

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3628258号
(P3628258)

(45) 発行日 平成17年3月9日(2005.3.9)

(24) 登録日 平成16年12月17日(2004.12.17)

(51) Int. Cl.⁷

F I

C07K 7/54
A61K 38/00
A61P 31/00
A61P 31/10
C07K 1/02C07K 7/54 ZNA
A61P 31/00
A61P 31/10
C07K 1/02
C07K 7/02

請求項の数 31 (全 78 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-561207 (P2000-561207)
 (86) (22) 出願日 平成11年7月22日(1999.7.22)
 (65) 公表番号 特表2002-525263 (P2002-525263A)
 (43) 公表日 平成14年8月13日(2002.8.13)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP1999/005235
 (87) 国際公開番号 W02000/005251
 (87) 国際公開日 平成12年2月3日(2000.2.3)
 審査請求日 平成13年1月31日(2001.1.31)
 (31) 優先権主張番号 98113744.1
 (32) 優先日 平成10年7月23日(1998.7.23)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁(EP)
 (31) 優先権主張番号 99107637.3
 (32) 優先日 平成11年4月16日(1999.4.16)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁(EP)

(73) 特許権者 501241380
 バジリア ファルマスーチカ アーゲー
 Basilea Pharmaceutica AG
 スイス国、ツェーハー4005 バーゼル、
 グレンツアーヘルストラッセ 487
 (74) 代理人 100078662
 弁理士 津国 肇
 (74) 代理人 100075225
 弁理士 篠田 文雄
 (72) 発明者 青木 雅弘
 神奈川県茅ヶ崎市小和田3-6-2
 (72) 発明者 河内 雅美
 神奈川県藤沢市高倉509-1-D-202

微生物の受託番号 FERM BP-6391

最終頁に続く

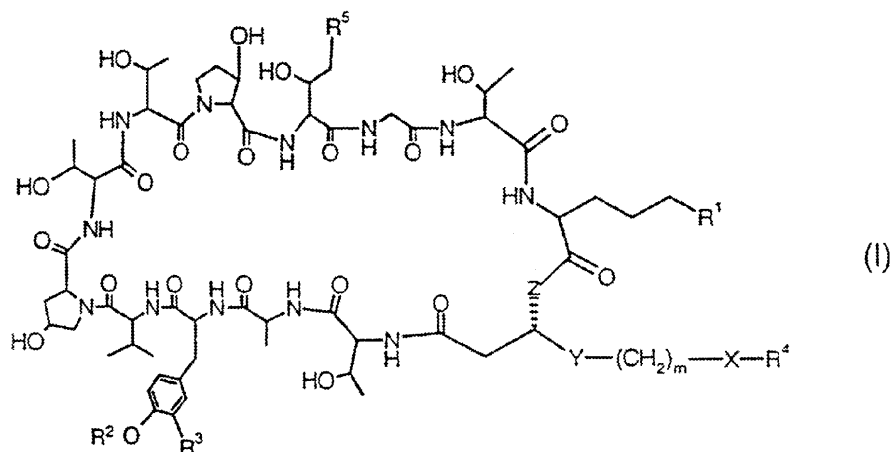
(54) 【発明の名称】 アエロトリシン類似体、その製造及び用途

(57) 【特許請求の範囲】

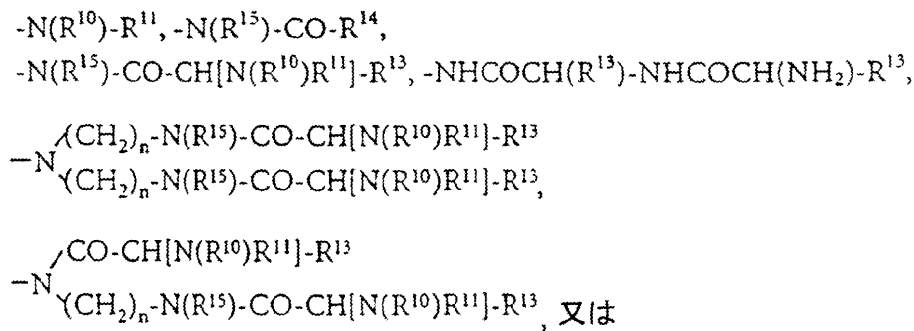
【請求項1】

式(I)：

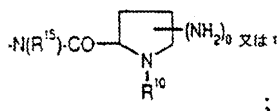
【化1】

〔式中、R¹ は、グアニジノ、トリ低級アルキルアンモニオ、

【化 2】



10



であり；

R^{10} 及び R^{11} は、それぞれ独立に、水素；1又は2個のアミノで置換されたヘテロアリール；1個又はそれ以上のアミノ、アミノ低級アルキル、シアノ、グアニジノ、含窒素複素環、又はアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルから選ばれ；

20

R^{13} は、天然又は非天然アミノ酸から誘導される残基であり；

R^{14} は、1個又はそれ以上のアミノ、グアニジノ、含窒素複素環、又はアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で置換された低級アルキルであり；

R^{15} は、水素、1個又はそれ以上のアミノ、グアニジノ、含窒素複素環、又はアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルであり；

R^2 は、水素、ヒドロキシスルホニル、低級アルキル又は低級アルケニル（ここで、低級アルキル及び低級アルケニルは、アシル、カルバモイル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ若しくはジ低級アルキルアミノで場合により置換されていてよい）であり；

R^3 は、水素、ヒドロキシル、ニトロ、アミノ、アシルアミノ、（低級アルキルカルバモイル）アミノ、カルボキシル、低級アルコキシ、低級アルコキシカルボニル、低級アルキル、低級アルケニル、又は低級アルキニル（ここで、低級アルキル、低級アルケニル及び低級アルキニルは、場合により、ヒドロキシル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、低級アルコキシカルボニル若しくはカルバモイルで置換されていてよい）であり；

30

R^4 は、低級アルキル、アリール、シクロアルキル若しくはフッ素原子で場合により置換されていてよい、アルキル、アルケニル、アルコキシ又はアルケニルオキシ基であり；

R^5 は、 $-CONH_2$ 、 $-CN$ 又は $-CH_2NH_2$ であり；

Xは、単結合、或いは1個若しくはそれ以上のヘテロ原子を場合により含み、及び／又はハロゲン原子若しくは低級アルキルで場合により置換された、アリール、ビフェニル又はテルフェニル基であり；

40

Yは、単結合、 $-CH_2-$ 、 $-CH$ （低級アルキル） $-$ 、 $-CONH-$ 又は $-CON$ （低級アルキル） $-$ であり；

Zは、 $-O-$ 、 $-NH-$ 又は $-N$ （低級アルキル） $-$ であり；

mは、0～4の整数であり；そして

nは、2～5の整数であるが；

$-Y-(CH_2)_m-X-R^4$ が非置換アルキル又はアラルキルであるとき、同時には、 R^1 は、アミノではなく、 R^2 及び R^3 は、水素ではなく、 R^5 は、 $-CONH_2$ ではなく、Zは、 $-O-$ 又は $-NH-$ ではない]

で示されるアエロトリシン、及び薬学的に許容され得るその塩。

50

【請求項 2】

R^1 が、 $-N(R^{10})-R^{11}$ であって、 R^{10} 及び R^{11} が、請求項 1 に定義されたとおりである、請求項 1 記載のアエロトリシン。

【請求項 3】

R^1 が、 $-N(R^{15})-CO-CH[N(R^{10})R^{11}]-R^{13}$ であって、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{13} 及び R^{15} が、請求項 1 に定義されたとおりである、請求項 1 記載のアエロトリシン。

【請求項 4】

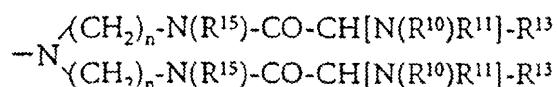
R^1 が、 $-NHCOCH(R^{13})-NHCOCH(NH_2)-R^{13}$ であって、 R^{13} が、請求項 1 に定義されたとおりである、請求項 1 記載のアエロトリシン。

10

【請求項 5】

R^1 が、

【化 3】



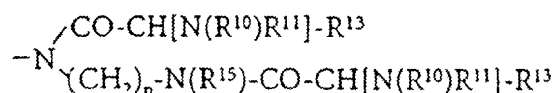
であって、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{13} 、 R^{15} 及び n が、請求項 1 に定義されたとおりである、請求項 1 記載のアエロトリシン。

20

【請求項 6】

R^1 が、

【化 4】



であって、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{13} 、 R^{15} 及び n が、請求項 1 に定義されたとおりである、請求項 1 記載のアエロトリシン。

【請求項 7】

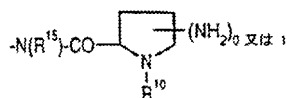
R^1 が、 $-N(R^{15})-CO-R^{14}$ であって、 R^{14} 及び R^{15} が、請求項 1 に定義されたとおりである、請求項 1 記載のアエロトリシン。

30

【請求項 8】

R^1 が、

【化 5】



であって、 R^{10} 及び R^{15} が、請求項 1 に定義されたとおりである、請求項 1 記載のアエロトリシン。

40

【請求項 9】

R^1 が、アミノ又はグアニジノである、請求項 1 記載のアエロトリシン。

【請求項 10】

R^2 が、水素、ヒドロキシスルホニル又は低級アルキルである、請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載のアエロトリシン。

【請求項 11】

R^3 が、水素、ヒドロキシル、ニトロ、アミノ又はアシルアミノである、請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のアエロトリシン。

【請求項 12】

50

【請求項 13】

【請求項 14】

【化 6】



【請求項 15】

40

【請求項 16】

【請求項 17】

【請求項 18】

【請求項 19】

Zが、 $-NH-$ である、請求項1～18のいずれか1項に記載のアエロトリシン。

【請求項20】

Zが、 $-O-$ である、請求項1～18のいずれか1項に記載のアエロトリシン。

【請求項21】

アエロトリシン2、4～32、63、96～99、101～131よりなる群から選ばれる、請求項1～20のいずれか1項に記載のアエロトリシン。

【請求項22】

アエロトリシン14、15、21、26～29、63、98、99、及び101～131よりなる群から選ばれる、請求項1～20のいずれか1項に記載のアエロトリシン。

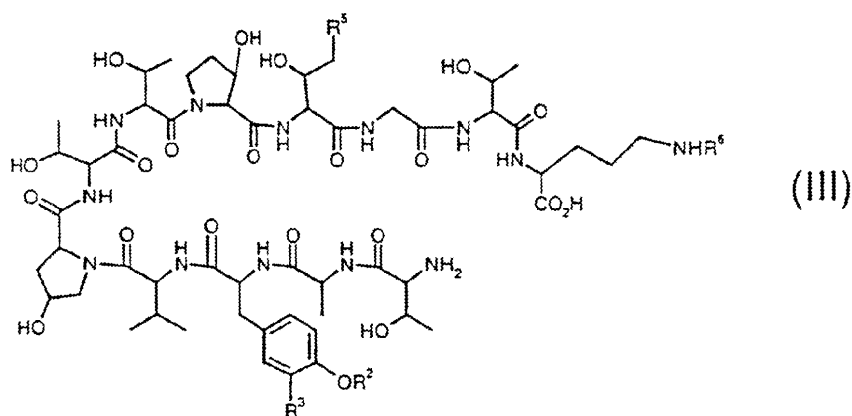
【請求項23】

医学治療に用いるための、請求項1～22のいずれか1項に記載のアエロトリシン。

【請求項24】

式(III)：

【化7】

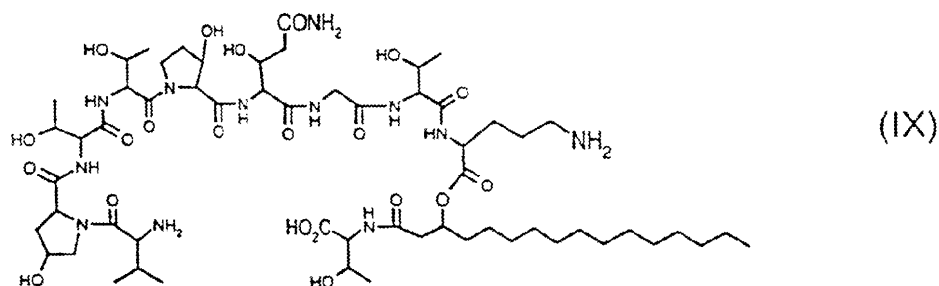


〔式中、 R^2 、 R^3 及び R^5 は、請求項1に定義されたとおりであり、 R^6 は、アミノ保護基であるが、 R^5 が $-CONH_2$ のとき、 R^2 又は R^3 は、水素以外である〕で示される化合物、及びその塩。

【請求項25】

式(IX)：

【化8】



で示される化合物、及びその塩。

【請求項26】

式(X)：

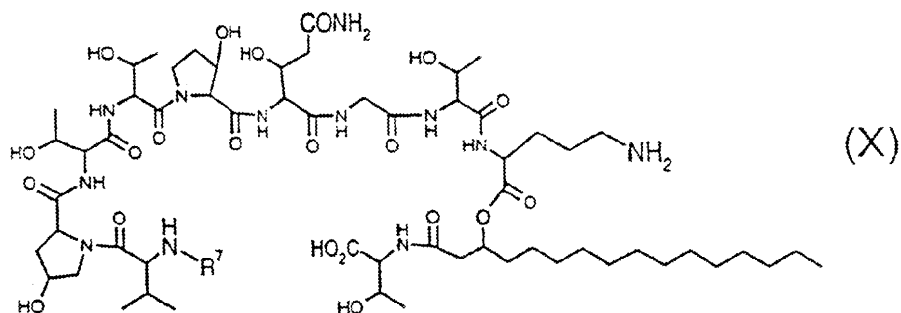
10

20

30

40

【化 9】



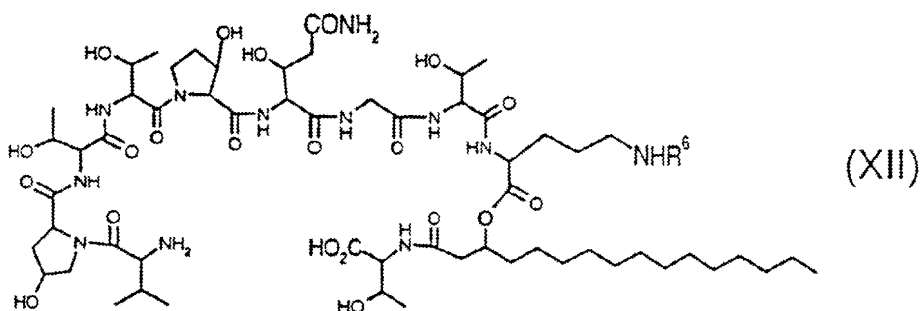
10

〔式中、 R^7 は、アミノ保護基である〕
 で示される化合物、及びその塩。

【請求項 27】

式 (XII) :

【化 10】



20

〔式中、 R^6 は、アミノ保護基である〕
 で示される化合物、及びその塩。

【請求項 28】

請求項 1～22 のいずれか 1 項に記載の化合物、及び薬学的に許容され得る担体を含む医薬組成物。

【請求項 29】

真菌症の治療又は予防用医薬の製造のための、請求項 1～22 のいずれか 1 項に記載の化合物の使用。

【請求項 30】

Deuteromycotina NR7379 株 (FERM 第 BP-6391 号) の生物学的に純粋な培養体。

【請求項 31】

請求項 1～22 のいずれか 1 項に記載のアエロトリシンを製造する方法であって、

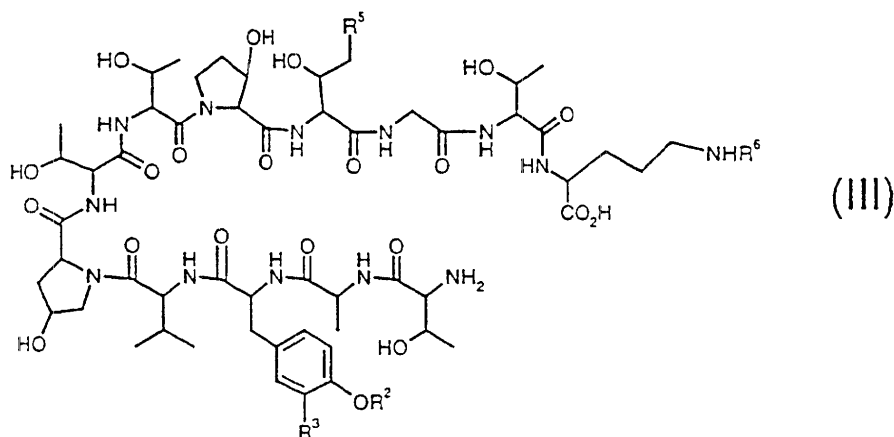
(a) *Deuteromycotina* 属に属する微生物を培養し、アエロトリシン 1、2、及び／又は請求項 25 に記載の式 (IX) の線状ペプチドを培養ブロスから単離する工程；或いは

(b) 式 (III) :

30

40

【化 1 1】

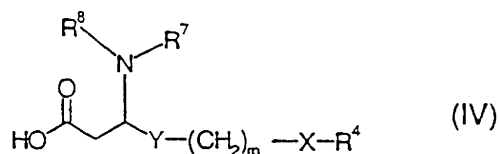


10

〔式中、 R^2 、 R^3 及び R^5 は、請求項 1 に定義されたとおりであり、 R^6 は、アミノ保護基である〕

で示される化合物と、式 (IV)：

【化 4 4】



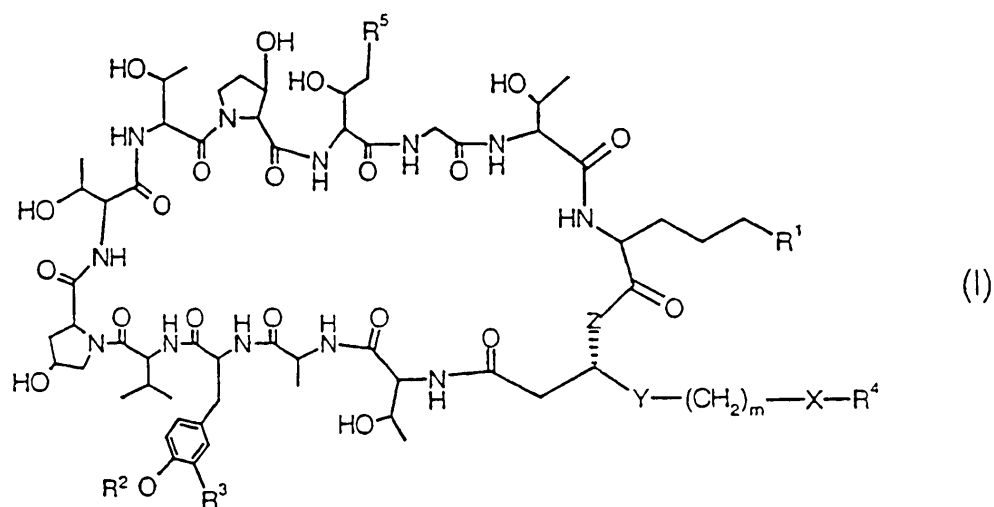
20

〔式中、 R^7 は、アミノ保護基であり、 R^8 は、水素又は低級アルキルであり、 R^4 、X、Y及びmは、請求項 1 に定義されたとおりである〕

で示される化合物とを縮合させた後、アミノ保護基 R^7 を除去し、逐次環化し、アミノ保護基 R^6 を除去する工程；或いは

(c) 式 (I)：

【化 1 2】



40

〔式中、 R^3 は、水素原子であり、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、X、Y、Z及びmは、請求項 1 に定義されたとおりである〕

で示されるアエロトリシンの R^3 をニトロ化する工程、或いは

(d) R^3 がニトロ基であり、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、X、Y、Z及びmが、請求項 1 に定義されたとおりである上記の式 (I) のアエロトリシンのニトロ基を還元する工程、或いは

50

(e) R^3 がアミノ基であり、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンのアミノ基をアシル化した後、必要ならば、アミノ保護基を除去する工程、或いは

(f) R^1 がアミノ基又は $-N(R^{15})-COCH(NH_2)-R^{13}$ であり、 R^{13} 、 R^{15} 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである式(I)のアエロトリシンのアミノ基をシアノエチル化若しくは2, 2-ジシアノエチレン化した後、シアノ基を還元し、必要ならば、保護基を除去する工程、或いは

(g) R^1 がアミノ、(2-シアノエチル)アミノ又は $-N(R^{15})-CO-CH[N(R^{10})R^{11}]-R^{13}$ であって、 R^{10} 及び R^{11} が、それぞれ独立に、水素又は(2-シアノエチル)アミノから選ばれ、 R^{13} 、 R^{15} 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、上記に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンのアミノ基を、式(V):
【化13】



〔式中、 R^9 は、水素、1個又はそれ以上の保護されたアミノ、含窒素複素環、若しくは保護されたアミノを含むフェニル基で更に置換されていてよい低級アルキルである〕

で示されるアルデヒドで還元的アルキル化した後、必要ならば、アミノ保護基を除去するか、又はシアノ基を還元する工程、或いは

(h) R^1 がアミノ基であり、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンのアミノ基を、式(VI):
【化14】



〔式中、 R^{12} は、保護されたアミノ若しくはニトロ基で更に置換されていてよい含窒素ヘテロアリールであり、 Q は、クロロ若しくはブromoのようなハロゲン原子である〕

で示される化合物でアリール化した後、必要ならば、アミノ保護基を除去するか、又はニトロ基を還元する工程、或いは

(i-1) R^1 がアミノであり、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンのアミノ基をアシル化した後、必要ならば、アミノ保護基を除去する工程、或いは

(i-2) R^1 が $-N(R^{10})-R^{11}$ 〔式中、 R^{10} 、及び R^{11} は、両者とも、アミノ基で置換された低級アルキルである〕、又は $-N(R^{15})-CO-CH[N(R^{10})R^{11}]-R^{13}$ 〔式中、 R^{15} は、アミノ基で置換された低級アルキルであり； R^{10} 、 R^{11} 及び R^{13} は、請求項1に定義されたとおりであるが、 R^{10} 、 R^{11} 及び R^{13} 中に存在するアミノ基は、保護されている〕である上記の式(I)のアエロトリシンのアミノ基をアシル化した後、アミノ保護基を除去する工程、或いは

(j) R^1 がアミノであり、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンを、モノN-アルキル化し、続いてN-アシル化した後、必要ならば、アミノ保護基を除去する工程、或いは、

(k) R^1 がアミノ基； $-N(R^{10})-R^{11}$ 〔式中、 R^{10} 及び R^{11} は、それぞれ独立に、1個又はそれ以上のアミノ基、又はアミノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルから選択される〕； $-N(R^{15})-CO-CH[N(R^{10})R^{11}]-R^{13}$ 〔式中、 R^{10} 、 R^{11} 及び R^{13} は、請求項1に定義されたとおりであり、 R^{15} は、1個又はそれ以上のアミノ基、含窒素複素環基、又はアミノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルである〕；又は $-NHCO-R^{14}$ 〔式中、 R^{14} は、1個又はそれ以上のアミノ基、含窒素複素環基、又はアミノ基を有するフェニル基で置換された低級アルキルである〕であり、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンのアミノ基を、活性化されたアミジン誘導体

10

20

30

40

50

による処理によってグアニジノ基へと変換する工程、或いは

(l) R^2 が水素であり、 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンのフェノール性ヒドロキシル基を O -アルキル化する工程、或いは、

(m) R^2 及び R^3 が水素であり、 R^1 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンをヨウ素化した後、 R^3 がヨードであり、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである、得られた式(I)のヨード誘導体を、パラジウム(0)触媒でカップリングさせ、必要ならば、アミノ保護基を除去する工程、或いは、

(n) R^5 が $-CONH_2$ であり、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンのカルバモイル基を脱水した後、必要ならば、アミノ保護基を除去する工程、或いは

(o) R^5 が $-CONH_2$ 又は $-CN$ であり、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンのカルバモイル基又はシアノ基を還元した後、必要ならば、アミノ保護基を除去する工程、或いは

(p) R^2 が水素であり、 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m が、請求項1に定義されたとおりである上記の式(I)のアエロトリシンのチロシン残基をヒドロキシスルホン化した後、保護基を除去する工程、或いは

(q) 上記の式(IX)の線状ペプチドを、上記の式(I)のアエロトリシンへと、ペプチド合成によって変換した後、上記の工程(c)～(o)から選ばれる方法に従って修飾する工程

を含む方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、抗真菌活性を有する新規環状化合物（以下、アエロトリシンと称する）、医学治療におけるアエロトリシンの使用、アエロトリシンを含有する医薬組成物、並びにアエロトリシンを製造するための方法及び中間体に関する。

【0002】

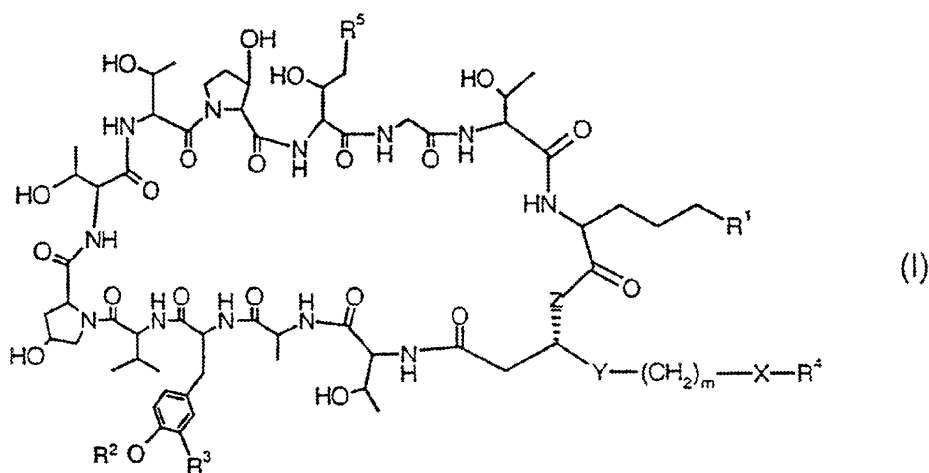
アゾール抗真菌剤は、現在、全身性真菌症の処置に広く用いられている。しかし、アゾール抗真菌剤の長期の予防的使用は、その静真菌作用のために、アゾール耐性である *Candida* spp. の発生を招く。そのため、殺真菌剤は、重い全身性真菌症の処置には特に重要である。更に、現在入手できる抗真菌剤は、免疫低下の患者間に出現する病原体の一つである、*Fusarium* spp. に対して有効ではない。アムホテリシンBは、現在臨床的に用いられている、非常に有効な殺真菌剤であるが、その治療指数（有効用量対毒性用量）は、かなり狭い。LY303366（EP 736541）、WF11243（EP 584360）のようなある種の環状化合物は、 $\beta-1, 3$ -グルカンシンターゼの阻害により、殺真菌活性を示すことが知られている。しかし、それらは、依然として、抗真菌スペクトル及び／又は安全性プロファイルに関して何らかの短所を有する。したがって、より優れた安全性プロファイルと、新たに出現する *Fusarium* spp. のような病原体を包含する、主要な全身性病原体に対する有効性とを有する、新規な殺真菌剤の開発が、緊急に要請されている。

【0003】

詳しくは、本発明は、式(I)：

【0004】

【化15】

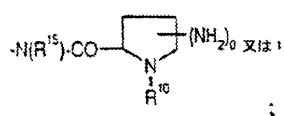
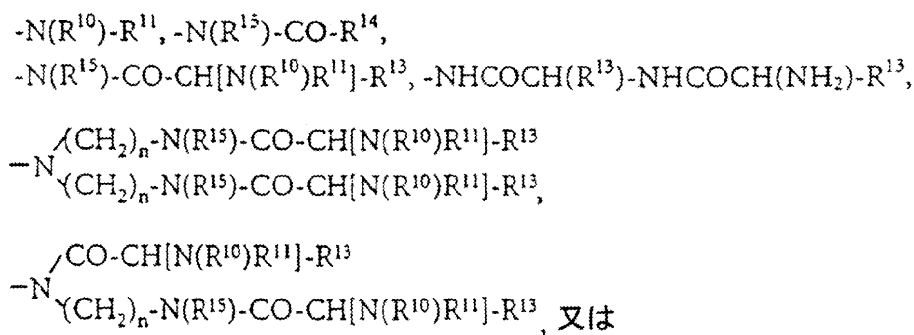


【 0 0 0 5 】

〔式中、 R^1 は、グアニジノ、トリ低級アルキルアンモニオ、

【 0 0 0 6 】

【化 1 6】



【 0 0 0 7 】

であり；

R¹⁻⁰ 及び R¹⁻¹ は、それぞれ独立に、水素；1又は2個のアミノで置換されたヘテロアリール；1個又はそれ以上、好ましくは1又は2個のアミノ、アミノ低級アルキル、シアノ、グアニジノ、含窒素複素環、又はアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルから選ばれる；

【 0 0 0 8 】

R¹⁻³ は、天然又は非天然アミノ酸から誘導される残基であり；

【 0 0 0 9 】

R¹⁻⁴ は、1 個又はそれ以上、好ましくは 1 又は 2 個のアミノ、グアニジノ、含窒素複素環、又はアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で置換された低級アルキルであり；

【 0 0 1 0 】

R¹⁵ は、水素、1 個又はそれ以上、好ましくは 1 又は 2 個のアミノ、グアニジノ、含窒素複素環、又はアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルであり；

【 0 0 1 1 】

R^2 は、水素、ヒドロキシスルホニル、低級アルキル又は低級アルケニル（ここで、低級アルキル及び低級アルケニルは、アシル、カルバモイル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ若しくはジ低級アルキルアミノで場合により置換されていてよい）であり；

【0012】

R^3 は、水素、ヒドロキシル、ニトロ、アミノ、アシルアミノ、（低級アルキルカルバモイル）アミノ、カルボキシル、低級アルコキシ、低級アルコキシカルボニル、低級アルキル、低級アルケニル、又は低級アルキニル（ここで、低級アルキル、低級アルケニル及び低級アルキニルは、場合により、ヒドロキシル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、低級アルコキシカルボニル若しくはカルバモイルで置換されていてよい）であり；

10

【0013】

R^4 は、低級アルキル、アリール、シクロアルキル若しくはフッ素原子で場合により置換されていてよい、アルキル、アルケニル、アルコキシ又はアルケニルオキシ基を表し；

【0014】

R^5 は、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CN}$ 又は $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ であり；

【0015】

Xは、単結合、或いは1個若しくはそれ以上のヘテロ原子を場合により含み、及び／又はハロゲン原子若しくは低級アルキルで場合により置換された、アリール、ビフェニル又はテルフェニル基であり；

【0016】

20

Yは、単結合、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}$ （低級アルキル） $-$ 、 $-\text{CONH}-$ 又は $-\text{CON}$ （低級アルキル） $-$ であり；

【0017】

Zは、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-$ 又は $-\text{N}$ （低級アルキル） $-$ であり；

【0018】

mは、0～4の整数であり；そして

【0019】

nは、2～5の整数であるが；

【0020】

$-\text{Y}-(\text{CH}_2)_m-\text{X}-\text{R}^4$ が非置換アルキル又はアラルキルであるとき、同時には、
 R^1 は、アミノではなく、 R^2 及び R^3 は、水素ではなく、 R^5 は、 $-\text{CONH}_2$ ではなく、Zは、 $-\text{O}-$ 又は $-\text{NH}-$ ではない]

30

で示される新規アエロトリシン、及び薬学的に許容され得るその塩に関する。

【0021】

本発明は、式（I）のアエロトリシン、及び薬学的に許容され得る単体を含む医薬組成物にも関する。更に、本発明は、医薬の製造のためのそのようなアエロトリシンの使用はもとより、式（I）のアエロトリシンの製造のための方法及び中間体にも関する。加えて、本発明は、病原性微生物によって生じる感染症の予防及び／又は治療処置の方法に関する。

【0022】

40

本明細書中、用語「低級」は、別途指示されない限り、1～6個、好ましくは1～4個の炭素原子よりなる基を意味するのに用いられる。

【0023】

用語「アルキル」は、1～20個の炭素原子、好ましくは1～16個の炭素原子の分枝鎖又は直鎖状の一価の飽和脂肪族炭化水素の基を意味する。用語「低級アルキル」は、1～6個の炭素原子、好ましくは1～4個の炭素原子の分枝鎖又は直鎖状の一価アルキル基を意味する。この用語は、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、i-ブチル、tert-ブチルなどのような基によって更に例示される。

【0024】

用語「アルケニル」は、1つ又はそれ以上の二重結合をアルキレン鎖中に有するアルキル

50

基を意味する。

【0025】

用語「アルキニル」は、1つ又はそれ以上の三重結合をアルキレン鎖中に有するアルキル基を意味する。

【0026】

用語「アルコキシ」は、基 $-O-R'$ (R' はアルキル) を意味する。用語「低級アルコキシ」は、 R' が低級アルキルである、基 $-O-R'$ を意味する。

【0027】

用語「アルケニルオキシ」は、1つ又はそれ以上の二重結合をアルキレン鎖中に有するアルコキシ基を意味する。

10

【0028】

用語「アシル」は、基 $-C(O)-R'$ (R' は低級アルキル) を意味する。用語「アシルアミノ」は、イミノ基、すなわち $-NH-$ に結合したアシル基を意味する。

【0029】

用語「モノ低級アルキルアミノ」は、イミノ基、すなわち $-NH-$ に結合した低級アルキル基を意味する。用語「ジ低級アルキルアミノ」は、窒素原子に結合した、二つの独立に選ばれる低級アルキル基、すなわち $-N(-低級アルキル)-低級アルキル$ を意味する。用語「トリ低級アルキルアンモニオ」は、3個の独立に選ばれる ($C_1 \sim C_3$) アルキル基を有する、トリ低級アルキルアンモニオを意味する。

【0030】

20

用語「低級アルコキシカルボニル」は、基 $-C(O)OR'$ (R' は低級アルキル) を意味する。

【0031】

用語「(低級アルキルカルバモイル) アミノ」は、基 $-NHCONH-R'$ (R' は低級アルキル) を意味する。

【0032】

用語「ハロゲン原子」は、フッ素、塩素、臭素及びヨウ素を意味する。

【0033】

用語「アリール」は、場合により、低級アルキル、トリフルオロメチル、ハロゲンなどで独立にモノー、ジー若しくはトリー置換された、1つの一価炭素環式芳香族基 (例えばフェニル)、又は二つの融合炭素環式環 (例えばナフチル) を意味する。

30

【0034】

用語「含窒素複素環」は、少なくとも1個の窒素原子を含む、飽和、不飽和若しくは芳香族の一価の環状基を意味する。

【0035】

用語「ヘテロアリール」は、少なくとも1個のヘテロ原子、すなわち窒素、硫黄若しくは酸素を含む、芳香属の一価モノー又はポリー炭素環基を意味する。1個又はそれ以上の窒素原子を有するヘテロアリール基の例は、ピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、トリアジニル及びイミダゾイルである。

【0036】

40

用語「シクロアルキル」は、3～10個の炭素原子、好ましくは3～6個の炭素原子の一価炭素環基を意味する。

【0037】

用語「薬学的に許容され得る塩」は、塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸、クエン酸、ギ酸、マレイン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、コハク酸、酒石酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸などのような、生命体に無害である無機又は有機酸との式(I)のアエロトリシンの塩を包含する。

【0038】

以下、上記の式(I)の各置換基を、より詳しく説明する。

【0039】

50

R^{1-} の定義中、用語「トリ低級アルキルアンモニオ」は、好ましくは、トリメチルアンモニオ及びトリエチルアンモニオを意味する。

【0040】

R^{10} 及び R^{11} の定義中、用語「ヘテロアリール」は、好ましくは、2-ピリジル、2-ピラジニル、2-ピリミジニル、2-ピリダジニル、2-トリアジニル、2-イミダゾイルなど、より好ましくは2-ピリジル及び2-イミダゾリル、最も好ましくは2-ピリジニルを意味する。用語「低級アルキル」は、好ましくは、1～6個の炭素原子よりなるアルキル鎖、例えばメチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピル、 n -ブチル、イソブチル、sec-ブチル、 n -ペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチル及び n -ヘキシル；好ましくはメチル、エチル、 n -プロピル又は n -ブチル、最も好ましくはメチル、エチルまたは n -プロピルを意味する。用語「含窒素複素環」は、好ましくは、モルホリノ、ピペラジニル、 N -メチルピペラジニル、ピロリジニル、ピペリジニル、イミダゾリジニル、ピラゾリジニル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、ピリジニル、ピラジニルなど、より好ましくはピペラジニル及びモルホリノ、最も好ましくはピペラジニルを意味する。用語「アミノ、アミジノ又はグアニジノ基を有するフェニル基」は、好ましくは、4-アミノフェニル、4-アミジノフェニル、4-グアニジノフェニルなどを意味する。

10

【0041】

R^{13} の定義中、用語「天然又は非天然アミノ酸から誘導される残基」は、好ましくは、水素、又はヒドロキシル、アミノ、グアニジノ、メチルチオ、メルカプト、カルバモイル、カルボキシル、フェニル、ヒドロキシフェニル、アミノフェニル、イミダゾリル若しくはインドリルなどで置換されていてよい低級アルキルを意味する。 R^{13} の好ましい実施態様は、アミノ又はグアニジノで置換された低級アルキル、例えばアミノメチル、2-アミノエチル、3-アミノプロピル、4-アミノブチル、4-グアニジノブチルである。

20

【0042】

R^{14} の定義中、用語「低級アルキル」は、 R^{10} 及び R^{11} について定義されたのと同じものを意味する。好ましくは、2～5個の炭素原子よりなるアルキル鎖、例えばエチル、プロピル、ブチル及びペンチルを意味する。用語「含窒素複素環」は、 R^{10} 及び R^{11} について定義されたのと同じものを意味する。好ましくは、モルホリノ、ピペラジニル、 N -メチルピペラジニル、ピロリジニル、ピペリジニル、イミダゾリジニル、ピラゾリジニル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、ピリジニル、ピラジニルなど、より好ましくはピペラジニル及びモルホリノを意味する。用語「アミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基」は、好ましくは、4-アミノフェニル、4-アミジノフェニル、4-グアニジノフェニルなどを意味する。 R^{14} の好ましい実施態様は、2-アミノエチル、3-アミノプロピル、4-アミノブチル、2-グアニジノエチル、3-グアニジノプロピル、2-ピペラジノエチル、2-モルホリノエチル、4-アミノフェネチルなどである。

30

【0043】

R^{15} の定義中、用語「低級アルキル」、「含窒素複素環」及び「アミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基」は、 R^{14} について定義されたのと同じである。 R^{15} の好ましい実施態様は、2-アミノエチル、3-アミノプロピル、4-アミノブチル、2-グアニジノエチル、3-グアニジノプロピル、2-ピペラジノエチル、2-モルホリノエチル、4-アミノフェネチルなどである。

40

【0044】

$-N(R^{10})-R^{11}$ [式中、 R^{10} 及び R^{11} は、上記に定義されたとおりである] の好ましい実施態様は、アミノ、5-アミノピリド-2-イルアミノ、メチルアミノ、エチルアミノ、プロピルアミノ、(2-アミノエチル)アミノ、(3-アミノプロピル)アミノ、[3-[(3-アミノプロピル)アミノ]プロピル]アミノ、(2-ピペラジニルエチル)アミノ、(2-モルホリノエチル)アミノ、 N 、 N -ジメチルアミノ、 N 、 N -ジエチルアミノ、 N 、 N -ジプロピルアミノ、 N 、 N -エチルメチルアミノ、 N 、 N -ビ

50

ス（２－アミノエチル）アミノ、N，N－ビス（３－アミノプロピル）アミノ、N，N－ビス（４－アミノブチル）アミノ、N，N－ビス（２－ピペラジニルエチル）アミノ、N，N－ビス（モルホリノエチル）アミノ、N，N－ビス（２－グアニジノエチル）アミノ、N，N－ビス（３－グアニジノプロピル）アミノ、N，N－ビス（２－ピリジン－２－イルエチル）アミノ、N，N－ビス（イミダゾール－２－イルメチル）アミノ、N－（２－アミノエチル）－N－（３－アミノプロピル）アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２－ピペラジニルエチル）アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２－ピリジン－２－イルエチル）アミノなどである。より好ましい実施態様は、アミノ、５－アミノピリド－２－イルアミノ、N，N－ジメチルアミノ、（２－アミノエチル）アミノ、（３－アミノプロピル）アミノ、〔３－〔（３－アミノプロピル）アミノ〕プロピル〕アミノ、（２－ピペラジニルエチル）アミノ、N，N－ビス（２－アミノエチル）アミノ、N，N－ビス（３－アミノプロピル）アミノ、N，N－ビス（４－アミノブチル）アミノ、N，N－ビス（２－ピペラジニルエチル）アミノ、N，N－ビス（２－グアニジノエチル）アミノ、N，N－ビス（３－グアニジノプロピル）アミノ、N－（２－アミノエチル）－N－（３－アミノプロピル）アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２－ピペラジニルエチル）アミノなどである。最も好ましい実施態様は、（３－アミノプロピル）アミノ、N，N－ビス（２－アミノエチル）アミノ、N，N－ビス（３－アミノプロピル）アミノ及びN，N－ビス（２－ピペラジニルエチル）アミノである。

【００４５】

－N（R^{1 5}）－CO－CH〔N（R^{1 0}）R^{1 1}〕－R^{1 3} の定義中、基－CO－CH〔N（R^{1 0}）R^{1 1}〕－R^{1 3}〔式中、R^{1 0}及びR^{1 1}は、水素であり；R^{1 3}は、天然又は非天然アミノ酸から誘導される残基である〕は、好ましくは、サルコシル、グリシル、アラニル、オルニチニル、リシル、バシル、ロイシル、イソロイシル、トリプトフィル、フェニルアラニル、メチオニル、セリル、チロシル、トレオニル、システイニル、アスパラギニル、グルタミニル、アスパルチル、グルタミル、アルギニル、ヒスチジル、２，３－ジアミノプロピオニル、２，４－ジアミノブチリル、２－アミノ－４－トリアゾール－１－イルブチリルなどを意味する。

【００４６】

－N（R^{1 5}）－CO－CH〔N（R^{1 0}）R^{1 1}〕－R^{1 3} の好ましい実施態様は、塩基性アミノ酸から誘導されるアシルアミノ基である。そのようなアシルアミノ基の例は、オルニチニルアミノ、リシルアミノ、アルギニルアミノ、ヒスチジルアミノ、３－アミノプロリルアミノ、２，３－ジアミノプロピオニルアミノ、２，４－ジアミノブチリルアミノ、２－アミノ－４－トリアゾール－１－イルブチリルアミノ、〔３－アミノ－２－〔ビス（２－アミノエチル）アミノ〕プロピオニル〕アミノ、〔４－アミノ－２－〔ビス（２－アミノエチル）アミノ〕ブチリル〕アミノ、〔５－アミノ－２－〔ビス（２－アミノエチル）アミノ〕バレリル〕アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２，３－ジアミノプロピオニル）アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２，４－ジアミノブチリル）アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２，５－ジアミノバレリル）アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２，６－ジアミノヘキサノイル）アミノなどであり；より好ましくは、オルニチニルアミノ、リシルアミノ、アルギニルアミノ、ヒスチジルアミノ、２，３－ジアミノプロピオニルアミノ、２，４－ジアミノブチリルアミノ、〔３－アミノ－２－〔ビス（２－アミノエチル）アミノ〕プロピオニル〕アミノ、〔４－アミノ－２－〔ビス（２－アミノエチル）アミノ〕ブチリル〕アミノ、〔５－アミノ－２－〔ビス（２－アミノエチル）アミノ〕バレリル〕アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２，３－ジアミノプロピオニル）アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２，４－ジアミノブチリル）アミノ、N－（３－アミノプロピル）－N－（２，５－ジアミノバレリル）アミノ及びN－（３－アミノプロピル）－N－（２，６－ジアミノヘキサノイル）アミノであり；最も好ましくはオルニチニルアミノ、リシルアミノ、２，４－ジアミノブチリルアミノ、〔４－アミノ－２－〔ビス（２－アミノエチル）アミノ〕ブチリル〕アミノ、〔５－アミノ－２－〔ビス（２－アミノエチル）アミノ〕バレリル〕アミノ、N

10

20

30

40

50

用語「 $-N(R^{15})-CO-R^{14}$ 」〔式中、 R^{14} 及び R^{15} は、上記に定義されたとおりである〕中、用語「含窒素複素環」及び用語「アミノ、アミジノ又はグアニジノ基を有するフェニル基」は、上記に定義されたとおりである。

【0058】

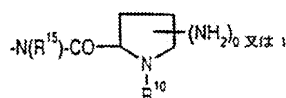
$-N(R^{15})-CO-R^{14}$ の好ましい実施態様は、3-アミノプロピオニルアミノ、3-グアニジノプロピオニルアミノ、3-ピペラジニルプロピオニルアミノ、(3-ピリジン-3-イルプロピオニル)アミノ、〔3-(4-アミノフェニル)プロピオニル〕アミノ、 $N-(3-アミノプロピオニル)-N-(3-アミノプロピル)$ アミノなどである。

【0059】

好適な態様では、 R^1 は、 R^{10} 及び R^{11} が上記に定義されたとおりである、 $-N(R^{10})-R^{11}$ である。もう1つの好適な態様では、 R^1 は、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{13} 及び R^{15} が上記に定義されたとおりである、 $-N(R^{15})-CO-CH[N(R^{10})R^{11}]-R^{13}$ である。もう1つの好適な態様では、 R^1 は、 R^{14} 及び R^{15} が上記に定義されたとおりである、 $-N(R^{15})-CO-R^{14}$ である。もう1つの好適な態様では、 R^1 は、 R^{10} 及び R^{15} が上記に定義されたとおりである、

【0060】

【化20】



【0061】

である。もう1つの好適な態様では、 R^1 は、 R^{13} が上記に定義されたとおりである、 $-NHCOCH(R^{13})-NHCOCH(NH_2)-R^{13}$ である。もう1つの好適な態様では、 R^1 は、トリ低級アルキルアンモニオである。更にもう1つの好適な態様では、 R^1 は、アミノ又はグアニジノである。

【0062】

R^2 の定義中、用語「アシル、カルボキシル、カルバモイル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ若しくはジ低級アルキルアミノで場合により置換された低級アルキル」は、好ましくは、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピル、ブチル、オキシ低級アルキル、カルボキシ低級アルキル、カルバモイル低級アルキル、アミノ低級アルキルなど、より好ましくは、メチル、エチル、 n -プロピル、 n -ブチル、2-オキソプロピル、カルボキシメチル、カルバモイルメチル、3-アミノプロピルなどを意味する。

【0063】

用語「アシル、カルボキシル、カルバモイル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ若しくはジ低級アルキルアミノで場合により置換された低級アルケニル」は、好ましくは、アリル、2-ブテニル、3-ブテニルなど、より好ましくはアリルを意味する。

【0064】

好適な態様では、 R^2 は、水素、ヒドロキシスルホニル、又はメチル若しくはエチルのような低級アルキルである。

【0065】

R^3 の定義中、用語「アシルアミノ」は、好ましくは、低級アルキルカルボニルアミノ、例えばアセチルアミノ、プロピオニルアミノ若しくはイソブチルアミノ、又は天然若しくは非天然アミノ酸から誘導されるアシルアミノ基、例えばサルコシルアミノ、グリシルアミノ、アラニルアミノ、オルニチルアミノ、リシルアミノ、プロリルアミノ、バシルアミノ、ロイシルアミノ、イソロイシルアミノ、トリプトフィルアミノ、フェニルアラニルアミノ、メチオニルアミノ、セリルアミノ、チロシルアミノ、トレオニルアミノ、システイニルアミノ、アスパラギニルアミノ、グルタミルアミノ、アスパルチルアミノ、グルタ

10

20

30

40

50

ミルアミノ、アルギニルアミノ、ヒスチジルアミノなど；好ましくはサルコシルアミノ、グリシルアミノ、アラニルアミノ、リシルアミノ、プロリルアミノなどを意味する。

【0066】

用語「（低級アルキルカルバモイル）アミノ」は、好ましくは、メチルカルバモイルアミノ、エチルカルバモイルアミノ、プロピルカルバモイルアミノ、ブチルカルバモイルアミノなど、より好ましくは、メチルカルバモイルアミノ又はエチルカルバモイルアミノを意味する。

【0067】

用語「低級アルコキシ」は、好ましくは、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシなど、より好ましくはメトキシ及びエトキシを意味する。

10

【0068】

用語「低級アルコキシカルボニル」は、好ましくは、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、ブトキシカルボニルなど、より好ましくはメトキシカルボニル及びエトキシカルボニルを意味する。

【0069】

用語「場合によりヒドロキシル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、低級アルコキシカルボニル若しくはカルバモイルで置換されていてよい低級アルキル」は、好ましくは、メチル、エチル、プロピル、アミノメチル、アミノエチル、アミノプロピル、ヒドロキシメチル、ヒドロキシエチル、メチレンアミノメチル、2-（メチルアミノ）エチル、3-（メチルアミノ）プロピル、ジメチルアミノメチル、2-（ジメチルアミノ）エチル、3-（ジメチルアミノ）プロピル、2-（メトキシカルボニル）エチル、2-（カルバモイル）エチルなどを意味する。

20

【0070】

用語「場合によりヒドロキシル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、低級アルコキシカルボニル若しくはカルバモイルで置換されていてよい、低級アルケニル」は、好ましくは、ビニル、2-（メトキシカルボニル）ビニル、2-（カルバモイル）ビニルなどを意味する。

【0071】

用語「場合によりヒドロキシル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、低級アルコキシカルボニル若しくはカルバモイルで置換されていてよい、低級アルキニル」は、好ましくは、エチニル、プロピニル、ヒドロキシプロピニル、アミノプロピニル、ジエチルアミノプロピニルなどを意味する。

30

【0072】

好適な態様では、 R^3 は、水素、ヒドロキシル、ニトロ、アミノまたはアシルアミノである。もう1つの好適な態様では、 R^3 は、（低級アルキルカルバモイル）アミノ、カルボキシル、低級アルコキシ又は低級アルコキシカルボニルである。

【0073】

R^4 の定義中、用語「アルキル、アルケニル、アルコキシ又はアルケニルオキシ」は、好ましくは、3～16個の炭素原子を有する、アルキル、アルケニル、アルコキシ又はアルケニルオキシ基、例えば、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、オクト-4-エニル、オクト-6-エニル、ノナニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル、ヘキサデシル、プロポキシ、ブトキシ、ペンチルオキシ、ヘキシルオキシ、ヘプチルオキシ、オクチルオキシ、オクト-4-エニルオキシ、オクト-6-エニルオキシ、ノナニルオキシ、ノナ-5-エニルオキシ、デシルオキシなどを意味する。

40

【0074】

用語「低級アルキル」は、好ましくは、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、より好ましくはメチル又はエチルを意味する。

【0075】

用語「アリアル」は、低級アルキル、トリフルオロメチル又はハロゲン原子で場合により

50

置換されていてよいアリール基、例えば、フェニル、ナフチル、3-フルオロフェニル、3-ブロモフェニル、3-クロロフェニル、4-フルオロフェニル、4-ブロモフェニル、4-クロロフェニル、3-メチルフェニル、4-メチルフェニル、4-トリフルオロメチルフェニルを意味する。

【0076】

用語「シクロアルキル」は、好ましくは、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、アダマンチルなどを意味する。

【0077】

用語「低級アルキル、アリール、シクロアルキル若しくはフッ素原子で場合により置換されていてよい、アルキル、アルケニル、アルコキシ又はアルケニルオキシ」は、好ましくは、5-メチルヘキシル、1-メチルトリデシル、2-エチルブトキシ、4-メチルペンチルオキシ、2-プロピルペンチルオキシ、2-エチルヘキシルオキシ、3, 7-ジメチルオクチルオキシ、2-フェニルエトキシ、2-(4-フルオロフェニル)エトキシ、2-(4-クロロフェニル)エトキシ、2-(3-フルオロフェニル)エトキシ、2-(4-トリフルオロフェニル)エトキシ、3-フェニルプロポキシ、2-ナフチルエトキシ、3-ナフチルプロポキシ、2-シクロプロピルエトキシ、2-シクロブチルエトキシ、2-シクロペンチルエトキシ、3-シクロペンチルプロポキシ、2-シクロヘキシルエトキシ、3-シクロヘキシルプロポキシ、3, 3-ジフェニルプロポキシ、3, 3, 3-トリフルオロプロポキシ、4, 4, 4-トリフルオロブトキシ、5, 5, 5-トリフルオロペンチルオキシなどを意味する。

【0078】

好適な態様では、 R^4 は、低級アルキル、アリール、シクロアルキル若しくはフッ素原子で場合により置換されていてよい、アルキル又はアルコキシである。

【0079】

R^5 の好ましい実施態様は、 $-CONH_2$ 又は $-CH_2NH_2$ である。

【0080】

Xの定義中、用語「ヘテロ原子」は、好ましくは、窒素、硫黄及び酸素を意味する。

【0081】

用語「1個若しくはそれ以上のヘテロ原子を場合により含む、アリール、ビフェニル若しくはテルフェニル」は、好ましくは、

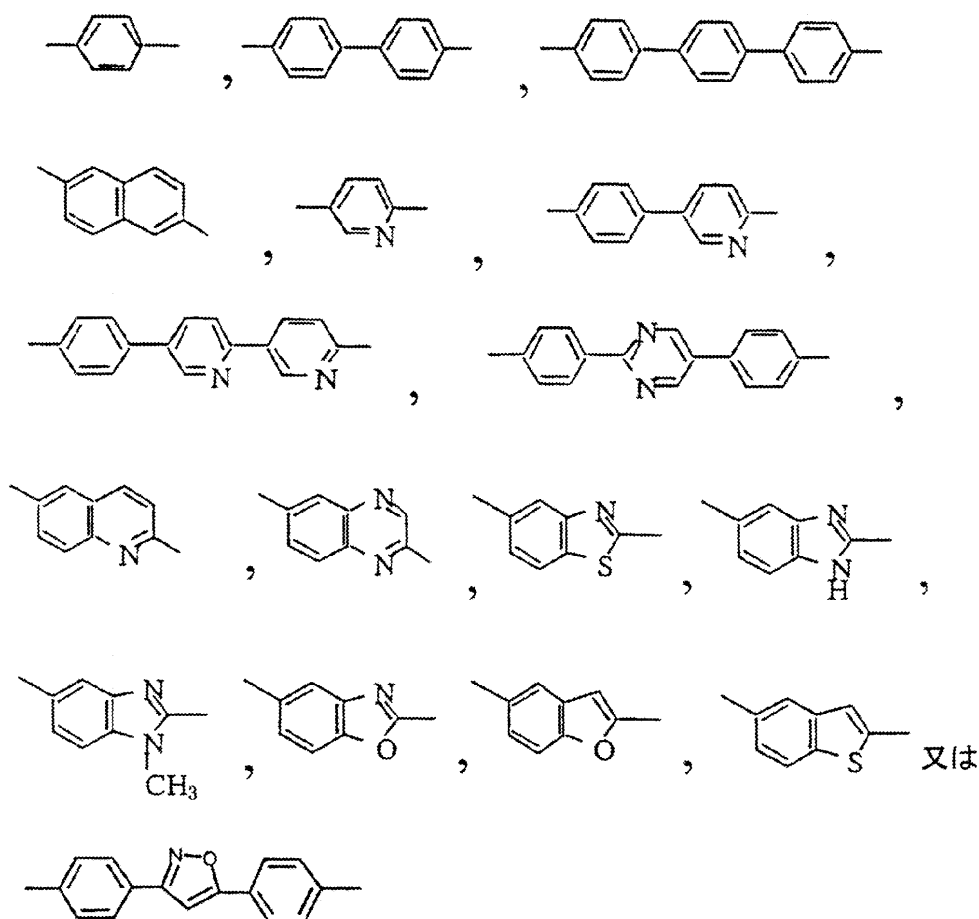
【0082】

【化21】

10

20

30



【 0 0 8 3 】

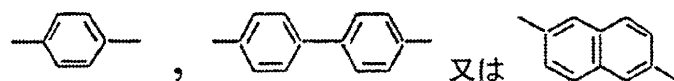
などを意味し、これらは、ハロゲン原子又は低級アルキルでさらに置換されていてよい。上式中、開放端の線は、対応する位置での好適な結合を示す。

【 0 0 8 4 】

Xの最も好ましい実施態様は、単結合、又はハロゲン原子若しくは低級アルキル、好ましくはメチルで更に置換されていてよい、

【 0 0 8 5 】

【化 2 2】



【 0 0 8 6 】

である。

【 0 0 8 7 】

Y の定義中、用語「低級アルキル」は、好ましくは、1 ～ 3 個の炭素原子よりなるアルキル基、例えば、メチル、エチル又はプロピルを意味する。Y の好ましい実施態様は、単結合、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CONH}-$ 又は $-\text{CON}(\text{CH}_3)-$ 、より好ましくは単結合、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、又は $-\text{CONH}-$ である。

【 0 0 8 8 】

Zの定義中、用語「-N（低級アルキル）-」は、好ましくは、1～3個の炭素原子よりなるN-アルキル基、例えば、N-メチル、N-エチル又はN-プロピルを意味する。Zの好ましい実施態様は、-O-であり；Zのもう1つの好ましい実施態様は、-NH-で

ある。

【 0 0 8 9 】

m は、 $0 \sim 4$ 、好ましくは $0 \sim 2$ の整数である。

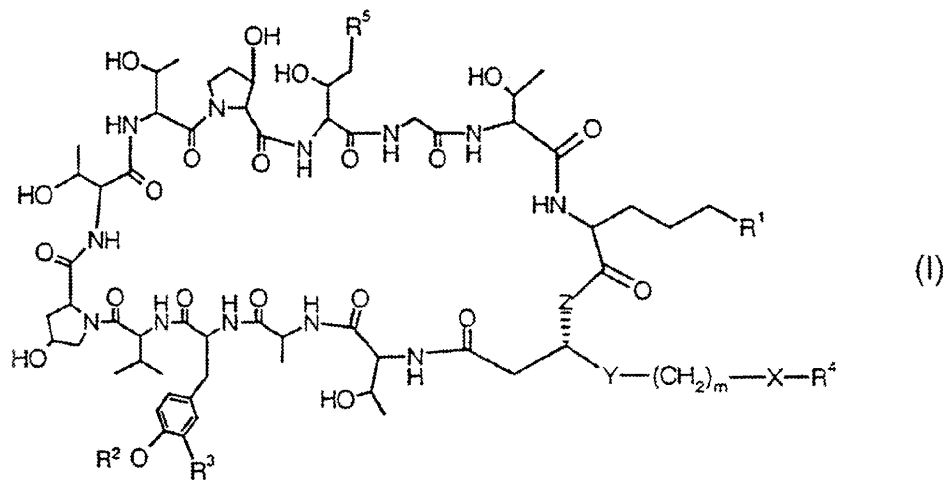
【 0 0 9 0 】

本発明による好適なアエロトリシンは、下記の表 1 に例示されるアエロトリシン 2 及び 4 ~ 1 3 1 である。

【 0 0 9 1 】

【化 2 3】

表 1



【 0 0 9 2 】

【表 1】

式 (I)

化合物名	R ¹	R ²	R ³	R ⁵	Z	Y-(CH ₂) _m -X-R ⁴
アエロトリシン1 (出発材料)	NH ₂	H	H	CONH ₂	O	CH(CH ₃)-(CH ₂) ₁₁ CH ₃
アエロトリシン2	NH ₂	H	OH	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン3 (出発材料)	NH ₂	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン4	NHC(=NH)NH ₂	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン5	NH ₂	CH ₃	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン6	NH ₂	CH ₂ CH ₃	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン7	NH ₂	CH ₂ -CH=CH ₂	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン8	NH ₂	CH ₂ COCH ₃	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン9	NH ₂	CH ₂ CO ₂ H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン10	NH ₂	CH ₂ CONH ₂	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン11	NH ₂	CH ₃	OCH ₃	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン12	N(CH ₃) ₂	CH ₃	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン13	N(CH ₃) ₂	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン14	NHCOCH ₂ NHCH ₃	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン15	NHCO- 	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン16	NH ₂	H	NO ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン17	NH ₂	H	NH ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン18	NH ₂	H	NHCOCH ₂ NH ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン19	NH ₂	H	NHCOCH ₃	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン20	NH ₂	H	NHCOCH(CH ₃)NH ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン21	NHCOCH ₂ NH ₂	H	NHCOCH ₂ NH ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン22	NH ₂	H	NHCONHCH ₃	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン23	NH ₂	H	NHCONHCH ₂ CH ₃	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン24	NH ₂	H	CH=CH-CO ₂ CH ₃	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン25	N(CH ₃) ₂	H	NO ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン26	NHCOCH ₂ NHCH ₃	H	NO ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン27	NHCO- 	H	NO ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン28	NHCOCH ₂ NH ₂	H	NO ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン29	NHCOCH ₂ NH ₂	H	NH ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン30	N(CH ₃) ₂	H	NHCOCH(CH ₃)N(CH ₃) ₂	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃

10

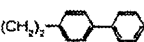
20

30

【0093】

【表2】

式 (I)

化合物名	R ¹	R ²	R ³	R ⁵	Z	Y-(CH ₂) _m -X-R ⁴
アエトロリン 31	NH ₂	H	H	CH ₂ NH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエトロリン 32	NH ₂	H	H	CN	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエトロリン 33	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 34	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 35	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 36	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 37	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₁₁ CH ₃
アエトロリン 38	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH(CH ₂) ₂ CH(CH ₂) ₂ CH(CH ₂) ₂
アエトロリン 39	NH ₂	H	NO ₂	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₁₂ CH ₁₃
アエトロリン 40	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 41	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 42	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 43	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 44	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 45	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH(CH ₂) ₂
アエトロリン 46	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ - 
アエトロリン 47	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 48	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 49	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃
アエトロリン 50	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O(CH ₂) ₂ CH ₃

10

20

30

【 0 0 9 4 】

【 表 3 】

式 (I)

化合物名	R ¹	R ²	R ³	R ⁵	Z	Y-(CH ₂) _m -X-R ^d
アエロトリシン 51	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 52	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 53	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 54	NH ₂	H	NO ₂	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 55	NH ₂	H	NO ₂	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 56	NH ₂	H	NH ₂	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 57	NH ₂	H	NHCOCH ₃	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 58	NH ₂	H	NHCOCH(CH ₃)NH ₂	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 59	NH ₂	H	NHCOCH ₂ NH ₂	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 60	NH ₂	H	NHCOCH ₂ NHCH ₃	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 61	NH ₂	H	NHCO(CH ₂) ₂ NH ₂	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 62	NH ₂	H	NHCONHCH ₂ CH ₃	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 63	$\text{-NHCO-}\overset{*}{\underset{\text{N(CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)_2}{\text{CHCH}_2\text{NH}_2}}$	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 64	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₀ CH ₃
アエロトリシン 65	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 66	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 67	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₆ CH ₂ CH ₃
アエロトリシン 68	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₈ (CH ₂) ₆ CH ₃
アエロトリシン 69	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CON(CH ₃)-(CH ₂) ₁₂ CH ₃

*(S) 立体配置

【 0 0 9 5 】

【 表 4 】

式 (I)

化合物名	R ¹	R ²	R ³	R ⁵	Z	Y-(CH ₂) _m -X-R ⁴
アエロトリシン 70	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CON(CH ₃)-(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 71	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₅ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 72	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONHCH ₂ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 73	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONHCH ₂ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 74	NHC(=NH)NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 75	N(CH ₃) ₂	H	H	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 76	NH ₂	CH ₃	H	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 77	NH ₂	H	NO ₂	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 78	NH ₂	H	NH ₂	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 79	NH ₂	H	NHCONHCH ₂ CH ₃	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 80	NH ₂	H	NHCOCH ₃	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 81	NH ₂	H	NHCOCH ₂ NH ₂	CONH ₂	NH	CONH(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 82	N(CH ₃) ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 83	N(CH ₃) ₂	CH ₃	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 84	NH ₂	CH ₃	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 85	NH ₂	CH ₃	NO ₂	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 86	NH ₂	CH ₃	NO ₂	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 87	NH ₂	CH ₃	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 88	N(CH ₃) ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -OCH ₂ CH ₃
アエロトリシン 89	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -OCH ₂ CH(CH ₃)C ₂ H ₅
アエロトリシン 90	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -OCH ₂ CH((CH ₂) ₂ CH ₃)(CH ₂) ₂ CH ₃
アエロトリシン 91	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O-(CH ₂) ₄ - 
アエロトリシン 92	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₂ -  -O-(CH ₂) ₄ - 

10

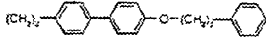
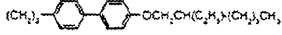
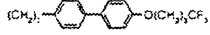
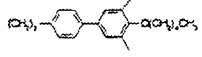
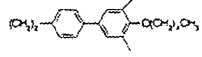
20

30

【0096】

【表5】

式 (I)

化合物名	R ¹	R ²	R ³	R ⁵	Z	Y-(CH ₂) _m -X-R ⁴
アエロトリシン 93	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 94	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 95	NH ₂	H	H	CONH ₂	NCH ₃	(CH ₂) ₁₄ CH ₃
アエロトリシン 96	NH ₂	H	CO ₂ H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 97	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 98	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 99	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 100	ビス(2-アミノエチル)アミノ	H	H	CONH ₂	NH	
アエロトリシン 101	L-オルニチンアミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 102	L-リシルアミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 103	L-アルギニンアミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 104	(2S)-(2,4-ジアミノブチル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 105	(2S)-(2,3-ジアミノプロピオン)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 106	D-オルニチンアミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 107	D-リシルアミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 108	D-アルギニンアミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 109	(2R)-(2,4-ジアミノブチル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 110	(2R)-(2,3-ジアミノプロピオン)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 111	ビス(2-アミノエチル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 112	ビス(3-アミノプロピル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 113	(3-アミノプロピル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 114	ビス(2-ピペラジニルエチル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 115	[N-(2-アミノエチル)-N-(3-アミノプロピル)]アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 116	ビス(2-グアニジニルエチル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン 117	(2-ピペラジニルエチル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃

10

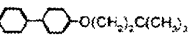
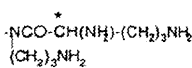
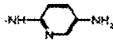
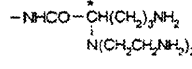
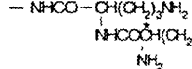
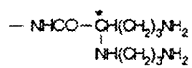
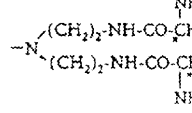
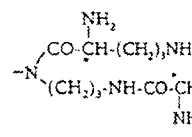
20

30

【0097】

【表6】

式 (I)

化合物名	R ¹	R ²	R ³	R ⁵	Z	Y-(CH ₂) _m -X-R ⁴
アエロトリシン118	(2S)-(2-アミノ-4- トリアゾール-1-イルブチル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン119	L-ヒスチジルアミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン120	(2-シアノエチル)アミノ	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン121	トリメチルアンモニオ (ヨージド*)	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン122	NH ₂	SO ₃ H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン123	NH ₂	H	H	CONH ₂	NH	(CH ₂) ₇ -  -O(CH ₂) ₂ C(CH ₃) ₃
アエロトリシン124		H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン125		H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン126	-NHCH ₂ CH-(CH ₂ NH ₂) ₃	H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン127		H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン128		H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン129		H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン130		H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃
アエロトリシン131		H	H	CONH ₂	O	(CH ₂) ₁₂ CH ₃

*(R) 立体配置

【0098】

特に好ましいのは、アエロトリシン2、4～32、63、96～99、101～131よりなる群から選ばれるアエロトリシンである。やはり特に好ましいのは、アエロトリシン14、15、21、26～29、63、98、99、及び101～131よりなる群から選ばれるアエロトリシンである。

【0099】

式(I)で示されるアエロトリシンは、下記の方法に従って製造することができる。

【0100】

方法A

式(II)のアエロトリシンは、アエロトリシン1、2及び3〔アエロトリシン3(=WF11243)は、参考実施例1に記載されている〕を生産できる不完全菌類 *Deuteromycotina* に属する微生物を、好氣的条件下、水性又は固体培地中で培養し、アエロトリシン1、2及び3を培養体から単離することにより製造することができる。

【0101】

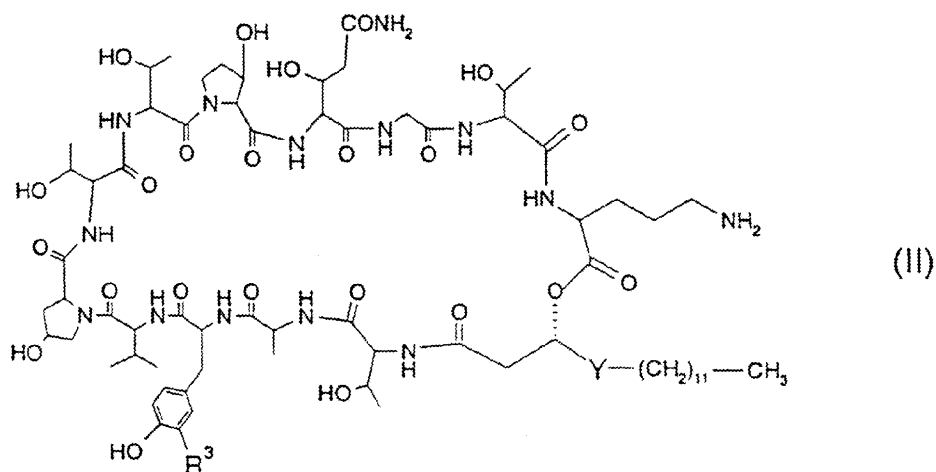
【化24】

10

20

30

40



【0102】

〔式中、 R^3 は、水素又はヒドロキシルであり、 Y は、 $-CH(CH_3)-$ 又は $-CH_2-$ である〕

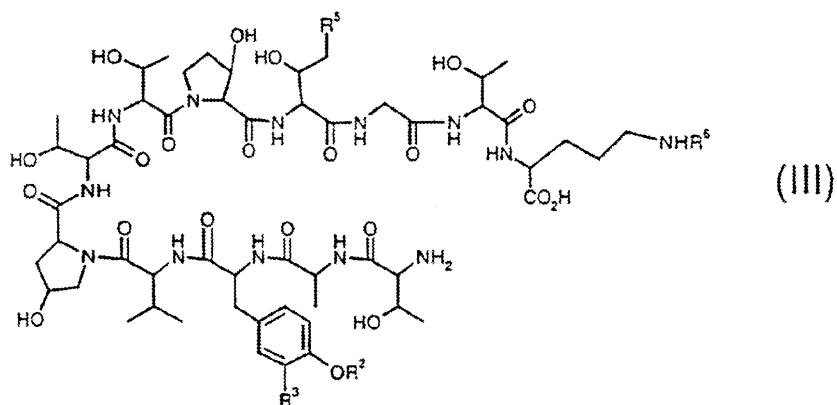
【0103】

方法B

式(I)のアエロトリシン〔式中、 R^1 は、アミノであり； Y は、 $-CONH-$ 、 $-CON$ (低級アルキル) $-$ 、 $-CH_2-$ 又は単結合であり； Z は、 $-NH-$ 又は $-N$ (低級アルキル) $-$ であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 及び m は、上記に定義されたとおりである〕は、式(III)：

【0104】

【化25】



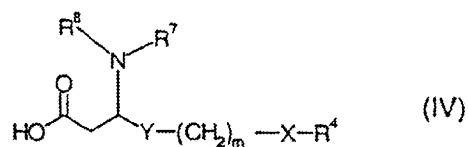
【0105】

〔式中、 R^6 は、アミノ保護基であり； R^2 、 R^3 及び R^5 は、上記に定義されたとおりである〕

で示される化合物と、式(IV)：

【0106】

【化26】



【0107】

〔式中、 R^7 は、アミノ保護基であり、 R^8 は、水素又は低級アルキルであり、 R^4 、 X 、 Y 及び m は、上記に定義されたとおりである〕

で示される化合物とを、ペプチド合成用のカルボキシル活性化剤を用いて縮合させた後、得られた線状ペプチドのアミノ保護基 R^7 を選択的に除去し、ペプチド合成用のカルボキシル活性化剤で逐次環化し、そしてアミノ保護基 R^6 を除去することによって製造することができる。

【0108】

方法C

式(I)〔式中、 R^3 は、ニトロ基であり； R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式(I)〔式中、 R^3 は、水素であり； R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのニトロ化によって製造することができる。

【0109】

方法D

式(I)〔式中、 R^3 は、アミノ基であり； R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式(I)〔式中、 R^3 は、ニトロ基であり； R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのニトロ基の還元によって製造することができる。

【0110】

方法E

式(I)〔式中、 R^3 は、アシルアミノ又は(低級アルキルカルバモイル)アミノであり； R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式(I)〔式中、 R^3 は、アミノ基であり； R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのアミノ基を、酸塩化物、酸無水物、カルボン酸／縮合剤、又は低級アルキルカルバモイル＝クロリドでアシル化した後、必要ならば、アミノ保護基を除去することによって製造することができる。

【0111】

方法F

式(I)〔式中、 R^1 は、(3-アミノプロピル)アミノ、(2-シアノエチル)アミノ、3-アミノ-2-(アミノメチル)プロピルアミノ、又は $-N(R^{15})-COCH[NH(CH_2)_3NH_2]-R^{13}$ 〔式中、 R^{13} 及び R^{15} は、上記に定義されたとおり〕である〕のアエロトリシンは、式(I)〔式中、 R^1 は、アミノ基又は $-N(R^{15})-COCH(NH_2)-R^{13}$ 〔式中、 R^{13} 及び R^{15} は、上記に定義されたとおりである〕であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのアミノ基をアクリロニトリル、エトキシメチレンマロノニトリル、又は(1-エトキシエチリデン)マロノニトリルと反応させた後、得られたニトリル基をアミノ基へと還元し、必要ならば、保護基を除去することによって製造することができる。

【0112】

方法G

式(I)〔式中、 R^1 は、 $-N(R^{10})R^{11}$ 〔式中、 R^{10} 及び R^{11} は、それぞれ独立に、水素、1個又はそれ以上のアミノ、グアニジノ、含窒素複素環、若しくはアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルから選ばれる〕、又は $-N(R^{15})-CO-CH[N(R^{10})R^{11}]-R^{13}$ 〔式中、 R^{10} 及び R^{11} は、それぞれ、1個又はそれ以上のアミノ、アミノ低級アルキル、グアニジノ、含窒素複素環、若しくはアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルであり； R^{13} 及び R^{15} は、上記に定義されたとおりである〕であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に

10

20

30

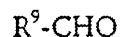
40

50

定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式 (I)〔式中、 R^1 は、アミノ、(2-シアノエチル)アミノ、又は $-N(R^{1\ 5})-CO-CH[N(R^{1\ 0})R^{1\ 1}]-R^{1\ 3}$ 〔式中、 $R^{1\ 0}$ 及び $R^{1\ 1}$ は、それぞれ独立に、水素原子又は (2-シアノエチル)アミノであり； $R^{1\ 3}$ 及び $R^{1\ 5}$ は、上記に定義されたとおりである〕であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、X、Y、Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのアミノ基を、式 (V)：

【0113】

【化27】



(V)

10

【0114】

〔式中、 R^9 は、水素、1個又はそれ以上の保護されたアミノ、含窒素複素環、若しくは保護されたアミノを含むフェニル基で更に置換されていてよい低級アルキルである〕で示されるアルデヒドで還元的アルキル化した後、必要ならば、アミノ保護基を除去するか、又はシアノ基を還元することによって製造することができる。

【0115】

方法H

式 (I)〔式中、 R^1 は、 $-N(R^{1\ 0})R^{1\ 1}$ 〔式中、 $R^{1\ 0}$ 及び $R^{1\ 1}$ は、それぞれ独立に、水素、又は1若しくは2個のアミノ基で置換されたヘテロアリアルから選ばれる〕であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、X、Y、Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式 (I)〔式中、 R^1 は、アミノ基であり、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、X、Y、Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのアミノ基を、式 (VI)：

【0116】

【化28】



(VI)

【0117】

〔式中、 $R^{1\ 2}$ は、保護されたアミノ若しくはニトロ基で更に置換されていてよい含窒素ヘテロアリアルであり、Qは、クロロ若しくはブロモのようなハロゲン原子である〕で示される化合物と反応させた後、必要ならば、アミノ保護基を除去するか、又はニトロ基を還元することによって製造することができる。

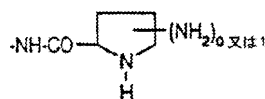
【0118】

方法I-1

式 (I)〔式中、 R^1 は、

【0119】

【化29】



【0120】

、 $-NHCO-CH(NH_2)-R^{1\ 3}$ 〔式中、 $R^{1\ 3}$ は、天然又は非天然アミノ酸から誘導される残基である〕、又は $-NHCO-R^{1\ 4}$ 〔式中、 $R^{1\ 4}$ は、上記に定義されたとおりである〕であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、X、Y、Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式 (I)〔式中、 R^1 は、アミノ基であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、X、Y、Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロト

30

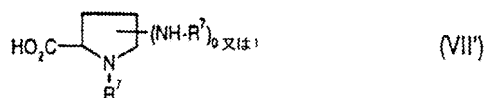
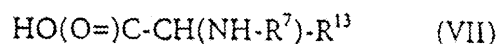
40

50

リシンを、式 (VII) 又は (VII') :

【0121】

【化30】



【0122】

10

〔式中、 R^{13} は、その官能基が適切に保護された、天然又は非天然アミノ酸から誘導される残基であり、 R^7 は、アミノ保護基である〕

で示される酸、又は式 (VIII) :

【0123】

【化31】



【0124】

〔式中、 R^{14} は、1個又はそれ以上の保護されたアミノ基、含窒素複素環、若しくは保護されたアミノ基を有するフェニル基を有する低級アルキル基である〕

20

で示される酸でアシル化した後、必要ならば、保護基を除去することによって製造することができる。

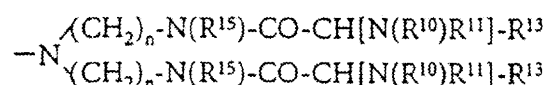
【0125】

方法 I-2

R^{14} が、

【0126】

【化32】



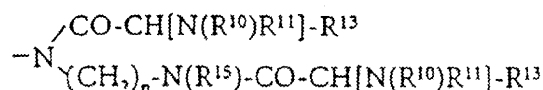
30

【0127】

〔式中、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{13} 、 R^{15} 及び m は、上記に定義されたとおりである〕、又は

【0128】

【化33】



40

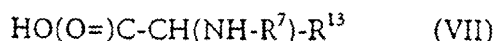
【0129】

〔式中、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{13} 、 R^{15} 及び m は、上記に定義されたとおりである〕である式 (I) のアエロトリシンは、 R^{14} が $\text{-N(R}^{10}\text{)-R}^{11}$ 〔式中、 R^{10} 、及び R^{11} は、両者とも、アミノ基で置換された低級アルキルである〕、又は $\text{-N(R}^{15}\text{)-CO-CH[N(R}^{10}\text{)R}^{11}\text{]}\cdot\text{R}^{13}$ 〔式中、 R^{15} は、アミノ基で置換された低級アルキルであり； R^{10} 、 R^{11} 及び R^{13} は、請求項 1 に定義されたとおりであるが、 R^{10} 、 R^{11} 及び R^{13} 中に存在するアミノ基は、保護されている〕である式 (I) のアエロトリシンのアミノ基を式 (VII) :

【0130】

50

【化 3 4】



【0131】

〔式中、 R^{13} は、その官能基が適切に保護された、天然又は非天然アミノ酸から誘導される残基であり、 R^7 は、アミノ保護基である〕

で示される酸でアシル化した後、保護基を除去することによって製造することができる。

【0132】

10

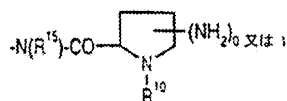
方法 J

式 (I) 〔式中、 R^1 は、 $-\text{N}(\text{R}^{15})-\text{CO}-\text{CH}[\text{N}(\text{R}^{10})\text{R}^{11}]-\text{R}^{13}$

〔式中、 R^{10} 及び R^{11} は、水素であり、 R^{13} は、上記に定義されたとおりであり、 R^{15} は、1 個又はそれ以上のアミノ、グアニジノ、含窒素複素環、若しくはアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルである〕、

【0133】

【化 3 5】



20

【0134】

〔式中、 R^{10} は、水素であり、 R^{15} は、1 個又はそれ以上のアミノ、グアニジノ、含窒素複素環、若しくはアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルである〕、又は $-\text{N}(\text{R}^{15})-\text{CO}-\text{R}^{14}$ 〔式中、 R^{15} は、1 個又はそれ以上のアミノ、グアニジノ、含窒素複素環、若しくはアミノ、アミジノ若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルであり、 R^{14} は、上記に定義されたとおりである〕であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、方法 F に記載の 30

式 (I) 〔式中、 R^1 は、アミノ基であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのアミノ基をモノ N-アルキル化した後、方法 I に記載の式 (VII)、(VII') 又は (VII I) の対応する化合物でアシル化した後、必要ならば、保護基を除去することによって製造することができる。

【0135】

方法 K

式 (I) 〔式中、 R^1 は、グアニジノ基、 $-\text{N}(\text{R}^{10})-\text{R}^{11}$ 〔式中、 R^{10} 及び R^{11} は、それぞれ独立にグアニジノ、又はグアニジノ基を有するフェニル基で置換された低級アルキルから選ばれる〕、 $-\text{N}(\text{R}^{15})-\text{CO}-\text{CH}[\text{N}(\text{R}^{10})\text{R}^{11}]-\text{R}^{13}$ 〔式中、 R^{10} 、 R^{11} 及び R^{13} は、上記に定義されたとおりであり、 R^{15} は、 40

1 個又はそれ以上のグアニジノ基、含窒素複素環、若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で場合により置換された低級アルキルである〕、又は $-\text{N}(\text{R}^{15})-\text{CO}-\text{R}^{14}$ 〔式中、 R^{14} は、1 個又はそれ以上のグアニジノ、含窒素複素環、若しくはグアニジノ基を有するフェニル基で置換された低級アルキルである〕であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式 (I) 〔式中、 R^1 は、アミノ基； $-\text{N}(\text{R}^{10})-\text{R}^{11}$ 〔式中、 R^{10} 及び R^{11} は、それぞれ独立に、アミノ基、又はアミノ基を有するフェニル基で置換された低級アルキルから選ばれる〕、 $-\text{N}(\text{R}^{15})-\text{CO}-\text{CH}[\text{N}(\text{R}^{10})\text{R}^{11}]-\text{R}^{13}$ 〔式中、 R^{10} 、 R^{11} 及び R^{13} は、上記に定義されたとおりであり、 R^{15} は、1 個又はそれ以上のアミノ基、含窒素複素環、又はアミノ基を有するフェニル基で場合により置換された 50

低級アルキルである〕、又は $\text{—NHCO—R}^{1\ 4}$ 〔式中、 $\text{R}^{1\ 4}$ は、1個又はそれ以上のアミノ基、含窒素複素環、若しくはアミノ基を有するフェニル基で置換された低級アルキルである〕であり； R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンを、活性化されたアミジン誘導体と反応させることによって製造することができる。

【0136】

方法L

式（I）〔式中、 R^2 は、低級アルキル、又はアシル、カルボキシル、カルバモイル、ヒドロキシル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ若しくはジ低級アルキルアミノで場合により置換された低級アルケニルであり、 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式（I）〔式中、 R^2 は、水素であり、 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのフェノール性ヒドロキシル基を、アルキル化剤でO-アルキル化することによって製造することができる。

10

【0137】

方法M

式（I）〔式中、 R^3 は、カルボキシル、低級アルコキシカルボニル、低級アルキル、アルケニル、又はヒドロキシル、アミノ、モノ低級アルキルアミノ、ジ低級アルキルアミノ、低級アルコキシカルボニル若しくはカルバモイルで場合により置換されていてよいアルキニルであり； R^2 は、水素であり； R^1 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式（I）〔式中、 R^2 及び R^3 は、水素であり； R^1 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンを、ヨウ素化剤でヨウ素化した後、得られた式（I）〔式中、 R^3 は、ヨードであり、 R^1 、 R^2 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のヨード誘導体を、一酸化炭素、アクリル酸メチルなどとパラジウム（0）触媒でカップリングさせた後、必要ならば、保護基を除去することによって製造することができる。

20

【0138】

方法N

式（I）〔式中、 R^5 は、 —CN であり； R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式（I）〔式中、 R^5 は、 —CONH_2 であり； R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのカルバモイル基を、脱水剤で脱水し、必要ならば、アミノ保護基を除去することによって製造することができる。

30

【0139】

方法O

式（I）〔式中、 R^5 は、 $\text{—CH}_2\text{NH}_2$ であり； R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式（I）〔式中、 R^5 は、 —CONH_2 又は —CN であり； R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのカルバモイル基又はシアノ基を、還元剤で還元し、必要ならば、アミノ保護基を除去することによって製造することができる。

40

【0140】

方法P

式（I）〔式中、 R^2 は、ヒドロキシルスホンニルであり； R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンは、式（I）〔式中、 R^2 は、水素であり； R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 X 、 Y 、 Z 及び m は、上記に定義されたとおりである〕のアエロトリシンのチロシン残基を、ヒドロキシルスホン化した後、保護基を除去することによって製造することができる。

【0141】

方法Q

式（I）〔式中、 $\text{—Y—(CH}_2\text{)}_m\text{—X—R}^4$ は、 n -トリデカニル又は1-メチルト

50

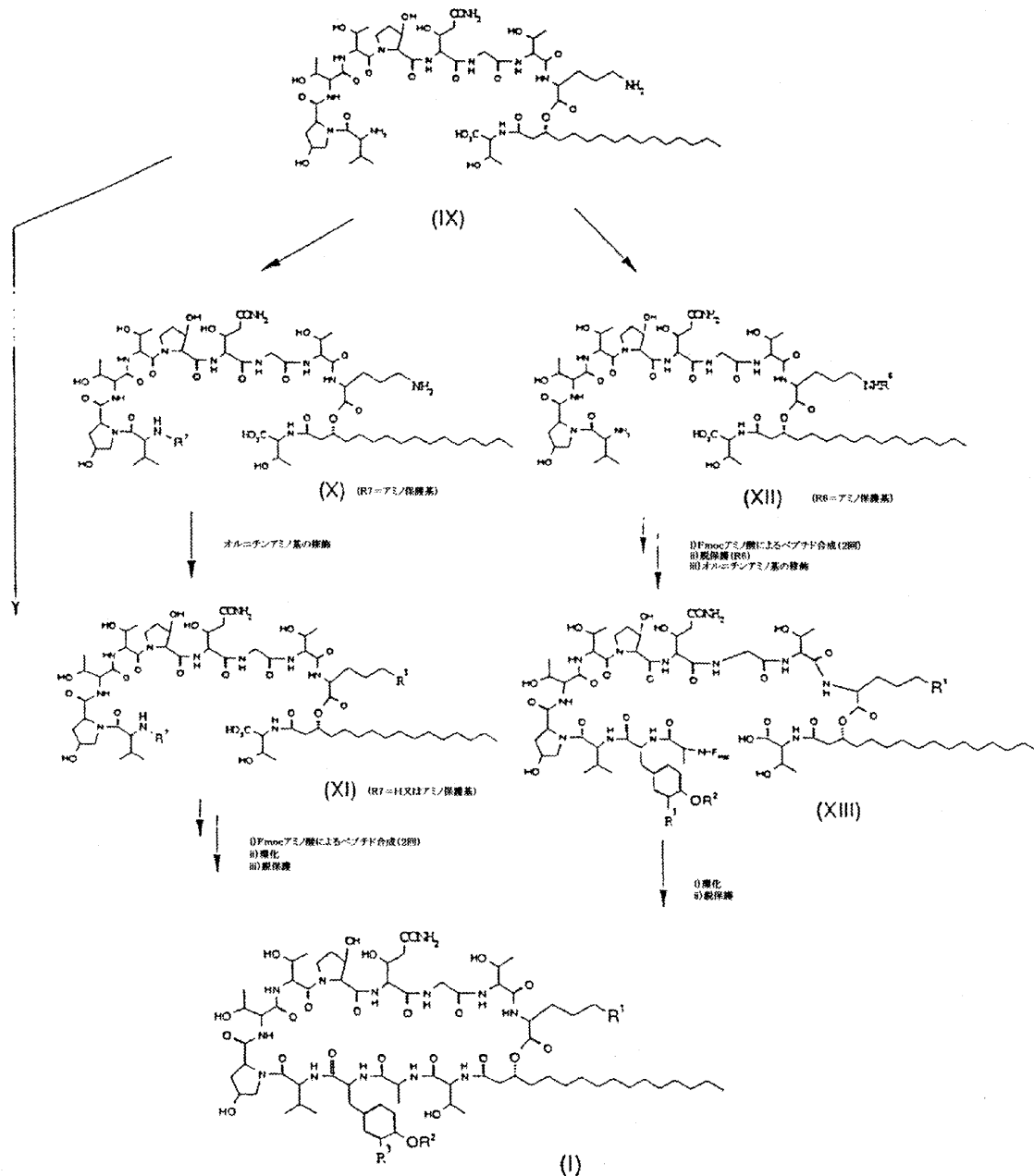
リデカニルであり； R^5 は、 $-\text{CONH}_2$ であり； Z は、酸素原子であり； R^1 、 R^2 及び R^3 は、上記に定義されたとおりである] のアエロトリシンは、スキーム 1 に概要を示した方法によって、式 (IX) の線状ペプチドから製造することができる。

【0142】

R^2 、 R^3 及び R^5 が、上記に定義されたとおりであり、 R^6 が、アミノ保護基であるが、 R^5 が $-\text{CONH}_2$ であるとき、 R^2 又は R^3 は、水素以外である、上記の式 (III) の化合物、及びその塩は、新規であり、やはり本発明の主題である。更に、スキーム 1 に示した式 (IX)、(X) 及び (XII) の線状ペプチド及び場合によりその塩も、新規であり、やはり本発明の主題である。

【0143】

【化36】



【0144】

方法 A ~ Q は、下記のとおり、より詳しく説明することができる。

【0145】

方法A

本発明に用いられる微生物は、アエロトリシン1、2及び3を生産できる、不完全菌類に属する、突然変異株及び変異株を包含する、いかなる菌株であることもできる。特に好ましいのは、日本の鹿児島県で採集された落葉から単離され、不完全菌類に属する菌株として同定された、NR7379株である。

NR7379株の培養及び形態学的特性は、下記のとおりである。

【0146】

1. 培養特性

コーンミール寒天(CMA)：増殖は、伸展性ではなかった。コロニーは、25℃で14日後に、接種物(寒天栓で直径4.5mm)から直径11mmに達し、平坦で淡黄白色であった。裏側は、淡黄白色であった。無色で粘質性の滲出物が存在した。

10

【0147】

三浦培地(LCA)：増殖は、伸展性ではなかった。コロニーは、25℃で14日後に、接種物から直径11mmに達し、平坦で淡黄白色であった。裏側は、淡黄白色であった。滲出物は、不在であった。

【0148】

麦芽エキスイ寒天(MEA)：増殖は、伸展性ではなかった。コロニーは、膿状であり、25℃で14日後に、接種物から直径18mmに達した。コロニーの色は、明るい帯黄褐色であった。裏側は、同じ色であった。滲出物は、無色かつ粘質性であった。

【0149】

馬鈴薯デキストロース寒天(PDA)：増殖は、伸展性ではなかった。コロニーは、膿状であり、25℃で14日後に、接種物から直径14mmに達した。コロニーの色及びきめは、MEAでのそれに似ていた。滲出物は、無色かつ粘質性であった。

20

【0150】

発芽は、CMA、LCA、MEA及びPDAで5～30℃の間で観察された。

【0151】

2. 形態学的特性

菌糸体は、部分的に埋没し、部分的に表在し、分枝し、有隔であり、淡褐色ないし黄白色であった。分生子柄は、埋没した菌糸体から形成され、無紋、有隔であり、分枝し、不規則であった。分生子形成細胞は、明確な分生子柄か、又は不規則な菌糸に存在した。それらは、内生出芽型、フィアロ型、頂性又は垂頂性であった。頂性又は垂頂性フィアライドは、長さ及び形状が可変であり、円筒形ないし壺形(lageniform)で、長さ及び幅は、それぞれ、5.5～10µm及び2.5～5.5µmに及んだ。隔壁直下に側生の分生子形成細胞を有する、不規則な糸状の分生子柄がしばしば形成された。分生子は、一細胞型、無色透明、平滑、球形ないし亜球形であり、長さが2.0～5.5µm、幅が2.0～5.0µmであった。

30

【0152】

これらの明確な培養及び形態学的特性に基づき、本菌株は、不完全菌類NR7379株と呼ばれる不完全菌類に属した。

【0153】

不完全菌類NR7379と呼ばれる菌株は、ブダペスト条約の下、下記：不完全菌類NR7379株(FERM第BP-6391号)のとおり、日本ロシュ株式会社(105, 東京都港区芝2-6-1)から1998年6月16日に工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されている。

40

【0154】

本発明が提供する方法による培養は、培養しようとする微生物によって利用され得る、慣用の栄養素を含有する培地で実施することができる。炭素源としては、例えば、グルコース、ショ糖、澱粉、グリセリン、糖蜜、デキストリン、及びそれらの混合物を挙げることができる。窒素源は、例えば、大豆ミール、綿実ミール、肉エキス、ペプトン、乾燥酵母、酵母エキス、コーンステープリカー、硫酸アンモニウム、硝酸ナトリウム、及びそれ

50

らの混合物である。その上、微生物の増殖を促進し、アエロトリシン 1 の生産を増強するために、その他の有機又は無機物質を培地に加えてもよい。そのような物質の例は、無機塩類、例えば炭酸カルシウム、塩化ナトリウム、リン酸塩などである。

【0155】

培養は、好気的条件下、好ましくは液体培地で液内発酵によってか、又は固体培地で静的発酵によって実施する。20～30℃の温度（最適温度 27℃）が、培養に適する。培養は、好ましくは、3～9の pH で実施する。培養時間は、培養を実施する条件に依存する。一般的には、20～360時間培養を実施するのが充分である。

【0156】

目的のアエロトリシン 1、2 及び 3 を培養体から採集するには、微生物が生産した代謝物をその培養体から単離するのに常用される、分離方法を適正に用いることができる。例えば、アエロトリシン 1 は、メタノール抽出できる両性物質であって、好都合には、下記の手順で回収する。

【0157】

すなわち、固相発酵によって得られる全培養固型分を、適切な溶媒で抽出して、企図される産物を回収する。目的の化合物を全培養固型分から抽出するのに用い得る溶媒は、水溶性有機溶媒、又は水溶性有機溶媒の水溶液、例えばメタノール、エタノール、水性アルコールを包含する。

【0158】

得られた抽出物から塩類、水溶性物質等々を除去するには、水と水混和性有機溶媒、例えば n-ブタノール、酢酸エチル等々との間の溶媒分配を用いるのが好都合である。抽出物から着色物質、脂溶性物質などを除去するには、メタノール、エタノール、アセトニトリル-0.1%水性トリフルオロ酢酸の混合物等々による溶媒精製を実施するのが好都合である。

【0159】

アエロトリシンを完全に精製するには、カラムクロマトグラフィーを用いるのが好都合である。そのようなカラムクロマトグラフィーに用い得る担体は、YMC-GEL ODS（山村化学研究所）又は分取用 C18（Waters Millipore Corporation）のようなものである。溶離液としては、水性トリフルオロ酢酸と、メタノール、エタノール、アセトニトリル等々のような、適切な水溶性有機溶媒との混合物で構成される溶媒系を用いる。こうして精製された溶出液画分は、各成分を含有していて、濃縮又は凍結乾燥に付して、アエロトリシン 1、2 及び 3 を微粉化する。

【0160】

アエロトリシン 1、2 及び 3 は、トリフルオロ酢酸塩として単離したが、遊離アエロトリシン 1、2 及び 3 は、下記の手順によって製造することができる。すなわち、アエロトリシン 1、2 及び 3 のトリフルオロ酢酸塩を、水に溶解し、これに、1 当量の水酸化ナトリウムを加え、混合物を、セファデックス LH-20 のカラムクロマトグラフィーに付した後、水性アルコール、例えばメタノール-水等々で溶出させて、それによって、それぞれ、アエロトリシン 1、2 及び 3（遊離形態）を得る。

【0161】

方法 B

式 (III) の出発化合物は、式 (I) のアエロトリシン〔アエロトリシン 1～3 はもとより、方法 C～Q から選ばれる方法の使用によって、アエロトリシン 1～3 から変換されたものを含む〕から、WO 96/30399 に記載されたのと類似の方法によって製造することができる。この方法は、ラクトン環のアルカリ加水分解とそれに続く脂肪酸鎖の酵素切断を含む。式 (III) の R⁶、及び式 (IV) の R⁸ のための好ましいアミノ保護基は、それぞれ tert-ブトキシカルボニル (Boc) 及び 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル (Fmoc) である。

【0162】

式 (III) の出発化合物は、不完全菌類の発酵によって得られる式 (IX) の線状ペプ

10

20

30

40

50

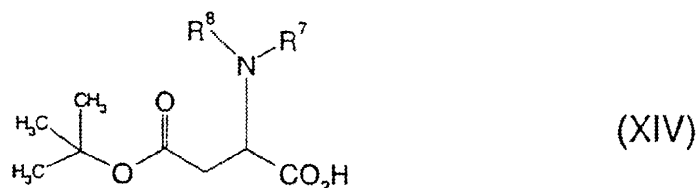
チドからも、以下に述べる慣用のペプチド合成によって製造することができる。

【0163】

式 (I V) [式中、Y は、 $-\text{CONH}-$ であり； R^4 、 R^8 及び X は、上記に定義されたとおりである] の出発化合物は、式 (X I V)：

【0164】

【化37】



10

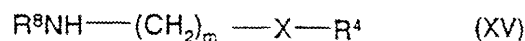
【0165】

[式中、 R^7 は、アミノ保護基、例えば Fmoc 基であり、 R^8 は、上記に定義されたとおりである]

で示される化合物を、式 (X V)：

【0166】

【化38】



20

【0167】

[式中、 R^4 、 R^8 及び X は、上記に定義されたとおりである]

で示される化合物と縮合させた後、tert-ブチル基を除去することによって製造することができる。式 (X I V) の化合物は、商業的に入手できる。

【0168】

式 (X V) [式中、X は、単結合、場合により 1 個又はそれ以上のヘテロ原子を含むか、及び/又は場合によりハロゲン原子若しくは低級アルキルで置換されたアリール、ビフェニル、又はテルフェニル基である] の出発化合物は、商業的に入手できるか、又は E P 7 3 6, 5 4 1、及びスキーム 2 に記載されたのと類似の方法、例えば、以下に述べるスキーム 2 のカルボン酸中間体から製造されるカルボキシアミドの LiAlH_4 還元後とそれに続く、塩化 Fmoc などによるアミノ基の保護によって製造することができる。

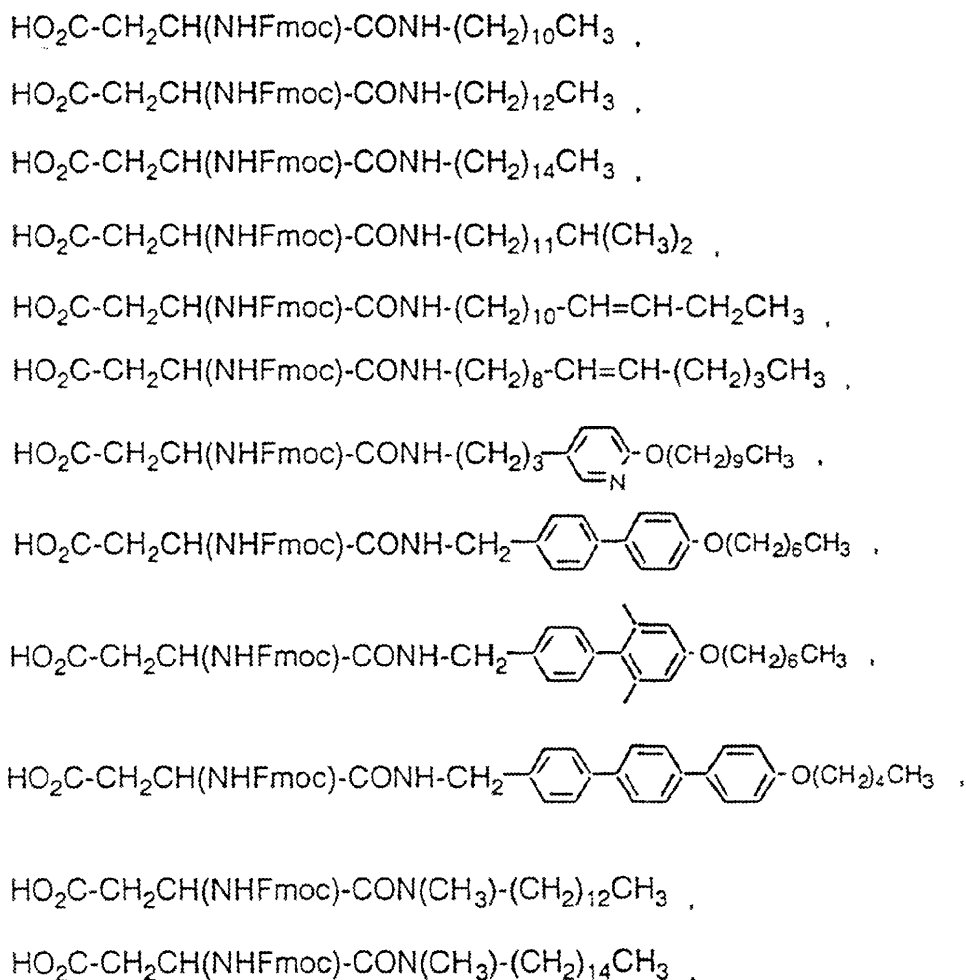
30

【0169】

式 (I V) [式中、Y は、 $-\text{CONH}-$ 又は $-\text{CON}(\text{低級アルキル})-$ であり； R^4 、 R^7 、 R^8 及び X は、上記に定義されたとおりである] の代表的な化合物は、下記のとおりである：

【0170】

【化39】



10

20

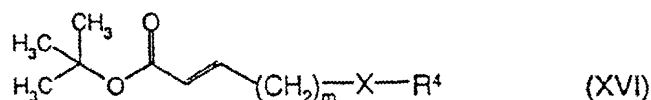
【0171】

式 (I V) [式中、Y は、単結合又は $-\text{CH}_2-$ であり； R^4 、 R^8 及び X は、上記に定義されたとおりである] の出発化合物は、(R) - (+) - N - ベンジル - 1 - フェニル
エチルアミンから式 (X V I) :

30

【0172】

【化40】



【0173】

[式中、 R^4 、X 及び m は、上記に定義されたとおりである]

40

で示される化合物への、LDA のような強塩基の存在下でのマイケル付加 [Tetrahedron Asymmetry, 2 (3), 183 (1991) を参照されたい] とそれに続く、(i) 接触水素化による N - 脱ベンジル、(ii) 得られた第一級アミンの塩化 Fmoc などによる保護、及び (iii) tert - ブチル基の除去によって製造することができる。

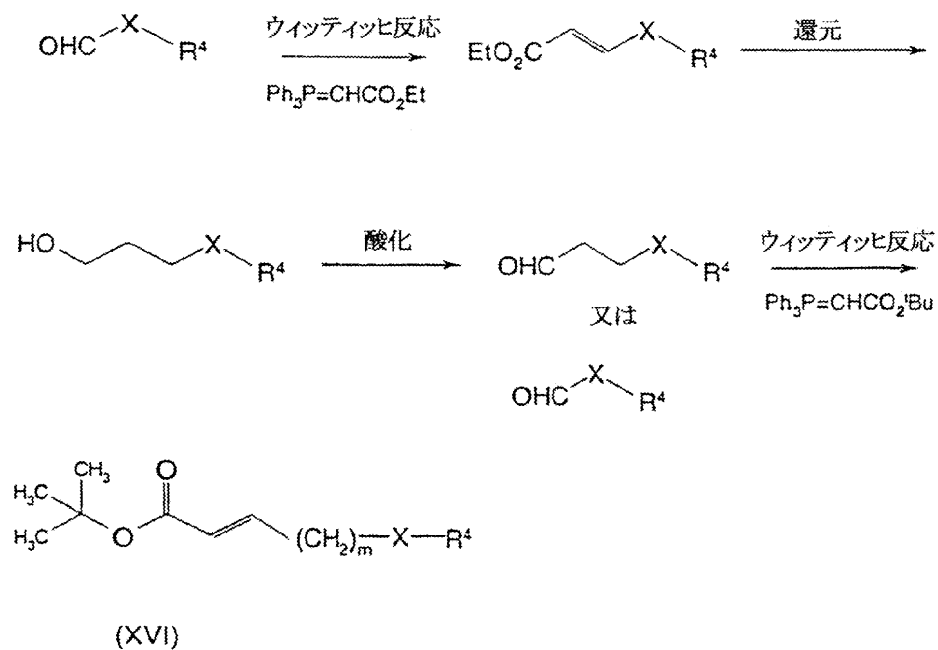
【0174】

式 (X V I) の出発化合物は、下記のスキーム 2 に概要を示した方法によって製造することができる。

【0175】

【化41】

50



スキーム 2

【0176】

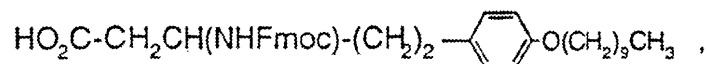
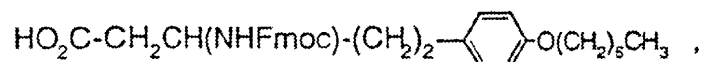
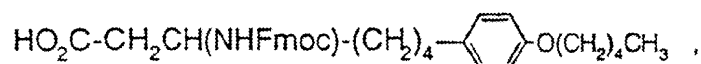
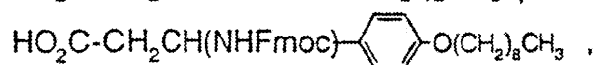
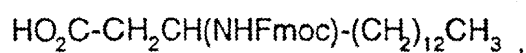
mが4である式(XVI)の化合物は、スキーム2の工程1～3を反復してからの、最後のウィットティツヒ反応によって製造することができる。

【0177】

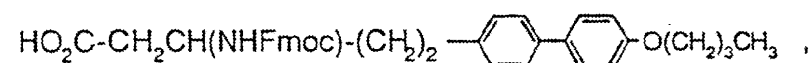
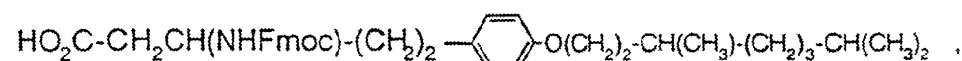
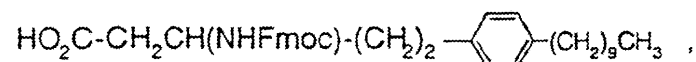
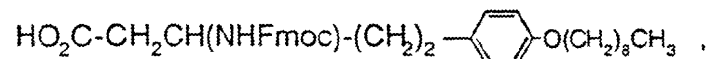
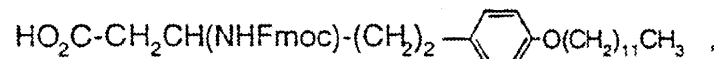
式(IV)〔式中、Yは、単結合又は $-\text{CH}_2-$ であり； R^4 、 R^7 及びXは、上記に定義されたとおりである〕の代表的な化合物は、下記のとおりである：

【0178】

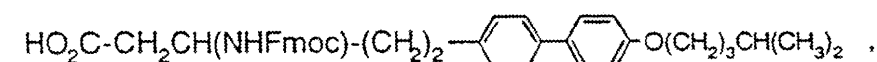
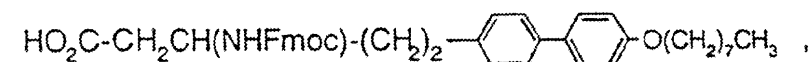
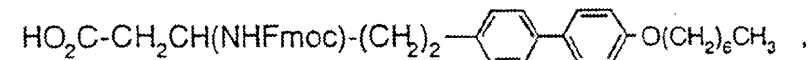
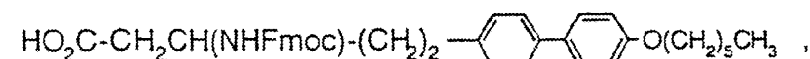
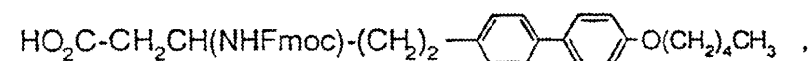
【化42】



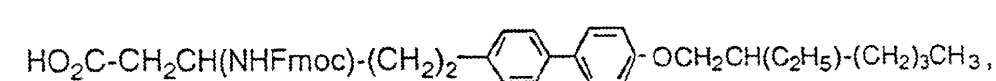
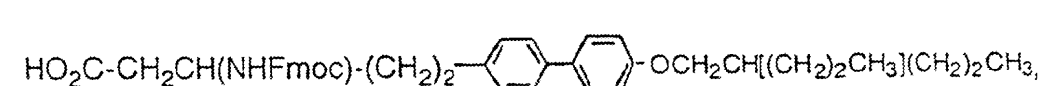
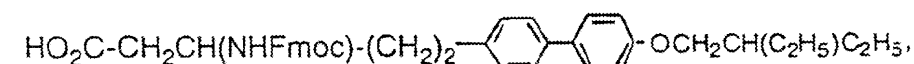
10



20



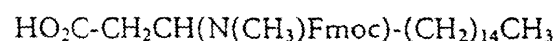
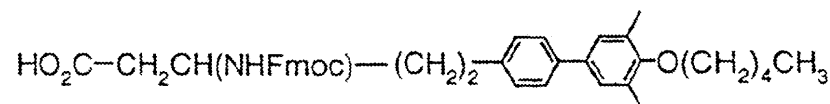
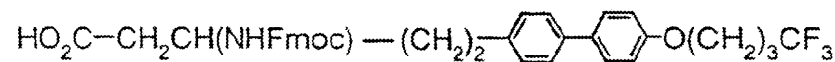
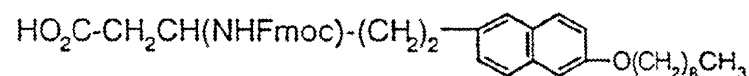
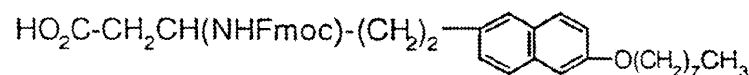
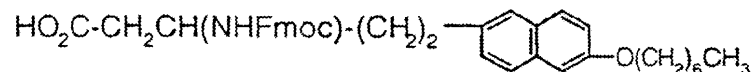
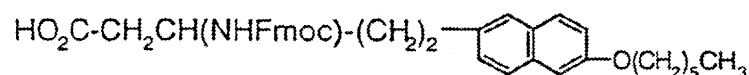
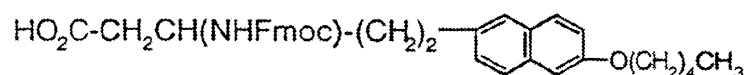
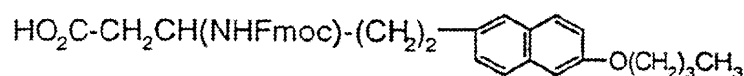
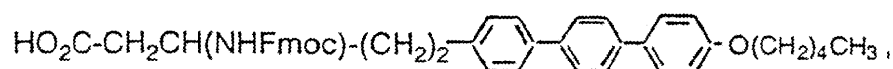
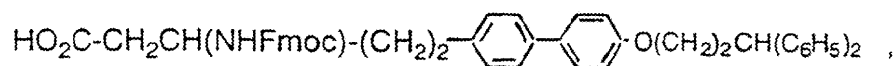
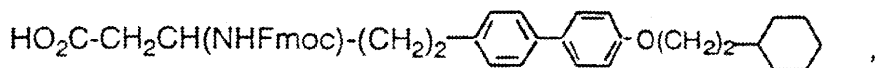
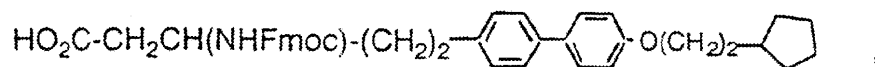
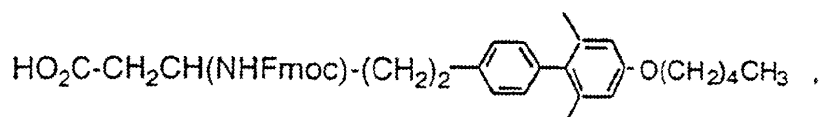
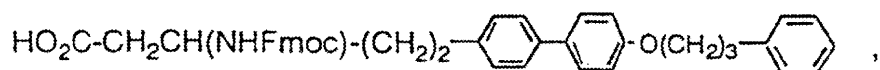
30



40

【 0 1 7 9 】

【 化 4 3 】



【0180】

最初のペプチド結合の形成反応はもとより、得られる線状ペプチドの環化も、ペプチド化学の当業者に公知の方法によって実施することができる〔The Practice of Peptide Synthesis, M. Bodansky and A. Bodansky / 2nd ed., 1994 (Springer-Verlag) を参照されたい〕。好ましい縮合剤は、BOP-HOBt、PyBOP (登録商標)-HOBt、PyBroP (登録商標)-HOBt などである〔カップリング剤：商業的に入手できる (The Combinatorial Chemistry Catalog, Feb., 1997; Novabiochem. を参照されたい) 〕。

【0181】

反応は、メタノール、エタノール、ピリジン、N, N-ジメチルホルムアミド、N-メチルピロリドンなどのような溶媒中で、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、ピリジンなどのような塩基の存在又は不在下で、 $-20 \sim +50^{\circ}\text{C}$ の温度、好ましくは $0 \sim +25^{\circ}\text{C}$ で実施することができる。

【0182】

方法C

式(I)のアエロトリシンのニトロ化は、当業者に公知の方法によって；代表的には、亜硝酸ナトリウム／酢酸、テトラニトロメタン／ピリジンなどによって実施することができる。

【0183】

10

反応は、 $-20 \sim 0^{\circ}\text{C}$ の温度、好ましくは 0°C で実施することができる。

【0184】

方法D

ニトロ基の還元は、当業者に公知の方法によって；代表的には、パラジウム-C、酸化白金などのような触媒を用いた、接触水素化によって実施することができる。

【0185】

反応は、メタノール、エタノール、酢酸などの溶媒中で、室温で実施することができる。

【0186】

方法E及びI

式(I)の R^1 又は R^3 中に存在するアミノ基のN-アシル化は、当業者に公知の方法によって、酸無水物若しくは塩化カルバモイルによるか、又はジシクロヘキシルカルボジイミド、BOP、HBTU、TNTU、PyBroP（登録商標）、PyBOP（登録商標）、TBTU、TSTU、HOBTなどのような縮合剤を用いて、カルボン酸によるか、或いはこれらの二つの組合せにより、実施することができる。

20

【0187】

反応は、メタノール、エタノール、ピリジン、N, N-ジメチルホルムアミド、N-メチルピロリドンなどのような溶媒中で、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、ピリジンなどのような塩基の存在又は不在下で、 $-20 \sim +50^{\circ}\text{C}$ の温度、好ましくは $0 \sim +25^{\circ}\text{C}$ で実施することができる。

【0188】

30

アミノ保護基の除去は、縮合反応にN-保護アミノ酸を用いたときは、当業者に公知の方法によって、例えば、Boc基に対するトリフルオロ酢酸、又はFmoc基に対するピペリジンによる処理によって実施することができる。

【0189】

方法F

式(I)の R^1 中に存在するアミノ基のN-モノアルキル化は、Organic Synthesis col. Vol. III, p. 93に記載の方法に従って、アクリロニトリル、エトキシメチレンマロノニトリル又は(1-エトキシエチリデン)マロノニトリルを用い、次いで、得られたニトリル基の接触水素化による還元、又はホウ水素化ナトリウム／塩化コバルト、ボラン-硫化メチル錯体などによる還元によって実施することができる〔J. Med. Chem., 37, 222 (1994)を参照されたい〕。

40

【0190】

方法G

式(I)の R^1 中に存在する第一級又は第二級アミノ基のN-アルキル化は、酢酸のような弱酸の存在又は不在下で、シアノホウ水素化ナトリウムのような還元剤を用いた、式(V)のアルデヒド誘導体による慣用の還元的アルキル化によって実施することができる。

【0191】

反応は、メタノール、エタノール、酢酸などのような溶媒中で、室温で実施することができる。

【0192】

50

方法H

置換反応のための式 (V I) の化合物 ($R^{12} - Q$) の例は、2-ブロモ-5-ニトロピリジン、2-クロロピリミジン、クロロピラジンなどである。

【0193】

置換反応は、アセトニトリル、N, N-ジメチルホルムアミドのような溶媒中で、炭酸カリウム、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミンなどのような酸捕獲剤の存在又は不在下で、 $-20 \sim +50^{\circ}\text{C}$ 、好ましくは $0 \sim +25^{\circ}\text{C}$ の間の温度で実施することができる。

【0194】

方法J

式 (I) の R^1 中に存在するアミノ基の最初のモノ-N-アルキル化は、方法Fに記載した方法によって、実施することができる。続くN-アシル化は、方法E及びIに記載した方法によって実施することができる。

【0195】

方法K

式 (I) の R^1 中に存在するアミノ基のグアニジノ基への変換は、3, 5-ジメチル-1H-ピラゾール-1-カルボキサミジン、ホルムアミジンスルホン酸、ベンゾトリアゾール-1-カルボキサミジニウム＝トシラートなどのような、活性化されたアミジン誘導体によって実施することができる。

【0196】

反応は、メタノール、エタノール、水、N, N-ジメチルホルムアミドなどのような溶媒中で、 $0 \sim 50^{\circ}\text{C}$ の間の温度、好ましくは $20 \sim 30^{\circ}\text{C}$ で実施することができる。

【0197】

方法L

式 (I) 中のチロシン残基のヒドロキシル基のO-アルキル化は、当業者に公知の方法によって、炭酸ナトリウム、ジイソプロピルエチルアミンなどのような酸捕獲剤の存在下で実施することができる [Can. J. Chem., 36, 1521 (1958)]。

【0198】

反応は、メタノール、エタノール、アセトン、N, N-ジメチルホルムアミドなどのような溶媒中で、 $0 \sim +50^{\circ}\text{C}$ の間の温度、好ましくは $0 \sim +25^{\circ}\text{C}$ で実施することができる。

【0199】

方法M

チロシン残基中のフェノール基のオルト位でのヨウ素化は、メタノール、エタノールなどのような溶媒中で、室温での、一塩化ヨウ素又はヨウ化ナトリウム／水性次亜塩素酸ナトリウムによる、 R^2 が水素である式 (I) のアエロトリシンの処理によって実施することができる。

【0200】

一酸化炭素、アクリル酸メチルなどとのパラジウム (0) 触媒カップリング反応は、Pd (OAc)₂、Pd (OAc)₂ (dppp)₂ のようなパラジウム (0) 触媒を用いて、メタノール、エタノール、N, N-ジメチルホルムアミド、アセトニトリルなどのような溶媒中で、トリエチルアミンのような塩基の存在下、 $20 \sim +100^{\circ}\text{C}$ の間の温度、好ましくは $20 \sim +70^{\circ}\text{C}$ で実施することができる [Bioorg. Med. Chem. Lett., 7 (22), 2879 (1997)]。

【0201】

方法N

式 (I) のカルバモイル基 (R^5) の脱水は、バージェス試薬 [Aldrichから入手可能]、塩化シアヌル、塩化オキサリルなどによって実施することができる [J. Med. Chem., 37, 222 (1994)]。

10

20

30

40

50

【0202】

反応は、N，N－ジメチルホルムアミド、N－メチルピロリドンなどのような溶媒中で、室温で実施することができる。

【0203】

方法O

式（I）のカルバモイル基又はシアノ基（R⁵）の還元は、ホウ水素化ナトリウム／塩化コバルト、ボラン－硫化メチル錯体などによる還元によって実施することができる〔J. Med. Chem., 37, 222（1994）を参照されたい〕。

【0204】

反応は、メタノール、エタノールなどのような溶媒中で、室温で実施することができる。 10

【0205】

方法P

式（I）のチロシン残基のヒドロキシスルホン化は、N，N－ジメチルホルムアミド、N－メチルピロリドン、1，4－ジオキサン、テトラヒドロフランなどのような溶媒中、－30～＋70℃の間の温度、好ましくは室温で、三酸化硫黄－DMF錯体、三酸化硫黄－ピリジン錯体又は三酸化硫黄－トリエチルアミン錯体によって実施することができる〔J. Chem. Soc. Perkin Trans., (6) 1739（1990）を参照されたい〕。

【0206】

方法Q

この方法に関与する反応は、方法B～Oに記載されたのと類似の方法によって実施することができる。 20

【0207】

出発材料、すなわち式（IX）の線状ペプチドは、不完全菌類に属する微生物を、好気的条件下、水性又は固体培地で培養し、培養体から式（IX）の線状ペプチドを単離することによって得ることができる。

【0208】

本発明に用いられる微生物は、式（IX）の線状ペプチドを生産できる、不完全菌類に属する、突然変異株及び変異株を包含する、いかなる菌株であることもできる。特に好ましいのは、鹿児島県で採集された落葉から単離され、不完全菌類に属する菌株として同定された、NR7379株である。 30

【0209】

不完全菌類NR7379と呼ばれる菌株は、ブダペスト条約の下、下記：不完全菌類NR7379株（FERM第BP－6391号）のとおり、1998年6月16日に工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されている。

【0210】

本発明が提供する方法による培養は、培養しようとする微生物によって利用され得る、慣用の栄養素を含有する培地で実施することができる。炭素源としては、例えば、グルコース、ショ糖、澱粉、グリセリン、糖蜜、デキストリン、及びそれらの混合物を挙げることができる。窒素源は、例えば、大豆ミール、綿実ミール、肉エキス、ペプトン、乾燥酵母、酵母エキス、コーンステープリカー、硫酸アンモニウム、硝酸ナトリウム、及びそれらの混合物である。その上、微生物の増殖を促進し、式（IX）の線状ペプチドの生産を増強するために、その他の有機又は無機物質を培地に加えてもよい。そのような物質の例は、無機塩類、例えば炭酸カルシウム、塩化ナトリウム、リン酸塩などである。 40

【0211】

培養は、好気的条件下、好ましくは液体培地で液内発酵によってか、又は固体培地で静的発酵によって実施する。20～30℃の温度（最適温度27℃）が、培養に適する。培養は、好ましくは、3～9のpHで実施する。培養時間は、培養を実施する条件に依存する。一般的には、120～672時間培養を実施するのが充分である。

【0212】

式 (IX) の目的の線状ペプチドを培養体から採集するには、微生物が生産した代謝物をその培養体から単離するのに常用される、分離方法を適正に用いることができる。例えば、式 (IX) の線状ペプチドは、メタノール抽出できる両性物質であって、好都合には、下記の手順で回収する。

【0213】

すなわち、液体発酵によって得られた培養ブrossを、適切な溶媒で抽出して、企図された産物を回収する。目的の化合物を培養されたブrossから抽出するのに用い得る溶媒は、水溶性有機溶媒、又は水溶性有機溶媒の水溶液、例えばメタノール、エタノール、水性アルコール、 n -BuOHのような水混和性有機溶媒を包含する。

【0214】

得られた抽出物から塩類、水溶性物質等々を除去するには、水と水混和性有機溶媒、例えば n -ブタノール、酢酸エチル等々との間の溶媒分配を用いるのが好都合である。抽出物から着色物質、脂溶性物質などを除去するには、メタノール、エタノール、アセトニトリル-0.1%水性トリフルオロ酢酸の混合物等々による溶媒精製を実施するのが好都合である。

【0215】

式 (IX) の線状ペプチドを完全に精製するには、カラムクロマトグラフィーを用いるのが好都合である。そのようなカラムクロマトグラフィーに用い得る担体は、Capcell Pak C18 UG80 (資生堂株式会社) のようなものである。溶離液としては、水性トリフルオロ酢酸と、メタノール、エタノール、アセトニトリル等々のような、適切な水溶性有機溶媒との混合物よりなる溶媒系を用いる。こうして精製された溶出液画分は、式 (IX) の線状ペプチドを含有していて、濃縮又は凍結乾燥に付して、式 (IX) の線状ペプチドを微粉化する。

【0216】

式 (IX) の線状ペプチドは、トリフルオロ酢酸塩として単離したが、式 (IX) の遊離線状ペプチドは、下記の手順によって製造することができる。すなわち、式 (IX) の線状ペプチドのトリフルオロ酢酸塩を、水に溶解し、これに、1当量の水酸化ナトリウムを加え、混合物を、セファデックス LH-20 のカラムクロマトグラフィーに付した後、水性アルコール、例えばメタノール-水等々で溶出させて、それによって、式 (IX) の線状ペプチドを得る。

【0217】

本発明が提供する式 (IX) の線状ペプチドは、様々な真菌に対してはいかなる殺真菌活性も示さないが、アエロトリシンのような強力な抗真菌剤を製造するための重要な中間体となることができる。

【0218】

本発明は、アエロトリシンの酸付加塩にも関する。該酸付加塩は、単離の正常な過程の後に、トリフルオロ酢酸塩として得ることができる。こうして得られた塩は、水に溶解し、望みの陰イオンを有する陰イオン交換カラムを通過させてよい。望みの塩を含有する溶出液は、濃縮して、塩を固体生成物として回収してよい。

【0219】

式 (I) のアエロトリシンは、第三級窒素原子の存在の力で、対応する塩へと変換してよい。

【0220】

式 (I) のアエロトリシンの酸付加塩は、少なくとも化学量論量の適切な酸、例えば、鉱酸、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸など、及び有機酸、例えば酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、ケイ皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、 p -トルエンスルホン酸、サリチル酸などによる、アエロトリシンの遊離塩基の処理によって得ることができる。代表的には、遊離塩基は、エタノール、メタノールなどのような不活性有機溶媒に溶解し、類似の溶媒中で酸付加する。温度は

10

20

30

40

50

、約40℃に保つ。得られた塩は、自発的に沈澱するか、又はより低い極性の溶媒で溶液にさせてよい。

【0221】

式(I)のアエロトリシンの酸付加塩は、少なくとも化学量論量の、水酸化ナトリウム又はカリウム、炭酸カリウム、重炭酸ナトリウム、アンモニアなどのような適切な塩基で処理することによって、対応する遊離塩基に変換してよい。

【0222】

本発明が提供するアエロトリシンは、様々な真菌に対して幅広い殺真菌活性を示し、真菌感染症の治療及び予防のための薬剤として用いることができる。式(I)の代表的なアエロトリシンの *in vitro* 及び *in vivo* 抗真菌活性(表2及び3を参照されたい)、並びに肝細胞に対する毒性を、下記に示す:

10

【0223】

1. *in vitro* 抗真菌活性

本研究の代表的なアエロトリシンの *in vitro* 抗真菌活性を、50%阻害濃度(IC_{50})を決定することによって評価したが、これは、分光測光によって、真菌の増殖を薬物を含まない対照の増殖と比較して、20%の濁度まで阻害するための抗真菌剤の最低濃度として算出した。

【0224】

IC_{50} 値は、下記の僅かな変更を加えたNCCLS認可規格(臨床的研究室規格のための米国国家委員会(1997)、酵母に対するブロス希釈抗真菌剤感受性試験のための基準方法、認可規格、文書第M27-A号)に基づき、ブロス微量希釈手順によって決定した。1%グルコース及び0.25% K_2HPO_4 を補強したYeast Nitrogen Base(YNB; Difco Lab.)を、酵母用試験培地として用い、0.2%低融点アガロース(BRL)で固化した同じ培地を、糸状真菌に用いた。接種量は、 $1 \sim 3 \times 10^4$ 細胞/mlであり、インキュベーションは、35℃で1~2日間実施した。

20

【0225】

【表7】

表2: In vitro抗真菌活性、(IC50 μ g/ml)

	Candida albicans CY1002	Aspergillus fumigatus CF1003	Fusarium solani CF1088	
アエロトリシン 1	0.03	0.06	0.21	
アエロトリシン 5	0.03	0.07	0.19	
アエロトリシン 12	0.09	0.10	2.20	
アエロトリシン 31	0.07	0.49	0.70	10
アエロトリシン 36	0.08	0.05	1.00	
アエロトリシン 39	0.09	0.17	0.70	
アエロトリシン 41	0.08	0.03	2.40	
アエロトリシン 43	0.05	0.04	0.70	
アエロトリシン 45	0.07	0.08	2.30	
アエロトリシン 46	0.09	0.08	1.80	
アエロトリシン 47	0.09	0.11	1.40	
アエロトリシン 53	0.11	0.09	2.30	
アエロトリシン 54	0.15	0.17	0.74	20
アエロトリシン 55	0.04	0.04	0.39	
アエロトリシン 57	0.14	0.05	1.30	
アエロトリシン 75	0.15	0.10	1.40	
アエロトリシン 77	0.13	0.10	0.67	
アエロトリシン 95	0.14	0.10	0.74	

【0226】

2. In vivo抗真菌有効性

本発明のアエロトリシンのin vivo抗真菌有効性を、下記の表3に示す。慣用の免疫適格マウス系統であるCrj:CD-1(ICR)系マウスを、全身性カンジダ症の実験的感染モデルに用いた。4週齢のCrj:CD-1(ICR)系マウスを、1個体あたり分生子 5×10^6 個のカンジダ・アルビカンズCandida albicansを尾静脈から注射することによって全身性カンジダ症に用いた。投与は、第1日に2回(感染後0、4時間)、その後2日間は毎日1回静脈内に(i.v.)実施して、全身性カンジダ症を発症させた(b.i.d. $\times$ 1日、その後q.d. $\times$ 2日)。14日目の各用量での生存数から、50%有効用量(ED₅₀)値を算出した。

【0227】

【表8】

30

40

表3: マウスの全身性カンジダ症に対するin vivo抗真菌活性
14日目でのED50(mg/kg)

Aerothricin 5	0.3
Aerothricin 16	0.3
Aerothricin 18	0.6
Aerothricin 36	0.6
Aerothricin 41	0.3
Aerothricin 42	0.6
Aerothricin 45	0.3
Aerothricin 46	0.4
Aerothricin 50	<0.3
Aerothricin 55	<0.3
Aerothricin 65	0.6

10

【0228】

3. in vitro肝毒性試験

20

マウス肝細胞を、コラゲナーゼ消化によって単離し、微量試験プレートで培養した。肝細胞の単細胞層を、培養系内で試験アエロトリシンと1日間接触させた。培養期間の後、肝細胞を顕微鏡下で観察し、形態学的に評価した。試験アエロトリシンによる肝細胞の形態学的変化（変性）の程度を、WF11243及びLY303366と比較した。

【0229】

【表9】

表4: 肝細胞に対する細胞毒性(μg/ml)

アエロトリシン 14	>100
アエロトリシン 15	>100
アエロトリシン 21	>100
アエロトリシン 34	>100
アエロトリシン 38	>100
アエロトリシン 45	>100
アエロトリシン 47	>100
アエロトリシン 48	>100
アエロトリシン 53	>100
アエロトリシン 65	>100
アエロトリシン 67	>100
アエロトリシン 72	>100
アエロトリシン 81	>100
WF11243 (= アエロトリシン 3)	100
LY303366	10

30

40

【0230】

5mg/kg及び30mg/kgのアエロトリシン1の、マウスに対する4週間の投与は

50

、急性毒性を全く示さなかった。

【0231】

上記により、式(I)の新規アエロトリシンはもとより、薬学的に許容され得るその塩も、マウスにおいて、アスペルギルス症を包含する様々な真菌感染に対して強力な抗真菌活性を、広範囲の用量にわたって示し、抗真菌剤として有用である。その上、本発明が提供するアエロトリシンは、肝細胞に対し、公知の環状ペプチド誘導体(WF11243及びLY303366)よりはるかに弱い細胞毒性を示す。

【0232】

本発明のアエロトリシンは、免疫低下の患者におけるニューモシスティス・カリニPneumocystis cariniiの感染を阻害又は緩和するのにも有用である。

10

【0233】

本発明は、更に、式(I)の新規アエロトリシン、及び薬学的に許容され得るその塩を含有する医薬組成物に関する。

【0234】

式(I)の新規アエロトリシン、及び薬学的に許容され得るその塩は、極めて活性な抗真菌剤である。それらは、Candida spp. , Aspergillus spp. , Fusarium spp. , Mucor spp. 及びAbsidia spp. を包含する、様々な真菌種に対して活性を有する。

【0235】

したがって、本発明のアエロトリシンは、動物はもとより、ヒトの真菌症の局所的及び全身的治療に役立つ。例えば、それらは、Candida spp. , Trichophyton spp. 及びMicrosporum spp. によって生じる局所性及び粘膜性真菌感染を治療するのに役立つ。例えば Candida spp. , Aspergillus spp. , 又はFusarium spp. によって生じる全身性真菌感染の治療にも用いてよい。

20

【0236】

臨床的用途には、式(I)の新規アエロトリシン及び薬学的に許容され得るその塩は、単独で投与することができるが、一般的には、特定の用途、及び望みの目的に適切であるように、賦形剤、結合剤、潤滑剤、崩壊剤、コーティング材料、乳化剤、懸濁化剤、溶剤、安定剤、吸収強化剤及び／又は軟膏基剤を混合することによって配合された、医薬混合物として投与される。該混合物は、経口、注射用、経鼻、経直腸又は局所投与に用いることができる。

30

【0237】

経口投与のためのアエロトリシンの医薬配合物は、顆粒、錠剤、糖衣錠、カプセル剤、丸剤、懸濁剤又はエマルジョンであってよい。例えば静脈内、筋内、又は皮下の、非経口注射のためには、式(I)のアエロトリシンを、溶液を等張にするためのその他の物質、例えば塩類又はグルコースを含有してよい、無菌水溶液の形態で用いてよい。これらの組成物は、好ましくは防腐剤を加えた、アンプルでの単位剤型、又は複数投与量容器中に存在してもよい。これに代えて、活性成分は、投与の前に適切な担体で再構成するための粉末形態であってもよい。アエロトリシンは、坐薬又はベッサリーの形態で投与することもでき、又はローション剤、液剤、クリーム剤、軟膏剤又はダスティングパウダーの形態で、局所的に適用してもよい。

40

【0238】

式(I)のアエロトリシンの1日当たりの投与量は、経口又は非経口いずれかの経路によって投与するときは、0.1~50mg/kg(分割用量として)である。したがって、アエロトリシンの錠剤又はカプセル剤は、適切である限りで、一時に1回、又は2回若しくはそれ以上の投与のために、活性化化合物5mg~0.5gを含有することを期待することができる。いずれにしても、実際の投与量は、医師が決定することができ、個々の患者の年齢、体重及び応答に応じて変化し得る。

【0239】

50

アエロトリシンが抗真菌剤として使用されるときは、いかなる投与方法を用いてもよい。真菌感染の治療には、経口又は静脈内投与を用いるのを常とする。

【0240】

ニューモシスティス感染の制御にアエロトリシンを用いようとするときは、肺及び気管支に直接投与するのが望ましい。そのためには、吸入法が好適である。吸入又は経鼻での投与には、本発明のアエロトリシンを、好都合には、加圧パック又はネブライザーからのエアゾルスプレーの形態で送達する。吸入又は経鼻の好適な送達系は、計量された用量の吸入エアゾルであって、適切な噴射剤、例えばフルオロカーボン又は炭化水素中の、式(I)の化合物の粉末、懸濁液又は溶液として配合してよい。

【0241】

本発明のアエロトリシンは、錠剤、カプセル剤、局所用組成物、吸入用粉末、坐剤などとして用いてよいが、本発明のアエロトリシンの水及び水性媒体中の溶解度のため、注射用配合物、及びエアゾルスプレーに適した液体組成物での用途に適合している。

【0242】

下記の実施例は、本発明のアエロトリシンの好適な製造法を例示するが、本発明の対象範囲をそれらに限定するものではない。

【0243】

下記の実施例中、生成物は、下記に列挙したものから選ばれる逆相カラムを用いたHPLCによって、分析かつ精製した。混合溶媒は、各実施例に記載された適切な比率での、0.05%トリフルオロ酢酸-水：0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリルで構成した。

【0244】

HPLCカラム：

カラムA：CAPCELL PAK C18, UG-120、4.6×250mm

カラムB：CAPCELL PAK C18, UG-120、10×250mm

カラムC：CAPCELL PAK C18, UG-80、20×250mm

カラムD：CAPCELL PAK C18, SG-120、4.6×250mm

カラムE：CAPCELL PAK C18, SG-120、10×250mm

カラムF：TSK GEL ODS-80Ts、20×250mm

【0245】

次の実施例においてアエロトリシンは、他に指示がない限りトリフルオロ酢酸塩として得た。

【0246】

参考実施例1

(R)-3-(9-フルオレニルメトキシカルボニルアミノ)-5-(4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル)-ペンタン酸の調製

【0247】

a) 4-ブロモ-4'-ヘプチルオキシビフェニルの調製

【0248】

DMF (100ml) 中の4-ブロモ-4'-ヒドロキシビフェニル (5.05g、20.2mmol) の攪拌した溶液に、 K_2CO_3 (4.20g、30.4mmol) および1-プロモヘプタン (4.14ml、26.4mmol) を添加し、その後混合物を80℃に加熱した。80℃で20時間攪拌した後、混合物を室温に冷却した。混合物をEt₂O (250ml) で希釈し、その後溶液を飽和ブライン (150ml) で2回洗浄した。有機層を無水Na₂SO₄で乾燥して、真空下で濃縮した。CH₂Cl₂-石油エーテルから残渣を再結晶化して、4-ブロモ-4'-ヘプチルオキシビフェニル (6.21g、88%) を白色固体として与えた；FAB-MS：m/z 347 [MH⁺]。

【0249】

b) 4-ホルミル-4'-ヘプチルオキシビフェニルの調製

THF (120ml) 中の4-ブロモ-4'-ヘプチルオキシビフェニル (6.21g、

17.9 mmol) の低温 (0 °C) の攪拌した溶液に、 $n\text{-BuLi}$ (ヘキサン中の 1.66 M 溶液を 32.3 ml、53.6 mmol) を添加した。混合物を 0 °C で 20 分間攪拌した後、DMF (4.85 ml、62.6 mmol) を -78 °C で添加した。混合物を -78 °C でさらに 20 分間攪拌し、その後飽和水性 NH_4Cl で反応停止させた。混合物を EtOAc (220 ml) で希釈し、その後飽和水性 NH_4Cl (125 ml) および飽和ブライン (100 ml) で順次洗浄した。有機相を無水 Na_2SO_4 で乾燥して、真空下で濃縮した。残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー (EtOAc/ヘキサン、1:20) で精製して、4-ホルミル-4'-ヘプチルオキシビフェニル (2.21 g、42%) を白色非晶質粉末として得た。

【0250】

10

c) 3-(4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル) アクリル酸エチルエステルの調製

ベンゼン (40 ml) 中の 4-ホルミル-4'-ヘプチルオキシビフェニル (2.21 g、7.46 mmol) の攪拌した溶液に、 $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOOEt}$ (5.19 g、14.9 mmol) を添加し、その後混合物を 60 °C に加熱した。60 °C で 3 時間攪拌した後、混合物を室温に冷却して真空下で濃縮した。残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー (CH_2Cl_2 /ヘキサン、1:2) で精製して、3-(4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル) アクリル酸エチルエステル (2.66 g、97%) を白色非晶質粉末として得た。

【0251】

20

FAB-MS: m/z 367 [MH^+],

$^1\text{H NMR}$: δ 0.90 (t, $J=6.8\text{ Hz}$, 3H), 1.25-1.55 (m, 8H), 1.35 (t, $J=7.1\text{ Hz}$, 3H), 1.81 (quint, $J=6.6\text{ Hz}$, 2H), 4.00 (t, $J=6.4\text{ Hz}$, 2H), 4.28 (q, $J=7.1\text{ Hz}$, 2H), 6.46 (d, $J=16.0\text{ Hz}$, 1H), 6.94-7.00 (m, 2H), 7.50-7.60 (m, 6H), 7.72 (d, $J=16.0\text{ Hz}$, 1H).

【0252】

d) 3-(4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル) プロピオン酸エチルエステルの調製

30

CH_2Cl_2 (60 ml) 中の 3-(4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル) アクリル酸エチルエステル (2.65 g、7.23 mmol) の攪拌した溶液に、パラジウム-活性炭 (Pd が約 10 重量%、1.07 g) を添加し、その後混合物を水素雰囲気下に置いた。2 時間攪拌した後、混合物をセライトのパッドで濾過し、 CH_2Cl_2 で洗浄した。濾液および洗液を混合して真空下で濃縮し、3-(4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル) プロピオン酸エチルエステル (粗製、2.74 g) を得、さらに精製せずに次の段階で使用した。

【0253】

$^1\text{H NMR}$: δ 0.90 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 3H), 1.25 (t, $J=7.3\text{ Hz}$, 3H), 1.29-1.56 (m, 8H), 1.75-1.86 (m, 2H), 2.65 (t, $J=7.8\text{ Hz}$, 2H), 2.98 (t, $J=7.8\text{ Hz}$, 2H), 3.99 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 2H), 4.14 (q, $J=7.3\text{ Hz}$, 2H), 6.93-6.98 (m, 2H), 7.25 (d, $J=8.6\text{ Hz}$, 2H), 7.43-7.52 (m, 4H).

40

【0254】

e) 3-(4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル) プロパン-1-オール の調製 THF (20 ml) 中の LiAlH_4 (0.47 g、12.4 mmol) の低温 (0 °C) の攪拌した懸濁液に、THF (30 ml) 中の 3-(4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル) プロピオン酸エチルエステル (粗製、2.74 g) の溶液を添加した。室温で 30 分間攪拌した後、混合物を 0 °C の H_2O で反応停止させた。混合物をセライトのパッ

50

ドで濾過して、 CH_2Cl_2 で洗浄した。濾液および洗液を混合して、真空下で濃縮した。残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー（EtOAc／ヘキサン、2：3）で精製して、3-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）プロパン-1-オール（2.27 g、2段階で96%）を白色非晶質粉末として得た。

【0255】

EI-MS： m/z 326 $[\text{M}^+]$,

$^1\text{H NMR}$ ： δ 0.90 (t, $J=6.8\text{ Hz}$, 3H), 1.21-1.55 (m, 8H), 1.81 (quint, $J=6.6\text{ Hz}$, 2H), 1.86-2.00 (m, 2H), 2.75 (t, $J=7.3\text{ Hz}$, 2H), 3.71 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 2H), 3.99 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 2H), 6.92-7.00 (m, 2H), 7.25 (d, $J=7.9\text{ Hz}$, 2H), 7.44-7.55 (m, 4H). 10

【0256】

f) 3-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）プロピオンアルデヒドの調製
 CH_2Cl_2 （60 ml）中の3-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）プロパン-1-オール（2.26 g、6.92 mmol）の低温（0℃）の攪拌した溶液に、分子ふるい4A粉末（5.17 g）およびPCC（5.25 g、24.4 mmol）を添加した。室温で2時間攪拌した後、 Et_2O （20 ml）を混合物に添加した。反応混合物をショートシリカゲルカラムに移して、 CH_2Cl_2 で溶出した。溶出液を真空下で濃縮して、3-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）プロピオンアルデヒド（粗製、2.45 g）を得、さらに精製せずに次の段階で使用した。 20

【0257】

g) 3-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペント-2-エン酸tert-ブチルエステルの調製

ベンゼン（150 ml）中の3-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）プロピオンアルデヒド（粗製、2.45 g）の攪拌した溶液に、 $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOOt-Bu}$ （5.21 g、13.8 mmol）を添加し、その後混合物を60℃に加熱した。60℃で30分間攪拌した後、混合物を室温に冷却して真空下で濃縮した。残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー（EtOAc／ヘキサン、1：30）で精製して、3-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペント-2-エン酸tert-ブチルエステル（1.95 g、2段階で67%）を白色非晶質粉末として与えた。 30

【0258】

EI-MS： m/z 422 $[\text{M}^+]$,

$^1\text{H NMR}$ ： δ 0.90 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 3H), 1.21-1.51 (m, 8H), 1.49 (s, 9H), 1.74-1.87 (m, 2H), 2.47-2.58 (m, 2H), 2.79 (t, $J=7.3\text{ Hz}$, 2H), 3.99 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 2H), 5.81 (d.t., $J=1.5\text{ Hz}$, 15.5 Hz, 1H), 6.87-7.01 (m, 3H), 7.23 (d, $J=7.9\text{ Hz}$, 2H), 7.44-7.53 (m, 4H). 40

【0259】

h) (R)-3-〔ベンジル((R)-1-フェニルエチル)アミノ〕-5-(4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル)ペンタン酸tert-ブチルエステルの調製

THF（40 ml）中の(R)-N-ベンジル-1-フェニルエチルアミン塩酸塩（3.28 g、13.2 mmol）の低温（0℃）の攪拌した懸濁液に、n-BuLi（ヘキサン中の1.61 M溶液を15.0 ml、24.2 mmol）を添加した。混合物を0℃で25分間攪拌した後、THF（30 ml）中の3-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペント-2-エン酸tert-ブチルエステル（1.94 g、4.38 mmol）の溶液を-78℃で添加した。混合物を-78℃でさらに20分間攪拌した後、反応混合物を飽和水性 NH_4Cl で反応停止させて、真空下で濃縮した。残渣を飽和水性 NH_4Cl （200 ml）で希釈し、その後 CH_2Cl_2 （200 ml）で2回抽出した。混 50

合した抽出物を無水 Na_2SO_4 で乾燥して、真空下で濃縮した。残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー（EtOAc／ヘキサン、1：40）で精製して、（R）-3-〔ベンジル（（R）-1-フェニルエチル）アミノ〕-5-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペンタン酸tert-ブチルエステル（2.83g、定量（quant.））を無色油状物として与えた。

【0260】

EI-MS: m/z 633 [M^+],
 $^1\text{H NMR}$: δ 0.91 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 3H), 1.24-1.55 (m, 13H), 1.38 (s, 9H), 1.57-2.04 (m, 6H), 2.52-2.69 (m, 1H), 2.97-3.10 (m, 1H), 3.37-3.49 (m, 1H), 3.55 (ABq, $J=15.0\text{ Hz}$, 1H), 3.85 (ABq, $J=15.0\text{ Hz}$, 1H), 3.88 (q, $J=6.9\text{ Hz}$, 1H), 4.00 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 1H), 6.96 (d, $J=8.6\text{ Hz}$, 2H), 7.16 (d, $J=8.2\text{ Hz}$, 2H), 7.21-7.53 (m, 16H).

【0261】

i) （R）-3-アミノ-5-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペンタン酸tert-ブチルエステルの調製

EtOAc（50ml）中の（R）-3-〔ベンジル（（R）-1-フェニルエチル）アミノ〕-5-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペンタン酸tert-ブチルエステル（2.82g、4.45mmol）の攪拌した溶液に、AcOH（2.5ml）およびPd（OH）₂-炭素（Pd（OH）₂が約20重量%、1.07g）を添加して、その後混合物をH₂雰囲気下に置いた。15時間攪拌した後、混合物をセライトのパッドで濾過して、MeOHで洗浄した。濾液および洗液を混合して真空下で濃縮し、（R）-3-アミノ-5-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペンタン酸tert-ブチルエステル（粗製、3.14g）を得、さらに精製せずに次の段階で使用した。

【0262】

j) （R）-3-（9-フルオレニルメトキシカルボニルアミノ）-5-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペンタン酸tert-ブチルエステルの調製

50%水性1, 4-ジオキサン（40ml）中の（R）-3-アミノ-5-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペンタン酸tert-ブチルエステル（粗製、3.14g）の攪拌した懸濁液に、Na₂CO₃（1.19g、11.2mmol）およびFmocCl（1.28g、4.95mmol）を添加した。1時間攪拌した後、混合物を飽和ブライン（100ml）で希釈して、CH₂Cl₂（100ml）で3回抽出した。混合した抽出物を無水Na₂SO₄で乾燥して真空下で濃縮し、（R）-3-（9-フルオレニルメトキシカルボニルアミノ）-5-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペンタン酸tert-ブチルエステルを得（粗製、3.34g）、さらに精製せずに次の段階で使用した。

【0263】

FAB-MS: m/z 668 [$\text{M}^+ + \text{Li}$],
 $^1\text{H NMR}$: δ 0.81 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 3H), 1.15-1.44 (m, 8H), 1.35 (s, 9H), 1.62-1.93 (m, 4H), 2.29-2.68 (m, 4H), 3.84-4.02 (m, 1H), 3.88 (t, $J=6.6\text{ Hz}$, 2H), 4.13 (t, $J=6.8\text{ Hz}$, 1H), 4.25-4.41 (m, 2H), 5.27 (d, $J=9.2\text{ Hz}$, 1H), 6.85 (d, $J=8.6\text{ Hz}$, 2H), 7.06-7.42 (m, 10H), 7.51 (d, $J=7.3\text{ Hz}$, 2H), 7.66 (d, $J=7.6\text{ Hz}$, 2H).

【0264】

k) （R）-3-（9-フルオレニルメチルオキシカルボニルアミノ）-5-（4'-ヘプチルオキシビフェニル-4-イル）ペンタン酸の調製

CH₂Cl₂ (20 ml) 中の (R) - 3 - (9 - フルオレニルメトキシカルボニル - アミノ) - 5 - (4' - ヘプチルオキシビフェニル - 4 - イル) ペンタン酸 tert - ブチルエステル (粗製、3.34 g) の攪拌した溶液に、TFA (20 ml) を滴下した。室温で1時間攪拌した後、混合物を真空下で濃縮した。残渣をシリカゲルのカラムクロマトグラフィー (MeOH/CH₂Cl₂、1:20) で精製して、(R) - 3 - (9 - フルオレニルメトキシカルボニル - アミノ) - 5 - (4' - ヘプチルオキシビフェニル - 4 - イル) ペンタン酸 (2.07 g、3段階で77%) を白色非晶質粉末として与えた。

【0265】

FAB-MS: m/z 606 [MH⁺],

¹H NMR: δ 0.88 (t, J = 6.6 Hz, 3H), 1.21 - 1.51 (m, 8H), 1.64 - 2.04 (m, 2H), 1.78 (q, J = 6.6 Hz, 2H), 2.27 - 2.78 (m, 4H), 3.91 - 4.07 (m, 1H), 3.96 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 4.20 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 4.34 - 4.56 (m, 2H), 5.09 - 5.28 (m, 1H), 6.92 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.10 - 7.49 (m, 10H), 7.57 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 7.3 Hz, 2H).

【0266】

工程Bで用いられた式 (IV) (式中、Yは単結合または -CH₂-) の出発化合物は、上述のものと同様の方法に従って調製した。

【0267】

参考実施例2

(S) - 3 - (9H - フルオレニルメトキシカルボニル - アミノ) - N - ウンデシルスクシンアミド酸の調製

a) N, N - ジメチルホルムアミド (0.2 ml) 中の、(S) - 2 - (9H - フルオレン - 9 - イルメトキシカルボニル - アミノ) コハク酸 (150 mg、0.36 mmol)、BOP試薬 (162 mg、0.36 mmol)、およびHOBt水和物 (56 mg、0.36 mmol) の溶液に、N, N - ジイソプロピルエチルアミン (64 μl、0.36 mmol) を添加した。室温で30分間攪拌した後、1 - アミノウンデカン (79 μl、0.37 mmol) を添加した。混合物を室温で3時間攪拌した。反応混合物を水で希釈して、Et₂Oで抽出した。混合した抽出物を水で洗浄して、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過、濃縮した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離剤としてn - ヘキサン: 酢酸エチル = 3:1を用いた) による残渣の精製により、(S) - 3 - (9H - フルオレン - 9 - イルメトキシカルボニル - アミノ) - N - ウンデシルスクシンアミド酸 tert - ブチルエステル (169 mg、収率82%) を無色非晶質固体として与えた。

【0268】

FAB-MS (m/z): 565 [MH⁺],

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 0.88 (3H, t, J = 7 Hz), 1.24 (16H, m), 1.45 (11H, m), 2.58 (1H, dd, J₁ = 17 Hz, J₂ = 7 Hz), 2.91 (1H, dd, J₁ = 17 Hz, J₂ = 4 Hz), 3.23 (2H, q, J = 7 Hz), 4.22 (1H, t, J = 7 Hz), 4.42 ~ 4.45 (3H, m), 5.94 (1H, broad d, J = 8 Hz), 6.43 (1H, broad s), 7.31 (2H, t, J = 7 Hz), 7.41 (2H, t, J = 7 Hz), 7.58 (2H, d, J = 7 Hz), 7.77 (2H, d, J = 7 Hz).

【0269】

b) TFA (2 ml) 中の (S) - 3 - (9H - フルオレン - 9 - イルメトキシカルボニル - アミノ) - N - ウンデシルスクシンアミド酸 tert - ブチルエステル (113 mg、0.2 mmol) の溶液を、室温で30分間攪拌した。反応の終了後、TFAを真空下での蒸発により除去した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶離剤としてジクロロメ

10

20

30

40

50

タン：メタノール＝９：１を用いた）による残渣の精製により、（Ｓ）－３－（９Ｈ－フルオレン－９－イルメトキシカルボニルアミノ）－Ｎ－ウンデシルスクシンアミド酸（１０１ｍｇ、収率９９％）を無色非晶質固体として与えた。

【０２７０】

FAB-MS (m/z) : 507 [MH⁺],

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 0.87 (3H, t, J=7Hz), 1.23 (16H, m), 1.46 (2H, m), 2.62~2.80 (1H, m), 2.90~3.05 (1H, m), 3.21 (2H, m), 4.20 (1H, t, J=7Hz), 4.44 (2H, d, J=6Hz), 4.53 (1H, broad s), 5.98 (1H, m), 6.52 (1H, broad s), 7.30 (2H, t, J=7Hz), 7.40 (2H, t, J=7Hz), 7.56 (2H, d, J=7Hz), 7.76 (2H, d, J=7Hz).

【０２７１】

工程Ｂで用いられた一般式（Ⅳ）（式中、Ｙは－CONH－または－CON(CH₃)－）の出発化合物は、上述の方法に従って調製した。

【０２７２】

参考実施例３

N-Boo-アエロトリシン３（化合物Ａ）の調製

MeOH（１５００ｍｌ）中のアエロトリシン３（１０．０ｇ、６．０７ｍｍｏｌ）の溶液に、トリエチルアミン（２．５４ｍｌ、１８．２ｍｍｏｌ）、ジ-tert-ブチルジカルボネート（１３．９ｍｌ、６０．７ｍｍｏｌ）を順次添加した。混合物を室温で１８時間攪拌した後、溶媒を真空下で蒸発させた。残渣をMeOH（約１０ｍｌ）に溶解して、溶液をジエチルエーテル（１５００ｍｌ）に添加した。得られた沈殿を濾過してジエチルエーテルで洗浄し、N-Boo-アエロトリシン３（化合物Ａ、９．９ｇ）を薄黄色非晶質固体として得、さらに精製せずに以下の作業実施例での更なる構造修飾に使用した。

【０２７３】

実施例４

アエロトリシン１、２、および３の調製

a) 固体発酵

１０容量％グリセロール溶液中の不完全菌類 *Deuteromycotina* NR7379 (FERM BP-6391) の凍結した培養液の一部０．１ｍｌを解凍して、２％グルコース、１％パレイショデンプン、１．５％グリセロール、１％焼き大豆粉末 (toasted soya) (Nissin Seiyu)、０．３５％酵母抽出物 (Nippon Seiyaku)、０．２５％ポリペプトン (Nihon Seiyaku)、０．３％NaCl、０．５％CaCO₃、０．００５％ZnSO₄・7H₂O、０．０００５％CuSO₄・5H₂O、および０．０００５％MnSO₄・4H₂Oからなる培地１００ｍｌを含有する５００ｍｌ容三角フラスコに接種した。培地のpHは調整しなかった。種培養液を２２０rpmのロータリーシェーカーにて２７℃で７日間インキュベートした。種培養液２ｍｌを、押麦２００ｇ、酵母抽出物０．１２ｇ (Difco)、酒石酸ナトリウム０．０６ｇ、KH₂PO₄ ０．０６ｇ、および水１２０ｍｌからなる固体培地を含有する３Ｌ容三角フラスコに移した。静的条件下、２７℃で発酵を実施した。発酵の約２４０時間目に生成が最大量に達し、培養液をアエロトリシン１、２、および３の単離手順に供した。

得られた培養固体（１０ｋｇ）にメタノール（４０Ｌ）を添加して、混合物を攪拌した後、濾過による除去でメタノール抽出物（３９Ｌ）を得た。こうして得られたメタノール抽出物を減圧下で濃縮乾固し、残渣（６４．８ｇ）に酢酸エチル（１Ｌ）および水（１Ｌ）を添加した。さらに混合物を攪拌した後、酢酸エチル層を除去した。

その上、水層を同様に酢酸エチル（１Ｌ）で２回洗浄した。残った水層をn-ブタノール（１Ｌ）で３回抽出した。こうして得られた抽出物を混合して減圧下で濃縮乾固し、残渣（２８．５ｇ）をアセトニトリル－０．１％水性トリフルオロ酢酸（１：１）の混合物（

250ml)に溶解した。遠心分離で不溶性物質を除去した後、こうして得られた溶液を減圧下で蒸発乾固して、残渣にメタノール(300ml)を添加し、混合物を攪拌した後、濾過により除去してメタノール溶液(280ml)を得た。こうして得られたメタノール可溶性物質(9.3g)を、その後逆相シリカゲルC18(1L)のカラムクロマトグラフィーに供した。メタノール-0.1%水性トリフルオロ酢酸(2:8、4:6、5:5、6:4、7:3、および8:2)の混合物を用いて、カラムを段階的に溶出した。アエロトリシン1、2、および3をメタノール-0.1%水性トリフルオロ酢酸(7:3)でこの順序に溶出させ、真空下で濃縮乾固して、白色粉末状のアエロトリシン3トリフルオロ酢酸塩(731mg)およびアエロトリシン1トリフルオロ酢酸塩(747mg)をそれぞれ得た。アエロトリシン2を含有する画分を減圧下で濃縮して、以下の条件下のHPLCでさらに精製した：カラム：Capcell Pak C18(内径30×250mm、Shiseido Co., LTD.)；移動相：アセトニトリル-0.1%水性トリフルオロ酢酸(45:55)；流速：40ml/分；検出：UV220nm。上記条件下で得られた適当な溶出液を真空下で濃縮乾固して、白色粉末状のアエロトリシン2のトリフルオロ酢酸塩(42mg)を得た。

【0274】

b) フラスコ発酵

10容量%グリセロール溶液中のDeuteromycotina NR7379(FERM BP-6391)の凍結した培養液の一部2mlを解凍して、1%グルコース、1%えん麦粉、4%トマトペースト、0.5%コーンステープリカー、(Ando Kasei)、0.001% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.001% $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、0.0001% CaCl_2 、0.0002% $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.00002%(NH_4) $6\text{MoO}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、および0.00006% H_3BO_3 からなる培地100mlを含有する500ml容三角フラスコに接種した。滅菌前に培地のpHを6.8に調整した。種培養液を220rpmのロータリーシェーカーにて27℃で3日間インキュベートした。最初の種培養液2mlを、同様の培地100mlを含有する500ml容三角フラスコに移し、ロータリーシェーカーにて同条件下で3日間インキュベートした。第二の種培養液2mlを、8.5%グリセロール、1%カンキツ由来ペクチン、0.4%ピーナツ粉、0.4%ミルクカゼイン(ビタミン不含)、0.4%トマトペースト、0.4%コーンステープリカー(Ando Kasei)、0.2%グリシン、および0.2% KH_2PO_4 からなる培地100mlを含有する500ml容三角フラスコに接種した。滅菌前に培地のpHを7.0に調整した。220rpmで攪拌しながら、27℃で発酵を実施した。10日間培養した後生成が最大量に達し、全ての培養液をアエロトリシン1、2、および3の単離手順に供した。

【0275】

c) ジャー発酵

10容量%グリセロール溶液中のDeuteromycotina NR7379(FERM BP-6391)の凍結した培養液の一部2mlを解凍して、上述のものと同様の種培地100mlを含有する500ml容三角フラスコに接種した。フラスコを27℃で3日間220rpmで振とうした。最初の種培養液2mlを同様の種培地100mlを含有する500ml容三角フラスコに移し、ロータリーシェーカーにて同条件下で3日間インキュベートした。第二の種培養液600mlを、上述のものと同様の生成培地30リットル、および0.4%ディスフォーム(0.4%disfoam)(Nissan Disfoam CA-123)を含有する50リットル容ジャーファーマンタに接種した。30リットル/分での通気および400rpmでの攪拌を行いながら、27℃で発酵を実施した。発酵の約168時間後に生成が最大量に達し、全ての培養液をアエロトリシン1、2、および3の単離工程に供した。

【0276】

アエロトリシン1

1) 外観：

10

20

30

40

50

白色固体

2) 分子量 (FAB-MS法) :

m/z 1547 ($M+H$)⁺

3) 分子式 :

$C_{72}H_{118}N_{14}O_{23}$

4) 高分解能質量分析 ($(M+H)^+$ として) :

実測値 : 1547.8568

計算値 ($C_{72}H_{119}N_{14}O_{23}$ として) : 1547.8572

5) UVスペクトル (図1) : メタノール中 :

λ (ϵ) max (メタノール中) : 225 ± 5 (10600 sh)、 270 ± 5 (2000)、 278 ± 5 (2100)

λ (ϵ) max (N/10NaOH-MeOH中) : 240 ± 5 (7700)、 268 ± 5 (1800)、 298 ± 5 (1800)

6) IRスペクトル (KBr) (図2) :

主な吸収波数 (cm^{-1}) は以下の通り :

3379、2927、2855、1740、1660、1535、1453、1203、1139、837

7) ^1H -NMRスペクトル (図3) :

CD_3OD 中で 400 MHz

8) ^{13}C -NMRスペクトル (図4) :

CD_3OD 中で 100 MHz

9) 溶解度 :

水、メタノール、ジメチルスルホキシドに可溶

10) 呈色反応 :

陽性 : ニンヒドリン、アニスアルデヒド-硫酸、ヨウ素蒸気、バニリン-硫酸、リュードン-スミス試薬 (Rydson-Smith reagent)、モリブドリン酸

陰性 : サカグチ試薬 (Sakaguchi reagent)、プロモクレゾールグリーン、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン-硫酸

11) 薄層クロマトグラフィー (TLC) :

担体	溶媒	Rf
シリカゲル F254*1	n-BuOH: アセトン: AcOH:H ₂ O (4:5:1:1)	0.74
	MeOH:H ₂ O (95:5)	0.12

*1E. Merck AG., Germany

12) 高速液体クロマトグラフィー :

担体 : Capcell Pak C18 gel S120A、 4.6×250 mm (Shiseido, Co., LTD)

移動相 : アセトニトリル : 0.05% 水性トリフルオロ酢酸 = 1 : 1

流速 : 1 ml / 分

Rt = 12.1 ± 0.5

13) アミノ酸分析 :

アエロトリシン 1 を 6 N HCl 中で $120^\circ C$ で 24 時間加熱した後、アミノ酸分析に供して、トレオニン、3 単位のアロトレオニン、グリシン、アラニン、バリン、チロシン、オルニチン、3-ヒドロキシプロリン、4-ヒドロキシプロリン、3-ヒドロキシグルタミンを検出した。

【0277】

アエロトリシン 2

1) 外観 :

白色固体

2) 分子量 (FAB-MS法) :

m/z 1549 ($M+H$)⁺

10

20

30

40

50

3) 分子式:

$C_{71}H_{116}N_{14}O_{24}$

4) 高分解能質量分析 ($(M+H)^+$ として):

実測値: 1549.8384

計算値 ($C_{71}H_{117}N_{14}O_{24}$ として): 1549.8365

5) UVスペクトル (図5): メタノール中:

$\lambda(\epsilon)_{max}$ (MeOH中): 225 ± 5 (10200 sh)、 275 ± 5 (1900)、 278 ± 5 (2000)

$\lambda(\epsilon)_{max}$ (N/10NaOH-MeOH中): 240 ± 5 (7700)、 293 ± 5 (2000)

10

6) IRスペクトル (KBr) (図6):

主な吸収波数 (cm^{-1}) は以下の通り:

3323、2928、2856、1740、1670、1531、1450、1203、1137、837

7) ^1H -NMRスペクトル (図7):

CD_3OD 中で 400 MHz

8) ^{13}C -NMRスペクトル (図8):

CD_3OD 中で 100 MHz

9) 溶解度:

水、メタノール、ジメチルスルホキシドに可溶

20

10) 呈色反応:

陽性: ニンヒドリン、アニスアルデヒド-硫酸、ヨウ素蒸気、バニリン-硫酸、リュードン-スミス試薬、モリブドリン酸

陰性: サカグチ試薬、プロモクレゾールグリーン、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン-硫酸

11) 薄層クロマトグラフィー (TLC):

担体	溶媒	Rf
シリカゲル F254*1	n-BuOH: 75% AcOH: H ₂ O (4:5:1:1)	0.29
	MeOH: H ₂ O (95:5)	0.15

*1 E. Merck AG., Germany

30

12) 高速液体クロマトグラフィー:

担体: Capcell Pak C18 gel S120A、 4.6×250 mm (Shiseido, Co., LTD. 製)

移動相: アセトニトリル: 0.05% 水性トリフルオロ酢酸 = 1:1

流速: 1 ml/分

$R_t = 9.9 \pm 0.5$

13) アミノ酸分析:

アエロトリシン 2 を 6 N HCl 中で 120 °C で 24 時間加熱した後、アミノ酸分析に供して、トレオニン、3 単位のアロトレオニン、グリシン、アラニン、バリン、3-hydroxytyrosine (DOPA)、オルニチン、3-ヒドロキシプロリン、4-ヒドロキシプロリン、3-ヒドロキシグルタミンを検出した。

40

【0278】

アエロトリシン 3

1) 外観:

白色固体

2) 分子量 (FAB-MS 法):

m/z 1533 ($(M+H)^+$)

3) 分子式:

$C_{71}H_{116}N_{14}O_{23}$

4) UVスペクトル: メタノール中:

50

λ (ϵ) m a x (M e O H 中) : 2 2 5 $\pm$ 5 (1 1 0 0 0 s h) 、 2 7 5 $\pm$ 5 (2 0 0 0) 、 2 8 0 $\pm$ 5 (1 9 0 0)

λ (ϵ) m a x (N / 1 0 N a O H - M e O H 中) : 2 4 3 $\pm$ 5 (7 8 0 0) 、 2 9 5 $\pm$ 5 (1 8 0 0)

5) I R スペクトル (K B r) :

主な吸収波数 (c m $^{-1}$) は以下の通り :

3 3 3 4 、 2 9 2 8 、 2 8 5 2 、 1 7 4 2 、 1 6 6 2 、 1 5 2 0 、 1 4 4 9 、 1 2 0 2 、 1 1 3 6 、 8 3 6

6) 溶解度 :

水、メタノール、ジメチルスルホキシドに可溶

10

7) 呈色反応 :

陽性 : ニンヒドリン、アニスアルデヒド-硫酸、ヨウ素蒸気、バニリン-硫酸、リュードン-スミス試薬、モリブドリン酸

陰性 : サカグチ試薬、プロモクレゾールグリーン、2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン-硫酸

8) 薄層クロマトグラフィー (T L C) :

担体	溶媒	Rf
シリカゲル F254*1	n-BuOH: AcOH: H ₂ O (4:5:1:1)	0.26
	MeOH: H ₂ O (95:5)	0.09

*1E. Merck AG., Germany

20

9) 高速液体クロマトグラフィー :

担体 : C a p c e l l P a k C 1 8 g e l S 1 2 0 A 、 4 . 6 $\times$ 2 5 0 m m (S h i s e i d o , C o . , L T D . 製)

移動相 : アセトニトリル : 0 . 0 5 % 水性トリフルオロ酢酸 = 1 : 1

流速 : 1 m l / 分

R t = 9 . 1 $\pm$ 0 . 5

10) アミノ酸分析 :

アエロトリシン 3 を 6 N H C l 中で 1 2 0 $^{\circ}$ C で 2 4 時間加熱した後、アミノ酸分析に供して、トレオニン、3 単位のアロトレオニン、グリシン、アラニン、バリン、チロシン、オルニチン、3-ヒドロキシプロリン、4-ヒドロキシプロリン、3-ヒドロキシグルタミンを検出した。

30

【 0 2 7 9 】

実施例 5

化合物 (I X) の調製

1) フラスコ発酵

10 容量%グリセロール溶液中の *D e u t e r o m y c o t i n a* N R 7 3 7 9 (F E R M B P - 6 3 9 1) の凍結した培養液の一部 2 m l を解凍して、1 % グルコース、1 % えん麦粉、4 % トマトペースト、0 . 5 % コーンステープリカー (A n d o K a s e i) 、 0 . 0 0 1 % F e S O ₄ $\cdot$ 7 H ₂ O 、 0 . 0 0 1 % M n S O ₄ $\cdot$ 4 H ₂ O 、 0 . 0 0 0 1 % C a C l ₂ 、 0 . 0 0 0 2 % Z n S O ₄ $\cdot$ 7 H ₂ O 、 0 . 0 0 0 0 2 % (N H ₄) ₆ M o O ₂ $\cdot$ 4 H ₂ O 、 および 0 . 0 0 0 0 6 % H ₃ B O ₃ からなる培地 1 0 0 m l を含有する 5 0 0 m l 容三角フラスコに接種した。滅菌前に培地の pH を 6 . 8 に調整した。種培養液を 2 2 0 r p m のロータリーシェーカーにて 2 7 $^{\circ}$ C で 4 日間インキュベートした。種培養液 2 m l を、8 . 5 % グリセロール、1 % カンキツ由来ペクチン、2 % ピーナッツ粉、0 . 4 % ミルクカゼイン (ビタミン不含) 、 0 . 4 % トマトペースト、0 . 4 % グリシン、および 0 . 2 % K H ₂ P O ₄ からなる培地 1 0 0 m l を含有する 5 0 0 m l 容三角フラスコに接種した。滅菌前に培地の pH を 7 . 0 に調整した。2 2 0 r p m で攪拌しながら、2 7 $^{\circ}$ C で発酵を実施した。1 4 日間培養した後に生成が最大量に達し、全ての培養液を分離作業に供した。

40

得られた全ての培養ブロス (1 . 9 L) に n - ブタノール (2 L) を添加して、混合物を

50

攪拌した。こうして得られた抽出物を減圧下で濃縮乾固した。さらに、残渣にヘキサン（500ml）およびメタノール（500ml）を添加して、こうして得られた混合物を攪拌した後、ヘキサン層を除去した。減圧下でメタノールを除去した後、こうして得られた残渣をヘキサンおよび酢酸エチル（1：1；200ml）の混合物で2回洗浄して、減圧下で乾燥した。

残渣（3.9g）に水（20ml）を添加して、混合物を攪拌した後遠心分離して水溶液を得た。こうして得られた溶液を、その後逆相シリカゲルC18（200L）のカラムクロマトグラフィーに供した。最初に、カラムを0.1%水性トリフルオロ酢酸で溶出し、その後メタノール-0.1%水性トリフルオロ酢酸（1：9、3：7、5：5、6：4、7：3、および8：2）の混合物を用いて、段階的に溶出した。メタノール-0.1%水性トリフルオロ酢酸の混合物（7：3）で溶出された化合物（IX）を混合して、その溶液を1N水性水酸化ナトリウムで中和した後、真空下で濃縮乾固した。こうして得られた残渣に水（10ml）およびn-ブタノール（10ml）を添加して、混合物を攪拌した。こうして得られた抽出物を減圧下で濃縮して、化合物（IX）（96.9mg）を白色粉末として得た。分光分析法で化合物（IX）を得るためのさらなる精製を、次の条件下でHPLCにより達成した：カラム：Capcell Pak C18 UG80（内径20×250mm、Shiseido co., LTD.）；移動相：0.05%トリフルオロ酢酸／アセトニトリル-0.05%トリフルオロ酢酸／水（38：62）；流速：22.86ml／分；検出：UV210nm。上記条件下で得られた適当な溶出液を真空下で濃縮乾固し、白色粉末状の化合物（IX）のトリフルオロ酢酸塩を得た。

【0280】

c) ジャー発酵

10容量%グリセロール溶液中の *Deuteromycotina* NR7379（FERM BP-6391）の凍結した培養液の一部2mlを解凍して、上述のものと同様の種培地100mlを含有する500ml容三角フラスコに接種した。フラスコを27℃で4日間220rpmで振とうした。最初の種培養液2mlを同様の種培地100mlを含有する500ml容三角フラスコに移し、ロータリーシェーカーにて同条件下で3日間インキュベートした。第二の種培養液600mlを、上述のものと同様の生成培地30リットルおよび0.4%ディスフォーム（Nissan Disfoam CA-123）を含有する50リットル容ジャーファーマンタに接種した。30リットル／分での通気および400rpmでの攪拌を行いながら、27℃で発酵を実施した。発酵の約278時間後に生成が最大量に達し、全ての培養液を化合物（IX）の単離手順に供した。

【0281】

化合物（IX）

1) 外観：

白色固体

2) 分子量（FAB-MS法）：

m/z 1317（M+H）⁺

3) 分子式：

C₅₉H₁₀₄N₁₂O₂₁

4) 高分解能質量分析（（M+H）⁺として）：

実測値：1317.7555

計算値（C₅₉H₁₀₅N₁₂O₂₁として）：1317.7517

5) UVスペクトル：メタノール中：

λ（ε）max（MeOH中）：末端吸収

6) IRスペクトル（KBr）（図9）：

主な吸収波数（cm⁻¹）は以下の通り：

3450、2928、1665、1520、1450、1225、1135

7) ¹H-NMRスペクトル（図10）：

DMSO-d₆ 中で500MHz

10

20

30

40

50

8) ^{13}C -NMRスペクトル (図 11) :

$\text{DMSO}-d_6$ 中で 125MHz

9) 溶解度:

水、メタノール、ジメチルスルホキシドに可溶

10) 呈色反応:

陽性: ニンヒドリン、アニスアルデヒド-硫酸、ヨウ素蒸気、バニリン-硫酸、リュートン-スミス試薬、モリブドリン酸

陰性: サカグチ試薬、ブロモクレゾールグリーン、2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン-硫酸

11) 高速液体クロマトグラフィー:

10

担体: Capcell Pak C18 UG80A、 $4.6 \times 250\text{mm}$ (Shiseido, Co., LTD. 製)

移動相: 0.05% トリフルオロ酢酸/アセトニトリル: 0.05% トリフルオロ酢酸/水 = $38:62$

流速: $1\text{ml}/\text{分}$

$R_t = 7.7 \pm 0.5$

【0282】

実施例 6

化合物 (IX) のオルニチン残基の N -Boc 誘導体 ($N(\text{orn})$ -Boc-IX) (つまり式 (XI): $R^6 = \text{Boc}$) の化合物) の調製

20

ジオキサン- H_2O ($0.43\text{ml} - 0.5\text{ml}$) 中の実施例 5 で得られた化合物 (IX) (10.4mg 、 0.0073mmol) の溶液に、トリエチルアミン ($3\mu\text{l}$) とジオキサン中の t -ブチル N -スクシンイミジルカルボネート ($0.0073\mu\text{l}$ 、 0.0073mmol) の 0.1M 溶液とを室温で添加した。1.5 時間攪拌した後、混合物を酢酸で酸化して減圧下で蒸発させた。HPLC による残渣の精製により、 $N(\text{orn})$ -Boc-IX (4.8mg 、収率 45%) を無色非晶質として得た;

HPLC (R_t) 18.0 分 (カラム: Soken-ODS、 $20 \times 250\text{mm}$ 、流速: $9\text{ml}/\text{分}$ 、溶離剤: $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN} = \text{グラジエント } 1\% \text{ 酢酸}$); FAB-MS [$M + \text{Na}$] $^+$ 1440 。

【0283】

30

実施例 7

化合物 (IX) のバリン残基の N -Boc 誘導体 ($N(\text{val})$ -Boc-IX) (つまり式 (X): $R^7 = \text{Boc}$) の化合物) の調製

MeOH 中 (3ml) の、実施例 5 で得られた化合物 (IX) (15.0mg 、 0.0105mol)、ジ- t -ブチル- γ -カルボネート (0.073M メタノール溶液、 0.20ml 、 0.015mmol)、およびトリエチルアミン ($7.8\mu\text{l}$) の混合物を、 0°C で 24 時間攪拌した。混合物を n -ヘキサンで洗浄して、減圧下で蒸発させた。逆相 HPLC による残渣の精製により、 $N(\text{val})$ -Boc-IX (1.0mg 、収率 6%) を無色非晶質として得た;

HPLC (R_t) 16.0 分 (カラム: Soken-ODS、 $20 \times 250\text{mm}$ 、流速: $9\text{ml}/\text{分}$ 、溶離剤: $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN} = \text{グラジエント } 1\% \text{ 酢酸}$); FAB-MS [$M + \text{H}$] $^+$ 1418 。

40

【0284】

実施例 8

アエロトリシン 33 の調製

DMF (0.5ml) 中の (R)-3-(9-フルオレニルメトキシカルボニルアミノ)-7-(4-ペンチルオキシフェニル)ヘプタン酸 (25.5mg 、 0.048mmol) の攪拌した溶液に、BOP 試薬 (21.3mg 、 0.048mmol)、HOBt 水和物 (7.5mg 、 0.049mmol)、および N,N -ジイソプロピルエチルアミン (0.0095ml 、 0.055mmol) を添加した。混合物を室温で 1 時間攪拌した後

50

、DMF（0.6 ml）中の、化合物B〔WO96/30399に記載の手順に従ってアエロトリシン1または3から調製される式（III）（式中、 R^2 および R^3 は水素であり、 R^5 はカルバモイル基であり、 R^7 はtert-ブトキシカルボニルである）の線状ペプチド〕（50.7 mg、0.036 mmol）およびN,N-ジイソプロピルエチルアミン（0.0095 ml、0.055 mmol）の溶液を、反応混合物に添加した。混合物を室温で2.5時間攪拌した後、ピペリジン（0.20 ml）を添加して、混合物を室温でさらに2時間攪拌した。溶媒を真空下で蒸発させた。残渣を分取逆相HPLC（カラムC、流速：9 ml/分、グラジエント：溶離剤：1% AcOH-H₂O：1% AcOH-CH₃CN=80：20→2：98）により精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、線状ペプチドC（環化の前駆体）（49.5 mg）を白色非晶質固体として得た。 10

DMF（2.7 ml）中の上記綿状ペプチドC（49.5 mg、0.029 mmol）の攪拌した溶液に、HOBt水和物（11.3 mg、0.074 mmol）、N,N-ジイソプロピルエチルアミン（0.018 ml、0.105 mmol）、およびDMF（4 ml）中のBOP試薬（33.1 mg、0.075 mmol）の溶液を添加した。混合物を室温で3時間攪拌した後、溶媒を真空下で蒸発させた。

上述のように得られた残渣をTFA（6 ml）に溶解して、0℃で30分間攪拌した。その後TFAを真空下で蒸発させた。残渣を分取逆相HPLC（詳細な条件は以下に示す）で精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン33（19.4 mg）を白色非晶質固体として得た。 20

HPLC（R_t）12.4分（カラムC、流速：9 ml/分、溶離剤：0.05%トリフルオロ酢酸-水：0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル=61：39）；FAB-MS（m/z）：1568〔MH⁺〕。

以下のアエロトリシン34～38、40～53、64～73、89～95、97～99、および123は、式（IV）で表される対応する構成単位を用いて、この実施例8での記載と同様の方法に従って調製した。

【0285】

【表10】

化合物名	FAB-MS	HPLC	分析条件	
	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速;溶離剤の比*)	
アエロトリシン 34	1568	14.1	(C)(9 ml/min.; 60/40)	10
アエロトリシン 35	1568	13.2	(C)(9 ml/min.; 57/43)	
アエロトリシン 36	1610	21.9	(C)(9 ml/min.; 55/45)	
アエロトリシン 37	1638	44.1	(C)(9 ml/min.; 54/46)	
アエロトリシン 38	1610	28.1	(C)(9 ml/min.; 58/42)	
アエロトリシン 40	1602	16.8	(F)(10 ml/min.; 57/43)	
アエロトリシン 41	1616	20.6	(C)(9 ml/min.; 60/40)	
アエロトリシン 42	1630	16.8	(F)(10 ml/min.; 62/38)	
アエロトリシン 43	1644	29.2	(C)(9 ml/min.; 57/43)	
アエロトリシン 44	1658	35.5	(F)(10 ml/min.; 50/50)	
アエロトリシン 45	1630	24.7	(C)(9 ml/min.; 59/41)	20
アエロトリシン 46	1664	18.7	(C)(9 ml/min.; 59/41)	
アエロトリシン 47	1594	22.9	(C)(9 ml/min.; 54/46)	
アエロトリシン 48	1576	24.4	(F)(10 ml/min.; 58/42)	
アエロトリシン 49	1590	24.2	(C)(9 ml/min.; 65/35)	
アエロトリシン 50	1604	48.9	(F)(10 ml/min.; 55/45)	
アエロトリシン 51	1618	40.4	(F)(9 ml/min.; 60/40)	
アエロトリシン 52	1632	32.5	(F)(10 ml/min.; 50/50)	
アエロトリシン 53	1646	27.0	(C)(9 ml/min.; 54/46)	
アエロトリシン 64	1547	15.5	(B)(4 ml/min.; 65/35)	30
アエロトリシン 65	1575	15.5	(C)(9 ml/min.; 55/45)	
アエロトリシン 66	1603	16.6	(C)(9 ml/min.; 52/48)	
アエロトリシン 67	1587	19.9	(C)(9 ml/min.; 59/41)	
アエロトリシン 68	1587	19.6	(C)(9 ml/min.; 59/41)	
アエロトリシン 69	1589	21.8	(C)(9 ml/min.; 58/42)	
アエロトリシン 70	1617	21.6	(C)(9 ml/min.; 53/47)	
アエロトリシン 71	1746	30.0	(C)(9 ml/min.; 64/36)	
アエロトリシン 72	1673	22.6	(C)(9 ml/min.; 57/43)	
アエロトリシン 73	1721	20.2	(C)(9 ml/min.; 55/45)	
アエロトリシン 89	1630	22.1	(F)(10 ml/min.; 55/45)	40
アエロトリシン 90	1658	24.9	(F)(10 ml/min.; 50/50)	
アエロトリシン 91	1670	26.7	(F)(10 ml/min.; 50/50)	
アエロトリシン 92	1642	26.0	(F)(10 ml/min.; 55/45)	
アエロトリシン 93	1650	21.4	(F)(10 ml/min.; 57/43)	
アエロトリシン 94	1658	30.8	(F)(10 ml/min.; 52/48)	
アエロトリシン 95	1574	28.3	(C)(9 ml/min.; 57/43)	
アエロトリシン 97	1740	44.7	(F)(10 ml/min.; 57/43)	
アエロトリシン 98	1656	30.0	(F)(10 ml/min.; 62/38)	
アエロトリシン 99	1644	16.9	(F)(10 ml/min.; 53/47)	
アエロトリシン 123	1630	20.7	(F)(10 ml/min.; 56/44)	

*0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリルの比

【0286】

実施例 9

アエロトリシン 16 の調製

(a) ピリジン (2.5 ml) 中の化合物 A (参考実施例 3 に記載、1 g、0.61 mmol) の攪拌した溶液に、テトラニトロメタン (0.365 ml、3.05 mmol) を添加した。室温で 4 時間攪拌した後、反応混合物を真空下で濃縮した。暗褐色の残渣を、逆相 HPLC (Lobar RP18、10 ml/分、0.05%トリフルオロ酢酸-水 : 0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 50 : 50 → 33 : 66、0.05% 50

TFA)で精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、化合物Aの粗製ニトロ誘導体(711mg)を薄黄色非晶質固体として得た。(b)上述のように得られた粗生成物(12mg、0.0071mmol)およびTFA(0.5ml)の混合物を、0℃で30分間攪拌した。TFAを乾燥窒素気流下で蒸発させた。黄色の残渣を分取逆相HPLCで精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン16のTFA塩(8mg)を薄黄色非晶質固体として得た。

HPLC(Rt)15.5分(カラムB、流速:4ml/分、溶離剤:0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル=55:45);FAB-MS(m/z):1578[MH⁺]。

以下のアエロトリシン39、54、55、および77は、出発物質として実施例8で得られたアエロトリシンを用い、実施例9での記載と同様の方法に従って調製した。

【0287】

【表11】

化合物名	FAB-MS	HPLC	分析条件
	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速;溶離剤の比*)
アエロトリシン 39	1577	13.2	(C)(9 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 54	1661	14.2	(C)(9 ml/min.; 57/43)
アエロトリシン 55	1689	27.8	(C)(9 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 77	1648	25.0	(C)(9 ml/min.; 53/47)

*0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリルの比

【0288】

実施例10

アエロトリシン17の調製

(a)MeOH(5ml)中の、実施例9(a)で得られた化合物Aの粗製ニトロ誘導体(55mg、0.033mmol)の溶液に、10%パラジウム-木炭(20mg)を添加して、反応器に水素を充填した。室温で13.5時間攪拌した後、混合物をメンブランフィルター(孔径:0.2μm)で濾過し、溶媒を蒸発させて、アエロトリシン3の粗製アミノ誘導体(52mg)を褐色非晶質物として得、さらに精製せずに次の段階で使用した。

(b)上述のように得られた化合物A(参考実施例3に記載)の粗製アミノ誘導体(3.4mg、0.0021mmol)およびTFA(0.2ml)の混合物を、0℃で30分間攪拌した。TFAを乾燥窒素気流下で蒸発させた。褐色の残渣を分取逆相HPLCで精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン17(1.3mg)を無色非晶質固体として得た。

HPLC(Rt)12.8分(カラムA、流速:1ml/分、溶離剤:0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル=59:41);FAB-MS(m/z):1548[MH⁺]。

以下のアエロトリシン29、56、および78は、出発物質として実施例9で得られたアエロトリシンを用い、実施例10での記載と同様の方法に従って調製した。

【0289】

【表12】

化合物名	FAB-MS	HPLC	分析条件
	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速;溶離剤の比*)
アエロトリシン 29	1606	31.0	(C)(9 ml/min.; 60/40)
アエロトリシン 56	1659	15.1	(C)(9 ml/min.; 57/43)
アエロトリシン 78	1618	16.8	(C)(9 ml/min.; 57/43)

*0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリルの比

【0290】

10

実施例 11

アエロトリシン 18 の調製

(a) メタノール (0.05 ml) およびピリジン (0.025 ml) 中の実施例 10 (a) で得られた化合物 A の粗製アミノ誘導体の溶液に、Boc-Gly-OH (18 mg、0.10 mmol)、WSCl (30 mg、0.15 mmol)、および HOBt 水和物 (24 mg、0.15 mmol) を順次添加した。混合物を室温で 15 時間攪拌した後、溶媒を乾燥窒素気流で除去した。

(b) 上述のように得られた粗製の残渣を TFA (0.1 ml) に溶解して、0℃で 30 分間攪拌した。TFA を乾燥窒素気流で除去した。残渣を分取逆相 HPLC で精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン 18 (0.54 mg) を無色非晶質固体として得た。

20

HPLC (R_t) 8.9 分 (カラム B、流速: 4 ml/分、溶離剤: 0.05%トリフルオロ酢酸-水: 0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 57:43); FAB-MS (m/z): 1605 [MH⁺]

以下のアエロトリシン 19~23、30、57~62、79 および 81 は、対応するアシル化剤および出発物質として実施例 10 で得られたアエロトリシンを用い、実施例 11 の記載と同様の方法に従って調製した。

【0291】

【表 13】

30

化合物名	FAB-MS	HPLC	分析条件
	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速;溶離剤の比*)
アエロトリシン 19	1590	17.5	(A)(1 ml/min.; 57/43)
アエロトリシン 20	1619	6.0	(B)(4 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 21	1663	18.0	(C)(9 ml/min.; 60/40)
アエロトリシン 22	1605	12.5	(A)(1 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 23	1620	23.9	(C)(9 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 30	1676	24.6	(C)(9 ml/min.; 61/39)
アエロトリシン 57	1701	21.2	(C)(9 ml/min.; 56/44)
アエロトリシン 58	1730	23.4	(C)(9 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 59	1716	13.7	(C)(9 ml/min.; 58/42)
アエロトリシン 60	1730	16.3	(C)(9 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 61	1730	39.1	(C)(9 ml/min.; 47/53)
アエロトリシン 62	1730	15.8	(C)(9 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 79	1689	36.1	(C)(9 ml/min.; 57/43)
アエロトリシン 81	1675	24.4	(C)(9 ml/min.; 60/40)

0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリルの比

40

【0292】

実施例 12

50

アエロトリシン 12 の調製

MeOH (1.0 ml) 中の、アエロトリシン 5 (7.5 mg、0.0048 mmol)、37%ホルマリン (150 μ l)、および酢酸 (50 μ l) の溶液に、MeOH (100 μ l) 中のナトリウムシアノボロヒドリド (7.5 mg、0.119 mmol) を室温で添加し、混合物を室温で7時間攪拌した。溶媒を真空下で蒸発させた後残渣をn-ブタノールに溶解して、希塩酸および水で順次洗浄した。有機層を真空下で蒸発させた。残渣を分取逆相HPLC (詳細な条件は以下に示す) で精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン 12 (5.4 mg) を無色非晶質固体として得た。

HPLC (Rt) 7.1分 (カラムB、流速: 4 ml/分、溶離剤: 0.05%トリフルオロ酢酸-水: 0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 50:50); FAB-MS (m/z): 1575 [MH⁺].

以下のアエロトリシン 13、25、30、および75は、実施例 12での記載と同様の方法に従って調製した。

【0293】

【表 14】

化合物名	FAB-MS	HPLC	分析条件
	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速;溶離剤の比*)
アエロトリシン 13	1561	13.7	(B)(4 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 25	1607	23.5	(C)(4 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 30	1676	24.6	(C)(9 ml/min.; 61/39)
アエロトリシン 75	1631	24.2	(C)(9 ml/min.; 55/45)

*0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリルの比

【0294】

実施例 13

アエロトリシン 111 の調製

(a) MeOH (45 ml) 中の、アエロトリシン 3 (500 mg、0.326 mmol)、(2-オキソエチル)-カルバミン酸tert-ブチルエステル* (1.66 g、10.4 mmol)、および酢酸 (5 ml) の溶液に、MeOH (5 ml) 中のナトリウムシアノボロヒドリド (410 mg、6.52 mmol) を室温で添加した。混合物を室温で18時間攪拌した。溶媒を真空下で蒸発させた後、残渣をn-ブタノールに溶解して、希塩酸および水で順次洗浄した。有機層を真空下で蒸発させた。

粗製の残渣をさらに精製せずに次の段階で使用した。

*CAS番号 89711-08-0

(b) TFA (20 ml) 中の上述のように得られた粗製の残渣の溶液を、0℃で30分間攪拌した。TFAを真空下で蒸発させた。残渣を分取逆相HPLC (詳細な条件は以下に示す) で精製した。適当な画分を混合し、凍結し、凍結乾燥して、アエロトリシン 111 (253 mg) を無色非晶質固体として得た。

HPLC (Rt) 18.6分 (カラムF、流速: 10 ml/分、溶離剤: 0.05%トリフルオロ酢酸-水: 0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 57:43); FAB-MS (m/z): 1619 [M+H]⁺.

以下のアエロトリシン 100、112、114、および115は、実施例 13での記載と同様の方法に従って調製した。

【0295】

【表 15】

	FAB-MS	HPLC	分析条件
化合物名	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速;溶離剤の比*)
アエロトリシン 100	1730	14.8	(F)(10 ml/min.; 56/44)
アエロトリシン 112	1647	11.8	(F)(10 ml/min.; 57/43)
アエロトリシン 114	1759	23.1	(C)(10 ml/min.; 60/40)
アエロトリシン 115	1633	19.6	(F)(10 ml/min.; 59/41)

*0.05%トリフルオロ酢酸—水:0.05%トリフルオロ酢酸—アセトニトリルの比

10

【0296】

実施例14

アエロトリシン120の調製

MeOH(10ml)中の、アエロトリシン3(500mg、0.326mmol)、およびトリエチルアミン(682μl、4.89mmol)の混合物に、アクリロニトリル(214μl、3.27mmol)を室温で添加した。混合物を室温で20時間攪拌した。溶媒を真空下で蒸発させた後、残渣をn-ブタノールに溶解して、希塩酸および水で順次洗浄した。有機層を真空下で蒸発させた。粗製の残渣を分取逆相HPLC(詳細な条件は以下に示す)で精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン120(207mg)を無色非晶質固体として得た。

20

HPLC(Rt)27.5分(カラムF、流速:10ml/分、溶離剤:0.05%トリフルオロ酢酸—水:0.05%トリフルオロ酢酸—アセトニトリル=53:47);FAB-MS(m/z):1586[M+H]⁺。

【0297】

実施例15

アエロトリシン113の調製

MeOH(5ml)中のアエロトリシン120(100mg、0.063mmol)の混合物に、10%パラジウム—木炭(20mg)を添加して、反応器に水素を充填した。室温で20時間攪拌した後、混合物をメンブランフィルター(孔径:0.2μm)で濾過し、溶媒を真空下で蒸発させた。粗製の残渣を分取逆相HPLC(詳細な条件は以下に示す)で精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン113(87.2mg)を無色非晶質固体として得た。

30

HPLC(Rt)23.0分(カラムF、流速:10ml/分、移動相:0.05%トリフルオロ酢酸—水:0.05%トリフルオロ酢酸—アセトニトリル=57:43);FAB-MS(m/z):1590[M+H]⁺。

アエロトリシン129を、実施例14~15での記載と同様の方法に従って調製した後、オルニチン残基のBoc基をトリフルオロ酢酸で除去した。この場合の出発物質は、実施例16と同様の工程で得られたアエロトリシン106の(D)—オルニチン部分のNδ—Boc誘導体であった。

【0298】

40

【表16】

	FAB-MS	HPLC	分析条件
化合物名	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速;溶離剤の比*)
アエロトリシン 129	1705	33.8	(F)(10 ml/min.; 62/38)

*0.05%トリフルオロ酢酸—水:0.05%トリフルオロ酢酸—アセトニトリルの比

【0299】

50

実施例 16

アエロトリシン 14 の調製

CH₃CN (10 ml) 中の、N-Boc-サルコシン (123 mg、0.65 mmol)、WSC・HCl (240 mg、1.25 mmol)、および DMA P (150 mg、1.23 mmol) の溶液に、CH₃OH (3 ml) 中のアエロトリシン 3 (100 mg、0.065 mmol) の溶液を添加した。混合物を室温で 15 時間攪拌し、その後真空下で濃縮した。残渣を n-BuOH (10 ml) に溶解して、H₂O (5 ml、1 N HCl で pH 3~4 に調整したもの) で 2 回洗浄した。n-BuOH 層を真空下で濃縮して、残渣を 0℃で TFA (5 ml) に溶解した。溶液を室温で 1 時間攪拌した後、TFA を真空下で蒸発させた。残渣を分取逆相 HPLC で精製して、アエロトリシン 14 (40.8 mg、収率 39%) を白色非晶質粉末として得た。

HPLC (Rt) 23.1 分 (カラム C、流速: 9 ml/分、0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 60:40); FAB-MS (m/z): 1605 [MH⁺]

以下のアエロトリシン 15、21、26~29、101~107、109、110、118、130、および 131 は、構成単位として対応する酸を用い、実施例 16 での記載と同様の方法に従って調製した。

【0300】

【表 17】

化合物名	FAB-MS	HPLC	分析条件
	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速; 溶離剤の比*)
アエロトリシン 15	1631	24.0	(C)(9 ml/min.; 57/43)
アエロトリシン 21	1663	18.0	(C)(9 ml/min.; 60/40)
アエロトリシン 26	1650	19.9	(C)(9 ml/min.; 50/50)
アエロトリシン 27	1676	22.5	(C)(9 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 28	1636	20.9	(C)(9 ml/min.; 50/50)
アエロトリシン 29	1606	31.0	(C)(9 ml/min.; 60/40)
アエロトリシン 101	1647	16.5	(F)(10 ml/min.; 56/44)
アエロトリシン 102	1661	16.3	(F)(10 ml/min.; 56/44)
アエロトリシン 103	1689	13.4	(F)(10 ml/min.; 54/46)
アエロトリシン 104	1633	22.6	(F)(10 ml/min.; 58/42)
アエロトリシン 105	1619	29.2	(F)(10 ml/min.; 52/38)
アエロトリシン 106	1647	17.3	(F)(10 ml/min.; 56/44)
アエロトリシン 107	1661	36.5	(F)(10 ml/min.; 60/40)
アエロトリシン 109	1633	26.1	(F)(10 ml/min.; 58/42)
アエロトリシン 110	1619	28.8	(F)(9 ml/min.; 58/42)
アエロトリシン 118	1685	15.2	(F)(10 ml/min.; 51/49)
アエロトリシン 130	1847	16.0	(F)(10 ml/min.; 63/37)
アエロトリシン 131	1818	21.1	(F)(10 ml/min.; 63/37)

*0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリルの比

【0301】

実施例 17

アエロトリシン 74 の調製

MeOH (1 ml) 中の、アエロトリシン 66 (20 mg、0.012 mmol)、3,5-ジメチルピラゾール-1-カルボキシアミジン硝酸塩 (13 mg、0.064 mmol)、およびトリエチルアミン (18 ml、0.13 mmol) の混合物を、室温で 15 時間攪拌した。溶媒を蒸発させた後、粗製の残渣を分取逆相 HPLC (詳細な条件は以下に示す) で精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン 74 (10.2 mg) を無色非晶質固体として得た。

HPLC (Rt) 21.2分 (カラムC、流速: 9 ml/分、溶離剤: 0.05%トリフルオロ酢酸-水: 0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 54:46); FAB-MS (m/z): 1645 [MH⁺].

以下のアエロトリシン4および116は、それぞれ出発物質としてアエロトリシン3および111を用い、実施例17での記載と同様の方法に従って調製した。

【0302】

【表18】

	FAB-MS	HPLC	分析条件
化合物名	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速;溶離剤の比*)
アエロトリシン 4	1576	7.6	(D)(1 ml/min.; 50/50)
アエロトリシン 116	1703	14.9	(F)(10 ml/min.; 57/43)

*0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリルの比

10

【0303】

実施例18

アエロトリシン5の調製

(a) DMF (1 ml) 中の、参考実施例3で得られた化合物A (10 mg、0.0061 mmol) および炭酸カリウム (10 mg、0.072 mmol) の溶液に、ヨウ化メチル (8 μl、0.129 mmol) を室温で添加し、混合物を室温で43時間攪拌した。混合物をセライト・パッドで濾過して、濾液を真空下で蒸発させた。残渣をn-ブタノールに溶解して、希塩酸および水で順次洗浄した。有機層を真空下で蒸発させた。粗製の残渣をさらに精製せずに次の段階で使用した。

(b) TFA (1.0 ml) 中の、上述のように得られた粗製の残渣の溶液を、0℃で30分間攪拌した。TFAを真空下で蒸発させた。残渣を分取逆相HPLC (詳細な条件は以下に示す) で精製した。適当な画分を混合し、凍結し、凍結乾燥して、アエロトリシン5 (3.8 mg) を無色非晶質固体として得た。

HPLC (Rt) 14.5分 (カラムB、流速: 4 ml/分、溶離剤: 0.05%トリフルオロ酢酸-水: 0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 55:45); FAB-MS (m/z): 1547 [MH⁺].

以下のアエロトリシン6~10および76は、対応するアルキル化剤を用い、実施例18での記載と同様の方法に従って調製した。

【0304】

【表19】

	FAB-MS	HPLC	分析条件
化合物名	m/z: [MH ⁺]	保持時間(分)	(カラム)(流速;溶離剤の比*)
アエロトリシン 6	1561	16.0	(A)(1 ml/min.; 55/45)
アエロトリシン 7	1573	8.4	(A)(1 ml/min.; 50/50)
アエロトリシン 8	1589	26.1	(B)(4.7 ml/min.; 58/42)
アエロトリシン 9	1591	38.5	(B)(4 ml/min.; 60/40)
アエロトリシン 10	1590	6.7	(A)(1 ml/min.; 53/47)
アエロトリシン 76	1617	26.0	(C)(9 ml/min.; 53/47)

*0.05%トリフルオロ酢酸-水:0.05%トリフルオロ酢酸-アセトニトリルの比

40

【0305】

実施例19

50

アエロトリシン 24 の調製

(a) メタノール (2 ml) 中の、参考実施例 3 で得られた化合物 A (100 mg)、ヨウ化ナトリウム (29.5 mg、0.197 mmol)、および次亜塩素酸ナトリウム溶液 (250 μ l) の低温混合物を、0 °C で 2 時間攪拌した。反応混合物を飽和水性チオ硫酸ナトリウムで反応停止させ、1 N HCl で酸性化して、n-ブタノールで抽出した。混合した有機抽出物を真空下で蒸発させた。この時点では、出発物質はまだ残存した。ヨウ素化反応を終了させるために、同様の実験手順を反復した。同様に処理した後、残渣を分取 HPLC で精製して、化合物 A のヨウ素化誘導体 (54 mg、収率 50%) を無色固体として得た。

(b) アセトニトリル (250 μ l) および N, N-ジメチルホルムアミド (750 μ l) 中の、上述のように得られた化合物 A のヨウ素化誘導体 (23.8 mg)、アクリル酸メチル (16 μ l)、トリエチルアミン (40 μ l)、および酢酸パラジウム (2.1 mg) の混合物を、70 °C で 28 時間加熱した。得られた混合物を C-18 ショートカラムに通し、残渣をトリフルオロ酢酸 (1 ml) で 0 °C で 1 時間処理した。得られた混合物を真空下で蒸発させた。分取逆相 HPLC による残渣の精製により、アエロトリシン 24 (8.8 mg、収率 40%) を無色固体として得た。

HPLC (Rt) 86.3 分 (カラム F、流速: 9 ml/分、溶離剤: 0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 58:42); FAB-MS (m/z): 1617 [MH⁺]。

【0306】

実施例 20

アエロトリシン 96 の調製

脱気したジメチルスルホキシド (2 ml) 中の、実施例 19 (a) で得られた化合物 A のヨウ素化誘導体 (30 mg)、酢酸カリウム (6.9 mg)、およびテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム (4.6 mg) の混合物を、一酸化炭素雰囲気下、60 °C で 20 時間加熱した。得られた混合物を C-18 逆相ショートカラムに通し、残渣をトリフルオロ酢酸で 0 °C で 1 時間処理した。得られた混合物を減圧下で蒸発させた。分取逆相 HPLC による残渣の精製により、アエロトリシン 96 (2.3 mg、収率 8%) を無色固体として得た。

HPLC (Rt) 23.2 分 (カラム F、流速: 10 ml/分、溶離剤: 0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 52.2:47.8); FAB-MS (m/z): 1677 [MH⁺]。

【0307】

実施例 21

アエロトリシン 32 の調製

(a) アセトニトリル (3 ml) 中の、参考実施例 3 で得られた化合物 A (20 mg) および (メトキシカルボニルスルファモイル) トリエチルアンモニウム水酸化物 (26.5 mg、0.108 mmol) の混合物を、室温で 8 時間攪拌した。反応混合物を 1 N HCl で酸性化して、真空下で蒸発させた。残渣を n-ブタノールで抽出して、抽出物を真空下で蒸発させた。

(b) 粗生成物をトリフルオロ酢酸で 0 °C で 1 時間処理した。TFA を真空下で蒸発させた。分取逆相 HPLC による残渣の精製により、アエロトリシン 32 (2.0 mg、収率 10%) を無色固体として得た。

HPLC (Rt) 42.9 分 (カラム B、流速: 4 ml/分、溶離剤: 0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 55:45); FAB-MS (m/z): 1516 [MH⁺]。

【0308】

実施例 22

アエロトリシン 31 の調製

(a) テトラヒドロフラン (5 ml) 中の参考実施例 3 で得られた化合物 A (25.7 m

10

20

30

40

50

g) の低温溶液に、ボランージメチルスルフィド錯体 (25 ml) を -10°C で添加した。 -10°C で5時間攪拌した後、反応混合物を2N HCl で反応停止させて、n-ブタノールで抽出した。混合した抽出物を真空下で蒸発させた。(b) 粗生成物をトリフルオロ酢酸で 0°C で1時間処理した。THF を減圧下で蒸発させた。分取逆相 HPLC による残渣の精製により、アエロトリシン 31 (3.7 mg、収率 15%) を無色固体として得た。

HPLC (Rt) 25.1 分 (カラム B、流速: 4 ml/分、溶離剤: 0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 62:38); FAB-MS (m/z): 1519 $[\text{MH}^+]$ 。

【0309】

10

実施例 23

アエロトリシン 121 の調製

DMF (1 ml) 中のアエロトリシン 3 (50 mg) およびトリエチルアミン (0.025 ml) の溶液に、ヨウ化メチル (0.010 ml) を添加した。室温で16時間攪拌した後、混合物にトリエチルアミン (0.025 ml) およびヨウ化メチル (0.05 ml) をさらに添加して、室温で24時間攪拌した。混合物の LCMS 分析で、所望の化合物への変換率が $>90\%$ であることが示された。溶媒を窒素気流で除去して、残渣を分取逆相 HPLC (詳細な条件は以下に示す) で精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン 121 (23 mg) を無色非晶質固体として得た。

HPLC (Rt) 20.5 分 (カラム B、流速: 4 ml/分、溶離剤: 0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 52:48); FAB-MS (m/z): 1576 $[\text{M}^+]$ 。

20

【0310】

実施例 24

アエロトリシン 122 の調製

ピリジン (1 ml) 中のアエロトリシン 3 (50 mg) の溶液に、三酸化硫黄-N, N-ジメチルホルムアミド錯体 (23 mg) を添加した。室温で2時間攪拌した後、溶媒を乾燥窒素気流で除去した。

TFA (1 ml) 中の上述のように得られた粗製の残渣の溶液を、 0°C で30分間攪拌した。TFA を乾燥窒素気流で除去して、残渣を分取逆相 HPLC (詳細な条件は以下に示す) で精製した。純粋な画分を混合し、凍結して、凍結乾燥して、アエロトリシン 122 (5 mg) を無色非晶質固体として得た。

30

HPLC (Rt) 24.6 分 (カラム F、流速: 10 ml/分、溶離剤: 0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 52:48); FAB-MS (m/z): 1613 $[\text{MH}^+]$ 。

【0311】

実施例 25

アエロトリシン 63 の調製

(a) DMF (10 ml) 中の Na-Fmoc-N β -Boc-(S)-2,3-ジアミノプロピオン酸 (343 mg、0.80 mmol) の攪拌した溶液に、BOP 試薬 (355 mg、0.80 mmol)、HOBt 水和物 (124 mg、0.81 mmol)、および N, N-ジイソプロピルエチルアミン (0.174 ml、1.00 mmol) を添加した。混合物を室温で1.5時間攪拌した後、DMF (9.5 ml) 中の、アエロトリシン 3 (1.10 g、0.67 mmol) および N, N-ジイソプロピルエチルアミン (0.174 ml、1.00 mmol) の溶液を、混合物に添加した。室温でさらに1時間攪拌した後、混合物を真空下で濃縮した。

40

(b) DMF (20 ml) 中の上述のように得られた残渣の攪拌した溶液に、ピペリジン-4-カルボン酸ポリアミン樹脂 (200~400 メッシュ)、HL (1.50 mmol/g、2.66 g) を添加して、反応混合物に超音波音を6時間照射した。樹脂をセライト・パッドで濾過して除去し、MeOH で洗浄して、混合した濾液および洗液を凍結、凍

50

結乾燥して、アエロトリシン 3 の粗製誘導体 (1.08 g) を白色非晶質固体として得、さらに精製せずに次の段階で利用した。

(c) MeOH 中 (1 ml) 中の、上述のように得られたアエロトリシン 3 の粗製誘導体 (25.6 mg、0.015 mmol) の攪拌した溶液に、(2-オキソエチル)カルバミン酸 tert-ブチルエステル (粗製、207 mg)、AcOH (0.1 ml)、および NaBH₃CN (19.1 mg) を添加した。混合物を室温で 2 時間攪拌した後、反応混合物を真空下で濃縮した。残渣を n-BuOH (4 ml) で希釈して、H₂O (1 ml、0.1 N HCl で pH 3~4 に調整したもの) で 2 回洗浄した。n-BuOH 層を真空下で濃縮した。粗製の残渣をさらに精製せずに次の段階で使用した。

(d) TFA (2 ml) 中の上述のように得られた粗製の残渣の溶液を、0 °C で 2 時間攪拌した。TFA を真空下で蒸発して、残渣を分取逆相 HPLC (詳細な条件は以下に示す) で精製した。純粋な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン 63 (8.8 mg) を白色非晶質固体として得た。

HPLC (Rt) 24.8 分 (カラム F、流速: 9 ml/分、溶離剤: 0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 54:36); FAB-MS (m/z): 1706 [MH⁺]。

【0312】

実施例 26

アエロトリシン 127 の調製

アエロトリシン 127 は、Na-Fmoc-Nδ-Boc-(D)-オルニチンを使用し、アエロトリシン 63 での記載と同様の方法により調製した。アエロトリシン 127 は、白色非晶質固体として得られた。

HPLC (Rt) 23.9 分 (カラム F、流速: 9 ml/分、溶離剤: 0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 54:36); FAB-MS (m/z): 1734 [MH⁺]。

【0313】

実施例 27

アエロトリシン 124 の調製

(a) DMF (2 ml) 中の Boc-D-Orn(Boc)-OH (46 mg、0.138 mmol) の攪拌した溶液に、BOP 試薬 (62 mg、0.144 mmol)、HOBT 水和物 (22 mg、0.144 mmol)、および N,N-ジイソプロピルエチルアミン (24 μl、0.138 mmol) を添加した。室温で 30 分間攪拌した後、DMF (2 ml) 中のアエロトリシン 120 (100 mg、0.063 mmol) および N,N-ジイソプロピルエチルアミン (24 μl、0.138 mmol) の溶液を、反応混合物に添加した。室温で 18 時間攪拌した後、溶媒を真空下で蒸発させた。

残渣を TFA (4 ml) に溶解して、溶液を 0 °C で 30 分間攪拌した。TFA を乾燥窒素気流で除去した後、残渣を分取逆相 HPLC (詳細な条件は以下に示す) で精製した。純粋な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、ニトリル誘導体 (48.6 mg) を白色非晶質固体として得た。

HPLC (Rt) 20.2 分 (カラム F、流速: 10 ml/分、溶離剤: 0.05% トリフルオロ酢酸-水: 0.05% トリフルオロ酢酸-アセトニトリル = 57:43); FAB-MS (m/z): 1700 [M+H]⁺。

(b) ジオキサン (1 ml) および水 (1 ml) 中の上述のように得られたニトリル誘導体 (48.6 mg、0.0286 mmol) の混合物に、10% パラジウム-木炭 (10 mg) を添加し、混合物を水素雰囲気下、室温で 14 時間攪拌した。その後、混合物をメンブランフィルター (孔径: 0.2 μm) で濾過し、溶媒を真空下で蒸発させた。粗製の残渣を分取逆相 HPLC (詳細な条件は以下に示す) で精製した。純粋な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン 124 (26.5 mg) を無色非晶質固体として得た。

HPLC (Rt) 18.2 分 (カラム F、流速: 10 ml/分、溶離剤: 0.05% トリ

10

20

30

40

50

フルオロ酢酸－水：0.05%トリフルオロ酢酸－アセトニトリル＝60：40）；FAB－MS（m/z）：1704 [M+H]⁺。

【0314】

実施例28

アエロトリシン125の調製

(a) DMF (1ml) およびトリエチルアミン (0.126ml) 中のアエロトリシン3のモノTFA塩（天然生成物：50mg）の溶液に、2－ブロモ－5－ニトロピリジン（185mg）を添加した。室温で25時間攪拌した後、溶媒を乾燥窒素気流で除去した。残渣を分取逆相HPLCで精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン3の5－ニトロピリド－2－イル誘導体（25mg）を淡黄色非晶質固体として得た。

10

HPLC (R_t) 29.9分（カラムF、流速：10ml/分、溶離剤：0.05%トリフルオロ酢酸－水：0.05%トリフルオロ酢酸－アセトニトリル＝47：53）；FAB－MS（m/z）：1655 [M+H]⁺。

(b) 上述のように得られたアエロトリシン3の5－ニトロピリド－2－イル誘導体（10mg）を、ジオキサン－H₂O（1ml－5ml）に溶解した。5%パラジウム－木炭（20mg）を添加し、反応器に水素を充填した。室温で3時間攪拌した後、メンブランフィルター（孔径：0.2μm）による濾過および溶媒の蒸発により粗生成物（14mg）を得、分取逆相HPLCにより精製した（詳細な条件は以下に示す）。純粋な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン125（2.5mg）を無色非晶質固体として得た。

20

HPLC (R_t) 18.7分（カラムF、流速：10ml/分、溶離剤：0.05%トリフルオロ酢酸－水：0.05%トリフルオロ酢酸－アセトニトリル＝52：48）；FAB－MS（m/z）：1625 [M+H]⁺。

【0315】

実施例29

アエロトリシン128の調製

(a) DMF (10ml) 中のFmoc－D－Orn (Boc)－OH (389mg、0.86mmol) の攪拌した溶液に、BOP試薬 (378mg、0.85mmol)、HOBt水和物 (131mg、0.86mmol)、およびN,N－ジイソプロピルエチルアミン (171μl、0.98mmol) を添加した。混合物を室温で40分間攪拌した後、DMF (10ml) 中のアエロトリシン3 (1.08g、0.66mmol) およびN,N－ジイソプロピルエチルアミン (171μl、0.98mmol) の溶液を、混合物に添加した。室温で2.5時間攪拌した後、ピペリジン (4ml) を添加して、混合物を室温でさらに1時間攪拌した。混合物を真空下で濃縮した。残渣をn－BuOH (50ml) で希釈して、H₂O (25ml、1NHClでpH3に調整したもの) で2回洗浄した。n－BuOH層を真空下で濃縮した。

30

(b) DMF (1ml) 中のBoc－D－Orn (Boc)－OH (9.6mg、0.029mmol) の攪拌した溶液に、BOP試薬 (13.3mg、0.030mmol)、HOBt水和物 (4.6mg、0.030mmol)、およびN,N－ジイソプロピルエチルアミン (4.8μl、0.028mmol) を添加した。混合物を室温で30分間攪拌した後、DMF (1ml) 中の、上述のように得られた粗製の残渣 (31.9mg) およびN,N－ジイソプロピルエチルアミン (4.8μl、0.028mmol) の溶液を、混合物に添加した。室温で4時間攪拌した後、反応混合物を真空下で濃縮した。

40

(c) 上述のように得られた粗製の残渣をTFA (1.5ml) に溶解して、0℃で1時間攪拌した。反応混合物を真空下で濃縮して、残渣を分取逆相HPLCで精製した。適当な画分を混合、凍結、凍結乾燥して、アエロトリシン128 (16.6mg) を白色非晶質固体として得た。

HPLC (R_t) 27.23分（カラムF、流速：9ml/分、溶離剤：0.05%トリフルオロ酢酸－水：0.05%トリフルオロ酢酸－アセトニトリル＝55：35）；FAB

50

B-M S (m/z) : 1762 [MH⁺].

【0316】

実施例30

化合物 (IX) からのアエロトリシン106の調製

(a) DMF (0.5 ml) 中の、Fmoc-Tyr (Bu^t) (21 mg、0.0457 mmol)、HOBt-水和物 (6.6 mg、0.0431 mmol)、BOP試薬 (18.8 mg、0.0424 mmol)、およびジイソプロピルエチルアミン (DIEA、20 μl) の混合物を、室温で1時間攪拌し、その後DMF (1 ml) 中の実施例6で得られたN(orn)-Boc-IX (19.3 mg、0.0131 mmol) およびDIEA (10 μl) の混合物に添加した。室温で3時間攪拌した後、得られた混合物をピペリジン (0.375 ml) で1時間処理し、その後真空下で濃縮した。残渣をジクロロメタンおよびジエチルエーテルで洗浄して、試薬を除去した。残渣をHPLCにより精製して、所望の線状ペプチドA (16.6 mg) を白色固体として得た。

HPLC (Rt) 19分 (カラム: Soken-ODS/20×250 mm、流速: 9 ml/分、溶離剤: H₂O : CH₃CN = グラジエント、1% AcOH)

(b) DMF (0.5 ml) 中の、Fmoc-D-Ala-水和物 (1.2 mg、0.034 mmol)、HOBt-水和物 (4.7 mg、0.031 mmol)、BOP試薬 (13.6 mg、0.031 mmol)、およびDIEA (8 μl) の混合物を、室温で1時間攪拌し、その後DMF (1 ml) 中の上述のように得られた線状ペプチドA (16.6 mg、0.0098 mmol) およびDIEA (6 μl) の混合物に添加した。反応混合物を室温で攪拌して、出発物質がほとんど消費されるまでその活性化エステルを添加した。得られた混合物を真空下で濃縮した。残渣をジクロロメタンおよびジエチルエーテルで洗浄して、試薬を除去した。粗生成物をトリフルオロ酢酸で0℃で1時間処理した。混合物を減圧下で濃縮した。残渣をHPLCで精製して、所望の線状ペプチドB (6.1 mg) を白色固体として得た。

HPLC (Rt) 19分 (カラム: Soken-ODS/20×250 mm、流速: 9 ml/分、溶離剤: H₂O : CH₃CN = グラジエント、1% AcOH)

(c) DMF (0.5 ml) 中の、Boc-D-Orn (Bu^t) (5.7 mg、0.017 mmol)、HOBt-水和物 (2.3 mg、0.015 mmol)、BOP試薬 (5.4 mg、0.012 mmol)、およびDIEA (6 μl) の混合物を、室温で1時間攪拌し、その後DMF (1 ml) 中の、線状ペプチドB (6.1 mg、0.0033 mmol) およびDIEA (3 μl) の混合物に添加した。室温で2時間攪拌した後、得られた混合物をピペリジン (0.375 ml) で1時間処理して、真空下で濃縮した。残渣をHPLCで精製して、線状ペプチドC (4.1 mg) を白色固体として得た。

HPLC (Rt) 16.7分 (カラム: Soken-ODS/20×250 mm、流速: 9 ml/分、溶離剤: H₂O : CH₃CN = グラジエント、1% AcOH)

(d) 線状ペプチドCを0.01 N塩酸塩で酸性化して、n-ブタノールで抽出した。ブタノール抽出物を真空下で濃縮した。抽出物をDMF (2 ml) に溶解した。その後、HOBt-水和物 (DMF中0.1 M、60 μl)、BOP試薬 (DMF中0.1 M、60 μl) およびDIEA (2 μl) を、混合物に添加した。室温で1時間攪拌した後、得られた混合物を真空下で濃縮した。残渣をトリフルオロ酢酸で0℃で1時間処理した。混合物を減圧下で濃縮した。残渣をHPLCで精製して、アエロトリシン106 (2.2 mg、N(orn)-Boc-IXから9%) を白色固体として得た。

分析データを、実施例16の表に記載した。

【0317】

実施例A

以下の成分それぞれを含有する注射液は、それ自体慣用の方法で製造した:

アエロトリシン45	20 mg
無水リン酸水素二ナトリウム	7.6 mg
二リン酸ナトリウム二水和物	2.0 mg

10

20

30

40

50

エチルアルコール

1 5 0 m g

蒸留水（脱イオン化および滅菌済み）

8 5 0 m g

総量

1 0 2 9 . 6 m g

【図面の簡単な説明】

【図 1】 アエロトリシン 1 の UV スペクトルを示す。

【図 2】 アエロトリシン 1 の IR スペクトルを示す。

【図 3】 アエロトリシン 1 の ^1H -NMR スペクトルを示す。【図 4】 アエロトリシン 1 の ^{13}C -NMR スペクトルを示す。

【図 5】 アエロトリシン 2 の UV スペクトルを示す。

【図 6】 アエロトリシン 2 の IR スペクトルを示す。

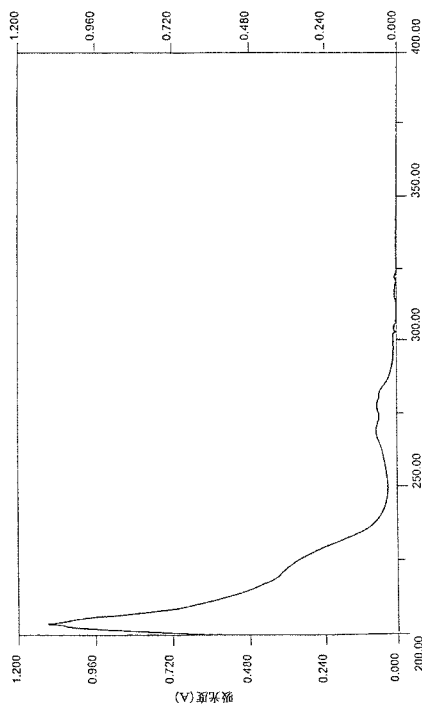
【図 7】 アエロトリシン 2 の ^1H -NMR スペクトルを示す。【図 8】 アエロトリシン 2 の ^{13}C -NMR スペクトルを示す。

【図 9】 化合物 (IX) の IR スペクトルを示す。

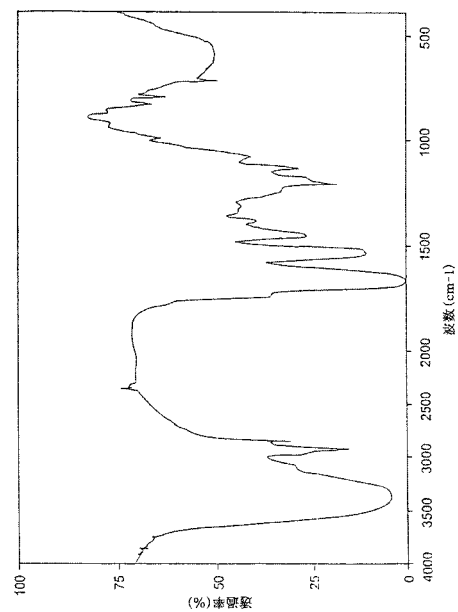
【図 10】 化合物 (IX) の ^1H -NMR スペクトルを示す。【図 11】 化合物 (IX) の ^{13}C -NMR スペクトルを示す。

10

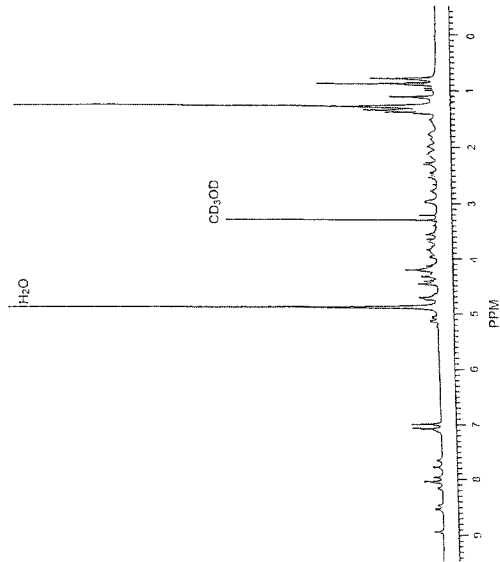
【図 1】



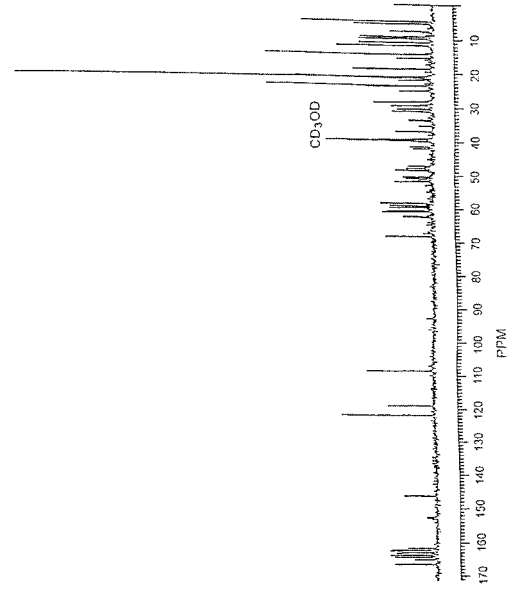
【図 2】



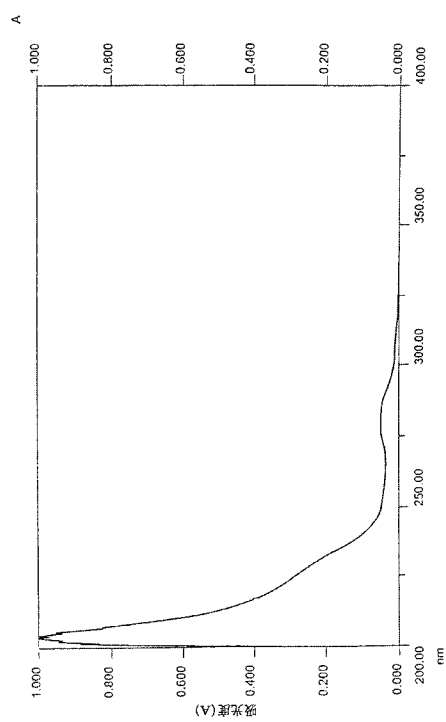
【図 3】



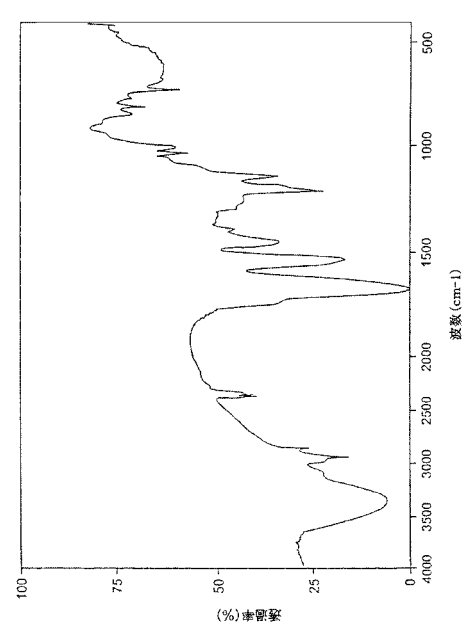
【図 4】



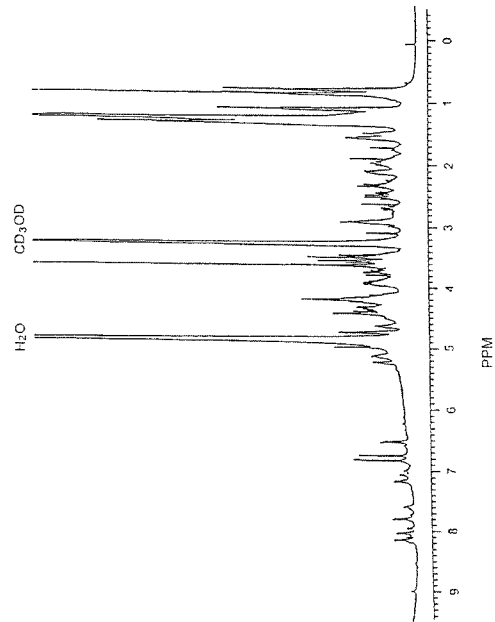
【図 5】



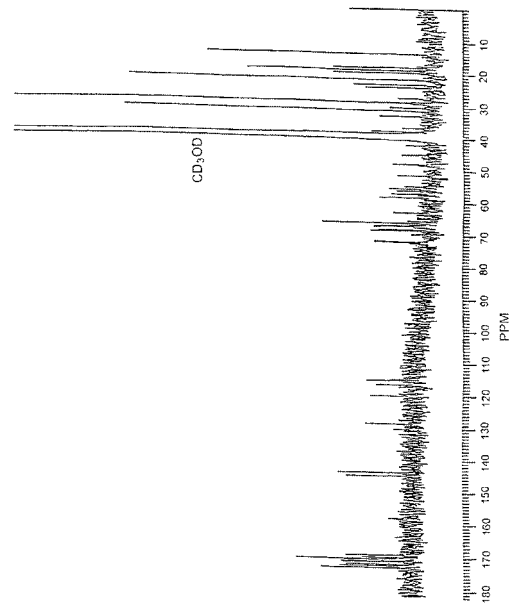
【図 6】



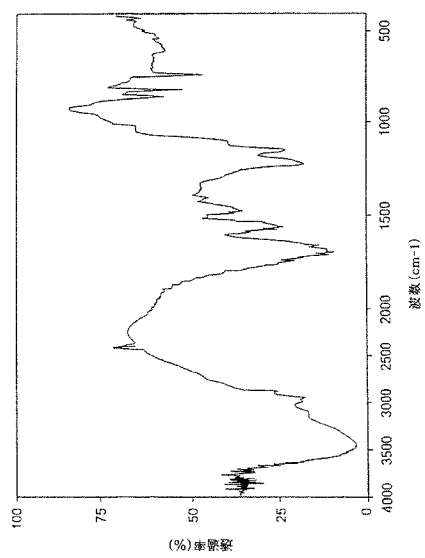
【図 7】



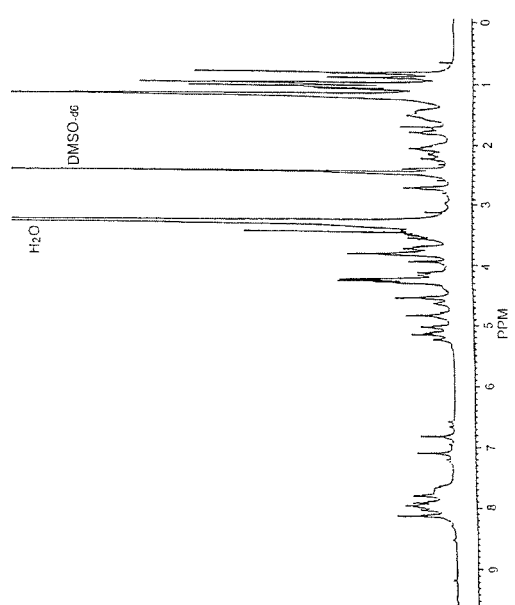
【図 8】



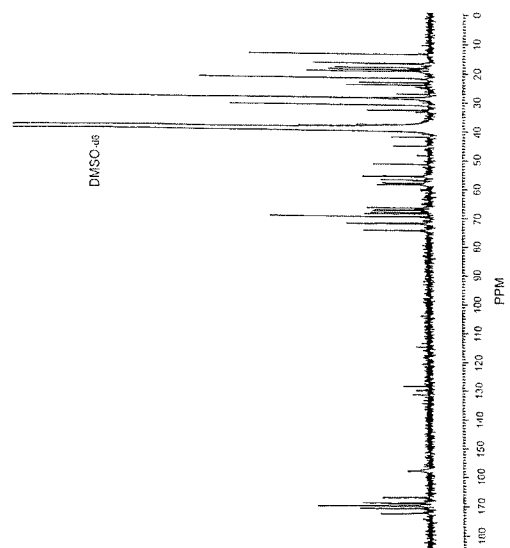
【図 9】



【図 10】



【図 11】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	
C 0 7 K 7/02	C 0 7 K 7/52	
C 0 7 K 7/52	C 1 2 N 1/14	A
C 1 2 N 1/14	C 1 2 P 21/02	A
C 1 2 P 21/02	A 6 1 K 37/02	
//(C 1 2 N 1/14	C 1 2 N 1/14	A
C 1 2 R 1:645)	C 1 2 R 1:645	
(C 1 2 P 21/02	C 1 2 P 21/02	A
C 1 2 R 1:645)	C 1 2 R 1:645	

- (72)発明者 増渕 一直
神奈川県横浜市栄区長沼町191-1-406
- (72)発明者 水口 栄作
神奈川県鎌倉市城廻690-203
- (72)発明者 村田 毅
神奈川県茅ヶ崎市東海岸南6-6-17-I-106
- (72)発明者 大熊 廣明
東京都板橋区稲荷台3-19
- (72)発明者 岡田 剛宏
神奈川県藤沢市鵠沼藤ヶ谷4-17-17-102
- (72)発明者 堺谷 政弘
神奈川県茅ヶ崎市小和田3-8-12-1002
- (72)発明者 新聞 信夫
神奈川県茅ヶ崎市東海岸南2-11-19
- (72)発明者 渡辺 公英
神奈川県鎌倉市今泉台6-26-3
- (72)発明者 柳沢 美恵子
神奈川県横浜市泉区和泉町5626-2 スプリングスプラザいずみ野206
- (72)発明者 安田 有理
神奈川県茅ヶ崎市松林2-12-35 メゾンピーチII201

審査官 小暮 道明

(56)参考文献 国際公開第96/030399 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)
C07K1/00-19/00
PubMed
CA(STN)
REGISTRY(STN)