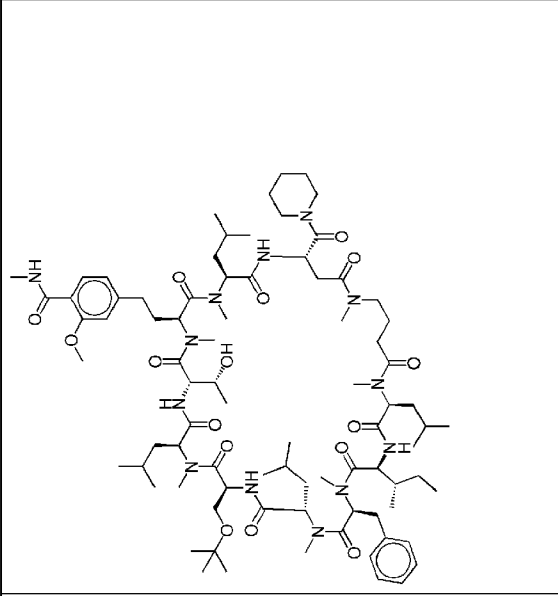
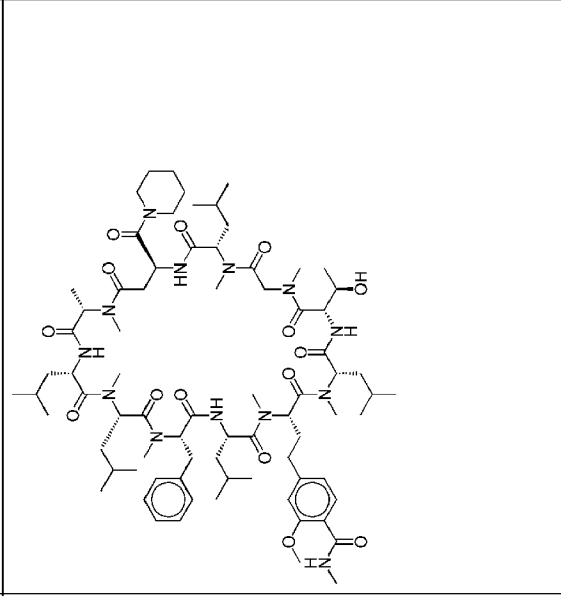


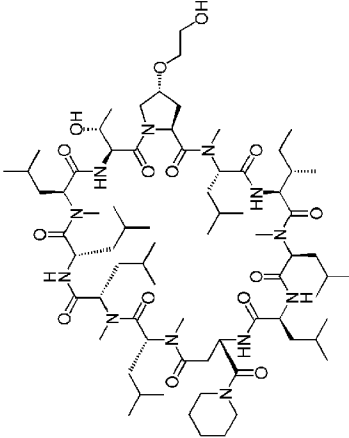
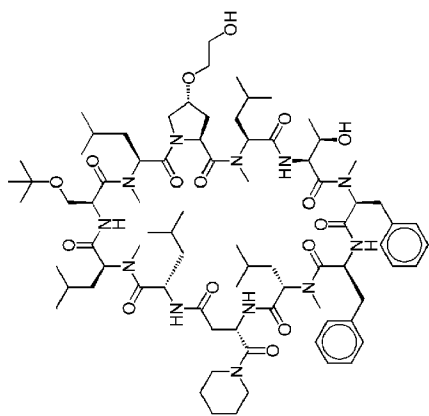
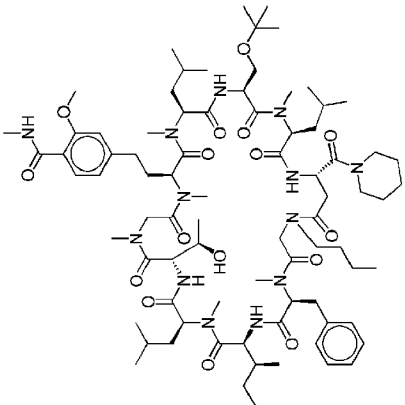
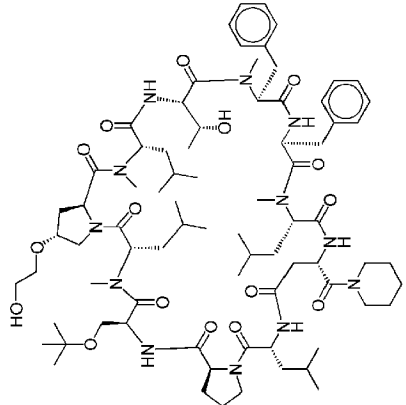
AP214

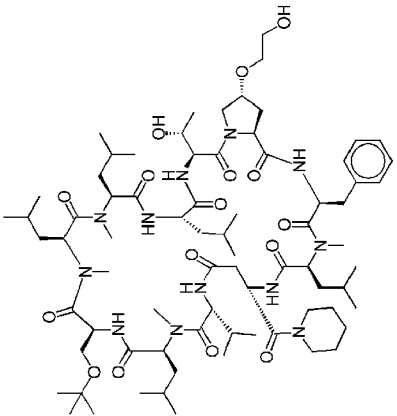
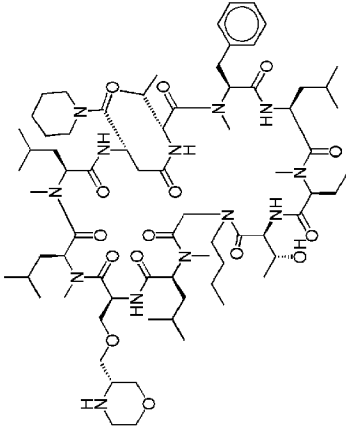
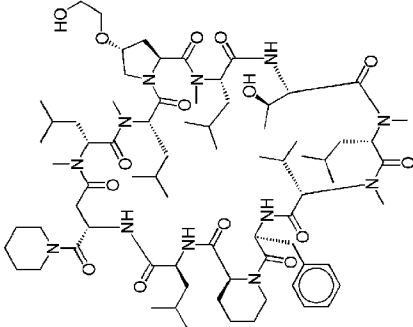
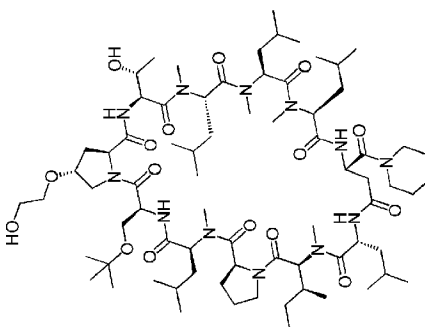
 Chemical structure of AP217, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxyl group.	 Chemical structure of AP219, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxyl group.
AP217	AP219
 Chemical structure of AP216, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxyl group.	 Chemical structure of AP218, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxyl group.
AP216	AP218

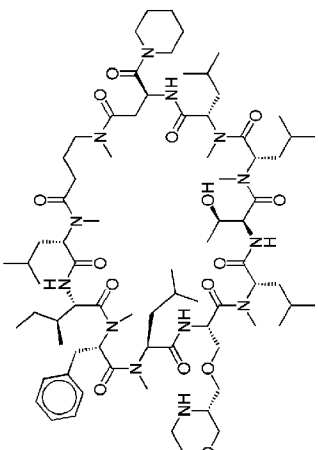
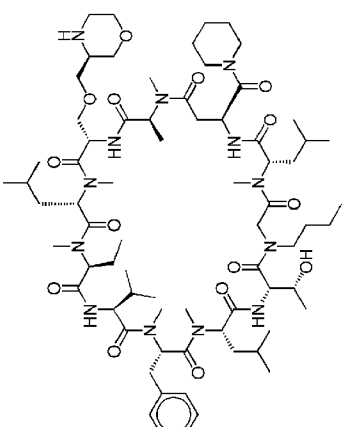
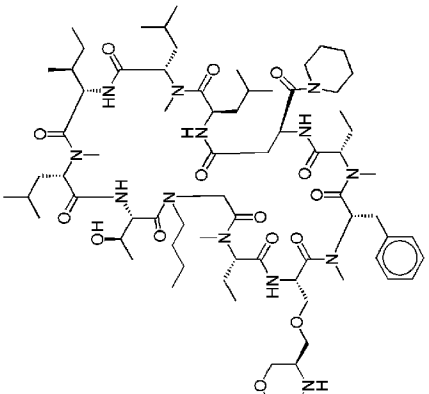
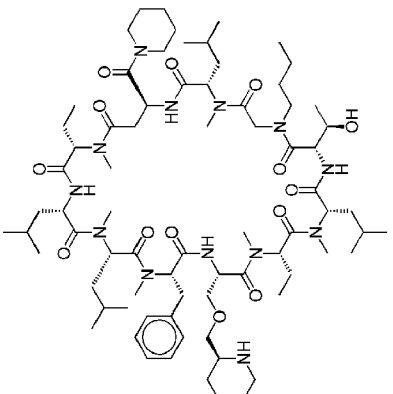
	
AP221	AP223
	
AP220	AP222

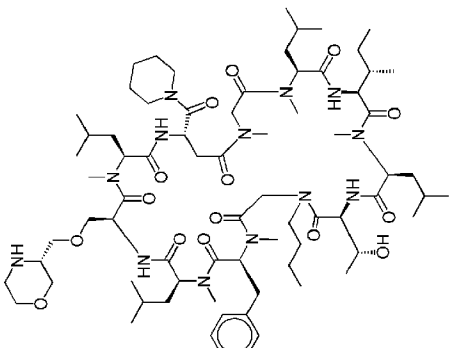
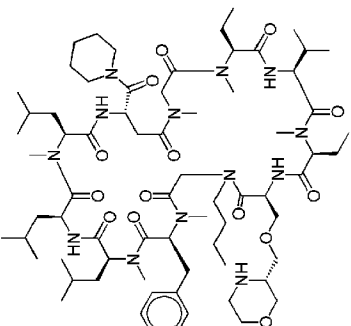
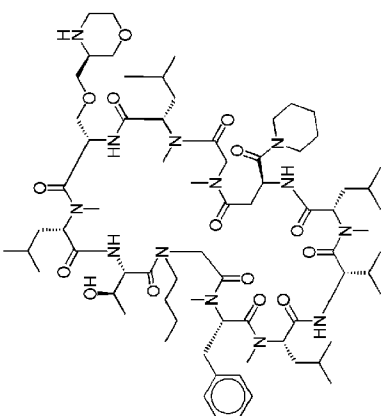
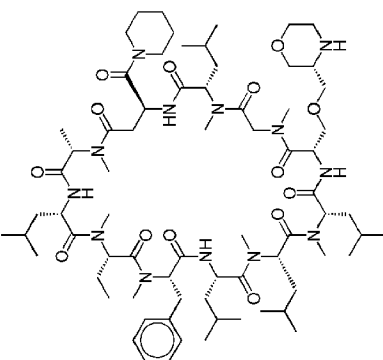
 Chemical structure of AP225, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a 4-methoxyphenyl group.	 Chemical structure of AP227, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a 4-methoxyphenyl group.
AP225	AP227
 Chemical structure of AP224, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a 4-methoxyphenyl group.	 Chemical structure of AP226, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a 4-methoxyphenyl group.
AP224	AP226

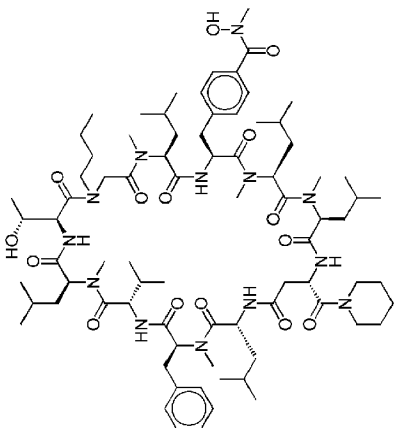
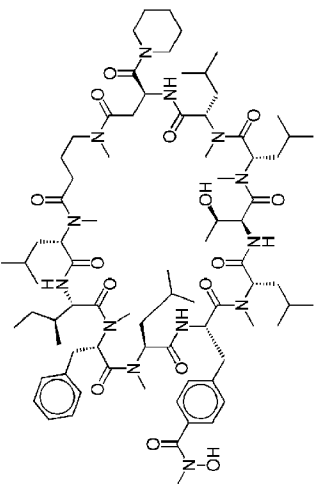
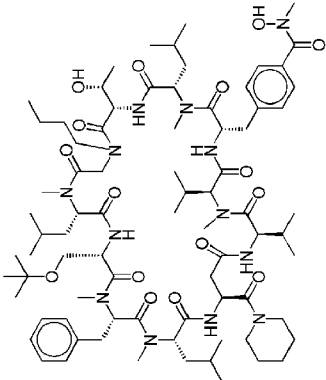
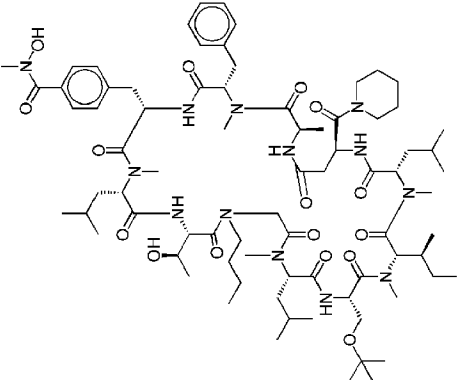
	
AP229	AP231
	
AP228	AP230

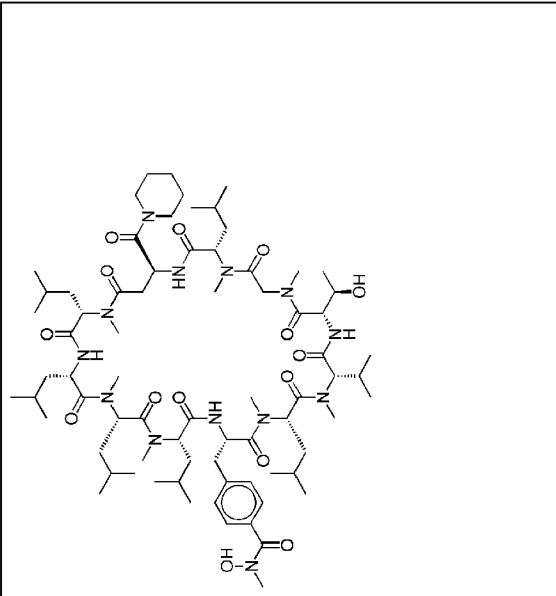
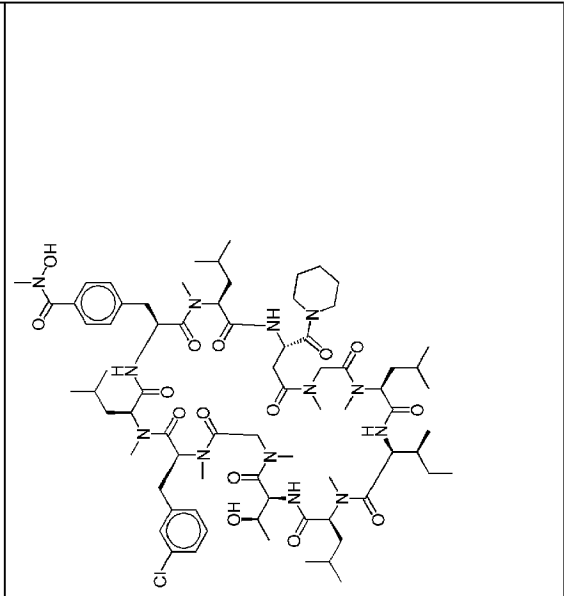
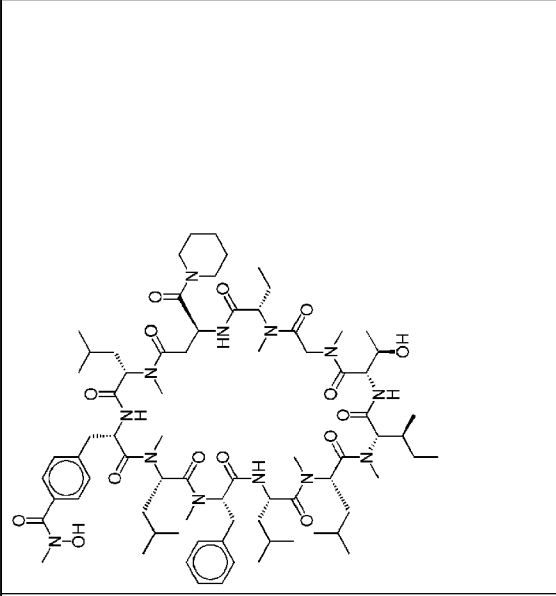
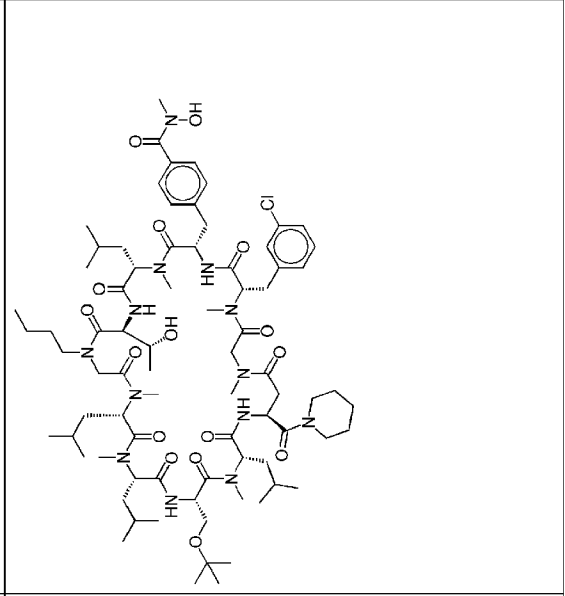
 Chemical structure of AP233: A complex macrocyclic molecule featuring a central ring with multiple amide and ester linkages. It includes a hydroxyl group, a hydroxymethyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP235: A complex macrocyclic molecule featuring a central ring with multiple amide and ester linkages. It includes a hydroxyl group, a hydroxymethyl group, and a piperidine ring.
AP233	AP235
 Chemical structure of AP232: A complex macrocyclic molecule featuring a central ring with multiple amide and ester linkages. It includes a hydroxyl group, a hydroxymethyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP234: A complex macrocyclic molecule featuring a central ring with multiple amide and ester linkages. It includes a hydroxyl group, a hydroxymethyl group, and a piperidine ring.
AP232	AP234

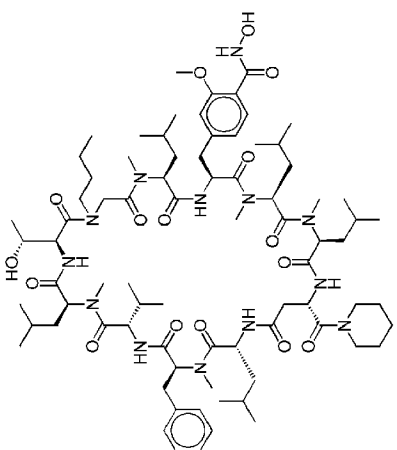
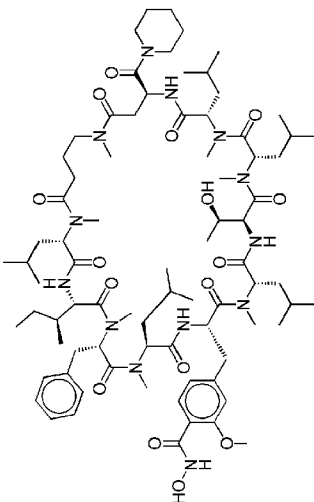
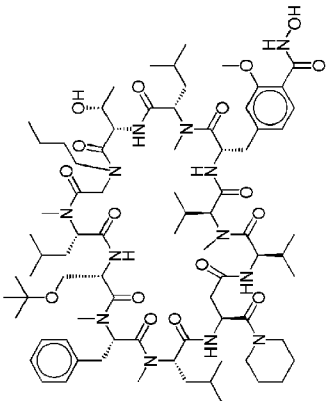
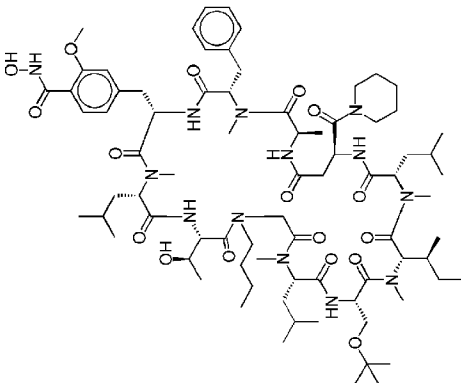
 Chemical structure of AP237, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a hydroxyl group, and a hydroxymethyl group. The structure includes various side chains, including a benzyl group and a hydroxymethyl group.	 Chemical structure of AP239, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a hydroxyl group, and a hydroxymethyl group. The structure includes various side chains, including a benzyl group and a hydroxymethyl group.
AP237	AP239
 Chemical structure of AP236, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a hydroxyl group, and a hydroxymethyl group. The structure includes various side chains, including a benzyl group and a hydroxymethyl group.	 Chemical structure of AP238, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a hydroxyl group, and a hydroxymethyl group. The structure includes various side chains, including a benzyl group and a hydroxymethyl group.
AP236	AP238

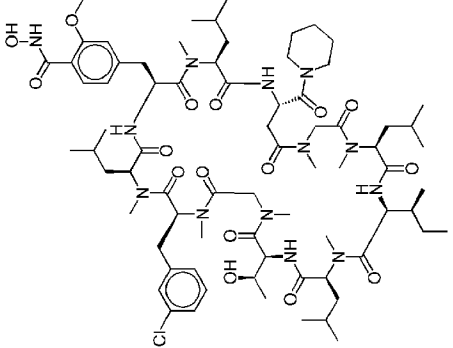
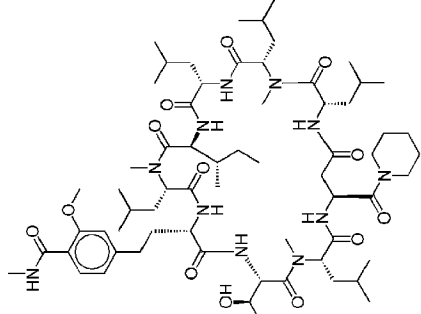
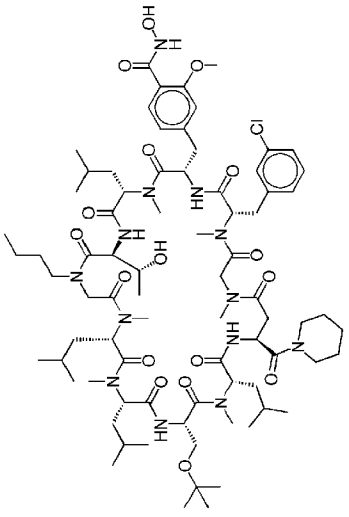
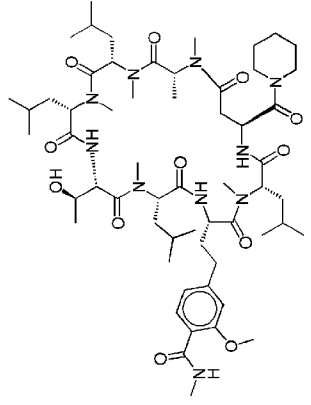
	
AP241	AP243
	
AP240	AP242

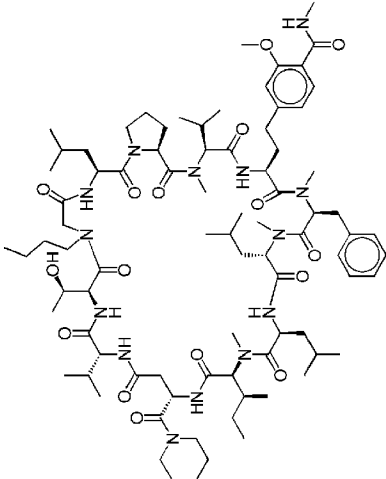
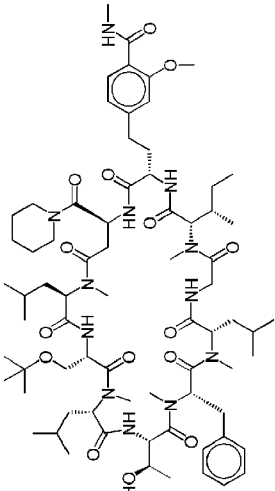
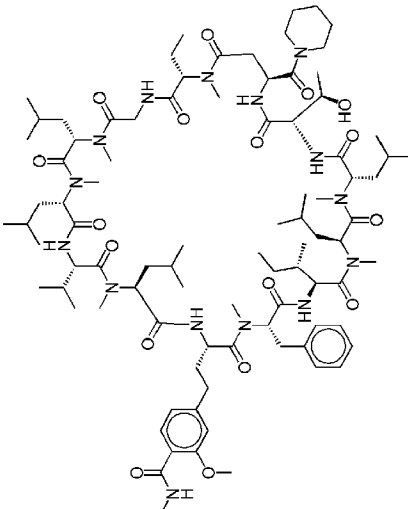
 Chemical structure of AP245, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a morpholine ring.	 Chemical structure of AP247, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a morpholine ring.
AP245	AP247
 Chemical structure of AP244, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a morpholine ring.	 Chemical structure of AP246, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a phenyl group, and a morpholine ring.
AP244	AP246

 Chemical structure of AP249, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a hydroxyl group, and a cyclohexyl ring.	 Chemical structure of AP251, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a hydroxyl group, and a cyclohexyl ring.
AP249	AP251
 Chemical structure of AP248, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a hydroxyl group, and a cyclohexyl ring.	 Chemical structure of AP250, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a hydroxyl group, and a cyclohexyl ring.
AP248	AP250

	
AP253	AP255
	
AP252	AP254

 Chemical structure of AP257, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxamic acid group (HO-NH) and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP259, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxamic acid group (HO-NH) and a piperidine ring.
AP257	AP259
 Chemical structure of AP256, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxamic acid group (HO-NH) and a piperidine ring.	 Chemical structure of AP258, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure composed of various amino acid residues, including a hydroxamic acid group (HO-NH) and a piperidine ring.
AP256	AP258

 Chemical structure of AP261, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a 4-methoxyphenyl group, a 4-chlorophenyl group, a piperidine ring, and several branched alkyl groups. The structure is shown in a 2D representation with stereochemistry indicated by wedges and dashes.	
AP261	
 Chemical structure of AP263, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a 4-methoxyphenyl group, a piperidine ring, and several branched alkyl groups. The structure is shown in a 2D representation with stereochemistry indicated by wedges and dashes.	
AP263	
 Chemical structure of AP260, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a 4-methoxyphenyl group, a 4-chlorophenyl group, a piperidine ring, and several branched alkyl groups. The structure is shown in a 2D representation with stereochemistry indicated by wedges and dashes.	
AP260	
 Chemical structure of AP262, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including a 4-methoxyphenyl group, a piperidine ring, and several branched alkyl groups. The structure is shown in a 2D representation with stereochemistry indicated by wedges and dashes.	
AP262	

	AP265	
	AP264	
	AP266	

[0411] 上記実施例において膜透過性を評価した環状ペプチドの分析情報を以下に示す。

[0412]

[表16]

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
A01	SQDFA40	1488	(M+H)+	1.10
A02	SQDFA40	1450	(M+H)+	0.90
A03	SQDFA40	1486	(M+H)+	1.00
A04	SQDFA40	1486	(M+H)+	0.98
A05	SQDFA40	1464	(M+H)+	1.00
A06	SQDFA40	1430	(M+H)+	0.88
A07	SQDFA40	1494	(M+H)+	0.99
A08	SQDFA40	1450	(M+H)+	0.91
A09	SQDFA40	1464	(M+H)+	0.97
A10	SQDFA40	1464	(M+H)+	0.99
B01	SQDFA05	1472	(M+H)+	1.16
B02	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.02
B03	SQDFA05	1470	(M+H)+	1.13
B04	SQDFA05	1470	(M+H)+	1.11
B05	SQDFA05	1448	(M+H)+	1.11
B06	SQDFA05	1414	(M+H)+	1.01
B07	SQDFA05	1478	(M+H)+	1.11
B08	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.03
B09	SQDFA05	1448	(M+H)+	1.08
B10	SQDFA05	1448	(M+H)+	1.08
C01	SQD2FA05	1542	(M+H)+	1.23
C02	SQD2FA05	1590	(M+H)+	1.17
C03	SQD2FA05	1526	(M+H)+	1.12
C04	SQD2FA05	1498	(M+H)+	1.14
C05	SQD2FA05	1484	(M+H)+	1.02, 1.11

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
C06	SQD2FA05	1548	(M+H)+	1.15
C07	SQD2FA05	1484	(M+H)+	1.13
C08	SQD2FA05	1484	(M+H)+	1.12
C09	SQD2FA05	1498	(M+H)+	1.16
C10	SQD2FA05	1470	(M+H)+	1.08
C11	SQD2FA05	1498	(M+H)+	1.18
C12	SQD2FA05	1554	(M+H)+	1.17
C13	SQD2FA05	1540	(M+H)+	1.16
C14	SQD2FA05	1426	(M+H)+	1.03, 1.08
C15	SQD2FA05	1454	(M+H)+	1.10
C16	SQD2FA05	1484	(M+H)+	1.15
C17	SQD2FA05	1484	(M+H)+	1.10
D01	SQD2FA05	1540	(M+H)+	1.20, 1.23
D02	SQD2FA05	1588	(M+H)+	1.15, 1.19
D03	SQD2FA05	1524	(M+H)+	1.06, 1.13
D04	SQD2FA05	1496	(M+H)+	1.13, 1.15
D05	SQD2FA05	1482	(M+H)+	1.03, 1.11
D06	SQD2FA05	1546	(M+H)+	1.16, 1.23
D07	SQD2FA05	1482	(M+H)+	1.06, 1.13
D08	SQD2FA05	1482	(M+H)+	1.06, 1.12
D09	SQD2FA05	1496	(M+H)+	1.17
D10	SQD2FA05	1468	(M+H)+	1.09
D11	SQD2FA05	1496	(M+H)+	1.17, 1.18
D12	SQD2FA05	1552	(M+H)+	1.17
D13	SQD2FA05	1538	(M+H)+	1.18

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
D14	SQD2FA05	1424	(M+H)+	1.04, 1.07
D15	SQD2FA05	1452	(M+H)+	1.10
D16	SQD2FA05	1482	(M+H)+	1.12
D17	SQD2FA05	1482	(M+H)+	1.11, 1.16
E01	SQD2FA05	1430	(M+H)+	1.06
E02	SQD2FA05	1488	(M+H)+	1.14
E03	SQD2AA50	1486	(M+H)+	0.81
E04	SQD2FA05	1516	(M+H)+	1.15
E05	SQD2FA50	1430	(M+H)+	0.65
E06	SQD2AA50	1416	(M+H)+	0.79
E07	SQD2AA50	1416	(M+H)+	0.80
E08	SQD2AA50	1444	(M+H)+	0.84
F01	SQD2FA05	1400	(M+H)+	1.03
F02	SQD2FA50L	1458	(M+H)+	2.25
F03	SQD2FA50L	1456	(M+H)+	1.75
F04	SQD2FA05	1486	(M+H)+	1.13
F05	SQD2FA50L	1400	(M+H)+	1.52
F06	SQD2FA05	1386	(M+H)+	1.01
F07	SQD2FA05	1386	(M+H)+	1.04
F08	SQD2FA05	1414	(M+H)+	1.10
G01	SQDFA05	1457	(M+H)+	0.88
G02	SQDFA05	1429	(M+H)+	0.81
G03	SQDFA05	1499	(M+H)+	0.88
G04	SQDFA05	1457	(M+H)+	0.86
G05	SQDFA05	1429	(M+H)+	0.82

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
G06	SQDFA05	1443	(M+H)+	0.84
G07	SQDFA05	1457	(M+H)+	0.88
G08	SQDFA05	1429	(M+H)+	0.78
G09	SQDFA05	1499	(M+H)+	0.85
G10	SQDFA05	1413	(M+H)+	0.78
G11	SQDFA05	1399	(M+H)+	0.79
H01	SQD2FA05	1439	(M-H)-	0.83
H02	SQD2FA05	1411	(M-H)-	0.78
H03	SQD2FA05	1483	(M+H)+	0.86
H04	SQD2FA05	1441	(M+H)+	0.81
H05	SQD2FA05	1413	(M+H)+	0.78
H06	SQD2FA05	1427	(M+H)+	0.80
H07	SQD2FA05	1441	(M+H)+	0.84
H08	SQD2FA05	1413	(M+H)+	0.75
H09	SQD2FA05	1483	(M+H)+	0.83
H10	SQD2FA05	1397	(M+H)+	0.76
H11	SQD2FA05	1383	(M+H)+	0.75
I01	SQDFA40	1471	(M+H)+	1.02
I02	SQDFA40	1499	(M+H)+	1.09
I03	SQDFA40	1471	(M+H)+	0.96
I04	SQDFA40	1499	(M+H)+	1.07
I05	SQDFA40	1471	(M+H)+	0.95
I06	SQDFA40	1471	(M+H)+	1.00
J01	SQDFA50	1467	(M-H)-	0.86
J02	SQDFA50	1537	(M+H)+	0.90

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
J03	SQDFA50	1469	(M+H)+	0.83
J04	SQDFA50	1537	(M+H)+	0.90
J05	SQDFA50	1469	(M+H)+	0.84
J06	SQDFA50	1469	(M+H)+	0.88

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP01	SQDFA50	1488	(M+H)+	0.85
AP02	SQDFA50	1464	(M+H)+	0.71
AP03	SQDFA50	1530	(M+H)+	0.81
AP04	SQDFA50	1520	(M+H)+	0.80
AP05	SQDFA50	1444	(M+H)+	0.72
AP06	SQDFA50	1444	(M+H)+	0.79
AP07	SQDFA50	1494	(M+H)+	0.72
AP08	SQDFA50	1430	(M+H)+	0.67
AP09	SQDFA50	1444	(M+H)+	0.75
AP10	SQDFA50	1458	(M+H)+	0.77
AP11	SQDFA40	1471	(M+H)+	1.00
AP12	SQDFA40	1499	(M+H)+	1.15
AP13	SQDFA40	1485	(M+H)+	1.06
AP14	SQDFA40	1471	(M+H)+	0.96
AP15	SQDFA40	1499	(M+H)+	1.05
AP16	SQDFA40	1485	(M+H)+	1.07
AP17	SQDFA40	1471	(M+H)+	0.95
AP18	SQDFA40	1471	(M+H)+	1.03
AP19	SQDFA40	1485	(M+H)+	1.12
AP20	SQDFA05	1458	(M+H)+	1.11
AP21	SQDFA05	1472	(M+H)+	1.13
AP22	SQDFA05	1472	(M+H)+	1.03
AP23	SQDFA05	1486	(M+H)+	1.19
AP24	SQDFA05	1472	(M+H)+	1.10
AP25	SQDFA05	1458	(M+H)+	1.05

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP26	SQDFA05	1458	(M+H)+	1.04
AP27	SQDFA05	1529	(M+H)+	1.13
AP28	SQDFA05	1513	(M+H)+	1.12
AP29	SQDFA05	1515	(M+H)+	1.09
AP30	SQDFA05	1527	(M+H)+	1.09
AP31	SQDFA05	1471	(M+H)+	1.05
AP32	SQDFA05	1451	(M+H)+	1.09
AP33	SQDFA05	1549	(M+H)+	1.10
AP34	SQDFA05	1477	(M+H)+	1.05
AP35	SQDFA05	1529	(M+H)+	1.12
AP36	SQDFA05	1513	(M+H)+	1.13
AP37	SQDFA05	1515	(M+H)+	1.10
AP38	SQDFA05	1527	(M+H)+	0.96
AP39	SQDFA05	1471	(M+H)+	1.09
AP40	SQDFA05	1451	(M+H)+	1.11
AP41	SQDFA05	1549	(M+H)+	1.11
AP42	SQDFA05	1477	(M+H)+	1.10
AP43	SQD2AA50	1464	(M+H)+	0.78
AP44	SQD2AA50	1478	(M+H)+	0.79
AP45	SQD2AA50	1508	(M+H)+	0.81
AP46	SQD2AA50	1512	(M+H)+	0.77
AP47	SQD2AA50	1464	(M+H)+	0.75
AP48	SQD2AA50	1478	(M+H)+	0.77
AP49	SQD2AA50	1470	(M+H)+	0.78
AP50	SQD2AA50	1470	(M+H)+	0.77

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP51	SQDFA50	1488	(M+H)+	0.79
AP52	SQDFA50	1464	(M+H)+	0.68
AP53	SQDFA50	1530	(M+H)+	0.78
AP54	SQDFA50	1520	(M+H)+	0.66, 0.77
AP55	SQDFA50	1444	(M+H)+	0.63, 0.67
AP56	SQDFA50	1444	(M+H)+	0.58, 0.64
AP57	SQDFA50	1494	(M+H)+	0.67
AP58	SQDFA50	1430	(M+H)+	0.60
AP59	SQDFA50	1444	(M+H)+	0.69
AP60	SQDFA50	1458	(M+H)+	0.70
AP61	SQDFA05	1486	(M-H)-	1.20
AP62	SQDFA05	1450	(M+H)+	1.07
AP63	SQDFA05	1550	(M+H)+	1.19
AP64	SQDFA05	1506	(M+H)+	1.13
AP65	SQDFA05	1464	(M+H)+	1.12
AP66	SQDFA05	1428	(M-H)-	1.07
AP67	SQDFA05	1492	(M-H)-	1.12
AP68	SQDFA05	1448	(M-H)-	1.07
AP69	SQDFA05	1462	(M-H)-	1.12
AP70	SQDFA05	1462	(M-H)-	1.12
AP71	SQD2FA05	1488	(M+H)+	1.19
AP72	SQD2FA05	1450	(M+H)+	1.07
AP73	SQD2FA05	1536	(M+H)+	1.14
AP74	SQD2FA05	1506	(M+H)+	1.13
AP75	SQD2FA05	1478	(M+H)+	1.15

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP76	SQD2FA05	1430	(M+H)+	1.06
AP77	SQD2FA05	1494	(M+H)+	1.11
AP78	SQD2FA05	1464	(M+H)+	1.10
AP79	SQD2FA05	1464	(M+H)+	1.12
AP80	SQD2FA05	1478	(M+H)+	1.16
AP81	SQD2FA05	1472	(M+H)+	1.16
AP82	SQD2FA05	1444	(M+H)+	1.14
AP83	SQD2FA05	1500	(M+H)+	1.14
AP84	SQD2FA05	1514	(M+H)+	1.18
AP85	SQD2FA05	1414	(M+H)+	1.08
AP86	SQD2FA05	1400	(M+H)+	1.06
AP87	SQD2FA05	1458	(M+H)+	1.12
AP88	SQD2FA05	1430	(M+H)+	1.06
AP89	SQD2FA05	1502	(M+H)+	1.17
AP90	SQD2FA05	1450	(M+H)+	1.04
AP91	SQD2FA05	1506	(M+H)+	1.12
AP92	SQD2FA05	1506	(M+H)+	1.11
AP93	SQD2FA05	1458	(M+H)+	1.13
AP94	SQD2FA05	1444	(M+H)+	1.08
AP95	SQD2FA05	1488	(M+H)+	1.11
AP96	SQD2FA05	1464	(M+H)+	1.08
AP97	SQD2FA05	1478	(M+H)+	1.11
AP98	SQD2FA05	1492	(M+H)+	1.15
AP99	SQD2FA05	1488	(M+H)+	1.14
AP100	SQD2FA05	1464	(M+H)+	1.06

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP101	SQD2FA05	1536	(M+H)+	1.13
AP102	SQD2FA05	1506	(M+H)+	1.09
AP103	SQD2FA05	1478	(M+H)+	1.13
AP104	SQD2FA05	1430	(M+H)+	1.03
AP105	SQD2FA05	1494	(M+H)+	1.09
AP106	SQD2FA05	1464	(M+H)+	1.07
AP107	SQD2FA05	1472	(M+H)+	1.13
AP108	SQD2FA05	1488	(M+H)+	1.15
AP109	SQD2FA05	1464	(M+H)+	1.06
AP110	SQD2FA05	1536	(M+H)+	1.13
AP111	SQD2FA05	1506	(M+H)+	1.10
AP112	SQD2FA05	1478	(M+H)+	1.12
AP113	SQD2FA05	1430	(M+H)+	1.04
AP114	SQD2FA05	1464	(M+H)+	1.07
AP115	SQD2FA05	1550	(M+H)+	1.14
AP116	SQD2FA05	1472	(M+H)+	1.13
AP117	SQD2FA05	1502	(M+H)+	1.19
AP118	SQD2FA05	1444	(M+H)+	1.08
AP119	SQD2FA05	1500	(M+H)+	1.13
AP120	SQD2FA05	1500	(M+H)+	1.13
AP121	SQD2FA05	1458	(M+H)+	1.14
AP122	SQD2FA05	1444	(M+H)+	1.01
AP123	SQD2FA05	1508	(M+H)+	1.14
AP124	SQD2FA05	1444	(M+H)+	1.08
AP125	SQD2FA05	1472	(M+H)+	1.14

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP126	SQD2FA05	1486	(M+H)+	1.19
AP127	SQD2FA05	1458	(M+H)+	1.17
AP128	SQD2FA05	1472	(M+H)+	1.12
AP129	SQD2FA05	1472	(M+H)+	1.08
AP130	SQD2FA05	1472	(M+H)+	1.01
AP131	SQD2FA05	1486	(M+H)+	1.16
AP132	SQD2FA05	1472	(M+H)+	1.05
AP133	SQD2FA05	1458	(M+H)+	1.06
AP134	SQD2FA05	1458	(M+H)+	1.04

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP135	SQDFA05	1593	(M+H)+	1.15
AP136	SQDFA05	1577	(M+H)+	1.12
AP137	SQDFA05	1579	(M+H)+	1.10
AP138	SQDFA05	1591	(M+H)+	1.02
AP139	SQDFA05	1535	(M+H)+	1.06
AP140	SQDFA05	1613	(M+H)+	1.11
AP141	SQDFA05	1591	(M+H)+	1.10
AP142	SQDFA05	1485	(M+H)+	1.12
AP143	SQDFA05	1477	(M+H)+	0.99

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP200	SQDAAs	1483	(M-H)-	7.90
AP201	SQDAAs	1543	(M+H)+	8.33
AP202	SQDFAs	1539	(M-H)-	6.36
AP203	SQDAAs	1569	(M-H)-	8.27
AP204	SQDAAs	1483	(M-H)-	7.74
AP205	SQDFAs	1471	(M+H)+	5.72
AP206	SQDFAs	1469	(M-H)-	6.05
AP207	SQDFAs	1497	(M-H)-	6.62
AP208	SQDAAs	1483	(M-H)-	7.73
AP209	SQDFAs	1543	(M+H)+	6.74
AP210	SQDAAs	1539	(M-H)-	7.84
AP211	SQDAAs	1571	(M+H)+	8.16
AP212	SQDAAs	1485	(M+H)+	7.52
AP213	SQDAAs	1469	(M-H)-	7.48
AP214	SQDFAs	1469	(M-H)-	6.38
AP215	SQDFAs	1498	(M-H)-	5.90
AP216	SQDAAs	1501	(M+H)+	7.67
AP217	SQDAAs	1469	(M-H)-	7.63
AP218	SQDFAs	1499	(M-H)-	5.79
AP219	SQDAAs	1501	(M+H)+	7.66
AP220	SQDAAs	1513	(M-H)-	7.87
AP221	SQDAAs	1515	(M+H)+	7.81
AP222	SQDAAs	1501	(M+H)+	7.62
AP223	SQDFAs	1469	(M-H)-	5.59
AP224	SQDFAs	1483	(M-H)-	5.90
AP225	SQDFAs	1483	(M-H)-	5.83

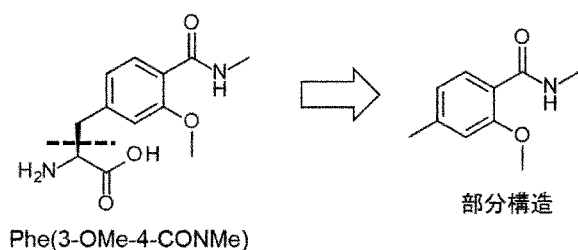
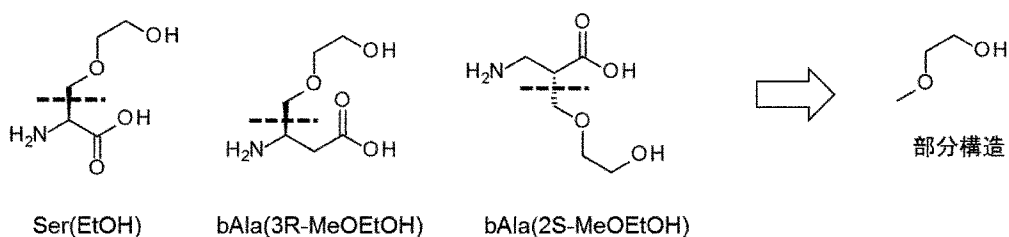
化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP226	SQDFAs	1469	(M-H)-	5.72
AP227	SQDAAs	1569	(M-H)-	7.88
AP228	SQDAAs	1571	(M+H)+	7.94
AP229	SQDAAs	1441	(M-H)-	7.03
AP230	SQDAAs	1471	(M+H)+	7.47
AP231	SQDAAs	1513	(M-H)-	7.82
AP232	SQDFAs	1527	(M-H)-	5.78
AP233	SQDFAs	1414	(M-H)-	6.24
AP234	SQDAAs	1484	(M+H)+	7.81
AP235	SQDFAs	1514	(M+H)+	6.68
AP236	SQDAAs	1434	(M+H)+	8.07
AP237	SQDAAs	1452	(M+H)+	8.09
AP238	SQDFAs	1430	(M+H)+	5.88
AP239	SQDFAs	1437	(M+H)+	4.50
AP240	SQDFAs	1423	(M+H)+	4.10
AP241	SQDAAs	1479	(M+H)+	7.90
AP242	SQDFAs	1437	(M+H)+	4.24
AP243	SQDFAs	1409	(M+H)+	3.91
AP244	SQDFAs	1423	(M+H)+	4.13
AP245	SQDFAs	1437	(M+H)+	4.48
AP246	SQDAAs	1391	(M-H)-	7.32
AP247	SQDAAs	1379	(M+H)+	7.37
AP248	SQDAAs	1515	(M+H)+	8.25
AP249	SQDAAs	1499	(M+H)+	8.24
AP250	SQDAAs	1501	(M+H)+	8.00

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
AP251	SQDAAs	1511	(M-H)-	7.94
AP252	SQDFAs	1455	(M-H)-	5.75
AP253	SQDAAs	1437	(M+H)+	7.86
AP254	SQDAAs	1535	(M+H)+	8.15
AP255	SQDFAs	1461	(M-H)-	5.81
AP256	SQDAAs	1529	(M-H)-	8.05
AP257	SQDFAs	1515	(M+H)+	6.30
AP258	SQDFAs	1517	(M+H)+	6.08
AP259	SQDFAs	1527	(M-H)-	5.62
AP260	SQDAAs	1551	(M+H)+	8.02
AP261	SQDFAs	1479	(M+H)+	5.57
AP262	SQDAAs	1124	(M-H)-	6.54
AP263	SQDFAs	1253	(M+H)+	5.63
AP264	SQDAAs	1400	(M-H)-	8.13
AP265	SQDAAs	1594	(M+H)+	8.07
AP266	SQDFAs	1697	(M+H)+	6.39

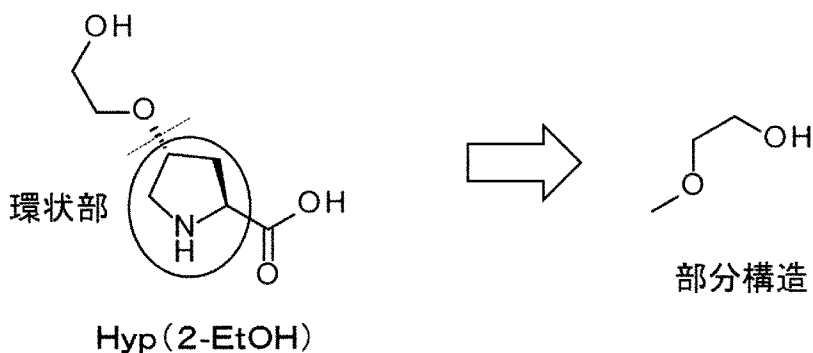
[0413] 実施例3 側鎖部分構造のコンフォメーション解析

実施例3-1 側鎖部分構造のLow energy conformationの計算方法

側鎖部分構造のLow energy conformationは側鎖 β 位（主鎖に直結する炭素）からアミノ酸の側鎖部分を抜き出した部分構造を用いて計算した。下スキームにSer (EtOH)、bAla (3R-MeOEtOH)、bAla (2S-MeOEtOH)、Phe (3-OMe-4-CONMe)の例を示す。

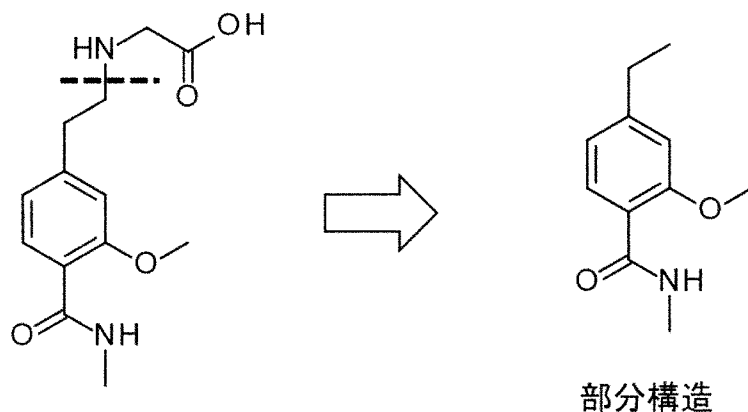


[0414] また、Hyp(2-EtOH)のような環状部(Hyp(2-EtOH)の場合はピロリジン環)をもつアミノ酸に関しては環状部に直結する原子からアミノ酸の側鎖部分を抜き出した部分構造を用いて計算した。下スキームにHyp(2-EtOH)の例を示す。



[0415] 例えばSer(EtOH)、bAla(3R-MeOEtOH)、bAla(2S-MeOEtOH)、Hyp(2-EtOH)は側鎖部分構造としては同一のものを有していると考えることができる。

[0416] また、(Ph(3-OMe-4-CONMe)Et)Glyのようなアミノ酸のアミノ基に置換基を有するタイプのアミノ酸はN原子に直結する原子からアミノ酸の側鎖部分を抜き出した部分構造を用いて計算した。



(Ph(3-OMe-4-CONMe)Et)Gly

[0417] Low energy conformationは以下の手順で計算した。

(1) 初期構造発生

回転可能な単結合に関して初期二面角を0、90、180、270度と与えた。アミド結合ならびにCとOHの間の結合に関して初期二面角を0、180度と与えた。Ser(EtOH)の側鎖の部分構造を計算する場合、2個の単結合に4個ずつ初期二面角、CとOHの間の結合に2個の初期二面角を考慮するので、合計32個の初期コンフォメーションを発生した。

(2) 構造最適化

Gaussian09を用いて(1)で発生させたすべてのコンフォメーションの構造最適化を行った。B3LYP/6-31G(d)レベルにPolarizable Continuum Model(PCM)を加えて疑似水中での構造最適化を行った。

(3) Low energy conformationの選択

[0418] (2)で得たminimized conformationのエネルギーの低い順からユニークなLow energy conformationを選んだ。コンフォメーションのユニークさは、構造発生の際に考慮した二面角でのコンフォメーション間の距離(違い)で判断する。二面角空間でのコンフォメーション間の距離(定義式は下記参照)が他のすべてのLow energy conformationと60°以上あるコンフォメーションをユニークと定義する。

[数1]

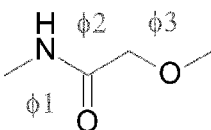
$$\sqrt{\sum_{k=1}^n (\phi_k^i - \phi_k^j)^2}$$

 ϕ_k^i : i 番目のコンフォメーションの k 番目の二面角

 ϕ_k^j : j 番目のコンフォメーションの k 番目の二面角

[0419] 実施例 3 - 2 ポテンシャルエネルギー曲面 (Potential energy surface) の計算方法

1) 下記部分構造 (例えば Ser (NMe-Aca) の側鎖部分構造) でのポテンシャルエネルギー曲面 (図 3 - 1) の場合



(1) Low energy conformationsは上述の手順で計算した。

(2) 各コンフォメーション (grid point) のエネルギー計算

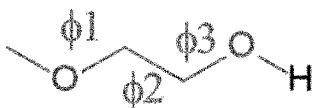
[0420] 初期値として $\phi 1$ は 180° 、 $\phi 2$ 、 $\phi 3$ は 0° 、 15° 、 $\dots$ 、 345° まで 15° 間隔で初期コンフォメーション (grid point) として $24 \times 24 = 576$ 個生成した。

[0421] $\phi 2$ と $\phi 3$ を初期値に固定し、Gaussian09を用いて発生させたすべてのコンフォメーションの構造最適化を行った。B3LYP/6-31G(d) レベルにPolarizable Continuum Model (PCM)を加えて疑似水中での構造最適化を行った。その結果、 $\phi 2$ と $\phi 3$ を 15° 間隔で計算した 576 個のコンフォメーションのエネルギー ($E(\phi 2, \phi 3)$) を求めた。下記の式から求めた $\Delta E(\phi 2, \phi 3)$ をプロットしたものが図 3 - 1 である。

$$\Delta E(\phi 2, \phi 3) = E(\phi 2, \phi 3) - E_{\text{lowest}}$$

E_{lowest} : lowest energy conformationのエネルギー

[0422] 2) 下記部分構造 (例えば、Ser (EtOH)、bAla (3R-MeOE tOH)、bAla (2S-MeOE tOH)、Hyp (2-E tOH) の側鎖部分構造) でのポテンシャルエネルギー曲面 (図 4 - 1) の場合



(1) Low energy conformationsは上述の手順で計算した。

(2) 各コンフォメーション (grid point) のエネルギー計算

[0423] 初期値として $\phi 1$ は 0° 、 90° 、 180° 、 270° $\phi 2$ は 0° 、 15° 、 $\dots$ 、 345° まで 15° 間隔、 $\phi 3$ は 0° 、 180° で初期コンフォメーション (grid point) として $4 \times 24 \times 2 = 192$ 個を生成した。ただし、 $\phi 2 = 180^\circ$ の時はさらに $\phi 1 = 0^\circ$ 、 90° 、 180° 、 270° $\phi 3 = 0^\circ$ 、 90° 、 180° 、 270° として $4 \times 4 = 16$ 個のコンフォメーションを発生させた。

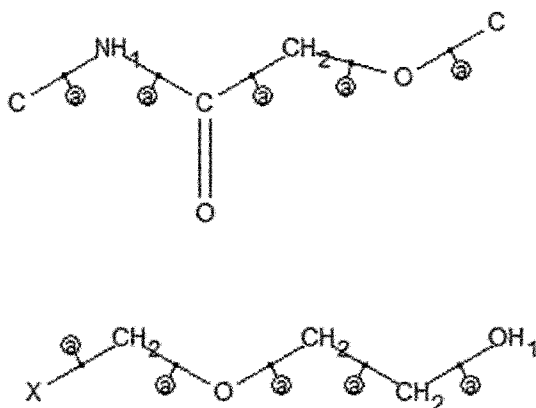
$\phi 2$ を初期値に固定して、Gaussian09を用いて発生させたすべてのコンフォメーションの構造最適化を行った。B3LYP/6-31G(d) レベルにPolarizable Continuum Model (PCM)を加えて疑似水中での構造最適化を行った。その結果、各 $\phi 2$ に対して $4 \times 2 = 8$ 個の $E(\phi 2)$ が得られる。この $E(\phi 2)$ の中で最もエネルギーの低いものを $E_{lowest}(\phi 2)$ とした。 $\phi 2$ を 15° 間隔で計算した24個のコンフォメーションのエネルギー ($\Delta E(\phi 2)$) は下記の式で求めた。 $\Delta E(\phi 2)$ をプロットしたものが図4-1である。

$$\Delta E(\phi 2) = E_{lowest}(\phi 2) - E_{lowest}$$

E_{lowest} : lowest energy conformationのエネルギー

[0424] 実施例3-3 CSD (The Cambridge Structural Database) に登録されているX線構造解析の結果を用いた、結晶構造 (Crystal structures) のコンフォメーション分布 (図3-2、図4-2) の調査

CSD (The Cambridge Structural Database) 5.39+2 updatesを用いてqueryを以下のものとして検索した。



[0425] 検索条件として3D coordinates determined、R factor ≤ 0.05 、Not disordered、No errors、Not polymeric、No ions、No powder structures、Only Organicsとしてそれぞれ検索を行った。その結果をプロットしたものが図3-2、図4-2である。解析の結果、図3-2、図4-2は計算結果である図3-1および図4-1と大きな矛盾がなかった。つまり、いずれの部分構造も分子内水素結合を取りやすい構造であることが確認された。さらに図3-2の $\phi 2 = 180^\circ$ 付近に存在する2つの結晶構造(CSD code: MAPPAVおよびMUVJOE)を解析してみると、分子内水素結合を形成するドナー部分であるアミドNH基が自分以外の他の分子と分子間水素結合を形成し、相互作用するのに用いられていることが確認できた。これは図3-1で解析した構造が膜透過する場合は膜透過に有利である分子内水素結合を形成するコンフォメーション、標的との相互作用の際には結合に有利である分子間水素結合を形成するコンフォメーションといったように、周りの環境に応じたコンフォメーションをとり得ることが確認できた。

[0426] 実施例3-4 側鎖部分構造のLow energy conformation計算結果

下記に記載のいずれアミノ酸においても、側鎖部分構造は分子内水素結合を有するコンフォメーションを取りやすい構造であることが計算的に示された。

Ser (EtOH)、bAla (3R-MeOEtOH)、bAla (2S-MeOEtOH)、Hyp (2-EtOH) : これら3つのアミノ酸は側鎖部分構造は同一になる。計算結果は分子内水素結合を有するコンフォメーション

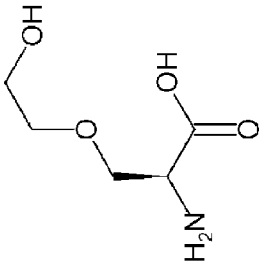
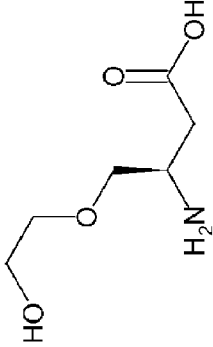
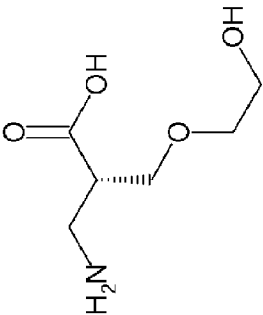
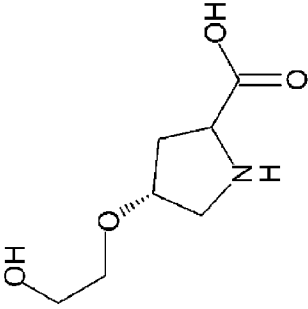
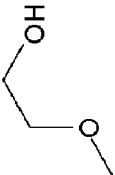
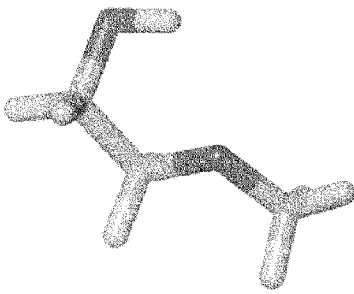
ーションが最安定コンフォメーションであった。

H p h (3 - O M e - 4 - C O N M e) - O H 、 D - H p h (3 - O M e - 4 - C O N M e) - O H 、 M e H p h (3 - O M e - 4 - C O N M e) - O H 、 (P h (3 - O M e - 4 - C O N M e) E t) G l y : これら4つのアミノ酸は側鎖部分構造は同一になる。計算結果は分子内水素結合を有するコンフォメーションが最安定コンフォメーションであった。

表17の計算結果のカラムは最安定コンフォメーションのみを記載した。

[0427]

[表17]

アミノ酸				
Ser(EtOH)	bAla(3R-MeOEtOH)	bAla(2S-MeOEtOH)	Hyp(2-EtOH)	
				
部分構造	計算結果			
				

アミノ酸				
Hph(3-OMe-4-CONMe)	D-Hph(3-OMe-4-CONMe)	MeHph(3-OMe-4-CONMe)	(Ph(3-OMe-4-CONMe)Et)Gly	
計算結果				
部分構造				

[0428] Ser (S-2-PrOH)、Ser (R-2-PrOH)、Ser (t BuOH)、Ser (nPrOH)、Ser (S-2-BuOH)、Ser (R-2-BuOH)、Ser (2-Me₂-PrOH)、Ser (2-Me-2-BuOH)、Ser (NMe-Aca)、Ser (NtBu-Ac

a)、Phe (3-OMe-4-CONMe)、Phe (4-OMe-3-CONMe)、Tyr (3-OMe)、Phe (3-OMe-4-CONHMs)、Phe (4-CONMeOH)、Phe (3-OMe-4-CONHOH) : いずれの計算結果も分子内水素結合を有するコンフォメーションが最安定コンフォメーションであった。表18の計算結果のカラムは最安定コンフォメーションのみを記載した。

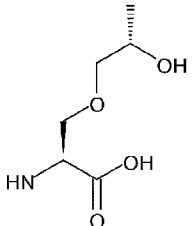
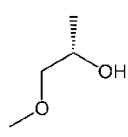
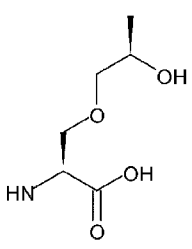
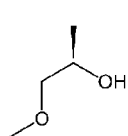
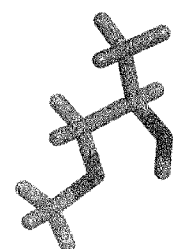
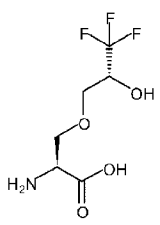
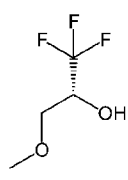
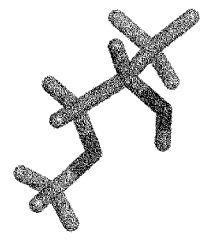
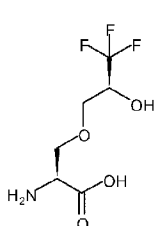
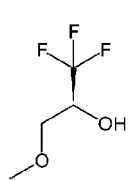
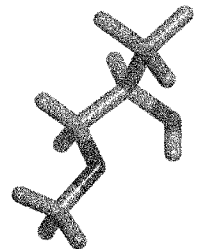
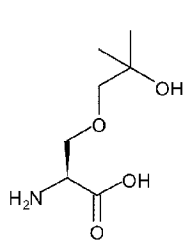
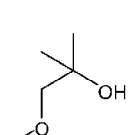
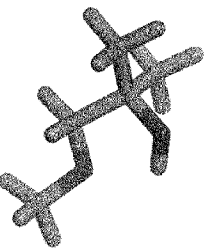
[0429] Ser (1-CF₃-EtOH) : 本アミノ酸はCF₃基が結合している炭素部分がラセミ体であるため、R体であるSer (R-1-CF₃-EtOH)、S体であるSer (S-1-CF₃-EtOH) それぞれについて安定コンフォメーションを計算した。いずれの計算結果も分子内水素結合を有するコンフォメーションが最安定コンフォメーションであった。表18の計算結果のカラムは最安定コンフォメーションのみを記載した。

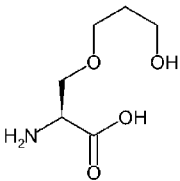
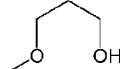
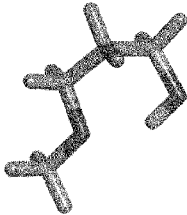
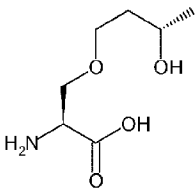
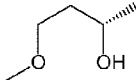
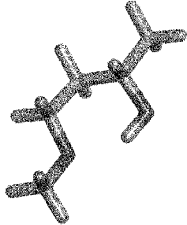
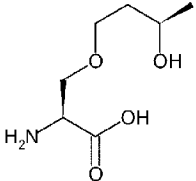
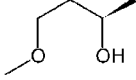
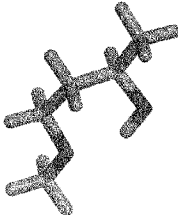
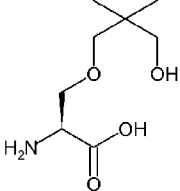
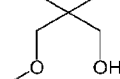
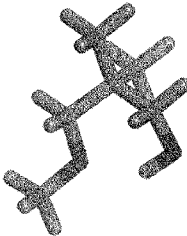
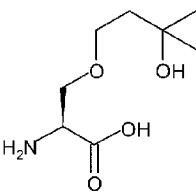
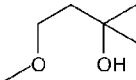
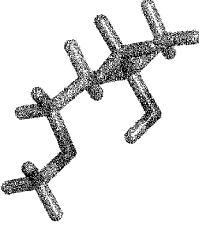
[0430] Ser (3-Me-5-Oxo-Odz) : 計算結果は分子内水素結合を有するコンフォメーションは最安定コンフォメーションから0.89 kJ/mol離れたものであった。表の計算結果のカラムは最安定コンフォメーションから0.89 kJ/mol離れたものを記載した。

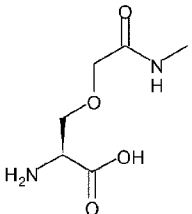
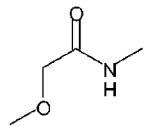
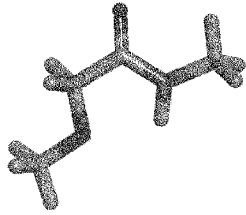
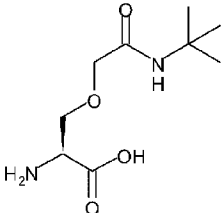
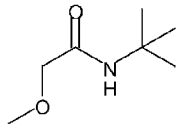
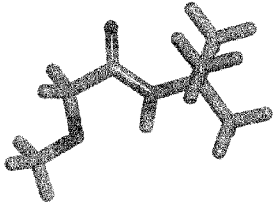
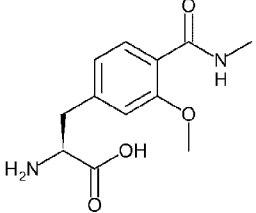
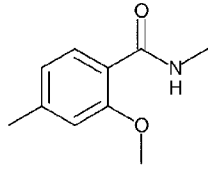
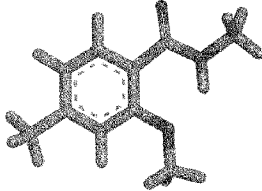
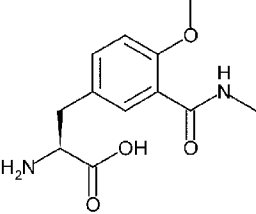
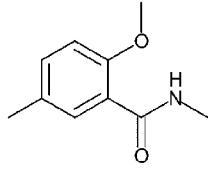
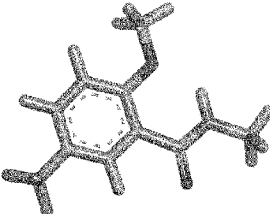
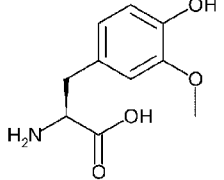
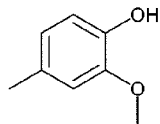
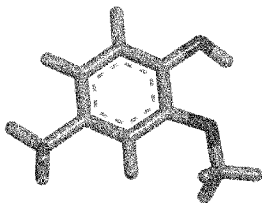
[0431] Ser (S-4-F₂-Pyrro-Me)、Ser (S-Mor-3-Me) : これらのアミノ酸は側鎖部位に2級アミノ基を有しているため、チャージをもつ可能性がある。チャージを持たない場合 (neutral)、チャージをもつ場合 (charged) の2つの場合についてそれぞれ計算を行ったが、いずれの計算結果も分子内水素結合を有するコンフォメーションが最安定コンフォメーションであった。表18の計算結果のカラムは最安定コンフォメーションのみを記載した。

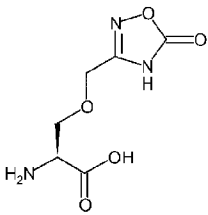
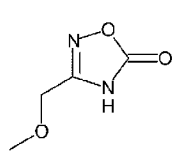
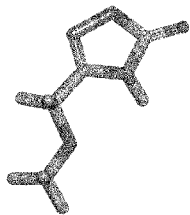
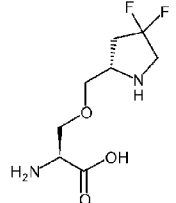
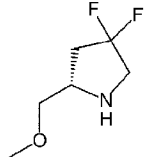
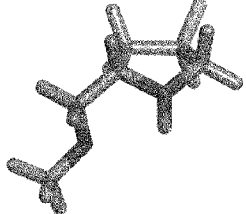
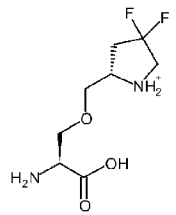
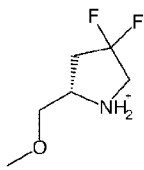
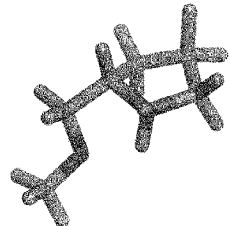
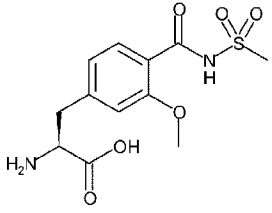
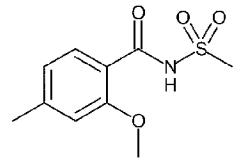
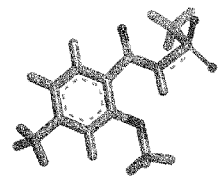
[0432]

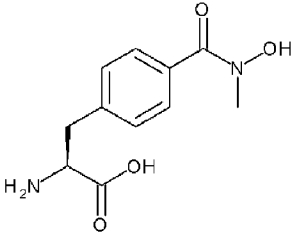
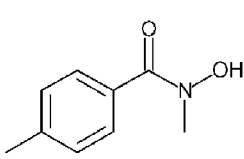
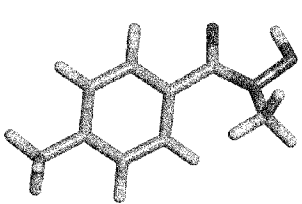
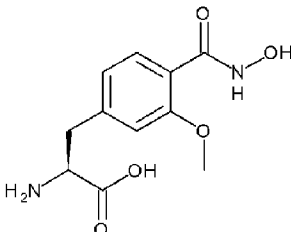
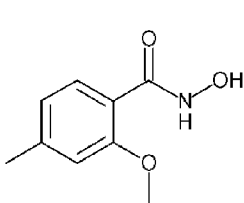
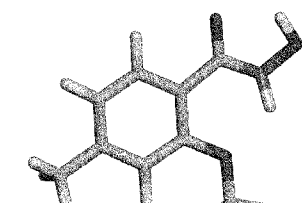
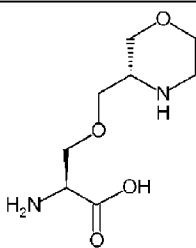
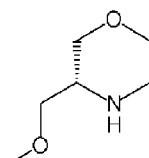
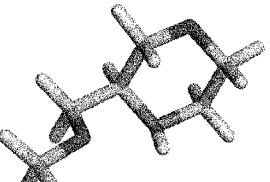
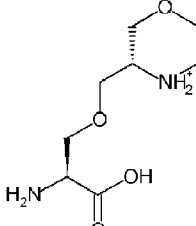
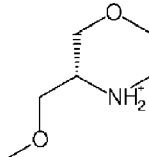
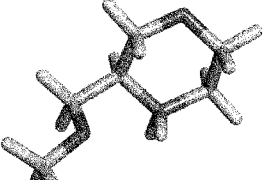
[表18]

アミノ酸		部分構造	計算結果
略語	構造		
Ser(S-PrOH)			
Ser(R-PrOH)			
Ser(R-1-CF3-EtOH)			
Ser(S-1-CF3-EtOH)			
Ser(tBuOH)			

アミノ酸		部分構造	計算結果
略語	構造		
Ser(nPrOH)			
Ser(S-2-BuOH)			
Ser(R-2-BuOH)			
Ser(2-Me2-PrOH)			
Ser(2-Me-2-BuOH)			

アミノ酸		部分構造	計算結果
略語	構造		
Ser(NMe-Aca)			
Ser(tBu-Aca)			
Phe(3-OMe-4-CONMe)			
Phe(4-OMe-3-CONMe)			
Tyr(3-OMe)			

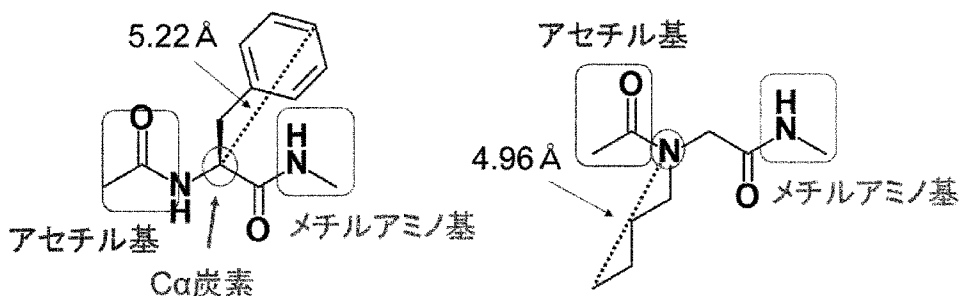
アミノ酸		部分構造	計算結果
略語	構造		
Ser(3-Me-5-Oxo-Odz)			
Ser(S-4-F2-Pyrro-Me) (neutral)			
Ser(S-4-F2-Pyrro-Me) (charged)			
Phe(3-OMe-4-CONHMs)			

アミノ酸		部分構造	計算結果
略語	構造		
Phe(4-CONMeOH)			
Phe(3-OMe-4-CONHOH)			
Ser(S-Mor-3-Me) (neutral)			
Ser(S-Mor-3-Me) (charged)			

[0433] (参照例 1) アミノ酸側鎖の長さの求め方

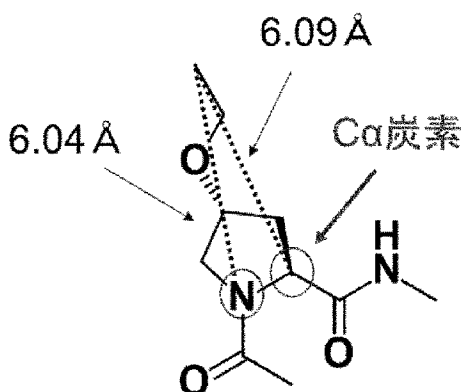
本明細書におけるアミノ酸の側鎖には、アミノ酸に含まれる炭素原子（例えば、 α 、 β 、又は γ -炭素原子）に結合している鎖、及び窒素原子に結合している鎖が含まれる。本明細書において、アミノ酸の側鎖の長さは、以下の方法により求めることができる。すなわち、アミノ酸単位のN末をアセチル基、C末をメチルアミノ基でキャッピングし、分子モデリングソフトMOE (Chemical Computing Group社) のLowModeMDにより配座を発生させ、側鎖部位が結合している原子（天然アミノ酸の場合は α -炭素原子（C α 炭素））から最も遠い同側鎖の原子（水素原子は除く）までの距離を測定することで求めることができる。例としてPheまたはnBuGlyの側鎖の長さの

求め方を以下に示す。



アミノ酸側鎖の長さの求め方、Phe（左）、nBuGly（右）

[0434] また、アミノ酸側鎖が主鎖構造の一部と環を形成している場合は、側鎖部分が結合している原子が複数個存在することになる。その場合の側鎖の長さは上記と同様の計算をそれぞれの側鎖部分が結合している原子と最も遠い側鎖の原子（水素原子は除く）に対して行い、求めた距離のうち最も長いものとする。例としてHyp（Et）を示すと、窒素原子から求めた側鎖の距離は6.04 Å、Cα炭素から求めた側鎖の距離は6.09 Åであることから、Hyp（Et）の側鎖の距離は6.09 Åとする。



アミノ酸側鎖の長さの求め方、Hyp(Et)

[0435] 上述の方法により算出したアミノ酸の側鎖の長さを下記に示す。

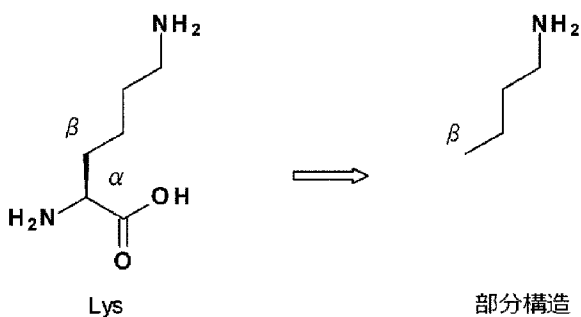
[0436] [表19]

アミノ酸	側鎖の長さ（オングストローム）
Ser（EtOH）	6.00
Phe（3-OMe-4-CONHMs）	10.01

[0437] （参照例2）pKaの求め方

本明細書においてアミノ酸の側鎖、又は環状ペプチド化合物の環状部の側

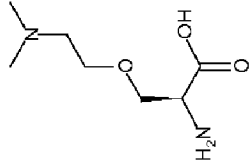
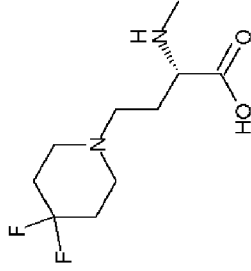
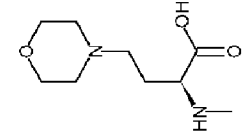
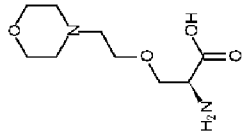
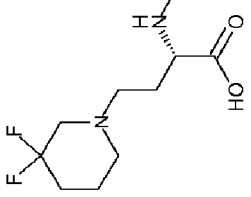
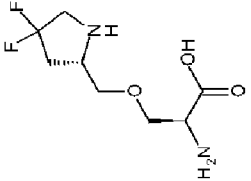
鎖の計算pKa及びBasic 計算pKaは、ADMETPredictor (Simulations Plus Inc. 社、ver.8.0) を用いて求めることができる。計算pKa及びBasic 計算pKaは側鎖 β 位（主鎖に直結する炭素）から側鎖部分を抜き出した部分構造を用いて計算される。例としてLysの場合を以下に示す。側鎖 β 位（主鎖に直結する炭素）を含む部分構造を用いてBasic 計算pKaを計算すると10.5であった。同様に計算すると、酸としては、Aspの側鎖カルボキシ基の計算pKaが4.3であり、Tyrの側差フェノール性水酸基の計算pKaが9.9であり、3-フルオロチロシン（Tyr（3-F））の側差フェノール性水酸基の計算pKaが8.7であり、テトラゾールの計算pKaが3.7であった。一方、塩基としては、Argの側鎖グアニジノ基のBasic 計算pKaが12.7であり、Hisのイミダゾリル基のBasic 計算pKaが7.6であり、ピリジンのBasic 計算pKaが5.4であった。



[0438] 本明細書に記載の方法でbasic pKaを計算した塩基性側鎖を有するアミノ酸の一部を下記の表に示す。

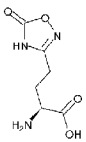
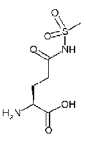
[0439]

[表20]

X	Ser(Et-2-NMe2)	MeAbu(pip-4-F2)	MeAbu(Mor)
アミノ酸の構造			
basic pKa	8.9	8.6	8.2
X	Ser(Et-2-Mor)	MeAbu(pip-3-F2)	Ser(S-4-F2-Pyrro-Me)
アミノ酸の構造			
basic pKa	7.1	6.8	6.8

[0440] 本明細書に記載の方法でpKaを計算した酸性側鎖を有するアミノ酸の一部を下記の表に示す。

[0441] [表21]

X	Abu(5-Oxo-Odz)	Gln(Ms)
アミノ酸の構造		
pKa	8.3	5.3

[0442] (参照例 3 - 1) アミノ酸側鎖のpKaの実測

本明細書においてアミノ酸側鎖のpKaの実測は以下の手順に従って行った。

(使用装置)

Sirius T3 (Sirius Analytical Instruments Ltd., Forest Row, East Sussex, RH18 5DW, UK)

[0443] [表22]

pH電極:	Ag/AgCl, ダブルジャンクション参照
パージガス:	アルゴン
pH範囲:	1.8 - 12.2

測定条件

設定温度	25°C
イオン濃度	0.15M
滴定用溶液	0.5M KOH, 0.5M HCl

[0444] (実施手順)

被験物質約1mgの粉体または10mMのDMSO溶液約100μLに0.15MのKClを添加し、塩基性化合物の場合はpH2となるまで0.5MのHClを添加後、0.5MのKOHにてpH12まで滴定を行った。

酸性化合物の場合は、pH12となるまで0.5MのKOH添加後、0.5MのHClにてpH2まで滴定を行った。

滴定操作はSirius社製T3にて自動で行い、得られた滴定曲線からsirius T3 Refinementソフトを用いてpKaを求めた。

また参照化合物としてイミプラミン・HCl、プロプラノロール・HCl、ワルファリンを用いて同様にpKaを求め、Sirius社で得られた試験結果範囲内であることを確認した。

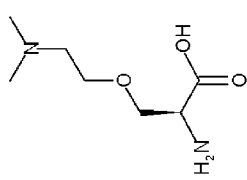
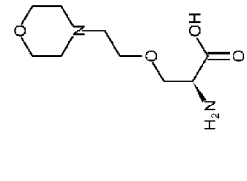
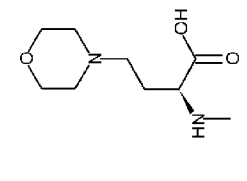
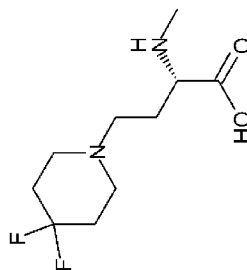
アミノ酸側鎖のpKaは評価したいアミノ酸を下記に示す3残基からなるペプチドの2残基目（下記表のXの位置）に導入した配列を合成することで求めた。

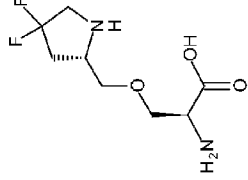
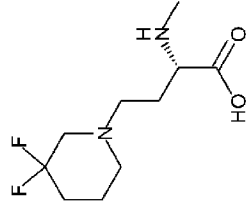
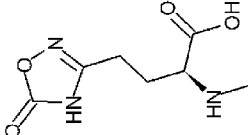
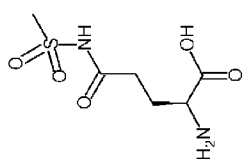
[0445] [表23]

3	2	1	C-term
ZMeGly	X	MeGly	pip

[0446] 以下にその結果を示す。

[表24]

X	Ser(Et-2-NMe2)	Ser(Et-2-Mor)	MeAbu(Mor)	MeAbu(pip-4-F2)
アミノ酸の構造				
basic pKa	9.1	7.2	6.8	6.7

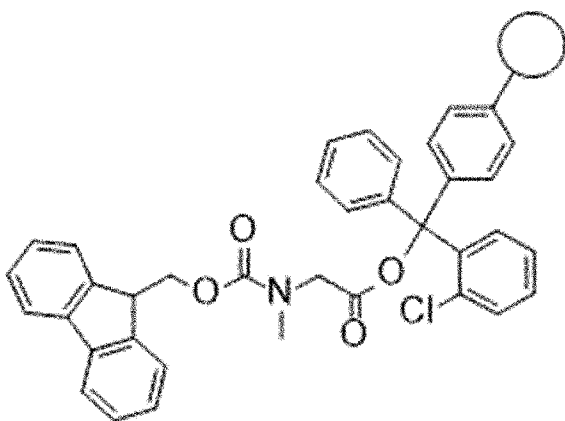
X	Ser(S-4-F2-Pyrro-Me)	MeAbu(pip-3-F2)	MeAbu(5-Oxo-Odz)	Gln(Ms)
アミノ酸の構造				
pKa	6.5	5.7	5.7	3.8

[0447] (参照例 3-2) pKa 実測に用いた 3 残基ペプチドの合成

実施例 1 に記載のペプチド化合物の化学合成と同様の手法を用いペプチド

の伸長、レジン上からの切り出しを行った後、C末端のカルボン酸とピペリジンを縮合することでpd30-pd37を合成した。また、ペプチド合成に用いたFmoc-MeGly-Trt(2-Cl)-resin (化合物pd11) は下記の通り合成した。ZMeGly (Cbz-MeGly-OH、CAS#39608-31-6) は東京化成工業より購入した。

[0448] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-メチルグリシン-2-クロロトリチルレジン (化合物pd11、Fmoc-MeGly-Trt(2-Cl)-resin) の合成



フィルター付きの反応容器に2-クロロトリチルクロライドレジン (1.58 mmol/g、100-200 mesh、1% DVB、渡辺化学から購入、10 g、15.8 mmol) と脱水ジクロロメタンを入れ、室温にて1時間振とうした。窒素圧をかけてジクロロメタンを除いた後、市販のN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-メチルグリシン (Fmoc-MeGly-OH) (3.54 g、11.39 mmol) とジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (5.29 mL、30.4 mmol) の脱水ジクロロメタン (130 mL) 溶液を反応容器に添加し、30分間振とうした。窒素圧をかけて反応液を除いた後、脱水ジクロロメタン (130 mL) に脱水メタノール (5.76 mL) とジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (5.29 mL、30.4 mmol) を加えた混合液を反応容器に添加し、1時間振とうした。窒素圧をかけて反応液を除いた後、ジクロロメタンを入れ、5分間振とうした。窒素圧をかけて反応液を除いた後、ジクロ

ロメタンを入れ、5分間振とうした。窒素圧をかけて反応液を除いた。得られたレジンが減圧下で一晩乾燥させ、N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-メチルグリシン-2-クロロトリチルレジン(化合物pd11、Fmoc-MeGly-Trt(2-Cl)-resin)(13.2g)を得た。

得られたレジンのローディング量は文献記載(Letters in Peptide Science, 2002, 9, 203)の方法を用い算出した。N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-メチルグリシン-2-クロロトリチルレジン(化合物pd11、Fmoc-MeGly-Trt(2-Cl)-resin)(14.4mg)を反応容器に入れ、DMF(2mL)を加え1時間振とうした。反応液にDBU(0.04mL)を加え、30分振とうした後、DMF(10mL)を加え、1mLを取りだし、さらに溶液量が12.5mLになるまでDMFで希釈した。得られた溶液の吸光度(294nm)を測定し(Shimadzu、UV-1600PC(セル長1.0cm)を用いて測定)、N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-N-メチルグリシン-2-クロロトリチルレジン(化合物pd11、Fmoc-MeGly-Trt(2-Cl)-resin)のローディング量を0.789mmol/gと算出した。

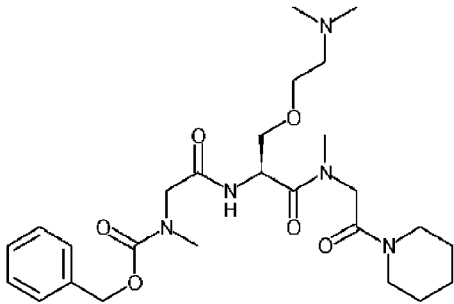
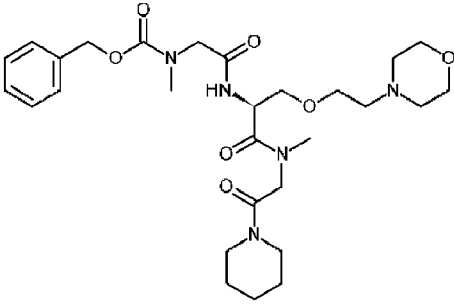
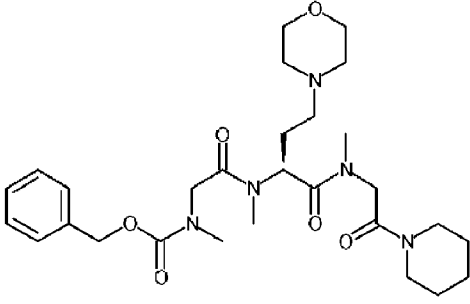
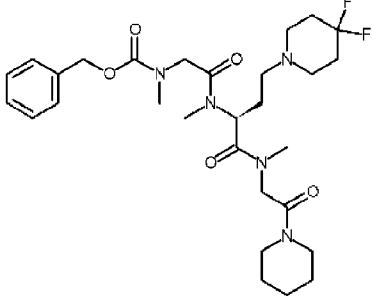
[0449] (参照例3-3) pKaを実測したペプチド化合物の分析情報

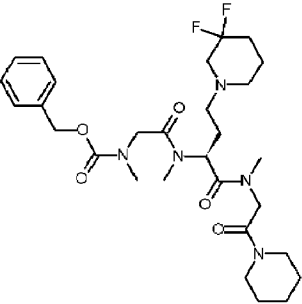
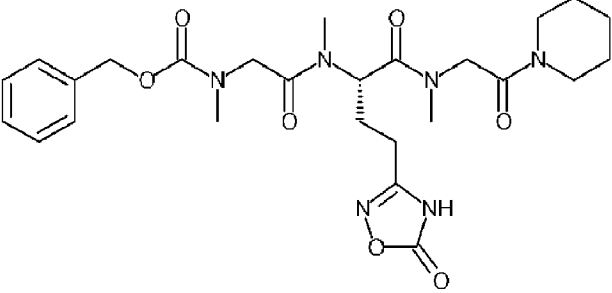
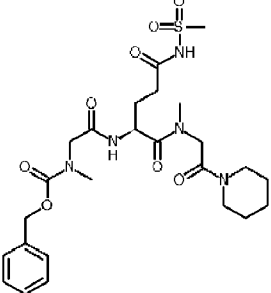
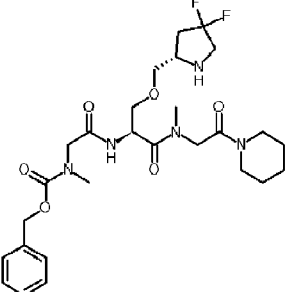
[表25]

化合物 番号	3	2	1	C-term	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
pd30	ZMeGly	Ser(Et-2-NMe2)	MeGly	pip	SQDFA05	520	(M+H)+	0.45
pd31	ZMeGly	Ser(Et-2-Mor)	MeGly	pip	SQDFA05	562	(M+H)+	0.45
pd32	ZMeGly	MeAbu(Mor)	MeGly	pip	SQDFA05	546	(M+H)+	0.47
pd33	ZMeGly	MeAbu(pip-4-F2)	MeGly	pip	SQDFA05	580	(M+H)+	0.50
pd34	ZMeGly	MeAbu(pip-3-F2)	MeGly	pip	SQDFA05	580	(M+H)+	0.50
pd35	ZMeGly	MeAbu(5-Oxo-Odz)	MeGly	pip	SQDFA05	545	(M+H)+	0.61
pd36	ZMeGly	Gln(Ms)	MeGly	pip	SQDFA05	568	(M+H)+	0.58
pd37	ZMeGly	Ser(S-4-F2-Pyrro-Me)	MeGly	pip	SQDFA05	566	(M-H)-	0.48

[0450] (参照例3-4) pKaを実測したペプチド化合物の構造情報

[表26]

ID	構造式
pd30	
pd31	
pd32	
pd33	

ID	構造式
pd34	
pd35	
pd36	
pd37	

[0451] 実測値のbasic pKaが9.1、計算値のbasic pKaが8.9のアミノ酸であるSer(Et-2-NMe₂)を含む配列は、 $1.21 \leq \text{ClogP}/\text{total aa} \leq 1.36$ の範囲で、実測値のpKaが3.8、計算値のpKaが5.3のアミノ酸であるGln(Ms)を含む配列は $1.20 \leq \text{ClogP}/\text{total aa} \leq 1.33$ の範囲で

膜透過性の評価を行った（p d 5 0～p d 7 0）。一方、MeAbu(pip-4-F2)、MeAbu(Mor)、Ser(Et-2-Mor)、MeAbu(pip-3-F2)、Abu(5-0xo-0dz)を含む配列で膜透過性、 $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$ を達成したものの例を以下に示す（p d 3 8 6－p d 3 9 5、p d 4 5 2－p d 4 5 4、p d 4 8 2－p d 4 8 7）。

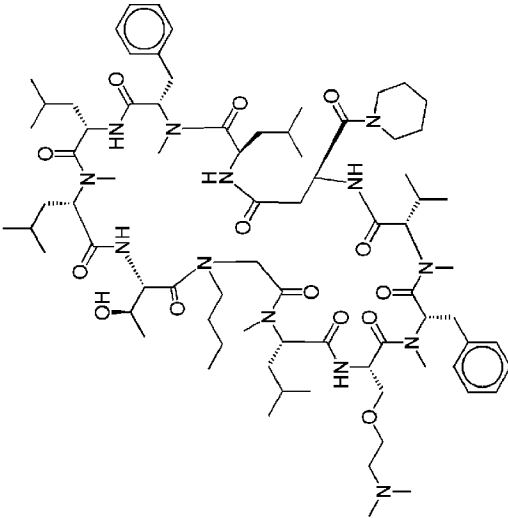
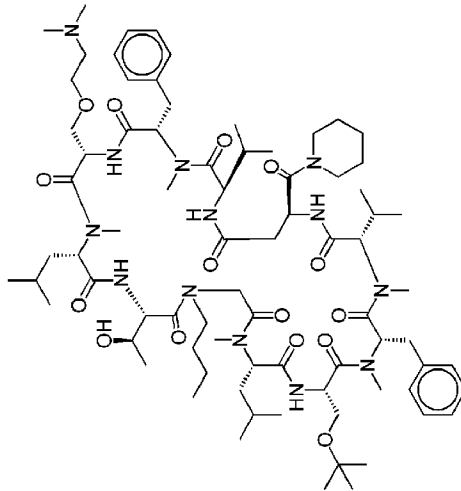
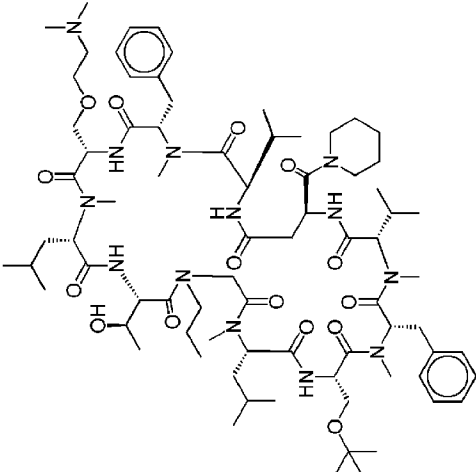
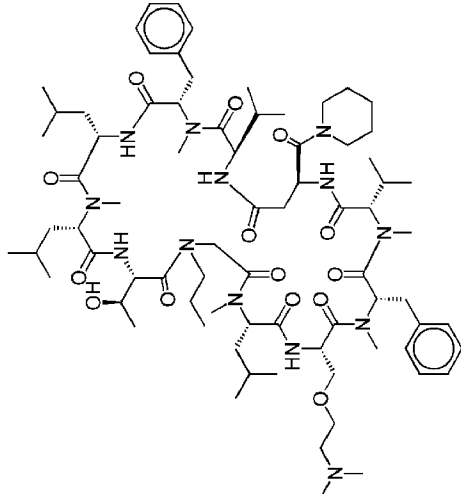
[0452] （参照例 3－5）Ser(Et-2-NMe2)またはGln(Ms)を含む環状ペプチド化合物の膜透過性

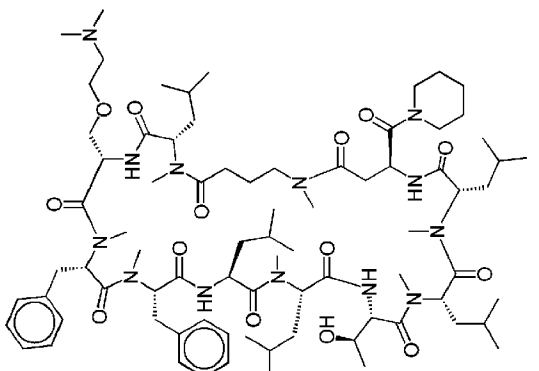
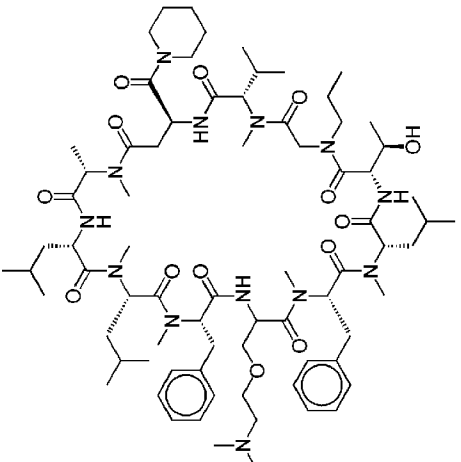
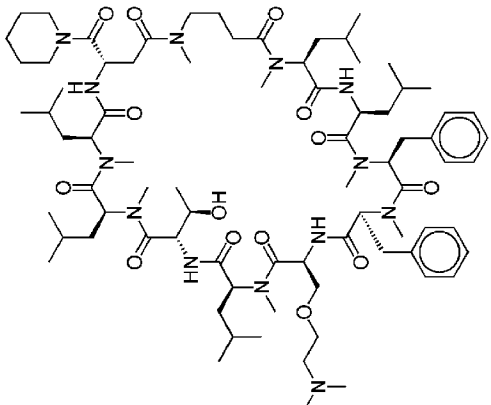
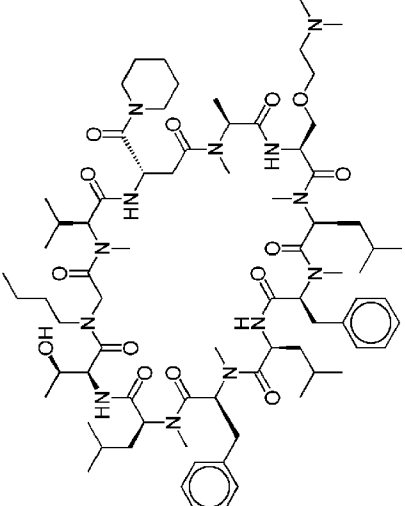
[表27]

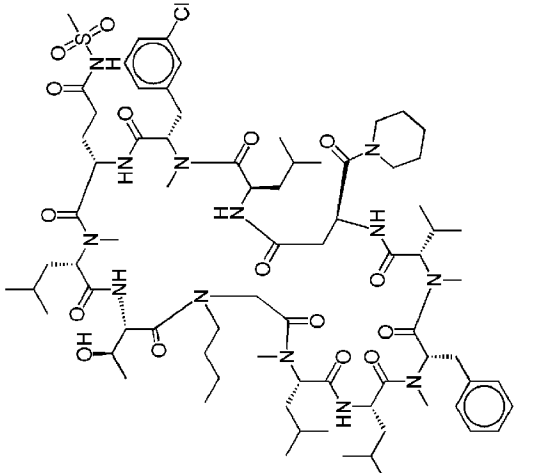
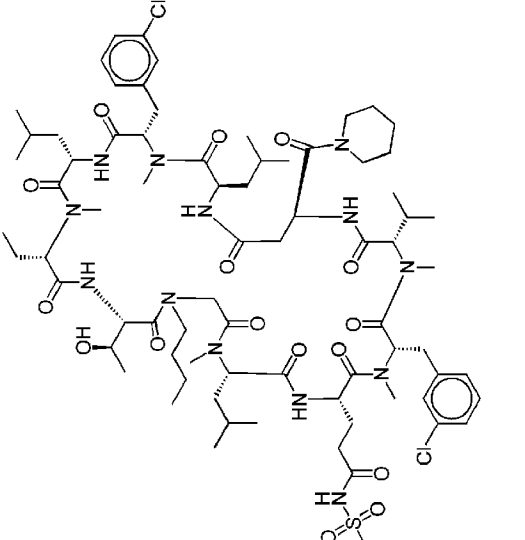
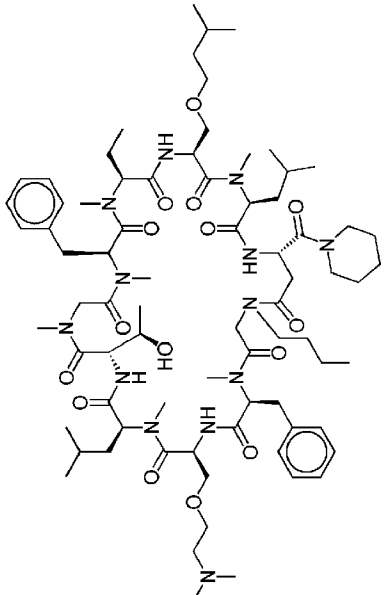
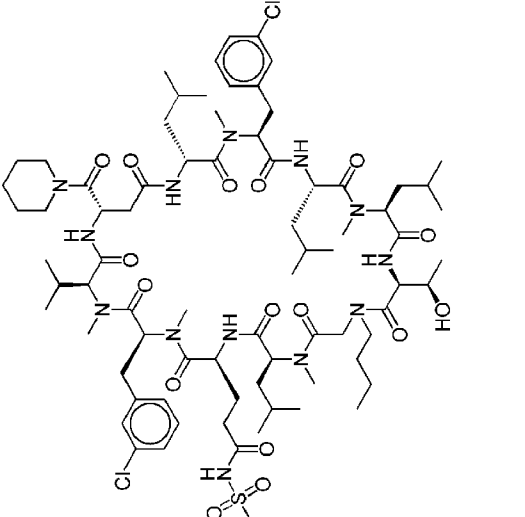
化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	cLogP/ total AA	Caco-2
pd50	D-Val	MePhe	Ser(Et-2-NMe2)	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.21	1.5E-07
pd51	D-Leu	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(Et-2-NMe2)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.36	7.0E-08
pd52	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Ser(Et-2-NMe2)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.26	1.2E-07
pd53	D-Val	MePhe	Ser(Et-2-NMe2)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.26	1.4E-07
pd54	gMeAbu	MeLeu	Leu	MePhe	MePhe	Ser(Et-2-NMe2)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.22	7.3E-08
pd55	gMeAbu	MeLeu	Ser(Et-2-NMe2)	MePhe	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.22	1.0E-07
pd56	MeAla	Ser(Et-2-NMe2)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeVal	Asp	pip	1.28	1.2E-07
pd57	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(Et-2-NMe2)	MePhe	MeLeu	Thr	nPrGly	MeVal	Asp	pip	1.23	1.2E-07
pd58	nBuGly	MePhe	Ser(Et-2-NMe2)	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeAbu	Ser(Pen)	MeLeu	Asp	pip	1.22	2.1E-08
pd59	D-Leu	MePhe(3-Cl)	Gln(Ms)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Leu	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.23	<8.8E-09
pd60	D-Leu	MePhe(3-Cl)	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Gln(Ms)	MePhe(3-Cl)	MeVal	Asp	pip	1.29	1.0E-08
pd61	D-Leu	MePhe(3-Cl)	Leu	MeAbu	Thr	nBuGly	MeLeu	Gln(Ms)	MePhe(3-Cl)	MeVal	Asp	pip	1.21	<9.4E-08
pd62	MeLeu	Gln(Ms)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeVal	Asp	pip	1.22	<1.3E-07
pd63	MeAbu	Gln(Ms)	MeLeu	MePhe(3-Cl)	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeVal	Asp	pip	1.20	<1.0E-07
pd64	MeLeu	Leu	MeAbu	MePhe	Gln(Ms)	MePhe(3-Cl)	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.25	1.5E-07
pd65	nBuGly	MePhe	Gln(Ms)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	pip	1.24	6.0E-08
pd66	nBuGly	MePhe(3-Cl)	Gln(Ms)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	pip	1.30	9.0E-08
pd67	D-Val	MePhe	Gln(Ms)	MeLeu	Leu	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.26	6.0E-08
pd68	gMeAbu	MeLeu	Leu	MePhe	MePhe	Gln(Ms)	MeLeu	Leu	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.22	1.0E-07
pd69	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Gln(Ms)	MePhe	MeLeu	Leu	nBuGly	MeVal	Asp	pip	1.33	<1.4E-07
pd70	nBuGly	MePhe	Gln(Ms)	MeLeu	Leu	MeGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	pip	1.28	1.7E-07

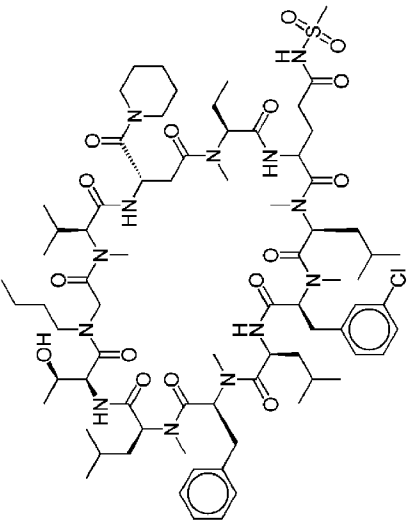
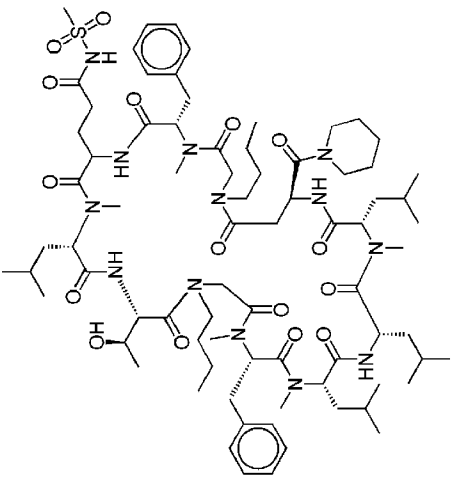
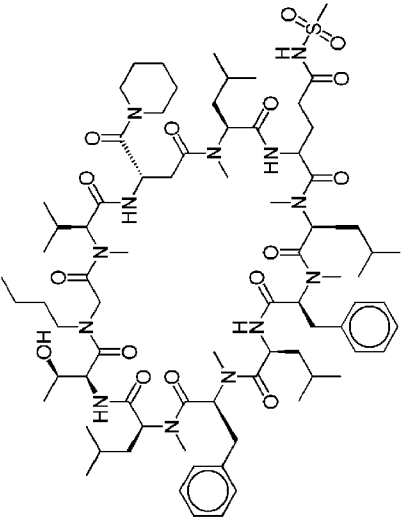
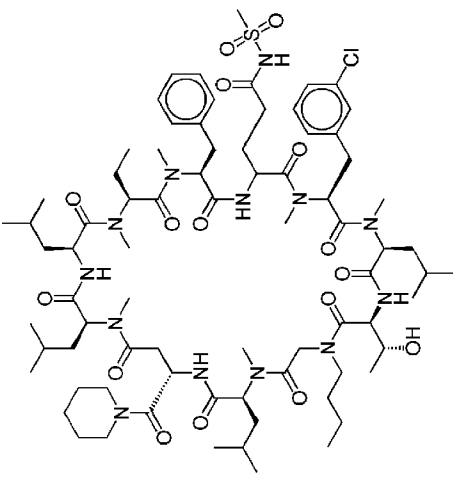
[0453] 環状ペプチドpd50～pd70の構造を以下に示す。（なお環状ペプチドの構造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している場合もある）

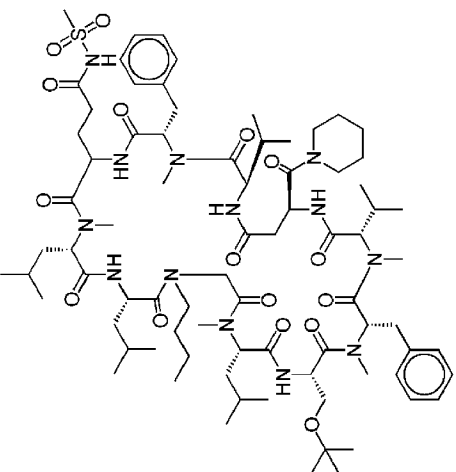
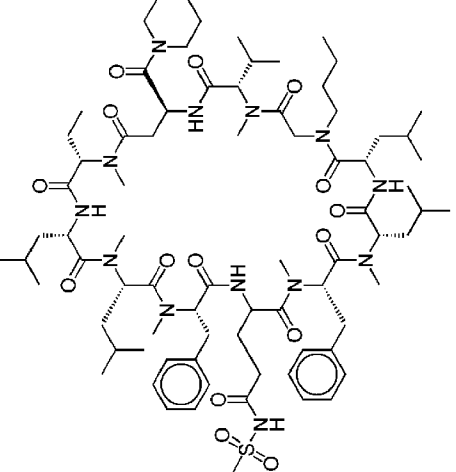
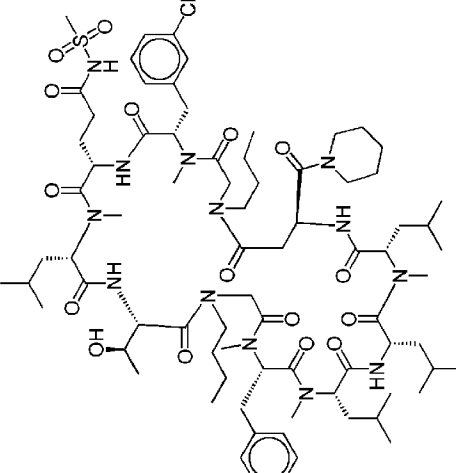
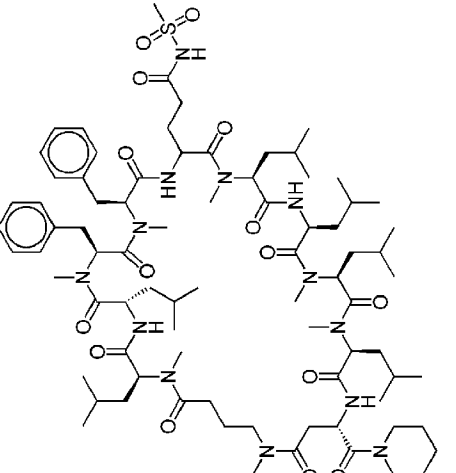
[0454] [表28]

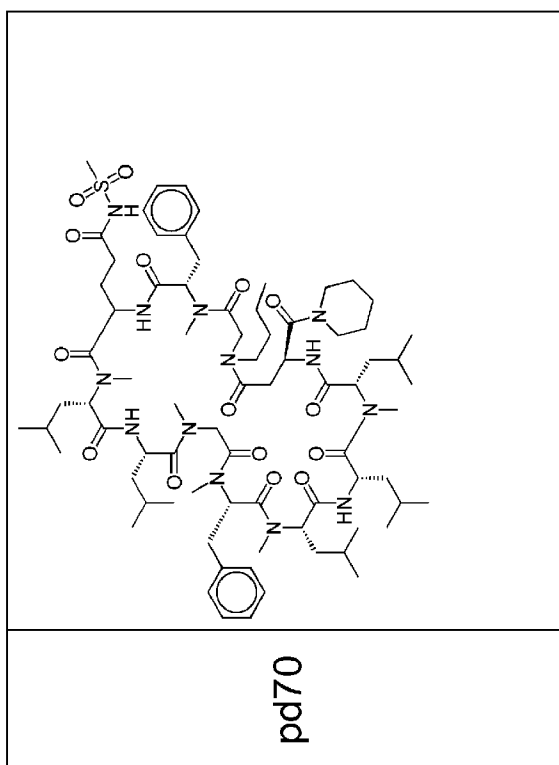
ID	構造式	ID	構造式
pd51		pd53	
pd50		pd52	

 Chemical structure of compound pd55, a macrocyclic peptide derivative. It features a long chain of amino acid residues linked by amide bonds, forming a large ring. The structure includes various side chains, including a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxyl group.	 Chemical structure of compound pd57, a macrocyclic peptide derivative. It features a long chain of amino acid residues linked by amide bonds, forming a large ring. The structure includes various side chains, including a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxyl group.
pd55	pd57
 Chemical structure of compound pd54, a macrocyclic peptide derivative. It features a long chain of amino acid residues linked by amide bonds, forming a large ring. The structure includes various side chains, including a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxyl group.	 Chemical structure of compound pd56, a macrocyclic peptide derivative. It features a long chain of amino acid residues linked by amide bonds, forming a large ring. The structure includes various side chains, including a piperidine ring, a phenyl group, and a hydroxyl group.
pd54	pd56

 Chemical structure of compound pd59, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, a p-toluenesulfonyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of compound pd61, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, a p-toluenesulfonyl group, and a piperidine ring.
pd59	pd61
 Chemical structure of compound pd58, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, a p-toluenesulfonyl group, and a piperidine ring.	 Chemical structure of compound pd60, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, a p-chlorophenyl group, a p-toluenesulfonyl group, and a piperidine ring.
pd58	pd60

	
pd63	pd65
	
pd62	pd64

	
pd67	pd69
	
pd66	pd68



[0455] (参照例 3 - 6) MeAbu(pip-4-F2)、MeAbu(Mor)、Ser(Et-2-Mor)、MeAbu(pip-3-F2)、Abu(5-0xo-0dz)を含む環状ペプチド化合物で $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒を達成したものの例

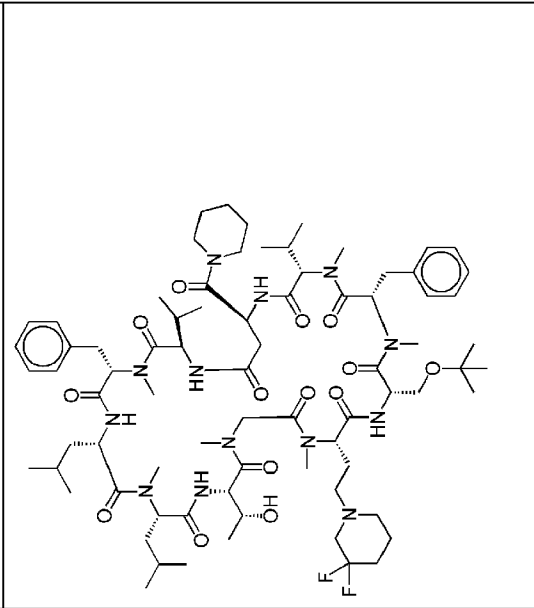
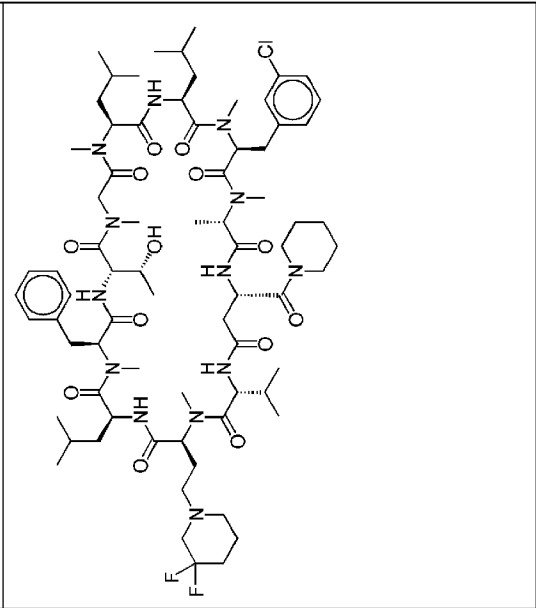
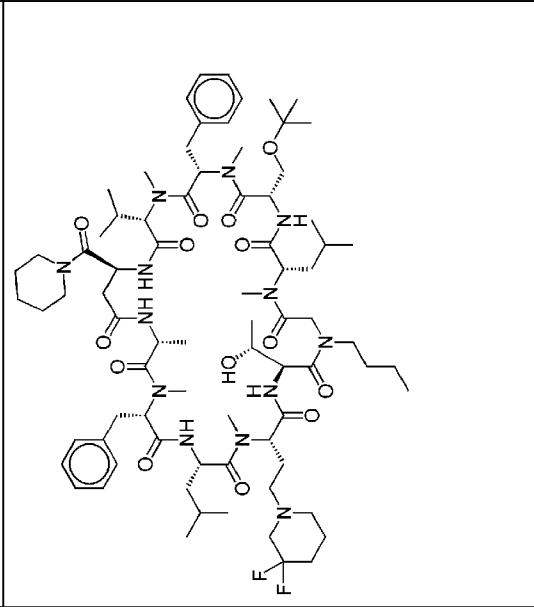
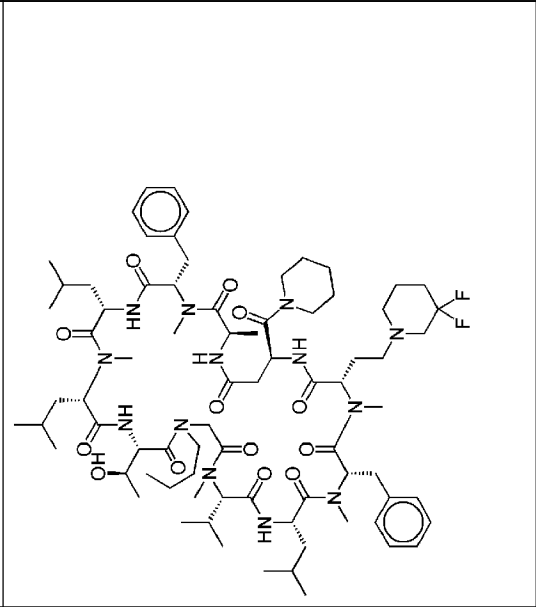
[表29]

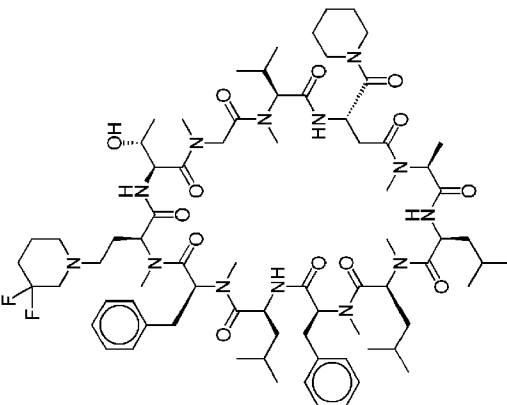
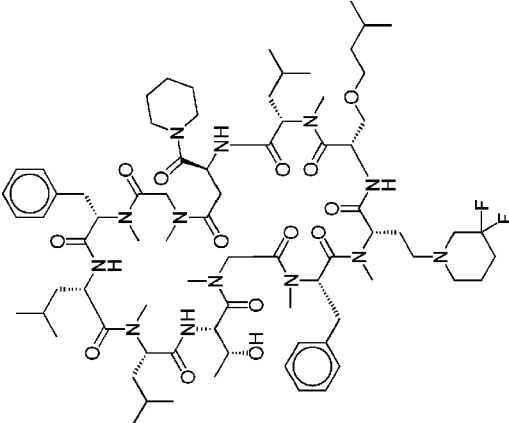
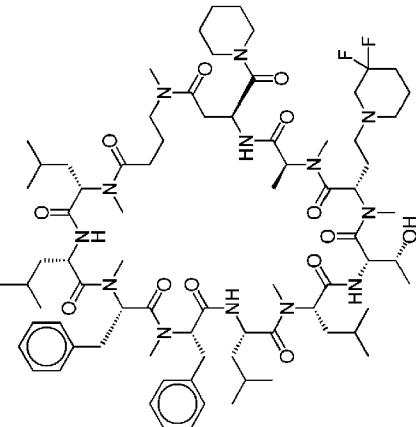
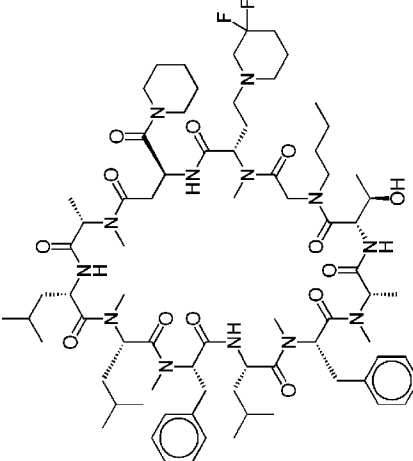
化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	cLogP/ total AA	Caco-2
pd386	D-Ala	MePhe	Leu	MeAbu(pip-3-F2)	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.26	2.3E-06
pd387	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeAbu(pip-3-F2)	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.19	3.5E-06
pd388	D-Ala	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeVal	Leu	MePhe	MeAbu(pip-3-F2)	Asp	pip	1.31	1.9E-06
pd389	D-Val	MeAbu(pip-3-F2)	Leu	MePhe	Thr	MeGly	MeLeu	Leu	MePhe(3-CI)	MeAla	Asp	pip	1.22	1.1E-06
pd390	g-MeAbu	MeLeu	Leu	MePhe	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeAbu(pip-3-F2)	MeAla	Asp	pip	1.17	2.0E-06
pd391	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeAbu(pip-3-F2)	Thr	MeGly	MeVal	Asp	pip	1.21	2.4E-06
pd392	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeAla	Thr	nBuGly	MeAbu(pip-3-F2)	Asp	pip	1.27	3.5E-06
pd393	MeGly	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeAbu(pip-3-F2)	Ser(tPen)	MeLeu	Asp	pip	1.22	2.8E-06
pd394	D-Val	MePhe	Leu	MeAbu(pip-4-F2)	Thr	nBuGly	MeLeu	Leu	MePhe	MeAla	Asp	pip	1.22	1.8E-06
pd395	nBuGly	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeAbu(pip-4-F2)	Leu	MeVal	Asp	pip	1.24	1.7E-06
pd452	D-Leu	MePhe	Leu	MeAbu(Mor)	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.25	1.3E-06
pd453	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeAbu(Mor)	Thr	nBuGly	MeVal	Asp	pip	1.22	2.3E-06
pd454	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeAbu(Mor)	Asp	pip	1.27	1.2E-06
pd482	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(Et-2-Mor)	MeAbu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.29	1.1E-06
pd483	MeAbu	Ser(Et-2-Mor)	MeLeu	MeAbu	Val	MePhe	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.24	1.9E-06
pd484	MeGly	MeLeu	Ser(Et-2-Mor)	MeLeu	Thr	nBuGly	MePhe	MeLeu	Val	MeLeu	Asp	pip	1.23	1.8E-06
pd485	gMeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeAbu	Ser(tBu)	MeLeu	Ser(Et-2-Mor)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.28	1.2E-06
pd486	MeGly	MeAbu	Val	MeLeu	Ser(Et-2-Mor)	nBuGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	pip	1.34	1.1E-06
pd487	MeAbu	Leu	MeLeu	MePhe	Abu(5-Oxo-Oaz)	MeLeu	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Asp	pip	1.26	2.2E-06

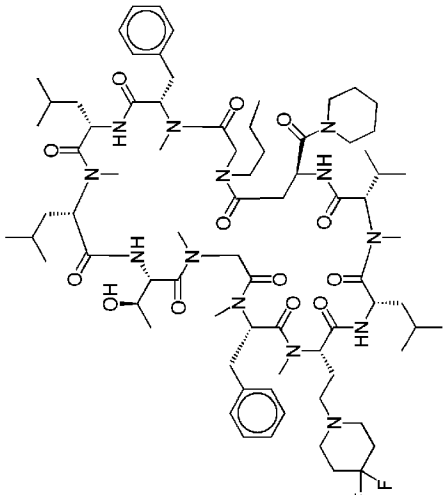
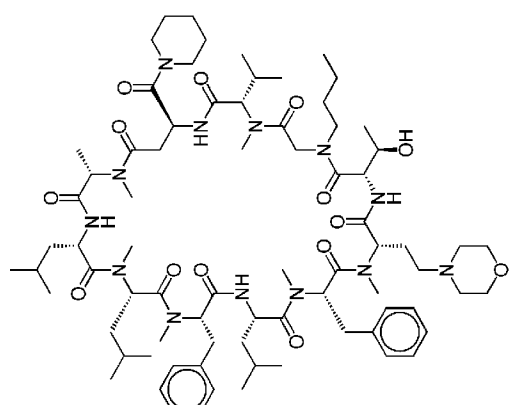
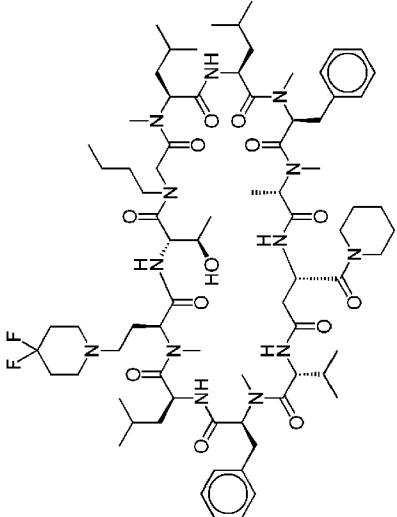
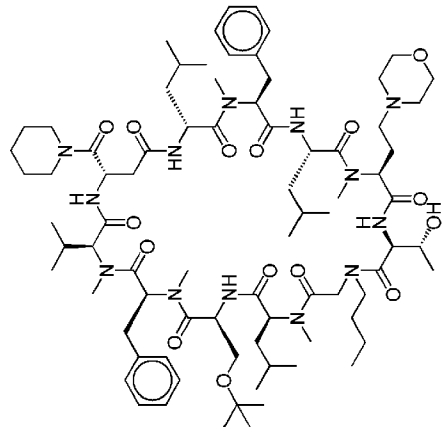
[0456] 環状ペプチド pd386～pd395、pd452～pd454、pd482～487の構造を以下に示す。（なお環状ペプチドの構造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している

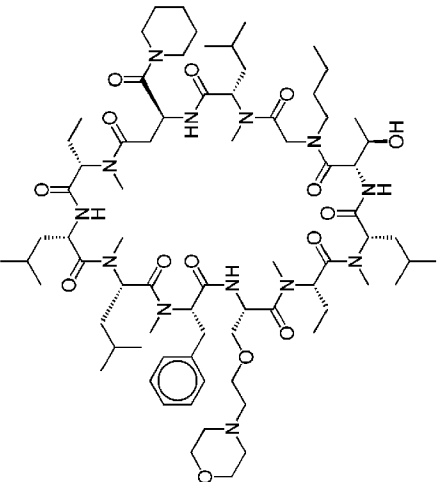
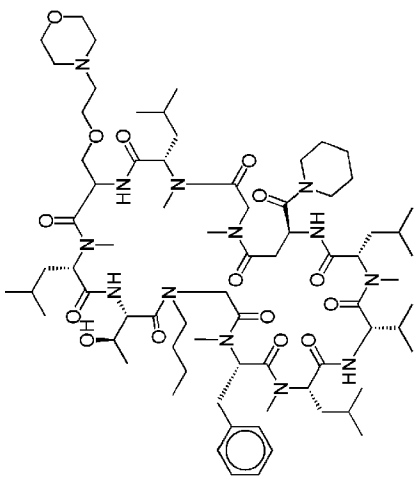
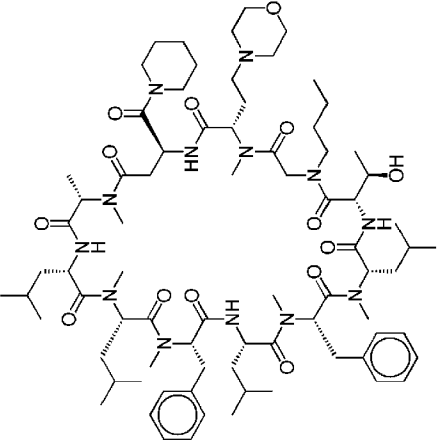
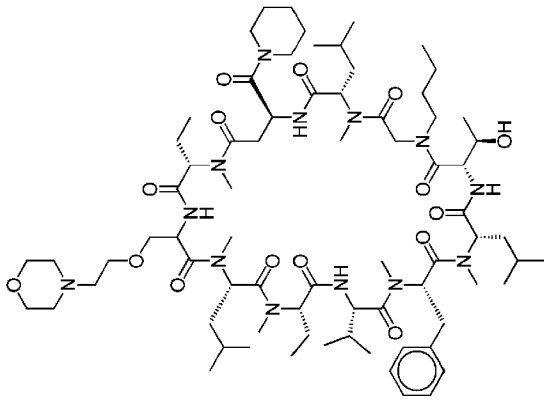
場合もある)

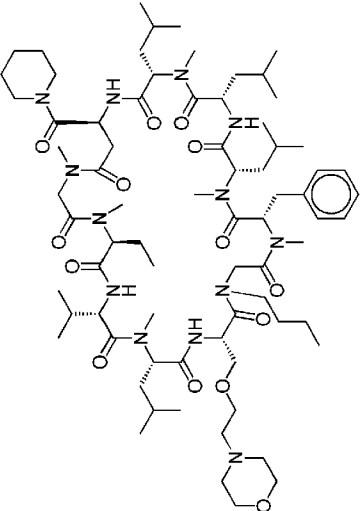
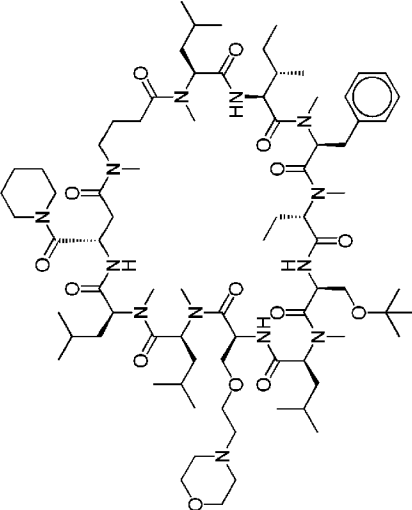
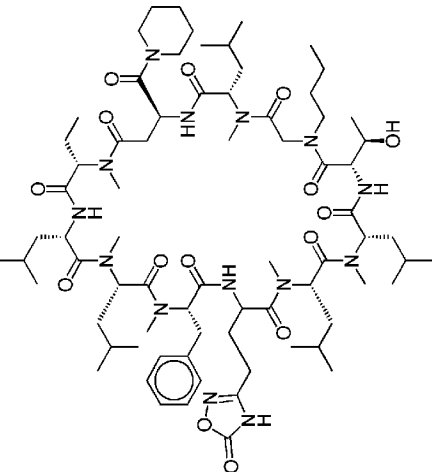
[0457] [表30]

構造式		
ID	pd387	pd389
構造式		
ID	pd386	pd388

	
pd391	pd393
	
pd390	pd392

	
pd395	pd453
	
pd394	pd452

	
pd482	pd484
	
pd454	pd483

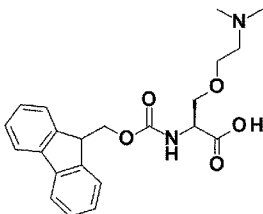
	
pd486	
	
pd485	pd487

[0458] (参照例 3-7) Fmoc アミノ酸の合成

pKa 実測に用いた 3 残基ペプチドおよび膜透過性を評価した環状ペプチドを合成するために使用した Fmoc-Ser(Et-2-NMe₂)-OH (化合物 t m O 1)、Fmoc-MeAbu(pip-4-F₂)-OH (化合物 t m O 4)、Fmoc-MeAbu(pip-3-F₂)-OH (化合物 t m 1 0)、Fmoc-MeAbu(Mor)-OH (化合物 t m 1 9)、Fmoc-Ser(Et-2

-Mor)-OH (化合物 t m 2 0)、Fmoc-Abu(5-Oxo-0dz)-OH (化合物 t m 2 1)、Fmoc-Gln(Ms)-OH (化合物 t m 2 2) は以下のように合成した。

[0459] N-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-L-セリン (化合物 t m 0 1、Fmoc-Ser(Et-2-NMe2)-OH) の合成



窒素雰囲気下、市販のトリチル-L-セリン (Trt-Ser-OH) のトリエチルアミン塩 (5 g、11.15 mmol) にジメチルホルムアミド (DMF) (40 mL) を加えた後、ナトリウムtert-ペントキシド (7.36 g、66.9 mmol) を室温にて加え、30分攪拌した。反応液に室温にて、2-クロロ-N,N-ジメチルエタン-1-アミン塩酸塩 (4.01 g、27.9 mmol) を加え、終夜攪拌した。反応液にギ酸 (6.41 mL、167 mmol) を加え、逆相カラムクロマトグラフィー (10 mM 酢酸アンモニウム水溶液/メタノール) で精製し、O-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-N-トリチル-L-セリン (Trt-Ser(Et-2-NMe2)-OH) (4.1 g) を得た。

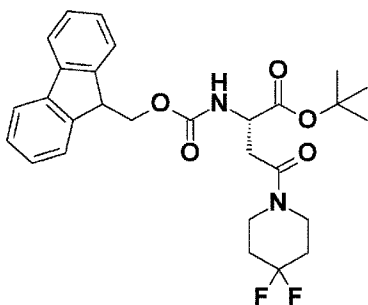
得られた、O-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-N-トリチル-L-セリン (Trt-Ser(Et-2-NMe2)-OH) (4.1 g、9.80 mmol) にジクロロメタン (10 mL) を加えた後、4 N 塩酸/1,4-ジオキサン溶液 (40 mL、160 mmol)、水 (4 mL) を加え、室温で3時間攪拌した。反応液に水 (80 mL) を加え、ヘキサンで2回洗浄し、得られた水層に0度にて炭酸ナトリウム (26.0 g、245 mmol)、1,4-ジオキサン (120 mL)、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド (Fmoc-OSu) (3.97 g、11.76 mmol) を加え、室温にて2時間攪拌した。反応液にギ酸 (11.28 mL、294 m

mol)を加えた後、減圧下1, 4-ジオキサンを留去し、得られた水層を逆相カラムクロマトグラフィー(0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル溶液)で精製することでN-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-L-セリン(化合物t m O 1、Fmoc-Ser(Et-2-NMe2)-OH)のギ酸塩(3.07g、3工程69%)を得た。得られたN-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-L-セリン(化合物t m O 1、Fmoc-Ser(Et-2-NMe2)-OH)のギ酸塩(3.0g、7.53mmol)にジクロロメタン(4mL)、4N塩酸/1, 4-ジオキサン溶液(9.411mL、37.6mmol)を加え、室温にて20分撹拌した。反応液を減圧濃縮することで、N-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-(ジメチルアミノ)エチル)-L-セリン(化合物t m O 1、Fmoc-Ser(Et-2-NMe2)-OH)の塩酸塩(2.7g、82%)を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 399$ (M+H)⁺

保持時間: 0.50分(分析条件SQDFA05)

[0460] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(4,4-ジフルオロピペリジン-1-イル)-4-オキソブタン酸tert-ブチル(化合物t m O 2、Fmoc-Asp(pip-4-F2)-OtBu)の合成



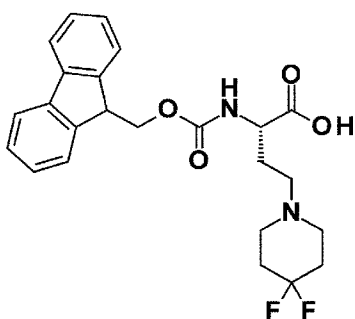
窒素雰囲気下、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(WSC·HCl)のN,N-ジメチルホルムアミド溶液(12mL)に0度で1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBt)(72

3 mg、5.35 mmol) と市販で購入した (S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(tert-ブトキシ)-4-オキソブタン酸 (Fmoc-Asp-OBu) (2 g、4.86 mmol) を加え 1 時間攪拌した。反応液に 4,4-ジフルオロピペリジン塩酸塩 (843 mg、5.35 mmol) と N-エチル-N-イソプロピルプロパン-2-アミン (DIPPA) (931 μ L、5.35 mmol) の N,N-ジメチルホルムアミド溶液 (2 mL) を加え 0 度で 3 時間攪拌した。反応液に水を加え酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を合わせたものを 0.5 M 塩酸水溶液、水、50% 炭酸水素ナトリウム水溶液、50% 食塩水で洗浄後、得られた有機層を減圧濃縮する事で (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(4,4-ジフルオロピペリジン-1-イル)-4-オキソブタン酸 tert-ブチル (化合物 t m 0 2、Fmoc-Asp(pip-4-F2)-OBu) (2.635 g) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 515 (M+H)⁺

保持時間: 0.97 分 (分析条件 SQDFA05)

[0461] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(4,4-ジフルオロピペリジン-1-イル)ブタン酸 (化合物 t m 0 3、Fmoc-Abu(pip-4-F2)-OH) の合成



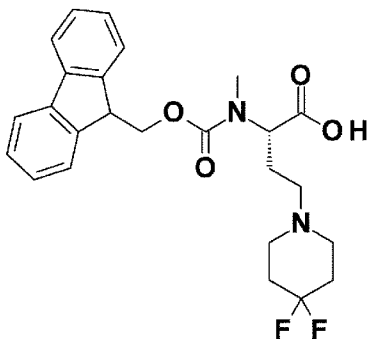
窒素雰囲気下、三ルテニウムドデカカルボニル (62 mg、0.097 mmol) のテトラヒドロフラン溶液 (5 mL) に 1,1,3,3-テトラメチルジシロキサン (2.76 mL、15.55 mmol) を加え室温にて 10 分間攪拌した。反応液にテトラヒドロフラン (7 mL) に溶解した (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミ

ノ) - 4 - (4, 4-ジフルオロピペリジン-1-イル) - 4-オキソブタン酸 *tert*-ブチル (化合物 *tm* 02、Fmoc-Asp(pip-4-F2)-OtBu) (1.0 g、1.943 mmol) を加え、50度にて3時間攪拌した後、反応液を減圧濃縮した。得られた残渣を2, 2, 2-トリフルオロエタノール (10 mL) に溶解し、トリメチルクロロシラン (745 μ L、5.83 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。反応液を減圧濃縮した後、得られた残渣を1, 4-ジオキサン (5 mL) と2 N塩酸水溶液 (10 mL) に溶解し、室温で1時間攪拌した。反応液を *tert*-ブチルメチルエーテルで2回抽出し、有機層を減圧濃縮した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル溶液) にて精製し、(S) - 2 - (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - (4, 4-ジフルオロピペリジン-1-イル) ブタン酸 (化合物 *tm* 03、Fmoc-Abu(pip-4-F2)-OH) (540 mg、63%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 445 (M+H)⁺

保持時間: 0.56分 (分析条件SQDFA05)

[0462] (S) - 2 - (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ) - 4 - (4, 4-ジフルオロピペリジン-1-イル) ブタン酸 (化合物 *tm* 04、Fmoc-MeAbu(pip-4-F2)-OH) の合成

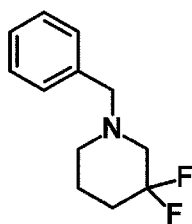


窒素雰囲気下、(S) - 2 - (((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - (4, 4-ジフルオロピペリジン-1-イル) ブタン酸 (化合物 *tm* 03、Fmoc-Abu(pip-4-F2)-OH) (13 g、9

、25 mmol)、パラホルムアルデヒド(2.6 g、28.86 mmol)とトリフルオロ酢酸(30.59 g、263.71 mmol)のトルエン溶液(60 mL)を室温で16時間攪拌した。反応液を減圧濃縮した後、ジクロロメタンに溶解し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄した後、得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、減圧濃縮した。得られた残渣を順相シリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル/酢酸エチル)にて精製し、中間体である(S)-4-(2-(4,4-ジフルオロピペリジン-1-イル)エチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸(9H-フルオレン-9-イル)メチル(10.9 g、82%)を得た。得られた中間体(6 g、13.14 mmol)をトリフルオロ酢酸(65 mL)とジクロロエタン(65 mL)に溶解し室温にてトリエチルシラン(13.5 g、116.1 mmol)を加え、70度にて4時間攪拌した。反応液を室温に戻した後、減圧濃縮し得られた残渣をジクロロメタンに溶解した。有機層を水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過、減圧濃縮した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー(0.5%塩酸水溶液/0.5%塩酸アセトニトリル溶液)にて精製し、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-(4,4-ジフルオロピペリジン-1-イル)ブタン酸(化合物 t m 0 4、Fmoc-MeAbu(pip-4-F2)-OH)(4.0 g、66%)を得た。
LCMS (ESI) m/z = 459 (M+H)⁺

保持時間: 2.71分(分析条件 SMD method 28)

[0463] 1-ベンジル-3,3-ジフルオロピペリジン(化合物 t m 0 5)の合成



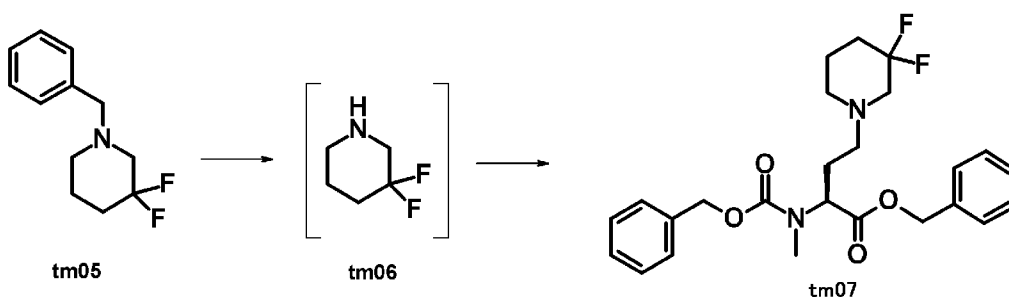
窒素雰囲気下、1-ベンジルピペリジン-3-オン(60 g、317.03 mmol)のジクロロメタン溶液に0度にてジメチルアミノ三フッ化硫黄

(DAST) (150 g、4.04 mol) を加え2時間攪拌した。その後、反応液に300 mLの飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、酢酸エチルにて3回抽出を行い、有機層を合わせた物を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、ろ過を行い、得られた有機層を減圧濃縮することで粗生成物である1-ベンジル-3,3-ジフルオロピペリジン (化合物 tm05) (31 g、46%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 212$ (M+H)⁺

保持時間: 0.94分 (分析条件 SMD method 31)

[0464] (S)-2-((ベンジルオキシ)カルボニル)-(メチル)アミノ)-4-(3,3-ジフルオロピペリジン-1-イル)ブタン酸ベンジル (化合物 tm07、Cbz-MeAbu(pip-3-F2)-OBn) の合成



得られた粗生成物1-ベンジル-3,3-ジフルオロピペリジン (化合物 tm05) を200 mLのメタノールに溶解し、10%パラジウム/炭素 (1 g) を加え、水素雰囲気下室温にて48時間攪拌した。反応液をろ過し、得られたろ液を減圧濃縮する事で3,3-ジフルオロピペリジン (化合物 tm06) (19 g) を粗生成物として得た。

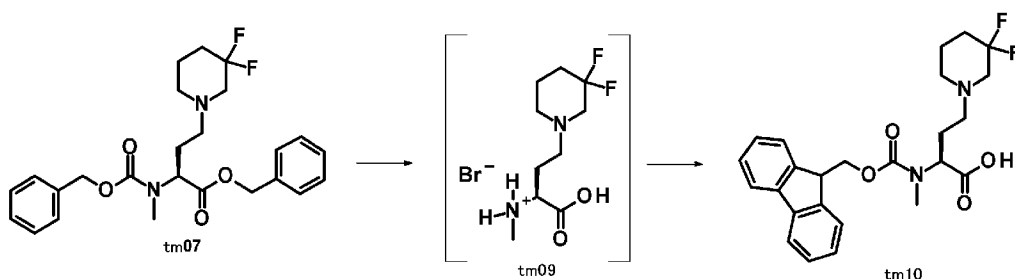
別途合成した、(S)-2-((ベンジルオキシ)カルボニル)-(メチル)アミノ)-4-(エチルチオ)-4-オキソブタン酸ベンジル (化合物 tm08、Cbz-MeAsp(SET)-OBn) (20 g、48.13 mmol)、3,3-ジフルオロピペリジン (化合物 tm06) (8.26 g、68.19 mmol)、トリエチルシラン (40 mL)、10%パラジウム/炭素 (2.6 g) のN,N-ジメチルホルムアミド溶液 (20 mL) に0度にてナトリウムトリアセトキシボロヒドリド (NaBH(OAc)₃) (20.4 g、20

4 mmol) を加え、室温にて30分間攪拌した。反応液をろ過、減圧濃縮することで得た粗生成物を順相シリカゲルクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル）にて精製し、(S)-2-(((ベンジルオキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-(3,3-ジフルオロピペリジン-1-イル)ブタン酸ベンジル（化合物tm07、Cbz-MeAbu(pip-3-F2)-OBn）（11g、50%）を得た。

LCMS (ESI) m/z = 461 (M+H)⁺

保持時間：1.42分（分析条件SMD method32）

[0465] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-(3,3-ジフルオロピペリジン-1-イル)ブタン酸（化合物tm10、Fmoc-MeAbu(pip-3-F2)-OH）の合成



(S)-2-(((ベンジルオキシ)カルボニル)(メチル)アミノ)-4-(3,3-ジフルオロピペリジン-1-イル)ブタン酸ベンジル（化合物tm07、Cbz-MeAbu(pip-3-F2)-OBn）（20g、43.43mmol）を33%臭化水素酢酸溶液に溶解し、室温にて2時間攪拌した後、50度にてさらに1時間攪拌した。反応溶液を減圧濃縮することで得た残渣をジエチルエーテルにて沈殿させ、(2S)-4-(3,3-ジフルオロピペリジン-1-イル)-2-(メチルアミノ)ブタン酸の臭化物（化合物tm09）（29g）を粗生成物として得た。

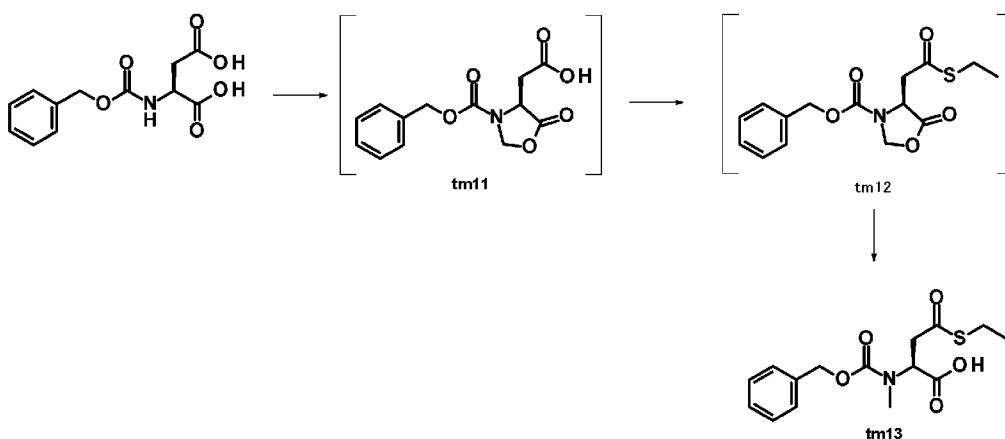
上述の粗生成物である(2S)-4-(3,3-ジフルオロピペリジン-1-イル)-2-(メチルアミノ)ブタン酸の臭化物（化合物tm09）（7.08g、29.97mmol）とN-(9-フルオレニルメトキシカル

ボニルオキシ) スクシンイミド (Fmoc-OSu) (16 g、47.48 mmol) を炭酸カリウムの水／1, 4-ジオキサン溶液＝1／1 (300 mL) に溶解し室温にて4時間攪拌した。その後反応液をジエチルエーテルにて3回洗浄し、塩酸で水層のpHを3に調節し、酢酸エチルにて2度抽出した。得られた有機層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過、減圧濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (10 mmol 炭酸水素アンモニウム水溶液／アセトニトリル) にて精製し、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ)-4-(3, 3-ジフルオロピペリジン-1-イル) ブタン酸 (化合物 tm10、Fmoc-MeAbu(pip-3-F2)-OH) (7.2 g、71%) を得た。

LCMS (ESI) m/z = 459 (M+H)⁺

保持時間: 1.61分 (分析条件 SMD method 5)

[0466] (S)-2-(((ベンジルオキシ) カルボニル) (メチル) アミノ)-4-(エチルチオ)-4-オキソブタン酸 (化合物 tm13、Cbz-MeAsp(SET)-OH) の合成



窒素雰囲気下、((ベンジルオキシ) カルボニル) -L-アスパラギン酸 (Cbz-Asp-OH) (200 g、748.41 mmol) とパラホルムアルデヒド (67.5 g、749.35 mmol) と p-トルエンスルホン酸 (7.74 g、44.95 mmol) のトルエン溶液 (2000 mL) を 110 度に昇温し、3日間攪拌した。反応液を室温にした後、水を加え酢酸エチルにて3回抽出した。合わせた有機層を飽和食塩水で洗浄し、得られた有機層を

無水硫酸ナトリウムで乾燥させた後、ろ過、減圧濃縮することで、(S) - 2 - (3 - ((ベンジルオキシ)カルボニル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 4 - イル) 酢酸 (化合物 t m 1 1) を粗生成物として得た (200 g)。

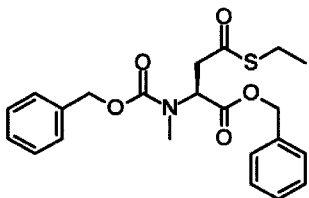
上述と同様の方法で合成した (S) - 2 - (3 - ((ベンジルオキシ)カルボニル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 4 - イル) 酢酸 (化合物 t m 1 1) (265 g、948.99 mmol) の粗生成物とエタンチオール (88.3 g、1.42 mol) と 4 - ジメチルアミノピリジン (DMAP) (11.59 g、95 mmol) のジクロロメタン溶液に 0 度にて N, N' - ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) (214 g、1.04 mol) を加え、室温にて 5 時間攪拌した。反応溶液をろ過し、得られたろ液を飽和食塩水で洗浄し、得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させた後、ろ過、減圧濃縮した。得られた粗生成物を順相シリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) にて精製し、(S) - 4 - (2 - (エチルチオ) - 2 - オキソエチル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 3 - カルボン酸ベンジル (化合物 t m 1 2) (167 g) の混合物を得た。

得られた (S) - 4 - (2 - (エチルチオ) - 2 - オキソエチル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 3 - カルボン酸ベンジル (化合物 t m 1 2) (139 g、1.20 mol) のジクロロメタン (DCM) とトリフルオロ酢酸溶液 (1500 mL / 1500 mL) にトリエチルシラン (139 g、1.2 mol) を加え、室温にて 3 日間攪拌した。反応液を減圧濃縮し得られた残渣に炭酸カリウム水溶液を加え、ジエチルエーテルで 3 度洗浄した。得られた水層を 2 N 塩酸水溶液で pH を 3 に調節したものに対して酢酸エチルで 2 度抽出した。合わせた有機層を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させた後、ろ過、減圧濃縮し、(S) - 2 - ((ベンジルオキシ)カルボニル) (メチル) アミノ - 4 - (エチルチオ) - 4 - オキソブタン酸 (化合物 t m 1 3、Cbz-MeAsp(SEt)-OH) (75 g) の粗生成物を得た。

LCMS (ESI) m/z = 326 (M+H)⁺

保持時間：1.00分（分析条件SMD method16）

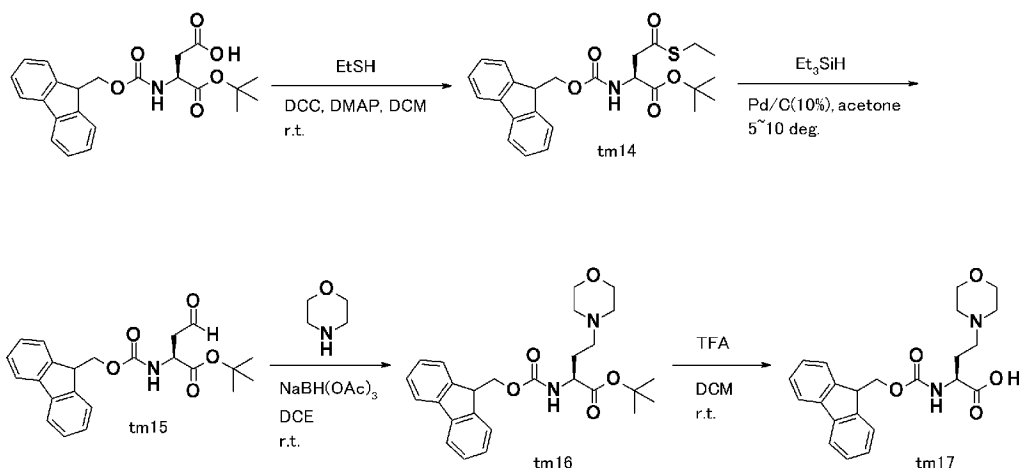
[0467] (S)-2-(((benzyloxycarbonyl)methyl)amino)-4-((ethylthio)-4-oxobutanoate)benzyl (compound tm08, Cbz-MeAsp(SEt)-OBn)の合成



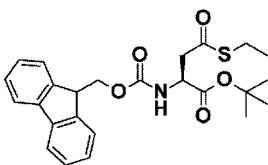
室温下、(S)-2-(((benzyloxycarbonyl)methyl)amino)-4-((ethylthio)-4-oxobutanoate)benzyl (化合物tm13, Cbz-MeAsp(SEt)-OH) (3g、9.22mmol)の粗生成物と炭酸カリウム (1.9g、13.65mmol)のN,N-ジメチルホルムアミド溶液 (46mL)にベンジルブロミド (1.73g、10.11mmol)を加え16時間攪拌した後ろ過をした。得られたろ液を減圧濃縮し、得られた残渣を順相シリカゲルクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル)にて精製し、(S)-2-(((benzyloxycarbonyl)methyl)amino)-4-((ethylthio)-4-oxobutanoate)benzyl (化合物tm08, Cbz-MeAsp(SEt)-OBn) (1.5g)を得た。

$^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3) : δ 7.36–7.31 (m, 10H), 5.19–4.89 (m, 5H), 3.34–2.85 (m, 7H), 1.30–1.21 (m, 3H)

[0468] (S)-2-(((9H-fluorenyl)methoxycarbonyl)methyl)amino)-4-morpholinobutanoate (化合物tm17, Fmoc-Abu(Mor)-OH)の合成は、以下のスキームに従って行った。



[0469] (S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - (エチルチオ) - 4 - オキソブタン酸 t e r t - ブチル (化合物 t m 1 4 、 Fmoc-Asp(SEt)-OtBu) の合成

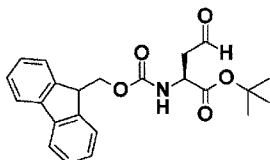


(S) - 3 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - (t e r t - ブトキシ) - 4 - オキソブタン酸 (Fmoc-Asp-OtBu) (5 g、12.15 mmol)、4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) (148 mg、1.22 mmol) およびエタンチオール (EtSH) (1.13 g、18.19 mmol) をジクロロメタン (DCM) (50 mL) に溶解し、氷冷下で N, N' - ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) (2.756 g、1.337 mmol) を加えた。室温で 5 時間攪拌した後、固体をろ過により除去した。ろ液をジクロロメタン (DCM) で希釈した後、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、ろ過、減圧濃縮した。得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (0 ~ 40 % 酢酸エチル / 石油エーテル) で精製し、(S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - (エチルチオ) - 4 - オキソブタン酸 t e r t - ブチル (化合物 t m 1 4 、 Fmoc-Asp(SEt)-OtBu) (3.9 g、70 %) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 478 \quad (M+Na)^+$

保持時間：3.13分（分析条件 SMD method 14）

[0470] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-オキソブタン酸tert-ブチル（化合物tm15）の合成

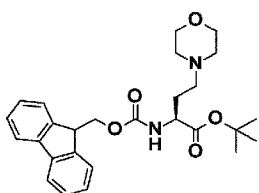


(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(エチルチオ)-4-オキソブタン酸tert-ブチル（化合物tm14、Fmoc-Asp(SEt)-OtBu）（1g、2.20mmol）をアセトン（4.4mL）に溶解し、Pd/C（wet、10%、44mg）を加えた。氷冷下、トリエチルシラン（1.276g、10.97mmol）を加えて1時間撹拌した。その後、ろ過によりPd/Cを除去し、ろ液を減圧濃縮して得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（0～60%酢酸エチル／石油エーテル）で精製し、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-オキソブタン酸tert-ブチル（化合物tm15）（680mg、78%）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 418$ ($M+Na$)⁺

保持時間：2.07分（分析条件 SMD method 40）

[0471] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-モルホリノブタン酸tert-ブチル（化合物tm16、Fmoc-Abu(Mor)-OtBu）の合成



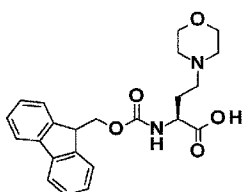
(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-オキソブタン酸tert-ブチル（化合物tm15）（1.6g、4.05mmol）およびモルホリン（387mg、4.44mmol）

mol) をジクロロエタン (DCE) (8 mL) に溶解し、室温で1時間撹拌した。その後、氷冷下でナトリウムトリアセトキシボロヒドリド ($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$) (1.717 g、8.10 mmol) のジクロロエタン (DCE) (8 mL) 溶液を加え、4時間撹拌した。その後、反応液をジクロロメタンで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄後、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後、減圧濃縮した。得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー (石油エーテル/酢酸エチル) で精製し、(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ)-4-モルホリノブタン酸 tert-ブチル (化合物 t m 1 6、Fmoc-Abu(Mor)-OtBu) (1.7 g、98%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 467$ ($M+H$)⁺

保持時間: 2.02分 (分析条件 SMD method 41)

[0472] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ)-4-モルホリノブタン酸 (化合物 t m 1 7、Fmoc-Abu(Mor)-OH) の合成

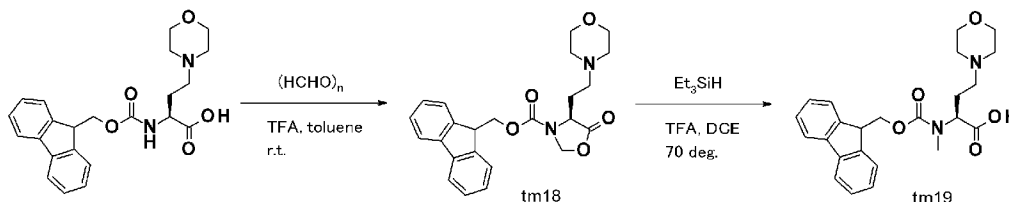


(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ)-4-モルホリノブタン酸 tert-ブチル (化合物 t m 1 6、Fmoc-Abu(Mor)-OtBu) (9 g、19.29 mmol) をトリフルオロ酢酸 (TFA) /ジクロロエタン (DCE) (25 mL / 25 mL) に溶解させ、40度で2時間撹拌した。室温まで冷却後、反応液をジクロロメタンで希釈し、水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、ろ過、減圧濃縮することで (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) アミノ)-4-モルホリノブタン酸 (化合物 t m 1 7、Fmoc-Abu(Mor)-OH) (7 g、90%) を得た。

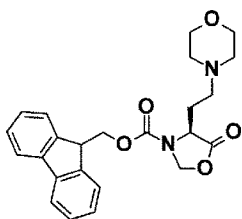
LCMS (ESI) $m/z = 411$ ($M+H$)⁺

保持時間：1.20分（分析条件 SMD method 42）

[0473] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)(メチル)アミノ-4-モルホリノブタン酸（化合物 tm19、Fmoc-MeAbu(Mor)-OH）の合成は、以下のスキームに従って行った。



[0474] (S)-4-(2-モルホリノエチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸(9H-フルオレン-9-イル)メチル(化合物 tm18)の合成

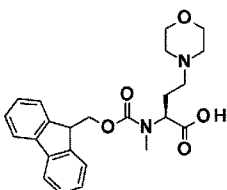


(S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ-4-モルホリノブタン酸（化合物 tm17、Fmoc-Abu(Mor)-OH）（600mg、1.46mmol）およびパラホルムアルデヒド（131.4mg、1.46mmol）をトルエン（3mL）およびトリフルオロ酢酸（TFA）（1.527g、13.16mmol）に懸濁させ、室温で16時間攪拌した。その後、反応液を減圧濃縮し、得られた残渣をジクロロメタンで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、ろ過し、ろ液を減圧濃縮して得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）で精製し、(S)-4-(2-モルホリノエチル)-5-オキソオキサゾリジン-3-カルボン酸(9H-フルオレン-9-イル)メチル（化合物 tm18）（486mg、79%）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 423$ ($M+H$)⁺

保持時間：1.14分（分析条件 SMD method 40）

[0475] (S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ - 4 - モルホリノブタン酸 (化合物 t m 1 9 、 Fmoc-Me Abu(Mor)-OH) の合成

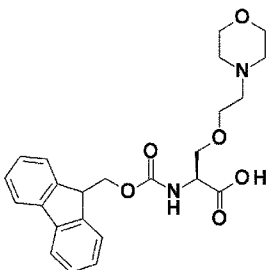


(S) - 4 - (2 - モルホリノエチル) - 5 - オキソオキサゾリジン - 3 - カルボン酸 (9 H - フルオレン - 9 - イル) メチル (化合物 t m 1 8) (4 8 6 m g 、 1 . 1 5 m m o l) およびトリエチルシラン (1 . 5 m L 、 1 0 . 3 5 m m o l) をトリフルオロ酢酸 / ジクロロエタン (1 / 1 、 1 2 m L) に溶解し、70度で4時間撹拌した。室温まで冷却した後、反応液を減圧濃縮して得られた残渣をジクロロメタンで希釈し、水で洗浄後、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過後、ろ液を減圧濃縮した。得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (5 ~ 7 0 % 0 . 5 % 塩酸水溶液 / 0 . 5 % 塩酸アセトニトリル溶液) で精製し、(S) - 2 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) (メチル) アミノ - 4 - モルホリノブタン酸 (化合物 t m 1 9 、 Fmoc-Me Abu(Mor)-OH) (4 0 0 m g 、 8 2 %) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 425 \quad (M+H)^+$

保持時間 : 1 . 4 0 分 (分析条件 SMD method 3 4)

[0476] N - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニル) - O - (2 - モルホリノエチル) - L - セリン (化合物 t m 2 0 、 Fmoc-Ser(Et-2-Mor)-OH) の合成



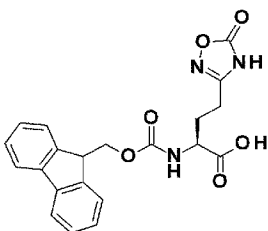
窒素雰囲気下、市販の (tert-ブトキシカルボニル)-L-セリン (Boc-Ser-OH) (20 g、97.46 mmol) のジメチルホルムアミド (DMF) 溶液 (100 mL) に水素化ナトリウム (7.718 g、321.62 mmol、60%オイルディスパーション) を室温にて加え、1時間攪拌した。反応液を0度に冷却し、4-(2-クロロエチル) モルホリン (16.040 g、107.21 mmol) を滴下しながら加え、室温にて16時間攪拌した。反応液に0度にて50%ギ酸水溶液を加え、ろ過を行った後、得られたろ液を逆相カラムクロマトグラフィー (水/アセトニトリル) で精製し、N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-(2-モルホリノエチル)-L-セリン (Boc-Ser(Et-2-Mor)-OH) (5.6 g、18%) を得た。

N-(tert-ブトキシカルボニル)-O-(2-モルホリノエチル)-L-セリン (Boc-Ser(Et-2-Mor)-OH) (5.6 g、17.59 mmol) に4 N塩酸/1,4-ジオキサン溶液 (28.0 mL、921.53 mmol) を室温にて加え、1時間攪拌した。減圧下溶媒を留去し、得られた残渣をジクロロメタンで洗浄した後、水 (10 mL) を加え溶液とした。得られた溶液に炭酸カリウムを加えpH 7に調節し、水 (100 mL) と1,4-ジオキサン (150 mL) を加えた後、室温にて炭酸カリウム (4.465 g、32.07 mmol)、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ) スクシンイミド (Fmoc-OSu) (5.68 g、16.84 mmol) を加え、16時間攪拌した。反応液をジエチルエーテルで洗浄し、濃塩酸を用いて水層のpHを1に調節し、ジクロロメタンで3回抽出した。得られた有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー (0.1%塩酸水溶液/0.1%塩酸アセトニトリル溶液) で精製することでN-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)-O-(2-モルホリノエチル)-L-セリン (化合物tm20、Fmoc-Ser(Et-2-Mor)-OH) の塩酸塩 (3.2 g、2工程48%) を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 441$ (M+H)⁺

保持時間: 0.50分 (分析条件SQDFA05)

[0477] (S)-2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-4-(5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ブタン酸 (化合物tm21、Fmoc-Abu(5-oxo-0dz)-OH) の合成



窒素雰囲気下、市販の(tert-ブトキシカルボニル)-L-グルタミン(Boc-Gln-OH)(50g、203.03mmol)のピリジン溶液(350mL)にN,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)(46.1g、223.43mmol)を室温にて加え、2時間撹拌した。反応液をろ過し、ろ液を濃縮することで得られた残渣にジクロロメタン、濃塩酸をpH=3になるように調整しながら加え、ジクロロメタンで2回抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、減圧下溶媒留去した。得られた残渣を順相カラムクロマトグラフィー(石油エーテル/酢酸エチル)にて精製することで、(S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-4-シアノブタン酸(45.5g、98%)を得た。

上述のように得られた(S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-4-シアノブタン酸(50g、219.06mmol)のエタノール溶液(500mL)に室温にてヒドロキシルアミンの塩酸塩(32g、460.50mmol)とトリエチルアミン(83mL)を加え、80度で2時間撹拌した。反応液を減圧下濃縮することで、(S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-5-(ヒドロキシアミノ)-5-イミノペンタン酸(107g)を粗生成物として得た。

窒素雰囲気下、上述の粗生成物である (S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-5-(ヒドロキシアミノ)-5-イミノペンタン酸 (44 g、168.40 mmol) の 1,4-ジオキサン溶液 (500 mL) に室温にて 1,1'-カルボニルジイミダゾール (CDI) (39 g、240.52 mmol) と 1,8-ジアザビシクロ [5.4.0]-7-ウンデセン (DBU) (55 g、361.27 mmol) を加え、110度で 4 時間攪拌した。反応液を室温にて冷却した後、濃塩酸を加え pH=2 になるように調整し、ジクロロメタンで 2 回抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った後、減圧下溶媒留去することで、(S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-4-(5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ブタン酸 (Boc-Abu(5-oxo-0dz)-OH) (11 g) を粗生成物として得た。

窒素雰囲気下、上述のように得られた (S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-4-(5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ブタン酸 (Boc-Abu(5-oxo-0dz)-OH) (13.5 g、46.99 mmol) の 1,4-ジオキサン溶液 (10 mL) に室温にて 4 N 塩酸 / 1,4-ジオキサン溶液 (140 mL) を加え、16 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮することで、(S)-2-アミノ-4-(5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ブタン酸 (H-Abu(5-oxo-0dz)-OH) (8.8 g) を粗生成物として得た。

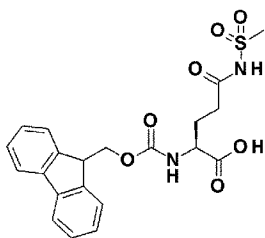
窒素雰囲気下、得られた粗生成物である (S)-2-アミノ-4-(5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル)ブタン酸 (H-Abu(5-oxo-0dz)-OH) (8.8 g、47.02 mmol) と炭酸カリウム (13 g、94.06 mmol) の水 / 1,4-ジオキサン溶液 (100 mL / 100 mL) に室温にて、N-(9-フルオレニルメトキシカルボニルオキシ)スクシンイミド (Fmoc-OSu) (14.3 g、42.4 mmol) を加え、3 時間攪拌した。反応液を t-ブチルメチルエーテル / ヘキサン (1 / 3) で洗浄し、濃塩酸を用いて水層の pH を 2 に調節し、

ジクロロメタンで2回抽出した。得られた有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。ろ液を減圧下濃縮し、得られた残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水／アセトニトリル）で精製することで、（S）-2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-4-（5-オキソ-4,5-ジヒドロ-1,2,4-オキサジアゾール-3-イル）ブタン酸（化合物 t m 2 1、Fmoc-Abu(5-oxo-0dz)-OH）（2.67 g）を得た。

LCMS (ESI) $m/z = 410$ (M+H)⁺

保持時間：0.66分（分析条件SQDFA05）

[0478] N2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-N5-（メチルスルホニル）-L-グルタミン（化合物 t m 2 2、Fmoc-Gln(Ms)-OH）の合成



窒素雰囲気下、市販の（S）-4-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）アミノ）-5-（tert-ブトキシ）-5-オキソペンタン酸（Fmoc-Glu-OBu）（20 g、47 mmol）、メタンサルホンアミド（20 g、210 mmol）、4-ジメチルアミノピリジン（DMAP）（1.3 g、10.6 mmol）のジクロロメタン溶液（360 mL）に1-（3-ジメチルアミノプロピル）-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（WSC・HCl）（9.64 g、50.3 mmol）を室温にて加え、16時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、酢酸エチルを加え、0.1%塩酸水溶液で3回、水で1回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過を行った。得られた溶液を減圧下濃縮し、残渣を順相カラムクロマトグラフィー（石油エーテル／酢酸エチル）で精製することで、tert-ブチルN2-（（（9H-フルオレン-9-イル）メトキシ）カルボニル）-N5-（

メチルスルホニル) - L - グルタミナート (Fmoc-Gln(Ms)-OtBu) (9.3 g、39%) を得た。

窒素雰囲気下、上述のようにして得られた、tert-ブチル N2 - ((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) - N5 - (メチルスルホニル) - L - グルタミナート (Fmoc-Gln(Ms)-OtBu) (5.5 g、10.9 mmol) の 2, 2, 2-トリフルオロエタノール (TFE) 溶液 (100 mL) に 0 度にてクロロトリメチルシラン (TMSCl) (3.57 g、32.861 mmol) を加え、1 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、得られた残渣に tert-ブチルメチルエーテルを加え再び濃縮した。この操作をさらに 2 回繰り返し、アセトニトリル/ジクロロメタンで再結晶を行うことで、N2 - ((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) - N5 - (メチルスルホニル) - L - グルタミン (化合物 tm22、Fmoc-Gln(Ms)-OH) (3.8178 g、77%) を白色固体として得た。

LCMS (ESI) $m/z = 447$ (M+H)⁺

保持時間: 0.65 分 (分析条件 SQDFA05)

[0479] (参照例 4) ClogP が膜透過性に与える影響

Trp の側鎖を有する環状ペプチド化合物、及び同側鎖を有しない環状ペプチド化合物を合成し、改良法により膜透過性試験を行った。なお、MeTrp は Trp の側鎖を含むことから、構成アミノ酸に MeTrp を含む環状ペプチド化合物も、Trp の側鎖を有する環状ペプチド化合物に含まれる。その結果、Trp の側鎖を持たない環状ペプチド化合物は ClogP を上昇させることにより $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒を達成することが可能であった (図 1-1)。一方、Trp の側鎖を 1 つ以上有していると ClogP を上昇させても $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒まで膜透過性を上げるのは難しかった (図 1-2)。例えば Trp 側鎖の位置、N アルキルのパターンを変えたもので、 $1.06 \leq \text{ClogP}/\text{total aa} \leq 1.43$ の範囲にある環状ペプチド化合物の配列を表 31 に示すが、これらは $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒の膜透過性を達成することは難しかった。

以上のことから、Trp の側鎖を持たない環状ペプチド化合物の膜透過性を評

価したところ、ClogPを上昇させることにより膜透過性が向上することが確認できたため（図1-1）、比較する2つのペプチドのClogP/total AAの値が±0.03の間となるように調節した。

[0480]

[表31]

T r p の側鎖を有する環状ペプチド化合物の膜透過性

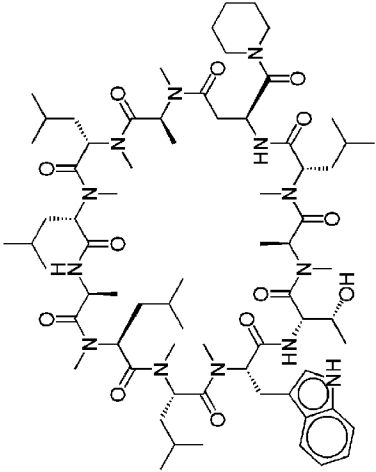
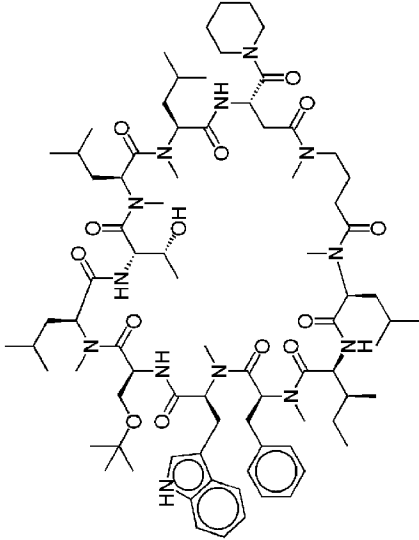
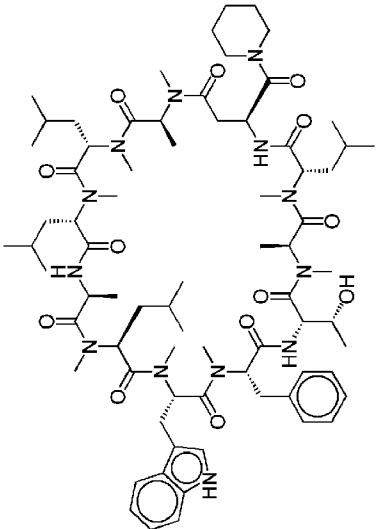
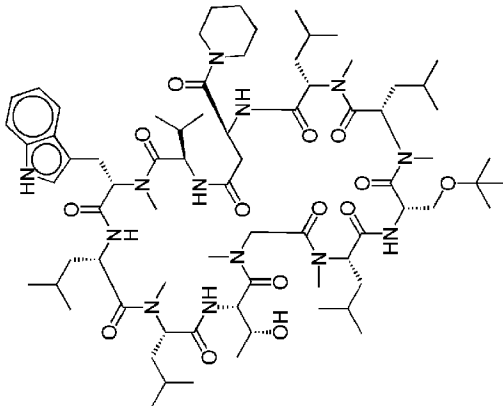
化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	cLogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)
pd100	D-Val	MeAla	MeLeu	Leu	MePhe	Trp	MeLeu	MeGly	MeAla	Thr	Asp	pip	1.06	1.1E-07
pd101	MeAla	Leu	MeLeu	MeLeu	Ala	MeLeu	Melle	Trp	MeGly	MeAla	Asp	pip	1.23	1.3E-07
pd102	MeAla	Leu	MeLeu	MeTrp	Val	MeLeu	Melle	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.25	1.1E-06
pd103	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Trp	MeGly	MeLeu	MeLeu	Ser(tBu)	MeAla	Asp	pip	1.26	9.3E-08
pd104	MeAla	MeLeu	MeLeu	Ala	MeLeu	MeTrp	MePhe	Thr	MeAla	MeLeu	Asp	pip	1.27	2.5E-08
pd105	MeAla	MeLeu	MeLeu	Ala	MeLeu	MeLeu	MeTrp	Thr	MeAla	MeLeu	Asp	pip	1.27	2.8E-07
pd106	D-Val	MeTrp	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.28	3.6E-07
pd107	g-MeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeTrp	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.30	1.7E-07
pd108	D-Ala	MeLeu	Ile	MeLeu	Trp	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeVal	Asp	pip	1.34	8.7E-07
pd109	MeAla	MeLeu	MeLeu	Val	MeLeu	MeTrp	MePhe	Thr	MeAla	MeLeu	Asp	pip	1.36	9.2E-09
pd110	g-MeAbu	MeLeu	Ile	MeLeu	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Trp	MeAla	MeLeu	Asp	pip	1.36	2.9E-07
pd111	MeLeu	Leu	MeLeu	MeTrp	Leu	MePhe	Melle	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.43	1.6E-07

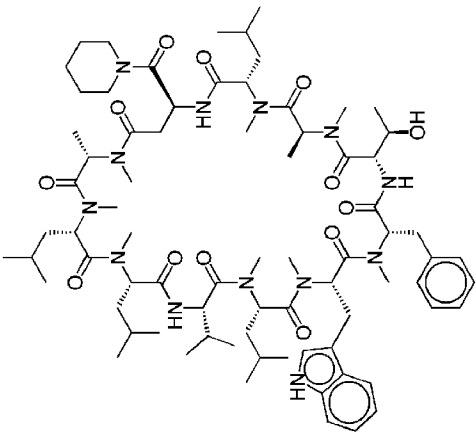
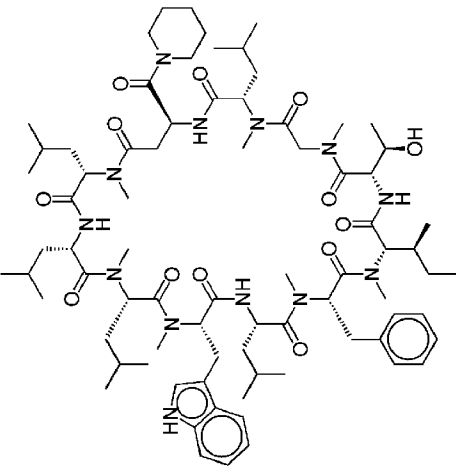
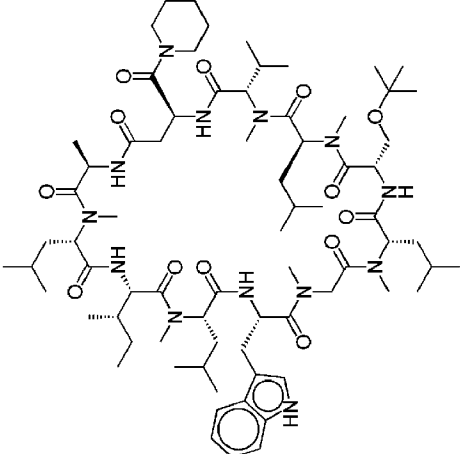
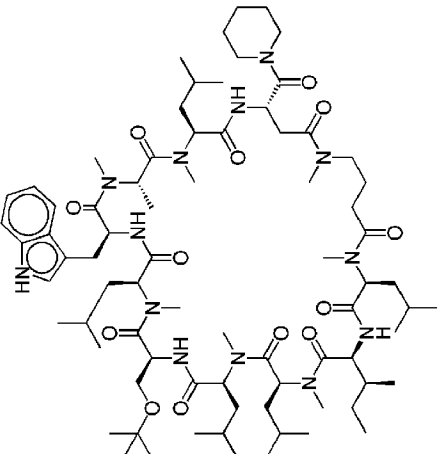
[0481] 環状ペプチド p d 1 0 0 ~ p d 1 1 1 の構造を以下に示す。(なお環状ペ

プチドの構造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している場合もある)

[0482] [表32]

構造式		
ID	pd101	pd103
構造式		
ID	pd100	pd102

	
pd105	pd107
	
pd104	pd106

	
pd109	pd111
	
pd108	pd110

[0483] (参照例5) Tyr(3-F)又はTyrの側鎖を有する環状ペプチド化合物の膜透過性試験

Tyr(3-F)又はTyrの側鎖を有する環状ペプチド化合物を合成し、改良法により膜透過性試験を行った。その結果、Tyr(3-F)又はTyrの側鎖を有する環状ペ

プチド化合物もTrpの側鎖を有する環状ペプチド化合物と同様の傾向であった。
 $1.06 \leq \text{cLogP}/\text{total aa} \leq 1.29$ の範囲にある環状ペプチド化合物の配列を表33に示すが、Trpの場合と同様、これらが $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{sec}$ を達成することは困難であった。

[0484] [表33]

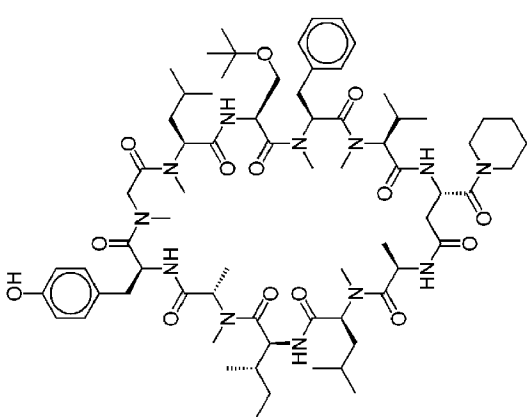
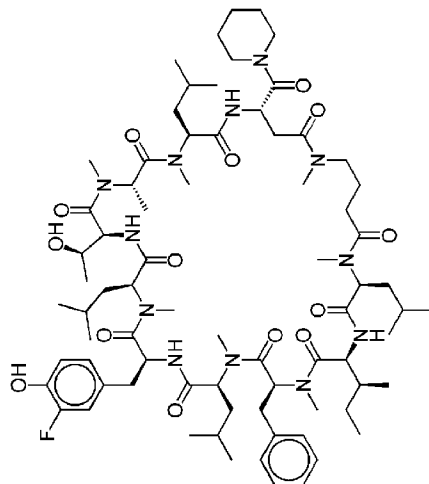
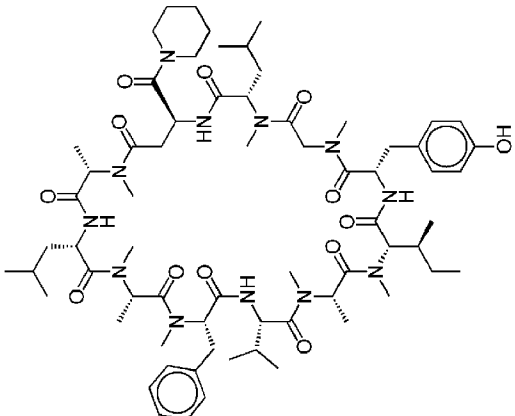
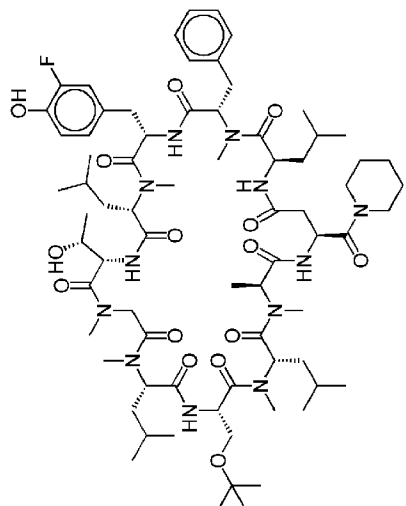
Tyr (3-F) 又はTyrの側鎖を有する環状ペプチド化合物の膜透過性

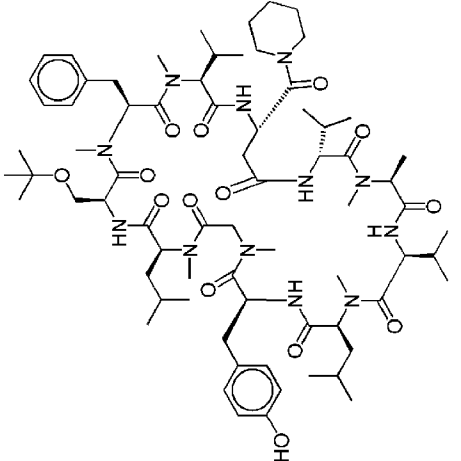
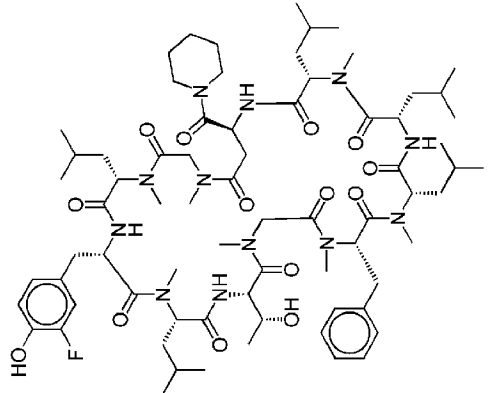
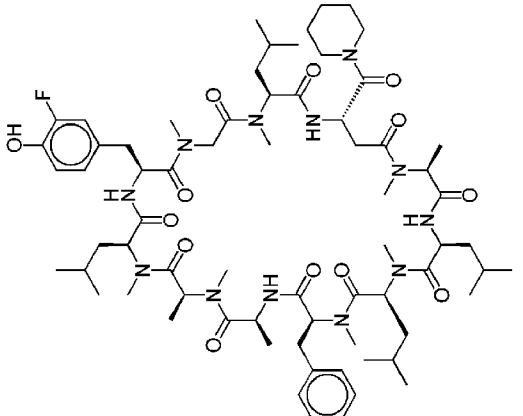
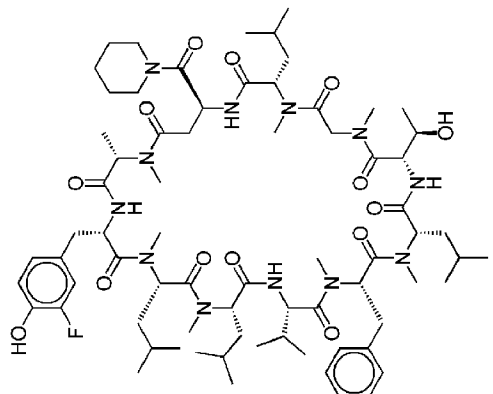
化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	C-term	cLogP/ totalAA	Caco-2 (cm/sec)
pd112	D-Ala	MePhe	Ile	MeLeu	Tyr	MeGly	MeAla	Ser(tBu)	MeAla	MeLeu	Asp	pip	1.06	1.1E-07
pd113	D-Val	MeAla	MeLeu	Leu	MePhe	Tyr(3-F)	MeLeu	MeAla	MeAla	Thr	Asp	pip	1.07	2.9E-08
pd114	g-MeAbu	MeLeu	Tyr(3-F)	MeLeu	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.08	1.7E-07
pd115	MeGly	MePhe	Val	MeLeu	Tyr	MeGly	MeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MeVal	Asp	pip	1.10	2.2E-07
pd116	MeAla	Leu	MeAla	MePhe	Val	MeAla	Melle	Tyr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.12	1.4E-07
pd117	D-Ala	MeLeu	Ile	MeAla	Tyr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.15	5.6E-07
pd118	D-Leu	MePhe	Tyr(3-F)	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeAla	Asp	pip	1.15	2.0E-07
pd119	g-MeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Tyr(3-F)	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	Asp	pip	1.17	1.6E-07
pd120	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Ala	MeAla	MeLeu	Tyr(3-F)	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.18	2.3E-07
pd121	D-Val	MeAla	Val	MeLeu	Tyr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp	pip	1.18	1.0E-06
pd122	MeAla	Tyr(3-F)	MeLeu	MeLeu	Val	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.21	4.6E-07
pd123	MeGly	MeLeu	Tyr(3-F)	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	Leu	MeLeu	Asp	pip	1.21	4.4E-07
pd124	D-Ala	MeLeu	Ile	MeLeu	Tyr(3-F)	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeAla	Asp	pip	1.22	3.2E-07
pd125	g-MeAbu	MeVal	Ile	MeLeu	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Tyr	MeAla	MeLeu	Asp	pip	1.25	4.5E-07
pd126	MeAla	Val	MeLeu	MeLeu	Ala	MePhe	Melle	Tyr	MeGly	MeLeu	Asp	pip	1.25	4.2E-07
pd127	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Tyr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	MeAla	Asp	pip	1.28	1.3E-07
pd128	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Tyr(3-F)	MeLeu	MeLeu	Asp	pip	1.29	1.7E-07
pd129	g-MeAbu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Tyr	MeAla	MeLeu	Asp	pip	1.29	1.6E-07

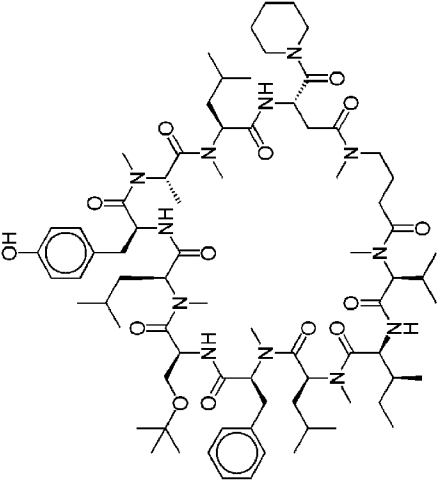
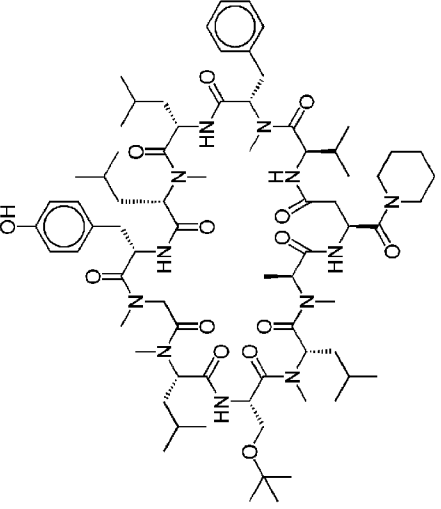
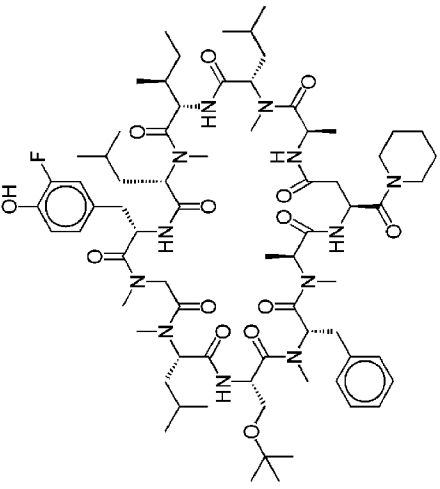
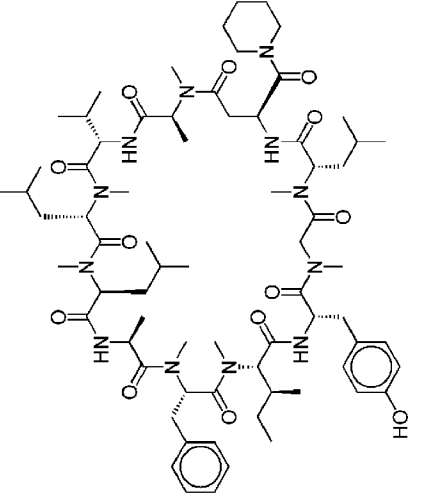
[0485] 環状ペプチドpd112～pd129の構造を以下に示す。（なお環状ペプチドの構造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している場合もある）

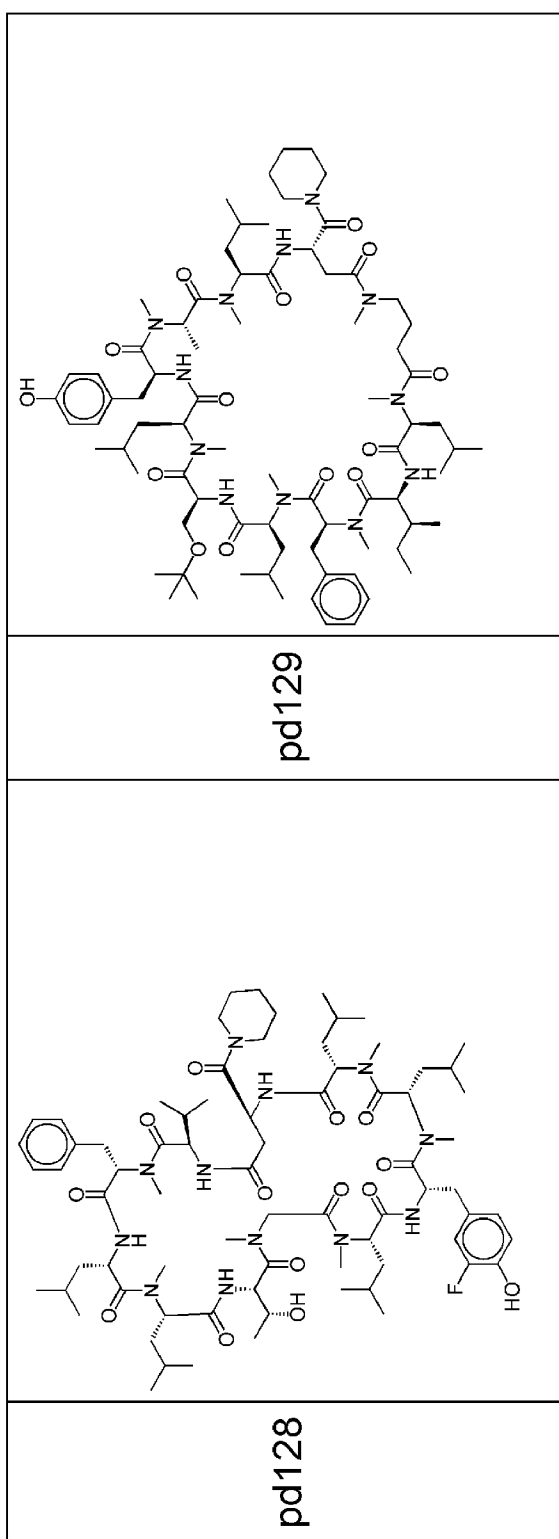
[0486] [表34]

構造式		
ID	pd113	pd115
構造式		
ID	pd112	pd114

	
pd117	pd119
	
pd116	pd118

	
pd121	pd123
	
pd120	pd122

	
pd125	pd127
	
pd124	pd126



[0487] （参照例 6）環状ペプチド中の芳香環の数（A R C）が膜透過性に与える影響

A R Cが増加するに伴って環状ペプチド化合物の P_{app} が低下、すなわち膜透過性が低下する傾向が確認できた（図 2）。そのため、比較する 2 つ

のペプチドの芳香環の数 (Aromatic Ring Count: ARC) を揃えた。

なお、本解析では、環状部の側鎖に縮環構造を有するもの、並びに置換及び無置換のヒドロキシフェニル基を有する環状ペプチド化合物を解析対象から除外した。ARC = 3 の場合、ClogP/total AA が 0.88 以上の配列で、 1.0×10^{-6} 以上の P_{app} が認められた。一方、ARC = 4 の場合は前記 ARC = 3 の化合物群と同程度の ClogP/total AA (0.88 以上) の化合物であっても、 P_{app} が 1.0×10^{-6} 以上となるものはほとんど存在しなかった。このことから、同程度の脂溶性の配列群であるにも関わらず、ARC = 3 と ARC = 4 を比較すると、ARC = 3 の方が良好な膜透過性を示すことが示された (表 35、表 36、表 37)。

また、pd198 を例にとり、表 35、表 36 及び表 37 のカラムについて説明する。pd198 は 12 残基からなる環状ペプチドであり、10 残基のアミノ酸で環を形成している。環化部分を 1 番目のアミノ酸と定義し、pd198 の場合では Asp が該当する。Asp の隣で環状部を構成するアミノ酸を 2 番目のアミノ酸と定義し (pd198 の場合 Phe が該当)、以下 3 番目、4 番目と N 末端まで繰り返す (pd198 の場合 3 番目 MeVal、4 番目 MeLeu となり、環状部が 10 残基からなるため N 末端は 10 番目の g-MeAbu)。また環化部のアミノ酸の C 末端から近い順に、H-1、H-2、H-3 と示している。pd198 の場合 H-1 は MePhe、H-2 は Ala であるので、Asp の C 末端に MePhe が結合しており、ついで Ala が結合していることを意味している。また C-term のカラムは C 末端のアミノ酸のカルボン酸部位と縮合する官能基を意味しており、pip はピペリジンを表し、pyrro はピロリジンの意味している (pd198 の場合、C 末端のアミノ酸は H-2 の Ala であり、そのカルボン酸部位が pip (ピペリジン) と縮合した構造になる)。そして、N 末端のアミノ基と環化部のアミノ酸の側鎖カルボン酸をアミド結合により環化させたペプチドであるということを表 35、表 36 及び表 37 で表している。例えば、pd198 は N 末端である g-MeAbu のアミノ基と環化部の Asp

の側鎖カルボン酸がアミド結合により環化している。本文中に記載の環状ペプチドに関しては特に記述が無い限り、全て同様の手法で表現している。

[0488] [表35]

ARC = 3でP = 1.0 × 10⁻⁶の配列

化合物番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	H-1	H-2	H-3	C-term	cLogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)
pd162	Pro	Phe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeGly	MeVal	Phe	MePhe(3-C)	MeLeu	MeAsp				pip	1.25	1.2E-06
pd163	D-Pro	Phe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeGly	MeVal	Phe	MePhe(3-C)	MeLeu	MeAsp				pip	1.25	1.7E-06
pd167	D-MeAla	Phe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeGly	MeVal	Phe	MePhe(3-C)	MeLeu	MeAsp				pip	1.27	1.7E-06
pd177	MeGly	MePhe	Ser(Bn)	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp				pip	1.21	3.0E-06
pd178	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	Ser(Bn)	MeLeu	Asp				pip	1.26	2.5E-06
pd179	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Ser(Bn)	MeGly	MeAla	Thr	MeGly	MeLeu	Asp				pip	1.18	2.0E-06
pd180	D-Val	MePhe	Ser(3-F-5-Me-Pyr)	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp				pip	1.13	2.4E-06
pd181	MeVal	Ser(3-F-5-Me-Pyr)	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	Melle	Thr	MeGly	MeLeu	Asp				pip	1.28	1.1E-06
pd182	MeVal	Ala	MePhe	MeLeu	MeGly	Thr	MeVal	Hph	MeLeu	MePhe	Asp				pip	1.25	2.6E-06
pd183	MeAla	MePhe	Hph	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	MePhe	Ser(tBu)	MeAla	Asp				pip	1.16	2.1E-06
pd184	MeAla	MePhe	Hph	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	MePhe	Ser(tBu)	MeAla	Asp				pip	1.21	1.2E-06
pd185	D-Ala	MePhe	Ser(Ph-3-C)	MeVal	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp				pip	1.19	2.2E-06
pd186	MeAla	Val	MeLeu	MePhe	Ser(Ph-3-C)	MePhe	Melle	Thr	MeGly	MeAla	Asp				pip	1.21	1.8E-06
pd187	D-Val	MePhe	Ser(Ph-3-C)	MeAla	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp				pip	1.19	1.9E-06
pd188	MeAla	Ser(Ph-3-C)	MeLeu	MePhe	Ala	MePhe	Melle	Thr	MeGly	MeLeu	Asp				pip	1.26	1.3E-06
pd189	MeGly	MePhe	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Asp				pip	1.29	1.8E-06
pd190	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	Phc(2/2)	MeAla	Asp				pip	1.21	1.5E-06
pd191	MeAla	Phc(2/2)	MeLeu	MePhe	Ala	MePhe	MeVal	Thr	MeGly	MeLeu	Asp				pip	1.21	1.5E-06
pd192	D-Val	MePhe	Phc(2/2)	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeAla	Asp				pip	1.24	1.1E-06
pd193	D-Ala	MePhe	Val	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Phc(2/2)	MePhe	MeVal	Asp				pip	1.24	1.0E-06
pd194	D-Ala	MePhe	Val	MeLeu	Thr	nPrGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp				pip	1.25	5.3E-06
pd195	nPrGly	MePhe	Ile	MePhe	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeVal	Asp				pip	1.26	5.0E-06
pd196	Pro	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeVal	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	MeAsp				pip	1.24	4.0E-06
pd197	MeAla	MePhe	Leu	MeLeu	Ala(3-Pyr)	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Asp				pip	1.25	3.0E-06
pd198		g-MeAbu	Val	MeLeu	Thr	MeGly	Gly	MeLeu	MeVal	Phe	Asp	MePhe	Ala		pip	0.88	2.7E-06
pd199	D-MeAla	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeVal	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	MeAsp				pip	1.26	2.6E-06
pd200	D-Pro	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeVal	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	MeAsp				pip	1.24	2.6E-06

[0489]

[表36]

化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	H-1	H-2	H-3	C-term	clogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)
pd201		D-MeAla	MeAla	MePhe	Thr	MeAla	MeLeu	Ile	MeLeu	MeVal	Asp	MePhe	MePhe	Ala	pip	1.12	2.3E-06
pd202	MeAla	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeVal	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	MeAsp				pip	1.26	2.1E-06
pd203	Pro	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	Asp				pip	1.23	2.1E-06
pd204	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MePhe	Thr	MeGly	MeLeu	Asp				pip	1.29	2.0E-06
pd205	MeGly	MePhe	Ile	MePhe	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeVal	Asp				pip	1.15	1.8E-06
pd206	D-Pro	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	Asp				pip	1.23	1.8E-06
pd207			b-MeAla	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	Thr	MePhe	MeLeu	Asp				pip	1.28	1.7E-06
pd208	D-Ala	MeLeu	MeAla	MePhe	Ser(tBu)	MePhe	Leu	MeVal	Thr	MePhe	MeAsp				pip	1.26	1.7E-06
pd209	Ala	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	MeAsp				pip	1.26	1.7E-06
pd210	D-Val	MePhe	Val	MePhe	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeLeu	Asp				pip	1.23	1.6E-06
pd211			MeAla	MeLeu	Leu	MePhe	Thr	MePhe	MePhe	MeLeu	Asp				pip	1.39	1.4E-06
pd212			MeAla	Thr	MeAla	MeLeu	Val	MePhe	Phe	MeLeu	Asp	MePhe	Ala		pip	1.03	1.4E-06
pd213	MeAla	MeLeu	MeAla	MePhe	Ser(tBu)	MePhe	Leu	MeVal	Thr	MePhe	MeAsp				pip	1.31	1.3E-06
pd214	Pro	MeLeu	MeAla	MePhe	Ser(tBu)	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MePhe	Asp				pip	1.28	1.2E-06
pd215	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	Asp				pip	1.27	1.2E-06
pd216	g-MeAbu	MeLeu	Val	MePhe	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MePhe	MeLeu	Asp				pip	1.25	1.2E-06
pd217	Ala	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	Asp				pip	1.19	1.1E-06
pd218			MeAla	MeLeu	Leu	MeLeu	MePhe	Phe	MeLeu	Thr	Asp	MePhe	Ala		pip	1.21	1.1E-06
pd219	D-Pro	MeLeu	MeAla	MePhe	Ser(tBu)	MePhe	Leu	MeVal	Thr	MePhe	MeAsp				pip	1.29	1.1E-06
pd220	D-Ala	MeLeu	MeAla	MePhe	Ser(tBu)	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MePhe	Asp				pip	1.24	1.1E-06
pd221	D-Val	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Val	MePhe	MePhe	Asp				pip	1.28	1.1E-06
pd222	D-MeAla	Ile	MeLeu	MeLeu	Phe	MeVal	MeAla	Thr	MeGly	MePhe	Asp				pip	1.06	1.1E-06
pd223			D-MeAla	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	Thr	MeGly	MePhe	Asp	MePhe	Ala		pip	1.39	1.1E-06
pd224	D-Ala	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	MeAsp				pip	1.26	1.0E-06
pd225	D-Leu	MePhe	Leu	MePhe	Thr	MeGly	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	Asp				pip	1.37	1.0E-06

[0490]

[表37]

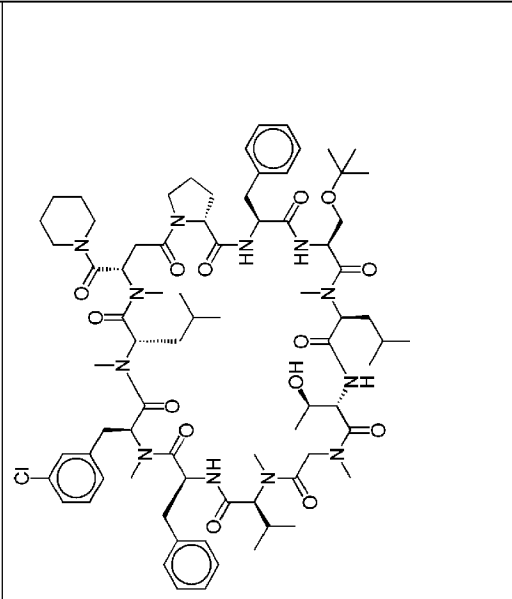
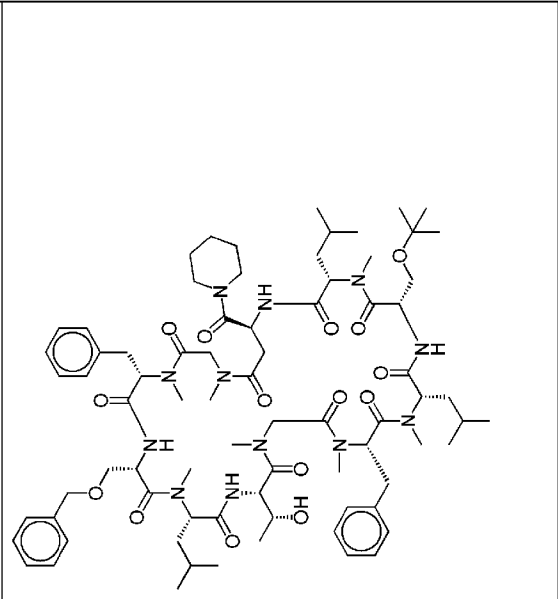
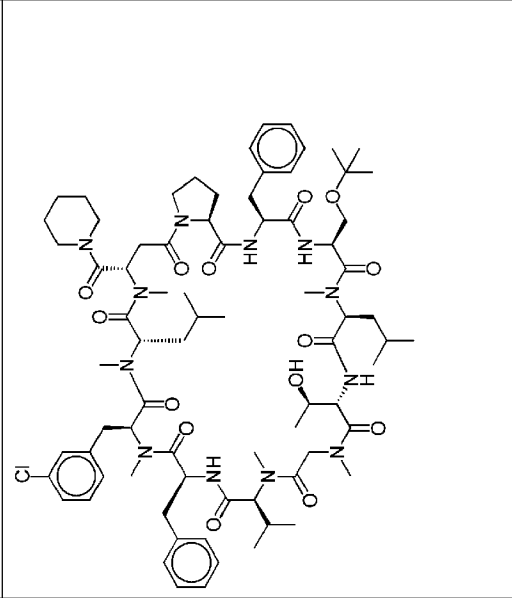
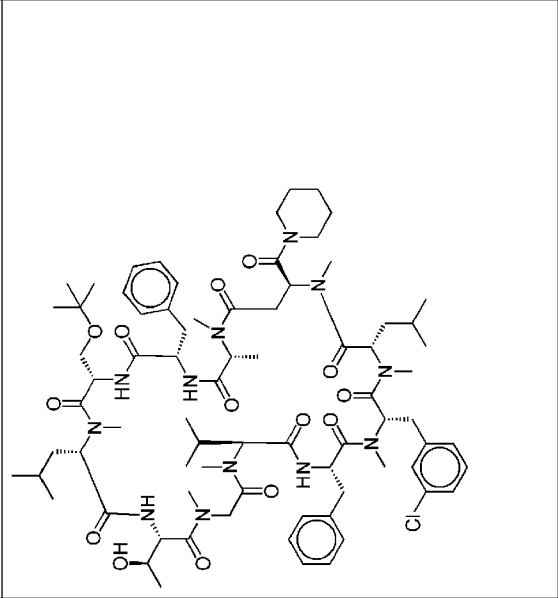
 $ARC = 4$ で $P_{app} < 1.0 \times 10^{-6}$ の配列

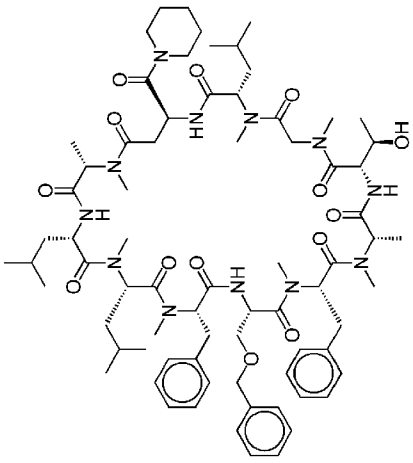
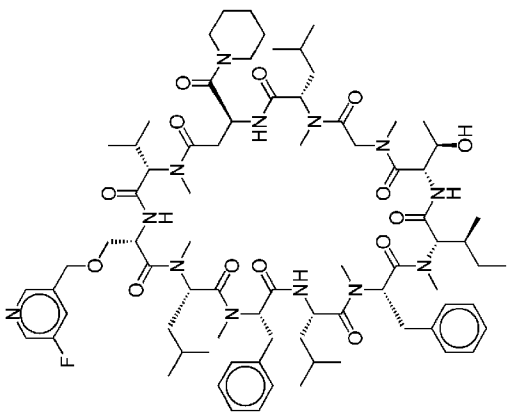
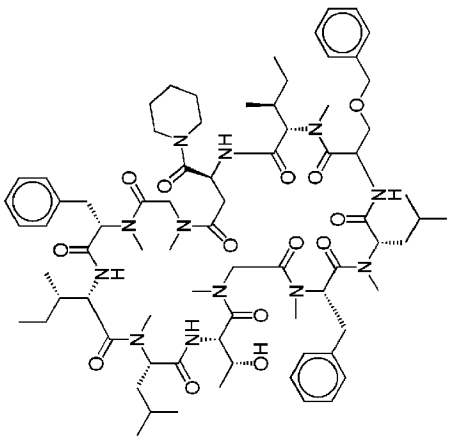
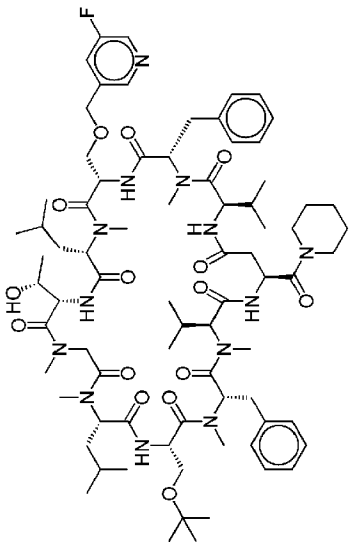
化合物 番号	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	H-1	H-2	H-3	C-term	cLogP/ total AA	Caco-2 (cm/sec)
pd226	MeAla	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MeAla	MeAla(4-Thz)	Phe	MePhe	MeLeu	Asp				pip	1.19	6.8E-07
pd227	MePhe	Leu	MeLeu	MePhe	Leu	MePhe	MePhe	Thr	MeGly	MeLeu	Asp				pip	1.42	6.1E-07
pd228	MeLeu	Leu	MeLeu	MePhe	Phe	MePhe	MeAla(4-Thz)	Thr	MeGly	MeLeu	Asp				pip	1.27	5.8E-07
pd229	MeVal	MePhe	Leu	MeLeu	MeAla	MeGly	MePhe	Phe	MePhe	Thr	Asp				pip	1.24	4.1E-07
pd230	MePhe	Phe	Thr	MePhe	Leu	MePhe	MeLeu	MeGly	MeLeu	MeAla	Asp				pip	1.29	2.5E-07
pd231	MeAla	MePhe	Leu	MeLeu	Phe	MeGly	MePhe	Thr	MePhe	Leu	Asp				pip	1.24	2.1E-07
pd232	MeAla	MeLeu	MePhe	Ala	MeLeu	MePhe	MePhe	Thr	MeAla	MePhe	Asp				pip	1.26	1.9E-07
pd233	MeAla	MePhe	MeLeu	Val	MeLeu	MePhe	MePhe	Thr	MeAla	MePhe	Asp				pip	1.35	1.7E-07
pd234	D-Ala	MeLeu	Leu	MePhe	Ser(tBu)	MePhe	Thr	MeAla	MePhe	MePhe	Asp				pip	1.24	1.5E-07
pd235		Ala	Phe	MeLeu	Ala(4-Thz)	MePhe	Gly	MeLeu	MeLeu	Leu	Asp	MePhe	Ala		pip	1.06	1.0E-07
pd236	MeAla	Leu	MeLeu	Phe	Phe	MePhe	MeAla(4-Thz)	Thr	MeGly	MeLeu	Asp				pip	1.08	9.6E-08
pd237	Ala	MePhe	MeAla	MePhe	MeLeu	Phe	MeLeu	Ser(tBu)	Thr	MePhe	Asp				pip	1.23	8.9E-08
pd238	MeAla	MePhe	Leu	Thr	MeLeu	MeAla	MeAla(4-Thz)	Phe	MePhe	MeLeu	Asp				pip	1.19	8.8E-08
pd239		b-MeAla	MePhe	MeLeu	MeAla	MePhe	Ile	MeLeu	MeLeu	Thr	Asp	MePhe	MePhe	Ala	pip	1.18	6.5E-08
pd240		MeAla	MePhe	Ile	MeAla	MeLeu	MeLeu	Thr	MePhe	MeLeu	Asp	MePhe	MePhe	Ala	pip	1.27	6.0E-08
pd241			D-Val	Ala	Thr	MeAla	Phe	MeLeu	MePhe	MeLeu	Asp	MePhe	Phe		pip	1.11	5.8E-08
pd242		D-Ala	Thr	MePhe	Ile	MeAla	MeLeu	MePhe	MeLeu	MeLeu	Asp	MePhe	MePhe	Ala	pip	1.22	5.8E-08
pd243	D-Leu	MeLeu	MePhe	MePhe	Ser(tBu)	MePhe	Leu	MeLeu	Thr	MePhe	Asp				pip	1.50	5.7E-08
pd244	Ala	Phe	MeLeu	MePhe	Leu	Thr	MeLeu	Phe	MeGly	MePhe	Asp				pip	1.18	4.5E-08
pd245	MeLeu	Thr	Leu	MePhe	MePhe	MeGly	Phe	MeAla	Phe	Ser(tBu)	Asp				pip	1.11	1.9E-08
pd246	D-Ala	MePhe	MeGly	Leu	Thr	Phe	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MePhe	Asp				pip	1.13	1.4E-08
pd247			Ala	Thr	MeAla	MePhe	Val	MePhe	MeLeu	Gly	Asp	MePhe	MePhe	Ala	pip	0.88	8.7E-08

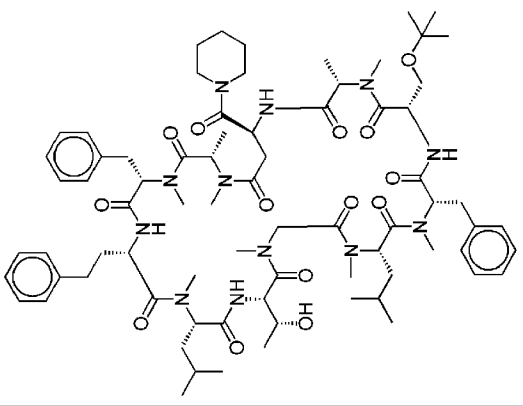
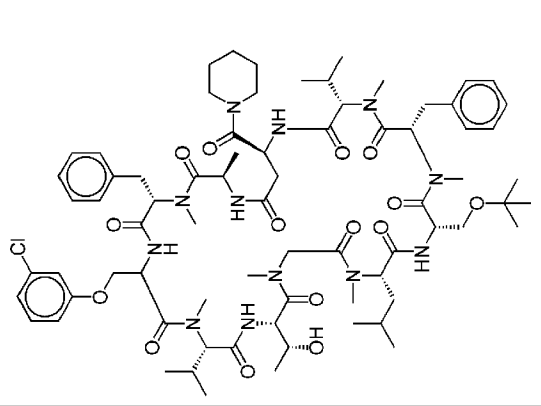
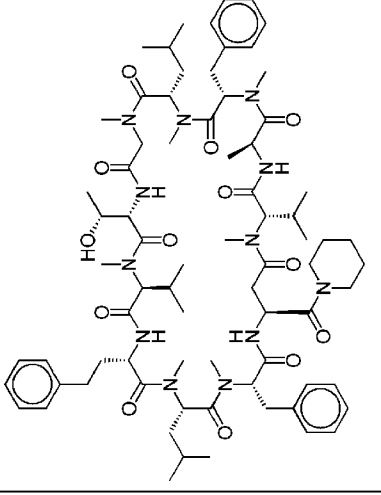
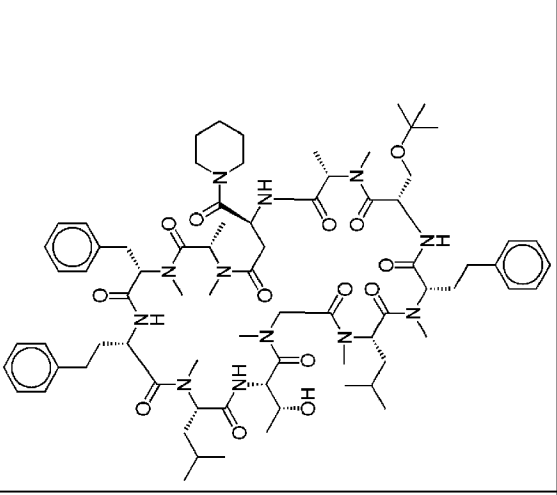
[0491] 上記に記載の環状ペプチドの構造を以下に示す。(なお環状ペプチドの構

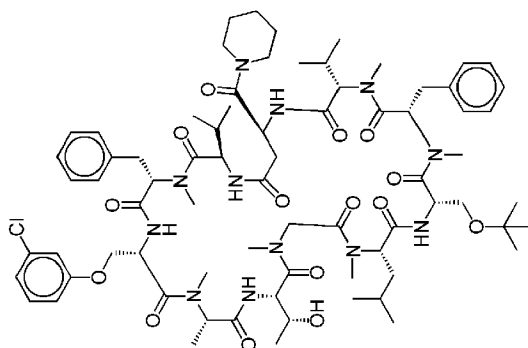
造式において、構造を明瞭にする目的でヘテロ原子に結合している水素原子を省略している場合もある)

[0492] [表38]

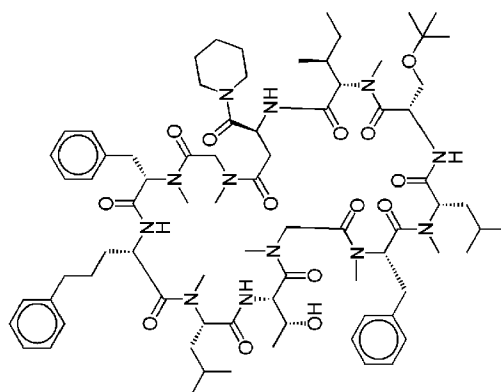
構造式		
ID	pd163	pd177
構造式		
ID	pd162	pd167

	
pd179	pd181
	
pd178	pd180

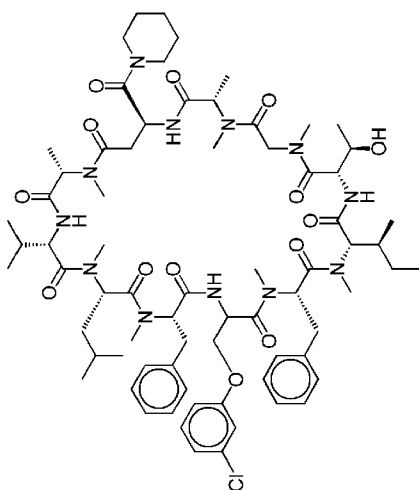
 Chemical structure of pd183, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a tert-butyl ether, and several side chains including benzyl, isobutyl, and a hydroxyisobutyl group.	 Chemical structure of pd185, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a tert-butyl ether, and several side chains including benzyl, isobutyl, and a 4-chlorobenzyl group.
pd183	pd185
 Chemical structure of pd182, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, and several side chains including benzyl, isobutyl, and a hydroxyisobutyl group.	 Chemical structure of pd184, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds, a piperidine ring, a tert-butyl ether, and several side chains including benzyl, isobutyl, and a hydroxyisobutyl group.
pd182	pd184



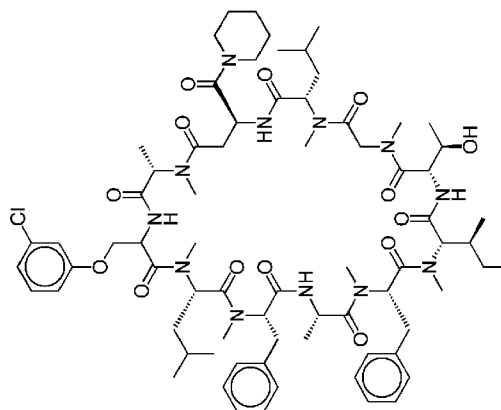
pd187



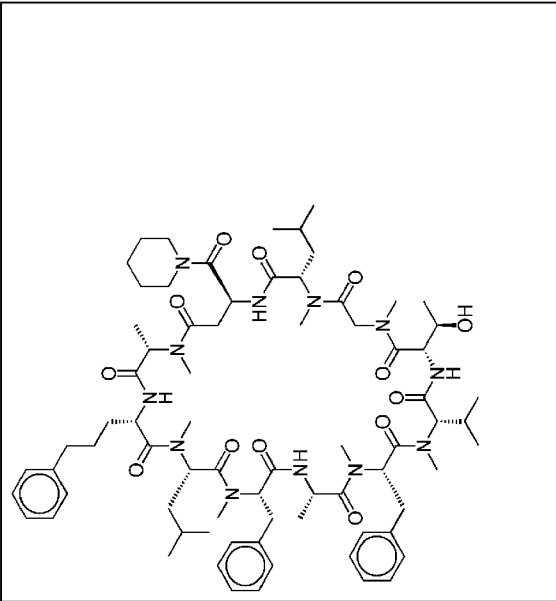
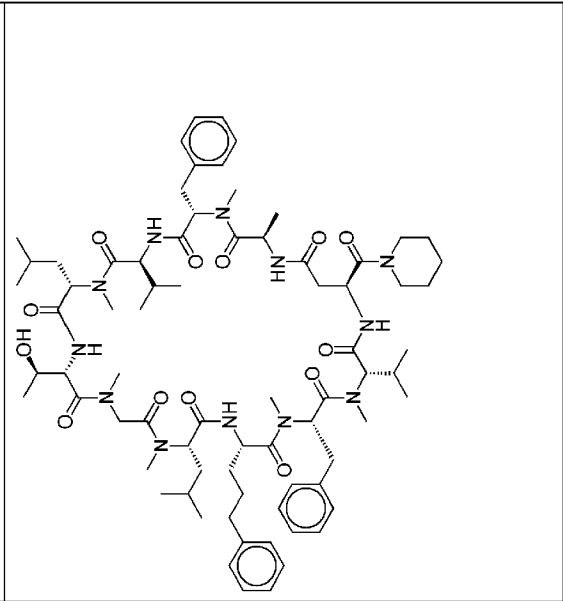
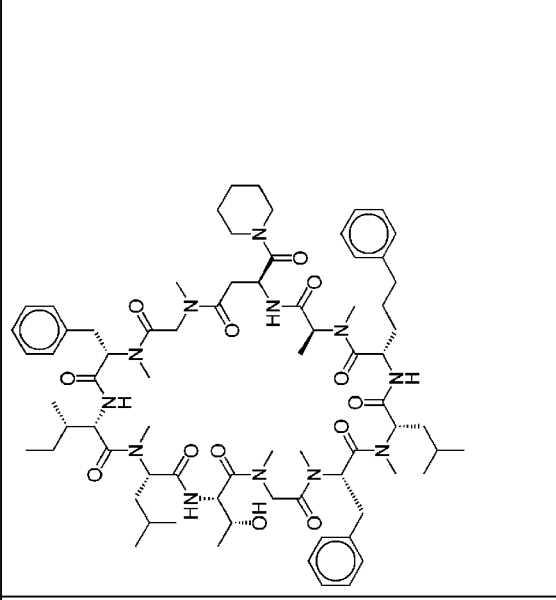
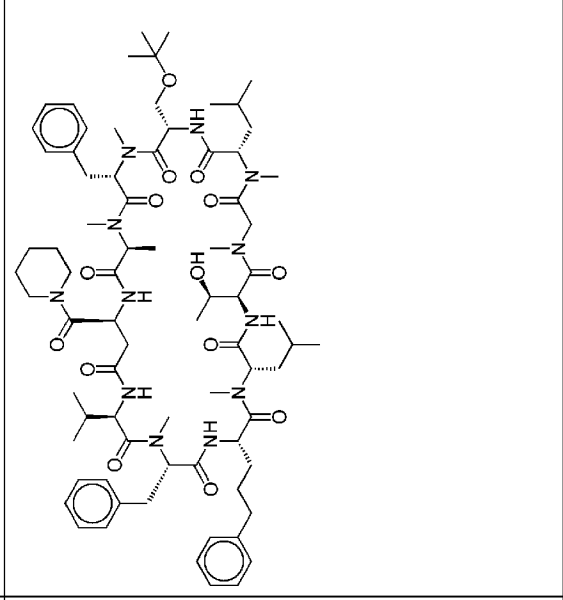
pd189

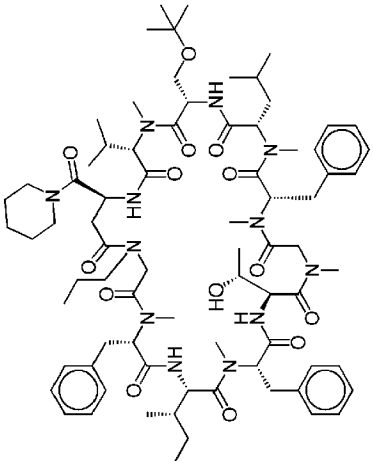
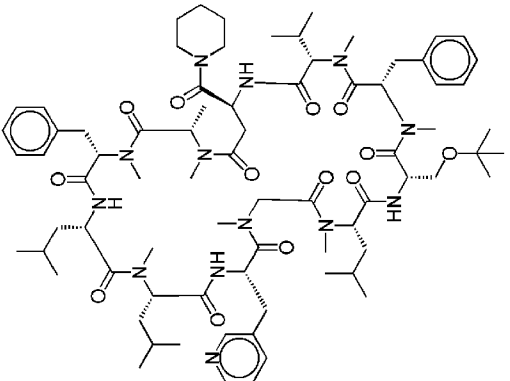
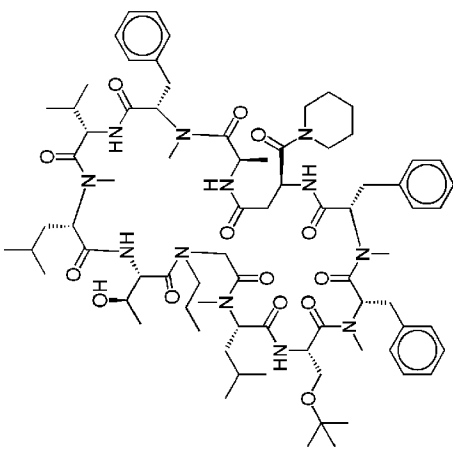
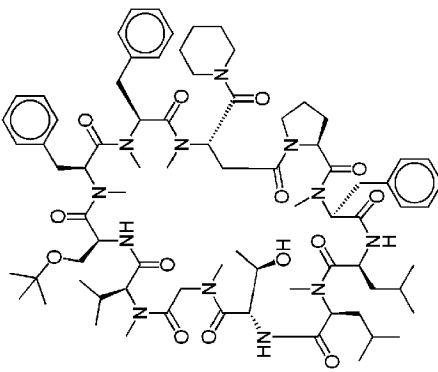


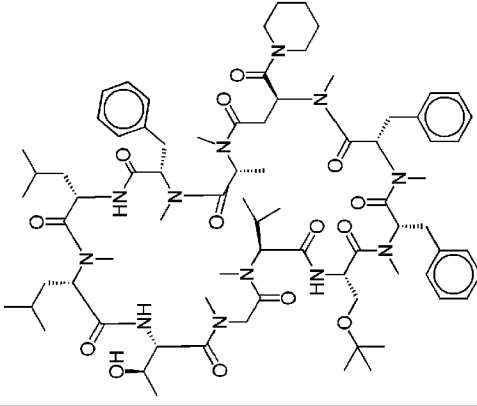
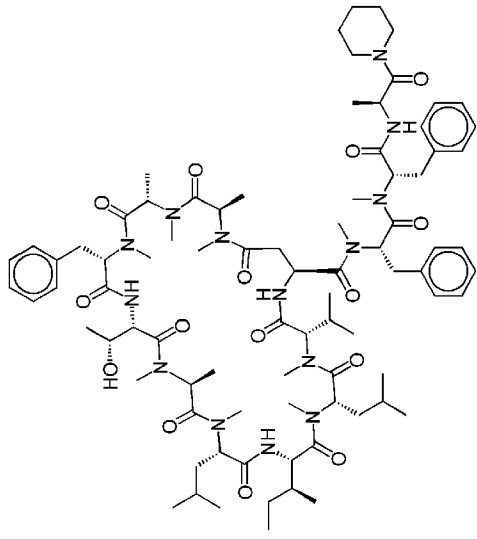
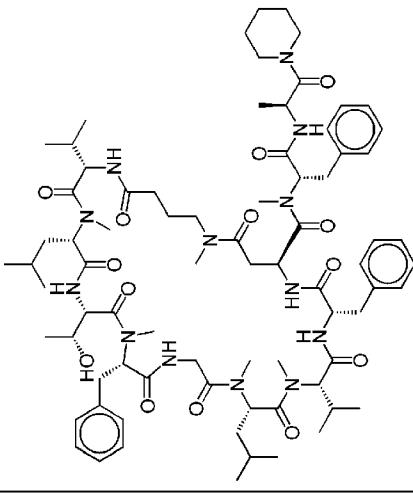
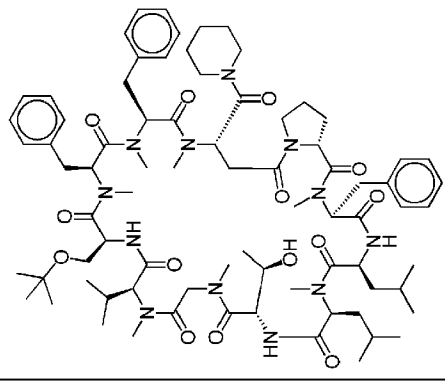
pd186

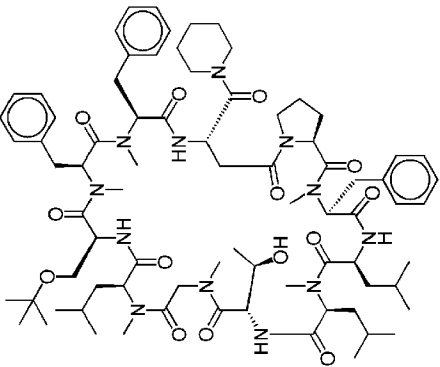
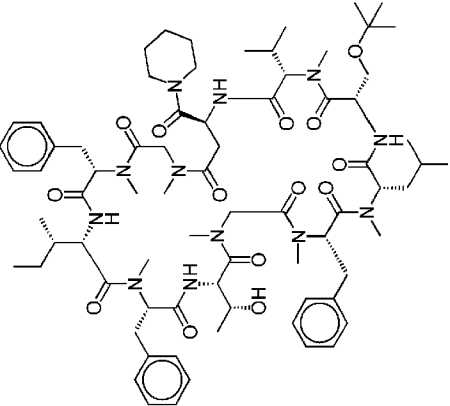
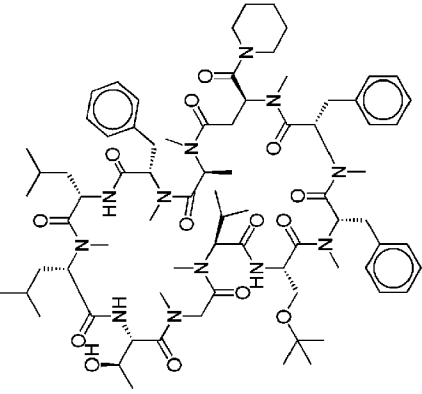
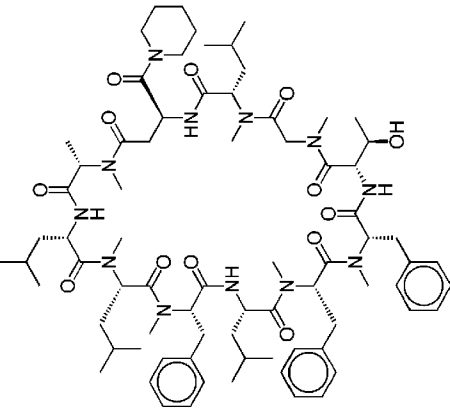


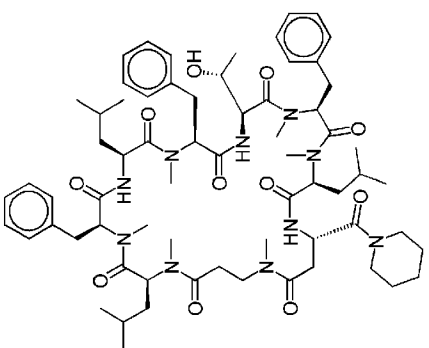
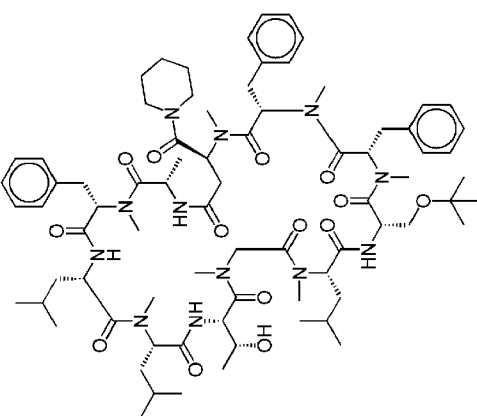
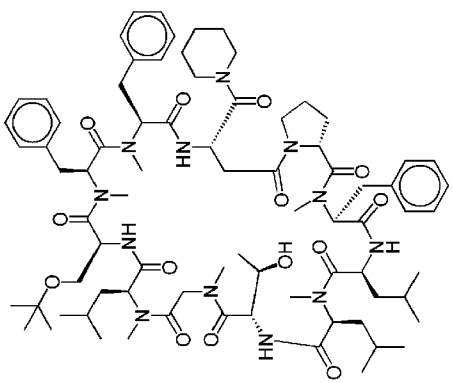
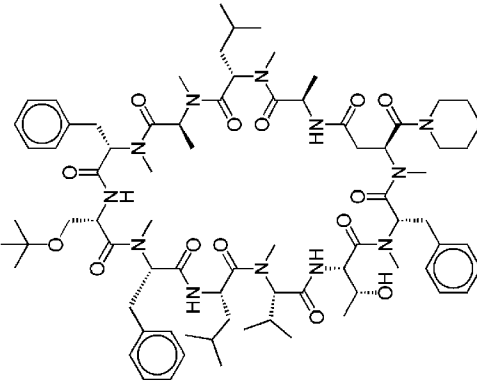
pd188

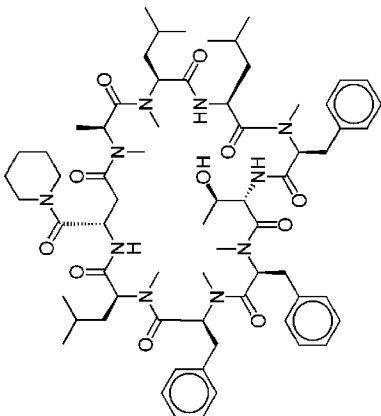
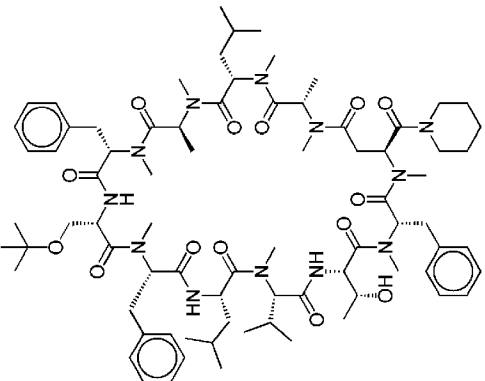
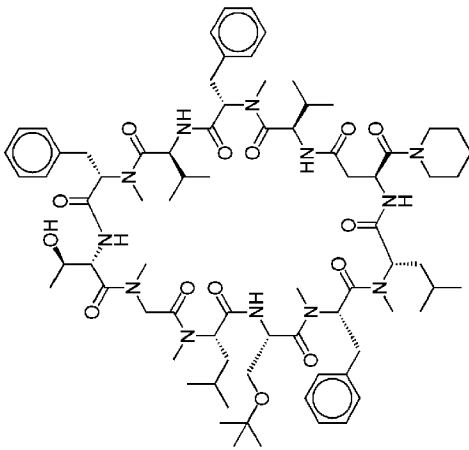
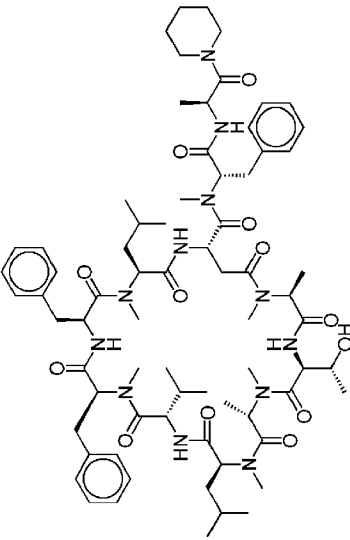
 Chemical structure of compound pd191, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, several chiral centers, and various side chains including a phenyl group, a cyclohexyl group, and a hydroxyl group.	 Chemical structure of compound pd193, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, several chiral centers, and various side chains including a phenyl group, a cyclohexyl group, and a hydroxyl group.
pd191	pd193
 Chemical structure of compound pd190, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, several chiral centers, and various side chains including a phenyl group, a cyclohexyl group, and a hydroxyl group.	 Chemical structure of compound pd192, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, several chiral centers, and various side chains including a phenyl group, a cyclohexyl group, and a hydroxyl group.
pd190	pd192

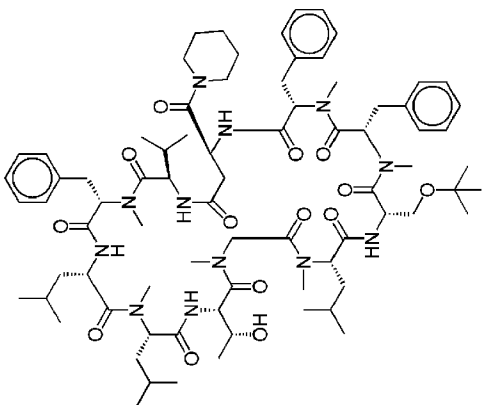
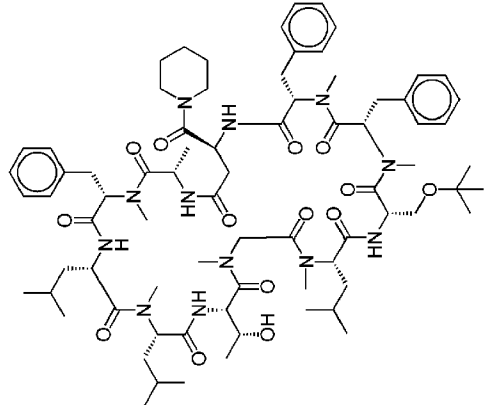
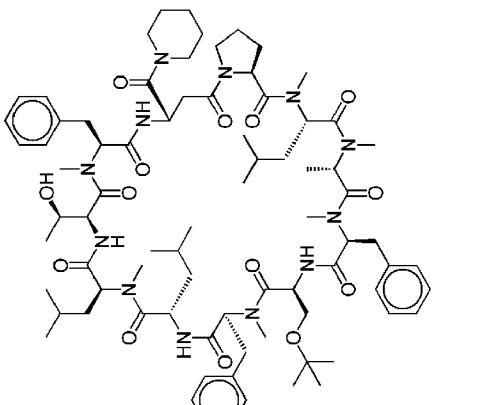
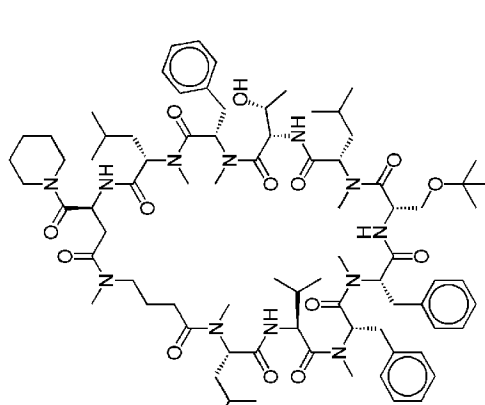
 Chemical structure of compound pd195, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with various side chains including a piperidine ring, a tert-butoxy group, a phenyl group, a hydroxyl group, and a benzyl group.	 Chemical structure of compound pd197, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with various side chains including a piperidine ring, a phenyl group, a tert-butoxy group, a pyridine ring, and a benzyl group.
pd195	pd197
 Chemical structure of compound pd194, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with various side chains including a phenyl group, a piperidine ring, a hydroxyl group, a tert-butoxy group, and a benzyl group.	 Chemical structure of compound pd196, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with various side chains including a phenyl group, a piperidine ring, a hydroxyl group, a tert-butoxy group, and a benzyl group.
pd194	pd196

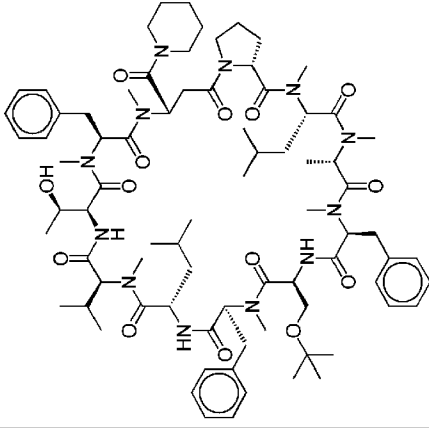
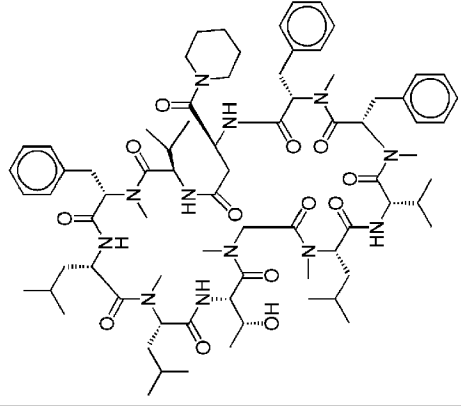
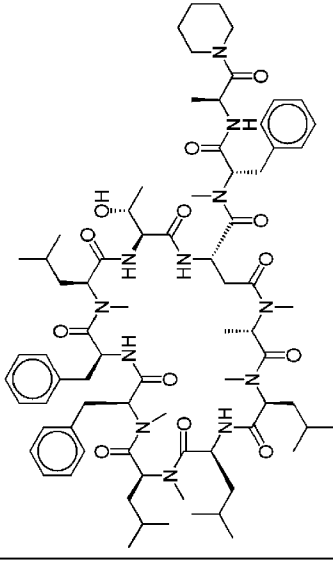
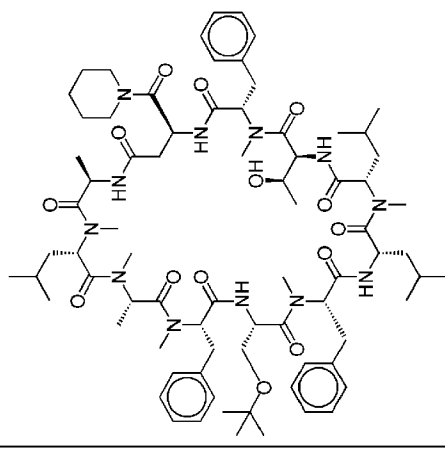
	
pd199	pd201
	
pd198	pd200

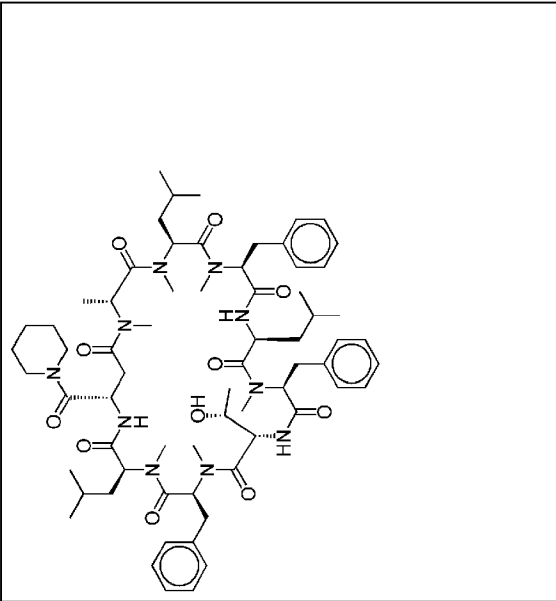
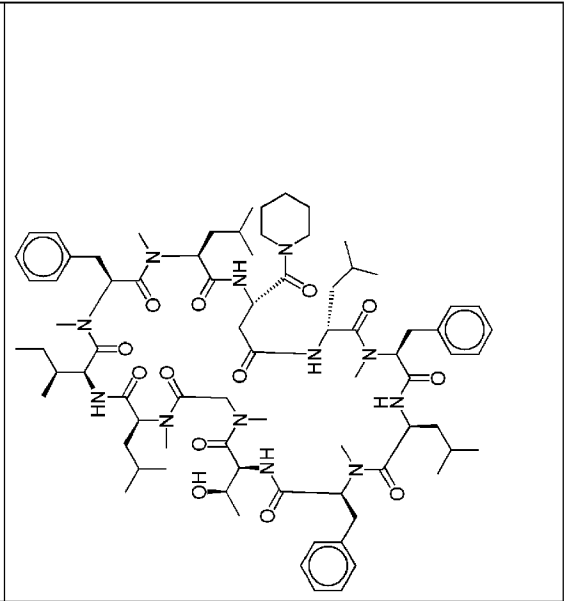
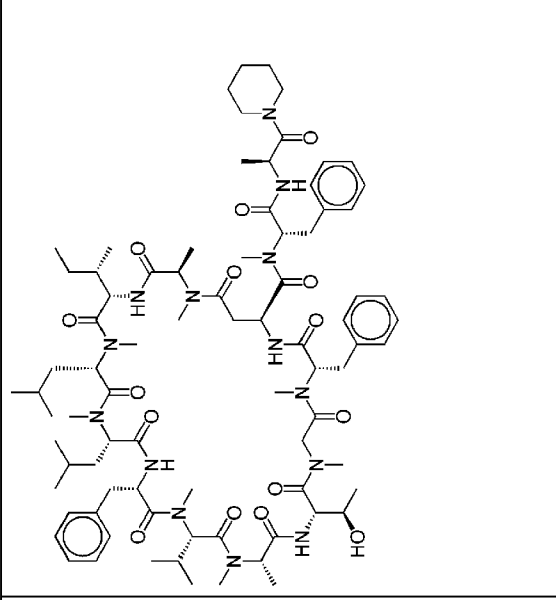
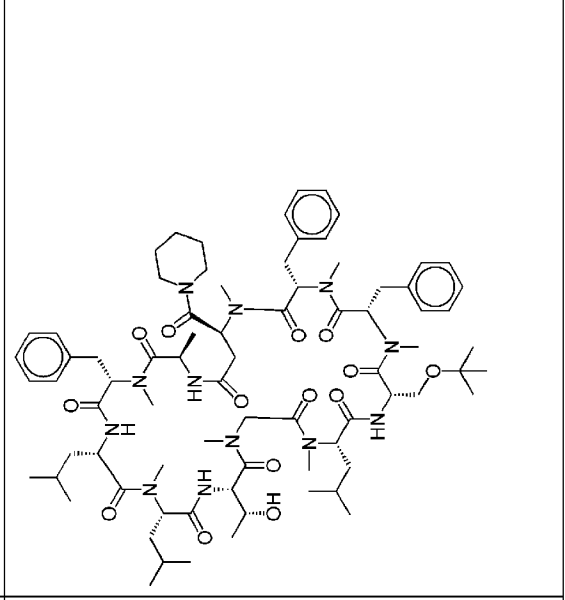
 Chemical structure of pd203, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including benzyl, piperidinomethyl, and hydroxymethyl groups, and is terminated with a tert-butyl ester.	 Chemical structure of pd205, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including benzyl, piperidinomethyl, and hydroxymethyl groups, and is terminated with a tert-butyl ester.
pd203	pd205
 Chemical structure of pd202, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including benzyl, piperidinomethyl, and hydroxymethyl groups, and is terminated with a tert-butyl ester.	 Chemical structure of pd204, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with various side chains including benzyl, piperidinomethyl, and hydroxymethyl groups, and is terminated with a tert-butyl ester.
pd202	pd204

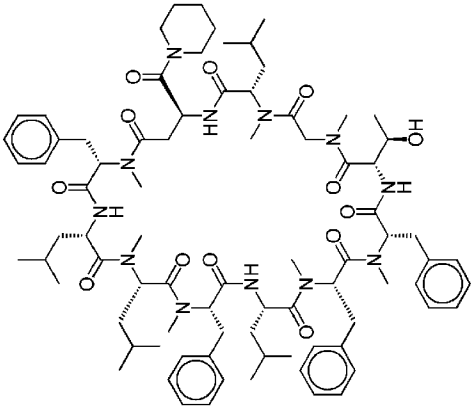
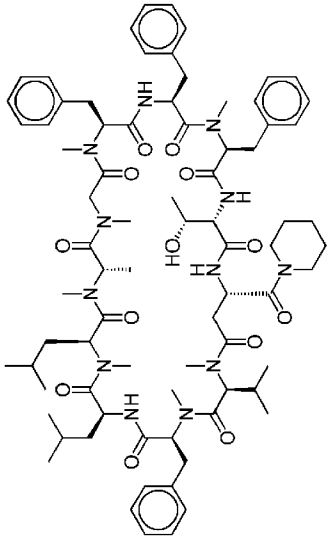
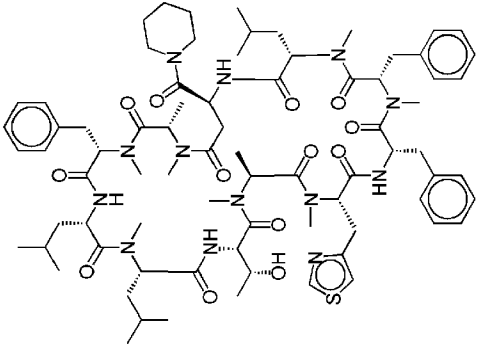
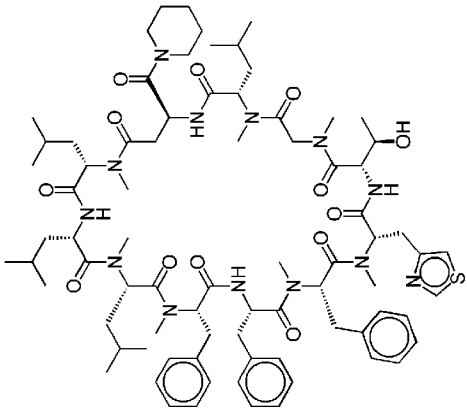
 Chemical structure of pd207, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a hydroxyl group and a cyclohexyl ring.	 Chemical structure of pd209, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a hydroxyl group and a cyclohexyl ring.
pd207	pd209
 Chemical structure of pd206, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a hydroxyl group and a cyclohexyl ring.	 Chemical structure of pd208, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring with multiple amide bonds, including a hydroxyl group and a cyclohexyl ring.
pd206	pd208

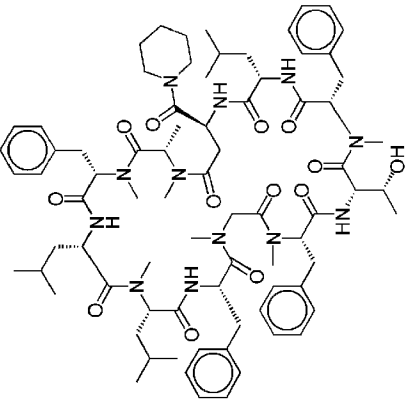
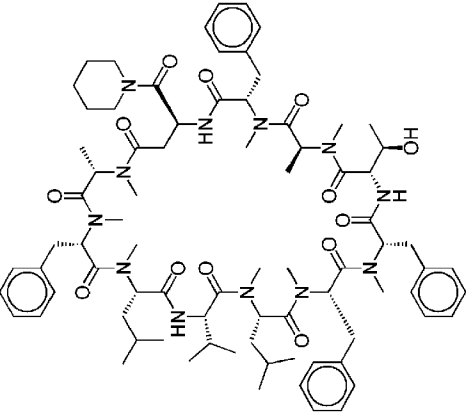
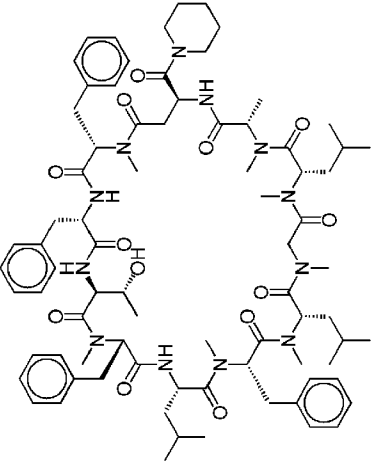
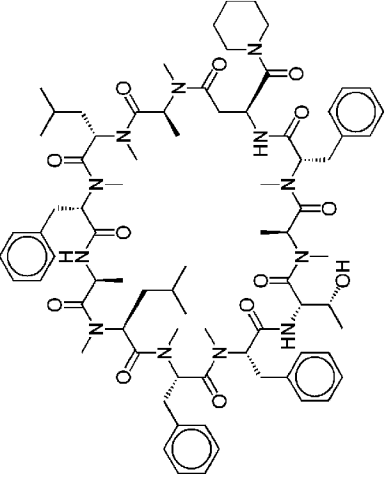
 Chemical structure of compound pd211, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure with multiple amide bonds, several chiral centers, and various side chains including benzyl, isobutyl, and a piperidine ring.	 Chemical structure of compound pd213, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure with multiple amide bonds, several chiral centers, and various side chains including benzyl, isobutyl, and a piperidine ring.
pd211	pd213
 Chemical structure of compound pd210, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure with multiple amide bonds, several chiral centers, and various side chains including benzyl, isobutyl, and a piperidine ring.	 Chemical structure of compound pd212, a complex macrocyclic peptide derivative. It features a large ring structure with multiple amide bonds, several chiral centers, and various side chains including benzyl, isobutyl, and a piperidine ring.
pd210	pd212

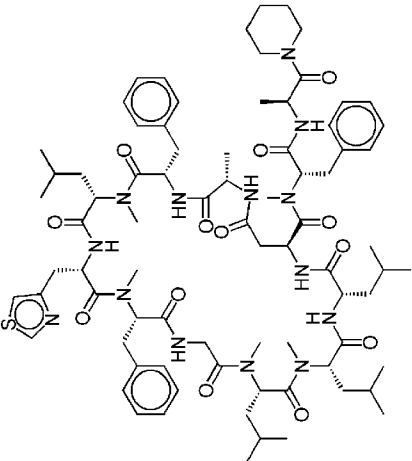
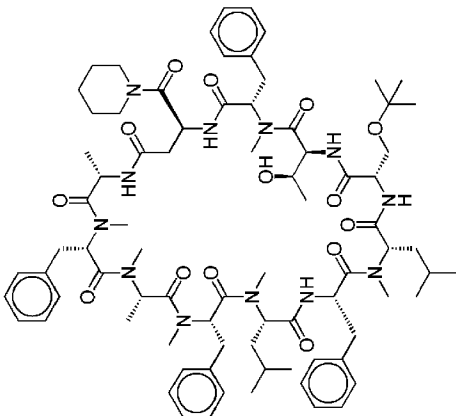
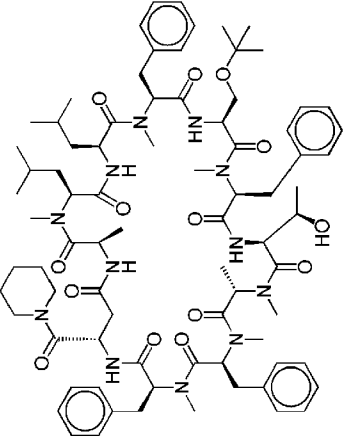
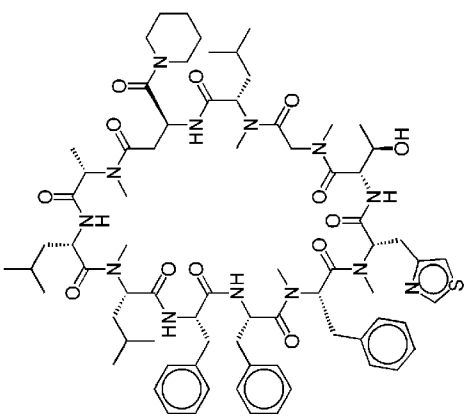
 Chemical structure of pd215: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a piperidine ring, a benzyl group, a tert-butyl ester, and a hydroxyl group. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.	 Chemical structure of pd217: A complex macrocyclic peptide derivative, similar to pd215 but with a different arrangement of substituents, including a piperidine ring, a benzyl group, a tert-butyl ester, and a hydroxyl group.
pd215	pd217
 Chemical structure of pd214: A complex macrocyclic peptide derivative. It features a 12-membered ring with multiple amide bonds. Substituents include a piperidine ring, a benzyl group, a tert-butyl ester, and a hydroxyl group. Stereochemistry is indicated with wedges and dashes.	 Chemical structure of pd216: A complex macrocyclic peptide derivative, similar to pd214 but with a different arrangement of substituents, including a piperidine ring, a benzyl group, a tert-butyl ester, and a hydroxyl group.
pd214	pd216

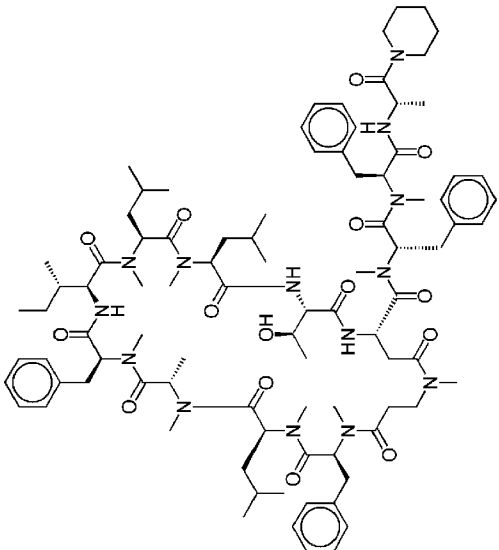
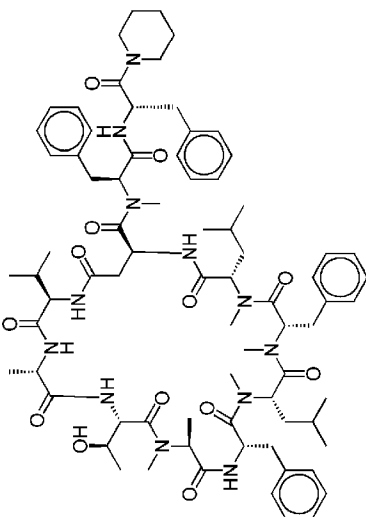
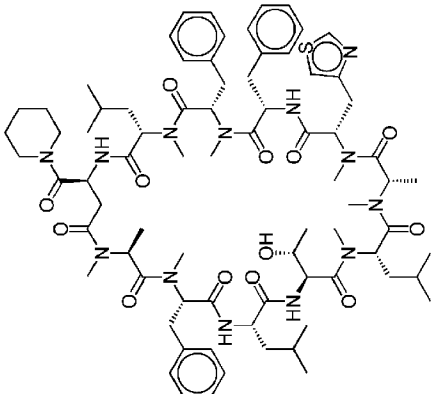
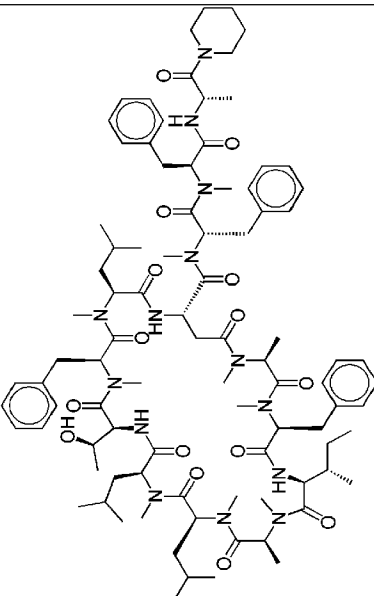
	
pd219	pd221
	
pd218	pd220

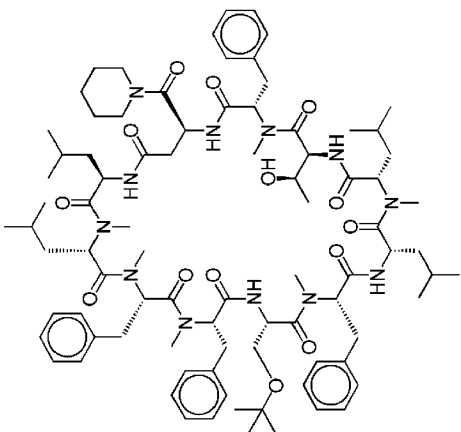
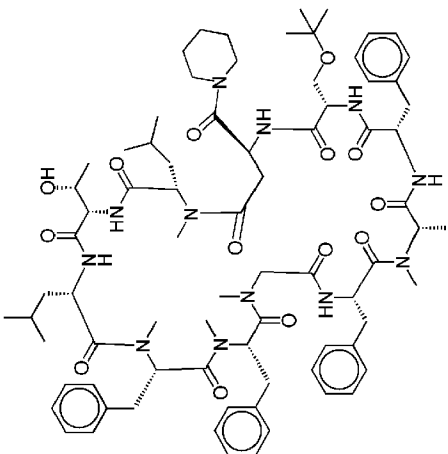
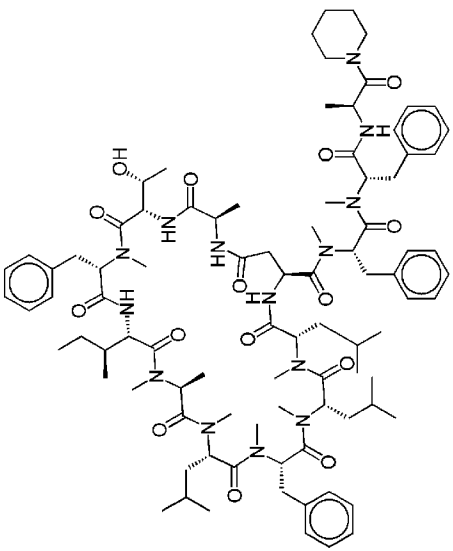
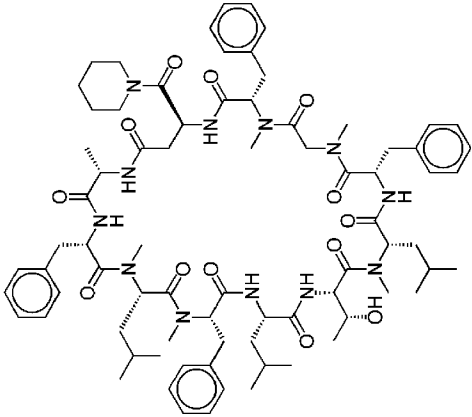
 Chemical structure of pd223: A macrocyclic peptide with 12 amino acid residues. The residues, starting from the N-terminus and proceeding clockwise, are: L-phenylalanine, L-isoleucine, L-threonine, L-alanine, L-serine, L-valine, L-isoleucine, L-threonine, L-alanine, L-serine, L-phenylalanine, and L-isoleucine. The structure shows a cyclic backbone with various side chains, including a phenyl group, an isobutyl group, a hydroxymethyl group, and a methyl group.	 Chemical structure of pd225: A macrocyclic peptide with 12 amino acid residues. The residues, starting from the N-terminus and proceeding clockwise, are: L-phenylalanine, L-isoleucine, L-threonine, L-alanine, L-serine, L-valine, L-isoleucine, L-threonine, L-alanine, L-serine, L-phenylalanine, and L-isoleucine. The structure shows a cyclic backbone with various side chains, including a phenyl group, an isobutyl group, a hydroxymethyl group, and a methyl group.
pd223	pd225
 Chemical structure of pd222: A macrocyclic peptide with 12 amino acid residues. The residues, starting from the N-terminus and proceeding clockwise, are: L-phenylalanine, L-isoleucine, L-threonine, L-alanine, L-serine, L-valine, L-isoleucine, L-threonine, L-alanine, L-serine, L-phenylalanine, and L-isoleucine. The structure shows a cyclic backbone with various side chains, including a phenyl group, an isobutyl group, a hydroxymethyl group, and a methyl group.	 Chemical structure of pd224: A macrocyclic peptide with 12 amino acid residues. The residues, starting from the N-terminus and proceeding clockwise, are: L-phenylalanine, L-isoleucine, L-threonine, L-alanine, L-serine, L-valine, L-isoleucine, L-threonine, L-alanine, L-serine, L-phenylalanine, and L-isoleucine. The structure shows a cyclic backbone with various side chains, including a phenyl group, an isobutyl group, a hydroxymethyl group, and a methyl group.
pd222	pd224

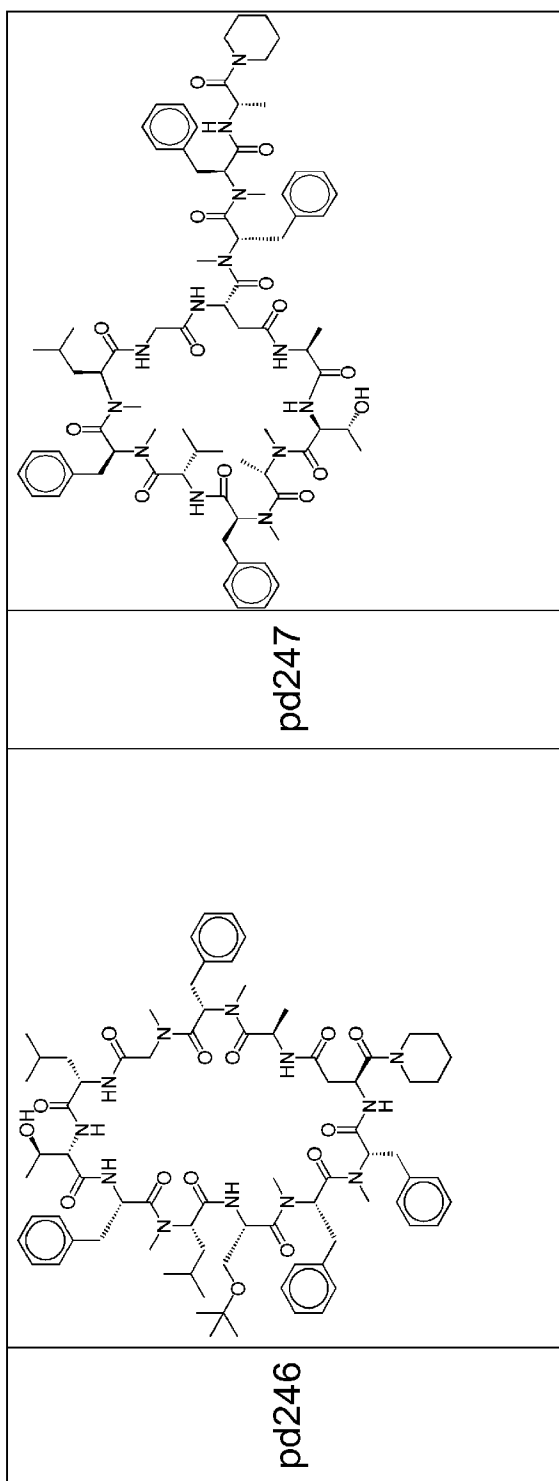
	
pd227	pd229
	
pd226	pd228

 Chemical structure of pd231, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds and side chains including a piperidine ring, a hydroxyl group, and various aromatic and aliphatic groups.	 Chemical structure of pd233, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds and side chains including a piperidine ring, a hydroxyl group, and various aromatic and aliphatic groups.
pd231	pd233
 Chemical structure of pd230, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds and side chains including a piperidine ring, a hydroxyl group, and various aromatic and aliphatic groups.	 Chemical structure of pd232, a macrocyclic peptide derivative. It features a 14-membered ring with multiple amide bonds and side chains including a piperidine ring, a hydroxyl group, and various aromatic and aliphatic groups.
pd230	pd232

	
pd235	pd237
	
pd234	pd236

	
pd239	pd241
	
pd238	pd240

	
pd243	pd245
	
pd242	pd244



[0493] 参照例において膜透過性を評価した環状ペプチドの分析情報を以下に示す

。

[0494]

[表39]

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
pd50	SQDFA05	1473	(M+H)+	0.84
pd51	SQDFA05	1471	(M+H)+	0.84
pd52	SQDFA05	1443	(M+H)+	0.79
pd53	SQDFA05	1487	(M+H)+	0.85
pd54	SQDFA05	1485	(M+H)+	0.74, 0.82
pd55	SQDFA05	1485	(M+H)+	0.79, 0.85
pd56	SQDFA05	1443	(M+H)+	0.77, 0.82
pd57	SQDFA05	1429	(M+H)+	0.71
pd58	SQDFA05	1459	(M+H)+	0.81
pd59	SQDAA50	1553	(M+H)+	0.80
pd60	SQDAA50	1587	(M+H)+	0.79
pd61	SQDAA50	1559	(M+H)+	0.77
pd62	SQDAA50	1533	(M+H)+	0.76
pd63	SQDAA50	1539	(M+H)+	0.76
pd64	SQDAA50	1553	(M+H)+	0.75
pd65	SQDAA50	1533	(M+H)+	0.76
pd66	SQDAA50	1567	(M+H)+	0.77
pd67	SQDAA50	1547	(M+H)+	0.80
pd68	SQDAA50	1545	(M+H)+	0.73
pd69	SQDAA50	1517	(M+H)+	0.75
pd70	SQDAA50	1503	(M+H)+	0.74

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
pd100	SQDFA05	1339.5	(M+H)+	0.91
pd101	SQDFA05	1303	(M+H)+	1.02
pd102	SQDFA05	1361	(M+H)+	1.00
pd103	SQDFA05	1361	(M+H)+	1.12
pd104	SQDFA05	1395	(M+H)+	1.03
pd105	SQDFA05	1361	(M+H)+	1.01
pd106	SQDFA05	1419	(M+H)+	1.11
pd107	SQDFA05	1509	(M+H)+	1.12
pd108	SQDFA05	1389	(M+H)+	1.11
pd109	SQDFA05	1423	(M+H)+	1.06
pd110	SQDFA05	1445	(M+H)+	1.17
pd111	SQDFA05	1451	(M+H)+	1.13
pd112	SQDFA05	1330	(M+H)+	0.89
pd113	SQDFA05	1348	(M+H)+	0.84
pd114	SQDFA05	1448	(M+H)+	1.02
pd115	SQDFA05	1344	(M+H)+	0.89
pd116	SQDFA05	1300	(M+H)+	0.90
pd117	SQDFA05	1358	(M+H)+	0.96
pd118	SQDFA05	1420	(M+H)+	1.00
pd119	SQDFA05	1432	(M+H)+	0.98
pd120	SQDFA05	1332	(M+H)+	0.94
pd121	SQDFA05	1372	(M+H)+	1.00
pd122	SQDFA05	1390	(M+H)+	1.01
pd123	SQDFA05	1390	(M+H)+	0.97
pd124	SQDFA05	1390	(M+H)+	0.98
pd125	SQDFA05	1442	(M+H)+	1.07

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
pd126	SQDFA05	1342	(M+H)+	1.01
pd127	SQDFA05	1400	(M+H)+	1.06
pd128	SQDFA05	1418	(M+H)+	1.05
pd129	SQDFA05	1456	(M+H)+	1.06

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
pd162	SQDFA05	1466	(M+H)+	1.11
pd163	SQDFA05	1466	(M+H)+	1.13
pd167	SQDFA05	1454	(M+H)+	1.12
pd177	SQDFA05	1450	(M+H)+	1.09
pd178	SQDFA05	1420	(M+H)+	1.09
pd179	SQDFA05	1392	(M+H)+	1.05
pd180	SQDFA05	1483	(M+H)+	1.13
pd181	SQDFA05	1481	(M+H)+	1.17
pd182	SQDFA05	1390	(M+H)+	1.08
pd183	SQDFA05	1406	(M+H)+	1.09
pd184	SQDFA05	1420	(M+H)+	1.10
pd185	SQDFA05	1442	(M+H)+	1.12
pd186	SQDFA05	1398	(M+H)+	1.06
pd187	SQDFA05	1442	(M+H)+	1.12
pd188	SQDFA05	1412	(M+H)+	1.09
pd189	SQDFA05	1448	(M+H)+	1.13
pd190	SQDFA05	1376	(M+H)+	1.05
pd191	SQDFA05	1376	(M+H)+	1.05
pd192	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.13
pd193	SQDFA05	1390	(M+H)+	1.08
pd194	SQDFA50	1434	(M+H)+	0.82
pd195	SQDFA50	1434	(M+H)+	0.78
pd196	SQDFA05	1446	(M+H)+	1.15
pd197	SQDFA05	1433	(M+H)+	0.93
pd198	SQDFA05	1447	(M+H)+	1.03
pd199	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.13
pd200	SQDFA05	1446	(M+H)+	1.15

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
pd201	SQDAA50	1574	(M+H)+	0.90
pd202	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.12
pd203	SQDFA05	1446	(M+H)+	1.13
pd204	SQDFA05	1404	(M+H)+	1.10
pd205	SQDFA05	1406	(M+H)+	1.03
pd206	SQDFA05	1446	(M+H)+	1.12
pd207	SQDFA05	1220	(M+H)+	0.82
pd208	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.12
pd209	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.16
pd210	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.13
pd211	SQDFA05	1220	(M+H)+	1.05
pd212	SQDFA05	1348	(M+H)+	1.04
pd213	SQDFA05	1448	(M+H)+	1.12
pd214	SQDFA05	1460	(M+H)+	1.13
pd215	SQDFA05	1448	(M+H)+	1.15
pd216	SQDFA05	1490	(M+H)+	1.16
pd217	SQDFA05	1420	(M+H)+	1.09
pd218	SQDFA05	1404	(M+H)+	1.14
pd219	SQDFA05	1460	(M+H)+	1.06
pd220	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.15
pd221	SQDFA05	1404	(M+H)+	1.10
pd222	SQDFA05	1544	(M-H)-	1.06
pd223	SQDFA05	1220	(M+H)+	1.02
pd224	SQDFA05	1434	(M+H)+	1.16
pd225	SQDFA05	1432	(M+H)+	1.16

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
pd226	SQDFA05	1459	(M+H)+	1.06
pd227	SQDFA05	1480	(M+H)+	1.19
pd228	SQDFA05	1487	(M+H)+	1.14
pd229	SQDFA05	1424	(M+H)+	1.10
pd230	SQDFA05	1438	(M+H)+	1.13
pd231	SQDFA05	1424	(M+H)+	1.08
pd232	SQDFA05	1424	(M+H)+	1.07
pd233	SQDFA05	1452	(M+H)+	1.13
pd234	SQDFA05	1468	(M+H)+	1.11
pd235	SQDFA05	1500	(M+H)+	1.11
pd236	SQDFA05	1431	(M+H)+	0.99
pd237	SQDFA05	1468	(M+H)+	1.14
pd238	SQDFA05	1459	(M+H)+	1.02
pd239	SQDFA05	1664	(M+H)+	1.11
pd240	SQDAA50	1664	(M+H)+	0.95
pd241	SQDFA50	1410	(M+H)+	0.76
pd242	SQDAA50	1650	(M+H)+	0.94
pd243	SQDAA50	1552	(M+H)+	0.94
pd244	SQDFA05	1410	(M+H)+	1.03
pd245	SQDFA05	1440	(M+H)+	0.99
pd246	SQDFA05	1440	(M+H)+	1.05
pd247	SQDFA05	1439	(M+H)+	0.93

化合物 番号	分析条件	LCMS(ESI) m/z		保持時間 (分)
pd386	SQDFA05	1505	(M+H)+	0.84
pd387	SQDFA05	1491	(M+H)+	0.84
pd388	SQDFA05	1475	(M+H)+	0.87
pd389	SQDFA05	1467	(M+H)+	0.80
pd390	SQDFA05	1489	(M+H)+	0.82
pd391	SQDFA05	1447	(M+H)+	0.81
pd392	SQDFA05	1461	(M+H)+	0.85
pd393	SQDFA05	1491	(M+H)+	0.84
pd394	SQDFA05	1475	(M+H)+	0.80
pd395	SQDFA05	1475	(M+H)+	0.79
pd452	SQDFA05	1513	(M+H)+	0.83
pd453	SQDFA05	1455	(M+H)+	0.76
pd454	SQDFA05	1469	(M+H)+	0.78
pd482	SQDAA50	1451	(M+H)+	0.83
pd483	SQDAA50	1437	(M+H)+	0.84
pd484	SQDAA50	1437	(M+H)+	0.86
pd485	SQDAA50	1507	(M+H)+	0.89
pd486	SQDAA50	1421	(M+H)+	0.85
pd487	SQDAA50	1448	(M+H)+	0.79

産業上の利用可能性

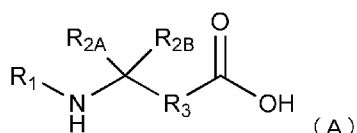
[0495] 本発明は、ペプチドの膜透過性を改善するアミノ酸、および該アミノ酸を含むペプチド化合物を提供することができる。

請求の範囲

[請求項1] 2以上のアミノ酸が連結されたペプチド化合物であって、アミノ酸の少なくとも1つがその側鎖内で水素結合を形成し得る、ペプチド化合物。

[請求項2] 側鎖内で水素結合を形成し得るアミノ酸が、側鎖内で擬似4～7員環を形成し得る、請求項1に記載のペプチド化合物。

[請求項3] 側鎖内で水素結合を形成し得るアミノ酸が、下記式Aで表される、請求項1または2に記載のペプチド化合物：



式中、

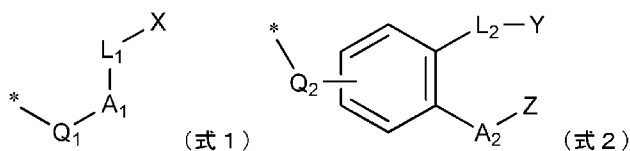
R_1 は、水素、もしくは $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基であり、この場合、 $\text{R}_{2\text{A}}$ および $\text{R}_{2\text{B}}$ は、 $\text{R}_{2\text{A}}$ が水素、もしくは $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基であり、かつ $\text{R}_{2\text{B}}$ は、水素または $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであるか、あるいは、 $\text{R}_{2\text{A}}$ および $\text{R}_{2\text{B}}$ は、それらが結合している炭素原子と一緒に becoming 4～6員の環を形成し、あるいは

R_1 は、 R_1 が結合する窒素原子、 $\text{R}_{2\text{A}}$ 、および $\text{R}_{2\text{A}}$ が結合する炭素原子と一緒に becoming 4～6員の複素環を形成し、該複素環は、式1もしくは式2で表される基、 --OH 、およびアルコキシ基からなる群より選択される、1つまたは複数の置換基を有していてもよく、この場合、 $\text{R}_{2\text{B}}$ は、水素または $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであり、

R_3 は、単結合、または $\text{--CHR}_4\text{--}$ であり、

R_4 は、水素、もしくは $\text{C}_1\text{--C}_4$ アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基であり、

式1および式2は、それぞれ下記式：



で表され、式中、

*は、結合点を示し、

Q_1 および Q_2 は、独立して、単結合、 C_1-C_4 アルキレン、または酸素原子を 1 つ含む C_2-C_4 ヘテロアルキレンであり、

A_1 は、 $-O-$ 、または $-S-$ であり、

L_1 は、フッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ ($=O$) からなる群より選択される 1 つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

A_2 は、単結合、 $-O-$ 、または $-S-$ であり、

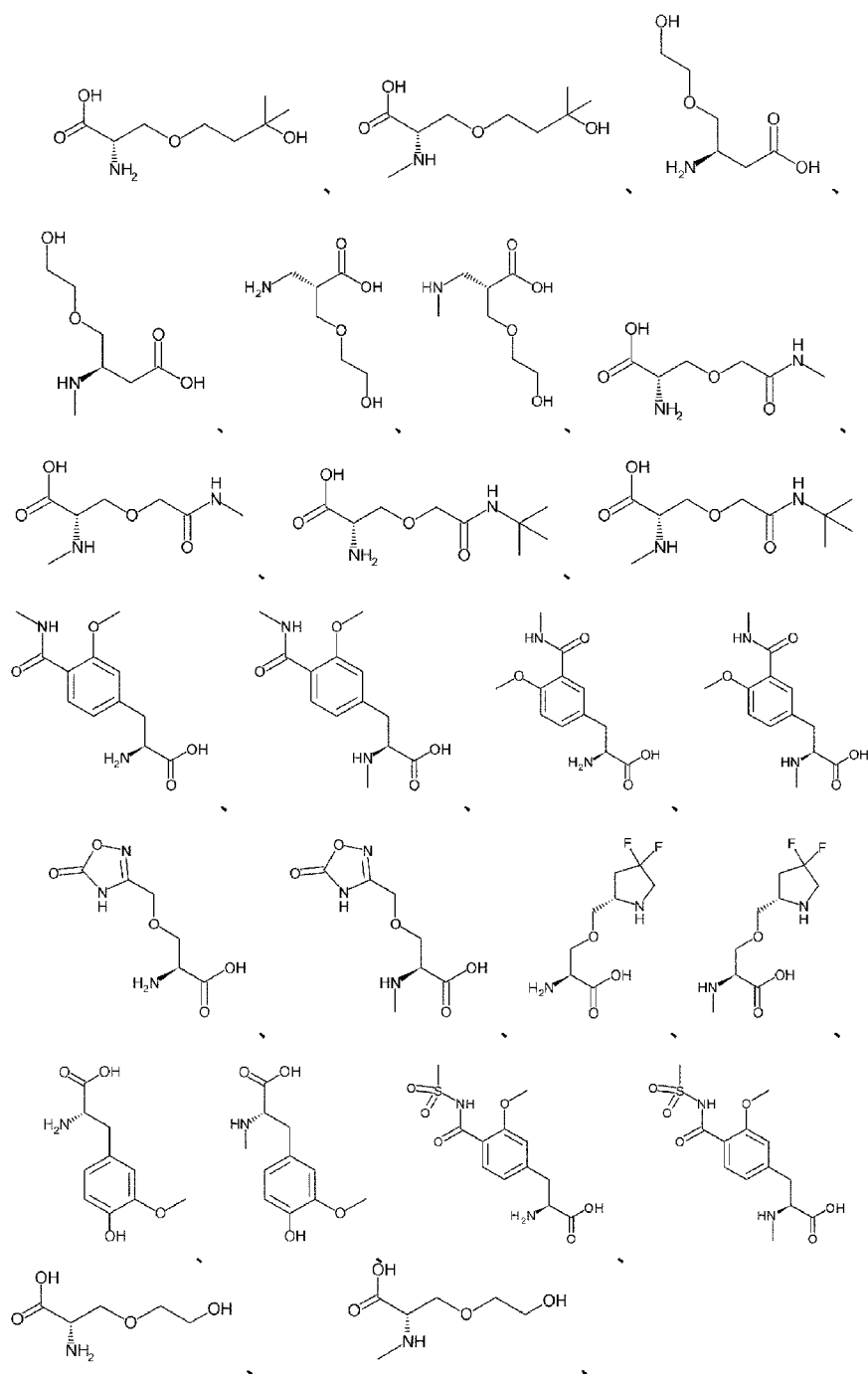
L_2 は、単結合であるか、またはフッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ ($=O$) からなる群より選択される 1 つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

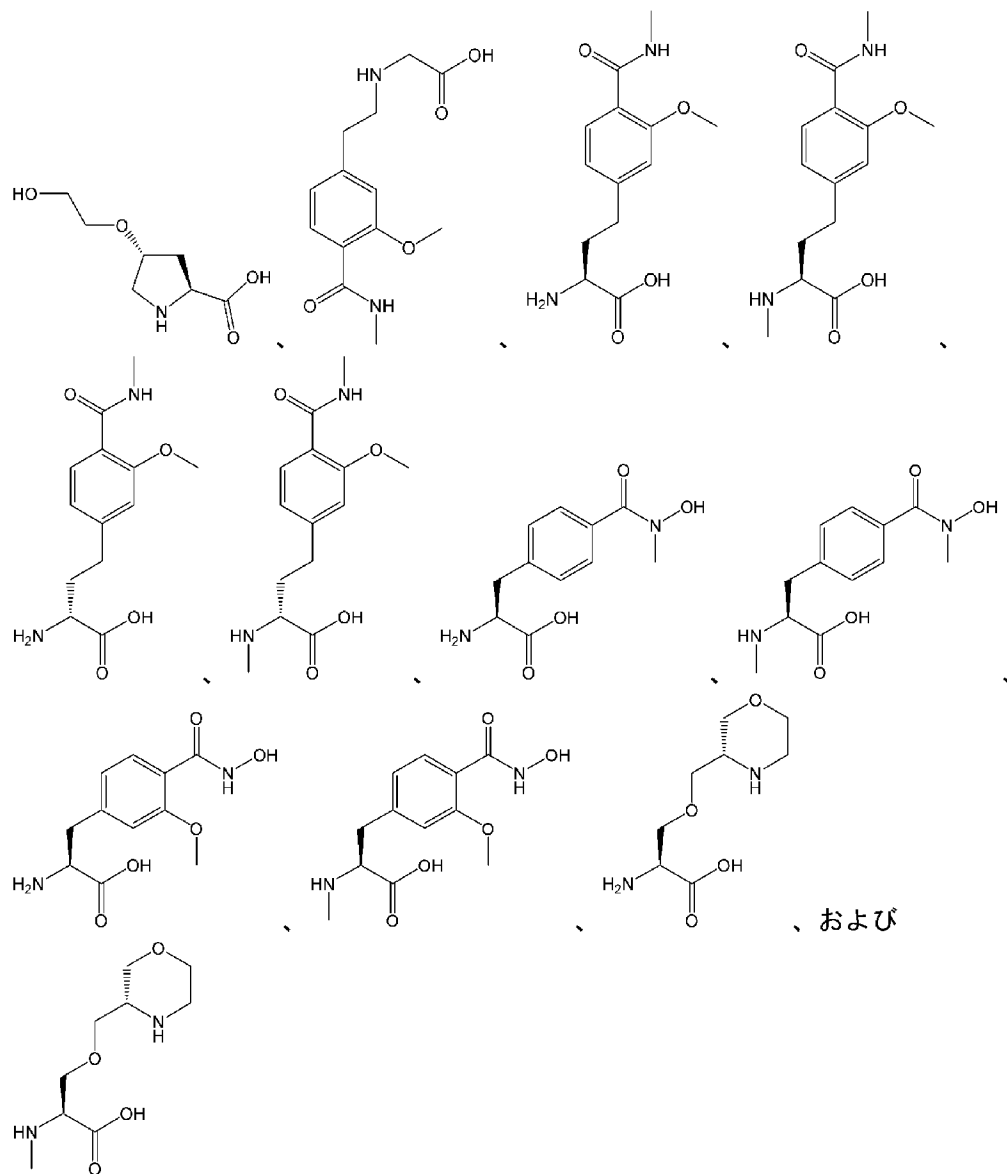
X は、 $-OH$ 、 $-NR_{Z1}R_{Z2}$ 、もしくは $-CONR_{Z1}R_{Z2}$ であるか、または 1～3 個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくは 1 つまたは複数のハロゲンによって置換されていてもよい 5～6 員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルであり；

R_{Z1} および R_{Z2} は、独立して、水素、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキル、および C_1-C_4 アルキルスルホニルからなる群より選択され、

Y は、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノ、 $-NR_{Z3}R_{Z4}$ 、もしくは $-CONR_{Z3}R_{Z4}$ であるか、または 1～3 個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくはハロゲンによって置換されていてもよい 5～6 員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルであり、

R_{Z3} および R_{Z4} は、独立して、水素、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキル





より選択される、請求項3に記載のペプチド化合物。

[請求項5] 5～30のアミノ酸から構成される、請求項1～4のいずれか1項に記載のペプチド化合物。

[請求項6] 環状である、請求項1～5のいずれか1項に記載のペプチド化合物。

[請求項7] 2～15のアミノ酸から構成される環状部を含む、請求項6に記載のペプチド化合物。

[請求項8] 2～30のN置換アミノ酸を含む、請求項1～7のいずれか1項に記載のペプチド化合物。

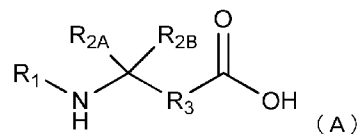
[請求項9] 全アミノ酸数に対するN置換アミノ酸数の割合が30%以上である、請求項1～8のいずれか1項に記載のペプチド化合物。

[請求項10] 4.0～18のClogPを有する、請求項1～9のいずれか1項に記載のペプチド化合物。

[請求項11] $1.0 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{秒}$ 以上の P_{app} を有する、請求項1～10のいずれか1項に記載のペプチド化合物。

[請求項12] 請求項1～11のいずれか1項に記載のペプチドおよび／または当該ペプチドをコードする核酸を含むライブラリ。

[請求項13] 下記式Aで表される、アミノ酸：



式中、

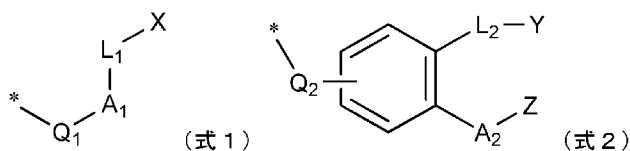
R_1 は、水素、もしくは $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基であり、この場合、 $\text{R}_{2\text{A}}$ および $\text{R}_{2\text{B}}$ は、 $\text{R}_{2\text{A}}$ が水素、もしくは $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基であり、かつ $\text{R}_{2\text{B}}$ は、水素または $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであるか、あるいは、 $\text{R}_{2\text{A}}$ および $\text{R}_{2\text{B}}$ は、それらが結合している炭素原子と一緒にあって4～6員の環を形成し、あるいは

R_1 は、 R_1 が結合する窒素原子、 $\text{R}_{2\text{A}}$ 、および $\text{R}_{2\text{A}}$ が結合する炭素原子と一緒にあって4～6員の複素環を形成し、該複素環は、式1もしくは式2で表される基、 --OH 、およびアルコキシ基からなる群より選択される、1つまたは複数の置換基を有していてもよく、この場合、 $\text{R}_{2\text{B}}$ は、水素または $\text{C}_1\text{--C}_6$ アルキルであり、

R_3 は、単結合、または $\text{--CHR}_4\text{--}$ であり、

R_4 は、水素、もしくは $\text{C}_1\text{--C}_4$ アルキルであるか、または式1もしくは式2で表される基であり、

式1および式2は、それぞれ下記式：



で表され、式中、

*は、結合点を示し、

Q_1 および Q_2 は、独立して、単結合、 C_1-C_4 アルキレン、または酸素原子を 1 つ含む C_2-C_4 ヘテロアルキレンであり、

A_1 は、 $-O-$ 、または $-S-$ であり、

L_1 は、フッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ ($=O$) からなる群より選択される 1 つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

A_2 は、単結合、 $-O-$ 、または $-S-$ であり、

L_2 は、単結合であるか、またはフッ素、 C_1-C_2 アルキル基、 C_1-C_2 フルオロアルキル、およびオキソ ($=O$) からなる群より選択される 1 つまたは複数の置換基によって置換されていてもよい直鎖の C_1-C_3 アルキレンであり、

X は、 $-OH$ 、 $-NR_{Z1}R_{Z2}$ 、もしくは $-CONR_{Z1}R_{Z2}$ であるか、または 1～3 個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくは 1 つまたは複数のハロゲンによって置換されていてもよい 5～6 員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルであり；

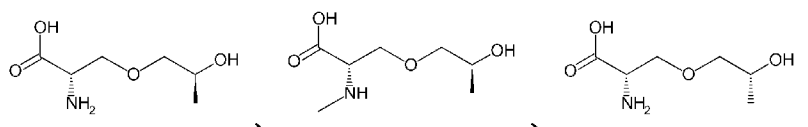
R_{Z1} および R_{Z2} は、独立して、水素、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキル、および C_1-C_4 アルキルスルホニルからなる群より選択され、

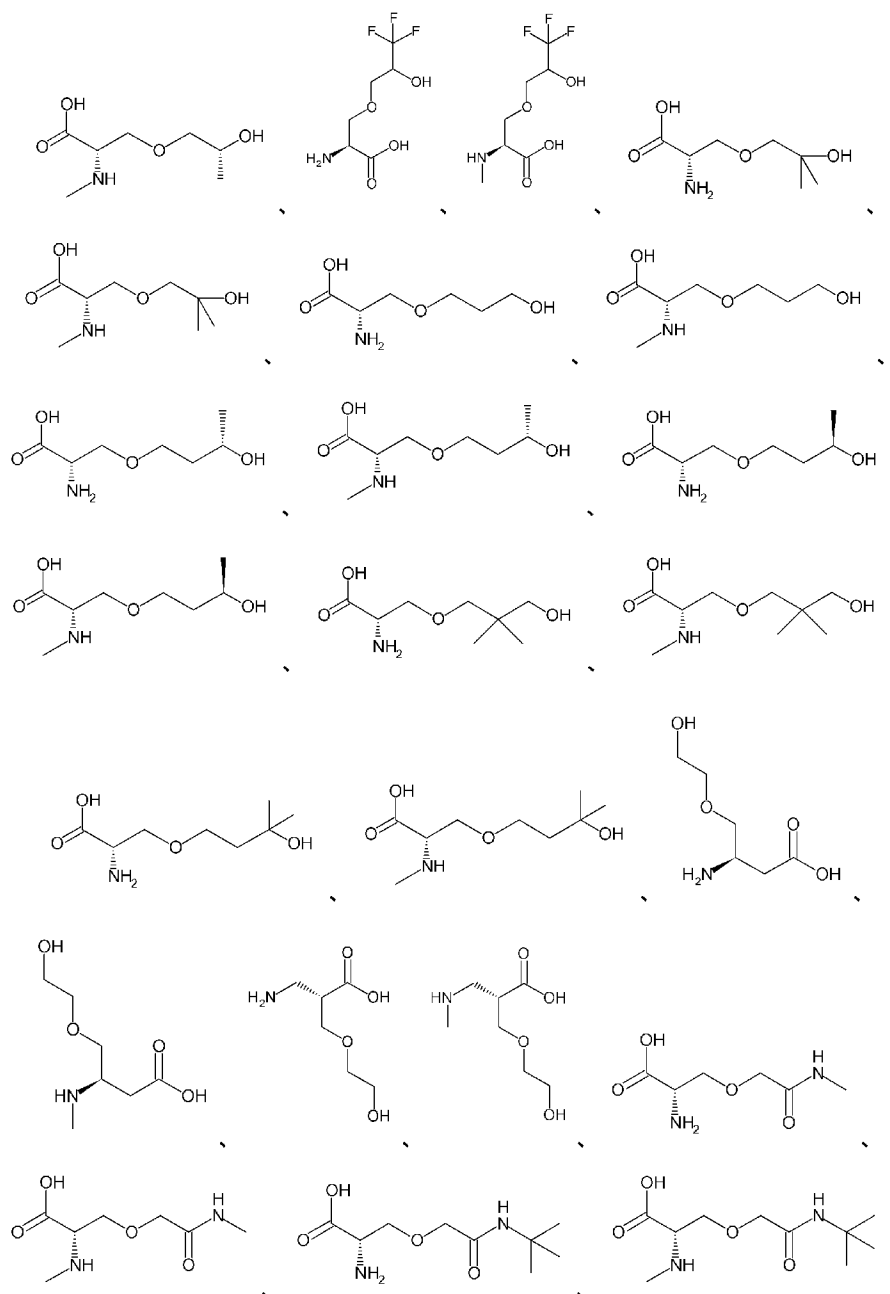
Y は、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキルスルホニルアミノ、 $-NR_{Z3}R_{Z4}$ 、もしくは $-CONR_{Z3}R_{Z4}$ であるか、または 1～3 個のヘテロ原子を含有し、オキソもしくはハロゲンによって置換されていてもよい 5～6 員の飽和もしくは不飽和ヘテロシクリルであり、

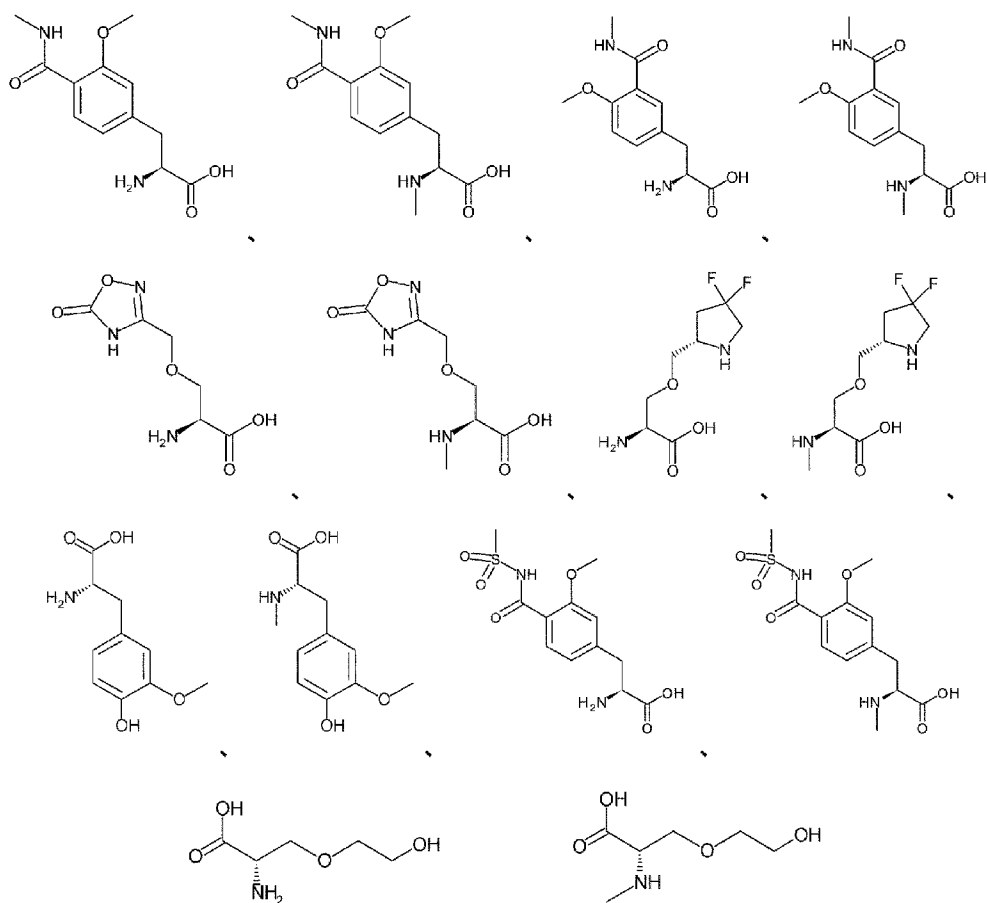
R_{Z3} および R_{Z4} は、独立して、水素、 $-OH$ 、 C_1-C_4 アルキル

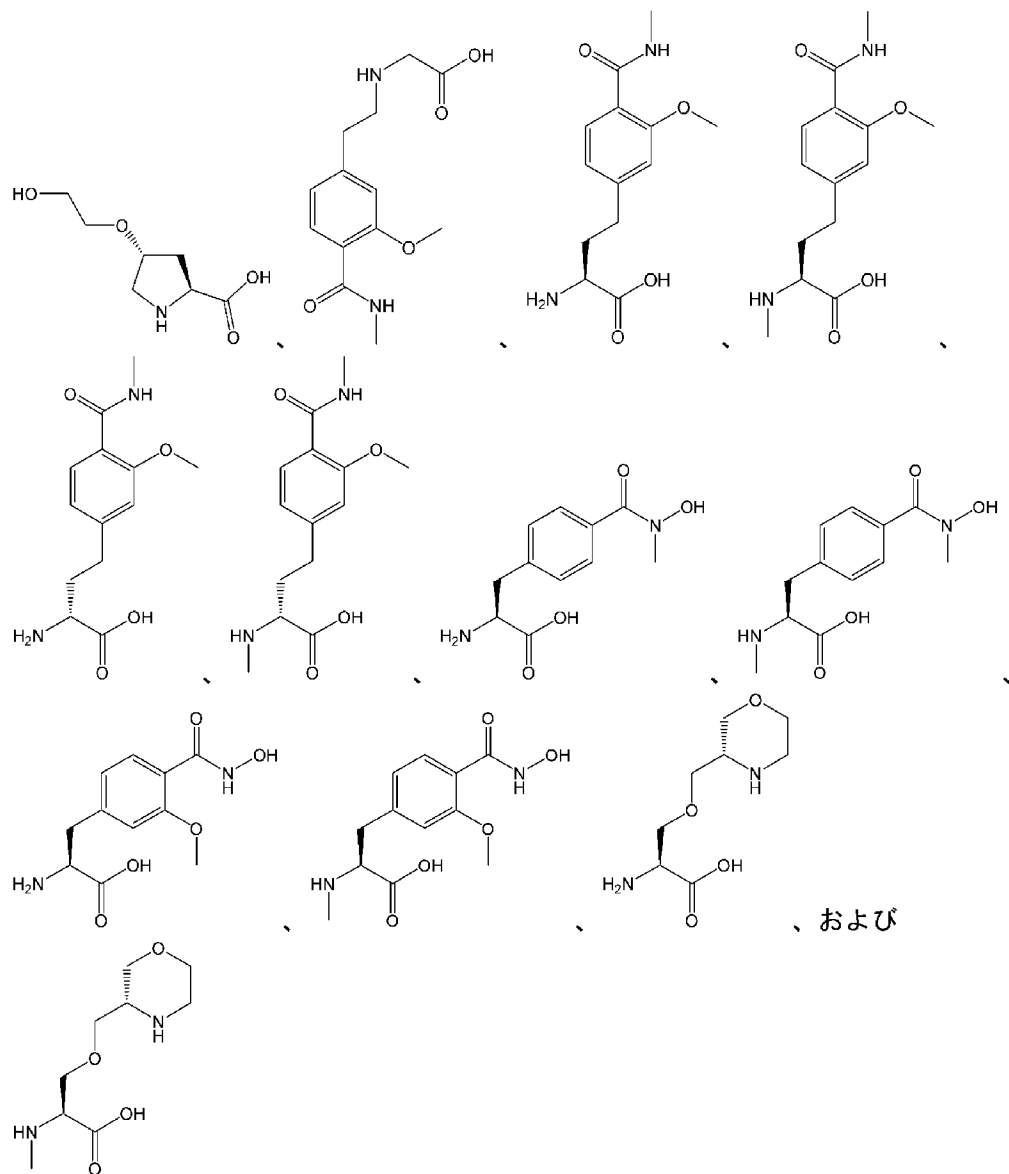
、およびC₁－C₄アルキルスルホニルからなる群より選択され、
Zは、水素またはC₁－C₄アルキルであり、
但し、A₂が－O－、または－S－である場合、Zは水素ではなく
、
ここで、式Aで表されるアミノ酸は、式1または式2で表される基
のいずれかを少なくとも1つ含む。

[請求項14] 以下からなる群：









より選択される、請求項 13 に記載のアミノ酸。

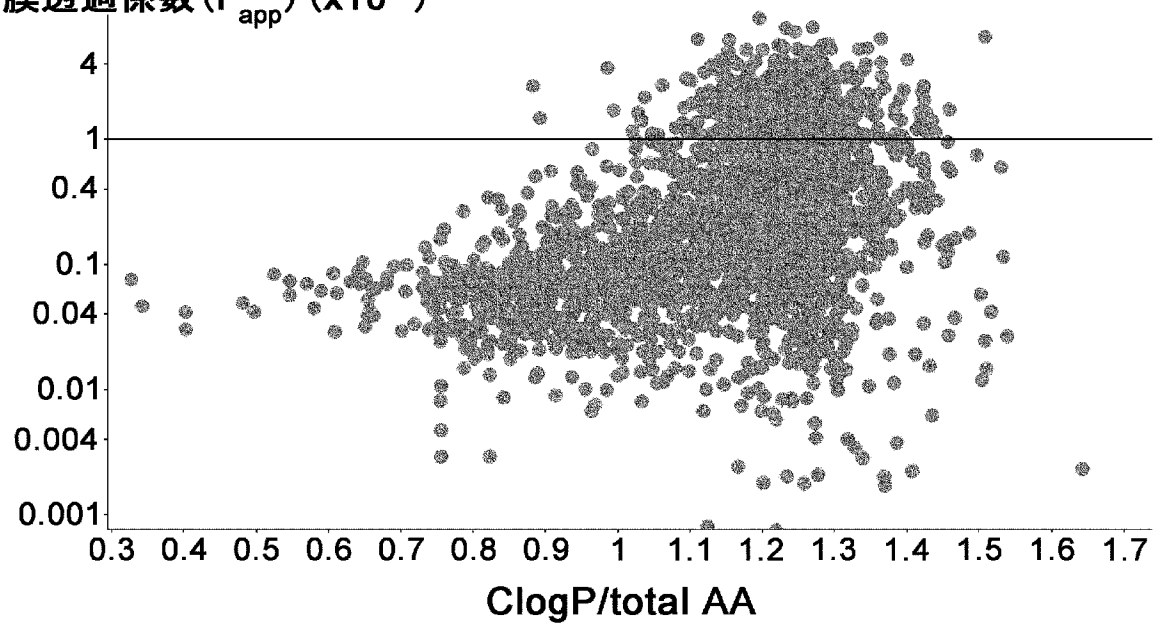
[請求項15] 請求項 13 または 14 に記載のアミノ酸に含まれるアミノ基、および／またはカルボキシル基が保護基で保護されている、保護アミノ酸。

[請求項16] アミノ基の保護基が、Fmoc 基、Boc 基、Cbz 基、Alloc 基、ノシル基、ジニトロノシル基、t-Bu 基、トリチル基、およびクミル基からなる群より選択される、および／または

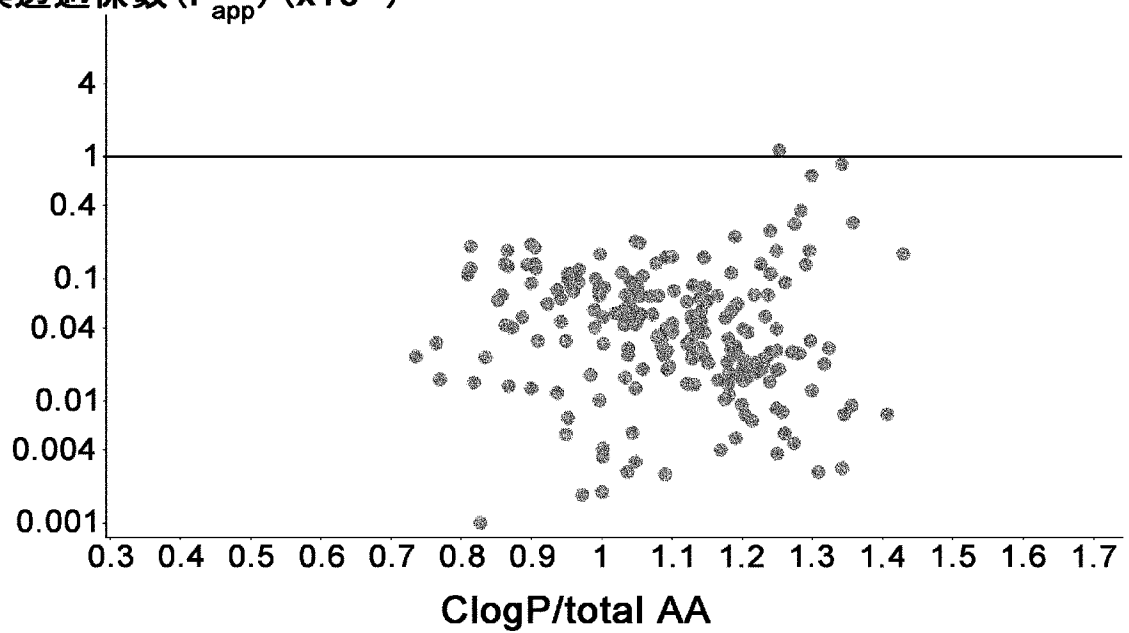
カルボキシル基の保護基が、メチル基、アリル基、t-Bu 基、トリチル基、クミル基、メトキシトリチル基、およびベンジル基からなる

る群より選択される、請求項 15 に記載の保護アミノ酸。

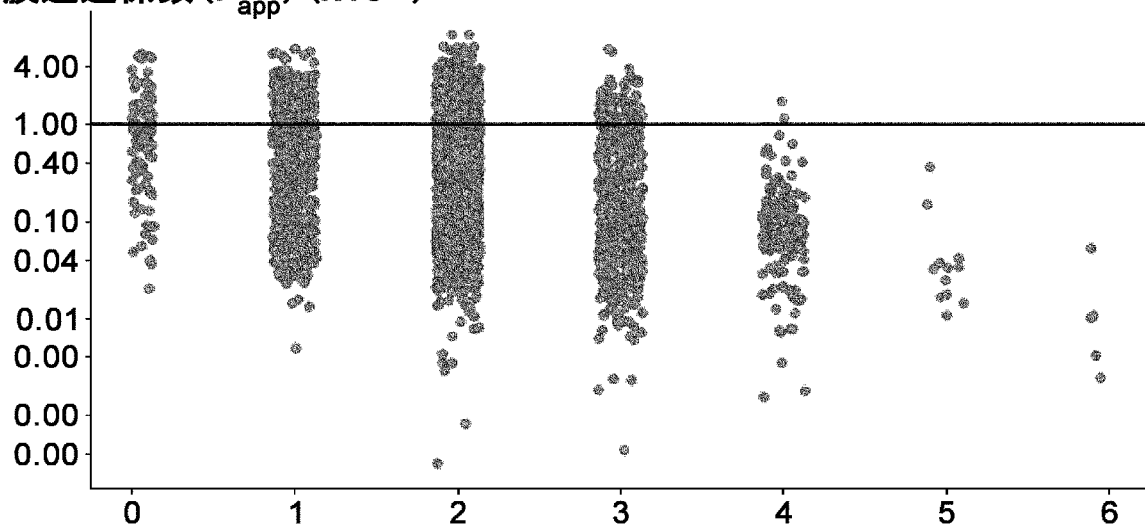
[図1-1]

膜透過係数 (P_{app}) ($\times 10^{-6}$)

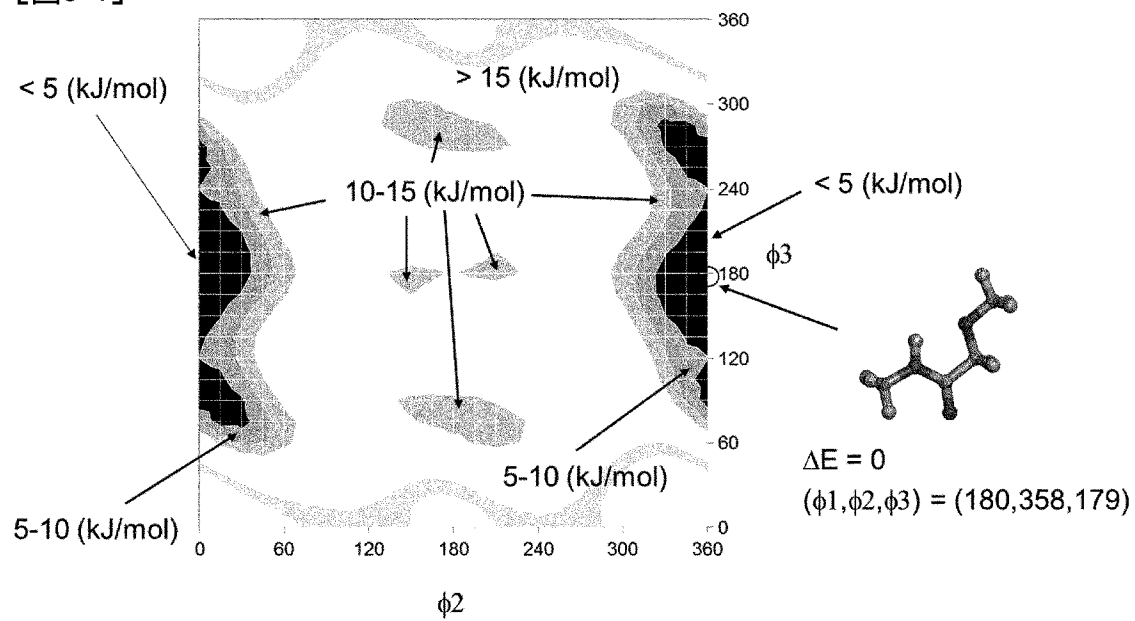
[図1-2]

膜透過係数 (P_{app}) ($\times 10^{-6}$)

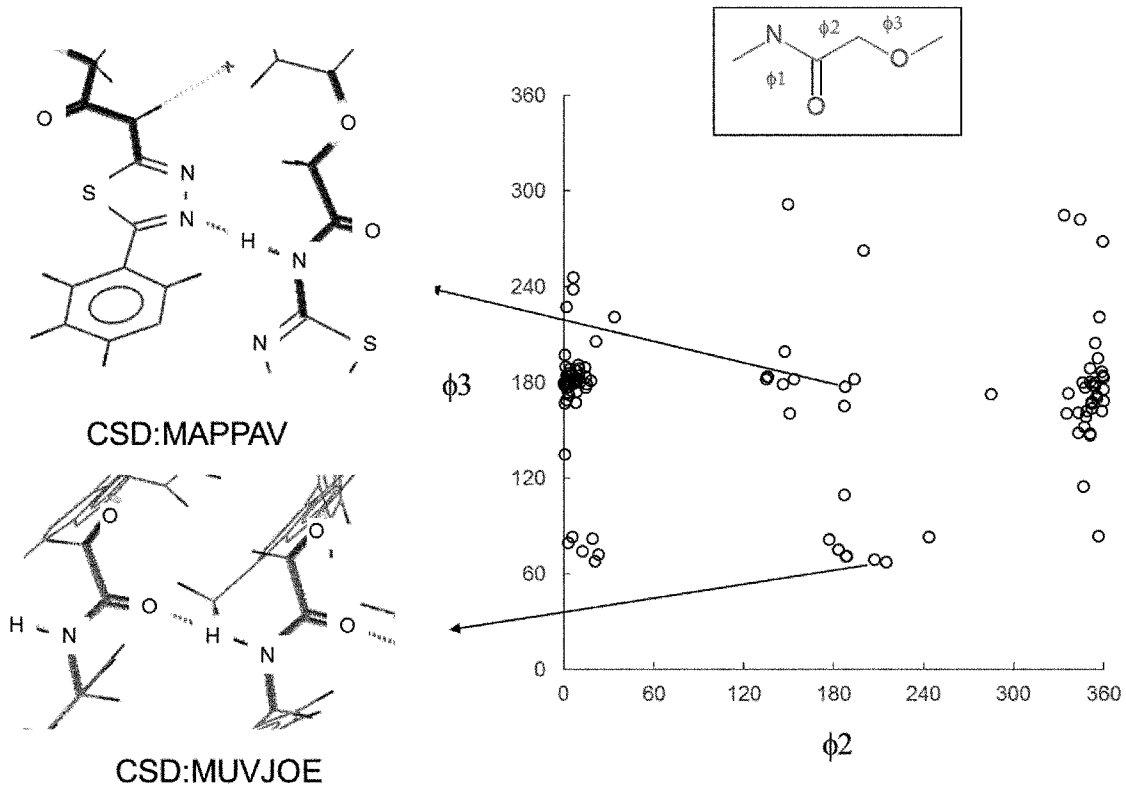
[図2]

膜透過係数 (P_{app}) ($\times 10^{-6}$)

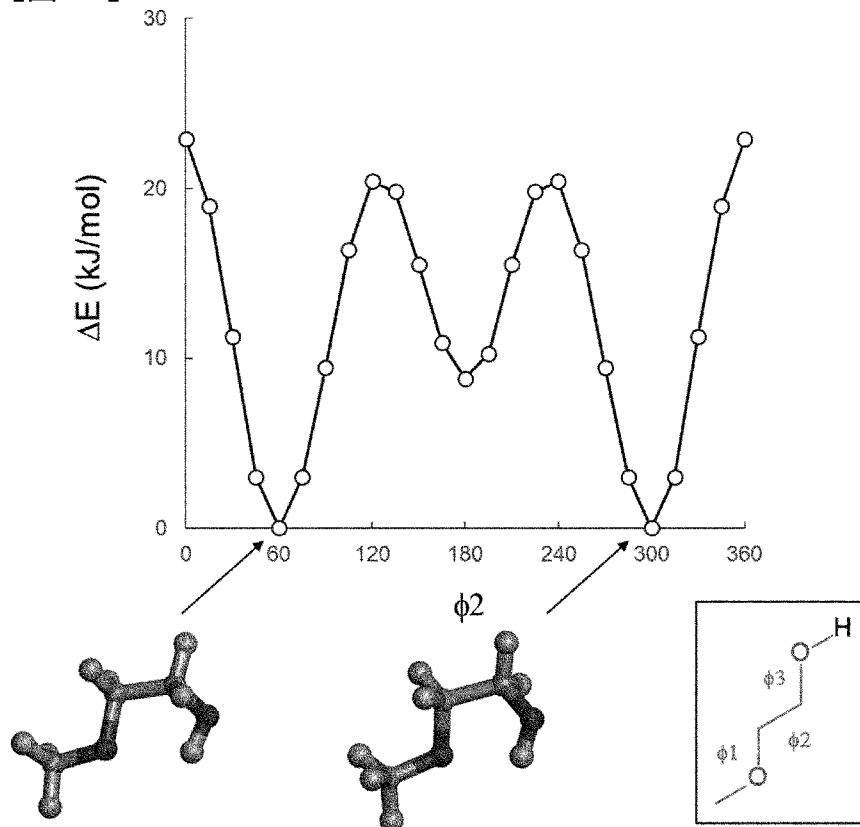
[図3-1]



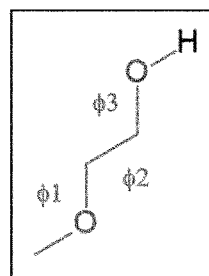
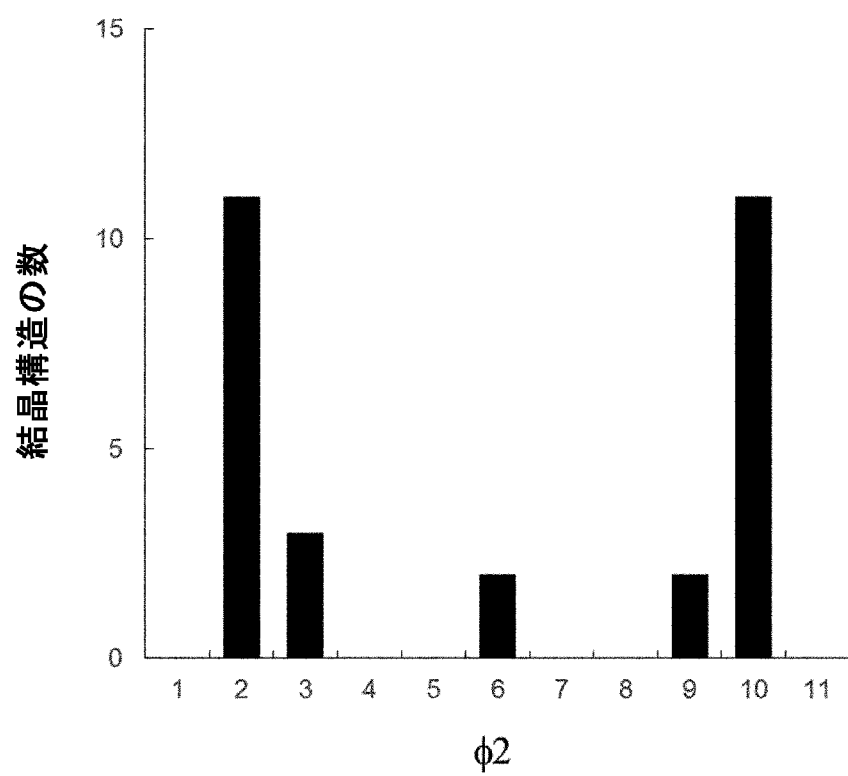
[図3-2]



[図4-1]



[図4-2]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/048720

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C 229/22(2006.01)i; C07C 235/06(2006.01)i; C07C 271/22(2006.01)i; C07K 7/00(2006.01)i; C07K 11/02(2006.01)i; C07K 14/00(2006.01)i; C40B 40/08(2006.01)i; C40B 40/10(2006.01)i

FI: C07K7/00; C07K14/00; C40B40/10; C07K11/02; C40B40/08; C07C229/22; C07C271 /22; C07C235/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C229/22; C07C235/06; C07C271/22; C07K7/00; C07K11/02; C07K14/00; C40B40/08; C40B40/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII);
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RAFI, Salma B. et al., "Predicting and improving the Membrane Permeability of Peptidic Small Molecules", Journal of Medicinal Chemistry, 2012, vol. 55, pp. 3163-3169, abstract, introduction, tables 1, 2 abstract, introduction, tables 1, 2	1, 2, 5-12
Y		3, 4, 13-17
Y	KUHN, Bernd et al., "Intramolecular Hydrogen Bonding in Medicinal Chemistry", Journal of Medicinal Chemistry, 2010, vol. 53, pp. 2601-2611, abstract, fig. 5 abstract, fig. 5	3, 4, 13-17
A	WO 2018/143145 A1 (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 09.08.2018 (2018-08-09) examples	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
25 February 2020 (25.02.2020)

Date of mailing of the international search report
10 March 2020 (10.03.2020)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/048720

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 2018/225864 A1 (CHUGAI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 13.12.2018 (2018-12-13) example 1	1-17
A	ALEX, Alexander et al., "Intramolecular hydrogen bonding to improve membrane permeability and absorption in beyond rule of five chemical space", Med Chem Comm, 2011, vol. 2, pp. 669-674, abstract, fig. 1, 3	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2019/048720

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date

WO 2018/143145 A1	09 Aug. 2018	(Family: none)	

WO 2018/225864 A1	13 Dec. 2018	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C07C 229/22(2006.01)i; C07C 235/06(2006.01)i; C07C 271/22(2006.01)i; C07K 7/00(2006.01)i; C07K 11/02(2006.01)i; C07K 14/00(2006.01)i; C40B 40/08(2006.01)i; C40B 40/10(2006.01)i FI: C07K7/00; C07K14/00; C40B40/10; C07K11/02; C40B40/08; C07C229/22; C07C271/22; C07C235/06		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C07C229/22; C07C235/06; C07C271/22; C07K7/00; C07K11/02; C07K14/00; C40B40/08; C40B40/10 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2020年 日本国実用新案登録公報 1996-2020年 日本国登録実用新案公報 1994-2020年 国際調査で利用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	RAFI, Salma B. et al., Predicting and improving the Membrane Permeability of Peptidic Small Molecules, Journal of Medicinal Chemistry, 2012, Vol. 55, p. 3163-3169, ABSTRACT, INTRODUCTION, Table 1, 2 ABSTRACT, INTRODUCTION, Table 1, 2	1, 2, 5-12
Y	ABSTRACT, INTRODUCTION, Table 1, 2	3, 4, 13-17
Y	KUHN, Bernd et al., Intramolecular Hydrogen Bonding in Medicinal Chemistry, Journal of Medicinal Chemistry, 2010, Vol. 53, p. 2601-2611, abstract, Figure 5 abstract, Figure 5	3, 4, 13-17
A	WO 2018/143145 A1 (中外製薬株式会社) 09.08.2018 (2018-08-09) 実施例	1-17
P, X	WO 2018/225864 A1 (中外製薬株式会社) 13.12.2018 (2018-12-13) 実施例 1	1-17
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 25.02.2020		国際調査報告の発送日 10.03.2020
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 濱田 光浩 4B 3763 電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	ALEX, Alexander et al., Intramolecular hydrogen bonding to improve membrane permeability and absorption in beyond rule of five chemical space, Med Chem Comm, 2011, Vol. 2, p. 669-674 abstract, Fig. 1, 3	1-17

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2019/048720

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO	2018/143145	A1	09.08.2018	(ファミリーなし)	
WO	2018/225864	A1	13.12.2018	(ファミリーなし)	