

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局
(43) 国際公開日
2022年6月30日(30.06.2022)

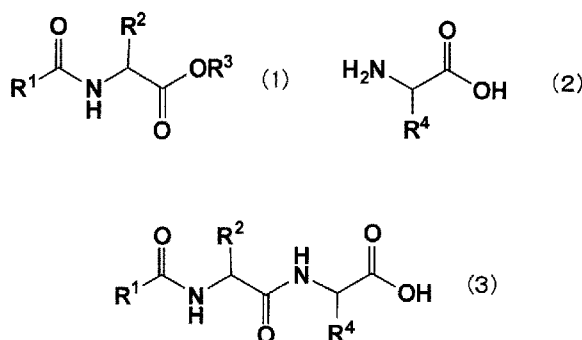


(10) 国際公開番号
WO 2022/138953 A1

- (51) 国際特許分類:
C07K 1/02 (2006.01) C07K 5/062 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2021/048365
- (22) 国際出願日: 2021年12月24日(24.12.2021)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2020-217730 2020年12月25日(25.12.2020) JP
- (71) 出願人: 日産化学株式会社(NISSAN CHEMICAL CORPORATION) [JP/JP]; 〒1036119 東京都中央区日本橋二丁目5番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 庄子 武明(SHOJI, Takeaki); 〒2740052 千葉県船橋市坪井西2丁目10番1号 日産化学株式会社 物質科学研究所内 Chiba (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人はなぶさ特許商標事務所(HANABUSA PATENT & TRADEMARK OFFICE); 〒1010062 東京都千代田区神田駿河台3丁目2番地 新御茶ノ水アーバントリニティ Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING LIPID PEPTIDE

(54) 発明の名称: 脂質ペプチドの製造方法



(57) Abstract: [Problem] To provide a method by which a lipid peptide compound and a salt thereof can be produced with a higher yield and a higher purity than conventional production methods. [Solution] A method for producing a lipid peptide compound represented by formula (3) or a pharmaceutically usable salt thereof, said method comprising: a reaction step for reacting an ester compound represented by formula (1) with an α -amino acid compound represented by formula (2) and a base in a solvent containing a nonpolar organic solvent; an extraction step for neutralizing the solution, which is obtained in the reaction step and in which a salt of the lipid peptide represented by formula (3) is dissolved, by adding an organic acid thereto, then adding water and an alcohol for liquid separation and removing the nonpolar organic solvent; and a separation step for taking out the lipid peptide compound represented by formula (3) from the solution, after the extraction step, to outside the system.

(57) 要約: 【課題】従来の製造方法に比べ、より高収率かつ高純度で脂質ペプチド化合物及びその塩を製造することができる方法を提供すること。【解決手段】式(1)で表されるエステル化合物と、式(2)で表される α -アミノ酸化合物と塩基とを、非極性有機溶媒を含む溶媒中で反応させる反応工程、当該反応工程で得られた式(3)で表される脂質ペプチドの塩が溶解した溶液に有機酸を加えて、中和してから、水とアルコールを加えて分液し、非極性有機溶媒を除去する抽出工程、及び当該抽出工程後の溶液から式(3)で表される脂質ペプチド化合物を系外に取り出す分離工程を含む、式(3)で表される脂質ペプチド化合物又はその薬学的に使用可能な塩の製造方法。

MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

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

添付公開書類 :

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称：脂質ペプチドの製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、脂質ペプチドの製造方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、脂質ペプチド化合物として、パルミチン酸などにグリシンやヒスチジンが結合した新規脂質ペプチドのヒドロゲル化剤としての利用が提案され、その供給方法が重要となっている。（特許文献1）。

他方、一般に、脂質ペプチドの製造方法として固相ペプチド合成による方法が示されているが、少量の合成にしか対応できず、大量製造は難しい。

[0003] 一方、本発明者らは、これまでに、アミノ酸のアミノ基とエステル化合物とをアミド化させる際、塩基の存在下、非極性有機溶媒を含む溶媒中で反応させることにより、保護基を用いることなく直接脂質ペプチド化合物を得られることを報告している（特許文献2）。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第2010/013555号

特許文献2：国際公開第2011/027897号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 特許文献2に記載の方法は、従来の製造方法に比べ、より煩雑な操作を必要とせず、且つ安価に大量生産が可能となる実用的な脂質ペプチド化合物を製造できる点で大変優れたものである。

しかしながら、脂質ペプチド化合物は、さらなる工業生産に適した高収率かつ高純度で製造できる方法の開発が求められている。

本発明は、斯かる事情を考慮してなされたものであって、その目的とするところは、従来の製造方法に比べ、より高収率かつ高純度で脂質ペプチド化

化合物を製造することができる方法を提供することである。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らは、上記目的を達成するために反応終了後の中和前における非極性有機溶媒の除去方法と、原料に注目し、鋭意検討を重ねた。その結果、非極性有機溶媒の除去方法として、反応終了後の溶液に有機酸を加えて中和してから、水とアルコールを加えて分液し、非極性有機溶媒を除去する方法を採用し、さらに原料として安定なエチルエステルを採用することにより、仕込み量を低減させ、かつ均一系での反応を可能とし、より高収率かつ高純度で脂質ペプチド化合物を製造できることを見出し、本発明を完成させた。

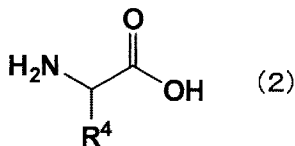
[0007] すなわち、本発明は、第1観点として、式(1)

[化1]



(式中、 R^1 は直鎖構造、又は分岐鎖構造を有する炭素原子数9乃至23の脂肪族基を表し、 R^2 は水素原子、又は炭素原子数1若しくは2の分枝鎖を有し得る炭素原子数1乃至4のアルキル基を表し、 R^3 は、炭素原子数1乃至6のアルキル基、炭素原子数1乃至6のハロアルキル基、炭素原子数1乃至6のヒドロキシアルキル基、又は炭素原子数1乃至6のアルキル基で置換されていてもよいアリール基を表す。)で表されるエステル化合物と、式(2)

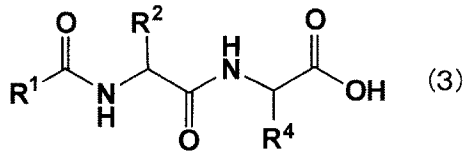
[化2]



(式中、 R^4 は $-(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ 基を表し、 n は1乃至4の数を表し、 X はアミノ基、グアニジノ基、 $-\text{CONH}_2$ 基、又は窒素原子を1乃至3個有し得る5員環若しくは6員環又は5員環と6員環から構成される縮合複素環を表す。)で表される α -アミノ酸化合物と塩基とを、非極性有機溶媒を含む溶媒

中で反応させる反応工程、
当該反応工程で得られた式（3）

[化3]



（式中、 R^1 、 R^2 及び R^4 は先に定義されたものを表す。）で表される脂質ペプチドの塩が溶解した溶液に有機酸を加えて、中和してから、水とアルコールを加えて分液し、非極性有機溶媒を除去する抽出工程、及び当該抽出工程後の溶液から式（3）で表される脂質ペプチド化合物を系外に取り出す分離工程を含む、式（3）で表される脂質ペプチド化合物又はその薬学的に使用可能な塩の製造方法に関する。

第2観点として、前記溶媒が、非極性有機溶媒及びアルコールを含むことを特徴とする、第1観点到に記載の製造方法に関する。

第3観点として、前記式中、 n が1乃至4の数を表し、かつ X がアミノ基、グアニジノ基又は $-\text{CONH}_2$ 基を表すか、又は n が1を表し、かつ X がピロロール基、イミダゾール基、ピラゾール基又はイミダゾール基を表す、第1観点到に記載の製造方法に関する。

第4観点として、前記式中、 R^1 が、不飽和結合を0乃至2つ有し得る炭素原子数1乃至21の直鎖状脂肪族基を表す、第1観点到に記載の製造方法に関する。

第5観点として、前記式中、 R^2 が、水素原子、又は炭素原子数1の分枝鎖を有し得る炭素原子数1乃至3のアルキル基を表す、第1観点到に記載の製造方法に関する。

第6観点として、前記式中、 R^2 が水素原子、メチル基、エチル基、 n -プロピル基、イソプロピル基、 n -ブチル基、イソブチル基、 sec -ブチル基又は $tert$ -ブチル基を表し、 R^4 がアミノメチル基、アミノエチル基、3-アミノプロピル基、4-アミノブチル基、カルバモイルメチル基、2-

カルバモイルエチル基、3-カルバモイルブチル基、2-グアニジノエチル基、3-グアニジノプロピル基、ピロールメチル基、イミダゾールメチル基、ピラゾールメチル基又は3-インドールメチル基を表す、第1観点に記載の製造方法に関する。

第7観点として、前記式中、 R^2 が水素原子、メチル基、イソプロピル基、イソブチル基又はsec-ブチル基を表し、 R^4 が4-アミノブチル基、カルバモイルメチル基、2-カルバモイルエチル基、3-グアニジノプロピル基、イミダゾールメチル基又は3-インドールメチル基を表す、第6観点に記載の製造方法に関する。

第8観点として、前記有機酸が酢酸である、第1観点に記載の製造方法に関する。

第9観点として、前記塩基が、アルカリ金属、アルカリ金属無機酸塩、アルカリ金属水酸化物、アルカリ金属アルコキシド、脂環式アミン、又はそれらのアルコール溶液、又はそれらのアルコール分散液から選ばれる少なくとも1種である、第1観点乃至第8観点のうち何れか一に記載の製造方法に関する。

第10観点として、前記塩基が、金属ナトリウム、金属カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムメトキシド、カリウムエトキシド、t-ブトキシカリウム、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン、1,5-ジアザビシクロ[4.3.0]-5-ノネン、又はそれらのアルコール溶液、又はそれらのアルコール分散液から選ばれる少なくとも1種である、第9観点に記載の製造方法。

第11観点として、前記塩基が、ナトリウムメトキシド、又はそのメタノール溶液、又はそのメタノール分散液である、第10観点に記載の製造方法に関する。

第12観点として、前記非極性有機溶媒が、芳香族化合物、飽和脂肪族化

合物、及び不飽和脂肪族化合物からなる群から選ばれる少なくとも1種である、第1観点乃至第11観点のうち何れか一に記載の製造方法に関する。

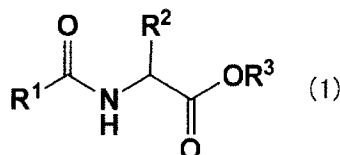
第13観点として、前記非極性有機溶媒が、トルエン、キシレン、オルトジクロロベンゼン、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、オクタン、シクロペンタン、シクロヘキサン、メチルシクロヘキサン、シクロヘプタン、及び1-ヘキセンからなる群から選ばれる少なくとも1種である、第12観点に記載の製造方法に関する。

第14観点として、前記溶媒が、トルエンとメタノール又はエタノールを含む、第2観点に記載の製造方法。

第15観点として、前記式(1)で表されるエステル化合物と前記式(2)で表される α -アミノ酸化合物との反応が、65℃乃至75℃の反応温度で行われる、第1観点乃至第14観点のうち何れか一に記載の製造方法。

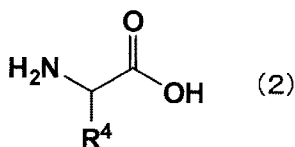
第16観点として、式(1)

[化4]



(式中、 R^1 は直鎖構造、又は分岐鎖構造を有する炭素原子数9乃至23の脂肪族基を表し、 R^2 は水素原子、又は炭素原子数1若しくは2の分枝鎖を有し得る炭素原子数1乃至4のアルキル基を表し、 R^3 は、炭素原子数1乃至6のアルキル基、炭素原子数1乃至6のハロアルキル基、炭素原子数1乃至6のヒドロキシアルキル基、又は炭素原子数1乃至6のアルキル基で置換されていてもよいアリール基を表す。)で表されるエステル化合物と、式(2)

[化5]

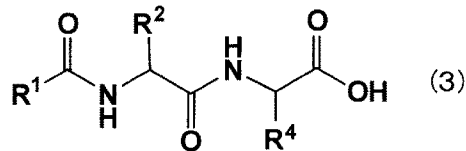


(式中、 R^4 は $-(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ 基を表し、 n は1乃至4の数を表し、 X はア

ミノ基、グアニジノ基、 $-\text{CONH}_2$ 基、又は窒素原子を1乃至3個有し得る5員環若しくは6員環又は5員環と6員環から構成される縮合複素環を表す。)で表される α -アミノ酸化合物と塩基とを、非極性有機溶媒を含む溶媒中で反応させる反応工程、

当該反応工程で得られた式(3)

[化6]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^4 は先に定義されたものを表す。)で表される脂質ペプチドの塩が溶解した溶液に有機酸を加えて、中和してから、水とアルコールを加えて分液し、非極性有機溶媒を除去する抽出工程、

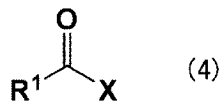
当該抽出工程後の溶液のpHを、ハロゲン化水素を用いて調整するpH調整工程、及び

当該pH調整工程後の溶液から式(3)で表される脂質ペプチド化合物を系外に取り出す分離工程を含む、式(3)で表される脂質ペプチド化合物の製造方法に関する。

第17観点として、

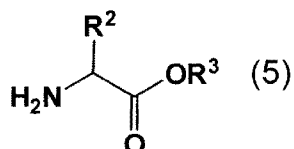
式(4)

[化7]



(式中、Xは、ハロゲン原子、炭素原子数1乃至6のアルコキシ基、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^1$ 基を表し、 R^1 は炭素原子数9乃至23の直鎖構造、又は分岐鎖構造を有する脂肪族基を表す。)で表される化合物と、式(5)

[化8]



(式中、 R^2 は水素原子、又は炭素原子数1若しくは2の分枝鎖を有し得る炭素原子数1乃至4のアルキル基を表し、 R^3 は、炭素原子数1乃至6のアルキル基、炭素原子数1乃至6のハロアルキル基、炭素原子数1乃至6のヒドロキシアルキル基、又は炭素原子数1乃至6のアルキル基で置換されていてもよいアリール基を表す。)で表される化合物とを反応させ、式(1)

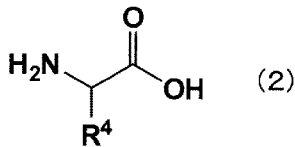
[化9]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は先に定義されたものを表す。)で表されるエステル化合物を得る生成工程、

当該生成工程で得られた式(1)で表されるエステル化合物と式(2)

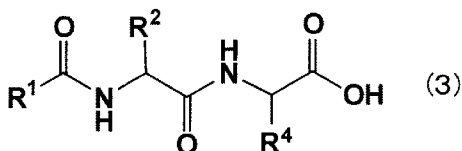
[化10]



(式中、 R^4 は、水素原子、炭素原子数1乃至3の分枝鎖を有し得る炭素原子数1乃至7のアルキル基、フェニルメチル基、フェニルエチル基、 $-(\text{CH}_2)_n-X$ 基を表し、 n は1乃至4の数を表し、 X はアミノ基、グアニジノ基、 $-\text{CONH}_2$ 基、又は窒素原子を1乃至3個有し得る5員環若しくは6員環又は5員環と6員環から構成される縮合複素環を表す。)で表される α -アミノ酸化合物と塩基とを、非極性有機溶媒を含む溶媒中で反応させる反応工程、

当該反応工程で得られた式(3)

[化11]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^4 は先に定義されたものを表す。)で表される脂質ペプチドの塩が溶解した溶液に有機酸を加えて、中和してから、水とアルコールを加えて分液し、非極性有機溶媒を除去する抽出工程、及び当該抽出工程後の溶液から式(3)で表される脂質ペプチド化合物を系外に取り出す分離工程を含む、式(3)で表される脂質ペプチド化合物又はその薬学的に使用可能な塩の製造方法に関する。

第18観点として、前記式(4)で表される化合物と前記式(5)で表される化合物との反応が、 35°C 乃至 45°C の反応温度において、均一相中で行われる、第17観点到記載の製造方法に関する。

発明の効果

[0008] 本発明の製造方法は、所望の脂質ペプチド化合物及びその塩を高純度かつ高収率で得ることができ、工業的製造方法に適するという効果を奏する。

発明を実施するための形態

[0009] 本明細書において、「n」はノルマルを、「i」はイソを、「s」又は「sec」はセカンダリーを、「t」又は「tert」はターシャリーを、「c」はシクロを、「o」はオルトを、「m」はメタを、「p」はパラを、「Me」はメチル基を、「Bu」はブチル基を、「tBu」はターシャリーブチル基を意味する。

[0010] 上記式(1)において、 R^1 は、炭素原子数9乃至23の脂肪族基を表し、好ましくは、 R^1 は炭素原子数11乃至21の直鎖状脂肪族基又は不飽和結合を1又は2つ有する炭素原子数11乃至21の直鎖状脂肪族基であることが望ましい。

[0011] ここで、特に好ましい R^1 で表される脂肪族基の具体例としては、ノニル基、デシル基、ウンデシル基、ドデシル基(ラウリル基)、トリデシル基、テトラデシル基(ミリスチル基)、ペンタデシル基、ヘキサデシル基(パルミチル基)、ヘプタデシル基(マルガリル基)、オクタデシル基(ステアリル基)、ノナデシル基、イコシル基、ヘンイコシル基などを挙げることができる。

- [0012] 上記式(1)において、 R^2 は水素原子、又は炭素原子数1若しくは2の分岐鎖を有し得る炭素原子数1乃至4のアルキル基を表す。
- [0013] 上記 R^2 における炭素原子数1若しくは2の分岐鎖を有し得る炭素原子数1乃至4のアルキル基とは、主鎖の炭素原子数が1乃至4であり、かつ炭素原子数1若しくは2の分岐鎖を有し得るアルキル基を意味し、その具体例としては、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*n*-ブチル基、*i*-ブチル基、*sec*-ブチル基又は*tert*-ブチル基などが挙げられる。
- [0014] R^2 は好ましくは、水素原子、又は炭素原子数1の分岐鎖を有し得る炭素原子数1乃至3のアルキル基であり、より好ましくは水素原子である。炭素原子数1の分岐鎖を有し得る炭素原子数1乃至3のアルキル基とは、主鎖の炭素原子数が1乃至3であり、かつ炭素原子数1の分岐鎖を有し得るアルキル基を意味し、その具体例としては、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*i*-プロピル基、*i*-ブチル基又は*sec*-ブチル基などが挙げられ、好ましくはメチル基、*i*-プロピル基、*i*-ブチル基又は*sec*-ブチル基である。
- [0015] 上記式(1)において、 R^3 は、炭素原子数1乃至6のアルキル基、炭素原子数1乃至6のハロアルキル基、炭素原子数1乃至6のヒドロキシアルキル基、又は炭素原子数1乃至6のアルキル基で置換されていてもよいアリール基を表し、好ましくは、炭素原子数1乃至6のアルキル基あり、より好ましくは、エチル基である。
- [0016] 上記式(2)において、 R^4 は $-(CH_2)_n-X$ 基を表す。
上記 $-(CH_2)_n-X$ 基において、*n*は1乃至4の数を表し、*X*はアミノ基、グアニジノ基、 $-CONH_2$ 基、又は窒素原子を1乃至3個有し得る5員環若しくは6員環又は5員環と6員環から構成される縮合複素環を表す。
- [0017] 上記 $-(CH_2)_n-X$ 基においては、*X*は好ましくはアミノ基、グアニジノ基、 $-CONH_2$ 基、ピロール基、イミダゾール基、ピラゾール基又はインドール基を表し、より好ましくはイミダゾール基である。また、上記 $-(C$

H₂)_n-X基において、nは好ましくは1又は2であり、より好ましくは1である。

従って、上記-(CH₂)_n-X基は、好ましくはアミノメチル基、2-アミノエチル基、3-アミノプロピル基、4-アミノブチル基、カルバモイルメチル基、2-カルバモイルエチル基、3-カルバモイルブチル基、2-グアニジノエチル基、3-グアニジノプロピル基、ピロールメチル基、イミダゾールメチル基、ピラゾールメチル基、又は3-インドールメチル基を表し、より好ましくは4-アミノブチル基、カルバモイルメチル基、2-カルバモイルエチル基、3-グアニジノプロピル基、イミダゾールメチル基又は3-インドールメチル基を表し、さらに好ましくはイミダゾールメチル基である。

[0018] したがって、上記式(3)で表される脂質ペプチド化合物において、特に好適な化合物の具体例としては、以下の脂質部とジペプチド部から形成される化合物が挙げられる。なおアミノ酸の略称として、ヒスチジン(His)、グリシン(Gly)、バリン(Val)、イソロイシン(Ile)、アラニン(Ala)、アルギニン(Arg)、アスパラギン(Asn)、グルタミン(Gln)、ロイシン(Leu)、リジン(Lys)、トリプトファン(Trp)を用いる。: N-ラウロイル-Gly-His、N-ラウロイル-Gly-Trp、N-ラウロイル-Gly-Gln、N-ラウロイル-Gly-Asn、N-ラウロイル-Gly-Arg、N-ラウロイル-Gly-Lys、N-ラウロイル-Ala-His、N-ラウロイル-Ala-Trp、N-ラウロイル-Ala-Gln、N-ラウロイル-Ala-Asn、N-ラウロイル-Ala-Arg、N-ラウロイル-Ala-Lys、N-ラウロイル-Val-His、N-ラウロイル-Val-Trp、N-ラウロイル-Val-Gln、N-ラウロイル-Val-Asn、N-ラウロイル-Val-Arg、N-ラウロイル-Val-Lys、N-ラウロイル-Leu-His、N-ラウロイル-Leu-Trp、N-ラウロイル-Leu-Gln、N-ラウロイル-Leu-Asn、N-ラウロイル-Leu

-Arg、N-ラウロイル-Leu-Lys、N-ラウロイル-Ile-His、N-ラウロイル-Ile-Trp、N-ラウロイル-Ile-Gln、N-ラウロイル-Ile-Asn、N-ラウロイル-Ile-Arg、N-ラウロイル-Ile-Lys、N-ミリストイル-Gly-His、N-ミリストイル-Gly-Trp、N-ミリストイル-Gly-Gln、N-ミリストイル-Gly-Asn、N-ミリストイル-Gly-Arg、N-ミリストイル-Gly-Lys、N-ミリストイル-Ala-His、N-ミリストイル-Ala-Trp、N-ミリストイル-Ala-Gln、N-ミリストイル-Ala-Asn、N-ミリストイル-Ala-Arg、N-ミリストイル-Ala-Lys、N-ミリストイル-Val-His、N-ミリストイル-Val-Trp、N-ミリストイル-Val-Gln、N-ミリストイル-Val-Asn、N-ミリストイル-Val-Arg、N-ミリストイル-Val-Lys、N-ミリストイル-Leu-His、N-ミリストイル-Leu-Trp、N-ミリストイル-Leu-Gln、N-ミリストイル-Leu-Asn、N-ミリストイル-Leu-Arg、N-ミリストイル-Leu-Lys、N-ミリストイル-Ile-His、N-ミリストイル-Ile-Trp、N-ミリストイル-Ile-Gln、N-ミリストイル-Ile-Asn、N-ミリストイル-Ile-Arg、N-ミリストイル-Ile-Lys、N-パルミトイル-Gly-His、N-パルミトイル-Gly-Trp、N-パルミトイル-Gly-Gln、N-パルミトイル-Gly-Asn、N-パルミトイル-Gly-Arg、N-パルミトイル-Gly-Lys、N-パルミトイル-Ala-His、N-パルミトイル-Ala-Trp、N-パルミトイル-Ala-Gln、N-パルミトイル-Ala-Asn、N-パルミトイル-Ala-Arg、N-パルミトイル-Ala-Lys、N-パルミトイル-Val-His、N-パルミトイル-Val-Trp、N-パルミトイル-Val-Gln、N-パルミトイル-Val-Asn、N-パルミトイル-Val-Arg、N-パルミトイル-Val-Lys、N-パルミトイル-Leu-His、N-

パルミトイル-L e u-T r p、N-パルミトイル-L e u-G l n、N-
パルミトイル-L e u-A s n、N-パルミトイル-L e u-A r g、N-
パルミトイル-L e u-L y s、N-パルミトイル-l l e-H i s、N-
パルミトイル-l l e-T r p、N-パルミトイル-l l e-G l n、N-
パルミトイル-l l e-A s n、N-パルミトイル-l l e-A r g、N-
パルミトイル-l l e-L y s、N-マルガロイル-G l y-H i s、N-
マルガロイル-G l y-T r p、N-マルガロイル-G l y-G l n、N-
マルガロイル-G l y-A s n、N-マルガロイル-G l y-A r g、N-
マルガロイル-G l y-L y s、N-マルガロイル-A l a-H i s、N-
マルガロイル-A l a-T r p、N-マルガロイル-A l a-G l n、N-
マルガロイル-A l a-A s n、N-マルガロイル-A l a-A r g、N-
マルガロイル-A l a-L y s、N-マルガロイル-V a l-H i s、N-
マルガロイル-V a l-T r p、N-マルガロイル-V a l-G l n、N-
マルガロイル-V a l-A s n、N-マルガロイル-V a l-A r g、N-
マルガロイル-V a l-L y s、N-マルガロイル-L e u-H i s、N-
マルガロイル-L e u-T r p、N-マルガロイル-L e u-G l n、N-
マルガロイル-L e u-A s n、N-マルガロイル-L e u-A r g、N-
マルガロイル-L e u-L y s、N-マルガロイル-l l e-H i s、N-
マルガロイル-l l e-T r p、N-マルガロイル-l l e-G l n、N-
マルガロイル-l l e-A s n、N-マルガロイル-l l e-A r g、N-
マルガロイル-l l e-L y s、N-ステアロイル-G l y-H i s、N-
ステアロイル-G l y-T r p、N-ステアロイル-G l y-G l n、N-
ステアロイル-G l y-A s n、N-ステアロイル-G l y-A r g、N-
ステアロイル-G l y-L y s、N-ステアロイル-A l a-H i s、N-
ステアロイル-A l a-T r p、N-ステアロイル-A l a-G l n、N-
ステアロイル-A l a-A s n、N-ステアロイル-A l a-A r g、N-
ステアロイル-A l a-L y s、N-ステアロイル-V a l-H i s、N-
ステアロイル-V a l-T r p、N-ステアロイル-V a l-G l n、N-

ステアロイル-V a l -A s n、N-ステアロイル-V a l -A r g、N-
ステアロイル-V a l -L y s、N-ステアロイル-L e u -H i s、N-
ステアロイル-L e u -T r p、N-ステアロイル-L e u -G l n、N-
ステアロイル-L e u -A s n、N-ステアロイル-L e u -A r g、N-
ステアロイル-L e u -L y s、N-ステアロイル-I l e -H i s、N-
ステアロイル-I l e -T r p、N-ステアロイル-I l e -G l n、N-
ステアロイル-I l e -A s n、N-ステアロイル-I l e -A r g、N-
ステアロイル-I l e -L y s、N-エライドイル-G l y -H i s、N-
エライドイル-G l y -T r p、N-エライドイル-G l y -G l n、N-
エライドイル-G l y -A s n、N-エライドイル-G l y -A r g、N-
エライドイル-G l y -L y s、N-エライドイル-A l a -H i s、N-
エライドイル-A l a -T r p、N-エライドイル-A l a -G l n、N-
エライドイル-A l a -A s n、N-エライドイル-A l a -A r g、N-
エライドイル-A l a -L y s、N-エライドイル-V a l -H i s、N-
エライドイル-V a l -T r p、N-エライドイル-V a l -G l n、N-
エライドイル-V a l -A s n、N-エライドイル-V a l -A r g、N-
エライドイル-V a l -L y s、N-エライドイル-L e u -H i s、N-
エライドイル-L e u -T r p、N-エライドイル-L e u -G l n、N-
エライドイル-L e u -A s n、N-エライドイル-L e u -A r g、N-
エライドイル-L e u -L y s、N-エライドイル-I l e -H i s、N-
エライドイル-I l e -T r p、N-エライドイル-I l e -G l n、N-
エライドイル-I l e -A s n、N-エライドイル-I l e -A r g、N-
エライドイル-I l e -L y s、N-アラキドイル-G l y -H i s、N-
アラキドイル-G l y -T r p、N-アラキドイル-G l y -G l n、N-
アラキドイル-G l y -A s n、N-アラキドイル-G l y -A r g、N-
アラキドイル-G l y -L y s、N-アラキドイル-A l a -H i s、N-
アラキドイル-A l a -T r p、N-アラキドイル-A l a -G l n、N-
アラキドイル-A l a -A s n、N-アラキドイル-A l a -A r g、N-

アラキドイル-Ala-Lys、N-アラキドイル-Val-His、N-アラキドイル-Val-Trp、N-アラキドイル-Val-Gln、N-アラキドイル-Val-Asn、N-アラキドイル-Val-Arg、N-アラキドイル-Val-Lys、N-アラキドイル-Leu-His、N-アラキドイル-Leu-Trp、N-アラキドイル-Leu-Gln、N-アラキドイル-Leu-Asn、N-アラキドイル-Leu-Arg、N-アラキドイル-Leu-Lys、N-アラキドイル-Ile-His、N-アラキドイル-Ile-Trp、N-アラキドイル-Ile-Gln、N-アラキドイル-Ile-Asn、N-アラキドイル-Ile-Arg、N-アラキドイル-Ile-Lys、N-ベヘノイル-Gly-His、N-ベヘノイル-Gly-Trp、N-ベヘノイル-Gly-Gln、N-ベヘノイル-Gly-Asn、N-ベヘノイル-Gly-Arg、N-ベヘノイル-Gly-Lys、N-ベヘノイル-Ala-His、N-ベヘノイル-Ala-Trp、N-ベヘノイル-Ala-Gln、N-ベヘノイル-Ala-Asn、N-ベヘノイル-Ala-Arg、N-ベヘノイル-Ala-Lys、N-ベヘノイル-Val-His、N-ベヘノイル-Val-Trp、N-ベヘノイル-Val-Gln、N-ベヘノイル-Val-Asn、N-ベヘノイル-Val-Arg、N-ベヘノイル-Val-Lys、N-ベヘノイル-Leu-His、N-ベヘノイル-Leu-Trp、N-ベヘノイル-Leu-Gln、N-ベヘノイル-Leu-Asn、N-ベヘノイル-Leu-Arg、N-ベヘノイル-Leu-Lys、N-ベヘノイル-Ile-His、N-ベヘノイル-Ile-Trp、N-ベヘノイル-Ile-Gln、N-ベヘノイル-Ile-Asn、N-ベヘノイル-Ile-Arg、N-ベヘノイル-Ile-Lys。

[0019] 上記化合物のうち、より好適な脂質ペプチド化合物としては、N-ラウロイル-Gly-His、N-ラウロイル-Gly-Trp、N-ラウロイル-Gly-Gln、N-ラウロイル-Gly-Asn、N-ラウロイル-Gly-Lys、N-ラウロイル-Ala-His、N-ラウロイル-Ala

-Trp、N-ラウロイル-Ala-Gln、N-ラウロイル-Ala-Asn、N-ラウロイル-Ala-Lys、N-ラウロイル-Val-His、N-ラウロイル-Val-Trp、N-ラウロイル-Val-Gln、N-ラウロイル-Val-Asn、N-ラウロイル-Val-Lys、N-ミリストイル-Gly-His、N-ミリストイル-Gly-Trp、N-ミリストイル-Gly-Gln、N-ミリストイル-Gly-Asn、N-ミリストイル-Gly-Lys、N-ミリストイル-Ala-His、N-ミリストイル-Ala-Trp、N-ミリストイル-Ala-Gln、N-ミリストイル-Ala-Asn、N-ミリストイル-Ala-Lys、N-ミリストイル-Val-His、N-ミリストイル-Val-Trp、N-ミリストイル-Val-Gln、N-ミリストイル-Val-Asn、N-ミリストイル-Val-Lys、N-パルミトイル-Gly-His、N-パルミトイル-Gly-Trp、N-パルミトイル-Gly-Gln、N-パルミトイル-Gly-Asn、N-パルミトイル-Gly-Lys、N-パルミトイル-Ala-His、N-パルミトイル-Ala-Trp、N-パルミトイル-Ala-Gln、N-パルミトイル-Ala-Asn、N-パルミトイル-Ala-Lys、N-パルミトイル-Val-His、N-パルミトイル-Val-Trp、N-パルミトイル-Val-Gln、N-パルミトイル-Val-Asn、N-パルミトイル-Val-Lys、N-マルガロイル-Gly-His、N-マルガロイル-Gly-Trp、N-マルガロイル-Gly-Gln、N-マルガロイル-Gly-Asn、N-マルガロイル-Gly-Lys、N-マルガロイル-Ala-His、N-マルガロイル-Ala-Trp、N-マルガロイル-Ala-Gln、N-マルガロイル-Ala-Asn、N-マルガロイル-Ala-Lys、N-マルガロイル-Val-His、N-マルガロイル-Val-Trp、N-マルガロイル-Val-Gln、N-マルガロイル-Val-Asn、N-マルガロイル-Val-Lys、N-ステアロイル-Gly-His、N-ステアロイル-Gly-Trp、N-ステアロイル-Gly-Gln、N-ス

テアロイル-Gly-Asn、N-ステアロイル-Gly-Lys、N-ステアロイル-Ala-His、N-ステアロイル-Ala-Trp、N-ステアロイル-Ala-Gln、N-ステアロイル-Ala-Asn、N-ステアロイル-Ala-Lys、N-ステアロイル-Val-His、N-ステアロイル-Val-Trp、N-ステアロイル-Val-Gln、N-ステアロイル-Val-Asn、N-ステアロイル-Val-Lys、N-エライドイル-Gly-His、N-エライドイル-Gly-Trp、N-エライドイル-Gly-Gln、N-エライドイル-Gly-Asn、N-エライドイル-Gly-Lys、N-エライドイル-Ala-His、N-エライドイル-Ala-Trp、N-エライドイル-Ala-Gln、N-エライドイル-Ala-Asn、N-エライドイル-Ala-Lys、N-エライドイル-Val-His、N-エライドイル-Val-Trp、N-エライドイル-Val-Gln、N-エライドイル-Val-Asn、N-エライドイル-Val-Lys、N-アラキドイル-Gly-His、N-アラキドイル-Gly-Trp、N-アラキドイル-Gly-Gln、N-アラキドイル-Gly-Asn、N-アラキドイル-Gly-Lys、N-アラキドイル-Ala-His、N-アラキドイル-Ala-Trp、N-アラキドイル-Ala-Gln、N-アラキドイル-Ala-Asn、N-アラキドイル-Ala-Lys、N-アラキドイル-Val-His、N-アラキドイル-Val-Trp、N-アラキドイル-Val-Gln、N-アラキドイル-Val-Asn、N-アラキドイル-Val-Lys、N-ベヘノイル-Gly-His、N-ベヘノイル-Gly-Trp、N-ベヘノイル-Gly-Gln、N-ベヘノイル-Gly-Asn、N-ベヘノイル-Gly-Lys、N-ベヘノイル-Ala-His、N-ベヘノイル-Ala-Trp、N-ベヘノイル-Ala-Gln、N-ベヘノイル-Ala-Asn、N-ベヘノイル-Ala-Lys、N-ベヘノイル-Val-His、N-ベヘノイル-Val-Trp、N-ベヘノイル-Val-Gln、N-ベヘノイル-Val-Asn、N-ベヘノイル-Val-Lysが挙

げられる。

[0020] 最も好適な化合物としては、N-ラウロイル-Gly-His、N-ラウロイル-Gly-Gln、N-ラウロイル-Gly-Asn、N-ラウロイル-Gly-Lys、N-ミリストイル-Gly-His、N-ミリストイル-Gly-Gln、N-ミリストイル-Gly-Asn、N-ミリストイル-Gly-Lys、N-パルミトイル-Gly-His、N-パルミトイル-Gly-Trp、N-パルミトイル-Gly-Gln、N-パルミトイル-Gly-Asn、N-パルミトイル-Gly-Lys、N-パルミトイル-Ala-His、N-パルミトイル-Ala-Trp、N-パルミトイル-Ala-Gln、N-パルミトイル-Ala-Asn、N-パルミトイル-Ala-Lys、N-パルミトイル-Val-His、N-パルミトイル-Val-Trp、N-パルミトイル-Val-Gln、N-パルミトイル-Val-Asn、N-パルミトイル-Val-Lys、N-マルガロイル-Gly-His、N-マルガロイル-Gly-Gln、N-マルガロイル-Gly-Asn、N-マルガロイル-Gly-Lys、N-ステアロイル-Gly-His、N-ステアロイル-Gly-Gln、N-ステアロイル-Gly-Asn、N-ステアロイル-Gly-Lys、N-エライドイル-Gly-His、N-エライドイル-Gly-Gln、N-エライドイル-Gly-Asn、N-エライドイル-Gly-Lys、N-アラキドイル-Gly-His、N-アラキドイル-Gly-Gln、N-アラキドイル-Gly-Asn、N-アラキドイル-Gly-Lys、N-ベヘノイル-Gly-His、N-ベヘノイル-Gly-Gln、N-ベヘノイル-Gly-Asn、N-ベヘノイル-Gly-Lysを挙げることができる。

また、分岐鎖構造を有する脂質ペプチドとしては、N-2-(4,4-ジメチルペンタン-2-イル)-5,7,7-トリメチルオクタノイル-Gly-His、N-2-ヘプチルウンデカノイル-Gly-Hisを挙げることができる。

[0021] 上記式(1)で表されるエステル化合物と、上記式(2)で表される α -

アミノ酸化合物との反応に用いられる塩基としては、特に限定されるものではないが、例えば、金属ナトリウム、金属カリウム等のアルカリ金属；炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム等のアルカリ金属無機酸塩；水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリ金属水酸化物；ナトリウムメトキシド、*t*-ブトキシカリウム等のアルカリ金属アルコキシド；トリエチルアミン、トリー*n*-ブチルアミン等の脂肪族アミン；1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] -7-ウンデセン（以下、DBUとも称する）、1, 5-ジアザビシクロ [4. 3. 0] -5-ノネン（以下、DBNとも称する）等の脂環式アミン；ピリジン、2-メチル-5-エチルピリジン等の芳香族アミン等、そしてこれら塩基（固体）化合物のアルコール溶液又はアルコール分散液等が挙げられる。これらは1種を単独で、又は2種以上を組み合わせて用いることができる。

[0022] 以上の塩基の中でも、転化率を高めて目的物の収率をより向上させることを考慮すると、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムメトキシド、カリウムエトキシド、*t*-ブトキシカリウム、DBU又はDBNが好ましく、ナトリウムメトキシド、又はこれら金属アルコキシドのアルコール溶液、又はアルコール分散液が好ましい。

ナトリウムメトキシドは固体、又はそのメタノール溶液、又はそのメタノール分散液のいずれでも良く、また、金属ナトリウムとメタノールを用いて事前に、もしくは反応系中で調製して使用することも可能である。操作性、及び収率を考慮すると、市販されているナトリウムメトキシドの約28%のメタノール溶液を使用することが好ましい。

塩基の使用量は、特に限定されるものではなく、通常、式(1)の化合物に対して1当量～10当量程度であるが、1当量～5当量が好ましく、1.3当量～2当量がより好ましい。

[0023] 上記反応に用いられる溶媒に含まれる非極性有機溶媒は、特に限定されるものではなく、一般的な有機合成に用いられる各種溶媒の中から、反応に影響を及ぼさないものを適宜選択して用いることができる。

その具体例としては、ペンタン、*c*-ペンタン、ヘキサン、*c*-ヘキサン、メチル*c*-ヘキサン、ヘプタン、*c*-ヘプタン、オクタン、デカン、デカリン等の飽和脂肪族化合物；1-ヘキセン、1-オクチン等の不飽和脂肪族化合物；ベンゼン、トルエン、キシレン、*o*-ジクロロベンゼン等の芳香族化合物などが挙げられる。これらの溶媒は、1種を単独で、又は2種以上を組み合わせ用いることができる。

[0024] これらの非極性有機溶媒の中でも、式(1)で表されるエステル化合物の加水分解を防ぎ、転化率を高めて目的物の収率をより向上させることを考慮すると、トルエン、キシレン、オルトジクロロベンゼン、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、オクタン、*c*-ペンタン、*c*-ヘキサン、メチル*c*-ヘキサン、*c*-ヘプタン及び1-ヘキセンからなる群から選択される少なくとも1種が好ましく、特に、トルエンが好適である。

[0025] 上記反応に用いられる溶媒には、前記非極性溶媒に加え、好ましくはアルコールを含む。ここで使用されるアルコールとしては特に限定されるものではなく、一般的な有機合成に用いられる各種アルコール溶媒の中から、反応に影響を及ぼさないものを適宜選択して用いることができる。

その具体例としては、メタノール、エタノール、*n*-プロパノール、*i*-プロパノール、*n*-ブタノール、*i*-ブタノール、*s*-ブタノール、*t*-ブタノール、*n*-ペンタノール、*i*-ペンタノール、*s*-ペンタノール、*t*-ペンタノール、*n*-ヘキサノール、*i*-ヘキサノール、*s*-ヘキサノール、*t*-ヘキサノール、オクタノール、デカノール、エチレングリコール、1,3-ブタンジオール、グリセリンなどが挙げられる。これらの溶媒は、1種を単独で、又は2種以上を組み合わせ用いることができる。

[0026] 上記式(1)で表されるエステル化合物と上記式(2)で表される α -アミノ酸化合物との反応温度は、使用する溶媒の沸点以下であれば任意の温度で実施可能であるが、短時間で収率よく目的物を得ることを考慮すると、20°C乃至150°Cが好ましく、40°C乃至80°Cがより好ましく、65°C乃至75°Cがより一層好ましい。

反応時間は、反応温度や、使用する塩基及び有機溶媒種によって変動するものであるため一概には規定できないが、通常は1時間乃至48時間程度である。

[0027] 反応の形式は、試剤を室温で全て混合してから反応温度まで加熱することも可能であり、必要な試剤を滴下することで反応の制御を行う事も可能である。また、回分式、連続式、減圧、常圧、加圧下のいずれの形式でも実施可能である。常圧で塩基を滴下する形式がより好ましい。

[0028] 反応終了後、有機酸を加えて中和を行い、その後水とアルコールを加えて分液操作によって非極性有機溶媒を除去する。有機酸としては、酢酸が好ましい。ここで分離しやすさを考慮すると、脂質ペプチド化合物の塩としてはアルカリ金属塩が好ましい。

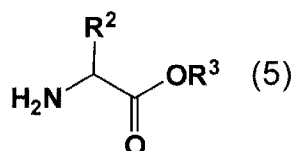
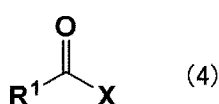
[0029] その後、好ましくは水及びアルコールを含む溶媒中で、得られた生成物にハロゲン化水素をあらかじめ算出しておいた、等電点のpHになるまで、添加する。例えば、前記式(1)で表されるエステル化合物と式(2)で表される α -アミノ酸化合物の反応後、非極性有機溶媒を除去し、残った脂質ペプチド化合物の塩のアルコールを含む水溶液にハロゲン化水素の溶液を添加する。等電点とは、等電位点ともいい、当該分子の酸塩基解離状態に於いて、形式電荷がゼロとなるpHの値である。等電点の値は、当該分子の酸解離定数(pKa)から算出することができ、例えば、ChemAxon社製の計算ソフトCalculator Pluginsを用いて、当該分子の構造から、算出することができる。また、実際に測定したゼータ電位の値から等電点を算出することもできる。

[0030] 上記pH調整の操作において用いられるハロゲン化水素は、通常、操作が容易であるため水溶液の形態で用いられ、例えば塩酸、臭化水素酸等が挙げられ、好ましくは塩酸である。なお、ハロゲン化水素を用いてpH調整する際、pH調整に要する必要量を超えると、今度は脂質ペプチドの塩酸塩が形成してしまい、フリー体の回収率が減少してしまうため、ハロゲン化水素の使用量には注意を要する。

[0031] 反応終了後の溶液に有機酸を加えて中和させた後、ろ過等により脂質ペプチド化合物（フリー体）の粗生成物を回収し、これを必要に応じて洗浄・再結晶等の後処理を行い、精製物を得る。

[0032] なお、本発明において用いる上記式（１）で表されるエステル化合物は、下記式（４）で表される化合物と、下記式（５）で表される化合物との反応により、得ることができる。

[化12]



（式中、X、R¹、R²及びR³は先に定義されたものを表す。）

[0033] 以上述べたように、本発明の製造方法は反応終了後の溶液に有機酸を加えて中和を行い、その後水とアルコールを加えて分液操作によって非極性有機溶媒を除去するため、非極性有機溶媒の回収、廃棄が容易である。

なお、脂質ペプチド化合物がゲル化能を有する場合、脂質ペプチド製造時にこれまで用いられてきたDMFなどの極性溶媒は冷却後に脂質ペプチドの作用によりゲル化する傾向があるが、非極性有機溶媒を用いることでゲル化を防止できるので、製造上、非常に有用である。

さらに、本反応では反応後に溶液がアルカリ性になっているが、中和に必要な量の塩化水素水溶液を用いる事で、ゲル化を伴わずに中和が完了し、フリー体を回収することが出来る。析出したフリー体の粗結晶を再結晶等の公知の手法によって精製し、純粋な目的物を得ることができる。

一方、中和をしない場合は、脂質ペプチド化合物の塩のアルコール溶液の層（下層）を有機溶媒中に滴下することで、脂質ペプチド化合物の塩を固体として再沈殿させて回収可能である。

実施例

[0034] 以下、合成例、実施例および比較例を挙げて、本発明をより具体的に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されるものではない。

なお、合成例、実施例で用いた試薬は、以下に示すように市販されている試薬を使用し、合成した各化合物の分析および物性測定は、以下に示す機器を使用した。

- [0035] メタノール：関東化学株式会社（特級）
テトラヒドロフラン：関東化学株式会社（1級）
i-プロパノール：関東化学株式会社（1級）
トルエン：関東化学株式会社（1級）
酢酸：関東化学株式会社（1級）
パルミチン酸クロライド：アルドリッチ（パルミトイルクロライド）、日油株式会社（蒸留 パルミチン酸 クロライド）
グリシンメチルエステル塩酸塩：東京化成工業株式会社
グリシンエチルエステル塩酸塩：東京化成工業株式会社
L-ヒスチジン：東京化成工業株式会社、協和発酵バイオ株式会社
ナトリウムメトキシド 28%メタノール溶液：日本曹達株式会社（液体ソジウムメチラート28%）、和光純薬工業株式会社（28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液）
炭酸ナトリウム：純正化学株式会社（1級）、株式会社トクヤマ
塩酸：関東化学株式会社（1級）
アセトニトリル：関東化学株式会社（特級）
- [0036] アンバーリスト 15 JWE T：オルガノ株式会社
アンバーライト FPC3500：オルガノ株式会社
キョーワード600：協和化学工業株式会社
ガレオンアースV2：水澤化学工業株式会社
- [0037] NMR：JNM-ECF300（日本電子株式会社製）
pHメーター：メトラートレド製
- [0038] HPLC分析条件を以下に示す。
カラム：Inertsil ODS-3（GL sciences製）
展開溶媒：MeOH / リン酸緩衝液(pH=2.1) = 85 / 15（容積比）

*りん酸緩衝液(pH=2.1)の調製法

りん酸二水素ナトリウム($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 7.8g(50mmol)、85%りん酸3.4mL(50mmol)に水を加え全量を1Lとする。

オーブン温度：40℃

検出法：UV205nm

流速：2.0mL/分

打ち込み量：20 μ L

保持時間：N-パルミトイル-Gly-His-メチル…5.0分、N-パルミトイル-Gly-His…5.5分、N-パルミトイル-Gly…9.3分、N-パルミトイル-Gly-メチル…11.2分

[0039] [実施例1] N-パルミトイル-Gly-エチルの合成

500mL四つ口フラスコに、グリシンエチルエステル塩酸塩15.2g(0.11mol)、水50gを投入し、塩基である炭酸ナトリウム10.6g(0.10mol)、水75g、および有機溶媒であるトルエン100gを投入し、攪拌した。その後、この中にパルミチン酸クロライド25.0g(0.090mol)を反応温度40~45℃で1時間かけて滴下し、2時間攪拌した後、10%食塩水75gを追加して60℃で分液操作を行った。得られた有機層にトルエン200gを追加し、共沸脱水を行い、N-パルミトイル-Gly-エチルのトルエン溶液248.0g(収率100%)を得た。

[0040] $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3 , δ ppm): 5.94 (1H, m), 2.18 (2H, q, $J=7.5\text{Hz}$), 4.03 (2H, d, $J=5.4\text{Hz}$), 2.24 (2H, t, $J=7.2\text{Hz}$), 1.62 (4H, m), 1.31 (25H, m), 0.88 (3H, t, $J=7.2\text{Hz}$)
 $^{\cdot}\text{MS}$ (CI) m/z : 342.10 ($\text{M}^{++}1$)

融点：79.5℃

[0041] [実施例2]

1L四つ口フラスコに、ヒスチジン14.1g(0.090mol)とト

ルエン62.1gを加え、塩基であるナトリウムメトキシド 28%メタノール溶液16.7g (0.086mol)を滴下したところに、実施例1で得られたN-パルミトイル-Gly-エチルのトルエン溶液を共沸脱水した後に、メタノール12.4gとともに投入し70℃に昇温した。その後、塩基であるナトリウムメトキシド 28%メタノール溶液13.2g (0.068mol)の滴下を開始し、約70℃で3時間攪拌を続けた。反応終了後に55℃に冷却し、酢酸を用いてpH7に調製し、水155.3gと2-ブプロノール62.1gを加えて分液を行った。下層を抜き出し、水869.8gを混合し40℃に調製したところに、35%塩酸でpH4.5に調製し中和を行うことで、N-パルミトイル-Gly-His・フリー体の粗結晶を析出させ、冷却後にろ過を行い、80℃で減圧乾燥を行い粗結晶36.5gを得た。

得られた固体へ水900g、メタノール1,800gを加え、60℃で1時間加熱攪拌した。その後、25℃まで放冷し析出した固体を濾取した。同様の操作をもう一度繰り返した後に、得られた固体を減圧乾燥した。次に、乾燥した固体へテトラヒドロフラン650gを加え、25℃で1時間攪拌した。その後、固体を濾取し、得られた固体へメタノール1,300g、テトラヒドロフラン650gを加え60℃で加熱溶解させた後に、2時間かけて0℃まで冷却し、0℃で終夜攪拌した。析出した固体を濾取、減圧乾燥することで、N-パルミトイル-Gly-His・フリー体の白色の結晶、31.3g (純度100%、収率91.1%)を得た。

[0042] [比較例1]

実施例2の反応終了後、60℃に冷却したところにイオン交換樹脂(アンバーライトFPC3500)12.7gを添加することでpHが11からpH7になった。イオン交換樹脂をろ過して得られた溶液を、アセトニトリル135.0gに再沈殿することでN-パルミトイル-Gly-His・フリー体を得た。

HPLCで分析すると、N-パルミトイル-Gly-Hisのメチル化され

た化合物が面積百分率で0.2%生成していた。

[0043] [比較例2]

比較例1で使用したイオン交換樹脂を変更（アンバーリスト15JWET 13.3g）した以外は同様の方法でN-パルミトイル-Gly-His・フリー体を得た。

HPLCで分析すると、N-パルミトイル-Gly-Hisのメチル化された化合物が面積百分率で5.6%生成していた。

[0044] [比較例3]

実施例3で使用したイオン交換樹脂から粘土鉱物に変更（ガレオンアースV2 10.0g）した以外は同様の方法で実施したが、pHが11からpH10に変化したのみで中和が完了しなかった。

[0045] [比較例4]

実施例3で使用したイオン交換樹脂からケイ酸マグネシウムに変更（キョーワード600 10.0g）した以外は同様の方法で実施したが、pHが11からpH10に変化したのみで中和が完了しなかった。

[0046] [実施例3] N-パルミトイル-Gly-エチルの合成

500L反応槽に、グリシンエチルエステル塩酸塩5.48kg（39.3mol）、水18kgを投入し、塩基である炭酸ナトリウム3.82kg（36.0mol）、水27kg、および有機溶媒であるトルエン36kgを投入し、攪拌した。その後、この中にパルミチン酸クロライド9.0kg（32.7mol）を反応温度40～45℃で1時間かけて滴下し、2時間攪拌した後、10%食塩水27kgを追加して60℃で分液操作を行った。得られた有機層にトルエン59.6kgを追加し、共沸脱水を行い、N-パルミトイル-Gly-エチルのトルエン溶液89.5kg（収率100%）を得た。

[0047] [実施例4]

200L反応槽に、ヒスチジン5.08kg（32.7mol）とトルエン22.4kgを加え、塩基であるナトリウムメトキシド 28%メタノー

ル溶液6.00kg (31.1mol)を滴下したところに、実施例3で得られたN-パルミトイル-Gly-エチルのトルエン溶液を、メタノール4.47kgとともに投入し70℃に昇温した。その後、塩基であるナトリウムメトキシド 28%メタノール溶液4.74kg (24.6mol)の滴下を開始し、約70℃で4時間攪拌を続けた。反応終了後に55℃に冷却し、酢酸を用いてpH7.6に調製し、水55.9kgと2-プロパノール22.4kgを加えて分液を行った。下層を抜き出し、水313.1kgを混合し40℃に調製したところに、35%塩酸でpH4.5に調製し中和を行うことで、N-パルミトイル-Gly-His・フリー体の粗結晶を析出させ、冷却後にろ過を行い、80℃で減圧乾燥を行い粗結晶36.5kgを得た。

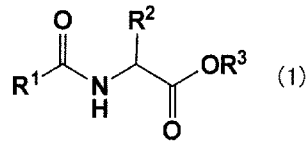
再結晶は500L反応槽にて、実施例2と同じ方法で実施し、N-パルミトイル-Gly-His・フリー体の白色の結晶、12.0kg (純度100%、収率91.1%)を得た。

請求の範囲

[請求項1]

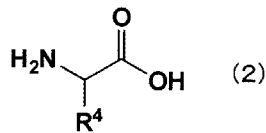
式(1)

[化1]



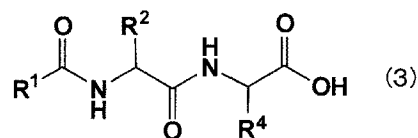
(式中、 R^1 は直鎖構造、又は分岐鎖構造を有する炭素原子数9乃至23の脂肪族基を表し、 R^2 は水素原子、又は炭素原子数1若しくは2の分枝鎖を有し得る炭素原子数1乃至4のアルキル基を表し、 R^3 は、炭素原子数1乃至6のアルキル基、炭素原子数1乃至6のハロアルキル基、炭素原子数1乃至6のヒドロキシアルキル基、又は炭素原子数1乃至6のアルキル基で置換されていてもよいアリール基を表す。)で表されるエステル化合物と、式(2)

[化2]



(式中、 R^4 は $-(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ 基を表し、 n は1乃至4の数を表し、 X はアミノ基、グアニジノ基、 $-\text{CONH}_2$ 基、又は窒素原子を1乃至3個有し得る5員環若しくは6員環又は5員環と6員環から構成される縮合複素環を表す。)で表される α -アミノ酸化合物と塩基とを、非極性有機溶媒を含む溶媒中で反応させる反応工程、当該反応工程で得られた式(3)

[化3]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^4 は先に定義されたものを表す。)で表される脂質ペプチドの塩が溶解した溶液に有機酸を加えて、中和してから

、水とアルコールを加えて分液し、非極性有機溶媒を除去する抽出工程、及び

当該抽出工程後の溶液から式(3)で表される脂質ペプチド化合物を系外に取り出す分離工程を含む、式(3)で表される脂質ペプチド化合物又はその薬学的に使用可能な塩の製造方法。

[請求項2] 前記溶媒が、非極性有機溶媒及びアルコールを含むことを特徴とする、請求項1に記載の製造方法。

[請求項3] 前記式中、 n が1乃至4の数を表し、かつ X がアミノ基、グアニジノ基又は $-CONH_2$ 基を表すか、又は n が1を表し、かつ X がピロール基、イミダゾール基、ピラゾール基又はイミダゾール基を表す、請求項1に記載の製造方法。

[請求項4] 前記式中、 R^1 が、不飽和結合を0乃至2つ有し得る炭素原子数1乃至21の直鎖状脂肪族基を表す、請求項1に記載の製造方法。

[請求項5] 前記式中、 R^2 が、水素原子、又は炭素原子数1の分枝鎖を有し得る炭素原子数1乃至3のアルキル基を表す、請求項1に記載の製造方法。

[請求項6] 前記式中、 R^2 が水素原子、メチル基、エチル基、 n -プロピル基、イソプロピル基、 n -ブチル基、イソブチル基、 sec -ブチル基又は $tert$ -ブチル基を表し、 R^4 がアミノメチル基、アミノエチル基、3-アミノプロピル基、4-アミノブチル基、カルバモイルメチル基、2-カルバモイルエチル基、3-カルバモイルブチル基、2-グアニジノエチル基、3-グアニジノプロピル基、ピロールメチル基、イミダゾールメチル基、ピラゾールメチル基又は3-インドールメチル基を表す、請求項1に記載の製造方法。

[請求項7] 前記式中、 R^2 が水素原子、メチル基、イソプロピル基、イソブチル基又は sec -ブチル基を表し、 R^4 が4-アミノブチル基、カルバモイルメチル基、2-カルバモイルエチル基、3-グアニジノプロピル基、イミダゾールメチル基又は3-インドールメチル基を表す、

請求項6に記載の製造方法。

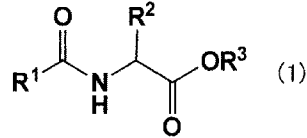
- [請求項8] 前記有機酸が酢酸である、請求項1に記載の製造方法。
- [請求項9] 前記塩基が、アルカリ金属、アルカリ金属無機酸塩、アルカリ金属水酸化物、アルカリ金属アルコキシド、脂環式アミン、又はそれらのアルコール溶液、又はそれらのアルコール分散液から選ばれる少なくとも1種である、請求項1乃至請求項8のうち何れか一項に記載の製造方法。
- [請求項10] 前記塩基が、金属ナトリウム、金属カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、リン酸カリウム、リン酸ナトリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムメトキシド、カリウムエトキシド、*t*-ブトキシカリウム、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン、1,5-ジアザビシクロ[4.3.0]-5-ノネン、又はそれらのアルコール溶液、又はそれらのアルコール分散液から選ばれる少なくとも1種である、請求項9に記載の製造方法。
- [請求項11] 前記塩基が、ナトリウムメトキシド、又はそのメタノール溶液、又はそのメタノール分散液である、請求項10に記載の製造方法。
- [請求項12] 前記非極性有機溶媒が、芳香族化合物、飽和脂肪族化合物、及び不飽和脂肪族化合物からなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項1乃至請求項11のうち何れか一項に記載の製造方法。
- [請求項13] 前記非極性有機溶媒が、トルエン、キシレン、オルトジクロロベンゼン、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、オクタン、シクロペンタン、シクロヘキサン、メチルシクロヘキサン、シクロヘプタン、及び1-ヘキセンからなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項12に記載の製造方法。
- [請求項14] 前記溶媒が、トルエンとメタノール又はエタノールを含む、請求項2に記載の製造方法。
- [請求項15] 前記式(1)で表されるエステル化合物と前記式(2)で表される

α -アミノ酸化合物との反応が、65℃乃至75℃の反応温度で行われる、請求項1乃至請求項14のうち何れか一項に記載の製造方法。

[請求項16]

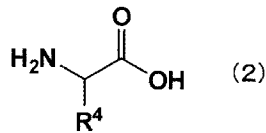
式(1)

[化4]



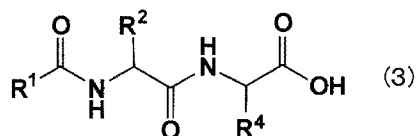
(式中、 R^1 は直鎖構造、又は分岐鎖構造を有する炭素原子数9乃至23の脂肪族基を表し、 R^2 は水素原子、又は炭素原子数1若しくは2の分岐鎖を有し得る炭素原子数1乃至4のアルキル基を表し、 R^3 は、炭素原子数1乃至6のアルキル基、炭素原子数1乃至6のハロアルキル基、炭素原子数1乃至6のヒドロキシアルキル基、又は炭素原子数1乃至6のアルキル基で置換されていてもよいアリール基を表す。)で表されるエステル化合物と、式(2)

[化5]



(式中、 R^4 は $-(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ 基を表し、 n は1乃至4の数を表し、 X はアミノ基、グアニジノ基、 $-\text{CONH}_2$ 基、又は窒素原子を1乃至3個有し得る5員環若しくは6員環又は5員環と6員環から構成される縮合複素環を表す。)で表される α -アミノ酸化合物と塩基とを、非極性有機溶媒を含む溶媒中で反応させる反応工程、当該反応工程で得られた式(3)

[化6]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^4 は先に定義されたものを表す。)で表され

る脂質ペプチドの塩が溶解した溶液に有機酸を加えて、中和してから、水とアルコールを加えて分液し、非極性有機溶媒を除去する抽出工程、

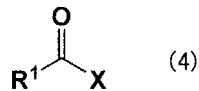
当該抽出工程後の溶液のpHを、ハロゲン化水素を用いて調整するpH調整工程、及び

当該pH調整工程後の溶液から式(3)で表される脂質ペプチド化合物を系外に取り出す分離工程を含む、式(3)で表される脂質ペプチド化合物の製造方法。

[請求項17]

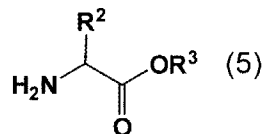
式(4)

[化7]



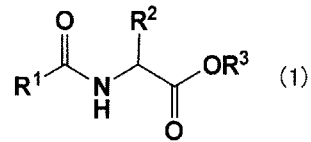
(式中、Xは、ハロゲン原子、炭素原子数1乃至6のアルコキシ基、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^1$ 基を表し、 R^1 は炭素原子数9乃至23の直鎖構造、又は分岐鎖構造を有する脂肪族基を表す。)で表される化合物と、式(5)

[化8]



(式中、 R^2 は水素原子、又は炭素原子数1若しくは2の分岐鎖を有し得る炭素原子数1乃至4のアルキル基を表し、 R^3 は、炭素原子数1乃至6のアルキル基、炭素原子数1乃至6のハロアルキル基、炭素原子数1乃至6のヒドロキシアルキル基、又は炭素原子数1乃至6のアルキル基で置換されていてもよいアリール基を表す。)で表される化合物とを反応させ、式(1)

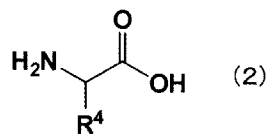
[化9]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は先に定義されたものを表す。)で表されるエステル化合物を得る生成工程、

当該生成工程で得られた式(1)で表されるエステル化合物と式(2)

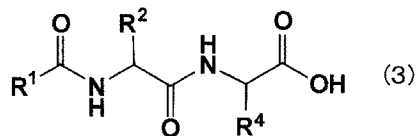
[化10]



(式中、 R^4 は、水素原子、炭素原子数1乃至3の分枝鎖を有し得る炭素原子数1乃至7のアルキル基、フェニルメチル基、フェニルエチル基、 $-(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ 基を表し、 n は1乃至4の数を表し、 X はアミノ基、グアニジノ基、 $-\text{CONH}_2$ 基、又は窒素原子を1乃至3個有し得る5員環若しくは6員環又は5員環と6員環から構成される縮合複素環を表す。)で表される α -アミノ酸化合物と塩基とを、非極性有機溶媒を含む溶媒中で反応させる反応工程、

当該反応工程で得られた式(3)

[化11]



(式中、 R^1 、 R^2 及び R^4 は先に定義されたものを表す。)で表される脂質ペプチドの塩が溶解した溶液に有機酸を加えて、中和してから、水とアルコールを加えて分液し、非極性有機溶媒を除去する抽出工程、及び

当該抽出工程後の溶液から式(3)で表される脂質ペプチド化合物を

系外に取り出す分離工程を含む、式（３）で表される脂質ペプチド化合物又はその薬学的に使用可能な塩の製造方法。

[請求項18] 前記式（４）で表される化合物と前記式（５）で表される化合物との反応が、 35°C 乃至 45°C の反応温度において、均一相中で行われる、請求項１７に記載の製造方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/048365

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>C07K 1/02</i> (2006.01)i; <i>C07K 5/062</i> (2006.01)i FI: C07K1/02; C07K5/062 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K1/02; C07K5/062		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022 Registered utility model specifications of Japan 1996-2022 Published registered utility model applications of Japan 1994-2022		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAplus/REGISTRY (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2011/027897 A1 (NISSAN CHEMICAL INDUSTRIES, LTD) 10 March 2011 (2011-03-10) entire text	1-18
A	GB 1000896 A (F. HOFFMANN LA ROCHE) 11 August 1965 (1965-08-11) entire text	1-18
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 February 2022		Date of mailing of the international search report 08 March 2022
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2021/048365

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2011/027897 A1	10 March 2011	EP 2476691 A1 entire text	
		CN 102596986 A	
		KR 10-2012-0060225 A	
GB 1000896 A	11 August 1965	US 3265682 A entire text	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C07K 1/02(2006.01)i; C07K 5/062(2006.01)i FI: C07K1/02; C07K5/062		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C07K1/02; C07K5/062 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2022年 日本国実用新案登録公報 1996-2022年 日本国登録実用新案公報 1994-2022年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） CAplus/REGISTRY (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2011/027897 A1 (日産化学工業株式会社) 10.03.2011 (2011-03-10) 全文	1-18
A	GB 1000896 A (F. HOFFMANN LA ROCHE) 11.08.1965 (1965-08-11) 全文	1-18
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 22.02.2022	国際調査報告の発送日 08.03.2022	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 馬場 亮人 4B 4043 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
 PCT/JP2021/048365

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2011/027897	A1	10.03.2011	EP	2476691	A1	
				全文			
				CN	102596986	A	
				KR	10-2012-0060225	A	
GB	1000896	A	11.08.1965	US	3265682	A	
				全文			