

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4936345号
(P4936345)

(45) 発行日 平成24年5月23日 (2012. 5. 23)

(24) 登録日 平成24年3月2日 (2012. 3. 2)

(51) Int. Cl.

F 1

C O 7 D 211/60 (2006. 01)

C O 7 D 211/60

A 6 1 K 31/445 (2006. 01)

A 6 1 K 31/445

A 6 1 K 31/495 (2006. 01)

A 6 1 K 31/495

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00

C O 7 D 401/14 (2006. 01)

C O 7 D 401/14

請求項の数 5 (全 88 頁)

(21) 出願番号 特願平9-531139

(86) (22) 出願日 平成9年2月28日 (1997. 2. 28)

(65) 公表番号 特表2000-505475 (P2000-505475A)

(43) 公表日 平成12年5月9日 (2000. 5. 9)

(86) 国際出願番号 PCT/US1997/003137

(87) 国際公開番号 W01997/031898

(87) 国際公開日 平成9年9月4日 (1997. 9. 4)

審査請求日 平成16年2月26日 (2004. 2. 26)

審判番号 不服2009-24024 (P2009-24024/J1)

審判請求日 平成21年12月4日 (2009. 12. 4)

(31) 優先権主張番号 60/012, 432

(32) 優先日 平成8年2月28日 (1996. 2. 28)

(33) 優先権主張国 米国 (US)

(31) 優先権主張番号 60/024, 861

(32) 優先日 平成8年8月28日 (1996. 8. 28)

(33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 500430383

アリアド・ファーマシューティカルズ・イ
ンコーポレイテッドアメリカ合衆国、マサチューセッツ州O 2
1 3 9、ケンブリッジ、ランズダウン・ス
トリート26

(74) 代理人 100081352

弁理士 広瀬 章一

(72) 発明者 ホルト、デニス・エイ

アメリカ合衆国、マサチューセッツ州O 1
7 7 5、ストウ、ブルックミル・ロード7

(72) 発明者 キーナン、テレンス・ピー

アメリカ合衆国、マサチューセッツ州O 2
1 4 1、ケンブリッジ、スプリング・スト
リート62、アパートメント1エル

最終頁に続く

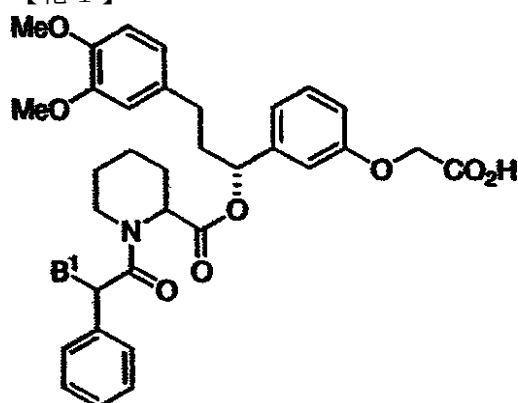
(54) 【発明の名称】 イムノフィリン由来ドメインとのキメラタンパク質用の多量体化剤としてのラパマイシンの合成誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の式で示される化合物：

【化1】

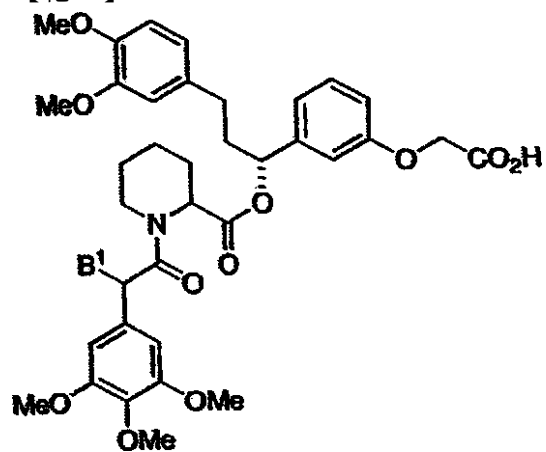


上記式中、 B^1 はH、メチル、エチル、イソプロピル、2-ブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、フェニル、ベンジルまたは $-CH_2OH$ である。

【請求項2】

以下の式で示される化合物：

【化 2】



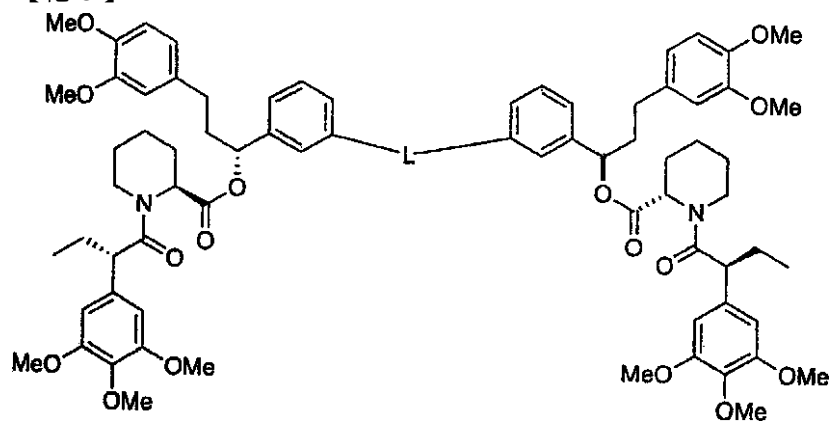
10

上記式中、 B^1 はエチル、 n -プロピル、イソプロピル、アリルまたは $-CH_2-$ シクロプロピルである。

【請求項 3】

以下の式で示される化合物：

【化 3】

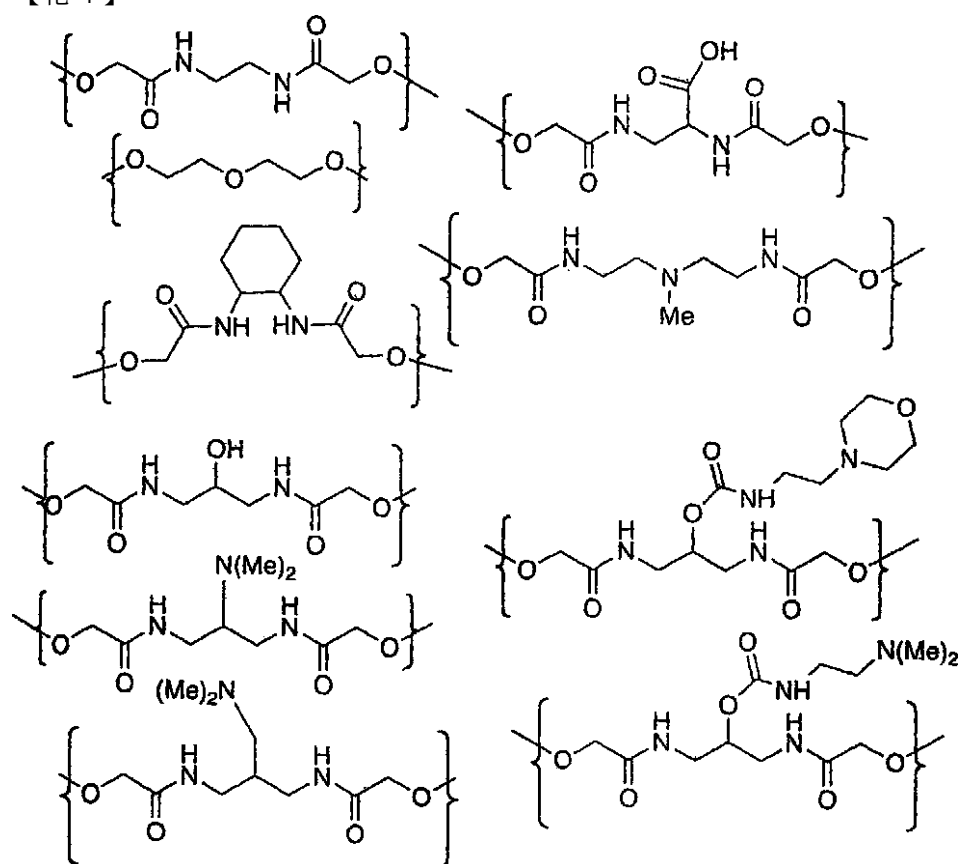


20

上記式中、 L は以下から選択される：

30

【化 4】



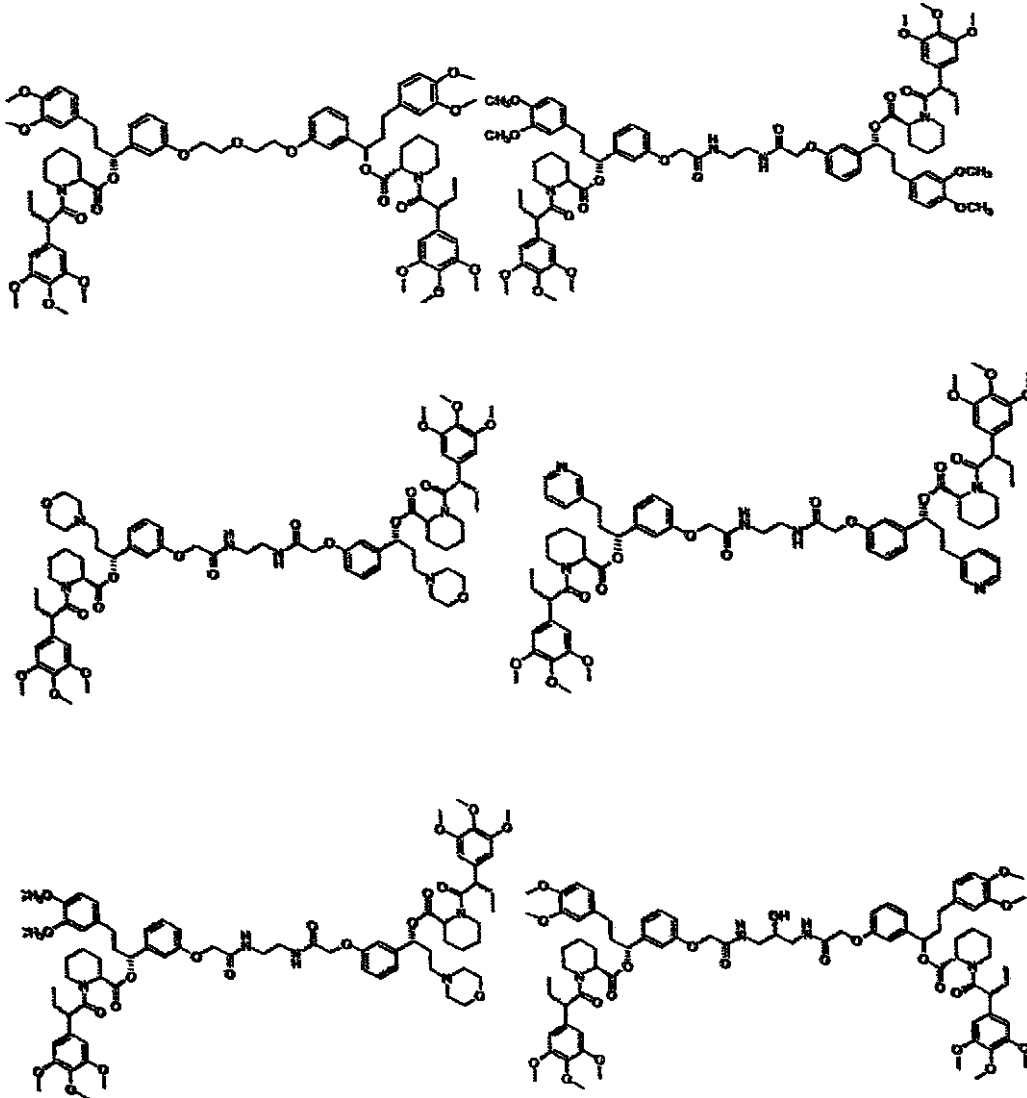
10

20

【請求項 4】

下記から選ばれた化合物。

【化 5】



10

20

30

【請求項 5】

請求の範囲第 1 項～第 4 項のいずれかの項記載の化合物ならびに製薬に許容される担体または賦形剤を含有する薬剤組成物。

【発明の詳細な説明】

イムノフィリンタンパク質のFKBP12が、強力な免疫抑制薬であるFK506の特異的受容体として同定されたことから、過去10年にわたって爆発的な薬剤学的研究が行われてきた。その研究の多くは、臨床的および商業的に意義ある免疫抑制剤になる可能性のある、FKBPに対して高親和性の他のリガンドを発見することを目的としていた。多様な合成FKBPリガンドが製造され評価されたが、結果は芳しくなかった。1990年代の初期に、FK506の作用は、単にFKBPに結合することによるのではなく、FKBPとエフェクタータンパク質のカルシニューリンとの会合を媒介にして、免疫抑制を実際に媒介している三成分複合体を形成することにより起こることが解明された。この知見で、本技術分野で現在知られている多くの高親和性のFKBPリガンドが免疫抑制活性を持たないことが説明された。利用されないままに終わるであろうFKBPリガンドの設計および合成に関する一連の合成知識がこれまでに発展してきた。例えば、米国特許第5,192,773号；第5,330,993号；W092/19593；およびW094/07858を参照。

40

新たな免疫抑制剤の探求とはほとんど無関係になされたものであるが、イムノフィリン系融合タンパク質を含む組換えタンパク質のリガンド媒介多量体化に基づく生物スイッチの設計、製造および使用に関する先駆的研究が報告された。例えば、Spencer et al, 1993, Science 262:1019-1024および国際特許出願PCT/US94/01660およびPCT/US94/08008を参照

50

。Spencerらは、FK506の2分子が合成リンカー部分を介して互いに共有結合したFK506の二量体に基づく、新規種類の生物学的に活性な物質を報告した。得られた二量体（"FK1012"分子）は、イムノフィリン分子に対する高結合親和性で特徴づけられ、FKBPドメインを含む融合タンパク質の会合または複合体化を媒介することができる。しかし、FK1012および関連する半合成多量体化剤は大きく複雑な分子であり、製造するのに不都合を伴うことがある。

イムノフィリン部分を含むキメラタンパク質を多量体化するための新たな方法および材料であって、製造により好都合で、構造をより容易に変更または修飾することができる、より小さく、より単純な多量体化剤を含む方法および材料が求められている。

FK1012型の半合成多量体化剤に代わる完全合成代替物を提供することを目指した、N-オキサリル-ピペコリルおよびN-オキサリル-プロリルリガンド部分に基づく重要な最初の研究が、PCT/US95/10559に開示された。この方向でのさらなる進展、例えば、より好都合に製造されるか、別の薬物動態学的プロファイルを持つか、および／または天然のイムノフィリンタンパク質への結合に比べて遺伝子工学操作されたイムノフィリンドメインに優先的またはより高い親和性で結合する、新規な多量体化剤をはじめとする進展、が非常に望ましいであろう。

発明の説明

本発明は、イムノフィリン由来ドメインを含んでいるキメラタンパク質を多量体化するためのN-アシル-ピペコリルおよびN-アシル-プロリルリガンド部分に基づく新規な材料および方法を提供する。FKBPドメインのようなリガンド結合ドメインと1または2以上のエフェクタードメインとを含有する融合タンパク質の設計および発現が、中でも上掲Spencer et alやSpencer et alに関して上で引用した国際特許出願（それら全ての全内容をここに参照して援用する）に報告されている。この技術を成功裏に適用した報告は他にも多数ある。本質的に、融合タンパク質の設計は、エフェクタードメインを含んでいる融合タンパク質のリガンド媒介「二量体化」または「多量体化」による該ドメインの会合が、所望遺伝子の転写、細胞死、細胞増殖等の所望の生物学的現象を発動させるようになされる。「多量体化」という用語は、本明細書では二量体化以上の多量体化を包含する意味で使用する。このような報告の多くでは、融合タンパク質の少なくとも一方のリガンド結合ドメインがFKBPドメインである。このような系またはその成分の設計、作成および実施に関するこれ以上の情報と案内については、下記文献を参照できよう：Spencer et al, 1993, 上掲；Rivera et al, 1996, Nature Medicine 2, 977-978；Spencer et al, 1996, Current Biology 6, 839-847；Luo et al, Nature, 383, 181-185；Ho et al, 1996, Nature 382, 822-826；Belshaw et al, 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 4604-4607；Spencer et al, 1996, TIG 12 (5), 181-187；Spencer et al, 1995, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 9805-9809；Holsinger et al, 1995, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 9810-9814；Pruschy et al, 1994, Chemistry & Biology 1 (3), 163-172；および公開国際特許出願W094/18317, W095/02684, W096/20951およびW096/41865。

本発明の主な焦点は、FKBPドメインを含有する融合タンパク質を用いた用途におけるこのようなタンパク質-タンパク質相互作用のメディエーターとして有用な新規種類の多量体化剤である。場合によっては、FKBPドメインを遺伝子工学操作して、例えば、36位のフェニルアラニン残基をより小さなR基を持つアミノ酸（例、バリン、アラニン、メチオニン等）で置換する。これらの多量体化剤は、培養により増殖または維持されているか、ヒトおよび他の哺乳類を包含する完全な生体中に存在する、遺伝子工学操作された細胞中の生物学的現象の発動をはじめとする、根底に二量体化を利用した技術の各種用途に使用することができる。従って、本多量体化剤は、in vitro生物学的実験や遺伝子工学操作された細胞を含有させた動物で行われる実験における研究試薬として、ならびに動物およびヒトの健康管理において遺伝子工学操作された細胞を含有させた個体における予防もしくは治療剤として有用であるかもしれない。

多量体化剤

本発明は、一般式 I：

10

20

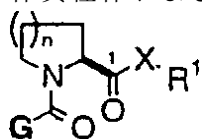
30

40

50

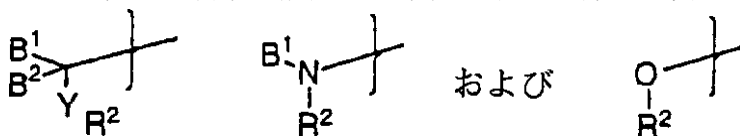
M-L-Q**I**

で示されるイミノフィリン多量体化剤およびその製薬に許容される塩（これらの個々の立体異性体および複数の立体異性体の混合物を包含する）に関する。式中、Mは一般式II：

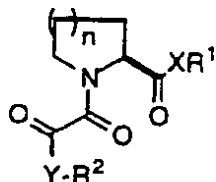
**II**

で示される部分を含むイミノフィリン結合基である。

ここで、Gは以下に規定する下記よりなる群から独立して選択される。



Qは、これも一般式IIで示される部分であるか、またはFK506またはFK520のような天然のFKBPリガンドであるか、または合成FKBPリガンド（例、PCT/US95/10559; Holt, et al., J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938; Holt, et al., Biomed. Chem. Lett., 1993, 4, 315-320; Luengo, et al., Biomed. Chem. Lett., 1993, 4, 321-324; Yamashita, et al., Biomed. Chem. Lett., 1993, 4, 325-328; Spencer et al, 上掲; PCT/US94/1617; PCT/US94/08008に開示されているような）である。EP 0 455 427 A1; EP 0 465 426 A1; US 5,023,263およびW092/00278も参照。PCT/US95/10559により詳しく説明されているように、一般式III：

**III**

（式中、R¹、R²およびnは以下に説明する定義から選択される）で示される合成FKBPリガンドを容易に調製して、これをリンカー部分への共有結合によって多量体化させることができる。

Qが一般式IIで示される部分である本発明の態様にあっては、この多量体化剤は次の一般式で示されることになろう：

M¹-L-M²**IV**

ここで、M¹およびM²は一般式IIで示される部分から独立して選ばれ、従って同一でも異なってもよい。

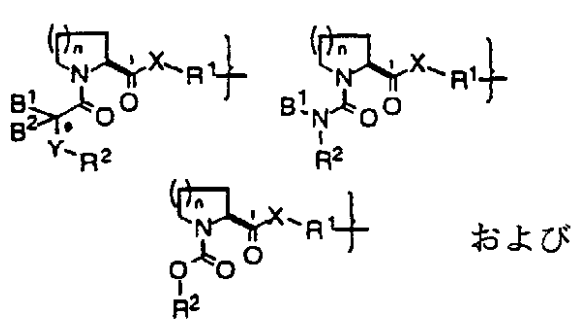
一般式Iで示される多量体化剤は、下記よりなる群から独立して選ばれた部分を、少なくとも1つ、現時点で好ましい態様では2つ（M¹とM²）含んでおり：

10

20

30

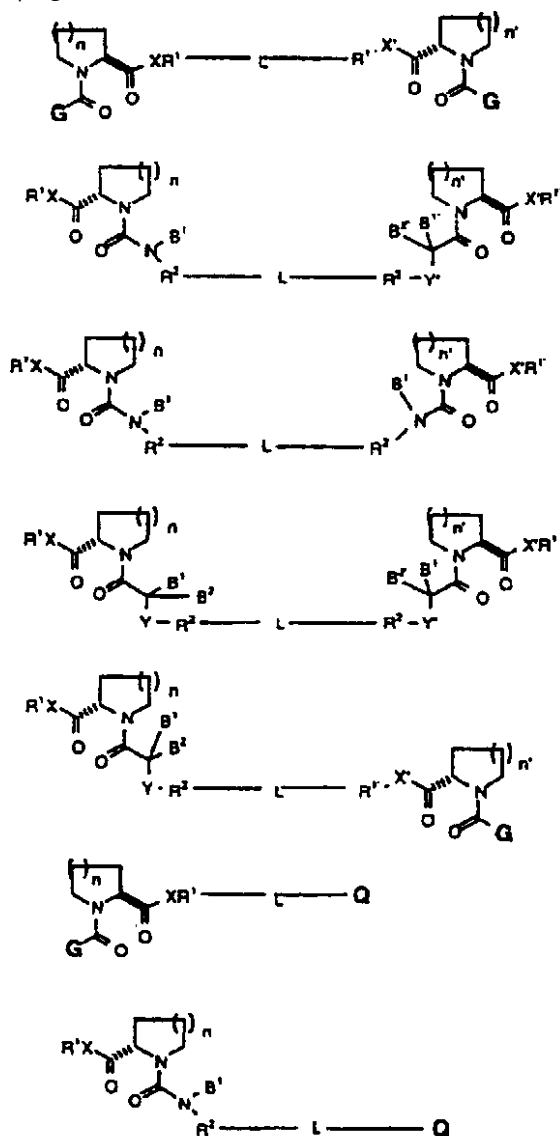
40



および

(V)

そして、この多量体化剤の代表的な種類（網羅したものではない）としては下記が挙げられる：



以上の各一般式において、次の定義が適用される：

$n = 1$ または 2 ；

$X = O$, NH または CH_2 ；

B^1 および B^2 は、独立して、 H 、または炭素数が通常は 1 ないし 12 （任意置換基の炭素数を数えずに）である脂肪族、ヘテロ脂肪族、アリールもしくはヘテロアリール（これらの用語の意味は後で定義）であり；

10

20

30

40

50

Y = O, S, NH, -NH (C=O) -, -NH (C=O) -O-, -NH (SO₂) - もしくは NR³ であるか、または R² から炭素 9 への直接 (即ち、共有) 結合を表し;

R¹、R²、および R³ は、炭素数が通常は 1 ないし 約 36 (任意置換基の炭素数を数えずに) の脂肪族、ヘテロ脂肪族、アリールまたはヘテロアリールであり;

B¹、B² および R² の 2 以上が共有結合して C₃ ~ C₇ 環式またはヘテロ環式部分を形成していてもよく;そして

L は、単量体 M と Q を共有結合するか、または M¹ と M² を R¹ か R² のいずれか (M¹ と M² とで必ずしも同じでなくてよい) への共有結合を介して共有結合する、リンカー部分である。

ここで用いた「脂肪族」なる用語は、飽和と不飽和の両方の直鎖、分岐鎖、環式または多環式脂肪族炭化水素を包含し、これはヒドロキシ、アルコキシ、アシル、カルバモイル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、N-アシルアミノ、ケト、ハロ、トリハロメチル、シアノ、カルボキシル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロ環基およびスルホンアミドよりなる群から選ばれた 1 または 2 以上の官能基で任意に置換されていてもよい (特に明記しなければ、このアルキル、他の脂肪族基、アルコキシおよびアシル基は、好ましくは 1 ~ 8、多くの場合 1 ~ 6 の連続脂肪族炭素原子を含有する)。

「脂肪族」なる用語は、かくして、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、およびシクロアルキニル部分を包含する意味である。

ここで用いた「アルキル」なる用語は、直鎖と分岐鎖の両方のアルキル基を含む。同様の規定が「アルケニル」、「アルキニル」等の他の一般用語にもあてはまる。さらに、ここで用いた「アルキル」、「アルケニル」、「アルキニル」等は、置換と非置換の両方の基を包含する。

「アルキル」なる用語は、炭素数が通常は 1 ~ 8、好ましくは 1 ~ 6 の基を意味する。例えば、「アルキル」は、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、tert-ペンチル、ヘキシル、イソヘキシル等を意味することができる。適当な置換基としては、これらに限られないが、フルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、2-フルオロエチル、3-フルオロプロピル、ヒドロキシメチル、2-ヒドロキシエチル、3-ヒドロキシプロピル等が挙げられる。

「アルケニル」なる用語は、炭素数が通常は 2 ~ 8、好ましくは 2 ~ 6 の基を意味する。例えば、「アルケニル」は、2-プロペニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-メチル-2-プロペニル、2-ヘキセニル、5-ヘキセニル、2,3-ジメチル-2-ブテニル等を意味することができる。「アルキニル」なる用語も、炭素数が通常は 2 ~ 8、好ましくは 2 ~ 6 の基を意味し、例えば、これらに限られないが、2-プロピニル、2-ブチニル、3-ブチニル、2-ペンチニル、3-メチル-4-ペンチニル、2-ヘキシニル、5-ヘキシニル等が挙げられる。

ここで用いた「シクロアルキル」なる用語は、炭素数が 3 ~ 7、好ましくは 3 ~ 6 の基を意味する。適当なシクロアルキル基としては、これらに限られないが、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、シクロヘプチル等が挙げられる。

ここで用いた「ヘテロ脂肪族」なる用語は、炭素原子の代わりに、例えば酸素、硫黄または窒素原子を 1 または 2 以上含有する脂肪族部分を意味する。

ここで用いた「ヘテロ環」なる用語は、好ましくは環原子の合計が 3 ~ 7 の、1 または 2 以上のヘテロ原子を有する環式脂肪族基を意味し、これらに限られないが、オキセタン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラン、アジリジン、アゼチジン、ピロリジン、ピペリジン、モルホリン、ピペラジン等が挙げられる。

ここで用いた「アリール」および「ヘテロアリール」なる用語は、置換されていても非置換でもよい 3 ~ 14 の炭素原子を有する、安定な単環もしくは多環、ヘテロ環、多環、および多ヘテロ環の不飽和部分を意味する。有用なアリール環基の制限的ではない例としては、フェニル、ハロフェニル、アルコキシフェニル、ジアルコキシフェニル、トリアルコキシフェニル、アルキレンジオキシフェニル、ナフチル、フェナントリル、アントリル、フェナントロ等が挙げられる。代表的なヘテロアリール環の例としては、チエニル、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、フリル、イソチアゾリル、フラザニル、イソオキサゾリ

10

20

30

40

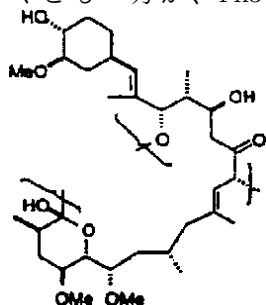
50

ル、チアゾリル等の5員環単環基；ピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、トリアジニル等の6員環単環基；ならびにベンゾ [b] チエニル、ナフト [2,3-b] チエニル、チアントレニル、イソベンゾフラニル、クロメニル、キサントニル、フェノキサチエニル、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、イソキノリル、キノリル、フタラジニル、ナフチリジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、ベンゾチアゾール、ベンゾイミダゾール、テトラヒドロキノリン、シンノリニル、プテリジニル、カルバゾリル、 β -カルボリニル、フェナントリジニル、アクリジニル、ペリミジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、イソチアゾリル、フェノチアジニル、フェノキサジニル等（例、Katritzky, Handbook of Heterocyclic Chemistryを参照）の多環式ヘテロ環基が挙げられる。アリールまたはヘテロアリール部分は、ヒドロキシ、 $C_1 \sim C_8$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_8$ 分岐もしくは直鎖アルキル、アシルオキシ、カルバモイル、アミノ、N-アシルアミノ、ニトロ、ハロ、トリハロメチル、シアノ、およびカルボキシルよりなる群から選ばれた1～5個で置換されていてもよい。

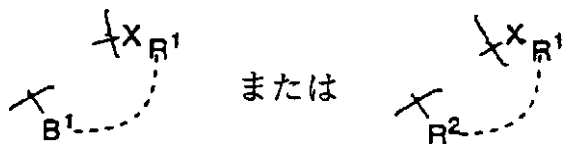
本発明による「ハロ」置換基は、フルオロ、クロロ、ブロモ、またはヨード置換基でよい。

上述したように、 R^1 は、脂肪族、ヘテロ脂肪族、アリールまたはヘテロアリールでよく、炭素数は、任意の置換基を除外して、通常は1ないし約36である。

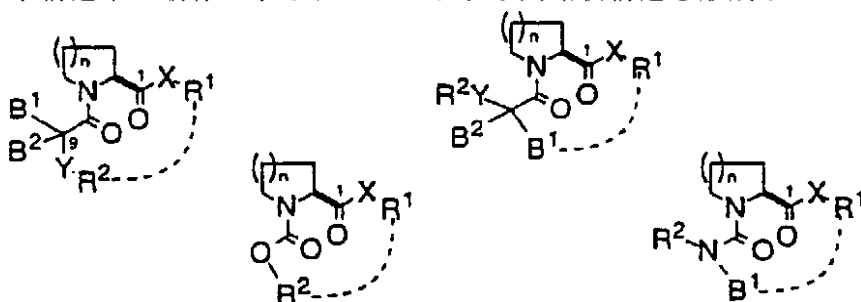
一部の態様では、Mが、または2つのM部分（即ち、 M^1 と M^2 ）が存在する場合はその少なくとも一方が、FK506とFK520のようなその関連天然産物に見られる下記部分：



を含んでいる下記の基：

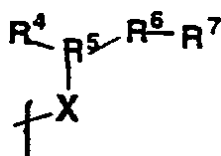


を含有していない限り、 R^1 は任意に R^2 、 B^1 または B^2 に結合、即ち、共有結合して、次の例示構造中に破線で示されているような大環状構造を形成している。



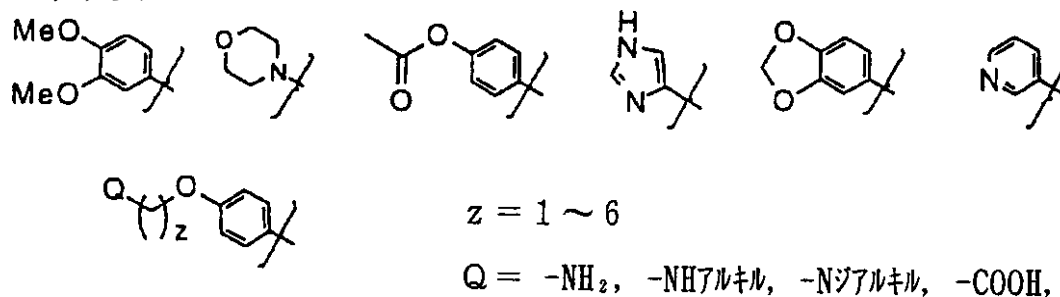
現時点では、非大環状単量体Mが特に興味がある。

ある好適態様では、 $-XR^1$ が次式で示される部分である：



ここで、 R^4 はH、脂肪族、ヘテロ脂肪族、アリールまたはヘテロアリールである。脂肪族部分は分岐、非分岐、環式、飽和もしくは不飽和、置換もしくは非置換でよく、例えば、

メチル、エチル、イソプロピル、*t*-ブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル等を含む。ヘテロ脂肪族部分は、分岐、非分岐または環式でよく、モルホリノ、ピロリジニル等のヘテロ環基を含む。この位置でのフェニル基に対するオルト、メタまたはパラ置換基の例としては次の1または2以上が挙げられる：ハロ（例、クロロもしくはフルオロ）；ヒドロキシル、アミノ、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}$ （脂肪族）、 $-\text{SO}_2\text{N}$ （脂肪族）₂、 $-\text{O}$ -脂肪族- COOH 、 $-\text{O}$ -脂肪族- NH_2 （これは1もしくは2個のN-脂肪族もしくはN-アシル置換基を含んでもよい）、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、アシル、アシルオキシ、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルコキシ（例、メトキシ、エトキシ、メチレンジオキシ、エチレンジオキシ）等。ヘテロアリール基は前述した通りであり、インドリル、ピリジル、ピロリル等を含む。 R^4 部分の具体例としては下記の基が挙げられる：



R^5 は、炭素数1～8の分岐、非分岐または環式脂肪族部分であり、これは任意に置換されていてもよく、例えば、 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}-$ 、 $-\text{CHCH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CHCH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 等を含む。

R^6 は、脂肪族、ヘテロ脂肪族、ヘテロ環、アリールまたはヘテロアリール部分であり、これは置換されていても非置換でもよい。 R^6 に対する典型的な置換基としては、分岐、非分岐または環式の $\text{C}_1\sim\text{C}_8$ 脂肪族またはヘテロ脂肪族基が挙げられ、これには置換または非置換のアルケン、ヘテロ環、フェニル等の不飽和基も含まれる。

R^7 は、Hまたはリンカー部分への共有結合が可能な反応性官能基である。 R^7 は、 $-(\text{CH}_2)_z-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_z-\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_z-\text{CHO}$ 、 $-(\text{CH}_2)_z-\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_z-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_z-\text{H}$ -アルキル、 $-(\text{CH}_2)_z-\text{SH}$ 等でよい。 R^6 がアリールである態様では、 R^7 は o -、 m -または p -位に存在する。 z は0～4の整数である。

上述したように、 B^1 、 B^2 および R^2 は、脂肪族、ヘテロ脂肪族、アリールまたはヘテロアリールでよい。代表的な基としては、分岐、非分岐もしくは環式の、好ましくは炭素数1ないし約12の飽和もしくは不飽和の脂肪族部分（例えば、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、シクロプロピル、 $-\text{CH}_2$ -シクロプロピル、アリル、*n*-ブチル、*sec*-ブチル、イソブチル、*tert*-ブチル、シクロブチル、 $-\text{CH}_2$ -シクロブチル、*n*-ペンチル、*sec*-ペンチル、イソペンチル、*tert*-ペンチル、シクロペンチル、 $-\text{CH}_2$ -シクロペンチル、*n*-ヘキシル、*sec*-ヘキシル、シクロヘキシル、 $-\text{CH}_2$ -シクロヘキシル等が挙げられる）、この脂肪族部分は任意に $-\text{OH}$ 、 $-\text{C}=\text{O}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、アリル、 NH_2 （または置換アミン、アミド、ウレアもしくはカルバメート）、エーテル（またはチオエーテル、いずれの場合も脂肪族もしくは芳香族）、アリール、もしくはヘテロアリール部分で置換されていてもよく、また1もしくは2以上の CH_2 もしくは CH 単位の代わりに任意にヘテロ原子を含んでもよい；あるいは置換もしくは非置換アリール（例、モノ、ジ、およびトリアルコキシフェニル；メチレンジオキシフェニルもしくはエチレンジオキシフェニル；ハロフェニル；もしくは $-\text{フェニル}-\text{C}(\text{Me})_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-[\text{C}_3\sim\text{C}_6]$ アルキルもしくはアルキルアミノ）またはヘテロ芳香族部分が挙げられる。 YR^2 が $-\text{O}$ -フェニルで、 B^1 がHであるこのような態様では、 B^2 は好ましくはシクロペンチルではない。別の態様では、 Y がNHで、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{CH}(\text{B}^1)\text{NHR}^2$ 部分は、とりわけ、D-またはL-形態の天然または合成 α -アミノ酸ならびにそのN-アルキル、N-アシル、N-アリールおよびN-アロイル誘導体を含む。 B^1 、 B^2 および YR^2 基を含むG部分の具体例はさらに、後に示す単量体および二量体の表に例示されているものを含む。Gが $-\text{OR}^2$ である態様では、特に R^4R^5 がフェネチルである場合に、 R^2 は*t*-ブチル以外の基であることが好ましい。

リンカー部分 (L) は、イムノフィリントタンパク質に結合するのに必須の元素を含んでい
る必要はなく、非常に広範囲の構造タイプの中から選ぶことができる。特に興味あるリン
カー部分としては、上述したような脂肪族、ヘテロ脂肪族、アリールまたはヘテロアリール
構造が挙げられ、炭素数は一般に、任意置換基の炭素数を数えないで、2ないし約40で
ある。リンカー部分は、1または2以上のエーテル、チオエーテル、アミン、アミド、ウ
レア、カルバメート、スルホンアミド、チオカルバメート、エステル、チオエステル、ケ
ト、ヒドロキシル、および／またはチオール部分または置換基を含んでいてもよい。リン
カー部分は、単量体M¹およびM²またはQに、エーテル、アミド、ウレア、カルバメートお
よびエステルといった官能基を介して、またはアルキル-アルキル、アルキル-アリール
、もしくはアリール-アリールの炭素-炭素結合を介して、都合よく結合させることがで
きる。多くの実例については、例えば上記国際特許出願を参照。さらに、リンカー部分を
、多量体化剤の物理化学的または薬物動態学的性質の向上のために最適化（例、鎖長およ
び／または置換基の変更により）してもよい。本発明の単量体のいずれにも一般に適用で
きる多くのリンカー部分およびリンカー部分の種類が、ここに開示した多様な例示化合物
中に例証されている。リンカーの例を次のリンカーの表に示す。この表では、-O-CH₂CO-
のような結合部分がリンカーまたは単量体の一部分として示されている場合があることに
留意されたい。

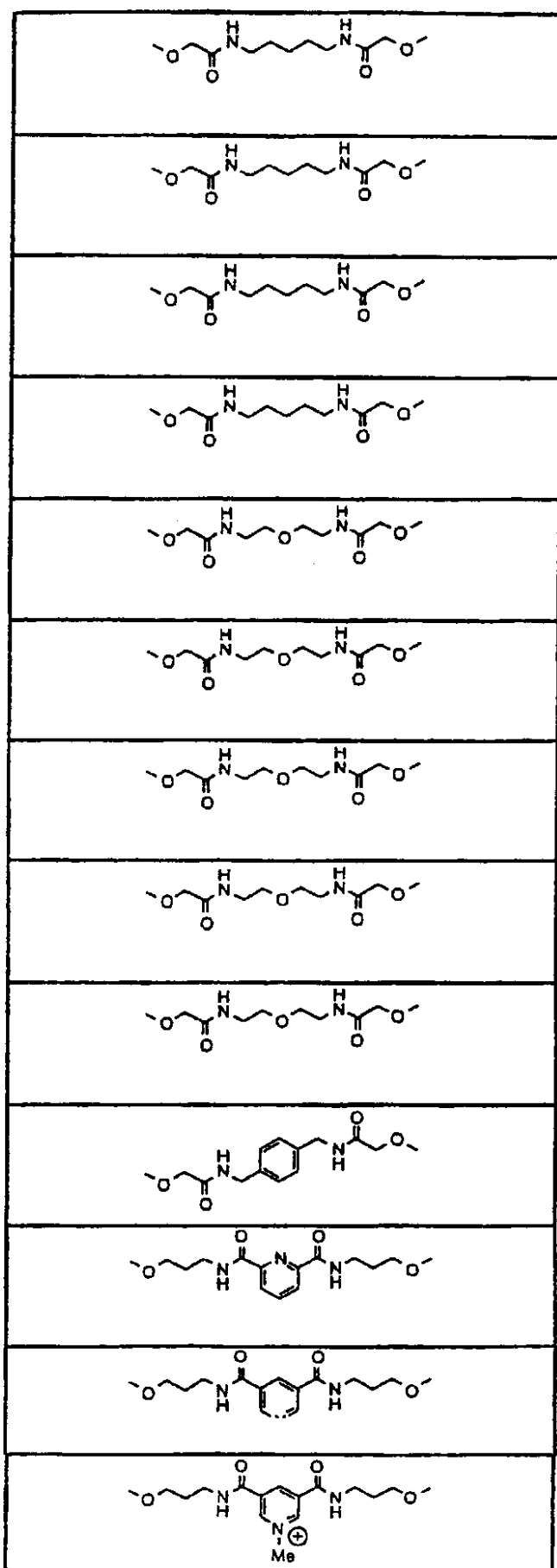
10

20

30

40

50

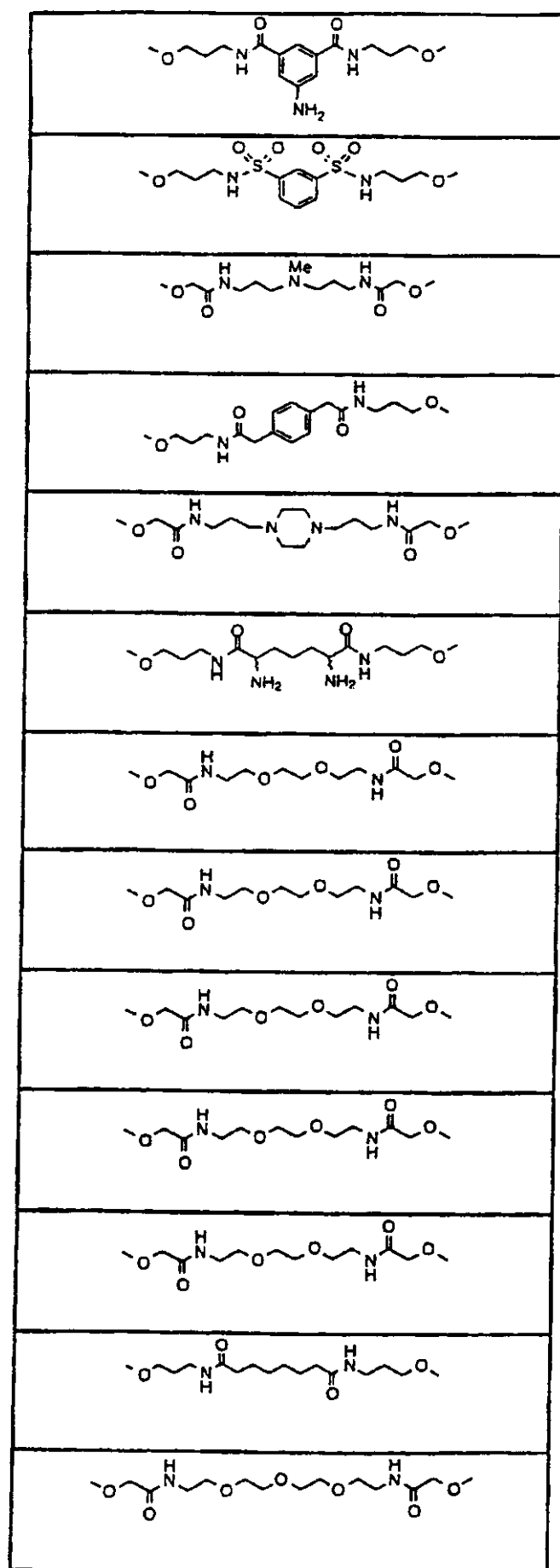


10

20

30

40

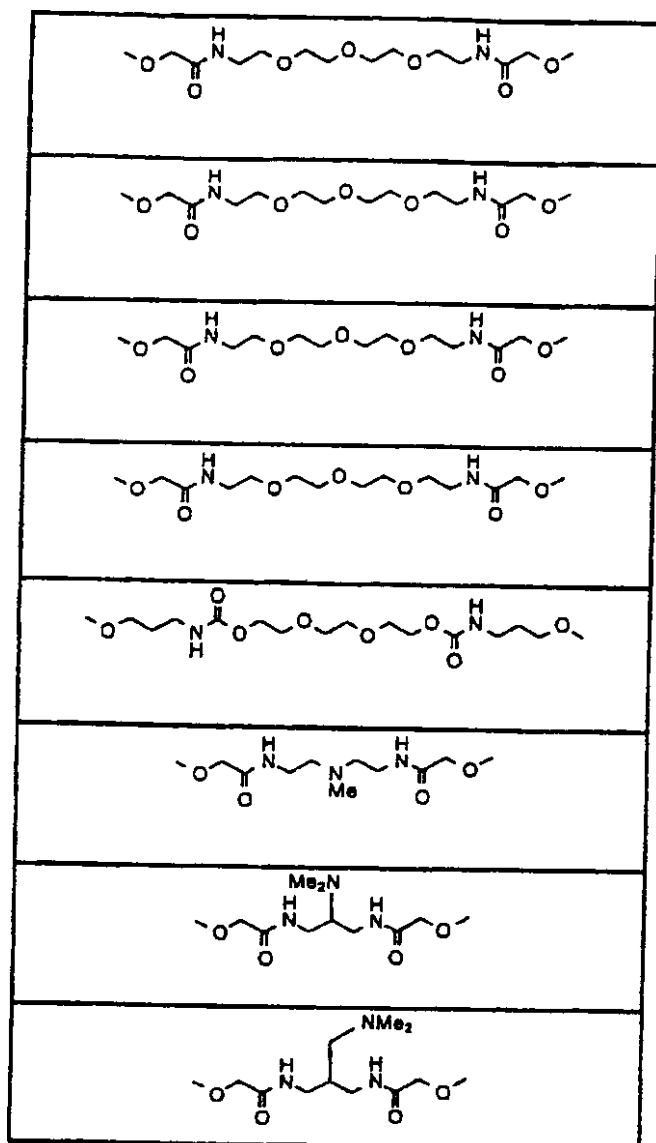


10

20

30

40



10

20

30

本発明の1つの好ましい種類の化合物は、少なくとも1つのM部分を含んでいる一般式Iの化合物であって、nが2である化合物である。

別の好ましい種類の本発明の化合物は、2個の一般式IIで示されるM部分（これらは同じでも異なるものでもよい）を含んでいる、一般式IVで示される化合物である。

別の好ましい種類の本発明の化合物は、少なくとも1つのM部分を含む一般式Iの化合物であって、 B^1 がHであり； B^2 が分岐、非分岐または環式の、好ましくは炭素数1～8、より好ましくは1～6の飽和または不飽和脂肪族部分（例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、シクロプロピル、 $-\text{CH}_2-$ -シクロプロピル、アリル、n-ブチル、sec-ブチル、イソブチル、tert-ブチル、シクロブチル、 $-\text{CH}_2-$ -シクロブチル、n-ペンチル、sec-ペンチル、イソペンチル、tert-ペンチル、シクロペンチル、 $-\text{CH}_2-$ -シクロペンチル、n-ヘキシル、sec-ヘキシル、シクロヘキシル、 $-\text{CH}_2-$ -シクロヘキシル等を含む）であって、この脂肪族部分は任意に、例えば、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{C}=\text{O}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、アリル、 NH_2 （または置換アミン、アミド、ウレアもしくはカルバメート）またはエーテル（またはチオエーテル、いずれの場合も脂肪族もしくは芳香族）で置換されていてもよく、また1または2以上の CH_2 またはCH単位の代わりにヘテロ原子を含んでいてもよく；そして YR^2 がアリールまたはヘテロアリール部分であって、任意に置換されていてもよい〔 YR^2 は例えば、o-, m-もしくはp-アルコキシフェニル；3,5-, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 3,4-もしくは3,5-ジアルコキシフェニル、または例えば、3,4,5-トリアルコキシフェニルのような部分を含み、ここでアルコキシ基はメトキシおよびエトキシ（その1もしくは2以上はヒドロキシもしくはアミノ部分を持っていてもよい）から独立して選ばれる〕ものである。

40

50

本発明の別の好ましい種類の化合物は、少なくとも1つのM部分を含む一般式Iの化合物であって、 B^1 、 B^2 および YR^2 が同一または異なる低級脂肪族部分であるものである。

本発明の別の好ましい種類の化合物は、少なくとも1つのM部分を含む一般式Iの化合物であって、Gが置換アミンであり、 B^1 がHで、 B^2 が低級脂肪族部分である化合物である。

本発明の別の好ましい種類の化合物は、少なくとも1つのM部分を含む一般式Iの化合物であって、Gが任意に置換基を持ってもよい脂環式またはヘテロ環基である化合物である。

本発明の別の好ましい種類の化合物は、少なくとも1つのM部分を含む一般式Iの化合物であって、Xが酸素であり、 R^1 が $R^4R^5R^6R^7$ を含む部分である化合物である。ここで、 R^4 は任意に置換されていてもよい脂肪族、脂環式、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロ

10

環基であり、 R^5 は分岐または非分岐低級脂肪族基であり、 R^6 は任意に置換されていてもよい脂肪族、脂環式、ヘテロ脂肪族、ヘテロ環式、アリールまたはヘテロアリールである。本発明の別の好ましい種類の化合物は、少なくとも1つのM部分を含む一般式Iの化合物であって、 R^1 が、すぐ上の節で説明したような $R^4R^5R^6R^7$ を含み、 YR^2 が置換または非置換のアリールまたはヘテロアリールを含む部分である化合物である。 YR^2 は、フェニル；o-, m-またはp-置換フェニル（置換基はクロロのようなハロ、低級アルキル、またはメトキシもしくはエトキシのようなアルコキシである）；ジ置換フェニル（例、2,4-, 3,4-または3,5-ジメトキシもしくはジエトキシフェニルのような、またはメチレンジオキシフェニルもしくは3-メトキシ-5-エトキシフェニルのようなジアルコキシフェニル）；またはトリ置換フェニル（例、3,4,5-トリメトキシもしくはトリエトキシフェニルのようなトリアルコキシフェニル、3,5-ジメトキシ-4-クロロフェニル等）を含む。

20

既に合成された、本発明の例示として役立つ単量体と二量体の具体例が、次の合成単量体の表と合成多量体化剤の表に示してある。合成単量体の表には、広範囲の合成された化合物が示され、開示した単量体の大部分については、野生型ヒトFKBP12および一連の変異FKBPの両方に対して我々の競合的結合FPアッセイで得られたデータが提示されている。これらのデータは、一般式IIで示される単量体が、多くの場合は3桁か2桁、場合によっては1桁の数値（nM）の IC_{50} で、表示した修飾FKBPタンパク質に結合することを示している。かなりの数の表示化合物が、野生型ヒトFKBP12との結合に比べて、10倍、100倍または1000倍以上良好な IC_{50} 値で修飾FKBPに結合する。最初のいくつかの化合物は、比較のために併記した、一般式IIIで示される単量体であることに留意されたい。

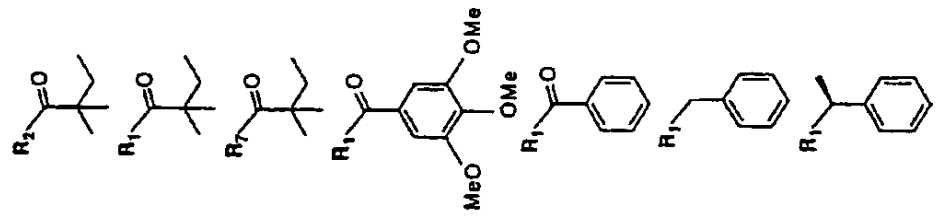
30

合成多量体化剤の表は、多量体化剤の見本を、競合的結合FPアッセイ、転写アッセイ、およびアポトーシスアッセイで得られたデータと一緒に示す。やはり、野生型FKBPドメインに対する変異FKBPドメインの大きな差異が示されている。

合成単量体

["R" 基は後に示す]

	野性型 IC50 (nM)	F36V IC50 (nM)	F36L IC50 (nM)	F36I IC50 (nM)	F36M IC50 (nM)	F36A IC50 (nM)	F36S IC50 (nM)
FK506	2.5 (Kd = 0.23)	12 (Kd = 2.3)	20	19	15	62	193
AP1540	97	50	63	100	73	327	
AP1497	86	44	47	43	47	174	1820
AP3351	83	76	65	66	32	171	
AP1965	326	107	143	105	131	1374	
AP1767	1420	390	375	3916	623	13600	
AP1780	21620	1530	3580	2059	2600	8330	
AP1784	16000	94	92	117	414	171	



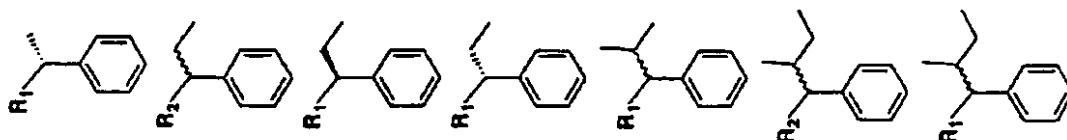
10

20

30

40

	野生型 IC50 (nM)	F36V IC50 (nM)	F36L IC50 (nM)	F36I IC50 (nM)	F36M IC50 (nM)	F36A IC50 (nM)	F36S IC50 (nM)
AP1782	>100000	590	1400	1049	927	1434	
AP1643	>10000	37	124	146	115	150	220
AP1768	57000	40	51	93	123	66	
AP1769	220000	133	238	346	193	460	
AP1781	38600	26	33	36	55	109	
AP1597	>10000	28	58	35	32	55	133
AP1748	9580	13	24	8	16	21	47

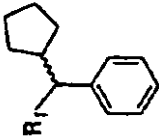
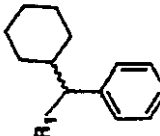
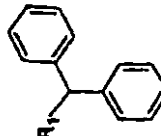
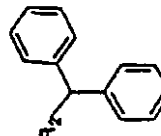
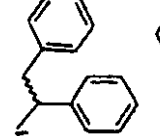
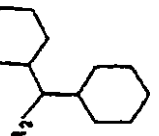


10

20

30

40

	野生型 IC50 (nM)	F36V IC50 (nM)	F36L IC50 (nM)	F36I IC50 (nM)	F36M IC50 (nM)	F36A IC50 (nM)	F36S IC50 (nM)
AP1778 	16000	22	32	41	31	75	
AP1779 	3000	13	16	137	17	23	
AP14245 	73% @100000	273	684	562	173	127	
AP1642 	>>10000	160	381	349	159	144	
AP1831 	>10000	153	217	124	169	447	
AP1644 	>>10000	240	168	366	84	96	

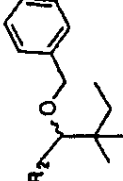
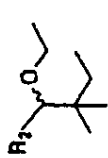
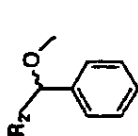
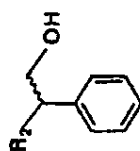
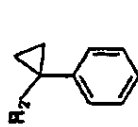
10

20

30

40

	野性型 IC50 (nM)	F36V IC50 (nM)	F36L IC50 (nM)	F36I IC50 (nM)	F36M IC50 (nM)	F36A IC50 (nM)	F36S IC50 (nM)
AP1596	>10000	290	359	643	2080	1142	
AP1645	>10000	750	909	1000	1850	1637	
AP1552	>10000	810	643	1738	790	2352	4380
AP1595	1330	926	1550	1541	14130	>10000	8780
AP1553	>10000	1000	581	996	1008	1165	
AP1554	>10000	302	244	672	306	598	
AP1574	>10000	2100	703	1553	736	1037	
AP1575	>10000	1726	654	5994	630	776	
AP1598	>10000	440	267	975	321	648	

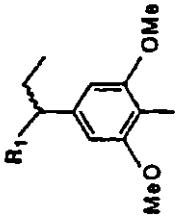
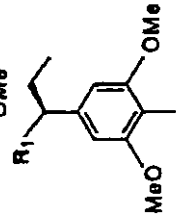
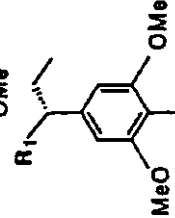
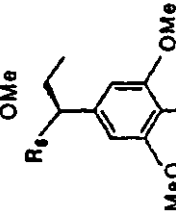
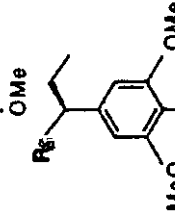


10

20

30

40

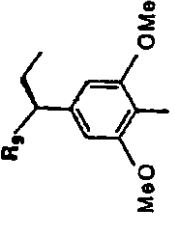
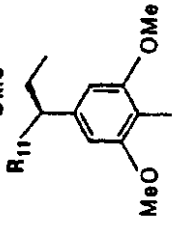
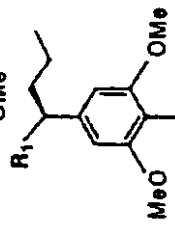
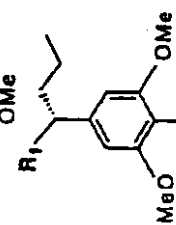
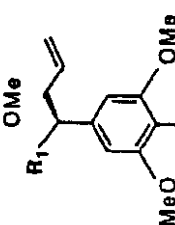
	野性型 IC50 (nM)	F36V IC50 (nM)	F36L IC50 (nM)	F36I IC50 (nM)	F36M IC50 (nM)	F36A IC50 (nM)	F36S IC50 (nM)
AP1785		7	7.3	9.9	29	34	
AP1867		1.8	6.2	5.1	10	18	
AP1904		187	212	163	424	431	
AP14246		16.5	68	32	52	77	
AP14247		103	324	334	256	594	
	4760						
	2930						
	>100000						
	75%@ 100000						
	75%@ 100000						

10

20

30

40

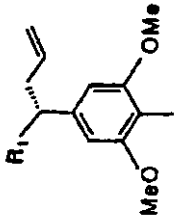
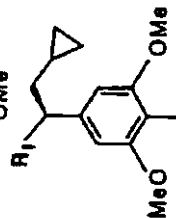
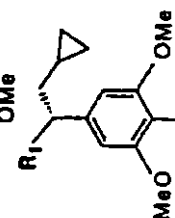
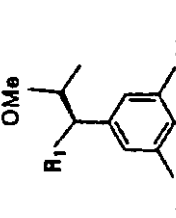
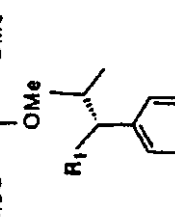
	野生型 IC50 (nM)	F36V IC50 (nM)	F36L IC50 (nM)	F36I IC50 (nM)	F36M IC50 (nM)	F36A IC50 (nM)	F36S IC50 (nM)
AP14252		32	6.7	54	63		
AP14284							
AP14268		5065	3.8	7.2	5.6	3.3	9.2
AP14269		90% @ 10000	43	146	76	73	84
AP14270		3670	1.53	4.7	3	3.7	8.1

10

20

30

40

	野性型 IC50 (nM)	F36V IC50 (nM)	F36L IC50 (nM)	F36I IC50 (nM)	F36M IC50 (nM)	F36A IC50 (nM)	F36S IC50 (nM)
AP14271	90% @ 10000	19	57	24	42	57	
							
AP14885	8440	4.4	14				
							
AP14886	90% @ 10000	126	400				
							
AP1921	4894	5.8	6.1	10	10	16	
							
AP1922	>100000	65	74	106	46	119	
							

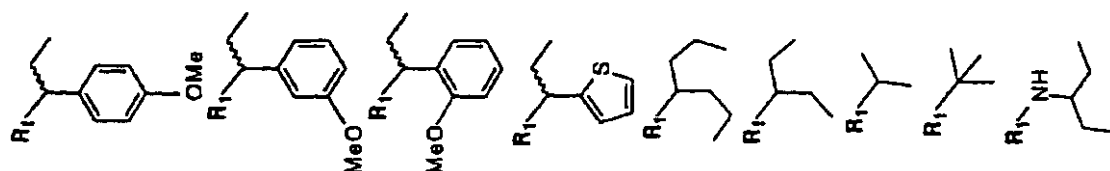
10

20

30

40

	野性型 IC50 (nM)	F36V IC50 (nM)	F36L IC50 (nM)	F36I IC50 (nM)	F36M IC50 (nM)	F36A IC50 (nM)	F36S IC50 (nM)
AP1786	150000	42	69	91	154	130	
AP1830	115106	37	70	44	119	105	
AP1828	45750	93	211	153	425	586	
AP1832	>10000	62	121	135	182	156	
AP1888	>100000	77	269	307	362	207	
AP1833	>100000	102	287	289	770	240	
AP1865	12056	713	1763	1143	2946	2700	
AP1962	13467	390	426	947	2282	2700	
AP1919	13966	64	45	138	66	107	



10

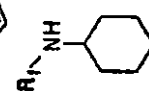
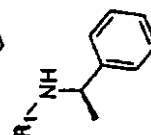
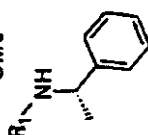
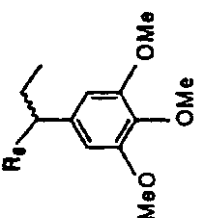
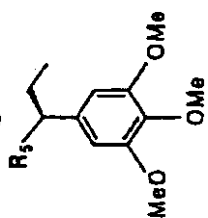
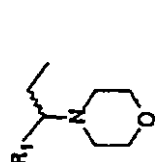
20

30

40

40

	野性型 IC50 (nM)	F36V IC50 (nM)	F36L IC50 (nM)	F36I IC50 (nM)	F36M IC50 (nM)	F36A IC50 (nM)	F36S IC50 (nM)
AP1864	>100000	2724	3790	4490	10000	8800	
AP1972	61800	265	359	351	697	665	
AP1973	80% @ 100000	100	141	139	364	253	
AP1974	73529	450	670	1165	176	94	
AP1975	4200	381	126	368	218	406	
AP1977	2652	169	121	150	166	486	



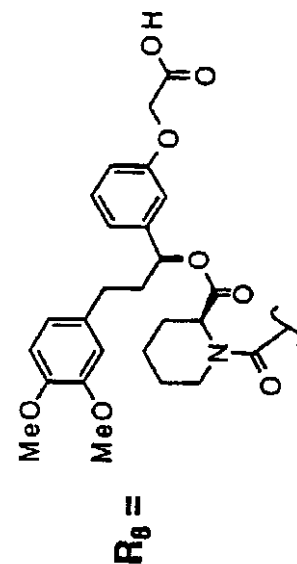
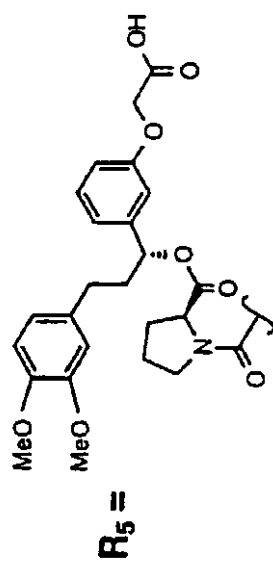
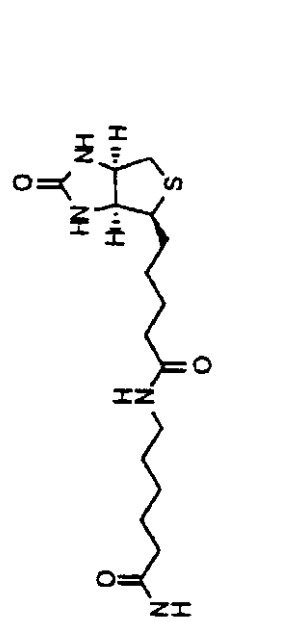
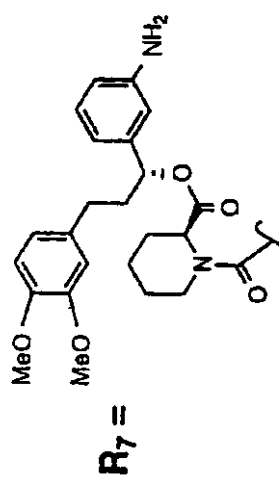
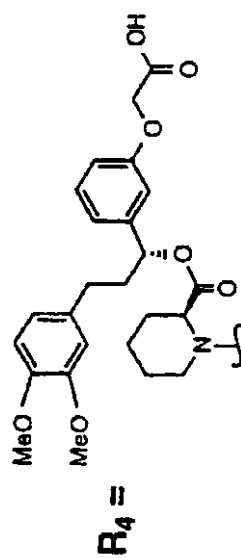
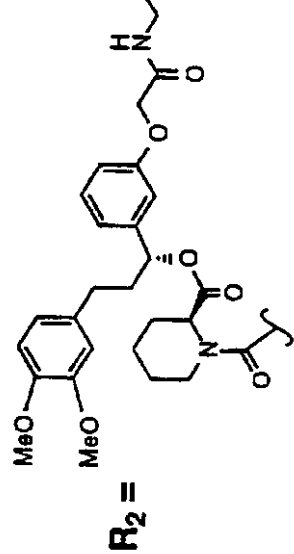
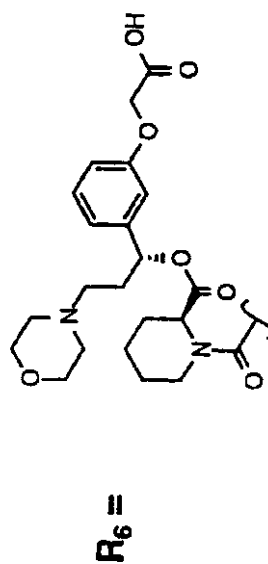
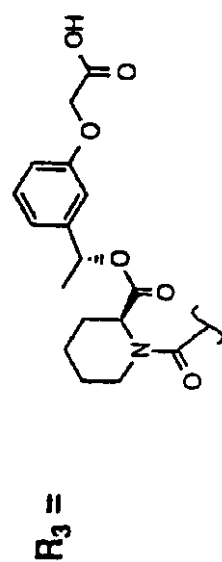
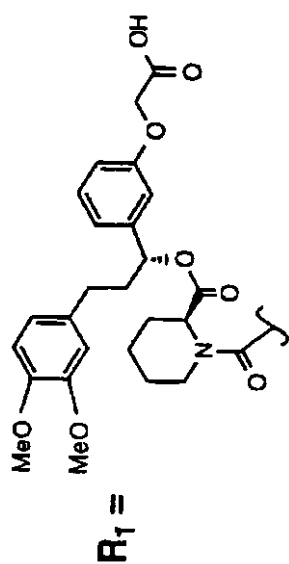
10

20

30

40

本表の目的に対して

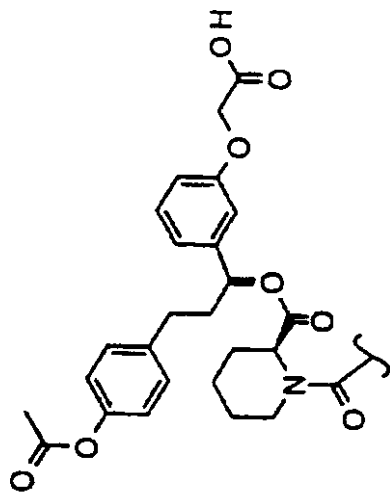
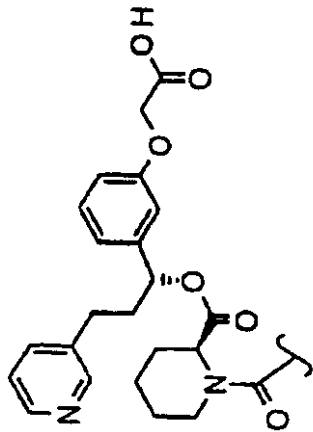


10

20

30

40

 $R_{11} =$  $R_9 =$

全データが同じ実験で行われたFK506 の値に標準化してある。

10

20

30

合成多量体化合物

二量体化合物 (単量体)	単量体 サブユニット	リンカー	FKBP ^{wt} 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP ^{F36V} 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP ^{F36L} 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	転写の 活性化 (wt; 安定) EC ₅₀ , nM ^b (%AP1510) ^c	転写の 活性化 (F36V; 安定) EC ₅₀ , nM ^d (%AP1510) ^c	Fas 死滅 (wt; 安定) EC ₅₀ (nM)	Fas 死滅 (F36V; 安定) EC ₅₀ (nM)
AP1749 (AP1748)			>100000 (15529)	1034 ^a (6.9)	4778 ^a (ND)	0% @ 1000	150 (90%) 60 (90%) 200 (90%)	0% @ 1000	>1000
AP1754 (AP1748)			>100000 (15529)	512 ^a (6.9)	20930 ^a (ND)	0% @ 1000	50 (50%) 60 (50%) 40 (75%) 33 (80%) 40 (ND) 50 (40%)	0% @ 1000	>1000
AP1829 (AP1785)			>10000 (4760)	3.1 (4.8)	15 (ND)	0.3% @ 1000	8 (9%) 5 (7%) 8 (25%) 6 (35%) 3 (ND) 6 (3%)	100 - >1000	0.5 - <10
AP1903 (AP1867)			>10000 (1960)	3.2 (1.8)	13 (6.2)	0.5% @ 1000	6 (3%)	40-50	<1
AP3344 (AP1921)			95% @ 10000 (4894)	7 (5.8)	9.6 (6.1)	3% @ 1000	2 (5%) ^e	200-300	1

10

20

30

40

二量体化剤 (単量体)	単量体 サブユニット	リンカー	FKBP ^{wt} 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP ^{F36V} 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP ^{F36L} 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	転写の 活性化 (wt; 安定) EC ₅₀ , nM ^b (%AP1510) ^c	転写の 活性化 (F36V; 安定) EC ₅₀ , nM ^d (%AP1510) ^c	Fas 死滅 (wt; 安定) EC ₅₀ (nM)	Fas 死滅 (F36V; 安定) EC ₅₀ (nM)
AP14280 (AP14270)			90% @ 10000 (3670)	3.2 (1.53)	14	-	2 (25%)	>10	<1
AP1889 (AP1768)			>10000 (>100000)	10000 ^a (22.2)	70% @ 10000 (ND)	0% @ 1000 1% @ 1000 0% @ 1000	2 (ND) 6 (60%) 15 (150%) ^e 10 (175%) ^e 9 (130%)	0% @ 1000	1
AP1885 (AP1839)			>10000 (16668)	59.4 (5.4)	1091 (ND)	0% @ 1000	5 (85%) 2 (ND) 10 (60%)	0% @ 1000	1-20
AP1891 (AP1833)			>10000 (>100000)	174 (76)	272 (ND)	0% @ 1000	25 (ND) 100 (65%)	0% @ 1000	10-20
AP1966 (AP1919)			88% @ 100000 (13966)	58 (64)	64 (45)	600	10 (200) ^e	100	1 - <2
AP3357 (AP3353)			86% @ 10000 (90% @ 100000)	252 (1755)	254 (1518)	0% @ 1000	500 (3) ^e		

10

20

30

40

二量体化剤 (単量体)	単量体 サブユニット	リンカー	FKBP ^{wt} 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP F36V 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP F36L 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	転写の 活性化 (wt; 安定) EC ₅₀ , nM ^b (%AP1510) ^c	転写の 活性化 (F36V; 安定) EC ₅₀ , nM ^d (%AP1510) ^c	Fas 死滅 (wt; 安定)	Fas 死滅 (F36V; 安定)
								EC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)
置換フェニル/低級脂肪族系列									
AP1903 (AP1867)			>10000 (1960)	3.2 (1.8)	13 (6.2)	0.5% @ 1000 60 (4%)	6 (3%) 3 (7%)	40-50	<1
AP14278			>10000	3.2	8.7	-	20 (35%)	>10	2
AP14279			90% @ 10000	4.3	11	-	8 (15%)	>10	<1
AP17364								-	<1
AP17401								-	4
AP17402			80% @ 10000	3.9	5.6	-	8 (5%)	-	<1

10

20

30

40

二量体化剤 (単量体)	単量体 サブユニット	リンカー	FKBP ^{wt} 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP-F36V 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP-F36L 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	転写の 活性化 (wt; 安定) EC ₅₀ , nM ^b (%AP1510) ^c	転写の 活性化 (F36V; 安定) EC ₅₀ , nM ^d (%AP1510) ^c	Fas 死滅 (wt; 安定) EC ₅₀ (nM)	Fas 死滅 (F36V; 安定) EC ₅₀ (nM)
AP17417									
AP17418									
AP17419									
AP20187									<1
AP14290 (AP14252)								>10	<1
AP14291 (AP14246)			(77% @ 100000)	(16.5)				>10	10

10

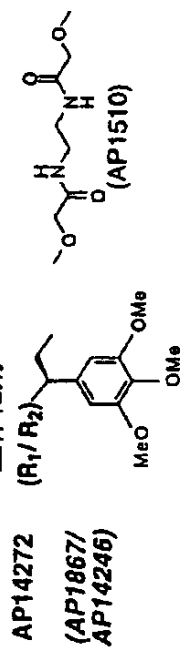
20

30

40

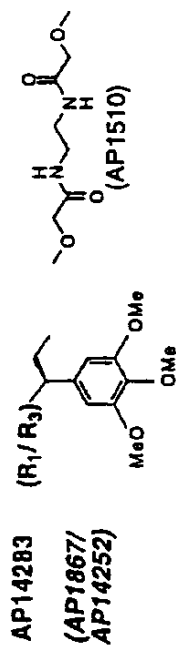
二量体化剤 (単量体)	単量体 サブユニット	リンカー	FKBP ^{wt} 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP F36V 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	FKBP F36L 結合 親和性 IC ₅₀ (nM)	転写の 活性化 (wt; 安定) EC ₅₀ , nM ^b (%AP1510) ^c	転写の 活性化 (F36V; 安定) EC ₅₀ , nM ^d (%AP1510) ^c	Fas 死滅 (wt; 安定)	Fas 死滅 (F36V; 安定)
----------------	---------------	------	--	---	---	--	--	--------------------	----------------------

ヘテロ二量体化剤



200-1000

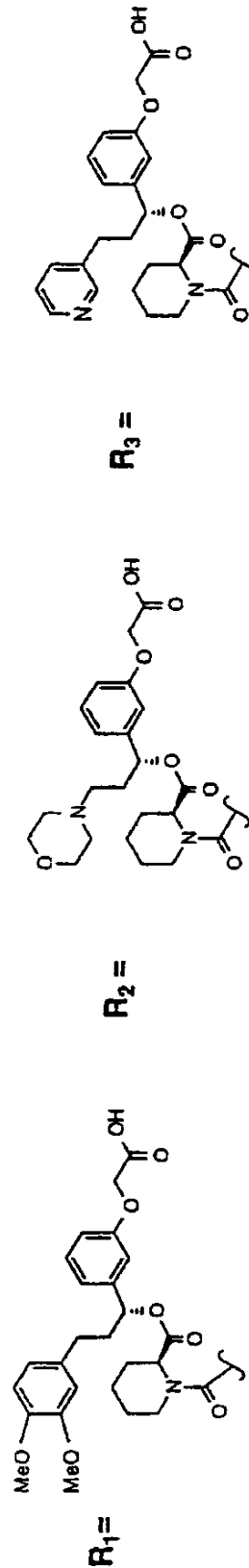
<1



>10

<1

合成 C9-バンプ付き二量体化剤



(この表には単量体のカルボキシレートもリンカーの一部として示されている)

注

結合データ：各値は2回の実験の平均を示す。データはFK506 = 2.5 nMに標準化してある；

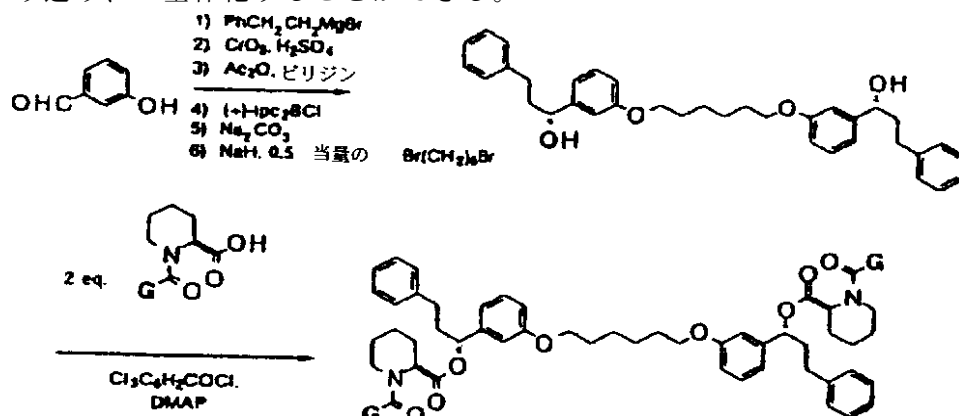
「置換フェニル/低級脂肪族系列」のデータは各タンパク質についてAP1903値に標準化した。

転写データ：各値は個々の実験を示す；Fas シグナリングデータ：平均値を示す。

本発明の化合物は、当業者であれば本技術分野で公知の方法および材料を利用して製造することができる。例えば、N-オキサリル-ピペコリル、N-オキサリル-プロリルおよび関連単量体の合成についての既知方法から方法および材料を適合させればよい。例えば、Holt, et al., J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938; Holt, et al., Biomed. Chem. Lett., 1993, 4, 315-320; Luengo, et al., Biomed. Chem. Lett., 1993, 4, 321-324; Yamashita, et al., Biomed. Chem. Lett., 1993, 4, 325-328; Spencer et al, 上掲; PCT/US94/01617; およびPCT/US94/08008を参照。EP 0 455 427 A1; EP 0 465 426 A1; US 5,023,263およびW092/00278も参照。例示および実施者へのさらなる案内として追加の案内および例をここに供する。この分野の通常の熟練度の化学者は、これらに容易に変更を加える（例、合成中に敏感な部分に適当な保護基を追加した後、必要または望まれなくなった時に保護基を脱離する）ことができ、他の合成手法を決定することも容易にできよう。

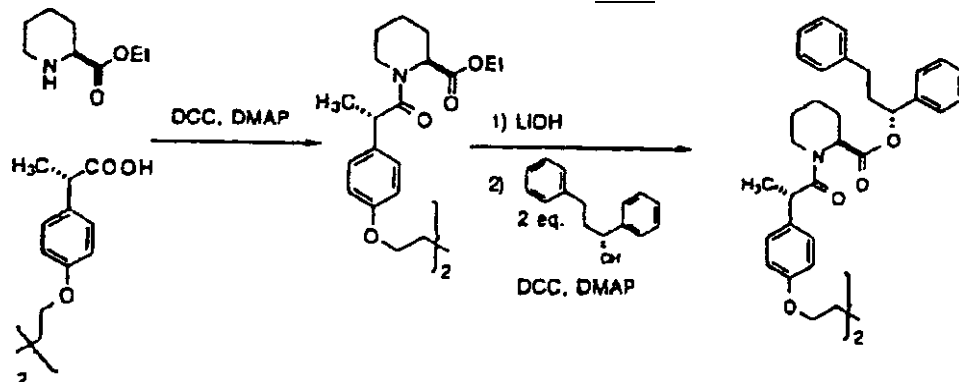
10

例として、下記の反応経路に示すように、単量体を多数の合成経路を経て多様な順序で組み込み、二量体化することができる。

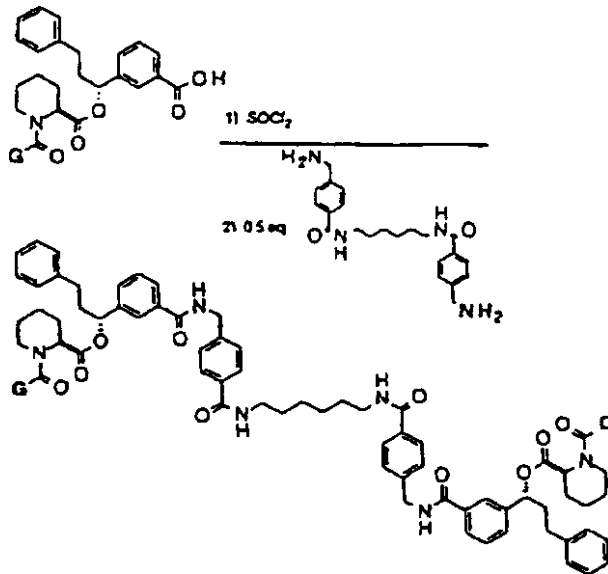


20

参照Holt, et al., J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938

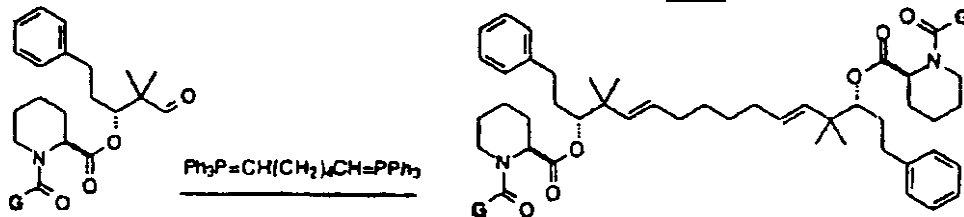


30



10

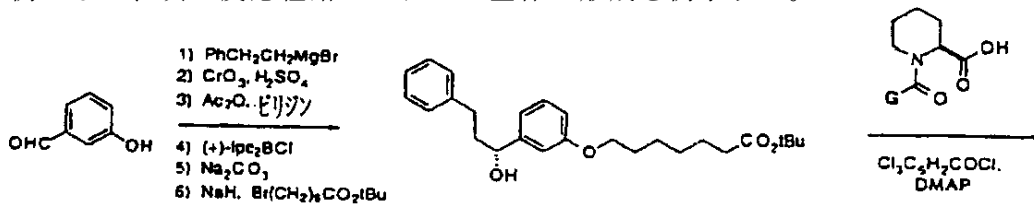
参照Yamashita, et al., Biomed. Chem. Lett., 1993, 4, 325-328



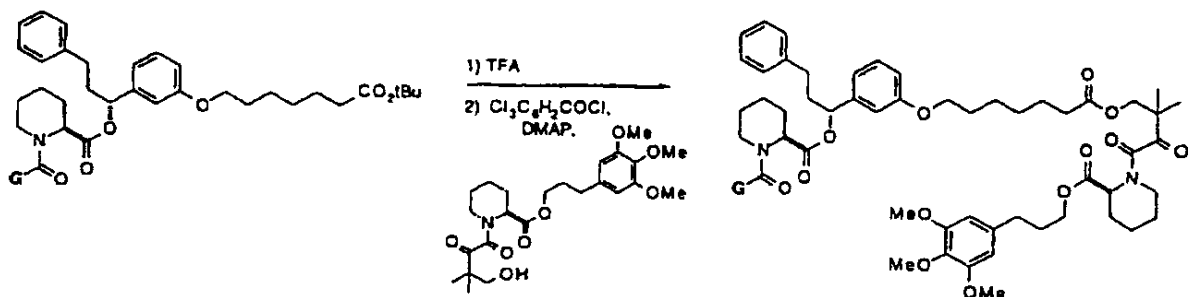
20

参照Yamashita, et al., Biomed. Chem. Lett., 1993, 4, 325-328

ヘテロ二量体（例、 $M^1 \neq M^2$ の場合）は、リンカーに各単量体を順に結合させることにより製造できる。結合方法は各単量体ごとに異なってもよく、リンカーは複数の単量体の段階的結合を容易にするために非対称および／または差別的に官能化されていてもよい。例として、次の反応経路がヘテロ二量体の形成を例示する。

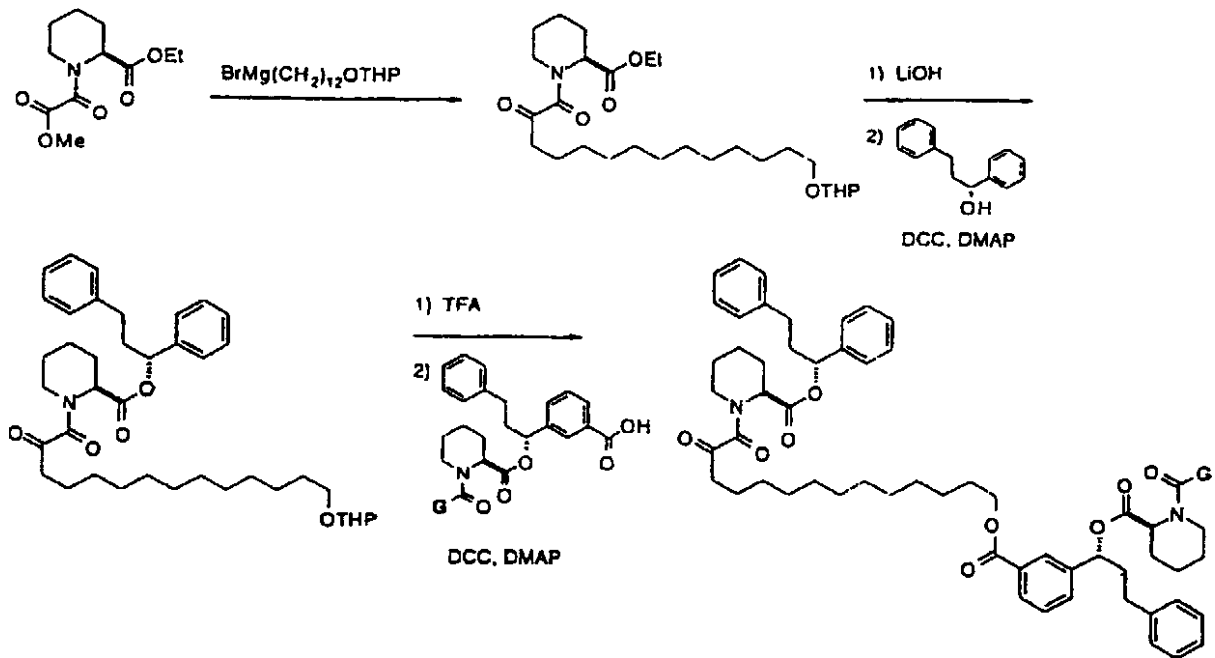


30



40

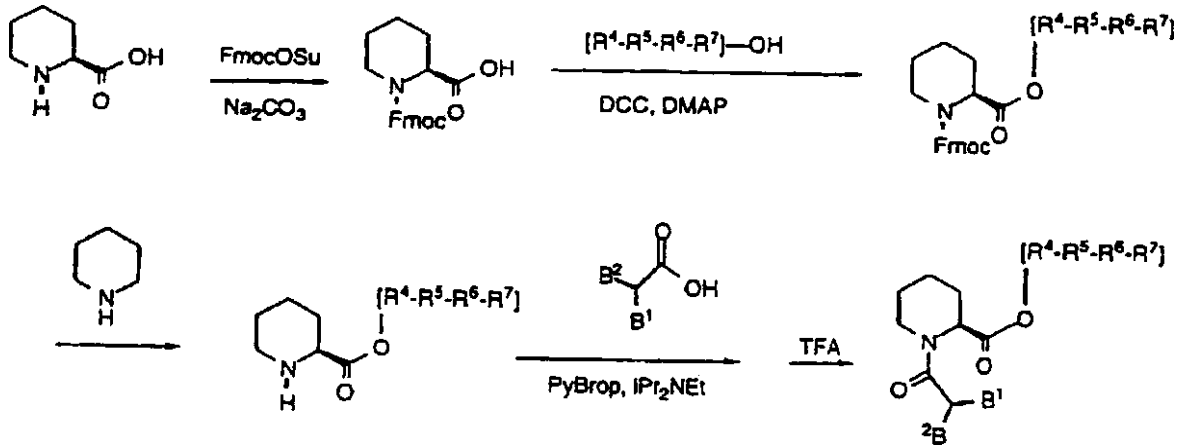
また：



10

次もまた留意：

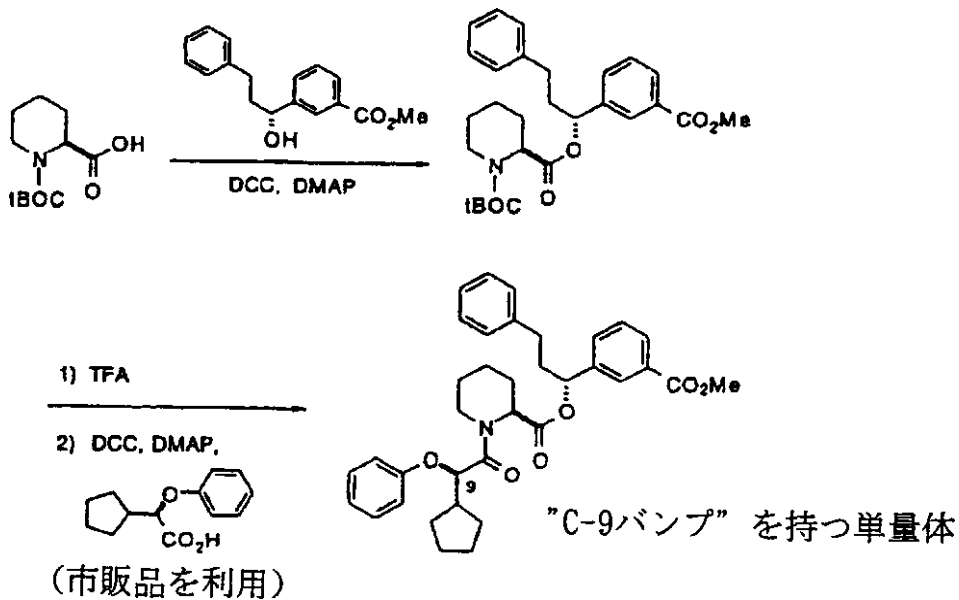
反応経路 I



20

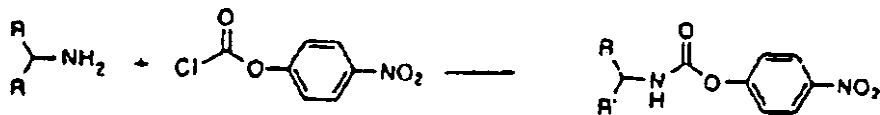
30

反応経路 II

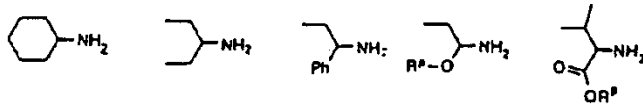


40

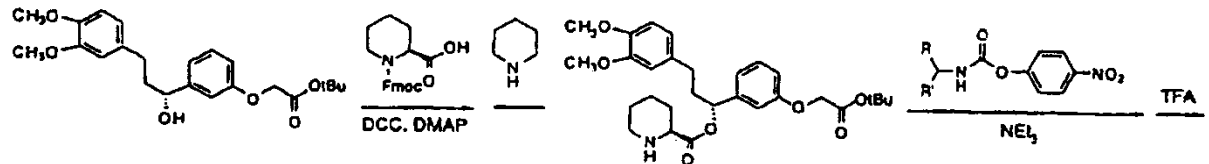
また：



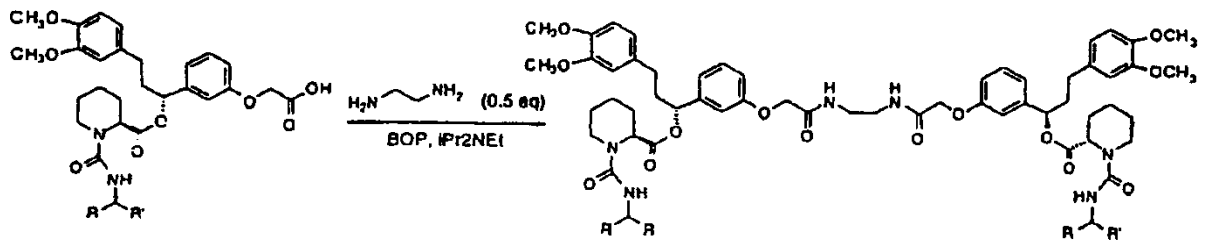
RおよびR'はアルキル、保護カルボン酸、次のような芳香族基でよい：



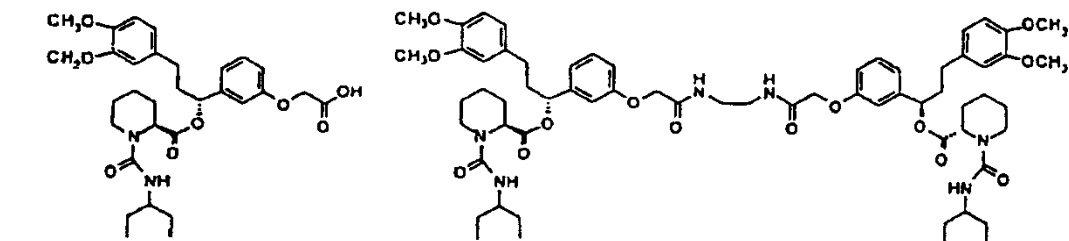
R^p = 保護基



10



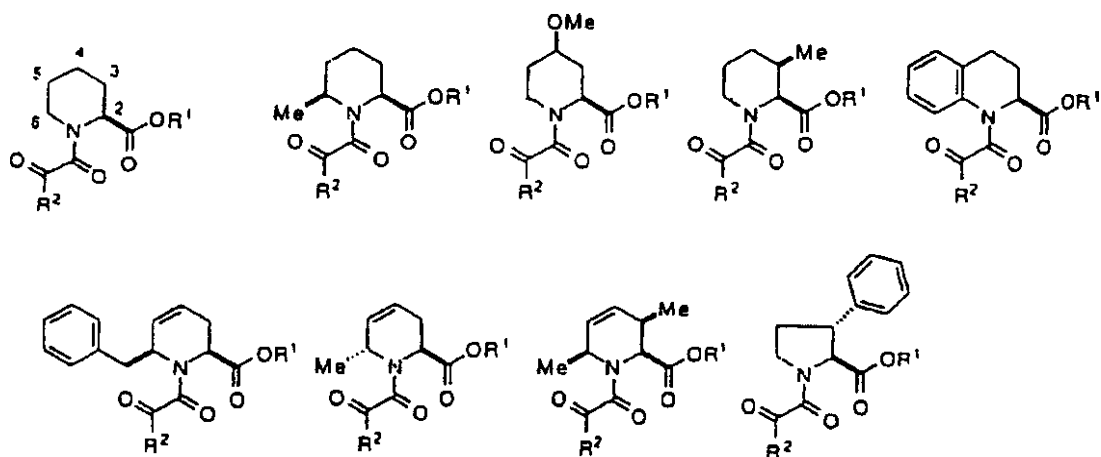
20



別の任意の修飾（変性）

さらに、本発明の化合物は置換プロリンおよびピペコリン酸誘導体を含んでいてもよく、その数多くの例が文献に記載されている。上述したと同様の合成手法を用いて、置換プロリン類およびピペコレート類を用いて、以下に例示するようにC-2ないしC-6位置に「バンプ」を持つ単量体を製造することができる。

30



40

置換プロリン類およびピペコリン酸の代表例については、下記文献を参照：

Chung, et al., J. Org. Chem., 1990, 55, 270; Shuman, et al., J. Org. Chem., 1990, 55, 738; Hanson, et al., Tetrahedron Lett., 1989, 30, 5751; Bailey, et al., Tetrahedron Lett., 1989, 30, 6781.

FKBPドメイン

FKBP類（FK506結合タンパク質）は、FK506、FK520およびラパマイシンのようなマクロラ

50

イド類に対する細胞質受容体であって、種・系統を超えて高度に保存されている。各種のFKBP種のヌクレオチド配列、クローニング、および他の特徴に関する情報が本技術分野で既に知られており、例えば、周知の方法および発表された配列に基づくPCRプライマーを用いて、所望のFKBPペプチド配列をコードするDNAの合成またはクローニングが可能である。例えば、Staendart et al, 1990, Nature 346, 671-674 (ヒトFKBP12) ; Kay, 1996, Biochem. J. 314, 361-385 (レビュー) を参照。他の哺乳類種中、酵母中、および他の生体中での同種FKBPタンパク質も本技術分野で知られており、本発明の化合物により多量体化する融合タンパク質中に使用してもよい。例えば、Kay, 1996, Biochem. J. 314, 361-385 (FKBPレビュー) を参照。このような用途に対するFKBPドメインの大きさは、どのFKBPタンパク質を使用するかに応じて変動する。このような融合タンパク質に使用するためのFKBPペプチド配列は、本発明の多量体化剤に結合することができ、かつ他のこのような融合タンパク質（これらは同一でも異なってもよい）と会合することができよう。多量体化剤が媒介するタンパク質-タンパク質会合は、本技術分野で既知の直接的または間接的手段により測定することができる。FKBPペプチド配列は、ヒトFKBP12タンパク質に由来する天然ペプチド配列か、或いは他のヒトFKBP、マウスもしくは他の哺乳類FKBP由来、または他の何らかの動物、酵母もしくは真菌のFKBP由来のペプチド配列を含むものでよく；天然配列に対して約10まで（好ましくは1～5）のアミノ酸の置換、挿入もしくは欠失を含んでいてもよく；天然FKBPをコードするDNA分子に選択的にハイブリッド化することができるDNA配列によりコードされるペプチド配列であってもよく、または遺伝暗号の縮重がなければ天然FKBPをコードするDNA配列に選択的にハイブリッド化することができたであろうDNA配列によりコードされるものであってもよい。上で用いた「選択的にハイブリッド化することができる」とは、2つのDNA分子が、この分野の通常熟練度の実施者が経験により選択または容易に決定できるハイブリッド化条件下で、他のDNA分子の存在にもかかわらず、相互にハイブリッド化を受けやすいことをここでは意味する。このような処理は、0.2～6×SSCおよび／または0.1～1% SDSを含有する緩衝液による、室温ないし65～75℃の範囲の温度での徹底した洗浄といった高緊縮度の条件を含む。例えば、F.M. Ausubel et al., 編, Short Protocols in Molecular Biology, Units 6.3および6.4 (John Wiley and Sons, New York, 第3版, 1995) を参照。

WO94/18317, WO95/02684, WO96/20951, WO95/41865（これらの各公報の全内容をここに参考として援用する）に説明されているように、FKBPドメインは、野生型でも修飾されたものでも、遺伝子工学操作された細胞中で発現された融合タンパク質に関係して利用することにより、異種もしくは内在性の標的遺伝子の多量体化剤依存性転写、細胞死、細胞増殖、遺伝子の欠損、または他の生物学的事象に対して該細胞を感受性にすることができる。本発明の実施に有用なFKBPキメラの代表例としては、PCT/US94/01617 (Stanford & Harvard), PCT/US94/08008 (Stanford & Harvard), Spencer et al (上掲), PCT/US95/10591 (ARIAD) およびPCT/US95/06722 (Mitotix, Inc.) に開示されているFKBP融合タンパク質；非ヒト供給源に由来するFKBPドメイン；前記FKBP融合タンパク質のいずれかの変異体であって、1または2以上のFKBPドメイン中に約10まで（好ましくは1～5）のアミノ酸の挿入、欠失もしくは置換を含み、それでもなおFK506、ラパマイシンまたは本発明の化合物に結合することができる変異体；ならびに前記FKBP融合タンパク質のいずれかの変異体であって、ヒトFKBP12のTyr26, Phe36, Asp37, Arg42, Phe46, Phe48, Glu54, Val55, またはPhe99に対応する1もしくは2以上のアミノ酸残基を含有し、これらのアミノ酸残基の1もしくは2以上が別のアミノ酸で置換されており、本発明の化合物に結合することができる変異体、が挙げられる。数多くの変異FKBPドメインおよびそれを含んだ融合タンパク質が、この章で引用した各種参考文献に開示されており、例を挙げると、36位のフェニルアラニンが嵩のより小さい側鎖を持つアミノ酸（例、アラニン、バリン、メチオニンまたはセリン）で置換されたFKBP類がある。

結合特性、アッセイ

本発明の多量体化剤は、好ましくはイムノフィリンとカルシニューリンの両方との三元複合体、またはイムノフィリンとFRAP (Brown et al., Nature, 1994, 369, 756-758) との

10

20

30

40

50

三元複合体には測定できるほど関与せず、従ってFK506やラパマイシンのように免疫抑制性ではない。また、この多量体化剤が生理学的に許容され（即ち、これを適用する細胞または生体に対して過度の毒性を持たず）、動物が経口摂取でき（即ち、遺伝子治療を始めとする、完全な動物生体内での用途に経口で活性であり）、および／または細胞膜または他の膜を具体的用途での必要性に応じて横断できる、ことが往々にして好ましいであろう。

ある種の用途では、好ましい多量体化剤は、自然または天然イムノフィリンより、変異イムノフィリン（非制限的な例は、Phe36を異なるアミノ酸、好ましくはバリンまたはアラニンのような嵩のより小さいR基を持つアミノ酸で置換したヒトFKBP）に優先的に、それ自体が結合するか、またはこのように優先的に結合する単量体部分Mを含んでいる。例えば、このような化合物は、いずれかの科学的に有効または本技術分野で認められているアッセイ法で測定して、ヒトFKBP12に結合するより少なくとも1桁は良好に変異FKBPに優先的に結合することができ、場合によってはヒトFKBP12に結合するより2桁さらには3桁またはそれ以上の大きさで変異FKBPに結合することができる。

ヒトFKBP12、その変異体または他のイムノフィリンタンパク質に対する本発明の各種多量体化剤またはそれらの成分単量体の結合親和性は、FKBPの場合に使用されてきた公知の方法を適応して決定することができる。例えば、実施者は、本発明の化合物が興味あるタンパク質への既知リガンドの結合と競合する能力を測定することができる。例えば、Sierki erka et al, 1989, Nature 341, 755-757（試験化合物が標識FK506誘導体のFKBPへの結合と競合する）を参照。本発明の好ましい一組の多量体化剤は、直接結合測定（例、蛍光消光）、競合的結合測定（例、対FK506）、FKBP酵素活性（ロタマーゼ）の阻害、または他のアッセイ方法により測定して、ヒトFKBP12、上述したようなその変異体、またはこのようなFKBPドメインを含む融合タンパク質に、約200nM以下、より好ましくは約50nM以下、さらにより好ましくは約10nM以下、さらにより好ましくは1nM以下のKd値で、それ自体が結合するか、またはこのように結合する少なくとも1つの成分単量体を含んでいる。このような化合物の1つの下位の組（subset）では、FKBPドメインは、36位のフェニルアラニンが、嵩のより小さい側鎖を持つアミノ酸（例、アラニン、バリン、メチオニンまたはセリン）で置換されたものである。

競合的結合FPアッセイは、後述する実施例に詳述されている。このアッセイにより、例えばラベルしたFK506のようなFKBPリガンドと競合させた時の化合物のFKBPタンパク質への結合能力を反映した、その化合物のIC50値のin vitro測定が可能となる。

本発明の1つの好ましい種類の化合物は、フルオレセイン化FK506を標準とした、所定のFKBPドメインおよびリガンド対、例えばヒトFKBP12、または10まで、好ましくは5までのアミノ酸置換をもつその変異体、に対して、競合的結合FPアッセイでのIC50値が1000nMより良好、好ましくは300nMより良好、より好ましくは100nMより良好、さらにより好ましくは10nMより良好となる、多量体化剤または単量体である。この種の下位の組では、FKBPドメインは36位に上記修飾のいずれかを有する。

多量体化剤がキメラタンパク質を多量体化する能力は、このような多量体化により発動される事象の出現を測定する、細胞を用いたアッセイ法で測定することもできる。例えば、1または2以上のイムノフィリン由来リガンド結合ドメインと、多量体化すると生物学的応答を作動させることができる1または2以上のエフェクタードメインとを含むキメラタンパク質をコードするDNAを含み、これを発現することができる細胞を使用することができる。我々が好むのは、該キメラタンパク質（その少なくとも一方はFKBPドメインを含んでいる）の多量体化に応答性の調節エレメント（即ち、プロモーター）の転写コントロール下でリポーター遺伝子をさらに含んでいる細胞を使用することである。代表的な成分の設計および調製とこのように遺伝子工学操作する細胞中でのそれらの使用は、PCT/US94/01617および本節および前記の節で言及した他の国際特許出願中に説明されている。細胞は培養により増殖または維持される。培地に多量体化剤を加え、適当なインキュベーション時間（遺伝子発現と分泌を行うための時間、例、数時間ないし一晩）の後、リポーター遺伝子産物の存在を測定する。陽性の結果、即ち、多量体化は、リポーター遺伝子産物の出

10

20

30

40

50

現により観察されるようなリポーター遺伝子の転写と相関する。リポーター遺伝子産物は、都合よく検出できるタンパク質（例、ELISAにより）でもよく、または都合よく検出できる産物（例、着色物）の産生を触媒するものでもよい。このようなアッセイを行うための適当な細胞系を形成するための材料および方法は、本節で上に引用した国際特許出願に開示されている。使用される代表的な標的遺伝子の例を挙げると、SEAP、 β -ガラクトシダーゼ、グリーン蛍光タンパク質およびルシフェラーゼ、並びに好都合なアッセイ系が市販されているhGHのようなタンパク質がある。

本発明の別の好ましい種類の化合物は、FKBPドメインを含んでいる融合タンパク質に基づくツーハイブリッド転写アッセイにおいて検出可能なシグナルを誘導することができるものである。好ましくは、このFKBPドメインは野生型ヒトFKBP12以外のFKBPドメインである。

10

多量体化剤がキメラタンパク質を多量体化する能力を測定する別のアッセイは、FKBPに基づく転写アッセイと同様に、このような多量体化により発動される事象の出現を測定する細胞に基づくアッセイである。この場合、検出可能な産物を構成的に発現する細胞を使用する。この細胞はまた、1または2以上のイムノフィリン由来リガンド結合ドメインと、多量体化すると細胞死を発動することができる、FASの細胞内ドメインのような、1または2以上のエフェクタードメインとを含むキメラタンパク質をコードするDNAを含み、これを発現することができる。代表的な成分の設計および調製とこのように遺伝子工学操作する細胞中でのそれらの使用は、W095/02684に説明されている。W096/41865も参照。細胞は、細胞増殖または持続した生存が可能な培地中で維持または培養する。細胞または培地を構成的細胞産物の存在について測定し、リポーターの基準線レベルをこうして決める。リポーターとして供するために、hGHまたは他の都合よく検出できる産物の構成的産生のために遺伝子工学操作された細胞を用いることができる。試験すべき化合物を培地に添加し、細胞をインキュベーションし、1または2以上の時点で細胞または培地をリポーターの存在について試験する。リポーター産生の減少が細胞死を示し、融合タンパク質の多量体化の間接的な尺度となる。

20

本発明の別の好ましい種類の化合物は、このようなFKBPに基づくアポトーシスアッセイにおいて検出可能なシグナルを誘導することができるものである。好ましくは、このFKBPドメインは野生型ヒトFKBP12以外のFKBPドメインである。場合によっては、このFKBPドメインは、上述したように、36位で修飾されている。

30

このようなアッセイを行うと、所望のEC50値および／または野生型ヒトFKBP12より変異FKBPへの結合優先性を有する多量体化剤を実施者が選択することが可能となる。競合的結合FPアッセイにより、所望のIC50値および／またはFK506のような対照に対する変異FKBPもしくは野生型FKBPへの結合優先性を有する単量体または多量体化剤を選択することが可能となる。

単量体および合成中間体

ここに開示した一般式IIで示される単量体Mはまた、例えば、ここに詳しく開示した二量体化剤の合成における合成中間体として、およびイムノフィリンまたは修飾イムノフィリンに対するそれらの結合親和性の観点からそれら自身として、という両面において有用である。これらは、その多量体化剤の作用を逆転または阻止する（即ち、多量体化を防止、阻害または中断する）のに有効な量で、遺伝子工学操作された細胞に、またはそれを含んだ生体に（完全な動物の生体に投与する場合には、好ましくは上述したように組成物として）投与することができる。

40

本発明の化合物は、一般式 $M-L-Q$ （ここで、Mはここに述べたような合成単量体であり、これはFK506、FK520、ラパマイシン、シクロスポリンA、またはそれらの類似物もしくは誘導体のような天然産物イムノフィリンリガンドであるQに、リンカーLにより共有結合している）で示される混合多量体化剤を包含することに留意されたい。例えば、PCT/US94/01667およびPCT/US95/10559に記載された材料および方法を用いて合成単量体に結合させることができる、多くのこのようなりガンドならびにその類似物および誘導体为本技術分野において知られている。

50

用途

本多量体化剤は、例えば、所望遺伝子の転写の調節可能な活性化、標的遺伝子の欠損、アポトーシスの作動、または他の生物学的事象の発動を、培養で増殖中の遺伝子工学操作された細胞中または遺伝子治療用途を含む完全生体中で行うために、W094/18317, W095/02684, W096/20951, W095/41865に記載されたように使用することができる。遺伝子工学操作された細胞は、ここに示した各種一般式およびここに開示した多くの例に示したような単量体に、またはこのような単量体を含む多量体化剤に、結合することができる、FKBPドメインまたは変異FKBPドメインのような1または2以上のイムノフィリンドメインを含有するタンパク質をコードするDNAを含み、かつこれを発現することができる。このような用途では、多量体化剤を、場合に応じて細胞培養液または細胞を含有する生体に、対応するリガンド結合ドメインを含有するタンパク質の多量体化に有効な量で（こうして発動される転写、アポトーシス、または他の生物学のプロセスを監視することにより観察することができる）投与する。かくして、本発明は、処置すべき遺伝子工学操作された細胞において発現された融合タンパク質に結合することができる本発明の多量体化剤を投与することにより、前述した生物学のプロセスのいずれかを調節可能に発動させる方法も提供する。完全生体に投与する場合には、多量体化剤の投与を、多量体化剤と許容される獣医学用または薬学用希釈剤および／または賦形剤とを含有する組成物の形態で行うことができる。

処方組成物、投与量および投与

タンパク質—タンパク質相互作用を促進するその能力のため、本発明の多量体化剤は、本発明の遺伝子工学操作された細胞を含んでいるヒトおよびヒト以外の哺乳類において本発明のキメラタンパク質の複合体の形成を促進させるための薬剤組成物および方法に使用することができる。

このような治療および予防の好ましい方法は、遺伝子工学操作された細胞中においてこのような複合体の測定可能な形成を促進させるため、または好ましくはこのような複合体形成により発動される所望の生物学的事象（例、標的遺伝子の転写、遺伝子工学操作した細胞のアポトーシス等）の測定可能な作動を促進させるために、有効量の本発明の化合物を哺乳類に投与することによる。

治療／予防用投与と薬剤組成物

本多量体化剤は、遊離形態で、また適当であれば塩の形態で存在することができる。多くの種類の化合物の製薬に許容される塩およびその製造は当業者には周知である。本発明の化合物の製薬に許容される塩としては、かかる化合物の慣用の無毒な塩または第四級アンモニウム塩が挙げられ、これらは例えば無機または有機の酸または塩基から形成される。本発明の化合物は、水和物または溶媒和物を形成することがある。荷電化合物は、水と一緒に凍結乾燥した場合に水和物種を形成し、また適当な有機溶媒との溶液状態で濃縮すると溶媒和物種を形成することは、当業者には知られている。

本発明はまた、治療（または予防）に有効な量の該化合物と、製薬に許容される担体または賦形剤とを含有する薬剤組成物にも関する。担体としては、例えば、食塩水、緩衝化食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、およびこれらの組み合わせが挙げられ、以下により詳しく説明する。組成物は、所望により、少量の湿潤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤も含有することができる。この組成物は、液体溶液剤、懸濁剤、乳剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、持効性処方、または散剤（粉末）とすることができる。この組成物はまた、トリグリセリドのような慣用の結合剤および担体を用いて座薬として処方することもできる。経口処方組成物は、医薬用のマンニトール、乳糖、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウム等といった標準的な担体を含有しうる。処方操作は、所望の製剤に応じて適宜に成分の混合、造粒および圧縮もしくは溶解を包含しうる。

使用する製薬用担体は、例えば、固体または液体のいずれでもよい。

固体担体の例としては、乳糖、白土、ショ糖、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アラビアゴム、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸等が挙げられる。固体担体は香味剤、滑剤、溶解補助剤、懸濁化剤、充填剤、滑り剤（glidant）、圧縮助剤、結着剤、また

10

20

30

40

50

は錠剤崩壊剤としても作用しうる1または2以上の物質を含むことができ；これはまた、カプセル化材料であってもよい。散剤では、担体は微粉碎された固体であって、これを微粉碎された有効成分と混合する。錠剤では、有効成分を必要な圧縮特性を持つ担体と適当な比率で混合し、所望形状および寸法に圧粉化する。散剤および錠剤は、好ましくは99%までの有効成分を含有する。適当な固体担体としては、例えば、リン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、砂糖、乳糖、デキストリン、デンプン、ゼラチン、セルロース、メチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリジン、低融点ワックス、およびイオン交換樹脂が挙げられる。

液体担体の例としては、シロップ、落花生油、オリーブ油、水等が挙げられる。液体担体は、溶液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、エリキシル剤、および加圧組成物を調製するのに使用される。有効成分を、水、有機溶媒、両者の混合物、または製薬に許容される油脂といった製薬に許容される液体担体に溶解ないし懸濁させることができる。液体担体は、溶解補助剤、乳化剤、緩衝剤、保存剤、甘味剤、香味剤、懸濁化剤、増粘剤、着色剤、粘度調節剤、安定剤または浸透圧調節剤といった他の適当な製剤添加剤を含有することができる。経口および非経口投与用の液体担体の適当な例としては、水（上述したような添加剤、例えば、セルロース誘導体を部分的に含有、好ましくはナトリウムカルボキシメチルセルロース溶液）、アルコール類〔1価アルコールおよび多価アルコール（例、グリコール類）を含む〕およびそれらの誘導体、ならびにオイル（例、分留ヤシ油およびアラキス油<arachis oil>）が挙げられる。非経口投与用については、担体はオレイン酸エチルおよびミリスチン酸イソプロピルのような油性エステルとすることもできる。滅菌液体カード（carder）は、非経口投与用の滅菌液体形態組成物中で有用である。加圧組成物用の液体担体は、ハロゲン化炭化水素または他の製薬に許容されるプロペラントとすることができる。滅菌溶液剤または懸濁剤の形態の液体薬剤組成物は、例えば、筋肉内、腹腔内または皮下注射により利用できる。滅菌溶液剤はまた静脈内投与することもできる。本化合物はまた、液体または固体のいずれかの組成物形態で経口投与することもできる。

担体または賦形剤は、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルのみ、またはこれとワックス、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルメタクリレート等との組み合わせ、といった本技術分野に周知の遅効材料を含んでもよい。経口投与用に処方する場合には、PHOSAL PG-50（1,2-プロピレングリコールとのリン脂質濃厚液、A. Nattermann & Cie. GmbH）中の0.01% Tween 80が、他の化合物に対する許容できる経口処方組成物を与えることが認められており、本発明の各種化合物に対する処方組成物にも適用することができる。

多様な剤形を採用することができる。固体担体を使用する場合には、製剤を錠剤化するか、散剤もしくはペレット形態で硬ゼラチンカプセル中に充填するか、またはトローチもしくはロジンジの剤形とすることができる。固体担体の量は広範囲に変動するが、好ましくは約25mgから1gであろう。液体担体を使用する場合には、製剤はシロップ剤、乳剤、軟ゼラチンカプセル剤、アンプルもしくはバイアル中の滅菌注射溶液剤もしくは懸濁剤、または非水液体懸濁剤の形態となろう。

安定な水溶性投与形態を得るには、本発明の多量体化剤の製薬に許容される塩を、有機または無機酸の水溶液、例えば、コハク酸またはクエン酸の0.3M水溶液中に溶解させてもよい。或いは、酸性誘導体を適当な塩基性溶液中に溶解させることができる。可溶性の塩形態が利用できない場合には、化合物を適当な共溶媒または2種以上のその組み合わせ中に溶解させる。このような適当な共溶媒の例としては、これらに限られないが、アルコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール300、ポリソルベート80、グリセリン、ポリオキシエチル化脂肪酸、脂肪アルコールまたはグリセリンヒドロキシ脂肪酸エステル等が挙げられ、全体積の0~60%の範囲内の濃度で使用される。

錠剤、カプセル剤、注射液、リポソーム中のカプセル化、微粒子、マイクロカプセル等をはじめとする各種の供給系、またはその各種の処方組成物、が知られており、本多量体化剤を投与するのに使用できる。導入方法としては、制限されるものではないが、経皮、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻内、肺、硬膜外、眼および（通常好まれるように

10

20

30

40

50

）経口経路が挙げられる。本化合物の投与は、任意の好都合なまたは他の適当な経路、例えば、輸液もしくは大量注射、上皮もしくは粘膜皮膚の内層（例、口の粘膜、直腸および腸管粘膜等）を通した吸収により行ってもよく、また他の生物学的に活性な薬剤と一緒に投与してもよい。投与は全身でも局所でもよい。鼻、気管または肺の症状の治療または予防に対しては、好ましい投与経路は、経口、経鼻、または気管用エアゾールもしくはネブライザーを使う経路である。

一部の態様では、本発明の化合物を処置を必要とする体内部位に局所的に投与することが望ましい場合がある。これは、例えば、制限を意図しないが、手術中の局所輸液、局所塗布、注射、カテーテル手段、座薬手段、または皮膚パッチもしくは埋設手段により達成しうる。この埋設材は、サイアラスティック（sialastic）膜のような膜や繊維を含む、多孔質、非多孔質、もしくはゼラチン状材料のものでよい。

ある特定の態様において、本組成物は、ヒトへの静脈内投与に適合させた薬剤組成物として通常の操作に従って処方される。典型的には、静脈内投与用の組成物は滅菌等張緩衝剤水溶液中の溶液である。必要に応じて、組成物はさらに溶解補助剤と注射部位の痛みの緩和のために局所麻酔薬を含有していてもよい。一般に、各成分は別々にまたは一緒に混合して単位用量（一回量）形態にし、例えば、有効成分の量を表示したアンプルまたはサシエット（小袋）のような気密シール容器中に密封した凍結乾燥粉末または無水濃厚液として供給される。組成物を輸液により投与しようとする場合、滅菌した製薬用の水または食塩水を入れた輸液ビンを用いて供給することができる。組成物を注射により投与する場合には、注射用滅菌水または食塩水のアンプルを用意して、成分を投与前に混合できるようにしてもよい。

有効量の本化合物の個体への投与は、その個体の皮膚の患部に化合物をじかに投与（塗布）することにより局所的に行うこともできる。そのためには、この化合物を、ゲル、軟膏、ローション、またはクリームといった薬理学的に許容される担体を包含する組成物の形態で投与または塗布する。これらの担体としては、制限されないが、水、グリセロール、アルコール、プロピレングリコール、脂肪アルコール類、トリグリセリド類、脂肪酸エステル類、または鉱油類等が挙げられる。

他の局所用担体としては、流動パラフィン、パルミチン酸イソプロピル、ポリエチレングリコール、エタノール（95%）、ポリオキシエチレンモノラウレート水溶液（5%）、またはラウリル硫酸ナトリウム水溶液（5%）が挙げられる。酸化防止剤、保湿剤、粘度安定化剤などの添加剤といった他の材料も必要に応じて添加しうる。アゾン（Azone）のような経皮浸透向上剤も含有させることができる。

また、場合によっては、化合物を皮膚の上、中、または下に配置された器材の内部に配置できる場合が想定される。このような器材としては、該化合物を受動的または能動的放出機構により皮膚中に放出するパッチ、埋設材、および注入材がある。

各種の処方組成物を製造する材料および方法が本技術分野で周知であり、本発明の実施に対しても適用することができる。例えば、米国特許第5,182,293号および第4,837,311号（錠剤、カプセル剤、および他の経口処方組成物ならびに静脈内処方組成物）ならびに欧州特許出願公開No.0 649 659（1995年4月26日公開；静脈内投与用の処方組成物を例示）およびNo.0 648 494（1995年4月19日公開；経口投与用の処方組成物を例示）を参照。

本化合物の有効用量は、典型的には哺乳類体重当たりで約0.01ないし約50mg/kg、好ましくは約0.1ないし約10mg/kgの範囲内であり、1回または多数回投与される。一般に、この化合物は、このような治療を必要とする患者に、約1ないし約2000mg/人の日用量範囲で投与することができる。

ある障害または症状の治療または予防に有効な化合物の量は、多量体化すべき融合タンパク質の特性、遺伝子工学操作された細胞の特性および位置、ならびにその障害または症状の性質に部分的に依存し、標準的な臨床技術により決定することができる。また、最適投与量範囲の決定を助けるため、*in vitro*または*in vivo*アッセイを場合により採用してもよい。有効用量は、*in vitro*または動物モデル試験システムから得られた用量-応答曲線から外挿してもよい。厳密な投与量レベルは、付添い医師または他の健康管理提供者が決

10

20

30

40

50

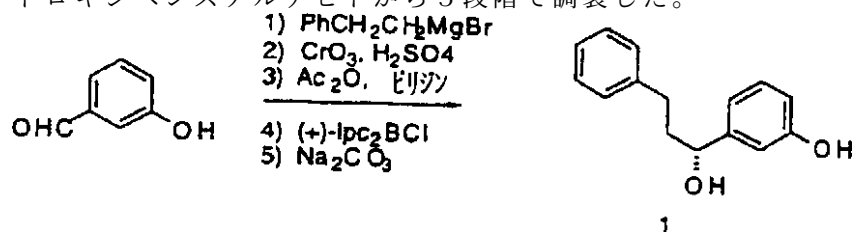
定すべきであり、投与経路、ならびに個体（患者）の年齢、体重、性別および一般健康状態；疾患の性質、重篤度および臨床段階；同時治療の併用の有無、ならびに患者内の細胞の遺伝子工学操作の性質と程度、を含む周知の因子に応じて変動しよう。

本発明はまた、本発明の薬剤組成物の1または2以上の成分を入れた1または2以上の容器を備えた薬剤パックまたはキットも提供する。このような容器には、医薬もしくは生物学的製品の製造、使用または販売を監督する政府機関により指定された形態の注意書を任意に添えることができ、その注意書はヒト投与用の製品の製造、使用または販売の監督官庁による認可を反映する。

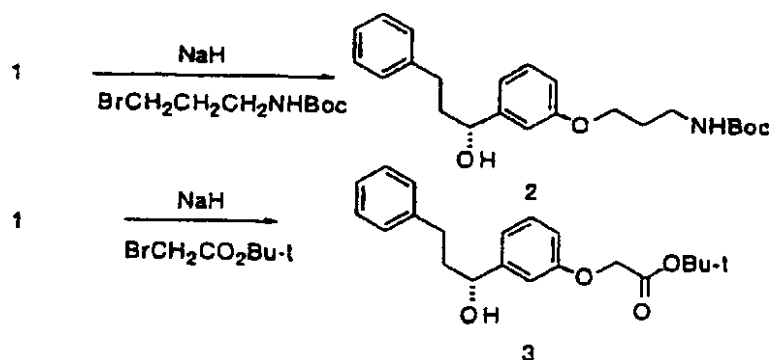
実施例

合成の概観、第I部：

官能基含有キラルアルコールの合成を次のように行った。非置換のキラルアルコール 1 を、Holt et al. J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938の報告手法に従って、3-ヒドロキシベンズアルデヒドから5段階で調製した。



1当量のNaHの存在下での3-N-Boc-アミノプロピルブロミドによる1のアルキル化は、好収率で2を与えた。同様に、ブromo酢酸tert-ブチルによる1のアルキル化は3を与えた。

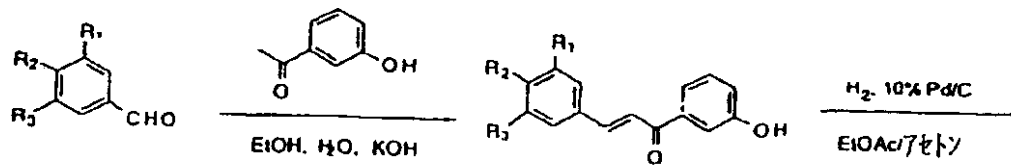


左のフェニル環に置換基を有するキラルアルコールは、下記の反応経路に示すように、カルボン化学を用いて調製した。

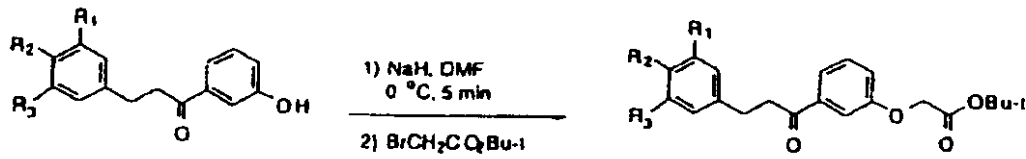
10

20

30

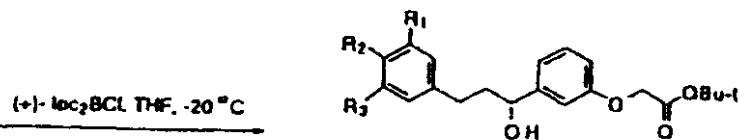


- 4: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = \text{H}$
 5: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$
 6: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_3 = \text{H}$



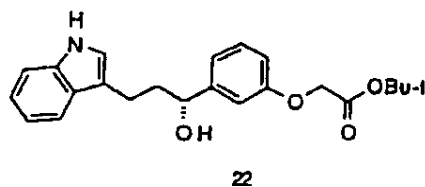
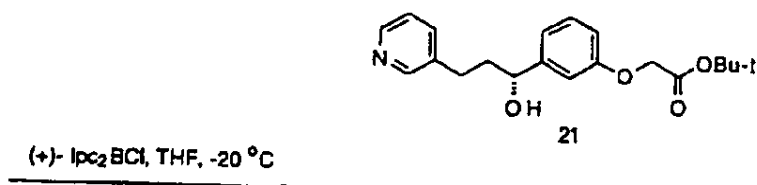
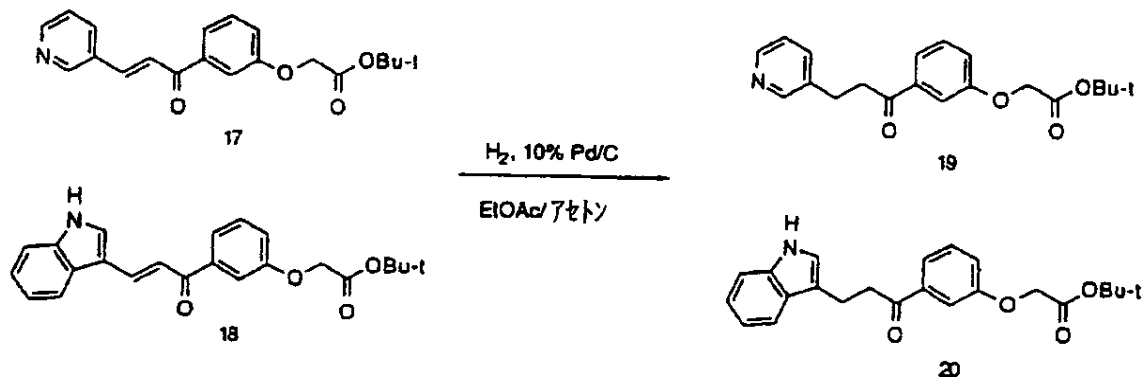
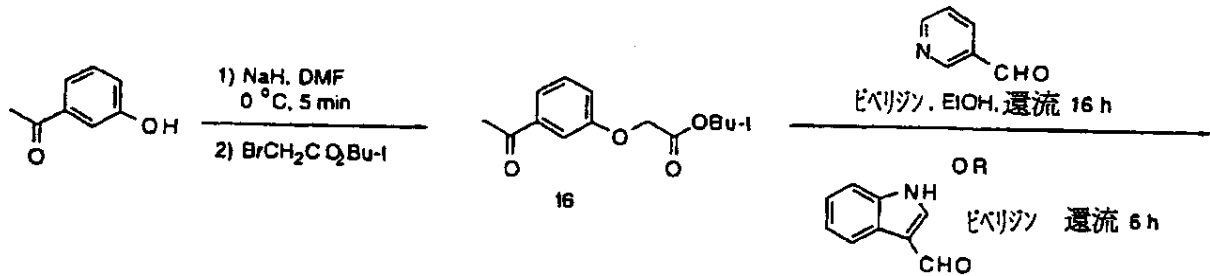
- 7: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = \text{H}$
 8: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$
 9: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_3 = \text{H}$

- 10: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = \text{H}$
 11: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$
 12: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_3 = \text{H}$

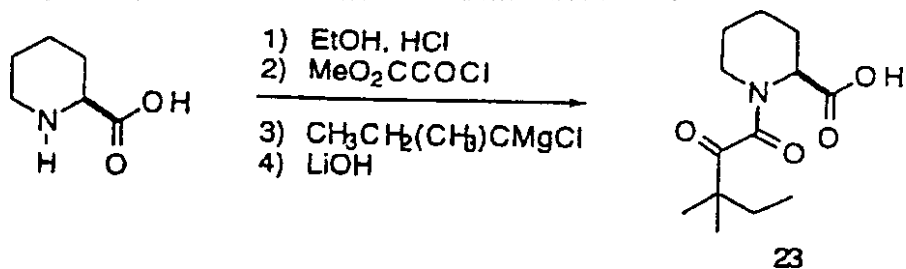


- 13: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$, $R_3 = \text{H}$
 14: $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$
 15: $R_1 = R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_3 = \text{H}$

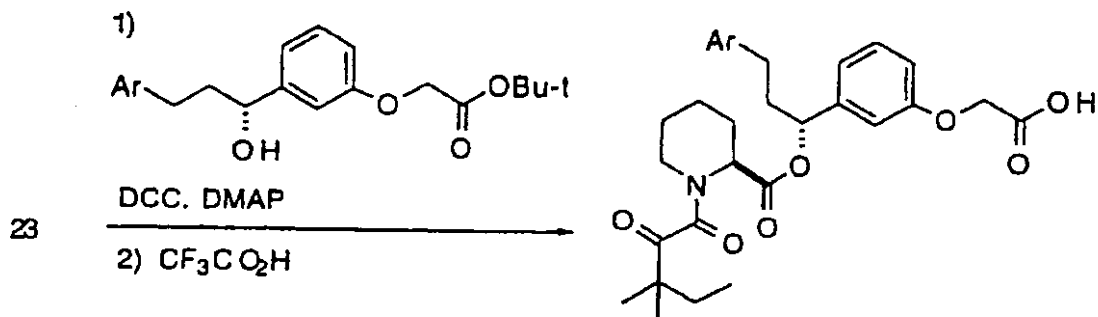
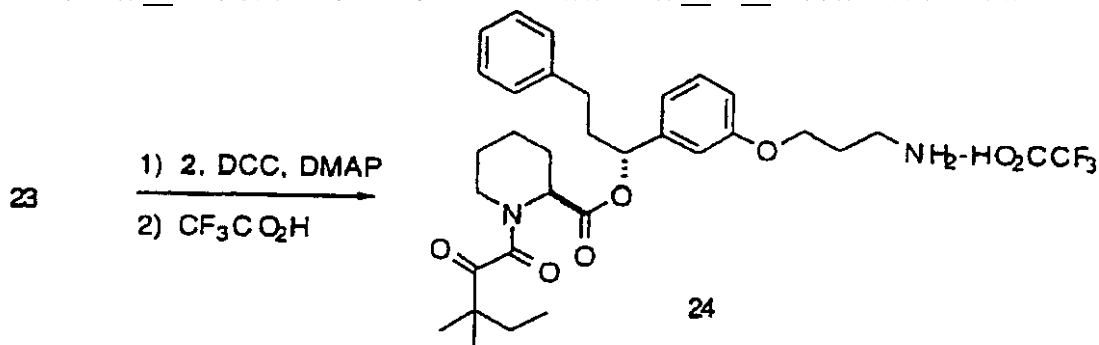
ピリジンまたはインドールを含有するキラルアルコールは、同様のカルボン化学を用いて、但しいくつかの細かい変更を行って次に示すように調製した。



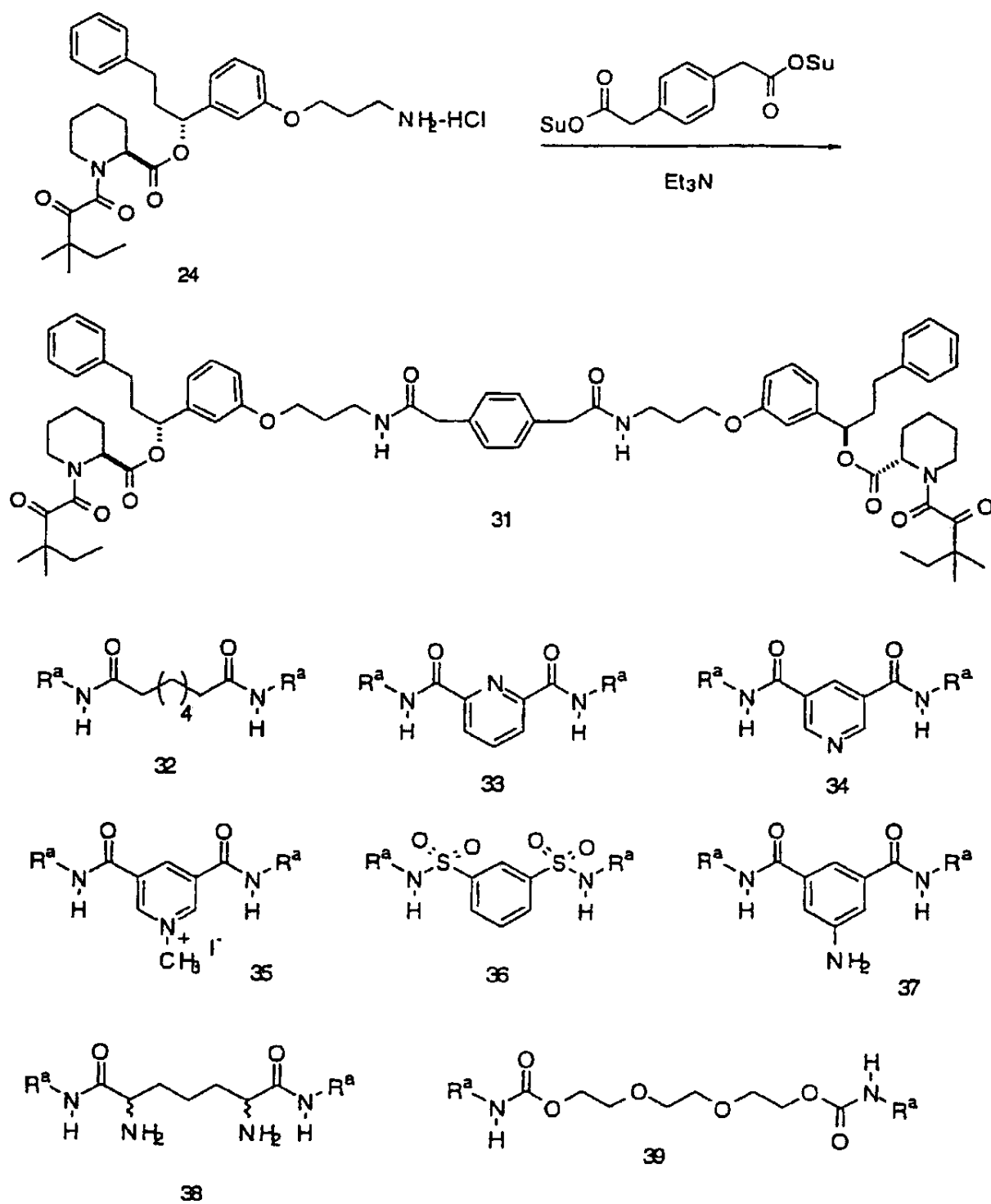
カルボン酸23は、Holt et al. J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938の文献手法に従って、L-ピペコリン酸から4段階で調製した。



DCC/DMAPを用いた23と2との結合とその後のトリフルオロ酢酸によるBoc基の脱離は、アミン単量体24を好収率で与えた。カルボン酸多量体25~30も同様の方法で製造した。



単量体24と25~30を手にして、次いで多様な二量体を合成した。アミン24をジスクシンイミジルジカルボキシレートで処理して、二量体31~34および37、および38を得た。24とベンゼン-1,3-ジスルホンクロリドとの反応は、36を生じた。24とトリエチレングリコールビス(クロロホルメート)との結合は39を生じた。化合物34をヨウ化メチルで処理すると定量的収率で35が得られた。



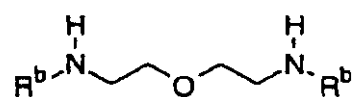
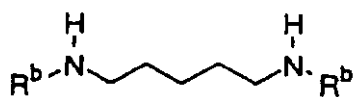
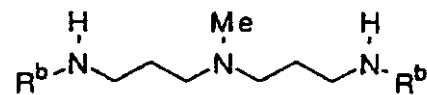
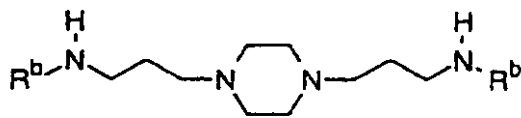
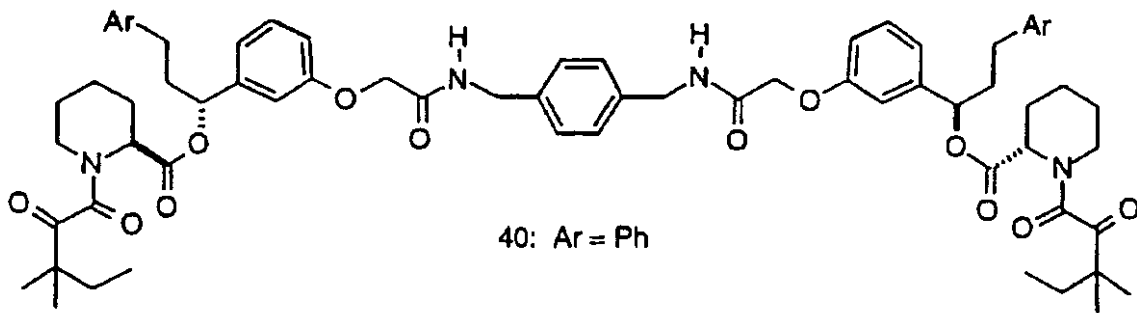
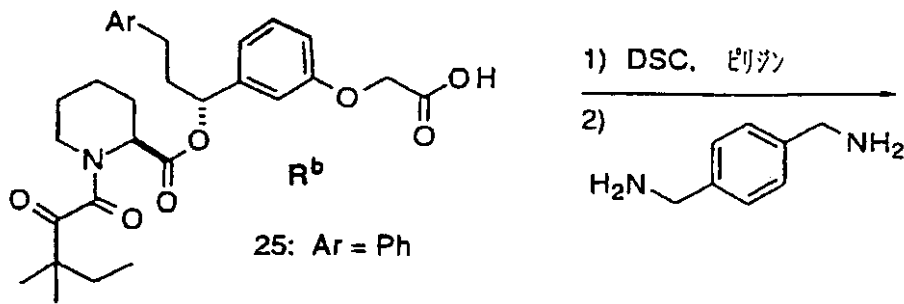
酸25~30をそれらの活性化スクシンイミジルエステルに転化させ、次いで各種ジアミンと結合させると、二量体40~63が得られた（ R^a および R^b は各種単量体Mを意味する）。

10

20

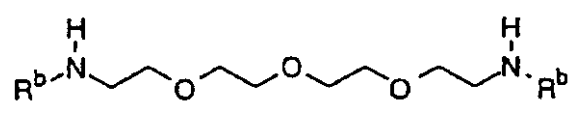
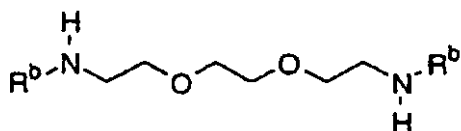
30

40

44: Ar = 3,4-(OCH₃)₂Ph49: Ar = 3,4-(OCH₃)₂Ph45: Ar = 3,4,5-(OCH₃)₃Ph50: Ar = 3,4,5-(OCH₃)₃Ph46: Ar = 3,4-(OCH₂O)Ph51: Ar = 3,4-(OCH₂O)Ph

47: Ar = 3-ピリジル

52: Ar = 3-ピリジル

54: Ar = 3,4-(OCH₃)₂Ph60: Ar = 3,4-(OCH₃)₂Ph55: Ar = 3,4,5-(OCH₃)₃Ph61: Ar = 3,4,5-(OCH₃)₃Ph56: Ar = 3,4-(OCH₂O)Ph62: Ar = 3,4-(OCH₂O)Ph

57: Ar = 3-ピリジル

63: Ar = 3-ピリジル

58: Ar = 3-インドリル

40の親構造に基づいているが、特定のリンカーおよびAr部分を含有する化合物64~67は、ここに説明した方法の適用により調製した。この4つの化合物の構造をNMRおよびMS分光法により確認した。この4つ全てが、後述する細胞による転写アッセイで活性であることが認められた。

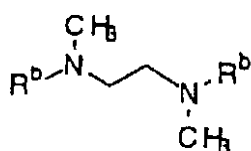
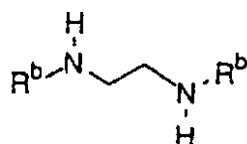
10

20

30

40

50

64: Ar = 3,4-(OCH₃)₂Ph66: Ar = 3,4-(OCH₃)₂Ph

65: Ar = 3-ピリジル

67: Ar = 3-ピリジル

合成の詳細一般方法

プロトンおよび炭素磁気共鳴スペクトル (¹H、¹³C NMR) は、Bruker ARX-300分光計で記録した。化学シフトはMe₄Si (d 0.0) に対するppm (d) で報告する。全ての試薬は分析用等級であり、受け入れのままで使用した。無水溶媒はAldrich社から確実密封ビンで購入した。クロマトグラフィーは、TLC用シリカゲル60G (Merck) と移動相として表示溶媒を用いた短カラムクロマトグラフィーを意味する。HPLCは4.6mm×250mmのダイセルChiracel ODカラムと移動相として (特に表示がなければ) 85:15ヘキサン-プロパノールを用いて、1 mL/minの流量、および210nmのUV検出で行った。融点は未補正である。

官能基含有キラルアルコールの調製

(1R)-3-フェニル-1-(3-(3-tert-ブチルオキシカルバモイルプロピル) オキシフェニル) プロパン-1-オール (2)

(1R)-3-フェニル-1-(3-ヒドロキシフェニル) プロパン-1-オール (1, 98% ee, 1.47g, 6.45mmol, Holt et al. J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938の報告手法に従って3-ヒドロキシベンズアルデヒドから5工程で調製) を、NAH (鉱油中60%分散液, 310mg, 7.74mmol) のDMF (30mL) 懸濁液に加えた。次いで、3-tert-ブチルオキシカルバモイルプロピルブロミド (3.07g, 12.9mmol) を加え、得られた混合物をN₂下40℃で一晩攪拌した。反応を水 (50mL) で停止させ、混合物をEtOAc (250mL) で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、乾燥し (Na₂SO₄)、減圧濃縮した。この混合物をEt₂O (150mL) に再溶解させ、2N NaOH (2 x 100mL) で洗浄して、未反応の 1 (これはR_fが生成物 2 と同じ) を全て除去した。有機層を次いで飽和食塩水で洗浄し、乾燥し (Na₂SO₄)、減圧濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル, 30% EtOAc/ヘキサン類) により、無色油状物として 2 が得られた (1.9g, 収率77%, Chiracel HPLCで96% ee: 保持時間は (1R) 鏡像異性体が19.0分、(1S) 鏡像異性体が15.7分)。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.40-6.85 (m, 9H), 4.76 (t, J=5.3Hz, 1H), 4.12 (t, J=5.9Hz, 2H), 3.42 (t, J=6.3Hz, 2H), 2.80 (m, 2H), 2.10-1.85 (m, 6H), 1.53 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 159.4, 156.4, 146.8, 142.1, 129.9, 128.83, 128.78, 126.2, 118.8, 114.0, 112.4, 74.2, 66.1, 40.8, 32.4, 30.0, 28.8。MS (FAB): (M+Na)⁺408。

(1R)-3-フェニル-1-(3-(2-tert-ブチルオキシ-2-オキソエチル) オキシフェニル) プロパン-1-オール (3)

(1R)-3-フェニル-1-(3-ヒドロキシフェニル) プロパン-1-オール (1, 98% ee, 1.7g, 7.46mmol, Holt et al. J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938の報告手法に従って3-ヒドロキシベンズアルデヒドから5工程で調製) を、NAH (鉱油中60%分散液, 358mg, 8.95mmol) のDMF (50mL) 懸濁液に加えた。次いで、ブromo酢酸tert-ブチル (2.4mL, 14.9mmol) を加え、得られた混合物をN₂下40℃で一晩攪拌した。反応を水 (50mL) で停止させ、混合物をEtOAc (250mL) で抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、乾燥し (Na₂SO₄)、減圧濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル, 20% EtOAc/ヘキサン類) により、無色油状物として 3 が得られた (1.64g, 収率64%, Chiracel HPLCで98% ee: 保持時間は (1R) 鏡像異性体が42.2分、(1S) 鏡像異性体が30.6分)。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.2-6.71 (m, 9H), 4.58 (t, 1H), 4.44 (s, 2H), 2.68-2.59 (m, 2H), 2.05-1.93 (m, 2H), 1.41 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 168.4, 158.6, 146.8, 142.1, 130.0, 128.8, 128.7, 126.2, 119.5, 114.1, 112.6, 82.7, 74.1, 66.1, 40.8, 32.4, 28.4。HRMS (FAB): (M+Na)⁺計算値365.1729, 実測値365.1721。

3,4-ジメトキシ-3'-ヒドロキシカルコン (4)

3,4-ジメトキシベンズアルデヒド (16.6g, 100mmol) のEtOH (75mL) 溶液を3-ヒドロキシアセタフェノン (13.6g, 100mmol) で処理し、得られた溶液を氷浴中で0℃に冷却した。KOH (28g, 500mmol) 水溶液200mLをゆっくり加え、得られた鮮紅色溶液を室温で一晩 (16時間) 攪拌した。この混合物を次いで濃塩酸の滴下によりpH 5まで酸性化し、得られた懸濁液をEtOAc (2 x 200mL) で抽出した。有機抽出液を合わせて飽和食塩水 (2 x 100mL) で洗浄し、MgSO₄で乾燥し、濾過し、蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー処理 (シリカゲル, 30%-50% EtOAc/ヘキサン類) して、粗製材料を得た。この粗製固体をEtOAcから結晶化させて、黄色固体13.9g (49%) を得た: IR (単味) 3420, 1650, 1575, 1510, 1265, 1140cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.80 (d, J=15.6Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.59 (d, J=7.7Hz, 1H), 7.42-7.36 (m, 2H), 7.24 (dd, J=8.3, 1.8Hz, 1H), 7.16-7.13 (m, 2H), 6.90 (d, J=8.3Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.94 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 191.3, 157.0, 152.0, 149.7, 146.1, 140.1, 130.2, 128.2, 123.8, 121.2, 120.7, 120.3, 115.7, 111.6, 110.7, 56.4.

10

3,4,5-トリメトキシ-3'-ヒドロキシカルコン (5)

3,4,5-トリメトキシベンズアルデヒドから (4) と同様の方法で調製。フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 30%-50% EtOAc/ヘキサン類) により、黄色固体2.61g (17%) が得られた: ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 9.80 (s, 1H), 7.82 (d, J=15.6Hz, 1H), 7.70-7.63 (m, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.39 (略t, J=7.9Hz, 1H), 7.23 (s, 2H), 7.08 (d, J=7.6Hz, 1H), 3.87 (s, 6H), 3.73 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 189.5, 158.1, 153.5, 144.7, 140.1, 139.5, 130.6, 130.1, 121.8, 120.5, 119.9, 115.0, 106.9, 60.5, 56.5.

20

3'-ヒドロキシ-3,4-メチレンジオキシカルコン (6)

ピペロナールから (4) と同様の方法で調製。粗製固体 (26.7g, 100%) を、クロマトグラフィー精製や特性決定を行わずに次の反応工程に直接使用した。

3- (3,4-ジメトキシフェニル) -1- (3-ヒドロキシフェニル) プロパン-1-オン (7)

3,4-ジメトキシ-3'-ヒドロキシカルコン (4) (10g, 35.2mmol) のEtOAc/アセトン1:1混合溶媒 (40mL) 溶液を、炭素担持10% Pd (500mg) で処理し、混合物をH₂圧力40~50psiで3時間水素化した。反応混合物をアセトンを用いてCeliteのパッドでろ過し、ろ液を濃縮して粗製固体を得た。この粗製固体をEtOAcで磨砕し、ろ過して白色固体7.83g (78%) を得た。これは¹H NMR分析で略90%純度であることが判明した: ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.56 (s, 1H), 7.55 (d, J=2.2Hz, 1H), 7.53-7.33 (m, 1H), 7.10 (dd, J=7.9, 2.4Hz, 1H), 6.80-7.79 (m, 3H), 6.61 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.28 (t, J=7.9Hz, 2H), 3.02 (t, J=7.9Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 200.6, 156.9, 149.3, 147.8, 138.6, 134.2, 130.3, 121.1, 120.6, 115.0, 112.4, 111.8, 56.3, 41.2, 30.3.

30

1- (3-ヒドロキシフェニル) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル) プロパン-1-オン (8)

3,4,5-トリメトキシ-3'-ヒドロキシカルコン (5) から (7) と同様の方法で調製。粗製材料のフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 40%-50% EtOAc/ヘキサン類) により白色固体1.37g (68%) が得られた: IR (単味) 3395, 2940, 1680, 1590, 1505, 1455, 1240, 1125cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.54-7.52 (m, 2H), 7.34 (略t, J=8.1Hz, 1H), 7.10 (dd, J=7.9, 2.2Hz, 1H), 6.48 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 3.85 (s, 9H), 3.30 (t, J=7.3Hz, 2H), 3.02 (t, J=7.7Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 200.0, 156.7, 153.6, 138.7, 137.4, 136.7, 130.3, 120.9, 115.0, 105.8, 61.3, 56.5, 41.0, 31.0.

40

1- (3-ヒドロキシフェニル) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル) プロパン-1-オン (9)

3'-ヒドロキシ-3,4-メチレンジオキシカルコン (6) から (7) と同様の方法で調製。EtOAc/ヘキサン類からの粗製材料の結晶化により白色固体4.10g (41%) が得られた: ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 9.73 (s, 1H), 7.43 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.34-7.29 (m, 2H), 7.02 (dd, J=8.0Hz, 1H), 6.88 (m, 1H), 6.80 (d, J=7.9Hz, 1H), 6.71 (d, J=7.9Hz, 1H), 5.96 (s, 2H), 3.26 (t, J=7.6Hz, 2H), 2.84 (t, J=7.5Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 199.4, 158.0, 147.5, 145.7, 138.4, 135.4, 130.1, 121.5, 120.5, 119.3, 114.4, 109.2

50

, 108.4, 101.0, 40.2, 29.7。

1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オン (10)

無水DMF (10mL) 中の60% NaH鋇油懸濁液 (279mg, 6.98mmol) を氷浴中で 0 °C に冷却し、固体の3- (3,4-ジメトキシフェニル) -1- (3-ヒドロキシフェニル) プロパン-1-オン (7) (2g, 6.98mmol) を一度に添加した。得られた黄色溶液を5分間攪拌した後、ブromo酸tert-ブチル (1.18mL, 7.33mmol) を加えた。攪拌を0 °Cで15分間続けた後、反応混合物を室温まで昇温させ、ジエチルエーテル (50mL) と水 (50mL) との間で分配した。有機層を飽和NaCl水溶液 (2 x 50mL) で洗浄し、MgSO₄で乾燥し、濾過し、蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 30% EtOAc/ヘキサン類) で無色透明の油状物2.30 g (82%) を得た: IR (単味) 2980, 1750, 1685, 1590, 1515, 1260, 1155cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.59 (d, J=7.7Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.39 (略t, J=8.0Hz, 1H), 7.14 (dd, J=8.2, 2.6Hz, 1H), 6.81-6.79 (m, 3H), 4.58 (s, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.28 (t, J=7.3Hz, 2H), 3.02 (t, J=7.8Hz, 2H), 1.51 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 199.2, 168.0, 158.6, 149.3, 147.8, 138.7, 134.2, 130.1, 121.8, 120.6, 113.5, 112.2, 111.8, 108.1, 83.0, 66.1, 56.2, 41.1, 30.2, 28.4。

10

1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル) プロパン-1-オン (11)

1- (3-ヒドロキシフェニル) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル) プロパン-1-オン (8) から (10) と同様の方法で調製。粗製材料のフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 30%-40% EtOAc/ヘキサン類) により透明無色油状物1.30g (96%) が得られた: IR (単味) 2955, 1750, 1684, 1590, 1455, 1230, 1150, 1125cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.59 (d, J=7.7Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.39 (略t, J=7.9Hz, 1H), 7.14 (dd, J=8.2, 2.6Hz, 1H), 6.47 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 3.86 (s, 6H), 3.84 (s, 3H), 3.28 (t, J=7.3Hz, 2H), 3.01 (t, J=7.8Hz, 2H), 1.50 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 199.1, 168.0, 158.5, 153.6, 138.6, 137.4, 136.8, 130.1, 121.8, 120.4, 113.6, 105.8, 83.0, 66.1, 61.2, 56.5, 41.0, 31.0, 28.4。

20

1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル) プロパン-1-オン (12)

1- (3-ヒドロキシフェニル) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル) プロパン-1-オン (9) から (10) と同様の方法で調製。粗製材料のフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 20%-30% EtOAc/ヘキサン類) により透明無色油状物5.04g (89%) が得られた: IR (単味) 2980, 1750, 1685, 1490, 1445, 1245, 1155, 1040cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.58 (dd, J=6.7, 1.1Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.39 (略t, J=8.0Hz, 1H), 7.17-7.13 (m, 1H), 6.89-6.69 (m, 4H), 5.94 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 3.25 (t, J=7.8Hz, 2H), 2.99 (t, J=7.8Hz, 2H), 1.51 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 199.0, 168.0, 158.5, 148.1, 146.3, 138.6, 135.4, 130.1, 121.8, 121.5, 120.6, 113.4, 109.3, 108.7, 101.2, 83.0, 66.1, 41.1, 20.3, 28.4。

30

(R) 1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オール (13)

40

-20°Cの1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オン (10) (3.0g, 7.49mmol) のTHF (5mL) 溶液を、-20°Cの(+)-B-クロロジイソピノカンフェニルボラン (2.9g, 8.99mmol) のTHF (10mL) 溶液で処理した。得られた混合物を-20°Cの冷凍庫内で48時間放置した後、混合物を蒸発させ、ジエチルエーテル (25mL)、次いでジエタノールアミン (8mL) で処理した。得られた粘稠な混合物を室温で3分間攪拌した後、ジエチルエーテルを用いてCeliteパッドでろ過した。曇ったろ液を蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 30%-40% EtOAc/ヘキサン類) して、透明無色油状物2.72g (90%) を得た (Chiracel HPLC, 25% i-PrOH/ヘキサン類で95% ee: 保持時間はR鏡像異性体が44.4分、S鏡像異性体が35.7分): IR (単味) 3525, 2935, 1750, 1515, 1150cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.30-7.25 (m, 2H), 6.99

50

-6.73 (m, 5H), 4.68 (m, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 2.72-2.63 (m, 2H), 2.12-1.97 (m, 2H), 1.50 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 168.4, 158.5, 149.3, 147.6, 146.9, 134.8, 130.0, 120.6, 119.5, 114.0, 112.6, 112.2, 111.7, 82.7, 74.1, 66.1, 56.3, 56.2, 41.0, 32.0, 28.4.

(1R) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル) -1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) プロパン-1-オール (14)

N_2 下で -23°C に保持した11 (1.30g, 3.0mmol) のTHF (5mL) 溶液に、 (+) -B-クロロジオソピノカンフェニルボラン (1.64g, 5.1mmol) の冷 (-23°C) THF (10mL) 溶液を加えた。得られた混合物を冷凍庫に3日間入れた。その後、混合物を減圧濃縮し、残渣をジエチルエーテル (60mL) に再溶解させた。このエーテル溶液を室温で激しく攪拌しながらジエタノールアミン (0.86mL, 9.0mmol) で3時間処理した。析出した白色沈殿をろ別し、ろ液を減圧濃縮した。シリカゲルでのクロマトグラフィー (50-100% EtOAc/ヘキサン類) により、無色油状物1.3g (98%) が得られた (Chiracel HPLC, 20% i-PrOH/ヘキサン類で98.1% ee: 保持時間はR鏡像異性体が46.4分、S鏡像異性体が40.0分): ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.28 (t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 6.96 (m, 2H), 6.82 (m, 1H), 6.41 (s, 2H), 4.69 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 1H), 4.52 (s, 2H), 3.85 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 2.65 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 1.50 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 168.4, 158.6, 153.5, 146.8, 137.9, 136.6, 130.0, 119.5, 114.0, 112.7, 105.7, 82.8, 74.1, 66.0, 61.2, 56.5, 40.8, 32.8, 28.4.

(R) 1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル) プロパン-1-オール (15)

1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル) プロパン-1-オン (12) から (13) と同様の方法で調製。粗製材料のフラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 20%-25% EtOAc/ヘキサン類) により透明無色油状物3.84g (96%) が得られた: IR (単味) 3440, 1750, 1490, 1440, 1245, 1150, 1040cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.30-7.24 (m, 1H), 6.98-6.93 (m, 2H), 6.82 (dd, $J=8.2, 2.5\text{Hz}$, 1H), 6.75-6.64 (m, 3H), 5.93 (s, 2H), 4.67-4.63 (m, 1H), 4.53 (s, 2H), 2.68-2.60 (m, 2H), 2.10-1.95 (m, 3H), 1.51 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 168.4, 158.5, 148.0, 146.9, 146.0, 136.0, 130.0, 121.5, 119.5, 114.1, 112.5, 109.3, 108.5, 101.1, 82.7, 73.9, 66.1, 41.1, 32.1, 28.4.

3' - (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) アセトフェノン (16)

0°C のNaH (鉱油中60%分散液, 1.47g, 36.7mmol) の無水DMF (50mL) 懸濁液に、固体の3'-ヒドロキシアセトフェノン (5.0g, 36.7mmol) を加えた。この混合物を N_2 下で10分間攪拌すると、透明黄色溶液が生成した。次いで、プロモ酢酸tert-ブチル (6.23mL, 38.5mmol) を加え、混合物を 0°C で5分間、次に室温で20分間攪拌した。TLCは出発材料が残っていないことを示した。この混合物をEtOAc (25mL) と水 (100mL) との間で分配した。有機層を分離し、飽和食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し、減圧濃縮した。シリカ・クロマトグラフィー (20% EtOAc/ヘキサン類) で白色結晶7.6g (83%) が得られた: ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.60-7.14 (m, 4H), 4.59 (s, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.51 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 198.0, 168.0, 158.6, 138.9, 130.1, 122.3, 120.6, 113.5, 83.0, 66.1, 28.4, 27.0.

3- (3-ピリジル) -1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -2-プロペン-1-オン (17)

無水EtOH (65mL) 中の16 (4.0g, 16mmol)、ニコチンアルデヒド (1.89mL, 20mmol)、およびピペリジン (4.0mL, 40mmol) の混合物を16時間還流加熱した。混合物を冷却し、減圧濃縮した。シリカゲルでのクロマトグラフィー (30%-60% EtOAc/ヘキサン類) により未反応ニコチンアルデヒドと17 (どちらもTLCで同じ R_f を持つ) の混合物が得られた。この混合物をろ過用漏斗内にてヘキサンで洗浄すると17の純品1.73g (32%) が黄色結晶として得られた。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 8.87 (d, $J=2.1\text{Hz}$, 1H), 8.66 (dd, $J=4.8, 1.5\text{Hz}$, 1H), 7.97 (d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 7.80 (d, $J=16.7\text{Hz}$, 1H), 7.66 (d, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 7.60 (d, $J=1$

10

20

30

40

50

5.9Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.46 (t, J=7.8Hz, 1H), 7.38 (dd, J=7.9, 4.8Hz, 1H), 7.20 (dd, J=8.2, 2.6Hz, 1H), 4.62 (s, 2H), 1.52 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 189.7, 175.0, 168.0, 158.7, 151.6, 150.5, 141.4, 139.5, 134.9, 131.0, 130.2, 124.2, 122.3, 120.6, 114.1, 83.1, 66.2, 28.4.

1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3-インドリル) -2-プロペン-1-オン (18)

ピペリジン (4mL) 中の 16 (2.0g, 8.0mmol) と 3-インドールカルボキシアリデヒド (967mg, 6.66mmol) との混合物を 6 時間還流加熱した。反応混合物を冷却し、pH7 のリン酸緩衝液 (25mL) と EtOAc (50mL) とで処理した。有機部分を飽和 NaHCO_3 溶液 (2 x 50mL)、次に飽和 NaCl 水溶液 (2 x 25mL) で洗浄した。その後、有機層を MgSO_4 で乾燥し、ろ過し、蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 50% EtOAc/ヘキサン類) により黄色固体 1.47g (59%) を得た。IR (単味) 1730, 1650, 1560, 1240, 1150 cm^{-1} ; ^1H NMR (MeOH, 300MHz) 8.06 (d, J=15.5Hz, 1H), 7.94-7.91 (m, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.62 (dd, J=6.7, 1.1Hz, 1H), 7.52-7.42 (m, 4H), 7.40-7.17 (m, 3H), 4.61 (s, 2H), 1.42 (s, 9H); ^{13}C NMR (MeOH, 75MHz) 192.9, 170.5, 160.2, 142.4, 142.1, 139.8, 134.2, 131.3, 127.2, 124.5, 123.0, 121.7, 120.7, 117.4, 115.3, 113.7, 84.0, 67.2, 28.7.

3- (3-ピリジル) -1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) プロパン-1-オン (19)

EtOAc (70mL) 中の 17 (1.70g, 5.0mmol) と 10% Pd/C (85mg) との混合物を Parr 中で 42psi の H_2 下に 15 時間水素化した。この混合物を Celite でろ過し、ろ液を減圧濃縮した。シリカでのクロマトグラフィー (50%-60% EtOAc/ヘキサン類) により透明油状物 1.70g (100%) が得られた。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 8.54 (d, J=2.0Hz, 1H), 8.48 (dd, J=4.8, 1.5Hz, 1H), 7.70-7.10 (m, 6H), 4.58 (s, 2H), 3.31 (t, J=7.3Hz, 2H), 3.09 (t, J=7.4Hz, 2H), 1.50 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 198.3, 168.0, 158.6, 150.4, 148.1, 138.4, 136.9, 136.4, 130.2, 123.7, 121.8, 120.7, 113.5, 83.0, 66.1, 40.2, 28.4, 27.5.

1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3-インドリル) プロパン-1-オン (20)

1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3-インドリル) -2-プロペン-1-オン (18) から (19) と同様の方法で調製。フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 20%-30% EtOAc/ヘキサン類) により白色固体 468mg (80%) が得られた: IR (単味) 1735, 1680, 1230, 1150 cm^{-1} ; ^1H NMR (MeOH, 300MHz) 7.60-7.55 (m, 2H), 7.43-7.32 (m, 3H), 7.16-6.99 (m, 4H), 4.57 (s, 2H), 3.39-3.32 (obs t, 2H), 3.16 (t, J=7.2Hz, 2H), 1.47 (s, 9H); ^{13}C NMR (MeOH, 75MHz) 202.5, 170.4, 160.0, 140.2, 138.6, 131.3, 129.0, 123.5, 122.9, 122.7, 121.5, 120.0, 119.7, 115.6, 114.6, 112.6, 84.0, 67.1, 41.0, 28.7, 21.6.

(1R) -3- (3-ピリジル) -1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) プロパン-1-オール (21)

N_2 下で -23°C に保持した 19 (1.70g, 4.98mmol) の THF (10mL) 溶液に、(+)-B-クロロジイソピノカンフェニルボラン (3.2g, 9.97mmol) の冷 (-23°C) THF (20mL) 溶液を加えた。得られた混合物を冷凍庫に 3 日間入れた。その後、混合物を減圧濃縮し、残渣をジエチルエーテル (100mL) に再溶解させた。このエーテル溶液を室温で激しく攪拌しながらジエタノールアミン (1.44mL, 15.0mmol) で 3 時間処理した。析出した白色沈殿をろ別し、ろ液を減圧濃縮した。シリカゲルでのクロマトグラフィー (50-100% EtOAc/ヘキサン類) により、無色油状物 1.41g (82%) が得られた (Chiracel HPLC, 25% i-PrOH/ヘキサン類で 97.5% ee: 保持時間は R 鏡像異性体が 78.5 分、S 鏡像異性体が 52.1 分): ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 8.42 (m, 2H), 7.55-6.80 (m, 6H), 4.65 (dd, J=7.8, 5.1Hz, 1H), 4.52 (s, 2H), 2.75 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 1.49 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 175.1, 168.4, 158.6, 150.3, 147.7, 146.8, 137.5, 136.3, 130.0, 123.7, 119.4, 114.1, 112.5, 108.0, 82.8, 73.5, 66.0, 40.5, 29.5, 28.4.

(R) 1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3-インドリル) プロ

パン-1-オール (22)

1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3-インドリル) プロパン-1-オン (20) から (21) と同様の方法で調製。フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 20%-30% EtOAc/ヘキサン類) により黄色味を帯びた油状物258mg (55%) が得られた (Chiracel HPLC, 20% i-PrOH/ヘキサン類で+95% ee: 保持時間はR鏡像異性体が54.2分、S鏡像異性体が50.7分) : IR (単味) 3410, 2930, 1735, 1455, 1230, 1150, 1080 cm^{-1} ; ^1H NMR (MeOH, 300MHz) 7.51 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.33 (d, J=8.1, 1H), 7.25 (略t, J=7.9, 1H), 7.11-6.92 (m, 5H), 6.82-6.78 (m, 1H), 4.67 (t, J=5.8Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 2.85-2.77 (m, 2H), 2.18-2.06 (m, 2H), 1.47 (s, 9H); ^{13}C NMR (MeOH, 75MHz) 170.8, 159.9, 148.9, 138.6, 130.8, 129.2, 123.2, 122.6, 120.8, 119.9, 116.4, 114.9, 113.7, 112.6, 83.8, 75.0, 67.0, 41.3, 28.7, 22.9。

10

官能基含有単量体の調製

(1R) -3-フェニル-1- [3- ((3-アミノプロピル) オキシ) フェニル] -1-プロピル (2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) -2-ピペリジンカルボキシレート・トリフルオロ酢酸塩 (24)

アルコール 2 (385mg, 1.0mmol) の CH_2Cl_2 (3mL) 溶液を、窒素雰囲気下で、(2S) -1- (1,2-ジオキソ-3,3-ジメチルペンチル) -2-ピペリジンカルボン酸 (23, 255mg, 1.0mmol, Holt et al. J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938の文献手法に従って、L-ピペコリン酸から4工程で調製) で処理し、次いで1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DC C, 247mg, 1.2mmol) と4- (ジメチルアミノ) -ピリジン (DMAP, 85mg, 0.70mmol) とで処理した。得られた鮮黄色懸濁液を一晩攪拌した。混合物を次いでガラスウールでろ過し、クロマトグラフィー処理して (シリカゲル, 20% EtOAc/ヘキサン類)、(1R) -3-フェニル-1- [3-9 (3-tert-ブチルオキシカルバモイルプロピル) オキシ) フェニル] -1-プロピル (2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) -2-ピペリジンカルボキシレート (524mg, 84%) を無色油状物として得た: ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステレオマー、ロタマー (回転異性体) 混合物) 7.35-6.90 (m, 9H), 5.80 (t, J=5.9Hz, 1H), 5.32 (d, J=5.0Hz, 0.82H, ロタマーAのピペコレートa-H), 4.80 (br. s, 1H), 4.02 (t, J=6.1Hz, 2H), 3.40-3.25 (m, sH), 3.12 (td, J=13.0, 3.3Hz, 1H), 2.60 (m, 2H), 2.35 (d, J=14 Hz, 1H), 2.28 (m, 1H), 2.07 (m, 1H), 1.96 (t, J=6.3Hz, 2H), 1.80-1.60 (m, 5H), 1.43 (s, 9H), 1.22 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 0.88 (t, J=7.4Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.1, 167.6, 159.4, 156.4, 141.7, 141.3, 130.1, 128.9, 128.7, 126.5, 119.4, 114.7, 113.2, 113.0, 66.1, 57.1, 51.7, 47.1, 44.5, 38.3, 32.9, 32.1, 30.0, 28.8, 26.8, 25.4, 24.9, 24.0, 23.8, 23.5, 21.6, 9.1。

20

30

MS (FAB) : (M+Na) $^{+}$ 645, (M+H) $^{+}$ 623。

上記化合物 (200mg, 0.32mmol) の CH_2Cl_2 (5.0mL) 溶液をトリフルオロ酢酸 (1.0mL) で処理し、この混合物を室温で1時間攪拌した。反応混合物をトルエン (150mL) で希釈し、減圧濃縮して、無色ガム状物として24 (203mg, 100%) を得た: ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.90 (br. s, 3H), 7.30-6.70 (m, 9H), 5.70 (t, J=5.4Hz, 1H), 5.23 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.01 (m, 2H), 3.30 (d, J=12.8Hz, 1H), 3.13 (m, 3H), 2.58 (m, 2H), 2.40-2.00 (m, 4H), 1.75-1.50 (m, 5H), 1.35 (m, 2H), 1.13 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 0.80 (t, J=7.4Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.4, 175.3, 175.2, 170.1, 167.8, 158.8, 142.0, 141.2, 130.2, 128.9, 128.7, 126.5, 119.8, 114.6, 113.0, 108.0, 66.1, 51.8, 47.1, 44.6, 38.6, 38.3, 32.8, 32.1, 27.3, 26.8, 25.3, 23.8, 23.4, 21.5, 9.0。

40

HRMS (FAB) : (M+Na) $^{+}$ 計算値523.3172, 実測値523.3162。

(1R) -3-フェニル-1- (3- (ヒドロキシカルボニルメトキシ) フェニル) -1-プロピル (2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) -2-ピペリジンカルボキシレート (25)

アルコール 3 (342mg 1.0mmol) の CH_2Cl_2 (3mL) 溶液を、窒素雰囲気下で、(2S) -1- (1,2-ジオキソ-3,3-ジメチルペンチル) -2-ピペリジンカルボン酸 (23, 255mg, 1.0mmol, H

50

olt et al. J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938の文献手法に従って、L-ピペコリン酸から4工程で調製)で処理し、次いで1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC, 247mg, 1.2mmol)と4-(ジメチルアミノ)-ピリジン(DMAP, 85mg, 0.70mmol)とで処理した。得られた鮮黄色懸濁液を一晩攪拌した。混合物を次いでガラスウールでろ過し、クロマトグラフィー処理して(シリカゲル, 20% EtOAc/ヘキサン類)、(1R)-3-フェニル-1-[3-(tert-ブトキシカルボニルメトキシ)フェニル]-1-プロピル(2S)-1-(3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル)-2-ピペリジンカルボキシレート(470mg, 82%)を無色油状物として得た:¹H NMR(CDCl₃, 300MHz)(単一ジアステレオマー、ロタマー混合物)7.50-6.90(m, 9H), 5.93(t, J=6.0Hz, 1H), 5.46(d, J=3.4Hz, 0.83H, ロタマーAのピペコレートa-H), 4.67(s, 2H), 3.50(d, J=12.9Hz, 1H), 3.32(td, J=12.5, 3.0Hz, 1H), 2.75(m, 2H), 2.53(d, J=13.6Hz, 1H), 2.41(m, 1H), 2.22(m, 1H), 2.97-2.71(m, 6H), 1.62(s, 9H), 1.38(s, 3H), 1.35(s, 3H), 1.03(t, J=7.4Hz); ¹³C NMR(CDCl₃, 75MHz)(単一ジアステレオマー、ロタマー混合物)208.3, 175.0, 170.0, 168.0, 167.5, 158.5, 141.7, 141.2, 130.2, 128.9, 128.7, 126.5, 120.2, 114.7, 113.6, 82.8, 66.1, 51.6, 47.1, 44.5, 38.2, 32.9, 32.0, 28.4, 26.8, 25.3, 24.0, 23.4, 21.6, 9.2。

HRMS(FAB): (M+Na)⁺計算値602.3094, 実測値602.3090。

上記tert-ブチルエステル(200mg, 0.34mmol)のCH₂Cl₂(5.0mL)溶液をトリフルオロ酢酸(1.0mL)で処理し、この混合物を室温で1時間攪拌した。反応混合物をトルエン(150mL)で希釈し、減圧濃縮して、無色ガム状物として25(177mg, 99%)を得た:¹H NMR(CDCl₃, 300MHz)(単一ジアステレオマー、ロタマー混合物)7.30-6.80(m, 9H), 5.75(m, 1H), 5.30(d, J=4.8Hz, 1H), 4.66(s, 2H), 3.35(d, J=9.27Hz, 1H), 3.19(td, J=12.4, 2.9Hz, 1H), 2.69(m, 2H), 2.39(d, J=16.2Hz, H), 2.30(m, 1H), 2.10(m, 1H), 1.90-1.60(m, 6H), 1.50(m, 1H), 1.19(s, 3H), 1.17(s, 3H), 0.85(t, J=7.4Hz, 3H); ¹³C NMR(CDCl₃, 75MHz)(単一ジアステレオマー、ロタマー混合物)208.0, 172.3, 169.8, 167.9, 158.2, 142.2, 141.1, 130.2, 128.9, 128.7, 126.5, 120.3, 115.5, 111.8, 65.5, 57.2, 52.0, 47.2, 44.6, 38.3, 33.0, 32.9, 32.1, 27.0, 25.3, 25.2, 23.9, 23.4, 21.5, 9.1。HRMS(FAB): (M+Na)⁺計算値546.2468, 実測値546.2461。

(1R)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)-1-[3-(ヒドロキシカルボニルメトキシ)フェニル]-1-プロピル(2S)-1-(3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル)-2-ピペリジンカルボキシレート(26)

(R) 1-(3-(tert-ブトキシカルボニルメトキシ)フェニル)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)プロパン-1-オール(13)(805mg, 2.0mmol)のCH₂Cl₂(4mL)溶液を0℃で窒素雰囲気下に、(2S)-1-(1,2-ジオキソ-3,3-ジメチルペンチル)-2-ピペリジンカルボン酸(23, 511mg, 2.0mmol, Holt et al. J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938の文献手法に従って、L-ピペコリン酸から4工程で調製)で処理し、次いで4-(ジメチルアミノ)ピリジン(DMAP, 1mg)と1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC, 413mg, 2mmol)とで処理した。得られた鮮黄色懸濁液を2時間攪拌した後、ジエチルエーテル(20mL)で希釈した。反応混合物をろ過し、蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル, 25%-30% EtOAc/ヘキサン類)により993mg(78%)の透明無色な粘稠油状物を得た: IR(単味)2940, 1735, 1645, 1515, 1455, 1225, 1150cm⁻¹; ¹H NMR(CDCl₃, 300MHz)7.20-7.17(m, 2H), 6.91-6.69(m, 5H), 5.73-5.68(m, 1H), 5.24(br s, 1H), 4.46(s, 2H), 3.79(s, 3H), 3.78(s, 3H), 3.29(br d, J=13.2Hz, 1H), 3.07(td, J=12.7, 3.0Hz, 1H), 2.52-2.44(m, 2H), 2.29(br d, J=13.6Hz, 1H), 2.20-2.13(m, 1H), 2.04-1.95(m, 1H), 1.71-1.51(m, 7H), 1.41(s, 9H), 1.16(s, 3H), 1.14(s, 3H), 0.82(t, J=7.4Hz, 3H); ¹³C NMR(CDCl₃, 75MHz)208.2, 170.1, 168.3, 167.6, 158.5, 149.3, 147.8, 141.8, 133.9, 130.1, 120.5, 120.3, 114.7, 113.7, 112.2, 111.7, 82.7, 66.2, 56.2, 51.7, 47.1, 44.6, 38.3, 32.9, 31.6, 28.8, 26.8, 25.3, 23.8, 23.5, 21.6, 9.1。

HRMS(FAB): (M+Na)⁺計算値662.3305, 実測値662.3301。

上で得たtert-ブチルエステル (460mg, 0.72mmol) のCH₂Cl₂ (5.0mL) 溶液をトリフルオロ酢酸 (1.0mL) で処理し、この混合物を室温で1時間攪拌した。反応混合物をトルエン (150mL) で希釈し、減圧濃縮して、黄色泡状物として26 (420mg, 100%) を得た：¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 8.00 (br. s, 1H), 7.35-6.70 (m, 7H), 5.82 (m, 1H), 5.33 (d, J=4.5Hz, 1H), 4.71 (m, 2H), 3.89 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.38 (d, J=12.6Hz, 1H), 3.24 (td, J=12.3, 2.7Hz, 1H), 2.60 (m, 2H), 2.45-2.05 (m, 3H), 1.70 (m, 6H), 1.45 (m, 2H), 1.23 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 0.89 (t, J=7.4Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.0, 172.0, 169.8, 167.8, 158.2, 149.4, 147.8, 142.2, 133.7, 130.2, 129.4, 128.6, 125.7, 120.6, 120.3, 115.5, 112.2, 111.8, 111.7, 108.2, 65.5, 56.3, 51.9, 47.2, 44.6, 38.5, 32.9, 31.7, 28.4, 27.0, 25.3, 23.9, 23.4, 21.8, 21.5, 9.1.

HRMS (FAB): (M+Na)⁺ 計算値606.2679, 実測値606.2692.

(1R) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル) -1- [3- (ヒドロキシカルボニルメトキシ) フェニル] -1-プロピル (2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) -2-ピペリジンカルボキシレート (27)

アルコール14 (650mg, 1.5mmol) のCH₂Cl₂ (5mL) 溶液を、窒素雰囲気下、(2S) -1- (1,2-ジオキソ-3,3-ジメチルペンチル) -2-ピペリジンカルボン酸 (23, 382mg, 1.5mmol) で処理し、次いで1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (370mg, 1.8mmol) と4- (ジメチルアミノ) ピリジン (128mg, 1.0mmol) とで処理した。得られた鮮黄色懸濁液を一晩攪拌した。この混合物を次いでガラスウールでろ過し、クロマトグラフィー処理して (シリカゲル, 20%-30% EtOAc/ヘキサン類)、(1R) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル) -1- [3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル] -1-プロピル (2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) -2-ピペリジンカルボキシレート (776mg, 78%) を無色油状物として得た：¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.30-6.80 (m, 4H), 6.37 (s, 2H), 5.82 (t, J=6.1Hz, 1H), 5.33 (d, J=5.2Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 3.85 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 3.38 (d, J=12.6Hz, 1H), 3.16 (td, J=12.8, 3.1Hz, 1H), 2.60 (m, 2H), 2.45-2.05 (m, 3H), 1.70 (m, 6H), 1.50 (s, 9H), 1.45 (m, 2H), 1.25 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 0.90 (t, J=7.4Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 175.1, 170.1, 168.2, 167.6, 158.5, 153.6, 141.7, 137.0, 130.1, 120.9, 120.2, 114.6, 113.7, 105.7, 82.7, 66.2, 61.2, 56.5, 51.7, 47.1, 44.6, 38.2, 32.9, 32.4, 28.4, 26.8, 25.3, 23.9, 23.5, 21.6, 9.1.

上で得たtert-ブチルエステル (400mg, 0.60mmol) のCH₂Cl₂ (5.0mL) 溶液をトリフルオロ酢酸 (1.0mL) で処理し、この混合物を室温で1時間攪拌した。反応混合物をトルエン (150mL) で希釈し、減圧濃縮して、白色泡状物として27 (358mg, 98%) を得た：¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.30-6.80 (m, 4H), 6.39 (s, 2H), 5.82 (m, 1H), 5.33 (d, J=4.6Hz, 1H), 4.70 (m, 2H), 3.86 (s, 6H), 3.84 (s, 3H), 3.38 (d, J=12.6Hz, 1H), 3.22 (td, J=12.8, 3.1Hz, 1H), 2.60 (m, 2H), 2.45-2.05 (m, 3H), 1.70 (m, 6H), 1.45 (m, 2H), 1.23 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 0.89 (t, J=7.4Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.0, 175.0, 171.7, 169.8, 167.8, 158.2, 153.6, 142.1, 136.9, 130.2, 129.4, 128.6, 125.7, 120.3, 115.5, 111.8, 107.9, 105.8, 65.6, 61.2, 56.5, 52.0, 47.2, 44.6, 38.3, 32.9, 32.5, 27.0, 25.3, 23.8, 23.4, 21.5, 9.1.

MS (FAB): (M+Na)⁺ 計算値636.2785, 実測値636.2756.

(R) 1- (3- (ヒドロキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル) -1-プロピル (2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) -2-ピペリジンカルボキシレート (28)

(R) 1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル) プロパン-1-オール (15) (500mg, 1.29mmol) のCH₂Cl₂ (4mL) 溶液を0℃で窒素雰囲気下に、(2S) -1- (1,2-ジオキソ-3,3-ジメチルペンチル) -2-ピペリジンカルボン酸 (23, 330mg, 1.29mmol, Holt et al., J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-

9938の文献手法に従って、L-ピペコリン酸から4工程で調製)で処理し、次いで4-(ジメチルアミノ)ピリジン(DMAP, 1mg)と1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC, 267mg, 1.29mmol)とで処理した。得られた鮮黄色懸濁液を2時間攪拌した後、ジエチルエーテル(20mL)で希釈した。反応混合物をろ過し、蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー処理した。粗製材料のフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル, 20%-30% EtOAc/ヘキサン類)により556mg(69%)の透明無色な油状物を得た: IR(単味) 2970, 1745, 1700, 1640, 1490, 1440, 1245, 1150 cm^{-1} ; ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz)(単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.32-7.26(m, 1H), 6.99-6.84(m, 6H), 5.93(s, 2H), 5.80-7.6(m, 1H), 5.33(d, J=4.9Hz, 1H), 4.55(s, 2H), 3.38(br d, J=12.9Hz, 1H), 3.16(td, J=12.3, 3.1Hz, 1H), 2.63-2.50(m, 2H), 2.38(br d, J=13.7Hz, 1H), 2.26-2.16(m, 1H), 2.09-2.04(m, 1H), 1.81-1.57(m, 7H), 1.51(s, 9H), 1.26(s, 3H), 1.23(s, 3H), 0.91(t, J=7.4Hz, 3H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz)(単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.0, 168.3, 167.6, 158.5, 148.1, 146.2, 141.7, 135.0, 130.1, 121.5, 120.2, 114.9, 113.6, 109.2, 108.6, 101.2, 82.7, 66.2, 51.7, 47.1, 44.5, 38.3, 32.9, 31.6, 28.4, 26.8, 25.3, 23.8, 23.5, 21.6, 9.1。

HRMS(FAB): (M+Na) $^{+}$ 計算値646.2992, 実測値646.3021。

上で得たtert-ブチルエステル(625mg, 1.00mmol)の CH_2Cl_2 (4.0mL)溶液をトリフルオロ酢酸(1.5mL)で処理し、この混合物を室温で1時間攪拌した。反応混合物をトルエン(150mL)で希釈し、減圧濃縮して、透明無色油状物として28(483mg, 85%)を得た: IR(単味) 3420, 2940, 1735, 1700, 1640, 1490, 1440, 1245, 1040 cm^{-1} ; ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz)(単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.12(t, J=6.7Hz, 1H), 6.92-6.81(m, 3H), 6.68-6.52(m, 3H), 5.86(s, 2H), 5.73(t, J=7.2Hz, 1H), 5.33(s, 1H), 4.40(s, 2H), 3.34(d, J=12.2Hz, 1H), 3.19(t, J=12.0Hz, 1H), 2.54-2.46(m, 2H), 2.34(d, J=12.6Hz, 1H), 2.24-2.00(m, 2H), 1.73-1.32(m, 7H), 1.18(s, 3H), 1.16(s, 3H), 0.84(t, J=7.3Hz, 3H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz)(単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.0, 169.9, 167.79, 158.3, 148.0, 146.2, 141.9, 135.0, 130.1, 121.5, 109.1, 108.6, 107.2, 101.2, 77.0, 51.9, 47.0, 44.6, 38.6, 32.9, 31.8, 26.9, 25.3, 23.9, 23.3, 21.6, 9.1。

(1R)-3-(3-ピリジル)-1-(3-(ヒドロキシカルボニルメトキシ)フェニル)-1-プロピル(2S)-1-(3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル)-2-ピペリジンカルボキシレート(29)

アルコール21(530mg, 1.54mmol)の CH_2Cl_2 (5mL)溶液を、窒素雰囲気下、(2S)-1-(1,2-ジオキソ-3,3-ジメチルペンチル)-2-ピペリジンカルボン酸(23, 393mg, 1.54mmol)で処理し、次いで1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド(381mg, 1.85mmol)と4-(ジメチルアミノ)ピリジン(132mg, 1.08mmol)とで処理した。得られた鮮黄色懸濁液を一晩攪拌した。この混合物を次いでグラスウールでろ過し、クロマトグラフィー処理して(シリカゲル, 20~60% EtOAc/ヘキサン類)、(1R)-3-(3-ピリジル)-1-[3-(tert-ブトキシカルボニルメトキシ)フェニル]-1-プロピル(2S)-1-(3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル)-2-ピペリジンカルボキシレート(860mg, 96%)を無色油状物として得た: ^1H NMR(CDCl_3 , 300MHz)(単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 8.46(m, 2H), 7.50-6.80(m, 6H), 5.80(t, J=6.1Hz, 1H), 5.32(d, J=5.0Hz, 1H), 4.54(s, 2H), 3.38(d, J=12.8Hz, 1H), 3.14(td, J=12.6, 3.0Hz, 1H), 2.60(m, 2H), 2.36(d, J=13.7Hz, 1H), 2.25(m, 1H), 2.10(m, 1H), 1.75(m, 4H), 1.49(s, 9H), 1.45(m, 2H), 1.24(s, 3H), 1.22(s, 3H), 0.90(t, J=7.4Hz, 3H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75MHz)(単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 175.1, 170.0, 168.2, 167.7, 158.6, 150.2, 148.1, 141.3, 136.6, 130.2, 123.8, 120.1, 115.0, 113.6, 107.9, 82.8, 66.1, 51.7, 47.1, 44.6, 39.2, 37.8, 34.4, 33.0, 29.2, 28.4, 26.7, 25.3, 23.9, 23.5, 21.6, 21.4, 9.1。

上で得たtert-ブチルエステル(400mg, 0.69mmol)の CH_2Cl_2 (5.0mL)溶液をトリフルオロ酢酸(1.0mL)で処理し、この混合物を室温で1時間攪拌した。反応混合物をトルエン

(150mL) で希釈し、減圧濃縮して、白色泡状物として29 (424mg, 96%) を得た：¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 8.75 (s, 1H), 8.67 (d, J=10.4Hz, 1H), 8.23 (t, J=5.6Hz, 1H), 7.79 (dd, J=7.9, 5.6Hz, 1H), 7.35-6.75 (m, 4H), 5.80 (t, J=6.1Hz, 1H), 5.25 (d, J=5.0Hz, 1H), 4.75 (m, 2H), 3.35 (d, J=13.2Hz, 1H), 3.14 (td, J=12.6, 3.0Hz, 1H), 2.75 (m, 2H), 2.30 (m, 3H), 1.70 (m, 6H), 1.40 (m, 2H), 1.22 (s, 6H), 0.92 (t, J=7.4Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.3, 172.3, 169.9, 167.8, 158.6, 145.5, 142.5, 142.0, 139.8, 139.5, 130.6, 129.4, 128.6, 120.2, 117.1, 111.8, 65.2, 51.8, 47.1, 44.8, 36.7, 32.8, 28.4, 26.6, 25.2, 23.7, 21.4, 9.1。

HRMS (FAB): (M+Na)⁺ 計算値547.2420, 実測値547.2415。

10

(1R) -3- (3-インドリル) -1- (3- (ヒドロキシカルボニルメトキシ) フェニル) -1-プロピル (2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) -2-ピペリジンカルボキシレート (30)

(R) 1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3-インドリル) プロパン-1-オール (22) から、28のエステルと同様の方法でtert-ブチルエステルを調製した。フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 30% EtOAc/ヘキサン類) により、透明無色油状物492mg (76%) が得られた。IR (単味) 3410, 2970, 1735, 1700, 1635, 1455, 1225, 1150cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 8.04 (br s, 1H), 7.53 (d, J=7.8Hz, 1H), 7.37 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.30-7.11 (m, 3H), 7.01-6.84 (m, 4H), 5.91-5.86 (m, 1H), 5.35 (d, J=4.8Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 3.39 (d, J=13.3Hz, 1H), 3.18 (td, J=12.6, 3.0Hz, 1H), 2.87-2.74 (m, 2H), 2.41-2.18 (m, 3H), 1.82-1.57 (m, 7H), 1.50 (s, 9H), 1.27 (s, 3H), 1.24 (s, 3H), 0.92 (t, J=7.4Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 208.3, 170.1, 168.3, 167.7, 158.5, 141.9, 136.8, 130.1, 127.7, 122.3, 121.8, 120.3, 119.6, 119.1, 115.4, 114.7, 113.7, 111.5, 82.7, 66.2, 51.7, 47.1, 44.5, 36.8, 32.9, 28.4, 26.9, 25.4, 24.0, 23.4, 21.6, 9.1。

20

HRMS (FAB): (M+Na)⁺ 計算値641.3203, 実測値641.3193。

上で得たtert-ブチルエステル (112mg, 0.18mmol) のCH₂Cl₂ (5.0mL) 溶液をトリフルオロ酢酸 (1.0mL) で処理し、この混合物を室温で1時間攪拌した。反応混合物をトルエン (150mL) で希釈し、減圧濃縮して、褐色泡状物として30 (102mg, 100%) を得た：¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.90-6.70 (m, 10H), 5.85 (m, 1H), 5.35 (m, 1H), 4.62 (m, 2H), 3.40 (m, 1H), 3.25 (m, 1H), 2.80 (m, 2H), 2.40-2.05 (m, 3H), 1.85-1.45 (m, 12H), 1.23 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 0.88 (t, J=7.4Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.0, 175.0, 169.8, 167.9, 158.2, 142.3, 130.2, 129.4, 128.6, 125.7, 122.5, 119.7, 119.1, 115.3, 111.6, 108.0, 65.5, 52.0, 47.2, 44.6, 32.9, 27.0, 25.3, 23.9, 23.4, 21.6, 9.1。

30

HRMS (FAB): (M+Na)⁺ 計算値585.2577, 実測値585.2561。

二量体の調製

実施例 1 N,N'-ビス [3- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3-フェニル) プロピルフェノキシ) プロピル] 1, 4-フェニレンジアセトアミド (31)

40

無水アセトニトリル (5.0mL) 中の1,4-フェニレン二酢酸 (194mg, 1.0mmol) とジスクシンイミジルカーボネート (512mg, 2.0mmol) の混合物を、ピリジン (243mL, 3.0mmol) で処理した。この混合物を窒素下、室温で一晩攪拌した。得られた懸濁液を、EtOAc (70mL) と水 (50mL) との間で分配した。有機層を分離し、1M Na₂CO₃、水、0.5N HCl、飽和食塩水で洗浄し、乾燥 (Na₂SO₄) し、減圧濃縮して、1,4-フェニレン二酢酸ジスクシンイミジルエステル (144mg, 37%) を白色固体として得た。¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz) 7.34 (s, 4H), 4.10 (s, 4H), 2.80 (s, 8H)。

24 (102mg, 0.16mmol) のCH₂Cl₂ (2.0mL) 溶液を、上記の活性化ジエステル (31mg, 0.08mmol) とEt₃N (67mL, 0.48mmol) で処理した。この混合物を室温で一晩攪拌した。生成

50

した透明溶液をシリカゲルに含浸させ、蒸発乾固した。クロマトグラフィー（シリカゲル，50-100% EtOAc/ヘキサン類）により白色固体として31（60mg，62%）が得られた：融点55~57℃；¹H NMR（CDCl₃，300MHz）（単一ジアステロオマー、ロタマー混合物）7.32-7.15（m,16H），6.95（d,J=7.7Hz,2H），6.83（s,2H），6.74（m,2H），6.01（br. s,2H），5.80（t,J=5.8Hz,2H），5.32（d,J=4.9Hz,2H），3.98（t,J=5.7Hz,4H），3.52（s,4H），3.50-3.30（m,6H），3.22（td,J=12.4，2.6Hz,2H），2.67（m,4H），2.38（d,J=13.6Hz,2H），2.30（m,2H），2.12（m,2H），1.95（t,J=6.1Hz,4H），1.85-1.60（m,10H），1.50（m,4H），1.23（s,6H），1.21（s,6H），0.89（t,J=7.4Hz,6H）；¹³C NMR（CDCl₃，75MHz）（単一ジアステロオマー、ロタマー混合物）208.2，208.0，171.3，170.1，169.9，167.8，159.2，141.8，141.6，141.2，134.4，130.3，130.1，128.9，128.7，126.5，119.3，115.0，114.7，113.1，112.8，57.1，51.7，47.1，44.5，43.7，39.3，38.3，38.2，37.8，33.0，32.8，32.1，29.3，26.9，25.3，23.9，23.5，21.6，21.4，9.17，9.13。
MS（FAB）：（M+Na）⁺1225，（M+H）⁺1203。

実施例 2 N,N'-ビス [3-（3-（（1R）-1-（（2S）-（3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル）ピペリジン-2-カルボニルオキシ）-3-フェニル）プロピルフェノキシ）プロピル] スベルアミド（32）

1,4-フェニレン二酢酸の代わりにスベリン酸を用いた以外は実施例 1 と同じ方法に従って、32（54mg，56%）を白色固体として得た。融点44~46℃；¹H NMR（CDCl₃，300MHz）（単一ジアステロオマー、ロタマー混合物）7.35-6.85（m,18H），6.18（br. s,2H），5.86（t,J=5.9Hz,2H），5.39（d,J=4.9Hz,2H），4.12（t,J=5.9Hz,4H），3.60-3.40（m,6H），3.28（td,J=12.6，2.8Hz,2H），2.70（m,4H），2.47（d,J=13.8Hz,2H），2.35（m,2H），2.30-2.00（m,12H），1.95-1.70（m,14H），1.55-1.35（m,6H），1.30（s,6H），1.28（s,6H），0.96（t,J=7.5Hz,6H）；¹³C NMR（CDCl₃，75MHz）（単一ジアステロオマー、ロタマー混合物）208.3，170.0，167.8，159.3，141.8，141.2，130.2，128.9，128.7，126.5，119.4，114.7，113.0，66.4，51.7，47.1，44.5，38.3，37.7，32.8，32.1，29.3，28.7，26.9，25.8，25.3，23.9，21.6，9.1。

MS（FAB）：（M+Na）⁺1205。

実施例 3 N,N'-ビス [3-（3-（（1R）-1-（（2S）-（3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル）ピペリジン-2-カルボニルオキシ）-3-フェニル）プロピルフェノキシ）プロピル] ピリジン-2,6-ジカルボキサミド（33）

1,4-フェニレン二酢酸の代わりにピリジン-2,6-ジカルボン酸を用いた以外は実施例 1 と同じ方法に従って、33（44mg，54%）を白色固体として得た。融点60~62℃；¹H NMR（CDCl₃，300MHz）（単一ジアステロオマー、ロタマー混合物）8.34（d,J=7.7Hz,2H），8.00（t,J=7.7Hz,1H），7.99（br. s,2H,NHs），7.30-6.75（m,18H），5.77（t,J=5.7Hz,2H），5.30（d,J=4.8Hz,2H），4.02（m,4H），3.63（m,4H），3.35（d,J=12.7Hz,2H），3.20（td,J=12.7，2.8Hz,2H），2.60（m,4H），2.36（d,J=13.3Hz,2H），2.24（m,2H），2.05（m,6H），1.80-1.65（m,10H），1.50（m,4H），1.20（s,6H），1.18（s,6H），0.85（t,J=7.4Hz,6H）；¹³C NMR（CDCl₃，75MHz）（単一ジアステロオマー、ロタマー混合物）208.2，170.1，167.7，164.0，159.3，149.1，142.0，141.2，139.3，130.2，128.9，128.7，126.5，125.4，119.4，115.1，113.2，107.9，67.0，57.1，51.6，47.1，44.5，38.3，37.9，32.8，32.1，29.6，28.0，26.9，25.4，23.9，23.5，21.6，9.1。

MS（FAB）：（M+Na）⁺1198，（M+H）⁺1176。

実施例 4 N,N'-ビス [3-（3-（（1R）-1-（（2S）-（3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル）ピペリジン-2-カルボニルオキシ）-3-フェニル）プロピルフェノキシ）プロピル] ピリジン-3,5-ジカルボキサミド（34）

1,4-フェニレン二酢酸の代わりにピリジン-3,5-ジカルボン酸を用いた以外は実施例 1 と同じ方法に従って、34（32mg，39%）を白色固体として得た。融点62~64℃；¹H NMR（CDCl₃，300MHz）（単一ジアステロオマー、ロタマー混合物）9.09（d,J=1.8Hz,2H），8.42（d,J=1.9Hz,1H），7.30-6.80（m,20H），5.78（t,J=5.6Hz,2H），5.28（d,J=4.7Hz,2H），4.12（t,J=5.6Hz,4H），3.68（m,4H），3.36（d,J=13.0Hz,2H），3.18（td,J=13.4，3.4H

z, 2H), 2.60 (m, 4H), 2.35 (d, J=13.2Hz, 2H), 2.25 (m, 2H), 2.05 (m, 6H), 1.80-1.65 (m, 10H), 1.50 (m, 4H), 1.18 (s, 6H), 1.16 (s, 6H), 0.84 (t, J=7.4Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.3, 170.1, 167.8, 165.2, 159.1, 150.9, 141.9, 141.3, 130.3, 130.2, 128.9, 128.7, 126.5, 119.5, 115.0, 112.7, 107.9, 67.0, 51.7, 47.1, 44.5, 38.7, 38.2, 32.8, 32.1, 26.8, 25.3, 23.9, 23.5, 21.5, 9.1。MS (FAB): (M+Na) $^{+}$ 1198, (M+H) $^{+}$ 1176。

実施例 5 N,N'-ビス [3- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピルフェノキシ) プロピル] N-メチルピリジニウム-3,5-ジカルボキサミド・ヨージド (35)

34 (10mg, 8.5mmol) のアセトン (1.0mL) 溶液を MeI (60mL, 10.2mmol) で処理した。混合物を暗所で室温に 3 日間放置したところ、TLC (100% EtOAc) は出発物質が全て基準 (baseline) 化合物に転化したことを示した。得られた濃黄色溶液を減圧濃縮すると、35 (1mg, 100%) が黄色固体として得られた。 ^1H NMR (アセトン- d_6 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 9.98 (s, 1H), 9.62 (s, 2H), 9.14 (br. s, 2H), 7.20-6.70 (m, 20H), 5.83 (t, J=5.2Hz, 2H), 5.27 (d, J=4.5Hz, 2H), 4.75 (s, 3H), 4.18 (t, J=6.4Hz, 4H), 3.67 (q, J=6.1Hz, 4H), 3.45 (d, J=13.4Hz, 2H), 3.25 (m, 2H), 2.75 (m, 4H), 2.20-1.90 (m, 10H), 1.75 (m, 10H), 1.50 (m, 4H), 1.21 (s, 6H), 1.19 (s, 6H), 0.85 (t, J=7.5Hz, 6H); ^{13}C NMR (アセトン- d_6 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.7, 170.8, 168.2, 162.1, 160.6, 148.7, 143.3, 142.6, 130.8, 129.6, 127.2, 119.8, 115.6, 113.9, 104.0, 77.8, 67.2, 52.5, 47.6, 45.3, 39.4, 38.1, 33.6, 32.8, 27.6, 26.1, 24.2, 23.8, 22.4, 9.5。MS (FAB): M^{+} 1190。

実施例 6 N,N'-ビス [3- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピルフェノキシ) プロピル] ベンゼン-1,3-ジスルホンアミド (36)

24 (106mg, 0.17mmol) の CH_2Cl_2 (2.0mL) 溶液を Et_3N (71mL, 0.51mmol) とベンゼン-1,3-ジスルホンクロリド (23mg, 0.085mmol) で処理した。この混合物を室温で一晩攪拌した。生成した透明溶液をシリカゲルに含浸させ、蒸発乾固した。クロマトグラフィー (シリカゲル, 50% EtOAc/ヘキサン類) により白色固体として 36 (64mg, 61%) が得られた: 融点 58~60°C; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 8.39 (d, J=6.3Hz, 1H), 8.03 (dd, J=7.8, 1.6Hz, 2H), 7.57 (td, J=7.9, 4.4Hz, 1H), 7.35-6.80 (m, 18H), 5.81 (m, 2H), 5.50 (m, 2H), 5.36 (d, J=4.4Hz, 2H), 3.95 (m, 4H), 3.43 (d, J=12.6Hz, 2H), 3.22 (m, 6H), 2.65 (m, 4H), 2.43 (d, J=13.6Hz, 2H), 2.30 (m, 2H), 2.15 (m, 2H), 1.95 (m, 4H), 1.90-1.65 (m, 12H), 1.50 (m, 4H), 1.25 (s, 6H), 1.23 (s, 6H), 0.90 (t, J=7.4Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.5, 170.1, 167.8, 159.0, 142.1, 141.9, 141.3, 131.1, 130.5, 130.1, 128.9, 128.7, 126.5, 125.8, 119.5, 114.8, 112.7, 65.7, 57.2, 51.8, 47.1, 44.6, 41.2, 38.4, 32.9, 32.8, 32.1, 29.5, 26.8, 25.3, 23.9, 23.4, 21.6, 9.2, 9.1。MS (FAB): (M+Na) $^{+}$ 1269。

実施例 7 N,N'-ビス [3- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピルフェノキシ) プロピル] 5-アミノベンゼン-1,3-ジカルボキサミド (37)

5-アミノイソフタル酸 (1.81g, 10mmol) とジオキサン (60mL) との混合物を Na_2CO_3 (4.24g, 40mmol) の水 (60mL) 溶液、次に (Boc) $_2\text{O}$ (3.5mL, 15mmol) で処理した。この混合物を室温で 16 時間攪拌した。混合物に EtOAc (100mL) を加え、10% KHSO_4 (約 100mL) を加えて pH を 2 にした。有機層を分離し、水層を EtOAc (2 x 100mL) で抽出した。合わせた EtOAc 溶液を飽和食塩水で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、減圧濃縮して、5-tert-ブチルオキシカルバモイルベンゼン-1,3-ジカルボン酸 (2.8g, 100%) を得た。

上記ジカルボン酸 (422mg, 1.5mmol) とジスクシンイミジルカーボネート (768mg, 3.0mmol) とのアセトニトリル (20mL) 中の混合物をピリジン (364mL, 4.5mmol) で処理した。この混合物を室温で 20 時間激しく攪拌した。得られた懸濁液を、EtOAc (150mL) と 0.5N H

Cl (50mL) との間で分配した。有機層を分離し、水 (50mL)、10% NaHCO₃ (2 x 50mL)、飽和食塩水で洗浄し、乾燥し (Na₂SO₄)、減圧濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル, 70% EtOAc/ヘキサン類) により (5-tert-ブチルオキシカルバモイル) ベンゼン-1,3-ジカルボン酸ジスクシンイミジルエステル (193mg, 27%) を白色固体として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 8.50 (s, 1H), 8.44 (s, 2H), 6.91 (s, 1H), 2.89 (s, 8H), 1.54 (s, 9H)。

24 (81mg, 0.127mmol) の CH₂Cl₂ (2.0mL) 溶液に、上記の活性化ジエステル (30mg, 0.064mmol) を加え、次いで Et₃N (53mL, 0.38mmol) を滴下した。この混合物を室温で 4 時間攪拌した。生成した透明溶液をシリカゲルに含浸させ、蒸発乾固した。クロマトグラフィー (シリカゲル, 50%-70% EtOAc/ヘキサン類) により白色固体として N-Boc-37 (56mg, 68%) を得た:¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 8.01 (s, 2H), 7.93 (s, 1H), 7.35-6.85 (m, 21H), 5.83 (t, J=6.0Hz, 2H), 5.34 (d, J=4.6Hz, 2H), 4.14 (t, J=5.2Hz, 4H), 3.70 (m, 4H), 3.42 (d, J=12.8Hz, 2H), 3.22 (t, J=10.2Hz, 2H), 2.65 (m, 4H), 2.40 (d, J=13.0Hz, 2H), 2.30 (m, 2H), 2.15 (m, 6H), 1.85-1.65 (m, 10H), 1.57 (s, 9H), 1.50 (m, 4H), 1.25 (s, 6H), 1.23 (s, 6H), 0.91 (t, J=7.4Hz, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.4, 170.1, 167.8, 166.8, 159.3, 153.1, 141.7, 141.3, 139.9, 136.1, 130.1, 128.8, 128.7, 126.5, 119.7, 119.4, 115.0, 112.8, 66.7, 51.7, 47.1, 44.5, 38.4, 38.2, 32.8, 32.1, 29.4, 28.7, 26.8, 25.3, 23.4, 21.5, 9.1。

N-Boc-37 (20mg, 0.016mmol) の CH₂Cl₂ (4.0mL) 溶液を、トリフルオロ酢酸 (0.8mL) で処理し、この混合物を室温で 1 時間攪拌した。反応混合物をトルエン (150mL) で希釈し、減圧濃縮して、37 トリフルオロ酢酸塩 (20mg, 96%) を無色ガム状物として得た:¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.67 (s, 1H), 7.45-6.90 (m, 22H), 5.88 (m, 2H), 5.40 (t, J=4.6Hz, 2H), 4.80 (br. s, 4H), 4.20 (m, 4H), 3.75 (m, 4H), 3.45 (d, J=12.7Hz, 2H), 3.32 (m, 2H), 2.75 (m, 4H), 2.50-2.30 (m, 4H), 2.20 (m, 6H), 1.78 (m, 10H), 1.50 (m, 4H), 1.32 (m, 6H), 1.30 (s, 6H), 0.98 (t, J=7.4Hz, 6H)。

MS (FAB): (M+H)⁺1190。

実施例 8 N,N'-ビス [3- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピルフェノキシ) プロピル] (±)-2,6-ジアミノピメラミド (38)

5-アミノイソフタル酸の代わりに (±)-2,6-ジアミノピメリン酸を用いた以外は実施例 7 と同じ方法に従って、ジ-Boc-38 (51mg, 54%) を白色固体として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.35-6.50 (m, 20H), 5.84 (t, J=5.8Hz, 2H), 5.45-5.20 (m, 4H), 4.08 (t, J=5.4Hz, 4H), 3.55-3.30 (m, 6H), 3.24 (t, J=12.5Hz, 2H), 2.70 (m, 4H), 2.42 (d, J=13.0Hz, 2H), 2.35 (m, 2H), 2.20 (m, 2H), 2.05 (m, 4H), 2.00-1.65 (m, 14H), 1.50 (m, 4H), 1.47 (s, 18H), 1.28 (s, 6H), 1.25 (s, 6H), 0.94 (t, J=7.4Hz, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.3, 170.1, 159.3, 141.8, 141.3, 130.1, 128.9, 128.7, 126.5, 119.3, 113.1, 80.4, 66.7, 51.7, 47.1, 44.5, 38.3, 32.8, 32.1, 29.5, 28.74, 28.72, 26.9, 25.3, 24.0, 23.4, 21.6, 9.1。

ジ-Boc-38 (20mg, 0.014mmol) の CH₂Cl₂ (4.0mL) 溶液を、トリフルオロ酢酸 (0.8mL) で処理し、この混合物を室温で 1 時間攪拌した。この混合物をトルエン (150mL) で希釈し、減圧濃縮して、38ジ- (トリフルオロ酢酸) 塩 (18.9mg, 94%) を無色ガム状物として得た:¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.40-6.85 (m, 20H), 5.85 (m, 2H), 5.38 (m, 2H), 4.05 (m, 6H), 3.45-3.25 (m, 8H), 2.70 (m, 4H), 2.45 (m, 2H), 2.40 (m, 2H), 2.20 (m, 2H), 2.05 (m, 4H), 1.95-1.60 (m, 14H), 1.50 (m, 4H), 1.28 (s, 6H), 1.27 (s, 6H), 0.95 (t, J=7.4Hz, 6H)。MS (FAB): (M+H)⁺1199。

実施例 9 N,N'-ビス [3- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピルフェノキシ) プロピル] (±)-2,6-ジアミノピメラミド (38)

ル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピルフェノキシ) プロピル] トリエチレングリコール-1,10-ビスカルバメート (39)

24 (85mg, 0.13mmol) の CH_2Cl_2 溶液に 0°C で Et_3N を、次に トリエチレングリコールビス (クロロホルメート) を添加した。この混合物を 0°C で 1 時間攪拌すると、TLC は出発物質が残っていないことを示した。混合物を減圧濃縮し、残渣をシリカでクロマトグラフィー処理 (70%-80% EtOAc /ヘキサン類) して、39 (40mg, 48%) を無色ガム状物として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.25-6.70 (m, 18H), 5.71 (t, $J=5.8\text{Hz}$, 2H), 5.25 (d, $J=4.7\text{Hz}$, 2H), 5.12 (br. s., 2H), 4.15 (t, $J=4.4\text{Hz}$, 4H), 3.95 (t, $J=5.9\text{Hz}$, 4H), 3.60 (t, $J=4.8\text{Hz}$, 4H), 3.57 (s, 4H), 3.30 (m, 6H), 3.10 (td, $J=12.7$, 3.0Hz, 2H), 2.50 (m, 4H), 2.30 (d, $J=13.7\text{Hz}$, 2H), 2.20 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 1.92 (t, $J=6.2\text{Hz}$, 4H), 1.75-1.50 (m, 10H), 1.35 (m, 4H), 1.16 (s, 6H), 1.13 (s, 6H), 0.81 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.1, 167.6, 159.3, 159.9, 156.9, 141.7, 141.3, 130.1, 128.9, 128.7, 126.5, 119.4, 114.8, 113.2, 71.0, 70.1, 66.0, 64.3, 51.7, 47.1, 44.5, 39.2, 38.8, 38.3, 33.0, 32.9, 32.1, 29.9, 26.8, 25.4, 23.9, 23.8, 23.5, 21.6, 9.1. MS (FAB): $(\text{M}+\text{Na})^+ 1269$.

実施例10 1,4-キシリルジアミンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピル) フェノキシアセトアミド] (40)

カルボン酸25 (104mg, 0.20mmol) のアセトニトリル (2.0mL) 溶液を、ジスクシンイミジルカーボネート (56mg, 0.22mmol) とピリジン (48mL, 0.60mmol) とで処理した。この混合物を室温で一晩攪拌した。混合物を次いで EtOAc (70mL) と水 (50mL) との間で分配した。有機層を分離し、飽和食塩水で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、減圧濃縮して白色泡状物 (115mg, 93%) を得た。この活性化スクシンイミジルエステルを無水アセトニトリル (2.0mL) に再溶解させた。得られた溶液を次いで、トリエチルアミン (75mL, 0.54mmol)、次に1,4-キシリルジアミンのDMF溶液 (0.32M, 288mL, 0.092mmol) で処理した。生成した懸濁液を室温で 1 時間攪拌すると、TLC は出発物質が残っていないことを示した。混合物を EtOAc (50mL) と水 (20mL) との間で分配した。有機層を分離し、0.5N HCl 水と飽和食塩水で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、減圧濃縮した。クロマトグラフィー (シリカゲル, 70% EtOAc /ヘキサン類) により40 (42mg, 40%) を白色固体として得た: 融点 $59\sim 61^\circ\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.25-6.70 (m, 22H), 5.69 (m, 2H), 5.22 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 4.46 (s, 4H), 4.43 (d, $J=3.9\text{Hz}$, 4H), 3.27 (d, $J=13.2\text{Hz}$, 2H), 3.06 (td, $J=12.6$, 2.6Hz, 2H), 2.50 (m, 4H), 2.27 (d, $J=13.4\text{Hz}$, 2H), 2.16 (m, 2H), 2.00 (m, 2H), 1.75-1.50 (m, 10H), 1.35 (m, 4H), 1.12 (s, 6H), 1.10 (s, 6H), 0.78 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.3, 170.0, 168.4, 168.3, 167.6, 157.7, 142.2, 142.1, 141.1, 137.6, 130.4, 128.9, 128.7, 128.5, 126.6, 120.6, 114.3, 113.8, 67.7, 57.0, 51.6, 47.1, 44.5, 43.0, 39.2, 38.4, 38.1, 32.9, 32.1, 32.0, 26.8, 25.3, 23.9, 23.5, 21.6, 9.2. MS (FAB): $(\text{M}+\text{Na})^+ 1169$, $(\text{M}+\text{H})^+ 1147$.

実施例11 1,4-ビス (3-アミノプロピル) ピペラジンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピル) フェノキシアセトアミド] (41)

1,4-キシリルジアミンの代わりに1,4-ビス (3-アミノプロピル) ピペラジンをを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、41 (35mg, 53%) を白色固体として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.55-6.90 (m, 20H), 5.93 (t, $J=5.6\text{Hz}$, 2H), 5.46 (d, $J=4.8\text{Hz}$, 2H), 4.63 (s, 4H), 3.70-3.50 (m, 6H), 3.37 (m, 2H), 2.95-2.20 (m, 24H), 1.90 (m, 16H), 1.60 (m, 4H), 1.37 (s, 6H), 1.35 (s, 6H), 1.03 (t, $J=7.5\text{Hz}$, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.0, 168.4, 167.7, 158.0, 142.3, 141.1, 130.4, 128.9, 128.7, 126.6, 120.5, 115.0, 113.8, 107.9, 68.2, 51.6, 47.1, 44.5, 38.5, 32.9, 26.8, 25.3, 23.

9, 23.5, 21.6, 9.1。MS (FAB) : (M+H)⁺1211。

実施例12 3,3'-ジアミノ-N-メチルジプロピルアミンN,N'-ビス [2-(3-((1R) -1-((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピル) フェノキシアセトアミド] (42)

1,4-キシリルジアミンの代わりに3,3'-ジアミノ-N-メチルジプロピルアミンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、42 (28mg, 48%) を無色ガム状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.50-6.75 (m, 20H), 5.76 (t, J=5.8Hz, 2H), 5.29 (d, J=4.8Hz, 2H), 4.45 (s, 4H), 3.35 (m, 6H), 3.17 (td, J=12.6, 2.7Hz, 2H), 2.60 (m, 4H), 2.35 (m, 6H), 2.25 (m, 2H), 2.05 (m, 5H), 1.70 (m, 14H), 1.40 (m, 4H), 1.20 (s, 6H), 1.18 (s, 6H), 0.86 (t, J=7.5Hz, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.0, 168.4, 167.7, 158.0, 142.2, 141.1, 130.4, 128.9, 128.7, 126.5, 120.3, 115.0, 114.6, 113.7, 108.0, 67.9, 56.4, 51.6, 47.1, 44.5, 38.4, 33.0, 32.9, 32.1, 26.8, 25.3, 23.9, 23.5, 21.6, 21.4, 9.1。MS (FAB) : (M+H)⁺1156, (M+Na)⁺1178。

実施例13 1,5-ジアミノペンタンN,N'-ビス [2-(3-((1R) -1-((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピル) フェノキシアセトアミド] (43)

1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノペンタンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、43 (18mg, 30%) を無色ガム状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.40-7.00 (m, 18H), 6.80 (br. s., NHs 2H), 5.85 (m, 2H), 5.33 (d, J=4.7Hz, 2H), 4.50 (s, 4H), 3.37 (m, 6H), 3.20 (td, J=12.7, 2.7Hz, 2H), 2.65 (m, 4H), 2.38 (d, J=13.4Hz, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.14 (m, 2H), 1.90-1.40 (m, 20H), 1.24 (s, 6H), 1.22 (s, 6H), 0.90 (t, J=7.4Hz, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.0, 168.3, 167.7, 157.8, 142.2, 141.2, 130.4, 128.9, 128.7, 126.5, 120.5, 114.2, 113.9, 67.8, 51.6, 47.1, 44.5, 39.2, 38.4, 32.9, 32.0, 29.6, 26.8, 25.4, 24.4, 23.9, 23.5, 21.6, 9.1。

MS (FAB) : (M+Na)⁺1135。

実施例14 1,5-ジアミノ-3-オキサペンタンN,N'-ビス [2-(3-((1R) -1-((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピル) フェノキシアセトアミド] (48)

1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノ-3-オキサペンタン二塩酸塩 (Aldrich) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、48 (23mg, 39%) を無色ガム状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.30-6.80 (m, 20H), 5.80 (m, 2H), 5.30 (d, J=4.9Hz, 2H), 4.48 (s, 4H), 3.50 (br. s, 8H), 3.36 (d, J=13.6Hz, 2H), 3.16 (td, J=12.6, 2.7Hz, 2H), 2.60 (m, 4H), 2.36 (d, J=13.8Hz, 2H), 2.26 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.80-1.60 (m, 10H), 1.50 (m, 4H), 1.20 (s, 6H), 1.19 (s, 6H), 0.87 (t, J=7.5Hz, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.0, 168.5, 167.7, 157.8, 142.2, 141.1, 130.4, 128.9, 128.7, 126.5, 120.5, 114.6, 113.7, 108.1, 69.9, 67.8, 51.6, 47.1, 44.5, 39.1, 38.4, 32.9, 32.0, 26.8, 25.3, 23.9, 23.5, 21.6, 21.4, 9.1。MS (FAB) : (M+Na)⁺1137。

実施例15 1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタンN,N'-ビス [2-(3-((1R) -1-((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ) -3-フェニル) プロピル) フェノキシアセトアミド] (53)

1,4-キシリルジアミンの代わりに1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタン (Fluka) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、53 (23mg, 32%) を無色ガム状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.35-6.85 (m, 20H), 5.80 (t, J=5.7Hz, 2H), 5.33 (d, J=4.9Hz, 2H), 4.51 (s, 4H), 3.60 (br. s, 12H), 3.40 (d, J=12.3Hz, 2H), 3.20 (td, J=12.6, 2.8Hz, 2H), 2.65 (m, 4H), 2.40 (d, J=13.4Hz, 2

H), 2.26 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.90-1.60 (m, 10H), 1.50 (m, 4H), 1.25 (s, 6H), 1.22 (s, 6H), 0.90 (t, J=7.4Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.0, 168.4, 167.7, 157.8, 142.2, 141.1, 130.4, 128.9, 128.7, 126.5, 120.5, 114.7, 113.6, 70.7, 70.1, 67.8, 51.6, 47.1, 44.5, 39.2, 38.4, 32.9, 32.0, 26.8, 25.3, 23.9, 23.5, 21.6, 21.4, 9.1。MS (FAB): (M+Na) $^{+}$ 1181。

実施例16 1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカンN,N'-ビス [2-(3-((1R)-1-((2S)- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキサペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ)-3-フェニル) プロピル) フェノキシアセトアミド] (59)

1,4-キシリルジアミンの代わりに1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカン (Dietrich, B.; Lehn, J.-M.; Sauvage, J.P.; Blanzat, J. *Tetrahedron*, 1973, 29, 1628の文献手法を用いて調製) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、59 (18mg, 24%) を無色ガム状物として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.35-6.80 (m, 20H), 5.77 (t, J=6.0Hz, 2H), 5.30 (d, J=4.9Hz, 2H), 4.48 (s, 4H), 3.60 (m, 16H), 3.35 (d, J=13.5Hz, 2H), 3.16 (td, J=12.6, 2.9Hz, 2H), 2.65 (m, 4H), 2.37 (d, J=13.6Hz, 2H), 2.25 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 1.80-1.60 (m, 12H), 1.50 (m, 4H), 1.21 (s, 6H), 1.19 (s, 6H), 0.87 (t, J=7.4Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.0, 168.4, 167.7, 157.8, 142.2, 141.1, 130.4, 128.9, 128.7, 126.5, 120.5, 114.7, 113.6, 108.0, 70.9, 70.7, 70.1, 67.8, 51.6, 47.1, 44.5, 39.2, 38.4, 32.9, 32.0, 26.8, 25.3, 23.9, 23.5, 21.6, 9.1。MS (FAB): (M+Na) $^{+}$ 1125。

実施例17 1,5-ジアミノペンタンN,N'-ビス [2-(3-((1R)-1-((2S)- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキサペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (44)

酸単量体25の代わりに26を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノペンタンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、44 (58mg, 49%) を白色泡状物として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.35-6.65 (m, 16H), 5.79 (m, 2H), 5.33 (d, J=4.8Hz, 2H), 4.49 (s, 4H), 3.87 (s, 6H), 3.86 (s, 6H), 3.35 (m, 6H), 3.20 (m, 2H), 2.95 (m, 2H), 2.60 (m, 4H), 2.38 (d, J=13.4Hz, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.90-1.40 (m, 20H), 1.23 (s, 6H), 1.22 (s, 6H), 0.90 (t, J=7.4Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.0, 168.3, 168.2, 167.7, 157.8, 149.3, 147.8, 142.3, 133.8, 130.4, 120.6, 114.2, 113.9, 112.2, 111.8, 108.0, 67.8, 56.3, 56.2, 51.6, 47.1, 44.5, 39.2, 38.6, 38.3, 32.9, 31.6, 29.6, 26.8, 25.3, 24.4, 23.8, 23.6, 9.1。MS (FAB): (M+Na) $^{+}$ 1255。

実施例18 1,5-ジアミノ-3-オキサペンタンN,N'-ビス [2-(3-((1R)-1-((2S)- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキサペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキシ)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (49)

酸単量体25の代わりに26を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノ-3-オキサペンタン二塩酸塩 (Aldrich) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、49 (73mg, 62%) を白色泡状物として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.35-6.65 (m, 16H), 5.79 (m, 2H), 5.33 (d, J=4.8Hz, 2H), 4.51 (s, 4H), 3.87 (s, 6H), 3.86 (s, 6H), 3.55 (br.s, 8H), 3.35 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 2.60 (m, 4H), 2.38 (d, J=13.4Hz, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.90-1.40 (m, 20H), 1.23 (s, 6H), 1.22 (s, 6H), 0.90 (t, J=7.4Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.0, 168.5, 168.4, 167.7, 157.8, 149.3, 147.8, 142.3, 133.7, 130.4, 120.5, 114.6, 113.7, 112.2, 111.8, 69.9, 67.8, 56.3, 56.2, 51.6, 47.1, 44.5, 39.1, 38.6, 32.9, 31.6, 26.8, 25.3, 23.8, 23.6, 21.6, 9.1。MS (FAB): (M+Na) $^{+}$ 1257。

実施例19 1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタンN,N'-ビス [2-(3-((1R)-1-((2S)

- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4-ジメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (54)

酸単量体25の代わりに26を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタン (Fluka) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、54 (54mg, 49%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.35-6.65 (m, 16H), 5.79 (m, 2H), 5.33 (d, J=4.8Hz, 2H), 4.50 (s, 4H), 3.87 (s, 6H), 3.86 (s, 6H), 3.59 (br.s, 12H), 3.35 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 2.60 (m, 4H), 2.38 (d, J=13.4Hz, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.90-1.40 (m, 20H), 1.23 (s, 6H), 1.22 (s, 6H), 0.90 (t, J=7.4Hz, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.1, 168.4, 167.7, 157.8, 149.3, 147.8, 142.3, 133.7, 130.4, 120.5, 114.7, 113.6, 112.2, 111.8, 70.6, 70.1, 67.8, 56.3, 56.2, 51.6, 47.1, 44.5, 39.2, 38.6, 32.9, 31.6, 26.8, 25.3, 23.8, 23.6, 21.6, 9.1。

MS (FAB): (M+Na)⁺1301。

実施例20 1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4-ジメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (60)

酸単量体25の代わりに26を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカン (Dietrich, B.; Lehn, J.-M.; Sauvage, J. P.; Blanzat, J. Tetrahedron, 1973, 29, 1628の文献手法を用いて調製) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、60 (64mg, 50%) を無色ガム状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.35-6.65 (m, 16H), 5.79 (m, 2H), 5.33 (d, J=4.8Hz, 2H), 4.50 (s, 4H), 3.87 (s, 6H), 3.86 (s, 6H), 3.61 (m, 16H), 3.38 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 2.60 (m, 4H), 2.38 (m, 2H), 2.28 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 1.90-1.40 (m, 20H), 1.23 (s, 6H), 1.22 (s, 6H), 0.90 (t, J=7.4Hz, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 208.2, 170.1, 168.4, 167.7, 157.8, 149.3, 147.8, 142.3, 133.7, 130.4, 120.5, 114.7, 113.6, 112.2, 111.8, 108.0, 70.6, 70.1, 67.8, 56.3, 56.2, 51.6, 47.1, 44.5, 39.2, 38.6, 32.9, 31.6, 26.8, 25.3, 23.8, 23.5, 21.6, 9.1。MS (FAB): (M+Na)⁺1345。

実施例21 1,5-ジアミノペンタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (45)

酸単量体25の代わりに27を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノペンタンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、45 (33mg, 34%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB): (M+Na)⁺1315。

実施例22 1,5-ジアミノ-3-オキサペンタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (50)

酸単量体25の代わりに27を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノ-3-オキサペンタン二塩酸塩 (Aldrich) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、50 (41mg, 46%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB): (M+Na)⁺1317。

実施例23 1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (55)

酸単量体25の代わりに27を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタン (Fluka) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、55 (37mg, 38%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB): (M+Na)⁺1361。

実施例24 1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4,5-トリメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (61)

酸単量体25の代わりに27を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、61 (27mg, 32%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na)⁺1405。

実施例25 1,5-ジアミノペンタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (46)

酸単量体25の代わりに28を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノペンタンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、46 (42mg, 42%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na)⁺1223。

実施例26 1,5-ジアミノ-3-オキサペンタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (51)

酸単量体25の代わりに28を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノ-3-オキサペンタン二塩酸塩 (Aldrich) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、51 (39mg, 34%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na)⁺1225。

実施例27 1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (56)

酸単量体25の代わりに28を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタン (Fluka) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、56 (55mg, 47%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na)⁺1269。

実施例28 1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4-メチレンジオキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (62)

酸単量体25の代わりに28を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、62 (52mg, 42%) を無色ガム状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na)⁺1313。

実施例29 1,5-ジアミノペンタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3-ピリジル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (47)

酸単量体25の代わりに29を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノペンタンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、47 (64mg, 58%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na)⁺1137。

実施例30 1,5-ジアミノ-3-オキサペンタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3-ピリジル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (52)

酸単量体25の代わりに29を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,5-ジアミノ-3-オキサペンタン二塩酸塩 (Aldrich) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、52 (52mg, 55%) を白色泡状物として得た。¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) および¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na)⁺1139。

実施例31 1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S)

10

20

30

40

50

- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3-ピリジル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (57)

酸単量体25の代わりに29を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタン (Fluka) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、57 (48mg, 47%) を白色泡状物として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) および ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na) $^{+1183}$ 。

実施例32 1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3-ピリジル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (63)

酸単量体25の代わりに29を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,11-ジアミノ-3,6,9-トリオキサウンデカンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、63 (58mg, 55%) を無色ガム状物として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) および ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na) $^{+1227}$ 。

実施例33 1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3-インドリル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (58)

酸単量体25の代わりに30を、また1,4-キシリルジアミンの代わりに1,8-ジアミノ-3,6-ジオキサオクタン (Fluka) を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、58 (20mg, 20%) を白色泡状物として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) および ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na) $^{+1259}$ 。

実施例34 エチレンジアミンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4-ジメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (64)

酸単量体25の代わりに26を、また1,4-キシリルジアミンの代わりにエチレンジアミン二塩酸塩を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、64 (126mg, 59%) を白色固体として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) および ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na) $^{+1213}$ 。

実施例35 エチレンジアミンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3-ピリジル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (65)

酸単量体25の代わりに29を、また1,4-キシリルジアミンの代わりにエチレンジアミン二塩酸塩を用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、65 (79mg, 42%) を白色固体として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) および ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+H) $^{+1073}$ 。

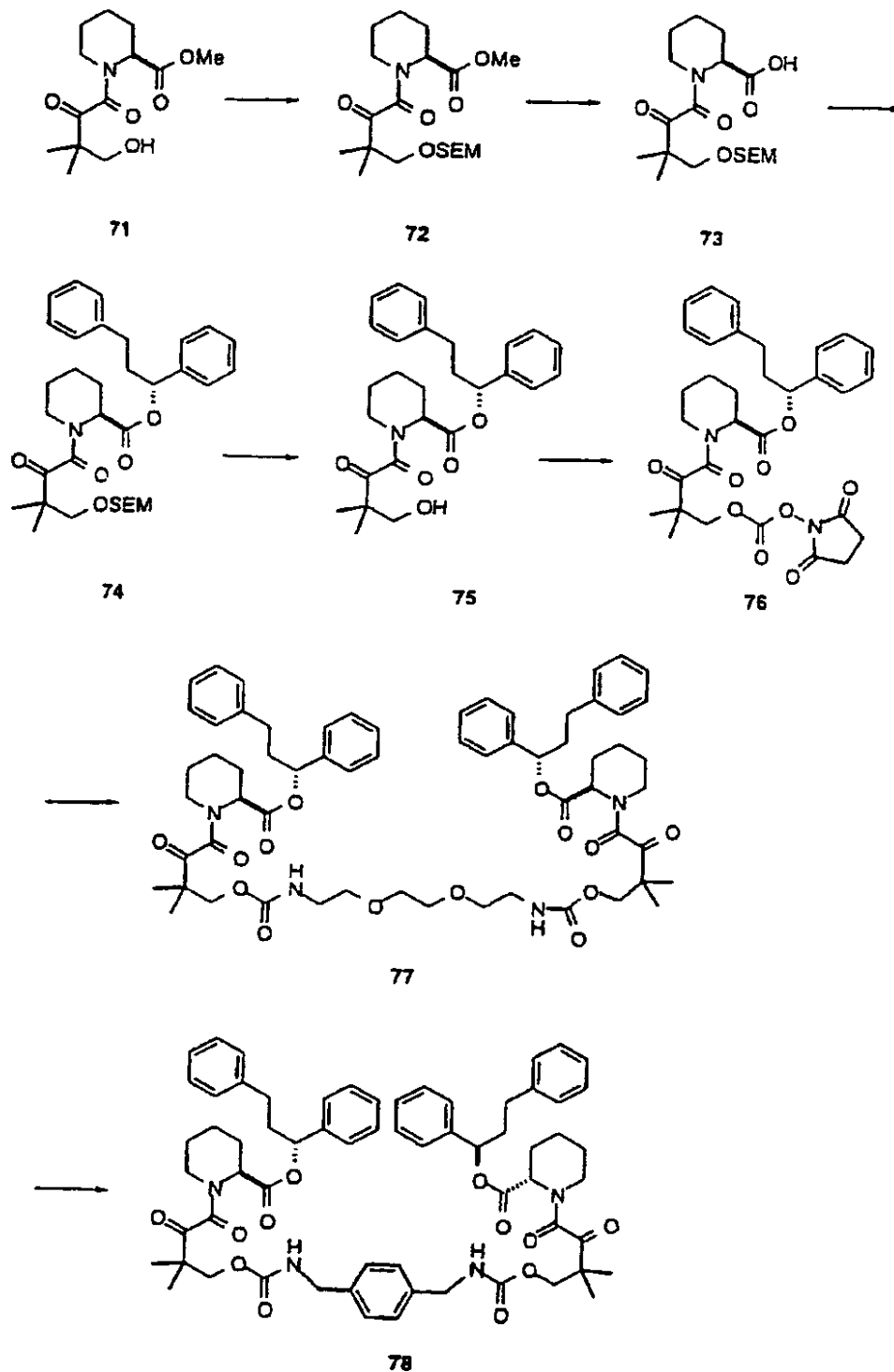
実施例36 N,N'-ジメチルエチレンジアミンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3,4-ジメトキシフェニル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (66)

酸単量体25の代わりに26を、また1,4-キシリルジアミンの代わりにN,N'-ジメチルエチレンジアミンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、66 (118mg, 55%) を白色固体として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) および ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+Na) $^{+1241}$ 。

実施例37 N,N'-ジメチルエチレンジアミンN,N'-ビス [2- (3- ((1R) -1- ((2S) - (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソペンチル) ピペリジン-2-カルボニルオキソ) -3- (3-ピリジル)) プロピル) フェノキシアセトアミド] (67)

酸単量体25の代わりに29を、また1,4-キシリルジアミンの代わりにN,N'-ジメチルエチレンジアミンを用いた以外は実施例10と同じ方法に従って、67 (70mg, 37%) を白色固体として得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) および ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) は適正である。MS (FAB) : (M+H) $^{+1101}$ 。

合成の概観、第II部



合成の詳細

(2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4-ヒドロキシ) ブチル-2-ピペリジンカルボン酸メチル (71)

エチルエステル類似物についてD.A. Holt et al., J. Amer. Chem. Soc., 1993, 115, 9925-9938に報告されている方法に従って調製。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.25 (dist d, $J=5.2$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.59-3.71 (m, 2H), 3.49 (br d, $J=13.8$ Hz, 1H), 3.37 (t, $J=6.4$ Hz, 1H), 3.18 (td, $J=12.9, 3.3$ Hz, 1H), 2.32 (br d, $J=14.0$ Hz, 1H), 1.25-1.80 (m, 5H), 1.23 (s, 6H)。MS (DCI/Nal) m/z 289 ($\text{M}+\text{NH}_4$), 272 ($\text{M}+\text{H}$)。

(2S) -1- [3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4- [2- (トリメチルシリル) エトキシ] メトキシ] ブチル-2-ピペリジンカルボン酸メチル (72)

(2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4-ヒドロキシ) ブチル-2-ピペリジンカルボン酸

10

20

30

40

50

メチル, 71 (1.80g, 6.6mmol) と N,N'-ジイソプロピルエチルアミン (1.03g, 8.0mmol) と 2-(トリメチルシリル) エトキシメチルクロリド (1.33g, 8.0mmol) とをジクロロメタン (25mL) にとかした溶液を室温で 21.5 時間攪拌した。この溶液を濃縮し、残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、ヘキサン類-酢酸エチル 10:1 から 6:1 に傾斜) して、標記化合物 (2.60g) を無色液体として得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.22 (br d, $J=5.1$ Hz, 1H), 4.62 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.49-3.71 (m, 5H), 3.14 (td, $J=13.3, 3.4$ Hz, 1H), 2.28 (br d, $J=14.0$ Hz, 1H), 1.18-1.77 (m, 5H), 1.30 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 0.84-0.94 (m, 2H), 0.00 (s, 9H)。MS (FAB⁺/NaI) m/z 。

(2S) -1- [3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4- [2-(トリメチルシリル) エトキシ] メトキシ] ブチル-2-ピペリジンカルボン酸 (73)

10

(2S) -1- [3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4- [2-(トリメチルシリル) エトキシ] メトキシ] ブチル-2-ピペリジンカルボン酸メチル, 72 (2.50g, 6.2mmol)、1N 水酸化リチウム (9.3mL) およびメタノール (10mL) の混合物を 0 °C で 30 分間、次いで室温で 7 時間攪拌した。この混合物を 1N HCl で酸性化し、水で希釈し、ジクロロメタンで抽出した。有機抽出液を水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮して、無色油状物 (2.11g) を得た。これをさらに精製せずに使用した。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 10.25 (br s, 1H), 5.27 (d, $J=4.9$ Hz, 1H), 4.61 (s, 2H), 3.68 (dist. t, $J=9.4, 9.9$ Hz, 1H), 3.49-3.60 (m, 4H), 3.11-3.20 (m, 1H), 2.31 (br d, $J=13.7$ Hz, 1H), 1.36-1.79 (m, 5H), 1.29 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 0.91 (td, $J=8.4, 3.0$ Hz, 2H), 0.00 (s, 9H)。 $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 207.5, 176.9, 168.7, 96.4, 75.0, 66.6, 52.5, 48.8, 45.3, 27.7, 26.2, 23.9 (2 C), 22.6, 19.5, 0.00。MS (FAB⁻) m/z 386 (M-H)。

20

(1R) -1,3-ジフェニル-1-プロピル (2S) -1- [3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4- [2-(トリメチルシリル) エトキシ] メトキシ] ブチル-2-ピペリジンカルボキシレート (74)

ジクロロメタン (10mL) 中の (2S) -1- [3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4- [2-(トリメチルシリル) エトキシ] メトキシ] ブチル-2-ピペリジンカルボン酸, 73 (1.00g, 2.6mmol) と (1R) -1,3-ジフェニル-1-プロパノール (0.72g, 3.4mmol) の溶液を、N,N-ジシクロヘキシルカルボジイミド (0.70g, 3.4mmol) および 4-ジメチルアミノピリジン (0.22g, 1.8mmol) で処理した。得られた懸濁液を窒素雰囲気下に室温で 17 時間攪拌した。この混合物を次いで少量の酢酸エチルで希釈し、ろ過し、濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、ヘキサン類-酢酸エチル 8:1) で処理して、標記化合物 (1.33g) を無色油状物として得た。

30

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.14-7.32 (m, 10H), 5.27-5.47 (m, 1H), 5.08 (br d, $J=5.2$ Hz, 1H), 4.59 (AB q, $J_{AB}=6.8$ Hz, 2H), 3.66 (dd, $J=9.2, 8.6$ Hz, 1H), 3.48-3.62 (m, 3H), 3.33 (br d, $J=13.1$ Hz, 1H), 2.70-2.92 (m, 5H), 2.00 (br d, $J=11.5$ Hz, 1H), 1.21-1.49 (m, 5H), 1.27 (s, 3H), 1.25 (s, 3H), 0.86-0.95 (m, 2H), 0.00 and -0.02 (2xs, 9H)。

MS (FAB⁺/NaI) m/z 604 (M+Na)。精密質量: $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{NSiO}_6$ に対する (M+Na) 計算値, 604.3070; 実測値, 604.3073。

40

(1R) -1,3-ジフェニル-1-プロピル (2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4-ヒドロキシ) ブチル-2-ピペリジンカルボキシレート (75)

(1R) -1,3-ジフェニル-1-プロピル (2S) -1- [3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4- [2-(トリメチルシリル) エトキシ] メトキシ] ブチル-2-ピペリジンカルボキシレート, 74 (0.75g, 1.3mmol) と 48wt% HF (0.5mL) のアセトニトリル (25mL) 溶液を室温で 4 時間攪拌した後、10% 重炭酸ナトリウム水溶液と酢酸エチルとの間で分配した。有機層をデカンテーションで分離し、水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮し、残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、ヘキサン類-酢酸エチル 4:1 から 2:1 に傾斜) して、75 (0.45g) を無色油状物として得た。

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.10-7.27 (m, 10H), 5.38-5.47 (m, 1H), 5.04 (br d, $J=5.3$ Hz, 1H), 3.47-3.621 (m, 3H), 3.29 (br d, $J=13.9$ Hz, 1H), 2.67-2.93 (m, 5H), 2.00 (br d, $J=12.8$ Hz, 1H), 1.17-1.57 (m, 5H), 1.15 (s, 3H), 1.14 (s, 3H). MS (FAB $^+$ /NaI) m/z 474 (M+Na).

精密質量: $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}_5$ に対する (M+Na) 計算値, 474.2256; 実測値, 474.2273。

(1R) -1,3-ジフェニル-1-プロピル (2S) -1- [3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4- (1-スクシンイミジルオキシカルボニル) オキシ] ブチル-2-ピペリジンカルボキシレート (76)

(1R) -1,3-ジフェニル-1-プロピル (2S) -1- (3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4-ヒドロキシ) ブチル-2-ピペリジンカルボキシレート, 75 (223mg, 0.49mmol) のジクロロメタン (13mL) 溶液を、N,N-ジイソプロピルエチルアミン (0.8mL) およびN,N'-ジスクシンイミ
 ジルカーボネート (385mg) で処理し、混合物を室温で66時間攪拌した。これを次いで飽
 和重炭酸ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮して、黄色油状
 物 (280mg) を得た。これをさらに精製せずに使用した。

10

^1H NMR (C_6D_6) δ 7.11-7.32 (m, 10H), 5.56-5.65 (m, 1H), 5.36 (br d, $J=5.1$ Hz, 1H), 4.51 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 4.17 (d, $J=10.5$ Hz, 1H), 3.52 (br d, $J=13.4$ Hz, 1H), 2.71-3.11 (m, 5H), 1.99 (br d, $J=14.4$ Hz, 1H), 1.70 (br s, 4H), 1.01-1.38 (m, 11H).

^{13}C NMR (C_6D_6) δ 205.4, 171.0, 169.7, 168.2, 153.5, 139.2 (139.0), 131.2, 130.2, 130.1, 129.8, 129.5, 129.2, 128.3 (128.2), 77.9, 76.9, 53.1, 48.4, 45.3, 41.9, 41.8, 27.7, 26.6 (2C), 26.3, 23.5, 22.5, 22.3. MS (FAB $^+$ /NaI) m/z 615 (M+Na), 474, 434.

20

精密質量: $\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_9$ に対する (M+Na) 計算値, 615.2319; 実測値, 615.2299。

2,2- (エチレンジオキシ) ジエチルアミンN,N'- [2,2-ジメチル-3,4-ジオキソ-4- [(2S) -2- [(1R) -1,3-ジフェニルプロピルオキシカルボニル] -1-ピペリジニル] ブチルカルバメート (77)

アセトニトリル (4mL) に (1R) -1,3-ジフェニル-1-プロピル- (2S) -1- [3,3-ジメチル-1,2-ジオキソ-4- (1-スクシンイミジルオキシカルボニル) オキシ] ブチル-2-ピペリジンカルボキシレート, 76 (75mg, 0.13mmol) とN,N-ジイソプロピルエチルアミン (66.6 μL) とをとかした溶液を2,2'- (エチレンジオキシ) ジエチルアミン (9.3 μL) で処理し、得られた混合物を室温で21時間攪拌した。溶媒を除去し、残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、ヘキサン類-酢酸エチル1:3から1:2に傾斜) して標記化合物 (20mg) を無
 色油状物として得た。

30

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.10-7.55 (m, 20H), 5.48 (br dd, $J=12.2, 6.1$ Hz, 2H), 5.20-5.35 (br s, 2H), 5.09-5.18 (m, 2H), 4.22 (AB q, $J_{AB}=10.6$ Hz, 4H), 3.48-3.80 (m, 8H), 3.20-3.45 (m, 6H), 2.80-3.15 (m, 10H), 1.98-2.08 (m, 2H), 1.17-1.68 (m, 22H). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 205.3, 170.1, 166.9, 156.6, 137.6, 137.3, 129.7 (2C), 128.9, 128.8, 127.1, 127.0, 76.9, 70.6, 70.4, (69.9), (60.8), (56.9), 51.6, 47.3, (47.2), 44.0, 41.2, 40.7, 40.5, (40.2), (39.0), (28.1), 26.8, 25.2, (24.7), 22.3, (22.2), 21.8, (21.4), 21.0, (20.8), 14.6.

MS (FAB $^+$ /NaI) m/z 1125 (M+Na)。

p-キシリレンジアミンN,N'- [2,2-ジメチル-3,4-ジオキソ-4- [(2S) -2- [(1R) -1,3-ジフェニルプロピルオキシカルボニル] -1-ピペリジニル] ブチルカルバメート (78)

40

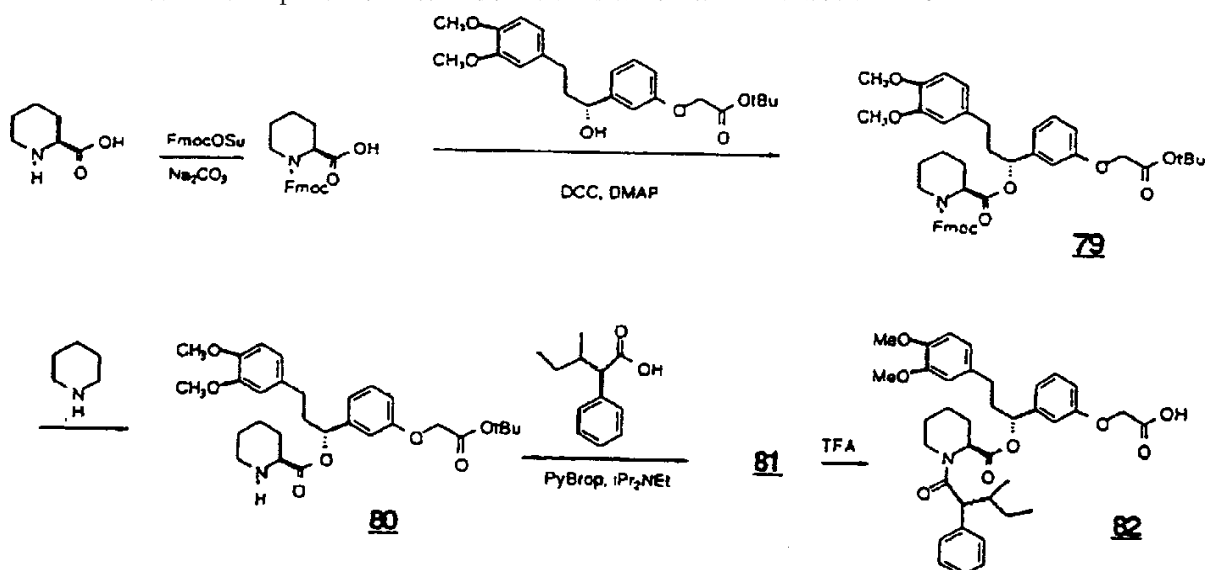
アセトニトリル (1mL) 中の76 (66mg, 0.11mmol) 及びトリエチルアミン (46 μL) の溶液に、p-キシリレンジアミンのジメチルホルムアミド溶液 (0.1mM, 0.5mL) を30分間かけて滴下した。この混合物を次いで酢酸エチルと水との間で分配し、有機層をデカンテーションで分離し、水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮して黄色油状物を得た。カラムクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、ヘキサン類-酢酸エチル1:1) して標記化合物 (3mg) を無色油状物として得た。

^1H NMR (C_6D_6) δ 7.34-7.55 (m, 24H), 5.72-5.85 (m, 2H), 5.64-5.68 (m, 2H), 5.35-5.45 (m, 2H), 4.77 (AB q, $J_{\text{AB}}=10.8$ Hz, 4H), 4.46-4.57 (m, 4H), 3.64 (br d, $J=12.2$ Hz, 2H), 2.92-3.25 (m, 10H), 2.14 (br d, $J=13.2$ Hz, 2H), 1.20-1.75 (m, 22H).

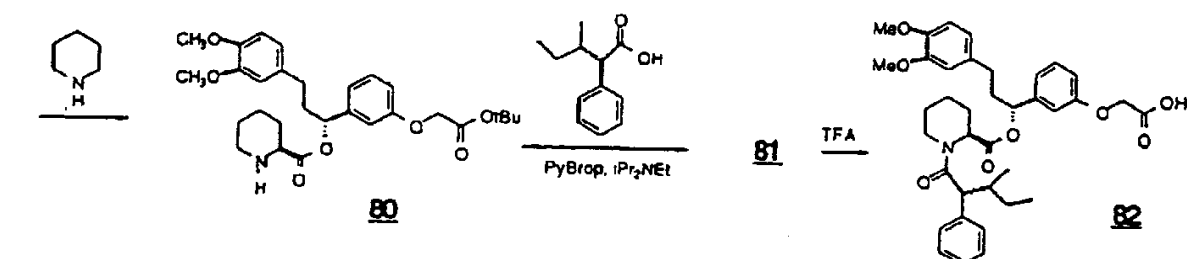
MS (FAB $^+$ /NaI) m/z 1113 (M+Na)。

バンプ付き単量体の調製

C-9バンプ付き (bumped) 単量体の例を次の反応経路により調製した。



10



20

(1R) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) -1- [3- (t-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル] -1-プロピル (2S) -1- (9-フルオレニルメトキシカルボニル) -2-ピペリジンカルボキシレート (79)

(R) 1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オール, 13 (3.1g, 7.7mmol) の CH_2Cl_2 (40mL) 溶液を、窒素雰囲気下に Fmoc ピペコリン酸 (3.0g, 8.5mmol) と、次に 1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC, 1.9g, 9.2mmol) および 4- (ジメチルアミノ) ピリジン (DMAP, 560mg, 4.6mmol) とで処理した。得られた明るい白色懸濁液を一晩攪拌した。反応混合物を次いでろ過し、蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル、15%-20% EtOAc/ヘキサン類) で白色泡状物 4.7g (83%) を得た： ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.73 (m, 2H), 7.59 (t, $J=6.6$ Hz, 1H), 7.16-7.49 (m, 6H), 6.94 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 6.89 (s, 1H), 6.72-6.82 (m, 2H), 6.62 (m, 2H), 5.76 (br. s, 1H), 5.02 (d, $J=3.7$ Hz, 1H), 4.25-4.49 (m, 5H), 4.07-4.14 (m, 1H), 3.83 (s, 6H), 3.14 (t, $J=11.1$ Hz, 1H), 2.46-2.54 (m, 2H), 2.16-2.33 (m, 2H), 2.00-2.07 (m, 1H), 1.68-1.78 (m, 4H), 1.46 (s, 9H), 1.39-1.56 (m, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 174.50, 171.33, 168.28, 158.48, 147.73, 144.30, 142.12, 133.90, 130.07, 128.07, 127.45, 125.48, 120.50, 120.35, 114.34, 113.66, 112.12, 111.74, 82.74, 76.82, 76.59, 68.20, 66.16, 56.32, 56.20, 47.63, 38.44, 31.98, 31.54, 28.42, 27.23, 25.18, 21.20。

30

(1R) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) -1- [3- (t-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル] -1-プロピル (2S) -2-ピペリジンカルボキシレート (80)

上で得た Fmoc 保護化合物 (833mg, 1.13mmol) の CH_2Cl_2 (30mL) 溶液をピペリジン (1.12mL, 11.3mmol) で処理し、混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物を濃縮し、フラッシュクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、50%-100% EtOAc/ヘキサン類) により、目的とするアミン 569mg (98%) を白色泡状物として得た： ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) (単一ジアステロオマー、ロタマー混合物) 7.28 (t, $J=7.9$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J=7.7$ Hz, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.84 (m, 2H), 6.71 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 5.77 (dd, $J=6.3, 6.8$ Hz, 1H), 4.55 (s, 2H), 3.91 (s, 6H), 3.42 (m, 1H), 3.33 (s, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.39-2.63 (m, 3H), 2.11-2.27 (m, 1H), 2.05-2.09 (m, 1H), 1.92 (m, 1H), 1.54 (s, 9H), 1

40

50

.54-1.74 (m, 4H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 173.42, 168.29, 158.34, 149.20, 147.64, 142.54, 134.06, 129.92, 120.49, 120.19, 114.11, 113.54, 111.99, 111.60, 82.74, 75.21, 66.05, 61.45, 56.30, 56.21, 48.57, 38.55, 31.63, 29.41, 28.44, 25.70, 22.56。MS (FAB) : (M+Na) $^{+}$ 536。

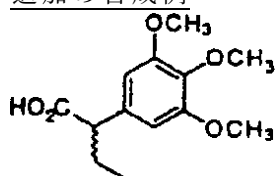
(1R)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)-1-[3-(*t*-ブトキシカルボニルメトキシ)フェニル]-1-プロピル (2S)-1-(1-オキソ-2-フェニル-3-メチル-ペンチル)-2-ピペリジincarボキシレート (81)

上で得たアミン (484mg, 0.94mmol) の CH_2Cl_2 (10mL) 溶液を、窒素雰囲気下で3-メチル-2-フェニル吉草酸 (362mg, 1.9mmol) と次にPyBroP (878mg, 1.9mmol) およびジイソプロピルエチルアミン (819mL, 4.7mmol) とで処理した。得られた溶液を一晩攪拌した。反応混合物を濃縮し、フラッシュクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、10%-33% EtOAc/ヘキサン類) で白色泡状物380mg (55%) を得た： ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.18-7.35 (m, 6H), 6.57-7.04 (m, 6H), 5.76-5.80 (m, 1H), 5.52-5.57 (m, 1H), 4.54 (s, 2H), 3.87 (s, 6H), 3.50-3.57 (m, 1H), 3.10 (t, $J=13.3\text{Hz}$, 1H), 2.04-2.71 (m, 5H), 0.61-1.85 (m, 12H), 1.49 (s, 9H)。HRMS (FAB) : (M+Na) $^{+}$ 計算値710.3669, 実測値710.3664。

(1R)-3-(3,4-ジメトキシフェニル)-1-[3-(ヒドロキシカルボニルメトキシ)フェニル]-1-プロピル (2S)-1-(1-オキソ-2-フェニル-3-メチル-ペンチル)-2-ピペリジincarボキシレート (82)

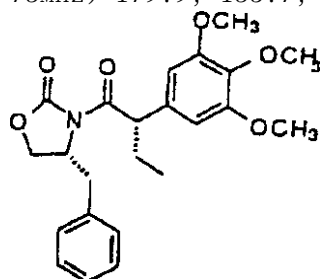
上記*t*-ブチルエステル (331mg, 0.48mmol) の CH_2Cl_2 (4mL) 溶液を、トリフルオロ酢酸 (0.74mL, 9.6mmol) で処理し、この混合物を室温で2時間攪拌した。反応混合物をトルエン (50mL) で希釈し、濃縮し、フラッシュクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、100% EtOAc) により、目的とする酸300mg (100%) を白色固体として得た：HRMS (FAB) : (M+Na) $^{+}$ 計算値654.3043, 実測値654.3055。

追加の合成例



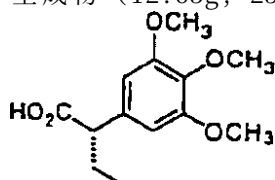
2R/S-(3,4,5-トリメトキシフェニル) 酪酸

3,4,5-トリメトキシフェニル酢酸 (32.8g, 145mmol) のTHF (200mL) 溶液を0℃で、ナトリウムビス(トリメチルシリル)アミドの1N溶液 (325mL, 325mmol) により処理し、15分後にヨードエタン (12.8mL, 160mmol) を添加した。反応混合物を室温に昇温させ、12時間攪拌した。その後、反応混合物をEtOAc (1.5L) で希釈し、氷 (500g) の混合物に投入し、1N塩酸水溶液を慎重に添加してpH 3まで酸性化した。水相をEtOAc (500mL) で抽出し、抽出液を合わせて、水 (250mL) と次に飽和NaCl水溶液 (100mL) で洗浄した。有機抽出液を次いで MgSO_4 で乾燥し、ろ過し、蒸発させ、クロマトグラフィー処理 (シリカゲル、2.5% HOAc/48.75% EtOAc/48.75%ヘキサン類) により、生成物 (33.92g, 92%) を得た： ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 6.53 (s, 2H), 3.85 (s, 6H), 3.83 (s, 3H), 3.38 (t, $J=7.6\text{Hz}$, 1H), 2.13-2.04 (m, 1H), 1.84-1.75 (m, 1H), 0.93 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 179.9, 153.7, 137.8, 134.3, 105.6, 61.2, 56.6, 53.9, 26.8, 12.5。

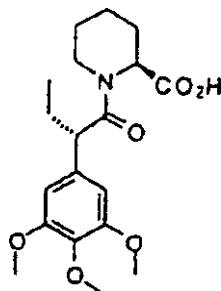


(4R-ベンジル-2-オキサゾリジノニル) 2S-(3,4,5-トリメトキシフェニル) ブチルイミ

10



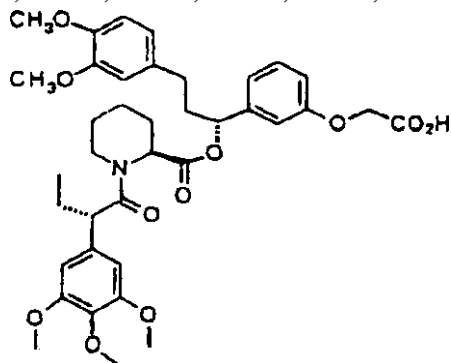
20



40

50

, 25.1, 23.9, 19.5, 11.3; MS (ES⁺) : (M+H)⁺366; (ES⁻) : (M-H)⁻364。



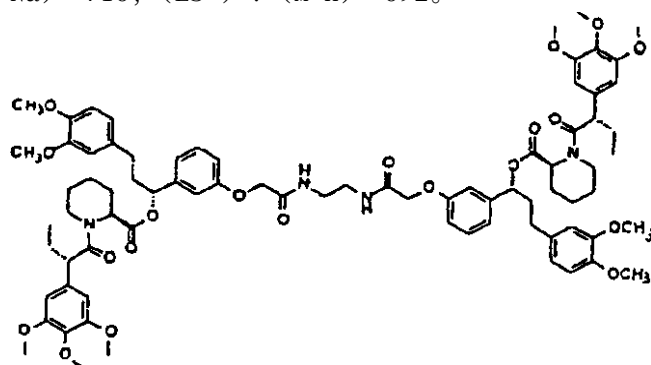
10

AP1867

(R) -1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オール (13) (220mg, 0.547mmol) の 0 °C の CH₂Cl₂ (0.5mL) 溶液を、(2S) -1- ((2S) - (3,4,5-トリメトキシフェニル) ブチリル) -2-ピペリジンカルボン酸 (210mg 0.574mmol) と次に4- (ジメチルアミノ) -ピリジン (2mg) および1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (113mg, 0.574mmol) とで処理した。得られた懸濁液を室温に昇温させ、16時間攪拌した後、EtOAc (3mL) で希釈し、Celiteのプラグ (綿状物) でろ過した。蒸発させた残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル, 40%-50% EtOAc/ヘキサン類) して、(1R) -1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-イル (2S) -1- ((2S) - (3,4,5-トリメトキシフェニル) ブチリル) -2-ピペリジンカルボキシレート (295mg, 72%) を無色泡状物として得た: TLC (EtOAc/ヘキサン類, 2:3) R_f=0.20; MS (ES⁺) : (M+H)⁺750; (M+Na)⁺772。

20

上で得たtert-ブチルエステル (250mg, 0.362mmol) のCH₂Cl₂ (10.0mL) 溶液を 0 °C に冷却し、塩化水素の蒸気で10分間処理した。反応混合物を室温に昇温させ、2時間攪拌した後、蒸発させて、固体白色泡状物 (245mg, 90%) を得た: MS (ES⁺) : (M+NH₄)⁺711; (M+Na)⁺716; (ES⁻) : (M-H)⁻692。

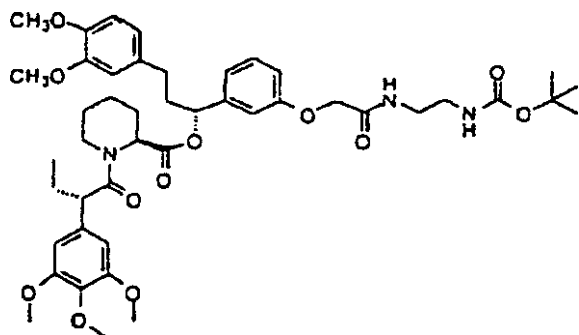


30

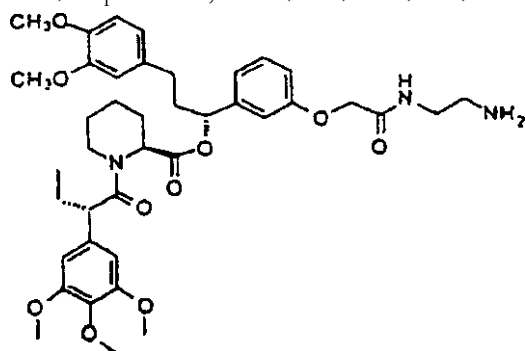
AP1903

0 °C のAP1867 (8.2g, 11.82mmol) のCH₂Cl₂ (100mL) 溶液を、順にベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス- (ジメチルアミノ) ホスホニウム・ヘキサフルオロホスフェート (7.3g, 14.0mmol) 、ジイソプロピルエチルアミン (5.50mL, 31.6mmol) 、およびエチレンジアミン (395 μL, 5.91mmol) で処理した。反応混合物を室温で16時間攪拌した後、EtOAc (150mL) で希釈し、水 (3 x 50mL) と次に飽和NaCl水溶液 (25mL) とで洗浄した。有機溶液を次いでMgSO₄で乾燥し、ろ過し、蒸発させ、得られた残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル, EtOAc) して生成物を得た。この生成物を次いでMeOH (10mL) に溶解させ、溶液が濁るまで水を加えた。この水性メタノール溶液を凍結 (ドライアイス/アセトン浴) した後、100mtorrで凍結乾燥させて、AP1903 (5.49g, 61%) を白色粉末として得た: MS (ES⁺) : (M+Na)⁺1434; (ES⁻) : (M-H)⁻1410。

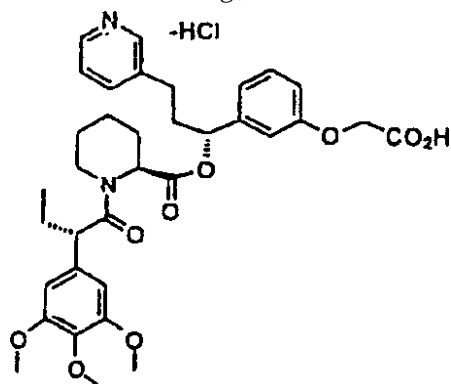
40



酸のAP1867 (245mg, 0.353mmol) を CH_2Cl_2 (1.0mL) に溶解させ、0 °C に冷却して、4- (ジメチルアミノ) -ピリジン (2mg) と次に1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (77mg, 0.371mmol) で処理した。反応混合物を5分間攪拌した後、N-(2-アミノエチル)-カルバミン酸tert-ブチル (61 μL , 0.388mmol) を加えた。生成した懸濁液を16時間攪拌した後、EtOAc (3mL) で希釈し、Celiteのプラグでろ過し、蒸発させ、クロマトグラフィー処理 (シリカゲル, EtOAc) により、生成物 (266mg, 90%) を無色泡状物として得た：TLC (EtOAc) R_f = 0.36; MS (ES⁺) : (M+H)⁺ 836; (M+Na)⁺ 858。



上記カルバミン酸tert-ブチルエステル (266mg, 0.318mmol) の CH_2Cl_2 (10.0mL) 溶液を0 °C に冷却し、塩化水素の蒸気で10分間処理した。反応混合物を室温に昇温させ、2時間攪拌した後、蒸発させ、得られた固体白色泡状物を、 CH_2Cl_2 (15mL) と飽和 NaHCO_3 水溶液 (10mL) との間で分配した。分液した後、水層を CH_2Cl_2 (5mL) で洗浄し、有機抽出液を合わせて飽和 NaCl 水溶液 (10mL) で洗浄し、次いで Na_2SO_4 で乾燥し、ろ過し、蒸発させて、生成物 (203mg, 87%) を無色粘着性泡状物として得た：MS (ES⁺) : (M+H)⁺ 736。

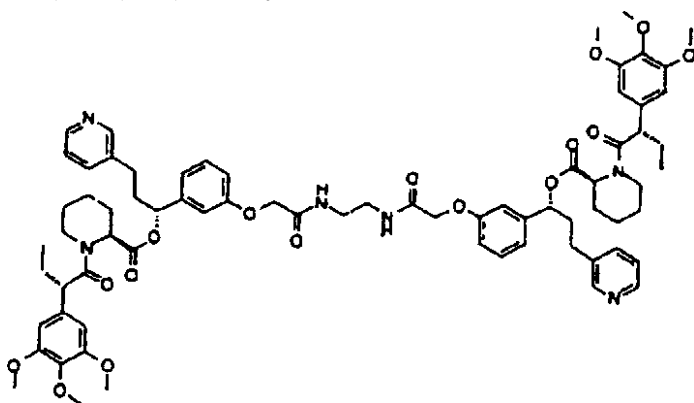


(1R) -1- (3- (カルボキシメトキシ) フェニル) -3- (3-ピリジル) -1-プロピル (2S) -1- ((2S) - (3,4,5-トリメトキシフェニル) ブチリル) -2-ピペリジンカルボキシレート塩酸塩 (AP14252)

(R) -1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3-ピリジル) プロパン-1-オール (21) (179mg, 0.521mmol) の0 °C の CH_2Cl_2 (0.5mL) 溶液を、(2S) -1- ((2S) - (3,4,5-トリメトキシフェニル) ブチリル) -2-ピペリジンカルボン酸 (200mg 0.547mmol) と次に4- (ジメチルアミノ) -ピリジン (2mg) および1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (113mg, 0.547mmol) とで処理した。生成した鮮黄色懸濁液を室温に昇温させ、16時間攪拌した後、EtOAc (3mL) で希釈し、Celiteのプラグでろ過した。蒸発させた

残渣をクロマトグラフィー処理（シリカゲル，EtOAc）して、生成物（303mg，84%）を無色泡状物として得た：TLC（EtOAc） $R_f=0.44$ ；IR（単味）2940，1750，1640，1590，1455，1240，1155 cm^{-1} ；MS（ES⁺）：（M+Na）⁺691。

上で得たtert-ブチルエステル（250mg，0.362mmol）のCH₂Cl₂（10.0mL）溶液を0℃に冷却し、塩化水素の蒸気で10分間処理した。反応混合物を室温に昇温させ、2時間攪拌した。この後、反応混合物を蒸発させて、固体白色泡状物を得た：MS（ES⁺）：（M+H）⁺635；（ES⁻）：（M-H）⁻633。

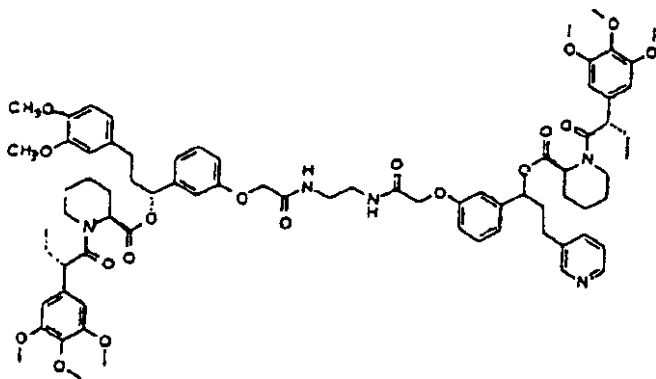


10

AP14290

酸の塩酸塩である上記AP14252をCH₂Cl₂（1.0mL）に溶解し、0℃に冷却し、トリエチルアミン（48μL，0.362mmol）、4-（ジメチルアミノ）-ピリジン（2mg）および1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド（90mg，0.434mmol）で処理した。反応混合物を5分間攪拌した後、エチレンジアミン（9.7μL，0.145mmol）を含有するCH₂Cl₂溶液（100μL）を加えた。生成した懸濁液を室温に昇温させ、16時間攪拌した後、EtOAc（3mL）で希釈し、Celiteのプラグでろ過し、蒸発させ、クロマトグラフィー処理（シリカゲル，2" x 0.5" カラム，10% MeOH/EtOAc）により、生成物（102mg，tert-ブチルエステルから54%）を無色泡状物として得た：TLC（MeOH/EtOAc，5:95） $R_f=0.28$ ；IR（単味）3345，2940，1740，1680，1650，1540，1505，1455，1425，1245，1130，1015 cm^{-1} ；MS（ES⁺）：（M+H）⁺1293。

20



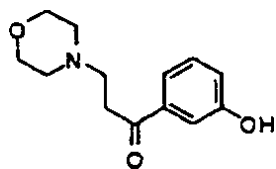
30

AP14283

上で得た酸の（1R）-1-（3-（カルボキシメトキシ）フェニル）-3-（3-ピリジル）-1-プロピル（2S）-1-（（2S）-（3,4,5-トリメトキシフェニル）ブチリル）-2-ピペリジンカルボキシレート塩酸塩（AP14252）（28.5mg，0.0425mmol）をCH₂Cl₂（0.5mL）に溶解し、0℃に冷却し、トリエチルアミン（5.6μL，0.0425mmol）を含有するCH₂Cl₂溶液（100μL）と、次に4-（ジメチルアミノ）-ピリジン（触媒量）および1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド（9.1mg，0.0422mmol）で処理した。反応混合物を5分間攪拌した後、該固体アミン（25mg，0.034mmol）を加えた。生成した懸濁液を室温に昇温させ、16時間攪拌した後、EtOAc（3mL）で希釈し、Celiteのプラグでろ過し、蒸発させ、クロマトグラフィー処理（シリカゲル，5%-10% MeOH/EtOAc）により、生成物（28mg，61%）を無色泡状物として得た：TLC（MeOH/CHCl₃，1:9） $R_f=0.28$ ；IR（単味）3445，2940，1740，1675，1645，1590，1515，1455，1420，1240，1130，1015 cm^{-1} ；MS（ES⁺）：（M+H）⁺1352。

40

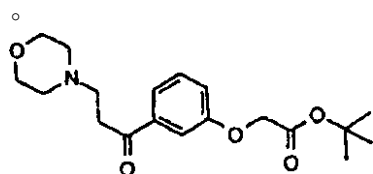
50



1-(3-(4-ヒドロキシフェニル)-3-(1-モルホリノ)プロパン-1-オン

モルホリン (1.0mL, 11.5mmol) のEtOH (10mL) 溶液を3-ヒドロキシアセタフェノン (1.5g, 11.5mmol) およびパラホルムアルデヒド (340mg, 11.5mmol) で、次に酢酸 (1.3mL, 23mmol) で処理した。得られた混合物を16時間還流加熱し、次いで冷却し、蒸発させた。残渣を次いで5% HCl水溶液 (10mL) で希釈し、ジエチルエーテル (2 x 10mL) で洗浄した後、固体NaHCO₃を加えて中和した。中和した水溶液をジエチルエーテル (2 x 10mL) で抽出し、抽出液をMgSO₄で乾燥し、ろ過し、濃縮した。濃縮残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル, 5% MeOH/CH₂Cl₂) して、生成物 (680mg, 25%) を褐色味油状物として得た : TLC (MeOH/CH₂Cl₂ 5:95) R_f=0.22 ; IR (単味) 2960, 2855, 1685, 1585, 1450, 1360, 1275, 1115, 995, 856cm⁻¹ ; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.48 (d, J=7.8Hz, 1H) , 7.42 (t, J=2.0Hz, 1H) , 7.32 (t, J=7.9Hz, 1H) , 7.05 (m, 1H) , 3.75 (t, J=4.7Hz, 4H) , 3.25 (t, J=7.3Hz, 2H) , 2.87 (t, J=7.3Hz, 2H) , 2.57 (t, J=4.5Hz, 4H) ; MS (ES-) : (M-H)⁻234

10

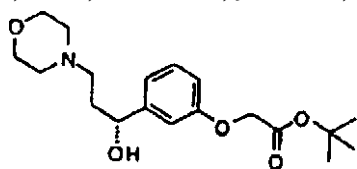


20

1-(3-(tert-ブトキシカルボニルメトキシ)フェニル)-3-(1-モルホリノ)プロパン-1-オン

無水DMF (20mL) 中の60% NaH鋇油懸濁液 (1.97g, 49mmol) を氷浴中で 0 °C に冷却し、1-(3-(4-ヒドロキシフェニル)-3-(1-モルホリノ)プロパン-1-オン (10.5g, 45mmol) のDMF (10mL) 溶液を添加した。生成した黄色溶液を15分間攪拌した後、ブromo酢酸tert-ブチル (7.26mL, 49mmol) を加えた。反応混合物を 0 °C で15分間攪拌した後、室温に昇温させ、EtOAc (50mL) と水 (150mL) との間で分配した。水層部分をEtOAc (2 x 50mL) で洗浄した後、合わせた有機抽出液を飽和NaCl水溶液 (2 x 50mL) で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、濾過し、蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 1% MeOH/EtOAc) により生成物 (10.5g, 67%) を油状物として得た : TLC (MeOH/CH₂Cl₂ 5:95) R_f=0.39 ; IR (単味) 2975, 1750, 1685, 1585, 1445, 1370, 1225, 1155, 1120cm⁻¹ ; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.57 (d, J=7.7Hz, 1H) , 7.46 (s, 1H) , 7.38 (t, J=8.0Hz, 1H) , 7.13 (d, J=8.2Hz, 1H) , 4.57 (s, 2H) , 3.71 (t, J=4.7Hz, 4H) , 3.15 (t, J=7.3Hz, 2H) , 2.82 (t, J=7.3Hz, 2H) , 2.50 (t, J=4.6Hz, 4H) , 1.49 (s, 9H) ; MS (ES+) : (M+H)⁺350。

30



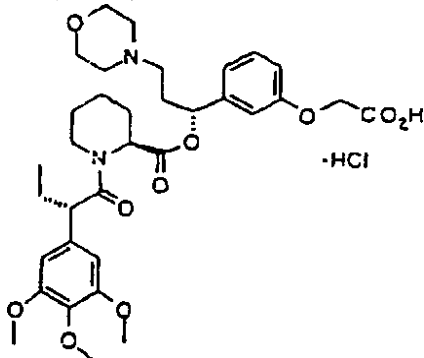
40

1R-(3-(tert-ブトキシカルボニルメトキシ)フェニル)-3-(1-モルホリノ)プロパン-1-オール

-78 °C の1-(3-(tert-ブトキシカルボニルメトキシ)フェニル)-3-(1-モルホリノ)プロパン-1-オン (1.0g, 2.86mmol) のTHF (5mL) 溶液を、-78 °C の (+) -b-クロロジイソピノカンフェニルボラン (2.76g, 8.59mmol) のTHF (10mL) 溶液で処理した。得られた混合物を-20 °C の冷凍庫内で48時間放置した後、混合物を蒸発させ、ジエチルエーテル (40 mL) 、次いでジエタノールアミン (5mL) で処理した。生成した粘稠な混合物を室温で4時間攪拌した後、酢酸エチルを用いてCeliteパッドでろ過した。曇ったろ液を蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 5% MeOH/EtOAc) により、静置によりロウ

50

様固体に固化する油状物270mg (27%) を得た：TLC (MeOH/CH₂Cl₂ 5:95) R_f=0.33；IR (単味) 2955, 1750, 1585, 1445, 1370, 1225, 1155, 1120, 1075cm⁻¹；¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.57 (d, J=7.9Hz, 1H), 6.97 (m, 2H), 6.78 (d, J=8.1Hz, 1H), 4.91 (t, J=5.7Hz, 1H), 4.52 (s, 2H), 3.75 (t, J=4.6Hz, 4H), 2.70-2.40 (m, 6H), 1.85 (m, 2H), 1.49 (s, 9H)；MS (ES+)：(M+H)⁺352。



10

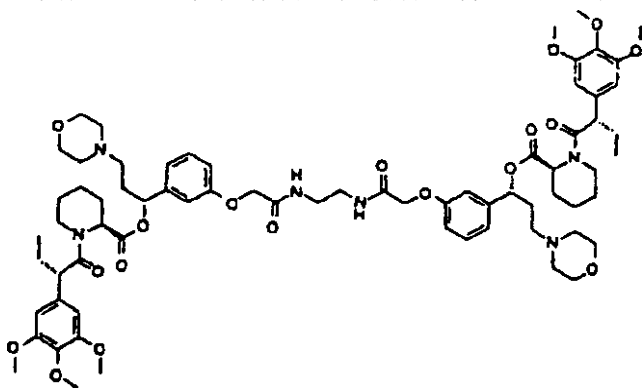
(1R)-1-(3-(カルボキシメトキシ)フェニル)-3-(モルホリノ)-1-プロピル (2S)-1-((2S)-3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチリル)-2-ピペリジincarボキシレート塩酸塩 (AP14246)

(R)-1-(3-(tert-ブトキシカルボニルメトキシ)フェニル)-3-(1-モルホリノ)プロパン-1-オール (96mg, 0.274mmol) の0℃のCH₂Cl₂ (2.0mL) 溶液を、(2S)-1-((2S)-3,4,5-トリメトキシフェニル)ブチリル)-2-ピペリジincarボン酸 (100mg 0.274mmol) と次に4-(ジメチルアミノ)-ピリジン (2mg) および1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (59mg, 0.287mmol) とで処理した。生成した懸濁液を室温に昇温させ、16時間攪拌した後、EtOAc (5mL) で希釈し、Celiteのプラグでろ過した。蒸発させた残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル, 3% MeOH/EtOAc) して、生成物 (154mg, 81%) を無色泡状物として得た：TLC (MeOH/CHCl₃) R_f=0.28；IR (単味) 2940, 1750, 1645, 1590, 1455, 1245, 1155, 1130cm⁻¹；MS (ES+)：(M+H)⁺699。

20

上で得たtert-ブチルエステルのCH₂Cl₂ (10.0mL) 溶液を0℃に冷却し、塩化水素の蒸気で10分間処理した。反応混合物を室温に昇温させ、2時間攪拌した。この後、反応混合物を蒸発させて、固体白色泡状物を得た：MS (ES+)：(M+H)⁺643；(ES-)：(M-H)⁻641。

30

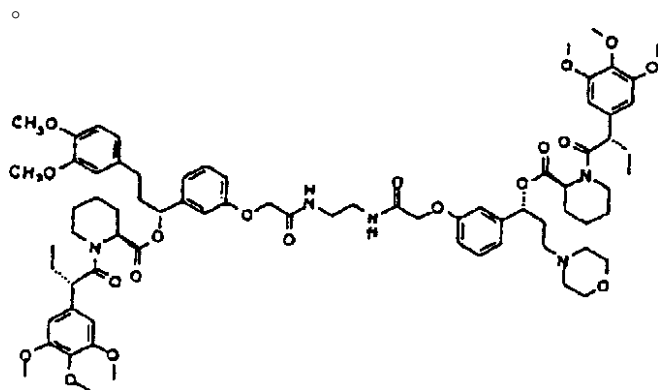


40

AP14291

酸の塩酸塩である上記AP14246 (50.6mg, 0.0745mmol) をCH₂Cl₂ (0.25mL) に溶解し、0℃に冷却し、トリエチルアミン (9.8μL, 0.0745mmol) を含有するCH₂Cl₂ 溶液 (100μL) と、次に4-(ジメチルアミノ)-ピリジン (触媒量) および1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (18.4mg, 0.0894mmol) で処理した。反応混合物を5分間攪拌した後、エチレンジアミン (2.0μL, 0.0298mmol) を含有するCH₂Cl₂ 溶液 (100μL) を加えた。生成した懸濁液を室温に昇温させた後、EtOAc (3mL) で希釈し、Celiteのプラグでろ過し、蒸発させ、クロマトグラフィー処理 (シリカゲル, 2" x 0.5" カラム, 20% MeOH/EtOAc) により、生成物 (25mg, 64%) を無色泡状物として得た：TLC (MeOH/EtOAc, 1:4) R_f=0.19；IR (単味) 2940, 1730, 1680, 1650, 1590, 1455, 1245, 1130cm⁻¹；MS (ES+)：(M+H)⁺1310

50

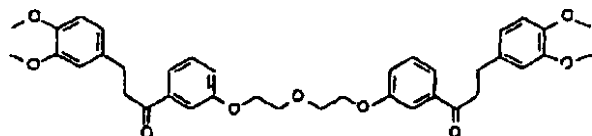


10

AP14272

酸塩酸塩の (1R) -1- (3- (カルボキシメトキシ) フェニル) -3- (モルホリノ) -1-プロピル (2S) -1- ((2S) - (3,4,5-トリメトキシフェニル) ブチリル) -2-ピペリジんカルボキシレート塩酸塩 (AP14246) (100mg, 0.147mmol) を CH_2Cl_2 (0.5mL) に溶解し、0 °C に冷却し、トリエチルアミン (20 μL , 0.147mmol) と、次に4- (ジメチルアミノ) -ピリジン (2mg) および1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (33mg, 0.162mmol) で処理した。反応混合物を5分間攪拌した後、該固体アミン (108mg, 0.147mmol) を加えた。生成した懸濁液を一晚 (16時間) 攪拌した後、EtOAc (3mL) で希釈し、Celiteのプラグでろ過し、蒸発させ、クロマトグラフィー処理 (シリカゲル, 5%-10% MeOH/EtOAc) により、生成物 (170mg, 85%) を無色泡状物として得た：TLC (MeOH/EtOAc, 5:95) $R_f=0.19$ ；IR (単味) 3355, 2940, 1740, 1670, 1645, 1590, 1515, 1240, 1130, 1020 cm^{-1} ；MS (ES+)：(M+H)⁺1361。

20

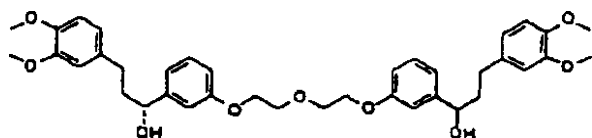


2- [1- (3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オン) -3'-フェノキシ] エチルエーテル

無水DMF (25mL) 中の60% NaH鉱油懸濁液 (1.40g, 3.49mmol) を氷浴で0 °C に冷却し、固体の3- (3,4-ジメトキシフェニル) -1- (3-ヒドロキシフェニル) プロパン-1-オン (10g, 3.49mmol) を少しずつ添加した。生成した黄色溶液を15分間攪拌した後、2-ヨードエチルエーテル (5.42g, 1.02mmol) を加えた。反応混合物を0 °C で15分間攪拌した後、室温に昇温させ、16時間攪拌した。この後、反応混合物をEtOAc (200mL) と水 (250mL) との間で分配した。有機層を飽和NaCl水溶液 (3 x 200mL) で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し、ろ過し、蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 40%-50%-80% EtOAc/ヘキサン類) により生成物 (6.76g, 63%) を透明黄色味油状物として得た：TLC (酢酸エチル/ヘキサン類, 1:1) $R_f=0.28$ ；IR (単味) 2935, 1685, 1515, 1460, 1260, 1140, 1030 cm^{-1} ；¹H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.54-7.36 (m, 2H), 7.33 (t, J=7.9Hz, 1H), 7.11 (d, J=8.1Hz, 1H), 6.81-6.77 (m, 3H), 4.19 (t, J=4.1Hz, 2H), 3.94 (t, J=4.4Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 2.45 (t, J=7.3Hz, 2H), 3.00 (t, J=7.5Hz, 2H)；¹³C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 199.6, 159.6, 149.5, 148.0, 138.8, 134.5, 130.1, 121.4, 120.8, 120.6, 113.8, 112.5, 112.0, 70.4, 68.3, 56.5, 56.4, 41.3, 30.4；MS (ES+)：(M+H)⁺643；(M+Na)⁺665。

30

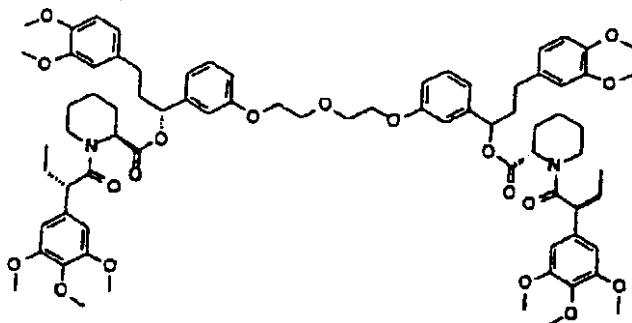
40



2- [1- (3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オール) -3'-フェノキシ] エチルエーテル

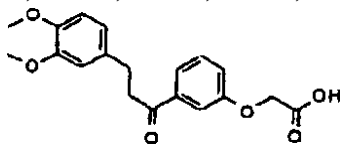
50

−20℃の2- [1- (3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オン) -3'-フェノキシ] エチルエーテル (2.70g, 4.20mmol) のTHF (10mL) 溶液を、−20℃の (+) -b-クロロジソピノカンフェニルボラン (4.04g, 12.6mmol) のTHF (10mL) 溶液で処理した。得られた混合物を−20℃の冷凍庫内で72時間放置した後、混合物を蒸発させ、ジエチルエーテル (300mL)、次いでジエタノールアミン (10mL) で処理した。生成した粘稠な混合物を室温で6時間攪拌した後、酢酸エチルを用いてCeliteパッドでろ過した。曇ったろ液を蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 50%-80%-100% EtOAc/ヘキサン類) により、生成物 (1.25g, 46%) を固体材料として得た: TLC (EtOAc/ヘキサン類, 3:1) $R_f=0.22$; IR (単味) 3505, 2935, 1590, 1515, 1451, 1260, 1140, 1030 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.26-7.20 (m, 1H), 6.92-6.70 (m, 6H), 4.64-4.60 (m, 1H), 4.15 (t, $J=4.4\text{Hz}$, 2H), 3.92 (t, $J=5.0\text{Hz}$, 2H), 3.84 (s, 6H), 2.73-2.54 (m, 2H), 2.13-1.91 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 159.4, 149.3, 147.6, 146.8, 134.8, 129.9, 120.6, 118.9, 114.0, 112.8, 112.3, 111.8, 74.1, 70.4, 67.9, 56.3, 56.2, 41.0, 32.0; MS (ES⁺): (M+NH₄)⁺664; (M+Na)⁺669。



AP14278

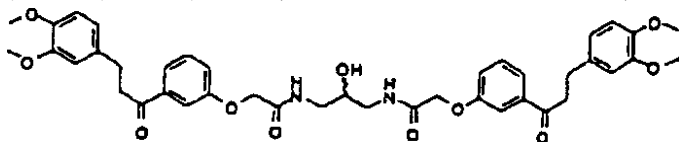
2- [1- (3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オール) -3'-フェノキシ] エチルエーテル (100mg, 0.155mmol) の0℃の CH_2Cl_2 (2.0mL) 溶液を、(2S)-1-((2S)-3,4,5-トリメトキシフェニル) ブチリル)-2-ピペリジincarbons acid (181mg 0.495mmol) と次に4-(ジメチルアミノ)-ピリジン (2mg) および1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (102mg, 0.495mmol) とで処理した。生成した鮮黄色の懸濁液を室温に昇温させ、16時間攪拌した後、EtOAc (5mL) で希釈し、Celiteのプラグでろ過した。蒸発させた残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル, 5% EtOAc/ヘキサン類) して生成物 (101mg, 49%) を無色泡状物として得た: TLC (MeOH/ CHCl_3) $R_f=0.38$; IR (単味) 2940, 1740, 1645, 1590, 1515, 1455, 1240, 1130, 1030 cm^{-1} ; MS (ES⁺): (M+NH₄)⁺1358; (M+Na)⁺1363。



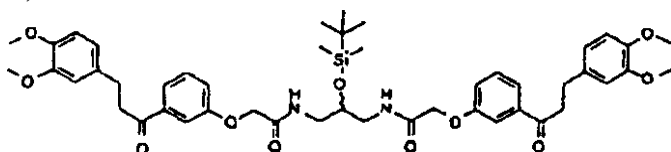
(R) 1- (3- (カルボキシメトキシ) フェニル) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オール

(R) 1- (3- (tert-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) プロパン-1-オール (13) (5.0g, 12.5mmol) の CH_2Cl_2 (25mL) 溶液を0℃に冷却し、トリフルオロ酢酸 (10mL) で処理した。反応混合物を室温に昇温させ、1時間攪拌した後、混合物を蒸発させ、残渣をベンゼン (30mL) で2回処理し、蒸発させて痕跡量のトリフルオロ酢酸を除去した。得られた粗製材料を真空ポンプに4時間置いた後、ジエチルエーテルで磨砕して生成物 (3.4g, 79%) を白色固体として得た: IR (単味) 2935, 1745, 1680, 1590, 1515, 1445, 1260, 1155, 1025 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 9.54 (br s, 1H), 7.57 (d, $J=7.7\text{Hz}$, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.36 (d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 7.14-7.10 (m, 1H), 6.77-6.74 (m, 3H), 4.70 (s, 2H), 3.84 (m, 3H), 3.82 (m, 3H), 3.24 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 1H), 2.98 (t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 199.6, 173.6, 158.2, 149.3, 147.9, 138.8, 134.2, 130.3, 122.4, 120.7, 120.4, 113.7, 112.4, 112.0, 65.2, 56.4

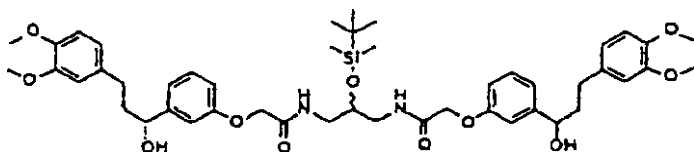
, 56.3, 41.1, 30.2; MS (ES⁺) : (M+H)⁺345; (M+Na)⁺367; (ES⁻) : (M-H)⁻343。



上記の酸 (500mg, 1.45mmol) の 0 °C の CH₂Cl₂ (2.0mL) 溶液を、4- (ジメチルアミノ) ピリジン (2mg) と次に 1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (329mg, 1.60mmol) で処理した。得られた懸濁液を 15 分間攪拌した後、1,3-ジアミノ-2-プロパノール (52.3mg, 0.581mmol) の CH₂Cl₂ (2.0mL) 溶液で処理した。反応混合物を室温に昇温させ、2 時間攪拌した後、反応混合物を EtOAc (10mL) で希釈し Celite のプラグでろ過した。蒸発させた残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル, 100% EtOAc-5% MeOH/EtOAc) して生成物 (299mg, 69%) を得た: TLC (EtOAc) R_f=0.35; IR (単味) 3355, 2930, 1680, 1515, 1440, 1260, 1155, 1030cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.56 (d, J=7.7Hz, 2H), 7.47 (d, J=7.5Hz, 2H), 7.36 (t, J=8.0Hz, 2H), 7.26 (d, J=6.1Hz, 2H), 7.11 (d, J=8.0, 2.5Hz, 2H), 6.75-6.73 (m, 6H), 4.50 (s, 4H), 3.82 (s, 6H), 3.81 (br, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.43-3.39 (m, 4H), 3.22 (t, J=7.3Hz, 4H), 2.96 (t, J=7.7Hz, 4H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 199.2, 169.8, 157.8, 149.4, 147.9, 139.0, 134.1, 130.4, 122.4, 120.6, 120.1, 114.1, 112.4, 111.9, 70.5, 67.7, 56.4, 56.3, 42.8, 41.2, 30.2; MS (ES⁺) : (M+H)⁺743; (ES⁻) : (M-H)⁻741。

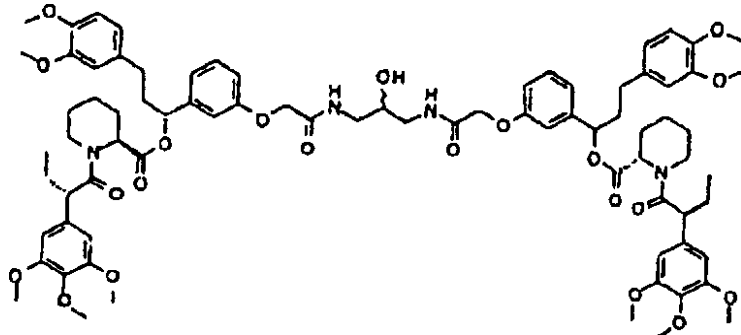


上で調製したアルコール (950mg, 1.28mmol) の DMF (6.0mL) 溶液をイミダゾール (131mg, 1.92mmol) と次に tert-ブチルジメチルシリルクロリド (289mg, 1.92mmol) で処理し、3 時間攪拌した後、追加量のイミダゾール (42mg, 0.64mmol) と次に tert-ブチルジメチルシリルクロリド (64mg, 0.64mmol) を添加した。反応混合物をさらに 3 時間攪拌し、EtOAc (25mL) と水 (50mL) の 2 相混合物に投入した。有機層を飽和 NaCl 水溶液 (4 x 50mL) で洗浄した後、Na₂SO₄ で乾燥し、ろ過し、蒸発させ、クロマトグラフィー処理 (シリカゲル, 100% EtOAc-5% MeOH/EtOAc) により生成物 (709mg, 65%) ならびに回収出発材料 (265mg, 31%) を得た: TLC (EtOAc/ヘキサン類, 3:1) R_f=0.56; IR (単味) 3440, 3355, 2935, 1680, 1590, 1515, 1440, 1260, 1155, 1030cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) 7.53 (d, J=7.7Hz, 2H), 7.46 (s, 2H), 7.33 (t, J=8.0Hz, 2H), 7.09-7.05 (m, 4H), 6.72-6.70 (m, 6H), 4.47 (s, 4H), 3.87 (t, J=4.6Hz, 6H), 3.79 (s, 6H), 3.77 (s, 6H), 3.60-3.52 (m, 2H), 3.19 (t, J=7.2Hz, 4H), 3.05-2.99 (m, 2H), 2.94 (t, J=7.8Hz, 4H), 0.80 (s, 9H), 0.30 (s, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75MHz) 199.0, 168.6, 157.9, 149.4, 147.9, 139.0, 134.2, 130.4, 122.3, 120.6, 120.0, 114.1, 112.4, 111.9, 69.3, 67.7, 56.3, 41.9, 41.2, 30.2, 26.1, 18.3, -4.4; MS (ES⁺) : (M+H)⁺857, (M+NH₄)⁺874; (ES⁻) : (M-H)⁻855。



-20 °C の上記ケトン (775mg, 0.904mmol) の THF (3mL) 溶液を、-20 °C の (+) -b-クロロジイソピノカンフェニルボラン (1.16g, 12.6mmol) の THF (12mL) 溶液で処理した。得られた混合物を -20 °C の冷凍庫内で 64 時間放置した後、混合物を蒸発させ、ジエチルエーテル (20mL)、次いでジエタノールアミン (2mL) で処理した。生成した粘稠な混合物を室温で 2 時間攪拌した後、酢酸エチルを用いて Celite パッドでろ過した。曇ったろ液を蒸発させ、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 75-100% EtOAc/ヘキサン類) により、生成物 (487mg, 63%) を粘着性固体として得た: TLC (EtOAc/ヘキサン類, 3:1) R_f=0.

44 ; IR (単味) 3430, 2935, 1670, 1515, 1440, 1260, 1155, 1030 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.21-7.16 (m, 2H) , 6.92-6.83 (m, 6H) , 6.74-6.62 (m, 8H) , 4.58 (dd, $J=7.6$, 5.3Hz, 2H) , 4.40 (s, 4H) , 3.80 (br s, 1H) , 3.76 (s, 6H) , 3.75 (s, 6H) , 3.44-3.33 (m, 2H) , 3.01-2.92 (m, 2H) , 2.68-2.48 (m, 4H) , 2.03-1.85 (m, 4H) , 0.79 (s, 9H) , 0.00 (s, 6H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 169.3, 157.8, 149.3, 147.6, 134.8, 130.2, 120.6, 120.2, 114.0, 112.6, 112.5, 111.8, 106.8, 73.8, 69.2, 67.6, 56.3, 56.2, 41.9, 41.1, 32.1, 26.1, 18.3, -4.4; MS (ES $^{+}$) : (M+H) $^{+}$ 861。



10

AP14279

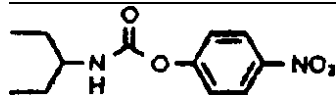
上記アルコール (100mg, 0.116mmol) の 0 $^{\circ}\text{C}$ の CH_2Cl_2 (3.0mL) 溶液を、(2S) -1- ((2S) - (3,4,5-トリメトキシフェニル) ブチリル) -2-ピペリジincarボン酸 (136mg 0.371mmol) と次に4- (ジメチルアミノ) -ピリジン (2mg) および1,3-ジシクロヘキシルカルボジイミド (77mg, 0.371mmol) とで処理した。得られた懸濁液を16時間攪拌した後、EtOAc (5mL) で希釈し、Celiteのプラグでろ過した。蒸発させた残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル, EtOAc) して生成物 (68mg, 38%) を無色泡状物として得た : TLC (EtOAc / ヘキサン類, 3:1) $R_f=0.26$, (MeOH/EtOAc, 3:97) $R_f=0.39$; IR (単味) 3440, 2935, 1740, 1680, 1645, 1590, 1515, 1455, 1260, 1130, 1030 cm^{-1} 。

20

0 $^{\circ}\text{C}$ のアセトニトリル (1.5mL) 中の上記エステル (65mg, 0.418mmol) を、5% HF/アセトニトリル溶液 (1mL) で処理し、室温に昇温させ、30分間攪拌した。反応混合物をEtOAc (15mL) と飽和 NaHCO_3 水溶液 (10mL) の 2 相混合物に投入した。有機部分を追加量の塩基で洗浄し、次いで飽和 NaCl 水溶液 (2 x 50mL) で洗浄した。有機溶液を次いで MgSO_4 で乾燥し、ろ過し、蒸発させ、クロマトグラフィー処理 (シリカゲル、EtOAc-3% MeOH/EtOAc) により生成物 (38mg, 68%) を無色泡状物として得た : TLC (MeOH/酢酸エチル, 3:97) $R_f=0.24$; IR (単味) 3360, 2940, 1740, 1645, 1590, 1515, 1455, 1240, 1130, 1030 cm^{-1} ; MS (ES $^{+}$) : (M+H) $^{+}$ 1441, (M+NH $_4$) $^{+}$ 1458; (M+Na) $^{+}$ 1463。

30

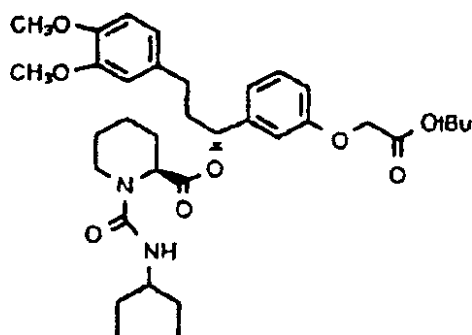
N-2-ペンチルカルバミン酸4-ニトロフェニルの合成



4-ニトロフェニルクロロホルメート (597mg, 2.84mmol) の CH_2Cl_2 (5mL) 溶液に、エチルプロピルアミン (330mL, 2.84mmol) を滴下した。生成した白色懸濁液を一晩攪拌した。反応混合物を次いで CH_2Cl_2 (25mL) で希釈し、飽和 NaHCO_3 水溶液 (2 x 20mL) および食塩水で洗浄し、無水 MgSO_4 で乾燥した。溶媒を蒸発させて、白色固体645mgを得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 8.23 (d, $J=9.1\text{Hz}$, 2H) , 7.32 (d, $J=9.1\text{Hz}$, 2H) , 4.82 (m, 1H) , 3.52-3.62 (m, 1H) , 1.40-1.71 (m, 4H) , 0.98 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 6H) 。

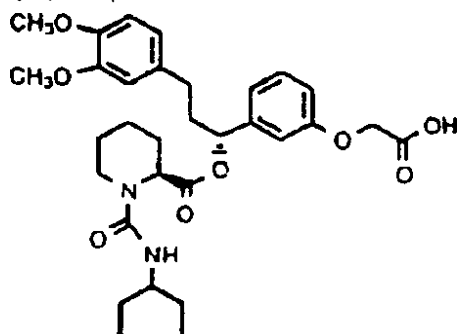
40

(1R) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) -1- [3- (t-ブトキシカルボニルメトキシ) フェニル] -1-プロピル (2S) -1- (1'-エチルプロピルカルバモイル) -2-ピペリジincarボキシレート



上記アミン (300mg, 0.585mmol) の CH_2Cl_2 (3mL) 溶液を、上記カルバミン酸エステル (184mg, 0.702mmol) と次に NEt_3 (163mL, 1.17mmol) とで処理した。生成した鮮黄色溶液を一晩攪拌した。反応混合物を濃縮し、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 33% EtOAc/ヘキサン類) により白色泡状物 209mg (57%) を得た。 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.25 (t, $J=7.9\text{Hz}$, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.81 (d, $J=8.3\text{Hz}$, 1H), 6.77 (d, $J=8.7\text{Hz}$, 1H), 6.67 (m, 2H), 5.76 (dd, $J=7.3, 6.1\text{Hz}$, 1H), 5.05 (d, $J=3.5\text{Hz}$, 1H), 4.52 (s, 2H), 4.35 (d, $J=8.4\text{Hz}$, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.68 (m, 1H), 3.54 (bd, $J=11.3\text{Hz}$, 1H), 3.09 (dt, $J=2.6, 12.3\text{Hz}$, 1H), 2.51-2.59 (m, 2H), 2.18-2.30 (m, 2H), 2.03-2.09 (m, 1H), 1.31-1.69 (m, 9H), 1.48 (s, 9H), 0.88 (t, $J=7.3\text{Hz}$, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 172.22, 168.34, 158.77, 158.40, 149.17, 147.61, 142.17, 133.96, 129.96, 120.51, 120.20, 114.28, 113.63, 112.10, 111.62, 82.72, 76.19, 66.12, 56.26, 56.18, 54.21, 53.50, 42.27, 38.41, 31.48, 28.40, 28.10, 25.18, 20.98, 10.62。MS (FAB): $(\text{M}+\text{H})^+$: 627.50。

(1R) -3- (3,4-ジメトキシフェニル) -1- [3- (ヒドロキシカルボニルメトキシ) フェニル] -1-プロピル (2S) -1- (1'-エチルプロピルカルバモイル) -2-ピペリジンカルボキシレート



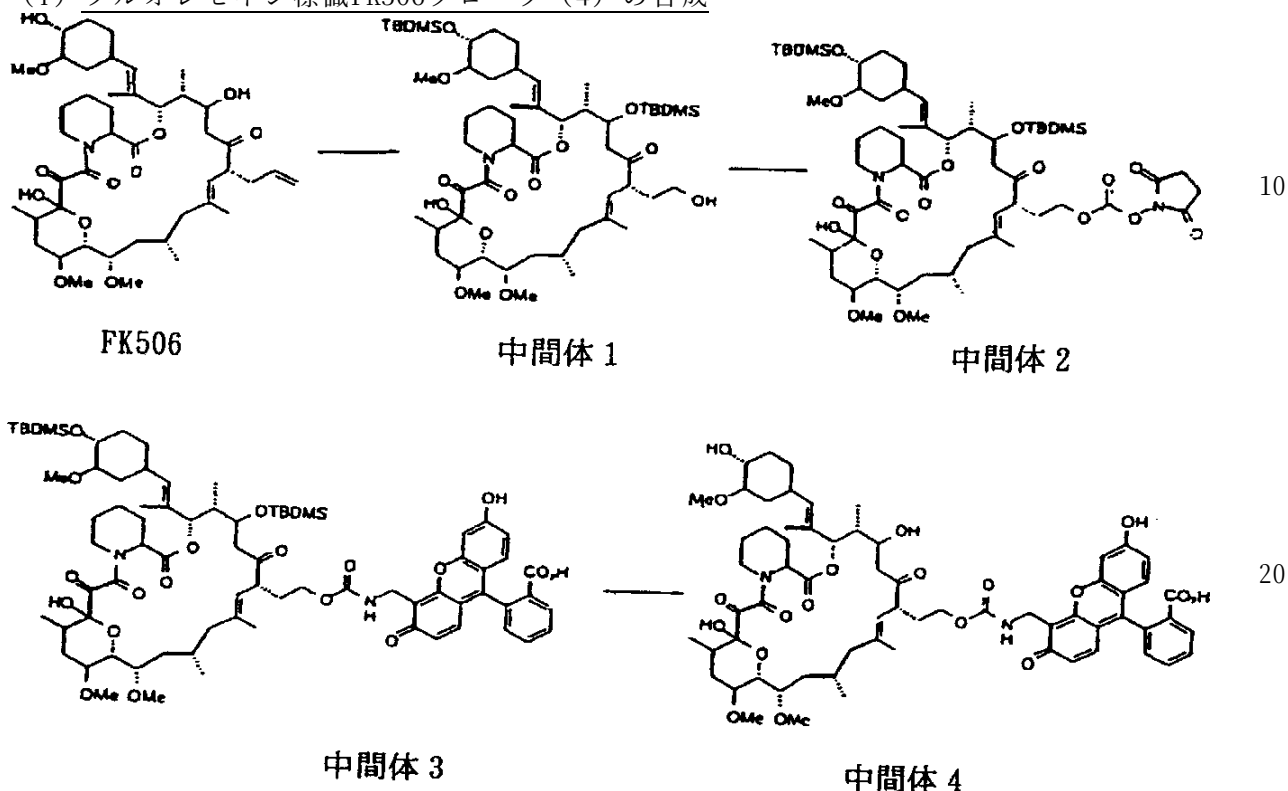
上記t-ブチルエステル (209mg, 0.33mmol) の CH_2Cl_2 (6mL) 溶液をトリフルオロ酢酸 (1.29mL, 16.5mmol) で処理し、得られた混合物を室温で2時間攪拌した。反応混合物をトルエン (50mL) で希釈し、濃縮し、フラッシュクロマトグラフィー (シリカゲル, 100% EtOAc/2% HOAc) により目的とする酸 163mg (86%) を白色固体として得た: ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 7.41 (br, 1H), 7.22 (t, $J=7.8\text{Hz}$, 1H), 6.68-6.96 (m, 6H), 5.69 (dd, $J=5.2, 8.3\text{Hz}$, 1H), 5.13 (d, $J=4.0\text{Hz}$, 1H), 4.60 (d, $J=4.7\text{Hz}$, 2H), 4.43 (br, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.60-3.73 (m, 1H), 3.46 (bd, $J=9.0\text{Hz}$, 1H), 3.17 (dt, $J=3.0, 12.1\text{Hz}$, 1H), 2.50-2.69 (m, 2H), 2.99-2.33 (m, 3H), 1.22-1.82 (m, 9H), 0.86 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H), 0.80 (t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75MHz) 172.09, 171.86, 159.16, 158.52, 149.34, 147.79, 142.43, 133.94, 129.95, 120.60, 119.91, 115.82, 112.19, 111.84, 110.99, 76.58, 65.92, 56.33, 56.27, 54.29, 53.81, 42.21, 38.49, 31.86, 27.82, 27.39, 25.09, 23.02, 20.90, 10.49。MS (FAB): $(\text{M}-\text{H})^-$: 569.48。

バンプ付き合成FKBPリガンドと補償的変異 (compensatory mutations) を持つFKBP変異体との結合アッセイ

バンプを持つ合成リガンドのFKBPに対する親和性を、蛍光偏光 (FP) に基づく競合的アッセイを用いて測定した。フルオレセイン標識したFK506プローブ (4) を合成し、その蛍光

の偏光の増大を、飽和下 (sub-saturation) 濃度のFKBPおよび競合剤として変化する量のバンプ付きリガンドを含有する平衡結合実験におけるプローブ結合率 (%) の直接的な測定値として用いた。このアッセイで得られるIC₅₀値は、競合的リガンドの該タンパク質に対する親和性に関係する。

(i) フルオレセイン標識FK506プローブ (4) の合成



FK506の24,32-ビス (tert-ブチルジメチルシリル) エーテル

ジクロロメタン (3mL) 中のFK506 (103mg, 128 μ mol) と2,6-ルチジン (89.5 μ L, 768 μ mol) の攪拌された0℃の溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸tert-ブチルジメチルシリル (108 μ L, 470 μ mol) を滴下した。生成した溶液を0℃で2時間攪拌した後、MeOH (0.5mL) およびエーテル (15mL) で処理した。この混合物を10% NaHCO₃水溶液 (3mL) および食塩水 (15mL) で洗浄した。有機層をデカンテーションし、無水Na₂SO₄で乾燥し、ろ過し、濃縮して、黄色油状物を得た。カラムクロマトグラフィー (シリカゲル、ヘキサン類-EtOAc 3:1) により標記化合物を無色油状物 (104mg) として得た。

中間体 1

FK506の24,32-ビス (tert-ブチルジメチルシリル) エーテル (100mg, 97 μ mol) のTHF (2.5mL) 溶液に、モルホリンN-オキシド (68mg, 580 μ mol) と、次に水 (60 μ L) および4% 四酸化オスミウム水溶液 (123 μ L, 20 μ mol) を添加した。得られた混合物を室温で4.5時間攪拌した。これを次いで50% MeOH水溶液 (1.5mL) および過ヨウ素酸ナトリウム (207mg, 970 μ mol) で処理し、生成した懸濁液をさらに1時間攪拌した。この混合物をエーテル (10mL) で希釈し、飽和NaHCO₃水溶液 (2x4mL) で洗浄した。有機層をデカンテーションし、少量の亜硫酸ナトリウムを含有する無水硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、濃縮した。残渣を無水THF (2.8mL) に溶解し、窒素下で-78℃に冷却し、リチウム・トリス [(3-エチル-3-ペンチル) オキシ] アルミニウムハイドライドの0.5M THF溶液 (282 μ L) で処理した。得られた溶液を-78℃で1.75時間攪拌し、次いでエーテル (6mL) と飽和塩化アンモニウム溶液 (250 μ L) を加えて反応を停止した。この混合物を室温に昇温させ、無水硫酸ナトリウムで処理した。減圧下でろ過および濃縮して、淡黄色油状物 (97mg) を得た。これをカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、ヘキサン類-EtOAc 3:1) で精製して、中間体 1 を無色油状物として得た。

中間体 2

10

20

30

40

50

上記アルコール (300mg, 290 μmol) のアセトニトリル (10mL) 溶液を、2,6-ルチジン (338 μL , 2.9mmol) および N,N'-ジスクシンイミジルカーボネート (371mg, 1.45mmol) で処理した。生成した懸濁液を室温で14.5時間攪拌した後、減圧下で濃縮した。残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、ヘキサン類-EtOAc 2:1から100% EtOAcに傾斜) して、混合カーボネート 2 を淡黄色油状物 (127mg) として得た。

中間体 3

上記カーボネート (30mg, 26 μmol) とトリエチルアミン (36 μL , 260 μmol) のアセトニトリル (1mL) 溶液を、4'- (アミノメチル) フルオレセイン (13.5mg, 34 μmol) で処理した。生成した鮮橙色懸濁液を室温で1時間攪拌した後、減圧下で濃縮した。残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、ヘキサン類-EtOAc 1:1→100% EtOAc→EtOAc-MeOH 1:1に傾斜) して、中間体 3 (20.5mg) を鮮黄色固体として得た。

10

中間体 4

ビス-シリルエーテル 3 (35mg, 25 μmol) のアセトニトリル (2mL) 溶液を、48% (w/w) HFの水 (250 μL) 溶液で処理した。得られた混合物を室温で5.5時間攪拌した。この混合物を次いでジクロロメタン (10mL) で希釈し、水 (2x2mL) で洗浄した。有機層をデカンテーションし、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をクロマトグラフィー処理 (シリカゲル、100% EtOAc) して、中間体 4 (13mg) を鮮黄色固体として得た。

(ii) 直接結合によるFKBP変異体の飽和下濃度の決定

変異FKBPをコードする遺伝子を、標準的方法 [F.M. Ausubel et al., 編, Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, New York, 1994)] を用いて遺伝子工学的に作成した。純粋な野生型および変異型FKBPの組み換え体を標準的方法 (例えば, Wiederrecht, G. et al., 1992, J. Biol. Chem. 267, 21753-21760を参照) により発現させ、精製した。

20

競合FPアッセイのために、まず適当なタンパク質濃度 (約90%のプロープ結合を与える) を、プロープのタンパク質への直接結合 (例えば, Beacon FP System Applications Guide, Panvera Corp, Madison, WI参照) により決定した。結合アッセイ操作はすべて室温で行った。各タンパク質の連続希釈液を50mMリン酸カリウム、pH7.8/150mM NaCl/100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ウシ γ グロブリン (「FP緩衝液」: Panvera社製の低蛍光性試薬のみを用いて調製) 中で調製し、その100 μL 量をDynatech micro-fluor blackの96ウェル蛍光プレートに入れた。次いで、FP緩衝液+2%エタノール中の10nM濃度の 4 (該プロープのエタノール原液から調製) を100 μL ずつ各ウェルに混合しながら添加した。2組の対照ウェルは、FKBPの代わりにFP緩衝液 (プロープ結合0%用) または10 μM 野生型FKBP (100%結合用) を含有していた。

30

このプレートにカバーをして、暗中で約30分間貯蔵して平衡化させ、次いで各ウェル中の試料の蛍光偏光の値を、Jolley FPM-2型FPプレートリーダー (Jolley Consulting & Research, Inc., Grayslake, IL) を用いて、製造業者の推奨通りに測定した。各タンパク質濃度に対する偏光 (mP単位) (y 軸) を、FKBPの最終濃度 (x 軸) に対してプロットした。濃度をOD280測定値によって決定した。定量されていないタンパク質に対しては任意単位を用いた。非線形最小二乗解析法を用いて、得られた曲線に適合させ、下記の4変数方程式を用いてプロープに対するタンパク質のKd値 (タンパク質濃度が既知の場合) を求めた:

40

$$y = M3 + \left(\left((x+M1+M2) - \sqrt{(x+M1+M2)^2 - (4 \star x \star M1)} \right) \right) / (2 \star (M1)) \star (M4-M3)$$

ここでM1はプロープ濃度、M2はKd値、ならびにM3およびM4はそれぞれ最小および最大のmP値である。M3およびM4の適合値を用いて、90%のプロープ結合を与えるFKBP変異体の濃度を計算し、この値を次いでその後の競合実験において用いた。

(iii) 競合FPを用いた合成FKBPリガンドの結合親和性 (IC50) の決定

各合成リガンドの連続10倍希釈液をガラスバイアル中の100%エタノール中で調製し、氷上に貯蔵した。他の操作はすべて室温で行った。精製した野生型もしくは変異型FKBPの組み換え体を (200/98) $\times$ (90%のプロープ結合を与えるように予め決定した濃度) に希釈

50

し、その98 μ LをDynatech micro-fluor blackの96ウェル蛍光プレートのウェルに移した。次いで、2.0 μ Lの合成リガンド試料を混合しながら各ウェルに2つずつ入れた。最後に、0.1%エタノール／FP緩衝液中に10nMの4を含むプローブ溶液を調製し、その100 μ Lを各ウェルに混合しながら添加した。2組の対照ウェルは、FKBPリガンドの代わりにエタノールを（100%プローブ結合用）、またはFKBPリガンドの代わりにエタノールそしてFKBPの代わりにFP緩衝液を（結合0%用）、それぞれ含有していた。

このプレートにカバーをして、暗中で約30分間貯蔵して平衡化させ、次いで各ウェル中の試料の蛍光偏光の値を、Jolley FPM-2型FPプレートリーダー（Jolley Consulting & Research, Inc., Grayslake, IL）を用いて、製造業者の推奨通りに測定した。各競合剤濃度に対する平均偏光（mP単位）（これは対照値を参照して全結合率（%）に変換してある場合もある）（y軸）を、競合剤の最終モル濃度の対数（x軸）に対してプロットした。非線形最小二乗解析法を用いて、得られた曲線に適合させ、下記の方程式を用いてIC50を求めた：

$$y = M1 + (M4 - M1) / (1 + \exp(M2 * (M3 - x)))$$

ここで、M3がIC50である。不完全な曲線については、IC50を内挿により決定した。FK506は各場合において対照として含まれる。

先に示した表に、ヒトFKBP12およびその変異体に対して比較した一連の単量体のIC50値（nM）のサンプルが提示されている。単量体はリンカー結合され（linkered）ビオチニル化した形態で試験した。FKBP変異体は全て、フェニルアラニン36（F36）および／またはフェニルアラニン99が代替アミノ酸（バリン、アラニン、セリン、メチオニンまたはグリシン）で置換された点変異または二重点変異である。これらのデータは、合成化合物と変異FKBPとの対の間で明らかな結合優先性を示している。グラフも提示され（図1）、これはIC50の表の3欄に示される合成リガンドへの野生型および変異型（F36V）FKBPの結合の、FK506を対照とした競合FP分析を示すものである。

細胞によるトランスフェクションアッセイ

二量体化剤もまた、1または2以上の転写調節ドメイン（例えば、DNA結合ドメインおよび転写活性化ドメイン）を含むFKBP含有融合タンパク質の二量体化に応答性の調節配列に連結したリポーター遺伝子の転写を活性化その能力について分析できる。我々は以下のような系を用いた：ヒト293細胞をプラスミドPCGNNGF3およびPCGNF3VP16を用いてリン酸カルシウム法により一時的トランスフェクションを行った。これらのプラスミドは、それぞれ、3コピーのFKBP12に融合したGal4 DNA結合ドメイン（aa 1-147）およびVP16活性化ドメイン（aa411-490）に融合した3コピーのFKBP12を発現する。これらのアッセイで用いたリポータープラスミド（G5IL2-SEAP）は、最小IL2プロモーターおよびこのプロモーターの上流に位置する5×GAL4結合部位の制御下に分泌アルカリ性ホスファターゼ（SEAP）をコードする遺伝子を含有する。すべての場合に、成長ホルモンを発現するプラスミドをトランスフェクション効率を監視する内部対照として用いた。

トランスフェクションの約16時間後、培地を除去し、細胞をPBSで2回洗浄した。細胞に、10%血清を含むDMEM 2.5mlを再加し、2時間後、合成二量体化剤をエタノール担体溶液5 μ L中の適宜濃度で培地に直接添加した。この薬剤を添加してから約24時間後、培地の100 μ Lを取り、SEAP活性を分析し、別の100 μ Lの培地を成長ホルモン活性の分析に用いた（トランスフェクション効率を標準化するため）。

この系における本発明の多量体化剤の試料についての結果を以下に（二量体化剤アッセイ研究シート参照）、表示した0.1～10⁴nMの多量体化剤濃度で示し、hGH発現に対して標準化し、プロトタイプの多量体化剤であるFK1012で観察された最大転写活性（Spencer et al, Science, 上掲）に対する割合（%）として表示する。

293細胞の代わりに1080細胞のような細胞系を、VP16の代わりにNF- κ B p65活性化ドメインのような活性化ドメインを、そしてGAL4の代わりに複合DNA結合ドメインであるZFHD1（Pomerantz, J.L., et al., 1995, Science 267:93-96参照）を用いて（リポーター遺伝子をGAL4部位の代わりにZFHD1により認識されるDNA配列に連結して）類似の分析も行った。

本発明の多量体化剤は、個々のキメラタンパク質および上記系の他の成分により、観察さ

10

20

30

40

50

れる活性に多少の変化があることは理解すべきである。実施者が、興味ある特定の系での性能に基づいて多量体化剤を選択することを勧める。

シグナル伝達の二量体化剤依存性の活性化

多数の細胞性受容体は、その生理学的リガンドまたは抗受容体抗体のいずれかによる凝集により活性化できる。2つのタンパク質のこのような凝集は特定の細胞内シグナルをしばしば発動することができる。本発明の多量体化剤の用途の1つは、受容体エフェクタードメインの活性化を、多量体化剤に結合できるリガンド結合ドメイン（例、FKBPドメイン）と一緒にこのエフェクタードメインを含有する融合タンパク質をオリゴマー化することによって発動させることである。好ましくは、FKBPドメインを修飾もしくは選択して、たとえば処理される細胞中に内在性の野生型FKBP部分が存在していても、「バンプ付き（bumped）」多量体化剤、即ち、式IIで示される単量体成分Mを少なくとも1つは含んでいる多量体化剤、との選択的結合を可能にする。エフェクタードメインの1例は、Fasの細胞内ドメインである。このようなドメインを、1または2以上のFKBPドメインも含んでいて、貫膜タンパク質アンカーまたはタンパク質の脂質修飾（例、ミリストイル化）により細胞膜に固定されている、融合タンパク質に予め導入しておく。

シグナル伝達におけるバンプ付き多量体化剤の2つの使用例は、受容体チロシンキナーゼ活性化の発動と、以下に説明するFas活性化を介したアポトーシスの発動である。特に言及しなければ、DNA操作はすべて標準的方法（F.M. Ausubel et al., 編, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1994）に従って行い、タンパク質の実験はすべて標準的方法（Harlow, E. & Lane, D., 1988, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor）によって行った。作成物の製造に用いるPCR産物はすべて配列決定により確認した。この点に関する追加の情報および指針のためには、上に引用した国際特許出願を参照。

A. Fasドメインを含むキメラタンパク質をコードする作成物

Fas活性化を制御し、小分子を介したアポトーシスを発動する能力は、遺伝子治療（遺伝子工学操作された細胞を選択的に除去するのに用いられてもよい）と実験システムの両者に有用性がある。ここに記載したタンパク質は、（1）ミリストイル化配列による方法、または（2）p75とも呼ばれる低親和性のNGF受容体を介する方法、のいずれかにより膜に固定させる。p75は、その細胞外ドメインに対する抗体を利用できる上、どの同定されたリガンド（Bothwell, M., 1995, Annu. Rev. Neurosci. 18:223-253）とも高親和性の相互作用を持たないため、実験において有用であるが、別のタンパク質アンカーでも代替できる。

1. 二量体化可能なキメラ作成物をコードする発現ベクターの作成

1または2以上のFKBPとミリストイル化ドメインもしくはp75ドメインとFasエフェクタードメインをコードする発現ベクターの作成は公開国際特許出願W096/41865に詳述されている。これらの作成物またはその誘導体中に修飾FKBP（野生型FKBPドメインの代わりに）入れるのに慣用のサブクローニング法を用いた。

2. 細胞系におけるラパマイシン媒介Fas活性化のアッセイ

FAS-FKBP融合物を発現するように遺伝子工学操作された細胞において二量体化剤がFasシグナル伝達経路を活性化して細胞死を発動させる能力は、所望の融合タンパク質を発現するレトロウイルスベクターにより適宜形質導入された細胞において試験できる。興味ある作成物をコードするDNAを含有するレトロウイルスベクターを用いて、ベクターDNAとレトロウイルス詰め込みに必要なタンパク質をコードするDNA（Muller et al., 1991, Molecular Cell. Biol. 11, 1785-1792）とのリン酸カルシウム沈殿による共トランスフェクションにより形質導入用上清（transducing supernatant）を製造する。あるいは、安定なパッケージング細胞系をレトロウイルスベクターでトランスフェクションして、レトロウイルスベクター上清を生成させることもできる。レトロウイルス上清は、標的細胞に形質導入するのに用いる。化合物および作成物をスクリーニングするため、我々はヒト繊維肉腫細胞系HT1080を用いた。トランスフェクションの2～3日後、細胞をG418に入れ、耐性の集団もしくはクローンを標準的方法で分離する。二量体化剤誘導アポトーシスを監視

するために、細胞を、96ウェルプレートに、10%ウシ胎児血清を含むMEM培地中5000もしくは10,000細胞/ウェルの濃度で入れる。翌日、培地を除去し、種々の希釈度の試験化合物を含む新鮮培地で入れ換える（3組）。一部については、アクチノマイシンDを50ng/ml含有させる。常に未処理ウェルも存在させる。翌日、培地を除去し、10%のAlamar Blue生存能指示薬を含む培地で置き換える。この指示薬は細胞代謝により培地中に放出された還元剤の関数として吸光特性を変化させる。或いは、細胞を計測する。適宜波長における光学濃度をプレートリーダー分光器を用いて測定する。結果を、未処理ウェル（100%）で得られた信号に対して標準化し、EC50値を決定する。レトロウイルスによりベクターのみを形質導入した対照細胞系も、薬剤によらない死のための対照として試験する。かかる分析から得られた結果が合成多量体化剤の表に示されている。細胞集団およびクローンは、そのクローンおよび作成物に応じてFas応答性の細胞に比例して変化する。うまく作用する種々の物質を容易に同定することができる。

10

細胞死を監視する別の方法として、p75、その後に2つの変異FKBP、その後にFasエフェクタードメインを有する作成物を発現する細胞を、エピゾーム性ベクターであるpCEP4（Invitrogen Corp.）を用いてトランスフェクションした。このベクターには、CMVプロモーターの制御下にhGHをコードするDNAを挿入してあった。このベクターはハイグロマイシンに対する抵抗性を与える。ハイグロマイシン耐性のクローンを選択し、二量体化剤AP1903での処理の後、二量体化剤に対する応答性およびhGHの発現について試験した。Alamar BlueまたはhGHレベルを監視することにより二量体化剤濃度に対してプロットした細胞の生存能（対照値の%として測定）について非常に似たEC50の曲線が得られた。両方の場合とも対照の50%に相当する二量体化剤の濃度は1 nMより少なかった。

20

3. 動物における二量体化剤誘導アポトーシスの分析

上記したようなhGHおよびFas-FKBP作成物を発現するHT1080細胞を10mM EDTAおよび0.1%グルコースを含むPBS中で集め、洗浄し、0.1%ウシ血清アルブミンと0.1%グルコースを含有するPBSに再懸濁した。これを、100 μ L、 2×10^6 細胞/マウスでヌードマウスに筋肉注射した。翌日、このマウスに化合物またはビヒクルを静脈注射した。翌日以降、血液試料を採取し、hGHを測定した。このようにして試験した本発明の3つの多量体化剤（前記式IVの）は、注射直後に評価した初期血漿濃度から計算して、下記投与量で循環hGHを50%減少させることが見出された： 0.2 ± 0.01 mg/kg； 0.5 ± 0.2 mg/kg； 2 ± 1 mg/kg（すべて実験 ≥ 2 ）。これらの結果は、マウス内の遺伝子工学操作された細胞中における有効な細胞殺傷、すなわち融合タンパク質間のタンパク質-タンパク質相互作用の有効な媒介と合致する。

30

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 60/033,035

(32)優先日 平成8年12月10日(1996.12.10)

(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 グオ, タオ

アメリカ合衆国、ニュージャージー州08873、サマセット、リラー・レイン29ケイ

(72)発明者 ラボード, エドガード

アメリカ合衆国、カリフォルニア州94404-1742、フォスター・シティ、コメット・ドライブ808、アパートメント501

(72)発明者 ヤン, ウー

アメリカ合衆国、マサチューセッツ州02167、チェストナット・ヒル、ハモンド・ポンド・パークウェイ34、ナンバー3

合議体

審判長 中田 とし子

審判官 齋藤 恵

審判官 小石 真弓

(56)参考文献 特開平5-306289 (JP, A)

米国特許第5162333 (US, A)

国際公開第94/18317 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D211/00-60

C07D401/00-14

CA(STN)

REGISTRY(STN)