(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2008-519848
(P2008-519848A)
(43)公表日　平成20年6月12日(2008.6.12)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 38/00	(2006.01)	A61K	37/02	ZNA	4B024
A61P 31/04	(2006.01)	A61P	31/04		4B064
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B065
C12P 21/02	(2006.01)	C12P	21/02	C	4C084
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/00	B	4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 430 頁）　最終頁に続く

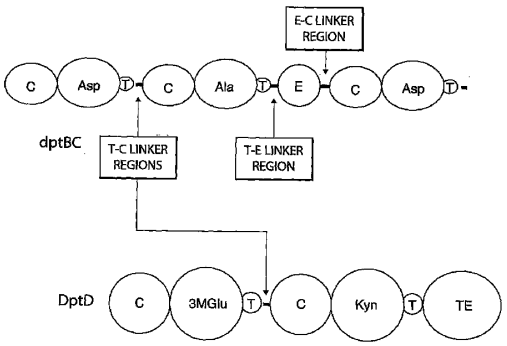
(21)出願番号　特願2007-541346 (P2007-541346)
(86)(22)出願日　平成17年11月11日 (2005.11.11)
(85)翻訳文提出日　平成19年7月13日 (2007.7.13)
(86)国際出願番号　PCT/US2005/040919
(87)国際公開番号　WO2006/110185
(87)国際公開日　平成18年10月19日 (2006.10.19)
(31)優先権主張番号　60/627,056
(32)優先日　平成16年11月12日 (2004.11.12)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　60/710,705
(32)優先日　平成17年8月23日 (2005.8.23)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　501120775
キュービスト　ファーマシューティカルズ，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４２１，レキシントン，ヘイデン　アベニュー　６５
(74)代理人　100081422
弁理士　田中　光雄
(74)代理人　100084146
弁理士　山崎　宏
(74)代理人　100116311
弁理士　元山　忠行
(74)代理人　100122301
弁理士　冨田　憲史

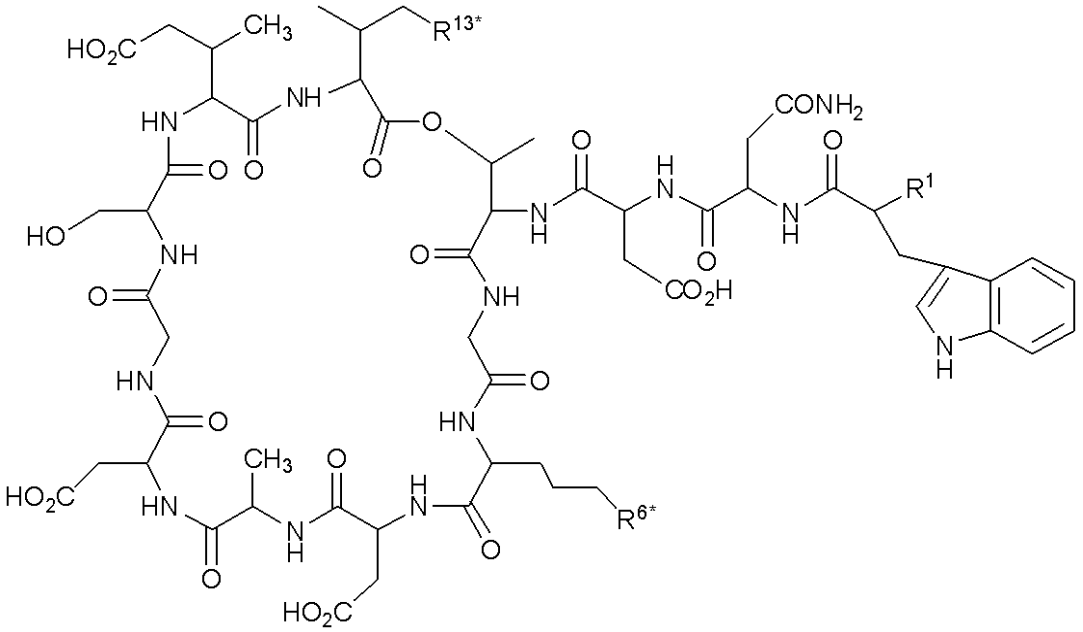
最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗感染性リポペプチド

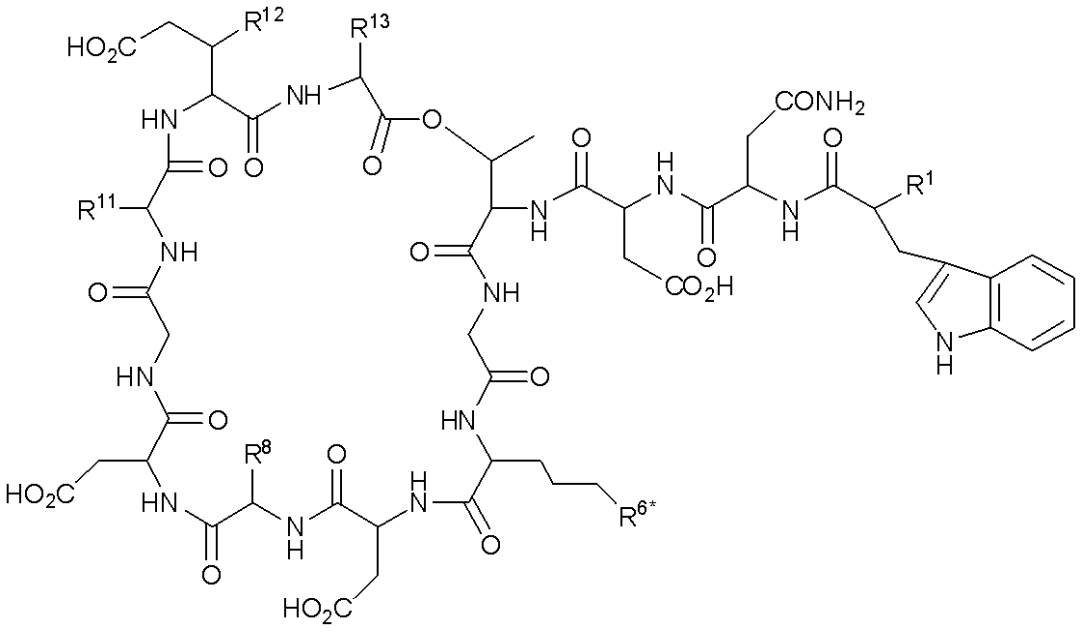
(57)【要約】
本発明は、新規デプシペプチド化合物に関する。本発明は、これらの化合物の医薬組成物、および抗菌性化合物としてのこれらの化合物の使用方法にも関する。本発明は、これらの新規デプシペプチド化合物およびこれらの化合物の製造において用いる中間体の製造方法にも関する。



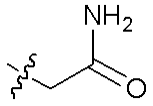
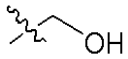
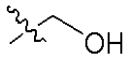
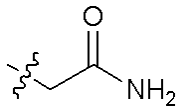
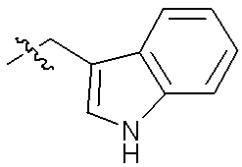
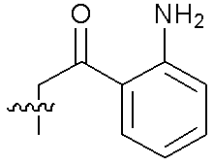
【特許請求の範囲】
【請求項１】
式Ｆ１１：
【化１】



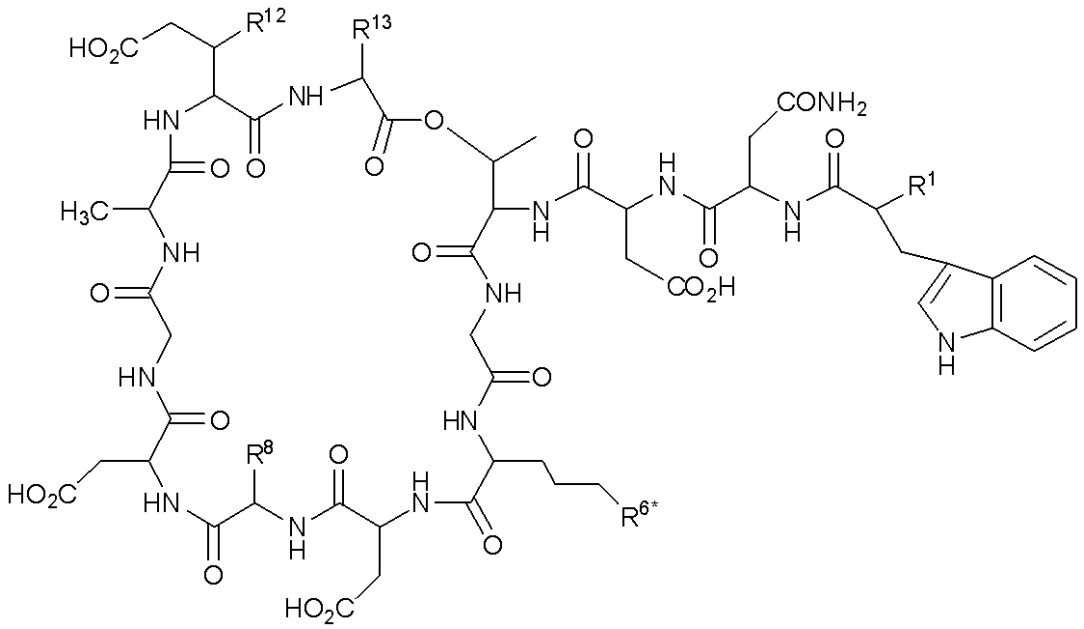
（Ｆ１１）
〔式中、
ａ）Ｒ^{13*}はＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｂ）Ｒ^1、およびＲ^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。
【請求項２】
式Ｆ１：
【化２】



（Ｆ１）
〔式中、

ａ）Ｒ^{8}は、水素、
【化３】

、もしくは
【化４】

であり、
ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、
【化５】

、もしくは
【化６】

であり、
ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_{3}$であり、
ｄ）Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$、ＣＨ（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{3}$）ＣＨ$_{3}$、
【化７】

もしくは
【化８】

であり、
ｅ）Ｒ^{1}およびＲ^{6}＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。
【請求項３】
式Ｆ２：

【化９】

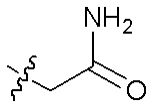


（Ｆ２）

〔式中、

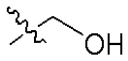
ａ）Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化１０】



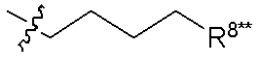
、

【化１１】



、もしくは

【化１２】

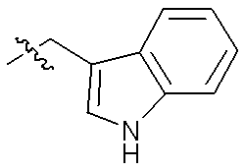


であり、

ｂ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_{3}$であり、

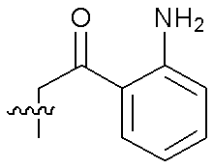
ｃ）Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$、ＣＨ（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{3}$）ＣＨ$_{3}$、

【化１３】



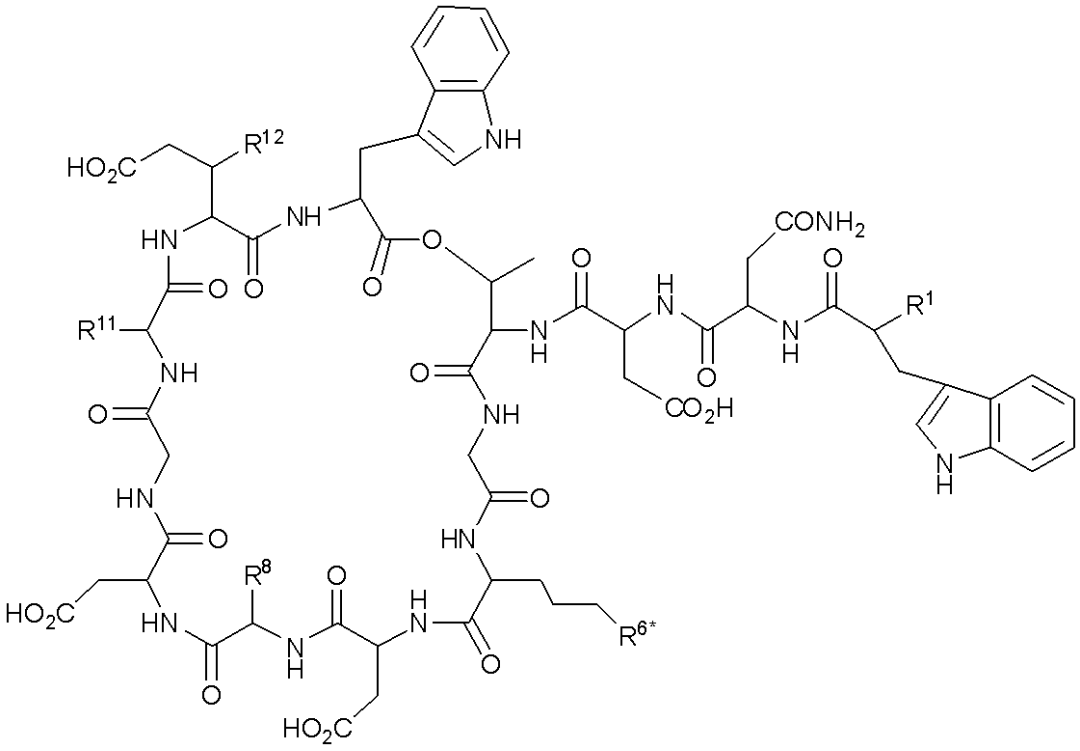
、もしくは

【化１４】

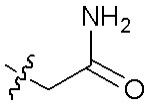


であり、

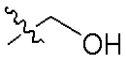
ｄ）Ｒ[1]、Ｒ[6＊]およびＲ[8＊＊]は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。
【請求項４】
式Ｆ３：
【化１５】



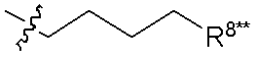
（Ｆ３）
〔式中、
ａ）Ｒ[8]は、水素、
【化１６】



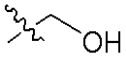
、
【化１７】



、もしくは
【化１８】

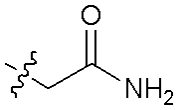


であり、
ｂ）Ｒ[11]は、メチル、
【化１９】



、もしくは

【化２０】



であり、

ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

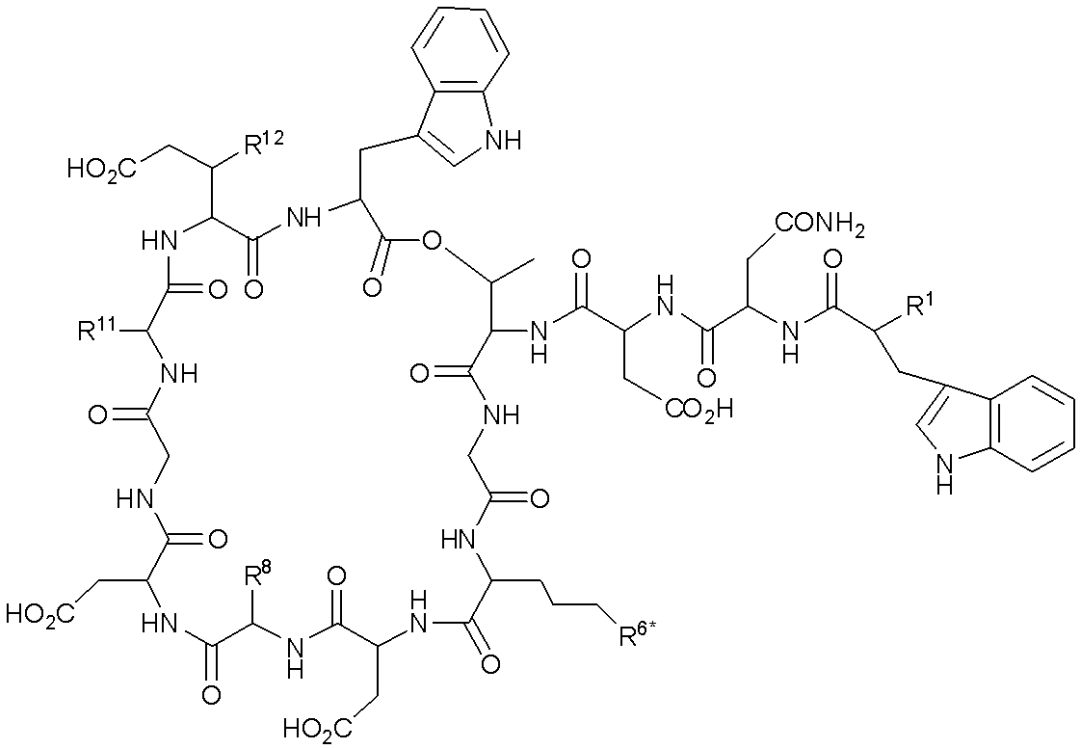
ｄ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6*}およびＲ^{8**}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項５】

式Ｆ４：

【化２１】

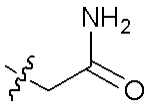


（Ｆ４）

〔式中、

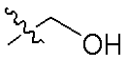
ａ）Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化２２】



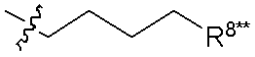
、

【化２３】



、もしくは

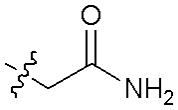
【化２４】



であり、

ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、もしくは

【化２５】



であり、

ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

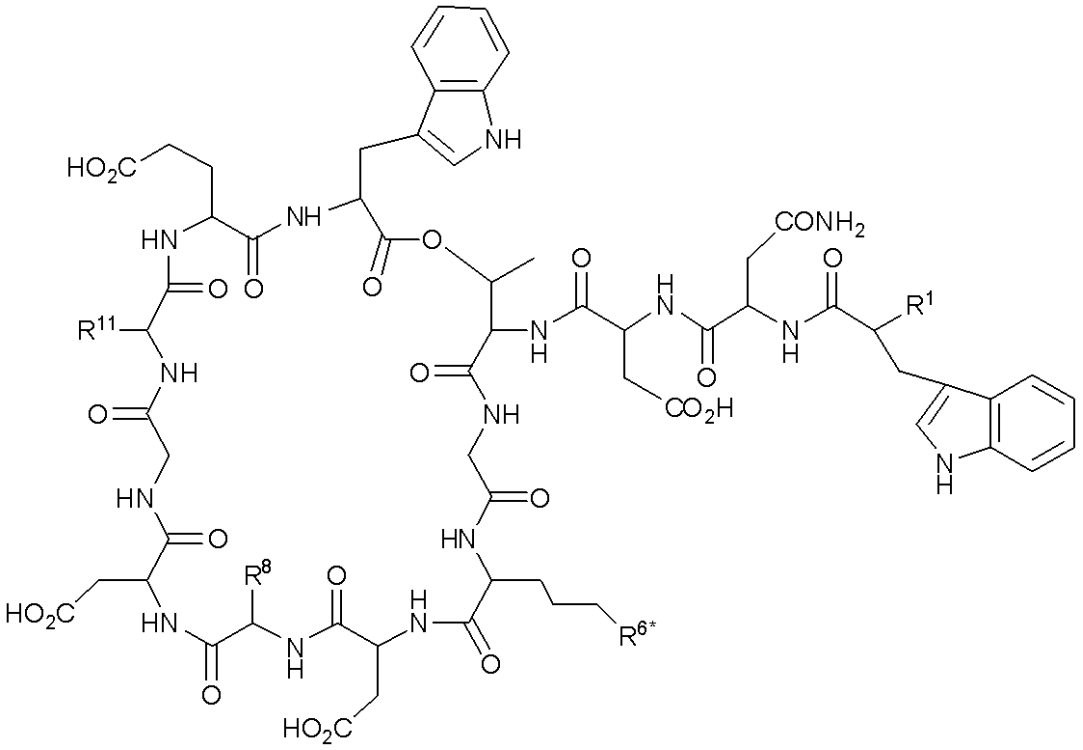
ｄ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6*}およびＲ^{8**}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項６】

式Ｆ５：

【化２６】

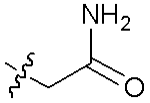


（Ｆ５）

〔式中、

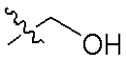
ａ）Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化２７】



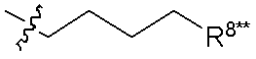
、

【化２８】

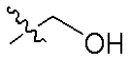


、もしくは

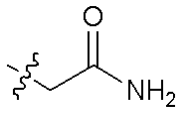
【化２９】



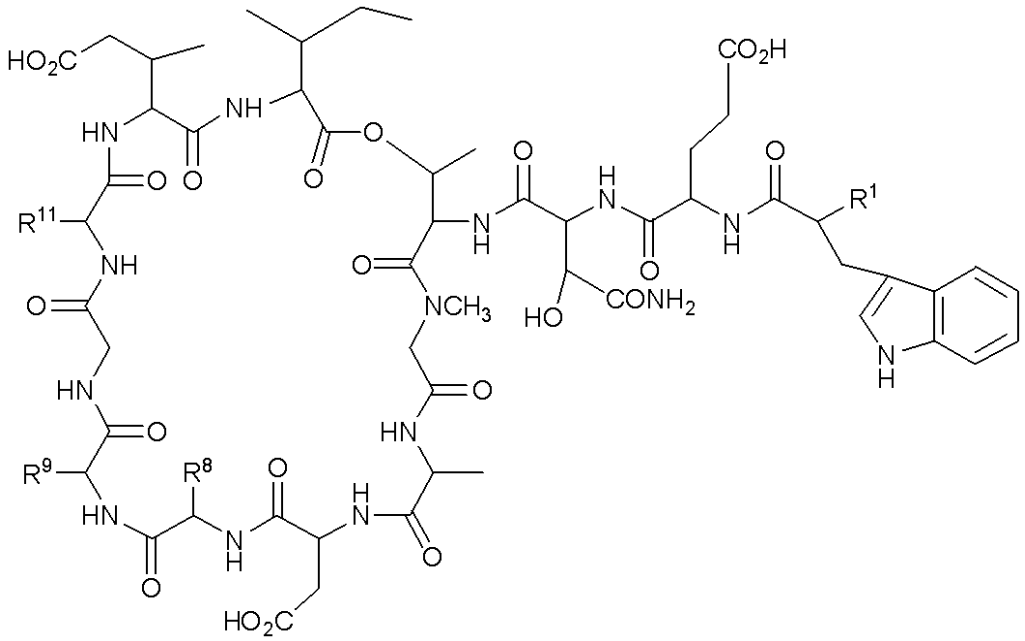
であり、
ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、
【化３０】



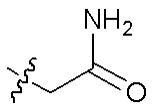
、もしくは
【化３１】



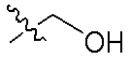
であり、
ｃ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。
【請求項７】
式Ｆ６：
【化３２】



（Ｆ６）
〔式中、
ａ）Ｒ^{8}は、
【化３３】

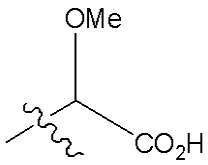


、もしくは
【化３４】



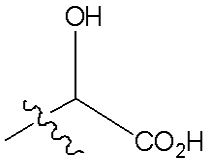
であり、
ｂ）Ｒ^{9}は、

【化３５】



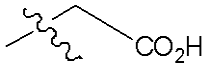
、

【化３６】



、もしくは

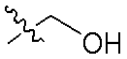
【化３７】



であり、

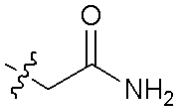
ｃ）Ｒ^{11}は、メチル、

【化３８】



、もしくは

【化３９】



であり、

ｄ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

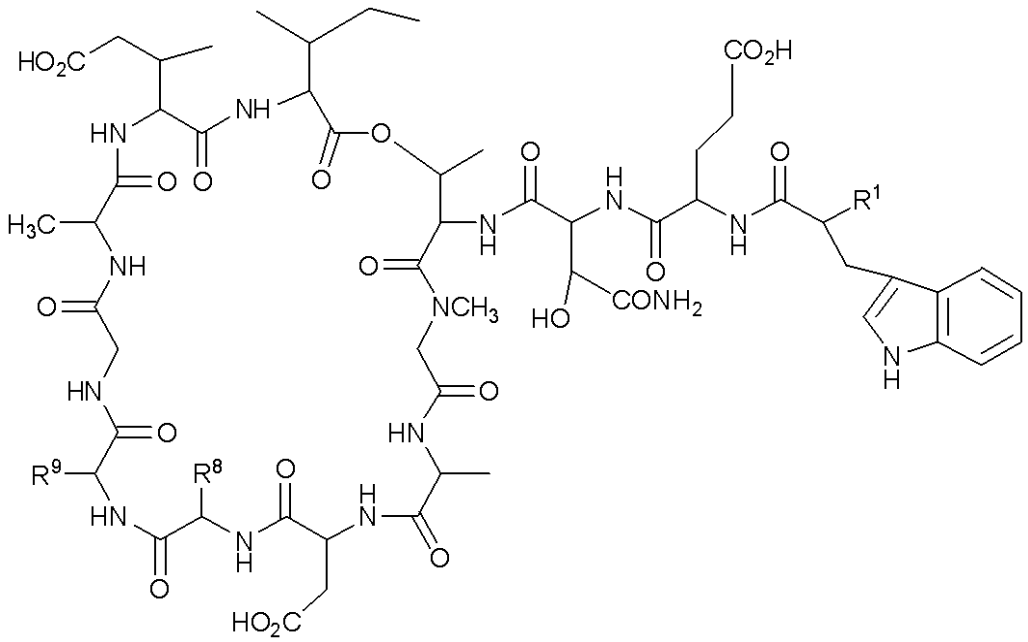
ｅ）Ｒ^{1}は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項８】

式Ｆ７：

【化４０】

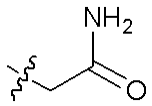


（Ｆ７）

〔式中、

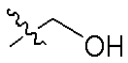
ａ）Ｒ^{8}は、メチル、

【化４１】



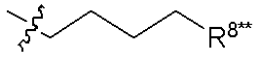
、

【化４２】



、もしくは

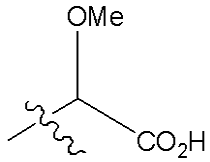
【化４３】



であり、

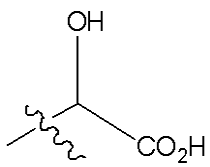
ｂ）Ｒ^{9}は、

【化４４】



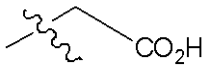
、

【化４５】



、もしくは

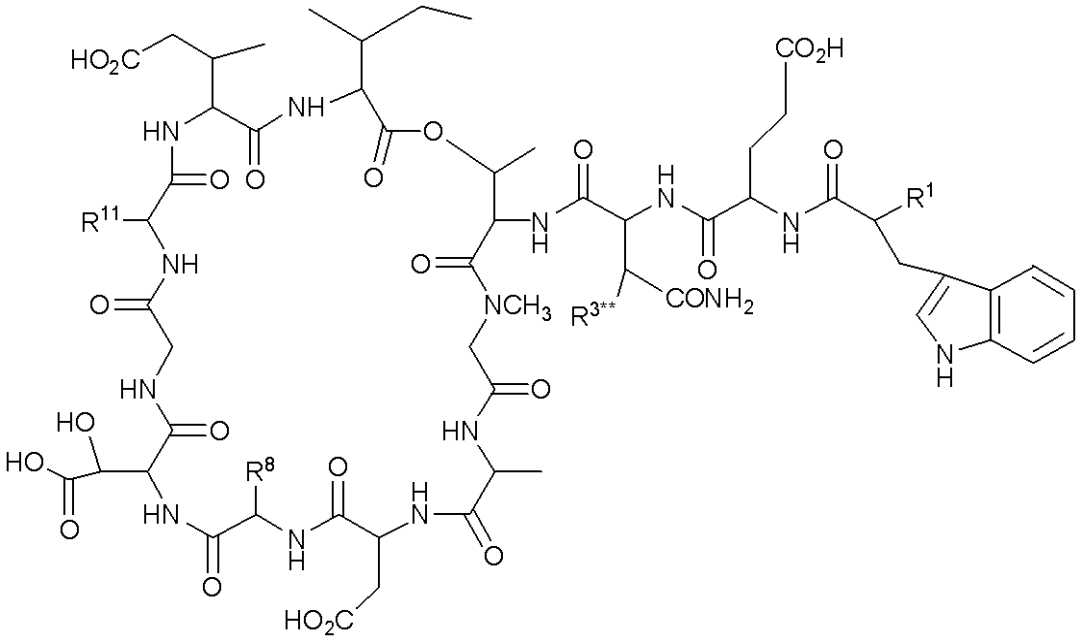
【化４６】



であり、
ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｄ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

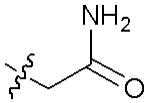
【請求項９】
式Ｆ８：

【化４７】



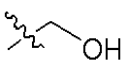
（Ｆ８）
〔式中、
ａ）Ｒ^{3}＊＊は、ヒドロキシルもしくは水素であり、
ｂ）Ｒ^{8}は、メチル、

【化４８】



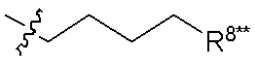
、

【化４９】



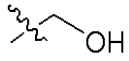
、もしくは

【化５０】



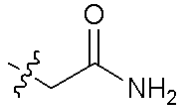
であり、
ｃ）Ｒ^{11}は、アミノ酸側鎖、メチル、

【化５１】



、もしくは

【化５２】



であり、

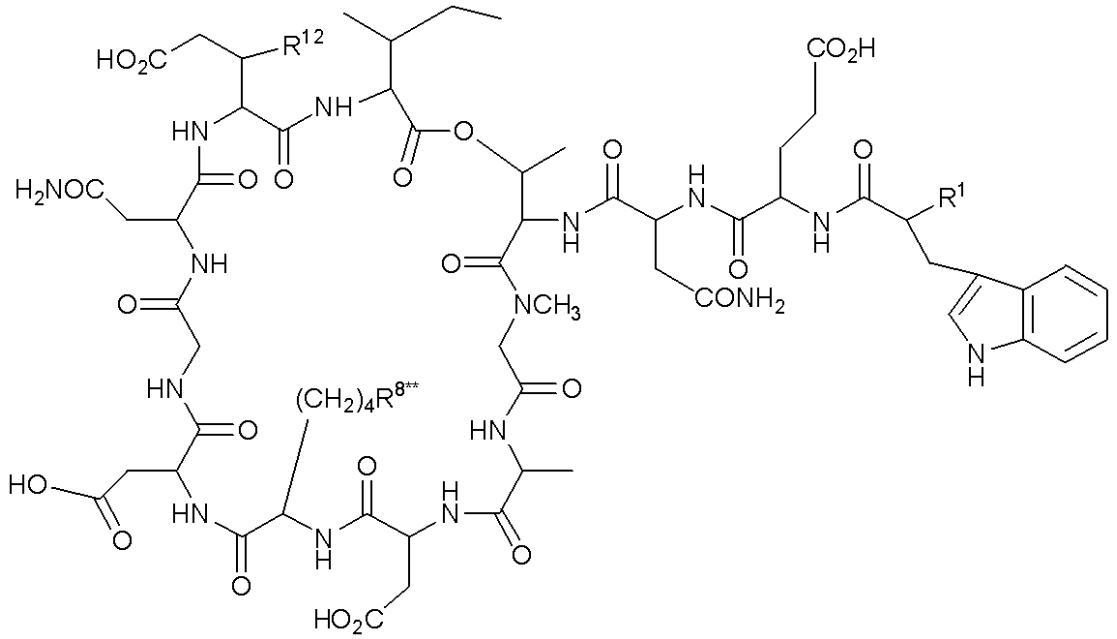
ｄ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｅ）Ｒ^{1}およびＲ^{8***}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項１０】

式Ｆ９：

【化５３】



（Ｆ９）

〔式中、

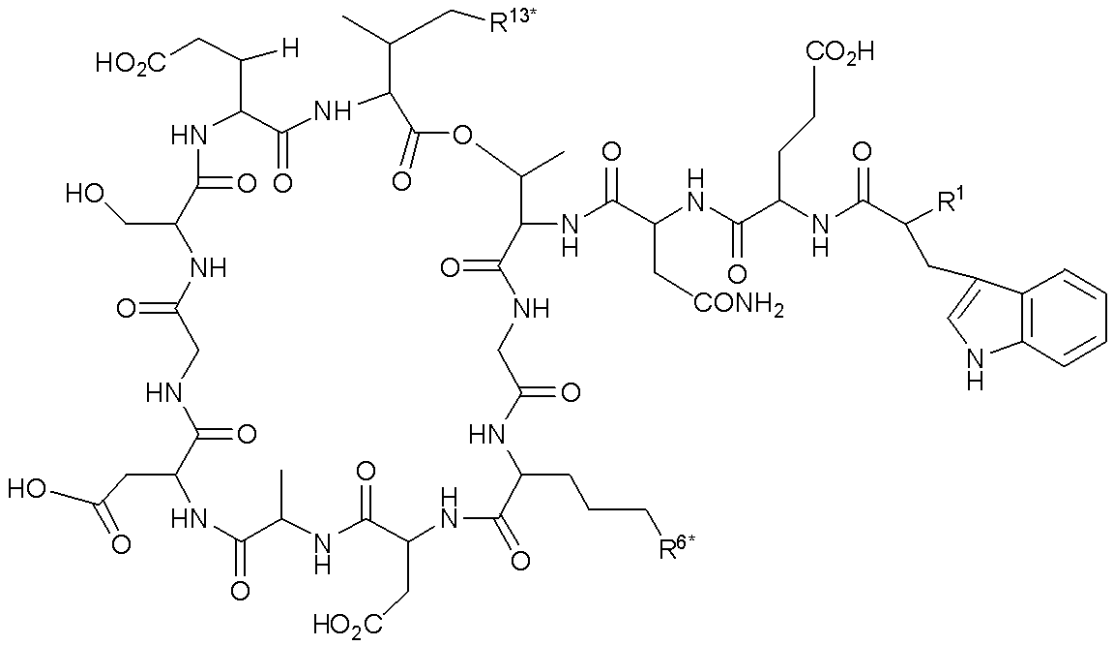
ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8***}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項１１】

式Ｆ１０：

【化５４】



（Ｆ１０）

〔式中、

ａ）Ｒ^{13*}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

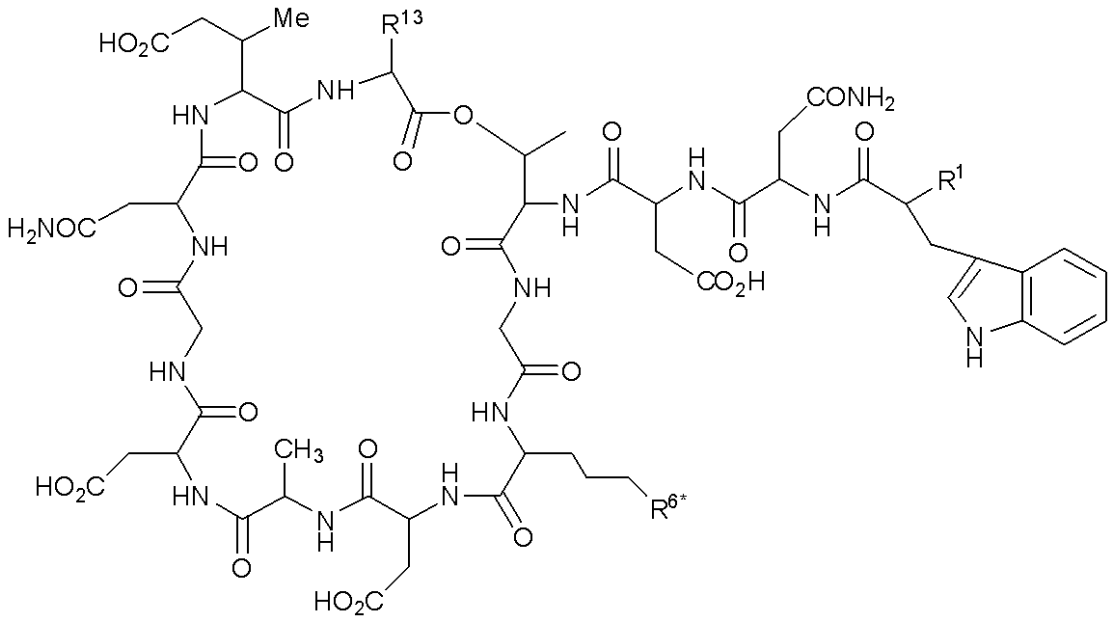
ｂ）Ｒ^1、およびＲ^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項１２】

式Ｆ１２：

【化５５】

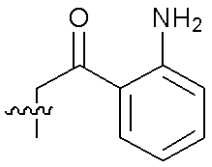


（Ｆ１２）

〔式中、

ａ）Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）ＣＨ$_3$もしくは

【化５６】



であり、

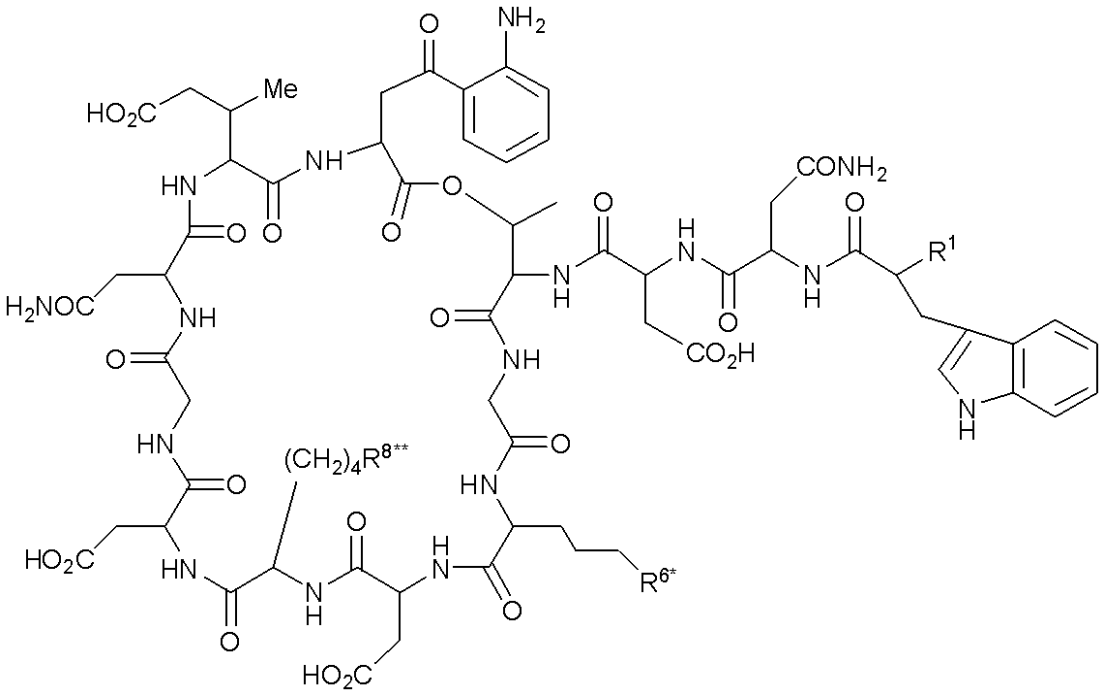
ｂ）Ｒ[1]およびＲ[6]＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項１３】

式１３：

【化５７】



（Ｆ１３）

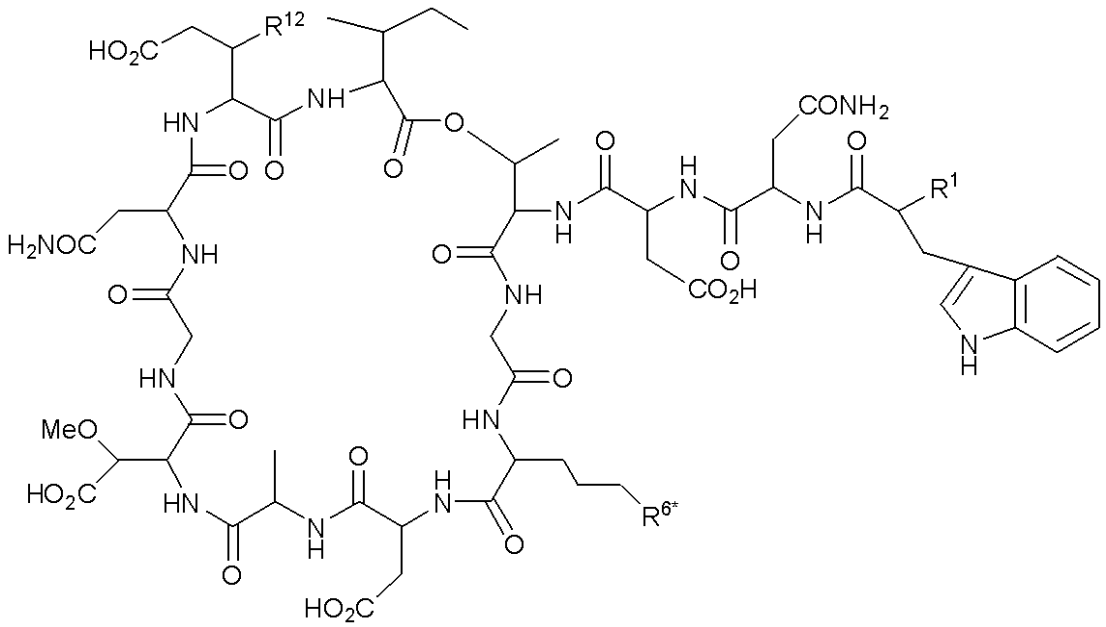
〔式中、Ｒ[1]、Ｒ[6]＊およびＲ[8]＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

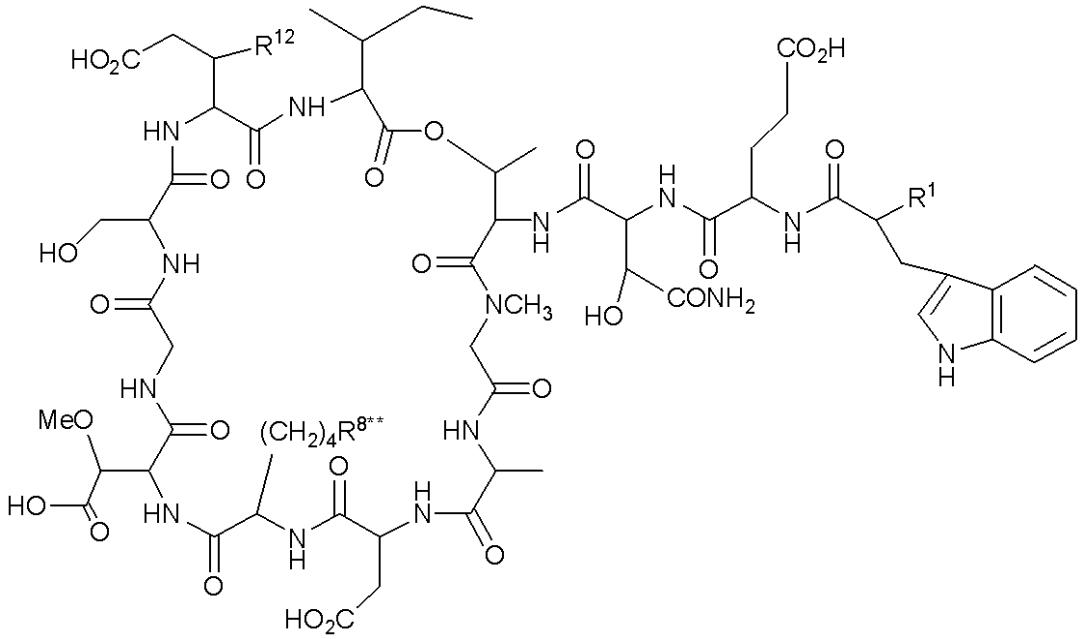
【請求項１４】

式Ｆ１４：

【化５８】



（Ｆ１４）
〔式中、
ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。
【請求項１５】
式Ｆ１５：
【化５９】



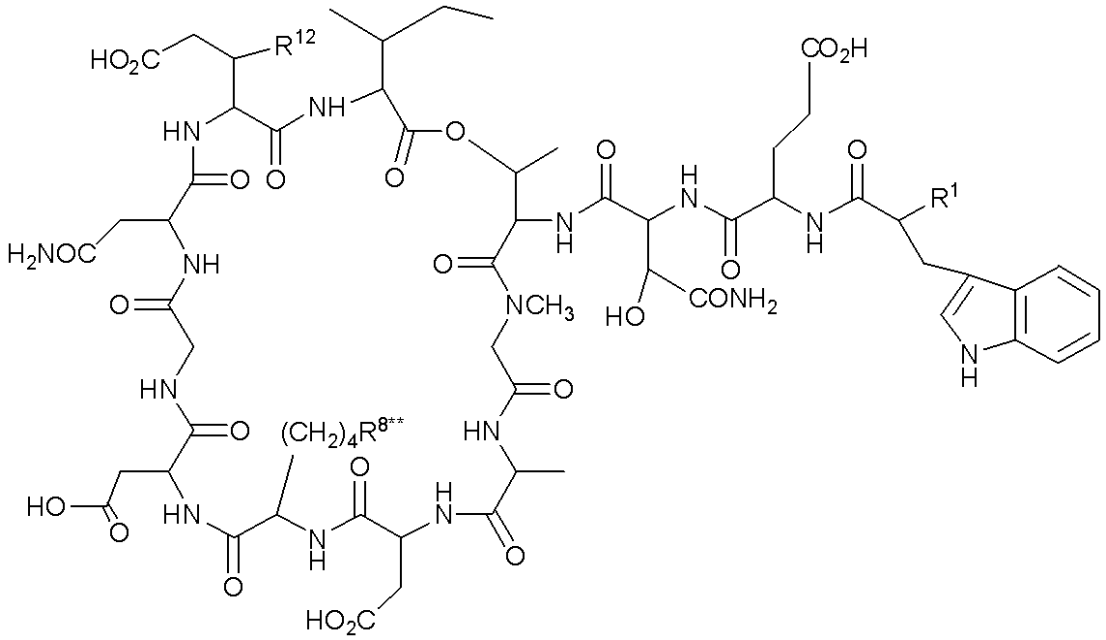
（Ｆ１５）
〔式中、
ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8**}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ

、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項１６】

式Ｆ１６：

【化６０】



（Ｆ１６）

〔式中、

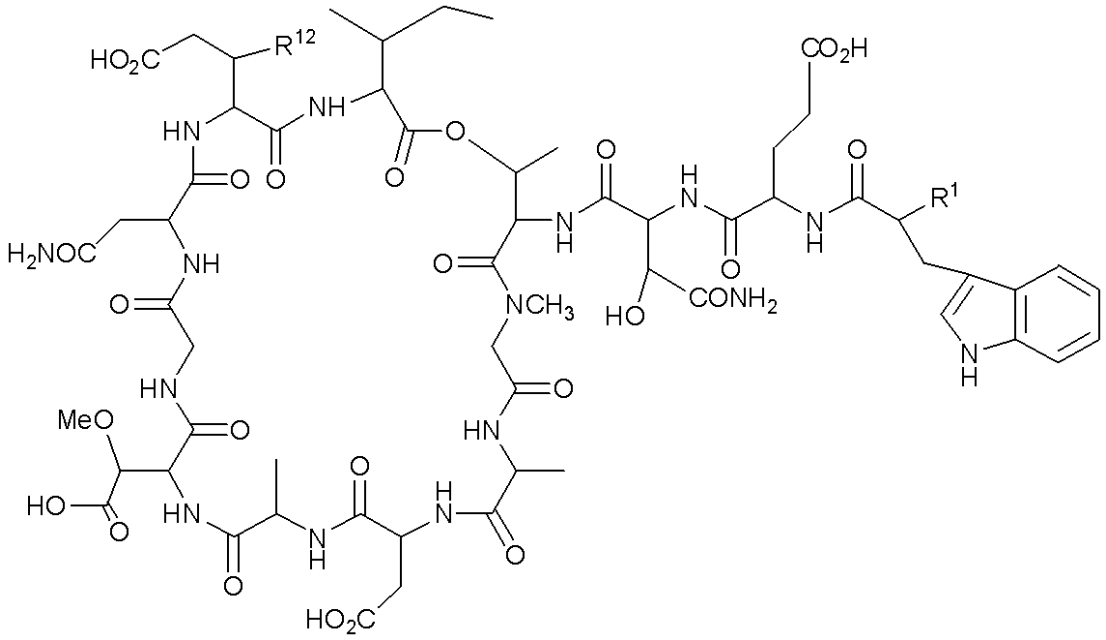
ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項１７】

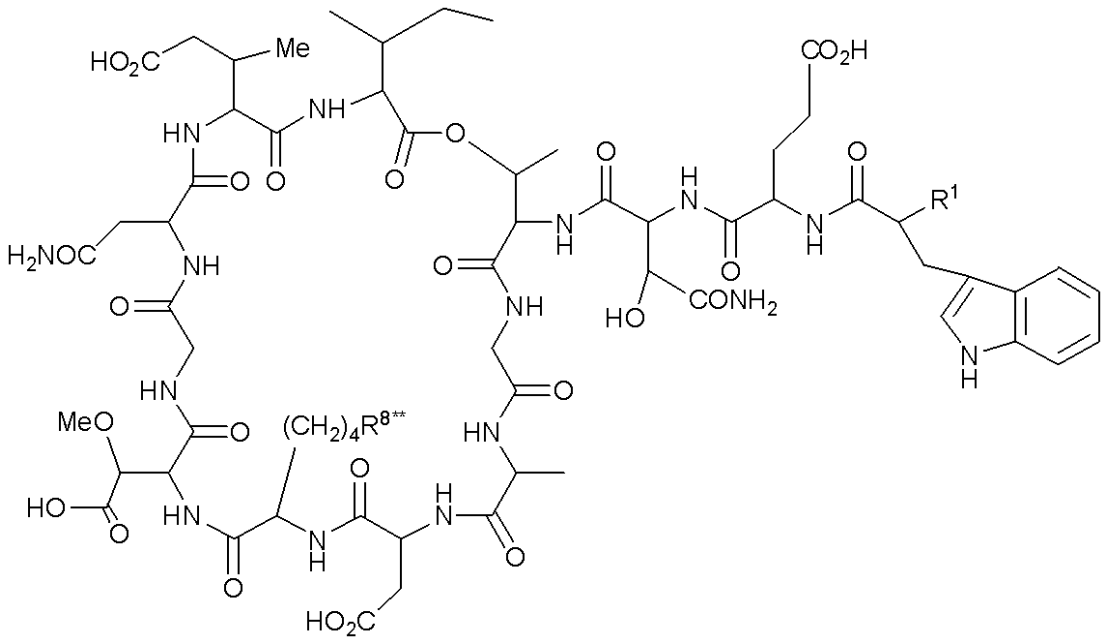
式Ｆ１７：

【化６１】



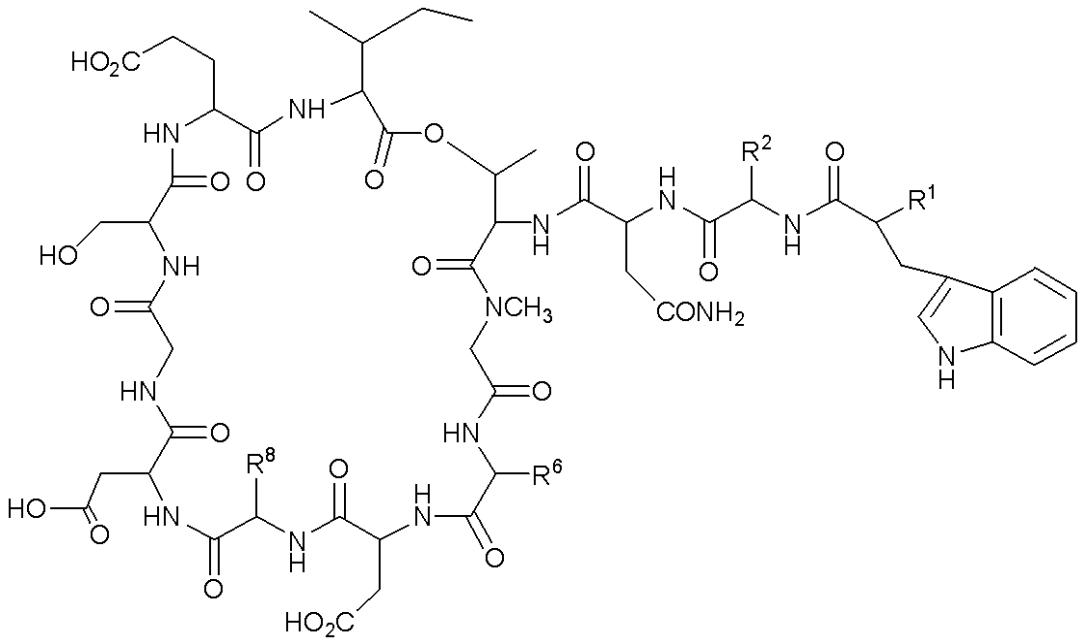
（Ｆ１７）

〔式中、
ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｂ）Ｒ^{1}は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。
【請求項１８】
式Ｆ１８：
【化６２】



（Ｆ１８）
〔式中、Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。
【請求項１９】
式Ｆ１９：

【化６３】

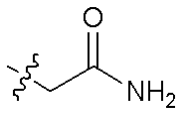


（Ｆ１９）

〔式中、

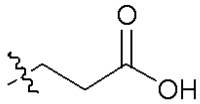
ａ）Ｒ^{2}は、

【化６４】



もしくは

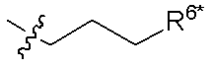
【化６５】



であり、

ｂ）Ｒ^{6}は、メチルもしくは

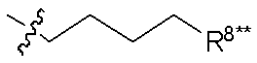
【化６６】



であり、

ｃ）Ｒ^{8}は、メチルもしくは

【化６７】



であり、

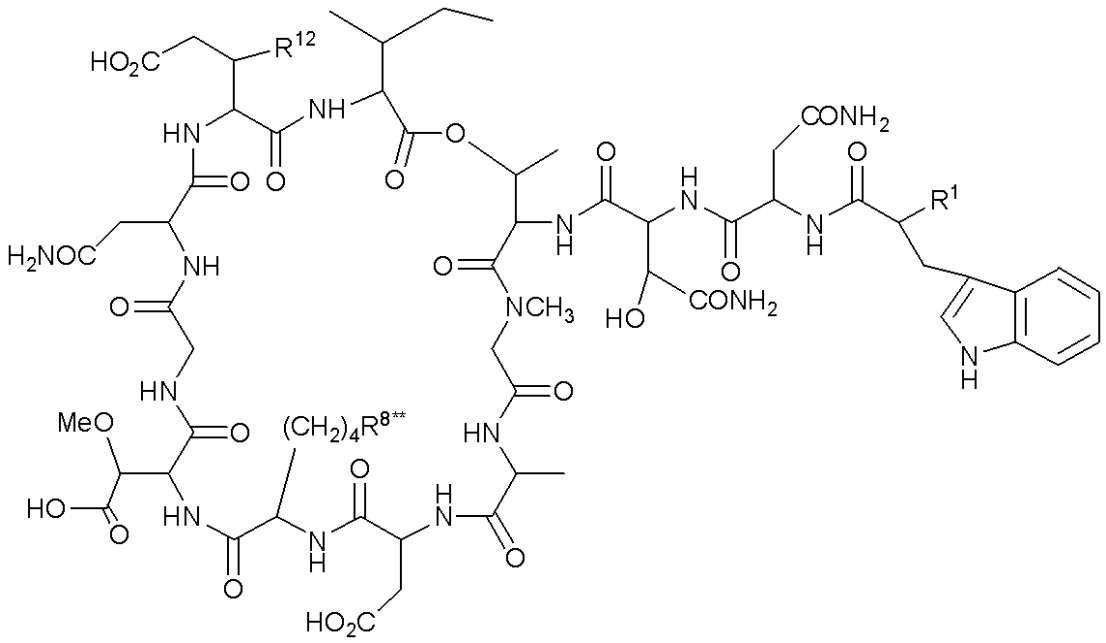
ｄ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

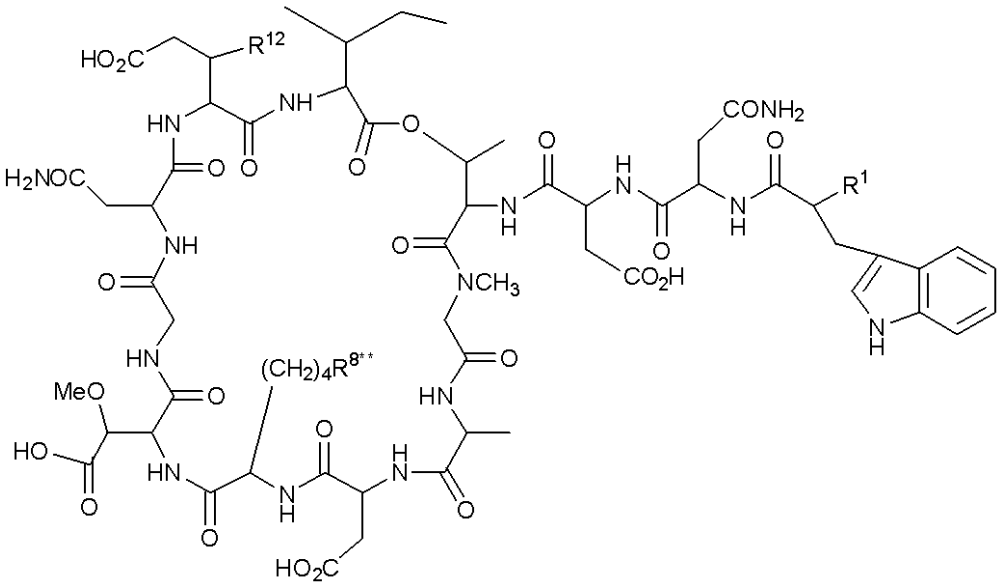
【請求項２０】

式Ｆ２０：

【化６８】

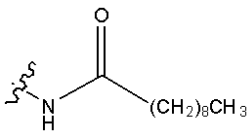


（Ｆ２０）
〔式中、
ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。
【請求項２１】
式Ｆ２１：
【化６９】



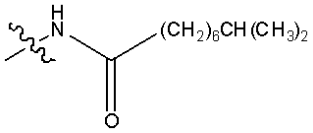
（Ｆ２１）
〔式中、
ａ）Ｒ^{1}は、

【化７０】



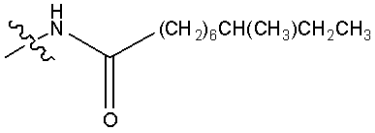
、

【化７１】



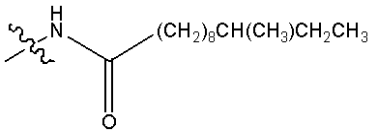
、

【化７２】



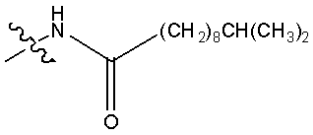
、

【化７３】



、もしくは

【化７４】



であり、

ｂ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

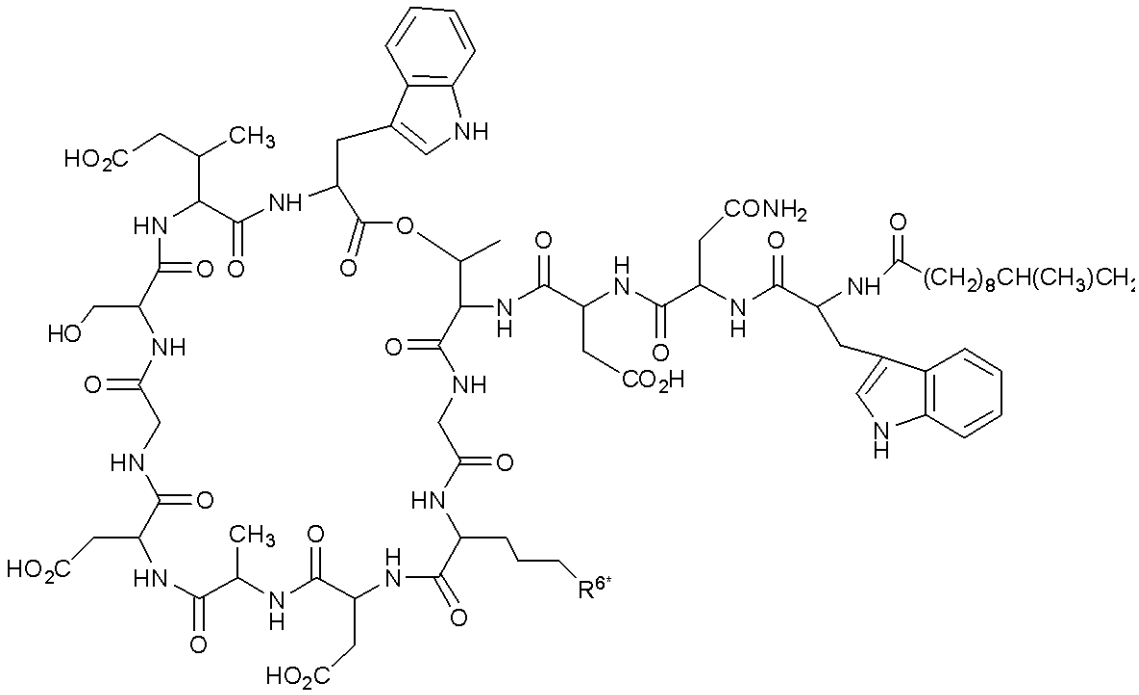
ｃ）Ｒ^{8}＊＊は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項２２】

式Ｆ２２：

【化７５】



（Ｆ２２）

〔式中、Ｒ^{6}＊は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物もしくはその塩を含む、組成物。

【請求項２３】
Ｒ^{8}＊＊＊がアミノ、ＮＨ－アミノ保護基、もしくはカルバモイルである、請求項１０記載の化合物。

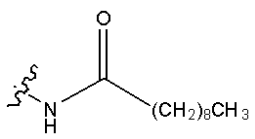
【請求項２４】
Ｒ^{8}＊＊＊がアミノである、請求項２３記載の化合物。

【請求項２５】
Ｒ^{1}がアミノ、アルカノイルアミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである、請求項１０記載の化合物。

【請求項２６】
Ｒ^{1}がＣ$_{10}$－Ｃ$_{13}$アルカノイルアミノである、請求項２５記載の化合物。

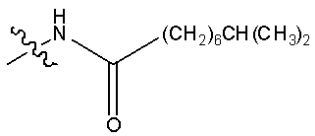
【請求項２７】
Ｒ^{1}が、

【化７６】



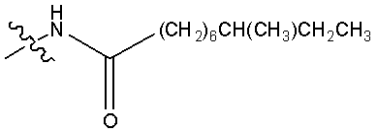
、

【化７７】



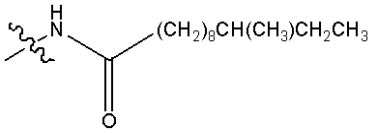
、

【化７８】



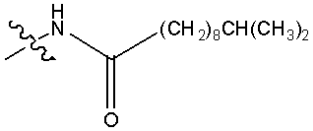
、

【化７９】



、もしくは

【化８０】



である、請求項２６記載の化合物。

【請求項２８】

R^{12}がCH_3である、請求項１０記載の化合物。

【請求項２９】

R^1がアルカノイルアミノである、請求項２８記載の化合物。

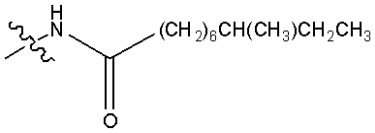
【請求項３０】

R^1がC_{11}－アルカノイルアミノである、請求項２９記載の化合物。

【請求項３１】

R^1が

【化８１】



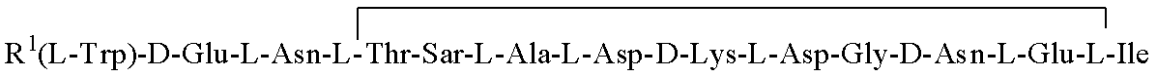
である、請求項３０記載の化合物。

【請求項３２】

R^{8**}がアミノである、請求項３１記載の化合物。

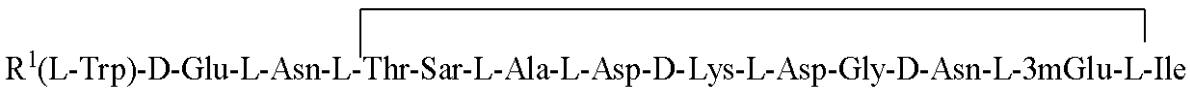
【請求項３３】

【化８２】



もしくは

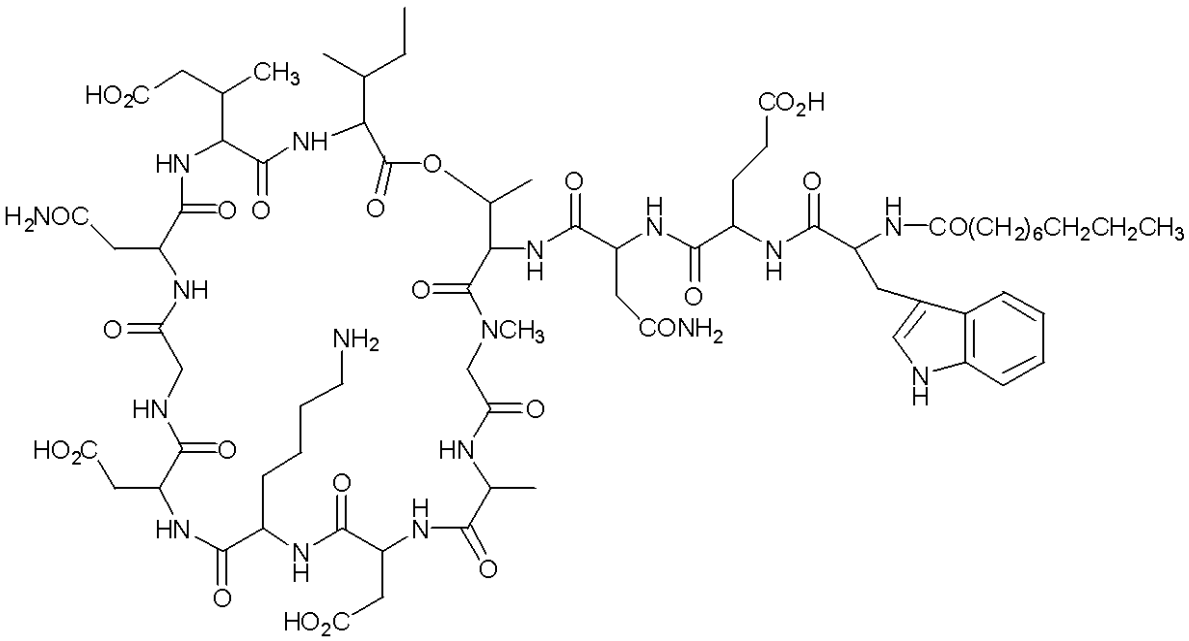
【化８３】



から選択される、請求項１０記載の化合物。

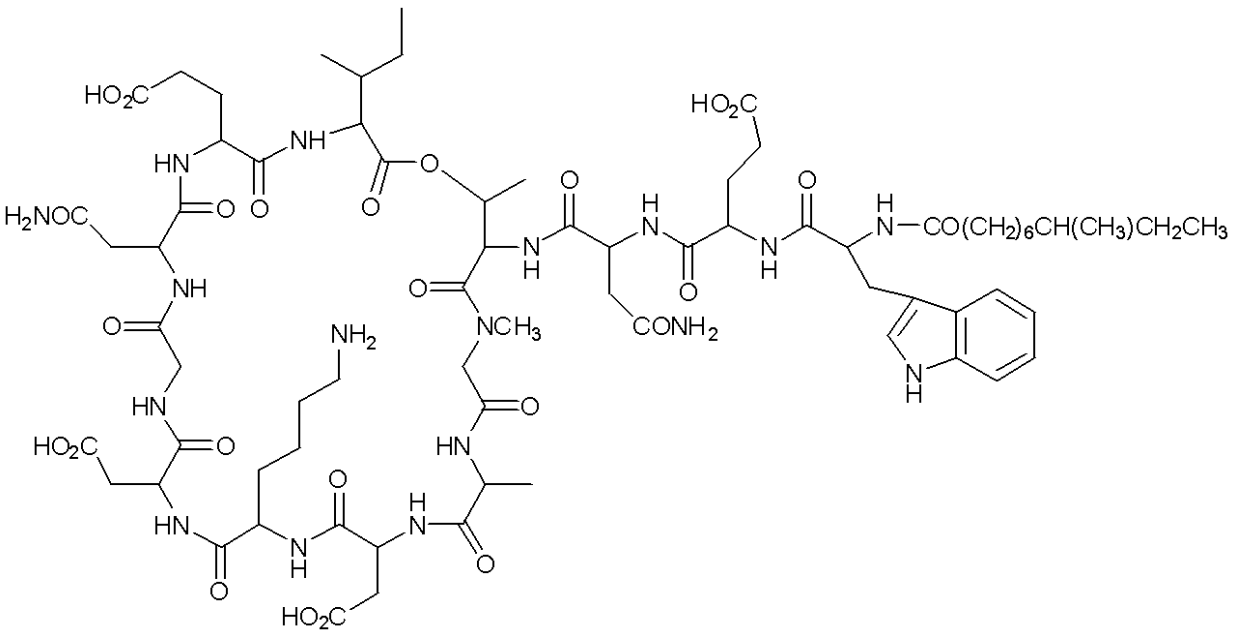
【請求項３４】

【化８４】



もしくは

【化８５】



から選択される、請求項１０記載の化合物。

【請求項３５】

Ｒ^{6}＊がアミノ、ＮＨ－アミノ保護基、もしくはカルバモイルである、請求項１記載の化合物。

【請求項３６】

Ｒ^{6}＊がアミノである、請求項３５記載の化合物。

【請求項３７】

Ｒ^{1}がアミノ、アシルアミノ、ＮＨ－アミノ保護基である、請求項１記載の化合物。

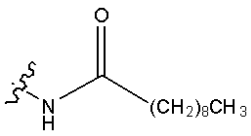
【請求項３８】

Ｒ^{1}がＣ$_{10}$－Ｃ$_{13}$アシルアミノである、請求項３７記載の化合物。

【請求項３９】

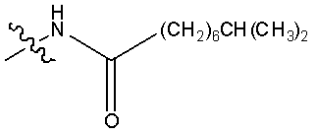
Ｒ^{1}が、

【化８６】



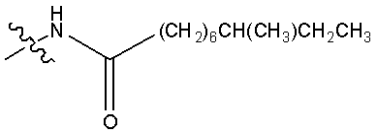
、

【化８７】



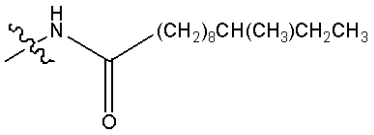
、

【化８８】



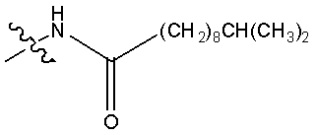
、

【化８９】



、もしくは

【化９０】

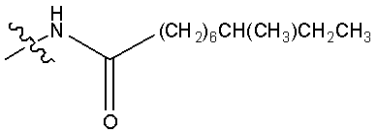


である、請求項３８記載の化合物。

【請求項４０】

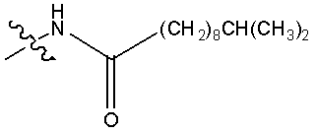
Ｒ^{1}が、

【化９１】



、もしくは

【化９２】



である、請求項３９記載の化合物。

【請求項４１】

【化９３】

R^{1}(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ala-L-Asp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Ile

、もしくは

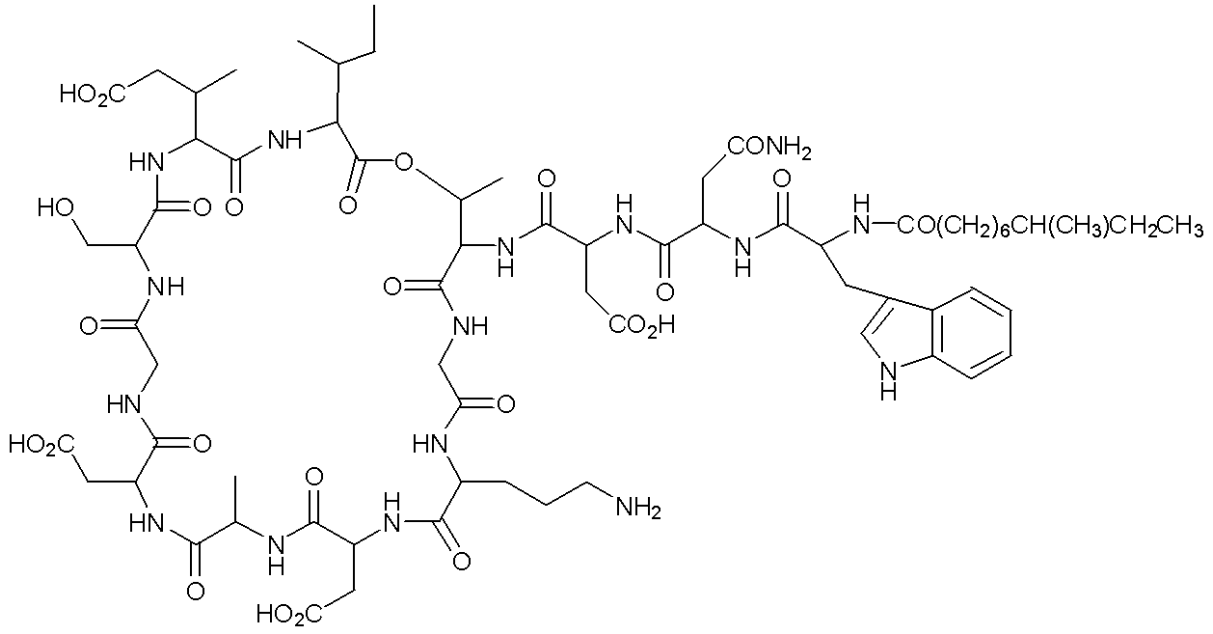
【化９４】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ala-L-Asp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Val

から選択される、請求項１記載の化合物。

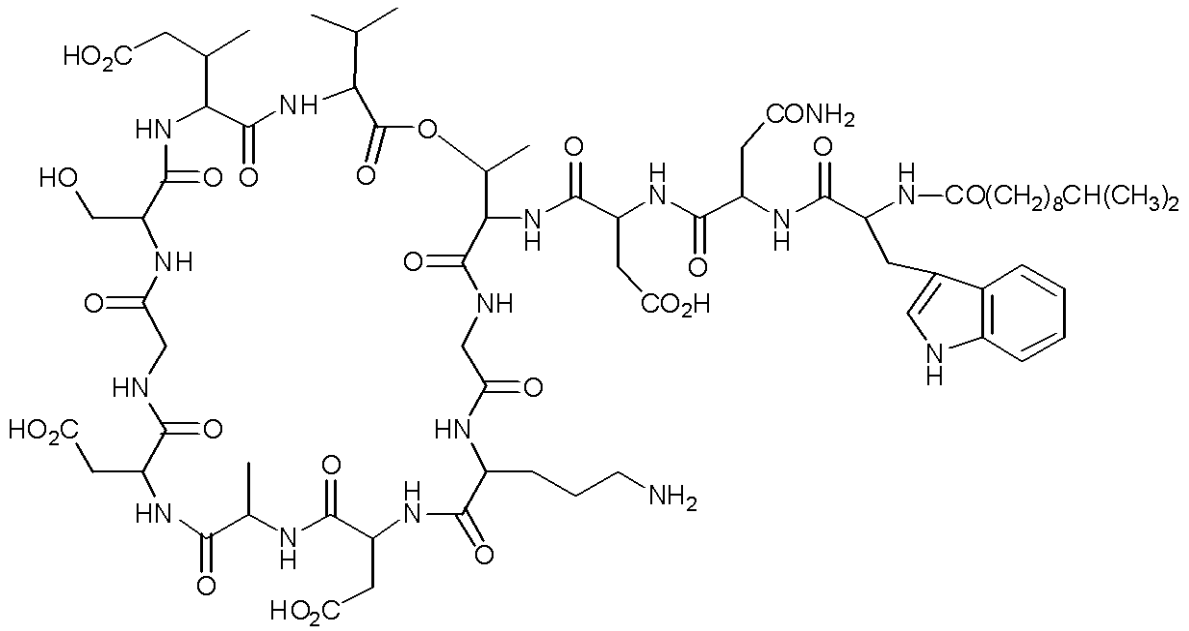
【請求項４２】

【化９５】



もしくは

【化９６】

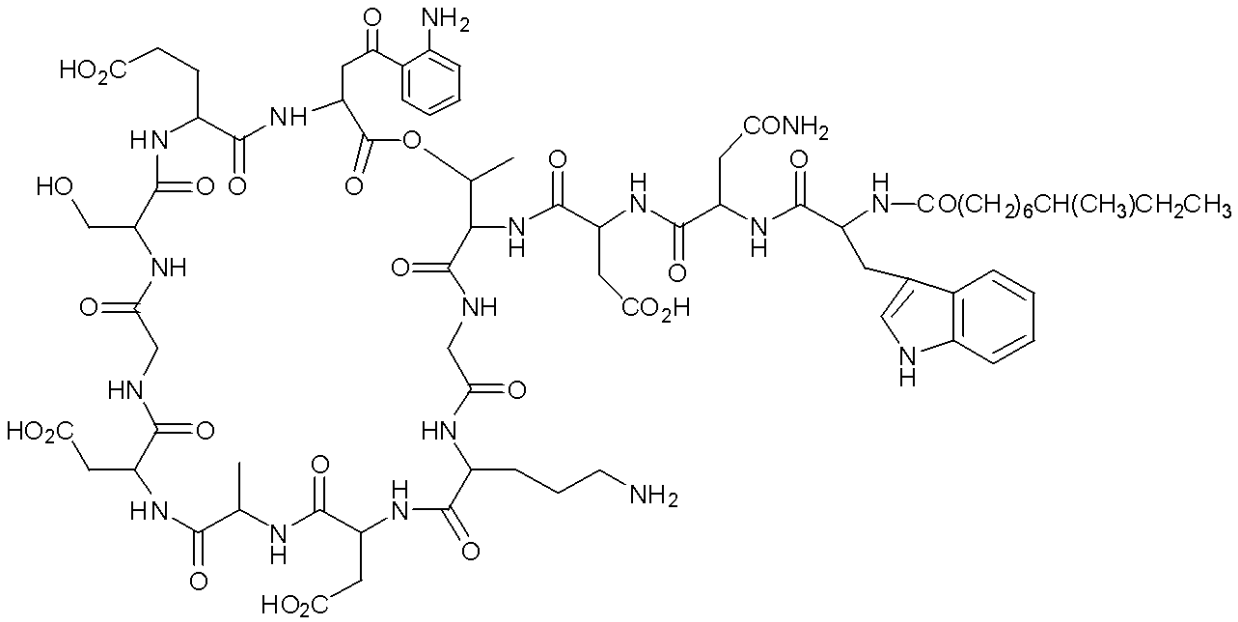


から選択される、請求項１記載の化合物。

【請求項４３】

式：

【化９７】

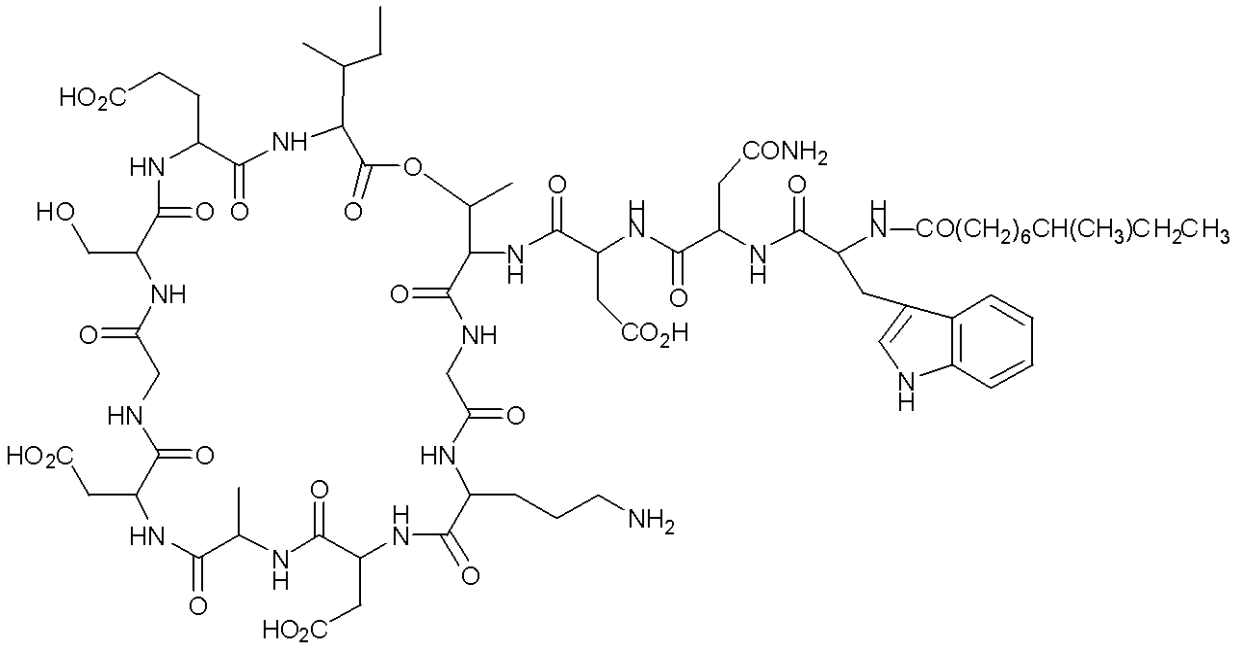


で示される、化合物。

【請求項４４】

式：

【化９８】



で示される、化合物。

【請求項４５】

請求項１記載の化合物および医薬上許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項４６】

緩衝水溶液中の請求項１記載の化合物を含む、抗菌組成物。

【請求項４７】

細菌に感染している患者を治療する方法であって、治療を必要とする患者に請求項１に係る化合物の医薬上有効な量を一定期間および該細菌感染を改善する条件下で投与することを含む、方法。

【請求項４８】

細菌感染の患者を治療する薬剤を製造するための請求項１に係る組成物の使用。

【請求項４９】
該化合物が組成物中に約８０％から約９０％の量で存在する、請求項１記載の組成物。
【請求項５０】
該化合物が組成物中に約９０％の量で存在する、請求項１記載の組成物。
【請求項５１】
該化合物が組成物中に約９０％よりも多い量で存在する、請求項１記載の組成物。
【請求項５２】
下記工程：
ａ．ＮＲＰＳモジュールをコードする少なくとも１つの外因性ポリ核酸を細胞中で組み換えて、式Ｆ１１の化合物を細胞中で生成しうるＮＲＰＳをコードする組み換えＮＲＰＳ遺伝子クラスターを細胞中で得る
を含む、組み換え細胞の製造方法。
【請求項５３】
ＮＲＰＳモジュールをコードする少なくとも一つの外因性ポリ核酸が、ダプトマイシンのＮＲＰＳ遺伝子集団もしくはＡ５４１４５ＮＲＰＳ遺伝子集団に由来する、請求項５２記載の方法。
【請求項５４】
請求項５２記載の方法によって生成される、組み換え細胞。
【請求項５５】
式Ｆ１１の化合物の生成に適する条件下で請求項５４記載の細胞を培養する工程を含む、式Ｆ１１の化合物を調製する方法。
【請求項５６】
式Ｆ１１の化合物を精製する工程をさらに含む、請求項５５記載の方法。
【請求項５７】
細胞を培養する工程が、さらに、式Ｆ１１で示される予め決定されたR^1基の前駆体の存在下で細胞を発酵させて、予め決定されたR^1基を有する式Ｆ１１で示される化合物の生成を増加させることを含む、請求項５５記載の方法。
【請求項５８】
式Ｆ１１の化合物を精製するさらなる工程を含む、請求項５７記載の方法。
【請求項５９】
請求項５５記載の方法によって生成される、化合物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、新規のデプシペプチドに関する。本発明は、抗菌薬剤としてのこれらの化合物の医薬組成物およびこれらの化合物を使用する方法にも関する。
【０００２】
（関連出願の相互参照）
本出願は、出典明示により本明細書に一体化させた２００５年８月２３日提出の米国仮出願第６０／７１０，７０５号および２００４年１１月１２日提出の米国仮出願第６０／６２７，０５６号の利益を請求する。
【０００３】
（政府援助）
本明細書に記載された研究の一部は、Ｓｍａｌｌ Ｂｕｓｉｎｅｓｓ Ｉｎｎｏｖａｔｉｏｎ Ｒｅｓｅｒｃｈ（ＳＢＩＲ） Ｇｒａｎｔ第５Ｒ４４ＧＭ０６８１７３－０３号および第１Ｒ４３Ａｌ５６８５８－１号による政府援助によって行われた。政府はかかる研究について一定の権利を有してよい。
【背景技術】
【０００４】
グラム陽性菌感染の発生の急速な増加（耐性細菌に誘発される感染を含む）は、抗生物

質の新規クラスの研究に新たな関心を巻き起こしている。有能な抗菌剤としての能力を示す化合物のクラスは環状デプシペプチドである。環状デプシペプチドの新規メンバーは、例えば、米国特許第ＲＥ３２，３３３号、第ＲＥ３２，４５５号、第ＲＥ３２，３１１号、第ＲＥ３２，３１０号、第４，４８２，４８７号、第４，５３７，７１７号、第５，９１２，２２６号、第６，９１１，５２５号および第６，７９４，４９０号、ならびに国際特許出願第ＷＯ０１／４４２７２号、第ＷＯ０１／４４２７４号および第ＷＯ０１／４４２７１号に記載されるＡ２１９７８Ｃリポペプチドである。加えて、米国特許第４，９９４，２７０号、第５，０３９，７８９号および第５，０２８，５９０号に記載されるＡ５４１４５クラスの化合物は、抗菌作用を有することも示されている。

【０００５】

ＬＹ１４６０３２１としても知られるデプトマイシンは、環状１０－アミノ酸ペプチドに連結された３－アミノ酸鎖のＮ末端トリプトファンに結合されたｎ－デカノイル側鎖を含む。デプトマイシンは、深刻な生命を脅かす病気を誘発する臨床的な関連グラム陽性細菌に対してｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏで抗菌作用を有する。これらの細菌には、バンコマイシン耐性腸球菌（ＶＲＥ）、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（ＭＲＳＡ）、糖ペプチド仲介感受性黄色ブドウ球菌（ＧＩＳＡ）、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌（ＶＲＳＡ）、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌（ＣＮＳ）およびペニシリン耐性肺炎連鎖球菌（ＰＲＳＰ）などの耐性病原体が含まれ、ほとんど治療代替が存在しない。例としてＴａｌｌｙら，１９９９，Ｅｘｐ．Ｏｐｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．Ｄｒｕｇｓ ８：１２２３－１２３８を参照の上。

【０００６】

存在する抗菌薬剤が示されているにもかかわらず、新規抗生物質の必要性が継続している。多くの病原体は一般的に使用される抗生物質に対して繰り返し曝露される。この曝露が、広範囲の抗生物質に耐性である変化した抗菌系統の選別を引き起こす。耐性メカニズムによって引き起こされた抗生物質の能力と効能の喪失は、抗生物質を無効にし、結果として実質的に治療不能である生命を脅かす感染を誘発し得る。新規抗生物質が市場に出回ると、病原体はこれらの新しい薬物に対して耐性もしくは中間耐性を生じ、これらの系統に対抗する新しい抗菌薬剤の絶え間ない必要を効果的に作り出す。加えて、抗菌作用を示す化合物は、現在の静菌性の化合物に優る利点を有する。それゆえ、新規抗菌薬剤は、病原体が新規薬剤に決して曝露していないことから、「自然の」病原体だけでなく中間薬物耐性および薬物耐性の病原体の治療に有効であることが期待されている。新しい抗菌薬剤は異なる型の病原体に対して異なる有効性を示す可能性がある。

【発明の開示】

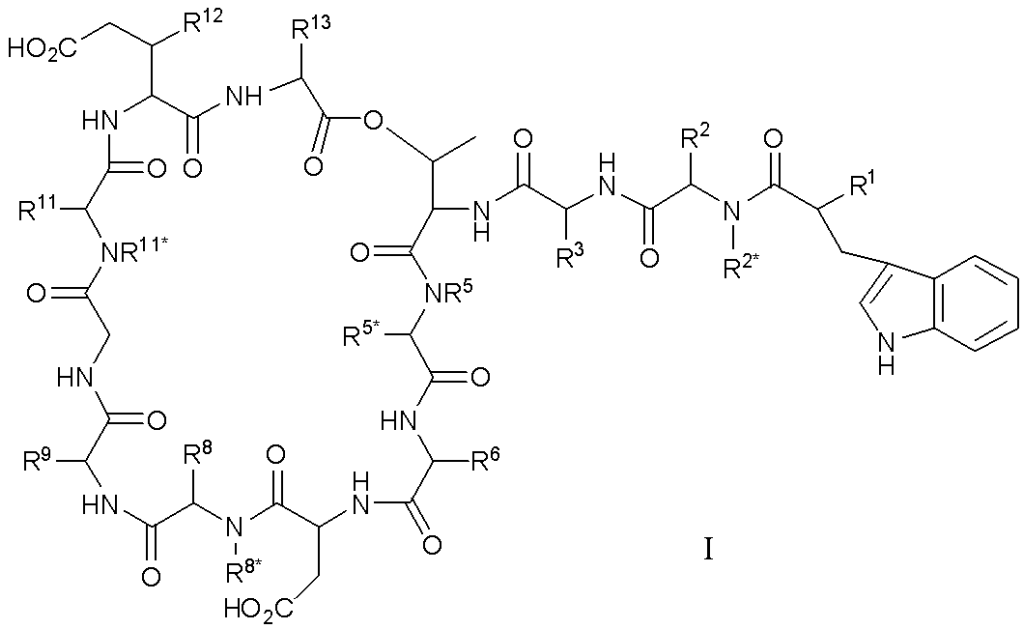
【０００７】

（発明の要約）

本発明は、薬物耐性細菌を含む広範囲の細菌に対して殺菌作用を有する新規化合物、およびこれらの化合物を製造する方法を提供する。

一の態様では、本発明は、式Ｉ：

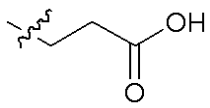
【化１】



I

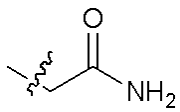
〔式中、
ａ）Ｒ^{2}は、アミノ酸側鎖、

【化２】



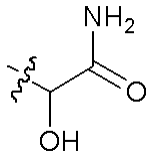
もしくは

【化３】



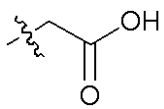
であり、
ｂ）Ｒ^{2}＊はＨであるか、または代替的にＲ^{2}＊と一緒になって五もしくは六員複素環を形成し、
ｃ）Ｒ^{3}は、

【化４】



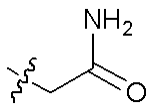
、

【化５】



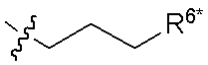
、

【化６】

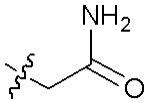


もしくは非タンパク質構成アミノ酸側鎖であり、

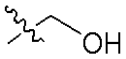
ｄ）Ｒ^{5}は、Ｈもしくはメチルであり、
ｅ）Ｒ^{5}＊は、ＨもしくはＮ－メチルアミノ酸に由来するアミノ酸側鎖である。代替的には、Ｒ^{5}は、Ｒ^{5}＊と一緒になって五もしくは六員複素環を形成し、
ｆ）Ｒ^{6}は、メチルもしくは
【化７】



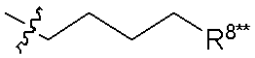
であり、
ｇ）Ｒ^{8}は、アミノ酸側鎖、メチル、
【化８】



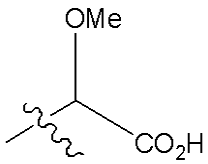
、
【化９】



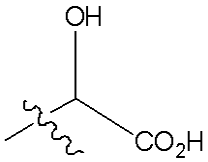
もしくは
【化１０】



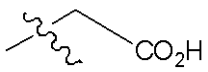
であり、
ｈ）Ｒ^{8}＊はＨであるか、あるいは代替的にＲ^{8}＊と一緒になって五もしくは六員複素環を形成し、
ｉ）Ｒ^{9}は、
【化１１】



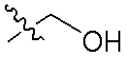
、
【化１２】



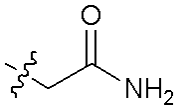
、
【化１３】



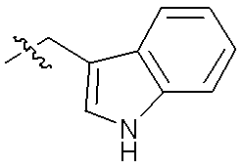
、もしくは少なくとも１個のカルボン酸で置換されるアミノ酸側鎖であり、
ｊ）Ｒ^{11}は、アミノ酸側鎖、メチル、
【化１４】



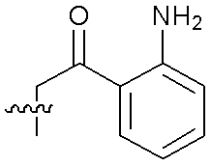
、もしくは
【化１５】



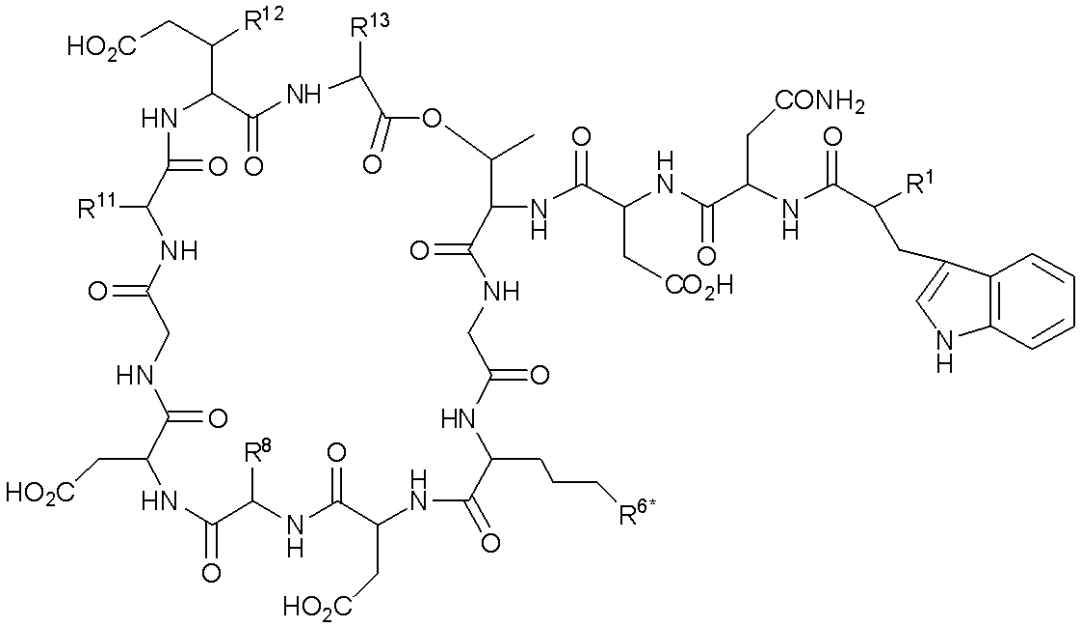
であり、
ｋ）Ｒ１１＊は、Ｈであるか、あるいは代替的にＲ１１＊と一緒になって五もしくは六員複素環を形成し、
ｌ）Ｒ１２は、ＨもしくはＣＨ３であり、
ｍ）Ｒ１３は、ＣＨ（ＣＨ３）２、ＣＨ（ＣＨ２ＣＨ３）ＣＨ３、
【化１６】



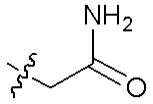
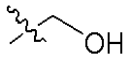
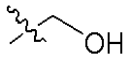
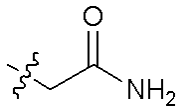
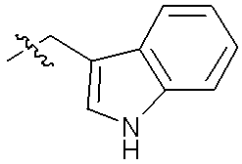
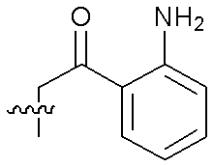
もしくは、
【化１７】



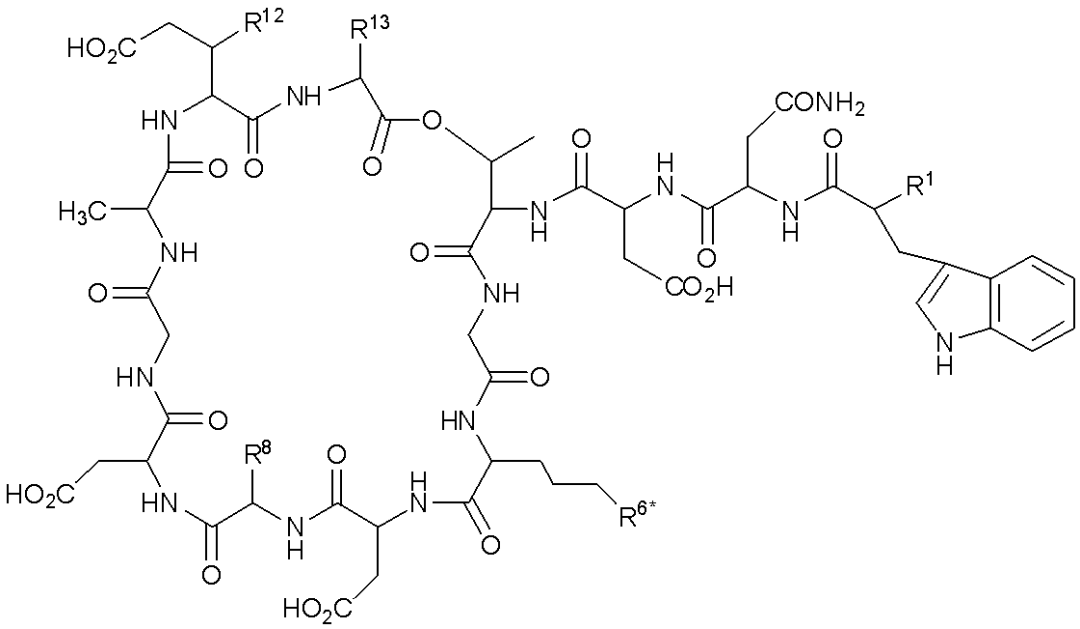
であり、
ｎ）Ｒ１、Ｒ６＊およびＲ８＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【０００８】
別の態様では、本発明は、式Ｆ１：
【化１８】



（Ｆ１）

〔式中、
ａ）Ｒ^{8}は、水素、
【化１９】

、もしくは
【化２０】

であり、
ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、
【化２１】

、もしくは
【化２２】

であり、
ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_{3}$であり、
ｄ）Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$、ＣＨ（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{3}$）ＣＨ$_{3}$、
【化２３】

もしくは
【化２４】

であり、
ｅ）Ｒ^{1}およびＲ^{6}＊は各々、独立して、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【０００９】
本発明は、別の態様では、式Ｆ２：

【化２５】

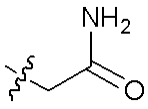


（Ｆ２）

〔式中、

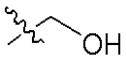
ａ）Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化２６】



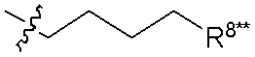
、

【化２７】



、もしくは

【化２８】

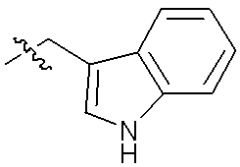


であり、

ｂ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_{3}$であり、

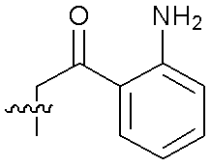
ｃ）Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$、ＣＨ（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{3}$）ＣＨ$_{3}$、

【化２９】



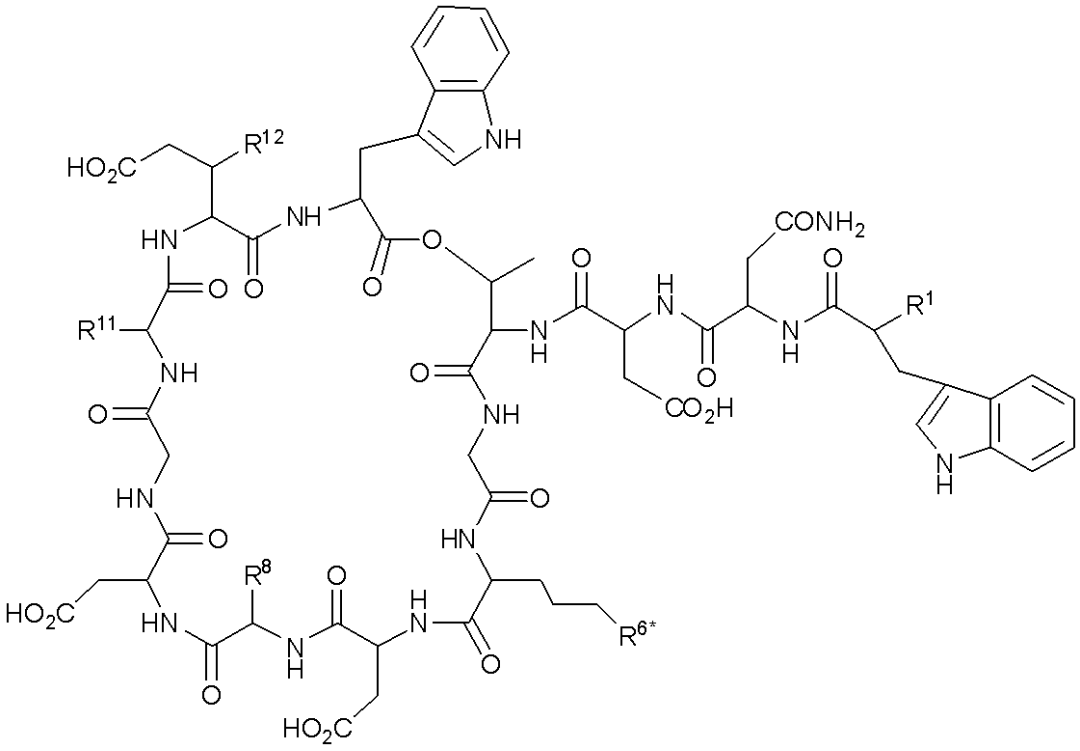
もしくは

【化３０】

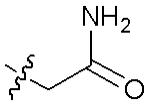


であり、

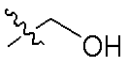
ｄ）Ｒ[1]、Ｒ[6]＊およびＲ[8]＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【００１０】
別の態様では、本発明は、式Ｆ３：
【化３１】



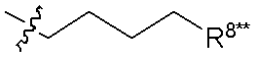
（Ｆ３）
〔式中、
ａ）Ｒ[8]は、水素、
【化３２】



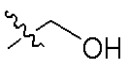
、
【化３３】



、もしくは
【化３４】

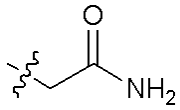


であり、
ｂ）Ｒ[11]は、メチル、
【化３５】



、もしくは

【化３６】



であり、

ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

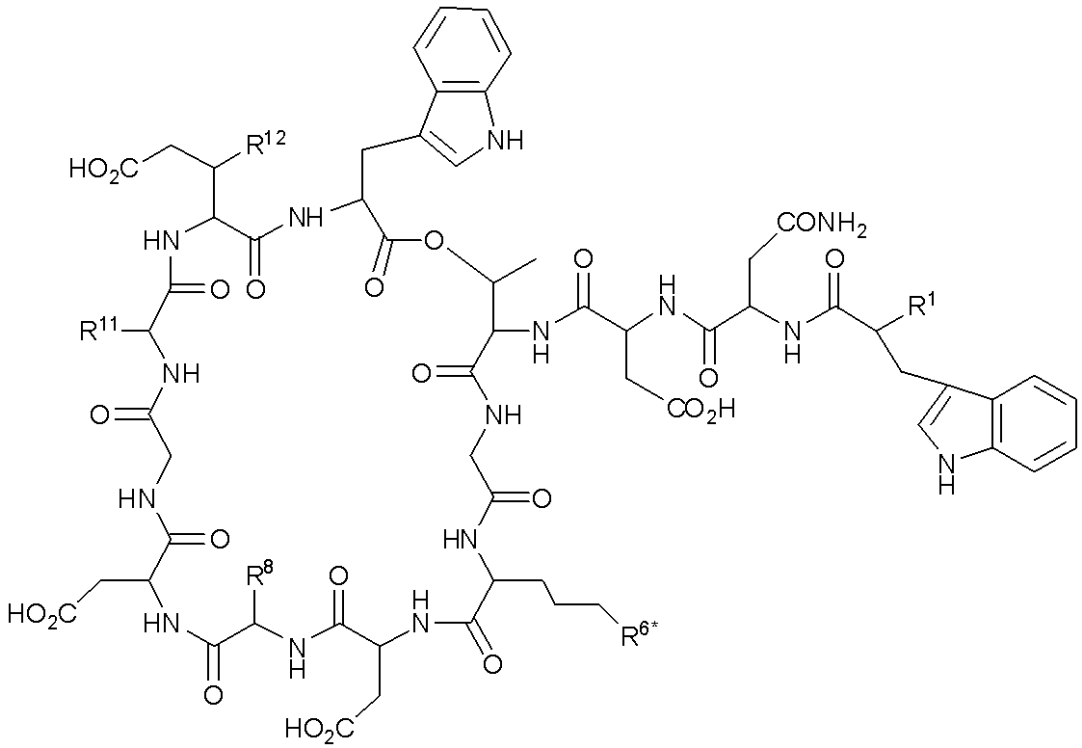
ｄ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊、Ｒ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【００１１】

本発明は、別の態様では、式Ｆ４：

【化３７】

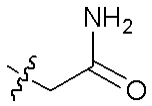


（Ｆ４）

〔式中、

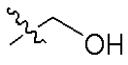
ａ）Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化３８】



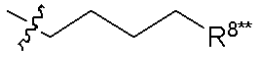
、

【化３９】



、もしくは

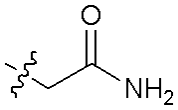
【化４０】



であり、

ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、もしくは

【化４１】



であり、

ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

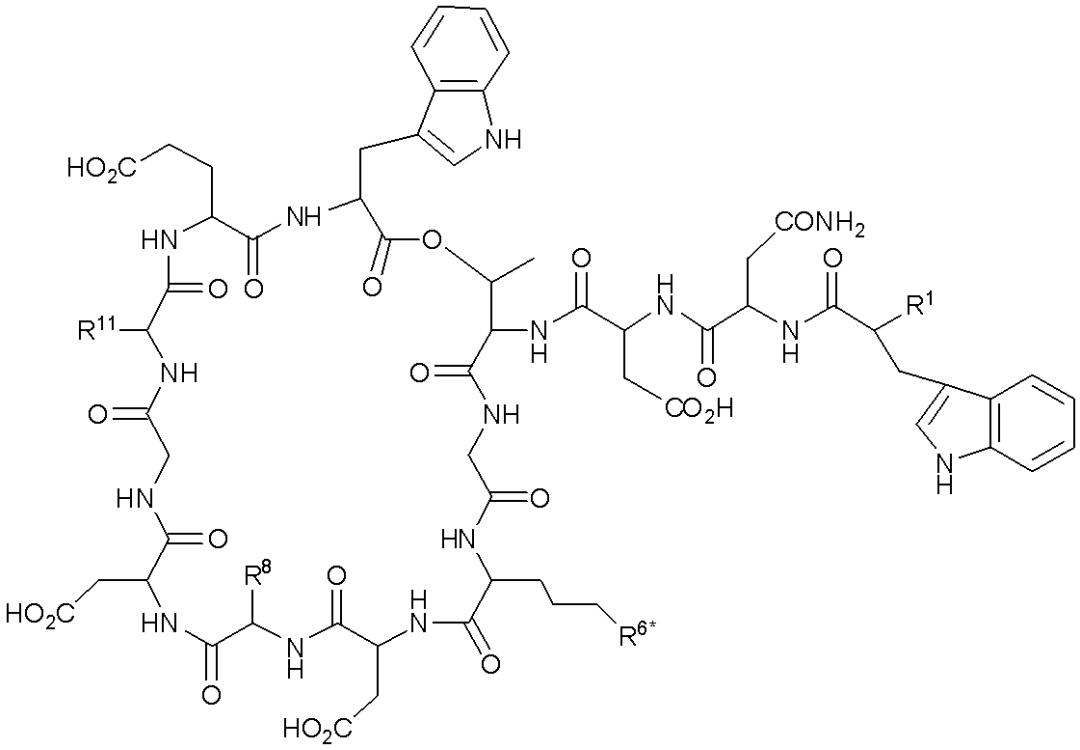
ｄ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【００１２】

別の態様では、本発明は、式Ｆ５：

【化４２】

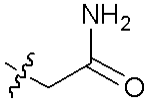


（Ｆ５）

〔式中、

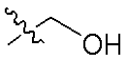
ａ）Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化４３】



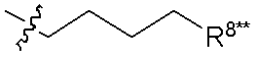
、

【化４４】

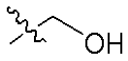


、もしくは

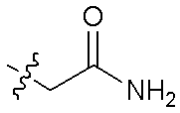
【化４５】



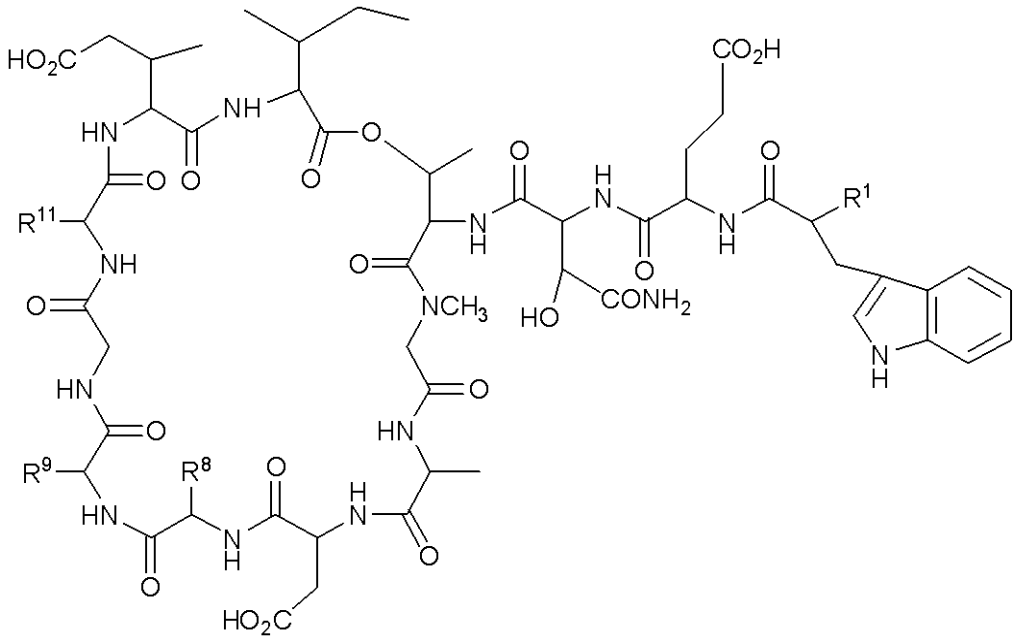
であり、
ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、
【化４６】



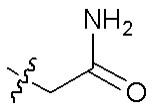
、もしくは
【化４７】



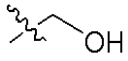
であり、
ｃ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【００１３】
本発明は、別の態様では、式Ｆ６：
【化４８】



（Ｆ６）
〔式中、
ａ）Ｒ^{8}は、
【化４９】

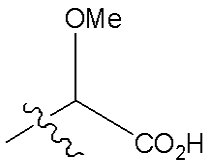


もしくは
【化５０】



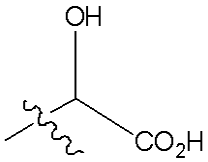
であり、
ｂ）Ｒ^{9}は、

【化５１】



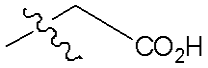
、

【化５２】



、もしくは

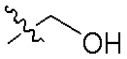
【化５３】



であり、

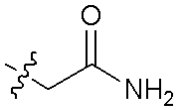
ｃ）Ｒ^{11}は、メチル、

【化５４】



、もしくは

【化５５】



であり、

ｄ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

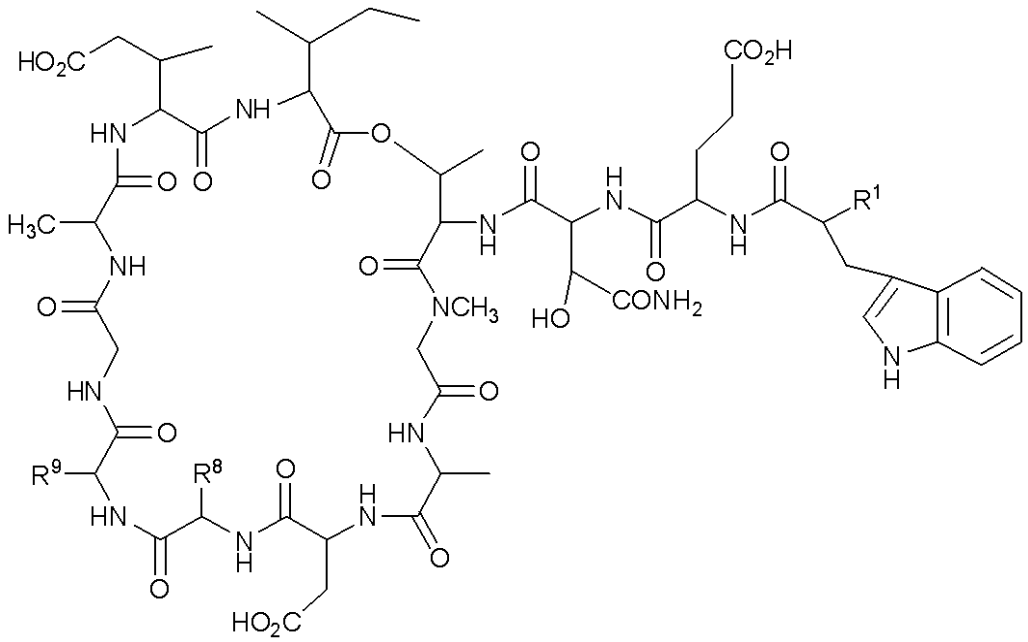
ｅ）Ｒ^{1}は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【００１４】

別の態様では、本発明は、式Ｆ７：

【化５６】

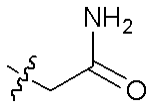


（Ｆ７）

〔式中、

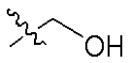
ａ）Ｒ^{8}は、メチル、

【化５７】



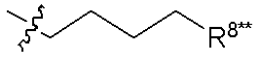
、

【化５８】



、もしくは

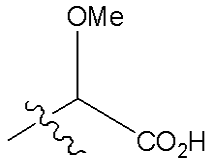
【化５９】



であり、

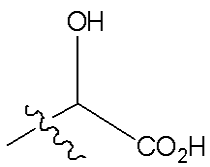
ｂ）Ｒ^{9}は、

【化６０】



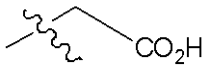
、

【化６１】



、もしくは

【化６２】

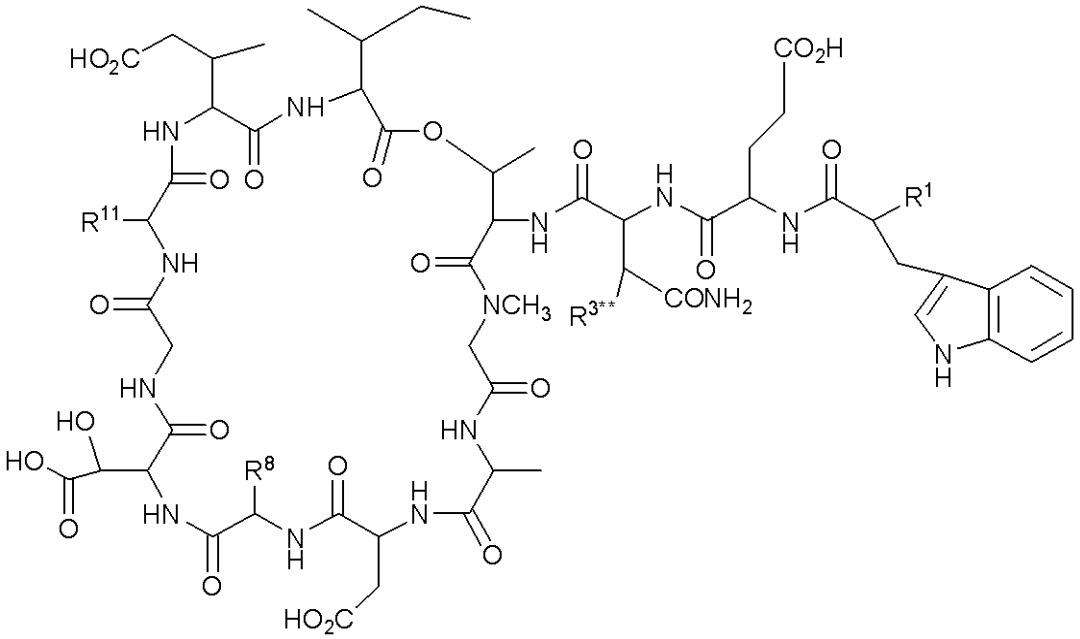


であり、
ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｄ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。

【００１５】

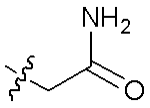
本発明は、別の態様では、式Ｆ８：

【化６３】



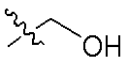
（Ｆ８）
〔式中、
ａ）Ｒ^{3}＊＊は、ヒドロキシルもしくは水素であり、
ｂ）Ｒ^{8}は、メチル、

【化６４】



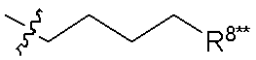
、

【化６５】



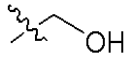
、もしくは

【化６６】



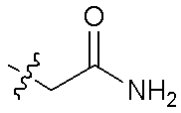
であり、
ｃ）Ｒ^{11}は、アミノ酸側鎖、メチル、

【化６７】



、もしくは

【化６８】



であり、

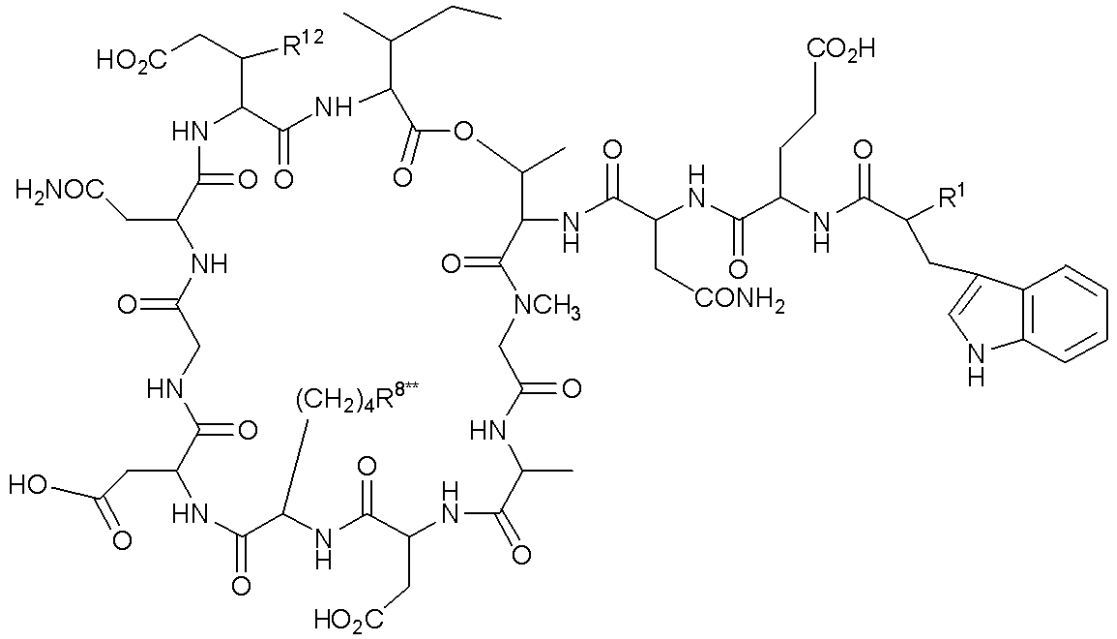
ｄ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｅ）Ｒ^{1}およびＲ^{8***}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物およびその塩を提供する。

【００１６】

別の態様では、本発明は、式Ｆ１９：

【化６９】



（Ｆ９）

〔式中、

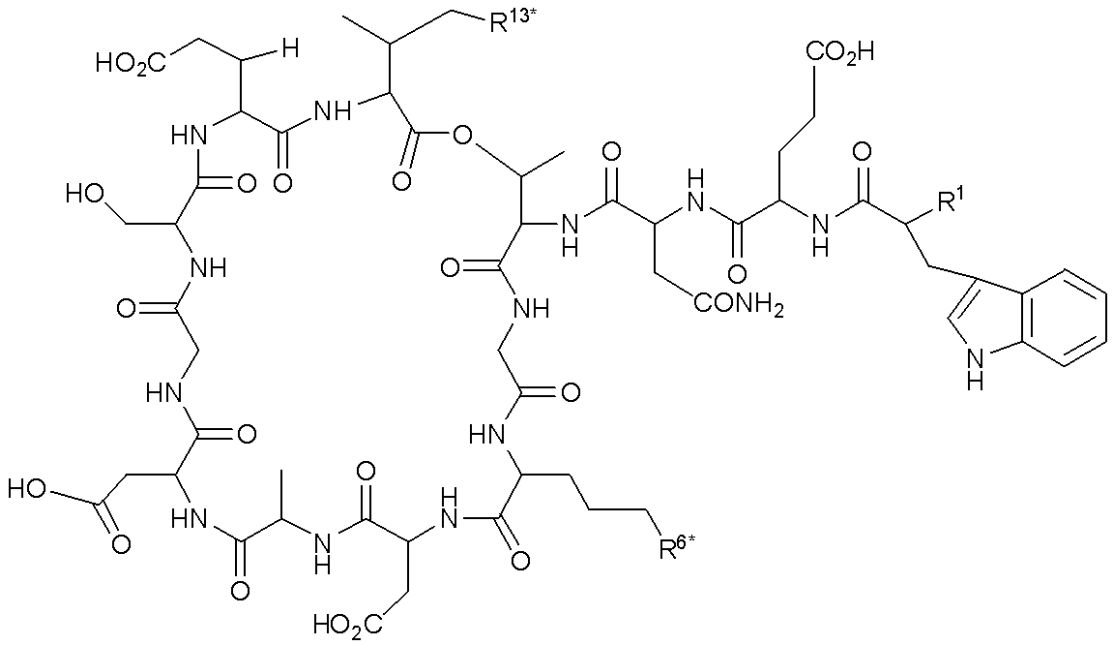
ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8***}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物およびその塩を提供する。

【００１７】

本発明は、別の態様では、式Ｆ１０：

【化７０】



（Ｆ１０）

〔式中、

ａ）Ｒ^{13*}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

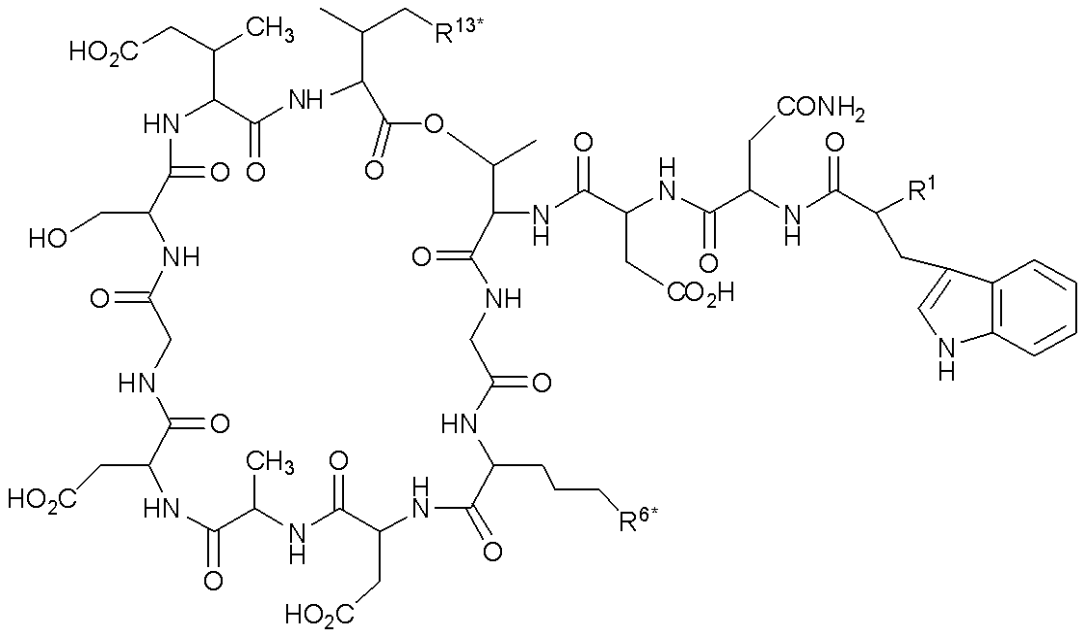
ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【００１８】

別の態様では、本発明は、式Ｆ１１：

【化７１】



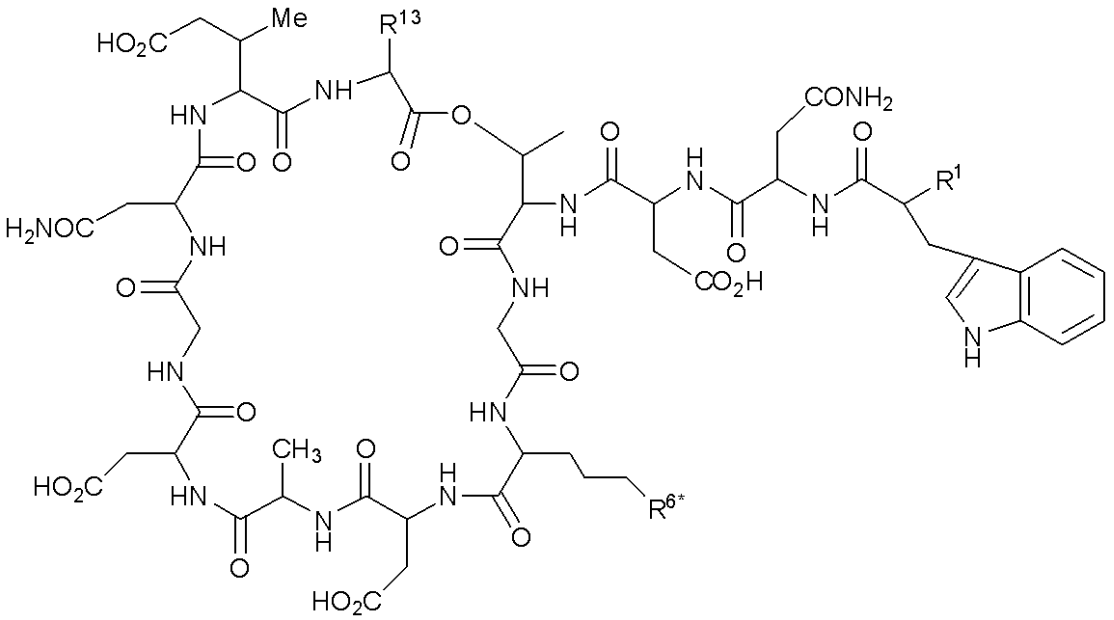
（Ｆ１１）

〔式中、

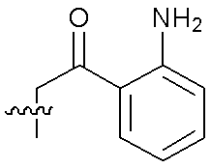
ａ）Ｒ^{13*}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チ

オアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【００１９】
本発明は、別の態様では、式Ｆ１２：
【化７２】

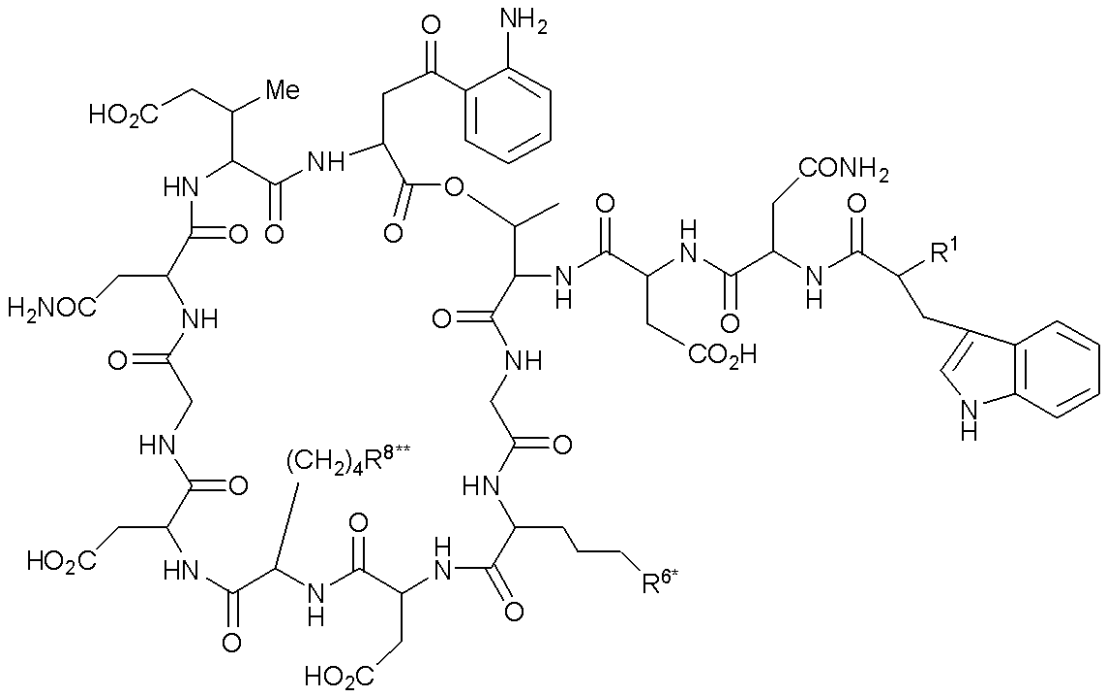


（Ｆ１２）
〔式中、
ａ）R^{13}は、$CH(CH_2CH_3)CH_3$もしくは
【化７３】



であり、
ｂ）R^1およびR^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【００２０】
別の態様では、本発明は、式Ｆ１３：

【化７４】



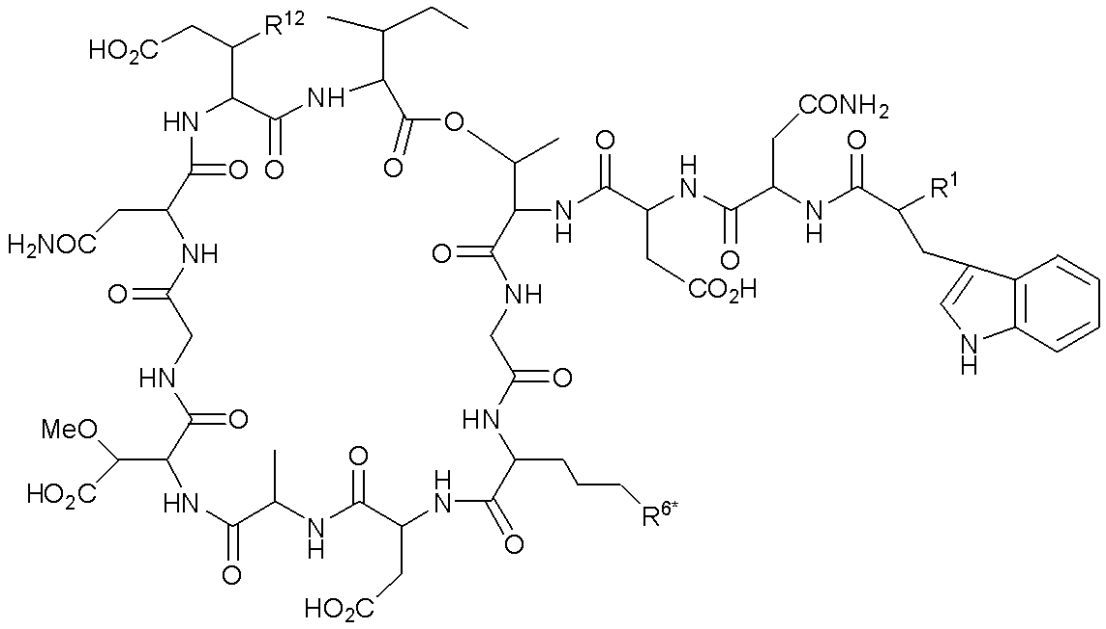
（Ｆ１３）

〔式中、Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物およびその塩を提供する。

【００２１】

本発明は、別の態様では、式Ｆ１４：

【化７５】



（Ｆ１４）

〔式中、

ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_{3}$であり、

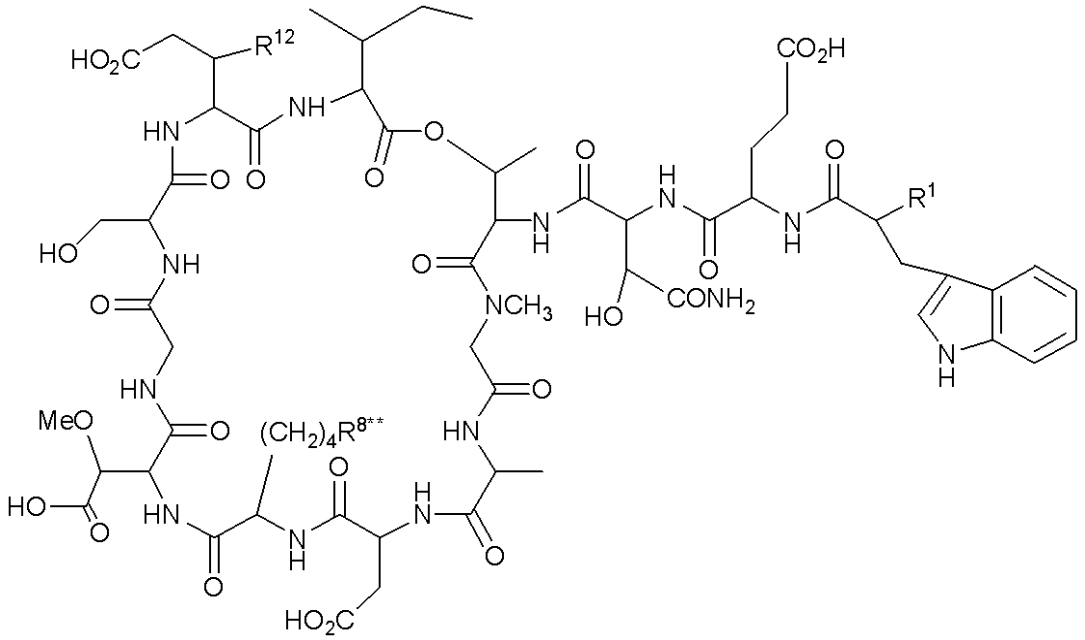
ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{6}＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【００２２】

別の態様では、本発明は、式Ｆ１５：

【化７６】



（Ｆ１５）

〔式中、

ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

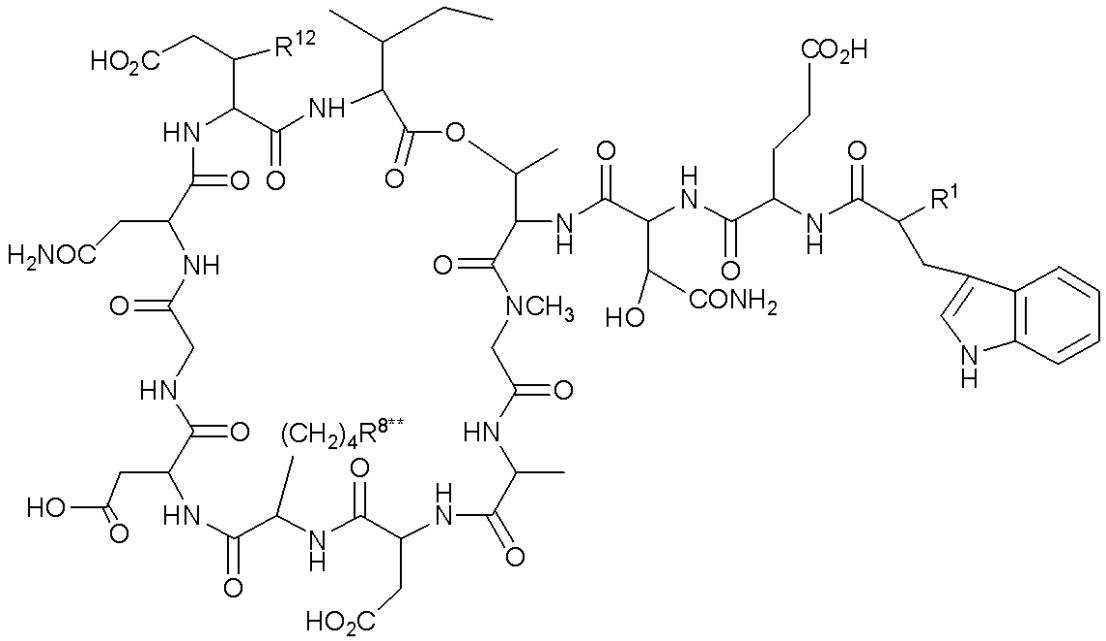
ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【００２３】

本発明は、別の態様では、式Ｆ１６：

【化７７】



（Ｆ１６）

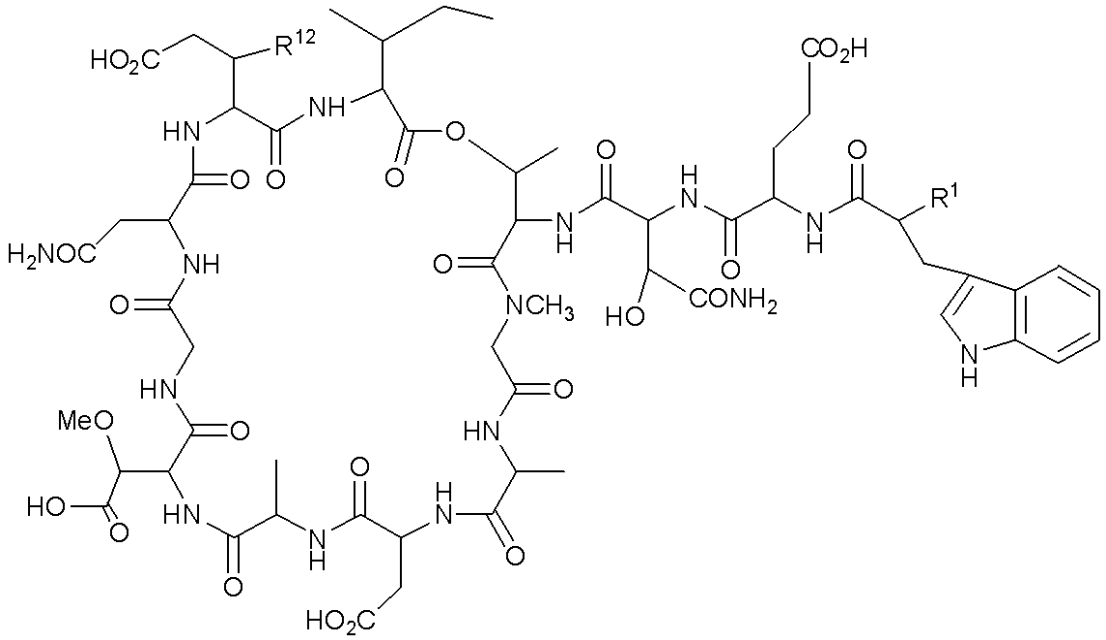
〔式中、

ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。

【００２４】

別の態様では、本発明は、式Ｆ１７：

【化７８】

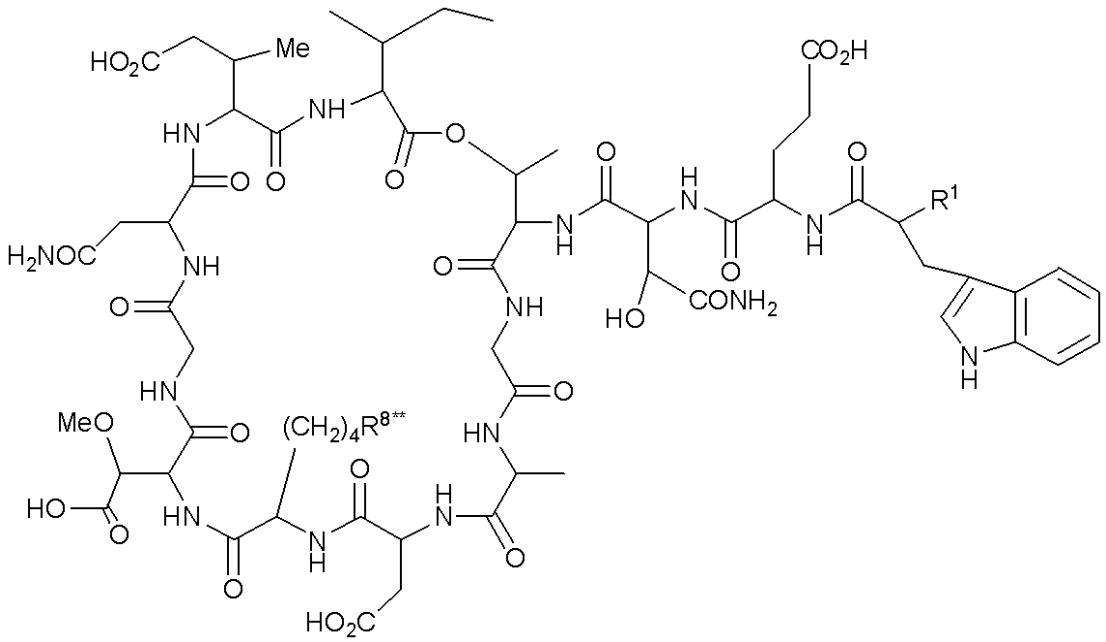


（Ｆ１７）
〔式中、
ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｂ）Ｒ^{1}は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。

【００２５】

本発明は、別の態様では、式Ｆ１８：

【化７９】



（Ｆ１８）

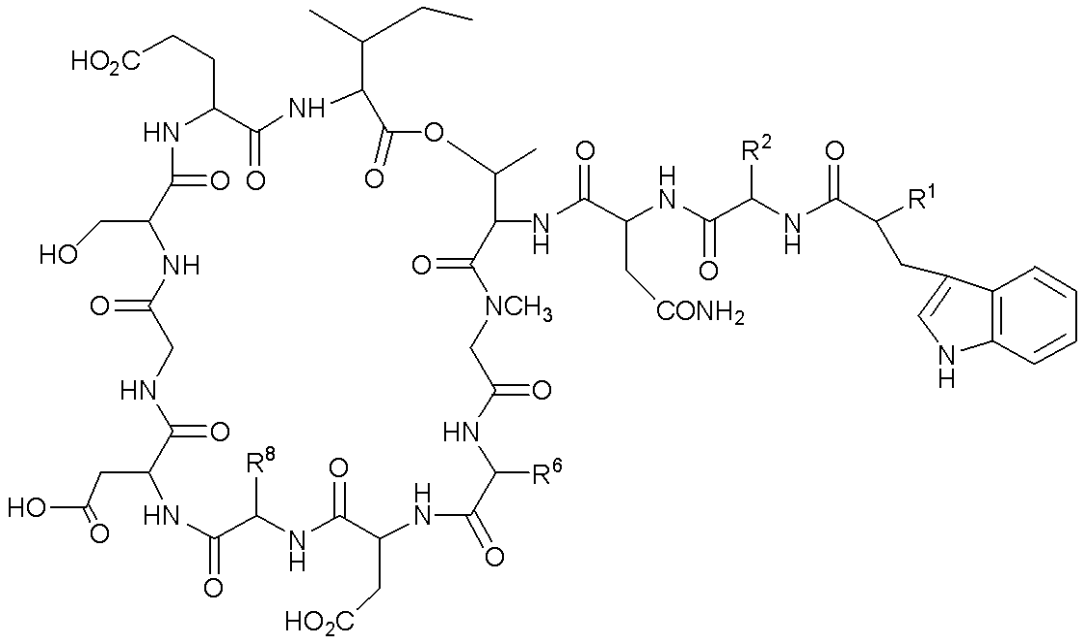
〔式中、

Ｒ[1]およびＲ[8]＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物およびその塩を提供する。

【００２６】

別の態様では、本発明は、式Ｆ１９：

【化８０】

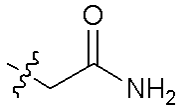


（Ｆ１９）

〔式中、

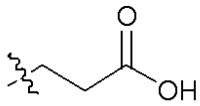
ａ）Ｒ[2]は、

【化８１】



もしくは

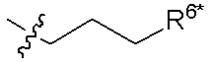
【化８２】



であり、

ｂ）Ｒ^{6}は、メチルもしくは

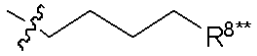
【化８３】



であり、

ｃ）Ｒ^{8}は、メチルもしくは

【化８４】



であり、

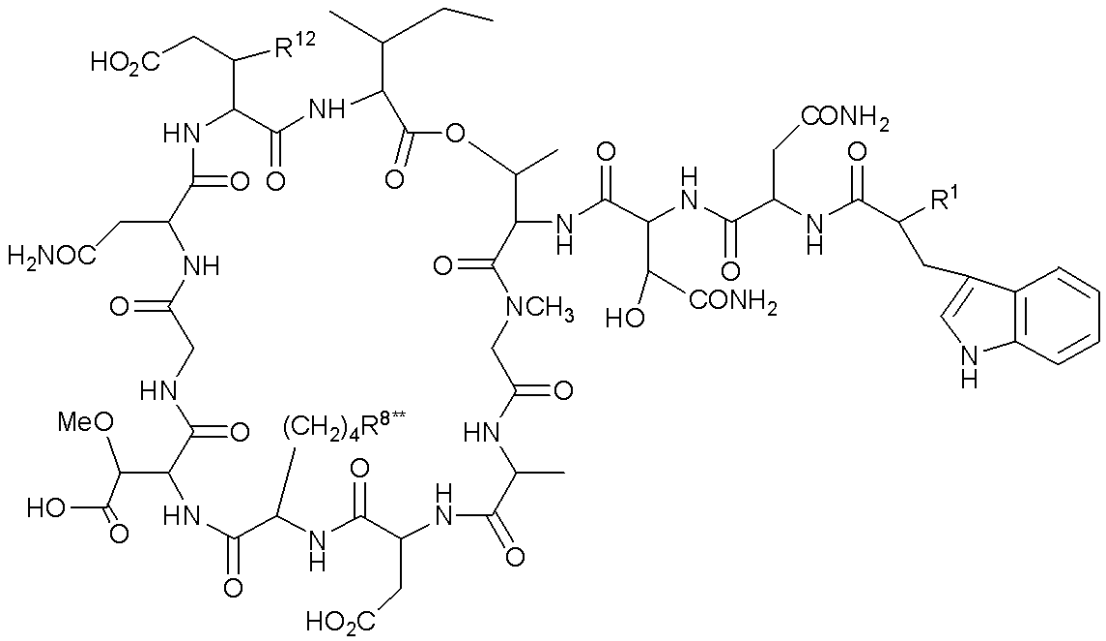
ｄ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊、およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【００２７】

本発明は、別の態様では、式Ｆ２０：

【化８５】



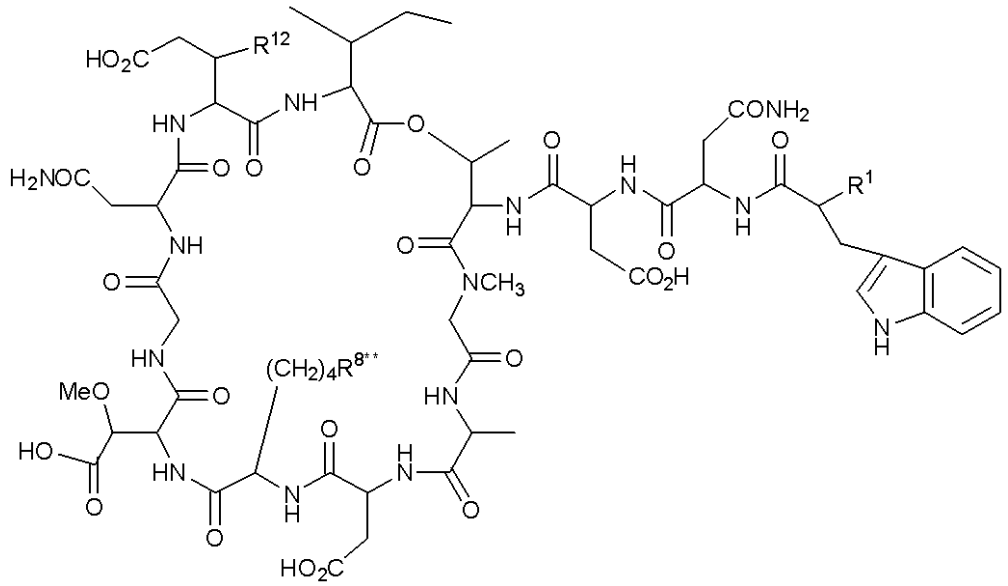
（Ｆ２０）

〔式中、

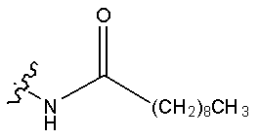
ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_{3}$であり、

ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保

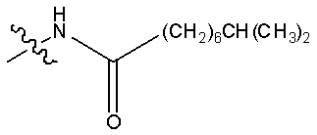
護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【００２８】
別の態様では、本発明は、式Ｆ２１：
【化８６】



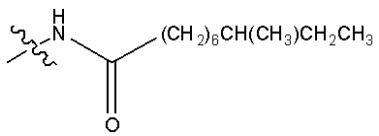
（Ｆ２１）
〔式中、
ａ）Ｒ^{1}は、
【化８７】



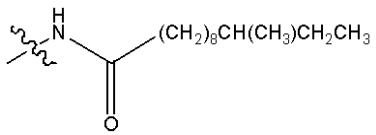
、
【化８８】



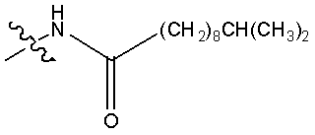
、
【化８９】



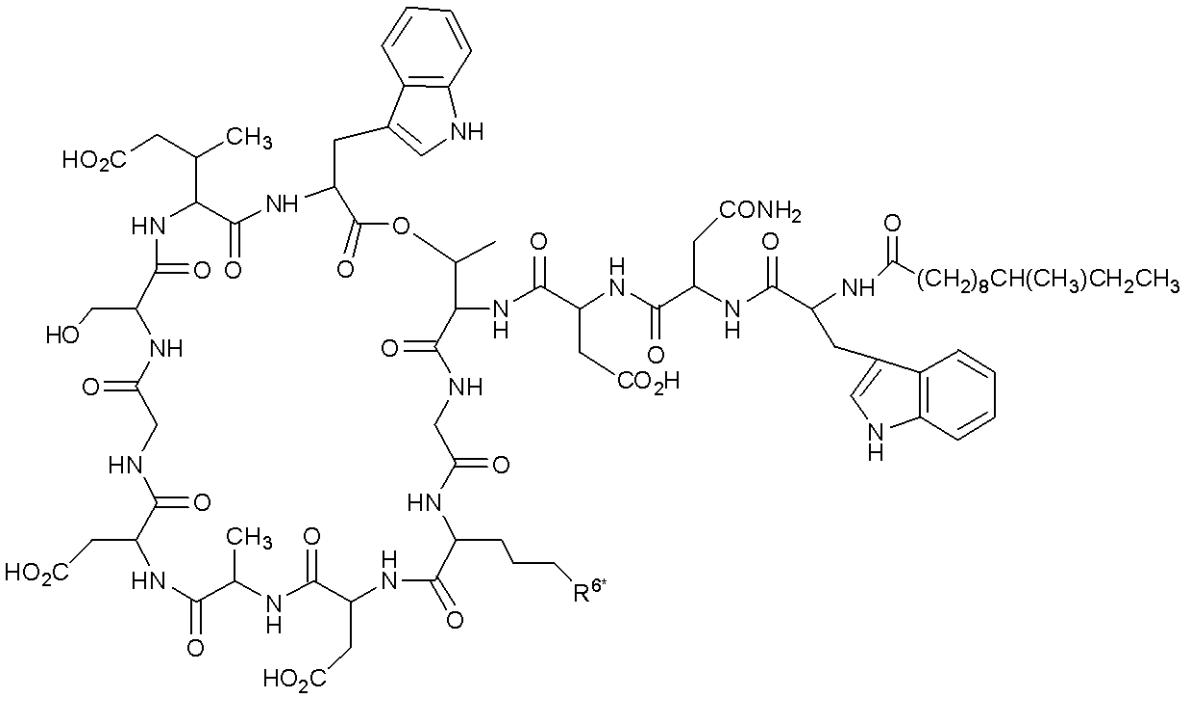
、
【化９０】



、もしくは
【化９１】



であり、
ｂ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｃ）Ｒ^{8}＊＊は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【００２９】
別の態様では、本発明は、式Ｆ２２：
【化９２】

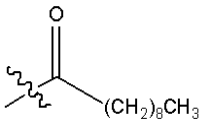


（Ｆ２２）
〔式中、
Ｒ^{6}＊は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨアミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【００３０】
別の態様では、本発明はまた、式Ｉで示される化合物および式Ｆ１－Ｆ２２の化合物を含む医薬組成物、ならびにその使用方法を提供する。
【００３１】
さらに別の態様では、本発明はまた、式Ｉで示される化合物および式Ｆ１－Ｆ２２の化合物を含む抗菌組成物、ならびにその使用方法を提供する。
【００３２】
さらなる態様では、本発明は、式Ｉで示される化合物および式Ｆ１－Ｆ２２の化合物を調製する方法を提供する。

【００３３】
図面の簡単な説明
図１は、ダプトマイシン、Ａ５４１４５、およびＣＤＡの生合成の遺伝子集団を表す。丸括弧の番号は、アミノ酸番号を意味する。以下の略号が使用される。Ｔｒｐ：トリプシン；Ａｓｎ：アスパラギン；Ａｓｐ：アスパラギン酸；Ｔｈｒ：スレオニン；Ｇｌｙ：グリシン；Ｏｒｎ：オルニチン；Ａｌａ：アラニン；Ｓｅｒ：セリン；ＭｅＧｌｕ：３－メチルグルタミン酸；Ｋｙｎ：キルニレン；Ｇｌｕ：グルタミン酸；ｈＡｓｎ：３－ヒドロキシアスパラギン；Ｓａｒ：サルコシン；Ｌｙｓ：リシン；ＯＭｅＡｓｐ：３－メトキシアスパラギン酸；Ｉｌｅ：イソロイシン；Ｖａｌ：バリン；Ｄ－ＨＰＧ：Ｄ－ヒドロキシフェニルグリシン。
【００３４】
図２は、Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ内で構築されたｄｐｔＡ－Ｈの欠失を表しており、ｄｐｔＡ－Ｈの欠失は、ｔｓｒ（チオストレプトマイシン耐性）およびｃａｔ（クロラムフェニコール）をｄｐｔＡ－Ｈ遺伝子座に置き換えることによってＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓの染色体内で欠失を生じさせることにより構築された。
【００３５】
図３は、デプトマイシンのＮＲＰＳ経路における「Ｒｅｄ－介在型」遺伝子置換の一般的な方法を表す。バクテリオファージλ誘発の「高頻度組み換え」状態（「Ｒｅｄ」系もしくはＲｅｄ介在型組み換え）は、ｄｐｔＢＣ内の両方の欠失を構築し、「ｇａｐ－ｒｅｐａｉｒ」と呼ばれる技術を介して置換モジュールをクローン化するために利用される。略号：「Ｃ」、凝縮ドメイン；「$Ａ_{ｓｅｒ}$」、セリンのアデニル化ドメイン；「Ｔ」、チオレーションドメイン；「Ｅ」、エピメラーゼドメイン。
【００３６】
図４は、Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓの組み合わせライブラリーからの構築物を表す。
【００３７】
図５は、ｄｐｔＢＣにおけるモジュール構成（ｄｐｔＢＣにおけるＤ－アミノ酸の内部モジュール）およびチオエステラーゼに関連するｄｐｔＤにおける末端アミノ酸モジュール（キヌレニン）を表す。Ｃは凝縮ドメインである。アミノ酸３文字表記を含む円は、アミノ酸特異的なアデニル化ドメインである。Ａｓｎ：アスパラギン；Ａｌａ：アラニン；Ａｓｐ：アスパラギン酸；３ＭＧｌｕ：３－メチルグルタミン酸；Ｋｙｎ：キヌレニン。Ｔはチオレーションドメインである。Ｅはエピマー化ドメインである。ＴＥはチオエステラーゼドメインである。
【００３８】
（定義）
用語「アシル」は、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、ヘテロシシル基、アリール基もしくはヘテロアリール基に結合するカルボニルラジカルを意味し、例えば、８－メチルデカノイル、１０－メチルウンデカノイル、１０－メチルドデカノイル、ｎ－デカノイル、８－メチルノナノイル、ドデカノイル、ウンデカノイル、アセチルおよびベンゾイルなどのラジカルを含むが、これらに限らない。本発明の一の具体例では、アシル基は、「アルカノイル」基であり、アルキル基に結合するカルボニルラジカルとして定義される。本発明の別の具体例では、アルカノイル基は、「$Ｃ_{１}$－$Ｃ_{２０}$－アルカノイル」基であり、カルボニル炭素を含む合計１から２０個の炭素原子を包含するアルカノイル基として定義される。炭素原子は、直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイル基は、「$Ｃ_{１}$－$Ｃ_{１５}$－アルカノイル」基であり、カルボニル炭素を含む合計１から１５個の炭素原子を包含するアルカノイル基として定義される。炭素原子は、直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイル基は、「$Ｃ_{１}$－$Ｃ_{１３}$－アルカノイル」基であり、カルボニル炭素を含む合計１から１３個の炭素原子を包含するアルカノイル基として定義される。本発明の別の具体例では、アルカノイル基は、「$Ｃ_{５}$－$Ｃ_{２０}$－アルカノイル」基であり、カルボニル炭素を含む合計５から２０個の炭素原子を包含するアルカノイル基として定義される。炭素原

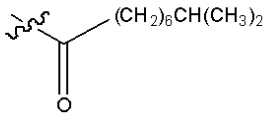
子は、直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイル基は、「Ｃ１０－Ｃ２０－アルカノイル」基であり、カルボニル炭素を含むする合計１０から２０個の炭素原子を包含するアルカノイル基として定義される。炭素原子は、直鎖もしくは分岐鎖状に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイル基は、「Ｃ１０－Ｃ１３－アルカノイル」基であり、カルボニル炭素を含む合計１０から１３個の炭素を包含するアルカノイルアミノ基として定義される。炭素原子は、直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイル基は、

【化９３】



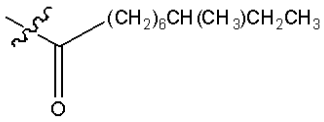
、

【化９４】



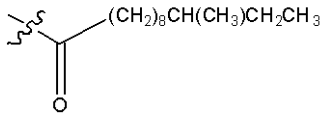
、

【化９５】



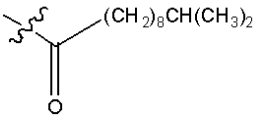
、

【化９６】



、もしくは

【化９７】



である。

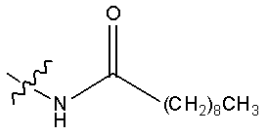
本発明の別の具体例では、用語アシルの一部として、（１）「未置換アルカノイル」は、未置換アルキル基に結合されたカルボニルラジカルとして定義され、（２）「未置換アルケノイル」は、未置換アルケニル基に結合されたカルボニルラジカルとして定義される。

【００３９】

用語「アシルアミノ」は、アシル基に隣接する窒素ラジカルとして定義される。本発明の一の具体例では、アシルアミノ基は、「アルカノイルアミノ」基であり、アルカノイル基に結合する窒素ラジカルとして定義される。本発明の別の具体例では、アルカノイルアミノ基は、「Ｃ１－Ｃ２０－アルカノイルアミノ」基であり、カルボニル炭素を含む合計１から２０個の炭素原子を包含するアルカノイルアミノ基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイルアミノ基は、「Ｃ１－Ｃ１５－アルカノイルアミノ」基であり、カルボニル炭素を含む合計１から１５個の炭素原子を包含するアルカノイルアミノ基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイルアミノ基は、「Ｃ１

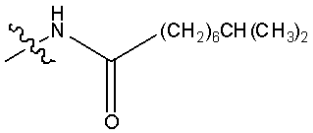
－Ｃ１３－アルカノイルアミノ」基であり、カルボニル炭素を含む合計１から１３個の炭素原子を包含するアルカノイルアミノ基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイルアミノ基は、「Ｃ５－Ｃ２０－アルカノイルアミノ」基であり、カルボニル炭素を含む合計５から２０個の炭素原子を包含するアルカノイルアミノ基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイルアミノ基は、「Ｃ１０－Ｃ２０－アルカノイルアミノ」基であり、カルボニル炭素を含む合計１０から２０個の炭素原子を包含するアルカノイルアミノ基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイルアミノ基は、「Ｃ１０－Ｃ１３－アルカノイルアミノ」基であり、カルボニル炭素を含む合計１０から１３個の炭素原子を包含するアルカノイルアミノ基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルカノイルアミノ基は、

【化９８】



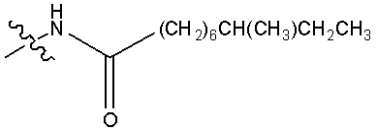
、

【化９９】



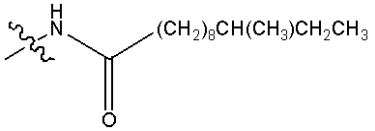
、

【化１００】



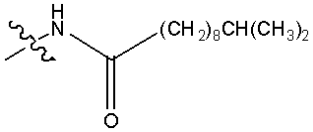
、

【化１０１】



、もしくは

【化１０２】



である。

【００４０】

用語「アシルオキシ」は、アシル基に隣接する酸素ラジカルを意味する。

【００４１】

用語「アルケニル」は、２から約２０個、好ましくは３から約１０個の炭素原子を有する直鎖もしくは分岐鎖ラジカルであって、少なくとも１個の炭素－炭素二重結合を含むラジカルであると定義される。１個以上の水素原子はまた、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アルケニル、アルコキシ、アルキル、アルキニル、アミノ、アリール、アリールオキシ、カルバモイル、カルボアルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、カルボキシ

アミノ、シアノ、二置換アミノ、ホルミル、グアニジノ、ハロ、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、ヒドロキシ、イミノアミノ、一置換アミノ、ニトロ、オキソ、ホスホンアミノ、スルフィニル、スルホンアミノ、スルホニル、チオ、チオアシルアミノ、チオウレイド、もしくはウレイドから選択される置換基によって置換が可能である。不飽和炭化水素鎖の二重結合の一部は、シスもしくはトランス立体配置のどちらかであってよい。アルケニル基の例は、エチレニルもしくはフェニルエチレニルを含むが、これらだけに限らない。用語アルケニルの一部は、「未置換アルケニル」であり、置換基を生じないアルケニル基として定義される。

【００４２】

用語「アルコキシ」は、アルキル基、シクロアルキル基もしくはヘテロシクリル基と置換される酸素ラジカルを意味する。例としては、メトキシ、ｔｅｒｔ－ブトキシ、ベンジルオキシおよびシクロヘキシルオキシを含むが、これらだけに限らない。

【００４３】

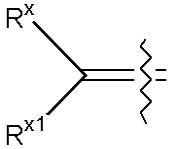
用語「アルキル」は、他に特に規定がなければ、１から約２０個の炭素原子を有する直鎖もしくは分岐鎖の飽和ラジカルとして定義される。用語「低アルキル」は、１－４個の炭素原子を含むアルキル基として定義される。１個以上の水素原子はまた、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アルケニル、アルコキシ、アルキル、アルキニル、アミノ、アリール、アリールオキシ、カルバモイル、カルボアルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、カルボキシアミノ、シアノ、二置換アミノ、ホルミル、グアニジノ、ハロ、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、ヒドロキシ、イミノアミノ、一置換アミノ、ニトロ、オキソ、ホスホンアミノ、スルフィニル、スルホンアミノ、スルホニル、チオ、チオアシルアミノ、チオウレイド、もしくはウレイドから選択される置換基によって置換され得る。アルキル基の例は、メチル、ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、イソプロピル、トリフルオロメチル、ノニル、ウンデシル、オクチル、ドデシル、メトキシメチル、２－（２’－アミノフェナシル)、３－インドリルメチル、ベンジル、およびカルボキシメチルを含むが、これらだけに限らない。用語アルキルの一部は、（１）「未置換アルキル」であり、置換基を生じないアルキル基として定義され、（２）「置換アルキル」であり、１個以上の水素原子が、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アルケニル、アルコキシ、アルキル、アルキニル、アミノ、アリール、アリールオキシ、カルバモイル、カルボアルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、カルボキシアミノ、シアノ、二置換アミノ、ホルミル、グアニジノ、ハロ、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、ヒドロキシ、イミノアミノ、一置換アミノ、ニトロ、オキソ、ホスホンアミノ、スルフィニル、スルホンアミノ、スルホニル、チオ、チオアシルアミノ、チオウレイド、もしくはウレイドから選択される置換基によって置換されるアルキルラジカルを意味する。本発明の別の具体例では、アルキル基は、「C_1－C_{20}－アルキル」基であって、合計１から２０個の炭素原子を含むアルキル基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルキル基は、「C_1－C_{15}－アルキル」基であって、合計１から１５個の炭素原子を含むアルキル基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルキル基は、「C_1－C_{13}－アルキル」基であって、合計１から１３個の炭素原子を含むアルキル基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルキル基は、「C_5－C_{20}－アルキル」基であって、合計５から２０個の炭素原子を含むアルキル基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルキル基は、「C_{10}－C_{20}－アルキル」基であり、合計１０から２０個の炭素原子を含むアルキル基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルキル基は、「C_{10}－C_{13}－アルキル」基であり、合計１０から１３個の炭素原子を含むアルキル基として定義される。本発明の別の具体例では、アルキル基は、「C_9－C_{12}－アルキル」基であり、合計９から１２個の炭素原子を含むアルキル基として定義される。炭素原子は直鎖もしくは分岐鎖に配置され得る。本発明の別の具体例では、アルキル基は、ノニル、７－メチルオクチル、７－メチルノニル、ｎ－デシル、９－メチル

ウンデシル、９－メチルデシル、ｎ－ウンデシルである。

【００４４】

用語「アルキリデニル」は、式：

【化１０３】



で示される炭素ラジカルとして定義される。ここで、R^xおよびR^{x1}は、ヒドリドもしくはC_7－C_{17}未置換アルキルから独立して選択され、R^xおよびR^{x1}からの炭素の合計数が１７以下である。

【００４５】

用語「アルキニル」は、２から約１０個の炭素原子を有し、少なくとも１個の炭素－炭素の三重結合を含む、直鎖もしくは分岐鎖ラジカルを意味する。１個以上の水素原子はまた、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アルケニル、アルコキシ、アルキル、アルキニル、アミノ、アリール、アリールオキシ、カルバモイル、カルボアルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、カルボキシアミノ、シアノ、二置換アミノ、ホルミル、グアニジノ、ハロ、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、ヒドロキシ、イミノアミノ、一置換アミノ、ニトロ、オキソ、ホスホンアミノ、スルフィニル、スルホンアミノ、スルホニル、チオ、チオアシルアミノ、チオウレイド、もしくはウレイドから選択される置換基によって置換され得る。アルキニル基の例は、プロピニルを含むが、これだけに限らない。

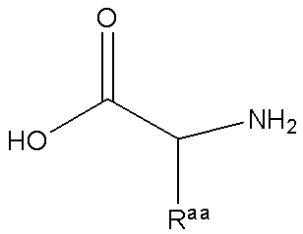
【００４６】

用語「アミノ」はNH_2ラジカルとして定義される。

【００４７】

用語「アミノ酸」は、式：

【化１０４】



で示される化合物を意味する。ここで、R^{aa}はアミノ酸側鎖である。「天然アミノ酸」は、自然界で発見されるアミノ酸である。「必須アミノ酸」は、２０個の通常のアミノ酸である、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシンおよびバリンのうちの一つである。「非タンパク質構成アミノ酸」は、必須アミノ酸以外のアミノ酸である。本明細書では、以下の省略は特定のアミノ酸を記述する時に使用される。

【表１】

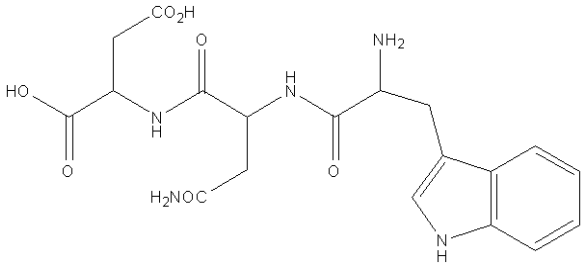
略号	アミノ酸
（ＭｅＯ）Ａｓｐ、（ｍ）Ａｓｐ、ｍＡｓｐ、ｍｏＡｓｐ、もしくはｍｏ（Ａｓｐ）	３－メトキシ－アスパラギン酸
（ＯＨ）Ａｓｎ、ｈ（Ａｓｎ）、ｈＡｓｎ、ｈ－Ａｓｎ	３－ヒドロキシ－アスパラギン
（ＯＨ）Ａｓｐ、ｈ（Ａｓｐ）、ｈＡｓｐｈ－Ａｓｐ	３－ヒドロキシ－アスパラギン酸
３－ＭＧ	３－メチルグルタミン酸
Ｄ－ＨＰＧ	Ｄ－ヒドロキシフェニルグリシン
Ａｌａ	アラニン
Ａｓｎ	アスパラギン
Ａｓｐ	アスパラギン酸
Ｇｌｕ	グルタミン酸
Ｇｌｙ	グリシン
Ｉｌｅ	イソロイシン
Ｋｙｎ	キヌリニン
Ｌｙｓ	リシン
Ｏｒｎ	オルニチン
Ｓａｒ	サルコシン
Ｓｅｒ	セリン
Ｔｈｒ	スレオニン
Ｔｒｐ	トリプトファン
Ｖａｌ	バリン

本発明の一の態様では、アミノ酸は、３－メトキシ－アスパラギン酸、３－ヒドロキシ－アスパラギン、３－ヒドロキシ－アスパラギン酸、３－メチルグルタミン酸、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、イソロイシン、キヌリニン、リシン、オルニチン、サルコシン、セリン、スレオニン、トリプトファン、およびバリンである。

【００４８】

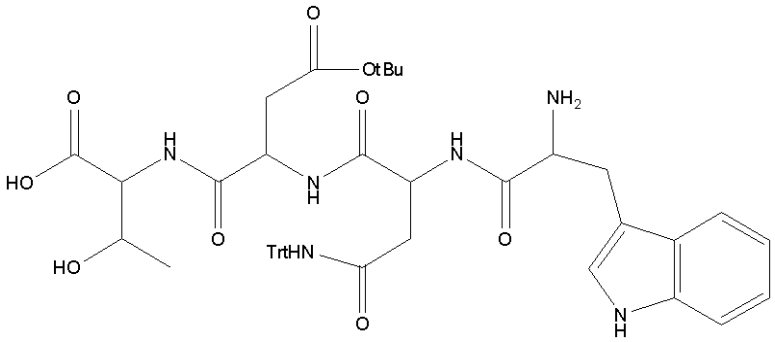
ペプチドが上述の３文字表記の結合で記述されることは、当業者によって理解されるだろう。例えば、Ａｓｐ－Ａｓｎ－Ｔｒｐは、化合物：

【化１０５】



を意味する。代替的に、上述の化合物はまた、Ａｓｐ－Ａｓｎ－Ｔｒｐ－ＮＨ$_2$と記述され得るであろう。本発明のペプチドが、保護基（ｖｉｄｅ　ｉｎｆｒａ）を含むこともまた当業者によって理解されるであろう。アミノ酸が保護基を含む場合、３文字表記によって保護基が示されるであろう。例えば、Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ＮＨ$_2$は以下の化合物：

【化１０６】



を意味する。

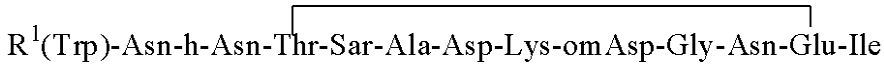
【００４９】

本発明のアミノ酸に共通な保護基は、ｔｅｒｔ－ブトキシ（ｔＢｕ）、トリチル（Ｔｒｔ）およびｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル（Ｂｏｃ）保護基である。

【００５０】

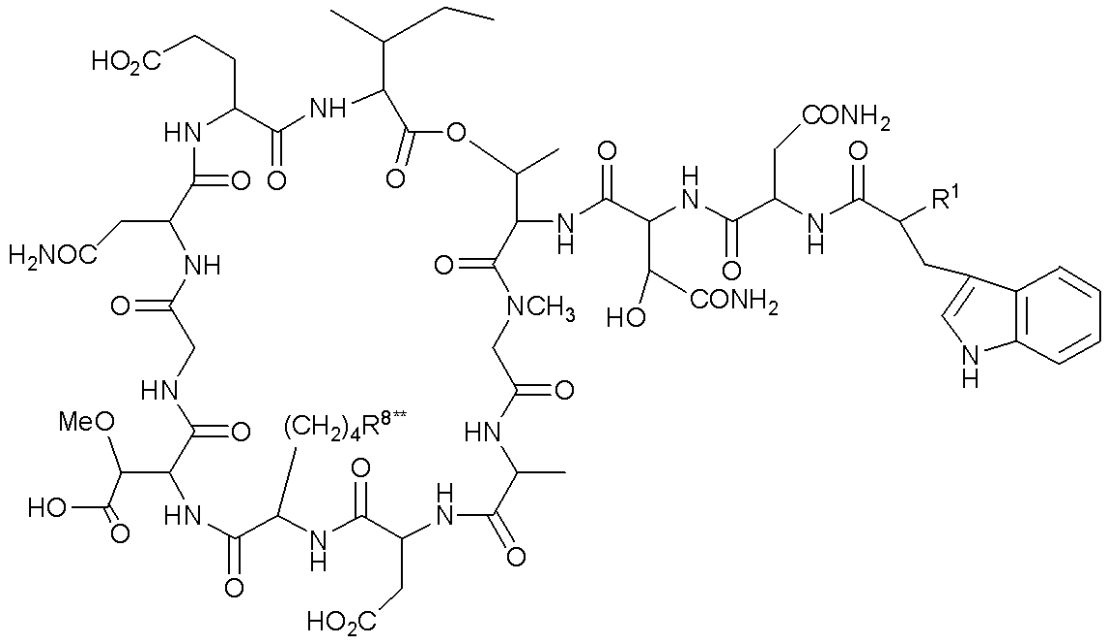
環状ペプチドが３文字表記で記述されることもまた当業者に理解されるだろう。例えば、３文字構造

【化１０７】



は、構造：

【化１０８】



と同一である。

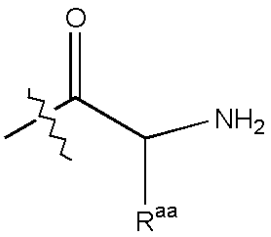
【００５１】

アミノ酸がＬ形もしくはＤ形立体配置のどちらかで存在し得ることはまた、当業者によって理解されている。アミノ酸の立体配置を示すことが望ましい場合、ＤもしくはＬの記号は３文字表記の前に配置される。

【００５２】

用語「アミノ酸残基」は、式：

【化１０９】

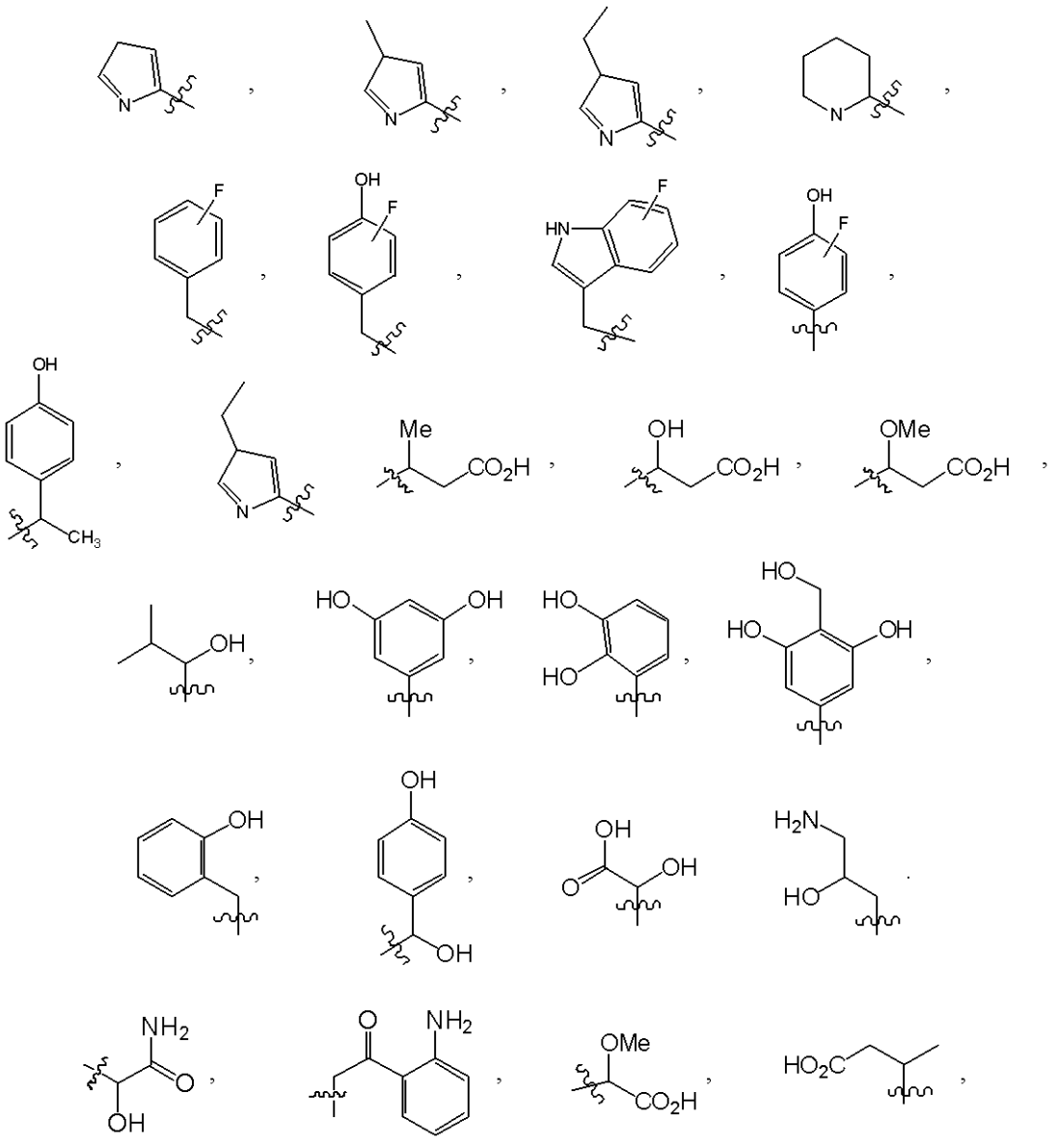


で示される化合物を意味する。ここで、Ｒａａはアミノ酸側鎖である。本発明の一の態様では、アミノ酸残基は天然アミノ酸に由来する。本発明の別の態様では、アミノ酸残基は、３－メトキシ－アスパラギン酸、３－ヒドロキシ－アスパラギン、３－ヒドロキシ－アスパラギン酸、３－メチルグルタミン酸、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、イソロイシン、キヌリニン、リシン、オルニチン、サルコシン、セリン、スレオニン、トリプトファン、およびバリンに由来する。

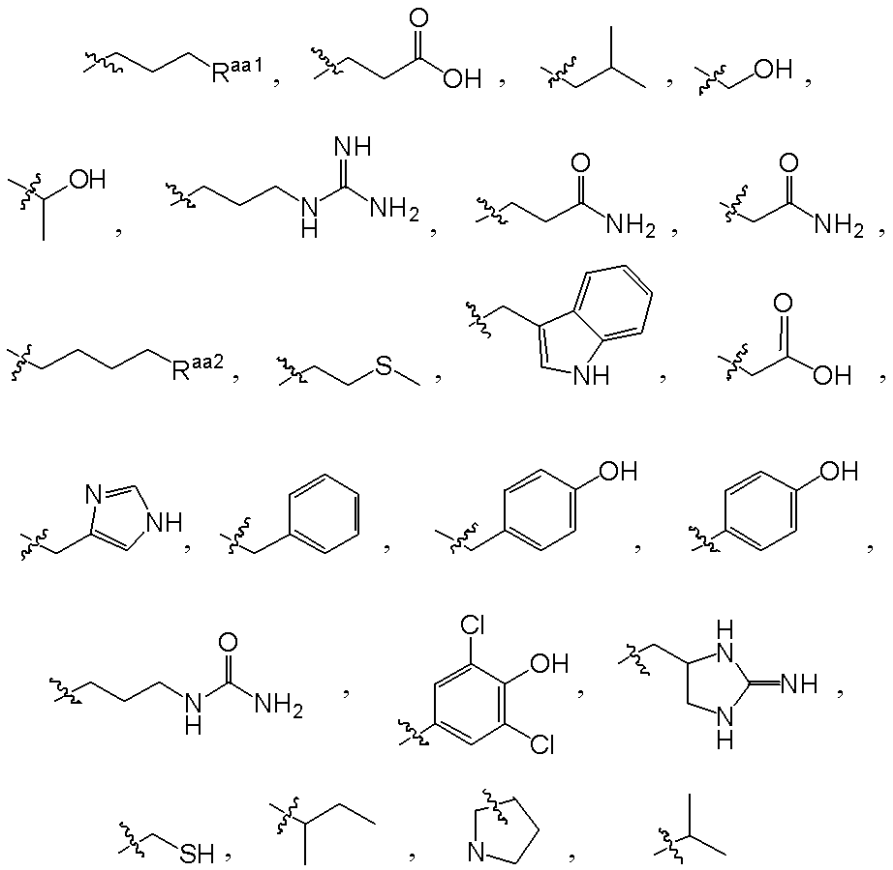
【００５３】

用語「アミノ酸側鎖」は、天然もしくは合成アミノ酸に由来する側鎖（Ｒ基）を意味する。例えば、３－インドリルメチルはトリプトファン側鎖と呼ばれている。アミノ酸側鎖の例は、

【化１１０】

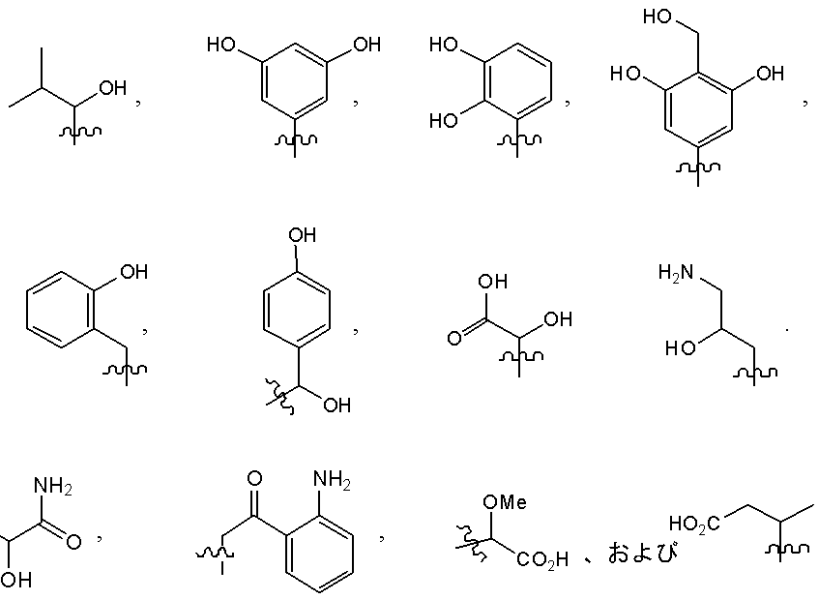


【化１１１】



ヒドリドおよびメチルを含むが、これらだけに限らない。ここで、Ｒａａ１およびＲａａ２は各々、独立して一置換アミノ、二置換アミノ、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。「非タンパク質構成側鎖」は、非タンパク質構成アミノ酸（上記参照）に由来するアミノ酸側鎖である。非タンパク質構成アミノ酸側鎖は、

【化１１２】



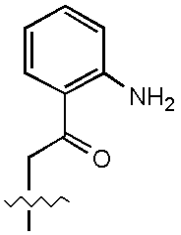
を含むが、これらだけに限らない。本発明の一の態様では、アミノ酸側鎖は、天然アミノ酸に由来する。本発明の別の態様では、アミノ酸側鎖は、アミノ酸である３－メトキシ－アスパラギン酸、３－ヒドロキシ－アスパラギン、３－ヒドロキシ－アスパラギン酸、３－メチルグルタミン酸、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グリ

シン、イソロイシン、キヌリニン、リシン、オルニチン、サルコシン、セリン、スレオニン、トリプトファン、およびバリンに由来する。

【００５４】

用語「２－（２’－アミノフェナシル）」は、式：

【化１１３】



で示されるラジカルを意味する。

【００５５】

用語「アリール」もしくは「アリール環」は、５から１４個の環構成員を有する単炭素環系もしくは縮合炭素環系の芳香族ラジカルとして定義される。好ましい具体例では、環系は、６から１０個の環構成員を有する。１個以上の水素原子はまた、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アルケニル、アルコキシ、アルキル、アルキニル、アミノ、アリール、アリールオキシ、アジド、カルバモイル、カルボアルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、カルボキシアミノ、シアノ、二置換アミノ、ホルミル、グアニジノ、ハロ、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、ヒドロキシ、イミノアミノ、一置換アミノ、ニトロ、オキソ、ホスホンアミノ、スルフィニル、スルホンアミノ、スルホニル、チオ、チオアシルアミノ、チオウレイド、もしくはウレイドから選択される置換基によって置換され得る。アリール基の例は、フェニル、ナフチル、ビフェニル、テルフェニルを含むが、これらだけに限らない。

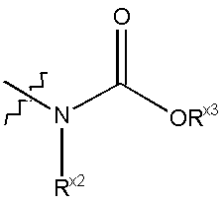
【００５６】

用語「アリールオキシ」は、アリール基もしくはヘテロアリール基で置換される酸素含有ラジカルを意味する。例として、フェノキシを含むが、これだけに限らない。

【００５７】

用語「カルバモイル」は、式：

【化１１４】



で示される窒素ラジカルを意味する。ここで、R^{x2}は、ヒドリド、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリルから選択され、R^{x3}は、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリルから選択される。

【００５８】

用語「カルボアルコキシ」は、アルコキシ基もしくはアリールオキシ基に隣接するカルボニルラジカルとして定義される。

【００５９】

用語「カルボキシ」は、ＣＯＯＨラジカルを意味する。

【００６０】

用語「カルボキシアミノ」は、$CONH_2$ラジカルを意味する。

【００６１】

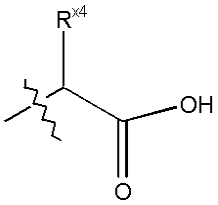
用語「カルボキシアミド」は、一置換アミノ基もしくは二置換アミノ基に隣接するカル

ボニルラジカルとして定義される。

【００６２】

用語「α－カルボキシアミノ酸側鎖」は、式：

【化１１５】



で示される炭素ラジカルとして定義される。ここで、R^{x4}はアミノ酸側鎖として定義される。

【００６３】

用語「カルボキシメチル」はCH_2CO_2Hラジカルを意味する。

【００６４】

用語「シクロアルキル」もしくは「シクロアルキル環」は、３から１２個の環構成員を有する単炭素環系もしくは縮合炭素環系における、飽和もしくは部分的な不飽和炭素環を意味する。好ましい具体例では、シクロアルキルは、３から７個の環構成員を有する環系である。１個以上の水素原子はまた、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アルケニル、アルコキシ、アルキル、アルキニル、アミノ、アリール、アリールオキシ、カルバモイル、カルボアルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、カルボキシアミノ、シアノ、二置換アミノ、ホルミル、グアニジノ、ハロ、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、ヒドロキシ、イミノアミノ、一置換アミノ、ニトロ、オキソ、ホスホンアミノ、スルフィニル、スルホンアミノ、スルホニル、チオ、チオアシルアミノ、チオウレイド、もしくはウレイドから選択される置換基によって置換されてよい。シクロアルキル基の例は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロヘキシル、およびシクロヘプチルを含むが、これらだけに限らない。

【００６５】

用語「二置換アミノ」は、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、もしくはヘテロアリールから独立して選択される２個の置換基を含む窒素ラジカルとして定義される。好ましい二置換アミノラジカルは、「低級二置換アミノ」ラジカルであり、置換基は低級アルキルである。また、好ましい二置換アミノラジカルは、片方の置換が低級アルキル基であり、他方の置換がα－カルボキシアミノ酸側鎖である、アミノラジカルである。

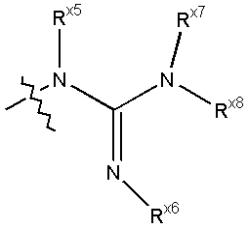
【００６６】

「Ｆｍｏｃ」基は、９－フルオレニルメトキシカルボニル基である。

【００６７】

用語「グアニジノ」は、式：

【化１１６】



で示される窒素ラジカルとして定義される。ここで、R^{x5}、R^{x7}およびR^{x8}は各々、ヒドリル、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から独立に選択され、R^{x6}は、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から選択される。

【００６８】

用語「ハロ」は、臭素、塩素、フッ素もしくはヨウ素ラジカルである。

【００６９】

「ヘテロアリール」もしくは「ヘテロアリール環」は、５から１５個の環構成員を有する単もしくは縮合複素環系におけるＯ、Ｎ、Ｓ、もしくはＳＯから選択される１から４個のヘテロ原子もしくはヘテロ基を含む芳香族ラジカルとして定義される。好ましい具体例では、ヘテロアリール環系は６から１０個の環構成員を有する。１個以上の水素原子はまた、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アルケニル、アルコキシ、アルキル、アルキニル、アミノ、アリール、アリールオキシ、カルバモイル、カルボアルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、カルボキシアミノ、シアノ、二置換アミノ、ホルミル、グアニジノ、ハロ、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、ヒドロキシ、イミノアミノ、一置換アミノ、ニトロ、オキソ、ホスホンアミノ、スルフィニル、スルホンアミノ、スルホニル、チオ、チオアシルアミノ、チオウレイド、もしくはウレイドから選択される置換基によって置換されてもよい。ヘテロアリール基の例は、ピリジニル基、チアゾリル基、チアジアゾイル基、イソキノリニル基、ピラゾリル基、オキサゾリル基、オキサジアゾイル基、トリアゾリル基、およびピロリル基を含むが、これらだけに限らない。

【００７０】

用語「ヘテロシクリル」、「複素環」もしくは「ヘテロシクリル環」は、３から１２個の環構成員を有する、単もしくは縮合複素環系のＯ、Ｎ、ＮＨ、Ｎ（低級アルキル）、Ｓ、ＳＯもしくはSO_2から選択される１から４個のヘテロ原子もしくはヘテロ基を含む、飽和もしくは部分的な不飽和環を意味する。好ましい具体例では、ヘテロシクリルは３から７個の環構成員を有する環系である。１個以上の水素原子はまた、アシル、アシルアミノ、アシルオキシ、アルケニル、アルコキシ、アルキル、アルキニル、アミノ、アリール、アリールオキシ、カルバモイル、カルボアルコキシ、カルボキシ、カルボキシアミド、カルボキシアミノ、シアノ、二置換アミノ、ホルミル、グアニジノ、ハロ、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、ヒドロキシ、イミノアミノ、一置換アミノ、ニトロ、オキソ、ホスホンアミノ、スルフィニル、スルホンアミノ、スルホニル、チオ、チオアシルアミノ、チオウレイド、もしくはウレイドから選択される置換基によって置換されてよい。ヘテロシクリル基の例は、モルホリニル、ピペリジニル、およびピロリジニルを含むが、これらだけに限らない。

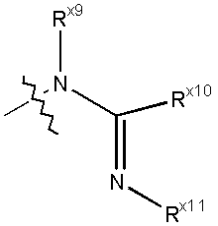
【００７１】

用語「ヒドリド」は、単独の水素原子（Ｈ）として定義される。

【００７２】

用語「イミノアミノ」は、式：

【化１１７】

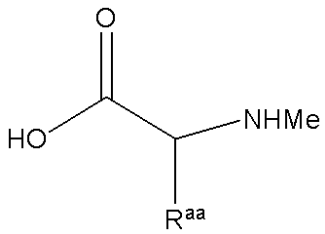


で示される窒素ラジカルを意味する。ここで、R^{x9}およびR^{x11}は各々、ヒドリド、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から独立して選択され、R^{x10}は、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から選択される。

【００７３】

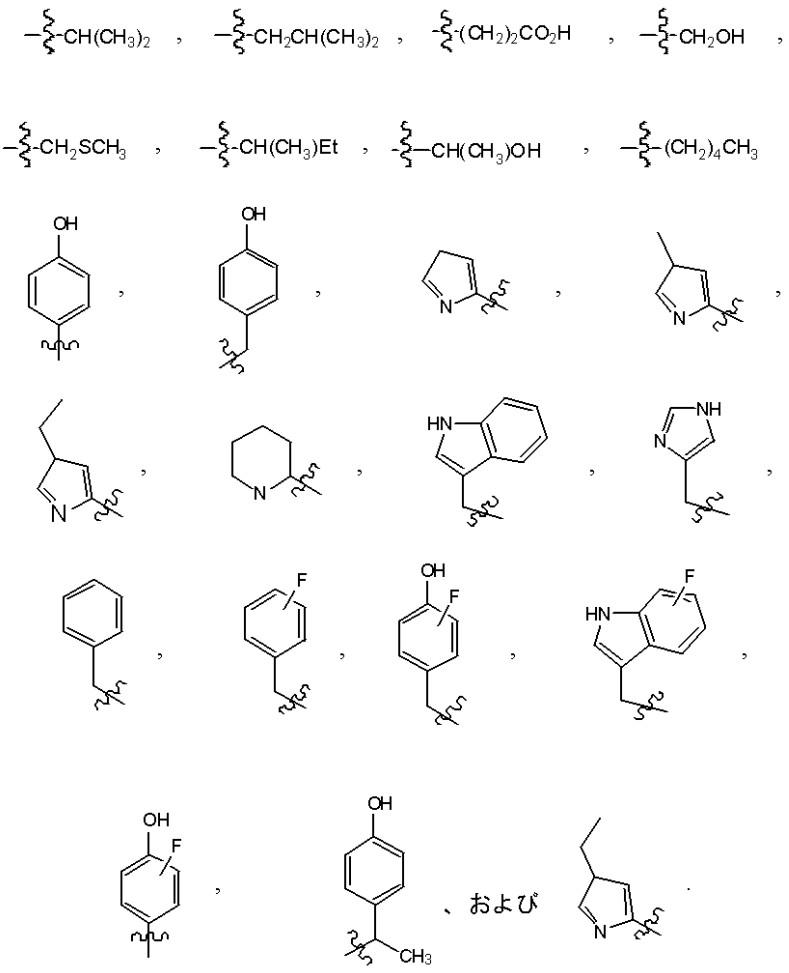
用語「Ｎ－メチルアミノ酸」は、式：

【化１１８】



で示される化合物を意味する。ここで、Ｒａａはアミノ酸側鎖である。Ｎ－メチルアミノ酸のアミノ酸側鎖の例は、

【化１１９】



を含む。

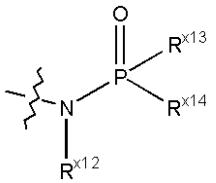
【００７４】

用語「一置換アミノ」は、ヒドリド基およびアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、もしくはヘテロアリールから選択される置換基を含む窒素ラジカルを意味する。好ましい一置換アミノラジカルは「低級一置換アミノ」ラジカルであり、置換基は低級アルキル基である。より好ましい一置換アミノラジカルは、α－カルボキシアミノ酸側鎖を含むアミノラジカルである。

【００７５】

用語「ホスホンアミノ」は、式：

【化１２０】



で示される窒素ラジカルとして定義される。Ｒｘ１２はヒドリド、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロアルキルもしくはヘテロシクリルから選択され、Ｒｘ１３およびＲｘ１４は、アルキル、アルコキシ、アリール、アリールオキシ、シクロアルキル、ヘテロアリールおよびヘテロシクリルから独立して選択される。

【００７６】

用語「保護基」は、化学変化が分子の他部位で起こる一方で、化学反応することから分子上の基を防護するために使用され得る化学化合物を意味する。保護を必要としてよい基は、ヒドロキシル、アミノ、カルボン酸およびカルボキシアミノを含む。多くの保護基が当業者に知られており、例として、以後Ｇｒｅｅｎｅと記述する、Ｔｈｅｏｄｏｒａ Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ ａｎｄ Ｐｅｔｅｒ Ｇ．Ｍ． Ｗｕｔｓ，「Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ」Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，ＮｅｗＹｏｒｋ，３版 １９９９に記述されている。

【００７７】

用語「アミノ保護基」は、化学変化が分子の他部位で起こる一方で、化学反応を起こすことから分子上のアミノ基を防護するために使用され得る化学化合物を意味する。多くのアミノ保護基が当業者間で知られており、例はＧｒｅｅｎｅ中で見つけられ得る。「アミノ保護基」の例は、フタルイミド、トリクロロアセチル、ＳＴＡ－塩基、ベンジルオキシカルボニル、ｔ－ブトキシカルボニル、ｔ－アミルオキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、アダマンチルオキシカルボニル、クロロベンジルオキシカルボニル、ニトロベンジルオキシカルボニルもしくはその類似化合物を含む。好ましいアミノ保護基は、アミノ基と結合した場合にカルバマートを形成するアミノ保護基として定義される「カルバマートアミノ保護基」、もしくはアジド基である。好ましいアミノカルバマート保護基は、アリルオキシカルボニル（ａｌｌｏｃ）保護基、カルボベンジルオキシ（ＣＢＺ）保護基、９－フルオレニルメトキシカルボニル（Ｆｍｏｃ）保護基およびｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル保護基である。

【００７８】

用語「ヒドロキシル保護基」は、化学変化が分子の他部位で起こる一方で、化学反応から分子上のヒドロキシル基を防護するために使用され得る化学化合物を意味する。多くのアミノ保護基が当業者間で知られており、例はＧｒｅｅｎｅ（上記参照）中で見つけられ得る。ヒドロキシル保護基の例は、ギ酸、酢酸、置換酢酸、クロトン酸、安息香酸、置換安息香酸、炭酸メチル、炭酸エチル、炭酸アルキルおよびアリール、ホウ酸、ならびにスルホン酸などのエステルを含むが、これらだけに限らない。ヒドロキシル保護基はまた、メチル、ベンジルオキシルメチル、シロキシメチル、テトラヒドロピラニル、置換テトラヒドロピラニル、エチル、置換エチル、アリル、ｔｅｒｔ－ブチル、プロパルギル、フェニル、置換フェニル、ベンジル、置換ベンジル、アルキルシリルおよびシリルエーテルもしくは類似化合物などのエーテルを含むが、これらだけに限らない。好ましいヒドロキシル保護基は、「酸不安定エーテル」であり、それは、酸で処理することによって除去され得るエーテル保護基として定義される。好ましいヒドロキシルエーテル保護基は、トリチル（Ｔｒｔ）保護基、ｔｅｒｔ－ブチル（ｔＢｕ）保護基、ベンジル（Ｂｚｌ）保護基およびｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル（ＴＢＤＭＳ）保護基である。

【００７９】

用語「カルボン酸保護基」は、化学変化が分子の他部位で起こる一方で、化学反応から分子上のカルボン酸を防護するために使用され得る化学化合物を意味する。多くのカルボン酸保護基が当業者間で知られており、例は、Ｇｒｅｅｎｅ（上記参照）中で見つけられ

得る。カルボン酸保護基の例は、アミド、ヒドラジド、ならびに、メチルエステル、置換メチル、フェナシル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロフラニル、シアノメチル、トリイソプロピルシリルメチル、デシル、エチル２－置換エチル、フェニル、２，６ジアルキルフェニル、ベンジル、置換ベンジル、シリル、およびスタンニルなどのエステル、もしくはその類似化合物を含むが、これらだけに限らない。好ましいカルボン酸エステル保護基は、アリル（Ａｌｌ）保護基、ｔｅｒｔ－ブチル（ｔＢｕ）保護基、ベンジル（Ｂｚｌ）保護基、４－｛Ｎ－［１－（４、４－ジメチル－２，６－ジオキソシクロヘキシルイジネン）－３－メチルブチル］－アミノ｝ベンジル（ＯＤｍａｂ）保護基、１－アダマンチル（１Ａｄａ）保護基および２－フェニルイソプロピル（２－ＰｈｉＰｒ）保護基である。

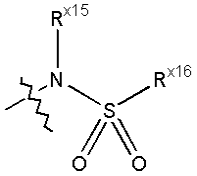
【００８０】

用語「スルフィニル」は、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、もしくはヘテロアリール基から成る群から選択される１個のオキソ置換基および第二の置換基で置換された四価の硫黄ラジカルを意味する。

【００８１】

用語「スルホンアミノ」は、式：

【化１２１】



（式中、R^{x15}は、ヒドリド、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から選択され、R^{x16}は、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から選択される）のアミノラジカルとして定義される。

【００８２】

用語「スルホニル」は、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアリール、もしくはヘテロアリールから選択される２個のオキソ置換基および第三の置換基で置換された六価の硫黄ラジカルを意味する。

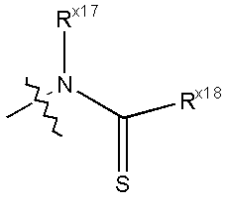
【００８３】

用語「チオ」は、メチルチオおよびフェニルチオなどの二価の硫黄原子に結合するヒドリド、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリールおよびヘテロアリールから独立して選択される置換基を含むラジカルとして定義される。

【００８４】

用語「チオアシルアミノ」は、式：

【化１２２】

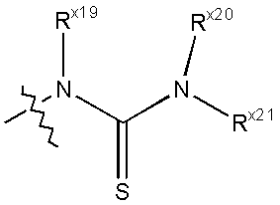


（式中、R^{x17}は、ヒドリド、アルキル、アリール、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から選択され、R^{x18}は、アルキル、アリール、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から選択される）のアミノラジカルを意味する。

【００８５】

用語「チオウレイド」は、式：

【化１２３】



（式中、Ｒ^{x19}およびＲ^{x20}は各々、ヒドリド、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から独立して選択され、Ｒ^{x21}は、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から選択される）の硫黄ラジカルとして定義される。

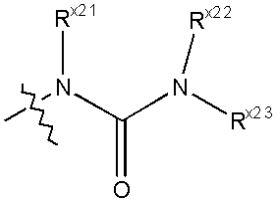
【００８６】

トリチル基はトリフェニルメチル基である。

【００８７】

用語「ウレイド」は、式：

【化１２４】



（式中、Ｒ^{x21}およびＲ^{x22}は各々、ヒドリド、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から独立に選択され、Ｒ^{x23}は、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリールもしくはヘテロシクリル基から選択される）の窒素ラジカルとして定義される。

【００８８】

用語「ｌｐｔＡ」、「ｌｐｔＢ」、「ｌｐｔＣ」および「「ｌｐｔＤ」は、Ａ５４１４５ＮＲＰＳのサブユニットをコードする核酸分子を意味する。好ましい具体例では、核酸分子はＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓに由来し、より好ましい核酸分子はＳ．ｆｒａｄｉａｅに由来する。ｌｐｔＡの核酸はアミノ酸１－５をコードする。ｌｐｔＢの核酸はアミノ酸６および７をコードする。ｌｐｔＣの核酸はアミノ酸８－１１をコードする。ｌｐｔＤの核酸はアミノ酸１２および１３をコードする（図１）。用語「ｌｐｔＡ」、「ｌｐｔＢ」、「ｌｐｔＣ」および「ｌｐｔＤ」はまた、これらの遺伝子の対立遺伝子多型を意味し、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓの他の種もしくは他のＳ．ｆｒａｄｉａｅ株から得られてよい。

【００８９】

用語「ｄｐｔＡ」、「ｄｐｔＢＣ」、および「ｄｐｔＤ」は、ダプトマイシンＮＲＰＳのサブユニットをコードする核酸分子を意味する。好ましい具体例では、核酸分子はＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓに由来し、より好ましい核酸分子はＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓに由来する。ｌｐｔＡの核酸はアミノ酸１－５をコードする。ｌｐｔＢＣの核酸はアミノ酸６－１１をコードする。ｌｐｔＤの核酸はアミノ酸１２－１３をコードする（図１）。用語「ｌｐｔＡ」「ｌｐｔＢＣ」および「ｌｐｔＤ」はまた、これらの遺伝子の対立遺伝子多型を意味し、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓの他の種もしくは他のＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ株から得られてよい。

【００９０】

本発明の化合物の塩は、酸付加塩および塩基付加塩を含む。好ましい具体例では、塩は、式Ｉで示される化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物の医薬上許容される塩である。用語「医薬上許容される塩」は、アルカリ金属塩、および遊離酸もしくは遊離塩基の付加塩を形成するために一般的に使用される塩を包含する。医薬上許容されるのであ

れば、塩の形態は重要ではない。本発明で示される化合物の適合する医薬上許容される酸付加塩は、無機酸もしくは有機酸から調製されてよい。このような無機酸の例は、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硝酸、炭酸、硫酸およびリン酸を含むが、これらだけに限らない。適合する有機酸は、脂肪族の酸（ａｌｉｐｈａｔｉｃ）、シクロ脂肪族の酸（ｃｙｃｌｏａｌｉｐｈａｔｉｃ）、芳香族の酸（ａｒｏｍａｔｉｃ）、アリール芳香族の酸（ａｒｙｌａｌｉｐｈａｔｉｃ）、複素環の酸（ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｉｃ）、カルボン酸およびスルホン酸クラスの有機酸から選択されてよく、スルホン酸クラスの有機酸は、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、マレイン酸、エンボン酸（パモ酸）、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、２－ヒドロキシエタンスルホン酸、パントテン酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、スルファニル酸、メシル酸、シクロヘキシルアミノスルホン酸、ステアリン酸、アルゲン酸、β－ヒドロキシ酪酸、マロン酸、ガラクト酸（ｇａｌａｃｔｉｃ）、およびガラクツロン酸を含むが、これらだけに限らない。本発明で示される化合物の適合する医薬上許容される塩基付加塩は、アルミニウム、カルシウム、リチウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウムおよび亜鉛から生成されるメタル酸塩ならびに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、Ｎ－メチルグルカミン、リシンおよびプロカインから生成される有機酸塩を含むが、これらだけに限らない。これらの塩の全ては、例えば、適切な酸もしくは塩基と本発明の化合物を処理することで本発明の対応化合物から従来の方法によって調製されてよい。

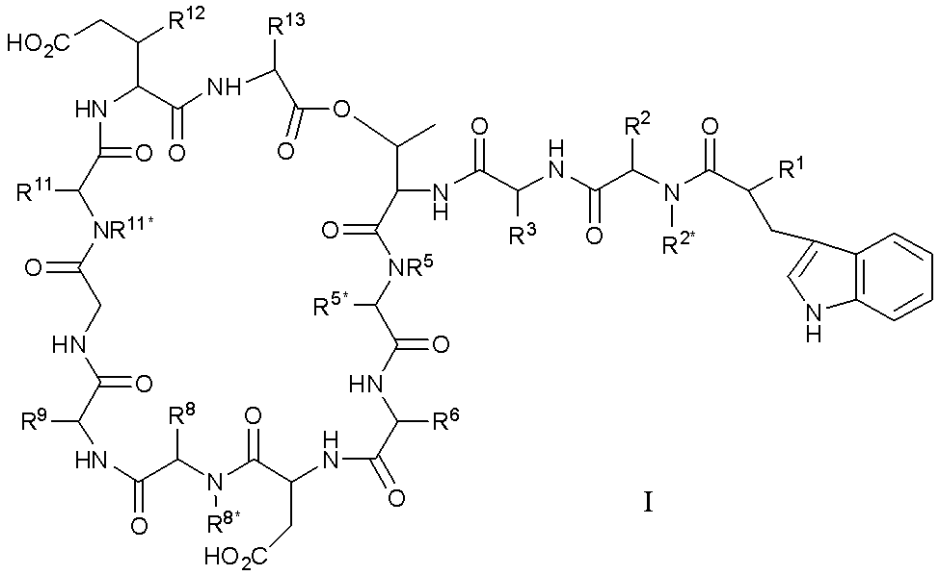
【００９１】

本発明の化合物は、一以上の非対称性の炭素原子を有し、そのラセミ体もしくは非ラセミ体の混合体型とともに光学異性体型で存在し得る。本発明の化合物は、単独の異性体もしくは立体化学的異性体の混合体型として利用され得る。ジアステレオ異性体、すなわち、重ね合わせることが出来ない立体化学的異性体は、クロマトグラフィー、蒸留、結晶化もしくは昇華などの従来の手法によって分離され得る。光学異性体は、従来の方法に従ったラセミ混合体の変換、例えば、光学的に活性な酸もしくは塩基で処理することによるジアステレオ異性体塩の形成などによって取得され得る。適切な酸の例は、酒石酸、ジアセチル酒石酸、ジベンゾイル酒石酸、ジトルオイル酒石酸およびショウノウスルホン酸を含むが、これらだけに限らない。ジアステレオマーの混合体は、光学的な活性化塩から光学的な活性化塩基の結晶化、さらに単離化によって分離され得る。光学異性体分離の代替的な方法は、光学異性体の分離を最大効率で行うために選択されてもよいキラルクロマトグラフィーカラムの使用を含む。さらに別の方法は、本発明の化合物を活性型の光学的に純粋な酸もしくは光学的に純粋なイソシアン酸と反応させることによる共有結合ジアステレオマー異性体分子の合成に関する。合成ジアステレオ異性体は、クロマトグラフィー、蒸留、結晶化もしくは昇華などの従来の手法によって分離され、その後、加水分解されて鏡像異性体的に純粋な化合物を得ることが可能である。本発明の光学的に活性な化合物は、同様に光学的に活性な開始物質を利用することによって得られ得る。これらの異性体は、遊離酸、遊離塩基、エステルもしくは塩の形態であってよい。

【００９２】

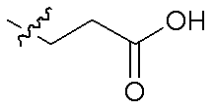
本発明はまた、単離された化合物、好ましくは、式Ｉで示される化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物を包含する。単離化合物は、化合物、好ましくは式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物であって、それらは混合物中に、少なくとも約１％、好ましくは少なくとも約１０％、より好ましくは少なくとも約２０％、さらに好ましくは少なくとも約５０％、さらにより好ましくは少なくとも約８０％、さらにもっとより好ましくは少なくとも約９０％、最も好ましくは少なくとも約９９％存在する。本発明の一の具体例では、本化合物、好ましくは式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物は、組成物中に少なくとも約８０％から約９０％の割合で存在する。本発明の別の具体例では、本化合物、好ましくは式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物は、組成物中に少なくとも約９０％の割合で存在する。本発明の別の具体例では、本化合物、好ましくは式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物は、組成物中に約９０％以上の割合で存在する。

【００９３】
本化合物、好ましくは式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物の割合は、核磁気共鳴（ＮＭＲ）、ガスクロマトグラフィー／質量スペクトル（ＧＣ／ＭＳ）、液体クロマトグラフィー／質量スペクトル（ＬＣ／ＭＳ）もしくは微生物学的分析法を含むいくつかの方法によって測定されてよい。化合物の純度を測定するための好ましい手法は、高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）もしくはＬＣ／ＭＳによる解析である。
【００９４】
本発明の一の具体例では、本化合物、医薬上許容されるその塩もしくは本化合物を含む医薬組成物は、本明細書に記述されている従来の生物学的な測定で試験される場合、検出可能な（すなわち、統計的に有意な）抗菌活性を示す。
【００９５】
デプシペプチド化合物
一の態様では、本発明は、式Ｉ：
【化１２５】

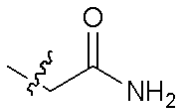


Ｉ

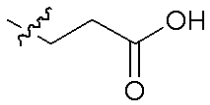
で示される化合物およびその塩を提供する。
【００９６】
式ＩのＲ^{2}基は、アミノ酸側鎖、
【化１２６】



もしくは
【化１２７】

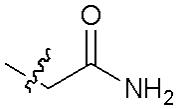


である。
本発明の一の具体例では、アミノ酸側鎖は、
【化１２８】



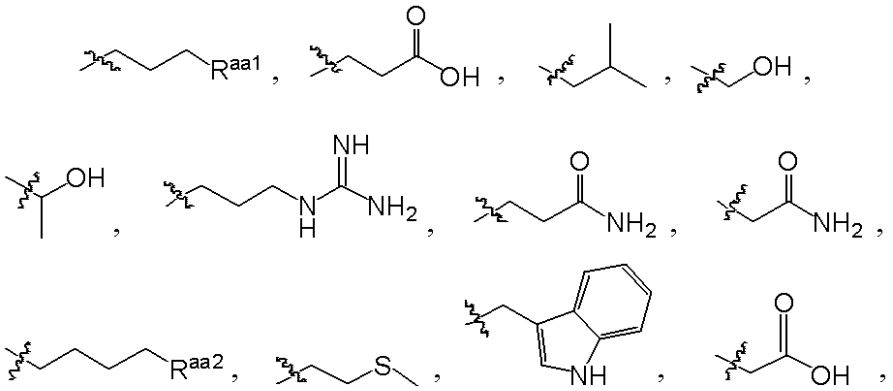
もしくは

【化１２９】



である。本発明の別の具体例では、アミノ酸側鎖は、Ｄ－アミノ酸に由来する。本発明の別の具体例では、アミノ酸側鎖は、

【化１３０】



である。

ここで、Ｒａａ１およびＲａａ２は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。

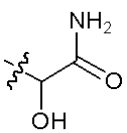
【００９７】

置換基Ｒ２＊はＨである。代替的に、Ｒ２およびＲ２＊は、それらが結合される原子と一緒になって五もしくは六員複素環を形成する。式Ｉの一の具体例では、Ｒ２およびＲ２＊は、それらに結合される原子と一緒になってピロリジン環を形成する。

【００９８】

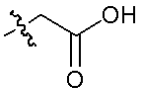
式ＩのＲ３基は、

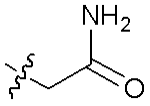
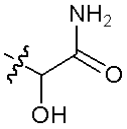
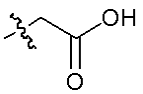
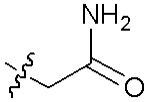
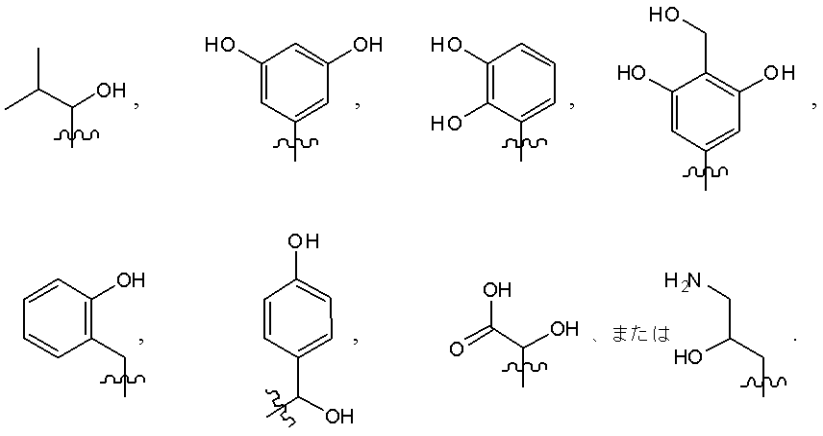
【化１３１】



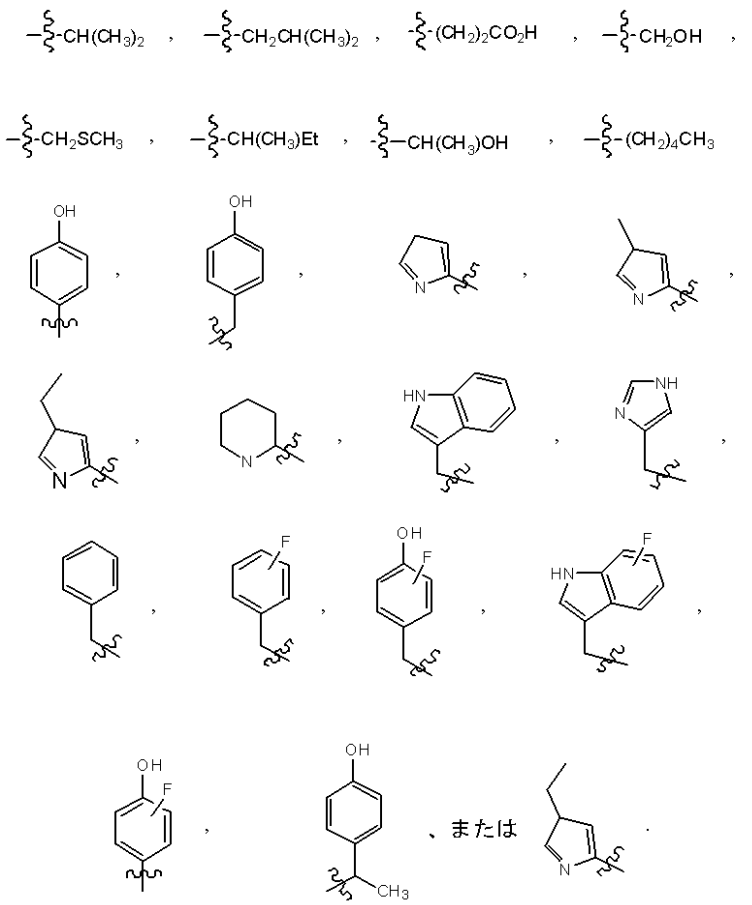
、

【化１３２】



、
【化１３３】

もしくは非タンパク質構成アミノ酸側鎖である。本発明の一の具体例では、式ＩのＲ^{3}基は、
【化１３４】

、
【化１３５】

、もしくは
【化１３６】

である。本発明の別の具体例では、非タンパク質構成アミノ酸は、
【化１３７】

である。
【００９９】
式Ｉの置換基Ｒ^{5}は、Ｈもしくはメチルであり、式Ｉの置換基Ｒ^{5}＊は、ＨもしくはＮ－メチルアミノ酸に由来するアミノ酸側鎖である。本発明の一の具体例では、Ｒ^{5}＊は、メチル、

【化１３８】

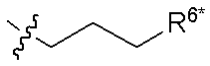


である。代替的に、Ｒ^{5}およびＲ^{5}＊は、それらが結合される原子と一緒になって五もしくは六員複素環を形成する。式Ｉの一の具体例では、Ｒ^{5}およびＲ^{5}＊は、それらが結合される原子と一緒になってピペリジン環もしくピロリジン環を形成する。

【０１００】

式ＩのＲ^{6}基は、メチルもしくは

【化１３９】

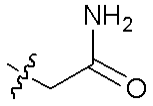


である。

【０１０１】

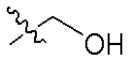
式Ｉの置換基Ｒ^{8}は、アミノ酸側鎖、水素、メチル、

【化１４０】



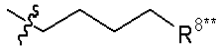
、

【化１４１】



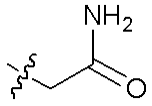
もしくは

【化１４２】



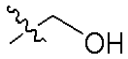
である。本発明の一の具体例では、式Ｉの置換基Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化１４３】



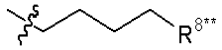
、

【化１４４】



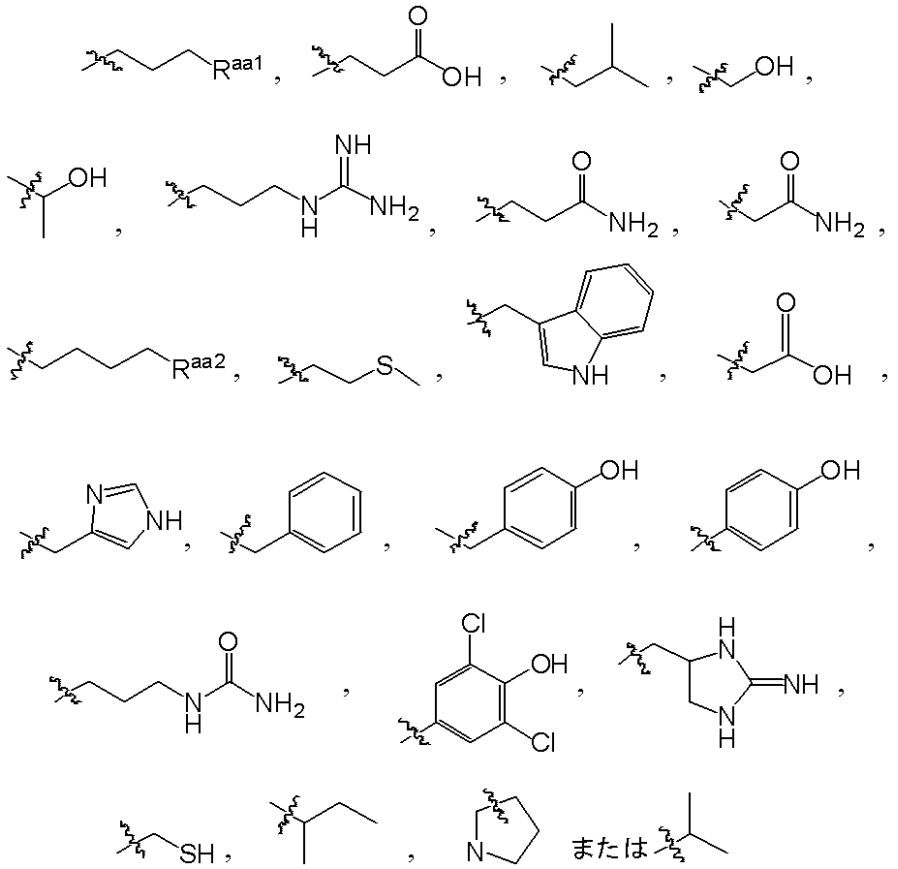
もしくは

【化１４５】



である。本発明の別の具体例では、アミノ酸側鎖はＤ－アミノ酸に由来する。本発明の別の具体例では、置換基Ｒ[8]は、グリシン、Ｄ－アラニン、Ｄ－アスパラギン、Ｄ－セリンもしくはＤ－リシンに由来するアミノ酸側鎖である。本発明の別の具体例では、アミノ酸側鎖は、

【化１４６】



である。ここで、Ｒ[ａａ１]およびＲ[ａａ２]は、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。

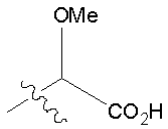
【０１０２】

式Ｉの置換基Ｒ[8]＊はＨである。代替的に、Ｒ[8]およびＲ[8]＊は、それらが結合される原子と一緒になって五もしくは六員複素環を形成する。式Ｉの一の具体例では、Ｒ[8]およびＲ[8]＊は、それらが結合される原子と一緒になってピロリジン環を形成する。

【０１０３】

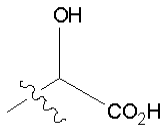
式ＩのＲ[9]基は、

【化１４７】



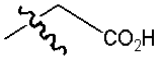
、

【化１４８】



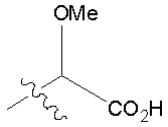
、

【化１４９】



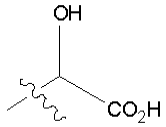
、もしくは少なくとも１個のカルボン酸で置換されるアミノ酸側鎖である。本発明の一の具体例では、式ＩのＲ^{9}基は、

【化１５０】



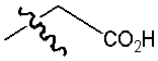
、

【化１５１】



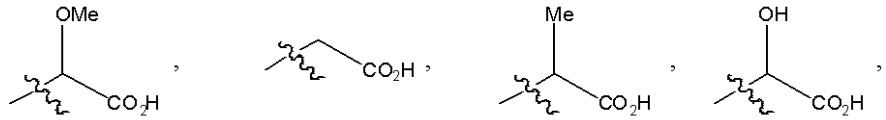
、もしくは

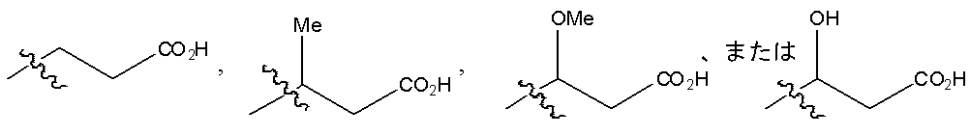
【化１５２】



である。本発明の別の具体例では、アミノ酸側鎖は、

【化１５３】





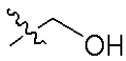
、または

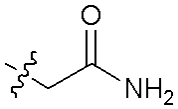
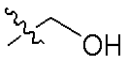
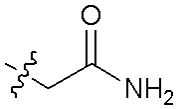
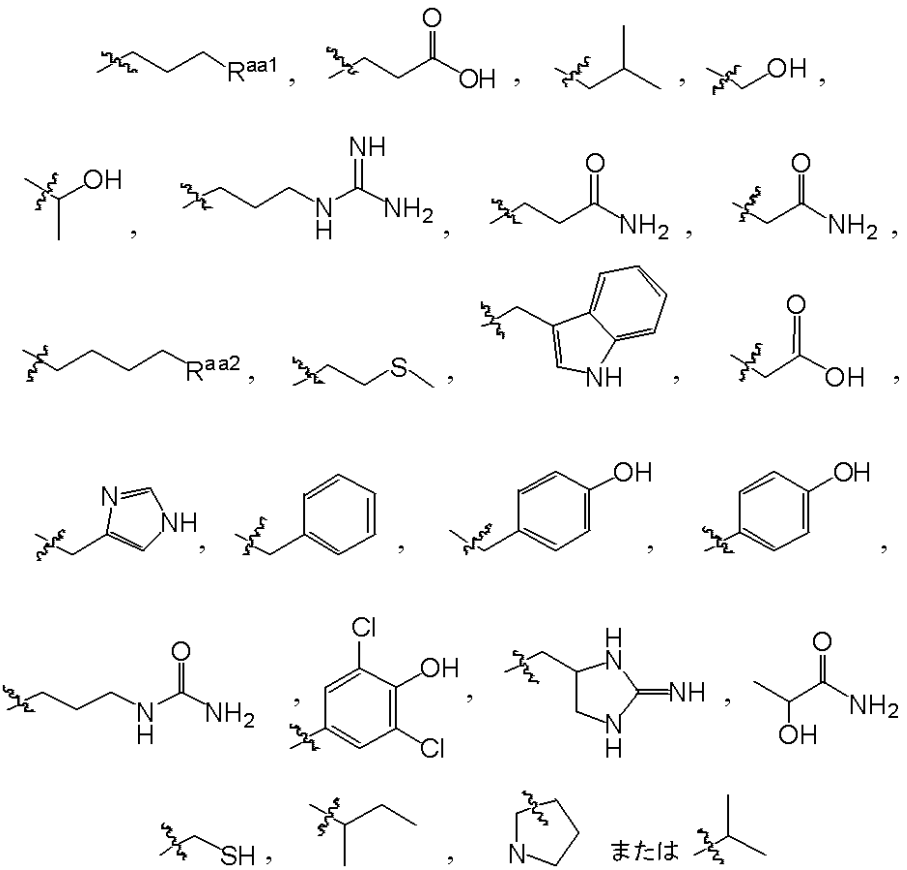
である。

【０１０４】

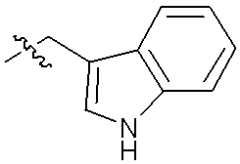
式Ｉの置換基Ｒ^{11}は、アミノ酸側鎖、メチル、

【化１５４】

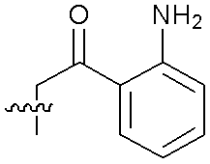


、もしくは
【化１５５】

である。本発明の一の具体例では、式Ｉの置換基Ｒ１１は、メチル、
【化１５６】

、もしくは
【化１５７】

である。本発明の一の具体例では、アミノ酸側鎖は、Ｄ－アミノ酸に由来する。本発明の別の具体例では、式ＩのＲ１１は、Ｄ－アラニン、Ｄ－セリン、もしくはＤ－アスパラギンに由来するアミノ酸側鎖である。本発明の別の具体例では、アミノ酸側鎖は、
【化１５８】

である。ここで、Ｒａａ１およびＲａａ２は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。
【０１０５】
置換基Ｒ１１＊はＨである。代替的に、Ｒ１１およびＲ１１＊は、それらが結合される原子と一緒になって五もしくは六員複素環を形成する。式Ｉの一の具体例では、Ｒ１１およびＲ１１＊は、それらが結合される原子と一緒になってピロリジン環を形成する。
【０１０６】
式ＩのＲ１２基は、ＨもしくはＣＨ３である。

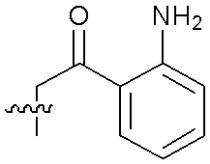
【０１０７】
式Ｉの置換基Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_3$）$_2$、ＣＨ（ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）ＣＨ$_3$、
【化１５９】



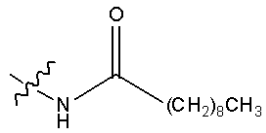
もしくは
【化１６０】



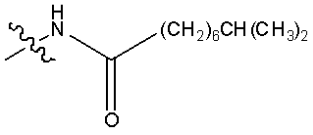
である。
本発明の一の具体例では、Ｒ^{13}はＣＨ（ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）ＣＨ$_3$もしくは
【化１６１】



である。
【０１０８】
Ｒ^1、Ｒ^6＊、およびＲ^8＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。本発明の一の具体例では、Ｒ^{1}は、アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、もしくはアシルアミノである。本発明の別の具体例では、Ｒ^{1}はアミノである。本発明の別の具体例では、Ｒ^{1}はＮＨ－アミノ保護基である。本発明の別の具体例では、Ｒ^{1}はアシルアミノである。本発明の別の具体例では、Ｒ^{1}はアルカノイルアミノである。本発明のさらに別の具体例では、Ｒ^{1}はＣ$_{10}$－Ｃ$_{13}$アルカノイルアミノである。本発明のさらに別の具体例では、Ｒ^{1}は、
【化１６２】

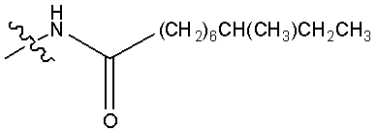


、
【化１６３】



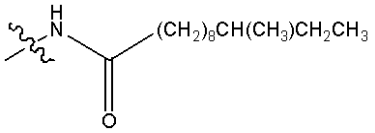
、

【化１６４】



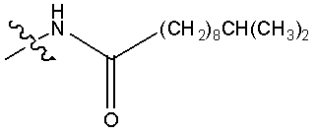
、

【化１６５】



、もしくは

【化１６６】



である。

【０１０９】

本発明の別の具体例では、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、もしくはＮＨ－アミノ保護基である。本発明の別の具体例では、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノである。本発明のさらに別の具体例では、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してＮＨ－アミノ保護基である。

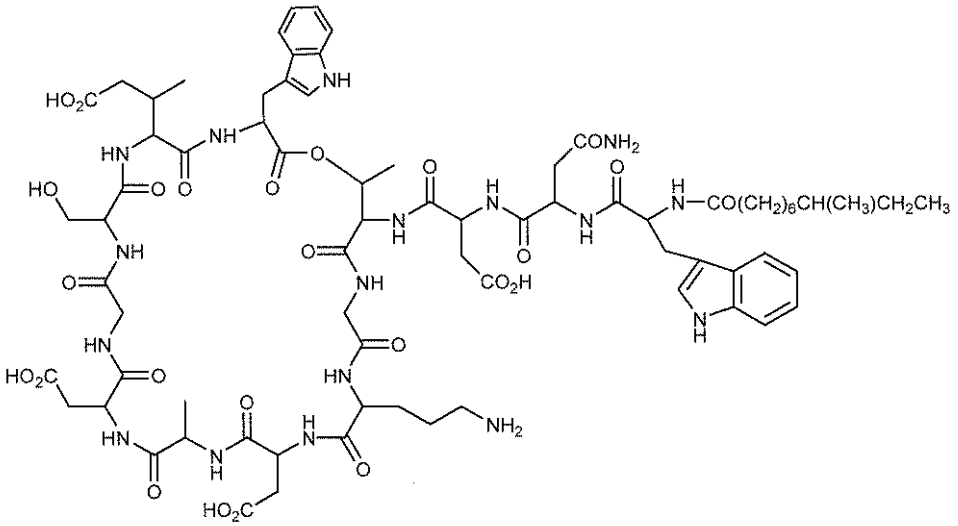
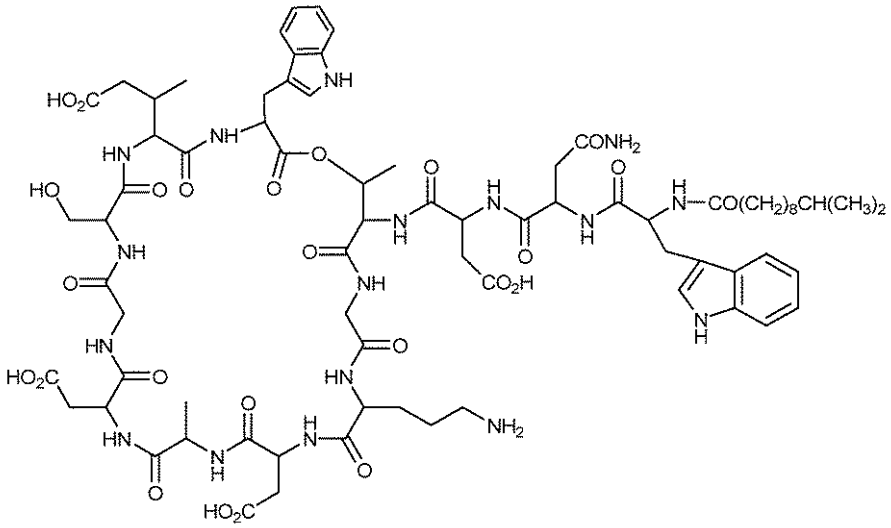
【０１１０】

表Ｉは式Ｉで示される典型的な化合物を提供する。

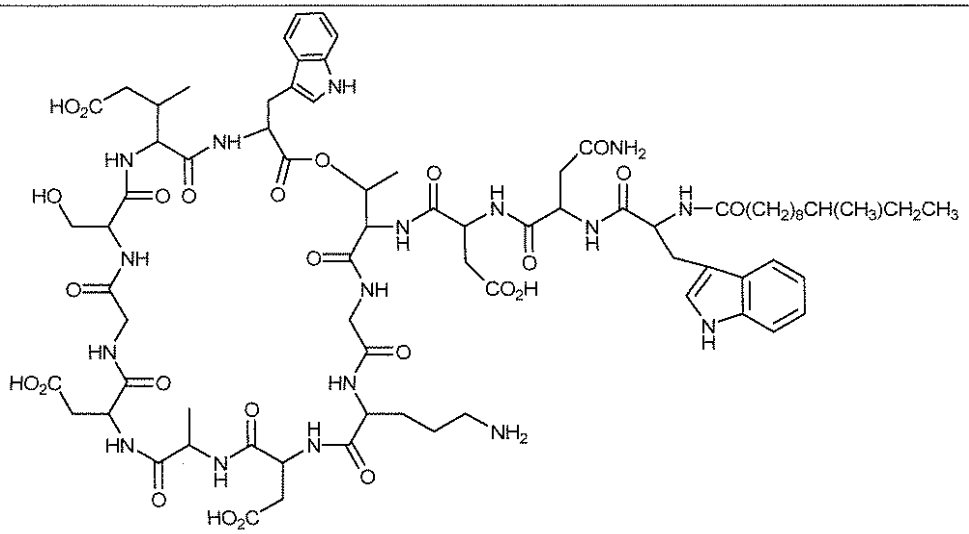
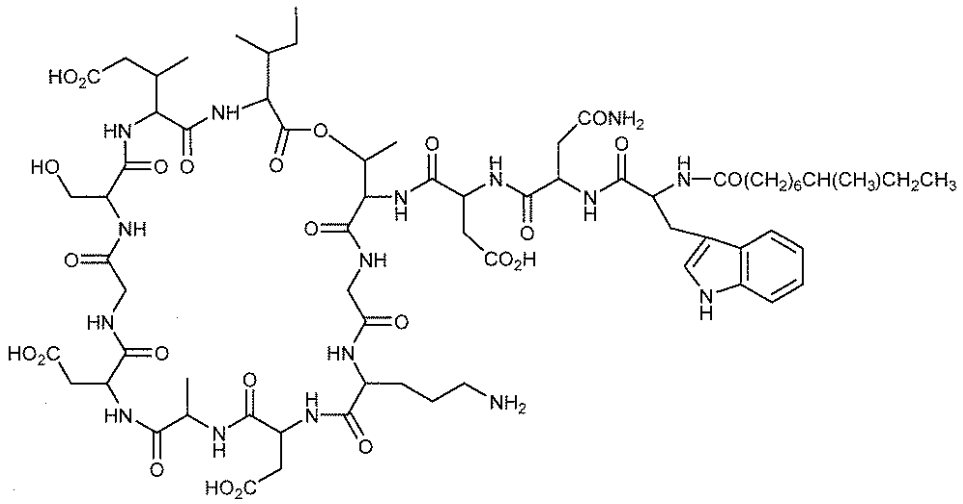
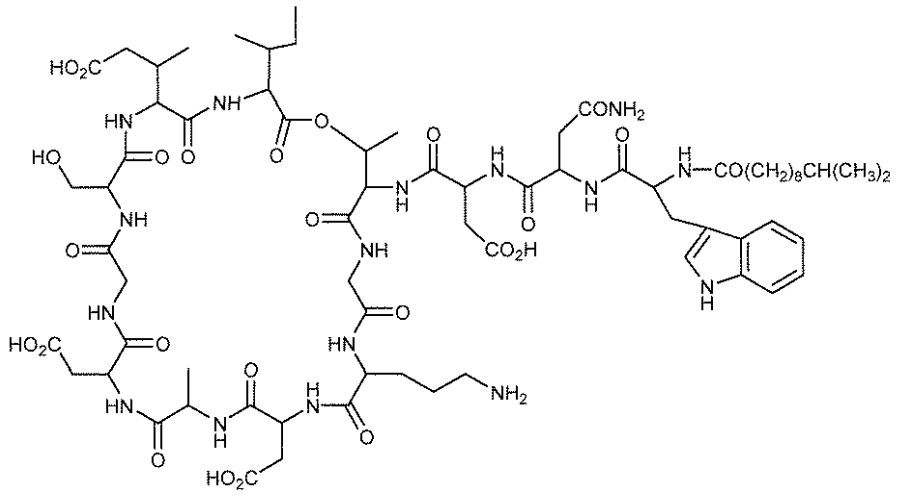
表Ｉ

式Ｉの化合物

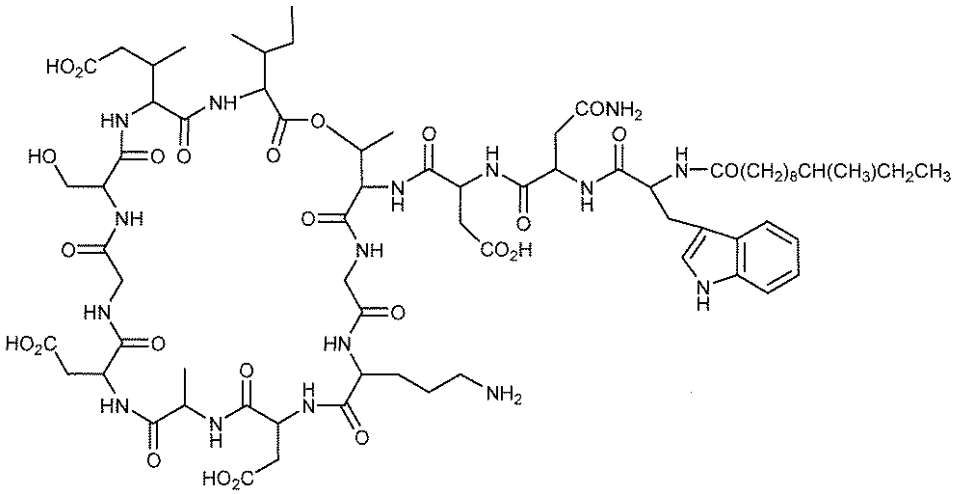
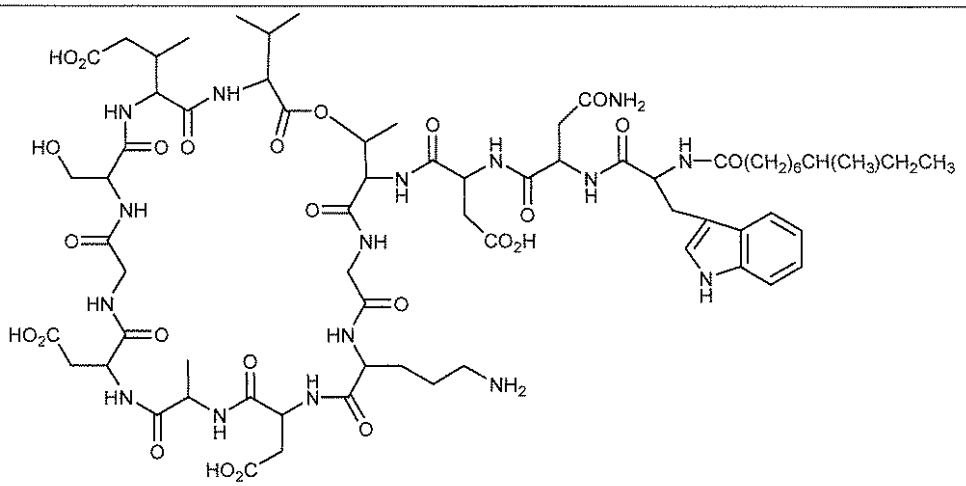
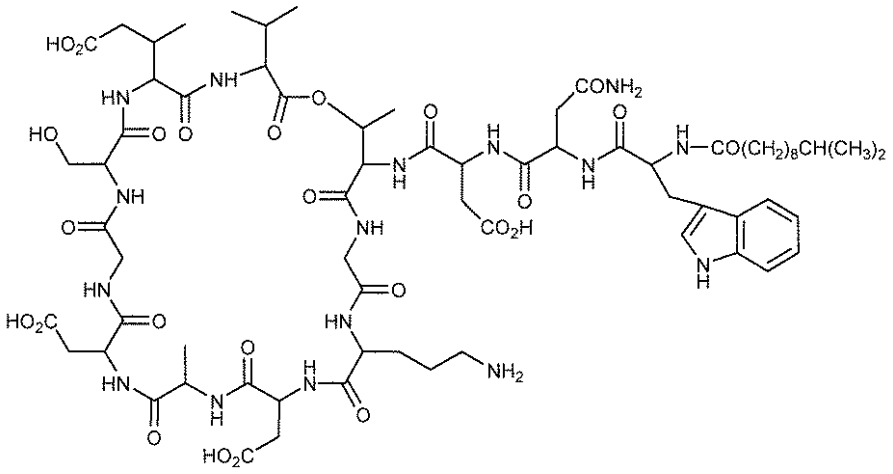
【表２】

#	化合物
C1	
C2	

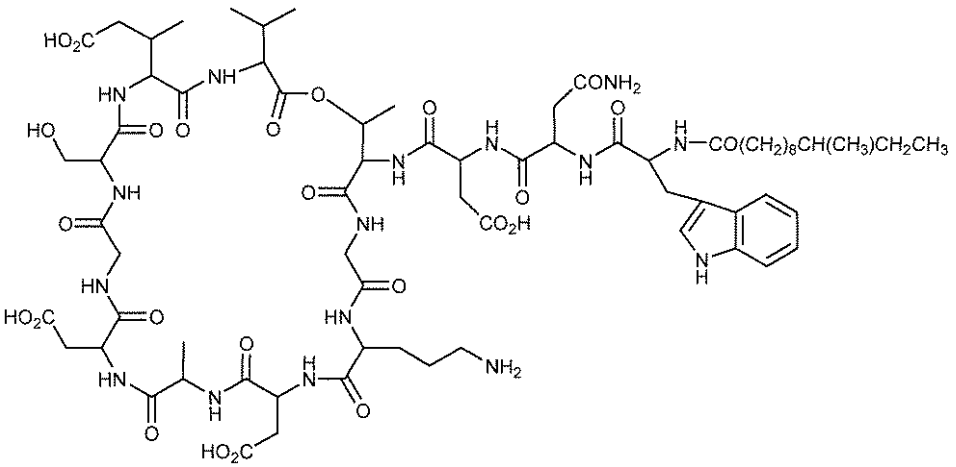
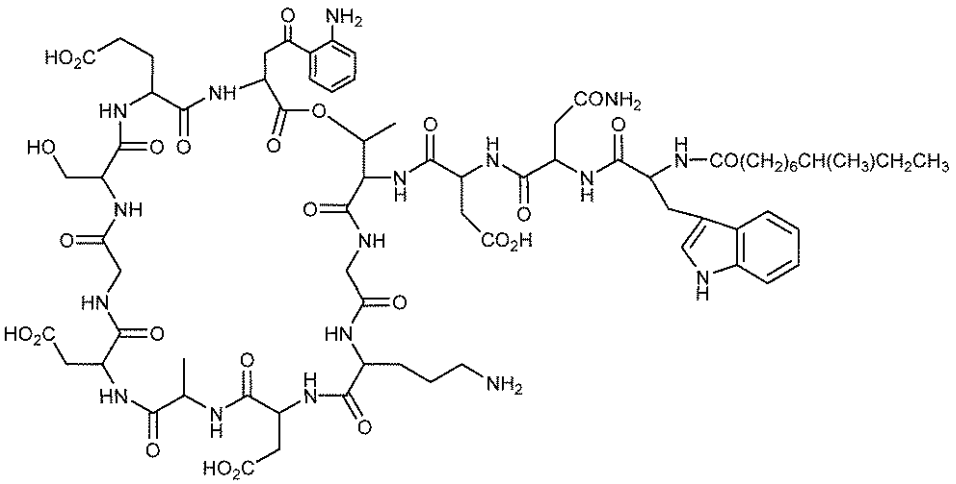
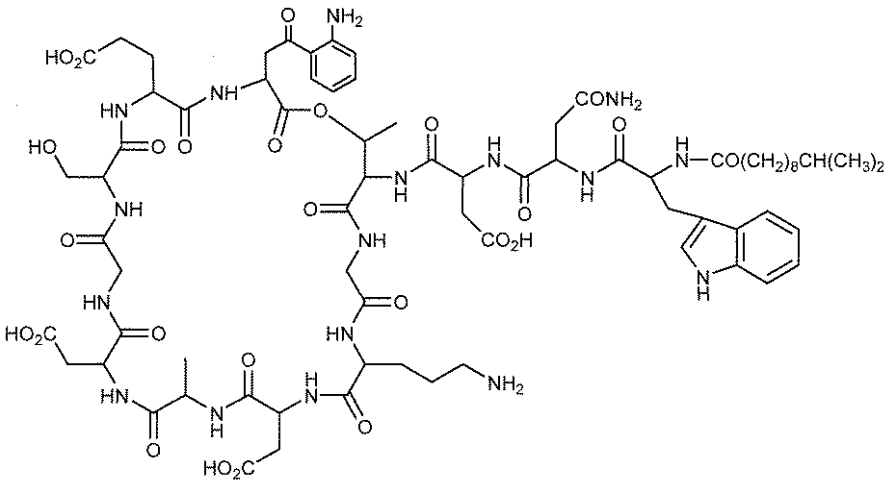
【表３】

#	化合物
C3	
C4	
C5	

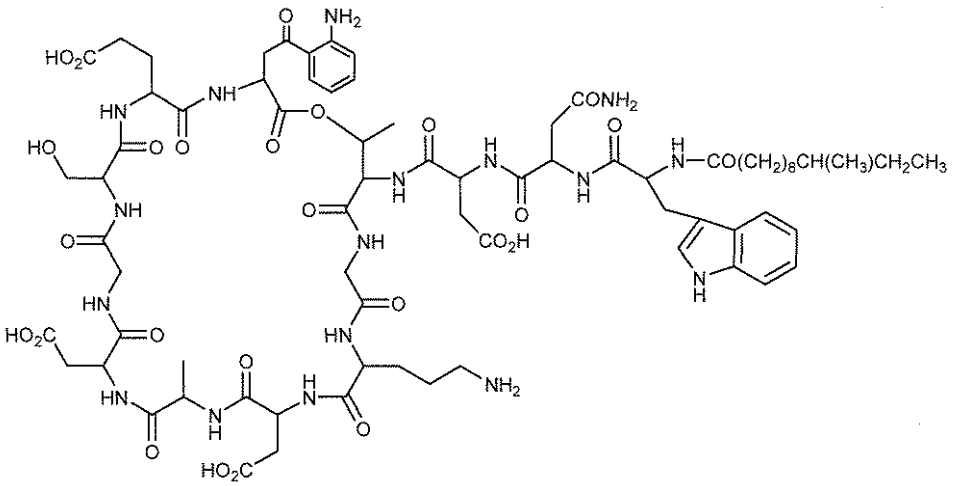
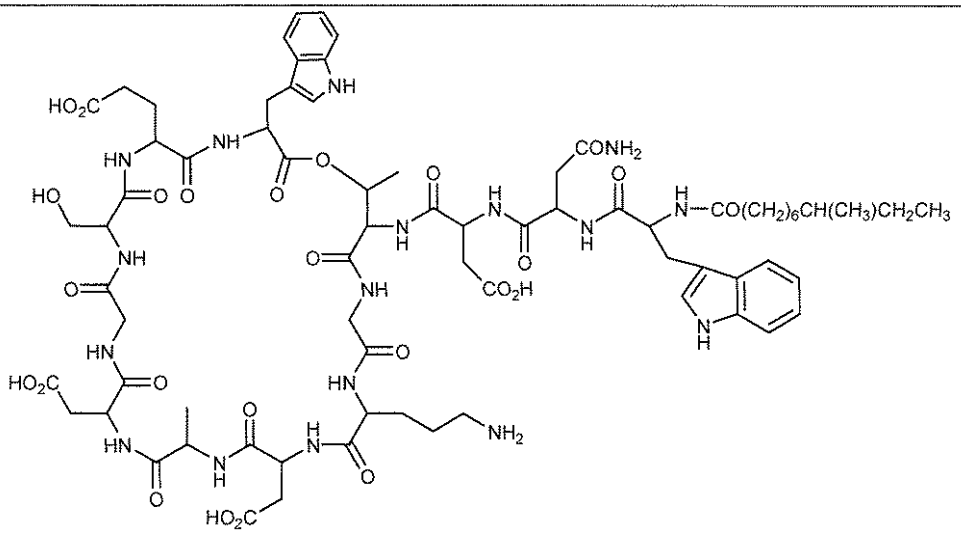
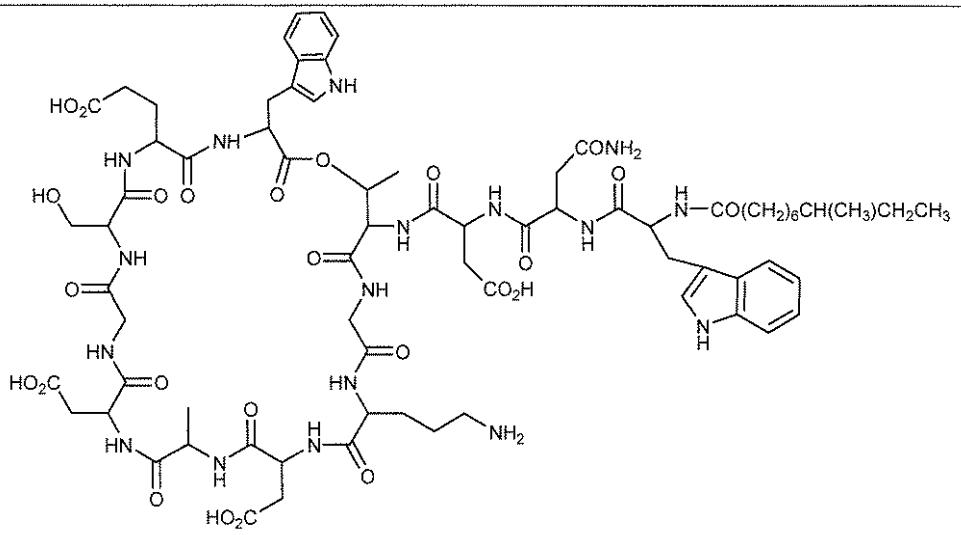
【表４】

#	化合物
C6	
C7	
C8	

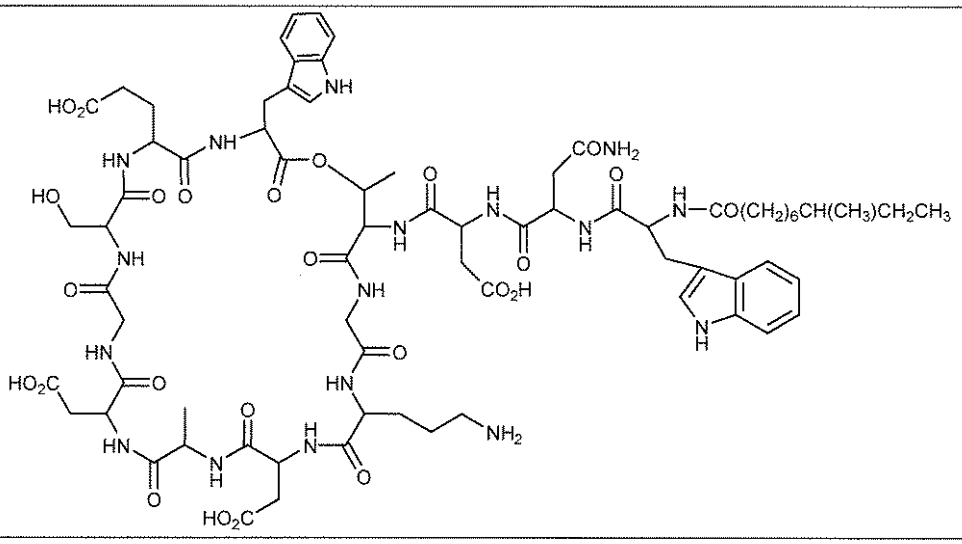
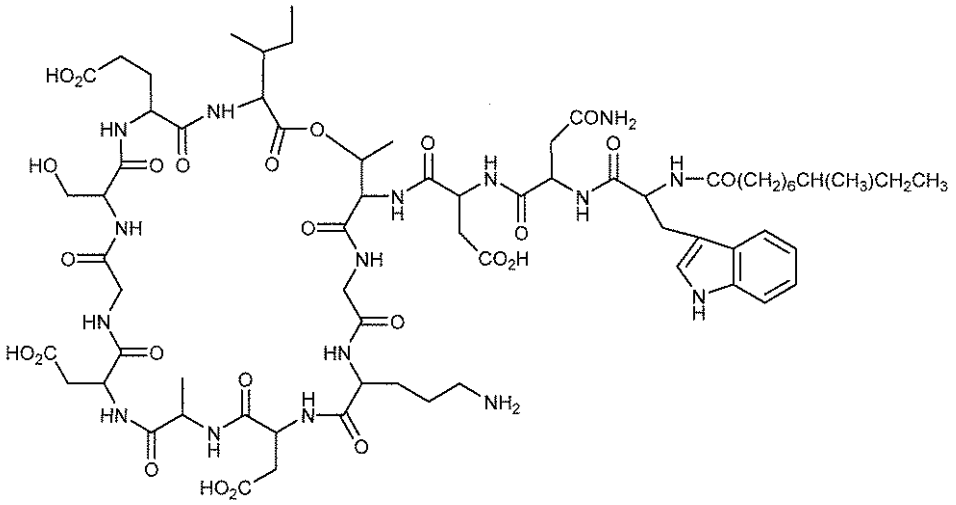
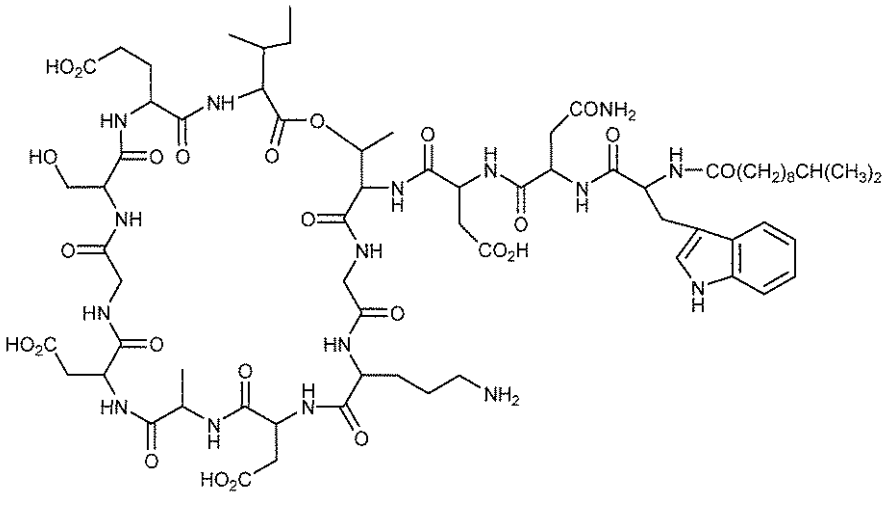
【表５】

#	化合物
C9	
C10	
C11	

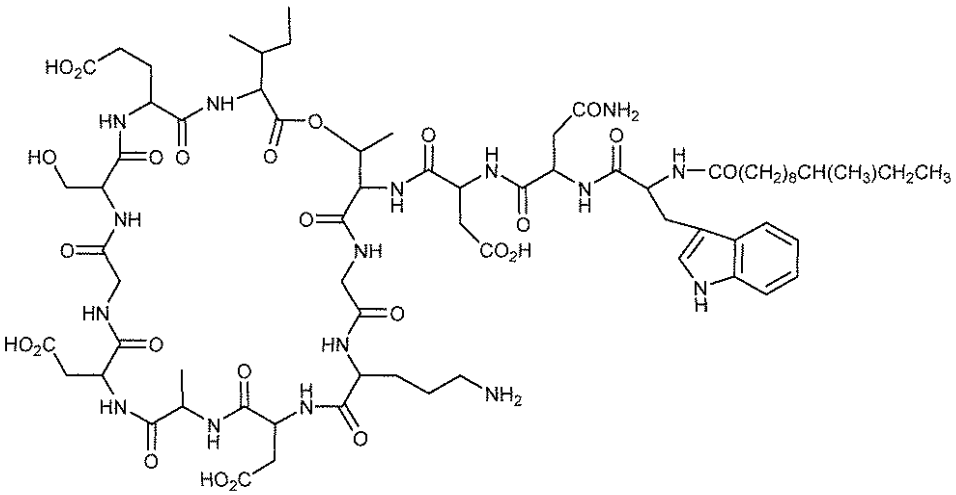
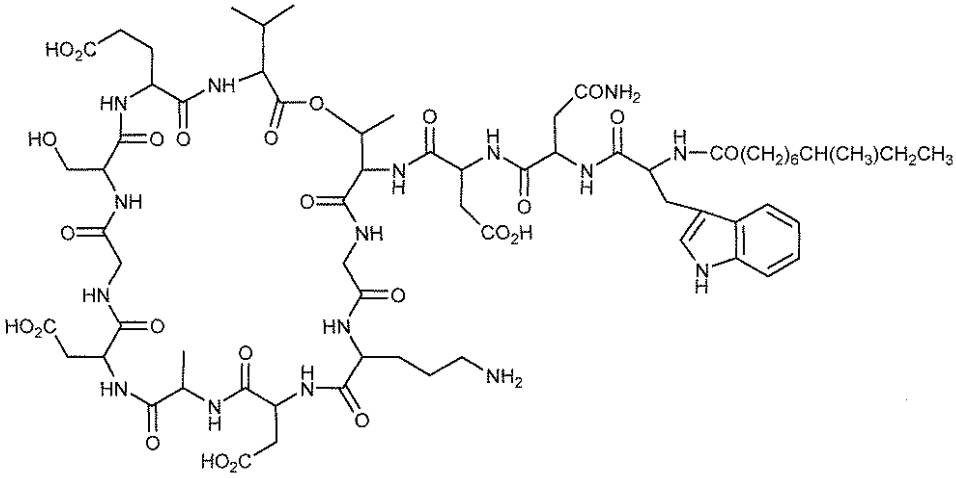
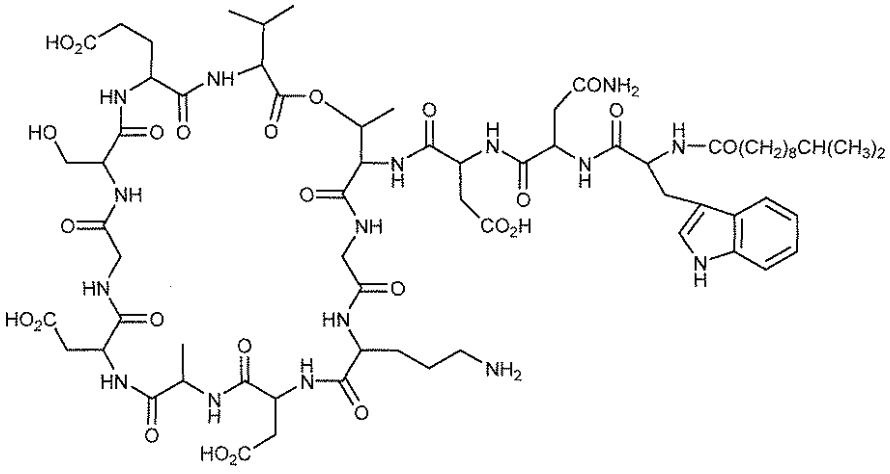
【表６】

#	化合物
C12	
C13	
C14	

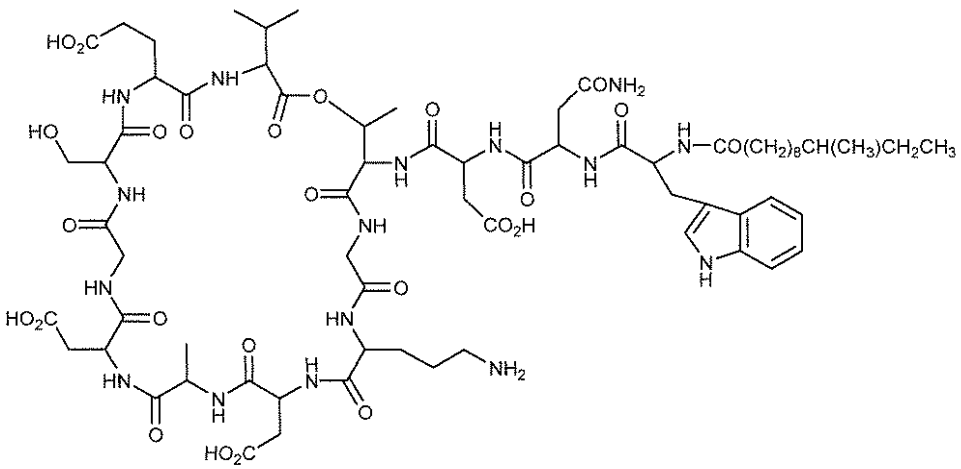
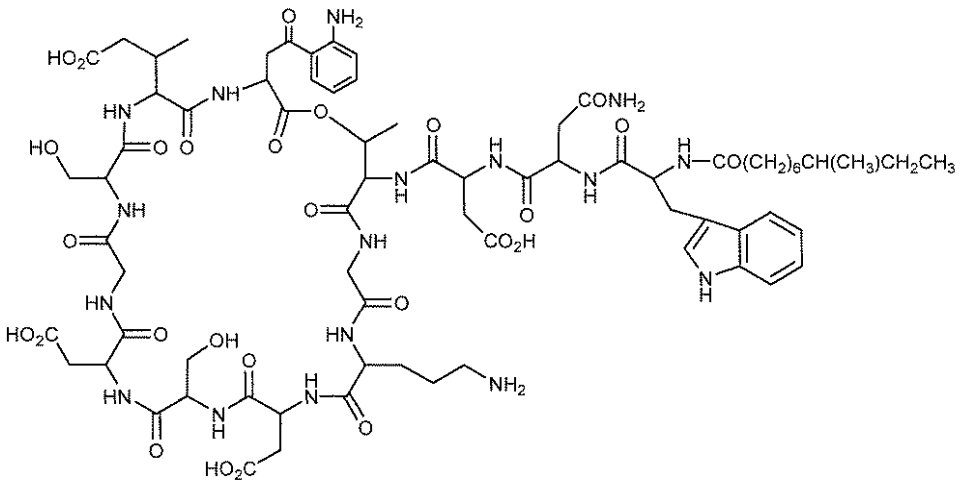
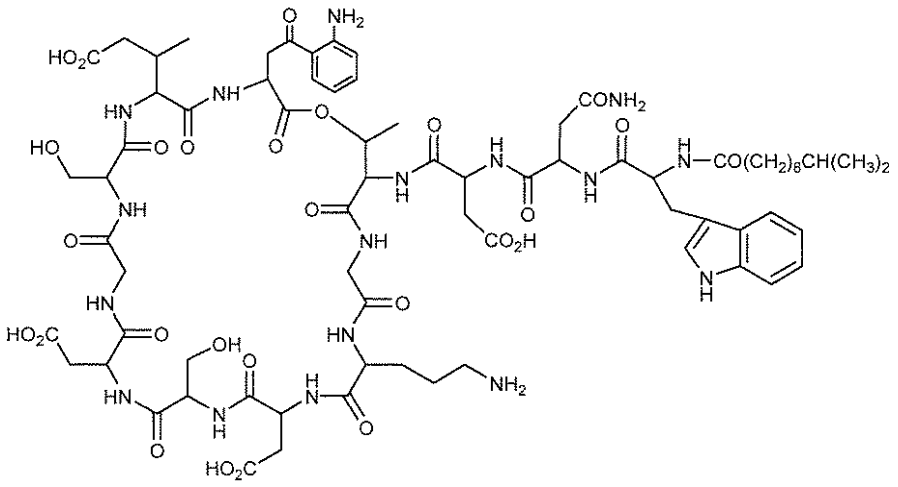
【表７】

#	化合物
C15	
C16	
C17	

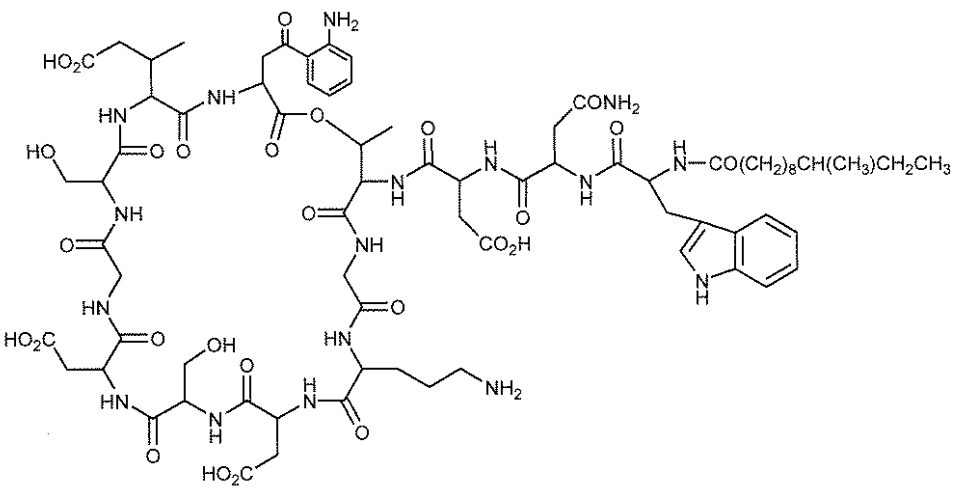
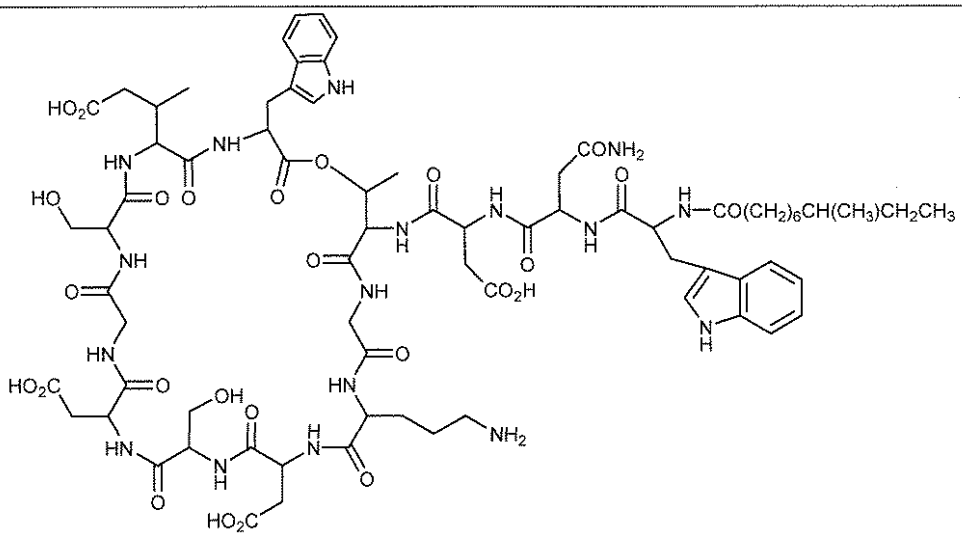
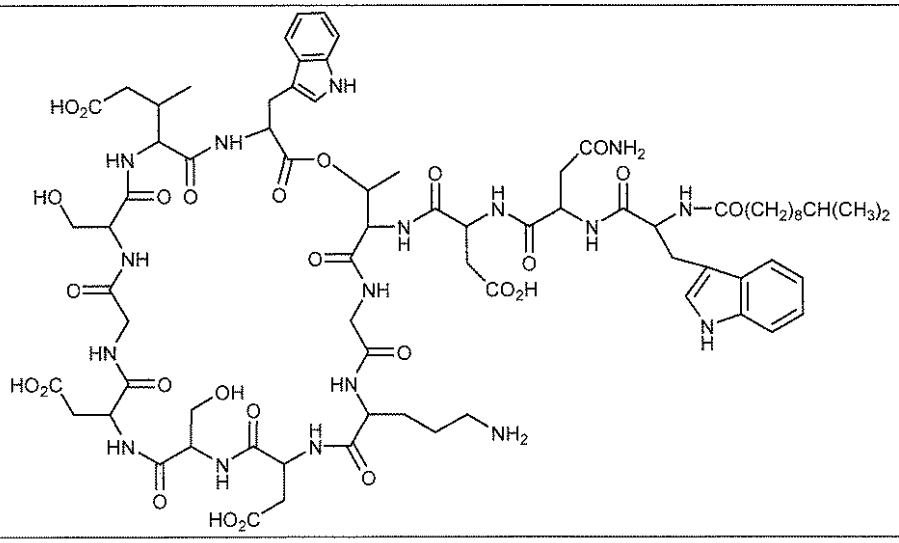
【表８】

#	化合物
C18	
C19	
C20	

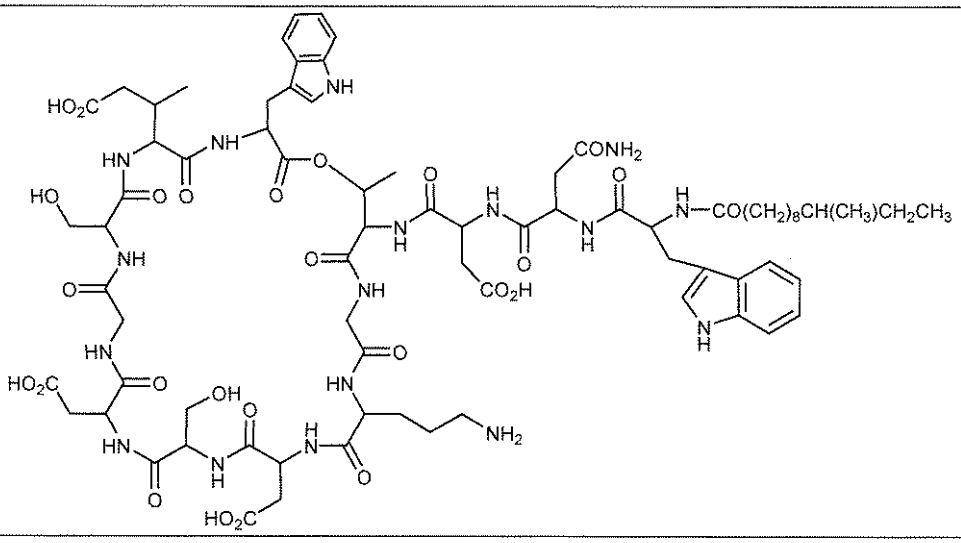
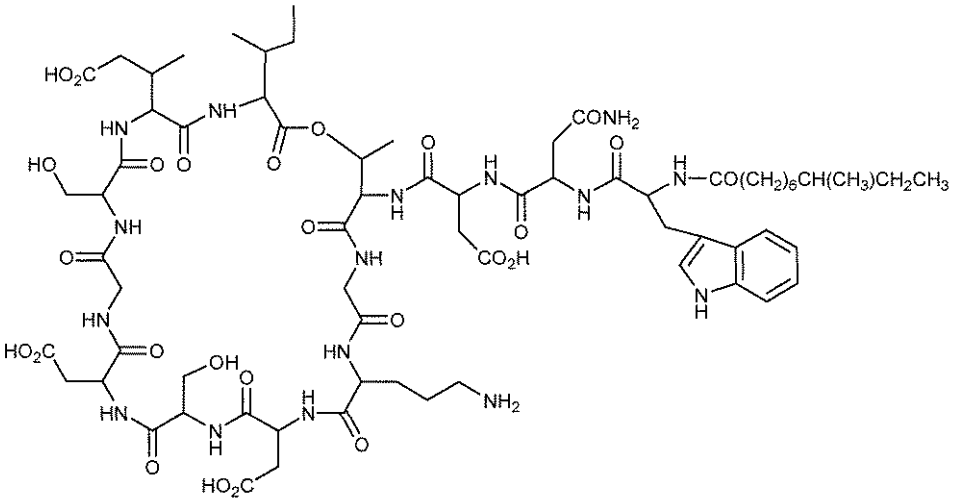
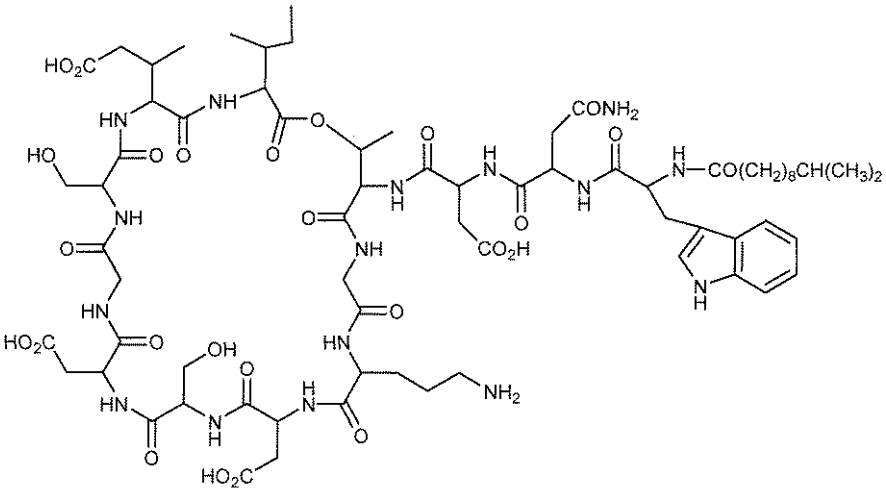
【表９】

#	化合物
C21	
C22	
C23	

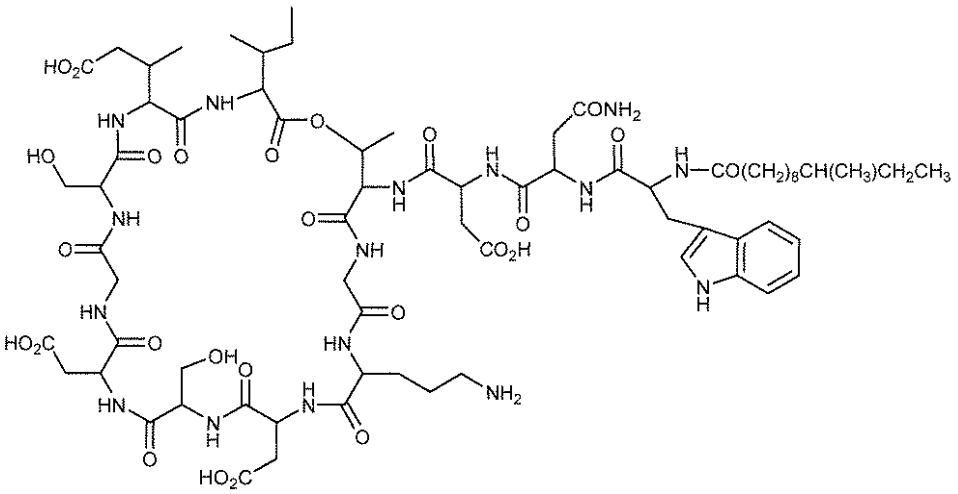
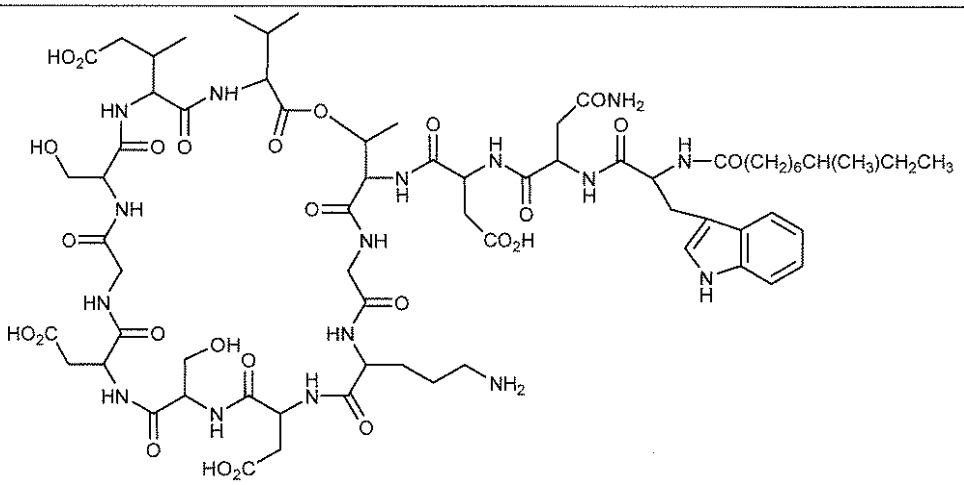
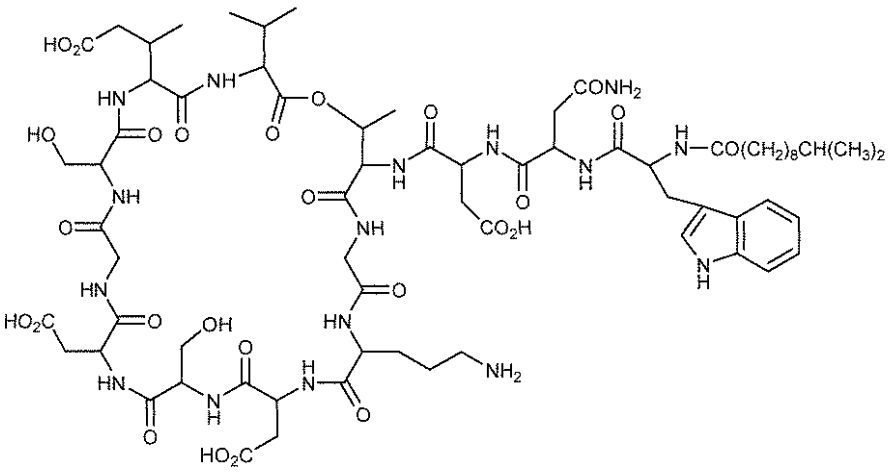
【表１０】

#	化合物
C24	
C25	
C26	

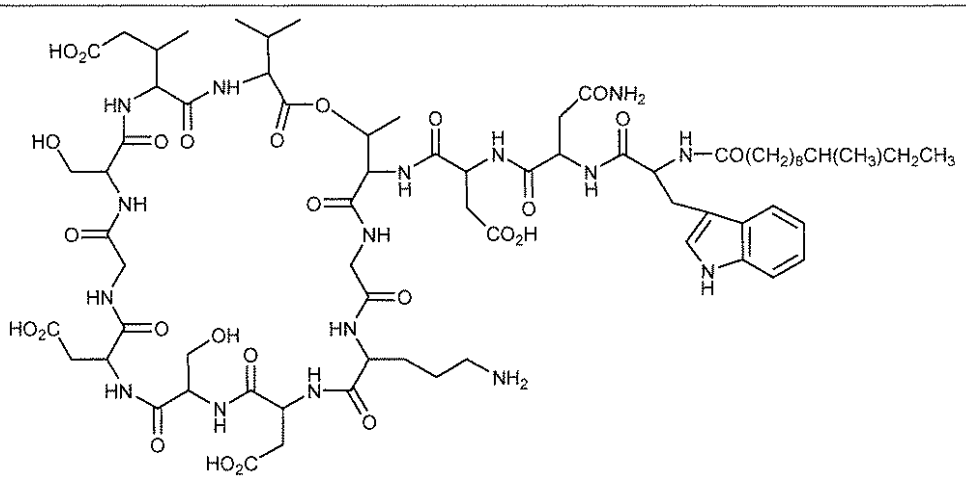
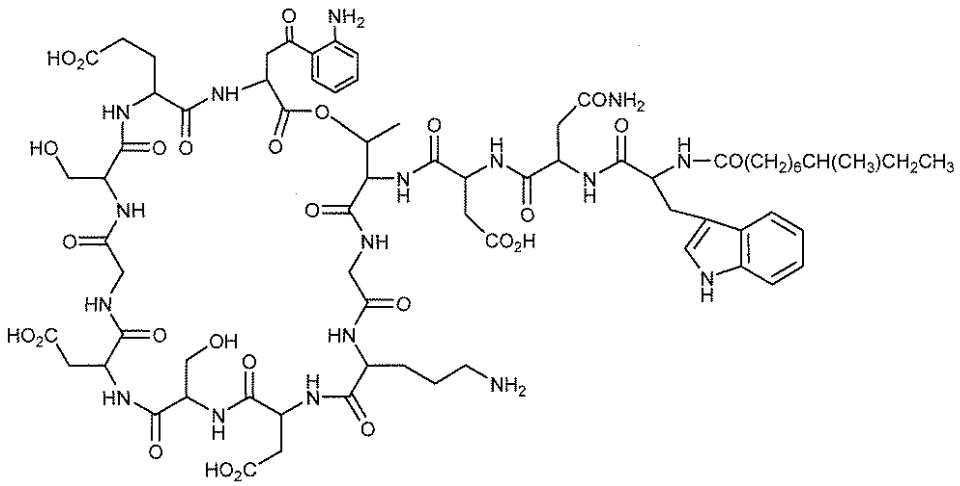
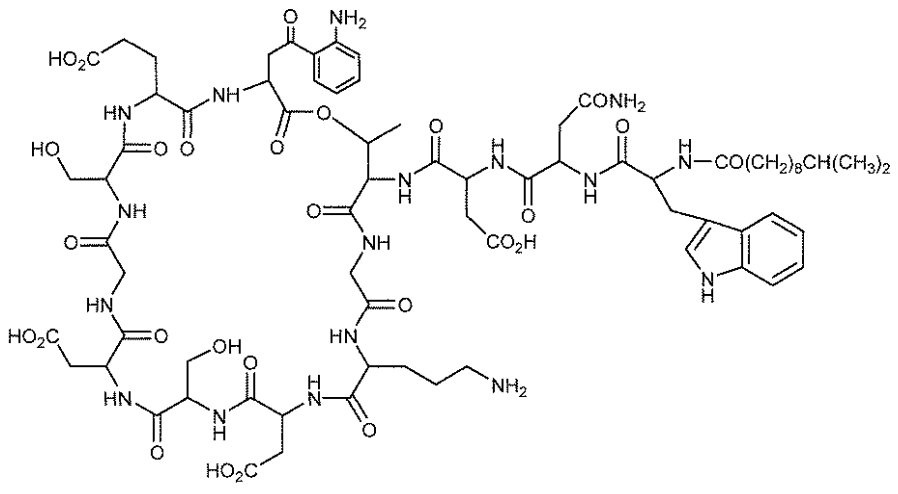
【表１１】

#	化合物
C27	
C28	
C29	

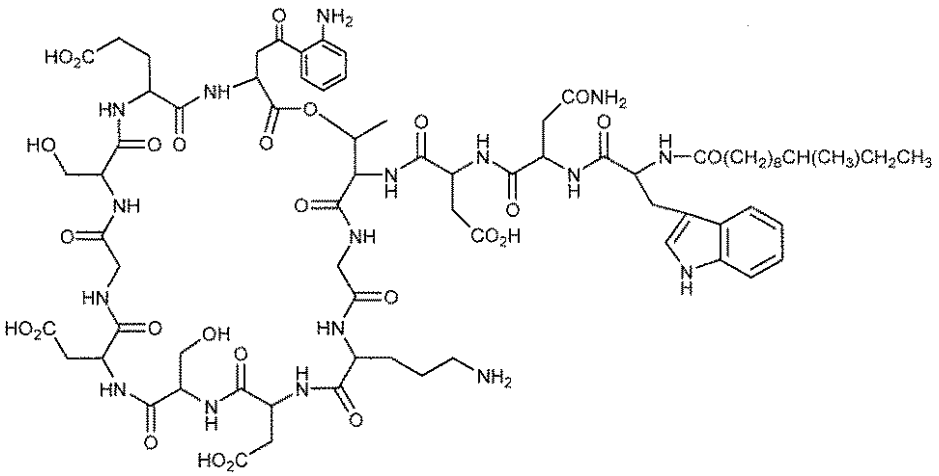
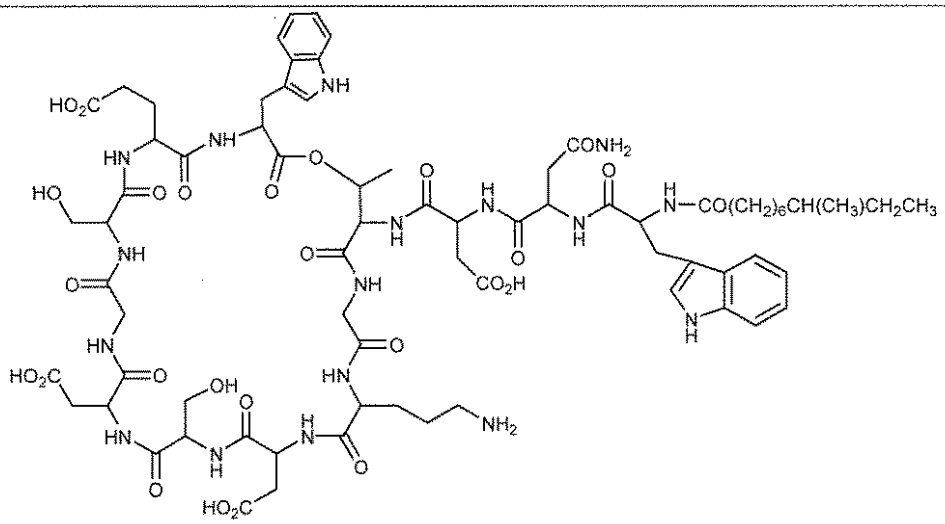
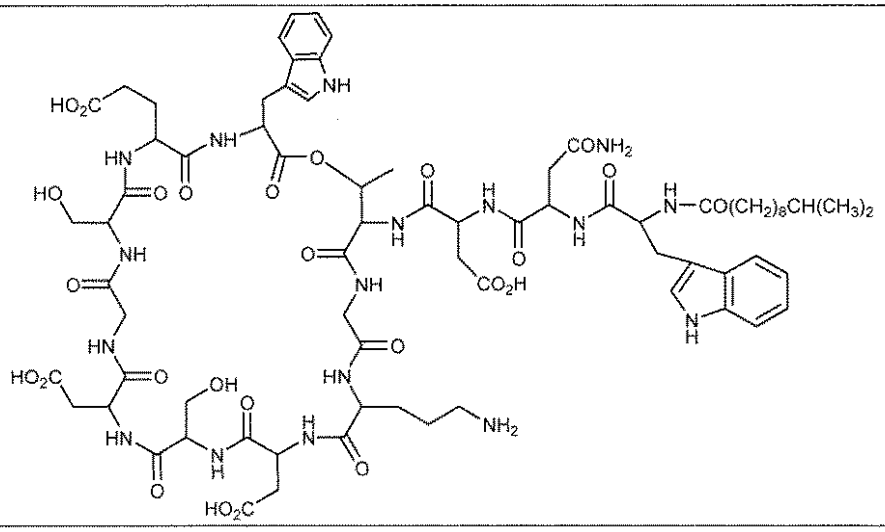
【表１２】

#	化合物
C30	
C31	
C32	

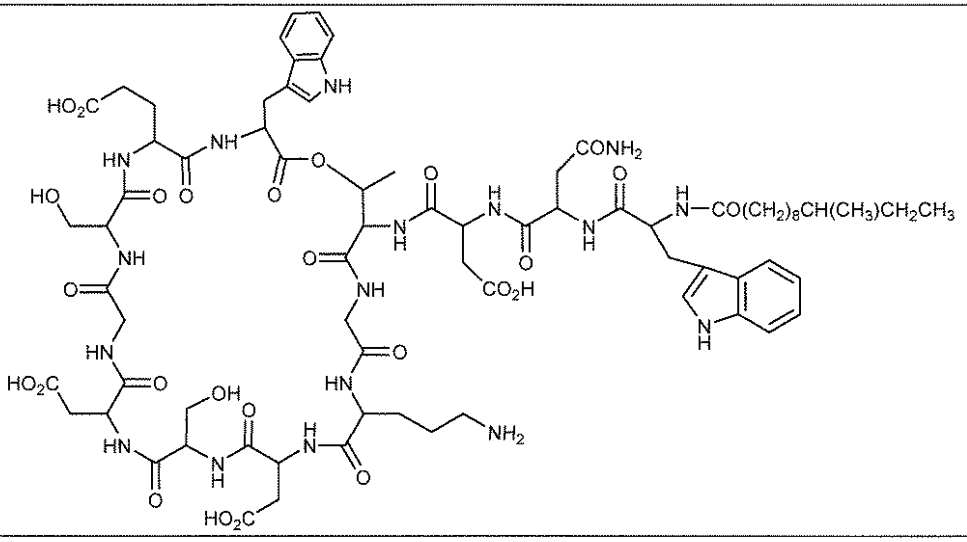
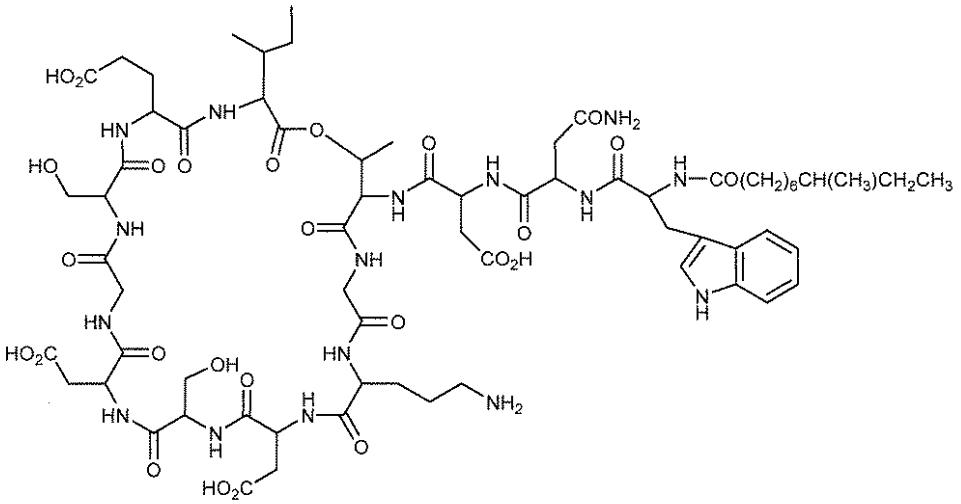
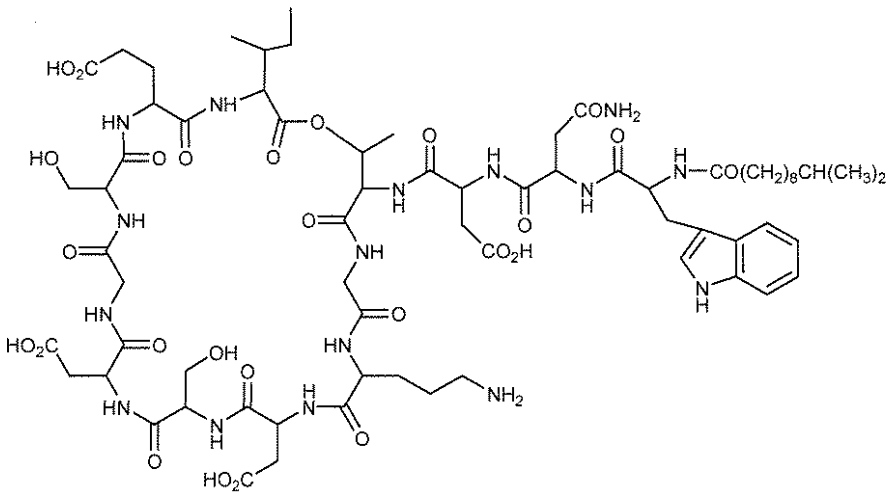
【表１３】

#	化合物
C33	
C34	
C35	

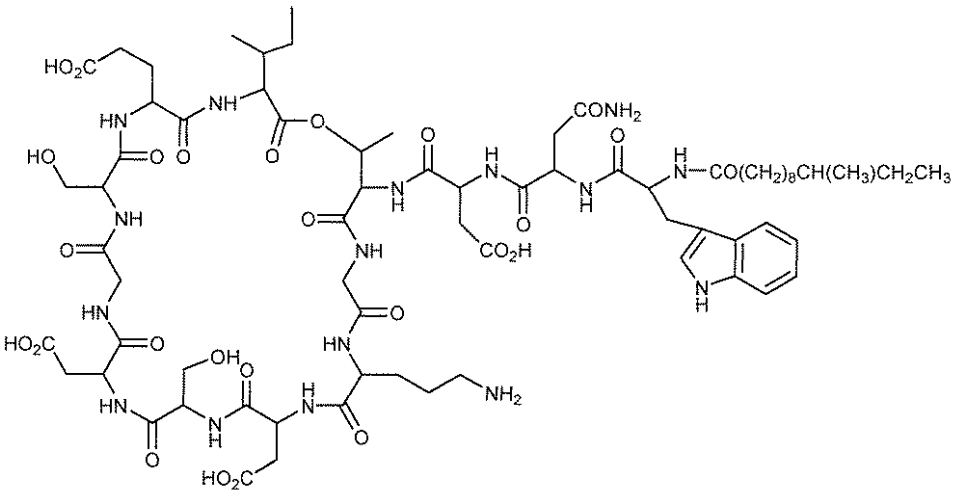
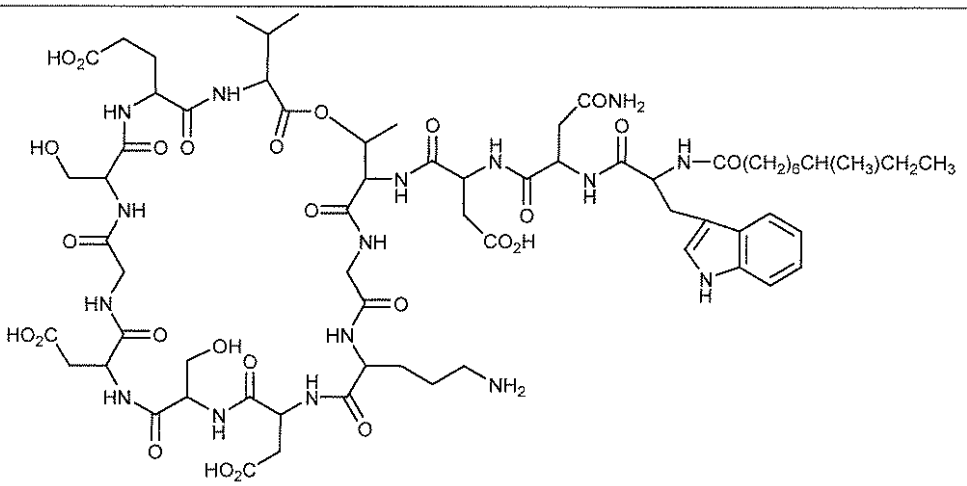
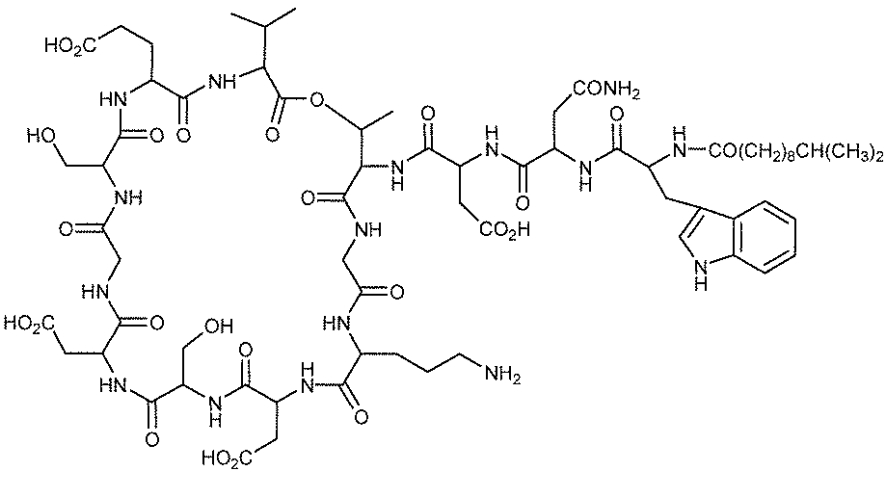
【表１４】

#	化合物
C36	
C37	
C38	

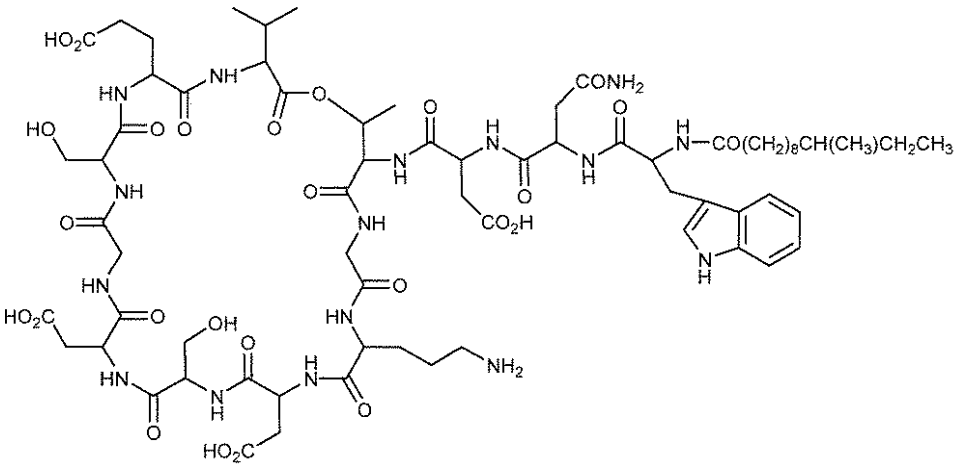
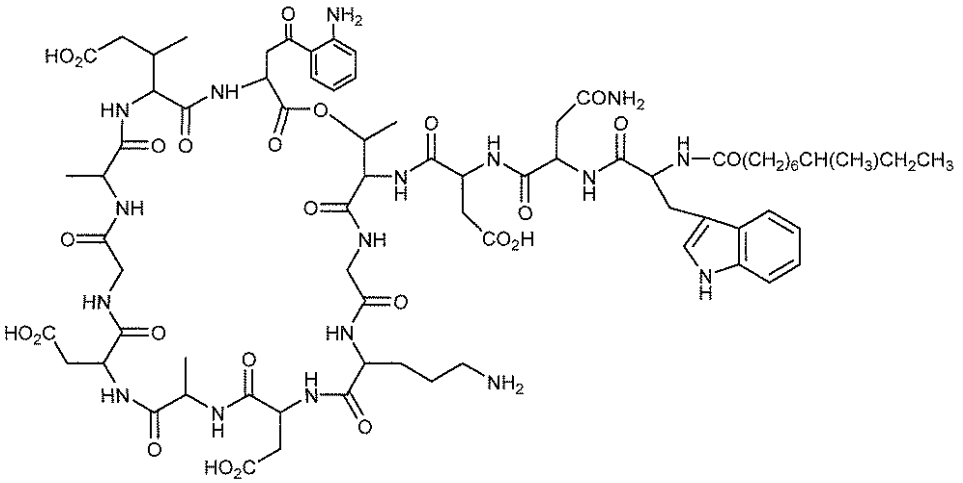
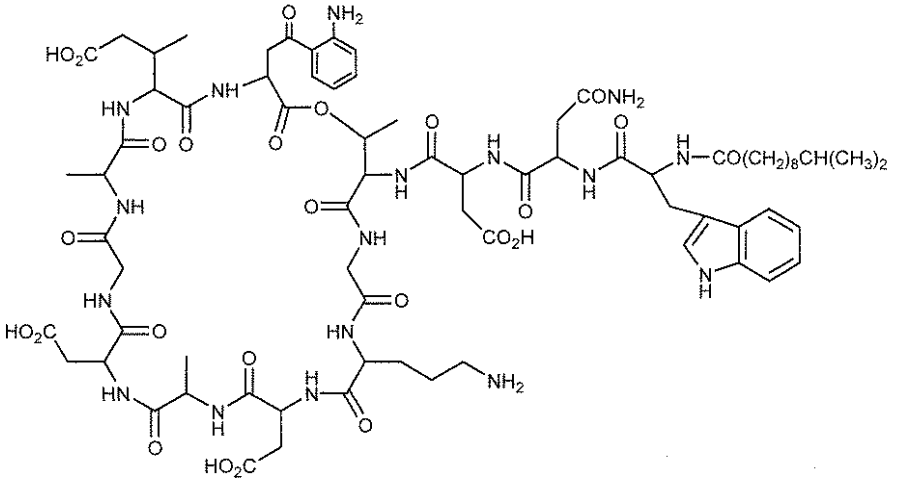
【表１５】

#	化合物
C39	
C40	
C41	

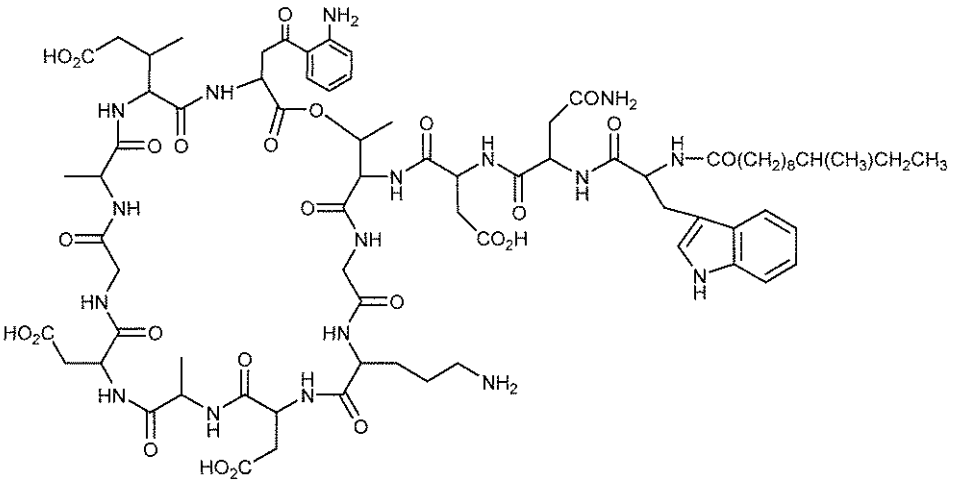
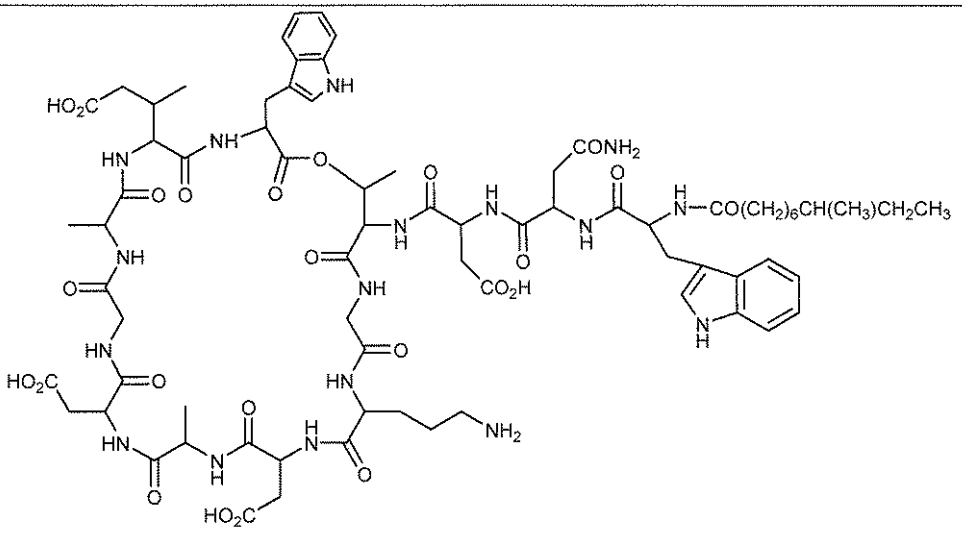
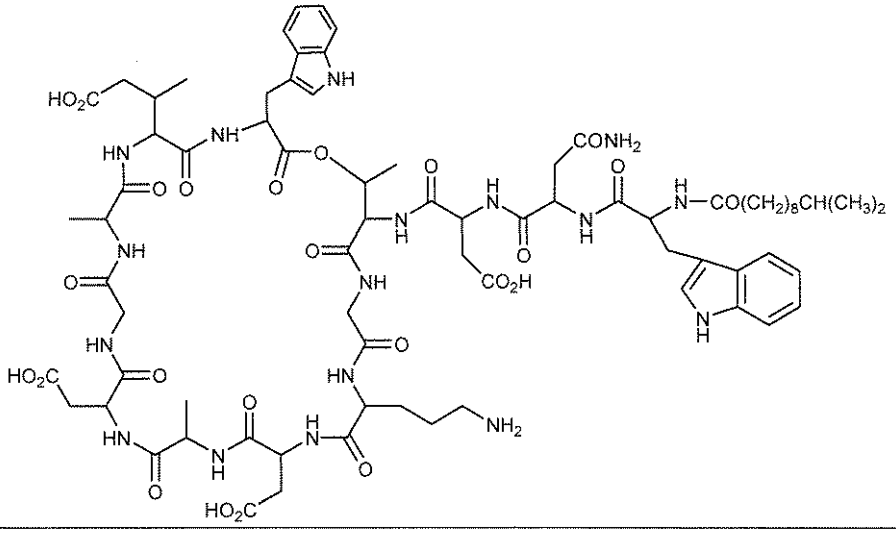
【表１６】

#	化合物
C42	
C43	
C44	

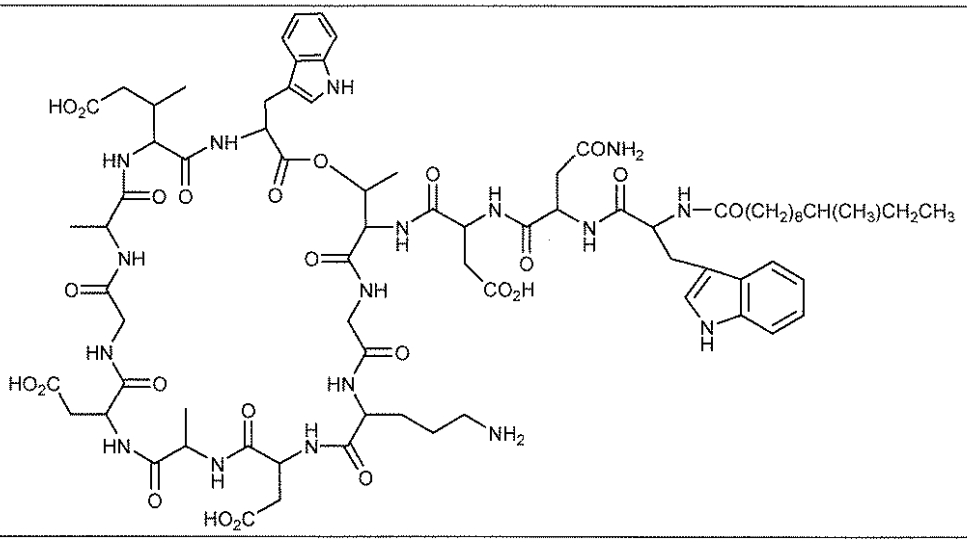
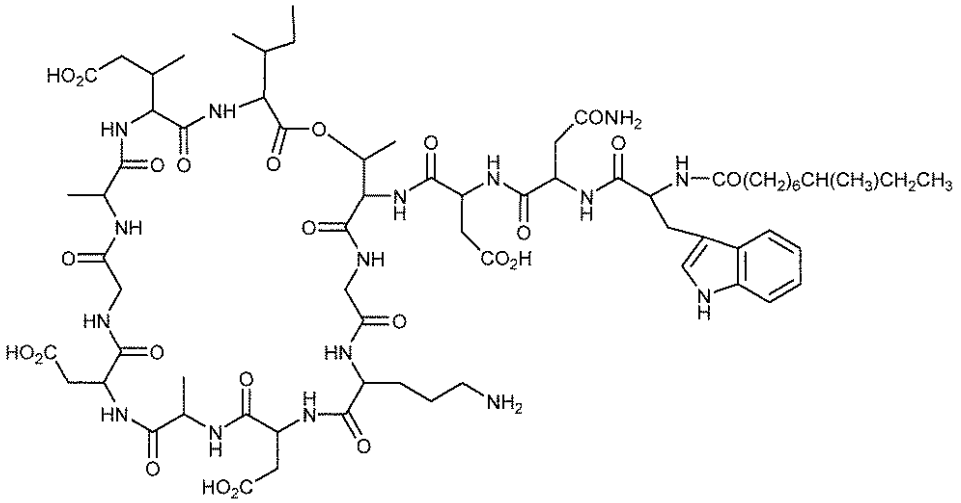
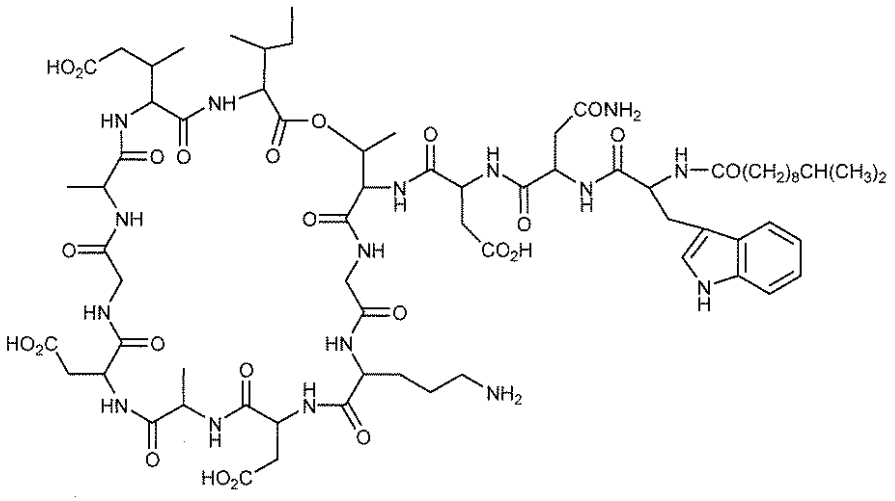
【表１７】

#	化合物
C45	
C46	
C47	

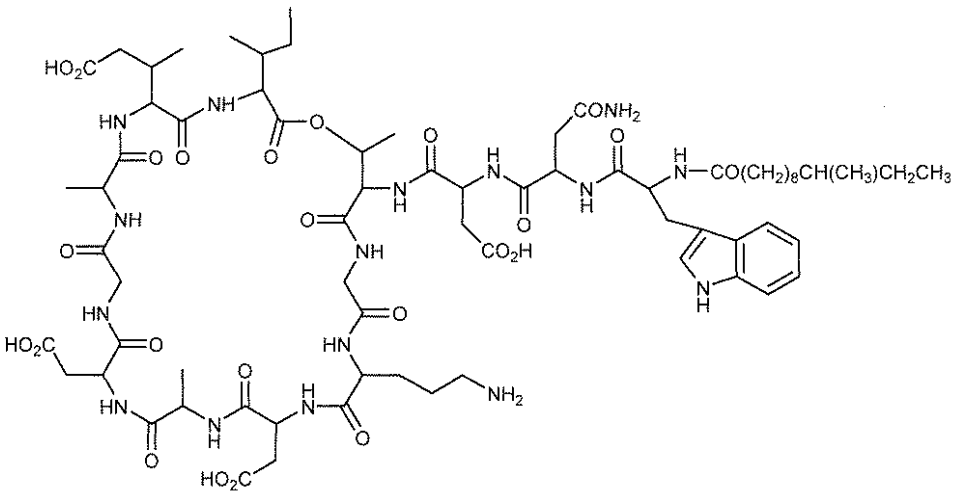
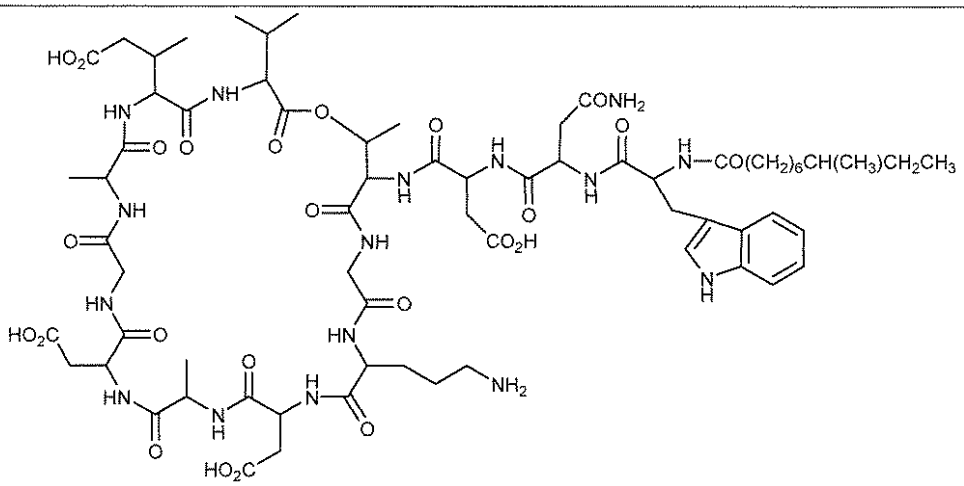
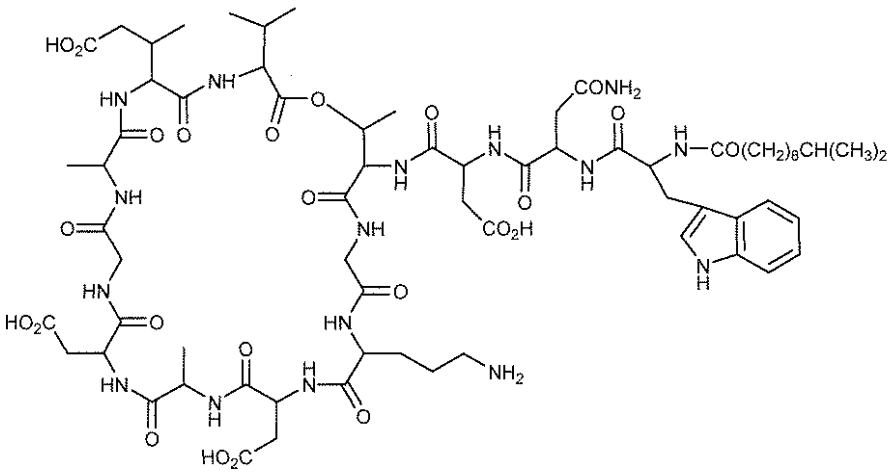
【表１８】

#	化合物
C48	
C49	
C50	

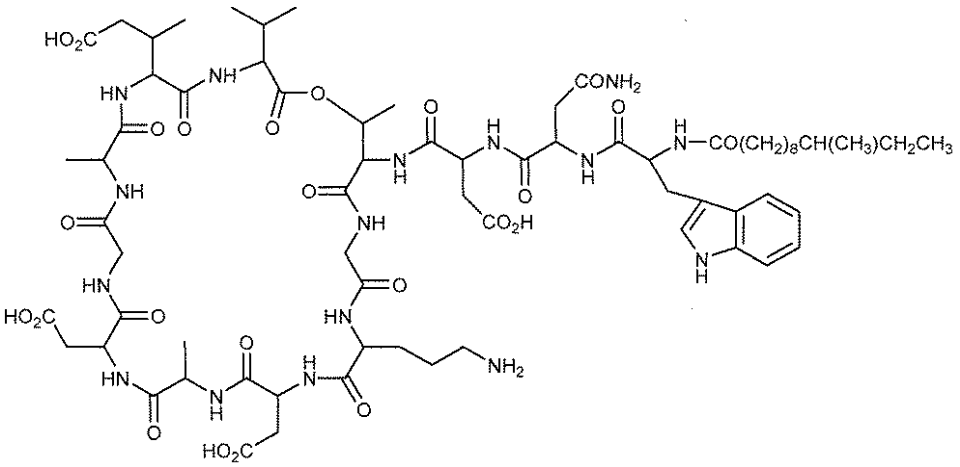
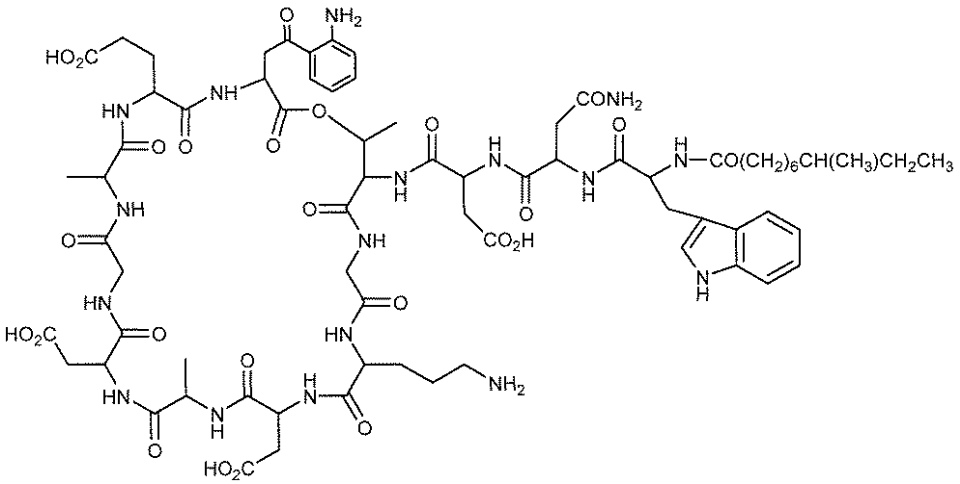
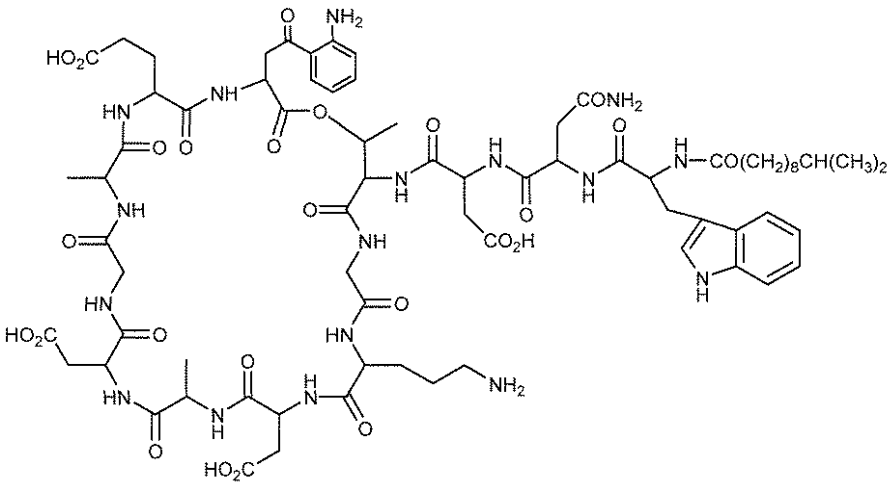
【表１９】

#	化合物
C51	
C52	
C53	

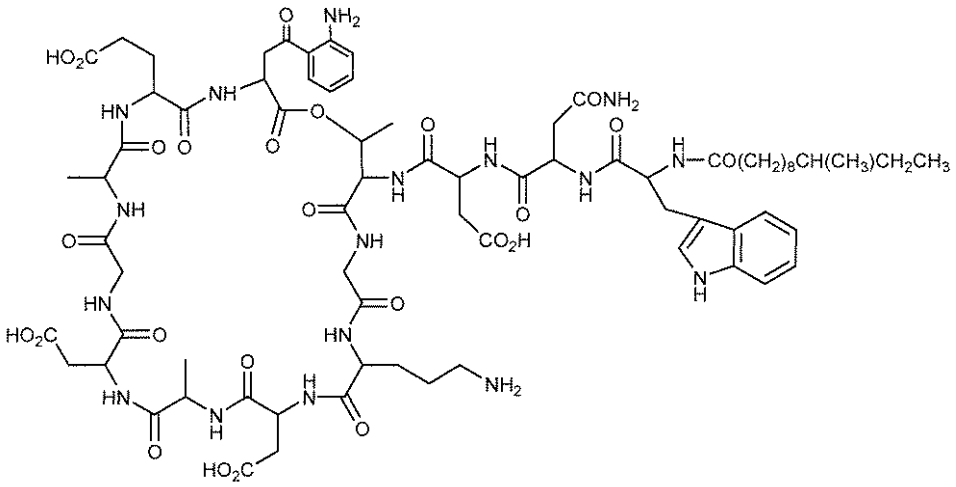
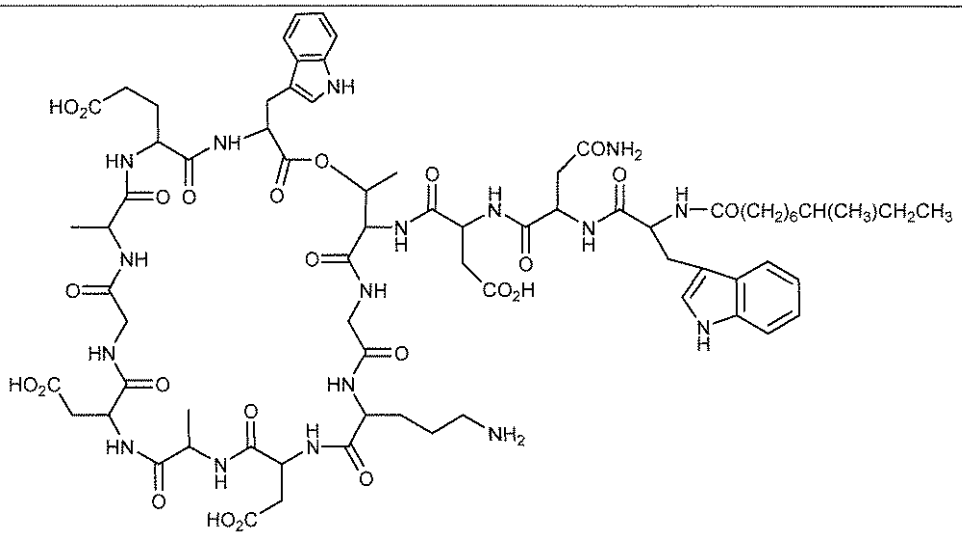
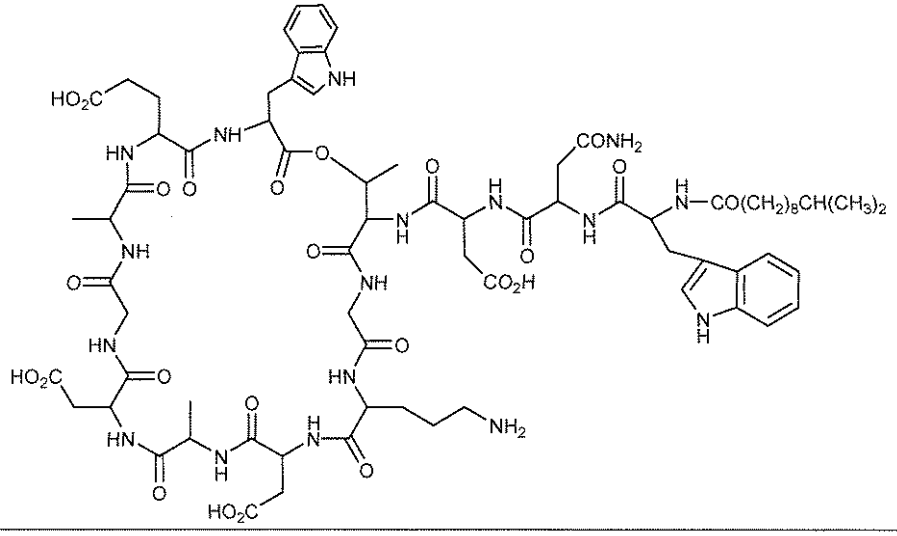
【表２０】

#	化合物
C54	
C55	
C56	

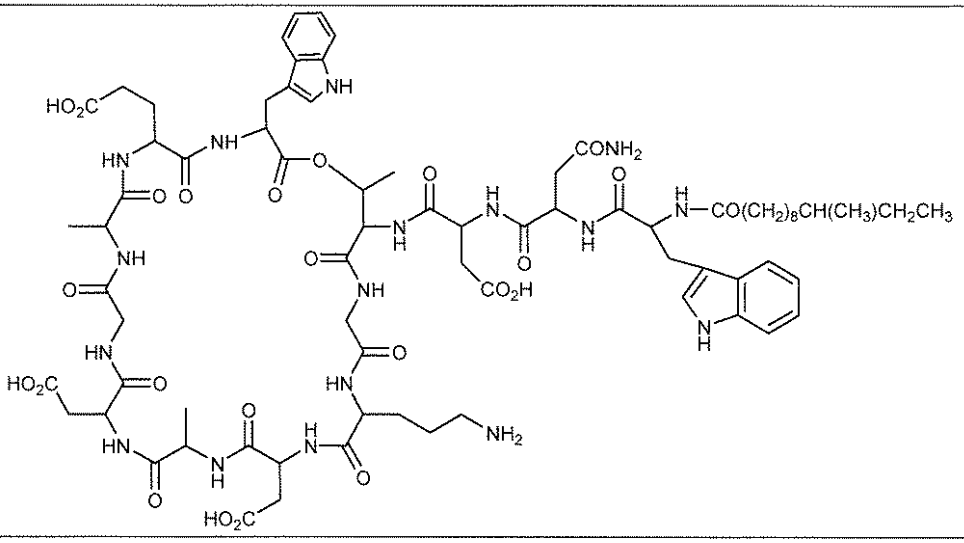
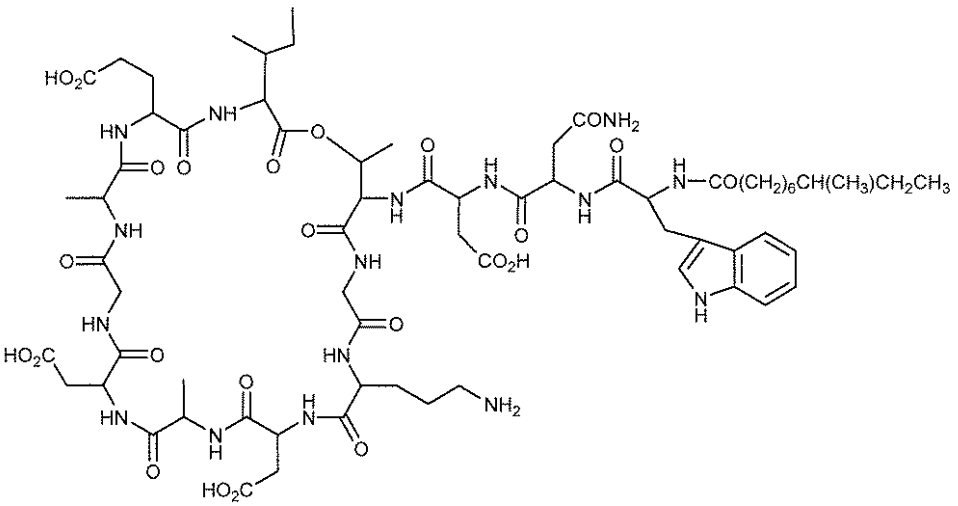
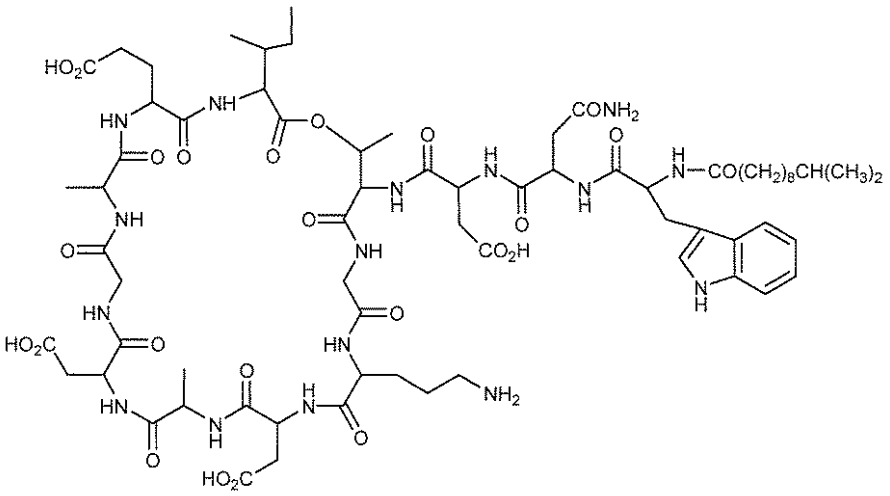
【表２１】

#	化合物
C57	
C58	
C59	

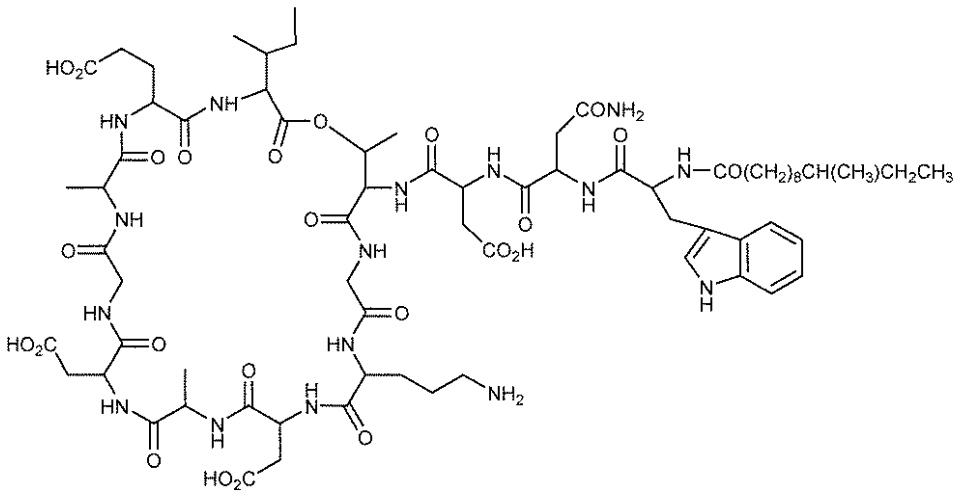
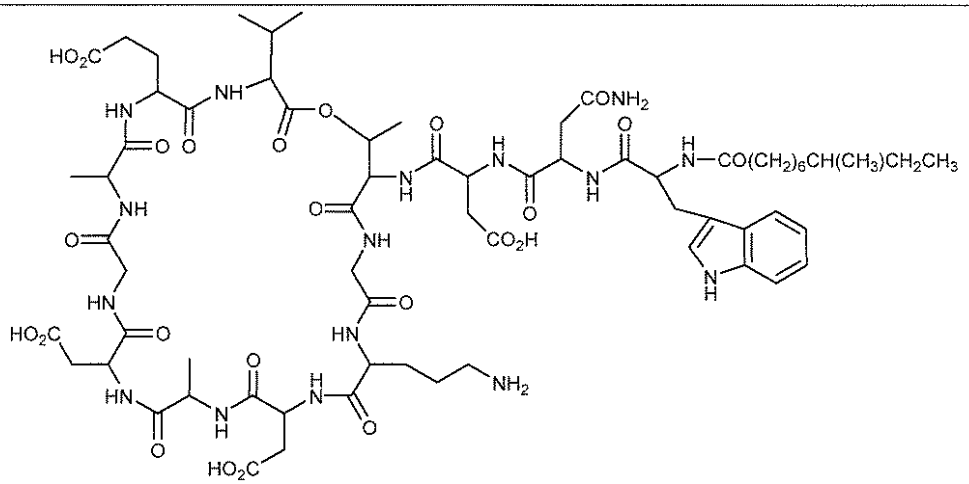
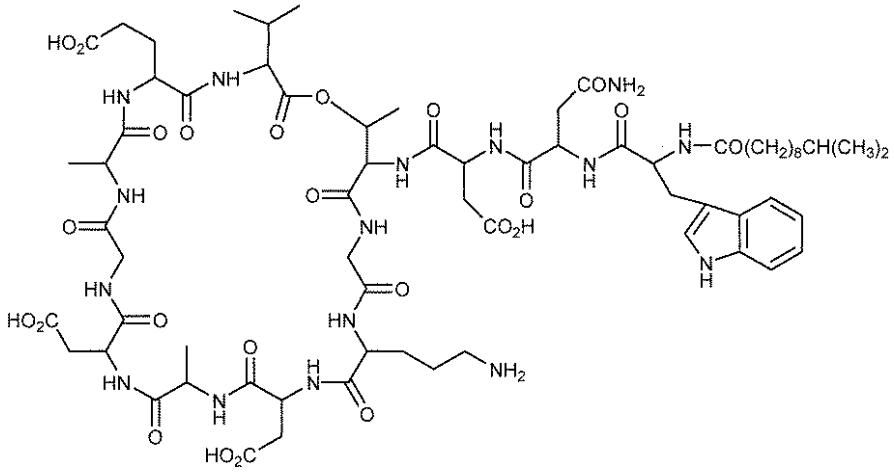
【表２２】

#	化合物
C60	
C61	
C62	

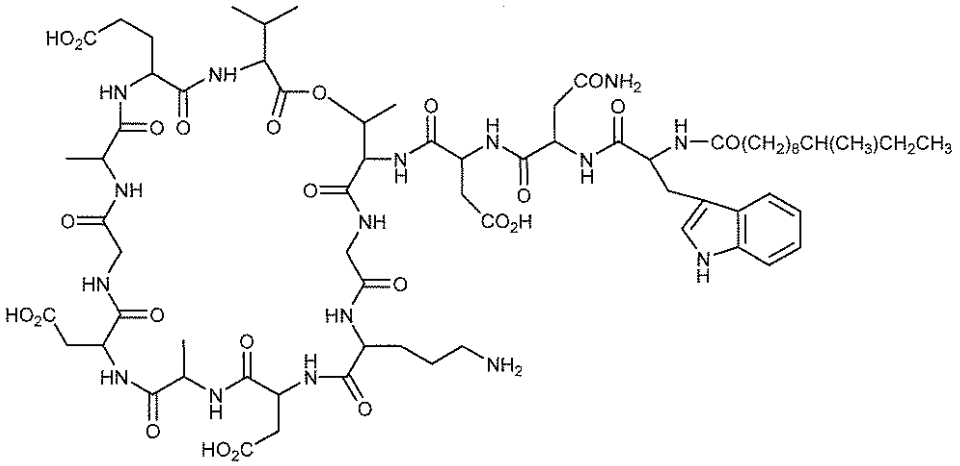
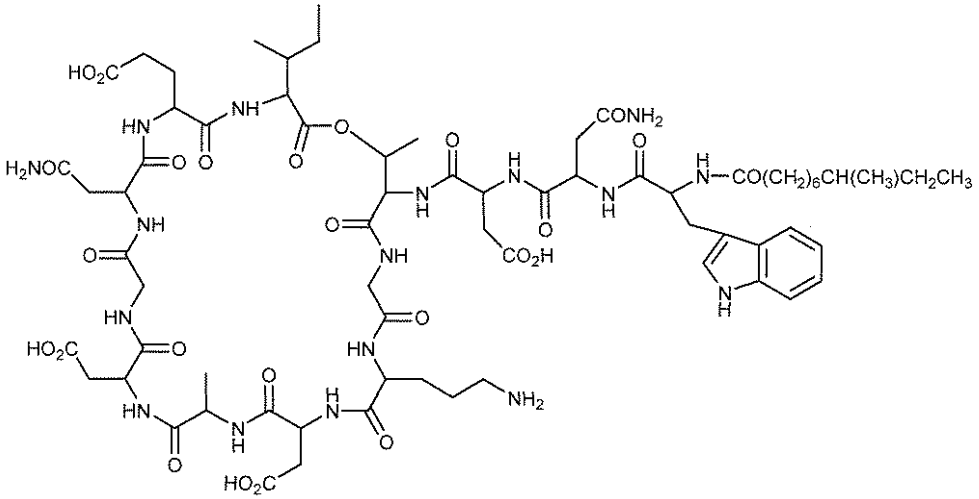
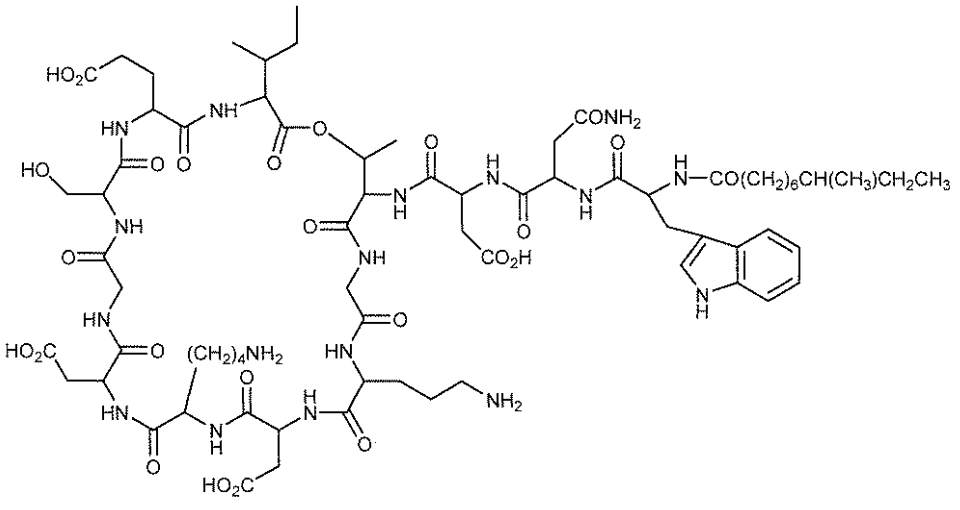
【表２３】

#	化合物
C63	
C64	
C65	

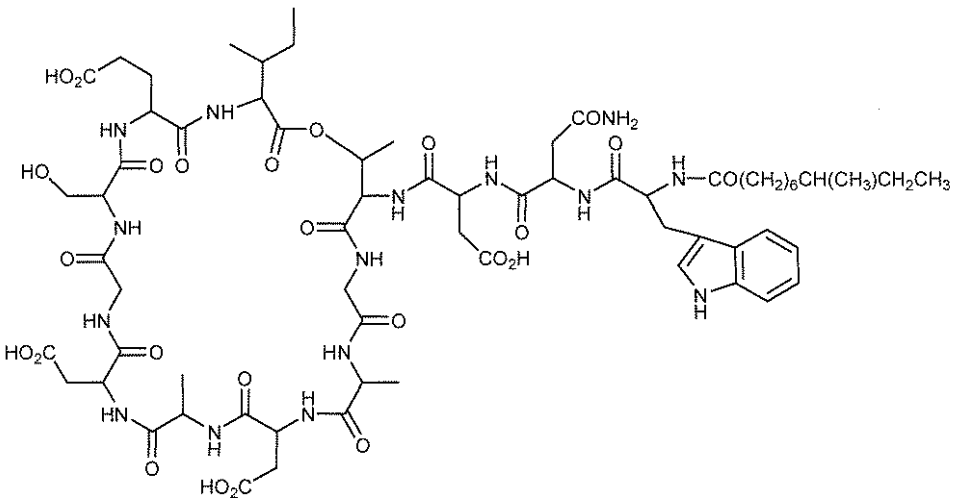
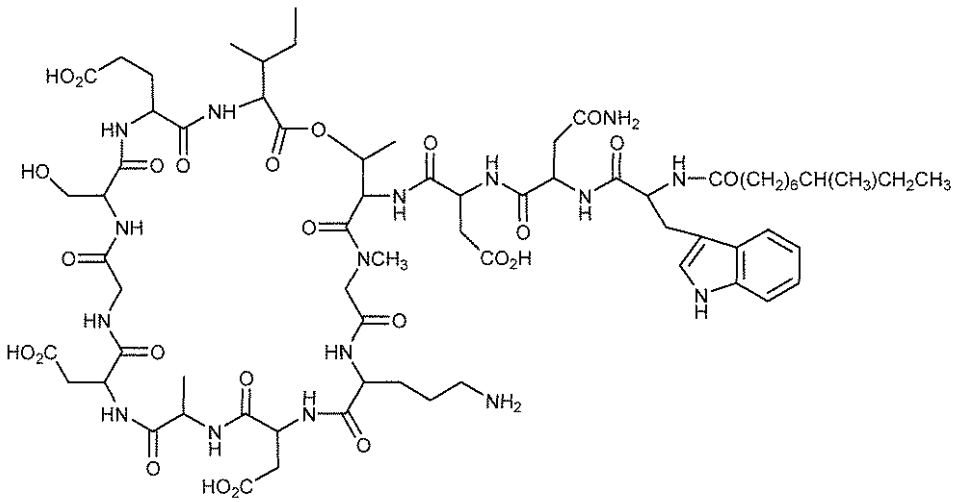
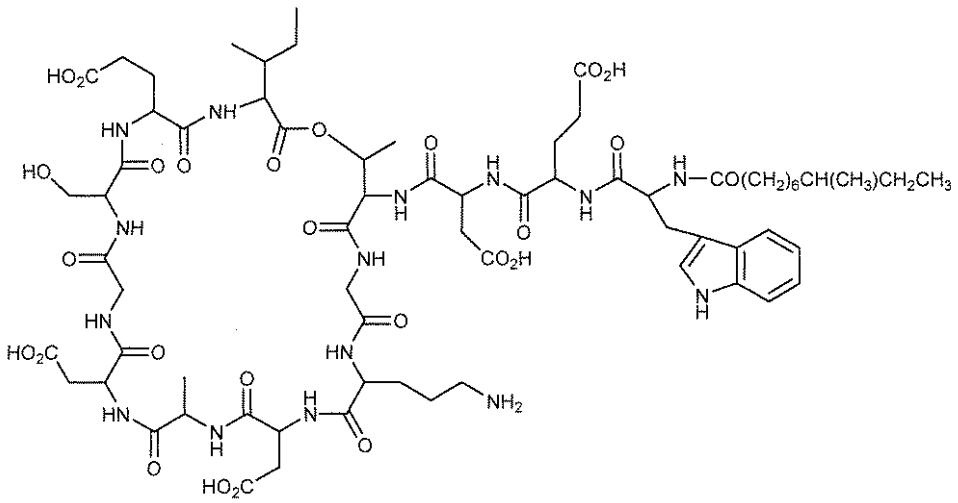
【表２４】

#	化合物
C66	
C67	
C68	

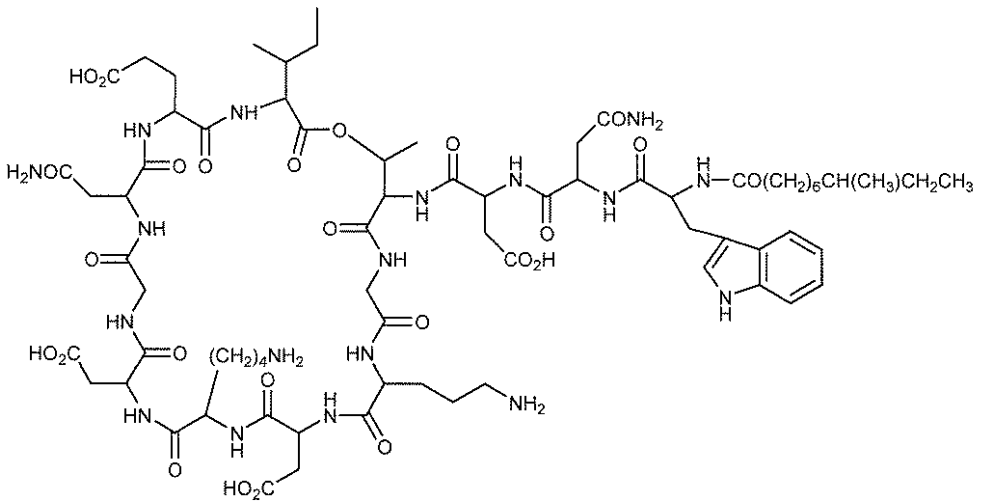
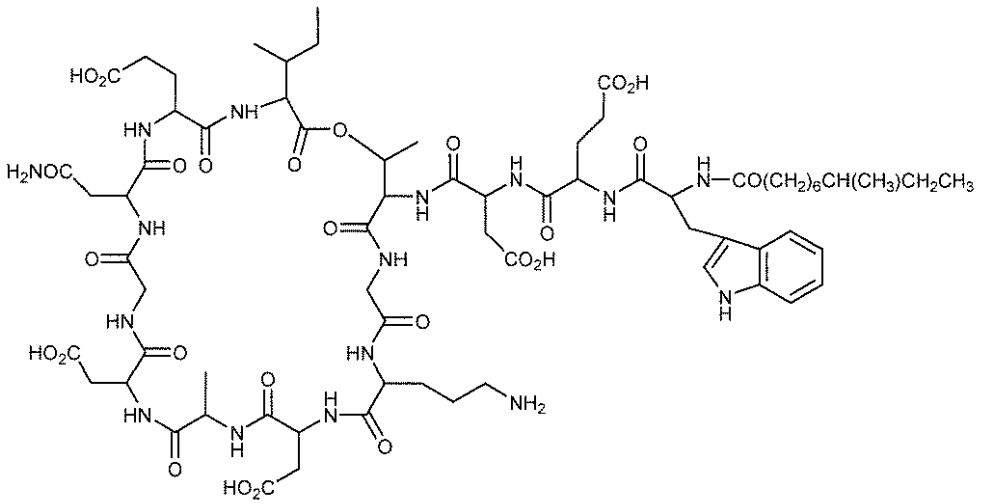
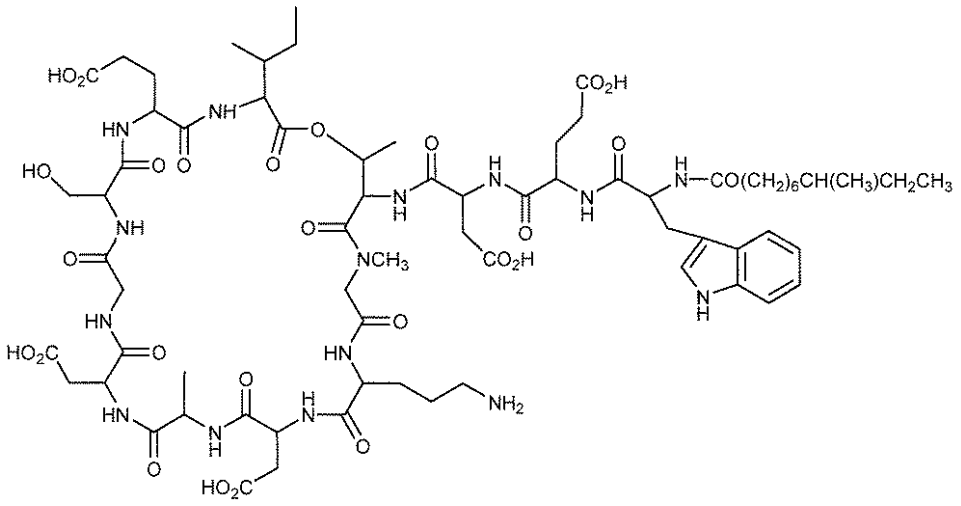
【表２５】

#	化合物
C69	
C72	
C73	

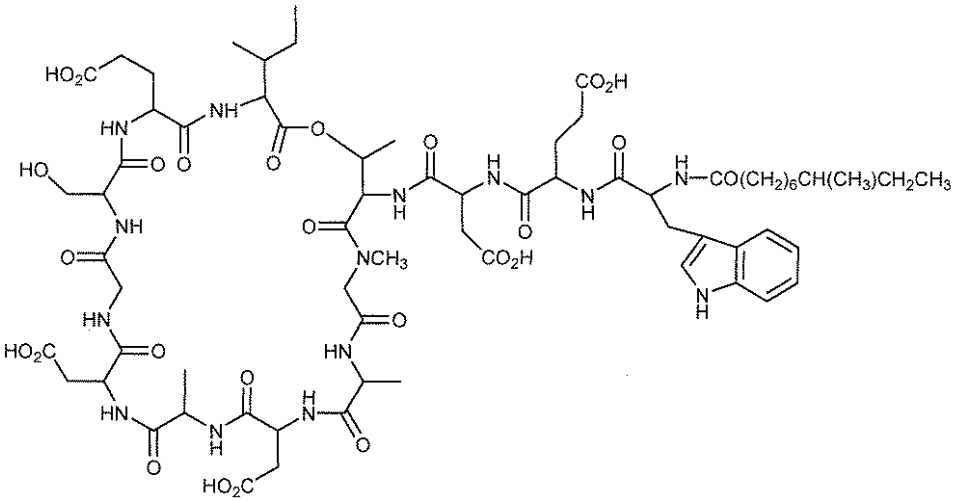
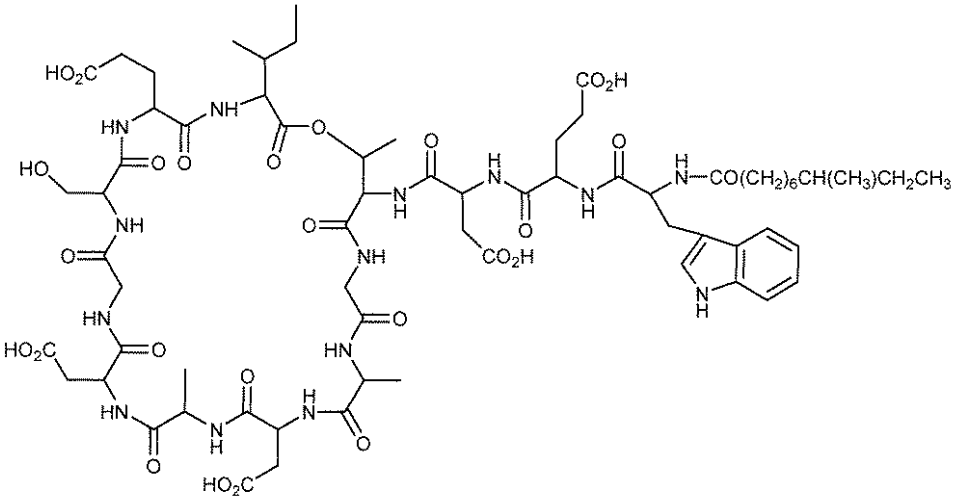
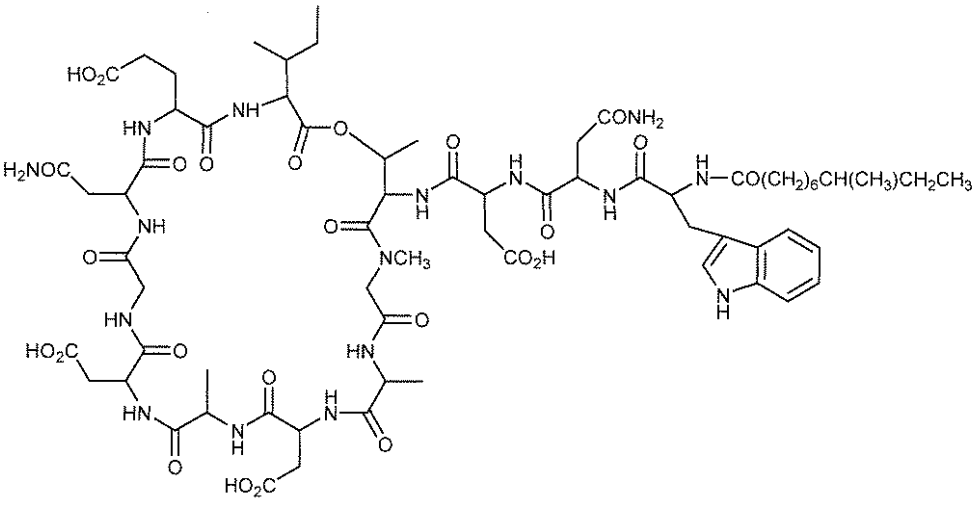
【表２６】

#	化合物
C74	
C75	
C76	

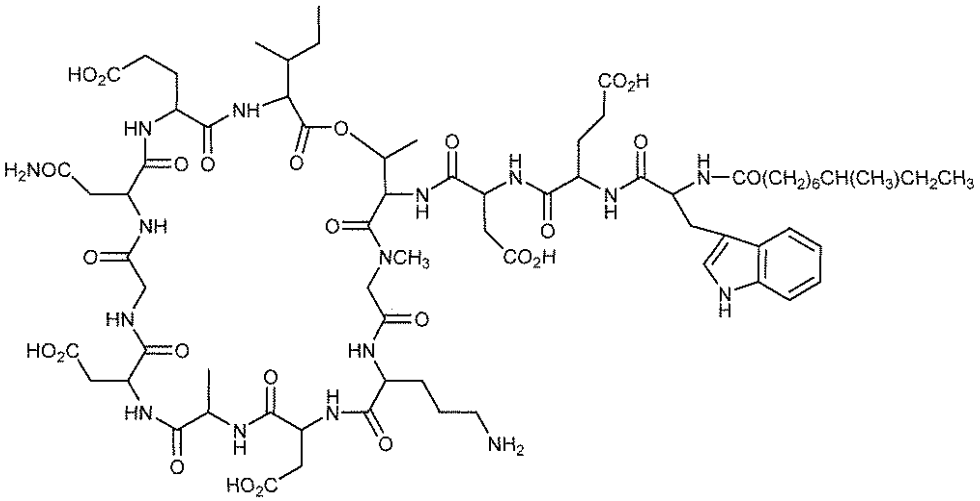
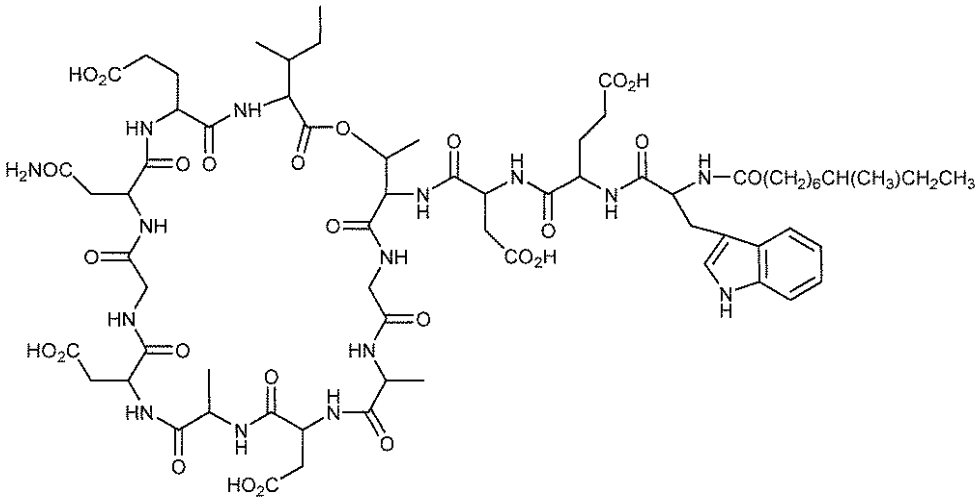
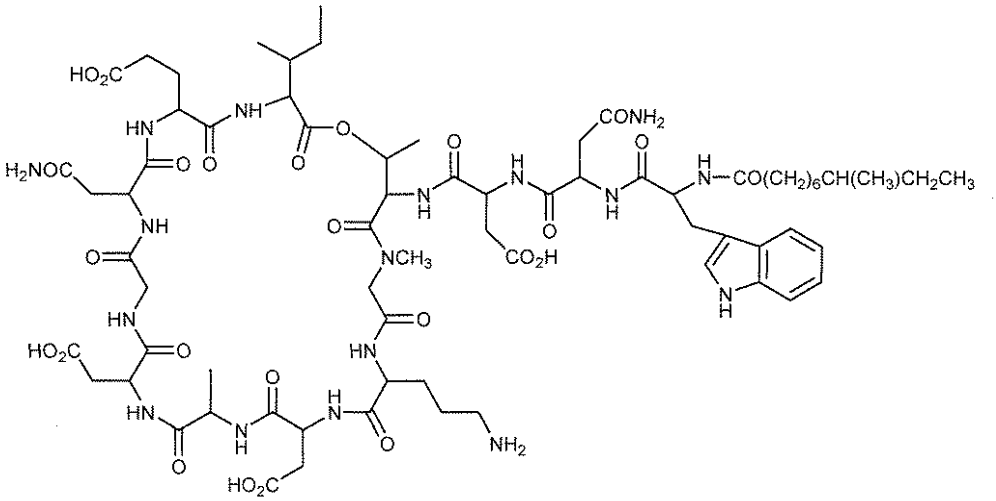
【表２７】

#	化合物
C77	
C78	
C79	

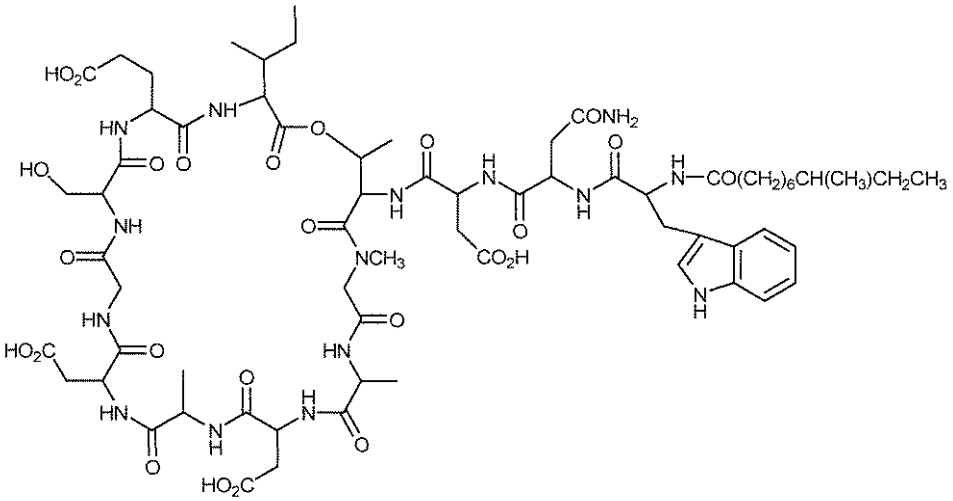
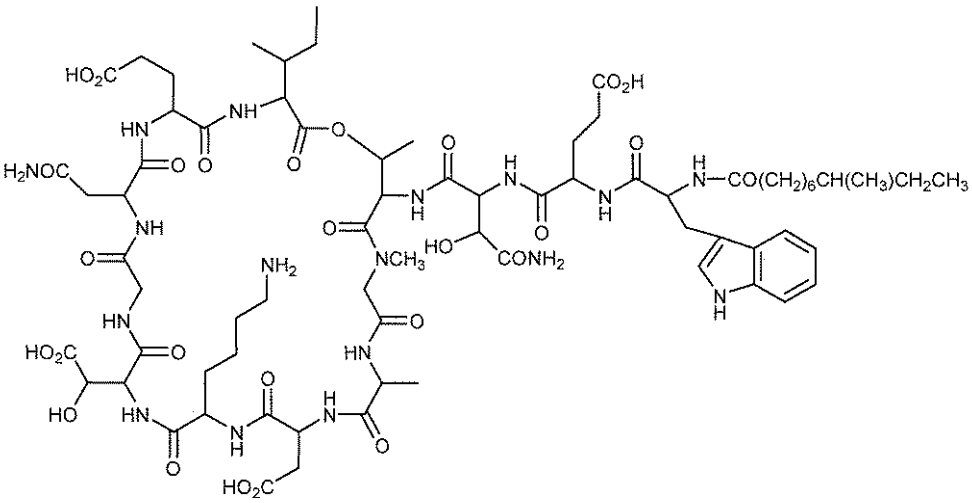
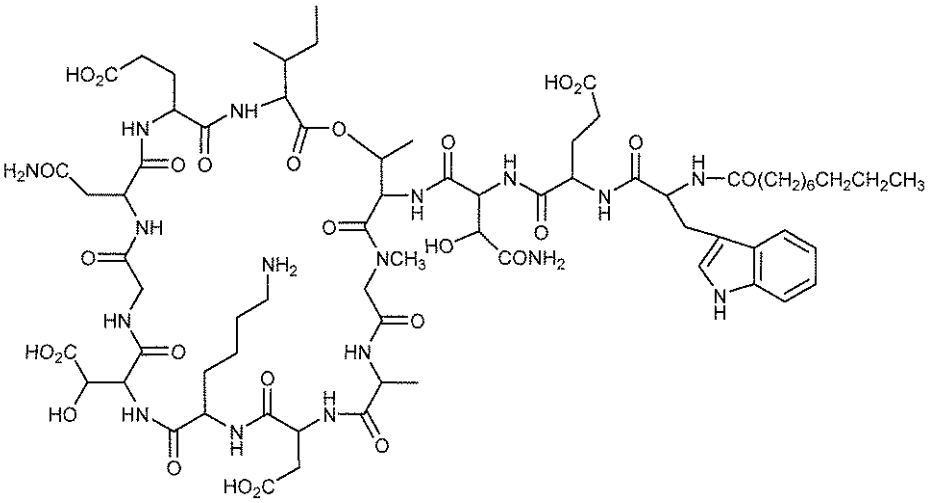
【表２８】

#	化合物
C80	
C81	
C82	

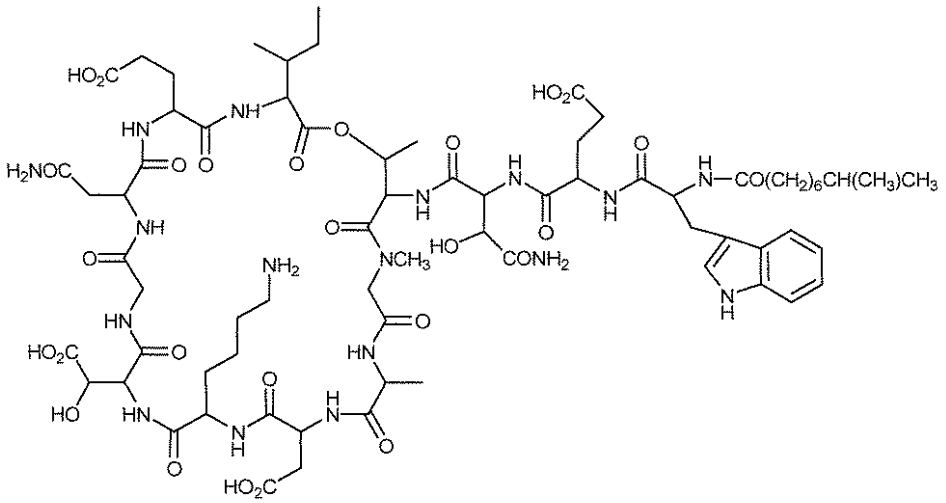
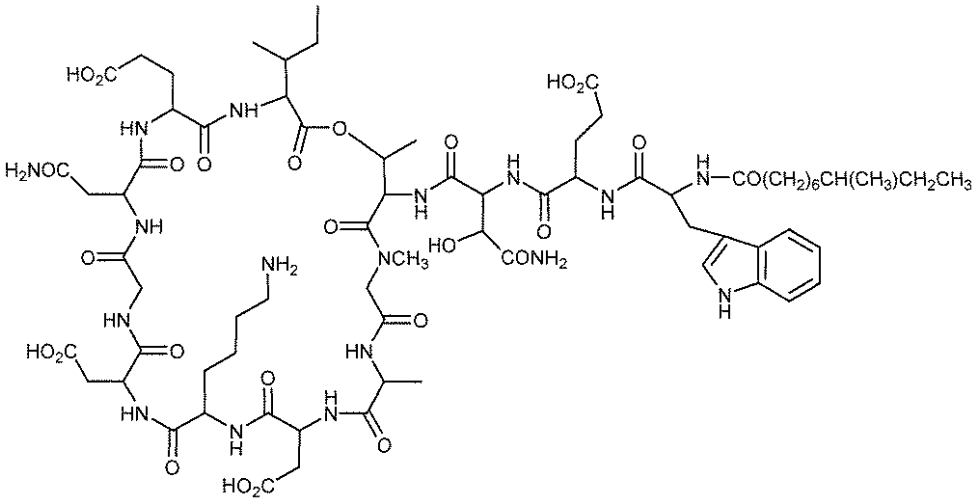
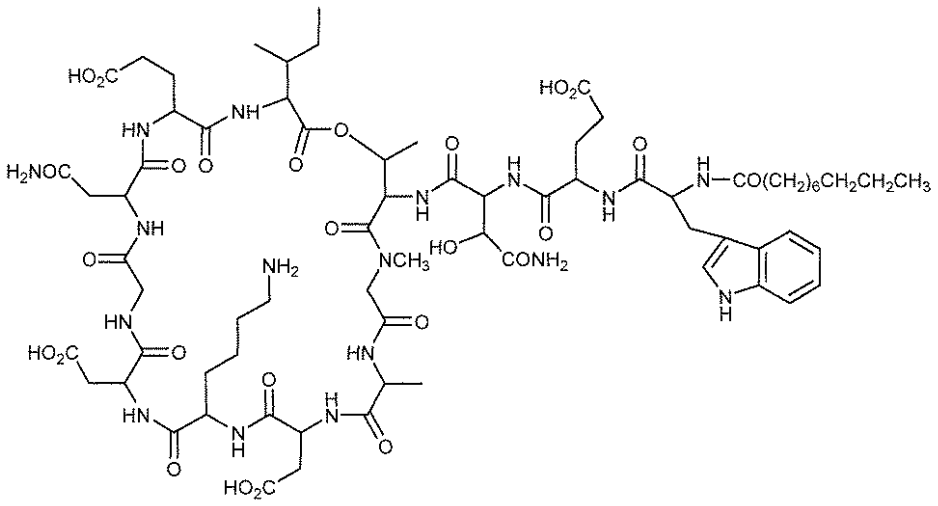
【表２９】

#	化合物
C83	
C84	
C85	

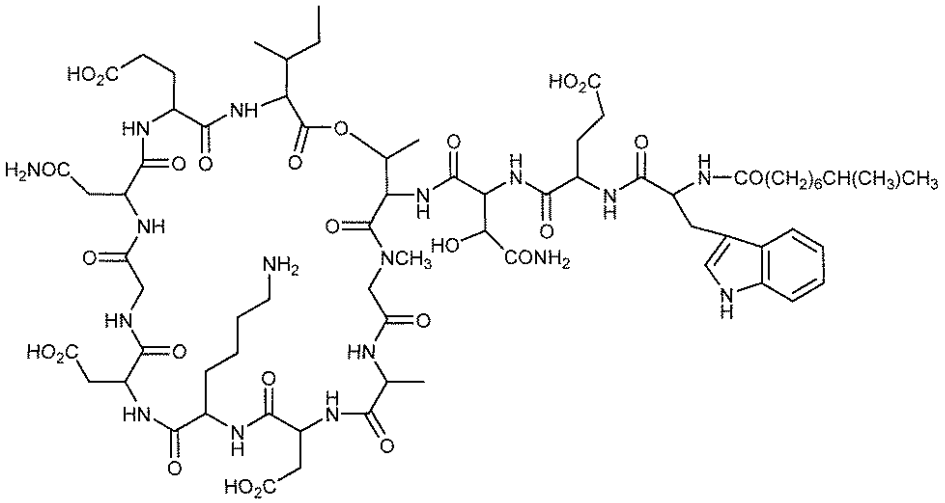
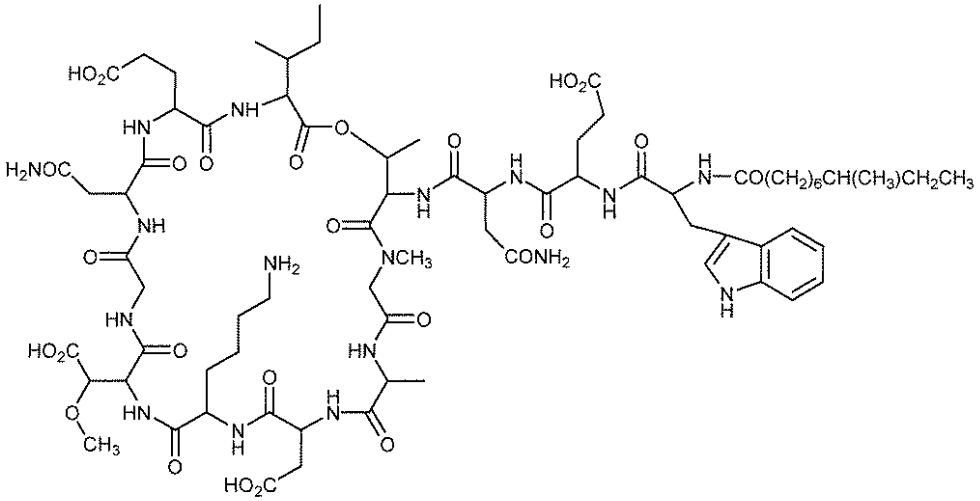
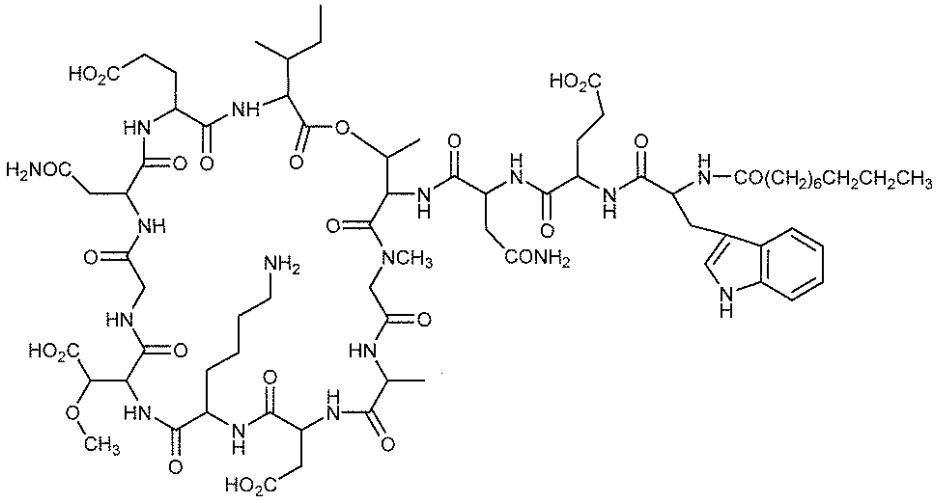
【表３０】

#	化合物
C86	
C87	
C88	

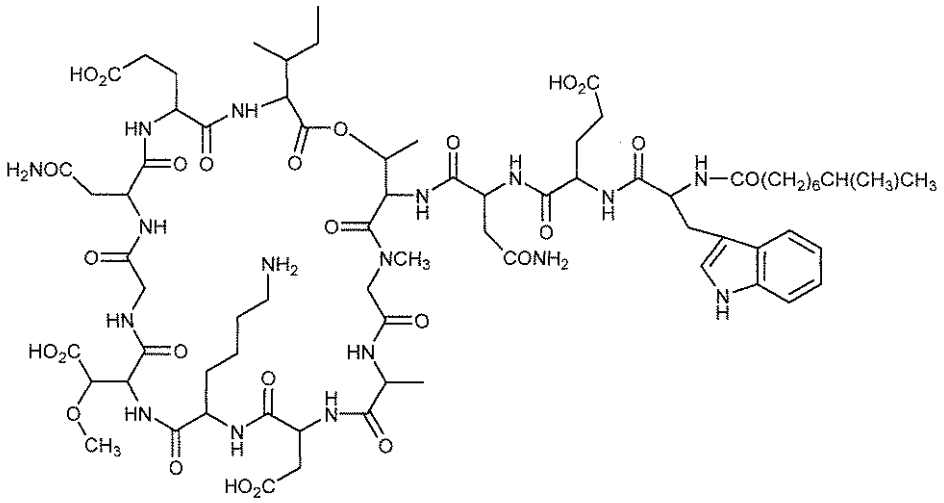
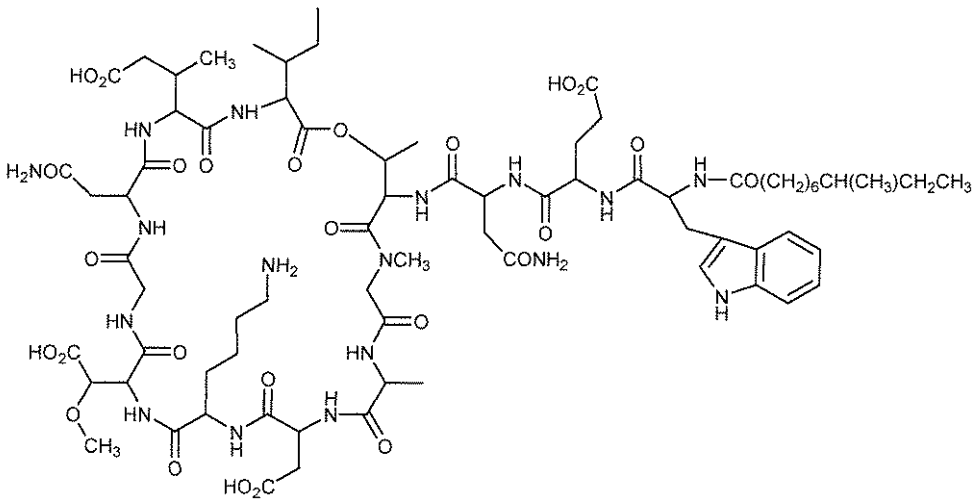
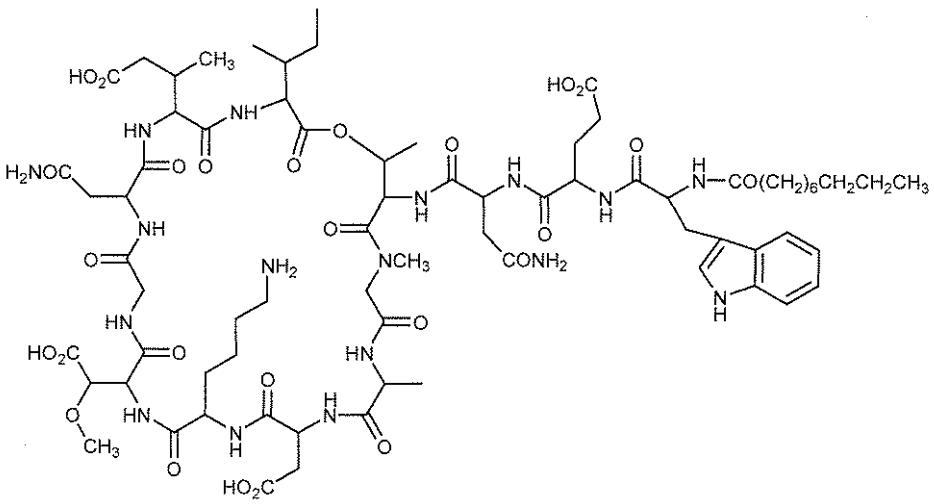
【表３１】

#	化合物
C89	
C90	
C91	

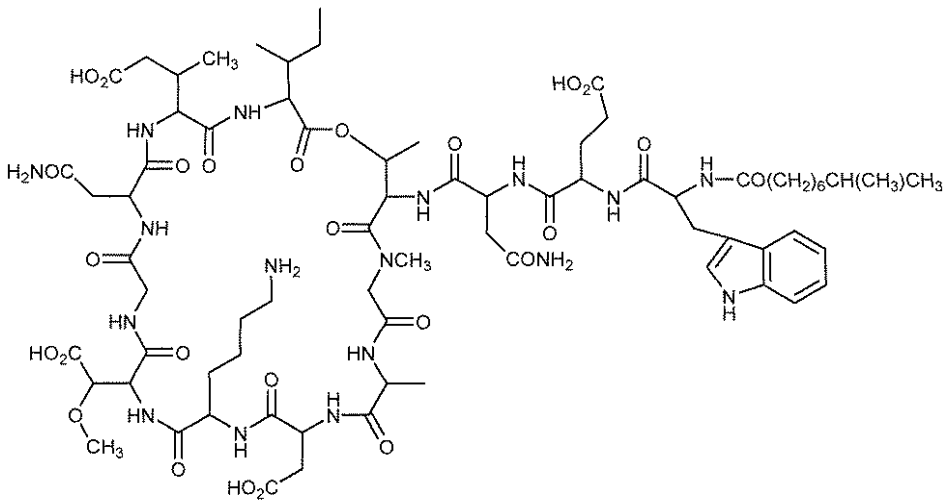
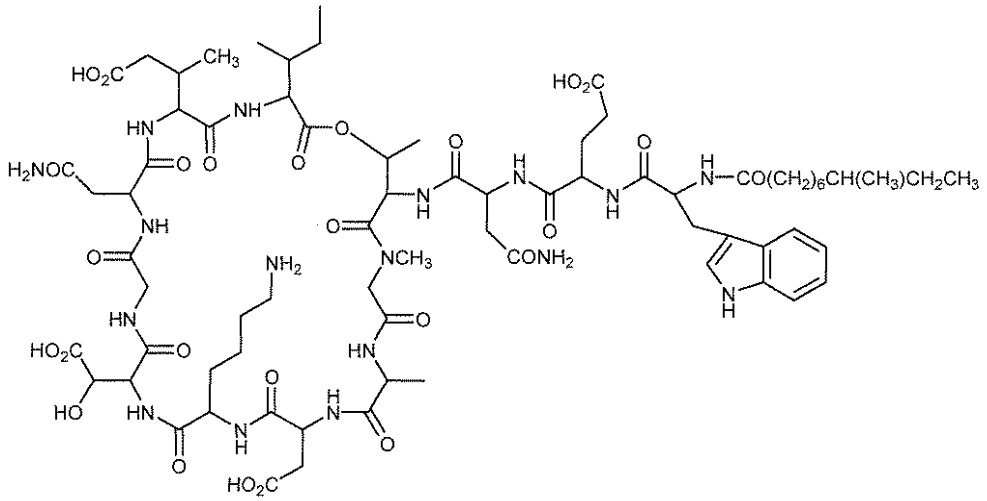
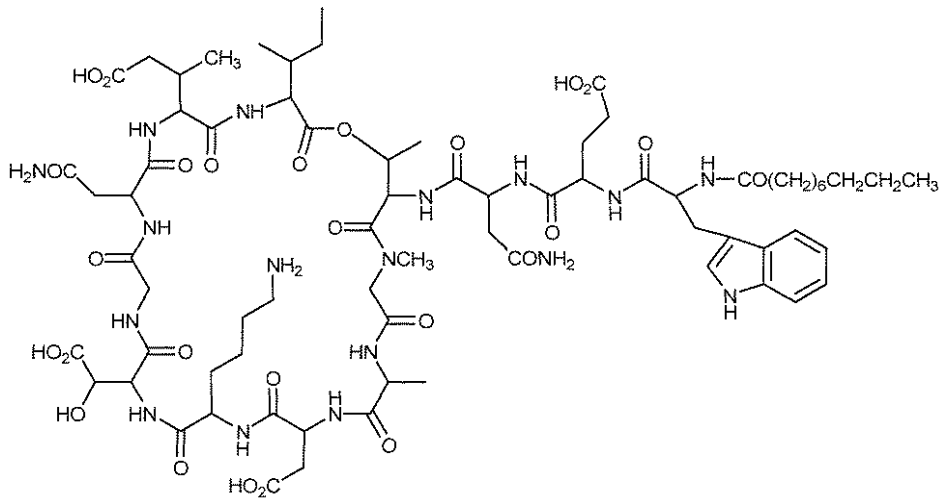
【表３２】

#	化合物
C92	
C93	
C94	

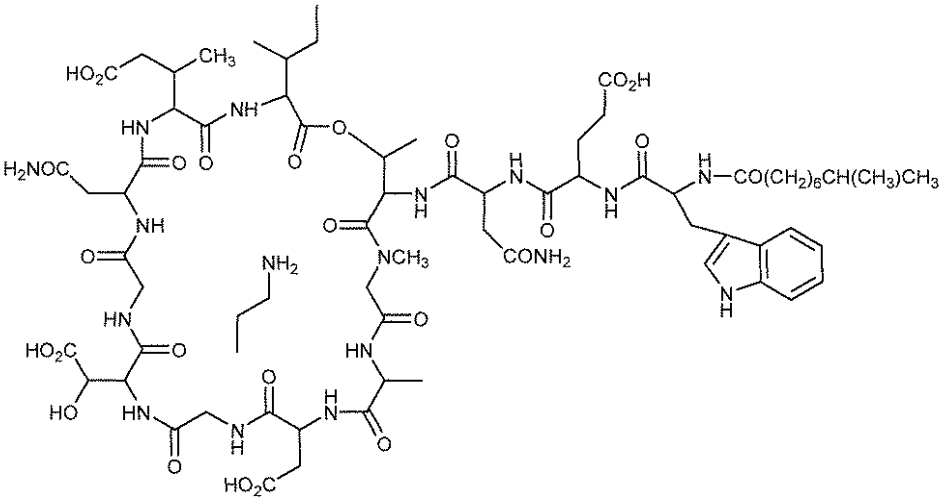
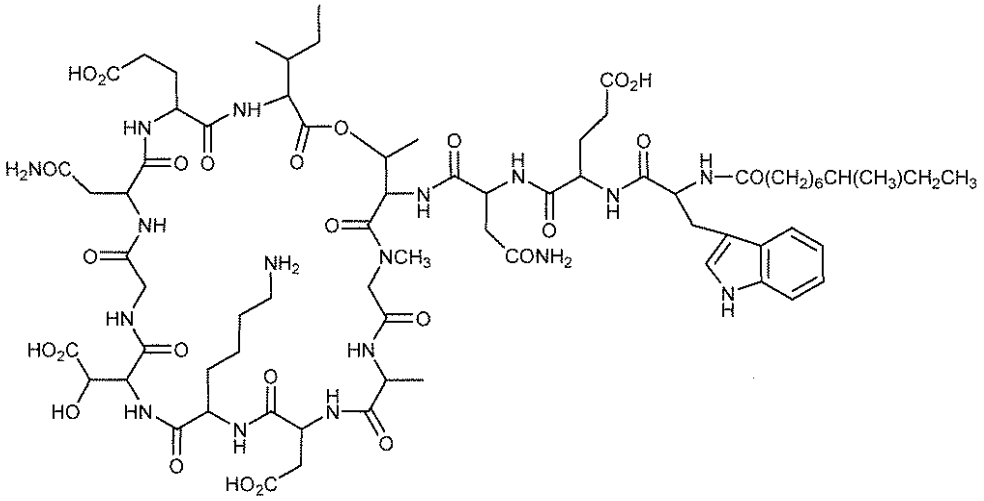
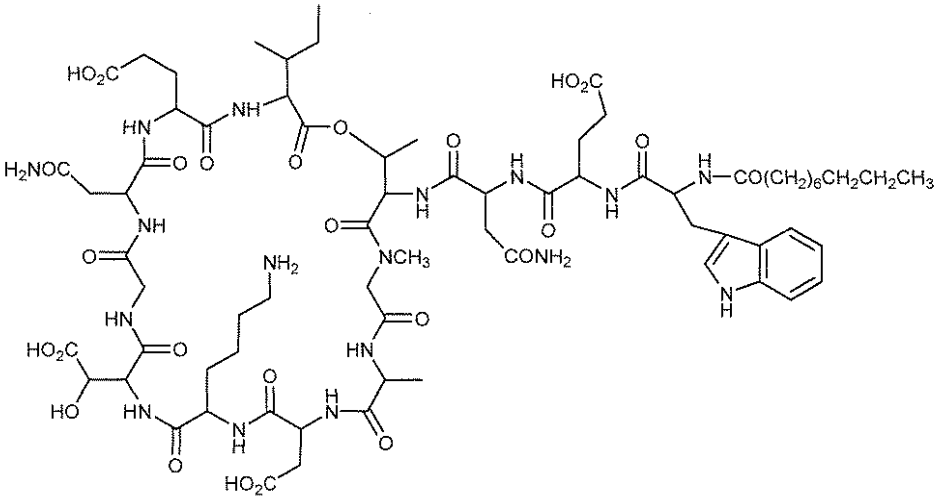
【表３３】

#	化合物
C95	
C96	
C97	

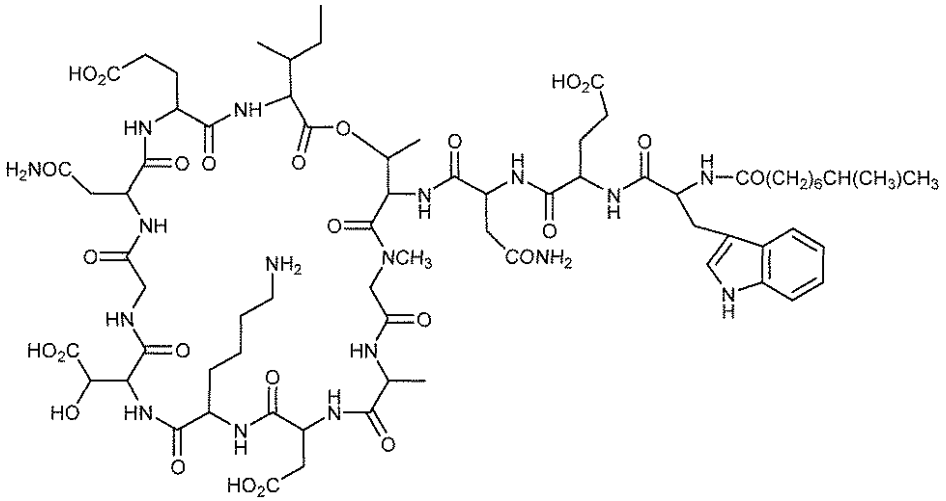
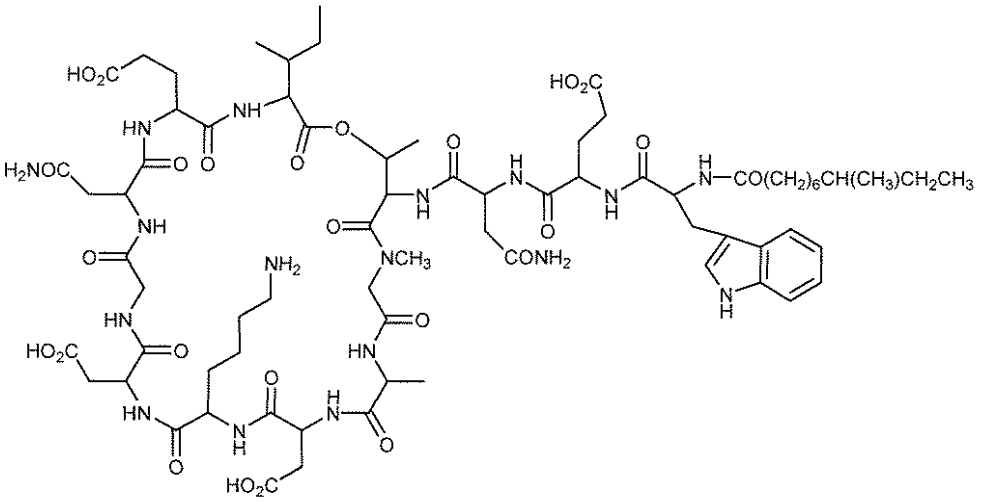
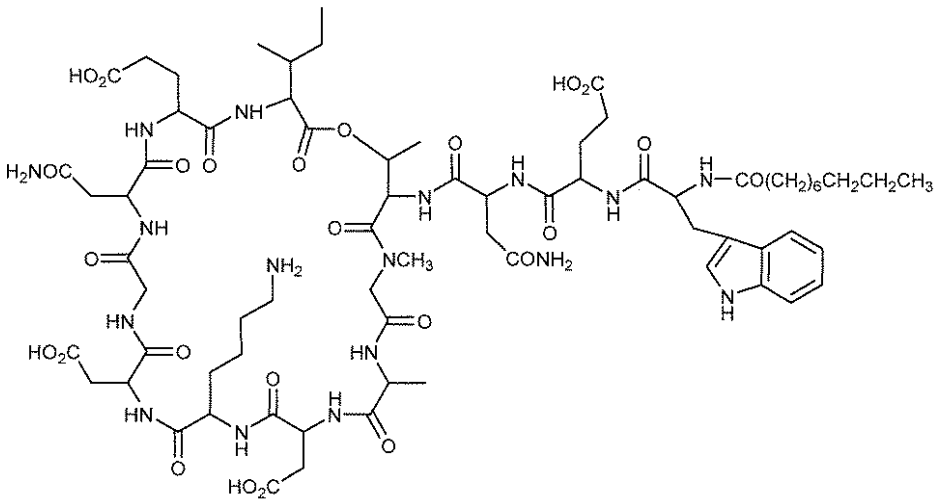
【表３４】

#	化合物
C98	
C99	
C100	

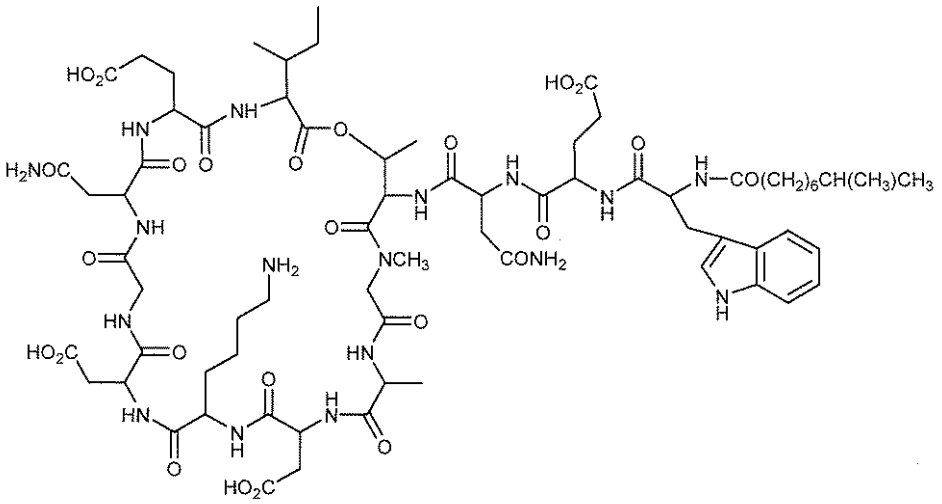
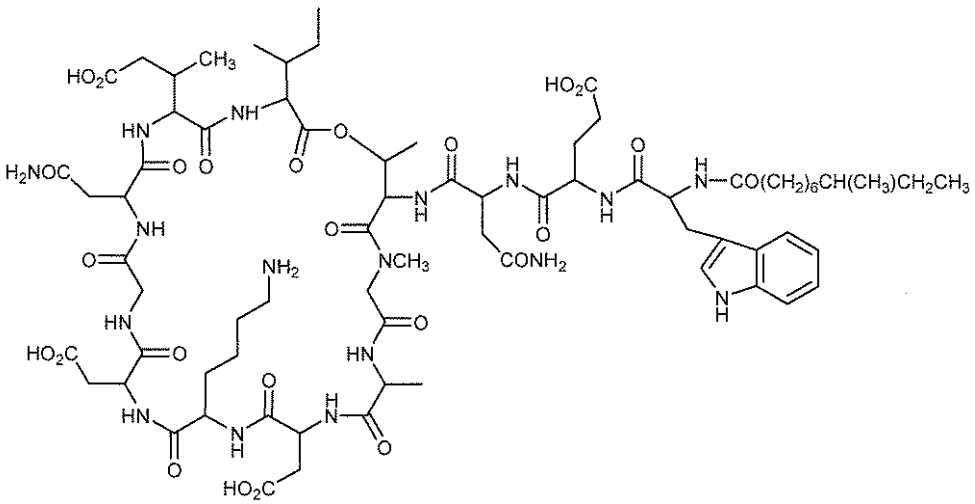
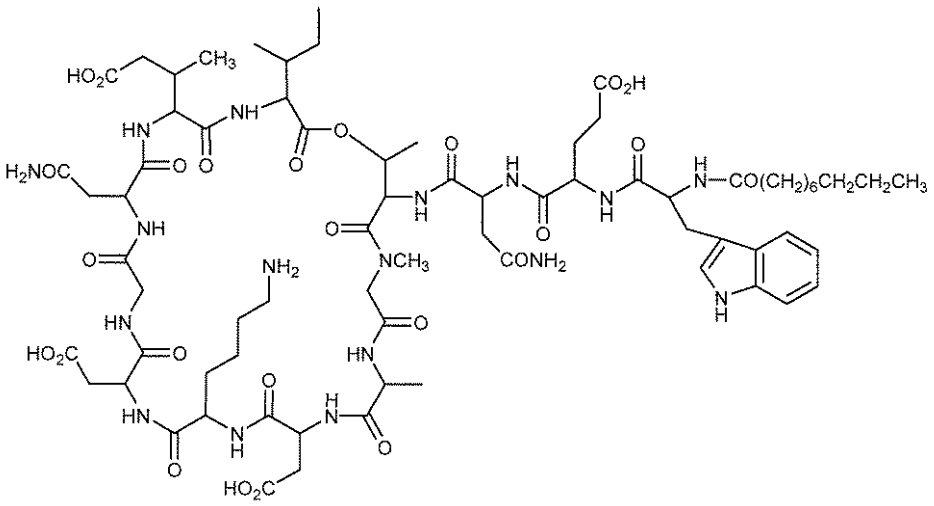
【表３５】

#	化合物
C101	
C102	
C103	

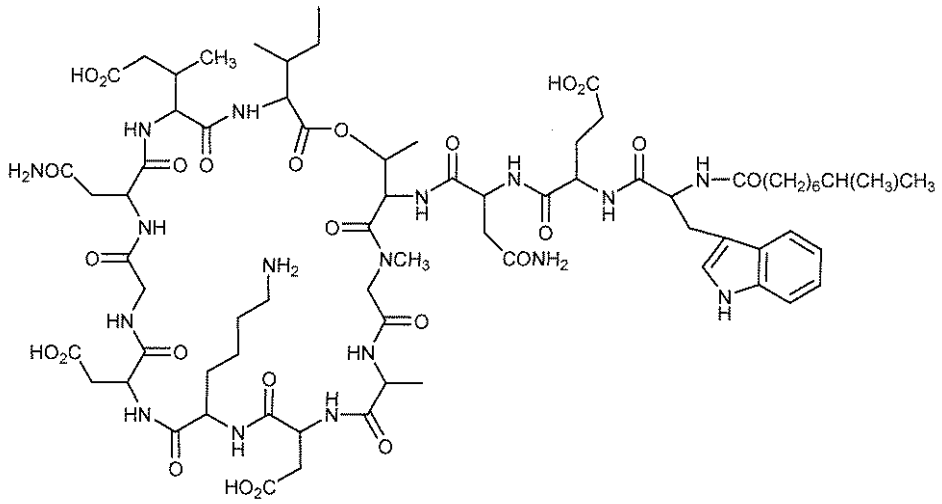
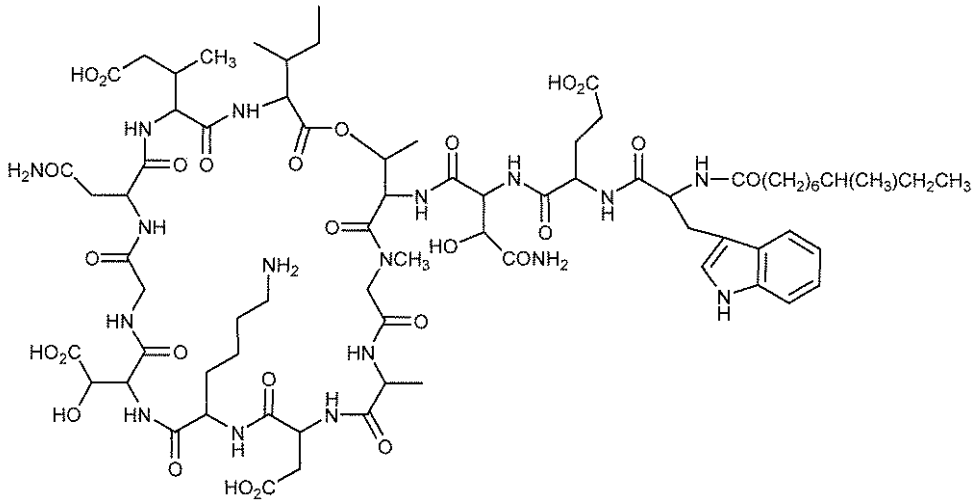
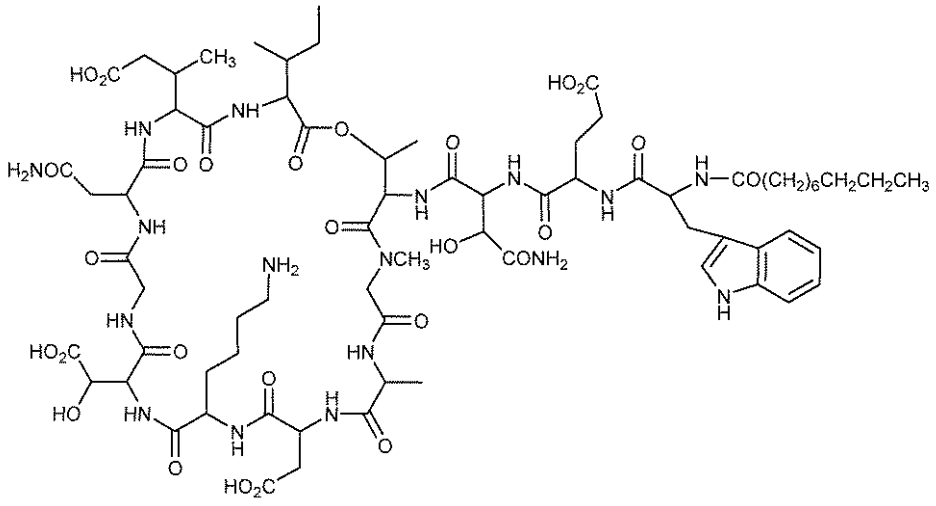
【表３６】

#	化合物
C104	
C105	
C106	

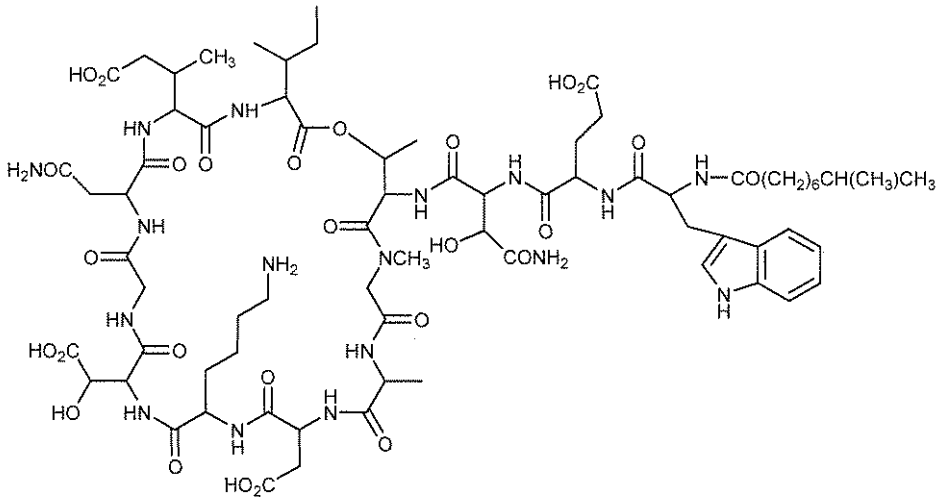
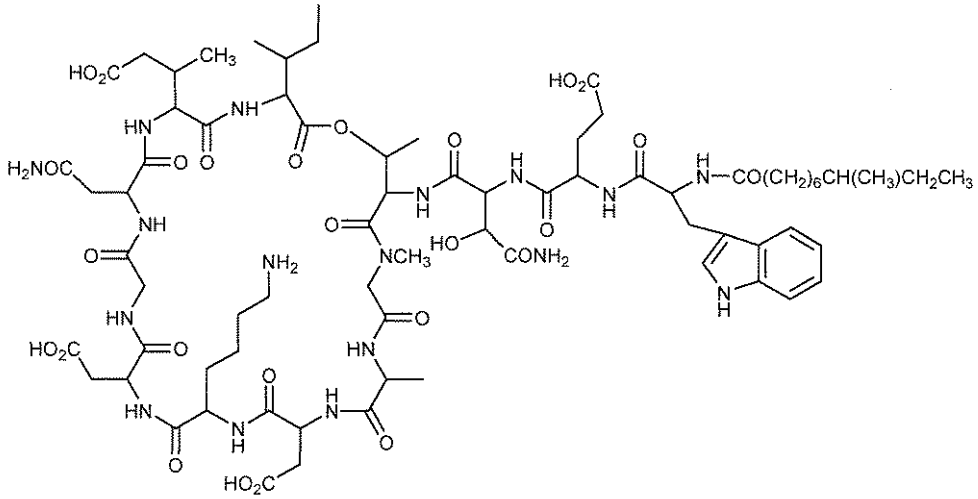
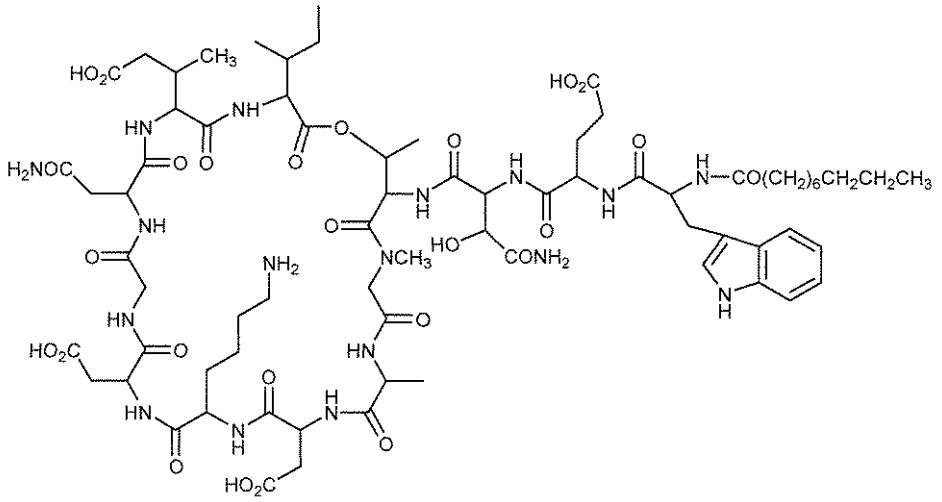
【表３７】

#	化合物
C107	
C108	
C109	

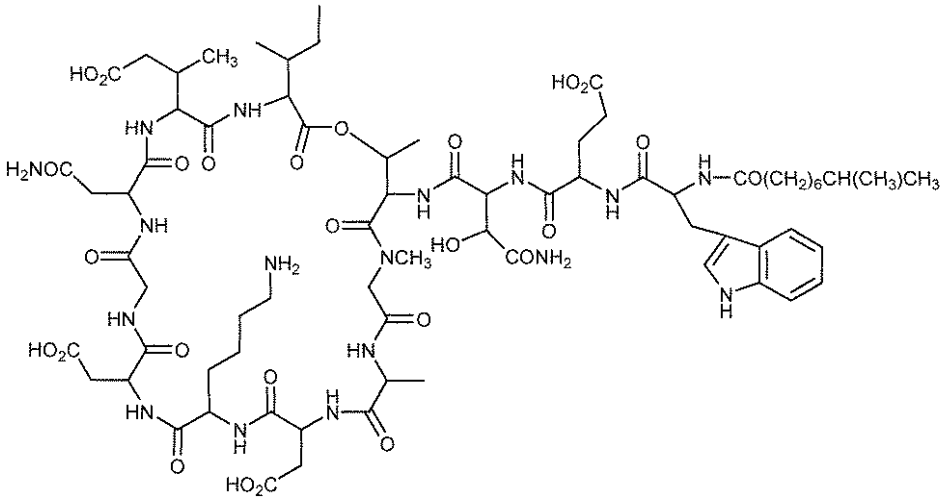
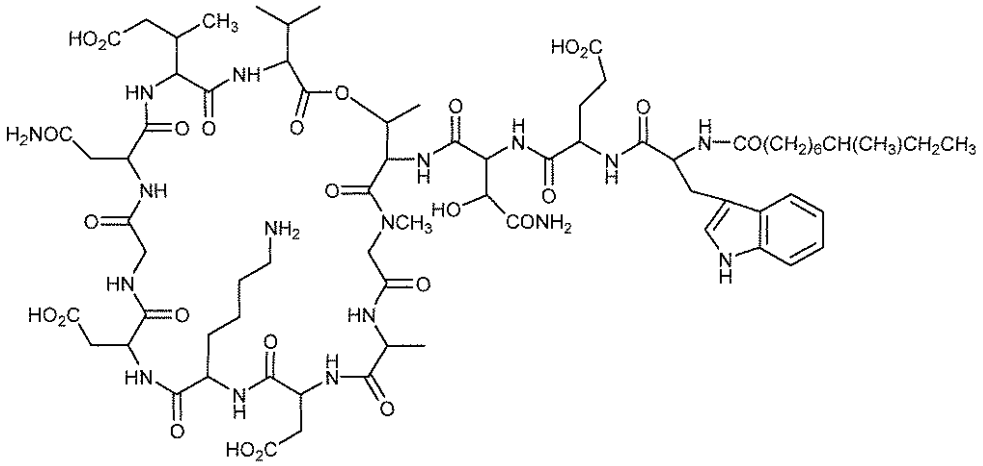
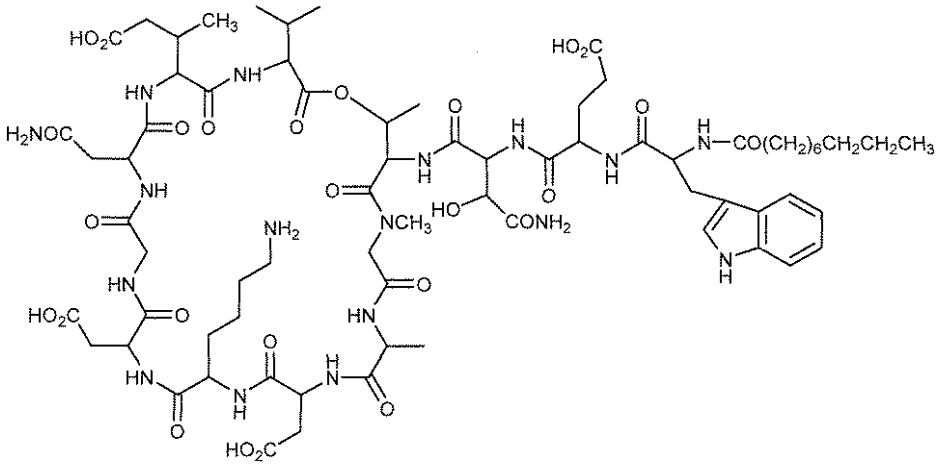
【表３８】

#	化合物
C110	
C111	
C112	

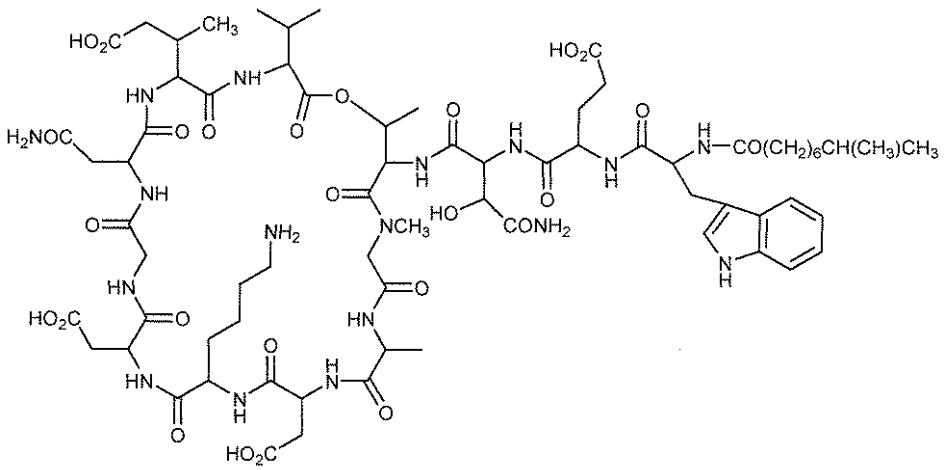
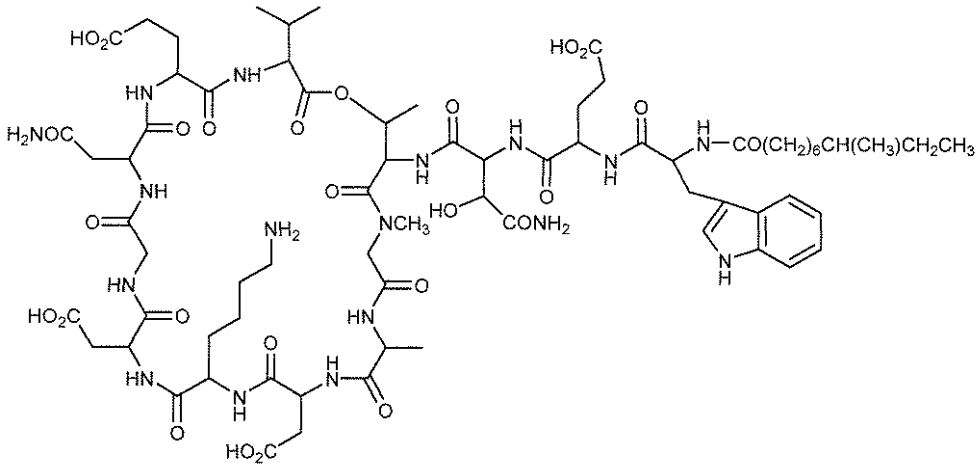
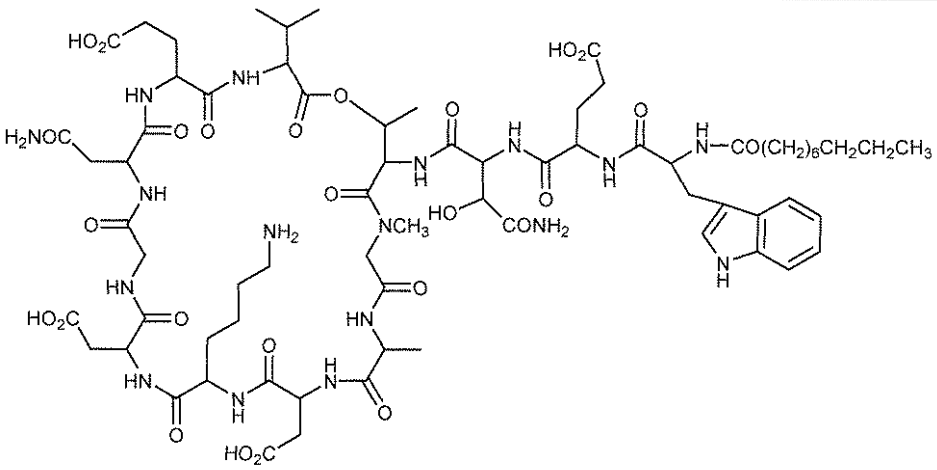
【表３９】

#	化合物
C113	
C114	
C115	

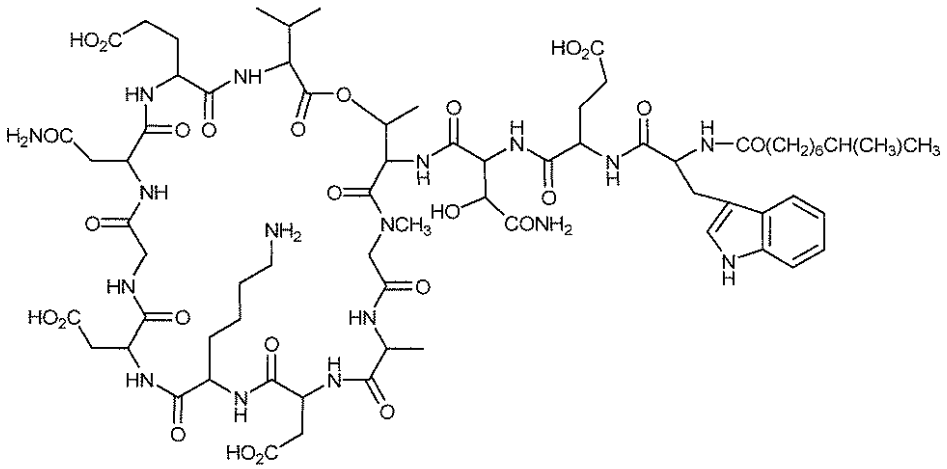
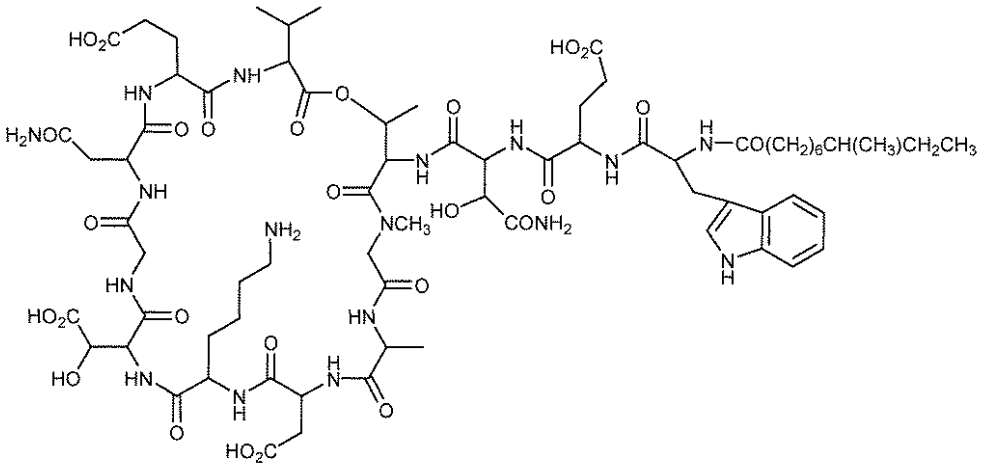
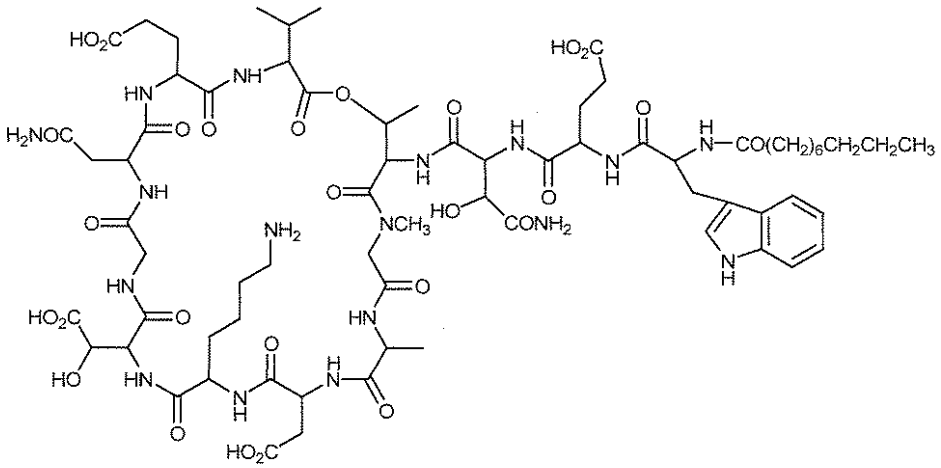
【表４０】

#	化合物
C116	
C117	
C118	

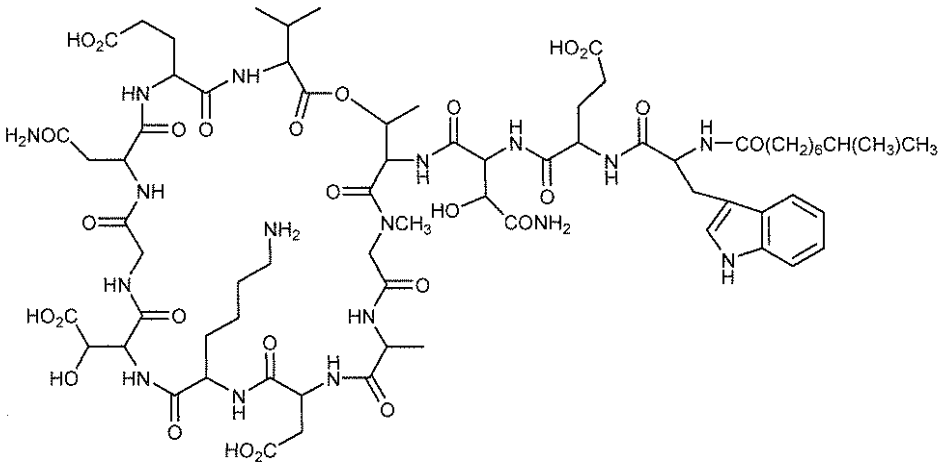
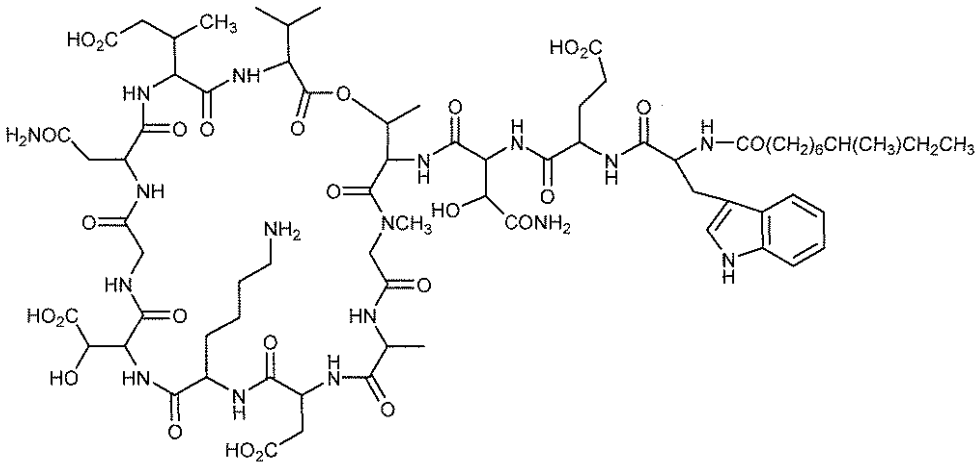
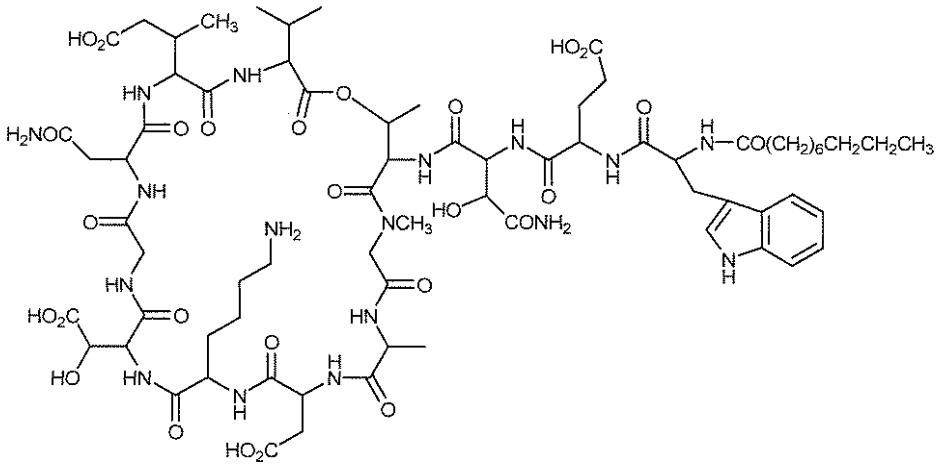
【表４１】

#	化合物
C119	
C120	
C121	

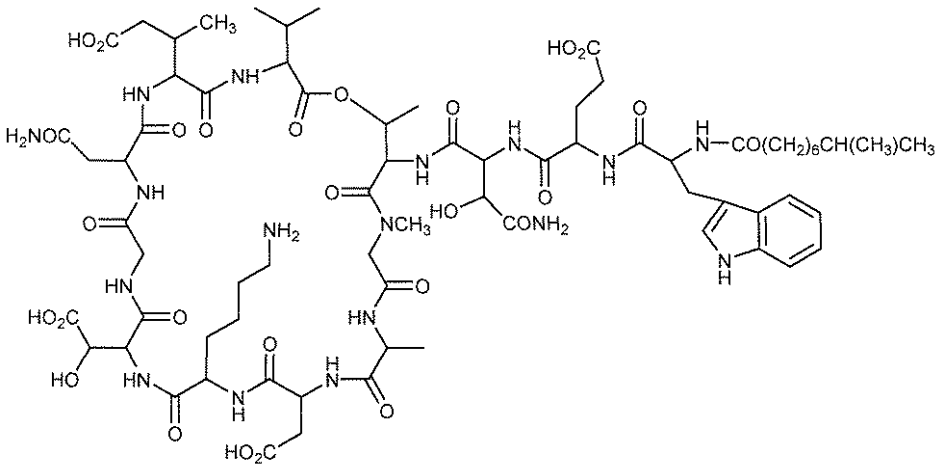
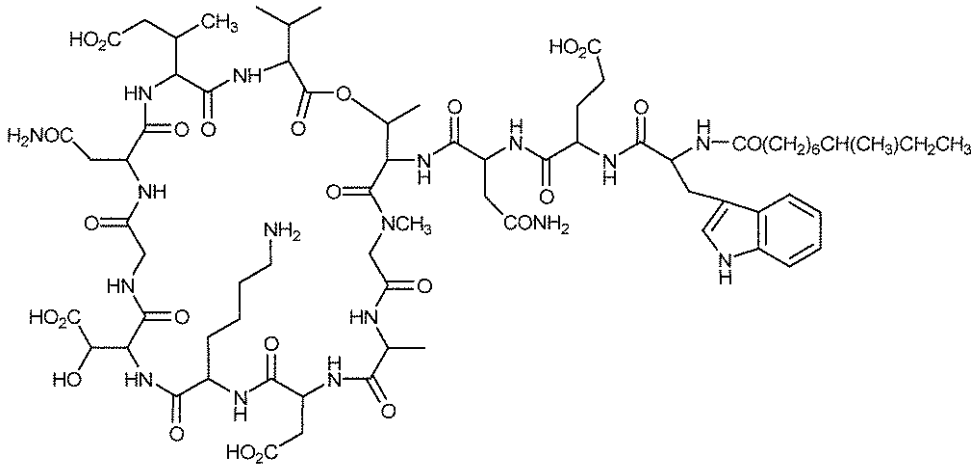
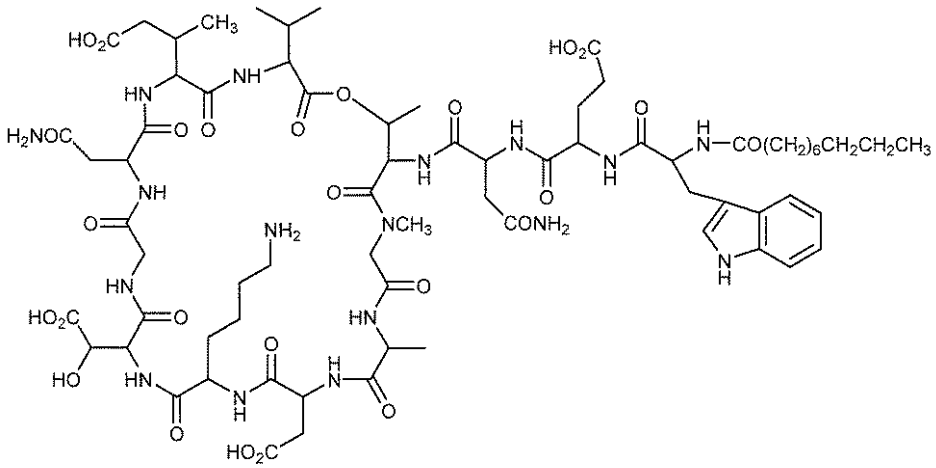
【表４２】

#	化合物
C122	
C123	
C124	

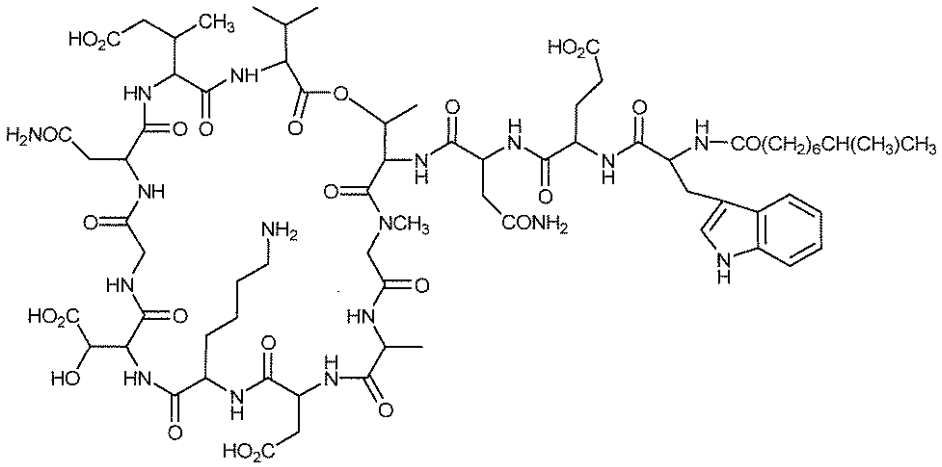
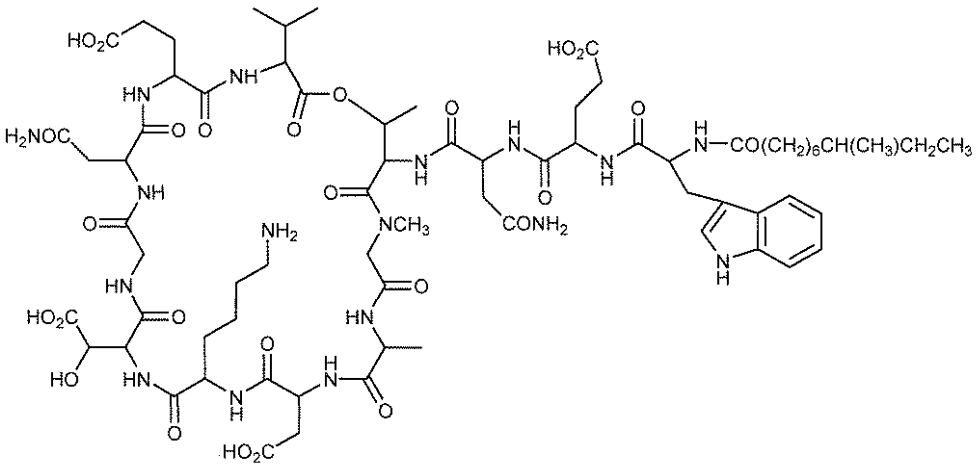
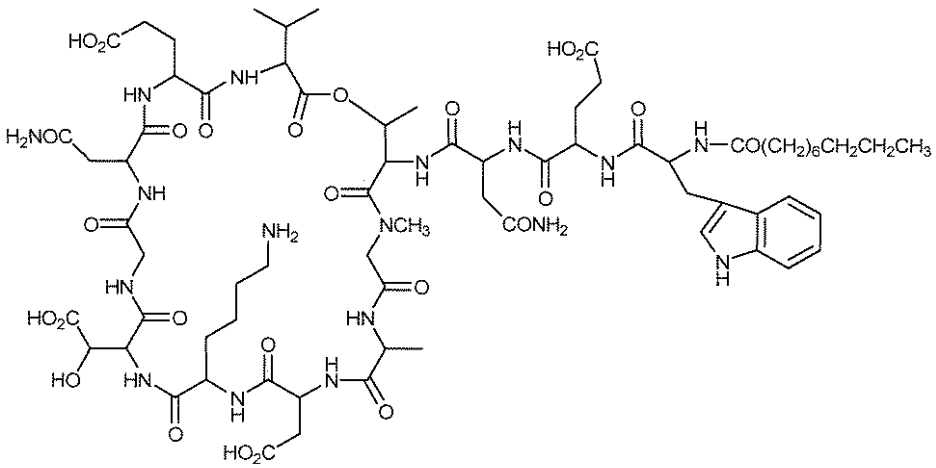
【表４３】

#	化合物
C125	
C126	
C127	

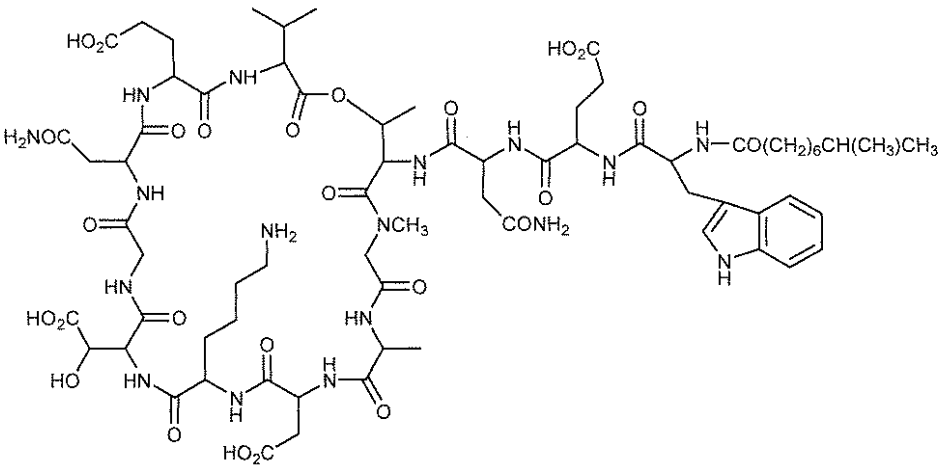
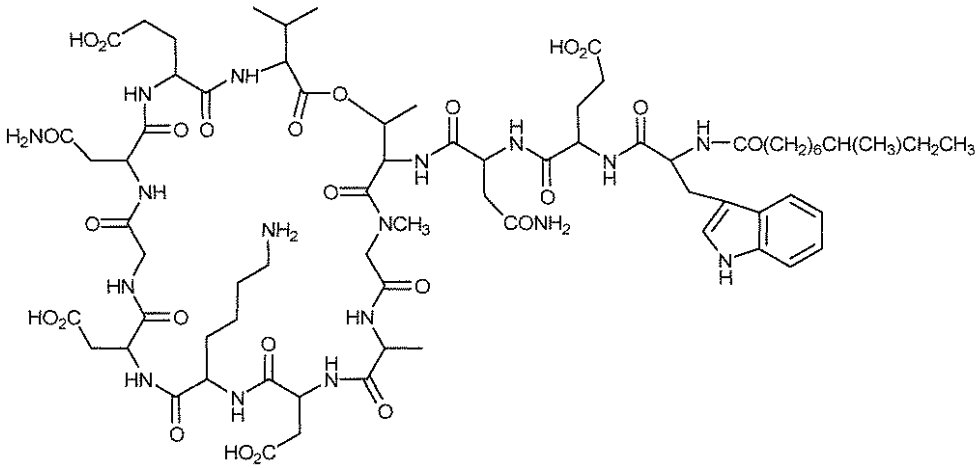
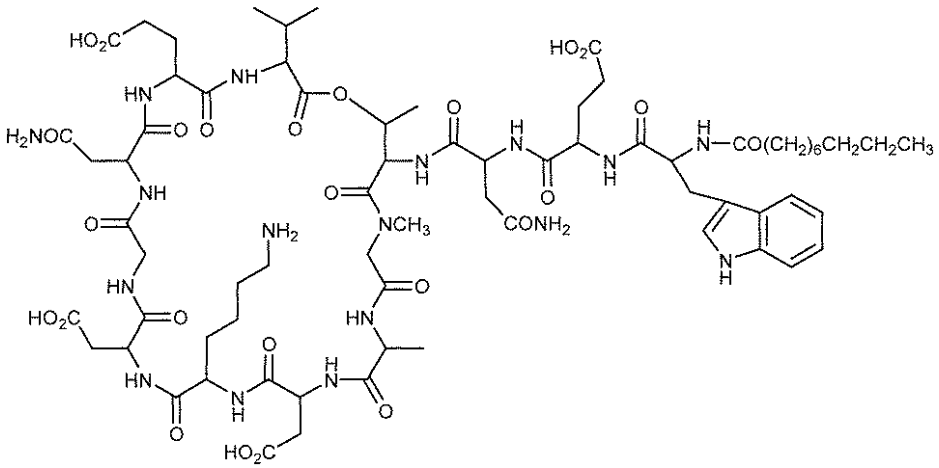
【表４４】

#	化合物
C128	
C129	
C130	

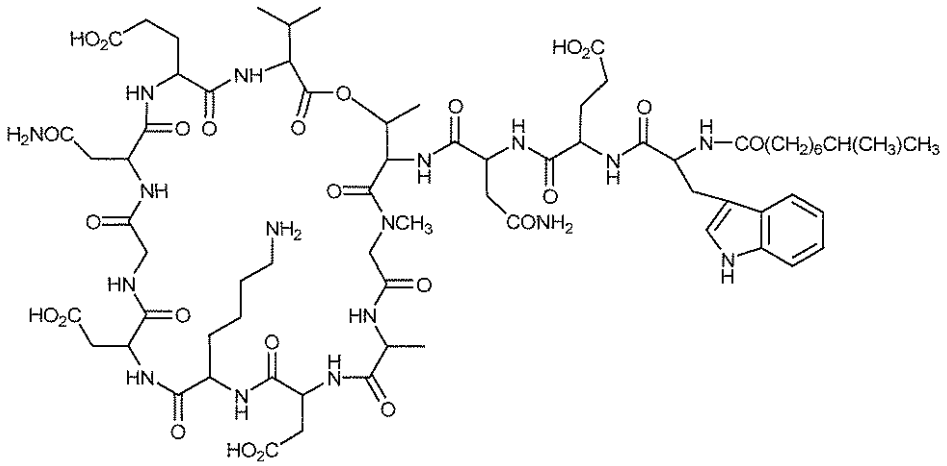
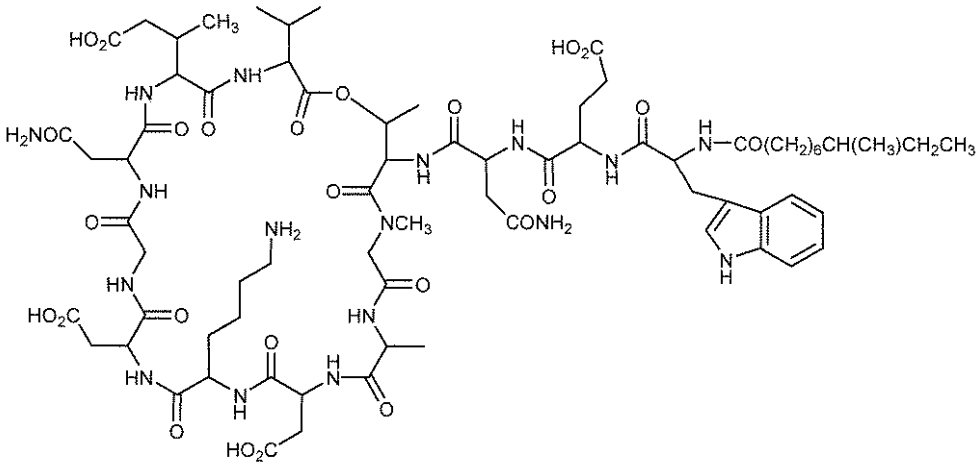
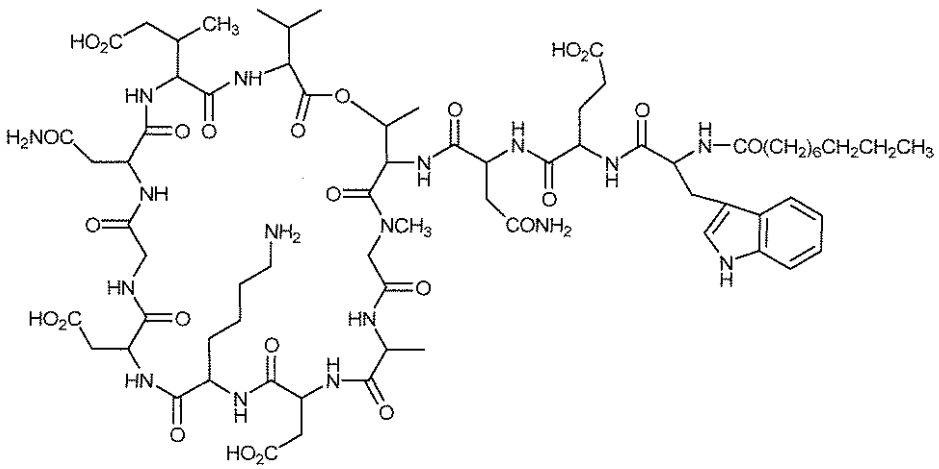
【表４５】

#	化合物
C131	
C132	
C133	

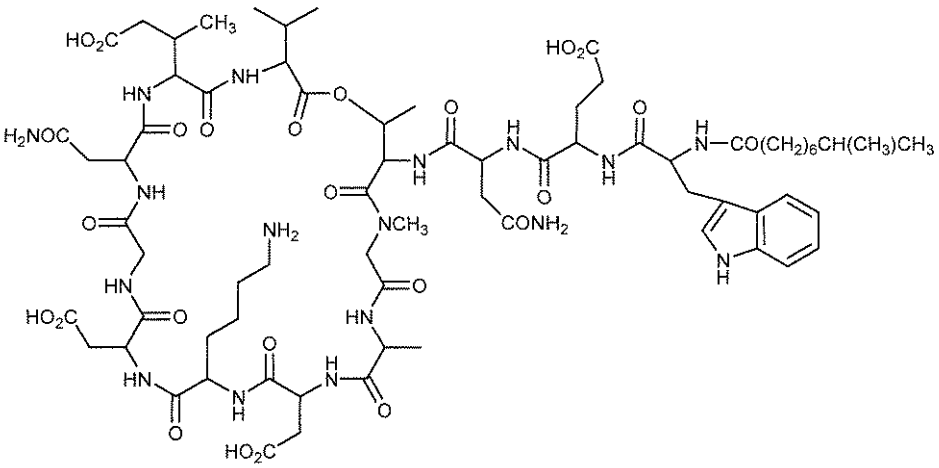
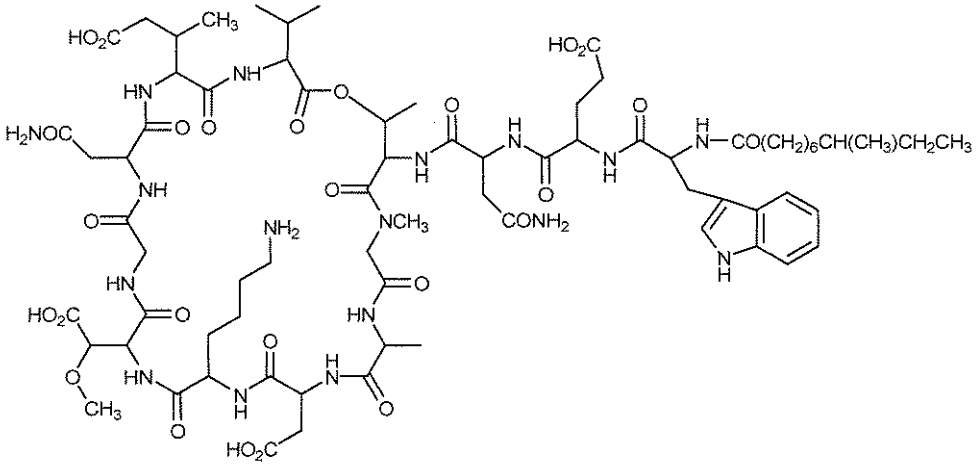
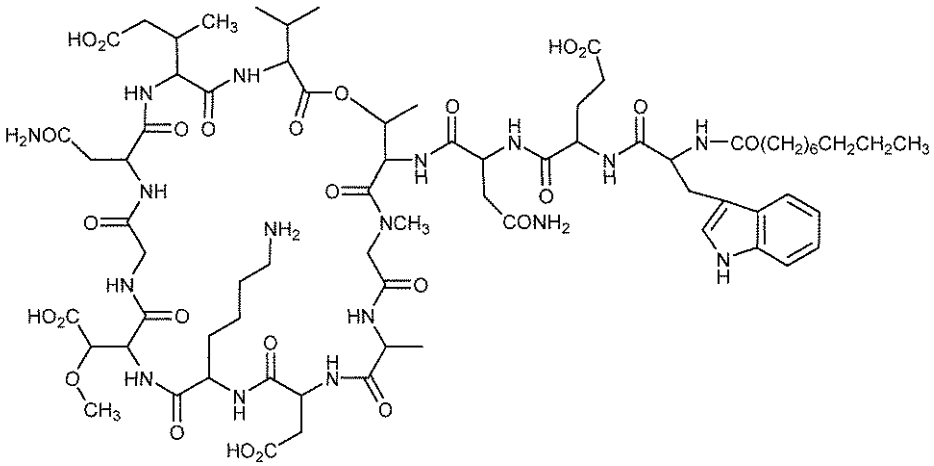
【表４６】

#	化合物
C134	
C135	
C136	

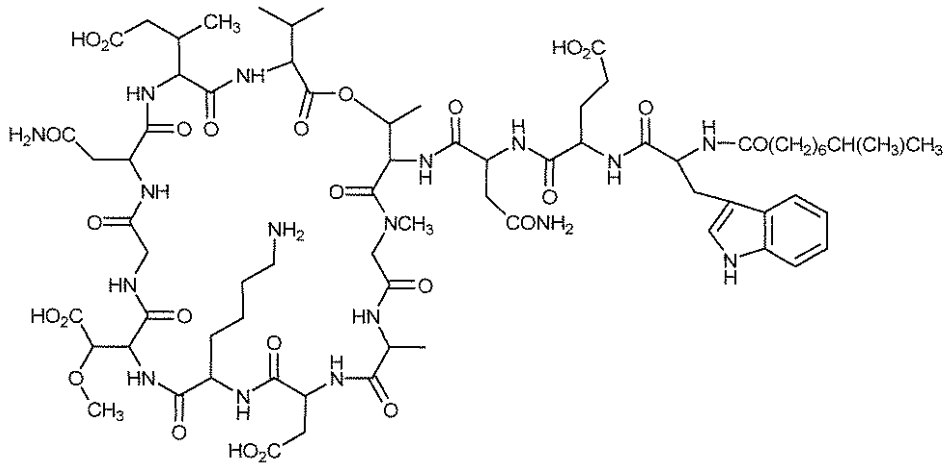
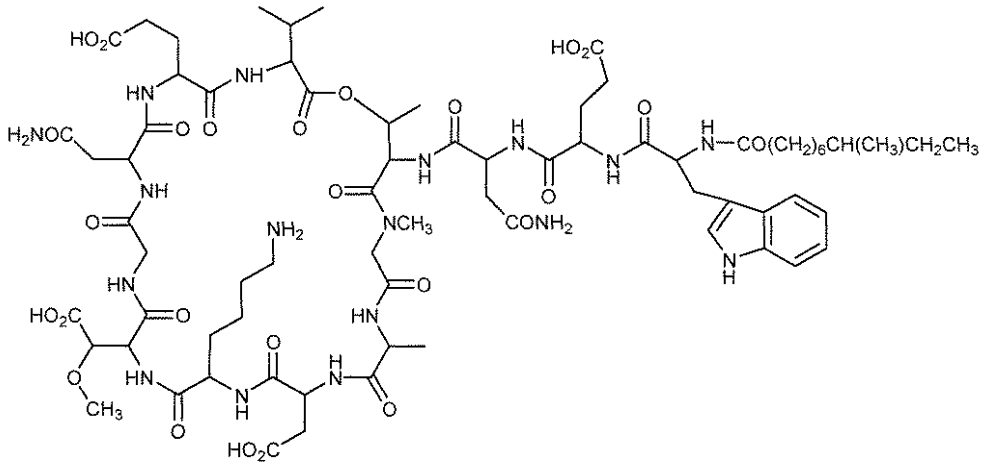
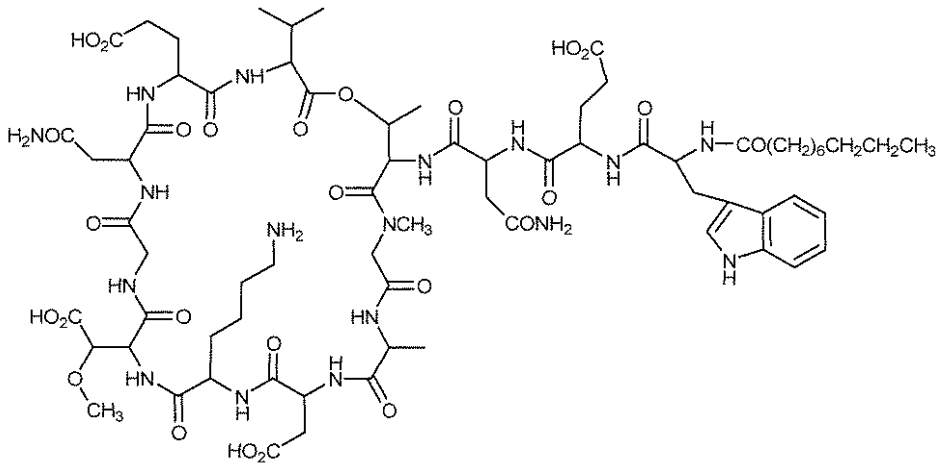
【表４７】

#	化合物
C137	
C138	
C139	

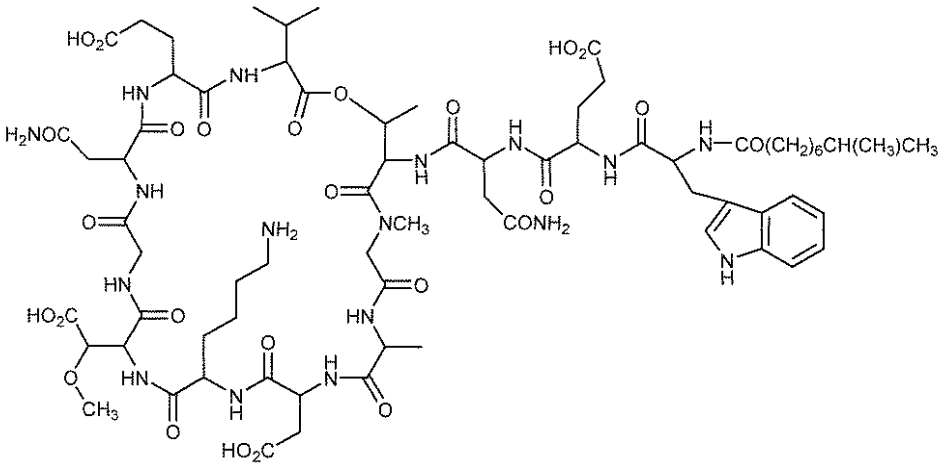
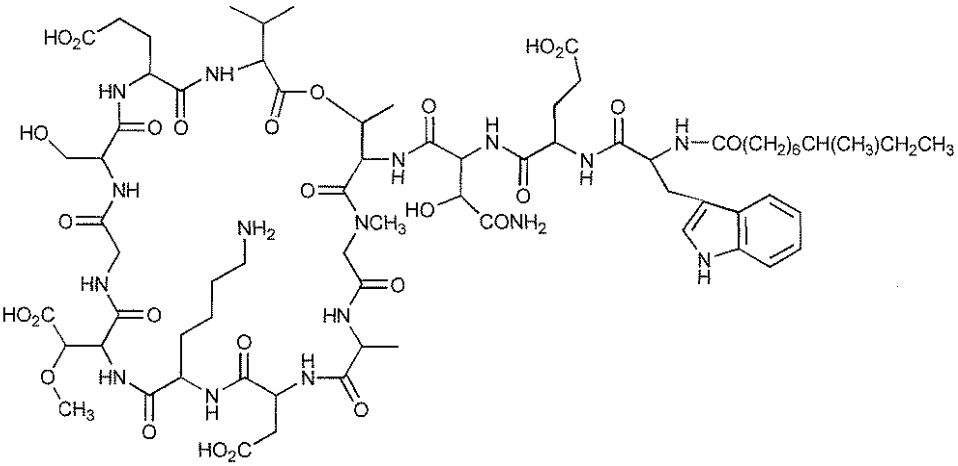
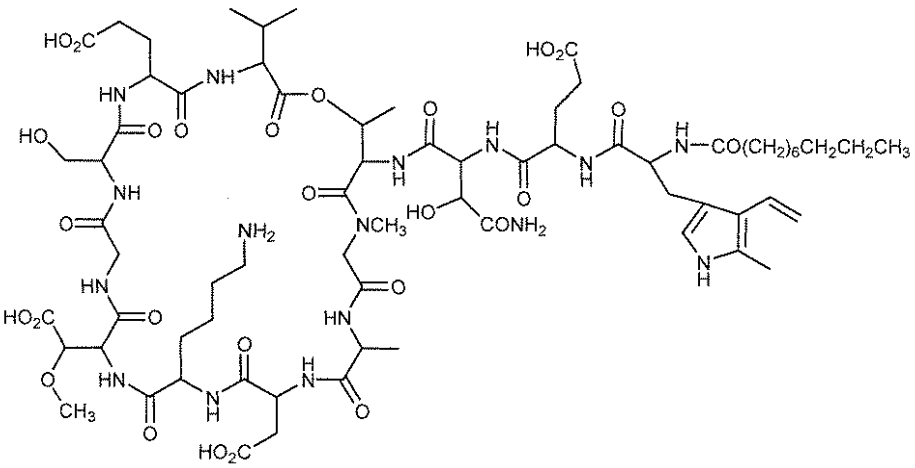
【表４８】

#	化合物
C140	
C141	
C142	

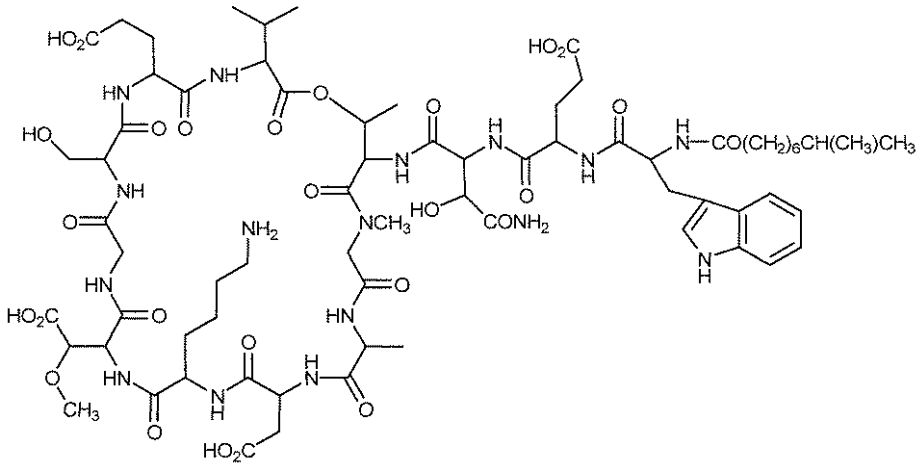
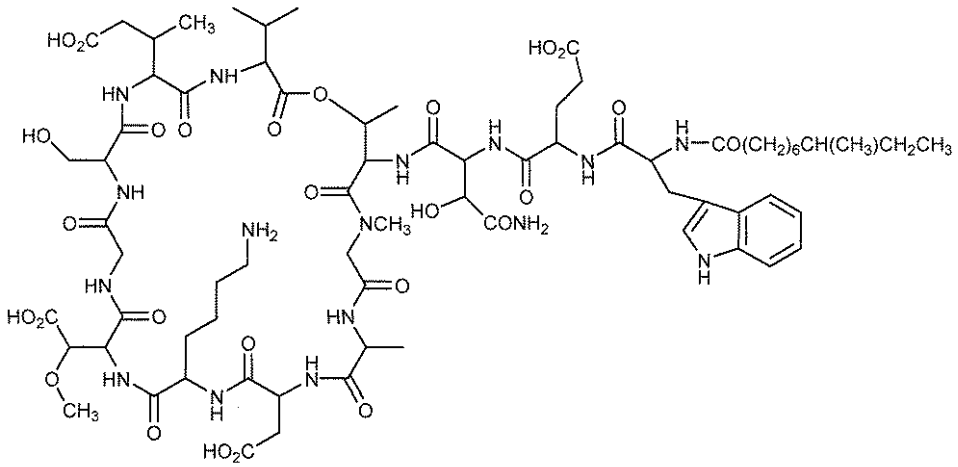
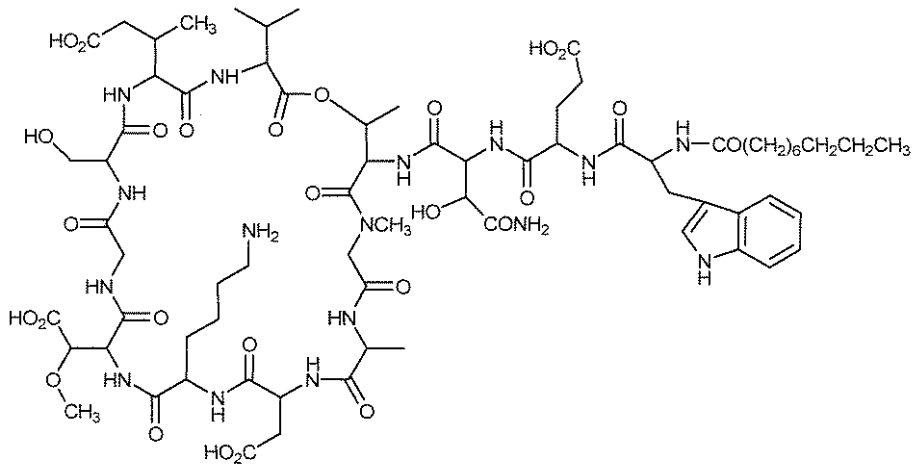
【表４９】

#	化合物
C143	
C144	
C145	

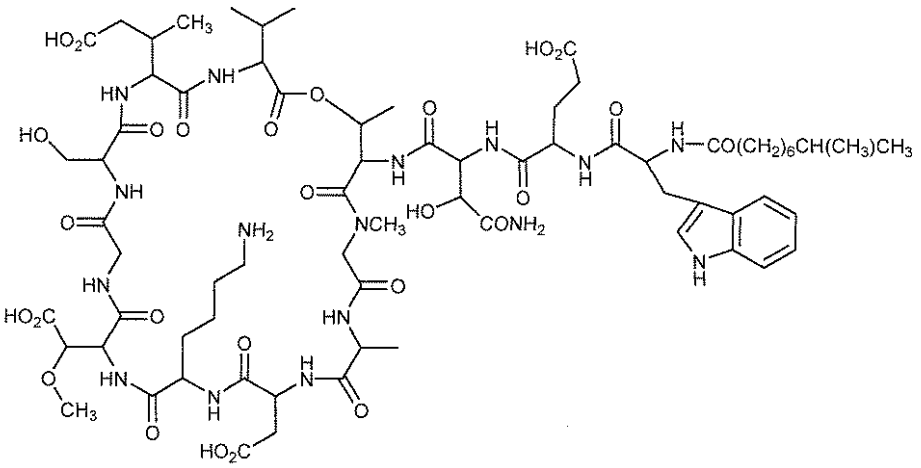
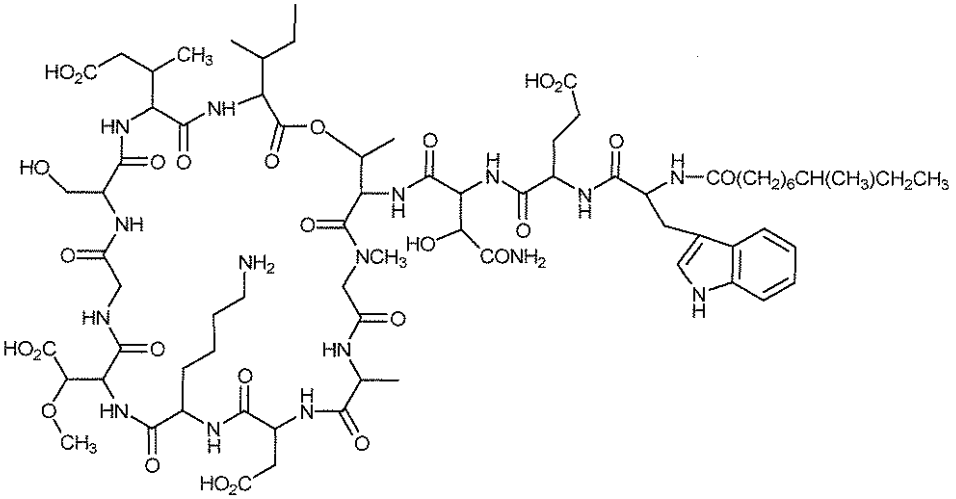
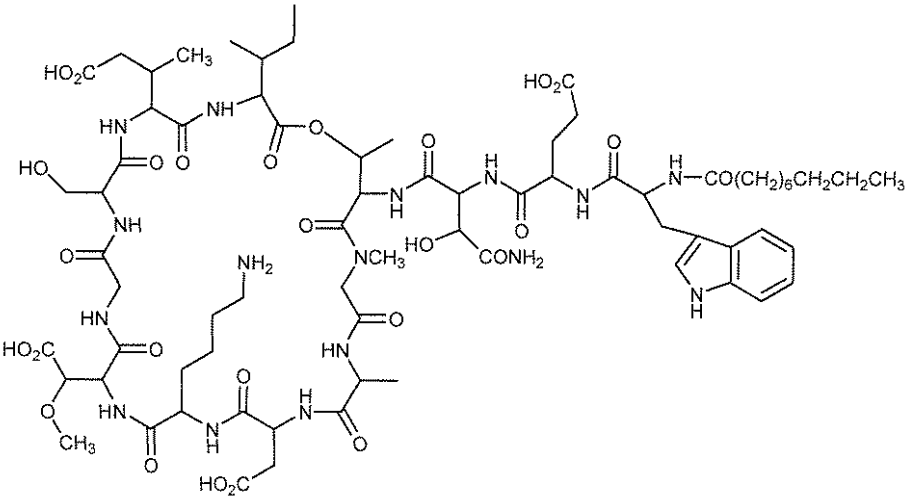
【表５０】

#	化合物
C146	
C147	
C148	

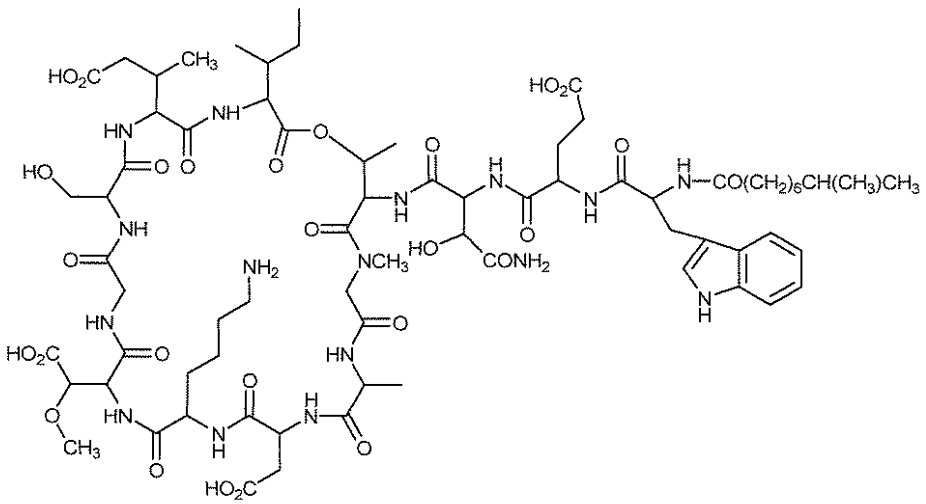
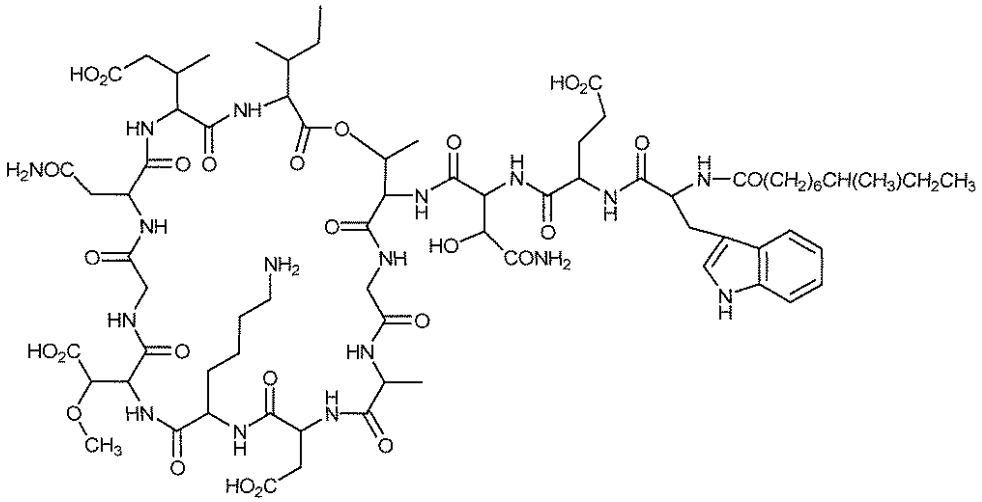
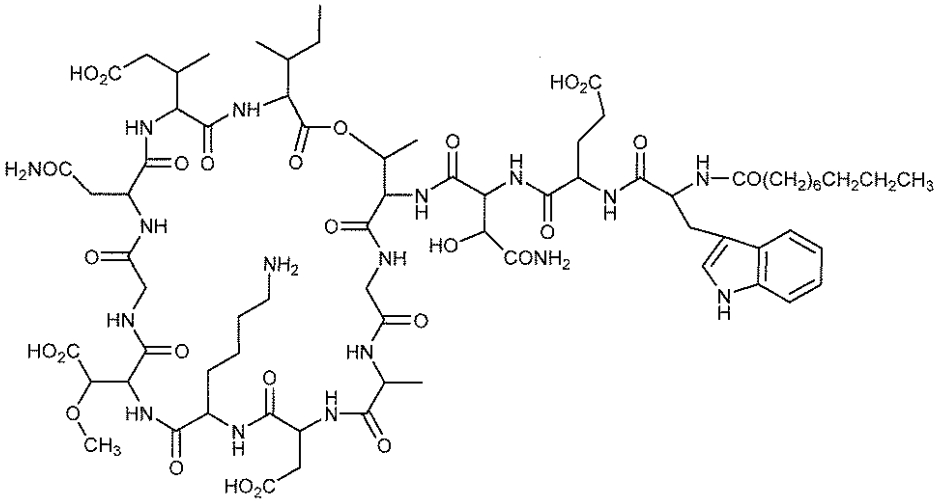
【表５１】

#	化合物
C149	
C150	
C151	

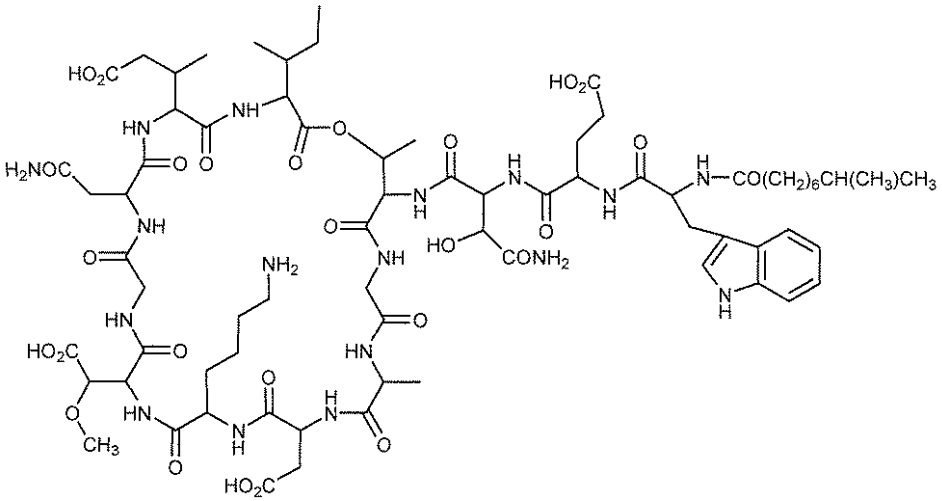
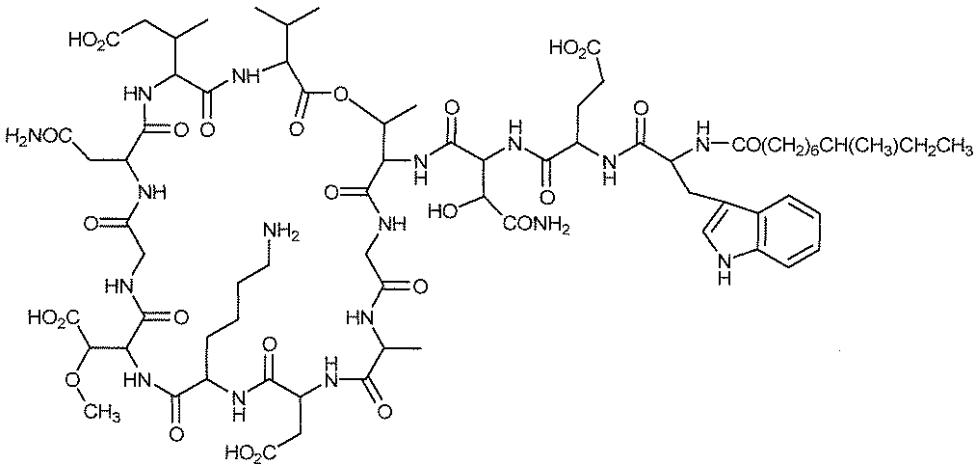
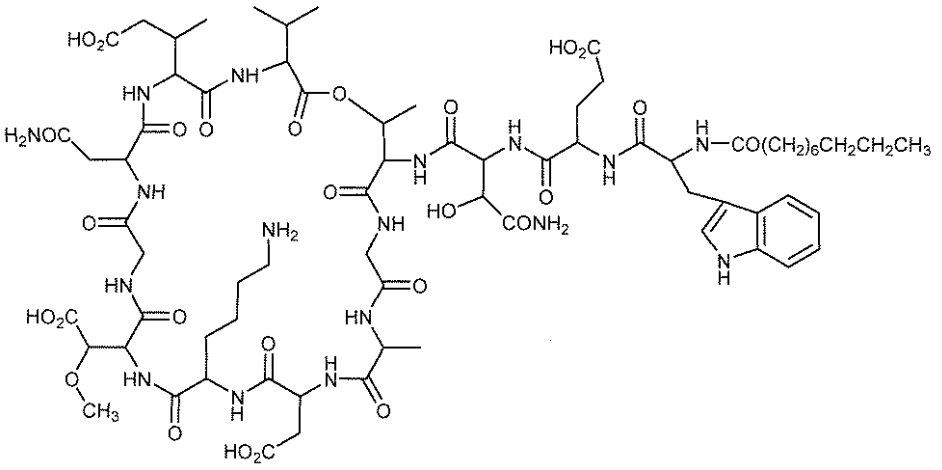
【表５２】

#	化合物
C152	
C153	
C154	

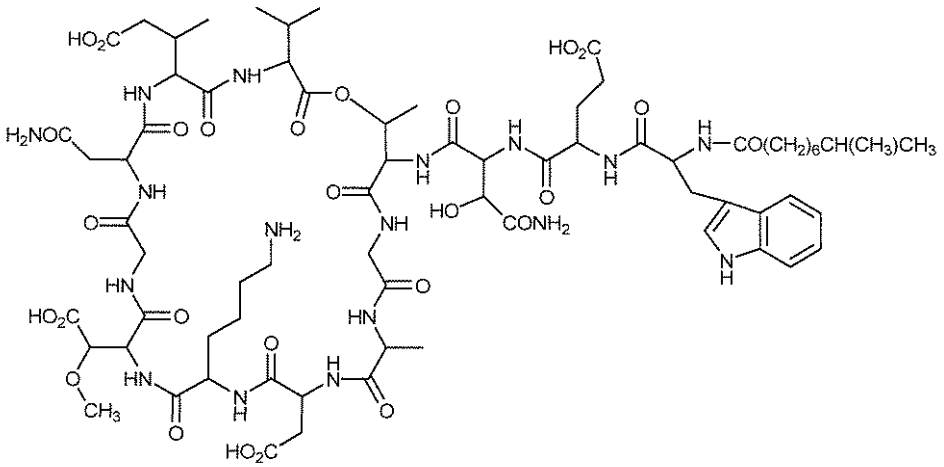
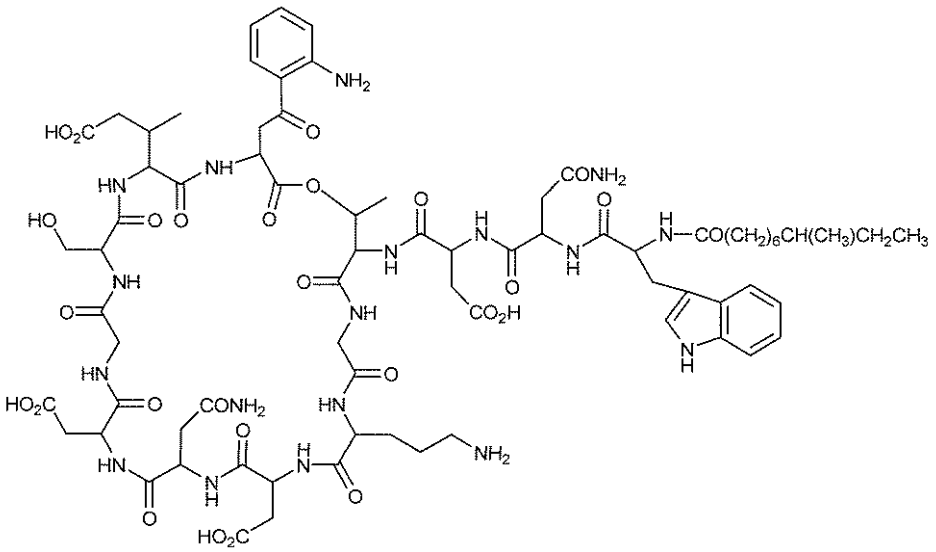
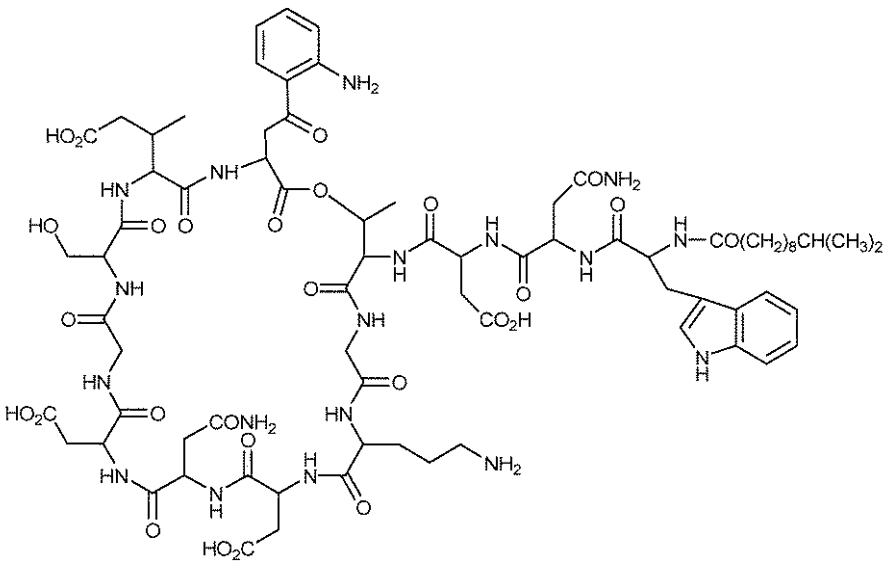
【表５３】

#	化合物
C155	
C180	
C181	

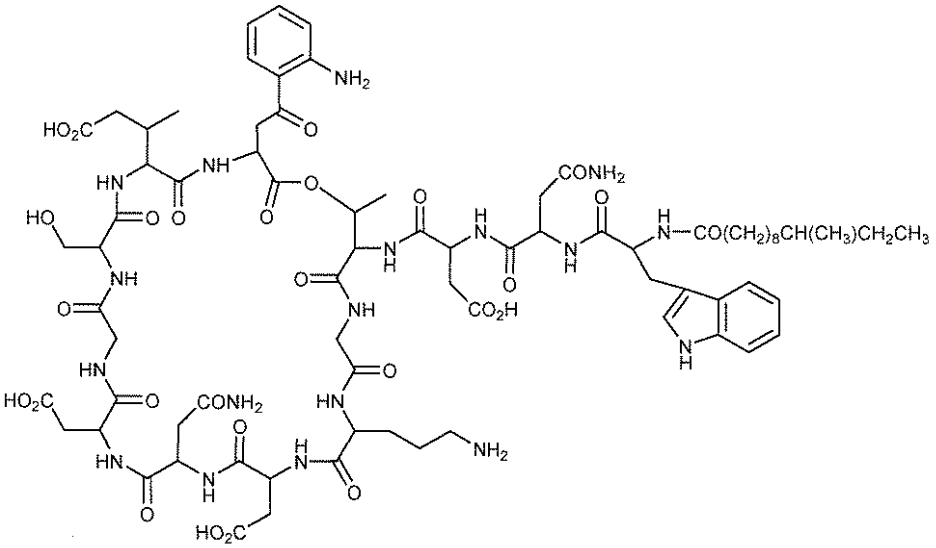
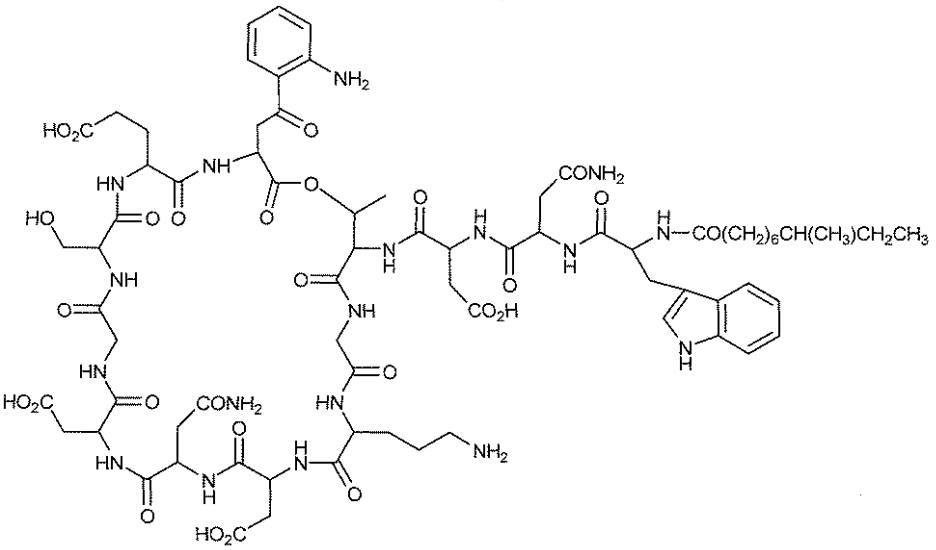
【表５４】

#	化合物
C182	
C183	
C184	

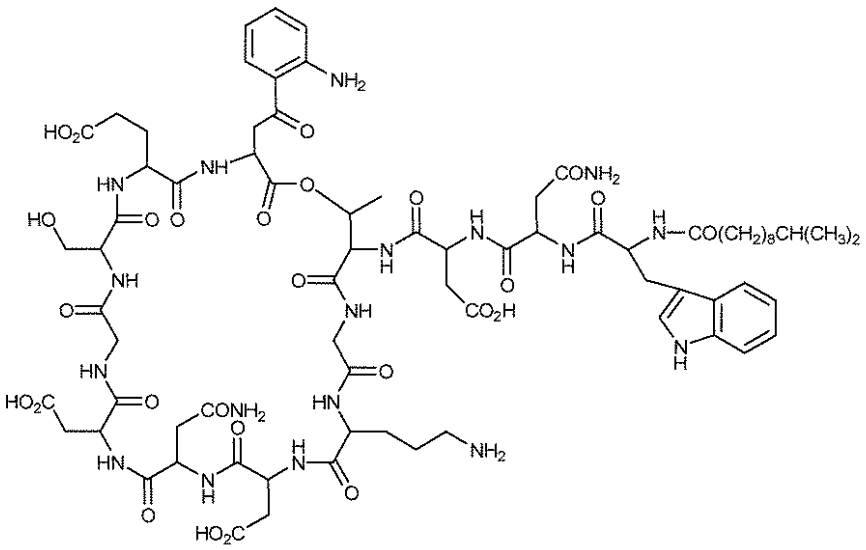
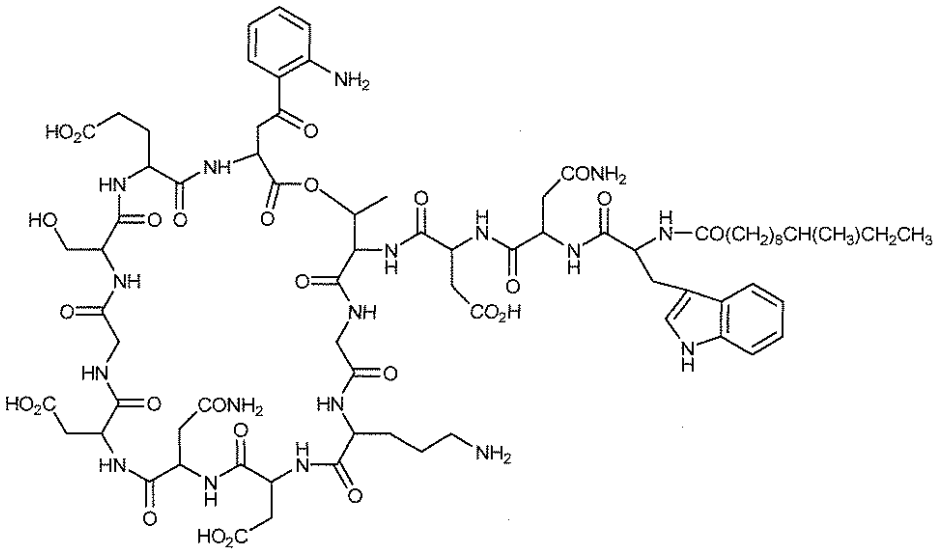
【表５５】

#	化合物
C185	
C189	
C190	

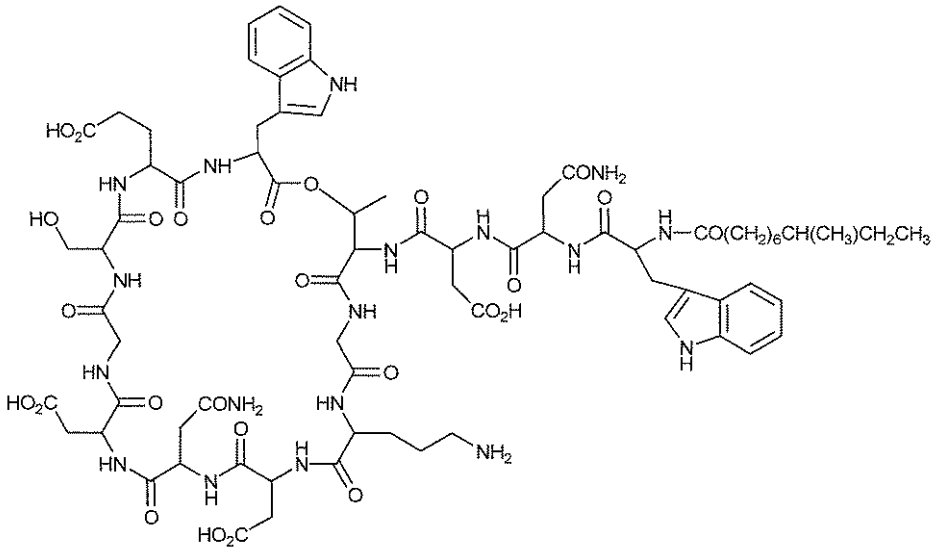
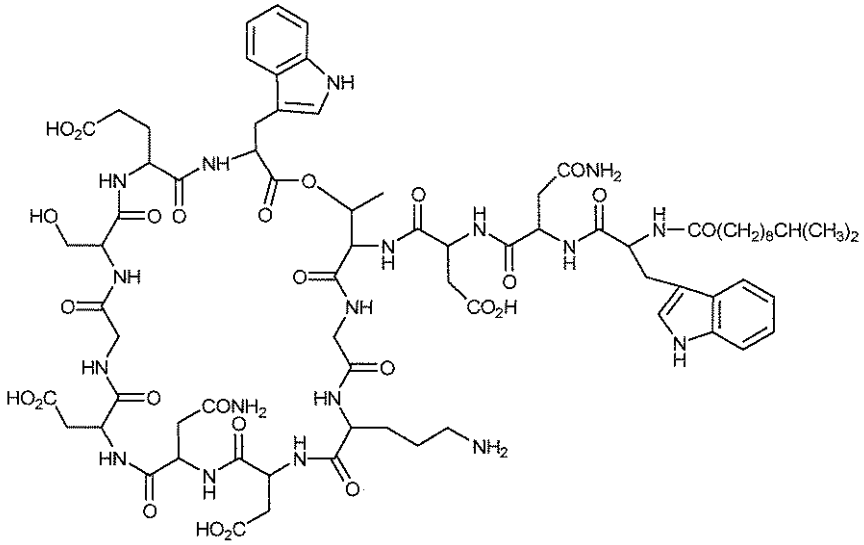
【表５６】

#	化合物
C191	
C192	

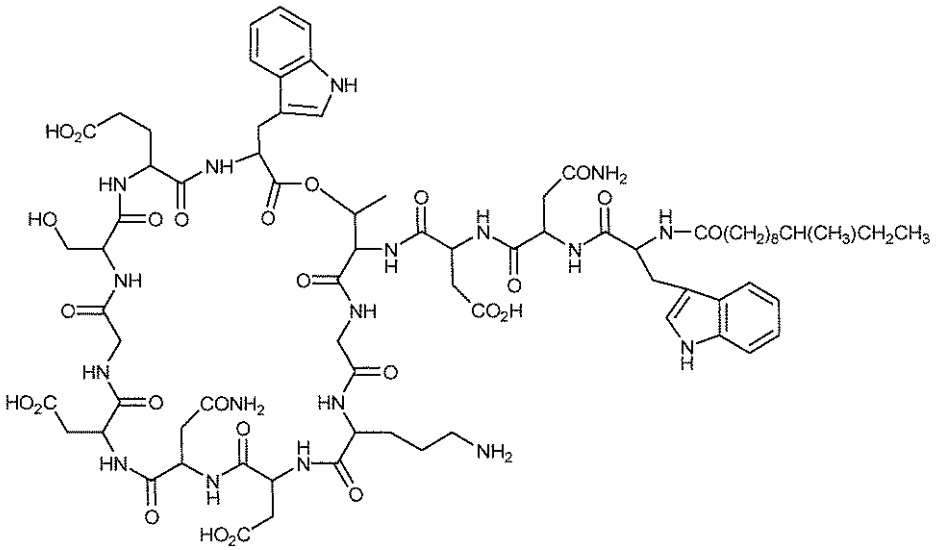
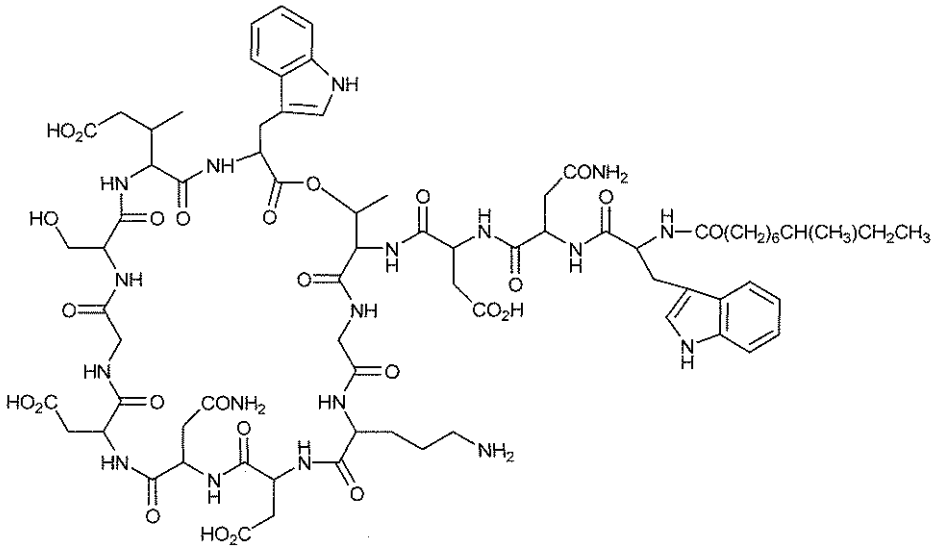
【表５７】

#	化合物
C193	
C194	

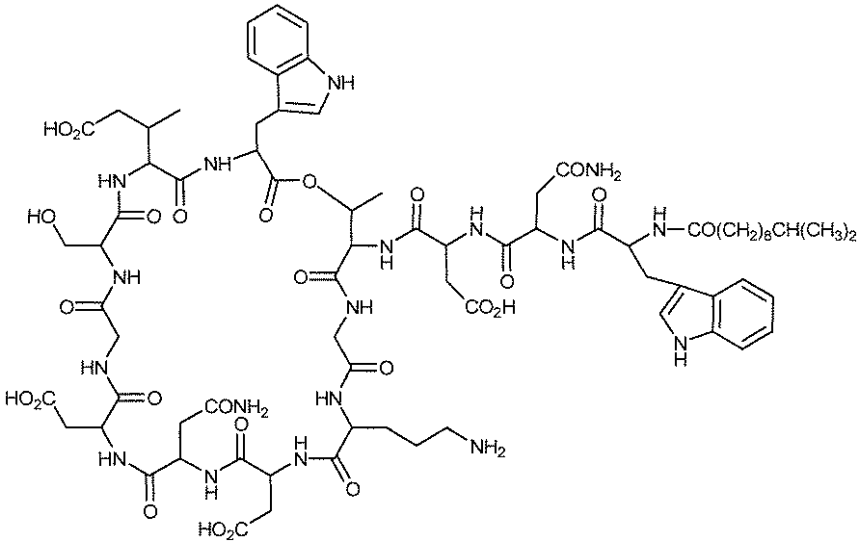
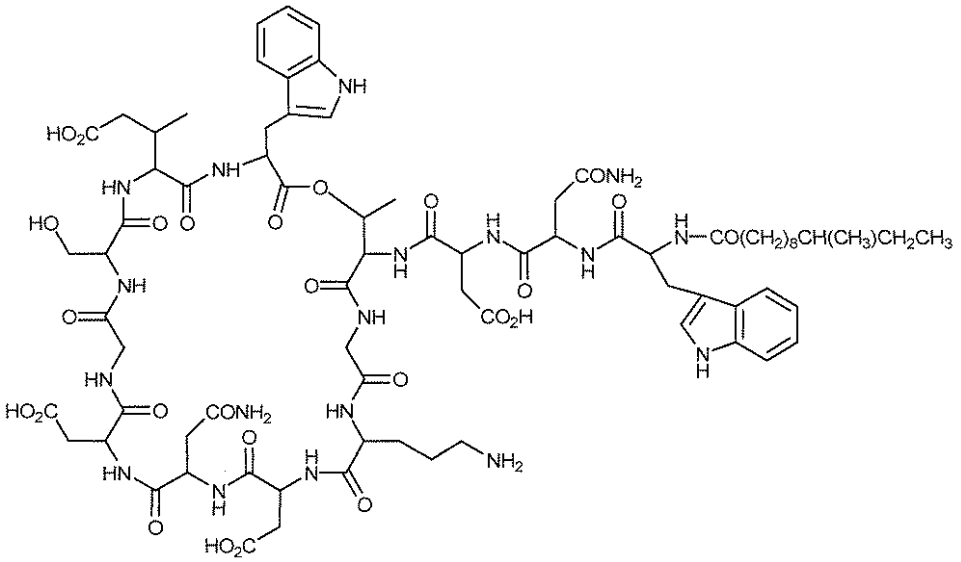
【表５８】

#	化合物
C195	
C196	

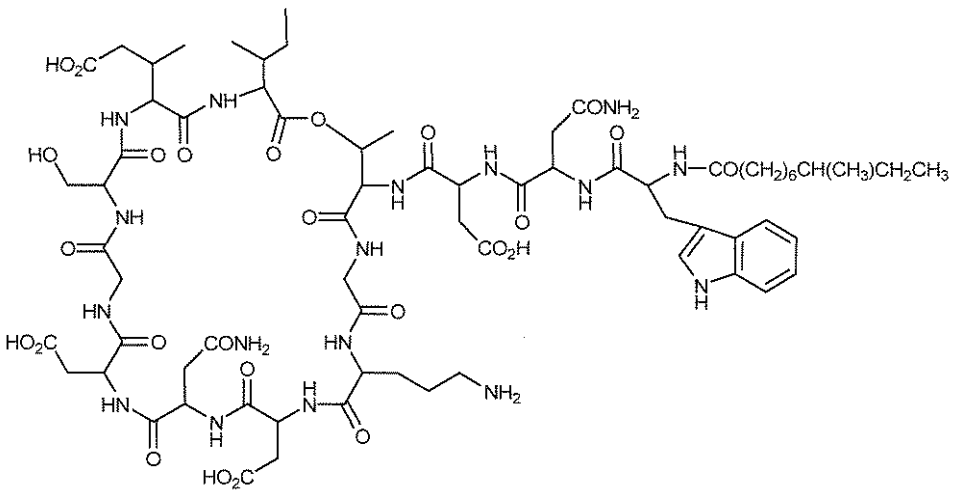
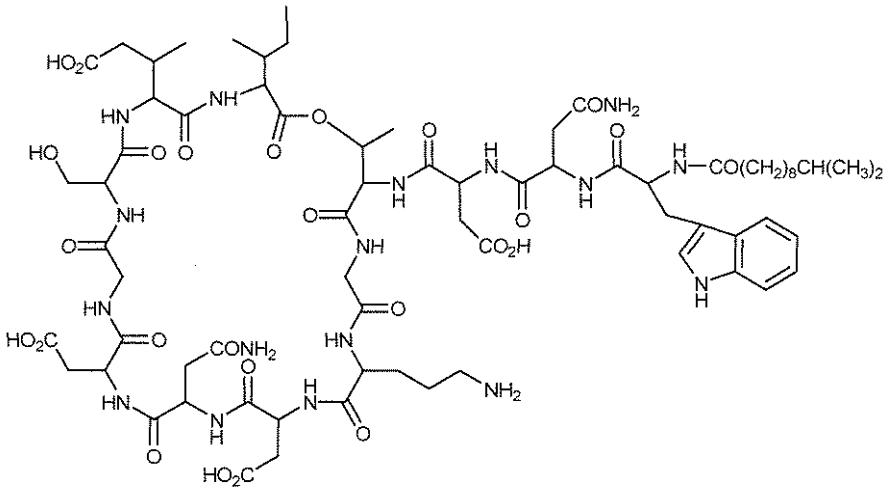
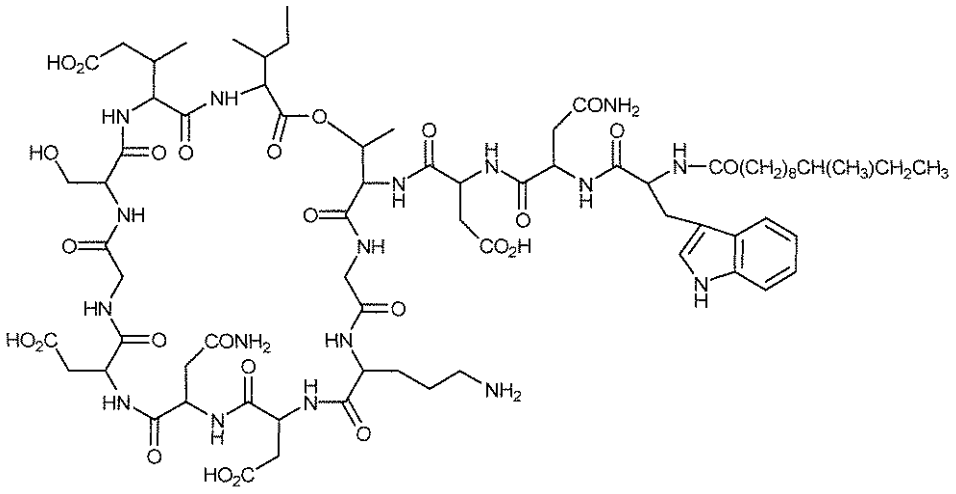
【表５９】

#	化合物
C197	
C198	

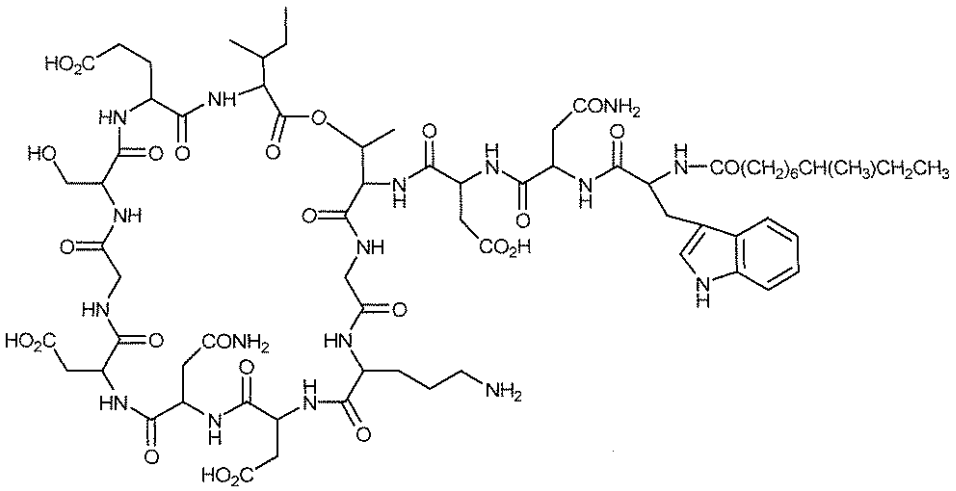
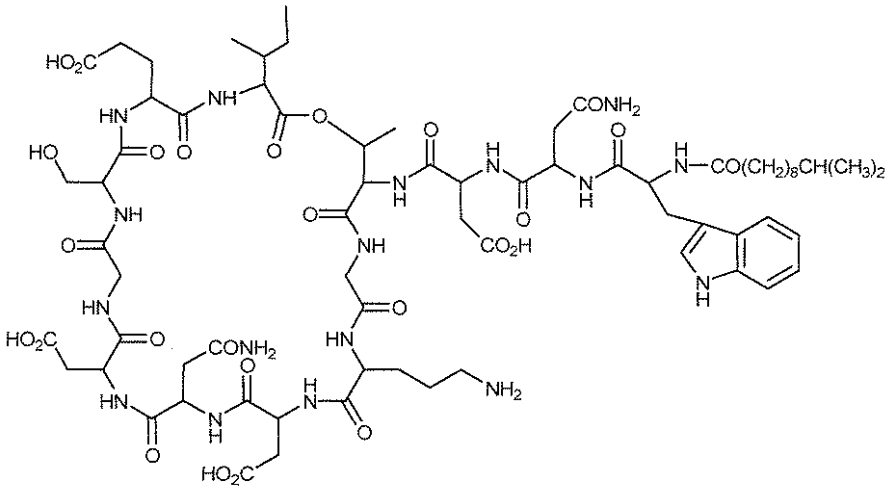
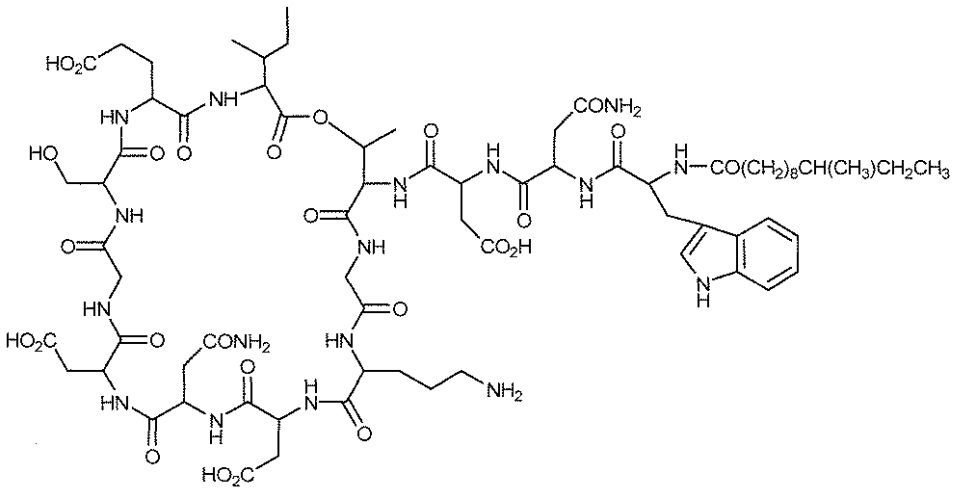
【表６０】

#	化合物
C199	
C200	

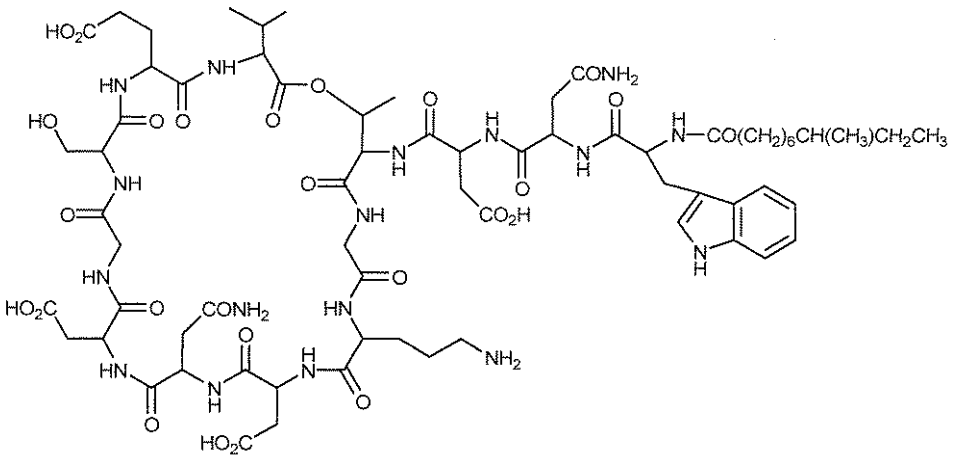
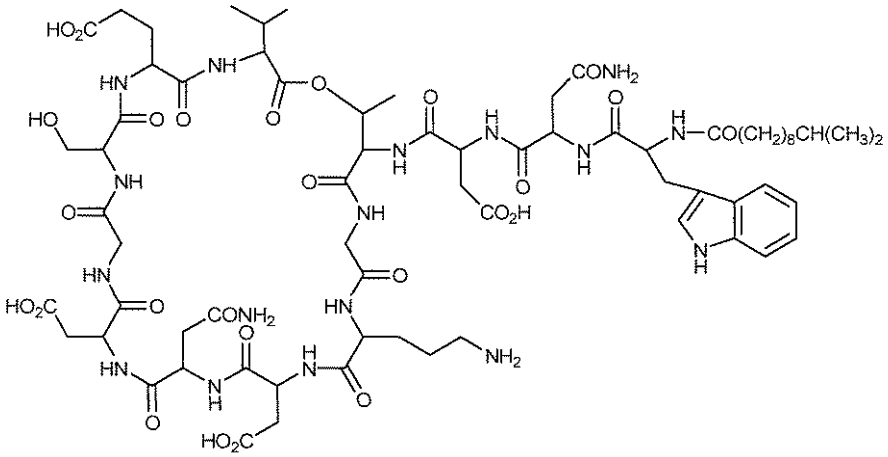
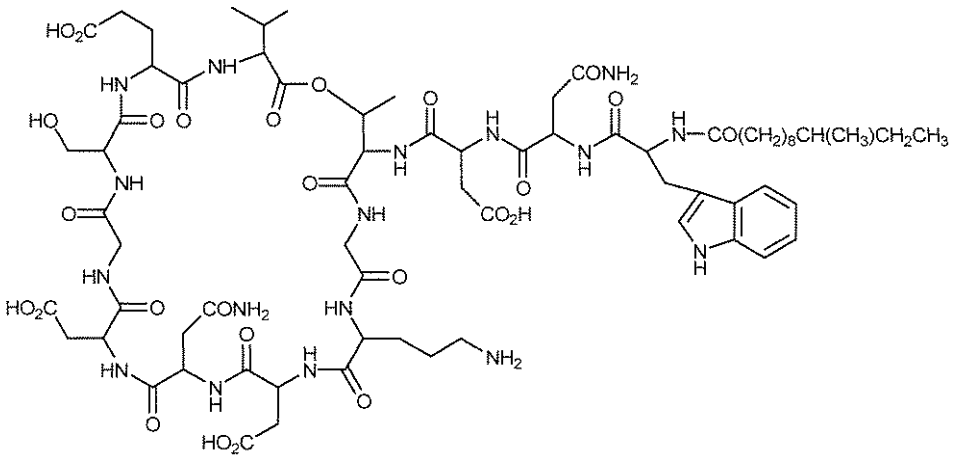
【表６１】

#	化合物
C201	
C202	
C203	

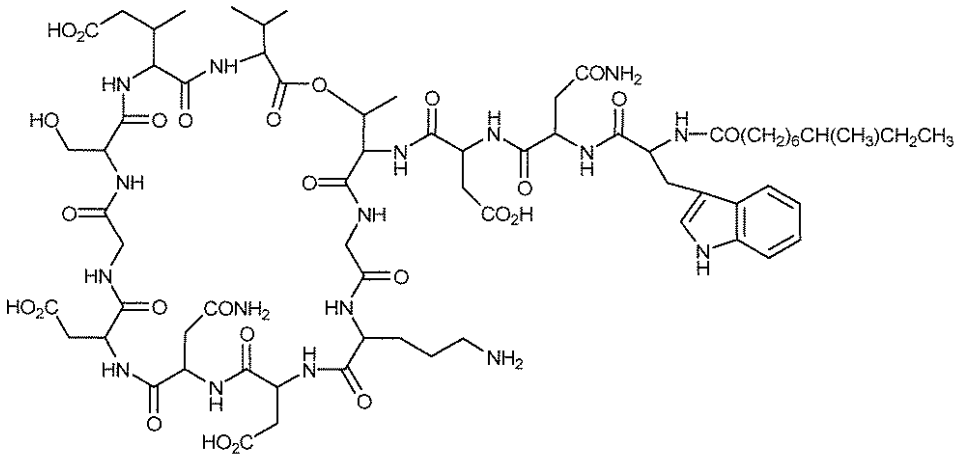
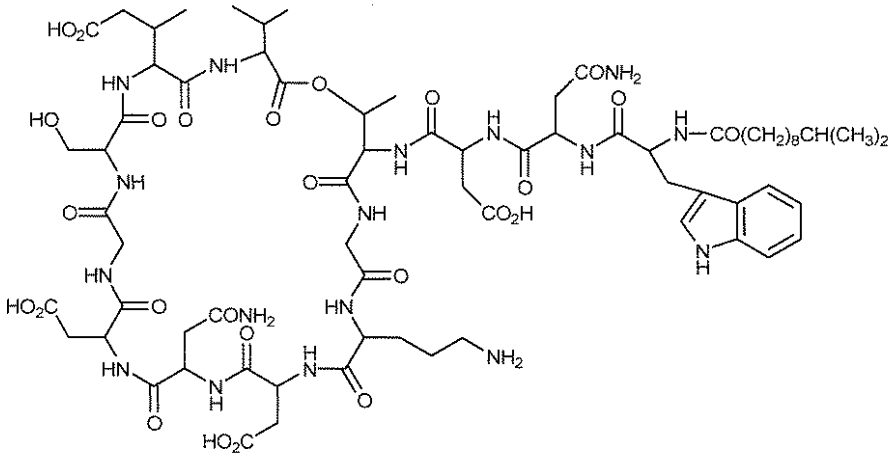
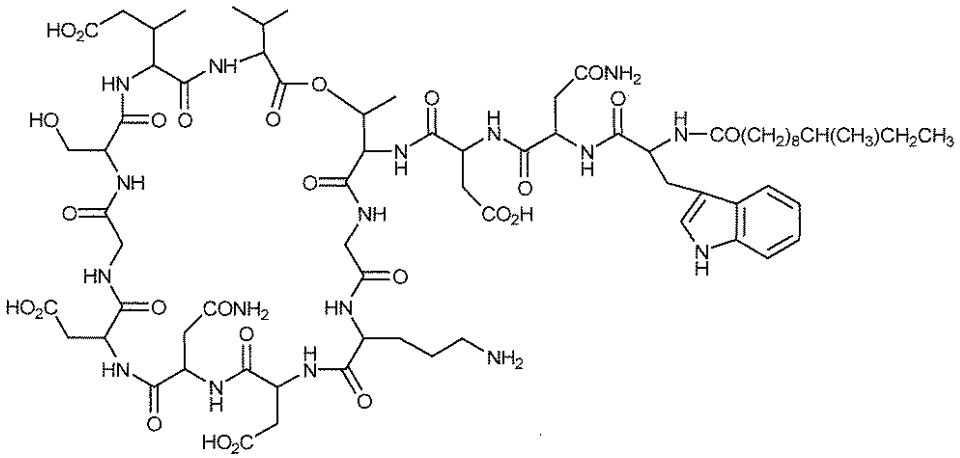
【表６２】

#	化合物
C204	
C205	
C206	

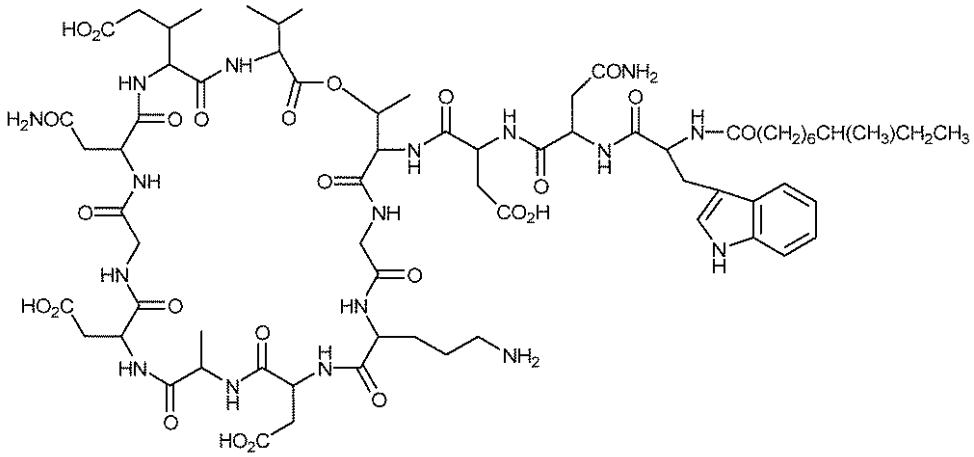
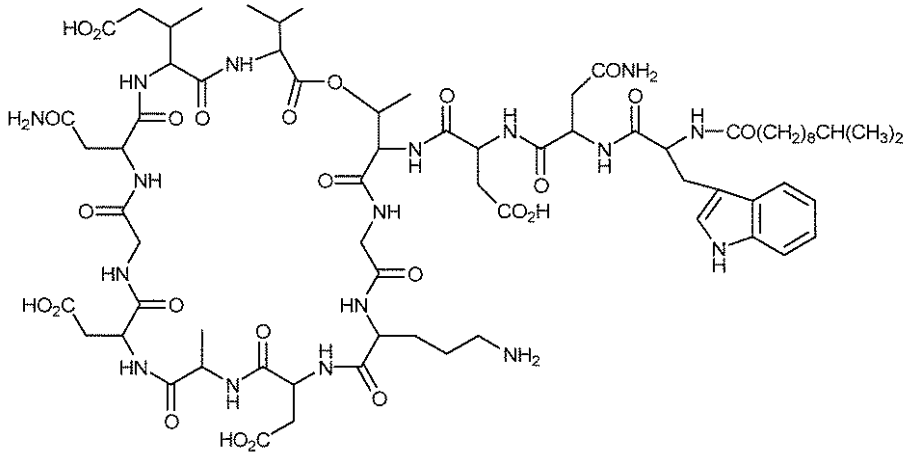
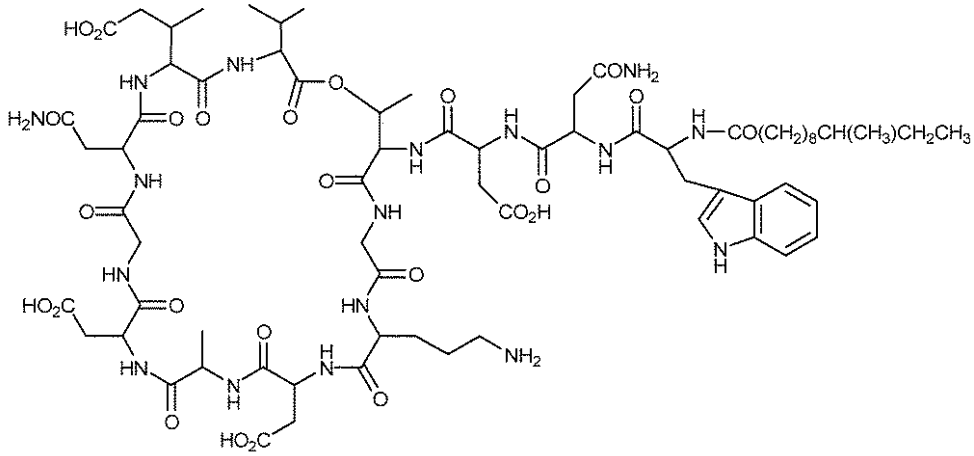
【表６３】

#	化合物
C207	
C208	
C209	

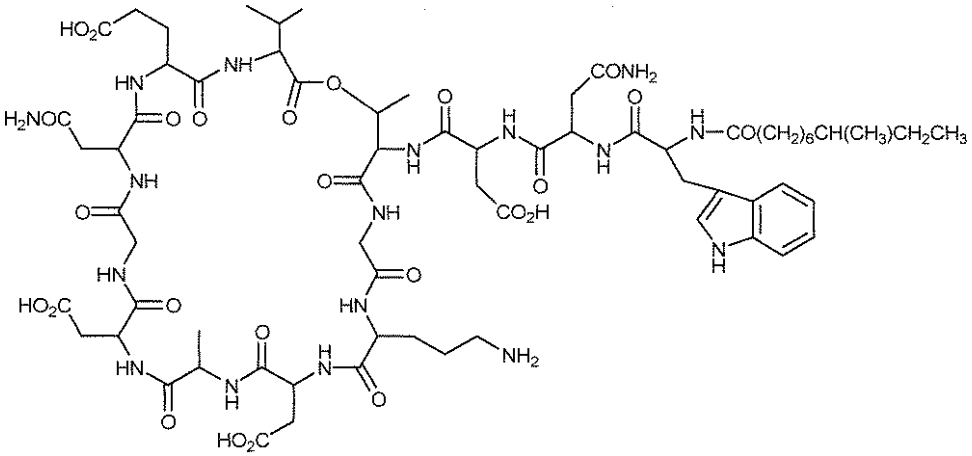
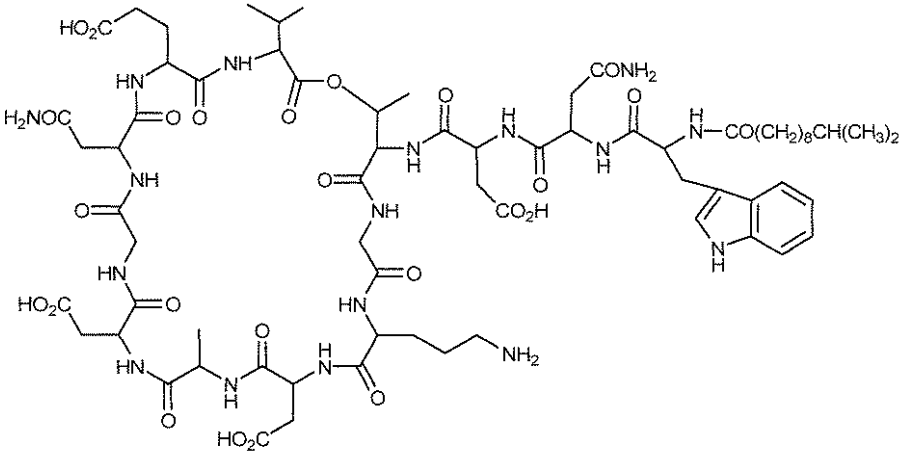
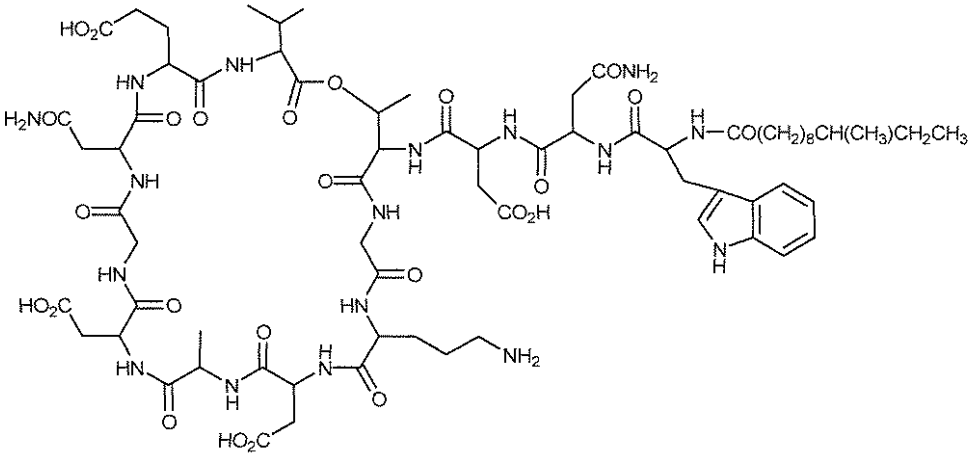
【表６４】

#	化合物
C210	
C211	
C212	

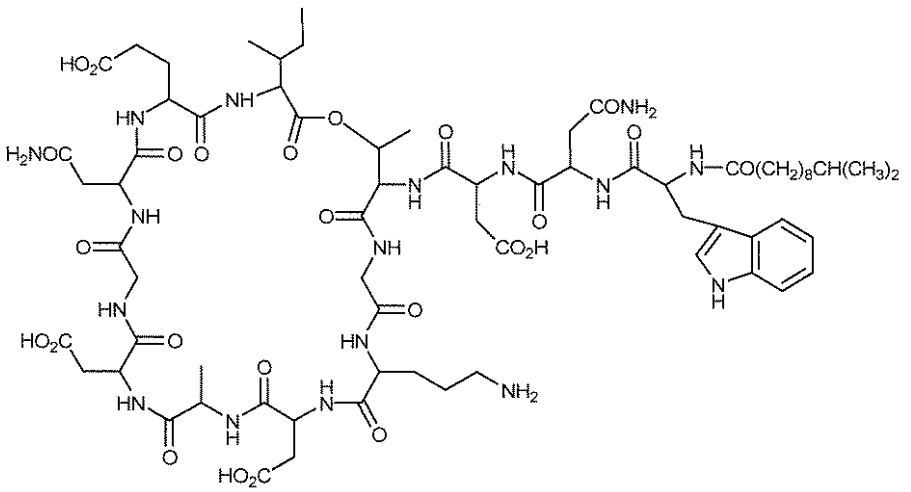
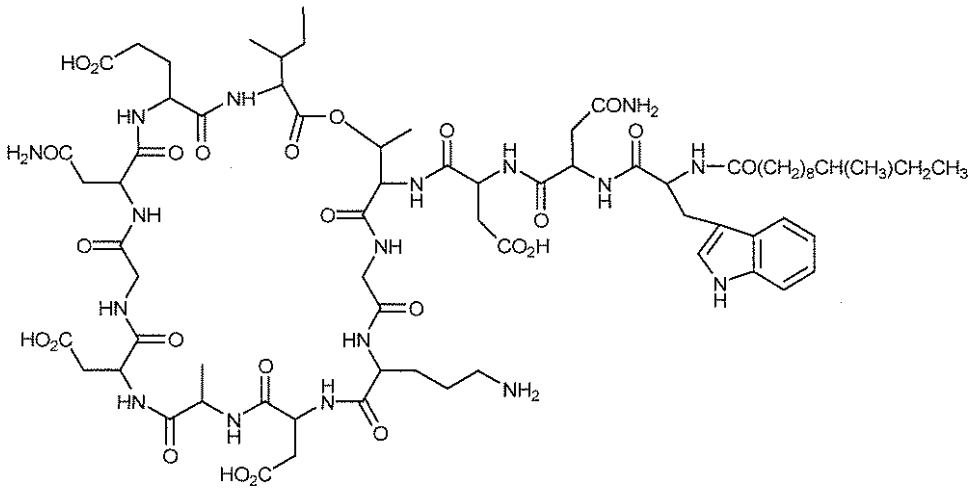
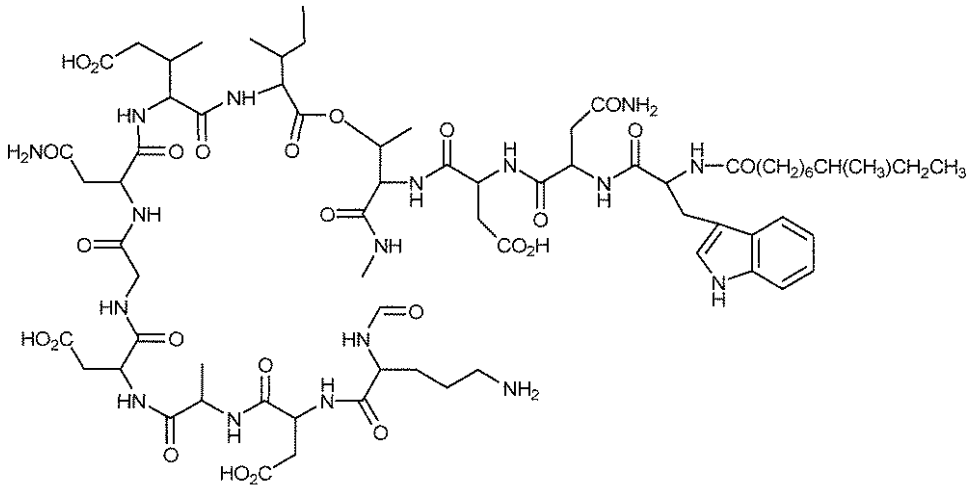
【表６５】

#	化合物
C213	
C214	
C215	

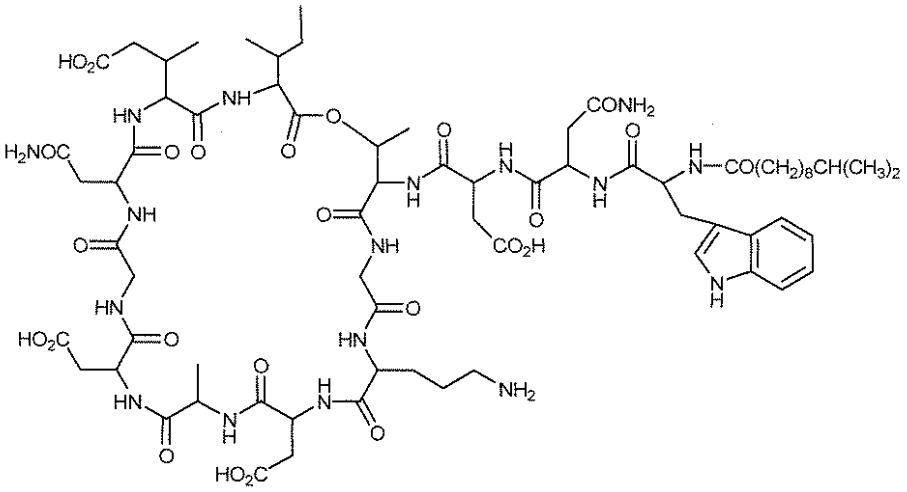
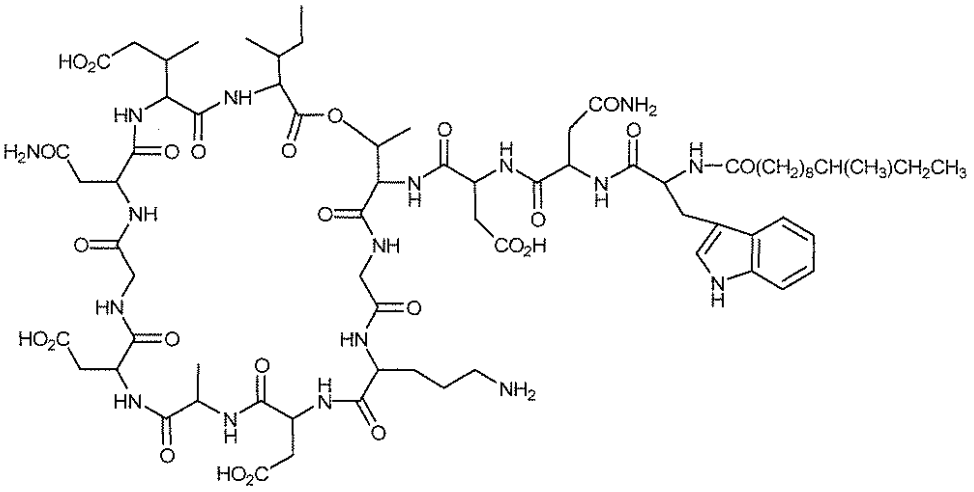
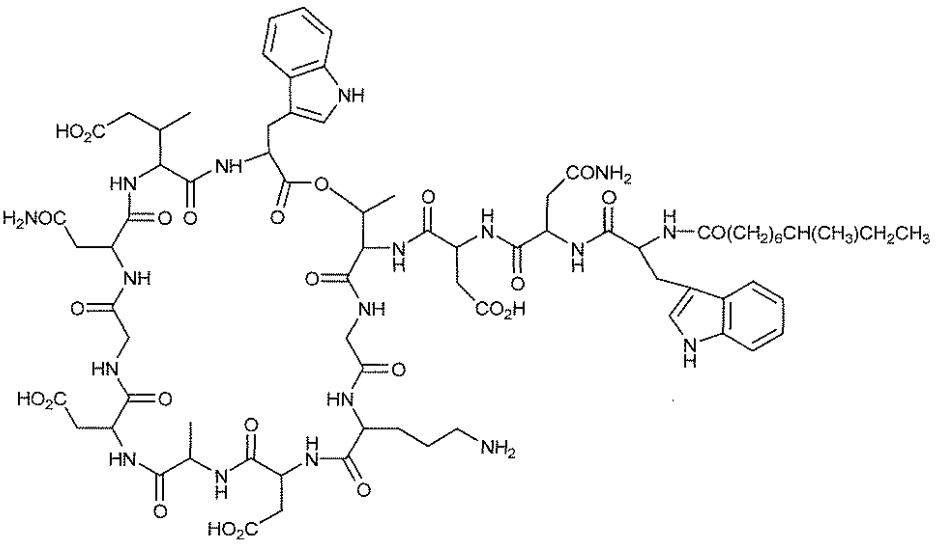
【表６６】

#	化合物
C216	
C217	
C218	

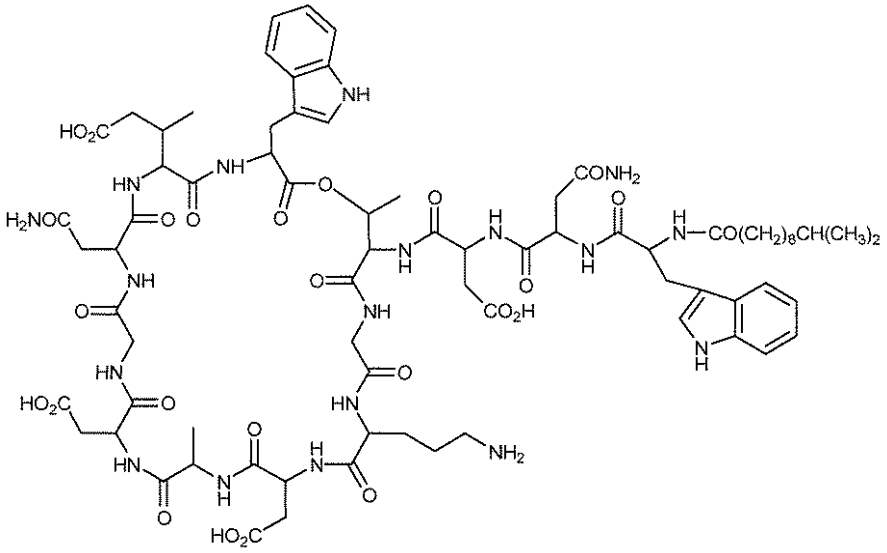
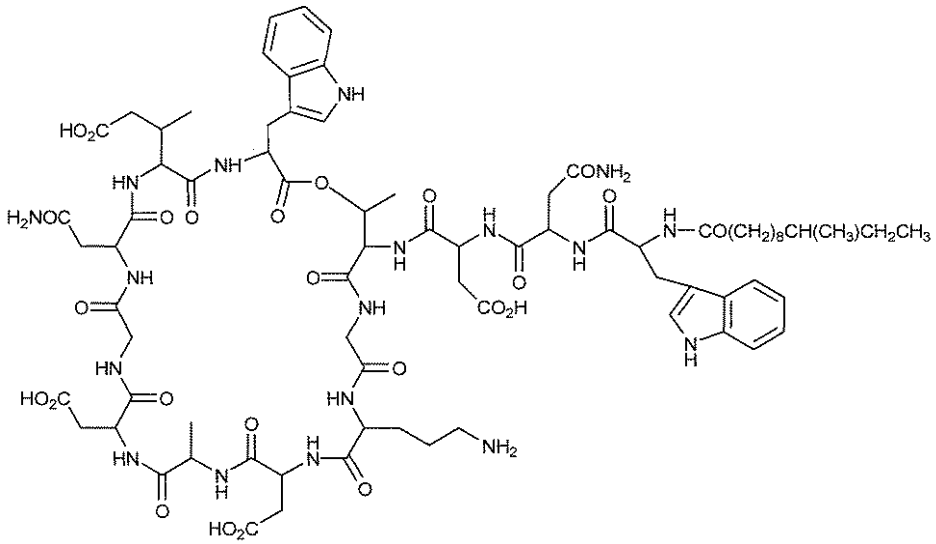
【表６７】

#	化合物
C219	
C220	
C221	

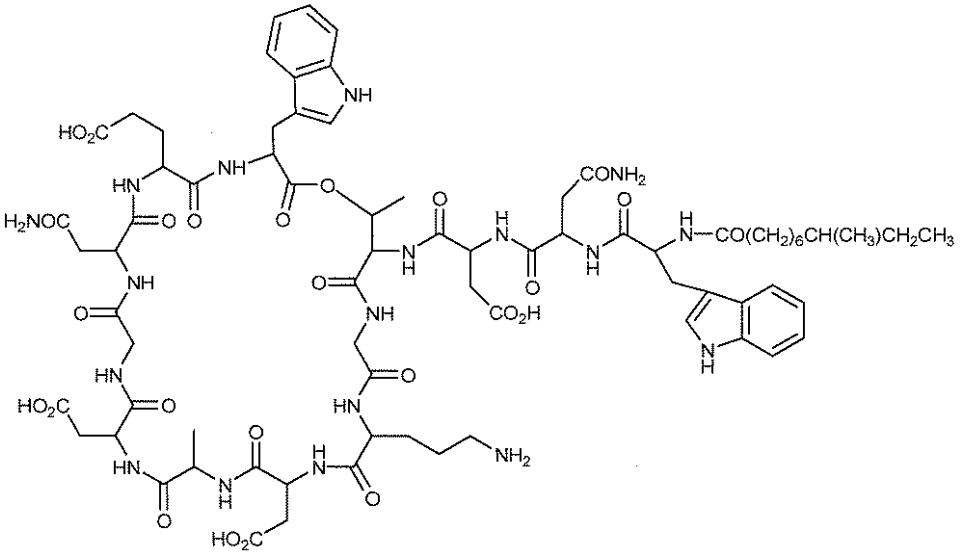
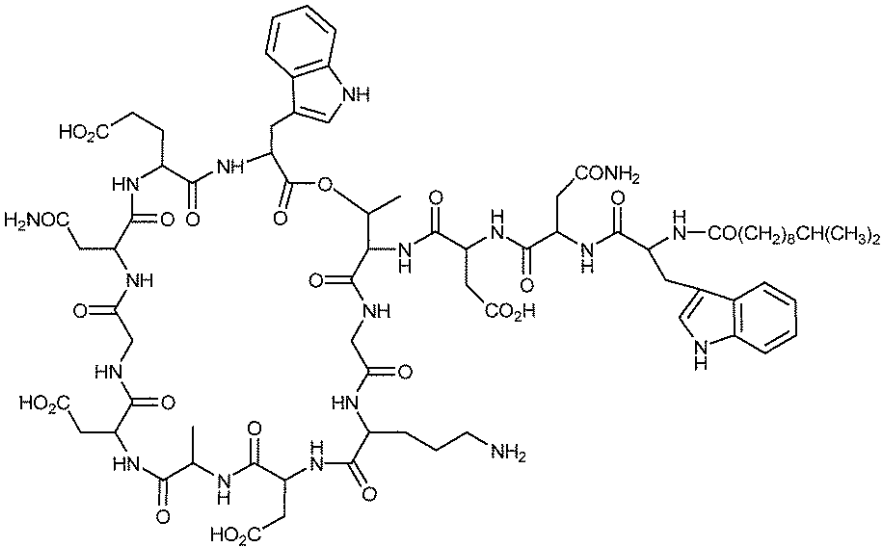
【表６８】

#	化合物
C222	
C223	
C224	

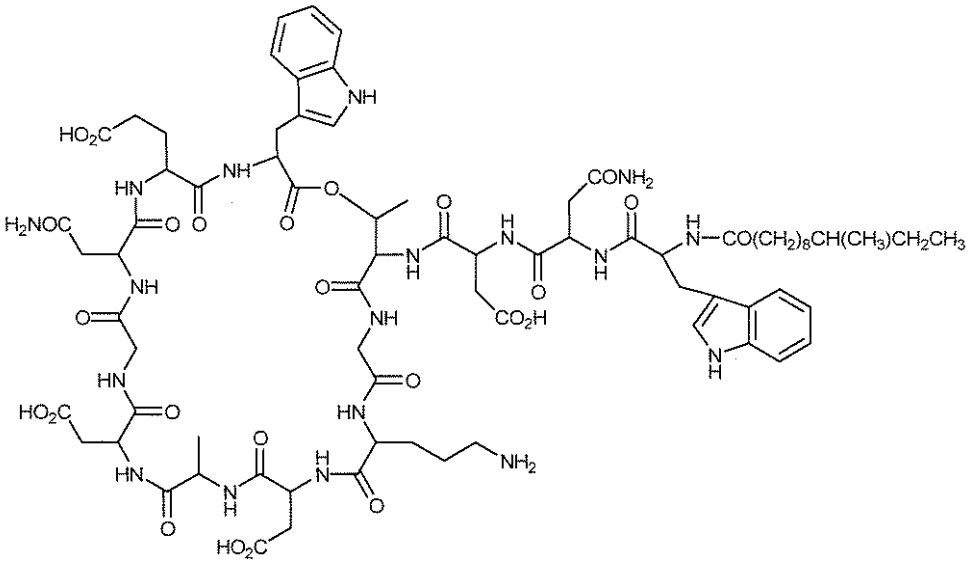
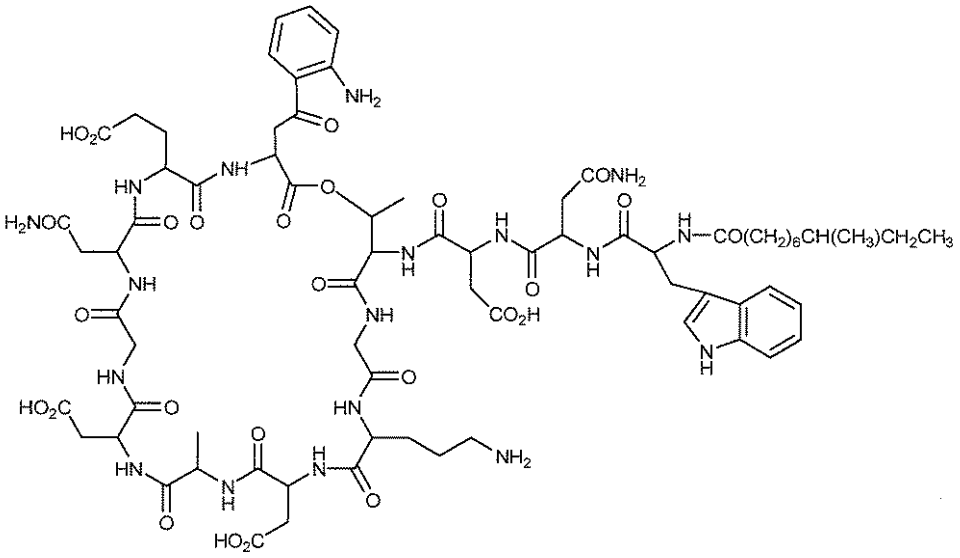
【表６９】

#	化合物
C225	
C226	

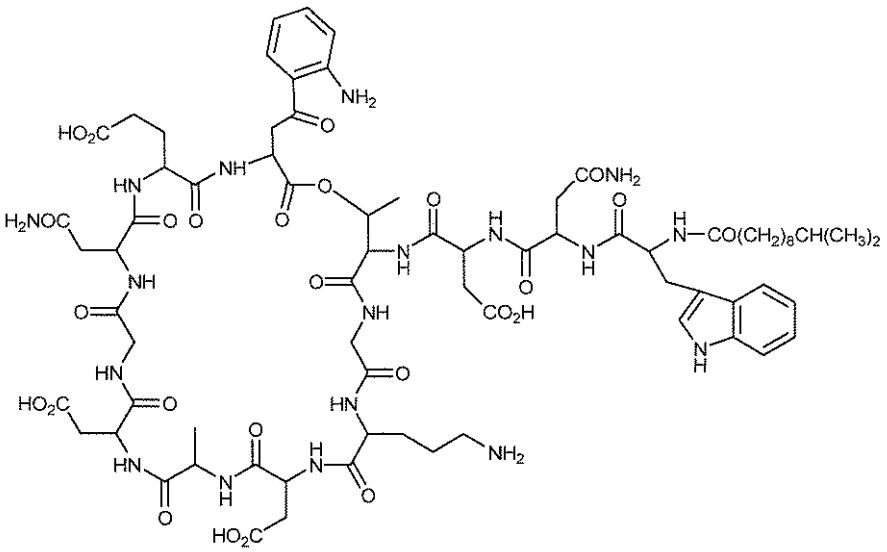
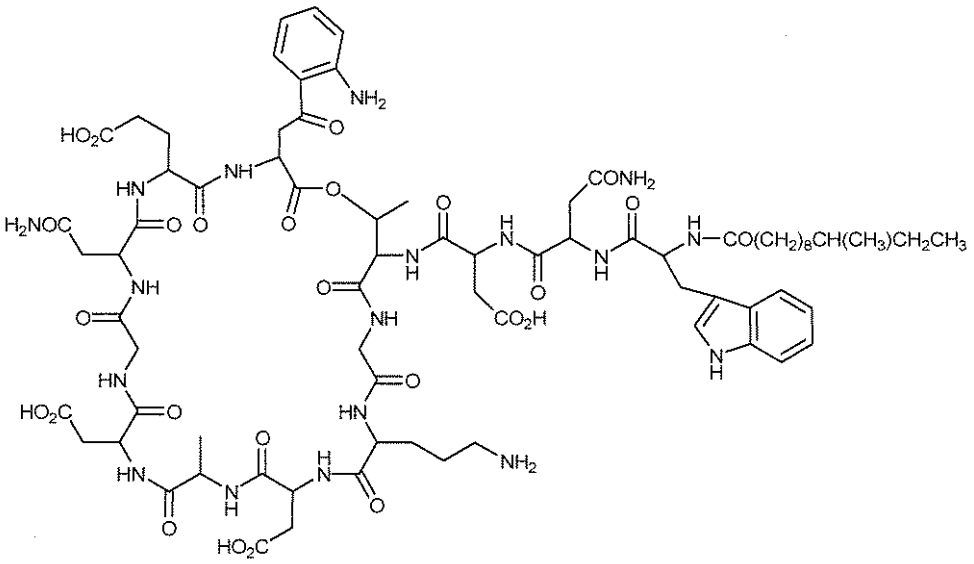
【表７０】

#	化合物
C227	
C228	

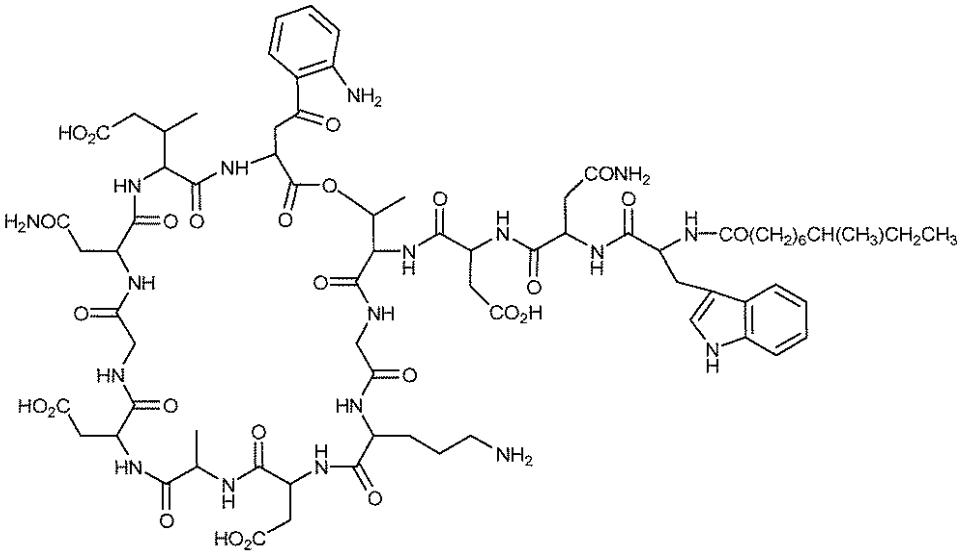
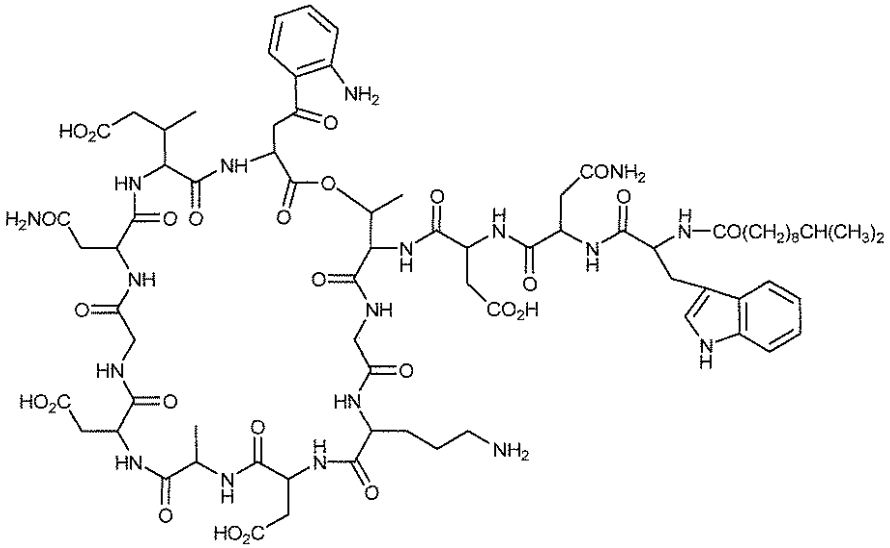
【表７１】

#	化合物
C229	
C230	

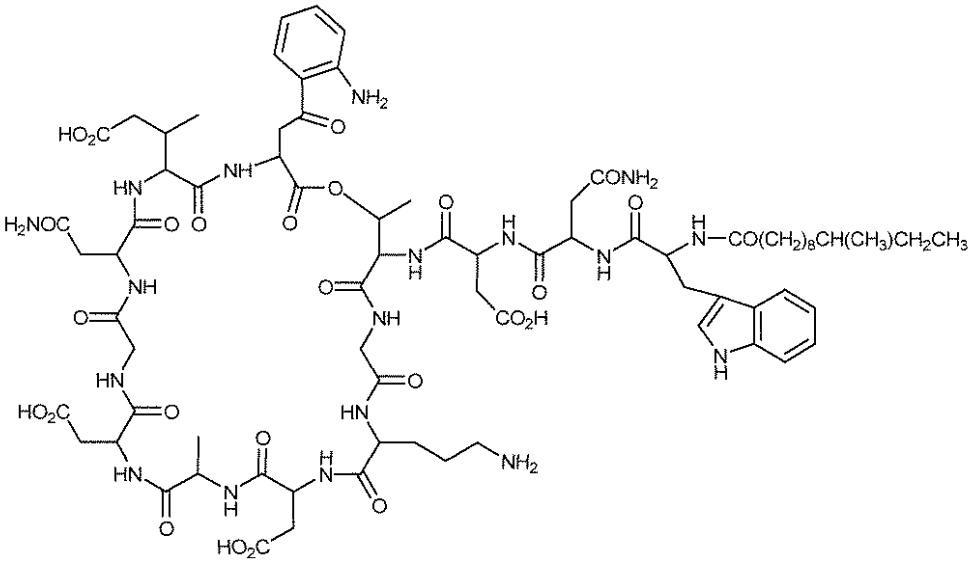
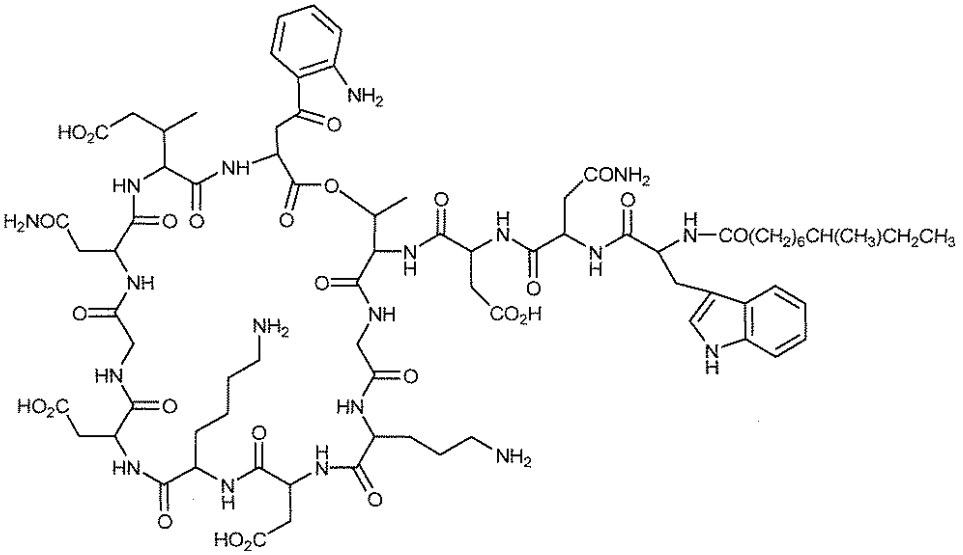
【表７２】

#	化合物
C231	
C232	

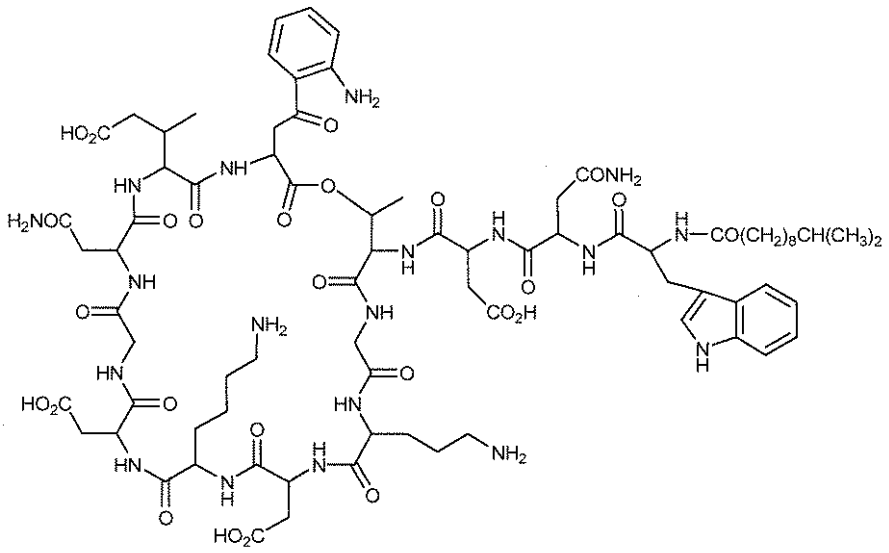
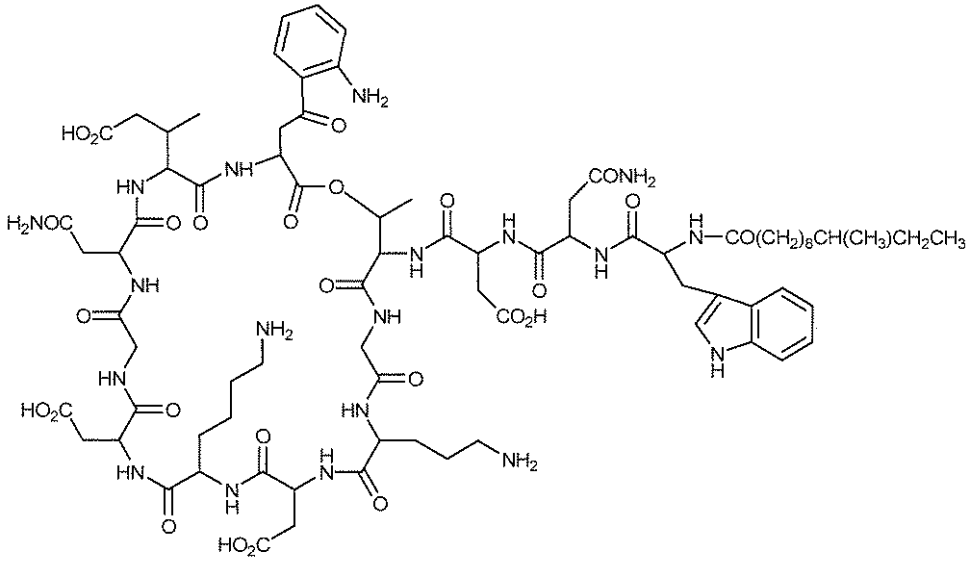
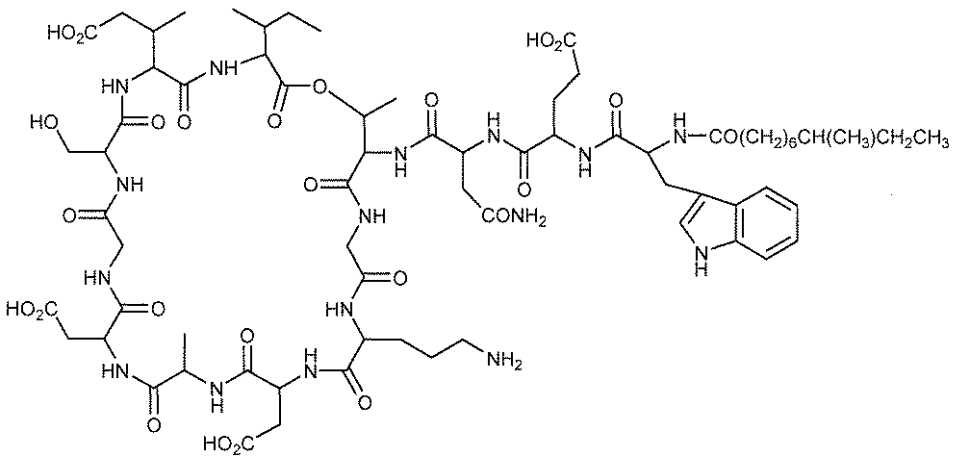
【表７３】

#	化合物
C233	
C234	

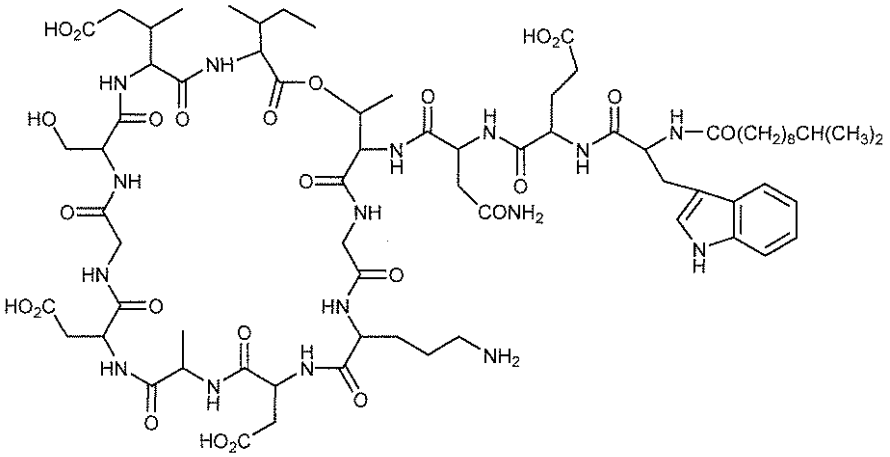
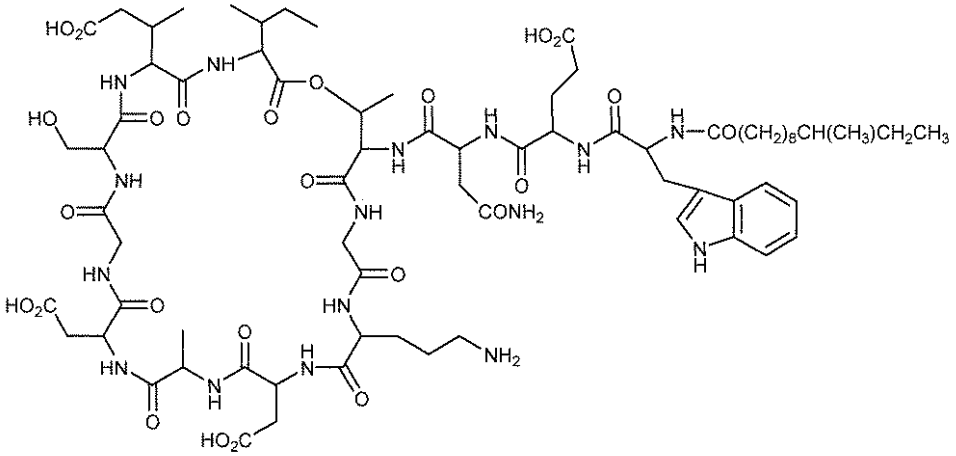
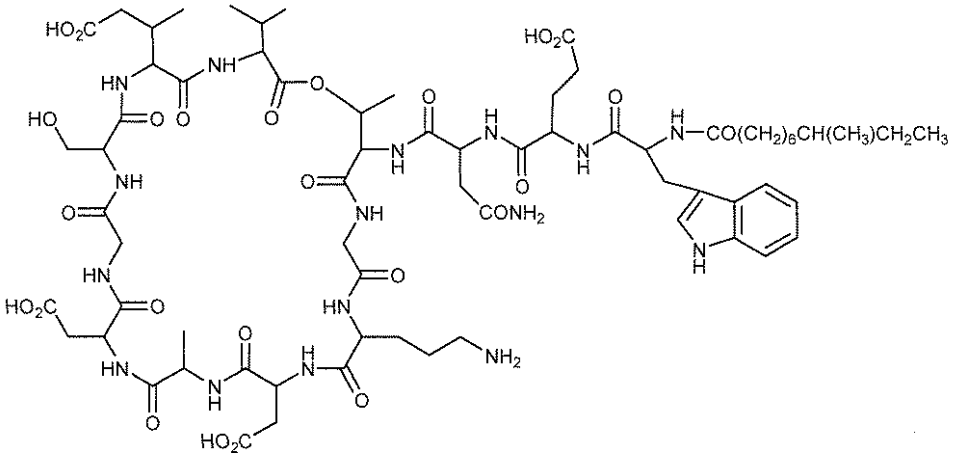
【表７４】

#	化合物
C235	
C236	

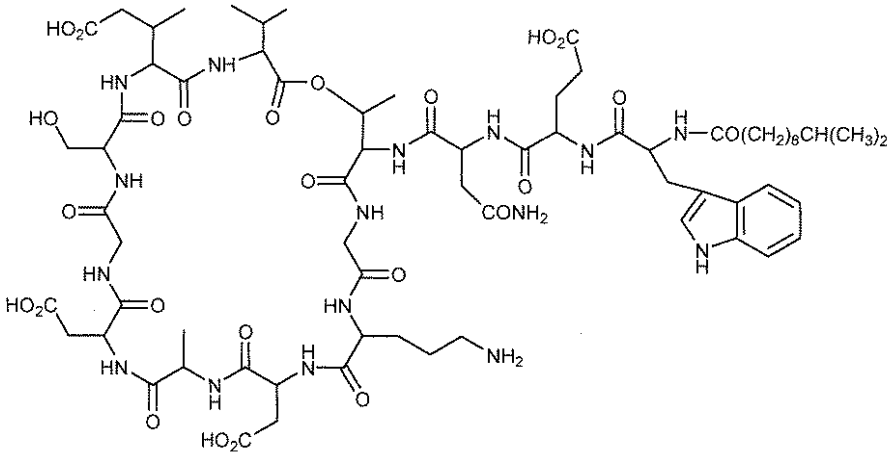
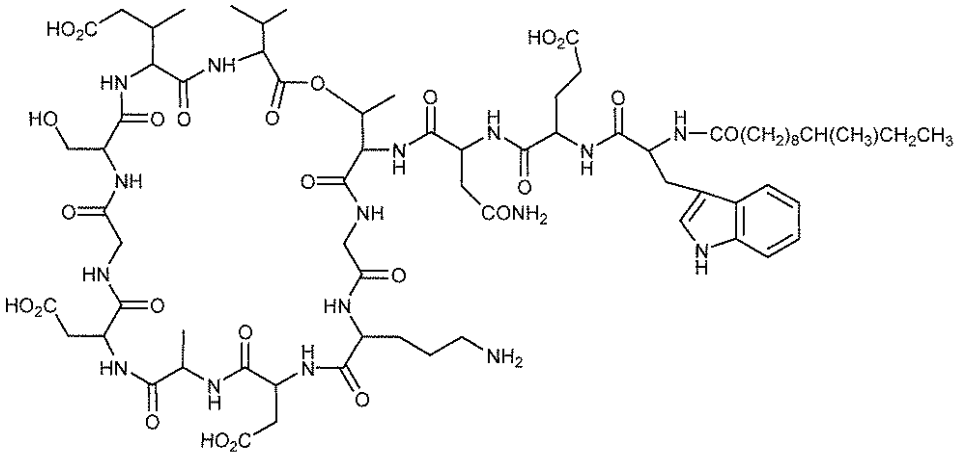
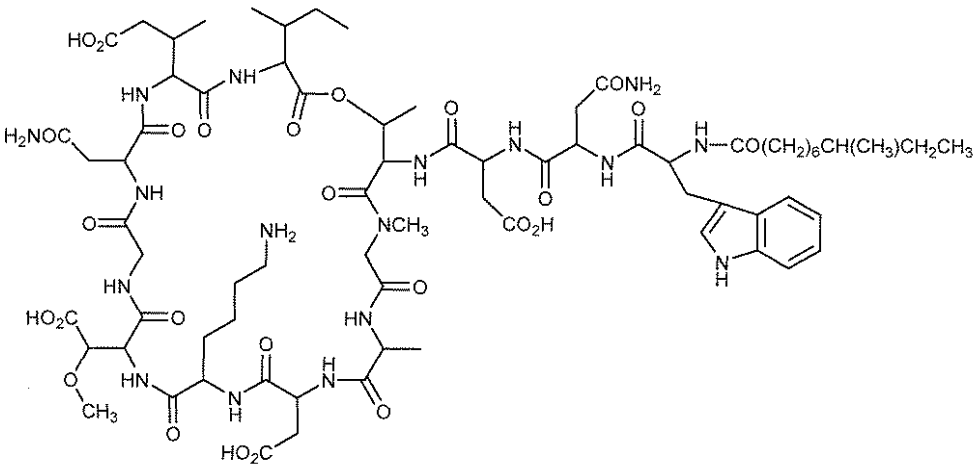
【表７５】

#	化合物
C237	
C238	
C259	

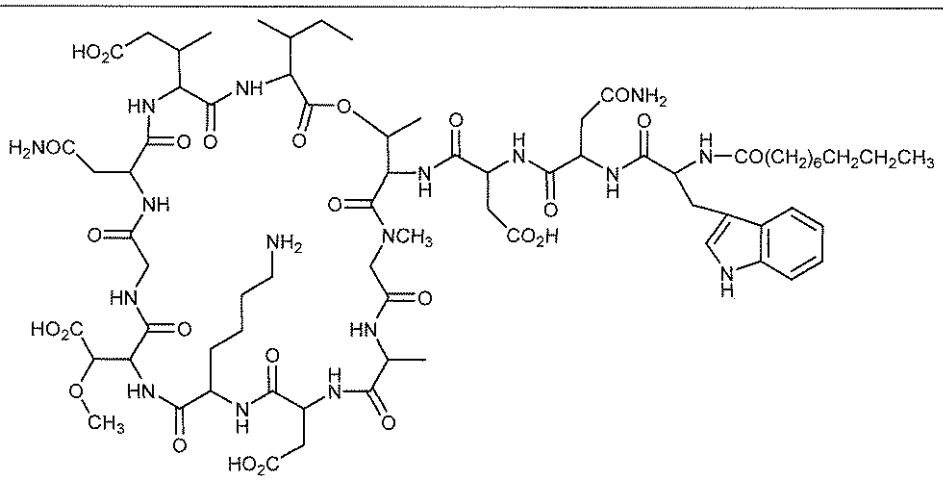
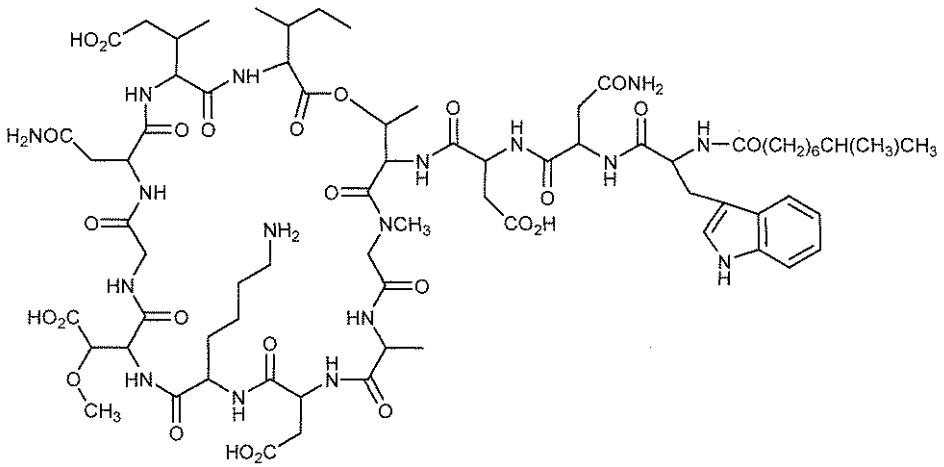
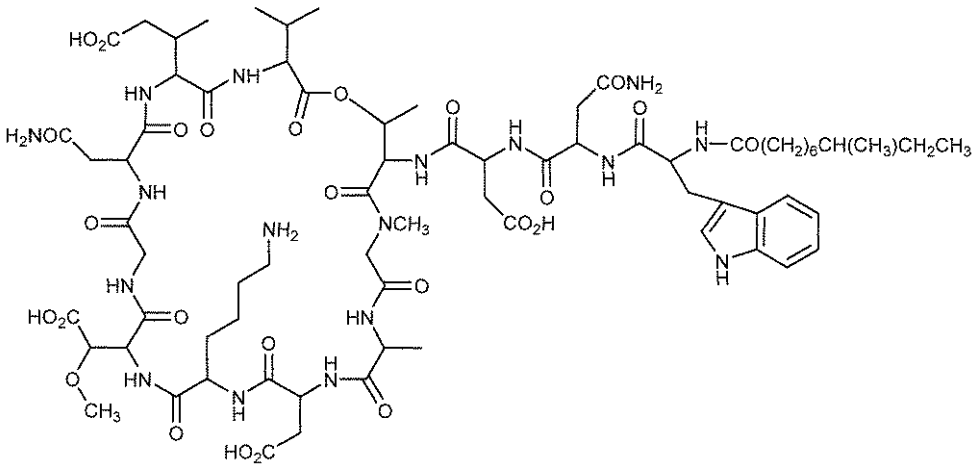
【表７６】

#	化合物
C260	
C261	
C262	

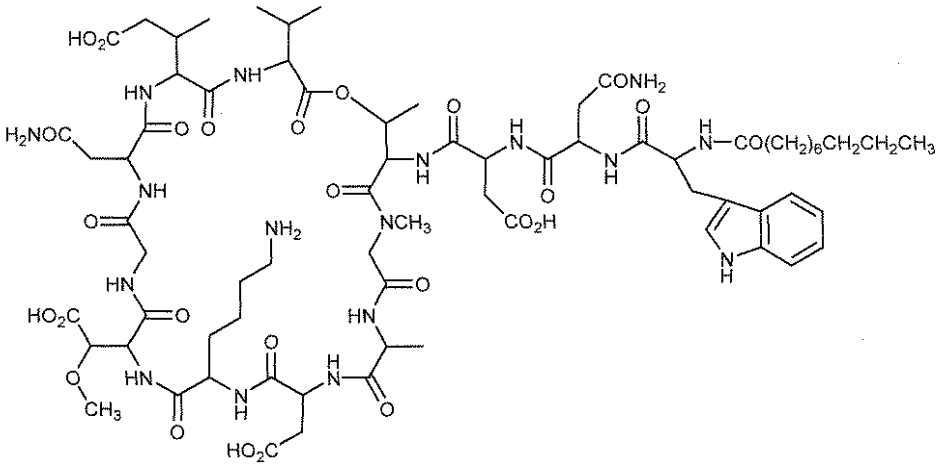
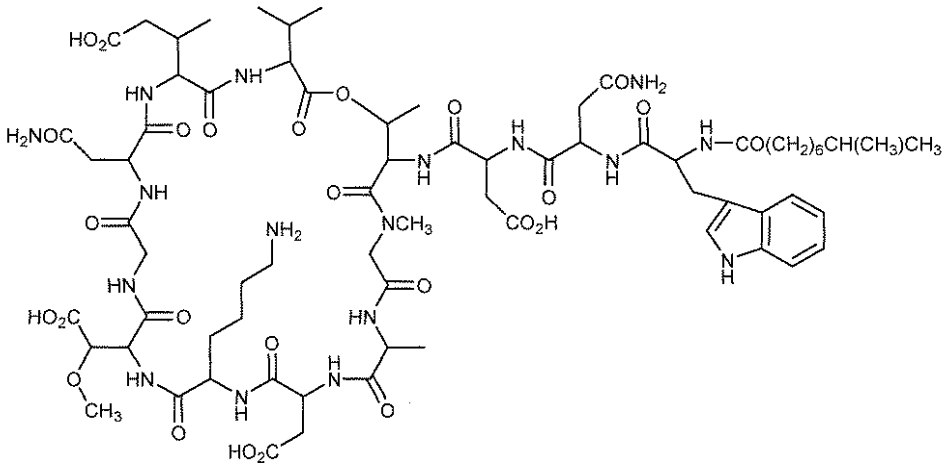
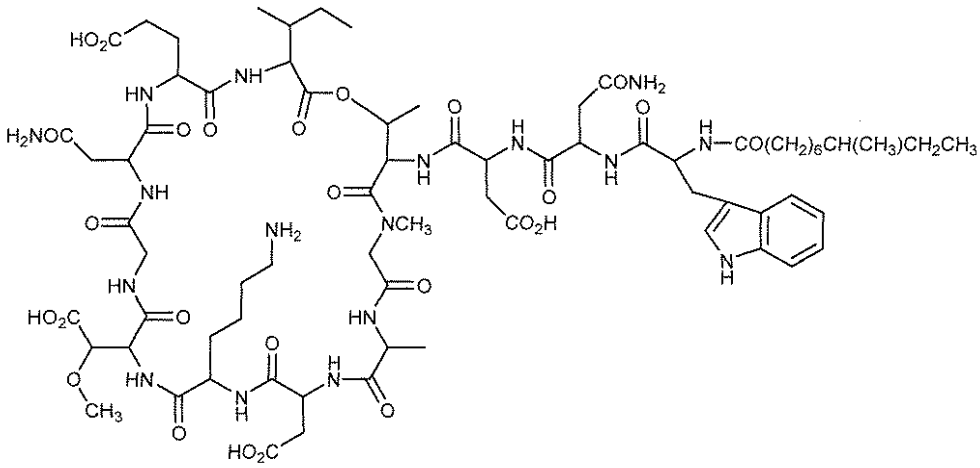
【表７７】

#	化合物
C263	
C264	
C265	

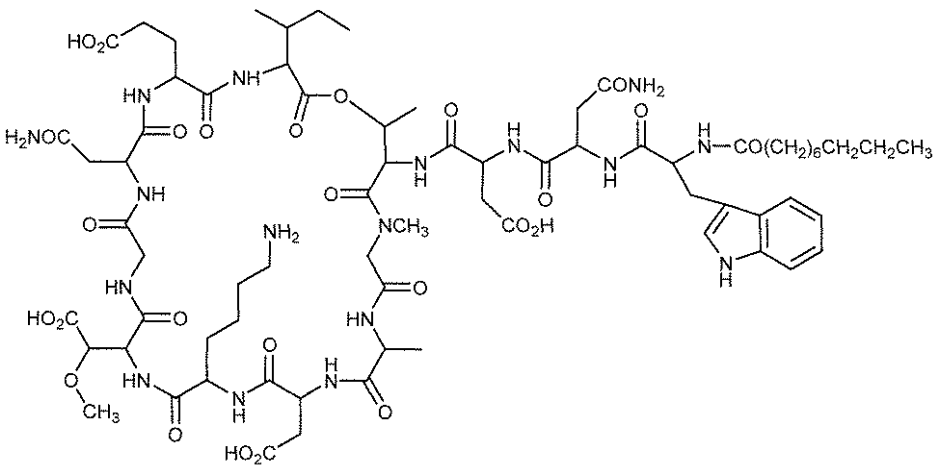
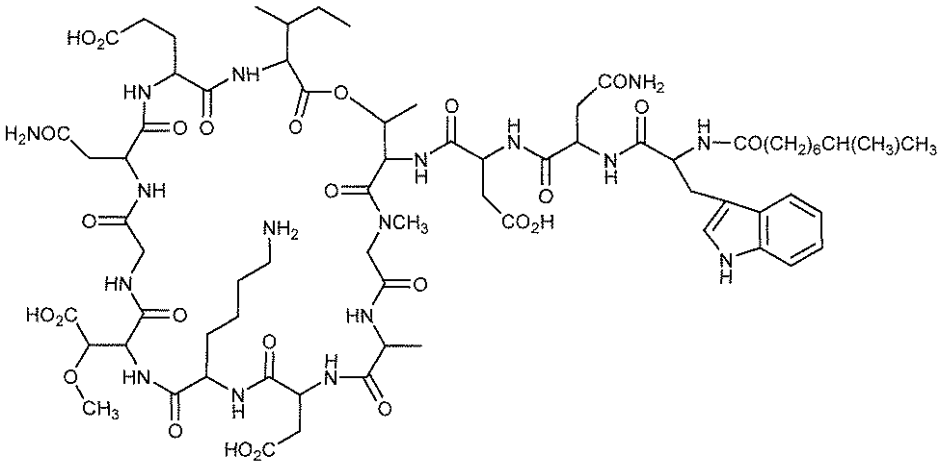
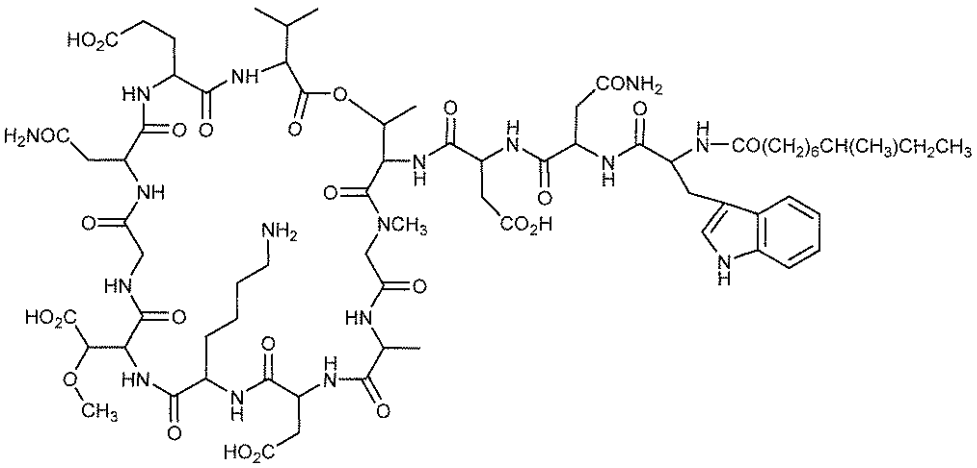
【表７８】

#	化合物
C266	
C267	
C268	

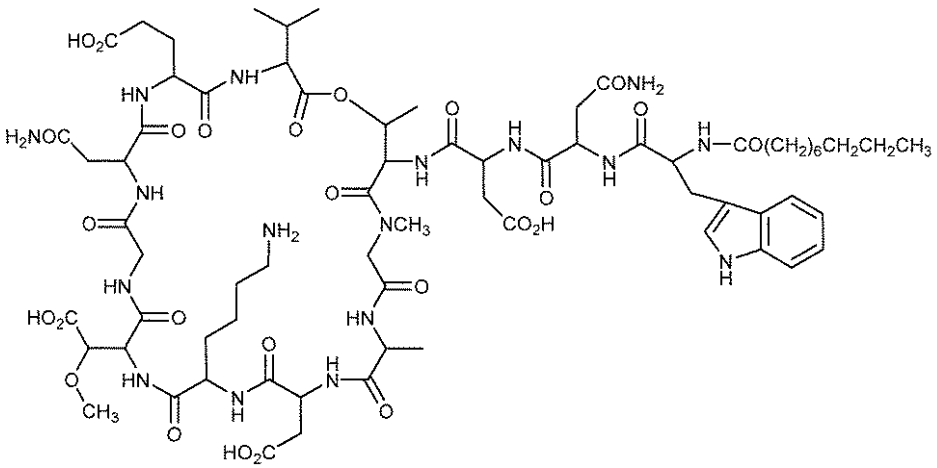
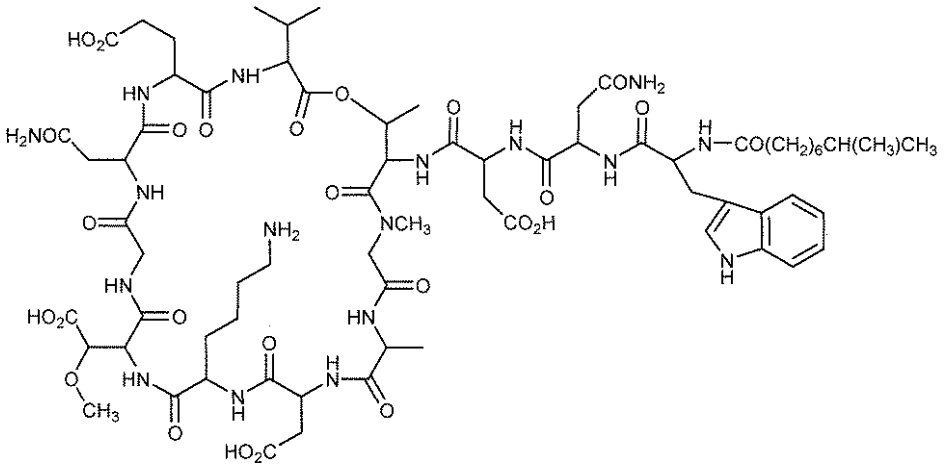
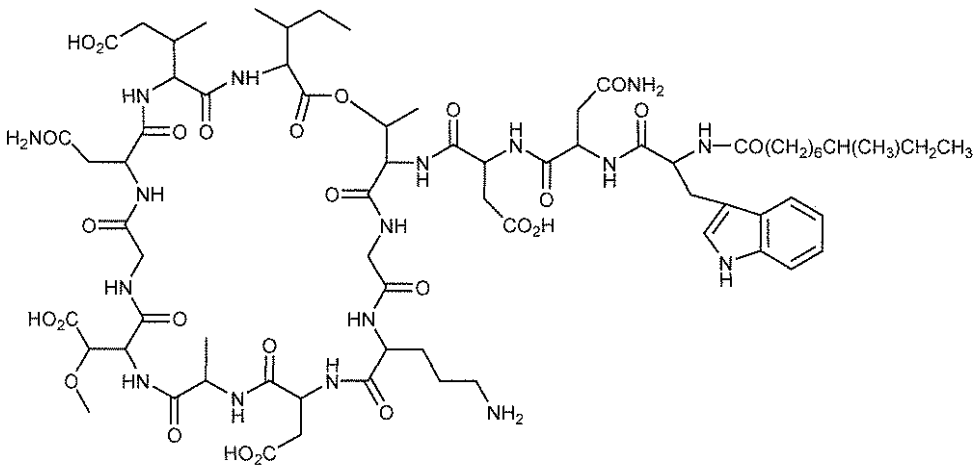
【表７９】

#	化合物
C269	
C270	
C271	

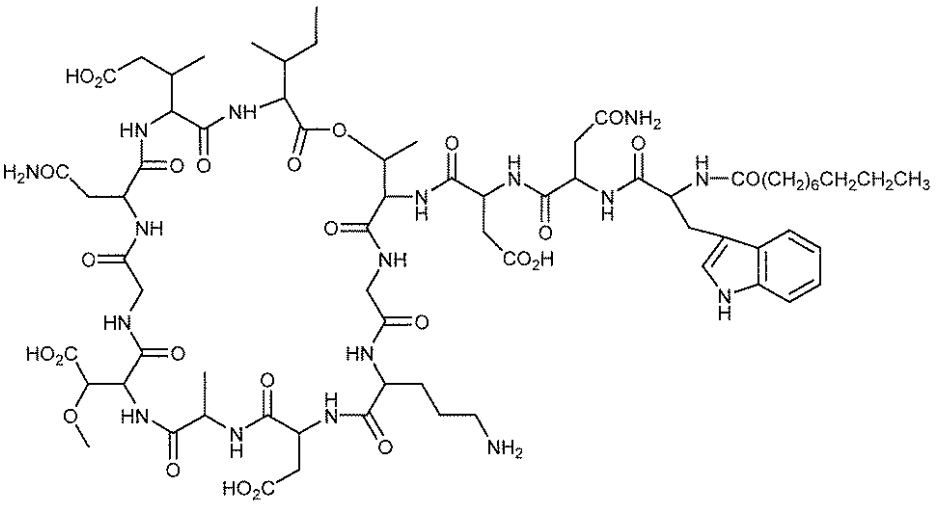
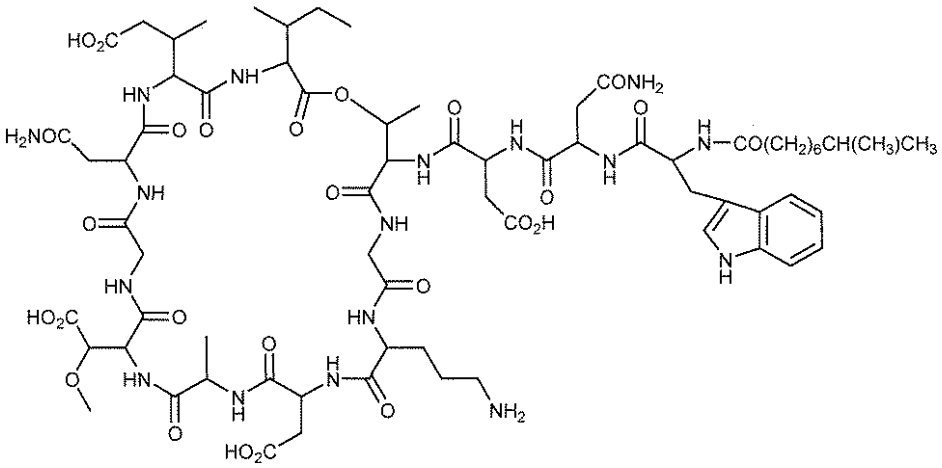
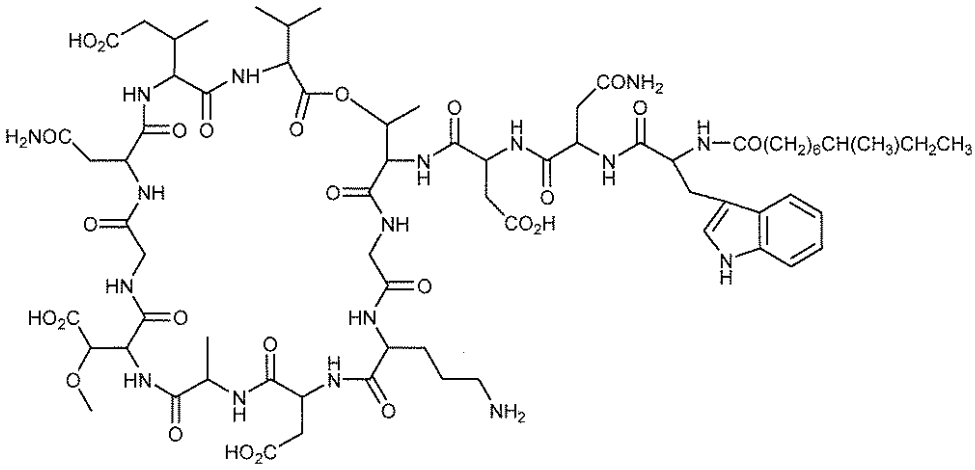
【表８０】

#	化合物
C272	
C273	
C274	

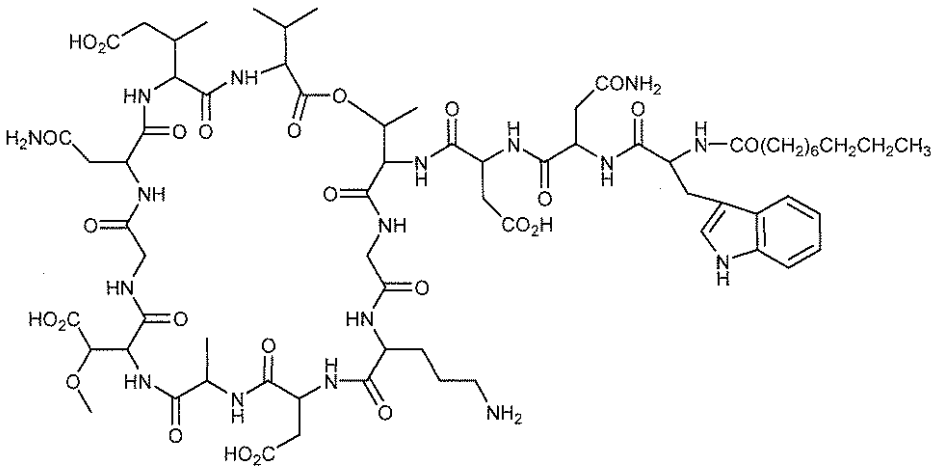
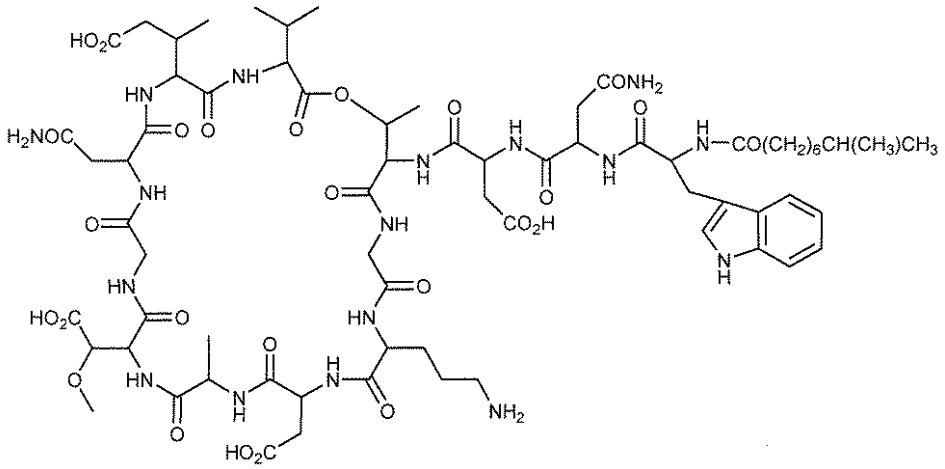
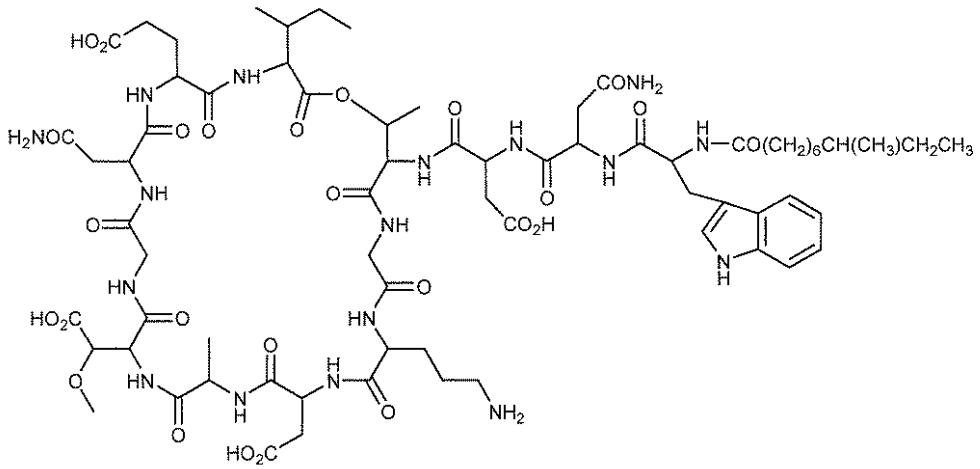
【表８１】

#	化合物
C275	
C276	
C277	

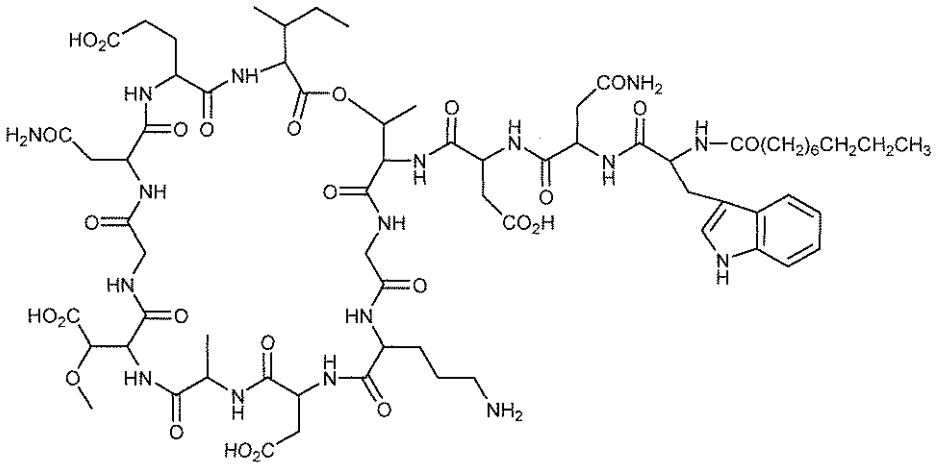
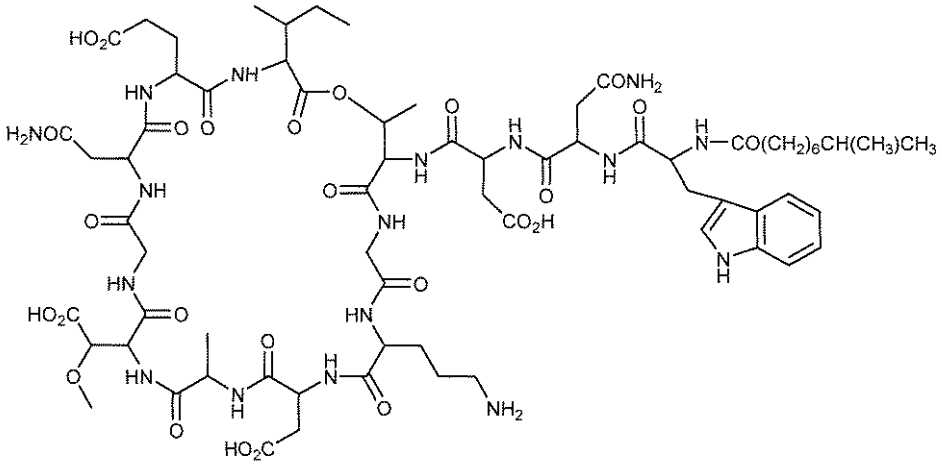
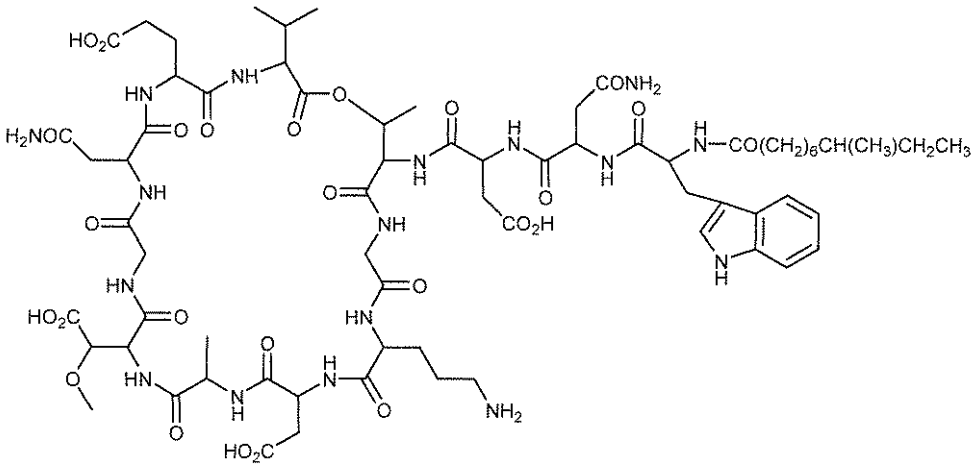
【表８２】

#	化合物
C278	
C279	
C280	

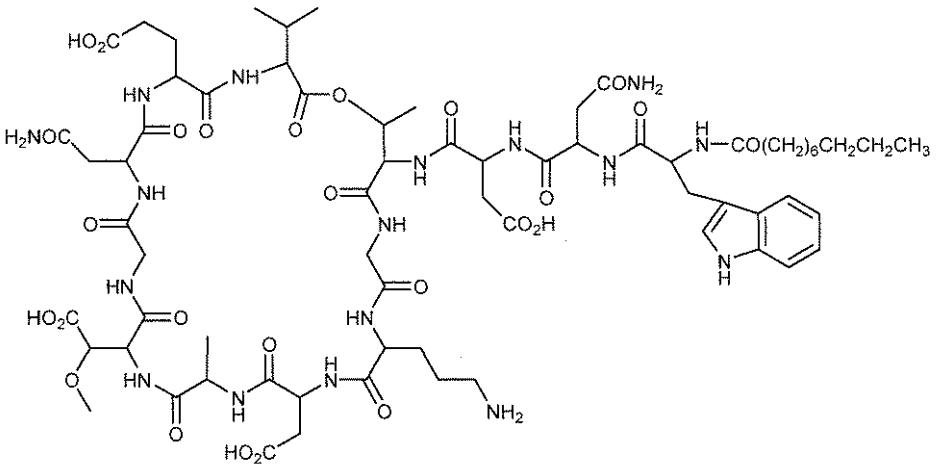
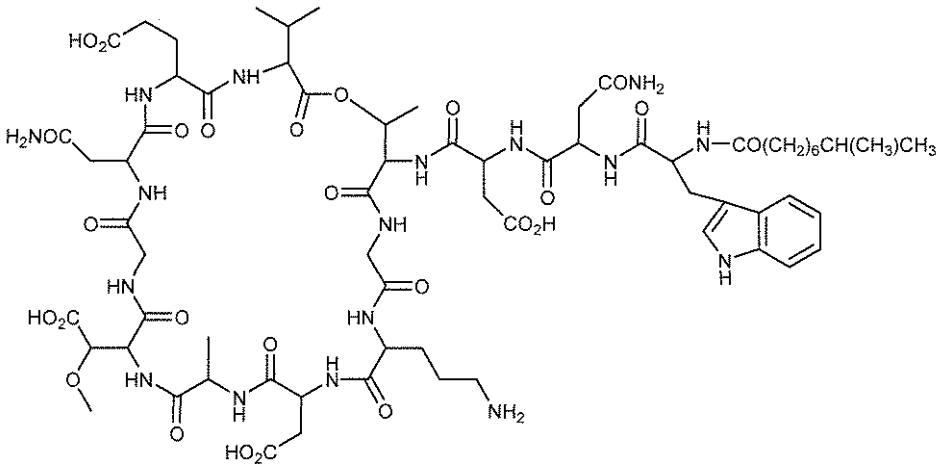
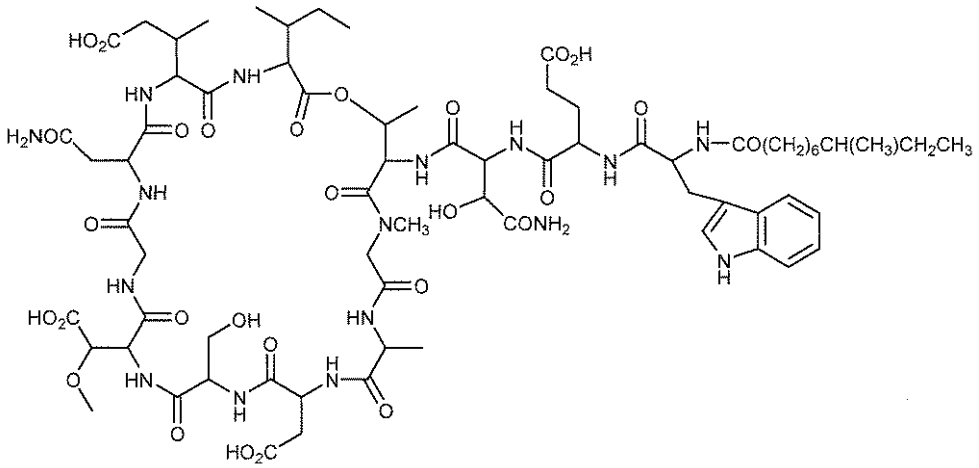
【表８３】

#	化合物
C281	
C282	
C283	

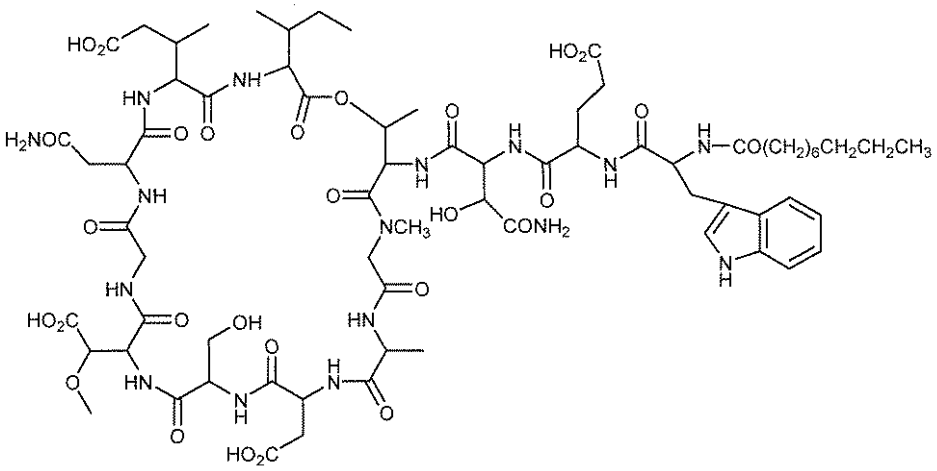
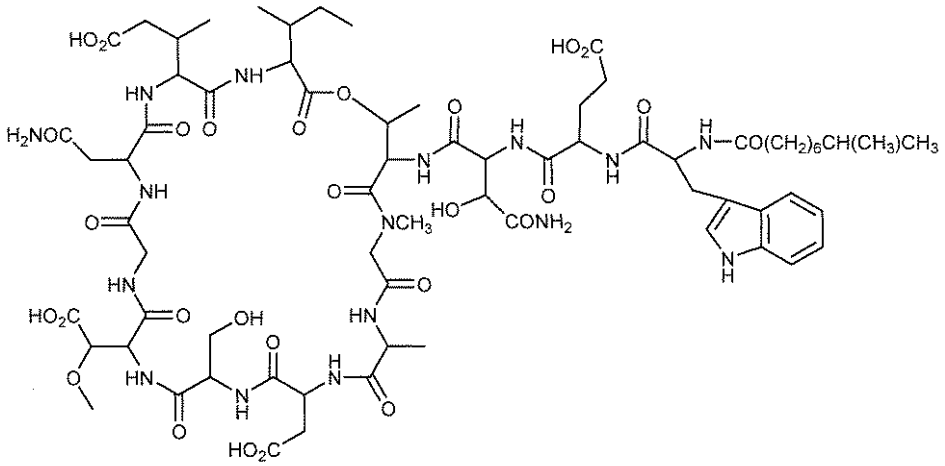
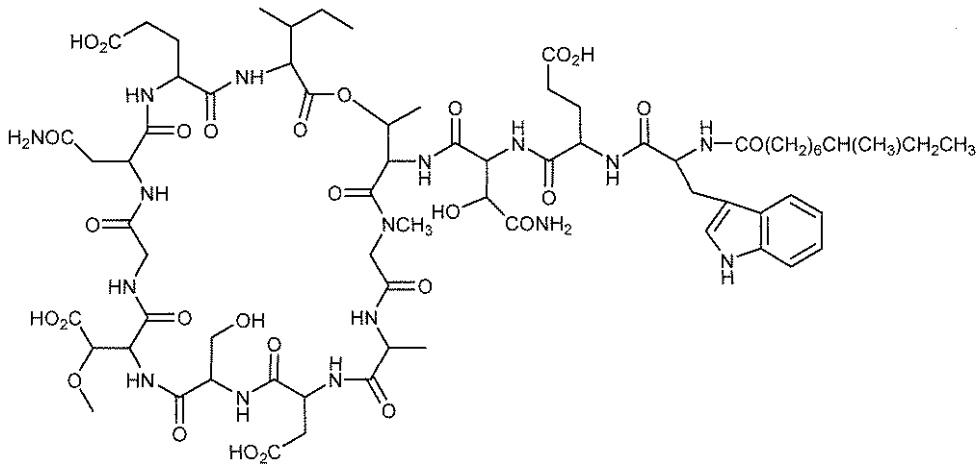
【表８４】

#	化合物
C284	
C285	
C286	

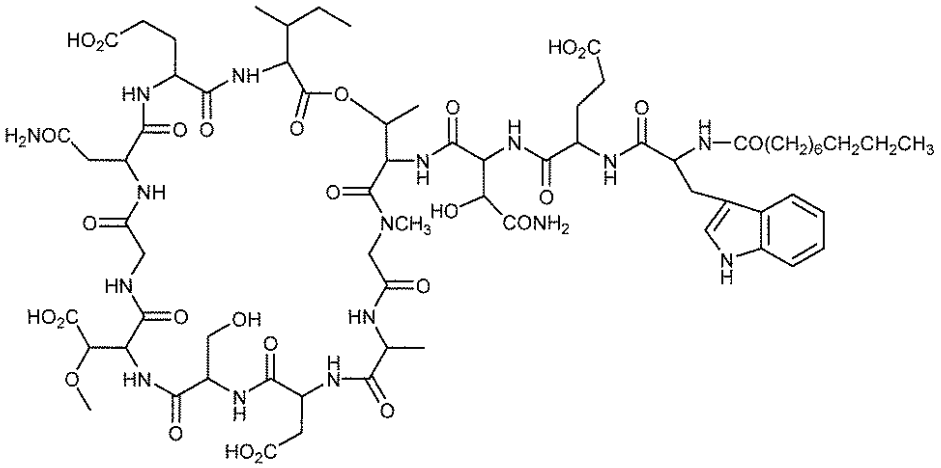
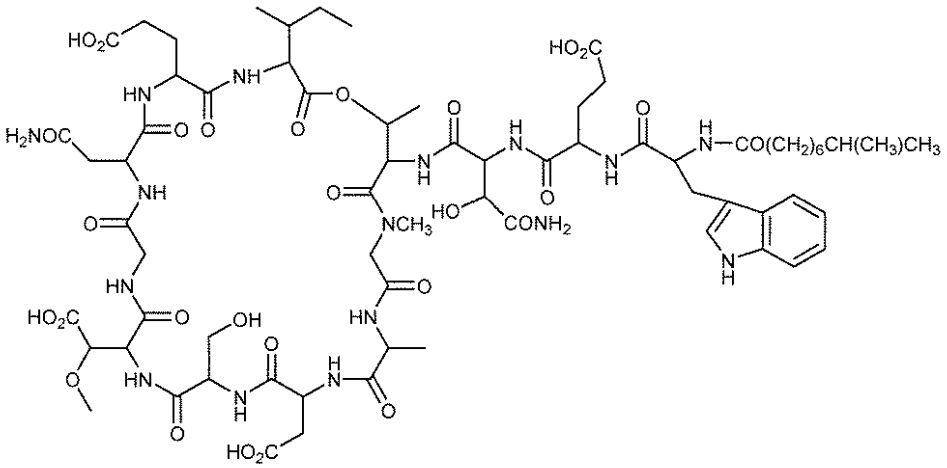
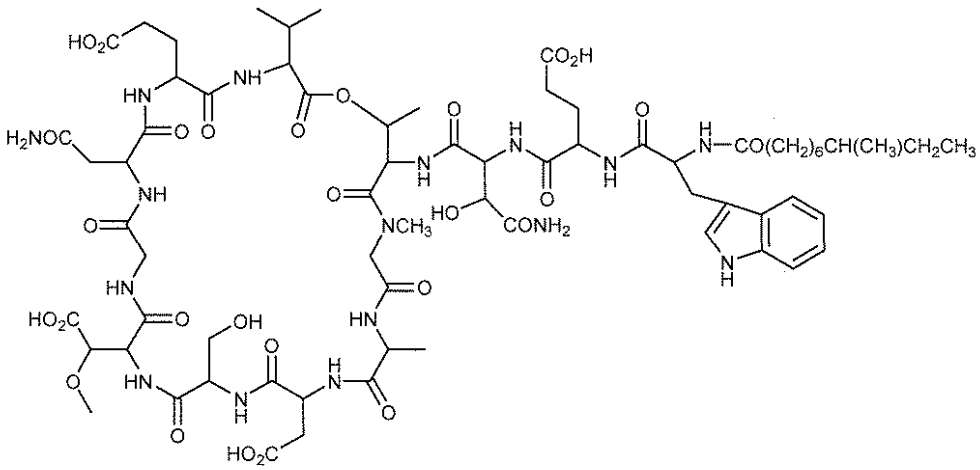
【表８５】

#	化合物
C287	
C288	
C289	

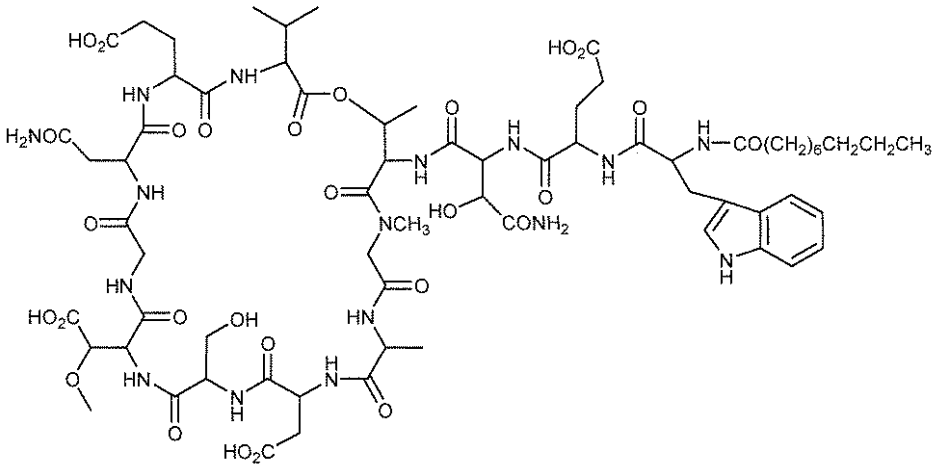
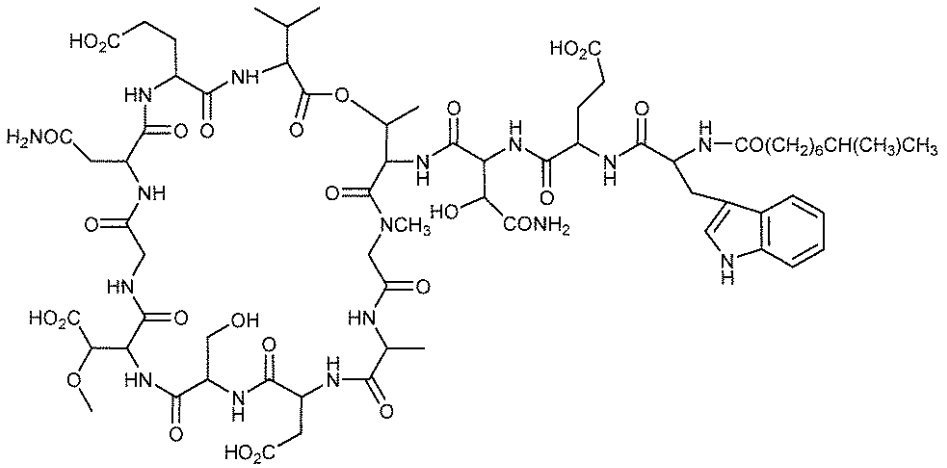
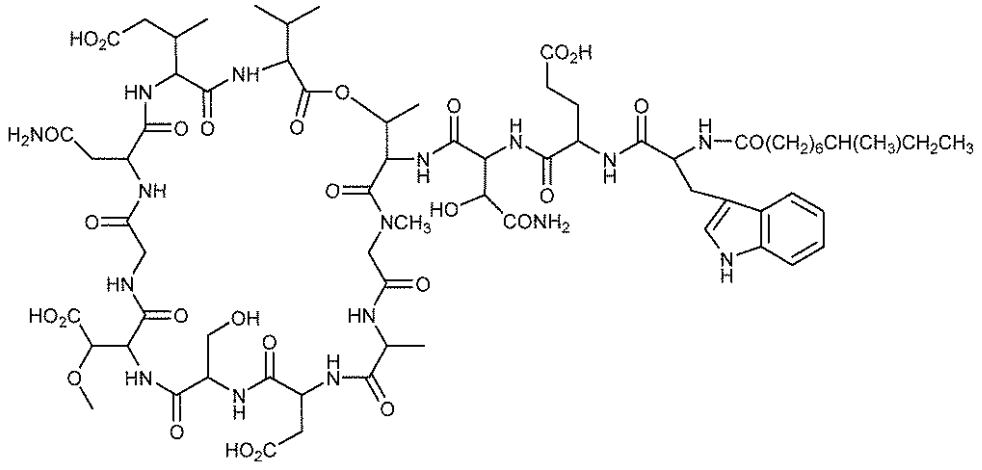
【表８６】

#	化合物
C290	
C291	
C292	

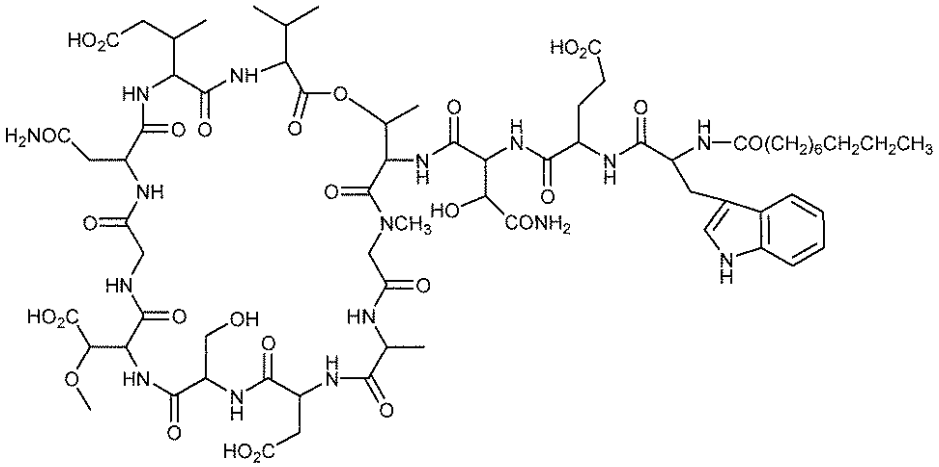
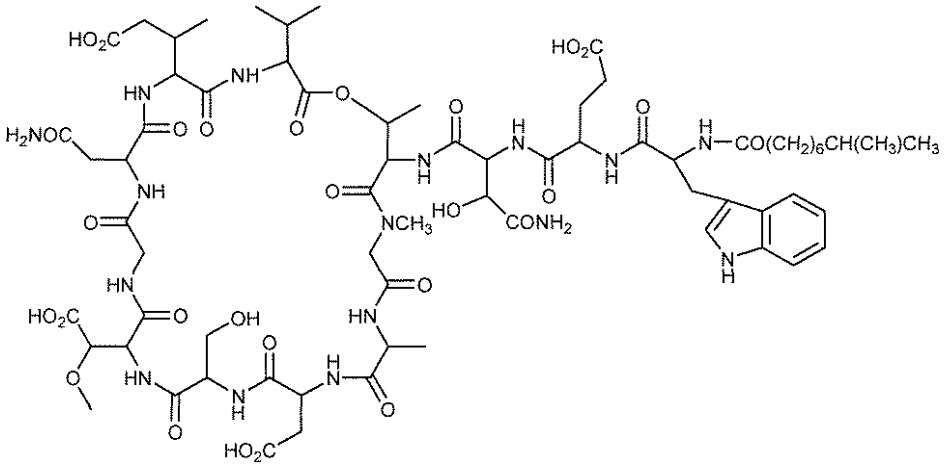
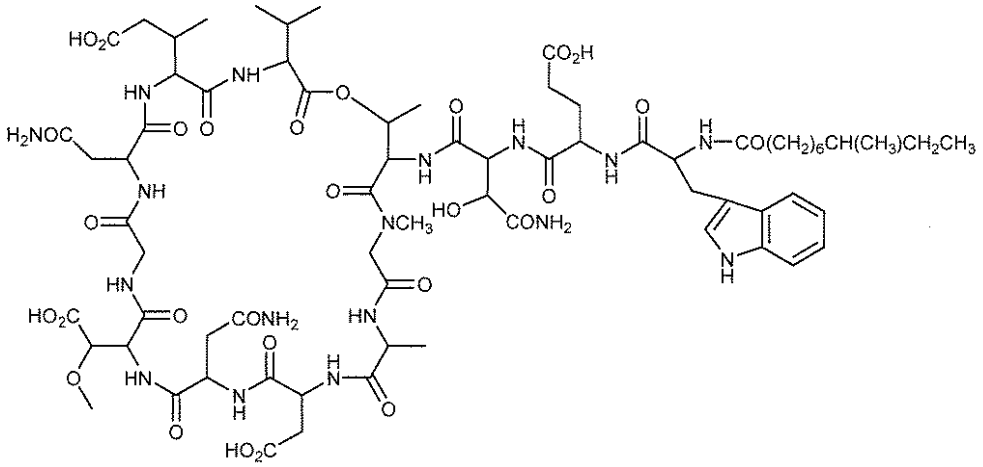
【表８７】

#	化合物
C293	
C294	
C295	

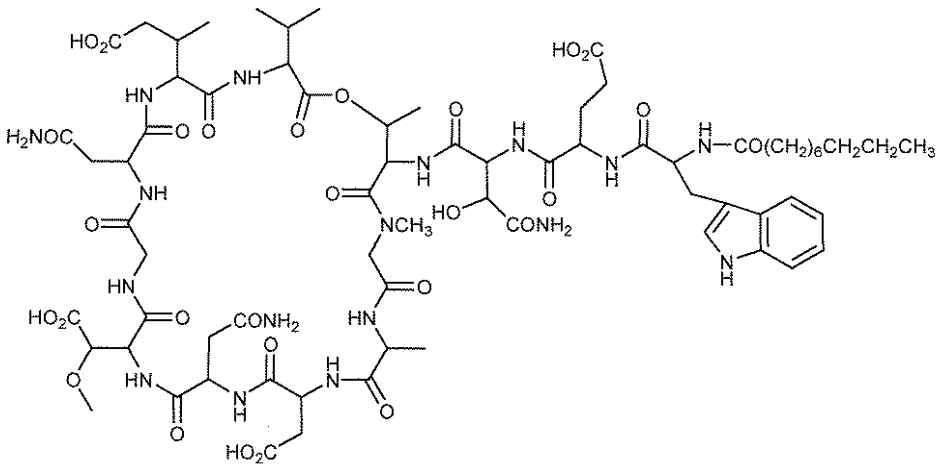
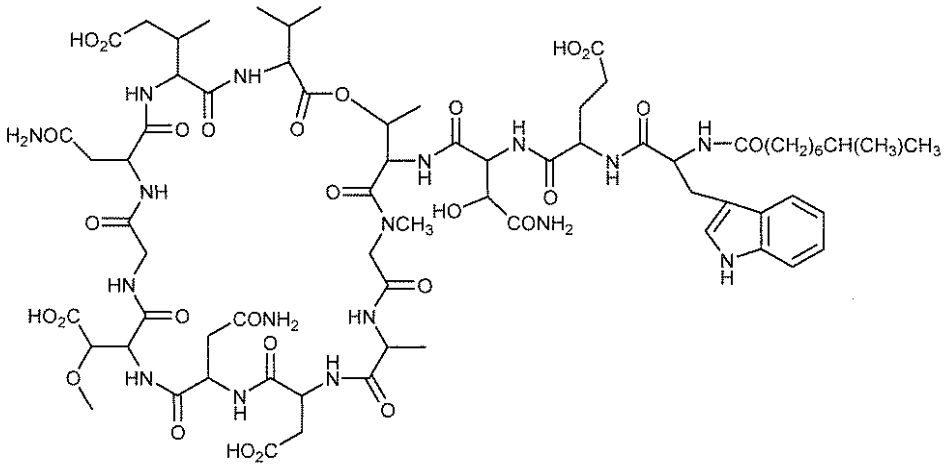
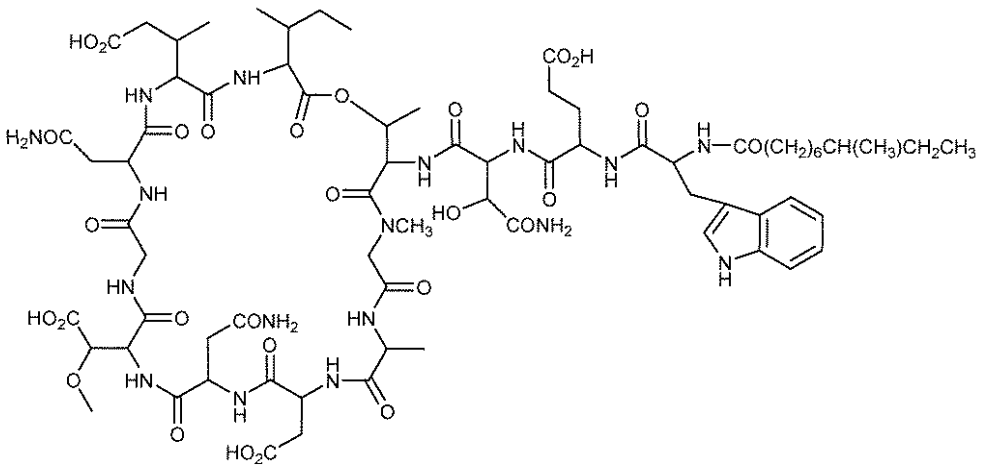
【表８８】

#	化合物
C296	
C297	
C298	

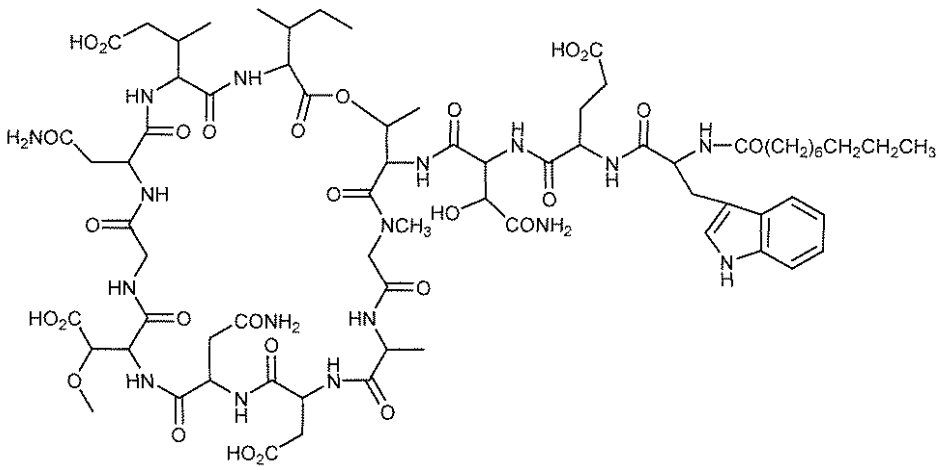
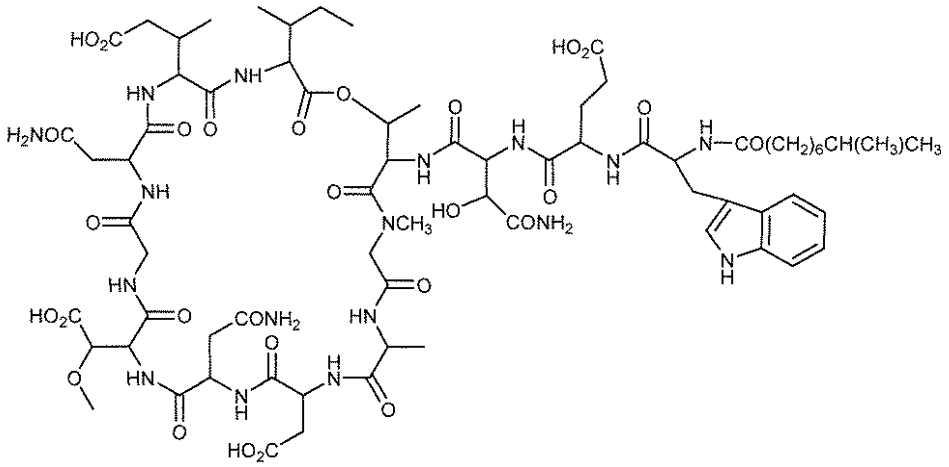
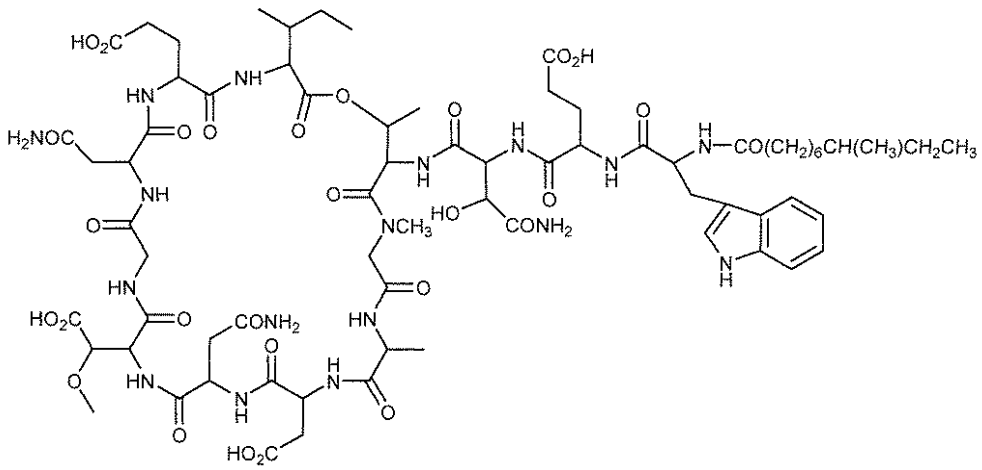
【表８９】

#	化合物
C299	
C300	
C301	

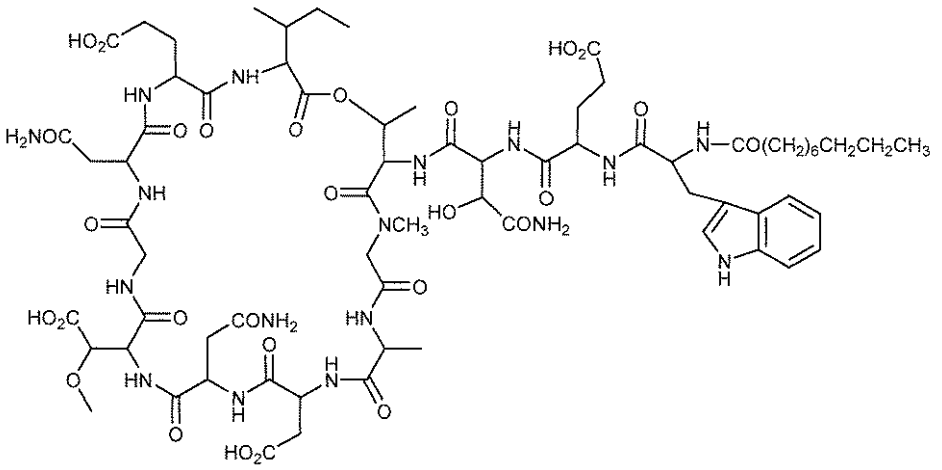
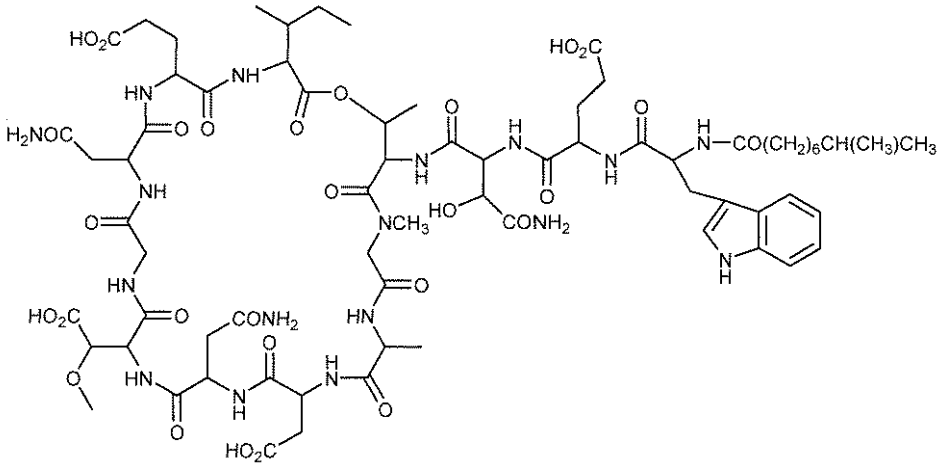
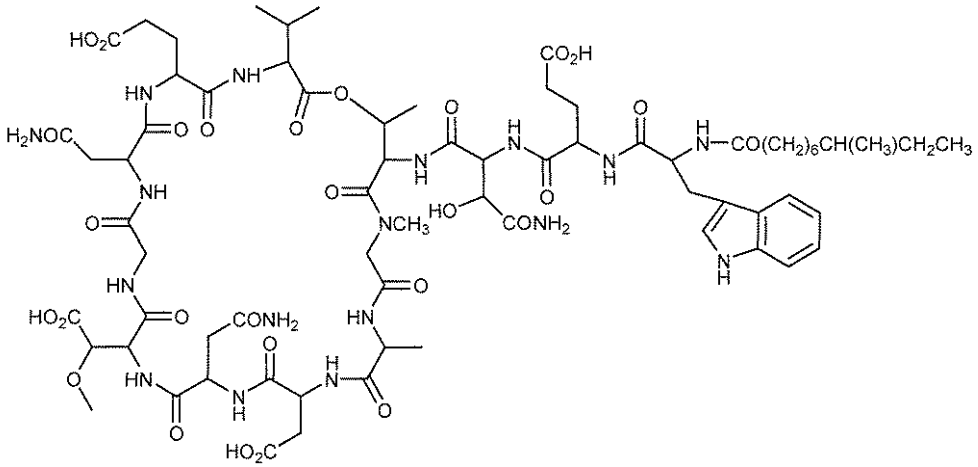
【表９０】

#	化合物
C302	
C303	
C304	

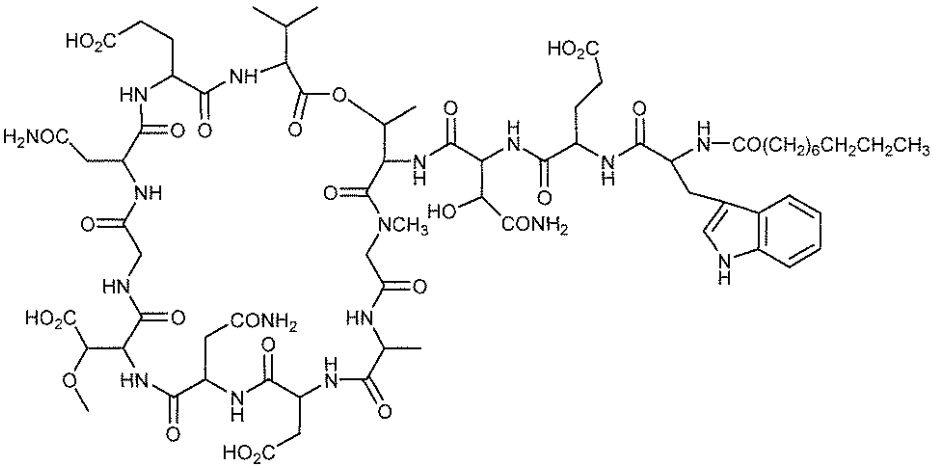
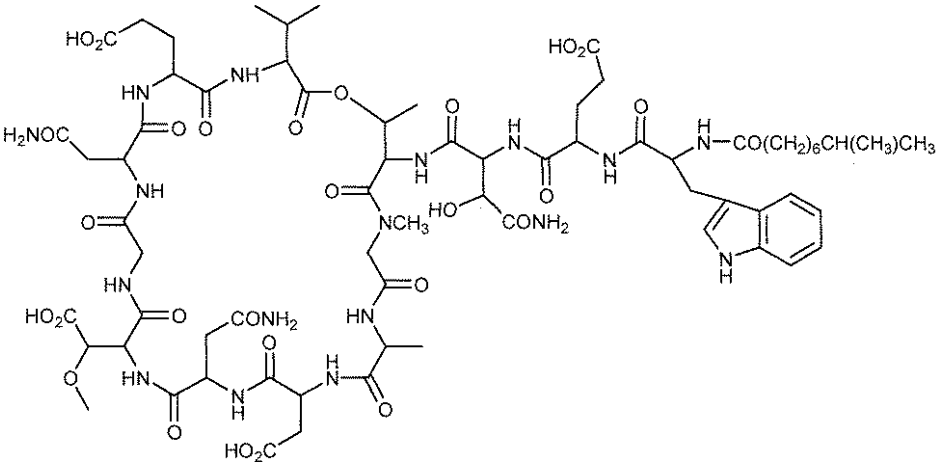
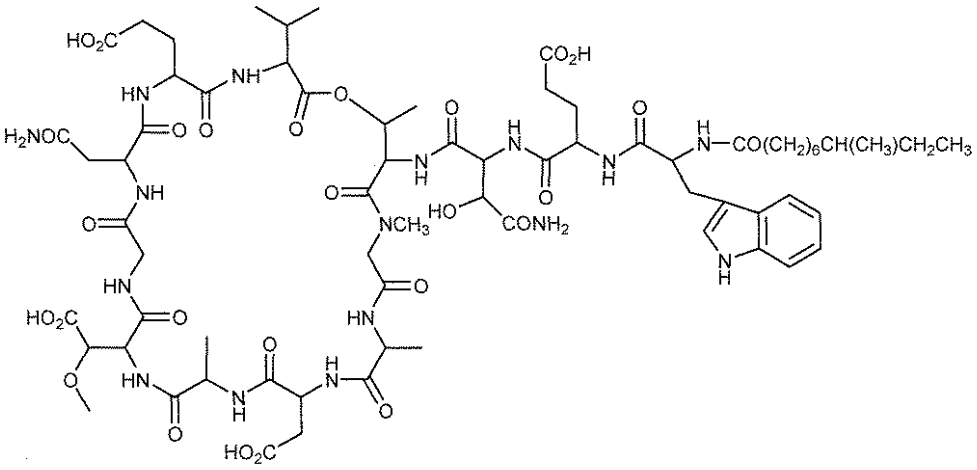
【表９１】

#	化合物
C305	
C306	
C307	

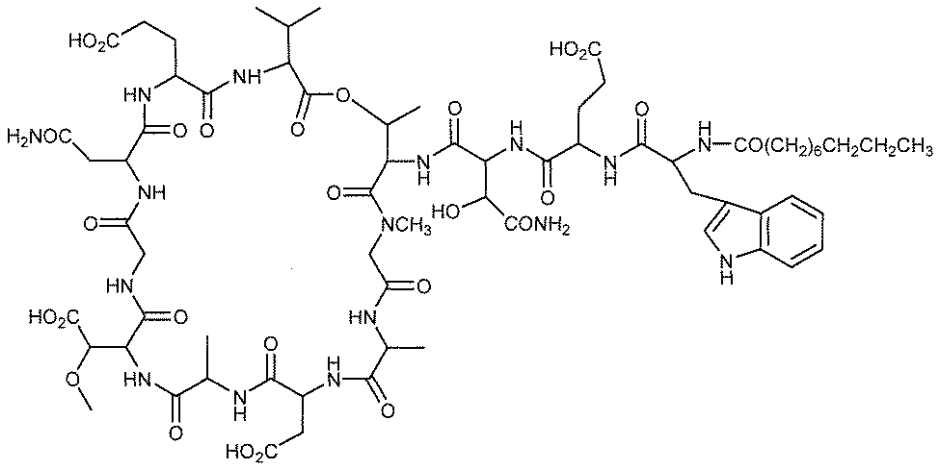
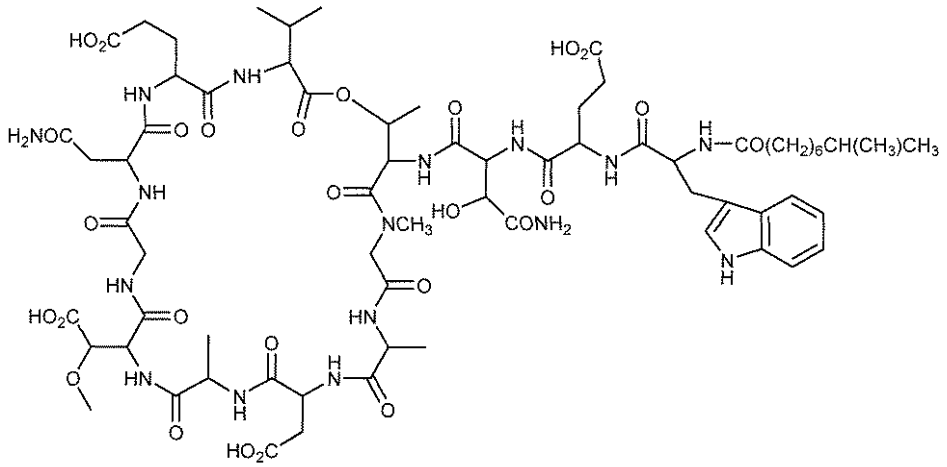
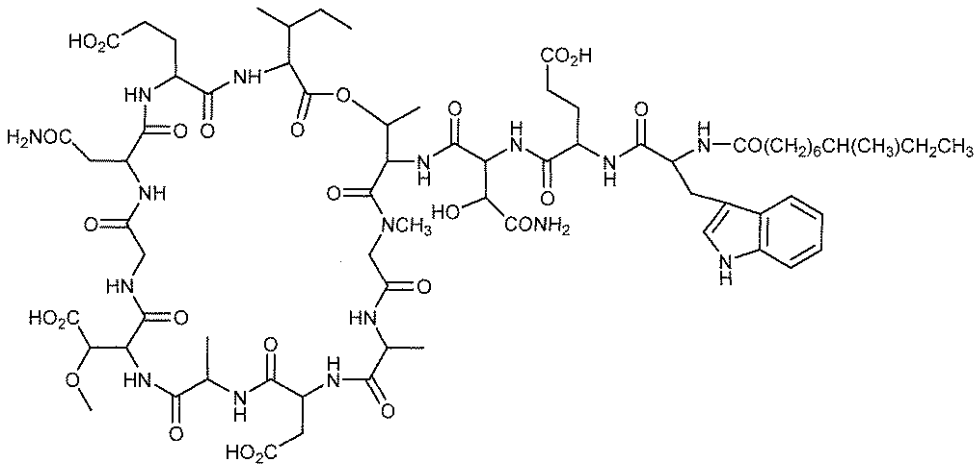
【表９２】

#	化合物
C308	
C309	
C310	

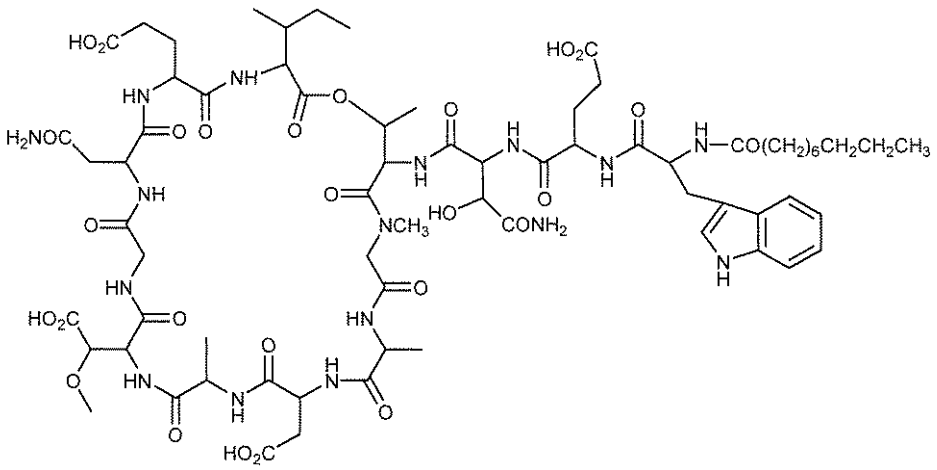
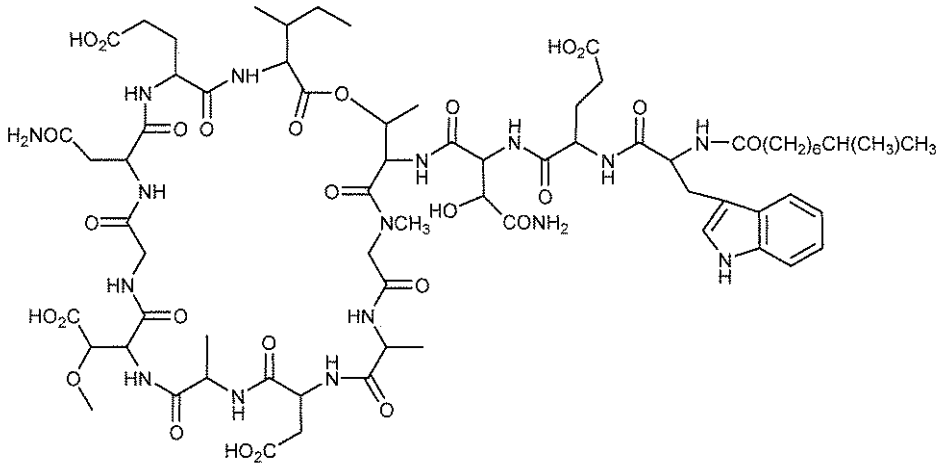
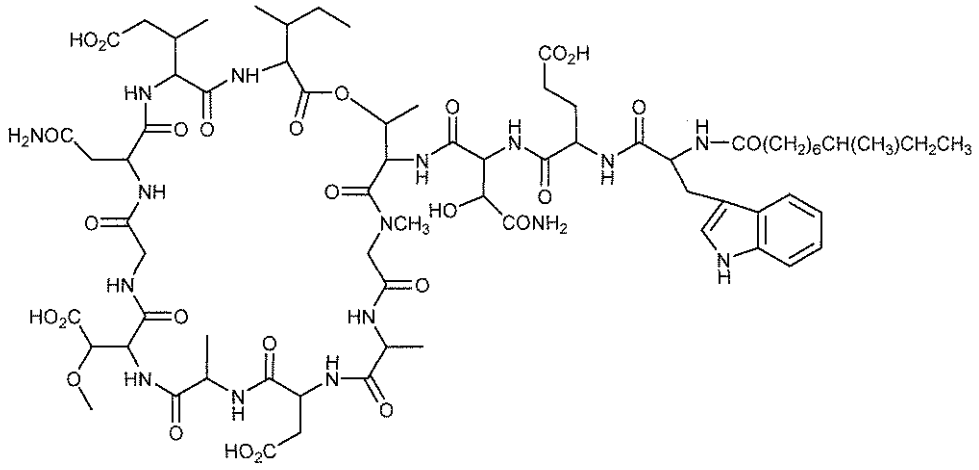
【表９３】

#	化合物
C311	
C312	
C313	

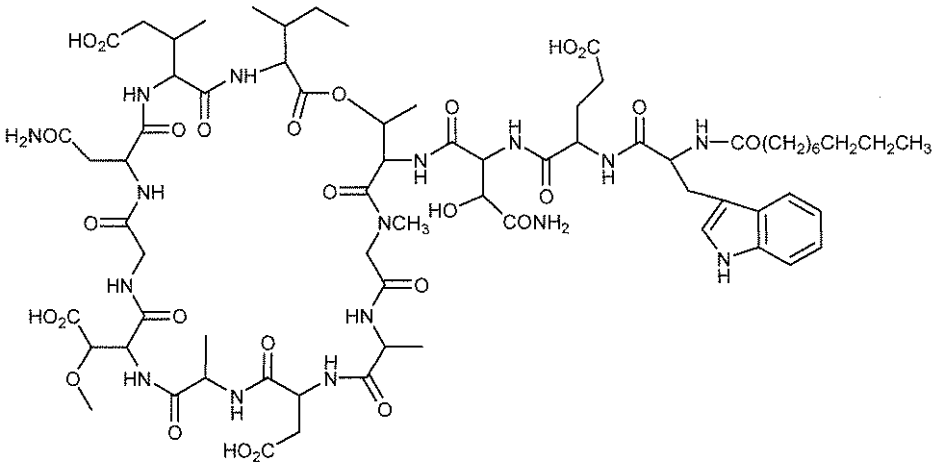
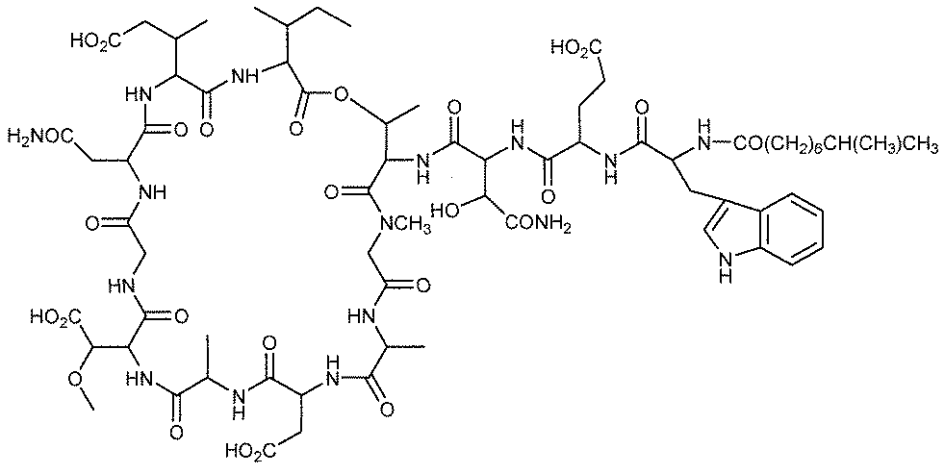
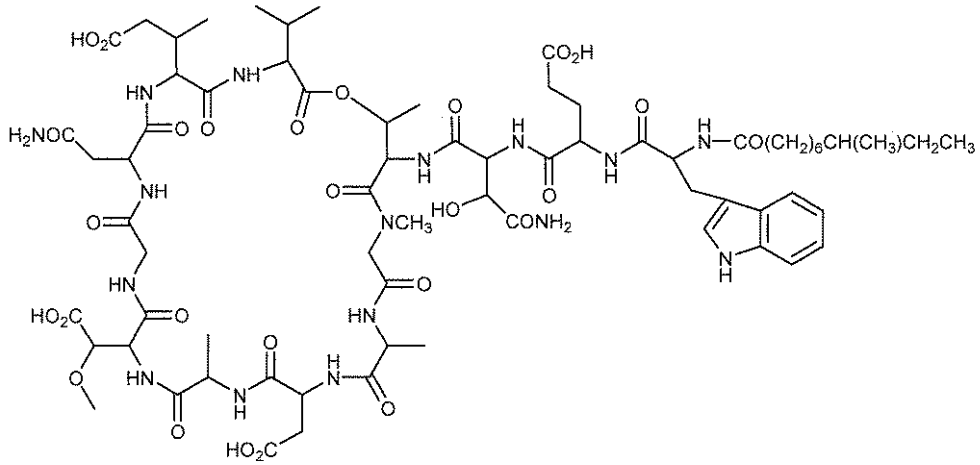
【表９４】

#	化合物
C314	
C315	
C316	

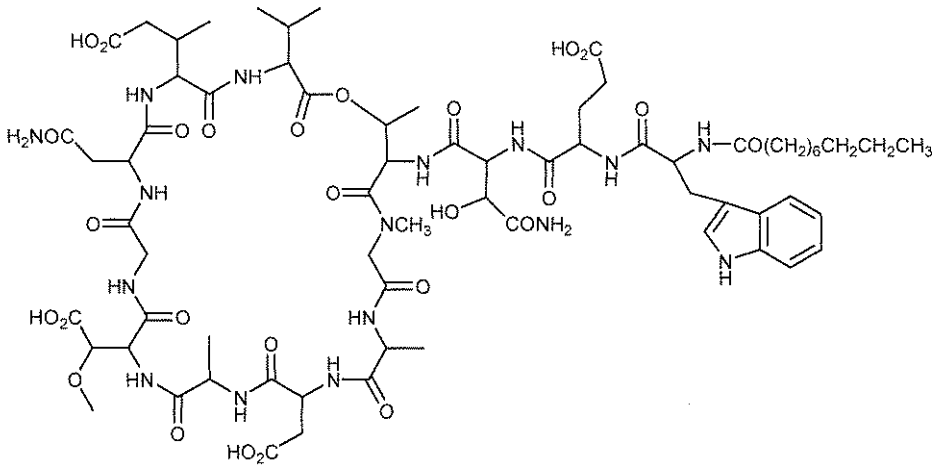
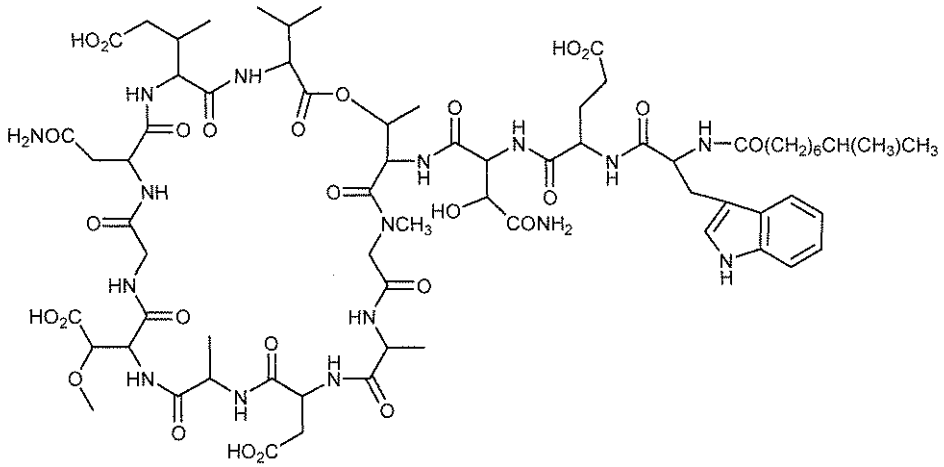
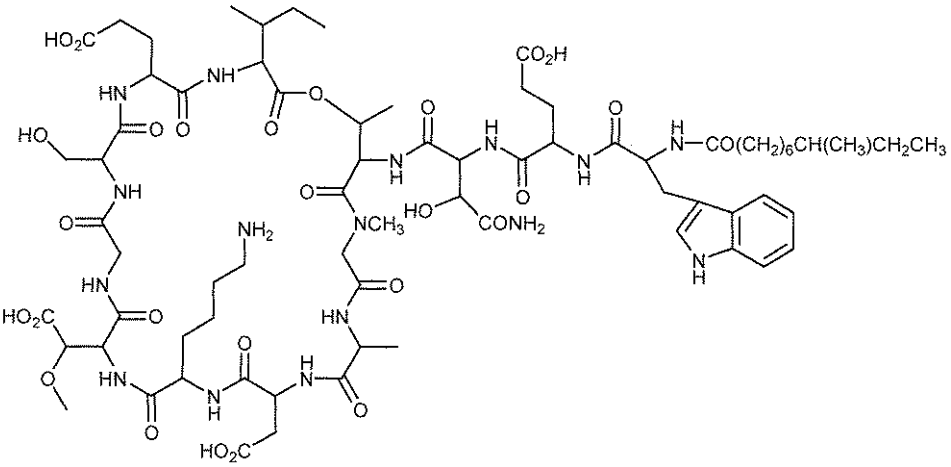
【表９５】

#	化合物
C317	
C318	
C319	

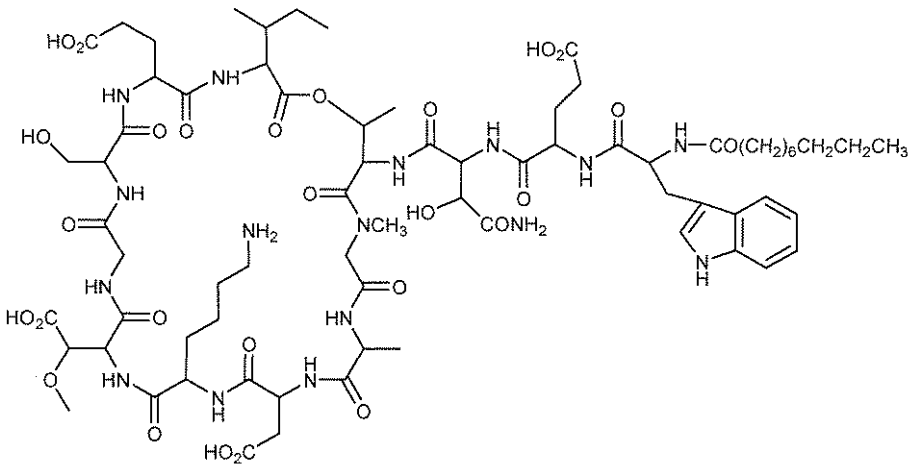
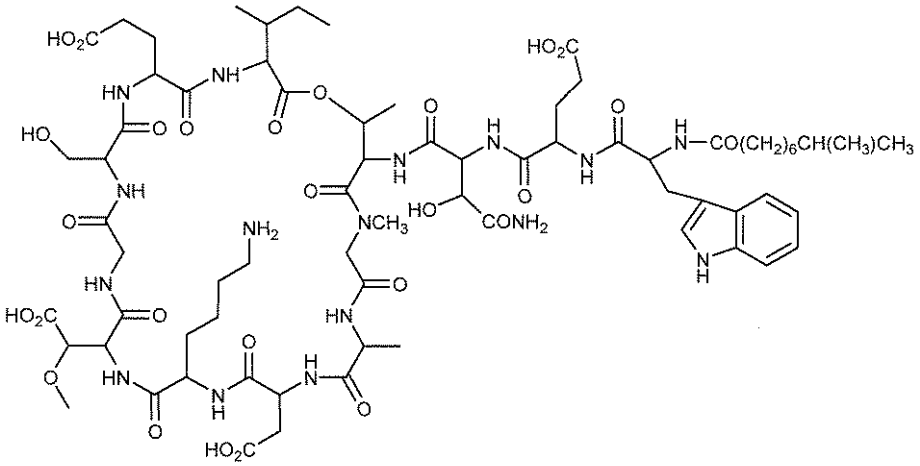
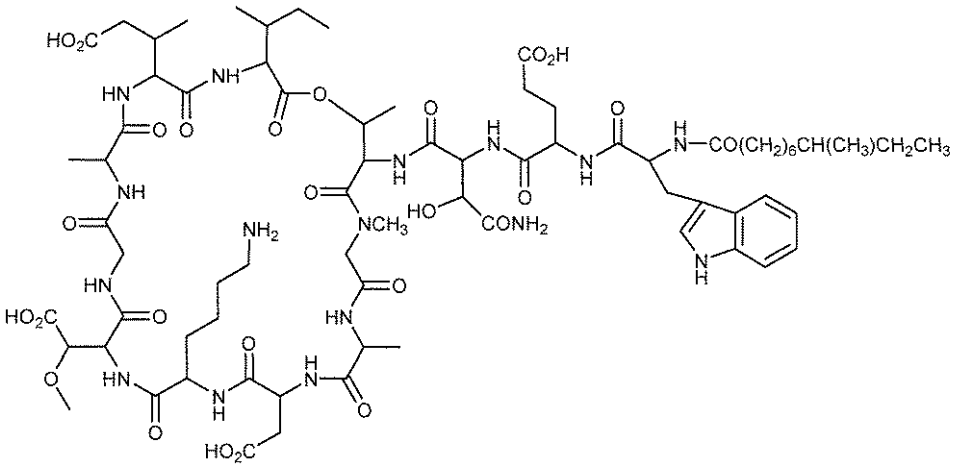
【表９６】

#	化合物
C320	
C321	
C322	

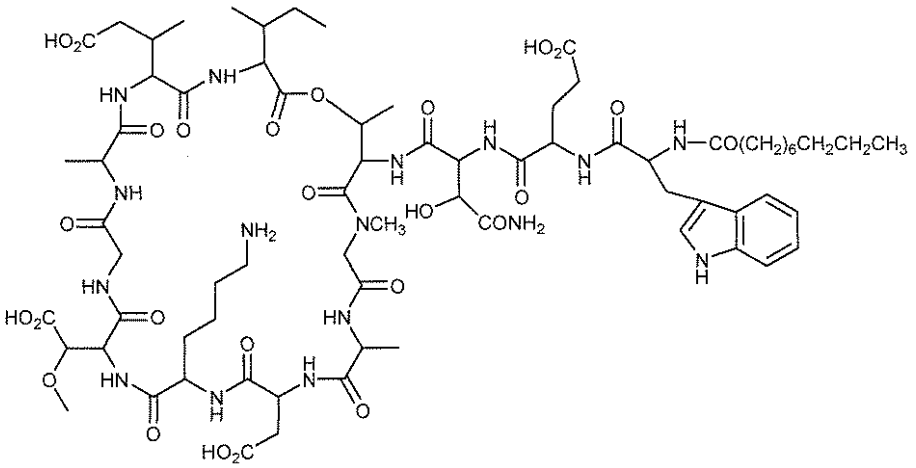
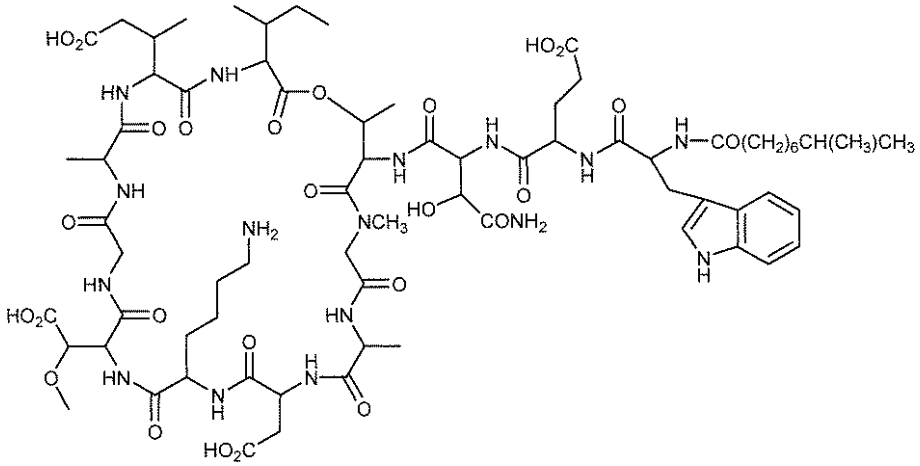
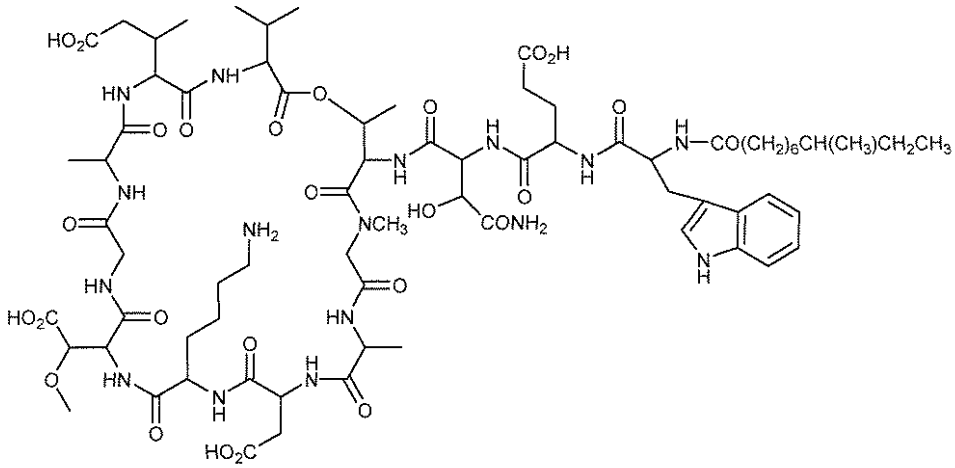
【表９７】

#	化合物
C323	
C324	
C325	

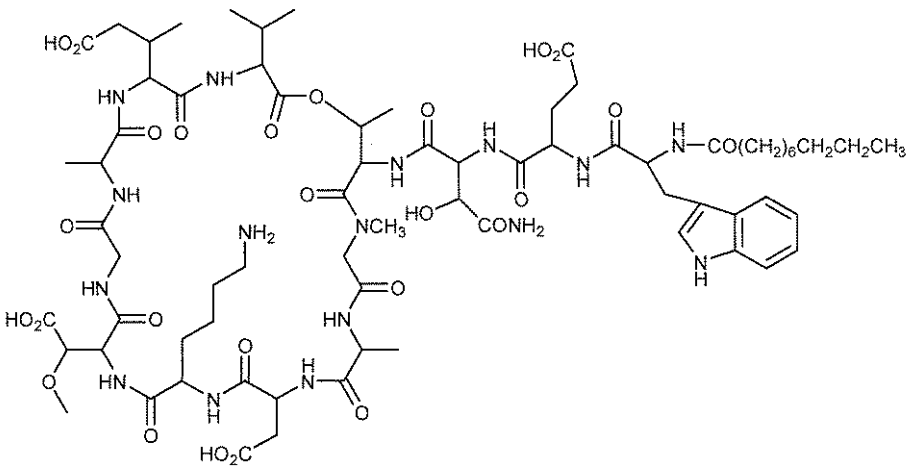
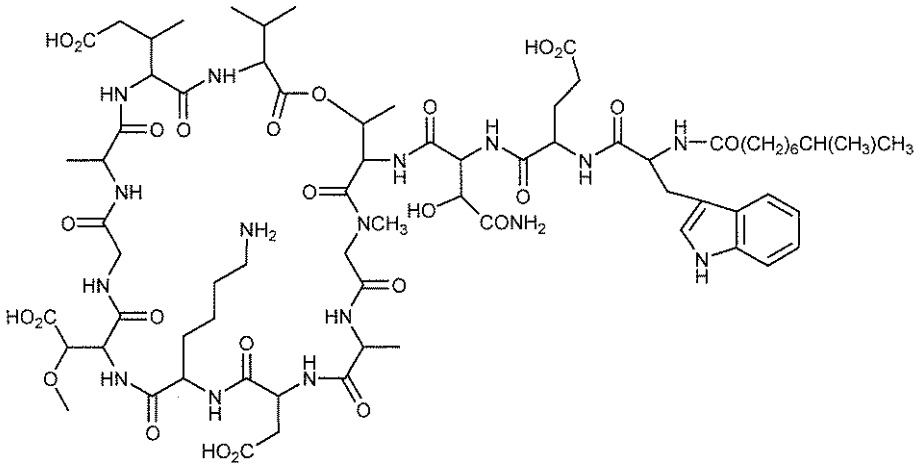
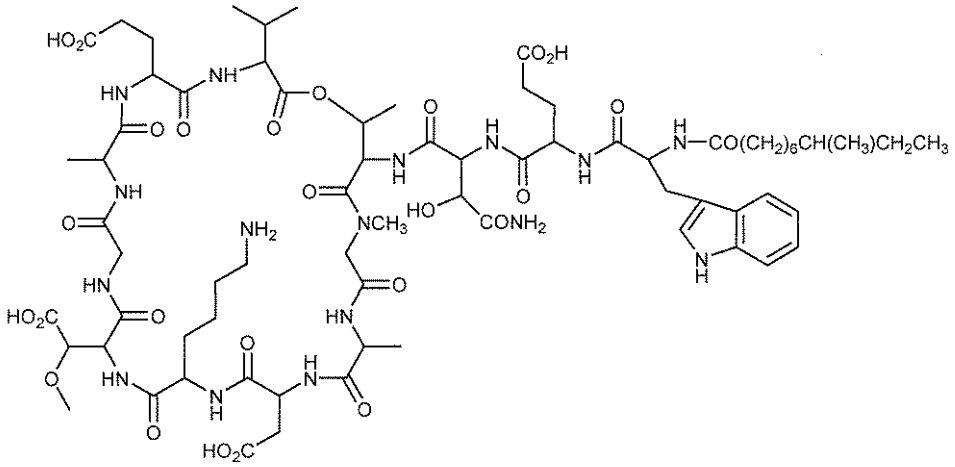
【表９８】

#	化合物
C326	
C327	
C328	

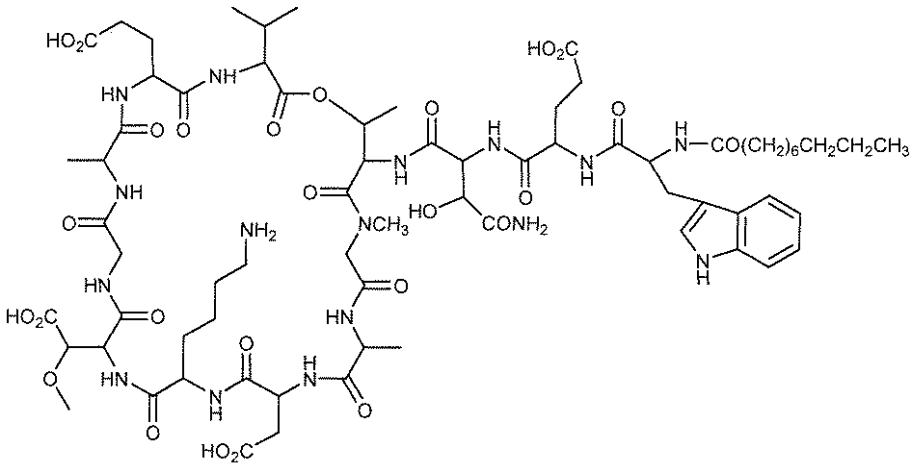
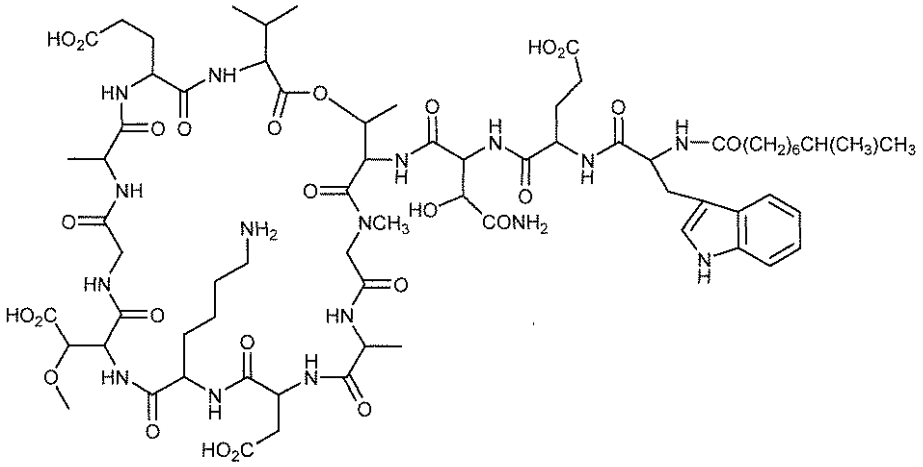
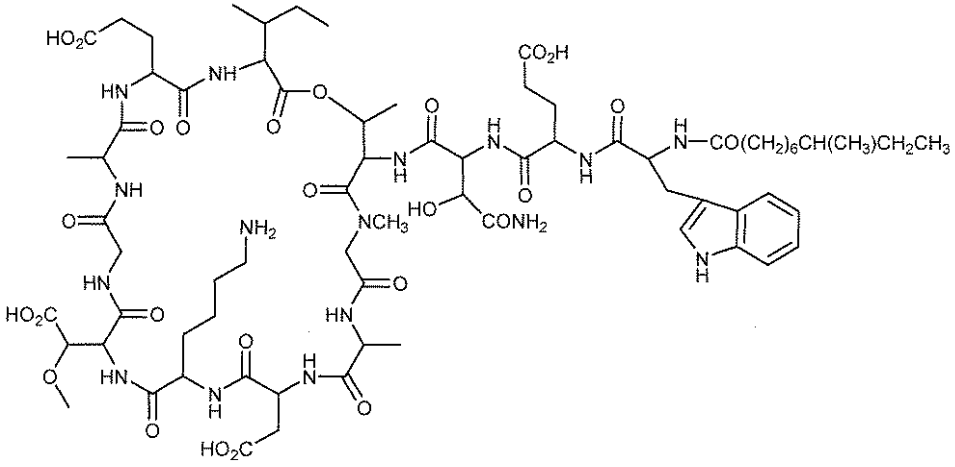
【表９９】

#	化合物
C329	
C330	
C331	

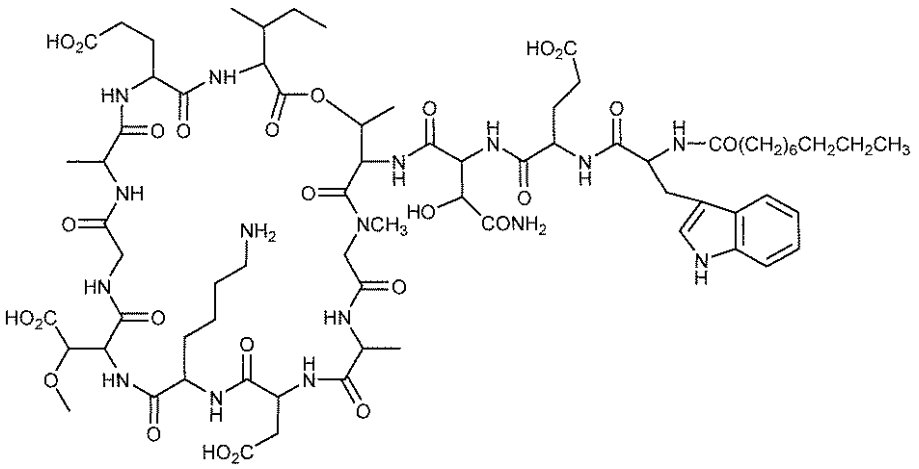
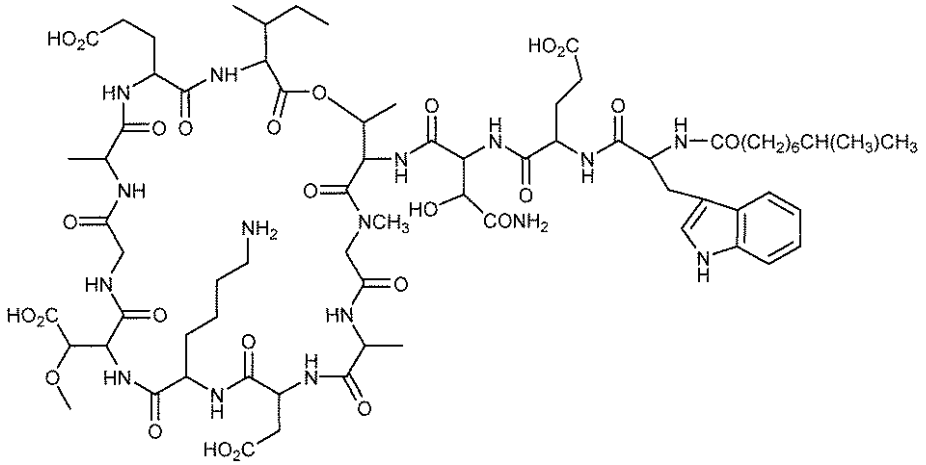
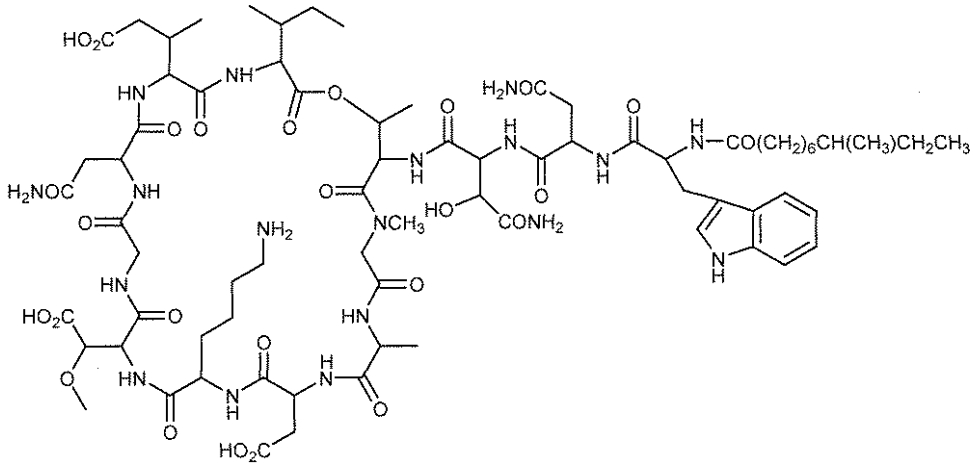
【表１００】

#	化合物
C332	
C333	
C334	

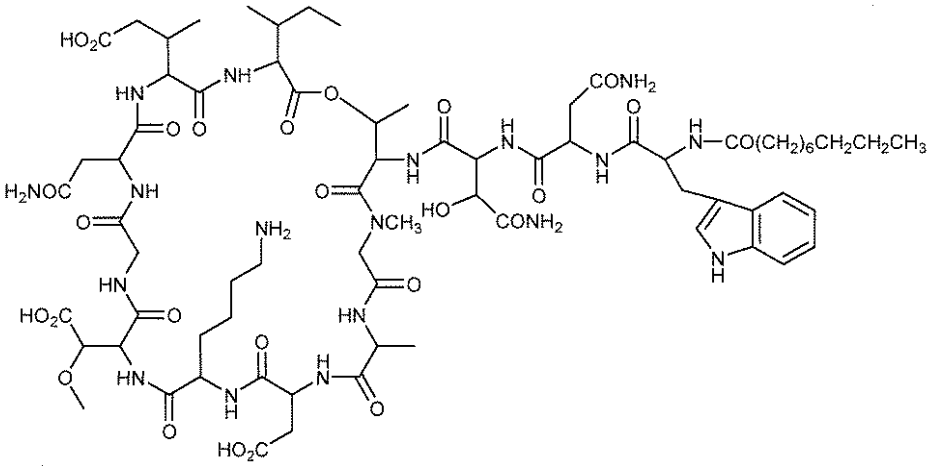
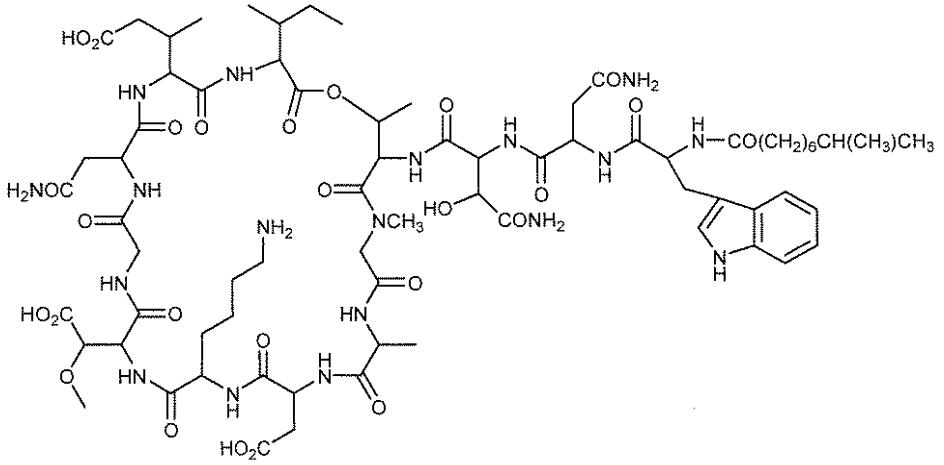
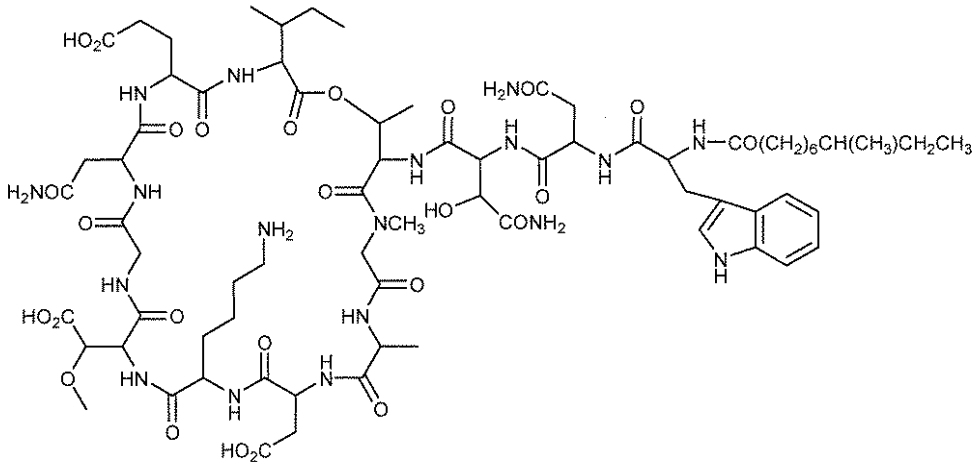
【表１０１】

#	化合物
C335	
C336	
C337	

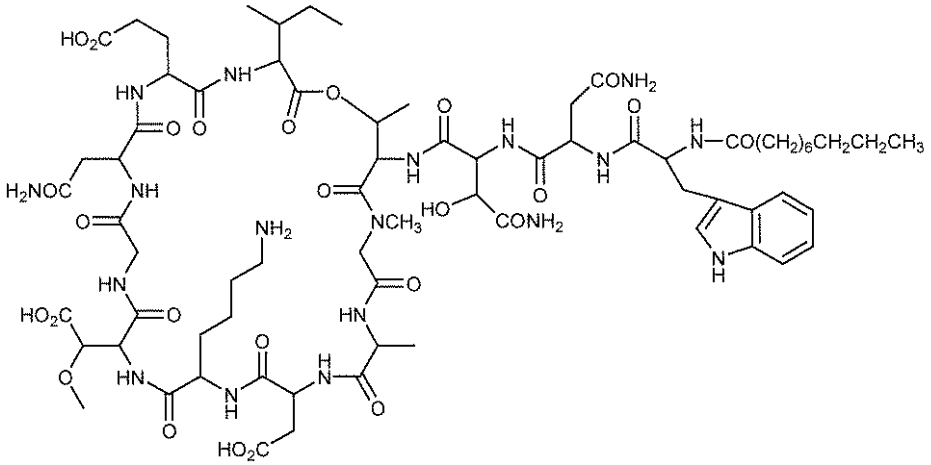
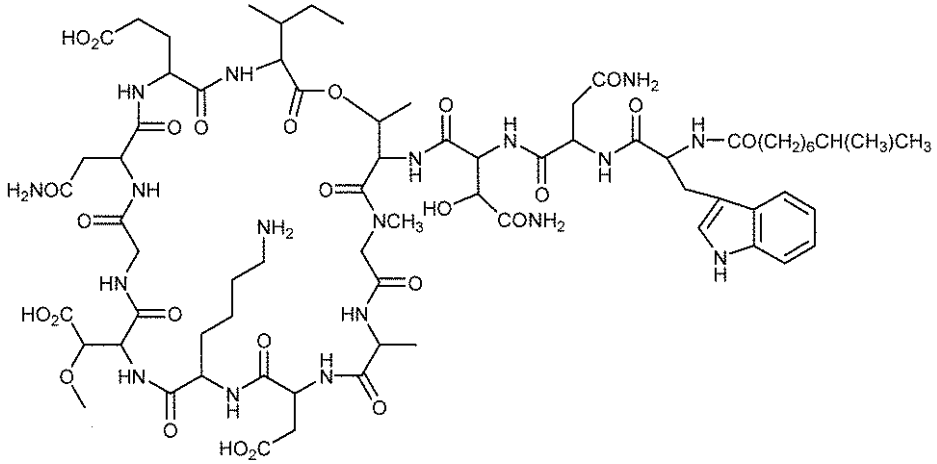
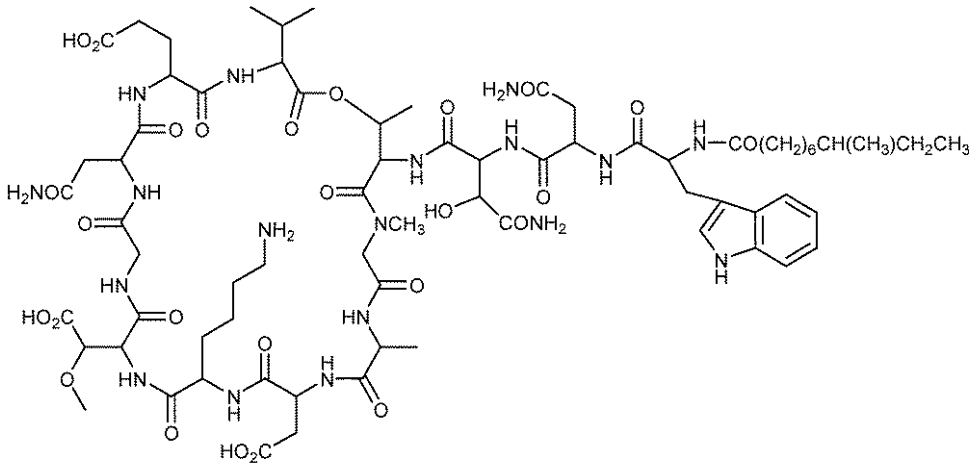
【表１０２】

#	化合物
C338	
C339	
C340	

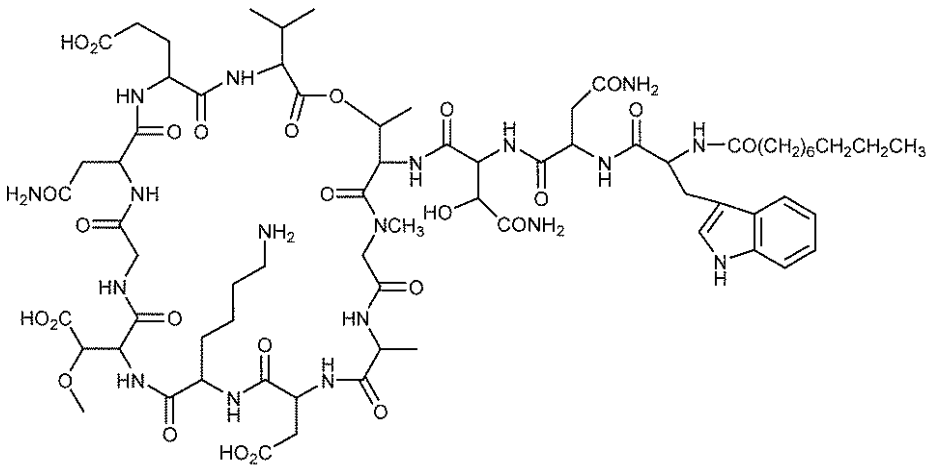
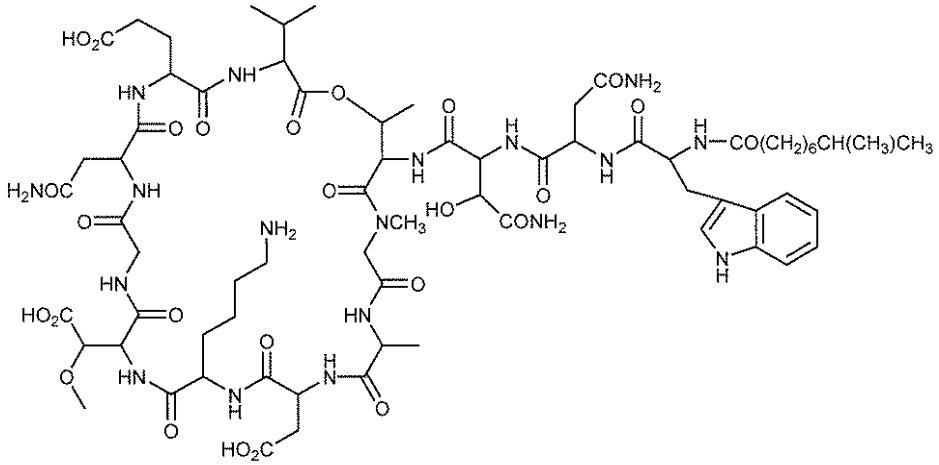
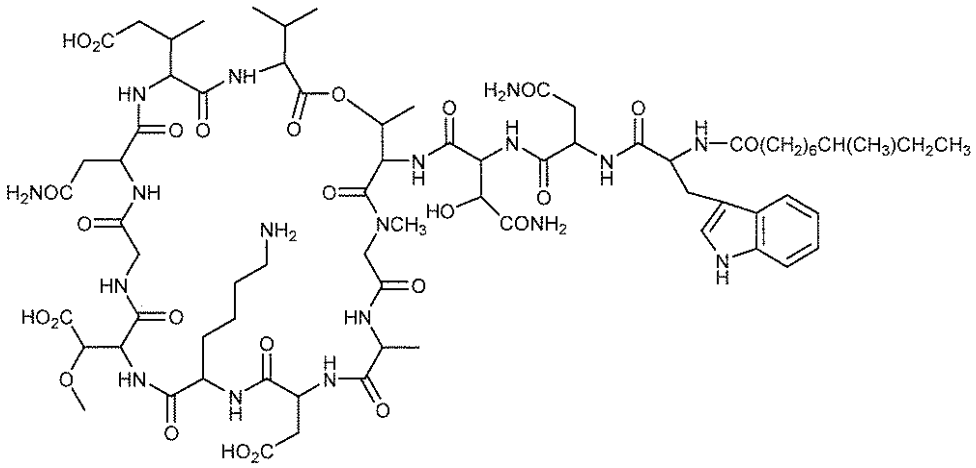
【表１０３】

#	化合物
C341	
C342	
C343	

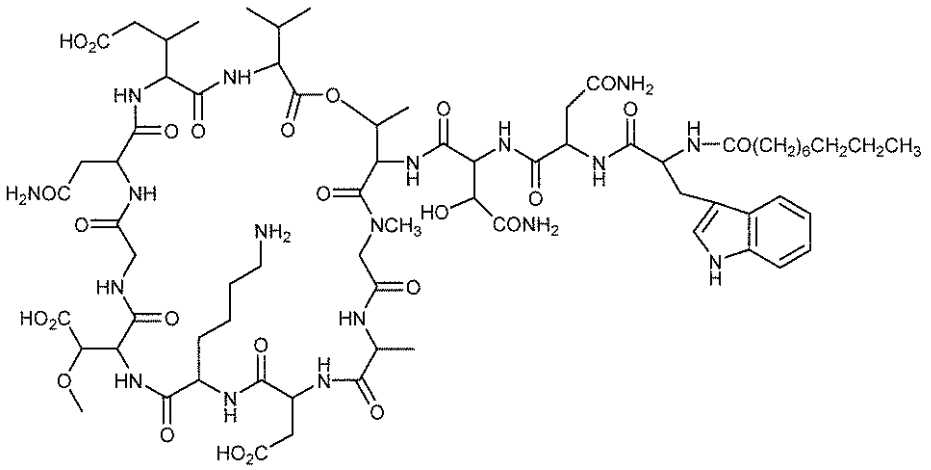
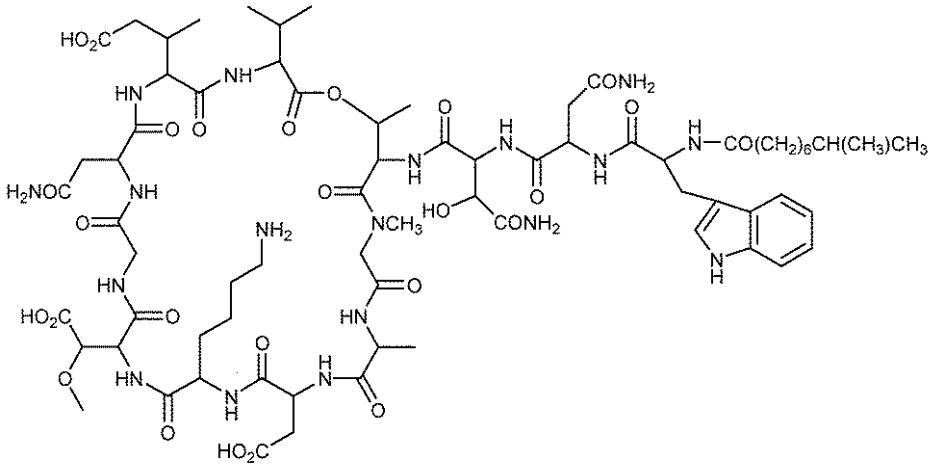
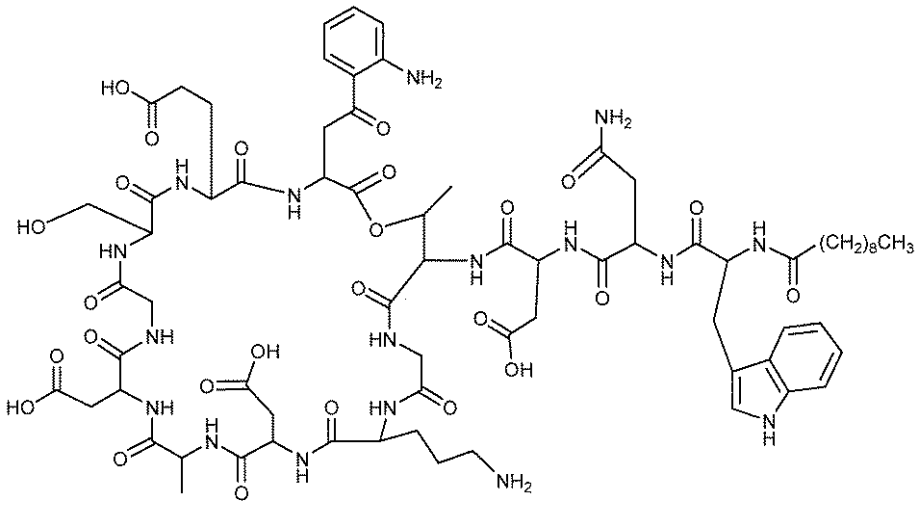
【表１０４】

#	化合物
C344	
C345	
C346	

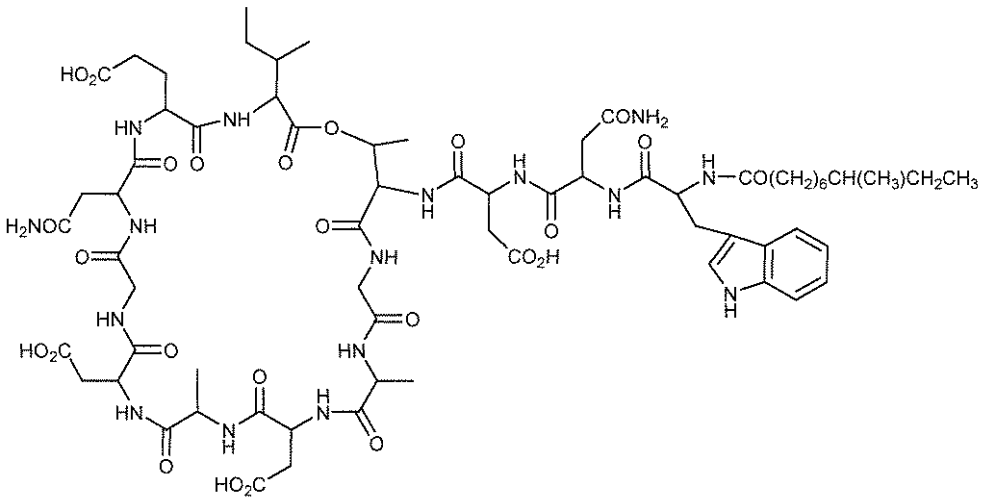
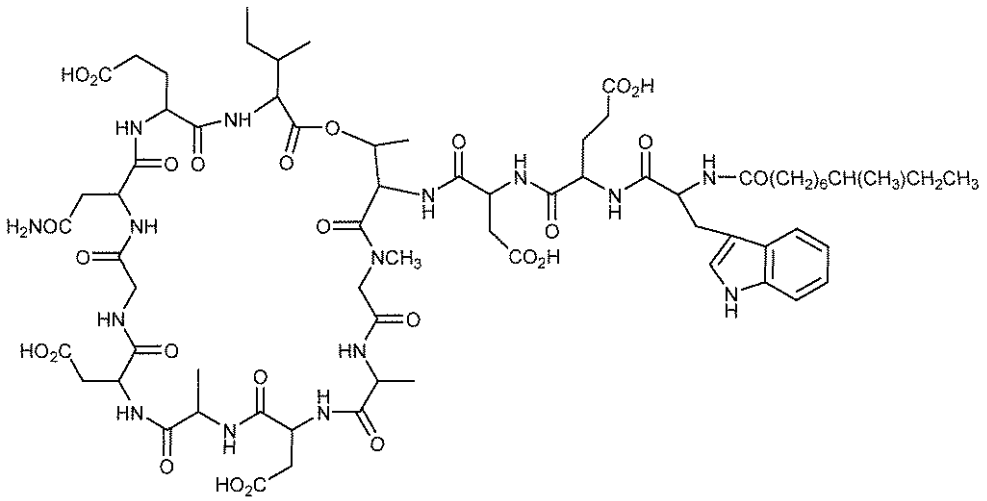
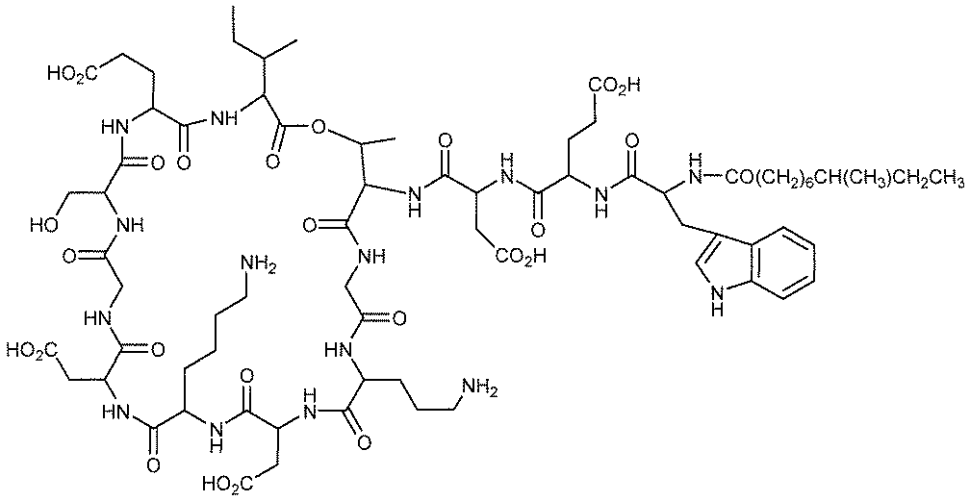
【表１０５】

#	化合物
C347	
C348	
C349	

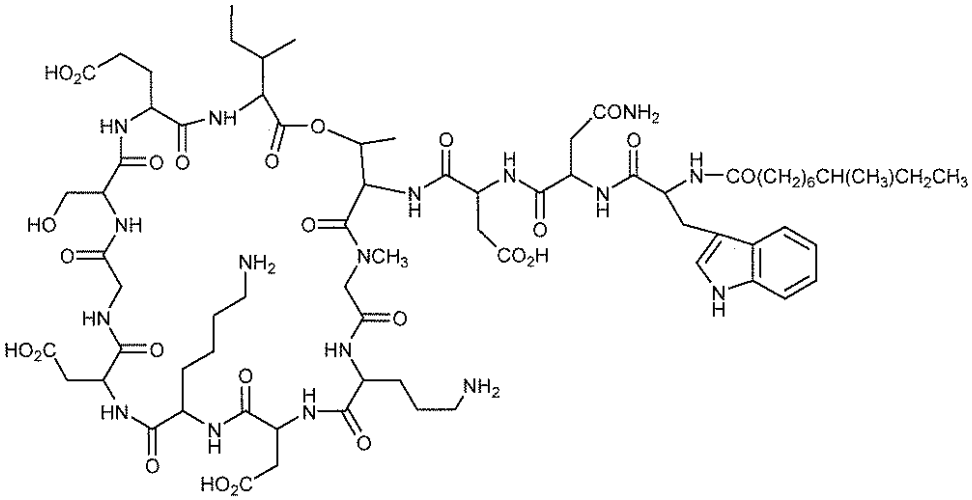
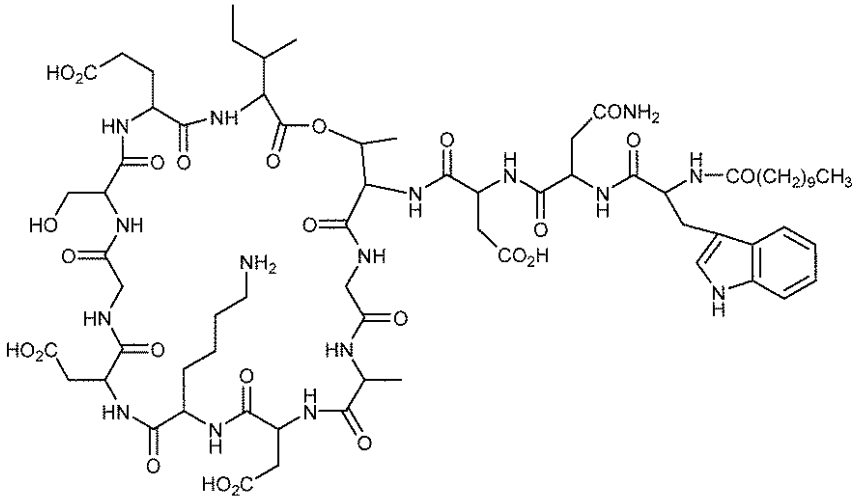
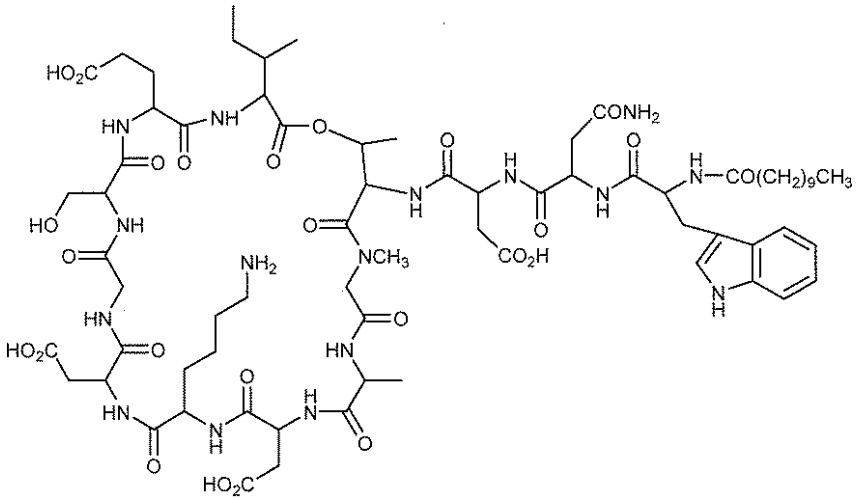
【表１０６】

#	化合物
C350	
C351	
C352	

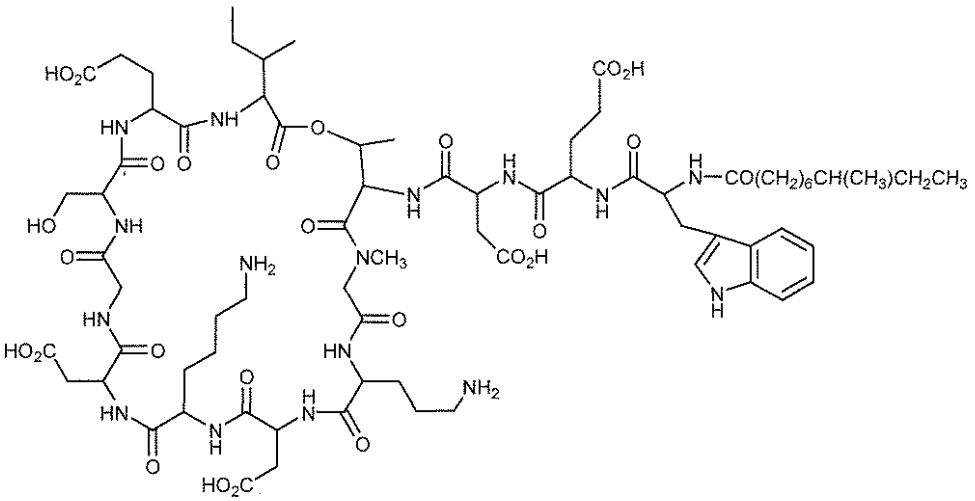
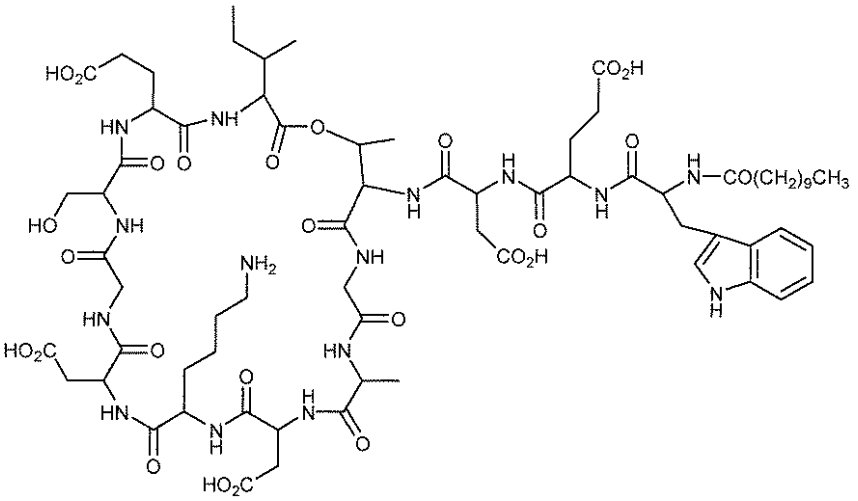
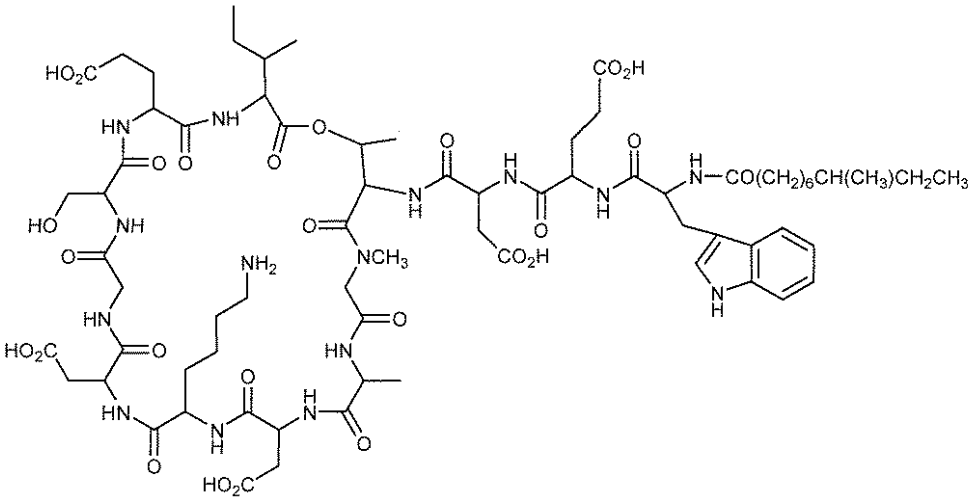
【表１０７】

#	化合物
C353	
C354	
C355	

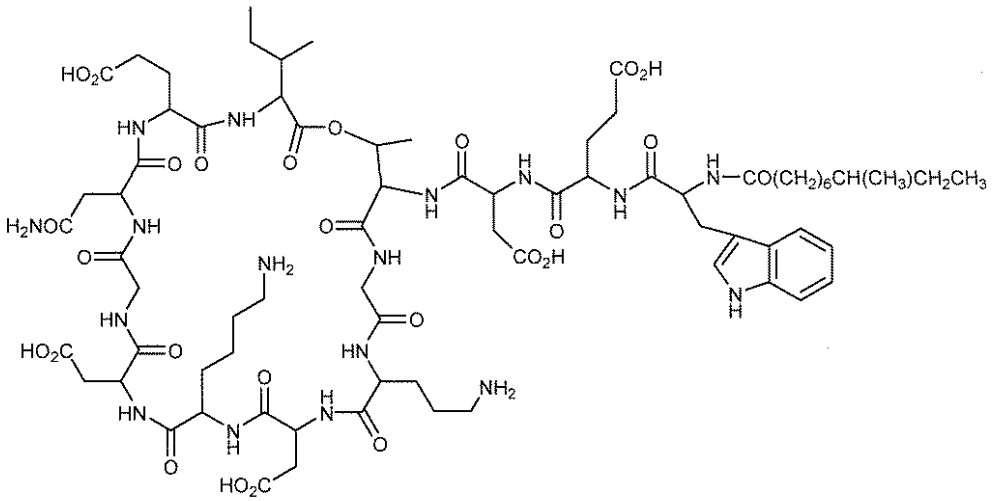
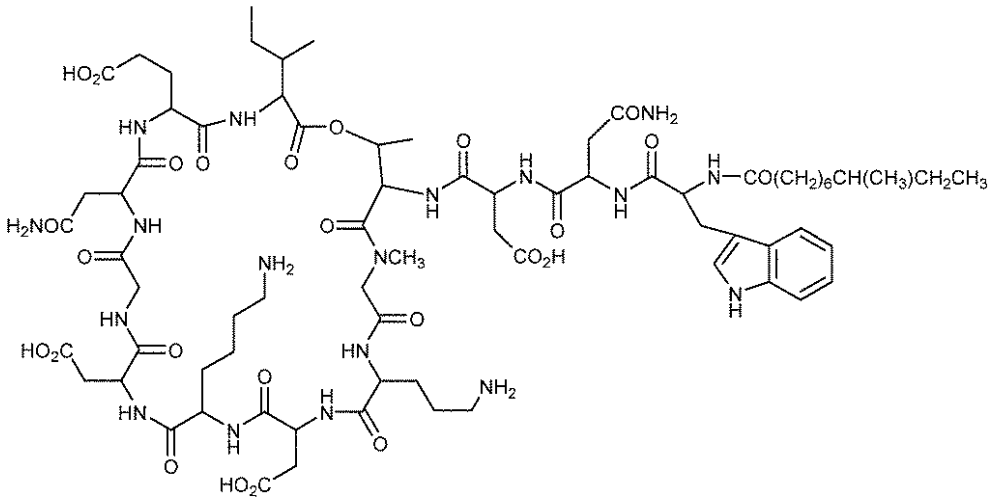
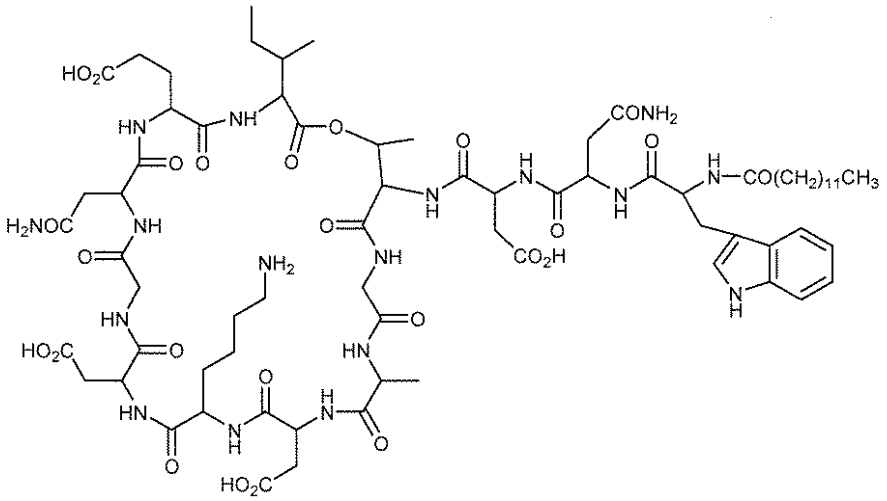
【表１０８】

#	化合物
C356	
C357	
C358	

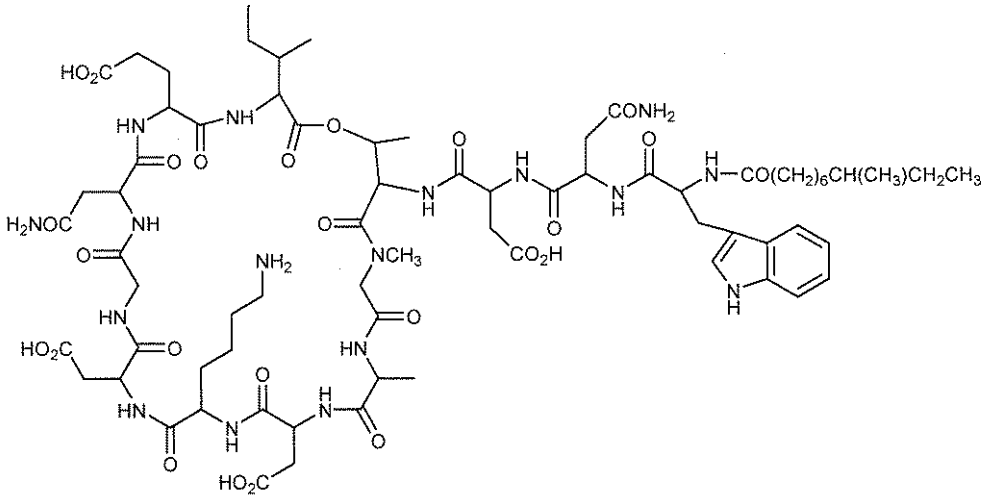
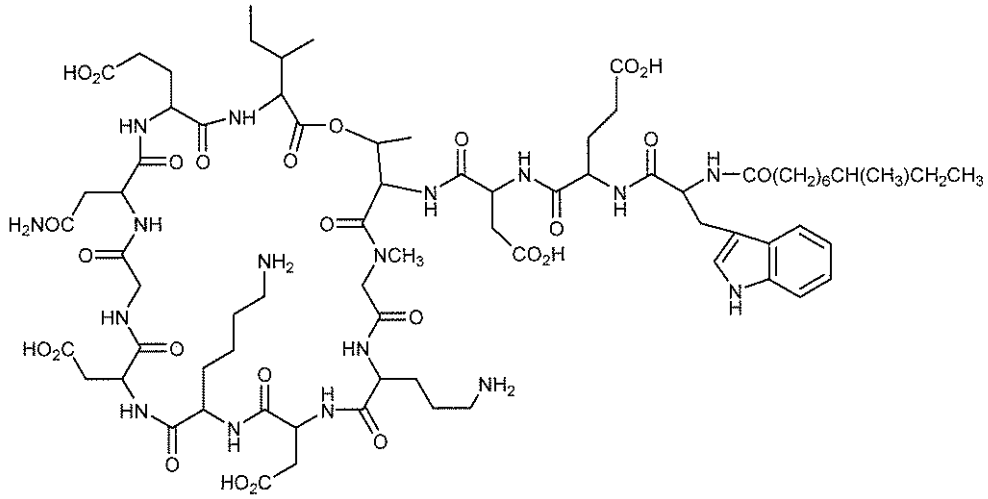
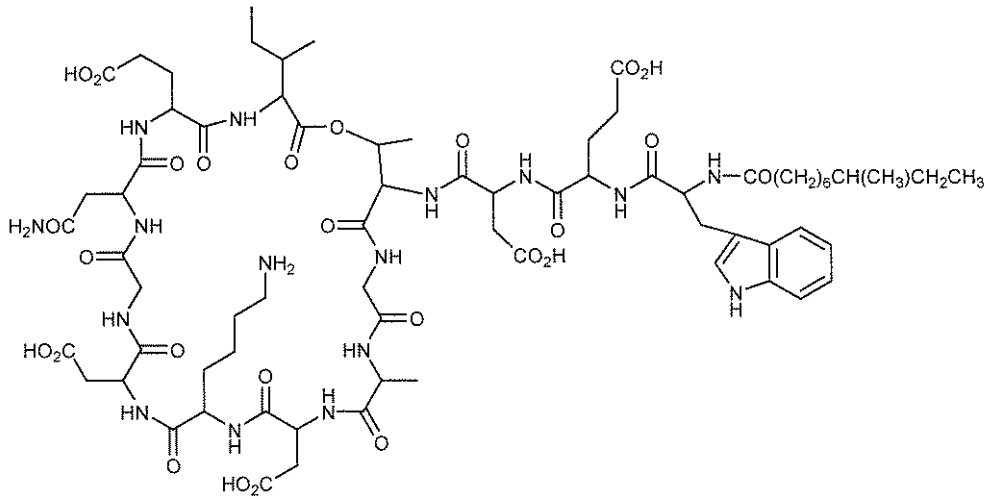
【表１０９】

#	化合物
C359	
C360	
C361	

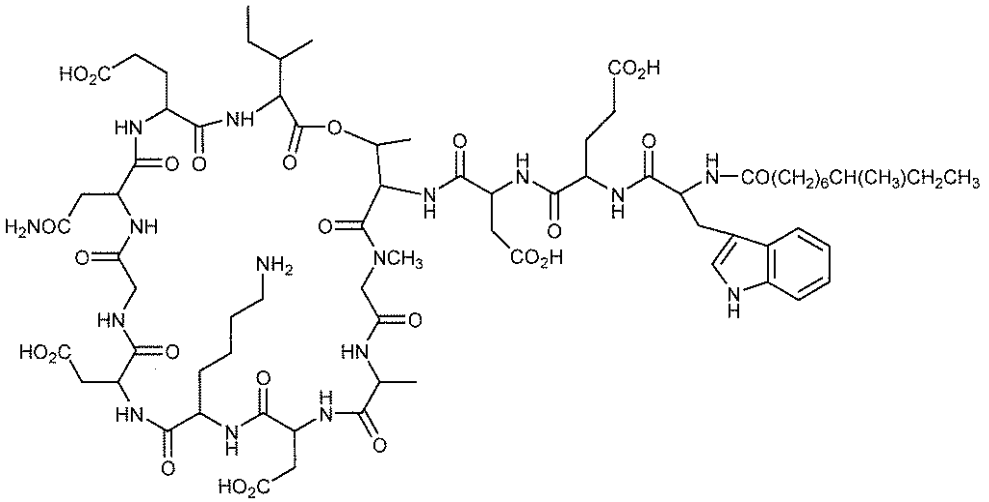
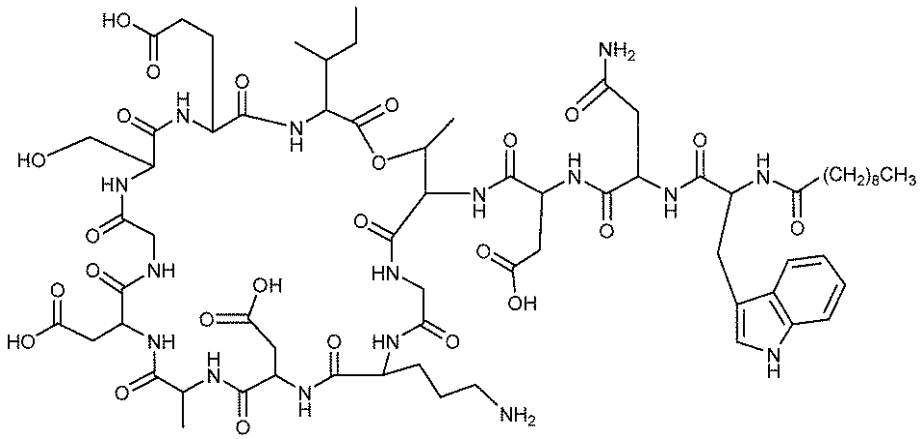
【表１１０】

#	化合物
C362	
C363	
C364	

【表１１１】

#	化合物
C365	
C366	
C367	

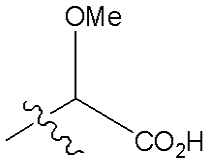
【表１１２】

#	化合物
C368	
C369	

【０１１１】

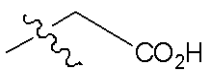
本発明の一の具体例では、Ｒ^{2}＊、Ｒ^{5}＊、Ｒ^{8}＊、Ｒ^{11}＊、およびＲ^{12}は各々、Ｈであり、Ｒ^{9}は、

【化１６７】



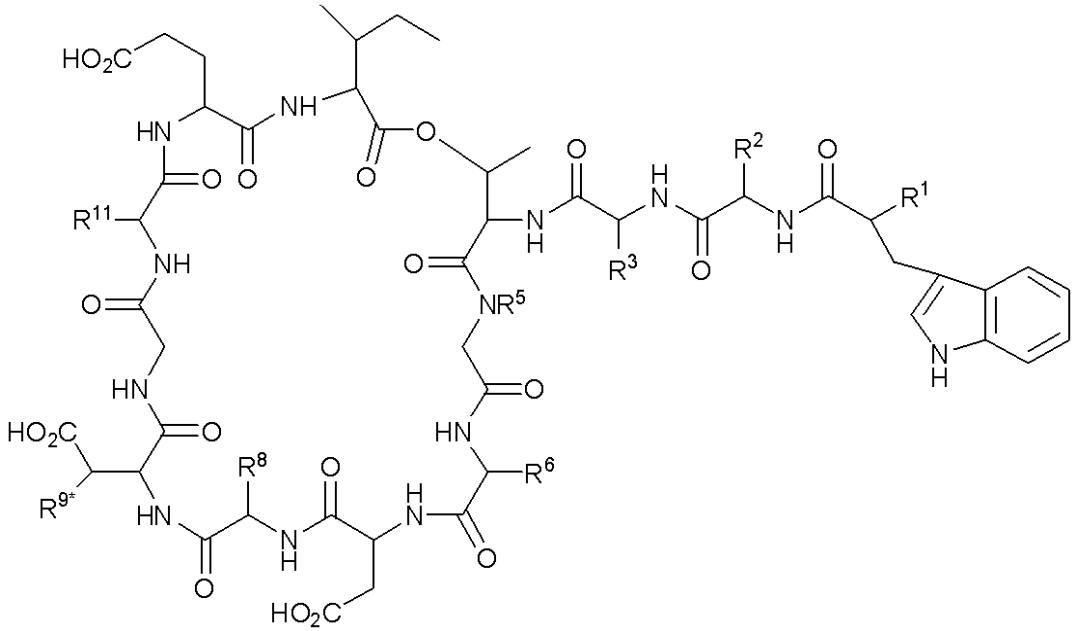
、もしくは

【化１６８】



であり、Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{3}$）ＣＨ$_{3}$である。この具体例は、式ＩＩ：

【化１６９】



〔式中、Ｒ９＊は、ＨもしくはＯＭｅであり、Ｒ１、Ｒ２、Ｒ３、Ｒ５、Ｒ６、Ｒ８、およびＲ１１は、すでに規定した通りである〕で示される化合物を提供する。

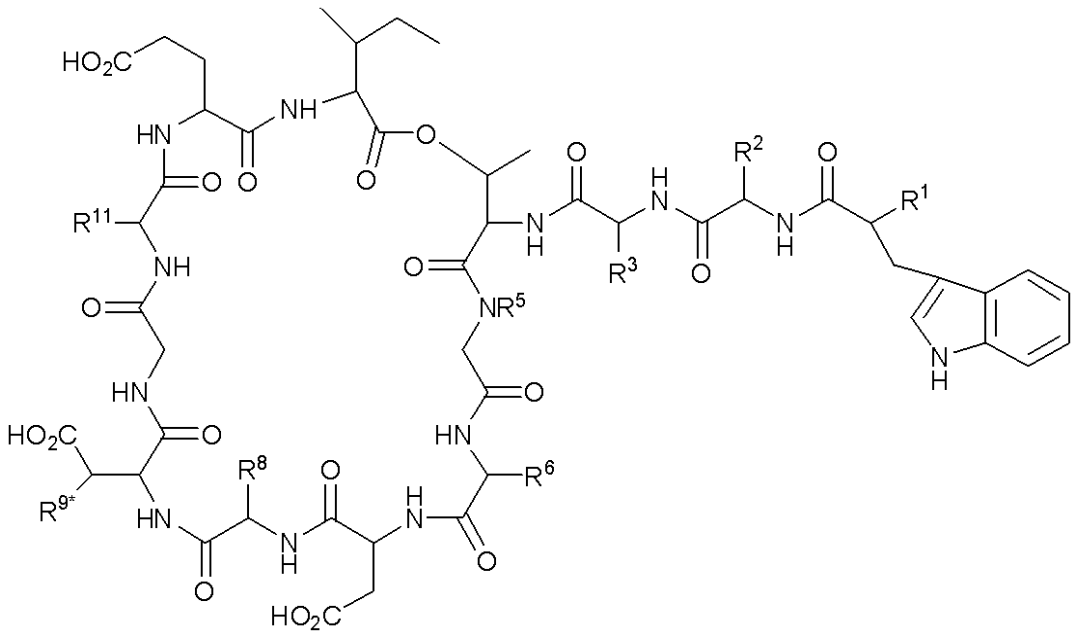
【０１１２】

表ＩＩは、式ＩＩで示される典型的な化合物を提供する。

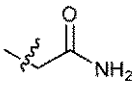
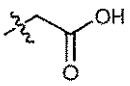
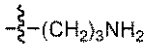
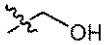
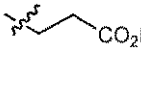
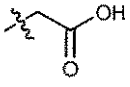
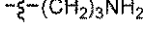
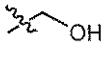
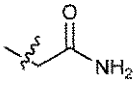
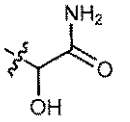
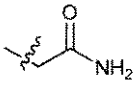
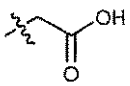
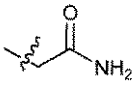
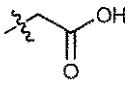
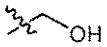
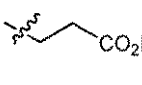
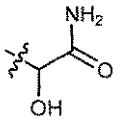
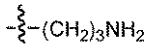
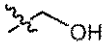
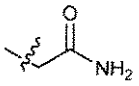
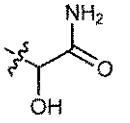
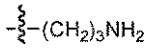
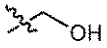
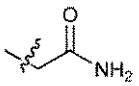
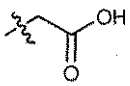
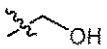
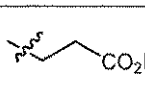
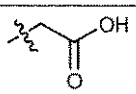
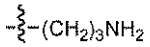
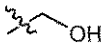
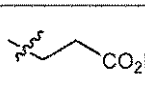
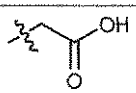
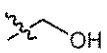
表ＩＩ

式ＩＩの化合物

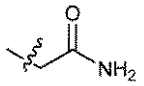
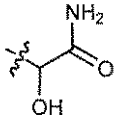
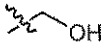
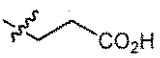
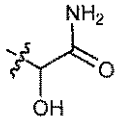
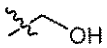
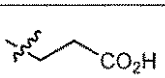
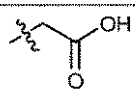
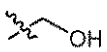
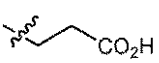
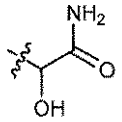
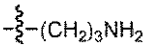
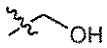
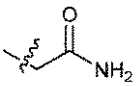
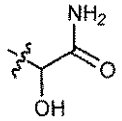
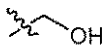
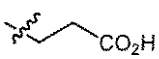
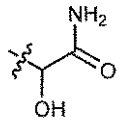
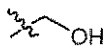
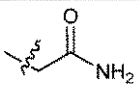
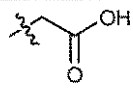
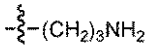
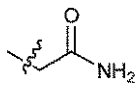
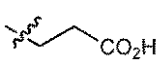
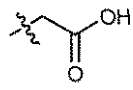
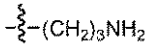
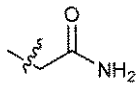
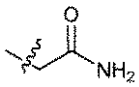
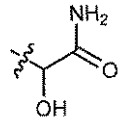
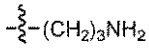
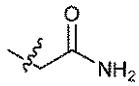
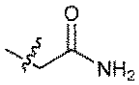
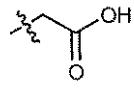
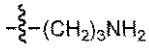
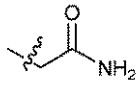
【化１７０】



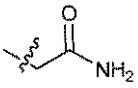
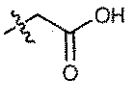
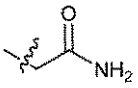
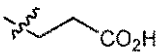
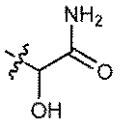
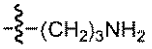
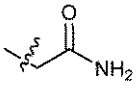
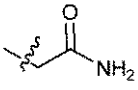
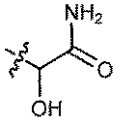
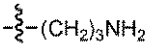
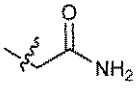
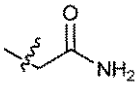
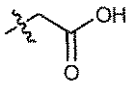
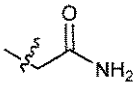
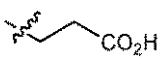
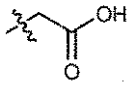
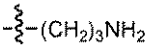
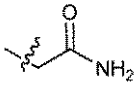
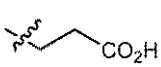
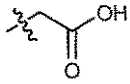
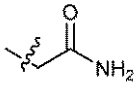
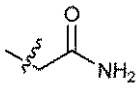
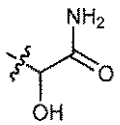
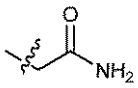
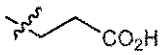
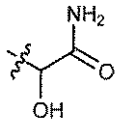
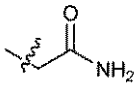
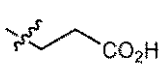
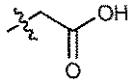
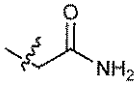
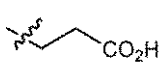
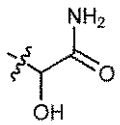
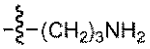
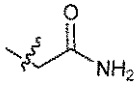
【表１１３】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII1			H		CH_3	H	
TII2			H		CH_3	H	
TII3			H		CH_3	H	
TII4			CH_3		CH_3	H	
TII5			H	CH_3	CH_3	H	
TII6			H		CH_3	H	
TII7			CH_3		CH_3	H	
TII8			CH_3	CH_3	CH_3	H	
TII9			CH_3		CH_3	H	
TII10			H	CH_3	CH_3	H	

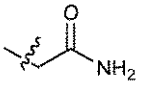
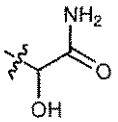
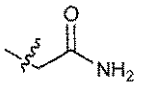
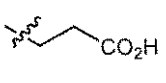
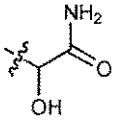
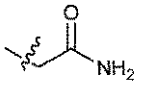
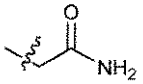
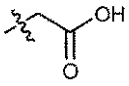
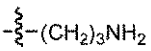
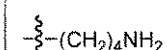
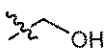
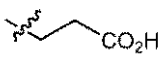
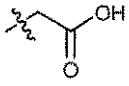
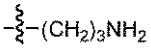
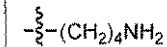
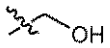
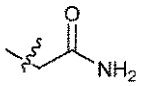
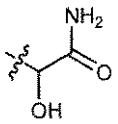
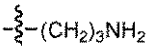
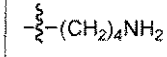
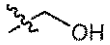
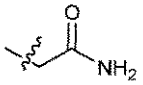
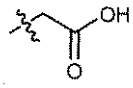
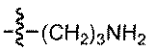
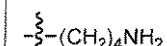
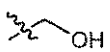
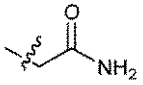
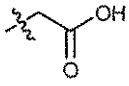
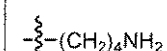
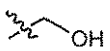
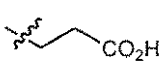
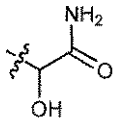
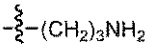
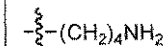
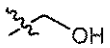
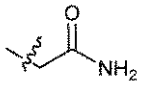
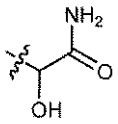
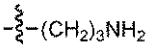
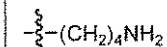
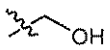
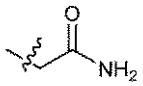
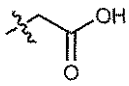
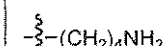
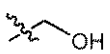
【表１１４】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII11			H	CH_3	CH_3	H	
TII12			H	CH_3	CH_3	H	
TII13			CH_3	CH_3	CH_3	H	
TII14			CH_3		CH_3	H	
TII15			CH_3	CH_3	CH_3	H	
TII16			CH_3	CH_3	CH_3	H	
TII17			H		CH_3	H	
TII18			H		CH_3	H	
TII19			H		CH_3	H	
TII20			CH_3		CH_3	H	

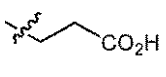
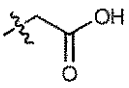
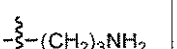
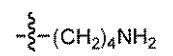
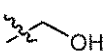
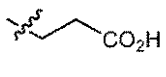
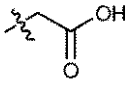
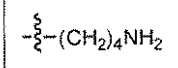
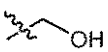
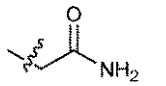
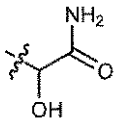
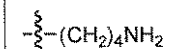
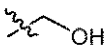
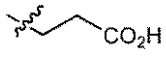
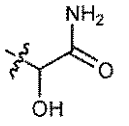
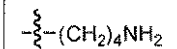
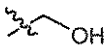
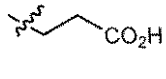
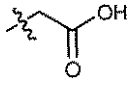
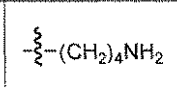
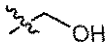
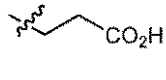
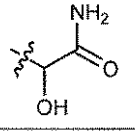
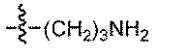
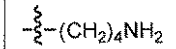
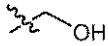
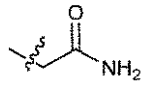
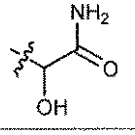
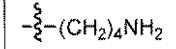
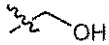
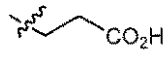
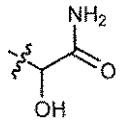
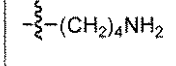
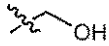
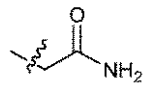
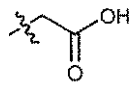
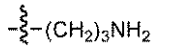
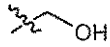
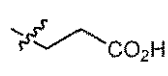
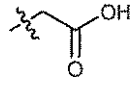
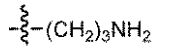
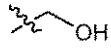
【表１１５】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII21			H	CH_3	CH_3	H	
TII22			H		CH_3	H	
TII23			CH_3		CH_3	H	
TII24			CH_3	CH_3	CH_3	H	
TII25			CH_3		CH_3	H	
TII26			H	CH_3	CH_3	H	
TII27			H	CH_3	CH_3	H	
TII28			H	CH_3	CH_3	H	
TII29			CH_3	CH_3	CH_3	H	
TII30			CH_3		CH_3	H	

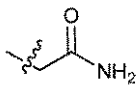
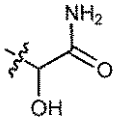
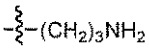
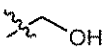
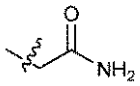
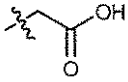
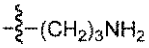
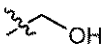
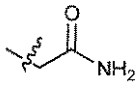
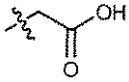
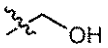
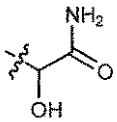
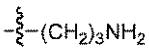
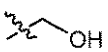
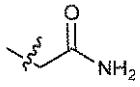
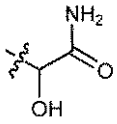
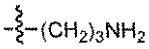
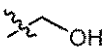
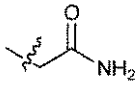
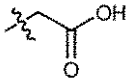
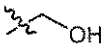
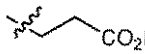
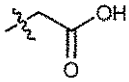
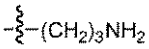
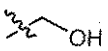
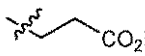
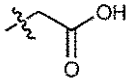
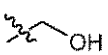
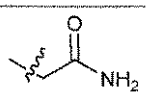
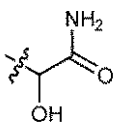
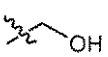
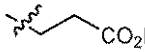
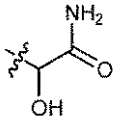
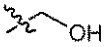
【表１１６】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII31			CH_3	CH_3	CH_3	H	
TII32			CH_3	CH_3	CH_3	H	
TII33			H			H	
TII34			H			H	
TII35			H			H	
TII36			CH_3			H	
TII37			H	CH_3		H	
TII38			H			H	
TII39			CH_3			H	
TII40			CH_3	CH_3		H	

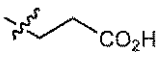
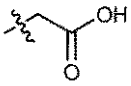
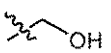
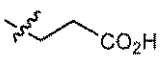
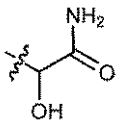
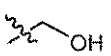
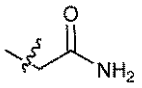
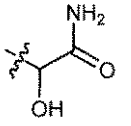
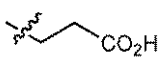
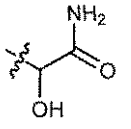
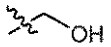
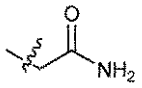
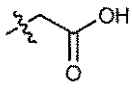
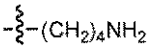
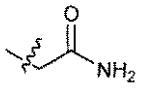
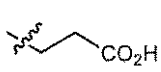
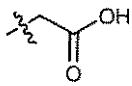
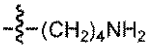
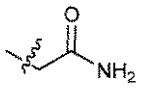
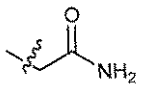
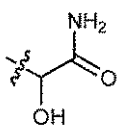
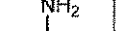
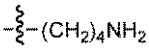
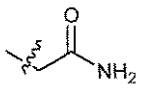
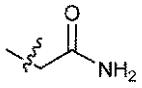
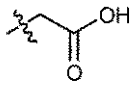
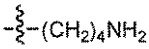
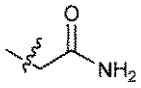
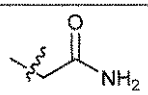
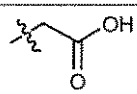
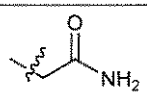
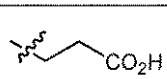
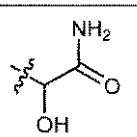
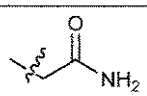
【表１１７】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII41			CH_3			H	
TII42			H	CH_3		H	
TII43			H	CH_3		H	
TII44			H	CH_3		H	
TII45			CH_3	CH_3		H	
TII46			CH_3			H	
TII47			CH_3	CH_3		H	
TII48			CH_3	CH_3		H	
TII49			H		CH_3	OMe	
TII50			H		CH_3	OMe	

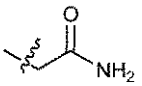
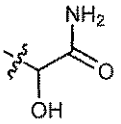
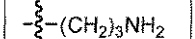
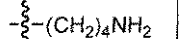
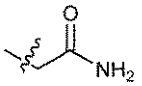
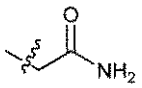
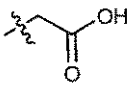
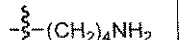
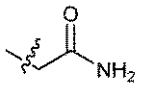
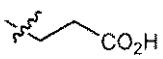
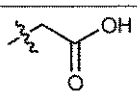
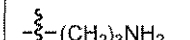
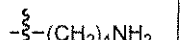
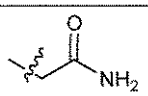
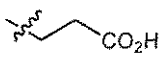
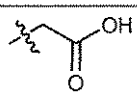
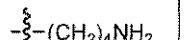
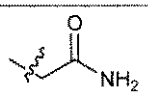
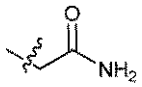
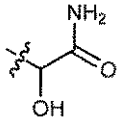
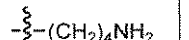
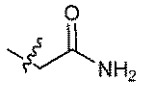
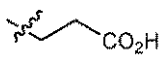
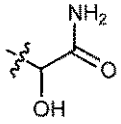
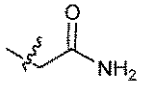
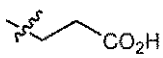
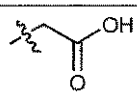
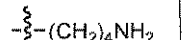
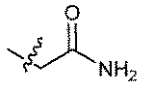
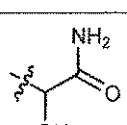
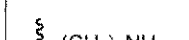
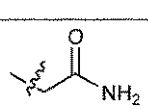
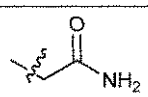
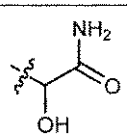
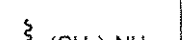
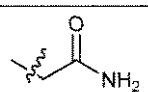
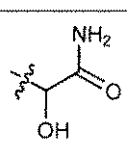
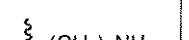
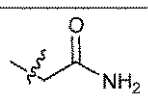
【表１１８】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII51			H		CH_3	OMe	
TII52			CH_3		CH_3	OMe	
TII53			H	CH_3	CH_3	OMe	
TII54			H		CH_3	OMe	
TII55			CH_3		CH_3	OMe	
TII56			CH_3	CH_3	CH_3	OMe	
TII57			CH_3		CH_3	OMe	
TII58			H	CH_3	CH_3	OMe	
TII59			H	CH_3	CH_3	OMe	
TII60			H	CH_3	CH_3	OMe	

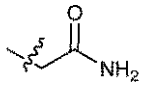
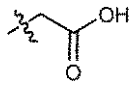
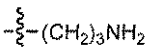
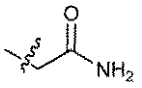
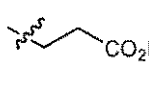
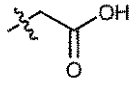
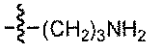
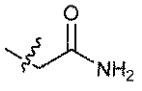
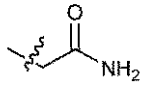
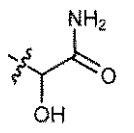
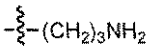
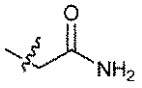
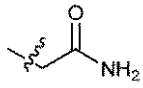
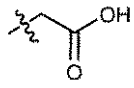
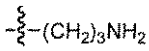
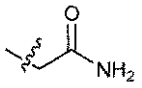
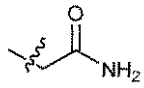
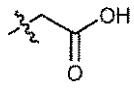
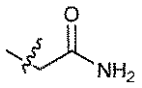
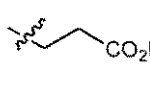
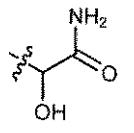
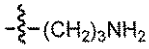
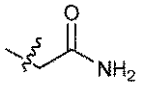
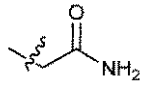
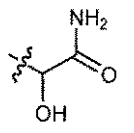
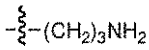
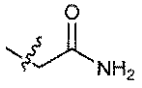
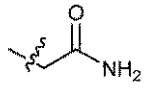
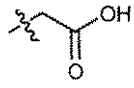
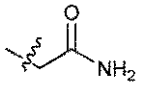
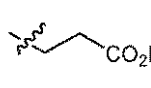
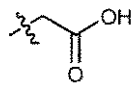
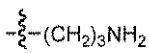
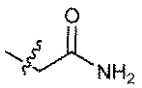
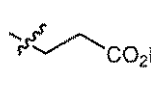
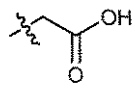
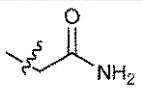
【表１１９】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII61			CH_3	CH_3	CH_3	OMe	
TII62			CH_3		CH_3	OMe	
TII63			CH_3	CH_3	CH_3	OMe	
TII64			CH_3	CH_3	CH_3	OMe	
TII65			H			H	
TII66			H			H	
TII67			H			H	
TII68			CH_3			H	
TII69			H	CH_3		H	
TII70			H			H	

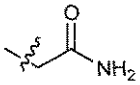
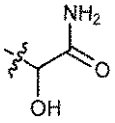
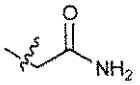
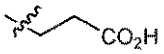
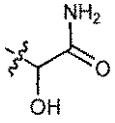
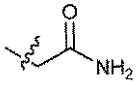
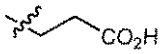
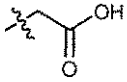
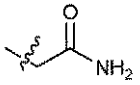
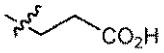
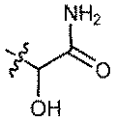
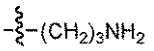
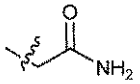
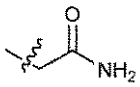
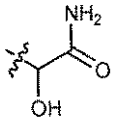
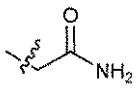
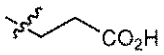
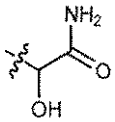
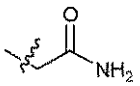
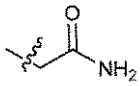
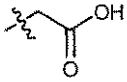
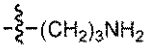
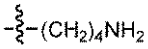
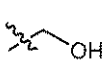
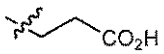
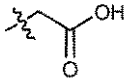
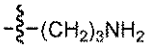
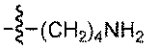
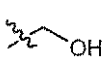
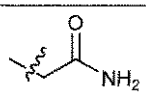
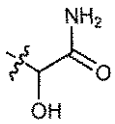
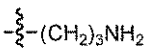
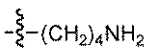
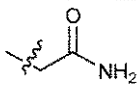
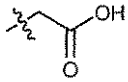
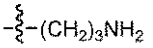
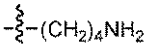
【表１２０】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII71			CH_3			H	
TII72			CH_3	CH_3		H	
TII73			CH_3			H	
TII74			H	CH_3		H	
TII75			H	CH_3		H	
TII76			H	CH_3		H	
TII77			CH_3	CH_3		H	
TII78			CH_3			H	
TII79			CH_3	CH_3		H	
TII80			CH_3	CH_3		H	

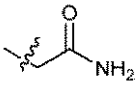
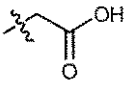
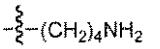
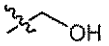
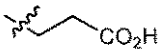
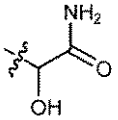
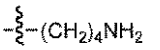
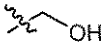
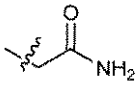
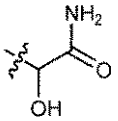
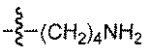
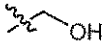
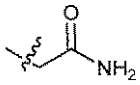
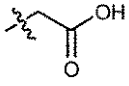
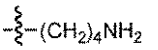
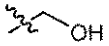
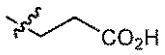
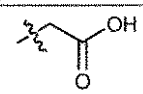
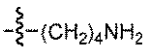
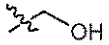
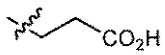
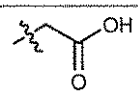
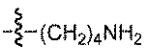
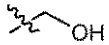
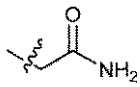
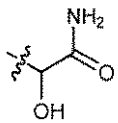
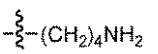
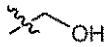
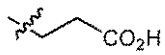
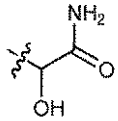
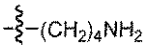
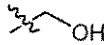
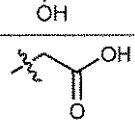
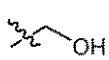
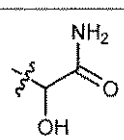
【表１２１】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII81			H		CH_3	OMe	
TII82			H		CH_3	OMe	
TII83			H		CH_3	OMe	
TII84			CH_3		CH_3	OMe	
TII85			H	CH_3	CH_3	OMe	
TII86			H		CH_3	OMe	
TII87			CH_3		CH_3	OMe	
TII88			CH_3	CH_3	CH_3	OMe	
TII89			CH_3		CH_3	OMe	
TII90			H	CH_3	CH_3	OMe	

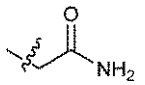
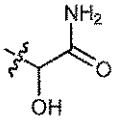
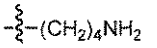
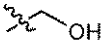
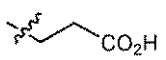
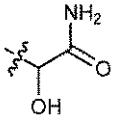
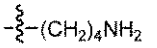
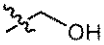
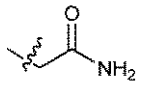
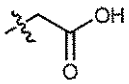
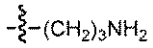
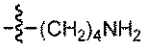
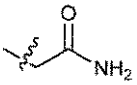
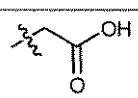
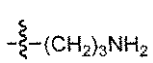
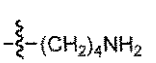
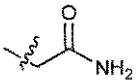
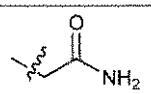
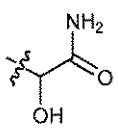
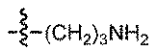
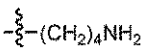
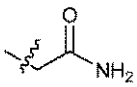
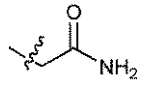
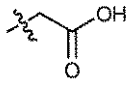
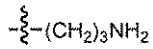
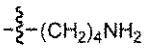
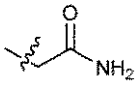
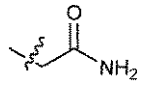
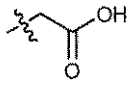
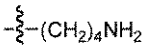
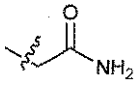
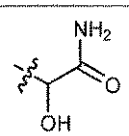
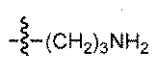
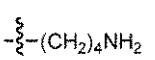
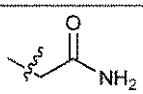
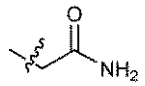
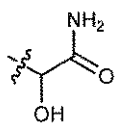
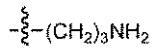
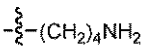
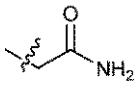
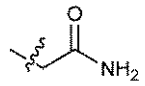
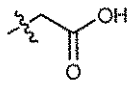
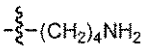
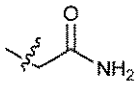
【表１２２】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII91			H	CH_3	CH_3	OMe	
TII92			H	CH_3	CH_3	OMe	
TII93			CH_3	CH_3	CH_3	OMe	
TII94			CH_3		CH_3	OMe	
TII95			CH_3	CH_3	CH_3	OMe	
TII96			CH_3	CH_3	CH_3	OMe	
TII97			H			OMe	
TII98			H			OMe	
TII99			H			OMe	
TII100			CH_3			OMe	

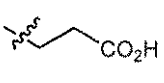
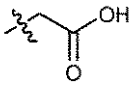
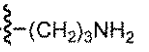
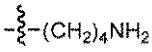
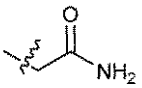
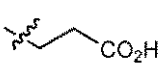
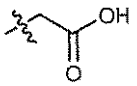
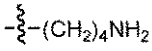
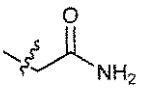
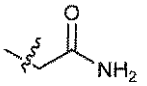
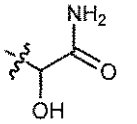
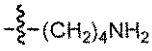
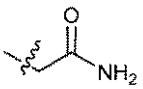
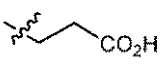
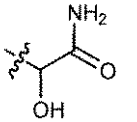
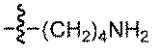
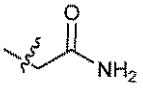
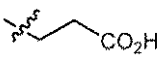
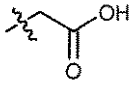
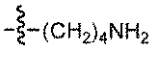
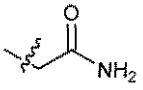
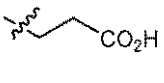
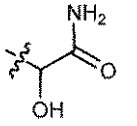
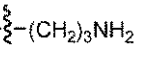
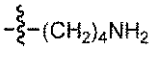
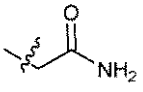
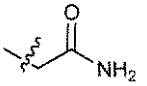
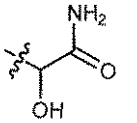
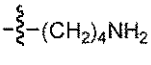
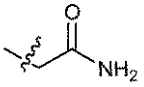
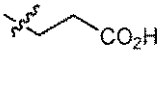
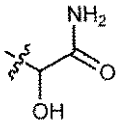
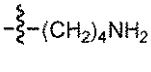
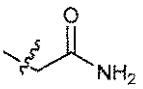
【表１２３】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII101			H	CH_3		OMe	
TII102			H			OMe	
TII103			CH_3			OMe	
TII104			CH_3	CH_3		OMe	
TII105			CH_3			OMe	
TII106			H	CH_3		OMe	
TII107			H	CH_3		OMe	
TII108			H	CH_3		OMe	
TII109			CH_3	CH_3		OMe	
TII110			CH_3			OMe	

【表１２４】

#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII111			CH_3	CH_3		OMe	
TII112			CH_3	CH_3		OMe	
TII113			H			OMe	
TII114			H			OMe	
TII115			H			OMe	
TII116			CH_3			OMe	
TII117			H	CH_3		OMe	
TII118			H			OMe	
TII119			CH_3			OMe	
TII120			CH_3	CH_3		OMe	

【表１２５】

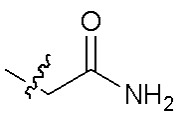
#	R^2	R^3	R^5	R^6	R^8	R^{9*}	R^{11}
TII121			CH_3			OMe	
TII122			H	CH_3		OMe	
TII123			H	CH_3		OMe	
TII124			H	CH_3		OMe	
TII125			CH_3	CH_3		OMe	
TII126			CH_3			OMe	
TII127			CH_3	CH_3		OMe	
TII128			CH_3	CH_3		OMe	

【０１１３】

本発明の別の具体例では、

R^2 は

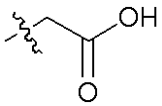
【化１７１】



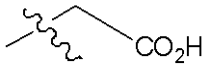
であり、

R^3 は

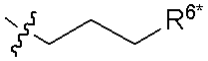
【化１７２】



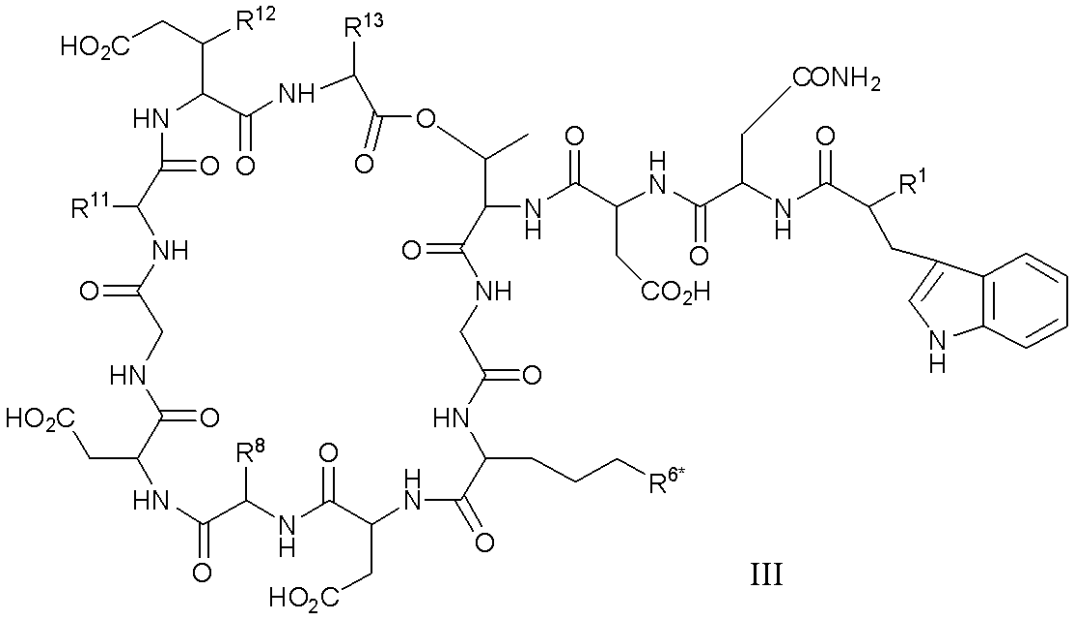
であり、
R^9は、
【化１７３】



であり、
R^{2*}、R^5、R^{5*}、R^{8*}、およびR^{11*}は、各々Hであり、
R^6は
【化１７４】



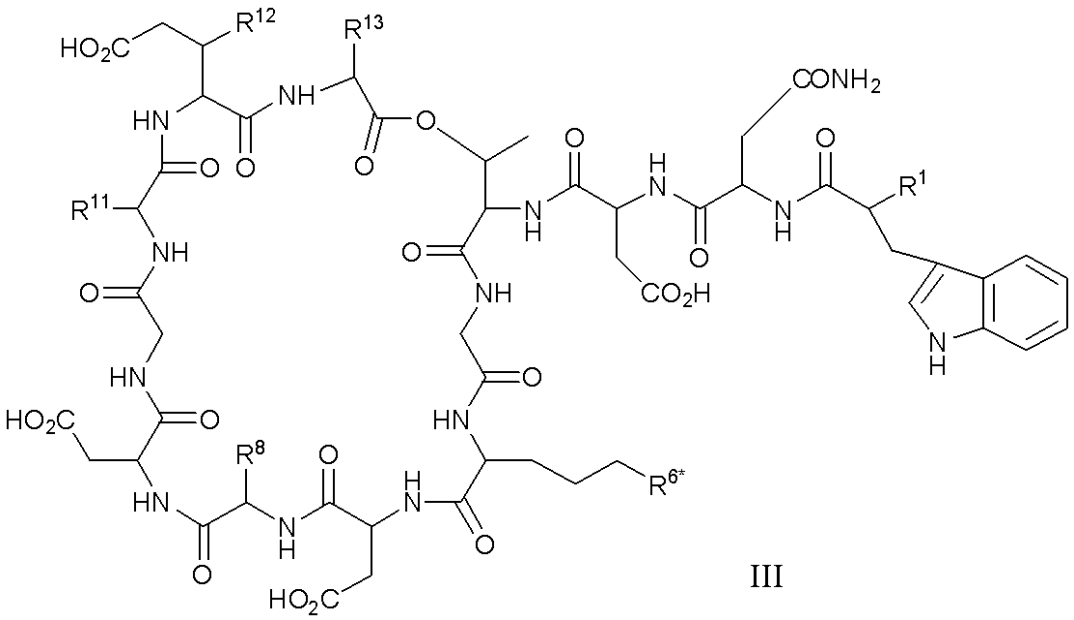
である。この具体例は、式ＩＩＩ
【化１７５】



III

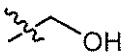
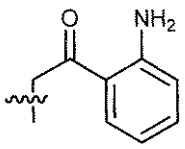
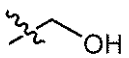
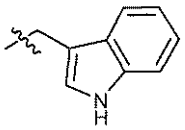
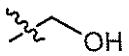
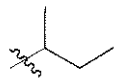
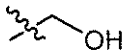
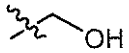
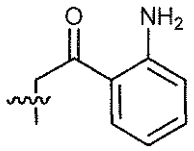
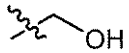
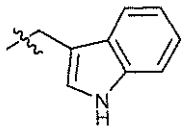
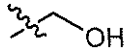
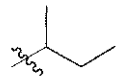
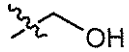
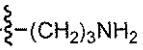
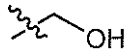
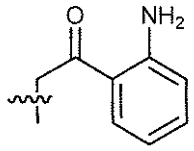
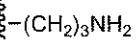
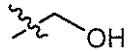
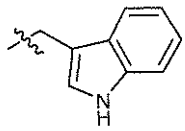
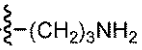
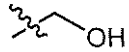
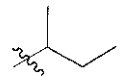
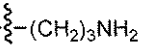
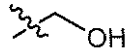
〔式中、R^1、R^{6*}、R^8、R^{11}、R^{12}およびR^{13}は規定した通りである〕で示される化合物を提供する。
【０１１４】
表ＩＩＩは、式ＩＩＩで示される典型的な化合物を提供する。
図ＩＩＩ
式ＩＩＩの化合物

【化１７６】

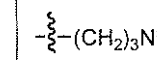
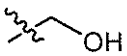
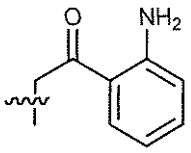
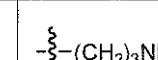
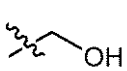
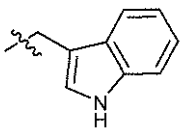
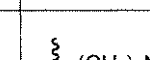
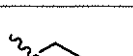
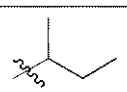
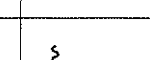
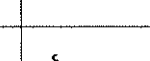
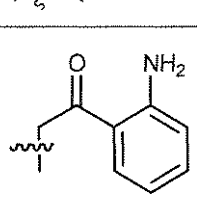
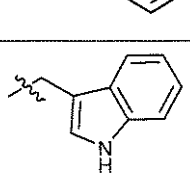
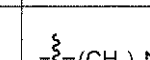
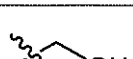
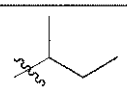
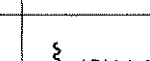
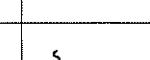
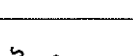
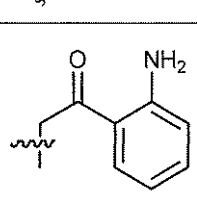
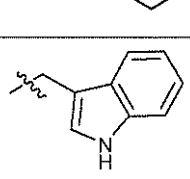
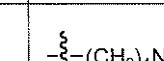
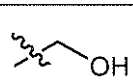
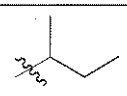
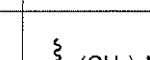


III

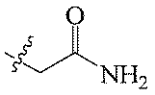
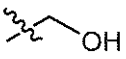
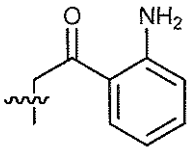
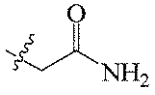
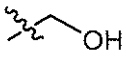
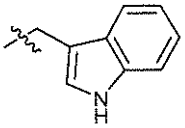
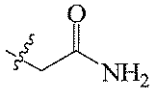
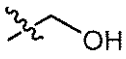
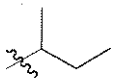
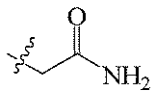
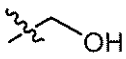
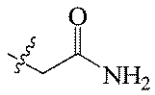
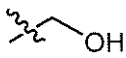
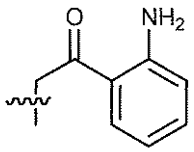
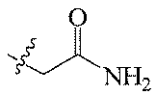
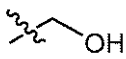
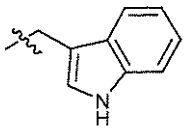
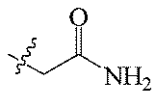
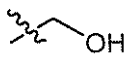
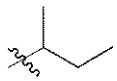
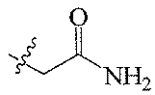
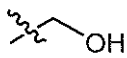
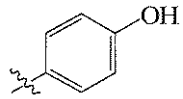
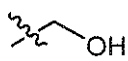
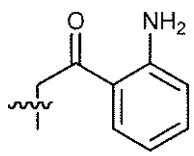
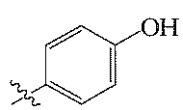
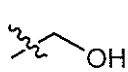
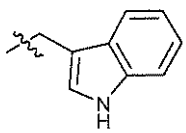
【表１２６】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII1	CH_3		CH_3	
TIII2	CH_3		CH_3	
TIII3	CH_3		CH_3	
TIII4	CH_3		CH_3	
TIII5	CH_3		H	
TIII6	CH_3		H	
TIII7	CH_3		H	
TIII8	CH_3		H	
TIII9			CH_3	
TIII10			CH_3	
TIII11			CH_3	
TIII12			CH_3	

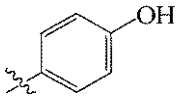
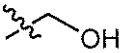
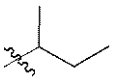
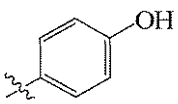
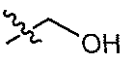
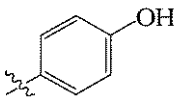
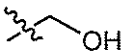
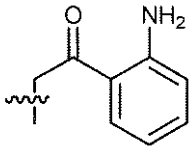
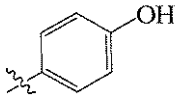
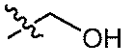
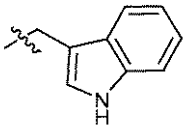
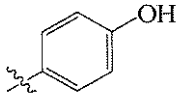
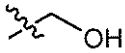
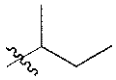
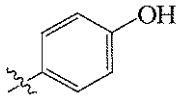
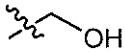
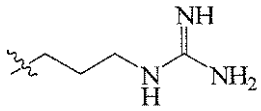
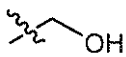
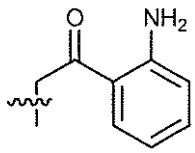
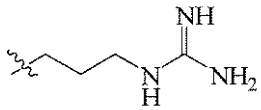
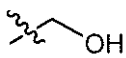
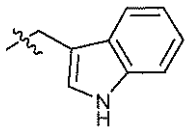
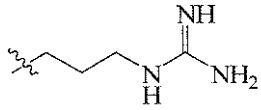
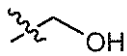
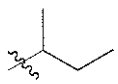
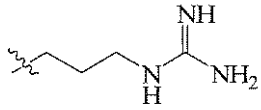
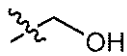
【表１２７】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII13			H	
TIII14			H	
TIII15			H	
TIII16			H	
TIII17			CH_3	
TIII18			CH_3	
TIII19			CH_3	
TIII20			CH_3	
TIII21			H	
TIII22			H	
TIII23			H	
TIII24			H	

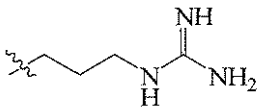
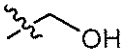
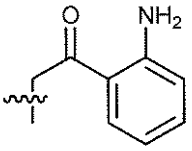
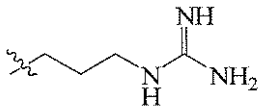
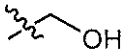
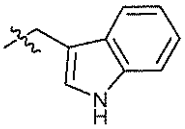
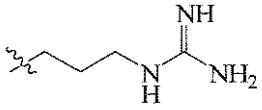
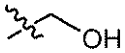
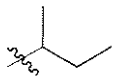
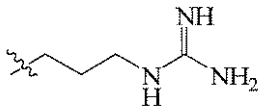
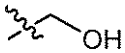
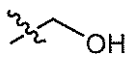
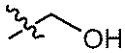
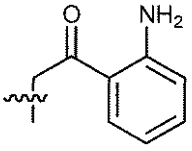
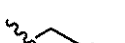
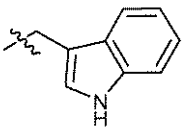
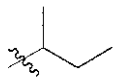
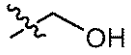
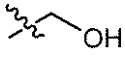
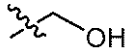
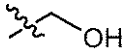
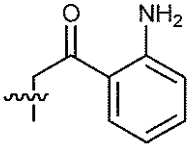
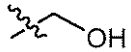
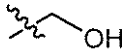
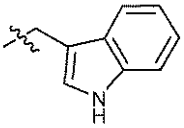
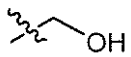
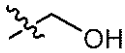
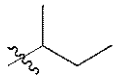
【表１２８】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII25			CH_3	
TIII26			CH_3	
TIII27			CH_3	
TIII28			CH_3	
TIII29			H	
TIII30			H	
TIII31			H	
TIII32			H	
TIII33			CH_3	
TIII34			CH_3	

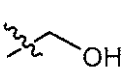
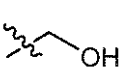
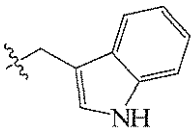
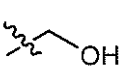
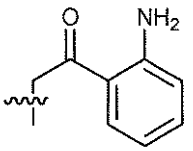
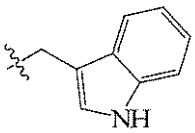
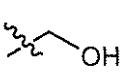
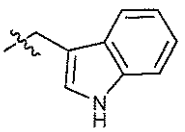
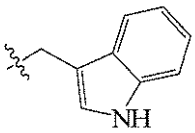
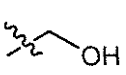
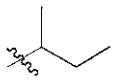
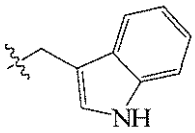
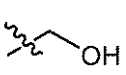
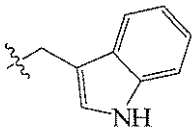
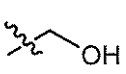
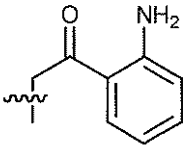
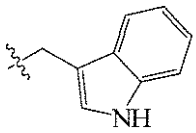
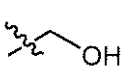
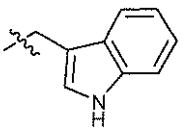
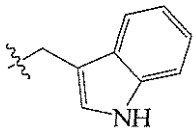
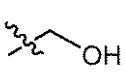
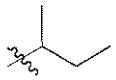
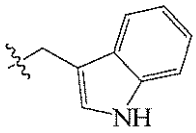
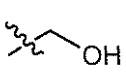
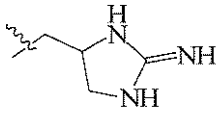
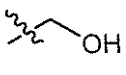
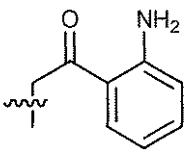
【表１２９】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII35			CH_3	
TIII36			CH_3	
TIII37			H	
TIII38			H	
TIII39			H	
TIII40			H	
TIII41			CH_3	
TIII42			CH_3	
TIII43			CH_3	
TIII44			CH_3	

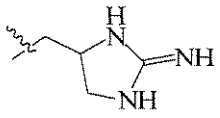
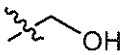
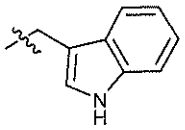
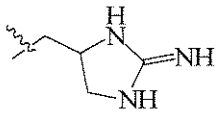
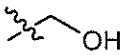
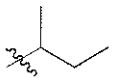
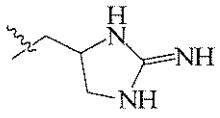
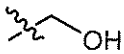
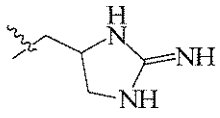
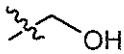
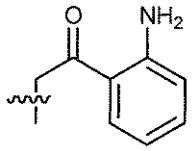
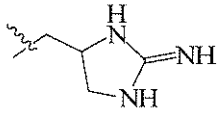
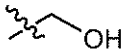
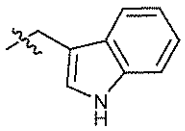
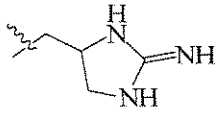
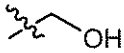
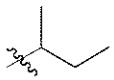
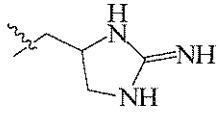
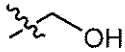
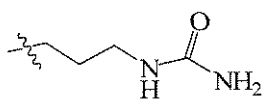
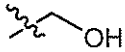
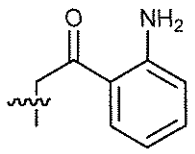
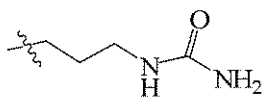
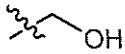
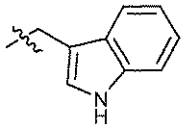
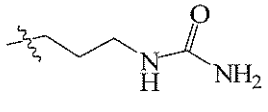
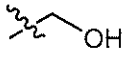
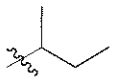
【表１３０】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII45			H	
TIII46			H	
TIII47			H	
TIII48			H	
TIII49			CH_3	
TIII50			CH_3	
TIII51			CH_3	
TIII52			CH_3	
TIII53			H	
TIII54			H	
TIII55			H	

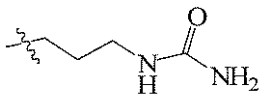
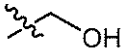
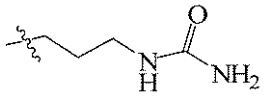
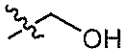
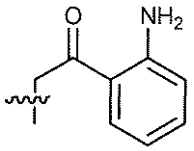
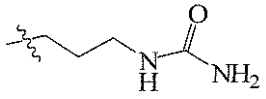
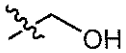
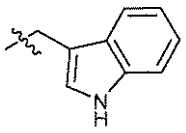
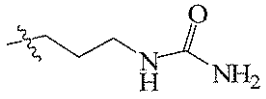
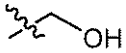
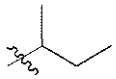
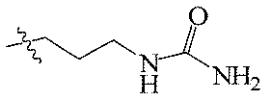
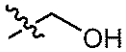
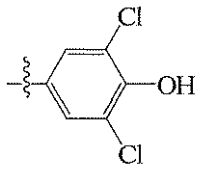
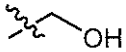
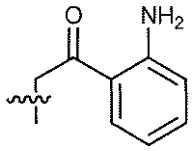
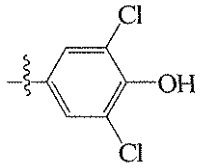
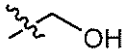
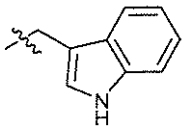
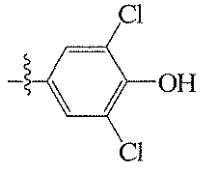
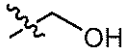
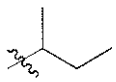
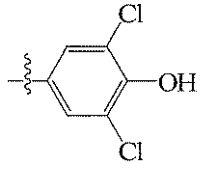
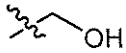
【表１３１】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII56			H	
TIII57			CH_3	
TIII58			CH_3	
TIII59			CH_3	
TIII60			CH_3	
TIII61			H	
TIII62			H	
TIII63			H	
TIII64			H	
TIII65			CH_3	

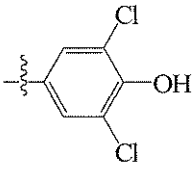
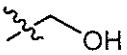
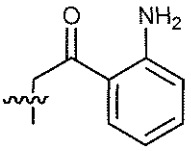
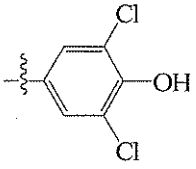
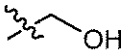
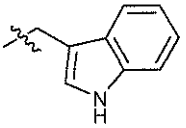
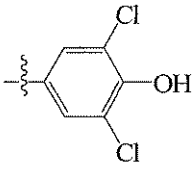
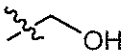
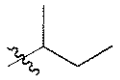
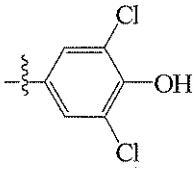
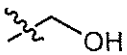
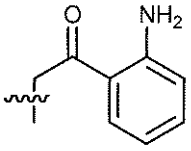
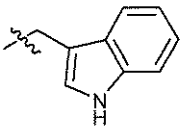
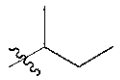
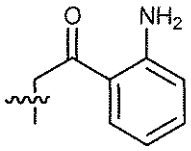
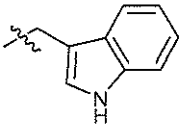
【表１３２】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII66			CH_3	
TIII67			CH_3	
TIII68			CH_3	
TIII69			H	
TIII70			H	
TIII71			H	
TIII72			H	
TIII73			CH_3	
TIII74			CH_3	
TIII75			CH_3	

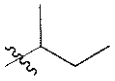
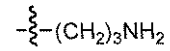
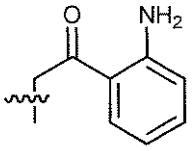
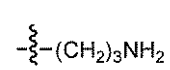
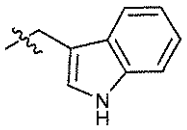
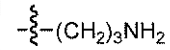
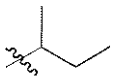
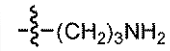
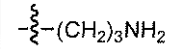
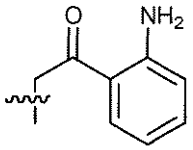
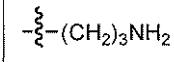
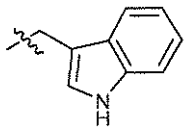
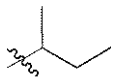
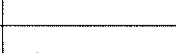
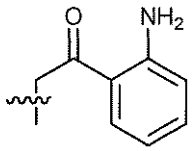
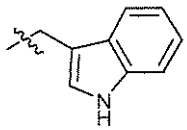
【表１３３】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII76			CH_3	
TIII77			H	
TIII78			H	
TIII79			H	
TIII80			H	
TIII81			CH_3	
TIII82			CH_3	
TIII83			CH_3	
TIII84			CH_3	

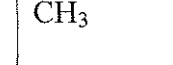
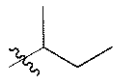
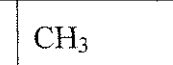
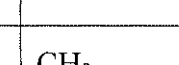
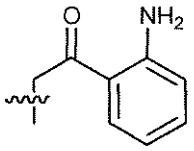
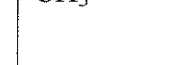
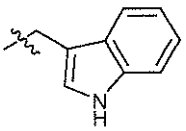
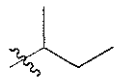
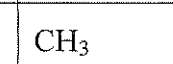
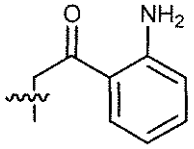
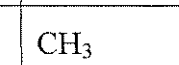
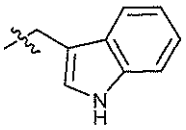
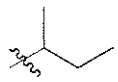
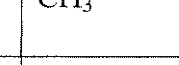
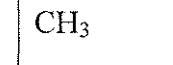
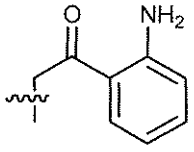
【表１３４】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII85			H	
TIII86			H	
TIII87			H	
TIII88			H	
TIII89	CH_3	CH_3	CH_3	
TIII90	CH_3	CH_3	CH_3	
TIII91	CH_3	CH_3	CH_3	
TIII92	CH_3	CH_3	CH_3	
TIII93	CH_3	CH_3	H	
TIII94	CH_3	CH_3	H	

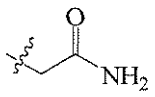
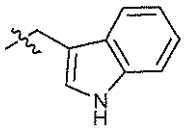
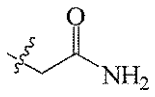
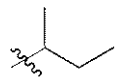
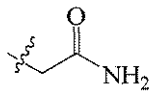
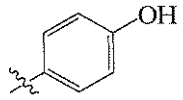
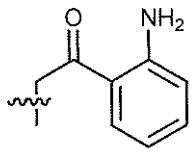
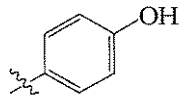
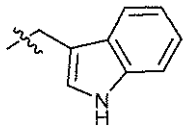
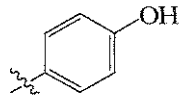
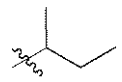
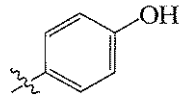
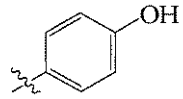
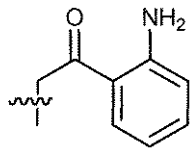
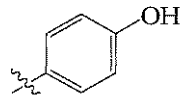
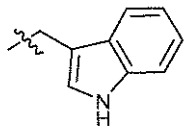
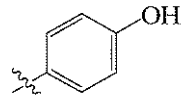
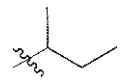
【表１３５】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII95	CH_3	CH_3	H	
TIII96	CH_3	CH_3	H	
TIII97	CH_3		CH_3	
TIII98	CH_3		CH_3	
TIII99	CH_3		CH_3	
TIII100	CH_3		CH_3	
TIII101	CH_3		H	
TIII102	CH_3		H	
TIII103	CH_3		H	
TIII104	CH_3		H	
TIII105	CH_3		CH_3	
TIII106	CH_3		CH_3	

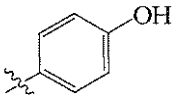
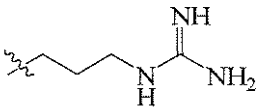
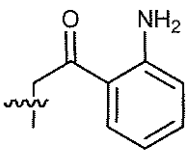
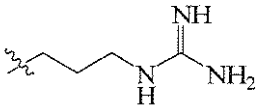
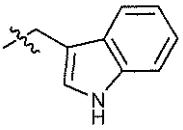
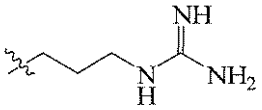
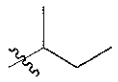
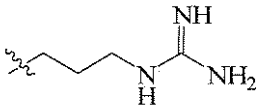
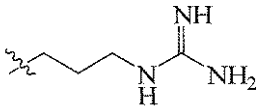
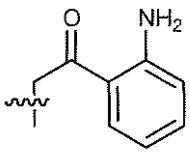
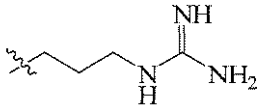
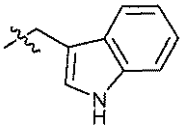
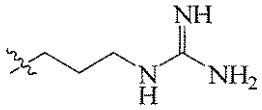
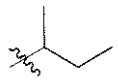
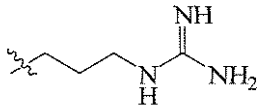
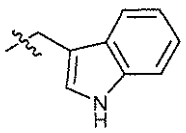
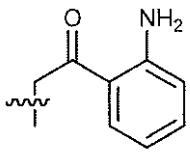
【表１３６】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII107	CH_3		CH_3	
TIII108	CH_3		CH_3	
TIII109	CH_3		H	
TIII110	CH_3		H	
TIII111	CH_3		H	
TIII112	CH_3		H	
TIII113	CH_3		CH_3	
TIII114	CH_3		CH_3	
TIII115	CH_3		CH_3	
TIII116	CH_3		CH_3	
TIII117	CH_3		H	

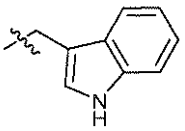
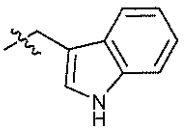
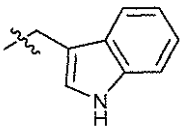
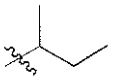
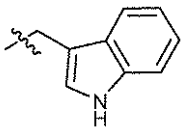
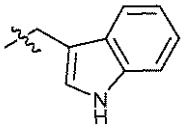
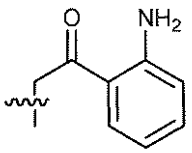
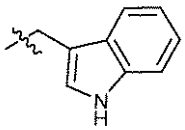
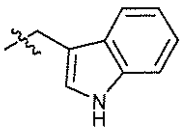
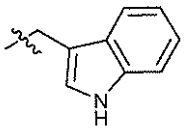
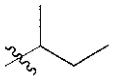
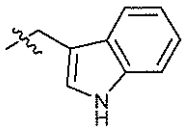
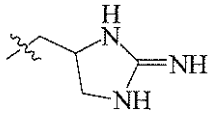
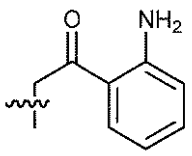
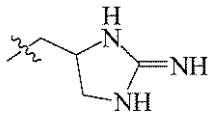
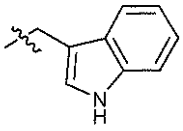
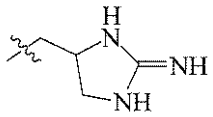
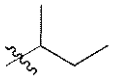
【表１３７】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII118	CH_3		H	
TIII119	CH_3		H	
TIII120	CH_3		H	
TIII121	CH_3		CH_3	
TIII122	CH_3		CH_3	
TIII123	CH_3		CH_3	
TIII124	CH_3		CH_3	
TIII125	CH_3		H	
TIII126	CH_3		H	
TIII127	CH_3		H	

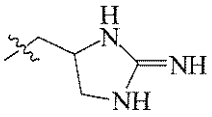
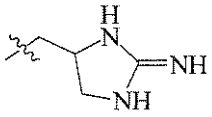
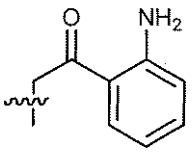
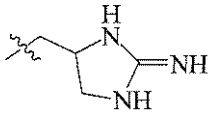
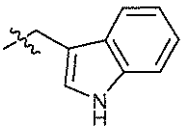
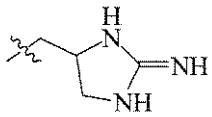
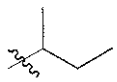
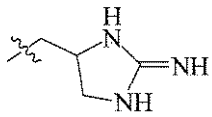
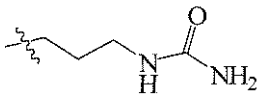
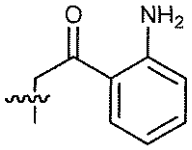
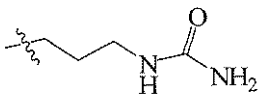
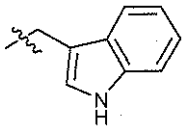
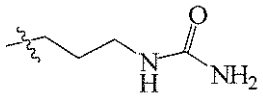
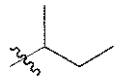
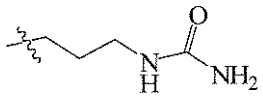
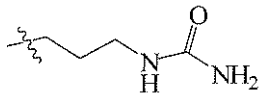
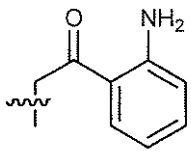
【表１３８】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII128	CH_3		H	
TIII129	CH_3		CH_3	
TIII130	CH_3		CH_3	
TIII131	CH_3		CH_3	
TIII132	CH_3		CH_3	
TIII133	CH_3		H	
TIII134	CH_3		H	
TIII135	CH_3		H	
TIII136	CH_3		H	
TIII137	CH_3		CH_3	

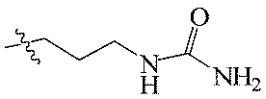
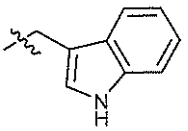
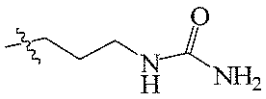
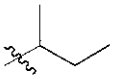
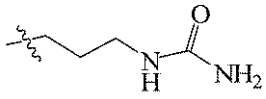
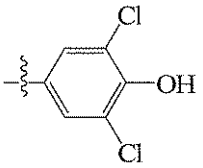
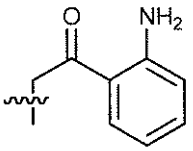
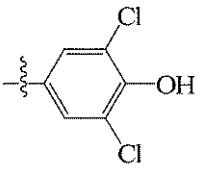
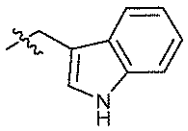
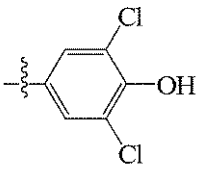
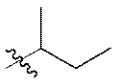
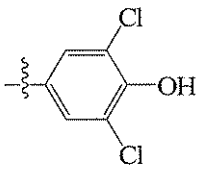
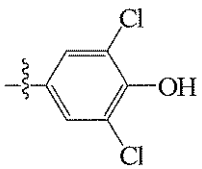
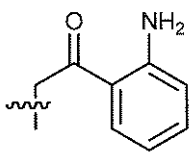
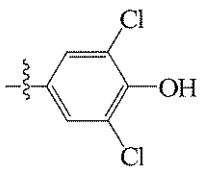
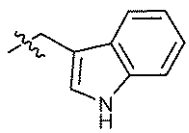
【表１３９】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII138	CH_3		CH_3	
TIII139	CH_3		CH_3	
TIII140	CH_3		CH_3	
TIII141	CH_3		H	
TIII142	CH_3		H	
TIII143	CH_3		H	
TIII144	CH_3		H	
TIII145	CH_3		CH_3	
TIII146	CH_3		CH_3	
TIII147	CH_3		CH_3	

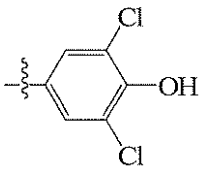
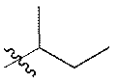
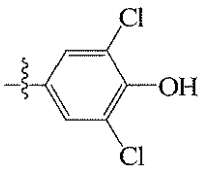
【表１４０】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII148	CH_3		CH_3	
TIII149	CH_3		H	
TIII150	CH_3		H	
TIII151	CH_3		H	
TIII152	CH_3		H	
TIII153	CH_3		CH_3	
TIII154	CH_3		CH_3	
TIII155	CH_3		CH_3	
TIII156	CH_3		CH_3	
TIII157	CH_3		H	

【表１４１】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII158	CH_3		H	
TIII159	CH_3		H	
TIII160	CH_3		H	
TIII161	CH_3		CH_3	
TIII162	CH_3		CH_3	
TIII163	CH_3		CH_3	
TIII164	CH_3		CH_3	
TIII165	CH_3		H	
TIII166	CH_3		H	

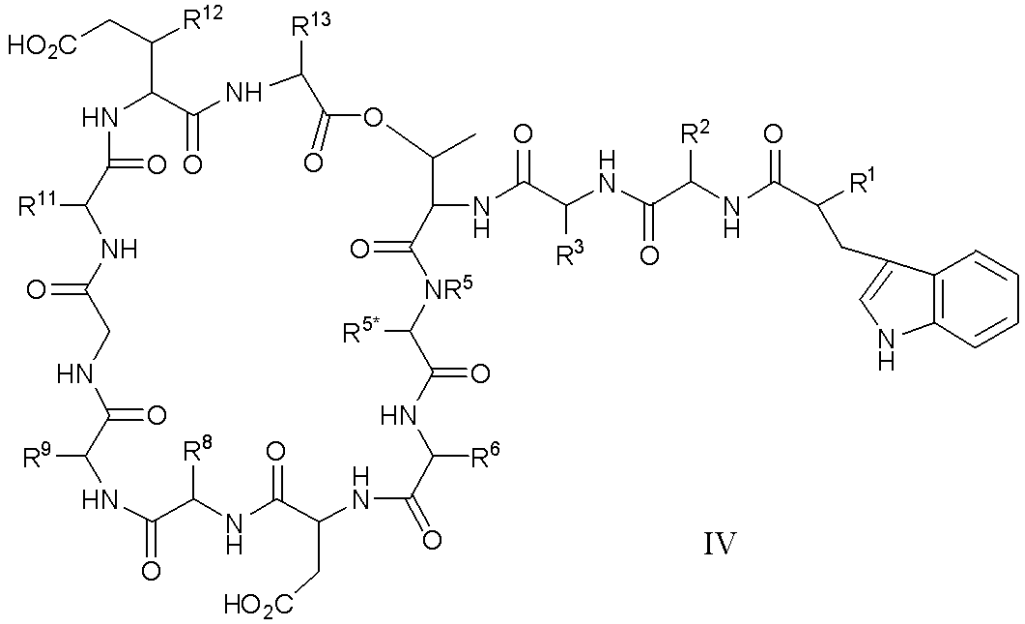
【表１４２】

#	R^8	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIII167	CH_3		H	
TIII168	CH_3		H	

【０１１５】

本発明の別の具体例では、Ｒ２＊、Ｒ８＊およびＲ１１＊は各々Ｈである。この具体例は、式ＩＶ

【化１７７】



IV

で示される化合物を提供する。

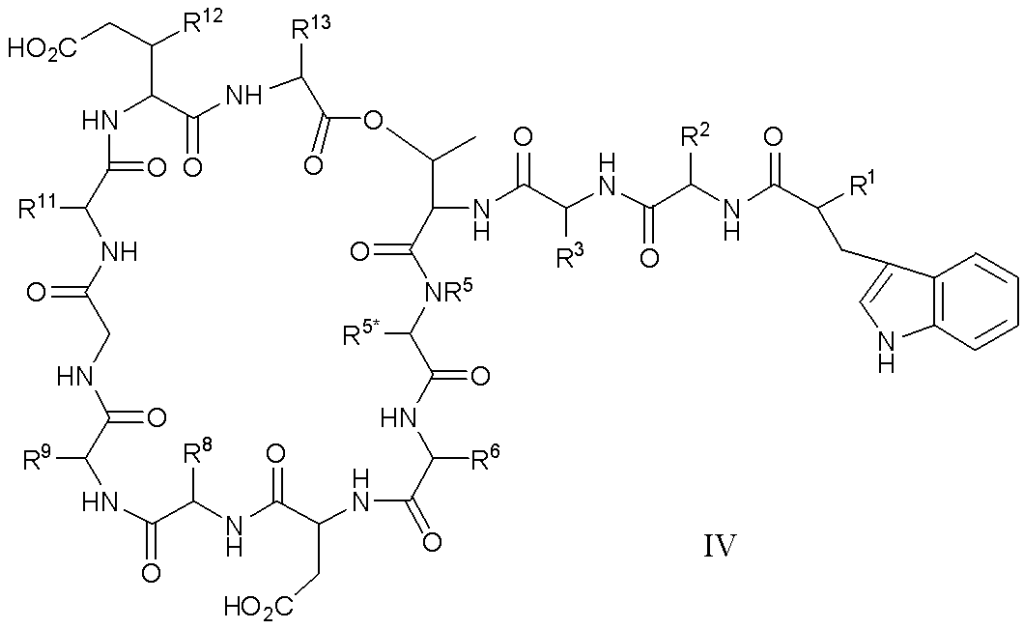
【０１１６】

表ＩＶは式ＩＶの典型的な化合物を提供する。

表ＩＶ

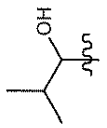
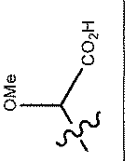
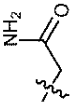
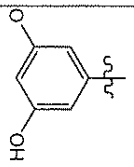
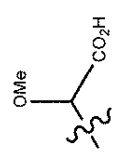
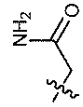
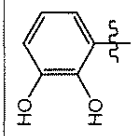
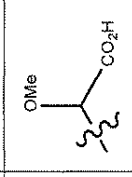
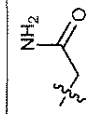
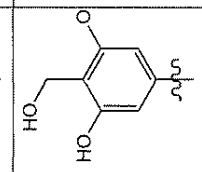
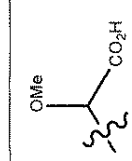
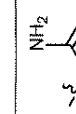
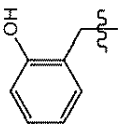
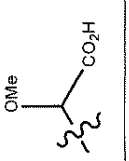
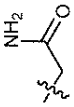
式ＩＶの化合物

【化１７８】

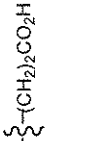
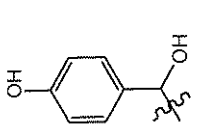
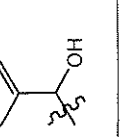
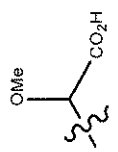
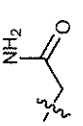
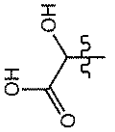
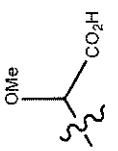
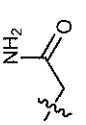


IV

【表１４３】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV1	-(CH2)2CO2H		CH3	H	CH3	-(CH2)4NH2			H	-CH(CH3)Et
TIV2	-(CH2)2CO2H		CH3	H	CH3	-(CH2)4NH2			H	-CH(CH3)Et
TIV3	-(CH2)2CO2H		CH3	H	CH3	-(CH2)4NH2			H	-CH(CH3)Et
TIV4	-(CH2)2CO2H		CH3	H	CH3	-(CH2)4NH2			H	-CH(CH3)Et
TIV5	-(CH2)2CO2H		CH3	H	CH3	-(CH2)4NH2			H	-CH(CH3)Et

【表１４４】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV6			CH_3	H	CH_3				H	
TIV7			CH_3	H	CH_3				H	
TIV8			CH_3	H	CH_3				H	
TIV9			CH_3	H	CH_3				H	
TIV10			CH_3	H	CH_3				H	
TIV11			CH_3		CH_3				H	

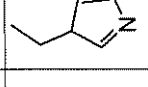
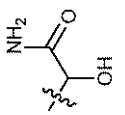
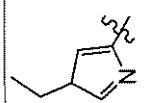
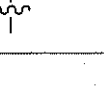
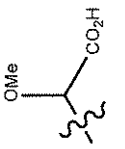
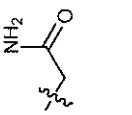
【表１４５】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV12			CH_3		CH_3				H	
TIV13			CH_3	CH_3	CH_3				H	
TIV14			CH_3		CH_3				H	
TIV15			CH_3		CH_3				H	
TIV16			CH_3		CH_3				H	
TIV17			CH_3		CH_3				H	

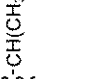
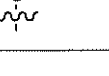
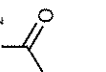
【表１４６】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV18			CH_3		CH_3				H	
TIV19			CH_3		CH_3				H	
TIV20			CH_3		CH_3				H	
TIV21			CH_3		CH_3				H	
TIV22			CH_3		CH_3				H	
TIV23			CH_3		CH_3				H	

【表１４７】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV24			CH_3		CH_3				H	
TIV25			H		CH_3				H	
TIV26			CH_3		CH_3				H	
TIV27			CH_3		CH_3				H	
TIV28			CH_3		CH_3				H	
TIV29			CH_3		CH_3				H	

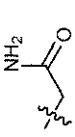
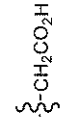
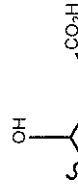
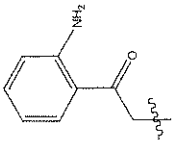
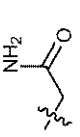
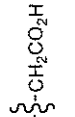
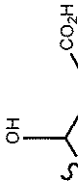
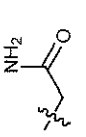
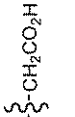
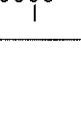
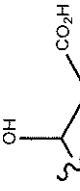
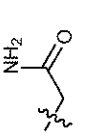
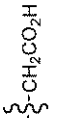
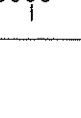
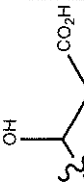
【表１４８】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV30			CH_3		CH_3				H	
TIV31			CH_3		CH_3				H	
TIV32			CH_3		CH_3				H	
TIV33			CH_3		CH_3				H	
TIV34			CH_3		CH_3				H	

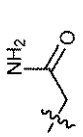
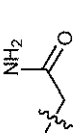
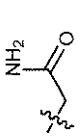
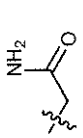
【表１４９】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV35			CH_3	H	CH_3				H	
TIV36			CH_3	H	CH_3				H	
TIV37			CH_3	H	CH_3				H	
TIV38			CH_3	H	CH_3				H	
TIV39			H	H		CH_3			CH_3	

【表１５０】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV40			H	H		CH_3			H	
TIV41			H	H		CH_3			CH_3	
TIV42			H	H		CH_3			H	
TIV43			H	H		CH_3			CH_3	

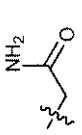
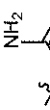
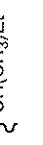
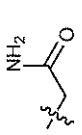
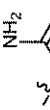
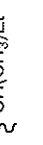
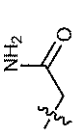
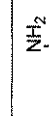
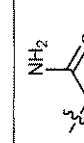
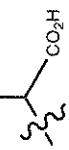
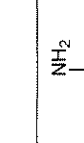
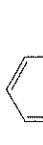
【表１５１】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV44			H	H		CH_3			H	
TIV45			H	H		CH_3			CH_3	
TIV46			H	H		CH_3			H	
TIV47			H	H		CH_3			CH_3	

【表１５２】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV48			H	H		CH_3			H	
TIV49			H	H		CH_3			CH_3	
TIV50			H	H		CH_3			H	
TIV51			H	H	CH_3				CH_3	
TIV52			H	H	CH_3				H	

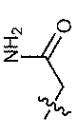
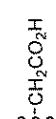
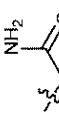
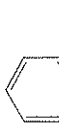
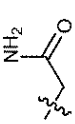
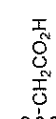
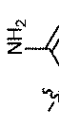
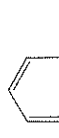
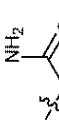
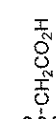
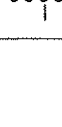
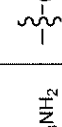
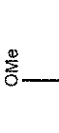
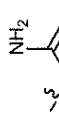
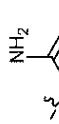
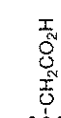
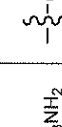
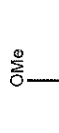
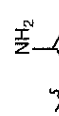
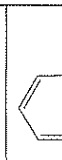
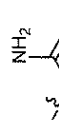
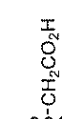
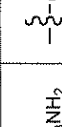
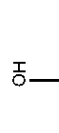
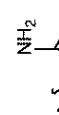
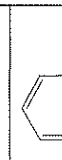
【表１５３】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV53			H	H	CH_3				CH_3	
TIV54			H	H	CH_3				H	
TIV55			H	H	CH_3				CH_3	
TIV56			H	H	CH_3				H	
TIV57			H	H	CH_3				CH_3	

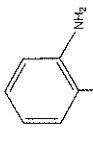
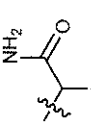
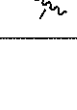
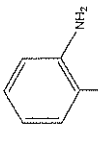
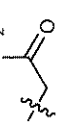
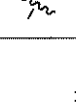
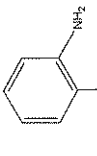
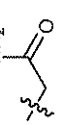
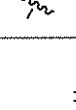
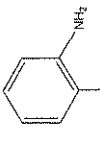
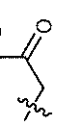
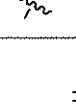
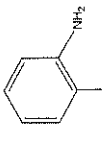
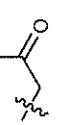
【表１５４】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV58			H	H	CH_3				H	
TIV59			H	H	CH_3				CH_3	
TIV60			H	H	CH_3				H	
TIV61			H	H	CH_3				CH_3	
TIV62			H	H	CH_3				H	

【表１５５】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV63			H	H		CH_3			H	
TIV64			H	H		CH_3			CH_3	
TIV65			H	H					H	
TIV66			H	H					CH_3	
TIV67			H	H					H	

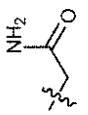
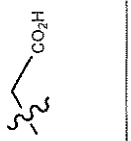
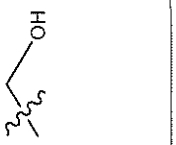
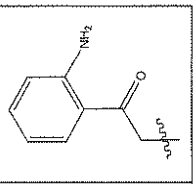
【表１５６】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV68			H	H					CH_3	
TIV69			H	H					H	
TIV70			H	H					CH_3	
TIV71			H	H					H	
TIV72			H	H					CH_3	

【表１５７】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV73			H	H		CH_3			CH_3	
TIV74			H	H		CH_3			H	
TIV75			CH_3	H	CH_3				H	
TIV76			CH_3	H	CH_3				CH_3	
TIV77			CH_3	H	CH_3				H	

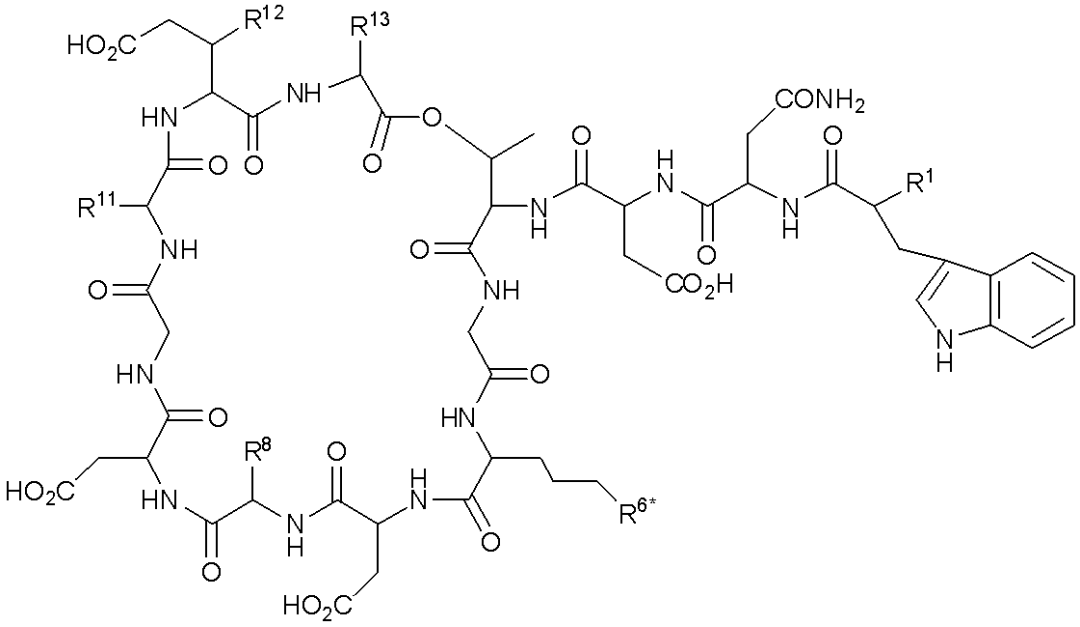
【表１５８】

#	R^2	R^3	R^5	R^{5*}	R^6	R^8	R^9	R^{11}	R^{12}	R^{13}
TIV78			CH_3	H	CH_3				CH_3	

【０１１７】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１：

【化１７９】

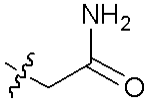


（Ｆ１）

〔式中、

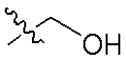
ａ）Ｒ^{8}は、水素、

【化１８０】



、もしくは

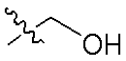
【化１８１】



であり、

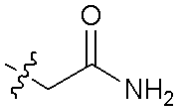
ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、

【化１８２】



、もしくは

【化１８３】

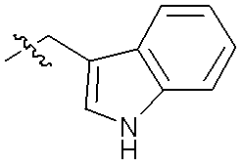


であり、

ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_{3}$であり、

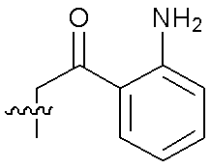
ｄ）Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_{3}$）$_{2}$、ＣＨ（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{3}$）ＣＨ$_{3}$、

【化１８４】



もしくは

【化１８５】



であり、

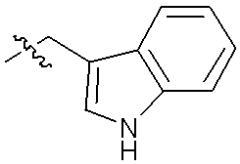
ｅ）Ｒ[1]およびＲ[6]＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１１８】

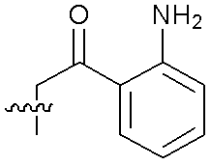
本発明の一の具体例では、式Ｆ１の置換基Ｒ[13]は、ＣＨ（ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）ＣＨ$_3$、

【化１８６】



もしくは

【化１８７】



である。

【０１１９】

本発明の別の具体例では、式Ｆ１の化合物は、

【化１８８】

R[1](L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ser-L-Asp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Kyn

、

【化１８９】

R[1](L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-Gly-L-Asp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Kyn

、

【化１９０】

R[1](L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Asn-L-Asp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Kyn

、

【化１９１】

R[1](L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Asn-L-Asp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Ile

、

【化１９２】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Asn-L-Asp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Val

、

【化１９３】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ser-L-Asp-Gly-D-Ser-L-Glu-L-Trp

、および

【化１９４】

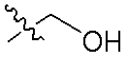
R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ser-L-Asp-Gly-D-Ser-L-Glu-L-Trp

から選択される。

【０１２０】

本発明の一の具体例では、式Ｆ１の置換基Ｒ^{1}は、置換基Ｒ^{8}＊＊が水素もしくは

【化１９５】



である時にＣ$_{10}$－アルカノイルではない。

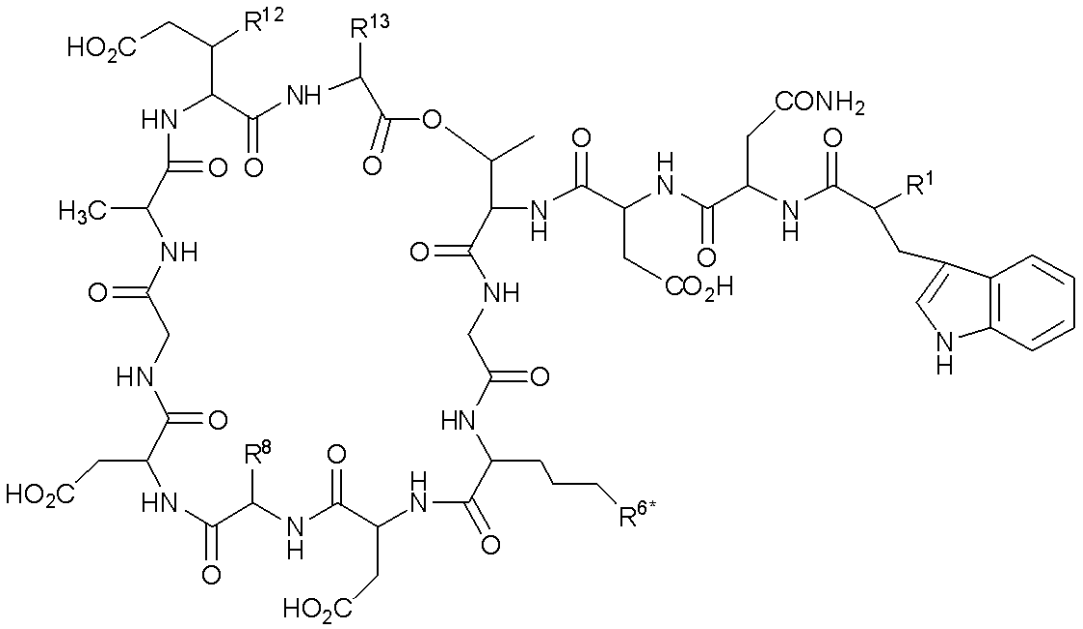
【０１２１】

典型的な化合物式Ｆ１は、化合物Ｃ２２、Ｃ１８９、Ｃ２０１、Ｃ２１０、Ｃ３７およびＣ３９（上記参照）を含むが、これだけに限らない。

【０１２２】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ２：

【化１９６】

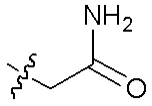


（Ｆ２）

〔式中、

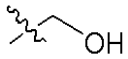
ａ）Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化１９７】



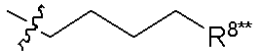
、

【化１９８】



、もしくは

【化１９９】

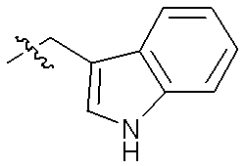


であり、

ｂ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

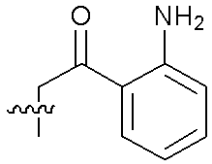
ｃ）Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_3$）$_2$、ＣＨ（ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）ＣＨ$_3$、

【化２００】



もしくは

【化２０１】



であり、

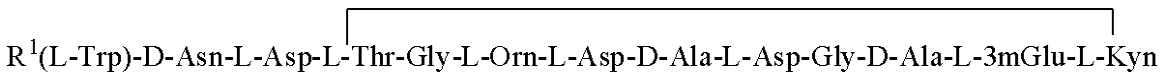
ｄ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１２３】

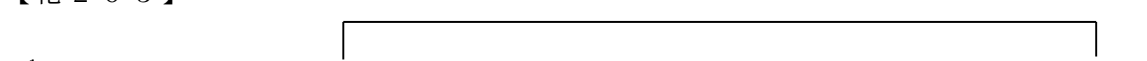
本発明の別の具体例では、式Ｆ２の化合物は、

【化２０２】



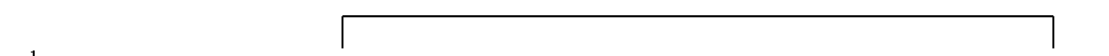
、

【化２０３】



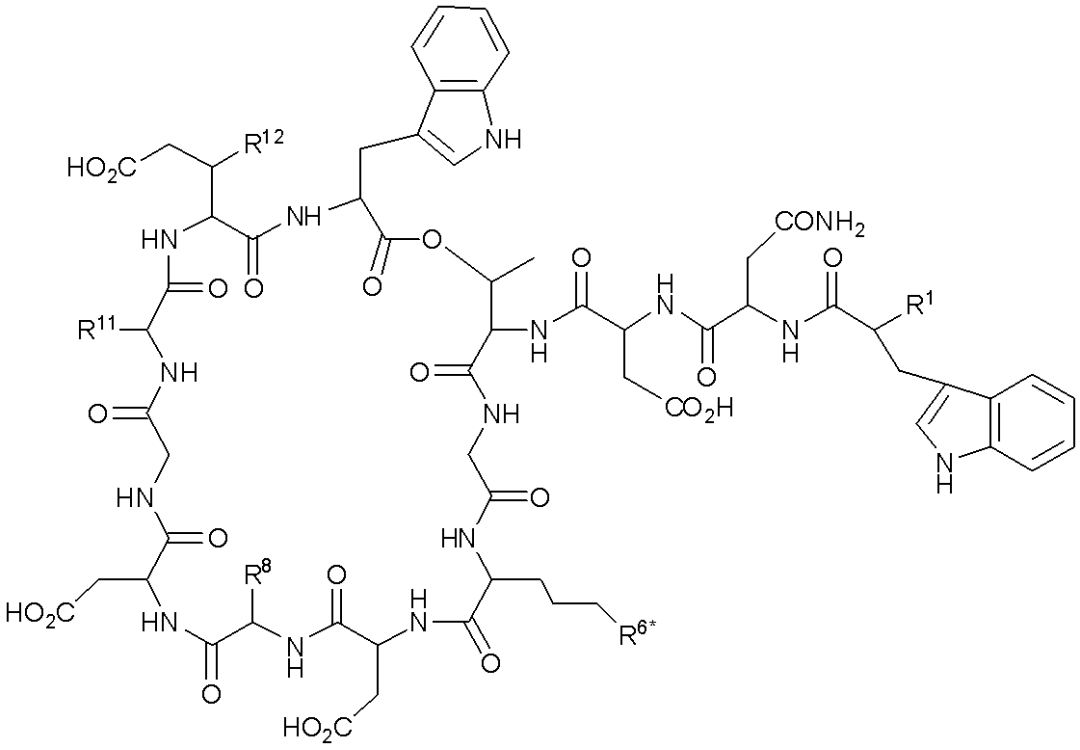
、および

【化２０４】

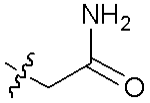


から選択される。

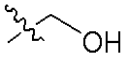
【０１２４】
典型的な化合物式Ｆ２は、化合物Ｃ４６、Ｃ４９、およびＣ６１（上記参照）を含むが、これだけに限らない。
【０１２５】
別の具体例では、本発明は、式Ｆ３：
【化２０５】



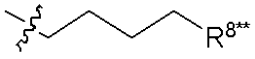
（Ｆ３）
〔式中、
ａ）Ｒ^{8}は、水素、
【化２０６】



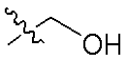
、
【化２０７】



、もしくは
【化２０８】

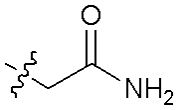


であり、
ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、
【化２０９】



、もしくは

【化２１０】



であり、

ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

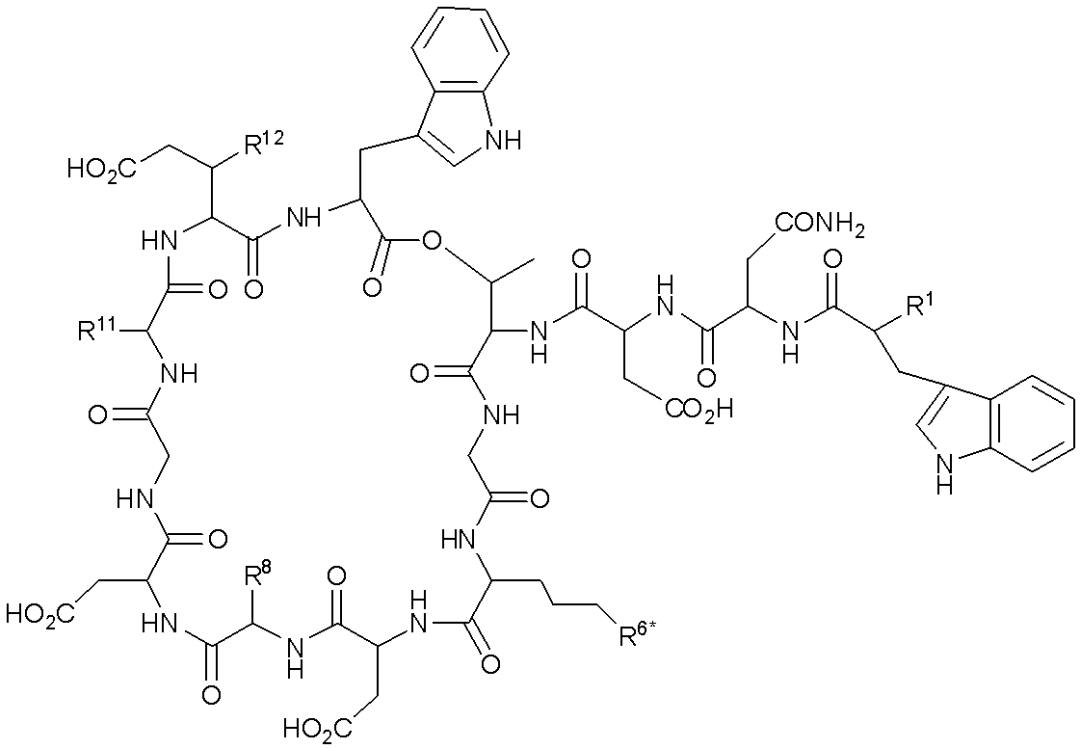
ｄ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6*}およびＲ^{8**}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１２６】

本発明は、別の態様では、式Ｆ４：

【化２１１】

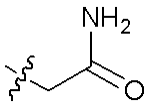


（Ｆ４）

〔式中、

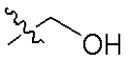
ａ）Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化２１２】



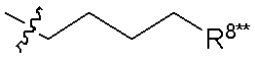
、

【化２１３】



、もしくは

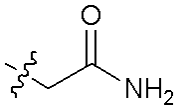
【化２１４】



であり、

ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、もしくは

【化２１５】



であり、

ｃ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

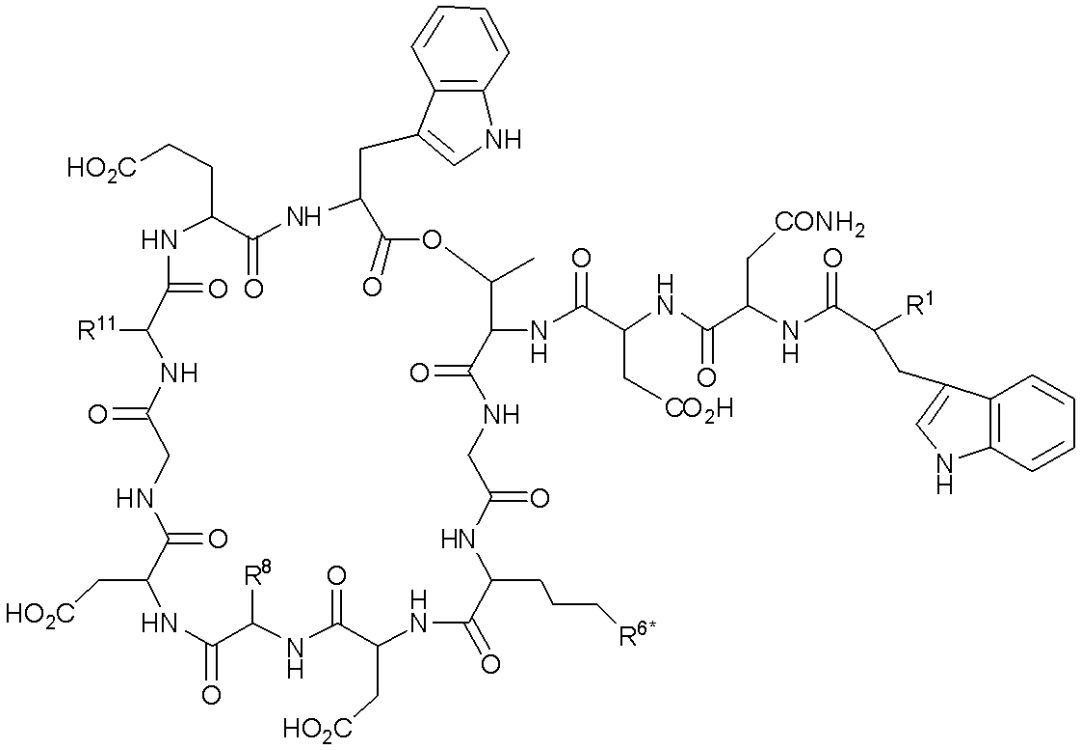
ｄ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6*}およびＲ^{8**}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１２７】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ５：

【化２１６】

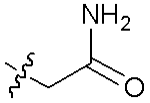


（Ｆ５）

〔式中、

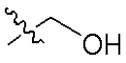
ａ）Ｒ^{8}は、水素、メチル、

【化２１７】



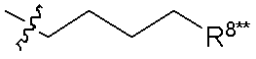
、

【化２１８】

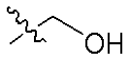


、もしくは

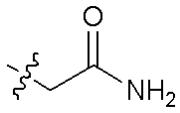
【化２１９】



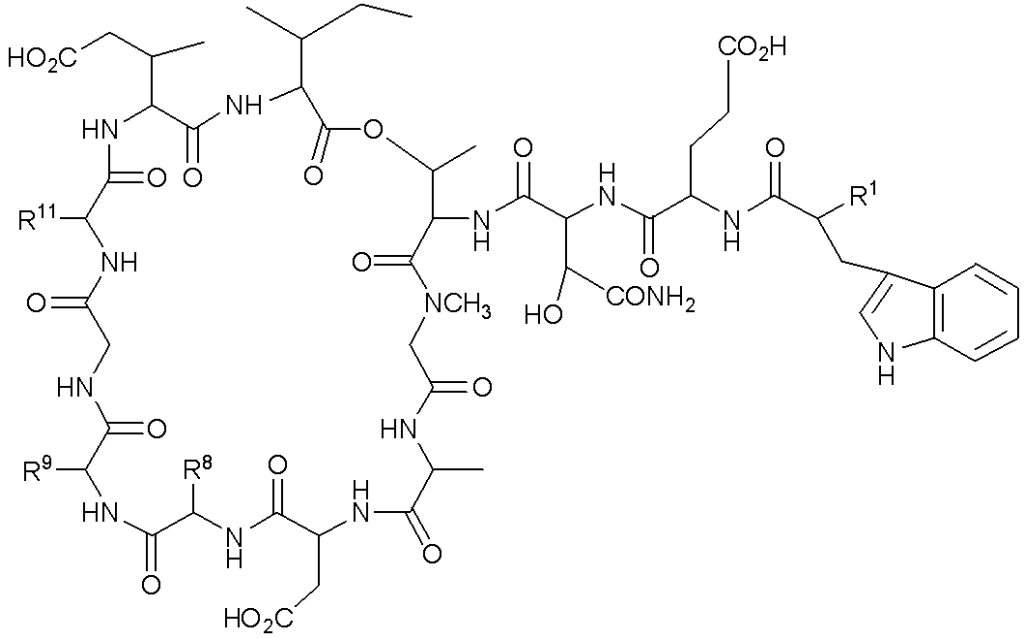
であり、
ｂ）Ｒ^{11}は、メチル、
【化２２０】



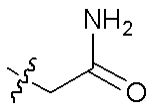
、もしくは
【化２２１】



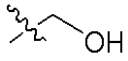
であり、
ｃ）Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【０１２８】
別の具体例では、本発明は、式Ｆ６：
【化２２２】



（Ｆ６）
〔式中、
ａ）Ｒ^{8}は、
【化２２３】

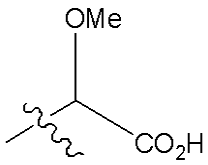


もしくは
【化２２４】



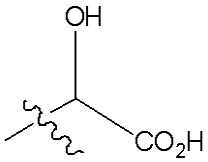
であり、
ｂ）Ｒ^{9}は、

【化２２５】



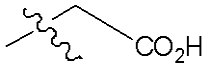
、

【化２２６】



、もしくは

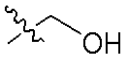
【化２２７】



であり、

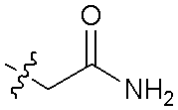
ｃ）Ｒ１１は、メチル、

【化２２８】



、もしくは

【化２２９】



であり、

ｄ）Ｒ１２は、ＨもしくはＣＨ３であり、

ｅ）Ｒ１は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１２９】

本発明の別の態様では、式Ｆ６の化合物は、

【化２３０】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Ser-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile

、

【化２３１】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Ser-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

、

【化２３２】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Asn-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile

、および

【化２３３】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Asn-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。

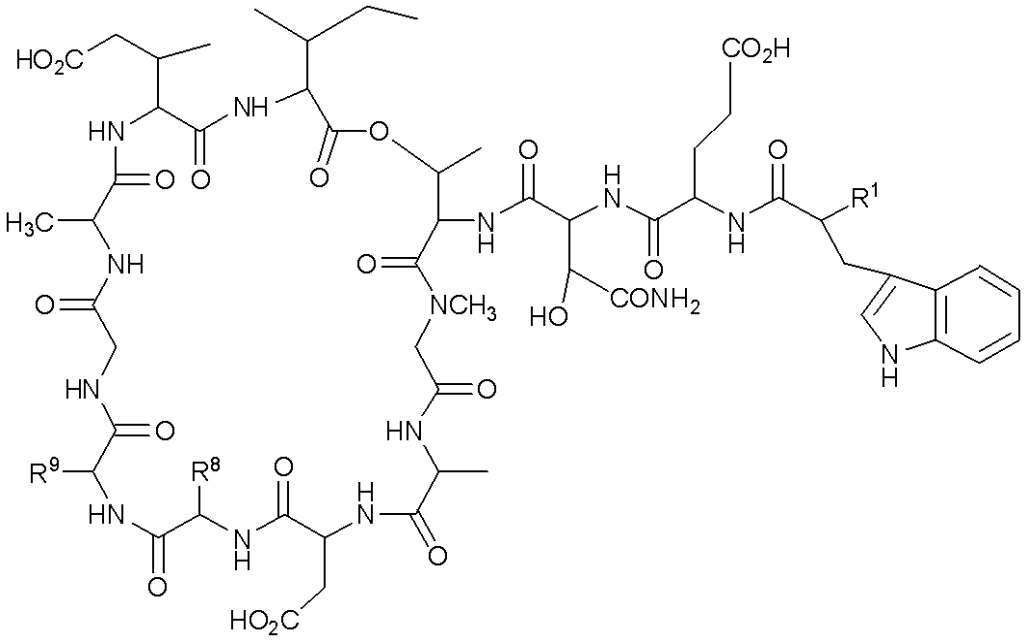
【０１３０】

典型的な化合物式Ｆ６は、化合物Ｃ２９２、Ｃ２８９、Ｃ３０７およびＣ３０４（上記参照）を含むが、これらに限らない。

【０１３１】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ７：

【化２３４】

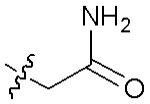


（Ｆ７）

〔式中、

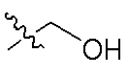
ａ）R^8は、メチル、

【化２３５】



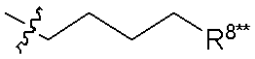
、

【化２３６】



もしくは

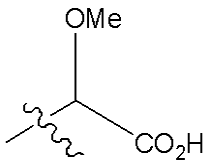
【化２３７】



であり、

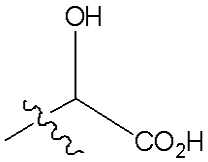
ｂ）R^9は、

【化２３８】



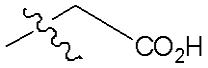
、

【化２３９】



、もしくは

【化２４０】



であり、

ｃ）Ｒ１２は、ＨもしくはＣＨ３であり、

ｄ）Ｒ１およびＲ８＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１３２】

本発明の別の具体例では、式Ｆ７の化合物は、

【化２４１】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-omAsp-Gly-D-Ala-L-Glu-L-Ile

および

【化２４２】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-omAsp-Gly-D-Ala-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。

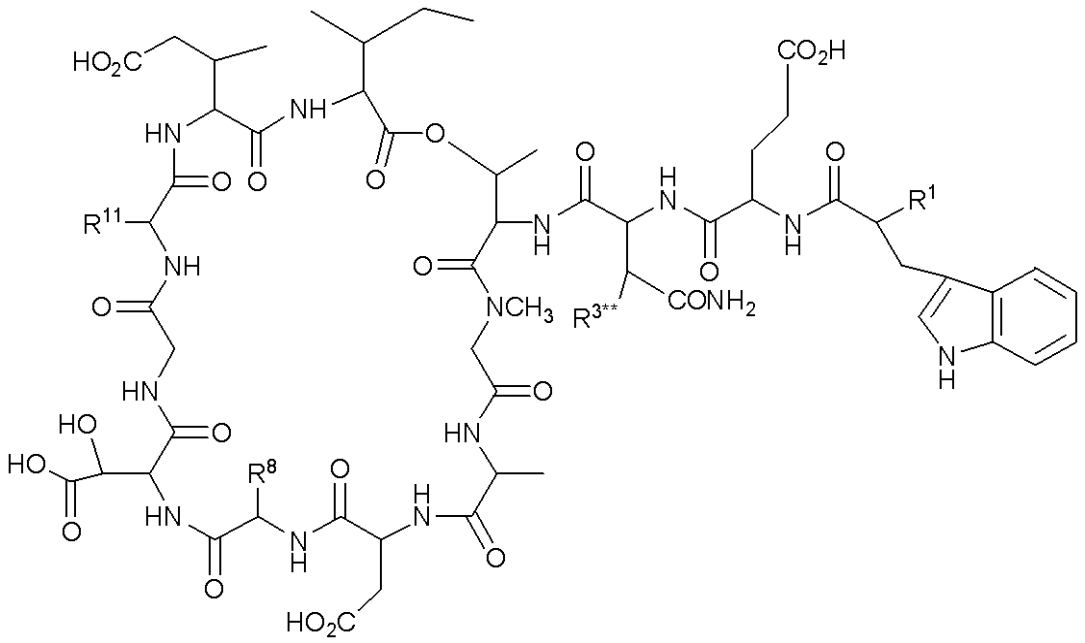
【０１３３】

典型的な化合物Ｆ７は、化合物Ｃ３３７、およびＣ３２８（上記参照）を含むが、これらに限らない。

【０１３４】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ８：

【化２４３】



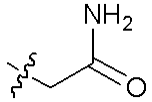
（Ｆ８）

〔式中、

ａ）Ｒ^{3}＊＊は、ヒドロキシルもしくは水素であり、

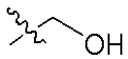
ｂ）Ｒ^{8}は、メチル、

【化２４４】



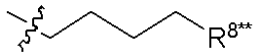
、

【化２４５】



、もしくは

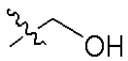
【化２４６】



であり、

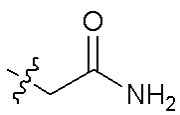
ｃ）Ｒ^{11}は、アミノ酸側鎖、メチル、

【化２４７】



、もしくは

【化２４８】



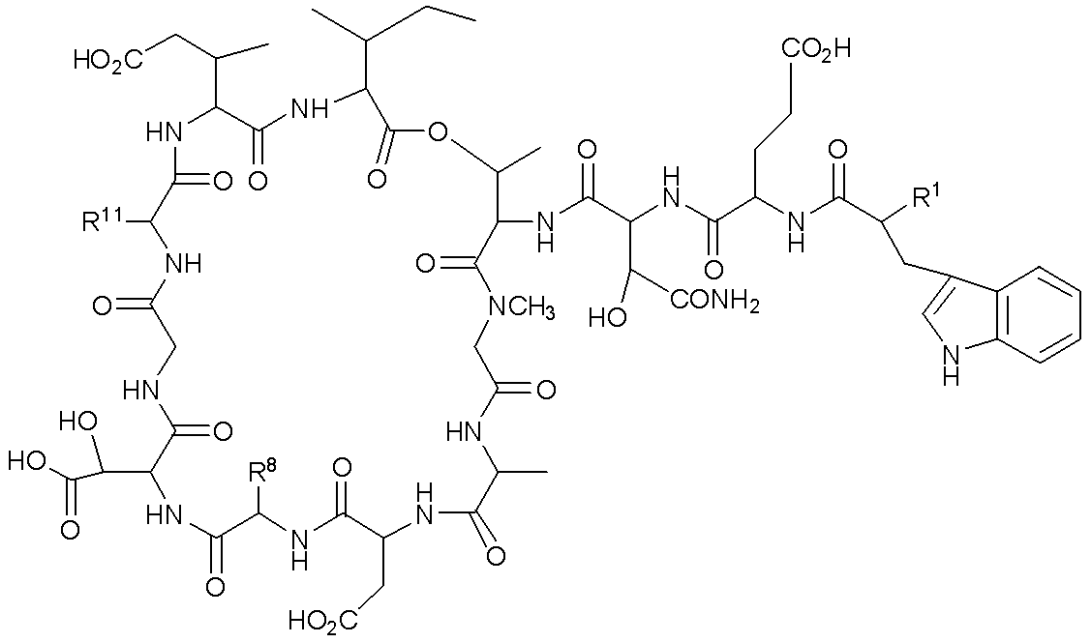
であり、

ｄ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｅ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１３５】
本発明の一の具体例では、式Ｆ８のＲ^{3}＊＊基は、ヒドロキシルである。このことは、式Ｆ８Ａ：
【化２４９】



（Ｆ８Ａ）
〔式中、
Ｒ^{1}、Ｒ^{8}、Ｒ^{8}＊＊＊、Ｒ^{11}、およびＲ^{12}は、式Ｆ８で記述されている通りである。〕
で示される化合物を提供する。
【０１３６】
本発明の別の具体例では、式Ｆ８Ａの化合物は、
【化２５０】

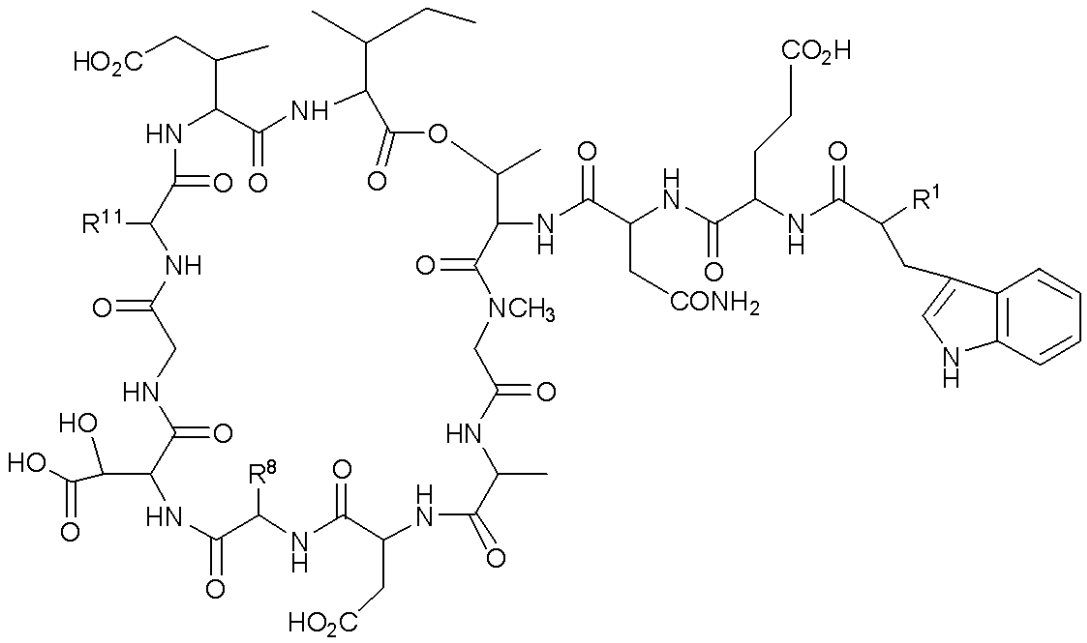
R^{1}(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-hAsp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile

、および
【化２５１】

R^{1}(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-hAsp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。
【０１３７】
典型的な化合物式Ｆ８Ａは、化合物Ｃ８７およびＣ１１１（上記参照）を含むが、これだけに限らない。
【０１３８】
本発明の別の具体例では、式Ｆ８のＲ^{3}＊＊基は水素である。これは、式Ｆ８Ｂ：

【化２５２】



（Ｆ８Ｂ）
〔式中、Ｒ１、Ｒ８、Ｒ８＊＊、Ｒ１１、およびＲ１２は、式Ｆ８で記述されている通りである。〕
で示される化合物を提供する。

【０１３９】

本発明の別の具体例では、式Ｆ８Ｂの化合物は、

【化２５３】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-hAsp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile

、および

【化２５４】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-hAsp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。

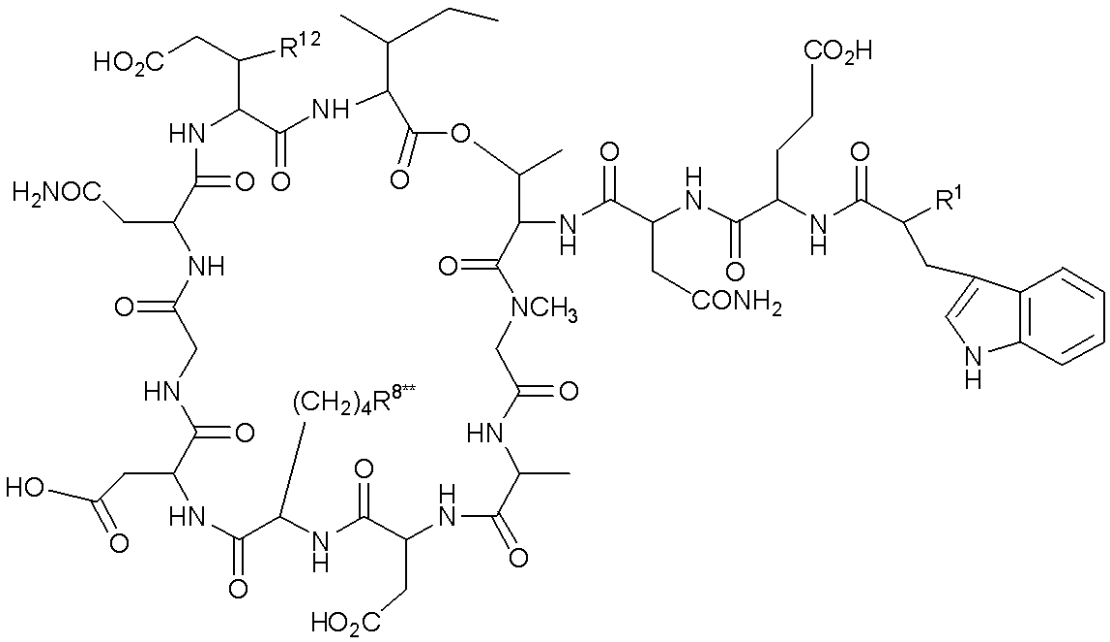
【０１４０】

典型的な化合物式Ｆ８Ｂは、化合物Ｃ１０２、およびＣ９９（上記参照）を含むが、これだけに限らない。

【０１４１】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ９：

【化２５５】



（Ｆ９）

〔式中、

ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^1、およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。

〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１４２】

本発明の一の具体例では、式Ｆ９の置換基Ｒ^{12}はメチルである。

【０１４３】

本発明の別の具体例では、式Ｆ９の化合物は、

【化２５６】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-Asp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile

および

【化２５７】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-Asp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。

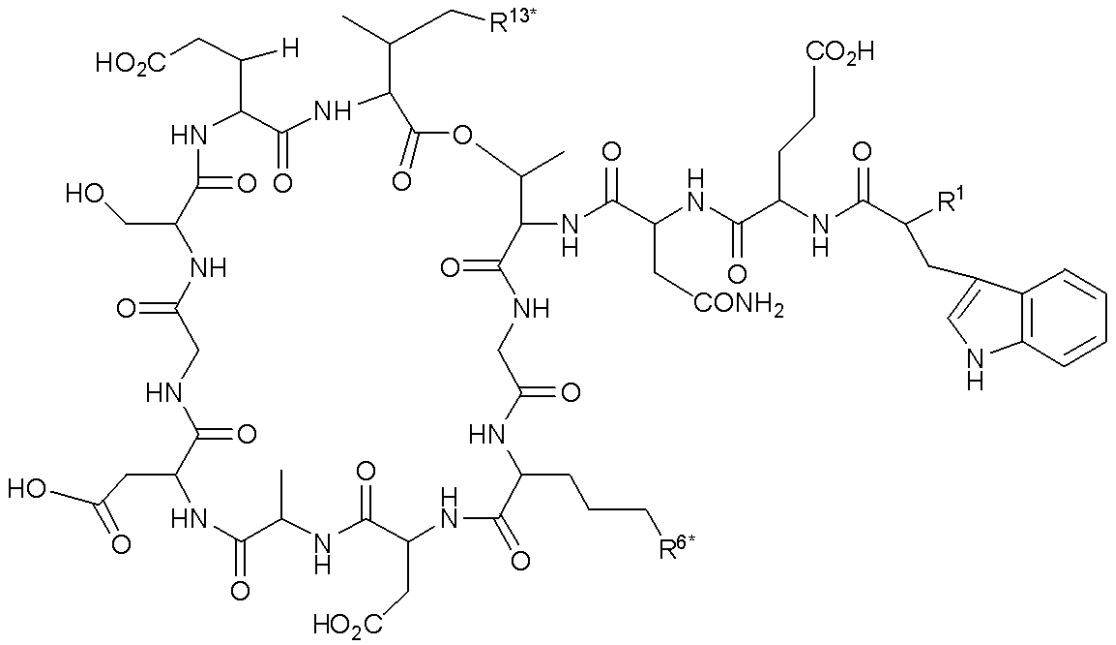
【０１４４】

典型的な化合物式Ｆ２は、化合物Ｃ１０５、およびＣ１０８（上記参照）であるが、これだけに限らない。

【０１４５】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１０：

【化２５８】



（Ｆ１０）

〔式中、

ａ）Ｒ^{13*}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^1、およびＲ^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１４６】

本発明の別の具体例では、式Ｆ１０の化合物は、

【化２５９】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-Asn-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ala-L-Asp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Ile

および

【化２６０】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-Asn-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ala-L-Asp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Val

から選択される。

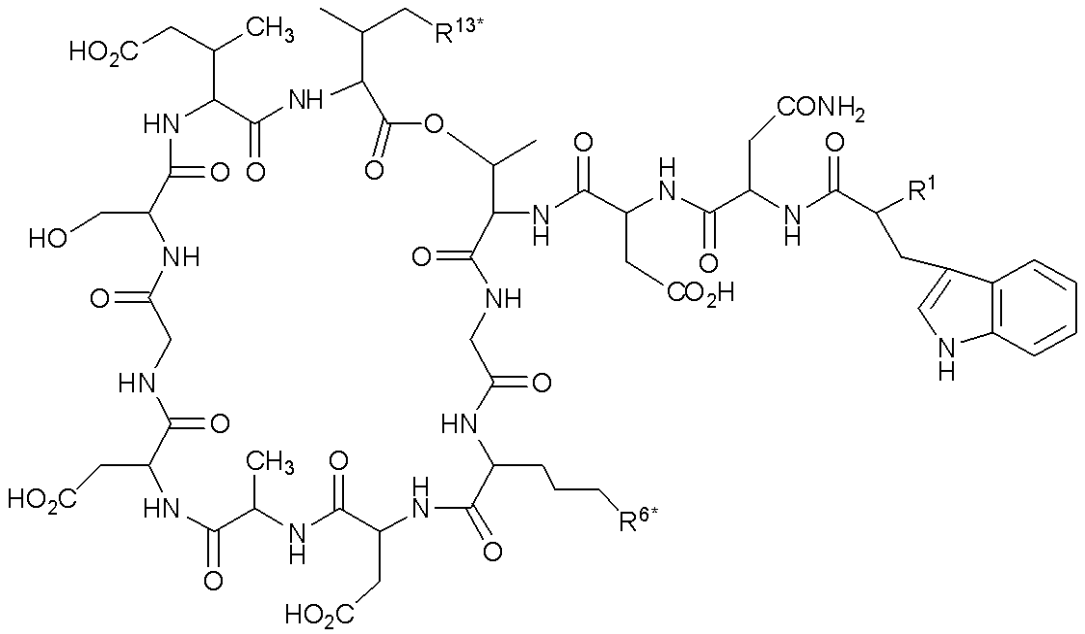
【０１４７】

典型的な化合物Ｆ１０は、化合物Ｃ２５９、およびＣ２６２（上記参照）を含むが、これだけには限定しない。

【０１４８】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１１：

【化２６１】



（Ｆ１１）

〔式中、

ａ）Ｒ^{13*}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

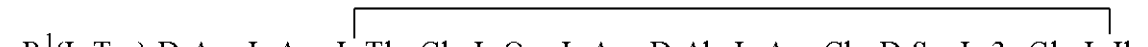
ｂ）Ｒ^1、およびＲ^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１４９】

本発明の別の具体例では、式Ｆ１１の化合物は、

【化２６２】



、および

【化２６３】

から選択される。

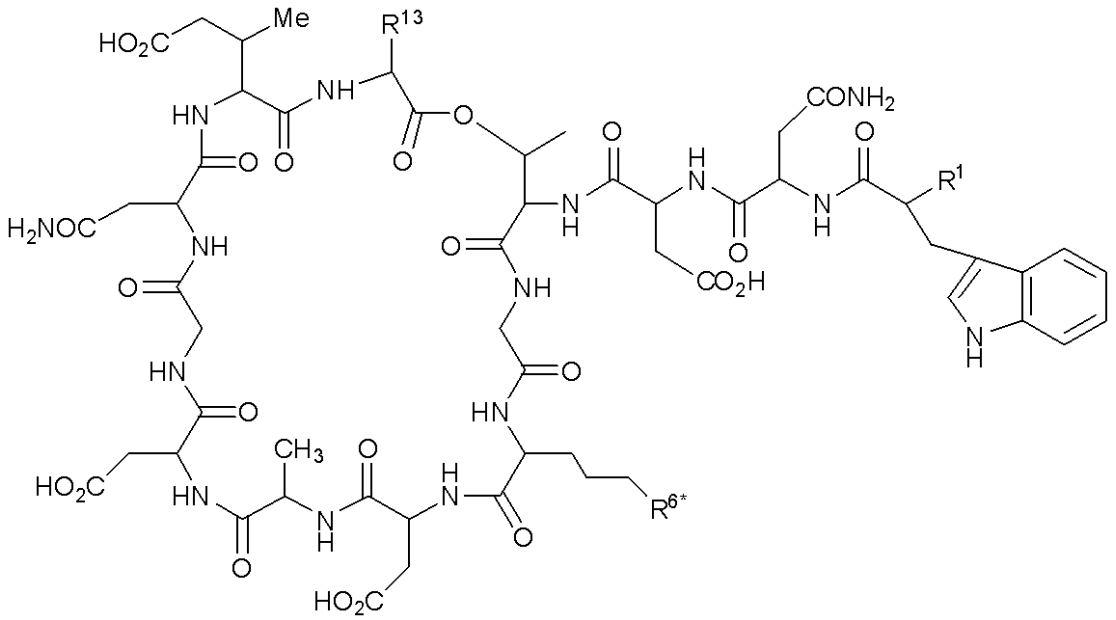
【０１５０】

典型的な化合物式Ｆ１１は、化合物Ｃ４、およびＣ８（上記参照）を含むが、これだけに限らない。

【０１５１】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１２：

【化２６４】

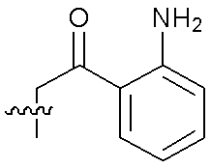


（Ｆ１２）

〔式中、

ａ）Ｒ^{13}は、ＣＨ（ＣＨ$_2$ＣＨ$_3$）ＣＨ$_3$もしくは

【化２６５】



であり、

ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１５２】

本発明の別の具体例では、式Ｆ１２の化合物は、

【化２６６】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ala-L-Asp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Kyn

および

【化２６７】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ala-L-Asp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。

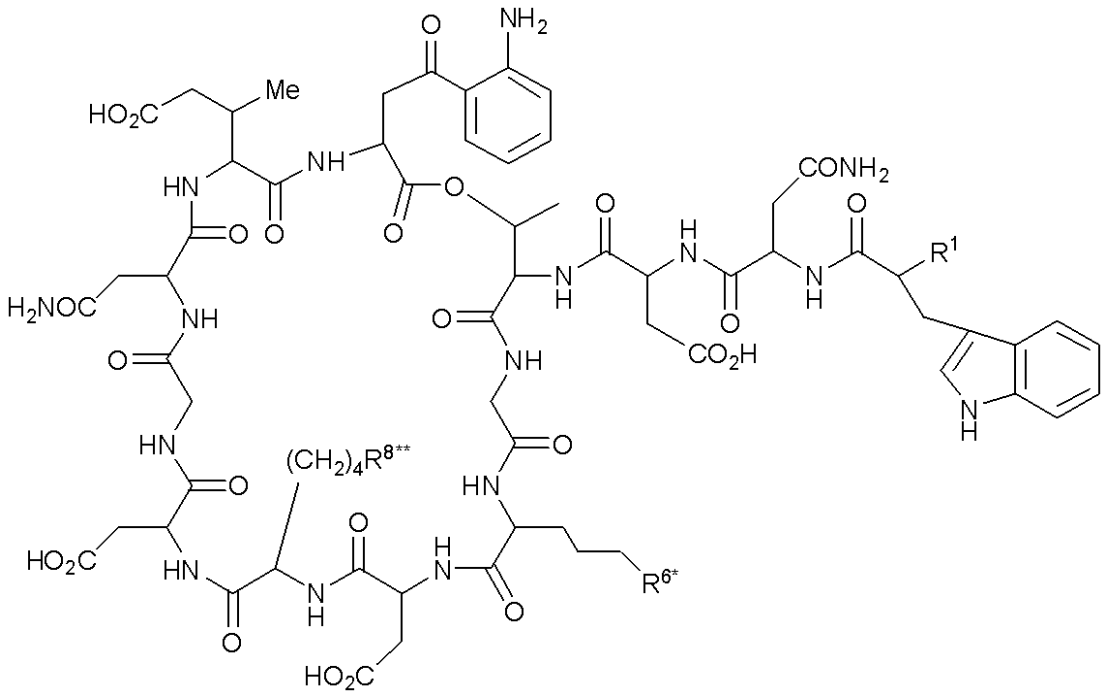
【０１５３】

典型的な化合物式Ｆ１２は、化合物Ｃ２３３、およびＣ２２１（上記参照）を含むが、これだけに限らない。

【０１５４】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１３：

【化２６８】



（Ｆ１３）

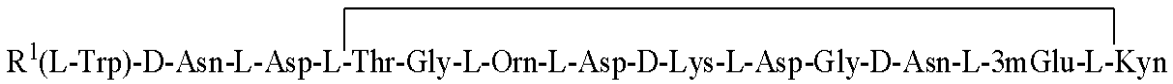
〔式中、Ｒ[1]、Ｒ[6]＊およびＲ[8]＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１５５】

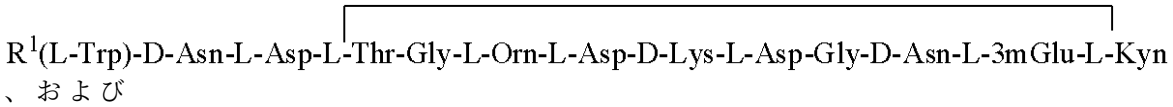
本発明の別の具体例では、式Ｆ１３の化合物は、

【化２６９】

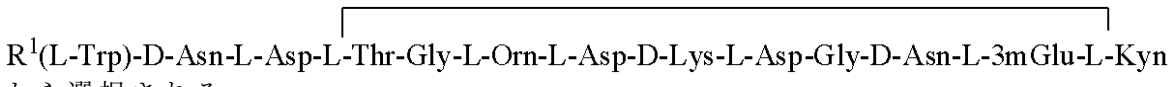


、

【化２７０】



、および



から選択される。

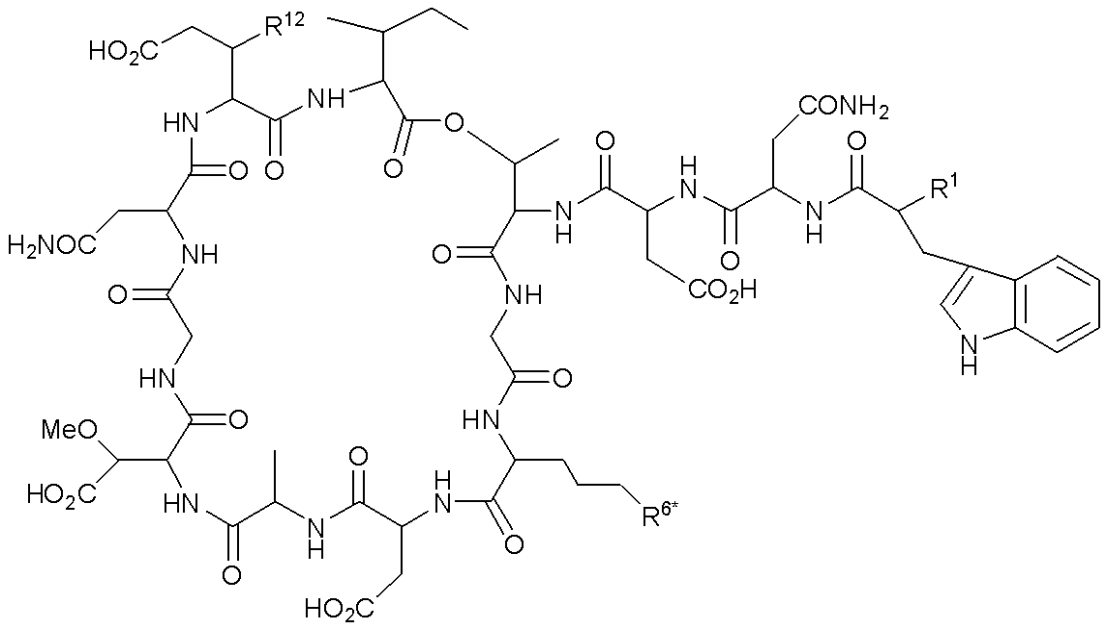
【０１５６】

典型的な化合物式Ｆ１３は、化合物Ｃ２３６、Ｃ２３７、およびＣ２３８（上記参照）を含むが、これだけに限らない。

【０１５７】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１４：

【化２７１】



（Ｆ１４）

〔式中、

ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{6*}は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１５８】

本発明の別の具体例では、式Ｆ１４の化合物は、

【化２７２】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ala-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile

および

【化２７３】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Gly-L-Orn-L-Asp-D-Ala-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。

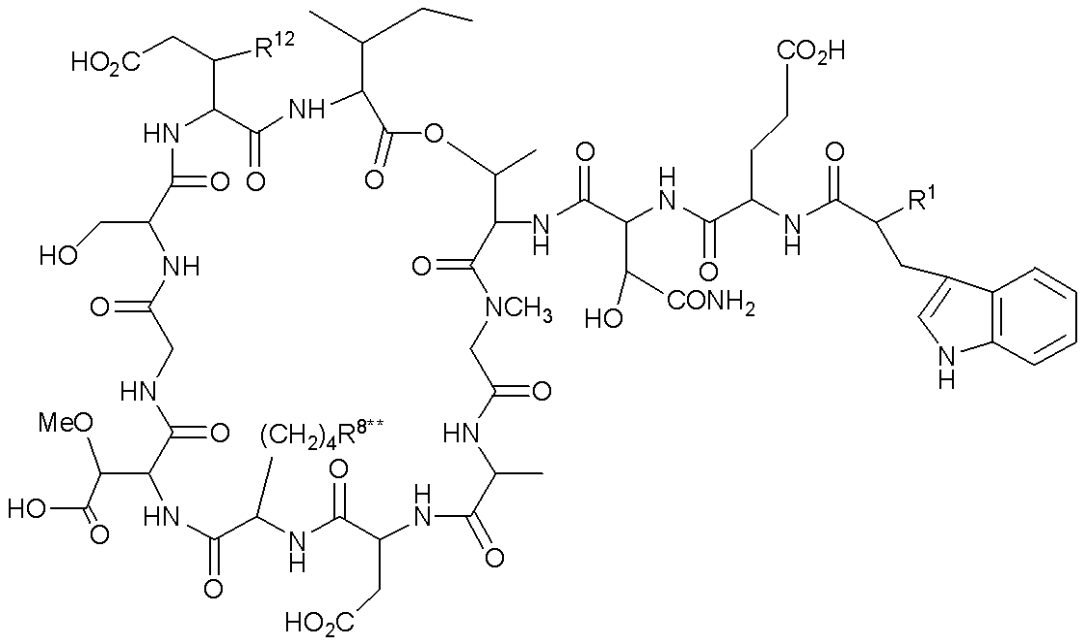
【０１５９】

典型的な化合物式Ｆ１４は、化合物Ｃ２８３、およびＣ２７７（上記参照）を含むが、これだけに限らない。

【０１６０】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１５：

【化２７４】



（Ｆ１５）

〔式中、

ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１６１】

本発明の一の具体例では、式Ｆ１５の置換基Ｒ^{12}はメチルである。

【０１６２】

本発明の別の具体例では、式Ｆ１５の化合物は、

【化２７５】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-omAsp-Gly-D-Ser-L-Glu-L-Ile

および

【化２７６】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-omAsp-Gly-D-Ser-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。

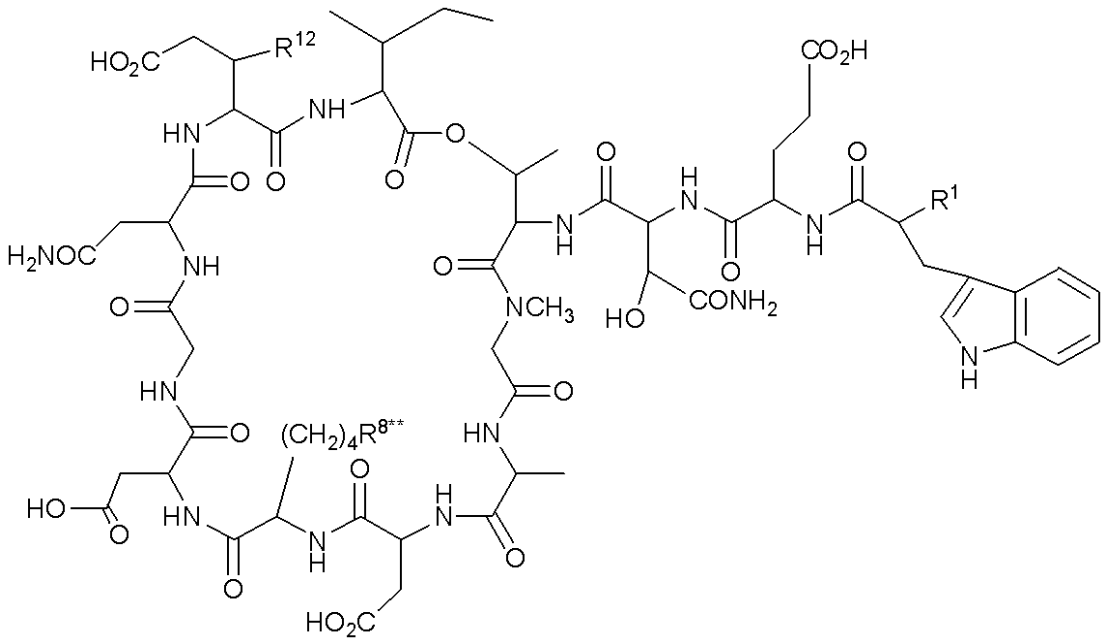
【０１６３】

典型的な化合物式Ｆ１５は、化合物Ｃ３２５、およびＣ１５３（上記参照）を含むが、これだけに限らない。

【０１６４】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１６：

【化２７７】



（Ｆ１６）

〔式中、

ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^{1}およびＲ^{8}＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する

【０１６５】

本発明の一の具体例では、式Ｆ１６の置換基Ｒ^{12}はメチルである。

【０１６６】

本発明の別の具体例では、式Ｆ１６の化合物は、

【化２７８】

R_1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-Asp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile

および

【化２７９】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-Asp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。

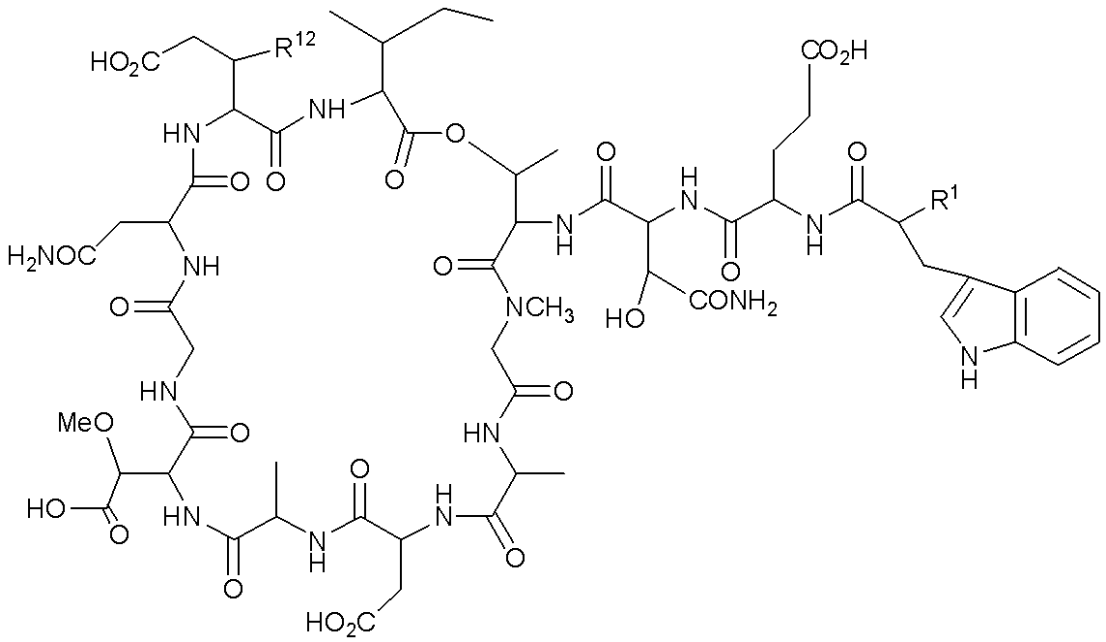
【０１６７】

典型的な化合物式Ｆ１６は、化合物Ｃ９０、およびＣ１１４（上記参照）を含むが、これらだけに限らない。

【０１６８】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１７：

【化２８０】



（Ｆ１７）

〔式中、

ａ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｂ）Ｒ^{1}は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１６９】

本発明の別の具体例では、式Ｆ１７の化合物は、

【化２８１】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Ala-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile

、および

【化２８２】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Ala-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

から選択される。

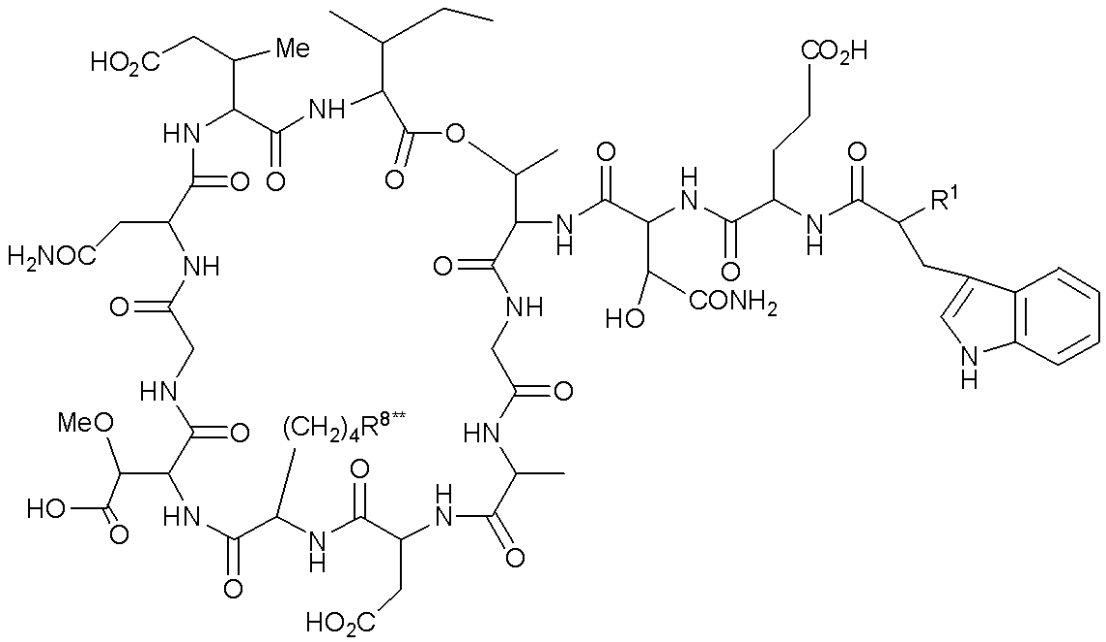
【０１７０】

典型的な化合物式Ｆ１７は、化合物Ｃ３１６、およびＣ３１９（上記参照）を含むが、これだけに限らない。

【０１７１】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１８：

【化２８３】



（Ｆ１８）

〔式中、

Ｒ[1]およびＲ[8]＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１７２】

本発明の別の具体例では、式Ｆ１８の化合物は、

【化２８４】

R[1](L-Trp)-D-Glu-L-h-Asn-L-Thr-Gly-L-Ala -L-Asp-D-Lys-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

である。

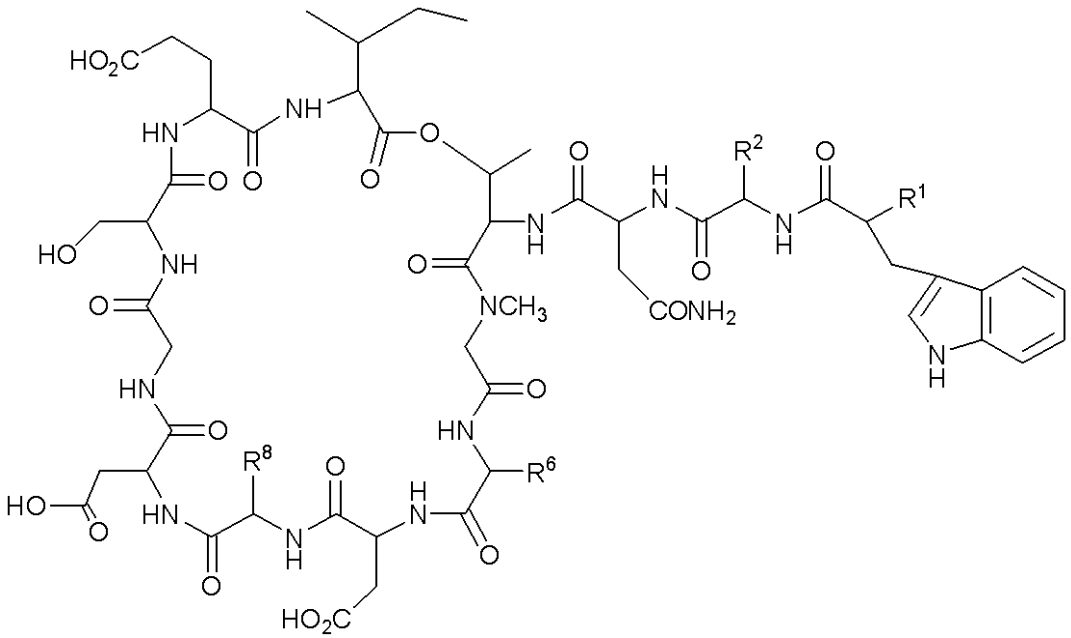
【０１７３】

典型的な化合物式Ｆ１８は、化合物Ｃ１８０（上記参照）を含むが、これだけに限らない。

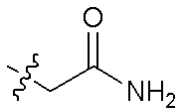
【０１７４】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ１９：

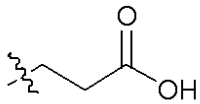
【化２８５】



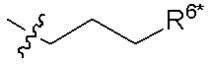
（Ｆ１９）
〔式中、
ａ）Ｒ^{2}は、
【化２８６】



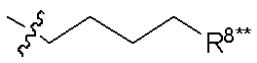
もしくは
【化２８７】



であり、
ｂ）Ｒ^{6}は、メチルもしくは
【化２８８】



であり、
ｃ）Ｒ^{8}は、メチルもしくは
【化２８９】



であり、
ｄ）Ｒ[1]、Ｒ[6]＊、およびＲ[8]＊＊は各々、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。
【０１７５】
本発明の別の具体例では、式Ｆ１９の化合物は、
【化２９０】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Ala-L-Asp-Gly-D-Ser-L-Glu-L-Ile

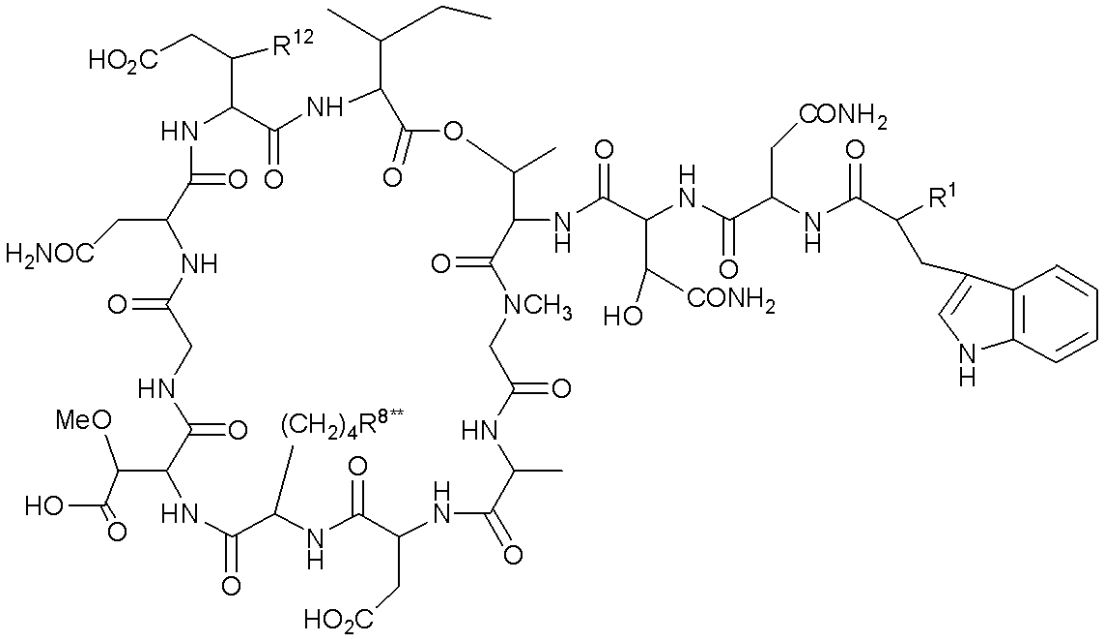
、
【化２９１】

R^1(L-Trp)-D-Glu-L-Asp-L-Thr-Sar-L-Orn-L-Asp-D-Lys-L-Asp-Gly-D-Ser-L-Glu-L-Ile

、および
【化２９２】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Sar-L-Orn-L-Asp-D-Lys-L-Asp-Gly-D-Ser-L-Glu-L-Ile

から選択される。
【０１７６】
典型的な化合物式Ｆ１９は、化合物Ｃ８６、Ｃ３５９、およびＣ３５６（上記参照）を含むが、これらだけに限らない。
【０１７７】
別の具体例では、本発明は、式Ｆ２０：
【化２９３】

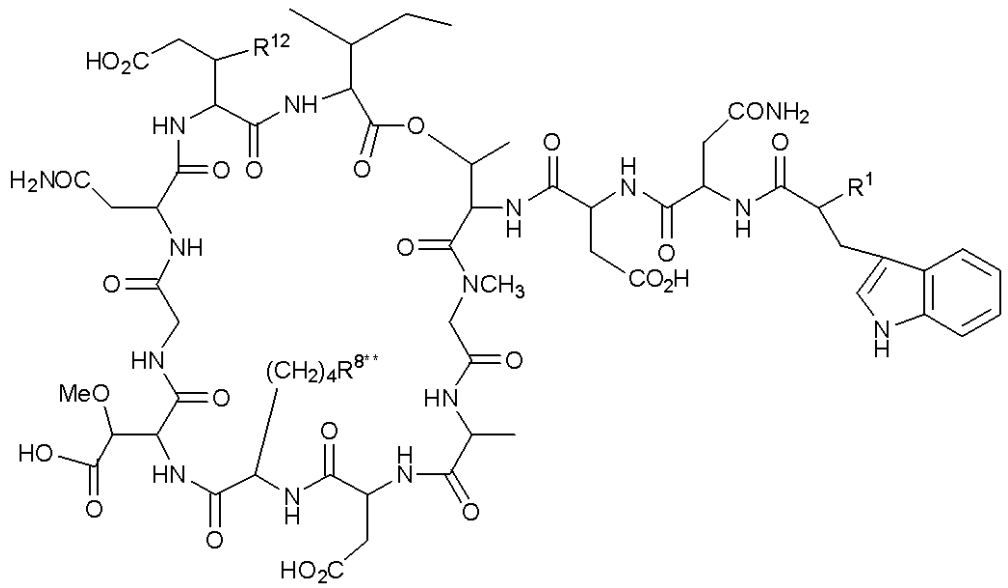


（Ｆ２０）
〔式中、
ａ）Ｒ[12]は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、
ｂ）Ｒ[1]およびＲ[8]＊＊は各々、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。

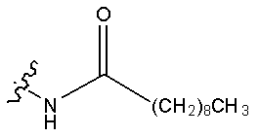
【０１７８】
本発明の別の具体例では、式Ｆ２０の化合物は、
【化２９４】

R^1(L-Trp)-D-Asn-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile
および
【化２９５】

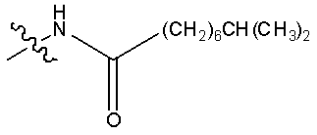
R^1(L-Trp)-D-Asn-L-h-Asn-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile
から選択される。
【０１７９】
典型的な化合物式Ｆ２０は、化合物Ｃ３４３、およびＣ３４０（上記参照）を含むが、これらだけに限らない。
【０１８０】
別の具体例では、本発明は、式Ｆ２１：
【化２９６】



（Ｆ２１）
〔式中、
ａ）Ｒ^{1}は、
【化２９７】

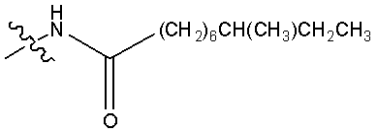


、
【化２９８】



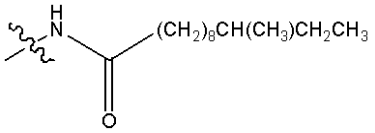
、

【化２９９】



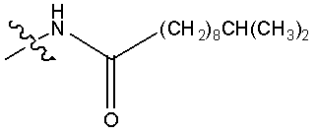
、

【化３００】



、もしくは

【化３０１】



であり、

ｂ）Ｒ^{12}は、ＨもしくはＣＨ$_3$であり、

ｃ）Ｒ^{8}＊＊は、独立してアミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕

で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１８１】

本発明の別の具体例では、式Ｆ２１の化合物は、

【化３０２】

R^1-(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-3mGlu-L-Ile

および

【化３０３】

R^1-(L-Trp)-D-Asn-L-Asp-L-Thr-Sar-L-Ala-L-Asp-D-Lys-L-omAsp-Gly-D-Asn-L-Glu-L-Ile.

から選択される。

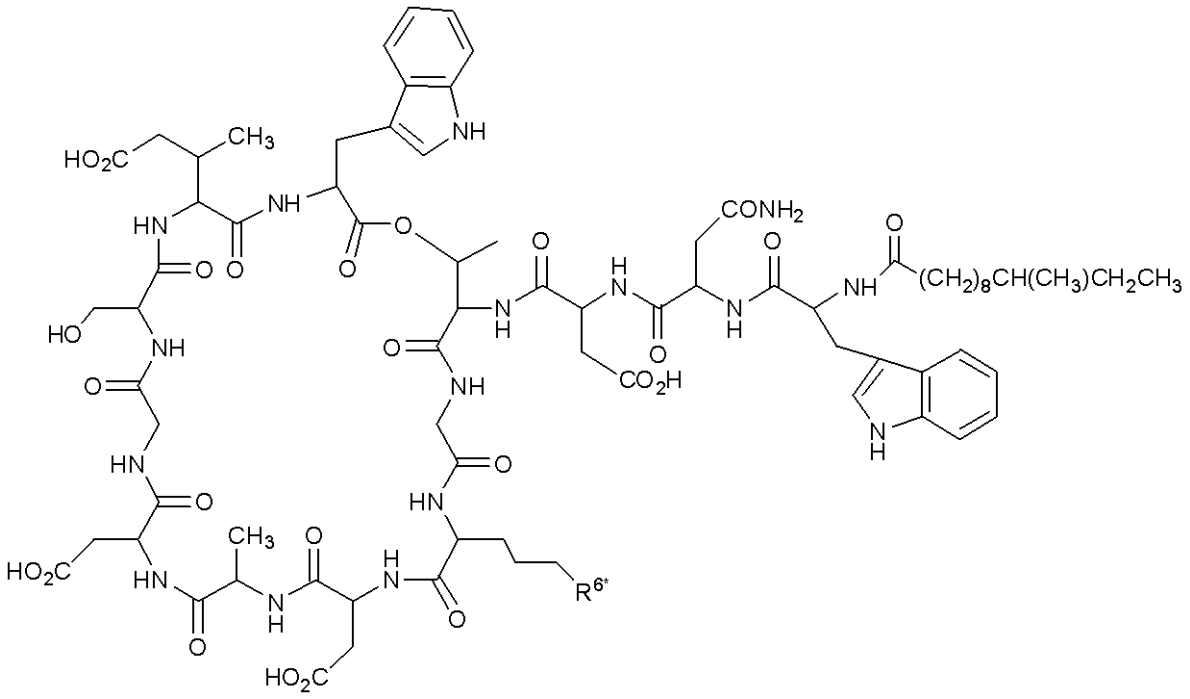
【０１８２】

典型的な化合物式Ｆ２１は、化合物Ｃ２６５、およびＣ２７１（上記参照）を含むが、これらだけに限らない。

【０１８３】

別の具体例では、本発明は、式Ｆ２２：（Ｆ２２）

【化３０４】

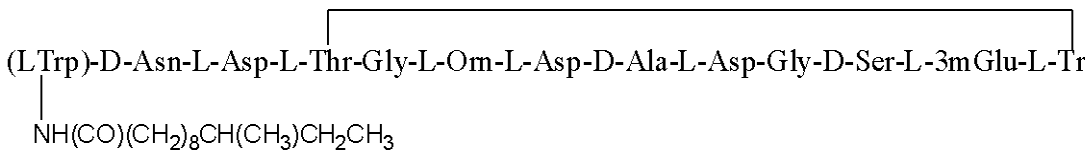


〔式中、Ｒ６＊は、アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、ＮＨ－アミノ保護基、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノ、もしくはホスホンアミノである。〕
で示される化合物およびその塩を提供する。

【０１８４】

本発明の別の具体例では、式Ｆ２２の化合物は、

【化３０５】



である。

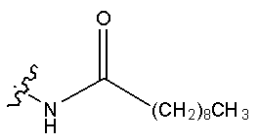
【０１８５】

典型的な化合物式Ｆ２２は、化合物Ｃ３（上記参照）を含むが、これだけに限定しない。

【０１８６】

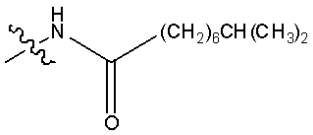
本発明の一の具体例では、式Ｆ１－Ｆ２０で示されるいずれかの化合物の置換基Ｒ１は、アミノ、アシルアミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである。本発明の別の具体例では、式Ｆ１－Ｆ２０で示されるいずれかの化合物の置換基Ｒ１は、Ｃ１０－Ｃ１３アルカノイルアミノである。本発明のさらに別の具体例では、式Ｆ１－Ｆ２０で示されるいずれかの化合物の置換基Ｒ１は、

【化３０６】



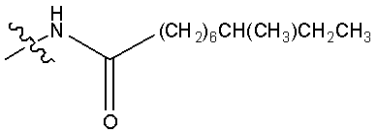
、

【化３０７】



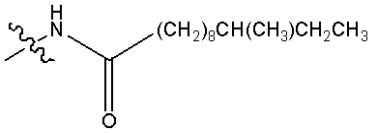
、

【化３０８】



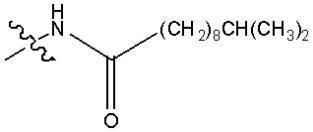
、

【化３０９】



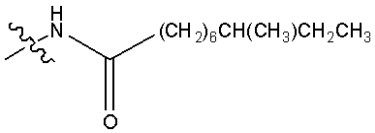
、もしくは

【化３１０】



である。本発明のさらに別の具体例では、式Ｆ１－Ｆ２０で示されるいずれかの化合物の置換基Ｒ^{1}は、

【化３１１】



である。

【０１８７】

本発明の一の具体例では、式Ｆ１－Ｆ５、Ｆ１０－Ｆ１４、Ｆ１９およびＦ２２で示されるいずれかの化合物の置換基Ｒ^{6}＊は、アミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである。本発明の別の具体例では、式Ｆ１－Ｆ５、Ｆ１０－Ｆ１４、Ｆ１９およびＦ２２で示されるいずれかの化合物の置換基Ｒ^{6}＊は、アミノである。

【０１８８】

本発明の一の具体例では、式Ｆ２－Ｆ５、Ｆ７－Ｆ９、Ｆ１３、Ｆ１５、Ｆ１６、Ｆ１８およびＦ２０－Ｆ２１で示されるいずれかの化合物の置換基Ｒ^{8}＊＊は、アミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである。本発明の別の具体例では、式Ｆ２－Ｆ５、Ｆ７－Ｆ９、Ｆ１３、Ｆ１５、Ｆ１６、Ｆ１８およびＦ２０－Ｆ２１で示されるいずれかの化合物の置換基Ｒ^{8}＊＊は、アミノである。

【０１８９】

本発明の化合物、特に式Ｉおよび式Ｆ１－２２の化合物が、式Ｉおよび式Ｆ１－２２で示される他の化合物を調製するための中間物として有用であることは、当業者によって理解されるであろう。中間物であって特に有用な化合物は、式Ｉ、Ｆ２－Ｆ５、Ｆ１３およびＦ１９で示される化合物（ここで、Ｒ^{1}、Ｒ^{6}＊もしくはＲ^{8}＊＊のうちの少なくとも一つが、アミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである。）、式Ｆ１もしくはＦ１０－Ｆ１４で示される化合物（ここで、Ｒ^{1}もしくはＲ^{6}＊のうち少なくとも一つが、アミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである。）、式Ｆ７－９、Ｆ１５－

１６、Ｆ１８およびＦ２０で示される化合物（ここで、Ｒ[1]もしくはＲ[8]＊＊＊のうち少なくとも一つが、アミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである。）、式Ｆ２２で示される化合物（ここで、Ｒ[6]＊は、アミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである。）、式Ｆ２１で示される化合物（ここで、Ｒ[8]＊＊＊は、アミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである。）、ならびに式Ｆ６およびＦ１７で示される化合物（ここで、Ｒ[1]は、アミノ、ＮＨ－アミノ保護基もしくはカルバモイルである。）である。

医薬組成物およびその使用方法

【０１９０】

本発明は、一の具体例では、式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物を含む医薬組成物もしくは製剤、あるいはその塩を提供する。

【０１９１】

本発明の化合物、好ましくは式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２のうちのいくつかの化合物、あるいはその医薬上許容される塩は、病気、特に細菌感染の治療もしくは予防処置のための経口、静脈、筋肉内、皮下もしくは非経口投与用に製剤化され得る。経口もしくは非経口投与用の本発明の化合物は、従来の医薬上担体および賦形剤と混合され、錠剤、カプセル、エリキシル剤、懸濁液、シロップ剤、オブラートおよびその類似型の形態で使用され得る。本発明の化合物を含有する組成物は、活性化合物重量を約０．１％から約９９％、より一般的には約１０から約３０％までの割合で包含するだろう。

【０１９２】

本明細書に開示される医薬調製物は、一般的な生産物から製造され、感染を減少、予防、除去するために選択される用量で投与される（例、「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ」, Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ, Ｅａｓｔｏｎ, ＰＡ ａｎｄ ‘Ｇｏｏｄｍａｎ ａｎｄ Ｇｉｌｍａｎ’ｓ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ」, Ｐｅｒｇａｍｏｎ Ｐｒｅｓｓ, Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ, ＮＹを参照。ヒト治療用抗生物質を投与する様々な方法の一般的な説明を参照することにより本明細書に一体化させる。）。本発明の組成物、好ましくは式Ｉの組成物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示されるいくつかの組成物は、制御性（例、カプセル）もしくは持続性の放出送達系（例、生体内分解性マトリックス）を使用して送達され得る。典型的な薬物送達用の遅延放出送達系は、本発明の組成物、好ましくは式Ｉもしくはいくつかの式Ｆ１－Ｆ２２で示される組成物の投与に適合し、米国特許第４，４５２，７７５号（Ｋｅｎｔ著）、第５，２３９，６６０号（Ｌｅｏｎａｒｄ著）および第３，８５４，４８０号（Ｚａｆｆａｒｏｎｉ著）に記述されている。

【０１９３】

本発明の医薬上許容される組成物は、本明細書では総称して「担体」物質とする一以上の非毒性の医薬上許容される担体および／もしくは希釈剤および／もしくは補助剤および／もしくは賦形剤とともに、本発明の一以上の化合物、好ましくは式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物、ならびに所望する他の活性要素を包含する。組成物は、コーンスターチもしくはゼラチン、ラクトース、、スクロース、微結晶性セルロース、カオリン、マンニトール、二カルシウム、リン酸塩、塩化ナトリウムおよびアルギン酸などの一般的な担体および賦形剤を含んでよい。組成物は、クロスカルメロースナトリウム、微結晶性セルロース、コーンスターチ、グリコール酸ナトリウムデンプン（ｓｏｄｉｕｍ ｓｔａｒｃｈ ｇｌｙｃｏｌａｔｅ）およびアルギン酸を含んでよい。

【０１９４】

含まれ得る錠剤の結合剤は、アカシア、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリビニルピロリドン（ポビデン）、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、スクロース、デンプンおよびエチルセルロースである。

【０１９５】

使用可能な潤滑剤は、ステアリン酸マグネシウムもしくは他の金属性ステアリン酸、ス

テアリン酸、シリコン溶液、タルク、ワックス、オイルおよびコロイド状シリカを含む。

【０１９６】

ペパーミント、冬緑油、チェリー香料もしくはその類似物などの香料添加剤も使用可能である。用量形態をより外観的に見やすくさせるため、もしくは生成物を同定しやすくするために着色剤を添加することも望ましい。

【０１９７】

経口用には、錠剤およびカプセルなどの固形製剤が特に有効である。持続性放出もしくは腸内用被覆加工もまた考案されてよい。小児もしくは高齢者用には、懸濁液、シロップおよびチュアブル錠がとりわけ適切である。経口投与用に、医薬組成物は、例えば、錠剤、カプセル、懸濁液、液状などの形態である。医薬組成物は、好ましくは活性要素を治療上有効な量含む用量単位の形で製造される。用量単位の例としては、錠剤およびカプセルである。治療目的に応じて、錠剤およびカプセルは、活性要素に加えて、アカシアガム、ゼラチン、ポリビニルピロリジン、ソルビトール、もしくはトラガカントなどの結合剤、リン酸カルシウム、グリシン、ラクトース、トウモロコシデンプン、ソルビトール、もしくはスクロースなどの充てん剤、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール、シリカ、もしくはタルクなどの潤滑油、ジャガイモデンプン、香味剤もしくは着色剤などの崩壊剤、あるいは許容される湿潤剤、のような従来の担体を含み得る。経口液体製剤は、一般的に水溶性もしくは油性水溶液、懸濁液、乳液、シロップもしくはエリキシル剤の形態であり、懸濁剤、乳化剤、非水剤、防腐剤、着色剤および香料剤のような従来の添加剤を含んでよい。液体製剤の添加剤の例は、アカシア、アーモンドオイル、エチルアルコール、ヤシ油、ゼラチン、グルコースシロップ、グリセリン、水素化食用脂、レシチン、メチルセルロース、メチルもしくはプロピルパラ－ヒドロキシベンゾアート、プロピレングリコール、ソルビトール、もしくはソルビン酸を含む。

【０１９８】

静脈（ＩＶ）内用に、本発明の化合物は一般的に使用される静脈内輸液に溶解もしくは懸濁され、輸液によって投与される。静脈内輸液は、生理的食塩水もしくはリンガー溶液を含むが、これらだけに限らない。静脈内投与は、シリンジ、ミニポンプもしくは点滴を使用して行われてよいが、これらだけに限らない。

【０１９９】

非経口投与用製剤は、水性もしくは非水性等張滅菌注射溶液もしくは懸濁液の形態であり得る。これらの溶液もしくは懸濁液は、経口投与用製剤に使用される１個以上の担体を有する滅菌粉末もしくは顆粒から調製され得る。本化合物は、ポリエチレン、グリコール、プロピレングリコール、エタノール、トウモロコシ油、ベンジルアルコール、塩化ナトリウム、および／もしくは様々な緩衝液に溶解され得る。

【０２００】

筋肉内製剤用には、本発明で示される化合物の滅菌製剤もしくは本化合物に適切な可溶性塩（例えば、塩酸塩）が、注射用蒸留水（ＷＦＩ）、生理食塩水もしくは５％グルコースなどの医薬希釈剤中に溶解もしくは投与され得る。本化合物の適切な不溶性の形態は、例えば、オレイン酸エチルなどの長鎖脂肪酸エステルを水性塩基もしくは医薬上許容される油性塩基中に懸濁液として調製され、投与されてよい。

【０２０１】

本発明で示される化合物の静脈内、筋肉内もしくは非経口内製剤１回分は、ボーラスもしくは遅延輸液によって投与されてよい。ボーラスは３０分未満で投与される。好ましい具体例では、ボーラスは１５分未満もしくは１０分未満で投与される。より好ましい具体例では、ボーラスは、５分未満で投与される。さらにより好ましい具体例では、ボーラスは１分もしくはそれより早く投与される。輸液は１回で３０分以上の速度で投与される。好ましい具体例では、輸液は１時間もしくはそれ以上である。別の具体例では、輸液は実質的に一定である。

【０２０２】

局所使用には、本発明の化合物、好ましくは式Ｉもしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示される化

合物はまた、皮膚もしくは鼻および喉の粘膜内層に塗布されるのに適する形態で調製され、クリーム、軟膏、液体スプレーもしくは輸液、トローチ剤、あるいは喉塗布の形態であり得る。さらに、このような局所製剤は、活性要素の表面浸潤を促進するジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）などの化学化合物を含み得る。

【０２０３】

眼もしくは耳に適用するために、本発明の化合物、好ましくは式Ｉもしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物は、軟膏、クリーム、ローション、塗布もしくは粉末などの疎水性もしくは親水性塩基中に製剤化される液状もしくは半流動状の形態で存在され得る。

【０２０４】

直腸投与用には、本発明の化合物、好ましくは式Ｉもしくはいくつかの式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物は、ココアバター、ワックスもしくは他のグリセリドなどの従来の担体と混合された座薬の形態で投与され得る。

【０２０５】

代替的に、本発明の化合物、別の具体例では、式Ｉの化合物もしくはいくつかの式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物は、送達時に適する医薬上許容される担体中の再構成の粉末形態であり得る。別の具体例では、本化合物の単位用量の形態は、滅菌密封アンプルもしくは滅菌シリンジ内の適切な希釈剤中における本化合物もしくは好ましくはその塩の溶液であり得る。単位用量における化合物の濃度は、使用される化合物およびその溶解度ならびに望ましくは医師が望む用量に応じて、例えば、約１％から約５０％までであってよい。本組成物が用量単位を包含する場合、各用量単位は、好ましくは約１－５００ｍｇの活性物質を含む。ヒト成人の治療には、用量は、投与経路および投与頻度に依存して、好ましくは１日５ｍｇから１０ｇまでの範囲であり得る。

【０２０６】

別の態様では、本発明は、微生物、好ましくは細菌の成長を阻害する方法であって、該生物および該微生物を化合物に接触させる条件下において、該生物を本発明の化合物と接触させることを含む方法を提供する。このような条件は当業者間で公知されており、実施例で提示される。この方法は、ｉｎ　ｖｉｖｏもしくはｉｎ　ｖｉｔｒｏで本発明の化合物、好ましくは式Ｉで示される化合物もしくはいくつかの式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物の医薬上有効な量と微生物細胞を接触させることに関連する。

【０２０７】

本発明のこの態様によると、本明細書で開示される新規組成物は、医薬上許容される担体中に乗せられ、薬物送達の公知の方法によって受容対象（好ましくはヒト）に送達される。一般的には、ｉｎ　ｖｉｖｏにて本発明の組成物を送達するための本発明の方法は、薬剤を送達するための当該技術分野で認識されたプロトコルを用いるものであるが、当該技術分野で認識されているプロトコルにおける薬剤を本発明の化合物、好ましくは式Ｉの化合物または式Ｆ１－Ｆ２２のいずれかの化合物に置き換える単なる手技上の改変を伴うものである。同様に、培養細胞を処理するための本発明の組成物の使用方法は、抗細菌剤で細胞培養物を処理するための当該技術分野で認識されているプロトコルを用いるものであるが、当該技術分野で認識されているプロトコルにおける薬剤を本発明の化合物、好ましくは式Ｉの化合物または式Ｆ１－Ｆ２２のいずれかの化合物に置き換える単なる手技上の改変を伴うものである。

【０２０８】

一の具体例では、本発明は、感染、特にグラム陽性細菌によって誘発された感染を医薬上有効な量の本発明で示される化合物によって患者を治療する方法を提供する。抗生物質を送達するための典型的な生成物は、それらの全体の内容を参照にすることで本明細書に一体化させた米国特許第５，０４１，５６７号、およびＰＣＴ特許公表第ＥＰ９４／０２５５２号（公表第ＷＯ９５／０５３８４号）に記載されている。本明細書に使用されるように、用語「医薬上有効な量」は、細菌感染の開始を阻止し、症状を軽減し、もしくは進行を停止する、本発明の化合物の量を意味する。用語「治療する」は、感染の発生を阻害すること、および感染を調節もしくは除去するために本発明で示される化合物の医薬上有

効な量を患者に投与することと定義される。本明細書に記載される用語「患者」は、哺乳類動物、植物もしくは培養細胞と定義される。好ましい態様では、患者は、抗菌治療を必要とするヒトもしくは他の動物の患者である。

【０２０９】

本方法は、患者に有効量の本発明の化合物を投与することを含む。有効な用量は、本発明の化合物もしくはその医薬上許容される塩の一般的に約０．１と約１００ｍｇ／ｋｇの間である。好ましい用量は、一般的に本発明の化合物もしくはその医薬上許容される塩の約０．１から約５０ｍｇ／ｋｇまでである。より好ましい量は、一般的に本発明の化合物もしくはその医薬上許容される塩の約１から約２５ｍｇ／ｋｇまでである。細胞培養に有効な用量は、通常、０．１と１０００μｇ／ｍＬの間、より好ましくは０．１と２００μｇ／ｍＬの間である。

【０２１０】

本発明で示される化合物を含む組成物は、１日に１回分もしくは多数回分の用量として投与され得る。治療形態は、長期間、例えば７日間もしくは２週間から４週間を超える投与を必要としてよい。投与用量あたりの量もしくは投与合計量は、感染の形態および程度、患者の年齢および総体的な健康、その化合物に対する患者の許容度ならびにその微生物もしくは感染に関連する微生物などの因子に依存するであろう。デプシペプチド化合物クラスの別のメンバーであるダプトマイシンを患者に投与する方法は、出典明示により本明細書に一体化させた米国特許第６，４６８，９６７号および第６，８５２，６８９号に開示されている。

【０２１１】

本発明の化合物は、患者もしくは動物の食事もしくは飼料に投与されてもよい。食事摂取総量の一部として投与される場合、含有化合物の量は、食事量の１％以下、好ましくはわずか０．５％以下であり得る。動物の飼料は、化合物が添加もしくは前もって添加できる普通の食材であり得る。

【０２１２】

本発明は、本発明の化合物、好ましくは式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物、あるいはその医薬組成物を、細菌の感染を減少、改善もしくは除去することに有効な量で治療を必要とする患者に投与する方法についても提供する。本化合物は、吸入によって経口的、非経口的に、あるいは、注射器、外部ポンプもしくはカテーテルによって局所的、直腸的、鼻腔的、口腔的、経膣的に投与されてよい。化合物は、点眼用もしくはエアロゾル用に調製されてよい。本発明の化合物は、エアロゾルとして投与され得る。好ましいエアロゾル送達担体は、無水もしくは乾燥粉末吸入剤である。式Ｉの化合物もしくはいくつかの式Ｆ１－Ｆ２２の化合物、あるいはその医薬組成物はまた、膿瘍、組織内室もしくは関節に直接注入もしくは投与されてよい。非経口投与は、皮下、静脈内、筋肉内、関節内、滑液内、大槽、随腔内、肝内、病巣内および頭蓋内への注射もしくは吸入を含む。好ましい具体例では、本発明の化合物は、静脈内、皮下もしくは経口的に投与される。式Ｉによる化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物を培養細胞に投与する好ましい具体例では、本化合物は栄養培地に投与されてよい。

【０２１３】

本発明の方法は、いくつかの型の細菌、特にグラム陽性細菌によって誘発もしくは悪化される細菌感染にかかっている患者を治療することに使用されてよい。一の具体例では、本発明の化合物もしくはその医薬組成物は、本発明の方法に従って患者に投与される。好ましい具体例では、細菌感染はグラム陽性細菌によって誘発もしくは悪化され得る。グラム陽性細菌は、メチシリン感受性およびメチシリン耐性ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｓ．ｅｐｉｄｅｒｍｉｄｉｓ、Ｓ．ｈａｅｍｏｌｙｔｉｃｕｓ、Ｓ．ｈｏｍｉｎｉｓ、Ｓ．ｓａｐｒｏｐｈｙｔｉｃｕｓおよびコアグラーゼ陰性ブドウ球菌を含む）、糖ペプチド中間感受性Ｓ．ａｕｒｅｕｓ（ＧＩＳＡ）、バンコマイシン耐性Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ（ＶＲＳＡ）、ペニシリン感受性およびペニシリン耐性連鎖球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ，Ｓ．

ｐｙｏｇｅｎｅｓ、Ｓ．ａｇａｌａｃｔｉａｅ、Ｓ．ａｖｉｕｍ、Ｓ．ｂｏｖｉｓ、Ｓ．ｌａｃｔｉｓ、Ｓ．ｓａｎｇｉｕｓおよび連鎖球菌グループＣ、連鎖球菌グループＧならびに緑色連鎖球菌を含む）、腸球菌（Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆａｅｃａｌｉｓおよびＥ．ｆａｅｃｉｕｍのようなバンコマイシン感受性およびバンコマイシン耐性系統を含む）、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｄｉｆｆｉｃｉｌｅ、Ｃ．ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｉｆｏｒｍｅ、Ｃ．ｉｎｎｏｃｕｕｍ、Ｃ．ｐｅｒｆｒｉｎｇｅｎｓ、Ｃ．ｒａｍｏｓｕｍ、Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａｅ、Ｌｉｓｔｅｒｉａ ｍｏｎｏｃｙｔｏｇｅｎｅｓ、Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｊｅｉｋｅｉｕｍ、Ｂｉｆｉｄｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｓｐｐ．、Ｅｕｂａｃｔｅｒｉｕｍ ａｅｒｏｆａｃｉｅｎｓ、Ｅ．ｌｅｎｔｕｍ、Ｌａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓ ａｃｉｄｏｐｈｉｌｕｓ、Ｌ．ｃａｓｅｉ、Ｌ．ｐｌａｎｔａｒｕｍ、Ｌａｃｔｏｃｏｃｃｕｓ ｓｐｐ．、Ｌｅｕｃｏｎｏｓｔｏｃ ｓｐｐ．、Ｐｅｄｉｏｃｏｃｃｕｓ、Ｐｅｐｔｏｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ａｎａｅｒｏｂｉｕｓ、Ｐ．ａｓａｃｃａｒｏｌｙｔｉｃｕｓ、Ｐ．ｍａｇｎｕｓ、Ｐ．ｍｉｃｒｏｓ、Ｐ．ｐｒｅｖｏｔｉｉ、Ｐ．ｐｒｏｄｕｃｔｕｓ、Ｐｒｏｐｉｏｎｉｂａｃｔｅｒｉｕｍ ａｃｎｅｓ、Ａｃｔｉｎｏｍｙｃｅｓ ｓｐｐ．、Ｍｏｒａｘｅｌｌａ ｓｐｐ．（Ｍ．ｃａｔａｒｒｈａｌｉｓを含む）ならびにＥｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｓｐｐ．（Ｅ．ｃｏｌｉを含む）を含むが、これらだけに限らない。

【０２１４】

好ましい具体例では、ｉｎ ｖｉｔｒｏ実験において、古典的な「耐性」系統に対する式Ｉの化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物の抗菌活性は、「感受性」系統に対するそれらの抗菌活性と比較される。別の好ましい具体例では、感受性系統に対する本発明による化合物の最小阻止濃度（ＭＩＣ）値は、典型的なバンコマイシンもしくはダプトマイシンのＭＩＣ値と同一もしくはより低い。それゆえ、好ましい具体例では、本発明の化合物もしくはその医薬組成物は、バンコマシンもしくはデプトマシンを含む他の化合物に耐性である細菌感染を示す患者に本発明の方法に従って投与される。加えて、糖ペプチド抗生物質と異なり、本発明で開示されるようなデプシペプチド化合物は、グラム陽性生物に対して急速で濃度依存的な抗菌活性を示す。それゆえ、好ましい具体例では、本発明による化合物もしくはその医薬組成物は、抗生物質の治療を必要とする患者に本発明の方法に従って投与される。

【０２１５】

本発明の方法は、体内の器官もしくは組織の細菌感染に対して使用されてよい。好ましい具体例では、細菌感染は、グラム陽性細菌によって引き起こされる。これらの器官もしくは組織は、骨格筋、皮膚、血液、腎臓、心臓、肺および骨を含むが、これらだけに限らない。本発明の方法は、皮膚および軟部組織の感染、菌血症および尿管の感染を治療するために使用されてよいが、これらだけに限らない。本発明の方法はまた、異なる型のグラム陽性細菌、もしくはグラム陽性菌とグラム陰性菌の両方、を含む混合感染を治療するために使用されてよい。これらの感染型は、腹内感染および産科／婦人科感染を含む。本発明の方法はまた、心内膜炎、腎炎、肺血性関節炎、腹腔内敗血症、骨および関節の感染、ならびに骨髄炎を含む感染を治療することに使用されてよいが、これらだけに限らない。好ましい具体例では、上記記述の疾患のいくつかは、本発明による化合物もしくはその医薬組成物を使用して治療されてよい。

【０２１６】

本発明の方法は、抗菌剤（抗生物質）もしくは抗真菌剤などの１種以上の他の抗微生物剤を同時に投与するようにも実施されてよい。一の態様では、本方法は、本発明による１種以上の化合物を投与することによって実施されてよい。別の具体例では、本方法は、例えば、米国特許第６，９１１，５２５号および第６，７９４，４９０号、ならびに国際特許出願ＷＯ０１／４４２７２、ＷＯ０１／４４２７４、ＷＯ０１／４４２７１およびＷＯ０３／０１４１４７で記述されるダプトマイシンもしくはリポペプチド化合物などのリポペプチドとともに本発明による化合物を投与することによって実施されてよい。

【０２１７】

抗菌剤およびそのクラスは、ペニシリンおよびその関連薬物、カルバペネム、セファロスポリンおよびその関連薬物、アミノグリコシド、バシトラシン、グラミシジン、ムピロシン、クロラムフェニコール、チアンフェニコール、フシジン酸ナトリウム、リンコマイシン、クリンダマイシン、マクロライド、ノボビオシン、ポリミキシン、リファマイシン、スペクチノマイシン、テトラサイクリン、バンコマイシン、テイコプラニン、ストレプトグラミン；スルホンアミド、トリメトプリムおよびその配合剤ならびにピリメタミンなどの抗葉酸剤；ニトロフラン、マンデル酸メテナミンおよび馬尿酸メテナミン、ニトロイミダゾール、キノロン、フルオロキノロン、イソニアジド、エタンブトール、ピラジナミド、パラ－アミノサリチル酸（ＰＡＳ）、サイクロセリン、カプレオマシン、エチオナミド、プロチオナミド、チアセタゾン、バイオマイシン、エバニノマイシン（ｅｖｅｒｎｉｎｏｍｙｃｉｎ）、糖ペプチド、グリシルシルクリン（ｇｌｙｃｌｃｌｃｌｉｎｅ）、ケトライド、オキサゾリジノン；イミペネム、アミカシン、ネチルミシン、ホスホマイシン、ゲンタマイシン、セフトリアキソン、ＺＩＲＡＣＩＮ（登録商標）、ＬＹ３３３３２８、ＣＬ３３１００２、ＨＭＲ３６４７、ＺＹＶＯＸ（登録商標）、ＳＹＮＥＲＣＩＤ（登録商標）、アズトレオナムメトロニダゾール、エピロプリム（ｅｐｉｒｏｐｒｉｍ）、ＯＣＡ－９８３、ＧＶ－１４３２５３、サンフェトリネムナトリウム、ＣＳ－８３４、ビアペネム、Ａ－９９０５８．１、Ａ－１６５６００、Ａ－１７９７９６、ＫＡ１５９、ダイネミシン Ａ（ｄｙｎｅｍｉｃｉｎ Ａ）、ＤＸ８７３９、ＤＵ６６８１；セフルプレナム（ｃｅｆｌｕｐｒｅｎａｍ）、ＥＲ３５７８６、セフォセリス、サンフェトリネムセレキシテル（ｓａｎｆｅｔｒｉｎｅｍ ｃｅｌｅｘｅｔｉｌ）、ＨＧＰ－３１、セフピロム、ＨＭＲ－３６４７、ＲＵ－５９８６３、メルサシジン（ｍｅｒｓａｃｉｄｉｎ）、ＫＰ７３６、リファラジル（ｒｉｆａｌａｚｉｌ）；ＡＭ１７３２、ＭＥＮ１０７００、レナペネム（ｌｅｎａｐｅｎｅｍ）、ＢＯ２５０２Ａ、ＮＥ－１５３０、ＰＲ３９、Ｋ１３０、ＯＰＣ２００００、ＯＰＣ２０４５、ベネプリム（ｖｅｎｅｐｒｉｍ）、ＰＤ１３８３１２、ＰＤ１４０２４８、ＣＰ１１１９０５、スロペネム（ｓｕｌｏｐｅｎｅｍ）、リチペナムアコキシル（ｒｉｔｉｐｅｎａｍ ａｃｏｘｙｌ）、ＲＯ－６５－５７８８、シクロチアリジン（ｃｙｃｌｏｔｈｉａｌｉｄｉｎｅ）、Ｓｃｈ－４０８３２、ＳＥＰ－１３２６１３、ミカコシジンＡ（ｍｉｃａｃｏｃｉｄｉｎ Ａ）、ＳＢ－２７５８３３、ＳＲ－１５４０２、ＳＵＮ Ａ００２６、ＴＯＣ３９、カルモナム、セフォゾプラン、セフェタメットピボキシル、ならびにＴ３８１１などを含む合成抗菌剤だけに限らないが、これらを本発明による化合物と共投与されてよい。

【０２１８】

本発明による化合物と共投与されてよい抗真菌剤は、カスポファンギン、ボリコナゾール、セルタコナゾール、ＩＢ－３６７、ＦＫ－４６３、ＬＹ－３０３３６６、Ｓｃｈ－５６５９２、シタフロキサシン（ｓｉｔａｆｌｏｘａｃｉｎ）；アンフォテリシン、ニスタチン、プリマリシンなどのＤＢ－２８９ポリエン；フルコナゾール、イトラコナゾール、およびケトコナゾールなどのアゾール；ナフチフィンおよびテルビナフィンなどのアリルアミン；ならびにフルシトシンなどの抗代謝産物を含むが、これらだけに限らない。他の抗真菌剤は、参照することにより本明細書に一体化させた、Ｆｏｓｔｅｌら，２０００年，Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ Ｔｏｄａｙ５：２５－３２に開示されているが、これらだけに限らない。Ｆｏｓｔｅｌらは、コリネカンジン（ｃｏｒｙｎｅｃａｎｄｉｎ）、Ｍｅｒ－ＷＦ３０１０、フサカンジン（ｆｕｓａｃａｎｄｉｎ）、アルトリキチン（ａｒｔｒｉｃｈｉｔｉｎ）／ＬＬ１５Ｇ２５６、ソルダリン（ｓｏｒｄａｒｉｎ）、シスペンタシン（ｃｉｓｐｅｎｔａｃｉｎ）、アゾキシバシリン（ａｚｏｘｙｂａｃｉｌｌｉｎ）、アウレオバシジン（ａｕｒｅｏｂａｓｉｄｉｎ）およびカフレフンギン（ｋｈａｆｒｅｆｕｎｇｉｎ）を含む抗真菌化合物を開示する。

【０２１９】

本発明による化合物は、細菌感染が根絶もしくは減少されるまで本方法に従って投与されてよい。一の具体例では、式Ｉで示される化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物は、２日から６月間投与される。好ましい具体例では、式Ｉで示される化合物もしく

はいくつかの式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物は、７日から５６日間投与される。より好ましい具体例では、式Ｉで示される化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物は、７日から２８日間投与される。さらにより好ましい具体例では、式Ｉで示される化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物は、７日から１４日間投与される。式Ｉで示される化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物は、もし所望するならば、より長期間もしくはより短期間投与されてよい。

【０２２０】

本発明は、一の具体例では、式Ｉで示される化合物もしくは式Ｆ１－Ｆ２２で示される化合物あるいはその塩を含む、抗菌組成物もしくは製剤を提供する。一の具体例では、抗菌組成物は水溶液中に含まれてよい。別の具体例において水溶液は緩衝化されてよい。別の具体例では、緩衝液は酸性、中性、もしくは塩基性ｐＨであり得る。

【０２２１】

新規デプシペプチドの調製

１．合成方法

本発明の一の実施態様において、式Ｉまたは式Ｆ１－Ｆ２２の化合物は、固体支持体の化学を用いて調製されてもよい。３つの好ましい方法、方法Ａ－Ｃにより、樹脂結合型直鎖状前駆体ｎｎ３、ｎｎ３ａまたはｎｎ３ｂを得た。

【０２２２】

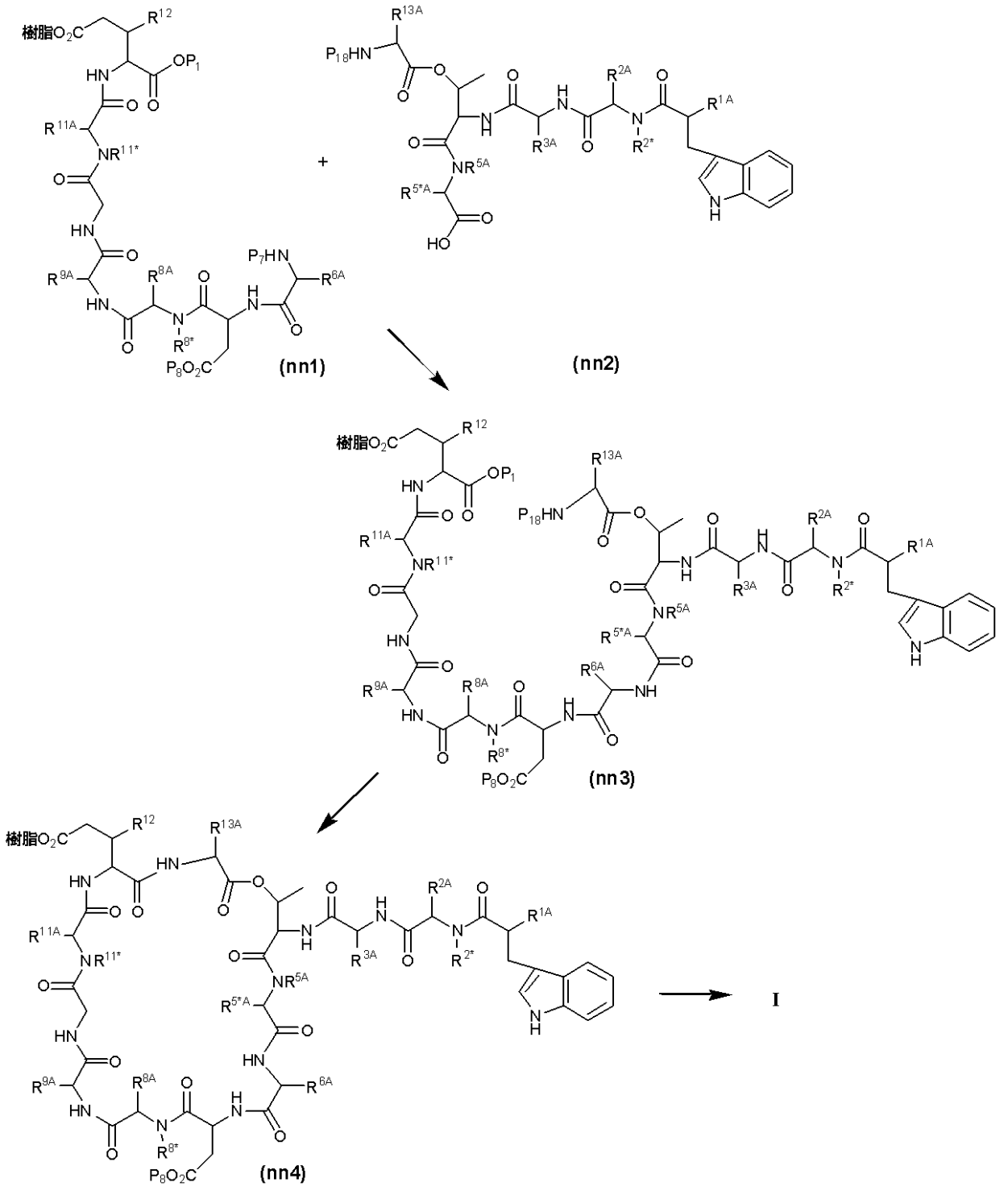
スキームＩに示すように、方法Ａは、樹脂結合型の７つのアミノ酸に由来するポリペプチドフラグメント、ｎｎ１、および６つのアミノ酸に由来するポリペプチドフラグメント、ｎｎ２を利用する。この方法を「７＋６フラグメント合成」と呼ぶ。

【０２２３】

スキームＩ

方法Ａ「７＋６」フラグメント合成

【化３１２】



【０２２４】

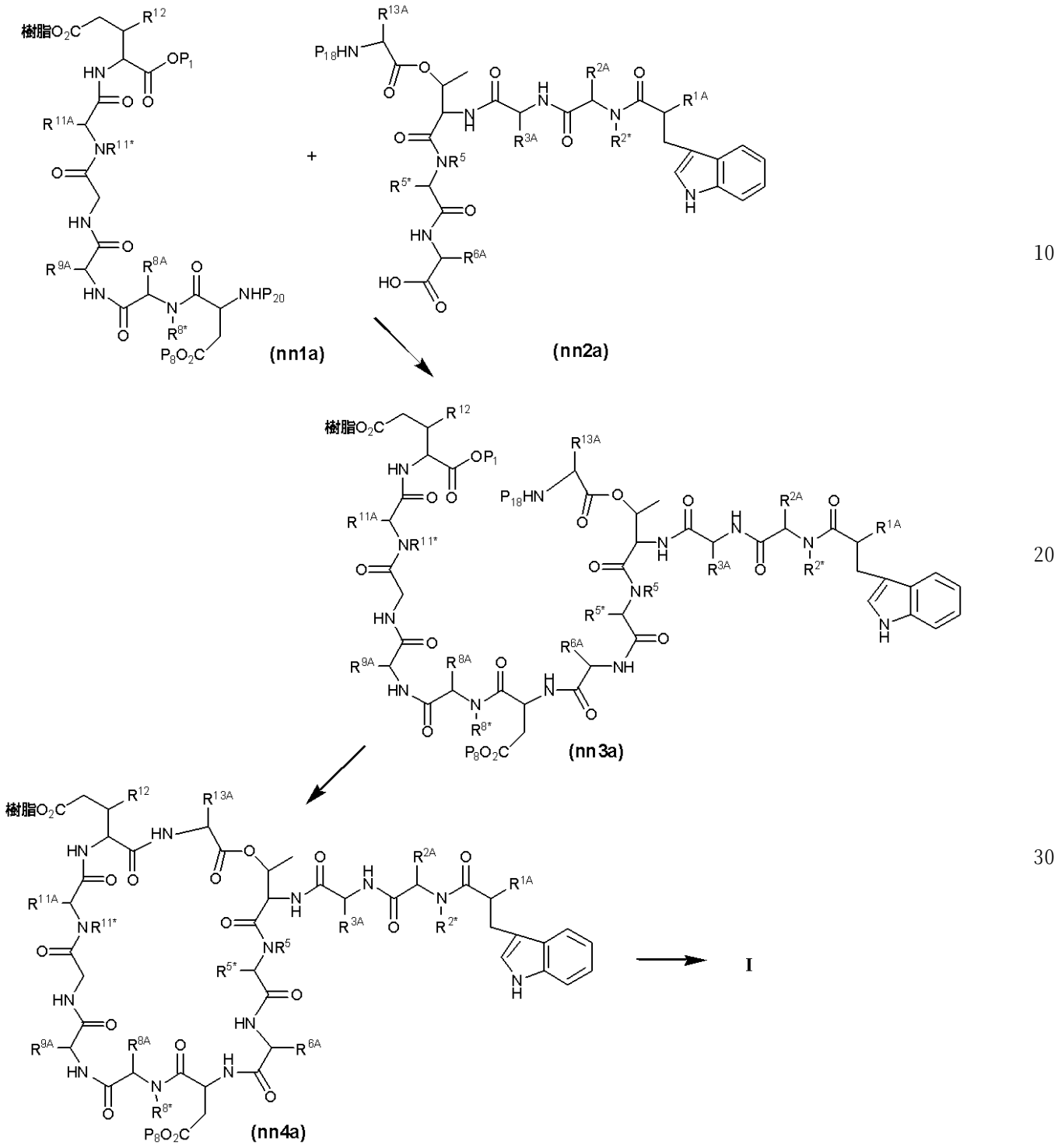
或いは、スキームＩＩに示すように、方法Ｂは、樹脂結合型の６つのアミノ酸に由来するポリペプチドフラグメント、ｎｎ１ａ、および７つのアミノ酸に由来するポリペプチドフラグメント、ｎｎ２ａを利用する。この方法を「６＋７フラグメント合成」と呼ぶ。

【０２２５】

スキームＩＩ

方法Ｂ．「６＋７」フラグメント合成

【化３１３】



【０２２６】

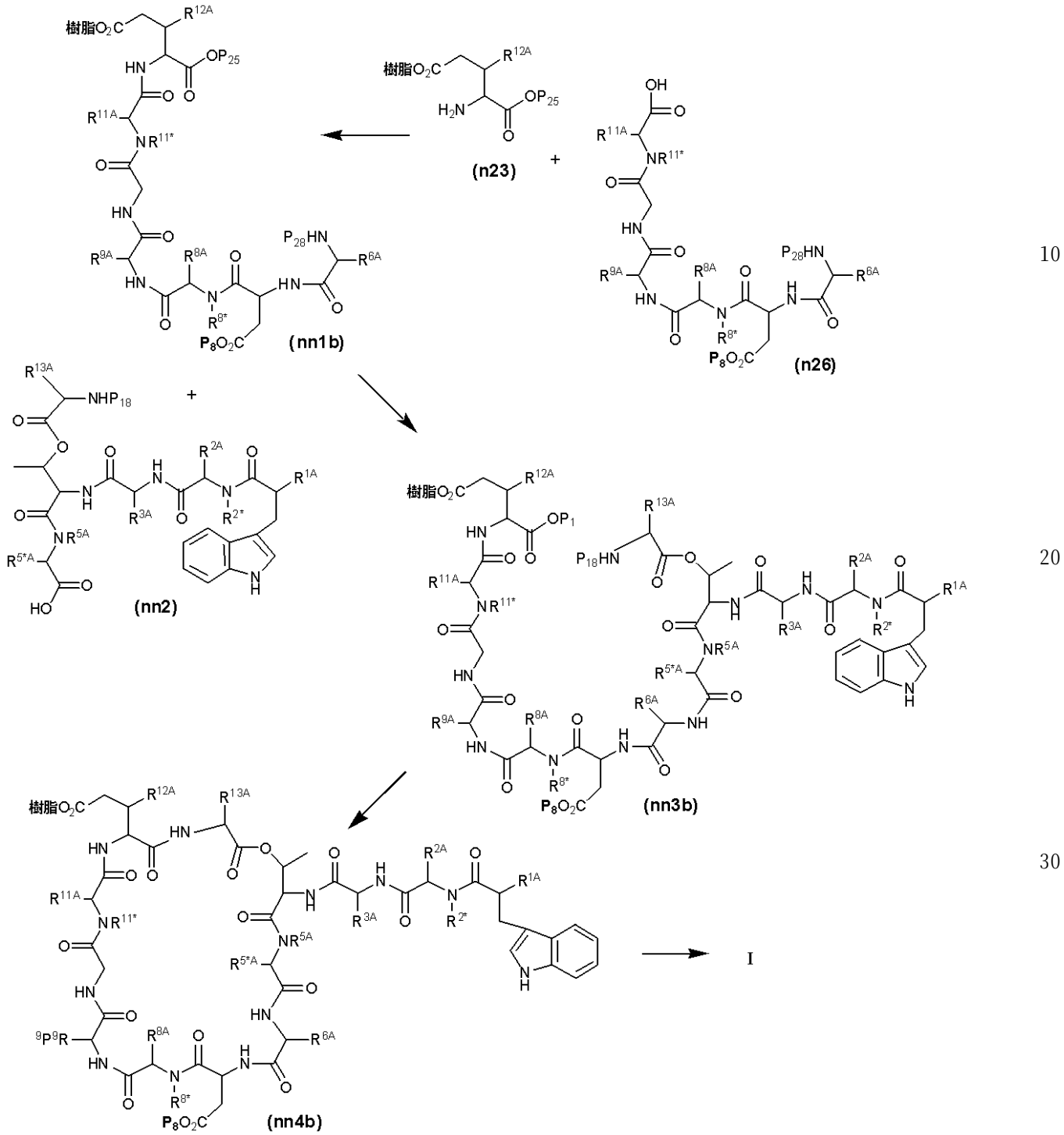
別の方法、方法Ｃは、６つのアミノ酸に由来するポリペプチド、樹脂結合型アミノ酸、および第２の６つのアミノ酸に由来するポリペプチドを利用する。この方法を「１＋６＋６フラグメント合成」と呼ぶ。

【０２２７】

スキームＩＩＩ

方法Ｃ．「１＋６＋６」フラグメント合成

【化３１４】



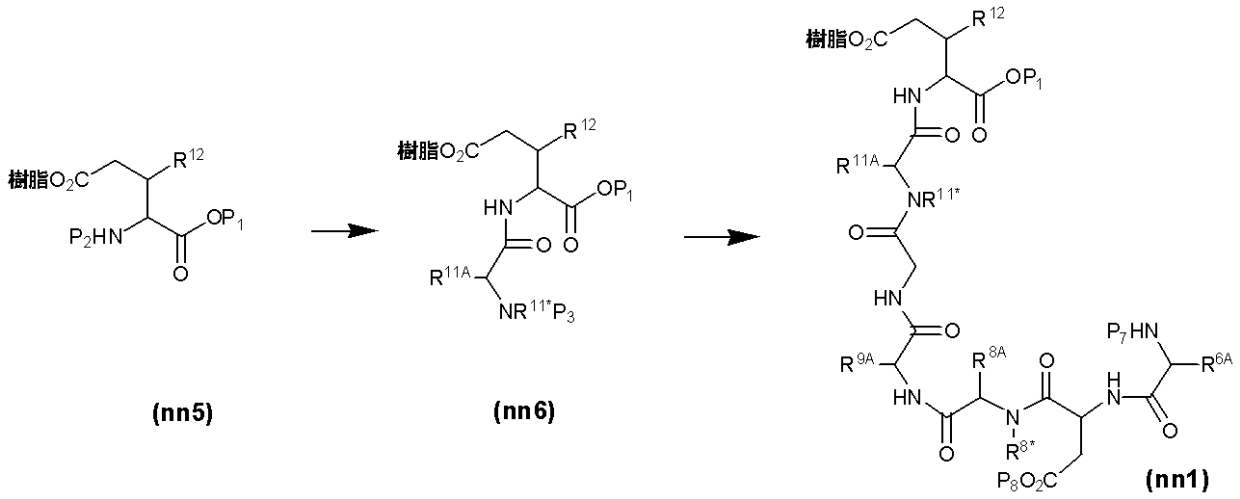
【０２２８】

デプシペプチド化合物の固相合成方法Ａ：７＋６フラグメント合成

下記のとおりスキームＩＶ、スキームＶおよびスキームＶＩに示すように、式Ｉのデプシペプチド化合物は、固体支持体上で合成されてもよい。

スキームＩＶ

【化３１５】



【０２２９】

第一の工程において、市販のＮ－α－Ｆｍｏｃ－Ｌ－グルタミン酸α－アリルエステルまたはＮ－Ｆｍｏｃ－Ｌ－３－メチルグルタミン酸α－アリルエステルのごとき保護グルタミン酸誘導体（下記実施例１－６８および１－６９を参照のこと）を樹脂にカップリングさせ、化合物ｎｎ５［ここで、R^{12}は前記定義の通りである］を得る。樹脂または固体支持体、例えば、限定されないが、Ｗａｎｇ、ＨＭＰＡ、Ｓａｆｅｔｙ Ｃａｔｃｈ、Ｒｉｎｋ Ａｃｉｄ、塩化２－クロロトリチル樹脂、塩化トリチル樹脂、塩化４－メチルトリチル樹脂、塩化４－メトキシトリチル樹脂またはＰＡＭ樹脂をこの反応に用いてもよい。樹脂からのペプチド切断を行うことなく互いに独立して除去され得るように、保護基P_1およびP_2を選択する。保護基の例は、“Ｐｒｏｔｅｃｔｉｎｇ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｓｔｈｅｓｉｓ”，Ｔｈｅｏｄｏｒａ Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ（上記参照，以後「Ｇｒｅｅｎｅ」と言う）において見出され得る。該文献は出典明示により本明細書の一部となる。保護基の組み合わせ、例えば、限定されないが、P_1がアリルエステルであり、およびP_2がＦｍｏｃである組み合わせが、この反応に適する。

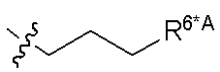
【０２３０】

化合物ｎｎ５のアミンの脱保護、次いで、アミノ酸または保護アミノ酸と遊離アミノのカップリングにより、化合物ｎｎ６［ここで、P_3は、樹脂からのペプチド切断を行うことなくP_1に独立して除去され得る保護基であり；R^{11A}はアミノ酸側鎖、保護アミノ酸側鎖、メチル、CH_2-OP_4または$CH_2-CONHP_5$であり；P_4およびP_5の各々は独立して適当な保護基であり、およびP_1およびR^{11*}の各々は前記定義の通りである］を得る。所望数のアミノ酸が樹脂にカップリングするまで、このペプチドカップリング過程、すなわち、アルファ－アミノ基の脱保護、次いで、保護アミノ酸へのカップリングを繰り返す。スキームＩＶにおいて、計７つのアミノ酸がカップリングして、化合物ｎｎ１

［ここで：

R^{6A}はメチルまたは

【化３１６】



であり；

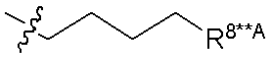
【０２３１】

R^{6*A}は保護アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノまたはホスホアミノ（ｐｈｏｓｐｈｏｎａｍｉｎｏ）であり、ただし、R^{6*A}は、ペプチドから樹脂を除去するのに必要とされる条件に適合するものであり；

R^{8A}は、アミノ酸側鎖、保護アミノ酸側鎖、メチル、CH_2-OP_6、CH_2-CO

ＮＨＰ$_{5}$＊または

【化３１７】



であり；

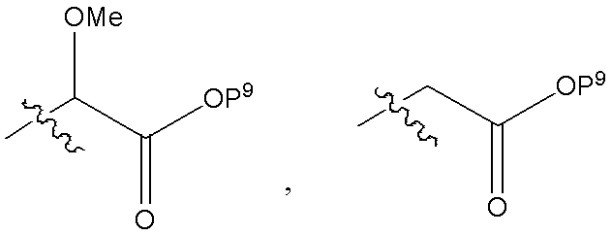
【０２３２】

ここで、Ｐ$_{5}$＊およびＰ$_{6}$の各々は独立して適当な保護基であり；

Ｒ^{8***A}は、保護アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノまたはホスホアミノであり、ただし、Ｒ^{8***A}はペプチドから樹脂を除去するのに必要とされる条件に適合するものであり；

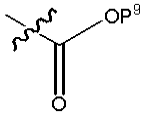
Ｒ^{9A}は

【化３１８】



であるか、または式

【化３１９】



の少なくとも１つのカルボン酸基で置換されているアミノ酸側鎖であり；

【０２３３】

Ｐ$_{7}$は、樹脂からのペプチド切断を行うことなくＰ$_{1}$に独立して除去され得る保護基であり；

Ｐ$_{8}$およびＰ$_{9}$の各々は独立して、適当な保護基であり、その結果、Ｐ$_{1}$およびＰ$_{7}$はＰ$_{8}$およびＰ$_{9}$の各々に独立して除去されてもよく、Ｐ$_{8}$およびＰ$_{9}$の各々は樹脂から切断の際に切断されるものであり；Ｐ$_{1}$、Ｒ^{8}＊、Ｒ^{9A}、Ｒ^{11}＊、Ｒ^{11A}およびＲ^{12}は前記定義の通りである］

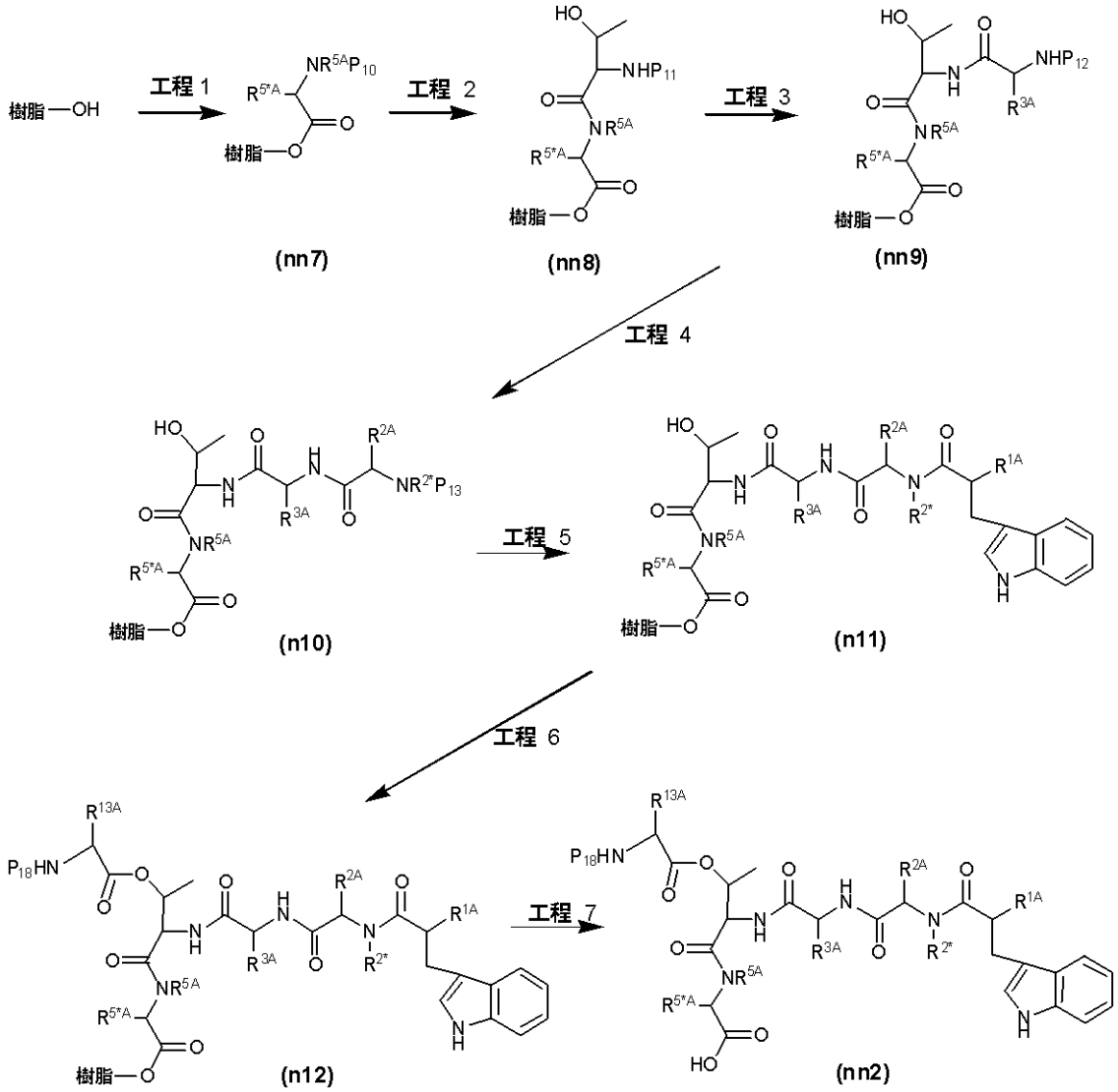
を得た。

【０２３４】

スキームＶに記載のものと同様の様式で第２のペプチドを樹脂にカップリングさせる。

スキームＶ

【化３２０】



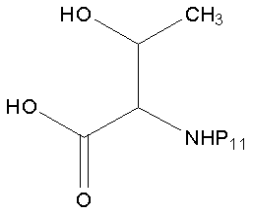
【０２３５】

工程１において、市販のＦｍｏｃ－Ｎ－グリシンのごときＮ－保護－グリシンを樹脂にカップリングさせ、化合物ｎｎ７［ここで、R^{5A}およびR^{5*A}は独立してヒドリドであり、およびP_{10}は樹脂からのペプチドの切断を行うことなく除去され得るように選択された保護基である］を得る。工程１において用いる樹脂の選択は、工程２－６においてカップリングされるアミノ酸の性質に依存する。アミノ酸側鎖が保護基を含むならば、工程７においてペプチドから樹脂を除去する場合に保護基がそのままであるように、樹脂が選択される必要がある。ペプチドの保護基を保持したままで切断され得る樹脂は、Ｓａｆｅｔｙ　Ｃａｔｃｈ、Ｒｉｎｋ　Ａｃｉｄ、塩化２－クロロトリチル樹脂、塩化トリチル樹脂、塩化４－メチルトリチル樹脂、塩化４－メトキシトリチル樹脂またはＰＡＭ樹脂を含むが、これらに限定されない。

【０２３６】

化合物ｎｎ７の保護アミノの脱保護、次いで、遊離アミノとｎ１４

【化３２１】



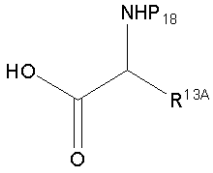
(n14)

のカップリングにより、化合物ｎｎ８［ここで、P_{11}は、樹脂からのペプチドの切断を行うことなく除去され得るように選択された保護基である］を得る。このペプチドカップリング過程、すなわち、アルファ－アミノ基の脱保護、次いで、保護アミノ酸へのカップリングを、所望数のアミノ酸が樹脂にカップリングするまで繰り返す。スキームＶにおいて、５つのアミノ酸をカップリングさせて、化合物ｎ１１［ここで、R^{1A}は、保護アミノ、一置換アミノ、二置換アミノ、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノまたはホスホアミノであり、ただし、R^{1A}は、ペプチドから樹脂を除去するのに必要とされる条件に適合するものであり；R^{2A}は、アミノ酸側鎖、保護アミノ酸側鎖、$CH_2-CH_2-CO_2P_{14}$または$CH_2-CONHP_{15}$であり；R^{3A}は、$CH_2-CO_2P_{16}$、$CH(OP_{17})CONH_2$、CH_2CONH_2、非蛋白質構成（ｎｏｎ－ｐｒｏｔｉｅｎｏｇｅｎｉｃ）アミノ酸側鎖または保護非蛋白質構成アミノ酸側鎖であり；P_{12}およびP_{13}の各々は樹脂からのペプチドの切断を行うことなく除去され得るように選択された保護基であり；各P_{14}、P_{15}、P_{16}およびP_{17}は独立して適当な一の保護基であり；ならびにR^{2*}、R^{5A}およびR^{5*A}は前記定義の通りである］を得る。

【０２３７】

化合物ｎ１１を

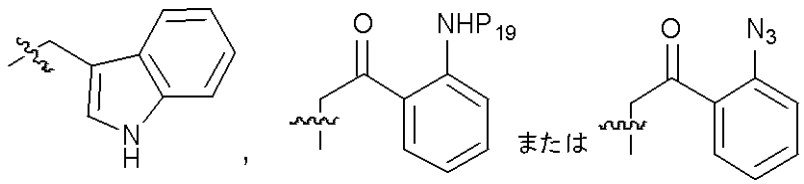
【化３２２】



(n15)

とカップリングさせて、化合物ｎ１２［ここで、P_{18}は、適当な一の保護基であり、およびR^{13A}は$CH(CH_3)_2$、$CH(CH_2CH_3)CH_3$、

【化３２３】



である］を得る。

【０２３８】

次いで、ペプチドｎ１２を樹脂から除去させて、化合物ｎｎ２［ここで、P_{19}は適当な一の保護基である］を得る。

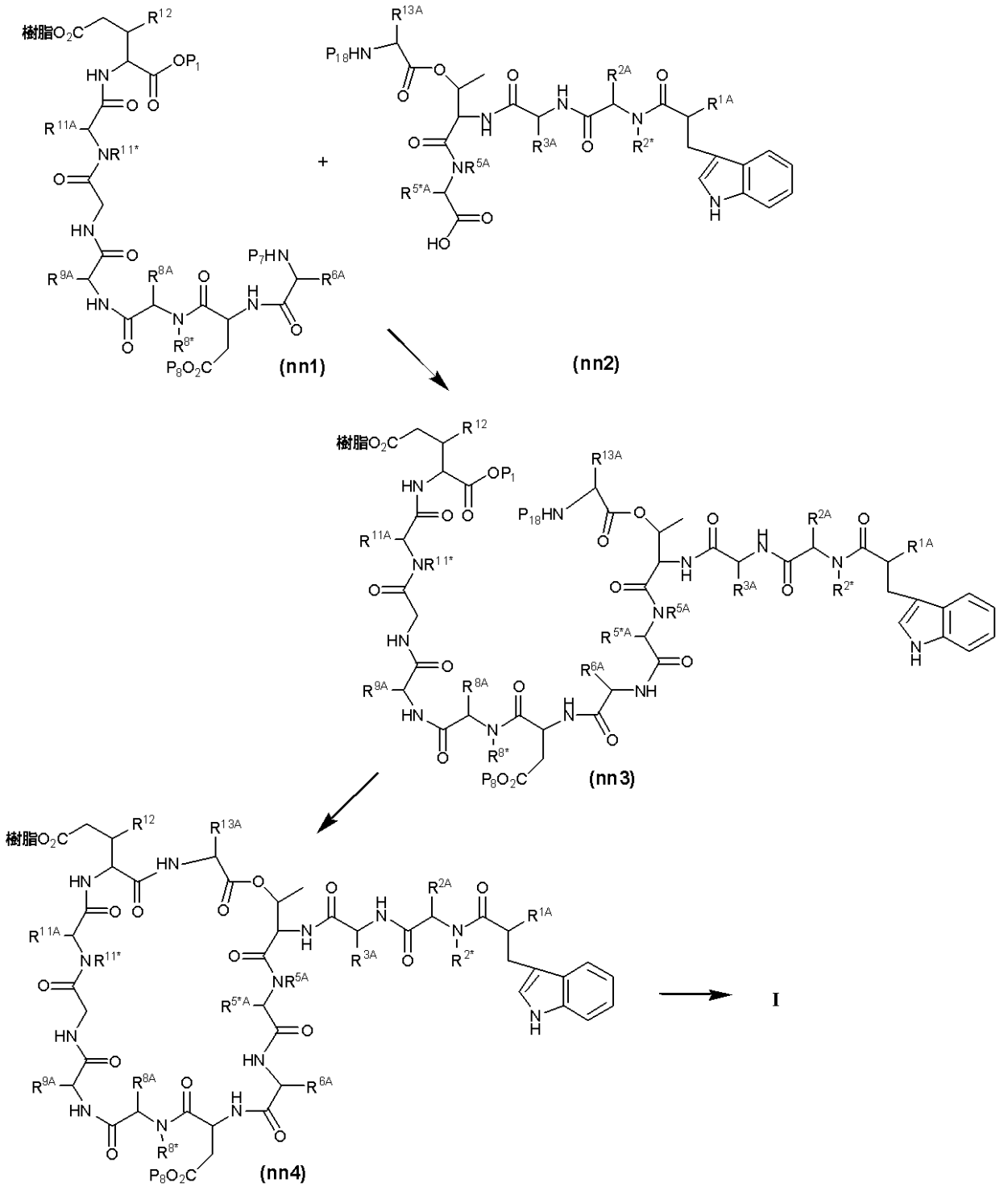
【０２３９】

ペプチドフラグメントｎｎ１およびｎｎ２のカップリングをスキームＶＩに示す。

【０２４０】

スキームＶＩ

【化３２４】



【０２４１】

ペプチドフラグメントｎｎ１およびｎｎ２をカップリングさせて、樹脂結合型ペプチドｎｎ３［ここで、R^{1A}、R^{2*}、R^{2A}、R^{3A}、R^{5A}、R^{5*A}、R^{6A}、R^{8*}、R^{8A}、R^{9A}、R^{11A}、R^{11*}、R^{12}、R^{13A}、P_1、P_8およびP_{18}は前記定義の通りである］を得る。P_1およびP_{18}保護基の脱保護、次いで、環化により、樹脂結合型デプシペプチドｎｎ４［ここで、R^{1A}、R^{2*}、R^{2A}、R^{3A}、R^{5A}、R^{5*A}、R^{6A}、R^{8*}、R^{8A}、R^{9A}、R^{11A}、R^{11*}、R^{12}、R^{13A}およびP_8は前記定義の通りである］を得る。樹脂からのデプシペプチドの切断および任意の残りの保護基の脱保護により、式Ｉの化合物を得る。

【０２４２】

デプシペプチド化合物の固相合成方法Ｂ：

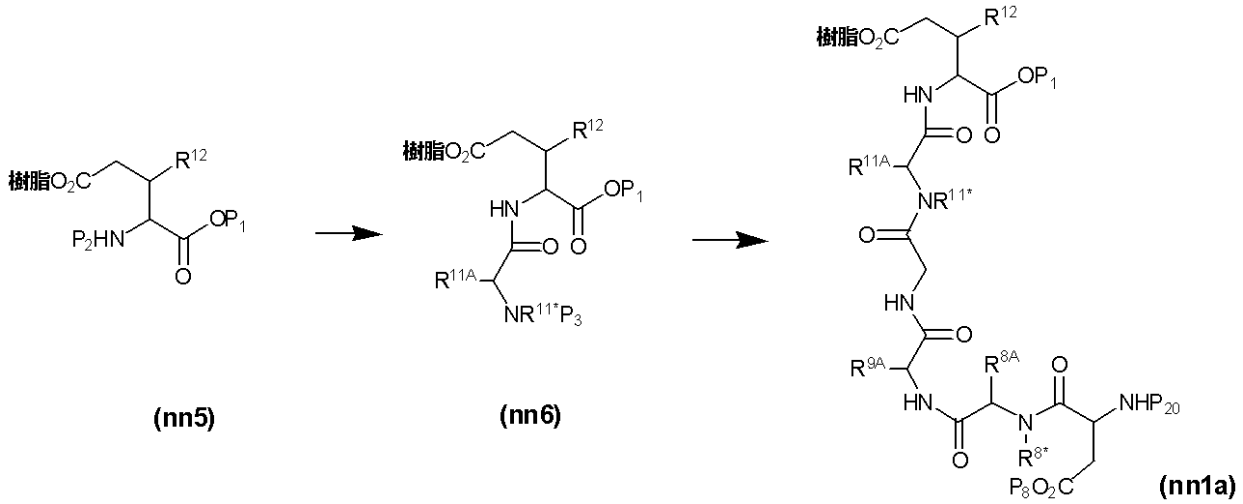
６＋７フラグメント合成

式Ｉのデプシペプチド化合物は、スキームＶＩＩ、ＶＩＩＩおよびＩＸに示すように固体支持体上で合成されてもよい。

【０２４３】

スキームＶＩＩ

【化３２５】



【０２４４】

化合物ｎｎ６を方法Ａに示すように調製する。ペプチドカップリング過程（上記参照）、すなわち、アルファ－アミノ基の脱保護、次いで、保護アミノ酸へのカップリングを、所望数のアミノ酸が樹脂にカップリングするまで繰り返す。スキームＶＩＩにおいて、計６つのアミノ酸をカップリングさせて、化合物ｎｎ１ａ［ここで、R^{8*}、R^{8A}、R^{9A}、R^{11*}、R^{11A}、R^{12}、P_1およびP_8は前記定義の通りであり、ならびにP_{20}は、樹脂からのペプチド切断を行うことなくP_1に独立して除去され得る保護基であり、例えば、P_1はアリルであり、およびP_{20}はＦｍｏｃである］を得る。

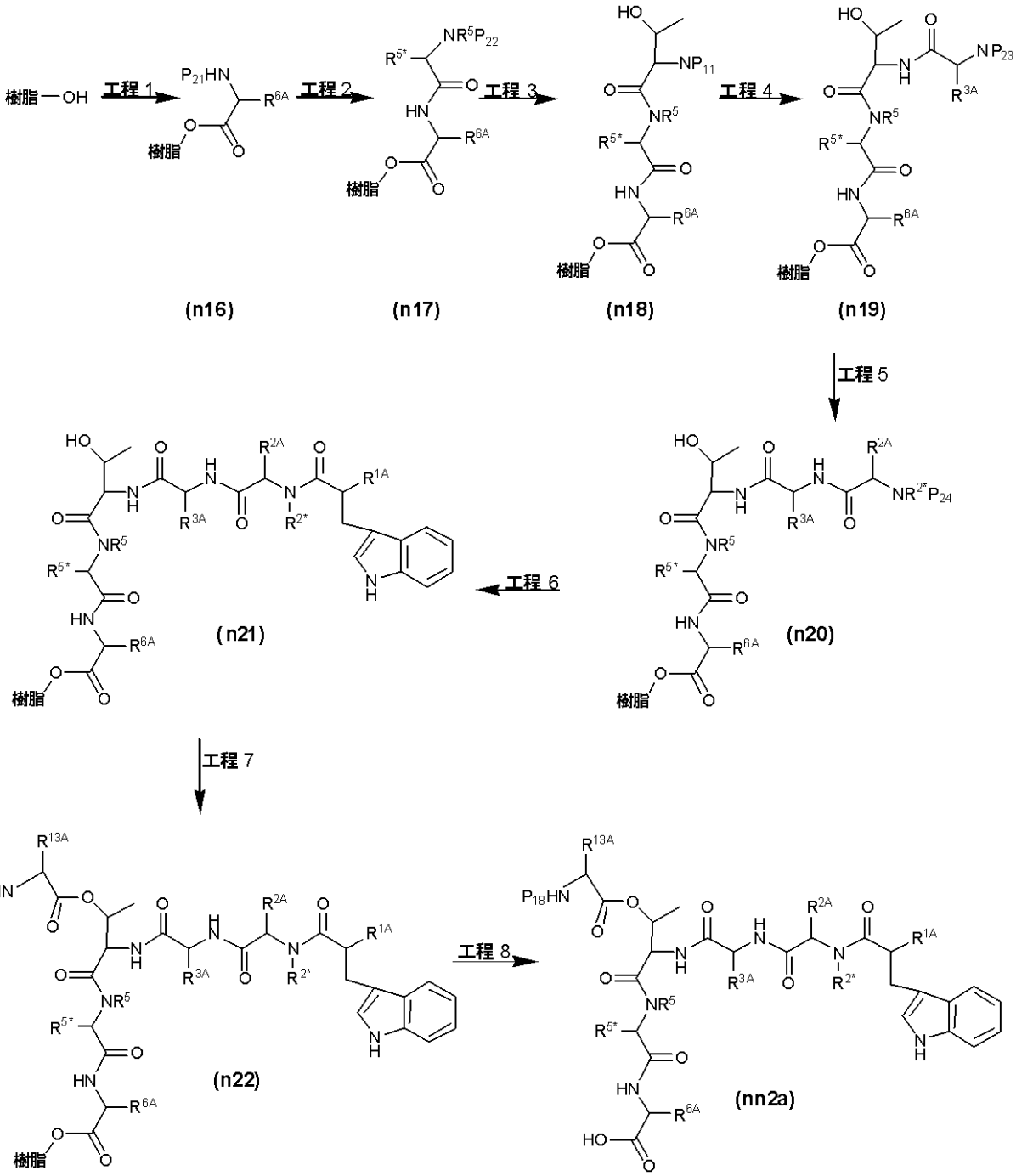
【０２４５】

スキームＶＩＩＩに記載のものと同様の様式で、第２のペプチドを樹脂にカップリングさせる。

【０２４６】

スキームＶＩＩＩ

【化３２６】



【０２４７】

工程１において、１つのＮ－保護－アミノ酸を樹脂にカップリングさせ、化合物ｎ１６［ここで、Ｐ$_{21}$は、樹脂からのペプチド切断を行うことなく除去され得る保護基であり、およびＲ^{6A}は前記定義の通りである］を得る。工程１において用いる樹脂の選択は、工程２－６においてカップリングさせるアミノ酸の性質に依存する。アミノ酸側鎖が保護基を含有するならば、工程８においてペプチドから樹脂が除去される場合に保護基がそのままであるように、樹脂が選択される必要がある。ペプチドの保護基を保持したままで切断され得る樹脂は、Ｓａｆｅｔｙ　Ｃａｔｃｈ、Ｒｉｎｋ　Ａｃｉｄ、塩化２－クロロトリチル樹脂、塩化トリチル樹脂、塩化４－メチルトリチル樹脂、塩化４－メトキシトリチル樹脂またはＰＡＭ樹脂を含むが、これらに限定されない。

【０２４８】

化合物ｎ１６の保護アミノの脱保護、次いで、遊離アミノと第２の保護アミノ酸のカップリングにより、化合物ｎ１７［ここで、Ｐ$_{22}$は、樹脂からのペプチド切断を行うこと

なく除去され得る保護基であり；ならびにR^{5}、R^{5}＊およびR^{6}は前記定義の通りである］を得る。

【０２４９】

化合物ｎ１７の保護アミノの脱保護、次いで、遊離アミノとｎ１４（上記参照）のカップリングにより、化合物ｎ１８［ここで、R^{5}、R^{5}＊、R^{6A}およびP$_{9}$は前記の通りである］を得る。ペプチドカップリング過程、すなわち、アルファ－アミノ基の脱保護、次いで、保護アミノ酸へのカップリングを、所望数のアミノ酸が樹脂にカップリングするまで繰り返す。スキームＶＩＩＩにおいて、６つのアミノ酸をカップリングさせて、化合物ｎ２１［ここで、P$_{23}$およびP$_{24}$の各々は、樹脂からのペプチド切断を行うことなく除去され得る保護基であり；R^{1A}、R^{2A}、R^{2}＊、R^{3A}、R^{5}、R^{5}＊およびR^{6A}は前記の通りである］を得る。

【０２５０】

化合物ｎ２１をｎ１５（上記参照）とカップリングさせて、化合物ｎ２２［ここで、R^{1A}、R^{2A}、R^{2}＊、R^{3A}、R^{5}、R^{5}＊、R^{6A}、R^{13A}およびP$_{18}$は前記の通りである］を得る。

【０２５１】

次いで、ペプチドｎ２２を樹脂から除去して、化合物ｎｎ２ａ［ここで、R^{1A}、R^{2A}、R^{2}＊、R^{3A}、R^{5}、R^{5}＊、R^{6A}、R^{13A}およびP$_{18}$は前記の通りである］を得る。

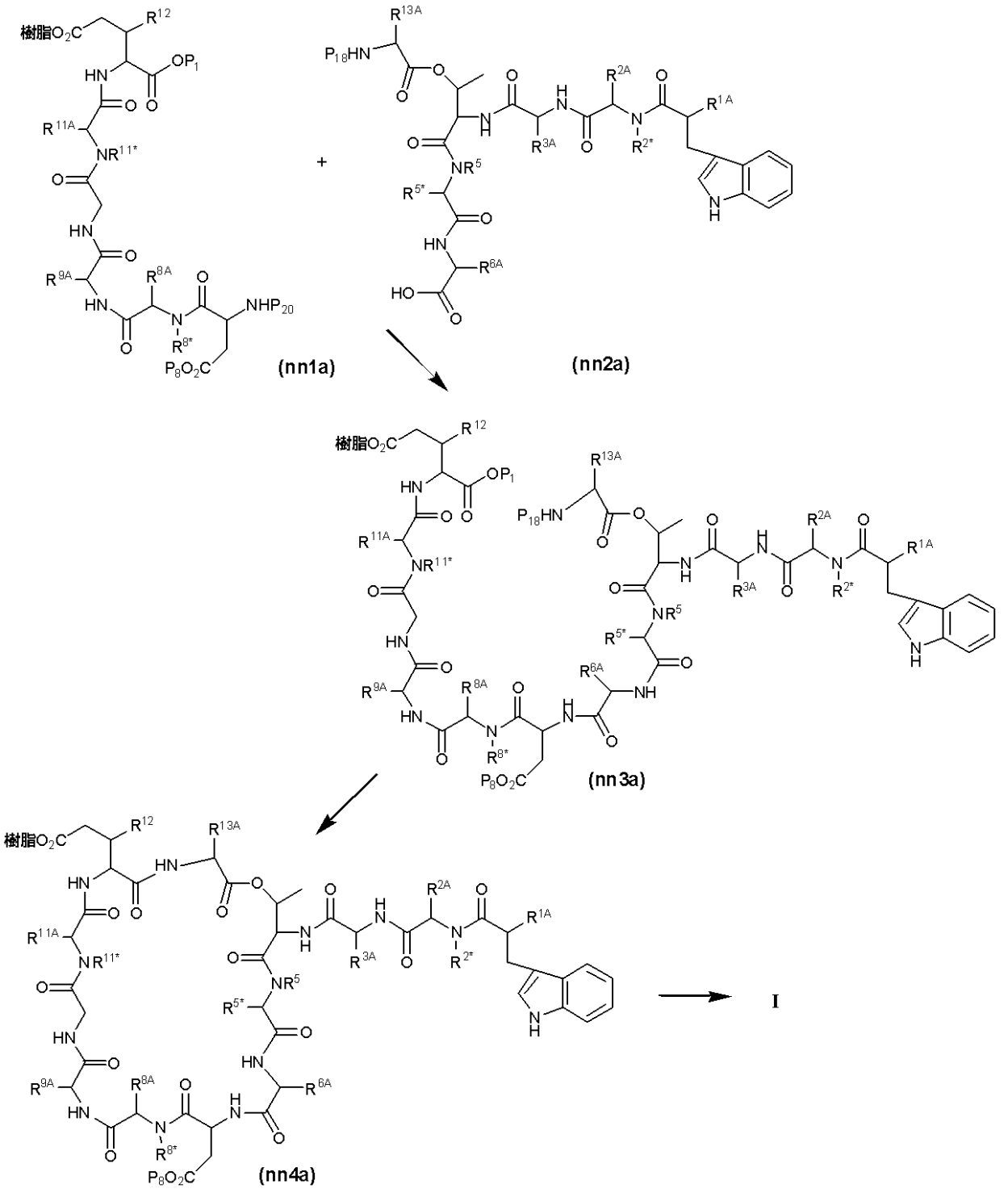
【０２５２】

ペプチドフラグメントｎｎ１ａおよびｎｎ２ａのカップリングをスキームＩＸに示す。

【０２５３】

スキームＩＸ

【化３２７】



【０２５４】

ペプチドフラグメントｎｎ１ａおよびｎｎ２ａをカップリングさせて、樹脂結合型ペプチドｎｎ３ａ［ここで、R^{1A}、R^{2A}、R^{2*}、R^{3A}、R^{5}、R^{5*}、R^{6A}、R^{8*}、R^{8A}、R^{9A}、R^{11*}、R^{11A}、R^{12}、R^{13A}、P_1、P_8、P_9およびP_{18}は前記の通りである］を得る。

【０２５５】

P_1およびP_{18}保護基の脱保護、次いで、環化により、樹脂結合型デプシペプチドｎｎ４ａ［ここで、R^{1A}、R^{2A}、R^{2*}、R^{3A}、R^{5}、R^{5*}、R^{6A}、R^{8*}、R^{8A}、R^{9A}、R^{11*}、R^{11A}、R^{12}、R^{13A}およびP_8は前記の通りである］を得る。

【０２５６】

樹脂からのデプシペプチドの切断および任意の残りの保護基の脱保護により、式Ｉの化合物を得る。

【０２５７】

デプシペプチド化合物の固相合成方法Ｃ

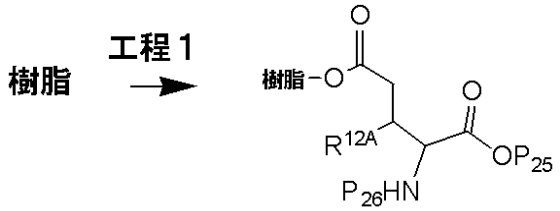
１＋６＋６フラグメント合成

本発明の別の一の実施態様において、式Ｉのデプシペプチド化合物はスキームＸ－ＸＩＩに示すように合成されてもよい。

【０２５８】

スキームＸ

【化３２８】



(n23)

【０２５９】

工程１において、市販のＮ－α－Ｆｍｏｃ－Ｌ－グルタミン酸α－アリルエステルまたはＮ－Ｆｍｏｃ－Ｌ－３－メチルグルタミン酸α－アリルエステルのごとき保護－β－メチルグルタミン酸誘導体（下記実施例１－６８および１－６９を参照のこと）を樹脂にカップリングさせ、化合物ｎ２３［ここで、Ｒ１２Ａはメチルである］を得る。樹脂または固体支持体、例えば、限定されないが、Ｗａｎｇ、ＨＭＰＡ、Ｓａｆｅｔｙ　Ｃａｔｃｈ、Ｒｉｎｋ　Ａｃｉｄ、塩化２－クロロトリチル樹脂、塩化トリチル樹脂、塩化４－メチルトリチル樹脂、塩化４－メトキシトリチル樹脂またはＰＡＭ樹脂をこの反応に用いてもよい。樹脂からのペプチド切断を行うことなく互いに独立して除去され得るように保護基Ｐ２５およびＰ２６を選択する。保護基の組み合わせ、例えば、限定されないが、Ｐ２５がアリルエステルであり、およびＰ２６がＦｍｏｃである組み合わせがこの反応に適する。

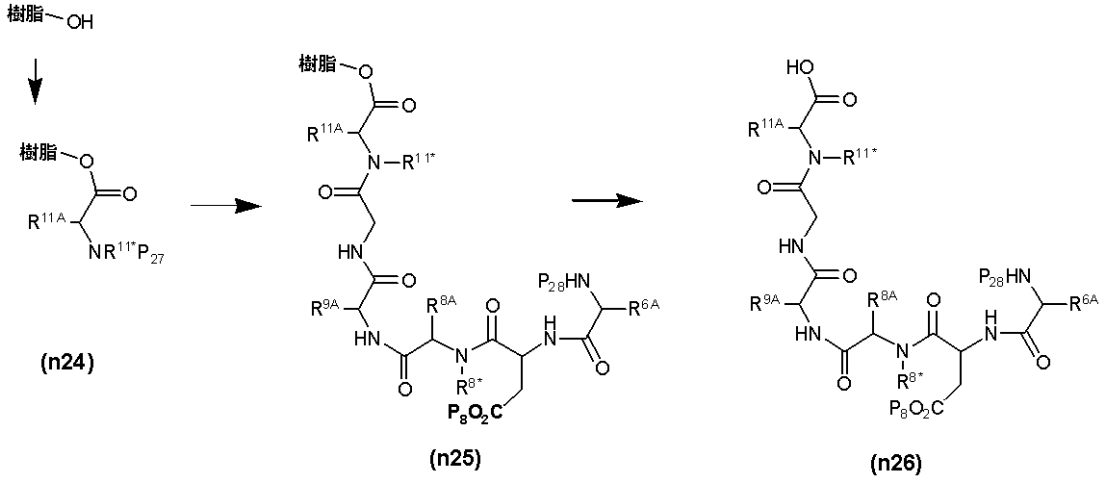
【０２６０】

スキームＸＩに記載のものと同様の様式で、第２のペプチドを樹脂にカップリングさせる。

【０２６１】

スキームＸＩ

【化３２９】



【０２６２】

工程１において、１つの保護アミノ酸を樹脂にカップリングさせ、化合物ｎ２４［ここで、P_{27}は、樹脂からのペプチド切断を行うことなく除去され得る保護基であり；R^{11*}およびR^{11A}は前記定義の通りである］を得る。第一の工程において用いる樹脂の選択は、進行工程においてカップリングされるアミノ酸の性質に依存する。アミノ酸側鎖が保護基を含有するならば、ペプチドが樹脂から除去される場合にこれらの保護基がそのままであるように樹脂が選択される必要がある。ペプチドの保護基を保持したままで除去され得る樹脂は、Ｓａｆｅｔｙ　Ｃａｔｃｈ、Ｒｉｎｋ　Ａｃｉｄ、塩化２－クロロトリチル樹脂、塩化トリチル樹脂、塩化４－メチルトリチル樹脂、塩化４－メトキシトリチル樹脂またはＰＡＭ樹脂を含むが、これらに限定されない。

【０２６３】

このペプチドカップリング過程、すなわち、アルファ－アミノ基の脱保護、次いで、保護アミノ酸へのカップリングを、所望数のアミノ酸が樹脂にカップリングするまで繰り返す。スキームＸＩにおいて、計６つのアミノ酸をカップリングさせて、化合物ｎ２５［ここで、P_{28}は、樹脂からのペプチド切断を行うことなく除去され得る保護基であり；R^{6A}、R^{8*}、R^{8A}、R^{9A}、R^{11*}、R^{11A}およびP_{8}は前記定義の通りである］を得る。

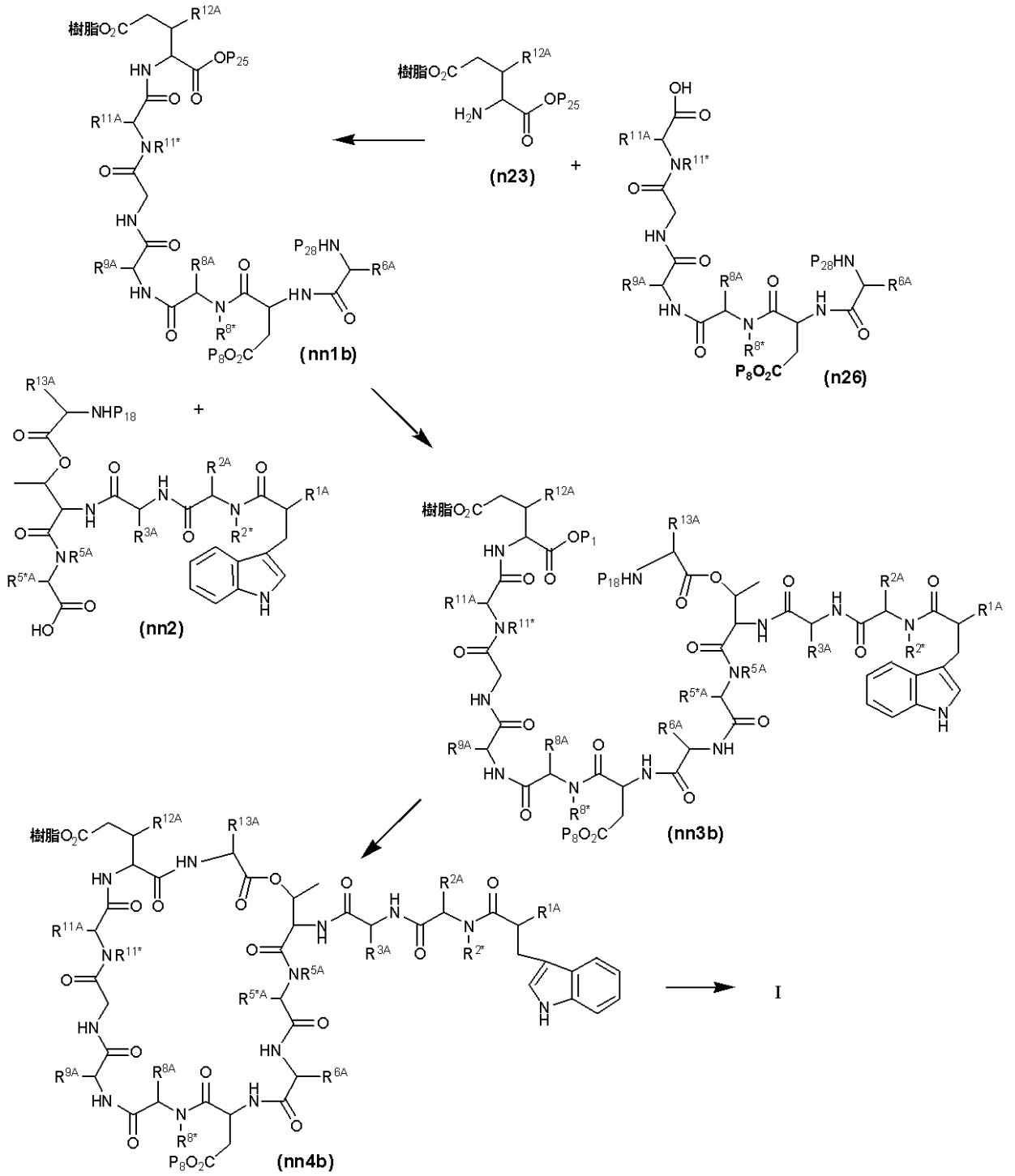
【０２６４】

樹脂からのペプチドの切断により化合物ｎ２６を得る。３つのペプチドフラグメントのカップリングをスキームＸＩＩに示す。

【０２６５】

スキームＸＩＩ

【化３３０】



【０２６６】

樹脂結合型３－メチルグルタミン酸ｎ２３［ここで、Ｒ１２Ａは前記定義の通りである］を脱保護して、遊離アミンを得、次いで、フラグメントｎ２６にカップリングさせて、樹脂結合型フラグメントｎｎ１ｂ［ここで、Ｒ１１Ａ、Ｒ１１＊、Ｒ９Ａ、Ｒ８Ａ、Ｒ８＊、Ｒ６Ａ、Ｐ８、Ｐ２５およびＰ２８は前記定義の通りである］を得る。次いで、これを、前記定義のフラグメントｎｎ２にカップリングさせて、ｎｎ３ｂ［ここで、Ｒ１Ａ、Ｒ２Ａ、Ｒ２＊、Ｒ３Ａ、Ｒ５＊Ａ、Ｒ５＊Ａ、Ｒ６Ａ、Ｒ８＊、Ｒ８Ａ、Ｒ９Ａ、Ｒ１１＊、Ｒ１１Ａ、Ｒ１２Ａ、Ｒ１３Ａ、Ｐ１、Ｐ８およびＰ１８は前記の通りである］を得る。方法Ａに示すような脱保護および環化により、樹脂結合型デプシペプチドｎｎ４ｂ［ここで、Ｒ１Ａ、Ｒ２Ａ、Ｒ２＊、Ｒ３Ａ、Ｒ５＊Ａ、Ｒ５＊Ａ、Ｒ６Ａ、Ｒ８＊、Ｒ８Ａ、Ｒ９Ａ、Ｒ１１＊、Ｒ１１Ａ、Ｒ１２Ａ、Ｒ１３ＡおよびＰ８は前記の通りである

］を得る。樹脂からのデプシペプチドの切断、次いで、任意の残りの保護基の脱保護により、式Ｉの化合物を得る。

【０２６７】

上記合成スキーム（スキームＩＶ－ＸＩＩ）に従うと、アミノ酸のアミノ基およびアミノ酸側鎖の官能基の両方は、伸長するペプチド鎖に連結する前に、直交的に保護される必要があることが理解される。適当な保護基は、ペプチド合成に有用な任意の保護基であり得る。保護基のかかる対合はよく知られている。例えば、“Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ Ｎｏｔｅｓ”ｉｎ Ｎｏｖａｂｉｏｃｈｅｍ Ｃａｔａｌｏｇ ａｎｄ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ Ｈａｎｄｂｏｏｋ，１９９９，ｐａｇｅｓ Ｓ１－Ｓ９３およびその引用文献を参照のこと。

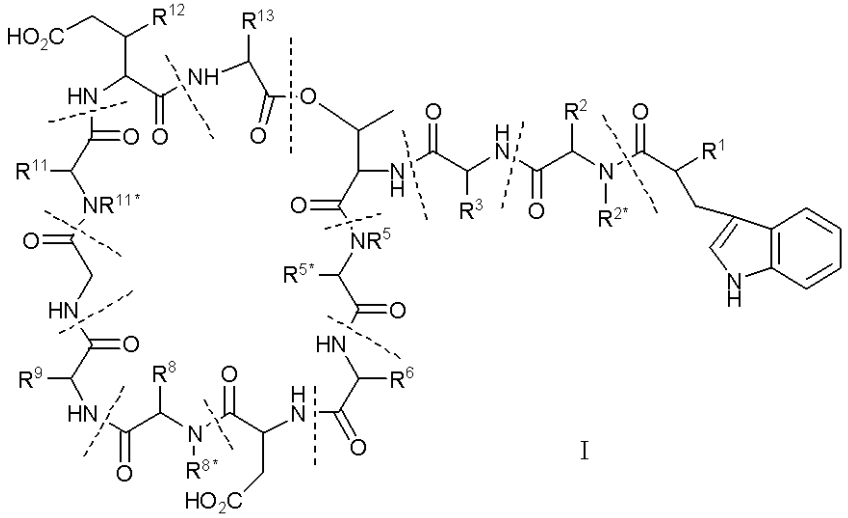
【０２６８】

アミノ酸側鎖の官能基上の保護基の選択により、それぞれ天然のアミノ酸の官能基またはその保護誘導体を生じ得ることとなる、樹脂からのペプチドの最終的な切断と同時に切断されるべき保護基をもたらしてもまたはもたらさなくてもよいことも当業者には理解されよう。デプシペプチドが樹脂から除去される場合に同時に保護基が除去されない場合、さらなる脱保護が必要とされてもよい。

【０２６９】

直鎖状前駆体ｎｎ３、ｎｎ３ａまたはｎｎ３ｂならびにそれ故に中間体ｎｎ４、ｎｎ４ａおよびｎｎ４ｂならびに最終生成物Ｉが、上記した方法Ａ－Ｃによってだけではなく、任意の２つのフラグメント対を組み合わせることによっても得られ得ることが、当業者には明かであろう。これらのフラグメント対は、配列中の任意の２つのアミノ酸の間、すなわち、１＋１２、２＋１１、３＋１０等で、式Ｉの化合物をフラグメント化することにより、設計され得る。

【化３３１】



Ｉ

【０２７０】

或いは、化合物は、米国特許第６，９１１，５２５号および第６，７９４，４９０号、および国際出願番号ＷＯ０１／４４２７２、ＷＯ０１／４４２７４、ＷＯ０１／４４２７１およびＷＯ０３／０１４１４７に記載の方法により、エステル形成の前のリニアアセンブリ（ｌｉｎｅａｒ ａｓｓｅｍｂｌｙ）により形成され得る。或いは、化合物は、複数のフラグメントのアセンブリにより形成され得る。

【０２７１】

上記の方法は樹脂の化学を利用するが、該方法は溶液相ペプチドの化学にも適するだろう。

【０２７２】

或いは、本発明の化合物は、国際出願番号ＷＯ２００５／０１２５４１に記載の方法に

より形成され得る。

【０２７３】

２．生合成過程

非リボソームペプチドシンテターゼ経路

放線菌を含む細菌および真菌は、多様な配列の低分子量ペプチドおよびポリケチド化合物（約２～４８残基長）を合成する。これらの化合物の生合成は、非リボソームペプチドシンテターゼ（ＮＲＰＳ）およびポリケチドシンテターゼ（ＰＫＳ）により触媒される。遺伝暗号に従うリボソーム介在ＲＮＡ翻訳を含まないＮＲＰＳ過程は、リボソームによりＲＮＡテンプレートから翻訳されたペプチドと比較して、非常に大きな構造多様性を示すペプチドを産生し得る。これらは、Ｄ－およびＬ－アミノ酸およびヒドロキシ酸の取り込み；直鎖状、環状または分岐環状構造を形成するペプチドバックボーン内のバリエーション；ならびに酸化、アシル化、グリコシル化、Ｎ－メチル化および複素環形成を含むさらなる構造修飾；を包含する。有用な薬理学的（例えば、抗菌、抗ウイルス、抗真菌、抗寄生虫、シデロフォア、細胞増殖抑制、免疫抑制、抗コレステロールおよび抗癌）、農薬的または物理化学的（例えば、バイオサーファクタント）特性を有する多数の非リボソーム合成ペプチドが見出されている。

【０２７４】

非リボソーム合成ペプチドは、１個または複数のサブユニットを含む大きな（例えば、約２００～２０００ｋＤａ）多機能ＮＲＰＳ酵素複合体により構築される。例えば、ダプトマイシン、Ａ５４１４５、バンコマイシン、エチノキャンディン（ｅｃｈｉｎｏｃａｎｄｉｎ）およびシクロスポリンが挙げられる。同様に、ポリケチドは、１個または複数のサブユニットを含有する大きな多機能ＰＫＳ酵素複合体により構築される。例えば、エリスロマイシン、チロシン、モネンシンおよびアベルメクチンが挙げられる。幾つかの場合において、複合体分子は、ＰＫＳ／ＮＲＰＳ混合系により合成され得る。例えば、ラパマイシン、ブレオマイシンおよびエポチロンが挙げられる。

【０２７５】

通常、ＮＲＰＳは、ＮＲＰＳ複合体を構成する１個または複数のオープンリーディングフレームからなる。ＮＲＰＳ複合体は、特定の結合阻害基質を結合および活性化し、ならびにペプチド鎖形成および伸長を触媒するように設定されている一連の蛋白質生合成ユニットを含有する蛋白質テンプレートとして作用する（例えば、ＫｏｎｚおよびＭａｒａｈｉｅｌ，１９９９，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．６：３９－４８およびその引用文献；ｖｏｎ Ｄｏｅｈｒｅｎら，１９９９，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．６：２７３－２７９およびその引用文献；ならびにＣａｎｅおよびＷａｌｓｈ，１９９９，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．６：３１９－３２５およびその引用文献を参照のこと。各文献は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる）。各ＮＲＰＳまたはＮＲＰＳサブユニットは１個または複数のモジュールを含む。「モジュール」は、単一の構築ブロック（例えば、アミノ酸）を伸長中のペプチド鎖に組込む触媒ユニットとして定義される。ＮＲＰＳ蛋白質テンプレートを形成する生合成モジュールの順序および特異性は、最終的なペプチド産物の配列および構造を決定する。

【０２７６】

ＮＲＰＳの各モジュールは、ペプチド鎖伸長に必要とされる特定の反応の触媒に関与する個別の折り畳まれた蛋白質ドメインを含有する半自律的な活性部位として作用する。（単一のモジュール複合体中の）最小モジュールは、少なくとも２つのコアドメイン：１）アミノ酸（または場合によりヒドロキシ酸）の活性化に関与するアデニル化ドメイン；および２）活性化型中間体を酵素結合型パンテテイン補助因子に伝達するのに関与するチオール化またはアシルキャリアドメイン：から構成される。大部分のモジュールは、３）活性化型中間体の間のペプチド結合形成の触媒に関与する縮合ドメインも含む。補足的なこれらの３つのコアドメインは、例えば、結合したアミノ酸中間体のＮ－メチル化（Ｍまたはメチル化ドメイン）およびＬ－からＤ－への転換（Ｅまたはエピマー化ドメイン）ならびに複素環形成（Ｃｙまたは環化ドメイン）を介在し得る、様々な数のさらなるドメイン

である。通常、該ドメインは、特定のアミノ酸モチーフまたは特徴により特徴付けられる。ＮＲＰＳおよび混合ＮＲＰＳ／ＰＫＳ酵素複合体により構築される成熟ペプチド産物の非常に大きな構造的および機能的多様性に寄与するのは、モジュール周辺に繋留された中間体上で局所的に作用するかかる補助ドメインの組み合わせである。

【０２７７】

各最小モジュールのアデニル化ドメインは、同族アミノ酸の特異的な認識および活性化を触媒する。非リボソームペプチド生合成のこの初期工程において、各ＮＲＰＳモジュールの同族アミノ酸はアデニル化ドメインに結合し、および不安定なアデニル酸アシルとして活性化される（同時にＡＴＰ－加水分解を伴う）。例えば、Ｓｔａｃｈｅｌｈａｕｓら，１９９９，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．６：４９３－５０５およびＣｈａｌｌｉｓら，２０００，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．７：２１１－２２４を参照のこと。該文献の各々は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる。ほとんどのＮＲＰＳモジュールにおいて、次いで、アデニル酸アシル中間体は、モジュールのＴ（チオール化）ドメイン（ペプチジルキャリア蛋白質またはＰＣＰドメインとしても言及される）へ伝達され、そこで、該中間体はチオエステル中間体に変換され、およびトランスチオール化反応を介して共有結合型酵素補助因子（４’－ホスホパンテテイニル（４’－ＰＰ）中間体）に繋留される。Ｄ－型またはＮ－メチル化アミノ酸の取り込みに関与するモジュールは、余分な修飾ドメインを有してもよく、それは、研究された幾つかのＮＲＰＳでは、ＡおよびＴドメイン間に位置する。

【０２７８】

次いで、各モジュールの酵素結合型中間体は、中間体をＮＲＰＳに共有結合させたままで、１つのモジュール中の１つの残基のチオエステル－活性化型カルボキシル基を、例えば、次のモジュール中の次のアミノ酸の隣接するアミノ基へ転移させることを含む段階的縮合反応により、ペプチド産物にアセンブリされる。各縮合反応は、２つの最小モジュール間に通常位置する縮合ドメインにより触媒される。一般的に、ＮＲＰＳ中の縮合ドメインの数は、最終的な（直鎖状）ペプチド中に存在するペプチド結合の数に対応する。余分なＣドメインは、ペプチド鎖停止反応および環化反応に関与することが示されている幾つかのＮＲＰＳにおいて見出されてきた（例えば、シクロスポリンシンテターゼのアミノ末端およびラパマイシンのカルボキシル末端；例えば、上記ＫｏｎｚおよびＭａｒａｈｉｅｌを参照のこと）。しかし、多数の他のＮＲＰＳ複合体は、（約２８Ｋ－３５Ｋの相対分子量の）Ｃ末端チオエステラーゼ（Ｔｅ）ドメインにより触媒される反応において全長鎖を放出する。

【０２７９】

ほとんどのＮＲＰＳ複合体のチオエステラーゼドメインは、ヒスチジンおよび酸性残基に対して、保存された３次元コンフィギュレーション中に保存されたセリン（まれであるが、システインまたはアスパラギン酸塩）残基を含む、（よく知られいるキモトリプシン機序のものと同様の）触媒性三連構造を利用する。例えば、Ｖ．Ｄｅ Ｃｒｅｃｙ－Ｌａｇａｒｄ ｉｎ “Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｎａｔｕｒａｌ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ”，Ｖｏｌｕｍｅ ４，ｅｄ．ｂｙ Ｊ．Ｗ．Ｋｅｌｌｙ，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９９，ｐｐ．２２１－２３８を参照のこと。該文献の各々は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる。チオエステル切断は２つの工程過程である。第１の（アシル化）工程において、全長ペプチド鎖は、チオール化ドメイン（上記参照）中のチオールに繋留された酵素中間体からＴｅドメイン中の保存されたセリン残基へ転移され、アシル－Ｏ－Ｔｅエステル中間体を形成する。第２の（脱アシル化）工程において、エステル中間体が水（加水分解）または活性化型分子内求核試薬（環化）のいずれかに攻撃されるかに応じて、Ｔｅドメインセリンエステル中間体は加水分解（それにより直鎖状全長産物を放出する）または環化のいずれかを受ける。

【０２８０】

ＮＲＰＳスーパーファミリーの多様なメンバーに由来するＣ末端チオエステラーゼドメインの配列比較により、保存されたセリン残基から約２５アミノ酸下流にアスパラギン酸

残基が後続することが多い、セリン触媒残基を含有する保存されたモチーフ（ＧＸＳＸＧモチーフ）が明かとなった。第２の型のチオエステラーゼ、遊離チオエステラーゼ酵素はある種のペプチドおよびポリケチド二次代謝産物の生合成に関与することが知られている。例えば、ＳｃｈｎｅｉｄｅｒおよびＭａｒａｈｉｅｌ，１９９８，Ａｒｃｈ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．１６９：４０４－４１０，ならびにＢｕｔｌｅｒら，１９９９，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．６：８７－２９２を参照のこと。該文献の各々は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる。多くの場合、これらのチオエステラーゼは効果的な天然産物の合成に必要とされる（米国特許出願番号２００２０１９２７７３を参照のこと）。Ｂｕｔｌｅｒらは、効果的なチロシン産生に必要とされるポリケチドチロシン遺伝子クラスターにおいて見出された遊離チオエステラーゼが機能の編集および構成に関与してもよいことを主張している。

【０２８１】

ＮＲＰＳ多酵素複合体のモジュール機構は、モジュールをコードするゲノムＤＮＡのレベルで反映される。幾つかの異なるＮＲＰＳをコードする遺伝子の機構およびＤＮＡ配列が研究されている（例えば、Ｍａｒａｈｉｅｌ，１９９７，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．４：５６１－５６７を参照のこと。該文献は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる）。特定のＮＲＰＳ機能ドメインを特徴付ける保存配列は、多数の異なる生物に由来するＮＲＰＳ配列を比較することにより同定されており、ならびにこれらの保存配列モチーフを用いて、新規ＮＲＰＳ遺伝子およびモジュールの同定および単離に有用なプローブが設計されている。

【０２８２】

ＰＫＳおよびＮＲＰＳ酵素複合体のモジュール構造を有効に利用して、遺伝子工学および組換えによりＤＮＡレベルでモジュールの数および位置を変えることにより、インビボにて新規特異性を有する新規酵素を設計できる。機能ハイブリッドＮＲＰＳは、例えば、全モジュール融合に基づいて構築される。例えば、Ｇｏｋｈａｌｅら，１９９９，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８４：４８２－４８５；Ｍｏｏｔｚら，２０００，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９７：５８４８－５８５３を参照のこと。該文献は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる。組換え技法を用いて、異種ＰＫＳまたはＮＲＰＳ複合体に由来するドメインを首尾よく交換してもよい。例えば、Ｓｃｈｎｅｉｄｅｒら，１９９８，Ｍｏｌ．Ｇｅｎ．Ｇｅｎｅｔ．２５７：３０８－３１８；ＭｃＤａｎｉｅｌら，１９９９，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９６：１８４６－１８５１；米国特許第５，６５２，１１６号および第５，７９５，７３８号；および国際出願番号ＷＯ ００／５６８９６；を参照のこと。該文献は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる。

【０２８３】

アデニル化ドメインの基質結合ポケットを形成する残基を改変することによる、モジュール内の新規基質特異性の設計も記載されている。例えば、ＣａｎｅおよびＷａｌｓｈ，１９９９，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．６：３１９－３２５；Ｓｔａｃｈｅｌｈａｕｓら，１９９９，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．６：４９３－５０５；および国際出願番号ＷＯ ００／５２１５２；を参照のこと。該文献の各々は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる。バシラス・サブチリス（Ｂ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ）ペプチドシンテターゼＧｒｓＡアデニル化ドメインの配列（ＰｈｅＡ，その構造は知られている）と、原核性および真核性ＮＲＰＳに由来する１６０個の他のアデニル化ドメインの配列を比較することにより、例えば、Ｓｔａｃｈｅｌｈａｕｓら（上記）およびＣｈａｌｌｉｓら，２０００，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．７：２１１－２２４は、様々なアミノ酸基質についての（遺伝暗号のコドンに類似する）アデニル化（Ａ）ドメインシグナル（ｓｉｇｎａｔｕｒｅ）配列を定めた。これらのシグナル配列を集めることにより、推定上のＮＲＰＳ選択性付与コード（遺伝暗号のごとき縮重を伴う）を構築した。

【０２８４】

モジュールを付加、欠失または交換することにより（または１個もしくは複数のモジュ

ール内のドメインを付加、欠失または交換することにより）新規モジュールテンプレート構造および新規基質特異性を有するＮＲＰＳを設計する能力により、改変されたおよび潜在的に有利な特性を有する新規ペプチドの産生が可能となろう。５０個を超える新規ポリケチドを含有するコンビナトリアルライブラリーは、例えば、（代替の基質特異性をコードする）ラパマイシンＰＫＳに由来する対応配列を代用することによってエリスロマイシン前駆体（ＤＥＢＳ）を合成するＰＫＳを体系的に修飾することにより調製された。例えば、国際出願番号ＷＯ　００／６３３６１およびＭｃＤａｎｉｅｌら，１９９９（上記）を参照のこと。該文献の各々は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる。

【０２８５】

ダプトマイシンは、ＮＲＰＳにより形成された非リボソーム合成ペプチドの一例である（図１）。ダプトマイシンＮＲＰＳを含む、ダプトマイシン生合成経路に関与する蛋白質をコードする遺伝子の修飾は、改良された抗菌性（例えば、より大きな効力を有する）を生じ得るか；増大量で天然または新規の抗生物質を生じ得るか；または有用な生物学的特性を有する他のペプチド産物を生じ得る、修飾されたＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ（ＮＲＲＬ１１３７９）および他の宿主株を産生する第一の工程を提供する。単離核酸および単離蛋白質を含む、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓダプトマイシン生合成遺伝子クラスターに関連する組成物および方法は国際出願番号ＷＯ０３／０１４２９７に記載されている。該文献は出典明示により本明細書の一部となる。

【０２８６】

Ａ５４１４５は、ＮＲＰＳにより形成された非リボソーム合成ペプチドの別の例である。Ａ５４１４５は、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅ（ＮＲＲＬ１８１５８）の発酵により生じる環状リポペプチド抗生物質である。Ａ５４１４５は、３個のアミノ酸鎖を介して環状の１０個のアミノ酸ペプチドのＮ－末端トリプトファンに連結した脂肪酸鎖を含む（図２）。化合物は、Ｓ．ａｕｒｅｕｓ、Ｓ．ｅｐｉｄｅｒｍｉｄｉｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｙｏｇｅｎｅｓおよび腸球菌の様々な株に対して、Ａ２１９７８Ｃ／ダプトマイシン因子と同様のインビトロ抗殺菌活性を有する。単離核酸および単離蛋白質を含む、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅ　Ａ５４１４５生合成遺伝子クラスターに関連する組成物および方法は国際出願番号ＷＯ０３／０６０１２７に記載されている。該文献は出典明示により本明細書の一部となる。

【０２８７】

Ａ５４１４５　ＮＲＰＳを含む、Ａ５４１４５生合成経路に関与する蛋白質をコードする遺伝子は、改良された抗菌性（例えば、より大きな効力を有する）を生じ得るか；増大量で天然または新規の抗生物質を生じ得るか；または有用な生物学的特性を有する他のペプチド産物を生じ得る、修飾されたＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅならびに他の宿主株を産生する第一の工程を提供する。

【０２８８】

ＮＲＰＳによる新規化合物の産生のための遺伝子クラスターの改変方法

ＮＲＰＳポリペプチドモジュールおよびドメインの改変

一の態様において、本発明は、式Ｉの化合物または式Ｆ１－Ｆ２２の任意の化合物を得るための、ＮＲＰＳ中のモジュールの数または位置の改変方法を提供する。一の実施態様において、１個または複数のドメインをＮＲＰＳから欠失させてもよい。この場合において、例えば、エピマー化および／またはメチル化ドメインが欠失されるならば、ＮＲＰＳより産生された生成物は、欠失の不在下で産生されたペプチドと比較して化学変化を有し得る。

【０２８９】

別の実施態様において、１個または複数のドメインをＮＲＰＳに付加してもよい。この場合において、ＮＲＰＳにより合成されたペプチドはさらなる化学変化を有し得る。例えば、エピマー化ドメインまたはメチル化ドメインが付加されるならば、得られたペプチドはそれぞれ、余分なＤ－アミノ酸を有し得るか、またはメチル化アミノ酸を含み得る。さ

らなる一層の一の実施態様において、１個または複数のモジュールは突然変異されてもよく、例えば、アデニル化ドメインは天然に存在するアデニル化ドメインと異なるアミノ酸特異性を有するように突然変異されてもよい。当業者であれば、アミノ酸コードを制御して、様々なよく知られている技法により突然変異生成を実施して、１つのモジュール中のコードを別のコードに交換でき、それ故に、改変されたＮＲＰＳにより合成されて得られたペプチドの最終的なアミノ酸組成および／または配列を改変できる。別の実施態様において、１個または複数のサブユニットをＮＲＰＳに付加してもよく、またはＮＲＰＳから欠失させてもよい。

【０２９０】

さらなる一層の一の実施態様において、１個または複数のドメイン、モジュールまたはサブユニットを別のドメイン、モジュールまたはサブユニットと置換して、相補性により新規ペプチドを産生させてもよい（とりわけモジュールの置換方法を提供する国際出願番号ＷＯ　０１／３０９８５を参照のこと）。この場合において、改変されたＮＲＰＳにより産生されるペプチドは、例えば、天然に存在するペプチドと比較して、１個または複数の異なるアミノ酸を有し得る。加えて、ドメイン、モジュールまたはサブユニットの挿入、欠失、置換および突然変異の異なる組み合わせを用いて、目的のペプチドを産生させてもよい。例えば、天然に存在するものを修飾されたモジュール、ドメインまたはサブユニットと置換してもよく、或いはある生物に由来するＮＲＰＳのモジュール、ドメインまたはサブユニットを別の生物に由来するＮＲＰＳの天然に存在するモジュール、ドメインまたはサブユニットと置換してもよい。モジュール、ドメインおよびサブユニットの修飾は、部位特異的突然変異生成、ドメイン交換（モジュールまたはサブユニット修飾のための）、１つのモジュールまたはサブユニット中の１つのドメインの欠失、挿入または置換、或いは１つのサブユニット中の１つのモジュールの欠失、挿入または置換により実施されてもよい。さらに、ドメイン、モジュールまたはサブユニットは、当該分野において知られている任意の方法を用いて、機能しないように分裂されてもよい。これらの分裂は、例えば、シングルクロスオーバー破壊、または別の遺伝子（例えば、選択またはスクリーニングを可能にする遺伝子）による相同組み換えを介する置換のごとき技法を含む。

【０２９１】

修飾されたＮＲＰＳ複合体により産生された生成物は、異なるアミノ酸が組込まれており、アミノ酸の異なる化学変換（例えば、メチル化およびエピマー化）を有し得る。ドメイン、モジュールまたはサブユニットは、２、３または４つのＮＲＰＳを含む、所望する任意の数のＮＲＰに由来してもよい。さらに、本発明は、完全なチオエステラーゼドメインを伴うおよび伴わないこれらの改変されたＮＲＰＳ複合体を熟慮する。

【０２９２】

モジュール、ドメインおよび／またはサブユニットのソースは、ダプトマイシン生合成遺伝子クラスターＮＲＰＳ、Ａ５４１４５生合成遺伝子クラスターＮＲＰＳに由来してもよく、または別のリポペプチドまたは他のペプチドソースをコードする任意のＮＲＰＳに由来してもよい。これらのペプチドソースは、グリコペプチド遺伝子クラスター、混合経路遺伝子クラスターおよびシデロフォア遺伝子クラスターを含む。人工ＮＲＰＳおよびそれらの作製方法は国際出願番号ＷＯ０１／３０９８５に記載されており、該文献は出典明示により本明細書の一部となる。さらに、モジュール、ドメインおよび／またはサブユニットのソースは、放線菌および非放線菌ソースの両方を含む任意の適切なソースから得られてもよい。非放線菌ソースは、Ａｍｙｃｏｌａｔｏｐｓｉｓのごとき放線菌；Ｂａｃｉｌｌｕｓおよびシアノバクテリアのごとき原核性非放線菌；ならびに真菌のごとき非細菌ソースを含む。

【０２９３】

ＮＲＰＳまたはその部分は、目的の宿主細胞に対して異種であってもよく、または宿主細胞に対して内因性であってもよい。一の実施態様において、ＮＲＰＳまたはその一部分（例えば、そのドメイン、モジュールまたはサブユニット）を、当業者に知られている任意のベクター、例えば、プラスミド、コスミド、バクテリオファージまたはＢＡＣ上で宿

主細胞に導入する。ＮＲＰＳまたはその部分が導入された宿主細胞は内因性ＮＲＰＳまたはその部分（例えば、そのドメイン、モジュールまたはサブユニット）を含有してもよい。或いは、異種ＮＲＰＳまたはその部分を、異種ＮＲＰＳまたはその部分を含有する宿主細胞中に導入してもよい。第一のＮＲＰＳまたは別のＮＲＰＳまたはＮＲＰＳのドメイン、モジュールもしくはサブユニットは、天然に存在する配列または修飾された配列のいずれかを有してもよい。別の実施態様において、ＮＲＰＳまたはその部分は宿主細胞に対して内因性であり、例えば、Ａ５４１４５の場合には宿主細胞はＳ．ｆｒａｄｉａｅであり、ダプトマイシンの場合には宿主細胞はＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓである。天然に存在するかまたは修飾されたＮＲＰＳまたはそれらのドメイン、モジュールもしくはサブユニットは、内因性ＮＲＰＳまたはその部分を含有する宿主細胞中に導入されてもよい。異種ドメイン、モジュール、サブユニットまたはＮＲＰＳは、当業者に知られている構成的または調節可能なプロモーターを含有してもよい。プロモーターは、細胞に導入されるべき核酸分子に対して同種または異種のいずれかであり得る。特定の実施態様において、上記するように、プロモーターは、Ａ５４１４５生合成遺伝子クラスターまたはダプトマイシン生合成遺伝子クラスターに由来してもよい。

【０２９４】

ＮＲＰＳまたはその部分（例えば、ドメイン、モジュールまたはサブユニット）を含有する核酸分子は、エピソームに保持されるか、またはゲノムに統合されてもよい。核酸分子は、例えば、ファージ組込み部位にてゲノムに導入されてもよい。さらに、核酸分子は、ゲノム上の内因性もしくは異種性ＮＲＰＳの部位もしくはその部分またはゲノム上の他の部位に導入されてもよい。核酸分子は、ゲノム中に既に存在しているＮＲＰＳのドメイン、モジュールまたはサブユニットの機能の全てまたは一部を分裂するように導入されてもよく、或いはＮＲＰＳまたはその部分の機能を阻害しない様式で導入されてもよい。

【０２９５】

これらのＮＲＰＳにより産生されるペプチドは新規化合物として有用であってもよく、または新規化合物の産生において有用であってもよい。一の好ましい実施態様において、新規化合物は抗菌化合物として有用であるか、または抗菌化合物を作成するために用いられてもよい。別の好ましい実施態様において、新規化合物は、抗菌、抗真菌、抗ウイルス、抗寄生虫、抗有糸分裂、細胞増殖抑制、抗腫瘍、免疫調節、抗コレステロール、シデロフォア、農薬（例えば、殺虫剤）または物理化学的（例えば、界面活性剤）特性を含むがこれらに限定されない有用な活性を有する他のペプチドとして有用であるか、または該ペプチドを作成するために用いられてもよい。

【０２９６】

さらに、非リボソーム合成ペプチドおよびポリケチドの多様性は、異種宿主細胞、すなわち、ＮＲＰＳおよびＰＫＳ遺伝子またはモジュールが由来するもの以外の宿主細胞中で、（天然、ハイブリッドまたは他の改変されたモジュールまたはドメインをコードする）１個または複数のＮＲＰＳおよびＰＫＳ遺伝子を発現させることにより成し遂げられてもよい。

【０２９７】

３．ポストペプチド修飾

本発明の化合物は、初めに、上記した方法のいずれかにより分子のコアをアセンブリし、次いで、米国特許第６，９１１，５２５号；および第６，７９４，４９０号および国際出願番号ＷＯ０１／４４２７２；ＷＯ０１／４４２７４；およびＷＯ０１／４４２７１に示すように残りの第一級アミノ基の全てまたは幾つかの合成操作を実施することにより得られてもよい。

【０２９８】

イソシアネート、イソチオシアネート、活性化型エステル、酸クロリド、塩化スルホニルまたは活性化型スルホンアミド、容易に置換され得る基を有する複素環、イミダート、ラクトンのごとき試薬で第一級アミノ基（複数も可）を処理するか、アルデヒドで還元的に処理することにより、置換基R^{1}、R^{aa1}、R^{aa2}、R^{6*}およびR^{8***}の１個

または複数が独立して一置換アミノ、二置換アミノ、アシルアミノ、ウレイド、グアニジノ、カルバモイル、スルホンアミノ、チオアシルアミノ、チオウレイド、イミノアミノまたはホスホアミノである化合物を得る。

【０２９９】

これらの修飾を成し遂げるために、分子中の特定の官能基を保護する必要があってもよい。これらの官能基の保護は、本発明の開示内容に基づき、当業者の技術の範囲内であるはずである。例えば、上記のＧｒｅｅｎｅを参照のこと。

【０３００】

組換えＮＲＰＳを発現し得る細胞および該細胞の産生方法

本発明は、組換えＮＲＰＳの発現能および様々な本発明の化合物の産生能を有する組換えＮＲＰＳ遺伝子クラスターを発現し得る細胞および該細胞の産生方法を含む。ある特定の実施態様において、細胞は、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｌｉｖｉｄａｎｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｃｏｅｌｉｃｏｌｏｒまたはＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓを含むグラム陽性細胞である。本発明の他の特定の実施態様において、組換えＮＲＰＳは、ダプトマイシンまたはＡ５４１４５ ＮＲＰＳ遺伝子クラスターに由来するモジュールから構築される。これらの遺伝子は、当該分野において知られているかまたは本明細書中に例示された組換え技法を用いて「交換（ｓｗａｐ）」されてもよい。他の実施態様において、組換えＮＲＰＳ中の特定の遺伝子は脱活性化されるか、または「ノックアウト」されて、細胞中の発現産物およびその活性を回避する［ＪＩＬＬ，ＳＨＯＵＬＤ ＷＥ ＭＥＮＴＩＯＮ ３ＭＧ ＨＥＲＥ ａｎｄ ｌｐｔｌ？］。

【０３０１】

一の好ましい実施態様において、細菌性宿主細胞を用いて、本発明の核酸分子を発現させる。細菌性宿主に有用な発現ベクターは、細菌性プラスミド、例えば、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ、ｐＧＥＸ－２Ｔ、ｐＵＣベクター、ｃｏｌ Ｅ１、ｐＣＲ１、ｐＢＲ３２２、ｐＭＢ９およびそれらの誘導体を含む、Ｅ．ｃｏｌｉまたはＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓに由来するもの、広宿主域プラスミド、例えば、ＲＰ４、ファージＤＮＡ、例えば、ＮＭ９８９、λＧＴ１０およびλＧＴ１１のごときファージラムダの様々な誘導体、ならびに他のファージ、例えば、Ｍ１３およびフィラメント状の単一の標準的なファージＤＮＡを含む。好ましいベクターは、細菌性人工染色体（ＢＡＣ）である。国際出願番号０３／０１４２９７の実施例２に示すように、より好ましいベクターはｐＳｔｒｅｐｔｏＢＡＣである。

【０３０２】

他の実施態様において、酵母、昆虫または哺乳類細胞のごとき真核性宿主細胞を用いてもよい。酵母ベクターは、酵母組込用プラスミド（例えば、ＹＩｐ５）および酵母複製用プラスミド（ＹＲｐおよびＹＥｐシリーズプラスミド）、酵母セントロメアプラスミド（ＹＣｐシリーズプラスミド）、ｐＧＰＤ－２，２μプラスミドおよびそれらの誘導体、および改良型シャトルベクター、例えば、ＧｉｅｔｚおよびＳｕｇｉｎｏ，Ｇｅｎｅ，７４，ｐｐ．５２７－３４（１９８８）に記載のもの（ＹＩｐｌａｃ，ＹＥｐｌａｃおよびＹＣｐｌａｃ）を含む。哺乳類細胞における発現は、ｐＳＶ２、ｐＢＣ１２ＢＩおよびｐ９１０２３を含む様々なプラスミドならびに溶解性ウイルスベクター（例えば、ワクシニアウイルス、アデノウイルスおよびバキュロウイルス）、エピソームウイルスベクター（例えば、ウシパピローマウイルス）、およびレトロウイルスベクター（例えば、マウスレトロウイルス）を用いて成し遂げられ得る。昆虫細胞に有用なベクターはバキュロウイルスベクターおよびｐＶＬ９４１を含む。

【０３０３】

本発明の他の態様は、本明細書に記載した組換え細胞に由来する化合物および該化合物の製造方法を提供する。化合物は、当該分野において知られているかまたは本明細書中に記載されている技法および条件を用いて細胞を培養することにより形成されてもよい。細胞を培養するための条件は、本発明の特定の化合物の形成を促進するリポペプチドテイル前駆体を用いた細胞の発酵を含んでもよい。この前駆体を発酵の間に細胞に取り込ませて

、細胞中の特定の化合物の産生を増大させてもよい。発酵の間に細胞に供給される前駆体は発酵フィード（ｆｅｒｍｅｎｔａｔｉｏｎ　ｆｅｅｄ）と呼ばれることもあり、および得られた化合物はフィード生成物と呼ばれることもある。本発明の細胞を培養または発酵することにより産生される本発明の化合物は、発酵産物からさらに単離および／または精製されてもよい。

【０３０４】

新規デプシペプチドの調製

１．合成方法

本発明をより十分に理解するために、以下の実施例が示される。これらの実施例は例示目的であって、本発明の範囲を限定するものではない。

【実施例】

【０３０５】

実施例１－１：ペプチド樹脂化合物１：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－NH_2（１）の合成

反応１：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－ＮＨＦｍｏｃ（２）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トレオニン（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中の０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中の０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中の０．５モル溶液）の溶液を、市販のグリシン２－クロロトリチル樹脂（３３４ｍｇ）へ加えた。混合物を１時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、標準的なＫａｉｓｅｒ試験を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した（Ｅ．Ｋａｉｓｅｒ，ら，１９７０，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．３４：５９５；および“Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｃｈｅｍｔｅｃｈ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｃｏｍｂｉｎａｔｏｒｉａｌ　Ｏｒｇａｎｉｃ　ａｎｄ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ”２００３－２００４，ｐａｇｅ　２０８）。Ｋａｉｓｅｒ試験は反応が不完全であることを示す青色を呈示したので、上記カップリング条件を繰り返した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物を、Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物２を得た。

【０３０６】

反応２：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－NH_2（３）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中で化合物２を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、次いで、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物３を得た。

【０３０７】

反応３：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（４）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔ－ブチルエステル（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）を化合物３へ加えた。混合物を１時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、カップリングを繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物４を得た。

【０３０８】

反応４：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－NH_2（５）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中で化合物４を３０分間振盪

した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物５を得た。

【０３０９】

反応５：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－ＮＨＦｍｏｃ（６）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－アスパラギンδ－Ｎ－トリチル（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）の溶液を樹脂５へ加えた。反応混合物を１時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、カップリングを繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物６を得た。

【０３１０】

反応６：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－NH_2（７）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物６を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物７を得た。

【０３１１】

反応７：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ＮＨＦｍｏｃ（８）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トリプトファン（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）を樹脂７へ加えた。反応混合物を１時間攪拌し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、カップリングを繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し，化合物８を得た。

【０３１２】

反応８：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－NH_2（１）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物８を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、樹脂ペプチド化合物１を得た。

【０３１３】

実施例１－２：ペプチド樹脂化合物９：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－NH_2（９）の合成

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＮＨＦｍｏｃ（１０）の調製

ジクロロメタン（６０ｍＬ）中の市販の４－ヒドロキシメチルフェノキシ樹脂（Ｗａｎｇ樹脂、５ｇ，０．４ｍｍｏｌ／ｇ）の懸濁液へ、１，３－ジイソプロピルカルボジイミ

ド（０．９４０ｍＬ）、４－ジメチルアミノピリジン（Ｎ－メチルピロリジン（１ｍＬ）中２４ｍｇ）および市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－グルタミン酸α－アリルエステル（Ｎ－メチルピロリジン（９ｍＬ）中２．４６ｇ）を加えた。反応混合物を１６時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジンおよびジクロロメタンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１０を得た。

【０３１４】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－NH_2（１１）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１０（５２６ｍｇ）を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物１１を得た。

【０３１５】

反応３：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（１２）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－セリン－ｔｅｒｔ－ブチルエーテル（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）を樹脂１１へ加えた。反応混合物を１時間攪拌し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、カップリングを繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物１２を得た。

【０３１６】

反応４：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－NH_2（１３）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１２を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物１３を得た。

【０３１７】

反応５：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－ＮＨＦｍｏｃ（１４）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－グリシン（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）を樹脂１３へ加えた。反応混合物を１時間攪拌し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、カップリングを繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物１４を得た。

【０３１８】

反応６：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－NH_2（１５）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１４を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗

から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物１５を得た。

【０３１９】

反応７：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（１６）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔ－ブチルエステル（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）を樹脂１５へ加えた。反応混合物を１時間攪拌し、ガラス焼結漏斗に通し、次いで、カップリングを繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物１６を得た。

【０３２０】

反応８：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－NH_2（１７）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１６を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物１７を得た。

【０３２１】

反応９：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－ＮＨＦｍｏｃ（１８）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－アラニン（（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）の溶液を樹脂１７へ加えた。反応混合物を１時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、カップリングを繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物１８を得た。

【０３２２】

反応１０：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－NH_2（１９）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１８を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物１９を得た。

【０３２３】

反応１１：Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（２０）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔブチルエステル（（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）を樹脂１９へ加えた。反応混合物を１時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、カップリングを繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチル

ピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物２０を得た。

【０３２４】

反応１２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨ$_2$（２１）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物２０を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物２１を得た。

【０３２５】

反応１３：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ－ＮＨＦｍｏｃ（２２）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｎδ－（ｔｅｒｔブトキシカルボニル）－Ｌ－オルニチン（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２ｍＬ，Ｎ－メチルピロリジン中０．５モル溶液）の溶液を樹脂２１へ加えた。反応混合物を１時間攪拌し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、カップリングを繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物２２を得た。

【０３２６】

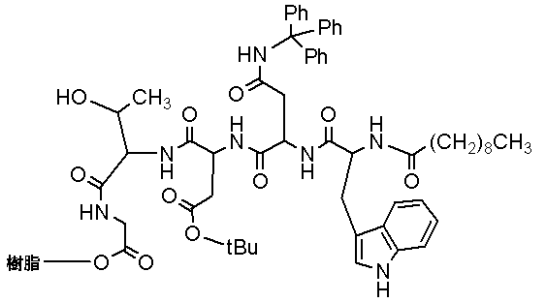
反応１４：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－ＮＨ$_2$（９）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物２２を３０分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（６ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、化合物９を得た。

【０３２７】

実施例１－３：ペプチド樹脂化合物２３の合成：

【化３３２】

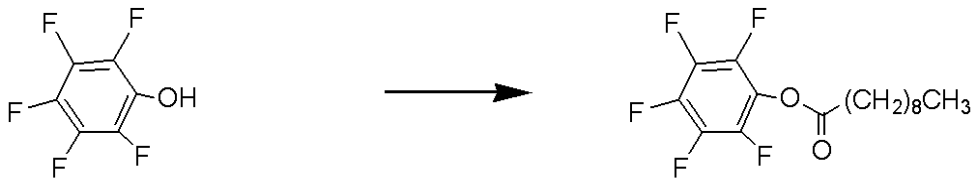


(23)

【０３２８】

反応１：化合物２４の調製

【化３３３】



24

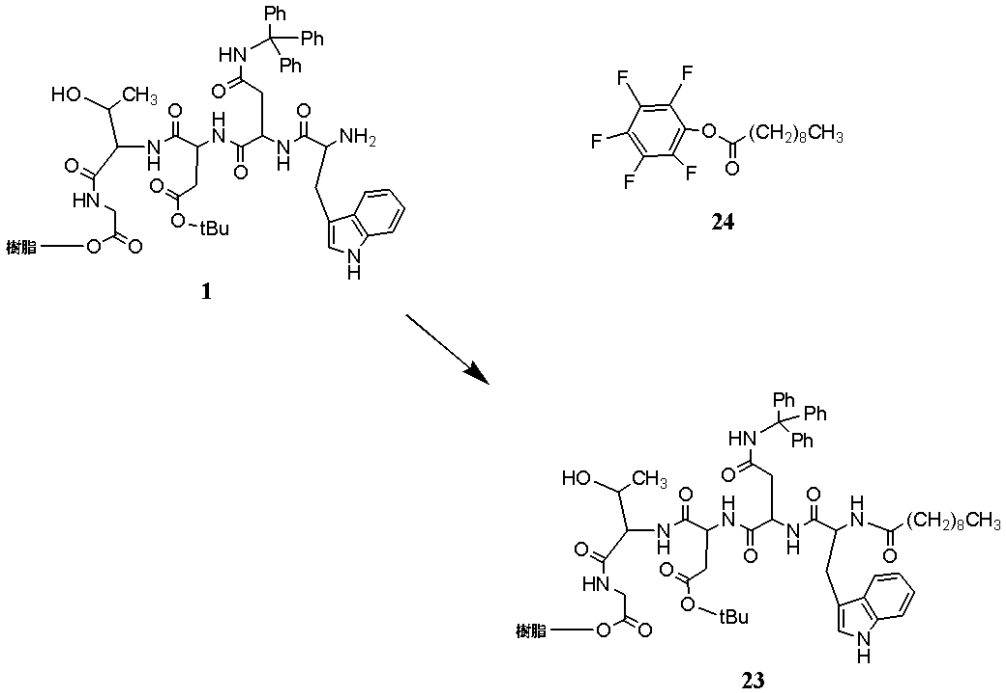
【０３２９】

ペンタフルオロフェノール（３．６８ｇ）をジクロロメタン（４０ｍＬ）中に溶解し、次いで、氷／ＮａＣｌ浴中、０℃に冷却した。温度を２℃未満に維持するように、塩化デカノイル（４．１５ｍＬ）を滴下して加えた。添加が完了したら、反応物を０℃でさらに２．５時間攪拌した。次いで、冷浴を除去し、次いで、反応物を周囲温度に温め、次いで、１７時間攪拌した。揮発性物質を減圧下で除去し、粗生成物ペンタフルオロフェニルエステル２４を得、これは、さらに精製することなく続けて用いることができた。

【０３３０】

反応２：化合物２３の調製

【化３３４】



1　　**24**　　**23**

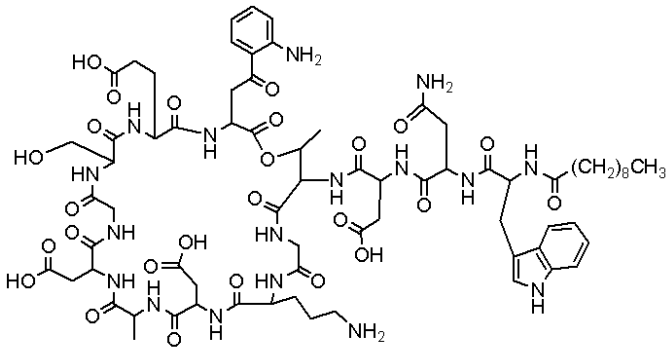
【０３３１】

樹脂ペプチド化合物１（２ｇ）を、ジクロロメタン中のデカン酸２４のペンタフルオロフェニルエステル（４４０ｍｇ）の溶液へ加えた。混合物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、反応が不完全であることを判断した。デカン酸（５１７ｍｇ）、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（４４６ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（４３８μＬ）をＮ－メチルピロリジン（８ｍＬ）中に溶解し、次いで、１時間攪拌した。次いで、樹脂をデカン酸混合物に加え、次いで、８時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したことが分かり、樹脂結合型リポペプチド２３を得た。

【０３３２】

実施例１－４：化合物Ｃ３５２の合成：

【化３３５】

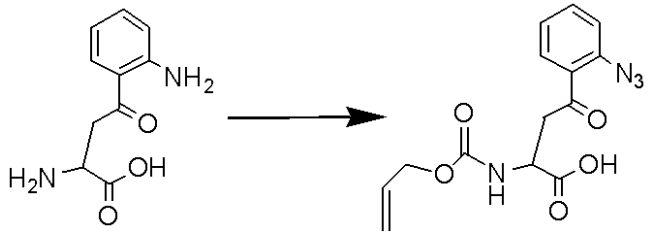


(C352)

【０３３３】

反応１：化合物（２５）の調製

【化３３６】



25

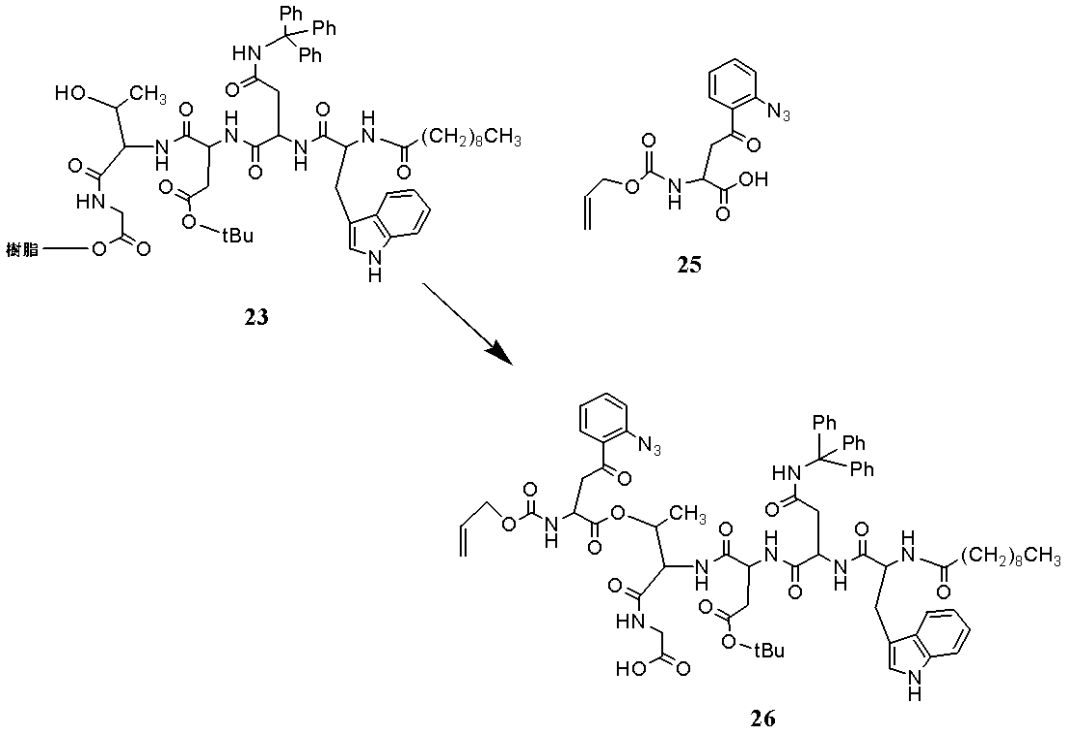
【０３３４】

市販のキヌレニン（３ｇ）をアセトニトリル（１００ｍＬ）および水（３０ｍＬ）中に懸濁させた。ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，５．０１ｍＬ）を滴下して溶液に加え、次いで、溶液が均質になるまで攪拌を続けた。次いで、氷／塩化ナトリウム浴中、溶液を０℃に冷却し、次いで、アセトニトリル（３０ｍＬ）中のアリルオキシカルボニルオキシスクシンイミド（ＡｌｌｏｃＯＳｕ，４．３ｇ）の溶液を加えた。反応混合物を３時間攪拌し、次いで、濃縮し、アセトニトリルを除去し、５％のK_2CO_3溶液（２２０ｍＬ）で塩基性化し、次いで、酢酸エチル（５×９０ｍＬ）およびジクロロメタン（１×９０ｍＬ）で洗浄した。次いで、水性部分をｐＨ１に酸性化し、次いで、酢酸エチル（４×９０ｍＬ）で抽出した。合わせた酸性有機性洗液を無水$MgSO_4$で乾燥し、次いで、蒸発させて、粗生成物（４．８５ｇ）を得た。ジクロロメタン：メタノール　１９：１で溶離するシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製により、溶媒を蒸発させた後、所望の中間体、Ｌ－２－Ｎ－（アリルオキシカルボニル）－４－（２－アミノフェニル）－４－オキソブタン酸を黄色固体２．９２ｇとして得た。この固体（２．９ｇ）を４ＮのＨＣｌ（１００ｍＬ）中に溶解し、次いで、氷／塩化ナトリウム浴中、０℃に冷却した。温度を３℃未満に維持しながら、水（１０ｍＬ）中の$NaNO_2$（０．７６ｇ）の溶液を滴下して加え、次いで、得られた溶液を０℃で２．５時間攪拌した。温度を３℃未満に維持しながら、水（１０ｍＬ）中のNaN_3（１．９５ｇ）の溶液を滴下して加え、次いで、得られた溶液を周囲温度に温め、次いで、１９時間攪拌した。反応混合物を水（２５０ｍＬ）に注ぎ、次いで、ジクロロメタン（４×１００ｍｌ）で抽出した。合わせた有機性洗液を無水$MgSO_4$で乾燥し、次いで、蒸発させて、所望の生成化合物２５（２．８６ｇ）を得た。

【０３３５】

反応２：化合物（２６）の調製

【化３３７】



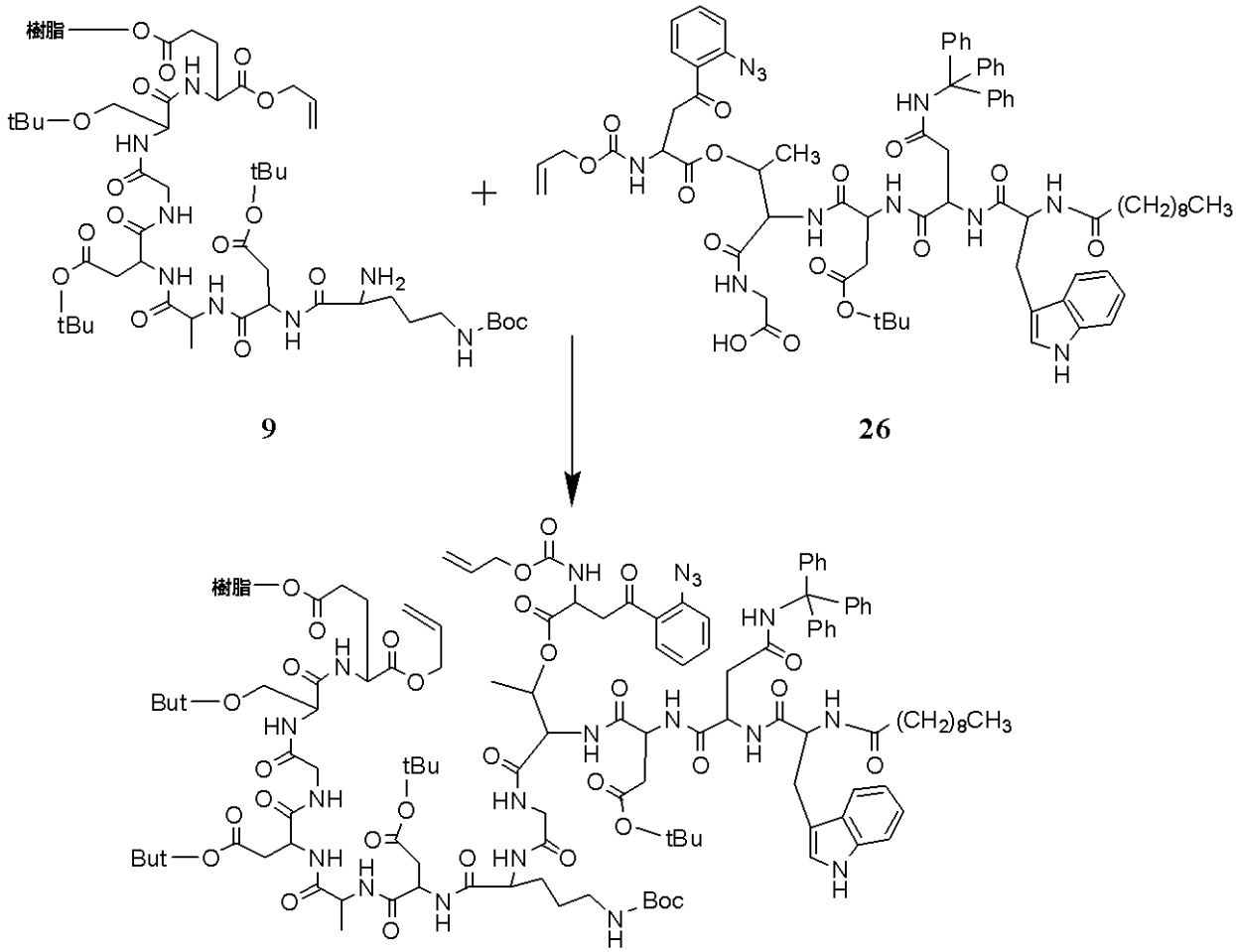
【０３３６】

Ｌ－２－Ｎ－（アリルオキシカルボニル）－４－（２－アジドフェニル）－４－オキソブタン酸２５（６３６ｍｇ）、４－ジメチルアミノピリジン（２５ｍｇ）およびヨウ化Ｎ－メチル－２－クロロピリジニウム（５１１ｍｇ）をアルゴンで十分にフラッシュし、次いで、ジクロロメタン（１０ｍＬ）中に懸濁させた。トリエチルアミン（５６０μＬ）を加え、次いで、反応混合物を攪拌し、均質な溶液を得た。樹脂リポペプチド２３（６６７ｍｇ）を溶液へ加え、次いで、フラスコを再度アルゴンでフラッシュし、次いで、１７時間攪拌した。２０ｍｇの樹脂試料を取り出し、反応の完了について試験した［ジクロロメタン（０．６ｍＬ）中の２０ｍｇの樹脂を２，２，２－トリフルオロエタノール（０．２ｍＬ）および酢酸（０．２ｍＬ）で処理し、次いで、３時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、溶媒を蒸発させ、残渣を得た。残渣の液体クロマトグラフィー／質量スペクトル解析は、反応が不完全であることを示した］。カップリングが不完全であると判断したので、樹脂を減圧下で５日間乾燥させ、次いで、上記カップリングをさらに１７時間繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジクロロメタンで十分に洗浄した。次いで、固体をジクロロメタン（６ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（２ｍＬ）、酢酸（２ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、５時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、粗い所望のペプチド２６（４４ｍｇ）を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を凍結乾燥し、純粋な生成物２６（１０．６ｍｇ）を得た。

【０３３７】

反応３：化合物（２７）の調製

【化３３８】



9

26

27

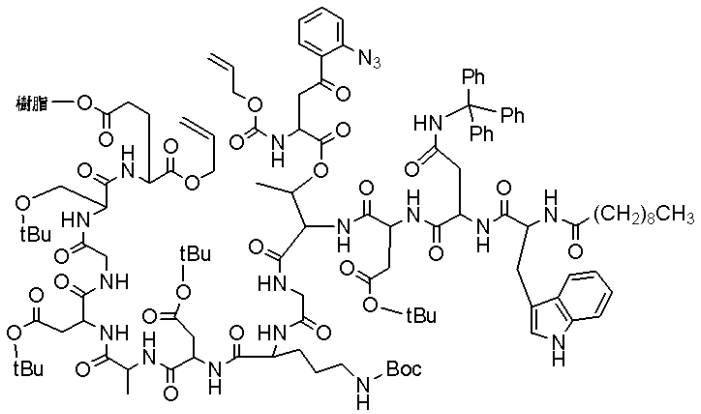
【０３３８】

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（５ｍｇ）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（６μＬ）およびペプチド樹脂化合物９（１２．３ｍｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（０．７ｍＬ）中の化合物２６（１０．６ｍｇ）の溶液へ加え、次いで、２２時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断し、樹脂結合型リポペプチド２７を得た。

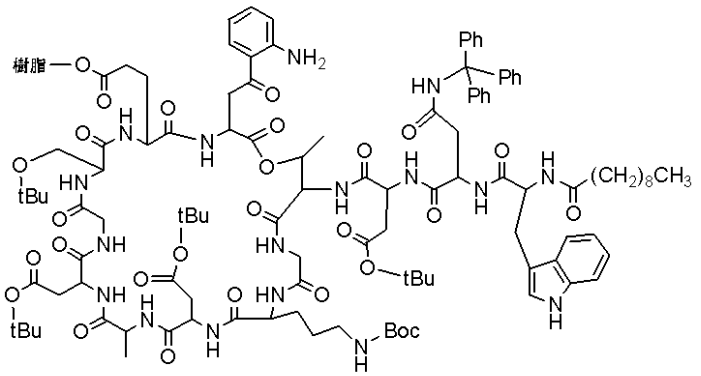
【０３３９】

反応４：化合物（２８）の調製

【化３３９】



27



28

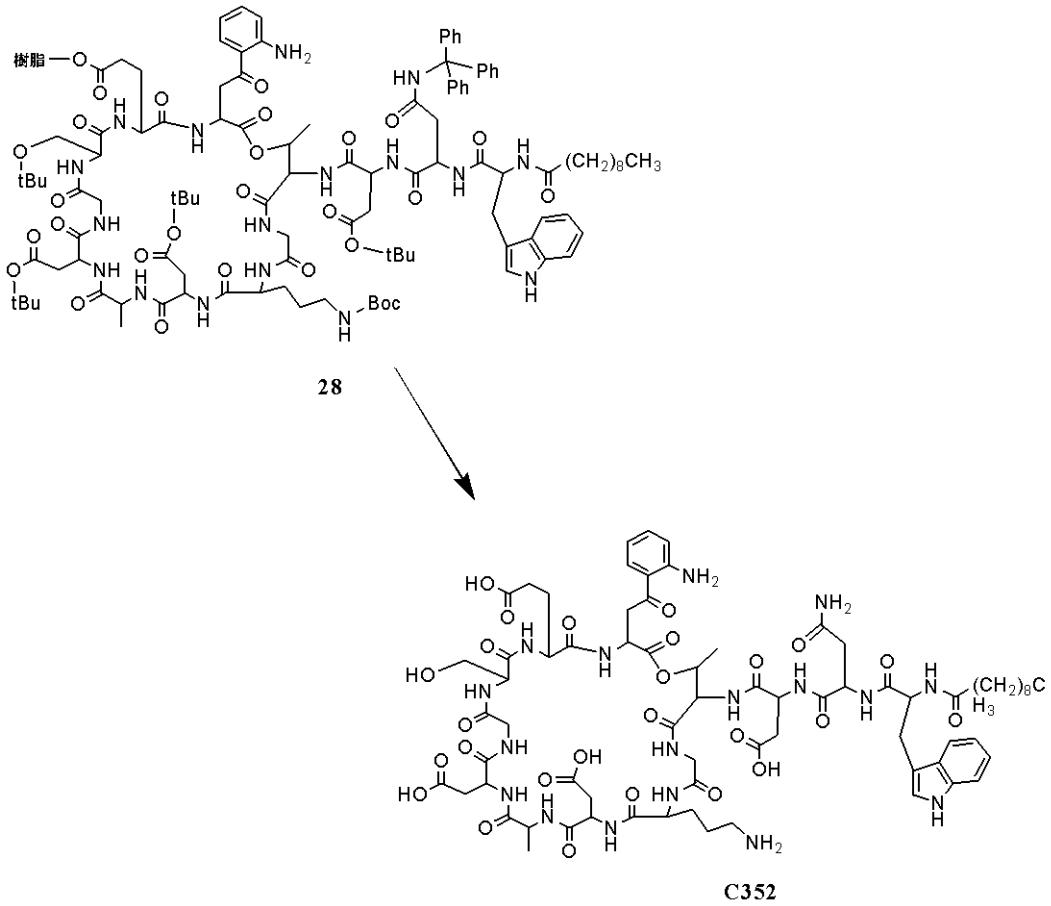
【０３４０】

乾燥した樹脂２７をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（１．４７ｍＬ）、酢酸（７４μＬ）およびＮ－メチルモルホリン（３７μＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（１９ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を４時間、周囲温度で攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体を、Ｎ－メチルモルホリンで２回、メタノールで２回、次いで、さらにＮ－メチルモルホリンで２回洗浄した。１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（０．５ｍＬ，Ｎ－メチルモルホリン中の０．５モル溶液）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（０．５ｍＬ，Ｎ－メチルモルホリン中の０．５モル溶液）を樹脂へ加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、樹脂結合型環化デプシペプチド２８を得た。

【０３４１】

反応５：化合物（Ｃ３５２）の調製

【化３４０】



28

C352

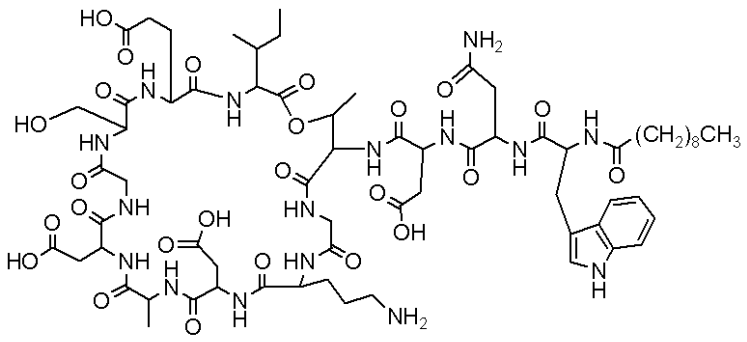
【０３４２】

乾燥した樹脂２８を、ジクロロメタン（４ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（６ｍＬ）、エタンジチオール（２５０μｌ）およびトリイソプロピルシラン（２５０μｌ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（６ｍＬ）および水（３ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、純粋な生成物Ｃ３５２（１．０ｍｇ）を得た。

【０３４３】

実施例１－５：化合物Ｃ３６９の合成：

【化３４１】

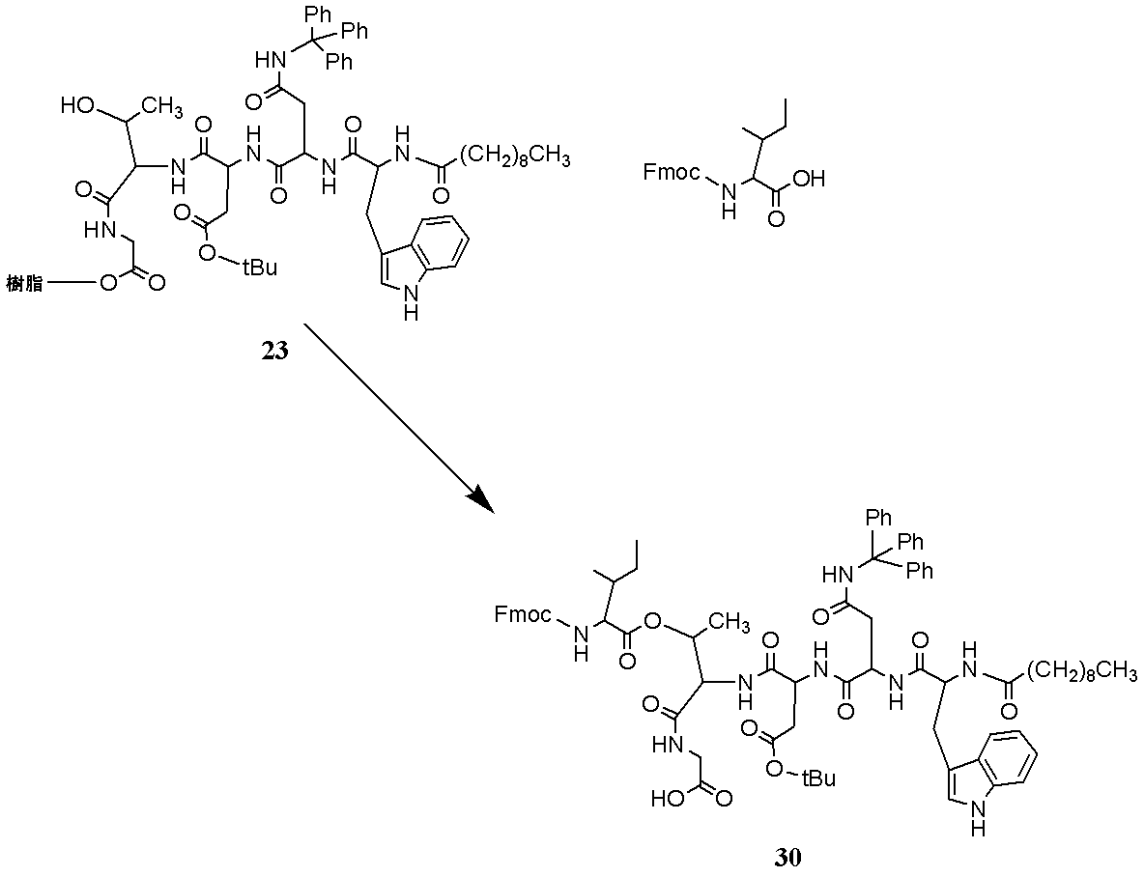


(C369)

【０３４４】

反応１：化合物（３０）の調製

【化３４２】



【０３４５】

化合物３０は、方法Ｄまたは方法Ｅ（下記参照）のいずれかを用いて化合物２３から得た。

【０３４６】

方法Ｄ

樹脂結合型リポペプチド２３（１ｇ）へ、ジクロロメタン（５ｍＬ）中の市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン（６１８ｍｇ）、ブロモ－トリス－ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢｒＯＰ，８１５ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（９１４μＬ）の溶液を加えた。ジメチルアミノピリジン（５ｍｇ）を加え、次いで、混合物を２時間攪拌した。２時間後、混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、ジクロロメタン（３×１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、カップリング手順を繰り返した。得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×１０ｍＬ）およびメタノール（３×１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、水酸化カリウムペレットにより減圧下で乾燥した。この乾燥した樹脂をジクロロメタン（３ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（１ｍＬ）および酢酸（１ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド３０（４００ｍｇ）を白色固体として得た。

【０３４７】

方法Ｅ

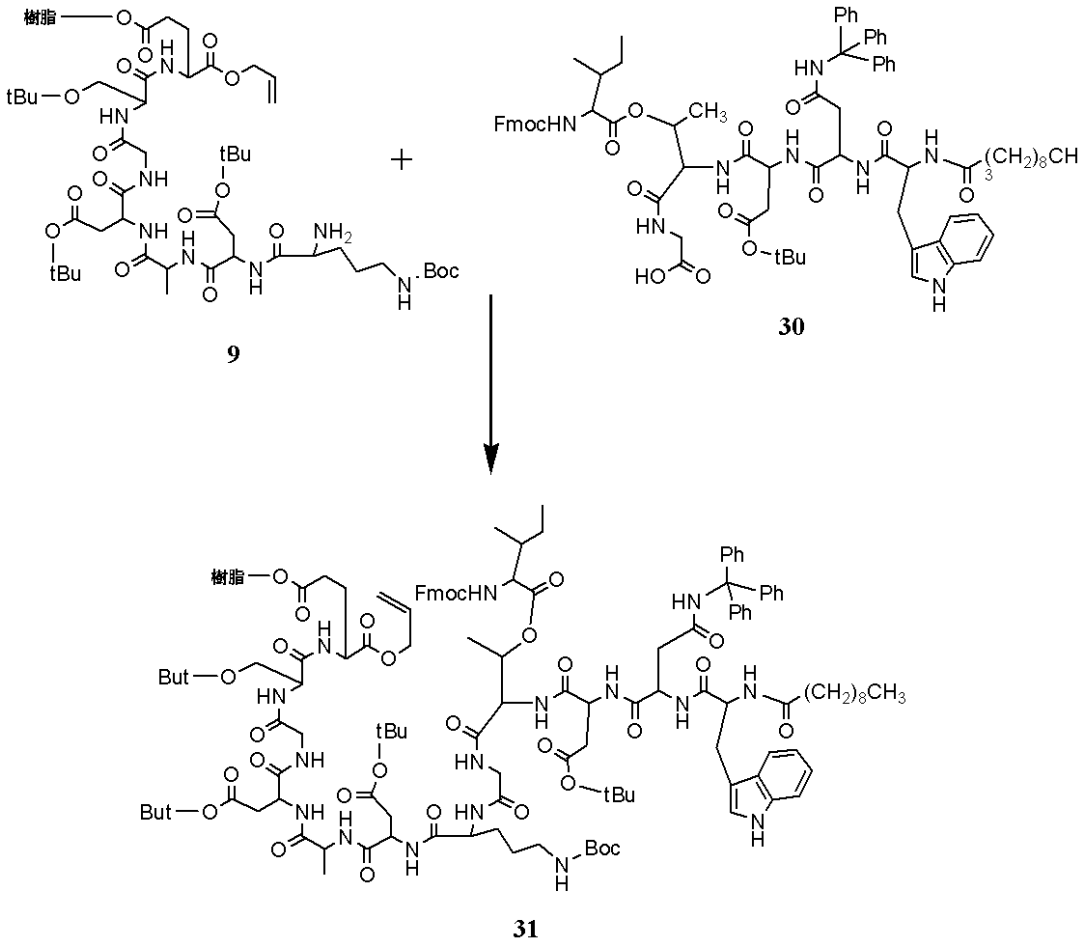
市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン（９５ｍｇ）、４－ジメチルアミノピリジン（６ｍｇ）およびヨウ化Ｎ－メチル－２－クロロピリジニウム（６９ｍｇ）をアルゴンで十分にフラッシュし、次いで、ジクロロメタン（２．７ｍＬ）中に懸濁させた。トリエチルアミン（７６μＬ）を加え、次いで、反応混合物を攪拌し、均質な溶液を得た。樹脂リポペプチド２３（２００ｍｇ）を溶液へ加え、そのフラ

スコを再度アルゴンでフラッシュし、次いで、反応混合物を１４時間攪拌した。次いで、得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで十分に洗浄した。固体をジクロロメタン（６ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（２ｍＬ）および酢酸（２ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド３０（５４ｍｇ）を白色固体として得た。

【０３４８】

反応２：化合物（３１）の調製

【化３４３】



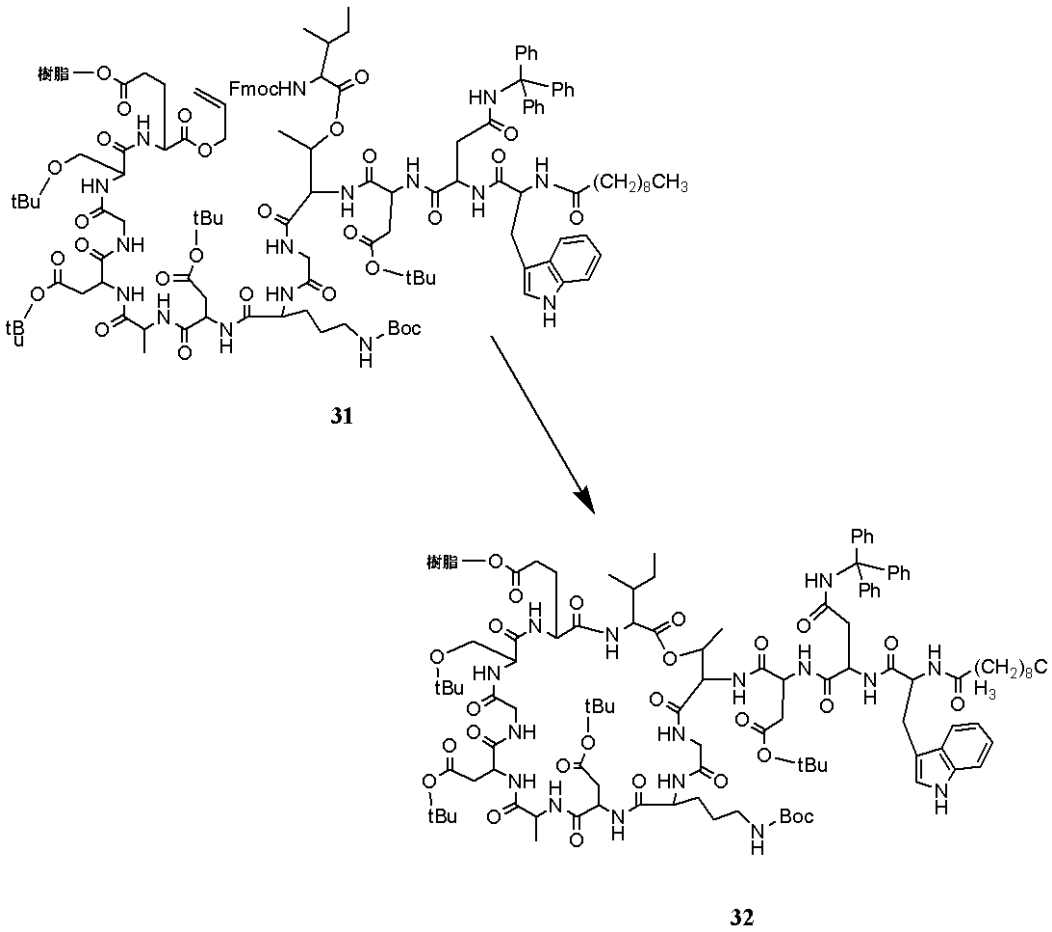
【０３４９】

１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２６ｍｇ）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（３０μＬ）およびペプチド樹脂化合物９（６４ｍｇ）を、Ｎ－メチルモルホリン（３．８ｍＬ）中のデプシペプチド３０（５４ｍｇ）の溶液へ加え、次いで、得られた混合物を２２時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングは完了したと判断し、樹脂結合型デプシペプチド３１を得た。

【０３５０】

反応３：化合物（３２）の調製

【化３４４】



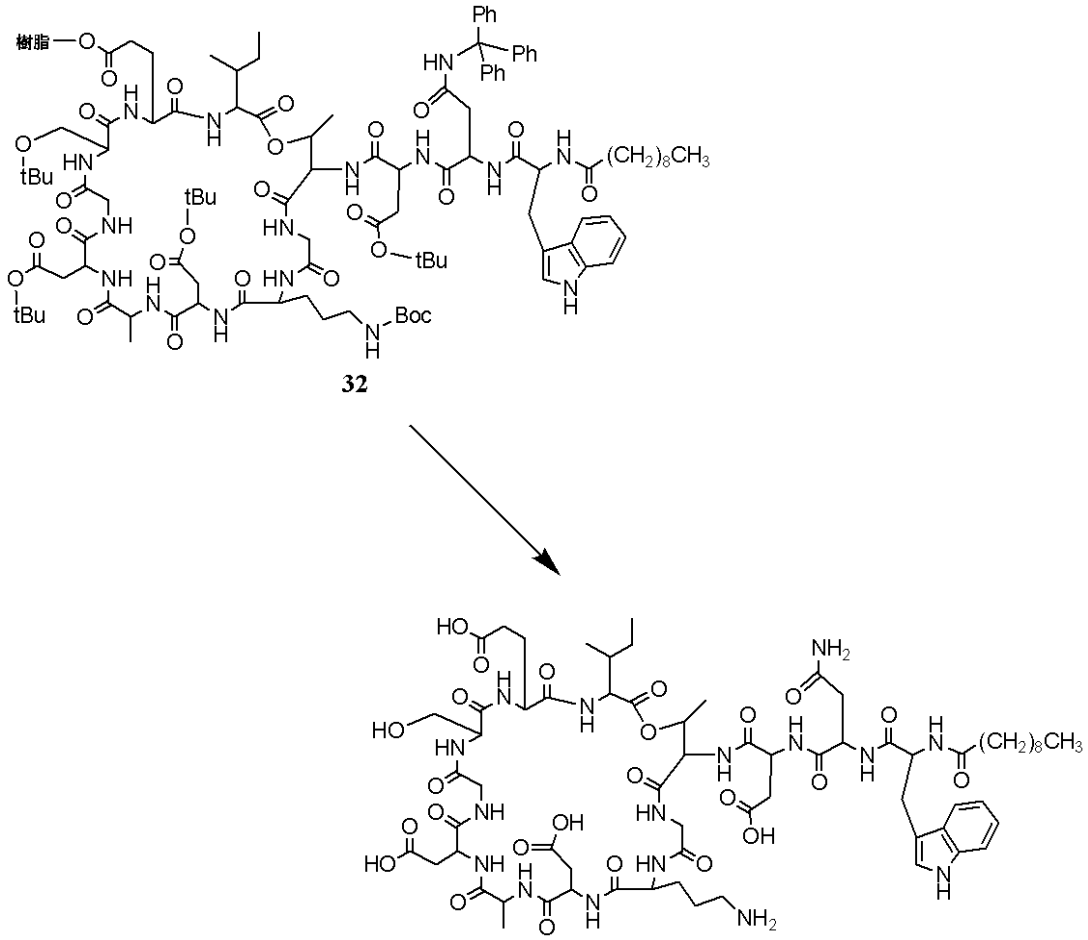
【０３５１】

乾燥した樹脂３１をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、テトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（ジクロロメタン（７．６３ｍＬ）中、４８ｍｇ）、酢酸（０．３８ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．１９ｍＬ）の溶液で処理した。混合物を４時間、周囲温度で撹拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体を、Ｎ－メチルモルホリンで２回、メタノールで２回、次いでさらにＮ－メチルモルホリンで２回洗浄した。１０５分間にわたって、固体樹脂をＮ－メチルモルホリン（７ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に懸濁させ、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルモルホリンで十分に洗浄した。１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（０．３ｍＬ，Ｎ－メチルモルホリン中の０．５モル溶液）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（０．３ｍＬ，Ｎ－メチルモルホリン中の０．５モル溶液）を樹脂へ加えた。反応混合物を１７時間撹拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、沈殿物をＮ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、樹脂結合型環化デプシペプチド３２を得た。

【０３５２】

反応４：化合物Ｃ３６９の調製

【化３４５】



【０３５３】

乾燥した樹脂３２を、ジクロロメタン（４ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（６ｍＬ）、エタンジチオール（２５０μＬ）およびトリイソプロピルシラン（２５０μＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間、周囲温度で撹拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、ジクロロメタン（２×２ｍＬ）で洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（６ｍＬ）および水（３ｍＬ）間で分配した。水相を分け、次いで、凍結乾燥し、粗生成物３３（２１．５ｍｇｓ）を得た。次いで、粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、純粋な生成物Ｃ３６９（１．８ｍｇ）を得た。

【０３５４】

実施例１－６：ペプチド樹脂化合物３４：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ－（ＯｔＢｕ）NH_2（３４）の合成

【０３５５】

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－ＮＨＦｍｏｃ（３５）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｎε－（ｔ－ブチルオキシカルボニルＤ－リシン（１．４８ｇ）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（０．４９ｍＬ）、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（４２５ｍｇ）および４－ジメチルアミノ

ピリジン（３７ｍｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の溶液として、樹脂１７（上記参照）へ加えた。反応混合物を３時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、カップリングを１５時間繰り返した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物３５を得た。

【０３５６】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－NH_2（３６）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中で化合物３５を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物３６を得た。

【０３５７】

反応３：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（３７）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔブチルエステル（２．１６ｇ）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（８２２μＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（７１０ｍｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の溶液として、樹脂３６へ加えた。反応混合物を４時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物３７を得た。

【０３５８】

反応４：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－NH_2（３４）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物３７を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物３４を得た。

【０３５９】

実施例１－７：ペプチド樹脂化合物３８：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－NH_2（３８）の合成

【０３６０】

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－ＮＨＦｍｏｃ（３９）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アラニン（１．６２ｇ）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（８２５μＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（７１５ｍｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の溶液として、樹脂２１（上記参照）へ加えた。反応混合物を１７時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物３９を得た。

【０３６１】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－NH_2（３８）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（１ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物３９（２２７ｍｇ）を０．５時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×５ｍＬ）、メタノール（３×５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロ

リジン（３×５ｍＬ）で洗浄し、３８を得た。

【０３６２】

実施例１－８：ペプチド樹脂化合物４０：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－NH_2（４０）の合成

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－ＮＨＦｍｏｃ（４１）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－アスパラギン（ＮＨＴｒｔ）ＯＨ（３．１ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，１．６７ｇ）、ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（０．５６ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．７ｍＬ）の溶液を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，４０ｍＬ）中の溶液として、樹脂－Ｇｌｕ－NH_2（１１，上記参照，４ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×４０ｍＬ）、メタノール（３×４０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×４０ｍＬ）で洗浄し、化合物４１を得た。

【０３６３】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－NH_2（４２）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（３０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物４１を３０分間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（３０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、次いで、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）、メタノール（３×３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）で洗浄し、化合物４２を得た。

【０３６４】

反応３：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－ＮＨＦｍｏｃ（４３）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－グリシン（１．５５ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，１．６７ｇ）、ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（ＨＯＢｔ，０．５６ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．７ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，４０ｍＬ）中の溶液として、化合物４２（４ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×４０ｍＬ）、メタノール（３×４０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×４０ｍＬ）で洗浄し、化合物４３を得た。

【０３６５】

反応４：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－NH_2（４４）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（３０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物４３を３０分間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（３０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）、メタノール（３×３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）で洗浄し、化合物４４を得た。

【０３６６】

反応５：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（４５）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔブチルエステル（２．１４ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，１．６７ｇ）、ＨＯＢｔ（０．５６ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．７ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，４０ｍＬ）中の溶液として、化合物４４（４ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×４０ｍＬ）、メタノール（３×４０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×４０ｍＬ）で洗浄し、化合物４５を得た。

【０３６７】

反応６：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－NH_2（４６）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（３０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物４５を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（３０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）、メタノール（３×３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）で洗浄し、化合物４６を得た。

【０３６８】

反応７：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－ＮＨＦｍｏｃ（４７）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－アラニン（０．８１ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．８４ｇ）、ＨＯＢｔ（０．２８ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，１．４ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，２０ｍＬ）中の溶液として、化合物４６（２ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物４７を得た。

【０３６９】

反応８：Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－NH_2（４８）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物４７を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）、メタノール（３×１０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）で洗浄し、化合物４８を得た。

【０３７０】

反応９：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（４９）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔブチルエステル（１．０７ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１

，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．８４ｇ）、ＨＯＢｔ（０．２８ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，１．４ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，２０ｍＬ）中の溶液として、化合物４８（２ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物４９を得た。

【０３７１】

反応１０：Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－NH_2（４０）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物４９を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）、メタノール（３×１０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）で洗浄し、化合物４０を得た。

【０３７２】

実施例１－９：ペプチド樹脂化合物５０：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－NH_2（５０）の合成

【０３７３】

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－ＮＨＦｍｏｃ（５１）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－オルニチン（Ｂｏｃ）－ＯＨ（１．１７ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．８３ｇ）、ＨＯＢｔ（０．３１ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，１．４ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，２０ｍＬ）中の溶液として、化合物４０（２．８ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物５１を得た。

【０３７４】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－NH_2（５０）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中で化合物５１を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）、メタノール（３×１０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）で洗浄し、化合物５０を得た。

【０３７５】

実施例１－１０：ペプチド樹脂化合物５２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－NH_2（５２）の合成

【０３７６】

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－ＮＨＦｍｏｃ（５３）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アラニン（６３ｍｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，６４ｍｇ）、ＨＯＢｔ（２７ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，７０μＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，１ｍＬ）中の溶液として、化合物４０（３４０ｍｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２ｍＬ）、メタノール（３×２ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２ｍＬ）で洗浄し、化合物５３を得た。

【０３７７】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－NH_2（５２）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（１．５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中で化合物５３を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１．５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体を、Ｎ－メチルピロリジン（３×１ｍＬ）、メタノール（３×１ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１ｍＬ）で洗浄し、化合物５２を得た。

【０３７８】

実施例１－１１：ペプチド樹脂化合物５４：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－NH_2（５４）の合成

【０３７９】

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－ＮＨＦｍｏｃ（５５）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－オルニチン（Ｂｏｃ）－ＯＨ（０．４４ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．３１ｇ）、ＨＯＢｔ（０．１３ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，０．３ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，２０ｍＬ）中の溶液として、化合物３４（上記参照，０．８ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物５５を得た。

【０３８０】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－NH_2（５４）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（８ｍＬ）中の２０％のピペリジン中で化合物５５を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（８ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×８ｍＬ）、メタノール（３×８ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×８ｍＬ）で洗浄し、化合物５４を得た。

【０３８１】

実施例１－１２：ペプチド樹脂化合物５６：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－NH_2（５６）の合成

【０３８２】

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－ＮＨＦｍｏｃ（５７）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－Ｎα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｎε－（ｔ－ブチルオキシカルボニルＬ－リシン（１．２８ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．８４ｇ）、ＨＯＢｔ（０．２８ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，１．４ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，２０ｍＬ）中の溶液として、化合物４６（２ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物５７を得た。

【０３８３】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－NH_2（５８）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物５７を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）、メタノール（３×１０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）で洗浄し、化合物５８を得た。

【０３８４】

反応３：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（５９）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔブチルエステル（１．０７ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．８４ｇ）、ＨＯＢｔ（０．２８ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，１．４ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，２０ｍＬ）中の溶液として、化合物５８（２ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物５９を得た。

【０３８５】

反応４：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－NH_2（５６）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物５９を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）、メタノール（３×１０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）で洗浄し、化合物５６を

得た。

【０３８６】

実施例１－１３：ペプチド樹脂化合物６０：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－ＮＨ（６０）の合成

【０３８７】

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－ＮＨＦｍｏｃ（６１）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－オルニチン（Ｂｏｃ）－ＯＨ（０．５４ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．３８ｇ）、ＨＯＢｔ（０．１２ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，０．６３ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，１２ｍＬ）中の溶液として、化合物５６（１．２ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物６１を得た。

【０３８８】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－NH_2（６０）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（１２ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物６１を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１２ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）、メタノール（３×１０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１０ｍＬ）で洗浄し、化合物６０を得た。

【０３８９】

実施例１－１４：ペプチド樹脂化合物６２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－NH_2（６２）の合成

【０３９０】

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－ＮＨＦｍｏｃ（６３）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アラニン（０．７８ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．８０ｇ）、ＨＯＢｔ（０．２７ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，０．８１ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，２０ｍＬ）中の溶液として、化合物５６（２ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物６３を得た。

【０３９１】

反応２：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ

（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－ＮＨ$_2$（６２）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物６３を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物６２を得た。

【０３９２】

実施例１－１５：ペプチド樹脂化合物６４：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ＮＨ$_2$（６４）の合成

【０３９３】

反応１：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－ＮＭｅＦｍｏｃ（６５）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－サルコシン（１．５６ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，１．６１ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，８７１μｌ）の溶液を、Ｎ－メチルピロリドン（ＮＭＰ，２５ｍＬ）中の溶液として、市販のアラニン２－クロロトリチル樹脂（６６，２．５ｇ）へ加えた。混合物を３０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物６５を得た。

【０３９４】

反応２：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－ＮＭｅＨ（６７）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物６５を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物６７を得た。

【０３９５】

反応３：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－ＮＨＦｍｏｃ（６８）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トレオニン（８５３ｍｇ）、ブロモ－トリス－ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢｒＯＰ，１．１６５ｇ）およびＤＩＰＥＡ（１．３１ｍＬ）をジクロロメタン（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物６７（３３４ｍｇ）へ加えた。混合物を１時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物６８を得た。

【０３９６】

反応４：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－ＮＨ$_2$（６９）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物３８（上記参照）を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物６９を得た。

【０３９７】

反応５：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（７０）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔ－ブチルエステル（２．０６ｇ）、ＴＢＴＵ（１．６１ｇ）およびＤＩＰＥＡ（８７１μＬ）を、ＮＭＰ（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物６９へ加えた。混合物を３時間

撹拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物７０を得た。

【０３９８】

反応６：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨ２（７１）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物７０を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物７１を得た。

【０３９９】

反応７：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－ＮＨＦｍｏｃ（７２）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－アスパラギンδ－Ｎ－トリチル（１．４９ｇ）、ＴＢＴＵ（１．６１ｇ）およびＤＩＰＥＡ（８７１μＬ）を、ＮＭＰ（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物７１へ加えた。反応混合物を１７時間撹拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物７２を得た。

【０４００】

反応８：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－ＮＨ２（７３）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物７２を２時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物７３を得た。

【０４０１】

反応９：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ＮＨＦｍｏｃ（７４）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トリプトファン（１．０７ｇ）、ＴＢＴＵ（８０２ｍｇ）およびＤＩＰＥＡ（４３５μＬ）を、ＮＭＰ（１０ｍＬ）中の溶液として、樹脂７３へ加えた。反応混合物を４３時間撹拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物７４を得た。

【０４０２】

反応１０：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ＮＨ２（６４）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中、化合物７４を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、樹脂ペプチド化合物６４を得た。

【０４０３】

実施例１－１６：ペプチド樹脂化合物（７５）：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（７５）の合成

市販のウンデカン酸（９３０ｍｇ）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（０．７８ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（６７６ｍｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の溶液として、化合物６４へ加えた。混合物を２３時間撹拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて反応が不完全であると判断した。次いで、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン

（３×１５ｍＬ）で洗浄した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したことが分かり、樹脂結合型化合物７５を得た。

【０４０４】

実施例１－１７：ペプチド樹脂化合物（７６）：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（７６）の合成

市販の８－メチルデカン（１．５５ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，２．６７ｇ）、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．９ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１．１２ｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（８０ｍＬ）中の溶液として、化合物１（７．６ｇ）へ加えた。混合物を１８時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完全であると判断し、樹脂結合型化合物７６を得た。

【０４０５】

実施例１－１８：ペプチド樹脂化合物（７７）：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－トリデカン酸アミド（７７）の合成

市販のトリデカン酸（２．３９ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，３．４７ｇ）、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，３．７５ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１．４６ｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（８０ｍＬ）中の溶液として、化合物１（１０ｇ）へ加えた。混合物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したと判断し、樹脂結合型化合物７７を得た。

【０４０６】

実施例１－１９：ペプチド樹脂化合物（７８）：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（７８）の合成

【０４０７】

反応１：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（７９）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－グルタミン酸γ－ｔ－ブチルエステル（１．１４ｇ）、ＴＢＴＵ（０．８７ｇ）、ＨＯＢｔ（０．３７ｇ）およびＤＩＰＥＡ（９４０μＬ）を、ＮＭＰ（２０ｍＬ）中の溶液として、化合物５へ加えた。反応混合物を１時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄した。Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて反応が完了したと判断し、樹脂結合型化合物７９を得た。

【０４０８】

反応２：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－NH_2（８０）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物７９を１５分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、１５分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、樹脂結合型化合物８０を得た。

【０４０９】

反応３：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－ＮＨＦｍｏｃ（８１）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トリプトファン（１．１５ｇ）、ＴＢＴＵ（０．８７ｇ）、ＨＯＢｔ（０．３７ｇ）およびＤＩＰＥＡ（９４０μＬ）を、ＮＭＰ（２０ｍＬ）中の溶液として、化合物８０へ加えた。反応混合物を１時間

攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄した。Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて反応が完了したと判断し、樹脂結合型８１を得た。

【０４１０】

反応４：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－NH_2（８２）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、樹脂結合型化合物８１を１５分間振盪した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、１５分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、樹脂結合型化合物８２を得た。

【０４１１】

反応５：樹脂－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（７８）の調製

市販の８－メチルデカン（０．７１ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，１．２１ｇ）、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．０ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（０．５０８ｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（８０ｍＬ）中の溶液として、化合物８２（４．０ｇ）へ加えた。混合物を１８時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したと判断した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、樹脂結合型化合物７８を得た。

【０４１２】

実施例１－２０：ペプチド樹脂化合物（８３）：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（８３）の合成

市販の８－メチルデカン（０．７１ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．６０ｇ）、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，０．６４ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（０．２５ｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の溶液として、化合物３４（１．８ｇ）へ加えた。混合物を１８時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したと判断した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）、メタノール（３×６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×６ｍＬ）で洗浄し、樹脂結合型化合物８３を得た。

【０４１３】

実施例１－２１：ペプチド樹脂化合物（８４）：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（８４）の合成

【０４１４】

反応１：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（８５）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－グルタミン酸γ－ｔ－ブチルエステル（０．９８ｇ）、ＴＢＴＵ（０．７４ｇ）、ＨＯＢｔ（０．３１ｇ）およびＤＩＰＥＡ（８１０μＬ）を、ＮＭＰ（２０ｍＬ）中の溶液として、化合物７１（１．８ｇ）へ加えた。反応混合物を１７時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）

および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物８５を得た。

【０４１５】

反応２：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－NH_2（８６）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物８５を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）、メタノール（３×２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２０ｍＬ）で洗浄し、化合物８６を得た。

【０４１６】

反応３：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－ＮＨＦｍｏｃ（８７）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トリプトファン（０．９８ｇ）、ＴＢＴＵ（０．７４ｇ）、ＨＯＢｔ（０．３１ｇ）およびＤＩＰＥＡ（８１０μＬ）を、ＮＭＰ（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物８６（２．２ｇ）へ加えた。反応混合物を１７時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×２５ｍＬ）、メタノール（３×２５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２５ｍＬ）で洗浄し、化合物８７を得た。

【０４１７】

反応４：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－NH_2（８８）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物８７を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）、メタノール（３×３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）で洗浄し、化合物８８を得た。

【０４１８】

反応５：樹脂－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（８４）の調製

市販の８－メチルデカン（０．３４ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．６０ｇ）、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，０．６４ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（０．２５ｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の溶液として、化合物８８（２．０ｇ）へ加えた。混合物を１８時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したと判断した。固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１６ｍＬ）で洗浄し、樹脂結合型化合物８４を得た。

【０４１９】

実施例１－２２：ペプチド樹脂化合物８９：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（８９）の合成

【０４２０】

反応１：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－ＮＨＦｍｏｃ（９０）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－グリシン（１．４９ｇ）、ＴＢＴＵ（１．６１ｇ）およびＤＩＰＥＡ（８７１μＬ）の溶液を、ＮＭＰ（２５ｍＬ）中の溶液として、市販のアラニン－２－クロロトリチル－樹脂（６６，２．５ｇ）へ加えた。混合物を３時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過し

た後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物９０を得た。

【０４２１】

反応２：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－ＮＨ$_2$（９１）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物９０を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物９１を得た。

【０４２２】

反応３：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－ＮＨＦｍｏｃ（９２）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トレオニン（８５３ｍｇ）、ブロモ－トリス－ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢｒＯＰ，１．１６５ｇ）およびＤＩＰＥＡ（１．３１ｍＬ）を、ジクロロメタン（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物９１（３３４ｍｇ）へ加えた。混合物を１時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物９２を得た。

【０４２３】

反応４：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－ＮＨ$_2$（９３）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物９２を１．５時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、樹脂結合型化合物９３を得た。

【０４２４】

反応５：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（９４）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔ－ブチルエステル（２．０６ｇ）、ＴＢＴＵ（１．６１ｇ）およびＤＩＰＥＡ（８７１μＬ）を、ＮＭＰ（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物９３へ加えた。混合物を３時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物９４を得た。

【０４２５】

反応６：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨ$_2$（９５）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物９４を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物９４を得た。

【０４２６】

反応７：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－ＮＨＦｍｏｃ（９６）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－アスパラギンδ－Ｎ－トリチル（１．４９ｇ）、ＴＢＴＵ（０．８０ｇ）およびＤＩＰＥＡ（４３５μＬ）を、ＤＭＦ（１０ｍＬ）中の溶液として、化合物９５へ加えた。混合物を１７時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物９６を得た。

【０４２７】

反応８：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ

）－ＮＨ$_2$（９７）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物９６を２時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物９７を得た。

【０４２８】

反応９：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ＮＨＦｍｏｃ（９８）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トリプトファン（１．０７ｇ）、ＴＢＴＵ（０．８０ｇ）およびＤＩＰＥＡ（４３５μＬ）を、ＮＭＰ（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物９７へ加えた。混合物を４３時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物９８を得た。

【０４２９】

反応１０：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ＮＨ$_2$（９９）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物９８を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物９９を得た。

【０４３０】

反応１１：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（８９）の調製

市販のウンデカン酸（９３０ｍｇ）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（０．７８ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（６７６ｍｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の溶液として、化合物９９へ加えた。混合物を２３時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて反応が不完了したと判断した。次いで、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したことが分かり、化合物８９を得た。

【０４３１】

実施例１－２３：ペプチド樹脂化合物１００：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（１００）の合成

反応１：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（１０１）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－グルタミン酸γ－ｔ－ブチルエステル（１．０６ｇ）、ＴＢＴＵ（０．８０ｇ）およびＤＩＰＥＡ（４３５μＬ）を、ＤＭＦ（１０ｍＬ）中の溶液として、化合物９５へ加えた。混合物を１７時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物１０１を得た。

【０４３２】

反応２：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－ＮＨ$_2$（１０２）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１０１を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物１０２を得た。

【０４３３】

反応３：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－ＮＨＦｍｏｃ（１０３）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トリプトファン（１．０７ｇ）、ＴＢＴＵ（０．８０ｇ）およびＤＩＰＥＡ（４３５μＬ）を、ＮＭＰ（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物１０２へ加えた。混合物を４３時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、１０３を得た。

【０４３４】

反応４：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－NH_2（１０４）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１０３を１時間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄し、化合物１０４を得た。

【０４３５】

反応５：樹脂－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（１００）の調製

市販のウンデカン酸（９３０ｍｇ）、１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（０．７８ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（６７６ｍｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（２０ｍＬ）中の溶液として、化合物１０４へ加えた。混合物を２３時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて反応が不完了したと判断した。次いで、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）、メタノール（３×１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１５ｍＬ）で洗浄した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したことが分かり、化合物１００を得た。

【０４３６】

実施例１－２４：ペプチド樹脂１０５：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１０５）の合成

【０４３７】

反応１：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－ＮＨＦｍｏｃ（１０６）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｎ－δ－ｔｅｒｔブトキシカルボニル－Ｌ－オルニチン（８．７３ｇ）を、ジクロロメタン（１００ｍＬ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，１３．４ｍＬ）中の溶液として、予め膨張させた市販の２－クロロトリチル樹脂１０７（１０．０ｇ）へ加えた。混合物を１時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したと判断した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１００ｍＬ）、メタノール（３×１００ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１００ｍＬ）で洗浄し、化合物１０６を得た。

【０４３８】

反応２：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－NH_2（１０８）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（１００ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１０６を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１００ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１３０ｍＬ）、メタノール（３×１３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１３０ｍＬ）で洗浄し、化合物１０８を得た。

【０４３９】

反応３：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－ＮＭｅＦｍｏｃ（１０９）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－サルコシン（２．６ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，２．７ｇ）、ＨＯＢｔ（１．１３ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．９ｍＬ）の溶液を、Ｎ－メチルピロリドン（１００ｍＬ）中の溶液として、化合物１０８（１０ｇ）へ加えた。混合物を６０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×１１５ｍＬ）、メタノール（３×１１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１１５ｍＬ）で洗浄し、化合物１０９を得た。

【０４４０】

反応４：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－ＮＭｅＨ（１１０）の調製

Ｎ－メチルピロリジン中の２０％のピペリジン（１００ｍＬ）中、化合物１０９を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１００ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１３０ｍＬ）、メタノール（３×１３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１３０ｍＬ）で洗浄し、化合物１１０を得た。

【０４４１】

反応５：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－ＮＨＦｍｏｃ（１１１）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トレオニン（２．９ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，２．７ｇ）、ＨＯＢｔ（１．１３ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．９ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（１００ｍＬ）中の溶液として、化合物１１０（１１ｇ）へ加えた。混合物を６０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×１１５ｍＬ）、メタノール（３×１１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１１５ｍＬ）で洗浄し、化合物１１１を得た。

【０４４２】

反応６：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－NH_2（１１２）の調製

Ｎ－メチルピロリジン中の２０％のピペリジン（１１０ｍＬ）中、化合物１１１を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１１０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１１０ｍＬ）、メタノール（３×１１０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１１０ｍＬ）で洗浄し、化合物１１２を得た。

【０４４３】

反応７：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（１１３）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－アスパラギン酸β－ｔｅｒｔ－ブチルエステル、ＴＢＴＵ（２．７ｇ）、ＨＯＢｔ（１．１３ｇ）を、Ｎ－メチルピロリドン（１００ｍＬ）中の溶液として、化合物１１２（１１ｇ）へ加え、次いで、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．９ｍＬ）を加えた。混合物を６０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－

メチルピロリジン（３×１１５ｍＬ）、メタノール（３×１１５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１１５ｍＬ）で洗浄し、１１３を得た。

【０４４４】

反応８：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－NH_2（１１４）の調製

Ｎ－メチルピロリジン中の２０％のピペリジン（１１５ｍＬ）中、化合物１１３を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１１５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１２０ｍＬ）、メタノール（３×１２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１２０ｍＬ）で洗浄し、化合物１１４を得た。

【０４４５】

反応９：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－ＮＨＦｍｏｃ（１１５）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－アスパラギン（５．０ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，２．７ｇ）、ＨＯＢｔ（１．１３ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．９ｍＬ）を、ＮＭＰ（１２０ｍＬ）中の溶液として、化合物１１４（１２ｇ）へ加えた。混合物を６０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×１２５ｍＬ）、メタノール（３×１２５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１２５ｍＬ）で洗浄し、化合物１１５を得た。

【０４４６】

反応１０：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－NH_2（１１６）の調製

Ｎ－メチルピロリジン中の２０％のピペリジン（１３０ｍＬ）中、化合物１１５を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（１３０ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１３０ｍＬ）、メタノール（３×１３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１３０ｍＬ）で洗浄し、化合物１１６を得た。

【０４４７】

反応１１：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ＮＨＦｍｏｃ（１１７）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トリプトファン（３．５７ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，２．７ｇ）、ＨＯＢｔ（１．１３ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．９ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（１３０ｍＬ）中の溶液として、化合物１１６（１３ｇ）へ加えた。混合物を６０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×１３５ｍＬ）、メタノール（３×１３５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１３５ｍＬ）で洗浄し、化合物１１７を得た。

反応１２：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－NH_2（１１８）の調製

Ｎ－メチルピロリジン中の２０％のピペリジン（１３０ｍＬ）中、化合物１１７を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン中の２０

％のピペリジン（１３０ｍＬ）中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１３０ｍＬ）、メタノール（３×１３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１３０ｍＬ）で洗浄し、化合物１１８を得た。

【０４４８】

反応１３：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１０５）の調製

市販の８－メチルデカン（１．５６ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，２．７ｇ）、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，２．９ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１．２５ｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（１２０ｍＬ）中の溶液として、化合物１１８（１３．８ｇ）へ加えた。混合物を１８時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したと判断した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×１２０ｍＬ）、メタノール（３×１２０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×１２０ｍＬ）で洗浄し、化合物１０５を得た。

【０４４９】

実施例１－２５：ペプチド樹脂化合物１１９：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１１９）の合成

【０４５０】

反応１：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－ＮＨＦｍｏｃ（１２０）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｄ－グルタミン酸γ－ｔ－ブチルエステル（２．２９ｇ）、ＴＢＴＵ（１．７３ｇ）、ＨＯＢｔ（０．７３ｇ）およびＤＩＰＥＡ（１．９ｍＬ）を、ＮＭＰ（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物１１４（３．３ｇ）へ加えた。混合物を３時間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×２５ｍＬ）、メタノール（３×２５ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×２５ｍＬ）で洗浄し、化合物１２０を得た。

【０４５１】

反応２：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－ＮＨ２（１２１）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１２０を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）、メタノール（３×３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）で洗浄し、化合物１２１を得た。

【０４５２】

反応３：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－ＮＨＦｍｏｃ（１２２）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－トリプトファン（２．３０ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，１．７ｇ）、ＨＯＢｔ（０．７３ｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，１．９ｍＬ）を、Ｎ－メチルピロリドン（２５ｍＬ）中の溶液として、化合物１２１（３．５ｇ）へ加えた。混合物を６０分間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、標準的なＫａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いて、少量のビーズを遊離アミンの存在について試験した。Ｋａｉｓｅｒ試験が黄色を呈示したので、カップリングは完了したと判断した。ガラス焼結漏斗から濾過した後、樹脂を有する生成物をＮ－メチルピロリジン（３×２５ｍＬ）、メタノール（３×２５ｍＬ）および再度Ｎ－

メチルピロリジン（３×２５ｍＬ）で洗浄し、化合物１２２を得た。

【０４５３】

反応４：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－NH_2（１２３）の調製

Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中、化合物１２２を３０分間振盪した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルピロリジン（２５ｍＬ）中の２０％のピペリジン中に再懸濁させ、３０分間攪拌した。反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）、メタノール（３×３０ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×３０ｍＬ）で洗浄し、化合物１２３を得た。

【０４５４】

反応５：樹脂－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１１９）の調製

市販の８－メチルデカン（０．５０ｇ）、２－（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウムテトラフルロボラート（ＴＢＴＵ，０．８６ｇ）、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ，０．９４ｍＬ）および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（０．３５ｇ）を、Ｎ－メチルピロリジン（３０ｍＬ）中の溶液として、化合物１２３（３．８ｇ）へ加えた。混合物を１８時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験を用いて反応が完了したと判断した反応混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をＮ－メチルピロリジン（３×３６ｍＬ）、メタノール（３×３６ｍＬ）および再度Ｎ－メチルピロリジン（３×３６ｍＬ）で洗浄し、化合物１１９を得た。

【０４５５】

実施例１－２６：ペプチド樹脂化合物７６のエステル化および切断

Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１２６）

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン（１．７ｇ）、４－ジメチルアミノピリジン（１１７ｍｇ）およびヨウ化Ｎ－メチル－２－クロロピリジニウム（１．２３ｇ）をアルゴンで十分にフラッシュし、次いで、ジクロロメタン（２０ｍＬ）中に懸濁させた。トリエチルアミン（７６μＬ）を加え、次いで、反応混合物を攪拌し、均質な溶液を得た。化合物７６（２．０ｇ）を溶液へ加えた。そのフラスコを再度アルゴンでフラッシュし、次いで、１４時間攪拌した。次いで、得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで十分に洗浄した。固体を、ジクロロメタン（２１ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（７ｍＬ）および酢酸（７ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１２６（２８５ｍｇ）を白色固体として得た。

【０４５６】

実施例１－２７：ペプチド樹脂化合物７７のエステル化および切断

Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－トリデカン酸アミド（１２７）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン（１．４８ｇ）、４－ジメチルアミノピリジン（１０２ｍｇ）およびヨウ化Ｎ－メチル－２－クロロピリジニウム（１．０７ｇ）をアルゴンで十分にフラッシュし、次いで、ジクロロメタン（２０ｍＬ）中に懸濁させた。トリエチルアミン（１．１７ｍＬ）を加え、次いで、反応混合物を攪拌し、均質な溶液を得た。化合物７７（１．７５ｇ）を溶液へ加えた。そのフラスコを再度アルゴンでフラッシュし、次いで、１４時間攪拌した。次いで、得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで十分に洗浄した。固体をジクロロメタン（１５ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（５ｍＬ）および酢酸（５ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、４時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１２７（４９０ｍｇ）を白色固体として得た

。

【０４５７】

実施例１－２８：ペプチド樹脂化合物７８のエステル化および切断

Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１２８）の調製

化合物７８（５．９ｇ）へ、ジクロロメタン中（６０ｍＬ）の市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン（４．９ｇ）、ブロモ－トリス－ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢｒＯＰ，６．５ｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（７．３ｍＬ）の溶液を加えた。ジメチルアミノピリジン（２５ｍｇ）を加え、次いで、混合物を２時間攪拌した。２時間後、混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、ジクロロメタン（３×６０ｍＬ）で洗浄し、次いで、カップリング手順を繰り返した。得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×６０ｍＬ）およびメタノール（３×６０ｍＬ）で洗浄し、次いで、水酸化カリウムペレットにより減圧下で乾燥した。この乾燥した樹脂をジクロロメタン（２７ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（９ｍＬ）および酢酸（９ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１２８（２．１ｇ）を白色固体として得た。

【０４５８】

実施例１－２９：ペプチド樹脂化合物８３のエステル化および切断

Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＯＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１２９）の調製

化合物８３（３．３ｇ）へ、ジクロロメタン（６０ｍＬ）中の市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン（３．２ｇ）、ブロモ－トリス－ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢｒＯＰ，４．２ｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（４．７ｍＬ）の溶液を加えた。ジメチルアミノピリジン（２３ｍｇ）を加え、次いで、混合物を２時間攪拌した。２時間後、混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、ジクロロメタン（３×３０ｍＬ）で洗浄し、次いで、カップリング手順を繰り返した。得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３０ｍＬ）およびメタノール（３×３０ｍＬ）で洗浄し、次いで、水酸化カリウムペレットにより減圧下で乾燥した。この乾燥した樹脂をジクロロメタン（２４ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（６ｍＬ）および酢酸（６ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１２９（２．９ｇ）を白色固体として得た。

【０４５９】

実施例１－３０：ペプチド樹脂化合物７５のエステル化および切断

Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＡｌｌｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（１３０）の調製

Ｎα－（アリルオキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン１２４（１．３４ｇ，下記参照）、４－ジメチルアミノピリジン（１５ｍｇ）およびヨウ化Ｎ－メチル－２－クロロピリジニウム（１．５９ｇ）をアルゴンで十分にフラッシュし、次いで、ジクロロメタン（３０ｍＬ）中に懸濁させた。トリエチルアミン（１．７４ｍＬ）を加え、次いで、反応混合物を攪拌し、均質な溶液を得た。化合物７５（１．２５ｇ）を溶液へ加えた。そのフラスコを再度アルゴンでフラッシュし、次いで、１４時間攪拌した。次いで、得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで十分に洗浄した。固体をジクロロメタン（１２ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（４ｍＬ）および酢酸（４ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１３０（１５４ｍｇ）を白色固体として得た。

【０４６０】

実施例１－３１：ペプチド樹脂化合物８４のエステル化および切断

Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（

ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１３１）の調製

化合物８４（４．８ｇ）へ、ジクロロメタン（６０ｍＬ）中の市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン（３．２ｇ）、ブロモ－トリス－ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢｒＯＰ，４．２ｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（４．７ｍＬ）の溶液を加えた。ジメチルアミノピリジン（２３ｍｇ）を加え、次いで、混合物を２時間攪拌した。２時間後、混合物をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、ジクロロメタン（３×３０ｍＬ）で洗浄し、次いで、カップリング手順を繰り返した。得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３０ｍＬ）およびメタノール（３×３０ｍＬ）で洗浄し、次いで、水酸化カリウムペレットにより減圧下で乾燥した。この乾燥した樹脂をジクロロメタン（２４ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（６ｍＬ）および酢酸（６ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１３１（２．９２ｇ）を白色固体として得た。

【０４６１】

実施例１－３２：ペプチド樹脂化合物８９のエステル化および切断

Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＡｌｌｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（１３２）の調製

Ｎα－（アリルオキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン１２４（１．３４ｇ，下記参照）、４－ジメチルアミノピリジン（１５ｍｇ）およびヨウ化Ｎ－メチル－２－クロロピリジニウム（１．５９ｇ）をアルゴンで十分にフラッシュし、次いで、ジクロロメタン（３０ｍＬ）中に懸濁させた。トリエチルアミン（１．７４ｍＬ）を加え、次いで、反応混合物を攪拌し、均質な溶液を得た。化合物８９（１．２５ｇ）を溶液へ加えた。そのフラスコを再度アルゴンでフラッシュし、次いで、１４時間攪拌した。次いで、得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで十分に洗浄した。固体をジクロロメタン（１２ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（４ｍＬ）および酢酸（４ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１３２（１４７ｍｇ）を白色固体として得た。

【０４６２】

実施例１－３３：ペプチド樹脂化合物１００のエステル化および切断

Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＡｌｌｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（１３３）の調製

Ｎα－（アリルオキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン１２４（１．３４ｇ，下記参照）、４－ジメチルアミノピリジン（１５ｍｇ）およびヨウ化Ｎ－メチル－２－クロロピリジニウム（１．５９ｇ）をアルゴンで十分にフラッシュし、次いで、ジクロロメタン（３０ｍＬ）中に懸濁させた。トリエチルアミン（１．７４ｍＬ）を加え、次いで、反応混合物を攪拌し、均質な溶液を得た。化合物１００（１．２５ｇ）を溶液へ加えた。そのフラスコを再度アルゴンでフラッシュし、次いで、１４時間攪拌した。次いで、得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで十分に洗浄した。固体をジクロロメタン（１２ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（４ｍＬ）および酢酸（４ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１３３（９５ｍｇ）を白色固体として得た。

【０４６３】

実施例１－３４：ペプチド樹脂化合物１０５のエステル化および切断

Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１３４）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン（２．０ｇ）、４－ジメチルアミノピリジン（１４０ｍｇ）およびヨウ化Ｎ－メチル－２－クロロピリジニウム（１．４６ｇ）をアルゴンで十分にフラッシュし、次いで、ジクロロメタン（２０ｍＬ）中に懸濁させた。トリエチルアミン（１．６ｍＬ）を加え、次いで、反応混合物を攪拌し、均質な溶液を得た。化合物１０５（２．０ｇ）を溶液へ加えた。そのフラス

コを再度アルゴンでフラッシュし、次いで、１４時間攪拌した。次いで、得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで十分に洗浄した。固体をジクロロメタン（２１ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（７ｍＬ）および酢酸（７ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１３４（８９０ｍｇ）を白色固体として得た。

【０４６４】

実施例１－３５：ペプチド樹脂化合物１１９のエステル化および切断

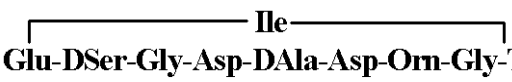
Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１３５）の調製

市販のＮα－（９－フルオレニルメトキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン（２．０ｇ）、４－ジメチルアミノピリジン（１４０ｍｇ）およびヨウ化Ｎ－メチル－２－クロロピリジニウム（１．４６ｇ）をアルゴンで十分にフラッシュし、次いで、ジクロロメタン（２０ｍＬ）中に懸濁させた。トリエチルアミン（１．６ｍＬ）を加え、次いで、反応混合物を攪拌し、均質な溶液を得た。化合物１１９（１．７５ｇ）を溶液へ加えた。そのフラスコを再度アルゴンでフラッシュし、次いで、１４時間攪拌した。次いで、得られた樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで十分に洗浄した。固体をジクロロメタン（２１ｍＬ）、２，２，２－トリフルオロエタノール（７ｍＬ）および酢酸（７ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、３時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、濾液を蒸発させることにより、所望のペプチド１３５（７６１ｍｇ）を白色固体として得た。

【０４６５】

実施例１－３６：化合物Ｃ１６：

【化３４６】



（Ｃ１６）の調製

【０４６６】

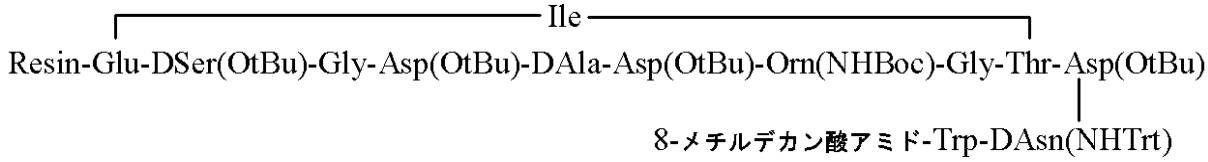
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１３７）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１７ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，５５ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２２μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２６（１７４ｍｇ）の溶液へ加えた。次いで、化合物９（３００ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し（３×３ｍＬ）、次いで、減圧下で乾燥させ、樹脂結合型化合物１３７を得た。

【０４６７】

反応２：

【化３４７】



（１３８）の調製

化合物１３７をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（ト

リフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート(ｓｏｄｉｕｍ　ｔｈｉｏｃａｒｂｏｚｏａｔｅ）、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１３８を得た。

【０４６８】

反応３：化合物（Ｃ１６）の調製

乾燥した化合物１３８をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、純粋な生成物Ｃ１６（３．７ｍｇ）を得た。

【０４６９】

実施例１－３７：化合物Ｃ７６：

【化３４８】

（Ｃ７６）の調製

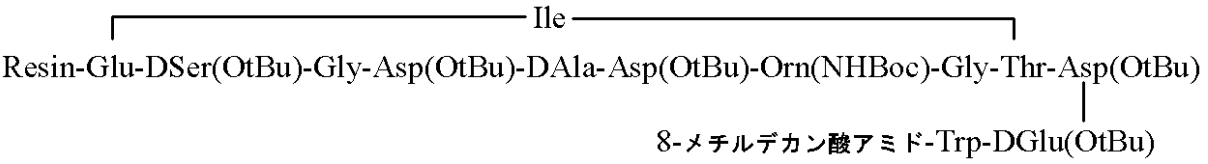
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１４０）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２８（１７４ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物９（３００ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し（３×３ｍＬ）、次いで、減圧下で乾燥させ、樹脂結合型化合物１４０を得た。

【０４７０】

反応２：

【化３４９】



（１４１）の調製

化合物１４０をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１４１を得た。

【０４７１】

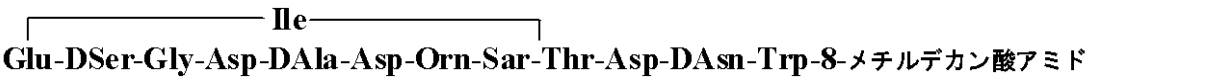
反応３：化合物（Ｃ７６）の調製

乾燥した化合物１４１を、ジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、純粋な生成物Ｃ７６（９．０ｍｇ）を得た。

【０４７２】

実施例１－３８：化合物Ｃ７５

【化３５０】



（Ｃ７５）の調製

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１４３）の調製

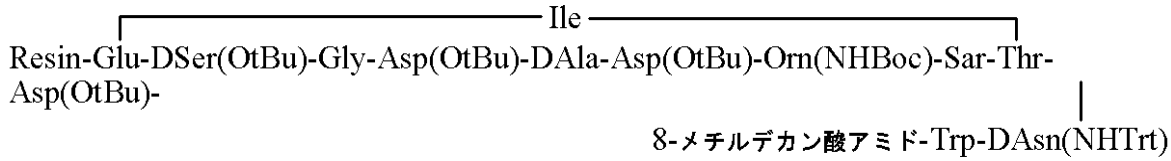
ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１３４（２４３ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物２１（３２２ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅ

ｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し（３×３ｍＬ）、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１４３を得た。

【０４７３】

反応２：

【化３５１】



（１４４）の調製

化合物１４３をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂ＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１４４を得た。

【０４７４】

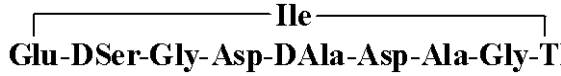
反応３：化合物（Ｃ７５）の調製

乾燥した化合物１４４をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ７５（８．１ｍｇ）を得た。

【０４７５】

実施例１－３９：化合物Ｃ７４：

【化３５２】



（Ｃ７４）の調製

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１４６）の調製

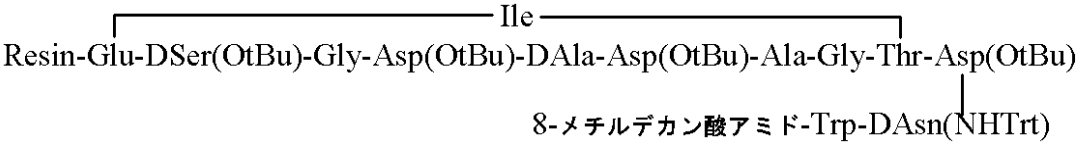
ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２７ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキ

シートリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，８８．５ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（１００μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２６（２７８ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物３８（２２７ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し（３×５ｍＬ）、次いで、減圧下で乾燥し、化合物１４６を得た。

【０４７６】

反応２：化合物（１４７）

【化３５３】



（１４７）の調製

化合物１４６をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂ＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１４７を得た。

【０４７７】

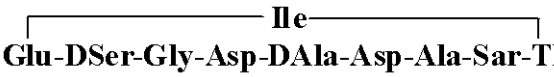
反応３：化合物（Ｃ７４）の調製

乾燥した化合物１４７をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ７４（３．９ｍｇ）を得た。

【０４７８】

実施例１－４０：

【化３５４】



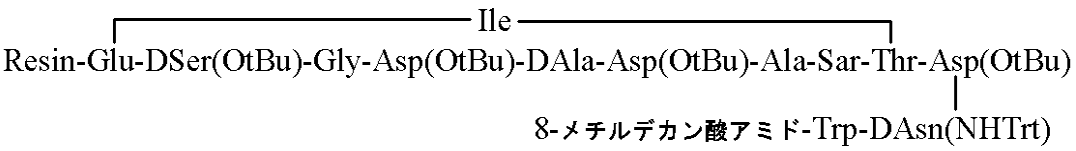
（Ｃ８６）の調製

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１４９）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２９（２２８ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物２１（２８０ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し（３×３ｍＬ）、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１４９を得た。

反応２：

【化３５５】



（１５０）の調製

化合物１４９をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂ＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）、ジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応を７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１５０を得た。

【０４７９】

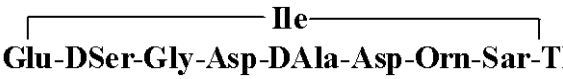
反応３：（Ｃ８６）の調製

乾燥した化合物１５０をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ８６（２．８ｍｇ）を得た。

【０４８０】

実施例１－４１：化合物Ｃ７９：

【化３５６】



（Ｃ７９）の調製

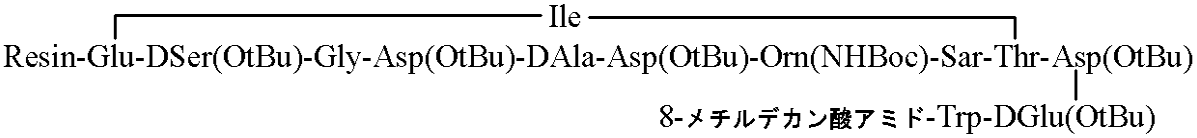
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１５２）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（５２μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１３５（２１７ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物２１（２７８ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、樹脂結合型化合物１５２を得た。

【０４８１】

反応２：

【化３５７】



（１５３）の調製

化合物１５１をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂を、ＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１５３を得た。

【０４８２】

反応３：化合物（Ｃ７９）の調製

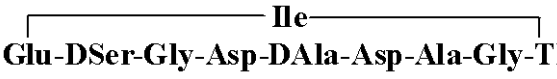
乾燥した化合物１５３をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１

８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ７９（１．５ｍｇ）を得た。

【０４８３】

実施例１－４２：化合物Ｃ８１：

【化３５８】



（Ｃ８１）の調製

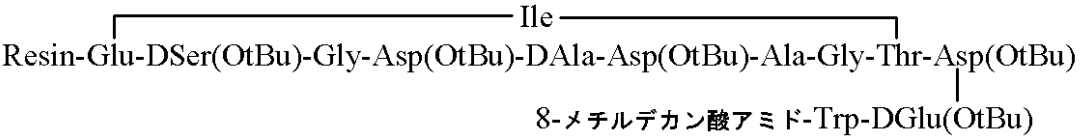
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１５５）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２８（１８３ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物３８（２２７ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥し、化合物１５５を得た。

【０４８４】

反応２：

【化３５９】



（１５６）の調製

化合物１５５をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂を、ＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１５６を得た。

【０４８５】

反応３：（Ｃ８１）の調製

乾燥した化合物１５６をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した

。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ８１（２．３ｍｇ）を得た。

【０４８６】

実施例１－４３：化合物Ｃ８０：

【化３６０】

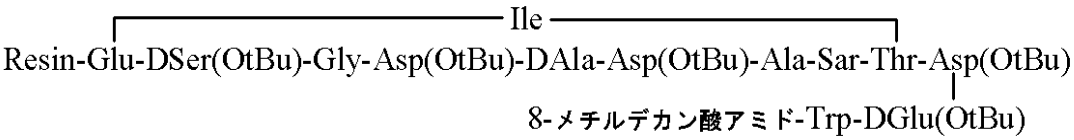
（Ｃ８０）の調製

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１５８）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１３１（１９６ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物２１（２７８ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１５８を得た。

反応２：

【化３６１】



（１５９）の調製

【０４８７】

樹脂１５８をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂を、ＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１５９を得た。

【０４８８】

反応３：化合物（Ｃ８０）の調製

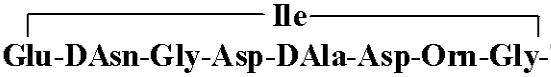
乾燥した化合物１５９をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中

に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ８０（６．２ｍｇ）を得た。

【０４８９】

実施例１－４４：化合物Ｃ７２：

【化３６２】



（Ｃ７２）の調製

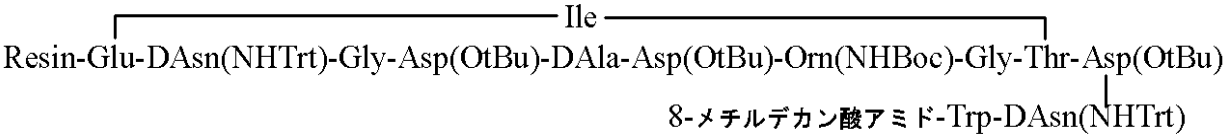
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１６１）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２６（２７４ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５０（３０３ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１６１を得た。

【０４９０】

反応２：

【化３６３】



（１６２）の調製

化合物１６１をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂を、ＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）、ジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、および１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１６２を得た。

【０４９１】

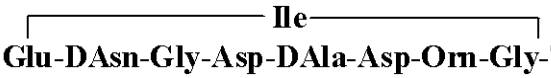
反応３：（Ｃ７２）の調製

乾燥した化合物１６２をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間撹拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ７２（２．９ｍｇ）を得た。

【０４９２】

実施例１－４５：Ｃ３５２：

【化３６４】



（Ｃ３５２）の調製

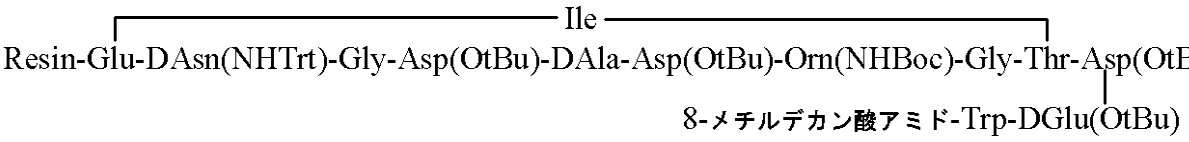
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１６４）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１２７（１８３ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５０（２６５ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間撹拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間撹拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１６４を得た。

【０４９３】

反応２：

【化３６５】



（１６５）の調製

化合物１６４をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間撹拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂を、ＤＭＦ：ピペリジン　４：１

（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１６５を得た。

【０４９４】

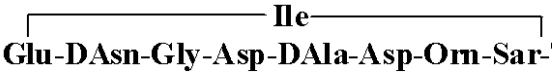
反応３：化合物（Ｃ３５２）の調製

乾燥した化合物１６５をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３５２（４．７ｍｇ）を得た。

【０４９５】

実施例１－４６：化合物Ｃ８５：

【化３６６】



（Ｃ８５）の調製

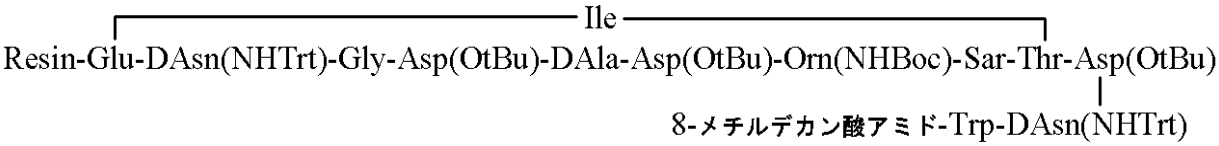
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（Ｂｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１６７）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１３４（２４８ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物４０（２３８ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１６７を得た。

【０４９６】

反応２：

【化３６７】



（１６８）の調製

化合物１６７をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルム

アミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１６８を得た。

【０４９７】

反応３：化合物（Ｃ８５）の調製

乾燥した化合物１６８をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ８５（３．７ｍｇ）を得た。

【０４９８】

実施例１－４７：化合物Ｃ３５３：

【化３６８】

（Ｃ３５３）の調製

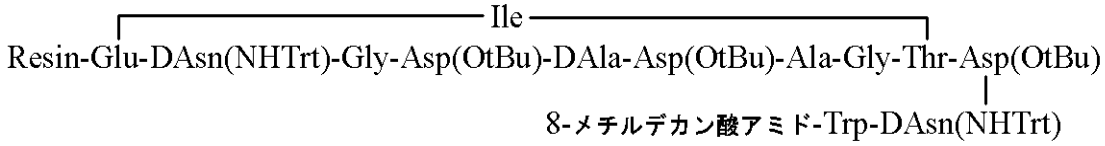
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１７０）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（５２μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１２６（２０９ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５２（３４０ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１７０を得た。

【０４９９】

反応２：

【化３６９】



（１７１）の調製

樹脂１７０をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１７１を得た。

【０５００】

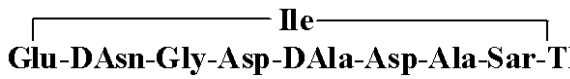
反応３：化合物（Ｃ３５３）の調製

乾燥した化合物１７１をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３５３（６．８ｍｇ）を得た。

【０５０１】

実施例１－４８：化合物Ｃ８２：

【化３７０】



（Ｃ８２）の調製

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１７３）の調製

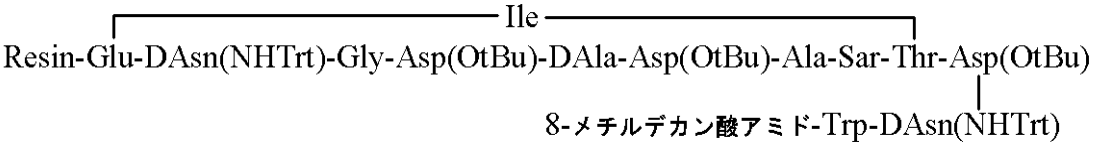
ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２９（２２１ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物４０（２３８ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し（３×３ｍＬ）、次いで、減圧下で乾燥し、化合物

１７３を得た。

【０５０２】

反応２：

【化３７１】



（１７４）の調製

化合物１７３をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１７４を得た。

【０５０３】

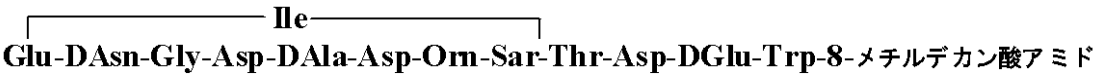
反応３：調製（Ｃ８２）

乾燥した化合物１７４をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ８２（３．８ｍｇ）を得た。

【０５０４】

実施例１－４９：化合物Ｃ８３：

【化３７２】



（Ｃ８３）の調製

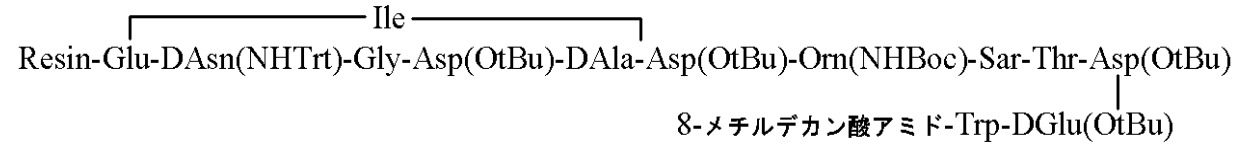
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１７６）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１３５（２２１ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物４０（２３８ｍｇ）を

加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し（３×３ｍＬ）、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１７６を得た。

反応２：

【化３７３】



（１７７）の調製

化合物１７６をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂を、ＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１７７を得た。

【０５０５】

反応３：化合物（Ｃ８３）の調製

乾燥した化合物１７７をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ８３（４．３ｍｇ）を得た。

【０５０６】

実施例１－５０：化合物Ｃ８４：

【化３７４】

（Ｃ８４）の調製

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１７９）の調製

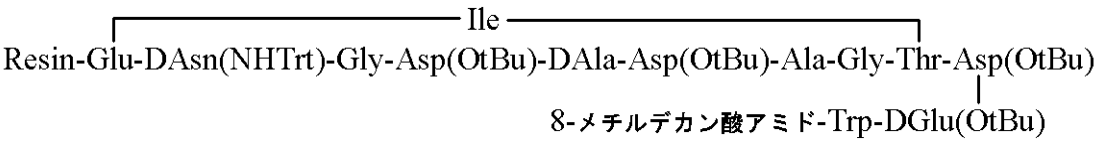
ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，

６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２８（１８３ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５２（２１２ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１７９を得た。

【０５０７】

反応２：

【化３７５】



（１８０）の調製

化合物１７９をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１８０を得た。

【０５０８】

反応３：化合物（Ｃ８４）の調製

乾燥した化合物１８０をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ８４（６．６ｍｇ）を得た。

【０５０９】

実施例１－５１：化合物Ｃ３５４：

【化３７６】

（Ｃ３５４）の調製

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｌａ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸

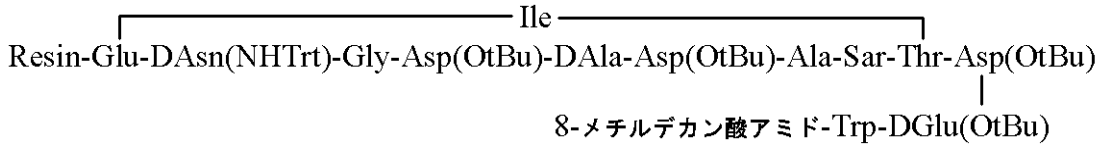
アミド（１８２）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１３１（１９６ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物４０（２３８ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１８２を得た。

【０５１０】

反応２：

【化３７７】



（１８３）の調製

化合物１８２をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂を、ＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１８３を得た。

【０５１１】

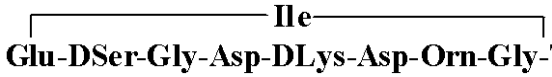
反応３：化合物（Ｃ３５４）の調製

乾燥した化合物１８３をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３５４（４．７ｍｇ）を得た。

【０５１２】

実施例１－５２：化合物Ｃ７３：

【化３７８】



（Ｃ７３）の調製

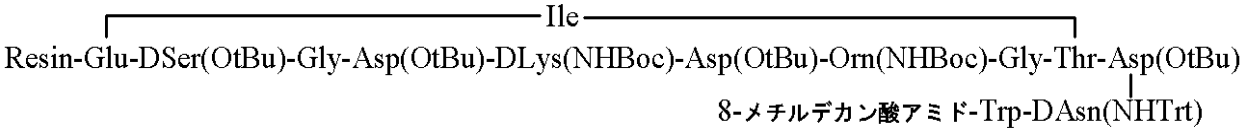
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１８５）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２６（２９８ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５４（３１２ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１８５を得た。

【０５１３】

反応２：

【化３７９】



（１８６）の調製

化合物１８５をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１８６を得た。

【０５１４】

反応３：化合物（Ｃ７３）の調製

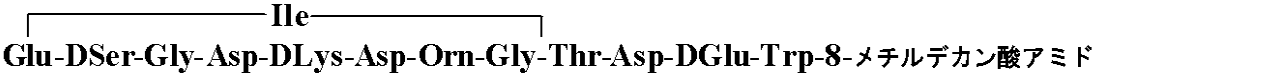
乾燥した化合物１８６をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ７３（２４．６ｍｇ）を

得た。

【０５１５】

実施例１－５３：化合物Ｃ３５５：

【化３８０】



（Ｃ３５５）の調製

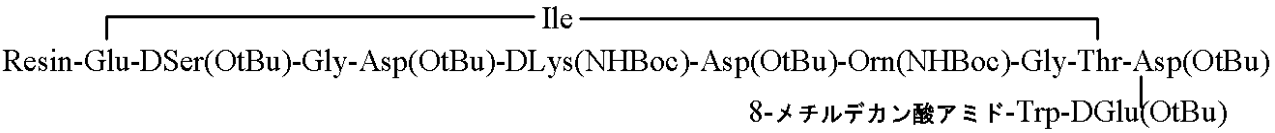
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）ｕ－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１８８）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１２８（１８３ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５４（３２２．６ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１８８を得た。

【０５１６】

反応２：

【化３８１】



（１８９）の調製

化合物１８８をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１８９を得た。

【０５１７】

反応３：（Ｃ３５５）の調製

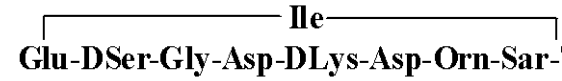
乾燥した化合物１８９をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏

斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３５５（８．２ｍｇ）を得た。

【０５１８】

実施例１－５４：化合物Ｃ３５６：

【化３８２】



（Ｃ３５６）の調製

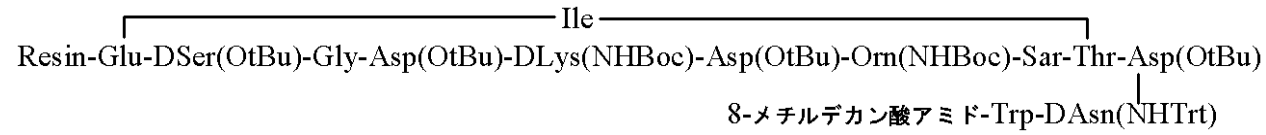
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（１９１）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１３４（２４３ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物３４（２６３ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１９１を得た。

【０５１９】

反応２：

【化３８３】



（１９２）の調製

化合物１９１をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（

１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１９２を得た。

【０５２０】

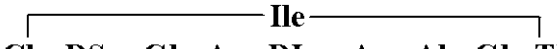
反応３：（Ｃ３５６）の調製

乾燥した化合物１９２をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３５６（８．７ｍｇ）を得た。

【０５２１】

実施例１－５５：化合物Ｃ３５７：

【化３８４】



（Ｃ３５７）の調製

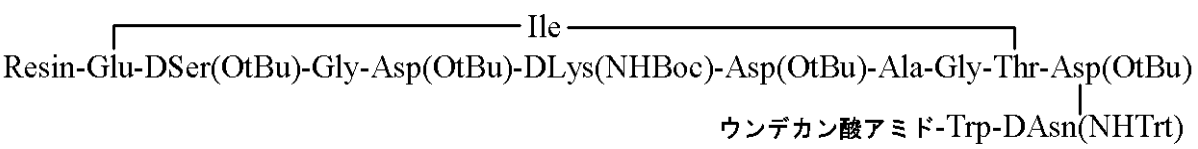
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＡｌｌｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（１９４）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１４ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，４４ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２０μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１３２（１４７ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物３４（２００ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１９４を得た。

【０５２２】

反応２：

【化３８５】



（１９５）の調製

化合物１９４をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルム

アミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１９５を得た。

【０５２３】

反応３：（Ｃ３５７）の調製

乾燥した化合物１９５をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物（４３ｍｇ）を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３５７（４．５ｍｇ）を得た。

【０５２４】

実施例１－５６：化合物Ｃ３５８：

【化３８６】

（Ｃ３５８）の調製

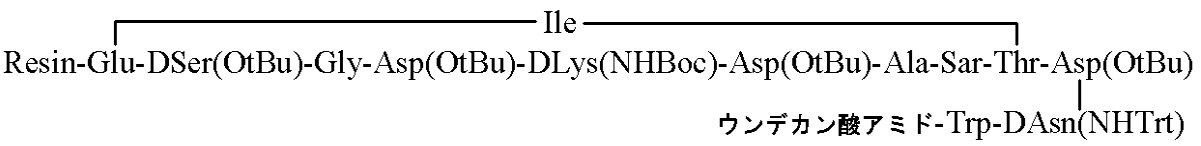
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＡｌｌｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（１９７）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１４ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，４４ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２０μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１３０（１５４ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物３４（２００ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物１９７を得た。

【０５２５】

反応２：

【化３８７】



（１９８）の調製

化合物１９７をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物１９８を得た。

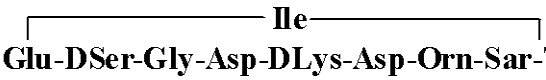
反応３：化合物（Ｃ３５８）の調製

乾燥した化合物１９８をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３５８（２．７ｍｇ）を得た。

【０５２６】

実施例１－５７：化合物Ｃ３５９：

【化３８８】



（Ｃ３５９）の調製

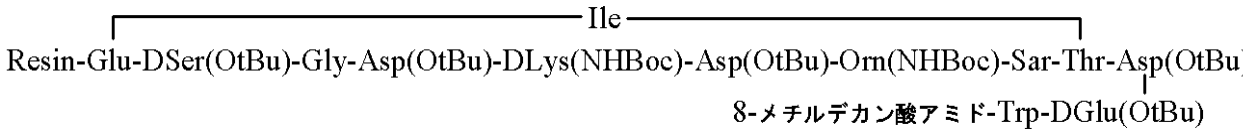
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（２００）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１３５（２１７ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物３４（２６３ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し（３×５ｍＬ）、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２００を得た。

【０５２７】

反応２：

【化３８９】



（２０１）の調製

化合物２００をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２０１を得た。

【０５２８】

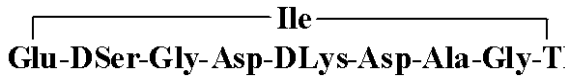
反応３：（Ｃ３５９）の調製

乾燥した化合物２０１をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３５９（４．７ｍｇ）を得た。

【０５２９】

実施例１－５８：化合物Ｃ３６０：

【化３９０】



（Ｃ３６０）の調製

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＡｌｌｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－ウンデカン酸アミド（２０３）の調製

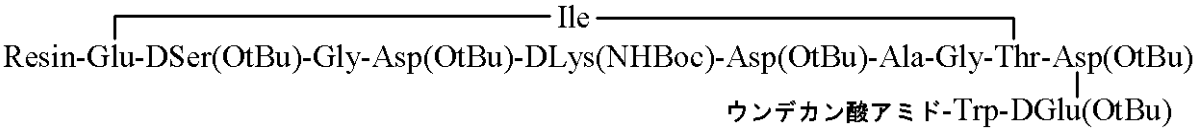
ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１４ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，４４ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２０μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１３３（９５ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物３４（２００ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－ト

リス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２０３を得た。

【０５３０】

反応２：

【化３９１】



（２０４）の調製

化合物２０３をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２０４を得た。

【０５３１】

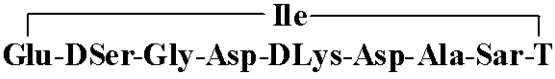
反応３：化合物（Ｃ３６０）の調製

乾燥した化合物２０４をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３６０（３．４ｍｇ）を得た。

【０５３２】

実施例１－５９：化合物Ｃ３６１：

【化３９２】



（Ｃ３６１）の調製

反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＳｅｒ（ＯｔＢｕ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（２０６）の調製

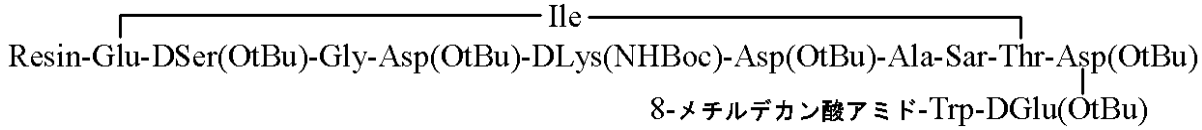
ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，

６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１３１（１９６ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物３４（２７０ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２０６を得た。

【０５３３】

反応２：

【化３９３】



（２０７）の調製

化合物２０６をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥した。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２０７を得た。

【０５３４】

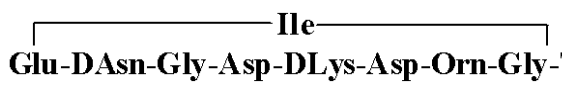
反応３：化合物（Ｃ３６１）の調製

乾燥した化合物２０７をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３６１（６．３ｍｇ）を得た。

【０５３５】

実施例１－６０：化合物Ｃ７７：

【化３９４】



（Ｃ７７）の調製

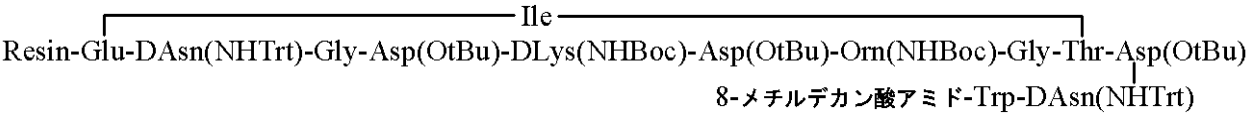
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（２０９）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２６（２４３ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物６０（２１７ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２０９を得た。

【０５３６】

反応２：

【化３９５】



（２１０）の調製

化合物２０９をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２１０を得た。

【０５３７】

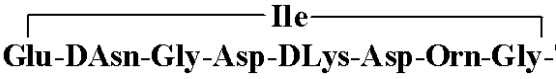
反応３：化合物（Ｃ７７）の調製

乾燥した化合物２１０をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ７７（３．８ｍｇ）を得た。

【０５３８】

実施例１－６１：化合物Ｃ３６２：

【化３９６】



（Ｃ３６２）の調製

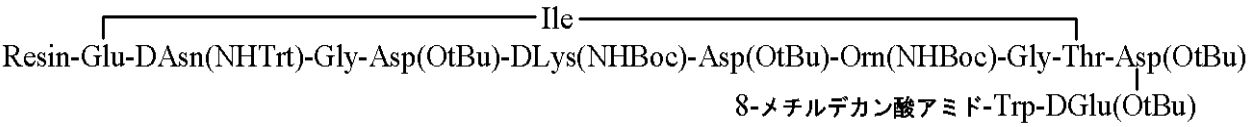
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（２１２）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１２８（１８３ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物６０（２１７ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥し、化合物２１２を得た。

【０５３９】

反応２：

【化３９７】



（２１３）の調製

化合物２１２をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２１３を得た。

【０５４０】

反応３：化合物（Ｃ３６２）の調製

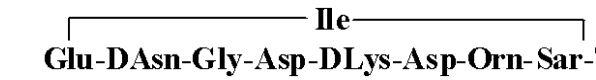
乾燥した化合物２１３をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセト

ニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３６２（３．１ｍｇ）を得た。

【０５４１】

実施例１－６２：化合物Ｃ３６３：

【化３９８】



（３６３）の調製

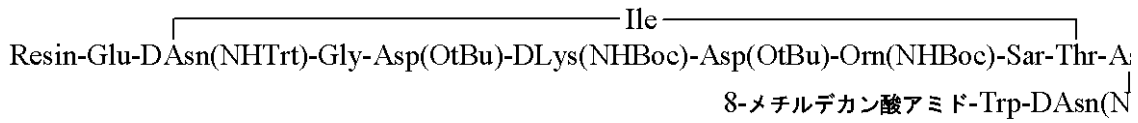
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（２１５）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１３４（３４２ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５６（４１６ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２１５を得た。

【０５４２】

反応２：

【化３９９】



（２１６）の調製

化合物２１５をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２１６を得た。

【０５４３】

反応３：化合物（Ｃ３６３）の調製

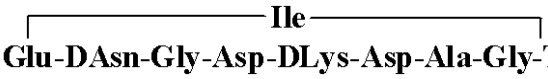
乾燥した化合物２１６をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１

８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３６３（６．１ｍｇ）を得た。

【０５４４】

実施例１－６３：化合物Ｃ３６４：

【化４００】



（Ｃ３６４）の調製

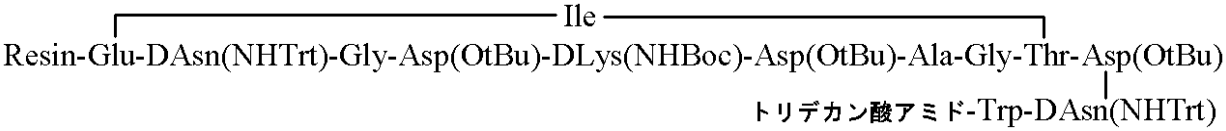
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－トリデカン酸アミド（２１８）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２７（１４６ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物６２（１７１ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２１８を得た。

【０５４５】

反応２：

【化４０１】



（２１９）の調製

化合物２１８をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２１９を得た。

【０５４６】

反応３：化合物（Ｃ３６４）の調製

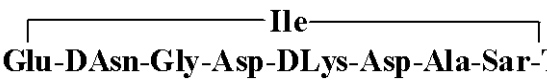
乾燥した化合物２１９をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した

。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３６４（４．８ｍｇ）を得た。

【０５４７】

実施例１－６４：化合物Ｃ３６５：

【化４０２】



（Ｃ３６５）の調製

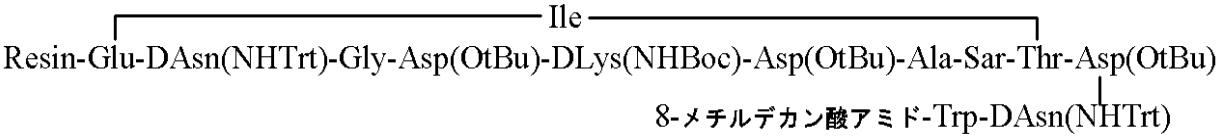
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（２２１）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１２９（１９５ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５６（４００ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過しジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２２１を得た。

【０５４８】

反応２：

【化４０３】



（２２２）の調製

化合物２２１をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２２２を得た。

【０５４９】

反応３：化合物（Ｃ３６５）の調製

乾燥した化合物２２２をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３６５（１０．２ｍｇ）を得た。

【０５５０】

実施例１－６５：化合物Ｃ３６６：

【化４０４】

（Ｃ３６６）の調製

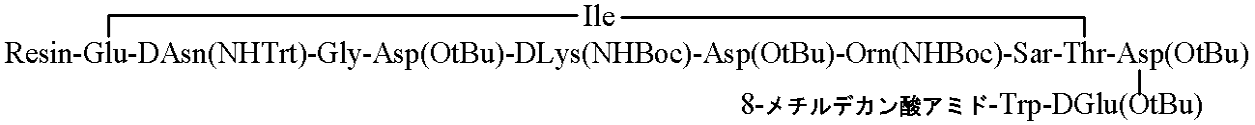
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｏｒｎ（ＮＨＢｏｃ）－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（２２４）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１３５（２１７ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５６（２１７ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２２４を得た。

【０５５１】

反応２：

【化４０５】



（２２５）の調製

化合物２２４をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチ

ルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２２５を得た。

【０５５２】

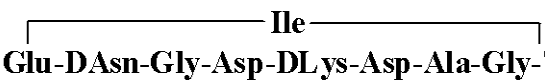
反応３：化合物（Ｃ３６６）の調製

化合物２２５をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３６６（１．１ｍｇ）を得た。

【０５５３】

実施例１－６６：化合物Ｃ３６７：

【化４０６】



（Ｃ３６７）の調製

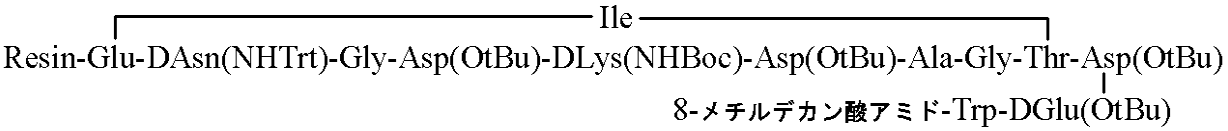
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｇｌｙ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（２２７）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）中の化合物１２８（１８３ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物６２（２９４ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが完了したと判断した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×３ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２２７を得た。

【０５５４】

反応２：

【化４０７】



（２２８）の調製

化合物２２７をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルム

アミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過した。固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２２８を得た。

【０５５５】

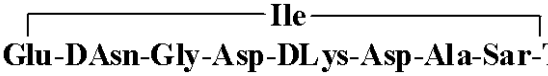
反応３：（Ｃ３６７）の調製

乾燥した化合物２２８をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、生成物Ｃ３６６（６．９ｍｇ）を得た。

【０５５６】

実施例１－６７：化合物Ｃ３６８：

【化４０８】



（Ｃ３６８）の調製

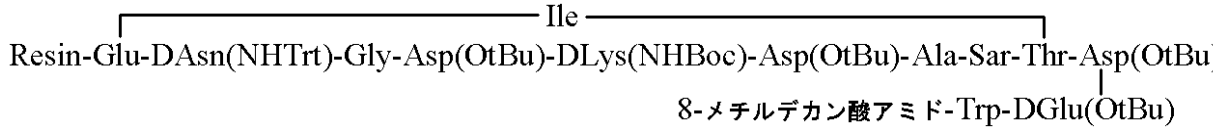
反応１：樹脂－Ｇｌｕ（αＯＡｌｌｙｌ）－ＤＡｓｎ（ＮＨＴｒｔ）－Ｇｌｙ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＬｙｓ（ＮＨＢｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ａｌａ－Ｓａｒ－Ｔｈｒ（ＯＩｌｅＮＨＦｍｏｃ）－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＤＧｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｔｒｐ－８－メチルデカン酸アミド（２３０）の調製

ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６６ｍｇ）およびジイソプロピルエチルアミン（２６μＬ）を、ジメチルホルムアミド（２ｍＬ）中の化合物１３１（２９６ｍｇ）の溶液へ加えた。化合物５６（４１６ｍｇ）を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。樹脂の一部を取り出し、次いで、Ｋａｉｓｅｒ試験（上記参照）を用いてカップリングが不完全であると判断した。さらなる部分のヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（２０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスホナート（ＢＯＰ，６０ｍｇ）およびジ－イソプロピルエチルアミン（３０μＬ）を加え、次いで、混合物を２６時間攪拌した。Ｋａｉｓｅｒ試験を用いてカップリングが完了したと判断したので、樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタン（３×５ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させ、化合物２３０を得た。

【０５５７】

反応２：

【化４０９】



（２３１）の調製

化合物２３０をアルゴン雰囲気下に置き、次いで、ジクロロメタン（９．２５ｍＬ）、酢酸（０．５ｍＬ）およびＮ－メチルモルホリン（０．２５ｍＬ）中のテトラキス－（トリフェニルホスフィン）パラジウム（０）（３４０ｍｇ）の溶液で処理した。混合物を周囲温度で４．５時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、次いで、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の０．５％のナトリウムチオカルボゾアート、ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）中の０．５％のジ－イソプロピルエチルアミンで洗浄し、次いで、減圧下で乾燥させた。樹脂をＤＭＦ：ピペリジン　４：１（１０ｍＬ）で４時間洗浄し、次いで、ガラス焼結漏斗から濾過し、固体をジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）およびジクロロメタン（１０ｍＬ）で洗浄し、次いで、減圧下で乾燥した。樹脂をＮ－メチルモルホリン（３ｍＬ）中に懸濁させ、次いで、１－ヒドロキシ－ベンゾトリアゾール（１３５ｍｇ）および１，３－ジイソプロピルカルボジイミド（１５７μＬ）を加えた。反応物を１７時間攪拌し、ガラス焼結漏斗から濾過し、Ｎ－メチルモルホリンで十分に洗浄し、化合物２３１を得た。

【０５５８】

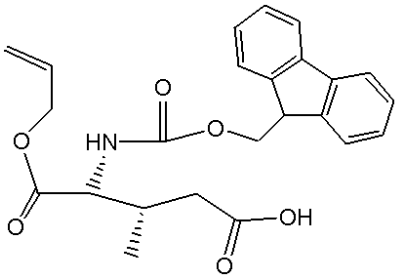
反応３：化合物（Ｃ３６８）の調製

乾燥した化合物２３１をジクロロメタン（２．５ｍＬ）、トリフルオロ酢酸（２．５ｍＬ）、エタンジチオール（１２５μＬ）およびトリイソプロピルシラン（１２５μＬ）中に懸濁させ、次いで、反応混合物を周囲温度で４．５時間攪拌した。樹脂をガラス焼結漏斗から濾過し、ジクロロメタンで洗浄し、次いで、合わせた濾液を減圧下で蒸発させた。次いで、粗生成物をジエチルエーテル（１０ｍＬ）および水（２．５ｍＬ）間で分配した。水相を凍結乾燥し、粗生成物を得た。粗生成物を、２５分間にわたって２０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：８０％の水、０．５％のギ酸から８０％のアセトニトリル、０．５％のギ酸：２０％の水、０．５％のギ酸までの勾配で溶離する逆相ＨＰＬＣ（Ｃ１８　１０μＭ　Ｊｕｐｉｔｅｒカラム　２５０×２１．２ｍｍ）により精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、凍結乾燥し、化合物Ｃ３６８（１１．８ｍｇ）を得た。

【０５５９】

実施例１－６８：２Ｓ，３Ｒ－Ｎ－Ｆｍｏｃ－Ｌ－３－メチル－グルタミン酸アルファアリルエステル２３２の立体選択的合成

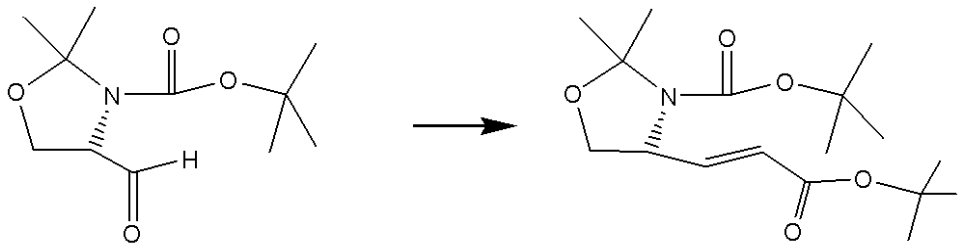
【化４１０】



232

反応１

【化４１１】



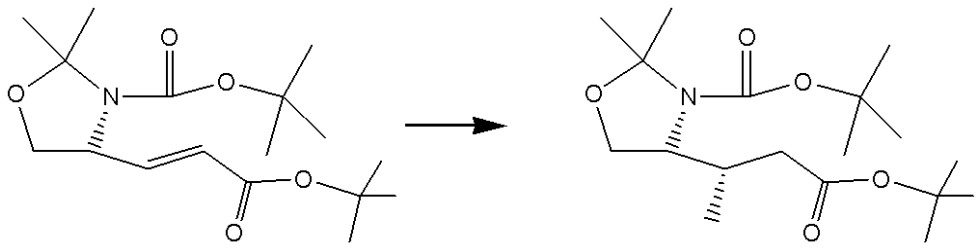
233 **234**

窒素雰囲気下、ヨウ化テトラブチルアンモニウム（３９．４ｇ）を、３Ｍの炭酸カリウム（K_2CO_3，１００ｍＬ）中の市販のＧａｒｎｅｒ’ｓアルデヒド２３３（９８ｇ）の溶液へ加え、不均一な溶液を得た。１５分後、ホスホノ酢酸ｔｅｒｔ－ブチル－ジエチル（１３０ｇ）を加え、次いで、反応混合物を１８時間強力攪拌した。水（５００ｍｌ）を加え、次いで、得られた混合物をメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（ＭＴＢＥ，３×２５０ｍＬ）で抽出した。合わせた有機フラクションを合わせ、飽和塩化ナトリウム（１×２５０ｍＬ）で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し（$MgSO_4$）、濾過し、次いで、濃縮し、粗生成物を黄色油状物として得た。酢酸エチル：ヘキサン１：９で溶離するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することにより、所望の生成物２３４（９５．３ｇ）を得た。

【０５６０】

反応２

【化４１２】



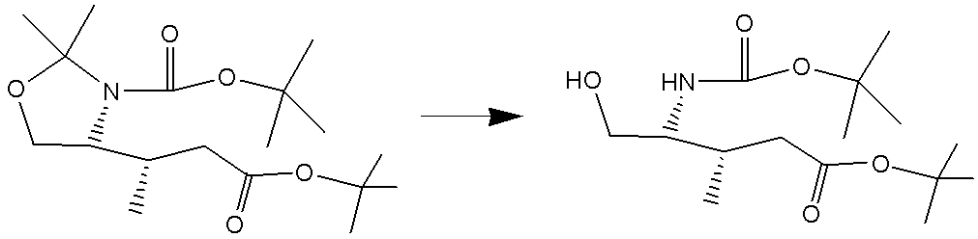
234 **235**

窒素雰囲気下、乾燥テトラヒドロフラン（ＴＨＦ，２２５０ｍＬ）中のヨウ化第一銅（ＣｕＩ，１３７ｇ）の溶液を－１０℃に冷却し、次いで、３０分間攪拌した。温度を－１０℃未満に維持しながら、この溶液へジエチルエーテル（９００ｍＬ）中のメチルリチウム（ＭｅＬｉ）の１．６Ｍ溶液を加えた。得られた混合物を－１０℃で３０分間攪拌し、次いで、－７８℃に冷却し、４５分間攪拌した。温度を－７８℃未満に維持しながら、塩化トリメチルシリル，ＴＭＳＣｌ（９１ｍＬ）を加え、次いで、反応混合物を１５分間攪拌した。ＴＨＦ（２５０ｍｌ）中の基質エステル２３４（８５．４５ｇ）の溶液を１時間にわたって滴下して加えた。反応混合物を－７８℃で１時間攪拌し、次いで、－４０℃に温めておき、その後、９０％の飽和塩化アンモニウム（NH_4Cl）：１０％の水酸化アンモニウム（NH_4OH，１５００ｍＬ）のクエンチ溶液を徐々に加えた。反応混合物を３０分間攪拌し、次いで、－３０℃に温め、その後、３つの別々の１５００ｍＬ部分にて処理した。各部分を分配し、次いで、水相をＭＴＢＥ（５００ｍＬ）で抽出した。合わせた有機相をセライトから濾過し、次いで、９０％の飽和NH_4Cl：１０％のNH_4OH溶液（４×４００ｍＬ）で洗浄し、硫酸ナトリウム（Na_2SO_4）で乾燥し、濾過し、次いで、濃縮し、生成物を得た。高減圧下で揮発性物質を生成物から除去することにより、生成物２３５（８５．４５ｇ）を得た。化合物２３５をさらに精製することなく用いた。

【０５６１】

反応３

【化４１３】



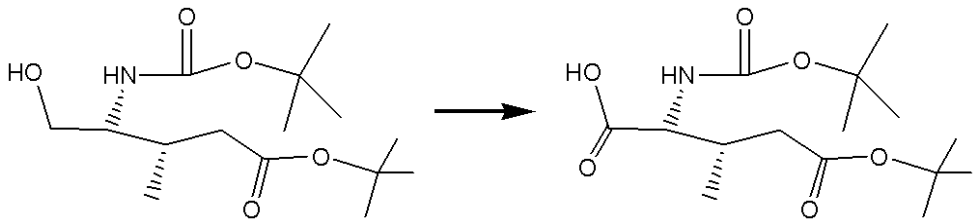
235 236

メタノール（１８００ｍＬ）中のオキサゾリジン２３５（７０ｇ）の溶液を０℃に冷却し、次いで、１時間撹拌した。内部温度を３℃未満に維持しながら、２時間にわたって酢酸三フッ化ホウ素錯体（BF_3．２ＨＯＡｃ，４５０ｍＬ）を滴下して加えた。次いで、２０％の炭酸水素ナトリウム（Na_2CO_3，３０００ｍＬ）を２時間にわたって加えることにより、反応混合物をクエンチし、次いで、得られた溶液を５つの別々の１０００ｍＬ部分にて処理した。各１０００ｍＬ部分をジクロロメタン（３×３００ｍＬ）で抽出し、有機抽出物を合わせ、$NaHCO_3$（１×３００ｍＬ）、飽和塩化ナトリウム（１×３００ｍＬ）で洗浄し、$MgSO_4$で乾燥し、濾過し、次いで、濃縮し、粗生成物を得た。合わせた生成物を、２０％の酢酸エチル：８０％のヘキサンから５０％の酢酸エチル：５０％のヘキサンまでの勾配溶離を用いて、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、蒸発させることにより、所望の生成物２３６（３６．３ｇ）を得た。

【０５６２】

反応４

【化４１４】



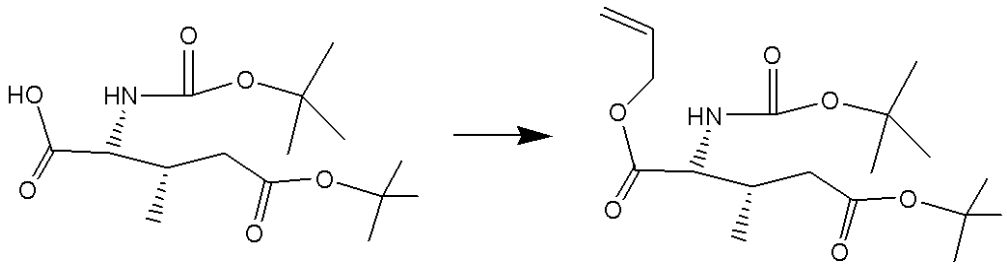
236 237

アセトニトリル（２３８ｍＬ）および水（２９．７ｍＬ）中のアルコール２３６（２４ｇ）の溶液を０℃に冷却し、次いで、温度を０℃に維持するために、過ヨウ素酸（５２．２ｇ）を少しずつ加えた。反応混合物を０℃で４５分間撹拌し、次いで、三酸化クロム（CrO_3，４６０ｍｇ）を加えた。反応混合物を１５分間撹拌し、その後、０．４Ｍの二塩基性リン酸ナトリウム溶液（Na_2HPO_4，５６０ｍＬ，ｐＨ９．０）を徐々に加えることによりクエンチした。得られた混合物をＭＢＴＥ（４×３００ｍＬ）で抽出し、次いで、合わせた有機抽出物を飽和塩化ナトリウム（１×２５０ｍＬ）、$NaHCO_3$（１×２５０ｍＬ）、次いで、飽和塩化ナトリウム（１×２５０ｍＬ）で洗浄した。次いで、有機部分を$MgSO_4$で乾燥し、濾過し、次いで、濃縮し、粗生成物を得た。２０％の酢酸エチル：８０％のヘキサンで溶離し、次いで、ジクロロメタンでシリカゲルから抽出する、分取用薄層シリカゲルクロマトグラフィーにより精製することにより、所望の生成物２３７（１５．３２ｇ）を得た。

【０５６３】

反応５

【化４１５】



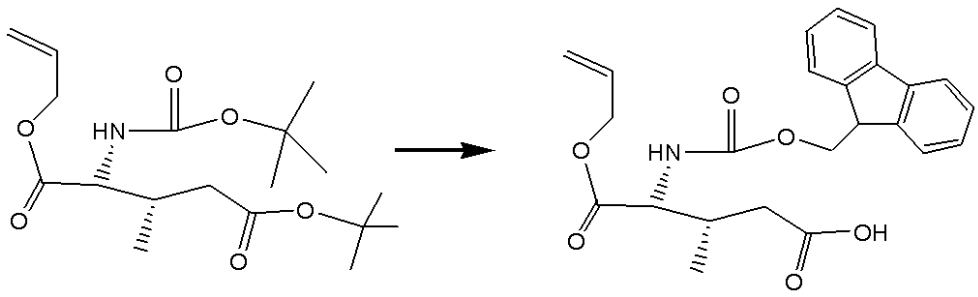
237 238

Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ，２００ｍＬ）中の酸２３７（１５．３２ｇ）の溶液へ、炭酸水素カリウム（$KHCO_3$，９．６６ｇ）を加え、次いで、得られた懸濁液を１５分間攪拌した。次いで、ＤＭＦ（２００ｍＬ）中の臭化アリル（２１ｍＬ）の溶液を３０分にわたって滴下して加え、次いで、反応混合物を１９時間攪拌した。水（５００ｍＬ）を加え、次いで、得られた混合物を酢酸エチル（５×２００ｍＬ）で抽出し、次いで、合わせた有機抽出物を水（２×２００ｍＬ）および飽和塩化ナトリウム（１×２００ｍＬ）で洗浄した。次いで、有機部分をNa_2SO_4で乾燥し、濾過し、次いで、濃縮し、粗生成物を黄色油状物として得た。酢酸エチル：ヘキサン　１：４で溶離するシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製することにより、所望の生成物２３８（９．２ｇ）を得た。

【０５６４】

反応６

【化４１６】



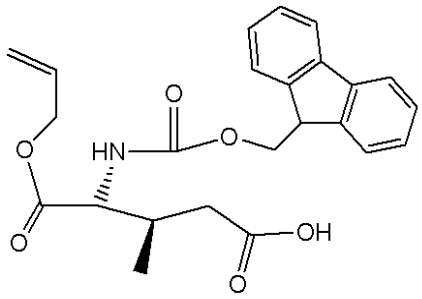
238 232

トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ，２５ｍＬ）およびトリイソプロピルシラン（ＴＩＰＳ，１ｍＬ）を、ジクロロメタン中のエステル２３８（９．２ｇ）の溶液へ加え、次いで、反応混合物を１時間攪拌した。次いで、混合物を減圧下で濃縮し、次いで、得られた残りをヘキサン（１００ｍＬ）中に溶解し、次いで、再度３回蒸発させた。次いで、残りを飽和$NaHCO_3$（５３ｍＬ）および１，４－ジオキサン（５０ｍＬ）中に溶解し、次いで、１，４－ジオキサン（５０ｍＬ）中の９－フルオレニルメトキシカルボニル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＦｍｏｃＯＳｕ，９．５２ｇ）の溶液を３０分にわたって滴下して加えた。この間に、反応混合物が濁ってきたので、さらなる部分の１，４－ジオキサン（２０ｍＬ）を加え、不均一な溶液を得、これをさらに１７時間攪拌した。反応混合物を濾過し、次いで、残りを１，４－ジオキサン（５０ｍＬ）で洗浄した。合わせた有機フラクションを蒸発させ、次いで、酢酸エチル（２５０ｍＬ）中に再蒸発させ、次いで、酸性化し、その後、硫酸カリウム（$KHSO_4$，３×５０ｍＬ）および飽和塩化ナトリウム（１×５０ｍＬ）で洗浄した。次いで、有機部分をNa_2SO_4で乾燥し、濾過し、次いで、濃縮し、粗生成物を得た。生成物を、２０％の酢酸エチル：８０％のヘキサンから４０％の酢酸エチル：６０％のヘキサンまでの勾配溶離を用いるシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。フラクションを有する生成物を合わせ、次いで、蒸発させることにより、所望の生成物２３２（６．３２ｇ）を得た。

【０５６５】

実施例１－６９：２Ｓ，３Ｓ－Ｎ－Ｆｍｏｃ－Ｌ－３－メチル－グルタミン酸アルファアリルエステル２３９の立体選択的合成

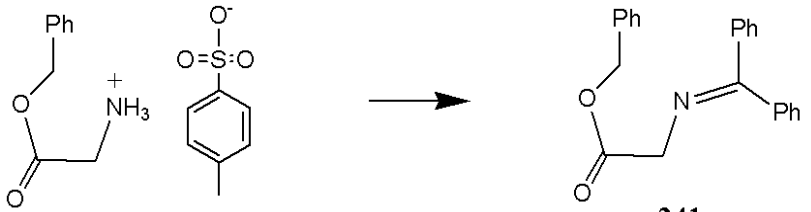
【化４１７】



239

反応１

【化４１８】



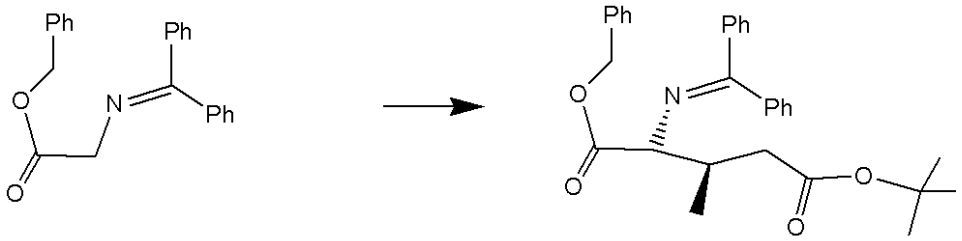
240 241

グリシンベンジルエステルトシル酸塩（６．７５ｇ）を、ジクロロメタン（１００ｍＬ）および水性１０％ｗ／ｖのＫ$_2$ＣＯ$_3$（１００ｍＬ）の間で分配した。水性部分をジクロロメタン（２×５０ｍＬ）で抽出し、次いで、合わせた有機フラクションをＭｇＳＯ$_4$で乾燥し、濾過し、次いで、蒸発させて、ガラス状固体（３．２９ｇ）を得た。この固体を乾燥ジクロロメタン（８０ｍＬ）中に溶解し、次いで、ジクロロメタン（２０ｍＬ）中のベンゾフェノンイミン（３．６２ｇ）の溶液を加えた。得られた混合物を周囲温度で１７時間攪拌した。混合物を減圧下で濃縮し、油状物を得、これをエーテル（８０ｍＬ）で再蒸発させ、次いで、水（２×４０ｍＬ）で洗浄した。有機相をＭｇＳＯ$_4$で乾燥し、濾過し、次いで、蒸発させて、粗生成物を透明油状物として得た。温エーテル／ヘキサンから再結晶させることにより精製し、純粋な２４１（３．８２ｇ）を得た。

【０５６６】

反応２

【化４１９】



241 242

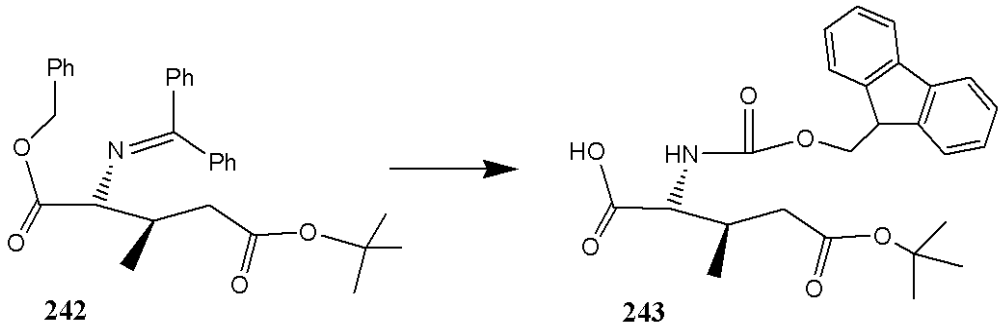
窒素雰囲気下、－７８℃に冷却したジクロロメタン中（８０ｍＬ）のベンジル－Ｎ－（ジフェニルメチレン）グリシナート２４１（５．７ｇ）およびＯ－アリル－Ｎ－（９－アントラセニルメチル）シンコニジニウムブロミド（１．０５ｇ）の懸濁液へ、水酸化セシウム（１４．５３ｇ）を加えた。混合物を２０分間攪拌し、次いで、温度を－７８℃に維持しながら、クロトン酸ｔｅｒｔブチル（９．１３ｍＬ）を滴下して加えた。－７８℃で２時間攪拌した後、混合物を３０分間、－５０℃に温め、次いで、混合物を２時間にわた

って周囲温度に温めておいた。次いで、混合物をジエチルエーテル（６００ｍＬ）および水（２００ｍＬ）に注ぎ、分配し、次いで、有機相を水（２×１７０ｍＬ）および飽和塩化ナトリウム（１×１５０ｍＬ）で洗浄した。次いで、エーテルフラクションを$MgSO_4$で乾燥し、濾過し、次いで、蒸発させて、生成物２４２（４．４６ｇ）を得た。これをさらに精製することなく次に用いた。

【０５６７】

反応３

【化４２０】



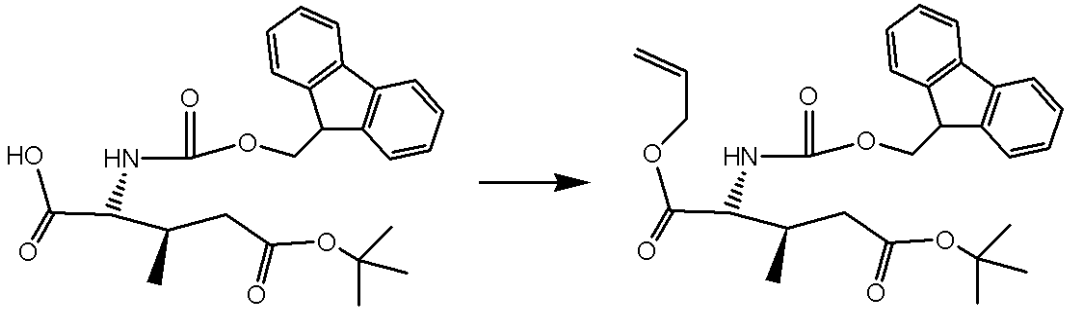
242　　243

テトラヒドロフラン（２５０ｍＬ）中の保護グルタミン酸３－メチル６４（４．４６ｇ）の溶液へ、１０％ｗ／ｖのクエン酸（１２０ｍＬ）の溶液を加え、次いで、混合物を１７時間攪拌した。次いで、溶液を減圧下で濃縮し、テトラヒドロフランを除去し、次いで、ジエチルエーテル（１００ｍＬ）および１ＮのＨＣｌ（２５０ｍＬ）を加えた。分配した後、水相をジエチルエーテル（２×１００ｍＬ）で洗浄し、固体K_2CO_3を加えることによりｐＨ１４に塩基性化し、次いで、酢酸エチル（４×１００ｍＬ）で抽出した。酢酸（３ｍＬ）および１０％のパラジウム炭素（５００ｍｇ）を合わせた酢酸エチルフラクションへ加え、次いで、得られた懸濁液を水素雰囲気下で６時間攪拌した。メタノール（３００ｍＬ）を加え、次いで、反応混合物をセライトから濾過した。濾液を蒸発させ、油状物を得、これを、初めに、酢酸エチル（３００ｍＬ）、次いで、ジエチルエーテル（３００ｍＬ）中で溶解および蒸発させて、白色ゲルを得た。この残渣をテトラヒドロフラン（２００ｍＬ）および１０％ｗ／ｖのK_2CO_3（１００ｍＬ）中に溶解し、次いで、９－フルオレニルメトキシカルボニル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（５．８３ｇ）を加えた。反応混合物を２２時間攪拌し、次いで、減圧下で濃縮し、テトラヒドロフランを除去した。濃縮した溶液へ、ジエチルエーテル（１７０ｍＬ）および水（３００ｍＬ）を加えた。分配した後、水相をジエチルエーテル（３×１３０ｍＬ）で洗浄し、濃ＨＣｌでｐＨ２に酸性化し、次いで、酢酸エチル（３×２００ｍＬ）で抽出した。次いで、酢酸エチルフラクションを$MgSO_4$で乾燥し、濾過し、次いで、蒸発させて、生成物２４３（３．３１ｇ）を得た。これをさらに精製することなく次に用いた。

【０５６８】

反応４

【化４２１】



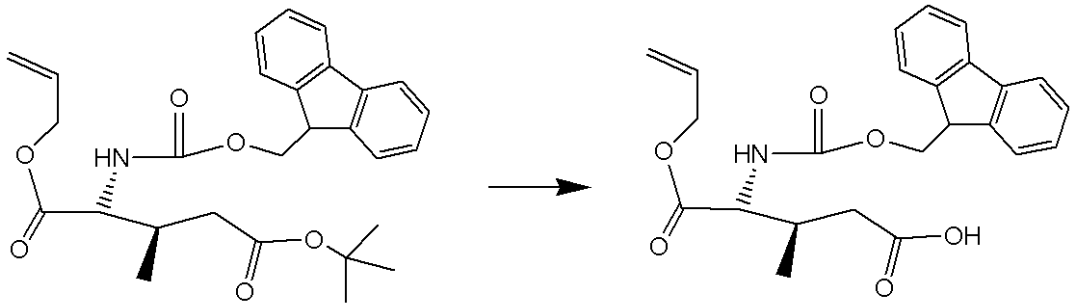
243 244

ジクロロメタン（１５０ｍＬ）中の２Ｓ，３Ｓ－Ｎ－Ｆｍｏｃ－Ｌ－３－メチル－グルタミン酸γｔｅｒｔ－ブチルエステル２４３（３．３ｇ）の溶液へ、Ｎ，Ｎ’ジイソプロピルカルボジイミドポリスチレン樹脂（１０．８ｇ）および４－ジメチルアミノピリジン（９２ｍｇ）を加え、次いで、反応混合物を５分間攪拌した。アリルアルコール（０．６１２ｍＬ）を加え、次いで、反応混合物をさらに９０分間攪拌した。濾過し、次いで、溶媒を蒸発することにより、所望のジエステル２４４（２．０２ｇ）を得た。

【０５６９】

反応５

【化４２２】



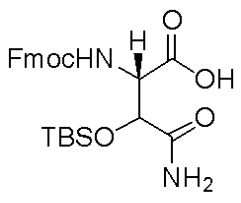
244 239

０℃に冷却したジクロロメタン（４２ｍＬ）中のジエステル２４４の溶液へ、トリイソプロピルシラン（０．８２ｍＬ）およびトリフルオロ酢酸（４ｍＬ）を加えた。反応混合物を０℃で１０分間攪拌し、周囲温度に温め、次いで、９０分間攪拌した。ヘキサン（６００ｍＬ）を加え、次いで、混合物を蒸発させ、残りをジエチルエーテル（１５０ｍＬ）および５％ｗ／ｖのK_2CO_3（２００ｍＬ）中に溶解した。水相をジエチルエーテル（２×８０ｍＬ）で洗浄し、濃ＨＣｌでｐＨ２に酸性化し、次いで、酢酸エチル（３×１００ｍＬ）で抽出した。次いで、酢酸エチルフラクションを$MgSO_4$で乾燥し、濾過し、次いで、蒸発させて、生成物２３９（１．４８ｇ）を得た。

【０５７０】

実施例１－７０：２Ｓ－Ｎ－Ｆｍｏｃ－Ｌ－３－Ｏ－（ｔｅｒｔ－ブチルジメチシリル）－アスパラギンの調製

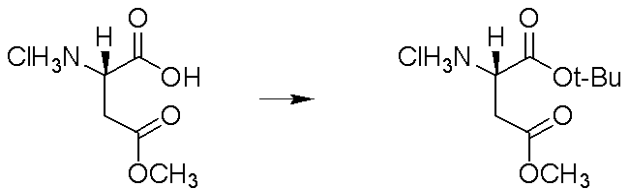
【化４２３】



245

反応１

【化４２４】



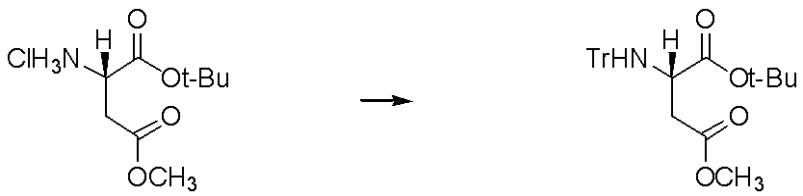
246 247

７０％の過塩素酸（ＨＣｌＯ$_4$，３ｍＬ）中の市販のアスパラギン酸エステル２４６（２．７５ｇ）の懸濁液へ、ｔ－ブチル酢酸エステル（１００ｍＬ）を加えた。２４時間後、溶液を飽和Ｋ$_2$ＣＯ$_3$（２００ｍＬ）に注いだ。得られた二相性混合物をジエチルエーテル（３×１００ｍＬ）で抽出し、次いで、合わせた有機抽出物を飽和Ｋ$_2$ＣＯ$_3$（３×５０ｍＬ）で洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し、透明無色油状物を得た。次いで、油状物を冷（０℃）ジエチルエーテル（５０ｍＬ）中に溶解し、次いで、ジエチルエーテル（１５ｍＬ）中の１ＮのＨＣｌを加えた。２０分後、溶液を減圧下で濃縮し、２４７（２．０ｇ）を得た。

【０５７１】

反応２

【化４２５】



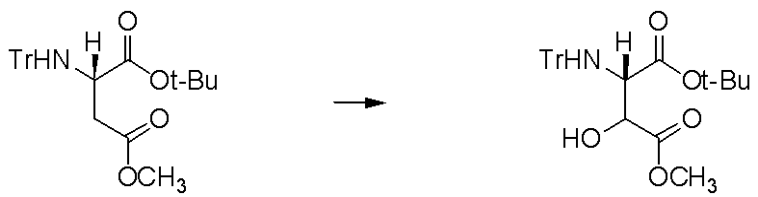
247 248

メチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（１００ｍＬ）中のジエステル２４７（４．７８ｇ）の懸濁液へ、飽和水性Ｋ$_2$ＣＯ$_3$（１００ｍＬ）を加えた。得られた水相をメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（３×１００ｍＬ）で洗浄した。有機抽出物を合わせ、次いで、飽和Ｋ$_2$ＣＯ$_3$（２×１００ｍＬ）で洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。得られた無色油状物を塩化トリチル（５．５７ｇ）、ＣＨ$_3$ＣＮ（１００ｍＬ）およびトリエチルアミン（５．６０ｍＬ）と混合した。１６時間後、混合物を濾過し、次いで、メチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（２００ｍＬ）で希釈した。得られた有機抽出物を１Ｎのクエン酸（３×１００ｍＬ）、飽和ＮａＨＣＯ$_3$（３×１００ｍＬ）、飽和ＮａＣｌ（３×１００ｍＬ）で洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。１％のトリエチルアミンを加えた１：１１の酢酸エチル－ヘキサンを用いて、塩基洗浄したフラッシュシリカゲル（２０×４ｃｍ）上のクロマトグラフィーにより、生成物２４８（７．１２ｇ）を得た。

【０５７２】

反応３

【化４２６】



248 249

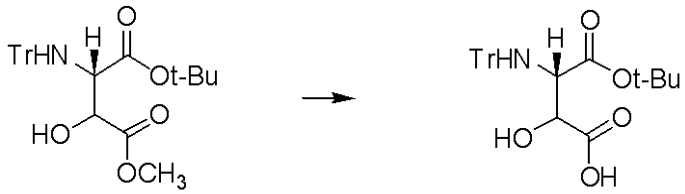
テトラヒドロフラン（２０ｍＬ）中の２４８（２．２２ｇ）の冷却（－７８℃）溶液へ、テトラヒドロフラン中の０．９１Ｍのカリウムヘキサメチルジシラザン溶液，１６．５

ｍＬを加えた。－７８℃で１時間後、オキソジペルオキシ（ピリジン）（１，３－ジメチル－３，４，５，６－テトラヒドロ－２（１Ｈ）－ピリミジノン）モリブデン（ＩＶ）（ＭｏＯＰＤ，３．６８ｇ，ＳＴＲＥＭ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ｉｎｃから入手；この試薬の合成についてはＡｎｄｅｒｓｏｎ，ＪＣ．およびＳｍｉｔｈ，ＳＣ．，１９９０，Ｓｙｎｌｅｔｔ １０７－１０９を参照のこと）を一気に加えた。混合物を－７８℃で１時間攪拌し、－５５℃に温め、次いで、さらに１時間攪拌した。混合物を飽和水性Na_2SO_3（２０ｍＬ）でクエンチし、次いで、室温に温めた。得られた二相性混合物をメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（３×１００ｍＬ）で洗浄し、次いで、有機相を合わせ、次いで、１Ｎのクエン酸（３×５０ｍＬ）、飽和水性$NaHCO_3$（３×５０）および飽和水性ＮａＣｌ（３×５０）で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。１：５の酢酸エチル－ヘキサンを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー（２０×３ｃｍ）により、生成物２４９（１．６４ｇ）を得た。

【０５７３】

反応４

【化４２７】



249 **250**

１：１のジオキサン－水（５０ｍＬ）中の２４９（６５０ｍｇ）の溶液へ、水酸化リチウム（５０７ｍｇ）を加えた。１時間後、溶液をメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（３×５０ｍＬ）で洗浄し、次いで、得られた水相を１Ｎのクエン酸で約ｐＨ４に酸性化した。得られた溶液をメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（３×１００ｍＬ）で抽出した。有機相を１Ｎのクエン酸（３×１００ｍＬ）および飽和ＮａＣｌ（３×１００ｍＬ）で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し、２５０（６３０ｍｇ）を得た。

【０５７４】

反応５

【化４２８】

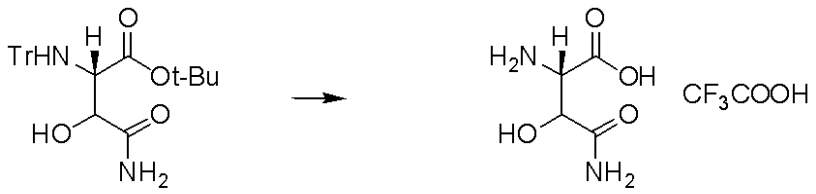
250 **251**

ジメチルホルムアミド（３０ｍＬ）中の２５０（６５０ｍｇ）、ベンゾトリアゾール－１－イルオキシ－トリス（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（９９７ｍｇ）およびNH_4Cl（１５３ｍｇ）の溶液へ、ジイソプロピルエチルアミン（０．７８ｍＬ）を加えた。１時間後、酢酸エチル（１５０ｍＬ）を加え、次いで、得られた溶液を、１０％のK_2CO_3（３×１００ｍＬ）、水（３×１００ｍＬ）、１Ｎのクエン酸（３×１００ｍＬ）および飽和ＮａＣｌで洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し、２５１（６４０ｍｇ）を得た。

【０５７５】

反応６

【化４２９】



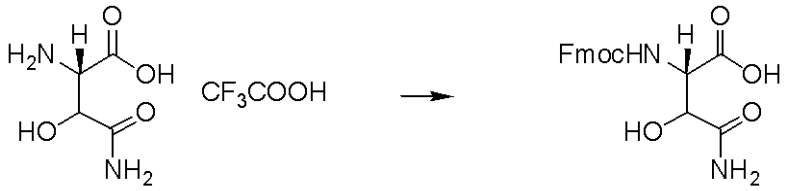
251 **252**

ジクロロメタン（５ｍＬ）中の２５１（１．９１ｇ）の溶液へ、水（１ｍＬ）、次いで、トリフルオロ酢酸（１０ｍＬ）を加えた。４時間後、溶液を減圧下で濃縮し、次いで、残りのスラリーをトルエンで２回濃縮した。得られた固体をジエチルエーテルでトリチュレートし、次いで、得られた固体を濾過し、次いで、ジエチルエーテルで洗浄した。得られた固体を減圧下で乾燥し、２５２（９５２ｍｇ）を得た。

【０５７６】

反応７

【化４３０】



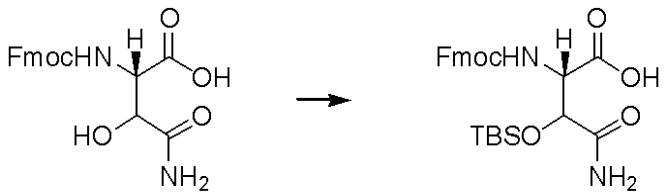
252 **253**

溶液へ、１－，４－ジオキサン（５０ｍＬ）中の９－フルオレニルメトキシカルボニル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（３．３７ｇ）の溶液ををを加えた。１６時間後、得られた溶液を５％のK_2CO_3水溶液（２５ｍＬ）で希釈し、次いで、ジエチルエーテル（３×５０ｍＬ）で抽出した。得られた水性抽出物を１ＮのＨＣｌ溶液で約ｐＨ２に酸性化し、次いで、ジエチルエーテル（５０ｍＬ）を加えた。得られた固体を酸性溶液およびジエチルエーテル間で分配した。固体を収集し、次いで、１ＮのＨＣｌおよびジエチルエーテルで洗浄し、２５３（１．５０ｇ）を得た。

【０５７７】

反応８

【化４３１】



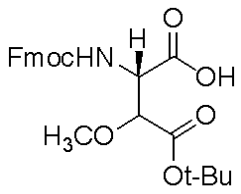
253 **245**

ジメチルホルムアミド（１０ｍＬ）中の２５３（３７０ｍｇ）の溶液へ、塩化ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル（３００ｍｇ）およびイミダゾール（２００ｍｇ）を加えた。８時間後、溶液を酢酸エチルで希釈し、次いで、１ＮのＨＣｌ（３×１００ｍＬ）および飽和塩化ナトリウムで洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。溶離剤として１９：１：０．１のCH_2Cl_2：ＭｅＯＨ：ＡｃＯＨを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー（２５×２ｃｍ）により、２４５（３００ｍｇ）を得た。

【０５７８】

実施例１－７１：２Ｓ－Ｎ－Ｆｍｏｃ－Ｌ－（３－メトキシ）－β－ｔｅｒｔ－ブチルアスパラギン酸エステル２５４の調製

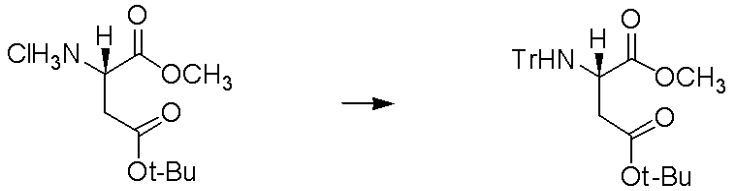
【化４３２】



254

反応１

【化４３３】



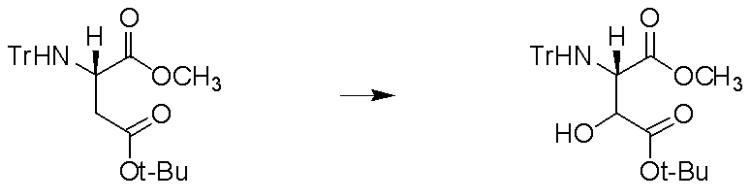
255 **256**

メチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（１００ｍＬ）中の市販のジエステル２５５（４．７８ｇ）の懸濁液へ、飽和水性K_2CO_3（１００ｍＬ）を加えた。得られた水相をメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（３×１００ｍＬ）で洗浄した。有機抽出物を合わせ、次いで、飽和K_2CO_3（２×１００ｍＬ）で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。得られた無色油状物を、アセトニトリル（１００ｍＬ）中の塩化トリチル（５．５７ｇ）およびトリエチルアミン（５．６０ｍＬ）の溶液に溶解した。１６時間後、混合物を濾過し、次いで、メチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（２００ｍＬ）で希釈した。得られた有機抽出物を１Ｎのクエン酸（３×１００ｍＬ）、飽和$NaHCO_3$（３×１００ｍＬ）および飽和ＮａＣｌ（３×１００ｍＬ）で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。１％のトリエチルアミンを加えた１：１１の酢酸エチル－ヘキサンを用いて、塩基洗浄したフラッシュシリカゲル（２０×４ｃｍ）上のクロマトグラフィーにより、２５６（７．１２ｇ）を得た。

【０５７９】

反応２

【化４３４】



256 **257**

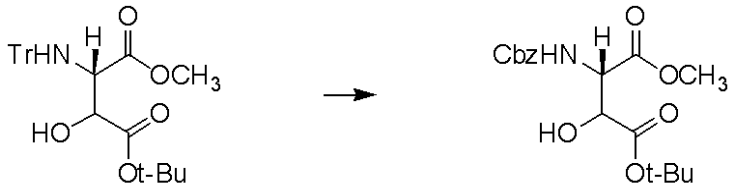
テトラヒドロフラン（２０ｍＬ）中の２５６（２．２２ｇ）の冷却（－７８℃）溶液へ、テトラヒドロフラン中の０．９１Ｍのカリウムヘキサメチルジシラザン溶液，１６．５ｍＬを加えた。－７８℃で１時間後、オキソジペルオキシ（ピリジン）（１，３－ジメチル－３，４，５，６－テトラヒドロ－２（１Ｈ）－ピリミジノン）モリブデン（ＩＶ）（ＭｏＯＰＤ，ＳＴＲＥＭ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ｉｎｃから入手；３．６８ｇ；この試薬の合成についてはＡｎｄｅｒｓｏｎ，ＪＣ．およびＳｍｉｔｈ，ＳＣ．，１９９０，Ｓｙｎｌｅｔｔ １０７－１０９を参照のこと）を一気に加えた。混合物を－７８℃で１時間撹拌し、－５５℃に温めておき、次いで、さらに１時間撹拌した。混合物を飽和水性Na_2SO_3（２０ｍＬ）でクエンチし、次いで、室温に温めた。得られた二相性混合物をメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（３×１００ｍＬ）で洗浄した。有機相を合わせ、次いで

、１Ｎのクエン酸（３×５０ｍＬ）、飽和水性ＮａＨＣＯ$_3$（３×５０）および飽和水性ＮａＣｌ（３×５０）で洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。１：５の酢酸エチル－ヘキサンを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー（２０×３ｃｍ）により、２５７（１．６４ｇ）を得た。

【０５８０】

反応３

【化４３５】



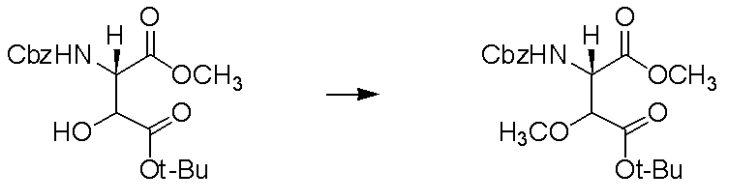
257 **258**

ジクロロメタン（１００ｍＬ）中の２５７（４．６１ｇ）の溶液へ、トリフルオロ酢酸（２ｍＬ）を加えた。１時間後、得られた溶液を減圧下で濃縮し、次いで、水性５％のＫ$_2$ＣＯ$_3$（５０ｍＬ）を加え、次いで、ジオキサン（５０ｍＬ）中のベンジルオキシカルボニル－Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（２．４９ｇ）の溶液を加えた。１６時間後、得られた溶液を酢酸エチル（３×１００ｍＬ）で抽出した。有機抽出物を１Ｎのクエン酸（３×５０ｍＬ）、飽和ＮａＨＣＯ$_3$（３×５０ｍＬ）およびＮａＣｌ（３×５０ｍＬ）で洗浄し、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。１：３の酢酸エチル－ヘキサンを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー（２５×３ｃｍ）により、２５８（２．０１ｇ）を得た。

【０５８１】

反応４

【化４３６】



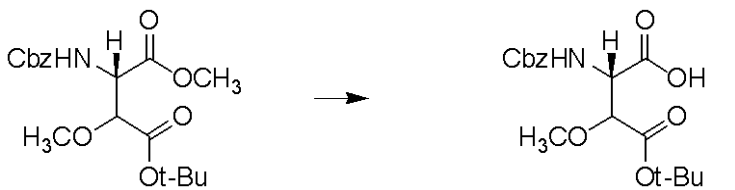
258 **259**

テトラヒドロフラン（２５ｍＬ）中の２５８（３５３ｍｇ）および酸化銀（４６２ｍｇ）の冷却（０℃）懸濁液へ、ヨードメタン（０．６２ｍＬ）を加えた。混合物を４時間にわたって室温に温めておいた。４８時間後、懸濁液をセライトから濾過し、次いで、減圧下で濃縮した。１：３の酢酸エチル－ヘキサンを用いるフラッシュシリカゲルクロマトグラフィー（２５×２ｃｍ）により、２５９（３００ｍｇ）を得た。

【０５８２】

反応５

【化４３７】



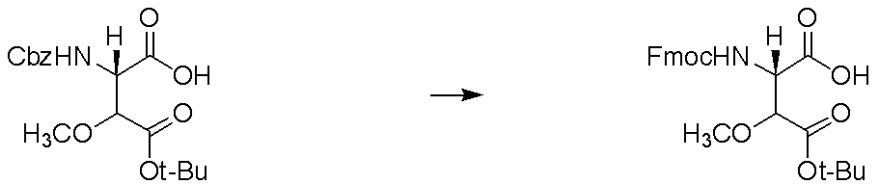
259 **260**

２５ｍＬのジオキサン中の２５９（３００ｍｇ，０．８１ｍｍｏｌ）を含有する冷却（０℃）溶液へ、２５ｍＬの水中の２４０ｍｇ（１０ｍｍｏｌ）のＬｉＯＨを加えた。１時間後、混合物を１Ｎのクエン酸で約ｐＨ４に酸性化し、次いで、エーテル（３×５０ｍＬ）で抽出した。得られた有機抽出物を１Ｎのクエン酸（３×５０ｍＬ）および飽和ＮａＣｌ（３×３０ｍＬ）で洗浄し、Na_2SO_4で乾燥し、濾過し、次いで、減圧下で濃縮し、２６０を透明無色油状物（２８０ｍｇ）として得た。

【０５８３】

反応６

【化４３８】



260 **254**

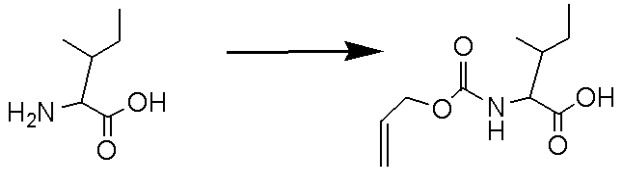
２４２から２４３への転換について前記したように、水素雰囲気下、２６０の酢酸エチル溶液を１０％のパラジウム炭素で処理することにより、化合物２６０を２５４に転換させ、次いで、２５２から２５３への転換について前記したように、アミン保護を行う。

【０５８４】

実施例１－７２：Ｎα－（アリルオキシカルボニル）－Ｌ－イソロイシン１２４の調製

反応１

【化４３９】



125 **124**

市販のイソロイシン（２２ｇ）を、テトラヒドロフラン（１５０ｍＬ）中のアリルオキシカルボニルオキシスクシンイミド（ＡｌｌｏｃＯＳｕ，５１ｇ）の溶液へ加えた。１０％のK_2CO_3水性溶液（１００ｍＬ）をこの懸濁液へ加え、次いで、混合物を１７時間攪拌し、その後、減圧下で約１２０ｍｌに濃縮した。その溶液を１０％のK_2CO_3水溶液（１００ｍＬ）および水（２００ｍＬ）へ加え、次いで、ジエチルエーテル（４×１５０ｍＬ）で洗浄した。次いで、水性部分をｐＨ１に酸性化し、次いで、ジクロロメタン（４×２００ｍＬ）で抽出した。合わせた酸性ジクロロメタン洗液を無水$MgSO_4$で乾燥し、次いで、蒸発させて、粗生成物（３８．１ｇ）を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィー（１００％のジクロロメタンから、ジクロロメタン：メタノール９：１のジクロロメタン／メタノール勾配で溶離する）により精製し、次いで、溶媒を蒸発させることにより、化合物１２４を黄色油状物（３６ｇ）として得た。

【０５８５】

実施例２－１：新規生合成経路の形成のためのＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓに基づくｉｎ－ｔｒａｎｓ発現系の構築

ハイブリッド非リボソームポリペプチドシンテターゼ（ＮＲＰＳ）経路の発現のために、全ＮＲＰＳ遺伝子を欠失させたダプトマイシン高産生株（ＮＲＲＬ１１３７９）であるＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ種を構築した。ハイブリッド経路をＢＡＣに基づくベクター上でこの株中にコンジュゲートさせ、該ベクターのΦＣ３１　ａｔｔＢ部位にて、Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓのゲノムの中立部位（ｎｅｕｔｒａｌ　ｓｉｔｅ）に部位特異的に組み込んだ。

【０５８６】
Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓに由来する全ての推定ＮＲＰＳ遺伝子を欠失させるために、ｄｐｔＥＦの上流およびｄｐｔＨの下流に由来するフランキングＤＮＡを含有した欠失カセットを構築した（図２）。
【０５８７】
ｄｐｔＥＦの上流（５’）およびｄｐｔＨの下流（３’）に由来するフランキング領域を、ｔｓｒ（チオストレプト耐性）およびｃａｔ（クロラムフェニコール耐性）を含有する選択カセットの周囲にクローニングした。５’フラグメントは１４７８塩基長であり、および３’フラグメントは１８６２塩基長であった。これらの２つのフラグメントを、ｔｓｒおよびｃａｔ耐性カセットを予め含んでなるｐＵＣ１９（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ）の１コピーにクローニングし、欠失カセットを作製した。次いで、このカセットを、温度感受性複製起点およびｒｐｓＬの優性対立遺伝子（ストレプトマイシン感受性）を含んでなるｐＲＨＢ５３８（Ｈｏｓｔｅｄ，Ｔ．Ｊ．およびＢａｌｔｚ，Ｒ．Ｈ．，１９９７，Ｊ Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１７９（１）：１８０－６）と称する送達用プラスミドに移入した。このプラスミドを、ストレプトマイシン耐性を付与する劣性ｒｐｓＬ対立遺伝子を有するＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ株に導入した。次いで、この組換え株をブロス培養にて一晩インキュベーションし、その後、ストレプトマイシンおよびチオストレプトを含むプレート上に細胞を播種し、次いで、３９℃でインキュベーションした。これらの条件下では、相同組み換えによりｄｐｔＡ－Ｈ遺伝子座と欠失カセット（ｔｓｒおよびｃａｔを含有する）を交換した株のみが選択に対して生存し；他の全ての遺伝子型は除去された。
【０５８８】
ＰＣＲおよびサザンブロットにより、ｄｐｔＡ－Ｈ欠失突然変異体の遺伝子型を確認した。ＰＣＲフラグメントを設計し、５’および３’フランキング領域の外側ならびにｔｓｒおよびｃａｔ遺伝子の内側に位置するプライマーから増幅した。このようにして、ＰＣＲ産物は、細胞がｄｐｔＡ－Ｈ遺伝子座と欠失カセットを交換した場合にのみ形成され得る。サザンブロットにより、ｄｐｔＡ－Ｈが欠失されたこと、および異常な組込みまたは組換えがこの遺伝子座の周りで全く生じないことがさらに立証された。ｄｐｔＡ－Ｈ欠失が遺伝子工学的に確認されると、次いで、表現型的に真のヌル突然変異体であるか否かを確認するためにそれらを試験した。次いで、この株をＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ ＵＡ４３１と称した。
【０５８９】
実施例２－２：Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓの発酵
培地Ａ（５ｍＬの１０％水性グリセロール（ＢＤＨ）中の、２％の照射燕麦（Ｑｕａｋｅｒ）、０．７％のトリプトン（Ｄｉｆｃｏ）、０．２％の大豆ペプトン（Ｓｉｇｍａ）、０．５％の塩化ナトリウム（ＢＤＨ）、０．１％の微量塩液、１．８％の寒天ｎｏ．２（Ｌａｂ Ｍ）、０．０１％のアプラマイシン（Ｓｉｇｍａ））の１０日間の斜面培養液を懸濁することにより、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ ＵＡ４３１の胞子を回収した。１．５ｍＬの低温バイアル中の１ｍＬのこの懸濁液は、－１３５℃での貯蔵から回収された出発物質を含有する。０．３ｍＬの出発物質を培地Ａの斜面に無菌的に播種し、次いで、９日間２８℃でインキュベーションすることにより、前培養液を調製した。
【０５９０】
前培養液を４ｍＬの０．１％のＴｗｅｅｎ８０（Ｓｉｇｍａ）溶液で無菌的に処理し、次いで、傾斜表面を徐々に浸軟し、栄養菌糸および胞子の懸濁液を作製することにより、シード培養液を調製した。この懸濁液の２ｍＬのアリコートを、４０ｍＬの栄養溶液Ｓ（１％のＤ－グルコース（ＢＤＨ）、１．５％のグリセロール（ＢＤＨ）、１．５％の大豆ペプトン（Ｓｉｇｍａ）、０．３％の塩化ナトリウム（ＢＤＨ）、０．５％の麦芽抽出物（Ｏｘｏｉｄ）、０．５％の酵母抽出物（Ｌａｂ Ｍ）、０．１％のＪｕｎｌｏｎ ＰＷ１００（Ｈｏｎｅｙｗｅｌｌ ａｎｄ Ｓｔｅｉｎ Ｌｔｄ）、０．１％のＴｗｅｅｎ８

０（Ｓｉｇｍａ）、４．６％のＭＯＰＳ（Ｓｉｇｍａ）、ｐＨ７．０に調節、およびオートクレーブ処理済み））を含有する２５０ｍＬのバッフルフラスコへ加え、次いで、２４０ｒｐｍ、３０℃で４４時間攪拌した。

【０５９１】

５０ｍＬの培地Ｐ（１％のグルコース（ＢＤＨ）、２％の可溶性デンプン（Ｓｉｇｍａ）、０．５％の酵母抽出物（Ｄｉｆｃｏ）、０．５％のカゼイン（Ｓｉｇｍａ）、４．６％のＭＯＰＳ（Ｓｉｇｍａ）、ｐＨ７．０に調節、およびオートクレーブ処理済み））を含有する２５０ｍＬのバッフルフラスコへ５％のシード培養液を無菌的に加え、次いで、２４０ｒｐｍ、３０℃で７日間攪拌することにより、産生用培養液を調製した。

【０５９２】

実施例２－３：Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓの発酵に由来するＡ２１９７８Ｃリポペプチドの分析

２ｍＬの全培養液を無菌的に取り出し、次いで、分析前に１０分間遠心分離することにより、実施例２－２に記載した産生用培養液を分析用にサンプリングした。最高５０マイクロリットル容量の上清を分析し、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓにより産生された天然リポペプチド（Ａ２１９７８Ｃ）の産生についてモニタリングした。４．６×５０ｍｍ Ｓｙｍｍｅｔｒｙ Ｃ８ ３．５μｍカラムおよびＰｈｅｎｏｍｅｎｅｘ Ｓｅｃｕｒｉｔｙ Ｇｕａｒｄ Ｃ８カートリッジ付のＷａｔｅｒｓ Ａｌｌｉａｎｃｅ ２６９０ ＨＰＬＣシステムおよび９９６ＰＤＡ検出器を用いて、この分析を周囲温度で行った。初め、勾配を９０％の水および１０％のアセトニトリルに２．５分間維持し、次いで、６分間にわたって１００％のアセトニトリルまでの直線勾配とした。流速は１分あたり１．５ｍＬであり、勾配は０．０１％のトリフルオロ酢酸で緩衝されている。記載の分析条件下、５．６２、５．７７および５．９０分の保持時間（λｍａｘ ２２３．８，２６１．５および３６４．５ｎｍ）でのＨＰＬＣピークにより示されるように、発酵の２日目までに、ダプトマイシンのものと同一のＵＶ／可視スペクトルを有する３つの天然リポペプチド、Ａ２１９７８$Ｃ_1$、Ａ２１９７８$Ｃ_2$およびＡ２１９７８$Ｃ_3$の産生が顕著となった。その後、リポペプチドは、７日間の発酵の間の各サンプリングポイントにおいて、依然として顕著であった。リポペプチドＡ２１９７８$Ｃ_1$、Ａ２１９７８$Ｃ_2$およびＡ２１９７８$Ｃ_3$の全収量は、発酵物質１リットルあたり１０～２０ｍｇの範囲であった。

【０５９３】

液体クロマトグラフィー－質量スペクトル（ＬＣ－ＭＳ）分析を、Ｆｉｎｎｉｇａｎ ＳＳＱ７１０ｃ ＬＣ－ＭＳシステムにて、エレクトロスプレーイオン化を使用して、陽イオンモードにおいて、２００～２０００ダルトンの走査範囲および２秒間の走査で、実施した。クラマトグラフィー分離を、Ｗａｔｅｒｓ Ｓｙｍｍｅｔｒｙ Ｃ８カラム（２．１×５０ｍｍ，粒径３．５μｍ）にて、最初の０．５分間の遅延の後に６分間にわたって１０％～１００％のアセトニトリルに増大させ、さらに３．５分間１００％のアセトニトリルで維持し、次いで、再平衡する、０．０１％のギ酸を含有する水－アセトニトリルの直線勾配で溶離することにより成し遂げた。流速は０．３５ｍＬ／分であり、および該方法は周囲温度で行った。

【０５９４】

３つの天然リポペプチドの同定を、１６３４．７、１６４８．７および１６６２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^+$）により示されるように、対照（Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ野生型）において確認した。該分子イオンは、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓにより産生される主なＡ２１９７８Ｃリポペプチド因子Ａ２１９７８$Ｃ_1$、Ａ２１９７８$Ｃ_2$およびＡ２１９７８$Ｃ_3$それぞれについて報告されている質量（Ｄｅｂｏｎｏら，１９８７，Ｊ．ｂｉｏｔｉｃｓ ４０：７６１－７７７）と一致する。ＵＡ４３１突然変異体はいずれのＡ２１９７８Ｃリポペプチドも産生できず、それらが真のヌル突然変異体であることを確認した。

【０５９５】

実施例２－４：ｐＤＡ３００の構築およびＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ　ｄｐｔＡ－Ｈ欠失の補完

酵母および幾つかの天然にコンピテントな細菌と異なり、直鎖状ＤＮＡフラグメントはＥｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉを容易に形質転換しない。これは一部には、ＲｅｃＢＣＤ（Ｌｏｒｅｎｚ，Ｍ．Ｇ．，およびＷａｃｋｅｒｎａｇｅｌ，Ｗ．，１９９４，Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｒｅｖ．５８：５６３）のごとき細胞内エキソヌクレアーゼによる外来ＤＮＡの分解に起因する。伝統的に、相同組み換えは、ＲｅｃＢＣＤ欠失突然変異体株を用いるか（Ｊａｓｉｎ，Ｍ．，およびＳｃｈｉｍｍｅｌ，Ｐ．，１９８４，Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ　１５９：７８３）、または制限条件下の宿主において複製不能の補助プラスミドベクターを用いてＤＮＡを送達するか（Ｌｉｎｋ，Ａ．Ｊ．ら，１９９７，Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１７９：６２２８）のいずれかにより成し遂げられる。組換え事象は依然としてまれであり、および数キロベースの相同性を必要とする。

【０５９６】

最近になって、幾つかの実験室では、バクテリオファージλが誘導する「高頻度組換え」状態を利用する株が開発された（Ｄａｔｓｅｎｋｏ，Ｋ．Ａ．，およびＷａｎｎｅｒ，Ｂ．Ｌ．，２０００，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　Ｕ．Ｓ．Ａ．９７：６６４０；米国特許第６，３５５，４１２号および第６，５０９，１５６Ｂ号；Ｙｕ，Ｄ．，ら，２０００，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　Ｕ．Ｓ．Ａ．９７：５９７８）。わずか４０～５０ｂｐの同一配列しか有さないＤＮＡ分子間の組換えは、直鎖状ＤＮＡを用いた場合でさえ生じる。λＲｅｄ遺伝子（ｅｘｏ、ｂｅｔおよびｇａｍ）は、組換え率の増大を惹起する。λ－エキソヌクレアーゼおよびβ－蛋白質は二重鎖切断の修復を介して組換えに関与し、一方で、ｇａｍ遺伝子産物は宿主ＲｅｃＢＣＤ複合体に結合し、およびその機能を阻害する（Ｍｕｒｐｈｙ，Ｋ．，１９９８，Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１８０：２０６３）。本明細書中ではこの技法を「Ｒｅｄ」系またはＲｅｄ介在組換え系と称する。

【０５９７】

「Ｒｅｄ」系を用いて、ｐＤＡ３００（ｄｐｔＡ－Ｈ遺伝子のみを含有する切断型のＢ１２：０３Ａ０５）を構築した。このプラスミドはＢ１２：０３Ａ０５（Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓの染色体ライブラリーから単離されたｄｐｔ生合成遺伝子クラスターの全てを含有するＢＡＣプラスミド（Ｍｉａｏら，２００５，Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ　１５１：１５０７－１５２３））から構築し、Ｒｅｄ介在組換え系を介する相同組み換えを用いて、ｄｐｔＡ－Ｈの上流の全遺伝子およびｄｐｔＡ－Ｈの下流の全遺伝子を欠失させた。これは、プラスミド上にＲｅｄ遺伝子を有するＥ．ｃｏｌｉ株にＢ１２：０３Ａ０５を導入することにより成し遂げられた（ｐＫＤ７８，Ｄａｔｓｅｎｋｏ，ＫＡ．，およびＷａｎｎｅｒ，ＢＬ．，２０００，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　Ｕ．Ｓ．Ａ．９７：６６４０）。次いで、この株を、ｄｐｔクラスターの上流または下流領域のいずれかに相同性を有するオリゴヌクレオチドに隣接するｔｅｔ耐性遺伝子についてのＰＣＲ産物により形質転換した。構築したら、コンジュゲートによりｐＤＡ３００をＵＡ４３１に導入し、ＵＡ４９３株を作製した。プラスミドｐＤＡ３００は、Ｅ．ｃｏｌｉからＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓのコンジュゲートのために、プラスミドＲＫ２に由来するｏｒｉＴを含有する（Ｂａｌｔｚ，１９９８，Ｔｒｅｎｄｓ　ｉｎ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．６：７６－８３（１９９８），該文献は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる）。Ｅ．ｃｏｌｉ　Ｓ１７．１または自己複製プラスミドＲＫ２（Ｉｄ．）を含有する株からのコンジュゲートにより、プラスミドｐＤＡ３００をＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓに導入する。実施例２－２および２－３にそれぞれ記載した技法を用いて、Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ　ＵＡ４９３を発酵および分析した。

【０５９８】

３つの天然リポペプチドの同定を、１６３４．７、１６４８．７および１６６２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）により示されるように確認した。該分子イオンは、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓにより産生される主なＡ２１９７８

Ｃリポペプチド因子Ａ２１９７８Ｃ$_1$、Ａ２１９７８Ｃ$_2$およびＡ２１９７８Ｃ$_3$それぞれについて報告されている質量（Ｄｅｂｏｎｏら，１９８７，Ｊ．ｂｉｏｔｉｃｓ ４０：７６１－７７７）と一致する。このことは、ｐＤＡ３００が首尾よくｄｐｔＡ－Ｈ欠失を補完し、ＵＡ４９３におけるリポペプチド産生を修復し得ることを実証した。

【０５９９】

実施例２－５：異なるアミノ酸（複数も可）の取り込みを触媒するものと非リボソームペプチドシンテターゼ（ＮＲＰＳ）サブユニットの交換

ダプトマイシンＮＲＰＳの第３のサブユニットをコードする遺伝子（図１を参照のこと）は、アミノ酸１２（３－メチル－グルタミン酸（３－ＭｅＧｌｕ））および１３（Ｌ－キヌレニン（Ｌ－Ｋｙｎ））の取り込みについての特異性をコードする２つのモジュールを含有する。環状リポペプチドＣＤＡの生合成に関する第３のサブユニットをコードする遺伝子（Ｋｅｍｐｔｅｒら，１９９７，Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．３６：４９８－５０１；Ｃｈｏｎｇら，１９９８，Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ １４４：１９３－１９９；該文献の各々は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる）は、最後の２つのアミノ酸、この場合では、アミノ酸１０（３－ＭｅＧｌｕ）および１１（Ｌ－トリプトファン（Ｌ－Ｔｒｐ）；図１）もコードする。第１３位においてＬ－Ｋｙｎの代わりにＬ－Ｔｒｐを含有するダプトマイシンの誘導体は、ｄｐｔＤ遺伝子を欠失させ、および該遺伝子をＣＤＡのＰＳ３をコードする遺伝子で置換することにより産生される（Ｈｏｊａｔｉら，２００２，Ｃｈｅｍ Ｂｉｏｌ．９（１１）：１１７５－８７）。ベクターｐＭＦ２３は、強力なプロモーター（例えば、ｅｒｍＥｐ＊プロモーター；Ｂａｌｔｚ，１９９８，Ｔｒｅｎｄｓ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．６：７６－８３，該文献は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる）からＰＳ３遺伝子を発現する。そして、種間コンジュゲート（Ｂａｌｔｚ，１９９８，Ｔｒｅｎｄｓ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．６：７６－８３）を介してＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓに導入され、その後、Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓのゲノムの中立部位に部位特異的に挿入される場合、ｃｄａＰＳ３によりｄｐｔＤ突然変異が補完され、およびＬ－Ｋｙｎの代わりにＬ－Ｔｒｐを有する改変されたダプトマイシンの産生をもたらし、化合物Ｃ１、化合物Ｃ２および化合物Ｃ３が得られる。組換え株を発酵させ、次いで、組換え株の生成物（複数も可）を実施例２－２および２－３に示すようにＬＣ－ＭＳにより分析した。ｄｐｔＤ欠失が環状リポペプチドＡ５４１４５の生合成に関する第３のサブユニットをコードする遺伝子により補完された場合には、同様の実験を行った（ｐＭＦ３０はｅｒｍＥｐ＊（Ｍｏｔａｍｅｄｉら，１９９５，Ｇｅｎｅ １６０：２５－３１）から発現されたｌｐｔＤを含むｐＨＭ１１ａの誘導体であり、最後の２つのアミノ酸、この場合ではアミノ酸１２（３－ＭｅＧｌｕ）および１３（Ｌ－イソロイシン（Ｌ－Ｉｌｅ）またはＬ－バリン（Ｌ－Ｖａｌ）もコードする）。１３位においてＬ－Ｋｙｎの代わりにＬ－ＩｌｅまたはＬ－Ｖａｌのいずれかを含有するダプトマイシンの２つの誘導体は、ｄｐｔＤ遺伝子を分裂し、および該遺伝子をＡ５４１４５のｌｐｔＤをコードする遺伝子で置換することにより産生された（化合物Ｃ４、Ｃ５、Ｃ６、Ｃ７、Ｃ８、Ｃ９）。

【０６００】

他のサブユニットのトランス補完（ｔｒａｎｓ－ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔａｔｉｏｎ）に関して同様の操作を行う。すなわち、ダプトマイシン生合成遺伝子クラスターまたはＡ５４１４５生合成遺伝子クラスターのサブユニットにおいて分裂または欠失を生じさせ、次いで、ＮＲＰＳに由来する１個または複数の天然または修飾されたサブユニットによりトランス補完する（後者は、ダプトマイシンまたはＡ５４１４５生合成遺伝子クラスターサブユニットの修飾型によるトランス補完を含み得る）。次いで、ＮＲＰＳサブユニット間のトランス－補完は、前記実施例に示すように分析され得る新規非リボソームペプチドの産生をもたらす。

【０６０１】

ダプトマイシンまたはＡ５４１４５生合成遺伝子クラスターおよびカルシウム依存性抗生物質（ＣＤＡ）生合成遺伝子クラスターの部分を用いてトランス－補完実験を行うため

に、ダプトマイシン生合成遺伝子のセットまたはダプトマイシン生合成遺伝子およびアクセサリー遺伝子のセット、例えば、ＢＡＣクローンＢ１２：０３Ａ０５に含まれるものが、放線菌の他の天然または操作された株または種に形質転換またはコンジュゲートすることにより、導入される。レシピエントは二次代謝産物の既知の産生体または未同定株であってもよく、またはダプトマイシンの生合成に関するもの以外の生合成経路を有するように組換え技法により産生されてもよい。形質転換体またはコンジュゲート完了体を様々な培地中で発酵させ、次いで、全ブロスまたはその抽出物を、新規ダプトマイシン様化合物か、またはダプトマイシン耐性試験用生物に対する生物活性のいずれかに関してスクリーニングする。

【０６０２】

多くの場合、補完は、ダプトマイシンまたはＡ５４１４５生合成経路中の幾つかのサブユニット遺伝子の不活性化により容易となる（ｄｐｔＤの欠失およびｃｄａＰＳ３またはｌｐｔＤのいずれかによる補完について上記したように）。ＮＲＰＳのサブユニットをコードする配列を欠失させるかまたはマーカー遺伝子で置換して、修飾されたＮＲＰＳ生合成経路を形成する；これは、元々の産生株（ダプトマイシンについてはＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ、Ａ５４１４５についてはＳ．ｆｒａｄｉａｅまたはＳ．ｒｅｆｕｉｎｅｕｓ、ＣＤＡについてはＳ．ｃｏｅｌｉｃｏｌｏｒ）かこれらの生合成経路を有するプラスミドのいずれかにおいて成し遂げられ得る。

【０６０３】

新規リポペプチドを産生するために、フランキングＤＮＡ配列にわたる相同組み換えを用いて、ｐＤＡ３００中のｄｐｔＤコーディング領域の大部分を異種マーカー遺伝子と交換した。相同組み換えを行うために、２つのオリゴヌクレオチドを設計して、ｄｐｔＤの直ぐ上流（「５’フラグメント」）および下流（「３’フラグメント」）領域を増幅した。特有の制限部位が導入された（下線）５’末端伸長領域を有する以下のプライマー対を用いて、Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓの染色体ＤＮＡから５’および３’フラグメントを増幅した：

５’フラグメント（１１２２ｂｐ）：

5’ GCG AAG CTT CTG GTG GCG CAT CAC CTG G 3’（配列番号：１）

5’ GCT CTA GAT GGA AGT ATG TCC TCC ATC GC 3’（配列番号：２）

３’フラグメント（１５３５ｂｐ）：

5’ CGG ATC CCG CCG GCA CCT GAC CC 3’（配列番号：３）

5’ CCG AAT TCC GCC TCC GAG TAC ATC GAG G 3’（配列番号：４）

【０６０４】

増幅されたフラグメントを、ｐＮＥＢ１９３（Ｎｗｅ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ）のマルチクローニング部位中の対応する特有の部位に連続してクローニングした。得られたコンストラクトｐＳＤ００２の配向を制限消化分析により確認し、およびＰＣＲ産生部分にエラーがないことをシークエンスにより確認した。マーカー遺伝子ｅｒｍＥ（エリスロマイシン耐性遺伝子；上記Ｈｏｐｗｏｏｄを参照のこと）を含有するＳｐｅＩフラグメントをｐＳＤ００２のＸｂａＩ部位に挿入し、次いで、制限消化分析により確認した。このように得られたプラスミドｐＳＤ００５は、ｄｐｔＤの上流および下流のＤＮＡ配列に相同なＤＮＡストレッチに隣接するｅｒｍＥからなるカセットを含む。相同組み換えによりダプトマイシン生合成遺伝子クラスター経路に挿入されると、このカセットは、本質的に、初めの３１ｂｐおよび最後の１２ｂｐを除く全てのｄｐｔＤをｅｒｍＥと交換し得る。次いで、交換カセットを含有する領域を、温度感受性複製起点およびｒｐｓＬ（ストレプトマイシンに対する感受性を付与する遺伝子）を有するベクターにサブクローニングし（クローニング部位が修飾されたｐＲＨＢ５３８；（ＨｏｓｔｅｄおよびＢａｌｔｚ，１９９７，Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１７９：１８０－１８６））、Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓへの導入用シリーズの最終的なプラスミドｐＳＤ０３０を作製した。

【０６０５】

種間コンジュゲートにより、プラスミドｐＳＤ０３０をＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓに導入した（Ｂａｌｔｚ，１９９８，Ｔｒｅｎｄｓ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．，６：７６－８３）。次いで、一旦液体が培地に吸収されると最終濃度５０μｇ／ｍｌをもたらす、１．２５ｍｇのエリスロマイシンを含有する１ｍＬの水を各プレートに加えた。７日後、形質転換用プレート上で生じたエリスロマイシン耐性コロニーを、２５ｍＬのＴＳＢ（上記Ｈｏｐｗｏｏｄ）およびエリスロマイシン中に播種し、次いで、３０℃で４８時間インキュベーションした。菌糸体を回収し、次いで、菌糸塊の１０分の１量を浸軟し、次いで、２５ｍＬのＴＳＢおよびエリスロマイシンの新規アリコートに移した。次いで、得られた溶液を４０℃でインキュベーションし、ｐＳＤ０３０の温度感受性レプリコンに対して選択した。４８時間後、菌糸体を遠心分離により回収し、浸軟し、次いで、最終容量２ｍＬのＴＳＢ中に再懸濁させた。この懸濁液（１００μＬ）を、５０μｇ／ｍＬのエリスロマイシンおよび３０μｇ／ｍＬのストレプトマイシンを含有するＳＰＭＲプレート上に播種した（Ｂａｂｃｏｃｋら，１９８８，Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１７０：２８０２－２８０８）。生存コロニーをスクリーニングし、次いで、ＰＣＲにより正確な遺伝子型を有することが示され、ｅｒｍＥがｄｐｔＤを首尾よく置換したＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ ＵＡ３７８のごとき株を同定した。次いで、この突然変異体は、初めにｄｐｔＤによりトランス補完された［ここで、ｄｐｔＤは構成的プロモーターｅｒｍＥｐ＊の制御下で発現プラスミドｐＨＭ１１ａから発現されたものである（Ｍｏｔａｍｅｄｉ Ｈ，ら，１９９５，Ｇｅｎｅ １６０（１）：２５－３１）］。

【０６０６】

培地Ａ（“Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ”Ｋｉｅｓｅｒ Ｔ．，ら，Ｊｏｈｎ Ｉｎｎｅｓ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ，Ｎｏｒｗｉｃｈ，２０００（以後「Ｋｉｅｓｅｒ」と称する）を参照のこと；５ｍＬの１０％の水性グリセロール（ＢＤＨ）中、２％の照射燕麦（Ｑｕａｋｅｒ）、０．７％のトリプトン（Ｄｉｆｃｏ）、０．２％の大豆ペプトン（Ｓｉｇｍａ）、０．５％の塩化ナトリウム（ＢＤＨ）、０．１％の微量塩液、１．８％の寒天ｎｏ．２（Ｌａｂ Ｍ）、０．０１％のアプラマイシン（Ｓｉｇｍａ））の１０日間の斜面培養液を懸濁することにより、ＵＡ３７８の出発物質を再度作成した。１ｍＬの出発物質を含有する１．５ｍＬの低温バイアルを－１３５℃での貯蔵から回収し、次いで、直ぐに解凍した。０．３ｍＬの出発物質を培地Ａの斜面に無菌的に播種し、次いで、２８℃で９日間インキュベーションすることにより、前培養液を作製した。前培養液を４ｍＬの０．１％のＴｗｅｅｎ８０（Ｓｉｇｍａ）溶液で無菌的に処理し、次いで、斜面表面を穏やかに浸軟して、栄養菌糸および胞子の懸濁液を調製することにより、シード培養液の播種用物質を作製した。

【０６０７】

１ｍＬの播種物質を、２５０ｍＬの栄養溶液Ｓ（上記Ｋｉｅｓｅｒを参照のこと）含有の２Ｌのバッフル付エルレンマイヤーフラスコ中に無菌的に播種することによりシード培養液を作成し、２４０ｒｐｍ、３０℃で２日間攪拌した。

【０６０８】

１４リットルの栄養溶液Ｐ（上記Ｋｉｅｓｅｒを参照のこと）含有の２０Ｌの発酵槽にシード培養液を無菌的に移すことにより、産生用培養液を作製した。産生用発酵槽は、３５０ｒｐｍで攪拌し、０．５ｖｖｍで通気し、および３０℃に温度制御した。２０時間のインキュベーション後、発酵の間、５ｇ／時間で、５０％（ｗ／ｖ）のグルコース溶液を培養液に供給した。

【０６０９】

４０時間のインキュベーションの後、残りの発酵の間、０．５ｇ／時間で、デカン酸：オレイン酸メチルの５０：５０（ｗ／ｗ）混合物（それぞれＳｉｇｍａおよびＡｃｒｏｓ Ｏｒｇａｎｉｃｓ）を発酵槽に供給した。１１２時間後、培養液を回収し、次いで、ボウル型遠心分離機によるバッチ処理により、バイオマスを培養液上清から取り出した。

【０６１０】

２０Ｌの発酵からのバイオマスを捨て、次いで、Ｍｉｔｓｕｂｕｓｈｉ ＨＰ２０樹脂

（６０×３００ｍｍ）充填の、メタノールおよび水で調整したガラス製オープンカラムに上清をアプライした。溶離の前に、カラムを２Ｌの水、次いで、２Ｌのメタノール／水（１：４）で洗浄した。次いで、カラムを２Ｌのメタノール／水（４：１）、次いで、１Ｌメタノールで溶離し、次いで、２つの別々のフラクションとして収集した。

【０６１１】

液体クロマトグラフィー－質量分析（ＬＣ－ＭＳ）エレクトロスプレーイオン化（ＥＳＩ）分析は、両フラクションがＡ２１９７８Ｃ／ＣＤＡハイブリッド分子を含有することを示した。次いで、より少ない複合体メタノール／水（４：１）フラクションをさらに処理した。これを減圧下で蒸発させ、水性残渣を得、次いで、水を加えて、５００ｍＬとした。次いで、２Ｌの分液漏斗中、３×５００ｍＬの酢酸エチルで逆抽出し、水性および有機フラクションを得た。ＬＣ－ＭＳ（ＥＳＩ）は、ハイブリッド分子が有機相に存在しないことを示し、次いで、それを捨てた。水性フラクションを一晩凍結乾燥した。

【０６１２】

Ｗａｔｅｒｓ　Ｐｒｅｐ　ＬＣシステムおよびＷａｔｅｒｓ　４０×２００ｍｍ　Ｎｏｖａ－Ｐａｋ　Ｃ１８　６０Å　６μｍ　半径方向圧縮（ｒａｄｉａｌｌｙ－ｃｏｍｐｒｅｓｓｅｄ）ダブルカートリッジ、４０×１０ｍｍのガード付を用いる分取用高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）により、ハイブリッド分子を精製した。凍結乾燥した物質を水中に溶解し、次いで、勾配方法を用いて精製した。この方法では、２分間にわたって９０％の水および１０％のアセトニトリルで保持し、次いで、１３分間にわたって２５％の水および７５％のアセトニトリルまでの直線勾配とした。流速は５５ｍＬ／分であり、および全勾配を０．０４％のトリフルオロ酢酸で緩衝した。フラクションを収集し、次いで、Ｆｉｎｎｉｇａｎ　ＳＳＱ７１０ｃ　ＬＣ－ＭＳシステムにて、陽イオンモードのエレクトロスプレーイオン化（ＥＳＩ）を用いて、２００～２０００ダルトンの走査範囲および２秒間の走査で、ＬＣ－ＭＳにより分析した。このＬＣ－ＭＳ分析のためのクラマトグラフィー分離は、Ｗａｔｅｒｓ　Ｓｙｍｍｅｔｒｙ　Ｃ８カラム（４．６×５０ｍｍ，粒径３．５μｍ）にて、最初の０．５分間の遅延の後に６分間にわたって１０％から１００％までのアセトニトリルに増大させ、次いで、さらに３．５分間、１００％のアセトニトリルで維持し、その後、再平衡する、０．０１％のギ酸を含有する水－アセトニトリルの直線勾配で溶離することにより、成し遂げられた。流速は１．５ｍＬ／分であり、および該方法は周囲温度で行った。

【０６１３】

該分析は化合物Ｃ１および化合物Ｃ２を同定した。両フラクションはＮＭＲ研究の前にさらなる精製を必要とした。０．０４％のトリフルオロ酢酸で緩衝した６０％の水および４０％のアセトニトリルを用いるアイソクラチック方法により、化合物Ｃ１をさらに精製した。約１．８ｍｇの物質を単離した。化合物Ｃ２の最終精製には、０．０４％のトリフルオロ酢酸で緩衝した５８％の水および４２％のアセトニトリルを用いるアイソクラチック方法を利用した。約１．５ｍｇの物質を単離した。化合物Ｃ１および化合物Ｃ２に関するＵＶ最大値およびＥＳＩ－ＭＳ分子イオンの情報（陰イオンモードで観察された二重荷電イオン）を以下に示す：

【表１５９】

	化合物C1	化合物C2
ESI-MS(m/z)	814$(M-2H)^{2-}$	821$(M-2H)^{2-}$
UV-vis λ_{max} /nm	221,280,	221,280

【０６１４】

実施例２－６：ｄｐｔＢＣの８位および１１位にて構築されたモジュール交換

ダプトマイシン生合成（ｄｐｔ）遺伝子クラスターを有するＢ１２：０３Ａ０５の切断により、ｄｐｔＢＣ　ｐＫＮ２４を有するプラスミドを構築した。Ｒｅｄ介在組換え系を

用いて、目的のｄｐｔ遺伝子の上流または下流領域のいずれかに相同性を有する４５ｂｐの配列に隣接する抗生物質耐性遺伝子の直鎖状ＰＣＲ産物を導入した（実施例２－４に示すように）。ｄｐｔＢＣ（ｐＫＮ２４－２６）またはｄｐｔＤ（ｐＫＮ２７）の上流（５’）領域を、スペクチノマイシン耐性遺伝子（ｓｐｅｃ）および強力かつ構成的に発現するｅｒｍＥｐ＊を含むｓｐｅｃ－ｅｒｍＥｐ＊カセットにより欠失させた。プライマーＳｐ６Ｄｅｌ－１－２およびｄｐｔＢＣ－ｅｒｍＥｐを用いて、このフラグメントを増幅した。ｄｐｔＢＣ（ｐＫＮ２４）の下流（３’）領域を、ベーターラクタマーゼ遺伝子（ａｍｐ，ｐＢＲ３２２に由来する）により欠失させた。プライマーＧＴＣ　ｄｅｌ２およびＤｐｔＤ－３’：：ａｍｐを用いてこのフラグメントを増幅した。

【０６１５】

研究中のモジュールのリンカー領域に相同な５０ｂｐを有するＰＣＲプライマーを用いて、ＣＡＴモジュールの欠失のための選択カセットを増幅した（リンカーの位置については図５；国際出願番号ＷＯ　０１／３０９８５を参照のこと）。これらのＰＣＲフラグメントをｐＫＮ２４（構成的プロモーターｅｒｍＥｐ＊から発現される、ｄｐｔＢＣのみを含む切断型ｐＤＡ３００、Ｂｉｂｂ，ＭＪ．ら，１９８５，Ｇｅｎｅ　３８（１－３）：２１５－２６）を含むエレクトロコンピテントな細胞中に導入してＲｅｄ－系を誘導する場合、耐性カセットは相同組み換えによりｐＤＡ３００の標的部位に部位特異的に組込まれた（図３）。

【０６１６】

５’欠失，３’欠失

Ｓｐ６Ｄｅｌ－１－２

5’-GCCAGCATGGAGCCGAACTGCCGGAACACCGCGTCCCGGTCCACCTGTGTAGG CTGGAGCTGCTTC-3’,（配列番号：５）

ＧＴＣ　ｄｅｌ２

5’-GCCGACTGGGAGTGGGTCAAGTGGCTGCCGCACGTGCTGGATCCGCATATGAATA TCCTCCTTA-3’（配列番号：６）

ｄｐｔＢＣ－ｅｒｍＥｐ

5’-CCGAGACAGGCAGGATCTCCTCGACTACCTTCGACCGGCGGTTCATATG TCC GCCTCCTTTGGTCAC-3’,（配列番号：７）

ＤｐｔＤ－３’：：ａｍｐ

5’-CATACTTCCTCTCACTCCGCTGCAGGAGGGACTGCTGTTCCACAGTGTGTAGGCTG GAGCTGCTTC-3’（配列番号：８）

【０６１７】

次いで、これらの細胞を、ｔｅｔ耐性マーカーの存在について選択し、次いで、得られたコロニーを遺伝子工学的に分析し、適切な欠失または分裂の構築を確認した。プライマー設計には、目的のリンカー領域内に制限部位を配置することが含まれる（図３）。欠失ＢＡＣが確認されたら、リンカー領域中に組込まれた特有の制限部位（図３のＡｖｒＩＩおよびＰｍｅＩ）を用いて、選択カセットを切り取った。

【０６１８】

Ｒｅｄ介在組換えを再度用いて、交換モジュール（セリン；アラニン）をｐＢＲ３２２（Ｙａｎｉｓｃｈ－Ｐｅｒｒｏｎら，１９８５，Ｇｅｎｅ　３３（１）：１０３－１９；適切な部位に隣接する）にサブクローニングした。この技法をギャップフィリング（ｇａｐ－ｆｉｌｌｉｎｇ）と言い、ここで、プライマーは所望のモジュールのリンカーの内側の領域と５０ｂｐの重複部分を有する（Ｌｅｅ，ＥＣ．ら，２００１，Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　７３：５６）。プライマーを用いて複製起点およびａｍｐｒを含有するｐＢＲ３２２の一部を増幅し、所望のモジュール（セリン；アラニン）内の相同領域に隣接する直鎖状フラグメントを作製した。これらのＰＣＲフラグメントを、ｐＫＮ２４（上記参照）およびｐＫＤ７８（Ｄａｔｓｅｎｋｏ，ＫＡ．，およびＷａｎｎｅｒ，ＢＬ．，２０００，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　Ｕ．Ｓ．Ａ．９７：６６４０）を含有するＤＨ１０Ｂエレクトロコンピテントなｅ．ｃｏｌｉ細胞に導入した。相同な両領域を介して組換えが

生じると、モジュールは元々のベクターからｐＢＲ３２２に移入され得、直鎖状ＰＣＲフラグメントを複製および選択可能な環状型に変換する（図３）。好ましくは、モジュールがクローニングされる元々のベクターは（より高いコピー数を伴う複製起点と対照的に）Ｆ－プラスミド複製起点を有する。

【０６１９】

クローニングしたモジュールをｐＢＲ３２２から切断し、次いで、欠失周辺に導入した適合する制限部位を用いて、欠失型のｐＫＮ２４にライゲートする。これは２つのプラスミド：１）ｐＤＲ２１５５、ここで、ダプトマイシンのＤ－セリン－１１はモジュール交換によりＤ－アラニンで置換されている；および２）ｐＤＲ２１６０、ここで、ダプトマイシンのＤ－アラニン－８はＤ－セリンで置換されている：を産生した。ｐＤＲ２１５５およびｐＤＲ２１６０の両方をＰＣＲおよびシークエンスにより確認した。

【０６２０】

次いで、これらのプラスミドに適する一の発現宿主をＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓにて構築した。ｄｐｔＢＣ、Ｄを除去する染色体欠失を含むｄｐｔＢ－Ｄ突然変異体ＫＮ１００を、実施例２－１に記載の技法を用いて構築した。ｐＫＮ２４およびｐＲＢ０４（ｅｒｍＥ＊構成的プロモーターの制御下でｄｐｔＤサブユニットを発現するベクターｐＨＭ１１ａにおいて構築されたプラスミド）の両方を種間コンジュゲートによりＫＮ１００株に付加し、ＫＮ１０１を作製した。実施例２－２および２－３に記載の条件下で発酵および分析される場合、この株は天然リポペプチドＡ２１９７８Ｃ$_1$、Ａ２１９７８Ｃ$_2$およびＡ２１９７８Ｃ$_3$を産生することが示された。Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ　ＫＮ１００株が確認されると、次いで、第２の誘導体ＫＮ１５６（ｐＲＢ０４を有するＫＮ１００）を作製した。次いで、この株を、ｄｐｔＢＣにおいて行う全モジュール交換用の宿主として用いた。ｐＤＲ２１５５をＫＮ１５６に付加することによりＰＢ１０３を構築した。実施例２－２および２－３に記載の条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ４６、Ｃ４７およびＣ４８（図４）を産生することが示された。

【０６２１】

ｐＤＲ２１６０をＫＮ１５６に付加することによりＰＢ１１８株を構築した。実施例２－２および２－３に記載の条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ２２、Ｃ２３およびＣ２４（図４）を産生することが示された。

【０６２２】

上記の組換え株を発酵させ、次いで、実施例２－２に記載の条件下で分析し、次いで、実施例２－３に記載の条件下で分析した（データの概要を表ＶＩに示す）。

【０６２３】

８または１１位にＡｓｎを有する誘導体を、融合部位ＴＣ（Ｂ）およびＴＥ（ＣＡＴ）を用いるモジュール交換により調製した。Ｒｅｄ介在組換え系を用いて、ｐＫＮ２４上のモジュール８または１１を、加工されたＡｖｒＩＩおよびＰｍｅＩ制限部位に隣接するゲンタマイシン耐性遺伝子（ａｈｐ２）に置換した（Ｃｈｏｗ　ＪＷ，Ｋａｋ　Ｖ，Ｙｏｕ　Ｉ，Ｋａｏ　ＳＪ，Ｐｅｔｒｉｎ　Ｊ，Ｃｌｅｗｅｌｌ　ＤＢ，Ｌｅｒｎｅｒ　ＳＡ，Ｍｉｌｌｅｒ　ＧＨ，Ｓｈａｗ　ＫＪ．２００１，Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ　Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４５，２６９１－２６９４）。モジュール８および１１のＤＮＡ配列は高い相同性を有するので、リンカーＢおよびＣＡＴにある２つのモジュールの欠失のために同じプライマー対を用いた。

【０６２４】

Ａ５４１４５　ＮＲＰＳに由来する１１番目のモジュールであるＡｓｎモジュール（Ｂ－ＣＡＴ）をコードするＤＮＡフラグメントを、ギャップ修復方法によりクローニングした。ギャップ修復プライマーを用いて、ａｍｐ耐性遺伝子および複製起点を含むｐＢＲ３２２の一部をＰＣＲ増幅し、組込まれたＮｈｅＩおよびＨｐａＩ制限部位に隣接し、ならびに所望のモジュールフラグメント内に４５ｂｐの相同性を有する直鎖状フラグメントを作製した。直鎖状ＰＣＲフラグメントをＳＦ１：１０Ｄ０８を有するエレクトロコンピテントなＥ．ｃｏｌｉに形質転換した（Ａ５４１４５生合成遺伝子クラスターの部分をコー

ドする＞１００ｋｂのＤＮＡのＢＡＣクローン（このクローンは、Ｍｉａｏら，２００５，Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ １５１：１５０７－１５２３に記載されたプロトコルを用いて構築されたゲノムＢＡＣに基づくＳ．ｆｒａｄｉａｅライブラリーに由来した。クローンＢＡＣ－Ｐ１３は、Ｍｉａｏら，２００５，Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ １５１：１５０７－１５２３のプロトコルおよびＲｅｄ組換え系をコードするｔｅｔＲ－ｐＫＤ１１９（Ｄａｔｓｅｎｋｏ，ＫＡ．，およびＷａｎｎｅｒ，ＢＬ．，２０００，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ．Ｓ．Ａ．９７：６６４０）を用いて該ライブラリーから単離した）。Ｒｅｄ誘導性組換えが両相同領域にて生じると、ＡｓｎモジュールがＢＡＣ－Ｐ１３から直鎖状ｐＢＲ３２２に移入され、環状および複製プラスミドが産生された。（シークエンスにより確認されるような）正確な配列を有するモジュールフラグメントをＮｈｅＩおよびＨｐａＩ消化により切断し、次いで、適切な欠失型ｐＫＮ２４とのライゲーションに用いて、ハイブリッドプラスミドを産生した。

【０６２５】

モジュール８の欠失用プライマー

ｐＫＮ２４－Ｍｏｄ８：：Ｇｅｎ．Ｂ－ＣＡＴ

８＿Ｂ

TTGTTCGAGGCGCCGACGGTGAGCCGTTTGGAGCGGTTGCTGCGGGAGCGCCTAGGACGTTGACACCATCGAATGG．（配列番号：９）

８＿ＣＡＴ－Ｐｍｅ

ACAATCTCAGCACCCCCCACCACACCAACCGCCCCAGCGTCCGAACCACGTTTAAACCCTCATTCATCGGGCGAAAG（配列番号：１０）

【０６２６】

モジュール１１の欠失用プライマー

ｐＫＮ２４－Ｍｏｄ１１：：Ｇｅｎ．Ｂ－ＣＡＴ

８＿Ｂ

TTGTTCGAGGCGCCGACGGTGAGCCGTTTGGAGCGGTTGCTGCGGGAGCGCCTAGGACGTTGACACCATCGAATGG（配列番号：１１）

８＿ＣＡＴ－Ｐｍｅ

ACAATCTCAGCACCCCCCACCACACCAACCGCCCCAGCGTCCGAACCACGTTTAAACCCTCATTCATCGGGCGAAAG（配列番号：１２）

【０６２７】

ｌｐｔＡｓｎ１１のギャップ修復用プライマー

Ｌｐｔ－Ｎ１１－Ｂ－Ｐ１３

TCGGGGCGCGGGTCGGCGGGGCGCAGCCGGGGTCCGGCCTCGCCC GCTAGCTTCTTAGACGTCAGGTGGCAC（配列番号：１３）

Ｌｐｔ－Ｎ１１－ＣＡＴ－Ｐ１４

CGCGACATCTTCGAACAGCGCACGCCCGCCGCCCTCGCCGGCCGC GTTAACCGATACGCGAGCGAACGTGA（配列番号：１４）

【０６２８】

プラスミドをＰＣＲおよび制限消化によりスクリーニングし、次いで、正確な遺伝子型を有するプラスミドをｐＫＮ４５（Ｄ－Ａｓｎモジュールが８位に挿入されている）およびｐＫＮ４７（Ｄ－Ａｓｎモジュールが１１位に挿入されている）と称した。次いで、これらの２つのプラスミドを発現宿主ＫＮ１５６（ΔｄｐｔＢＣＤ＋ｐＲＢ０４）にコンジュゲートさせた。コンジュゲート完了体をアプラマイシン（５０μｇ／ｍＬ）含有のＡＳＩプレート上で選択し、次いで、実施例２－２および２－３に記載したプロトコルを用いて、これらのプレートから選択された組換え株を発酵および分析した。８位にＡｓｎが挿入されたＡ２１９７８$C_{1,2,3}$の分子量に一致する分子量を有する新規リポペプチドＣ１８９、Ｃ１９０およびＣ１９１を、ＫＮ３９２の発酵ブロスからＬＣ－ＭＳにより検出した（表ＶＩを参照のこと）。１１位にＡｓｎが挿入されたＡ２１９７８$C_{1,2,3}$の分子量に一致する分子量を有する新規リポペプチドＣ２３３、Ｃ２３４およびＣ２３５

を、ＫＮ４０４の発酵ブロスからＬＣ－ＭＳにより検出した（表ＶＩを参照のこと）。

【０６２９】

表ＶＩ－８，１１位におけるモジュール交換からのデータ

【表１６０】

Dptアミノ酸#	交換アミノ酸（ソース経路）	5'リンカー	3'リンカー	結果
D-Ala-8	D-Ser(dpt)	T-C#	T-E#	1650(化合物C22),1664(化合物C23)および1678(化合物C24)の検出分子量を有するリポペプチド
D-Asn-8	D-Ser(dpt)	T-C#	T-E#	1677.72(化合物C189),1691.75(化合物C190)および1705.78(化合物C191)の検出分子量を有するリポペプチド
D-Ser-11	Ala(dpt)	T-C#	T-E#	1618(化合物C46),1632(化合物C47)および1646(化合物C48)の検出分子量を有するリポペプチド
D-Asn-11	Ala(dpt)	T-C#	T-E#	1661.72(化合物C243),1675.75(化合物C244)および1689.78(化合物C245)の検出分子量を有するリポペプチド

（＃ＴーＣおよびＴーＥの位置については図５を参照のこと）

【０６３０】

期待された質量イオンの存在が確認されたら、ＰＢ１０３、ＰＢ１１８、ＫＮ３９２およびＫＮ４０４を大規模スケールで発酵させ、および実施例２－５に記載の技法を用いて化合物Ｃ２２、Ｃ４６、Ｃ１８９、Ｃ２３３を精製した。

【０６３１】

実施例２－７：ｄｐｔＤの１３位におけるモジュール交換

キヌレニンを置換するためにｄｐｔクラスターの１３位においてモジュール交換を構築した。これらのコンストラクトをサブユニット発現プラスミドｐＲＢ０４（実施例２－５に記載のｅｒｍＥ＊構成的プロモーターの制御下でｄｐｔＤサブユニットを発現するベクターｐＨＭ１１ａにおいて構築されたプラスミド）にて作製した。特有のＡｖｒＩＩ部位をＴ－Ｃリンカー内に導入した。第２の特有のＰｍｅＩをｄｐｔＤのコーディング領域の直ぐ下流に導入した。これにより、Ｋｙｎの末端モジュールをチオエステラーゼと共にｄｐｔＤから除去できた。ドメイン配列ＣＡＴＴｅを含む２つの交換モジュールを、ＡｖｒＩＩおよびＰｍｅＩ部位に隣接するフラグメントとして調製した。イソロイシンおよびトリプトファンモジュールは、Ａ５４１４５（Ｉｌｅ）およびＣＤＡ（Ｔｒｐ）経路における末端アミノ酸の取り込みに関与した。交換モジュールを欠失型ｐＲＢ０４へクローニングした後、ハイブリッドコンストラクトをｄｐｔＤ欠失型Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓに導入し、次いで、実施例２－１に記載の技法を用いて発酵および分析を完了した。このデータを表ＶＩＩに要約する。

【０６３２】

表ＶＩＩ－１３位におけるモジュール交換からのデータ

【表１６１】

交換アミノ酸（ソース経路）	Dptアミノ酸#	5’リンカー	3’リンカー	結果
Trp(CDA)	Kyn-13	T-C#	dptDの3’	1630(化合物C1),1644(化合物C2)および1658(化合物C3)の検出分子量を有するリポペプチド
Ile(A54145)	Kyn-13	T-C#	dptDの3’	1557(化合物C4),1571(化合物C5)および1585(化合物C6)の検出分子量を有するリポペプチド

#リンカーは図５に定義の通りである。

【０６３３】

実施例２－８：ダプトマイシンＮＲＰＳ遺伝子クラスターからのｄｐｔＩ遺伝子の欠失は、１２位にグルタミン酸を有するリポペプチドの産生をもたらす

ｄｐｔＩ、ｌｐｔＩおよびｇｌｍＴ遺伝子の配列比較により、ｄｐｔＩは１２位にあるグルタミン酸のメチル化に関与してもよいことが示された（ｇｌｍＴ遺伝子産物は関連するリポペプチドＣＤＡの同様の位置にあるグルタミン酸をメチル化すると考えられ；ｌｐｔＩ遺伝子産物はＡ５４１４５の合成においてグルタミン酸をメチル化すると考えられる）。この理論を検証するために、ｐＤＡ３００を含むＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ　ＵＡ４３１のｄｐｔＩ遺伝子において欠失を作製した。ｄｐｔＩの上流および下流に隣接する２×１ｋｂのフラグメントを含む欠失プラスミドを構築した。これらのフラグメントを、ｄｐｔＩのインフレーム欠失をもたらすようにライゲートした。このカセットをｐＲＨＢ５３８（実施例２－１を参照のこと）にクローニングし、次いで、Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ　ＵＡ４３１／ｐＤＡ３００に導入した。適切な選択条件下（実施例２－１を参照のこと）、染色体上で欠失カセットをｄｐｔＩ遺伝子と交換することで、ｄｐｔＩのインフレーム欠失を構築した。この突然変異体の遺伝子型をＰＣＲおよびサザンブロットにより確認にした。実施例２－１に記載の技法を用いて、この突然変異体を発酵および分析した。この分析の結果は、これらの株は、唯一、１２位に３－メチル－グルタミン酸の代わりにグルタミン酸を含有するリポペプチドについて予想される質量に対応する、１６２０、１６３４および１６４８の質量を有するリポペプチド：それぞれ化合物Ｃ１０、化合物Ｃ１１および化合物Ｃ１２を産生し得るということであった。このデータから、ｄｐｔＩはダプトマイシンの合成の間、グルタミン酸のメチル化に関与することが結論付けられた。

【０６３４】

実施例２－９：組換えＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓに由来する新規リポペプチドのコンビナトリアルライブラリーの構築

実施例２－５からもたらされた良好なモジュール交換は、ｐＤＲ２１５５およびｐＤＲ２１６０を、ｌｐｔＤ（発現プラスミド中にクローニングされた３ＭｅＧｌｕおよびＩｌｅ／Ｖａｌをコードする Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　Ａ５４１４５生合成経路に由来する末端サブユニット、上記）およびｃｄａＰＳ３（発現プラスミド中にクローニングされた３ＭｅＧｌｕおよびＴｒｐをコードするＳ．ｃｏｅｌｉｃｏｌｏｒカルシウム依存性抗生物質ＣＤＡ生合成経路に由来する末端サブユニット、上記）を含み得るｄｐｔＤについてのサブユニット交換と組み合わせることによりさらに高められた。これらの組み合わせは、１２位において３－メチル－グルタミン酸の代わりにグルタミン酸を含有させ得るｄｐｔＩ（

ダプトマイシンの１２位のグルタミン酸のメチル化に関与する推定上のメチル－トランスフェラーゼ）欠失を含む宿主にて発現させることにより、さらに高められた。

【０６３５】

上記した１個または複数の方法：

１．８および１１位において改変をもたらすためのモジュール交換、

２．１２位において改変をもたらすためのｄｐｔＩ欠失、および

３．１３位において改変をもたらすためのサブユニット補完

を組み合わせて、４８個の新規リポペプチドを含有するコンビナトリアルライブラリーを構築した。

【０６３６】

実施例２－５に記載したＫＮ１００の構築に加えて、ｄｐｔＢＣ、Ｄ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｊを除去する染色体欠失を含有する第２のＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ突然変異体を構築し（実施例２－１に記載した技法を用いて）、ＫＮ１２５と称した。ＫＮ１２５がヌル突然変異体であることを確認した後、それを用いて、ｐＫＮ２４およびｐＲＢ０４をＫＮ１２５に付加することにより、ＫＮ１５９を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は、Ａ２１９７８Ｃにおいて見られた１２位のグルタミン酸のメチル基を全て欠失している化合物Ｃ１０、Ｃ１１およびＣ１２を産生することが示された。

【０６３７】

ｐＫＮ２４およびｐＭＦ２３をＫＮ１００に付加することにより、ＫＮ１０７株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ１、Ｃ２およびＣ３を産生することが示された。

【０６３８】

ｐＫＮ２４およびｐＭＦ３０をＫＮ１００に付加することにより、ＫＮ１１０株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ４、Ｃ５、Ｃ６、Ｃ７、Ｃ８およびＣ９を産生することが示された。

【０６３９】

ｐＫＮ２４およびｐＭＦ２３をＫＮ１２５に付加することにより、ＫＮ１６０株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ１３、Ｃ１４およびＣ１５を産生することが示された。

【０６４０】

ｐＫＮ２４およびｐＭＦ３０をＫＮ１２５に付加することにより、ＫＮ１６１株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ１６、Ｃ１７、Ｃ１８、Ｃ１９、Ｃ２０およびＣ２１を産生することが示された。

【０６４１】

次いで、上記したコンビナトリアルアプローチは、ｐＤＲ２１５５およびｐＤＲ２１６０中に修飾したｄｐｔＢＣコンストラクトを付加することにより高められた。ｐＤＲ２１５５およびｐＭＦ２３をＫＮ１００に付加することにより、ＰＢ１０５株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ４９、Ｃ５０およびＣ５１を産生することが示された。

【０６４２】

ｐＤＲ２１５５およびｐＭＦ３０をＫＮ１００に付加することにより、ＰＢ１０８株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ５２、Ｃ５３、Ｃ５４、Ｃ５５、Ｃ５６およびＣ５７を産生することが示された。

【０６４３】

ｐＤＲ２１５５およびｐＲＢ０４をＫＮ１２５に付加することにより、ＰＢ１１０株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ５８、Ｃ５９およびＣ６０を産生することが示された。

【０６４４】
ｐＤＲ２１５５およびｐＭＦ２３をＫＮ１２５に付加することにより、ＰＢ１１３株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ６１、Ｃ６２およびＣ６３を産生することが示された。
【０６４５】
ｐＤＲ２１５５およびｐＭＦ３０をＫＮ１２５に付加することにより、ＰＢ１１６株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ６４、Ｃ６５、Ｃ６６、Ｃ６７、Ｃ６８およびＣ６９を産生することが示された。
【０６４６】
ｐＤＲ２１６０およびｐＭＦ２３をＫＮ１００に付加することにより、ＰＢ１２０株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ２５、Ｃ２６およびＣ２７を産生することが示された。
【０６４７】
ｐＤＲ２１６０およびｐＭＦ３０をＫＮ１００に付加することにより、ＰＢ１２３株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ２８、Ｃ２９、Ｃ３０、Ｃ３１、Ｃ３２およびＣ３３を産生することが示された。
【０６４８】
ｐＤＲ２１６０およびｐＲＢ０４をＫＮ１２５に付加することにより、ＰＢ１２８株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ３４、Ｃ３５およびＣ３６を産生することが示された。
【０６４９】
ｐＤＲ２１６０およびｐＭＦ２３をＫＮ１２５に付加することにより、ＰＢ１３０株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ３７、Ｃ３８およびＣ３９を産生することが示された。
【０６５０】
ｐＤＲ２１６０およびｐＭＦ３０をＫＮ１２５に付加することにより、ＰＢ１３１株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ４０、Ｃ４１、Ｃ４２、Ｃ４３、Ｃ４４およびＣ４５を産生することが示された。
【０６５１】
ｐＫＮ４５およびｐＭＦ２３をＫＮ１００に付加することにより、ＫＮ３９３株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ１９８、Ｃ１９９およびＣ２００を産生することが示された。
【０６５２】
ｐＫＮ４５およびｐＭＦ３０をＫＮ１００に付加することにより、ＫＮ３９４株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ２０１、Ｃ２０２、Ｃ２０３、Ｃ２１０、Ｃ２１１およびＣ２１２を産生することが示された。
【０６５３】
ｐＫＮ４５およびｐＲＢ０４をＫＮ１２５に付加することにより、ＫＮ３９５株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ１９２、Ｃ１９３およびＣ１９４を産生することが示された。
【０６５４】
ｐＫＮ４５およびｐＭＦ２３をＫＮ１２５に付加することにより、ＫＮ３９６株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ１９５、Ｃ１９６およびＣ１９７を産生することが示された。
【０６５５】
ｐＫＮ４５およびｐＭＦ３０をＫＮ１２５に付加することにより、ＫＮ３９７株を構築

した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ２０４、Ｃ２０５、Ｃ２０６、Ｃ２０７、Ｃ２０８およびＣ２０９を産生することが示された。

【０６５６】

ｐＫＮ４７およびｐＭＦ２３をＫＮ１００に付加することにより、ＫＮ４０５株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ２２４、Ｃ２２５およびＣ２２６を産生することが示された。

【０６５７】

ｐＫＮ４７およびｐＭＦ３０をＫＮ１００に付加することにより、ＫＮ４０６株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ２２１、Ｃ２２２、Ｃ２２３、Ｃ２１３、Ｃ２１４およびＣ２１５を産生することが示された。

【０６５８】

ｐＫＮ４７およびｐＲＢ０４をＫＮ１２５に付加することにより、ＫＮ４０７株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ２３０、Ｃ２３１およびＣ２３２を産生することが示された。

【０６５９】

ｐＫＮ４７およびｐＭＦ２３をＫＮ１２５に付加することにより、ＫＮ４０８株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ２２７、Ｃ２２８およびＣ２２９を産生することが示された。

【０６６０】

ｐＫＮ４７およびｐＭＦ３０をＫＮ１２５に付加することにより、ＫＮ４０９株を構築した。実施例２－２および２－３に記載した条件下で発酵および分析される場合、この株は化合物Ｃ７２、Ｃ２１９、Ｃ２２０、Ｃ２１６、Ｃ２１７およびＣ２１８を産生することが示された。

【０６６１】

実施例２－１０：ダプトマイシンの２～４位に構築されたモジュール交換

ｄｐｔＡ、ｄｐｔＢＣまたはｄｐｔＡおよびＢＣの組み合わせのいずれかにおいて複数のモジュール交換を実施し、これらの交換を完了した。ｐＫＮ２４はｄｐｔＢＣのみを含んだので、新規発現プラスミドが必要だった。新規ベクターｐＫＮ１８は、ｄｐｔＡおよびｄｐｔＢＣの両方を発現し得るＢ１２：０３Ａ０５（ダプトマイシン生合成経路の全てを含むＢＡＣクローン、実施例２－１を参照のこと）の切断型産物であった。プラスミドｐＫＮ１８は、Ｂ１２：０３Ａ０５の２つの連続した欠失を介するＲｅｄ介在組換え（実施例２－５を参照のこと）系を用いてＢ１２：０３Ａ０５を切断することにより構築された。２つの欠失は、ｄｐｔＲの上流にある全遺伝子およびｄｐｔＢＣの下流にある全遺伝子を欠失させた（ｐＫＮ１８はｄｐｔＲ－ｄｒｒＡＢ－ｄｐｔＥＦＡＢＣ遺伝子座を有する）。初めに、遺伝子座の上流（５’）領域（インサートはＢ１２：０３Ａ０５上の０．５５２ｋｂ－４５、５７６ｋｂに統合する。プライマーについては表ＶＩを参照のこと）をスペクチノマイシン耐性遺伝子により欠失させた。ｄｐｔＢＣの下流（３’）領域（インサートは９１，０９３ｋｂ－１２７，３９２ｋｂに統合する。プライマーについては表Ｖを参照のこと）をａｍｐ遺伝子により欠失させた。

【０６６２】

ｄｐｔＡ，ＢＣにおけるモジュール交換を、ｄｐｔＤ（実施例２－６を参照のこと）およびペプチド最適化メチルトランスフェラーゼｄｐｔＩ（実施例２－８を参照のこと）についてのサブユニット交換と組み合わせるために、修飾したｐＫＮ１８プラスミドを用いて、ｄｐｔ欠失宿主ＵＡ４３１（実施例２－１を参照のこと）においてｄｐｔＩＪ遺伝子を発現し得る新規発現プラスミドを構築する必要があった。ＵＡ４３１（ΔｄｐｔＥ－Ｊ）においてグルタミン酸メチルトランスフェラーゼを発現させるために、強力なプロモーターｐｅｒｍＥｐ＊を有し、およびｐｈｉ－ＢＴ１ファージに由来する染色体上への組込みに機能するプラスミドｐＫＮ５４を、ｋａｎＲ　ｐＲＴ８０２（Ｇｒｅｇｏｒｙ，Ｍ．

Ａ．；Ｔｉｌｌ，Ｒ．；Ｓｍｉｔｈ，Ｍ．Ｃ．；．２００３．Ｊ Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１８５：５３２０－５３２３）に基づいて構築した。ｅｒｍＥｐ＊および転写ターミネーターを有するｐＨＭ１１ａ（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｓｐｐにおける異種遺伝子発現用組込みベクター，Ｍｏｔａｍｅｄｉ，Ｈ；Ｓｈａｆｉｅｅ，Ａ；Ｃａｉ，ＳＪ；１９９５，Ｇｅｎｅ．，１６０：２５－３１）に由来する１．８ｋｂのＢｇｌＩＩ／ＳｍａＩフラグメントを、ｐｈｉ－ＢＴ１組込み系をコードするｐＲＴ８０２（Ｇｒｅｇｏｒｙ，Ｍ．Ａ．；Ｔｉｌｌ，Ｒ．；Ｓｍｉｔｈ，Ｍ．Ｃ．；．２００３．Ｊ Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１８５：５３２０－５３２３）のＢａｍＨＩ／ＥｃｏＲＶ部位にクローニングした。カナマイシン（５０μｇ／ｍＬ）を有する選択培地においてプラスミドを増殖させた。

【０６６３】

テンプレートとしてＢ１２：０３Ａ０５を用いて、ｄｐｔＩおよびｄｐｔＪの両方をコードするＤＮＡフラグメントをＰＣＲ増幅した。２つのプライマー（操作された制限部位（下線）を有する）、ｄｐｔＪ－Ｃ－ＨｉｎｄＩＩＩ:5’-GGCGGAAGCTTACGGCACGGCAAGGCCGTTTC-3’（配列番号：１５）およびｄｐｔＩ－Ｎ－ＮｄｅＩ:5’-GGCGGCATATGACCGTGCACGACTACCAC-3’（配列番号：１６）：をＰＣＲ増幅に用いた。ＰＣＲフラグメントをｐＫＮ５４のＮｄｅＩおよびＨｉｎｄＩＩＩ部位にクローニングし、ｐＫＮ５５を産生させた。

【０６６４】

最後に、本実施例に記載した複数のモジュール交換に用いられ得る一連の発現宿主を作製した。ｐＲＢ０４（ミニサークル組込み部位からｄｐｔＤを発現する、実施例２－６を参照のこと）をＵＡ４３１（ΔｄｐｔＥ－Ｊ）に導入することにより、ＫＮ５７６を構築した。ｐＲＢ０４（実施例２－６を参照のこと）およびｐＫＮ５５（ｐｈｉ－ＢＴ１組込み部位からｄｐｔＩＪを発現する）をＵＡ４３１（ΔｄｐｔＥ－Ｊ）に導入することにより、ＫＮ５８０を構築した。ｐＭＦ３０（ミニサークル組込み部位からｌｐｔＤを発現する、実施例２－６を参照のこと）をＵＡ４３１（ΔｄｐｔＥ－Ｊ）に導入することにより、ＫＮ５７７を構築した。ｐＭＦ３０（実施例２－６を参照のこと）およびｐＫＮ５５をＵＡ４３１（ΔｄｐｔＥ－Ｊ）に導入することにより、ＫＮ５８７を構築した。

【０６６５】

Ｓｐ６ ｄｅｌ３

5’GCATCCGATGCAAGTGTGTCGCTGTCGACGGTGACCCTATAGTCGTGTAGGCTGGAGCTGCTTC（配列番号：１７）

Ｓｐ６ ｄｅｌ４

5’-CCGAGGAAAAGAGGGAACGGGACAGGTCAGTGACCGGCGACCGTGCATATGAAT ATCCTCCTTA-3’（配列番号：１８）

ＤｐｔＤ－３’：：ａｍｐ

5’-CATACTTCCTCTCACTCCGCTGCAGGAGGGACTGCTGTTCCACAGTGTGTAGGCTG GAGCTGCTTC-3’（配列番号：１９）

ＧＴＣ ｄｅｌ２

5’-GCCGACTGGGAGTGGGTCAAGTGGCTGCCGCACGTGCTGGATCCGCATATGAATA TCCTCCTTA-3’（配列番号：２０）

【０６６６】

Ｒｅｄ介在組換え系を用いて複数モジュール交換をｐＫＮ１８にて完了し、ダプトマイシンコア上の幾つかのアミノ酸残基を同時に改変した。初めに、ｇｅｎＲ（Ｗｏｈｌｌｅｂｅｎ，Ｗ．ら，１９８９，Ｍｏｌ．Ｇｅｎ．Ｇｅｎｅｔ．２１７：２０２－２０８）遺伝子をｐＫＮ１８に導入して、ＢおよびＣＡＴのリンカー領域間のモジュール２－３－４（２－４）をコードするＤＮＡフラグメントを置換した（交換２－４）。次いで、ｇｅｎＲ遺伝子をＡｖｒＩＩ／ＰｍｅＩ消化により除去した。

【０６６７】

Ａ５４１４５経路に由来するモジュール２－４をコードするＤＮＡフラグメントを、実施例２－５において単一のモジュール交換について記載されているようなギャップ修復方

法により、ｐＢＲ３２２にクローニングした。このフラグメントをＮｈｅＩおよびＨｐａＩ消化により切断し、次いで、欠失させたｐＫＮ１８にライゲートし、ｐＫＮ５１（ダプトマイシンの２位にＤ－Ｇｌｕを有し、３位にＡｓｎを有する）を産生した。このプラスミドｐＫＮ５１を組換えにより、発現宿主：ＫＮ５７６に導入しＫＮ６３０を産生させ；ＫＮ５８０に導入しＫＮ６３１を産生させ；ＫＮ５７７に導入しＫＮ６３２を産生させ；およびＫＮ５８７に導入しＫＮ６３３を産生させた。これらの組換え株を実施例２－２および２－３に記載した技法を用いて発酵および分析した。ＫＮ６３３の発酵ブロスは、Ｃ２５９、Ｃ２６０、Ｃ２６１、Ｃ２６２、Ｃ２６３およびＣ２６４の産生に一致する質量イオンを含む唯一の株だった。他の株ＫＮ６３０、ＫＮ６３１およびＫＮ６３２に由来する発酵ブロスのＬＣ／ＭＳ分析は、新規リポペプチドの存在を全く示さなかった。

【０６６８】

欠失用プライマー

ｄｐｔ２－４．

ｄｐｔ－Ａｓｎ２－Ｄｅｌ－Ｂ：

GTTCGCCTTCCCCACCGTCGCCGGCCTTCTCCCGCTCCTGGACGACAA CCTAGGTGTGTAGGCTGGAGCTGCTTCG（配列番号：２１）

ｄｐｔ－Ｔｈｒ４－Ｄｅｌ－ＣＡＴ：

TCAGGGCGCCGGTCGATCCTGGTCACAGGTGGCAGGGCGGTGCCGG GTTTAAACCATATGAATATCCTCCTTA（配列番号：２２）

【０６６９】

ｇａｐ修復クローニング用プライマー

ｌｐｔ２－４

ＬｐｔＧｌｕ２－Ｐｉｃｋｕｐ－Ｂ：

5’ TCC GGG CGG GGC CGG ACG GGA CGG ACG TGG TCG TCC GGC ACG GCC GCTAGCTTCTTAGA CGTCAGGTGGCAC 3’（配列番号：２３）

ｌｐｔ－Ｔｈｒ４－ｐｉｃｋｕｐ－ＣＡＴ：

5’ TTC GAG GCG CCC ACG CCC GCC GCG CTG TCC CGG CGC CTC GACACC GTTAAC CGATACGCGAGCGAACGTGA 3’（配列番号：２４）

【０６７０】

実施例２－１１：ダプトマイシンの８～１１位において構築されたモジュール交換

実施例２－５に示すようなＲｅｄ介在組換え系を用いて、８および１１位において２つの改変を含むダプトマイシン誘導体を産生した。簡単に記載すると、ＡｖｒＩＩおよびＰｍｅＩ制限部位に隣接するゲンタマイシン耐性遺伝子により、４つのモジュール（Ｄ－Ａｌａ８－Ａｓｐ９－Ｇｌｙ１０－Ｄ－Ｓｅｒ１１）をコードするＤＮＡフラグメントをｐＫＮ２４から欠失させた。次いで、ｇｅｎＲ遺伝子をＡｖｒＩＩ／ＰｍｅＩ消化により除去した。

【０６７１】

ギャップ修復方法（実施例２－５）によりｐＢＲ３２２上にサブクローニングしたＡ５４１４５　ＢＡＣ－Ｐ１３に由来するモジュール８－９－１０－１１（Ｄ－Ｌｙｓ－Ａｓｐ－Ｇｌｙ－Ｄ－Ａｓｎ）をコードする対応するＤＮＡフラグメントを、欠失させたｐＫＮ２４とのライゲーションに用いて、ｐＫＮ５０を産生した。ＫＮ５０をＫＮ１５６（実施例２－９を参照のこと、Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ　ΔｄｐｔＢＣ，Ｄ＋ｐＲＢ０４［ｅｒｍＥ＊構成的プロモーターの制御下でｄｐｔＤサブユニットを発現するベクターｐＨＭ１１ａにおいて構築されたプラスミド、実施例２－５を参照のこと］）に導入してＫＮ４１０を作製した。実施例２－２および２－３に記載したプロトコルを用いてＫＮ４１０を発酵および分析した。ＬＣ／ＭＳデータの解析により、Ａ２１９７８Ｃ$_{1,2,3}$の８位にリシンおよび１１位にアスパラギンが挿入されたことに一致する質量イオンの存在が示された。これらの化合物をＣ２３６、Ｃ２３７、Ｃ２３８と称した。

【０６７２】

モジュール８－１１の欠失用プライマー

８＿Ｂ
TTGTTCGAGGCGCCGACGGTGAGCCGTTTGGAGCGGTTGCTGCGGGAGCGCCTAGGACGTTGACACCATCGAATGG（配列番号：２５）
１１＿ＳＵＥ（ｄｐｔＢＣの３’末端で終結する欠失）
CAGCTCGCTGATGATATGCTGACGCTCAATGCCGTTTGGCCTCCGACTAAGTTTAAACCCTCATTCATCGGGCGAAAG（配列番号：２６）
【０６７３】
モジュール８－１１のｇａｐ修復用プライマー
ｌｐｔＫ８－Ｂ－Ｐ１３
GTCCTCCGACCGCGACATCCGTCGCAACGCGGGGCGGGTGTCAGGGCGG GCTAGCTTCTTAGACGTCAGGTGGCAC（配列番号：２７）
ｌｐｔ－Ｎ１１－ＳＵＥ－Ｐ１４（ｌｐｔＢＣの３’末端に伸長するクローン化フラグメント）
CACCGAACTCGACCAGCTCGAAGCAGAGTGGAAGGCCGGCTGATG GTTAACCGATACGCGAGCGAACGTGA（配列番号：２８）
【０６７４】
実施例２－１２：新規リポペプチドの産生のためのＳ．ｆｒａｄｉａｅに基づくｉｎ－ｔｒａｎｓ発現系の構築
ハイブリッド非リボソームポリペプチドシンテターゼ（ＮＲＰＳ）経路の発現のために、ＮＲＰＳの全ておよび潜在的なアミノ酸修飾遺伝子を欠失したＡ５４１４５因子高産生株のＳ．ｆｒａｄｉａｅ種を構築した。操作修飾された経路をＢＡＣに基づくベクター上でこの株中にコンジュゲートさせ、該ベクターのΦＣ３１　ａｔｔＢ部位にて、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅゲノムの中立部位に部位特異的に組み込んだ。
【０６７５】
Ｓ．ｆｒａｄｉａｅに由来する推定される全ＮＲＰＳ遺伝子を欠失させるために、ｌｐｔＥＦの上流およびｌｐｔＩの下流に由来するフランキングＤＮＡを含む欠失カセットを構築した。
【０６７６】
ｌｐｔＥＦの上流（５’）およびｌｐｔＩの下流（３’）に由来するフランキング領域を、ｔｓｒおよびｃａｔを含有する選択カセットの周囲にクローニングした。５’フラグメントは３６６５塩基長であり、および３’フラグメントは２００４塩基長であった。これらの２つのフラグメントをｔｓｒおよびｃａｔ耐性カセットと共に、温度感受性複製起点およびｒｐｓＬ（ストレプトマイシン感受性）の優性対立遺伝子を含有するｐＲＨＢ５３８と称される送達用プラスミド（Ｈｏｓｔｅｄ，ＴＪ．およびＢａｌｔｚ，ＲＨ．，１９９７，Ｊ　Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ．１７９（１）：１８０－６）の１コピーにクローニングした。このプラスミドを、ストレプトマイシン耐性を付与する劣性ｒｐｓＬ対立遺伝子を有するＳ．ｆｒａｄｉａｅ株に導入した。次いで、この組換え株をブロス培養にて一晩３９℃でインキュベーションし、その後、ストレプトマイシンおよびチオストレプトを含有するプレート上に細胞を広げ、次いで、３９℃でインキュベーションした。これらの条件下では、相同組み換えによりｌｐｔＥ－Ｉ遺伝子座と欠失カセット（ｔｓｒおよびｃａｔを含有する）を交換した株のみが選択に対して生存し；他の全ての遺伝子型は除去された。この株をＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１１８７と称した。
【０６７７】
実施例２－１３：Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ株の発酵
－８０℃で貯蔵したＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１１８７の菌糸体グリセロールストックを、培地Ｒ［１０．３％のスクロース（Ｓｉｇｍａ）、０．０２５％の硫酸カリウム（Ｓｉｇｍａ）、１．０１％の塩化マグネシウム六水和物（Ｓｉｇｍａ）、１％のグルコース（Ｓｉｇｍａ）、０．０１％のカザミノ酸（Ｄｉｆｃｏ）、０．５％の酵母抽出物（Ｄｉｆｃｏ）、０．５７％のＴＥＳバッファー（Ｓｉｇｍａ）、２．２％の寒天（ＭＢＩ）、０．００５％のリン酸カリウム（Ｓｉｇｍａ）、０．２９％の塩化カルシウム二水和物（

Ｓｉｇｍａ）および０．０７％の水酸化ナトリウム（Ｓｉｇｍａ）］（Ｋｉｅｓｅｒを参照のこと）の寒天プレート上に播種し、次いで、３０℃で３～５日間成長させた。

【０６７８】

寒天プレート表面から物質を穏やかに浸軟させることにより、スターター培養液を作製し、栄養菌糸および胞子の懸濁液を調製し、これを、適切な抗生物質を含む５０ｍｌの培養用チューブ中の８ｍｌのＣ培地［３％のトリプチケースソイブロス（Ｄｉｆｃｏ）、０．３％の酵母抽出物（Ｄｉｆｃｏ）、０．２％の硫酸マグネシウム（Ｓｉｇｍａ）、０．５％のグルコースおよび０．４％のマルトース（Ｓｉｇｍａ）、Ｈｏｓｔｅｄ，ＴＪ．，およびＢａｌｔｚ，ＲＨ．，１９９６，Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ １４２：２８０３－２８１３］へ加えた。スターター培養液を２４０ｒｐｍ、３０℃で２４～３６時間攪拌した。

【０６７９】

この培養液の１ｍＬのアリコートを、２５ｍＬの栄養溶液Ｓ（１％のＤ－グルコース（ＢＤＨ）、１．５％のグリセロール（ＢＤＨ）、１．５％の大豆ペプトン（Ｓｉｇｍａ）、０．３％の塩化ナトリウム（ＢＤＨ）、０．５％の麦芽抽出物（Ｏｘｏｉｄ）、０．５％の酵母抽出物（Ｌａｂ Ｍ）、０．１％のＪｕｎｌｏｎ ＰＷ１００（Ｈｏｎｅｙｗｅｌｌ ａｎｄ Ｓｔｅｉｎ Ｌｔｄ）、０．１％のＴｗｅｅｎ８０（Ｓｉｇｍａ）、４．６％のＭＯＰＳ（Ｓｉｇｍａ）、ｐＨ７．０に調節、およびオートクレーブ処理済み））を含有する１２５ｍＬのバッフルフラスコに移し、次いで、２００ｒｐｍ、３０℃で２４～３６時間を攪拌した。

【０６８０】

５％のシード培養液を、５０ｍＬの培地Ｄ（３％のグルコース（Ｓｉｇｍａ）、２．５％の大豆粉（Ａｒｋａｄｙ）、０．５％の廃糖蜜（ＤＳＭ Ｂａｋｅｒｉｅｓ）、０．０６％の硫酸アンモニウム第二鉄（Ｓｉｇｍａ）、０．７９％のＬ－イソロイシン（Ｓｉｇｍａ）および６％の炭酸カルシウム（Ｓｉｇｍａ）、ｐＨ７に調節、およびオートクレーブ処理済み（Ｂｏｅｃｋら，１９９０，Ｊ．Ｂｉｏｔｉｃｓ ４３：６０７－６１５．）を含有する２５０ｍＬのバッフルフラスコに無菌的に移すことにより、産生用培養液を作製し、次いで、２００ｒｐｍ、３０℃で最高７日間攪拌した。培地ＤへのＬ－イソロイシンの添加は、１３位のイソロイシン（Ｉｌｅ１３）に関する因子の割合を増大し、および１３位のバリン（Ｖａｌ１３）に関する因子の割合を減少することを示した（Ｂｏｅｃｋら，１９９０，Ｊ．Ｂｉｏｔｉｃｓ ４３：６０７－６１５）。場合により、イソロイシン不含の培地Ｄ中で発酵を実施した。これらの発酵ブロスはＩｌｅ１３およびＶａｌ１３因子両方の混合物を有した。

【０６８１】

実施例２－１４：Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｆｒａｄｉａｅの発酵に由来するＡ５４１４５リポペプチドの分析

２ｍＬの全培養液を無菌的に取り出し、次いで、分析前に１０分間遠心分離することにより、実施例２－２に記載した産生用培養液をサンプリングした。最高５０マイクロリットル容量の上清を分析して、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓにより産生される天然リポペプチド（Ａ２１９７８Ｃ）の産生をモニタリングした。Ｗａｔｅｒｓ Ａｌｌｉａｎｃｅ ２６９０ ＨＰＬＣシステムおよび９９６ＰＤＡ検出器 ４．６×５０ｍｍ Ｓｙｍｍｅｔｒｙ Ｃ８ ３．５μｍカラムおよびＰｈｅｎｏｍｅｎｅｘ Ｓｅｃｕｒｉｔｙ Ｇｕａｒｄ Ｃ８カートリッジ付を用いて、この分析を周囲温度で実施した。初め、勾配を２．５分間にわたり９０％の水および１０％のアセトニトリルで保持し、次いで、６分間にわたって１００％のアセトニトリルまでの直線勾配とした。流速は１分あたり１．５ｍＬであり、および勾配は０．０１％のトリフルオロ酢酸で緩衝した。発酵の２日目までに、記載した分析条件下で５．６２、５．７７および５．９０分の保持時間（λｍａｘ ２２３．８、２６１．５および３６４．５ｎｍ）でのＨＰＬＣピークにより示されるように、ダプトマイシンのものと同一のＵＶ／可視スペクトルを有する３つの天然リポペプチド、Ａ２１９７８Ｃ$_1$、Ａ２１９７８Ｃ$_2$およびＡ２１９７８Ｃの産

生が明らかとなった。その後、リポペプチドは、７日間の発酵の間の各サンプリングポイントにおいて、依然として顕著であった。リポペプチドＡ２１９７８Ｃ$_1$、Ａ２１９７８Ｃ$_2$およびＡ２１９７８Ｃ$_3$の全収量は発酵物質１リットルあたり１０～２０ｍｇの範囲であった。

【０６８２】

液体クロマトグラフィー質量スペクトル（ＬＣ－ＭＳ）分析を、Ｆｉｎｎｉｇａｎ ＳＳＱ７１０ｃ ＬＣ－ＭＳシステムにて、エレクトロスプレーイオン化を用いて、陽イオンモードにおいて、２００～２０００ダルトンの走査範囲および2秒間の走査で、実施した。クラマトグラフィー分離は、Ｗａｔｅｒｓ Ｓｙｍｍｅｔｒｙ Ｃ８カラム（２．１×５０ｍｍ，粒径３．５μｍ）において、最初の０．５分の遅延後に６分間にわたって１０％～１００％のアセトニトリルに増大させ、次いで、さらに３．５分間１００％のアセトニトリルで維持し、その後、再平衡する、０．０１％のギ酸を含有する水－アセトニトリルの直線勾配で溶離させることにより、成し遂げられた。流速は０．３５ｍＬ／分であり、および該方法は周囲温度で実施した。

【０６８３】

天然Ａ５４１４５リポペプチドの同定を、１６３０．７、１６４４．７、１６４４．７、１６５８．７、１６５８．７、１６５８．７、１６７２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^+$）により示されるように、対照（イソロイシン不含の培地Ｄにおいて成長させたＳ．ｆｒａｄｉａｅ野生型）において確認した。該分子イオンは、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｆｒａｄｉａｅにより産生された主要なＡ５４１４５リポペプチド因子Ｆ、Ａ、Ａ１、Ｂ１、Ｂ、Ｄ、Ｅ各々について報告された質量と一致する（Ｂｏｅｃｋら，１９９０，Ｊ．Ｂｉｏｔｉｃｓ ４３：５８７－５９３）。ＤＡ１１８７突然変異体は、イソロイシン不含または含有の培地ＤにおいてＡ５４１４５リポペプチドを全く産生できず、これらが真のヌル突然変異体であることを確認した。

【０６８４】

実施例２－１５：ｐＤＡ２００２の構築およびＳ．ｆｒａｄｉａｅ ｌｐｔＥ－Ｉ欠失の補完

「Ｒｅｄ」系を用いて、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用ＢＡＣベクターｐＤＡ２００２（ｌｐｔ生合成遺伝子クラスターを含む）を構築した。このプラスミドをＳＦ１：１０Ｄ０８（ｌｐｔ生合成遺伝子クラスターの全ておよびフランキングＤＮＡを含むＥ．ｃｏｌｉ ＢＡＣプラスミド、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅの染色体ライブラリーから単離された）から構築した。ｐｈｉＣ３１インテグラーゼおよびａｔｔＰ部位、プラスミドＲＫ２由来のｏｒｉＴおよびアプラマイシン（ａｐｒ）耐性マーカーを含有するＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用カセットを、ＤＮＡクローニングにより操作して、ＢＡＣベクターのバックボーンおよびＳ．ｆｒａｄｉａｅインサートのｏｒｆ２１に同一性を有するフランキングＤＮＡ領域を含ませた。Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用カセットをＢＡＣベクターに導入し、次いで、Ｒｅｄ介在組換え系を介する相同組み換えを用いてＢＡＣインサートの領域を欠失させた。これは、プラスミド（ｐＫＤ１１９，Ｄａｔｓｅｎｋｏ，ＫＡ．，およびＷａｎｎｅｒ，ＢＬ．，２０００，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ．Ｓ．Ａ．９７：６６４０）上にＲｅｄ遺伝子を有するＥ．ｃｏｌｉ株にＳＦ１：１０Ｄ０８を導入することにより成し遂げられた。次いで、この株を、記載した適切な相同領域に隣接するＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用カセットを含有するゲル精製フラグメントで形質転換した。次いで、これらの細胞をａｐｒおよびｃａｔ耐性の両方について選択し、次いで、得られたコロニーを遺伝子工学的に分析し、組込みカセットの挿入およびｏｒｆ２１の配列上流の欠失を確認した。構築されると、コンジュゲートによりプラスミドｐＤＡ２００２をＳ．ｆｒａｄｉａｅ ＤＡ１１８７に導入し、ＤＡ１１１６株を作製した。プラスミドｐＤＡ２００２は、Ｅ．ｃｏｌｉからＳ．ｆｒａｄｉａｅへのコンジュゲートのために、プラスミドＲＫ２（Ｂａｌｔｚ，１９９８，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．６：７６－８３（１９９８）、該文献は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる）由来のｏｒｉＴを含有する。Ｅ．ｃｏｌｉ Ｓ１７．１または自己複製プラス

ミドＲＫ２（Ｉｄ．）を含有する株からのコンジュゲートにより、プラスミドｐＤＡ２００２をＳ．ｆｒａｄｉａｅへ導入する。実施例２－１３および２－１４にそれぞれ記載の技法を用いて、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１１１６を発酵および分析した。

【０６８５】

１６３０．７、１６４４．７、１６４４．７、１６５８．７、１６５８．７、１６５８．７、１６７２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）により示されるように、天然Ａ５４１４５リポペプチドの同定を確認した。該分子イオンは、イソロイシン不含培地Ｄにおいて成長される場合にＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅにより産生される主要なＡ５４１４５リポペプチド因子Ｆ、Ａ、Ａ１、Ｂ１、Ｂ、Ｄ、Ｅそれぞれについて報告された質量と一致する（Ｂｏｅｃｋら，１９９０，Ｊ．Ｂｉｏｔｉｃｓ　４３：５８７－５９３）。イソロイシン含有培地Ｄにおいて成長される場合、１６４４．７、１６４４．７、１６５８．７、１６５８．７、１６５８．７、１６７２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）により示されるように、Ｉｌｅ１３を伴う天然Ａ５４１４５リポペプチドが優勢であった。該分子イオンは、主要なＡ５４１４５リポペプチド因子Ａ、Ａ１、Ｂ１、Ｂ、Ｄ、Ｅそれぞれについて報告された質量と一致する。これは、ｐＤＡ２００２が首尾よくｌｐｔＥ－Ｉ欠失を補完し、ＤＡ１１１６におけるリポペプチド産生を修復し得ることを実証した。

【０６８６】

実施例２－１６：推定上のアミノ酸修飾遺伝子を同定するためのターミネーターカセットの挿入による下流クラスター遺伝子の除去

ターミネーターカセットを操作して、ａｍｐ耐性遺伝子の前にラムダファージ由来のt_0ターミネーターを配置した。潜在的なアミノ酸修飾遺伝子およびＢＡＣベクター末端に対して４０～５０ｂｐの相同性を有するＰＣＲプライマーを用いて、ターミネーターカセット（t_0ターミネーターおよびａｍｐ）を増幅した。これらのＰＣＲフラグメントを、ｐＤＡ２００２および誘導性Ｒｅｄ系を含むエレクトロコンピテントな細胞に導入した場合、ターミネーターは相同組み換えによりｐＤＡ２００２に部位特異的に組込まれた。次いで、これらの細胞をａｍｐ耐性マーカーおよびａｐｒ耐性マーカーの存在について選択し、次いで、得られたコロニーを遺伝子工学的に分析し、ターミネーターカセットの挿入およびＢＡＣベクター末端配列の欠失について確認した。

【０６８７】

ｏｒｆ４６の下流ターミネーターを挿入するＰＣＲプライマーを用いて、ターミネーターカセットを増幅し、ｐＤＡ２０８０を作製した。ｐＤＡ２０８０をＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１１８７にコンジュゲートさせ、ＤＡ１３３９株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は１６４４．７、１６４４．７、１６５８．７、１６５８．７、１６５８．７、１６７２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅにより産生される主要なＡ５４１４５リポペプチド因子Ａ、Ａ１、Ｂ１、Ｂ、Ｄ、Ｅについて報告された質量と一致している（Ｂｏｅｃｋら，１９９０，Ｊ．Ｂｉｏｔｉｃｓ　４３：５８７－５９３）。これは、ｐＤＡ２０８０が首尾よくｌｐｔＥ－Ｉ欠失を補完し、さらに、ＢＡＣに挿入されたターミネーターカセットを用いてもＤＡ１３３９におけるリポペプチド産生を修復できることを実証した。

【０６８８】

ｌｐｔＩ遺伝子（グルタミン酸１２の推定上のメチルトランスフェラーゼ、２－８を参照のこと）にターミネーターを挿入し得るＰＣＲプライマーを用いて、ターミネーターカセットを増幅し、ｐＤＡ２０５４を作製した。ｐＤＡ２０５４をＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１１８７にコンジュゲートさせ、ＤＡ１３１２株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、ＤＡ１３１２は、１６４４．７、１６４４．７および１６５８．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、１２位に３－メチル－グルタミン酸（

ｍＧｌｕ１２）の代わりにグルタミン酸（Ｇｌｕ１２）を有するＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅにより産生された主要なＡ５４１４５リポペプチド因子Ａ、Ａ１およびＤそれぞれについて報告された質量と一致する（Ｂｏｅｃｋら，１９９０，Ｊ．Ｂｉｏｔｉｃｓ　４３：５８７－５９３）。このデータから、Ａ５４１４５の合成の間にｌｐｔＩがグルタミン酸のメチル化に関与することが結論付けられた。

【０６８９】

ｌｐｔＬ遺伝子（アスパラギン３の推定上のオキシゲナーゼ）ヘターミネーターを挿入し得るＰＣＲプライマーを用いて、ターミネーターカセットを増幅し、ｐＤＡ２０７６を作製した。ｐＤＡ２０７６をＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１１８７にコンジュゲートさせ、ＤＡ１３３６株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、ＤＡ１３３６は、１６２８．７、１６２８．７および１６４２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、３位に３－ヒドロキシ－アスパラギン（ｈＡｓｎ３）の代わりにアスパラギン（Ａｓｎ３）を有し得るＧｌｕ１２因子Ａ、Ａ１およびＤそれぞれのアナログの質量と一致する。ＤＡ１３３６はＩｌｅ１３化合物Ｃ９３、Ｃ９４およびＣ９５を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１４４、Ｃ１４５およびＣ１４６についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。このデータから、Ａ５４１４５の合成の間にｌｐｔＬが３位におけるヒドロキシル基のアスパラギンへの付加に関与することが結論付けられた。

【０６９０】

ｌｐｔＫ遺伝子（９位におけるアスパラギン酸のメトキシル化に関与する推定上のＯ－メチルトランスフェラーゼ）ヘターミネーターを挿入し得るＰＣＲプライマーを用いて、ターミネーターカセットを増幅し、ｐＤＡ２０７４を作製した。ｐＤＡ２０７４をＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１１８７にコンジュゲートさせ、ＤＡ１３３３株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、ＤＡ１３３３は、１６１４．７、１６１４．７および１６２８．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、９位に３－メトキシ－アスパラギン酸（ｍｏＡｓｐ）の代わりに３－ヒドロキシ－アスパラギン酸（ｈＡｓｐ９）、およびｈＡｓｎ３の代わりにＡｓｎ３を有し得るＧｌｕ１２因子Ａ、Ａ１およびＤそれぞれのアナログの質量と一致する。ＤＡ１３３３はＩｌｅ１３化合物Ｃ１０２、Ｃ１０３およびＣ１０４を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１３２、Ｃ１３３およびＣ１３４についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。このデータから、Ａ５４１４５の合成の間にｌｐｔＫが９位におけるヒドロキシル－アスパラギン酸のメトキシル化に関与することが結論付けられた。

【０６９１】

ｌｐｔＪ遺伝子（推定上のｓｙｒＰレギュレーター）ヘターミネーターを挿入し得るＰＣＲプライマーを用いて、ターミネーターカセットを増幅し、ｐＤＡ２０６０を作製した。ｐＤＡ２０６０をＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１１８７にコンジュゲートさせて、ＤＡ１３２７株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、ＤＡ１３２７は、１５９８．７、１５９８．７および１６１２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、ｍｏＡｓｐ９の代わりにアスパラギン酸（Ａｓｐ９）およびｈＡｓｎ３の代わりにＡｓｎ３を有し得るＧｌｕ１２因子Ａ、Ａ１およびＤそれぞれのアナログの質量と一致する。ＤＡ１３２７は、Ｉｌｅ１３化合物Ｃ１０５、Ｃ１０６およびＣ１０７を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１３５、Ｃ１３６およびＣ１３７についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。このデータから、ｌｐｔＪはＡ５４１４５生合成のレギュレーターではないが、Ａ５４１４５の合成の間に９位におけるアスパラギン酸のヒドロキシル化に関与することが結論付けられた。

【０６９２】

実施例２－１７：補完実験のためのΦＢＴ１に基づくプラスミドの構築

ｌｐｔＥ－Ｉ突然変異体における修飾されたＡ５４１４５生合成経路の発現は、ΦＣ３１　ａｔｔＢ部位にてＳ．ｆｒａｄｉａｅのゲノムの中立部位に部位特異的に組み込むａｐｒ耐性ＢＡＣベクターを用いて成し遂げられた。さらにこれらの株の補完は、異なる選択マーカーに適合する組込みプラスミドの使用を必要とし得る。ネオマイシン（ｎｅｏ）またはハイグロマイシン（ｈｙｇ）耐性マーカーを有するΦＢＴ１ベクター（Ｇｒｅｇｏｒｙら Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ ２００３：５３２０－５３２３）のΦＢＴ１　ａｔｔＢ部位にて、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅのゲノムの中立部位に部位特異的に組み込み得る。これは、ΦＣ３１に基づくＢＡＣベクターを予め組込んで含有するａｐｒ耐性株においても成し遂げられ得る。

【０６９３】

ＭＳ８２（Ｇｒｅｇｏｒｙら，２００３，Ｊ．Ｂａｃｔｅｒｉｏｌ：５３２０－５３２３）から除去され、ならびにΦＢＴ１インテグラーゼおよびａｔｔＰ部位、プラスミドＲＫ２に由来するｏｒｉＴおよびｈｙｇ耐性マーカーを含有する、ΦＢＴ１インテグラーゼに基づくＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用カセットをＤＮＡクローニングにより操作し、ＢＡＣベクターのバックボーンおよびＳ．ｆｒａｄｉａｅインサートに同一性を有するフランキングＤＮＡ領域を含ませた。ΦＢＴ１組込み用カセットは、下流遺伝子の発現を駆動し得るｅｒｍＥ＊構成的プロモーターも含有する。ＢＡＣベクターと、適切な相同領域に隣接するＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用カセットとの間の相同組み換えは、ＳＦ１：１０Ｄ０８およびプラスミドｐＫＤ１１９含有Ｒｅｄ遺伝子を有する誘導したＥ．ｃｏｌｉ株にゲル精製フラグメントを形質転換することにより成し遂げられた。次いで、これらの細胞をｈｙｇおよびｃａｔ耐性の両方について選択し、次いで、得られたコロニーを遺伝子工学的に分析し、組込みカセットの挿入および上流配列の欠失について確認した。

【０６９４】

「Ｒｅｄ」系を用いて、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用ＢＡＣベクターｐＪＲ２０１２を構築した。ΦＢＴ１インテグラーゼに基づくＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用カセットは、ＢＡＣベクターのバックボーンおよびＳ．ｆｒａｄｉａｅインサートのｌｐｔＫに同一性を有するＤＮＡ領域に隣接した。ＢＡＣベクターおよびＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用カセット間の相同組み換えは、ＳＦ１：１０Ｄ０８　ＢＡＣおよび誘導されたＲｅｄ系（実施例２－５を参照のこと）を含有する細胞に形質転換することにより成し遂げられた。ΦＢＴ１組込み用カセットの挿入により、ｌｐｔＫの直前にｅｒｍＥ＊構成的プロモーターを位置付け、その発現ならびにＢＡＣベクター上の残りの下流遺伝子の発現を確実なものとする。

【０６９５】

「Ｒｅｄ」系を用いて、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用ＢＡＣベクターｐＪＲ２０１５を構築した。ΦＢＴ１インテグラーゼに基づくＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用カセットは、ＢＡＣベクターのバックボーンおよびＳ．ｆｒａｄｉａｅインサートのｌｐｔＬに同一性を有するＤＮＡ領域に隣接した。ＢＡＣベクターおよびＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ組込み用カセット間の相同組み換えは、ＳＦ１：１０Ｄ０８ＢＡＣおよび誘導されたＲｅｄ系を含有する細胞に形質転換することにより成し遂げられた。ΦＢＴ１組込み用カセットの挿入により、ｌｐｔＬの直前にｅｒｍＥ＊構成的プロモーターを位置付け、その発現ならびにＢＡＣベクター上の残りの下流遺伝子の発現を確実なものとする。

【０６９６】

ｆｄおよびｔ$_0$ターミネーターに隣接するスペクチノマイシン（ｓｐｅｃ）耐性マーカーの発現を駆動するｅｒｍＥ＊構成的プロモーターを含有するカセットの挿入により、ｎｅｏ耐性ΦＢＴ１　ｐＲＴ８０２プラスミドを発現プラスミドに変換し、ｐＤＡ２１１３を作製した。ＰＣＲ増幅した発現カセットを、ＥｃｏＲＶおよびＮｏｔＩで消化したｐＲＴ８０２プラスミドに挿入した。ｌｐｔＩ（ｍＧｌｕ１２メチルトランスフェラーゼ）またはｌｐｔＬ（ｈＡｓｎ３オキシゲナーゼ）を共に発現する補完プラスミド（ｃｏｍｐｌ

ｅｍｅｎｔａｔｉｏｎ　ｐｌａｓｍｉｄ）を、ｐＤＡ２１１３中のｓｐｅｃマーカーおよびｔ$_0$ターミネーターをＰＣＲ増幅した生合成遺伝子およびｃａｔターミネーターカセット（ｃａｔ耐性遺伝子の前に加工されたｔ$_0$ターミネーター）と置換することにより作製した。

【０６９７】

ｎｅｏ耐性ΦＢＴ１　ｐＤＡ２１１３をＮｄｅＩおよびＨｉｎｄＩＩＩで消化し、ｓｐｅｃマーカーおよびｔ$_0$ターミネーターを取り出し、次いで、ＮｄｅＩおよびＸｂａＩで消化したＰＣＲ増幅ｌｐｔＩ遺伝子と、ＸｂａＩおよびＨｉｎｄＩＩＩで消化したｃａｔターミネーターカセットにライゲートした。新たに作製したｐＤＡ２１２９は、構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下でＧｌｕ１２メチルトランスフェラーゼをコードするｌｐｔＩ遺伝子を有する。

【０６９８】

ｎｅｏ耐性ΦＢＴ１　ｐＤＡ２１１３をＮｄｅＩおよびＨｉｎｄＩＩＩで消化し、ｓｐｅｃマーカーおよびｔ$_0$ターミネーターを取り出し、ＮｄｅＩおよびＸｂａＩで消化したＰＣＲ増幅ｌｐｔＬ遺伝子と、ＸｂａＩおよびＨｉｎｄＩＩＩで消化したｃａｔターミネーターカセットにライゲートした。新たに作製したｐＤＡ２０１５は、構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下でＡｓｎ３オキシゲナーゼをコードするｌｐｔＬ遺伝子を有する。

【０６９９】

実施例２－１８：新規リポペプチドの産生のためのΦＢＴ１に基づくプラスミドでのΦＣ３１　ＢＡＣ含有Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ突然変異体株の補完

構築されると、ｌｐｔＫ（ｈＡｓｐ９メトキシラーゼ）、構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＬ（Ａｓｎ３オキシゲナーゼ）、およびｌｐｔＩ（Ｇｌｕ１２メチルトランスフェラーゼ）を含有するプラスミドｐＪＲ２０１２をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３３３に導入し、ＤＡ１４４９株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１４４９は、１６４４．７、１６４４．７、１６５８．７、１６５８．７、１６５８．７、１６７２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^+$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅにより産生される主要なＡ５４１４５リポペプチド因子Ａ、Ａ１、Ｂ１、Ｂ、Ｄ、Ｅそれぞれについて報告された質量と一致する（Ｂｏｅｃｋら，１９９０，Ｊ．Ｂｉｏｔｉｃｓ　４３：５８７－５９３）。これは、ｐＪＲ２０１２が首尾よくＤＡ１３３３株を補完し、リポペプチド産生を修復し得ることを実証した。

【０７００】

ｌｐｔＫ（ｈＡｓｐ９メトキシラーゼ）、構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＬ（Ａｓｎ３オキシゲナーゼ）、およびｌｐｔＩ（Ｇｌｕ１２メチルトランスフェラーゼ）を含有するプラスミドｐＪＲ２０１２をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３２７に導入し、ＤＡ１５５３株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１５５３は、１６２８．７、１６２８．７および１６４２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^+$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、ｍｏＡｓｐ９の代わりにＡｓｐ９を有し得るｍＧｌｕ１２因子Ｂ１、Ｂ、およびＥそれぞれのアナログの質量と一致する。ＤＡ１５５３はＩｌｅ１３化合物Ｃ１１４、Ｃ１１５、およびＣ１１６を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１１７、Ｃ１１８およびＣ１１９についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。これは、推定上のＬｐｔＫ蛋白質が、メトキシル化が生じ得る前にＡｓｐ９をヒドロキシル化するためにｌｐｔＪ蛋白質の存在を必要とすることを実証した。

【０７０１】

構築されると、構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＬ（Ａｓｎ３オキシゲナーゼ）、およびｌｐｔＩ（Ｇｌｕ１２メチルトランスフェラーゼ）を含有するプラスミドｐＪＲ２０１５をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３３６に導入

し、ＤＡ１６２１株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１６２１の１６４４．７、１６４４．７、１６５８．７、１６５８．７、１６５８．７、１６７２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅにより産生される主要なＡ５４１４５リポペプチド因子Ａ、Ａ１、Ｂ１、Ｂ、Ｄ、Ｅそれぞれについて報告された質量と一致する。これは、ｐＪＲ２０１５が首尾よくＤＡ１３３６株を補完し、リポペプチド産生を修復し得ることを実証した。

【０７０２】

構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＬ（Ａｓｎ３オキシゲナーゼ）、およびｌｐｔＩ（Ｇｌｕ１２メチルトランスフェラーゼ）を含有するプラスミドｐＪＲ２０１５をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３３３に導入し、ＤＡ１６２７株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１６２７は、１６４４．７、１６４４．７および１６５８．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、ｍｏＡｓｐ９の代わりにｈＡｓｐ９を有し得るｍＧｌｕ１２因子Ｂ１、ＢおよびＥそれぞれののアナログの質量と一致する。ＤＡ１６２７はＩｌｅ１３化合物Ｃ１１１、Ｃ１１２およびＣ１１３を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１２６、Ｃ１２７およびＣ１２８についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。

【０７０３】

構築されると、構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＩ（Ｇｌｕ１２メチルトランスフェラーゼ）を含有するプラスミドｐＤＡ２１２９をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ６１３に導入して、ＤＡ１４９１株を作製する。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１４９１の１６４４．７、１６４４．７、１６５８．７、１６５８．７、１６５８．７、１６７２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅにより産生される主要なＡ５４１４５リポペプチド因子Ａ、Ａ１、Ｂ１、Ｂ、Ｄ、Ｅそれぞれについて報告された質量と一致する。これは、ｐＤＡ２１２９が首尾よくＤＡ６１３株を補完し、Ｇｌｕ１２およびｍＧｌｕ１２リポペプチドの産生を修復し得ることを実証した。

【０７０４】

構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＩ（Ｇｌｕ１２メチルトランスフェラーゼ）を含有するプラスミドｐＤＡ２１２９をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３２７に導入して、ＤＡ１４８９株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１４８９は１６１２．７、１６１２．７および１６２６．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、ｍｏＡｓｐ９の代わりにＡｓｐ９、およびｈＡｓｎ３の代わりにＡｓｎ３を有し得るｍＧｌｕ１２因子Ｂ１、ＢおよびＥそれぞれのアナログの質量と質量と一致する。ＤＡ１４８９はＩｌｅ１３化合物Ｃ１０８、Ｃ１０９およびＣ１１０を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１３８、Ｃ１３９およびＣ１４０についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。

【０７０５】

構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＩ（Ｇｌｕ１２メチルトランスフェラーゼ）を含有するプラスミドｐＤＡ２１２９をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３２７へ導入し、ＤＡ１４８９株を作製した。この株へプラスミドｐＤＡ２０７６を付加し、ＤＡ２０００を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ２０００は、１６４２．７、１６４２．７および１６５６．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペ

プチドを産生することが示された。該分子イオンは、ｈＡｓｎ３の代わりにＡｓｎ３を有し得るｍＧｌｕ１２因子Ｂ１、Ｂ、およびＥそれぞれのアナログの質量と質量と一致する。ＤＡ１４８９は、Ｉｌｅ１３化合物Ｃ９６、Ｃ９７およびＣ９８を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１４１、Ｃ１４２およびＣ１４３についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。

【０７０６】

構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＩ（Ｇｌｕ１２メチルトランスフェラーゼ）を含有するプラスミドｐＤＡ２１２９をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３３３へ導入し、ＤＡ１４５９株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１４５９は、１６２８．７、１６２８．７および１６４２．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］＋）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、ｍｏＡｓｐ９の代わりにｈＡｓｐ９およびｈＡｓｎ３の代わりにＡｓｎ３を有し得るｍＧｌｕ１２因子Ｂ１、ＢおよびＥそれぞれのアナログの質量と質量と一致する。ＤＡ１４８９は、Ｉｌｅ１３化合物Ｃ９９、Ｃ１００およびＣ１０１を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１２９、Ｃ１３０およびＣ１３１についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。

【０７０７】

構築されると、構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＬ（Ａｓｎ３オキシゲナーゼ）を含有するプラスミドｐＤＡ２１１７をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３３６へ導入し、ＤＡ１４７０株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１４７０は、１６４４．７、１６４４．７および１６５８．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］＋）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、ｍＧｌｕ１２の代わりにＧｌｕ１２を有するＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅにより産生された主要なＡ５４１４５リポペプチド因子Ａ、Ａ１、Ｄそれぞれについて報告された質量と質量と一致する（Ｂｏｅｃｋら，１９９０，Ｊ．Ｂｉｏｔｉｃｓ　４３：５８７－５９３）。これは、ｐＤＡ２１１７が首尾よくＤＡ１３３６株を補完し、Ｇｌｕ１２リポペプチドの産生を修復し得ることを実証した。

【０７０８】

構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＬ（Ａｓｎ３オキシゲナーゼ）を含有するプラスミドｐＤＡ２１１７をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３２７へ導入し、ＤＡ１４８４株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１４８４は、１６１４．７、１６１４．７および１６２８．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］＋）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、ｍｏＡｓｐ９の代わりにＡｓｐ９を有し得るＧｌｕ１２因子Ａ、Ａ１およびＤそれぞれのアナログの質量と質量と一致する。ＤＡ１４８４はＩｌｅ１３化合物Ｃ９０、Ｃ９１、およびＣ９２を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１２０、Ｃ１２１およびＣ１２２についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。

【０７０９】

構成的ｅｒｍＥ＊プロモーターの制御下にあるｌｐｔＬ（Ａｓｎ３オキシゲナーゼ）を含有するプラスミドｐＤＡ２１１７をコンジュゲートによりＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１３３３へ導入し、ＤＡ１４５３株を作製した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＤＡ１４５３は、１６３０．７、１６３０．７および１６４４．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］＋）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、ｍｏＡｓｐ９の代わりにｈＡｓｐ９を有し得るＧｌｕ１２因子Ａ、Ａ１およびＤそれぞれのアナログの質量と質量と一致する。ＤＡ１４５３はＩｌｅ１３化合物Ｃ８７、Ｃ８８およびＣ８９を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１２３、Ｃ１２４およびＣ１２５

についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。

【０７１０】

実施例２－２０：Ａ５４１４５の８または１１位において構築されたモジュール交換

Ａ５４１４５コアの８または１１位のいずれかを改変するためのモジュール交換を、プラスミドｐＤＡ２０５４（実施例２－１６を参照のこと。ＰｍｅＩ部位のない、ｌｐｔＡＢＣＤを発現し得るプラスミド）において実施した。このプラスミドはΔｌｐｔＥ－ＩＳ．ｆｒａｄｉａｅにおけるＡ５４１４５生合成を修復できた。実施例２－６に記載したｒｅｄ介在組換え系（以下に用いるプライマーを参照のこと）を用いて、ｐＤＡ２０５４上のモジュール８またはモジュール１１をコードするＤＮＡフラグメントを、リンカー領域ＢおよびＣＡＴにあるｇｅｎＲ遺伝子と置換した。ｇｅｎＲ遺伝子がｐＤＡ２０５４に挿入されると、８位のリシンＣＡＴモジュールまたは１１位のアスパラギンモジュールのいずれかの置換を、ＮｈｅＩ／ＰｍｅＩ消化（モジュール８）またはＡｖｒＩＩ／ＰｍｅＩ（モジュール１１）により取り出した。リシンまたはアスパラギンのいずれかを置換するために用いたモジュールを、実施例２－６にて記載されたギャップ修復技法を用いてクローニングし、次いで、ＮｈｅＩ／ＨｐａＩ制限部位を用いてｐＢＲ３２２から切断した。これらのモジュールは、ダプトマイシンｄｐｔＤ－Ａｌａ８、ｄｐｔＤ－Ｓｅｒ１１から、またはＡ５４１４５　ｌｐｔＤ－Ａｓｎ１１からクローニングされた異種モジュールをコードするＤＮＡフラグメントを含んだ。８または１１位のいずれかにおいてＳｅｒ、ＡｌａおよびＡｓｎの全ての可能な組み合わせを構築し、および以下のハイブリッドプラスミドｐＫＮ５６（Ｄ－Ａｌａ８を含有するｐＤＡ２０５４）、ｐＫＮ５７（Ｄ－Ｓｅｒ８を含有するｐＤＡ２０５４）、ｐＫＮ５８（－Ｄ－Ａｓｎ８を含有するｐＤＡ２０５４）、ｐＫＮ５９（－Ｄ－Ａｌａ１１を含有するｐＤＡ２０５４）およびｐＫＮ６０（－Ｄ－Ｓｅｒ１１を含有するｐＤＡ２０５４）と称し、これをＳ．ｆｒａｄｉａｅ突然変異体ＤＡ１１８７（ΔｌｐｔＥ－Ｉ，実施例２－１２を参照のこと）およびＤＡ７４０（ＤＡ１１８７、およびｌｐｔＩを発現するプラスミドｐＤＡ２１２９、実施例２－１８を参照のこと）に導入して、８または１１および１２位に２つの改変を有するハイブリッドリポペプチドを作製した。

【０７１１】

欠失用プライマー

ｌｐｔ－Ｄ－Ｌｙｓ８

ｌｐｔ－Ｄｅｌ－Ｌｙｓ８－Ｂ－Ｎｈｅ

5’-GTG TTC GAG GCC CGA ACG GTC GCC GCG CTG GCG GCC CGG CTG CGG ACC GCGCT AGC TGTG TAG GCT GGA GCT GCT TCG-3’（配列番号：２９）

ｌｐｔ－Ｌｙｓ８－ＣＡＴ－ＩＩ：

5’-CGG CGA GAG CGG GGT CCT CGT CGC CTG CCG CGT CGG TCC TGC GGG GTTTAAACCATATG AATATCCTCCTTA-3’（配列番号３０）

【０７１２】

ｌｐｔ－Ｄ－Ａｓｎ１１

ｌｐｔ－Ａｓｎ１１－Ｂ．

5’-CGAGACACCGACCGTGGCCGGTCTCGCCGCCGCGCTCTCCGCGGCCCTAGG TGTGTAGGCTGGAGCTGCTTCG-3’（配列番号：３１）

ｌｐｔ－Ａｓｎ１１－ＣＡＴ．

5’-GTCCCGCGACCGCCGAGTACCTCGGTCGCCGGACCGCCGGGGCGCGGTTTAA ACCATATGAATATCCTCCTTA-3’（配列番号：３２）

【０７１３】

ｄｐｔ－Ａｌａ８およびｄｐｔ－Ｓｅｒ１１モジュール両方のギャップ修復クローニング用プライマー

Ａｌａ／Ｓｅｒ－Ｂ－Ｐ１３

5’-CGTCCGCTCCCGTGCCACCAGAGGCACCCGCACCCCCAAAGCCGAC GCTAGCTTCTTAGACGTCAGGTGGCAC-3’（配列番号：３３）

Ｓｅｒ－ＣＡＴ－Ｐ１４－ＩＩ
5’-GTTCGGGATGTTTTCGAGGGCCGTACGGTACGTGCTCTGGCGGCTGTG GTTAACCGATACGCGAGCGAACGTGA-3’（配列番号：３４）

【０７１４】
ｐＫＮ５６をＤＡ１１８７に付加することにより、ＫＮ７０７株を構築した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ３１３、Ｃ３１４、Ｃ３１５、Ｃ３１６、Ｃ３１７およびＣ３１８を産生することが示された。

【０７１５】
ｐＫＮ５６をＤＡ７４０に付加することにより、ＫＮ６８１株を構築した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ３１９、Ｃ３２０、Ｃ３２１、Ｃ３２２、Ｃ３２３およびＣ３２４を産生することが示された。

【０７１６】
ｐＫＮ５７をＤＡ１１８７に付加することにより、ＫＮ７１５株を構築した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ２９２、Ｃ２９３、Ｃ２９４、Ｃ２９５、Ｃ２９６およびＣ２９７を産生することが示された。

【０７１７】
ｐＫＮ５７をＤＡ７４０に付加することにより、ＫＮ６８９株を構築した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ２８９、Ｃ２９０、Ｃ２９１、Ｃ２９８、Ｃ２９９およびＣ３００を産生することが示された。

【０７１８】
ｐＫＮ５８をＤＡ１１８７に付加することにより、ＫＮ７２３株を構築した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ３０７、Ｃ３０８、Ｃ３０９、Ｃ３１０、Ｃ３１１およびＣ３１２を産生することが示された。

【０７１９】
ｐＫＮ５８をＤＡ７４０に付加することにより、ＫＮ６９７株を構築した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ３０１、Ｃ３０２、Ｃ３０３、Ｃ３０４、Ｃ３０５およびＣ３０６を産生することが示された。

【０７２０】
ｐＫＮ５９をＤＡ１１８７に付加することにより、ＫＮ７２８株を構築した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ３３４、Ｃ３３５、Ｃ３３６、Ｃ３３７、Ｃ３３８およびＣ３３９を産生することが示された。

【０７２１】
ｐＫＮ５９をＤＡ７４０に付加することにより、ＫＮ７０１株を構築した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ３２８、Ｃ３２９、Ｃ３３０、Ｃ３３１、Ｃ３３２およびＣ３３３を産生することが示された。

【０７２２】
ｐＫＮ６０をＤＡ１１８７に付加することにより、ＫＮ７３０株を構築した。実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ１４７、Ｃ１４８、Ｃ１４９、Ｃ３２５、Ｃ３２６およびＣ３２７を産生することが示された。

【０７２３】
ｐＫＮ６０をＤＡ７４０に付加することにより、ＫＮ７０５株を構築した。実施例２－

１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、この株は化合物Ｃ１５０、Ｃ１５１、Ｃ１５２、Ｃ１５３、Ｃ１５４およびＣ１５５を産生することが示された。

【０７２４】

実施例２－２１：Ａ５４１４５の２～４位において構築したモジュール交換

ｌｐｔＡにおけるモジュール２－４（Ｄ－Ｇｌｕ－２／ｈＡｓｎ－３／Ｔｈｒ－４）の交換をｐＤＡ２０５４（このプラスミドはＢＡＣベクターからｌｐｔＡＢＣＤを発現する、その構築については実施例２－１６を参照のこと）上で構築した。ｐＤＡ２０５４は、突然変異体ＤＡ１１８７におけるＡ５４１４５のグルタミン酸誘導体の生合成を修復できた（実施例２－１５を参照のこと）。ｐＤＡ２０５４上のｌｐｔＡのモジュール２－４をコードするＤＮＡフラグメントを、実施例２－６に記載したｒｅｄ介在組換え系を用いて、リンカー領域ＢおよびＣＡＴの間にあるｇｅｎＲ遺伝子と置換した（モジュール交換２－４）。ｇｅｎＲ遺伝子にはＮｈｅＩ／ＰｍｅＩ制限部位が隣接しており、このため、制限消化によるＢＡＣベクターからの切断が容易であった。実施例２－６に記載したギャップ修復系を用いて、ｄｐｔＡに由来するｐＢＲ３２２に置換フラグメントをクローニングした。該フラグメントはＮｈｅＩ／ＨｐａＩ制限部位に隣接した。ｄｐｔＡに由来するこのフラグメントは、ダプトマイシンに由来するモジュール２－４（Ｄ－Ａｓｎ－２／Ａｓｐ－３／Ｔｈｒ－４）をコードし、このフラグメントを２－４欠失型のｐＤＡ２０５４にライゲートして、ｐＫＮ６１を作製した。プラスミドｐＫＮ６１をＤＡ１１８７およびＸＨ１０００（ｐＫＮ５５を有するＤＡ１１８９、実施例２－１０を参照のこと）に導入して、組換え株ＫＮ６５０（ＤＡ１１８７およびｐＫＮ６５１）ならびにＫＮ６６５（ＸＨ１０００およびｐＫＮ６１）を作製した。

【０７２５】

実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、ＫＮ６５０株は化合物Ｃ２７１、Ｃ２７２、Ｃ２７３、Ｃ２７４、Ｃ２７５およびＣ２７６を産生することが示された。

【０７２６】

実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、ＫＮ６６５株は化合物Ｃ２６５、Ｃ２６６、Ｃ２６７、Ｃ２６８、Ｃ２６９およびＣ２７０を産生することが示された。

【０７２７】

欠失用プライマー

Ｌｐｔ２－４

ｌｐｔ－Ｄｅｌ－Ｇｌｕ２－Ｂ－Ｎｈｅ：

CCG GTC CCC GAC CGT CGC CCG CCT CGC GGA GGA ACT GGG CGA CGG GCTAGCTGTGTAGGCTGG AGCTGCTTCG（配列番号：３５）

ｌｐｔＧｌｕ２－ＣＡＴ：

5’-CCT GCG GCG CGG GAC GCT CCG CGT CCG CGT CCG GTC CGG CGG ACCGTTTAAACCATATGA ATATCCTCCTTA-3’（配列番号：３６）

【０７２８】

ｇａｐ修復クローニング用プライマー

Ｄｐｔ２－４

ｄｐｔ－Ａｓｎ２－Ｐｉｃｋ－Ｂ：

AGGCGCTCCGGGCGCGGAGGCAGCGGCGGGGTGGTGTGCTGCCGTCCG GCTAGCTTCTTAGACGTCAGGTGGCAC（配列番号：３７）

ｄｐｔ－Ｔｈｒ４－Ｐｉｃｋ－ＣＡＴ：

CTCTTCGCCGCGCCCACGCCTGCCGGGCTCGCGACCGTACTGGCGGCC GTTAACCGATACGCGAGCGAACGTGA（配列番号：３８）

【０７２９】

実施例２－２２：Ａ５４１４５の２～８位に構築されたモジュール交換

ｌｐｔＡ、Ｂ、Ｃにおけるモジュール２－８（Ｄ－Ｇｌｕ－２／ｈＡｓｎ－３／Ｔｈｒ－４／Ｓａｒ－５／Ａｌａ－６／Ａｓｐ－７／Ｄ－Ｌｙｓ－８）の交換をｐＤＡ２０５４（このプラスミドはＢＡＣベクターからｌｐｔＡＢＣＤを発現する。その構築については実施例２－１６を参照のこと）上で構築した。ｐＤＡ２０５４は、突然変異体ＤＡ１１８７におけるＡ５４１４５のグルタミン酸誘導体の生合成を修復できた（実施例２－１５を参照のこと）。ｐＤＡ２０５４上のｌｐｔＡ、Ｂ、Ｃのモジュール２－８をコードするＤＮＡフラグメントを、実施例２－６に記載したｒｅｄ介在組換え系を用いて、リンカー領域ＢおよびＣＡＴＥ間にあるｇｅｎＲ遺伝子と置換した（モジュール交換２－８）。ｇｅｎＲ遺伝子はＮｈｅＩ／ＰｍｅＩ制限部位が隣接しており、そのため、制限消化によるＢＡＣベクターからの切断が容易であった。実施例２－６に記載したギャップ修復系を用いて、ｄｐｔＡ、ＢＣに由来するｐＢＲ３２２に置換フラグメントをクローニングした。該フラグメントはＮｈｅＩ／ＨｐａＩ制限部位に隣接した。ｄｐｔＡ、ＢＣに由来するこのフラグメントはダプトマイシンに由来するモジュール２－８（Ｄ－Ａｓｎ－２／Ａｓｐ－３／Ｔｈｒ－４／Ｇｌｙ－５／Ｏｒｎ－６／Ａｓｐ－７／Ｄ－Ａｌａ－８）をコードしており、このフラグメントをｐＤＡ２０５４の２－８欠失型バージョンにライゲートし、ｐＫＮ６２を作製した。プラスミドｐＫＮ６２をＤＡ１１８７およびＸＨ１０００（ｐＫＮ５５を有するＤＡ１１８９、実施例２－１０を参照のこと）に導入して、組換え株ＫＮ６５３（ＤＡ１１８７およびｐＫＮ６２）ならびにＫＮ６６９（ＸＨ１０００およびｐＫＮ６２）を作製した。

【０７３０】

実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、ＫＮ６５３株は化合物Ｃ２８３、Ｃ２８４、Ｃ２８５、Ｃ２８６、Ｃ２８７およびＣ２８８を産生することが示された。

【０７３１】

実施例２－１３および２－１４に記載した条件下で発酵および分析した場合、ＫＮ６６９株は化合物Ｃ２７７、Ｃ２７８、Ｃ２７９、Ｃ２８０、Ｃ２８１およびＣ２８２を産生することが示された。

【０７３２】

欠失用プライマー

Ｌｐｔ２－８

ｌｐｔ－Ｄｅｌ－Ｇｌｕ２－Ｂ－Ｎｈｅ：

CCG GTC CCC GAC CGT CGC CCG CCT CGC GGA GGA ACT GGG CGA CGG GCTAGCTGTGTAGGCTGG AGCTGCTTCG（配列番号：３９）

ｌｐｔ－Ｌｙｓ８－ＣＡＴＥ２－ＩＩ：

5’ GGGG GGC GAC CGG CAG GAT GTC CTC CAA GGC GGT GCC GGT GCG GC GTTTAAACCATATG AATATCCTCCTTA 3’（配列番号：４０）

【０７３３】

ｇａｐ修復クローニング用プライマー

Ｄｐｔ２－８

ｄｐｔ－Ａｓｎ２－Ｐｉｃｋ－Ｂ：

AGGCGCTCCGGGCGCGGAGGCAGCGGCGGGGTGGTGTGCTGCCGTCCG GCTAGCTTCTTAGACGTCAGGTGGCAC（配列番号：４１）

Ａｌａ－ＣＡＴＥ２－Ｐ１４－ＩＩ

CGACGTGACGCTGGTGGAAGTGAACCAGGTGGAGCTCGACCGTCTGCAGGTTAAC CGATACGCGAGCGAACGTGA（配列番号：４２）

【０７３４】

実施例２－２３：Ａ５４１４５の５位における、グリシンを産生するためのサルコシンモジュールにおけるメチル化の欠失

ｌｐｔＡ５－Ｓａｒモジュール内のメチル化ドメインの欠失のための選択カセットを、研究中のドメインのリンカー領域に５０ｂｐの相同性を有するＰＣＲプライマーを用いて

増幅した（リンカーの位置については図５を参照のこと）。これらのＰＣＲフラグメントを、ｐＤＡ２０５４（完全なｌｐｔ経路を含む切断型のｌｐｔＢＡＣ、実施例２－１６を参照のこと）および誘導されたＲｅｄ系（実施例２－６を参照のこと）を含有するエレクトロコンピテントな細胞に導入した場合、耐性カセットは相同組み換えによりｐＤＡ２０５４の標的部位に部位特異的に組込まれた（図３）。

【０７３５】

次いで、これらの細胞をｇｅｎｔ耐性マーカーの存在について選択し、次いで、得られたコロニーを遺伝子工学的に分析し、適切な欠失または分裂の構築を確認した。プライマー設計には、目的のリンカー領域（ＰｍｅＩおよびＳｗａＩ）内に制限部位を配置することが含まれる（図３）。

【０７３６】

次いで、特有の制限部位ＰｍｅＩおよびＳｗａＩを用いて、メチル化ドメインのｇｅｎｔ欠失を含有するＢＡＣを消化させ、選択マーカーを切断し、次いで、再びライゲートし、次いで、得られたコロニーを遺伝子工学的に分析し、メチル化ドメインの適切な欠失の構築を確認した。得られたクローンをｐＳＤ４０９と称した。

【０７３７】

種間コンジュゲートによりｐＳＤ４０９をＥ．ｃｏｌｉからＤＡ１１８７（Ｓ．ｆｒａｄｉａｅのｌｐｔＥ－Ｉ欠失、実施例２－１２を参照のこと）へ付加し、ＳＤ４０９を作製した。実施例２－１３および２－１４にそれぞれ記載の技法を用いてＳ．ｆｒａｄｉａｅ　ＳＤ４０９を発酵および分析した。

【０７３８】

１６１６．７（Ｃ１８３）、１６３０．７（Ｃ１８２）１６３０．７（Ｃ１８１）および１６４４．７（Ｃ１８０）のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）により示されるように、リポペプチドの同定を確認した。該分子イオンは、主要なＡ５４１４５リポペプチド　Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｆｒａｄｉａｅ－１４　ｍ／ｚについて報告された質量と一致する。しかし、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ１８４およびＣ１８５についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。

【０７３９】

実施例２－２４：Ａ５４１４５の２位において構築されたモジュール交換

モジュール交換をプラスミドｐｌｐｔ－Ｊ１４－Ｐにおいて実施し、Ｄ－Ｇｌｕ－２モジュールをＤ－Ａｓｎ、Ｄ－ＳｅｒまたはＤ－Ａｌａモジュールと置換した。プラスミドｐＤＡ２０５４は、突然変異体ＤＡ１１８７におけるＡ５４１４５のグルタミン酸誘導体の生合成を修復できた。初め、ｐＤＡ２０５４上のモジュール２をコードするＤＮＡフラグメントを、リンカー領域ＣＡＴにあるｇｅｎＲ遺伝子と置換した（実施例２－２０を参照のこと）。ｇｅｎＲ遺伝子をＮｈｅＩ／ＰｍｅＩ消化により切断し、次いで、ｌｐｔ　Ｄ－Ａｓｎ１１をコードするＮｈｅＩ／ＨｐａＩ　ＤＮＡフラグメント（プライマーＬｐｔ－Ｎ１１－Ｂ－Ｐ１３およびＬｐｔ－Ｎ１１－ＣＡＴ－Ｐ１４を用いて実施例２－５に示すようにギャップ修復方法によりクローニングした）で置換した。これによりハイブリッドプラスミドｐＸＨ２０００が作製され、これをＤＡ１１８９およびＸＨ１０００（ｐＫＮ５５を有するＤＡ１１８９）に導入し、組換え株ＸＨ１００１（ＤＡ１８８９およびｐＸＨ２０００）ならびにＸＨ１００２（ＸＨ１０００およびｐＸＨ２０００）を産生させた。実施例２－１３および２－１４に記載したプロトコルを用いてＸＨ１００１およびＸＨ１００２を発酵および分析した場合、Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＸＨ１００１は、１６２９．７、１６２９．７および１６４３．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、Ａｓｎ－２を有し得るＧｌｕ１２因子Ａ、Ａ１およびＤそれぞれのアナログの質量と質量と一致する。ＸＨ１００１はＩｌｅ１３化合物Ｃ３４３、Ｃ３４４、およびＣ３４５を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ３４６、Ｃ３４７、およびＣ３４８についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。Ｓ．ｆｒａｄｉａｅ　ＸＨ１００２は１６４３．７、１６４３．７および１６５７．７のｍ／ｚの分子イオン（［Ｍ

＋Ｈ］$^{+}$）を有するリポペプチドを産生することが示された。該分子イオンは、Ａｓｎ－２を有し得るｍＧｌｕ１２因子Ｂ、Ｂ１、およびＥそれぞれのアナログの質量と質量と一致する。ＸＨ１００２はＩｌｅ１３化合物Ｃ３４０、Ｃ３４１、およびＣ３４２を産生することが示されたが、これらの発酵条件下でこの株がＶａｌ１３　Ｃ３４９、Ｃ３５０およびＣ３５１についての因子を産生する潜在力も有し得るかは確認されなかった。

【０７４０】

Ｄ－Ｇｌｕ－２モジュールの欠失用プライマー

ｌｐｔＧｌｕ２－Ｂ：

5’-CCG GTC CCC GAC CGT CGC CCG CCT CGC GGA GGA ACT GGG CGA CGG CCTAGGTGTGTAGG CTGGAGCTGCTTCG-3’（配列番号：４３）

ｌｐｔＧｌｕ２－ＣＡＴ：

5’-CCT GCG GCG CGG GAC GCT CCG CGT CCG CGT CCG GTC CGG CGG ACCGTTTAAACCATATGA ATATCCTCCTTA-3’（配列番号：４４）

【０７４１】

ｌｐｔ－Ａｓｎ－１１のギャップ修復用プライマー

Ｌｐｔ－Ｎ１１－Ｂ－Ｐ１３

TCGGGGCGCGGGTCGGCGGGGCGCAGCCGGGGTCCGGCCTCGCCC GCTAGCTTCTTAGACGTCAGGTGGCAC（配列番号：４５）

Ｌｐｔ－Ｎ１１－ＣＡＴ－Ｐ１４

CGCGACATCTTCGAACAGCGCACGCCCGCCGCCCTCGCCGGCCGC GTTAACCGATACGCGAGCGAACGTGA（配列番号：４６）

【０７４２】

実施例３－１：生物活性

全ての試験を３７℃および２００ｒｐｍの一定の振盪下で実施することを除き、臨床研究所規格委員会（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ　ｆｏｒ　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｓｔａｎｄａｒｄｓ）により記載された標準的な手順（ＮＣＣＬＳ文書　Ｍ７－Ａ６，Ｖｏｌ．２３，Ｎｕｍｂｅｒ　２，２００３）に従って、生物のパネルに対して、式Ｉに記載の化合物を抗菌活性について試験した。化合物の溶解性に応じて、１００％のジメチルスルホキシドまたは水、或いはジメチルスルホキシドおよび水の５０：５０の容量の混合物のいずれかに化合物を溶解し、次いで、微生物成長培地中で最終反応濃度（０．１μｇ／ｍＬ～１００μｇ／ｍＬ）に希釈した。全ての場合において、細胞と共にインキュベーションしたジメチルスルホキシドの最終濃度は、１％かそれ未満であった。最小阻害濃度（ＭＩＣ）の算出のために、２倍希釈の化合物を、最終容量１００μＬの培地（５０ｍｇ／ＬのＣａ$^{2+}$を補足したＭｕｅｌｌｅｒ－Ｈｉｎｔｏｎブロス）中に５×１０^{4}個の細菌細胞を含有するマイクロタイタープレートのウェルへ加えた。市販のプレートリーダーを用いて細菌細胞の光学密度（ＯＤ）を測定し、細菌細胞の成長および増殖を測定した。ＭＩＣ値を、試験生物の成長を阻害する化合物の最低濃度として定義した。本発明の代表的な化合物のＭＩＣ値（μｇ／ｍｌ）を表Ｖに示す。

【０７４３】

表Ｖ：式Ｉの化合物の生物活性

【０７４４】

【表１６２】

#	アッセイ株###							
	SAU.42	SAU.399	SAU.278	EFM.14	EFM.384	EFS.201	EFS.312	SPN.402
C1	++	++	+	++	+	++	+	++
C2	+++	+++	+	++	+	++	+	+++
C3	+++	+++	++	++	++	+++	+	+++
C4	++	++	+	+	+	+	+	++
C5	++	++	+	++	+	++	+	++
C6	+++	+++	+	++	+	++	+	++
C7	++	++	+	+	+	+	+	++
C8	++	++	+	++	+	+	+	++
C9	+++	++	+	++	+	++	+	++
C10	++	++	+	++	+	++	+	++
C11	++	++	+	++	+	++	+	++
C12	++	++	+	++	++	++	+	
C16	+							
C17	+							
C18	++							
C21	+							
C22	+++							
C23	+++							
C24	+++							
C25	++							
C26	+++							
C27	+++							
C37	++							
C38	++							
C39	++							

【０７４５】

【表１６３】

C46	+++	+++	++	+++	++	+++	+	
C47	+++	+++	++	+++	++	+++	++	
C48	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	
C49	+++							
C61	++							
C62	++							
C70	+							
C71	+							
C72	+							
C73	+							
C74	+							
C75	+							
C76	+							
C77	+							
C78	+							
C79	+							
C80	+							
C81	+							
C82	+							
C83	+							
C84	+							
C85	+							
C86	+							
C87	+							
C90	+							
C93	+							
C94	+							
C95	+							
C96	++							
C97	++							
C98	++							

【０７４６】

【表１６４】

C103	+							
C105	+							
C108	++							
C146	+							
C153	++							
C154	+							
C155	++							
C180	+							
C189	++							
C190	++							
C191	+++							
C201	+							
C202	++							
C203	++							
C204	+							
C205	+							
C206	+							
C210	+							
C211	++							
C212	++							
C233	++							
C234	++							
C235	++							
C236	++							
C237	+++							
C238	++							

【０７４７】

【表１６５】

C325	+							
C326	+							
C327	+							
C352	+							
C353	+							
C354	+							
C355	+							
C356	+							
C357	+							
C358	+							
C359	+							
C360	+							
C361	+							
C362	+							
C363	+							
C364	+							
C365	+							
C366	+							
C367	+							
C368	+							
C369	+							

【０７４８】

ここで：

【０７４９】

【表１６６】

株#	種	ATCC#	株の説明
SAU.42	Staphylococcus aureus	29213	ブロス微量希釈ＭＩＣアッセイ用ＮＣＣＬＳ参考菌株，ＡＴＣＣから入手
SAU.399	Staphylococcus aureus	43300	ＮＣＣＬＳメチシリンおよびオキサシリン耐性臨床分離株，ＡＴＣＣから入手
SAU.278	Staphylococcus aureus	n/a	親Ｓ．ａｕｒｅｕｓ４２に由来するダプトマイシン耐性突然変異体（Ｄ１０）－液体連続継代突然変異体
EFM.14	Enterococcus faecium	6569	殺菌活性に関するＡＯＡＣ試験におけるＦＤＡ試験体，ＡＴＣＣから入手
EFM.384	Enterococcus faecium	n/a	親Ｅ．ｆａｅｃｉｕｍ１４に由来するダプトマイシン耐性突然変異体（１４－Ａ）－液体連続継代突然変異体
EFS.201	Enterococcus faecalis	49452	ＡＰＩ産物用の品質管理株，ＡＴＣＣから入手
EFS.312	Enterococcus faecalis	n/a	親Ｅ．ｆａｅｃａｌｉｓ２０１に由来するダプトマイシン耐性突然変異体（ＥＦＡ）－液体連続継代突然変異体
SPN.402	Streptococcus pnuemoniae	6303	Ｐｕｂｌｉｃ ｈｅａｌｔｈ Ｒｅｐｏｒｔ ５９：４４９－４６８（血清型３）、ＡＴＣＣから入手

【０７５０】
であり；
「＋＋＋」は、化合物が、１μｇ／ｍｌ以下のＭＩＣ（μｇ／ｍｌ）または１ｍｇ／ｋｇ以下のＥＤ$_{50}$を有することを示し；
「＋＋」は、化合物が、１μｇ／ｍｌより大きいが１０μｇ／ｍｌ以下のＭＩＣ（μｇ／ｍｌ）、または１ｍｇ／ｋｇより大きいが１０ｍｇ／ｋｇ以下のＥＤ$_{50}$をそれぞれ有することを示し；および
「＋」は、化合物が、１０μｇ／ｍｌより大きなＭＩＣ（μｇ／ｍｌ）または１０ｍｇ／ｋｇより大きなＥＤ$_{50}$を有することを示す。
【０７５１】
実施例３－２：インビボ活性
マウス保護試験は、インビボにおける試験化合物の抗力を測定するための業界標準である（このモデルの例としては、Ｃｌｅｍｅｎｔ，ＪＪ．ら，１９９４，Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂｉａｌ Ａｇｅｎｔｓ ａｎｄ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｙ ３８（５）：１０７１－１０７８を参照のこと）。以下に例示するように、この試験を用いて、細菌に対する本発明の化合物のインビボにおける抗力を実証する。
【０７５２】
１９～２３ｇの体重の雌ＣＤ－１マウス（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂ，ＭＡ）の腹腔内をメチシリン耐性Ｓ．ａｕｒｅｕｓ（ＭＲＳＡ）種菌に感染させることにより、インビボ抗菌性活性を確立する。種菌はメチシリン耐性Ｓ．ａｕｒｅｕｓ（ＡＴＣＣ４３３００）から調製する。ＭＲＳＡ種菌をＭｕｅｌｌｅｒ－Ｈｉｎｔｏｎ（ＭＨ）ブロス中、３７℃で１８時間培養する。一晩培養した１：１０希釈液について、６００ｎｍにおける光学密度（ＯＤ$_{600}$）を測定する。細菌（８×１０^{8}ｃｆｕ）を、５％のブタ胃ムチン（Ｓｉｇｍａ Ｍ－２３７８）を含有する２０ｍｌのリン酸緩衝食塩水（Ｓｉｇｍａ Ｐ－０２６１）へ加える。全ての動物に、２×１０^{7}ｃｆｕ／マウスに相当する０．５ｍｌの種菌を注射する。該量は、処置なしの動物にほぼ１００％の死を惹起する用量であ

る。
【０７５３】
試験化合物を１０．０ｍｌの生理食塩水溶液中に溶解し、１ｍｇ／ｍｌの溶液（ｐＨ＝７．０）を得る。この溶液をビヒクルで４倍に連続希釈し（１．５ｍｌ～６．０ｍｌ）、０．２５、０．０６３および０．０１６ｍｇ／ｍｌの溶液を得る。全ての溶液を０．２μｍのＮａｌｇｅｎｅシリンジフィルターで濾過する。細菌播種の１時間後、群１の動物にバッファー（試験化合物なし）を皮下（ｓｃ）注射し、群２～５にそれぞれ１０．０、２．５、０．６３および０．１６ｍｇ／ｋｇの試験化合物を皮下投与した。群６の動物には、急性毒性をモニタリングするためだけに、１０ｍｇ／ｋｇ（または特定化合物の最大治療用量）の試験化合物を皮下投与する。各群に接種した後、４時間ごとに、これらの注射を繰り返す。各時間における注入量は体重１キログラムあたり１０ｍｌである。接種の７日後に生存しているマウスの数に基づいて、５０％保護用量（PD_{50}）を算出する。
【０７５４】
本明細書に引用された全ての刊行物および特許出願は出典明示によりその全てが本明細書の一部となる。理解を明確にするための説明および例示として前記発明は詳細に記載されているが、当業者には、本明細書中の教示内容を考慮すると、開示された本発明の精神または範囲から逸脱することなく本発明に対してある種の改変および修飾がなされてもよいことが、容易に理解されよう。
【図面の簡単な説明】
【０７５５】
【図１】ダプトマイシン、Ａ５４１４５、およびＣＤＡの生合成の遺伝子集団を表す。丸括弧の番号は、アミノ酸番号を意味する。以下の略号が使用される。Ｔｒｐ：トリプシン；Ａｓｎ：アスパラギン；Ａｓｐ：アスパラギン酸；Ｔｈｒ：スレオニン；Ｇｌｙ：グリシン；Ｏｒｎ：オルニチン；Ａｌａ：アラニン；Ｓｅｒ：セリン；ＭｅＧｌｕ：３－メチルグルタミン酸；Ｋｙｎ：キルニレン；Ｇｌｕ：グルタミン酸；ｈＡｓｎ：３－ヒドロキシアスパラギン；Ｓａｒ：サルコシン；Ｌｙｓ：リシン；ＯＭｅＡｓｐ：３－メトキシアスパラギン酸；Ｉｌｅ：イソロイシン；Ｖａｌ：バリン；Ｄ－ＨＰＧ：Ｄ－ヒドロキシフェニルグリシン。
【図２】Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓ内で構築されたｄｐｔＡ－Ｈの欠失を表しており、ｄｐｔＡ－Ｈの欠失は、ｔｓｒ（チオストレプトマイシン耐性）およびｃａｔ（クロラムフェニコール）をｄｐｔＡ－Ｈ遺伝子座に置き換えることによってＳ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓの染色体内で欠失を生じさせることにより構築された。
【図３】デプトマイシンのＮＲＰＳ経路における「Ｒｅｄ－介在型」遺伝子置換の一般的な方法を表す。バクテリオファージλ誘発の「高頻度組み換え」状態（「Ｒｅｄ」系もしくはＲｅｄ介在型組み換え）は、ｄｐｔＢＣ内の両方の欠失を構築し、「ｇａｐ－ｒｅｐａｉｒ」と呼ばれる技術を介して置換モジュールをクローン化するために利用される。略号：「Ｃ」、凝縮ドメイン；「A_{ser}」、セリンのアデニル化ドメイン；「Ｔ」、チオレーションドメイン；「Ｅ」、エピメラーゼドメイン。
【図４】Ｓ．ｒｏｓｅｏｓｐｏｒｕｓの組み合わせライブラリーからの構築物を表す。
【図５】ｄｐｔＢＣにおけるモジュール構成（ｄｐｔＢＣにおけるＤ－アミノ酸の内部モジュール）およびチオエステラーゼに関連するｄｐｔＤにおける末端アミノ酸モジュール（キヌレニン）を表す。Ｃは凝縮ドメインである。アミノ酸３文字表記を含む円は、アミノ酸特異的なアデニル化ドメインである。Ａｓｎ：アスパラギン；Ａｌａ：アラニン；Ａｓｐ：アスパラギン酸；３ＭＧｌｕ：３－メチルグルタミン酸；Ｋｙｎ：キヌレニン。Ｔはチオレーションドメインである。Ｅはエピマー化ドメインである。ＴＥはチオエステラーゼドメインである。

【図１】

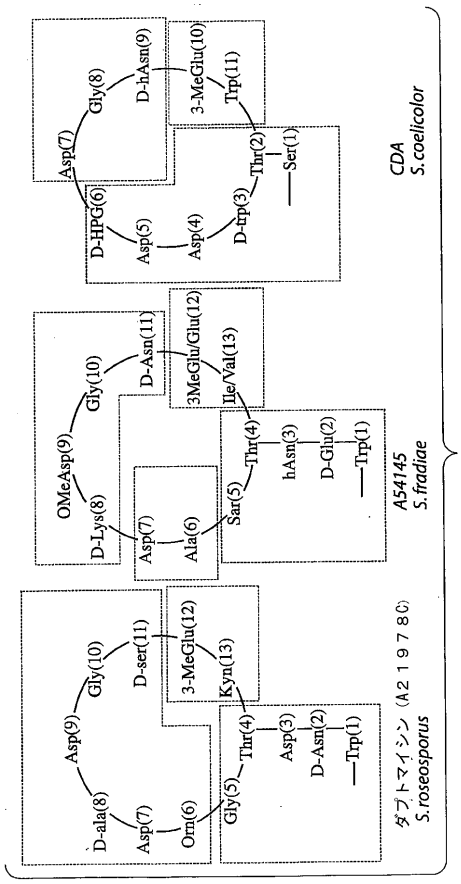


Fig. 1

【図２】

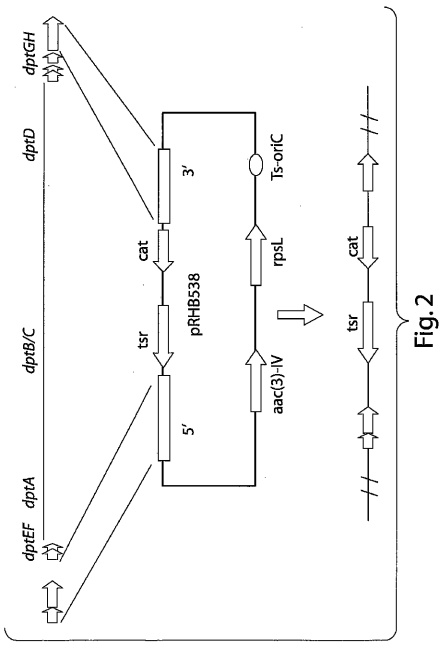


Fig. 2

【図３】

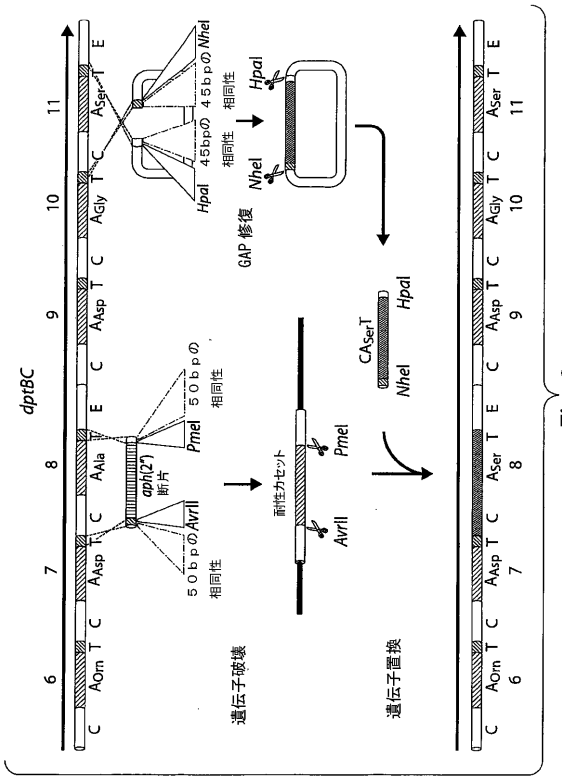


Fig. 3

【図４】

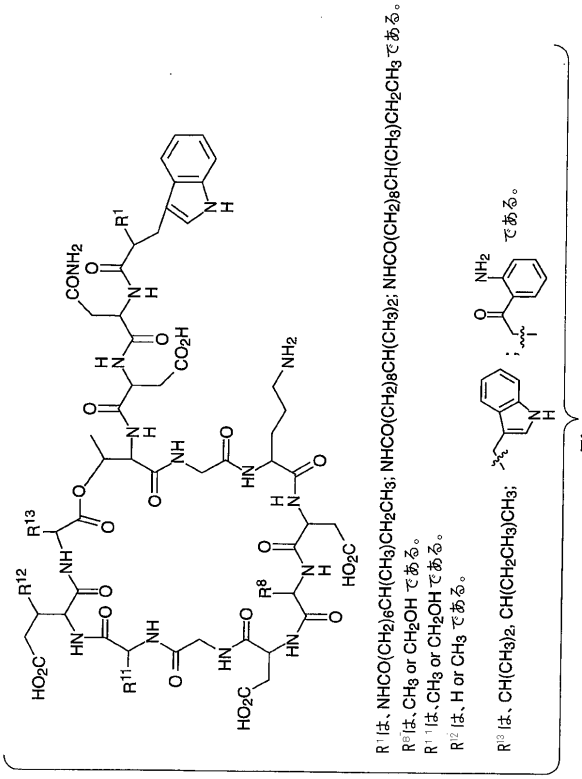


Fig. 4

【図５】

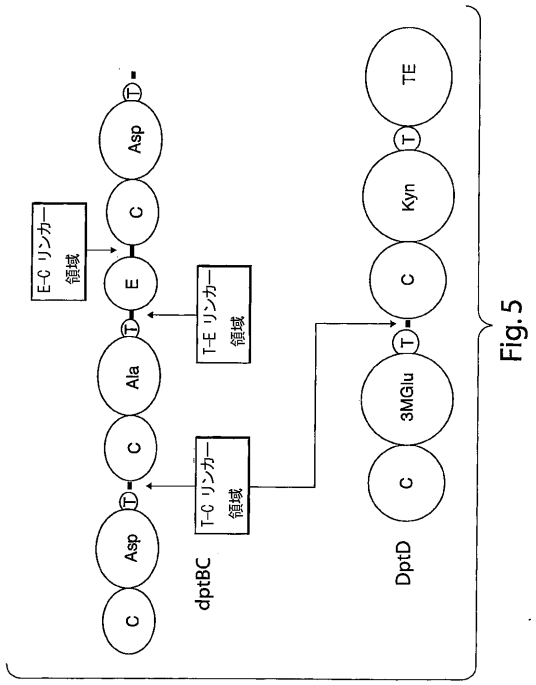


Fig.5

【手続補正書】
【提出日】平成19年7月18日(2007.7.18)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】配列表
【補正方法】追加
【補正の内容】
【配列表】
2008519848000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2005/040919

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K7/08

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)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 03/014147 A (CUBIST PHARM INC [US]) 20 February 2003 (2003-02-20) the whole document	1-51 52-59
Y	WO 03/014297 A2 (CUBIST PHARM INC [US]; MIAO VIVIAN PAK WOON [CA]; BRIAN PAUL [US]; BAL) 20 February 2003 (2003-02-20) cited in the application the whole document	52-59
A	WO 01/44272 A2 (CUBIST PHARM INC [US]; HILL JASON [US]; PARR IAN [US]; MORYTKO MICHAEL) 21 June 2001 (2001-06-21) cited in the application the whole document	1-59

-/---

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 July 2007	06/08/2007
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Groenendijk, Matti

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

60700770027

27.11.2007

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2005/040919

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/44274 A (CUBIST PHARM INC [US]; HILL JASON [US]; PARR IAN [US]; MORYTKO MICHAEL) 21 June 2001 (2001-06-21) cited in the application the whole document	1-59
A	WO 01/44271 A2 (CUBIST PHARM INC [US]; HILL JASON [US]; PARR IAN [US]; MORYTKO MICHAEL) 21 June 2001 (2001-06-21) cited in the application the whole document	1-59
A	FINKING R ET AL: "Biosynthesis of nonribosomal peptides" ANNUAL REVIEW OF MICROBIOLOGY, ANNUAL REVIEWS INC., PALO ALTO, CA, US, vol. 58, 10 June 2004 (2004-06-10), pages 453-488, XP002431366 ISSN: 0066-4227 the whole document	1-59
P,X	RICHARD H BALTZ ET AL: "Combinatorial biosynthesis of lipopeptide antibiotics in Streptomyces roseosporus" JOURNAL OF INDUSTRIAL MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY ; OFFICIAL JOURNAL OF THE SOCIETY FOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY, SPRINGER-VERLAG, BE, vol. 33, no. 2, 1 February 2006 (2006-02-01), pages 66-74, XP019357774 ISSN: 1476-5535 the whole document	1-59
P,X	BALTZ RH: "NATURAL PRODUCTS TO DRUGS: DAPTOMYCIN AND RELATED LIPOPEPTIDE ANTIBIOTICS" NATURAL PRODUCT REPORTS, XX, XX, vol. 22, no. 6, 2005, pages 717-741, XP008074232 the whole document	1-59
P,X	GRÜNEWALD JAN ET AL: "Synthesis and derivatization of daptomycin: a chemoenzymatic route to acidic lipopeptide antibiotics." JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY 29 DEC 2004, vol. 126, no. 51, 29 December 2004 (2004-12-29), pages 17025-17031, XP002444217 ISSN: 0002-7863 the whole document	1-51

-/--

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2005/040919

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	NGUYEN KIEN T ET AL: "Combinatorial biosynthesis of novel antibiotics related to daptomycin." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA 14 NOV 2006, vol. 103, no. 46, 14 November 2006 (2006-11-14), pages 17462-17467, XP002444219 ISSN: 0027-8424 Table 1	

4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2005/040919

Box 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. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claim 47 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

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.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box 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:

see additional sheet

1. [X] 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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

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.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[X] No protest accompanied the payment of additional search fees.

5

International Application No. PCT/US2005 /040919

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1,11,14,35-42,44-59(all complete);2,3,12(all partially)

Compound according to one of the formulas F11,F1,F2,F10,F12,F14 or claim 44 wherein the amino acid residue that is connected to the sidechain of the threonine residue is a valine or isoleucine residue, their preparation, pharmaceutical compositions and use.

---

2. claims: 4-6,22(all complete);2,3(all partially)

Compound according to one of the formulas F1,F2,F3,F4,F5 or F22 wherein the amino acid residue that is connected the sidechain of threonine is a tryptophan residue.

---

3. claims: 13,43(all complete);2,3,12(all partially)

Compound according to one of the formulas F1,F2,F12,F13 or claim 43 wherein the amino acid residue that is connected to the sidechain of the threonine residue comprises an aminophenylcarbonylmethyl sidechain.

---

4. claims: 7-9(all partially)

Compound according to one of the formulas F6,F7 or F8 wherein the amino acid residue that comprises R8 is an asparagine residue.

---

5. claims: 7-9(all partially)

Compound according to one of the formulas F6,F7 or F8 wherein the amino acid residue that comprises R8 is an serine residue.

---

6. claims: 17(complete);8,9,19(all partially)

Compound according to one of the formulas F7, F8,F17 or F19 wherein the amino acid residue that comprises R8 is an alanine residue.

---

7. claims: 10,15,16,18,20,21,23-34(all complete);8,9,19(all partially)

Compound according to one of the formulas F7-F9,F15,F16 or F18-F21 wherein the amino acid residue that comprises R8 is a (substituted) lysine residue.

6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2005/040919

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 03014147 A	20-02-2003	AU	2002353775 A1	10-03-2003
		BR	PI0211761 A	09-01-2007
		CA	2456323 A1	06-03-2003
		CA	2456761 A1	20-02-2003
		CN	1551887 A	01-12-2004
		EP	1423414 A1	02-06-2004
		EP	1423137 A2	02-06-2004
		JP	2005531486 T	20-10-2005
		NZ	531493 A	31-03-2006
		WO	03017924 A2	06-03-2003
		ZA	200400928 A	04-05-2005
WO 03014297 A2	20-02-2003	CA	2456552 A1	20-02-2003
		EP	1421097 A2	26-05-2004
WO 0144272 A2	21-06-2001	AU	784755 B2	08-06-2006
		AU	2268201 A	25-06-2001
		BR	0017026 A	07-01-2003
		CA	2393907 A1	21-06-2001
		CN	1425025 A	18-06-2003
		EP	1240181 A2	18-09-2002
		JP	2003517004 T	20-05-2003
		MX	PA02006029 A	23-08-2004
		NO	20022888 A	02-08-2002
		ZA	200205106 A	25-09-2003
WO 0144274 A	21-06-2001	AU	784812 B2	29-06-2006
		AU	3635701 A	25-06-2001
		BR	0016467 A	27-08-2002
		CA	2394350 A1	21-06-2001
		CN	1423656 A	11-06-2003
		EP	1246838 A1	09-10-2002
		JP	2003517480 T	27-05-2003
		MX	PA02006030 A	23-08-2004
		NO	20022887 A	12-08-2002
WO 0144271 A2	21-06-2001	AU	784942 B2	03-08-2006
		AU	3264001 A	25-06-2001
		BR	0017028 A	07-01-2003
		CA	2394313 A1	21-06-2001
		CN	1423655 A	11-06-2003
		EP	1240182 A2	18-09-2002
		JP	2003517003 T	20-05-2003
		MX	PA02006028 A	23-08-2004
		NO	20022886 A	02-08-2002
		ZA	200205113 A	25-09-2003

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		テーマコード（参考）
C07K	*7/54*	*(2006.01)*	C07K	7/54	
C12N	*1/15*	*(2006.01)*	C12N	1/15	
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19	
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ディラン・クリストファー・アレキサンダー
アメリカ合衆国０２４７２マサチューセッツ州ウォータータウン、カーバー・ロード・イースト８番
(72)発明者 リチャード・エイチ・バルツ
アメリカ合衆国０１７７３マサチューセッツ州リンカーン、チェスナット・サークル１１５番
(72)発明者 ポール・ブライアン
アメリカ合衆国０１７５４マサチューセッツ州メイナード、セカンド・ストリート１２番
(72)発明者 マリー－フランソワーズ・コフェール・ガル
アメリカ合衆国０２４７４マサチューセッツ州アーリントン、レイク・ストリート１１９番
(72)発明者 ザッシャ・デケル
アメリカ合衆国０２１４０マサチューセッツ州ケンブリッジ、ローズランド・ストリート２８番
(72)発明者 ヘ・シャオウェイ
アメリカ合衆国０２４２１マサチューセッツ州レキシントン、リード・ストリート６３番
(72)発明者 ビドヤ・クルカーニ
アメリカ合衆国０２４５１マサチューセッツ州ウォルサム、ベーコン・ストリート２３１番
(72)発明者 クリストファー・リーサイザー
アメリカ合衆国０１８０３マサチューセッツ州バーリントン、ファームズ・ドライブ３１８番
(72)発明者 ビビアン・パク・ウォン・ミャオ
カナダ、ブイ４ピー・２ビー７、ブリティッシュ・コロンビア、サリー、サーティファースト・アベニュー１３７５０番
(72)発明者 キーン・トルン・ヌグイェン
アメリカ合衆国０２４７４マサチューセッツ州アーリントン、オックスフォード・ストリート９３番
(72)発明者 イアン・バリー・パー
アメリカ合衆国０２１５５マサチューセッツ州メッドフォード、オーク・ロード２９番
(72)発明者 ダニエル・リッツ
スイス、ツェーハー－６００６ルツェルン、ザンクト・アンナ－シュタッセ４９番
(72)発明者 ヤンチ・チャン
アメリカ合衆国０２０６７マサチューセッツ州シャロン、ハックルベリー・レイン３番

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA03 AA20 BA07 BA67 BA80 CA02 CA20 DA08 EA04
GA11 GA19 GA25 GA27 HA20
4B064 AG01 CA04 CA19 CC01 CC03 CC24 CD02 CD10 CD20 CD21
CD22 CD30 DA01 DA13
4B065 AA01X AA50X AA50Y AA58X AA72X AA87X AB01 AC14 AC20 BA02
BA16 BA24 BB02 BB06 BB15 BB18 BB23 BB26 BB29 BB36

BB37 BC03 BC26 BD14 CA24 CA27 CA43 CA44 CA46
4C084 AA02 AA06 AA07 BA01 BA08 BA18 BA25 BA32 CA53 CA59
NA14 ZB35
4H045 AA10 AA20 AA30 BA16 BA33 BA50 CA11 DA83 EA29 EA50
FA34 FA51 FA52 GA25