(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4153032号
(P4153032)

(45)発行日　平成20年9月17日(2008.9.17)　(24)登録日　平成20年7月11日(2008.7.11)

(51)Int.Cl.		F I	
C07D 207/28	(2006.01)	C07D 207/28	
A61K 31/4015	(2006.01)	A61K 31/4015	
A61P 43/00	(2006.01)	A61P 43/00	111
A61P 35/00	(2006.01)	A61P 35/00	
A61P 29/00	(2006.01)	A61P 29/00	

請求項の数 5　(全 77 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願平8-531215
(86)(22)出願日　平成8年4月12日(1996.4.12)
(65)公表番号　特表平11-503732
(43)公表日　平成11年3月30日(1999.3.30)
(86)国際出願番号　PCT/US1996/005072
(87)国際公開番号　WO1996/032105
(87)国際公開日　平成8年10月17日(1996.10.17)
審査請求日　平成15年3月27日(2003.3.27)
(31)優先権主張番号　08/421,583
(32)優先日　平成7年4月12日(1995.4.12)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者
プレジデント　アンド　フェローズ　オブ　ハーバード　カレッジ
アメリカ合衆国　０２１３８　マサチューセッツ州　ケンブリッジ　クインシー　ストリート　１７
(74)代理人
弁理士　恩田　博宣
(72)発明者　シュレイバー、スチュアート　エル.
アメリカ合衆国　０２１１５　マサチューセッツ州　ボストン　マールボロ　ストリート　４２４

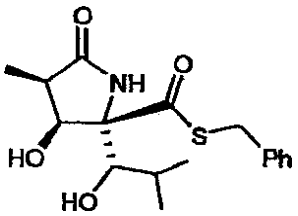
最終頁に続く

(54)【発明の名称】ラクタシスチン類似体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

プロテアソーム依存性のタンパク質分解を阻害するための化合物であって、前記化合物は以下の式：



で示される、化合物。

【請求項２】

請求項１に記載の化合物と、その製薬上許容され得る塩とを含む製剤組成物。

【請求項３】

前記製剤組成物は経口投与される、請求項２に記載の製剤組成物。

【請求項４】

前記化合物は動物細胞中のプロテアソームを阻害する、請求項１に記載の化合物。

【請求項５】

前記化合物は、細胞から抽出されたプロテアソームを阻害する、請求項１に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

発明の背景

本発明は、概して、ラクタシスチンおよびその類似体に関する。

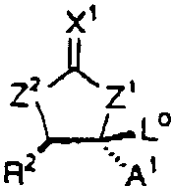
真核細胞は、リソソームのプロテアーゼ、カルパイン、ＡＴＰ－ユビキチン－プロテアソーム依存性経路、およびリソソームによらないＡＴＰ非依存性過程をはじめとする、多様なタンパク質分解系を有する。細胞質ゾルや核での主な中性タンパク質分解活性はプロテアソーム、すなわち多様なペプチダーゼ活性を有する２０Ｓ（７００kDa）の粒子である。この２０Ｓ複合体は、ユビキチン複合タンパク質を分解または加工する、２６Ｓ（１，５００kDa）複合体のタンパク質分解性の核である。ユビキチン化は、２６Ｓプロテアソーム複合体によるタンパク質の加水分解の指標となる。異常であるか、または短命で正常な多くのポリペプチドが、ユビキチン－プロテアソーム依存性経路によって分解される。異常なペプチドは、オキシダント損傷タンパク質（たとえば、酸化されたジスルフィド結合を有するもの）、未熟な翻訳末端の産物（たとえば、プロテアソームに認識される露出した疎水性の基を有するもの）、およびストレスで誘導される変性または損傷したタンパク質（たとえばpHもしくは温度の変化、または金属との接触によって、ストレスが誘導される場合）を包含する。加えて、いくつかのタンパク質、たとえばカゼインは、プロテアソームによって加水分解されるのにユビキチン化を必要としない。

プロテアソームは、キモトリプシン性、トリプシン性、およびペプチジル－グルタミルペプチド加水分解性の活性を有する。すなわち、プロテアソームは、それぞれ疎水性、塩基性および酸性の残基のカルボキシル側でペプチドを切断することができる。

発明の概要

本発明は、ラクタシスチンおよびラクタシスチンβ－ラクトンに構造的に関連する新規化合物に関する。本発明は、ラクタシスチンおよびラクタシスチン類似体を含む製剤組成物にも関する。

本発明の一態様は、式：



［式中、Z^1は、Ｏ、Ｓ、SO_2、ＮＨ、またはR_aが（C_1～C_6）アルキルであるNR_aであり；X^1は、Ｏ、Ｓ、CH_2、単結合した２個のＨ、ＥもしくはＺ配置のＣＨ（R_b）、またはＥもしくはＺ配置のＣ（R_b）（R_c）であって、R_bおよびR_cは、それぞれ、独立に、（C_1～C_6）アルキル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基またはハロゲンであり、Z^1がSO_2のとき、X^1は単結合した２個のＨであり；Z^2は、Ｏ、Ｓ、ＮＨ、NR_d、CHR^1、または（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置の$CHOR^1$であり、ここで、R_dは（C_1～C_6）アルキルであり、R^1は、Ｈ、ハロゲン、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、NR_dR_e（Z^2が$CHOR^1$である場合を除く）、または天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあるか、あるいは合体したR^1とR^2とは２価の部分であるが、R^1とR^2とが合体するときは、Z^1はＮＨもしくはNR_aであり、Z^2はCHR^1であり；R_eは、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルまたは（C_2～C_6）アルキニルであり、該２価の部分は（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基または（C_6～C_{12}）アリールを形成し、合体したR^1とR^2とが（C_3～C_8）ヘテロアリールまたは（C_6～C_{12}）アリールを形成するときは、CHR^1のＨは削除され；R^2は、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、アジド、（C_2～C_6）アルキニル、ハロゲン、OR_f、SR_f、NR_fR_g、－ONR_fR_g、－NR_g（OR_f）または－NR_g（SR_f）（R_fおよびR_gは、それぞれ、独立に、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルもしくは（C_2～C_6

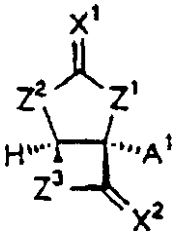
）アルキニルである）であるか、または合体したR^1とR^2とは２価の部分であって、該２価の部分は、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基または（C_6～C_{12}）アリールを形成し、合体したR^1とR^2とが（C_3～C_8）ヘテロアリールもしくは（C_6～C_{12}）アリールを形成するときは、CHR^1のＨは削除され；A^1は、Ｈ、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあるか、または次式：

$-(CH_2)_m-Y-(CH_2)_n-R^3X^3$

で示され、ここで、Ｙは、Ｏ、Ｓ、Ｃ＝Ｏ、Ｃ＝Ｓ、－（ＣＨ＝ＣＨ）－、ビニリデン、$-C=NOR_h$、$-C=NNR_iR_i$、スルホニル、メチレン、（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置のCHX^4であるか、または削除され、X^4は、ハロゲン、メチル、ハロメチル、OR_h、SR_h、NR_iR_i、$-NR_i(OR_h)$または$-NR_i(NR_iR_i)$であり、ここで、R_hは、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、（C_1～C_{10}）アシル、（C_1～C_6）アルキルスルホニルおよび（C_6～C_{10}）アリールスルホニルから選ばれ；R_iおよびR_iは、それぞれ、独立に、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニルおよび（C_1～C_{10}）アシルから選ばれ；ｍは０、１、２または３であり、ｎは０、１、２または３であり；R^3は、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキリデン、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキリデン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキリデン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるか、または削除され、X^3は、Ｈ、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲン、（（C_1～C_6）アルキル）オキシカルボニル、（（C_7～C_{14}）アリールアルキル）オキシカルボニルまたは（C_6～C_{14}）アリールであるか；あるいは合体したR^3とX^3とは、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあり；L^0は、１～２５個の炭素原子、０～１０個のヘテロ原子、および０～６個のハロゲン原子を有する有機部分である］

で示される化合物、および製薬上許容され得る担体を含む製剤組成物である。

第二の態様は、次式：



［式中、Z^1は、Ｏ、Ｓ、SO_2、ＮＨ、またはR_aが（C_1～C_6）アルキルであるNR_aであり；X^1は、Ｏ、Ｓ、CH_2、単結合した２個のＨ、ＥもしくはＺ配置のＣＨ（R_b）、またはＥもしくはＺ配置のＣ（R_b）（R_c）であって、R_bおよびR_cは、それぞれ、独立に、（C_1～C_6）アルキル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基またはハロゲンであるが、Z^1がSO_2のとき、X^1は単結合した２個のＨであり；Z^2は、（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置のCHR^1であり、R^1は、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、ヒドロキシル、ハロゲン、天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e（R_dおよびR_eは、それぞれ、独立に、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルまたは（C_2～C_5）アルキニルである）であり；Z^3は、Ｏ、Ｓ、ＮＨ、またはR_jが（C_1～C_6）アルキルであるHNR_jであり；X^2はＯまたはＳであり；そしてA^1は、Ｈ、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあるか、または次式：

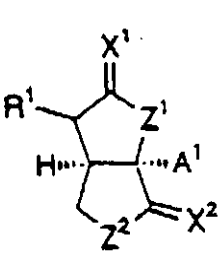
$-(CH_2)_m-Y-(CH_2)_n-R^3X^3$

で示され、ここで、Ｙは、Ｏ、Ｓ、Ｃ＝Ｏ、Ｃ＝Ｓ、－（ＣＨ＝ＣＨ）－、ビニリデン、$-C=NOR_h$、$-C=NNR_iR_i$、スルホニル、メチレン、（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置のCHX^4であるか、または削除され、X^4は、ハロゲン、メチル、ハロメチル、OR_h、SR_h、NR_iR_i、$-NR_i(OR_h)$または$-NR_i(NR_iR_i)$であり、ここで、R_hは

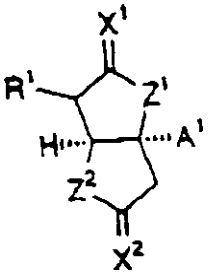
、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、（C_1～C_{10}）アシル、（C_1～C_6）アルキルスルホニルおよび（C_6～C_{10}）アリールスルホニルから選ばれ；R_iおよびR_iは、それぞれ、独立に、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニルおよび（C_1～C_{10}）アシルから選ばれ；mは0、1、2または3であり、nは0、1、2または3であり；R^3は、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキリデン、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキリデン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキリデン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるか、または削除され、X^3は、H、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲン、（（C_1～C_6）アルキル）オキシカルボニル、（（C_7～C_{14}）アリールアルキル）オキシカルボニルまたは（C_6～C_{14}）アリールであるか；または合体したR^3とX^3は、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもある］

で示される化合物、および製薬上許容され得る担体を含む製剤組成物である。

第三の態様は、次式：



または

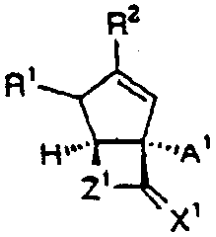


［式中、Z^1は、NH、またはR_aが（C_1～C_6）アルキルであるNR_aであり；X^1は、O、S、CH_2、単結合した2個のH、EもしくはZ配置のCH（R_b）、またはEもしくはZ配置のC（R_b）（R_c）であって、R_bおよびR_cは、それぞれ、独立に、（C_1～C_6）アルキル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基またはハロゲンであり；Z^2は、O、S、NH、またはR_jが（C_1～C_6）アルキルであるNR_jであり；R^1は、（R）もしくは（S）配置であり、かつH、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、ヒドロキシル、ハロゲン、天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e（R_dおよびR_eは、それぞれ、独立に、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基またはハロゲンである）であり；X^2はOまたはSであり；そしてA^1は、H、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあるか、または次式：

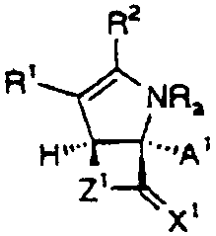
$-(CH_2)_m-Y-(CH_2)_n-R^3X^3$

で示され、ここで、Yは、O、S、C＝O、C＝S、－（CH＝CH）－、ビニリデン、－C＝NOR_h、－C＝NNR_iR_i、スルホニル、メチレン、（R）もしくは（S）配置のCHX^4であるか、または削除され、X^4は、ハロゲン、メチル、ハロメチル、OR_h、SR_h、NR_iR_i、－NR_i（OR_h）または－NR_i（NR_iR_i）であり、ここで、R_hは、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルおよび（C_2～C_6）アルキニルから選ばれ、R_iおよびR_iは、それぞれ、独立に、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニルおよび（C_1～C_{10}）アシルから選ばれ；mは0、1、2または3であり、nは0、1、2または3であり；R^3は、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキリデン、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキリデン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキリデン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるか、または削除され、X^3は、H、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲン、（（C_1～C_6）アルキル）オキシカルボニル、（（C_7～C_{14}）アリールアルキル）オキシカルボニルまたは（C_6～C_{14}）アリールであ

るか；あるいは合体したR^3とX^3とは、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもある］
のうち一つで示される化合物、および製薬上許容され得る担体を含む製剤組成物である。
第四の態様は、次式：



［式中、Z^1は、O、S、NH、またはR_jが（C_1～C_6）アルキルであるNR_jであり；X^1はOまたはSであり；R^1は、（R）もしくは（S）配置であり、かつH、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、ヒドロキシル、ハロゲン、天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e（R_dおよびR_eは、それぞれ、独立に、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルまたは（C_2～C_5）アルキニルである）であり；R^2は、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）ヘテロアリールまたはハロゲンであり；X^2はOまたはSであり；そしてA^1は、H、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあるか、または次式：
$-(CH_2)_m-Y-(CH_2)_n-R^3X^3$
で示され、ここで、Yは、O、S、C＝O、C＝S、－（CH＝CH）－、ビニリデン、$-C=NOR_h$、$-C=NNR_iR_i$、スルホニル、メチレン、（R）もしくは（S）配置のCHX^4であるか、または削除され、X^4は、ハロゲン、メチル、ハロメチル、OR_h、SR_h、NR_iR_i、$-NR_i(OR_h)$または$-NR_i(NR_iR_i)$であり、ここで、R_hは、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルおよび（C_2～C_6）アルキニルから選ばれ、R_iおよびR_iは、それぞれ、独立に、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニルおよび（C_1～C_{10}）アシルから選ばれ；mは0、1、2または3であり、nは0、1、2または3であり；R^3は、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキリデン、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキリデン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキリデン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるか、または削除され、X^3は、H、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲン、（（C_1～C_6）アルキル）オキシカルボニル、（（C_7～C_{14}）アリールアルキル）オキシカルボニルまたは（C_6～C_{14}）アリールであるか；あるいは合体したR^3とX^3とは、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもある］
で示される化合物、および製薬上許容され得る担体を含む製剤組成物である。
第五の態様は、次式：



［式中、Z^1は、O、S、NH、またはR_jが（C_1～C_6）アルキルであるNR_jであり；X^1はOまたはSであり；R^1は、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、ヒドロキシル、ハロゲン、天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e（R_dおよびR_eは、それぞれ、独立に、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_6～C_{12}）アリール、

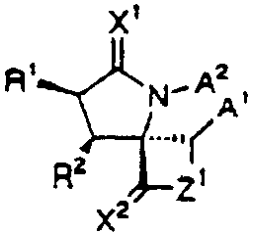
（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基またはハロゲンである）であり；R^2は、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）ヘテロアリールまたはハロゲンであり；R_aは、（C_1～C_6）アルキルであり；そしてA^1は、H、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあるか、または次式：

$-(CH_2)_m-Y-(CH_2)_n-R^3X^3$

で示され、ここで、Yは、O、S、C＝O、C＝S、－（CH＝CH）－、ビニリデン、$-C=NOR_h$、$-C=NNR_iR_i$、スルホニル、メチレン、（R）もしくは（S）配置のCHX^4であるか、または削除され、X^4は、ハロゲン、メチル、ハロメチル、OR_h、SR_h、NR_iR_i、$-NR_i(OR_h)$または$-NR_i(NR_iR_i)$であり、ここで、R_hは、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルおよび（C_2～C_6）アルキニルから選ばれ、R_iおよびR_iは、それぞれ、独立に、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニルおよび（C_1～C_{10}）アシルから選ばれ；mは0、1、2または3であり、nは0、1、2または3であり；R^3は、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキリデン、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキリデン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキリデン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるか、または削除され、X^3は、H、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲン、（（C_1～C_6）アルキル）オキシカルボニル、（（C_7～C_{14}）アリールアルキル）オキシカルボニルまたは（C_6～C_{14}）アリールであるか；あるいは合体したR^3とX^3とは、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもある］

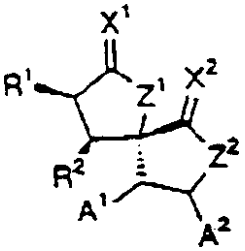
で示される化合物、および製薬上許容され得る担体を含む製剤組成物である。

第六の態様は、式：



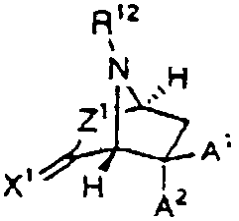
［式中、X^1は、O、S、CH_2、単結合した2個のH、EもしくはZ配置のCH（R_b）、またはEもしくはZ配置のC（R_b）（R_c）であって、R_bおよびR_cは、それぞれ、独立に、（C_1～C_6）アルキル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基またはハロゲンであり；Z^1は、O、S、NH、またはR_aが（C_1～C_6）アルキルであるNR_aであり；R^1は、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、ヒドロキシル、ハロゲン、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e（R_dおよびR_eは、それぞれ、独立に、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基またはハロゲンである）であるか；または合体したR^1とR^2とは、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基または（C_6～C_{12}）アリールを形成する2価の部分であり；R^2は、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、アジド、（C_2～C_6）アルキニル、ハロゲン、OR_f、SR_f、NR_fR_g、$-ONR_fR_g$、$-NR_g(OR_f)$または$-NR_g(SR_f)$（R_fおよびR_gは、それぞれ、独立に、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルもしくは（C_2～C_6）アルキニルである）であるか、または合体したR^1とR^2とは2価の部分であって、該2価の部分は、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリール、（C_3～C_8）複素環の基または（C_6～C_{12}）アリールを形成し；X^2は、OまたはSであ

り；そしてA[1]は、（Ｒ）または（Ｓ）配置であり、かつA[1]およびA[2]は、それぞれ、独立に、Ｈ、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあるか、または次式：
－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｙ－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｒ^{3}Ｘ^3
で示され、ここで、Ｙは、Ｏ、Ｓ、Ｃ＝Ｏ、Ｃ＝Ｓ、－（ＣＨ＝ＣＨ）－、ビニリデン、－Ｃ＝ＮＯＲ$_h$、－Ｃ＝ＮＮＲ$_i$Ｒ$_i$、スルホニル、メチレン、（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置のＣＨＸ^{4}であるか、または削除され、Ｘ^{4}は、ハロゲン、メチル、ハロメチル、ＯＲ$_h$、ＳＲ$_h$、ＮＲ$_i$Ｒ$_i$、－ＮＲ$_i$（ＯＲ$_h$）または－ＮＲ$_i$（ＮＲ$_i$Ｒ$_i$）であり、ここで、Ｒ$_h$は、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニルおよび（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニルから選ばれ、Ｒ$_i$およびＲ$_i$は、それぞれ、独立に、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニルおよび（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$）アシルから選ばれ；ｍは０、１、２または３であり、ｎは０、１、２または３であり；Ｒ^{3}は、直鎖もしくは分枝鎖（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$）アルキリデン、直鎖もしくは分枝鎖（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$）アルキレン、（Ｃ$_3$～Ｃ$_{10}$）シクロアルキリデン、（Ｃ$_3$～Ｃ$_{10}$）シクロアルキレン、フェニレン、（Ｃ$_6$～Ｃ$_{14}$）アリールアルキリデン、（Ｃ$_6$～Ｃ$_{14}$）アリールアルキレンであるか、または削除され、Ｘ^{3}は、Ｈ、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲン、（（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル）オキシカルボニル、（（Ｃ$_7$～Ｃ$_{14}$）アリールアルキル）オキシカルボニルまたは（Ｃ$_6$～Ｃ$_{14}$）アリールであるか；あるいは合体したＲ^{3}とＸ^{3}とは、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもある］
で示される化合物、および製薬上許容され得る担体を含む製剤組成物である。
第七の態様は、次式：

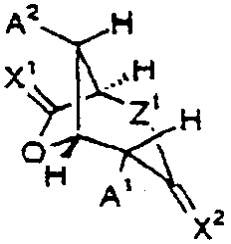


［式中、Ｚ^{1}は、ＮＨ、またはＮＲ$_a$が（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキルであるＮＲ$_a$であり；Ｘ^{1}は、Ｏ、Ｓ、ＣＨ$_2$、単結合した２個のＨ、ＥもしくはＺ配置のＣＨ（Ｒ$_b$）、またはＥもしくはＺ配置のＣ（Ｒ$_b$）（Ｒ$_c$）であって、Ｒ$_b$およびＲ$_c$は、それぞれ、独立に、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_6$～Ｃ$_{12}$）アリール、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）シクロアルキル、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）ヘテロアリール、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）複素環の基またはハロゲンであり；Ｚ^{2}は、Ｏ、Ｓ、ＮＨ、またはＲ$_j$が（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキルであるＮＲ$_j$であり；Ｒ^{1}は、（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置であり、かつＨ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニル、ヒドロキシル、ハロゲン、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖、ＯＲ$_d$、ＳＲ$_d$またはＮＲ$_d$Ｒ$_e$（Ｒ$_d$およびＲ$_e$は、それぞれ、独立に、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_6$～Ｃ$_{12}$）アリール、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）シクロアルキル、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）ヘテロアリール、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）複素環の基またはハロゲンである）であるか；または合体したＲ^{1}とＲ^{2}とは、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）シクロアルキル、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）ヘテロアリール、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）複素環の基または（Ｃ$_6$～Ｃ$_{12}$）アリールを形成する２価の部分であり；Ｒ^{2}は、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニル、アジド、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニル、ハロゲン、ＯＲ$_f$、ＳＲ$_f$、ＮＲ$_f$Ｒ$_g$、－ＯＮＲ$_f$Ｒ$_g$、－ＮＲ$_g$（ＯＲ$_f$）または－ＮＲ$_g$（ＳＲ$_f$）（Ｒ$_f$およびＲ$_g$は、それぞれ、独立に、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニルもしくは（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニルである）であるか、または合体したＲ^{1}とＲ^{2}とは２価の部分であって、該２価の部分は、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）シクロアルキル、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）ヘテロアリール、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）複素環の基または（Ｃ$_6$～Ｃ$_{12}$）アリールを形成し；Ｘ^{2}は、ＯまたはＳであり；そしてＡ^{1}およびＡ^{2}は、それぞれ、独立に（Ｒ）または（Ｓ）配置であり、かつ独立に、Ｈ、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあ

るか、または次式：
－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｙ－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｒ^{3}Ｘ^3
で示され、ここで、Ｙは、Ｏ、Ｓ、Ｃ＝Ｏ、Ｃ＝Ｓ、－（ＣＨ＝ＣＨ）－、ビニリデン、－Ｃ＝ＮＯＲ$_h$、－Ｃ＝ＮＮＲ$_i$Ｒ$_i$、スルホニル、メチレン、（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置のＣＨＸ^{4}であるか、または削除され、Ｘ^{4}は、ハロゲン、メチル、ハロメチル、ＯＲ$_h$、ＳＲ$_h$、ＮＲ$_i$Ｒ$_i$、－ＮＲ$_i$（ＯＲ$_h$）または－ＮＲ$_i$（ＮＲ$_i$Ｒ$_i$）であり、ここで、Ｒ$_h$は、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニルおよび（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニルから選ばれ、Ｒ$_i$およびＲ$_i$は、それぞれ、独立に、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニルおよび（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$）アシルから選ばれ；ｍは０、１、２または３であり、ｎは０、１、２または３であり；Ｒ^{3}は、直鎖もしくは分枝鎖（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$）アルキリデン、直鎖もしくは分枝鎖（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$）アルキレン、（Ｃ$_3$～Ｃ$_{10}$）シクロアルキリデン、（Ｃ$_3$～Ｃ$_{10}$）シクロアルキレン、フェニレン、（Ｃ$_6$～Ｃ$_{14}$）アリールアルキリデン、（Ｃ$_6$～Ｃ$_{14}$）アリールアルキレンであるか、または削除され、Ｘ^{3}は、Ｈ、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲン、（（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル）オキシカルボニル、（（Ｃ$_7$～Ｃ$_{14}$）アリールアルキル）オキシカルボニルまたは（Ｃ$_6$～Ｃ$_{14}$）アリールであるか；あるいは合体したＲ^{3}とＸ^{3}とは、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもある］
で示される化合物、および製薬上許容され得る担体を含む製剤組成物である。
第八の態様は、次式：



［式中、Ｚ^{1}は、Ｏ、ＮＨ、またはＮＲ$_a$がＮＲ$_a$であり；Ｘ^{1}は、Ｏ、Ｓ、ＣＨ$_2$、または単結合した２個のＨであり；Ａ^{1}およびＡ^{2}は、それぞれ、独立に、Ｈ、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあるか、または次式：
－（ＣＨ$_2$）$_m$－Ｙ－（ＣＨ$_2$）$_n$－Ｒ^{3}Ｘ^3
で示され、ここで、Ｙは、Ｏ、Ｓ、Ｃ＝Ｏ、Ｃ＝Ｓ、－（ＣＨ＝ＣＨ）－、ビニリデン、－Ｃ＝ＮＯＲ$_h$、－Ｃ＝ＮＮＲ$_i$Ｒ$_i$、スルホニル、メチレン、（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置のＣＨＸ^{4}であるか、または削除され、Ｘ^{4}は、ハロゲン、メチル、ハロメチル、ＯＲ$_h$、ＳＲ$_h$、ＮＲ$_i$Ｒ$_i$、－ＮＲ$_i$（ＯＲ$_h$）または－ＮＲ$_i$（ＮＲ$_i$Ｒ$_i$）であり、ここで、Ｒ$_h$は、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニルおよび（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニルから選ばれ、Ｒ$_i$およびＲ$_i$は、それぞれ、独立に、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニルおよび（Ｃ$_1$～Ｃ$_{10}$）アシルから選ばれ；ｍは０、１、２または３であり、ｎは０、１、２または３であり；Ｒ^{3}は、直鎖もしくは分枝鎖（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$）アルキリデン、直鎖もしくは分枝鎖（Ｃ$_1$～Ｃ$_8$）アルキレン、（Ｃ$_3$～Ｃ$_{10}$）シクロアルキリデン、（Ｃ$_3$～Ｃ$_{10}$）シクロアルキレン、フェニレン、（Ｃ$_6$～Ｃ$_{14}$）アリールアルキリデン、（Ｃ$_6$～Ｃ$_{14}$）アリールアルキレンであるか、または削除され、Ｘ^{3}は、Ｈ、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲン、（（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル）オキシカルボニル、（（Ｃ$_7$～Ｃ$_{14}$）アリールアルキル）オキシカルボニルまたは（Ｃ$_6$～Ｃ$_{14}$）アリールであるか；あるいは合体したＲ^{3}とＸ^{3}とは、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもあり；そしてＲ^{12}は、Ｈ、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）アルキル、（Ｃ$_1$～Ｃ$_6$）ハロアルキル、（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルケニルまたは（Ｃ$_2$～Ｃ$_6$）アルキニルである］
で示される化合物、および製薬上許容され得る担体を含む製剤組成物である。
第九の態様は、次式：



［式中、Z^1は、ＮＨ、またはNR_aが（C_1～C_6）アルキルであるNR_aであり；X^1およびX^2は、それぞれ、独立に、ＯまたはＳであり；A^1およびA^2は、それぞれ、独立に（Ｒ）または（Ｓ）配置であり、かつ独立に、Ｈ、天然に産するいかなるアミノ酸の側鎖でもあるか、または次式：
－（CH_2）$_m$－Ｙ－（CH_2）$_n$－R^3X^3
で示され、ここで、Ｙは、Ｏ、Ｓ、Ｃ＝Ｏ、Ｃ＝Ｓ、－（ＣＨ＝ＣＨ）－、ビニリデン、－Ｃ＝ＮＯR_h、－Ｃ＝ＮＮR_iR_i、スルホニル、メチレン、（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置のＣＨX^4であるか、または削除され、X^4は、ハロゲン、メチル、ハロメチル、ＯR_h、ＳR_h、NR_iR_i、－NR_i（ＯR_h）または－NR_i（NR_iR_i）であり、ここで、R_hは、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルおよび（C_2～C_6）アルキニルから選ばれ、R_iおよびR_iは、それぞれ、独立に、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニルおよび（C_1～C_{10}）アシルから選ばれ；ｍは０、１、２または３であり、ｎは０、１、２または３であり；R^3は、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキリデン、直鎖もしくは分枝鎖（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキリデン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキリデン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるか、または削除され、X^3は、Ｈ、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲン、（（C_1～C_6）アルキル）オキシカルボニル、（（C_7～C_{14}）アリールアルキル）オキシカルボニルまたは（C_6～C_{14}）アリールであるか；あるいは合体したR^3とX^3とは、天然に産するいかなるα－アミノ酸の側鎖でもある］
で示される化合物、および製薬上許容され得る担体を含む製剤組成物である。
上記の多くの化合物は、新規化合物であり；該新規化合物は、特許請求の対象でもある。
本発明は、本明細書に記載の合成経路によって製造できるラクタシスチン類似体、およびプロテアソームによって加工されたタンパク質に媒介される状態を有する患者を、本明細書に開示の有効量の製剤組成物を患者に（たとえば経口的に）投与することによって治療する方法も包含する。これらの方法は、がん、炎症（たとえば、アレルギー、骨髄もしくは充実器官の移植、または病的状態に付随する炎症性応答）、乾癬および再発狭窄症の治療を包含する。
本明細書に開示の化合物は、プロテアソームに高度に選択性であり、トリプシン、α－キモトリプシン、カルパインＩ、カルパインII、パパインおよびカテプシンＢのような他のプロテアーゼを阻害しない。
本発明のその他の特徴または利点は、下記の詳細な説明から、また添付の請求の範囲からも明らかになると思われる。

発明の詳細な説明

用語

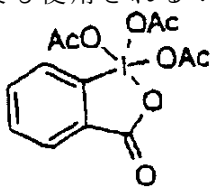
「天然に産するアミノ酸」なる語は、２０個の一般的なα－アミノ酸（Ｇｌｙ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、ＩＩｅ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｐ、Ａｓｎ、Ｌｙｓ、Ｇｌｕ、Ｇｌｎ、Ａｒｇ、Ｈｉｓ、Ｐｈｅ、Ｃｙｓ、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、ＭｅｔおよびＰｒｏ）およびノルロイシン、エチルグリシン、オルニチン、メチルブテニルメチルトレオニン、フェニルグリシンなどの天然産物である他のアミノ酸を包含する意である。アミノ酸側鎖としては、たとえば、Ｈ（グリシン）、メチル（アラニン）、－（CH_2－（Ｃ＝Ｏ）－NH_2（アスパラギン）、－CH_2－ＳＨ（システイン）および－ＣＨ（ＯＨ）CH_3（トレオニン）が挙

げられる。
「阻害剤」なる語は、酵素（たとえば、該プロテアソーム、または２０ＳプロテアソームのＸ/MB1サブユニットまたはα－鎖）の活性を遮断または抑制する化合物を示す意である。阻害剤は、競合、不競合または非競合阻害により作用しうる。阻害剤は可逆的または不可逆的に結合しうるため、この用語は、酵素の自殺基質である化合物を包含する。阻害剤は、酵素活性部位上またはその付近の１以上の部位を修飾したり、あるいは酵素上のどこかでコンホメーション変化を引き起こしうる。したがって、本明細書に開示するいくつかの化合物（たとえば、L^0がオキシラニルまたはアルデヒド基である化合物）は、ラクタシスチンのＣ４に対応する炭素原子に結合する（たとえば、ヒドロキシルまたはチオールを有するＣ４が生じる）ことにより酵素と反応し、一方、酵素と反応して脱離基（たとえば、L^1）を遊離し、アシル化に対応する。
アルキル基は、置換または非置換の分枝状または非分枝状の炭化水素である。分枝アルキル基の例としては、イソプロピル、sec－ブチル、イソブチル、tert－ブチル、sec－ペンチル、イソペンチル、tert－ペンチルおよびイソヘキシルが挙げられる。置換アルキル基は、それぞれ水素原子と置換する同一であっても異なっていてもよい１、２、３またはそれ以上の置換基を有していてもよい。置換基は、ハロゲン（たとえば、Ｆ、Ｃｌ、ＢｒおよびＩ）、ヒドロキシル、保護されているヒドロキシル、アミノ、保護されているアミノ、カルボキシ、保護されているカルボキシ、シアノ、メチルスルホニルアミノ、アルコキシ、アシルオキシ、ニトロおよび低級ハロアルキルである。同様に、シクロアルキル、アリール、アリールアルキル、アルキルアリール、ヘテロアリールおよび複素環ラジカル基は、前記置換基の１以上で置換されていてもよい。シクロアルキル基の例としては、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、シクロヘプチルおよびシクロオクチルが挙げられる。アリール基は、炭素原子により環が構成されている（C_6～C_{20}）芳香族環である（たとえば、（C_6～C_{14}）、（C_6～C_{10}）アリール基などであるが、この場合、C_8アリールは２，３－ジメチルフェニルなどのアルキルアリール、フェニルエチルなどのアリールアルキル、ｏ－メチル－ベンジルなどのアルキルアリールアルキルであってもよい）。ハロアルキルの例としては、フルオロメチル、ジクロロメチル、トリフルオロメチル、１，１－ジフルオロエチルおよび２，２－ジブロモエチルが挙げられる。
複素環基は、炭素原子と少なくとも１つのヘテロ原子（たとえば、Ｎ、Ｏ、ＳまたはＰ）とを含有する少なくとも１つの環構造を含有する。ヘテロアリールは芳香族複素環基である。複素環基およびヘテロアリール基としては、たとえば、チアゾリル、チエニル、フリル、１－イソベンゾフラニル、２Ｈ－クロメン－３－イル、２Ｈ－ピロリル、Ｎ－ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、ピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、ピラダジニル、インドリジニル、イソインドリル、インドリル、インダゾリル、プリニル、フタラジニル、シンノリニルおよびプテリジニルが挙げられる。複素環基は、該複素環基の炭素原子またはヘテロ原子を介して別の部分に結合していてもよい。
（C_nアルキル）オキシカルボニル基は、式Ｒ－Ｏ－（Ｃ＝Ｏ）－で表される。したがって、（（C_1～C_6）アルキル）オキシカルボニルとしては、メトキシカルボニルおよびヘキシルオキシカルボニルが挙げられる。本明細書で用いられる（C_1～C_{10}）アシル基は、式－（Ｃ＝Ｏ）－L_3で表され、１～10個の炭素原子（たとえば、（C_1～C_6））および１～５個のヘテロ原子（少なくとも１つの酸素）を含有する。そのようなアシル基としては、たとえば、ホルミル、アセチル、ベンジルオキシカルボニル、tert－ブトキシカルボニル、トリフルオロエチルオキシカルボニル、チオベンゾイル、フェニルアミドカルボニルおよび４－ニトロフェノキシカルボニルが挙げられる。
アルキレンは、異なる２個の炭素原子から２個の水素を除くことによりアルカンから誘導される二価の基である。アルキレンとしては、たとえば、－CH_2－ＣＨ（Ｒ）－CH_2および１，４－シクロヘキシレンが挙げられる。アルキリデンは、同じ炭素原子から２個の水素を除くことによりアルケンから誘導される二価の基であり、たとえば、１－プロパニ

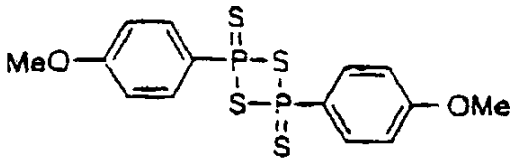
ル－３－イリデン（＝ＣＨ－ＣＨ$_2$－ＣＨ$_2$－）が挙げられる。
本明細書で用いられる芳香族炭素原子は、ベンゼンもしくはナフタレンなどの芳香族系内またはキノリンなどの芳香族複素環系内の炭素原子である。非芳香族炭素原子としては、たとえば、Ｒ－（Ｃ＝Ｏ）－Ｒ、－ＣＨ$_2$Ｃｌ、－ＣＨ$_2$－およびＲ－（Ｃ＝Ｏ）－Ｏ－Ｒ内の炭素原子が挙げられる。断片式量は、示されている断片または部分の原子量の合計である。たとえば、メチルの断片式量は１５であり、ヒドロキシルの断片式量は１７である。
脱離基は、該脱離基と該基質との間の共有結合の電子対と共に基質から離れる。好ましい脱離基は、電子求引性基、芳香族性、共鳴構造またはそれらの組み合わせの存在により電子を安定化する。例としては、ハライド（ＩおよびＢｒが好ましい）、メシレート、トリフルオロメタンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、ｐ24－ニトロベンゼンスルホネート、ベンゾエート、ｐ－ニトロベンゾエート、ｐ－ニトロベンジルおよび（Ｃ$_2$～Ｃ$_5$）ハロアルキルカルボニルオキシ（たとえば、トリフルオロアセテート）が挙げられる。
チオール、アミノ、ヒドロキシおよびカルボキシの多数の保護基が当業者によく知られている。一般に、保護基の種はさほど重要ではないが、該化合物の他の位置で後で行ういずれの反応の条件に対しても安定であり、該分子の残部に悪影響を及ぼすことなく適当な時点で除去できなければならない。さらに、実質的な合成変換が完了した後、保護基を別のものに置換してもよい。ある化合物が本明細書に開示の化合物と異なっていても、その相違が、該開示化合物の1以上の保護基が、異なる保護基で置換されている点だけであるならば、その化合物は本発明に包含されるのは明らかである。たとえば、ある化合物が本明細書に開示の化合物と異なっていても、その相違が、チオール、アミノまたはヒドロキシル部分からの１以上の水素（またはカルボキシル部分からの水素またはヒドロキシル）が保護基で置換されていてカルボキシルまたはスルホニルエステルを形成している点だけであるならば、その保護されている化合物は本発明に包含される。スルホニルエステルとしては、アルキルスルホニル（たとえば、メチルスルホニル、すなわちメシル）およびアリールスルホニル（たとえば、トシル）が挙げられる。さらなる例および条件は、T.W. Greene, Protective Groups in Organic Chemistry（1st ed., 1981；2nd ed., 1991, T.W. Greene and P.G.M. Wuts）に記載されている。
また本発明は、本明細書に開示する化合物の同位体標識体を包含する。本発明の同位体標識化合物は、検出可能な粒子またはＸ線放射（放射活性）核または磁気核を有する同位体で置換されている１以上の原子を有する。そのような核としては、たとえば、^{2}Ｈ、^{3}Ｈ、^{13}Ｃ、^{15}Ｎ、^{19}Ｆ、^{29}Ｓｉ、^{31}Ｐ、^{32}Ｐおよび^{125}Ｉが挙げられる。本発明の同位体標識化合物は、分光的分析、ラジオイムノアッセイ、γ－またはβ－シンチレーションに基づく結合アッセイ、フルオログラフィー、オートラジオグラフィー、速度論的研究（たとえば、一次および二次同位体効果の阻害研究または測定）のためのプローブまたは研究手段として特に有用である。
合成の説明では以下の略語を用いる：
AIBN、２，２’－アゾビス（イソブチロニトリル）；Ｂｎ、ベンジル；ＢＯＰ－Ｃｌ、ビス（２－オキソ－３－オキサゾリジニル）ホスフィニッククロリド；Ｂｕ$_2$ＢＯＴｆ、ジブチルボロントリフレート；ＣＤＩ、Ｎ，Ｎ’－カルボニル－ジイミダゾール；Ｃｐ、シクロペンタジエニル；ＤＢＵ、１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン；ＤＣＣ、ジシクロヘキシルカルボジイミド；ＤＤＱ、２，３－ジクロロ－５，６－ジシアノ－１，４－ベンゾキノン；ＤＥＡＤ、ジエチルアゾジカルボキシレート；ＤＩＢＡＬ－Ｈ、水素化ジイソブチルアルミニウム；ＤＭＦ、ジメチルホルムアミド；ギルバート試薬、ジメチル・ジアゾメチルホスホネート；ＬＤＡ、リチウムジイソプロピルアミド；LiＨＭＤＳ、リチウムヘキサメチルジシラザミド；メシレート、メタンスルホン酸エステル；光延（Mitsunobu）試薬、（ＤＥＡＤ、ＰＰｈ$_3$および求核剤）；ＮＭＯ、Ｎ－メチルモルホリン－Ｎ－オキシド；Ｐｈ、フェニル；ＰｈＦｌ、９－フェニル－９－フルオレニル；Ｐｈ$_2$ＮＴｆ、Ｎ－フェニルトリフルオロメタンスルホンイミド；スワーン酸化試薬、（（ＣＯＣｌ）$_2$、ＤＭＳＯ、Ｅｔ$_3$Ｎ）；ＴＢＡＦ、テトラブチルアンモニウムフル

オリド；ＴＢＳ、tert－ブチルジメチルシリル；ＴＣＤＩ、チオノ－Ｎ，Ｎ’－カルボニルジイミダゾール；Ｔｆ$_2$Ｏ、トリフルオロメタンスルホン酸無水物；ＴＭＳ、トリメチルシリル；トリフレート、トリフルオロメタンスルホネートエステル；およびＴｓＣｌ、ｐ－トルエンスルホニルクロリド。

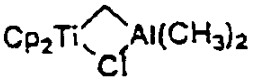
以下の試薬も使用される：



デス・マーティン(Dess-Martin)ペルヨージナン

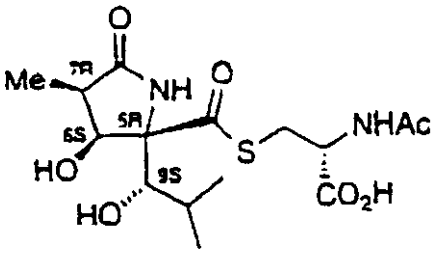


ローソン試薬

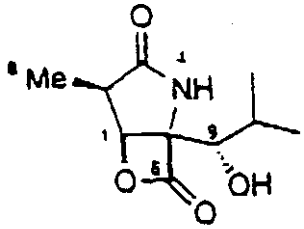


テッペ（Tebbe）試薬

本発明は１つには、以下の好ましい立体化学的関係を示唆する本明細書で開示する構造－機能情報に基づく。好ましい化合物は、示されている上－下［またはβ－α（この場合、本明細書の表示では、βが紙面の上方にある）］または（Ｒ）－（Ｓ）の関係を有する１、２、３個またはそれ以上の立体中心を有していてもよいことに留意すべきである。いくつかの実施態様では、好ましい立体配置は、７（Ｒ）、９（Ｓ）、６（Ｓ）またはその組み合わせである。ラクタシスチン類似体では、好ましくは、本明細書でプロテアソーム阻害剤として開示する化合物の活性に関係していると考えられるラクトンまたはラクタム型中間体の形成が可能となるよう、Ｒ^{2}およびＬ^{0}がシン（ｓｙｎ）の関係を有している。しかしながら、すべての立体中心が以下の構造に従う必要はない。



ラクタシスチン



ラクタシスチンβ－ラクトン

当業者であれば、本明細書に開示する化合物は、ラクタシスチンまたはラクタシスチンβ－ラクトンのいずれかで認められる何らかの立体化学的および電子的性質を維持していると認識するであろう。たとえば、γ－ラクタム環のＣ６ヒドロキシルおよびＣ７メチルの立体配置と同様、ヒドロキシイソブチル基とＣ９上のヒドロキシル基の立体配置とは、標的の認識に重要と考えられる。しかしながら、Ｎ－アセチルシステイン部分は、活性に必要ではない。プロテアソームに対する選択性、およびプロテアソームの特定のペプチダーゼ活性に対する選択性を制御するために、Ｒ^2、Ｒ^{1}および特にＡ^1（たとえば、Ａ^{1}が、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、ＬｙおよびＰｈｅのような天然に産するα－アミノ酸の側鎖である場合）の部分を修飾することができる。それらを組み合わせると、これらの部分は、プロテアーゼによりプロセシングまたは分解されるある種のペプチドまたはタンパク質を模擬する（すなわち、ペプチドミメティックである）。

また本発明は１つには、ラクタシスチンおよびラクタシスチンβ－ラクトンがプロテアソームのＸ／ＭＢ１サブユニットおよびα－鎖に対して高選択性であり、トリプシン、α－キモトリプシン、カルパインＩ、カルパインII、カテプシンおよびパパインのようなプロテアーゼの活性を阻害しない、という知見に基づく。そのような選択性は、Ｘ／ＭＢ１サブユニットおよびα－鎖の選択的阻害と共に、副作用がより少ない製剤組成物を処方し、プロテアソームのいずれかのサブユニットに関わる基礎研究結果を評価するのに有用である。

次に、製剤組成物に含有される化合物のうち、式を用いて説明される新規化合物に関して、いくつかの実施態様を考察する。

第１の形態の実施態様には、以下の１以上の限定を有する化合物が含まれる。１つの限定では、L^1は、X^2に結合している炭素原子に酸素、または好ましくは硫黄原子により結合している。そのようなL^1はチオエステルを形成しており、したがって優れた脱離基を与える。チオエステル基の明確な性質は一般には重要ではない。最初の実験で、大小両方のチオエステルに関して$K_{obs}/[I]$により測定したところ、そのチオエステル末端が単純なアリールアルキル基であるか、または介在アミド結合および末端カルボン酸、エステルまたはアミノカルボニル基を有するより複雑な分枝部分であるかにかかわらず、活性の大きさはほぼ同じであった。１つの実施態様では、Z^1はＮＨまたはNR_a；X^1はＯまたはＳ；Z^2はCHR^1または$CHOR^1$で、R^1はＨ、ハロゲン、（C_1～C_6）アルキルまたは（C_1～C_6）ハロアルキル；R^2はOR_f；およびL^0は－（Ｃ＝X^2）－L^1で、X^2はＯであり、L^1は、X^2に結合している炭素原子に硫黄原子により結合している。もう１つの態様では、L^1は、置換または非置換の（C_6～C_{20}）アリールアルキルカルボニルチオ、（C_6～C_{20}）アリールチオ、（C_2～C_8）アルキルカルボニルチオおよび（C_1～C_{12}）アルキルチオから選ばれる。「用語」の節で既に定義したとおり、アリールチオとしては、アリールチオ、アルキルアリールチオ、アリールアルキルチオおよびアルキルアリールアルキルチオ基が挙げられる。

他の限定では、L^0がカルボキシルまたは（（C_1～C_4）アルキル）オキシカルボニルである場合、A^1は（C_5～C_{20}）アルキルおよびA^1はアルキルである；A^1およびL^0の１つだけが、カルボキシルおよび（（C_1～C_4）アルキル）オキシカルボニルから選ばれる；A^1はＨではない；Z^1およびZ^2が共にＮＨで、A^1がメトキシの場合、L^1は少なくとも３個の炭素原子を有する；R^1とR^2とが一緒になっている場合、Z^2はCR^1である；およびA^1およびL^0の一方が（（C_1～C_4）アルキル）オキシカルボニルまたはカルボキシルの場合、A^1およびL^0のもう一方は少なくとも２０の断片式量を有する。第１、第５および第７の態様の新規化合物は、一般には、ＨであるA^1を有さない。

Z^1がＮＨで、Z^2が（Ｒ）CHR^1である第1の態様のさらに別の実施態様の化合物は、５個のヘテロ原子が存在する場合、L^1が０～３個の非芳香族非環式炭素原子を有する；酸素原子が１個しか存在しない場合、L^1が６～１５個の非芳香族非環式炭素原子を有する；そして３個のハロゲン原子が存在する場合、L^1が０、１、３または５個の非芳香族炭素原子を有する化合物である。

第１の態様のさらに別の実施態様に含まれる化合物は、Z^2がCHR^1で、Z^1がＮＨまたはNR_aである化合物；L^0が（C_2～C_{16}）オキシラニル；L^1がヒドロキシ、（C_1～C_{12}）アルコキシ、（C_1～C_{12}）アルキル－スルホニルオキシ、（C_6～C_{20}）アリールスルホニルオキシ、（C_7～C_{20}）アリールアルキル、（C_6～C_{20}）アリールオキシ、（C_6～C_{20}）アリールアルキルカルボニルオキシ、（C_2～C_8）アルキルカルボニルオキシ、（C_2～C_8）アルキルカルボニルチオ、（C_1～C_{12}）アルキルチオ、（C_6～C_{20}）アリールアルキルカルボニルチオまたは（C_6～C_{20}）アリールチオ；またはL^2がＨ、（C_1～C_2）ハロアルキルまたは（C_1～C_6）アルキルである化合物である。さらに、Z^2はＯ、Ｓ、ＮＨまたはNR_dである。もう１つの実施態様では、Z^2はＯ、Ｓ、ＮＨＪ、NR_dまたはCHR^1；そしてR_nはＨ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルまたは（C_2～C_6）アルキニルである。

第１の態様のさらに別の実施態様に含まれる化合物は、Z^1がＯ、ＳまたはSO_2である化

合物；Z^2がO、S、NHまたはNR_dである化合物；X^1がCH_2、CHR_bまたは$C(R_b)(R_c)$である化合物；R^2が（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルまたはハロゲンである化合物；R^2がOR_f、SR_fまたはNR_fR_gである化合物；Z^2がベータ（紙面の上方の）立体配置である化合物；CHX^4がアルファ（紙面の下方の）立体配置である化合物；R^2がベータ立体配置である化合物；またはそれらの組み合わせの化合物である。

また本発明は、L^0がHまたは－（C＝X^2）－L^1であり、X^2がOであり、L^1が、X^2に結合している炭素原子に酸素または硫黄原子により結合している製剤組成物；A^1およびL^0の一方だけが、カルボキシルおよび（（C_1～C_4）アルキル）オキシカルボニルから選ばれる製剤組成物；L^1がヒドロキシ、（C_1～C_{12}）アルコキシ、（C_1～C_{12}）アルキルスルホニルオキシ、（C_6～C_{20}）アリールスルホニルオキシ、（C_7～C_{20}）アリールアルキル、（C_6～C_{20}）アリールオキシ、（C_6～C_{20}）アリールアルキルカルボニルオキシ、（C_2～C_8）アルキルカルボニルオキシ、（C_6～C_{20}）アリールアルキルカルボニルチオ、（C_6～C_{20}）アリールチオ、（C_2～C_8）アルキルカルボニルチオまたは（C_1～C_{12}）アルキルチオである製剤組成物を提供する。

また本発明は、Z^1がNHまたはNR_a；X^1がOまたはS；Z^2がCHR^1または$CHOR^1$であり、R^1がH、ハロゲン、（C_1～C_6）アルキルまたは（C_1～C_6）ハロアルキル；R^2がOR_f；およびL^0が－（C＝X^2）－L^1であり、X^2がO、L^1が、X^2に結合している炭素原子に硫黄原子により結合している実施態様を提供する。個々の化合物には、ラクタシスチン、クラスト－ラクタシスチントリフルオロエチルエステル、デスカルボキシラクタシスチン、ラクタシスチンアミドおよびフェニルアセチルラクタシスチンが含まれる。

第２の態様の実施態様に含まれる化合物は、X^4がヒドロキシルで－$(CH_2)_n$－R^3X^3がイソプロピルの場合、CHX^4が（S）立体配置である化合物；X^4がヒドロキシル、mが０およびZ^1がNHの場合、－$(CH_2)_n$－R^3X^3部分が５～２０個の炭素原子を有する化合物；Z^1がNHまたはNR_aである化合物；Z^1がO、SまたはSO_2である化合物；Z^1がNR_aである化合物；X^1がCH_2、$CH(R_b)$または$C(R_b)(R_c)$である化合物；Z^2がベータ（紙面の上方の）立体配置である化合物；CHX^4がアルファ（紙面の下方の）立体配置である化合物；R^1がH、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニルまたはハロゲンである化合物；R^1が天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_eである化合物；または前記の組み合わせの化合物である。

第２の態様のもう１つの実施態様に含まれる化合物は、Z^1がNHまたはNR_a；X^1がOまたはS；Z^2が（R）または（S）立体配置のCHR^1であり、R^1がH、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、ヒドロキシル、ハロゲン、天然に産するアミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e（R_dおよびR_eはそれぞれ独立してH、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルまたは（C_2～C_5）アルキニルである）；Z^3がOまたはNH；X^2がOまたはS；およびA^1がいずれかの天然に産するα－アミノ酸の側鎖であるか、または、式

－Y－$(CH_2)_n$－R^3X^3

［式中、YはC＝Oまたは（R）または（S）立体配置のCHX^4であるか、または欠失しており、X^4はハロゲン、メチル、ハロメチルまたはOR_hであり、R_hは、H、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、（C_1～C_{10}）アシル、（C_1～C_6）アルキルスルホニルおよび（C_6～C_{10}）アリールスルホニルから選ばれ、ｎは０、１、２または３であり、Ｒ３は直鎖状または分枝状（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるか欠失しており、X^3はH、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲンまたは（C_6～C_{10}）アリールであるか、またはR^3とX^3とは一緒になって、いずれかの天然に産するα－アミノ酸の側鎖である］で表される基で

ある化合物である。
また本発明は、Z^1がＮＨで、Z^3がＯである化合物；Z^1およびZ^3のそれぞれがＮＨである化合物；または以下の限定［Z^1がＮＨまたはNR_a；X^1がＯまたはＳ；Z^2が（Ｒ）または（Ｓ）立体配置のCHR^1であり、R^1がＨ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、ヒドロキシルまたはOR_dであり、R_dが（C_1～C_6）アルキル；Z^3がＯまたはＮＨ；X^2がＯ；Z^3がＯまたはＮＨ；およびA^1がいずれかの天然に産するα－アミノ酸の側鎖またはCHX^4であり、X^4がハロゲン、メチル、ハロメチルまたはOR_hであり、R_hが、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_1～C_{10}）アシル、（C_1～C_6）アルキルスルホニルおよび（C_6～C_{10}）アリールスルホニルから選ばれる；R^3が、直鎖状または分枝状（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるかまたは欠失している；ｍが０、１または２、およびｎが０または１；およびX^3がＨ］の少なくとも４つ（たとえば、少なくとも５つまたはすべて）が適用される化合物を提供する。
また本発明が提供する製剤組成物においては、Z^1がＮＨまたはNR_a；X^1がＯまたはＳ；Z^2が（Ｒ）または（Ｓ）立体配置のCHR^1であり、R^1がＨ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、ヒドロキシル、ハロゲン、天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e（R_dおよびR_eはそれぞれ独立してＨ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニルまたは（C_2～C_5）アルキニルである）；Z^3がＯまたはＮＨ；X^2がＯまたはＳ；およびA^1がいずれかの天然に産するα－アミノ酸の側鎖であるか、または、式
$-Y-(CH_2)_n-R^3X^3$
［式中、ＹはＣ＝Ｏまたは（Ｒ）または（Ｓ）立体配置のCHX^4であるか、または欠失しており、X^4はハロゲン、メチル、ハロメチルまたはOR_hであり、R_hは、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニル、（C_1～C_{10}）アシル、（C_1～C_6）アルキルスルホニルおよび（C_6～C_{10}）アリールスルホニルから選ばれ、ｎは０、１、２または３であり、R^3は直鎖状または分枝状（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるか欠失しており、X^3はＨ、ヒドロキシル、チオール、カルボキシル、アミノ、ハロゲンまたは（C_6～C_{10}）アリールであるか、またはR^3とX^3とは一緒になって、いずれかの天然に産するα－アミノ酸の側鎖である］で表される基である。
もう１つの実施態様に含まれる化合物は、X^2がＯであり、A^1がいずれかの天然に産するα－アミノ酸の側鎖であるか、またはX^4がハロゲン、メチル、ハロメチルまたはOR_hであり、R_hが、Ｈ、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_1～C_{10}）アシル、（C_1～C_6）アルキルスルホニルおよび（C_6～C_{10}）アリールスルホニルから選ばれる；R^3が直鎖状または分枝状（C_1～C_8）アルキレン、（C_3～C_{10}）シクロアルキレン、フェニレン、（C_6～C_{14}）アリールアルキレンであるかまたは欠失している；ｍが０、１または２で、ｎが０または１；およびX^3がＨである化合物である。個々のラクトン類似体には、クラスト－ラクタシスチンβ－ラクトンが含まれる。
第３の態様の実施態様に含まれる化合物は、X^1が２個の単結合Ｈで、かつ、R^1が酸素を１個しか有さない場合、R^1の断片式量が少なくとも30の原子質量単位である；X^1が２個の単結合Ｈであり、かつ、R^1が２個のＨであり、かつ、A^1がアルキルである場合、A^1が少なくとも3個の炭素原子を有する；A^1、R^1およびX^1が一緒になって少なくとも１個の炭素原子、ハロゲンまたはヘテロ原子を有する；X^1が２個の単結合Ｈ、R^1がＨ、X^2がＯ、そしてR_hがアルキルである場合、R_hが（C_4～C_6）アルキルである；そしてｎが２の場合、R_hが（C_1～C_6）ハロアルキルである化合物である。
第３の態様のさらに別の実施態様に含まれる化合物は、X^1がCH_2、２個の単結合Ｈ、ＣＨ（R_b）またはＣ（R_b）（R_c）；Z^2がＯまたはＳ；Z^2がＮＨまたはNR_j；R^1が（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6

）アルキニルまたはハロゲン；R^1が天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e；A^1がH以外である；R^1がベータ立体配置である；X^4がアルファ立体配置である；またはそれらの組み合わせの化合物である。

第４の態様の実施態様に含まれる化合物は、Z^2がＯまたはＳ；Z^2がＮＨまたはNR_j；X^1がＯまたはＳ；R^1が（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニルまたはハロゲン；R^1が天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e；R^2がH、（C_1～C_3）アルキル、（C_1～C_3）ハロアルキル、（C_2～C_3）アルケニル、（C_2～C_3）アルキニル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）ヘテロアリールまたはハロゲン；R^2がH、（C_3～C_6）アルキル、（C_3～C_6）ハロアルキル、（C_4～C_6）アルケニル、（C_4～C_6）アルキニル、（C_6～C_{12}）アリールまたは（C_3～C_8）ヘテロアリール；A^1がH以外である；R^1がベータ立体配置である；X^4がアルファ立体配置である；または前記の組み合わせの化合物である。

第５の態様のさらに別の実施態様に含まれる化合物は、Z^1がＯまたはＳ；Z^2がＮＨまたはNR_j；R^1がH、（C_1～C_3）アルキル、（C_1～C_3）ハロアルキル、（C_2～C_3）アルケニル、（C_2～C_3）アルキニル、または天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e；R^1がH、（C_4～C_6）アルキル、（C_4～C_6）ハロアルキル、（C_4～C_6）アルケニル、（C_4～C_6）アルキニル、ハロゲンまたは天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e；R^2がH、（C_1～C_3）アルキル、（C_1～C_3）ハロアルキル、（C_2～C_3）アルケニル、（C_2～C_3）アルキニル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）ヘテロアリールまたはハロゲン；R^2がH、（C_4～C_6）アルキル、（C_4～C_6）ハロアルキル、（C_4～C_6）アルケニル、（C_4～C_6）アルキニル、（C_6～C_{12}）アリールまたは（C_3～C_8）ヘテロアリール；R_aが（C_1～C_3）アルキル；A^1がH以外である；X^4がアルファ立体配置である；またはそれらの組み合わせの化合物である。

第６の態様の実施態様の化合物は、X^1がＯまたはＳ；X^1がCH_2、２個の単結合H、CH（R_b）またはC（R_b）（R_c）；Z^1がＯまたはＳ；Z^1がＮＨまたはNR_a；R^1が（C_1～C_3）アルキル、（C_1～C_3）ハロアルキル、（C_2～C_3）アルケニル、（C_2～C_3）アルキニル、ハロゲンまたは天然に産するα－アミノ酸の側鎖；R^1がOR_d、SR_dまたはNR_dR_e；R^1が（C_4～C_6）アルキル、（C_4～C_6）ハロアルキル、（C_4～C_6）アルケニル、（C_4～C_6）アルキニル、天然に産するα－アミノ酸の側鎖、OR_d、SR_dまたはNR_dR_e；R^1とR^2とが一緒になって二価の部分となっている；R^1がベータ立体配置である；R^2がベータ立体配置である；R^2が（C_1～C_3）アルキル、（C_1～C_3）ハロアルキル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）シクロアルキルまたはハロゲン；R^2が（C_4～C_6）アルキル、（C_4～C_6）ハロアルキル、（C_6～C_{12}）アリール、（C_3～C_8）シクロアルキル、（C_3～C_8）ヘテロアリールまたは（C_3～C_8）複素環基；A^1がA^2より大きな断片式量を有する；A^1がA^2より小さな断片式量を有する；A^1が（R）立体配置である；A^1が（S）立体配置である；A^1およびA^2の一方だけがHである；A^1が天然に産するα－アミノ酸の側鎖である；またはその組み合わせの化合物である。

第７の態様の実施態様の化合物は、X^1がＯまたはＳ；X^1がCH_2、２個の単結合H、CH（R_b）またはC（R_b）（R_c）；Z^2がＯまたはＳ；Z^2がＮＨまたはNR_j；R^1が（C_1～C_3）アルキル、（C_1～C_3）ハロアルキル、（C_2～C_3）アルケニル、（C_2～C_3）アルキニル、ヒドロキシル、ハロゲンまたは天然に産するα－アミノ酸の側鎖；R^1がOR_d、SR_dまたはNR_dR_e；R^1が（C_4～C_6）アルキル、（C_4～C_6）ハロアルキル、（C_4～C_6）アルケニル、（C_4～C_6）アルキニル、天然に産するα－アミノ酸の側鎖；R^1とR^2とが一緒になって二価の部分となっている；R^2が（C_1～C_3）アルキル、（C_1～C_3）ハロアルキル、（C_2～C_3）アルケニル、アジド、（C_2～C_3）アルキニル、ヒドロキシルまたはハロゲン；R^2がOR_f、SR_f、$NR_fR_fR_g$、－ONR_fR_g、－NR_g（OR_f）または－NR_g（RS_f）；R^2が（C_4～C_6）アルキル、（C_4～C_6）ハロアルキル、（C_4～C_6）アルケニル、アジド、（C_4～C_6）アルキニル、OR_f、SR_f、N

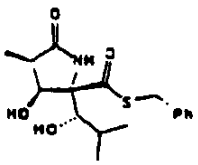
$R_fR_fR_g$、－ONR_fR_g、－$NR_g(OR_f)$または－$NR_g(RS_f)$；R^1とR^2とが一緒になって二価の部分となっている；R^1がアルファ立体配置である；R^1がベータ立体配置である；R^2がアルファ立体配置である；R^2がベータ立体配置である；A^1がアルファ立体配置である；A^2がベータ立体配置である；またはその組み合わせの化合物である。

第８の態様の１つの実施態様の化合物は、A^1、A^2、R^{12}およびX^1が一緒になって少なくとも１つの炭素原子および１つのヘテロ原子を有する化合物である。第８の態様のさらに別の実施態様の化合物は、Z^1がＮＨまたはNR_a；X^1がＯまたはＳ；X^1がCH_2または２個の単結合Ｈ；R^{12}がＨ、（C_1～C_3）アルキル、（C_1～C_3）ハロアルキル、（C_2～C_3）アルケニルまたは（C_2～C_3）アルキニル；R^{12}が（C_4～C_6）アルキル、（C_4～C_6）ハロアルキル、（C_4～C_6）アルケニルまたは（C_4～C_6）アルキニル；A^1、A^2、R^{12}およびX^1が一緒になって少なくとも１つの炭素原子および１つのヘテロ原子を有する；A^1の断片式量がA^2の断片式量より大きい（たとえば、その差は少なくとも３０または６０）；A^2の断片式量がA^1の断片式量より大きい（たとえば、その差は少なくとも15または５０）；またはそれらの組み合わせの化合物である。

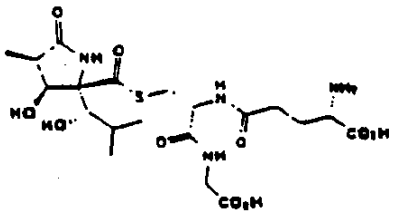
第９の態様の実施態様の化合物は、A^1が天然に産するα－アミノ酸の側鎖である化合物；A^1が少なくとも５０（たとえば、７０、１００または１２０）の断片式量を有する化合物である。

本明細書に記載する個々の化合物の具体例を、表Ａ、ＢおよびＣに示す。

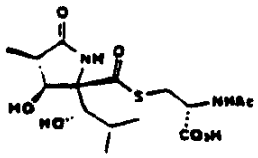
表A



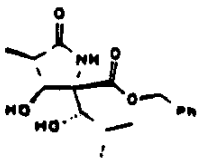
I-1



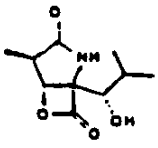
I-2



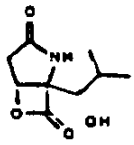
I-3



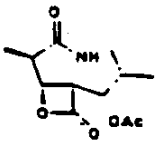
I-4



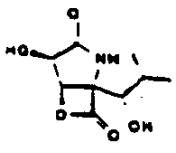
P-1



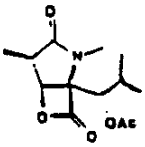
P-2



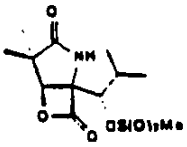
P-3



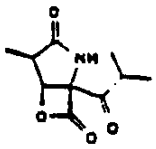
P-4



P-5

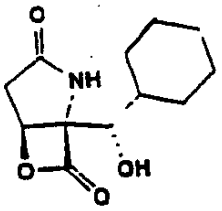


P-6

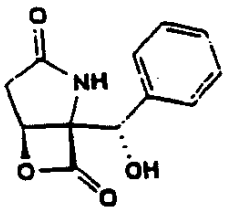


P-7

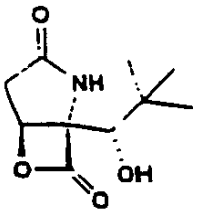
表 B



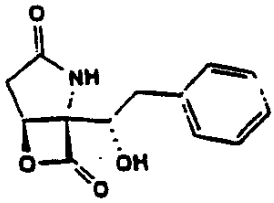
J-1.



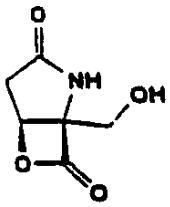
J-2



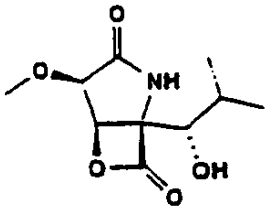
J-3



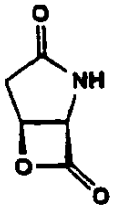
J-4



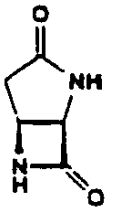
J-5



J-6

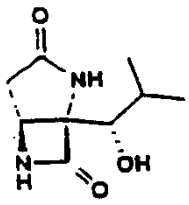


J-7

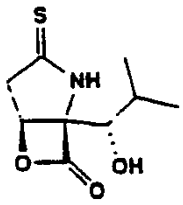


J-8

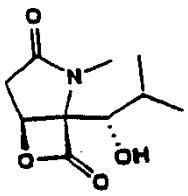
表Ｃ



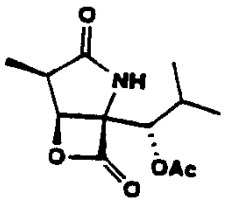
J-9



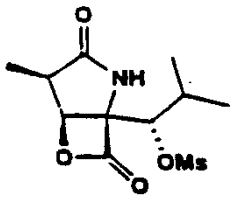
J-10



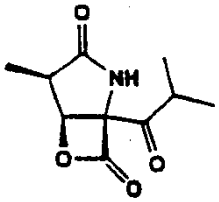
J-11



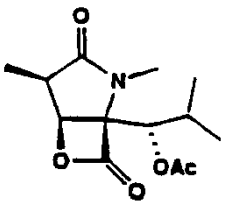
J-12



J-13



J-14



J-15

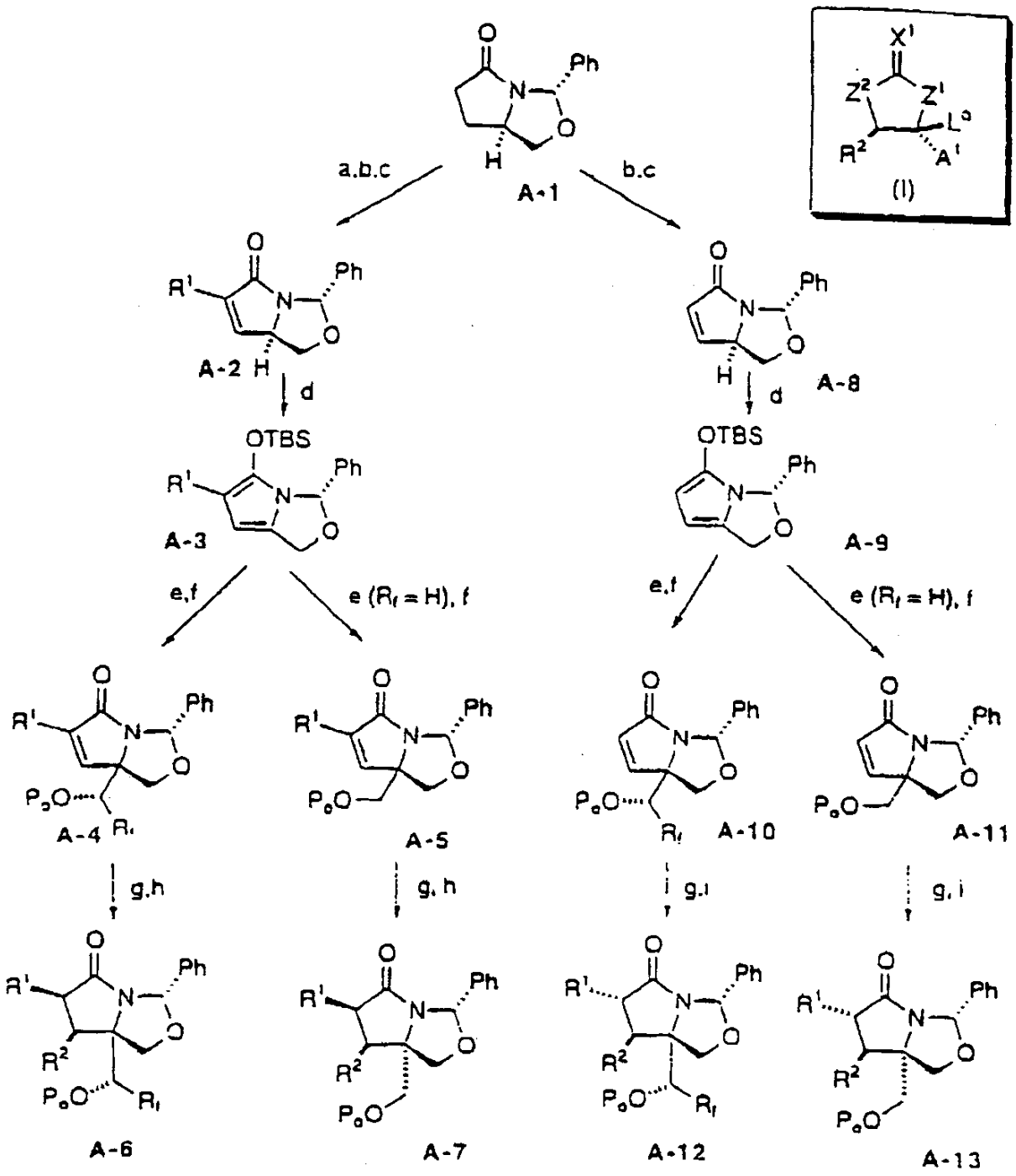
合成

本明細書に開示する合成は、構造群別にまとめている。当業者であれば、請求項１に記載の化合物は請求項２３記載の組成物中の化合物に関連しており、請求項５に記載の化合物は請求項３０に記載の組成物中の化合物に関連していることなどを認識するであろう。請求項１～５に記載の化合物の合成は、主として、Uno et al.により報告されている、彼らが行った（Ｒ）－グルタメートから（+）－ラクタシスチンへのエナンチオ特異的合成の結果に基づいている［Uno et al., J. Am. Chem. Soc. (1994)116:2139］。請求項１～５および２４～３２に関するすべてのスキームにおいて、直線を用いてA^1（またはいずれかのA^1の対応物）を該分子の残部に接続している場合、これは破線を意味することに注意する必要がある。直線を用いているのは、単に明瞭化のためである。すべてのA^1は、該分子の残部に「アルファ」で（すなわち面の下方に）結合している。化合物Ａ－１（スキーム１）は、たとえば請求項２に記載されているすべての合成経路の出発物質として使用する。したがって、前記の研究からの類推により標準的なアルキル化の化学的方法を用いて、Ａ－１からＡ－２へ変換することによりR^1の導入が可能となる。R^1がヒドロキシル、ハライド、－ＳＲ$_d$または－ＮＲ$_d$Ｒ$_e$（式中、Ｒ$_d$およびＲ$_e$はそれぞれ独立して、Ｈ

、（C_1～C_6）アルキル、（C_1～C_6）ハロアルキル、（C_2～C_6）アルケニル、（C_2～C_6）アルキニルから選ばれる）である場合、工程ｂの求電子剤は、それぞれ、Ｎ－アリールスルホニル－3－フェニルオキサジリジン［Davis, F.A. et al., J. Org. Chem.（1984）, 49:3241］、Ｎ－ハロスクシンイミド［Storter, P.A. et al., J. Org. Chem.（1973）38:2576］、R_dS-SR_dまたは硫黄元素［Zoretic, P.A. et al., J. Org. Chem.（1976）41:3587］［Gassman, P.G. et al., J. Org. Chem,（1977）42:3236］、Ｎ－アリールスルホニルアジド（ついで該アジドを一級アミンへ還元し、そしてNR_dR_eへ変換する）［Evans D.A. et al., J. Am. Chem.（1987）109:6881］である。R^1が不安定または反応性またはその両方であれば、この時点で保護基を導入し、合成の終了時にそれを除去する。ついで、Ａ－２型の化合物の製造を、Uno（Uno et al.（1994））により報告されている２工程（工程ｂおよびｃ）法で完了する。

次の作業はA^1の導入である。Uno［Uno et al.（1994）］は、ルイス酸媒介アルドール付加条件下、二環式アミノ酸誘導体Ａ－２に関してA^1が非常に高い面選択性で導入されることを示した。この炭素－炭素結合構築により、請求項２に列挙されているA^1基の導入が可能となる。したがって、Unoに記載されているとおりにＡ－２をＡ－３へ変換し、ついでＡ－３をジエチルエーテル中で$SnCl_4$およびアルデヒド（R_fCHO、式中、R_fはＨに対応するかまたはA^1の残部に対応する）で処理し、ここではP_oと表示している基で該ヒドロキシル基を適当に保護した後、アルドール産物Ａ－４（あるいはR_fがＨであればＡ－５）が得られる［GreeneおよびWuts et al., Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd ed..（1991）］。

スキームＩ



ａ）ＬＤＡ；求電子剤　ｂ）ＬＤＡ；ＰｈＳｅＢｒ　ｃ）O_3；ピリジン　ｄ）ＴＢＳＯＴｆ、２，６－ルチジン　ｅ）R_fＣＨＯ、$SnCl_4$、Et_2O　ｆ）P_2Oとしてヒドロキシルを保護する　ｇ）R^2に対応する求核剤　ｈ）酸性水　ｉ）R^1に対応する求電子剤

Ａ－４またはＡ－５の不飽和カルボニル系の立体選択的な共役求核付加によるR^2の導入の後、得られたエノレートを酸性水でクエンチすることにより、それぞれ化合物A-6およびA-7が得られる。この方法は、プロスタグランジン合成のための「三成分カップリング」戦略［Suzuki et al.（1988）］に類似している。この場合、該三成分は、Ａ－４（またはＡ－５）、R^2およびプロトンである。いくつかの事実に基づいて、Ａ－６およびＡ

－７について示しているジアステレオマーが優勢なジアステレオマーであると予想される。Uno合成［Uno, H. et al. （1994）］では、Ａ－４（R^1＝メチル、R_f＝イソプロピル）と同様の化合物をOsO_4触媒によりジヒドロキシル化して、R^2に対応するヒドロキシル基を導入した。この反応は、完全な面選択性で進行した。したがって、一般には、適当な反応性を有する基（求核剤または求電子剤）が同様に、Ａ－４またはＡ－５のベータ面へ（上方から）優先的に接近する。

酸性水によるエノレートのクエンチは立体選択的に進行する。Suzukiの三成分カップリング戦略［Suzuki et al.（1988）］では、求核剤と求電子剤は互いにトランスで導入される。本発明者の場合では、R^2およびプロトンが互いにトランスで導入される。R^1およびR^2が互いにトランスである化合物が望ましい場合には、化合物Ａ－１２およびＡ－１３で示しているとおり、同様の戦略が創案されている。

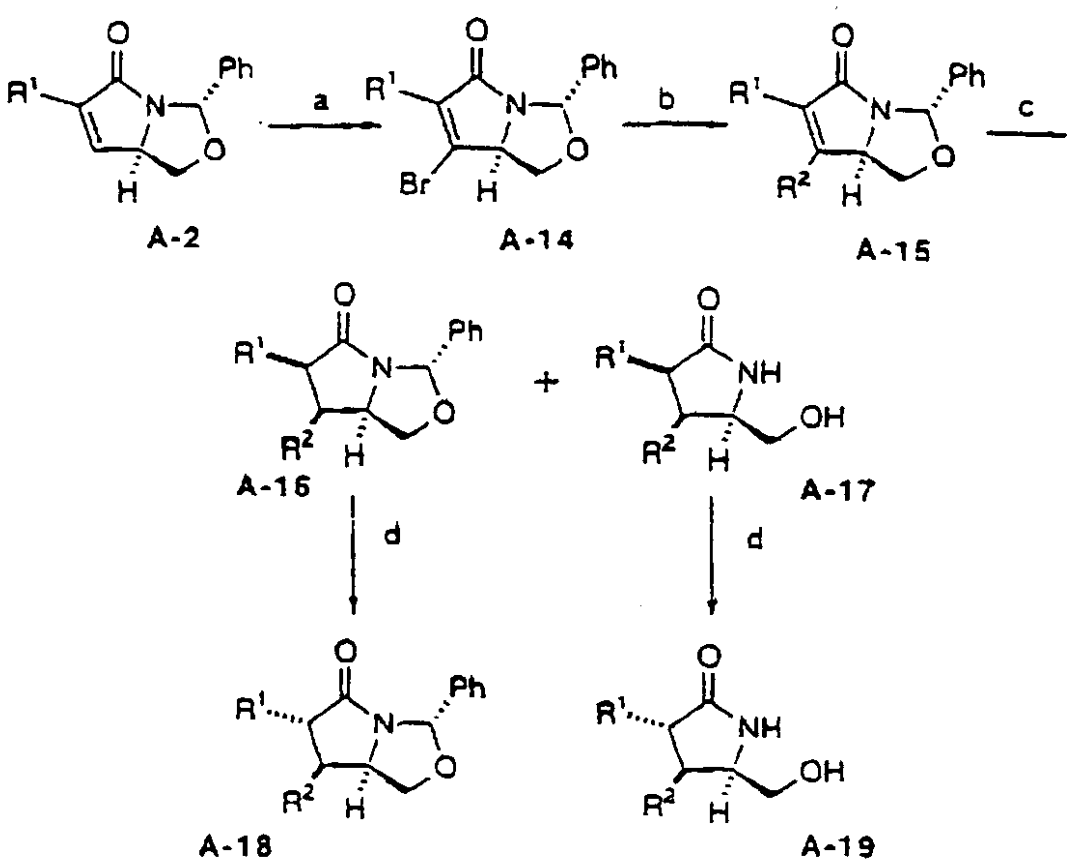
その基本的戦略には、前記戦略に対する１つの例外がある。すなわち、該カルボニルに対してアルファ位の炭素でのR^1およびプロトンの導入の順序が逆になっている。したがって、Ａ－１からＡ－９への変換は、アルキル化工程（工程ａ）を省略する以外はＡ－３の製造と同じ方法により行う。Ａ－９からＡ－１０およびＡ－１１への変換では、Ａ－４およびＡ－５を与える条件と同じ条件を用いる。この場合もR^2の付加は上面から起こるが、化合物Ａ－１２およびＡ－１３で示すとおり、R^1に対応する求電子剤によるクエンチ工程では、R^1とR^2との関係はこの場合にはトランスとなる。

Ａ－６、Ａ－７、Ａ－１２およびＡ－１３に対するこれらのアプローチのもう１つの利点は以下のとおりである。クエンチ工程において求電子剤（プロトンまたはR^1）をR^2に対してシス（前記の予想と逆）で導入したならば、その所望の化合物への立体特異的経路が利用できるが、ただしこの場合には、Ａ－４およびＡ－５がそれぞれＡ－１２およびＡ－１３を与え、Ａ－１０およびＡ－１１がＡ－６およびＡ－７を与える。

A^1がＨである化合物は、別の戦略（スキーム２）により製造する。たとえば、A^1がＨの場合、求核剤［Hanessian et al., Synlett（1991）10:222］および求電子剤［Griffart-Brunet et al., Tet. Lett. （1991）35:119］は、下面から接近し、A^1で水素に対してシスになることが示されている。したがって、本発明者らの前記戦略の鍵は、A^1がＨでない場合には付加の立体選択性が逆転していることである。A^1がＨである化合物の下記の迅速な製造では、立体選択性のこの逆転を用いる。

このようにして、標準的な方法［Caine et al., J. Org. Chem. （1985）50:2195］によるＡ－２の臭素化によりＡ－１４を得、これを共役付加脱離法で使用してＡ－１５型の化合物を得る。A^1がＨであるため、該オレフィンの接触水素化により、R^1とR^2とは所望のシス立体配置（化合物A-16で示されている）となるはずである。そのような条件下で、Ｎ,Ｏ－アミナルの開裂が生じて化合物Ａ－１７が得られることもある。そのような脱保護を該合成の次工程で行うため、そのような発生は不利ではない。化合物Ａ－１８およびＡ－１９は、それぞれＡ－１６およびＡ－１７の塩基触媒エピマー化により得られる。

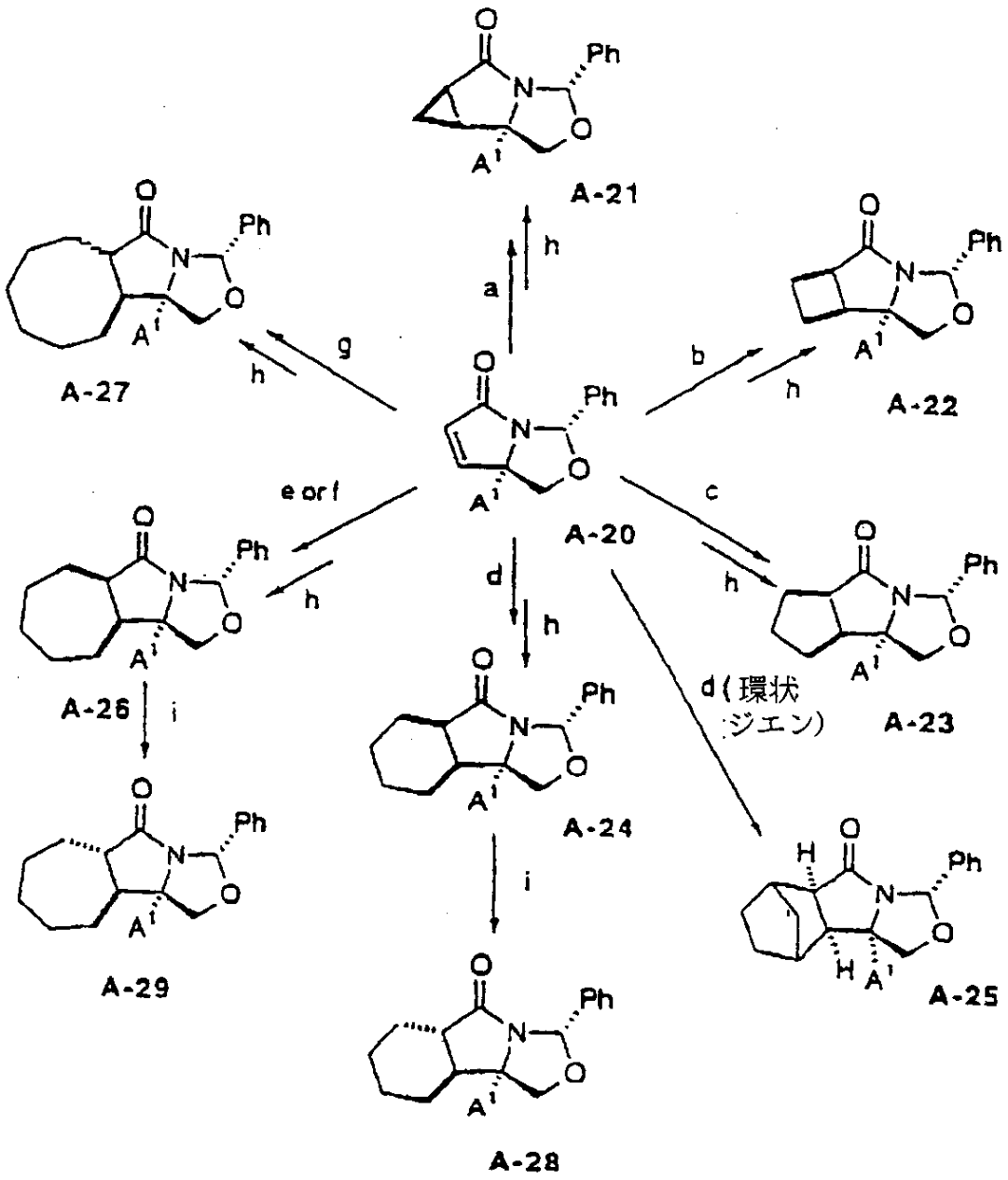
スキーム２



ａ）Ｂｒ$_2$、Ｅｔ$_3$Ｎ　ｂ）Ｒ^{2}に対応する求核剤；Ｈ$_3$Ｏ$^-$
ｃ）Ｈ$_2$、Ｐｄ／Ｃ　ｄ）ＤＢＵ、ＣＨ$_2$Ｃｌ$_2$

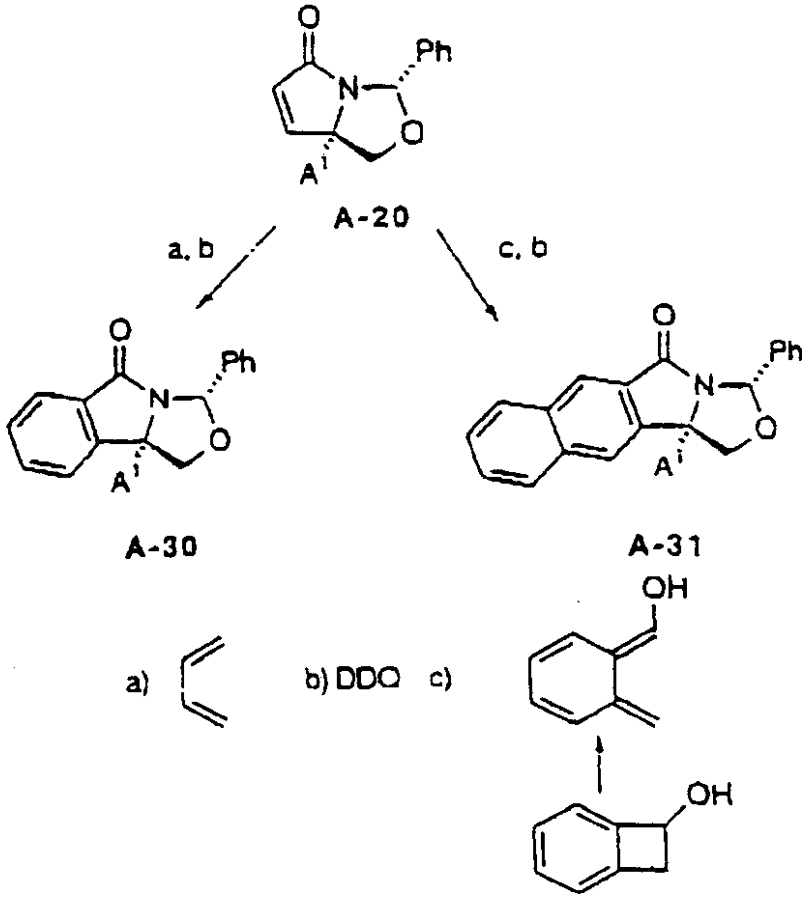
前記戦略により、請求項２および２５に記載しているいずれかまたはすべてのＲ^{1}およびＲ^{2}を含有する化合物［ただし、追加的な環がラクタム環に縮合している化合物（特に、Ｒ^{1}がＲ^{2}と一緒になって二価の部分を生じ、これが（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）シクロアルキル、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）ヘテロアリール、（Ｃ$_3$～Ｃ$_8$）複素環基または（Ｃ$_6$～Ｃ$_{12}$）アリールを与える化合物）が１つの例外として除かれる］の製造が可能となる。それらの製造を、以下で検討する（スキーム３および４）。スキーム３および４では炭素環系だけを示しているが、脂環式および複素環式（どちらの場合も芳香族および非芳香族）の両クラスの化合物も、適当な試薬を選択することによりこのようにして製造できることに注意する必要がある。さらに、そのような方法により通常得ることができるこれらの環状のすべての置換パターンを、以下に示す方法により得ることができる。明瞭化のため、およびこれらの化合物に対する一般的戦略を例示するため、最も簡単な炭素環体について示す。

スキーム３



ａ）エポキシ化、シモンズースミス（Simmons-Smith）アジニジン化等
ｂ）光付加環化、ケテン付加等　ｃ）ニトリルオキシド、アゾメチンイリド、他の［３＋２］付加環化　ｄ）ディールスーアルダー付加環化等
ｅ）［５＋２］付加環化　ｆ）ＬＧ－（ＣＨ$_2$）$_5$－Ｎｕ
ｇ）ＬＧ－（ＣＨ$_2$）$_8$－Ｎｕ　ｈ）「官能基操作」
ｉ）ＤＢＵ、ＣＨ$_2$Ｃｌ$_2$

スキーム４



これらの化合物の合成は、アルファ－ベータ不飽和オレフィンに対する付加環化の多様な化学に基づく［Carruthers et al., Cycloaddition Reactions in Organic Synthesis（1990）およびJ. March, Advanced Organic Chemistry, （1992）pp. 826-877］。すなわち、スキーム３に示すように、化合物Ａ－２０（この型の化合物の製造についてはスキーム１を参照のこと；たとえば、Ａ－１０およびＡ－１１）を用いる［1+2］法（例、ジアゾ挿入、シクロプロパン化、エポキシ化およびアジリジン化）により、Ａ－２１型の化合物が得られる。Ａ－２２型の化合物は、種々の［2+2］付加環化法（たとえば、光付加環化およびケテン付加）により製造する。

１，３－双極付加環化の化学（ニトリルオキシドおよびアゾメチンイリドのような［3+2］付加環化試薬）により、Ａ－２３型の多種多様な化合物が製造される。Ａ－２４型の化合物の製造は、おそらく、付加環化の化学において最も順応性があり重要である。なぜなら、それは、有機化学全体において最も利用され研究されている反応の１つであるディールス－アルダー反応に基づいているからである。この方法により製造されるＡ－２４型の種々の化合物はあまりにも膨大で列挙できないが［Carruthers, （1990）］、橋かけ化合物（Ａ－２５型）がこの方法で製造されることは注目すべきである。Ａ－２６を与える［5+2］付加環化はそれほど一般的ではないが、いくつかの興味深い例が報告されている［Wender et al., J. Org. Chem. （1991）56:6267およびWender et al.,Tet. Lett. （1992）32:6115］。

これらのすべての方法はR^1およびR^2を互いにシスで導入するが、Ａ－２４およびＡ－２６の場合には塩基触媒エピマー化により、これらの化合物のトランス縮合体（それぞれＡ－２８およびＡ－２９）が得られる。（Ａ－２１、Ａ－２２、Ａ－２３およびＡ－２５は

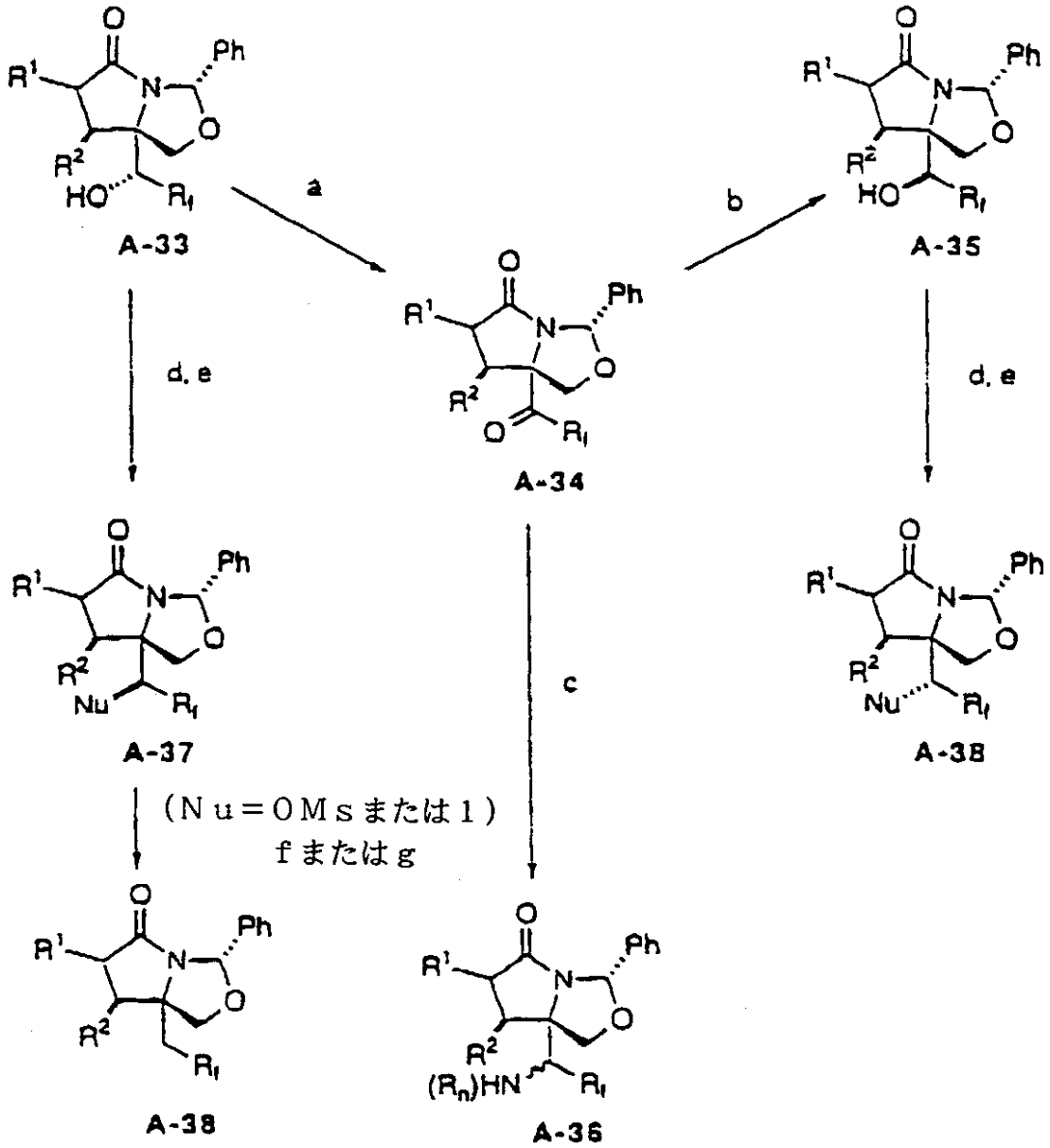
このようにエピマー化ができないが、それは、これらのトランス縮合環はそのシス縮合系よりはるかに大きな環ひずみを受けるためである。）

シクロヘプチル（Ａ－２６）およびシクロオクチル（Ａ－２７）化合物は、若干異なる方法（スキーム１で示したのと類似の方法）により製造される。基本的には、必要原子数（Ａ－２６の場合は５、Ａ－２７の場合は６）を隔てて侵入求核剤の反対側に脱離基（「ＬＧ」と略記）が結合している求核剤（「Ｎｕ」と略記）をA-20へ付加する。したがって、該求核剤の付加の後、得られたエノレートが該脱離基と置換し、環を形成する。あるいは、該求核剤および求電子剤の望ましくない分子間副反応を最小限に抑えるため、そのような方法を段階的に行う。アルファ－ベータ不飽和カルボニル化合物からシクロヘプチルおよびシクロオクチル化合物を製造するためのこれらのおよび他の方法は、化学文献中で検討されている［Petasis N.A. et al., Tetrahedron（1992）48:5757］。

アリールおよびヘテロアリール化合物（たとえば、化合物Ａ－３０およびＡ－３１、スキーム４）は、［４+２］付加環化化学法および、それに続く、得られたシクロアルケンまたはヘテロシクロアルケンのジクロロジシアノキノン（ＤＤＱ）による酸化により製造される［Pizey, N., Synth. Reagents（1977）3:193-225］。Ａ－３１型の化合物の場合、用いる他の型のジエンは、ヒドロキシベンゾシクロブテンの開環反応により生成するヒドロキシオルトキシリレンである。［Arnold, B.J. et al., J. Chem. Soc.（1974）409-415］。

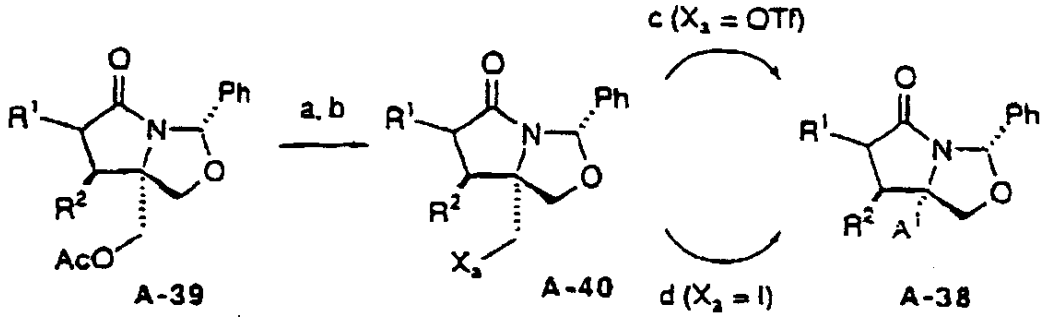
R^1およびR^2のすべての変形体はこのようにして製造できるので、次に、A^1の変形体のすべてを包含させるためのこれらの化合物の変換について説明する（スキーム５）。

スキーム５



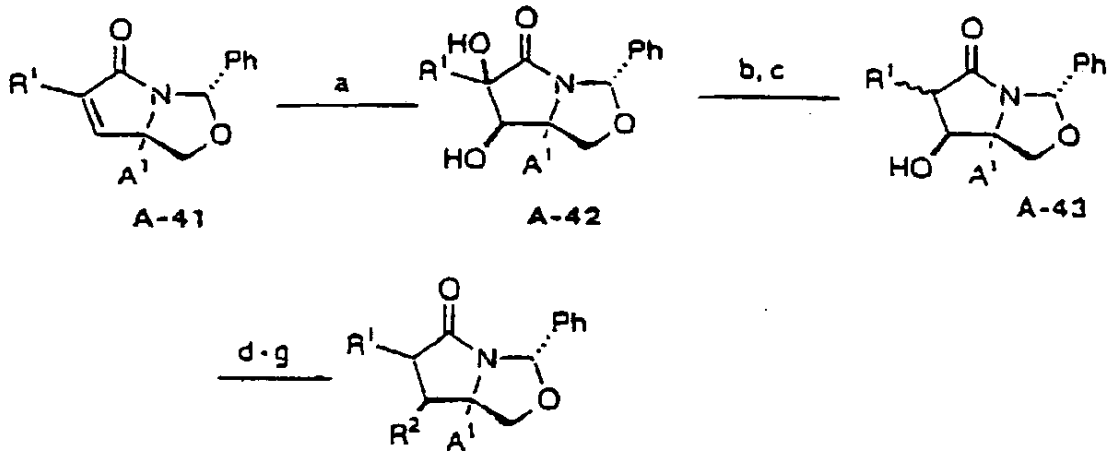
ａ）デス－マーティン（Dess-Martin）ペルヨージナン
ｂ）たとえば 、ＮａＢＨ$_4$　ｃ）Ｒ$_n$ＮＨ$_2$、ＮａＣＮＢＨ$_3$
ｄ）ＭｓＣｌ、Ｅｔ$_3$Ｎ　ｅ）求核剤　ｆ）ＬｉＥｔ$_3$ＢＨ
ｇ）Ｚｎ、ＨＣｌ

スキーム６



ａ）ＬｉＯＨ、ＴＨＦ、H_2O　ｂ）Tf_2O、２，６－ジ－tert－ブチルピリジンまたはI_2、PPh_3、イミダゾール　ｃ）求核剤　ｄ）金属－ハロゲン交換；求電子剤

スキーム７



Ａ－４４（Ａ－３３のサブセット）

ａ）OsO_4、ＮＭＯ、水、アセトン　ｂ）ＴＣＤＩ
ｃ）Bu_3SnH、ＡＩＢＮ　ｄ）ジアステレオマー分離
ｅ）ＤＥＡＤ、Ph_3P、酢酸　ｆ）酢酸塩の脱離基への転換
ｇ）R^2に対応する求核剤

Uno et al.（1994）の結果に基づき、また、スキーム１に示すように、Ａ－３をルイス酸触媒アルドール付加に付してR_fCHOを得、ついでこれをさらに変換処理に付して、R^1の両方の立体配置を含む表示立体配置に立体中心を有するＡ－３３型の化合物を得る（スキーム５）。（直線結合（すなわち、太線でも破線でもない結合）は、ここでは、この位置での両ジアステレオマーを表すものである）。ここでは、A^1内に含まれる二級ヒドロキシルの立体化学および関連誘導体に焦点をあてることとする。アルドール付加（スキーム１）反応条件を修飾することにより、この位置での他方のジアステレオマーが得られるが、この中心を反転させる別の方法は、まず、該ケトンを標準的条件下（例、スワーン、デス・マーティンペルヨージナンなど）で酸化し、ついで適当な還元剤（例、$NaBH_4$など）（その種類は還元体の数をスクリーニングすることにより決定される）で還元する

。この２工程法により、Ａ－３５型の化合物が得られる。同様に、アミンまたはヒドロキシルアミン（スキーム５ではR_nNH_2として示している）およびシアノホウ水素化ナトリウム（$NaCNBH_3$）によるケトンＡ－３４の還元的アミノ化により、Ａ－３６型の化合物が得られる。この工程の立体化学的誘導の意義は、異なる還元剤を用いることにより変化しうる。あるいは、まず、Ａ－３３またはＡ－３５のメタンスルホネートエステル（「メシレート」）を製造し、ついで該メシレートを求核剤（たとえば、RNH_2、ＲＳ－、ＲＯ－、ハライド、ヒドロキシルアミン、グリニャール試薬など）で置換することにより、Ａ－３３の二級ヒドロキシルに対応する炭素において立体化学が完全に制御された多種多様なA^1誘導体が得られる。該メシラートの還元（リチウムトリエチルボロヒドリド（$LiEt_3BH$）による）またはハロゲン化物の還元（たとえば塩酸中の亜鉛による）により、Ａ－３８型の化合物が得られる。

種々のA^1誘導体のもう１つの製造法を、スキーム６に示す。スキーム１に従い製造されるＡ－３９型の化合物を、たとえば標準的な官能基操作により、Ａ－４０型（式中、X_aはハライドまたはトリフルオロメタンスルホネートエステル（「トリフレート」）である）の化合物へ変換する。これらの脱離基を求核剤で置換することにより、Ａ－３８型の化合物のもう１つの製造法が得られる。ヨウ素化されているＡ－４０（X_aがＩ）を金属－ハロゲン交換条件（たとえば、活性化Ｍｇ金属またはtert－ブチルリチウム）に付すことにより、種々の求核剤が付加しうる求核剤が得られるが、これはＡ－３８型の化合物へのさらに別の経路となる。

３３型の化合物のサブセットの製造のためのもう１つの戦略は注目に値する（スキーム７）。この戦略により、前記のすべてのR^2と、ヒドロキシル、ハライド、－SR_d、－NR_dR_e以外のすべてのR^1とについてのＡ－３３型の化合物の製造が可能となる。スキーム１に示すＡ－４、Ａ－５、Ａ－１０およびＡ－１１型の化合物（スキーム７では化合物Ａ－４１として示す）のうちR^1が炭素－炭素結合で該ラクタム環に結合しているものをジヒドロキシル化するとＡ－４２型の化合物が得られるが、この場合、該ヒドロキシル基は専ら上面に付加している。［Uno et al.（1994）］（この立体選択性の理由は、前記で考察されている）。Uno et al., 1994の方法に従い、三級ヒドロキシルを選択的に除去し、R^1ジアステレオマーＡ－４３の混合物を得ることができ、これは種々のクロマトグラフィー法により分離できる。二級ヒドロキシルを光延反転させ、ついで、適切に誘導された脱離基をR^2に対応するいずれかの求核剤（例、ヒドロキシド、アルコキシド、スルフィド、グリニャール試薬、アミン、ハライドなど）で置換することによりＡ－４４型の化合物が得られるが、これはＡ－３３型の化合物のサブセットであるため、それらの対応するA^1誘導体へ前記のとおり変換できる。

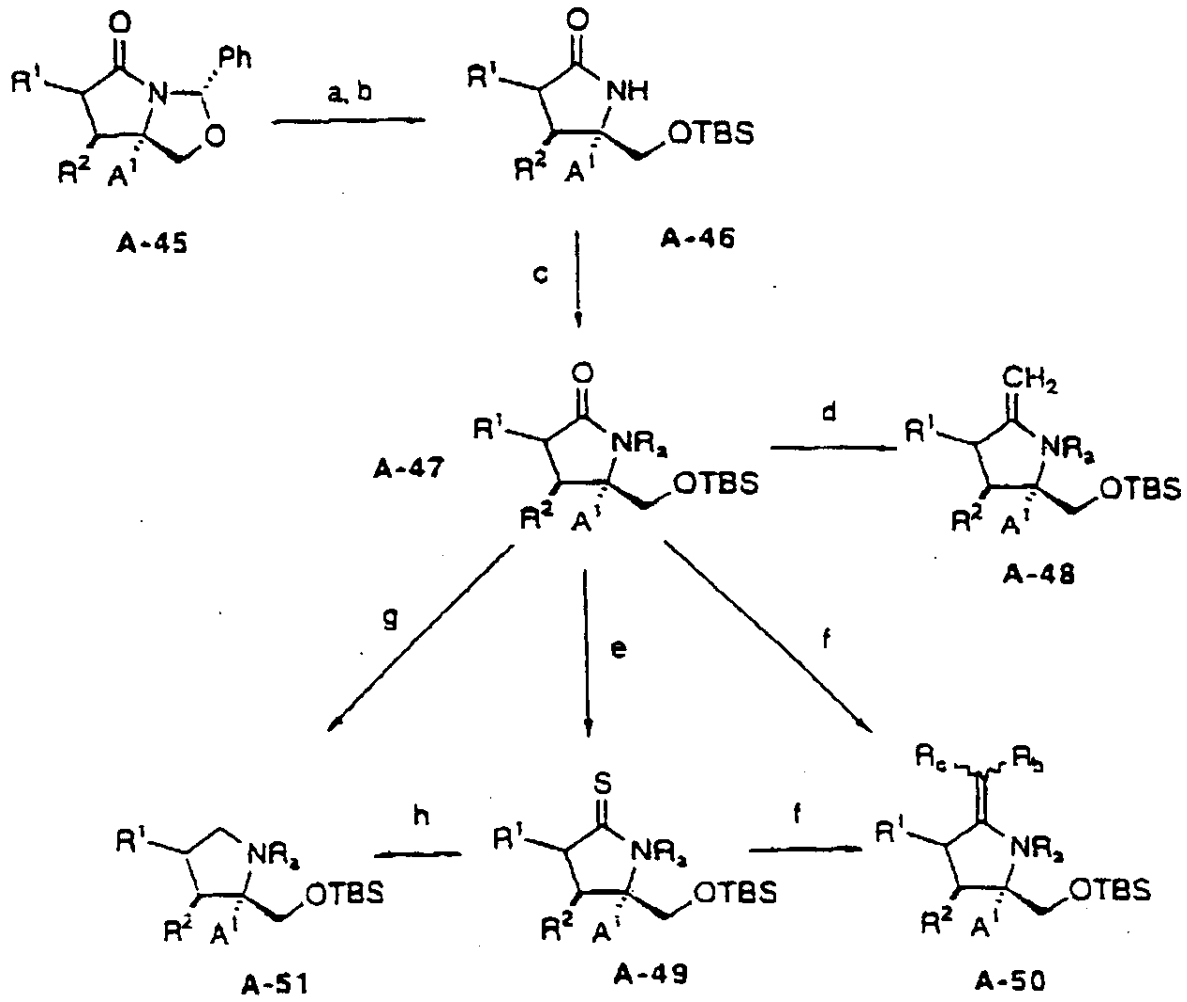
このようにして、請求項２および２５のR^1、R^2そしてA^1のすべての種類について実行可能な経路を挙げたものであり、次にX^1、L^1およびX^2の構築（スキーム８）について言及する。

一般構造Ａ－４５の化合物は、最初に接触水素化分解あるいは弱酸による加水分解［Corey, E.J. et al., J. Am. Chem. Soc.（1992a）, 114:10677］を行い、その後標準的条件下で一級ヒドロキシル基をそのtert－ブチルジメチルシリル（ＴＢＳ）エーテルとして保護すること［Corey, E.J. およびVenkateswarlu, A., J. Am. Chem. Soc.（1972）, 94:6190］を含む２段階法により化合物Ａ－４６に変換できる。このアミドのＮ－アルキル化により化合物Ａ－４７への経路が得られる［Challis, N., The Chemistry of Amides,（1970）, 734-754］。（R_bがＨであることが所望される場合には、前記アミドを合成の最後に除去できる適当な保護基により遮断することができる［Greene, T.W. et al., Protective Groups in Organic Sythesis（1991）］）。

エナミンＡ－４８はTebbeオレフィン化条件下にＡ－４７から製造できる［Pine, S.H. et al., J. Org. Chem.（1985）50:1212］。チオアミドＡ－４９は、Ａ４７をビス（トリシクロヘキシルスズ）スルフィドおよび三塩化ホウ素で処理することにより製造できる［Steliou, K. et al., J. Am. Chem. Soc.（1982）, 104:3104］。置換エナミンＡ－５０は、適当なグリニャール試薬あるいはアルキルリチウムをＡ－４７またはＡ－４９に加え

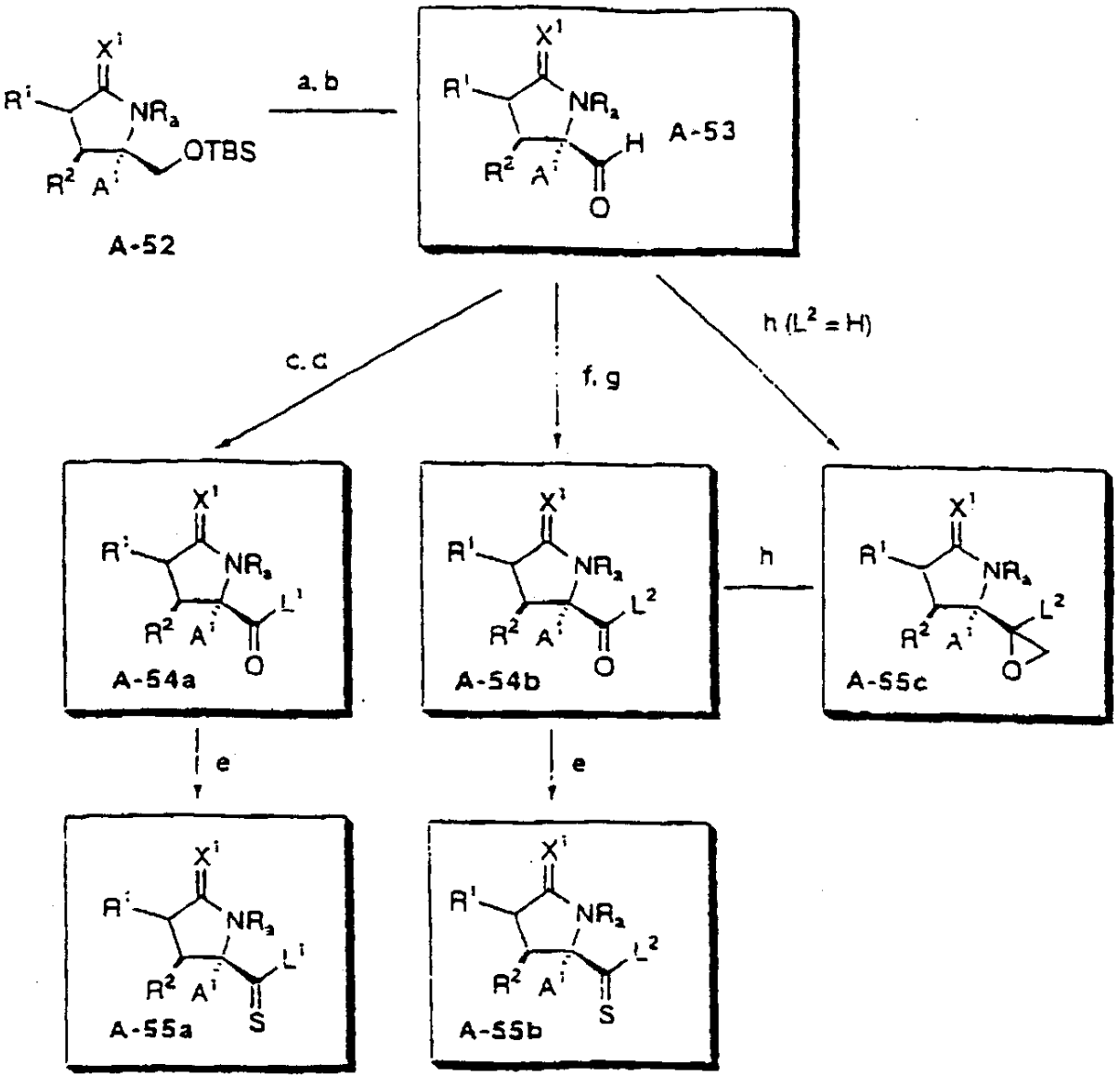
、酸加水分解し、ＥおよびＺオレフィン異性体を分離することにより製造できる。［Aguerro, A. et al., J. Soc. Chem. Commun. （1986）531およびSchrock, R.R., J. Am. Chem. Soc. （1976）98:5399およびHansen, C., J. Org. Chem. （1973）38:3074］ピロリジン、すなわち５１の型のものは、Ａ－４７の水素化リチウムアルミニウムによる還元［March, J., Advanced Organic Chemistry（1992）826-877およびGaylord, J., Reduction with Complex Metal Hydrides（1956）］544-636］、あるいＡ－４９のラネーニッケルによる還元［Belen'kii, W., Chemistry of Organosulfur Compounds 91990）193-228］により製造できる。

スキーム８



ａ）Ｈ$_2$、Ｐｄ／Ｃ、Ｈ$^+$またはＨＳ（ＣＨ$_2$）$_3$ＳＨ、ＨＣｌ、ＣＦ$_3$ＣＨ$_2$ＯＨ　ｂ）ＴＢＳ－Ｃｌ、イミダゾール、ＤＭＦ
ｃ）ＮａＨ、Ｒ$_2$に対応する求電子剤、ＤＭＦ　ｄ）テッペ（Tebbe）オレフィン化　ｅ）（（シクロヘキシル）$_3$Ｓｎ）$_2$Ｓ、ＢＣｌ$_3$
ｆ）Ｒ$_c$Ｒ$_b$Ｃ（Ｈ）（ＭｇＢｒ）；Ｈ$^-$　ｇ）ＬｉＡｌＨ$_4$、Ｅｔ$_2$Ｏ
ｈ）ラネーニッケル

スキーム９

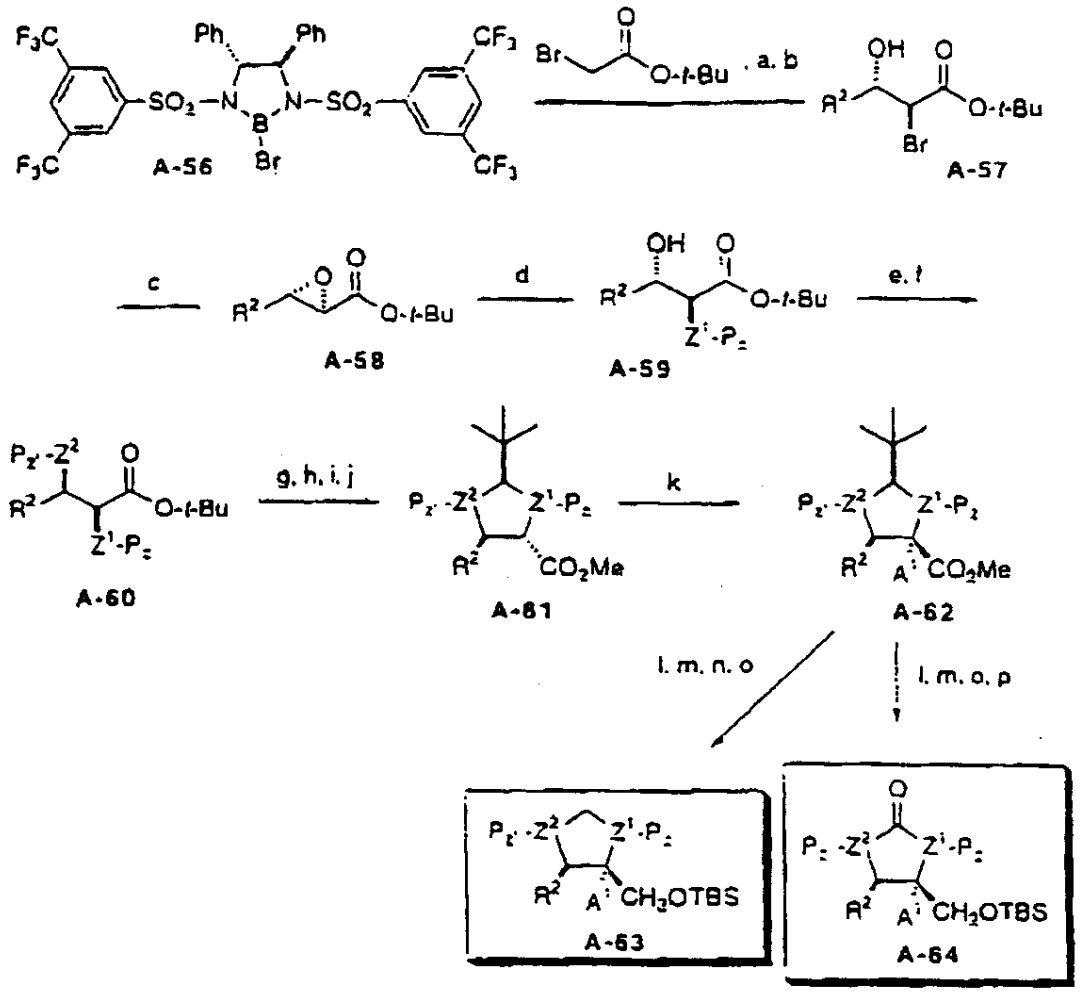


ａ）ＴＢＡＦ、ＴＨＦまたはＨＦ、CH_3CNまたは１％ＨＣｌ、ＭｅＯＨ　ｂ）$(COCl)_2$、ＤＭＳＯ、Et_3N、CH_2Cl_2　ｃ）$NaClO_2$、ｐＨ７、ＴＨＦ　ｄ）L^1－Ｈ、ＢＯＰ－Ｃｌ　ｅ）ローソン試薬　ｆ）L^2に対応する求核剤　ｇ）デスーマーティン（Dess-Martin）ペルヨージナン　ｈ）$Me_2(S^+)(O)CH_2^-$

これらを総合すると、これらの手順は一般構造Ａ－５２の化合物の合成を構成し、これはたとえばUno et al.［Uno, H. et al., （1994）］の手順に従ってＡ－５３に変換される（スキーム９）。化合物Ａ－５３は、CoreyおよびReichard［Corey, E.J. et al., （1992a）］により使用された条件下で、酸化して酸とし、L^1（これはすべて標準的な方法により製造される）とカップリングすることにより類似体のＡ－５４ａに変換される。これらの化合物をローソン試薬により硫化して［Cava, M.P. et al., Tetrahedron（1985）41:5061］、チオノ類似体Ａ－５５ａを得る。化合物Ａ－５４ｂは、L^2に対応する求核剤（たとえばCF_3）［Francese, C. et al., J. Chem. Soc., Chem. Commun（1987）642］をアルデヒドＡ－５４ｂに添加し、その後アルコールをDess-Martinペルヨージナンにより

酸化することにより［Linderman, R.J. et al., Tet. Lett. （1987）28:4259）製造される。これらの化合物をローソン試薬により硫化することにより［Cava, M.P. et al., （1985）］チオノ類似体Ａ－５５ｂを得る。Ａ－５５ｃ型のエポキシドは、Johnsonの方法［Johnson, C.R., Acc. Chem. Res. （1973）6:341）によりＡ－５３またはＡ－５４ｂから製造され、これによりこの項で詳述したすべての類似体の合成が完了する。

スキーム１０



ａ）Ｅｔ$_3$Ｎ、トルエン　ｂ）Ｒ$_1$ＣＨＯ　ｃ）Ｋ$_2$ＣＯ$_3$、ＭｅＯＨ、Ｈ$_2$Ｏ　ｄ）Ｚ^{1}に対応する求核剤；必要な場合Ｚ^{1}の保護　ｅ）ＴｓＣｌ、ピリジン　ｆ）Ｚ^{2}に対応する求核剤；必要な場合Ｚ^{2}の保護　ｇ）必要な場合Ｐ$_1$およびＰ$_2$の脱保護　ｈ）ＭｅＳＯ$_3$Ｈ、トルエン　ｉ）ＣＨ$_2$Ｎ$_2$　ｊ）（ＣＨ$_3$）$_3$ＣＣＨＯ、酸　ｋ）ＬｉＨＭＤＳ；Ａ^{1}に対応する求電子剤　ｌ）ＬｉＡｌＨ$_4$　ｍ）ＴＢＳ－Ｃｌ、イミダゾール、ＤＭＦ　ｎ）酸性水　ｏ）ＨＣＨＯ、酸　ｐ）ＣＤｌ

請求項４および３１に含まれる化合物の製造は、主としてSeebachおよびCoreyの方法による。すなわち、スキーム１０に示すように、Ａ－５８型のエポキシドは、６１から化合物６２を経由してCorey et al.の方法［Corey, E.J. et al., （1992b）］により製造される。Ｒ^{2}は、工程ａのアルドール反応のための適当なアルデヒドを選択することにより構築される。Corey［Corey, E.J. et al., （1992b）］は、エポキシドＡ－５８は立体特異的に開環してＡ－５９を与えることを示した。このようにして、Ｚ^{1}に対応する求核剤によりＡ－５８を処理することによりＺ^{1}が構築される（Ｐ$_2$はＺ^{1}の保護基を示す）。Ｚ^{2}の

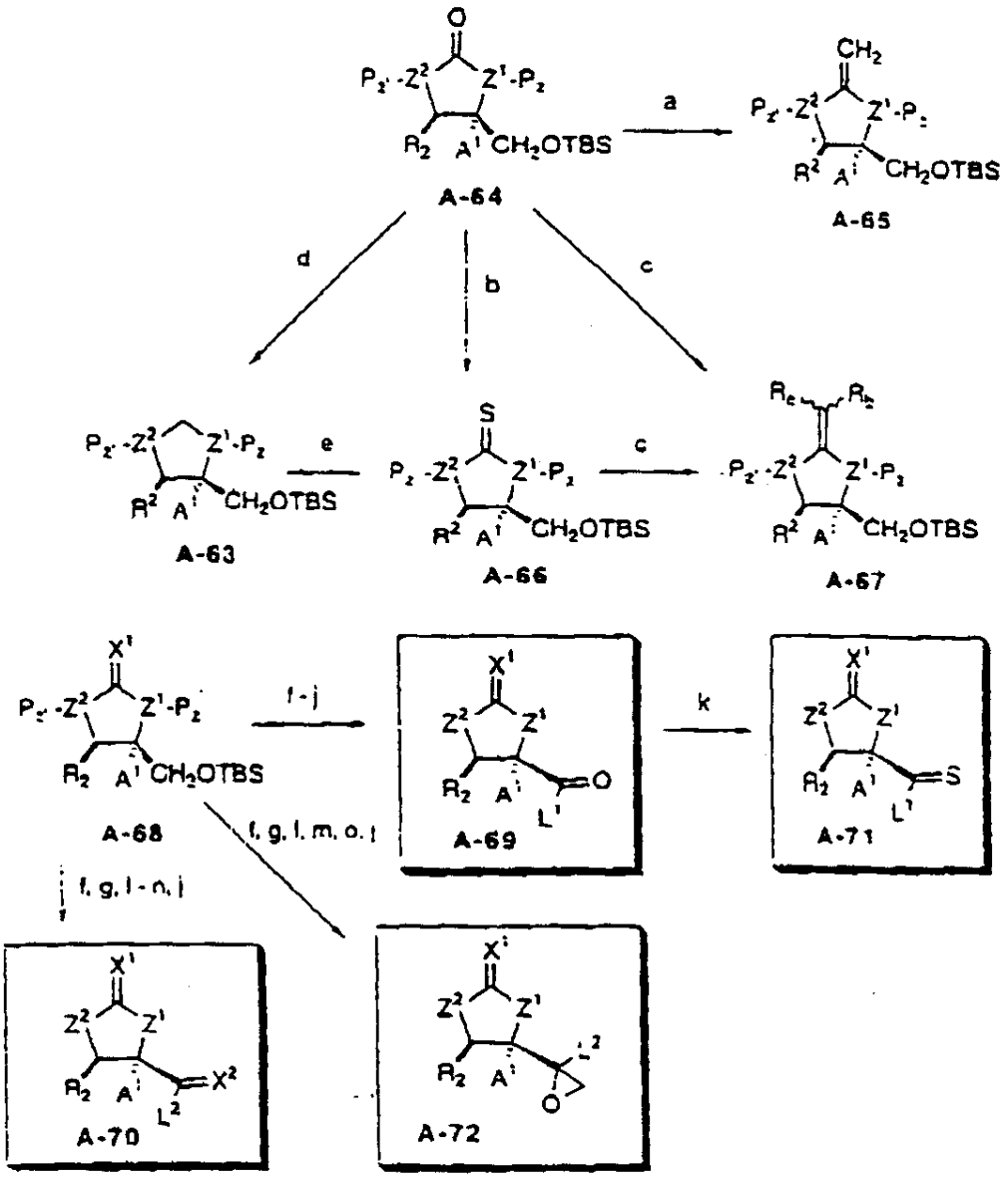
構築は、Ａ－５９のヒドロキシルを脱離基、たとえばトシレートに変換し、その脱離基をZ^2に対応する求核剤により置換することにより得られるP_2はZ^2の保護基を示す）。Seebachの結果［Seebach, D. et al., Helv. Chim. Acta. （1987）70:1194］を、合成の次の部分に使用する。Ａ－６０のＡ－６１への変換により、エノール化とA^1に対応する求核剤によるアルキル化が可能となり、Ａ－６２を生成する。Seebachはこのようなアルキル化により示したジアステレオマーが優勢に得られることを示した。

このエステルを還元し、ＴＢＳエーテルとして得られる一級アルコールをＴＢＳエーテルとして保護した後、tert－ブチルメチレン保護基の除去により、（たとえばホルムアルデヒドおよび酸触媒での処理により）Ａ－６３型の化合物への変換、あるいは（たとえばCDIでの処理により）Ａ－６４型の化合物への変換を行うことが可能となる。

化合物は、請求項４および３１の化合物の合成を完成させる基本中間体である（スキーム１１）。Ａ－６５型の化合物は、Tebbeオレフィン化条件下でＡ－６４から製造される［Pine, S.H. et al., （1985）］。Ａ－６６型の化合物は、Ａ－６４をビス（トリシクロヘキシルスズ）スルフィドおよび三塩化ホウ素で処理することにより製造される［Steliou, K. et al., （1982）］。Ａ－６７型の化合物は、適当なグリニャール試薬あるいはアルキルリチウムをＡ－６４またはＡ－６６に加え、酸加水分解し、EおよびＺオレフィン異性体を分離することにより製造される［Aguerro, A. et al., （1986）およびSchrock, R.R., （1976）およびHansen, C. et al., （1973）］。スキーム１０で製造されたＡ－６３型の化合物は、Ａ－６４の水素化リチウムアルミニウムによる還元［March, J., （1992）およびGaylord, J., （1956）］、あるいはＡ－６６のラネーニッケルによる還元［Belen’kii, W., （1990）］によっても製造される。

これらを総合すると、Ａ－６３、Ａ－６４、Ａ－６５、Ａ－６６およびＡ－６７型の化合物は一般種Ａ－６８の範囲にあるものであり、これは、ＴＢＳエーテルのフッ化物脱保護、たとえば示した２工程法により得られた一級アルコールのアルデヒド類似体を経由するカルボン酸への酸化、およびCoreyおよびReichard［Corey, E.J. et al., （1992a）］の方法を使用したL^1とのカップリング、および（必要な場合に）Z^1およびZ^2上の保護基の除去により、ラクタシスチン類似体の一般種Ａ－６９に変換されるものである。ラクタシスチン類似体Ａ－７１は、Ａ－６９をローソン試薬により処理して製造される［Cava, M.P. et al., （1985）］。また類似体Ａ－７０は、ＴＢＳエーテルのフッ化物脱保護、得られる一級アルコールのアルデヒドへの酸化、求核剤（たとえばCF_3）の添加［Francese, C. et al., 1987、上出］、Dess-Martinペルヨージナン酸化、ローソン試薬による硫化（所望の場合）［Cava, M.P. et al., （1985）］および（必要な場合に）Z^1およびZ^2の脱保護により、Ａ－６８から製造される。Ａ－７２型のエポキシドも同様に、ＴＢＳエーテルのフッ化物脱保護、得られる一級アルコールのアルデヒドへの酸化、L^2に対応する求核剤の添加、Dess-Martinペルヨージナン酸化、ジメチルオキソスルホニウムメチライドの添加、および（必要な場合の）Z^1およびZ^2の脱保護により、Ａ－６８から製造される。このようにして上記の方法により請求項４および３１のすべての化合物が製造される。

スキーム１１

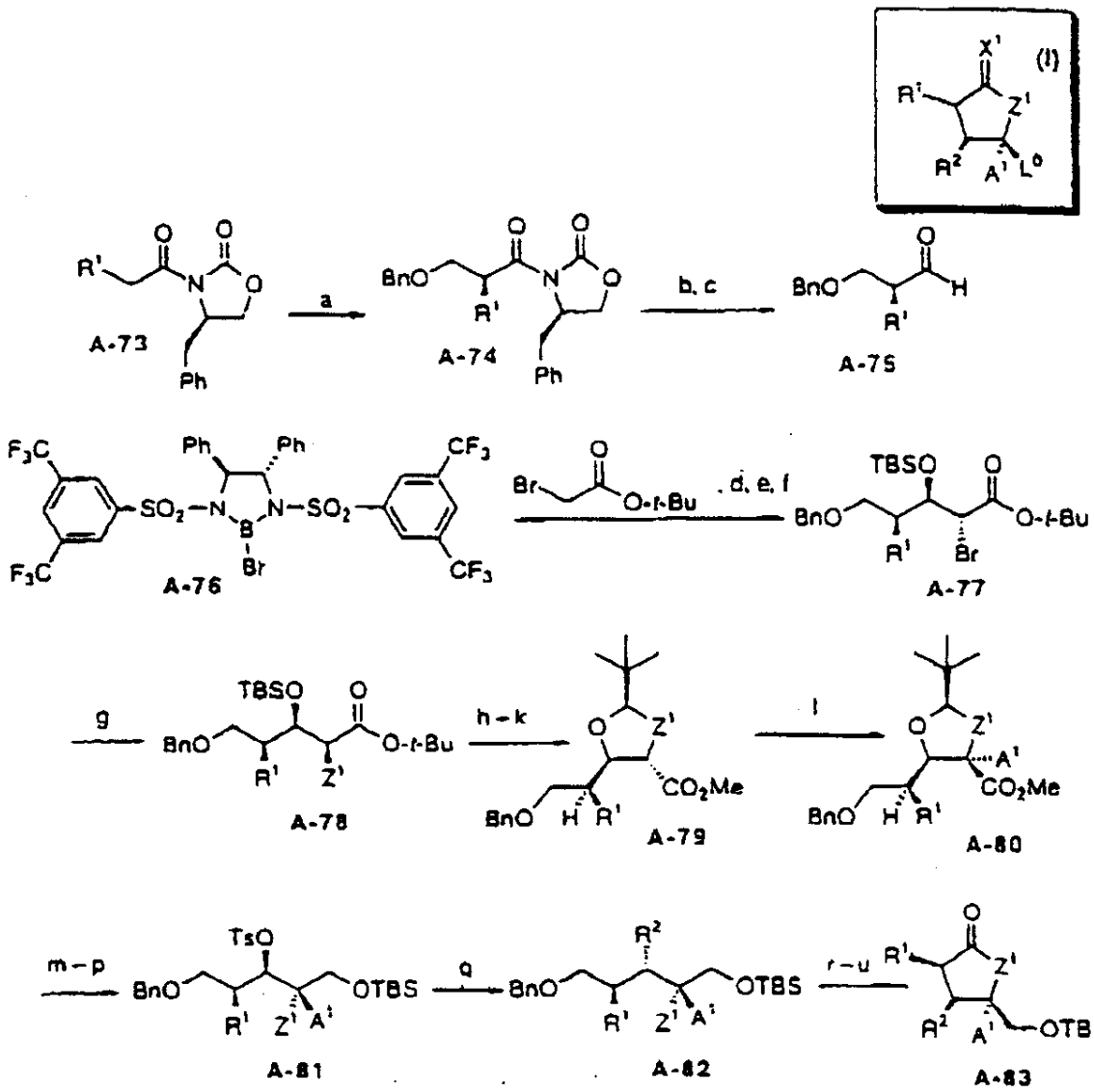


ａ）テッペ（Tebbe）オレフィン化　ｂ）（（シクロヘキシル）$_3$Ｓｎ）$_2$Ｓ、ＢＣｌ$_3$　ｃ）ＲｃＲｂＣ（Ｈ）（ＭｇＢｒ）；Ｈ$^-$　ｄ）ＬｉＡｌＨ$_4$、Ｅｔ$_2$Ｏ　ｅ）ラネーニッケル　ｆ）ＴＢＡＦ、ＴＨＦ　ｇ）スワーン（Swern）酸化　ｈ）ＮａＣｌＯ$_2$、Ｎａ$_2$ＨＰＯ$_4$
ｉ）Ｌ^1－Ｈ、ＢＯＰ－Ｃｌ　ｊ）必要な場合脱保護　ｋ）ローソン試薬　ｌ）Ｌ^{2}に対応する求核剤　ｍ）デスーマーティン（Dess-Martin）ペルヨージナン　ｎ）所望ならば工程ｋ　ｏ）Ｍｅ$_2$（Ｓ$^+$）（Ｏ）ＣＨ$_2$$^-$

請求項１に含まれる化合物の製造は、主としてEvansおよびCoreyの方法による。すなわち、スキーム１２に示すように、Ａ－７３型のキラルオキサゾリジノンをベンジルオキシブロモメタンを使用してエノール化およびアルキル化し、Ｒ^{1}を構築する［Evans, D.A. et al., J. Am. Chem. Soc., (1982) 104:1737］（この反応においてはＲ^{1}の一種類の配置のみが得られる。他方のＲ^{1}の配置はキラルオキサゾリジノンの逆のエナンチオマーを使用することにより得られる）。Ａ－７４のＡ－７５型のアルデヒドへの変換、およびキラ

ル、ホウ素媒介（Ａ－７６を使用した）tert－ブチルブロモアセテートとのアルドール縮合により［Corey, E.J. et al., （1992b）］、tert－ブチルジメチルシリル（ＴＢＳ）エーテルとして保護された二級アルコールが得られ、Ａ－77型の化合物が得られる。Z^1に対応する求核剤でブロマイドを置換する［Corey, E.J. et al., （1992b）］ことによりＡ－７８が得られ、これはＡ－７９型の化合物に変換される。請求項４に関して上述したように、このような化合物は、A^1に対応する求電子剤により立体特異的にエノール化およびアルキル化し、Ａ－８０を得ることができる。標準的な官能基の操作によりＡ－８１型のトシレートが得られる。このトシレートのR^2に対応する求核剤での置換［Hanessian, S. et al., J. Org. Chem. （1989）54:5831］によりＡ－８２型の化合物が得られる。この化合物の一級アルコールを、たとえば接触水素化分解により脱保護し、一級アルコールをカルボン酸に酸化した後、化合物Ａ－８３へ環化する。

スキーム１２



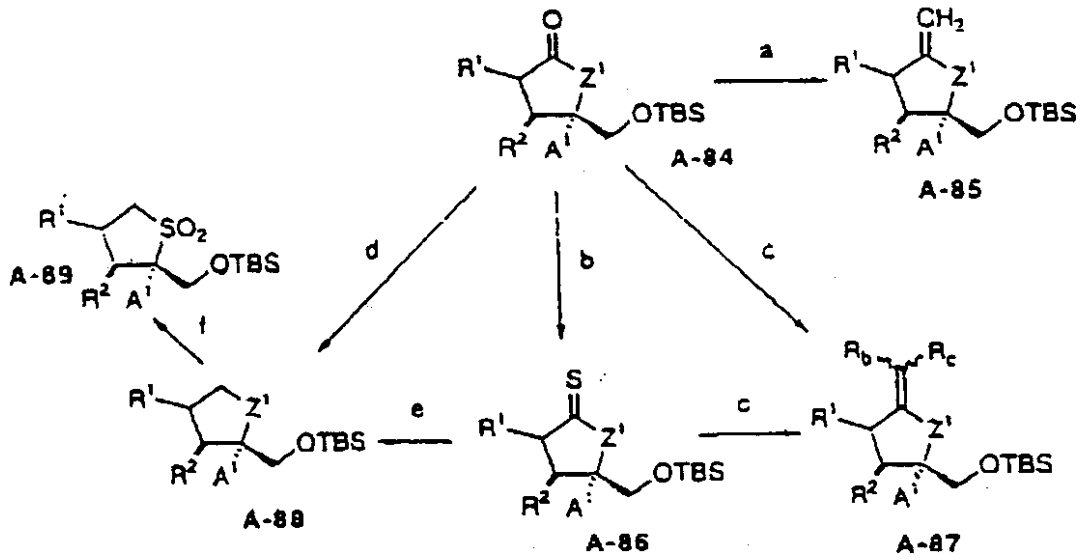
ａ）ＬＤＡ；ＢｎＯＣＨ２Ｂｒ　ｂ）ＬｉＡｌＨ４　ｃ）スワーン（Swern）酸化　ｄ）Ｅｔ３Ｎ、トルエン　ｅ）Ａ－７５　ｆ）ＴＢＳ－Ｃｌ、イミダゾール、ＤＭＦ　ｇ）Ｚ１に対応する求核剤　ｈ）ＭｅＳＯ３Ｈ　ｉ）ＣＨ２Ｎ２　ｊ）ＴＢＡＦ、ＴＨＦ　ｋ）（ＣＨ３）３ＣＣＨＯ、酸触媒　ｌ）ＬｉＨＭＤＳ、Ａ１に対応する求電子剤　ｍ）ＬｉＡｌＨ４　ｎ）ＴＢＳ－Ｃｌ、イミダゾール、ＤＭＦ　ｏ）脱保護　ｐ）ＴｓＣｌ、ピリジン　ｑ）Ｒ２に対応する求核剤　ｒ）Ｈ２，Ｐｄ／Ｃ　ｓ）酸化　ｔ）必要な場合Ｚ１の脱保護　ｕ）（たとえばＤＣＣとの）環化

スキーム１３に示すように、Ｒ１が（Ｒ）または（Ｓ）の配置のＡ－８４型の化合物は、種々の種類のＸ１に変換される。Ａ－８５型の化合物は、Tebbeオレフィン化条件下でＡ－８４から製造される［Pine et al.，（1985）］。Ａ－８６型の化合物は、Ａ－８４をビス（トリシクロヘキシルスズ）スルフィドおよび三塩化ホウ素により処理することにより製造される［Stelious, K. et al.，（1982）］。Ａ－８７型の化合物は、適当なグリニャール試薬あるいはアルキルリチウムをＡ－８４またはＡ－８６に加え、酸加水分解し、ＥおよびＺオレフィン異性体を分離することにより製造される［Aguerro, A. et al.，（

1986）およびSchrock, R.R., （1976）およびHansen, C. et al., （1973）］。Ａ－８８型の化合物は、Ａ－８４の水素化リチウムアルミニウムによる還元［March, J., （1992）およびGaylord, J., （1956）］、あるいはＡ－８６のラネーニッケルによる還元［Belen'kii, W., （1990）］により製造できる。Ａ－８８においてZ[1]がＳである場合は、環状スルホン誘導体への酸化はたとえばＫＨＳＯ$_5$により行う［Trost, B.M. et al., Tet. Lett. （1981）22:1287］。

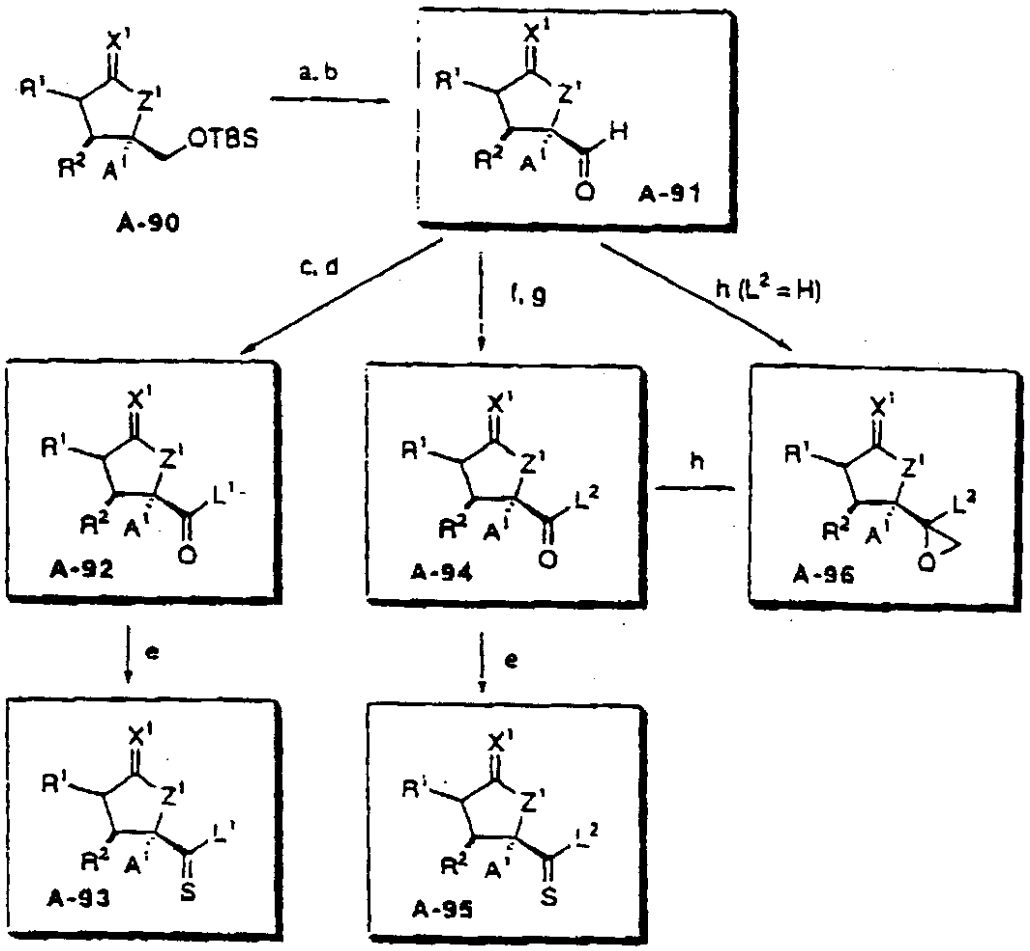
これらを総合すると、Ａ－８４、Ａ－８５、Ａ－８６、Ａ－８７、Ａ－８８およびＡ－８９9型の化合物は一般種Ａ－９０の範囲にあるものであり、これはたとえばUno et al.［Uno, H. et al.（1994）］の手順に従ってＡ－９１に変換される（スキーム１３ｂ）。化合物Ａ－９１は、酸化して酸とし、CoreyおよびReichard［Corey, E.J. et al., （1992a）］により使用された条件下にL[1]（これはすべて標準的な方法により製造される）とカップリングすることにより類似体のＡ－９２に変換される。この化合物をローソン試薬により硫化してチオノ類似体Ａ－９３を得る。化合物Ａ－９４は、L[2]に対応する求核剤（たとえばＣＦ$_3$）［Francese, C. et al., （1987）］をアルデヒドＡ－９１に添加し、アルコールをDess-Marinペルヨージナンにより酸化することにより製造される。この化合物をローソン試薬により硫化することによりチオノ類似体Ａ－９５を得る。Ａ－９６型のエポキシドは、Johnsonの方法によりＡ－９１またはＡ－９４から製造され、これによりこの項に詳述したすべての類似体の合成が完了する。注：上記のように、請求項６に関連するすべてのスキーム中において、A[2]（あるいはA[2]に対応するいかなるもの）を分子の残りの部分に結合するのに直線を使用した場合、破線であるとみなすべきものである。直線は単に明瞭さのためにのみ使用したものである。すべてのA[2]は、分子の残りの部分に「α」面（すなわち下面）側で結合するものである。

スキーム１３ａ



ａ）テッペ（Tebbe)オレフィン化
ｂ）（（シクロヘキシル）$_3$Ｓｎ）$_2$Ｓ、ＢＣｌ$_3$
ｃ）ＲｂＲ$_c$Ｃ（Ｈ）（ＭｇＢｒ）；Ｈ$^-$　ｄ）ＬｉＡｌＨ$_4$、Ｅｔ$_2$Ｏ
ｅ）ラネーニッケル　ｆ）ＫＨＳＯ$_5$　ｇ）ＴＢＡＦ、ＴＨＦ　ｈ）スワーン（Swern）酸化　ｉ）ＮａＣｌＯ$_2$、ＮａＨ$_2$ＰＯ$_4$
ｊ）Ｌ^1－Ｈ、ＢＯＰ－Ｃｌ　ｋ）ローソン試薬

スキーム１３ｂ



ａ）ＴＢＡＦ、ＴＨＦまたはＨＦ、ＣＨ３ＣＮまたは１％ＨＣ、ＭｅＯＨ　ｂ）（ＣＯＣｌ）２、ＤＭＳＯ、Ｅｔ３Ｎ、ＣＨ２Ｃｌ２　ｃ）ＮａＣｌＯ２、ｐＨ７、ＴＨＦ　ｄ）Ｌ１－Ｈ、ＢＯＰ－Ｃｌ　ｅ）ローソン試薬　ｆ）Ｌ２に対応する求核剤　ｇ）デスーマーティン（Dess-Martin）ペルヨージナン　ｈ）Ｍｅ２（Ｓ＋）（Ｏ）ＣＨ２－

請求項１７に挙げたすべての化合物の計画した合成はスキーム９からの基本中間体を使用する。スキーム１４に示すように、Ｂ－１型の化合物は下位概念の化合物Ａ－５３に類似するものであり、これらの種々の製造はスキーム１、２および５～８、およびその注釈に記載した。

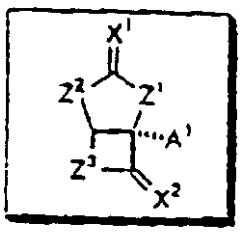
類似体Ｂ－２を製造するためには、Corey et al.の方法［Corey, E.J. et al., Tet. Lett. （1993）34:6977］を使用する。たとえばローソン試薬によるＢ－２の硫化［Cava, M. P. et al., （1985）］により類似体B-3が得られる。

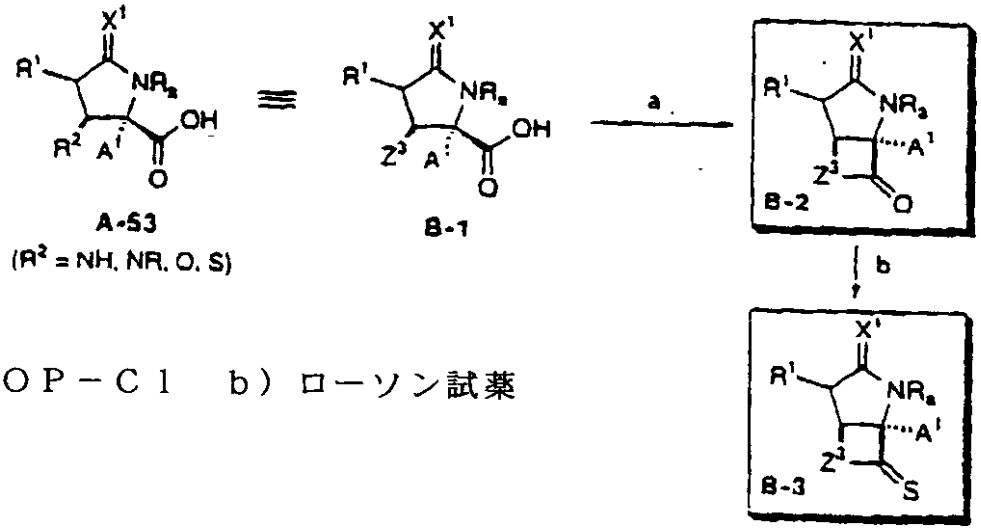
Ｂ－１型の化合物の製造をスキーム１５にまとめる。すなわち、スキーム１で使用したものと同じ出発物質（Ａ－1）を、スキーム１、２、５、６および８で使用したものと同じ方法ですべての化合物Ｂ－２に合成する。これらの中間体をＢ－２に変換するための一般的な方法は２種類ある。最初のものは、スキーム１、２、５、６、８および９に詳細を示したものと類似するものであり、ここで、Ｚ５（適当に活性化されあるいは保護されたもの）は、関連する反応において求核剤となる。

もう一つの方法はスキーム７に示したものに基づくものであり、スキーム１５にも示されている。すなわち、Ｂ－４ジヒドロキシル化によりＢ－５を得、そしてこれを前と同様に

脱酸素化し、Ｂ－６を得る。ジアステレオマーの分離、二級ヒドロキシルの光延反転、および光延生成物から得られた脱離基の置換によりＢ－７型の化合物が得られ、そしてこれをスキーム８および９に記載したようにしてＢ－１に合成する。

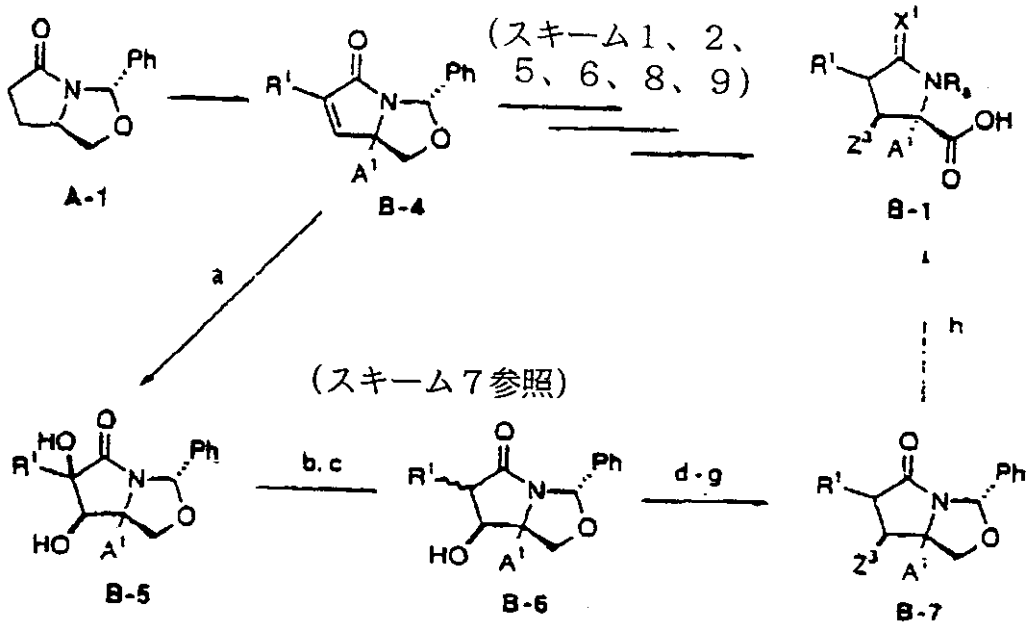
スキーム１４





ａ）ＢＯＰ－Ｃｌ　ｂ）ローソン試薬

スキーム１５



ａ）ＯｓＯ４、ＮＭＯ、水、アセトン　ｂ）ＴＣＤＩ
ｃ）Ｂｕ３ＳｎＨ、ＡＩＢＮ　ｄ）ジアステレオマーの分離
ｅ）ＤＥＡＤ、ＰＰｈ３、酢酸　ｆ）酢酸塩の脱離基への転換
ｇ）Ｚ３に対応する求核剤　ｈ）スキーム８および９参照

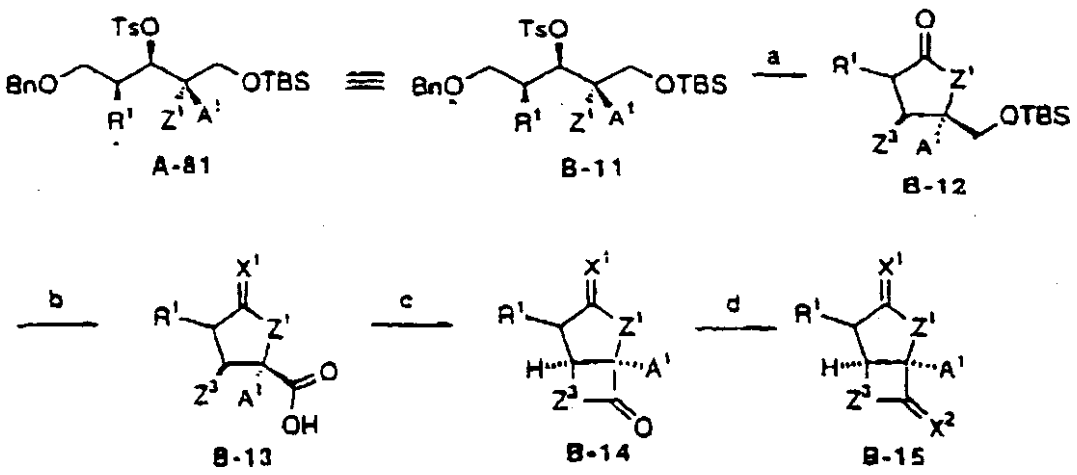
請求項１７に挙げたすべての化合物の提示した合成はスキーム１２からの中間体Ａ－８１を使用する。スキーム１６に示すように、Ｂ－１１型の化合物は化合物Ａ－８１のサブセットに類似するものであり、これらの種々の製造はスキーム１２およびそ１２に類似した方法により行う。Ｂ－１３型の化合物は、スキーム１３ａおよび１３ｂの関連する工程に従い、Ｂ－１２から製造する。

類似体Ｂ－１４を製造するためには、Corey et al.の方法［Corey, E.J. et al., （1993）］を使用する。たとえば、ローソン試薬によるＢ－１４の硫化［Cava, M.P. et al., （1985）］により類似体Ｂ－１５が得られる。

請求項７に含まれる化合物の製造はスキーム７からの基本中間体を使用する。スキーム１７示すように、化合物Ｃ－１はＡ－４１に類似するものであり、この製造はスキーム７およびその注釈に記載した。Fuchsの研究［Hutchinson, D.K. et al., J. Am. Chem. Soc. （1987）］に従い、Ｃ－１をビス（ベンジルオキシメチル）リチウムキュプレートおよび酸性水で順次処理してＣ－２型の化合物を得る。Ｒ7の両方の配置を得ることができる。詳細についてはスキーム１および２を参照。スキーム８におけるのと同様に、弱酸性において加水分解し、一級ヒドロキシルを保護し、窒素をアルキル化するか保護することにより化合物Ｃ－２を得る。

たとえば接触水素化分解によるベンジル基の脱保護、およびその後の得られたトシレートのＺ7に対応する求核剤による置換により、必要に応じてＺ7が保護された化合物Ｃ－３が得られる。カルボン酸Ｃ－４への合成はスキーム８および９のものと同じ一連の反応に従うものであり、すべてのＸ9誘導体の製造が可能である。必要によりＺ7を脱保護し、その後たとえばＤＣＣで環化することにより二環構造物のＣ－５を得、これを所望によりローソン試薬により硫化して［Cava, M.P. et al., （1985）］C-6を得る。

スキーム１６



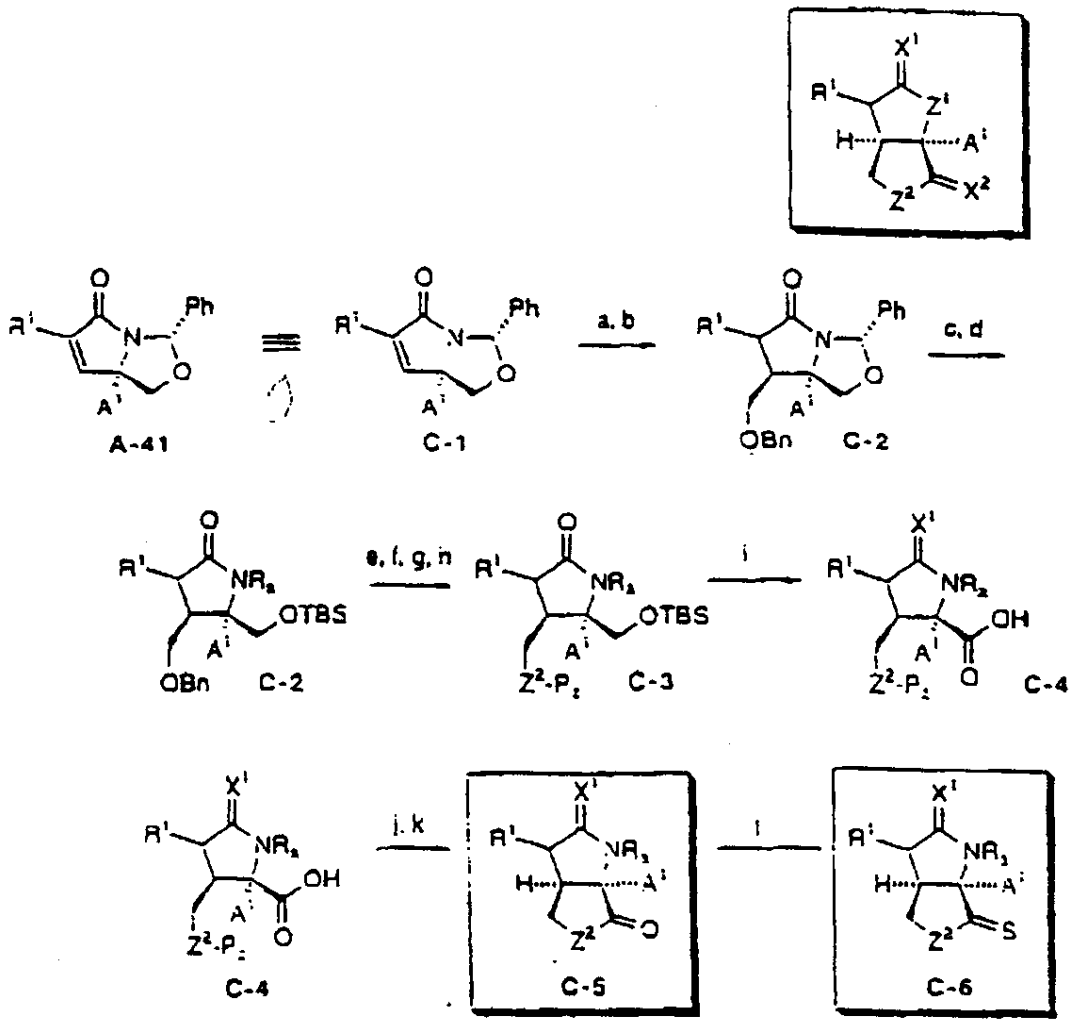
ａ）スキーム１２参照　ｂ）スキーム１３ｂ参照　ｃ）ＢＯＰ－Ｃｌ
ｄ）ローソン試薬

請求項７の右旋性構造に含まれる化合物の製造はスキーム９からの基本中間体を使用する。スキーム１８に示すように、化合物Ｃ－１１はZ^7により定義されるサブセットの化合物Ａ－５２の種類のものに類似し、これらの製造はスキーム１～８、およびその注釈に記載する。たとえばＴＨＦ中のＴＢＡＦにより一級ヒドロキシルを脱保護し、たとえばSwern酸化条件下でアルデヒドＣ－１２へ酸化し、このアルデヒドの、たとえばトリフェニルメトキシメチルホスホニウムクロリドから得られたリンイリドによる同族体化［Jamison, T.F. et al., J. Am. Chem. Soc., （1994）116:5505］によりＣ－１３型のエノールエーテルが得られ、これは酸加水分解および得られたアルデヒドのたとえば緩衝化された$NaClO_2$酸化での酸化によりカルボン酸Ｃ－１４に変換される［Corey, E.J. et al., （1992a）］。

必要によりZ^7を脱保護し、その後たとえばDCCで環化する［Klausner, Y.S. et al., Synthesis(1972) 453］ことにより二環構造物のＣ－１５を得、これを所望によりローソン試薬により硫化して［Cava, M.P. et al., （1985）］Ｃ－１６を得る。

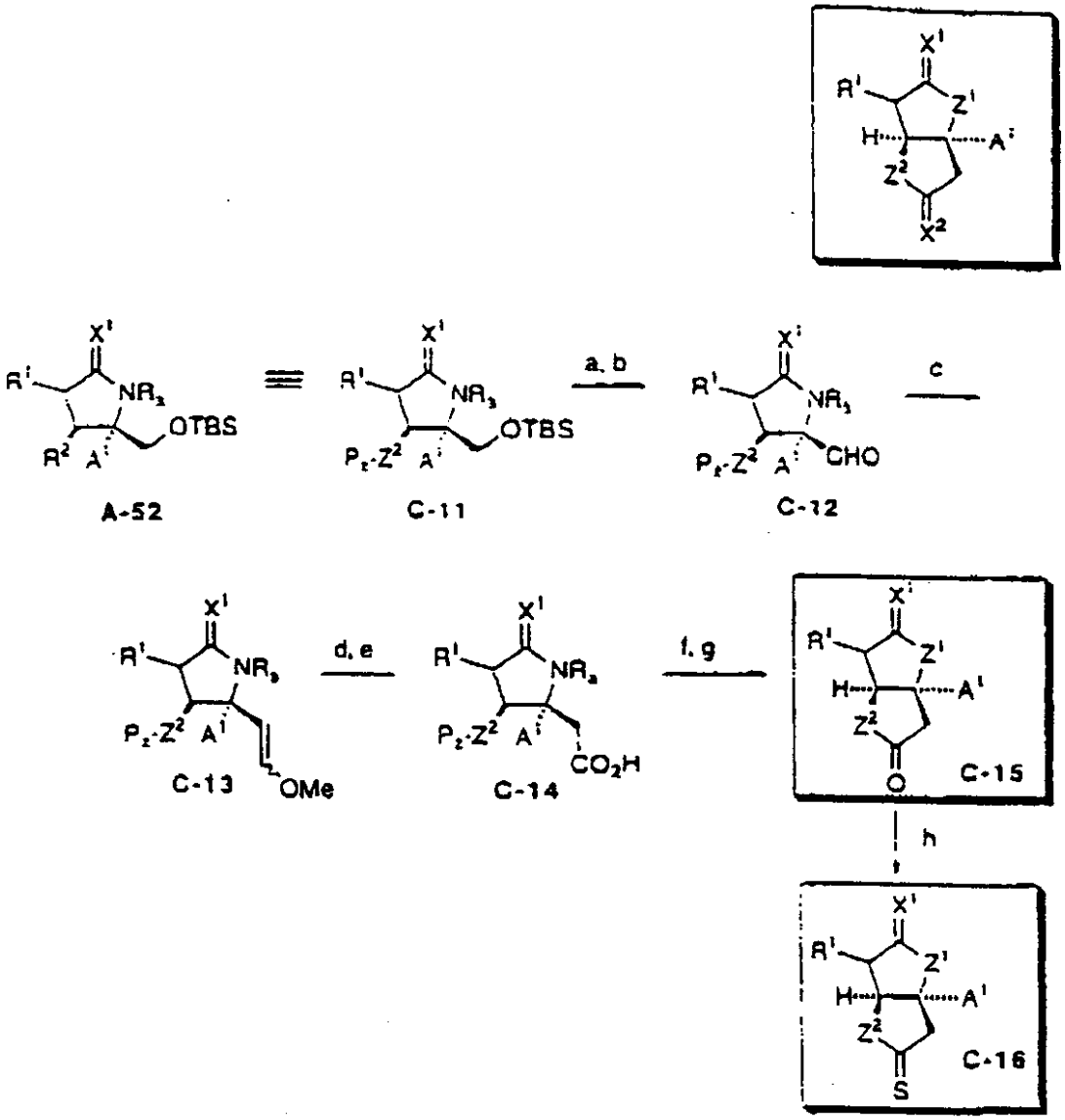
請求項８および３９に含まれる化合物の製造は、主としてEvansのホウ素-エノレート媒介非対称アルドール法［Evans, D.A. et al., J. Am. Chem. Soc., （1981）103:2127］、および分子内ラジカル環化の研究の結果［Curran, D.P., Comprehensive Organic Synthesis, （1991）4:779-831］に依るものである。

スキーム１７



ａ）（ＢｎＯＣＨ２）２ＣｕＬｉ；酸性水　ｂ）Ａ１がＨである場合のスキーム１も参照　ｃ）ＨＣｌ、ＨＳ（ＣＨ２）３ＳＨ、ＣＦ３ＣＨ２ＯＨ　ｄ）スキーム８参照　ｅ）Ｈ２、Ｐｄ／Ｃ　ｆ）ＴｓＣｌ、ピリジン　ｇ）Ｚ２に対応する求核剤　ｈ）必要な場合Ｚ２の保護　ｉ）スキーム８および９参照　ｊ）必要な場合Ｚ２の脱保護　ｋ）ＤＣＣ　ｌ）ローソン試薬

スキーム１８

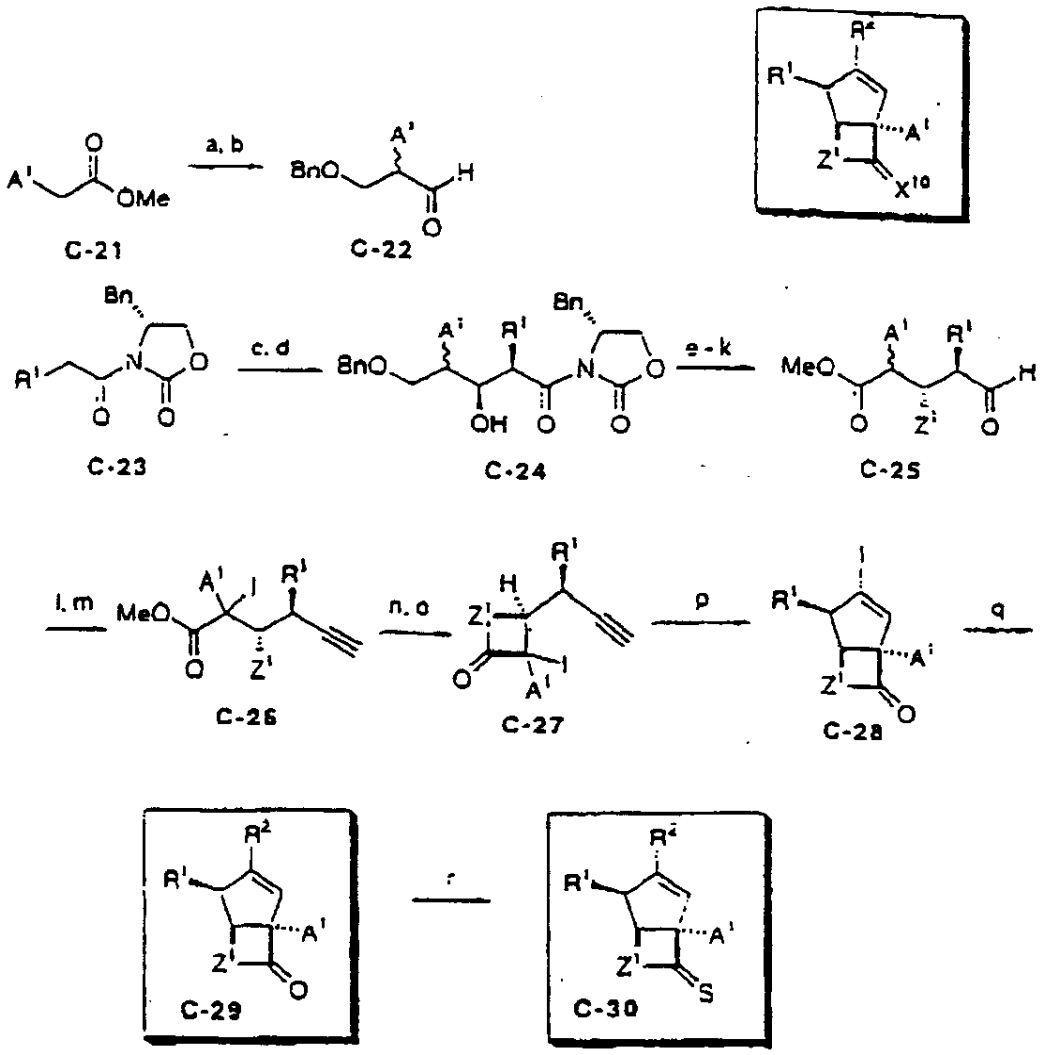


ａ）ＴＢＡＦ、ＴＨＦ　ｂ）スワーン（Swern）酸化
ｃ）$Ph_3P=C(H)(OCH_2)$　ｄ）ＨＣｌ、H_2O、ＴＨＦ
ｅ）$NaClO_2$、NaH_2PO_4　ｆ）必要な場合P_2の除去
ｇ）ＤＣＣ　ｈ）ローソン試薬

標準的な方法により製造されたエステルＣ－２１（スキーム１９）を脱プロトン化し、そしてベンジルオキシブロモメタンによりアルキル化し、ＤＩＢＡＬ－Ｈにより還元してラセミ混合物としてアルデヒドＣ－２２を得る。Ｃ－２２をキラルオキサゾリジノンイミドＣ－２３から得たホウ素エノラート［Evans, D.A. et al., （1981）］に添加することによりＣ－２４をA^3ジアステレオマーの混合物として得る。その他の２つの新たな立体中心の配置はこの反応で確立され、A^3の配置によっては影響されない。
６工程過程（たとえば二級ヒドロキシルのトシル化、Z^7に対応する求核剤による置換、ベンジル基の接触水素化分解、アルコールのカルボン酸への酸化およびエステル化）によるアルデヒドＣ－２５への変換により、分子内ラジカル付加環化の基質の製造が可能となる。このようにして、前記アルデヒドのGilbert試薬［Gilbert, J.C. et al., J. Org. Chem. （1982）47:1837］による処理、およびエノール化可能な水素のヨウ素での置換によりアセチレンＣ－２６が得られ、これは必要によりZ^7を脱保護した後にたとえばＢＯＰ

－Ｃ１での環化を経てＣ－２７となる。
Ｃ－２７を、原子移動分子内ラジカル環化条件［Curran, D.P. et al., Tet. Lett. （1987）28:2477およびCurran, D.P. et al., J. Org. Chem. （1989）54:3140］にさらすことにより化合物Ｃ－２８を得る。この反応についてはさらにコメントする必要がある。ヨウ素から生成されるラジカルは前記反応条件下で相互に変換されるので、A^1およびヨウ素原子の立体化学は論理的に決まらない。さらに、記載したシス－４，５環系を与える１種のみのラジカルジアステレオマーが環化し得る。これはトランス－４，５がシス－４，５よりも極めて高い環変形を受けるからである。

スキーム１９



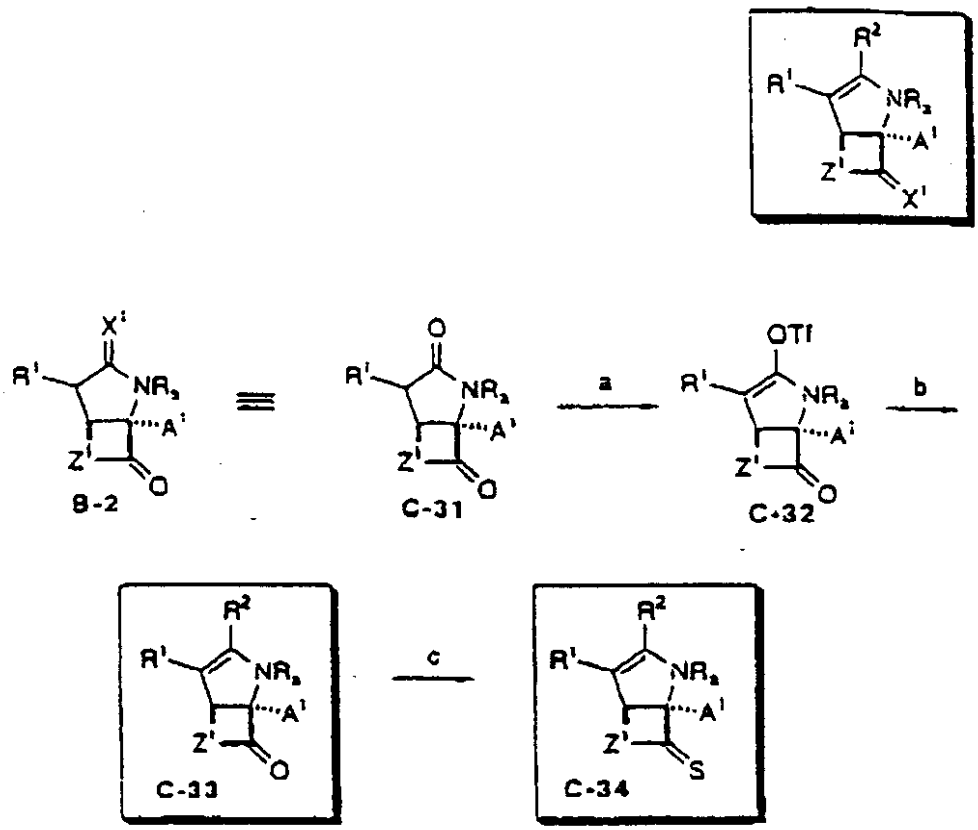
ａ）ＬＤＡ；ＢｎＯＣＨ$_2$Ｂｒ　ｂ）ＤＩＢＡＬ－Ｈ　ｃ）Ｂｕ$_2$ＢＯＴｆ、Ｅｔ$_3$Ｎ　ｄ）Ｃ－２２　ｅ）ＴｓＣｌ、ピリジン　ｆ）Z^1に対応する求核剤　ｇ）Ｈ$_2$、Ｐｄ／Ｃ　ｈ）スワーン（Swern）酸化
ｉ）ＮａＣｌＯ$_2$、ＮａＨ$_2$ＰＯ$_4$　ｊ）ＣＨ$_2$Ｎ$_2$　ｋ）ＬｉＡｌＨ$_4$；スワーン（Swern）酸化　ｌ）塩基、ギルバート（Gilbert）試薬　ｍ）ＬＤＡ；ＴＭＳ－Ｃｌ；Ｉ$_2$　ｎ）ＬｉＯＨ、ＴＨＦ、水　ｏ）ＢＯＰ－Ｃｌ
ｐ）（Ｂｕ$_3$Ｓｎ）$_2$、ｎｖ　ｑ）（Ｐｈ$_3$Ｐ）$_4$Ｐｄ、Ｒ^2－Ｍ　ｒ）ローソン試薬
この環化は別の２つの理由からも好都合である。第１に、これは５－エンド－ジグ型の環

化であり、したがって環化のボールドウィン規則（Ｂａｌｄｗｉｎ’ｓ ｒｕｌｅｓ）［Baldwin, J.E., J. Chem. Soc., Chem. Commun. （1976）734］に照らして好都合である。第２に、用いられる原子移動条件は、得られるビニルラジカルが非常に反応性であるため、ヨウ素ラジカルによって急速に失活するため理想的である［Curran, D.P., et al., J. Am. Chem. Soc., （1986）108:2489］。

Ｃ－２８からＣ－２９への合成は、たとえば、R^9の適切な金属誘導体（Ｍは、たとえば、トリブチルスタンニルである）を用いる標準スティル［Stille, J.K., Angew. Chem., Int. Ed. Engl. （1986）25:504］またはヘック［Heck, R.F., Comprehensive Organic Synthesis, （1991）4:833-863］型の結合条件を用いて達成される。ローソン試薬で硫化すること［Cava, M.P. et al., （1985）］により化合物Ｃ－３０を得、これにより請求項８および３９に請求されるすべての化合物の製造が完了する。

請求項９および４０に含まれる化合物の製造は主として中間体Ｂ－２に依存する。この中間体の調製はスキーム１３ａ、１３ｂおよび１４に説明され、かつ付随する文で論じられている。スキーム２０に示されるように、Ｃ－３１を適切な塩基で脱プロトン化し、得られたエノレートを、たとえば、トリフレート源のＰｈＮ（Ｔｆ）$_2$で処理する［McMurry, J.E., et al., Tet. Lett. （1983）24:979］。このビニルトリフレートＣ－３２を、たとえば、触媒量の（$Ph_3P)_4Pd$およびR^9の適切な金属誘導体［Stille, J.K. （1986）およびHeck, R.F. （1991）］（Ｍは、たとえば、トリブチルスタンニルである）で処理し、類似体Ｃ－３３を得る。このＣ－３３をローソン試薬［Cava, M.P. et al., （1985）］で処理して化合物Ｃ－３４を得ることが可能である。このようにして、この項のすべての化合物の製造を完了する。

スキーム２０



ａ）ＬｉＨＭＤＳ；ＰｈＮ（Ｔｆ）$_2$　ｂ）（$Ph_3P)_4Pd$、ＬｉＣｌ、R^2－Ｍ　ｃ）ローソン試薬

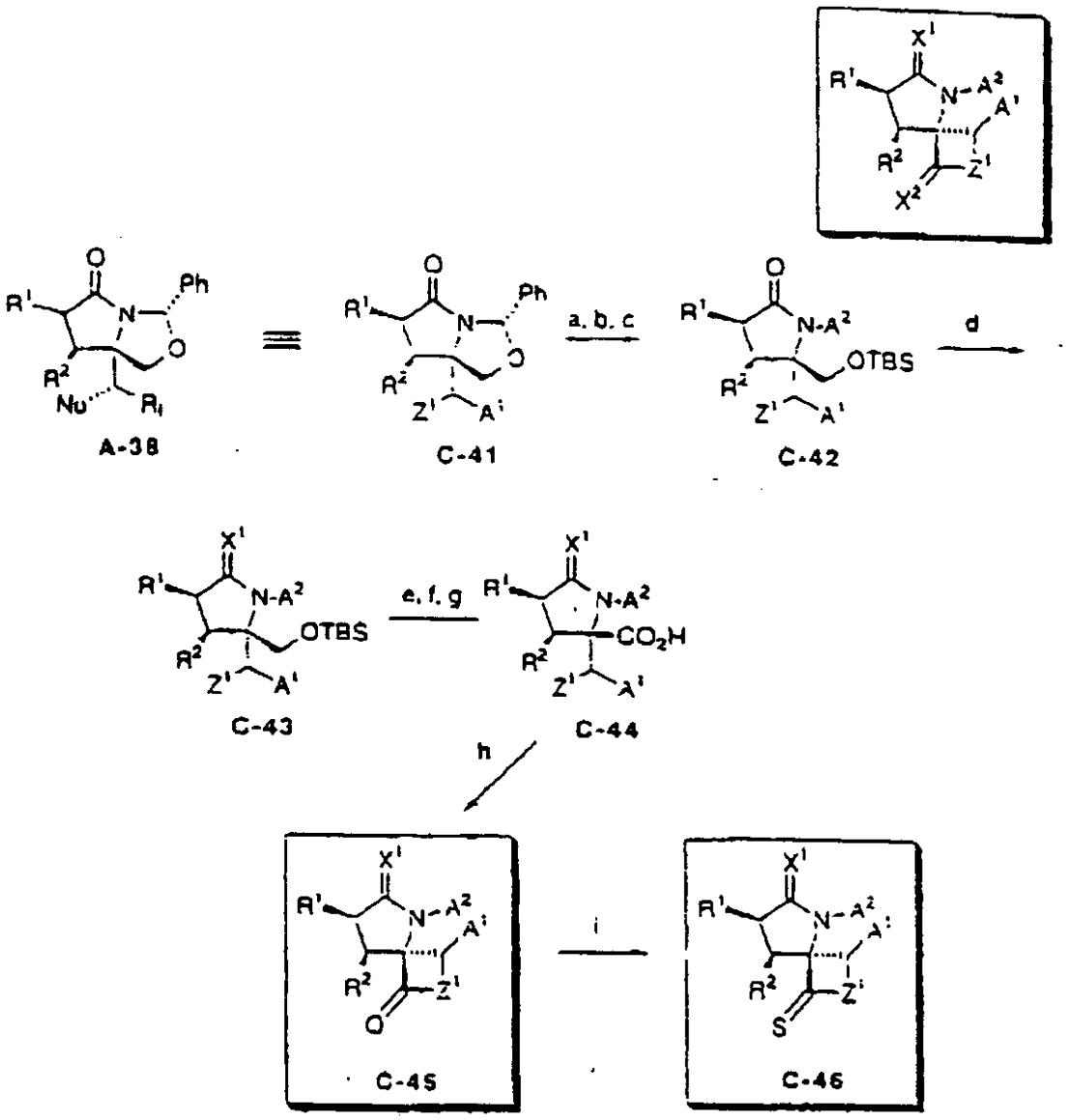
請求項１０および４１に含まれる化合物の製造は主として中間体Ａ－３８に依存する。こ

の中間体の調製はスキーム１、５、および６に説明され、かつ付随する文で論じられている。したがって、Ｃ－４１の型の化合物（スキーム２１）は、スキーム１～６に説明され、かつ付随する文で論じられる手順に従って、Z^7の（Ｒ）または（Ｓ）配置のいずれかを伴って調製することができる。

Ｃ－41の穏やかな酸性加水分解［Corey, E.J. et al., （1992a）］、次いで第１ヒドロキシルの保護［Corey, E.J. et al., （1972a）］は標準アルキル化手順［Challis, N. （1970）］によるA^4の付加を可能にし、これによりＣ－４２が得られる。これらの中間体からＣ－４３への合成は、スキーム８において類似化合物について説明される通りに行う。第１ヒドロキシルの脱保護によりカルボン酸Ｃ－４４への酸化が可能となり、このＣ－４４を、たとえばＢＯＰ－Ｃｌで環化して類似体Ｃ－４５を得る。このＣ－４５をローソン試薬［Cava, M.P. et al., （1985）］で処理して化合物Ｃ－４６を得ることができる。このようにして、請求項１０および４１のすべての化合物の製造が完了する。

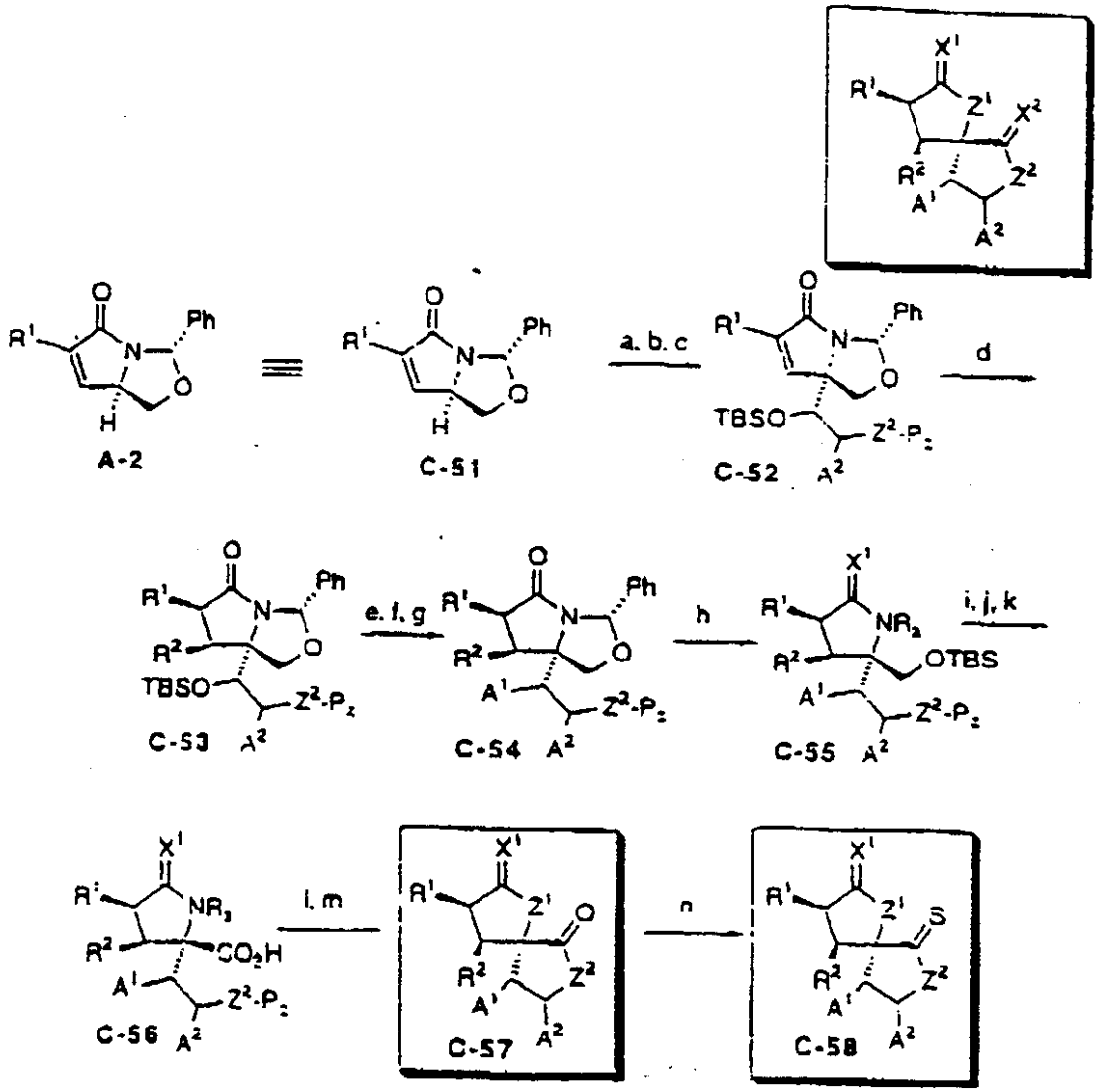
請求項１１および４２に含まれる化合物の製造はスキーム１、３、４、５、８、および９に説明される戦略に従うもので、付随する文に説明されている。したがって、スキーム２２に示されるように、A^5を含むアルデヒドおよび（Ｒ）もしくは（Ｓ）配置のいずれかのZ^7の保護形態を用いるスキーム１で用いられるものと同じ方法に従って、Ａ－２の類似体であるＣ－５１からＣ－５２を合成する。第２ヒドロキシルを保護することにより化合物Ｃ－５２が得られ［Corey, E.J. et al., （1972）］、これをR^9に対応する求核剤で処理し、続いて酸性水で反応を停止させることによりＣ－５３を得ることができる。この求核性付加の示される立体選択性および水性反応停止を制する理由はスキーム１に付随する文に説明されている。

スキーム２１



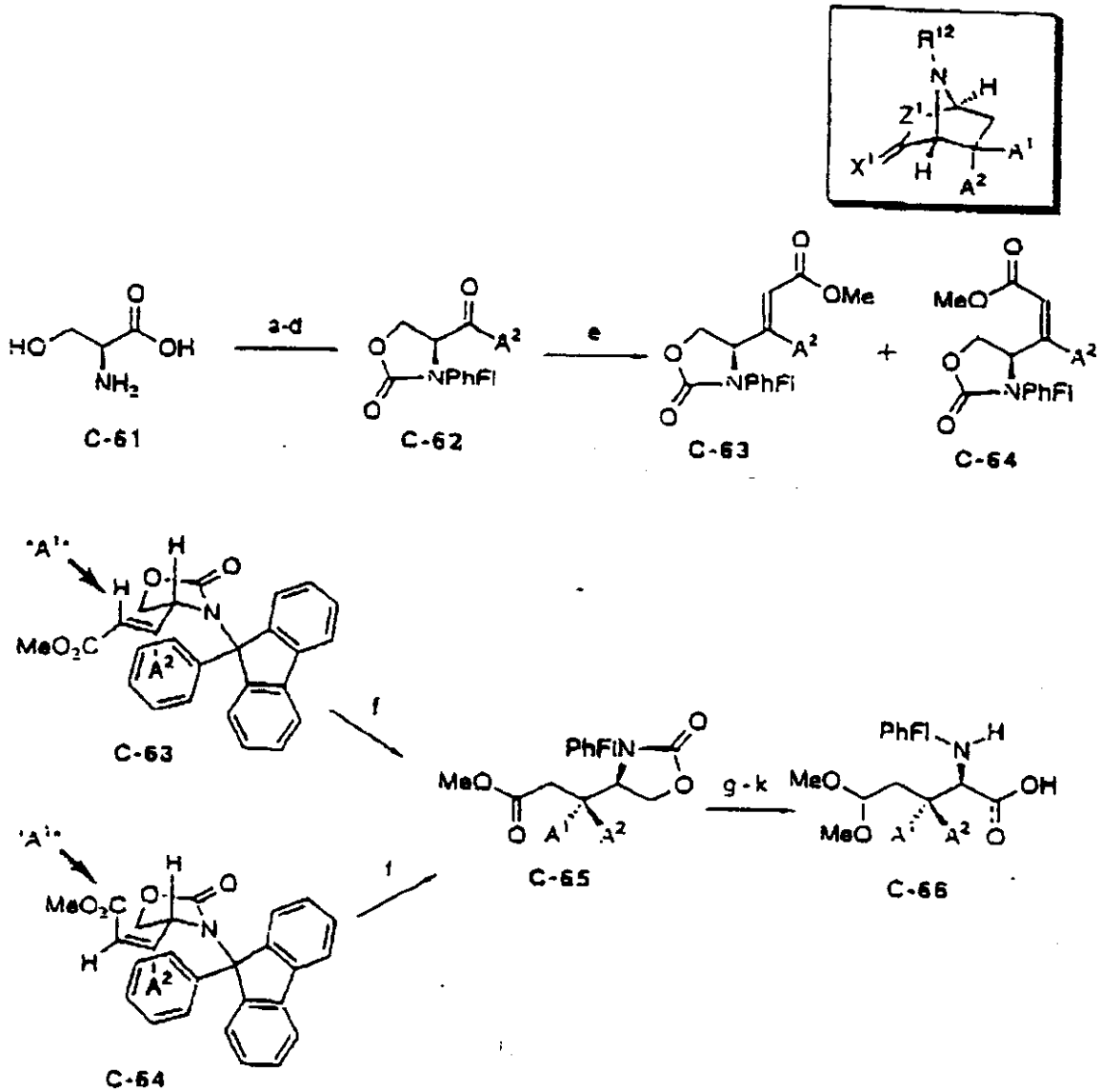
a）ＨＣｌ、ＨＳ（ＣＨ$_2$）$_3$ＳＨ、ＣＦ$_2$ＣＨ$_2$ＯＨ　b）ＴＢＳ－Ｃｌ、イミダゾール、ＤＭＦ　c）塩基；Ａ^{2}に対応する求電子剤　d）スキーム８参照　e）ＴＢＡＦ、ＴＨＦ　f）スワーン（Swern）酸化　g）ＮａＣｌＯ$_2$、ＮａＨ$_2$ＰＯ$_4$　h）ＢＯＰ－Ｃｌ　i）ローソン試薬

スキーム２２



a）ＴＢＳ－ＯＴｆ、２，６－ルチジン　ｂ）［（Ａ²）（Ｚ²－Ｐ₂）］ＣＨＣＨＯ、ＳｎＣｌ₄、Ｅｔ₂Ｏ　ｃ）ＴＢＳ－Ｃｌ、イミダゾール、ＤＭＦ　ｄ）Ｒ²に対応する求核剤、酸性水　ｅ）ＴＢＡＦ、ＴＨＦ　ｆ）ＴｓＣｌ、ピリジン　ｇ）Ａ¹に対応する求核剤　ｈ）スキーム８参照　ｉ）ＴＢＡＦ、ＴＨＦ　ｊ）スワーン（Swern）酸化　ｋ）ＮａＣｌＯ₂、ＮａＨ₂ＰＯ₄　ｌ）必要な場合Ｚ²の脱保護　ｍ）ＤＣＣ　ｎ）ローソン試薬

スキーム２３



ａ－ｃ）Lubell et al.参照　ｄ）A^2MgBr、ＴＨＦ；酸性水

ｅ）$(MeO)_2PCH_2CO_2Me$、ＮａＨ　ｆ）$(A^1)_2CuLi$
ｇ）ＤＩＢＡＬ－Ｈ　ｈ）ＭｅＯＨ、ＴｓＯＨ　ｉ）ＫＯＨ、ＥｔＯＨ、還流　ｊ）スワーン（Swern）酸化
ｋ）$NaClO_2$、NaH_2PO_4

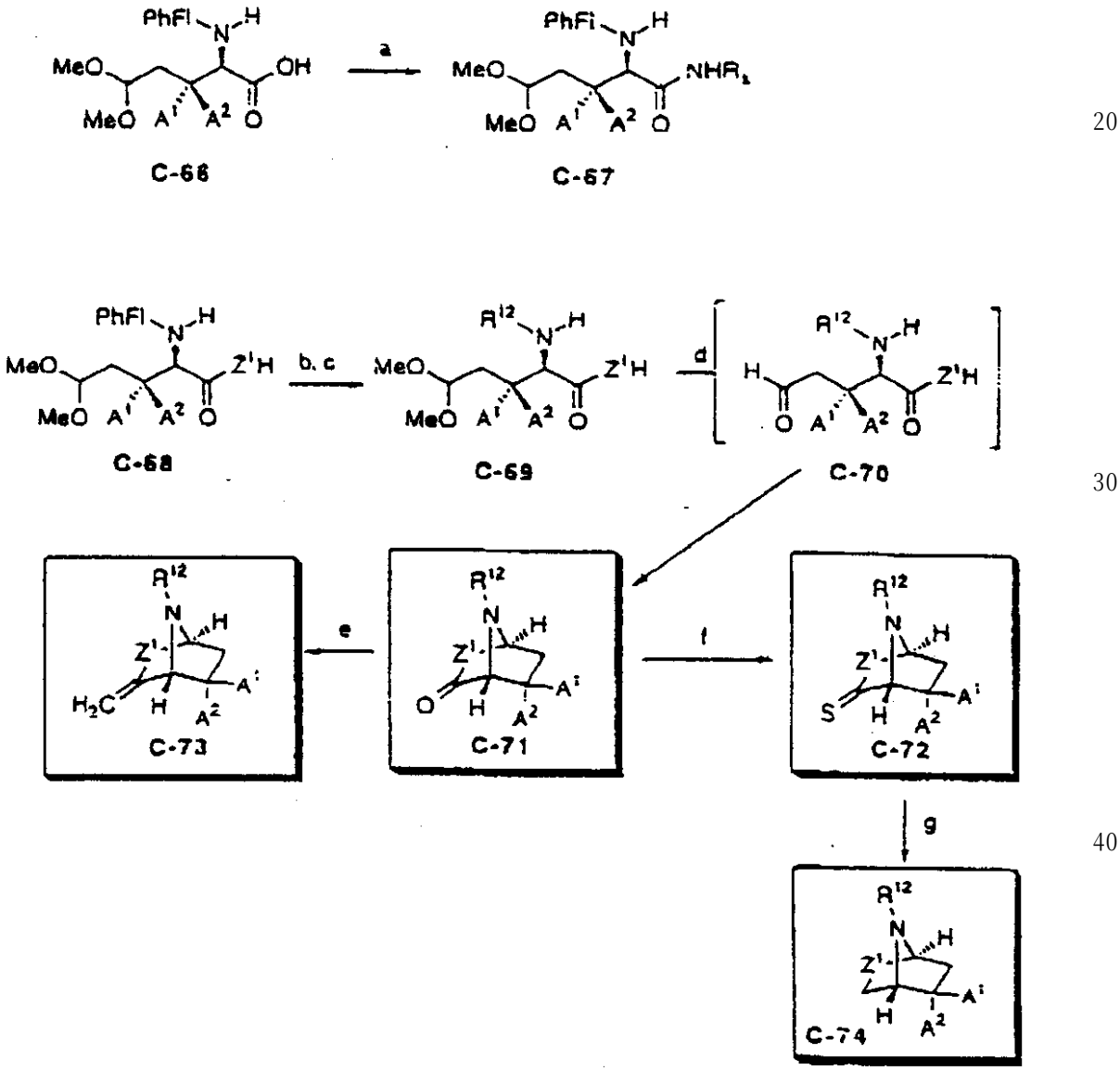
第２ヒドロキシルの脱保護およびその後のトシレートへの変換は、このトシレートをA^3に対応する求核剤で置換することによりA^3を導入してＣ－５４型の化合物を得ることを可能にする［Hanessian, S., （1980）］。これらの化合物からのＣ－５５の合成は、スキーム８に示され、かつ付随する文に説明される方法で行う。第１ヒドロキシルを脱保護することにより酸化してカルボン酸Ｃ－５６とすることが可能となり、このＣ－５６を、必要であればZ^7を脱保護した後に、たとえばＤＣＣ［Klausner, Y.S. et al, （1972）］で環化して類似体Ｃ－５７を得る。ローソン試薬［Cava, M.P., （1985）］で硫化する

ことにより化合物Ｃ－５８を得る。これにより、請求項１２および４２のすべての化合物の製造が完了する。

請求項１３および４３に含まれる化合物の製造は、主として、Lubell, et al., J. Org. Chem., 1990 55:3511の結果に依存する。したがって、スキーム２３に示されるように、Ｌ－セリン（Ｃ－６１）を既知の手順によりケトンＣ－６２に変換する。（ＰｈＦｌは９－フェニル－９－フルオレニルの略語である。）Ｃ－６２の標準ワッズワース－エモンス（Wadsworth-Emmons）オレフィン化によりＣ－６３もしくはＣ－６４のいずれか、またはそれらの混合物が生じる。両オレフィン異性体は次の反応において同じジアステレオマーを生じるため、生成混合物の組成は重要ではない。

したがって、非常に嵩高いＰｈＦｌ基が他の面を完全にブロックしているため、A^1から誘導される第２銅試薬はＣ－６３およびＣ－６４の両者の背面から接近し、Ｃ－６５が主要ジアステレオマーとして得られる。Ｃ－６５を５工程手順（メチルエステルのアルデヒドへの還元およびジメチルアセタールとしての保護、オキサゾリジノンの脱保護、および第１アルコールのカルボン酸への酸化）でＣ－６６に変換する。

スキーム２４



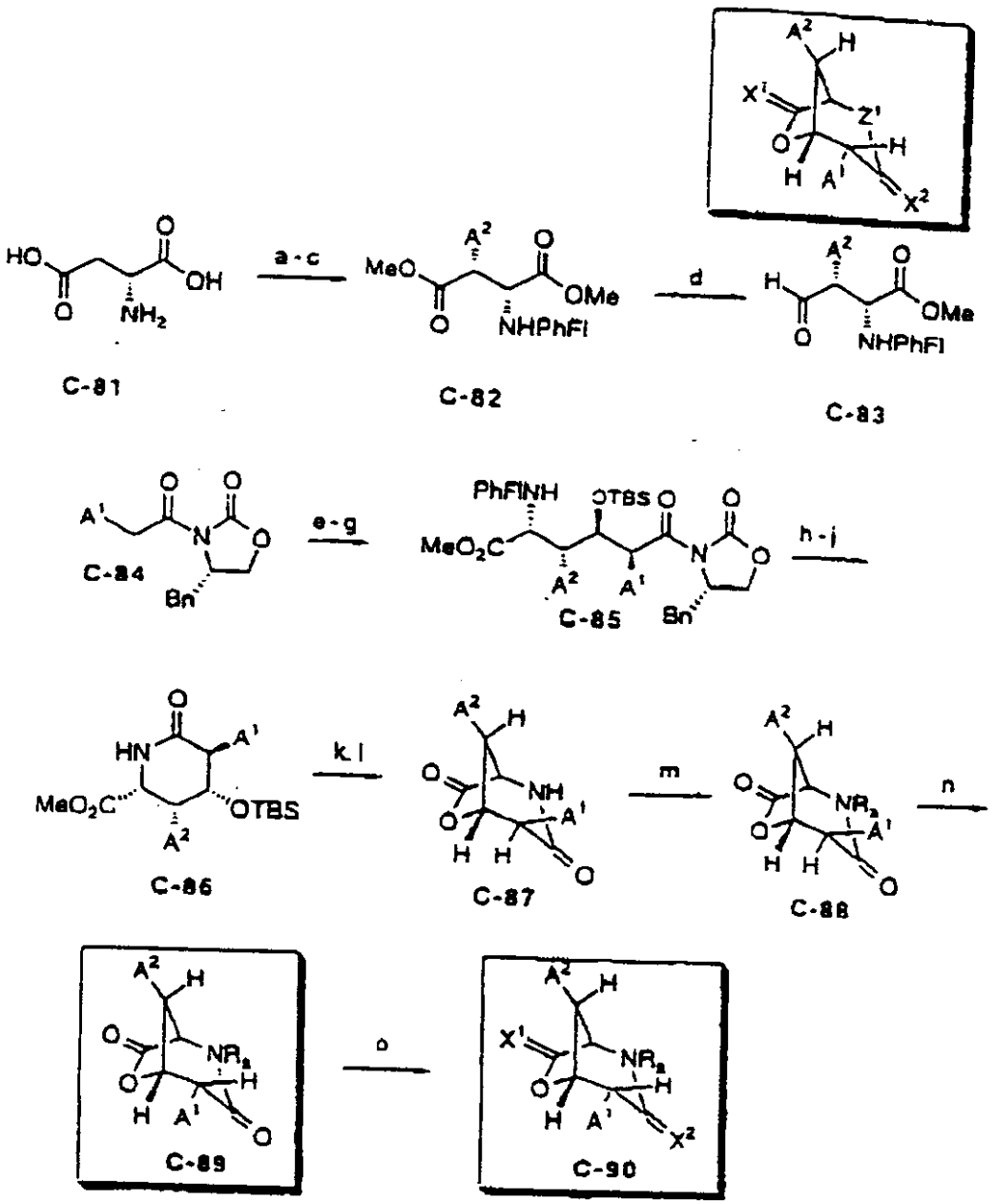
ａ）H_2NR_3、ＤＣＣ　ｂ）Ｈ２、Ｐｄ／Ｃ　ｃ）塩基、R^{12}に対応する求電子剤　ｄ）ＴｓＯＨ、アセトン　ｅ）テッベ（Tebbe）オレフィン化　ｆ）ローソン試薬　ｇ）ラネーニッケル

スキーム２４に示されるように、たとえば、Ｃ－６６とアミンとのＤＣＣ－介在結合によりアミドＣ－６７が生じる。一緒にすると、Ｃ－６６とＣ－６７は化合物Ｃ－８８の一般的な種類を含む。接触水素化分解によりＰｈＦｌ基を除去し、その遊離アミンをR^{12}に対応する求電子剤でアルキル化することにより（アルデヒドもしくはケトンおよびＮａＣＮＢＨ$_3$での還元アミノ化が別の選択肢である）化合物Ｃ－６９を得る。このジメチルアセタールを酸性加水分解することにより中間アルデヒドＣ－７０を得、これを環化して類似体Ｃ－７３とする。

Ｃ－７１のテッベ（Tebbe）オレフィン化により化合物Ｃ－７３が得られる。Ｃ－７１をローソン試薬で処理することにより化合物Ｃ－７２が得られ、これをラネーニッケルで脱硫化して化合物Ｃ－７４を得ることができる。これにより請求項１３および４３のすべての化合物の合成が完了する。

請求項１４および４４に含まれる化合物の製造は、主として、Dener et al.［J. Org. Chem., 1993, 58:1159］およびEvans et al.［J. Am. Chem. Soc., 1981, 103:2127］の結果に依存する。したがって、スキーム２５に示されるように、Ｄ－アスパラギン酸（Ｃ－８１）を保護し、A^6に対応する求電子剤でアルキル化して、示される主要なジアステレオマーと共に化合物Ｃ－８２を得る。Dener et al.,［J. Org. Chem., 1993, 58:1159］。（ＰｈＦｌは９－フェニル－９－フルオレニルの略語である。）（ＰｈＦｌ基の過度の大きさのため）部位特異的ＤＩＢＡＬ－Ｈ還元によりアルデヒドＣ－８３が得られる。ジアステレオ選択的ホウ素介在アルドール付加が次の工程である。Evans, et al., J. Am. Chem, Soc.,（1981）103:2127の手順に従い、第２ヒドロキシルをＴＢＳ保護した後にＣ－８５を得る。リチウムヒドロオキシドでオキサゾリジノンを除去し、接触水素化分解でＰｈＦｌ基を除去し、かつ、たとえばＤＣＣ条件の下で、ラクタム形成をなすことによりＣ－８６を得る。ＴＢＡＦでＴＢＳ基を除去し、ラクトン形成（ＬｉＯＨでのメチルエステルのケン化、次いでＤＣＣ結合が必要となることがある）することによりＣ－８７を得、これからR_dに対応する求核剤を用いてアミド窒素をアルキル化することによりＣ－８８を合成する。ＤＢＵでのエピマー化により化合物Ｃ－８９を得る手段が得られる。Ｃ－８９をローソン試薬、Cava et al., Tetrahedron, 1985, 41:5061で処理することにより化合物Ｃ－９０が得られる。これによりこの項のすべての化合物の製造が完了する。下記実施例１３～２１は個々の合成である。

スキーム２５



ａ－ｃ）Dener et al.参照　ｄ）ＤＩＢＡＬ－Ｈ　ｅ）Bu_2OTf
ｆ）Ｃ－８３　ｇ）ＴＢＳ－Ｃｌ、イミダゾール、ＤＭＦ
ｈ）ＬｉＯＯＨ、ＴＨＦ、H_2O　ｉ）H_2、Ｐｄ／Ｃ　ｊ）ＤＣＣ
ｋ）ＴＢＡＦ、ＴＨＦ　ｌ）環化　ｍ）塩基、R_3に対応する求電子剤
ｎ）ＤＢＵ　ｏ）ローソン試薬

使用

開示される化合物は、筋肉消耗のようなプロテアソームのタンパク分解機能が直接介在する状態またはＮＦ－κＢのようなプロテアソームによって処理されたタンパク質が間接的に介在する状態の治療に用いられる。このプロテアソームは、細胞の調節（たとえば、細胞周期、遺伝子転写、および代謝経路）、細胞間の連絡、および免疫応答（たとえば、抗原の提示）に関与するタンパク質（たとえば、酵素）の急速な排除および翻訳後処理に関

わる。以下に論じられる具体的な例には、β－アミロイドタンパク質ならびにサイタリンおよび転写因子ＮＦ－κＢのような調節タンパク質が含まれる。本明細書で用いられる治療には、症状、臨床的な徴候、および状態の基礎をなす病理の、被検体の状態を改善もしくは安定化する方式での後退、低減、または抑制が含まれる。

アルツハイマー病は老人斑および脳血管におけるβ－アミロイドタンパク質（β－ＡＰ）の細胞外堆積を特徴とする。β－ＡＰは、アミロイドタンパク質前駆体（ＡＰＰ）から誘導される３９ないし４２のアミノ酸のペプチド断片である。少なくとも３種類のＡＰＰのイソフォーム（６９５、７５１、および７７０アミノ酸）が知られている。ｍＲＮＡの選択的スプライシングがイソフォームを生成する。正常な処理はβ－ＡＰ配列の一部に影響を与え、そのためβ－ＡＰの生成が妨げられる。プロテアソームによる異常なタンパク質処理がアルツハイマー脳における多量のβ－ＡＰに寄与するものと信じられている。ラットのＡＰＰ処理酵素は約１０種類の異なるサブユニット（２２kDa～３２kDa）を含む。２５kDaサブユニットは、X－Gln－Asn－Pro－Met－X－Thr－Gly－Thr－SerのＮ－末端配列を有し、これはヒトマクロペイン（macropain）のβ－サブユニットと同一である。Kojima, S. et al., Fed. Eur. Biochem. Soc., （1992）304:57-60。ＡＰＰ処理酵素はGln^{15}－Lys^{16}結合を開裂し、カルシウムイオンの存在下においては、この酵素はMet^{-1}－Asp^{1}結合、およびAsp^{1}－Ala^{2}結合をも開裂してβ－ＡＰの細胞外ドメインを放出する。

したがって、態様の１つはアルツハイマー病の治療方法であり、これは本明細書に開示される式を有する化合物の有効量（たとえば、製剤組成物）を被検体に投与することを包含する。このような治療には、β－ＡＰ処理の速度の低減、β－ＡＰプラークの形成速度の低減、およびベーターＡＰの生成速度の低減、ならびにアルツハイマー病の臨床上の徴候の低減が含まれる。

本発明の別の態様は悪液質および筋肉消耗疾患に関する。プロテアソームは網状赤血球の成熟および線維芽細胞の成長において多くのタンパク質を分解する。インシュリンまたは血清が不足する細胞においては、タンパク分解の速度はほぼ２倍である。プロテアソームの阻害はタンパク分解の速度を低減させ、そのため筋肉タンパク質の損失および腎臓もしくは肝臓に流れ込む含窒素負荷の両者を低減する。プロテアソーム阻害剤は、がん、慢性感染性疾患、熱、筋肉の不使用（萎縮）および脱神経、神経損傷、飢餓、アシドーシスに関連する腎不全、ならびに肝不全のような状態の治療に有用である。たとえば、Goldberg、米国特許第5，340，736号（1994）を参照のこと。したがって、本発明の態様は、細胞における筋肉タンパク質の分解速度を低減する方法、細胞内タンパク質の分解速度を低減する方法、細胞におけるｐ５３タンパク質の分解速度を低減する方法、およびｐ５３－関連がんの成長を阻害する方法を包含する。これらの方法は、各々、細胞（in vivoもしくはin vitro、たとえば、被検体の筋肉）を本明細書に開示される式の化合物の有効量（たとえば、製剤組成物）と接触させる工程を包含する。

プロテアソームによって処理される他のタンパク質は、Ｒｅｌタンパク質群の一員であるＮＦ－κＢである。転写活性化タンパク質のＲｅｌ群は２つの群に分けることができる。第１の群はタンパク分解処理を要し、これにはｐ５０（ＮＦ－κＢ1、１０５kDa）およびｐ５２（ＮＦ－κ2、１００kDa）が含まれる。第２の群はタンパク分解処理を必要とせず、これにはｐ６５（ＲｅｌＡ、Ｒｅｌ（ｃ－Ｒｅｌ）、およびＲｅｌＢ）が含まれる。ホモ－およびヘテロダイマーの両者をＲｅｌ群の一員で形成することが可能である。たとえば、ＮＦ－κＢはｐ５０－ｐ６５ヘテロダイマーである。リン酸化ならびにＩκＢおよびp105の遍在化の後、この２種類のタンパク質が分解処理されてそれぞれ活性ＮＦ－κＢを生じ、細胞質から核に場所を移す。遍在化したｐ１０５も精製プロテアソームによって処理される。Palombella et al., Cell（1994）78:773-785。活性ＮＦ－κＢは他の転写活性化体、たとえばＨＭＧ　Ｉ（Ｙ）、と共に立体特異的エンハンサー複合体を形成し、特定の遺伝子の選択的発現を誘発する。

ＮＦ－κＢは免疫および炎症応答、ならびに有糸分裂に関与する遺伝子を調節する。たとえば、ＮＦ－κＢは、免疫グロブリン軽鎖κ遺伝子、ＩＬ－２受容体α－鎖遺伝子、クラスＩ主要組織適合複合体遺伝子、ならびに、たとえばＩＬ－２、ＩＬ－６、顆粒細胞コロ

ニー刺激因子、およびＩＦＮ－βをコードする多くのサイトカイン遺伝子の発現に必須である。Palombella et al., （1994）。本発明の態様の中には、ＩＬ－２、ＭＨＣ－Ｉ、ＩＬ－６、ＩＦＮ－βまたは既に言及されている他のあらゆるタンパク質の発現レベルに影響を及ぼす方法を含むものがあり、これらの方法は、各々、本明細書に開示される式の化合物の有効量を患者に投与することを包含する。

また、ＮＦ－κＢは、Ｅ－セレクチン、Ｐ－セレクチン、ＩＣＡm、およびＶＣＡＭ－1をコードする細胞接着遺伝子の発現にも関与する。Collins, T., Lab. Invest. （1993）68:499-508。本発明の一態様は細胞接着（たとえば、Ｅ－セレクチン、Ｐ－セレクチン、ＩＣＡm、またはＶＣＡＭ－1が介在する細胞接着）を阻害する方法であり、この方法は細胞を本明細書に開示される式を有する化合物の有効量（たとえば、製剤組成物）と接触させる（または、被検体に投与する）ことを包含する。

また、ＮＦ－κＢは、ＨＩＶ－エンハンサー／プロモーターに特異的に結合する。ｍａｃ２３９のＮｅｆと比較した場合、ｐｂｊ１４のＨＩＶ調節タンパク質Ｎｅｆはプロテインキナーゼの結合を制御する領域の２つのアミノ酸が異なる。プロテインキナーゼはＩ－κＢのリン酸化の信号を送り、これがユビキチン－プロテアソーム経路を介してＩκＢの分解の引き金を引くものと信じられている。分解の後、ＮＦ－κＢが核内に放出され、これによりＨＩＶの転写が強化される。Cohen, J., Science, （1995）267:960。本発明の２つの態様は、患者におけるＨＩＶの感染を阻止または低減する方法およびウイルス遺伝子の発現のレベルを低下させる方法であり、これらの方法は、各々、本明細書に開示される式の化合物の有効量を被検体に投与することを包含する。

ｐ５０を含む複合体は急性炎症および免疫応答の急速媒介物質である。Thanos, D. and Maniatis, T., Cell（1995）80:529-532。細胞内タンパク分解は、Ｔ－リンパ細胞に示してＭＨＣクラスＩ介在免疫応答を誘発する小ペプチドを生じる。この免疫系は、ウイルスが感染し、またはオンコジーンによる形質転換を受けている自己の細胞をスクリーニングする。本発明の２つの態様は、細胞を本明細書に記載される式の化合物にさらすことを包含する細胞における抗原の表出を阻止する方法、および本明細書に記載される式の化合物の有効量を被検体に投与することを包含する被検体の免疫系を抑制する（たとえば、移植の拒絶を阻止する）方法である。

加えて、本発明は炎症を治療する方法であって、本明細書に記載される式の化合物を含有する製剤組成物の有効な抗炎症量を患者に投与することを包含する方法を提供する。炎症は、（ａ）切り傷、裂傷、刺し傷のような傷害、（ｂ）１種以上のウイルス、細菌、ミコバクテリア、微生物、寄生虫、および真菌による感染（感染した外科的な切開を含む）、（ｃ）アレルギー、（ｄ）疾患状態、（ｅ）手術（たとえば、移植）、または（ｆ）それらの組み合わせに関連する一次もしくは二次的な応答の可能性がある。

アレルギーは抗原またはアレルゲンに対する一次炎症応答である。アレルゲンの源には、植物（たとえば、草もしくは樹木の花粉）、動物（たとえば、イヌ、ネコ、昆虫およびヘビの毛、毒、尿、排泄物）、および真菌が含まれる。ライグラス、ブタクサ、杉の花粉のようなアレルゲンに加えて、特定の食物もしくは食物成分（たとえば、卵、ミルク、甲殻類動物、イチゴ、チョコレート）、ワクチン、および薬剤（たとえば、ペニシリン）も特定の個人においてアレルギー反応を誘発し得る。

疾患状態にはリュウマチ様関節炎、強皮症、リュウマチ熱、炎症性腸疾患（たとえば、クローン病および潰瘍性大腸炎）、真性糖尿病、重症筋無力症、多発性硬化症、ギラン－バレー症候群、眼の結膜、全身性エリテマトーデス、脳炎、成人呼吸困難症候群、乾癬、気腫、アルツハイマー病、および筋ジストロフィーが含まれる。

本発明は臓器または組織移植によって誘発される炎症の治療方法を提供する。この方法は、移植を受け、もしくは受けようとしている患者に、本明細書に開示される式を有する化合物を含有する組成物を投与することを包含する。移植には、骨髄、実質器官（たとえば、腎臓、肺、心臓、膵臓、肝臓、および皮膚）または組織が含まれる。

特定のプロテアソーム阻害剤は、in vitroおよびin vivoで、遍在化したＮＦ－κＢの分解および処理の両者をブロックする。また、プロテアソーム阻害剤は、ＩκＢ－αの分解

およびＮＦ－κＢの活性化もブロックする。Palombella, et al., ：and Traenckner, et al., EMBO J. (1994) 13:5433-5441。本発明の態様の１つはＩκＢ－αの分解を阻止する方法であり、この方法は細胞を本明細書に記載される式の化合物と接触させることを包含する。さらなる態様は細胞、筋肉、臓器、または被検体におけるＮＦ－κＢの細胞含量を低減させる方法であり、この方法は細胞、筋肉、臓器、または被検体を本明細書に記載される式の化合物と接触させることを包含する。

タンパク分解処理を必要とする他の真核性転写因子には、一般的な転写因子ＴＦＩＩＡ、単純ヘルペスウイルスＶＰ１６アクセサリータンパク質（宿主細胞因子）、ウイルス誘発性ＩＦＮ調節因子２タンパク質、および膜結合ステロール調節要素結合タンパク質１が含まれる。

本発明の別の態様はサイクリン依存性真核細胞周期に影響を与える方法であり、この方法は細胞を（in vitroまたはin vivoで）本明細書に開示される式の化合物にさらすことを包含する。サイクリンは細胞周期の制御に関与するタンパク質である。プロテアソームはサイクリンの分解に関与する。サイクリンの例には有糸分裂サイクリン、Ｇ１サイクリン、（サイクリンＢ）が含まれる。サイクリンの分解により、細胞がある細胞周期段階（たとえば、有糸核分裂）を抜けて別の段階（たとえば、分裂）に入ることが可能になる。すべてのサイクリンはｐ３４^{cdc2}プロテインキナーゼまたは関連するキナーゼに会合するものと信じられている。タンパク分解標的シグナルはアミノ酸42－RAALGNISEN－50（破壊ボックス）に局在化する。サイクリンがユビキチンリガーゼの攻撃を受けやすい形態に変換され、あるいはサイクリン特異的リガーゼが有糸分裂の間に活性化する証拠が存在する。Ciechanover, A., Cell, (1994) 79:13-21。プロテアソームの阻害はサイクリンの分解を阻止し、したがって、細胞の増殖（たとえば、サイクリン関連がん）を阻害する。Kumatori et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87:7071-7075。本発明の態様の１つは患者における増殖性疾患（たとえば、がん、乾癬、または再狭窄）を治療する方法であり、この方法は本明細書に開示される式の化合物の有効量を被検体に投与することを包含する。移植の拒絶、関節炎、リュウマチ様関節炎、感染、皮膚病、炎症性腸炎、喘息、骨粗鬆症、および自己免疫疾患の結果として慢性もしくは急性炎症が起こり得る。拒絶または炎症は、心臓、肺、腎臓、肝臓、皮膚移植片、および組織移植片を含むあらゆる型の移植組織または臓器において生じる可能性がある。また、本発明は被検体におけるサイクリン関連炎症を治療する方法を包含し、この方法は本明細書に開示される式の化合物の有効量を被検体に投与することを包含する。

さらなる態様は、オンコタンパク質のプロテアソーム依存性調節に影響を与える方法およびがんの成長を治療もしくは阻止する方法であり、これらの方法は、各々、細胞（in vivo、たとえば被検体体内、またはin vitroで）を本明細書に開示される式の化合物にさらすことを包含する。ＨＰＶ－16およびＨＰＶ－18誘導Ｅ６タンパク質はＡＴＰ－およびユビキチン－依存性結合ならびに粗網状赤血球溶解におけるｐ５３の分解を刺激する。劣性オンコジーンｐ５３は、複製を許容しない温度で、変異を受けた熱に不安定なE1を有する細胞系に蓄積することが示されており、ｐ５３のレベルの上昇はアポプトーシスにつながる。ユビキチン系によって分解されるプロトオンコタンパク質の例には、ｃ－Ｍｏｓ、ｃ－Ｆｏｓ、およびｃ－Ｊｕｎが含まれる。態様の１つはｐ５３－関連アポプトーシスを治療する方法であり、この方法は本明細書に開示される式の化合物の有効量を被検体に投与することを包含する。

がんの治療は、腫瘍、特に悪性腫瘍の発症、進行、および進行に関連する一時的もしくは二次的な現象、たとえば細胞の増殖が制御されていない組織の成長、の1種以上を予防、緩和、または好転させる。悪性腫瘍は良性腫瘍よりも大きな退生の程度を示す。本発明は、本明細書に記載される製剤組成物の有効な抗がん量を被検体に投与することを包含するがんの治療方法であって、ここでがんは、がん腫、リンパ腫、肉腫、および骨髄腫から選ばれる。

がん腫の例には、アデノがん腫、腺房細胞アデノがん腫、副腎がん腫、胞状細胞がん腫、未分化細胞がん腫、類基底がん腫、基底細胞がん腫、細気管支がん腫、気管支原生がん腫

、腎アデノがん腫（renaladinol carcinoma）、胎生期がん腫、アノメトロイド（anometroid）がん腫、フィブロラモラー（fibrolamolar）肝細胞がん腫、濾胞状がん腫、巨大細胞がん腫、肝細胞がん腫、表皮内がん腫、上皮内がん腫、レプトマニギオ（leptomanigio）がん腫、髄様がん腫、黒色がん腫、髄膜がん腫（menigual carcinoma）、メソメトネフリック（mesometonephric）がん腫、燕麦細胞がん腫、扁平細胞がん腫、汗腺がん腫、移行上皮がん腫、および管状細胞がん腫が含まれる。肉腫の例には、エナメル上皮肉腫、血管結石肉腫、ブドウ状肉腫、子宮内膜間質部肉腫、ユーイング（ewing）肉腫、束状肉腫、巨大細胞肉腫、顆粒細胞肉腫、免疫芽細胞肉腫、皮質近接部骨原生肉腫（juxaccor dial osteogenic sarcoma）、カピセス（coppices）肉腫、白血球肉腫（白血病としても知られる）、リンパ肉腫（lymphatic sarcoma）（リンパ肉腫（lympho sarcoma）としても知られる）、延髄肉腫、骨髄肉腫（顆粒細胞肉腫としても知られる）、オースティオジェニック（austiogenic）肉腫、骨髄肉腫、細網肉腫（組織球リンパ腫としても知られる）、円形細胞肉腫、紡錘細胞肉腫、滑膜肉腫、および毛細血管拡張性聴覚原性肉腫が含まれる。リンパ腫の例には、ホジキン病ならびにバーキット、結節型分化不十分リンパ球性リンパ腫（ＮＰＤＬ）、結節型混合リンパ球性リンパ腫（ＮＭＬ）、ＮＨ（結節型組織球性リンパ腫）、およびび漫性リンパ腫のようなリンパ球性リンパ腫が含まれる。さらなるがん腫には、神経芽細胞腫、グリア芽細胞腫、星状細胞腫、メラノーマ、平滑筋肉腫、多発性骨髄腫、および血管腫が含まれる。

トリペプチドアルデヒドプロテアーゼ阻害剤（ベンジルオキシカルボニル）（2）－Leu－Leu－ロイシナール）はＰＣ12細胞内において30nMの最適濃度で神経突起の外殖を誘発する。Tsubuki et al., Biochem. and Biophys. Res. Comm. （1993）196:1195-1201。ペプチドアルデヒドはプロテアソームのキモトリプシン様活性を阻害することが示されている。Vinitsky et al., 1992、Tsubuki et al., 1993。本発明の態様の１つは神経突起の外殖を促進する方法であり、この方法は本明細書に開示される式の化合物を被検体に投与することを包含する。

最後に、開示される化合物は、プロテアソームによって処理されるタンパク質（たとえば、酵素、転写因子）をスクリーニングするための（たとえば、診断キットにおける、あるいは臨床研究室で使用するための）診断薬としても有用である。また、開示される化合物は、Ｘ／ＭＢ1サブユニットもしくはα－鎖を特異的に結合し、かつこれらに関連付けられるタンパク分解活性を阻害する研究試薬としても有用である。たとえば、プロテアソームの他のサブユニットの活性（および具体的な阻害剤）を決定することができる。

大部分の細胞タンパク質は成熟または活性化の過程でタンパク分解処理を受ける。ラクタシスチンを、細胞性、発生的、もしくは生理学的プロセスまたは産生物がプロテアソームのタンパク分解活性によって調節されているかどうかを決定するのに用いることができる。このような方法の１つは、有機組織体、完全細胞調製品、または細胞抽出物を得；この有機組織体、完全細胞調製品または細胞抽出物をここに開示される式の化合物にさらし；この化合物にさらした有機組織体、完全細胞調製品または細胞抽出物を信号にさらし、かつそのプロセスまたは産生物を監視することを包含する。本明細書に開示される化合物の高い選択性は、所定の細胞性、発生的、または生理学的プロセスにおいてプロテアソームを迅速かつ正確に排除もしくは包含することを可能にする。

本発明の化合物および組成物は、本明細書に記載される製剤組成物（たとえば、ラクタシスチンチオエステル、ラクトン、またはラクタム）の有効抗炎症量を被検体に投与することを包含する炎症の治療方法であって；炎症が傷害または感染に関連付けられる方法；炎症がアレルギーまたは喘息に関連付けられる方法；炎症がリュウマチ様関節炎、強皮症、リュウマチ熱、炎症性腸疾患、真性糖尿病、重症筋無力症、多発性硬化症、ギラン－バレー症候群、眼の結膜、全身性エリテマトーデス、脳炎、成人呼吸困難症候群、気腫、アルツハイマー病、および筋ジストロフィーから選択される疾患状態に関連付けられる方法；炎症が骨髄または腎臓、肺、心臓、膵臓、肝臓、および皮膚から選択される実質器官の移植に関連付けられ、かつ組成物が移植前、移植の間、または移植後に投与される方法；製剤組成物が経口投与される方法；またはそれらの組み合わせを含む幾つかの方法において

有用である。
また、本発明は、本明細書に開示される製剤組成物の有効抗がん量を被検体に投与することを包含するがんの治療方法；本明細書に開示される製剤組成物の有効量を被検体に投与することを包含する感染の治療方法；および本明細書に開示される製剤組成物の有効量を被検体に投与することを包含する再狭窄の治療方法も提供する。好ましい化合物および組成物には、様々なラクタシスチンチオエステル、およびβ－ラクトンそれ自体を含むラクタシスチンβ－ラクトン類似体が含まれる。
処方および投与
本発明の方法は、哺乳動物（たとえば、高等霊長類、特にヒト）のような動物被検体の治療を意図する。本発明は、本明細書に説明される新規化合物を含有する製剤組成物、およびラクタシスチンのような、本明細書に記載され、かつ本明細書でプロテアソーム阻害剤として最初に認識される化合物を含有する製剤組成物を包含する。
薬学的に許容し得る塩を、たとえば、１、２、３もしくはそれ以上の当量の塩酸、臭化水素、トリフルオロ酢酸、および薬剤処方の分野の当業者に公知の他のものを用いて形成することができる。本発明の化合物は、薬学的に許容し得る非毒性賦形剤および担体と混合することにより製剤組成物中に処方することが可能である。本発明の製剤組成物は２種類以上の本発明の化合物を含むことが可能であり、および／または抗炎症剤、抗がん剤、もしくは他の薬剤のような本発明に含まれない他の療法剤を含むことも可能である。被検体は２種類以上の炎症、または１種類を上回るがん、アレルギーの組み合わせ、または開示される化合物が有用な上述の状態の混成を有していてもよい。本発明の化合物は単位投与量形態で投与することが可能であり、たとえば、Remington’s Pharmaceutical Sciences（Mack Pub. Co., Easton, PA, 1980）に説明されるような薬学分野において公知のあらゆる方法で調製することができる。また、本発明は、個別の投与量に処方されている製剤組成物および自己投与のための指示書を収容する包装薬剤も包含する。
プロテアソーム阻害剤として本明細書に開示される化合物は、溶液もしくは懸濁液の形態での非経口投与用に；特に錠剤もしくはカプセルの形態での、経口投与用に（好ましい）；または、特に粉末、ゲル、油性溶液、点鼻液、エアロゾル、もしくはミストの形態での鼻腔内投与用に調製することができる。非経口投与のための処方は、通常の賦形剤として、無菌の水もしくは無菌の生理食塩水、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、植物起源の油、水素化ナフタレン等を含んでいてもよい。本発明の化合物の徐放性は、部分的には、ラクチドの生体適合性、生分解性ポリマー、およびラクチド／グリコリドまたはポリオキシエチレン／ポリオキシプロピレンの共重合体を使用することによって得ることができる。さらなる非経口送達システムには、エチレン－ビニルアセテート共重合体粒子、浸透ポンプ、埋め込み可能な注入システム、およびリポソームが含まれる。吸入投与のための処方は、ラクトース、ポリオキシエチレン－９－ラウリルエーテル、グリココレート、またはデオキシコレートを含む。舌下投与のための処方はグリココレートを含んでいてもよく、膣内投与のための処方はクエン酸を含んでいてもよい。
薬学的に許容し得る混合物中の開示される化合物の濃度は、投与される化合物の投与量、用いられる化合物（1種もしくは複数）の薬学速度論的特徴、および投与経路を含む幾つかの因子に依存して変化する。一般には、本発明の化合物は、約０．１～１０％w／vの化合物を含有する生理学的緩衝水溶液として非経口投与に供することができる。典型的な一回用量範囲は１日当り約０．１～約５０mg／体重kgであり、これは１～４回に分割された一回用量で与えられる。分割された一回用量の各々は、本発明と同じ化合物または異なる化合物を含むことができる。この投与量は、患者の全般的な健康、ならびに選択された化合物（１種もしくは複数）の処方および投与経路を含む幾つかの因子に依存する有効量である。
プロテアソームが直接もしくは間接的に介在する状態を治療するための本発明の実施に用いられる活性化合物の有効量は、投与方式、被検体の年齢および体重、ならびに治療しようとする被検体の状態に依存して変化し、最終的には担当の医師または獣医によって決定される。このような担当の医師または獣医によって決定される活性化合物の量をここでは

“有効量”と呼ぶ。
さらに詳述するまでもなく、当該技術分野における熟練者が本明細書の記載に基づいて本発明をその最大限にまで利用することが可能であるものと信じられる。したがって、以下の具体的な例は単に説明を行うものであると解釈されるものであり、いかなる意味においても開示の残りを限定するものではない。本明細書に引用されるすべての刊行物は参照によって本明細書に組込まれる。

実施例

実施例１

〔^{3}H〕ラクタシスチンの合成

酸化還元順序によりトリチウム化したβ－ラクトンからラクタシスチンを調製した。非標識化β－ラクトンをジクロロメタン中のDess-Martinペルヨージナンを用いてＣ９でケトンに酸化した後、１，２－ジメトキシエタン／１％H_2O中の〔^{3}H〕ＮａＢH_4（ＮＥＮ、１３．５Ci/mmol）で還元してトリチウム化β－ラクトンをそのＣ９－エピマーとともに得た（２：３比）。異性体β－ラクトンをＨＰＬＣ（レイニンマイクロソーブＳｉO_2カラム、４．６×１００㎜、ヘキサン中の１０％ｉ－Ｐｒ－ＯＨ）で分離し、別々にＣH_3ＣＮ中のＮ－アセチルシステイン（０．５Ｍ）およびＥｔ$_3$Ｎ（１．５Ｍ）と反応させてラクタシスチン（９Ｓ）およびそのＣ９－エピマー（９Ｒ）を得て、これをそのそれぞれの反応混合物から逆相ＨＰＬＣ（ＴＳＫ　ＯＤＳ－８０Ｔｍカラム、４．６×２５０㎜、H_2O中の１０％ＣH_3ＣＮ／０．１％Ｃ$F_3C O_2$Ｈ）により精製した。

実施例２

粗製細胞および組織抽出物のフルオログラフィー

粗製Ｎｅｕｒｏ２Ａ抽出物（～１１μg総タンパク質／レーン）および粗製ウシ脳抽出物（～５４μg　総タンパク質／レーン）を以下のように処理した：（１）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチン；（２）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンおよび１㎜冷ラクタシスチン；（３）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチン；（４）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンおよび１㎜冷ラクタシスチン；（５）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンおよび１Ｍβ－ラクトン；（６）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンおよび１㎜冷フェニルアセチルラクタシスチン；（７）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンおよび１㎜冷ラクタシスチンアミド；（８）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンおよび１㎜ジヒドロキシ酸；（９）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンおよび１㎜冷６－デオキシラクタシスチン；（１０）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンおよび１㎜冷（６Ｒ，７Ｓ）－ラクタシスチン（６－ｅｐｉ，７－ｅｐｉ）；（１１）１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンおよび１㎜冷デス（ヒドロキシイソブチル）－ラクタシスチン。Ｎｅｕｒｏ２Ａ神経芽腫細胞またはウシ脳からの粗製抽出物を１０μＭ〔^{3}H〕ラクタシスチンの存在下で、１㎜冷競合体（同時に付加）の存在下または非存在下で、室温で２４時間インキュベートし、その後ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動処理（０．７５㎜厚の１２％ポリアクリルアミドゲル）した。ゲルを０．１％クーマシーブリリアントブルー５０、１２％酢酸、５０％ＭｅＯＨ中で染色し、次いで１２％酢酸、５０％ＭｅＯＨ中で脱色した後、ＥＮ^{3}ＨＡＮＣＥ（ＮＥＮ）を含浸させて水で蛍石を沈殿させた。ゲルをゲル乾燥器内のワットマン濾紙上で６５℃で３０分間乾燥し、次いで－７８℃でコダックＳＢフィルムに曝露した。

実施例３

精製タンパク質複合体（２０Ｓプロテアソーム）の分離

ウシ脳を液体窒素中で凍結させた。総量２kgの脳をワーリングブレンダーで１分間乾燥均質化した。特記する場合を除いて、操作はすべて４℃で実施した。次に、以下の緩衝液（計６L）を加えた（pH７．７）：１８．２５㎜K_2ＨＰO_4、６．７５㎜ＫＨ$_2$ＰO_4、０．２７Ｍスクロース、２㎜　ＥＤＴＡ、２㎜ＥＧＴＡ、２５㎜ＮａＦ、５㎜ピロリン酸四ナトリウム、各々５μg/mlのロイペプチンおよびペプスタチンＡ、ならびに５㎜β－メルカプトエタノール。組織をワーリングブレンダー中で２分間、湿潤均質化した。ホモジネートを５，０００ｇで１５分、次いで１２，０００ｇで３０分、遠心分離した。硫酸アンモニウムを上清に加えて５０％飽和とし、１０，０００ｇで２０分、標本を遠心分離した。

次に、放射性化合物と一緒にインキュベートした標本をＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびフルオログラフィーで測定した場合の、ラクタシスチン結合活性を含有する５０～６０％飽和硫酸アンモニウム分画を、２０mMＭＥＳ－ＮａＯＨ、pH５．６、５mMβ－メルカプトエタノールに対して一夜透析した後、２０mMＭＥＳ－ＮａＯＨ、pH５．６、５mMβ－メルカプトエタノールおよび０～０．３MのＮａＣｌ勾配（５００ml勾配；流速＝２ml／分）を用いてＳＰ－セファロースクロマトグラフィー処理（Pharmacia SP-sepharose、急速；１２０ml床容量カラム）を行った。

関連分画をプールし、希釈した後、１Ｍトリス－ＨＣｌ、pH８でpHを８に調整した。Ｑ－セファロースクロマトグラフィー処理（ファーマシアＱ－セファロース、急速；１６ml床容量カラム）を２０mMトリス－ＨＣｌ、pH８、５mMβ－メルカプトエタノールおよび０～０．５MのＮａＣｌ勾配（１２０ml勾配；流速＝１ml／分）を用いて実施した。関連分画をプールし、濃縮後、ファーマシアーセファロース　６ゲル濾過カラム（１０mMトリス－ＨＣｌ、１mMＥＤＴＡ、pH８、５mMβ－メルカプトエタノール；流速＝０．５ml／分）に適用し、ラクタシスチン結合活性は単一高分子ピークに対応した。このピークを単離し、１０μM〔^{3}H〕ラクタシスチンまたは１０μM〔^{3}H〕β－ラクトンで２５℃で２４時間処理した。トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）を加えて０．１％とし、標本を室温で２０分間放置した。次に、Ｖｙｄａｃ　Ｃ４カラム（３００Å／４．６×１５０mm）により、２０～４０％アセトニトリル／０．１％ＴＦＡを用いて１０分間、次いで４０～５５％アセトニトリル／０．１％ＴＦＡを用いて３０分間（流速＝０．８ml／分）、室温で、逆相ＨＰＬＣを実施した。ＩＮ／ＵＳ　β－ＲＡＭ並列シンチレーション検出器を用いて放射能をモニタリングした。

ラクタシスチン結合タンパク質をウシ脳から精製し、ともにゲル濾過クロマトグラフィーにより同一高分子タンパク質複合体中に存在することが判明した。複合体を〔^{3}H〕ラクタシスチンで処理してもその解離は起こらず、放射能は複合体と一緒に独特に移動した。複合体の分子量は、７００kDaと概算され、ＳＤＳ－ＰＡＧＥによりそれが～２４～３２kDaの分子量を有する多数のタンパク質から成ることが明らかにされた。ブロット化タンパク質のエドマン分解は、２４kDaバンドにいくつかのプロテアソームサブユニットの配列を明示し、複合体は２０Ｓプロテアソームと試験的に同定された。複合体を〔^{3}H〕ラクタシスチンで処理し、逆相ＨＰＬＣ処理してプロテアソームサブユニットを分離後、１１～１２個の明瞭ピークが分解された。しかしながら、放射能は専ら最初の２つのピークに、主に第二ピークに関連した。これら最初の２つのピークは、ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲルのクーマシーブルー染色により、ならびにトリプシン断片のシーケンシングにより均質であると判定されたが、一方その後溶離したより大きなピークのいくつかは明白に均質であるわけではなかった。第一ピーク対第二ピークに組み入れられたカウントの割合は、タンパク質のバッチ、インキュベーションの長さおよび配位子に伴って変化した。第一ピークはよりゆっくりと標識され、第一ピークの第二ピークに対する標識化の程度は、既定時間では、〔^{3}H〕ラクタシスチンを用いた場合のほうが〔^{3}H〕β－ラクトンを用いた場合よりも大きい。〔^{3}H〕β－ラクトンと１～２時間反応させると第一ピークはわずかに標識されただけであったが、一方〔^{3}H〕β－ラクトンまたは〔^{3}H〕ラクタシスチンとの２４時間反応では、このピークの有意の標識化が生じた。選択性は２つの化合物の相対的化学反応性と反対になり、この知見はラクタシスチンのＮ－アセチルシステイン部分がこの二次タンパク質による認識を助長し得ることを示唆する。逆相ＨＰＬＣカラムからの溶離液に対する第一ピークは～３２kDaタンパク質のみを含有した。これは初期に同定された３２kDa二次ラクタシスチン結合タンパク質に対応した。

実施例４

精製ウシラクタシスチン配合タンパク質のアミノ酸配列

精製２０Ｓプロテアソーム（実施例３に記載したように精製）を１０mMトリス－ＨＣｌ、１mMＥＤＴＡ（pH８）中の１０μMラクタシスチンとともに室温で２４時間インキュベートした。次に、その溶液を０．１％トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）を含有する２０％水性アセトニトリルで１０倍に希釈し、室温で５分間放置した。次いで、プロテアソームを溶離

するためにＶｙｄａｃ　Ｃ４カラム（１００Å／４．６×１５０㎜）により、２０～４０％アセトニトリル／０．１％ＴＦＡで１０分間、その後４０～５５％アセトニトリル／０．１％ＴＦＡを用いて３０分間（流速＝０．８ｍｌ／分）、室温で、逆相ＨＰＬＣを実施した。２１０および２８０nmでの紫外線吸収度に基づいてピークを収集したところ、一次ラクタシスチン修飾タンパク質はカラムから二番目に溶離し、二次ラクタシスチン結合タンパク質が最初の溶離物であった。反復注入から得たタンパク質をプールし、凍結乾燥して、トリプシン消化し、トリプシン断片を逆相ＨＰＬＣ分離した後に、エドマン分解を施した。〔^{3}Ｈ〕ラクタシスチン処理プロテアソームから単離されたサブユニットＸ／ＭＢ１を非標識化ラクタシスチンで処理しておいた標本に加えた後、放射性トリプシン断片を単離し、シーケンシングすることにより、推定ラクタシスチン修飾残基を同定した。ある位置では、フェニルチオヒダントイン－アミノ酸誘導体は同定可能でなく、これは残基の修飾が考えられることを示している。

直接Ｎ末端シーケンシングからの、ならびに一次ウシラクタシスチン結合タンパク質由来のトリプシン断片からの配列は、ヒトプロテアソームサブユニットＸ（ｃＤＮＡクローンから予測）およびヒトＬＭＰ７－Ｅ２（エクソン２含有ｃＤＮＡクローンから予測）の配列と一列に並ぶ。配列１（直接Ｎ－末端配列から）もまたサッカロマイセス・セレビジアエ（Saccharomyces cerevisiae）Ｐｒｅ－２（ゲノムクローンから予測）およびThermoplasma acidophilum β－サブユニット（クローン化遺伝子から予測）の配列と一列に並ぶ。Ｎ末端ヘプタペプチドは、ラクタシスチン修飾Ｎ末端トレオニン残基を含有すると思われるトリプシン断片に対応する。この位置のトレオニンは、列挙した成熟プロセッシング化形態のすべての同族体の推定Ｎ末端に対応する。上方の文字は高信頼性配列を意味し、一方下方文字は信頼性が低いものを示す。

表１

直接Ｎ末端配列

1.一次ウシラクタシスチン結合タンパク質の直接Ｎ末端配列			
		TTTLAFKFRHggIIA	配列番号：１
ヒトサブユニットX/ME1	5	TTTLAFKFRHGVIVA 19	配列番号：２
ヒトLMP7-E2	74	TTTLAFKFQHGVIAA 88	配列番号：３
S. cerevisiae Pre-2	76	TTTLAFRFQGGIIVA 90	配列番号：４
T. acidopholum β-サブユニット	9	TTTVGITLKDAVIMA 23	配列番号：５
2.一次ウシラクタシスチン結合タンパク質			
		DAYSGGSVSLY	配列番号：６
ヒトサブユニットX	171	DAYSGGAVNLYHVR 184	配列番号：７
ヒトLMP7-E2	239	DSYSGGVVNMYHMK 252	配列番号：８
3.一次ウシラクタシスチン結合タンパク質			
		VIEINPYLLGTMAGGAADCSF	配列番号：９
ヒトサブユニットX	38	VIEINPYLLGTLAGGAADCQFWER 61	配列番号：10
ヒトLMP7-E2	106	VIEINPYLLGTMSGCAADCQYWER 129	配列番号：11
4.一次ウシラクタシスチン結合タンパク質			
		GYSYDLEVEEAYDLAR	配列番号：12
ヒトサブユニットX	146	GYSDLEVEQAYDLAR 161	配列番号：13
ヒトLMP7-E2	214	GYRPNLSPEEAYDLGR 229	配列番号：14

二次ラクタシスチン結合タンパク質に由来するトリプシン断片の配列は、ヒト赤血球プロテアソームα鎖の、ならびにラット肝臓プロテアソーム鎖のＮ末端断片配列と一列に並ぶ。

表２

トリプシン断片配列

二次ウシラクタシスチン結合活性			
		TTIAGVVYK DGIVLGADTR	配列番号：15
ヒト赤血球プロテアソームα鎖			
	1	XXIAGVVYK DGIVLGADTR 19	配列番号：16
ラット肝臓プロテアソーム鎖１			
	1	TTIAGVVYK DGI 12	配列番号：17

このタンパク質に由来するトリプシン断片の配列分析は、それが精製ヒト赤血球プロテアソームで同定された～３０kDaタンパク質であるプロテアソームα鎖およびＮ末端断片配列だけが存在するラット肝臓プロテアソームと相同であることを示した。溶離液に対する二次ピークは、一次ラクタシスチン結合タンパク質である～２４kDaタンパク質のみを含

有した。タンパク質のＮ末端からの、ならびにトリプシン断片に由来する配列は、最近発見された、主要組織適合性抗原系（ＭＨＣ）コード化ＬＭＰ７プロテアソームサブユニットの同族体であるＭＢ１としても公知の２０Ｓプロテアソームサブユニットｘに対する高度の同一性を示した。

実施例５

２０Ｓプロテアソームペプチダーゼ活性の阻害動態

プロテアソームに関する実験を、以下のように実施した：１０ｍＭトリス－ＨＣｌ、ｐＨ７．５、１ｍＭＥＤＴＡ中の２０Ｓプロテアソーム（～５ｎｇ／μｇ）を、ＤＭＳＯまたはＭｅＯＨ中のラクタシスチンまたはラクタシスチン類似体（５％（ｖ／ｖ）を超えない）の存在下で２５℃でインキュベートした。蛍光検定のためのアリコートを化合物添加後の種々の時間に取り出して、蛍光原性ペプチド基質を含有する１０ｍＭトリス－ＨＣｌ、ｐＨ７．５、１ｍＭＥＤＴＡ中に希釈した（最終１００μＭ）。Ｓｕｃ－ＬＬＶＹ－ＡＭＣ、Ｃｂｚ－ＧＧＲ－βＮＡおよびＣｂｚ－ＬＬＥ－βＡ（ＡＭＣ＝７－アミド－４－メチルクマリン；βＮＡ＝β－ナフチルアミド）を用いてそれぞれキモトリプシン様、トリプシン様およびペプチジルグルタミル－ペプチド加水分解活性に関して検定した。

化合物の生物学的活性は、Ｎｅｕｒｏ２Ａ神経芽腫細胞の軸索自然成長を誘導し、ＭＧ－６３骨肉腫細胞の細胞周期進行を阻害する化合物の能力を示す。

表３　阻害動態

		$K_{assoc}=K_{obs}/[I]$ ($s^{-1}M^{-1}$)		
化合物 （濃度）	化合物の生物学的活性	ｷﾓﾄﾘﾌﾟｼﾝ様活性 (Suc-LLVY-AMC)	ﾄﾘﾌﾟｼﾝ様活性 (Cbz-GGR-βNA)	ﾍﾟﾌﾟﾁｼﾞﾙｸﾞﾙﾀﾐﾙﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞ加水分解活性 (Cbz-LLE-βNA)
ラクタシスチン (10μM)	＋	194±15	10.1±1.8	
ラクタシスチン (100μM)	＋			4.2±0.6
β－ラクトン (1μM)	＋	3059±478		
β－ラクトン (5μM)	＋		208±21	
β－ラクトン (50μM)	＋			59±17
ジヒドロキシ酸 (100μM)	－	阻害なし	阻害なし	阻害なし
ラクタシスチンアミド (12.5μM)	＋	306±99		
フェニルアセチルラクタシスチン (12.5μM)	＋	179±19		
６－デオキシラクタスシチン (12.5μM)	－	阻害なし		
(6R,7S)ラクタシスチン（6-epi,7-epi) (12.5μM)	－	阻害なし		
デス（ヒドロキシイソブチル）－ラクタシスチン (12.5μM)	－	阻害なし		

実施例６

プロテアーゼ阻害の選択性

その他のプロテアーゼに関する実験は実施例５と同様であったが、但し、ラクタシスチンとともにインキュベーションに用いた緩衝液は以下の通りであった：α－キモトリプシン：１０mMトリス－ＨＣｌ、pH８、１mＭＥＤＴＡ（＋１００μMＳｕｃ－ＬＬＶＹ－ＡＭＣ：蛍光検定用）；トリプシン：１０mMトリス－ＨＣｌ、pH８、２０mMＣａＣｌ$_2$（＋１００μMＣｂｚ－ＧＧＲ－βＮＡ；検定用）；カルパインＩ：２０mMトリス－ＨＣｌ、pH８、１mＭＣａＣｌ$_2$）、１mＭＤＴＴ（＋１００μMＳｕｃ－ＬＬＶＹ－ＡＭＣ：検定用）；カルパインII：２０mMトリス－ＨＣｌ、pH８、１０mＭＣａＣｌ$_2$、１mＭＤＴＴ（＋１００μＭＳｕｃ－ＬＬＶＹ－ＡＭＣ：検定用）；パパイン：５０mＭＭＥＳ－ＮａＯＨ、pH６．４、１mＭＤＴＴ（＋１００μＭＣｂｚ－ＲＲ－ＡＭＣ：検定用）；カテプシンＢ：１００mＭＫＨ$_2$ＰＯ$_4$、pH５．５、２mＭＥＤＴＡ、１mＭＤＴＴ（＋１００μＭＣｂｚ－ＲＲ－ＡＭＣ：

検定用）。３８０nmでの興奮を伴う４６０nmでの蛍光発光を、ＡＭＣ含有基質に関して測定し、３３５nmでの興奮を伴う４１０nmでの発光をβＮＡ含有基質に関して測定した。２５℃で蛍光検定を実行し、各実験を少なくとも３回実施し、値を平均±標準偏差で示す。

表４

その他のプロテアーゼの阻害

被験プロテアーゼ	ラクタシスチン(100μM)の作用
α－キモトリプシン	阻害なし
トリプシン	阻害なし
カルパインＩ	阻害なし
カルパインII	阻害なし
パパイン	阻害なし
カテプシンＢ	阻害なし

蛍光原性ペプチド基質を用いた活性に関するプロテアソームペプチターゼに及ぼすラクタシスチンおよびβ－ラクトンの作用を査定した。３つのペプチダーゼ活性はすべて、トリプシン様およびキモトリプシン様活性の場合には非可逆的に、ＰＧＰＨ活性の場合には可逆的に阻害された。各阻害剤の酵素との関連に関する見かけの二次速度定数κ_{assoc}を、各活性に関して測定した（表１Ａ）。ラクタシスチンはキモトリプシン様活性を阻害し、最速（κ_{assoc}＝１９４±１５Ｍ－1_S－１）で、トリプシン様活性は２０倍遅く、ＰＧＰＨ活性はさらに５０倍遅かった。阻害動態は３つの活性に関して異なるという事実はさらに、活性が別々の活性部位によるものであるという見解を支持するのに役立つ。β－ラクトンは同一の順位を示すが、しかしβ－ラクチンの予測されるより大きな化学反応性と一致して、ラクタシスチンそれ自体より１５～２０倍速く各活性を阻害する。タンパク質標的との初期結合において、ラクタシスチンチオエステルは速度制限工程でβ－ラクトンに環化され、これは求核試薬による攻撃に対する活性化中間物質として役立つと考えられる。

広範な連続希釈／限外濾過による余分な阻害剤の除去後の残留ペプチダーゼ活性を測定することにより、阻害作用の可逆性を査定した。希釈／限外濾過後のラクタシスチン処理標本においては、トリプシン様およびキモトリプシン様活性は依然として完全に阻害されこれは酵素からの阻害剤の非常に低いκ_{off}を意味し、一方阻害剤で処理していない対照は活性を保持した（データは示されていない）。ＰＧＰＨ活性の場合、阻害剤を除去すると触媒活性が戻った；ＰＧＰＨ活性の阻害はラクタシスチンのＰＧＰＨ部位との非共有結合的関連または代謝回転との共有結合的関連によるといえる。

以前、Ｎｅｕｒｏ２Ａ細胞における軸索の自然成長を引き起こす類似体の能力がＭＧ－６３骨肉腫における細胞周期進行を阻害するそれらの能力に反映されることを、そして分子のγ－ラクタム部分に対する修飾が両活性を損なうが、一方、Ｎ－アセチルシステイン部分の修飾はほとんど作用を示さないことを我々は示した〔Fenteany, 1994, 3135〕。したがって、２０Ｓプロテアソームを阻害する類似体の能力を我々は試験したが、しかしわれわれの場合には３つの活性すべてを調べるにはこれらの物質の供給が不十分であったので、ラクタシスチンにより最も迅速に阻害されるキモトリプシン様活性に焦点を絞った。同じ傾向は生物学的試験においても認められた：生物学的に活性な化合物はラクタシスチン

それ自体とほぼ同様にキモトリプシン様活性を阻害し、生物学的不活性化合物はすべて同様にこの活性を阻害しなかった（表３）。ラクタシスチンのγ－ラクタムの修飾はその作用を軽減するが、しかしＮ－アセチルシステイン部分の修飾はそうではない。

実施例７

ラクタシスチン（β－ラクトン形態）の能力の検定はin vivo ＩκＢ－αのＴＮＦ－α依存性分解を遮断できる

Ｈｅｌａ細胞をＤＭＥ＋１０％ウシ胎仔血清を入れた６ウエルプレートに載せた（３ml／ウエル）。次に、細胞を０．１２５％ＤＭＳＯ４０μMＧ１３２（カルボベンズオキシル－ロイシニル－ロイシニル－ロイシナル－Ｈ）（４０μM、レーン１０３）または５μMβ－ラクトンで１時間前処理した後、１，０００U/mlＴＮＦ－αまたは燐酸緩衝溶液（ＰＢＳ）で処理した。さらに３７℃で０分、２０分または４０分インキュベーション後に細胞を収穫した。次に、ＮＰ－４０およびプロテアーゼ阻害剤を含有する緩衝液中で細胞を溶解させ、１０％ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル上でタンパク質を分離させた。次いで、タンパク質をニトロセルロースに移し、ヒトＩκＢ－αのＣ末端の２０個のアミノ酸に対して抗体でプローブした。

従来の報告は、ＩκＢの誘導性分解の前にタンパク質のリン酸化が起きることを示している（Beg et al., 1993, Mol. Cell. Biol. 13:3301; Traenckner et al., 1994, EMBO J. 13:5433; Miyamoto et al., 1994, PNAS 91:12740; Lin et al., 1995, PNAS 92:552; DiDonato et al., 1995, Mol. Cell. Biol. 15:1302;およびAlkalay et al., 1995, Mol. Cell. Biol. 15:1294）。次いで、リン酸化ＩκＢは、明らかにプロテアソームにより優先的に分解される（Palombella et al., 1994, Cell 78:773）。リン酸化は、電気泳動処理した場合のＩκＢの動きがわずかに重い移動を示すことにより実証される。ＴＮＦにより誘導される細胞からのＩκＢは、期間中リン酸化および分解の必要条件パターンを示す。ＰＢＳだけで処理した細胞はＩκＢのレベルまたは修飾の変化を全く示さない。以前報告されたように（Palombella et al., 1994）、ペプチドアルデヒドプロテアソーム阻害剤　ＭＧ１３２はＩκＢの分解を遮断し、リン酸化形態を安定化する。β－ラクトンも分解を遮断し、ＩκＢのリン酸化形態を安定化する。これらの結果は、ラクタシスチンはＩκＢのリン酸化を生じるＴＮＦ依存性信号経路に作用しないが、しかしタンパク質の分解を遮断するということを示す。ラクタシスチンは、最も考えられることは、プロテアソームの作用を特異的に遮断することにより、Ｈｅｌａ細胞のＴＮＦ導入後のＩκＢの分解を阻害する。

実施例８

プロテアソーム依存性ｐ１０５～ｐ５０in vivoプロセッシングに及ぼすラクタシスチン（β－ラクトン形態）の作用の検定

ＣＯＳ細胞を１００㎜皿に載せ、次いで擬似トランスフェクトした、またはヒトｐ１０５　ｃＤＮＡを含有するｐｃＤＮＡプラスミド３μgでトランスフェクトしたＤＥＡＥ－Ｄｅｓｔｒａｎを入れた。トランスフェクションの４８時間後に、０．５％　ＤＭＳＯ、５０μMカルパイン阻害剤II、５０μMＧ１３２、または１０μMβ－ラクトンで１時間、細胞を前処理した。次に、２５０μCi／プレートの^{35}Ｓ－メチオニン／システインで１５分間、細胞をパルス標識し、直ちに収穫するか、またはその後余分量の非標識化メチオニンおよびシステインで２時間追跡した。次いで細胞をＳＤＳ／Ｔｒｉｓで溶解し、タンパク質を抗－ｐ５０抗体（ｐ１０５タンパク質のＮ末端半分を認識）で免疫沈降させた。これらのタンパク質を次に１０％　ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル上で分離し、これを固定して、乾燥し、オートラジオグラフフィルムに曝露した。

パルス標識期間直後に単離したタンパク質の分析からは、有意量の標識化ｐ１０５タンパク質と極少量のｐ５０が明示された。２時間追跡期間後、予測通り、ｐ１０５のレベルは低減し、ｐ５０タンパク質に対応する新しいバンドが現れる（Fan and Maniatis, 1991, Nature 354:395; Palombella et al., 1994, Cell 78:773）。カルパイン阻害剤IIによる細胞の前処理は、ｐ１０５のｐ５０へのプロセッシングに影響を及ぼさなかった（レーン４）。しかしながら、ペプチドアルデヒドプロテアソーム阻害剤　ＭＧ１３２による細胞

の処理は、以前報告された（Palombella et al., 1994）通りに、ｐ５０の出現を完全に遮断した（レーン５）。低レベルのβ－ラクトン（１０μM）はｐ５０のレベルにわずかに作用しただけであったが、しかし高濃度（５０μM）はｐ１０５のｐ５０へのプロセッシングの完全阻害を引き起こした。ラクタシスチンはｐ１０５のｐ５０へのin vivoロテアソーム依存性プロセッシングを有効に遮断する。

実施例９

軸索自然成長検定

可溶化に必要な最小量のメタノール（ＭｅＯＨ）またはジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）中に化合物を溶解させた。すべての検定には０．１％以下の溶媒が存在した。必要な場合には、溶液を蒸発、乾燥させて、使用前に細胞培地中に再懸濁して最終濃度にした。Ｎｅｕｒｏ２Ａ、ＩＭＲ－３２、ＰＣ１２およびＭＧ－６３細胞をアメリカ培養細胞コレクションから入手した。Ｎｅｕｒｏ２ＡおよびＩＭＲ－３２細胞を、１０％（ｖ／ｖ）ウシ胎仔血清（ＦＢＳ）を含有するイーグル最小必須培地（ＭＥＭ）で培養した。ＰＣ１２細胞は、１０％（ｖ／ｖ）ウマ血清および５％ＦＢＳを含有するＲＰＭＩ１６４０培地で増殖させ、ＭＧ－６３は１０％　ＦＢＳを含有するＲＰＭＩ１６４０中で培養した。

Ｎｅｕｒｏ２Ａ細胞を1×10^4細胞／１ml／ウエルの密度で１２ウエルポリスチレン皿（直径２２mm平底ウエル）中でプレート化し、あらゆる処理の前に、１０％ＦＢＳを含有するＭＥＭ中で２４時間増殖させた。関連実験では、ラクタシスチン添加の３時間前に、ノコダゾール、シトハラシンＢまたはシクロヘキシミドを加えた。血清欠如実験では、プレート化後２４時間目に細胞を血清無含有ＭＥＭに切り換えて、適切な場合には、ラクタシスチン添加前にさらに２４時間インキュベーションし、その後血清無含有状態に保持した。

実施例１０

細胞周期分析

ＭＧ－６３細胞を7.5×10^4細胞／３ml／２５cm^2フラスコでプレート化し、１０％ＦＢＳを含有するＲＰＭＩ中で２４時間増殖させた。これらの亜融合性ＭＧ－６３培養を、０．２％ＦＢＳを含有するＲＰＭＩに培地を変えて、６４時間インキュベートすることによりG_0/G_1で同調させた。この後、１０％ＦＢＳを含有するＲＰＭＩ２mlで刺激し、化合物を加えた。１７５cm^2フラスコ内の１０％ＦＢＳを含有するＭＥＭ中で～2×10^7個にＮｅｕｒｏ２Ａ細胞を増殖させた。回転振盪器上で１００rpmで５分間振盪することにより、有糸分裂細胞を収穫した。剥ぎ取った細胞を1.5×10^5細胞／２ml／２５cm^2フラスコで再プレート化し、３０分間インキュベートして、ラクタシスチン添加前に再付着させた。ＭＧ－６３細胞の場合は刺激後２１時間目に、Ｎｅｕｒｏ２Ａ細胞の場合には再プレート化後２０時間目に、細胞周期分析のために細胞を収穫した後、流動細胞計測用に処理した。ベクトン－ディクソンＦＡＣスキャン流動細胞計測計を用いて、ＤＮＡヒストグラムを得た。

実施例１１

２０Ｓプロテアソームおよびプロテアソーム活性剤Ａ２８の精製

Houghら［Hough, R., et al., （1987）J. Biol. Chem., 262, 8303-8313］およびGanothら［Ganoth, D., et al., （1988）J. Biol. Chem., 263, 12412-12419］の方法の変法により、２０Ｓプロテアソームを精製した。Chu-Pingら〔Chu-Ping, M., et al., （1992）J. Biol. Chem., 267, 10515-10523〕の方法の変法により、ＰＡ２８活性剤を精製した。ウサギ網状赤血球は、グリーンヘクタレス社（Green Hectares, Oregon, WI）から入手した。網状赤血球を氷冷ＰＢＳ中に懸濁することにより３回洗浄し、２０００×ｇで１５分間遠心分離した。最終洗浄後、１mMＤＴＴを含有する冷却蒸留水　１．５容量中で細胞を溶解させた。次に、混合物を２５０psiでＧｌａｓ－ＣＯ　Ｂｉｏ－Ｎｅｂｕｌｉｚｅｒに通して完全細胞溶解を確保した。次いで、溶解物を１００，０００×ｇで１時間遠心分離して細胞破砕屑を除去した。上清（抽出物）を２０mMＨＥＰＥＳ　pH７．６、１mMＤＴＴ（緩衝液Ａ）中に入れて、０．２μmフィルターを通して濾過し、緩衝液Ａで平衡させたＤＥ５２陰イオン交換カラムに適用した。カラムを５容量の緩衝液Ａで洗浄し、吸収タ

ンパク質を５００mMＮａＣｌを含有する２．５容量の緩衝液Ａで溶離した。溶離液（分画II）を硫酸アンモニウムで３８％飽和液とし、１０，０００×ｇで２０分間遠心分離した。上清を硫酸アンモニウムで８５％飽和液とし、１０，０００×ｇで２０分間遠心分離した。その結果生じたペレットを最小容量の緩衝液Ａ中に再懸濁して、緩衝液Ａ４Lに対して一夜透析した。２０ＳプロテアソームとｐＡ２８とを含有する透析物（分画IIＢ）をＭｏｎｏ　Ｑ陰イオン交換カラムに適用した。０～５００mMＮａＣｌの４０カラム容量勾配により、溶離を実施した。

２０Ｓプロテアソーム

カラム分画を、ＳＤＳ刺激Ｓｕｃ－Ｌｅｕ－Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｔｙｒ－ＡＭＣ加水分解活性に関して検定した。活性分画をプールし、５０mM〔ＮａＣｌ〕に希釈し、1mlヘパリンセファロースＨｉ－Ｔｒａｐカラムに適用した。５０～５００mMＮａＣｌの２０カラム容量勾配により、溶離を実施した。活性分画をプールし、３０，０００MWCO　Ｃｅｎｔｒｉｃｏｎ遠心分離濃縮器を用いて濃縮した。濃縮物をＳｕｐｅｒｏｓｅ　6サイズ排除クロマトグラフィーカラムに適用し、１００mMＮａＣｌを含有する緩衝液Ａで溶離した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析により純粋であると判定された活性分画をプールし、その後使用するために－８０℃で保存した。

ＰＡ２８

カラム分画（上記参照）を、外生的２０Ｓプロテアソームのｓｕｃ－Ｌｅｕ－Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｔｙｒ－ＡＭＣ加水分解活性を刺激するその能力に関して検定した。活性分画をプールし、１０mMＮａＣｌに希釈した。次にこの物質をさらに、１０～５００mMＮａＣｌの４０カラム容量勾配を用いて1mlＲｅｓｏｕｒｃｅ　Q陰イオン交換カラム上で精製して濃縮した。活性分画をプールし、１０，０００MWCO　Ｃｅｎｔｒｉｃｏｎ遠心分離濃縮器を用いて濃縮した。濃縮物をＳｕｐｅｄｅｘ　２００サイズ排除クロマトグラフィーカラムに適用し、１００mMＮａＣｌを含有する緩衝液Ａで溶離した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析により純粋であると判定された活性分画をプールし、その後使用するために－８０℃で保存した。

実施例１２

プロテアソーム活性のラクタシスチン不活性化

ＤＭＳＯ中の検定緩衝液（２０mMＨＥＰＥＳ、０．５mMＥＤＴＡ、pH８．０）およびＳｕｃ－Ｌｅｕ－Ｌｅｕ－Ｖａｌ－Ｔｙｒ－ＡＭＣ　2mlを3mlの蛍光キュベットに加え、キュベットを日立Ｆ－２０００蛍光分光光度計の被覆細胞ホルダーに入れた。循環水浴により、温度を３７℃に維持した。０．３４μｇのプロテアソームおよび３．５μgのＰＡ２８を加えて、遊離ＡＭＣの産生を伴う４４０nm（λｅｘ＝３８０nm）での蛍光の増大により反応進行をモニタリングした。進行曲線は、２０Ｓ－ＰＡ２８複合体の緩徐生成に起因する１～２分持続する遅滞期を示した。基質加水分解の定常状態に達した後、ラクタシスチンを加えて最終濃度を１μMとし、反応を１時間モニタリングした。蛍光（Ｆ）対時間（ｔ）データを、ＬＡＢ　ＣＡＬＣ（Ｇａｌａｃｔｉｃ）ソフトウエアを用いてマイクロコンピューターで収集した。データを一次式：

$F = A(1 - e^{-kt}) + C$

（式中、$C = F_{t=0}$および$A = F_{t=\infty} - F_{t=0}$）に当てはめる非線状最小自乗法により$k_{inact}$値を概算した。ラクタシスチン加水分解およびプロテアソーム不活性化のメカニズムの複雑な動態により、プロテアソーム不活性化の動態も複雑で、この事実は曲線適合を反映している。上記の等式にデータを適合させることにより生成された「最良適合」曲線からの測定進行曲線の小さな系統的偏差が認められた。k_{inact}の概算は、この簡単な動力学的モデルを用いて得られた。

実施例１３

Ｃ２Ｃ１２細胞におけるタンパク質分解の阻害

Ｃ２Ｃ１２細胞（マウス筋芽細胞株）を^{35}Ｓ－メチオニンで４８時間標識した。次に、2mM非標識化メチオニンを補充した同一培地中で、細胞を洗浄し、２時間予備インキュベートした。培地を除去し、５０％血清と試験すべき化合物の濃縮物を含有する予備インキュ

ベーション培地の新鮮アリコートと取り換えた。次に、培地を取り出して１０％ＴＣＡとし、遠心分離した。ＴＣＡ可溶性放射能を計数した。タンパク質分解の阻害をＴＣＡ可溶性放射能の％低減として算出した。このデータから、各化合物に関するＩＣ50を算出した。化合物を定性的に＋＋、＋および０に分類したが、この場合、＋＋は＋より良好な活性を示し、０は、不溶性、不安定性またはその他の理由によりほとんどまたは全く活性がないことを示す。たとえば、ラクタシスチン群化合物Ｉ－１、Ｉ－２およびＩ－３は＋＋群に、化合物Ｉ－４は＋群に入る。Ｐシリーズのラクトン様化合物に関しては、Ｐ－１～Ｐ－４は＋＋群で、化合物Ｐ－５およびＰ－６は＋群に、化合物Ｐ－７は０群に分けられる。

実施例１４

化合物Ｉ－１の合成

（３Ｒ，４Ｓ，５Ｒ，１’Ｓ）－４－ヒドロキシ－５－（１’－ヒドロキシ－２’－メチルプロピル）－３－メチルピロリジン－２－オン－５－カルボン酸（１０．０mg、４３．２mmol；Corey, E. J. ；Reichard, G. A., J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 10677に記載された経路で生成）を無水ジクロロメタン０．４mlに溶解し、次いでトリエチルアミン（１８．０ml、０．１３mmol、３．０当量）、ビス（２－オキソ－３－オキサゾリジニル）－ホスフィンクロリド（５１．１mmol、１．２当量）１３．０mgおよびベンジルメルカプタン（８．０ml、６８．１mmol、１．５８当量）で順に処理した。溶液を室温で５時間攪拌し、次いでジクロロメタンで希釈し、水で洗浄した。水性層を酢酸エチルで抽出し、有機層を併合して、硫酸マグネシウム上で乾燥した。濾過後、溶媒を除去して粗製固体を生成し、これを１９：１ヘキサン／酢酸エチルで粉砕して、濾過により収集した。生成した白色固体を次に最小量のアセトニトリル中に溶解し、透明溶液を水で希釈後、凍結させて、一夜凍結乾燥した。所望のチオエステルＩ－１　８．０mg（５５％）を綿毛状白色固体として得た。^{1}H NMR（DMSO-d_6, 300MHz）d 8.34（s, 1H, NH）, 7.19-7.28（m, 5H）, 5.40（d, 1H, ^{3}J=6.4Hz, OH）, 5.11（d, 1H, ^{3}J=7.4Hz, OH）, 4.39（t, ^{3}J=6.4Hz）, 4.04（s, 2H）, 3.76（t, 1H, ^{3}J=7.4Hz）, 2.62（m, 1H）, 1.55（m, 1H）, 0.90（d, 3H, ^{3}J=7.5Hz）, 0.85（d, 3H, ^{3}J=6.6Hz）, 0.66（d, 3H, ^{3}J=6.8Hz）.

実施例１５

化合物Ｉ－２の合成

水　１１mlに溶解したグルタチオン（３６０mg、１．１７mmol）の溶液に、水に溶解した１．００４　Ｎ水酸化ナトリウム１．３５mlを加えた。次にこの溶液を新たに調製したアセトニトリル１０ml中のクラスト－ラクタシスチン－ｂ－ラクトン（４９．０mg、０．２３mmol；Corey, E. J. ；Reichard, G. A., J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 10677に記載された経路で生成）の溶液に加えた。室温で４時間溶液を攪拌後、１N水性塩酸溶液を徐々に加えてpHを約４に調整した。アセトニトリルを真空除去し、水性相を凍結し、凍結乾燥した。生成した固体を水に再溶解し、濾過して再び凍結乾燥した。生成した白色固体を逆相ＨＰＬＣ〔Ｗａｔｅｒｓ　Ｐｒｅｐ　Ｄｅｌｔａ－Ｐａｋ（登録商標）１９×３００mm　Ｃ１８カラム〕。０．０５％トリフルオロ酢酸／H_2O９８％および０．０５％トリフルオロ酢酸／メタノール２％～０．０５％トリフルオロ酢酸／H_2O８０％および０．０５％トリフルオロ酢酸／メタノール２０％を用いて５ml／分で６５分で溶離〕により精製した。精製分画を凍結乾燥後、グルタチオンチオエステル付加生成物Ｉ－２（４８mg、４０％）を綿毛状白色固体として得た。^{1}H NMR（DMSO-d_6, 300MHz）d 7.73-8.26（m, 4H）, 5.28（bs, 1H, OH）, 5.09（bs, 1H, OH）, 4.44（m, 1H）, 4.37（bd, 1H, 3J=5.9Hz）, 3.74（m, 2H）, 3.23（dd, 1H, J=13.3, 4.6Hz）, 2.95（dd, 1H, J=13.3, 8.8Hz）, 2.62（m, 1H）, 2.29-2.32（m, 2H）, 1.98-2.08（m, 2H）, 1.51-1.63（m, 1H）, 0.92（d, 3H, ^{3}J=7.5Hz）, 0.86（d, 3H, ^{3}J=6.6Hz）, 0.71（d, 3H, ^{3}J=6.7Hz）.

実施例１６

化合物Ｉ－４の合成

（３Ｒ，４Ｓ，５Ｒ，１’Ｓ）－４－ヒドロキシ－５－（１’－ヒドロキシ－２’－メチルプロピル）－３－メチルピロリジン－２－オン－５－カルボン酸（２０．０mg、８６．

５mmol；Corey, E. J. ；Reichard, G. A., J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 10677に記載された経路で生成）をアセトニトリル１．０mlに溶解し、次いで１，８－ジアザビシクロ〔５．４．０〕ウンデク－７－エン（１４．０ml、９３．６mmol、１．０８当量）で、その後臭化ベンジル（１２．０ml、１０１mmol、１．１７当量）で、０℃で処理した。混合物を室温で一夜攪拌し、次いで酢酸エチルと水の間に分配した。水性相を酢酸エチルで３回抽出し、有機層を併合して、硫酸マグネシウム上で乾燥した。濾過後、溶媒を除去して粗製固体を生成し、これをヘキサンで粉砕して、濾過により収集した。生成した白色固体を次に最小量のアセトニトリル中に溶解し、透明溶液を水で希釈後、凍結させて、一夜凍結乾燥した。所望のチオエステルＩ－４　６．７mg（２４％）を綿毛状白色固体として得た。^{1}H NMR（DMSO-d_6, 300MHz）d 8.02（s, 1H, NH）, 7.31-7.44（m, 5H）, 5.45（d, 1H, ^{3}J=6.4Hz, OH）, 5.11（d, 1H, 2J=12.5Hz）, 5.03（d, 1H, 3J=7.2Hz, OH）, 5.00（d, 1H, 2J=12.5Hz）, 4.31（t, 3J=6.4Hz）, 3.76（t, 1H, ^{3}J=7.2Hz）, 2.68（m, 1H）, 1.52（m, 1H）, 0.89（d, 3H, 3J=7.4Hz）, 0.85（d, 3H, 3J=6.6Hz）, 0.67（d, 3H, 3J=6.7Hz）.

実施例１７

化合物Ｐ－２の合成

（３Ｓ，７ａＲ）－３－フェニル－５，６，７，７ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ピロロ－〔１，２－ｃ〕オキサゾール－５－オンを公知の方法（Thottathil, J. K. et al., J. Org. Chem. 1986, 51, 3140）によりＤ－ピログルタミン酸から３工程で調製し、Hamada等（J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 1524）が報告した方法により２工程（セレニル化および酸化的除去）で（３Ｓ，７ａＲ）－３－フェニル－１Ｈ－ピロロ－〔１，２－ｃ〕オキサゾール－５－オンに変換した。次に（３Ｓ，７ａＲ）－３－フェニル－１Ｈ－ピロロ－〔１，２－ｃ〕オキサゾール－５－オンを、Uno等（J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 2139）が報告したのと同様の方法により６工程で、（３Ｓ，７Ｓ，７ａＳ，１’Ｓ）－７ａ－（１’－アセトキシ－２’－メチルプロピル）－７－ヒドロキシ－３－フェニル－５，６，７，７ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ピロロ－〔１，２－ｃ〕オキサゾール－５－オンに変換した。（３Ｓ，７Ｓ，７ａＳ，１’Ｓ）－７ａ－（１’－アセトキシ－２’－メチルプロピル）－７－ヒドロキシ－３－フェニル－５，６，７，７ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ピロロ－〔１，２－ｃ〕オキサゾール－５－オン（７０mg、０．２１mmol）をピリジン１．０mlに溶解し、無水酢酸（０．３４mmol、１．６当量）３２．０mlで室温で処理した。混合物を室温で一夜攪拌し、溶媒を真空除去して、所望の（３Ｓ，７Ｓ，７ａＳ，１’Ｓ）－７ａ－（１’－アセトキシ－２’－メチルプロピル）－７－アセトキシ－３－フェニル－５，６，７，７ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ピロロ－〔１，２－ｃ〕オキサゾール－５－オン　７７mg（９７％）を黄色油として得て、これをこのまま次の工程に用いた。

粗製（３Ｓ，７Ｓ，７ａＳ，１’Ｓ）－７ａ－（１’－アセトキシ－２’－メチルプロピル）－７－アセトキシ－３－フェニル－５，６，７，７ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ピロロ－〔１，２－ｃ〕オキサゾール－５－オン（７５mg、０．２０mmol）をメタノール５mlに溶解し、炭素上の２０％水酸化パラジウム５０mgの存在下で１大気圧の水素下に置いた。ＴＬＣ分析（１：１ヘキサン／酢酸エチル）は、反応が完了したことを示したので、混合物を濾過し、真空濃縮して、所望の第一アルコール　５５mg（９７％）を得た。これを精製せずに、Uno等（J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 2139）が報告したのと同様の方法で２工程手順（ジョーンズ酸化、鹸化）で（４Ｓ，５Ｒ，１’Ｓ）－４－ヒドロキシ－５－（１’－ヒドロキシ－２’－メチルプロピル）－ピロリジン－２－オン－５－カルボン酸に変換した。

（４Ｓ，５Ｒ，１’Ｓ）－４－ヒドロキシ－５－（１’－ヒドロキシ－２’－メチルプロピル）－ピロリジン－２－オン－５－カルボン酸（７．０ｍｇ、３２mmol）を１：１アセトニトリル／テトラヒドロフラン２．０ml中に溶解し、次いで室温で、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－１－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルオロボレート（１１．０mg、３４mmol、１．１当量）で、その後トリエチルアミン（０．３６mmol、１１当量）で処理した。混合物を室温で３０分攪拌し、真空濃縮した。フラッシュ

クロマトグラフィー（２３０～４００メッシュ　SiO_2、酢酸エチルで溶離）により、最終的に純粋ラクトンＰ－２を３mg（４７％）、白色固体として得た。H NMR（DMSO-d_6, 300MHz）d 8.95（bs, lH, NH）, 5.64（d, lH, 3J=6.7Hz, OH）, 5.26（d, 1H, 3J=6.0Hz, OH）, 3.78（dd, 1H, 3J=6.7, 3.5Hz）, 2.81（dd, 1H, 3J=19.2Hz, JJ=6.0Hz）, 2.60（d, 1H, 2J=19.2Hz）, 1.74（m, lH）, 0.90（d, 3H, 3J=6.9Hz）, 0.68（d, 3H, ^{3}J=6.8Hz）.

実施例１８

化合物Ｐ－３の合成

クラストーラクタシスチンーβーラクトン（５．０mg、２３．４mmol；Corey, E. J. ；Reichard, G. A., J. Am. Chem. Soc. 1992, l14, 10677に記載された経路で生成）をピリジン　１．５ml中に溶解し、室温で無水酢酸（４０ml、０．４２mmol、１８当量）で処理した。溶液を室温で一夜攪拌後、トルエン２mlを用いてピリジンを真空除去し、淡褐色固体を得た。固体を３部のヘキサンで洗浄後、濾過して、純粋酢酸塩Ｐ－３を白色固体として５．５mg（９３％）得た。^{1}H NMR（DMSO-d_6, 300MHz）d 9.ll（bs, 1H, NH）, 5.33（d, 1H, ^{3}J=6.lHz）, 5.21（d, 1H, ^{3}J=5.0Hz）,2.84（m, 1H）, 2.06（s, 3H）, 1.90（m, 1H）, 1.08（d, 3H, ^{3}J=7.5Hz）, 0.87（d, 3H, ^{3}J=6.9Hz）, 0.78（d, 3H, ^{3}J=6.8Hz）.

実施例１９

化合物Ｐ－４の合成

（３Ｓ, ７ａＲ）－３－フェニル－５, ６, ７, ７ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ピロロ－〔１, ２－ｃ〕オキサゾール－５－オンを公知の方法（Thottathil, J. K. et aI., J. Org. Chem. 1986, 51, 3140）によりＤ－ピログルタミン酸から３工程で調製し、Hamada等（J. Am. Chem. soc. 1989, 111, 1524）が報告した方法により２工程（セレニル化、および酸化的除去）で（３Ｓ, ７ａＲ）－３－フェニル－１Ｈ－ピロロ－〔１, ２－ｃ〕オキサゾール－５－オンに変換した。次に（３Ｓ, ７ａＲ）－３－フェニル－１Ｈ－ピロロ－〔１, ２－ｃ〕オキサゾール－５－オンを、Uno等（J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 2139）が報告したのと同様の方法により４工程で、（３Ｓ, ６Ｒ, ７Ｓ, ７ａＳ, １’Ｓ）－７ａ－（１’－アセトキシ－２’－メチルプロピル）－６－ヒドロキシ－７－ヒドロキシ－３－フェニル－５, ６, ７, ７ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ピロロ－〔１, ２－ｃ〕オキサゾール－５－オンに変換した。

（３Ｓ, ６Ｒ, ７Ｓ, ７ａＳ, １’Ｓ）－７ａ－（１’－アセトキシ－２’－メチルプロピル）－６－ヒドロキシ－７－ヒドロキシ－３－フェニル－５, ６, ７, ７ａ－テトラヒドロ－１Ｈ－ピロロ－〔１, ２－ｃ〕オキサゾール－５－オンを次に、Ｐ－２の場合と同様の方法で、４工程（アセチル化、水素化分解、酸化および鹸化）で、（３Ｒ, ４Ｓ, ５Ｒ, １’Ｓ）－４－ヒドロキシ－５－（１’－ヒドロキシ－２’－メチルプロピル）－３－ヒドロキシピロリジン－２－オン－５－カルボン酸に変換した。

（３Ｒ, ４Ｓ, ５Ｒ, １’Ｓ）－４－ヒドロキシ－５－（１’－ヒドロキシ－２’－メチルプロピル）－３－ヒドロキシピロリジン－２－オン－５－カルボン酸（２０mg、８６mmol）を、Ｐ－２の場合と同様の方法で、対応するβ－ラクトンに変換した。これにより、純粋ラクトンＰ－４を３mg（１６％）、白色固体として得た。H NMR（DMSO-d6, 300MHz）d 8.96（s, 1H, NH）, 6.08（bs, 1H, OH）, 5.63（d, 1H, ^{3}J=6.6Hz, OH）, 5.12（d, 1H, ^{3}J=5.7Hz）, 4.31（d, 1H, ^{3}J=5.7Hz）, 3.72（bt, 1H）, 1.70（m, 1H）, 0.88（d, 3H, ^{3}J=6.9Hz）, 0.72（d, 3H, ^{3}J=6.8Hz）.

実施例２０

化合物Ｐ－６の合成

クラストーラクタシスチンーβーラクトン（１１．８mg、５５．３mmol；Corey, E. J. ；Reichard, G. A., J. Am. Chem. Soc. 1992, 114, 10677に記載された経路で生成）を新たに蒸留したピリジン　０．４ml中に溶解し、室温でメタンスルホニルクロリド（６．０ml、７７．５mmol、１．４当量）で処理した。溶液を室温で２時間攪拌し、さらにメタンスルホニルクロリド（１０．０ml、１２９mmol、２．３当量）で処理し、室温で一夜攪

拌した。次いで暗色溶液を３×２mlのトルエンを用いて真空濃縮して、黄色固体を得た。フラッシュクロマトグラフィー（２３０～４００メッシュ　SiO_2、１：１ヘキサン／酢酸エチルで溶離）により、最終的に純粋メシレートＰ－６を１２．６mg（７８％）、綿毛状白色固体として得た。^{1}H NMR（$CDCl_3$, 300MHz）d 6.28（bs, 1H, NH）, 5.27（d, lH, ^{3}J=6.lHz）, 5.06（d, 1H, ^{3}J=4.0Hz）, 3.ll（s, 3H）, 2.80-2.89（m, 1H）, 2.24-2.34（m, 1H）, 1.33（d, 3H, ^{3}J=7.5Hz）, 1.14（d, 3H, ^{3}J=7.0Hz）, 1.05（d, 3H, ^{3}J=6.8Hz）.

その他の実施態様

上記の説明から、当業者は本発明の本質的特性を容易に確認し得る。本発明の精神および範囲を逸脱しない限り、本発明を種々の用途および条件に適用するための変更および修正が可能である。したがって、その他の実施態様も請求の範囲内である。

配列表

（１）全体的情報：
（ｉ）出願者：ハーバード大学の学長および評議員
（ii）発明の名称：
（iii）配列の数：１７
（iv）連絡先：
（Ａ）名宛人：Fish & Richardson P.C.
（Ｂ）街路：225 Franklin Street
（Ｃ）市：Boston
（Ｄ）州：マサチューセッツ
（Ｅ）国：米国
（Ｆ）ＺＩＰ：02110-2804
（ｖ）コンピュータ可読形態：
（Ａ）媒体の型式：フロッピーディスク
（Ｂ）コンピュータ：ＩＢＭ　ＰＣ互換型
（Ｃ）オペレーティングシステム：PC-DOS/MS-DOS
（Ｄ）ソフトウエア：PatentIn　リリース＃１．０、バージョン＃１．３０
（vi）最新の出願データ：
（Ａ）出願番号：ＰＣＴ／ＵＳ９６／
（Ｂ）出願日：１９９６年４月１２日
（Ｃ）分類：
（viii）弁理士／代理人の情報：
（Ａ）名称：Freeman,John W.
（Ｂ）登録番号：29,066
（Ｃ）参照／書類番号：00246/197WO1
（ix）遠隔通信情報：
（Ａ）電話：（617）542-5070
（Ｂ）テレファックス：（617）542-8906
（Ｃ）テレックス：200154
（２）配列番号１に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：15アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号１：

Thr Thr Thr Leu Ala Phe Lys Phe Arg His Gly Gly Ile Ile Ala
1 5 10 15

（２）配列番号２に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：15アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号２：

Thr Thr Thr Leu Ala Phe Lys Phe Arg His Gly Val Ile Val Ala
1 5 10 15

（２）配列番号３に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：15アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号３：

Thr Thr Thr Leu Ala Phe Lys Phe Gln His Gly Val Ile Ala Ala
1 5 10 15

（２）配列番号４に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：15アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号４：

Thr Thr Thr Leu Ala Phe Arg Phe Gln Gly Gly Ile Ile Val Ala
1 5 10 15

（２）配列番号５に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：15アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号５：

Thr Thr Thr Val Gly Ile Thr Leu Lys Asp Ala Val Ile Met Ala
1 5 10 15

（２）配列番号６に関する情報：
（１）配列の特性：
（Ａ）長さ：11アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号６：

Asp Ala Tyr Ser Gly Gly Ser Val Ser Leu Tyr
1 5 10

（２）配列番号７に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：14アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号７：

Asp Ala Tyr Ser Gly Gly Ala Val Asn Leu Tyr His Val Arg
1 5 10

（２）配列番号８に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：14アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号８：

Asp Ser Tyr Ser Gly Gly Val Val Asn Met Tyr His Met Lys
1 5 10

（２）配列番号９に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：21アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号９：

Val Ile Glu Ile Asn Pro Tyr Leu Leu Gly Thr Met Ala Gly Gly Ala
1 5 10 15

Ala Asp Cys Ser Phe
20

（２）配列番号１０に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：24アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号１０：

Val Ile Glu Ile Asn Pro Tyr Leu Leu Gly Thr Leu Ala Gly Gly Ala
1 5 10 15

Ala Asp Cys Gln Phe Trp Glu Arg
20

（２）配列番号１１に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：25アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸

（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号１１：

Val Ile Glu Ile Asn Pro Pro Tyr Leu Leu Gly Thr Met Ser Gly Cys
1 5 10 15

Ala Ala Asp Cys Gln Tyr Trp Glu Arg
20 25

（２）配列番号１２に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：16アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号１２：

Gly Tyr Ser Tyr Asp Leu Glu Val Glu Glu Ala Tyr Asp Leu Ala Arg
1 5 10 15

（２）配列番号１３に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：15アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号１３：

Gly Tyr Ser Asp Leu Glu Val Glu Gln Ala Tyr Asp Leu Ala Arg
1 5 10 15

（２）配列番号１４に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：16アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号１４：

Gly Tyr Arg Pro Asn Leu Ser Pro Glu Glu Ala Tyr Asp Leu Gly Arg
1 5 10 5

（２）配列番号１５に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：19アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号１５：

Thr Thr Ile Ala Gly Val Val Tyr Lys Asp Gly Ile Val Leu Gly Ala
1 5 10 15

Asp Thr Arg

（２）配列番号１６に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：19アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号１６：

Xaa Xaa Ile Ala Gly Val Val Tyr Lys Asp Gly Ile Val Leu Gly Ala
1 5 10 15

Asp Thr Arg

（２）配列番号１７に関する情報：
（ｉ）配列の特性：
（Ａ）長さ：9アミノ酸
（Ｂ）型：アミノ酸
（Ｃ）鎖の数：該当なし
（Ｄ）トポロジー：直鎖状
（ii）配列の種類：タンパク質
（xi）配列の記載：配列番号１７：

Thr Thr Ile Ala Gly Val Val Tyr Lys
1 5

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI
Ａ６１Ｐ 17/06	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ 17/06
Ａ６１Ｐ 19/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ 19/00

(72)発明者 スタンダート、ロバート エフ.
アメリカ合衆国 ７７８４０ テキサス州 カレッジ ステイション ユニバーシティー ドライブ イースト １０００ アパートメント ナンバー９０１
(72)発明者 フェンテーニィ、ガブリエル
アメリカ合衆国 ０２１３８ マサチューセッツ州 ケンブリッジ ビー ホールデン グリーン ２０１
(72)発明者 ジェミソン、ティモシー エフ.
アメリカ合衆国 ０２１４０ マサチューセッツ州 ケンブリッジ フロント ストリート ６４ アパートメント ナンバー１

審査官 高原 慎太郎

(56)参考文献 特開平０８－２３１５０１（ＪＰ，Ａ）
Proc.Natl.Acad.Sci.USA，１９９４年，Vol.91，No.8，p.3358-3362
J.Am.Chem.Soc.，１９９４年，Vol.116，No.5，p.2139-2140

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
C07D
A61K
REGISTRY(STN)
CAplus(STN)