

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-539751

(P2013-539751A)

(43) 公表日 平成25年10月28日 (2013. 10. 28)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 7/06 (2006. 01)	C 0 7 K 7/06 Z N A	2 G 0 4 5
C 1 2 Q 1/37 (2006. 01)	C 1 2 Q 1/37	4 B 0 2 4
C 1 2 Q 1/68 (2006. 01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 5 0
C 1 2 N 1/21 (2006. 01)	C 1 2 Q 1/68 Z	4 B 0 6 3
C 1 2 N 9/52 (2006. 01)	C 1 2 N 1/21	4 B 0 6 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 196 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2013-529181 (P2013-529181)
 (86) (22) 出願日 平成23年8月31日 (2011. 8. 31)
 (85) 翻訳文提出日 平成25年5月14日 (2013. 5. 14)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/049967
 (87) 国際公開番号 W02012/036907
 (87) 国際公開日 平成24年3月22日 (2012. 3. 22)
 (31) 優先権主張番号 61/382, 988
 (32) 優先日 平成22年9月15日 (2010. 9. 15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

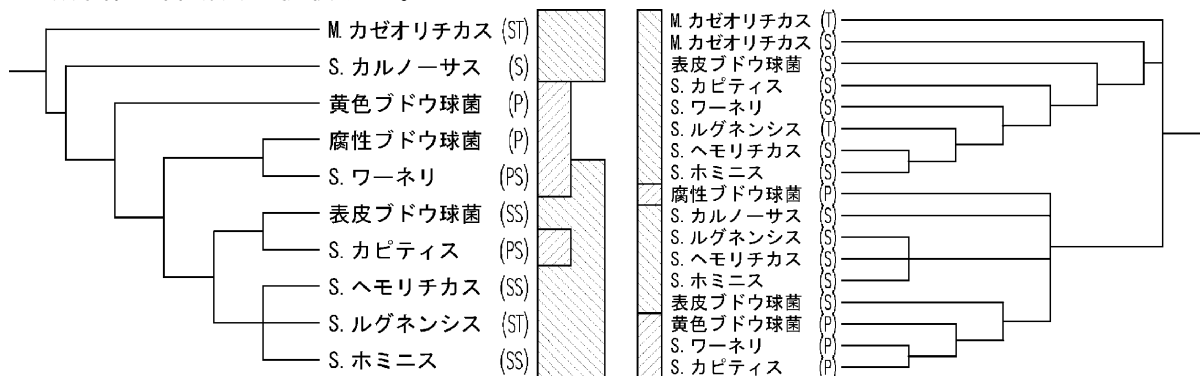
(71) 出願人 399038620
 ザ スクリプス リサーチ インスティテュート
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ラ
 ホヤ ノース トーリー パインズ ロード 10550
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100102118
 弁理士 春名 雅夫
 (74) 代理人 100160923
 弁理士 山口 裕孝
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 広域抗生物質アリロマイシン類縁体

(57) 【要約】

広域生物活性を有しうるアリロマイシン類縁体を提供する。一連の病原性細菌種における天然物アリロマイシンの抗菌生物活性に対する耐性は、細菌シグナルペプチダーゼ (SPアーゼ) の規定の位置の一アミノ酸突然変異に依存することが判明し、ここでプロリン残基の存在がアリロマイシン耐性を付与する。その耐性を克服し、アリロマイシンA2などの天然物アリロマイシンが提供しうるよりも広域の抗菌生物活性を提供することができる、アリロマイシン類縁体を本明細書において提供する。細菌株が狭域アリロマイシン抗生物質に対して感受性かどうか、または処置のために広域類縁体が必要かどうかを判定するための方法を提供する。細菌感染症の処置の薬学的組成物および方法、ならびにアリロマイシン類縁体の合成法を提供する。



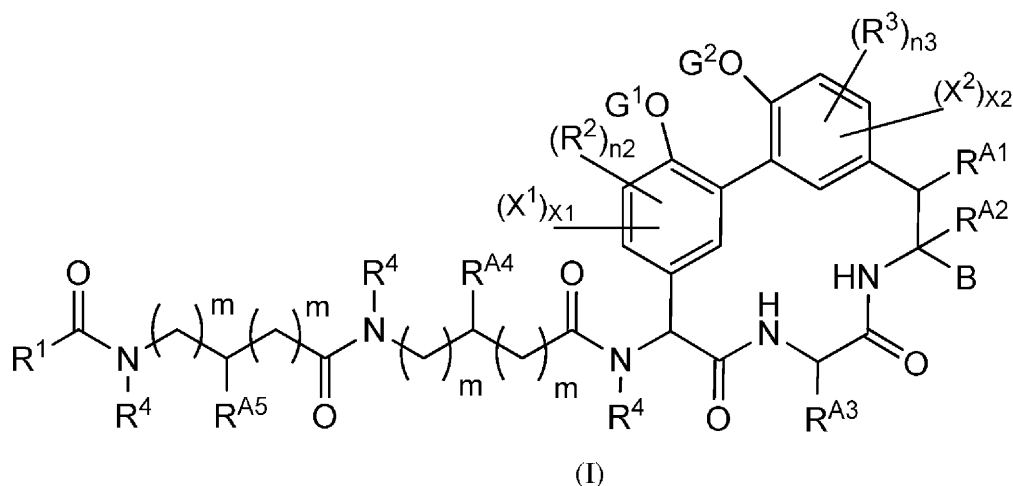
10

20

【特許請求の範囲】

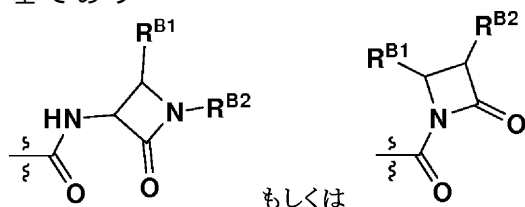
【請求項 1】

式（Ⅰ）の化合物またはその塩：



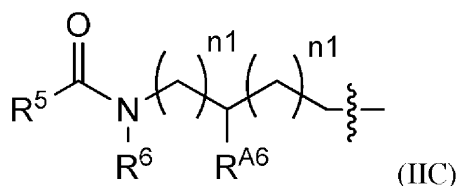
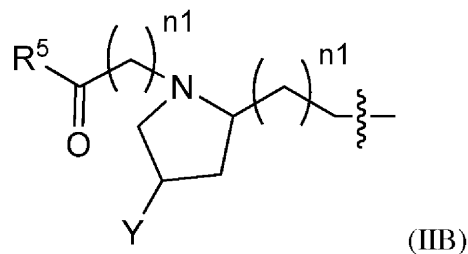
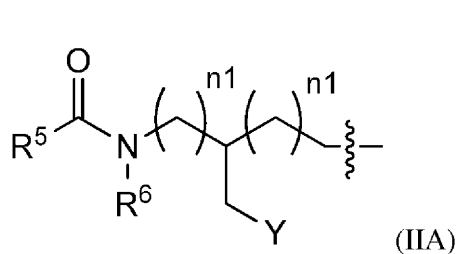
式中、

BはCO₂H、CH₂CO₂H、C(=O)NHCH₂C(=O)H、CH₂C(=O)H、C(=O)NHCH₂B(OR^B)₂もしくはC(=O)NHCH₂P(=O)(OR^B)₂であり、R^BはHもしくは(C₁-C₆)アルキルであるか、またはBは下記の式の基であり



ここで R^{B1} および R^{B2} はそれぞれ独立にH、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_6) シクロアルキル、 O
 R^C 、 $C(=O)NR^C_2$ 、 $OC(=O)NR^C_2$ 、 $C(=O)OR^C$ 、 $OC(=O)OR^C$ 、ニトロ、トリフルオロメチル、トリ
 フルオロメトキシ、 (C_1-C_6) アルコキシ、 (C_1-C_6) チオアルコキシ、 NR^C_2 、5~7員ヘテロシ
 クリルもしくは5~7員ヘテロアリール、または (C_6-C_{10}) アリールであり； R^C は各出現時に
 独立にHまたは (C_1-C_6) アルキルであり、かつ波線はBを有する式(1)の炭素へのBの連結
 点を示し；

R^1 は式(IIA)または(II B)または(II C)の基を含み

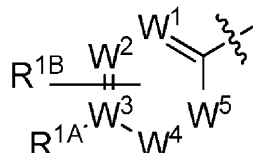


、ここで各mは独立に0、1、または2であり、n1は各出現時に独立に0、1、または2であり；Yは $(\text{CH}_2)_{0-2}\text{H}$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OH}$ 、または $(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OC}(=\text{O})(\text{C}_1-\text{C}_6)$ アルキルであり； $\text{R}^{\text{A}6}$ は水素、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つの置換基で置換されていてもよく、

ここで各置換基は独立にハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、シアノ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、5～7員ヘテロシクリル、(C₁-C₆)アルコキシ、(C₁-C₆)アルキル、(C₃-C₇)シクロアルキル、(C₁-C₆)-モノ-またはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)アルコキシカルボニル、(C₁-C₆)アルキルヒドロキシカルボニル、(C₁-C₆)アルキルアミノカルボニル、(C₁-C₆)アルキルスルホニルアミノ、および(C₆-C₁₀)-アリールスルホニルアミノからなる群より選択され；かつ波線はR¹を有する式(1)の原子へのR¹の連結点を示し；かつ

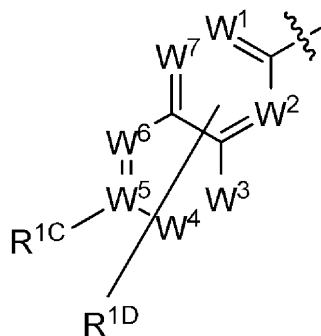
R⁵は、それが直接またはOもしくはNRによって結合してそれぞれアミド、カルバメート、または尿素連結を提供するカルボニル炭素に結合した、約1～22炭素原子の直鎖または分枝アルキル鎖であり；任意に鎖内または鎖末端に以下の基のいずれかを含み；

(A)



ここでW¹、W²、W³、W⁴およびW⁵はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただしW¹、W²、W³、W⁴およびW⁵の2つ以下はNであり；ただしR^{1A}またはR^{1B}が水素ではないとき、R^{1A}またはR^{1B}がそれぞれ結合している任意のW原子はCであり、ここでW原子を有する環に結合した1つまたは複数のR^{1B}があってもよく；R^{1A}は水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、シアノ、(C₁-C₆)-チオエーテル、フルオロアルコキシ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；R^{1B}は水素、アルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；ここで任意のR^{1A}またはR^{1B}は1～3つの(C₁-C₁₂)-アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリール基を有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

(B)

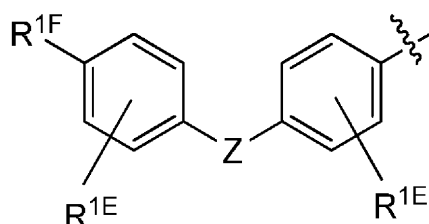


ここでW¹、W²、W³、W⁴、W⁵、W⁶、およびW⁷はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただしW¹、W²、W³、W⁴、W⁵、W⁶、およびW⁷の3つ以下はNであり；ただしR^{1C}またはR^{1D}が水素ではないとき、R^{1C}またはR^{1D}がそれぞれ結合している任意のW原子はCであり、ここでどちらの環も1つまたは複数のR^{1D}を有していてもよく；R^{1C}は水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チ

オアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり； R^{1D} は水素、アルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり；ここで任意の R^{1C} または R^{1D} は1~3つの (C_1-C_{12}) -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

10

(C)

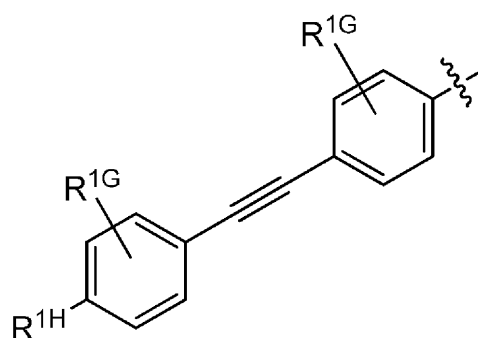


20

ここでZはO、S、NHまたは CH_2 であり； R^{1E} は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) -アリールであり； R^{1F} は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり；ここで任意の R^{1E} または R^{1F} は1~3つの (C_1-C_{12}) -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；あるいは

30

(D)



40

ここで R^{1G} は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フル

50

オロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり； R^{1H} は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり；ここで任意の R^{1G} または R^{1H} は1~3つの (C_1-C_{12}) -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

R^2 および R^3 はそれぞれ独立にニトロ、ハロ、シアノ、ヒドロキシ、グリコシルオキシ、アミノ、 (C_1-C_4) アルコキシ、 (C_1-C_4) アシルオキシ、もしくは (C_1-C_4) アルキルであり、ここで任意の炭素原子は無置換もしくはJで置換されていてもよく、ここで n^2 および n^3 は独立に0、1、2、もしくは3であるか；またはここで2つの R^2 基は一緒になって、かつ/もしくは2つの R^3 基は一緒になって、縮合シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、もしくはヘテロアリール環を構成してもよく、そのいずれも0~3つのJで置換されており；

R^4 および R^6 はあらゆる出現時にそれぞれ独立に水素、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つのJで置換されていてもよく；

R^{A1} 、 R^{A2} 、 R^{A3} 、 R^{A4} 、 R^{A5} は各出現時に独立に水素、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つのJで置換されていてもよく；

Jはハロゲン、 R' 、 OR' 、 CN 、 CF_3 、 OCF_3 、 O 、 S 、 $C(O)$ 、 $S(O)$ 、メチレンジオキシ、エチレンジオキシ、 $(CH_2)_{0-p}N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}SR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}S(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}S(O)_2R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}S(O)_2N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}SO_3R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)CH_2C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(S)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)OR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}OC(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}OC(O)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(S)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}NH-C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')N(R')C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')N(R')C(O)OR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')N(R')CON(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')SO_2R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')SO_2N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(O)OR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(S)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(O)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(S)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(COR')COR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(OR')R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(=NH)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)N(OR')R'$ 、または $(CH_2)_{0-p}C(=NOR')R'$ であり；ここでpは約4であり、

各 R' は各出現時に独立に水素、 (C_1-C_{12}) -アルキル、 (C_2-C_{12}) -アルケニル、 (C_2-C_{12}) -アルキニル、 (C_3-C_{10}) -シクロアルキル、 (C_3-C_{10}) -シクロアルケニル、 $[(C_3-C_{10})$ シクロアルキルもしくは (C_3-C_{10}) -シクロアルケニル]- $[(C_1-C_{12})$ -アルキルもしくは (C_2-C_{12}) -アルケニルもしくは (C_2-C_{12}) -アルキニル]、 (C_6-C_{10}) -アリール、 (C_6-C_{10}) -アリール- $[(C_1-C_{12})$ -アルキルもしくは (C_2-C_{12}) -アルケニルもしくは (C_2-C_{12}) -アルキニル]、単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリル、単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリル- $[(C_1-C_{12})$ -アルキルもしくは (C_2-C_{12}) -アルケニルもしくは (C_2-C_{12}) -アルキニル]、単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール、または単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール- $[(C_1-C_{12})$ -アルキルもしくは (C_2-C_{12}) -アルケニルもしくは (C_2-C_{12}) -アルキニル]であり、ここで R' はJから独立に選択される0~3つの置換基で置換されており；

あるいは、2つの R' が窒素原子または2つの隣接する窒素原子に結合しているとき、2つの R' 基はそれらが結合している窒素原子と一緒に3~8員単環式複素環、または8~20員二環式もしくは三環式複素環系を形成してもよく、ここで任意の環または環系はN、NR

10

20

30

40

50

'、O、S、S(O)およびS(O)₂からなる群より選択される1~3個の追加のヘテロ原子をさらに含むことができ、ここで各環はJから独立に選択される0~3つの置換基で置換されており；

ここで、任意の二環式または三環式環系において、各環は直線的に縮合しているか、架橋されているか、またはスピロ環式であり、ここで各環は芳香族または非芳香族のいずれかであり、ここで各環は(C₆-C₁₀)アリール、単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール、(C₃-C₁₀)シクロアルキルまたは単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリルに縮合していてもよく；

G¹およびG²はそれぞれ独立に水素もしくはグリコシル残基、または生理的条件下で切断可能でG¹もしくはG²がそれぞれ水素である式(1)の化合物を提供する基であり；

(X¹)_{x1}および(X²)_{x2}はそれぞれ、水素ではない置換基が結合している場合、X¹またはX²はそれぞれCであるとの条件で、各それぞれの環の0、1、または2個の環原子は窒素でありうることを意味し；

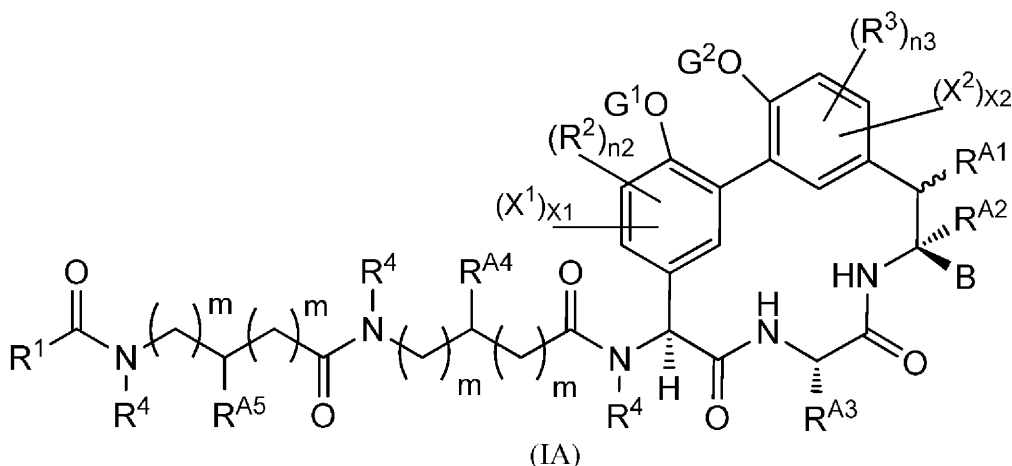
ただしG¹が6-デオキシヘキソピラノシル残基であり、G²がHであり、R¹が式(IIA)のものであり、R²が水素もしくはヒドロキシであり、R³が水素であり、R^{A1}およびR^{A2}およびR^{A4}がHであり、R^{A3}およびR^{A5}がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、またはG¹およびG²がHであり、R¹が式(IIA)のものであり、R²が水素であり、R³が水素もしくはニトロであり、R^{A1}およびR^{A2}およびR^{A4}がHであり、R^{A3}およびR^{A5}がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、R⁵は無置換(C₁₀-C₁₆)-アルキルではない。

【請求項2】

G¹がHまたは6-デオキシヘキソピラノシル残基であり、G²がHであり、R¹が式(IIA)のものであり、R²が水素もしくはヒドロキシであり、R³が水素もしくはニトロであり、R^{A1}およびR^{A2}およびR^{A4}がHであり、R^{A3}およびR^{A5}がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、R⁵は無置換(C₁-C₂₂)-アルキルではない、請求項1記載の式Iの化合物。

【請求項3】

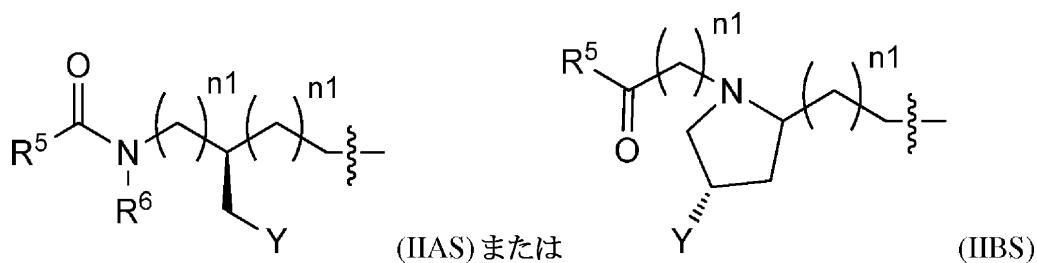
式(IA)のものまたはその塩である、請求項1記載の化合物：



式中、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R^{A1}、R^{A2}、R^{A3}、R^{A4}、R^{A5}、R^B、R^{B1}、R^{B2}、およびR^C、ならびにm、n、n²、n³、p、B、G¹、G²、(X¹)_{x1}、(X²)_{x2}、およびYは請求項1において規定するとおりであり、かつ波線は式(IA)においてR¹に結合した原子へのR¹の連結点を示す。

【請求項4】

R¹が式(IIAS)または(IIBS)の基である、請求項1記載の化合物またはその塩：



式中、 n^1 、 n^2 、 p 、 R^5 、 R^6 、および Y は請求項1において規定するとおりであり、かつ波線は式(1)において R^1 に結合した原子への R^1 の連結点を示す。

【請求項5】

R^5 が (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、請求項1記載の化合物。

【請求項6】

R^5 が請求項1記載の基(A)、(B)、(C)、または(D)の1つまたは複数を含む (C_1-C_2) 直鎖または分枝アルキルである、請求項1記載の化合物。

【請求項7】

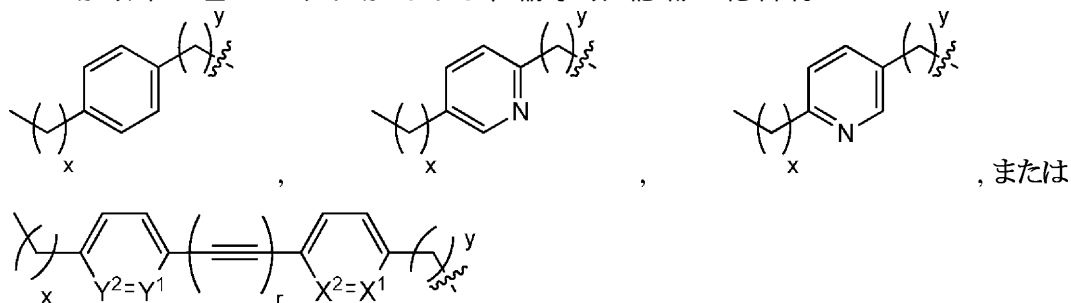
R^5 が (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、請求項3または4のいずれか一項記載の化合物。

【請求項8】

R^5 が請求項1記載の基(A)、(B)、(C)、または(D)の1つまたは複数を含む (C_1-C_2) 直鎖または分枝アルキルである、請求項3または4のいずれか一項記載の化合物。

【請求項9】

R^5 が以下の基のいずれかである、請求項1記載の化合物：



式中、 x は0~14であり、 y は0~14であり、ただし $x+y \leq 22$ であり、かつ X^1 、 X^2 、 Y^1 および Y^2 はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただし X^1 および X^2 の1つ以下、ならびに Y^1 および Y^2 の1つ以下はNであり、ここで波線は式(IIA)、(IIB)、または(IIC)において R^5 に結合した原子への R^5 の連結点を示す。

【請求項10】

R^5 が下記のいずれかである、請求項1記載の化合物：メチル、エチル、 (C_3-C_{22}) - n -アルキル、 (C_3-C_{22}) -イソアルキル、 (C_4-C_{22}) -アンテイソアルキル、ナフチル、 (C_2-C_{10}) ナフチル、ナフチルメチル、 (C_2-C_{10}) ナフチルメチル、ビフェニル、 (C_2-C_{10}) アルキルビフェニル、ビフェニルメチル、 (C_2-C_{10}) アルキルビフェニルメチル、 (C_4-C_{12}) フェニル、 (C_4-C_{12}) ベンジル、 (C_2-C_{10}) -1,2-ジフェニルエチニル、または(Z)-もしくは(E)- (C_2-C_{10}) -1,2-ジフェニルエチニル、ここで波線は式(IIA)、(IIB)、または(IIC)において R^5 に結合した原子への R^5 の連結点を示す。

【請求項11】

1つまたは複数の X^1 または X^2 を有する環がそれぞれフェニル、ピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、またはピリダジニルであり、任意に R^2 および R^3 がいずれも水素である、請求項1記載の化合物。

【請求項12】

R^2 および R^3 の少なくとも1つが水素である、請求項1記載の化合物。

【請求項13】

R^2 および R^3 の少なくとも1つがニトロ、ハロ、シアノ、ヒドロキシ、グリコシルオキシ

10

20

30

40

50

、アミノ、(C₁-C₄)アルコキシ、または(C₁-C₄)アルキルであり、かつn²またはn³がそれぞれ、またはいずれも1である、請求項1記載の化合物。

【請求項14】

両方のGが水素である、請求項1記載の化合物。

【請求項15】

R^{A1}、R^{A2}およびR^{A4}のいずれかが水素であり、R^{A3}およびR^{A5}のいずれかがメチルであるか、またはその任意の組み合わせである、請求項1記載の化合物。

【請求項16】

R^{A3}が水素、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、3-ヒドロキシプロピル、4-ヒドロキシブチル、または2,2,2-トリフルオロエチルである、請求項1記載の化合物。

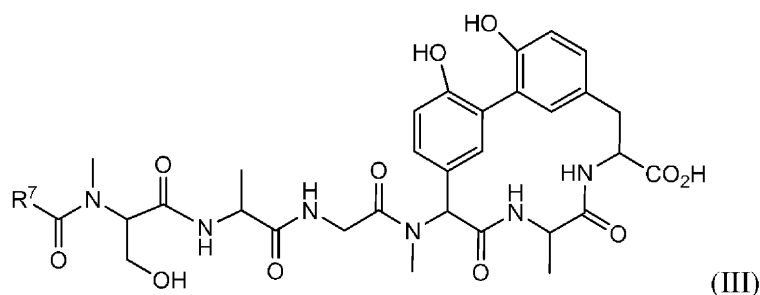
10

【請求項17】

R⁴およびR⁶のすべてが独立に選択された水素またはメチルである、請求項1記載の化合物。

【請求項18】

以下の式(III)の化合物のいずれか、またはその塩である、請求項1記載の化合物：



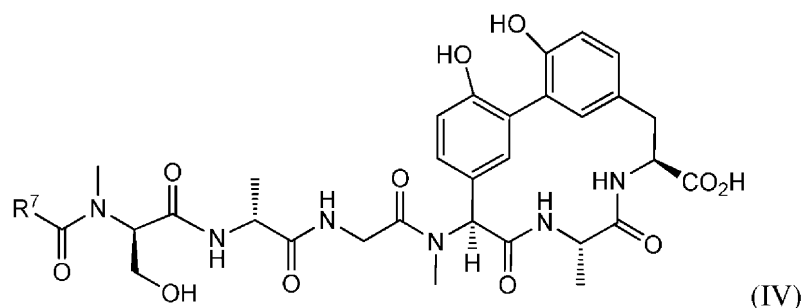
20

式中、R⁷は(C₈-C₁₈)-n-アルキル、(C₈-C₁₈)-イソアルキル、(C₈-C₁₈)-アンテイスアルキルであり、そのいずれも請求項1記載の基(A)、(B)、(C)、(D)、もしくは(E)を含むか；または2-ナフチル、6-(C₂-C₁₀)-2-ナフチル、2-ナフチルメチル、6-(C₂-C₁₀)-2-ナフチルメチル、4-ビフェニル、4-ビフェニルメチル、4'-(C₂-C₁₀)アルキル-4-ビフェニル、4'-(C₂-C₁₀)アルキル-4-ビフェニルメチル、p-(C₄-C₁₂)フェニル、p-(C₄-C₁₂)ベンジル、もしくは4'-(C₂-C₁₀)-1,2-ジフェニルエチニルである。

30

【請求項19】

以下の式(IV)の化合物のいずれか、またはその塩である、請求項3記載の化合物：



40

ここでR⁷は(C₈-C₁₈)-n-アルキル、(C₈-C₁₈)-イソアルキル、(C₈-C₁₈)-アンテイスアルキルであり、そのいずれも請求項1記載の基(A)、(B)、(C)、(D)、もしくは(E)を含むか；または2-ナフチル、6-(C₂-C₁₀)-2-ナフチル、2-ナフチルメチル、6-(C₂-C₁₀)-2-ナフチルメチル、4-ビフェニル、4-ビフェニルメチル、4'-(C₂-C₁₀)アルキル-4-ビフェニル、4'-(C₂-C₁₀)アルキル-4-ビフェニルメチル、p-(C₄-C₁₂)フェニル、p-(C₄-C₁₂)ベンジル、もしくは4'-(C₂-C₁₀)-1,2-ジフェニルエチニルである。

【請求項20】

請求項1記載の化合物の水和物、溶媒和物、プロドラッグ、または代謝物を含む化合物。

50

【請求項 2 1】

請求項1記載の化合物および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物。

【請求項 2 2】

患者における細菌感染症の処置用薬剤を調製するための、請求項1記載の化合物の使用。

【請求項 2 3】

動物における細菌感染症の処置方法であって、請求項1記載の化合物の有効量を動物に、有益な効果を動物に提供するのに十分な頻度および期間で投与する段階を含む、方法。

【請求項 2 4】

細菌感染症の原因菌種が、アリロマイシンA2による処置に耐性の遺伝子型のものである、請求項23記載の方法。

10

【請求項 2 5】

細菌感染症が、ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*)、コリネバクテリウム グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*)、カンピロバクター ジェジュニ (*Campylobacter jejuni*)、トラコーマ病原体 (*Chlamydia trachomatis*)、クラミドフィラ ニューモニエ (*Chlamydia pneumoniae*)、野兔病菌 (*Francisella tularensis*)、ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*)、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*)、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)、瘡プロピオニバクテリウム (*Propionibacterium acnes*)、ロドコッカス エクイ (*Rhodococcus equi*)、ロドコッカス オパカス (*Rhodococcus opacus*)、スタフィロコッカス カピティス (*Staphylococcus capitis*)、スタフィロコッカス カブラエ (*Staphylococcus caprae*)、スタフィロコッカス カルノーサス (*Staphylococcus carnosus*)、スタフィロコッカス コーニイ (*Staphylococcus cohnii*)、表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、スタフィロコッカス ヘモリチカス (*Staphylococcus haemolyticus*)、スタフィロコッカス ホミニス (*Staphylococcus hominis*)、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス (*Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*)、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボピオセプチカス (*Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus*)、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス (*Staphylococcus lugdunensis*)、ストレプトコッカス アガラクティエ (*Streptococcus agalactiae*)、ストレプトコッカス ディスガラクティエ (*Streptococcus dysgalactiae*)、ストレプトコッカス ミチス (*Streptococcus mitis*)、ストレプトコッカス オラーリス (*Streptococcus oralis*)、化膿連鎖球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、および/またはペスト菌 (*Yersinia pestis*) が関与する感染症である、請求項23記載の方法。

20

30

【請求項 2 6】

細菌感染症が、グラム陰性菌が関与する感染症である、請求項23記載の方法。

【請求項 2 7】

アリロマイシンAおよび/またはアリロマイシンBおよび/または請求項1記載の化合物を動物に投与する段階を含む、動物における細菌感染症の処置方法であって、該感染症が、シグナルペプチダーゼ触媒セリンよりもN末端側の10アミノ酸以内にプロリン残基を持たないシグナルペプチダーゼを発現する微生物種が関与するものである、方法。

40

【請求項 2 8】

細菌種が、SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリン残基を持たないSPアーゼ酵素をコードまたは発現する、請求項27記載の方法。

【請求項 2 9】

細菌感染症が、ジフテリア菌、コリネバクテリウム グルタミカム、カンピロバクター ジェジュニ、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、野兔病菌、ピロリ菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、瘡プロピオニバクテリウム、ロドコッカス エクイ、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス コーニイ、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカ

50

ス ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボピオセプチカス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、化膿連鎖球菌、および/または肺炎連鎖球菌が関与する感染症である、請求項27記載の方法。

【請求項30】

細菌感染症が、グラム陰性菌が関与する感染症である、請求項27記載の方法。

【請求項31】

投与する段階が局所投与を含む、請求項27記載の方法。

【請求項32】

動物に請求項1記載の化合物の任意の1つまたは任意の組み合わせを投与する段階を含む、動物における細菌感染症の処置方法であって、該細菌感染症が、SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内にプロリンを有するSPアーゼ酵素をコードまたは発現する細菌による感染症を含む、方法。

【請求項33】

細菌が、SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリンを持たないSPアーゼ酵素をコードまたは発現する、請求項32記載の方法。

【請求項34】

細菌感染症が、スタフィロコッカス カピティス、スタフィロコッカス カブラエおよび/またはペスト菌が関与するものである、請求項32記載の方法。

【請求項35】

動物にアリロマイシンAまたはアリロマイシンBを投与する段階を含む、動物における細菌感染症の処置方法であって、該微生物感染症が、ジフテリア菌、コリネバクテリウム グルタミカム、カンピロバクター ジェジュニ、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、野兔病菌、ピロリ菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、瘡プロピオニバクテリウム、ロドコッカス エクイ、スタフィロコッカス カピティス、スタフィロコッカス カブラエ、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス コーニイ、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボピオセプチカス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、化膿連鎖球菌、肺炎連鎖球菌、および/またはペスト菌が関与する感染症である、方法。

【請求項36】

投与する段階が局所投与を含む、請求項35記載の方法。

【請求項37】

第二の治療薬を投与する段階をさらに含む、請求項23または35記載の方法。

【請求項38】

第二の治療薬が非アリロマイシン抗生物質である、請求項37記載の方法。

【請求項39】

非アリロマイシン抗生物質がアミノグリコシド抗生物質、フルオロキノロン抗生物質、ペニシリン抗生物質、セファロスポリン抗生物質、マクロライド抗生物質、グリコペプチド抗生物質、リファンピシン、クロラムフェニコール、フルオラムフェニコール、コリスチン、ムピロシン、バシトラシン、ダブトマイシン、またはリネゾリドである、請求項38記載の方法。

【請求項40】

細菌シグナルペプチダーゼが試験試料中に存在するかどうかを検出する段階を含む、試験試料がアリロマイシン抗生物質に感受性の細菌を含むかどうかを検出する方法であって、該細菌シグナルペプチダーゼが、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内にプロリンを持たない、方法。

10

20

30

40

50

【請求項 4 1】

試験試料がペスト菌を含むかどうかを検出する段階をさらに含む、請求項40記載の方法。

【請求項 4 2】

細菌シグナルペプチダーゼ核酸または細菌シグナルペプチダーゼポリペプチドを検出する、請求項40記載の方法。

【請求項 4 3】

試験試料を抗シグナルペプチダーゼ抗体と接触させる段階、および抗体が試験試料中の細菌シグナルペプチダーゼと複合体を形成するかどうかを検出する段階をさらに含む、請求項40記載の方法。

10

【請求項 4 4】

抗体が、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸と共にプロリンを含まないシグナルペプチダーゼに選択的に結合する、請求項43記載の方法。

【請求項 4 5】

試験試料を、細菌シグナルペプチダーゼ触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸と共にプロリンを含むシグナルペプチダーゼに選択的に結合する抗シグナルペプチダーゼ抗体と接触させる段階、および該抗体が試験試料中の細菌シグナルペプチダーゼと複合体を形成するかどうかを検出する段階をさらに含む、請求項40記載の方法。

【請求項 4 6】

試験試料から単離した核酸を、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸と共にプロリンを含まない細菌シグナルペプチダーゼをコードするDNAに選択的にハイブリダイズするプローブまたはプライマーと接触させる段階をさらに含む、請求項40記載の方法。

20

【請求項 4 7】

プローブまたはプライマーがDNAに、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする、請求項46記載の方法。

【請求項 4 8】

プローブまたはプライマーが、触媒セリンを含む細菌シグナルペプチダーゼの約4から約15アミノ酸を含む領域をコードするシグナルペプチダーゼDNAにハイブリダイズする、請求項46記載の方法。

30

【請求項 4 9】

検出する段階が、核酸増幅、核酸配列決定、または単一ヌクレオチド多型検出を含む、請求項40記載の方法。

【請求項 5 0】

シグナルペプチダーゼが、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の7アミノ酸にプロリンを有していない、請求項40記載の方法。

【請求項 5 1】

シグナルペプチダーゼが、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5アミノ酸にプロリンを有していない、請求項40記載の方法。

【請求項 5 2】

細菌が真正細菌であり、かつ/または抗体が真正細菌の選択された種からのシグナルペプチダーゼに選択的に結合し、かつ/またはプローブもしくはプライマーが真正細菌の選択された種からのシグナルペプチダーゼをコードするDNAに選択的にハイブリダイズする、請求項40記載の方法。

40

【請求項 5 3】

シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリンを含むシグナルペプチダーゼをコードおよび/または発現するよう遺伝子操作された細菌であって、ジフテリア菌、コリネバクテリウム グルタミカム、カンピロバクター ジェジュニ、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、野兔病菌、ピロリ菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、瘡プロピオ

50

ニバクテリウム、ロドコッカス エクイ、ロドコッカス オパカス、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス コーニイ、表皮ブドウ球菌、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボビオセプチカス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、化膿連鎖球菌、および肺炎連鎖球菌からなる群より選択される、細菌。

【請求項 5 4】

シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリンを含まないシグナルペプチダーゼをコードおよび/または発現するよう遺伝子操作された細菌であって、大腸菌 (*Escherichia coli*)、肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumonia*)、サルモネラ エンテリシア (*Salmonella enterica*)、コレラ菌 (*Vibrio cholera*)、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、アシネトバクター バウマンニ (*Acinetobacter baumannii*)、髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*)、インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenza*)、シトロバクター コセリ (*Citrobacter koseri*)、フレキシネル菌 (*Shigella flexneri*)、百日咳菌 (*Bordetella pertussis*)、結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、炭疽菌 (*Bacillus anthracis*)、ストレプトコッカス ミュータンス (*Streptococcus mutans*)、クロストリジウム デイフィシレ (*Clostridium difficile*)、エンテロコッカス フェカーリス (*Enterococcus faecalis*) および/またはリステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) である、細菌。

10

20

【請求項 5 5】

シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5位または7位アミノ酸にプロリン置換を有するよう改変された、ジフテリア菌、コリネバクテリウム グルタミカム、カンピロバクター ジェジュニ、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、野兔病菌、ピロリ菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、瘡プロピオニバクテリウム、ロドコッカス エクイ、ロドコッカス オパカス、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス コーニイ、表皮ブドウ球菌、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボビオセプチカス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、化膿連鎖球菌、または肺炎連鎖球菌のシグナルペプチダーゼアミノ酸配列を有する、突然変異シグナルペプチダーゼ。

30

40

【請求項 5 6】

シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にあったプロリンを選択されたアミノ酸で置換することによって改変された、大腸菌、肺炎桿菌、サルモネラ エンテリシア、コレラ菌、緑膿菌、アシネトバクター バウマンニ、髄膜炎菌、インフルエンザ菌、シトロバクター コセリ、フレキシネル菌、百日咳菌、結核菌、黄色ブドウ球菌、炭疽菌、ストレプトコッカス ミュータンス、クロストリジウム デイフィシレ、エンテロコッカス フェカーリスまたはリステリア菌のシグナルペプチダーゼアミノ酸配列を有する、突然変異シグナルペプチダーゼ。

【請求項 5 7】

選択されたアミノ酸がセリンである、請求項56記載の突然変異シグナルペプチダーゼ。

【請求項 5 8】

アリロマイシン耐性細菌種が関与する細菌感染症を処置するのに有効な抗生物質の同定方法であって、該方法が、アリロマイシン耐性菌を試験物質と接触させる段階、および試験物質がアリロマイシン耐性菌の増殖を阻害するかどうかを観察する段階を含み、該アリロマイシン耐性菌が、シグナルペプチダーゼ触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリン残基を有するシグナルペプチダーゼ酵素をコードまたは発現する、方法。

【請求項 5 9】

50

細菌に対する抗菌活性を有する化合物の同定方法であって、該方法が、細菌の培養物を試験化合物と接触させる段階、および試験化合物が細菌の増殖を阻害するかどうかを同定する段階を含み、培養物中の該細菌が、触媒セリンに対して-5から-7位でその位置のアミノ酸の置換または置き換えによって改変された、天然の細菌SPアーゼアミノ酸配列を有する改変SPアーゼを発現する、方法。

【請求項 6 0】

触媒セリンに対して-5位および/または-7位のアミノ酸がプロリンで置き換えられている、請求項59記載の方法。

【請求項 6 1】

触媒セリンに対して-5位および/または-7位のアミノ酸が選択されたアミノ酸によって置き換えられたプロリンである、請求項59記載の方法。

10

【請求項 6 2】

選択されたアミノ酸がセリンである、請求項61記載の方法。

【請求項 6 3】

細菌の増殖を阻害する試験化合物が抗菌活性を有する、請求項58から62のいずれか一項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

政府支援の言明

20

本発明は、海軍研究事務所によって授与された助成金No. N00014-08-0478の下で政府支援により行った。米国政府は本発明において一定の権利を有する。

【0 0 0 2】

関連出願の相互参照

本出願は、2010年9月15日提出の「BROAD SPECTRUM ANTIBIOTIC ARYLOMYCIN ANALOGS」なる標題の米国特許出願第61/382,988号の優先権の恩典を主張し、これはその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【背景技術】

【0 0 0 3】

背景

30

アリロマイシンAおよびB系を含む、天然物のアリロマイシン類は、最初はHans-Peter Frielderのグループによって発見され、Journal of Antibioticsの2002年の刊行物(J. Schimana, et al., J. Antibiotics (2002), 55(6), 565-570および571-577 (非特許文献1))において記載された。アリロマイシンは、この刊行物中で特徴付けられたとおり、N-メチル-4-ヒドロキシフェニルグリシン5 (MeHpg5) とチロシン7との間の独特のピアールブリッジ、および様々な長さのN末端アシル部分を有する、ヘキサペプチドからなる天然物の独特の構造クラスを含む。Frielderのグループによって決定されたアリロマイシンAおよびB類の天然物の構造を示す図1を参照されたい。

【0 0 0 4】

アリロマイシンを記載している初期の報告は、土壌細菌であるアルスロバクター グロビフォルミス (Arthrobacter globiformis) DSM20124、アルスロバクター オキシガンズ (Arthrobacter oxygens) DSM 6612、アルスロバクター パセンス (Arthrobacter pascensis) DSM 20545、ロドコッカス エリスポリス (Rhodococcus erythropolis) DSM 1069 (現在はロドコッカス オパカス (Rhodococcus opacus) とされる)、ストレプトミセス ビリドクロモゲネス (Streptomyces viridochromogenes) Tu 57、およびブレビバチルス プレビス (Brevibacillus brevis) DSM 30に対する、ならびに真菌ムコール ヒエマリス (Mucor hiemalis) Tu 179/180に対する、これらの化合物の抗菌活性を記載しているデータを提供した。このデータは、アリロマイシンは、ロドコッカス オパカスおよびブレビバチルス プレビス以外の試験した細菌に対して活性が限られているか、または活性がないことを示唆しているようで、著者らはそのように結論付けた。さらに、データは提供されて

40

50

いないが、著者らは、グラム陰性菌の大腸菌 (*Escherichia coli*) K12、プロテウス ミラビリス (*Proteus mirabilis*) ATCC 35501、シュードモナス フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*) DSM 50090に対して、および真核生物サッカロミセス セレビジエ (*Saccharomyces cerevisiae*) ATCC 9080、ボトリチス シネレア (*Botrytis cinerea*) Tu 157に対して、および緑藻類クロレラ フスカ (*Chlorella fusca*) に対して、およびアオウキクサのコウキクサ (*Lemna minor*) に対して、活性を欠くアリロマイシンはないと述べている。

【 0 0 0 5 】

2004年に、Kulanthaivelらはアリロマイシンのサブクラスであるリボグリコペプチドを発見した。これは、ヒドロキシフェニルグリシン残基のグリコシル化および芳香族ヒドロキシ化の点で、ならびにN末端アシル部分の長さにおいて、アリロマイシンAおよびB系と異なる。リボグリコペプチドがインビトロで、必須細菌酵素I型シグナルペプチダーゼを阻害するとの結論を裏付けるために、動力学証拠が提供された。しかし、リボグリコペプチドの最も活性なメンバーは、ヒト病原体である肺炎連鎖球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) R6に対して中等度の全細胞活性しか示さず、ヒト病原体黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC13709、インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) ATCC49247、および大腸菌K12に対しては活性は非常に小さいか、まったくなかった。さらに、アリロマイシンのリボグリコペプチドサブクラスに対する大腸菌K12の内因性の耐性は、遺伝的データに基づくと薬物流出に関する外膜浸透性に起因しており、アリロマイシンはグラム陰性菌に対する抗菌剤として適切ではないことが示唆された。2005年10月4日発行の米国特許第6,951,840号 (特許文献 1) を参照されたく ; 同様にP. Kulanthaivel, et al., J. Biol. Chem. (2004), 279(35), 36250-36258 (非特許文献 2) も参照されたい。

【 0 0 0 6 】

FrielderおよびKulanthaivelによって記載された天然物は図1に示すとおりである ; Frielderのグループによって「アリロマイシン」と命名された化合物、およびKulanthaivelを含むLillyの研究者らによって「リボグリコペプチド」と命名された化合物。

【 0 0 0 7 】

アリロマイシンA2の全合成が本明細書における発明者らによって報告されており、T. Roberts, et al. (2007), J. Am. Chem. Soc. 129, 15830-15838 (非特許文献 3) を参照されたい。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 8 】

【 特許文献 1 】 米国特許第6,951,840号

【 非特許文献 】

【 0 0 0 9 】

【 非特許文献 1 】 J. Schimana, et al., J. Antibiotics (2002), 55(6), 565-570および571-577

【 非特許文献 2 】 P. Kulanthaivel, et al., J. Biol. Chem. (2004), 279(35), 36250-36258

【 非特許文献 3 】 T. Roberts, et al. (2007), J. Am. Chem. Soc. 129, 15830-15838

【 発明の概要 】

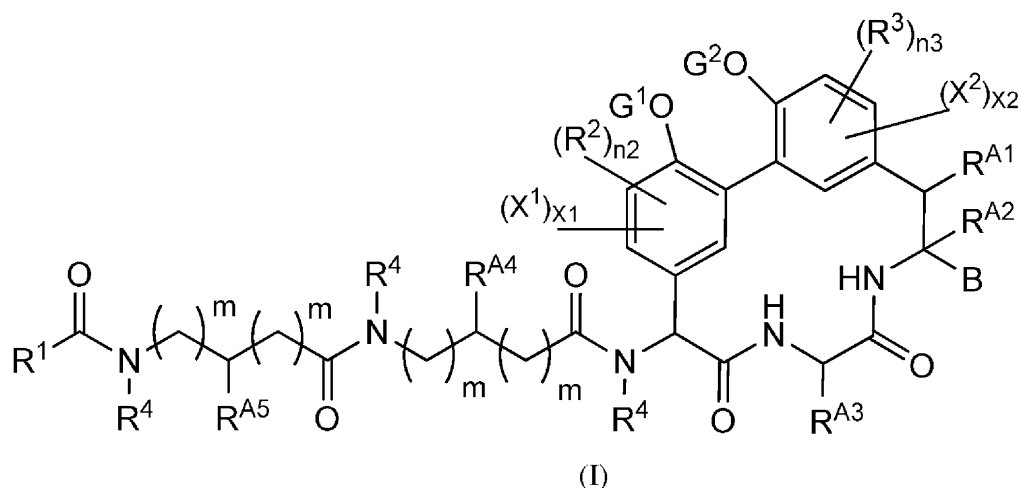
【 0 0 1 0 】

概要

本発明は、微生物感染症の処置のための、例えば細菌感染症の処置のための、天然物アリロマイシンの類縁体の使用を目的とする。様々な態様において、本発明は、細菌感染症の処置のための、アリロマイシンに構造的に関連する化学的化合物のクラスおよびサブクラスを提供する。様々な態様において、細菌感染症は、天然物アリロマイシンによる処置に耐性であるが、本発明のアリロマイシン類縁体による処置には感受性である。

【 0 0 1 1 】

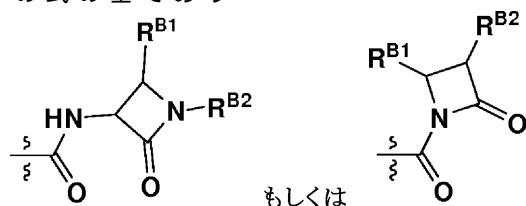
様々な態様において、本発明は式 (I) の化合物またはその塩を提供する：



10

式中

BはCO₂H、CH₂CO₂H、C(=O)NHCH₂C(=O)H、CH₂C(=O)H、C(=O)NHCH₂B(OR^B)₂もしくはC(=O)NHCH₂P(=O)(OR^B)₂であり、ここでR^BはHもしくは(C₁-C₆)アルキルであるか、またはBは下記の式の基であり

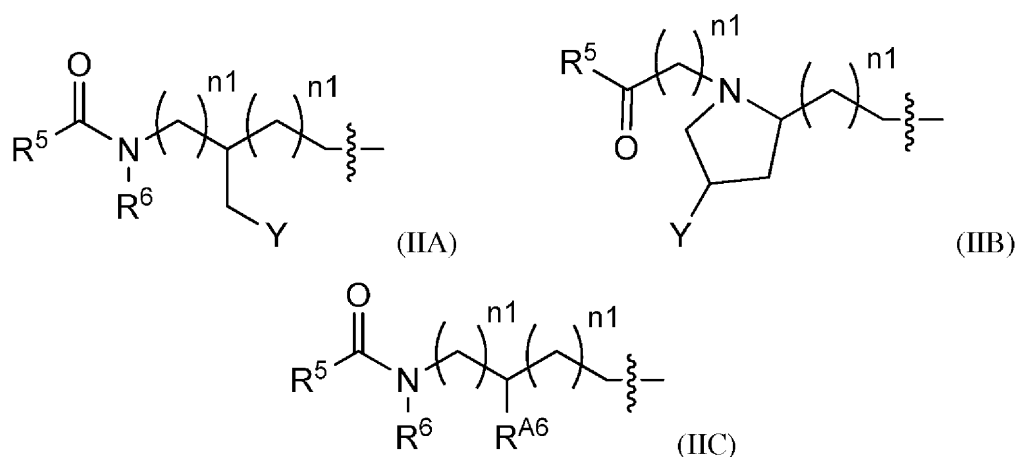


20

、ここでR^{B1}およびR^{B2}はそれぞれ独立にH、(C₁-C₆)アルキル、(C₃-C₆)シクロアルキル、OR^C、C(=O)NR^C₂、OC(=O)NR^C₂、C(=O)OR^C、OC(=O)OR^C、ニトロ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、(C₁-C₆)アルコキシ、(C₁-C₆)チオアルコキシ、NR^C₂、5~7員ヘテロシクリルもしくは5~7員ヘテロアリール、または(C₆-C₁₀)アリールであり；R^Cは各出現時に独立にHまたは(C₁-C₆)アルキルであり、かつ波線はBを有する式 (I) の炭素へのBの連結点を示し；

30

R¹は式 (IIA) または (IIB) または (IIC) の基を含み



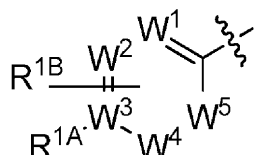
40

ここで各mは独立に0、1、または2であり、n1は各出現時に独立に0、1、または2であり；Yは(CH₂)₀₋₂H、(CH₂)₀₋₂OH、または(CH₂)₀₋₂OC(=O)(C₁-C₆)アルキルであり；R^{A6}は水素、(C₁-C₆)アルキル、(C₃-C₇)シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つの置換基で置換されていてもよく、ここで各置換基は独立にハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、シアノ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、5~7員ヘ

50

R⁵は、それが直接またはOもしくはNRによって結合してそれぞれアミド、カルバメート、または尿素連結を提供するカルボニル炭素に結合した、約1~22炭素原子の直鎖または分枝アルキル鎖であり；任意に鎖内または鎖末端に以下の基のいずれかを含み：

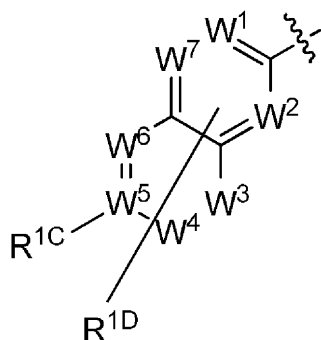
10



20

30

(B)



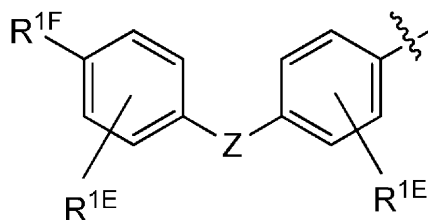
40

50

~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；R^{1D}は水素、アルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；ここで任意のR^{1C}またはR^{1D}は1~3つの(C₁-C₁₂)-アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

10

(C)

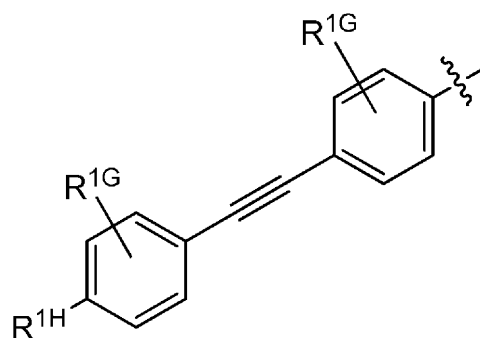


ここでZはO、S、NHまたはCH₂であり；R^{1E}は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)-アリールであり；R^{1F}は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；ここで任意のR^{1E}またはR^{1F}は1~3つの(C₁-C₁₂)-アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；あるいは

20

30

(D)



40

ここでR^{1G}は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；あるいは

50

リル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；R^{1H}は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；ここで任意のR^{1G}またはR^{1H}は1~3つの(C₁-C₁₂)-アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

R²およびR³はそれぞれ独立にニトロ、ハロ、シアノ、ヒドロキシ、グリコシルオキシ、アミノ、(C₁-C₄)アルコキシ、(C₁-C₄)アシルオキシ、もしくは(C₁-C₄)アルキルであり、ここで任意の炭素原子は無置換もしくはJで置換されていてもよく、ここでn²およびn³は独立に0、1、2、もしくは3であるか；またはここで2つのR²基は一緒になって、かつ/もしくは2つのR³基は一緒になって、縮合シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、もしくはヘテロアリール環を構成してもよく、そのいずれも0~3つのJで置換されており；

R⁴およびR⁶はあらゆる出現時にそれぞれ独立に水素、(C₁-C₆)アルキル、(C₃-C₇)シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つのJで置換されていてもよく；

R^{A1}、R^{A2}、R^{A3}、R^{A4}、R^{A5}は各出現時に独立に水素、(C₁-C₆)アルキル、(C₃-C₇)シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つのJで置換されていてもよく；

Jはハロゲン、R'、OR'、CN、CF₃、OCF₃、O、S、C(O)、S(O)、メチレンジオキシ、エチレンジオキシ、(CH₂)_{0-p}N(R')₂、(CH₂)_{0-p}SR'、(CH₂)_{0-p}S(O)R'、(CH₂)_{0-p}S(O)₂R'、(CH₂)_{0-p}S(O)₂N(R')₂、(CH₂)_{0-p}SO₃R'、(CH₂)_{0-p}C(O)R'、(CH₂)_{0-p}C(O)CH₂C(O)R'、(CH₂)_{0-p}C(S)R'、(CH₂)_{0-p}C(O)OR'、(CH₂)_{0-p}OC(O)R'、(CH₂)_{0-p}C(O)N(R')₂、(CH₂)_{0-p}OC(O)N(R')₂、(CH₂)_{0-p}C(S)N(R')₂、(CH₂)_{0-p}NH-C(O)R'、(CH₂)_{0-p}N(R')N(R')C(O)R'、(CH₂)_{0-p}N(R')N(R')C(O)OR'、(CH₂)_{0-p}N(R')N(R')CON(R')₂、(CH₂)_{0-p}N(R')SO₂R'、(CH₂)_{0-p}N(R')SO₂N(R')₂、(CH₂)_{0-p}N(R')C(O)OR'、(CH₂)_{0-p}N(R')C(O)R'、(CH₂)_{0-p}N(R')C(S)R'、(CH₂)_{0-p}N(R')C(O)N(R')₂、(CH₂)_{0-p}N(R')C(S)N(R')₂、(CH₂)_{0-p}N(COR')COR'、(CH₂)_{0-p}N(OR')R'、(CH₂)_{0-p}C(=NH)N(R')₂、(CH₂)_{0-p}C(O)N(OR')R'、または(CH₂)_{0-p}C(=NOR')R'であり；ここでpは約4であり、

各R'は各出現時に独立に水素、(C₁-C₁₂)-アルキル、(C₂-C₁₂)-アルケニル、(C₂-C₁₂)-アルキニル、(C₃-C₁₀)-シクロアルキル、(C₃-C₁₀)-シクロアルケニル、[(C₃-C₁₀)シクロアルキルもしくは(C₃-C₁₀)-シクロアルケニル]-(C₁-C₁₂)-アルキルもしくは(C₂-C₁₂)-アルケニルもしくは(C₂-C₁₂)-アルキニル]、(C₆-C₁₀)-アリール、(C₆-C₁₀)-アリール-[(C₁-C₁₂)-アルキルもしくは(C₂-C₁₂)-アルケニルもしくは(C₂-C₁₂)-アルキニル]、単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリル、単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリル-[(C₁-C₁₂)-アルキルもしくは(C₂-C₁₂)-アルケニルもしくは(C₂-C₁₂)-アルキニル]、単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール、または単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール-[(C₁-C₁₂)-アルキルもしくは(C₂-C₁₂)-アルケニルもしくは(C₂-C₁₂)-アルキニル]であり、ここでR'はJから独立に選択される0~3つの置換基で置換されており；

あるいは、2つのR'が窒素原子または2つの隣接する窒素原子に結合しているとき、2つのR'基はそれらが結合している窒素原子と一緒に3~8員単環式複素環、または8~20員二環式もしくは三環式複素環系を形成してもよく、ここで任意の環または環系はN、NR'、O、S、S(O)およびS(O)₂からなる群より選択される1~3個の追加のヘテロ原子をさらに含むことができ、ここで各環はJから独立に選択される0~3つの置換基で置換されており

10

20

30

40

50

;

ここで、任意の二環式または三環式環系において、各環は直線的に縮合しているか、架橋されているか、またはスピロ環式であり、ここで各環は芳香族または非芳香族のいずれかであり、ここで各環は(C₆-C₁₀)アリール、単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール、(C₃-C₁₀)シクロアルキルまたは単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリルに縮合していてもよく;

G¹およびG²はそれぞれ独立に水素もしくはグリコシル残基、または生理的条件下で切断可能でG¹もしくはG²がそれぞれ水素である式(1)の化合物を提供する基であり;

(X¹)_{x1}および(X²)_{x2}はそれぞれ、水素ではない置換基が結合している場合、X¹またはX²はそれぞれCであるとの条件で、各それぞれの環の0、1、または2個の環原子は窒素でありうることを意味し;

ただしG¹が6-デオキシヘキソピラノシル残基であり、G²がHであり、R¹が式(IIA)のものであり、R²が水素もしくはヒドロキシであり、R³が水素であり、R^{A1}およびR^{A2}およびR^{A4}がHであり、R^{A3}およびR^{A5}がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、またはG¹およびG²がHであり、R¹が式(IIA)のものであり、R²が水素であり、R³が水素もしくはニトロであり、R^{A1}およびR^{A2}およびR^{A4}がHであり、R^{A3}およびR^{A5}がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、R⁵は無置換(C₁₀-C₁₆)-アルキルではない。

【0012】

様々な態様において、本発明は、特定のアミノ酸配列特徴を有するI型シグナルペプチダーゼをコードする微生物(例えば、細菌)によって引き起こされる微生物感染症または細菌感染症を処置するための、アリロマイシンの使用に関する。加えて、様々な態様において、本発明は、特定のアミノ酸配列特徴を有するI型シグナルペプチダーゼをコードする細菌によって主に引き起こされることが公知の適応症を処置するための、アリロマイシンの使用に関する。

【0013】

様々な態様において、本発明は、本発明のアリロマイシン類縁体などのI型シグナルペプチダーゼ阻害剤をスクリーニングするため、またはその活性を特徴付けるための、I型細菌シグナルペプチダーゼ酵素において突然変異を有する、遺伝子改変された生物の使用を目的とする。様々な態様において、本発明は、本発明のアリロマイシン類縁体などのI型シグナルペプチダーゼ阻害剤をスクリーニングするため、またはその活性を特徴付けるための、特定の残基が突然変異している、細菌シグナルペプチダーゼタンパク質の遺伝子改変された組換え型の使用法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】J. Schimana, et al., J. Antibiotics (2002), 55(6), 565-570)において特徴付けられた、天然物、アリロマイシンAおよびBの構造を示す。R¹はチロシン残基上の置換基を表し、R²はN-メチルセリン窒素原子に結合している表示の数の炭素原子のアシル基を表す。

【図2】SPアーゼ残基84位のアミノ酸を有する大腸菌株で観察された、倍加時間とアリロマイシンC16の最小阻害濃度(MIC)との相関を示すグラフである。水平のバーは3つの独立した実験からの倍加時間の標準偏差を示す。MIC値の実験間の変動は2倍未満であった。His(MIC 4 μg/ml)およびPheまたはHis(MIC 2 μg/ml)変異体は温度感受性表現型を有し、したがって示していない。Pro29について、MICは256 μg/mlの検出限界を超えていた。

【図3A】図3は、アリロマイシン耐性のメカニズムについての物理的および生化学的証拠のいくつかを示す。図3Aは、アリロマイシンA2(PDB ID 1T7D)と複合体形成した結晶大腸菌SPアーゼの構造を示す(Paetzel et al., J. Biol. Chem. 279, 30781-30790 (2004)参照)。結晶構造中で観察される水素結合を緑で示し、Pro84によって妨害された潜在的水素結合を赤で示す。

【図3B】大腸菌(図3B)SPアーゼのPro-Ser変異体に対するアリロマイシンの平衡結合

親和性を示す。データ点およびバーは1つの実験内での平均値および標準偏差を表す。示したKD値は3つの独立した実験の平均である。

【図3C】黄色ブドウ球菌（図3C）SPアーゼのPro-Ser変異体に対するアリロマイシンの平衡結合親和性を示す。データ点およびバーは1つの実験内での平均値および標準偏差を表す。示したKD値は3つの独立した実験の平均である。

【図3D】可溶性N末端切断型の大腸菌SPアーゼに対するアリロマイシンC16の親和性を示す。可溶性N末端切断型の大腸菌SPアーゼの、WT（白い菱形）およびP84S変異体（白い四角）に対するアリロマイシンC16の定常状態結合親和性を、アリロマイシンC濃度の関数として示す。

【図4】スタフィロコッカス科（staphylococcaceae）SPアーゼ内のPro29の進化の系統再構築を示す。左側は16S RNA配列に基づくスタフィロコッカス科の系統学を示す。各種について、色のバーはSPアーゼの数および残基29におけるProの有無を示す；残基29のアミノ酸を種の名称の後に一文字コードで括弧内に示す。右側は示した種のSPアーゼ配列の系統的關係を示す。各遺伝子について、該遺伝子が見いだされた種の名称の後に、残基29のアミノ酸を一文字コードで括弧内に示す。赤および青の分枝は、配列決定されたスタフィロコッカス科の共通の祖先に存在する2つの異なるSPアーゼ系列の進化を示す。別の尤度比検定で支持される50%未満の分枝は折りたたまれている。

【図5A】各生物のゲノムにおいてコードされるSPアーゼの活性部位セリンに対して-5および/または-7位（N末端側）の、プロリン残基を欠く生物のリストである。

【図5B】各生物のゲノムにおいてコードされるSPアーゼの活性部位セリンに対して-5および/または-7位（N末端側）の、プロリン残基を欠く生物のリストである。

【図5C】各生物のゲノムにおいてコードされるSPアーゼの活性部位セリンに対して-5および/または-7位（N末端側）の、プロリン残基を欠く生物のリストである。

【図5D】各生物のゲノムにおいてコードされるSPアーゼの活性部位セリンに対して-5および/または-7位（N末端側）の、プロリン残基を欠く生物のリストである。

【図5E】各生物のゲノムにおいてコードされるSPアーゼの活性部位セリンに対して-5および/または-7位（N末端側）の、プロリン残基を欠く生物のリストである。

【図5F】各生物のゲノムにおいてコードされるSPアーゼの活性部位セリンに対して-5および/または-7位（N末端側）の、プロリン残基を欠く生物のリストである。

【図5G】各生物のゲノムにおいてコードされるSPアーゼの活性部位セリンに対して-5および/または-7位（N末端側）の、プロリン残基を欠く生物のリストである。

【図5H】各生物のゲノムにおいてコードされるSPアーゼの活性部位セリンに対して-5および/または-7位（N末端側）の、プロリン残基を欠く生物のリストである。

【発明を実施するための形態】

【0015】

詳細な説明

定義

本明細書および添付の特許請求の範囲において用いられる単数形「一つ（a）」、「一つ（an）」、および「一つ（the）」は、文脈が明らかにそうではないと示さないかぎり、複数の指示物を含む。

【0016】

本明細書において用いられる「約」なる用語は、数値または範囲に言及する場合、値または範囲において、例えば、規定する値または規定する範囲の限界の10%以内、または5%以内の程度の可変性を許容する。

【0017】

すべてのパーセント組成は、特に記載がないかぎり、重量パーセンテージで示す。

【0018】

ポリマーのすべての平均分子量は、特に記載がないかぎり、重量平均分子量である。

【0019】

本明細書において用いられる「個体」（処置の対象におけるように）とは、哺乳動物お

10

20

30

40

50

よび非哺乳動物の両方を意味する。哺乳動物には、例えば、ヒト；非ヒト霊長類、例えば、類人猿およびサル；ならびに非霊長類、例えば、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、およびヤギが含まれる。非哺乳動物には、例えば、魚および鳥が含まれる。

【0020】

「疾患」または「障害」または「状態不良」なる用語は交換可能に用いられ、疾患または状態不良に関連する生化学的メカニズムにおいて、細菌SPアーゼが、この酵素に作用することによって治療的に有益な効果が達成されうるような役割を果たす疾患または状態を指すために用いられる。SPアーゼに「作用すること」は、SPアーゼに結合することおよび/またはSPアーゼの生物活性を阻害することを含む。

【0021】

10

「有効量」なる表現は、障害を患っている個体への治療を記載するために用いる場合、障害に関連するSPアーゼが活性である個体の組織においてSPアーゼを阻害する、またはそれ以外に作用するのに有効な、本発明の化合物の量を意味し、ここでそのような阻害または他の作用は有益な治療効果を生じるのに十分な程度まで起こる。

【0022】

用語が本明細書において用いられる場合、「実質的に」とは完全に、またはほとんど完全にを意味し；例えば、ある成分を「実質的に含まない」組成物は、成分をまったく含まないか、もしくは組成物の任意の関連する機能特性が痕跡量の存在によって影響されないような痕跡量を含み、または化合物が「実質的に純粋」であるとは、無視できる極微量の不純物しか存在しないことである。

20

【0023】

本明細書における意味の範囲内の「処置すること」または「処置」は、障害もしくは疾患に関連する症状の軽減、またはそれらの症状のさらなる進行もしくは悪化の阻害、または疾患もしくは障害の防止もしくは予防、または疾患もしくは障害を治療することを意味する。同様に、本明細書において用いられる本発明の化合物の「有効量」または「治療的有效量」とは、障害もしくは状態に関連する症状を、全部もしくは一部軽減する、またはそれらの症状のさらなる進行もしくは悪化を停止もしくは遅延させる、または障害もしくは状態を防止する、もしくはその予防を提供する、化合物の量を意味する。特に、「治療的有效量」とは、所望の治療結果を達成するために、必要な用量および期間で、有効な量を意味する。治療的有效量は、本発明の化合物の任意の毒性または有害効果よりも、治療的に有益な効果がまさっている量でもある。

30

【0024】

「化学的に可能な」とは、有機構造の一般に理解されている規則が破られない結合配列または化合物を意味し；例えば、特定の場合に、天然には存在しない五価の炭素原子を含む、特許請求の範囲の定義の範囲内の構造は、特許請求の範囲内ではないことが理解されるであろう。本明細書において開示する構造は、それらの態様のすべてにおいて、「化学的に可能な」構造のみを含むことが意図され、例えば、様々な原子または基と共に示す構造において、化学的に可能ではない任意の列挙した構造は、本明細書において開示する、または特許請求することが意図されない。

【0025】

40

置換基が指定の同一性の原子、「または結合」であると指定される場合、立体配座は置換基が「結合」である場合には指定の置換基に直に隣接している基は化学的に可能な結合配座で互いに直接連結されているとされる。

【0026】

特定の立体化学または異性体型が具体的に示されないかぎり、構造のすべてのキラル型、ジアステレオマー型、ラセミ型が意図される。本発明において用いられる化合物は、記載から明らかとなっており、任意またはすべての不斉原子で濃縮または分割された光学異性体を、任意の濃縮度で含む。ラセミおよびジアステレオマー混合物の両方、ならびに個々の光学異性体は、それらの鏡像異性体またはジアステレオマーの相手を実質的に含まないように、単離または合成することができ、これらはすべて本発明の範囲内である。

50

【 0 0 2 7 】

天然の原子の天然同位体分布とは異なる、分子中の1つまたは複数の原子の同位体型の包含は、分子の「同位体標識型」と呼ぶ。原子の特定の同位体型が示されないかぎり、原子のすべての同位体型が任意の分子の組成に選択肢として含まれる。例えば、分子中の任意の水素原子または原子群は水素の任意の異性体型、すなわち、任意の組み合わせのプロチウム (^1H)、重水素 (^2H)、またはトリチウム (^3H) でありうる。同様に、分子中の任意の炭素原子または原子群は、 ^{11}C 、 ^{12}C 、 ^{13}C 、もしくは ^{14}C などの炭素の任意の異性体型でありえ、または分子中の任意の窒素原子または原子群は、 ^{13}N 、 ^{14}N 、もしくは ^{15}N などの窒素の任意の異性体型でありうる。分子は、分子を作り上げている成分原子において任意の組み合わせの同位体型を含むことができ、分子を形成しているあらゆる原子の同位体型は独立に選択される。化合物の多分子試料において、あらゆる個々の分子が必ずしも同じ同位体組成を有するわけではない。例えば、化合物の試料は、肉眼的試料を作り上げている分子群のある画分だけが放射性原子を含む、トリチウムまたは ^{14}C 放射性標識試料などの、様々な異なる同位体組成を含む試料を含みうる。人工的にそれら自体を同位体濃縮しているのではない多くの元素は、 ^{14}N および ^{15}N 、 ^{32}S および ^{34}S などの、天然の同位体型の混合物であることも理解される。本明細書において列挙する分子は、分子内の各位置ですべてのその構成元素の同位体型を含むと定義される。当技術分野において周知のとおり、同位体標識した化合物を、同位体標識した前駆体分子で置換する以外は、化学合成の通常の方法によって調製することができる。放射性標識または安定同位体は、原子炉内の前駆体核種の中性子吸収による生成、サイクロトロン反応による生成、または質量分析などによる同位体分離による生成などの、当技術分野において公知の任意の方法によって得ることができる。任意の特定の合成経路において用いるための必要に応じて、同位体型を前駆体に組み込む。例えば、 ^{14}C および ^3H を原子炉内で生成した中性子を用いて調製することができる。核変換後、 ^{14}C および ^3H を前駆体分子に組み込み、続いて必要に応じてさらなる加工を行う。

10

20

【 0 0 2 8 】

本明細書において用いられる「アミノ保護基」または「N-保護」なる用語は、アミノ基を合成手順中の望ましくない反応に対して保護することが意図され、後に除去してアミンを曝露しうる基を意味する。一般に用いられるアミノ保護基は、Protective Groups in Organic Synthesis, Greene, T.W.; Wuts, P. G. M., John Wiley & Sons, New York, NY, (3rd Edition, 1999)に開示されている。アミノ保護基には、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ピバロイル、t-ブチルアセチル、2-クロロアセチル、2-プロモアセチル、トリフルオロアセチル、トリクロロアセチル、o-ニトロフェノキシアセチル、-クロロブチリル、ベンゾイル、4-クロロベンゾイル、4-プロモベンゾイル、4-ニトロベンゾイルなどのアシル基；ベンゼンスルホニル、p-トルエンスルホニルなどのスルホニル基；ベンジルオキシカルボニル (Cbz)、p-クロロベンジルオキシカルボニル、p-メトキシベンジルオキシカルボニル、p-ニトロベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、p-プロモベンジルオキシカルボニル、3,4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、3,5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、2,4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロ-4,5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、3,4,5-トリメトキシベンジルオキシカルボニル、1-(p-ビフェニリル)-1-メチルエトキシカルボニル、-ジメチル-3,5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、ベンズヒドリルオキシカルボニル、t-ブチルオキシカルボニル (Boc)、ジイソプロピルメトキシカルボニル、イソプロピルオキシカルボニル、エトキシカルボニル、メトキシカルボニル、アリルオキシカルボニル (Alloc)、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、2-トリメチルシリルエチルオキシカルボニル (Teoc)、フェノキシカルボニル、4-ニトロフェノキシカルボニル、フルオレニル-9-メトキシカルボニル (Fmoc)、シクロペンチルオキシカルボニル、アダマンチルオキシカルボニル、シクロヘキシルオキシカルボニル、フェニルチオカルボニルなどのアルコキシ-またはアリールオキシ-カルボニル基（保護アミンとウレタンを形成する）；ベンジル、トリフェニルメチル、ベンジルオキシメチルなどのアラ

30

40

50

ルキル基；およびトリメチルシリルなどのシリル基が含まれる。アミン保護基には、フタロイルおよびジチオスクシンイミジルなどの環状アミノ保護基も含まれ、これらはアミノ窒素を複素環に組み込む。典型的には、アミノ保護基には、ホルミル、アセチル、ベンゾイル、ピバロイル、*t*-ブチルアセチル、フェニルスルホニル、Alloc、Teoc、ベンジル、Fmoc、BocおよびCbzが含まれる。当面の合成作業のために適切なアミノ保護基を選択して使用することは、当業者の技術の範囲内である。

【0029】

本明細書において用いられる「ヒドロキシル保護基」または「O-保護」なる用語は、OH基を合成手順中の望ましくない反応に対して保護することが意図され、後に除去してアミンを曝露しうる基を意味する。一般に用いられるヒドロキシル保護基は、Protective Groups in Organic Synthesis, Greene, T.W.; Wuts, P. G. M., John Wiley & Sons, New York, NY, (3rd Edition, 1999)に開示されている。ヒドロキシル保護基には、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ピバロイル、*t*-ブチルアセチル、2-クロロアセチル、2-ブロモアセチル、トリフルオロアセチル、トリクロロアセチル、*o*-ニトロフェノキシアセチル、*p*-クロロブチリル、ベンゾイル、4-クロロベンゾイル、4-ブロモベンゾイル、4-ニトロベンゾイルなどのアシル基；ベンゼンスルホニル、*p*-トルエンスルホニルなどのスルホニル基；ベンジロキシカルボニル (Cbz)、*p*-クロロベンジロキシカルボニル、*p*-メトキシベンジロキシカルボニル、*p*-ニトロベンジロキシカルボニル、2-ニトロベンジロキシカルボニル、*p*-ブロモベンジロキシカルボニル、3,4-ジメトキシベンジロキシカルボニル、3,5-ジメトキシベンジロキシカルボニル、2,4-ジメトキシベンジロキシカルボニル、4-メトキシベンジロキシカルボニル、2-ニトロ-4,5-ジメトキシベンジロキシカルボニル、3,4,5-トリメトキシベンジロキシカルボニル、1-(*p*-ビフェニリル)-1-メチルエトキシカルボニル、*tert*-ジメチル-3,5-ジメトキシベンジロキシカルボニル、ベンズヒドリロキシカルボニル、*t*-ブチロキシカルボニル (Boc)、ジイソプロピルメトキシカルボニル、イソプロピロキシカルボニル、エトキシカルボニル、メトキシカルボニル、アリロキシカルボニル (Alloc)、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル、2-トリメチルシリルエチロキシカルボニル (Teoc)、フェノキシカルボニル、4-ニトロフェノキシカルボニル、フルオレニル-9-メトキシカルボニル (Fmoc)、シクロペンチロキシカルボニル、アダマンチロキシカルボニル、シクロヘキシルオキシカルボニル、フェニルチオカルボニルなどのアシルオキシ基（保護アミンとウレタンを形成する）；ベンジル、トリフェニルメチル、ベンジロキシメチルなどのアラルキル基；およびトリメチルシリルなどのシリル基が含まれる。当面の合成作業のために適切なヒドロキシル保護基を選択して使用することは、当業者の技術の範囲内である。

【0030】

一般に、「置換された」とは、その中に含まれる水素原子への1つまたは複数の結合が、ハロゲン（すなわち、F、Cl、Br、およびI）；ヒドロキシル基、アルコキシ基、アリーロキシ基、アラルキルオキシ基、オキソ(カルボニル)基、カルボン酸、カルボン酸塩、およびカルボン酸エステルを含むカルボキシ基などの基における酸素原子；チオール基、アルキルおよびアリールスルフィド基、スルホキシド基、スルホン基、スルホニル基、およびスルホンアミド基などの基における硫黄原子；アミン、ヒドロキシルアミン、ニトリル、ニトロ基、N-オキシド、ヒドラジド、アジド、およびエナミンなどの基における窒素原子；ならびに様々な他の基における他のヘテロ原子などであるが、それらに限定されるわけではない、水素ではない原子への1つまたは複数の結合によって置き換えられている、本明細書において定義する有機基を意味する。置換された炭素（または他の）原子に結合されうる置換基の非限定例には、F、Cl、Br、I、OR'、OC(O)N(R')₂、CN、NO、NO₂、O₂N、アジド、CF₃、OCF₃、R'、O（オキソ）、S（チオ）、C(O)、S(O)、メチレンジオキシ、エチレンジオキシ、N(R')₂、SR'、SOR'、SO₂R'、SO₂N(R')₂、SO₃R'、C(O)R'、C(O)C(O)R'、C(O)CH₂C(O)R'、C(S)R'、C(O)OR'、OC(O)R'、C(O)N(R')₂、OC(O)N(R')₂、C(S)N(R')₂、(CH₂)₀₋₂N(R')C(O)R'、(CH₂)₀₋₂N(R')N(R')₂、N(R')N(R')C(O)R'、N(R')N(R')C(O)OR'、N(R')N(R')CON(R')₂、N(R')SO₂R'、N(R')SO₂N(R')₂、N(R')C(O)OR'、N(R')C(O)R'、N(

$R')C(S)R'$ 、 $N(R')C(O)N(R')_2$ 、 $N(R')C(S)N(R')_2$ 、 $N(COR')COR'$ 、 $N(OR')R'$ 、 $C(=NH)N(R')_2$ 、 $C(O)N(OR')R'$ 、または $C(=NOR')R'$ が含まれ、ここで R' は水素または炭素を基礎とする部分でありえ、かつここで炭素を基礎とする部分はそれ自体がさらに置換されていてよい。

【0031】

置換基が、例えば、FまたはClなどの、一価である場合、これは一重結合によって置換している原子に結合されている。置換基が、二価であるOなどの、一価よりも多価である場合、これは複数の結合によって置換している原子に結合されえ、すなわち、二価置換基は二重結合によって結合され；例えば、Oで置換されたCはカルボニル基、 $C=O$ を形成し、これは「CO」、「C(O)」、または「C(=O)」と書くこともでき、ここでCおよびOは二重結合している。炭素原子が二重結合酸素(=O)基で置換されている場合、酸素置換基は「オキソ」基と呼ぶ。NRなどの二価置換基が炭素原子に二重結合している場合、得られる $C(=NR)$ 基は「イミノ」基と呼ぶ。Sなどの二価置換基が炭素原子に二重結合している場合、得られる $C(=S)$ 基は「チオカルボニル」基と呼ぶ。

10

【0032】

または、O、S、 $C(O)$ 、 $S(O)$ 、または $S(O)_2$ などの二価置換基は2つの一重結合によって2つの異なる炭素原子に連結されうる。例えば、二価置換基であるOは、2つの隣接炭素原子のそれぞれに結合してエポキシド基を提供することができ、またはOは、隣接もしくは非隣接炭素原子の間で「オキシ」基と呼ぶ架橋エーテル基を形成する、例えば、シクロヘキシル基の1,4-炭素を架橋して[2.2.1]-オキサビシクロ系を形成することができる。さらに、任意の置換基を炭素または他の原子に、 $(CH_2)_n$ または $(CR'_2)_n$ などのリンカーによって結合することもでき、ここでnは1、2、3、またはそれ以上であり、かつ各 R' は独立に選択される。

20

【0033】

$C(O)$ および $S(O)_2$ 基は、炭素原子ではなく、窒素などの1つまたは2つのヘテロ原子に結合することができる。例えば、 $C(O)$ 基が1つの炭素および1つの窒素原子に結合している場合、得られる基は「アミド」または「カルボキサミド」と呼ぶ。 $C(O)$ 基が2つの窒素原子に結合している場合、官能基は尿素と呼ぶ。 $S(O)_2$ 基が1つの炭素および1つの窒素原子に結合している場合、得られる単位は「スルホンアミド」と呼ぶ。 $S(O)_2$ 基が2つの窒素原子に結合している場合、得られる単位は「スルファメート」と呼ぶ。

30

【0034】

置換アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、およびシクロアルケニル基ならびに他の置換された基には、水素原子への1つまたは複数の結合が、炭素原子への、またはカルボニル(オキソ)、カルボキシル、エステル、アミド、イミド、ウレタン、および尿素基における酸素；ならびにイミン、ヒドロキシイミン、オキシム、ヒドラゾン、アミジン、グアニジン、およびニトリルにおける窒素などであるが、それらに限定されるわけではない、ヘテロ原子への二重または三重結合を含む1つまたは複数の結合によって置き換えられている基も含まれる。

【0035】

置換シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリルおよびヘテロアリール基などの置換された環基には、水素原子への結合が炭素原子への結合で置き換えられている環および縮合環系も含まれる。したがって、置換シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリルおよびヘテロアリール基を、本明細書において定義するアルキル、アルケニル、およびアルキニル基で置換することもできる。

40

【0036】

用語が本明細書において用いられる場合の「環系」とは、1、2、3またはそれ以上の環を含む部分を意味し、これらは非環基もしくは他の環系、または両方で置換されていてよく、これらは完全飽和、部分不飽和、完全不飽和、または芳香族でありえ、かつ環系が複数の環を含む場合、環は縮合、架橋、またはスピロ環状でありうる。「スピロ環状」とは、当技術分野において周知のとおり、2つの環が1つの四面体型炭素原子で縮合している

50

構造群を意味する。

【0037】

1つまたは複数の置換基を含む本明細書に記載の任意の基に関して、当然のことながら、そのような基は立体的に実行不可能および/または合成的に不可能である任意の置換または置換パターンを含まないことが理解される。加えて、この開示する内容の化合物は、これらの化合物の置換から生じるすべての立体化学的異性体を含む。

【0038】

本明細書に記載の化合物内の選択された置換基は、反復度 (recursive degree) で存在する。この文脈において、「反復置換基」とは、置換基がそれ自体の、またはそれ自体が最初の置換基を挙げる別の置換基の、別の例を挙げうることを意味する。そのような置換基の反復性のために、理論上は、多数が任意の所与の特許請求の範囲に存在しうる。薬品化学および有機化学分野の当業者であれば、そのような置換基の総数は所期の化合物の所望の性質によって合理的に制限されることを理解する。そのような性質には、例として、分子量、溶解性またはlogPなどの物理的性質、所期の標的に対する活性などの適用性、および合成の容易さなどの実用性が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

10

【0039】

反復置換基は、開示する内容の所期の局面である。薬品化学および有機化学分野の当業者であれば、そのような置換基の汎用性を理解する。反復置換基が開示する内容の特許請求の範囲に存在する程度まで、前述のとおり総数を決定すべきである。

20

【0040】

アルキル基には、1から約20個の炭素原子、典型的には1から12個の炭素、または、いくつかの態様において、1から8個の炭素原子を有する、直鎖および分枝アルキル基およびシクロアルキル基が含まれる。直鎖アルキル基の例には、メチル、エチル、n-プロピル、n-ブチル、n-ペンチル、n-ヘキシル、n-ヘプチル、およびn-オクチル基などの1から8個の炭素原子を有するものが含まれる。分枝アルキル基の例には、イソプロピル、イソ-ブチル、sec-ブチル、t-ブチル、ネオペンチル、イソペンチル、および2,2-ジメチルプロピル基が含まれるが、それらに限定されるわけではない。本明細書において用いられる「アルキル」なる用語は、n-アルキル、イソアルキル、およびアンテイソアルキル基ならびにアルキルの他の分枝鎖型を含む。代表的な置換アルキル基は、上に挙げた任意の基、例えば、アミノ、ヒドロキシ、シアノ、カルボキシ、ニトロ、チオ、アルコキシ、およびハロゲン基で1回または複数回置換されうる。基が部分を「鎖内または鎖末端に任意に含む」アルキル鎖であるとの本明細書における記載は、用語は部分がアルキル鎖の2つのサブユニットの間に配置されうる、または鎖の無置換末端に配置されうる、または鎖と鎖の、例えば、カルボニル、NR、もしくはO基への連結点との間に配置されうることを意味する。例えば、アルキルベンゾイル基はアルキルとカルボニルとの間に配置されたフェニル基を有するアルキル鎖であり、前述の記載に適合し；N-アルキルフェニルカルボキサミドはアルキルとアミノカルボニル基との間に配置されたフェニル基を有するアルキル鎖であり、前述の記載内に適合する。

30

【0041】

シクロアルキル基は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、およびシクロオクチル基などであるが、それらに限定されるわけではない、環状アルキル基である。いくつかの態様において、シクロアルキル基は3から約8~12個の環構成員を有しうるが、他の態様において、環炭素原子の数は3~4、5、6、または7個の範囲である。シクロアルキル基には、ノルボルニル、アダマンチル、ボルニル、カンフェニル、イソカンフェニル、およびカレニル基などであるが、それらに限定されるわけではない、多環式シクロアルキル基、ならびにデカリニルなどであるが、それらに限定されるわけではない、縮合環がさらに含まれる。シクロアルキル基には、上で定義した直鎖または分枝鎖アルキル基で置換されている環も含まれる。代表的な置換シクロアルキル基は、2,2-、2,3-、2,4-、2,5-もしくは2,6-二置換シクロヘキシル基または一、二もしくは三置換ノルボルニルもしくはシクロヘプチル基などであるが、それらに限定されるわ

40

50

けではない、一置換または複数置換されていてもよく、これらは、例えば、アミノ、ヒドロキシ、シアノ、カルボキシ、ニトロ、チオ、アルコキシ、およびハロゲン基で置換される。「シクロアルケニル」なる用語は単独または組み合わせで環状アルケニル基を意味する。

【0042】

「炭素環式」、「カルボシクリル」、および「炭素環」なる用語は、シクロアルキル基またはアリール基などの、環の原子が炭素である環構造を意味する。いくつかの態様において、炭素環は3~8個の環構成員を有するが、他の態様において、環炭素原子の数は4、5、6、または7個である。そうではないことが具体的に示されていないかぎり、炭素環はN-1もの数の置換基で置換されえ、ここでNは、例えば、アルキル、アルケニル、アルキニル、アミノ、アリール、ヒドロキシ、シアノ、カルボキシ、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、ニトロ、チオ、アルコキシ、およびハロゲン基、または上に挙げた他の基を有する炭素環のサイズである。炭素環はシクロアルキル環、シクロアルケニル環、またはアリール環でありうる。カルボシクリルは単環式または多環式でありえ、多環式の場合には各環は独立にシクロアルキル環、シクロアルケニル環、またはアリール環でありうる。

10

【0043】

(シクロアルキル)アルキル基はシクロアルキルアルキルとも表示され、アルキル基の水素または炭素結合が上で定義したシクロアルキル基への結合で置き換えられている、上で定義したアルキル基である。

20

【0044】

アルケニル基には、2個の炭素原子の間に少なくとも1つの二重結合が存在すること以外は、上で定義した直鎖および分枝鎖ならびに環状アルキル基が含まれる。したがって、アルケニル基は2から約20個の炭素原子、典型的には2から12個の炭素、または、いくつかの態様において、2から8個の炭素原子を有する。例には、特にビニル、 $-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ 、シクロヘキセニル、シクロペンテニル、シクロヘキサジエニル、ブタジエニル、ペンタジエニル、およびヘキサジエニルが含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0045】

シクロアルケニル基には、2個の炭素の間に少なくとも1つの二重結合を有するシクロアルキルが含まれる。したがって、例えば、シクロアルケニル基にはシクロヘキセニル、シクロペンテニル、およびシクロヘキサジエニル基が含まれるが、それらに限定されるわけではない。シクロアルケニル基は、3から約8~12個の環構成員を有しうるが、他の態様において、環炭素原子の数は3~5、6、または7個の範囲である。シクロアルキル基には、それらが環内に少なくとも1つの二重結合を含むことを条件として、ノルボルニル、アダマンチル、ボルニル、カンフェニル、イソカンフェニル、およびカレニル基などであるが、それらに限定されるわけではない、多環式シクロアルキル基、ならびにデカリニルなどであるが、それらに限定されるわけではない、縮合環がさらに含まれる。シクロアルケニル基には、上で定義した直鎖または分枝鎖アルキル基で置換されている環も含まれる。

30

【0046】

(シクロアルケニル)アルキル基は、アルキル基の水素または炭素結合が上で定義したシクロアルケニル基への結合で置き換えられている、上で定義したアルキル基である。

40

【0047】

アルキニル基には、2個の炭素原子の間に少なくとも1つの三重結合が存在すること以外は、直鎖および分枝鎖アルキル基が含まれる。したがって、アルキニル基は2から約20個の炭素原子、典型的には2から12個の炭素、または、いくつかの態様において、2から8個の炭素原子を有する。例には、特に $-\text{C}\equiv\text{CH}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、および $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0048】

「ヘテロアルキル」なる用語はそれ自体で、または別の用語との組み合わせで、特に記

50

載がないかぎり、規定の数の炭素原子ならびにO、N、およびSからなる群より選択される1または2個のヘテロ原子からなり、窒素および硫黄原子は任意に酸化されていてもよく、かつ窒素ヘテロ原子は任意に四級化されていてもよい、安定な直鎖または分枝鎖アルキル基を意味する。ヘテロ原子は、ヘテロアルキル基の残部とそれが連結している断片との間を含む、ヘテロアルキル基の任意の位置にあってもよく、同様にヘテロアルキル基の最も遠位の炭素原子に連結されていてもよい。例には： $-O-CH_2-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2-CH_2CH_2-OH$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ 、 $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ 、 $-CH_2CH_2-S(=O)-CH_3$ 、および $-CH_2CH_2-O-CH_2CH_2-O-CH_3$ が含まれる。例えば、 $-CH_2-NH-OCH_3$ 、または $-CH_2-CH_2-S-S-CH_3$ などの、2個までのヘテロ原子は連続であってもよい。

【0049】

「シクロヘテロアルキル」環は、少なくとも1つのヘテロ原子を含むシクロアルキル環である。シクロヘテロアルキル環は、以下に記載の「ヘテロシクリル」と呼ぶこともできる。

【0050】

「ヘテロアルケニル」なる用語はそれ自体で、または別の用語との組み合わせで、特に記載がないかぎり、規定の数の炭素原子ならびにO、N、およびSからなる群より選択される1または2個のヘテロ原子からなり、窒素および硫黄原子は任意に酸化されていてもよく、かつ窒素ヘテロ原子は任意に四級化されていてもよい、安定な直鎖または分枝鎖一不飽和または二不飽和炭化水素基を意味する。2個までのヘテロ原子は連続で配置されていてもよい。例には $-CH=CH-O-CH_3$ 、 $-CH=CH-CH_2-OH$ 、 $-CH_2-CH=N-OCH_3$ 、 $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$ 、 $-C$ 20
 $H_2-CH=CH-CH_2-SH$ 、およびおよび $-CH=CH-O-CH_2CH_2-O-CH_3$ が含まれる。

【0051】

アリール基は、環にヘテロ原子を含まない、環状芳香族炭化水素である。したがって、アリール基には、フェニル、アズレニル、ヘプタレニル、ピフェニル、インダセニル、フルオレニル、フェナントレニル、トリフェニレニル、ピレニル、ナフタセニル、クリセニル、ピフェニレニル、アントラセニル、およびナフチル基が含まれるが、それらに限定されるわけではない。いくつかの態様において、アリール基は基の環部分に約6から約14個の炭素を含む。アリール基は、上で定義したとおり、無置換でも置換されていてもよい。2-、3-、4-、5-、もしくは6-置換フェニルまたは2~8置換ナフチル基などであるが、それらに限定されるわけではない、代表的な置換アリール基は、一置換または複数回置換され 30
え、これらは上に挙げたものなどの炭素または非炭素基で置換されうる。

【0052】

アラルキル基は、アルキル基の水素または炭素結合が上で定義したアリール基への結合で置き換えられている、上で定義したアルキル基である。代表的なアラルキル基には、ベンジルおよびフェニルエチル基ならびに4-エチル-インダニルなどの縮合(シクロアルキルアリール)アルキル基が含まれる。アラルケニル基は、アルキル基の水素または炭素結合が上で定義したアリール基への結合で置き換えられている、上で定義したアルケニル基である。

【0053】

ヘテロシクリル基または「ヘテロシクリル」なる用語は、3個以上の環構成員を含む芳香環および非芳香環を含み、環構成員のうち1つまたは複数はN、O、およびSなどであるが、それらに限定されるわけではない、ヘテロ原子である。したがって、ヘテロシクリルはシクロヘテロアルキル、もしくはヘテロアリール、または多環式の場合にはその任意の組み合わせでありうる。いくつかの態様において、ヘテロシクリル基は3から約20個の環構成員を含むが、他のそのような基は3から約15個の環構成員を有する。 C_2 -ヘテロシクリルと呼ぶヘテロシクリル基は、2個の炭素原子および3個のヘテロ原子を有する5員環、2個の炭素原子および4個のヘテロ原子を有する6員環などでありうる。同様に、 C_4 -ヘテロシクリルは、1個のヘテロ原子を有する5員環、2個のヘテロ原子を有する6員環などでありうる。炭素原子の数プラスヘテロ原子の数は合計して環原子の総数に等しくなる。ヘテロシクリル環は1つまたは複数の二重結合も含みうる。ヘテロアリール環はヘテロシクリル基の 40
50

一態様である。「ヘテロシクリル基」なる語句は、縮合芳香族および非芳香族基を含むものを含み縮合環種を含む。例えば、ジオキサニル環およびベンズジオキサニル環系（メチレンジオキシフェニル環系）はいずれも本明細書における意味内のヘテロシクリル基である。この語句は、キヌクリジルなどであるが、それに限定されるわけではない、ヘテロ原子を含む多環式環系も含む。ヘテロシクリル基は無置換でもよく、または前述のとおり置換されていてもよい。ヘテロシクリル基には、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、モルホリニル、ピロリル、ピラゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、ピリジニル、チオフェニル、ベンゾチオフェニル、ベンゾフラニル、ジヒドロベンゾフラニル、インドリル、ジヒドロインドリル、アザインドリル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、アザベンズイミダゾリル、ベンゾキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、イミダゾピリジニル、イソキサゾロピリジニル、チアナフタレニル、プリニル、キサンチニル、アデニニル、グアニニル、キノリニル、イソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、キノキサリニル、およびキナゾリニル基が含まれるが、それらに限定されるわけではない。ピペリジニルまたはキノリニル基などであるが、それらに限定されるわけではない、代表的な置換ヘテロシクリル基は、一置換または複数回置換されえ、これらは2-、3-、4-、5-、もしくは6-置換、または上に挙げたものなどの基で二置換される。

10

20

30

40

50

【0054】

ヘテロアリール基は、5個以上の環構成員を含む芳香環化合物であり、環構成員のうち1つまたは複数はN、O、およびSなどであるが、それらに限定されるわけではない、ヘテロ原子であり；例えば、ヘテロアリール環は5から約8～12個の環構成員を有しうる。ヘテロアリール基は、芳香族電子構造を有する様々なヘテロシクリル基である。C₂-ヘテロアリールと呼ぶヘテロアリール基は、2個の炭素原子および3個のヘテロ原子を有する5員環、2個の炭素原子および4個のヘテロ原子を有する6員環などでありうる。同様に、C₄-ヘテロアリールは、1個のヘテロ原子を有する5員環、2個のヘテロ原子を有する6員環などでありうる。炭素原子の数プラスヘテロ原子の数は合計して環原子の総数に等しくなる。ヘテロアリール基には、ピロリル、ピラゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、ピリジニル、チオフェニル、ベンゾチオフェニル、ベンゾフラニル、インドリル、アザインドリル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、アザベンズイミダゾリル、ベンズオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、イミダゾピリジニル、イソキサゾロピリジニル、チアナフタレニル、プリニル、キサンチニル、アデニニル、グアニニル、キノリニル、イソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、キノキサリニル、およびキナゾリニル基などの基が含まれるが、それらに限定されるわけではない。ヘテロアリール基は無置換でもよく、または前述の基で置換されていてもよい。代表的な置換ヘテロアリール基は、上に挙げたものなどの基で1回または複数回置換されうる。

【0055】

アリールおよびヘテロアリール基のさらなる例には、フェニル、ピフェニル、インデニル、ナフチル（1-ナフチル、2-ナフチル）、N-ヒドロキシテトラゾリル、N-ヒドロキシトリアゾリル、N-ヒドロキシイミダゾリル、アントラセニル（1-アントラセニル、2-アントラセニル、3-アントラセニル）、チオフェニル（2-チエニル、3-チエニル）、フリル（2-フリル、3-フリル）、インドリル、オキサジアゾリル、イソキサゾリル、キナゾリニル、フルオレニル、キサンテニル、イソインダニル、ベンズヒドリル、アクリジニル、チアゾリル、ピロリル（2-ピロリル）、ピラゾリル（3-ピラゾリル）、イミダゾリル（1-イミダゾリル、2-イミダゾリル、4-イミダゾリル、5-イミダゾリル）、トリアゾリル（1,2,3-トリアゾル-1-イル、1,2,3-トリアゾル-2-イル、1,2,3-トリアゾル-4-イル、1,2,4-トリアゾル-3-イル）、オキサゾリル（2-オキサゾリル、4-オキサゾリル、5-オキサゾリル）、チアゾリル（2-チアゾリル、4-チアゾリル、5-チアゾリル）、ピリジニル（2-ピリジニル、3-ピリジニル、4-ピリジニル）、ピリミジニル（2-ピリミジニル、4-ピリミジニル、5-ピリミジニル、6-ピリミジニル）、ピラジニル、ピリダジニル（3-ピリダジニル、4-ピリダジニル

、5-ピリダジニル)、キノリル(2-キノリル、3-キノリル、4-キノリル、5-キノリル、6-キノリル、7-キノリル、8-キノリル)、イソキノリル(1-イソキノリル、3-イソキノリル、4-イソキノリル、5-イソキノリル、6-イソキノリル、7-イソキノリル、8-イソキノリル)、ベンゾ[b]フラニル(2-ベンゾ[b]フラニル、3-ベンゾ[b]フラニル、4-ベンゾ[b]フラニル、5-ベンゾ[b]フラニル、6-ベンゾ[b]フラニル、7-ベンゾ[b]フラニル)、2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]フラニル(2-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]フラニル)、3-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]フラニル)、4-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]フラニル)、5-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]フラニル)、6-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]フラニル)、7-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]フラニル)、ベンゾ[b]チオフェニル(2-ベンゾ[b]チオフェニル、3-ベンゾ[b]チオフェニル、4-ベンゾ[b]チオフェニル、5-ベンゾ[b]チオフェニル、6-ベンゾ[b]チオフェニル、7-ベンゾ[b]チオフェニル)、2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]チオフェニル、(2-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]チオフェニル)、3-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]チオフェニル)、4-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]チオフェニル)、5-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]チオフェニル)、6-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]チオフェニル)、7-(2,3-ジヒドロ-ベンゾ[b]チオフェニル)、インドリル(1-インドリル、2-インドリル、3-インドリル、4-インドリル、5-インドリル、6-インドリル、7-インドリル)、インダゾール(1-インダゾール、3-インダゾール、4-インダゾール、5-インダゾール、6-インダゾール、7-インダゾール)、ベンズイミダゾール(1-ベンズイミダゾール、2-ベンズイミダゾール、4-ベンズイミダゾール、5-ベンズイミダゾール、6-ベンズイミダゾール、7-ベンズイミダゾール、8-ベンズイミダゾール)、ベンゾキサゾール(1-ベンゾキサゾール、2-ベンゾキサゾール)、ベンゾチアゾール(1-ベンゾチアゾール、2-ベンゾチアゾール、4-ベンゾチアゾール、5-ベンゾチアゾール、6-ベンゾチアゾール、7-ベンゾチアゾール)、カルバゾール(1-カルバゾール、2-カルバゾール、3-カルバゾール、4-カルバゾール)、5H-ジベンズ[b,f]アゼピン(5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-1-イル、5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-2-イル、5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-3-イル、5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-4-イル、5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-5-イル)、10,11-ジヒドロ-5H-ジベンズ[b,f]アゼピン(10,11-ジヒドロ-5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-1-イル、10,11-ジヒドロ-5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-2-イル、10,11-ジヒドロ-5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-3-イル、10,11-ジヒドロ-5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-4-イル、10,11-ジヒドロ-5H-ジベンズ[b,f]アゼピン-5-イル)などが含まれるが、それらに限定されるわけではない。

10

20

30

【0056】

ヘテロシクリルアルキル基は、上で定義したアルキル基の水素または炭素結合が上で定義したヘテロシクリル基への結合で置き換えられている、上で定義したアルキル基である。代表的なヘテロシクリルアルキル基には、フラン-2-イルメチル、フラン-3-イルメチル、ピリジン-3-イルメチル、テトラヒドロフラン-2-イルエチル、およびインドル-2-イルプロピルが含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0057】

ヘテロアリールアルキル基は、アルキル基の水素または炭素結合が上で定義したヘテロアリール基への結合で置き換えられている、上で定義したアルキル基である。

【0058】

「アルコキシ」なる用語は、上で定義したとおり、シクロアルキル基を含む、アルキル基に連結した酸素原子を意味する。直鎖アルコキシ基の例には、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、ペンチルオキシ、ヘキシルオキシなどが含まれるが、それらに限定されるわけではない。分枝アルコキシの例には、イソプロポキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ、イソペンチルオキシ、イソヘキシルオキシなどが含まれるが、それらに限定されるわけではない。環状アルコキシの例には、シクロプロピルオキシ、シクロブチルオキシ、シクロペンチルオキシ、シクロヘキシルオキシなどが含まれるが、それらに限定されるわけではない。アルコキシ基は、酸素原子に結合した1から約12~20個の炭素原子を含むことができ、さらに二重または三重結合を含むことができ、ヘテロ原子を含むこともできる。例えば、アリルオキシ基は本明細書における意味内のアルコキシ基である。構造の2つの隣接原子がそれによって置換されている状況でのメチレンジオキシ基と同様、メト

40

50

キシエトキシ基も本明細書における意味内のアルコキシ基である。

【0059】

「ハロ」または「ハロゲン」または「ハロゲン化物」なる用語は、それら自体または別の置換基の一部として、特に記載がないかぎり、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素原子、好ましくは、フッ素、塩素、または臭素を意味する。

【0060】

「ハロアルキル」基には、モノ-ハロアルキル基、すべてのハロ原子が同じでも異なっているもよいポリ-ハロアルキル基、およびすべての水素原子がフルオロなどのハロゲン原子で置き換えられている過ハロアルキル基が含まれる。ハロアルキルの例には、トリフルオロメチル、1,1-ジクロロエチル、1,2-ジクロロエチル、1,3-ジブromo-3,3-ジフルオロプロピル、過フルオロブチルなどが含まれる。

10

【0061】

「ハロアルコキシ」基には、モノ-ハロアルコキシ基、すべてのハロ原子が同じでも異なっているもよいポリ-ハロアルコキシ基、およびすべての水素原子がフルオロなどのハロゲン原子で置き換えられている過ハロアルコキシ基が含まれる。ハロアルコキシの例には、トリフルオロメトキシ、1,1-ジクロロエトキシ、1,2-ジクロロエトキシ、1,3-ジブromo-3,3-ジフルオロプロポキシ、過フルオロブトキシなどが含まれる。

【0062】

$x < y$ である「 (C_x-C_y) 過フルオロアルキル」なる用語は、すべての水素原子がフッ素原子で置き換えられている、最小 x 個の炭素原子および最大 y 個の炭素原子を有するアルキル基を意味する。好ましいのは $-(C_1-C_6)$ 過フルオロアルキルであり、より好ましいのは $-(C_1-C_3)$ 過フルオロアルキルであり、最も好ましいのは $-CF_3$ である。

20

【0063】

$x < y$ である「 (C_x-C_y) 過フルオロアルキレン」なる用語は、すべての水素原子がフッ素原子で置き換えられている、最小 x 個の炭素原子および最大 y 個の炭素原子を有するアルキル基を意味する。好ましいのは $-(C_1-C_6)$ 過フルオロアルキレンであり、より好ましいのは $-(C_1-C_3)$ 過フルオロアルキレンであり、最も好ましいのは $-CF_2-$ である。

【0064】

「アリーロキシ」および「アリールアルコキシ」なる用語は、それぞれ、酸素原子に結合したアリール基およびアルキル部分で酸素原子に結合したアラルキル基を意味する。例には、フェノキシ、ナフチロキシ、およびベンジルオキシが含まれるが、それらに限定されるわけではない。

30

【0065】

用語が本明細書において用いられる場合、「アシル」基とは、カルボニル炭素原子を介して結合している、カルボニル部分を含む基を意味する。カルボニル炭素原子は、アルキル、アリール、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル基などの一部でありうる、別の炭素原子にも結合している。カルボニル炭素原子が水素に結合している特別な場合には、基は用語が本明細書において用いられるアシル基の「ホルミル」基である。アシル基は、カルボニル基に結合した0から約12~20個の追加の炭素原子を含みうる。アシル基は本明細書における意味内の二重または三重結合を含みうる。アクリロイル基はアシル基の一例である。アシル基は本明細書における意味内のヘテロ原子も含みうる。ニコチノイル基（ピリジル-3-カルボニル）基は、本明細書における意味内のアシル基の一例である。他の例には、アセチル、ベンゾイル、フェニルアセチル、ピリジルアセチル、シンナモイル、およびアクリロイル基などが含まれる。カルボニル炭素原子に結合した炭素原子を含む基がハロゲンを含む場合、基は「ハロアシル」基と呼ぶ。一例はトリフルオロアセチル基である。

40

【0066】

「アミン」なる用語は、例えば、各基が独立にHまたはアルキル、アリールなどの非Hでありうる、式 $N(基)_3$ を有する、一級、二級、および三級アミンを含む。アミンには、 $R-NH$

50

2、例えば、アルキルアミン、アリアルアミン、アルキルアリアルアミン； R_2NH 、ここで各Rは独立に選択され、例えば、ジアルキルアミン、ジアリアルアミン、アラルキルアミン、ヘテロシクリルアミンなど；および R_3N 、ここで各Rは独立に選択され、例えば、トリアルキルアミン、ジアルキルアリアルアミン、アルキルジアリアルアミン、トリアリアルアミンなどが含まれるが、それらに限定されるわけではない。「アミン」なる用語は、本明細書において用いられるアンモニウムイオンも含む。

【0067】

「アミノ」基は、各Rが独立に選択される、 $-NH_2$ 、 $-NHR$ 、 $-NR_2$ 、 $-NR_3^+$ の型、およびプロトン化することができない NR_3^+ 以外の、それぞれのプロトン化型の置換基である。したがって、アミノ基で置換されている任意の化合物は、アミンと見なすことができる。本明細書における意味内の「アミノ基」は、一級、二級、三級または四級アミノ基でありうる。「アルキルアミノ」基には、モノアルキルアミノ、ジアルキルアミノ、およびトリアルキルアミノ基が含まれる。

10

【0068】

「アンモニウム」イオンには、無置換アンモニウムイオン NH_4^+ が含まれるが、特に記載がないかぎり、アミンの任意のプロトン化または四級化型も含まれる。したがって、塩酸トリメチルアンモニウムおよび塩化テトラメチルアンモニウムはいずれも、本明細書における意味内のアンモニウムイオンおよびアミンである。

【0069】

「アミド (amide)」(または「アミド (amido)」) なる用語は、C-およびN-アミド基、すなわち、それぞれ $-C(O)NR_2$ 、および $-NRC(O)R$ 基を含む。したがって、アミド基には、一級カルボキサミド基 ($-C(O)NH_2$) およびホルムアミド基 ($-NHC(O)H$) が含まれるが、それらに限定されるわけではない。「カルボキサミド」基は式 $C(O)NR_2$ の基であり、ここでRはH、アルキル、アリアルなどでありうる。

20

【0070】

「アジド」なる用語は、 N_3 基を意味する。「アジド」は有機アジドでありえ、またはアジド (N_3^-) アニオンの塩でありうる。「ニトロ」なる用語は、有機部分に結合した NO_2 基を意味する。「ニトロソ」なる用語は、有機部分に結合したNO基を意味する。ニトレートなる用語は、有機部分に結合した ONO_2 基または硝酸 (NO_3^-) アニオンの塩を意味する。

【0071】

30

「ウレタン」(「カルバモイル」または「カルバミル」) なる用語は、N-およびO-ウレタン基、すなわち、それぞれ $-NRC(O)OR$ および $-OC(O)NR_2$ 基を含む。

【0072】

「スルホンアミド (sulfonamide)」(または「スルホンアミド (sulfonamido)」) なる用語は、S-およびN-スルホンアミド基、すなわち、それぞれ $-SO_2NR_2$ および $-NRSO_2R$ 基を意味する。したがって、スルホンアミド基には、スルファモイル基 ($-SO_2NH_2$) が含まれるが、それらに限定されるわけではない。式 $-S(O)(NR)-$ で表される有機硫黄構造は、スルホキシミンを意味することが理解され、ここで酸素および窒素原子はいずれも硫黄原子に結合しており、硫黄原子は2つの炭素原子に結合している。

【0073】

40

「アミジン」または「アミジノ」なる用語は、式 $-C(NR)NR_2$ の基を含む。典型的には、アミジノ基は $-C(NH)NH_2$ である。

【0074】

「グアニジン」または「グアニジノ」なる用語は、式 $-NRC(NR)NR_2$ の基を含む。典型的には、グアニジノ基は $-NHC(NH)NH_2$ である。

【0075】

「塩」は、当技術分野において周知のとおり、イオン型のカルボン酸、スルホン酸、またはアミンなどの有機化合物を、対イオンとの組み合わせで含む。例えば、酸はそれらのアニオン型で、金属カチオン、例えば、ナトリウム、カリウムなどのカチオンと； NH_4^+ などのアンモニウム塩もしくはテトラメチルアンモニウムなどのテトラアルキルアンモニウ

50

ム塩を含む様々なアミンのカチオンと、またはトリメチルスルホニウムなどの他のカチオンなどと塩を形成しうる。「薬学的に許容される」または「薬理学的に許容される」塩は、塩化物塩またはナトリウム塩などの、ヒトの消費のために承認されており、一般に非毒性のイオンから形成される塩である。「両性イオン」は、互いに平衡を保つのに役立つ少なくとも2つのイオン化可能な基であって、一方はアニオンを形成し、他方はカチオンを形成する基を有する分子内で形成されうるものなどの、内部塩である。例えば、グリシンなどのアミノ酸は両性イオン型で存在することができる。「両性イオン」は、本明細書における意味内の塩である。本発明の化合物は塩の形を取ってもよい。「塩」なる用語は、本発明の化合物である遊離酸または遊離塩基の付加塩を含む。塩は「薬学的に許容される塩」でありうる。「薬学的に許容される塩」なる用語は、薬学的適用において有用性を提供する範囲内の毒性を有する塩を意味する。薬学的に許容されない塩は、例えば、本発明の化合物の合成、精製または製剤の工程における有用性などの、本発明の実施において有用性を有するが、それにもかかわらず、高い結晶性などの特性を有しうる。

10

20

30

40

50

【0076】

適切な薬学的に許容される酸付加塩は、無機酸または有機酸から調製してもよい。無機酸の例には、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硝酸、炭酸、硫酸、およびリン酸が含まれる。適切な有機酸は、有機酸の脂肪族、シクロ脂肪族、芳香族、芳香脂肪族 (araliphatic)、複素環式、カルボン酸およびスルホン酸類から選択してもよく、その例にはギ酸、酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、グルコン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、グルクロン酸、マレイン酸、フマル酸、ビルビン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、安息香酸、アントラニル酸、4-ヒドロキシ安息香酸、フェニル酢酸、マンデル酸、エンボン (パモ) 酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、パントテン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、スルファニル酸、シクロヘキシルアミノスルホン酸、ステアリン酸、アルギン酸、 α -ヒドロキシ酪酸、サリチル酸、ガラクトール酸およびガラクトン酸が含まれる。薬学的に許容されない酸付加塩の例には、例えば、過塩素酸塩およびテトラフルオロホウ酸塩が含まれる。

【0077】

本発明の化合物の適切な薬学的に許容される塩基付加塩には、例えば、カルシウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウムおよび亜鉛塩などの、アルカリ金属、アルカリ土類金属および遷移金属塩を含む、金属塩が含まれる。薬学的に許容される塩基付加塩には、例えば、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、メグルミン (N-メチルグルカミン) およびプロカインなどの、塩基性アミンから作成される有機塩も含まれる。薬学的に許容されない塩基付加塩の例には、リチウム塩およびシアン酸塩が含まれる。薬学的に許容されない塩は一般には薬剤として有用ではないが、そのような塩は、例えば、式 (1) 化合物の合成における中間体として、例えば、再結晶によるそれらの精製において、有用でありうる。これらの塩はすべて、例えば、適切な酸または塩基を式 (1) の化合物と反応させることにより、対応する式 (1) の化合物から通常的手段によって調製しうる。「薬学的に許容される塩」なる用語は、非毒性の無機または有機酸および/または塩基付加塩を意味し、例えば、Lit et al., Salt Selection for Basic Drugs (1986), Int J. Pharm., 33, 201-217を参照されたく、これは参照により本明細書に組み入れられる。

【0078】

「水和物」は、水分子との組成物で存在する化合物である。組成物は、一水和物もしくは二水和物などの、化学量論量の水を含むことができ、または無作為な量の水を含むこともできる。用語が本明細書において用いられる場合、「水和物」は固体型を意味し、すなわち、水溶液中の化合物は、水和されているかもしれないが、用語が本明細書において用いられる場合の水和物ではない。

【0079】

「溶媒和物」は、水以外の溶媒が水と置き換わっている以外は、同様の組成物である。

例えば、メタノールまたはエタノールは「アルコール」を形成することができ、これはここでも化学量論量または非化学量論量でありうる。用語が本明細書において用いられる場合、「溶媒和物」は固体型を意味し、すなわち、溶媒の溶液中の化合物は、水和されているかもしれないが、用語が本明細書において用いられる場合の溶媒和物ではない。

【0080】

当技術分野において周知のとおり「プロドラッグ」は、患者に投与することができ、ここで酵素などの患者体内の生化学物質の作用によってインビボで活性薬学的成分に変換される物質である。プロドラッグの例には、カルボン酸基のエステルが含まれ、これはヒトおよび他の哺乳動物の血流中で見いだされる内因性エステラーゼによって加水分解される。適切なプロドラッグ誘導体の選択および調製のための通常の手順は、例えば、*'Design of Prodrugs'*, ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985に記載されている。

10

【0081】

加えて、本発明の特徴または局面がマーカッシュ群に関して記載される場合、当業者であれば、本発明はそれによりマーカッシュ群の任意の個々のメンバーまたはメンバーの下位群に関して記載されることを理解するであろう。例えば、Xが臭素、塩素、およびヨウ素からなる群より選択されると記載される場合、臭素であるXに対する特許請求の範囲ならびに臭素および塩素であるXに対する特許請求の範囲が完全に記載される。さらに、本発明の特徴または局面がマーカッシュ群に関して記載される場合、当業者であれば、本発明はそれによりマーカッシュ群の個々のメンバーまたはメンバーの下位群の任意の組み合わせに関して記載されることを理解するであろう。したがって、例えば、Xが臭素、塩素、およびヨウ素からなる群より選択されると記載され、Yがメチル、エチル、およびプロピルからなる群より選択されると記載される場合、臭素であるXおよびメチルであるYに対する特許請求の範囲が完全に記載される。

20

【0082】

必然的に整数である変数の値、例えば、アルキル基中の炭素原子の数または環上の置換基の数が範囲、例えば、0~4で記載される場合、意味するものは値が0と4との間の両端を含む任意の整数、すなわち、0、1、2、3、または4でありうるということである。

【0083】

様々な態様において、本発明の方法において用いるものなどの、化合物または化合物群は、上に挙げた態様の任意の組み合わせおよび/または下位の組み合わせの任意の1つでありうる。

30

【0084】

様々な態様において、任意の実施例において示す、または例示的化合物の中の化合物を提供する。条件は任意の開示する範疇または態様に適用してもよく、ここで他の上で開示する態様または種の任意の1つまたは複数はそのような範疇または態様から除外してもよい。

【0085】

本発明は、単離した式(1)の化合物をさらに含む。「単離した化合物」なる表現は、単離した化合物が、化合物の合成において用いた試薬、および/または生じた副生成物から分離されている、式(1)の化合物の調製物、または式(1)の化合物の混合物を意味する。「単離した」とは、調製物が技術的に純粋(均質)であることを意味するものではなく、治療的に用いる形の化合物に対して十分に純粋であることを意味する。好ましくは「単離した化合物」とは、指定の式(1)の化合物または化合物の混合物を全重量の少なくとも10重量パーセントの量で含む、式(1)の化合物の調製物または式(1)の化合物の混合物を意味する。好ましくは、調製物は指定の化合物または化合物の混合物を全重量の少なくとも50重量パーセントの量で；より好ましくは全重量の少なくとも80重量パーセント；最も好ましくは調製物の全重量の少なくとも90重量パーセント、少なくとも95重量パーセントまたは少なくとも98重量パーセントの量で含む。

40

【0086】

本発明の化合物および中間体は、ろ過、液-液抽出、固相抽出、蒸溜、再結晶またはフ

50

ラッシュクロマトグラフィ、もしくはHPLCを含むクロマトグラフィなどの標準の技術によって、それらの反応混合物から単離し、精製してもよい。

【0087】

本発明の化合物における異性および互変異性

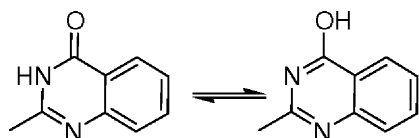
互変異性

本発明の範囲内で、式(1)の化合物またはその塩は互変異性の現象を示しうることが理解されるべきで、それによって、そのいずれかに対して共役結合を形成する2つの原子の間で水素原子を交換することにより容易な相互交換が可能な2つの化学化合物。互変異性化合物は互いに可動平衡で存在するため、これらは同じ化合物の異なる異性体型と見なしうる。本明細書内の式の図は、可能な互変異性型の1つだけしか表し得ないことが理解されるべきである。しかし、本発明は、任意の互変異性型を含み、単に式の図内に用いられる任意の1つの互変異性体に限定されないことも理解されるべきである。本明細書内の式の図は、可能な互変異性型の1つだけを表すことができ、本明細書は其中で図示するのに好都合であった型だけでなく、描写した化合物のすべての可能な互変異性型を含むことが理解されるべきである。例えば、互変異性は波線で示すとおりに結合したピラゾリル基によって示しうる。両方の置換基は4-ピラゾリル基と呼ぶが、各構造において異なる窒素原子が水素を有することが明白である。



【0088】

そのような互変異性は、3-メチル、5-メチル、または3,5-ジメチルピラゾールなどの置換ピラゾールでも起こりうる。互変異性の別の例は、環窒素原子に隣接して環酸素原子を有する複素環式化合物において見られるものなどの、アミド-イミド(環状の場合はラクタム-ラクチム)互変異性である。例えば、平衡：



は互変異性の一例である。したがって、1つの互変異性体として本明細書において示す構造は、他の互変異性体も含むことが意図される。

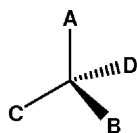
【0089】

光学異性

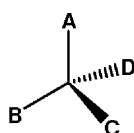
本発明の化合物が1つまたは複数のキラル中心を有する場合、化合物は純粋な鏡像異性型もしくはジアステレオマー型またはラセミ混合物で存在してもよく、それらとして単離してもよいことが理解されるであろう。したがって、本発明は、本発明の化合物の任意の可能な鏡像異性体、ジアステレオマー、ラセミ体またはその混合物を含む。

【0090】

キラル中心の存在によって生じる異性体は、「鏡像異性体」と呼ばれる重ね合わせ不可能な異性体の対を含む。純粋な化合物の単一の鏡像異性体は光学活性であり、すなわち、これらは平面偏光の平面を回転させることができる。単一の鏡像異性体はカーン-インゴールド-プレローグシステムによって表示する。置換基の順位を原子量に基づいて番号付け、系統的手順によりもとめた原子量が高いほど高い順位を有する。4つの基の順位が決定されれば、最も低い順位の基を観察者から遠くに向けるように分子を置く。次いで、他の基の下行順位が時計回りであれば、分子は(R)と表示され、他の基の下行順位が反時計回りであれば、分子は(S)と表示される。スキーム14の例において、カーン-インゴールド-プレローグ順位はA>B>C>Dである。最も順位が低い原子Dを観察者から遠くに向ける。



(R) 配置



(S) 配置

【 0 0 9 1 】

本発明は、ジアステレオマーならびにそれらのラセミ型と、分割した、ジアステレオ異性的および鏡像異性的に純粋な型ならびにその塩を含むことになる。ジアステレオマーの対は、順相および逆相クロマトグラフィ、ならびに結晶化を含む公知の分離技術によって分割してもよい。

10

【 0 0 9 2 】

「単離した光学異性体」とは、同じ式の対応する光学異性体から実質的に精製されている化合物を意味する。好ましくは、単離した異性体は、少なくとも約80重量%、より好ましくは少なくとも90重量%純粋、さらにより好ましくは少なくとも98重量%純粋、最も好ましくは少なくとも約99重量%純粋である。

【 0 0 9 3 】

単離した光学異性体は、周知のキラル分離技術によってラセミ混合物から精製してもよい。1つのそのような方法に従い、本発明の化合物のラセミ混合物、またはそのキラル中間体を、カラムの一連のDAICEL(登録商標) CHIRALPAK(登録商標)ファミリー(DaiceI Chemical Industries, Ltd., Tokyo, Japan)のメンバーなどの、適切なキラルカラムを用いてのHPLCにより、99%重量%純粋な光学異性体へと分離する。カラムを製造者の指示に従って操作する。

20

【 0 0 9 4 】

回転異性

アミド結合連結まわりの制限された回転の化学的特性(すなわち、C-N結合にいくらかの二重結合的性質を与える共鳴)(以下に示す)により、別々の回転異性体種を観察し、さらにいくつかの状況下では、そのような種を単離することさえ可能であることが理解される(以下を参照されたい)。さらに、立体的かさ高さまたはアミド窒素上の置換基を含む特定の構造要素が、回転異性体の安定性を、化合物が単一の安定な回転異性体として単離され、無期限に存在しうる程度まで増強しうることも理解される。したがって、本発明は、癌または他の増殖性疾患状態の処置において生物学的に活性な、式(1)の任意の可能な安定回転異性体を含む。

30

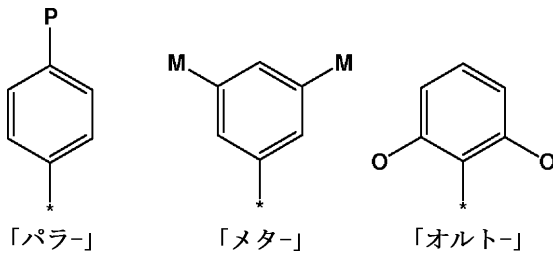


【 0 0 9 5 】

位置異性

本発明の好ましい化合物は、芳香環上の置換基の特定の空間配列を有し、これは化合物類が示す構造活性相関に関係している。多くの場合、そのような置換配列は番号付けシステムによって表示する;しかし、番号付けシステムは異なる環系の間では一貫していないことが多い。6員芳香族系において、空間配列は以下に示す一般的な命名法、すなわち1,4-置換については「パラ」、1,3-置換については「メタ」、および1,2-置換については「オルト」で明記する。

40



【 0 0 9 6 】

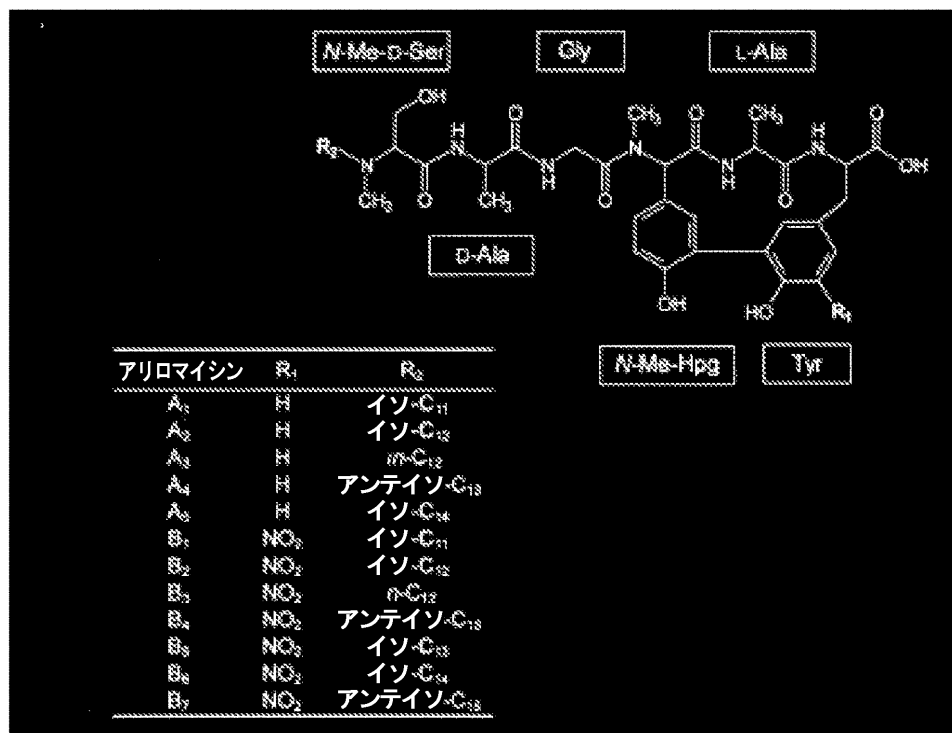
様々な態様において、本発明の化合物の中のもの、または本発明の方法において用いるものなどの、化合物または化合物群は、上に挙げた態様の任意の組み合わせおよび/または下位の組み合わせの任意の1つでありうる。

10

【 0 0 9 7 】

詳細な説明

本発明は、様々な態様において、アリロマイシンAおよびBの類縁体を目的とする。アリロマイシンAおよびBとは、それぞれ、以下の構造の天然物を意味する：



20

30

【 0 0 9 8 】

アリロマイシンA化合物は、上の構造で規定したR₁位に水素原子を有し、アリロマイシンB化合物は、その位置にニトロ基を有する。上の構造で基R₂と表示する脂質末端は、N-Me-D-Ser残基とアミド結合を形成する、合計炭素原子11～15個を有するn-アルキル、イソアルキル、およびアンテイソアルキルアシル基である。本明細書において用いられる「アリロマイシン」、「アリロマイシンA」、「アリロマイシンB」、「アリロマイシンA_x」、「アリロマイシン天然物」などの用語は、特に記載がないかぎり、これらの天然物を意味する。「アリロマイシン類縁体」、「アリロマイシン誘導體」、「本発明の化合物」などの用語は、アリロマイシンAおよびアリロマイシンBの本明細書において定義する構造類の範囲内に適合しない、本明細書において開示する化合物を意味する。本発明の化合物は、上で明記した天然物とは異なる。

40

【 0 0 9 9 】

様々な態様において、本発明のアリロマイシン類縁体、すなわち、本明細書において開示し、特許請求する新規構造は、アリロマイシンAおよびBと呼ぶ天然物よりも広域の抗菌活性、すなわち、より多様な細菌種に対する活性を示す。

50

【 0 1 0 0 】

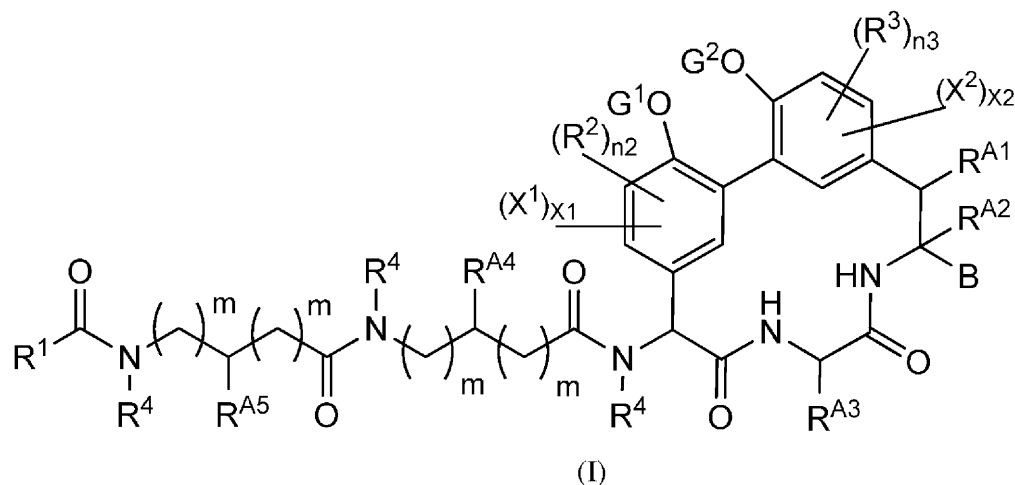
本発明は、様々な態様において、通常の知識に基づき、細菌感染症、例えばアリロマイシンAおよびBによる処置に感受性であるとは予想されない細菌種または株に対する、本発明の類縁体を用いた、ならびにアリロマイシンAおよびBを用いた細菌感染症の処置方法も提供する。この文脈において、本発明は、本明細書において開示し、特許請求する本発明の方法を実施する際の、本発明のアリロマイシン類縁体ならびにアリロマイシンAおよびB天然物の使用を含む。

【 0 1 0 1 】

本発明の化合物

様々な態様において、本発明は式 (I) の化合物またはその塩を提供する

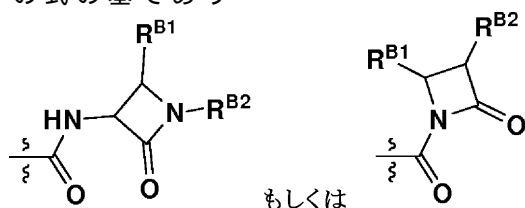
10



20

式中

Bは CO_2H 、 $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_2\text{C}(=\text{O})\text{H}$ 、 $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{H}$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_2\text{B}(\text{OR}^{\text{B}})_2$ もしくは $\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_2\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^{\text{B}})_2$ であり、ここで R^{B} はHもしくは $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ アルキルであるか、またはBは下記の式の基であり

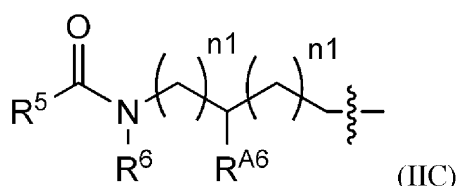
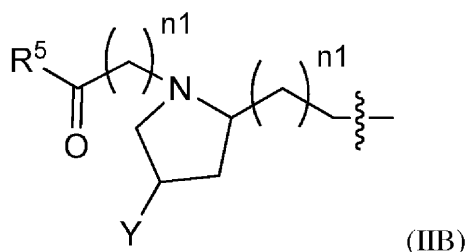
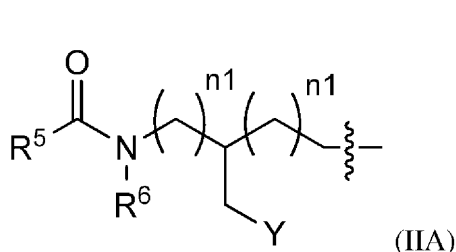


30

、ここで $\text{R}^{\text{B}1}$ および $\text{R}^{\text{B}2}$ はそれぞれ独立にH、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ アルキル、 $(\text{C}_3\text{-C}_6)$ シクロアルキル、 OR^{C} 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{C}}_2$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^{\text{C}}_2$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{OR}^{\text{C}}$ 、 $\text{OC}(=\text{O})\text{OR}^{\text{C}}$ 、ニトロ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ アルコキシ、 $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ チオアルコキシ、 NR^{C}_2 、5~7員ヘテロシクリルもしくは5~7員ヘテロアリール、または $(\text{C}_6\text{-C}_{10})$ アリールであり； R^{C} は各出現時に独立にHまたは $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ アルキルであり、かつ波線はBを有する式 (I) の炭素へのBの連結点を示し；

R^1 は式 (IIA) または (IIB) または (IIC) の基を含み

40



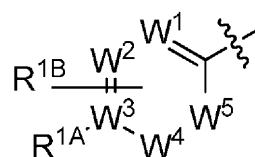
10

ここで各mは独立に0、1、または2であり、n1は各出現時に独立に0、1、または2であり；Yは $(CH_2)_{0-2}H$ 、 $(CH_2)_{0-2}OH$ 、または $(CH_2)_{0-2}OC(=O)(C_1-C_6)$ アルキルであり； R^{A6} は水素、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つの置換基で置換されていてもよく、ここで各置換基は独立にハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、シアノ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、5~7員ヘテロシクリル、 (C_1-C_6) アルコキシ、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、 (C_1-C_6) -モノ-またはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) アルコキシカルボニル、 (C_1-C_6) アルキルヒドロキシカルボニル、 (C_1-C_6) アルキルアミノカルボニル、 (C_1-C_6) アルキルスルホニルアミノ、および (C_6-C_{10}) -アリールスルホニルアミノからなる群より選択され；かつ波線は R^1 を有する式(1)の原子への R^1 の連結点を示し；かつ

20

R^5 は、それが直接または0もしくはNRによって結合してそれぞれアミド、カルバメート、または尿素連結を提供するカルボニル炭素に結合した、約1~22炭素原子の直鎖または分枝アルキル鎖であり；任意に鎖内または鎖末端に以下の基のいずれかを含み；

(A)



30

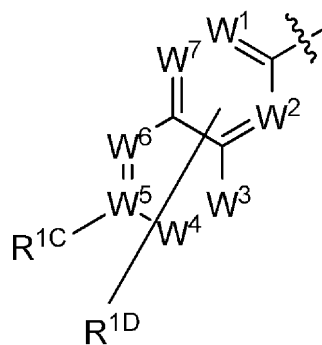
ここで W^1 、 W^2 、 W^3 、 W^4 および W^5 はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただし W^1 、 W^2 、 W^3 、 W^4 および W^5 の2つ以下はNであり；ただし R^{1A} または R^{1B} が水素ではないとき、 R^{1A} または R^{1B} がそれぞれ結合している任意のW原子はCであり、ここでW原子を有する環に結合した1つまたは複数の R^{1B} があってもよく； R^{1A} は水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、シアノ、 (C_1-C_6) -チオエーテル、フルオロアルコキシ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり； R^{1B} は水素、アルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり；ここで任意の R^{1A} または R^{1B} は1~3つの (C_1-C_{12}) -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリール基を有していてもよく；ここで波

40

50

線は連結点を示し；

(B)



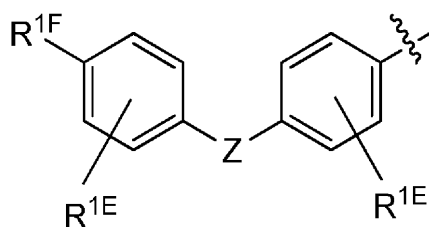
10

ここで W^1 、 W^2 、 W^3 、 W^4 、 W^5 、 W^6 、および W^7 はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただし W^1 、 W^2 、 W^3 、 W^4 、 W^5 、 W^6 、および W^7 の3つ以下はNであり；ただし R^{1C} または R^{1D} が水素ではないとき、 R^{1C} または R^{1D} がそれぞれ結合している任意のW原子はCであり、ここでどちらの環も1つまたは複数の R^{1D} を有していてもよく； R^{1C} は水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり； R^{1D} は水素、アルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり；ここで任意の R^{1C} または R^{1D} は1~3つの (C_1-C_{12}) -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

20

30

(C)



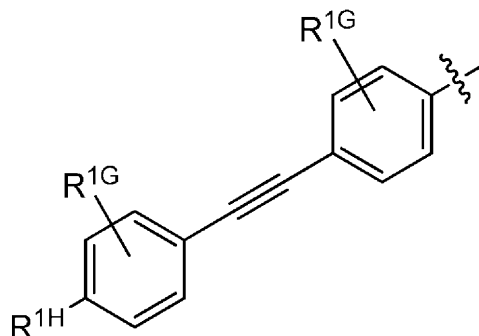
ここでZはO、S、NHまたは CH_2 であり； R^{1E} は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) -アリールであり； R^{1F} は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり；ここで任意の R^{1E} または R^{1F} は1~3つの (C_1-C_{12}) -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシ、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フ

40

50

ルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；あるいは

(D)



10

ここで R^{1G} は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり； R^{1H} は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで任意の R^{1G} または R^{1H} は1~3つの (C_1-C_{12}) -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

20

R^2 および R^3 はそれぞれ独立にニトロ、ハロ、シアノ、ヒドロキシ、グリコシルオキシ、アミノ、 (C_1-C_4) アルコキシ、 (C_1-C_4) アシルオキシ、もしくは (C_1-C_4) アルキルであり、ここで任意の炭素原子は無置換もしくはJで置換されていてもよく、ここで n^2 および n^3 は独立に0、1、2、もしくは3であるか；またはここで2つの R^2 基は一緒になって、かつ/もしくは2つの R^3 基は一緒になって、縮合シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、もしくはヘテロアリール環を構成してもよく、そのいずれも0~3つのJで置換されており；

30

R^4 および R^6 はあらゆる出現時にそれぞれ独立に水素、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つのJで置換されていてもよく；

40

R^{A1} 、 R^{A2} 、 R^{A3} 、 R^{A4} 、 R^{A5} は各出現時に独立に水素、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つのJで置換されていてもよく；

Jはハロゲン、 R' 、 OR' 、 CN 、 CF_3 、 OCF_3 、 O 、 S 、 $C(O)$ 、 $S(O)$ 、メチレンジオキシ、エチレンジオキシ、 $(CH_2)_{0-p}N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}SR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}S(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}S(O)_2R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}S(O)_2N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}SO_3R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)CH_2C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(S)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)OR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}OC(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}OC(O)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(S)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}NH-C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')N(R')C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')N(R')C(O)OR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')N(R')CON(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')SO_2R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')SO_2N(R')$

50

R'^2 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(O)OR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(S)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(O)N(R')^2$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(R')C(S)N(R')^2$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(COR')COR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}N(OR')R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(=NH)N(R')^2$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)N(OR')R'$ 、または $(CH_2)_{0-p}C(=NOR')R'$ であり；ここでpは約4であり、

各 R' は各出現時に独立に水素、 (C_1-C_{12}) -アルキル、 (C_2-C_{12}) -アルケニル、 (C_2-C_{12}) -アルキニル、 (C_3-C_{10}) -シクロアルキル、 (C_3-C_{10}) -シクロアルケニル、 $[(C_3-C_{10})$ シクロアルキルもしくは (C_3-C_{10}) -シクロアルケニル]- $[(C_1-C_{12})$ -アルキルもしくは (C_2-C_{12}) -アルケニルもしくは (C_2-C_{12}) -アルキニル]、 (C_6-C_{10}) -アリール、 (C_6-C_{10}) -アリール- $[(C_1-C_{12})$ -アルキルもしくは (C_2-C_{12}) -アルケニルもしくは (C_2-C_{12}) -アルキニル]、単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリル、単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリル- $[(C_1-C_{12})$ -アルキルもしくは (C_2-C_{12}) -アルケニルもしくは (C_2-C_{12}) -アルキニル]、単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール、または単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール- $[(C_1-C_{12})$ -アルキルもしくは (C_2-C_{12}) -アルケニルもしくは (C_2-C_{12}) -アルキニル]であり、ここで R' はJから独立に選択される0~3つの置換基で置換されており；

あるいは、2つの R' が窒素原子または2つの隣接する窒素原子に結合しているとき、2つの R' 基はそれらが結合している窒素原子と一緒になって3~8員単環式複素環、または8~20員二環式もしくは三環式複素環系を形成してもよく、ここで任意の環または環系はN、NR'、O、S、S(O)およびS(O)₂からなる群より選択される1~3個の追加のヘテロ原子をさらに含むことができ、ここで各環はJから独立に選択される0~3つの置換基で置換されており；

ここで、任意の二環式または三環式環系において、各環は直線的に縮合しているか、架橋されているか、またはスピロ環式であり、ここで各環は芳香族または非芳香族のいずれかであり、ここで各環は (C_6-C_{10}) アリール、単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール、 (C_3-C_{10}) シクロアルキルまたは単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリルに縮合していてもよく；

G^1 および G^2 はそれぞれ独立に水素もしくはグリコシル残基、または生理的条件下で切断可能で G^1 もしくは G^2 がそれぞれ水素である式(1)の化合物を提供する基であり；

$(X^1)_{x_1}$ および $(X^2)_{x_2}$ はそれぞれ、水素ではない置換基が結合している場合、 X^1 または X^2 はそれぞれCであるとの条件で、各それぞれの環の0、1、または2個の環原子は窒素でありうることを意味し；

ただし G^1 が6-デオキシヘキソピラノシル残基であり、 G^2 がHであり、 R^1 が式(IIA)のものであり、 R^2 が水素もしくはヒドロキシであり、 R^3 が水素であり、 R^{A1} および R^{A2} および R^{A4} がHであり、 R^{A3} および R^{A5} がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、または G^1 および G^2 がHであり、 R^1 が式(IIA)のものであり、 R^2 が水素であり、 R^3 が水素もしくはニトロであり、 R^{A1} および R^{A2} および R^{A4} がHであり、 R^{A3} および R^{A5} がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、 R^5 は無置換 $(C_{10}-C_{16})$ -アルキルではない。

【0102】

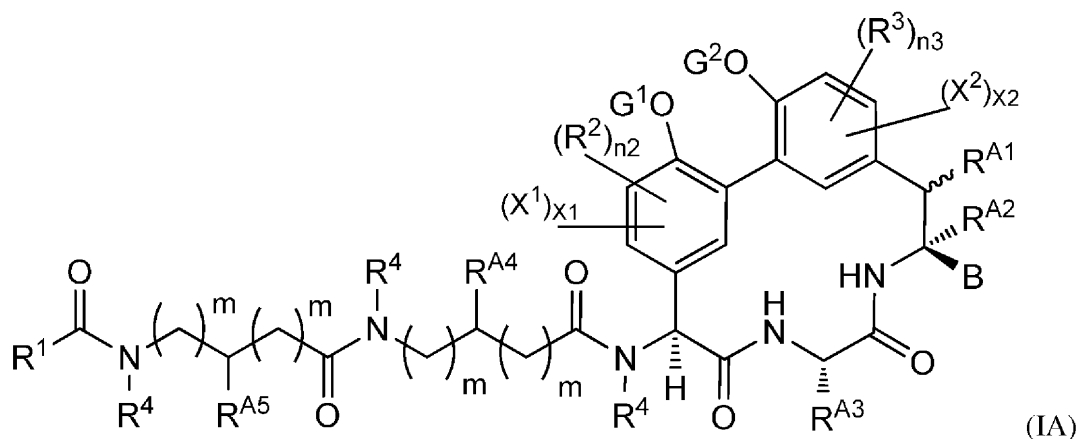
様々な態様において、本発明の化合物は、ビフェニル（またはビアリールもしくはアリール-ヘテロアリールもしくはビヘテロアリール）部分のフェニル-フェニル結合まわりの回転障害によるアトロプ異性型を含みうる。様々な態様において、本発明の化合物はSaアトロプ異性体を含みうる。出願者らは、大環状部分を末端に連結しているアミド結合がメチル化されていない場合、両方のアトロプ異性体が存在し、自由に相互変換しうることを見いだした。

【0103】

様々な態様において、本発明は、 G^1 がHまたは6-デオキシヘキソピラノシル残基であり、 G^2 がHであり、 R^1 が式(IIA)のものであり、 R^2 が水素もしくはヒドロキシであり、 R^3 が水素もしくはニトロであり、 R^{A1} および R^{A2} および R^{A4} がHであり、 R^{A3} および R^{A5} がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、 R^5 は無置換 (C_1-C_{22}) -アルキルではない、本発明の式Iの化合物を提供する。

【0104】

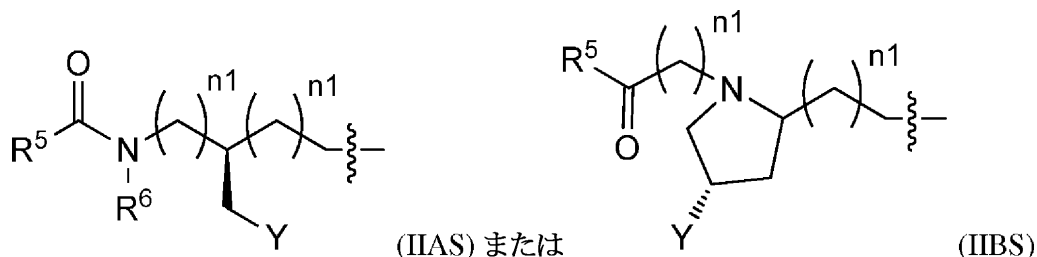
様々な態様において、本発明は、式 (IA) のものまたはその塩である、本発明の化合物を提供する



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^{A1} 、 R^{A2} 、 R^{A3} 、 R^{A4} 、 R^{A5} 、 R^{A6} 、 R^B 、 R^{B1} 、 R^{B2} 、および R^C 、ならびに m 、 n 、 n^1 、 n^2 、 n^3 、 B 、 G^1 、 G^2 、 $(X^1)_{x1}$ 、 $(X^2)_{x2}$ 、および Y は本明細書において規定するとおりであり、かつ波線は式 (IA) において R^1 に結合した原子への R^1 の連結点を示す。

【0105】

様々な態様において、本発明は、 R^1 が式 (IIAS) または (IIBS) の基である、本発明の化合物またはその塩を提供する



式中、 n^1 、 R^5 、 R^6 、および Y は本明細書において規定するとおりであり、かつ波線は式 (I) において R^1 に結合した原子への R^1 の連結点を示す。

【0106】

様々な態様において、本発明は、 R^5 が (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、本発明の化合物を提供する。

【0107】

様々な態様において、本発明は、 R^5 が基 (A)、(B)、(C)、または (D) の1つまたは複数を含む (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、本発明の化合物を提供する。

【0108】

様々な態様において、本発明は、 R^5 が (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、本発明の化合物を提供する。

【0109】

様々な態様において、本発明は、 R^5 が基 (A)、(B)、(C)、または (D) の1つまたは複数を含む (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、本発明の化合物を提供する。

【0110】

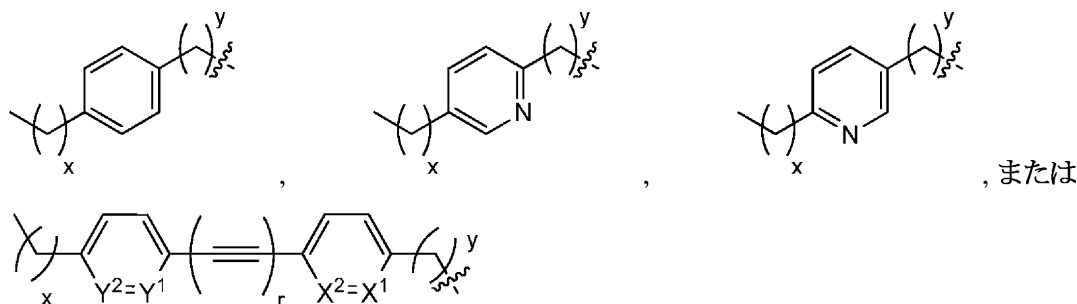
様々な態様において、本発明は、 R^5 が以下の基のいずれかである、本発明の化合物を提供する

10

20

30

40



式中、 x は0～14であり、 y は0～14であり、ただし $x+y \leq 22$ であり、かつ X^1 、 X^2 、 Y^1 および Y^2 はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただし X^1 および X^2 の1つ以下、ならびに Y^1 および Y^2 の1つ以下はNであり、ここで波線は式(IIA)、(IIB)、または(IIC)において R^5 に結合した原子への R^5 の連結点を示す。

10

【0111】

様々な態様において、本発明は、 R^5 が下記のいずれかである、本発明の化合物を提供する：メチル、エチル、 (C_3-C_{22}) - n -アルキル、 (C_3-C_{22}) -イソアルキル、 (C_4-C_{22}) -アンテイソアルキル、ナフチル、 (C_2-C_{10}) ナフチル、ナフチルメチル、 (C_2-C_{10}) ナフチルメチル、ビフェニル、 (C_2-C_{10}) アルキルビフェニル、ビフェニルメチル、 (C_2-C_{10}) アルキルビフェニルメチル、 (C_4-C_{12}) フェニル、 (C_4-C_{12}) ベンジル、または (C_2-C_{10}) -1,2-ジフェニルエチニル、ここで波線は式(IIA)、(IIB)、または(IIC)において R^5 に結合した原子への R^5 の連結点を示す。

20

【0112】

様々な態様において、本発明は、1つまたは複数の X^1 または X^2 を有する環がそれぞれフェニル、ピリジル、ピラジニル、ピリミジル、またはピリダジニルであり、任意に R^2 および R^3 がいずれも水素である、本発明の化合物を提供する。

【0113】

様々な態様において、本発明は、 R^2 および R^3 の少なくとも1つが水素である、本発明の化合物を提供する。

【0114】

様々な態様において、本発明は、 R^2 および R^3 の少なくとも1つがニトロ、ハロ、ヒドロキシ、グリコシルオキシ、アミノ、 (C_1-C_4) アルコキシ、または (C_1-C_4) アルキルであり、かつ n^2 または n^3 がそれぞれ、またはいずれも1である、本発明の化合物を提供する。

30

【0115】

様々な態様において、本発明は、両方のGが水素である、本発明の化合物を提供する。

【0116】

様々な態様において、本発明は、 R^{A1} 、 R^{A2} および R^{A4} のいずれかが水素であり、 R^{A3} および R^{A5} のいずれかがメチルであるか、またはその任意の組み合わせである、本発明の化合物を提供する。

【0117】

様々な態様において、本発明は、 R^{A3} が水素、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、3-ヒドロキシプロピル、4-ヒドロキシブチル、または2,2,2-トリフルオロエチルである、本発明の化合物を提供する。

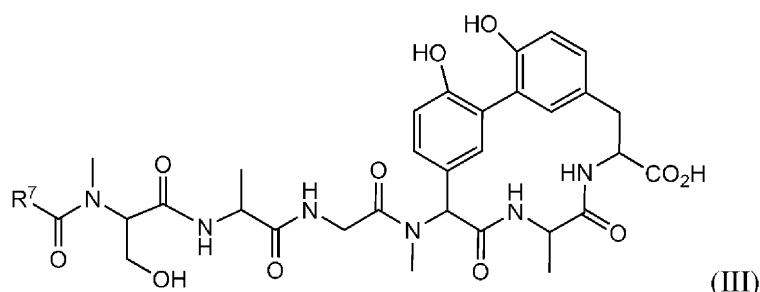
40

【0118】

様々な態様において、本発明は、 R^4 および R^6 のすべてが独立に選択された水素またはメチルである、本発明の化合物を提供する。

【0119】

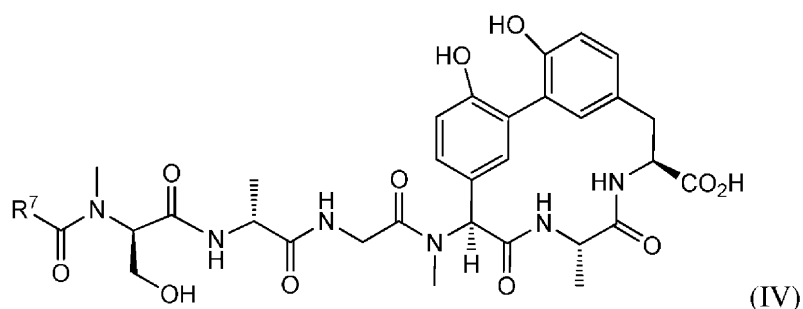
様々な態様において、本発明は、以下の式(III)の化合物のいずれか、またはその塩である、本発明の化合物を提供する



式中、 R^7 は (C_8-C_{18}) -*n*-アルキル、 (C_8-C_{18}) -イソアルキル、 (C_8-C_{18}) -アンテイソアルキルであり、そのいずれも請求項1記載の基(A)、(B)、(C)、(D)、もしくは(E)を含むか；または2-ナフチル、6- (C_2-C_{10}) -2-ナフチル、2-ナフチルメチル、6- (C_2-C_{10}) -2-ナフチルメチル、4-ビフェニル、4-ビフェニルメチル、4'- (C_2-C_{10}) アルキル-4-ビフェニル、4'- (C_2-C_{10}) アルキル-4-ビフェニルメチル、*p*- (C_4-C_{12}) フェニル、*p*- (C_4-C_{12}) ベンジル、もしくは4'- (C_2-C_{10}) -1,2-ジフェニルエチニルである。

【0120】

様々な態様において、本発明は、以下の式(IV)の化合物のいずれか、またはその塩である、本発明の化合物を提供する



ここで R^7 は (C_8-C_{18}) -*n*-アルキル、 (C_8-C_{18}) -イソアルキル、 (C_8-C_{18}) -アンテイソアルキルであり、そのいずれも請求項1記載の基(A)、(B)、(C)、(D)、もしくは(E)を含むか；または2-ナフチル、6- (C_2-C_{10}) -2-ナフチル、2-ナフチルメチル、6- (C_2-C_{10}) -2-ナフチルメチル、4-ビフェニル、4-ビフェニルメチル、4'- (C_2-C_{10}) アルキル-4-ビフェニル、4'- (C_2-C_{10}) アルキル-4-ビフェニルメチル、*p*- (C_4-C_{12}) フェニル、*p*- (C_4-C_{12}) ベンジル、もしくは4'- (C_2-C_{10}) -1,2-ジフェニルエチニルである。

【0121】

様々な態様において、本発明は、本発明の化合物の水和物、溶媒和物、プロドラッグ、または代謝物を含む化合物を提供する。

【0122】

様々な態様において、本発明は、本発明の化合物および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物を提供する。

【0123】

本発明の化合物を用いる細菌感染症の処置方法

複数の抗生物質に対して耐性である細菌の進化は、ヒトの健康に重大な脅威をもたらす^{1,2}。全合成抗生物質の発見および開発に多くの努力の焦点が合わされてきたが³、診療所で用いられるほとんどの抗生物質は天然物由来であり、これらは細菌に浸透し、流出を避け、かつ高度に保存された必須の生化学的プロセスを阻害するために、非常に長い期間にわたり進化した⁴。残念ながら、広域天然物抗生物質は単離がますます困難になり、より多くの狭域薬剤は、不明の因子、あるいは不良な浸透、または十分に必須ではないかもしくは保存されていない標的指向タンパク質などの、化合物に固有であり、最適化によって克服するのが難しいと見られている因子のいずれかによって制限されている³。これに対して、多くの「次世代」抗生物質の開発によって証明されるとおり、抗生物質のスペクトルが臨床使用中に獲得された特定の耐性メカニズムによって損なわれた後に、抗生物質を

10

20

30

40

50

再度最適化することに関して多くの前例がある^{5~8}。

【0124】

アリロマイシンはリボペプチド抗生物質のクラスであって^{9~11}、細菌のI型シグナルペプチダーゼ（SPアーゼ）、すなわち細胞質膜の外層に固定されて原形質から搬出されるタンパク質からN末端シグナルペプチドを除去する、必須のセリン-リジンダイアドプロテアーゼを阻害する。3つの関連するアリロマイシン系列、アリロマイシンAおよびB、ならびに、類似の中心部の大環状部分を有するものの置換基および脂肪酸末端が異なるリボグリコペプチドが同定されている（図1）^{12,13}。それらの新規作用機作に基づき、これらの化合物に対して当初は非常な熱中が見られたものの、それらのインビトロでのSPアーゼを阻害する能力、ならびにインビボでの土壌細菌ロドコッカス オバカスおよびブレビバチルス プレビスやヒト病原体の肺炎連鎖球菌に対する活性にもかかわらず、様々な他の重要なヒト病原体に対して活性がないことが判明した^{13,14}。SPアーゼが細胞質膜の外層に位置し、すべての真正細菌に存在し、必須であるらしいことを考慮すると、この明らかに狭いスペクトルは驚くべきことである^{10,15~17}。これらの狭いスペクトルの原因を探るために、発明者らはアリロマイシンA₂、ならびにアリロマイシンC₁₆を含むいくつかの誘導体を合成し、評価した（図1）¹⁸。興味深いことに、発明者らはアリロマイシンが表皮ブドウ球菌（*Staphylococcus epidermidis*）に対してその処置に用いられる抗生物質と同等に活性であることを見だし、重要なことに、発明者らは表皮ブドウ球菌が、酵素のP5ポケットに位置する29位でSPアーゼにPro残基を導入することにより耐性を生じることを明らかにした。注目すべきことに、アリロマイシンに対して耐性であることが明らかにされているすべての細菌は、対応する位置にProを有し、発明者らはこの残基を欠く多様な細菌を同定し、グラム陽性病原体の化膿連鎖球菌（*Streptococcus pyogenes*）、およびスタフィロコッカス ヘモリチカス（*Staphylococcus haemolyticus*）、ならびにグラム陰性病原体のピロリ菌（*Helicobacter pylori*）およびトラコーマ病原体（*Chlamydia trachomatis*）を含むこれらの大多数はアリロマイシンに対して感受性であることを示した。さらに、アリロマイシンは黄色ブドウ球菌8325株の増殖を遅らせるが、128 μg/mlという高濃度でも実際には増殖を阻止せず、しかしながら、流行性MRSA分離株のUSA300の増殖を16 μg/mlのMICで阻止する。これはメチシリン耐性に関連する独特の性質に起因するものかもしれないが、アリロマイシン骨格がより広域の黄色ブドウ球菌活性に対する可能性を有することを示唆している。重要なことに、発明者らは、Pro残基がアリロマイシンの結合親和性を低減することによって耐性を付与すること、ならびに耐性黄色ブドウ球菌、大腸菌、および緑膿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）を高感受性とするのに、Pro残基を除去すれば十分であることを示した。このデータは、耐性を付与するProに関わりなく、アリロマイシンをSPアーゼに結合するよう最適化することができれば、アリロマイシンは著しく広域の活性を有することを示唆している。

【0125】

野生型大腸菌に対して活性を持たないにもかかわらず、大腸菌SPアーゼの可溶性画分に結合したアリロマイシンA₂の2つの結晶構造が報告されている（図3A）^{19,20}。アリロマイシンは、膜に結合したプレタンパク質基質の結合を模していると思われる伸びたβ-シート配座で結合することが示されている¹⁹。アリロマイシンのC末端大環状部分は深い疎水性の隙間に結合し、タンパク質と複数の水素結合および疎水性相互作用を生成する一方で、C末端カルボキシル基は触媒残基との重要な塩橋を形成する。ペプチド末端はSPアーゼの表面の浅い隙間へと伸び、タンパク質の主鎖残基と2つの水素結合を形成する。重要な耐性付与残基であるPro⁸⁴は、ペプチドのN末端と相互作用して、アリロマイシンのカルボニル酸素への水素結合形成を妨げ、おそらくは膜に侵入する際の脂質の軌道を変えるようである（図3A）。結晶構造は、SPアーゼの可溶性切断断片の使用および膜二重層がないことにより、脂質末端の生物学的に関連する構造についてはほとんど情報が明らかにならないようであるが、これは細胞質膜の外層内のパッキングを最大とするために伸びた配座をとる可能性が高い。

【0126】

10

20

30

40

50

膜結合標的を有する様々な他の抗生物質と同様^{21~24}、アリロマイシンのリボペプチド末端はそれらの活性において重要な役割を果たすことが明らかにされている^{13,14,21~24}。ここで、発明者らは、リボペプチド末端を有する誘導体に焦点を合わせた、合成アリロマイシンの初めての構造-活性相関試験を報告する。アリロマイシン誘導体の活性を、表皮ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌、大腸菌、および緑膿菌を用いて評価した。各病原体で、重要な耐性付与Proを有するSPアーゼおよび有していないSPアーゼに関して誘導体を評価し、この耐性付与残基との相互作用の変化に起因する活性の変化を同定し、また、耐性を克服するために追求しうる修飾のタイプを同定し、それによってアリロマイシン骨格に広域抗菌活性を与えた。

【0127】

SPアーゼおよびその天然基質のN末端部分は細菌細胞膜内に埋め込まれており^{26,27}、阻害剤のリボペプチド末端のある部分も膜内に収容されていなければならないことを示唆している。この相互作用を調べるため、また同様にアリロマイシンの脂質-ペプチド連結部の正電荷がリン脂質二重層の負に荷電した頭部と相互作用することが可能かどうかを調べるため、発明者らは、(図1の)R¹がHであり、R²が、脂質末端アミドを荷電三級アミンで置き換えるのに役立つ、アルカノイルではなくC16-n-アルキル鎖である、示した式の誘導体(表2Bの化合物25)を合成した。この誘導体は有意に表皮ブドウ球菌に対する活性を低減させ、黄色ブドウ球菌の感受性を増大させ(それぞれMIC = 32および64 μg/ml)、試験した野生型または突然変異グラム陰性株のいずれに対しても活性は示さない。活性低下は疎水性環境が電荷と適応できないことに起因すると思われる、末端のこの部分は膜内または膜とSPアーゼとの間の界面に埋め込まれていることを示唆している。

【0128】

したがって、本明細書および本明細書において引用する文書に記載のSPアーゼの耐性型のプロリン残基を収容するよう適合させた、アリロマイシンA2の一連の疎水性末端類縁体を設計した。以下の生物活性の表1~4に示すとおり、特定の化合物を合成して試験した。

【0129】

活性に必要な最小の末端長を探るため、および異なる細菌の細胞質膜内に収容されうる末端長に限界があるかどうかを調べるため、発明者らは誘導体2~5を合成し、特徴付けた(表1)。これらの誘導体はどれも、アリロマイシンC₁₆に比べて耐性菌のいずれに対しても活性が増大しなかったが、表皮ブドウ球菌および遺伝的に感受性にした株では有意差が明白であった。感受性株では、C₈誘導体2は活性を示さないが、C₁₀誘導体3は表皮ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌、および大腸菌に対して活性を有し、その一方で4および5だけが緑膿菌に対する活性を示し、最小でC₁₂末端が必要であることを明らかにした。それぞれの場合に、C₁₆脂肪酸末端(すなわち、アリロマイシンC₁₆)でプラトーに達するまで、末端長が長くなるほど活性は増大し、緑膿菌以外のすべてで、C₁₈誘導体5では活性はわずかに低下した。

【0130】

疎水性増大の影響をさらに探るために、発明者らは1つまたは複数の芳香環を含む末端を有する誘導体を合成し、特徴付けた(表1)。発明者らはまず、一連のナフチルおよびビフェニル誘導体6~8を試験した。ナフチル誘導体6は試験した細菌のいずれに対しても活性を示さないが、ビフェニル誘導体7は野生型表皮ブドウ球菌に対していくつかの活性を保持している。発明者らは、脂肪酸カルボニルとビフェニル部分との間にメチレンスパーサーを持たないカルボニル8も、表皮ブドウ球菌に対していくつかの活性を保持し、ビフェニル部分の柔軟性は必須ではないことを示唆していることを見いだした。このビフェニル構造をさらに探究するため、発明者らはp-アルキル置換ビフェニル誘導体9~12を合成した。発明者らは、野生型表皮ブドウ球菌に対し、アルキル置換基の長さが伸びるにつれて活性の増大を観察し、この活性はC₆およびC₈誘導体11および12でプラトーに達したが、これらは耐性表皮ブドウ球菌に対しても活性である。興味深いことに、この一連の化合物のいくつかは感受性型および野生型黄色ブドウ球菌の両方に対しても活性であり、相対活性は表皮ブドウ球菌で観察されたものと類似であったが、絶対活性は幾分低かった。緑

膿菌の野生型または感受性株に対してピフェニル誘導体はどれも活性を示さないが、感受性型大腸菌に対しては活性を維持し、ここでも表皮ブドウ球菌および黄色ブドウ球菌で観察されたものと類似の傾向を示している。全体として、直鎖誘導体に比べて、ピフェニル誘導体は表皮ブドウ球菌および大腸菌に対して類似の活性、緑膿菌に対しては低い活性、しかし黄色ブドウ球菌に対しては大きい活性を示すことをデータは明らかにしている。

【0131】

発明者らは次に、一連のフェニル置換末端模擬物13~15を試験した(表1)。表皮ブドウ球菌および遺伝的に感受性にした株で、発明者らは再度、アルキル鎖長の増大に伴う活性の増大を観察した。さらに、デシルフェニル誘導体15は野生型黄色ブドウ球菌に対して活性を有する。この誘導体における炭素原子の数は、野生型黄色ブドウ球菌に対して活性を持たないアリロマイシン C_{16} のものと類似であるため、活性の少なくとも一部は分極可能な芳香族部分と膜またはSPアーゼとの相互作用によって仲介されることをデータは示唆している。

10

【0132】

リポペプチドメチル化の影響を探るため、および耐性付与Proの有害な影響を克服しうる修飾に関するより集中した探究を始めるため、発明者らは、SPアーゼに結合した場合にこの重要な残基に対して近位のアリロマイシン残基である(図3A)、d-MeSer2およびd-Ala3でのN-メチル化が変化した誘導体を合成し、特徴付けた(表2)。16にはd-MeSer2 N-メチル基がないことで、野生型および耐性表皮ブドウ球菌株の両方に対する活性がわずかに低下し、他の株のそれぞれに対してはより明らかな活性喪失が起こり、緑膿菌で最も明白である。大腸菌SPアーゼ-アリロマイシン A_2 複合体の構造は、リポペプチド末端のこの領域は無秩序であるか、またはタンパク質から離れて配向されていると示唆されているため(前述のとおり、構造試験で用いるSPアーゼのN末端切断型はこの結論をいくらか不確かにしてはいるが)、この活性低下が膜流動性による脂質膜との、またはSPアーゼとの、特定の有害な相互作用の結果起こる見込みはない¹⁹。したがって、観察された活性の低下は、疎水性低下、外膜透過、またはプロテアーゼ耐性の結果である可能性がある。活性損失は化合物17でさらにより明らかであり、ここではd-Ala3のメチル化が、試験したすべての微生物に対する活性を失わせ、これは安定なH-結合が不安定な立体衝突と置き換えられることに起因するようである。

20

【0133】

リポペプチド末端の剛性の影響を探るため、およびSPアーゼのPro29/84によって付与される耐性を直接補償しうる修飾をさらに探るため、発明者らはヒドロキシプロリン誘導体18を設計した(表2)。この化合物において、29/84位のSPアーゼ残基の側鎖および主鎖と相互作用する¹⁹、d-MeSer2の側鎖をメチレン単位で同族体化し、隣接するN-メチルアミド結合のメチル基と縮合させる。発明者らは、この修飾はグラム陰性菌に対する活性の完全な消失を引き起こすが、グラム陽性菌に対する活性の消失はほんのわずか~中等度であることを見いだした。興味深いことに、18は耐性表皮ブドウ球菌に対する完全な活性を保持していたため、野生型および耐性変異体に対する活性の差異は大幅に低減し、少なくともこの微生物に関しては、18はSer-Pro変異体SPアーゼの両方を同様に認識することが示唆される。剛性低下の影響を探るため、発明者らは、セリンと脂肪酸末端との間のペプチド結合を欠く(したがって末端により大きい回転の自由を付与する)、誘導体19を合成した(表2)。この分子は、試験したすべての微生物に対し、アリロマイシン C_{16} に比べて有意に低い活性を有し、大腸菌、黄色ブドウ球菌、または緑膿菌に対しては観察可能な活性を持たず、表皮ブドウ球菌に対しては中等度の活性しか持たなかった。

30

40

【0134】

SPアーゼ結合に寄与しうる他のペプチド官能基を導入または欠失することなく柔軟性を高めるために、発明者らは、d-MeSer2をd-Ala3に連結しているアミド結合のすぐN末端またはC末端に1つまたは2つのメチレン単位を挿入した誘導体を合成し、評価した(20~23、表2)。これらの化合物は、いずれの野生型グラム陰性菌に対しても活性が増大することとはなかった。感受性にしたグラム陰性株では、活性は20でのみ観察され、これは大腸菌

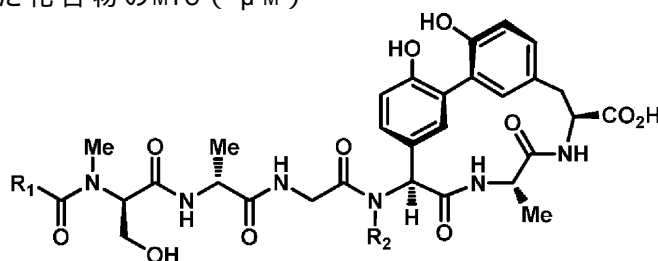
50

に対し、親化合物に比べて16分の1の活性であるが、緑膿菌に対しては、活性低下は2分の1だけである。メチレン付加の影響はグラム陽性菌では有意に異なっていた。アリロマイシンC₁₆に比べて、誘導体20~23は感受性表皮ブドウ球菌に対する活性が8~16分の1に低下したが、耐性株に対しては活性を保持していた。これは、タンパク質の水素結合供与体がいったん除去されれば(Proへの突然変異により)、H-結合受容体を攪乱しても活性をそれ以上に低下させないことを示している。これらの結果は黄色ブドウ球菌ではいくらかより複雑であった。予想どおり、アリロマイシンC₁₆に比べて、メチレン単位の付加は黄色ブドウ球菌の感受性株に対する活性を、21~23では2~8分の1、20では少なくとも64分の1に低下させた。しかし、野生型黄色ブドウ球菌の場合は、20または21ではまったく活性は観察されないが、興味深いことに、22と、特に23は活性が増大する。

10

【0135】

(表1) 選択した化合物のMIC (μM)

アリロマイシンA₂: R₁ = イソ-C₁₁, R = MeアリロマイシンC₁₆: R₁ = n-C₁₅, R = Me1: R₁ = イソ-C₁₅, R = Me2: R₁ = イソ-C₁₅, R = H

20

菌株	アリロマイシンA ₂	化合物1	化合物2
大腸菌 MG1655	>128	>128	>128
黄色ブドウ球菌 8325	>128	>128	>128
表皮ブドウ球菌 ATCC 35984	1	0.5	1
炭疽菌 Sterne	n.d.	32	n.d.
E. フェシウム AEFA001 ^a	n.d.	>64	n.d.
E. フェカーリス ATCC 29212	n.d.	>64	n.d.
E. フェカーリス ATCC 51299	n.d.	>64	n.d.

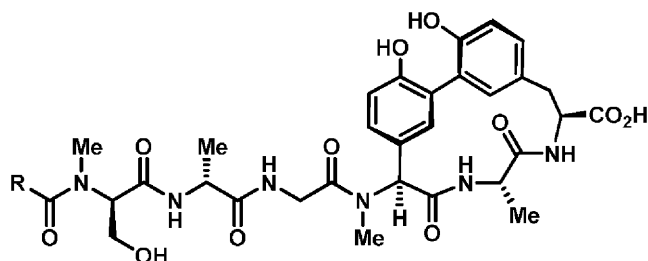
30

^aAchaogen, Inc. 菌株コレクションの一部。

40

【0136】

(表2A) アリロマイシン耐性付与Pro残基がない(感受性)およびある(耐性)SPアーゼを有する、表皮ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌、大腸菌、および緑膿菌の菌株に対する、脂肪酸末端が変化したアリロマイシン誘導体の活性(MIC (μg/ml))



R	感受性 ^b				耐性 ^c			
	<i>Se</i>	<i>Sa</i>	<i>Ec</i>	<i>Pa</i>	<i>Se</i>	<i>Sa</i>	<i>Ec</i>	<i>Pa</i>
3		>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
4		16	64	32	>64	>64	>64	>64
5		0.5	16	8	>64	>64	>64	>64
^a		0.5	2	0.5	8	8	>64	>64
6		1	4	2	8	16	>64	>64
7		>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
8		32	>64	>64	>64	>64	>64	>64
9		64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
10		8	64	16	>64	>64	>64	>64
11		1	16	4	>64	>64	>64	>64
12		0.5	8	1	>64	32	64	>64
13		1	8	1	>64	16	16	>64
14		8	64	32	>64	>64	>64	>64
15		1	8	8	64	>64	>64	>64
16		0.5	4	2	16	16	32	>64

10

20

30

Se = 表皮ブドウ球菌、Sa = 黄色ブドウ球菌、Ec = 大腸菌、Pa = 緑膿菌

^a アリロマイシンC₁₆（4番目の項目）を参照のために含めた。

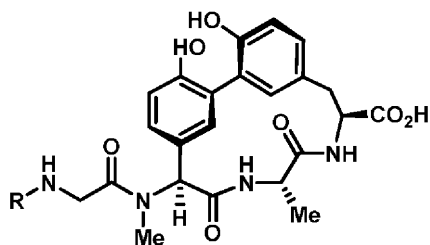
^b 感受性株には野生型表皮ブドウ球菌RP62A、lepB(P29S)黄色ブドウ球菌8325、lepB(P84L)大腸菌MG1655、およびlepB(P84L)緑膿菌PAO1が含まれる。

40

^c 耐性株にはspsB(S29P)表皮ブドウ球菌RP62A、ならびに野生型黄色ブドウ球菌8325、大腸菌MG1655、および緑膿菌PAO1が含まれる。

【 0 1 3 7 】

（表 2 B）アリロマイシン耐性付与Pro残基がない（感受性）およびある（耐性）SPアーゼを有する、表皮ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌、大腸菌、および緑膿菌の菌株に対する、リポペプチド末端が変化したアリロマイシン誘導体の活性（MIC（μg/ml））



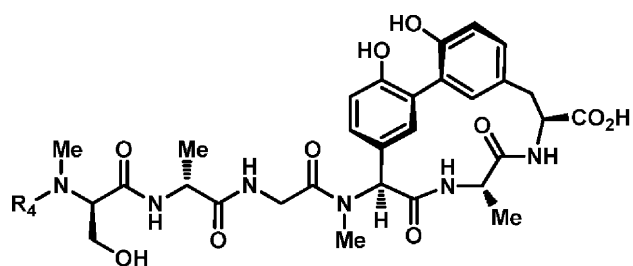
R	感受性 ^b				耐性 ^c			
	Se	Sa	Ec	Pa	Se	Sa	Ec	Pa
^a	0.5	2	0.5	8	8	>64	>64	>64
17	1	16	4	>64	32	>64	>64	>64
18	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
19	4	4	>64	>64	8	>64	>64	>64
20	8	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
21	8	>64	8	16	16	>64	>64	>64
22	8	8	>64	>64	8	>64	>64	>64
23	4	16	>64	>64	8	64	>64	>64
24	8	4	>64	>64	16	16	>64	>64

Se = 表皮ブドウ球菌、Sa = 黄色ブドウ球菌、Ec = 大腸菌、Pa = 緑膿菌

^a アリロマイシンC₁₆（4番目の項目）を参照のために含めた。

^b 感受性株には野生型表皮ブドウ球菌RP62A、lepB(P29S)黄色ブドウ球菌8325、lepB(P84L)大腸菌MG1655、およびlepB(P84L)緑膿菌PA01が含まれる。詳細は本文参照。

^c 耐性株にはspsB(S29P)表皮ブドウ球菌RP62A、ならびに野生型黄色ブドウ球菌8325、大腸菌MG1655、および緑膿菌PA01が含まれる。

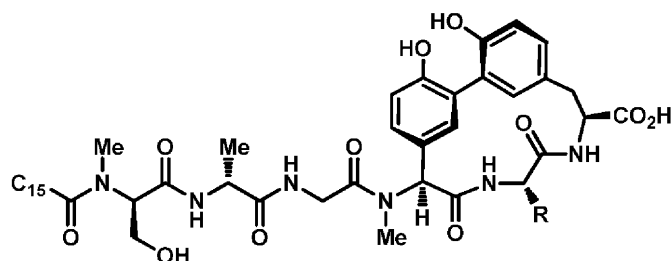


25: $R_1 = H$, $R_2 = H$
 $R_3 = H$, $R_4 = \text{アルキル-C}_{16}$

【 0 1 3 8 】

10

(表 3) アリロマイシンP3位誘導体



	R	表皮ブドウ球菌 ^b	黄色ブドウ球菌 ^c	大腸菌 ^d	緑膿菌 ^e
26	-H	8	>64	16	>64
27	-Me	0.25	4	2	4
28	-CH ₂ Me	0.5	8	1	4
29	-CH ₂ CH ₂ Me	1	8	2	8
30	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ Me	4	16	>128	>128
31	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	>64	>64	>64	>64
32	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	>64	>64	>64	>64
33	-CH ₂ CF ₃	8	>64	16	>64
34	-CH(Me) ₂	4	32	4	16
35	-CH ₂ CH ₂ Me	2	32	4	>64

20

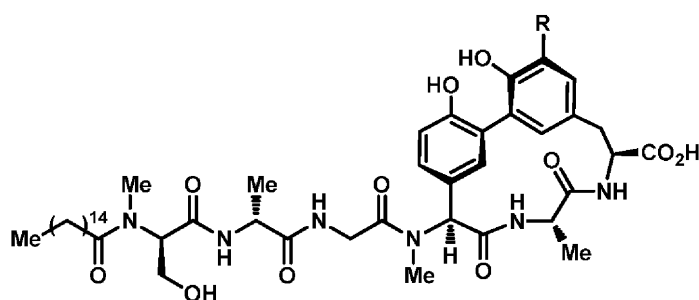
30

40

^a アリロマイシンC₁₆ (4 番目の項目) を参照のために含めた。 ^b 野生型表皮ブドウ球菌RP62 A。 ^c lepB(P29S)黄色ブドウ球菌8325、 ^d lepB(P84L)大腸菌MG1655、 およびlepB(P84L) ^e緑膿菌PA01

【 0 1 3 9 】

50

(表4) アリロマイシン誘導体のMIC ($\mu\text{g/mL}$)

10

菌株	アリロマイシンC ₁₆ (R = H)	アリロマイシンB-C ₁₆ (R = NO ₂)	36 (R = NH ₂)
表皮ブドウ球菌	0.25	0.13	8
黄色ブドウ球菌 P29S	8	8	64
大腸菌 P84L	2	2	16
大腸菌	>64	>64	>64
緑膿菌 P84L	4	4	32
B. プレビス	>64	>64	>64
R. エクイ	16	32	nd
R. オパカス	1	4	nd
S. アガラクティエ	>128	8	nd
化膿連鎖球菌	8	4	nd
肺炎連鎖球菌	8	16	nd
C. エフィシエンス	16	16	nd
C. グルタミカム	2	2	nd
L. ラクティス	16	32	nd

20

30

40

【0140】

フェニル-およびビフェニル-脂肪酸末端系列は表皮ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌、および大腸菌に対して類似の活性を示し、より長いp-アルキル誘導体は黄色ブドウ球菌の感受性株および耐性株の両方に対して活性を有していた。興味深いことに、緑膿菌はここでも、ビフェニル修飾誘導体のいずれによっても阻害されないため、独特の挙動を示す。緑膿菌はいくつかの場合には疎水性が低いC₈-およびC₁₀-置換フェニル類縁体によって阻害されることを考慮すると、これは特に注目に値する。違いのいくつかは外膜透過またはインビボでの安定性の変化に起因しうるが、データはアリロマイシンの緑膿菌の原形質膜への最適には達さない挿入を反映しているのであろう。これは、ホスファチジルコリンの存在

50

などの、緑膿菌の原形質膜を含むリン脂質の独特の局面に起因しうる^{46 ~ 50}か、または異なる構成の脂肪酸に起因しうる^{51 ~ 54}と推論することは興味深い。例えば、緑膿菌は、パルミチン酸およびパルミトレイン酸(C₁₆脂肪酸である)に比べてより高いパーセンテージのシス-バクセン酸(C₁₈脂肪酸)を利用するよう^{51 ~ 54}、おそらくはわずかにより厚い原形質膜を生じ、おそらくは、緑膿菌阻害に必要であることが観察された、一般により長い脂肪酸末端長の原因である。全体として、異なる末端誘導体で集めたデータは、フェニル修飾誘導体は天然の飽和脂肪酸鎖よりもアリロマイシン最適化のためのより良い骨格であるらしいことを示唆している。これは、親化合物アリロマイシンC₁₆の活性のすべてを保持しているが、黄色ブドウ球菌に対する活性も増大する、化合物15によって最も明らかに強調されている。

10

【0141】

N-メチル化は、アリロマイシンなどのリボソーム以外で合成されたペプチドでは一般的で、一般には疎水性、水素結合の可能性、立体配座、および/またはプロテアーゼに対する耐性を最適化すると考えられる^{55 ~ 58}。アリロマイシンリボペプチド末端のペプチド部分は、D-MeSer2およびMeHpg5でメチル化されているが、D-Ala3またはGly4ではメチル化されていない主鎖である。以前、発明者らは、MeHpg5のメチル基はSPアーゼの認識のためにピアリール環系を前もって構成することを示した¹⁸。発明者らが、大腸菌SPアーゼ-アリロマイシンA₂複合体における重要な耐性付与Proに対していずれも近位の、D-MeSer2およびD-Ala3の主鎖メチル化状態を変化させた際に¹⁹、グラム陽性菌およびグラム陰性菌の両方に対して有意に活性が低下した。活性低下の具体的な原因は試験した2つの部位で異なるが、データは天然のリボペプチド末端メチル化パターンがすでに活性のために最適化されていることを示唆している。

20

【0142】

耐性付与Proによって導入される負の相互作用をより直接的に補償する試みの中で、発明者らは、D-MeSer2およびD-Ala3の周りの柔軟性が高まった、または低下した、いくつかの誘導体を合成した。野生型グラム陰性菌のいずれに対しても活性が増大した誘導体はなく、20は感受性型緑膿菌に対して活性を保持していたが、20および他の誘導体は感受性型大腸菌に対しては活性が低下した。結果は、グラム陽性病原体の場合とは有意に異なっていた。アリロマイシンC₁₆に比べて、誘導体20~23はそれぞれ、感受性型表皮ブドウ球菌に対しては活性が8から16分の1に低下し、遺伝的に感受性にした黄色ブドウ球菌に対しては活性が2~>32分の1に低下した。この傾向は、SPアーゼと阻害剤との間で形成されたシートの位置を、安定化H-結合が失われるようにシフトさせる修飾と一致している。しかし、さらに重要なことに、22、および特に23は、野生型黄色ブドウ球菌に対する活性が増大している。前述のとおり、大腸菌SPアーゼ-アリロマイシンA₂複合体の構造は、Pro84(および推論によって他の細菌における相同のPro)が、疎水性の溝からリボペプチド末端を物理的に排除することにより、およびそうでなければ安定化する水素結合を脂質末端のカルボニル基で妨害することにより、アリロマイシン結合を妨害することを示唆している。これらの誘導体の黄色ブドウ球菌に対する活性が増大する正確なメカニズムはまだ明らかにされていないが、それにもかかわらず、データは一連のアリロマイシンが誘導体化によって最適化されうる可能性を支持している。

30

40

【0143】

したがって、本明細書および本明細書において引用する文書に記載のSPアーゼの耐性型のプロリン残基の存在による結合エネルギー低下を代償するよう適合させた、Alaが存在するアリロマイシンC₁₆の大環状部分の位置に様々な側鎖の残基を有する一連の誘導体を設計した。以下の生物活性の表3に示すとおり、特定の化合物を合成して試験した。野生型表皮ブドウ球菌(RP62A株)、ならびに耐性付与SPアーゼPro残基のSer(黄色ブドウ球菌)またはLeu(大腸菌および緑膿菌)への突然変異を介してアリロマイシンに対して感受性とした、黄色ブドウ球菌8325、大腸菌MG1655、および緑膿菌PAO1の変異菌株に対する誘導体の最小阻害濃度(MIC)を特徴付けることにより、誘導体を評価した。

【0144】

50

発明者らは当初は、Glyの組込みによりP3における側鎖除去の影響を探った(26、表3)。この化合物は、表皮ブドウ球菌(32分の1)、黄色ブドウ球菌(>16分の1)、大腸菌(32分の1)および緑膿菌(>16分の1)に対する活性が有意に低下し、S3ポケットの疎水性環境内のパッキングのため、および/またはアリロマイシンの主鎖の配向を助け、それにより結合後に低下する大環状部分の内部エントロピーを低減するために、この位置の - 分枝が必要とされることを示唆している。

【0145】

活性を維持するためのP3位の - 置換基の必要性を確立した後、発明者らは、アリロマイシン誘導体27~30で、側鎖長増大の影響を系統的に探った。興味深いことに、データは、この位置にメチル基を有するアリロマイシンC₁₆、およびエチルまたはn-プロピル側鎖結果を有する類縁体はすべて、試験した細菌のそれぞれに対して識別不能な活性しかないことを明らかにしている(表5-1)。これに対して、n-ブチルおよびn-ペンチル側鎖を有する誘導体および29はそれぞれ、試験した異なる細菌で幾分異なる、有意な影響を有していた。アリロマイシンC₁₆に比べて、化合物29および30はいずれも、表皮ブドウ球菌に対しては8から32分の1、黄色ブドウ球菌に対しては32分の1、ならびに緑膿菌および大腸菌に対してはそれぞれ少なくとも32および64分の1の活性低下を示した。データは、異なるSPアーゼはこの位置のより短い側鎖に対しては区別しないが、漸増的に長いP3側鎖を耐容する様々な能力を有することを示唆している。

【0146】

より長いP3側鎖を収容し得ないということは、27~30で明らかとなった構造活性相関の単純な説明であるが、阻害剤と結合した大腸菌ペプチダーゼの結晶構造は、P3ポケット付近にいくつかの結晶学的に観察可能な水分子があることを明らかにしている。したがって、n-ブチルおよびn-ペンチル誘導体は、疎水性メチル基をこれらの水分子の近くに押しやることにより、またはいかなる安定化相互作用による代償もなしに、タンパク質の脱溶媒和を無理にさせることにより、活性が低下した可能性もある。これらの可能性に取り組むために、発明者らは、n-プロパノールおよびn-ブタノール側鎖をそれぞれ有する誘導体31および32により、親水性増大および/または水素結合の影響を探った。これらの化合物では、試験したすべての細菌に対するすべての活性が失われ、より長いアルキルまたはヒドロキシアルキルはS3ポケットのサイズの制約により、収容されないことを示唆している。

【0147】

P3側鎖の疎水性の変化が活性にどのように影響するかをさらに探るため、発明者らはトリフルオロエチル誘導体33を試験した。そのようなフッ化誘導体は、「超疎水性」であると考えられ²⁴、薬物最適化においてよく用いられる²⁵。発明者らは、化合物33が大腸菌に対しては8分の1、緑膿菌および黄色ブドウ球菌に対しては少なくとも16分の1、表皮ブドウ球菌に対しては32分の1の低い活性を有することを見いだした。

【0148】

直鎖側鎖内の長さおよび疎水性の変化の影響を探った後、発明者らは、それぞれ - および - 分枝側鎖を有するValおよびLeu誘導体34および35に注意を向けた。これらの化合物も親化合物より活性が低い、活性の低下はここでも微生物に依存していた。34および35はいずれも両方のグラム陽性菌に対する活性が8から16分の1に低下したが、大腸菌に対する活性は維持していた。興味深いことに、緑膿菌は分枝誘導体間でより強い差があり、34では活性が4分の1に低下したが、35では活性は>16分の1に低下した。このデータは、大腸菌SPアーゼのS3ポケットは一般に分枝に対して比較的耐容性であること、グラム陽性菌SPアーゼは耐容性が低いこと、および緑膿菌SPアーゼのS3ポケットは - 分枝には比較的耐容性であるが、 - 分枝には非耐容性であることを示唆している。

【0149】

まとめると、発明者らは、大環状部分の主鎖に置換を有する第一のアリロマイシン誘導体系列を合成した。発明者らは、アリロマイシンのP3位の側鎖が結合に著しく寄与することを見いだした。加えて、発明者らは、SPアーゼのS3ポケットはアリロマイシンのP3位から3つまでの直鎖飽和炭素を収容しうるが、このポケットを充填する置換基のサイズを大

きくしても全体の活性を増大しないことを見いだした。P3位に直鎖状または横方向のいずれかで3つの直鎖飽和炭素よりも大きい側鎖を有するアリロマイシン誘導体は、ほとんどの菌株に対して活性が低下し、存在する置換基が大きいほど大きい活性低下が見られる。これらの誘導体はアリロマイシンをより強力にはしなかったが、阻害剤に対するS3ポケットの限界を規定し、アリロマイシンおよびおそらくはプレタンパク質の認識配列が溶液中で自由ではないが、SPアーゼに結合する前に親油性膜において結合されることを示唆している。

【0150】

アリロマイシンの結合に影響する芳香環上の置換基の影響を探るために、発明者らはアリロマイシンB誘導体のアリロマイシンB C₁₆およびそのアミノ誘導体36を合成した。これらは、本明細書および本明細書において引用する文書に記載のSPアーゼの耐性型のプロリン残基の存在により低下した結合エネルギーを代償するよう適合させ、設計した。以下の生物活性の表4に示すとおり、特定の化合物を合成して試験した。

10

【0151】

アリロマイシンB-C₁₆およびその誘導体36の活性を、野生型表皮ブドウ球菌（RP62A株）および大腸菌（MG1655）の増殖を阻害するのに必要な最小阻害濃度（MIC）を求めることにより特徴付けた。化合物を、耐性付与Proの耐性を付与しない残基（黄色ブドウ球菌タンパク質におけるP29S、ならびに大腸菌および緑膿菌タンパク質におけるP84L）への突然変異によりアリロマイシンに対して感受性とした、黄色ブドウ球菌（8325）、大腸菌（MG1655）、および緑膿菌（PAO1）の菌株に対しても試験した。

20

【0152】

アリロマイシンA₂およびその誘導体アリロマイシンC₁₆と同様、アリロマイシンB-C₁₆は表皮ブドウ球菌に対する強力な活性を有し（表4）、野生型大腸菌に対しては活性はない。加えて、アリロマイシンA化合物と同様、アリロマイシンB-C₁₆は黄色ブドウ球菌、大腸菌、および緑膿菌の突然変異菌株に対して活性を有する。したがって、B系列化合物の活性は、A系列化合物と同じメカニズムを介して、天然分離菌に対しては限定されている。事実、試験したすべての菌株に対し、アリロマイシンB-C₁₆活性のレベルはアリロマイシンC₁₆のレベルと識別不可能である（表4）。驚くことに、発明者らのデータは、アリロマイシンがB. プレビスに対して活性を有し、ニトロ置換はアリロマイシン骨格の活性を高めるといふ、以前に報告された結論に矛盾している¹⁸。発明者らの実験において、MHBIIブロスおよび栄養ブロスの両方を用いて（以前に報告された試験で用いられたとおり）、両方の化合物はB. プレビスに対して活性を示さなかった。

30

【0153】

2つの天然物と比べて、発明者らは、アミノ誘導体36は試験したすべての細菌に対して有意に活性が低く、活性の低下はグラム陰性病原体に対する（8分の1）よりもグラム陽性菌に対する（32分の1）方がわずかに大きいことを見いだした。アミノ基はプロトン化され、したがって、生理的pHで荷電されていると予想され、SPアーゼ結合部位がこの電荷を収容し得ないことは、活性低下を説明しているであろう。

【0154】

A系列およびB系列アリロマイシンの活性のより広範な評価を行うために、発明者らは、ロドコッカス エクイ（*Rhodococcus equi*）、ロドコッカス オパカス、ストレプトコッカス アガラクティエ（*Streptococcus agalactiae*）、肺炎連鎖球菌、化膿連鎖球菌、コリネバクテリウム エフィシエンス（*Corynebacterium efficiens*）、コリネバクテリウム グルタミカム（*Corynebacterium glutamicum*）およびラクトコッカス ラクティス（*Lactococcus lactis*）を含む、アリロマイシンC₁₆²⁰に対して感受性の広い範囲の細菌からの代表を試験した（表4）。試験した細菌のほとんどすべてについて、アリロマイシンC₁₆およびアリロマイシンB-C₁₆の阻害濃度は同じか、または実験の誤差範囲内であった。しかし、ストレプトコッカス アガラクティエは、化合物間でMICの有意な差を示し、アリロマイシンB-C₁₆はその非ニトロシル化類縁体であるアリロマイシンC₁₆よりも16倍を超える高い活性を有していた。この結果は、S. アガラクティエの2つのSPアーゼのいずれにも耐性付

40

50

与Proは存在しないこと、ならびに2つの化合物間で密接に関連する微生物の肺炎連鎖球菌および化膿連鎖球菌に対して同じ活性が観察されたことを考慮すると、特に興味深い。アーム比較の面において、この種はアリロマイシンB系列におけるニトロ基の組込みにより克服されたアリロマイシンA系列に対する耐性を仲介するための代替法を見いだしたと推測することは興味深い。

【0155】

結論として、発明者らは、アミノ化したアリロマイシンは、ニトロシル化変異体に比べて有意に活性が低下することを示した。加えて、発明者らは、アリロマイシンB-C₁₆は、A系列の類似のアリロマイシンC₁₆と比べた場合に、表皮ブドウ球菌、ならびに黄色ブドウ球菌、大腸菌および緑膿菌の突然変異菌株や、複数の他の菌株に対する活性に差はないことを示した。重要なことに、S. アガラクティエはアリロマイシンB-C₁₆に対し独特に感受性であることが見いだされた。加えて、細菌の密接に関連する菌株はA系列とB系列のアリロマイシンの間で差は示さなかった。これらの結果は、アリロマイシンのニトロシル化はいくつかの細菌に対する生物活性にとって重要であり、それをアリロマイシンのレパートリーに含めることは、おそらくは生成微生物における選択の結果であるとの考えを支持している。

10

【0156】

他の研究者らによる報告は、アリロマイシン（例えば、図1に示すもの）は、おそらくは表皮ブドウ球菌およびロドコッカス オパカス以外のほとんどの細菌病原体に対して、全細胞活性をほとんど持たないことを示している。例えば、Kulanthaivel et al., J. Biol. Chem. 279: 36250-58 (2004); Schimana et al., J. Antibiotics 55:565-70 (2002) を参照されたい。例えば、現在入手可能な報告は、アリロマイシンAおよびBがグラム陰性菌の大腸菌K12、プロテウス ミラビリスATCC 35501、シュードモナス フルオレッセンスDSM 50090に対する、および真核生物サッカロミセス セレビジエATCC 9080、ボトリチス シネレアTu 157に対する、および緑藻類クロレラ フスカに対する、およびアオウキクサのコウキクサに対する活性を欠くことを示している。

20

【0157】

しかし、本発明に従い、アリロマイシンは実際に様々な細菌種に対して活性を有している。例えば、以下の表5に示す、以下の細菌種はアリロマイシンに感受性である：ロドコッカス エクイ、ジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*)、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス (*cremoris*)、コリネバクテリウム グルタミカム、野兔病菌 (*Francisella tularensis*)、カンピロバクター ジェジュニ (*Campylobacter jejuni*)、ピロリ菌、瘡プロピオニバクテリウム (*Propionibacterium acnes*)、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ (*Chlamydomphila pneumoniae*)、スタフィロコッカス カルノサス (*Staphylococcus carnosus*)、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス (*Staphylococcus hominis*)、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス (*Staphylococcus lugdunensis*)、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ (*Streptococcus dysgalactiae*)、ストレプトコッカス ミチス (*Streptococcus mitis*)、ストレプトコッカス オラーリス (*Streptococcus oralis*)、および化膿連鎖球菌。

30

40

【0158】

(表5) 配列により感受性であると予想され、感受性が確認された細菌

配列により感受性であると予想され、感受性が確認された。		
種	触媒Serから-7の アミノ酸 ^a	MIC (μg/ml)
表皮ブドウ球菌	S,S	0.25
スタフィロкокカス ヘモリチカス	S,S	2
スタフィロкокカス ホミニス	S,S	0.25
スタフィロкокカス ルグドゥネンシス	S,T	0.25
スタフィロкокカス シミュランシス	S,?	0.25
スタフィロкокカス コーニイ	S,?	8
肺炎連鎖球菌	N	16
化膿連鎖球菌	A	16
コリネバクテリウム グルタミカム	M	2
ロドкокカス オパカス	V	2
ラクトкокカス ラクティス	L	16, >128 ^b
ロドкокカス エクイ	V,I	16
ピロリ菌	A	4
トラコーマ病原体	L	6
野兎病菌	N	4-16, >64 ^b

^a 複数のアミノ酸は微生物が複数のSPアーゼを発現する場合を示す

^b 異なる分離菌にまたがったMICの範囲

【0159】

したがって、本発明の別の局面は、アリロマイシン化合物（例えば、式Iの化合物）の任意の1つまたは任意の組み合わせを動物に投与する段階を含む、動物における細菌感染症の処置方法であって、ここで細菌感染症はロドкокカス エクイ、ジフテリア菌、ラクトкокカス ラクティス亜種クレモリス、コリネバクテリウム グルタミカム、野兎病菌、カンピロバクター ジェジュニ、ピロリ菌、瘡プロピオニバクテリウム、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、スタフィロкокカス カルノーサス、スタフィロкокカス ヘモリチカス、スタフィロкокカス ホミニス、スタフィロкокカス ルグドゥネンシス、ストレプトкокカス アガラクティエ、ストレプトкокカス ディスガラクティエ、ストレプトкокカス ミチス、ストレプトкокカス オラーリス、および化膿連鎖球菌による感染症を含む、方法である。式Iのものを含むアリロマイシン化合物は治療的有効量で投与することができる。

【0160】

以下にさらに記載するとおり、アリロマイシン抗生物質は、特に細菌のSPアーゼ酵素がSPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内にプロリンを持たない場合、特に細菌のSPアーゼ酵素がSPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の5~7アミノ酸にプロリンを持たない場合に、細菌I型シグナルペプチダーゼ（SPアーゼ）酵素を阻害する。したがって、本発明の別の局面は、アリロマイシンA、アリロマイシンBまたは式Iのアリロマイシン化合物の任意の1つまたは任意の組み合わせを動物に投与する段階を含む、動物における細菌感染症の処置方法であって、該細菌感染症は、SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内にプロリンを持たないSPアーゼ酵素をコードもしくは発現する細菌による感染症を含むか、またはペスト菌（*Yersinia pestis*）による感染症である、方法である。いくつかの態様において、細菌はSPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の5~7アミノ酸にプロリンを持たないSPアーゼ酵素をコードまたは発現する。アリロマイシンA、アリロマイシンBおよび/または式Iの化合物は治療的有効量で投与することができる。触媒セリンから-5および-7の残基でプロリン以外のアミノ酸をコードするSPアーゼ遺伝子を有する微生物の例には、表皮ブドウ球菌、スタフィロкокカス ヘモリチカス、スタフィロкокカス ルガネンシス（*Staphylococcus luganensis*）、スタフィロкокカス ホミニス亜種

ホミニス (hominis)、スタフィロコッカス ホミニス亜種 ノボバイオセプチカス (novobios epticus)、スタフィロコッカス コーニイ (Staphylococcus cohnii)、肺炎連鎖球菌、化膿連鎖球菌、ストレプトコッカス アガラクティエ、ラクトコッカス ラクティス亜種 ラクティス (lactis)、ロドコッカス オパカス、ロドコッカス エクイ、コリネバクテリウム グルタミカム、ピロリ菌、トラコーマ病原体、および野兎病菌が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【 0 1 6 1 】

以下の表6は、SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の5～7アミノ酸にプロリンを持たない細菌種の代表的なリストを提供する。

【 0 1 6 2 】

(表6) SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の5～7アミノ酸にプロリンを持たないSPアーゼ酵素を発現する細菌

種	触媒セリンを含む、 そのN末端側8残基
ロドコッカス エクイ	VYLIPSES
ロドコッカス オパカス	VYLIPSES
ジフテリア菌	VYMIPSQS
ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス	LVVVDGHS
コリネバクテリウム グルタミカム	MYMIPSGS
野兎病菌	NFLIPTAS
カンピロバクター ジェジュニ	AFVIPSGS
ピロリ菌	AFIIPSRS
瘡プロピオニバクテリウム	MEVIPSKS
トラコーマ病原体	LYEVPTGS
クラミドフィラ ニューモニエ	LYEVPTGS
スタフィロコッカス カルノーサス	SYTVRGDS
スタフィロコッカス ヘモリチカス	SYTIKGDS
	SYTVSGSS
表皮ブドウ球菌	SYSIKGDS
	SYTVKGAS
スタフィロコッカス ホミニス	SYTIKGDS
	SYTVSGSS
スタフィロコッカス ルグドゥネンシス	SYTIKGDS
	TYSVSGDS
肺炎連鎖球菌	NVRVEGHS
ストレプトコッカス アガラクティエ	VLRIYGHS
	FVKVDGHS
ストレプトコッカス ディスガラクティエ	AVKVDGHS
ストレプトコッカス ミチス	NVRVEGHS
ストレプトコッカス オラーリス	NVRVEGHS
化膿連鎖球菌	AVKVDGHS

【 0 1 6 3 】

SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内にプロリンを持たないほとんどすべての細菌はアリロマイシン (アリロマイシンA、アリロマイシンBおよび式Iの化合物を含む) に対して感受性であるが、少数の例外はある。例えば、黄色ブドウ球菌、スタフィロコッカス カピティス (Staphylococcus capitis)、スタフィロコッカス カブラエ (Staphylococcus caprae) およびペスト菌のいくつかの菌株は、触媒セリンよりもN末端側の10アミノ酸以内にプロリンを有しているにもかかわらず、アリロマイシンに対してまだ感受性である (表7参照)。

【 0 1 6 4 】

10

20

30

40

50

(表7) アリロマイシンに対して感受性であるがSPアーゼ触媒セリンよりもN末端側にプロリンを有する細菌種

種	触媒セリンから-7の アミノ酸 ^a	MIC (μg/ml)
ペスト菌	P	4
スタフィロコッカス カピティス	P,S	8
スタフィロコッカス カブラエ	P,S	8

^a複数のアミノ酸は微生物が複数のSPアーゼを発現する場合を示す

【0165】

したがって、本発明の別の局面は、アリロマイシンAおよび/またはアリロマイシンBおよび/または式Iの化合物を動物に投与する段階を含む、動物における細菌感染症の処置方法であって、該感染症は、アリロマイシンに対して感受性である細菌種が関与する感染症であるものの、該細菌種が触媒セリンよりもN末端側の10アミノ酸以内（例えば、触媒セリンから-5および/または-7の位置）にプロリン残基を有している感染症である、方法である。そのような微生物には、黄色ブドウ球菌、スタフィロコッカス カピティス、スタフィロコッカス カブラエおよびペスト菌の特定の菌株が含まれる。

【0166】

例えば、ペスト菌は29位にプロリンを有する単一のSPアーゼを有するが、本明細書に示すとおり、ペスト菌はアリロマイシン化合物に対して感受性である。ペスト菌は、ヒトおよび他の動物に感染しうる重要な病原体であり、ペストの原因菌である。したがって、ペスト菌感染症の新しい処置方法が非常に望まれている。したがって、本発明の別の局面は、動物におけるペスト菌感染症の処置方法であって、アリロマイシンAおよび/またはアリロマイシンBおよび/または式Iの化合物を動物に投与する段階を含む、方法である。アリロマイシンAおよび/またはアリロマイシンBおよび/または式Iの化合物は治療的有効量で投与することができる。

【0167】

しかし、本発明に従い、触媒セリンよりもN末端側にプロリン5～7アミノ酸を有する細菌種はアリロマイシンに対して耐性である。そのような種には表8に示すものが含まれる。

【0168】

(表8) SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の10アミノ酸以内にプロリンを有する細菌種

10

20

30

	触媒セリンを含む、 そのN末端側8残基	SEQ ID NO:
大腸菌	PFQIPSGS	87
肺炎桿菌	PFQIPSGS	87
サルモネラ エンテリシア	PFQIPSGS	87
コレラ菌	PFQIPSGS	87
緑膿菌	PFQIPSGS	87
アシネトバクター バウマンニ	PFNIPSDS	88
髄膜炎菌	PFQIPSSS	89
インフルエンザ菌	PFQIPSGS	89
シトロバクター コセリ	PFQIPSGS	89
フレキシネル菌	PFQIPSGS	89
百日咳菌	PFHIPSGS	90
結核菌	PYLIPSES	91
黄色ブドウ球菌	PYTIKGES	92
炭疽菌	PSLVQGES	93
	LCKVEGKS	94
ストレプトコッカス ミュータンス	PVQVDGHS	95
クロストリジウム ディフィシレ	PSIVSGES	96
	PTIVKGES	97
	PTLVNGES	98
エンテロコッカス フェカーリス	PAAVNGSS	99
	SYPIAGQS	100
	PVVVRGHS	101
	PVRVDGHS	102
リステリア菌	PVKVEGTS	103
	PVTVNGKS	104
	PILVDGIS	105

10

20

30

40

50

【0169】

アリロマイシンを用いて処置しうる特に興味を持たれる感染症には、ヒトにおいて一般に検出される感染症、および/または他の抗生物質では処置が不十分であることが多い感染症が含まれる。アリロマイシン処置に感受性である感染症の例には、表皮ブドウ球菌、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ルガネンシス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボジオセプチカス、スタフィロコッカス コーニイ、肺炎連鎖球菌、化膿連鎖球菌、ストレプトコッカス アガラクティエ、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、ロドコッカス オパカス、ロドコッカス エクイ、コリネバクテリウム グルタミカム、ピロリ菌、トラコーマ病原体、および野兎病菌、ロドコッカス エクイ、ジフテリア菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、コリネバクテリウム グルタミカム、野兎病菌、カンピロバクター ジェジュニ、ピロリ菌、瘡プロピオニバクテリウム、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、および化膿連鎖球菌が関与するものが含まれる。

【0170】

1つの態様において、感染症はピロリ菌（そのSPアーゼはAla29を有する）が関与するものであり、その感染症は利用可能な手順によって容易に同定される。したがって、そのような感染症が同定されれば、罹患動物にアリロミンA、アリロマイシンBおよび/または式Iのアリロマイシン化合物のいずれかの任意の1つまたは任意の組み合わせを投与すること

によって感染症を処置することができる。アリロマイシンAおよび/またはアリロマイシンBおよび/または式Iの化合物は治療的有効量で投与することができる。

【0171】

他の態様において、細菌感染症は表皮ブドウ球菌および/またはロドコッカス オパカスの関与がない。

【0172】

動物は、細菌感染症を患っていることが疑われる任意の動物でありうる。例えば、動物はヒト、家畜、動物園の動物または医師、看護師もしくは獣医師の処置下にある動物でありうる。処置しうる動物の例には、ヒト、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、ヤギ、ヒツジ、ニワトリ、ガチョウ、シチメンチョウ、ラット、マウス、ハムスター、フェレット、オウム、トカゲなどが含まれる。

10

【0173】

したがって、本発明の化合物は、動物（例えば、哺乳動物）、特に状態不良のそのような処置、予防、除去、軽減または改善を必要としているヒトに投与することができる。

【0174】

本発明の化合物は、広い用量範囲にわたって有効である。例えば、成人の処置において、1日に約0.05から約5000mg、好ましくは約1から約2000mg、より好ましくは約2から約2000mgの間の用量を用いることができる。典型的な用量は1日に約10mgから約1000mgである。患者のためにレジメンを選択する際に、より高い用量で始め、状態が制御下になれば、用量を低減することがしばしば必要であり得る。正確な用量は化合物の活性、投与の様式、所望の治療法、投与する剤形、処置する対象および処置する対象の体重、ならびに担当の医師または獣医師の好みおよび経験に依存することになる。

20

【0175】

一般に、本発明の化合物は、単位用量あたり約0.05mgから約1000mgの活性成分を薬学的に許容される担体と共に含む単位用量剤形で投与する。

【0176】

通常は、経口、鼻、肺または経皮投与に適した剤形は、約125 μ gから約1250mg、好ましくは約250 μ gから約500mg、より好ましくは約2.5mgから約250mgの化合物を、薬学的に許容される担体または希釈剤と混合して含む。

【0177】

剤形は1日1回、または1日2回もしくは3回などの、1日に複数回投与することができる。または、剤形は、処方する医師が賢明であると感じた場合には、1日おき、または1週間に1回などの、1日1回よりも低頻度で投与することもできる。

30

【0178】

本明細書において開示し、特許請求する任意の化合物を、細菌SPアーゼの感受性および耐性変異体の阻害における有効性、ならびに様々なインビボ検定における有効性について、前述の手順または科学文献中に見いだされる手順を用いて評価することは、通常の技術の範囲内である。したがって、当業者であれば、過度の実験をすることなく、任意の特許請求する化合物を調製し、評価することができる。

【0179】

細菌SPアーゼの有効な阻害剤であることが判明した任意の化合物を、動物モデルおよびヒト臨床試験において、用量および処置レジメンの選択を誘導するための研究者の技術および経験を用いて、同様に試験することができる。

40

【0180】

引用文書

- (1) Miller, L. G.; Kaplan, S. L. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2009, 23, 35-52.
- (2) Pearson, A. *J Hosp Infect* 2009, 73, 296-304.
- (3) Payne, D. J.; Gwynn, M. N.; Holmes, D. J.; Pompliano, D. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007, 6, 29-40.
- (4) Clardy, J.; Fischbach, M. A.; Walsh, C. T. *Nat Biotechnol* 2006, 24, 1541-50.
- (5) Gringauz, A. *Introduction to Medicinal Chemistry: How Drugs Act and Why*; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 1996.
- (6) Schneider, P.; Hawser, S.; Islam, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003, 13, 4217-21.
- (7) von Nussbaum, F.; Brands, M.; Hinzen, B.; Weigand, S.; Habich, D. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2006, 45, 5072-129.
- (8) Sharma, P. C.; Jain, A.; Jain, S. *Acta Pol Pharm* 2009, 66, 587-604.
- (9) Carlos, J. L.; Paetzel, M.; Brubaker, G.; Karla, A.; Ashwell, C. M.; Lively, M. O.; Cao, G.; Bullinger, P.; Dalbey, R. E. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 38813-38822.

10

20

- (10) Paetzel, M.; Dalbey, R. E.; Strynadka, N. C. *Pharmacol. Ther.* 2000, 87, 27-49.
- (11) Paetzel, M.; Karla, A.; Strynadka, N. C. J.; Dalbey, R. E. *Chem. Rev.* 2002, 102, 4549-4580.
- (12) Hölzel, A.; Schmid, D. G.; Nicholson, G. J.; Stevanovic, S.; Schimana, J.; Gebhardt, K.; Fiedler, H. P.; Jung, G. *The Journal of antibiotics* 2002, 55, 571-577.
- (13) Kulanthaivel, P., *et al.* *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 36250-8.
- (14) Schimana, J.; Gebhardt, K.; Holtzel, A.; Schmid, D. G.; Sussmuth, R.; Muller, J.; Pukall, R.; Fiedler, H. P. *The Journal of antibiotics* 2002, 55, 565-570.
- (15) Cragg, G. M.; Newman, D. J.; Snader, K. M. *J Nat Prod* 1997, 60, 52-60.
- (16) Dalbey, R. E.; Lively, M. O.; Bron, S.; van Dijk, J. M. *Protein Sci* 1997, 6, 1129-38.
- (17) Date, T. *J. Bacteriol.* 1983, 154, 76-83.
- (18) Roberts, T. C.; Smith, P. A.; Cirz, R. T.; Romesberg, F. E. *J Am Chem Soc* 2007, 129, 15830-8.
- (19) Paetzel, M.; Goodall, J. J.; Kania, M.; Dalbey, R. E.; Page, M. G. *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 30781-90.
- (20) Luo, C.; Roussel, P.; Dreier, J.; Page, M. G.; Paetzel, M. *Biochemistry* 2009, 48, 8976-84.
- (21) Beauregard, D. A.; Williams, D. H.; Gwynn, M. N.; Knowles, D. J. *Antimicrob Agents Chemother* 1995, 39, 781-5.
- (22) Breukink, E.; de Kruijff, B. *Nat Rev Drug Discov* 2006, 5, 321-32.
- (23) Kim, S. J.; Schaefer, J. *Biochemistry* 2008, 47, 10155-61.
- (24) Nagarajan, R. *J Antibiot (Tokyo)* 1993, 46, 1181-95.
- (25) Dufour, J.; Neuville, L.; Zhu, J. P. *Synlett* 2008, 2355-2359.
- (26) Heller, H.; Schaefer, M.; Schulten, K. *The Journal of Physical Chemistry* 1993, 97, 8343-8360.
- (27) Wang, Y.; Bruckner, R.; Stein, R. L. *Biochemistry* 2004, 43, 265-70.
- (28) Baltz, R. H. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 2006, 33, 507-13.
- (29) Martinez, J. L. *Proc. Biol. Sci.* 2009, 276, 2521-30.
- (30) D'Costa, V. M.; Griffiths, E.; Wright, G. D. *Curr Opin Microbiol* 2007, 10, 481-9.

10

20

30

40

- (31) Allen, H. K.; Donato, J.; Wang, H. H.; Cloud-Hansen, K. A.; Davies, J.; Handelsman, J. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010, 8, 251-9.
- (32) Laskaris, P.; Tolba, S.; Calvo-Bado, L.; Wellington, L. *Environ. Microbiol.* 2010, 12, 783-96.
- (33) Czarán, T. L.; Hoekstra, R. F.; Pagie, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002, 99, 786-90.
- (34) Lynch, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2007, 104 Suppl 1, 8597-604.
- (35) Allen, N. E.; LeTourneau, D. L.; Hobbs, J. N., Jr. *J Antibiot (Tokyo)* 1997, 50, 677-84.
- (36) Chen, L.; Yuan, Y.; Helm, J. S.; Hu, Y.; Rew, Y.; Shin, D.; Boger, D. L.; Walker, S. *J Am Chem Soc* 2004, 126, 7462-3.
- (37) Cooper, M. A.; Williams, D. H. *Chem Biol* 1999, 6, 891-9.
- (38) Dong, S. D.; Oberthur, M.; Losey, H. C.; Anderson, J. W.; Eggert, U. S.; Peczu, M. W.; Walsh, C. T.; Kahne, D. *J Am Chem Soc* 2002, 124, 9064-5.
- (39) Kerns, R.; Dong, S. D.; Fukuzawa, S.; Carbeck, J.; Kohler, J.; Silver, L.; Kahne, D. *Journal of the American Chemical Society* 2000, 122, 12608-12609.
- (40) Mackay, J. P.; Gerhard, U.; Beauregard, D. A.; Maplestone, R. A.; Williams, D. H. *Journal of the American Chemical Society* 1994, 116, 4573-4580.
- (41) Maffioli, S. I.; Ciabatti, R.; Romano, G.; Marzorati, E.; Preobrazhenskaya, M.; Pavlov, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 3801-5.
- (42) Nagarajan, R.; Schabel, A. A.; Occolowitz, J. L.; Counter, F. T.; Ott, J. L. *J Antibiot (Tokyo)* 1988, 41, 1430-8.
- (43) Nagarajan, R.; Schabel, A. A.; Occolowitz, J. L.; Counter, F. T.; Ott, J. L.; Felty-Duckworth, A. M. *J Antibiot (Tokyo)* 1989, 42, 63-72.
- (44) Rodriguez, M. J.; Snyder, N. J.; Zweifel, M. J.; Wilkie, S. C.; Stack, D. R.; Cooper, R. D.; Nicas, T. I.; Mullen, D. L.; Butler, T. F.; Thompson, R. C. *J Antibiot (Tokyo)* 1998, 51, 560-9.
- (45) Sharman, G. J.; Try, A. C.; Dancer, R. J.; Cho, Y. R.; Staroske, T.; Bardsley, B.; Maguire, A. J.; Cooper, M. A.; O'Brien, D. P.; Williams, D. H. *Journal of the American Chemical Society* 1997, 119, 12041-12047.
- (46) Albelo, S. T.; Domenech, C. E. *FEMS Microbiol. Lett.* 1997, 156, 271-4.
- (47) Wilderman, P. J.; Vasil, A. I.; Martin, W. E.; Murphy, R. C.; Vasil, M. L. *J. Bacteriol.* 2002, 184, 4792-9.

10

20

30

40

- (48) Sohlenkamp, C.; Lopez-Lara, I. M.; Geiger, O. *Prog. Lipid Res.* 2003, 42, 115-62.
- (49) Cronan, J. E.; Vagelos, P. R. *Biochim. Biophys. Acta* 1972, 265, 25-60.
- (50) Brundish, D. E.; Shaw, N.; Baddiley, J. *Biochem. J.* 1967, 104, 205-11.
- (51) Mechin, L.; Dubois-Brissonnet, F.; Heyd, B.; Leveau, J. Y. *J. Appl. Microbiol.* 1999, 86, 859-66.
- (52) Oliver, J. D.; Colwell, R. R. *Int J Syst Bacteriol* 1973, 23, 442-458.
- (53) Nielsen, L. E.; Kadavy, D. R.; Rajagopal, S.; Drijber, R.; Nickerson, K. W. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005, 71, 5171-6.
- (54) De Siervo, A. J. *J. Bacteriol.* 1969, 100, 1342-9.
- (55) Chatterjee, J.; Gilon, C.; Hoffman, A.; Kessler, H. *Acc Chem Res* 2008, 41, 1331-42.
- (56) Conradi, R. A.; Hilgers, A. R.; Ho, N. F.; Burton, P. S. *Pharm Res* 1992, 9, 435-9.
- (57) De Zotti, M.; Biondi, B.; Formaggio, F.; Toniolo, C.; Stella, L.; Park, Y.; Hahn, K. S. *J Pept Sci* 2009, 15, 615-9.
- (58) Walsh, C. T.; Chen, H.; Keating, T. A.; Hubbard, B. K.; Losey, H. C.; Luo, L.; Marshall, C. G.; Miller, D. A.; Patel, H. M. *Curr Opin Chem Biol* 2001, 5, 525-34.

10

20

【 0 1 8 1 】

調製法

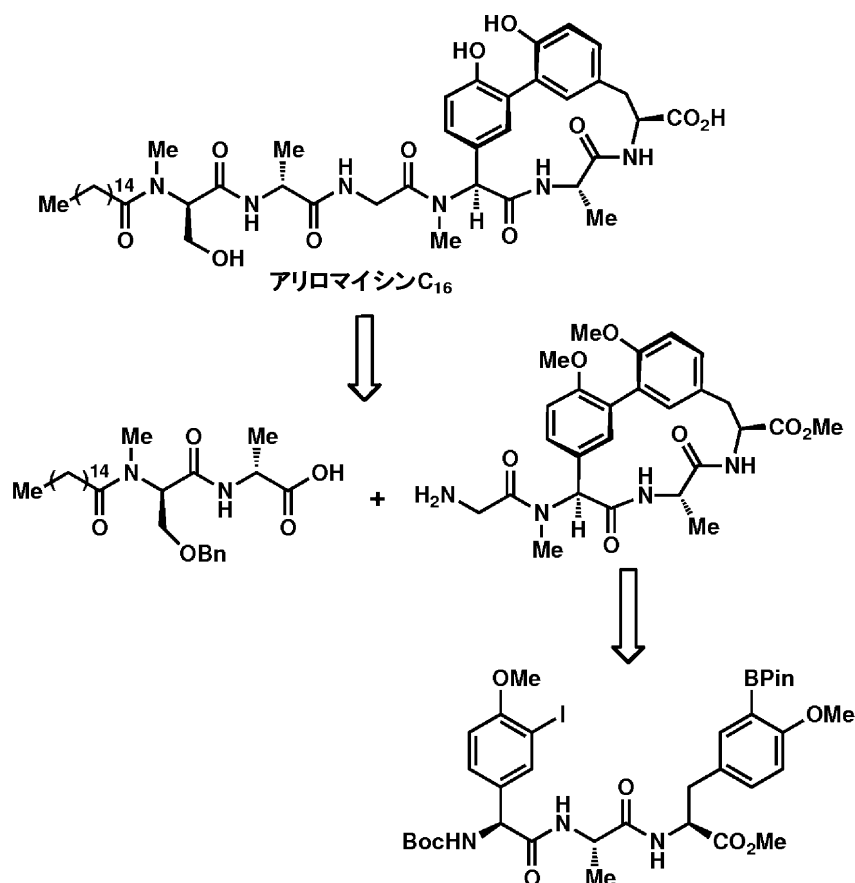
本発明の化合物は、発酵手順により単離したアリロマイシンから出発しての半合成、または全化学合成のいずれかによって調製することができる。合成有機化学の当業者の知識と組み合わせて、本明細書において開示し、特許請求する、本発明の化合物の全範囲を調製するために用いる手順を、本明細書において提供する。

30

【 0 1 8 2 】

全化学合成

全合成のために、スキーム1に示すとおり、逆合成解析を行った。

スキーム1. アリロマイシン_{C16}の逆合成

10

20

【0183】

アリロマイシン誘導体は、液相ペプチドカップリングと、次いで鈴木-宮浦大環化による環化によってトリペプチドを合成することにより、合成することができる（最終段階を上の逆合成解析に示す）。

【0184】

または、所望の置換基パターンに応じて、いくつかの場合には、天然物アリロマイシンがさらなる合成加工のための中核を提供しうる。

30

【0185】

環状中核から出発して、例えば、前述し、以下の実施例の項で例示する、全合成アプローチにより、環外ペプチド/ペプチド様ドメイン、および親油性末端ドメインを、本明細書に記載のアプローチおよび方法、ならびに当業者の知識の範囲内のものを用いて加工することができる。例えば、T. Roberts, et al. (2007), J. Am. Chem. Soc. 129, 15830-15838; Dufour, J.; Neuville, L.; Zhu, J. P. Synlett 2008, 2355-2359を参照されたい。

【0186】

様々なリポペプチド末端を、液相ペプチドカップリングと、次いで大環状中核へのカップリングにより構築することができる。分子は、3つの主要なドメイン：環状中核、環外ペプチドまたはペプチド様部分、および親油性末端部分を含むと考えることができる。アリロマイシンA2などの、天然物アリロマイシンにおいて、親油性末端はn-アルカノイル、イソアルカノイル、またはアンテイソアルカノイルアシル基であり；本発明の化合物において、基は、図3Aに示す、SPアーゼの耐性型の断片に結合したアリロマイシンのX線結晶構造において示すとおり、本発明のアリロマイシン類縁体と、触媒SPアーゼセリン残基に対して-5および-7の位置のプロリン残基を含むSPアーゼとのより好ましい結合相互作用を提供するよう適合させた、親油性末端に導入する。前述のとおり、本明細書において本発明者らは、これらの位置の1つにおけるプロリン残基の存在は、アリロマイシンA2などの天然物アリロマイシンによる阻害に対するSPアーゼの耐性を提供することを見いだした。

40

50

本発明の化合物は、プロリン残基を有するSPアーゼ型により有効に結合するための親油性末端を設計することにより、この耐性を克服することができる。

【0187】

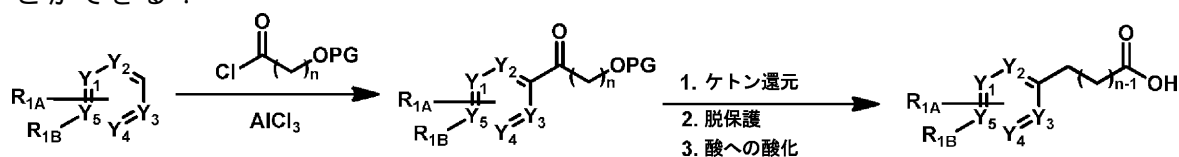
R⁵基は、環外ペプチド部分に、アシル、カルバメート、または尿素連結によって結合することができ、これらは3つのクラスの連結について、以下に記載するとおりに形成することができる。

【0188】

ペプチドへのR⁵連結がアミド結合であり、芳香環がアミドのカルボニル基に直接連結されている化合物について、これらの化合物は、求電子もしくは求核芳香族置換またはパラジウム触媒プロセスによって置換した（および標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）市販の安息香酸または複素環式酸のペプチド鎖のN末端へのカップリングによって合成することができる。市販の酸が入手できない場合、複素環を、ピリジン、ピラジン、ピリミジンまたはピリダジンを合成するためのいくつかの方法^{S2}の任意の1つにより合成することになる。

【0189】

R⁵の環外ペプチドへの連結がアミド結合であり、芳香環がアミドのカルボニル基に直接連結されていない化合物について、これらの化合物は以下のスキームによって合成することができる：



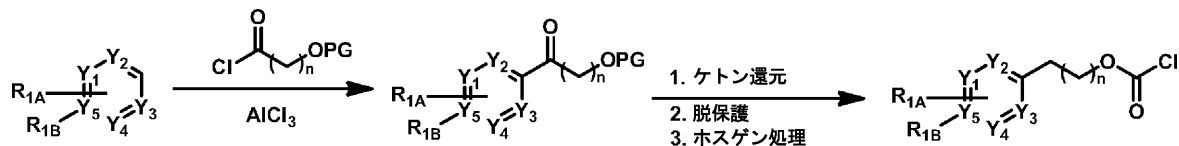
。

【0190】

適切に官能基化した、または官能基化していないアリール環（標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）を、酸塩化物および保護ヒドロキシル基を有するアルキル鎖とのフリーデル-クラフツのアシル化条件にかける。次いで、ケトン還元し、保護ヒドロキシル基を脱保護し、ヒドロキシルを酸へと酸化し、得られた酸をペプチドのN末端にカップリングする。

【0191】

ペプチドへのR⁵連結がカルバメートであり、アリール環がカルバメートに直接連結されていない化合物について、官能基化したフェノール（標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）をホスゲンで処理して塩化アリールカルバモイルを生成することができ、次いでこれを用いてペプチドのN末端をアシル化することができる。官能基化した、または官能基化していないアリール環を、酸塩化物および保護ヒドロキシル基を有するアルキル鎖とのフリーデル-クラフツのアシル化条件にかける。得られた化合物のケトン還元し、保護基を除去する。次いで、以下のスキームに示すとおり、化合物をホスゲンで処理して塩化カルバモイルを生成し^{S3}、この化合物を用いてペプチドのN末端をアシル化する：



。

【0192】

フリーデル-クラフツのアシル化が不可能な場合、複素環をハロゲン化し（および標準の保護基を用いて適切に保護し^{S1}）、一方の末端が保護アルコール、他方の末端がハロゲンまたはボロン酸/エステルである適切な長さの炭化水素鎖を、パラジウム仲介カップリングで連結する。

【0193】

ペプチドへのR⁵連結が尿素であり、アリール環が窒素原子に直接連結されている化合物

10

20

30

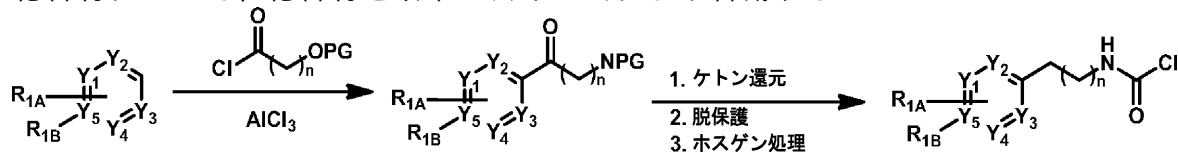
40

50

について、官能基化したアリールアミンをホスゲンで処理して塩化アリールウレアイルを生成し、次いでこれを用いてペプチドのN末端をアシル化する。

【0194】

ペプチドへのR⁵連結が尿素であり、アリール環がカルバメートに直接連結されていない化合物について、化合物を以下のスキームにより合成する：



。

10

【0195】

適切に官能基化した、または官能基化していないアリール環（標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）を、酸塩化物および保護アミンを有するアルキル鎖とのフリーデル-クラフツのアシル化条件にかける。得られた化合物のケトン還元し、保護基を除去する。次いで、化合物をホスゲンで処理して塩化ウレアイルを生成し^{S4}、この化合物を用いてペプチドのN末端をアシル化する。フリーデル-クラフツのアシル化が不可能な場合、複素環をハロゲン化し（および標準の保護基を用いて適切に保護し^{S1}）、一方の末端が保護アミン、他方の末端がハロゲンまたはボロン酸/エステルである適切な長さの炭化水素鎖を、パラジウム仲介カップリングで連結する。

【0196】

R⁵基の変異体を有する本発明の化合物の様々な態様は、前述のアプローチを、必要でありうる任意の保護基およびブロック基の使用に関する通常の知識と共に用いて合成することができる。例えば、Protective Groups in Organic Synthesis, Greene, T.W.; Wuts, P. G. M., John Wiley & Sons, New York, NY, (3rd Edition, 1999)を参照されたい。

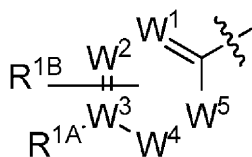
。

20

【0197】

本発明の様々な態様において、R⁵は直鎖または分枝鎖アルキルでありえ、ここで鎖は以下の基（A）～（E）のいずれかを含みうる。各クラスのR⁵基に適した合成アプローチを提供する。

(A)



ここでW¹、W²、W³、W⁴およびW⁵はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただしW¹、W²、W³、W⁴およびW⁵の2つ以下はNであり；ただしR^{1A}またはR^{1B}が水素ではないとき、R^{1A}またはR^{1B}がそれぞれ結合している任意のW原子はCであり、ここでW原子を有する環に結合した1つまたは複数のR^{1B}があってもよく；R^{1A}は水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、シアノ、(C₁-C₆)-チオエーテル、フルオロアルコキシ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；R^{1B}は水素、アルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；ここで任意のR^{1A}またはR^{1B}は1～3つの(C₁-C₁₂)-アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル

30

40

50

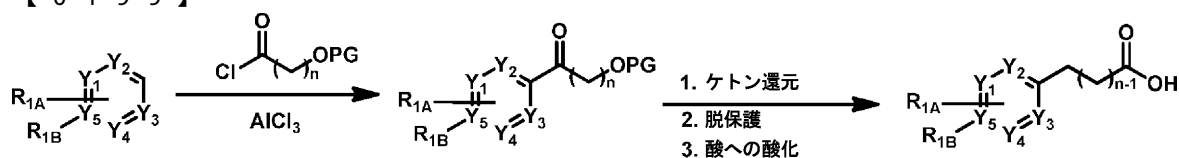
、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリール基を有していてもよく；ここで波線は連結点を示す。

【0198】

ペプチドへのR⁵連結がアシル基であり、芳香環がアシル基に直接連結されている化合物について、これらの化合物は、求電子芳香族置換、求核芳香族置換またはパラジウム触媒プロセスによって置換した（および標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）市販の安息香酸または複素環式酸のペプチド鎖のN末端へのペプチドカップリングによって合成することができる。市販の酸が入手できない場合、複素環を、ピリジン、ピラジン、ピリミジンまたはピリダジンを合成するためのいくつかの方法^{S2}の任意の1つにより合成することができる。

10

【0199】



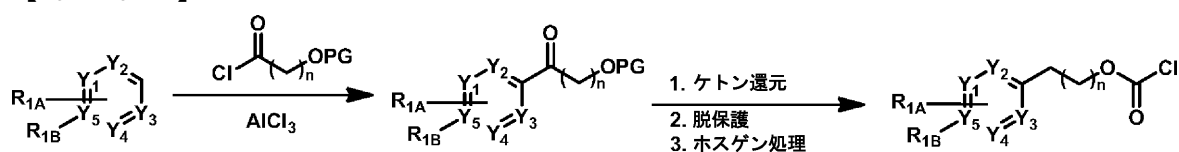
ペプチドへのR⁵連結がアシル基であり、芳香環がアシル基に直接連結されていない化合物について、これらの化合物は、上のスキームによって合成することができる。適切に官能基化した、または官能基化していないアリール環（標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）を、酸塩化物および保護ヒドロキシル基を有するアルキル鎖とのフリーデル-クラフツのアシル化条件にかけることができる。次いで、ケトン還元し、保護ヒドロキシル基を脱保護し、ヒドロキシルを酸へと酸化し、得られた酸をペプチドのN末端にカップリングすることができる。

20

【0200】

ペプチドへのR⁵連結がカルバメートであり、アリール環がカルバメートに直接連結されている化合物について、官能基化したフェノール（標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）をホスゲンで処理して塩化アリールカルバモイルを生成することができ、次いでこれを用いてペプチドのN末端をアシル化することができる。

【0201】



30

ペプチドへのR⁵連結がカルバメートであり、アリール環がカルバメートに直接連結されていない化合物について、化合物は、上のスキームに示す経路で合成することができる。適切に官能基化したベンゼン（標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）を、酸塩化物および保護ヒドロキシル基を有するアルキル鎖とのフリーデル-クラフツのアシル化条件にかけることができる。得られた化合物のケトン還元し、保護基を除去することができる。次いで、化合物をホスゲンで処理して塩化カルバモイルを生成することができ^{S3}、この化合物を用いてペプチドのN末端をアシル化することができる。フリーデル-クラフツのアシル化が不可能な場合、複素環をハロゲン化することができ（および標準の保護基を用いて適切に保護し^{S1}）、一方の末端が保護アルコール、他方の末端がハロゲンまたはボロン酸/エステルである適切な長さの炭化水素鎖を、パラジウム仲介カップリングで連結することができる。

40

【0202】

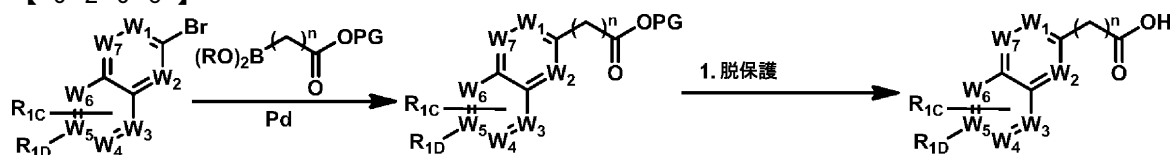
ペプチドへのR⁵連結が尿素であり、アリール環がカルバメートに直接連結されている化合物について、官能基化したアリールアミンをホスゲンで処理して塩化アリールウレイルを生成することができ、次いでこれを用いてペプチドのN末端をアシル化することができる。

【0203】

50

キノリン、キナゾリン、キノキサリンまたは1,8-ナプチリジン合成するためのいくつかの方法^{S2}の任意の1つにより合成することができる。

【0206】

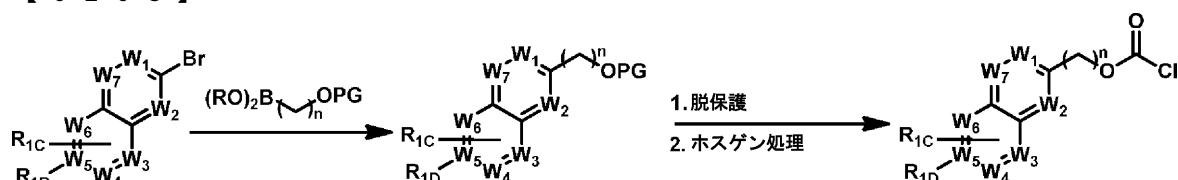


ペプチドへのR⁵連結がアシル基であり、芳香環がアシル基に直接連結されていない化合物について、これらの化合物は、上のスキームによって合成することができる。ハロゲン化し、適切に官能基化した、または官能基化していないアリール環（標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）および一方の末端が保護カルボン酸、他方の末端がハロゲンまたはボロン酸/エステルである適切な長さの炭化水素鎖を、パラジウム仲介カップリングで連結することができる。

【0207】

ペプチドへのR⁵連結がカルバメートであり、アリール環がカルバメートに直接連結されている化合物について、これらの化合物は、求電子芳香族置換、求核芳香族置換、ヘテロアリールリチウム生成またはパラジウム触媒プロセスによって置換した（および標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）市販の複素環式アルコールのペプチド鎖のN末端へのペプチドカップリングによって得られる。市販のアルコールが入手できない場合、複素環を、キノリン、イソキノリン、キナゾリン、キノキサリンまたは1,8-ナプチリジン合成するためのいくつかの方法^{S2}の任意の1つにより合成することができる。

【0208】

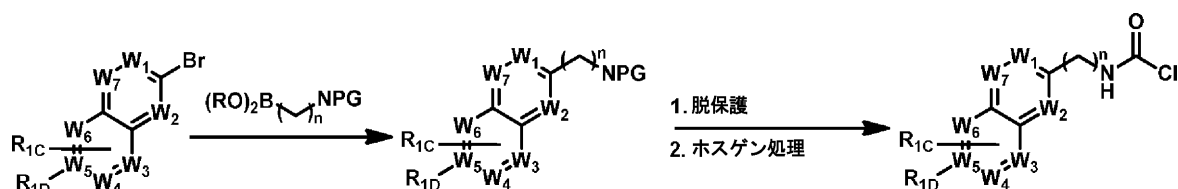


ペプチドへのR⁵連結がカルバメートであり、アリール環がカルバメートに直接連結されていない化合物について、これらの化合物は、上のスキームによって合成することができる。ハロゲン化し、適切に官能基化した、または官能基化していないアリール環（標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）および一方の末端が保護アルコール、他方の末端がハロゲンまたはボロン酸/エステルである適切な長さの炭化水素鎖を、パラジウム仲介カップリングで連結することができる。次いで、アルコールを脱保護し、化合物をホスゲンで処理し、得られた塩化カルバモイルを用いて、ペプチドのN末端をアシル化することができる。

【0209】

ペプチドへのR⁵連結が尿素であり、アリール環が尿素に直接連結されている化合物について、これらの化合物は、求電子芳香族置換、求核芳香族置換、ヘテロアリールリチウム生成またはパラジウム触媒プロセスによって置換し（および標準の保護基を用いて適切に保護し^{S1}）、次いでホスゲンで処理した^{S4}、市販の複素環式アミンのペプチド鎖のN末端へのペプチドカップリングによって合成することができる。市販のアミンが入手できない場合、複素環を、キノリン、イソキノリン、キナゾリン、キノキサリンまたは1,8-ナプチリジン合成するためのいくつかの方法^{S2}の任意の1つにより合成することができる。

【0210】

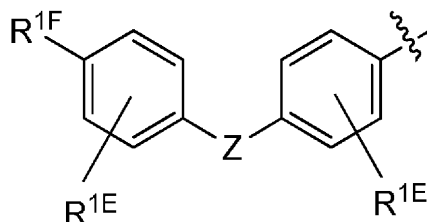


ペプチドへのR⁵連結が尿素であり、アリール環が尿素に直接連結されていない化合物に

ついて、これらの化合物を上スキームによって合成することができる。ハロゲン化し、適切に官能基化した、または官能基化していないアリール環（標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）および一方の末端が保護アミン、他方の末端がハロゲンまたはボロン酸/エステルである適切な長さの炭化水素鎖を、パラジウム仲介カップリングで連結することができる。次いで、アミンを脱保護することができ、化合物をホスゲンで処理し、得られた塩化カルバモイルを用いて、ペプチドのN末端をアシル化する。

【0211】

(C)



10

ここでZはO、S、NHまたはCH₂であり；R^{1E}は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)-アリールであり；R^{1F}は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；ここで任意のR^{1E}またはR^{1F}は1~3つの(C₁-C₁₂)-アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示す。

20

30

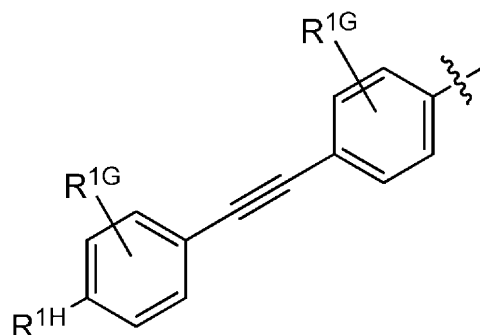
【0212】

ペプチドへの連結について上に概要を示した手順に加えて、Z=OまたはNの場合、この官能性の化合物をブッフバルト-ハートウィグカップリング条件^{S5}を用いることにより合成する。パラ-ハロゲン置換した保護安息香酸、同族体化した安息香酸または前駆体を求電子もしくは求核芳香族置換またはパラジウム触媒プロセスによって官能基化した（および標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）フェノールとカップリングする場合。Z=Sの場合、これらの化合物は、パラ-ハロゲン置換した保護安息香酸、同族体化した安息香酸または前駆体および適切に官能基化したチオフェノールの組み合わせの、遷移金属触媒カップリングを用いて生成することができる。

【0213】

40

(D)



10

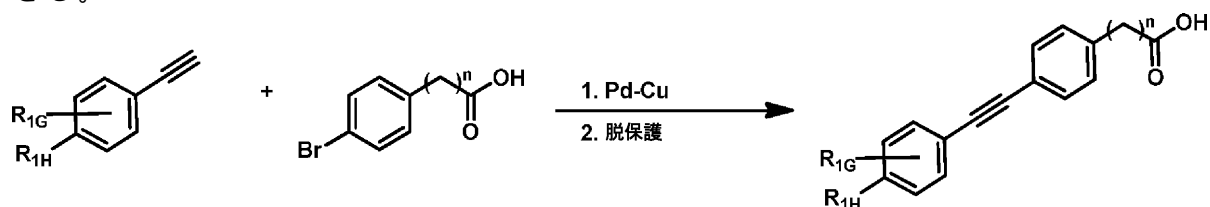
ここで R^{1G} は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり； R^{1H} は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり；ここで任意の R^{1G} または R^{1H} は1~3つの (C_1-C_{12}) -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示す。

20

【0214】

ペプチドへの連結について上に概要を示した手順に加えて、以下のスキームに示すとおり、この官能性の化合物を、パラ-ハロゲン置換した保護安息香酸、同族体化した安息香酸または前駆体および求電子もしくは求核芳香族置換またはパラジウム触媒プロセスによって適切に官能基化した（および標準の保護基を用いて適切に保護した^{S1}）アリールアセチレンの組み合わせに対し、ソナガシラ反応条件^{S6}を用いることにより合成することができる。

30



40

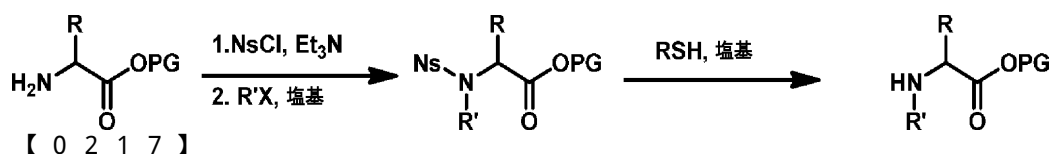
【0215】

ペプチド末端を、標準の液相または固相ペプチドカップリングを用い、本明細書に記載の手順と同様に構築することができる。 R^{A3} 、 R^{A4} 、および R^{A5} の位置の置換基、ならびに式(IIA)、(IIB)、および(IIC)の基を含む構成アミノ酸は、商業的に購入するか、または文献に記載のアミノ酸合成手順^{S7~S9}によって合成することができる。

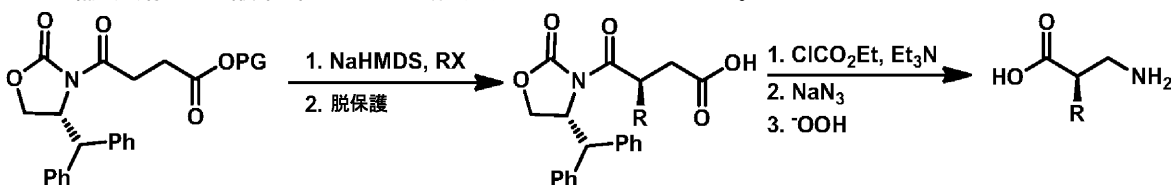
【0216】

R^4 または R^6 のいずれも水素ではないペプチド末端を、ペプチド-ペプチド結合体のための文献プロトコル^{S10}を用いて構築することができる。モノマーは、アミンアルキル化プロトコル^{S11}を用いて合成することができ、例えば、カルボン酸が保護されたアミノ酸をノシル基によりアミンで保護し、ノシル化アミンを塩基および求電子試薬で選択的にアルキル化し、ノシル基をチオレートアニオンで脱保護する。

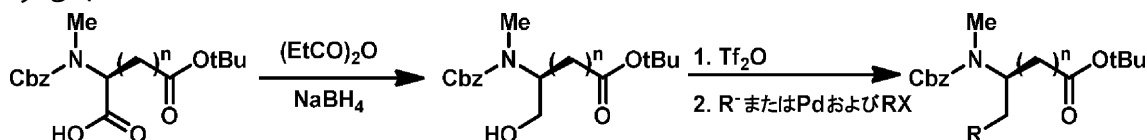
50



m、n1、またはn2が0または1のいずれかである場合、m、n1、およびn2が1であるアミノ酸構築ブロックは市販されているか、または文献中に見いだされる方法^{S12}により、例えば、一方の酸がカルボキシル保護基で保護されており、他方の酸は次いで不斉モノアルキル化を可能にするキラル補助剤に連結されている、コハク酸から合成することができる。次いで、保護カルボキシルを脱保護し、クルチウス転移によりアミンに変換し、続いてキラル補助剤を過酸化物により切断することができる。

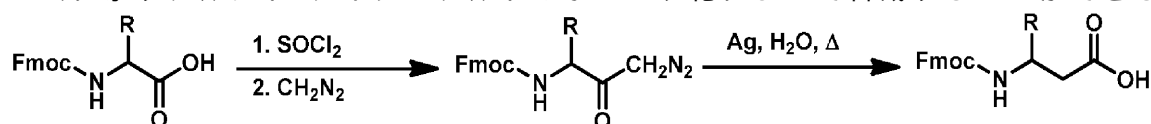


m、n1、およびn2が0、1または2である場合、m、n1、およびn2が1または2であるアミノ酸構築ブロックは同様に合成することができ、ここで区別的に保護したアスパラギン酸またはグルタミン酸を、ペプチドカップリング、酸をワインレブアミドを介して官能基化ケトンに変換しうる還元、あるいは酸を還元によりアルコールに変換し、これを続いてトシレートに変換し、求核剤により置換するか、またはパラジウム仲介プロセスにより別のアリールもしくはアルキル基にカップリングする方法を含むが、それらに限定されるわけではない、任意の数の戦略によって、アルファ炭素に連結された遊離カルボン酸で官能基化する：



【 0 2 1 9 】

これらのアミノ酸は、文献中に見いだされるプロトコル^{S12 ~ S13}、例えば、以下のスキームに示すアルント-アイシュテルトのホモログ化によって合成することができる。



【 0 2 2 0 】

R²およびR³がそれぞれ独立に水素ではない化合物の合成のためのアミノ酸構築ブロックは、商業的に購入するか、または文献に記載のアミノ酸合成手順^{S7 ~ S9、S14}によって合成し、標準の保護基^{S1}を用いて適切に保護することができる。

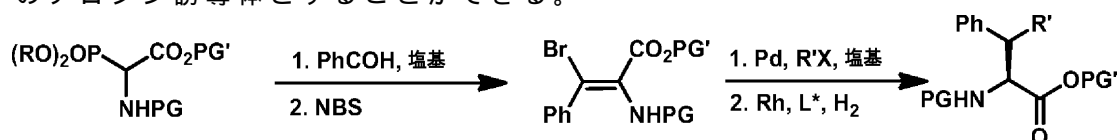
【 0 2 2 1 】

OG¹およびOG²ヒドロキシル、O-アルキル、またはO-グリコシルの場合、化合物はアリロマイシン天然物の合成のために開発されたプロトコル^{S15}によって合成することができる。

【 0 2 2 2 】

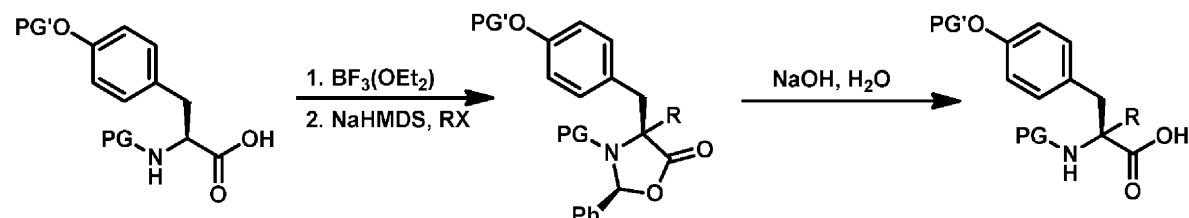
R^{A1}が水素ではない場合、アリロマイシン大環状分子の合成のために記載された方法によって合成することができる。その合成のために構築ブロックとして必要とされるチロシン誘導体は、Michaux et al^{S16}およびその中に記載の参考文献によって記載されたとおり合成することができる。ホーナー-ワズワース-エモンズ反応を用い、続いてアルケンのハロゲン化、所望の置換基の鈴木カップリング、および不斉触媒水素添加を行って、所望

のチロシン誘導体とすることができる。



【 0 2 2 3 】

R^{A2} が水素ではない場合、化合物は天然物の合成のためのプロトコルおよび二置換アミノ酸のペプチドカップリングのためのプロトコル^{S17}を用いて合成することができる。アミノ酸構築ブロックは、文献プロトコル^{S18}によって合成することができる。例えば、適切に保護したチロシンのアミノおよびカルボキシル基をベンズアルデヒドと縮合してオキサゾリジノン生成し、これを次いで強塩基および求電子試薬で不斉アルキル化し、加水分解して、置換チロシン誘導体を得ることができる^{S19}。



【 0 2 2 4 】

カルボニル基がBで骨格に直接連結されている化合物を、完全脱保護したアリロマイシンから合成することができる。カルボン酸が保護または非保護求電子部分によって置換されているアミノ酸へのペプチドカップリングによって、アルデヒド^{S20}、ボロン酸/エステル^{S21}、およびホスホネート^{S22}を組み込むことができる。アゼチジノン環の3位のアミンを通じてアリロマイシンに連結されているアゼチジノンは、アゼチジノンのアミンのアリロマイシンのカルボン酸へのペプチドカップリングによって合成することができる^{S23}。環の窒素を通じてアリロマイシンに連結されているアゼチジノンは、環NHのアリロマイシンカルボン酸へのペプチドカップリングによって合成することができる^{S24}。アゼチジノン構築ブロックは、文献プロトコル^{S25 ~ S26}によって合成することができる。

【 0 2 2 5 】

(S1) Wuts, P. G. M.; Greene, T. W. *Greene's protective groups in organic synthesis*; 4th ed.; Wiley-Interscience: Hoboken, N.J., 2007.

(S2) Joule, J. A.; Mills, K. *Heterocyclic chemistry*; 4th ed.; Blackwell Science: Oxford; Malden, MA, 2000.

(S3) Shin, D.-S.; Lee, Y.-S. *Synlett* **2009**, 2009, 3307.

(S4) Musser, J. H.; Chakraborty, U.; Bailey, K.; Sciortino, S.; Whyzmuzis, C.; Amin, D.; Sutherland, C. A. *Journal of Medicinal Chemistry* **1987**, 30, 62.

(S5) Hartwig, J. F. *Angew Chem Int Edit* **1998**, 37, 2047.

(S6) Sonogashira, K. *J Organomet Chem* **2002**, 653, 46.

(S7) Nájera, C.; Sansano, J. M. *Chemical Reviews* **2007**, 107, 4584.

(S8) Maruoka, K.; Ooi, T. *Chemical Reviews* **2003**, 103, 3013.

(S9) Easton, C. J. *Chemical Reviews* **1997**, 97, 53.

(S10) Olsen, C. A. *ChemBioChem* **2010**, 11, 152.

(S11) Kan, T.; Fukuyama, T. *Chemical Communications* **2004**, 353.

- (S12) Liu, M.; Sibi, M. P. *Tetrahedron* **2002**, 58, 7991.
 (S13) Lelais, G.; Seebach, D. *Peptide Science* **2004**, 76, 206.
 (S14) Williams, R. M.; Hendrix, J. A. *Chemical Reviews* **1992**, 92, 889.
 (S15) Roberts, T. C.; Smith, P. A.; Cirz, R. T.; Romesberg, F. E. *J Am Chem Soc* **2007**, 129, 15830.
 (S16) Michaux, J.; Niel, G.; Campagne, J.-M. *Chemical Society Reviews* **2009**, 38, 2093.
 (S17) Humphrey, J. M.; Chamberlin, A. R. *Chemical Reviews* **1997**, 97, 2243.
 (S18) Ohfuné, Y.; Shinada, T. *European Journal of Organic Chemistry* **2005**, 2005, 5127.
 (S19) Aberle, N.; Ovenden, S. P. B.; Lessene, G.; Watson, K. G.; Smith, B. J. *Tetrahedron Letters* **2007**, 48, 2199. 10
 (S20) Zhang, X.; Rodrigues, J.; Evans, L.; Hinkle, B.; Ballantyne, L.; Pena, M. *The Journal of Organic Chemistry* **1997**, 62, 6420.
 (S21) Zhu, Y.; Yao, S.; Xu, B.; Ge, Z.; Cui, J.; Cheng, T.; Li, R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, 17, 6851.
 (S22) Sienczyk, M.; Lesner, A.; Wysocka, M.; Legowska, A.; Pietrusiewicz, E.; Rolka, K.; Oleksyszyn, J. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, 16, 8863.
 (S23) Setti, E. L.; Davis, D.; Janc, J. W.; Jeffery, D. A.; Cheung, H.; Yu, W. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, 15, 1529.
 (S24) Vidya, R.; Eggen, M.; Nair, S. K.; Georg, G. I.; Himes, R. H. *The Journal of Organic Chemistry* **2003**, 68, 9687. 20
 (S25) Brandi, A.; Cicchi, S.; Cordero, F. M. *Chemical Reviews* **2008**, 108, 3988.
 (S26) Magriotis, P. A. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, 40, 4377.

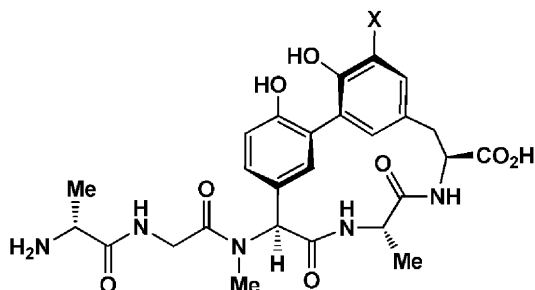
【 0 2 2 6 】

半合成

本発明の化合物は、半合成、すなわち、発酵プロセスなどの天然原料またはインビトロ合成系から単離したアリロマイシン化合物に適用する合成変換によって調製することもできる。

【 0 2 2 7 】

アリロマイシンA2などの天然物アリロマイシンは、その微生物原料から単離し、精製することが、当技術分野において公知である^{N1 ~ N2}。次いで、天然物をトリフルオロ酢酸およびCH₂Cl₂の50 : 50混合物で処理して、n末端脂質およびN-Meセリン残基を切断し、以下に示す遊離アミンを得ることができる。アリロマイシン出発原料がA系列である場合、Xは水素であり、アリロマイシン出発原料がB系列である場合、Xはニトロである。



【 0 2 2 8 】

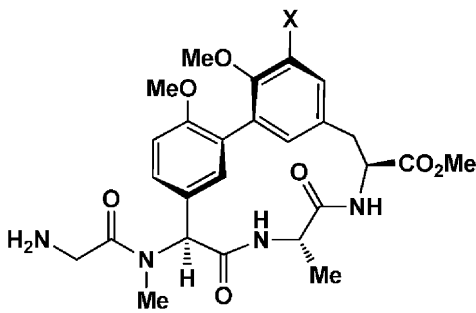
次いで、得られた遊離アミンを、新しいN-アルキルアミノ酸および脂質末端にカップリングするか、またはノシル基で保護し、選択的にメチル化し、脱ノシル化し^{N3}、アセチル化し、再度トリフルオロ酢酸およびCH₂Cl₂の50 : 50混合物で処理して、N末端アラニンを切断することができる。

10

20

30

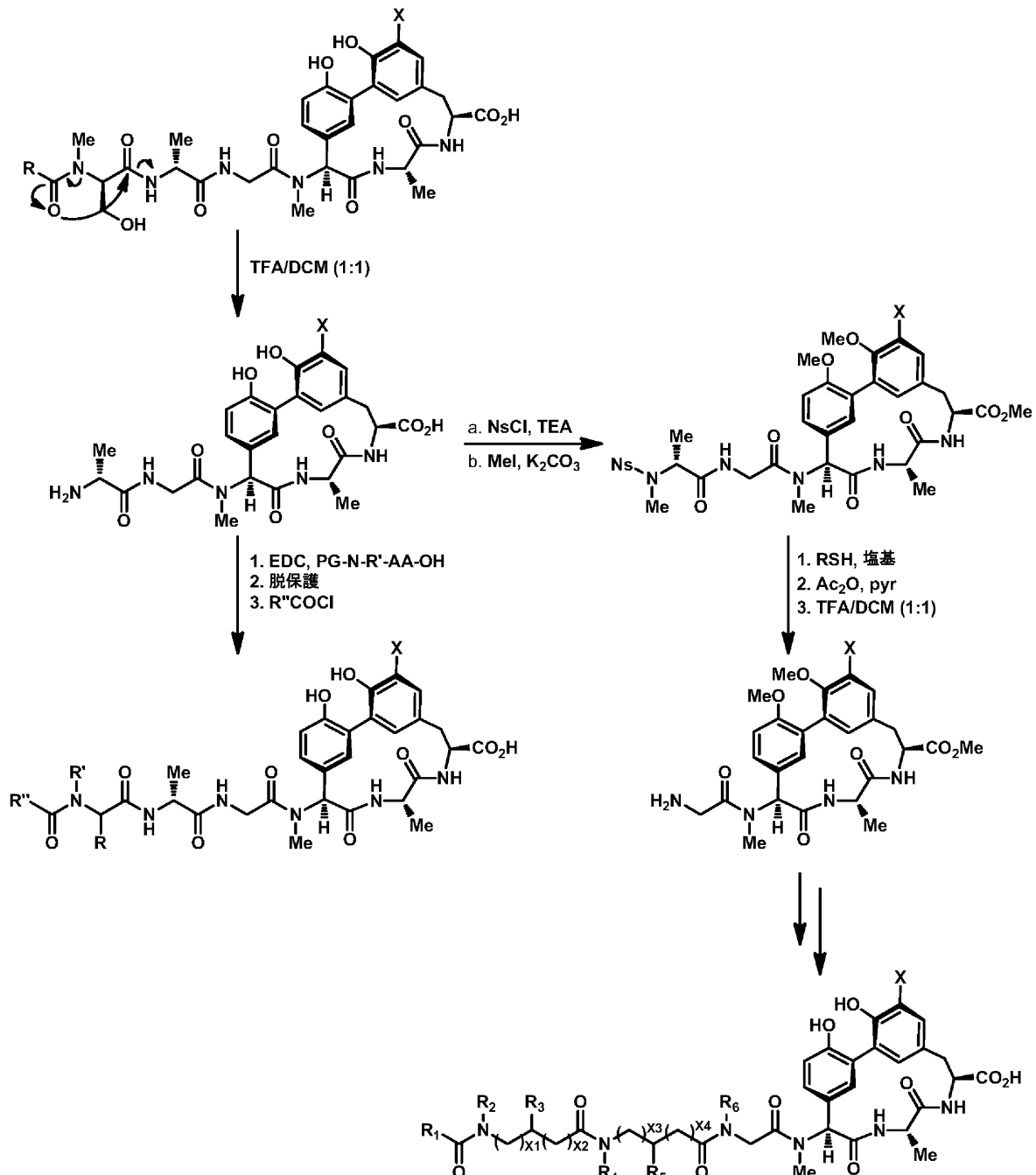
40



【 0 2 2 9 】

次いで、アラニン切断化合物の遊離アミンを、望まれる場合にはアルキル化し、次いで適切に官能基化し、保護したりポジペプチド末端にカップリングし、一括で脱保護する^{N4}ことができる（以下のスキーム2）。

スキーム2：半合成による前駆体調製および加工



【 0 2 3 0 】

アリロマイシンB系列の単離天然物は、チロシン上にニトロ基を有し^{N1 ~ N2}、したがっ

て、この化合物の脂質末端およびN末端セリンのTFA仲介切断の結果生じる遊離アミン、またはこの化合物の脂質末端とN末端セリンおよびアラニン残基の切断の結果生じる遊離アミンは、ニトロ官能基を含み、次いでこれを用いて、チロシン環の他の修飾、およびチロシン環のニトロ不活化により、同様にヒドロキシフェニルグリシン環の他の修飾を調製することができる。適切な保護基^{N5}による保護または脱保護の後、アリロマイシンB誘導体のニトロ化合物を、ヒドロキシフェニルグリシン残基のヒドロキシルに対してオルトで選択的にヨウ素化することができる。次いで、例えば、パラジウム仲介カップリングを用いて、この化合物を官能基化し、ヒドロキシフェニルグリシン環上に選択的に多くの化学基を組み込むことができる^{N6}。チロシン環のさらなる官能基化のために、適切な保護または脱保護の後、ニトロ基をアミンに還元し、ジアゾ塩に変換することができる^{N7}。この化合物を続いて、サンドマイヤー反応^{N8}により官能基化して、様々な異なる官能基を得ることができる。得られた化合物を次いで、ペプチドカップリングによりリボペプチド末端に連結し、次いで一括で脱保護する^{N4}ことができる（以下のスキーム3）。

10

【 0 2 3 1 】

引用文書

(N1) Schimana, J.; Gebhardt, K.; Holtzel, A.; Schmid, D. G.; Sussmuth, R.; Muller, J.; Pukall, R.; Fiedler, H. P. *J Antibiot* **2002**, 55, 565.

(N2) Holtzel, A.; Schmid, D. G.; Nicholson, G. J.; Stevanovic, S.; Schimana, J.; Gebhardt, K.; Fiedler, H. P.; Jung, G. *J Antibiot* **2002**, 55, 571.

20

(N3) Kan, T.; Fukuyama, T. *Chemical Communications* **2004**, 353.

(N4) Roberts, T. C.; Smith, P. A.; Cirz, R. T.; Romesberg, F. E. *J Am Chem Soc* **2007**, 129, 15830.

(N5) Wuts, P. G. M.; Greene, T. W. *Greene's protective groups in organic synthesis*; 4th ed.; Wiley-Interscience: Hoboken, N.J., 2007.

(N6) Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem Rev* **1995**, 95, 2457.

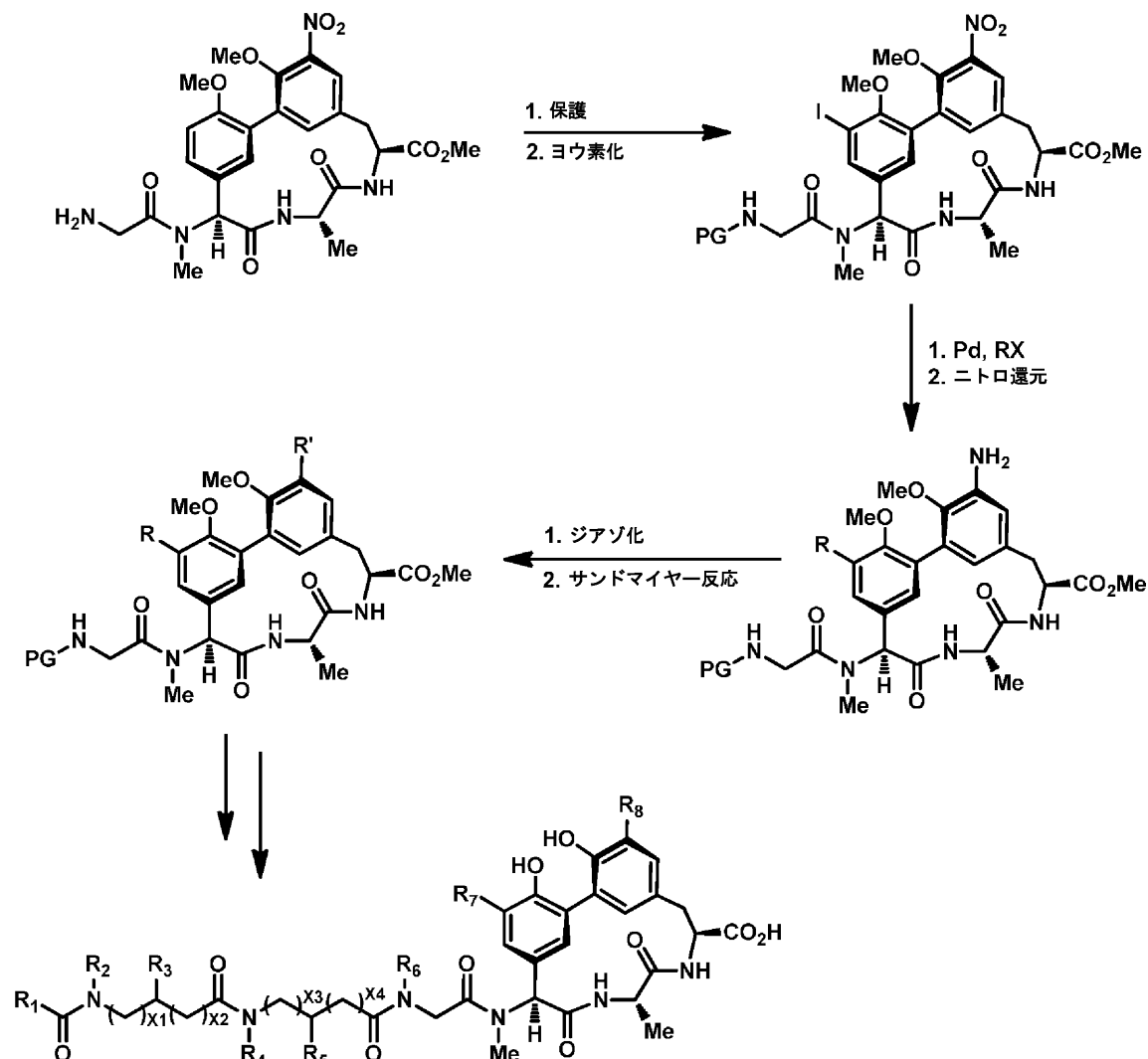
(N7) Evans, D. A.; Katz, J. L.; Peterson, G. S.; Hintermann, T. *Journal of the American Chemical Society* **2001**, 123, 12411.

30

(N8) Galli, C. *Chem Rev* **1988**, 88, 765.

【 0 2 3 2 】

スキーム3：半合成によるアリール環誘導体の調製



10

20

30

40

50

【0233】

シグナルペプチダーゼ（SPアーゼ）

本明細書において記載し、例示するとおり、アリロマイシン抗生物質は、細菌のI型シグナルペプチダーゼ（SPアーゼ）酵素、すなわち細菌の細胞質膜の外層に固定され、原形質から搬出されるタンパク質からN末端シグナルペプチドを除去する、必須のセリン-リジンダイアドプロテアーゼを阻害することができる。細菌SPアーゼプロテアーゼは、すべての真正細菌中に存在し、必須であるようである。しかし、すべての真正細菌がアリロマイシン抗生物質に感受性であるわけではない。

【0234】

本発明に従い、細菌SPアーゼの配列はアリロマイシン抗生物質に対する感受性または耐性に相関している。特に、触媒セリン付近に1つまたは複数のプロリン残基が存在することで、アリロマイシン耐性表現型が生じる。「耐性の」または「耐性」なる用語は、Proを持たない同質遺伝子系統に比べて、耐性付与Proを有する菌株の感受性低減を意味するために用い、異なる細菌の絶対的な感受性を意味するために用いることはない（例えば、耐性表皮ブドウ球菌は8 $\mu\text{g/ml}$ のMICで阻害され、128 $\mu\text{g/ml}$ という高濃度でも阻害されない他の病原体の耐性変異体よりも、アリロマイシンC₁₆に対して有意に感受性が高い）。

【0235】

細菌SPアーゼ核酸およびポリペプチドの配列は、例えば、米国国立バイオテクノロジー情報センター（ncbi.nlm.nih.gov）によって維持されているデータベース中で公的に入手可能であり、アリロマイシン感受性またはアリロマイシン耐性細菌を検出するのに有用なプローブ、プライマーおよび抗原を作成するために用いることができる。

【 0 2 3 6 】

例えば、表皮ブドウ球菌RP62AシグナルペプチダーゼIBは以下の配列 (SEQ ID NO:1 ; NCBIアクセッション番号YP_188144.1, gi:57866486参照) を有する。

```

1  MKKEILEWIV AIAVAIALIA IITKFVVGKSY SIKGDSMDPT
41 LKDGERSVVVN IIGYKLGGEV KGNVIVFHAN KKDDYVKRVI
81 GTPGDSVEYK NDTLYVNGKK QSEPYLNYNE KRKQTEYITG
121 SFKTKNLPNA NPQSNVIPKG KYLVVLGDNRE VSKDSRSFGL
161 IDKDQIVGKV SLRYWPFSEF KSNFNPNTK N

```

下線部は触媒セリンの領域を示し、これはこのSPアーゼ配列では36位である。SEQ ID NO: 10
1の表皮ブドウ球菌RP62AシグナルペプチダーゼIBの核酸配列は以下の配列 (SEQ ID NO:2
、NCBIアクセッション番号NC_002976.3, GI:57865352参照) を有する。

```

1  TTGAAAAAAG AAATTTTAGA GTGGATTGTT GCCATAGCCG
41 TTGCCATTGC ACTTATTGCC ATAATCACTA AATTGTGTCGG
81 AAAATCATAT TCTATTAAAG GTGATTCAAT GGATCCTACA
121 TTAAGAGATG GGGAGCGTGT AGTGGTAAAT ATTATTGGCT
161 ATAAATTAGG TGGCGTTGAA AAAGGAAATG TCATTGTATT
201 TCATGCTAAT AAAAAAGATG ATTATGTAA AAGAGTTATT
241 GGAACCTCAG GAGATAGTGT TGAATATAAA AATGATACAC
281 TCTATGTAA TGGTAAAAAG CAATCAGAAC CATACTTGAA
321 CTATAATGAA AAACGTAAGC AACTGAGTA TATCACAGGT
361 AGTTTCAAAA CAAAAAATTT ACCAAATGCT AATCCTCAAT
401 CTAATGTTAT TCCTAAAGGT AAATATTTAG TTTTGGGGGA
441 TAACCGTGAG GTAAGTAAAG ATAGTCGTTT ATTCGGTTTA
481 ATTGACAAAG ACCAAATTGT TGGAAAGGTA TCGCTCAGAT
521 ATTGGCCTTT CAGTGAATTT AAATCTAACT TTAATCCAAA
561 TAACACTAAA AATTAA

```

20

【 0 2 3 7 】

本発明に従い、変異SPアーゼ遺伝子を有する細菌は、SPアーゼポリペプチドの触媒セリン (例えば、SEQ ID NO:1の36位) の付近に、例えば、SPアーゼポリペプチドの触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内に1つまたは複数のプロリン残基が存在する場合、アリロマイシン抗生物質に対して耐性である。したがって、本明細書において例示するとおり、SEQ ID NO:1のSPアーゼアミノ酸配列における約28位から約35位のアミノ酸の間にプロリンを有する細菌は、アリロマイシン抗生物質に対して耐性を示す傾向にある。いくつかの態様において、アリロマイシン耐性を生じるプロリン残基は、触媒セリンに対して約-7の位置に存在する。他の態様において、アリロマイシン耐性を生じるプロリン残基は、触媒セリンに対して約-5の位置に存在する。例えば、SEQ ID NO:1のSPアーゼ配列において、29位のプロリンまたは31位のプロリンはアリロマイシン耐性を生じる。

30

【 0 2 3 8 】

したがって、本発明の1つの局面は、アリロマイシン化合物に感受性の細菌細胞が試験試料中に存在するかどうかを検出する方法を含む。そのような感受性は、触媒セリンの付近に、例えば、細菌SPアーゼポリペプチドの触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内およびC末端側の約2つの位置に (例えば、SEQ ID NO:1の約26~38位以内に) プロリンを有していないSPアーゼポリペプチドが存在するかどうかを検出することによって検出することができる。SPアーゼポリペプチド配列内にそのようなプロリンがなければ、試料中の細菌細胞はアリロマイシン処置に感受性であることを示す。

40

【 0 2 3 9 】

いくつかの態様において、方法は、細菌が試験試料中に存在するかどうかを検出する段階も含みうる。SPアーゼポリペプチドにおけるプロリンの存在または非存在を同時に、ま

50

たは続いて検出して、試験試料中の細菌細胞がアリロマイシン化合物に対してそれぞれ耐性または感受性であるかどうかを確認することができる。

【0240】

アリロマイシン化合物に対する細菌耐性の存在は、SPアーゼポリペプチドにおける触媒セリンから約10～12アミノ酸以内にプロリンが存在するかどうかを調べることによって検出することができる。例えば、プロリン含有SPアーゼポリペプチドに特異的な抗体を用いることができる。そのような特異的な抗体は、1つまたは複数のプロリンを有するSPアーゼポリペプチドに、そのようないかなるプロリン残基も有していない対応するSPアーゼポリペプチドよりも、検出可能に高い親和性で結合する。

【0241】

反対に、アリロマイシン化合物に対する感受性の存在は、SPアーゼポリペプチドにおける触媒セリンから約10～12アミノ酸以内にプロリン残基が存在しないかどうかを調べることによって検出することができる。例えば、SPアーゼポリペプチドにおける触媒セリンから約10～12アミノ酸以内にプロリンを有していないSPアーゼポリペプチドに特異的な抗体を、試験試料中の細菌細胞がアリロマイシン処置に対して感受性であるかどうかを検出するために用いることができる。

【0242】

または、そのような抗生物質耐性または感受性は、そのようなプロリン残基を有するSPアーゼタンパク質をコードする核酸を検出することによって検出することができる。したがって、例えば、試験試料中の核酸を利用可能な手順を用いて単離することができ、そのようなプロリン残基を有する、または有していないSPアーゼタンパク質をコードする核酸の存在を検出することができる。これらの単離した核酸を、利用可能なハイブリダイゼーションおよび/または核酸増幅手順によって試験して、プロリンをコードする、またはプロリンをコードしないSPアーゼ核酸が試験試料中に存在するかどうかを確認することができる。

【0243】

SPアーゼ核酸またはポリペプチド内のプロリンの存在または非存在を検出するのに有用なプローブ、プライマーおよび抗原ペプチドは、当業者であれば容易に設計することができる。例えば、以下の記載はどのようにSEQ ID NO:1および2の配列を用いてそのようなプローブ、プライマーおよび/または抗原ペプチドを設計しうるかを例示する。

【0244】

SEQ ID NO:1および2の配列が以下のとおりに配列されている場合、触媒セリン付近の核酸およびアミノ酸配列、ならびにアリロマイシン耐性SPアーゼにおけるプロリン残基になりうる配列およびコドン（例えば、下線の配列）が明らかになる。

10

20

30

DNA: ATGAAAAAAGAAATTTTAGAGTGGATTGTTGCCATAGCCGTTGCCATTGCA
 1: M K K E I L E W I V A I A V A I A

DNA: CTTATTGCCATAATCACTAAATTTGTCGGAAAATCATATTCTATTAAAGGT
 18: L I A I I T K F V G K S Y S I K G

DNA: GAT**TCA**ATGGATCCTACATTAAAAGATGGGGAGCGTGTAGTGGTAAATATT
 35: D **S** M D P T L K D G E R V V V N I

DNA: ATTGGCTATAAATTAGGTGGCGTTGAAAAAGGAAATGTCATTGTATTTTCAT
 +1: I G Y K L G G V E K G N V I V F H

10

DNA: GCTAATAAAAAAGATGATTATGTTAAAAGAGTTATTGGAACCTCAGGAGAT
 +1: A N K K D D Y V K R V I G T P G D

DNA: AGTGTTGAATATAAAAAATGATACTCTATGTTAATGGTAAAAAGCAATCA
 +1: S V E Y K N D T L Y V N G K K Q S

DNA: GAACCATACTTGAACATAATGAAAAACGTAAGCAAACCTGAGTATATCACA
 +1: E P Y L N Y N E K R K Q T E Y I T

DNA: GGTAGTTTCAAAACAAAAATTTACCAAATGCTAATCCTCAATCTAATGTT
 +1: G S F K T K N L P N A N P Q S N V

20

DNA: ATTCCTAAAGGTAAATATTTAGTTTTTGGGGATAACCGTGAGGTAAGTAAA
 +1: I P K G K Y L V L G D N R E V S K

DNA: GATAGTCGTTTCATTCGGTTTAAATTGACAAAGACCAAATTGTTGGAAAGGTA
 +1: D S R S F G L I D K D Q I V G K V

DNA: TCGCTCAGATATTGGCCTTTTCAGTGAATTTAAATCTAACTTTAATCCAAAT
 +1: S L R Y W P F S E F K S N F N P N

DNA: AACACTAAAAATTAA
 +1: N T K N *

30

本明細書に記載のとおり、触媒セリンから-7位または-5位がセリンではなくプロリンによって占有されている場合、そのようなSPアーゼ酵素を含む細菌はアリロマイシン耐性である。SPアーゼ酵素にそのようなプロリンが存在しない場合、細菌はアリロマイシン感受性である。SEQ ID NO:1のSPアーゼアミノ酸配列において、-7の位置は29位であり、-5の位置は31位であり、セリンは典型的には野生型のアリロマイシン感受性SEQ ID NO:1配列内の両方の位置に存在する。

【0245】

アリロマイシン耐性または感受性に相関するSEQ ID NO:1および2からのより短いSPアーゼペプチドおよびヌクレオチド配列の例には以下が含まれ、ここでヌクレオチド配列における突然変異の位置は小さい矢印で示す。

40

DNA: GTCGGAAAA**TC**ATAT**TCT**ATTAAAGGTGAT**TCA**

アリロマイシン

感受性

28: V G K **S** Y **S** I K G D **S**

SEQ ID NO :3 および 4

↓

DNA: GTCGGAAAA**CC**ATAT**TCT**ATTAAAGGTGAT**TCA**

アリロマイシン

耐性

28: V G K **P** Y **S** I K G D **S**

SEQ ID NO :5 および 6

↓ ↓

DNA: GTCGGAAAA**CCG**TAT**TCT**ATTAAAGGTGAT**TCA**

アリロマイシン

耐性

28: V G K **P** Y **S** I K G D **S**

SEQ ID NO :7 および 6

↓ ↓

DNA: GTCGGAAAA**CCC**TAT**TCT**ATTAAAGGTGAT**TCA**

アリロマイシン

耐性

28: V G K **P** Y **S** I K G D **S**

SEQ ID NO :8 および 6

↓ ↓

DNA: GTCGGAAAA**CCT**TAT**TCT**ATTAAAGGTGAT**TCA**

アリロマイシン

耐性

28: V G K **P** Y **S** I K G D **S**

SEQ ID NO :9 および 6

↓ ↓

DNA: GTCGGAAAA**TC**ATAT**CCT**ATTAAAGGTGAT**TCA**

アリロマイシン

耐性

28: V G K **S** Y **P** I K G D **S**

SEQ ID NO :10 および 11

↓ ↓

DNA: GTCGGAAAA**TC**ATAT**CCC**ATTAAAGGTGAT**TCA**

アリロマイシン

耐性

28: V G K **S** Y **P** I K G D **S**

SEQ ID NO :12 および 11

↓ ↓

DNA: GTCGGAAAA**TC**ATAT**CCA**ATTAAAGGTGAT**TCA**

アリロマイシン

耐性

28: V G K **S** Y **P** I K G D **S**

SEQ ID NO :13 および 11

↓ ↓

DNA: GTCGGAAAA**TC**ATAT**CCG**ATTAAAGGTGAT**TCA**

アリロマイシン

耐性

28: V G K **S** Y **P** I K G D **S**

SEQ ID NO :14 および 11

ヌクレオチドおよびペプチド配列の第一の組は、野生型のアリロマイシン感受性SEQ ID NO:1および2のSPアーゼ配列から取った、単に短い配列である。プロリンは4つの異なるコドン（CCT、CCC、CCA、CCG）によってコードされ、したがって4つの異なるSPアーゼヌクレオチド配列（例えば、SEQ ID NO:5、7、8、および9）は各プロリン含有SPアーゼポリペプチド（例えば、SEQ ID NO:6を含むSPアーゼポリペプチド）について存在しうることに留意されたい。

【0246】

SPアーゼ感受性（プロリン非含有）またはSPアーゼ耐性（プロリンコード）ポリペプチドをコードする核酸に相補的である、プライマーおよびプローブは容易に設計することが

10

20

30

40

50

できる。そのようなプライマーおよびプローブは、SPアーゼ感受性（プロリン非含有）またはSPアーゼ耐性（プロリンコード）ポリペプチドをコードする細菌核酸と選択的にハイブリダイズし、それにより細菌がアリロマイシン感受性またはアリロマイシン耐性のいずれであるかの検出を可能にする、十分な配列同一性および/または十分な相補的配列同一性を有するように設計することができる。例えば、試験試料中の表皮ブドウ球菌がアリロマイシン感受性またはアリロマイシン耐性のいずれであるかを検出するために、プライマーまたはプローブをSEQ ID NO:3、5、7~10、12、13または14のいずれかを含む核酸の領域に選択的にハイブリダイズするように設計する。選択的ハイブリダイゼーションに関する、およびSPアーゼ感受性（プロリン非含有）またはSPアーゼ耐性（プロリンコード）ポリペプチドをコードする細菌核酸を検出し、それにより細菌がアリロマイシン感受性またはアリロマイシン耐性のいずれであるかの検出を可能にするためのプローブおよびプライマーの選択に関するさらなる情報を以下に提供する。例えば、実施例は、SPアーゼ核酸を検出および/または単離するために用いることができる特定のプライマー配列を提供する。

10

【0247】

当業者であれば、細菌SPアーゼ感受性（プロリン非含有）ポリペプチドまたはSPアーゼ耐性（プロリンコード）ポリペプチドに選択的に結合する抗体も容易に生成し、それらの抗体を用いて細菌がアリロマイシン感受性またはアリロマイシン耐性のいずれであるかを検出することができる。例えば、SEQ ID NO:4、6または11のいずれかを含むペプチドまたはポリペプチドを用いて、そのような抗体を生成することができる。これらの抗体をスクリーニングして、細菌SPアーゼ感受性（プロリン非含有）ポリペプチドまたはSPアーゼ耐性（プロリンコード）ポリペプチドに選択的に結合する抗体調製物を同定することができる。SPアーゼ感受性（プロリン非含有）またはSPアーゼ耐性（プロリンコード）ポリペプチドを検出し、それによりそのようなポリペプチドを有する細菌がアリロマイシン感受性またはアリロマイシン耐性のいずれであるかを検出するための、抗体の作成および使用に関するさらなる情報を以下に提供する。

20

【0248】

プライマーおよび/またはプローブを他の細菌SPアーゼポリペプチドおよび核酸配列、例えば、本明細書に記載のものまたは配列データベースにおいて入手可能なもののいずれかから作成することもできる。例えば、表皮ブドウ球菌RP62AシグナルペプチダーゼIは以下の配列を有し、ここで触媒セリンは太字および下線で特定している（SEQ ID NO:15；NCBIアクセッション番号YP_187624.1，gi:57865986参照）。

30

```

1  MKKEIIIEWIV AIIVAIVIVT LVQKFLFASY TVKGASMHPT
41 FENREKVIIVS RIAKTLDHID TGDVVIFHAN AKQDYIKRLI
81 GKPGDSVEYK KDQLYLNGKK VDEPYLSENK KHKVGEYLTE
121 NFKSRDLKGT NGNMKIPSGK YLVLGDNRQN SIDSIRMDEVG
161 LLDKNQVVGK VVLRYPWFNR WGGSFNPGTF PN

```

SEQ ID NO:15の表皮ブドウ球菌RP62AシグナルペプチダーゼIのヌクレオチド配列は以下の配列（SEQ ID NO:16；NCBIアクセッション番号NC_002976.3 GI:57865352参照）を有する

40

1 ATGAAGAAAG AAATAATAGA ATGGATTGTA GCCATAATCG
41 TTGCAATTGT TATCGTCACA CTTGTGCAA AGTTTTTATT
81 TGCTTCTTAT ACAGTCAAAG GAGCATCTAT GCATCCAACA
121 TTTGAAAATC GAGAAAAAGT GATAGTAAGT CGTATAGCAA
161 AAACGCTTGA TCATATTGAT ACAGGAGATG TAGTGATTTT
201 TCATGCTAAC GCGAAGCAAG ATTATATTAA GCGACTTATT
241 GGTAACCAG GTGATTCAGT AGAATATAAA AAAGATCAAC
281 TATATTTAAA CGGTAAAAA GTAGATGAGC CTTATTTAAG
321 TGAAAATAAA AAACATAAAG TTGGAGAATA TCTAACGGAA
361 AACTTTAAGT CTAGAGATCT TAAGGGTACG AATGGCAATA
401 TGAAAATTCC TAGTGGTAAA TACTTGGTTT TAGGTGATAA
441 TCGTCAAAAC AGTATTGACA GTCGCATGGA TGAAGTAGGT
481 CTTTTAGATA AAAATCAAGT TGTTGGAAAA GTAGTTTTGA
521 GATACTGGCC ATTTAATCGG TGGGGCGGTA GTTTTAATCC
561 TGGAACATTT CCTAACTAA

10

さらなる細菌SPアーゼ配列は、例えば、NCBI配列データベースにおいて入手可能である。

【0249】

遺伝子改変された細菌シグナルペプチダーゼ

本発明の別の局面は、改変された細菌SPアーゼおよび/または改変された細菌SPアーゼを含む細菌宿主細胞である。そのような改変されたSPアーゼは、改変および/または天然SPアーゼの活性を阻害するアリロマイシン化合物を同定するために有用である。例えば、触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内にプロリンが存在する場合、SPアーゼはアリロマイシンに有効に結合せず、アリロマイシンはSPアーゼの活性を有効に阻害しない。プロリンの存在は、アリロマイシン化合物構造における構造変化の影響が容易に検出され得ない程度に、アリロマイシン結合を低減する。

20

【0250】

本発明に従い、構造活性試験中に改善されたアリロマイシン構造を検出するための1つの様式は、触媒セリンよりもN末端側5~7の位置のプロリンを別のアミノ酸（例えば、セリンまたは他のアミノ酸）で置換することにより改変されているSPアーゼへの試験アリロマイシン化合物の結合を観察することである。または、触媒セリンよりもN末端側5~7の位置の天然アミノ酸をプロリンで置換すること（それによりアリロマイシン感受性SPアーゼをアリロマイシン耐性SPアーゼに変換すること）により改変されているSPアーゼへの試験アリロマイシン化合物の結合を観察することによって、改善されたアリロマイシン構造を同定することができる。したがって、これらの型の改変SPアーゼ酵素は、プロリン非含有「アリロマイシン耐性」SPアーゼ配列に対する試験化合物の評価を可能にし、それにより二次的な潜在的（弱い）耐性の部位を同定することができ、アリロマイシン構造を任意のそのような二次的耐性部位に対処するよう改変することができる。同様に、触媒セリンから約10アミノ酸以内にプロリンが存在しないためにアリロマイシンに対して自然耐性のSPアーゼを、触媒セリンよりもN末端側-5から-7の位置にプロリンを置く置換によって改変し、それによりそうでなければ「アリロマイシン感受性」SPアーゼ構造においてプロリンがあっても、そのようなSPアーゼに有効に結合し、阻害する、試験化合物を同定することができる。

30

40

【0251】

したがって、本発明の別の局面は、細菌SPアーゼに結合する、および/またはその活性を阻害することができる化合物を同定する方法であって、該方法は、改変SPアーゼを試験化合物と接触させる段階、ならびに試験化合物が改変SPアーゼに結合する、および/またはその活性を阻害するかどうかを観察する段階を含み、該改変SPアーゼは、触媒セリンに対して-5から-7の位置でその位置のプロリンの置換または交換によって改変されている天然細菌SPアーゼアミノ酸配列を有する、方法である。いくつかの態様において、-5位および/または-7位のプロリンを別のアミノ酸（例えば、セリン）で置換する。他の態様にお

50

いて、-5位および/または-7位に天然に存在するアミノ酸をプロリンで置換する。改変SPアーゼに結合する、および/またはその活性を阻害する試験化合物が興味対象の化合物である。

【0252】

別の態様において、細菌に対して抗菌活性を有する試験化合物を、細菌培養物を試験化合物と接触させ、試験化合物が細菌の増殖を阻害するかどうかを確認することにより同定し、ここで細菌は、触媒セリンに対して-5から-7の位置でその位置のプロリンの置換または交換によって改変されている天然細菌SPアーゼアミノ酸配列を有する改変SPアーゼを発現する。いくつかの態様において、-5位および/または-7位のプロリンを別のアミノ酸（例えば、セリン）で置換する。他の態様において、-5位および/または-7位に天然に存在するアミノ酸をプロリンで置換する。そのような改変SPアーゼを発現する細菌の増殖を阻害する試験化合物は、抗菌活性を有する。

10

【0253】

細菌を、改変SPアーゼを発現するように、当業者であれば利用可能な組換え技術によって改変することができる。そのような技術は、内因性SPアーゼ遺伝子が発現されないように、内因性SPアーゼ遺伝子の除去、置換または突然変異を含み、それにより改変SPアーゼ酵素だけの発現を可能にすることができる。細菌における内因性遺伝子の除去、置換および/または突然変異のためのそのような「ノックアウト」手順は、当技術分野において利用可能であり、選択した改変SPアーゼ酵素を発現する細菌集団を生成するために容易に用いることができる。

20

【0254】

そのような改変SPアーゼ酵素および改変細菌集団を生成するための手順の例は、例えば、実施例および当技術分野において提供される。「ノックアウトカセット」を用いることができる。そのようなノックアウトカセットとは、選択可能なマーカーを提供しうる外来DNA片を有する、天然染色体DNAの断片を意味する。1つの態様において、「ノックアウト突然変異カセット」は、ゲノムDNAに外来DNA片を割り込ませ、配列の野生型染色体コピーをノックアウトカセットで置換することにより作成する。この態様において、ノックアウトプロトコルは、改変SPアーゼDNAセグメントを標的DNAに、標的部位DNAを含む「末端」がノックアウトカセットの5'および3'末端に残るようにクローン化することを含む。効率的な組換えおよび/または遺伝子変換のために、末端は少なくとも50塩基対、好ましくは200から500塩基対よりも大きいものでありうる。便宜上、標的DNAにクローン化した外来DNAも選択可能なマーカー、例えば、抗生物質耐性遺伝子を提供する。標的DNAがマーカーの抗生物質耐性遺伝子によって破壊される場合、適切なレベルの適切な抗生物質を含む寒天プレート上で形質転換体の選択を行う。形質転換後、ノックアウトカセットを取り込んだ細胞の画分は、カセットのゲノムDNA末端の間で相同組換えまたは遺伝子変換を起こし、野生型ゲノム配列のノックアウトカセットによる置換が起こることになる。ノックアウト組換え事象は、例えば、サザンブロットハイブリダイゼーション、またはPCRによって容易に確認される。

30

【0255】

SPアーゼ核酸の検出および/または増幅

40

アリロマイシン抗生物質に感受性または耐性の細菌種の存在を、細菌を含むことが疑われる試験試料中のSPアーゼ核酸を検出することによって検出することができる。本明細書に記載し、例示するとおり、アリロマイシン抗生物質耐性または感受性は、触媒セリン残基の付近にプロリン残基を有するSPアーゼタンパク質をコードする核酸を検出することによって検出することができる。

【0256】

試験試料中の核酸を、利用可能な手順を用いて単離することができる。例えば、細菌細胞を界面活性剤、熱、プロテアーゼならびに/またはフェノール抽出およびアルコール沈澱を用いて溶解することにより、細菌核酸を試験試料から単離することができる。

【0257】

50

そのようなプロリン残基を有する、または有していないSPアーゼタンパク質をコードする核酸の存在は、プロリンをコードする、またはプロリンをコードしないSPアーゼ核酸が試験試料中に存在するかどうかを確認するために利用可能なハイブリダイゼーション、一塩基多型、および/または核酸増幅手順を用いることにより、検出することができる。一般に、プロリンをコードする、および/またはプロリンをコードしないSPアーゼ核酸の検出ならびにこれらの手順を容易にするために、選択的ハイブリダイゼーション条件を用いる。

【0258】

「選択的にハイブリダイズする」なる用語は、核酸配列の指定の核酸標的配列（例えば、SEQ ID NO:2または任意のSPアーゼ核酸）への、ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーションであって、非標的核酸配列へのそのハイブリダイゼーションよりも検出可能に大きい程度（例えば、背景の少なくとも2倍）および非標的核酸の実質的排除までのハイブリダイゼーションを含む。選択的にハイブリダイズする配列は、典型的には、互いに少なくとも約40%の配列同一性、または60~90%の配列同一性、または90~95%の配列同一性、または90~99%の配列同一性、または95~97%の配列同一性、または98~99%の配列同一性、または100%の配列同一性（または相補性）を有する。いくつかの態様において、SEQ ID NO:2と選択的にハイブリダイズする配列は、少なくとも約70%の配列同一性を有する。必ず整数である変数、例えば、核酸またはタンパク質中のヌクレオチドまたはアミノ酸の数の値が範囲で、例えば、または90~99%の配列同一性、または100%の配列同一性と記載されている場合、意味するものは値が90から99の間の両端を含む任意の整数、すなわち、90、91、92、93、94、95、96、97、98または99でありうるということに留意されたい。

【0259】

本発明のプローブおよびプライマーには、約10~100の細菌SPアーゼDNAまたはRNA（例えば、SEQ ID NO:2）のいずれかの鎖と同じヌクレオチド、または約12~50、または約13~40、または約14~30の細菌SPアーゼDNAまたはRNA（例えば、SEQ ID NO:2）のいずれかの鎖と同じヌクレオチドを有するものが含まれる。本発明のプローブおよびプライマーには、約10~30の任意のSEQ ID NO:2、5、7、8、9、または本明細書に開示する、もしくは公のデータにおいて入手可能な他のSPアーゼ核酸のいずれかの鎖と同じヌクレオチドを有するものも含まれる。同一のヌクレオチドまたはアミノ酸は核酸またはタンパク質の全体を通して分布していてもよく、隣接している必要はない。そのような方法論に基づき、当業者であればプロリンをコードしうるシグナルペプチダーゼセグメントに対して5'および3'の適切な領域におけるプライマーを容易に設計することができる。

【0260】

「ストリンジェントな条件」または「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」なる用語は、プローブがその標的配列に他の配列よりも検出可能に大きい程度（例えば、背景の少なくとも2倍）までハイブリダイズする条件を含む。ストリンジェントな条件は幾分配列依存性で、異なる状況において変動しうる。ハイブリダイゼーションおよび/または洗浄条件のストリンジェンシーを調節することにより、プローブに対して最大100%まで相補性でありうる標的配列を同定することができる（相同的探索）。または、より低い程度の類似性が検出されるように、配列内のいくつかのミスマッチを許容するようにストリンジェンシー条件を調節することができる（非相同的探索）。

【0261】

プローブまたはプライマーの長さは変動しうる。例えば、プローブは約20~500ヌクレオチドの長さでありうるが、約15、または約16、または約17、または約18ヌクレオチドから標的配列の全長と同じ長さまで大きく変動しうる。いくつかの態様において、プローブは約10~50ヌクレオチドの長さ、または約15~40ヌクレオチドの長さ、または約18~50ヌクレオチドの長さ、または約18~100ヌクレオチドの長さである。

【0262】

いくつかの態様において、プライマーはプローブよりも短い。例えば、プライマーは約

10

20

30

40

50

12～50ヌクレオチドの長さ、または約13～40ヌクレオチドの長さ、または約14～35ヌクレオチドの長さであってもよい。

【0263】

いくつかの態様において、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件および手順を用いる。典型的には、ストリンジェントな条件は、塩濃度が約1.5M Naイオン未満、典型的にはpH7.0～8.3で約0.01～1.0M Naイオン濃度（または他の塩）であり、温度が短いプローブまたはプライマー（例えば、10～50ヌクレオチド）では少なくとも約30 および長いプローブ（例えば、50ヌクレオチドよりも長い）では約60 である条件である。ストリンジェントな条件はまた、ホルムアミドまたはデンハート液などの不安定化剤の添加によっても達成され得る。例示的な低ストリンジェンシー条件は、37 の30～35%ホルムアミド、1M NaCl、1%SDS（ドデシル硫酸ナトリウム）の緩衝液でのハイブリダイゼーション、および50～55 の1×SSC～2×SSC（ここで20×SSCは3.0M NaCl/0.3Mクエン酸三ナトリウムである）中での洗浄を含む。例示的な中ストリンジェンシー条件は、37 の40～45%ホルムアミド、1M NaCl、1%SDS中でのハイブリダイゼーション、および55～60 の0.5×SSC～1×SSC中での洗浄を含む。例示的な高ストリンジェンシー条件は、37 の50%ホルムアミド、1M NaCl、1%SDS中でのハイブリダイゼーション、および60～65 の0.1×SSC中での洗浄を含む。特異性は、典型的にはハイブリダイゼーション後の洗浄の関数であり、重要な因子は最終洗浄液のイオン強度および温度である。DNA-DNAハイブリッドに関して、 T_m は、メインコスおよびワールの式から概算することができる（Anal. Biochem. 138:267-84 (1984)）：

$$T_m = 81.5 + 16.6 (\log M) + 0.41 (\%GC) - 0.61 (\% \text{ホルムアミド}) - 500/L$$

式中、Mは一価カチオンのモル濃度であり；%GCはDNA中のグアノシンおよびシトシンヌクレオチドのパーセンテージであり、%ホルムアミドはハイブリダイゼーション溶液中のホルムアミドのパーセンテージであり、Lは塩基対でのハイブリッドの長さである。 T_m は、相補的標的配列の50%が完全にマッチするプローブにハイブリダイズする温度（規定されたイオン強度およびpHの下で）である。 T_m は各1%のミスマッチについて約1 ずつ低下する。したがって、 T_m 、ハイブリダイゼーションおよび/または洗浄条件は、所望の同一性の配列にハイブリダイズするよう調節することができる。例えば、90%以上の同一性を有する配列が求められる場合、 T_m を10 低下させることができる。一般に、ストリンジェントな条件は、規定されたイオン強度およびpHで特定の配列およびその相補物についての熱融点（ T_m ）よりも約5 低くなるように選択される。しかし、厳格にストリンジェントな条件では、熱融点（ T_m ）よりも1、2、3または4 低い温度でのハイブリダイゼーションおよび/または洗浄を用いることができる。中等度にストリンジェントな条件では、熱融点（ T_m ）よりも6、7、8、9または10 低い温度でのハイブリダイゼーションおよび/または洗浄を用いることができる。低ストリンジェンシー条件では、熱融点（ T_m ）よりも11、12、13、14、15または20 低い温度でのハイブリダイゼーションおよび/または洗浄を用いることができる。式、ハイブリダイゼーションおよび洗浄組成物、ならびに所望の T_m を用いて、当業者であれば、SEQ ID NO:1に関連する配列を有する核酸を同定し、単離することができる。当業者はまた、ハイブリダイゼーションおよび/または洗浄液をどのように変動させるかも理解している。所望の程度のミスマッチが45 未満（水溶液）または32 未満（ホルムアミド溶液）の T_m を生じさせる場合は、より高い温度が使用できるようにSSC濃度を高めることが好ましい。核酸のハイブリダイゼーションに対する広範な指針は、Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology - Hybridization with Nucleic Acid Probes, Part 1, Chapter 2, 'Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid probe assays,' Elsevier, N.Y. (1993)；およびCurrent Protocols in Molecular Biology, chapter 2, Ausubel, et al., eds, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York (1995)において見いだされる。特に記載がないかぎり、本出願において、高ストリンジェンシーは65 の4×SSC、5×デンハート液（水500ml中の5gフィコール、5gポリビニルピロリドン、5gウシ血清アルブミン）、0.1mg/ml煮沸サケ精子DNA、および25mMリン酸Na中でのハイブリダイゼーション

、ならびに65 の0.1×SSC、0.1%SDS中での洗浄と規定される。

【0264】

したがって、ハイブリダイゼーション手順を用いて、細菌シグナルペプチダーゼ核酸中のコードされたプロリンの有無を検出することができる。加えて、そのようなコードされたプロリンの有無を、核酸増幅、一塩基多型 (SNP)、配列決定および当業者にとって利用可能な他の手順により検出することができる。

【0265】

ポリメラーゼ連鎖反応法 (PCR) (米国特許第4,683,195号; および第4,683,202号; PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, ed. H. A. Erlich, Freeman Press, NY, N.Y., 1992)、リガーゼ連鎖反応法 (LCR) (Wu and Wallace, Genomics 4:560, 1989; Landegren et al., Science 241:1077, 1988)、鎖置換増幅法 (SDA) (米国特許第5,270,184号; および第5,422,252号)、転写媒介増幅法 (TMA) (米国特許第5,399,491号)、連結直鎖増幅法 (LLA) (米国特許第6,027,923号) など、ならびに核酸配列ベース増幅法 (NASBA) および自家持続配列複製法 (Guatelli et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 1874, 1990) などの等温増幅法を含む、当技術分野において利用可能な増幅法を用いることができる。

【0266】

Chen et al., 'Single nucleotide polymorphism genotyping: biochemistry, protocol, cost and throughput', Pharmacogenomics J. 2003; 3(2):77-96; Kwok et al., 'Detection of single nucleotide polymorphisms', Curr Issues Mol. Biol. 2003 April; 5(2):43-60; Shi, 'Technologies for individual genotyping: detection of genetic polymorphisms in drug targets and disease genes', Am J. Pharmacogenomics. 2002; 2(3):197-205; およびKwok, 'Methods for genotyping single nucleotide polymorphisms', Annu Rev Genomics Hum Genet 2001; 2:235-58に記載のものを含む、様々な一塩基多型 (SNP) 遺伝子型決定法が利用可能であり; 米国特許出願公開第20100216154号も参照されたく、この公開の内容はその全体が参照により本明細書に組み入れられる。高処理量SNP遺伝子型決定の例示的技術はMarnellos, 'High-throughput SNP analysis for genetic association studies', Curr Opin Drug Discov Devel. 2003 May; 6(3):317-21に記載されており、これはその全体が参照により本明細書に組み入れられる。一般的なSNP遺伝子型決定法には、TaqMan検定、分子ビーコン検定、核酸アレイ、対立遺伝子特異的プライマー伸長、対立遺伝子特異的PCR、APEX法 (arrayed primer extension)、均質プライマー伸長検定、質量分析による検出を用いたプライマー伸長、パイロシーケンス、遺伝子アレイで選別されるマルチプレックスプライマー伸長、ローリングサークル増幅を用いた連結反応、均質連結反応、OLA (米国特許第4,988,167号、これはその全体が参照により本明細書に組み入れられる)、遺伝子アレイで選別されるマルチプレックス連結反応、制限酵素断片長多型、一塩基伸長タグアッセイ、およびインベーター検定が含まれるが、それらに限定されるわけではない。そのような方法を、例えば、発光または化学発光検出、蛍光検出、時間分解蛍光検出、蛍光共鳴エネルギー移動、蛍光偏光法、質量分析法、および電気的検出などの検出メカニズムとの組み合わせで用いてもよい。

【0267】

多型を検出するための様々な方法には、切断剤からの保護を用いてRNA/RNAまたはRNA/DNA二重鎖におけるミスマッチ塩基を検出する方法 (Myers et al., Science 230:1242 (1985); Cotton et al., PNAS 85:4397 (1988); およびSaleeba et al., Meth. Enzymol. 217:286-295 (1992))、変異核酸分子と野生型核酸分子との電気泳動移動度の比較 (Orita et al., PNAS 86:2766 (1989); Cotton et al., Mutat. Res. 285:125-144 (1993); およびHayashi et al., Genet. Anal. Tech. Appl. 9:73-79 (1992))、および変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法 (DGGE) を用いる濃度勾配のある変性剤を含むポリアクリルアミドゲル中の多型または野生型断片の移動を検定する方法 (Myers et al., Nature 313:495 (1985)) が含まれるが、それらに限定されるわけではなく; これらの出版物の内容はその全体が参照により本明細書に組み入れられる。RNアーゼおよびS1保護などのヌクレアーゼ保護検

10

20

30

40

50

定または化学的切断法により、特定の位置での配列変異も評価することができる。

【0268】

例えば、いくつかの態様において、5'ヌクレアーゼ検定としても公知であるTaqMan検定を用いて、SNP遺伝子型決定を行う（米国特許第5,210,015号および第5,538,848号、これらはその全体が参照により本明細書に組み入れられる）。TaqMan検定は、PCR中の特定の増幅産物の蓄積を検出する。TaqMan検定は、蛍光レポーター色素およびクエンチャー色素で標識したオレゴヌクレオチドプローブを利用する。レポーター色素は、適切な波長での照射によって励起され、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）と呼ばれるプロセスによって同じプローブ内のクエンチャー色素にエネルギーを移動する。プローブに連結されている場合、励起したレポーター色素はシグナルを放出しない。完全なプローブではクエンチャー色素がレポーター色素に近接しているため、レポーターの蛍光は低下したままとなる。レポーター色素およびクエンチャー色素は、それぞれ、5'最末端および3'最末端にあってもよく、または逆であってもよい。または、レポーター色素は5'もしくは3'最末端にあってもよいが、クエンチャー色素は内部ヌクレオチドに連結し、または逆であってもよい。さらに別の態様において、レポーターとクエンチャーの両方を、レポーターの蛍光が減少されるような互いの距離で、内部ヌクレオチドに連結してもよい。

10

【0269】

本発明の別の局面において、様々な細菌種のシグナルペプチダーゼ配列を決定し、比較して、薬物耐性を克服するために容易に改変しうる薬物を同定するのに有用な、そのような薬物耐性の細菌系統プロファイルを作成する。

20

【0270】

そのような薬物耐性系統プロファイルを作成するために、配列の類似度および相違度を判定する。複数の核酸または核酸またはポリペプチド間の配列の関係を記載するために、以下の用語を用いる：（a）「参照配列」、（b）「比較ウィンドウ」、（c）「配列同一性」、（d）「配列同一性のパーセンテージ」および（e）「実質的同一性」。本明細書において用いられる「参照配列」は、配列比較の基礎として用いる規定の配列である。参照配列は核酸配列（例えば、SEQ ID NO:2）またはアミノ酸配列（SEQ ID NO:1）でありうる。参照配列は特定の配列のサブセットでも全体であってもよい。例えば、参照配列は全SPアーゼDNA、RNAもしくはポリペプチド配列、または全長SPアーゼDNA、RNAもしくはポリペプチド配列のセグメント、または触媒セリンの領域および/もしくは触媒セリンよりもN末端側の領域（例えば、触媒セリンに対して約-10から約+2のアミノ酸の位置）だけを含む/コードするペプチド、DNAもしくはRNAでありうる。

30

【0271】

本明細書において用いられる「比較ウィンドウ」とは、核酸またはアミノ酸配列の連続する特定のセグメントへの言及を意味し、含み、ここで核酸/アミノ酸配列を参照配列と比較してもよく、ここで比較ウィンドウ内の核酸/アミノ酸配列の一部は、2つの配列の最適なアラインメントのために、参照配列（付加または欠失を含まない）に比べて付加または欠失（すなわち、ギャップ）を含んでいてもよい。比較ウィンドウは核酸およびポリペプチド配列に対して変動しうる。一般に、核酸について、比較ウィンドウは少なくとも20連続ヌクレオチド長であり、任意に22、25、30、35、40、50、100ヌクレオチド長またはそれ以上でありうる。アミノ酸配列について、比較ウィンドウは少なくとも約10から15アミノ酸であり、任意に20、22、25、30、35、40、50、100アミノ酸またはそれ以上でありうる。当業者であれば、核酸またはアミノ酸配列の中にギャップを含めることによって参照配列に対する類似性が高くなるのを回避するために、典型的にギャップペナルティが導入され、マッチの数から差し引かれることを理解する。

40

【0272】

比較のためのヌクレオチドおよびアミノ酸配列のアライメントの方法は当技術分野において周知である。Smith and Waterman, (1981) Adv. Appl. Math. 2:482の局部的相同性アルゴリズム（BESTFIT）は、Needleman and Wunsch, (1970) J. Mol. Biol. 48:443-53の相同性アライメントアルゴリズム（GAP）により；Pearson and Lipman, (1988) Proc.

50

Natl. Acad. Sci. USA 85:2444の類似性検索法 (TfastaおよびFasta) により ; これらのアルゴリズムのコンピューター実施により、比較のための配列の最適アライメントを実施してもよく、Intelligenetics, Mountain View, Calif.によるPC/Geneプログラム中のCLU STAL、Wisconsin Genetics Software Package, Version 8中のGAP、BESTFIT、BLAST、FASTAおよびTFasta (Genetics Computer Group (GCG(商標)プログラム (Accelrys, Inc., San Diego, Calif.) から入手可能) が含まれるが、それらに限定されるわけではない。CLU STALプログラムはHiggins and Sharp, (1988) Gene 73:237-244 ; Higgins and Sharp, (1989) CABIOS 5:151-153 ; Corpet, et al., (1988) Nucleic Acids Res. 16:10881-90 ; Huang, et al., (1992) Computer Applications in the Biosciences 8:155-65およびPearson et al., (1994) Meth. Mol. Biol. 24:307-31によって十分に記載されている。複数の配列の最適な包括的アラインメントに用いるための好ましいプログラムはPileUp (Feng and Doolittle, (1987) J. Mol. Evol., 25:351-60、これはHiggins and Sharp, (1989) CABIOS 5:151-53によって記載された方法に類似であり、参照により本明細書に組み入れられる) である。データベース類似性検索に使用することができるBLASTファミリーのプログラムには、ヌクレオチドデータベース配列に対するヌクレオチド問い合わせ配列用のBLASTN ; タンパク質データベース配列に対するヌクレオチド問い合わせ配列用のBLASTX ; タンパク質データベース配列に対するタンパク質問い合わせ配列用のBLASTP ; ヌクレオチドデータベース配列に対するタンパク質問い合わせ配列用のTBLASTN ; およびヌクレオチドデータベース配列に対するヌクレオチド問い合わせ配列用のTBLASTXが含まれる。Current Protocols in Molecular Biology, Chapter 19, Ausubel, et al., eds., Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York (1995)を参照されたい。

【 0 2 7 3 】

GAPは、マッチの数を最大にし、ギャップの数を最小にする、2つの完全な配列のアラインメントを見いだすために、Needleman and Wunsch, (1970) J. Mol. Biol. 48:443-53のアルゴリズムを用いる。GAPはすべての可能なアラインメントおよびギャップの位置を考慮し、最大数の塩基マッチおよび最小数のギャップを持つ整列を作成する。GAPは、ギャップ生成ペナルティーおよびギャップ伸長ペナルティーを、マッチした塩基単位で表すことを可能とする。GAPは、挿入した各ギャップによるマッチ数から、ギャップ生成ペナルティーに対する利益を出さなければならない。ゼロよりも大きいギャップ伸長ペナルティーが選択された場合、GAPはさらに、ギャップの長さ×ギャップ伸長ペナルティーに対し、挿入された各ギャップから利益を出さなければならない。Wisconsin Genetics Software Packageのバージョン10におけるギャップ生成ペナルティーおよびギャップ伸長ペナルティーのデフォルト値は、それぞれ、8および2である。ギャップ生成およびギャップ伸長ペナルティーは、0から100までの整数からなる群より選択される整数で表すことができる。したがって、例えば、ギャップ生成およびギャップ伸長ペナルティーは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50またはそれ以上でありうる。

【 0 2 7 4 】

GAPは、最良のアラインメントファミリーの1つのメンバーである。このファミリーには多くのメンバーがありうるが、他のどのメンバーも、これより優れた品質を持つものはない。GAPは、アラインメントについて次の4つの性能指数を示す：品質、比率、同一性、および類似性。品質は、配列をアラインするために最大にした測定基準である。比率は、短い方のセグメントの塩基数で品質を割った値である。同一性パーセントは、実際にマッチする符号のパーセントである。類似性パーセントは、類似の符号のパーセントである。ギャップの向かいにある符号は無視される。符号対に対するスコアリングマトリックス値が類似性閾値である0.50以上である場合、類似性がスコアリングされる。Wisconsin Genetics Software Packageのバージョン10で使用するスコアリングマトリックスはBLOSUM62である (Henikoff and Henikoff, (1989) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:10915を参照されたい)。

【 0 2 7 5 】

特に記載がないかぎり、本明細書において提供する配列同一性/類似性の値は、デフォ

ルトパラメーターを用いてのBLAST 2.0プログラムスートを用いて得られた値を意味する (Altschul, et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402)。当業者であれば理解するであろう通り、BLAST検索は、タンパク質をランダム配列としてモデル化しうると仮定する。しかし、多くの実際のタンパク質は非ランダム配列の領域を含み、これはホモポリマートラクト (homopolymeric tract)、短い反復配列 (short-period repeats)、または1つもしくは複数のアミノ酸を多く含む領域であり得る。そのような複雑度の低い領域は、たとえそのタンパク質の他の領域がまったく類似でなくても、無関係なタンパク質間でアラインしうる。いくつかの低複雑度フィルタープログラムを用いて、そのような低複雑度アライメントを減少させることができる。例えば、SEG (Wooten and Federhen, (1993) Comput. Chem., 17:149-63) およびXNU (C.sub.1-ayerie and States, (1993) Comput. Chem., 17:191-201) 低複雑度フィルターを単独で、または組み合わせて使用することができる。

10

【0276】

抗SPアーゼ抗体

本発明の別の局面は、SPアーゼポリペプチドにおける触媒セリンから約10～12アミノ酸内にプロリンを含む、または含まないSPアーゼを識別しうる抗体である。したがって、いくつかの態様において、抗体はSPアーゼポリペプチドにおける触媒セリンから約10～12アミノ酸内にプロリンを含む細菌SPアーゼエピトープに特異的に結合する。他の態様において、抗体はSPアーゼポリペプチドにおける触媒セリンから約10～12アミノ酸内にプロリンを含まない細菌SPアーゼエピトープに特異的に結合する。

20

【0277】

SPアーゼポリペプチドに選択的に結合する抗体を、通常の方法を用いて単離することができる。そのような抗体はポリクローナルまたはモノクローナル抗体でありうる。いくつかの態様において、抗SPアーゼ抗体はモノクローナル抗体である。

【0278】

例えば、本発明の抗体は、選択したアミノ酸配列を含むSPアーゼペプチドまたはポリペプチド (例えば、SPアーゼポリペプチドにおける触媒セリンから約10～12アミノ酸内にプロリンを含む、または含まないSPアーゼ) で免疫化されている動物の血液または脾臓から得ることができる。SPアーゼポリペプチドは、例えば、実施例に記載の通常の方法を用いて得ることができる。SPアーゼポリペプチド由来のペプチドは、SPアーゼポリペプチドのタンパク質分解切断により、またはSPアーゼペプチドの組換え発現により、得ることができる。動物は、例えば、ウサギ、ヤギ、ラット、ウマまたはマウスでありうる。免疫後の適切な時点で、抗体分子を動物から、例えば、動物の血液、脾臓または他の液体から単離し、硫酸アンモニウムを用いての沈澱、ゲルろ過クロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィ、またはプロテインAを用いてのアフィニティクロマトグラフィを含むが、それらに限定されるわけではない、標準の技術を用いてさらに精製することができる。SPアーゼ特異的抗原に結合する抗体は、ELISAを用いて同定することができる。SPアーゼタンパク質上のプロリン含有エピトープに結合するが、プロリン非含有エピトープには結合しない (または逆もまた同じ) 抗体を、当技術分野において利用可能なスクリーニング法によって同定することができる。

30

40

【0279】

プロリン含有およびプロリン非含有SPアーゼポリペプチドに特異的な抗体は、様々な方法を用いて得ることもできる。非限定例には下記が含まれる：(1) 単一ヒトB細胞RT-PCRおよび発現ベクタークローニングを用いての、SPアーゼポリペプチドまたはペプチドで免疫化されている動物の抗体産生細胞からの抗体の生成；(2) 不死化抗体分泌B細胞からの単離；および(3) 抗体産生細胞と骨髓腫細胞との融合により生成した抗体産生ハイブリドーマからの単離。これらの技術は当技術分野において公知である。例えば、Kohler & Milstein, Nature 256:495-97 (1975) ; Kozbor et al. Immunol Today 4: 72 (1983) ; Tiller et al., J Immunol Methods 329:112-124 (2008) および Traggiai et al., Nat Med 10:871-875(2004) を参照されたい。

50

【 0 2 8 0 】

プロリン含有およびプロリン非含有SPアーゼポリペプチドに特異的な抗体は、例えば、SPアーゼポリペプチドの抗原エピトープを用いての、抗体ファージディスプレイライブラリなどの組換えコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリのスクリーニングなどの、当技術分野において公知の他の方法を用いて調製することもできる。例えば、Barbas, C.F. et al., PHAGE DISPLAY-A LABORATORY MANUAL (2001) Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; およびKontermann & Dubel, ANTIBODY ENGINEERING (2001) Berlin, Heidelberg:Springer-Verlagを参照されたい。

【 0 2 8 1 】

本発明のSPアーゼポリペプチドに特異的な抗体をコードする核酸は、SPアーゼポリペプチドまたはそのペプチド断片で免疫化した動物のB細胞または血漿細胞のRNAを用いて発現ライブラリを生成し、次いで抗体コード配列をスクリーニングすることにより、その動物から誘導することができる。例えば、Antibodies, A Laboratory Manual, by Harlow and Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988、およびMolecular Cloning, A Laboratory Manual by Sambrook, et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 1989を参照されたく、その開示は参照により本明細書に組み入れられる。

【 0 2 8 2 】

例えば、以下の任意のペプチドを特異的に検出する抗体を用いることができ、ここでアリロマイシン耐性を生じるプロリンを囲み内のP（すなわち、[P]）で示し、触媒セリンをC末端に示す。

【 0 2 8 3 】

(表9) ペプチドエピトープ

細菌株	変異体または野生型	SPアーゼペプチド配列	SEQ ID NO:
表皮ブドウ球菌 RP62A	WT	VGKSYSIKGDS	17
表皮ブドウ球菌 PAS9001	S29P	VGK[P]YSIKGDS	18
表皮ブドウ球菌 PAS9002	S31P	VGKSY[P]IKGDS	19
黄色ブドウ球菌 NTCT 8325	WT	VAKPYTVKGDS	20
黄色ブドウ球菌 PAS8001	P29S	VAK[S]YTVKGDS	21
大腸菌 MG1655	WT	IYEPFQIPSGS	22
大腸菌 PAS0232	P84S	IYE[S]FQIPSGS	23
緑膿菌 PAO1	WT	LFEPFQIPSGS	24
緑膿菌 PAS2006	P84S	LFES[F]QIPSGS	25

【 0 2 8 4 】

組成物および組み合わせ

本発明の態様の別の局面は、本発明の化合物の、単独または別の薬剤との組み合わせでの組成物を提供する。本明細書において示すとおり、本発明の化合物は立体異性体、互変異性体、溶媒和物、プロドラッグ、薬学的に許容される塩およびその混合物を含む。本発明の化合物を含む組成物を通常の技術により、例えば、Remington: The Science and Pra

ctice of Pharmacy, 19th Ed., 1995、またはその後の版に記載のとおりに調製することができ、これらは参照により本明細書に組み入れられる。組成物は、通常の形態、例えば、カプセル剤、錠剤、エアロゾル、液剤、懸濁剤または局所適用で提示されうる。

【0285】

典型的な組成物は、本発明の化合物および担体または希釈剤でありうる薬学的に許容される賦形剤を含む。例えば、活性化合物を通常は担体と混合する、または担体で希釈する、またはアンプル、カプセル、サシェ、紙、もしくは他の容器の形態でありうる担体内に封入することになる。活性化合物を担体と混合する場合、または担体が希釈剤として役立つ場合、担体は活性化合物の媒体、賦形剤、または媒質として作用する固体、半固体または液体材料であり得る。活性化合物は、例えば、サシェに含まれる顆粒固体担体上に吸着することができる。適切な担体のいくつかの例は、水、塩溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ポリヒドロキシエトキシ化ヒマシ油、落花生油、オリーブ油、ゼラチン、ラクトース、白土、スクロース、デキストリン、炭酸マグネシウム、糖、シクロデキストリン、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アカシア、ステアリン酸またはセルロースの低級アルキルエーテル、ケイ酸、脂肪酸、脂肪酸アミン、脂肪酸モノグリセリドおよびジグリセリド、ペンタエリスリトール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン、ヒドロキシメチルセルロースおよびポリビニルピロリドンである。同様に、担体または希釈剤は、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルなどの、当技術分野において公知の任意の持続放出材料を、単独またはワックスと混合して含むことができる。

10

20

【0286】

製剤は、活性化合物と有害に反応しない補助剤と混合することができる。そのような添加物には、湿潤剤、乳化および懸濁化剤、浸透圧に影響をおよぼすための塩、緩衝剤および/または着色物質保存剤、甘味剤または着香剤が含まれうる。組成物は、望まれる場合には、滅菌することもできる。

【0287】

さらに、組成物は、鎮痛剤、他の抗生物質、抗ヒスタミン剤、抗炎症剤などの他の治療剤を含むこともできる。いくつかの態様において、組成物は第二の型の抗生物質、例えば、非アリロマイシン抗生物質を含む。

【0288】

投与経路は、経口、鼻、肺、口腔、皮下、皮内、経皮、局所または非経口、例えば、直腸、デポー、皮下、静脈内、尿管内、筋肉内、鼻内、眼用液剤または軟膏などの、本発明の活性化合物を適切な、または所望の作用部位に有効に輸送する任意の経路であり得、経口経路が好ましい。いくつかの態様において、本明細書に記載の化合物のいずれかを含む組成物を局所投与する。例えば、アリロマイシンAおよび/またはアリロマイシンBを含む組成物（式Iの化合物のいくつかと共に、またはなしで）を都合よく局所投与してもよい。

30

【0289】

固体担体を経口投与のために用いる場合、製剤を錠剤化するか、ゼラチン硬カプセル中に粉末もしくはペレット形態で入れることができ、または製剤はトローチもしくはロゼンジの形態でありうる。液体担体を用いる場合、製剤はシロップ、乳剤、ゼラチン軟カプセルまたは水性もしくは非水性液体懸濁剤もしくは液剤などの滅菌注射液の形態でありうる。

40

【0290】

注射用剤形には、一般には、適切な分散剤または湿潤剤および懸濁化剤を用いて調製しうる、水性懸濁剤または油性懸濁剤が含まれる。注射用剤形は溶液相または懸濁剤の形態であり得、これは溶媒または希釈剤と共に調製する。許容される溶媒または媒体には、滅菌水、リンゲル液、または等張水性食塩液が含まれる。または、無菌油を溶媒または懸濁化剤として用いることができる。好ましくは、油または脂肪酸は、天然または合成の油、脂肪酸、モノ、ジまたはトリグリセリドを含む、非揮発性物質である。

50

【0291】

注射のために、製剤は、前述の適切な溶液での再構成に適した粉末であることもできる。これらの例には、凍結乾燥、回転乾燥または噴霧乾燥した粉末、アモルファス粉末、顆粒、沈殿物、または微粒子が含まれるが、それらに限定されるわけではない。注射のために、製剤は任意に安定化剤、pH調節剤、界面活性剤、バイオアベイラビリティ調節剤およびこれらの組み合わせを含みうる。化合物を、ボーラス注射または持続注入などの、注射による非経口投与のために製剤することができる。注射用の単位剤形は、アンプル内または多用量容器内でありうる。

【0292】

本発明の製剤は、当技術分野において周知の手順を用いて、患者への投与後に活性成分の即時、持続、または遅延放出を提供するように設計することができる。したがって、製剤は、制御放出または緩徐放出のために製剤することもできる。

【0293】

本発明によって企図される組成物には、例えば、ミセルもしくはリポソーム、またはいくつかの他のカプセル化形態が含まれてもよく、あるいは組成物は長期保存および/または送達効果を提供するために延長放出剤形で投与することができる。したがって、製剤は、ペレットまたは円柱に圧縮し、デポー注射として筋肉内または皮下に植え込むことができる。そのような植え込み物は、シリコンおよび生体分解性ポリマー、例えば、ポリラクチド-ポリグリコリドなどの、公知の不活性材料を用いることができる。他の生体分解性ポリマーの例には、ポリ(オルトエステル)およびポリ(無水物)が含まれる。

【0294】

鼻投与のために、製剤は、エアロゾル適用のための液体担体、好ましくは水性担体に溶解または懸濁した、本発明の化合物を含むことができる。担体は、可溶化剤、例えば、プロピレングリコール、界面活性剤、レシチン(ホスファチジルコリン)もしくはシクロデキストリンなどの吸収増強剤、またはパラベンなどの保存剤などの添加物を含みうる。

【0295】

非経口適用のために、特に適切なのは注射用液剤または懸濁剤、好ましくは活性化合物をポリヒドロキシ化ヒマシ油に溶解した水性液剤である。

【0296】

タルクおよび/または炭水化物担体または希釈剤などを有する錠剤、糖衣錠、またはカプセル剤は、経口適用に特に適している。錠剤、糖衣錠、またはカプセル剤のための好ましい担体には、ラクトース、トウモロコシデンプン、および/またはジャガイモデンプンが含まれる。加糖媒体を用いる場合には、シロップまたはエリキシル剤を用いることもできる。

【0297】

通常の打錠技術によって調製しうる典型的な錠剤は下記を含むことができる：

核：

活性化合物（遊離化合物またはその塩として） 250mg
コロイド状二酸化ケイ素（Aerosil）（登録商標） 1.5mg
微結晶セルロース（Avicel）（登録商標） 70mg
調整セルロースゴム（Ac-Di-Sol）（登録商標） 7.5mg
ステアリン酸マグネシウム 全量まで（Ad.）

コーティング：

HPMC概算 9mg

*Mywacett 9-40 T概算 0.9mg

*フィルムコーティング用の可塑剤として用いるアシル化モノグリセリド。

【0298】

経口投与用の典型的なカプセル剤は、本発明の化合物（250mg）、ラクトース（75mg）およびステアリン酸マグネシウム（15mg）を含む。混合物を60メッシュのふるいを通し、No.1ゼラチンカプセルに充填する。典型的な注射製剤は、本発明の化合物250mgをバイア

10

20

30

40

50

ルに無菌的に入れ、無菌的に凍結乾燥し、密封することによって生成する。使用のために、バイアルの内容物を2mLの無菌生理食塩水と混合して、注射製剤を生成する。

【0299】

以下の非限定的実施例は、本発明の局面を例示する。

【実施例】

【0300】

実施例1：一般化学的方法

^1H および ^{13}C NMRスペクトルはBruker AMX 400、Bruker DRX 500、またはBruker DRX 600分光計で記録した。化学シフトは、 ^1H NMRについてはクロロホルム (7.26)、メタノール (3.31)、またはジメチルスルホキシド (DMSO) (2.50) のいずれかに対して報告し、 ^{13}C NMRについてはクロロホルム (77.16)、メタノール (49.00)、またはDMSO (39.52) のいずれかに対して報告する。IR測定はNicolet 6700 ATR FT-IRを用いて行った。高分解能質量スペクトルはScripps Center for Mass Spectrometryで測定した。割り付けたすべての構造は得られたスペクトルデータと一致している。

10

【0301】

旋光度はPerkin Elmerモデル341旋光計で測定した。収率は、特に記載がないかぎり、クロマトグラフィおよび分光学的に純粋な化合物について言う。反応は磁氣的に攪拌し、0.25mmのWhatmanプレコーディングシリカゲル (蛍光インジケーター付き) プレートを用いての薄層クロマトグラフィ (TLC) によりモニターした。フラッシュクロマトグラフィをシリカゲル (粒径40~63 μm 、EMD chemicals) で実施した。アセトンは無水炭酸カリウムで乾燥し、他の無水溶媒はすべてAcrosから購入した。H-D-Ser(Bzl)-OHおよびH-Ala-OBzl HClはBachemから購入した。

20

【0302】

塩化4-ニトロベンゼンスルホニルおよび1,1'-ビス(ジフェニルホスフィノ)フェロセン塩化パラジウム (II) のジクロロメタンとの錯体 ($\text{PdCl}_2(\text{dppf})$) はそれぞれAlfa AesarおよびStrem Chemicalsから購入した。Boc-Gly-OHはNovabiochemから購入した。無水1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt) はChem-Impexから購入した。ジアゾメタンはArndt, F. Org. Synth. 1934, 2:165に従って調製した。他の化学物質はすべてFisher/AcrosまたはAldrichから購入した。略語：THF、テトラヒドロフラン；EtOH、エタノール；MeOH、メタノール；AcOH、酢酸；DCM、ジクロロメタン；DMF、N,N-ジメチルホルムアミド；EDC、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩；EtOAc、酢酸エチル；Ar、アルゴン；DBU、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン；TFA、トリフルオロ酢酸。

30

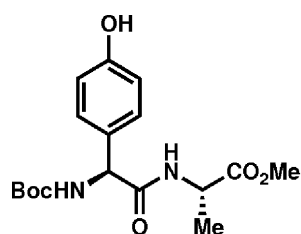
【0303】

調製用逆相クロマトグラフィはすべて、Dynamax UV-D II検出器 (220nmでモニタリング) に接続したDynamax SD-200ポンプを用いて行った。用いたカラムはPhenomenex Jupiter C_{18} (10 μm 、2.12 \times 25cm、孔径300 \AA) であった。すべての溶媒は0.1%TFAを含み；溶媒A、 H_2O ；溶媒B、アセトニトリル + 10% H_2O であった。すべての試料を0%Bでカラムにロードし、カラムを約10分間平衡化させた後、直線勾配を開始した。保持値を用いた直線勾配および試料が溶離した時点の%Bに従って報告する。

40

【0304】

手順および特徴付け



6

アセトンおよび水の1:1混合物中の4-ヒドロキシフェニルグリシン (12g、71.8mmol) の溶液に、二炭酸ジ-tert-ブチル (16.5mL、71.8mmol、1eq) および二炭酸ナトリウム (6.03g、0.11mol、1.5eq) を加えた。溶液を終夜攪拌し、次いでクエン酸 (pH3) をpH4まで加えて反応停止した。次いで、水層をEtOAcで2回抽出し、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、濃縮して、白色泡状物とした。粗製材料 (18.43g、69mmol (仮定)) を、無水DMFに溶解し、トリエチルアミン (12.6mL、75.9mmol、1.3eq)、HOBT (9.32g、69mmol、1eq) およびAla-OMe HCl (9.63g、69mmol、1eq) で逐次処理することにより、それ以上精製せずに用いた。次いで、溶液を0℃に冷却し、EDC (19.55g、0.1mol、1.5eq) を一度に加えた。反応混合物を室温まで加温し、終夜攪拌した。水およびEtOAcを加え、水層を3回抽出し、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィ (DCM中6% MeOH、0.6% AcOH) で精製して、澄明残渣を得た (17.82g、収率71%)。R_f = 0.39 (DCM中7% MeOH)。

10

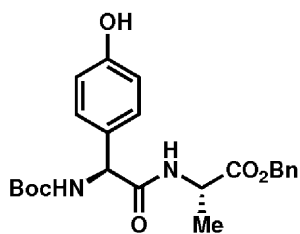
20

¹H NMR

(CDCl₃, 600 MHz) δ (ppm) 7.11 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.64 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.51 (br d, J = 6.6 Hz, 1H), 5.71 (br s, 1H), 5.07 (br s, 1H), 4.57-4.52 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 1.42-1.40 (m, 12H). ¹³C NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ (ppm) 173.2, 170.5, 156.6, 155.4, 129.0, 128.7 (2 C), 116.1 (2 C), 80.5, 58.2, 52.7, 48.5, 28.4 (3 C), 18.4. IR (film) ν_{max} = 1655, 1512, 1450, 1365, 1215, 1157, 1049 cm⁻¹. ESI HRMS calcd for [(M+Na)⁺] C₁₇H₂₄N₂O₆: 375.1526, found: 375.1532.

30

【 0 3 0 5 】



7

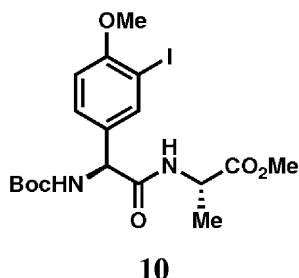
化合物7を化合物6と同じ様式で合成した。R_f = 0.3 (DCM中4.5% MeOH)。

40

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 7.38-7.31 (m, 3H), 7.29-7.26 (m, 2H), 7.11 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.63 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.44-6.38 (m, 2H), 5.69 (br s, 1H), 5.15-4.99 (m, 3H), 4.59 (p, $J = 7.2$ Hz, 1H), 1.44-1.39 (m, 12H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 172.5, 170.4, 162.8, 156.4, 135.2, 128.8 (2 C), 128.7, 128.6 (2 C), 128.3 (2 C), 116.1 (2 C), 99.7, 67.5, 48.7, 36.7, 31.7, 28.5 (3 C), 18.5. IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1655, 1510, 1209, 1153, 1045, 696\text{ cm}^{-1}$. ESI HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 429.2020, found 429.2025.

10

【 0 3 0 6 】



Ar 下、無水アセトン (390mL) に溶解した 6 (20.6g、58mmol) および炭酸カリウム (40.4g、0.29mol、5eq) の混合物をヨードメタン (25.4mL、0.41mol、7eq) で処理し、加熱還流した。17時間後、溶液を冷却し、ろ過し、濃縮して、粗生成物を得た ($R_f = 0.35$ (DCM 中 2% MeOH))。MeOH (607mL) 中の粗製化合物 (16.68g、45.6mmol (仮定)) の溶液に、 AgSO_4 (14.9g、47.8mmol、1.05eq) および I_2 (12.1g、47.8mmol、1.05eq) を連続して加えた。反応混合物を、TLC 分析 (出発原料は硫酸セリウム (IV) で染色され; 生成物は染色されない) により残存出発原料がないことが示されるまで (約 30 分) 激しく攪拌し、次いで固体 Na_2SO_3 (大過剰) を加えた。固体をろ過し、ろ液を濃縮し、粗製残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィ (DCM 中 2% MeOH) で精製した。生成物は白色固体であった (21.19g、収率 76%)。 $R_f = 0.50$ (DCM 中 3% MeOH)。

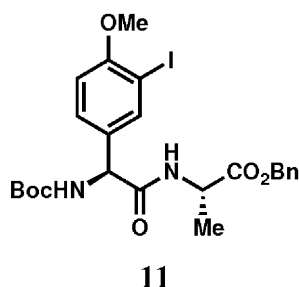
20

30

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 7.76 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.31 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.69 (br s, 1H), 5.07 (br s, 1H), 4.56-4.51 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 1.41-1.40 (m, 12H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 172.9 (2 C), 169.5, 158.3, 138.3, 132.2, 128.9, 111.1, 86.6, 80.4, 57.4, 56.5, 52.7, 48.6, 28.4 (3 C), 18.4. IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1655, 1489, 1363, 1248, 1155, 1047, 1016, 548\text{ cm}^{-1}$. ESI HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{IN}_2\text{O}_6$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 493.0830, found 493.0829.

40

【 0 3 0 7 】

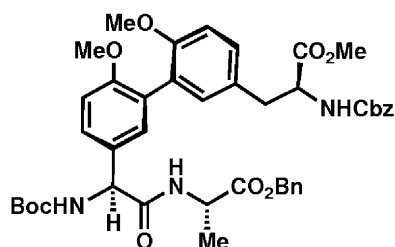


化合物 11 を化合物 10 と同じ様式で合成した。 $R_f = 0.59$ (DCM 中 2% MeOH)。

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 7.76 (s, 1H), 7.38-7.23 (m, 6H), 6.72 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 5.16-5.02 (m, 3H), 4.61-4.55 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 1.45-1.35 (m, 12H). ^{13}C NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 173.5, 172.4, 159.5, 157.3, 139.6, 137.1, 133.1, 129.9, 129.5 (2 C), 129.1, 129.0 (2 C), 114.9, 111.9, 86.3, 80.9, 67.8, 58.1, 56.8, 28.7 (3 C), 17.3. IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1655$, 1489, 1246, 1153, 1045, 735, 696 cm^{-1} . ESI HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_6$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 569.1143, found 569.1149.

【 0 3 0 8 】

10



17

Ar雰囲気下、化合物11 (200mg、350 μmol)、化合物15 (198mg、420 μmol 、1.2eq) および K_2CO_3 (243mg、1.35mmol、5eq) の混合物に、DMSO (3.5mL) 中の $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (57.5mg、70 μmol 、0.2eq) のArスパージした懸濁液をカニューレにより加えた。反応混合物を80で36時間撹拌し、次いで冷却し、希 NH_4Cl 水溶液およびEtOAcを加えた。水層をEtOAcで2回抽出し、合わせた有機画分を Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィ (ヘキサン中30% EtOAc) で精製して、化合物17を得た (99.9mg、収率36%)。 $R_f = 0.14$ (ヘキサン中35% EtOAc)。

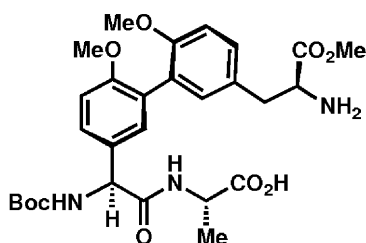
20

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) 複数の異性体。

^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) 複数の異性体。IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1707$, 1666, 1500, 1452, 1242, 1209, 1151, 1049, 1022, 742, 696 cm^{-1} . ESI HRMS calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_{11}$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 783.3440, found 783.3444.

30

【 0 3 0 9 】



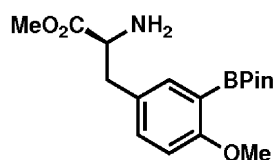
3

40

95% EtOH (16mL) 中の化合物17 (51.3mg、66 μmol) の溶液を10% Pd/C (17mg) で処理し、出発原料の存在がTLCで検出できなくなるまで (約3時間) 撹拌した。反応混合物をセライトを通してろ過し、酢酸エチルで洗浄し、濃縮した。生成物をそれ以上精製せずに先へ進めた。

^1H NMR (MeOD, 600 MHz) 複数の異性体。IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1497$, 1246, 1155, 1132, 1045, 1024 cm^{-1} . ESI HRMS calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_9$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 560.2602, found 560.2597.

【 0 3 1 0 】

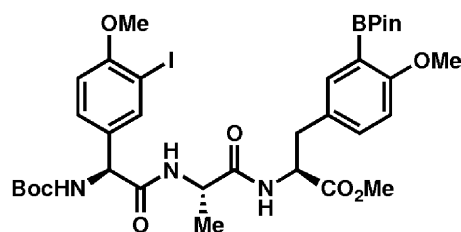


16

化合物15は、シリカゲル上で不安定であるため、完全には精製できなかった。95% EtOH (70mL) 中の半純粋な化合物15 (646mg、1.38mmol) の溶液を10% Pd/C (215mg) で処理し、出発原料の存在がTLC (ヘキサン中35% EtOAc) で検出できなくなるまで (約4時間) 撹拌した。反応混合物をセライトを通してろ過し、酢酸エチルで洗浄し、濃縮した。黄色油状物の生成物をそれ以上精製せずに先へ進めた (431mg、収率93%)。

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) 7.48 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J = 8.4, 2.3$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.76-3.68 (m, 4H), 3.03 (dd, $J = 13.7, 4.9$ Hz, 1H), 2.78 (dd, $J = 13.6, 8.1$ Hz, 1H), 1.39-1.32 (m, 12H) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 175.6, 163.4, 137.6, 133.4, 128.5, 110.8, 83.6 (2 C), 83.2, 56.1, 56.0, 52.1, 40.2, 25.0 (3 C). IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1605, 1493, 1417, 1335, 1248, 1142, 1070, 1022, 852, 796, 673, 538 \text{ cm}^{-1}$. ESI HRMS calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{BNO}_5$ [(M+H) $^+$] 336.1977, found 336.1973.

【 0 3 1 1 】



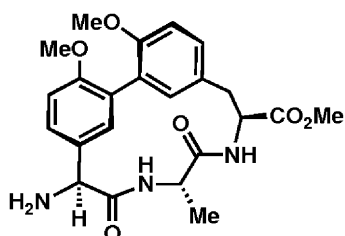
4

THF (100mL) 中の化合物10 (1g、2.0mmol) の溶液に、17mLの0.2M LiOH水溶液 (3.4mmol、1.7eq) を加えた。反応混合物を、TLCによりすべての出発原料が消費されたと示されるまで、撹拌した。次いで、5% NH_4Cl を加えて反応停止し、THFのほとんどを窒素気流下で飛ばした。水およびEtOAcを加え、水相をEtOAcで2回抽出した。次いで、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。化合物19 (1.9g、4.36mmol) をアセトニトリルおよびDMFの2.2 : 1混合物 (25.7mL) に溶解した。次いで、化合物を NaHCO_3 (触媒量)、HOBT (1.5g、10.9mmol、2.5eq)、化合物16 (1.61g、4.8mmol、1.1eq)、およびEDC (1.8g、9.59mmol、2.2eq) で逐次処理し、 Ar 雰囲気下で終夜撹拌した。揮発性物質を蒸発させ、残渣を酢酸エチルに溶解し、5% NaHCO_3 水溶液、クエン酸水溶液、水、および食塩水で洗浄した。有機層を Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。略式のカラムクロマトグラフィ (DCM中2.5% MeOH) により、半純粋な生成物を黄色泡状物で得た (1.22g、収率79%)。生成物はシリカゲルまたは C_{18} HPLCカラムに長期曝露すると不安定であるため、それ以上精製できなかった。粗製スペクトルを用いて化合物を特徴付けた。 $R_f = 0.32$ (DCM中3% MeOH)。

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 7.85 (s, 1H), 7.30 (d, $J = 10.8$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.81-6.71 (m, 3H), 6.23 (br s, 1H), 5.81 (br s, 1H), 5.15 (br s, 1H), 4.74-4.68 (m, 1H), 4.58-4.51 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.05-3.02 (m, 1H), 2.87-2.80 (m, 1H), 1.52-1.36 (m, 24H) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 171.5, 171.0, 169.9, 163.5, 158.2, 155.1, 138.1, 137.7, 133.4, 132.3, 128.5, 127.0, 111.3, 110.8, 86.7, 83.9 (2 C), 80.3, 57.4, 56.5, 56.0, 53.5, 52.4, 49.0, 36.8, 28.4 (3 C), 25.2 (4 C), 18.2 (ホウ素に結合した炭素についてシグナルは観察されなかった). IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1645, 1489, 1344, 1248, 1144, 1072, 1047, 1018, 854, 656, 550\text{ cm}^{-1}$. ESI HRMS calcd for $[(\text{M}+\text{H})^+]$ $\text{C}_{34}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_{10}$: 796.2472, found: 796.2465.

10

【 0 3 1 2 】



20

20

アセトニトリル (1.9mL、最終20mM) 中の化合物4 (100mg、126 μmol) および K_2CO_3 (174mg、1.26mmol、10eq) の溶液を密封バイアル中で撹拌し、Arで長時間パージした。次いで、混合物をシリンジによりArスパージしたアセトニトリル (1.3mL、5mM) 中の $\text{PdCl}_2(\text{dpf})$ (10.3mg、12.6 μmol 、10mol%) の懸濁液で処理した。次いで、バイアルを80 に加熱し、21時間撹拌した。反応混合物を冷却し、 EtOAc および希 NH_4Cl 水溶液を加えた。水相を EtOAc で2回抽出し、合わせた有機相を食塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。次いで、粗製残渣を略式のシリカカラムを通してろ過し (DCM中4% MeOH)、パラジウム種を除去して、半純粋な残渣を得た。次いで、粗製化合物18 ($R_f = 0.36$ (DCM中4% MeOH)) の溶液を無水 CH_2Cl_2 (2mL) にAr下で溶解し、トリフルオロ酢酸 (0.5mL) を滴加して処理した。反応混合物を、TLCが出発原料の完全な消失を示すまで (約50分) 撹拌した。次いで、揮発性物質を窒素気流下で蒸発させ、粗製材料をカラムクロマトグラフィ (痕跡量のトリエチルアミンを含むDCM中9.5% MeOH) により精製し、精製した材料を塩基性アルミナを通してろ過して、化合物20を得た (26mg、収率48%)。 $R_f = 0.44$ (TEA 1滴/10mLを含むDCM中10% MeOH)。

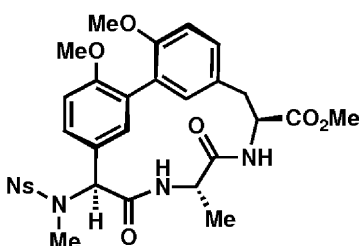
30

^1H NMR (MeOD , 600 MHz)

複数の異性体. ^{13}C NMR (MeOD , 600 MHz) 複数の異性体. IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1624, 1508, 1269, 1246, 1176, 1022, 795, 582\text{ cm}^{-1}$. ESI HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 442.1973, found 442.1966.

40

【 0 3 1 3 】



22

50

アセトニトリル (3mL) 中の化合物20 (94mg、223 μmol) の溶液を、塩化ノシル (76mg、335 μmol 、1.5eq) およびトリエチルアミン (91 μL 、669 μmol 、3eq) で処理した。2時間攪拌した後、TLCにより判定して、すべての出発原料は消費され、白色沈澱が生じた。次いで、溶媒を蒸発させ、Arでパージし、粗製化合物21 ($R_f = 0.36$ (DCM中7% MeOH)) を無水アセトン (4mL) に溶解した。溶解した材料を K_2CO_3 (314mg、2.3mmol、10eq) で処理し、反応チューブを密封し、ヨードメタン (129 μL 、2.3mmol、10eq) を加えた。混合物を65 で終夜攪拌し、次いで冷却し、ろ過し、濃縮した。次いで、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィ (DCM中2.5% MeOH) にかけて、化合物22を得た (54mg、収率37%)。
 $R_f = 0.32$ (DCM中2.5% MeOH)。

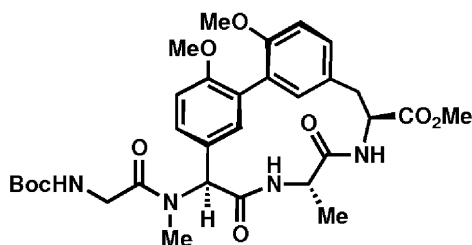
 ^1H NMR

10

(CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 8.34 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.67-6.59 (m, 2H), 6.56 (s, 1H), 6.24 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 5.81 (s, 1H), 4.85-4.80 (m, 1H), 4.52-4.44 (m, 1H), 3.84-3.76 (m, 9H), 3.44 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H), 2.99 (dd, $J = 15.5, 5.7$ Hz, 1H), 2.83 (s, 3H), 1.30 (d, $J = 5.3$ Hz, 3H) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 172.0, 171.8, 169.0, 157.4, 156.1, 150.1, 145.1, 134.5, 134.5, 129.7, 128.9, 128.7 (2 C), 128.6, 128.3, 127.0, 125.1, 124.2 (2 C), 112.3, 111.8, 62.6, 56.1 (2 C), 53.1, 53.0, 49.8, 34.5, 32.0, 19.9. IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1645, 1527, 1504, 1348, 1269, 1173, 1146, 735, 606\text{ cm}^{-1}$. ESI HRMS calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}$ [(M+Na) $^+$]: 663.1731, found: 663.1724.

20

【 0 3 1 4 】



23

30

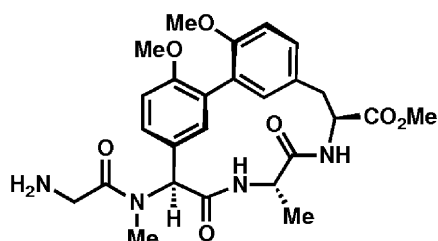
Ar下、アセトニトリル (1mL) 中の化合物22 (20mg、31.3 μmol) の溶液に、2-メルカプト酢酸 (6.5 μL 、94 μmol 、3eq) およびDBU (23 μL 、157 μmol 、5eq) を加えた。反応混合物をTLCにより、出発原料の消失についてモニターし、出発原料が完全に消費された時点 (約30分) で、揮発性物質を窒素気流下で蒸発させた。残渣をEtOAcに溶解し、1N HClを加えた。有機層を1N HClで2回抽出し、合わせた水層を飽和 NaHCO_3 で塩基性化した。次いで、水層をEtOAcで2回抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。生成物 ($R_f = 0.29$ (TEA 1滴/10mLを含むDCM中8% MeOH)) はそれ以上精製せず、次の反応に直接用いた。 CH_2Cl_2 : DMF (3 : 1, 1mL) 中の粗製材料の溶液を、HoBT (11.1mg、82.5 μmol 、3.3eq)、Boc-Gly-OH (4.8mg、27.5 μmol 、1.1eq)、およびEDC (14.4mg、75 μmol 、3eq) で逐次処理した。反応混合物を終夜攪拌し、次いで揮発性物質を蒸発させ、EtOAcおよび水を加えた。水層をEtOAcで2回抽出し、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。粗製材料をカラムクロマトグラフィ (DCM中4% MeOH) で精製して、白色泡状物を得た (14.1mg、収率74%)。
 $R_f = 0.32$ (DCM中5% MeOH)。

40

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 7.15 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.44-6.26 (m, 3H), 5.57 (s, 1H), 4.96-4.89 (m, 1H), 4.74-4.66 (m, 1H), 4.13 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 4.00 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 4.86-4.80 (m, 9H), 4.13 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 4.00 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 3.54 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 3.04 (dd, $J = 15.7, 7.0$ Hz, 1H), 2.79 (s, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.38 (d, $J = 6.53$ Hz, 3H) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 172.3, 172.0, 170.2, 170.0, 157.2, 156.1, 156.0, 135.3, 134.3, 129.9, 129.0, 129.0, 128.4, 127.2, 125.9, 112.1, 111.8, 79.7, 60.3, 56.1, 53.0, 52.7, 49.9, 46.0, 42.9, 34.5, 31.7, 28.5 (3 C), 19.7. IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1639, 1508, 1269, 1246, 1163, 1024\text{ cm}^{-1}$. ESI HRMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_9$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$: 613.2868, found: 613.2860.

10

【 0 3 1 5 】



20

1

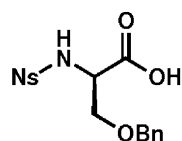
CH_2Cl_2 (0.66mL) 中の化合物23 (29.2mg、47.7 μmol) の溶液を、密封バイアル中、0 で攪拌しながら、TFA (0.33mL) で処理した。30分後、反応はTLC分析により完了したことが判明し、バイアルを室温まで加温し、少量の酢酸エチルを加え、揮発性物質を乾燥 N_2 ガス気流下で蒸発させ、減圧下で乾燥した。次いで、残渣を酢酸エチルに溶解し、 K_2CO_3 固体を加えた。次いで、混合物をろ過し、濃縮し、カラムクロマトグラフィ (痕跡量のTEAを含むDCM中10% MeOH) で精製した。生成物を白色残渣で得た (69mg、収率96%)。 $R_f = 0.33$ (TEA 1滴/10mLを含むDCM中14% MeOH)。

30

^1H NMR (MeOD, 400 MHz) 複数の異性体, S34ページを参照されたい。

^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 172.3, 172.0, 170.5, 157.1, 156.1, 135.3, 134.4, 129.8, 128.9, 128.9, 128.4, 127.3, 126.3, 112.1, 111.8, 60.4, 56.1, 56.1, 53.0, 52.7, 49.8, 43.6, 34.5, 31.6, 19.6. IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1639, 1506, 1269, 1202, 1175, 1128, 1022, 800, 719\text{ cm}^{-1}$. ESI HRMS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_7$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$: 513.2344, found: 513.2340.

【 0 3 1 6 】



40

25

1N NaOH (14.7mL) 中のD-Ser-(OBzl)-OH (1.47g、15.4mmol) の溶液を、THF (1.4mL) 中の塩化4-ニトロベンゼンスルホン (1.85g、7.9mmol、1.05eq) の滴加により処理した。溶液を終夜攪拌し、次いでクエン酸 (pH 3.5) で中和し、酢酸エチルで3回抽出した。有機層を合わせ、 Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィ (痕跡量のAcOHを含むDCM中6% MeOH) により化合物25をオフホワイト粉末で得た (収率62%)。

50

$R_f = 0.42$ (1滴/10mLのAcOHを含むDCM中7%MeOH)。

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm)

8.24 (d, $J = 11.0$ Hz, 2H), 7.98 (d, $J = 11.0$ Hz, 2H), 7.32-7.19 (m, 5H), 5.82 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 4.50-4.43 (m, 2H), 4.23 (m, 1H), 3.85 (dd, $J = 14.4$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1H), 3.65

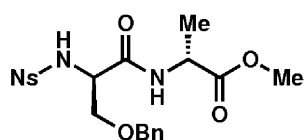
(dd, $J = 14.4$ Hz, $J = 4.5$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 173.3, 150.2, 146.0, 136.7, 128.7 (2 C), 128.4, 128.4 (2 C), 128.0 (2 C), 124.4 (2 C), 73.8, 70.1, 56.0.

IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1740, 1529, 1350, 1173, 1086, 856, 737, 656, 609, 554 \text{ cm}^{-1}$. ESI

HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ [(M+Na) $^+$]: 403.0570, found: 403.0566.

10

【 0 3 1 7 】



26

Ar下、0 で、ジクロロメタンおよびDMFの3 : 1混合物 (30mL) 中のD-Ala-OMe HCl (147 mg、1.05mmol) の溶液を NaHCO_3 (88mg、1.05mmol、1eq)、無水HoBT (468mg、3.5mmol、3.3eq.)、化合物25 (400mg、1.05mmol、1eq.)、およびEDC (604mg、3.15mmol、3eq.) で逐次処理した。溶液を室温まで加温し、終夜撹拌した。次いで、すべての揮発性物質を蒸発させ、混合物をEtOAcおよび水で希釈した。水層を2回抽出し、合わせた有機層を Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィ (DCM中1%MeOH) により生成物を88%の収率で得た。 $R_f = 0.20$ (AcOH 1滴/10mLを含むDCM中1%MeOH)。

20

^1H NMR

(CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 8.27 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.99 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.37-7.30

(m, 3H), 7.28-7.23 (m, 2H), 7.18 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 5.85 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.51 (s,

1H), 4.47-4.40 (m, 1H), 3.89-3.83 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.54-3.49 (m, 1H), 1.29 (d, $J =$

30

7.2 Hz, 1H) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 172.7, 168.1, 150.3, 145.1, 136.8,

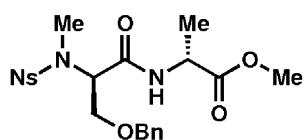
128.8 (2 C), 128.7 (2 C), 128.5, 128.2 (2 C), 124.5 (2 C), 73.9, 70.1, 55.4, 52.7, 48.6,

18.2. IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1645, 1525, 1450, 1348, 1310, 1165, 1119, 1092, 852, 733, 617,$

546, 525 cm^{-1} . ESI HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ [(M+Na) $^+$]: 488.1098, found:

488.1095.

【 0 3 1 8 】



27

40

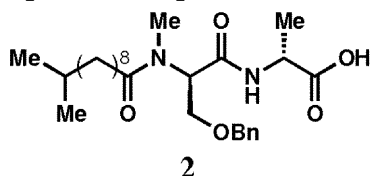
Ar雰囲気下、無水 CH_2Cl_2 (15mL) 中の化合物26 (417mg、0.90mmol) をジアゾメタン (エーテル中0.66M、16.3mL、12eq、11mmol) データ処理した。溶液をTLCでモニターし、すべての出発原料が消費されれば、揮発性物質を乾燥室素気流下で蒸発させた。フラッシュカラムクロマトグラフィ (DCM中1%MeOH) により生成物を得た (86mg、収率90%)。 $R_f = 0.57$ (DCM中2%MeOH)。

50

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) 8.05 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.92 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7.30-7.26 (m, 3H), 7.12-7.02 (m, 3H), 4.50 (p, $J = 7$ Hz, 1H), 4.29 (dd, $J = 40.0$ Hz, 11.0 Hz, 2H), 3.90-3.84 (m, 1H), 3.78-3.70 (m, 4H), 2.89 (s, 3H), 1.41 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 172.8, 167.6, 149.9, 144.4, 136.7, 128.9 (2 C), 128.6 (2 C), 128.5, 128.3 (2 C), 123.9 (2 C), 73.9, 67.1, 59.7, 52.8, 48.4, 30.7, 18.2. IR (film) $\nu_{\text{max}} = 1740, 1670, 1525, 1346, 1153, 1107, 1086, 854, 741, 604\text{ cm}^{-1}$. ESI HRMS calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$: 480.1435; found 480.1445.

10

【 0 3 1 9 】



Ar下、無水アセトニトリル中の化合物27 (86.2mg、180 μmol) の溶液を2-メルカプト酢酸 (38 μL 、540 μmol 、3eq) およびDBU (135 μL 、900 μmol 、5eq) で逐次処理した。化合物を、TLCによりすべての出発原料が消費されたと示されるまで、撹拌した。この時点で、HCl (0.5N) およびEtOAcを加え、水層を抽出し、次いで飽和 NaHCO_3 で塩基性化した。次いで、水層をEtOAc (2 \times) で再度抽出し、この抽出から合わせた有機層をプールし、 Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮して、化合物28を得た。次いで、9% NaHCO_3 溶液を粗製材料に加えて撹拌した。別の反応において、無水 CH_2Cl_2 (1.5mL) 中のイソラウリン酸 (34mg、170mmol) を SOCl_2 (148 μL 、2.0mmol、12eq) で処理し、約45分間還流した。次いで、揮発性物質を N_2 気流下で飛ばし、真空ポンプで除去した。得られた白色フィルムを2mLの無水 CH_2Cl_2 に溶解し、この溶液を9% NaHCO_3 中の新しく脱保護した化合物28に加えた。この混合物を約5時間激しく撹拌した。有機層を除去し、水層を追加の CH_2Cl_2 で2回抽出した。次いで、合わせた有機層を Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。次いで、この粗製材料をTHF (2mL) に溶解し、0.2N LiOH (0.98mL、1.15eq) で処理し、3時間撹拌した。次いで、5% NH_4Cl 水溶液およびEtOAcを加え、水相をEtOAcで2回抽出し、合わせた有機層を Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。粗製材料をカラムクロマトグラフィ (痕跡量のAcOHを含むDCM中8%MeOH) を用いて精製し、化合物2を得た (15.2mg、収率19%)。 $R_f = 0.35$ (AcOH 1滴/10mLを含むDCM中8%MeOH)。

20

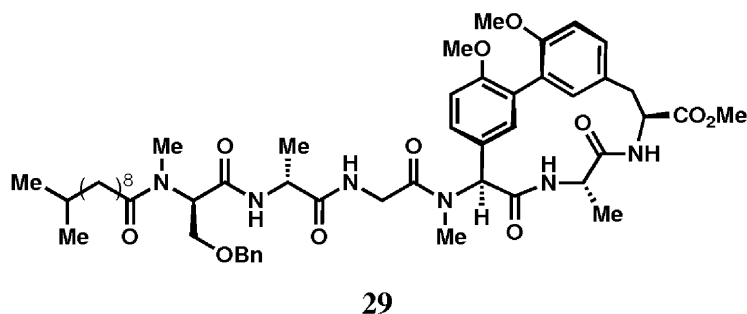
30

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) 複数の異性体, S42ページを参照されたい。IR (film)

$\nu_{\text{max}} = 2924, 2850, 1726, 1624, 1529, 1454, 1402, 1205, 1105, 733, 696\text{ cm}^{-1}$. ESI

HRMS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_5$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 463.3166, found 463.3158.

【 0 3 2 0 】



40

AcCNおよびDMFの2.2 : 1混合物 (1.5mL) 中の化合物1 (16.5mg、0.03mmol) の溶液に、HBT (13.5mg、0.1mmol、3.1eq)、化合物2 (14.9mg、0.03mmol、1eq) およびEDC (18.5mg、0.097mmol、3eq) をAr雰囲気下で逐次加えた。反応混合物を終夜撹拌した。次いで、水

50

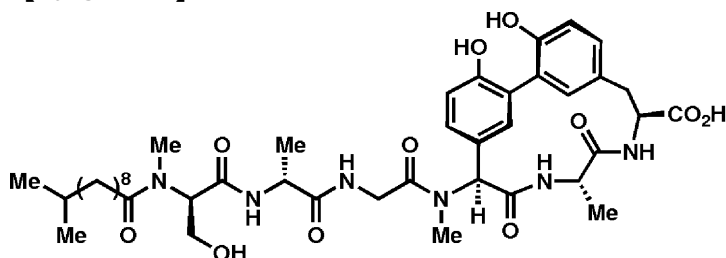
およびEtOAcを加え、水層をEtOAcで2回抽出した。次いで、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 Na_2SO_3 で乾燥し、濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィ（DCM中4.5% MeOH）により生成物を得た（19.5mg、収率63%）。 $R_f = 0.25$ （DCM中3% MeOH）。

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) 複数の異性体. ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600

MHz) 複数の異性体. IR (film) $\nu_{\max} = 1630, 1506, 1265, 1103, 1026, 798, 696 \text{ cm}^{-1}$.

ESI HRMS calcd for $\text{C}_{52}\text{H}_{72}\text{N}_6\text{O}_{11}$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 957.5332, found 957.5334.

【 0 3 2 1 】



アリロマイシン A_2

Ar下、エタノール（0.4mL）中の化合物29（8mg、8.4 μmol ）の溶液に、 AlBr_3 を CH_2Br_2 の1.0M溶液（0.21mL、25eq）でシリンジから加えた。次いで、反応混合物を50℃で4時間加熱した。冷却後、水およびEtOAcを加え、水層をEtOAcで2回抽出した。次いで、水層をアセトニトリルで2回抽出し、合わせた有機層を Na_2SO_4 で乾燥し、濃縮した。次いで、残渣を100%B（1mL）に溶解し、この溶液および水層をHPLCカラム（直線勾配、1分あたり0.5%B、生成物は58.3%Bで溶離）により精製し、凍結乾燥後に白色粉末を得た（7.2mg、収率46%）。

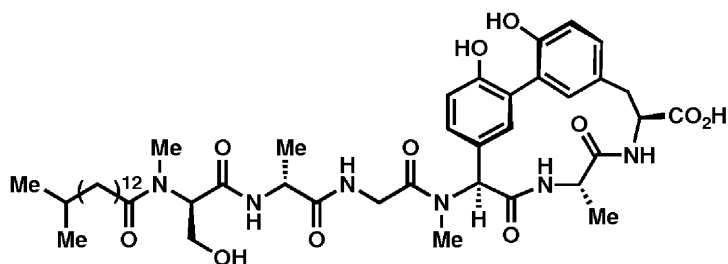
^1H NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 複数の異性体, S45ページを参照されたい. ^{13}C

NMR (MeOD, 600 MHz) 複数の異性体. IR (film) $\nu_{\max} = 1630, 1506, 1408, 1230,$

810 cm^{-1} . ESI HRMS calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{60}\text{N}_6\text{O}_{11}$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 825.4393, found 825.4397.

$[\alpha]_D^{20}$ (c 3.4, MeOH): +85.1°.

【 0 3 2 2 】



37

化合物37をアリロマイシン A_2 と同じ様式で合成した。

^1H NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 複数の異性体.

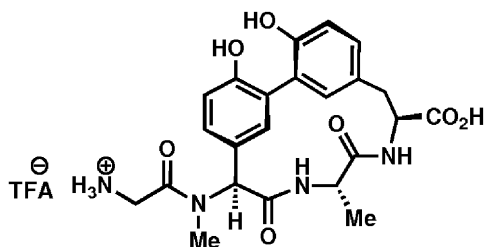
^{13}C NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 複数の異性体.

IR (film) $\nu_{\max} = 3275, 2922, 2852, 1632, 1506, 1410, 1230, 810 \text{ cm}^{-1}$.

ESI HRMS calcd for $\text{C}_{46}\text{H}_{68}\text{N}_6\text{O}_{11}$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ 881.5019, found 881.5025. $[\alpha]_D^{20}$ (c 1.8,

MeOH): +64.9°.

【 0 3 2 3 】



30

密封チューブ中、Ar下で、エタノール（2mL）中の化合物1（49mg、0.08mmol）の溶液に、CH₂Br₂中のAlBr₃（1.0M、2mL、25eq）を加えた。反応混合物を50℃に加熱し、5時間間攪拌した。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、少量の水を加え、揮発性物質を窒素気流下で蒸発させた。追加の水と、続いてEtOAcを加え、水層を抽出し、0.22μmシリンジフィルターを通してろ過し、HPLC（直線勾配、1分あたり0.5%B、生成物は17.9%Bで溶離）により精製した。凍結乾燥して生成物をTFA塩で得た（30mg、収率63%）。

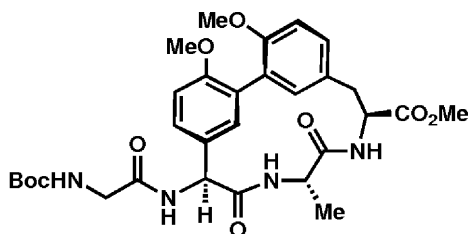
¹H NMR (DMSO, 500 MHz) 複数の異性体.

¹³C NMR (DMSO, 600 MHz) 複数の異性体. IR (film) ν_{max} = 1639, 1509,

1416, 1184, 1134, 798, 721, 511 cm⁻¹. ESI HRMS calcd for C₂₃H₂₆N₄O₇ [(M+H)⁺]

471.1874, found 471.1880.

【 0 3 2 4 】



32

Ar下、AcCN : DMF（2 : 1、1.5mL）中の化合物17（30mg、0.073mmol）の溶液に、HOBT（30mg、0.22mmol、3eq）、Boc-Gly-OH（14mg、0.08mmol、1.1eq）、およびEDC（42mg、0.22mmol、3eq）を連続して加えた。反応混合物を終夜攪拌し、次いで水およびEtOAcを加えた。水層を2回抽出し、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し、濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィ（DCM中5.5%MeOH）により生成物を白色の薄片状固体で得た（30mg、収率68%）。R_f = 0.37（DCM中7%MeOH）。

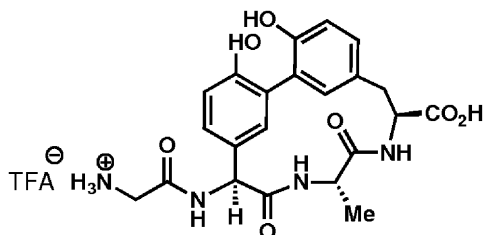
¹H NMR

(DMSO, 500 MHz) 複数の異性体. ¹³C NMR (DMSO, 600 MHz) 複数の異性体.

IR (film) ν_{max} = 1633, 1506, 1267, 1246, 1163, 1026, 580 cm⁻¹. ESI HRMS calcd for

C₃₀H₃₈N₄O₉ [(M+H)⁺] 599.2711, found 599.2701.

【 0 3 2 5 】



31

10

20

30

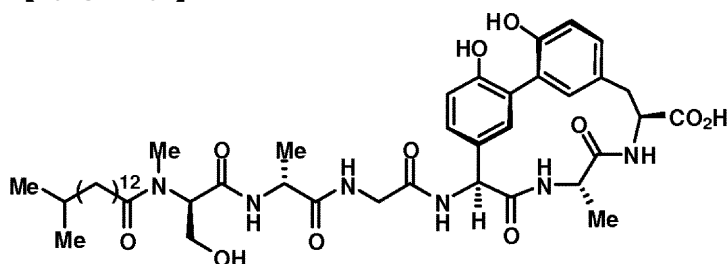
40

50

密封チューブ中、Arで、エタンチオール（0.6mL）中の化合物32（15mg、0.025mmol）の溶液に、CH₂Br₂中のAlBr₃（1.0M、0.6mL、25eq）を加えた。反応混合物を50 に加熱し、5時間撹拌した。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、少量の水を加え、揮発性物質を窒素気流下で飛ばした。追加の水を加え、水層をEtOAcで抽出し、水層を0.22 μmシリンジフィルターを通してろ過し、HPLC（直線勾配 = 1分あたり0.67%B、生成物は17.9%Bで分離）により精製した。凍結乾燥して生成物をTFA塩で得た（5.8mg、収率52%）。

¹H NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 7.24 (dd, J = 8.4, 2.2 Hz, 1H), 7.15-7.10 (m, 2H), 7.06 (d, J = 2.00 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 8.41 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8.26 Hz, 1H), 5.80 (s, 1H), 4.97-4.92 (m, 1H), 4.74 (dd, J = 10.96, 2.27 Hz, 1H), 3.84-3.76 (m, 2H), 3.35-3.30 (m, 1H), 3.02 (dd, J = 15.82, 11.05 Hz, 1H), 1.37 (d, J = 6.83 Hz, 3H) (¹³C NMR (DMSO, 600 MHz) δ (ppm) 182.8, 181.1, 179.0, 175.9, 163.2, 162.4, 141.3, 140.9, 139.1, 138.7, 138.3, 136.0, 135.9, 135.8, 125.6, 63.9, 62.6, 58.2, 57.8, 50.1, 43.9, 28.8. IR (film) ν_{max} = 3271 (br), 1633, 1543, 1500, 1236, 1188, 1136, 798, 683, 563 cm⁻¹. ESI HRMS calcd for C₂₂H₂₄N₄O₇ [(M+H)⁺] 457.1718, found 457.1721.

【 0 3 2 6 】



39

化合物29をアリロマイシンA₂と同じ様式で合成した。

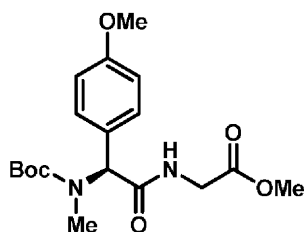
¹H NMR

(MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 複数の異性体. ¹³C NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm)

複数の異性体. ESI HRMS calcd for C₄₅H₆₆N₆O₁₁ [(M+H)⁺] 867.4862, found

867.4853.

【 0 3 2 7 】



4.11

DMF（3mL）中のH-Gly-OMe HCl（40mg、0.32mmol、1eq）の溶液に、Boc-N-Me-ヒドロキシフェニルグリシン（122mg、1.35eq）、HOBT（43mg、1eq）、EDC（67mg、1.1eq）およびTEA（49 μL、1.1eq）を逐次加えた。溶液を終夜撹拌し、次いでNaHCO₃水溶液およびEtOAcを希釈し、水相をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層5%クエン酸（pH3）、水および食塩水で洗浄した。有機物を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮し、次いで粗生成物をそれ以上精製せずに直接用いた。粗製残渣（113mg）をアセトン（3.5mL）に溶解し、MeI（139 μL、7 eq）およびK₂CO₃（221mg、5eq）で処理し、密封バイアル中で終夜加熱還流した。次いで、反応混合物を室温まで加温し、揮発性物質を飛ばし、水およびEtOAcを加えた。水層をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。カラムクロマ

トグラフィ (DCM中3% MeOH) により生成物を得た (64.3mg、2段階の収率55%)。

^1H NMR (CDCl_3 ,

500 MHz) δ (ppm) 7.27 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.49 (br s, 1H),

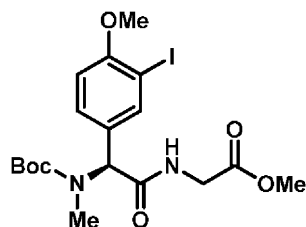
5.84 (br s, 1H), 4.09-4.08 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 2.71 (s, 3H), 1.47 (s, 9H)

^{13}C NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 170.6, 170.2, 159.6, 130.6, 127.2, 114.1, 80.6,

55.3, 52.4, 41.3, 31.5, 32.1, 28.4. MS (ESI) m/z 389.2 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

【 0 3 2 8 】

10



4.12

MeOH (2mL) 中の化合物4.11 (63mg、0.17mmol、1eq) の溶液に、 AgSO_4 (56mg、1.05eq) および I_2 (46mg、1.05eq) を逐次加えた。反応混合物を2時間攪拌し、次いで過剰の固体チオ硫酸ナトリウムを加え、反応混合物をガラスウールを通してろ過し、ロータリーエバポレーションにより濃縮した。粗製材料をカラムクロマトグラフィ (DCM中2% MeOH) により精製して、生成物を得た (74mg、収率88%)。

20

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm)

7.72 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J = 8.5$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H),

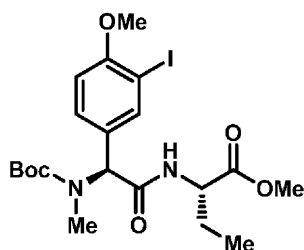
6.54 (br s, 1H), 5.78 (br s, 1H), 4.06-4.05 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 2.70 (s,

3H), 1.45 (s, 9H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 170.1, 170.0, 158.1, 140.2,

130.6, 129.3, 110.7, 86.1, 80.9, 56.5, 52.5, 41.3, 31.7, 28.4. MS (ESI) m/z XX ($\text{M} + \text{H}^+$).

【 0 3 2 9 】

30



4.13

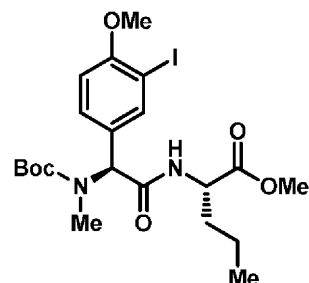
DMF (3.5mL) 中のBoc-N-Me-3-ヨード-ヒドロキシフェニルグリシン (150mg、0.37mmol、1eq) の溶液に、L-2-アミノ酪酸HCl (48mg、1.1eq)、HOBT (50mg、1eq)、EDC (78mg、1.1eq) および NaHCO_3 (34mg、1.1eq) を逐次加えた。溶液を終夜攪拌し、次いで NaHCO_3 水溶液およびEtOAcで希釈した。水相をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を5%クエン酸 (pH3)、水および食塩水で洗浄した。次いで、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、次いで濃縮した。粗製混合物のTLC分析により、1つの主要な生成物が示され、したがって粗製材料 (105mg、0.20mmol (仮定)、1eq) をアセトン (2.5mL) に溶解し、MeI (63 μL 、5eq) および K_2CO_3 (138mg、5eq) で処理した。反応混合物を密封チューブ内、還流温度で1.5時間攪拌し、次いでアセトンを窒素気流下で飛ばした。残渣に水およびEtOAcを加え、水相をEtOAcで3回抽出した。次いで、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮し、粗製材料をカラムクロマトグラフィ (DCM中1% MeOH) で精製して、生成物を得た (58mg、2段階の収率29%)。

40

50

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7.73-7.71 (m, 1H), 7.32-7.28 (m, 1H), 6.45-6.37 (m, 1H), 5.76 (br s, 1H), 4.61-4.55 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 2.71-2.70 (m, 3H), 1.93-1.88 (m, 1H), 1.74-1.69 (m, 1H), 1.47-1.46 (m, 9H), 0.93-0.87 (m, 3H) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 172.5, 169.5, 158.1, 140.2, 130.5, 129.3, 110.8, 86.1, 80.9, 56.5, 53.6, 52.5, 31.6, 28.5, 25.5, 9.8. MS (ESI) m/z 543.1 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

【 0 3 3 0 】

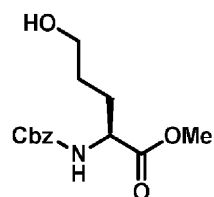


4.14

化合物4.14を化合物4.13と同様に合成して、生成物を得た（47mg、2段階の収率15%）。

^1H NMR (MeOD , 600 MHz) δ (ppm) 7.72 (s, 1H), 7.33 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.77 (br s, 1H), 4.45-4.42 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 2.64 (s, 3H), 1.80-1.78 (m, 1H), 1.69-1.67 (m, 1H), 1.53-1.29 (m, 11H), 0.95 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H) ^{13}C NMR (MeOD , 600 MHz) δ (ppm) 174.0, 172.7, 159.7, 157.6, 141.2, 131.9, 130.7, 111.9, 86.3, 81.8, 62.5, 56.9, 53.7, 52.8, 34.2, 32.1, 28.7, 20.2, 13.9. MS (ESI) m/z 557.1 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

【 0 3 3 1 】



4.15

THF（3mL）中のZ-Glu-OMe（268mg、0.91mmol、1eq）の溶液に、0 で、クロロギ酸エチル（174 μL 、2eq）、およびTEA（253 μL 、2eq）を加えた。混合物を45分間攪拌し、次いでガラスウールを通してろ過し（THFで洗浄）、ろ液を0 で H_2O （1.5mL）中の NaBH_4 （151 mg、4.4eq）で処理した。この反応混合物を45分間攪拌し、次いで室温まで加温した。次に、飽和 NaHCO_3 、水および EtOAc を加え、水相を EtOAc で3回抽出した。合わせた有機層を5%クエン酸および食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。カラムクロマトグラフィ（DCM中4% MeOH ）により生成物を得た（106mg、収率41%）。

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm)

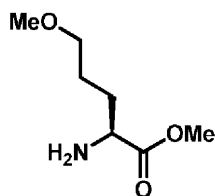
7.36-7.28 (m, 5H), 5.08 (s, 2H), 4.21-4.19 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.56-3.54 (m, 2H),

1.93-1.87 (m, 1H), 1.74-1.68 (m, 1H), 1.65-1.55 (m, 2H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 500

MHz) δ (ppm) 174.6, 158.6, 138.1, 129.4, 129.0, 128.8, 67.6, 62.1, 55.3, 52.6, 29.8, 29.1.

MS (ESI) m/z 304.1 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

【 0 3 3 2 】



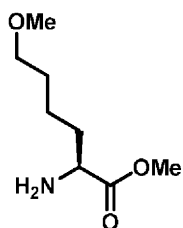
4.16

10

DCM (2.0mL) 中の化合物4.15 (104mg、0.37mmol、1eq) の溶液に、50% HBF_4 水溶液 (23 μL 、1eq) およびジエチルエーテル中2M TMSCH_2N_2 (370 μL 、2eq) を0 で15分かけて滴加した。反応混合物をTLCにより、出発原料の消失についてモニターした。 TMSCH_2N_2 (190 μL 、1eq) を、3時間の間に約45分おきに4回、50% HBF_4 水溶液 (12 μL 、0.5eq) と共に加えた。反応混合物をさらに30分間攪拌し、次いで揮発性物質を蒸発させ、水を加え、水層をEtOAcで3回洗浄した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮し、カラムクロマトグラフィ (ヘキサン中35% EtOAc) で精製した。この材料 (55mg、ヘキサン中35% EtOAc中で R_f -0.35) をMeOHに溶解し、これに10% Pd/C (20mg、重量で1/3) を加え、混合物を H_2 (1atm) 雰囲気下に置いた。TLCにより出発原料の完全な消費が示されれば、混合物をセライトを通してろ過し、濃縮した。得られたCbz脱保護材料 (30mg、収率50%) を合成の次の段階で直接用いた。

20

【 0 3 3 3 】



4.17

30

トルエン : MeOHの9 : 1混合物 (5mL) 中のBoc-L-6-ヒドロキシノルロイシン (500mg、2mmol、1eq) の溶液に、 TMSCH_2N_2 (1.15mL、1.15eq) を加え、溶液を1.5時間攪拌した。次いで、揮発性物質を蒸発させ、粗生成物をカラムクロマトグラフィ (DCM中4% MeOH) で精製して、生成物を得た (472mg)。ついで、この材料 (418mg、1.6mmol) をDCM (7mL) に溶解し、0 で50% HBF_4 水溶液 (200 μL 、1eq) およびヘキサン中の TMSCH_2N_2 (1.6mL、2eq) で処理した。0.5時間後、溶液をヘキサン中の TMSCH_2N_2 (0.5eq、0.4mL) で処理し、さらに15分後、溶液を50% HBF_4 水溶液 (50 μL 、1eq) およびヘキサン中の TMSCH_2N_2 (0.5eq、0.4mL) で処理した。反応混合物をさらに40分間攪拌し、次いで希 NaHCO_3 を加え、水層をDCMで3回抽出した。合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料をカラムクロマトグラフィ (DCM中1.5% MeOH) で精製して、生成物を得た (255mg、2段階で52%)。

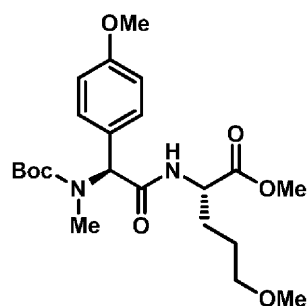
40

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) 5.05 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.27-4.21 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.31 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.26 (s, 3H), 1.81-1.72 (m, 1H), 1.64-1.34 (m, 14H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) 173.4, 155.4, 79.8, 72.4, 58.6, 53.4, 52.2, 32.5, 29.2, 28.4, 22.1. MS (ESI) m/z 176.2 ($\text{M} + \text{H}^+$).

前述の化合物 (136mg、0.49mmol) をDCM (3mL) に溶解し、TFA (0.75mL) で処理した。反応を1.5時間進行させ、次いで揮発性物質を窒素気流下で蒸発させ、粗生成物をEtOAcに溶解し、希 NaHCO_3 で処理した。水相をEtOAcで9回抽出し、次いで合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮して、化合物4.17 (75mg、87%) を得、これを精製せずに次の段階で用いた。

10

【 0 3 3 4 】



4.18

20

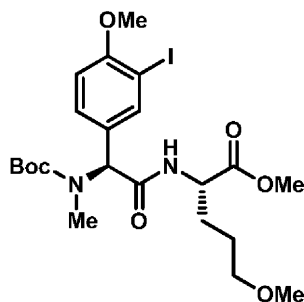
Boc-N-Me-ヒドロキシフェニルグリシン (71mg、0.19mmol、1eq) をDMF (1.0mL) に溶解し、化合物4.16 (30mg、1eq)、HOBT (26mg、1eq)、EDC (37mg、1eq) およびTEA (触媒量) で逐次処理した。反応混合物を Ar 下で終夜撹拌し、次いで水およびEtOAcを加えた。水層をEtOAcで3回抽出し、次いで合わせた有機層を希 NaHCO_3 水溶液および食塩水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮し、粗生成物をそれ以上精製せずに用いた。この材料 (75mg、0.18mmol (仮定)、1eq) をアセトン (2mL) に溶解し、MeI (77 μL 、7eq) および K_2CO_3 (124mg、5eq) で処理し、密封バイアル中で終夜加熱還流した。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、アセトンを窒素気流下で蒸発させた。水およびEtOAcを加え、水相をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥した。濃縮後、粗製材料をカラムクロマトグラフィ (DCM中3% MeOH) で精製して、生成物を得た (68mg、2段階で81%)。

30

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) 7.28 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.56 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.82 (br s, 1H), 4.63-4.58 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.34 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.22 (s, 3H), 2.67 (s, 3H), 1.94-1.79 (m, 2H), 1.63-1.42 (m, 11H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) 172.7, 170.2, 159.6, 130.8, 127.4, 114.1, 80.5, 71.9, 58.6, 55.4, 52.4, 52.2, 31.4, 29.0, 28.5, 28.5, 25.6. MS (ESI) m/z 461.5 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

40

【 0 3 3 5 】



4.19

10

MeOH (3.5mL) 中の化合物4.18 (67mg、0.15mmol、1eq) の溶液に、 AgSO_4 (50mg、1.05eq) および I_2 (41mg、1.05eq) を逐次加えた。反応混合物を2.5時間攪拌し、次いで生成物の出発原料に対する比を質量分析によりチェックした。出発原料が残っているのがわかれば、 AgSO_4 (5.0mg、0.1eq) および I_2 (4.0mg、0.1eq)。このプロセスを2~3時間ごとに6時間繰り返し、次いで10%チオ硫酸ナトリウムを加え、揮発性物質の一部を窒素気流下で飛ばした。EtOAcを加え、水層をEtOAcで3回抽出し、次いで合わせた有機層を食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ロータリーエバポレーションで濃縮した。粗製材料をカラムクロマトグラフィ (DCM中2% MeOH) で精製して、生成物を得た (44mg、収率52%)。いくつかのNMR共鳴は、N-Meアミドまわりの回転が遅いため、広幅化または二重線化したようであった (一方の異性体が他方に対して大過剰)。

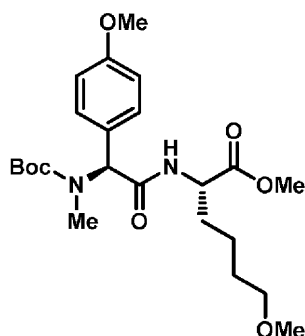
20

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm)

7.74 (s, 1H), 7.33 (d, $J = 7.8$, 1H), 6.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.67-6.66 (m, 1H), 5.77 (br s, 1H), 4.60-4.57 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.39 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.23 (s, 3H), 2.68 (s, 3H), 1.96-1.77 (m, 2H), 1.61-1.47 (m, 11H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 172.5, 169.6, 158.1, 140.3, 140.2, 130.7, 129.5, 129.4, 121.6, 110.7, 86.0, 80.8, 71.9, 58.6, 56.5, 52.5, 52.3, 31.5, 28.9, 28.5, 27.8, 25.5. MS (ESI) m/z 587.2 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

30

【 0 3 3 6 】



4.20

40

Boc-N-Me-ヒドロキシフェニルグリシン (39mg、0.14mmol、1eq) をDMF (1.5mL) に溶解し、化合物4.17 (25mg、1eq)、HOBT (19mg、1eq)、EDC (30mg、1eq) およびTEA (触媒量) で逐次処理した。反応混合物を Ar 雰囲気下で終夜攪拌し、次いで水およびEtOAcを加えた。水層をEtOAcで3回抽出し、次いで合わせた有機層を希 NaHCO_3 水溶液および食塩水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮し、粗生成物をそれ以上精製せずに用いた。この材料 (61mg、0.14mmol (仮定)、1eq) をアセトン (1.5mL) に溶解し、MeI (88 μL 、10eq) および K_2CO_3 (58mg、3eq) で処理し、密封バイアル中で終夜加熱還流した。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、アセトンを窒素気流下で蒸発させた。水およびEtOAcを加え、水相をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥した。濃

50

縮後、粗製材料をカラムクロマトグラフィ（DCM中2.5%MeOH）で精製して、生成物を得た（46mg、2段階で72%）。

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7.27 (d, J =

8.5 Hz, 2H), 6.89 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.33 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.81 (br s, 1H), 4.64-4.60

(m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.34 (t, J = 6.5 Hz, 2H) 3.29 (s, 3H), 2.69 (s, 3H)

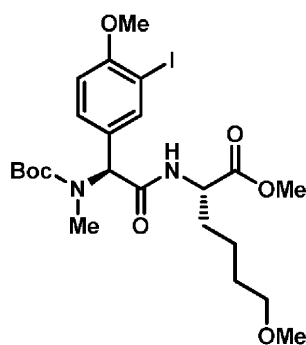
1.89-1.84 (m, 1H), 1.72-1.65 (m, 1H), 1.61-1.34 (m, 13H) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 500 MHz)

δ (ppm) 172.7, 170.1, 159.6, 130.7, 127.2, 114.1, 80.5, 72.4, 58.6, 55.4, 52.4, 52.4, 32.0,

31.4, 29.1, 28.5, 22.3. MS (ESI) m/z 475.2 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

10

【 0 3 3 7 】



4.21

20

MeOH（1.5mL）中の化合物4.20（44mg、0.097mmol、1eq）の溶液に、 AgSO_4 （32mg、1.05eq）および I_2 （26mg、1.05eq）を逐次加えた。反応混合物を2.5時間攪拌し、次いで生成物の出発原料に対する比を質量分析によりチェックした。出発原料が残っているのがわかれば、 AgSO_4 （3.0mg、0.1eq）および I_2 （3.0mg、0.1eq）。このプロセスを2～3時間ごとに6時間繰り返し、次いで10%チオ硫酸ナトリウムを加え、揮発性物質の一部を窒素気流下で飛ばした。EtOAcを加え、水層をEtOAcで3回抽出し、次いで合わせた有機層を食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ロータリーエバポレーションで濃縮した。粗製材料をカラムクロマトグラフィ（DCM中2.5%MeOH）で精製して、生成物を得た（46mg、収率81%）。いくつかのNMR共鳴は、N-Meアミドまわりの回転が遅いため、広幅化または二重線化したようであった（一方の異性体が他方に対して大過剰）。

30

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm)

7.73 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 8.5, 1H), 6.79 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.38 (d, J = 7.5

Hz, 1H), 5.74 (br s, 1H), 4.61-4.57 (m, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.33 (t, J = 6.5

Hz, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.69 (s, 3H), 1.90-1.85 (m, 1H), 1.72-1.65 (m, 1H), 1.58-1.34 (m,

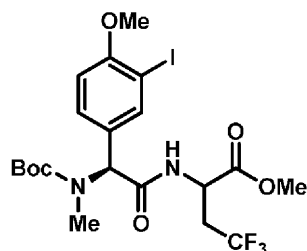
13H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 172.6, 169.5, 158.1, 140.3, 130.6, 129.3,

40

110.8, 86.1, 80.8, 72.4, 58.6, 56.5, 52.5, 52.5, 32.0, 31.6, 29.1, 28.5, 22.3. MS (ESI) m/z

601.2 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

【 0 3 3 8 】



4.22

Boc-N-Me-3-ヨード-ヒドロキシフェニルグリシン (116mg、0.28mmol、1eq) を DCM : DMF の 3 : 1 混合物 (2.8mL) に溶解し、ラセミ2-アミノ-4,4,4-トリフルオロ-酪酸塩酸塩 (59mg、1eq)、HOBt (38mg、1eq)、DIC (49 μ L、1.1eq) および TEA (40 μ L、1eq) で逐次処理した。反応混合物を Ar 下で終夜撹拌し、次いで DCM を飛ばし、希 NaHCO_3 水溶液および EtOAc を加えた。水層を EtOAc で 3 回抽出し、次いで合わせた有機層を 5% クエン酸 (pH3)、水および食塩水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮し、カラムクロマトグラフィ (DCM 中 4% MeOH) で精製して油状物を得た。この材料 (81mg、0.145mmol (仮定)、1eq) をアセトン (2mL) に溶解し、MeI (45 μ L、5eq) および K_2CO_3 (100mg、5eq) で処理し、密封バイアル中で終夜加熱還流した。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、アセトンを窒素気流下で蒸発させた。水および EtOAc を加え、水相を EtOAc で 3 回抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥した。濃縮後、粗製材料をカラムクロマトグラフィ (DCM 中 1.8% MeOH) で精製して、生成物を泡状物で得た (47mg、2段階で 15%)。

10

20

^1H NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 7.70 (s, 1H),

7.32-7.29 (m, 1H), 6.99-6.97 (m, 1H), 5.78 (br s, 1H), 4.82-4.68 (m, 1H), 3.88 (s, 3H),

3.80-3.79 (m, 3H), 2.94-2.86 (m, 1H), 2.74-2.66 (m, 5H), 1.49 (s, 1H) ^{13}C NMR

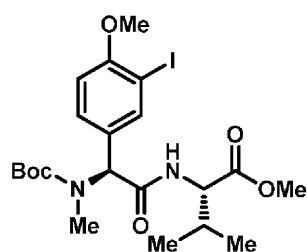
(MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 172.4, 172.2, 171.4, 171.3, 159.8, 141.2, 132.0, 131.9,

130.4, 128.3, 128.3, 126.5, 126.4, 112.0, 112.0, 86.3, 86.3, 82.0, 62.8, 56.9, 53.5, 53.4,

35.6, 35.4, 35.4, 35.2, 31.9, 28.6. MS (ESI) m/z 597.1 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

【 0 3 3 9 】

30

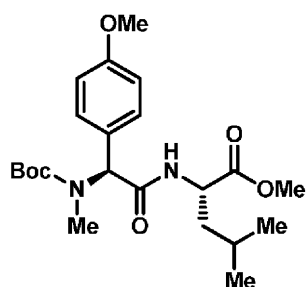


4.23

化合物 4.23 を化合物 4.13 と同じ様式で合成した (収率 53%)。

【 0 3 4 0 】

40



4.24

DMF (2.0mL) に溶解した Boc-N-Me-ヒドロキシフェニルグリシン (124mg、0.44mmol、1eq) に H-Leu-OMe (80mg、1eq)、HOBt (59mg、1eq)、EDC (93mg、1.1eq) および TEA (67 μ

50

L、1.1eq)を逐次加えた。反応混合物を終夜撹拌し、次いでNaHCO₃水溶液およびEtOAcで希釈し、水相をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を5%クエン酸(pH3)、水および食塩水で洗浄した。次いで、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮し、粗生成物をそれ以上精製せずに用いた。粗製材料(170mg、0.42mmol(仮定)、1eq)をアセトン(2mL)に溶解し、MeI(260μL、10eq)およびK₂CO₃(172mg、3eq)で処理した。反応混合物を密封チューブ内、還流温度で終夜撹拌し、次いでアセトンを窒素気流下で飛ばした。残渣に水およびEtOAcを加え、水相をEtOAcで3回抽出した。次いで、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮し、粗製材料をカラムクロマトグラフィ(DCM中1.5%MeOH)で精製して、生成物を得た(130mg、2段階の収率70%)。

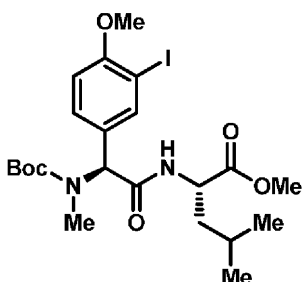
10

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm) 7.26 (d, *J* = 8.5

Hz, 2H), 6.88 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.49 (d, *J* = 8.0 Hz 1H), 5.81 (br s, 1H), 4.68-4.63 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 1.66-1.63 (s, 2H), 1.54-1.46 (m, 10H), 0.93 (t, *J* = 6.0

Hz, 3H) ¹³C NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm) 173.3, 170.1, 159.6, 130.7, 127.2, 114.2, 80.5, 55.4, 52.4, 51.0, 41.5, 31.4, 28.5, 25.0, 22.9, 22.0. MS (ESI) *m/z* 445.2 (M + Na⁺).

【 0 3 4 1 】



4.25

20

MeOH(2mL)中の化合物4.24(129mg、0.31mmol、1eq)の溶液に、AgSO₄(101mg、1.05eq)およびI₂(81mg、1.05eq)を加えた。反応混合物を2.5時間撹拌し、次いで10%チオ硫酸ナトリウムおよび揮発性物質の一部を窒素気流下で飛ばした。EtOAcを加え、水層をEtOAcで3回抽出し、次いで合わせた有機層を食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ロータリーエバポレーションで濃縮した。粗製材料をカラムクロマトグラフィ(DCM中1%MeOH)で精製して、生成物を得た(135mg、収率80%)。

30

¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm) 7.72 (d, *J* = 2.0 Hz,

1H), 7.30 (dd, *J* = 8.5 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.23 (br s, 1H), 5.74

(br s, 1H), 4.65-4.60 (m, 2H), 3.85 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.68 (s, 3H), 1.65-1.63 (m, 2H),

1.53-1.45 (m, 10H), 0.92 (t, *J* = 6 Hz, 6H). ¹³C NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ (ppm) 173.1,

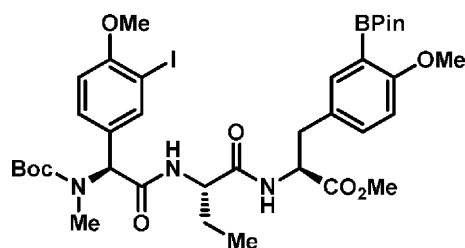
169.5, 158.1, 140.2, 130.5, 129.2, 110.7, 86.0, 80.8, 56.5, 52.4, 41.3, 31.6, 28.4, 24.9,

22.9, 21.9. MS (ESI) *m/z* XX (M + H⁺).

40

【 0 3 4 2 】

一般手順A



4.26

50

THF (1.3mL) 中の化合物4.13 (57mg、0.11mmol、1eq) の溶液に、0.2M LiOH溶液 (1.1mL、2eq) を加えた。溶液を、TLC分析によりすべての出発原料が消費されるまで攪拌し、次いでクエン酸 (pH3) を加えて反応停止し、THFを窒素気流下で飛ばした。水層をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。得られた粗製材料 (55mg) をそれ以上精製せずに用いた。AcCN : DMFの1 : 1混合物 (2.6mL) 中のこの粗製材料 (52mg、0.1mmol、1eq) および化合物XXの溶液に、HOBt (24mg、2.5eq) およびEDC (42mg、2.2eq) を逐次加えた。反応混合物を終夜攪拌し、次いで希NaHCO₃水溶液を加え、水相をEtOAcで3回抽出した。合わせた有機層を5% クエン酸 (pH3)、水および食塩水で洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料はシリカゲル存在下で不安定であるため、略式カラムクロマトグラフィ (DCM中2.5% MeOH) で精製した。精製により半純粋な残渣を得た (65mg、収率77%)。

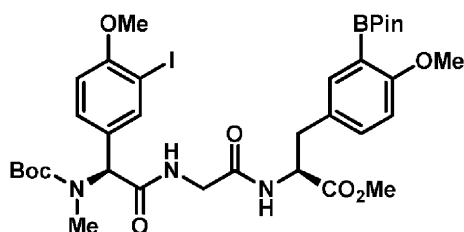
10

¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ (ppm) ¹³C NMR

(CDCl₃, 600 MHz) δ (ppm) 171.8, 171.5, 171.0, 170.9, 170.8, 169.7, 163.7, 163.5, 163.4, 158.2, 158.1, 158.0, 140.4, 140.2, 137.8, 137.6, 133.4, 133.3, 130.7, 130.3, 130.2, 130.0, 129.2, 127.8, 127.0, 114.2, 114.1, 110.9, 110.8, 110.8, 110.6, 110.0, 86.2, 86.1, 83.7, 83.7, 81.1, 80.9, 62.2, 56.5, 56.5, 56.4, 55.9 (2C), 55.7, 55.3, 54.5 (2C), 54.4, 53.8, 53.6 (2C), 53.2, 52.5 (2C), 52.4, 37.0, 36.8, 36.6, 32.1, 28.5, 25.5, 25.0, 24.9 (2C), 10.1, 9.9 (2C), 9.8. MS (ESI) m/z 846.3 (M + Na⁺).

20

【 0 3 4 3 】



4.27

30

化合物4.27を、化合物4.12から出発し、一般手順Aによって合成した (収率66%)。R_f - 0.28 (DCM中4% MeOH)。

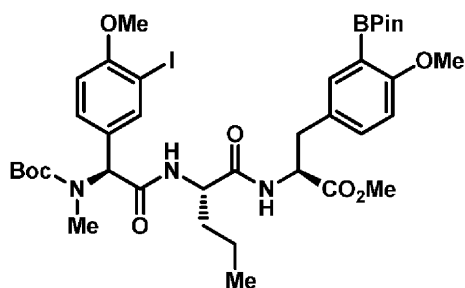
¹H NMR (CDCl₃, 600

MHz) δ (ppm) 7.70-7.68 (m, 1H), 7.45-7.33 (m, 1H), 7.23-7.22 (m, 1H), 7.15-7.10 (m, 1H), 6.75-6.66 (m, 4H), 5.61 (br s, 1H), 4.79-4.73 (m, 1H), 4.03-3.96 (m, 1H) 3.84-3.67 (m, 9H), 3.11-2.95 (m, 2H), 2.70-2.69 (m, 3H), 1.45-1.44 (m, 9H) 1.31-1.30 (m, 10H).

¹³C NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ (ppm) 171.8, 171.8, 171.6, 170.1, 168.4, 163.6, 163.4, 163.3, 158.1, 158.1, 140.3, 140.3, 140.2, 137.7, 137.6, 133.2, 134.8, 130.5, 129.2, 127.0, 110.8, 110.7, 110.6, 86.1, 83.6, 80.9, 62.4, 56.5, 56.4, 56.4, 55.9, 55.8, 55.6, 53.7, 53.5, 52.5, 52.4, 52.4, 43.0, 43.0, 36.7, 36.6, 32.2, 28.4, 27.7, 25.0, 24.9, 24.9, 24.8. MS (ESI) m/z 818.3 (M + H⁺).

40

【 0 3 4 4 】

**4.28**

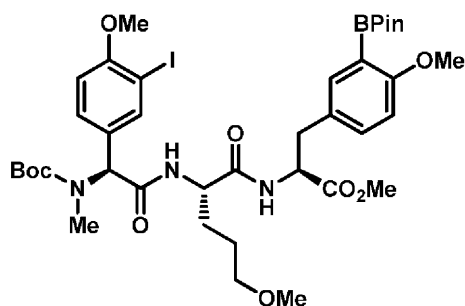
化合物4.28を、化合物4.14から出発し、一般手順Aによって合成した（収率81％）。

10

^1H NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 7.69-7.64 (m, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.29-7.26 (m, 1H), 7.16-7.07 (m, 1H), 6.97-6.81 (m, 2H), 5.68-5.64 (m, 1H), 4.62-4.59 (m, 1H), 4.45-4.43 (m, 1H), 3.87-3.67 (m, 9H), 3.09-3.06 (m, 1H), 2.89-2.93 (m, 1H), 2.66-2.64 (m, 3H), 1.75-1.69 (m, 1H), 1.62-1.27 (m, 24H), 0.95-0.88 (s, 3H). ^{13}C NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 174.0, 173.3, 172.2, 164.8, 164.8, 141.3, 141.2, 138.7, 138.6, 134.8, 134.8, 132.0, 131.6, 131.3, 130.6, 129.3, 114.9, 112.1, 112.0, 111.7, 111.6, 86.5, 86.3, 84.8, 81.9, 57.0, 56.9, 55.9, 55.8, 55.7, 55.6, 54.3, 52.7, 52.6, 37.6, 37.4, 35.2, 32.4, 28.7, 28.7, 25.2, 25.1, 20.0, 19.9, 14.1. MS (ESI) m/z 860.3 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

20

【 0 3 4 5 】

**4.29**

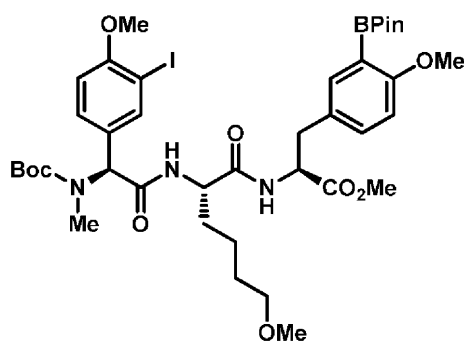
化合物4.29を、化合物4.19を用い、一般手順Aによって合成した（収率72％）。

30

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) 7.70-7.69 (s, 1H), 7.43-7.37 (m, 1H), 7.24-7.07 (m, 2H), 7.00-6.98 (m, 1H), 6.78-6.67 (m, 3H), 5.66-5.62 (m, 1H), 4.76-4.71 (m, 1H), 4.57-4.51 (m, 1H), 3.86-3.68 (m, 9H), 3.44-3.39 (m, 2H), 3.28-3.18 (m, 3H), 3.06-2.95 (m, 2H), 2.75-2.68 (m, 3H), 1.85-1.71 (m, 2H), 1.62-1.41 (m, 11H), 1.37-1.23 (m, 12H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) 171.9, 171.0, 169.3, 163.4, 158.0, 140.2, 137.6, 133.2, 130.3, 129.4, 127.2, 110.8, 110.7, 86.1, 83.6, 80.8, 72.8, 62.2, 58.7, 56.5, 55.9, 53.8, 52.7, 52.3, 36.9, 32.0, 30.5, 28.5, 25.3, 25.0, 24.9. MS (ESI) m/z 890.3 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

40

【 0 3 4 6 】

**4.30**

10

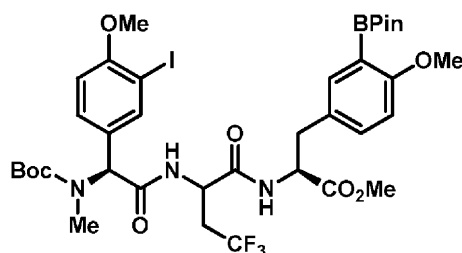
化合物4.30を、化合物4.21を用い、一般手順Aによって合成した（収率65％）。 R_f -0.26（DCM中4％MeOH）。

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 7.74-

7.70 (s, 1H), 7.42-7.33 (m, 1H), 7.22-7.16 (m, 1H), 7.11-7.10 (m, 1H), 6.78-6.69 (m, 2H), 6.63-6.53 (m, 1H), 6.42-6.40 (m, 1H), 5.66-5.61 (m, 1H), 4.77-4.74 (m, 1H), 4.49-4.40 (m, 1H), 3.87-3.69 (m, 9H), 3.34-3.26 (m, 5H), 3.06-2.98 (m, 2H), 2.76-2.68 (m, 3H), 2.05-2.03 (m, 1H), 1.91-1.86 (m, 1H), 1.61-1.24 (m, 25H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 171.8, 171.0, 169.7, 163.4, 158.1, 140.2, 137.6, 133.3, 130.3, 129.2, 127.0, 110.9, 110.6, 86.2, 83.7, 83.6, 80.9, 72.5, 62.2, 58.6, 56.5, 55.9, 53.7, 53.2, 52.3, 36.9, 32.1, 32.0, 29.0, 28.5, 25.0, 24.9, 24.8, 22.2. MS (ESI) m/z 904.3 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

20

【 0 3 4 7 】

**4.31**

30

化合物4.31を、化合物4.22を用い、一般手順Aによって合成した（収率68％）。

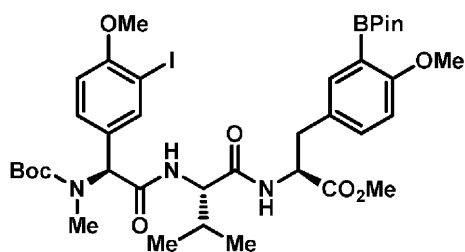
^1H NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 7.69-7.64 (m, 1H), 7.49-7.46 (m,

1H), 7.31-7.06 (m, 2H), 6.95-6.80 (m, 2H), 5.66-5.56 (m, 1H), 4.87-4.83 (m, 1H), 4.66-4.56 (m, 1H), 3.87-3.68 (m, 9H), 3.14-3.08 (m, 1H), 2.99-2.96 (m, 1H), 2.66-2.43 (m, 5H), 1.49-1.47 (m, 9H), 1.33 (s, 11H). ^{13}C NMR (MeOD, 600 MHz) δ (ppm) 173.1 (2C), 173.0, 172.3, 172.1, 171.9, 171.5, 171.3, 171.1, 171.0, 164.9, 164.8, 164.8, 164.7, 159.9, 159.8, 159.7, 141.5, 141.4, 141.3, 141.2, 138.8, 138.7, 138.6, 134.8, 134.8, 132.0, 131.7, 131.7, 130.4, 130.0, 129.3, 129.2, 129.1, 128.3, 126.4, 118.5, 115.0, 112.1 (3C), 111.9, 111.8, 111.7, 111.7, 86.5, 86.4, 86.3, 84.8, 82.0, 63.7, 63.7, 63.2, 57.0, 56.9, 56.0, 55.9, 55.9, 55.9, 52.9, 52.8, 52.8, 52.7, 37.6, 37.5, 28.7, 28.7, 28.6, 25.2, 25.1, 25.1. MS (ESI) m/z 900.3 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

40

【 0 3 4 8 】

50



4.32

化合物4.32を、化合物4.23を用い、一般手順Aによって合成した（収率68％）。

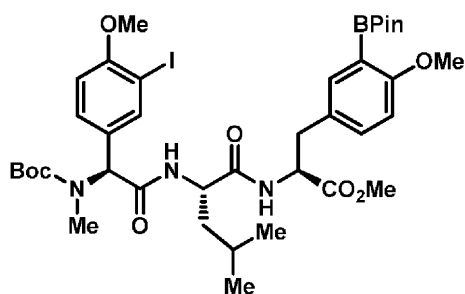
10

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ

(ppm) 171.8, 171.8, 170.6, 170.5, 170.5, 169.9, 169.6, 163.5, 163.4, 158.8, 158.1, 158.0, 156.1, 140.4, 140.0, 137.7, 137.6, 137.5, 133.4, 133.3, 130.7, 130.3, 130.2, 130.1, 129.2, 129.1, 127.1, 118.0, 114.1, 114.1, 110.8, 110.8, 110.8, 110.6, 86.1, 86.0 (2C), 83.6, 83.6, 83.5, 80.9, 62.5, 58.4, 58.3, 58.3, 56.5 (2C), 55.9, 55.9, 53.7, 53.6, 53.5, 52.4, 52.4, 52.4, 52.3, 36.9, 36.9, 36.8, 30.8, 28.4, 24.9(3C), 24.8, 19.3(3C), 19.2, 17.8. MS (ESI) m/z 860.3 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

【 0 3 4 9 】

20



4.33

化合物4.33を、化合物4.25から出発し、一般手順Aによって合成した（収率69％）。 R_f - 0.41（DCM中4% MeOH）。

30

^1H NMR (CDCl_3 , 600

MHz) δ (ppm) 7.68 (s, 1H), 7.33-7.31 (m, 1H), 7.20-7.17 (m, 1H), 7.11-7.06 (m, 1H),

6.77-6.59 (m, 3H), 6.30 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.64-5.56 (m, 1H), 4.76-4.72 (m, 1H),

4.53-4.50 (m, 1H) 3.86-3.68 (m, 9H), 3.06-2.97 (m, 2H), 2.72-2.67 (m, 3H), 1.69-1.60

(m, 2H), 1.46-1.45 (m, 10H) 1.32-1.27 (m, 11H) 0.90-0.85 (m, 3H). ^{13}C NMR (CDCl_3 ,

600 MHz) δ (ppm) 171.8, 171.4, 169.7, 163.3, 158.0, 140.1, 137.6, 133.3, 130.1, 129.1,

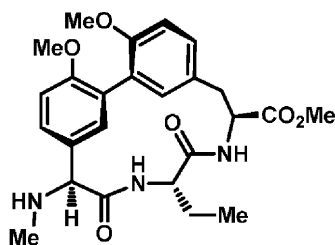
128.6, 127.0, 110.8, 110.5, 86.2, 83.6, 81.0, 80.8, 56.4, 55.8, 53.6, 52.3, 51.7, 40.8, 36.8,

28.4, 25.0, 24.9, 24.8, 24.8, 23.1, 21.8. MS (ESI) m/z 874.3 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

40

【 0 3 5 0 】

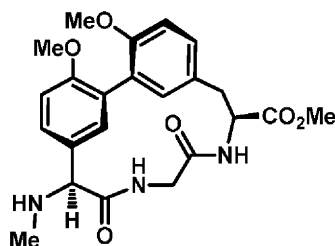
一般手順B



4.34

DMF (1.75mL) 中の化合物4.26 (50mg、61 μ mol、1eq) およびNaHCO₃ (49mg、10eq) の溶液を、真空およびArのサイクルにより数回パージし、圧着セブタムで密封した。この溶液に、Arで約15分間スパージしたDMF(1.2mL) 中のPdCl₂(dppf) (9.9mg、0.2eq) の溶液をシリンジにより加えた。得られた混合物をさらに数回の真空およびArのサイクルにかけ、次いで80℃まで加熱した。混合物を室温まで冷却し、水を加えた。水相をEtOAcで3回抽出し、次いで水および食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料を略式カラムクロマトグラフィ (DCM中4% MeOH) にかけて、Pd種のほとんどを除去し、次いでそれ以上精製せずに用いた。得られた半純粋な材料 (16mg) をDCM (1.5mL) に溶解し、TFA (0.3mL) で処理した。反応をTLCによりモニターし、出発原料がもはや存在しなくなれば、揮発性物質を窒素気流下で飛ばした。DCMを加え、窒素気流下で飛ばすことをさらに2回行い、粗製残渣をEtOAcに溶解した。有機層を飽和NaHCO₃で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料をピペットカラムクロマトグラフィ (DCM中7.5% MeOH) で精製して、生成物を得た (7.5mg、収率26%)。MS (ESI) m/z 470.2 (M + H⁺)。 10

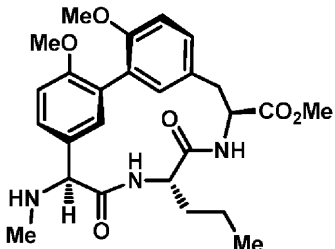
【 0 3 5 1 】



4.35

化合物4.35を、化合物4.27から出発し、一般手順Bによって合成した (収率22%)。MS (ESI) m/z 442.2 (M + H⁺)。 30

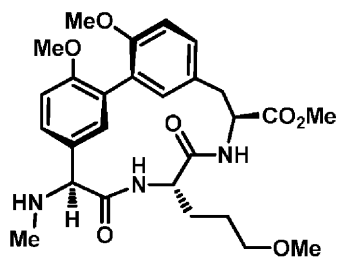
【 0 3 5 2 】



4.36

化合物4.36を、化合物4.28から出発し、一般手順Bによって合成した (収率29%)。MS (ESI) m/z 484.2 (M + H⁺)。 40

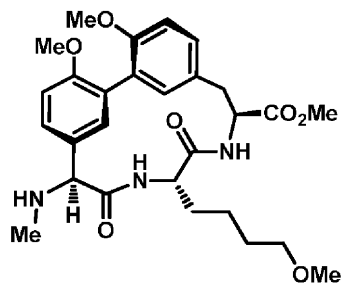
【 0 3 5 3 】



4.37

化合物4.37を、化合物4.29から出発し、一般手順Bによって合成した（収率44％）。
【 0 3 5 4 】

10

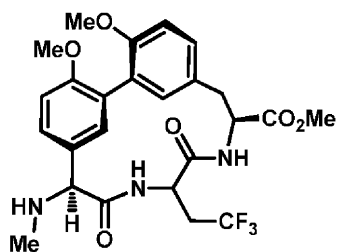


4.38

20

化合物4.38を、化合物4.30から出発し、一般手順Bによって合成した（収率32％）。MS
(ESI) m/z 528.3 ($M + H^+$)。

【 0 3 5 5 】

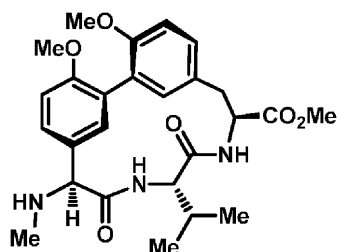


4.39

30

化合物4.39を、化合物4.31から出発し、一般手順Bによって合成した（収率26％）。MS
(ESI) m/z 524.2 ($M + H^+$)。

【 0 3 5 6 】

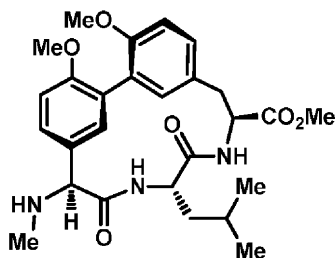


4.40

40

化合物4.40を、化合物4.32から出発し、一般手順Bによって合成した（収率32％）。MS
(ESI) m/z 484.2 ($M + H^+$)。

【 0 3 5 7 】

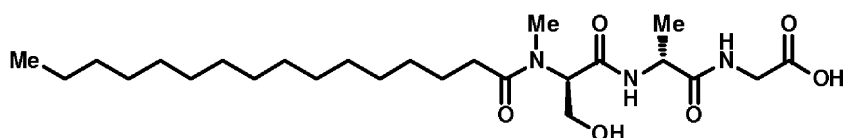


4.41

化合物4.41を、化合物4.33から出発し、一般手順Bによって合成した（収率39％）。MS (ESI) m/z 498.2 ($M + H^+$)。

10

【0358】



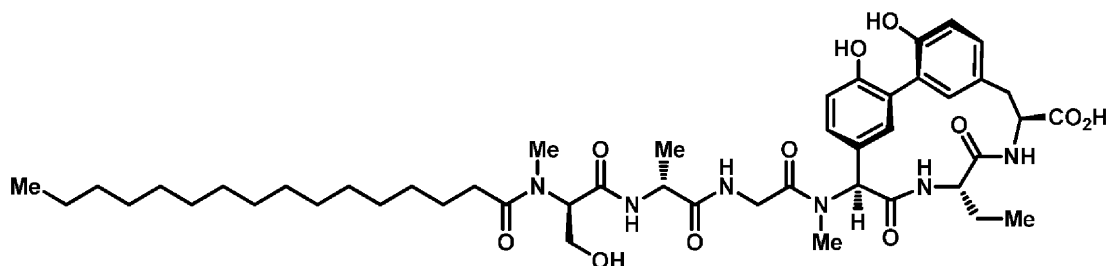
4.42

化合物4.42を、標準のFmoc/ピペリジン固相ペプチド合成によって合成した。Fmoc-Gly-OHを塩化クロトリチル樹脂にDIEAと共にロードし、次いで成分アミノ酸、Fmoc-d-Ala-OHおよびFmoc-N-Me-d-Ser-OHを樹脂に、DMF中のHCTU/HOBT/DIEAを用いてカップリングし、続いてDMFおよび酸を完全に溶解するのに十分なDCM中のHCTU/HOBT/DIEAによるバルミチン酸カップリングを行った。樹脂からの切断は、DCM中の1%TFAにより、Novabiochemカタログに詳細に記載されているプロトコルを用いて行った。生成物をHPLC（直線勾配、1分あたり0.66%B、生成物は97%Bで溶離）により精製した。

20

【0359】

一般手順C



4.2

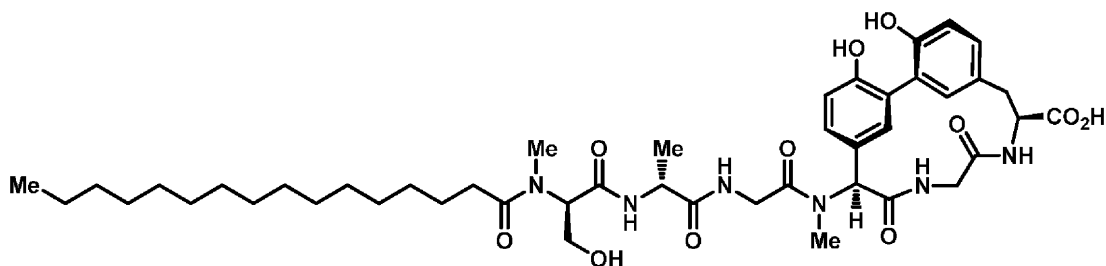
30

0 で、THF（0.5mL）中の化合物4.34（7.0mg、14.9 μmol ）および化合物4.42（12.8mg、1.5eq）の溶液に、DEPBT（7.0mg、1.6eq）および NaHCO_3 （1.3mg、1eq）を加えた。次いで、反応混合物を室温まで加温し、終夜撹拌した。THFを窒素気流下で飛ばし、反応混合物を減圧下で乾燥した。粗製反応混合物をEtOAcに溶解し、飽和 NaHCO_3 で2回と、次いで食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗生成物をピペットカラムクロマトグラフィ（DCM中3%MeOH、次いでDCM中4.5%MeOH）で精製して、中間生成物を得た。中間生成物（6.6mg、6.4 μmol 、1eq）をエタニオール（300 μL ）に溶解し、 CH_2Br_2 中1.0M AlBr_3 （128 μL 、20eq）で処理し、50 で5時間加熱した。反応混合物を室温まで冷却し、MeOHを加えて反応停止し、揮発性物質を窒素気流下で飛ばした。粗生成物をMeOHに溶解し、さらに2回乾燥して、残留しているエタニオールを除去し、次いでこれをMeOHに溶解し、遠心沈降し、HPLC（直線勾配、1分あたり0.67%B、生成物は82%Bで溶離）で精製して、最終生成物を得た（1.8mg、収率13％）。ESI HRMS $\text{C}_{47}\text{H}_{70}\text{N}_6\text{O}_{11}$ [$(M+H)^+$]の計算値895.5175、実測値895.5165。

40

50

【 0 3 6 0 】

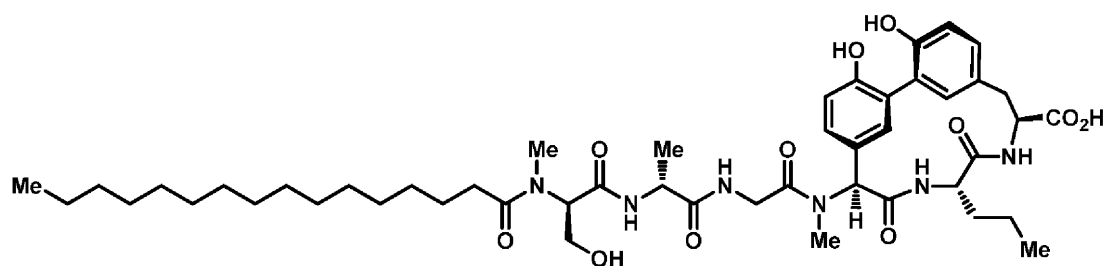


4.1

10

化合物4.1を、化合物4.35から出発し、一般手順Cによって合成した（収率31％）。ESI HRMS $C_{45}H_{66}N_6O_{11}$ [(M+H)⁺]の計算値867.4862、実測値867.4860。

【 0 3 6 1 】

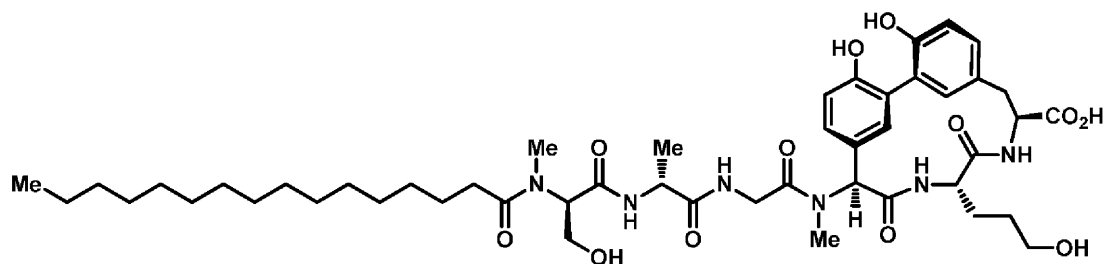


4.3

20

化合物4.3を、化合物4.36から出発し、一般手順Cによって合成した（収率27％）。ESI HRMS $C_{48}H_{72}N_6O_{11}$ [(M+H)⁺]の計算値909.5332、実測値909.5336。

【 0 3 6 2 】

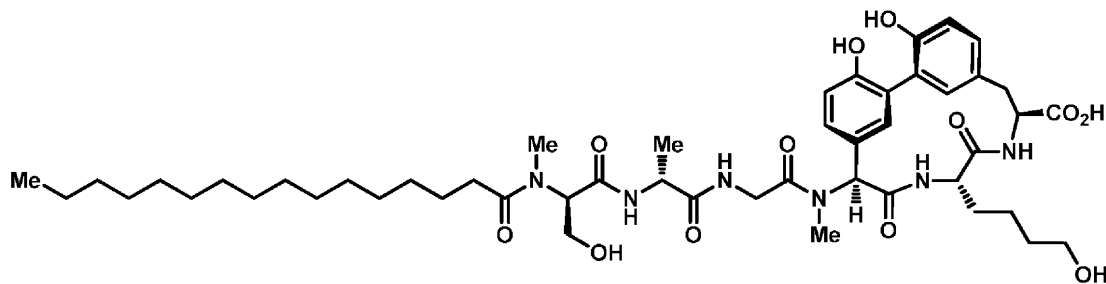


4.6

30

化合物4.6を、化合物4.37から出発し、一般手順Cによって合成した（収率31％）。ESI HRMS $C_{48}H_{72}N_6O_{12}$ [(M+H)⁺]の計算値925.5281、実測値925.5275。

【 0 3 6 3 】



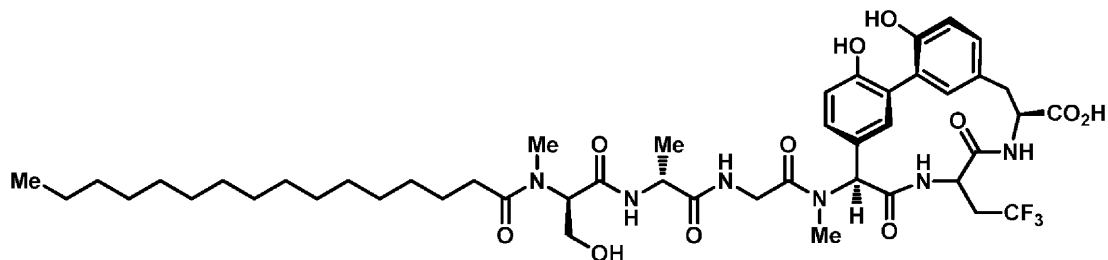
4.7

40

50

化合物4.7を、化合物4.38から出発し、一般手順Cによって合成した（収率35％）。ESI
HRMS $C_{49}H_{74}N_6O_{12}$ $[(M+H)^+]$ の計算値939.5437、実測値939.5459。

【 0 3 6 4 】

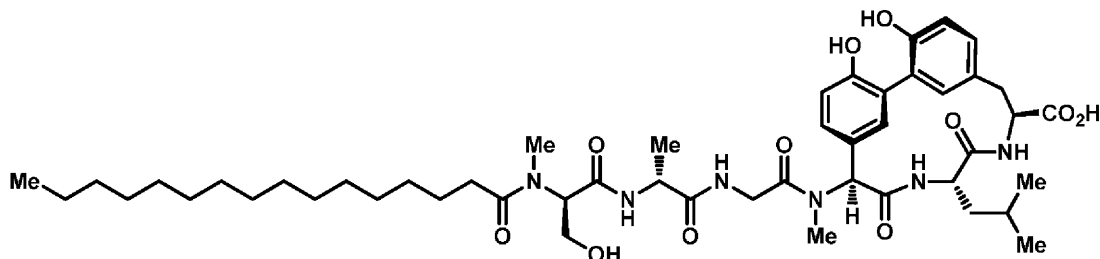


10

4.8

化合物4.8を、化合物4.39から出発し、一般手順Cによって合成した（収率24％）。ESI
HRMS $C_{47}H_{67}N_6O_{11}$ $[(M+H)^+]$ の計算値949.4892、実測値949.4886。

【 0 3 6 5 】

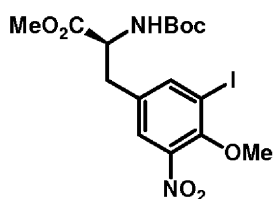


20

4.10

化合物4.10を、化合物4.40から出発し、一般手順Cによって合成した（収率36％）。ESI
HRMS $C_{49}H_{74}N_6O_{11}$ $[(M+Na)^+]$ の計算値945.5307、実測値945.5306。

【 0 3 6 6 】



30

5.4

3-ニトロ-チロシン（1g、4.4mmol、1eq）の溶液をアセトン：H₂O（1：1、10mL）に溶解し、NaHCO₃（554mg、1.5eq）およびBoc₂O（946μL、1eq）で処理し、終夜撹拌した。反応混合物を5%クエン酸（pH3）で酸性化し、EtOAcで3回抽出し、次いで合わせた有機画分を食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗生成物（1.37g、4.2mmol、1eq）をDCM：MeOHの5：2混合物（56mL）に溶解し、BTMA-ICl₂（1.6g、1.1eq）およびNaHCO₃（2.47g、7eq）で処理し、終夜撹拌した。次いで、固体NaHCO₃をろ過し、ろ液を濃縮し、5%クエン酸（pH3）で酸性化した。水層をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料（1.89g、4.19mmol、1eq）をアセトンに溶解し、K₂CO₃（2.9g、5eq）およびMeI（1.3mL、5eq）で処理し、2日間加熱還流した。次いで、反応混合物を室温まで冷却し、少量の水で反応停止し、揮発性物質を蒸発させた。5%クエン酸（pH3）およびEtOAcを加え、次いで分離し、水層をEtOAcで2回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料をカラムクロマトグラフィ（DCM中0～0.5%MeOH）で精製して、化合物5.4を得た（1.67g、3段階の収率82％）。

40

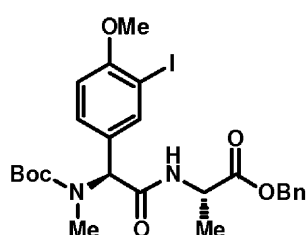
50

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 7.80 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 5.12 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 4.54-4.53 (m, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.18 (dd, $J = 5.0$ Hz, $J = 14.0$ Hz, 1H) 2.98 (dd, $J = 6.5$ Hz, $J = 14.0$ Hz, 1H) 1.41 (s, 9H) ^{13}C NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ (ppm) 171.5, 155.0, 152.1, 144.9, 143.8, 135.1, 126.4, 94.3, 80.5, 62.8, 54.2, 52.8, 37.0, 28.4. MS (ESI) m/z 503.0 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

次いで、化合物5.4 (127mg、0.27mmol、1eq) をDCM (2.5mL) に溶解し、TFA (0.5mL) で処理した。TLC分析により出発原料の完全な消費が示されれば、揮発性物質を飛ばし、残渣を減圧下で乾燥した。次いで、残渣をEtOAcおよび飽和 NaHCO_3 に溶解し、水層をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。得られた化合物5.6 (101mg) をそれ以上精製せずに用いた。

10

【 0 3 6 7 】



5.8

20

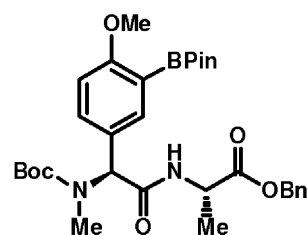
DMF (7.4mL) 中の化合物5.7 (300mg、0.74mmol、1eq) の溶液に、H-Ala-OBn HCl (160mg、1eq)、EDC (170mg、1.2eq)、HOBt (100mg、1eq) および NaHCO_3 (71mg、1.15eq) を逐次加え、反応混合物を終夜撹拌した。希 NaHCO_3 を加え、水相をEtOAcで3回抽出した。合わせた有機層を5%クエン酸 (pH3)、水および食塩水で洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料 (353mg、0.62mmol、1eq) をアセトン (6.2mL) に溶解し、この溶液に K_2CO_3 (428mg、5eq) およびMeI (386 μL 、10eq) を加えた。混合物を密封バイアル中で終夜還流温度で撹拌し、次いで溶媒を蒸発させ、水を加え、水相をEtOAcで3回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料をカラムクロマトグラフィ (DCM中0.75% MeOH) で精製して、生成物を得た (189mg、2段階の収率44%)。

30

^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 7.80 (s, 1H), 7.37-7.29 (m, 6H), 6.74 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.30 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.74 (br s, 1H), 5.22-5.15 (m, 2H), 4.70-4.66 (m, 1H) 3.87 (s, 3H) 2.70 (s, 3H) 1.48 (s, 9H), 1.44 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ (ppm) 172.6, 169.3, 158.2, 140.4, 135.4, 130.6, 129.3, 128.8, 128.6, 128.4, 114.2, 110.7, 86.2, 80.9, 67.4, 56.6, 55.4, 53.6, 48.5, 31.7, 28.5, 18.3. MS (ESI) m/z 605.1 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

40

【 0 3 6 8 】



5.9

Ar 下、DMSO (7mL) 中の化合物5.8 (185mg、0.36mmol、1eq) の溶液に、ビスピナコラト

50

ジボロン (95mg、1.05eq)、酢酸カリウム (353mg、10eq) および $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (15mg、0.05eq) を逐次加えた。混合物を80℃で2.5時間攪拌し、次いで室温まで冷却し、水で希釈し、EtOAcで3回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料を略式 (化合物のシリカへの曝露時間を最小限にするため) カラムクロマトグラフィ (ヘキサン中35% EtOAc) で精製して、化合物5.9をボロン酸およびエステルの混合物で得た (118mg、収率64%)。NMRスペクトルは、シグナルがオーバーラップする二つのセットを示し、それは3:1の割合であった。

^1H NMR (CDCl_3 ,

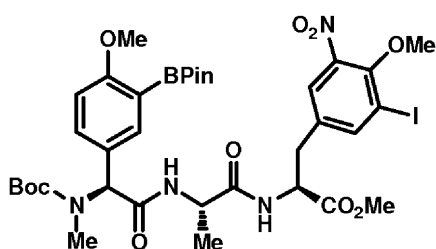
600 MHz) δ (ppm) 7.61-7.59 (m, 1H), 7.37-7.31 (m, 5H), 6.81-6.76 (m, 1H), 6.31-6.18

10

(m, 1H), 5.74 (br, s), 5.20-5.12 (m, 2H), 4.73-4.66 (m, 1H), 3.83-3.80 (m, 3H), 2.68-2.67

(m, 3H) 1.47-1.40 (m, 12H), 1.34-1.33 (m, 9H). MS (ESI) m/z 605.3 ($\text{M} + \text{Na}^+$).

【 0 3 6 9 】



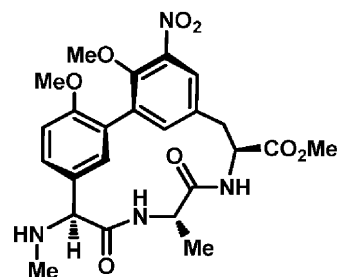
5.11

20

化合物5.9 (118mg、0.19mmol、1eq) を95% EtOH (2mL) に溶解し、10% Pd/C (38mg、重量で1/3) を加え、混合物を H_2 雰囲気下に置いた。反応を、TLC分析により出発原料の完全な消費が示されるまで進行させた。次いで、混合物をセライトを通してろ過し、化合物5.11を得た。AcCN : DMF (2.2 : 1、2mL) 中のこの粗製材料 (94mg、0.19mmol、1eq) および化合物5.6 (101mg、0.27mmol、1.4eq) の溶液に、HOBt (64mg、2.5eq) およびEDC (80mg、2.2eq) を逐次加え、反応混合物を終夜攪拌した。次いで、希 NaHCO_3 水溶液を反応混合物に加え、水相をEtOAcで3回抽出した。合わせた有機層を5%クエン酸、水および食塩水で洗浄し、次いで硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料を略式カラムクロマトグラフィ (DCM中3% MeOH) で精製して、半純粋な生成物を得た (130mg、80%)。MS (ESI) m/z 877.2 ($\text{M} + \text{Na}^+$)。

30

【 0 3 7 0 】



5.12

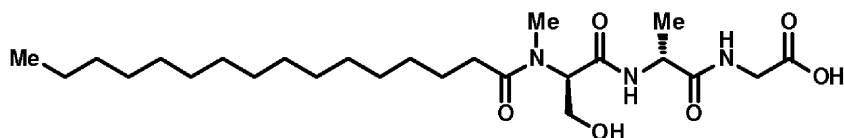
40

DMF (4.2mL) 中の化合物5.11 (118mg、0.14mol、1eq) および NaHCO_3 (118mg、10eq) の溶液を、真空およびArのサイクルにより数回パージし、圧着セプタムで密封した。この溶液に、Arで約15分間パージしたDMF (2.8mL) 中の $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (23.0mg、0.2eq) の溶液をシリンジにより加えた。得られた混合物をさらに数回の真空およびArのサイクルにかけ、次いで80℃まで加熱した。混合物を室温まで冷却し、水を加えた。水相をEtOAcで3回抽出し、次いで水および食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料を略式カラムクロマトグラフィ (DCM中4% MeOH) にかけて、Pd種のほとんどを除去し、次いでそれ以上精製せずに用いた。得られた半純粋な材料 (83mg) をDCM (4.0mL) に溶解し、

50

TFA (0.8mL) で処理した。反応をTLCによりモニターし、出発原料がもはや存在しなくなれば、揮発性物質を窒素気流下で飛ばした。DCMを加え、窒素気流下で飛ばすことをさらに2回行い、粗製残渣をEtOAcに溶解した。有機層を飽和NaHCO₃で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗製材料をピペットカラムクロマトグラフィ (DCM中9% MeOH) で精製して、生成物を得た (29.7mg、収率42%)。MS (ESI) m/z 501.1 (M + H⁺)。

【0371】



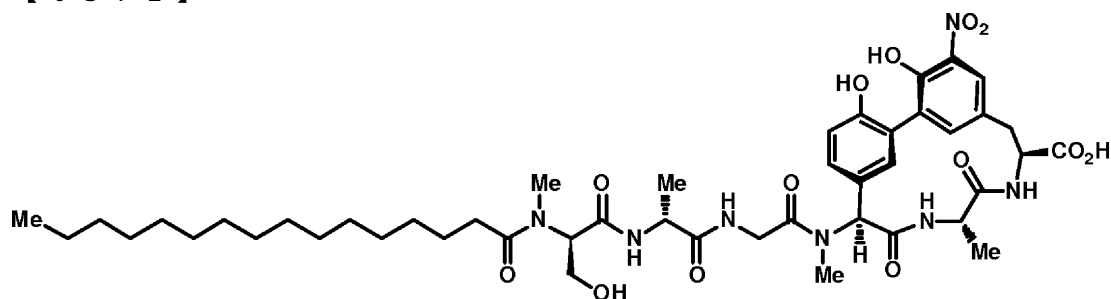
5.12

10

化合物5.12を、標準のFmoc/ピペリジン固相ペプチド合成によって合成した。Fmoc-Gly-OHを塩化クロトリチル樹脂にDIEAと共にロードし、次いで成分アミノ酸、Fmoc-d-Ala-OHおよびFmoc-N-Me-d-Ser-OHを樹脂に、DMF中のHCTU/HOBT/DIEAを用いてカップリングし、続いてDMFおよび酸を完全に溶解するのに十分なDCM中のHCTU/HOBT/DIEAによるパルミチン酸カップリングを行った。樹脂からの切断は、DCM中の1% TFAにより、Novabiochemカタログに詳細に記載されているプロトコルを用いて行った。生成物をHPLC (直線勾配、1分あたり0.66%B、生成物は97%Bで溶離) により精製した。

【0372】

20



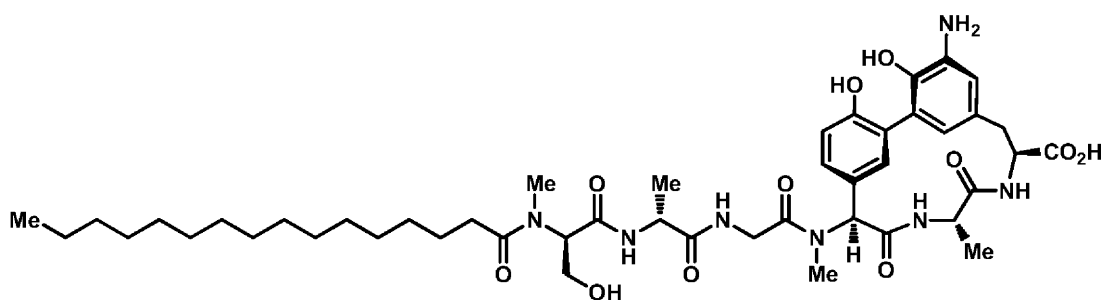
アリロマイシン B-C₁₆

0 で、THF (0.5mL) 中の化合物5.12 (29.2mg、58.4 μmol) および化合物5.12 (50mg、1.5eq) の溶液に、DEPBT (28.0mg、1.6eq) およびNaHCO₃ (5.0mg、1eq) を加えた。次いで、反応混合物を室温まで加温し、終夜撹拌した。次いで、THFを窒素気流下で飛ばし、反応混合物を減圧下で乾燥した。粗製反応混合物をEtOAcに溶解し、飽和NaHCO₃で2回と、次いで食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィ (DCM中3% MeOH、次いでDCM中4.5% MeOH) で精製して、保護アリロマイシンを得た。保護アリロマイシン (10.0mg、9.4 μmol、1eq) をCHCl₃ (2mL) に溶解し、エタントール (180 μL、250eq) およびCH₂Br₂中1.0M AlBr₃ (189 μL、20eq) で処理し、開放したバイアル中で6時間撹拌した。MeOHを加えて反応停止し、揮発性物質を窒素気流下で飛ばした。粗生成物をMeOHに溶解し、さらに2回乾燥して、残留しているエタントールを除去し、次いでこれをMeOHに溶解し、遠心沈降し、HPLC (直線勾配、1分あたり1.0%B、生成物は82%Bで溶離) で精製して、生成物を得た (5.8mg、収率67%)。ESI HRMS C₄₇H₇₀N₆O₁₁ [(M+H)⁺] の計算値926.4869、実測値926.4873。

【0373】

30

40



5.1

10

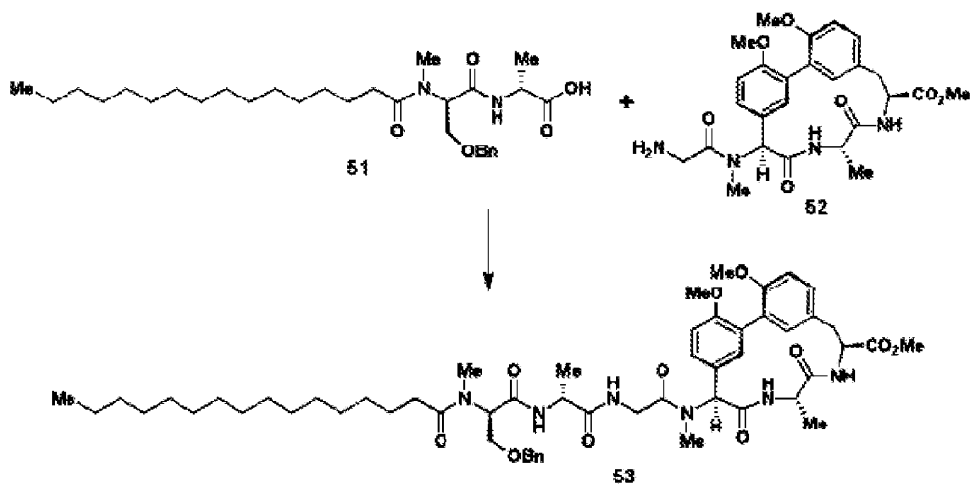
保護アリロマイシン（6.3mg、6.0 μmol 、1eq）をエタンチオール（300 μL ）および CH_2Br_2 中1.0M AlBr_3 （120 μL 、20eq）に溶解し、バイアル中、 Ar 雰囲気下で5時間撹拌した。MeOHを加えて反応停止し、揮発性物質を窒素気流下で飛ばした。粗生成物をMeOHに溶解し、さらに2回乾燥して、残留しているエタンチオールを除去し、次いでこれをMeOHに溶解し、遠心沈降し、HPLC（直線勾配、1分あたり1.0%B、生成物は75%Bで溶離）で精製して、生成物を得た（1.0mg、収率19%）。ESI HRMS $\text{C}_{47}\text{H}_{70}\text{N}_6\text{O}_{11}$ $[(\text{M}+\text{H})^+]$ の計算値896.5128、実測値896.5123。

【0374】

一般手順D：大環状分子と末端とのカップリング、例 - アリロマイシンC16

化合物52（80mg、0.16mmol）をAcCN（7.2mL）およびDMF（3.2mL）に溶解し、HOBT（64mg、3eq）、化合物51（81.3mg、1eq）およびEDC（90.3mg、3eq）で逐次処理した。反応混合物を終夜撹拌し、その後、水、飽和 NaHCO_3 、およびEtOAcを加え、水相をEtOAcで3回抽出し、合わせた有機層を5%クエン酸（pH3）および食塩水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィ（DCM中5.5% MeOH）で精製して、生成物53を得た（72.4mg、収率45%）。

20

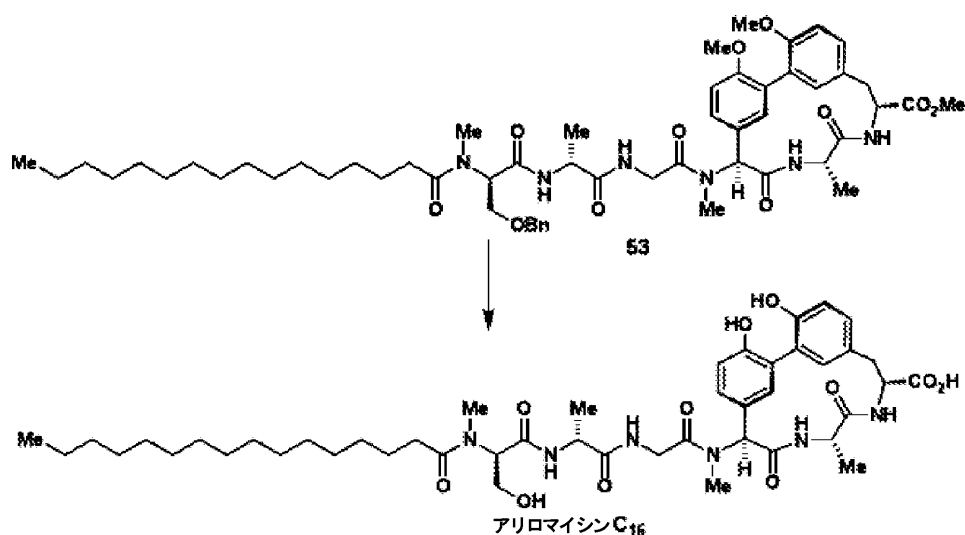


30

【0375】

一般手順E：一括脱保護、例 - アリロマイシンC16

40



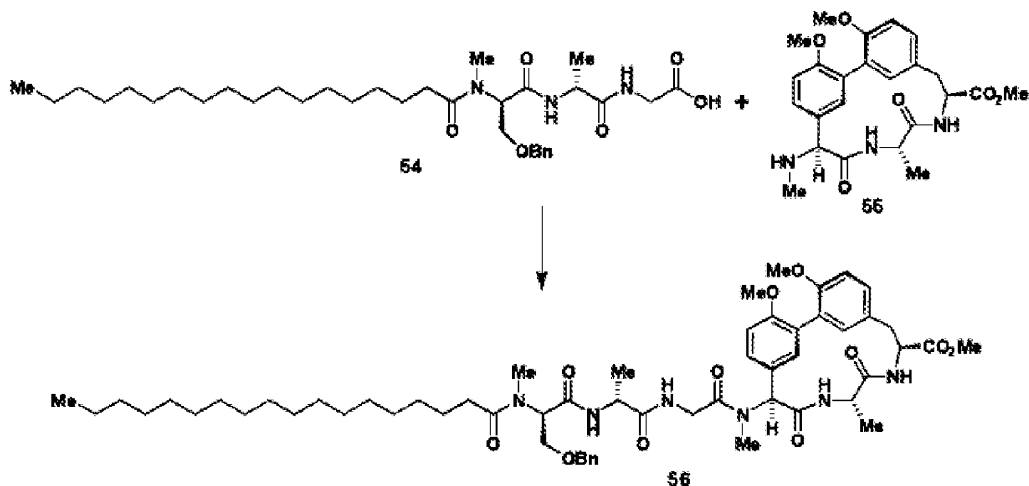
10

化合物53 (72.4mg、72 μ mol、1eq) をエタノール (2mL) にAr下で溶解し、CH₂Br₂ 中1.0M AlBr₃ (1.79mL、25eq) で処理した。反応バイアルを密封し、50 に加熱し、4時間攪拌した。反応混合物を室温まで冷却し、MeOHを加え (0.5mL)、揮発性物質を窒素気流下で飛ばした。MeOHを再度加え、窒素気流下で飛ばし、粗生成物を減圧下で乾燥した。次いで、粗生成物をMeOHに溶解し、HPLC (直線勾配、0.67% B/分、生成物は80% Bで溶離) で精製して、アリロマイシンC16を得た (32.6mg、収率51%)。ESI HRMS C₄₆H₆₉N₆O₁₁ [(M+H)⁺] の計算値: 881.5019、実測値: 881.5021。

20

【0376】

一般手順F: 大環状分子と末端とのカップリング例 - 化合物56:



30

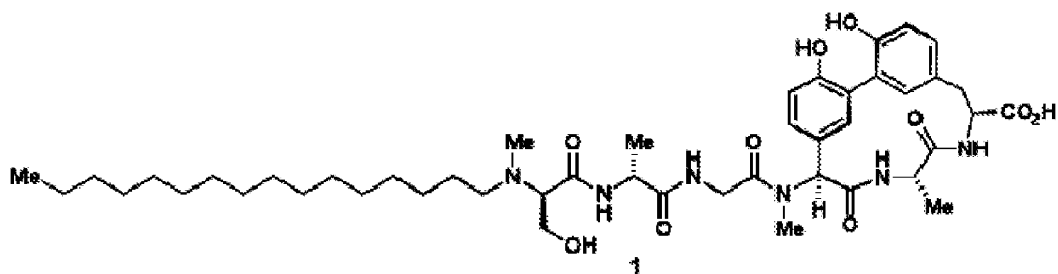
この手順は以前に報告された条件に基づいている9。化合物53 (23.5mg、52 μ mol、1eq) および化合物54 (70mg、2.2eq) をAr雰囲気下でTHF (2mL) に溶解し、TEA (7 μ L、1eq) およびDEPBT (39mg、2.5eq) で処理した。反応混合物を終夜攪拌し、次いで揮発性物質を窒素気流下で飛ばし、残渣を減圧下で乾燥し、EtOAcおよび飽和NaHCO₃を加えた。水層を抽出し、次いで有機層を0.1N HClで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。

40

【0377】

化合物1を一般手順DおよびEを用いて合成した。

ESI HRMS C₄₆H₇₀N₆O₁₀ [(M+H)⁺] の計算値: 867.5226、実測値: 867.5207。

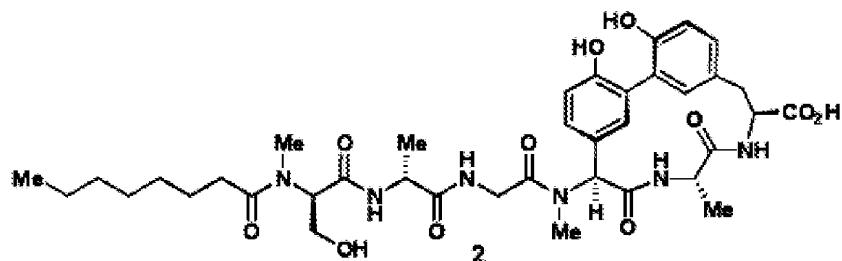


【 0 3 7 8 】

化合物2を一般手順DおよびEを用いて合成した。

10

ESI HRMS C₃₈H₅₃N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：769.3767、実測値：769.3770。

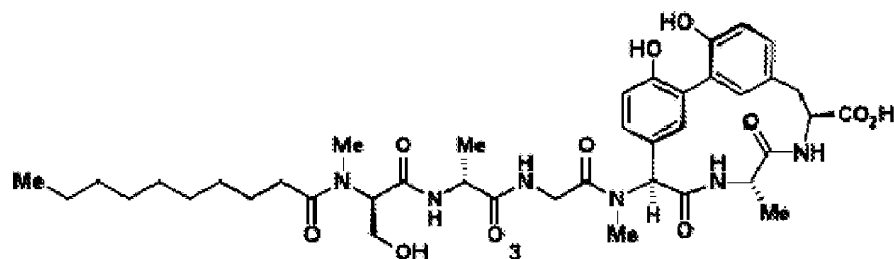


【 0 3 7 9 】

化合物3を一般手順DおよびEを用いて合成した。

20

ESI HRMS C₄₀H₅₇N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：797.408、実測値：797.4070。

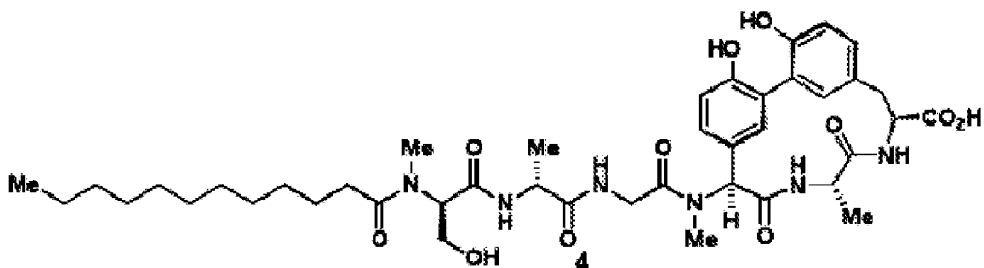


30

【 0 3 8 0 】

化合物4を一般手順DおよびEを用いて合成した。

ESI HRMS C₄₂H₆₁N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：825.4393、実測値：825.4386。

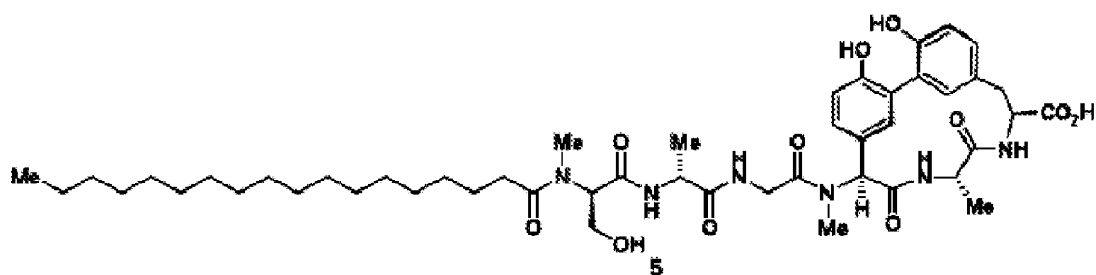


40

【 0 3 8 1 】

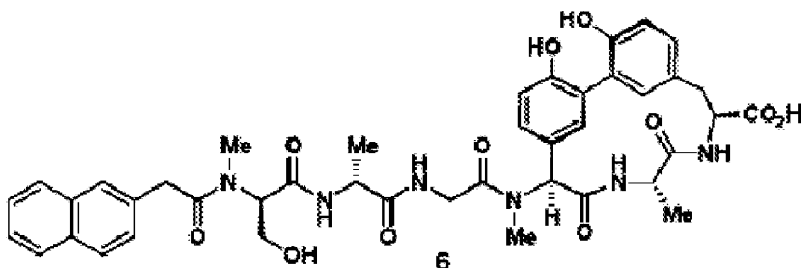
化合物5を前述のとおり合成し、次いで一般手順Fにかけて、生成物を得た（20.6mg、収率58%）。

ESI HRMS C₄₈H₇₂N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：909.5332、実測値：909.5328。



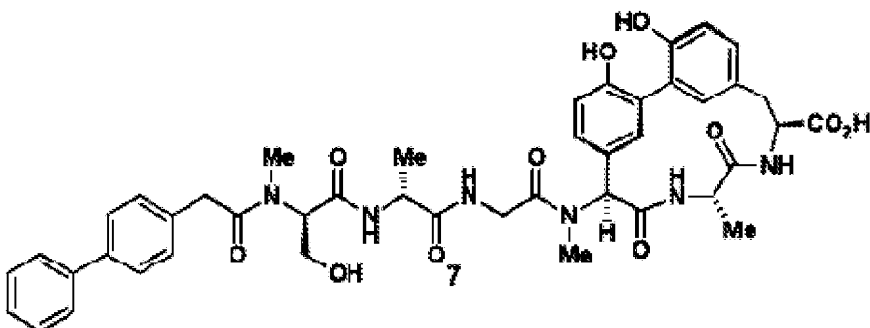
【 0 3 8 2 】

化合物6を一般手順DおよびEを用いて合成した。ESI HRMS C₄₃H₅₄N₆O₁₁ [(M+H)+]の計算値 10
 : 811.3297、実測値 : 811.3300。



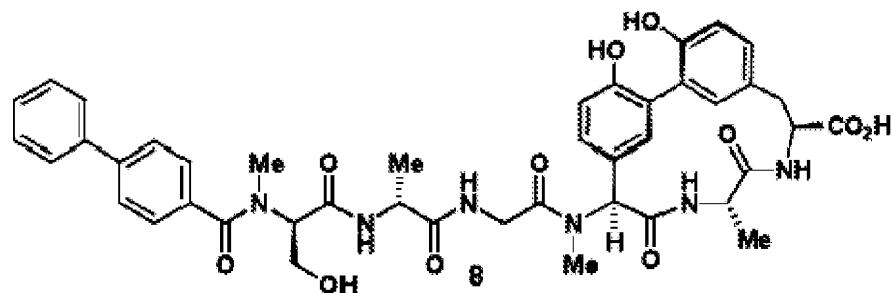
【 0 3 8 3 】

化合物7を一般手順DおよびEを用いて合成した。ESI HRMS C₄₄H₄₈N₆O₁₁ [(M+H)+]の計算 20
 値 : 837.3454、実測値 : 837.3443。



【 0 3 8 4 】

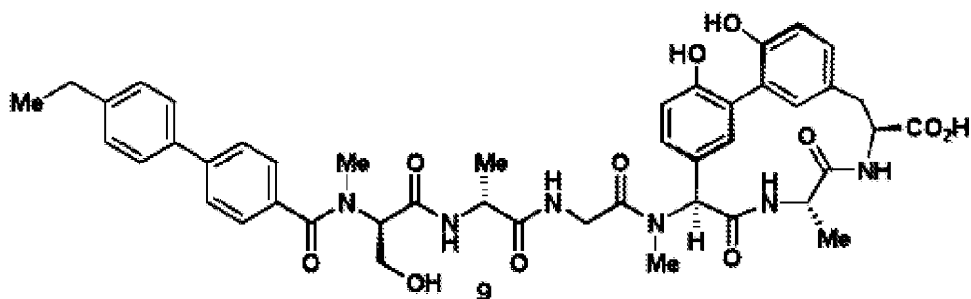
化合物8を一般手順DおよびEを用いて合成した。
 ESI HRMS C₄₃H₄₆N₆O₁₁ [(M+H)+]の計算値 : 823.3297、実測値 : 823.3296。



【 0 3 8 5 】

化合物9を一般手順DおよびEを用いて合成した。
 ESI HRMS C₄₅H₅₀N₆O₁₁ [(M+H)+]の計算値 : 851.361、実測値 : 851.359。



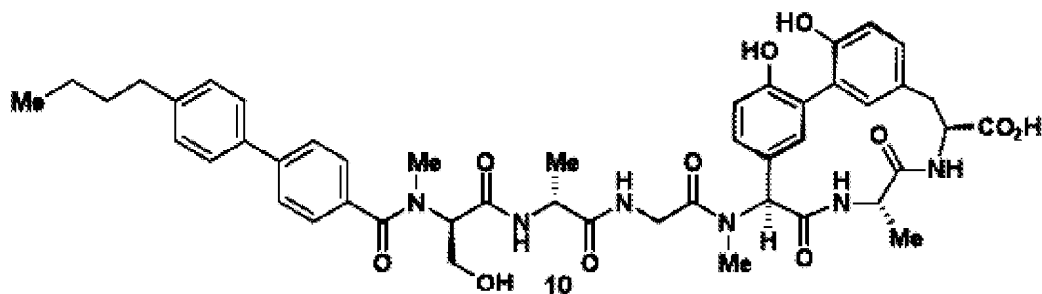


【 0 3 8 6 】

化合物10を一般手順DおよびEを用いて合成した。

10

ESI HRMS C₄₇H₅₄N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：879.3923、実測値：879.3924。

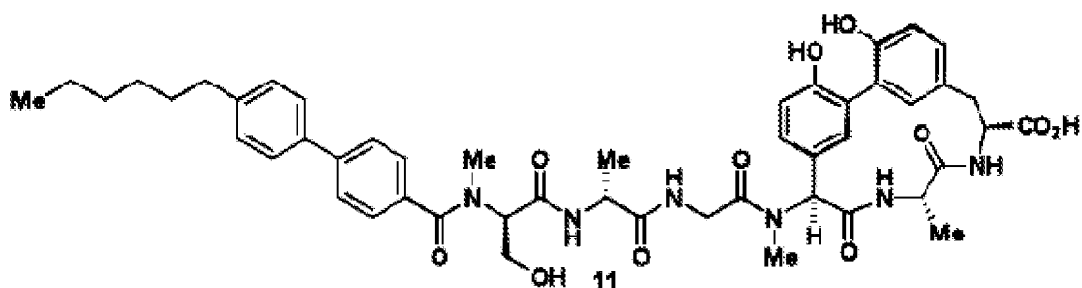


【 0 3 8 7 】

化合物11を一般手順DおよびEを用いて合成した。

20

ESI HRMS C₄₉H₅₈N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：907.4236、実測値：907.4246。

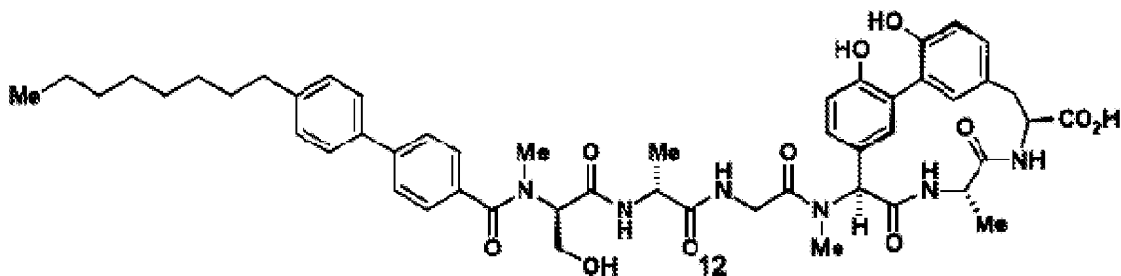


30

【 0 3 8 8 】

化合物12を一般手順DおよびEを用いて合成した。

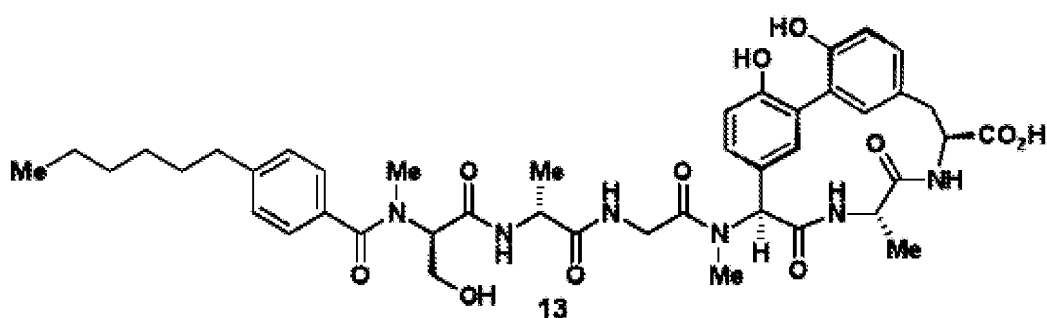
ESI HRMS C₅₁H₆₂N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：935.4549、実測値：935.4548。



40

【 0 3 8 9 】

化合物13を一般手順DおよびEを用いて合成した。ESI HRMS C₄₃H₅₄N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：831.3923、実測値：831.3917。

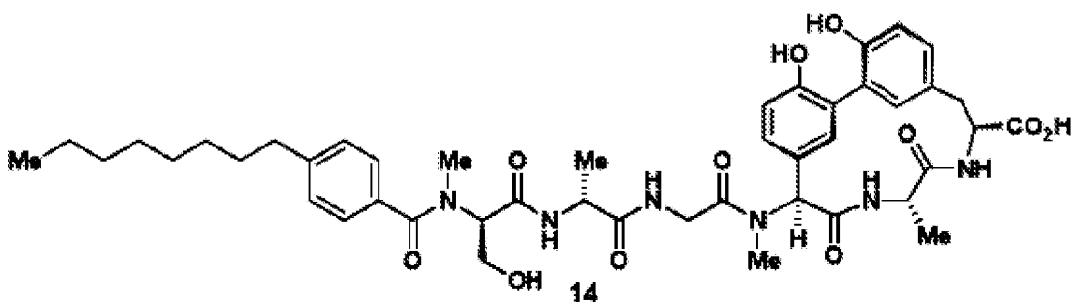


【 0 3 9 0 】

10

化合物14を一般手順DおよびEを用いて合成した。

ESI HRMS C45H58N6O11 [(M+H)+]の計算値：859.4236、実測値：859.4231。

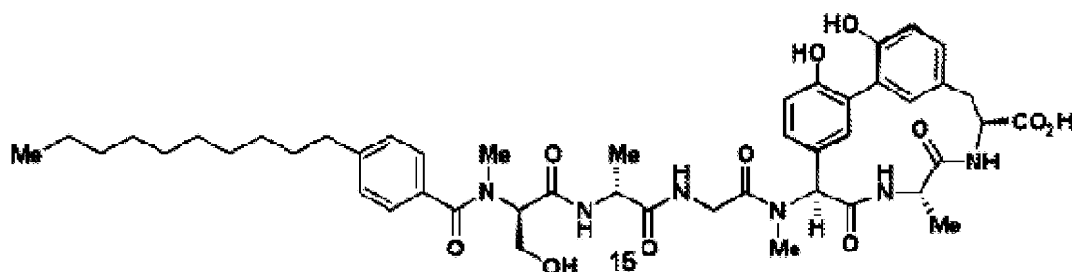


20

【 0 3 9 1 】

化合物15を一般手順DおよびEを用いて合成した。

ESI HRMS C47H62N6O11 [(M+H)+]の計算値：887.4549、実測値：887.4539。

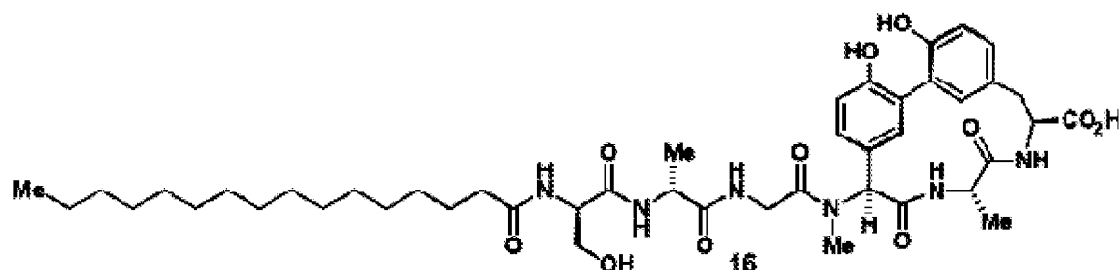


30

【 0 3 9 2 】

化合物16を一般手順DおよびEを用いて合成した。

ESI HRMS C45H66N6O11 [(M+H)+]の計算値：867.4862、実測値：867.4873。

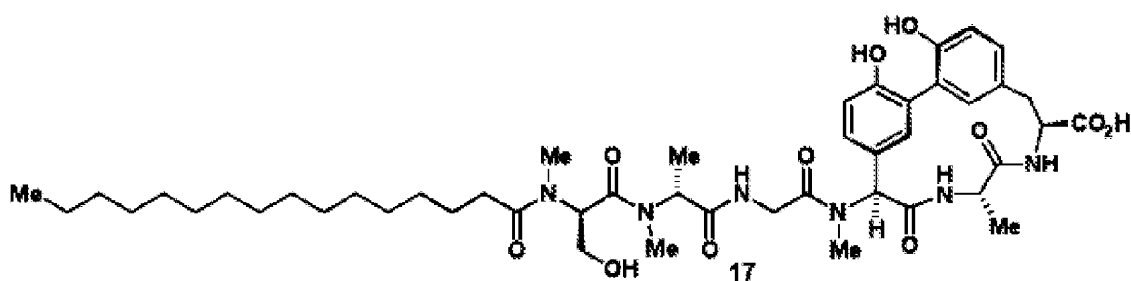


40

【 0 3 9 3 】

化合物17を一般手順DおよびEを用いて合成した。

ESI HRMS C47H70N6O10 [(M+H)+]の計算値：895.5175、実測値：895.5190。

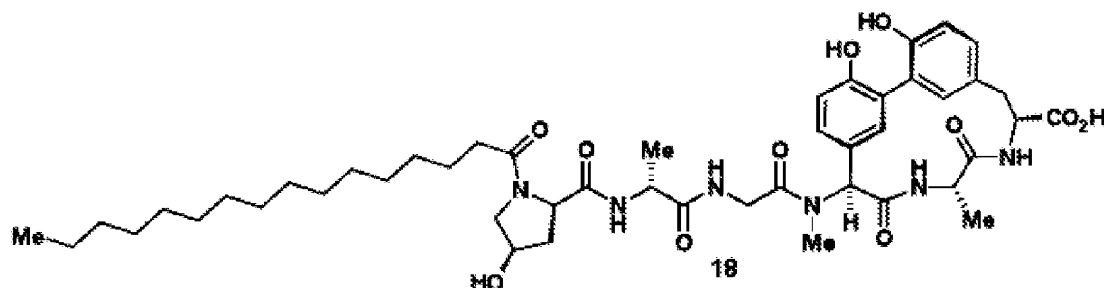


【 0 3 9 4 】

化合物18を一般手順DおよびEを用いて合成した。

10

ESI HRMS C₄₇H₆₈N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：893.5019、実測値：893.5014。

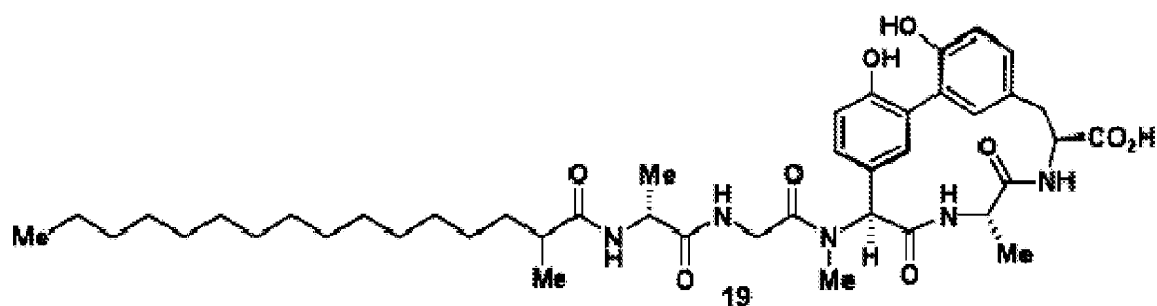


【 0 3 9 5 】

化合物19のジアステレオマー-Aを一般手順DおよびEを用いて合成した。

20

ESI HRMS C₄₃H₆₃N₅O₉ [(M+H)⁺]の計算値：794.4698、実測値：794.4705。

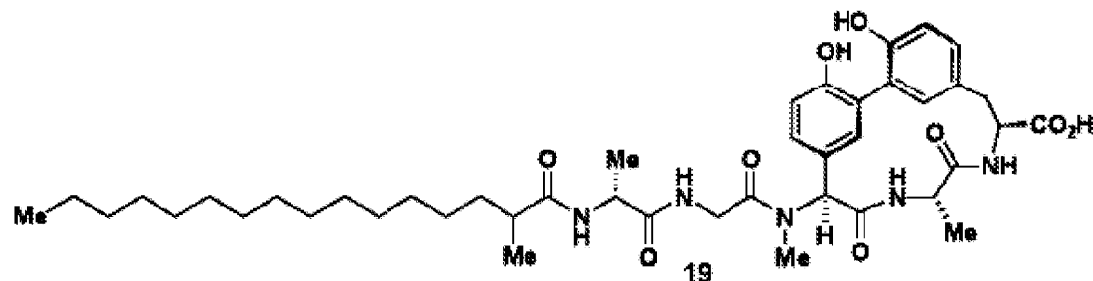


30

【 0 3 9 6 】

化合物19のジアステレオマー-Bを一般手順DおよびEを用いて合成した。

ESI HRMS C₄₃H₆₃N₅O₉ [(M+H)⁺]の計算値：794.4698、実測値：794.4689。

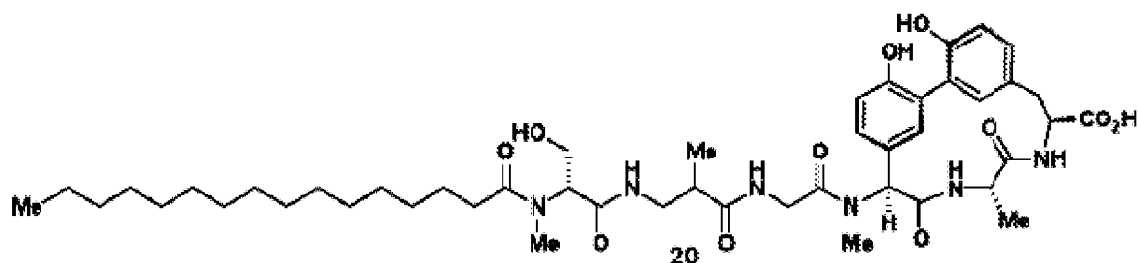


40

【 0 3 9 7 】

化合物20を一般手順EおよびFを用いてラセミ体として合成した。

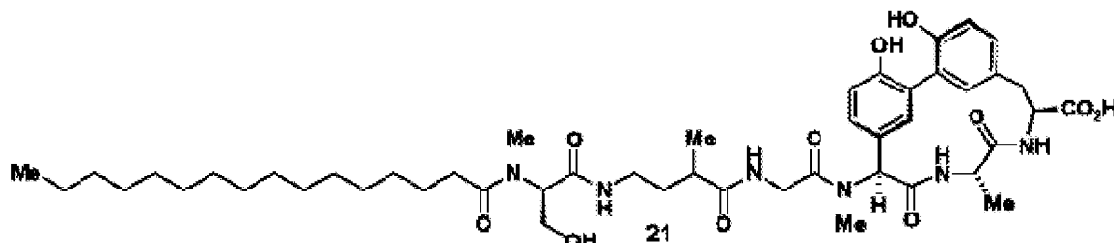
ESI HRMS C₄₇H₇₀N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：895.5175、実測値：895.5180。



【 0 3 9 8 】

化合物21を一般手順EおよびFを用いてラセミ体として合成した。ESI HRMS C₄₈H₇₂N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：909.5332、実測値：909.5334。

10

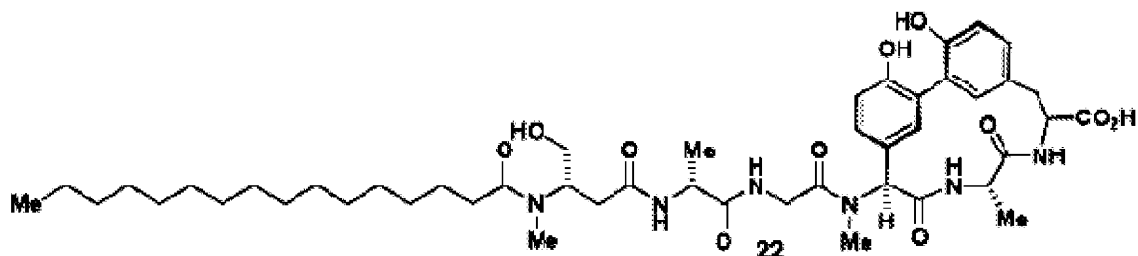


【 0 3 9 9 】

化合物22を一般手順DおよびEを用いて合成した。

20

ESI HRMS C₄₇H₇₀N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：895.5175、実測値：895.5178。

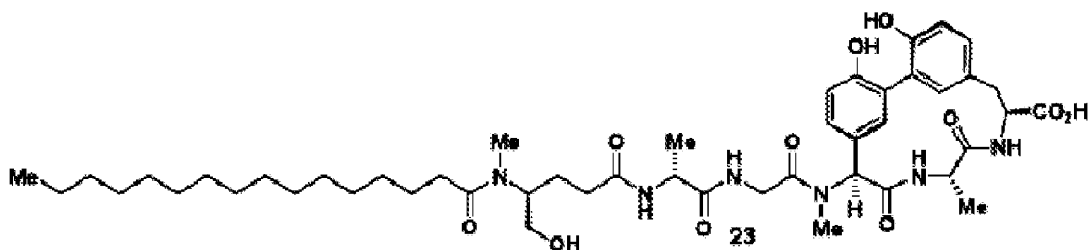


【 0 4 0 0 】

化合物23を一般手順DおよびEを用いて合成した。

30

ESI HRMS C₄₈H₇₂N₆O₁₁ [(M+H)⁺]の計算値：909.5332、実測値：909.5305。



【 0 4 0 1 】

実施例2：細菌学的材料および方法

40

本実施例は、細菌のアリロマイシンに対する反応を試験し、操作するための手順を例示する。

【 0 4 0 2 】

菌株および培養条件

標準の方法を用いて、すべての実験用の細菌を培養し、突然変異株を作成した。大腸菌 MG1655、緑膿菌 PAO1、および肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) ATCC 43816はLuria-Bertani (LB) プロス中、37 °C で増殖させた。ペスト菌 (*Yersinia pestis*) Kim+6はLBプロス中、28 °C で増殖させた。表皮ブドウ球菌 RP62A、スタフィロコッカス-ヘモリチカス、London Health Services Centre, London, Ontario, Canada から得た臨床分離株、黄色ブドウ球菌 NCTC 8325、およびコリネバクテリウム-エフィシエンズ DSM 44549はトリビケースソ

50

イブロス (TSB) 中、37 で増殖させた。肺炎連鎖球菌R800はトッド-ヒューイトブロス中、振盪せずに37 で増殖させた。ストレプトコッカス アガラクティエCOH-1および化膿連鎖球菌MI-5448はBrain-Heart Infusion (BHI) ブロス中、37 で増殖させた。ガセリ菌 (*Lactobacillus gasseri*) ATCC 19992、アシドフィルス菌 (*Lactobacillus acidophilus*) ATCC 4356、およびラクトパチルス プランタルム (*Lactobacillus plantarum*) ATCC 8014は、CO₂を多く含む雰囲気を提供するための密閉ろうそく瓶内のマン-ロゴサ-シャープ寒天上、37 で増殖させた。ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティスATCC 11454およびラクトコッカス ラクティス亜種クレモリスATCC 19257はそれぞれ、トリプチケースソイーストブロス中、37 および28 で増殖させた。ロドコッカス エクイATCC 6939はカチオン調節したミュラー-ヒントンブロスII (MHBII) 中、37 で増殖させた。ロドコッカス オパカスDSM 1069、コリネバクテリウム グルタミカムDSM 44475、プレビパチルス プレビスATCC 8246、および枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 168はミュラー-ヒントンブロスII中、28 で増殖させた。野兔病菌 (A型およびB型を含む19株) は、BSLレベル3の施設で、チョコレート化9%ヒツジ血液 (CHAB) 上、37 で増殖させた。クロストリジウム ディフィシレ (*Clostridia difficile*) WAL14572、クロストリジウム ボルテアエ (*Clostridia bolteae*) WAL16351、ウェルシュ菌 (*Clostridia perfringens*) WAL 14572、バクテロイデス フラギリス (*Bacteroides fragilis*) ATCC 25285およびプレボテラ コプリス (*Prevotella copris*) WAL16310は補強クロストリジウム培地 (Oxoid CM149) 上、嫌気性条件下、37 で増殖させた。ピロリ菌SS1は5%ウシ胎仔血清を補足したBHIブロス中、10%CO₂、37 で増殖させた。以前に記載されたとおり (Lad et al., 2007)、ダルベッコ改変イーグル培地 (高グルコース; Invitrogen, Carlsbad, CA) 中で増殖させたHeLa229細胞中でトラコーマ病原体を増殖させ、力価を測定した。すべての液体培養物は275rpmで振盪しながら増殖させ、すべての培地はDifco(商標)から入手した。

10

20

【0403】

アリロマイシン耐性表皮ブドウ球菌の選択およびシグナルペプチダーゼ遺伝子の配列決定
表皮ブドウ球菌 (約1×10⁹cfu) を、2μg/mlアリロマイシンC16を含むトリプチックソイ寒天 (TSA) 上に播種した。24時間の時点で目に見える耐性コロニーを、2μg/mlアリロマイシンC16を含むTSA上に再度画線して、耐性表現型を確認した。

【0404】

ゲノムDNAの単離およびSPアーゼ遺伝子の配列決定を、利用可能な手順を用いて実施した。特に、ゲノムDNAは、表皮ブドウ球菌をリソスタフィン (Sigma) で溶解し、続いてプロテイナーゼK (Roche) 処理、および95 での熱溶解を行うことにより得た。シグナルペプチダーゼ遺伝子を、プライマー対Se_SpsIB_F/Se_SpsIB_RおよびSe_SpsI_F/Se_SpsI_R (以下の表10のプライマー参照) を用いて増幅した。

30

【0405】

(表10) 細菌SPアーゼ核酸を検出および合成するためのプライマー

プライマー名	プライマー配列 5' --> 3'	SEQ ID NO:
Ec_lepB_usNF	TCCCGTTCGCTGGCTGCCTGTG	26
Ec_lepB_CR_Kan	CGGCGGCTTTGTTGAATAAATCGTTAAT GGATGCCGCCAATGCG	27
Ec_lepB_CF_Kan	GAGACACAACGTGGCTTTCCCATTAAT AGCCATCTTCGTTACG	28
Ec_lepB_dsCR	TTGGTTTCTAGACCAGCGTATTGCCACG GACC	29
EC_lepB_Nconf	TTGGTTTCTAGACTTTATCGACACCCCG G	30
Kan_ICF2	GGTTGTAACACTGGCAGAGC	31
Ec_lepB_QC_P84A_F	CGTTCGTTTATTTATGAAGCGTTCCAGA TCCCGTCAGGT	32
Ec_lepB_QC_P84A_R	ACCTGACGGGATCTGGAACGCTTCATA AATAAACGAACG	33
Ec_lepB_QC_P84C_F	CGTTCGTTTATTTATGAATGCTTCCAGA TCCCGTCAGGT	34
Ec_lepB_QC_P84C_R	ACCTGACGGGATCTGGAAGCATTTCATA AATAAACGAACG	35
Ec_lepB_QC_P84D_F	CGTTCGTTTATTTATGAAGATTTCAGAG TCCCGTCAGGT	36
Ec_lepB_QC_P84D_R	ACCTGACGGGATCTGGAATCTTCATA AATAAACGAACG	37
Ec_lepB_QC_P84E_F	CGTTCGTTTATTTATGAAGAGTTCCAGAG TCCCGTCAGGT	38
Ec_lepB_QC_P84E_R	ACCTGACGGGATCTGGAACCTTCATA AATAAACGAACG	39
Ec_lepB_QC_P84F_F	CGTTCGTTTATTTATGAATTCTTCCAGAG TCCCGTCAGGT	40
Ec_lepB_QC_P84F_R	ACCTGACGGGATCTGGAAGAATTTCATA AATAAACGAACG	41
Ec_lepB_QC_P84G_F	CGTTCGTTTATTTATGAAGGCTTCCAGAG TCCCGTCAGGT	42
Ec_lepB_QC_P84G_R	ACCTGACGGGATCTGGAAGCCTTCATA AATAAACGAACG	43
Ec_lepB_QC_P84H_F	CGTTCGTTTATTTATGAACATTTCAGAG TCCCGTCAGGT	44
Ec_lepB_QC_P84H_R	ACCTGACGGGATCTGGAATGTTCATA AATAAACGAACG	45
Ec_lepB_QC_P84I_F	CGTTCGTTTATTTATGAAATCTTCCAGAG TCCCGTCAGGT	46
Ec_lepB_QC_P84I_R	ACCTGACGGGATCTGGAAGATTTCATA AATAAACGAACG	47
Ec_lepB_QC_P84K_F	CGTTCGTTTATTTATGAAAAATTCCAGAG TCCCGTCAGGT	48
Ec_lepB_QC_P84K_R	ACCTGACGGGATCTGGAATTTTTCATAA ATAAACGAACG	49

10

20

30

40

Ec_lepB_QC_P84L_F	CGTTCGTTTATTTATGAACTGTTCCAGA TCCCGTCAGGT	50
Ec_lepB_QC_P84L_R	ACCTGACGGGATCTGGAACAGTTCATA AATAAACGAACG	51
Ec_lepB_QC_P84M_F	CGTTCGTTTATTTATGAAATGTTCCAGA TCCCGTCAGGT	52
Ec_lepB_QC_P84M_R	ACCTGACGGGATCTGGAACATTTTCATA AATAAACGAACG	53
Ec_lepB_QC_P84N_F	CGTTCGTTTATTTATGAAAACCTCCAGA TCCCGTCAGGT	54
Ec_lepB_QC_P84N_R	ACCTGACGGGATCTGGAAGTTTTTCATA AATAAACGAACG	55
Ec_lepB_QC_P84Q_F	CGTTCGTTTATTTATGAACAGTTCAG TCCCGTCAGGT	56
Ec_lepB_QC_P84Q_R	ACCTGACGGGATCTGGAACAGTTCATA AATAAACGAACG	57
Ec_lepB_QC_P84R_F	CGTTCGTTTATTTATGAACGGTTCAG TCCCGTCAGGT	58
Ec_lepB_QC_P84R_R	ACCTGACGGGATCTGGAACCGTTCATA AATAAACGAACG	59
Ec_lepB_QC_P84S_F	GTGCGTTTCGTTTATTTATGAATCGTTCC AGATCCCGTCAGGTTCG	60
Ec_lepB_QC_P84S_R	CGAACCTGACGGGATCTGGAACGATTC ATAAATAAACGAACGCAC	61
Ec_lepB_QC_P84T_F	CGTTCGTTTATTTATGAAACCTTCAG TCCCGTCAGGT	62
Ec_lepB_QC_P84T_R	ACCTGACGGGATCTGGAAGGTTTCATA AATAAACGAACG	63
Ec_lepB_QC_P84V_F	CGTTCGTTTATTTATGAAGTGTTCAG TCCCGTCAGGT	64
Ec_lepB_QC_P84V_R	ACCTGACGGGATCTGGAACACTTCATA AATAAACGAACG	65
Ec_lepB_QC_P84W_F	CGTTCGTTTATTTATGAATGGTTCAG TCCCGTCAGGT	66
Ec_lepB_QC_P84W_R	ACCTGACGGGATCTGGAACCATTCATA AATAAACGAACG	67
Ec_lepB_QC_P84Y_F	CGTTCGTTTATTTATGAATATTTCCAG TCCCGTCAGGT	68
Ec_lepB_QC_P84Y_R	ACCTGACGGGATCTGGAAATATTCATA AATAAACGAACG	69
Pa_lepB_usNF3_BamHI	TTGGTTGGATCCTGGTGCTCGACTTCTT CGATCG	70
Pa_lepB_dsCR_SpeI	TTGGTTACTAGTGTCTGGACCTCATGTCA GTGTAG	71
Pa_lepB_QC_P84S_F	CGTTCCTTCCTGGTCGAGAGCTTCCAG TTCCCTCGGGG	72
Pa_lepB_QC_P84S_R	CCCCGAGGGAATCTGGAAGCTCTCGAC CAGGAAGGAACG	73
Pa_lepB_seqF	GTGGCGATCCAGGCAGCCATC	74

10

20

30

40

Sa_spsB_usNF_EcoRI	TTGGTTGAATTCGATCTGTAAACGATTG GTGAACAC	75
Sa_spsB_dsCR_EcoRI	TTGGTTGAATTCGTTTCGCTATAACTACC AACTTCTTGG	76
Sa_spsB_QC_P29S_F	GTAGGTAAATTTATTGTTACGTCATATA CAATTAAGGTGAATC	77
Sa_spsB_QC_P29S_R	GATTCACCTTTAATTGTATATGACGTAA CAATAAATTTACCTAC	78
Se_spsI_F	CAAGGAAAGCGTGTTCGTTGTTGTACC	79
Se_spsI_R	CCAATCATTCCTTGCTGCAGTAGGTCTAA CG	80
Se_spsIB_F	TGATGGTGATACGATTCCACCGGGAGC	81
Se_spsIB_R	GCATGGCTGTTGACTTTCCTGTACCTGC	82
Ec_lepB_Δ2_75_NF_NcoI	TTGGTTCCATGGTGC GTTCGTTTATTTA TGAAC	83
Ec_lepB_CR_BamHI	TTGGTTGGATCCTGGCATTTAATGGATG CCGCCAATGC	84
Sa_spsIB_NF_KpnI	TTGGTTGGTACCTTGAAAAAAGAAATA TTGGAATGG	85
Sa_spsIB_CR_XhoI	TTGGTTCTCGAGTTAATTTT TAGTATTTT CAGGATTGAAAT	86

10

20

【 0 4 0 6 】

突然変異株の作成

カナマイシンでマークしたlepB遺伝子を有する大腸菌を、Cirz et al. (PLoS Biol. 3, e176 (2005)) によって記載された対立遺伝子交換法および以下のプライマーを用いて作成した: Ec_lepB_usNF、Ec_lepB_CRKan、Ec_lepB_CF-Kan、Ec_lepB_dsCR、Ec_lepB_Nconf、およびKan_ICF2。カナマイシンでマークしたSPアーゼ遺伝子を野生型MG1655に、P1ファージ形質導入により移した。野生型カセットの作成に用いたカセットからの重複DNA断片対を、プライマー対Ec_lepB_usNF/Ec_lepB_QC_P83x_RおよびEc_lepB_QC_P83x_F/Ec_lepB_dsCRを用いて増幅することにより、SPアーゼのコドン84の点突然変異を導入した。2つの断片の重複PCRにより、所望の突然変異を含む完全なSPアーゼ/カナマイシン耐性カセットを得た。緑膿菌変異体を、対立遺伝子交換プラスミドpKNG101を用い、Kaniga et al. (Gene 109, 137-141 (1991)) によって記載された方法ならびにプライマーPa_lepB_usNF3-BamHIおよびPa_lepB_dsCR-SpeIを用いて作成した。点突然変異を、プライマー対Pa_lepB_usNF3-BamHI/Pa_lepB_QC_P84S_RおよびPa_lepB_dsCRSpeI/Pa_lepB_QC_P84S_Fにより、大腸菌について記載した重複PCRを用いて導入した。黄色ブドウ球菌変異体を、Arnaud et al. (Appl. Environ. Microbiol. 70, 6887-6891 (2004)) によって記載された対立遺伝子交換ベクターpMADならびにプライマーSa_spsB_usNF_EcoRIおよびSa_spsB_dsCR_EcoRIを用いて作成した。点突然変異を、プライマー対Sa_spsB_usNF_EcoRI/Sa_spsB_QC_P29S_RおよびSa_spsB_dsCR_EcoRI/Sa_spsB_QC_P29S_Fにより、大腸菌について記載した重複PCRを用いて導入した。

30

40

【 0 4 0 7 】

増殖曲線

SPアーゼ残基84に20のアミノ酸の1つをそれぞれ有する、大腸菌の20株の菌株それぞれについて、飽和した終夜培養物を新鮮LBブロス中へ100倍希釈し、OD 600nmが0.4~0.6になるまで増殖させた。これらの培養物をあらかじめ加温したLB中へ、最終密度OD 600nm = 0.001 (10⁶ cfu/mL) まで希釈した。30分間隔で3時間、培養物の段階希釈物を播種し、得られたコロニーを計数することにより、増殖を評価した。時間に対する生菌数の指数曲線

50

から倍加時間を求めた。平均および標準偏差を3つの独立の増殖曲線について求めた。

【0408】

黄色ブドウ球菌および表皮ブドウ球菌の競合増殖実験

競合増殖実験を、飽和表皮ブドウ球菌SpsIB(WT)および表皮ブドウ球菌SpsIB(S29P)培養物の等しい量をTSB中に2000倍希釈し、得られた培養物を飽和まで(約10倍加)終夜増殖させることにより、三つ組で行った。この飽和培養物を1000倍希釈し、さらに3から4倍、全体で40から50倍加で飽和まで終夜増殖させた。それぞれの飽和培養物の段階希釈物をTSAおよび2 μ g/mLアリロマイシンC16を含むTSA上に播種して、それぞれ全菌数およびアリロマイシンC16耐性菌数を定量した。同様の実験を、野生型表皮ブドウ球菌と表皮ブドウ球菌SpsIB(S31P)変異体との間、および野生型黄色ブドウ球菌と黄色ブドウ球菌SpsB(P29S)変異体との間で実施した。

10

【0409】

最小阻害濃度(MIC)実験

トラコーマ病原体およびピロリ菌を除いて、アリロマイシンC16の最小阻害濃度(MIC)を、アリロマイシンC16の2倍希釈物を含む培地100 μ lで、改変した米国臨床検査標準委員会(CLSI)マイクロブロス希釈法により求めた。固形培地上で増殖している細菌をMIC実験に用いたものと同じブロス中に再懸濁して接種材料を生成し、最終濃度 1×10^7 コロニー形成単位/mlに希釈した。この懸濁液5 μ lを、培地およびアリロマイシンC16 100 μ lを含むウェルに加えた。大腸菌、緑膿菌、肺炎桿菌およびベスト菌のMICはLB中で求めた。黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、S.ヘモリチカス、R.エクイ、R.オパカス、C.グルタミカム、C.エフィシエンス、B.プレビス、枯草菌、野兔病菌のMICはカチオン調節したミュラー-ヒントンプロス中で求めた。化膿連鎖球菌、S.アガラクティエ、および肺炎連鎖球菌のMICはトッド-ヒューイットブロス中で求めた。両方のL.ラクティス株のMICはTSYEブロス中で求めた。ガセリ菌、アシドフィルス菌、およびラクトバチルス プラントルムに対するアリロマイシンC16のMICは、pH6.7に調節した10%マン-ロゴサ-シャープブロスを補足した、カチオン調節ミュラー-ヒントンプロス(Klare et al., 2005)中で求め、96穴プレートをCO₂を多く含む雰囲気を提供するための点火したろうそくを含む密封瓶内でインキュベートした。クロストリジウムおよびバクテロイデスの菌株に対するアリロマイシンのMICは、CLSIが認可したワズワース寒天希釈法を用いて求めた。特に記載がないかぎり、MIC実験は各菌株の最適な増殖温度で実施し、MICは24時間増殖させた後に求めた。

20

30

【0410】

MICは、24時間のインキュベーション後にOD_{590nm}がバックグラウンドよりも高くない、アリロマイシンC16の最低濃度と規定した。MICの限界点がOD測定で不確定である場合、段階希釈物を播種して生菌を判定し、MICは24時間までに5倍未満の増殖が起こった最低濃度と規定した。ピロリ菌に対するアリロマイシンC16のMICは、アリロマイシンC16の2倍希釈液を含む新鮮培地中へ約108cfuの培養物を200倍に希釈することにより求めた。24時間後、段階希釈物を、5%溶解ウマ血液を含むコロンビア寒天上に播種し、5日間増殖させた後に生菌を判定した。MICは、生菌の1000分の1への減少を達成するのに必要なアリロマイシンC16の量と規定した。トラコーマ病原体に対するアリロマイシンC16のMICを求めるために、HeLa 229細胞を30%コンフルエンスになるまで増殖させ、2.0 μ g/mlフィブロネクチンで処理した12穴プレートに移し、終夜接着させた。接着細胞を1感染性単位のトラコーマ病原体L2細胞(Lad et al., J. Bacteriol. 189: 6619-25 (2007)参照)、および様々な濃度のアリロマイシンC16で処理した。24時間後、細胞を3%バラホルムアルデヒドで固定し、L. M. de la Mazaによって提供されるクラミジア主要外膜タンパク質(MOMP)に対するモノクローナル抗体を用いて蛍光顕微鏡で可視化した。MICは、24時間の時点でバックグラウンドに対して蛍光の増大が見られないアリロマイシンC16の最低濃度と規定した。

40

【0411】

各誘導体の最小阻害濃度(MIC)を、標準のブロス希釈法を用いて求めた。試験菌株には野生型表皮ブドウ球菌(菌株RP62A)、ならびに耐性付与プロリンの耐性を付与しない

50

残基（黄色ブドウ球菌タンパク質のP29S、ならびに大腸菌、および緑膿菌タンパク質のP84L）への突然変異によりアリロマイシンに対して感受性とした黄色ブドウ球菌（菌株8325）、大腸菌（菌株MG1655）、および緑膿菌（菌株PAG1）の変異体株が含まれた。MICは、黄色ブドウ球菌、大腸菌、および緑膿菌の同質遺伝子野生型株、ならびに耐性付与Proが導入された表皮ブドウ球菌（S29P）の同質遺伝子変異体でも判定した。

【0412】

タンパク質発現のためのクローニング

大腸菌SPアーゼの 2-75変異体発現のためのプラスミドを、対応する大腸菌株由来のWTおよび(P83S)大腸菌SPアーゼの 2-75変異体をコードするゲノムDNAをプライマーEc_lepB_2_75_NF_NcoIおよびEc_lepB_CR_BamHIを用いて増幅し、得られたORFをpET15b (Novagen) にNcoIおよびBamHI制限部位でクローニングして、プラスミドpET15blepBTruncおよびpET15b-lepBTrunc(P83S)を得ることにより作成した。全長His6x標識大腸菌SPアーゼタンパク質発現のためのプラスミドpET23-lepBは、Dr. Mark Paetzel (Simon Fraser University) より親切にも提供を受けた。大腸菌SPアーゼのP83S変異体を発現するために、LepB(P83S)突然変異をpET23-lepBに、前述のプライマーでのQuikChange部位指向突然変異誘発 (Stratagene) を用いて誘導し、プラスミドpET23-lepB(P83S)を得た。His6x標識黄色ブドウ球菌SPアーゼ発現のためのプラスミドを、黄色ブドウ球菌NCTC 8325由来のSpsBおよび対応するSpsB(P29S)染色体変異体をコードするゲノムDNAをプライマーSa-SPase-KpnI-FおよびSa-SPase-XhoI-Rを用いて増幅し、得られたDNAをプラスミドpCDF1 (Novagen) にKpnIおよびXhoI制限部位でクローニングして、spsBオープンリーディングフレームにN末端His6x標識を加えることにより作成した。

【0413】

タンパク質発現

大腸菌 2-75SPアーゼタンパク質を、pET15b-lepBTruncまたはpET15b-lepBTrunc(P83S)を有するBL21(DE3)中で発現し、それから精製し、Paetzel et al. (Proteins 23, 122-125 (1995)) によって記載されたものと類似の様式で保存した。全長His標識大腸菌SPアーゼタンパク質を、プラスミドpET23-lepBまたはpET23-lepB(P83S)を含むBL21(DE3)中で発現し、Q-カラム段階を省略したこと、ならびに洗浄およびNi-NTA Superflow樹脂 (Qiagen) からの溶離中の界面活性剤としてトリトンX-100の代わりに1%Elugent (Calbiochem) を用いた以外は、Klenotic et al. (J. Biol. Chem. 275, 6490-6498 (2000)) によって記載されたとおりに精製した。全長His標識黄色ブドウ球菌SPアーゼタンパク質を、プラスミドpCDF1-SaSpsBまたはpCDF1-SaSpsB(P29S)を含むBL21(DE3)中で発現し、それから、下記を例外として、Peng et al. (J. Bacteriol. 183, 621-627 (2001)) によって記載された肺炎連鎖球菌SPアーゼの精製と類似の様式で精製した。Ni-NTA Superflow樹脂での精製前に、SPアーゼタンパク質を300mM NaCl、20mMトリス、pH8.06、5mMイミダゾール、10%グリセロール、1%トリトンX-100を用いて可溶化し、樹脂に結合したタンパク質をトリトンX-100の代わりに1%Elugentを含む同様の緩衝液中で洗浄し、その後、タンパク質を300mMイミダゾールを補足した洗浄緩衝液中で溶離した。SDS-PAGEと、続くクーマシー染色により、約21kDの単一バンドが明らかとなった。すべてのタンパク質濃度はBCA検定により求めた。

【0414】

インビトロKD測定

発現ベクターの作成およびその後の本試験において用いる様々なSPアーゼ変異体の生成は上に記載している。アリロマイシンC16の定常状態結合を、以前に記載したアリロマイシン蛍光 ($\lambda_{ex} = 320\text{nm}$ 、 $\lambda_{em} = 410\text{nm}$) の大腸菌 2-75SPアーゼ結合後の低減を測定することにより判定した (Paetzel et al., J. Biol. Chem. 279, 30781-30790 (2004) 参照)。全長および切断大腸菌タンパク質のための結合緩衝液は以下のとおりであった：100mM NaCl、20mMトリス-HCl、pH7.4、1mM EDTA、1% n-オクタノール、1% グルコピラノシド (Anatrace)。この緩衝液に、黄色ブドウ球菌SPアーゼタンパク質を用いての実験のために10%グリセロールを補足した。

【0415】

SPアーゼ配列解析

大腸菌、黄色ブドウ球菌、B.フラギリスおよびC.エフィシエンスからのSPアーゼのアミノ酸配列を連結し、NCBI Microbial Genome Databaseにおいて入手可能なバクテリオデス門、放線菌門、ファーミキューテス門、プロテオバクテリア門、およびクラミジア/ウェルコミクロビウム門の完全に配列決定されたゲノムすべてに対するBLASTにおけるクエリー配列として用いた。E値が0.1未満のBLASTヒットのアミノ酸配列を、MUSCLE (Edgar, Nucleic Acids Res. 32, 1792-1797 (2004))を用いてアラインし、触媒SerまたはLys残基を欠くすべての配列を除去した。アラインメントが不十分な領域を<http://mobyli.pasteur.fr/cgi-bin/portal.py>で見いだされる「Block Mapping and Gathering using Entropy」プログラムを、Gap Rate Cutoff 0.3およびEntropy Cutoff 0.7で用いて除去した。系統解析を、SPRブランチが改善されたPhyMLを用いて行った (Guindon and Gascuel, Syst. Biol. 52, 696-704 (2003))。グラム陽性およびグラム陰性菌からのSPアーゼをアラインメントおよび系統解析の間別々に維持し、これらの解析の質を改善した。

10

【0416】

また、グラム陰性プロテオバクテリアからのいくつかのSPアーゼは調べた他のグラム陰性またはグラム陽性SPアーゼのいずれとも明白な関係を示さなかったため、SPアーゼ系統の解析の前に、これらも除去した。系統樹をInteractive Tree of Life (Letunic and Bork, Bioinformatics 23, 127-128 (2007))を用いて表示した。

20

【0417】

残基29の保存

調べたグラム陰性およびグラム陽性ゲノムすべてからのSPアーゼの単一のアラインメントをMUSCLEを用いて行い、アラインメントが不十分な領域を「Block Mapping and Gathering using Entropy」を、ギャップカットオフ0.3およびエントロピーカットオフ0.7で用いて除去した。得られたアラインメントは主に以前に記載されたボックスA~E内にあり (Dalbey et al., Protein Sci. 6: 1129-38 (1997))、これらはすべての細菌SPアーゼで高度に保存されていた。次いで、アラインし、トリムした配列を、それらが見いだされた微生物の門によって分類した。各アラインメント (5つの門それぞれに対して1つ) を「Score Sequence Conservation」プログラム (Capra and Singh, Bioinformatics 23, 1875-1882 (2007); <http://compbio.cs.princeton.edu/conservation/score.html>) につけ、配列保存を重みつき配列およびウィンドウサイズ1でJensen-Shannonダイバージェンス法を用いてスコアリングした。残基ごとの保存スコアを、全アラインメント、ボックスB~Eを含む残基の各セット、および残基29を中心とする5アミノ酸の領域で平均した。

30

【0418】

16sRNA配列解析

アラインした16sRNA配列を解析し、Ribosomal Database Project (Cole et al., Nucleic Acids Res. 37, D141-145 (2009)) から得た。「Block Mapping and Gathering using Entropy」プログラムをGap Rate Cutoff 0.7およびEntropy Cutoff 0.7で用いて、アラインメントが不十分な領域を除去した。系統解析を、HKY85置換モデルおよびSPR系統樹改善を伴うPhyML 3.0を用いて実施し、得られた系統樹をInteractive Tree of Lifeを用いて表示した。

40

【0419】

実施例3: アリロマイシンの抗菌活性はSPアーゼ突然変異でマスクされる

本実施例は、多くの細菌株がアリロマイシン耐性を付与するSPアーゼ突然変異を天然に発生していることを示す実験結果を記載する。

【0420】

SPアーゼにおける点突然変異がアリロマイシン耐性を付与する

表皮ブドウ球菌はアリロマイシンに対するその感受性において非定型である (Roberts et al., J. Am. Chem. Soc. 129: 15830-15838 (2007))。表皮ブドウ球菌が他の細菌に固有の特異的耐性メカニズムを欠いているかどうかを調べるために、選択実験を実施して

50

2 µg/ml アリロマイシン C16 (8 × MIC) 存在下で増殖しうる突然変異体を単離した。突然変異体は生菌109あたり4の頻度で得られ、2つの表現型クラスに分類された：大多数（約75%）は野生型株に比べて32倍高いMICを有し、残りは256倍を超えて高いMICを有していた。この低い耐性頻度と一致して、アリロマイシン耐性は、表皮ブドウ球菌において見いだされる2つのSPアーゼの1つである、Sps1Bにおける2つの突然変異のいずれかに関連していた。耐性の32倍の増大は29位でのSerからProへの突然変異に関連していた（配列決定した11のクローンあたり10）が；耐性の256倍の増大は31位でのSerからProへの突然変異に関連していた（配列決定した11のクローンあたり9）。いずれのクラスの耐性変異体も、用いた標準の実験条件下で増殖異常を示すものはなかった（データは示していない）。

【0421】

これらのデータは、アリロマイシンの全細胞抗菌活性はそれらのSPアーゼ阻害に起因すること、また、SPアーゼの突然変異はそれにより表皮ブドウ球菌が耐性を生じる主なメカニズムであることを示している。

【0422】

自然耐性の細菌が、表皮ブドウ球菌において耐性を付与する同じ突然変異を有するかどうかを調べるために、SPアーゼのアミノ酸配列を密接に関連する微生物の黄色ブドウ球菌、ならびに関連性がより遠いグラム陰性菌の大腸菌および緑膿菌で調べた（表11）。

【0423】

（表11）アリロマイシン A2 C16に対する耐性は細菌SPアーゼにおける-5位および/または-7位のプロリンに相関する*

細菌株	SPアーゼの型	SPアーゼアラインメント	MIC (µg/mL)	SEQ ID NO:
表皮ブドウ球菌 RP62A	WT	VGKSYSIKGDS	0.25	17
表皮ブドウ球菌 PAS9001	S29P	VGK[P]YSIKGDS	8	18
表皮ブドウ球菌 PAS9002	S31P	VGKSY[P]IKGDS	>128	19
黄色ブドウ球菌 NTCT8325	WT	VAKPYTVKGDS	>128	20
黄色ブドウ球菌 PAS8001	P29S	VAK[S]YTVKGDS	2	21
大腸菌 MG1655	WT	IYEPFQIPSGS	>128	22
大腸菌 PAS0232	P84S	IYES[F]QIPSGS	2	23
緑膿菌 PAO1	WT	LFEPFQIPSGS	>128	24
緑膿菌 PAS2006	P84S	LFES[F]QIPSGS	8	25

* 突然変異は囲み内に示し（例えば、[P]または[S]）、触媒セリンはペプチド配列のC末端に示す。

表11に示すとおり、表皮ブドウ球菌SPアーゼ残基29に対応する位置で、Proは黄色ブドウ球菌の1つのSPアーゼ、大腸菌の1つのSPアーゼ、および緑膿菌の2つのSPアーゼの1つ（黄色ブドウ球菌のPro29、大腸菌および緑膿菌のPro84）に見いだされる。しかし、表皮ブドウ球菌におけるSPアーゼ残基31に対応する位置で、Proはこれらの黄色ブドウ球菌、大腸

菌、および緑膿菌SPアーゼ配列のずれにおいても見いだされない。さらに、SPアーゼの31位にProを有する大腸菌株は作成することができず、SPアーゼの31位の突然変異はいくつかの微生物では耐容されないことが示唆された。

【0424】

大腸菌、緑膿菌、および黄色ブドウ球菌において観察される生得的なアリロマイシン耐性が同定されたPro残基に起因するかどうかを調べるために、ProがSer（野生型表皮ブドウ球菌SpsIBの対応する残基）で置き換えられたこれらの細菌の突然変異株を作成した。それぞれの微生物において、ProのSerへの変異はアリロマイシンC16に対する高度の感受性を付与した（表11）。突然変異株において増殖異常は見られず（図2）、感受性の増大は適応度の低下またはSPアーゼ活性の損失に起因していないことが示唆された。

10

【0425】

大腸菌および緑膿菌セリン変異体のアリロマイシンC16に対する感受性は、Pro残基の存在がアリロマイシン耐性に相関していること、およびアリロマイシンはグラム陰性菌の手ごわい外膜を透過することを示している。効率的な外膜透過に一致して、実験は、これらの細菌をポリミキシンBノナペプチドで透過化処理しても、MIC値に対して無視できる影響しかない（4分の1以下への低下）ことを示した。

【0426】

同定したProがアリロマイシン耐性を付与するその能力において独特であるかどうかを調べるために、他の19のアミノ酸それぞれを大腸菌SPアーゼの同じ位置（残基84）に導入した大腸菌の突然変異株を作成した。アリロマイシンを含まない培地中で観察される増殖速度に基づき、この位置のほとんどのアミノ酸はよく耐容され（図2）、残基84のアミノ酸の性質は一般には用いた条件下での適応度に影響をおよぼさないことが示されたが、84位にArg、Lys、Glu、およびCysが存在する場合にはわずかな増殖異常が観察され、84位にHisおよびPheが存在する場合には温度感受性表現型が観察された。これに対して、アリロマイシンC16を培地に加えた場合、観察されるMIC値は残基84のアミノ酸の同一性に大きく依存するが、Proは高レベルのアリロマイシン耐性（MIC > 256 μ g/mL）を付与する唯一のアミノ酸であった（図2）。他のアミノ酸はすべてアリロマイシン感受性を導き（MIC値 16 μ g/mL）、疎水性アミノ酸は幾分高い感受性を付与した。

20

【0427】

耐性付与突然変異はアリロマイシンのSPアーゼに対する親和性を低減する

30

以前に報告された大腸菌SPアーゼ複合体の結晶構造に基づき（Paetzel et al., J. Biol. Chem. 279, 30781-30790 (2004)）、アリロマイシンA2は天然ペプチ德基質について提唱されたものを模した様式で結合し、耐性付与Pro残基（Pro84）は大腸菌SPアーゼ基質結合ポケット内であるが、触媒残基に対して遠位に配置される（図3A）。耐性付与突然変異がインビトロでのアリロマイシンC16結合を直接妨害するかどうかを試験するために、平衡結合定数を、脂質二重層環境を模したミセル中で再構成した組換えSPアーゼ酵素を用いて求めた。N末端膜らせんを欠くが、まだミセルに結合している、切断野生型大腸菌SPアーゼ、およびこの切断大腸菌SPアーゼ酵素のP84S変異体に対し、アリロマイシンC16の親和性を測定した（Kuo et al., Arch. Biochem. Biophys. 303, 274-280 (1993)）。図3Dは、可溶性N末端切断型の大腸菌SPアーゼの野生型およびP84S変異体に対するアリロマイシンC16の結合親和性を示す。アリロマイシンC16は切断野生型タンパク質にKD = 979 \pm 69 nMで結合し、これはアリロマイシンA2について報告された値とほぼ同等である（Paetzel et al., Biol. Chem. 279, 30781-30790 (2004)）。これに対して、大腸菌SPアーゼのセリン含有P84S変異体では、39 \pm 15 nMという有意に低いKDが観察された。

40

【0428】

阻害剤の脂質末端と相互作用しうる、またはタンパク質および阻害剤を膜様ミセル環境内に共存させるのを助けうる、N末端らせんの欠失に関連した人為現象を制御するために、界面活性剤で可溶化した全長大腸菌SPアーゼに対するアリロマイシンC16の親和性を調べた（図3B）。アリロマイシンC16は全長タンパク質に、対応する可溶化断片よりも高い親和性で結合したが、全長Ser変異体に対するアリロマイシンの親和性（KD = 5.7 \pm 1.0 nM

50

）は対応するPro変異体に対するもの（ $KD = 60 \pm 16nM$ ）と比べた場合にも一桁高かった。

【0429】

最後に、代表的グラム陽性SPアーゼを特徴付けるために、黄色ブドウ球菌SPアーゼの全長野生型およびP29S変異体に対するアリロマイシンC16の親和性を測定した（図3C）。大腸菌SPアーゼと同様、アリロマイシンC16は黄色ブドウ球菌SPアーゼのSer変異体に、Pro変異体よりも一桁強く結合し、KD値はそれぞれ 130 ± 53 および $1283 \pm 278nM$ であった。したがって、大腸菌および黄色ブドウ球菌における耐性を担うPro残基は、アリロマイシン結合を妨害することにより作用するようである。

【0430】

天然における耐性付与残基の分布

天然におけるこの耐性決定因子の分布をよりよく理解するために、それらの16S rRNA配列によって反映されるとおり、5つの門から完全に配列決定された細菌の系統的關係を調べた。次いで、この系統学を各微生物のいくつかのSPアーゼと、および表皮ブドウ球菌における残基29（特に記載がないかぎり、表皮ブドウ球菌の番号付けをこれ以降用いる）に対応する位置のProの有無と比較した。一般に、クラミジア/ウェルコミクロビウム門、プロテオバクテリア門、およびバクテロイデス門からのグラム陰性菌は1つのSPアーゼを有し、各門において、Pro29は微生物のサブセットのSPアーゼに存在する（図5）。

【0431】

したがって、配列決定された -、 -、 -プロテオバクテリアのほとんどすべてはPro 29を含むSPアーゼを有する（それぞれ、配列決定された微生物の115/123、64/65、および 178/183）が、配列決定された -および -プロテオバクテリアのほとんどはAla29を含むSPアーゼを有する（それぞれ、32/35および27/29）。同様に、バクテロイデス門において、配列決定されたフラボバクテリアのそれぞれは、Proが常に29位にある1つのSPアーゼを有するが、バクテロイデス綱のそれぞれは典型的にはAsn29を含むSPアーゼおよび時にSer 29を含む第二のSPアーゼを有する。最後に、配列決定されている少数のクラミジア/ウェルコミクロビウム門の中で、クラミジアのそれぞれはLeu29を含む1つのSPアーゼを有する（7/7）が、ウェルコミクロビウムのそれぞれはPro29を含む少なくとも1つのSPアーゼを有する（8/8）。SPアーゼ遺伝子自体の系統学は、16S rRNA配列のものをほとんど反映しており、SPアーゼ遺伝子の比較的わずかな水平移動が起こっていることを示し、Pro29はこれらの系統のSPアーゼに独立に組み込まれたことが確認された。興味深いことに、水平遺伝子移動は、Leu29に有する緑膿菌の第二のSPアーゼを含む、複数のSPアーゼをコードするプロテオバクテリアの散乱した例の原因である。これらの追加のSPアーゼは、本解析において調べた配列決定されたSPアーゼのいずれとも密接に関連しておらず、他のプロテオバクテリアSPアーゼと機能的に等価ではないであろう。

【0432】

グラム陰性菌とは対照的に、グラム陽性ファーミキューテスおよび放線菌は一般に複数のSPアーゼをコードし、16S rRNAおよびSPアーゼ系統の比較は、これらの系統においてSPアーゼ遺伝子の複製が複数回起こったことを示している（図5）。Pro29の分布もより不規則で、これはこの位置のProの高頻度の導入および除去を導く保存の低下に起因していたようである。

【0433】

さらに、残基27~31によって規定される領域は、グラム陽性SPアーゼでは、グラム陰性タンパク質の同じ領域またはタンパク質の核および活性部位を含む領域と比べて保存が不十分であるようである（表12）。表13は、含んでいる残基の平均Jensen-Shannonダイバージェンススコアによって反映される、5つの細菌門からのSPアーゼ遺伝子の領域の相対的保存を示す（Capra and Singh, Bioinformatics 23, 1875-1882 (2007)）。ボックスB~Eは、基質結合部位および活性部位を形成する保存領域と以前に規定された（Dalbey et al., Protein Sci. 6: 1129-38 (1997)）。残基29のランクは、SPアーゼ配列アラインメントに用いた他の137残基それぞれに対する、この位置での保存の程度を示し、ここで1は最も保存された残基を示す。

10

20

30

40

50

【 0 4 3 4 】

(表 1 2) 5つの細菌門からのSPアーゼ遺伝子の領域の保存

細菌門	アラインした全配列	ボックスB	ボックスC	ボックスD	ボックスE	残基27～31	残基29のランク
放線菌門	0.473	0.572	0.464	0.632	0.602	0.416	76/137
ファーミキューテス門	0.431	0.491	0.370	0.626	0.587	0.248	134/137
バクテロイデス門	0.516	0.615	0.529	0.645	0.594	0.431	98/137
クラミジア/ ウェルコミクロビウム門	0.553	0.681	0.599	0.636	0.616	0.567	47/137
プロテオバクテリア門	0.534	0.629	0.585	0.654	0.664	0.568	30/137

10

表12に示すとおり、残基27～31によって規定される領域は、グラム陽性SPアーゼでは、グラム陰性タンパク質の同じ領域と比べて保存が不十分であるようである。しかし、Pro29は、バチルス属、リステリア属、およびブドウ球菌属を含む、グラム陽性細菌の桿菌のサブセットのSPアーゼの間では特に一般的である。興味深いことに、Pro29を含むSPアーゼは桿菌およびリステリアの種分化中に存在し、維持されていたようであるが、一般的なブドウ球菌の祖先は、表皮ブドウ球菌の場合と同様、それぞれSer29を含む2つのSPアーゼを有していたようである。黄色ブドウ球菌は1つのSPアーゼを欠失し、他のSPアーゼにPro29を導入したようである（図4）。

20

【 0 4 3 5 】

アリロマイシンは広域抗菌活性を有する

アリロマイシンのスペクトルをさらに探るため、およびより広い範囲の細菌におけるPro29のアリロマイシン耐性に対する寄与を試験するため、前述の系統解析からの代表的微生物のアリロマイシン感受性を調べた（表13）。5つの門すべてからの細菌を採取し、重要なヒト病原体の可能性のあるものが含まれた場合。

【 0 4 3 6 】

（表 1 3）異なる野生型細菌におけるアリロマイシンC16感受性とSPアーゼ遺伝子型との間の関連

菌種	残基29	MIC (μg/ml)
表皮ブドウ球菌	S,S	0.25
スタフィロコッカス ヘモリチカス	S,S	2
ロドコッカス オパカス	V	2
コリネバクテリウム グルタミカム	M	2
ピロリ菌	A	4
ペスト菌	P	4
トラコーマ病原体	L	6
野兎病菌	N	4 -16, >64*
肺炎連鎖球菌	N	16
化膿連鎖球菌	A	16
ラクトコッカス ラクティス	L	16, >128*
ロドコッカス エリスボリス	V,I	16
コリネバクテリウム エフィシエンス	P	>64
黄色ブドウ球菌	P	16-32, >128*
ブレヴィバチルス プレビス	P,P,P,P,V	>64
エンテロコッカス フェカーリス	P,P,P,S	>64
枯草菌	P,P,P,D	>128
ストレプトコッカス アガラクティエ	F,V	>128
大腸菌	P	>128
緑膿菌	P,L	>128
肺炎桿菌	P	>128
ガセリ菌	N,N	>128
アシドフィルス菌	N	>128
ラクトバチルス プラントルム	M,M,V	>128
クロストリジウム デイフィシレ	P,P,P	>16
クロストリジウム ボルテアエ	N,N,Q	>16
ウェルシュ菌	K,K,K,I	>16
バクテロイデス フラギリス	S,N	>16
プレボテラ コプリス	N	>16

10

20

30

* 複数の値は、本文中に論じるとおり、種の異なる株内の不均一性を示している。

【 0 4 3 7 】

表13に示すとおり、アリロマイシンC16は -プロテオバクテリアのピロリ菌（そのSPアーゼはAla29を有する）に対して活性で、MICは4 μg/mlである。同様に、細胞内グラム陰性病原体のトラコーマ病原体（Leu29）はヒトHeLa 229細胞からMIC = 6 μg/mlで根絶される。特に、試験した最高濃度である20 μg/mlまでのアリロマイシンではヒト細胞に対して有害作用は観察されなかった。野兎病菌（Asn29）は生物戦に用いられる可能性があり、
 唯一のPro29を持たない -プロテオバクテリア属のメンバーである。野兎病菌（Asn29）の19の臨床分離株を試験し、8株はMIC = 4から16 μg/mlで阻害され、1株はMIC = 32 μg/mlで、残りは64 μg/mlを超えるMICで阻害されることが判明した。肺炎桿菌はPro29を有する1つのSPアーゼをコードし、アリロマイシンに対して耐性である。興味深いことに、ペストの原因菌であるペスト菌はPro29を含む1つのSPアーゼを有するが、アリロマイシンC16に感受性である。

40

【 0 4 3 8 】

グラム陽性ファーミキューテスの肺炎連鎖球菌、化膿連鎖球菌、およびスタフィロコッカス-ヘモリチカスはすべて、Pro29を含むSPアーゼを欠くヒト病原体である。これらの種はそれぞれアリロマイシンC16に感受性である。しかし、Pro29を有する複数のSPアーゼを

50

持つファーマキューテスの、枯草菌およびE.フェカーリス (E. faecalis) は耐性である。これに対して、グラム陽性アクチノバクテリアのロドコッカス エクイおよびロドコッカス オパカス (Schimana et al., J. Antibiot. (Tokyo) 55, 565-570 (2002)) はPro29を欠き、それぞれアリロマイシンC16に感受性である。アクチノバクテリアのコリネバクテリウム グルタミカムはMet29を含む1つのSPアーゼを有し、アリロマイシンC16のMIC = 2 $\mu\text{g/ml}$ であるが、関連するアクチノバクテリアのコリネバクテリウム エフィシエンスはPro29を含む1つのSPアーゼを有し、MIC = 16 $\mu\text{g/ml}$ である。

【0439】

しかし、ラクトコッカス ラクティス属菌のクレモリスはLeu29を含む1つのSPアーゼを有し、アリロマイシンC16に感受性であるが、高度に関連するラクトコッカス ラクティス属菌のラクチイ (lactii) もLeu29を含む1つのSPアーゼを有し、耐性である。加えて、様々な他のラクトバチルス目、およびすべての調査したクロストリジウム属およびバクテリオデス門は、多くはPro29を含むSPアーゼを欠くという事実にもかかわらず、アリロマイシンに耐性である (MICはラクトバチルス目では $> 64 \mu\text{g/ml}$ で、クロストリジウム属およびバクテリオデス門では $> 16 \mu\text{g/ml}$)。最後に、黄色ブドウ球菌株のより広い調査により、それらはPro29を含むSPアーゼを有するためにアリロマイシン耐性であるとの予測にもかかわらず、下記の2つの株は実際はアリロマイシン感受性である：COL、テトラサイクリンおよびペニシリン耐性株 (MIC = 12 $\mu\text{g/ml}$)、およびRosenbach 328、MRSA株 (Pantosti and Venditti, Eur. Respir. J. 34, 1190-1196 (2009)) (MIC = 25 $\mu\text{g/ml}$)。

【0440】

表14は、アリロマイシンA-C₁₆およびアリロマイシンB-C₁₆の肺炎連鎖球菌、化膿連鎖球菌、およびストレプトコッカス アガラクティエに対する活性を示す。

【0441】

(表14)

菌株	MIC アリロマイシンA-C16 ($\mu\text{g/ml}$)	MIC アリロマイシンB-C16 ($\mu\text{g/ml}$)
肺炎連鎖球菌	8	16
化膿連鎖球菌	8	4
S. アガラクティエ	>128	8

【0442】

代表的なアリロマイシン感受性細菌のSPアーゼ配列

10

20

30

1_ロドコッカス エクイ ATCC 33707_GI# 296036237_触媒Ser残基69
(SEQ ID NO: 106)

VADAPQDPDVTPEDETEQEQTGGRSRRRRGKDKKPRSFWR EIPILIVVALLLSFLLQTFI
ARVYLIPSESMEPTLHGCPGCTGDRIVVEKISYRF G DPKPGDVVFRGPESWSEGY SST
RSDNVVVRGLQEVGSLGVVPPDENDLVKRVIATGGQTVECCDDQGRVLVDGKPLDEPY
ITMDFPFIPGVQTCDTAVKSGRCFGPVTVPDGLWVMGDNRSNSADSR YHVSD EMQGTI
PVDNVIGKATFIVLPPGRWGSISSPDIRQQ*

1_ロドコッカス エクイ ATCC 33707_GI# 296036237_触媒Serヌクレオチド
205-207 (SEQ ID NO: 107)

GTGGCAGATGCACCGCAGGACCCGGACGTGACGCCGGACGAGACCGAGCAGGAGCAGAC
CGGGGGACGGTCCCGCAGGCGCAGGGGGAAGGACAAGAAACCTCGATCGTTCTGGCGTG
AGATCCCGATCCTCATCGTCGTCGCCTTGCTGTTGAGTTTCTGCTGCAGACGTTTCATC
GCCCCGGTCTACCTCATTCGTCGTCGAGTCGATGGAGCCGACGCTGCACGGTTGCCCCGG
GTGCACCGGTGACCGCATCGTCGTCGAGAAGATCAGTTACCGATTTCGGCGACCCGAAGC
CCGGCGACGTCGTGGTCTTCCGCGGCCCGGAGTCGTGGTCCGAGGGATATTCGTCGACA
CGCTCGGACAACGTGGTGGTCCGCGGTCTGCAGGAGGTCGGCTCGCTCGTTCGGTGTCTGT
GCCGCCGGACGAGAACGATCTCGTCAAACGCGTCATCGCGACGGGTGGGCAGACCGTCG
AGTGCTGCGACGACCGAGGGCCGTGTCTGGTTCGACGGAAAGCCGCTCGACGAGCCGTAC
ATCACGATGGACTTCCCTTTTCATCCCCGGCGTGCAGACGTGTGACACCGCCGTGAAGTC
CGGACGCTGCTTCGACCCGTCACGGTTCCCGATGGGCACCTGTGGGTGATGGGCGACA
ACCGCAGCAATTCCGCGGATTTCGCGGTACCACGTCTCCGACGAGATGCAGGGCACGATT
CCGGTGGACAATGTGATCGGTAAGGCGACCTTCATCGTCTGCCCCCGGGCCGGTGGGG
ATCGATCTCGTCTCCCGACATCCGGCAGCAGTGA

10

20

2_ロドコッカス オパカス B4_GI# 226366004_触媒Ser残基72
(SEQ ID NO: 108)

VTSSKERALSSESETTGDSAATS AVNNGAAETEKPRSFRLRELPI LILVALVLSFLLQ
TFVARVYLIPSESMEPTLHG CAGCTGDRIVVEKIGYRF G DQPQGDVIVFRGPDSWSQDF
VSTRSSNVVIRGAQEVGSLVGLVPPDENDLVKRVIATGGQTVECCDDQGRILVDGQPID
EPYVVMDFPFVPGSQACDTALKSARCFGPVTVP EGH LWVMGDNRSNSADSR YHVGD DMQ
GTIPLDNVIGKAVFIALPPSRMGTISSPDIQ GK*

2_ロドコッカス オパカス B4_GI# 226366004_触媒Serヌクレオチド214-216
(SEQ ID NO: 109)

GTGACAGATTCTTCGAAGGAGCGGGCATTGTCGTCGGAATCCGAGACCACCGGCGATT C
GGCCGCCACCTCCGCAGTGAACGGCGGTGCGGCGGAGACCGAGAAGAAACCCGCTCCT
TCCTCCGCGAGTTGCCGATCCTGATCCTGGTTCGCGCTCGTCCTGAGTTTCTGCTGCAG
ACGTTTCGTCGCCCCGCTGTATCTCATTCCGTCGGAGTCGATGGAACCGACGCTGCACGG
GTGCGCGGGCTGCACCGGCGACCGCATCGTGGTTCGAGAAGATCGGCTACCGTTTCGGGG
ACCCGCAACCCGGTGACGTCATCGTGTTCGCGGGCCCGACTCGTGGTTCACAGGATTT C
GTCTCCACCCGTTCTTCCAACGTGGTGATCCGCGGTGCGCAGGAAGTCGGTTCCCTCGT
CGGACTCGTCCCGCCGGACGAGAACGACCTCGTCAAGCGTGTGATCGCCACCGGCGGTC
AGACCGTCGAATGCTGCGACGACCGAGGGCCGCATCCTGGTGGACGGACAACCGATCGAC
GAGCCCTACGTCGTCATGGACTTCCCTTCGTCCCCGGCTCCCAGGCCTGCGACACGGC
GCTGAAGTCGGCGCGCTGCTTCGGTCCCGTCACCGTCCCCGAGGGGCACCTGTGGGTGA
TGGGCGACAACCGCAGCAACTCCGCGGACTCCCGCTACCACGTCGGCGACGACATGCAA
GGCACCATCCCGCTCGACAACGTGATCGGCAAGGCGGTCTTCATCGCGTTGCCGCCGTC
GCGAATGGGCACGATCAGTTCACCCGATATCCAGGGCAAGTGA

30

40

3_ジフテリア菌 NCTC 13129_GI#

38234095_触媒Ser残基 90 (SEQ ID NO: 110)

MKRSVFSFCMMQQASLGVFHSMAETAARVLKVSSANNETVSPTEGVETHDKEKKQLPWF
VEIPVVVVVLTLLVITLLQTFVGRVYMIPSQSMEPTLHGCAGCTGDRIYVDKLAYRFGEF
EAGDVVVFAGTESWNTGFTTSRSENPLVRGIQNAGAFVGLVAPDENDLVKRIVATGGQT
VQCLEGDEGVKVDGKVIDSSYTLMPAYPVDQTTGSEACGGFYFGPIKVPPEGNYFMMGD
NRTNSADSRHYHIGDQYQGTIPKENLKGKVQFKIFPFNRIGAVEDYDIQQ*

3_ジフテリア菌 NCTC 13129_GI#

38234095_触媒Serヌクレオチド 268-270 (SEQ ID NO: 111)

ATGAAGCGCTCAGTTTTCTCTTTTTGTATGATGCAGCAAGCGTCGCTGGGCGTTTTTCA
TTCGATGGCTGAAACAGCTGCTAGAGTTCTCAAAGTGAGTTCAGCTAATAACGAGACTG
TGTCACCCACGGAAGGCGTCGAAACGCACGACAAGGAAAAGAAGCAACTGCCATGGTTT
GTGGAAATCCCTGTCGTCGTAGTGGTGACCTTCTTGTGATCACCTTGCTTCAAACGTT
CGTTGGACGGGTCTATATGATCCCAAGTCAGTCAATGGAGCCGACACTTCATGGATGTG
CAGGGTGTACCGGAGACCGAATTTATGTAGATAAGCTGGCTTATCGTTTTTGGTGAACCA
GAAGCCGCGCAGCTTGTAGTTTTTGCAGGTACAGAATCATGGAACACCGGATTTACCAC
TTCACGGTCAGAAAATCCTCTGGTTCGTGGAATACAAAATGCGGGTGCTTTCGTCGGAT
TAGTAGCACCAGACGAAAACGACCTTGTAACGACATCGTAGCAACAGGGGGTCAAACG
GTGCAGTGCCTTGAAGGCGATGAAGGTGTCAAAGTAGACGGTAAAGTCATCGACTCGTC
ATATACTCTGATGCCACCAGCGTATCCGGTCGACCAGACCACAGGATCAGAGGCGTGCG
GCGGCTTTTACTTCGGACCTATCAAGGTACCTGAAGGAAATTACTTCATGATGGGCGAT
AACCGGACAAACTCCGCGGATTCTCGTTACCACATTGGTGATCAGTATCAAGGCACCAT
CCCTAAAGAAAACCTCAAGGGGAAAGTTCAGTTCAAGATTTTCCCATTTAACCGTATTG
GTGCAGTCGAGGATTACGATATCCAACAGTGA

10

20

4_ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス MG1363_GI#

125625303_触媒Ser残基 35 (SEQ ID NO: 112)

MMKFLKEWGLFIFIIAAVLLSRVFIWSLVVVDGHSMDPTLADKERLVIVRRTTKINRFDI
VVAKENAADGSTKDIVKRVMGPDITIKFDHDQLTINNKVYPENYLKDYQKQLADGQLE
KTYGNYPLTKALTDQNRSLFVSLAQSTKAFTTDDSTGNPTFTVKVPDQYFLMGDNRVVS
QDSRAVGSFKRSAIIGEAKLRVWPLNKISFF*

4_ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス MG1363_GI#

125625303_触媒Serヌクレオチド 103-105 (SEQ ID NO: 113)

ATGATGAAATTTTTAAAGAATGGGGATTATTTATCTTTATAATTGCCGCTGTCCTTCT
CTCGCGCTCTTTATTTGGTCACTAGTTGTCGTTGATGGCCATTCAATGGACCCTACTT
TAGCCGATAAAGAAAGACTTGTAATTGTTAGAACGACAAAAATTAATCGTTTTGATATT
GTAGTTGCTAAAGAAAACGCGGCTGATGGTTCAACCAAAGATATTGTCAAACGTGTCGT
TGGGATGCCTGGGGACACTATAAAATTCGACCATGACCAACTTACTATCAATAATAAGG
TTTATCCAGAAAACCTATCTCAAAGACTATCAAAAACAATTGGCTGATGGTCAATTGGAA
AAAACCTTACGGGAACCTATCCTTTGACAAAAGCATTAAGTATCAAAATCGTAGTTTATT
TGTAAGCTTAGCTCAGAGCACCAAAGCTTTTACAACGGATAGTACTGGTAATCCAACCT
TTACAGTCAAAGTCCCTGACGGACAATACTTCTTGATGGGAGATAATCGTGTTGTGTCT
CAAGATAGCCGAGCAGTTGGAAGTTTCAAACGTTTCAGCGATTATTGGTGAAGCCAAATT
ACGAGTTTGGCCACTCAATAAAATTTCTTTCTTTTAA

30

40

5_コリネバクテリウム グルタミカム ATCC 13032_GI#

19553237_触媒Ser残基 67 (SEQ ID NO: 114)

VTDFSSASNADDSTQDGRPGRRAGKSKKESKPTWPYIEIPVVVVLTLALIFVLQTFVGR
MYMIPSGSMEPTLHGCEGCTGDRILVEKVSYYFTDPEPGDVVVFKGTDSDNVGFTTQRS
DNSVIRGLQNLGSYVGLVAPDENDLVKRIIATGGQTVSCQAGDPGIMVDGKEVDDSYTL
QPAQFPIDETSGSTECGNYFGPITVPGGNYFMMGDNRTNSMDSRYHLGDQYQGTIPEE
NIKGKVQAIILPFSRIGGVDDPAIKG*

5_コリネバクテリウム グルタミカム ATCC 13032_GI#

19553237_触媒Serヌクレオチド 199-201 (SEQ ID NO: 115)

GTGACTGATTTTTCTAGTGCTTCAAATGCTGACGATTCCACGCAGGACGGTCGTCCTGG
TCGACGTGCTGGAAAGTCTAAGAAGGAATCGAAGCCAACTCCGTGGTACATCGAAATTC
CAGTGGTGTGGTTTTGACCCCTCGCGCTGATTTTCGTGCTCCAGACGTTTGTTCGGACGC
ATGTACATGATTCCGAGTGGTTCGATGGAACCTACTTTGCACGGATGTGAGGGCTGCAC
GGGTGACCGCATCCTGGTGGAGAAGGTTTCTTACTACTTCACGGATCCAGAGCCGGGCG
ATGTTGTGGTGTTCGAAGGGTACTGATTCCTGGAACGTTGGATTCACTACGCAGCGTTCC
GATAATTCGGTGATCCGCGGCCTGCAGAACCTGGGTCTTACGTGGGTCTTGTTCGCACC
TGATGAAAATGACCTGGTCAAGCGCATTATCGCCACCGGCGGTGAGACTGTTTCGTGCC
AAGCCGGTGATCCTGGAATCATGGTTGACGGCAAGGAAGTCGATGACAGCTACACGCTG
CAACCTGCGCAATTCCTCATCGATGAGACCTCCGGTTCACCGAATGCGGCGGCAACTA
TTTCGGCCCCATCACCGTGCCTGGCGGCAACTACTTCATGATGGGTGACAACCGCACCA
ACTCCATGGATTCCCGCTACCACCTGGGCGATCAGTACCAAGGAACCATCCCTGAGGAA
AACATCAAGGGCAAAGTTCAAGCAATTATCCTGCCATTTAGCCGAATCGGTGGCGTCGA
CGACCCTGCCATCAAAGGCTAG

10

20

6_野兎病菌亜種ハラークティカ_GI#

89255957_触媒Ser残基 99 (SEQ ID NO: 116)

MEILNYILNLSFTFWLLFLTIASGLIYIIDFVFFQKSRLAAYTDELKGLSKKQKRQFYK
DRGLKAPFIADQARSLFSVFFVFLLRFLIGNFLIPTASMTPTLPVGDFIFVNKTAYG
IRAPFTNETLIKVGEPKRGDIVVFHFPVNPVDFVKRVIGLPGDVISYKDKMLTINGKK
LEYTNCNRDAMNYYNQSLAAGSGDTVCTENLDGVKHEVDWIESIKGTDENLKVPAQY
FVMGDNDRNSEDSDRYWGFVPDKDLVGKAKVVWMSWDKIDKKVRWDEIGKVF*

6_野兎病菌亜種ハラークティカ_GI#

89255957_触媒Serヌクレオチド 295-297 (SEQ ID NO: 117)

ATGGAAATCTTAAACTATATTTTAAACTTGAGCTTTACTTTTTGGCTTTTATTCTTAAC
CATTGCCAGTGGTTTAATTTATATTATTGATTTTGTGTTCTTCCAAAAATCAAGATTAG
CAGCATATACAGATGAATTTAAAGGTCTTTCTAAGAAGCAAAAACGTCAGTTCTATAAA
GATAGAGGATTAAAGCACCTTTTATTGCTGATCAGGCGAGATCTTTATTTAGTGTATT
TTTTGTAGTTTTTCTACTTAGAACCTTCTTGATTGGTAATTTTTTAATTCCAACCTGCAT
CAATGACACCAACACTTCCAGTTGGTGATTTTATTTTTGTCAATAAAACTGCTTATGGT
ATCAGAGCACCATTACCAATGAGACTTTAATAAAAAGTTGGTGAACCCAAAAGAGGTGA
TATTGTAGTATTTTCAATTTCCAGTTAATCCTAATGTTGATTTTGTAAAACGAGTGATCG
GTTTGCCTGGCGATGTAATTTTCGTATAAAGACAAAATGTTGACAATAAATGGTAAAAA
CTTGAATATACTAATTGTAATCGTGATGCAATGAACTATTATAATCAGTCTTTAGCTGC
TGGTAGTGGCGATACAGTATGTACGGAACCTTGATGGAGTTAAACATGAGGTTGATT
GGATAGAGTCTATAAAGGGAACCTGATTTTGAACCTTAAAGTCCCAGCAGGTCAATAC
TTTGTGATGGGAGATAATCGTGATAATAGTGAAGATAGTCGTTATTGGGGTTTTGTACC
TGACAAAGATCTAGTTGGTAAAGCAAAAGTTGTTTGGATGAGCTGGGATAAGATAGATA
AAAAGGTTTCGCTGGGATGAAATTGGTAAGGTCTTTTAA

30

40

7_カンピロバクター ジェジュニ RM1221_GI# 57237697_触媒Ser残基 38

(SEQ ID NO: 118)

MEILKKLYKFSQSWTGTVVIVLLVIFFFIQAQFVIPSGSMKNTLLVGDFLFVKKFSYGIP
TPHIPWLEIPVLPDFNKGHLIKAQGSQRGDIVVFRNPRNEKEHFVKRCVGTGGDRIVY
ANKTLYVRMHEGDEFMKEHYPNDLVTLGGQIYVKEPYKQKGIHYDPKKDIESDILRFLS
IGDFAMSPTYIKELGNHIGFSGGNAYVFDVPENEYFMMGDNRDYSYDSRFWGSVPYRLI
VGKPWFVYFSWDKDKNVRWERIGRFVDTLENDEQYIHDHDDKLS*

7_カンピロバクター ジェジュニ RM1221_GI# 57237697_触媒Serヌクレオチド

112-114 (SEQ ID NO: 119)

ATGGAAATTTTAAAGAAATTATATAAAATTTTACAGTCTTGGACTGGAAGTGTAGTTAT
TGTTCTTTTGGTGATTTTTTTCTTTATACAAGCTTTTGTATTCTTCTGGTTCTATGA
AAAACACCTTATTGGTAGGGGATTTTTTATTTGTTAAAAAATTTAGCTATGGTATCCCA
ACTCCTCATATTCTTGGTTGGAAATTCCTGTTTTGCCAGATTTCAATAAAGATGGGCA
TTTGATAAAAGCACAAAGGGTCACAAAGAGGAGATATAGTTGTTTTTAGAAATCCTAGAA
ATGAAAAAGAACACTTTGTAAAGCGTTGTGTAGGCACAGGAGGAGATAGGATAGTTTAT
GCAAATAAAACACTTTATGTAAGAATGCATGAGGGTGATGAATTTATGAAAGAACATTA
TCCGAATGATCTTGTACTCTTGGAGGGCAAATTTATGTAAAAGAACCTTATAAACAAA
AAGGTATTCATTATGATCCAAAAAAGATATAGAAAGCGATATTTTACGCTTTCTTAGC
ATAGGTGATTTTGCTATGTCTCCAACCTTATATTAAAGAACTTGAAATCATATAGGTTT
TAGCGGCGGAAATGCTTATGTTTTTGATGTGCCTGAAATGAGTATTTTATGATGGGTG
ATAATCGCGATTATTTCTTATGATAGTCGTTTTTGGGGTTCTGTTCTTATAGGTTGATA
GTAGGTAAACCTTGGTTTGTATATTTCTCTTGGGATAAAGATAAAAAATGTTTCGCTGGGA
AAGGATAGGGCGTTTTGTTGATACCTTGGAAAATGATGAACAATATATCCATGATCATG
ATGATGAGGATAAATTAAGCTAA

10

20

8_ピロリ菌 HPAG1_GI# 108562981_触媒Ser残基 38

(SEQ ID NO: 120)

MKFLRSVYAFCSWVGTVIVIVLLVIFFFVAQAFIIPSRSMVGTLYEGDMLFVKKFSYGIP
IPKIPWIELPIMPDKNNHGLIEGDRPKRGEVVVFIPHEKKSYYVKRNFAIGGDEVLF
TNEGFYLHPFESGNDKDYIAKHYPNAMTKEFMGKIFVLNPKSKHPGIHYQKDNETHL
MEQLATQGAEANISMQLIQMEGEKVYFKKINSDEFFMIGDNRDNSDSRFWGSVAYKNI
VGSPWFVYFSLSLKNSLEMDAENNPCKRYLVRWERMFKSVEGLEKIIKKEKATH*

30

8_ピロリ菌 HPAG1_GI# 108562981_触媒Serヌクレオチド 112-114

(SEQ ID NO: 121)

ATGAAATTTTACGCTCTGTTTATGCATTTTGCTCCAGTTGGGTAGGGACGATTGTTAT
TGTGCTGTTGGTTATCTTTTTTGTGCGCAAGCTTTCATCATTCCTCTCGCTCTATGG
TAGGCACGCTCTATGAGGGCGACATGCTCTTTGTCAAAAAATTTTCTTACGGCATAACC
ATTCTTAAATCCCATGGATTGAGCTTCCTATTATGCCTGATTTTAAAAATAACGGGCA
TTTGATAGAGGGGGATCGCCCTAAGCGCGGCGAAGTGGTTCGTATTTATCCCCCCCCATG
AAAAAAAATCTTACTATGTCAAAAGGAATTTTGCCATTGGGGGCGATGAGGTGCTATTC
ACTAATGAGGGGTTTTATTTGCACCCTTTTGAGAGCGGCAACGATAAAGATTATATTGC
TAAACATTACCCTAACGCCATGACTAAAGAATTTATGGGTAAAATTTTTGTTTTAAACC
CTTATAAAAGTAAGCATCCGGGTATCCATTACCAAAAAGACAATGAAACCTTCCACTTA
ATGGAGCAGTTAGCCACTCAAGGTGCGGAAGCTAATATCAGCATGCAACTCATTCAAAT
GGAGGGCGAAAAGGTGTTTTACAAGAAAATCAATAGCGATGAATTTTTCATGATCGGCG
ATAACAGAGACAATTCTAGCGACTCGCGCTTTTGGGGGAGTGTGGCTTATAAAAAACATC
GTGGGTTTCGCCATGTTTGTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTTATTTT
TGCAGAAAACAACCCCAAAAAACGCTATTTTGGTGCCTTGGGAACGCATGTTTAAAAGCG
TTGAAGGCTTAGAAAAAATCATTAAAAAAGAAAAAGCAACGCATTAA

40

9_瘡プロピオニバクテリウム J139_GI# 282854577_触媒Ser残基 69

(SEQ ID NO: 122)

VADDYRARRAANGDTRDSDDATARGEQASGWQRFRRSGAIEVVLIVVGALIIISAVLRGFV
AQMFIPIPSKSMQNTLQVGDRVIAVKAADFHRGDVVVKDTEHWLPAVQDRRSVPGQILE
FVGLLPNKSSNYLIKRVIGMPGDTVACCNVNGQVTVNGKALDERSYLYSENGEMVKPSA
MEFRVTVPGRGRMFVLGDHRNASGDSRYHLQDLDPGEYTGAPAFVPLDDVVGPAAKAILMP
LNRIEGLGTPNTFRGIPDRSSSAPAKARICVGNTCCPK*

9_瘡プロピオニバクテリウム J139_GI# 282854577_触媒Serヌクレオチド 205-207

(SEQ ID NO: 123)

GTGGCGGATGACTACCGGGCGAGGCGGGCTGCAAACGGCGACACCAGGGACTCTGACGA
TGCAACAGCACGTGGGGAACAGGCGTCTGGGTGGCAGCGCTTTCGGTCGGGGGCCATCG
AAGTTGTTCTCATCGTCGTTGGTGCCCTCATCATCTCAGCTGTGCTGCGTGTTTCGTC
GCTCAGATGTTTGTTCATCCCGTCGAAGTCCATGCAAAACACCTTGCAGGTGGGTGACCG
CGTGATCGCGGTGAAAGCCGCCGATTTTCATCGGGCGACGTCGTCGTGTTCAAAGACA
CCGAACATTGGTTACCTGCTGTTTCAAGGATCGCCGCTCTGTTCCAGGACAGATCCTCGAA
TTCGTCGGGTTGTTGCCTAACAAAGAGCTCGAACTACCTCATTAAGCGAGTGATCGGCAT
GCCTGGGGACACCGTTGCCTGCTGCAACGTCAACGGCCAGGTGACCGTCAACGGTAAGG
CGCTTGACGAGCGGTCATACCTGTACTCCGAAAATGGTGAAATGGTTAAACCCTCGGCG
ATGGAATTCCGGGTCACTGTTCTCGGGGCGGATGTTTGTCTTGGGGGACCATCGCAA
TGCCTCGGGTGACTCGCGCTATCACCTCCAAGACCTTGATCCGGGTGAGTATACGGGCG
CTCCTGCGTTTGTGCCGCTCGATGACGTCGTTGGGCCGGCAAAGGCCATTCTTATGCCT
CTCAATCGCATTGAGGGACTGGGGACTCCTAACACTTTCCGGGGAATCCCGGATAGGTC
GTCGTCAGCTCCAGCCAAGGCGCGCATCTGCGTCGGTAACACGTGCTGCCCTAAGTGA

10

20

10_トラコーマ病原体 434/Bu_GI# 166154241_触媒Ser残基 113

(SEQ ID NO: 124)

MTSSYSRLYSLNKSRRILHSSFRLKSTKMLSHPETQKELQEVVKQLEEAILEDQNRD
ASLFAKQAQAIQKRFPKSKLRATFDLIYALTFAAILAFLIRQFWFELYEVPTGSMRPTI
LEQDRILVSKTTTFLRLPFSNRSIGYTPEAITRGELVVFTVGDLPINADTKYFGIIPG
KKRYIKRCMGKPGDTVYFYGGKIYGIDCDGEPIFPQNTENLYHVPYISFDGTPEILTHS
EEQTDVIFNQFHTPCGKISLPQQASYGQFFYKNAWHNDTPYALKDPHNEPVSYADLFGI
KNFAMVRILTCKQAALTHVLPSPSLDTYPEIAHTPNVSYPHPLRPFETQLIPTIEPMK
TLLPLRKEHIHLIRNNLTTSRFTVVDGYAYKYQPAPMNTSGMVRMFALPMPNIPDGCYE
FSKGDVFKINMGGFRTKLKQPHPLTQLSNSQVIDLFNCGISFHTIYIPKNPQYAPFPNR
YAFFNQGNLFVMDSPVFIIDSPALQKFIVSEEEKELQSSDKPYIAFIDRGPPPESTEE
FVSFITNFGKIPGHEHVLVLGDNCPMSADSRDFGFVPVENLLGSPVGIFWPINRLGLLS
SNITPLSLPGYLVNGLALGAFLYICIGLWYYRKNHRLFP*

30

10_トラコーマ病原体 434/Bu_GI# 166154241_触媒Serヌクレオチド 337-339

(SEQ ID NO: 125)

ATGACGAGCAGTTACATGAGTCGCTTATATTCCCTGAATAAGAGTCGTCGCATTCTTCA
TTCTTCCTTTATGATTGCTGAAAAGCACAAAAATGCTCTCTCATCCGAAACTCAAAAAG
AACTACAAGAAGTCTTGAACAGCTTGAAGAGGCTATTTTGGATCAGAATAGGGAAGAT
GCTTCCCTTTTTGCTAAGCAAGCTCAAGCCATACAAAAAAGATTCCCTAAATCCAAACT
CCGAGCTACTTTTGATCTTATCTATGCTTTGACGTTTGCTGCCATTCTTGCTTTTTTAA
TCCGCCAGTTCTGGTTTGAGCTATATGAAGTTCCTACAGGATCTATGCGGCCTACTATT
CTTGAACAAGATCGTATTCTTGTTTCCAAAACAACATTTGGACTCCGGCTACCTTTTAG
TAACAGAAGTATTGGCTATACACCTGAGGCTATCACTCGAGGAGAACTGGTAGTCTTCA
CTGTTGGAGATCTTCCCTATCCCTAATGCCGACACTAAGTATTTTGAATCATCCCTGGG
AAAAAACGCTATATAAAACGGTGCATGGGTAAACCTGGAGATACCGTATATTTTATGG
AGGGAAAATTTATGGGATCGATTGCGACGGAGAGCCCATCTTCCCCCAAATACAGAGA
ATCTCTACCACGTCCCCTATATTTCTTTTGACGGAACCTCCAGAAATTCTTACCCATTCA
GAAGAGCAAACAGATGTGATCTTTAACCAATTTACACACCTTGTGGAAAGATTTCTCT
CCCTCAACAGGCTTCTTATGGACAATTTTCTATAAGAATGCTTGGCATAATGATACTC
CCTATGCTTTAAAAGATCCTCATAATGAGCCTGTTAGCTATGCCGATCTATTCCGAATA
AAAAATTTTGCAATGGTTCGCATCCTTACCAAAAAACAAGCTGCTCTTACTCATGTCCT
TCCCTCTCCTCTTTCGGACACCTACCTAGAAATTGCCACACTCCTAATGTTTCCCTATC
CTCACCTCACTTACGTCCATTGAAACACAGCTTATTCTTACTATCGAACCTATGAAA
ACCTTGCTTCCTTTAAGGAAGGAACATATTCATTTGATTGTAATAACCTCACACATC
CCGTTTTACAGTTGTAGATGGATATGCTTACAAGTACCAACCTGCTCCCATGAATACCT
CAGGCATGGTCAGGATGTTTGCCCTACCTATGCCAAATATTCCTGACGGATGTTATGAA
TTTTCTAAAGGAGACGTGTTTAAATCAATATGGGTGGCTTTCGAACAAAACCTCAAACA
GCCGCATCCTTTAACGCAATTAAGCAATTCTCAGGTCATTGACTTATTTAATTGCGGCA
TTAGTTTCCACACGATCTATATTCCTAAAAACCTCAATATGCTCCGTTCCCTAATCGC
TATGCATTTTTCAATCAAGGGAACCTGTTTCTTATGGATTCTCCAGTTTTTATTGATAG
CGATCCTGCCTTACAGAAATTCATTGTGTCTGAAGAGGAAAAAGAACTTCAATCATCTG
AAGACAAACCTTACATCGCATTTATTGACAGAGGTCCTCCTCCAGAATCTACAGAGGAA
TTTGTTTCCTTTATTACTAATTTCCGGTCTTAAATTCGGAAGGCCACGTGCTTGTCTT
AGGAGATAATTGTCCTATGAGCGCTGATAGCCGTGATTTTGGTTTTGTTCCCGTTGAAA
ATCTTTTGGGATCTCCTGTTGGGATCTTCTGGCCTATTAATCGTCTAGGATTGTTATCT
TCCAATATAACGCCCTTGAGTTTACCTGGCTACCTCGTAAATGGATTGGCTCTAGGAGC
TTTTCTTTACTGCATAGGATTATGGTACTATCGAAAAAACCATAGGCTATTCCCTTAA

10

20

30

11_クラミドフィラ ニューモニエ CWL029_GI# 15618034_触媒Ser残基 108

(SEQ ID NO: 126)

MKQHYSLNKSRHILRSTYKLLKSKKLAHSPADKKQLQELLEQLEEAIFEHDQETASDLA
QQALAFSNRYPNSFGRKTYELIKALLFAGVVAFLVRQFWFELYEVPTGSMRPTILEQDR
ILVSKTTFGLHCPFAKKPLAFNPESVTRGGLVVFTVGDLPDADTKYFGLIPGKKRYI
KRCMGRPGDFLYFYGGKIYGLDDAGKRIEFPSVHGLENLHYVPYISFDGTTSSHTEGQK
TIIDFKQFNQSYGRLIFPQTSMYGQFFDHKEWHQDEPNKLKDPHLSPVSYADLFGMGNY
AMVRILTEHQARTSHLLPNPGSPTKVYLEICHTANLSYPKPLLRHYEHQLSPAIQPMKT
LLPLRKEHLHLIRNNLTTSRFIVAQGCAYKYHQFKINTSGIAKAYAILLPKVPDGCY EY
SKGEAYQIGFGEIRYKLKSSHPLTQLNDKQVIELFNCGINFSSIYNPNVPLQAPLPNRY
AFFNQGNLYIMDSPVFIKNDPTLQKFVTSETEKQEGSSETQPYIAFVDKGLPPEDFKEF
VEFIHNFQIQVPKGHVLVLGDNYPMSADSREFGFVPMENLLGSPLCTFWPIGRMGRLTG
VSAPTTLSGYLVSGIALATGLSLIGVYYYQKRRRLFPKKEEKNHKK*

40

11_クラミドフィラ ニューモニエ CWL029_GI# 15618034_触媒Serヌクレオチド

322-324 (SEQ ID NO: 127)

ATGAAACAACACTATTCTCTAAATAAAAAGTCGTCATATCCTCCGCAGTACTTATAAGCT
TTTAAAAAGTAAAAAACTCGCCCATTCCCCTGCAGATAAAAAGCAACTGCAAGAACTAC
TAGAACAACTAGAAGAGGCTATCTTTGAACATGATCAAGAACTGCAAGCGACTTAGCT
CAGCAAGCATTAGCATTTCCTCAACCGTTATCCTAATTCCCTTCGGACGCAAAACCTATGA
GCTTATCAAGGCCCTTCTTTTTGCTGGTGTGTAGCCTTCTTAGTTTCGGCAATTTTGGT
TTGAACTTTATGAAGTGCCTACAGGATCCATGAGGCCTACAATTTTAGAACAGGATCGG
ATTCTTGTATCCAAAACAACATTTGGTCTCCATTGCCCTTTTGCTAAGAAACCACTTGC
CTTCAATCCTGAATCCGTAACTCGCGGGGGTCTTGTGTGTTTTCACTGTAGGCGACCTCC
CTATCCCAGATGCTGATACAAAGTACTTCGGATTGATTCCAGGAAAAAAGCGTTACATT
AAACGTTGCATGGGAAGACCTGGGGACTTCTTATATTTCTATGGAGGAAAAATTTATGG
TCTTGATGATGCAGGTAAACGCATAGAGTTTCCTTCTGTCCATGGTTTAGAAAACTTAT
ATCACGTCCCCTATATATCCTTTTGATGGCACTACCAGCAGCCATACAGAAGGGCAGAAA
ACAATTATAGATTTTAAAGCAGTTCAATCAAAGTTATGGTCGGCTGATTTTCCCTCAAAC
CTCCATGTATGGACAATTCTTTGACCATAAAGAATGGCATCAAGACGAGCCTAATAAAT
TAAAAGATCCTCATCTTTTCGCCAGTCAGCTATGCCGATCTTTTTTGGTATGGGTAACAT
GCTATGGTGCATCTTAAACAGAACATCAGGCACGAACATCCCATCTACTTCCGAATCC
AGGAAGTCCAATAAGTCTACTTAGAAATTTGCCATACAGCGAACCTTTCTACCCAA
AGCCTCTGTTGCGTCACTATGAGCATCAGCTCTCGCTGCGATTCAACCTATGAAGACT
TTACTTCCTTTGCGTAAGGAACATTTGCACTTAATTCGGAACAATCTTACTACCTCTCG
TTTTATTGTTGCTCAAGGATGTGCGTATAAATACCATCAATTCAAGATTAACACTTCAG
GAATTGCCAAAGCCTATGCAATTCTCCTGCCCAAGGTCCCTGATGGTTGTTATGAATAT
TCTAAAGGCGAAGCGTATCAAATTGGCTTTGGAGAGATTTCGTTATAAGCTAAAATCTTC
TCACCCCTTACTCAGCTCAATGATAAGCAAGTGATTGAACTTTTAACTGCGGGATCA
ACTTTAGTTCTATTTATAATCCTGTGAATCCGCTGCAAGCACCTTTACCTAACCGTTAT
GCATTCTTTAACCAAGGGAATCTTTATATCATGGATTCTCCTGTATTTATAAAGAATGA
TCCAACCTCTGCAAAAATTTGTGACTTCTGAAACGGAAAAGCAAGAGGGGTCTTCAGAGA
CACAACCTATATAGCTTTTGTGACAAGGGACTCCCTCCAGAAGATTTTAAAGAATTC
GTGGAGTTTATACATAATTTTGGTATTCAAGTTCCCTAAAGGTCATGTTCTCGTCTTGGG
AGATAACTACCCTATGAGTGCGGATAGTCGAGAATTTGGCTTTGTTCCCTATGGAAAATC
TCTTAGGATCTCCTCTATGTACATTCTGGCCTATTGGACGCATGGGACGGTTAACTGGA
GTTTCTGCTCCAACAACACTCTCAGGTTATCTTGTAGTGGGATAGCATTAGCGACGGG
TCTCTCTCTCATTGGATATGTCTACTATCAAAAACGACGCAGACTCTTTCCTAAGAAAG
AGGAGAAAAACCACAAGAAATAA

10

20

30

12_スタフィロコッカス カルノーサス亜種カルノーサス TM300_GI#

224476066_触媒Ser残基 36 (SEQ ID NO: 128)

VKKEIKEWIIAIAIALVLVLVITNFIKSYTVRGDSMYPTLKDGEKVIVNMIGFKTGGL
EKNVIVFHATKNSDYVKRVIGMPGDSIEYKHDQLYVNGKKVKEPYLDYNEKHKSIDEI
TGSFKVKNLPNANGSNTIPKNKLLVLGDNREVSKDSRSFGLIDEDQVVGVSLRYWPF
T
SFKVNFNPDTKY*

12_スタフィロコッカス カルノーサス亜種カルノーサス TM300_GI#

224476066_触媒Serヌクレオチド 106-108 (SEQ ID NO: 129)

GTGAAGAAAGAAATTAAAGAGTGGATAATAGCCATAGCAATAGCTTTGGTATTAGTTCT
AGTCATAACAAATTTTCATTGCGAAATCATATACGGTTCGTGGTGATTCAATGTATCCAA
CGCTAAAAGACGGAGAAAAAGTTATCGTTAATATGATTGGATTTAAACTGGCGGTTTA
GAAAAAGGTAATGTGATTGTATTCCACGCTACTAAAAACAGCGACTACGTAAACGTGT
TATCGGTATGCCTGGTGACAGTATTGAATATAAACATGATCAATTGTATGTTAATGGTA
AAAAAGTGAAAGAACCTTATTTAGATTATAATGAAAAACATAAAAGCTATGATGAAATT
ACAGGTAGCTTTAAAGTGAAAAATTTACCTAATGCAAATGGTTCAAACACAATTCCTAA
AAACAAACTTCTTGATTAGGAGATAACCGTGAAGTCAGTAAAGACAGCCGTTTCATTTCG
GTTTAATTGATGAAGATCAAGTTGTTGGTAAAGTAAGCTTGCCTTATTGGCCGTTTACA
TCTTTCAAAGTAACTTTAATCCGGATACAAAATATTAA

40

13_スタフィロコッカス ヘモリチカス JCSC1435_GI#
70726986_触媒Ser残基 36 (SEQ ID NO: 130)
LKKEIVEWIVAI AVGLLLVWVMVNFVAKSYTIKGDSMDPTLKDGEHVMVNILGYKVGDI
KKGNVIVFHANQQDDYVKRVIGVPGDNVIYKNDKLYVNGKKINEPYLDYNEKRKQGEYI
TGSFETKDLLNANPKSNIIPKGKYLVLGDNREVS KDSRAFG LIDRDQIVGKVSFRFWPF
SEFKFNFPDNEK*

13_スタフィロコッカス ヘモリチカス JCSC1435_GI#
70726986_触媒Serヌクレオチド 106-108 (SEQ ID NO: 131)
TTGAAGAAAGAAATAGTTGAATGGATTGTTGCCATAGCGGTAGGTTTATTACTTGTATG
GGTAATGGTTAACTTCGTAGCTAAATCATATACTATAAAAGGCGATTCAATGGATCCAA
CACTAAAAGATGGCGAACACGTCATGGTTAACATTCTAGGATATAAAGTTGGAGACATA
AAAAAAGGTAATGTAATCGTATTTTCATGCGAATCAACAAGACGATTATGTTAAACGTGT
CATTGGTGTACCTGGCGATAACGTTATTTATAAAAATGATAAACTATATGTTAATGGTA
AAAAGATAAATGAACCTTATCTTGATTACAATGAAAAACGTAAACAAGGTGAATATATT
ACGGGTTTCATTTGAAACTAAAGATTTACTAAATGCAAATCCTAAATCAAATATCATACC
AAAAGGTAAATACTTAGTTTTAGGTGATAACAGAGAAGTCAGTAAGGATAGTAGGGCGT
TTGGTTTAATTGATAGAGATCAAATTGTTGGTAAAGTATCATTTAGATTTTGGCCATTC
AGTGAATTTAAGTTTAATTTTAATCCAGATAATGAAAAATAA

10

14_スタフィロコッカス ヘモリチカス JCSC1435_GI#
70727661_触媒Ser残基 36 (SEQ ID NO: 132)
LKKEIIEWIVAI GGALLIVGIVLKF IGTSYTVSGSSMYPTFQDRNKVIVSKI SKTLNHI
DNGDVVVFHEDAQRDFIKRVIGTPGDKVEYEGDQLYVNDKKVSEPYLDYNKKHKQ GKYL
TGTFKTSQVNGANGKNKIPKDKYLV LGDNRQNSVDSRLAEVGLVDKDQLVGKVVLRYWP
FNKWEAGFNPGTF*

20

14_スタフィロコッカス ヘモリチカス JCSC1435_GI#
70727661_触媒Serヌクレオチド 106-108 (SEQ ID NO: 133)
TTGAAAAAAGAGATAATTGAATGGATTGTAGCCATTGGTGGCGCACTCTTAATTGTAGG
TATTGTATTAAAGTTTATTGGAACATCATACACAGTATCAGGTTTCATCGATGTATCCAA
CTTTCCAAGATAGAAATAAAGTGATAGTTAGTAAGATTTTCGAAAACATTGAACCACATT
GATAATGGTGATGTCGTTGTCTTCCATGAAGATGCACAACGTGATTTTATTAAGCGTGT
GATTGGTACGCCAGGTGATAAAGTTGAGTATGAAGGTGATCAATTATATGTTAATGACA
AAAAGGTATCAGAGCCTTATTTAGATTATAATAAGAAGCATAAACAAGGTAAGTATTTA
ACAGGTACATTTAAAACAAGCCAAGTGAACGGAGCAAATGGTAAAAATAAAATTCCTAA
AGATAAGTATTTAGTTTTAGGTGATAACAGACAAAATAGTGTAGATAGCCGTTTGGCTG
AAGTTGGTTTAGTAGATAAAGACCAACTTGTAGGTAAAGTTGTTTTAAGATATTGGCCA
TTTAATAAATGGGAAGCAGGTTTTAACCCAGGCACATTTTAG

30

15_表皮ブドウ球菌 ATCC 12228_GI#

27467580_触媒Ser残基 36 (SEQ ID NO: 134)

LKKEILEWIVAI IAVAIALIAIITKFV GKSYSIKGDSMDPTLKDGERVVVNIIGYKLGGV
EKG NVIVFHANKKDDYVKRVIGTPGDSVEYKNDTLYVNGKKQSEPYLNYNEKRKQTEYI
TGSFKTKNLPNANPQSNVIPKGKYLVLGDNREVSKDSRSFGLIDKDQIVGKVSLRYWPF
SEFKSNFNPNTKN*

15_表皮ブドウ球菌 ATCC 12228_GI#

27467580_触媒Serヌクレオチド 106-108 (SEQ ID NO: 135)

TTGAAAAAAGAAATTTTAGAGTGGATTGTTGCCATAGCCGTTGCCATTGCACTTATTGC
CATAATCACTAAATTTGTCTGGAAAAATCATATTCTATTAAAGGTGATTCAATGGATCCTA
CATTAAAAGATGGGGAGCGTGTAGTGGTAAATATTATTGGCTATAAAATTAGGTGGCGTT
GAAAAAGGAAATGTCATTGTATTTTCATGCTAATAAAAAAGATGATTATGTTAAAAGAGT
TATTGGAACCTCCAGGAGATAGTGTGAATATAAAAAATGATACACTCTATGTTAATGGTA
AAAAGCAATCAGAACCATACTTGAACATAATGAAAAACGTAAGCAAACTGAGTATATC
ACAGGTAGTTTCAAAACAAAAAATTTACCAAATGCTAATCCTCAATCTAATGTTATTCC
TAAAGGTAAATATTTAGTTTTTGGGGGATAACCGTGAGGTAAGTAAAGATAGTCGTTTCAT
TCGGTTTAATTGACAAAGACCAAATTGTTGGAAAGGTATCGCTCAGATATTGGCCTTTC
AGTGAATTTAAATCTAACTTTAATCCAAATAACACTAAAAATTAA

10

16_表皮ブドウ球菌 ATCC 12228_GI#

27469315_触媒Ser残基 36 (SEQ ID NO: 136)

MKKEIIEWIVAI IVAIVIVTLVQKFLFASYTVKGASMHPTFENREKVIVSRIAKTLDHI
DTGDVVIVFHANAKQDYIKRLIGKPGDSVEYKKDQLYLNKGKVDPEPYLSENKKHKVGEYL
TENFKSKDLKGTNGNMKIPSGKYLVLGDNRQNSIDSRMDEVGLLDKNQVVGKVVLRYWP
FNRWGGSFNPGTFPN*

20

16_表皮ブドウ球菌 ATCC 12228_GI#

27469315_触媒Serヌクレオチド 106-108 (SEQ ID NO: 137)

ATGAAGAAAGAAATAATAGAATGGATTGTAGCCATAATCGTTGCAATTGTTATCGTCAC
ACTTGTGCAAAAGTTTTTATTTGCTTCTTATACAGTCAAAGGAGCGTCTATGCATCCAA
CATTTGAAAATAGAGAAAAAGTGATAGTAAGTCGTATAGCAAAAACACTTGATCATATT
GATACAGGAGATGTAGTGATTTTTTCATGCTAACGCGAAGCAAGATTATATTAAGCGACT
TATTGGTAAACCAGGTGATTCAGTAGAATATAAAAAAGATCAACTATATTTAAACGGTA
AAAAAGTAGATGAGCCTTATTTAAGTGAAAATAAAAAACATAAAGTTGGAGAATATCTA
ACGGAAAACCTTTAAGTCTAAAGATCTTAAGGGTACGAATGGCAATATGAAAATTCCTAG
TGGTAAATACTTGGTTTTAGGTGATAATCGTCAAAACAGTATTGACAGTCGCATGGATG
AAGTAGGTCTTTTAGATAAAAATCAAGTTGTTGGAAAAGTAGTTTTGAGATACTGGCCA
TTAATCGGTGGGGCGGTAGTTTTAATCCTGGAACATTTCTAACTAA

30

17_スタフィロコッカス ホミニス SK119_GI# 228474322_触媒Ser残基 36

(SEQ ID NO: 138)

LKKEITEWIVAIAGVGLLLVWLVTTFVAKSYTIKGDSDPTLKDGGQHVMMVNILGYKVGNI
KKGNVIVFHANQSDDYVKRVIGVPGDSVTYKKDQLYINGKKVNEPYLDYNEKHKQGEYI
TGSFETKDLLNAHPNSNVIPKNKYLVLGDNREVS KDSRAFGGLIDKQQIVGKVSFRFWPL
NNFKFNFNPDK*

17_スタフィロコッカス ホミニス SK119_GI# 228474322_触媒Serヌクレオチド

106-108 (SEQ ID NO: 139)

TTGAAAAAAGAAATAACAGAATGGATTGTTGCGATAGCTGTAGGTTTATTGCTCGTATG
GCTTGTTAGTCACTTTTGTGGCCAAATCCTATACAATAAAAGGTGACTCAATGGATCCAA
CATTAAAAGATGGGCAACATGTGATGGTTAACATTTTAGGTTATAAGGTAGGAAACATA
AAAAAAGGAAATGTTATTGTCTTCCATGCTAATCAATCTGATGACTATGTTAAAAGAGT
AATAGGCGTACCAGGAGATAGTGTGACATATAAAAAAGATCAGCTATATATTAATGGGA
AAAAGGTAAATGAGCCTTACTTAGACTATAATGAAAAACATAAACAAGGAGAGTACATT
ACTGGATCTTTTGAAACTAAGGATCTTCTTAATGCTCATCCTAACTCTAACGTTATTCC
TAAAAATAAATACTTAGTATTAGGAGATAACCGTGAAGTTAGTAAAGATAGTAGAGCGT
TTGGATTAATAGATAAACAACAATCGTCGGTAAAGTATCATTTTAGATTTTGGCCATTA
AATAATTTTAAATTTAATTTTAATCCAGATAAGTAG

10

18_スタフィロコッカス ルグドゥネンシス HKU09-01_GI#

289551204_触媒Ser残基 36 (SEQ ID NO: 140)

VKKELTEWLIATVGIILVILIINFVAKSYTIKGDSDMNPTLKDGDHVLVNIIGYKVGTV
KKGNVIVFHANQKDDYVKRVIGTPGDKVYYRDDQLIINGKKVKEPYLEYNMKRKQGEYI
TGSLDIKDLAGAKHNSNVIPQHKYLVLGDNREVS KDSRAFGGLIDEKQIVGKVS LRFWPL
TDFKFNFNPDMS*

20

18_スタフィロコッカス ルグドゥネンシス HKU09-01_GI#

289551204_触媒Serヌクレオチド 106-108 (SEQ ID NO: 141)

GTGAAAAAGGAATTGACAGAATGGTTAATAGCTATAGCGGTAGGTATTATTTTAGTCAT
ACTAATCATTAATTTTGTAGCGAAATCATATACCATTAAAGGAGACTCAATGAATCCAA
CATTAAAAGATGGCGATCATGTTCTGGTCAATATTATCGGCTATAAAGTAGGCACTGTG
AAAAAGGGGAATGTCATTGTCTTCCATGCTAACC AAAAGGATGATTATGTTAAACGCGT
TATAGGCACACCAGGTGACAAAGTATACTATCGAGATGATCAACTTATTATAAACGGAA
AAAAAGTAAAGAACCTTATCTCGAATACAATATGAAACGTAAGCAAGGAGAGTATATT
ACTGGATCTTTAGATATAAAAGATTTGGCCGGTGCAAAACATAATTCTAATGTCATACC
TCAACATAAATAACCTCGTGTTAGGAGACAATCGTGAGGTAAGTAAAGATAGCCGTGCTT
TTGGCCTTATCGATGAAAAGCAAATTGTCGGTAAAGTGTCTTTAAGATTTTGGCCATTA
ACTGATTTTAAATTTAATTTTAACCTGATATGAGCTAA

30

19_スタフィロコッカス ルグドゥネンシス HKU09-01_GI#
289551814_触媒Ser残基 36 (SEQ ID NO: 142)
VKKEILEWIVSIAVALIIVGIVVKFIGVTYSVSGDSMYPTFKDREKVVVSKISKTLDDHI
DNGDIVVFKEDKDRDFIKRLIGKPGDKVEYKGDQLYVNNKKIDEPYLYKNKEHKNGKYL
TGSFKSSDLQNANGETKIPKDKYLVLGDNRQNSLDSRFPQVGLIDKEQIVGKVVLRFWP
FGEWTTKFNPGETFDK*

19_スタフィロコッカス ルグドゥネンシス HKU09-01_GI#
289551814_触媒Serヌクレオチド 106-108 (SEQ ID NO: 143)
GTGAAAAAAGAGATCTTAGAGTGGATTGTGTCTATAGCAGTTGCACTTATCATTGTAGG
TATAGTTGTTAAATTTATTGGAGTTACATATTCAGTTTCGGGAGATTCAATGTATCCAA
CATTAAAGATAGAGAAAAAGTAGTAGTGAGTAAATTTCCAAAACGTTAGACCATATT
GATAATGGTGATATCGTTGTCTTTAAAGAAGATAAAGATAGAGACTTTATTAAACGTTT
AATTGGTAAACCTGGAGACAAAGTTGAGTATAAAGGTGACCAACTATATGTTAATAATA
AAAAAATTGATGAGCCTTATTTAAAATATAACAAAGAGCATAAAAATGGTAAGTATCTG
ACAGGTTCTTTCAAATCGAGTGATTTGCAAAATGCTAATGGTGAGACGAAGATTCCTAA
AGACAAATATTTAGTGTTAGGTGATAATCGTCAAAACAGTTTAGATAGTCGTTTTCCAC
AGGTAGGGCTTATTGATAAAGAACAAATTGTAGGTAAAGTTGTGTTACGTTTCTGGCCA
TTTGGTGAGTGACAACAAAATTTAATCCTGGAACATTTGATAAGTAA

10

20_ストレプトコッカス アガラクティエ COH1_GI# 77408620_触媒Ser残基 58
(SEQ ID NO: 144)

MKRQISSDKLSQELDRVITYQKRFWSVIKNTIYILMAVASIAILIAVLWLPVLRITYGHSM
NKTLSAGDVVFTVKGSNFKTGDDVAFYNNKVLVKRVIAESGDWVNIDSQGDVYVNQHK
LKEPYVIHKALGNSNIKYPYQVPDKKIFVLGDNRKTSIDSRSTSVGDVSEEQIVGKISF
RIWPLGKISSIN*

20

20_ストレプトコッカス アガラクティエ COH1_GI# 77408620_触媒Serヌクレオチド
172-174 (SEQ ID NO: 145)

ATGAAAAGACAGATTAGTTTCAAGATAAATTATCTCAAGAACTGGATCGCGTAACTTATCA
GAAACGCTTTTGGAGTGTCAATTAATAATACCATATACATCTTGATGGCGGTTGCCTCAA
TAGCCATTTTAATTGCGGTTTTATGGTTGCCTGTATTAAGAATCTACGGACATTCAATG
AATAAGACTTTAAGTGCAGGTGATGTAGTCTTTACAGTAAAAGGTTCAAATTTTAAAC
TGGAGACGTTGTGCGGTTTTACTACAATAATAAGGTCCTAGTCAAGCGGGTTATTGCAG
AGTCAGGAGACTGGGTTAATATTGATTCTCAAGGGGATGTTTACGTGAATCAACATAAG
TTGAAAGAACCATATGTTATTCATAAAGCACTCGGTAATAGTAATATAAAATACCCATA
TCAAGTACCTGATAAAAAAATTTTGTATTAGGAGACAACCGAAAACTTCAATTGATT
CTCGAAGTACTTCTGTAGGAGATGTTTCAGAAGAACAAATTGTAGGTAAAATTTCTTTC
AGAATATGGCCTCTAGGTAAGATTAGTAGTATCAATTAA

30

21_ストレプトコッカス アガラクティエ COH1_GI# 77409453_触媒Ser残基 35

(SEQ ID NO: 146)

MKEFIKEWGVFILILSLFLLSRIFLWQFVKVDGHSMDPTLADKEQLVVLKQTKINRFDI
VVANEEEGGQKKKIVKRVIGMPGDVIKYKNDTLTINNKKTEEPYLKEYTKLFKKDKLQE
KYSYNPLFQDLAQSSSTAFTTDSNGSSEFTTVVPGHYLVLGDDRIVSKDSRAVGSFKKS
TIVGEVKFRFWPIRRFGTIN*

21_ストレプトコッカス アガラクティエ COH1_GI# 77409453_触媒Serヌクレオチド

103-105 (SEQ ID NO: 147)

ATGAAAGAATTTATTAAAGAATGGGGTGTCTTTATCCTCATCCTCTCACTTTTTTTTACT
ATCGCGTATCTTTTTATGGCAATTCGTTAAAGTTGACGGACACTCCATGGATCCAACCT
TAGCTGACAAGGAACAGCTAGTAGTTCTCAAACAAACAAAAATCAATCGATTTCGATATT
GTAGTGGCTAACGAAGAAGAAGGCGGCCAAAAGAAAAAAATTGTTAAACGTGTCATTGG
TATGCCAGGTGATGTCATCAAAATATAAAAAATGACACCTTAACCTATTAACAATAAAAAAA
CAGAAGAACCTTACCTCAAGGAATATACTAAATTATTTAAAAAGGATAAATTACAGGAA
AAATATTCGTATAACCCACTTTTCCAAGACCTAGCACAAAGCTCTACCGCTTTTACCAC
TGACAGCAATGGCAGCAGCGAATTTACTACTGTCGTGCCTAAAGGCCACTACTATCTTG
TTGGTGATGACCGAATTGTCTCTAAAGATAGTCGTGCGTCGGTTTCTTCAAAAAATCA
ACGATTGTGGGAGAGGTTAAATTCCGCTTCTGGCCAATTCGTCGTTTTTGAACTATCAA
CTAA

10

22_ストレプトコッカス ディスガラクティエ亜種エクイシミリス

GGs_124_GI# 251783284_触媒Ser残基 35 (SEQ ID NO: 148)

MKHFIKEWGPFTLFLILFGLSRLFLWQAVKVDGHSMDPTLAHGERLIVLNQARIDRFDI
VVAREEENGQKKEIVKRVVGMPTIAYNDDTLYINGKKTDEPYLVNLYLKEFKKDKLQK
TYAYNSLFQQLAETSDAFTTNAEQTRFEISVPEGEYLLLGDDRIVSRDSREVGVSFKKE
KLIGEVKARFWPLNKMFLFK*

20

22_ストレプトコッカス ディスガラクティエ亜種エクイシミリス

GGs_124_GI# 251783284_触媒Serヌクレオチド 103-105

(SEQ ID NO: 149)

ATGAAACATTTTATTAAAGAATGGGGCCCATTTACCCTCTTTCTCATCCTCTTCGGTTT
ATCTCGTCTTTTCTTGTGGCAAGCTGTAAAGTTGATGGCCACTCCATGGACCCTACGT
TAGCCCATGGGGAACGTCTCATTGTTTTAAACCAAGCTAGAATTGACCGTTTCGATATT
GTCGTTGCCCCGTGAGGAAGAAAATGGGCAGAAAAAAGAAATTGTCAAACGAGTTGTCGG
CATGCCAGGTGATACCATTTGCCTACAACGATGATACGCTTTACATTAATGGTAAAAAAA
CAGATGAGCCTTACCTAGTTAACTACCTTAAAGAGTTCAAAAAGGACAAGCTTCAAAAG
ACTTACGCTTACAATAGTCTATTTTCAAGCAATTAGCTGAAACATCGGATGCCTTACCAC
TAATGCTGAAGGTCAAACACGTTTTTGAAATCAGTGTACCAGAAGGTGAATACCTCCTTC
TTGGAGATGACCGAATTGTCTCACGCGACAGCCGTGAAGTTGGTAGTTTTAAAAAAGAA
AACTTATCGGTGAAGTCAAGGCTCGCTTCTGGCCACTCAATAAAATGACTCTTTTTTAA
GTAA

30

23_ストレプトコッカス ミチス B6_GI# 289168569_触媒Ser残基 38

(SEQ ID NO: 150)

MNSFKNFLKEWGLFLLILSLLALSRIFFWSNVRVEGHSM DPTLADGEILFVVKHLPIDR
FDIVVAHEEDGNKDIVKRVIGMPGDTIRYENDKLYINDKETDEPYLADYIKRFKDDKLQ
STYSGKGFEGNKGTFFRSIAEKAQAFTVDVNYNTNFSFTVPEGEYLLLGD DRLVSSDSR
HVGTFKAKDITGEAKFRFWPITRIGTF*

23_ストレプトコッカス ミチス B6_GI# 289168569_触媒Serヌクレオチド

112-114 (SEQ ID NO: 151)

ATGAATTCATTTAAAAATTTCTATAAAGAGTGGGGATTGTTCTCTCTGATTCTGTCAATT
ACTAGCTTTGAGCCGTATCTTTTTTTGGAGTAATGTCCGCGTAGAAGGGCATTCCATGG
ATCCGACCCTAGCGGATGGCGAAATTCTCTTCGTTGTCAAACACCTTCCTATTGACCGT
TTTGATATCGTGGTGGCCCATGAGGAAGATGGCAATAAGGACATCGTCAAGCGCGTGAT
TGGAATGCCTGGCGATACTATCCGTTACGAAAACGATAAACTTTACATCAATGATAAAG
AGACGGACGAACCTTACCTAGCTGACTATATCAAACGTTTCAAGGATGACAAACTCCAA
AGCACCTACTCAGGCAAGGGCTTTGAAGGAAATAAAGGAACCTTCTTTAGAAGTATTGC
GGAAAAAGCTCAAGCCTTCACAGTTGATGTCAACTATAACACCAACTTTAGCTTTACTG
TTCCAGAAGGAGAATACCTTCTCCTCGGAGACGACCGCTTGGTTTCTAGCGACAGCCGT
CACGTAGGTACCTTCAAAGCAAAAGATATCACAGGGGAAGCTAAATTCCGCTTCTGGCC
AATCACCCGTATCGGAACATTTTAA

10

24_ストレプトコッカス オラーリス ATCC 35037_GI# 293364826_

触媒Ser残基 38 (SEQ ID NO: 152)

MNSFKTFLKEWGVFFLIILVGLSRIFLWSNVRVEGHSM DPTLADGEVL FVVKHLPIDR
FDIVVAHEEDGNKDIVKRVIGMPGDTIRYENDKLFINGEETNEPYLA EYLNLFKTEKLQ
NTYTGKGFEGNKG VYFRELAQKAQAFTVDVNSNTRFSFTVPQGEYLLLGD DRLVSSDSR
HVGTFKASDIKGEAKFRFWPLNRIGTF*

20

24_ストレプトコッカス オラーリス ATCC 35037_GI# 293364826_

触媒Serヌクレオチド 112-114 (SEQ ID NO: 153)

ATGAATTCGTTTAAAACATTTCTATAAAGAATGGGGAGTTTCTCTCTCTGATTATCGCACT
GGTCGGTCTTAGCCGCATCTTTCTTTGGAGCAATGTCCGTGTGGAAGGACACTCTATGG
ACCCTACCCTAGCTGACGGAGAAGTTCTCTTCGTTGTTAAACACCTCCCAATTGACCGC
TTCGACATCGTGGTTGCGCATGAGGAAGACGGAAATAAAGACATTGTCAAAGGGTTAT
CGGTATGCCTGGTGATAACCATCCGCTACGAAAATGACAACTCTTTATCAACGGTGAAG
AAACGAATGAACCCTACCTAGCTGAGTACCTCAACTTGTTCAAACAGAAAAGTTGCAA
AACACCTATACTGGAAAAGGATTTGAAGGCAATAAGGGAGTTTACTTTAGAGAACTTGC
TCAAAAAGCACAAAGCCTTTACGGTTCGATGTCAATTCCAACACCAGATTCAGCTTTACTG
TCCCTCAAGGCGAATACCTTCTCCTTGGTGACGATCGTCTAGTCTCTAGCGACAGCCGC
CATGTCCGTACCTTCAAGGCCAGCGATATCAAAGGCGAAGCAAAATTCCGTTTCTGGCC
ACTTAACCGTATCGGAACATTTTAA

30

25_肺炎連鎖球菌 R6_GI# 15902408_触媒Ser残基 38

(SEQ ID NO: 154)

MNLFKNFLKEWGLFLLILSLALLSRIFWWSNVRVEGHSM DPTLADGEILFVVKHLPIDR
FDIVVAHEEDGNKDIVKRVI GMPGDTIRYENDKLYINDKETDEPYLADYIKRFKDDKLQ
STYSGKGFEGNKGTFFRSIAQKAQAF TVDVNYNTNFSFTVPEGEYLLL GDDRLVSSDSR
HVGTFKAKDITGEAKFRFWPITRIGTF*

25_肺炎連鎖球菌 R6_GI# 15902408_触媒Serヌクレオチド 112-114

(SEQ ID NO: 155)

ATGAATTTATTTAAAAATTTCTTAAAAGAGTGGGGATTATTCCTCCTGATTCTGTCATT
ACTAGCTTTGAGCCGTATCTTTTTTTGGAGCAATGTTTCGCGTAGAAGGACATTCCATGG
ATCCGACCCTAGCGGATGGTGAAATCCTCTTTGTTGTTAAGCACCTCCCTATTGACCGT
TTTGATATCGTGGTGGCCATGAGGAAGATGGCAATAAGGACATCGTCAAGCGCGTGAT
TGGAATGCCTGGCGACACCATTCGTTACGAAAATGATAAACTCTACATCAATGACAAAG
AAACGGACGAGCCTTATCTAGCAGACTATATCAAACGCTTCAAGGATGACAAACTCCAA
AGCACTTACTCAGGCAAGGGCTTTGAAGGAAATAAAGGAACTTTCTTTAGAGTATCGC
TCAAAAAGCCCAAGCCTTCACAGTTGATGTCAACTACAACACCAACTTTAGCTTTACTG
TTCCAGAAGGAGAATACCTTCTCCTCGGAGATGACCGCTTGGTTTCGAGCGACAGCCGC
CACGTAGGTACCTTCAAAGCAAAAGATATCACAGGGGAAGCTAAATTCCGCTTCTGGCC
AATCACCCGTATCGGAACATTTTAA

10

26_化膿連鎖球菌 M1 GAS_GI# 15675668_触媒Ser残基 35

(SEQ ID NO: 156)

MKQFIKEWGPFTLFLILFGLSRLFLWQAVKVDGHSM DPTLAHGERLIVFNQARIDRFDI
VVAQEEENGQKKEIVKRVI GLPGDTISYNDDTLYINGKKTVEPYLAEYLKQFKNDKLQK
TYAYNTLFFQQLAETS DAFTTNSEGQTRFEMSVPKGEYLLL GDDRIVSRDSREVGSEFKKE
NLIGEVKARFWPLNKMTVFN*

20

26_化膿連鎖球菌 M1 GAS_GI# 15675668_触媒Serヌクレオチド 103-105

(SEQ ID NO: 157)

ATGAAACAGTTTATTAAGAATGGGGCCCATTCACTCTCTTTTTTAATTCTCTTTGGTCT
ATCTCGTCTTTTTTTGTGGCAGGCTGTAAAGTAGACGGCCATTCTATGGACCCAACTC
TAGCTCATGGCGAACGCCTTATCGTTTTTAATCAAGCTAGAATTGATCGCTTTGATATT
GTAGTTGCTCAGGAAGAAGAAAACGACAAAAGAAAAGAAATCGTAAAAAGAGTTATTGG
ATTGCCAGGCGATACCATTTCTTATAATGATGACACACTTTATATTAATGGTAAAAAAA
CAGTTGAGCCGTATTTGGCTGAGTATCTAAAACAATTTAAAAACGATAAACTCCAAAAA
ACTTACGCCTATAATACCCTATTCCAACAGTTAGCAGAAACATCTGATGCTTTTACAAC
TAATTCTGAGGGACAAACACGCTTTGAGATGAGTGTTCCAAAAGGAGAATACCTTCTTC
TTGGTGATGATCGTATTGTTTCCAGGGATAGTCGCGAAGTTGGTAGTTTCAAAAAGAA
AACCTTATCGGTGAAGTGAAAGCTCGTTTTTTGGCCACTCAATAAAATGACCGTTTTTAA
TTAG

30

【 0 4 4 3 】

アリロマイシン耐性細菌のSPアーゼ配列

1_大腸菌株 K-12亜株 MG1655_GI#

16130493_触媒Ser残基 91 (SEQ ID NO: 158)

MANMFALILVIATLVTGILWCVDKFFFAPKRRERQAAAQAAAGDSLDKATLKKVAPKPG
WLETGASVFPVLAIVLIVRSFIYEPFQIPSGSMMPDLLIGDFILVEKFAYGIKDPIYQK
TLIETGHPKRGDIVVFKYPEDPKLDYIKRAVGLPGDKVTYDPVSKELTIQPGCSSGQAC
ENALPVTYSNVEPSDFVQTFSTRNGGEATSGFFEVPKNETKENGIRLSERKETLGDVTH
RILTVPIAQDQVGMYYQQPGQQLATWIVPPGQYFMMGDNRDNSADSRWGFVPEANLVG
RATAIWMSFDKQEGEWPTGLRLSRIGGIH*

1_大腸菌株 K-12亜株 MG1655_GI#

16130493_触媒Serスクレオチド 271-273 (SEQ ID NO: 159)

ATGGCGAATATGTTTGCCTGATTCTGGTGATTGCCACACTGGTGACGGGCATTTTATG
GTGCGTGGATAAATTCTTTTTTCGCACCTAAACGGCGGGAACGTCAGGCAGCGGCGCAGG
CGGCTGCCGGGGACTCACTGGATAAAGCAACGTTGAAAAAGGTTGCGCCGAAGCCTGGC
TGGCTGGAAACCGGTGCTTCTGTTTTTCCGGTACTGGCTATCGTATTGATTGTGCGTTC
GTTTATTTATGAACCGTTCCAGATCCCGTCAGGTTTCGATGATGCCGACTCTGTTAATTG
GTGATTTTATTCTGGTAGAGAAGTTTGCTTATGGCATTAAAGATCCTATCTACCAGAAA
ACGCTGATCGAAACCGGTCATCCGAAACGCGGCGATATCGTGGTCTTTAAATATCCGGA
AGATCCAAAGCTTGATTACATCAAGCGCGCGGTGGGTTTACCGGGCGATAAAGTCACTT
ACGATCCGGTCTCAAAAGAGCTGACGATTCAACCGGGATGCAGTTCCGGCCAGGCGTGT
GAAAACGCGCTGCCGGTCACCTACTCAAACGTGGAACCGAGCGATTTTCGTTACACCTT
CTCACGCCGTAATGGTGGGGAAGCGACCGAGCGGATTCTTTGAAGTGCCGAAAAACGAAA
CCAAAGAAAATGGAATTCGTCTTTCCGAGCGTAAAGAGACACTGGGTGATGTGACGCAC
CGCATTCTGACAGTGCCGATTGCGCAGGATCAGGTGGGGATGTATTACCAGCAGCCAGG
GCAACAACGGCAACCTGGATTGTTCTCCGGGACAATACTTCATGATGGGCGACAACC
GCGACAACAGCGCGGACAGCCGTTACTGGGGCTTTGTGCCGGAAGCGAATCTGGTCCGT
CGGGCAACGGCTATCTGGATGAGCTTCGATAAGCAAGAAGGCGAATGGCCGACTGGTCT
GCGCTTAAGTCGCATTGGCGGCATCCATTAA

10

20

2_サルモネラ エンテリカ亜種エンテリカ血清型チフス菌株

CT18_GI# 16761494_触媒Ser残基 91 (SEQ ID NO: 160)

MANMFALILVIATLVTGILWCVDKFVFAPKRRARQAAAQTASGDALDNATLNKVAPKPG
WLETGASVFPVLAIVLVRSFLYEPFQIPSGSMMPTLLIGDFILVEKFAYGIKDPIYQK
TLIETGHPKRGDIVVFKYPEDPKLDYIKRAVGLPGDKITYDPVAKEVTIQPGCSSGQAC
ENALPVTYSNVEPSDFVQTFARRNGGEATSGFFEVLNETKENGIRLTERKETLGDVTH
RILMVPIAQDQLGMYQQPQGPLATWVPPGQYFMMGDNRDNSADSRWGFVPEANLVG
KAVAIWMSFDKQEGEWPTGVRLSRIGGIH*

2_サルモネラ エンテリカ亜種エンテリカ血清型チフス菌株

CT18_GI# 16761494_触媒Serヌクレオチド 271-273 (SEQ ID NO: 161)

ATGGCGAACATGTTTGCCCTGATTCTGGTGATAGCCACACTGGTGACGGGCATTTTATG
GTGCGTTGATAAGTTTGTGTTTTCGCGCCAAAACGTCGGGCGCGCCAGGCTGCCGCGCAAA
CGGCGTCGGGAGATGCGCTGGATAACGCTACGCTCAATAAAGTGGCGCCTAAGCCGGGC
TGGCTGGAGACCGGGGCGTCGGTTTTCCCGTTCTGGCGATCGTTCTGATCGTTTCGTTT
ATTTCTTTATGAACCCCTTTCAGATCCCGTCAGGCTCAATGATGCCGACACTGCTTATCG
GCGATTTTATTCTGGTGGAAAAATTTGCCTACGGCATTAAAGATCCGATCTACCAGAAA
ACCCTGATTGAAACCGGTCATCCAAAGCGCGGGGATATTGTGGTATTTAAATATCCGGA
AGATCCTAAGTTAGATTACATCAAACGCGCCGTCGGTTTGCCGGGCGATAAAATCACTT
ATGATCCGGTTGCGAAAGAGGTGACGATTCAGCCTGGCTGTAGCTCCGGTCAGGCGTGC
GAAAATGCGCTGCCGTTTACCTACTCTAACGTTGAGCCGAGCGATTTTGTACAGACCTT
TGCCCGCCGTAACGGCGGAGAAGCGACCGGTTTCTTTGAGGTTCCGCTAAACGAGA
CAAAAGAAAACGGCATTTCGCTGACCGAACGTAAAGAGACGTTAGGCGATGTGACCCAC
CGCATCCTGATGGTGCCGATAGCCCAGGATCAGTTGGGCATGTATTACCAACAGCCAGG
ACAACCGCTGGCGACCTGGGTTGTACCGCCGGGGCAATATTTTCATGATGGGCGACAACC
GCGATAACAGCGCGGATAGTCGTTACTGGGGATTTGTTCCGGAAGCGAATCTGGTCGGT
AAAGCGGTCGCTATCTGGATGAGCTTTGACAAGCAGGAAGGGGAGTGGCCGACAGGCGT
ACGCCTGAGTCGTATCGGCGGTATTCTACTAA

10

20

3_肺炎桿菌亜種ニューモニエ MGH 78578_GI#

152971424_触媒Ser残基 91 (SEQ ID NO: 162)

MANMFALILVIATLVTGVLWCLDKFIFAPKRRERQAAAQAATGEQLDKKTLKKVGPKEG
WLETGASVFPVLAIVLVRSFIYEPFQIPSGSMMPTLLIGDFILVEKFAYGIKDPIYQK
TLIETGHPKRGDIVVFKYPEDPRLDYIKRAVGLPGDKVITYDPVAKQVTIQPGCSSGQAC
GNALPVTYSNVEPSDFVQTFRSNGGEASSGFWQLPKGETKADGIRLTERQETLGDVTH
RILMVPIAQDQVGMYYHQSGPLATWIVPPGQYFMMGDNRDNSADSRWGFVPEANLVG
KATAIWMSFEKQEGEWPTGVRLSRIGGIH*

30

3_肺炎桿菌亜種ニューモニエ MGH 78578_GI#

152971424_触媒Serヌクレオチド 271-273 (SEQ ID NO: 163)

ATGGCGAACATGTTTGCCCTGATCCTGGTGATTGCAACCTGGTGACGGGCGTTTTATG
GTGCTTGACAAAGTTTCAATTTTGCACCGAAACGTCGTGAACGTCAGGCCGCTGCTCAGG
CAGCGACCGGCGAGCAACTGGACAAGAAGACGCTGAAGAAAGTCGGCCCCGAAACCGGGC
TGGCTGGAAACCGGCGCATCGGTTTTCCCGGTGCTGGCGATCGTTCTGGTGGTACGTTT
ATTTATTTATGAGCCTTTCCAGATCCCTTCAGGTTTCGATGATGCCAACGCTGCTCATCG
GCGATTTTATTCTGGTGGAGAAATTTGCCTACGGCATTAAAGATCCTATCTACCAGAAA
ACGCTGATCGAGACCGGCCATCCGAAGCGCGGCGACATCGTGGTATTTAAATATCCGGA
AGACCCGCGTCTGGACTACATTAAGCGCGCGGTGGGGTTACCGGGTGATAAGGTCACCT
ACGATCCGGTTGCCAAACAGGTCACTATTACGCCGGGTCAGTTCCGGACAGGCCTGC
GGCAACGCGCTGCCGTTGACCTATTCCAACGTGGAGCCGAGCGATTTTGTTCAGACCTT
CTCCCGCAGCAACGGCGGCGAAGCGAGCAGCGTTTTCTGGCAGTTGCCGAAGGGCGAAA
CCAAAGCCGACGGCATTCTGTTTACCGAGCGTCAGGAGACATTGGGCGACGTGACGCAC
CGAATTCTGATGGTGCCGATTGCCAGGATCAGGTTGGGATGTACTACCATCAGTCCGG
TCTGCCGCTGGCCACCTGGATTGTGCCGCCCGGTCACTTTCATGATGGGCGACAACC
GGGATAACAGCGCCGACAGCCGTTACTGGGGCTTTGTGCCGGAAGCCAACCTGGTCGGA
AAAGCAACCGCTATCTGGATGAGTTTTGAAAAGCAGGAAGGTGAATGGCCGACCGGCGT
GCGGTTATCGCGCATTGGTGGAAATTCATTAA

40

4_結核菌 H37Rv_GI# 15610040_触媒Ser残基 96

(SEQ ID NO: 164)

VTETTDSPSERQPGPAEPELSSRDPDIAGQVFDAAPFDAAPDADSEGDSKAAKTDEPRP
AKRSTLREFAVLAVIAVVLVLYVMLTFVARPYLIPSESMEPTLHGCSTCVGDRIMVDKLS
YRFGSPQPGDVIVFRGPPSWNVGYKSIRSHNAVVRVWQNALSFIFVPPDENDLVKRVI
AVGGQTVQCRSDTGLTVNGRPLKEPYLDPATMMADPSIYPCLGSEFGPVTVPPGRVWVM
GDNRTHSADSRACPLLCDDPLPGTVPVANVIGKARLIVWPPSRWGVVRSVNPQQGR*

4_結核菌 H37Rv_GI# 15610040_触媒Serヌクレオチド 286-288

(SEQ ID NO: 165)

GTGACCGAAACCACGGAATCCCCATCGGAGCGCCAGCCGGGTCCGGCAGAGCCGGAGCT
CTCCTCCCGGGACCCGGACATTGCCGGCCAGGTCTTCGACGCAGCCCCGTTTCGACGCAG
CCCCGGATGCGGAATCCGAAGGCGACTCCAAGGCGGCCAAAACGACGAGCCGCGGCC
GCGAAGCGATCAACGCTGCGGGAGTTTCGCGGTGCTGGCGGTGATTGCTGTGGTGCTCTA
CTACGTCATGCTGACGTTTGTGCGCGGCCCTTATCTGATTCCGTCGGAATCGATGGAAC
CCACGTTGCACGGGTGTTTCGACGTGCGTCGGCGACCGCATCATGGTGGAACAACTCAGC
TACCGCTTCGGCTCACCGCAACCTGGCGACGTATCGTCTTCAGGGGACCGCCGTCGTG
GAACGTTGGTTACAAGTCGATCCGTTTCGCACAACGTGCGCGTGGGTGCGGTGCGAAGC
CGTTGTGCTTCATCGGTTTTCGTGCCTCCCGACGAGAACGACCTGGTCAAGCGTGTCTATC
GCGGTGCGCGGACAGACGTTCAATGCCGGTCCGACACCGGCCTGACGGTCAACGGCAG
GCCACTGAAGGAGCCATACCTGGATCCGGCCACCATGATGGCCGACCCGTCGATATACC
CGTGCTGGGCGAGGAGTTTCGGGCGCGTACCGTCCCGCCCGGGCGTGTCTGGGTGATG
GGCGACAACCGCACCCATTTCGGCGGATTCCCGCGCTCACTGCCCCTTGCTATGTACTGA
CGATCCGCTACCGGGGACCGTGCCGGTGGCCAACGTATCGGTAAGGCCAGGTTGATCG
TGTGGCCGCCGTCGCGTTGGGGTGTTGTGCGTTTCGGTGAATCCCCAGCAAGGTCGGTAG

10

20

5_ペスト菌 KIM 10_GI# 22123922_触媒Ser残基 98

(SEQ ID NO: 166)

MANMFALILAIATLLTGIIWCFERFKWGPARGAKIAAVNAQTAEIKAQTGCAVDNKT
LAQAAKQPGWIETCASIFPVLLVFIIVRSFIYEPFQIPSGSMMPTLLIGDFILVEKFAYGI
KDPITQTTLIPTGKPNRGDIAVFKYPLDPRLDYIKRVVGLPGDRVIYNPISKEVTVQPS
CNTGTSCDSALAITYSTSEPSEFVQTFRYSNGESSAGFFPIPLNQAVPDGGVRLRERT
ESLGPVAHHILTVPGRQDPLGSYYQQPDQPLGVVWVPEGHYFMMGDNRDNSADSRFWGF
VPERNLVGKATAIWMSEKQEGEWPTGVRLSRIGGIH*

30

5_ペスト菌 KIM 10_GI# 22123922_触媒Serヌクレオチド 292-294

(SEQ ID NO: 167)

ATGGCTAACATGTTTGCTTTGATTCTGGCAATAGCAACGCTGTTGACGGGGATTATCTG
GTGCTTCGAGCGGTTTAAATGGGGGCCAGCCCGTCAGGCAAAAATTGCGGCAGTTAATG
CACAACTGCGGAAATCAAGGCCCAAACCGGGTGTGCCGTAGATAATAAAACCTTAGCC
CAAGCTGCAAAGCAACCGGGTTGGATCGAGACATGTGCCTCTATCTTCCCGGTGCTGGC
CTTGGTCTTTATCGTGCCTTCGTTTATTTACGAGCCTTTCCAGATCCCTTCTGGTTTCA
TGATGCCAACGCTGCTTATCGGTGATTTTATTTTGGTTGAGAAATTTGCTTATGGGATT
AAAGATCCCATTACTCAGACCACATTAATTCCAACAGGTAAGCCAAACCGCGGTGACAT
TGCGGTGTTTTAAATATCCGTTGGATCCACGTTTGGATTATATCAAGCGTGTGGTGGGGC
TGCCGGGGGATCGGGTAATTTATAACCCGATAAGTAAAGAAGTCACGGTACAACCGTCA
TGTAATACCGGTACTTCTTGTGATAGTGCCTTGCCATCACTTACAGCACGTCTGAGCC
AAGTGAGTTTGTGCAGACATTCCGTTATAGCGGTAATGGCGAAAGCTCCGCAGGGTTCT
TCCCAATCCCGCTAAATCAGGCAGTACCTGATGGCGGTGTCCGGTTACGTGAGCGTACT
GAAAGCCTCGGCCCGGTAGCGCATCACATTCTGACCGTCCCAGGGCGGCAGGATCCGTT
AGGCTCTTATTATCAGCAACCCGATCAACCGTTAGGGGTTTGGGTGGTACCGGAAGGCC
ATTACTTTATGATGGGTGATAACCGGGATAACAGTGCAGATAGCCGCTTCTGGGGTTTT
GTACCAGAACGTAATCTGGTAGGTAAGGCTACGGCTATTTGGATGAGTTTTGAAAAGCA
AGAAGGTGAATGGCCAACGGGTGTGCGTTTAAAGCCGAATTGGTGGAATTCATAA

40

6_黄色ブドウ球菌亜種オーレウス COL_GI#

57651657_触媒Ser残基 39 (SEQ ID NO: 168)

VSKLKKEILEWIIISIAVAFVILFIVGKFIVTPYTIKGESMDPTLKDGERVAVNIVGYKT
GGLEKGNVVVFHANKNDDYVKRVIGVPGDKVEYKNDTLYVNGKKQDEPYLNYNLKHKQG
DYITGTFQVKDLPNANPKSNVIPKGKYLVLGDNREVSKDSRAFGLEDQIVGKVSFRF
WPFSEFKHNFNPENTKN*

6_黄色ブドウ球菌亜種オーレウス COL_GI#

57651657_触媒Serヌクレオチド 115-117 (SEQ ID NO: 169)

GTGTCAAAATTGAAAAAGAAATATTGGAATGGATTATTTCAATTGCAGTCGCTTTTGT
CATTTTATTTATAGTAGGTAAATTTATTGTTACGCCATATACAATTAAAGGTGAATCAA
TGGATCCAACCTTTGAAAGATGGCGAGCGAGTAGCTGTAAACATTGTTGGATATAAAACA
GGTGGTTTGGAAAAAGGTAATGTAGTTGCTTCCATGCAAAACAAAATGATGACTATGT
TAAACGTGTCATCGGTGTTTCTGGTGATAAAGTAGAATACAAAAATGATACATTATATG
TCAATGGTAAAAACAAGATGAACCATATTTAACTACAATTTAAACATAAACAAGGT
GATTACATTACTGGGACTTTCCAAGTTAAAGATTTACCGAATGCGAATCCTAAATCAAA
TGTCATTCCAAAAGGTAAATATTTAGTGCTTGGAGATAATCGTGAAGTAAGTAAAGATA
GCCGTGCGTTTGGCCTCATTGATGAAGACCAAATTGTTGGTAAAGTTTCATTTAGGTTT
TGCCCATTTAGTGAATTTAAACATAATTTCAATCCTGAAAATACTAAAAATTAA

10

7_コレラ菌01次亜種エルトール株 N16961_GI#

15642458_触媒Ser残基 90 (SEQ ID NO: 170)

MANTFSLILVIVTLVTGIVWTLLEKLVWAKKRQOKQAHLQAQTPDMPASALDKVVAQPWW
IENSVSIFPVIAFVLVLRSEFIYEPFQIPSGSMMPDLLVGDFILVEKYAYGLKDPVWRTQ
LVETGKPERGDIVVFKYVPVNPEDYIKRVVGMPTGTVRYSAGKELCIQHQQGESECQAVK
LSNVQESEFYQNEIPLIQLNEQLGKVEHNILVNPLSIDNVANYRPRSGVNEWVVPQGHY
FVMGDNDRDNSADSRFWGFVPEQNLVGKAVAIWISFEFERAEDSVLPRWIPTGVRFRNRVG
GIH*

20

7_コレラ菌01次亜種エルトール株 N16961_GI#

15642458_触媒Serヌクレオチド 268-270 (SEQ ID NO: 171)

ATGGCGAACACATTCTCACTGATTTTGGTGATCGTAACTCTGGTCACCGGTATCGTCTG
GACACTGGAAAAGCTGGTGTGGGCGAAAAACGCCAACAGAAACAAGCTCATTTACAGG
CGAAACGCCCGATATGCCAGCCTCAGCGCTGGATAAAGTCGTGGCTCAGCCGTGGTGG
ATTGAAAACAGTGCTCTCGATTTTCCCTGTTATTGCTTTTGTGCTGGTACTGCGCTCGTT
CATTTATGAACCGTTCCAAATTCCATCCGGTTTCGATGATGCCGACTCTGCTGGTCGGGG
ATTTTATTCTGGTTGAGAAATACGCTTACGGCTTGAAAGATCCTGTATGGCGCACTCAG
TTAGTGGAACGGGTAAACCTGAGCGTGGTGATATTGTGGTGTTCAAATACCCAGTGAA
CCCTGAGATCGACTACATCAACGTGTGGTGGGGATGCCCGGAGATACCGTACGTTACA
GCGCAGGTAAAGAGCTGTGTATTTCAGCACCAAGGCGAGAGCGAATGCCAAGCAGTTAAA
CTCTCTAACGTGCAAGAGAGCGAGTTTTACCAAAATGAGATCCCCCTGATCCAGCTGAA
CGAACAGCTAGGTAAGGTTGAGCACAATATTTTGGTTAACCCATTGAGCATTGATAACG
TGGCGAATTATCGCCACGCAGTGGCGTGAATGAATGGGTTGTACCACAAGGGCACTAT
TTTGTGATGGGTGATAACCGTGACAACAGTGCTGACAGCCGTTTCTGGGGCTTTGTGCC
AGAGCAGAATCTGGTCGGAAAAGCTGTGGCTATCTGGATCAGTTTTCGAGTTTGAACGCG
CTGAAGACAGCGTACTTCCACGCTGGATTCTACCGGAGTACGATTCAATCGTGTGGT
GGGATCCACTAA

30

40

8_インフルエンザ菌 86-028NP_GI# 68248566_触媒Ser残基 115

(SEQ ID NO: 172)

MSNLFFVILLAVGFGVWVKVLDYFQLPNTFSILLILLTALSGVLWCYHRFVVLPRHRQV
ARAEQRSGKTLSEEEKAKIEPISEASEFLSSLFPVLAVVFLVRSFLFEPFQIPSGSMES
TLRVGDFLVVNKYAYGVKDPIFQNTIIEGEKPQRGDVIVFKAPQQALIRTGLGATRAAF
AENLALSSKDNMSGVDYIKRIVGKGGDRIIFDVEQKTLKIVYGKDGKPCVDCETKAFE
YTQNPTNPAPFPNELELTEKGDVTHNVLIGEYRRYSDLFFPQEGMQTAEWLVPEGQYFV
MGDHRDHSDDSRFWGFWPEKNIVGKATYIWMSSLEKEANEWPTGFRFRDRFFTAIK*

8_インフルエンザ菌 86-028NP_GI# 68248566_触媒Serヌクレオチド 343-345

(SEQ ID NO: 173)

ATGTCAAATTTATTTTTTGTGATTTTATTGGCTGTCGGCTTTGGTGTGTGGAAAGTTTT
AGATTATTTTCAGTTGCCAAATACTTTTAGTATTTTGTACTAATTTTGACCGCACTTT
CTGGCGTATTATGGTGTATCATCGTTTTGTGGTGTCTGCCAAAACGTCATCGTCAAGTG
GCACGTGCAGAACACGTTCTGGTAAAACCTTAAGTGAGGAAGAAAAAGCCAAAATTGA
ACCGATTTCTGAGGCTTCAGAATTTTTGTCTTCACTTTTTCTGTGCTTGCAGTGGTAT
TTTTGGTTCGTTCTTTTTTGTGTTGAACCGTTTCAAATTCCTCTGGCTCAATGGAGTCC
ACTTTACGCGTTGGCGATTTTTTAGTTGTGAATAAATATGCTTATGGTGTGAAAGATCC
GATTTTCCAAAACACCATTATTGAGGGCGAAAAACCACAACGTGGCGATGTGATTGTGT
TTAAAGCACCACAACAAGCGTTAATTCGTACTGGTCTTGGGGCTACTCGAGCGGCTTTT
GCAGAAAATTTAGCGTTAAGTTCAAAGATAATATGTCTGGTGTGGATTATATTAAGCG
TATTGTTGGAAGGGCGGAGATCGCATCATTTTTGATGTGGAACAAAAACATTAAAAA
TTGTATATGGCAAAGATGGTAAACCTTGTGAAGTTGATTGCGAAACCAAGGCGTTTGAA
TATACACAAAATCCAACAAATCCTGCTTTCCGAATGAATTAGAATTGACTGAAAAAGG
CGATGTAACACATAACGTGTTAATTGGTGAGTATCGTCGTTATTCAGACCTTGAATTTT
TCCCACAAGAGGGAATGCAAACTGCAGAAATGGCTTGTGCCAGAGGGGCGAGTATTTTGTG
ATGGGGGATCATCGCGATCACAGCGATGACAGTCGTTTTTGGGGCTTTGTGCCTGAAAA
AAATATTGTGGGGAAAGCCACTTATATTTGGATGAGCTTAGAAAAAGAAGCGAATGAAT
GGCCAACAGTTTCCGTTTTTGATCGCTTCTTTACAGCAATAAAATAA

10

20

9_緑膿菌 PA01_GI# 15595965_触媒Ser残基 90

(SEQ ID NO: 174)

MTLNFPLLLVIAVAVCGALALVDLVLFAPRRRAAIISSYEGQVNEPDPVLEKLNKEPLL
VEYGKSFFPVLFIIVLVLRSLFVEPFQIPSGSMKPTLEVGFILVNKFAYGIRLPVLDTK
VIPIGDPQRGDVMVFRYPSEPNINYIKRVVGLPGDVTVRYTKEKRLVNGELVAEKLVE
EPGTLGSVTLYQEKLGQAEHLIRKEMSRYRIEPDRQWTIPAGHYFMMGDNRDNSNDSRY
WNDPKIPKDLLGMVPDRNIVGKAFVWMSWDPKMSNLPNFSRVGVIIH*

30

9_緑膿菌 PA01_GI# 15595965_触媒Serヌクレオチド 268-270

(SEQ ID NO: 175)

ATGACACTCAATTTCCCGTTGTTGCTGGTCATCGCCGTGGCTGTATGCGGCGCCCTGGC
CCTGGTCGACCTGGTGTCTGTTTCGCGCCGCGTCGGCGGGCCGCGATCTCTTCCTACGAAG
GGCAGGTGAACGAGCCCGATCCGGCAGTGCTGGAGAAGCTCAACAAGGAACCGCTGCTG
GTGGAGTACGGCAAGTCGTTCTTCCCGGTGCTGTTTCATCGTGTGCTGGTGTGCTGCGTTCCTT
CCTGGTCGAGCCGTTCCAGATTCCCTCGGGGTCGATGAAACCTACCTTCGAGGTGCGCG
ATTTTCATCCTGGTCAACAAGTTCGCCTACGGTATCCGCCTGCCGGTGTGACACCAAG
GTGATCCCGATCGGTGATCCGCAGCGCGGCGATGTCATGGTGTTCGGCTATCCAGCGA
ACCGAACATCAACTACATCAAGCGCGTGGTTCGGCCTGCCCGGCGACACCGTGCGCTACA
CCAAGGAAAAGCGCCTGTACGTCAACGGCGAGCTGGTGGCGGAGAACTGGTGGCGGAG
GAACCGGGCACCTGGGCGAGCGTGACCCTGTACCAGGAGAAGCTGGGCCAGGCCGAGCA
CCTGATCCGCAAGGAAATGAGCCGCTATCGCATCGAGCCGACCGCCAGTGGACCATTC
CCGCCGGCCACTACTTCATGATGGGCGACAACCGCGACAACCTCCAACGACAGCCGCTAC
TGGAACGATCCGAAGATCCCCAAGGATCTGCTGGGCATGGTTCCGGACCGCAATATCGT
CGGCAAGGCCTTCGCCGTGTGGATGAGCTGGCCCGATCCGAAGATGAGCAACCTGCCGA
ACTTCTCCCGGGTCGGCGTGATTCACTGA

40

10_アシネトバクター バウマンニ ATCC 19606_GI#
260556580_触媒Ser残基 72 (SEQ ID NO: 176)
VDFDFNLILVPVTLILFAVWLLDKLVFKQRANKGRENFVITWAYDFWPVLAVVLVLR
SFLYEPFNIPSDSMVPTLETGDFILVNKFDYGVRLPIVNKKVIDVGEPKRGDVIVFRYP
PQPTISYIKRVIGLPGDHIVYDHGQLIINGQKIPKVPTQFSREKDALDTPTSIYHKETI
GDHTFTMRELEGVNVARQAPFINYVDNGKYANQDGLYWEVTVPKGHYFAMGDNRDQSAD
SRFWGFVPEENLTGRAFYVWMHKEPGFHLPSFNRNGKID*

10_アシネトバクター バウマンニ ATCC 19606_GI#
260556580_触媒Serヌクレオチド 214-216 (SEQ ID NO: 177)
GTGGATTTTGATTTTAATTTAATTCTTGTTCTGTTACGCTGATTTTATTTGCAGTGTG
GTTGCTAGATAAGCTTGTTTTTAAACAGCGTGCAAATAAAGGGCGAGAGAACGAAAATT
TTGTTATTACATGGGCCTATGACTTTTGGCCGGTTTTAGCTGTTGTGCTTGTACTTCGC
TCATTTCTTTATGAACCATTTAATATTCCATCAGACTCTATGGTTCCGACCTTAGAGAC
TGGCGATTTTATTTTAGTTAATAAATTTGACTATGGTGTCCGTTTACCTATCGTCAATA
AAAAAGTGATTGATGTCGGTGAACCGAAACGTGGTGATGTCATTGTATTCCGTTATCCA
CCACAACCTACTATTAGTTATATTAAACGTGTAATTGGCTTACCTGGTGACCATATTGT
TTATGATCATGGACAATTGATTATTAATGGTCAAAAAATTCCTAAAGTACCAACACAGT
TTAGTCGCGAAAAAGATGCTTTAGATACACCAACTTCTATTTATCATAAAGAAACAATT
GGTGATCATACTTTTACGATGCGTGAGCTTGAAGGCGTAAATGTTGCGCGTCAGGCGCC
ATTTATCAACTATGTTGATAATGGTAAATATGCAAACCAAGACGGTTTATATTGGGAAG
TAACAGTTCCGAAAGGACATTACTTTGCAATGGGGGATAACCGTGATCAAAGTGCTGAC
AGTCGTTTCTGGGGCTTCGTACCTGAAGAAAATTTAACAGGCCGAGCTTTCTATGTCTG
GATGCATAAAGAACCTGGTTTCCACCTGCCAAGCTTTAACCGAAATGGGAAAATAGATT
AA

10

20

11_炭疽菌Ames株_GI# 30263049_触媒Ser残基 40

(SEQ ID NO: 178)

MKENTKKELFSWAKTIGFTLVLIAIIRGVLFPSLVQGESMMPTLENNERVLVNKIGYS
ISGLERFDIIVFHGKEGYDLVKRVIGLPGDTVEYKNDVLYVNGKAMEEPYLKEFKEKAA
GRVLTPDFTLEQITGKTKVPEGQVFLGDNREVSKDGRMFGFISEDEIVGKGQAVFWPL
KQVRAL*

11_炭疽菌Ames株_GI# 30263049_触媒Serヌクレオチド 118-120

(SEQ ID NO: 179)

ATGAAGGAAAATACGAAGAAAGAATTATTCTCATGGGCGAAAACGATAGGATTTACCCT
TGTATTAATCGCAATTATTTCGCGGTGTTTTATTTACACCGTCATTAGTACAAGGCGAAT
CGATGATGCCGACTTTAGAAAAATAACGAACGAGTTCTCGTCAATAAGATTGGTTATAGT
ATAAGTGGATTAGAACGCTTTGATATTATCGTTTTCCATGGAAAAGAAGGATATGATTT
AGTAAAACGAGTAATTGGTTTACCAGGCGATACAGTTGAGTATAAAAATGATGTTTTAT
ATGTAAACGGCAAAGCGATGGAAGAACCATATTTAAAAGAGTTTAAAGAAAAAGCAGCA
GGTCGTGTATTAACTCCAGACTTTACGTTAGAACAAATTACAGGAAAAACGAAAGTGCC
AGAAGGCCAAGTGTTTGTATTAGGTGATAATCGTGAAGTTTCTAAAGACGGTCGTATGT
TTGGATTTATTTTCAAGATGAAATTGTTCGGAAGGACAAGCTGTTTTCTGGCCGTTG
AAACAAGTAAGAGCGCTATAA

10

12_髄膜炎菌 MC58_GI# 15676663_触媒Ser残基 123

(SEQ ID NO: 180)

MNTMLMSGAAAALLAGIILYFKSDKKRQENGWSSGLEAYAYILTAVGVFAALSLFMSFT
AVFLIFVVLCTAWGVYKYRLKTHPEISESSHFGDYFGSFFPTVLVLFILRSFIAEPFQ
IPSSSMRPLIKGDFILVGKFSYGLRVPVLNNIFIPTGKIERGDVVVFNYPLQPEMTYI
KRIVGIPGDVVEYRDKILTVNGKPTSDIPDGTIRYPDDTDPSEIHNTDMFRSGLDGKSF
NILKKEGQPAVSLPVLGKYTSDIMSENGYSIEQSGLEHCQYADDGSGFVCKVPEGRYFA
MGDNDRNSADSRWGFVDDKLVVGKAMFILMNFGDFGRSGTAIR*

20

12_髄膜炎菌 MC58_GI# 15676663_触媒Serヌクレオチド 367-369

(SEQ ID NO: 181)

ATGAACACAATGCTAATGTTCGGGCGCGGCTGCCGCGCTGCTTGCCGGCATCATCCTTTA
TTTCAAAGCGACAAGAAGCGGCAGGAAAACGGGGAATGGAGTTCCGGCCTTGAATACG
CCTATATCCTGACAGCGGTTCGGCGTGTTTGCCGCTTTGTCCCTGTTTATGAGCTTTACC
GCCGTTTTCTGATTTTCGTTGTATTGTGCGGTACGGCTTGGGGGGTATATAAATACCG
CCTGAAGACTCATCCCGAAATCTCGGAAAGCAGCCACTTCGGCGATTATTTTCGGCAGTT
TCTTCCCTACCGTTTTGGTATTGTTCTCATCCGGTCGTTTATCGCCGAACCGTTCCAA
ATCCCGTCCAGCTCGATGCGCCCGGGCCTGATCAAGGGCGATTTTCATTTTGGTCGGCAA
ATTTTCCTACGGCCTGCGCGTACCCGTTTTAAACAATATATTTATTCCTACAGGCAAAA
TCGAACGGGGCGATGTCGTTGTTTTTAATTATCCTCTGCAGCCGGAGATGACCTACATC
AAGCGTATTGTTCGGCATTCCGGGCGATGTGGTCGAATATCGGGATAAGATTTTGACGGT
AAATGGCAAACCCACTTCCGACATTCTGACGGCACATAACCGTTATCCCGACGACACCG
ACCCTTCCGAAATCCACAACACGGATATGTTCCGCAGCGGTCTAGACGGCAAATCCTTC
AATATTCTGAAAAAGAAGGACAGCCTGCCGTTTTCCCTGCCCGTATTGGGCAAATATAC
CTCCGATATTATGTCTGAAAACGGATATTCCATAGAGCAAAGCGGTTTGGAACACTGCC
AATATGCCGACGACGGCAGCGGTTTTCGTGTGCAAAGTTCCCGAAGGACGCTATTTTCGCT
ATGGGCGACAACCGCGACAACAGTGCCGATTTCGCGCTACTGGGGATTTGTGGATGACAA
GCTGGTTGTTCGGCAAGGCAATGTTTCAATTTTATGTAAGTTCGGCGATTTCGGCAGGTCCG
GTACGGCAATCCGTTAG

30

40

13_炭疽菌Ames株_GI# 30263037_触媒Ser残基 35

(SEQ ID NO: 182)

MKQEIKRGWGKYILFVFLVVAHVSFTLCKVEGKSMQPTLYEEDYVFNKAAVHFSDLE
HGEIVIIKEEDESKEYYVKRVIGLPGDVINITNGSVYVNDKKQEEPYTNKDLFNNTQVIFY
NFQKTKIPPKNKLFVMGDNRELSRDSRNLGYIEEDNIIGKVEFVYYPFSKMKIIE*

13_炭疽菌Ames株_GI# 30263037_触媒Serヌクレオチド 103-105

(SEQ ID NO: 183)

ATGAAACAGGAGATTAAAAGAGGTTGGGGGAAATATATACTCTTCGTGTTTGTGTTTGGT
AGTAGCTTATCATTCTTTTACTTTATGTAAAGTGGAAGGGAAATCAATGCAACCGACTT
TATATGAAGAAGACTACGTATTTGTAAATAAAGCAGCAGTACATTTTTCCGATTITAGAG
CATGGAGAAATTGTCATTATAAAGGAAGAGGATGAATCGAAATATTATGTAAACGAGT
AATAGGACTTCCTGGTGACGTAATTAACATAACGAATGGATCTGTATATGTAAATGATA
AAAAACAAGAAGAACCGTATACAAATAAAGATTTATTCAATAATACGCAAGTGTGTTTAT
AACTTTCAAAAGACAAAAATCCCACCAATAAATTATTTGTAATGGGAGATAATCGTGA
ACTTAGTAGAGATAGTCGAAACGGTTTAGGATATATTGAAGAAGATAATATAATAGGCA
AAGTGGAATTTGTATATTATCCTTTTTTCAAAAATGAAGATCATAGAATAA

10

14_ストレプトコッカス ミュータンス UA159_GI# 24380230_触媒Ser残基 35

(SEQ ID NO: 184)

MKRFLKEWGLFLVIIIFALLLPRLFIFWFPVQVDGHSMDPTLANGEHLIVVRTTSIKHF
VVAEAGNKNIVKRVIGMPGDTITYENDMLSINGKKVNETYLKQYKDKFAKDKLQKTYAY
NQYFQELASQSTAFTTDEQGNASFTIKVPKGRYLLLGDDRIVSKDSRHVGTFAKNKIVG
EVKFRFWPLNAIRFISNK*

20

14_ストレプトコッカス ミュータンス UA159_GI# 24380230_触媒Serヌクレオチド

103-105 (SEQ ID NO: 185)

ATGAAAAGATTTTTTAAAAGAATGGGGCCTTTTCTTGGTCATCATTTTTCGCATTGCTACT
CCCGCGTCTCTTTATCTGGTTTCCTGTCCAAGTAGATGGACATTCAATGGATCCTACCT
TAGCCAATGGGGAGCATCTCATTGTCTCGTCAGGACAACCTTCTATCAAACATTTTGACATT
GTTGTTGCTGCTGAAGGCAATAAAAATATTGTCAAACGTGTGATTGGCATGCCCGGTGA
TACCATTACCTATGAAAATGATATGCTTTCTATTAATGGGAAAAAAGTCAATGAACTT
ATCTCAAGCAATACAAGGATAAATTTGCCAAGGACAACTCCAAAAGACTTATGCCTAC
AATCAGTATTTCCAAGAATTAGCCTCACAAATCAACAGCTTTCACAACAGACGAACAAGG
AAACGCCAGCTTTACGATTAAAGTACCAAAAAGGACGTTACCTGCTTTTAGGTGATGATC
GCATTGTCTCTAAAGACAGCCGCCATGTTGGAACTTTGTCTAAGAATAAAATTGTTGGT
GAAGTTAAATTCCGCTTTTGGCCTTTAAACGCTATTCGTTTCATTTCAAATAAATAA

30

15_フレキシネル菌2a株 301_GI# 24113910_触媒Ser残基 91

(SEQ ID NO: 186)

MANMFALILVIATLVTGILWCVDKFFFAPKRRERQAAAQAAAGDSLKATLKKVAPKPG
WLETGASVFPVLAIVLIVRSFIYEPFQIPSGSMPTLLIGDFILVEKFAYGIKDPIYQK
TLIETGHPKRGDIVVFKYPEDPKLDYIKRAVGLPGDKVTYDPVSKELTIQPGCSSGQAC
ENALPVTYSNVEPSDFVQTFSTRNGGEATSGFFEVPKNETKENGIRLSERKETLGDVTH
RILTVPIAQDQVGMYYQQPGQQLATWIVPPGQYFMMGDNRDNSADSRYWGFVPEANLVG
RATAIWMSFDKQEGEWPTGVRLSRIGGIH*

40

15_フレキシネル菌2a株 301_GI# 24113910_触媒Serヌクレオチド 271-273

(SEQ ID NO: 187)

ATGGCGAATATGTTTGGCCTGATTCTGGTGATTGCCACACTGGTGACGGGCATTTTATG
GTGCGTGGATAAATTCTTTTTCGCACCTAAACGGCGGGAACGTCAGGCAGCGGCAGG
CGGCTGCCGGTGACTCACTGGATAAAGCAACGTTGAAAAAGGTTGCACCGAAGCCTGGC
TGGCTGGAAACCGGAGCTTCTGTTTTTCCGGTGCTGGCTATCGTATTGATTGTACGTTT
GTTTATTTATGAACCGTTCCAGATCCCGTCAGGTTTCGATGATGCCGACTCTGTTAATCG
GTGATTTTATTCTGGTAGAGAAGTTTGCTTATGGCATTAAAGATCCTATCTACCAGAAA
ACGCTGATCGAAACCGGTCATCCGAAACGCGGCGATATCGTGGTCTTTAAATATCCGGA
AGATCCAAAGCTTGATTACATCAAGCGCGCGGTGGGTTTACCGGGCGATAAAGTCACTT
ACGATCCGGTCTCAAAAGAGCTGACGATTCAACCGGGATGCAGTTCCGGCCAGGCGTGT
GAAAACGCGCTGCCGGTCACTACTCAAACGTGGAACCGAGCGATTTTCGTTTCAGACCTT
CTCACGCCGTAATGGTGGGGAAGCGACCAGCGGATTCTTTGAAAGTGCCGAAAAACGAAA
CCAAAGAAAATGGAATTCGTCTTTCCGAGCGTAAAGAGACACTGGGTGATGTGACGCAC
CGAATTCTGACAGTGCCGATTGCGCAGGACCAGGTGGGGATGTATTACCAGCAGCCAGG
GCAACAACCTGGCAACCTGGATTGTTCCGCCGGGACAATACTTCATGATGGGCGACAACC
GCGACAACAGCGCGGACAGCCGTTACTGGGGCTTTGTGCCTGAAGCGAATCTGGTCCGT
CGGGCCACGGCTATCTGGATGAGCTTCGATAAGCAAGAAGGCGAATGGCCGACTGGTGT
GCGCTTAAGTCGCATTGGCGGCATCCATTAA

10

16_シトロバクター コセリ ATCC BAA-895_GI# 157144497_触媒Ser残基 91

(SEQ ID NO: 188)

MANMFALILVIATLVTGILWCVDKFI FAPKRERQAAAQAAAGDSLDKATLKKVAPKPG
WLETGASVFPVLAIVLVRSFIYEPFQIPSGSMPTLLIGDFILVEKFAYGIKDPIYQK
TLIETGHPKRGDIVVFKYPEDPRLDYIKRAVGLPGDKVTYDPVAKEVTVQPGCRSQAC
ENALPVTYSVDVQPSDFVQTFARRNGGEASSGFFEVLNETKDNGIRLAERKETLGDVTH
RILTVPIAQDQAGMYRQPGQQLATWIVPPGQYFMMGDNRDNSADSRYWGFVPEANLVG
KATAIWMSFDKQEGEWPTGVRLSRIGGIH*

20

16_シトロバクター コセリ ATCC BAA-895_GI# 157144497_触媒Serヌクレオチド

271-273 (SEQ ID NO: 189)

ATGGCGAATATGTTTGGCCTGATTCTGGTGATTGCCACACTGGTGACGGGCATTTTATG
GTGCGTTGATAAATTTATCTTCGCGCCAAAACGTCGGGAACGTCAGGCAGCGGCACAGG
CCGCTGCGGGTGATTCACTGGATAAAGCCACGTTGAAAAAGTGGCGCCTAAGCCGGGC
TGGCTGGAAACAGGGGCTTCGGTTTTTCCGGTACTGGCGATTGTGCTGGTGGTGCGCTC
ATTTATCTATGAACCTTTCCAGATCCCGTCGGGTTTCGATGATGCCGACGCTGTTAATCG
GTGACTTTTATTCTGGTGGAGAAATTCGCCATGGAATTAAAGATCCGATTTACCAGAAA
ACGTTGATTGAAACGGGTCATCCGAAACGCGGTGATATCGTGGTCTTTAAATACCCGGA
AGATCCGCGCCTGGACTACATTAAACGCGCTGTGCGCCTGCCGGGTGACAAAGTGACGT
ACGATCCGGTAGCCAAAGAGGTTACTGTACAGCCAGGATGCCGTTCCGGTCAGGCGTGT
GAAAACGCGCTGCCGGTGACTTACTCTGACGTTTCAGCCCAGCGATTTTCGTGCAGACCTT
TGCCCGCCGTAATGGGGGAGAAGCCAGCAGTGGGTTCTTCGAAGTGCCGTTAAACGAAA
CGAAAGATAACGGCATTTCGTCTGGCGGAGCGTAAAGAGACGCTGGGAGACGTAACCCAC
CGTATTCTGACCGTACCGATCGCGCAGGATCAGGCGGGGATGTATTACCGTCAGCCGGG
GCAGCAACTGGCGACCTGGATCGTACCGCCAGGACAATACTTCATGATGGGTGATAACC
GCGATAACAGCGCGGACAGCCGTTACTGGGGATTTGTACCGGAAGCGAATCTGGTTGGT
AAAGCGACCGCGATCTGGATGAGTTTCGACAAACAGGAAGGTGAATGGCCGACCGGCGT
ACGCTTAAGCCGTATTGGTGGGATCCATTAA

30

40

17_百日咳菌Tohama I_GI# 33593416_触媒Ser残基 101

(SEQ ID NO: 190)

MSWNFALILFVLLVITGVIWGLDLALFRKRERRAQAAAAQVDAAGITDAEQAGRERRE
AIDAARRAPWWIEYAVSFFPVILFVFLRSFVVEPFHIPSGSMLPTLQSGDLILVNKFS
YGIRLPIIDRKIIETGSLERGDVVVFVRYVDVTDVDYIKRIVGLPGDQVAYLDDKKLYING
KLVPHERDGDYFEPDRVSYIAQYKEKLGEVEHKILLDEQKIQDFGPIWKFPSIQNCQYA
RNGVRCTVPPGHYFAMGDNDRNSADSRWGFVPDGNIVGKAFFVWMNFSDLRIGRFH*

17_百日咳菌Tohama I_GI# 33593416_触媒Serヌクレオチド 301-303

(SEQ ID NO: 191)

ATGAGTTGGAACCTTGGCCCTGATACTTTTTGTACTGCTGGTGATTACCGGCGTTATCTG
GGGATTGGATCTGGCGCTGTTTCGCAAGCGACGCGAACGGCGGGCCAGGCGGGCGGCCG
CGCAAGTGGACGCCGCCGGCATCACGGATGCCGAGCAGGCCGGCCGCGAGCGGCGCGAG
GCCATCGACGCGGCGCGCCGCGCGCCCTGGTGGATCGAGTATGCGGTCAGCTTCTTCCC
GGTGATCCTGTTCTGTTCGTGCTGCGCTCGTTCGTGGTCGAGCCGTTTCACATTCCGT
CGGGGTCCATGCTGCCCACGCTGCAATCGGGCGACCTGATCCTGGTGAACAAGTTCAGC
TACGGCATCCGCTGCCATCATCGATCGCAAGATCATCGAGACGGGCTCGCTGGAGCG
TGGCGACGTGGTGGTGTTCGCTACCCGGTCGATACGGATGTCGACTACATCAAGCGCA
TCGTGGGTCTGCCGGGCGACCAGGTGGCCTACCTGGACAAGAAGCTGTACATCAACGGA
AAATTGGTGCCGCATGAACGCGACGGGGATTATTTTCGAGCCCGATCGCGTGTCTTATAT
TGCGCAATACAAGGAAAAAAGTGGGCGAAGTGGAGCATAAGATCCTGCTTGATGAGCAGA
AAATACAGGATTTTCGGCCCCATCTGGAAATTTCCCAGTATCCAGAACTGCCAGTACGCC
CGCAACGGCGTGCGCTGTACCGTCCCCCCCCGGCCATTATTTTCGCCATGGGAGACAACCG
TGACAATAGTGGGACAGCCGCTACTGGGGATTTCGTGCCAGACGGTAATATCGTGGGGA
AGGCATTTTTTGTCTGGATGAACCTTCAGCGATTTGAGCCGCATTGGCCGCTTCCATTGA

10

20

18_クロストリジウム ディフィシレ 630_GI# 126698930_触媒Ser残基 37

(SEQ ID NO: 192)

MSVKKEIFDWIKSIAMAIVLAFVILQFIIPSIVSGESMYPTLDDKDYLLNRIISYKVGK
PEKGDIVVFKTNLVDGETGKKKDLIKRVIATEGDRIKISNSKVYVNGKLLNEPYIHNNY
TSGDIDTVVPKGKLFAMGDNRENSNDSRFPDVGMDVEDEVLGKVMVRLPLDNIGKVD*

18_クロストリジウム ディフィシレ 630_GI# 126698930_触媒Serヌクレオチド

109-111 (SEQ ID NO: 193)

ATGAGTGTTAAAAAAGAAATATTTGATTGGATTAAGTCAATAGCTATGGCTATTGTACT
TGCATTTGTAATTCTACAATTTATAATACCTTCTATTGTAAGTGGAGAATCAATGTATC
CTACTTTAGATGATAAAGATTATCTGATTTTAAATAGGATATCATACAAGGTTGGTAA
CCTGAAAAAGGCGATATTGTAGTTTTTAAACCAATTTAGTTGATGGAGAAACAGGAAA
GAAAAAAGACTTAATAAAAAAGAGTTATAGCTACTGAAGGTGACAGAATAAAAAATATCAA
ATTCTAAAGTGTATGTAAATGGAAAATTATTAAATGAACCATATATACACAATAACTAT
ACTTCTGGAGATATAGATACTGTTGTTCCAAAAGGTAAACTATTTGCAATGGGAGATAA
TAGAGAAAATAGTAATGATAGTAGATTCCCTGATGTAGGTATGGTTGATGAAGATGAAG
TTCTTGGTAAGGTTATGGTGAGACTATTACCTCTTGATAATATTGGGAAAGTAGACTAA

30

19_クロストリジウム ディフィシレ 630_GI# 126698133_触媒Ser残基 39

(SEQ ID NO: 194)

VGEAVKKEVVEWIKVIVIALVLFAITRFIVPTIVKGESMYPTLVERDYLIVNRIAYKV
GEPKYKDIIVFKTDLTEENGKKKDLVKRVIGVPGDHVKIQDSKVYVNDKLLDETSYIHN
NRTDGDIDIVVPEGKLFAMGDNREKSLDSRYDEVGLVDEHTILGKVLVRLYPFSKIGTI
D*

40

19_クロストリジウム ディフィシレ 630_GI# 126698133_触媒Serヌクレオチド
115-117 (SEQ ID NO: 195)
GTGGGTGAAGCAGTTAAAAAAGAAGTTGTAGAATGGATAAAAAGTGATTGTCATAGCTCT
TGTTTTGGCATTTCGAATAACTCGTTTTATAGTGCCAACAATAGTCAAAGGAGAATCAA
TGTATCCTACATTAGTTGAACGTGATTATTTGATAGTTAACAGAATTGCGTACAAGGTA
GGAGAGCCAAAATACAAAGATATAATAGTATTCAAAACCGACTTAACAGAGGAAAATGG
AAAGAAAAAAGATTTAGTAAAAAGAGTTATCGGGGTTCTGGTGACCATGTAAAAATAC
AAGACTCCAAGGTATATGTAAATGATAAGTTGTTAGATGAGACTTCCTATATACATAAT
AATCGTACTGATGGAGATATTGATATCGTAGTTCCAGAAGGAAAATTATTTGCAATGGG
AGATAATAGAGAAAAAAGTTTAGATAGTAGATACGATGAGGTTGGATTGGTCGACGAGC
ATACCATTTTAGGAAAGGTTCTAGTCAGATTGTATCCATTTTCTAAGATAGGAACTATT
GACTAA

10

20_クロストリジウム ディフィシレ 630_GI# 126698134_触媒Ser残基 39
(SEQ ID NO: 196)
MNETIKEEIVEWIKIIITALLFFAFIITRFIKPTLVNGESMYPTLKSHDYLVANRMITYKL
SEPKCGDIMIFKTDLLQENGRKKELVKRVIGVPGDHLKIKDSKVYINGKLLNEVSYIHD
NYTEGDDIDMVIPKGKVFAMGDNREVSLDSRYKEVGLVDEENIKGKVILRVFPFTDIGIF
E*

20_クロストリジウム ディフィシレ 630_GI# 126698134_触媒Serヌクレオチド
115-117 (SEQ ID NO: 197)
ATGAATGAACTATTAAAGAAGAGATTGTAGAGTGGATAAAAATAATTATTACTGCACT
TTTTTTTGCATTTATTATAACTCGTTTTATAAAACCAACATTAGTAAATGGAGAATCAA
TGTACCCAACACTTAAATCACATGATTATTTGGTAGCAAACAGGATGACATATAAGTTA
TCAGAACCAAAATGTGGAGATATAATGATATTTAAGACTGATTTATTACAAGAGAATGG
AAGGAAAAAAGAGCTTGTA AAAAAGGGTTATAGGTGTTCTGGTGACCATCTAAAAATTA
AGGATTCTAAGGTTTATATAAAATGGTAAAGTTATTAATGAAGTTTCATATATACATGAT
AATTATACTGAAGGCGATATTGATATGGTGATTCCCTAAGGGAAAAGTATTTGCGATGGG
AGACAATAGAGAAGTTAGTTTAGACAGTAGATATAAAGAAGTGGGATTAGTAGATGAAG
AAAATATTAAAGGAAAAGTTATTTTAAGAGTATTTTCCTTTTACAGATATAGGTATTTTT
GAGTAG

20

21_エンテロкокカス フェカーリス V583_GI# 29377531_触媒Ser残基 35
(SEQ ID NO: 198)
MSSLLKRLVQLVLLVAVLLIRHYVFSPPAVNGSSMEPTLHNNDRLLWVTSIKKPQRFDI
IAFPSPRNGQRVAKRLIGLPGETVEYRDDTLYINGVSLSEDYLA SAKRNVSKNENYTQD
FTLETLEATQSLTVPEGMYFVLGDNRPRSDDSRYFGFVKQASVEGVLTFRYYPLDKIGF
P*

30

21_エンテロкокカス フェカーリス V583_GI# 29377531_触媒Serヌクレオチド
103-105 (SEQ ID NO: 199)
ATGTCCTCATTATTAAAACGATTGGTTTCAGTTGGTTTTGTTAGTCGTCGCTGTCTTGCT
GATTCGACACTATGTTTTCTCCCCTGCTGCGGTGAACGGCTCTTCAATGGAACCAACAC
TTCATAACAACGACCGTTTATGGGTGACCTCGATTAAAAAACCACAGCGCTTTGATATT
ATCGCTTTCCCTAGTCCTCGCAACGGCCAACGAGTAGCCAAACGTTTAATTGGTTTACC
TGCGCAAACAGTCGAGTATCGCGATGATACCCTTTATATTAATGGTGTATCACTCAGTG
AAGATTACTTAGCAAGTGCTAAACGAAATGTCTCTAAAAATGAAAATTATACCCAAGAT
TTTACGCTAGAGACCTTAGAAGCCACCCAATCCCTGACCGTTCCAGAAGGCATGTATTT
TGTCTTGGGGGATAATCGCCCGCGCTCAGACGACAGTCGTTATTTTGGCTTTGTAAAC
AAGCGAGTGTGGAAGGTGTTTTGACTTTTCGTTATTATCCATTAGATAAAAATTGGCTTT
CCATAA

40

22_エンテロコッカス フェカーリス V583_GI# 29375442_触媒Ser残基 101

(SEQ ID NO: 200)

MRTIRHIKRAFLKQKLPATYQLKKQKANTAMEYLLLEQTDNHQSIRGPKRKMTAEIIEKKK
RQAYQKKQVRVQVVKFFMPAILFAIFVFFFVLKTSYPIAGQSMKPTLNAGERVLVQRTK
QVARYDVIAFKAPLASKGTYVKRIIGVPGDRIWVNEGKLYLSEPIASDNEALPENASR
FDLSEEEAAQLRLFQKIPAGHYFVLGDNRTHSSDSRTFGFVEIQAIEGIVVFKMAPFKE
IGKVK*

22_エンテロコッカス フェカーリス V583_GI# 29375442_触媒Serヌクレオチド

301-303 (SEQ ID NO: 201)

ATGCGAACAAATTCGCCACATTAAGCGCGCCTTCTTGAAGCAAAAGTTGCCTGCGACATA
TCAGCTAAAAAAGCAAAAGGCTAACACAGCAATGGAATATTTGCTTGAGCAAACAGATA
ACCATCAATCAATAAGAGGACCGAAAAGAAAAATGACCGCTGAAGAGATTAAAAAAAAG
CGGCAAGCCTACCAAAAGAAACAACGCGTCCAAGTCGTTAAATTTTTTATGCCAGCTAT
TCTTTTCGCCATTTTTTGTGTTCTTTTTTGTGTTAAAGACATCTAGCTACCCAATTGCTG
GGCAATCCATGAAGCCGACACTTAACGCAGGGGAACGAGTCTTAGTACAACGGACGAAG
CAAGTAGCAAGGTACGATGTGATTGCATTTAAAGCACCGCTAGCTAGCAAAGGTACGTA
CGTCAAGCGAATCATCGGGGTTCTTGGTGATCGAATTTGGGTAAACGAGGGAAAACTTT
ATCTTTTCAGAAGAACCTATAGCAAGCGATAATGAGGCACTGCCTGAGAATGCCAGTCGT
TTTGACTTATCAGAAGAAGCGGCAGCCCACTTCGCCTGTTTCAGAAGATTCCAGCTGG
TCATTACTTTGTCTTAGGGGACAATCGTACGCATTCAAGTGATAGTCGTACGTTTCGGCT
TTGTGCGAGATACAAGCGATTGAAGGAATCGTGGTATTTAAAATGGCGCCGTTTAAGGAA
ATAGGGAAAGTAAATAA

10

20

23_エンテロコッカス フェカーリス V583_GI# 29375687_触媒Ser残基 39

(SEQ ID NO: 202)

MSLKSKELIKTVVFFACLALGLFLLRQFVFVTPVVVRGHSMDFTLADGERVITLKNTEIN
RFDIITFPAPDEPDKNYIKRVIGLPGDTIAYKDDTLINGKEVDEPYLDEFKKALTDGQ
PLTGDFSLKEKVPADSYFVLGDNRRNSKDGRVIGFIHKKDILGEVKFVMWPF SRFGP
EVSQ*

23_エンテロコッカス フェカーリス V583_GI# 29375687_触媒Serヌクレオチド

115-117 (SEQ ID NO: 203)

ATGAGTTTGAAATCAAAAGAATTAATTAACAGTCGTCCTTTTTTGCCTGTTTAGCTTT
GGGTCTGTTTTTACTGAGACAATTTGTATTTACGCCTGTCGTAGTGAGAGGTCATTCAA
TGGATCCAACGTTAGCAGATGGTGAACGGGTAATTACGTTAAAAAACACAGAAATTAAT
CGTTTCGATATTATTACTTTCCAGCGCCAGATGAACCAGATAAAAATTATATTAAACG
TGTGATTGGTTTACCTGGAGATACAATTGCGTACAAGGATGATACGTTGTACATCAATG
GAAAAGAAGTTGACGAACCTATTTAGATGAATTTAAAAAAGCCTTAACAGATGGTCAA
CCTTTGACAGGCGATTTTTTCATTAAGAAAAAGTACCAGCAGATAGCTACTTTGTTTT
AGGTGATAATCGACGGAATTCAAAAGACGGTCGTGTCATTGGTTTTATTCAAAAAAAG
ATATTTTGGGTGAAGTGAAATTTGTGATGTGGCCATTCTCACGGTTTGGTCCAATACCA
GAAGTGTCAAAACAATAA

30

24_エンテロコッカス フェカーリス V583_GI# 29376232_触媒Ser残基 42

(SEQ ID NO: 204)

LKKKRQDYVGYLMYFLKILVPAIVAVFILRGFFLIPVRVDGHSMQKTLNQDMIVMEKF
S
AIKRFQDVVFKTDGTSILIKRVIGLPGAVRYENDQLYVNNQPIAEPYLTKNRKKDHET
MPYTTNFDKSKELLMQEKLPKDSYFVLGDNRRMSKDSRSFGAIHADQILGKAQFVYYPLT
HMKIIPK*

40

24_エンテロコッカス フェカーリス V583_GI# 29376232_触媒Serヌクレオチド

124-126 (SEQ ID NO: 205)

TTGAAGAAGAAACGTGATTATGTTGGGTATTTAATGTACTTTCTGAAAATTTTAGTACC
AGCAATCGTAGCCGTTTTTATTTAAGAGGATTTTTCCTGATTCCTGTTCCGGGTGGATG
GCCATTCTATGCAAAAAACCTTGAATCAAGGAGATATGATTGTGATGGAAAAATTCTCC
GCCATTAAACGGTTTGATGTGGTGGTCTTTAAAAACAGATACAGGATCGATTCTGATTAA
ACGTGTGATTGGTTTACCAGGAGAAGCTGTGCGTTACGAAAACGATCAATTATATGTCA
ATAATCAGCCAATCGCTGAACCGTATTTAACTAAAAACAGAAAAAAGATCATGAAACG
ATGCCTTACACTACGAATTTTGATTCAAAAGAATTGTTAATGCAAGAAAAATTACCTAA
AGATAGCTATTTTGTGCTTGGTGATAATCGCCGTATGTCCAAAGACAGCCGTTCTTTTG
GTGCAATACATGCAGATCAAATCTTAGGGAAAGCACAAATTTGTTTATTACCCACTCACT
CATATGAAGATCATTCCTAAATAA

10

25_リステリア菌株4b F2365_GI#

46907497_触媒Ser残基 49 (SEQ ID NO: 206)

MTDQYDKPKKKSGAHQLLSWVLVIVAALAIALVIRNFVVAPVKVEGTSMVPTYQDGDR
IFIEKISKPDRFDIIVFDEPPMIGSGEHFIKRVIGLPGDKIAFKNGELYLNGKRKVENY
LPEGTLTLWNPDPQTQKPYIADYTLEDMTGESTVPKGKLFVLGDNRRGSSDSRVFGFIDD
SMVNGTVIQFGK*

25_リステリア菌株4b F2365_GI#

46907497_触媒Serヌクレオチド 145-147 (SEQ ID NO: 207)

ATGACAGATCAATATGACAAAAAGCCCAAGAAAAAAGCGGGGCGCACCAATTATTAAG
CTGGGTGCTAGTTATCGTTGCAGCGCTTGCAATTGCACCTGTGATTCGTAACCTTGTAG
TTGCACCAAGTAAAAGTAGAAGGAACATCTATGGTTCCAACATATCAAGATGGCGATAGA
ATTTTCATTGAAAAAATTTCCAAGCCTGATCGTTTCGACATTATCGTGTTTGATGAACC
TCCAATGATTGGTTCAGGAGAGCATTTCATCAAGCGAGTGATTGGTTTGCCGGGAGATA
AAATAGCATTAAAAACGGTGAATTATATTTAAATGGAAAACGAAAAGTAGAAAAATTAC
TTGCCAGAAGGAACATTAACCTTTTGGAAATCCAGATCCAACGCAAAAACCATACATAGC
GGATTATACGCTGGAGGATATGACAGGCGAAAGTACTGTTCCGAAAGGGAAACTATTTG
TACTTGAGATAATCGCGGCGGGAGTTCAGATAGTCGCGTTTTTCGGATTTATTGATGAT
TCCATGGTAAACGGTACAGTGATACAATTTGGAAAATAA

20

26_リステリア菌株4b F2365_GI#

46907496_触媒Ser残基 42 (SEQ ID NO: 208)

MKSENKFFSGAFGWIKIILIALILAFGIRYFLISPVTVNGKSMDPTLHDGEHLFINKVS
DPKRFDIIVFPAPDEENAEYIKRVIGLPGDKVEYKEDQLYINGKKYDEPYLDSEKEALK
NGYLTTDAEGDPNFTMADIPNSDGLTVPKGELFVLGDNRRQVSKDSRYIGFISQDTVLG
KVISFGKSLER*

30

26_リステリア菌株4b F2365_GI#

46907496_触媒Serヌクレオチド 124-126 (SEQ ID NO: 209)

ATGAAAAGTGAAAACAAATTTTTTCTGGGGCATTGATGGATAAAAATAATTCTCAT
CGCGCTTATACTTGCTTTTGGTATTCGCTATTTTTTAATTTCTCCAGTTACTGTTAATG
GGAAATCAATGGACCCAACACTTCATGATGGGGAACATTTATTTATTAACAAGGTATCA
GATCCGAAGCGTTTTGACATTATTGTATTTCTGCGCCTGATGAGGAAAATGCAGAGTA
CATTAAACGCGTCATTGGCCTTCCAGGAGATAAAGTGGAGTACAAAGAAGATCAACTTT
ATATTAATGGAAAAAATATGATGAACCTTATTTAGATTCAGAAAAAGAAGCTCTAAAA
AACGGTTATTTAACCCTGATGCAGAAGGCGATCCTAATTTTACGATGGCAGACATTCC
AAACTCTGACGGCTCTCTCACTGTCCCTAAAGGAGAACTTTTTGTTTTAGGAGATAATC
GTCAAGTAAGTAAAGATAGTCGCTACATTGGCTTTATATCACAGGATACCGTGCTTGGA
AAAGTAATTTCAATTTGGAAAATCCTTAGAACGTAA

40

27_リステリア菌株4b F2365_GI#

46907498_触媒Ser残基 40 (SEQ ID NO: 210)

LKEKNLKLRLWSWIWAAVLAVLIAVIRFYLFVPIILVDGISMMPTLHSDDRVIINRFGNV
DRFDVIVFRES DGKEYIKRVIGLPGDTVEYKEDQLYINGKKYNEPYLDTYKEKLKDGYL
TDDYSSKDQLDGGKIPKDTYFVLGDNRRASKDSRIIGPIPF SKVLGTTPICYWPIEDAK
LID*

27_リステリア菌株4b F2365_GI#

46907498_触媒Serヌクレオチド 118-120 (SEQ ID NO: 211)

TTGAAGGAGAAGAATTTAAAACGGTTATGGTCATGGATTTGGGCGGCTGTTCTAGCAGT
GTTAATAGCTGTTATAATCCGTTTTTATTTATTTGTCCCTATTCTCGTCGATGGGATAT
CAATGATGCCTACACTTCATAGCGATGACCGTGTAATTATAAATCGCTTCGAAATGTA
GATCGTTTCGATGTGATTGTTTTCCGAGAATCAGATGGAAAAGAATACATCAAGCGAGT
GATCGGTTTGCCGGGTGATACAGTAGAATACAAAGAAGACCAACTTTACATCAATGGTA
AAAAGTATAATGAACCATATTTGGATACTTACAAAGAAAAGTTAAAAGATGGCTATTTA
ACAGATGATTACAGTTCGAAAGATCAACTAGATGGTGGCAAAATTCCAAAGATACTTA
TTTTGTTTTAGGTGACAATCGAAGAGCAAGCAAGACAGTCGGATAATTGGGCCAATTC
CATTTAGCAAGGTGTTAGGAACAACACCGATTTGTTACTGGCCGATTGAAGATGCCAAA
CTTATAGATTAG

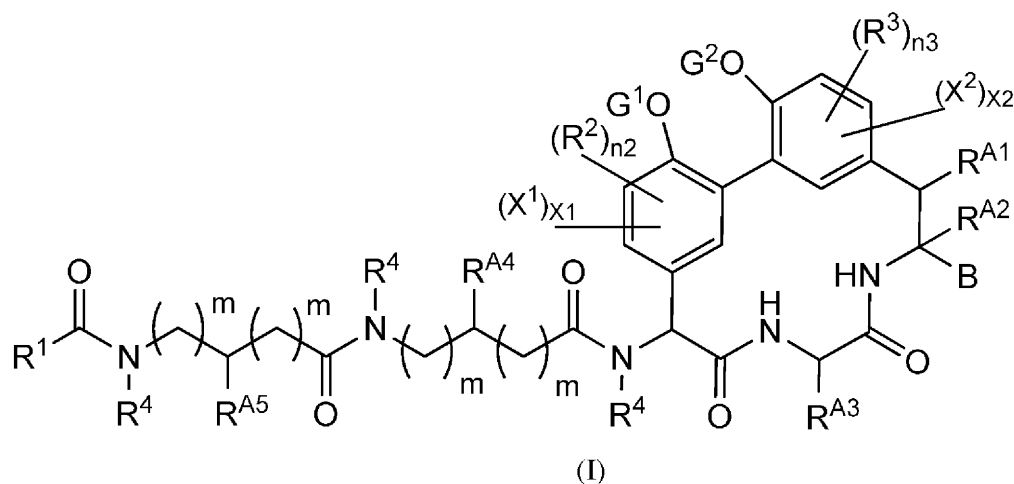
10

【 0 4 4 4 】

本発明の態様

[1] 式 (I) の化合物またはその塩 :

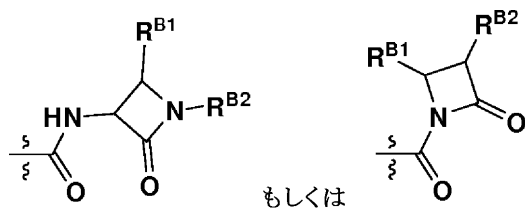
20



30

式中、

BはCO₂H、CH₂CO₂H、C(=O)NHCH₂C(=O)H、CH₂C(=O)H、C(=O)NHCH₂B(OR^B)₂もしくはC(=O)NHCH₂P(=O)(OR^B)₂であり、R^BはHもしくは(C₁-C₆)アルキルであるか、またはBは下記の式の基であり

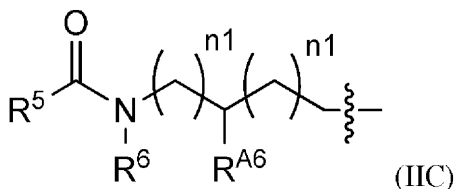
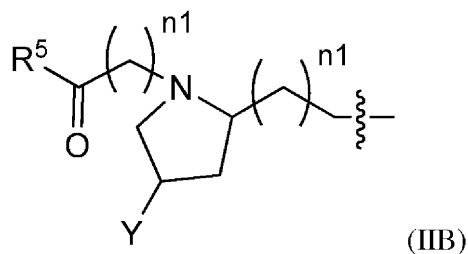
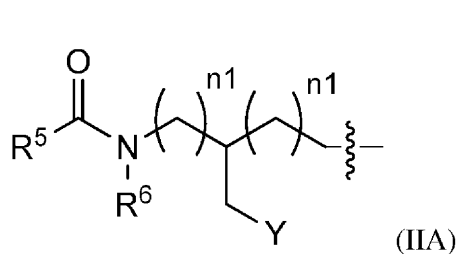


40

、ここでR^{B1}およびR^{B2}はそれぞれ独立にH、(C₁-C₆)アルキル、(C₃-C₆)シクロアルキル、OR^C、C(=O)NR^C₂、OC(=O)NR^C₂、C(=O)OR^C、OC(=O)OR^C、ニトロ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、(C₁-C₆)アルコキシ、(C₁-C₆)チオアルコキシ、NR^C₂、5~7員ヘテロシクリルもしくは5~7員ヘテロアリール、または(C₆-C₁₀)アリールであり；R^Cは各出現時に独立にHまたは(C₁-C₆)アルキルであり、かつ波線はBを有する式(I)の炭素へのBの連結点を示し；

R¹は式(IIA)または(II B)または(II C)の基を含み

50



10

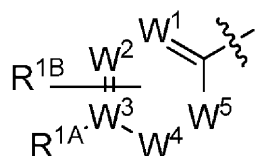
、ここで各mは独立に0、1、または2であり、n1は各出現時に独立に0、1、または2であり；Yは $(\text{CH}_2)_{0-2}\text{H}$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OH}$ 、または $(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OC}(=\text{O})(\text{C}_1-\text{C}_6)$ アルキルであり； $\text{R}^{\text{A}6}$ は水素、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つの置換基で置換されていてもよく、ここで各置換基は独立にハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、シアノ、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、5~7員ヘテロシクリル、 (C_1-C_6) アルコキシ、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、 (C_1-C_6) -モノ-またはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) アルコキシカルボニル、 (C_1-C_6) アルキルヒドロキシカルボニル、 (C_1-C_6) アルキルアミノカルボニル、 (C_1-C_6) アルキルスルホニルアミノ、および $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ -アリールスルホニルアミノからなる群より選択され；かつ波線は R^1 を有する式(1)の原子への R^1 の連結点を示し；かつ

20

R^5 は、それが直接またはOもしくはNRによって結合してそれぞれアミド、カルバメート、または尿素連結を提供するカルボニル炭素に結合した、約1~22炭素原子の直鎖または分枝アルキル鎖であり；任意に鎖内または鎖末端に以下の基のいずれかを含み：

30

(A)



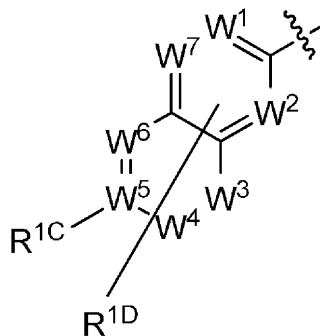
ここで W^1 、 W^2 、 W^3 、 W^4 および W^5 はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただし W^1 、 W^2 、 W^3 、 W^4 および W^5 の2つ以下はNであり；ただし $\text{R}^{\text{A}1}$ または $\text{R}^{\text{B}1}$ が水素ではないとき、 $\text{R}^{\text{A}1}$ または $\text{R}^{\text{B}1}$ がそれぞれ結合している任意のW原子はCであり、ここでW原子を有する環に結合した1つまたは複数の $\text{R}^{\text{B}1}$ があってもよく； $\text{R}^{\text{A}1}$ は水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、シアノ、 (C_1-C_6) -チオエーテル、フルオロアルコキシ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ アリールであり； $\text{R}^{\text{B}1}$ は水素、アルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ アリールであり；ここで任意の $\text{R}^{\text{A}1}$ または $\text{R}^{\text{B}1}$ は1~3つの $(\text{C}_1-\text{C}_{12})$ -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル

40

50

、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリール基を有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

(B)



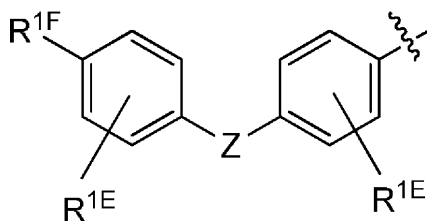
10

ここでW¹、W²、W³、W⁴、W⁵、W⁶、およびW⁷はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただしW¹、W²、W³、W⁴、W⁵、W⁶、およびW⁷の3つ以下はNであり；ただしR^{1C}またはR^{1D}が水素ではないとき、R^{1C}またはR^{1D}がそれぞれ結合している任意のW原子はCであり、ここでどちらの環も1つまたは複数のR^{1D}を有していてもよく；R^{1C}は水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；R^{1D}は水素、アルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；ここで任意のR^{1C}またはR^{1D}は1～3つの(C₁-C₁₂)-アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

20

30

(C)



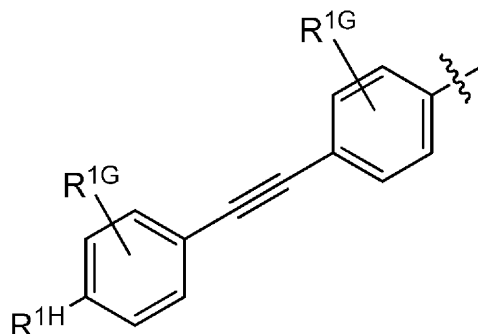
40

ここでZはO、S、NHまたはCH₂であり；R^{1E}は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)-アリールであり；R^{1F}は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、(C₁-C₆)-チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、(C₁-C₆)-アルキル、(C₁-C₆)-アルコキシ、(C₁-C₆)-モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、(C₁-C₆)-アルキル、5～7員ヘテロアリール、5～7員ヘテロシクリル、または(C₆-C₁₀)アリールであり；ここで任意のR^{1E}またはR^{1F}は1～3つの(C₁-C₁₂)-アルキルまたは-アルコキシ基でさ

50

らに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；あるいは

(D)



10

ここで R^{1G} は各出現時に独立に水素、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり； R^{1H} は水素またはアルキル、ハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり；ここで任意の R^{1G} または R^{1H} は1~3つの (C_1-C_{12}) -アルキルまたは-アルコキシ基でさらに置換されていてもよく、これはさらにハロゲン、アミノ、ヒドロキシル、アミノカルボニル、ヒドロキシカルボニル、ニトロ、フルオロアルキル、 (C_1-C_6) -チオアルキル、フルオロアルコキシ、シアノ、 (C_1-C_6) -アルキル、 (C_1-C_6) -アルコキシ、 (C_1-C_6) -モノ-もしくはジ-アルキルアミノ、 (C_1-C_6) -アルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールを有していてもよく；ここで波線は連結点を示し；

20

30

R^2 および R^3 はそれぞれ独立にニトロ、ハロ、シアノ、ヒドロキシ、グリコシルオキシ、アミノ、 (C_1-C_4) アルコキシ、 (C_1-C_4) アシルオキシ、もしくは (C_1-C_4) アルキルであり、ここで任意の炭素原子は無置換もしくはJで置換されていてもよく、ここで n^2 および n^3 は独立に0、1、2、もしくは3であるか；またはここで2つの R^2 基は一緒になって、かつ/もしくは2つの R^3 基は一緒になって、縮合シクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、もしくはヘテロアリール環を構成してもよく、そのいずれも0~3つのJで置換されており；

R^4 および R^6 はあらゆる出現時にそれぞれ独立に水素、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つのJで置換されていてもよく；

40

R^{A1} 、 R^{A2} 、 R^{A3} 、 R^{A4} 、 R^{A5} は各出現時に独立に水素、 (C_1-C_6) アルキル、 (C_3-C_7) シクロアルキル、5~7員ヘテロアリール、5~7員ヘテロシクリル、または (C_6-C_{10}) アリールであり、ここで任意のアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールまたはヘテロアリールは1~3つのJで置換されていてもよく；

Jはハロゲン、 R' 、 OR' 、 CN 、 CF_3 、 OCF_3 、 O 、 S 、 $C(O)$ 、 $S(O)$ 、メチレンジオキシ、エチレンジオキシ、 $(CH_2)_{0-p}N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}SR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}S(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}S(O)_2R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}S(O)_2N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}SO_3R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)CH_2C(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(S)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)OR'$ 、 $(CH_2)_{0-p}OC(O)R'$ 、 $(CH_2)_{0-p}C(O)N(R')_2$ 、 $(CH_2)_{0-p}OC(O)N(R')_2$

50

、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}')_2$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{NH}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{N}(\text{R}')\text{CON}(\text{R}')_2$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{R}'$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{N}(\text{R}')_2$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{S})\text{R}'$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')_2$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}')_2$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{COR}')\text{COR}'$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{N}(\text{OR}')\text{R}'$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{C}(=\text{NH})\text{N}(\text{R}')_2$ 、 $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OR}')\text{R}'$ 、または $(\text{CH}_2)_{0-p}\text{C}(=\text{NOR}')\text{R}'$ であり；ここでpは約4であり、

各R'は各出現時に独立に水素、 $(\text{C}_1-\text{C}_{12})$ -アルキル、 $(\text{C}_2-\text{C}_{12})$ -アルケニル、 $(\text{C}_2-\text{C}_{12})$ -アルキニル、 $(\text{C}_3-\text{C}_{10})$ -シクロアルキル、 $(\text{C}_3-\text{C}_{10})$ -シクロアルケニル、 $[(\text{C}_3-\text{C}_{10})\text{シクロアルキルもしくは}(\text{C}_3-\text{C}_{10})\text{-シクロアルケニル}]-(\text{C}_1-\text{C}_{12})\text{-アルキルもしくは}(\text{C}_2-\text{C}_{12})\text{-アルケニルもしくは}(\text{C}_2-\text{C}_{12})\text{-アルキニル}$ 、 $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ -アリール、 $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ -アリール- $[(\text{C}_1-\text{C}_{12})\text{-アルキルもしくは}(\text{C}_2-\text{C}_{12})\text{-アルケニルもしくは}(\text{C}_2-\text{C}_{12})\text{-アルキニル}]$ 、単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリル、単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリル- $[(\text{C}_1-\text{C}_{12})\text{-アルキルもしくは}(\text{C}_2-\text{C}_{12})\text{-アルケニルもしくは}(\text{C}_2-\text{C}_{12})\text{-アルキニル}]$ 、単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール、または単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール- $[(\text{C}_1-\text{C}_{12})\text{-アルキルもしくは}(\text{C}_2-\text{C}_{12})\text{-アルケニルもしくは}(\text{C}_2-\text{C}_{12})\text{-アルキニル}]$ であり、ここでR'はJから独立に選択される0~3つの置換基で置換されており；

あるいは、2つのR'が窒素原子または2つの隣接する窒素原子に結合しているとき、2つのR'基はそれらが結合している窒素原子と一緒に3~8員単環式複素環、または8~20員二環式もしくは三環式複素環系を形成してもよく、ここで任意の環または環系はN、NR'、O、S、S(O)およびS(O)₂からなる群より選択される1~3個の追加のヘテロ原子をさらに含むことができ、ここで各環はJから独立に選択される0~3つの置換基で置換されており；

ここで、任意の二環式または三環式環系において、各環は直線的に縮合しているか、架橋されているか、またはスピロ環式であり、ここで各環は芳香族または非芳香族のいずれかであり、ここで各環は $(\text{C}_6-\text{C}_{10})$ アリール、単環式もしくは二環式5~10員ヘテロアリール、 $(\text{C}_3-\text{C}_{10})$ シクロアルキルまたは単環式もしくは二環式3~10員ヘテロシクリルに縮合していてもよく；

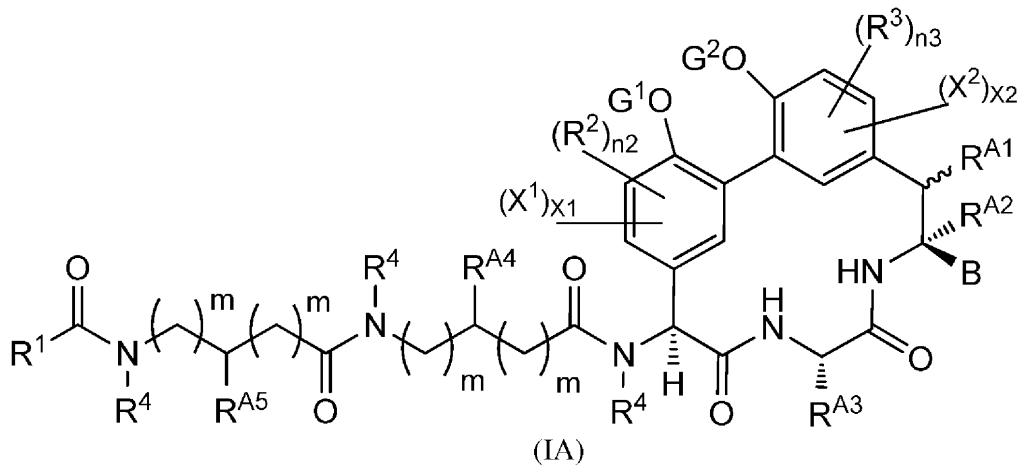
G¹およびG²はそれぞれ独立に水素もしくはグリコシル残基、または生理的条件下で切断可能でG¹もしくはG²がそれぞれ水素である式(1)の化合物を提供する基であり；

$(\text{X}^1)_{\text{X}_1}$ および $(\text{X}^2)_{\text{X}_2}$ はそれぞれ、水素ではない置換基が結合している場合、X¹またはX²はそれぞれCであるとの条件で、各それぞれの環の0、1、または2個の環原子は窒素でありうることを意味し；

ただしG¹が6-デオキシヘキソピラノシル残基であり、G²がHであり、R¹が式(IIA)のものであり、R²が水素もしくはヒドロキシであり、R³が水素であり、R^{A1}およびR^{A2}およびR^{A4}がHであり、R^{A3}およびR^{A5}がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、またはG¹およびG²がHであり、R¹が式(IIA)のものであり、R²が水素であり、R³が水素もしくはニトロであり、R^{A1}およびR^{A2}およびR^{A4}がHであり、R^{A3}およびR^{A5}がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、R⁵は無置換 $(\text{C}_{10}-\text{C}_{16})$ -アルキルではない。

[2] G¹がHまたは6-デオキシヘキソピラノシル残基であり、G²がHであり、R¹が式(IIA)のものであり、R²が水素もしくはヒドロキシであり、R³が水素もしくはニトロであり、R^{A1}およびR^{A2}およびR^{A4}がHであり、R^{A3}およびR^{A5}がメチルであり、かつBがCO₂Hであるとき、R⁵は無置換 $(\text{C}_1-\text{C}_{22})$ -アルキルではない、態様1記載の式Iの化合物。

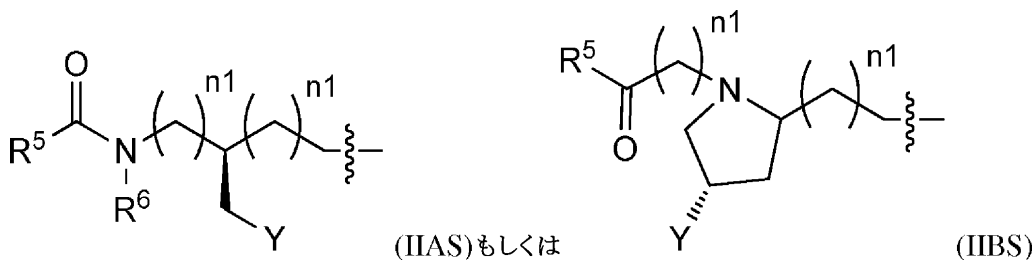
[3] 式(IA)のものまたはその塩である、態様1または2記載の化合物；



10

式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^{A1} 、 R^{A2} 、 R^{A3} 、 R^{A4} 、 R^{A5} 、 R^B 、 R^{B1} 、 R^{B2} 、および R^C 、ならびに m 、 n 、 n^2 、 n^3 、 p 、 B 、 G^1 、 G^2 、 $(X^1)_{x1}$ 、 $(X^2)_{x2}$ 、および Y は態様1において規定するとおりであり、かつ波線は式(IA)において R^1 に結合した原子への R^1 の連結点を示す。

[4] R^1 が式(IIAS)または(IIBS)の基である、態様1~3のいずれか一つに記載の化合物またはその塩：



20

式中、 n^1 、 n^2 、 p 、 R^5 、 R^6 、および Y は態様1において規定するとおりであり、かつ波線は式(I)において R^1 に結合した原子への R^1 の連結点を示す。

[5] R^5 が (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、態様1または2記載の化合物。

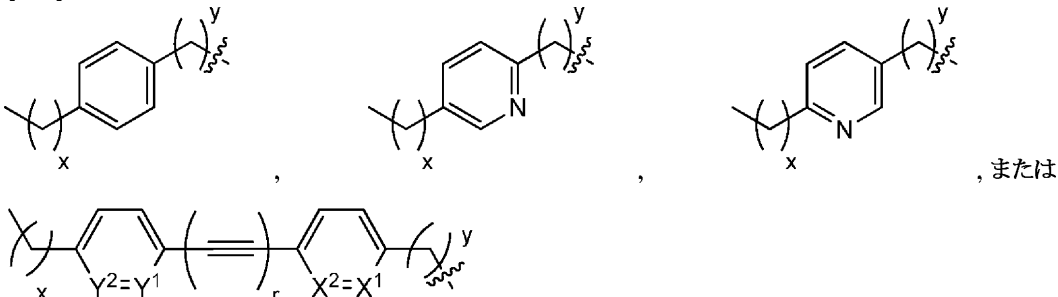
[6] R^5 が態様1記載の基(A)、(B)、(C)、または(D)の1つまたは複数を含む (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、態様1または2記載の化合物。

30

[7] R^5 が (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、態様3または4記載の化合物。

[8] R^5 が態様1記載の基(A)、(B)、(C)、または(D)の1つまたは複数を含む (C_1-C_{22}) 直鎖または分枝アルキルである、態様3または4記載の化合物。

[9] R^5 が以下の基のいずれかである、態様1~4のいずれか一つに記載の化合物：



40

式中、 x は0~14であり、 y は0~14であり、ただし $x+y \leq 22$ であり、かつ X^1 、 X^2 、 Y^1 および Y^2 はそれぞれ独立にCまたはNであり、ただし X^1 および X^2 の1つ以下、ならびに Y^1 および Y^2 の1つ以下はNであり、ここで波線は式(IIA)、(IIB)、または(IIIC)において R^5 に結合した原子への R^5 の連結点を示す。

[10] R^5 が下記のいずれかである、態様1~4のいずれか一つに記載の化合物：メチル、エチル、 (C_3-C_{22}) - n -アルキル、 (C_3-C_{22}) -イソアルキル、 (C_4-C_{22}) -アンテイソアルキル、ナフチル、 (C_2-C_{10}) ナフチル、ナフチルメチル、 (C_2-C_{10}) ナフチルメチル、ピフェニル

50

、(C₂-C₁₀)アルキルビフェニル、ビフェニルメチル、(C₂-C₁₀)アルキルビフェニルメチル、(C₄-C₁₂)フェニル、(C₄-C₁₂)ベンジル、(C₂-C₁₀)-1,2-ジフェニルエチニル、または(Z)-もしくは(E)-(C₂-C₁₀)-1,2-ジフェニルエテニル、ここで波線は式(IIA)、(IIB)、または(IIC)においてR⁵に結合した原子へのR⁵の連結点を示す。

[11] 1つまたは複数のX¹またはX²を有する環がそれぞれフェニル、ピリジル、ピラジニル、ピリミジル、またはピリダジニルであり、任意にR²およびR³がいずれも水素である、態様1記載の化合物。

[12] R²およびR³の少なくとも1つが水素である、態様1~4のいずれか一つに記載の化合物。

[13] R²およびR³の少なくとも1つがニトロ、ハロ、シアノ、ヒドロキシ、グリコシロキシ、アミノ、(C₁-C₄)アルコキシ、または(C₁-C₄)アルキルであり、かつn²またはn³がそれぞれ、またはいずれも1である、態様1~4のいずれか一つに記載の化合物。

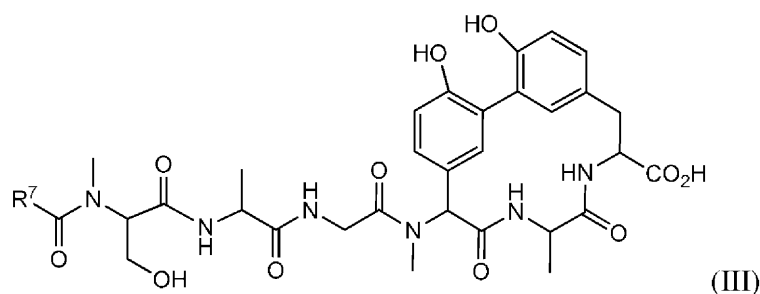
[14] 両方のGが水素である、態様1~4のいずれか一つに記載の化合物。

[15] R^{A1}、R^{A2}およびR^{A4}のいずれかが水素であり、R^{A3}およびR^{A5}のいずれかがメチルであるか、またはその任意の組み合わせである、態様1~4のいずれか一つに記載の化合物。

[16] R^{A3}が水素、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、3-ヒドロキシプロピル、4-ヒドロキシブチル、または2,2,2-トリフルオロエチルである、態様1~4のいずれか一つに記載の化合物。

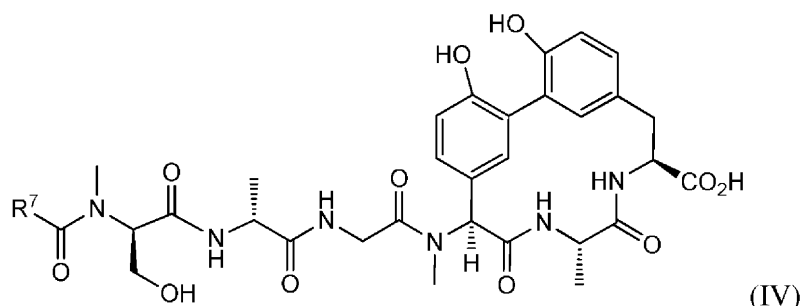
[17] R⁴およびR⁶のすべてが独立に選択された水素またはメチルである、態様1~4のいずれか一つに記載の化合物。

[18] 以下の式(III)の化合物のいずれか、またはその塩である、態様1記載の化合物：



式中、R⁷は(C₈-C₁₈)-n-アルキル、(C₈-C₁₈)-イソアルキル、(C₈-C₁₈)-アンテイソアルキルであり、そのいずれも態様1記載の基(A)、(B)、(C)、(D)、もしくは(E)を含むか；または2-ナフチル、6-(C₂-C₁₀)-2-ナフチル、2-ナフチルメチル、6-(C₂-C₁₀)-2-ナフチルメチル、4-ビフェニル、4-ビフェニルメチル、4'-(C₂-C₁₀)アルキル-4-ビフェニル、4'-(C₂-C₁₀)アルキル-4-ビフェニルメチル、p-(C₄-C₁₂)フェニル、p-(C₄-C₁₂)ベンジル、もしくは4'-(C₂-C₁₀)-1,2-ジフェニルエチニルである。

[19] 以下の式(IV)の化合物のいずれか、またはその塩である、態様3記載の化合物：



ここでR⁷は(C₈-C₁₈)-n-アルキル、(C₈-C₁₈)-イソアルキル、(C₈-C₁₈)-アンテイソアルキルであり、そのいずれも態様1記載の基(A)、(B)、(C)、(D)、もしくは(E)を含むか；または2-ナフチル、6-(C₂-C₁₀)-2-ナフチル、2-ナフチルメチル、6-(C₂-C₁₀)-2-

ナフチルメチル、4-ピフェニル、4-ピフェニルメチル、4'-(C₂-C₁₀)アルキル-4-ピフェニル、4'-(C₂-C₁₀)アルキル-4-ピフェニルメチル、p-(C₄-C₁₂)フェニル、p-(C₄-C₁₂)ベンジル、もしくは4'-(C₂-C₁₀)-1,2-ジフェニルエチニルである。

[20] 態様1~19のいずれか一つに記載の化合物の水和物、溶媒和物、プロドラッグ、または代謝物を含む化合物。

[21] 態様1~20のいずれか一つに記載の化合物および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物。

[22] 患者における細菌感染症の処置用薬剤を調製するための、態様1~20のいずれか一つに記載の化合物の使用。

[23] 動物における細菌感染症の処置方法であって、態様1~20のいずれか一つに記載の化合物の有効量を動物に、有益な効果を動物に提供するのに十分な頻度および期間で投与する段階を含む、方法。

[24] 細菌感染症の原因菌種が、アリロマイシンA2による処置に耐性の遺伝子型のものである、態様23記載の方法。

[25] 細菌感染症が、ジフテリア菌、コリネバクテリウム グルタミカム、カンピロバクター ジェジュニ、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、野兔病菌、ピロリ菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、瘡プロピオニバクテリウム、ロドコッカス エクイ、ロドコッカス オパカス、スタフィロコッカス カピティス、スタフィロコッカス カブラエ、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス コーニイ、表皮ブドウ球菌、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボバイオセプチカス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、化膿連鎖球菌、肺炎連鎖球菌、および/またはペスト菌が関与する感染症である、態様23記載の方法。

[26] 細菌感染症が、グラム陰性菌が関与する感染症である、態様23~25のいずれか一つに記載の方法。

[27] アリロマイシンAおよび/またはアリロマイシンBおよび/または態様1~20のいずれか一つに記載の化合物を動物に投与する段階を含む、動物における細菌感染症の処置方法であって、該感染症が、シグナルペプチダーゼ触媒セリンよりもN末端側の10アミノ酸以内にプロリン残基を持たないシグナルペプチダーゼを発現する微生物種が関与するものである、方法。

[28] 細菌種が、SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリン残基を持たないSPアーゼ酵素をコードまたは発現する、態様27記載の方法。

[29] 細菌感染症が、ジフテリア菌、コリネバクテリウム グルタミカム、カンピロバクター ジェジュニ、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、野兔病菌、ピロリ菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、瘡プロピオニバクテリウム、ロドコッカス エクイ、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス コーニイ、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボバイオセプチカス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、化膿連鎖球菌、および/または肺炎連鎖球菌が関与する感染症である、態様27または28記載の方法。

[30] 細菌感染症が、グラム陰性菌が関与する感染症である、態様27~29のいずれか一つに記載の方法。

[31] 投与する段階が局所投与を含む、態様27~30のいずれか一つに記載の方法。

[32] 動物に態様1~20のいずれか一つに記載の化合物の任意の1つまたは任意の組み合わせを投与する段階を含む、動物における細菌感染症の処置方法であって、該細菌感染症が、SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内にプロリンを有するSPアーゼ

10

20

30

40

50

酵素をコードまたは発現する細菌による感染症を含む、方法。

[3 3] 細菌が、SPアーゼ触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリンを持たないSPアーゼ酵素をコードまたは発現する、態様32記載の方法。

[3 4] 細菌感染症が、スタフィロコッカス カピティス、スタフィロコッカス カブラエおよび/またはベスト菌が関与するものである、態様32または33記載の方法。

[3 5] 動物にアリロマイシンAまたはアリロマイシンBを投与する段階を含む、動物における細菌感染症の処置方法であって、ここで微生物感染症が、ジフテリア菌、コリネバクテリウム グルタミカム、カンピロバクター ジェジュニ、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、野兔病菌、ピロリ菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、瘡プロピオニバクテリウム、ロドコッカス エクイ、スタフィロコッカス カピティス、スタフィロコッカス カブラエ、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス コーニイ、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボピオセプチカス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、化膿連鎖球菌、肺炎連鎖球菌、および/またはベスト菌が関与する感染症である、方法。

[3 6] 投与する段階が局所投与を含む、態様35記載の方法。

[3 7] 第二の治療薬を投与する段階をさらに含む、態様23～36のいずれか一つに記載の方法。

[3 8] 第二の治療薬が非アリロマイシン抗生物質である、態様37記載の方法。

[3 9] 非アリロマイシン抗生物質がアミノグリコシド抗生物質、フルオロキノロン抗生物質、ペニシリン抗生物質、セファロスポリン抗生物質、マクロライド抗生物質、グリコペプチド抗生物質、リファンピシン、クロラムフェニコール、フルオラムフェニコール、コリスチン、ムピロシン、バシトラシン、ダプトマイシン、またはリネゾリドである、態様38記載の方法。

[4 0] 細菌シグナルペプチダーゼが試験試料中に存在するかどうかを検出する段階を含む、試験試料がアリロマイシン抗生物質に感受性の細菌を含むかどうかを検出する方法であって、該細菌シグナルペプチダーゼが、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸以内にプロリンを持たない、方法。

[4 1] 試験試料がベスト菌を含むかどうかを検出する段階をさらに含む、態様40記載の方法。

[4 2] 細菌シグナルペプチダーゼ核酸または細菌シグナルペプチダーゼポリペプチドを検出する、態様40記載の方法。

[4 3] 試験試料を抗シグナルペプチダーゼ抗体と接触させる段階、および抗体が試験試料中の細菌シグナルペプチダーゼと複合体を形成するかどうかを検出する段階をさらに含む、態様40～42のいずれか一つに記載の方法。

[4 4] 抗体が、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸と共にプロリンを含まないシグナルペプチダーゼに選択的に結合する、態様43記載の方法。

[4 5] 試験試料を、細菌シグナルペプチダーゼ触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸と共にプロリンを含むシグナルペプチダーゼに選択的に結合する抗シグナルペプチダーゼ抗体と接触させる段階、および該抗体が試験試料中の細菌シグナルペプチダーゼと複合体を形成するかどうかを検出する段階をさらに含む、態様40～44のいずれか一つに記載の方法。

[4 6] 試験試料から単離した核酸を、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の約10アミノ酸と共にプロリンを含まない細菌シグナルペプチダーゼをコードするDNAに選択的にハイブリダイズするプローブまたはプライマーと接触させる段階をさらに含む、態様40～42のいずれか一つに記載の方法。

[4 7] プローブまたはプライマーがDNAに、ストリンジェントなハイブリダイゼーショ

10

20

30

40

50

ン条件下でハイブリダイズする、態様46記載の方法。

[48] プローブまたはプライマーが、触媒セリンを含む細菌シグナルペプチダーゼの約4から約15アミノ酸を含む領域をコードするシグナルペプチダーゼDNAにハイブリダイズする、態様46または47記載の方法。

[49] 検出する段階が、核酸増幅、核酸配列決定、または単一ヌクレオチド多型検出を含む、態様40～42、46～48記載の方法。

[50] シグナルペプチダーゼが、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の7アミノ酸にプロリンを有していない、態様40～49のいずれか一つに記載の方法。

[51] シグナルペプチダーゼが、細菌シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5アミノ酸にプロリンを有していない、態様40～50のいずれか一つに記載の方法。

[52] 細菌が真正細菌であり、かつ/または抗体が真正細菌の選択された種からのシグナルペプチダーゼに選択的に結合し、かつ/またはプローブもしくはプライマーが真正細菌の選択された種からのシグナルペプチダーゼをコードするDNAに選択的にハイブリダイズする、態様40～51のいずれか一つに記載の方法。

[53] シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリンを含むシグナルペプチダーゼをコードおよび/または発現するよう遺伝子操作された細菌であって、ジフテリア菌、コリネバクテリウム グルタミカム、カンピロバクター ジェジュニ、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、野兔病菌、ピロリ菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、瘡プロピオニバクテリウム、ロドコッカス エクイ、ロドコッカス オパカス、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス コーニイ、表皮ブドウ球菌、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボピオセプチカス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、化膿連鎖球菌、および肺炎連鎖球菌からなる群より選択される、細菌。

[54] シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリンを含まないシグナルペプチダーゼをコードおよび/または発現するよう遺伝子操作された細菌であって、大腸菌、肺炎桿菌、サルモネラ エンテリシア (*Salmonella enterica*)、コレラ菌 (*Vibrio cholera*)、緑膿菌、アシネトバクター バウマンニ (*Acinetobacter baumannii*)、髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*)、インフルエンザ菌、シトロバクター コセリ (*Citrobacter koseri*)、フレキシネル菌 (*Shigella flexneri*)、百日咳菌 (*Bordetella pertussis*)、結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、黄色ブドウ球菌、炭疽菌 (*Bacillus anthracis*)、ストレプトコッカス ミュータンス (*Streptococcus mutans*)、クロストリジウム デイフィシレ、エンテロコッカス フェカーリスおよび/またはリステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) である、細菌。

[55] シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5位または7位アミノ酸にプロリン置換を有するよう改変された、ジフテリア菌、コリネバクテリウム グルタミカム、カンピロバクター ジェジュニ、トラコーマ病原体、クラミドフィラ ニューモニエ、野兔病菌、ピロリ菌、ラクトコッカス ラクティス亜種クレモリス、ラクトコッカス ラクティス亜種ラクティス、瘡プロピオニバクテリウム、ロドコッカス エクイ、ロドコッカス オパカス、スタフィロコッカス カルノーサス、スタフィロコッカス コーニイ、表皮ブドウ球菌、スタフィロコッカス ヘモリチカス、スタフィロコッカス ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ホミニス、スタフィロコッカス ホミニス亜種ノボピオセプチカス、スタフィロコッカス ルグドゥネンシス、ストレプトコッカス アガラクティエ、ストレプトコッカス ディスガラクティエ、ストレプトコッカス ミチス、ストレプトコッカス オラーリス、化膿連鎖球菌、または肺炎連鎖球菌のシグナルペプチダーゼアミノ酸配列を有する、突然変異シグナルペプチダーゼ。

[56] シグナルペプチダーゼの触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にあったプロリンを選択されたアミノ酸で置換することによって改変された、大腸菌、肺炎桿菌、サ

10

20

30

40

50

ルモネラ エンテリシア、コレラ菌、緑膿菌、アシネトバクター バウマンニ、髄膜炎菌、インフルエンザ菌、シトロバクター コセリ、フレキシネル菌、百日咳菌、結核菌、黄色ブドウ球菌、炭疽菌、ストレプトコッカス ミュータンス、クロストリジウム ディフィシレ、エンテロコッカス フェカーリスまたはリステリア菌のシグナルペプチダーゼアミノ酸配列を有する、突然変異シグナルペプチダーゼ。

[57] 選択されたアミノ酸がセリンである、態様56記載の突然変異シグナルペプチダーゼ。

[58] アリロマイシン耐性細菌種が関与する細菌感染症を処置するのに有効な抗生物質の同定方法であって、該方法が、アリロマイシン耐性菌を試験物質と接触させる段階、および試験物質がアリロマイシン耐性菌の増殖を阻害するかどうかを観察する段階を含み、該アリロマイシン耐性菌が、シグナルペプチダーゼ触媒セリンよりもN末端側の5から7アミノ酸にプロリン残基を有するシグナルペプチダーゼ酵素をコードまたは発現する、方法。

10

[59] 細菌に対する抗菌活性を有する化合物の同定方法であって、該方法が、細菌の培養物を試験化合物と接触させる段階、および試験化合物が細菌の増殖を阻害するかどうかを同定する段階を含み、培養物中の該細菌が、触媒セリンに対して-5から-7位でその位置のアミノ酸の置換または置き換えによって改変された、天然の細菌SPアーゼアミノ酸配列を有する改変SPアーゼを発現する、方法。

[60] 触媒セリンに対して-5位および/または-7位のアミノ酸がプロリンで置き換えられている、態様59記載の方法。

20

[61] 触媒セリンに対して-5位および/または-7位のアミノ酸が選択されたアミノ酸によって置き換えられたプロリンである、態様59記載の方法。

[62] 選択されたアミノ酸がセリンである、態様61記載の方法。

[63] 細菌の増殖を阻害する試験化合物が抗菌活性を有する、態様58から62のいずれか一つに記載の方法。

【0445】

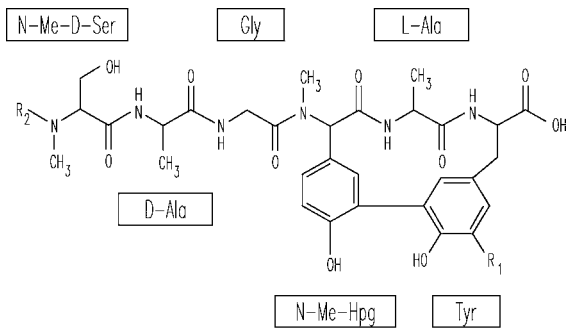
本明細書において言及するすべての特許および出版物は、それぞれ個別の出版物が具体的かつ個別にその全体が参照により本明細書に組み入れられると示された場合と同程度に、参照により本明細書に組み入れられる。

【0446】

用いてきた用語および表現は、説明のための用語として用いており、限定のためのものではなく、そのような用語および表現の使用において、提示し、記載する特徴またはその一部のいかなる等価物も除外する意図はないが、特許請求する発明の範囲内で様々な改変が可能であることが理解される。したがって、本発明を好ましい態様および任意の特徴によって具体的に開示してきたが、当業者であれば本明細書に開示する概念の改変および変形を行いうること、ならびにそのような改変および変形は、添付の特許請求の範囲によって規定される本発明の範囲内であると考えられることが理解されるべきである。

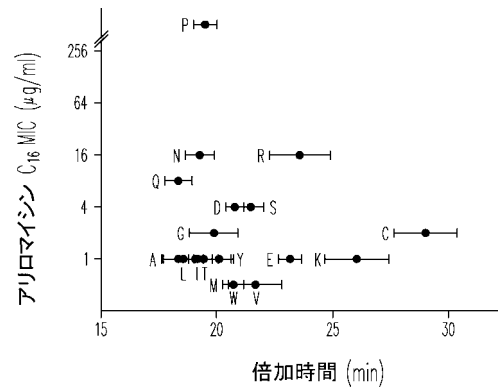
30

【図 1】

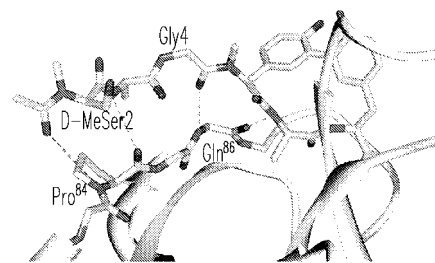


アリロマイシン	R_1	R_2
A ₁	H	イソ-C ₁₁
A ₂	H	イソ-C ₁₂
A ₃	H	n-C ₁₂
A ₄	H	アンティイソ-C ₁₃
A ₅	H	イソ-C ₁₄
B ₁	NO ₂	イソ-C ₁₁
B ₂	NO ₂	イソ-C ₁₂
B ₃	NO ₂	n-C ₁₂
B ₄	NO ₂	アンティイソ-C ₁₃
B ₅	NO ₂	イソ-C ₁₃
B ₆	NO ₂	イソ-C ₁₄
B ₇	NO ₂	アンティイソ-C ₁₅

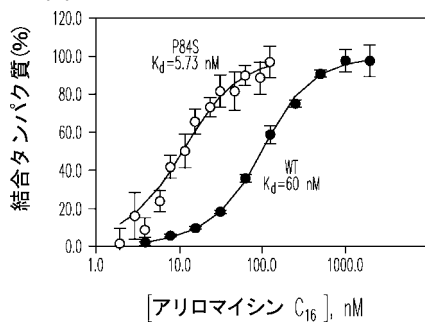
【図 2】



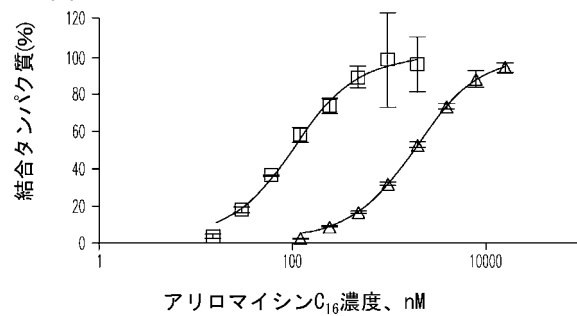
【図 3 A】



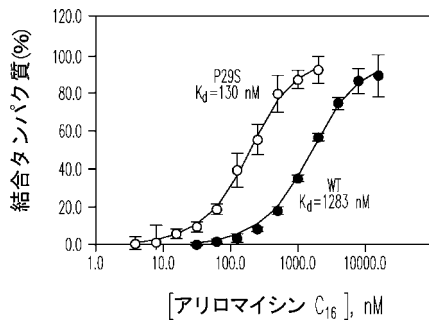
【図 3 B】



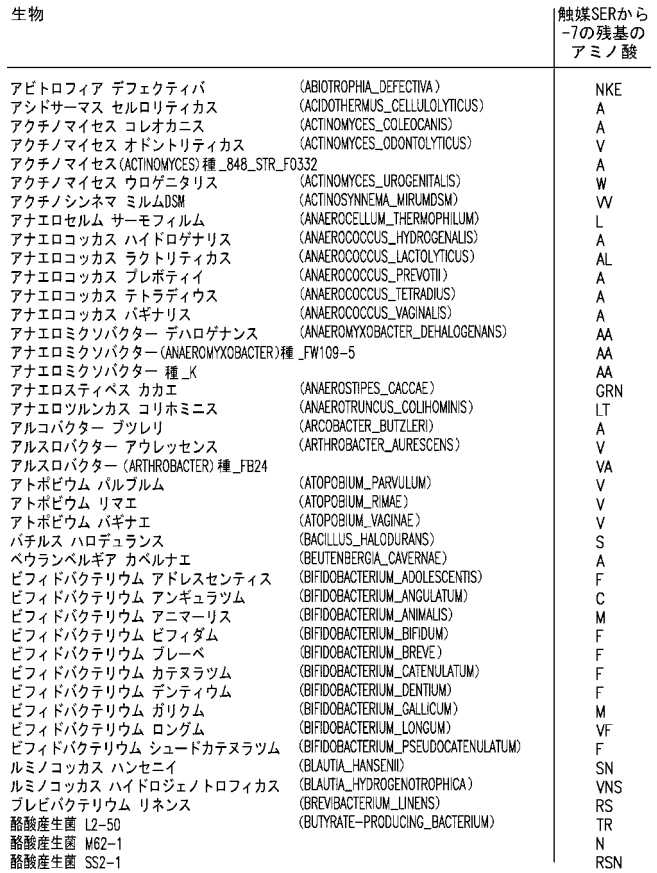
【図 3 D】



【図 3 C】



【 図 5 A 】



【 図 5 C 】

生物		触媒SERから -7の残基の アミノ酸	触媒SERから -7の残基の アミノ酸	
ブチリブリオ クロストツス	(BUTYRIBRIO_CROSSOTUS)	NNK	クロストリジウム ネキシレ (CLOSTRIDIUM_NEXILE)	RR
カルダナエロバクター サブテラネウス	(CALDANAEROBACTER_SUBTERRANEUS)	L	クロストリジウム ノビイ (CLOSTRIDIUM_NOVI)	QQ
カルディセルロシルバクター サッカロリチカス	(CALDICCELLULOSIRUPTOR_SACCHAROLYTICUS)	L	ウェルシュ菌 (CLOSTRIDIUM_PERFRINGENS)	KIKK
カニバクター メディアトランティカス	(CAMINIBACTER_MEDIATLANTICUS)	A	クロストリジウム シンデンス (CLOSTRIDIUM_SCINDENS)	FIRR
カンビロバクター コリ	(CAMPYLOBACTER_COLI)	A	クロストリジウム スポロゲネス (CLOSTRIDIUM_SPOROGENES)	TK
カンビロバクター コンシサス	(CAMPYLOBACTER_CONCISUS)	A	破傷風菌 (CLOSTRIDIUM_TETANI)	T
カンビロバクター カプス	(CAMPYLOBACTER_CURVUS)	A	クロストリジウム (CLOSTRIDIUM) 種 7_2_43FAA	KS
カンビロバクター フェタス	(CAMPYLOBACTER_FETUS)	A	コプロコッカス コメス (COPROCOCOCCUS_COMES)	QR
カンビロバクター グラシリス	(CAMPYLOBACTER_GRACILIS)	A	コプロコッカス オイタクトス (COPROCOCOCCUS_EUTACTUS)	NKR
カンビロバクター ホモニス	(CAMPYLOBACTER_HOMINIS)	A	コリネバクテリウム アクコレンス (CORYNEBACTERIUM_ACCOLENS)	MQ
カンビロバクター ジェジュニ	(CAMPYLOBACTER_JEJUNI)	AIM	コリネバクテリウム アミコラツム (CORYNEBACTERIUM_AMYCOLATUM)	V
カンビロバクター ラリ	(CAMPYLOBACTER_LARI)	A	コリネバクテリウム アウリムコスム (CORYNEBACTERIUM_AURIMUCOSUM)	LQL
カンビロバクター レクタス	(CAMPYLOBACTER_RECTUS)	A	ジフテリア菌 (CORYNEBACTERIUM_DIPHTHERIAE)	V
カンビロバクター ショウアエ	(CAMPYLOBACTER_SHOWAE)	A	コリネバクテリウム ゲニタリウム (CORYNEBACTERIUM_GENTALIUM)	V
カンビロバクター ウプサリエンシス	(CAMPYLOBACTER_UPSALIENSIS)	A	コリネバクテリウム セミナレ (CORYNEBACTERIUM_GLUCURONOLYTICUM)	I
カンビロバクター目菌(CAMPYLOBACTERALES_BACTERIUM) G01		A	コリネバクテリウム グルタミカム (CORYNEBACTERIUM_GLUTAMICUM)	M
Ca. プロトクラミジア	(CANDIDATUS_PROTOCHLAMYDIA)	L	コリネバクテリウム ジェイケイウム (CORYNEBACTERIUM_JEIKEUM)	M
カーボキシデフラキウム パシフィカム	(CARBOXYDIBRACHIUM_PACIFICUM)	L	コリネバクテリウム クロウペンステッティイ (CORYNEBACTERIUM_KROPPENSTEDTII)	VV
カーボキシドサーマス ハイドロゲノフォルマンス	(CARBOXYDOTHERMUS_HYDROGENOFORMANS)	L	コリネバクテリウム リポフィロフラバム (CORYNEBACTERIUM_LIPOPHILOFLAVUM)	M
カテナリスバクテリウム アシディフィラ	(CATENULISBACTERIUM_ACIDIPHILA)	VAAM	コリネバクテリウム マトルコティイ (CORYNEBACTERIUM_MATRUCOTII)	L
セルロモナス フラビゲナ	(CELLULOMONAS_FLAVIGENA)	A	偽ジフテリア菌 (CORYNEBACTERIUM_PSEUDOGENTALIUM)	MQ
クラミジア ムリダルム	(CHLAMYDIA_MURIDARUM)	L	コリネバクテリウム ストリアツム (CORYNEBACTERIUM_STRIATUM)	MQ
トラコマ病原体	(CHLAMYDIA_TRACHOMATIS)	L	コリネバクテリウム ツベルクルステアリカム (CORYNEBACTERIUM_TUBERCULOSTEARICUM)	QM
クラミドフィア アボルタス	(CHLAMYDOPHILA_ABORTUS)	L	コリネバクテリウム ウレアリチカム (CORYNEBACTERIUM_UREALYTICUM)	L
クラミドフィア カビアエ	(CHLAMYDOPHILA_CAVIAE)	L	デルタプロテオバクテリウム (DELTA_PROTEOBACTERIUM) - MLMS-1	A
クラミドフィア フェリス	(CHLAMYDOPHILA_FELIS)	L	デルスホバクテリウム オートトロフィカム (DESULFOBACTERIUM_AUTOTROPHICUM)	A
クラミドフィア ニューモニエ	(CHLAMYDOPHILA_PNEUMONIAE)	L	デルスホバクテリウム レトバエンス (DESULFOHALOBIVUM_RETBAENSE)	A
クラバクター ミシガンエンシス	(CLAVIBACTER_MICHIGANENSIS)	S	デルスホミクロビウム バキュツム (DESULFOMICROBIUM_BACULATUM)	A
クロストリジウム目菌(CLOSTRIDIALESBACTERIUM) 1_7_47FAA		NQN	デルスホナトロノスピラ オチデンスミュタス (DESULFONATRONOSPIRA_THIODISMUTANS)	NA
クロストリジウム目ゲノモ(CLOSTRIDIALESGENOM) 種 BVAB3		V	デルスホルタレア サイクロフィラ (DESULFOTALEA_PSYCHROPHILA)	A
クロストリジウム アセトブチリカム	(CLOSTRIDIUM_ACETOBUTYLICUM)	RT	デルスホビブリオ エスペンシス (DESULFOVIBRIO_AESPOENSIS)	NA
クロストリジウム アスバキフォルム	(CLOSTRIDIUM_ASPARAGIFORME)	NQN	デルスホビブリオ デスルフリカンス (DESULFOVIBRIO_DESULFURICANS)	A
クロストリジウム ベイジェリンキイ	(CLOSTRIDIUM_BEIJERINGII)	GANN	デルスホビブリオ マグネチクス (DESULFOVIBRIO_MAGNETICUS)	EA
クロストリジウム ボルテア	(CLOSTRIDIUM_BOLTEAE)	NQN	デルスホビブリオ ビゲル (DESULFOVIBRIO_PIGER)	A
クロストリジウム ボツリヌム	(CLOSTRIDIUM_BOTULINUM)	STN	デルスホビブリオ サレキシゲンス (DESULFOVIBRIO_SALEXIGENS)	A
クロストリジウム ブチリカム	(CLOSTRIDIUM_BUTYLICUM)	NGNN	デルスホビブリオ フルガリス (DESULFOVIBRIO_VULGARIS)	A
クロストリジウム セルロボラン	(CLOSTRIDIUM_CELLULOVORANS)	NNN	デルスフリビブリオ アルカリフィル (DESULFURIVIBRIO_ALKALIPHILUS)	A
クロストリジウム ハセワイ	(CLOSTRIDIUM_HATHWAYI)	QNN	デチオバクター アルカリフィル (DETHIOBACTER_ALKALIPHILUS)	V
クロストリジウム ハイレモニアエ	(CLOSTRIDIUM_HYLEMONAE)	IRR	ドレア フォルミシゲネラ (DORAE_FORMICIGENERANS)	RRN
クロストリジウム クリュイベリ	(CLOSTRIDIUM_KLUYVERI)	RIT	ドレア ロンギカタナ (DORAE_LONGICATENA)	RRN
クロストリジウム レプツム	(CLOSTRIDIUM_LEPTUM)	V	エガセラ レンタ (EGGERHELLA_LENTA)	AA
クロストリジウム メチルペントーサム	(CI OSTRIDIUM_METHYLPENTOSUM)	VN		

【図 5 D】

生物	触媒SERから -7の残基の アミノ酸	生物	触媒SERから -7の残基の アミノ酸
エプロビスキウム (EPULOPISCUM) 種 _NT_B		HH ジョネシア デニトリフィカンス	(JONESIA_DENTRIFICANS)
エタノリゲネンズ ハルビネンズ	(ETHANOLIGENENS_HARBINENSE)	TT キネオコッカス ラジオトレランス	(KINEOCOCCUS_RADIOTOLERANS)
ユウバクテリウム エリゲンス	(EUBACTERIUM_ELIGENS)	NR コクリア リゾフィラ	(KOCURIA_RHIZOPHILA)
ユウバクテリウム ハリイ	(EUBACTERIUM_HALLII)	RRT クリベラ フラビダ	(KRIBBELLA_FLAVIDA)
ユウバクテリウム レクターレ	(EUBACTERIUM_RECTALE)	NIG キトコッカス セデンタリウス	(KYTOCOCCUS_SEDENTARIUS)
ユウバクテリウム サフェナム	(EUBACTERIUM_SAPHENUM)	T アシドフィルス菌	(LACTOBACILLUS_ACIDOPHILUS)
ユウバクテリウム シラエウム	(EUBACTERIUM_SIRAEUM)	V ラクトバチルス アントリ	(LACTOBACILLUS_ANTRI)
ユウバクテリウム ベントリオサム	(EUBACTERIUM_VENTRIOSUM)	N ラクトバチルス プレビス	(LACTOBACILLUS_BREVIS)
フィーカリバクテリウム ブラウスニッツィイ	(FAECALIBACTERIUM_PRAUSNITZII)	I ラクトバチルス カゼイ	(LACTOBACILLUS_CASEI)
フィネゴルディア マグナ	(FINEGOLDIA_MAGNA)	TI ラクトバチルス コレオホミニス	(LACTOBACILLUS_COLEOHOMINIS)
フランシセラ ノビシダ	(FRANCISELLA_NOVICIDA)	N ラクトバチルス クリスパータス	(LACTOBACILLUS_CRISPATUS)
フランシセラ フィロミラギア	(FRANCISELLA_PHILOMIRAGIA)	N ラクトバチルス デルブレッキイ	(LACTOBACILLUS_DELBUECKII)
野尻病菌	(FRANCISELLA_TULARENSIS)	N ラクトバチルス ファーメンタム	(LACTOBACILLUS_FERMENTUM)
フランキア アルニ	(FRANKIA_ALNI)	A ガゼリ菌	(LACTOBACILLUS_GASSERI)
フランキア (FRANKIA) 種 _CCI3		A ラクトバチルス ヘルベティカス	(LACTOBACILLUS_HELVETICUS)
フランキア 種 _EAN1PEC		AA ラクトバチルス イナース	(LACTOBACILLUS_INERS)
フランキア 種 _EUI1		A ラクトバチルス ジェンセニイ	(LACTOBACILLUS_JENSENII)
フランキア 種 _EUN1F		A ラクトバチルス ジョンソニイ	(LACTOBACILLUS_JOHNSONII)
ガードネラ バギナリス	(GARDNERELLA_VAGINALIS)	V ラクトバチルス プランタルム	(LACTOBACILLUS_PLANTARUM)
ゲオバクター ベミジェンシス	(GEOBACTER_BEMIDIENSIS)	A ラクトバチルス ロイテリー	(LACTOBACILLUS_REUTERI)
ゲオバクター ロブレレイ	(GEOBACTER_LOVLEYI)	AAL ラクトバチルス ラムノーサス	(LACTOBACILLUS_RHAMNOSUS)
ゲオバクター メタリデュセンズ	(GEOBACTER_METALLUREDUCTENS)	A ラクトバチルス サリバリウス	(LACTOBACILLUS_SALIVARIUS)
ゲオバクター (GEOBACTER) 種 _FRC-32		A ラクトバチルス アルチュネンシス	(LACTOBACILLUS_ULTUNENSIS)
ゲオバクター 種 _M18		A ラクトバチルス バギナリス	(LACTOBACILLUS_VAGINALIS)
ゲオバクター 種 _M21		A ラクトコッカス ラクティス	(LACTOCOCCUS_LACTIS)
ゲオバクター スルフレデュセンズ	(GEOBACTER_SULFURREDUCTENS)	A ローソニア イントラセルラリス	(LAWSONIA_INTRACELLULARIS)
ゲオバクター ウラニレデュセンズ	(GEOBACTER_URANIREDUCTENS)	A レイフソニア キシリ	(LEIFSONIA_XYLII)
ゴルドニア ブロンチアリス	(GORDONIA_BRONCHIALIS)	QA ロイコノストック シトレウム	(LEUCONOSTOC_CITREUM)
ハリアンジウム オクサセウム	(HALANGANUM_OCHRACEUM)	A ロイコノストック メセンテロイデス	(LEUCONOSTOC_MESENTEROIDES)
ハロサーモトリックス オレニイ	(HALOTHERMOTRIX_ORENI)	S マクロコッカス カセオリティカス	(MACROCOCCUS_CASEOLYTICUS)
ヘリコバクター アチノニチス	(HELICOBACTER_ACINONYCHIS)	A マリカウリス マリス	(MARICALUS_MARIS)
ヘリコバクター カナデンシス	(HELICOBACTER_CANADENSIS)	A マリンアクチノ バクテリウム	(MARINEACTINO_BACTERIUM)
ヘリコバクター シナエディ	(HELICOBACTER_GNAEDI)	A マルビンブライアンテラ フォーマテキシゲネス	(MARVINBRYANTIA_FORMATEXIGENS)
ヘリコバクター ヘパティカス	(HELICOBACTER_HEPATICUS)	A ミクロコッカス ルテウス	(MICROCOCCUS_LUTEUS)
ヘリコバクター ムステラエ	(HELICOBACTER_MUSTELAE)	A ミクロモノスポラ オーランティアカ	(MICROMONOSPORA_AURANTIACA)
ヘリコバクター プローラム	(HELICOBACTER_PULLORUM)	A ミクロモノスポラ カーボナセア	(MICROMONOSPORA_CARBONACEA)
ピロリ菌	(HELICOBACTER_PYLORI)	A ミツオケラ マルトアシダ	(MITSUOKELLA_MULTACIDA)
ヘリコバクター (HELICOBACTER) 種 ATCC-43879		G ナカムレラ マルチパーティタ	(NAKAMURELLA_MULTIPARTITA)
ヘリコバクター ウィンガメンシス	(HELICOBACTER_WINGHAMENSIS)	A ナトラナエロビウス サーボフィルス	(NATRANAEROBIUS_THERMOPHILUS)
ヒルスチア バルティカ	(HIRSCHIA_BALTICA)	L ナウチリア プロファンディコーラ	(NAUTILIA_PROFUNDICOLA)
ハイフォモナス ネプチュニウム	(HYPHOMONAS_NEPTUNIUM)	Q ニトラティルプター (NITRATRIPUTOR) 種 _SB155-2	

【図 5 F】

生物	触媒SERから -7の残基の アミノ酸	生物	触媒SERから -7の残基の アミノ酸
ノカルディオイデス (NOCARDIOIDES) 種 _JS614		A スタフィロコッカス ルグデュネンシス	(STAPHYLOCOCCUS_LUGDUNENSIS)
ノカルディオプシス ダッソンヴィレイ	(NOCARDIOPSIS_DASSONVILLEI)	A ストレプトコッカス アガラクティエ	(STREPTOCOCCUS_AGALACTIAE)
アセアナカウルス アレキサンドリイ	(OCEANICAULUS_ALEXANDRII)	A ストレプトコッカス ディスガラクティエ	(STREPTOCOCCUS_DYSGALACTIAE)
オリバクテリウム シナス	(ORIBACTERIUM_SINUS)	NL ストレプトコッカス ミティス	(STREPTOCOCCUS_MITIS)
オリバクテリウム SP-F0262	(ORIBACTERIUM)	QN 肺炎連鎖球菌	(STREPTOCOCCUS_PNEUMONAE)
オリエンティア ツツガムシ	(ORIENTIA_TSUTSUGAMUSHI)	L 化膿連鎖球菌	(STREPTOCOCCUS_PYOGENES)
ミクロモナス ミクロス	(PARVIMONAS_MICRA)	S ストレプトコッカス (STREPTOCOCCUS) 種 _M143	
ペディオコッカス アシディラクティン	(PEDIOCOCCUS_ACIDILACTICI)	I ストレプトミセス (STREPTOMYCES) 種 _AA4	
ペディオコッカス ペントサセウス	(PEDIOCOCCUS_PENTOSACEUS)	F ストレプトスボランジウム ロゼウム	(STREPTOSPORANGIUM_ROSEUM)
ペロバクター カービノリクス	(PELOBACTER_CARBINOLICUS)	A サブドリグラナム バリアビレ	(SUBDUGRANULUM_VARIABLE)
ペロバクター プロピオニカス	(PELOBACTER_PROPIONICUS)	AL チオミクロスピラ デニトリフィカンス	(SULFURIMONAS_DENTRIFICANS)
ペプトニフィラス ラクリモリス	(PEPTONIPHILUS_LACRIMALIS)	L スルフロスピリラム デレイアナム	(SULFUROSPILLUM_DELEYANUM)
瘡プロピオニバクテリウム	(PROPIONIBACTERIUM_LACNES)	M スルフロバム (SULFUROVUM) 種 _HBC37-1	
ロドコッカス エリスロポリス	(RHODOCOCCUS_ERYTHROPOLIS)	IV シムビオバクテリウム サーモフィラム	(SYMBIOBACTERIUM_THERMOPHILUM)
ロドコッカス ジョスティイ	(RHODOCOCCUS_JOSTII)	V シントロフォバクター フマロキダシス	(SYNTROPHOBACTER_FUMAROXIDANS)
ロドコッカス オパカス	(RHODOCOCCUS_OPACUS)	V シントロフォモナス ヨリフェイ	(SYNTROPHOMONAS_WOLFEI)
リケツシア ベリイ	(RICKETTSIA_BELLII)	S シントロファス アシディトロフィカス	(SYNTROPHUS_ACIDITROPHICUS)
ロゼブリア インテスティナリス	(ROSEBURIA_INTESTINALIS)	NRN サーモアナエロバクター エタリカス	(THERMOANAEROBACTER_ETHANOLICUS)
ロゼブリア イヌリニボランス	(ROSEBURIA_INULINIVORANS)	NR サーモアナエロバクター マスラニイ	(THERMOANAEROBACTER_MATHRANII)
ロシア ムシラジノーサ	(ROTHIA_MUCILAGINOSA)	G サーモアナエロバクター シュードエタノリカス	(THERMOANAEROBACTER_PSEUDETHANOLICUS)
ルプロバクター キシラノフィラス	(RUBROBACTER_XYLANOPHILUS)	A サーモモノスポラ カーバタ	(THERMOMONOSPORA_CURVATA)
ルミノコッカス グナバス	(RUMINOCOCCUS_GNAVUS)	RR トロフェリマ ホイブレイ	(TROPHYERMA_WHIPPLEI)
ルミノコッカス ラクタリス	(RUMINOCOCCUS_LACTARIS)	RN ツカムレラ バウロメタボラ	(TSUKAMURELLA_PAUROMETABOLA)
ルミノコッカス オベウム	(RUMINOCOCCUS_OBEUM)	TN ワイセラ パラメセンテロイデス	(WEISSELLA_PARAMESENTEROIDES)
ルミノコッカス トルキース	(RUMINOCOCCUS_TORQUES)	NRR ウォリネラ サクシノゲネス	(WOLINELLA_SUCCINOGENES)
サッカロモノスポラ ビリディス	(SACCHAROMONOSPORA_VIRIDIS)	V キシラニモナス セルロシリティカ	(XYLANIMONAS_CELLULOSILYTICA)
サッカロポリスポラ エリスラエア	(SACCHAROPOLYSPORA_ERYTHRAEA)	V アリス ビュトレディニス	(ALIS_PUTREDINIS)
サリニスポラ アレニコラ	(SALINISPORA_ARENICOLA)	TA バクテロイデス カカエ	(BACTEROIDES_CACCAE)
サリニスポラ トロピカ	(SALINISPORA_TROPICA)	TA バクテロイデス カピロサス	(BACTEROIDES_CAPILLOSUS)
サンガイバクター ケディイエイ	(SANGUIBACTER_KEDDIEI)	A バクテロイデス セルロシリティカス	(BACTEROIDES_CELLULOSILYTICUS)
セレノモナス フリュゲイ	(SELENOMONAS_FLUEGGEI)	LN バクテロイデス コプロコーラ	(BACTEROIDES_COPROCOLA)
セレノモナス スピュテグナ	(SELENOMONAS_SPUTIGENA)	L バクテロイデス コプロフィルス	(BACTEROIDES_COPROPHILUS)
シャトレウシア サテリス	(SHUTTLEWORTHIA_SATELLES)	RT バクテロイデス ドレイ	(BACTEROIDES_DOREI)
スラッキア エキシゲア	(SLACKIA_EXIGUA)	AA バクテロイデス エガーシイ	(BACTEROIDES_EGERTHII)
スラッキア ヘリオトリニレデュセンズ	(SLACKIA_HELIOTRINIREDUCTENS)	AL バクテロイデス フィネゴルディイ	(BACTEROIDES_FINEGOLDII)
ソランギウム セルロSUM	(SORANGIUM_CELLULOSUM)	AQ バクテロイデス フラギリ	(BACTEROIDES_FRAGILIS)
スタッケブランドティア ナッソーエンシス	(STACKEBRANDTHIA_NASSAUENSIS)	SSS バクテロイデス インテスティナリス	(BACTEROIDES_INTESTINALIS)
スタフィロコッカス カルノーサ	(STAPHYLOCOCCUS_CARNOSUS)	S バクテロイデス オバツス	(BACTEROIDES_OVATUS)
表皮ブドウ球菌	(STAPHYLOCOCCUS_EPIDERMIDIS)	SS バクテロイデス ベクチノフィルス	(BACTEROIDES_PECTINOPHILUS)
スタフィロコッカス ヘモリチカス	(STAPHYLOCOCCUS_HAEMOLYTICUS)	SS バクテロイデス プレビウス	(BACTEROIDES_PLEBIUS)
スタフィロコッカス ホミニス	(STAPHYLOCOCCUS_HOMINIS)	SS バクテロイデス (BACTEROIDES) 種 _1_1_6	

【図 5 H】

生物	触媒SERから -7の残基の アミノ酸
バクテロイデス(BACTEROIDES)種_2_1_16	N
バクテロイデス 種_3_1_33FAA	N
バクテロイデス 種_4_3_47FAA	SS
バクテロイデス 種_9_1_42FAA	NSS
バクテロイデス 種_D1	N
バクテロイデス 種_D2	N
バクテロイデス 種_D20	SN
バクテロイデス スターコリス	(BACTEROIDES_STERCORIS) N
バクテロイデス シータイオタオミクロン	(BACTEROIDES_THETAOTAOOMICRON) SN
バクテロイデス ユニフォルミス	(BACTEROIDES_UNIFORMIS) NS
バクテロイデス プルガータス	(BACTEROIDES_VULGATUS) SN
Ga. アゾバクテロイデス	(CAND_AZOBACTEROIDES) H
キチノファーガ ビネンシス	(CHIT_PINENSIS) IA
ディアドバクター フェルメンタス	(DYAD_FERMENTANS) AA
ミクロシラ マリナ	(MICR_MARINA) AAA
パラバクテロイデス ディスタソニス	(PARA_DISTASONIS) NT
パラバクテロイデス ジョンソニイ	(PARA_JOHNSONII) NSS
パラバクテロイデス(PARA)種_D13	TN
ペドバクター ヘパリヌス	(PEDO_HEPARINUS) A
ペドバクター(PEDO)種-BAL39	A
ボルフィロモナス エンドドンタリス	(PORPHYROMONAS_ENDODONTALIS) N
ボルフィロモナス ジンジバリス	(PORPHYROMONAS_GINGIVALIS) N
ボルフィロモナス ウエノニス	(PORPHYROMONAS_UENONIS) N
プレボテラ バーゲンシス	(PREVOTELLA_BERGENSIS) N
プレボテラ ビビア	(PREVOTELLA_BVIA) N
プレボテラ ブッカエ	(PREVOTELLA_BUCCAE) N
プレボテラ ブッカリス	(PREVOTELLA_BUCCALIS) N
プレボテラ コプリ	(PREVOTELLA_COPRI) N
プレボテラ メラニノジェニカ	(PREVOTELLA_MELANINOGENICA) N
プレボテラ オリス	(PREVOTELLAORIS) N
プレボテラ ルミニコーラ	(PREVOTELLA_RUMINICOLA) N
プレボテラ(PREVOTELLA)種_F0039	NF
プレボテラ 種_F0108	N
プレボテラ 種_F0295	N
プレボテラ タンネラエ	(PREVOTELLA_TANNERAE) N
プレボテラ ティモネンシス	(PREVOTELLA_TIMONENSIS) N
プレボテラ ベロラリス	(PREVOTELLA_VERORALIS) N
ロドサーマス マリナス	(RHOD_MARINUS) AL
サリニバクター ルバー	(SALINIBACTER_RUBER) L
スフィンゴバクテリウム スピリティボラム	(SPHINGOBACTERIUM_SPIRITIVORUM) LA
スピロソーマ リングアレ	(SPIROSOMA_LINGUALE) AA

【配列表】

2013539751000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 11/49967

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 38/04; A61K 38/12 (2011.01) USPC - 514/2.9; 530/317 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) IPC(8): A61K 38/04; A61K 38/12 (2011.01) USPC: 514/2.9; 530/317 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC- 514/2.4; 514/2.1.1; 530/322 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST; PGPB, USPT, EPAB, JPAB, GoogleScholar, Science Direct, Dialog: Arylomycin, lipohexapeptides, antimicrobial, anti-biotic		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Butler, et al. Natural products: The future scaffolds for novel antibiotics? Biochemical Pharmacology 2006, 71(7):919-929; pg 924, compound 22	1-5, 7, 10, 12 and 14-19
A	US 6,048,694 A (BRAMUCCI, et al.) 11 April 2000 (11.04.2000) col 6, ln 23-40	1-5, 7, 10, 12 and 14-19
A	Nilsson, et al. A signal peptide with a proline next to the cleavage site inhibits leader peptidase when present in a sec-independent protein. FEBS Letters 1992, 299(3):243-246	1-5, 7, 10, 12 and 14-19
A	US 6,951,840 B2 (BELVO, et al.) 4 October 2005 (04.10.2005) col 5-6	1-5, 7, 10, 12 and 14-19
A	Musial-Siwiek, et al. A Small Subset of Signal Peptidase Residues are Perturbed by Signal Peptide Binding. Chem Biol Drug Des. 2008, 72(2):140-146	1-5, 7, 10, 12 and 14-19
A	Bockstael, et al. Evaluation of the type I signal peptidase as antibacterial target for biofilm-associated infections of Staphylococcus epidermidis. Microbiology 2009, 155(11):3719-3729	1-5, 7, 10, 12 and 14-19
A	Clardy, et al. New antibiotics from bacterial natural products. Nature Biotechnology 2006, 24:1541 - 1550	1-5, 7, 10, 12 and 14-19
A	Dufour, et al. Intramolecular Suzuki-Miyaura Reaction for the Total Synthesis of Signal Peptidase Inhibitors, Arylomycins A2 and B2. Chemistry - A European Journal ePub 23 July 2010, 16(34):10523-10534	1-5, 7, 10, 12 and 14-19
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* 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 "I" 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 "G" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 12 March 2012 (12.03.2012)		Date of mailing of the international search report 06 APR 2012
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 11/49967

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 63
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1.

Group I+: claims 1-19, drawn to a compound of formula (I). The first invention is restricted to a compound of Formula (III). Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional compound(s) to be searched.
[NOTE: Claims 6, 8-9, 11 and 13 were excluded from the search, because they are drawn to a non-elected subject matter.]

Group II: claim 20, drawn to a compound comprising a hydrate, solvate, prodrug, or metabolite of a compound of claim 1.

Group III: claims 21-39, drawn to a pharmaceutical composition comprising the compound of claim 1 and a method of using a compound of claim 1 for preparation of a medicament for treatment of a bacterial infection in a patient.

*****See Supplemental Sheet to continue *****

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Claims 1-5, 7, 10, 12 and 14-19, restricted to a compound of Formula (III)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/US 11/49967

***** SUPPLEMENTAL SHEET *****

In Continuation of BOX III. Observations where unity of invention is lacking:

Group IV: claims 40-52, drawn to a method of detecting whether a test sample contains a bacterium sensitive to an arylomycin antibiotic comprising detecting whether a bacterial signal peptidase is present in the test sample, wherein the bacterial signal peptidase does not have a proline within about 10 amino acids N-terminal to the bacterial signal peptidase's catalytic serine.

Group V: claims 53-62, drawn to a bacterium genetically engineered to encode and/or express a signal peptidase with a proline at 5 to 7 amino acids N-terminal to the signal peptidase's catalytic serine, and to a mutant signal peptidase with a signal peptidase amino acid sequence that is modified to have a proline substitution at a position 5 or at a position 7 amino acids N-terminal to the signal peptidase's catalytic serine.

The inventions listed as Groups I+ through V do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The inventions of Groups I-III do not include the inventive concept of a method of detecting whether a test sample contains a bacterium sensitive to an arylomycin antibiotic comprising detecting whether a bacterial signal peptidase is present in the test sample, wherein the bacterial signal peptidase does not have a proline within about 10 amino acids N-terminal to the bacterial signal peptidase's catalytic serine, as required by Group IV or a signal peptidase with a proline at 5 to 7 amino acids N-terminal to the signal peptidase's catalytic serine, as required by Group V.

The inventions of Groups IV-V share the technical feature of a bacterial signal peptidase that does not have a proline within about 10 amino acids N-terminal to the bacterial signal peptidase's catalytic serine. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art because US 6,048,694 A to BRAMUCCI et al. (11 April 2000) (hereinafter "Bramucci") discloses a mutant signal peptidase comprising a *B. subtilis* or *B. amyloliquefaciens* signal peptidase amino acid sequence that is modified to have a proline substitution at position 1 or 3 (claim 7, "... a signal peptidase processing mutation contains an amino acid at the (-3) position selected from the group consisting of tryptophan, arginine and proline"; col 6, ln 23-40). As said bacterial signal peptidase would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

The inventions of Groups I and IV-V do not include the inventive concept of a hydrate, solvate, prodrug, or metabolite of a compound of claim 1, as required by Group II or a pharmaceutical composition/a medicament comprising the compound of claim 1, as required by Group III.

The inventions of Groups I-III share the technical feature of a compound of claim 1. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art because a paper titled "Natural products - The future scaffolds for novel antibiotics?" by Butler et al. (Biochemical Pharmacology 2008, 71(7):919-929) (hereinafter "Butler") discloses a compound of formula III of claim 18, wherein R7 is C11 alkyl (page 924, compound 22). It is noted that the proviso of claim 1 requires that RA1, RA2 and RA4 are CH3 when G1 and G2 are H, however, claim 18 teaches a formula that does not require that RA1, RA2 and RA4 are CH3 when G1 and G2 are H. As said compound was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Another special technical feature of the inventions listed as Group I+ is a specific compound recited therein. The inventions do not share a special technical feature, because Butler discloses the common structural core shared by the compounds (page 924, compound 22). Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

Groups I+ through V therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)		C 1 2 N 9/52	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/00 (2006.01)		C 1 2 Q 1/02	4 H 0 4 5
A 6 1 P 31/04 (2006.01)		A 6 1 K 37/02	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)		A 6 1 P 31/04	
G 0 1 N 33/573 (2006.01)		A 6 1 K 45/00	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)		G 0 1 N 33/573	A
G 0 1 N 33/50 (2006.01)		G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/15 (2006.01)		G 0 1 N 33/50	Z
C 1 2 N 15/09 (2006.01)		G 0 1 N 33/15	Z
		C 1 2 N 15/00	A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, T M), EP(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, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, I D, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO , NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA

(74) 代理人 100142929
弁理士 井上 隆一

(74) 代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光

(74) 代理人 100128048
弁理士 新見 浩一

(74) 代理人 100129506
弁理士 小林 智彦

(74) 代理人 100130845
弁理士 渡邊 伸一

(74) 代理人 100114340
弁理士 大関 雅人

(74) 代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘

(74) 代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(72) 発明者 ロメスバーク フロイド イー .
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 ラ ホーヤ カミノ デル ソル 8 1 0 9

(72) 発明者 スミス ペーター エイ .
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンディエゴ マートル アベニュー 3 1 2 7

(72) 発明者 ロバーツ タッカー シー .
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンディエゴ シュトレーズマン ストリート 5 7 0 1

F ターム(参考) 2G045 AA25

4B024 AA01 BA80 CA04 DA06 EA04 GA11

4B050 CC04 DD02 LL01

4B063 QA01 QQ36 QR32 QS34

4B065 AA01X AA01Y AB01 AC14 AC20 BA02 CA33 CA44

4C084 AA02 AA03 AA07 AA19 BA01 BA17 BA25 CA59 DA43 MA02

MA13	MA17	MA22	MA23	MA24	MA28	MA35	MA37	MA52	MA57	
MA58	MA59	MA60	MA63	MA66	MA67	NA05	NA14	ZB35	ZC75	
4H045	AA10	AA20	AA30	BA14	CA11	EA20	FA20	FA33	FA74	GA26