

ロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害剤の創製に関する研究

2009年9月

奈良先端科学技術大学院大学

物質創成科学研究科

榎本 裕志

# ロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害剤の創製に関する研究

## 目次

略号一覧表	・・・	4
序章		
第1節 炎症性疾患治療薬開発の社会的意義	・・・	6
第2節 炎症反応とケミカルメディエーター	・・・	7
第3節 ロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素をターゲットとした炎症性疾患治療剤の可能性	・・・	11
第4節 2つの機能を持つロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素	・・・	16
第5節 エポキシド加水分解作用とそのメカニズム	・・・	17
第6節 アミノペプチダーゼ作用とそのメカニズム	・・・	18
第7節 ロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用を有するカプトプリルとその阻害メカニズム	・・・	19
第8節 本研究の目的	・・・	20
第1章 新規ロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害剤 <i>N</i> -メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体の創出		
第1節 研究の目的	・・・	21
第2節 <i>N</i> -メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4 <i>R</i> )- <i>N</i> -メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体のロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用		
第1項 分子内にチオール基およびカルボキシル基を有する化合物のロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用について	・・・	21
第2項 <i>N</i> -メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4 <i>R</i> )- <i>N</i> -メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の <i>N</i> -アシル置換基変換およびチアゾリジン 2位の置換基変換によるロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用	・・・	22
第3項 阻害剤の推定結合様式に基づく考察	・・・	24
第3節 <i>N</i> -メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体の合成とロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用		
第1項 <i>N</i> -メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体の合成	・・・	27
第2項 プロリン 4位の置換基変換によるロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用	・・・	30
第3項 阻害剤の推定結合様式に基づく考察	・・・	34
第4節 結果と考察	・・・	36
第5節 結論	・・・	37

第1章 実験の部	
合成実験	・・・39
生化学実験	・・・54
第2章 新規 <i>N</i> -メルカプトアシル-L-システイン誘導体 <b>35a</b> の合成と薬理作用	
第1節 研究の背景 (チオアセタール型ロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害剤の発見)	・・・55
第2節 研究の目的	・・・59
第3節 新規 <i>N</i> -メルカプトアシル-L-システイン誘導体 <b>35a</b> の合成とロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用	
第1項 化合物 <b>35a</b> の合成	・・・60
第2項 化合物 <b>35a</b> のロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用と酵素阻害選択性	・・・62
第4節 化合物 <b>35a</b> のカラゲニン誘発耳介浮腫モデル (マウス) における薬理効果	
第1項 実験の目的	・・・63
第2項 試験方法	・・・63
第3項 試験結果	・・・64
第4項 考察	・・・66
第5項 結論	・・・66
第5節 化合物 <b>35a</b> のその他動物モデルにおける薬理効果と安全性	・・・66
第6節 結果と考察	・・・67
第7節 結論	・・・68
第2章 実験の部	
合成実験	・・・69
薬理学実験	・・・73
第3章 <i>N</i> -メルカプトアシルアミノ酸誘導体の構造展開とロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用	
第1節 化合物探索の目的および分子設計	・・・76
第2節 <i>N</i> -メルカプトアシルアミノ酸誘導体の合成	・・・77
第3節 <i>N</i> -メルカプトアシルアミノ酸誘導体のロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用	
第1項 アミノ酸側鎖 (R <sup>12</sup> ) 置換基 (A パート) 変換によるロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用	・・・83
第2項 <i>N</i> -メルカプトアシル (R <sup>7</sup> ) 置換基 (B パート) 変換によるロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用	・・・85

第 3 項	<i>S</i> -ベンジル-L-システイン誘導体ベンゼン環上 <i>p</i> 位 (R <sup>6</sup> ) 置換基 (C パート) 変換によるロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用ならび にアンジオテンシン変換酵素阻害作用	・・・87
第 4 項	<i>S</i> -ベンジル-L-システイン誘導体ベンゼン環上 <i>p</i> 位 (R <sup>6</sup> ) 置換基 (C パート) の定量的構造活性相関 (QSAR)	・・・89
第 5 項	<i>S</i> -ベンジル-L-システイン誘導体 β 位 (R <sup>8</sup> , R <sup>9</sup> ) および δ 位 (R <sup>10</sup> , R <sup>11</sup> ) (D パート) とベンゼン環上 <i>p</i> 位 (R <sup>6</sup> ) 置換基 (C パート) 変換に よるロイコトリエン A <sub>4</sub> 加水分解酵素阻害作用ならびにアンジオテ ンシン変換酵素阻害作用	・・・92
第 6 項	立体構造に基づく阻害剤結合様式についての考察	・・・94
第 4 節	結果と考察	・・・98
第 5 節	結論	・・・100
第 3 章	実験の部	
	合成実験	・・・103
	生化学実験	・・・134
第 4 章	結語	・・・135
	参考文献等	・・・139
	研究業績リスト	・・・143
	謝辞	・・・148

## 略号一覧表

### 化学構造に関する略号

Me; methyl (メチル基)

Et; ethyl (エチル基)

*n*-Pr; normalpropyl (プロピル基)

*i*-Pr; isopropyl (イソプロピル基)

*t*Bu; *tert*butyl (第3ブチル基)

Ph; phenyl (フェニル基)

*c*Hex; cyclohexyl (シクロヘキシル基)

Boc; *tert*butoxycarbonyl (第3ブトキシカルボニル基)

*gem*; geminal (ジェミナル; 同じ炭素原子に結合する2つの置換基の関係を表す。)

### アミノ酸の略号

Ala (A); alanine アラニン

Arg (R); arginine アルギニン

Asn (N); asparagine アスパラギン

Asp (D); aspartic acid アスパラギン酸

Cys (C); cysteine システイン

Gln (Q); glutamine グルタミン

Glu (E); glutamic acid グルタミン酸

Gly (G); glycine グリシン

His (H); histidine ヒスチジン

Ile (I); isoleucine イソロイシン

Leu (L); leucine ロイシン

Lys (K); lysine リジン

Met (M); methionine メチオニン

Phe (F); phenylalanine フェニルアラニン

Pro (P); proline プロリン

Ser (S); serine セリン

Thr (T); threonine トレオニン

Trp (W); tryptophane トリプトファン

Tyr (Y); tyrosine チロシン

Val (V); valine バリン

### 計算化学に関する略号

QSAR; Quantitative Structure Activity Relationship (定量的構造活性相関)

MM/GBSA; Molecular Mechanics Generalized Born with Surface Area

### 機器分析法に関する略号

ESI; electro spray ionization (エレクトロスプレーイオン化法)

IR; infrared absorption spectroscopy (赤外吸収スペクトル法)

mp; melting point (融点)

MS; mass spectrometry (質量分析法)

NMR; nuclear magnetic resonance (核磁気共鳴)

薬理学に関する略号

- ACE; Angiotensin converting enzyme (アンジオテンシン変換酵素)  
BLT<sub>1</sub>; Leukotriene B<sub>4</sub> receptor 1 (ロイコトリエン B<sub>4</sub> 第一受容体)  
BLT<sub>2</sub>; Leukotriene B<sub>4</sub> receptor 2 (ロイコトリエン B<sub>4</sub> 第二受容体)  
CysLT; Cysteinyl leukotriene (システイニルロイコトリエン)  
CysLT<sub>1</sub>; Cysteinyl leukotriene receptor 1 (システイニルロイコトリエン 1 型受容体)  
FLAP; 5-Lipoxygenase activating protein (5-リポオキシゲナーゼ活性化タンパク質)  
HETE; Hydroxyeicosatetraenoic acid (ヒドロキシエイコサテトラエン酸)  
HHT; Hydroxyheptadecatrienoic acid (ヒドロキシヘプタデカトリエン酸)  
HPETE; Hydroperoxyeicosatetraenoic acid (ヒドロペルオキシエイコサテトラエン酸)  
IC<sub>50</sub>; 50% inhibitory concentration (50%阻害濃度)  
IL; Interleukin (インターロイキン)  
LT; Leukotriene (ロイコトリエン)  
LTA<sub>4</sub>H; Leukotriene A<sub>4</sub> hydrolase (ロイコトリエン A<sub>4</sub> 加水分解酵素)  
LX; Lipoxin (リポキシン)  
PG; Prostaglandin (プロスタグランジン)  
TNF- $\alpha$ ; Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (腫瘍壊死因子 $\alpha$ )  
TX; Thromboxane (トロンボキサン)

## 序章

### 第1節 炎症性疾患治療薬開発の社会的意義<sup>1,2)</sup>

人体に大きな機械的傷害又は起炎物質による刺激を受けると、細胞から様々なケミカルメディエーターが放出され、発熱、腫れ、痛みなどを伴う炎症反応が引き起こされる。炎症性疾患とは炎症反応によるケミカルメディエーターによっておこる病気の総称であり、その代表的な例として関節リウマチ、炎症性大腸炎、乾癬などがある。

関節リウマチとは手足をはじめ全身の関節が腫れて痛み、特に手指がこわばり、さらに症状が進行すると関節が変形する病気である。また関節以外に皮膚、肺などの全身症状も伴い慢性化する。関節リウマチの関節炎は関節の滑膜に起きる炎症で、この炎症が慢性化すると同時に滑膜の増殖が起こり、まわりの軟骨や骨を破壊する。この破壊が進むと、手足の指の関節に関節リウマチ特有の変形が起こり、次第に関節を動かしにくくなる。その結果、日常生活に支障があらわれる。関節リウマチの発病の機序は解明されていないが、遺伝的素因、細菌やウイルスなどの感染が関わっているのではないかともいわれている。現在日本における患者数は約70万人であり、毎年約1万5千人が発病すると考えられている。

炎症性大腸炎とは、一般的には潰瘍性大腸炎とクローン病に分類されている。潰瘍性大腸炎は、大腸に慢性的に炎症が生じ、びらんや潰瘍ができる炎症性疾患である。病変部位は直腸を中心として始まり、大腸全体にまで広がることもある。特徴的な症状は血便、粘液便、下痢や腹痛などがあげられる。症状は緩解と再燃を繰り返す慢性の病気である。クローン病は主に10～20歳代の若年で発症し、消化管に潰瘍ができ粘膜が腫れ内腔面が狭くなる炎症性病変である。この病変は口腔から肛門までの消化管のあらゆる部位に見られ、特に小腸や大腸に発症する。症状としては主に腹痛、下痢、発熱、肛門病変などがあり、消化管以外の合併症を伴うこともある。炎症性腸疾患の発病の機序は解明されていないが、遺伝的要因と食生活などの環境要因などが複雑に絡み合って発病するものと考えられている。日本での潰瘍性大腸炎の患者数は9万人、クローン病の患者数は2万5千人と報告されている。

乾癬とは、皮膚から少し盛り上がった赤い発疹の上に、銀白色のフケのような垢が付着しはがれ落ちる症状がでる。かゆみ、爪の変形や関節炎を伴うこともある。まれに発疹が全身におよぶこともある。また人前に肌を見せられないつらさなど精神的な負担がかかる。このような尋常性乾癬が患者の約9割を占めるが、発熱や皮膚の発赤などとともに膿疱（血液中の白血球が集まったもの）が出現する病型を膿疱性乾癬と呼び、全身に出現する場合には汎発性膿疱性乾癬と呼ばれる。このタイプの乾癬は、炎症症状が強く尋常性乾癬と病像が相当異なり入院治療を要する。発症の原因は解明されていないが、遺伝的素因に感染症、精神的ストレスなど外的な因子などが加わることで発病するのではないかと考えられている。日本における乾癬を発症している患者は、10万人以上いるといわれている。

このように罹患数が多くかつ難治性疾患に対する治療薬を新たに開発することは患者の生活の質（Quality of Life; QOL）の向上を行い、患者およびその家族に福音をもたらす。また入院治療費、介護等の医療経済上の問題の改善という視点からも社会的意義は非常に大きいものである。

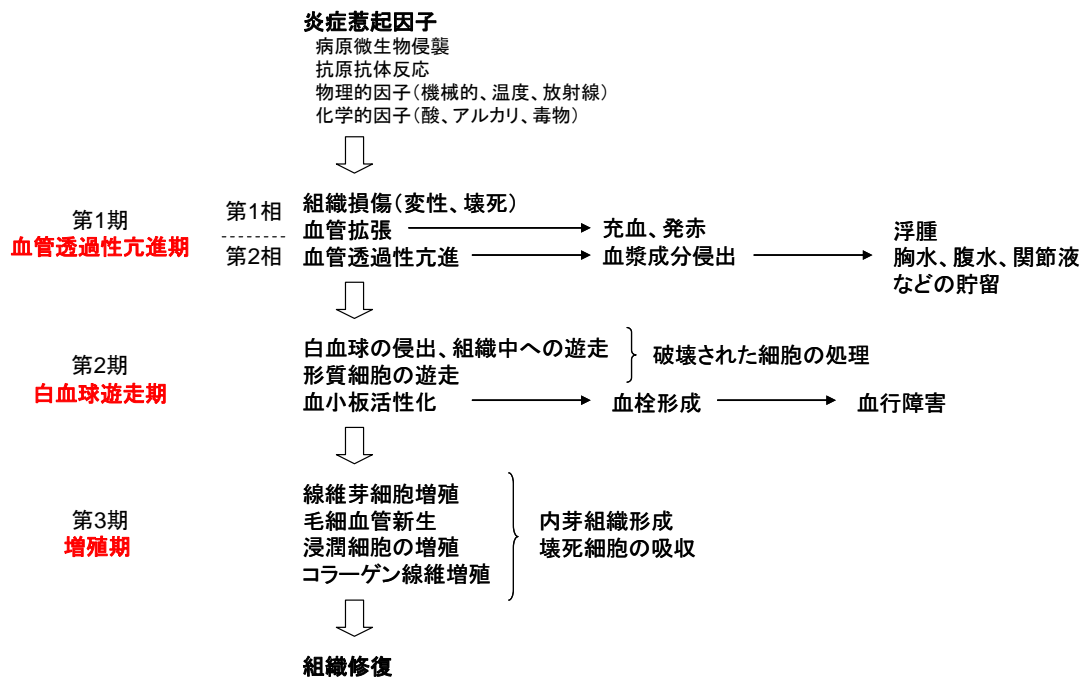
## 第2節 炎症反応とケミカルメディエーター<sup>1,2)</sup>

炎症とは病原微生物、外傷、熱傷、薬物、毒物などによる刺激、侵襲に対する組織の防御反応である。種々の外的、内的侵襲によって細胞や組織の障害・破壊が起こった場合、生体はこれに応答して侵襲を排除し、破壊された組織を修復するが、これらの過程を総括して炎症反応と呼ぶ。炎症が急激に始まり、典型的な五つの徴候（局所の熱、発赤、疼痛、腫脹、機能障害）が現れ、数日から数週間の短期間の経過で治癒するものは急性炎症と呼ばれ、その過程が長期間にわたるものは慢性炎症と呼ばれる。

炎症反応は、**Figure 1** に示すような過程をたどる。その過程で刺激を受けた細胞より放出される種々のメディエーターが別の種類の細胞を刺激して特定の応答を誘起するという細胞間の複雑なネットワークが張り巡らされている。

**Figure 1** に示すように第1期（血管透過性亢進期）は、局所刺激の加わった部位でケミカルメディエーターの遊離が起こり、血管内皮細胞が変化して血管が拡張し血管の透過性が亢進する。第1期は2相に分けられ、第1相はヒスタミンなどのケミカルメディエーターで起こるもので、比較的早期に起こり、短時間で消失する。また第2相はキニン類、ロイコトリエン類で修飾される病態像を示す時期で、血管透過性亢進が持続する。第2期（白血球遊走期）は、白血球が血管内皮に接着し血管外へと滲出し病巣へ遊走する。初期に滲出するのは、主として好中球でついで単球、リンパ球である。第3期（増殖期）は単球、リンパ球およびマクロファージの浸潤により、異物の貪食・殺菌・消化が進行する。また線維芽細胞や毛細血管の新生や増殖が起こり、新しい細胞間物質の生合成が進み膠原線維が新生し、肉芽形成、結合組織増殖および痂皮形成され治癒へと向かう<sup>3,4)</sup>。





**Figure 1. 炎症反応の経過**

炎症を引き起こす原因となる刺激を最初に受容するのは白血球系の細胞、すなわち血液中の単球または好塩基球が各組織に定着して適当な分化を遂げたマクロファージ、または肥満細胞などである。これらの細胞はその応答として、微量で強い生理活性を有するインターロイキン-1 (IL-1)、インターロイキン-6 (IL-6)、腫瘍壊死因子 (TNF- $\alpha$ ) などの炎症性サイトカイン、ヒスタミン、セロトニンなどのオータコイド、ブラジキニンのようなペプチド、プロスタグランジン (PG)、トロンボキサン (TX) などのプロスタノイド、ロイコトリエン (LT) および血小板活性化因子 (PAF) など様々なメディエーターを放出する。これらメディエーターは **Figure 2** に示すような各種細胞に作用して特定の反応を引き起こす。また B リンパ球も炎症刺激を受け、インターロイキン (IL) などのメディエーターを放出すると考えられている。このように炎症反応は、感作抗原に対する IgE 抗体の肥満細胞への結合が引き金となって起こる即時型 (I 型) アレルギーと非常に似たものといえる。

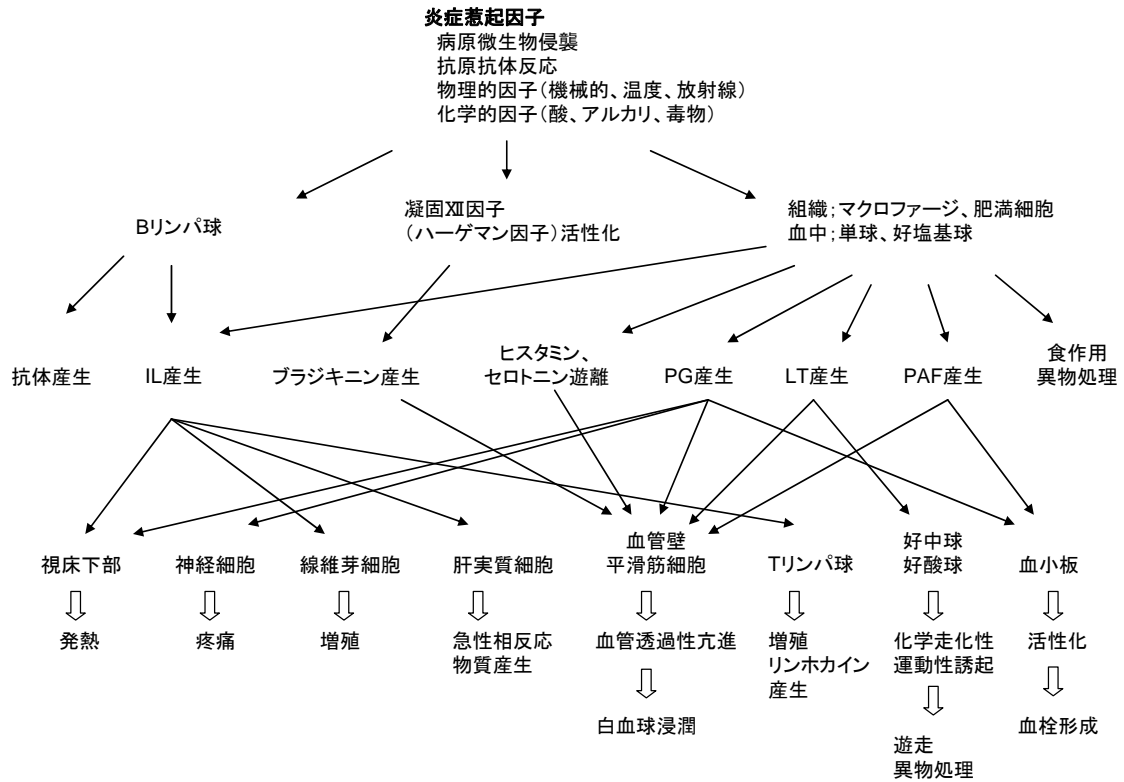


Figure 2. 炎症に関与する主なメディエーターとその作用

上述の炎症誘起因子のうち PG 類、TX 類および LT 類は、Figure 3 に示すように細胞や組織の膜に存在するリン脂質からホスホリパーゼの作用により生じたアラキドン酸を出発物質として、アラキドン酸カスケードと呼ばれる代謝系によって生合成される。このように特定の内分泌腺ではなく、様々な細胞で生合成され、その多くは生成された局所のみで作用し生成から分解までの時間が短い。また正常時にはあまり産生されず異常時に大量に産生され、異常事態に対応するものが多い。そのため欠損症による病気は知られていない。

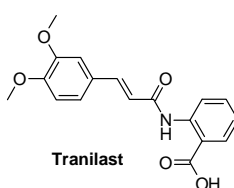
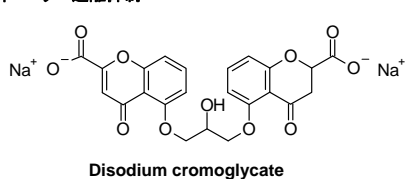
このカスケードの初段階にはシクロオキシゲナーゼとリポオキシゲナーゼの二種類のオキシゲナーゼが存在し、2つの代謝経路が存在する。シクロオキシゲナーゼによる経路で生成する PG 類は、平滑筋の収縮あるいは弛緩作用によって血圧、血流量、末梢血管抵抗などの調節にあずかる。また中枢神経系に働いて、体温や睡眠を調節する。免疫系と炎症反応に関与し、性周期、陣痛などを調節する。TX 類は血小板活性化を引き起こし、血栓形成を促進するがこれに対し他の因子は抑制方向に働き、特に PGI<sub>2</sub> はその作用が強く可逆的凝集を分散させる働きがある。一方、リポオキシゲナーゼによる経路で生成する LT 類のうち、ペプチドと結合した LTC<sub>4</sub>、D<sub>4</sub>、E<sub>4</sub>などは SRS-A (slow-reacting substances of anaphylaxis) といわれるアレルギーのメディエーターとしての機能が備わっており、持続的で強い気管支平滑筋収縮作用を有する。また LTB<sub>4</sub> は強い白血球遊走作用があり、炎症に強く関与している。



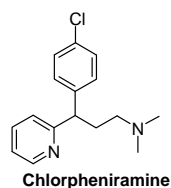
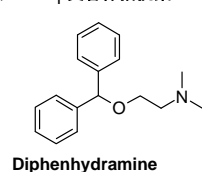
作用し、血管透過性亢進作用や炎症性細胞浸潤を抑制する。アレルギー性鼻炎の治療剤として用いられている。

近年タンパク性の IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインに対しては、その抗体や可溶性受容体等の生物製剤の研究が広く行われ、抗 TNF- $\alpha$ 抗体（インフリキシマブ、アダリムマブ）、TNF- $\alpha$ 可溶性受容体（エタネルセプト）、IL-1 受容体拮抗薬（アナキンラ）、抗 IL-6 受容体抗体（アトリズマブ）が上市または臨床治験が実施されている。これらの生物製剤は関節リウマチ等に対し著効を示す一方、日和見感染を含む重篤な感染症等の副作用が認められるなどその使用には制限がある。また治療費が高価であるなど医療経済上の問題もある。

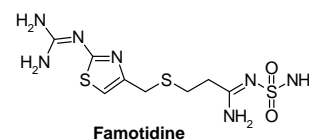
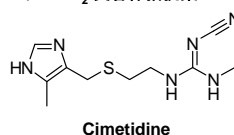
**メディエーター遊離抑制**



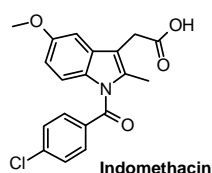
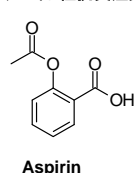
**ヒスタミン H<sub>1</sub>-受容体拮抗薬**



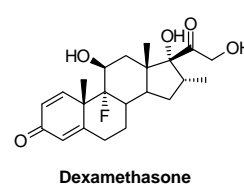
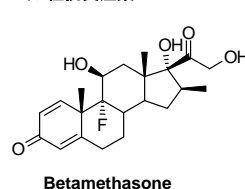
**ヒスタミン H<sub>2</sub>-受容体拮抗薬**



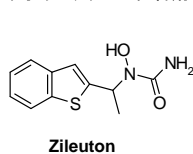
**非ステロイド性抗炎症薬**



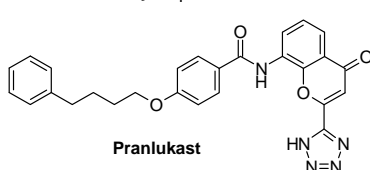
**ステロイド性抗炎症薬**



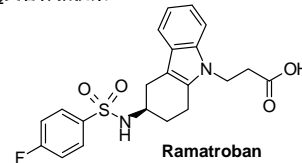
**5-リポオキシゲナーゼ阻害剤**



**ロイコトリエン (CysLT<sub>1</sub>) 受容体拮抗薬**



**TXA<sub>2</sub> 受容体拮抗薬**



**Figure 4. 炎症性メディエーターをターゲットとした主な治療薬**

**第3節 ロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素をターゲットとした炎症性疾患治療剤の可能性**

前節で示したように、炎症反応は刺激を受けた細胞より放出される様々なメディエーターが別の種類の細胞を刺激して特定の応答を誘起するという、メディエーターを介しての細胞間相互作用が重要な役割を果たしている。

その中で、 $LTB_4$ はアラキドン酸代謝における5-リポオキシゲナーゼ経路で、エポキシド体である $LTA_4$ が $LTA_4$ 加水分解酵素 ( $LTA_4$  hydrolase;  $LTA_4H$ ) により加水分解されることにより生成する (Figure 5) 5)。この $LTB_4$ は炎症性メディエーターの一つとして多形核白血球 (好中球) のケモキネシス、化学走性および凝集反応を誘導し 6,7)、これらの細胞の血管内皮細胞への吸着を促進する 8)。その結果、血管透過性が亢進し浮腫が形成されるなど炎症反応を引き起こす。

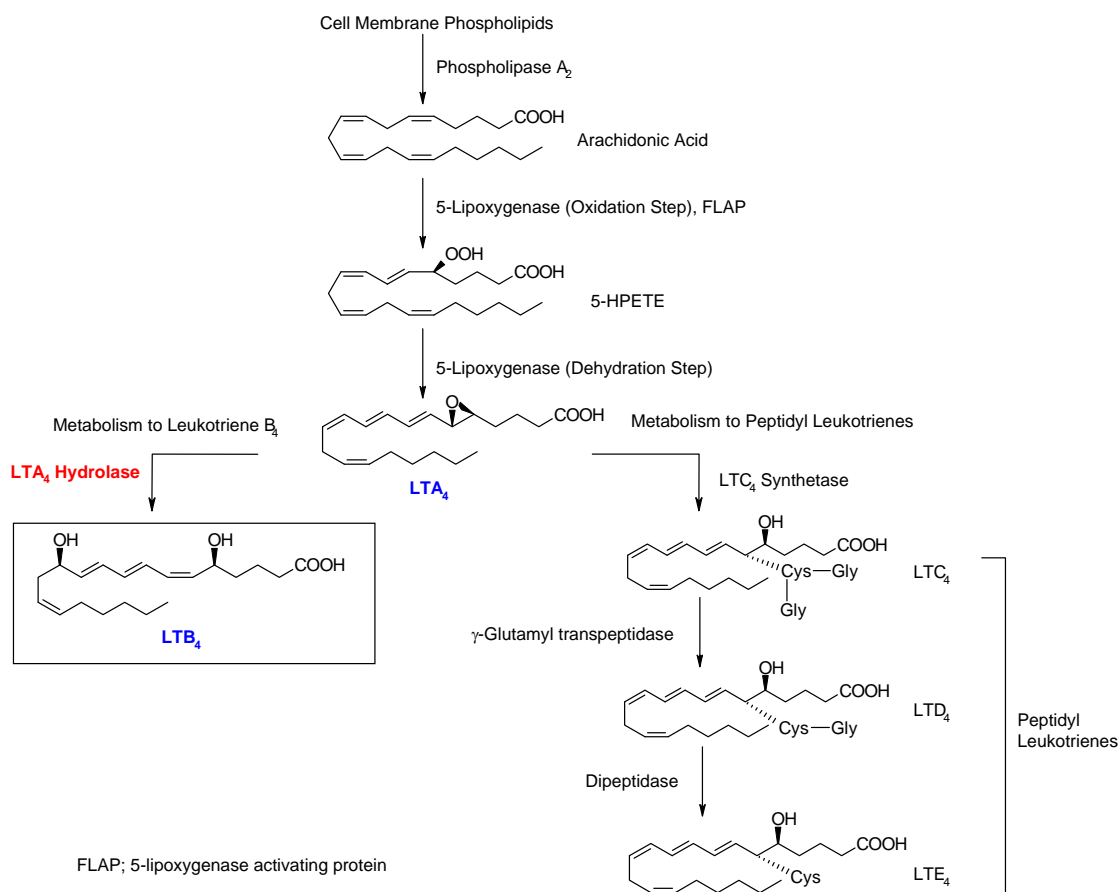


Figure 5. ロイコトリエン類の生合成経路

この $LTB_4$ は好中球、単球、マクロファージ、ケラチノサイト、リンパ球および肥満細胞など種々の細胞で産生される 9)。関節リウマチ患者の関節液中 10)、炎症性大腸炎患者の結腸粘膜中 11)では $LTB_4$ 濃度が有意に増加しており、乾癬の皮膚病変部では生物活性を示す濃度の $LTB_4$ が認められている 12)。このように $LTB_4$ は関節リウマチ、乾癬、炎症性大腸炎等の炎症性疾患の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられている。また最近 $LTB_4$ が心炎症および動脈硬化症との関連性を示唆する研究も報告されている 13)。

したがって、5-リポオキシゲナーゼ経路のいずれかを抑制し、 $LTB_4$ の産生を抑制するもしくは $LTB_4$ のレセプターへの結合を阻害することは抗炎症剤開発の有望な手段となりえ

ると考えられる。

5-リポオキシゲナーゼ経路の阻害剤としては、5-リポオキシゲナーゼ阻害剤、5-lipoxygenase activating protein (FLAP) 阻害剤の研究が行われており、第2節で述べたように5-リポオキシゲナーゼ阻害剤が喘息治療薬として上市されている<sup>14)</sup>。また LTB<sub>4</sub> レセプターへの結合を阻害することを目的にそのレセプター拮抗剤の開発が行われており、数種類の化合物に関して臨床試験が実施されているがこれまでに上市されたものはない<sup>5,15)</sup>。近年、LTB<sub>4</sub> レセプターは高親和性の BLT<sub>1</sub><sup>16)</sup>および低親和性の BLT<sub>2</sub><sup>17)</sup>の2つのサブタイプが存在することが明らかにされている。これら BLT<sub>1</sub>および BLT<sub>2</sub>の両レセプターが炎症の過程には重要な役割を担っている。したがって、LTB<sub>4</sub> レセプター拮抗剤が生体内で効果を十分に発揮するためには、両レセプターに対して拮抗作用を示す必要があると考えられている<sup>18)</sup>。

一方、LTB<sub>4</sub>の産生における生合成経路の最終工程で作用する LTA<sub>4</sub>H を阻害し、LTB<sub>4</sub>の産生を抑制することは BLT<sub>1</sub>および BLT<sub>2</sub>の両レセプターに対する親和性を考慮することなくその効果を発揮できる可能性がある。また LTB<sub>4</sub>の前駆体である LTA<sub>4</sub>は炎症の修復に作用する抗炎症メディエーターであるリポキシン類 (lipoxins; lipoxygenase interaction products) LXA<sub>4</sub>および LXB<sub>4</sub>の前駆体でもある (Figure 6)<sup>19)</sup>。

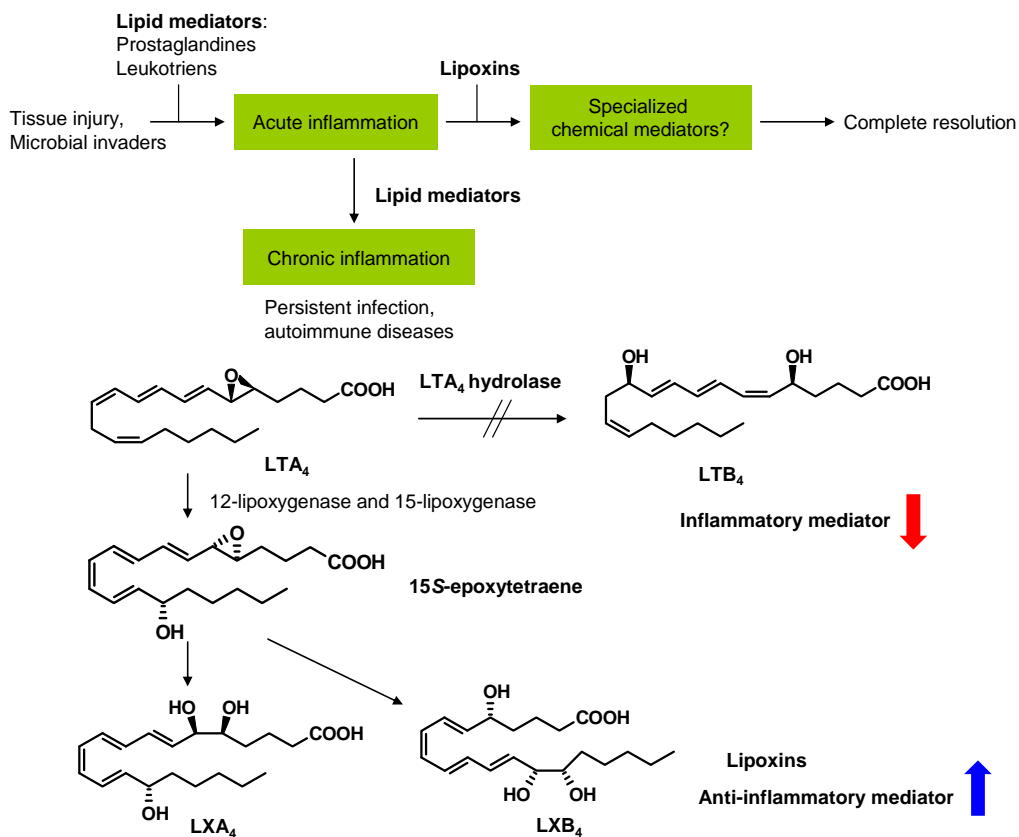
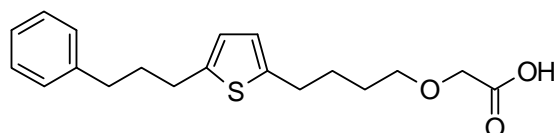


Figure 6. 炎症の修復に関与するメディエーター

5-リポオキシゲナーゼ阻害剤は LTB<sub>4</sub> 生合成経路の最も上流の酵素を阻害するため、LTA<sub>4</sub> の産生も阻害する。しかしながら LTA<sub>4</sub>H を阻害した場合、抗炎症メディエーターである LXA<sub>4</sub>、LXB<sub>4</sub> の産生に影響を及ぼすことなく炎症性メディエーターの LTB<sub>4</sub> の産生を抑制することが可能である。このように LTA<sub>4</sub>H 阻害剤は LTB<sub>4</sub> レセプター拮抗剤および 5-リポオキシゲナーゼ阻害剤に対する優位性を示す可能性を秘めている。

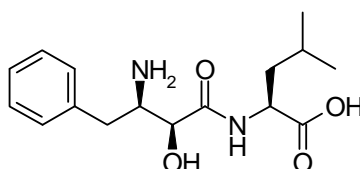
近年報告されている LTA<sub>4</sub>H 阻害剤は主に LTA<sub>4</sub> アナログ、基質遷移状態アナログ、キレーティングアナログ、ノンペプチド非キレーティングアナログの 4 つに分類される<sup>20)</sup>。その代表例を以下に示す。

LTA<sub>4</sub> アナログとしては、LTA<sub>4</sub> の平面性を有するトリエン部分をベンゼンやチオフェン等の芳香環に置換し、さらに末端の脂溶性側鎖をアリールアルキル鎖に変換した化合物である **RP64966** が報告されている (**Figure 7**)。本化合物は LTA<sub>4</sub>H に対して IC<sub>50</sub> 値が 1.5 μM、5 mg/kg の経口投与で血中の LTB<sub>4</sub> の産生を阻害する<sup>21)</sup>。



**Figure 7. RP64966 の構造式**

基質遷移状態アナログとしては、アミノペプチダーゼ阻害剤のベスタチン (**Figure 8**) に阻害作用があることが報告されており、ヒト LTA<sub>4</sub>H のエポキシド加水分解作用 (後述第 5 節参照) に対して IC<sub>50</sub> 値が 4 μM、アミノペプチダーゼ作用 (後述第 6 節参照) に対して IC<sub>50</sub> 値が 0.3 μM である<sup>22)</sup>。



**Figure 8. ベスタチンの構造式**

キレーティングアナログとしては、亜鉛含有メタロプロテアーゼである中性エンドペプチダーゼ EC3.4.24.11 の阻害剤であるケラトルファンが非競合的に阻害し、またその誘導体が非常に強く LTA<sub>4</sub>H を阻害することが報告されている<sup>23)</sup>。また、アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害剤であるカプトプリルにも LTA<sub>4</sub>H 阻害作用があり、ヒト LTA<sub>4</sub>H のエポキシド加水分解作用 (後述第 5 節参照) に対して IC<sub>50</sub> 値が 11 μM およびアミノペプチダーゼ作用 (後述第 6 節参照) に対して IC<sub>50</sub> 値が 0.07 μM と報告されている。またカプトプリルは LTA<sub>4</sub>H に対して競合的で可逆的な阻害剤である<sup>24)</sup> (**Figure 9**)。

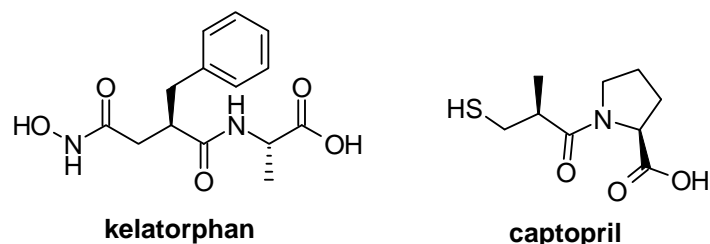


Figure 9. ケラトルファンとカプトプリルの構造式

ノンペプチド非キレーティングアナログ (Figure 10) である **SC-57461A** はリコンビナントヒト  $LTA_4H$  のエポキシド加水分解作用を  $IC_{50}$  値が 2.5 nM と非常に強く阻害し、またマウス経口投与 (10 mg/kg) による全血中の  $LTB_4$  の産生をほぼ完全に抑制する<sup>25)</sup>。ベンゾチアゾールを有する **JNJ-26993135** は同エポキシド加水分解作用 (後述第 5 節参照) に対し  $IC_{50}$  値が 12 nM、アミノペプチダーゼ作用 (後述第 6 節参照) に対して  $IC_{50}$  値が 6 nM である<sup>26,27)</sup>。また本化合物はマウスにおけるアラキドン酸誘発耳介浮腫を経口投与量 1~30 mg/kg で用量依存的に抑制する。この **JNJ-26993135** はカルシウムイオノフォア誘発脂質メディエーター産生 *in vitro* モデルにおいてもマウス全血中の  $LTB_4$  の産生を  $IC_{50}$  値 0.3  $\mu$ M で抑制し、このとき抗炎症メディエーターである  $LXA_4$  の産生抑制には影響しない。同様に *in vivo* モデルであるザイモザン誘発腹膜炎マウスモデルにおいて、本化合物の 30 mg/kg 経口投与で  $LTB_4$  の産生を有意に抑制し、このとき  $LXA_4$  の産生を維持又は増加させる<sup>27)</sup>。**DG-051** は  $LTA_4H$  を  $IC_{50}$  値 127 nM で阻害し、*in vitro* モデルにおいて、ヒト全血中の  $LTB_4$  の産生を  $IC_{50}$  値 37 nM で抑制する。現在本化合物はアテローム性動脈硬化性プラークに対する  $LTB_4$  の作用を抑制し、心臓発作のリスク軽減薬として米国で臨床試験第 II 相が実施されている<sup>28)</sup>。

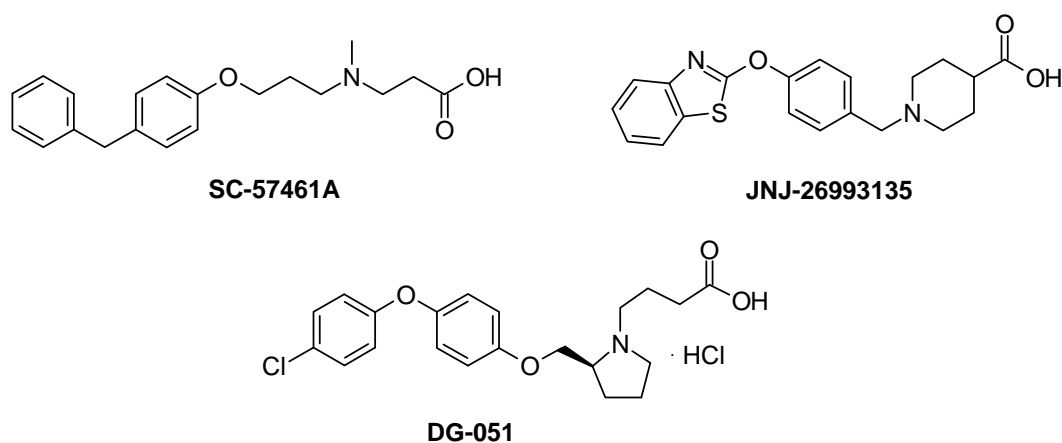


Figure 10. ノンペプチド非キレーティングアナログの構造式

以上のように  $LTB_4$  の生合成経路の最終工程で作用する  $LTA_4H$  を阻害し  $LTB_4$  の産生を



抑制することは、BLT<sub>1</sub> および BLT<sub>2</sub> の両レセプターに対する親和性を考慮することなくその抗炎症効果を発揮できる可能性があり、また抗炎症メディエーターであるリポキシン類 (LXA<sub>4</sub> および LXB<sub>4</sub>) の産生にも影響を及ぼさないと考えられる。したがって、LTA<sub>4</sub>H は新しい抗炎症剤開発のターゲットになりうると考えられる。

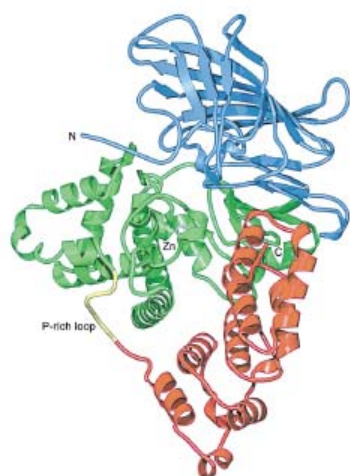
#### 第 4 節 2 つの機能を持つロイコトリエン A<sub>4</sub> 加水分解酵素<sup>29)</sup>

アミノ酸 610 残基から成る LTA<sub>4</sub>H (EC 3.3.2.6) は、一つの亜鉛原子を持つ分子量 69kDa の亜鉛含有金属酵素である。本酵素はアミノペプチダーゼ M やサーモライシン等の亜鉛含有金属プロテアーゼと同様、亜鉛結合部位のモチーフが HEXXH(X<sub>18</sub>)E と表され、金属酵素の MA 族 M1 ファミリーに分類される<sup>30)</sup>。実際、LTA<sub>4</sub>H おける酵素活性部位の亜鉛は His<sup>295</sup>, His<sup>299</sup> および Glu<sup>318</sup> によって配位されている (Figure 11)。

この LTA<sub>4</sub>H は細胞質<sup>31)</sup> および核<sup>32,33)</sup> に存在し、また最近では細胞膜結合型も報告されている<sup>34)</sup>。第 3 節で述べたが、本酵素は不安定なエポキシド型脂肪酸である LTA<sub>4</sub> を安定なジオール体である LTB<sub>4</sub> に変換する高い基質特異性があり、また LTB<sub>4</sub> 生合成経路の最終の律速段階で作用する。またこのエポキシド加水分解作用は、LTA<sub>4</sub> の炭素鎖バックボーンへの水の立体特異的な付加がカルボカチオン中間体を経て、LTA<sub>4</sub> のエポキシド部位から 7 炭素離れた C12 位で起こるといふ点も他酵素には見られない特徴である。

一方、亜鉛結合部位のモチーフや亜鉛含有金属酵素のホモロジーから推察されるように、LTA<sub>4</sub>H はペプチド結合を切断するアミノペプチダーゼ作用を有することも報告されている。エポキシド加水分解作用とは異なり、アミノペプチダーゼ作用は 1 価アニオンやアルブミンにより活性化される。このアミノペプチダーゼ作用は、アルギニルジペプチド、トリペプチドなど種々の基質に作用する<sup>35)</sup>。このアミノペプチダーゼ作用は炎症や生体 (宿主) 防御に関連するペプチドのプロセッシングに関係していると一般的に考えられている。また上皮細胞に LTA<sub>4</sub>H が過剰発現していることと腫瘍形成との関連性について報告されており、ベスタチンが DNA 合成を抑制し細胞増殖を抑制することからそのアミノペプチダーゼ作用との関連性が示唆されている。またエンケファリンは LTA<sub>4</sub>H の基質となり加水分解されるが、そのエンケファリンレセプターが上皮細胞の核内に存在している。エンケファリンは上皮細胞の増殖を抑制しているが、LTA<sub>4</sub>H のペプチダーゼ作用により核内でエンケファリンの分解が起こると細胞増殖の方向に向かうと考えられる。このように LTA<sub>4</sub>H の核内での存在とそのアミノペプチダーゼ作用との関連性が考えられている<sup>33)</sup>。

このように LTA<sub>4</sub>H は LTA<sub>4</sub> を LTB<sub>4</sub> に変換する基質特異性の高いエポキシド加水分解作用および、亜鉛含有金属酵素として本来保持しているアミノペプチダーゼ作用を有する 2 つの機能を併せ持っている。



1	PEIVDTCSLASPASVCRTKHLHLRCSVDFTRRLTGTAALTQSQEDNLRSLVLDTKDLT	60
61	IEKVVINGQEVKYALGERQSYKGSPEISLPIALSKNQEIVIEISFETSPKSSALQWLTP	120
121	EQTSGKEHPYLFSSQCQAIHCRAILPCQDTPSVKLTYTEAVSVPKELVALMSAIRDGETPD	180
181	PEDPSRKIYKFIQKVPIPCYLIALVVGALERSRQIGPRTLWSEKEQVEKSAYEFSETESM	240
241	LKIAEDLGGPYVWQYDLLVLPSPFYGGMENPCLTFVTPTLLAGDKSLSNVIAHEISHS	300
301	WTGNLVNKTWDFWLNEGHTVYLERHICGRLFGEKFRHFNALGGWGEQNSVKTFTGETH	360
361	PFTKLVVDLTDIDPDVAYSSVPEYKGFALLFYLEQLLGGPEIFLGLKAYVEKFSYKSIT	420
421	TDDWKDFLYSYFKDKVDVNLQVDWNAWLYSPGLPPKPNYDMTLTNACIALSQRWITAKE	480
481	DDLNSFNATDLKDLSSHQLNEFLAQLQRAPLPLGHKRMQEVYNFNAINNSEIRFRWLR	540
541	LCIQSKWEDAIPALKMATEQGRMKFTRPLFKDLAAFDKSHDQAVRVTYQEHKASMPVTA	600
601	MLVGKDLKVD	610

Figure 11. ヒト LTA<sub>4</sub>H の構造<sup>36)</sup>とアミノ酸一次配列

#### 第 5 節 エポキシド加水分解作用とそのメカニズム<sup>29)</sup>

炎症性メディエーターである LTB<sub>4</sub> の生物活性発現には、C12 位の水酸基の立体化学と二重結合の配置が重要である。そこで LTA<sub>4</sub>H は LTA<sub>4</sub> の C12 位の水酸基が *R* 体となり、また Δ<sup>6</sup>-シス-Δ<sup>8</sup>-トランス-Δ<sup>10</sup>-トランス体の共役トリエンを形成するように加水分解を触媒する。この反応は非常にユニークなメカニズムで、エポキシ部分 (C5, C6 位) から離れた C12 位で水酸基の立体特異的な付加が起こる。生化学研究、点突然変異および X 線結晶構造解析の結果から LTA<sub>4</sub>H のエポキシド加水分解作用のメカニズムは以下のように考えられている。

まず LTA<sub>4</sub> の C5, C6 位エポキシド部分が亜鉛に配位すると、LTA<sub>4</sub> の炭素鎖バックボーンである脂肪酸 C7 位から C20 位は折れ曲がった配座で酵素の溝深くにすっぽりとはまる。一方、C1 位カルボキシレート(-COO<sup>-</sup>)部分は正電荷を有する Arg<sup>563</sup> 側鎖グアニド基と直接イオン結合を形成する。さらに触媒部位の亜鉛および Glu<sup>271</sup> が不安定なアリルエポキシド部位に接近する。そして亜鉛および Glu<sup>271</sup> 側鎖カルボン酸は水分子を分極することにより活性化し、エポキシドが開環する。この際、S<sub>N</sub>1 反応が起こるためにカルボカチオンが形成する。分子の一方から水分子の求核攻撃を受けられるように加水分解される C12 位が平面性 sp<sup>2</sup>を保ったまま、この正電荷は共鳴したトリエン系 (C6 位から C12 位) で非局在化している。Asp<sup>375</sup> は C12 位へ求核攻撃する水分子を活性化すると共に、LTB<sub>4</sub> の 12-(*R*) 水酸基の位置および立体特異的な付加反応を制御している。また基質である LTA<sub>4</sub> が酵素の溝深くに湾曲した形で相互作用することは、LTB<sub>4</sub> の Δ<sup>6</sup>-シス体形成に有利に働いていると考えられる。すなわち LTA<sub>4</sub> の C6 位と C7 位の間には自由回転があるので、湾曲した形で相互作用することにより酵素は遷移状態においてこの炭素-炭素結合をシス寄りの配座状態に保っているようであり、カルボカチオン中間体からシス体の形成を促進しているようである (Figure 12)。このようにエポキシド加水分解作用は基質特異性が高い反応である。

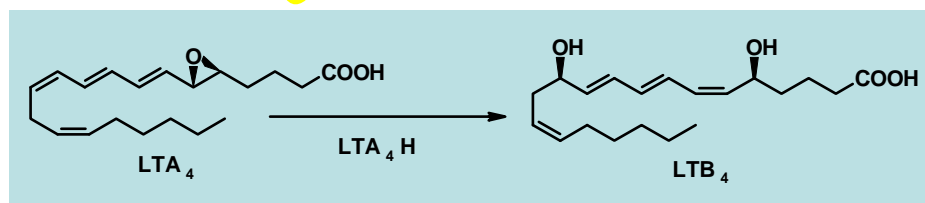
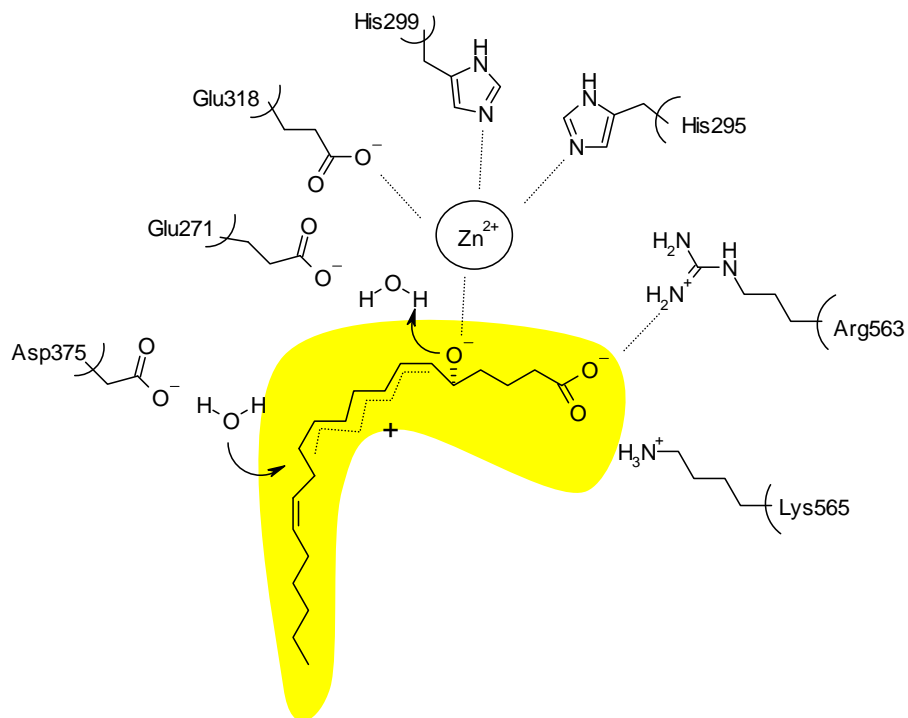


Figure 12. エポキシド加水分解作用のメカニズム

#### 第6節 アミノペプチダーゼ作用とそのメカニズム<sup>29)</sup>

一方、LTA<sub>4</sub>のアミノペプチダーゼ作用におけるアミド結合の切断は、サーモライシン等の亜鉛含有金属プロテアーゼの基質切断と同様のメカニズムに従って進行していると考えられている。

これまでの本酵素の点突然変異の研究から、ペプチド基質の N 末端認識部位として LTA<sub>4</sub>H の Glu<sup>271</sup> が同定されている。従って、ペプチド基質の N 末端は Glu<sup>271</sup> と相互作用しており、この Glu<sup>271</sup> は LTA<sub>4</sub>H のペプチド切断におけるエキソペプチダーゼ作用にとって重要な役割を果たしている。また LTA<sub>4</sub> と親和性の高いトリペプチド基質の場合、基質の C 末端側のカルボキシレートは Arg<sup>563</sup> / Lys<sup>565</sup> と相互作用している。さらにアミノペプチダーゼ作用には Glu<sup>296</sup> および Tyr<sup>383</sup> が必要である。すなわち、基質切断部位のアミドカルボニル基の酸素に亜鉛が配位し、そのカルボニル基に対し水分子の攻撃が促進するように Glu<sup>296</sup> が水分子を分極する。さらに Tyr<sup>383</sup> がプロトンドナーとして基質切断部位のアミノ基へその水素が移動し、ペプチド結合の切断が完了する。(Figure 13)。

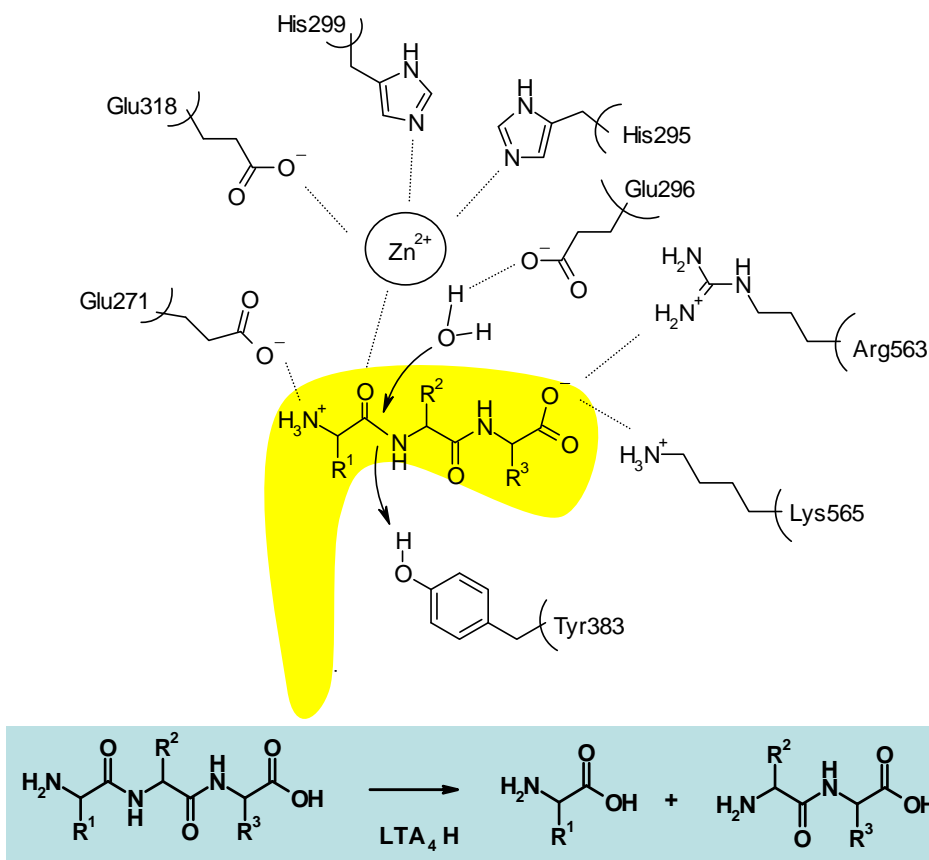


Figure 13. アミノペプチダーゼ作用のメカニズム

第5節および本節で示したように、 $LTA_4H$ の2つの酵素作用は活性部位で機能するアミノ酸残基が一部重複している。特に  $Glu^{271}$  は2つの触媒反応に関与するアミノ酸残基であるが、2つの酵素反応において別の化学的役割を担っている点がユニークである (Figure 12 および 13)。

#### 第7節 ロイコトリエン $A_4$ 加水分解酵素阻害作用を有するカプトプリルとその阻害メカニズム

主に血圧を調整するなど生体内で重要な役割を果たしているアンジオテンシン変換酵素 (ACE, ジペプチジルカルボキシペプチダーゼ EC 3.4.15.1) は、金属酵素の MA 族 M2 ファミリーに属する。カプトプリルは ACE の最も古典的な阻害剤であるが、第3節で述べたように  $LTA_4H$  に対しても競合的に阻害することが報告されている。

近年、このカプトプリルと  $LTA_4H$  共結晶による X 線結晶構造解析が報告されている<sup>37)</sup>。その結果、カプトプリルの  $LTA_4H$  への主な相互作用はチオール基によるもので、このチオール基は亜鉛イオンと配位しており、その距離は 2.2 Å であった。カプトプリルのアミドカルボニル酸素と  $Gly^{268}$  の NH 基との間に水素結合が形成されており、カルボキシル基は

Arg<sup>563</sup>のグアニジド基とイオンの結合していた。またカプトプリルのメチル基はタンパクと際立った相互作用はしていないように見えるが、プロリン部分は Tyr<sup>383</sup>と弱い疎水性相互作用を形成していた。

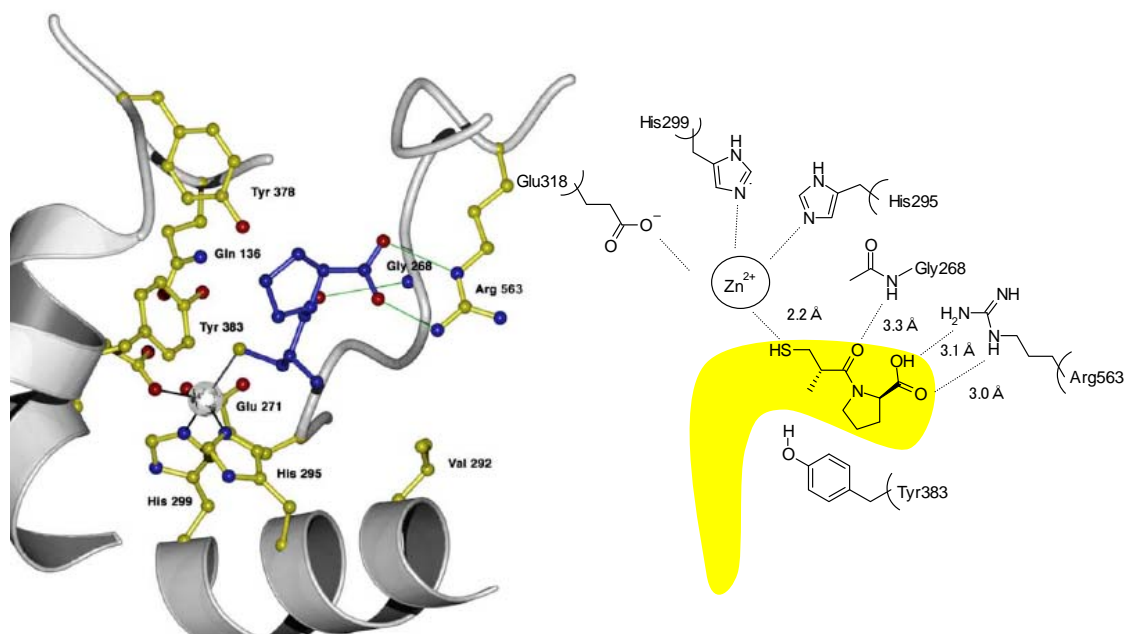


Figure 14. カプトプリルと LTA<sub>4</sub>H の X 線結晶構造解析による結合様式<sup>37)</sup>

#### 第 8 節 本研究の目的

これまで述べてきたように、炎症性疾患と密接な関連があるメディエーターの一つで強力な多形核白血球（好中球）誘引作用のある LTB<sub>4</sub>の生理作用を抑制するとは抗炎症剤開発の有望な手段となりえると考えられる。これまで幾つかの LTB<sub>4</sub>レセプター拮抗薬の臨床試験が実施されているが、上市には至っていない。

一方、LTB<sub>4</sub>の生合成経路の最終工程で作用する LTA<sub>4</sub>H を阻害し LTB<sub>4</sub>の産生を抑制することは、LTB<sub>4</sub>レセプターである BLT<sub>1</sub>および BLT<sub>2</sub>の両レセプターに対する親和性を考慮することなくその抗炎症効果が発揮でき、また抗炎症メディエーターであるリポキシン類（LXA<sub>4</sub>および LXB<sub>4</sub>）の産生には影響を及ぼさないと考えられる。したがって本酵素阻害剤は LTB<sub>4</sub>レセプター拮抗剤および 5-リポオキシゲナーゼ阻害剤に対する優位性を示す可能性を秘めていると考えた。そこで新たな抗炎症剤創出を目指し、LTA<sub>4</sub>H を強力に阻害する新規化合物を見出すことを目的に本研究を開始した。

## 第1章 新規ロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害剤 *N*-メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体の創出

### 第1節 研究の目的

序章でも述べたように近年多くの LTA<sub>4</sub>H 阻害剤が報告されているが、その中で ACE 阻害剤であるカプトプリルに弱いながらも阻害作用を示すことが報告されている<sup>24)</sup>。ACE は LTA<sub>4</sub>H と同族の亜鉛含有金属プロテアーゼ (MA 族) であり、酵素およびその阻害剤に関する情報が豊富であることから、カプトプリルをシード化合物と設定した。

医薬品の開発においては化合物が生体内でその薬理効果を発現する必要性があるため、一般的に *in vitro* の試験においては IC<sub>50</sub> 値が nM オーダーの強力な酵素阻害作用を示す必要性がある。また医薬品の開発のみならず、強力な阻害剤の創出は本酵素の生体内で役割や疾患メカニズムの解明に繋がる可能性がある。そこでこのシード化合物に対し種々の化学構造変換を行うことにより強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害し、血圧下降作用等の副作用に繋がる可能性のある ACE 阻害作用が減弱した酵素選択性の高い新規化合物の創出を目指すと共に構造活性相関の研究を実施した。

### 第2節 *N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体のロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用

#### 第1項 分子内にチオール基およびカルボキシル基を有する化合物のロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用について

はじめに阻害剤の新規性を創出する目的で、ACE 阻害作用が報告されている分子内にチオール基を有する代表的な化合物について LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を確認することとした。(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体である SA446<sup>38,39)</sup> はカプトプリル<sup>40)</sup>よりさらに強力に ACE を阻害する。また ACE 阻害は弱い、カプトプリルのプロリン部分がグリシンもしくは L-システインであるチオプロニン、ブシラミン<sup>41-44)</sup>についてもその LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を検討した (Figure 15)。

LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は、モルモット肺より調製した粗酵素に評価化合物および基質として LTA<sub>4</sub> を加え一定時間インキュベーションした後、生成した LTB<sub>4</sub> を高速液体クロマトグラフィーにて定量することにより測定した<sup>45,46)</sup>。

試験を実施した結果、いずれの化合物も LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示さなかった (Figure 15)。このことから LTA<sub>4</sub>H の阻害剤に対する特異性は比較的高く、単に ACE 阻害作用が高いだけでは不適當であり、各置換基に対する詳細な検討が必要であると考えられた。

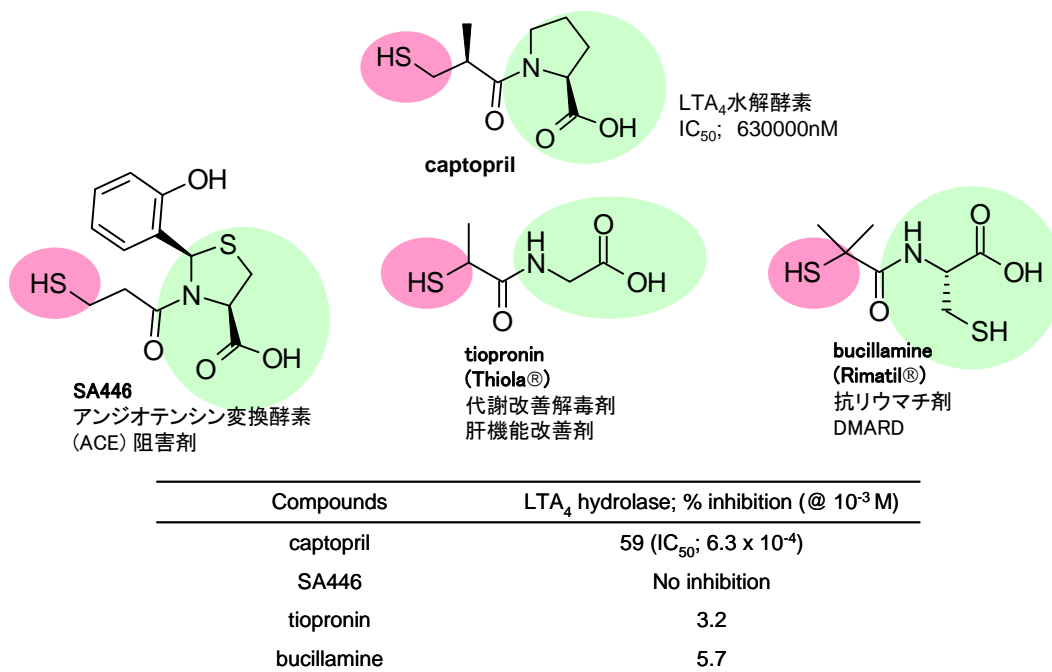


Figure 15. メルカプトアシルアミノ酸誘導体の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用

第 2 項 *N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の *N*-アシル置換基変換およびチアゾリジン 2 位の置換基変換によるロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用

前項で LTA<sub>4</sub>H に対する阻害は単にチオール基やカルボキシル基があるだけでは不十分で、ピロリジン部分の相互作用が重要であることが明らかとなった。そこでカプトプリルに代表される *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体および SA446 に代表される(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体に着目し、両誘導体の *N*-アシル置換基 (R<sup>1</sup>) の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用に対する効果およびチアゾリジン-4-カルボン酸 2 位の置換基 (R<sup>2</sup>) の効果について詳細に検討することにした。

LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は、前項に記載した方法により測定を行った。なお化合物は参天製薬株式会社化合物ライブラリーより選択し、酵素阻害試験に用いた。

試験を実施した *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体 **1**<sup>40)</sup>および (4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体 **2**<sup>39)</sup>の *N*-アシル置換基 (R<sup>1</sup>) の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用について **Table 1** に示す。

試験を行った化合物のうち両誘導体とも R<sup>1</sup> 置換基としては、(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基を持つ化合物(化合物 **1e** および **2e**)にのみ同程度の阻害作用が認められた。この結果は、阻害剤の *N*-アシル基部分が相互作用する酵素側構造は立体的許容性が低いことを示しているものと考えられる。また実施例は限られているが、両誘導体間における阻

害強度の傾向が似ていることから LTA<sub>4</sub>H の阻害に対しては化合物 **1** および化合物 **2** の骨格であるピロリジンおよびチアゾリジン<sup>1</sup>は互いに等価体であると考えられた。

**Table 1.** *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体および (4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の R<sup>1</sup> 置換基変換による LTA<sub>4</sub>H 阻害作用

R <sup>1</sup> -	Compound 1 <sup>a</sup>	LTA <sub>4</sub> hydrolase % inhibition at 1 mM	Compound 2 <sup>b</sup>	LTA <sub>4</sub> hydrolase % inhibition at 1 mM
	<b>1a</b>	NI	<b>2a</b>	NI
	<b>1b</b>	ND	<b>2b</b>	NI
	<b>1c</b>	NI	<b>2c</b>	NI
	<b>1d</b>	5	<b>2d</b>	18
	<b>1e</b> (captopril)	59 <sup>c</sup>	<b>2e</b>	58

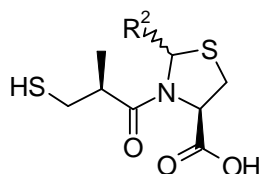
<sup>a</sup>参考文献 40, <sup>b</sup>参考文献 39, <sup>c</sup>IC<sub>50</sub>; 630 μM, NI = no inhibition, ND = no data

次にチアゾリジン 2 位の置換基 (R<sup>2</sup>) の効果の確認を行った結果を **Table 2** に示す。なお前述の検討結果 (**Table 1**) より、*N*-アシル置換基は阻害作用が認められた(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基に固定した。

下記の **Table 2** に示すように R<sup>2</sup> = 1-ナフチル基である化合物 **2g** において、R<sup>2</sup> が水素の化合物 **2e** と同程度の阻害作用を示すのみで、本置換基の変換では LTA<sub>4</sub>H 阻害作用の向上は認められなかった。また前項の結果よりピロリジンおよびチアゾリジンは互いに等価体であると考えられたので、本置換基の変換では阻害作用の向上が望まれないと判断し、L-プロリン誘導体での検討は行わなかった。



**Table 2.** (4*R*)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチル]プロピオニルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の R<sup>2</sup>置換基変換による LTA<sub>4</sub>H 阻害作用



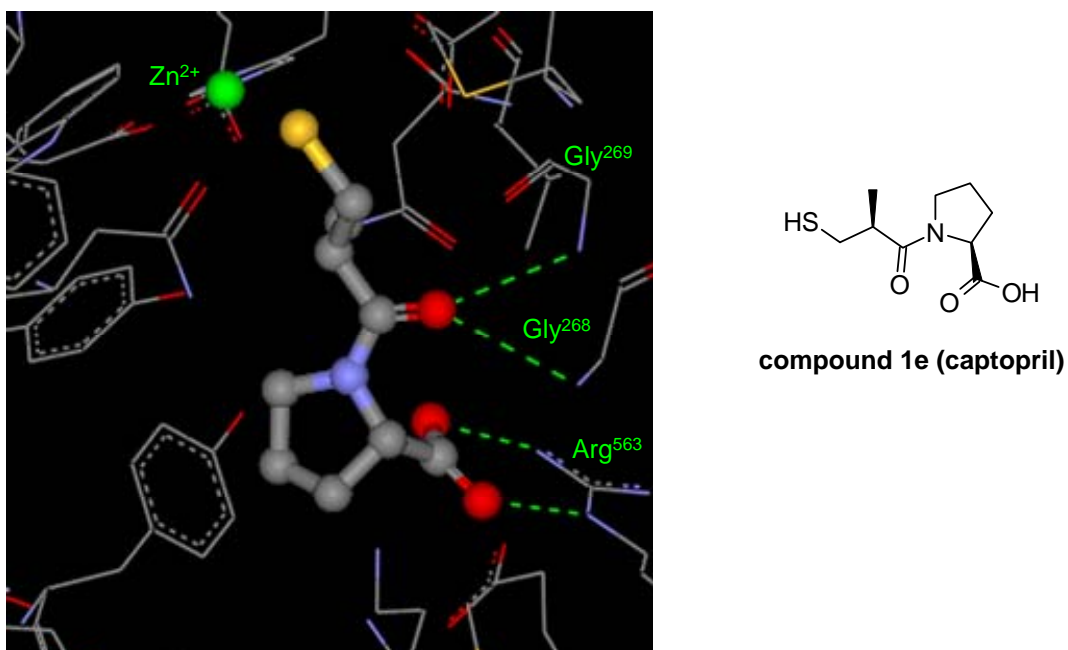
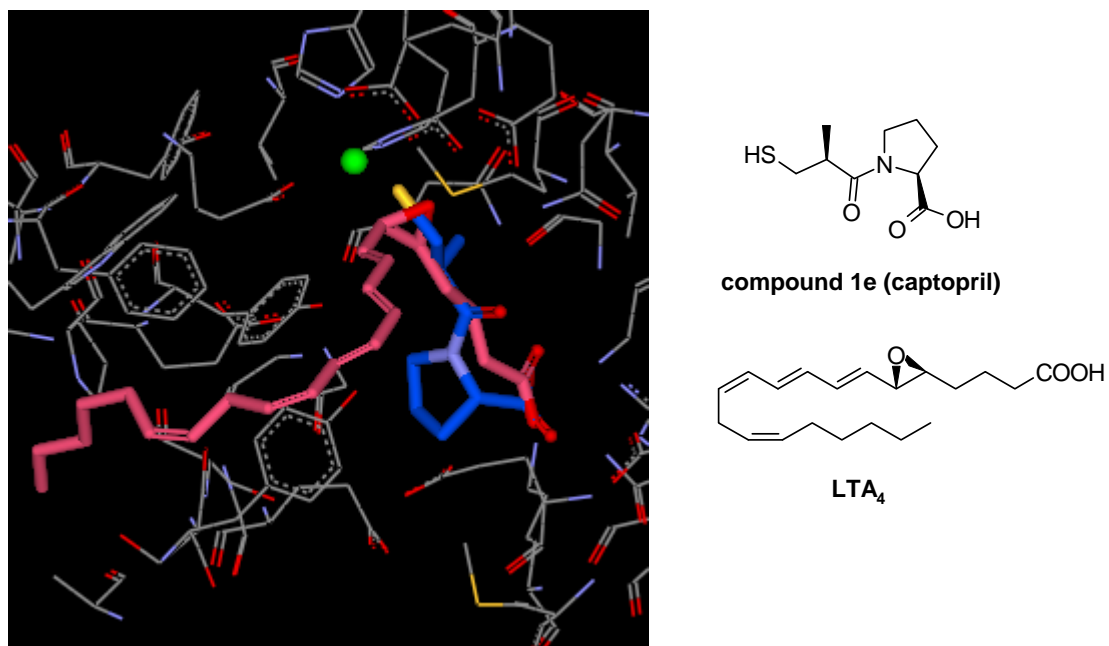
Compound <sup>a</sup>	R <sup>2</sup> -	LTA <sub>4</sub> hydrolase % inhibition at 1 mM
<b>2e</b>	H-	58
<b>2f</b>		NI
<b>2g</b>		58
<b>2h</b>		25
<b>2i</b>		36
<b>2j</b>		14

<sup>a</sup>参考文献 39, NI = no inhibition, Absolute configuration of R<sup>2</sup> is not determined.

### 第 3 項 阻害剤の推定結合様式に基づく考察

近年、ベスタチンと LTA<sub>4</sub>H の共結晶による X 線結晶構造解析の結果、ベスタチンの水酸基の酸素原子とアミドカルボニル基の酸素原子が触媒部位の亜鉛イオンと配位していることが報告された<sup>36)</sup>。またカプトプリル、チオアミン誘導体およびヒドロキサム酸誘導体についても酵素活性部位に対する結合様式が報告されている<sup>37)</sup>。これらの結果を参考にドッキングシミュレーション用ソフトウェア GOLD (Version 3.1)<sup>47)</sup>を使用し、プロリン誘導体およびチアゾリジン誘導体の結合様式の検討を行った。

LTA<sub>4</sub>H 活性部位付近でのカプトプリル (化合物 **1e**) および LTA<sub>4</sub> についてドッキングで得られた推定結合様式を **Figure 16** に示す。これらは報告されている結合様式と同様である。また **Figure 17** にはカプトプリル (化合物 **1e**) の LTA<sub>4</sub>H への結合様式を示す。カプトプリル (**1e**) のアミドカルボニル酸素と Gly<sup>268</sup>NH, Gly<sup>269</sup>NH 間に水素結合が形成されており、カルボキシル基は Arg<sup>563</sup> のグアニジド基とイオン結合している。



合成した *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体および (4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の *N*-アシル部分は、近接する複数のアミノ酸残基 (Tyr<sup>267</sup>, Gly<sup>269</sup>, His<sup>295</sup>, Glu<sup>296</sup>, Tyr<sup>383</sup>) に取り囲まれており、空間に制限がある (Figure 18. 取り囲まれた部分を壁で示している)。これは Table 1 の結果から推定した *N*-アシル基周辺の立体的許容

性の低さに対応していると考えられる。

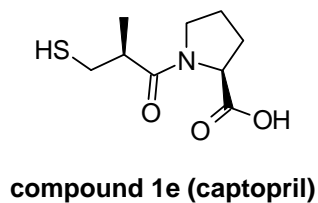
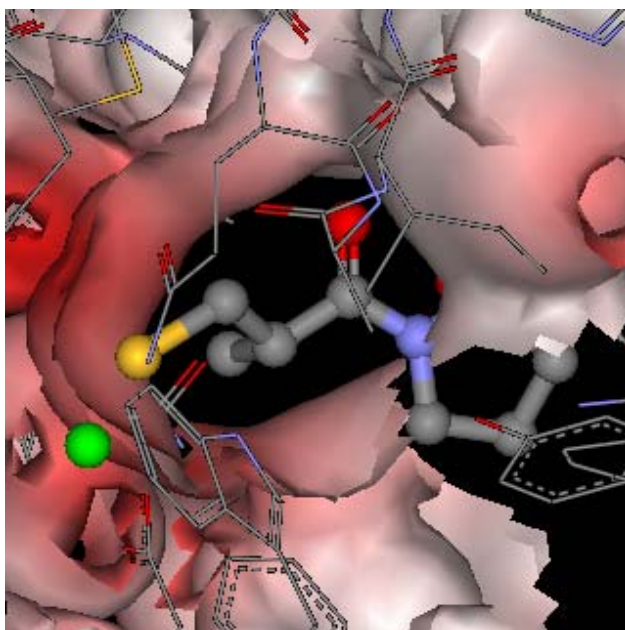


Figure 18. 化合物 1e (カプトプリル) の R<sup>1</sup>置換基周辺 (緑色は亜鉛原子)

化合物 **2f–2j** においては、チアゾリジン 2 位置換基 (R<sup>2</sup>) は、LTA<sub>4</sub>H の Tyr<sup>383</sup> 側鎖と近接すると推測され、特に R<sup>2</sup> が芳香環の場合にはチアゾリジンに対してねじれた配座となり、両者がぶつかり合うことが考えられ、**2f–2j** の低阻害作用の要因と考えられた (Figure 19)。

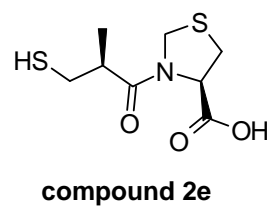
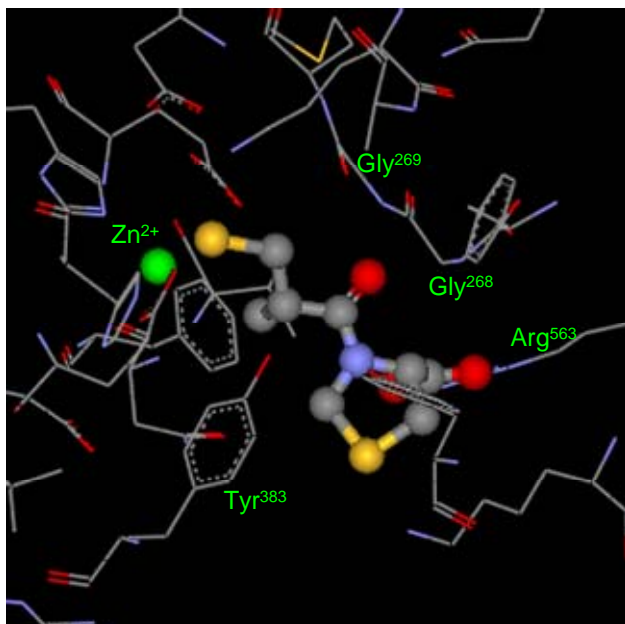
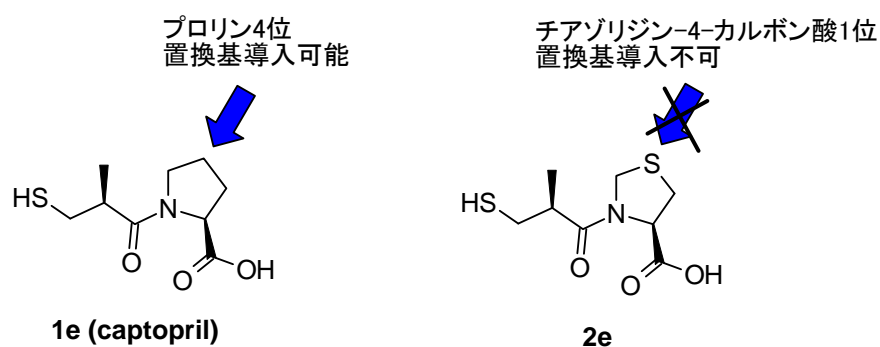


Figure 19. 化合物 2e の LTA<sub>4</sub>H 活性部位付近での推定結合様式

### 第3節 *N*-メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体の合成とロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用

#### 第1項 *N*-メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体の合成

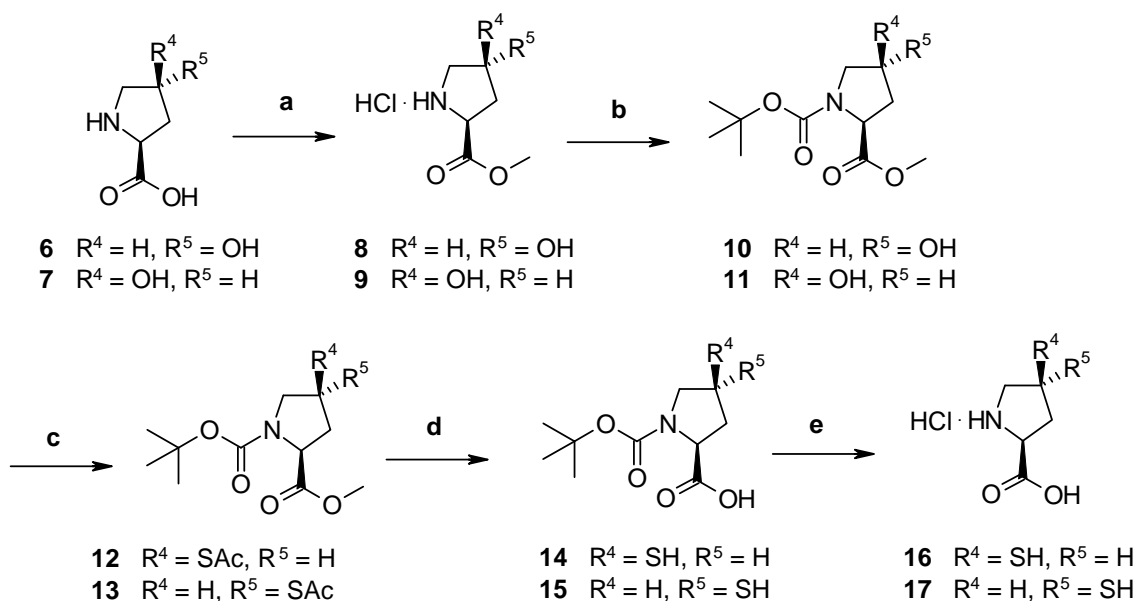
これまで述べてきたように、*N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体 **1** もしくは(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体 **2** の *N*-アシル置換基 (R<sup>1</sup>, **Table 1**) の変換およびチアゾリジン 2 位の置換基の変換 (R<sup>2</sup>, **Table 2**) では LTA<sub>4</sub>H 阻害作用の向上が認められなかった。一方、これまでに酵素としての類似性を有する ACE に対する阻害剤の構造展開の一つの例としてプロリン 4 位に置換基を導入した *N*-メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体が報告されている<sup>48)</sup>。そこでこの知見を参考に、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用に対する化合物の構造展開を検討することとした。この場合プロリンと等価体と考えられるチアゾリジン-4-カルボン酸では、プロリン 4 位に相当する位置 (1 位) はイオウ原子であるために置換基を導入することができない。そこでプロリン誘導体に着目し、その 4 位に置換基を導入することを検討した (**Figure 20**)。



**Figure 20.** プロリン 4 位とチアゾリジン-4-カルボン酸 1 位について

新規 *N*-メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体 (**3a–3m**, **4** および **5**, **Table 3**) は以下に示す合成法に従って行った。

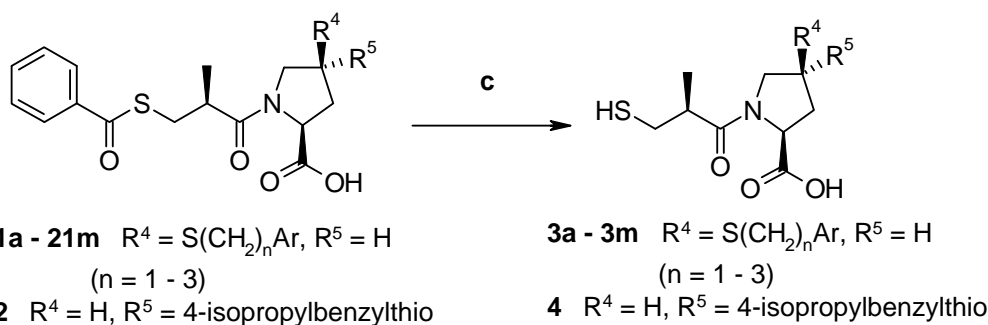
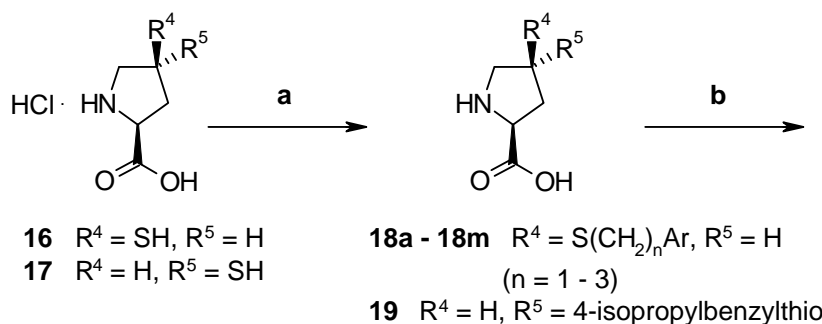
出発原料の *trans*-ヒドロキシ-L-プロリン (**6**) 又は *cis*-ヒドロキシ-L-プロリン (**7**) を塩化チオニルおよびメタノールを用いメチルエステル化を行い化合物 **8** および **9** とした後、二炭酸ジ-*t*-ブチルと反応させ *N*-Boc 体 **10** および **11** とした。次いでチオ酢酸を用いた光延反応によりプロリン 4 位にアセチルチオ基を導入した化合物 **12** および **13** とした。アルカリ条件化、加水分解を行い化合物 **14** および **15** とした後、酸条件で脱 Boc を行い、鍵中間体の 4-メルカプト-L-プロリン塩酸塩 (**16**, **17**) とした (**Scheme 1**)<sup>49,50)</sup>。



Reagents and conditions: (a) thionyl chloride, methanol, -5 °C - rt, overnight; (b) di-*t*butyl dicarbonate, triethylamine, dichloromethane; (c) thioacetic acid, triphenylphosphine, diethyazodicarboxylate, THF, 0 °C - rt, 1h; (d) 1 M NaOH aq., MeOH, rt, overnight; (e) 4 M HCl in ethyl acetate, rt, 2h.

**Scheme 1.** 鍵中間体 4-メルカプト-L-プロリン塩酸塩 (16, 17) の合成

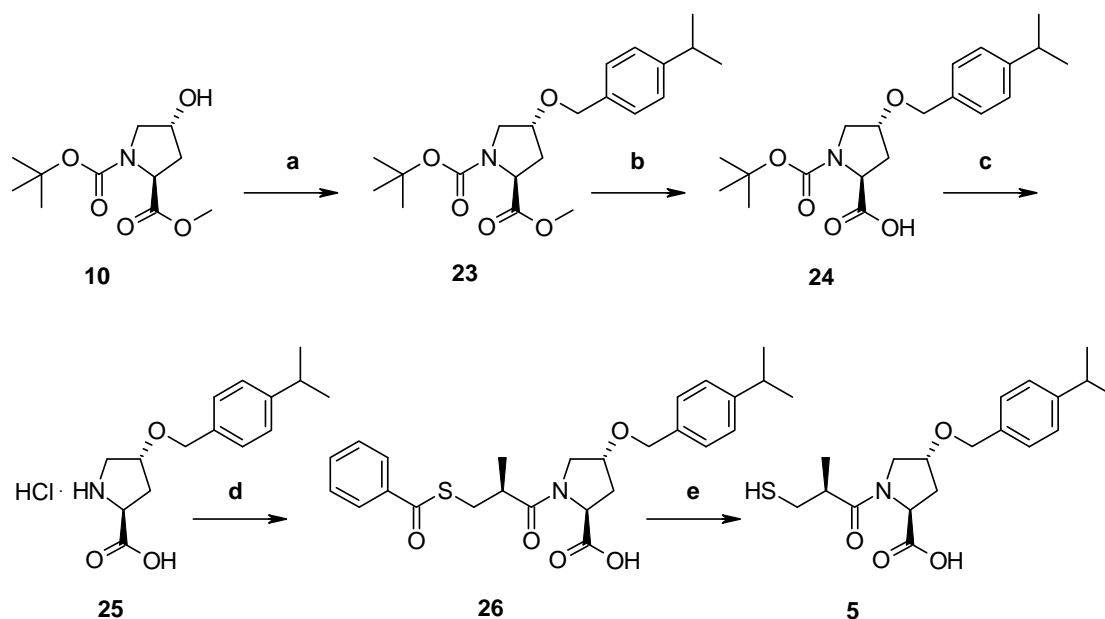
鍵中間体の 4-メルカプト-L-プロリン塩酸塩 (16, 17) は対応するアリーールアルキルハライドと反応させ、4-アリーールアルキルチオ-L-プロリン誘導体 18a–18m および 19 とした。次いで(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸<sup>39)</sup>と *p*-ニトロフェノールの脱水縮合反応より別途合成した(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) と縮合反応を行い、4-アリーールアルキルチオ-*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチル]プロピオニル-L-プロリン誘導体 21a–21m および 22 とした。最後に濃アンモニア水溶液で処理することにより、目的化合物の 4-アリーールアルキルチオ-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチル]プロピオニル-L-プロリン誘導体 3a–3m および 4 とした (Scheme 2)。



Reagents and conditions: (a) corresponding arylalkyl chlorides or corresponding arylalkyl bromides, 2 M NaOH aq., EtOH, rt, overnight; (b) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate (**20**), triethylamine, DMF, rt, overnight; (c) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 1h.

## Scheme 2. 新規 4-アリーールアルキルチオ-*N*-メルカプトアシル-*L*-プロリン誘導体の合成

一方、4-アリーールアルキルオキシ-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチル]プロピオニル-*L*-プロリン誘導体 **5** の合成は Scheme 3<sup>5)</sup> に示すルートに従って行った。化合物 **10** を出発原料として水素化ナトリウム存在下、塩化 *p*-イソプロピルベンジルと反応させることにより *trans*-4-(*p*-イソプロピルベンジル)オキシ-*L*-プロリン誘導体 **23** とし、加水分解および脱 Boc 化を行い化合物 **25** とした。次いで(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (**20**) と縮合反応を行い、*trans*-4-(*p*-イソプロピルベンジル)オキシ-*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチル]プロピオニル-*L*-プロリン (**26**) とした。最後に濃アンモニア水溶液で処理することにより、目的化合物の *trans*-4-(*p*-イソプロピルベンジル)オキシ-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチル]プロピオニル-*L*-プロリン (**5**) とした。



Reagents and conditions: (a) sodium hydride (60 % oil suspension), *p*-isopropylbenzyl chloride, DMF, 0 °C - rt, 2.5 h, 41 %; (b) 2M LiOH aq., MeOH, THF, rt, 45 min, 66 %; (c) 4 M HCl in ethyl acetate, rt, 1h, 94 %; (d) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate (**20**), triethylamine, DMF, rt, overnight, 60 %; (e) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 2h, 77 %.

**Scheme 3.** 新規 4-ベンジルオキシ-*N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体の合成

第 2 項 プロリン 4 位の置換基変換によるロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用

新規に合成した誘導体の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は、第 2 節第 1 項に記載した方法により測定を行った。アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害作用はウサギ肺より調製した粗酵素に阻害剤および合成基質である Hip-His-Leu を加え一定時間インキュベーションした後、生成した馬尿酸 (Hip) を高速液体クロマトグラフィーにて定量することにより測定した<sup>52)</sup>。

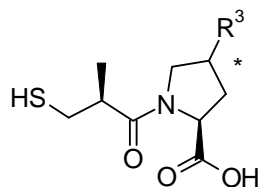
新規に合成した *N*-メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を **Table 3** に示す。なお前節の結果より、*N*-アシル置換基は(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基に固定した。

プロリン 4 位の置換基として R<sup>3</sup>に *S* 配置のベンジルチオ基を導入した化合物 **3a** は R<sup>3</sup> が水素のカプトプリル(化合物 **1e**)と比較して約 175 倍 LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が向上したが ACE に対する阻害作用も約 10 倍高くなった。このベンジルチオ基をフェニルエチルチオ基 (化合物 **3b**)、フェニルプロピルチオ基 (化合物 **3c**) に変換すると炭素鎖が増加すると共に ACE に対する阻害作用も著しく向上した。しかしながら LTA<sub>4</sub>H 阻害作用に対しては、大きな変化は見られなかった。R<sup>3</sup>が 1-ナフチルメチルチオ基である化合物 **3d** は化合物 **3a** より約 3 倍 LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が低く、2-ナフチルメチルチオ基である化合物 **3e** は化合物 **3a** より約 3 倍その阻害作用が強かった。これらの化合物の ACE に対する阻害作用には差が認められなかった。化合物 **3a** のベンジルチオ基の 4 位にイソプロピル基を導入した化合物 **3f** は LTA<sub>4</sub>H

阻害作用が著しく向上し、カプトプリル(化合物 **1e**)と比較して約 12000 倍その阻害作用が向上した。化合物 **3f** の 4-イソプロピルベンジルチオ基のメチレン部分をエチレン (化合物 **3g**) もしくはトリメチレン (化合物 **3h**) に変換すると LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は減弱したが、ACE 阻害作用に対してはあまり影響がなかった。3-メチルベンジルチオ基 (化合物 **3i**) では LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が認められず (IC<sub>50</sub> > 10000 nM)、2-メチルベンジルチオ基 (化合物 **3j**) や 4-メチルチオベンジルチオ基 (化合物 **3k**) では中程度の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用であった。化合物 **3f** の 4-イソプロピル基を *tert*-ブチル基 (化合物 **3l**) およびシクロヘキシル基 (化合物 **3m**) に変換するとさらに強い LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示し、カプトプリル(化合物 **1e**)と比較して約 20000 倍向上した。またこれらの置換基への変換により、ACE に対する阻害作用が減弱した。化合物 **3f** のエピマーである化合物 **4** は LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が約 6 倍程度減弱した。また化合物 **4** と同じ立体配置の 4-イソプロピルベンジルオキシ基を導入した化合物 **5** はさらに LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が減弱し、ACE 阻害作用が著しく向上した。

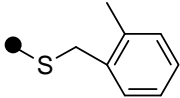
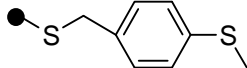
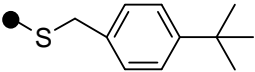
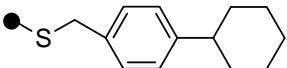
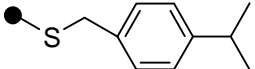
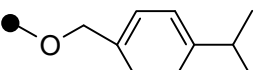


Table 3. *N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチル]プロピオニル-4-置換-L-プロリン誘導体の LTA<sub>4</sub>H および ACE に対する阻害作用



Compound	-R <sup>3</sup>	Configuration <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (nM)	
			LTA <sub>4</sub> hydrolase	ACE
<b>1e</b> (captopril)	-H	—	630000	23 <sup>b</sup>
<b>3a</b>		<i>S</i>	3600	2.4
<b>3b</b>		<i>S</i>	5100	0.18
<b>3c</b>		<i>S</i>	1100	0.029
<b>3d</b>		<i>S</i>	9200	3.2
<b>3e</b>		<i>S</i>	1100	4.2
<b>3f</b>		<i>S</i>	52	8.4
<b>3g</b>		<i>S</i>	790	19
<b>3h</b>		<i>S</i>	2700	15
<b>3i</b>		<i>S</i>	>10000	0.9

Table 3. 続き

Compound	-R <sup>3</sup>	Configuration <sup>a</sup>	IC <sub>50</sub> (nM)	
			LTA <sub>4</sub> hydrolase	ACE
3j		<i>S</i>	840	2.3
3k		<i>S</i>	120	4.1
3l		<i>S</i>	31	410
3m		<i>S</i>	34	280
4		<i>R</i>	290	3.3
5		<i>R</i>	800	0.033

<sup>a</sup>Configuration of the C<sub>4</sub> position (\*), <sup>b</sup>参考文献 40.

### 第3項 阻害剤の推定結合様式に基づく考察

化合物 **3f**, **3l**, **3m**, および **4** (Table 3) について LTA<sub>4</sub>H に対する結合様式をドッキングシミュレーションにより推定した。これら 4 化合物のピロリジン部分および *N*-アシル部分の (2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基はカプトプリル (第1章第2節第3項) の構造とよく重なっていた。一方、4位の置換基である置換ベンジルチオ基は酵素の Phe<sup>340</sup> に繋がる幅の広い溝に位置していた (ポーズ **a**)。また化合物 **3f**, **3l** および **4** の 3 化合物については、置換ベンジルチオ基が Arg<sup>568</sup> の方向に向かって伸びるポーズも得られた (ポーズ **b**)。ポーズ **a** およびポーズ **b** の違いであるねじれ角 (C3-C4-S-C) は、化合物 **3l** の場合、それぞれ 161° と 108° であった。一般に結合様式の優先順位付けに使用されるドッキングスコアは、これら 2 つのポーズに対して大きな相違はなく、いずれの配座で結合しているか判定することはできなかった (Figure 21)。両ポーズにおける置換ベンジルチオ基は酵素の溝の内側深くに位置しており、これまで報告されている LTA<sub>4</sub> の酵素結合部位とは異なる部位を占有していた (Figure 22)。またこの溝は幅が広く、*tert*-ブチルベンジルチオ基よりも大きい R<sup>3</sup> 置換基でも収容が可能であり、エピマーの化合物 **4** も許容できることが推定された。

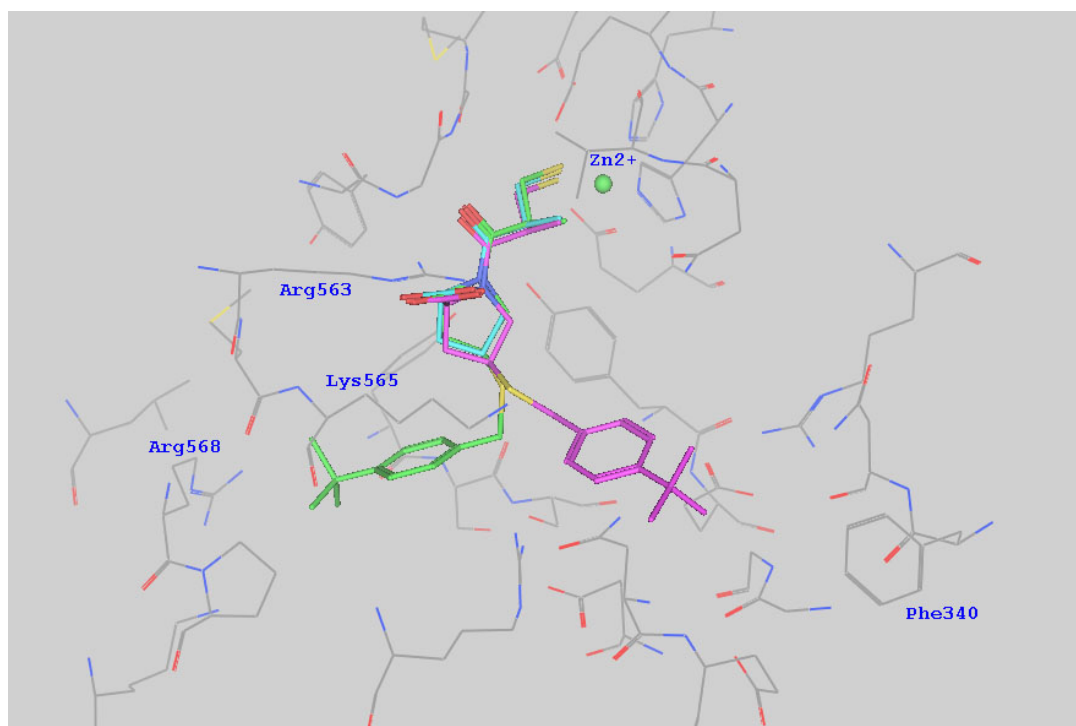
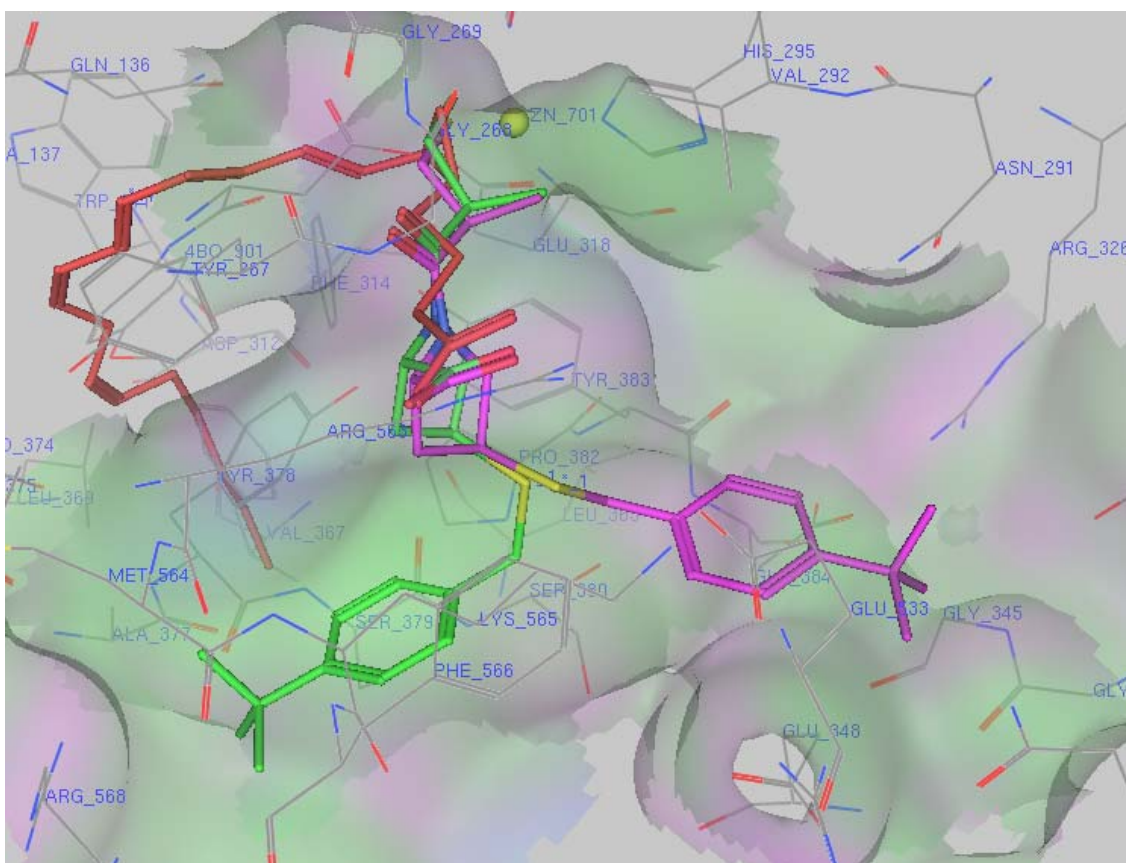


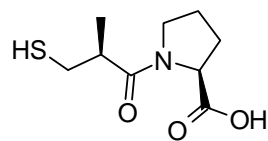
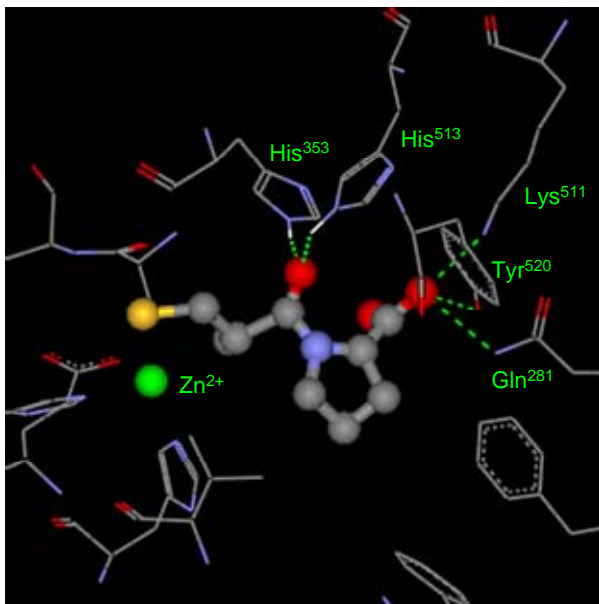
Figure 21. 化合物 **3l** の LTA<sub>4</sub>H に対する結合様式 (ポーズ **a**; 紫色, ポーズ **b**; 緑色) 青色はカプトプリル



**Figure 22.** 化合物 **3l** のベンジルチオ基が結合する部位 (ポーズ **a** ; 紫色, ポーズ **b** ; 緑色) を構成する酵素側アミノ酸残基 赤色は **LTA<sub>4</sub>**

カプトプリル (**1e**) の ACE との共結晶による構造解析では、カプトプリルのアミドカルボニル基は His<sup>353</sup> および His<sup>513</sup> の 2 つの側鎖イミダゾール N<sup>ε</sup>2H と水素結合している (**Figure 23**)<sup>53</sup> ) のに対し、**LTA<sub>4</sub>H** に対してカプトプリルのアミドカルボニル基は、主鎖 (Gly<sup>268</sup> および Gly<sup>269</sup>) の 2 つの NH 基と水素結合している (**Figure 17**, 第 2 節)。これらの配位子の違いに基づく柔軟性や水素結合能の違いが、**LTA<sub>4</sub>H** よりも ACE に対してカプトプリル (**1e**) がより強い阻害作用を示す一つの理由であると考えられる。

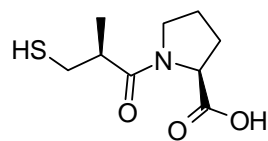
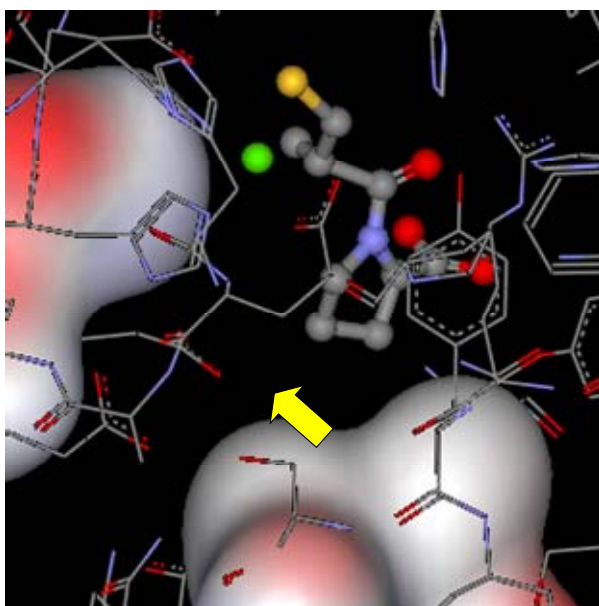
化合物 **3a**, **3b** および **3c** (**Table 3**) の ACE における結合様式推定では、これらのフェニルアルキルチオ基は、**LTA<sub>4</sub>H** には存在しない狭い疎水性領域 (Val<sup>379</sup>, Val<sup>380</sup>, Phe<sup>457</sup> および Phe<sup>527</sup>) に位置し (**Figure 24**)、ACE 阻害作用に対しては R<sup>3</sup> 置換基の疎水性が適していることを示しており、また ACE と **LTA<sub>4</sub>H** の 2 つの酵素の違いを表している。これら疎水性残基の代わりに **LTA<sub>4</sub>H** では Lys<sup>565</sup> の側鎖アミノブチルがフェニルアルキルチオ基の近傍に存在しており、**LTA<sub>4</sub>H** 阻害作用の向上に寄与している可能性が考えられた (**Figure 21**)。



**compound 1e (captopril)**

カプトプリルのアミドカルボニル基は His<sup>353</sup> および His<sup>513</sup> の 2 つの側鎖イミダゾール N<sup>62</sup>H と水素結合している。カルボキシル基のカルボニルは Gln<sup>281</sup>, Lys<sup>511</sup> および Tyr<sup>520</sup> と相互作用しており、もうひとつの酸素原子は周辺の水と相互作用している。

**Figure 23.** カプトプリル (化合物 1e) の ACE 活性部位付近での相互作用-1



**compound 1e (captopril)**

Val<sup>379</sup>, Val<sup>380</sup>, Phe<sup>457</sup> および Phe<sup>527</sup> からなる疎水性領域を黄色矢印で示す。化合物 **3a**, **3b** および **3c** のフェニルアルキルチオ基はこの部分と相互作用することが推測される。

**Figure 24.** カプトプリル (化合物 1e) の ACE 活性部位付近での相互作用-2 (緑色は亜鉛原子を表す)

#### 第 4 節 結果と考察

以上の検討の結果から、次のような知見が得られた。

1. 分子内にチオール基を有する SA446、チオプロニンおよびブシラミンについて LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を確認したところ、いずれの化合物も LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示さなか

った。本結果より LTA<sub>4</sub>H のチオール含有阻害剤に対する特異性は比較的高いものと推定した。

2. *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体および(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の *N*-アシル基の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用に対する効果について検討を行った結果、両誘導体とも(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基を持つ化合物 (**1e** [カプトプリル] および **2e**) にのみ同程度の阻害作用を示した。この結果より、阻害剤の *N*-アシル基部分が相互作用する酵素の周辺は厳密な立体構造を必要とし、許容性が低いことを示唆していた。またこのことは阻害剤と酵素のドッキングスタディーにおいても裏付けられた。一方、両誘導体間で比較的試験結果の傾向が似ていたことから、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用に対してはピロリジンおよびチアゾリジンは互いに等価体であることを示唆した。
3. (4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体のチアゾリジン 2 位の置換基の検討を行った結果、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用の向上は認められなかった。ドッキングスタディーにおける検討から、チアゾリジン 2 位の置換基は LTA<sub>4</sub>H の Tyr<sup>383</sup> のアミノ酸側鎖置換基と非常に接近した状態となることが推測された。特にチアゾリジン環に対して置換基がねじれた状態の芳香環では、酵素の活性部位への相互作用は妥当ではないことが推測された。
4. 新規 *N*-メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体を合成し、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を検討した結果、L-プロリン 4 位に *S* 配置ベンジルチオ基を導入した化合物 **3a** はカプトプリルと比較して約 175 倍 LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が向上した。化合物 **3a** のベンジルチオ基を 4-イソプロピルベンジルチオ基に変換した化合物 **3f** は LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が顕著に向上し、カプトプリルと比較して約 12000 倍その阻害作用が向上した。さらに 4-*tert*-ブチルベンジルチオ基 (化合物 **3l**) および 4-シクロヘキシルベンジルチオ基 (化合物 **3m**) に変換するとその阻害作用はカプトプリルと比較して約 20000 倍向上した。またこれらの置換基への変換により、ACE に対する阻害作用が減弱した。ドッキングスタディーにおける検討から、L-プロリン 4 位の置換基である置換ベンジルチオ基は酵素の Phe<sup>340</sup> の方向に向かって幅の広い溝に位置するポーズ **a** および、置換ベンジルチオ基が Arg<sup>568</sup> の方向に向かって広がっているポーズ **b** の 2 つの可能性が考えられた。両ポーズにおける置換ベンジルチオ基はともに酵素の溝の内側深くに位置しており、これまで報告されている LTA<sub>4</sub> の酵素結合部位とは異なる部位を占有していた。この幅広い溝は *tert*-ブチルベンジルチオ基よりも大きい置換基でも対応できるようであり、許容性の大きいものであることが推測された。

## 第 5 節 結論

シード化合物であるカプトプリルに対し種々化学構造変換を行うことにより、強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害し、血圧下降作用に繋がる可能性のある ACE 阻害作用が減弱した酵素選択

性の高い新規化合物の創出を目指した。特に *N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体に着目し、その誘導体の LTA<sub>4</sub>H に対する阻害作用を研究した。その結果以下の結論を見出した。

1. 両誘導体ともに *N*-アシル部分は、(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基が LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を発現するために必要であることを見出した。
2. プロリン骨格の 4 位に *S*配置のベンジルチオ基を導入することにより、カプトプリルより強力な LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示すことを見出した。
3. 4-*tert*-ブチルベンジルチオ基(3*l*)もしくは 4-シクロヘキシルベンジルチオ基(3*m*)のようなより大きな置換基を導入した化合物は、さらに強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害した。特に化合物 3*l* および 3*m* はカプトプリルよりも ACE に対する阻害作用が低下し、LTA<sub>4</sub>H に対する選択性が向上することを見出した (Figure 25)。

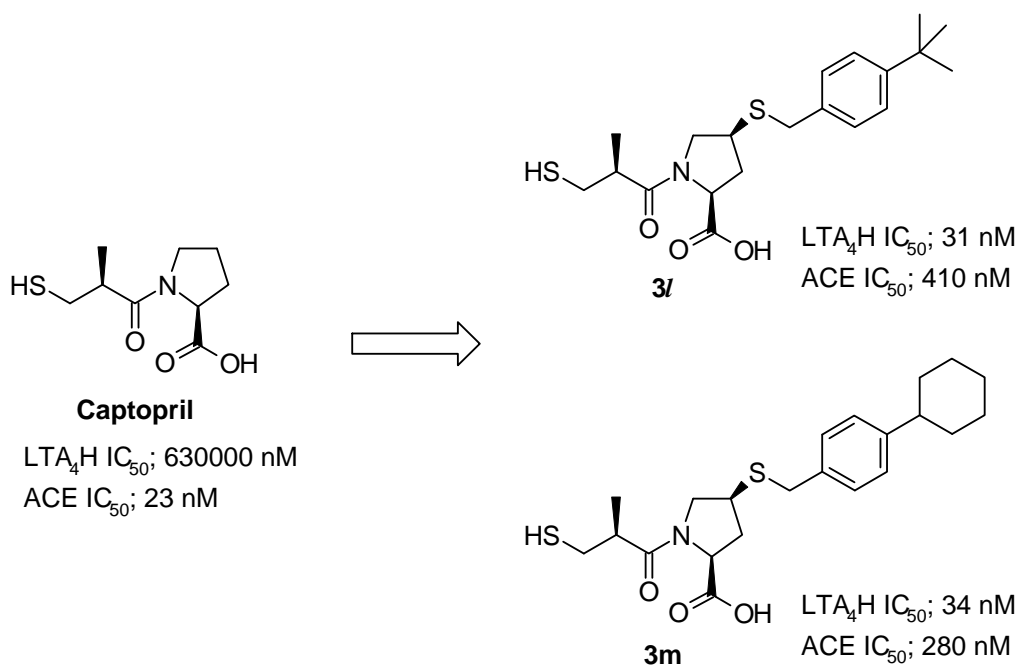


Figure 25. 強力な LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を有する化合物 3*l* および 3*m* の構造式

## 第1章 実験の部

### 合成実験

#### 使用機器

$^1\text{H}$ 核磁気共鳴スペクトル ( $^1\text{H}$  NMR) は日本電子社 (JEOL) のJNM-GSX400 (400 MHz) 又はJNM-ECP500 (500 MHz) によりテトラメチルシランを内部標準として測定した。赤外吸収スペクトル (IR) はパーキンエルマー社 (PERKIN ELMER) のSpectrum One 1600 Series FTIRにより臭化カリウム錠剤法又は液膜法により測定した。比旋光度はジャスコ社 (JASCO) のDIP-1000 デジタルポーラリメーター (Digital Polarimeter) により20 °Cで測定した。測定結果は $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  (g / 100 ml濃度, 溶媒)で表記している。融点はビュッヒ社 (Büchi) のBüchi 535で測定した。質量分析はアジレントテクノロジーズ社 (Agilent Technologies) のHP1100 series LC/MS systemによりエレクトロスプレーイオン化法 (ESI, ポジティブモードおよびネガティブモード) にて測定した。元素分析は京都大学有機微量元素分析総合研究施設に依頼した。

#### 使用試薬および溶媒

実験に使用した試薬および溶媒は特に記載のない限り、市販の試薬および溶媒を使用した。

#### *trans*-4-ヒドロキシ-L-プロリンメチルエステル塩酸塩 (8)

外温-15 °Cに冷却下、メタノール (70 ml) に塩化チオニル (14 ml, 0.19 mol) を10分間かけて滴下して加えた。15分後、*trans*-4-ヒドロキシ-L-プロリン (6) (7.0 g, 53 mmol) を加え、室温に戻し一晩攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、析出した固体をジエチルエーテルで洗浄することにより標記化合物を無色固体として得た (9.6 g, 収率 99%)。

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  2.06-2.13 (m, 1H), 2.18-2.23 (m, 1H), 3.08 (d,  $J$  = 11.7 Hz, 1H), 3.35 (dd,  $J$  = 12.2, 4.4 Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 4.41-4.50 (m, 2H), 5.60 (s, 1H), 9.85 (br s, 2H); IR (KBr) 3330, 2959, 2704, 1743, 1594, 1077, 1049, 1028  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 169.0-171.0 °C (dec.);  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -27.5 ° ( $c$  = 1.0, DMSO)。

*cis*-4-ヒドロキシ-L-プロリン (7) を出発原料として用い、同様の合成法により化合物 9 を得た。

#### *cis*-4-ヒドロキシ-L-プロリンメチルエステル塩酸塩 (9)

無色固体、収率 95%;  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  2.13-2.16 (m, 1H), 2.28-2.35 (m, 1H), 3.14-3.13 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.36-4.37 (m, 1H), 4.46-4.50 (m, 1H), 5.45 (s, 1H), 9.05 (br s, 1H), 10.55 (br s, 1H); IR (KBr) 3387, 2981, 1730, 1586, 1384, 1096, 1064, 1030  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 92.0-103.0 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -10.3 ° ( $c$  = 1.0, MeOH)。

#### *trans*-*N*-tertブトキシカルボニル-4-ヒドロキシ-L-プロリンメチルエステル (10)



*trans*-4-ヒドロキシ-L-プロリンメチルエステル塩酸塩 (8) (5.0 g, 28 mmol) の塩化メチレン (30 ml) 溶液にトリエチルアミン (5.8 ml, 41 mmol) および二炭酸ジ-*tert*-ブチル (6.0 g, 28 mmol) の塩化メチレン (25 ml) 溶液を氷冷下加えた。室温で 5 時間攪拌した後、減圧下濃縮し、残留物に水、酢酸エチルを加え分配した。有機層を 5%クエン酸水溶液、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下溶媒を留去することにより標記化合物を無色油状物として得た (6.1 g, 収率 89%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.41, 1.46 (s, 9H), 2.05-2.28 (m, 2H), 3.47-3.66 (m, 2H), 3.73, 3.74 (s, 3H), 4.38-4.50(m, 2H); IR (KBr) 3435, 1751, 1676, 1413, 1367, 1204, 1159, 1128  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-76.1^\circ$  ( $c = 0.96$ , MeOH).

*cis*-4-ヒドロキシ-L-プロリンメチルエステル塩酸塩 (9) を用い、同様の合成法により以下の化合物を得た。

***cis*-*N*-*tert*ブトキシカルボニル-4-ヒドロキシ-L-プロリンメチルエステル (11)**

無色固体、定量的;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.43, 1.47 (s, 9H), 2.04-2.11 (m, 1H), 2.31-2.35 (m, 1H), 3.19-3.21, 3.43-3.45, 3.54-3.72 (m, 3H), 3.78, 3.79 (s, 3H), 4.28-4.39 (m, 2H); IR (KBr) 3465, 2985, 1729, 1680, 1425, 1263, 1123, 1089  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 81.1-82.2  $^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-64.6^\circ$  ( $c = 0.49$ , MeOH).

***cis*-4-アセチルチオ-*N*-*tert*ブトキシカルボニル-L-プロリンメチルエステル (12)**

*trans*-*N*-*tert*ブトキシカルボニル-4-ヒドロキシ-L-プロリンメチルエステル (10) (2.3 g, 8.2 mmol) およびトリフェニルホスフィン (4.3 g, 16 mmol) のテトラヒドロフラン (20 ml) 溶液に氷冷下アゾジカルボン酸ジエチル (40%トルエン溶液) (3.8 ml, 8.4 mmol) を加え、5 分後にチオ酢酸 (1.1 ml, 16 mmol) を加えた。氷冷下 1 時間および室温で 1 時間攪拌した後、反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えた。酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサソール/酢酸エチル=4/1) にて精製することにより標記化合物を淡黄色油状物として得た (0.65 g, 収率 26%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.41, 1.46 (s, 9H), 1.96 (td,  $J = 13.7, 6.7$  Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.66-2.78 (m, 1H), 3.29-3.37 (m, 1H), 3.74-3.75 (m, 3H), 3.91-4.02 (m, 2H), 4.29, 4.37 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H); IR (KBr) 2978, 1752, 1699, 1396, 1366, 1158  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-52.2^\circ$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

*cis*-*N*-*tert*ブトキシカルボニル-4-ヒドロキシ-L-プロリンメチルエステル (11) を用い、同様の合成法により化合物 13 を得た。

***trans*-4-アセチルチオ-*N*-*tert*ブトキシカルボニル-L-プロリンメチルエステル (13)**

淡黄色油状物、収率 46%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.41, 1.46 (s, 9H), 2.21-2.29 (m, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.36-2.42 (m, 1H), 3.32-3.34, 3.41-3.45 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.94 (dd,  $J = 11.2, 6.8$  Hz, 1H), 4.03 (dd,  $J = 13.2, 6.4$  Hz, 1H), 4.29-4.40 (m, 1H); IR (KBr) 2976, 1751, 1702, 1395, 1205, 1157, 1124  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -30.7^\circ$  ( $c = 0.15$ , MeOH).

#### *cis-N-tert*ブトキシカルボニル-4-メルカプト-L-プロリン (14)

*cis*-4-アセチルチオ-*N-tert*ブトキシカルボニル-L-プロリンメチルエステル (12) (92 mg, 0.30 mmol) のメタノール (3.0 ml) およびテトラヒドロフラン (3 ml) 混合溶液に 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 (1 ml) を加え、室温で一晩攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、残留物に水および酢酸エチルを加え分配した。水層を氷冷下 2 M 塩酸にて酸性とした後、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去することにより標記化合物を無色固体として得た (59 mg, 収率 79%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.43, 1.49 (s, 9H), 1.80 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 1.95-2.05, 2.21-2.32 (m, 1H), 2.64-2.81 (m, 1H), 3.22-3.37 (m, 2H), 3.90-4.00 (m, 1H), 4.24-4.30, 4.36-4.39 (m, 1H); IR (KBr) 2982, 1747, 1651, 1428, 1370, 1158  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 121.7-124.6  $^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -47.4^\circ$  ( $c = 0.52$ , MeOH).

*trans*-4-アセチルチオ-*N-tert*ブトキシカルボニル-L-プロリンメチルエステル (13) を用い、同様の合成法により化合物 15 を得た。

#### *trans-N-tert*ブトキシカルボニル-4-メルカプト-L-プロリン (15)

淡黄色油状物、収率 79%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.43, 1.49 (s, 9H), 1.70 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 2.04-2.07, 2.18-2.30, 2.38-2.50, 2.65-2.75 (m, 2H), 3.22-3.26, 3.28-3.36 (m, 1H), 3.43-3.57 (m, 1H), 3.77-3.82, 3.92-3.98 (m, 1H), 4.35-4.43, 4.45-4.50 (m, 1H); IR (KBr) 2978, 2556, 1696, 1478, 1417, 1368, 1160  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -55.9^\circ$  ( $c = 0.27$ , MeOH).

#### *cis*-4-メルカプト-L-プロリン塩酸塩 (16)

*cis-N-tert*ブトキシカルボニル-4-メルカプト-L-プロリン (14) (58 mg, 0.23 mmol) に 4 M 塩化水素酢酸エチル溶液 (2 ml) を加え、室温で 1.5 時間攪拌した。反応液にジエチルエーテルを加え、析出した固体を濾別し減圧下乾燥することにより標記化合物を無色固体として得た (23 mg, 収率 54%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  1.95 (dt,  $J = 13.8, 8.8$  Hz, 1H), 2.71 (ddd,  $J = 13.8, 7.2, 6.0$  Hz, 1H), 3.07 (dd,  $J = 11.0, 7.2$  Hz, 1H), 3.37-3.62 (m, 2H), 4.33 (t,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 9.08 (br s, 1H), 10.36 (br s, 1H), 14.00 (br s, 1H); IR (KBr) 2957, 1718, 1582, 1415, 1341, 1232, 1167  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 153.8-163.3  $^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -25.9^\circ$  ( $c = 0.50$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 148  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 146  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

*trans*-*N*-*tert*-ブトキシカルボニル-4-メルカプト-L-プロリン (15) を用い、同様の合成法により化合物 17 を得た。

**trans-4-メルカプト-L-プロリン塩酸塩 (17)**

粗精製油状物、定量的;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  2.17-2.25 (m, 1H), 2.45-2.55 (m, 1H), 3.02-3.10 (m, 1H), 3.50-3.57 (m, 1H), 3.60-3.67 (m, 1H), 4.46-4.52 (m, 1H), 8.99 (br s, 1H), 10.48 (br s, 1H).

**(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20)**

(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸<sup>39)</sup> (15 g, 67 mmol) および 4-ニトロフェノール (10 g, 74 mmol) の塩化メチレン (100 ml) 溶液に *N,N'*-ジシクロヘキシルカルボジイミド (15 g, 74 mmol) を氷冷下加えた。反応液を室温で 4 時間攪拌した後、不溶物を濾去した。濾液を減圧下濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/1) にて精製を行い、標記化合物を淡黄色固体として得た (20 g, 収率 87%)

$^1\text{H NMR}$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.49 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.08-3.17 (m, 1H), 3.42 (ddd,  $J = 18.3, 13.7, 7.6$  Hz, 2H), 7.30 (dd,  $J = 7.1, 2.2$  Hz, 2H), 7.48 (td,  $J = 7.4, 1.4$  Hz, 2H), 7.61 (tt,  $J = 7.4, 1.4$  Hz, 1H), 7.98 (dt,  $J = 7.4, 1.4$  Hz, 2H), 8.27 (dd,  $J = 7.1, 2.2$  Hz, 2H); IR (KBr) 3079, 2988, 1759, 1660, 1592, 1521, 1351, 1323, 1204 cm<sup>-1</sup>;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -101.2^\circ$  ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 42.0-44.0 °C; MS (ESI, Pos.) 346 [M+H]<sup>+</sup>.

**(4*S*)-4-(4-*tert*-ブチルベンジルチオ)-L-プロリン (18l)**

*cis*-4-メルカプト-L-プロリン (16) (0.30 g, 1.6 mmol) の 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 (1.6 ml, 3.2 mmol) 溶液に(4-*tert*-ブチル)ベンジルブロミド (0.36 g, 1.6 mmol) のエタノール (3 ml) 溶液を氷冷下加えた。反応液を室温で一晩攪拌した。析出している固体を濾別し、水、エタノール、ジエチルエーテルで順次洗浄後、減圧下乾燥することにより標記化合物を無色固体として得た (0.35 g, 収率 72%)。

$^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$  + DCl, 400MHz)  $\delta$  1.27 (s, 9H), 1.99-2.08 (m, 1H), 2.65-2.77 (m, 1H), 3.21-3.30 (m, 1H), 3.54-3.62 (m, 2H), 3.84 (s, 2H), 4.45 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.29 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.38 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (KBr) 3249, 2958, 1616, 1367, 1287, 1229 cm<sup>-1</sup>;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -30.0^\circ$  ( $c = 0.30$ , MeOH); mp 224.0-225.6 °C (dec.); MS (ESI, Pos.) 294 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 292 [M-H]<sup>-</sup>.

*cis*-4-メルカプト-L-プロリン (16) および相当するアリアルアルキルハライドを用い、同様の合成法により以下の化合物を得た。

**(4*S*)-4-ベンジルチオ-L-プロリン (18a)**

無色固体、収率 34%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$  + DCl, 400 MHz)  $\delta$  2.04-2.13 (m, 1H), 2.55-2.80 (m, 1H), 3.25-3.33 (m, 1H), 3.55-3.62 (m, 2H), 3.88 (s, 2H), 4.48 (t,  $J = 6.8$  Hz, 1H),

7.30-8.00 (m, 5H); IR (KBr) 3419, 3027, 1626, 1408 cm<sup>-1</sup>; mp 221.5-226.2 °C (dec.).

(4S)-4-(2-フェニルエチルチオ)-L-プロリン (18b)

無色固体、収率 34%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 2.00-2.07 (m, 1H), 2.60-2.90 (m, 5H), 3.20-3.26 (m, 1H), 3.62-3.75 (m, 2H), 4.50 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.23-7.35 (m, 5H); IR (KBr) 3422, 3026, 1616 cm<sup>-1</sup>; mp 190 °C (dec.).

(4S)-4-(3-フェニルプロピルチオ)-L-プロリン (18c)

淡黄色油状物、収率 55%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 1.79-1.89 (m, 2H), 1.95-2.06 (m, 1H), 2.60 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.65-2.72 (m, 3H), 3.19-3.25 (m, 1H), 3.60-3.70 (m, 2H), 4.47 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.22-7.34 (m, 5H); IR (film) 3416, 2932, 1574, 1413 cm<sup>-1</sup>.

(4S)-4-(1-ナフチルメチルチオ)-L-プロリン (18d)

無色固体、収率 67%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 2.10-2.16 (m, 1H), 2.70-2.77 (m, 1H), 3.35-3.39 (m, 1H), 3.57-3.69 (m, 1H), 3.71-3.74 (m, 1H), 4.35 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 4.39 (d, *J* = 13.1 Hz, 1H), 4.53 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.48-7.66 (m, 4H), 7.92 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.16 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H); IR (KBr) 2926, 1596, 1385, 1222, 1189 cm<sup>-1</sup>; mp 212.0-213.5 °C (dec.).

(4S)-4-(2-ナフチルメチルチオ)-L-プロリン (18e)

無色固体、収率 46%; IR (KBr) 3429, 3049, 1626, 1601, 1507, 1204 cm<sup>-1</sup>; mp 192.0-210.0.

(4S)-4-(2-ナフチルメチルチオ)-L-プロリンメチルエステル (18e')

無色固体、収率 54%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.81-1.87 (m, 1H), 2.41-2.48 (m, 1H), 2.95-2.98 (m, 1H), 3.08-3.13 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.72-3.76 (m, 1H), 3.88 (s, 2H), 7.44-7.50 (m, 3H), 7.69 (s, 1H), 7.78-7.83 (m, 3H); IR (KBr) 2939, 1723, 1446, 1428, 1360, 1207, 1116 cm<sup>-1</sup>; mp 65.0-73.5 °C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -18.1 ° (*c* = 0.13, MeOH).

(4S)-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-L-プロリン (18f)

無色固体、収率 64%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 1.18 (d, *J* = 7.0 Hz, 6H), 1.99-2.03 (m, 1H), 2.65-2.70 (m, 1H), 2.86-2.89 (m, 1H), 3.20-3.21 (m, 1H), 3.54-3.58 (m, 2H), 3.83 (s, 2H), 4.44 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.21 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.27 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H); IR (KBr) 2959, 1617, 1379, 1285, 1224 cm<sup>-1</sup>; mp 208.0 °C (dec.).

(4S)-4-[2-(4-イソプロピルフェニル)エチルチオ]-L-プロリン (18g)

無色固体、収率 56%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 1.18 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H),

1.96-2.03 (m, 1H), 2.69-2.90 (m, 6H), 3.15-3.19 (m, 1H), 3.59-3.68 (m, 2H), 4.41-4.45 (m, 1H), 7.12-7.17 (m, 4H); mp 205.0-210.0 °C (dec.).

(4S)-4-[3-(4-イソプロピルフェニル)プロピルチオ]-L-プロリン (18h)

無色固体、収率 69%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 1.18 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H), 1.77-1.85 (m, 2H), 1.95-2.04 (m, 1H), 2.58-2.76 (m, 5H), 2.83-2.90 (m, 1H), 3.16-3.23 (m, 1H), 3.59-3.67 (m, 2H), 4.44 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.17 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H); mp 234.0-236.5 °C (dec.).

(4S)-4-(3-メチルベンジルチオ)-L-プロリン (18i)

無色固体、収率 41%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 1.99-2.07 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.65-2.67 (m, 1H), 3.21-3.27 (m, 1H), 3.53-3.57 (m, 2H), 3.84 (s, 2H), 4.46 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.11-7.29 (m, 4H); mp 190.0-192.0 °C .

(4S)-4-(2-メチルベンジルチオ)-L-プロリン (18j)

無色固体、収率 57%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 1.98-2.04 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.65-2.67 (m, 1H), 3.19-3.23 (m, 1H), 3.55-3.64 (m, 2H), 3.88 (s, 2H), 4.45 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.18-7.30 (m, 4H); mp 213.4-215.0 °C .

(4S)-4-(4-メチルチオベンジルチオ)-L-プロリン (18k)

無色固体、収率 68%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 1.91-2.00 (m, 1H), 2.47 (s, 3H), 2.59-2.66 (m, 1H), 3.10 (dd, *J* = 11.2, 6.4 Hz, 1H), 3.40-3.54 (m, 2H), 3.82 (s, 2H), 4.38 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H); mp 214.3-216.5 °C .

(4S)-4-(4-シクロヘキシルベンジルチオ)-L-プロリン (18m)

無色固体、収率 91%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub> + DCl, 400 MHz) δ 1.15-1.42 (m, 6H), 1.65-1.80 (m, 6H), 1.96-2.04 (m, 1H), 2.45-2.50 (m, 1H), 3.15-3.23 (m, 1H), 3.49-3.56 (m, 2H), 3.83 (s, 2H), 4.43 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.19 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.26 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H); mp 208.9-210.3 °C (dec.).

*trans*-4-メルカプト-L-プロリン (17) および 4-イソプロピルベンジルクロリドを用い、同様の合成法により (4*R*)-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-L-プロリン (19) 得た。ただし、粗精製固体のまま次反応に用いた。

(4S)-N-[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(4-*tert*-ブチルベンジルチオ)-L-プ

### ロリン (21l)

(4*S*)-4-(4-*tert*-ブチルベンジルチオ)-L-プロリン (18l) (0.29 g, 1.0 mmol)の *N,N*'-ジメチルホルムアミド (10 ml) 溶液に(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) (0.36 g, 1.1 mmol) およびトリエチルアミン (0.15 ml, 1.1 mmol) を氷冷下で加えた。反応液を一晚室温で攪拌した。反応液に酢酸エチルを加え、有機層を 10% クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/3) にて精製を行うことにより標記化合物を無色固体として得た(0.45 g, 収率 99%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 1.25 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 1.29 (s, 9H), 2.40-2.45 (m, 2H), 2.80-2.87 (m, 1H), 3.14 (dd, *J* = 13.6, 6.3 Hz, 1H), 3.18-3.23 (m, 2H), 3.26 (dd, *J* = 13.6, 7.5 Hz, 1H), 3.72 (s, 2H), 3.86-3.91 (m, 1H), 4.56 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.21 (dd, *J* = 6.4, 1.8 Hz, 2H), 7.30 (dd, *J* = 6.4, 1.8 Hz, 2H), 7.47 (td, *J* = 7.3, 1.5 Hz, 2H), 7.60 (tt, *J* = 7.3, 1.5 Hz, 1H), 7.97 (dt, *J* = 7.3, 1.5 Hz, 2H); IR (KBr) 2963, 1753, 1662, 1604, 1446, 1208 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -89.4 ° (*c* = 0.51, MeOH); mp 121.5-123.0 °C; MS (ESI, Pos.) 500 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 498 [M-H]<sup>-</sup>.

化合物 18a-k, 18m および(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) を用い、同様の合成法により以下の化合物を得た。

### (4*S*)-*N*'-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-ベンジルチオ-L-プロリン (21a)

淡黄色油状物、収率 21%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.25 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 2.19-2.28 (m, 1H), 2.44-2.50 (m, 1H), 2.78-2.86 (m, 1H), 3.10-3.20 (m, 2H), 3.22-3.29 (m, 2H), 3.74 (s, 2H), 3.82-3.86 (m, 1H), 4.50 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.20-7.35 (m, 5H), 7.47 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.61 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H).

### (4*S*)-*N*'-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(2-フェニルエチルチオ)-L-プロリン (21b)

淡黄色油状物、収率 38%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.29 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 2.20-2.30 (m, 1H), 2.49-2.58 (m, 1H), 2.78-2.96 (m, 5H), 3.10-3.31 (m, 4H), 4.06 (dd, *J* = 10.0, 6.1 Hz, 1H), 4.56 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.17-7.30 (m, 5H), 7.43 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.58 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H); IR (film) 2976, 2933, 1742, 1657, 1612, 1447, 1207 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -80.0 ° (*c* = 0.52, MeOH).

### (4*S*)-*N*'-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(3-フェニルプロピルチオ)-L-プロリン (21c)

淡黄色油状物、収率 32%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.30 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.84-1.91

(m, 2H), 2.20-2.30 (m, 1H), 2.50-2.60 (m, 3H), 2.68 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 2.91-2.97 (m, 1H), 3.16 (dd,  $J = 13.4, 6.1$  Hz, 1H), 3.25-3.37 (m, 3H), 4.09 (dd,  $J = 9.8, 5.9$  Hz, 1H), 4.56 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.15-7.29 (m, 5H), 7.45 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.95 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H); IR (film) 2933, 1742, 1659, 1447, 1267  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -80.2^{\circ}$  ( $c = 0.51$ , MeOH).

(4S)-N-[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(1-ナフチルメチルチオ)-L-プロリン (21d)

淡黄色油状物、収率 33%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.18 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.38-2.44 (m, 2H), 2.73-2.78 (m, 1H), 3.12-3.16 (m, 2H), 3.20-3.27 (m, 2H), 3.76-3.80 (m, 1H), 4.21 (s, 2H), 4.53 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.29-7.37 (m, 2H), 7.44-7.56 (m, 4H), 7.59 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 7.76 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.85 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.97 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 8.10 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H); IR (film) 2978, 1740, 1656, 1434, 1207  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -75.1^{\circ}$  ( $c = 0.52$ , MeOH).

(4S)-N-[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(2-ナフチルメチルチオ)-L-プロリン (21e) はそのメチルエステル体 (21e') として合成した。

(4S)-N-[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(2-ナフチルメチルチオ)-L-プロリンメチルエステル (21e')

淡黄色油状物、収率 80%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.21 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.85-1.92 (m, 1H), 2.45-2.53 (m, 1H), 2.70-2.79 (m, 1H), 3.07 (dd,  $J = 13.6, 6.3$  Hz, 1H), 3.17-3.20 (m, 1H), 3.23 (dd,  $J = 13.6, 7.8$  Hz, 1H), 3.34 (t,  $J = 9.7$  Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.90 (s, 2H), 3.93-3.95 (m, 1H), 4.41 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.41-7.46 (m, 5H), 7.58 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.71-7.74 (m, 2H), 7.78-7.80 (m, 2H), 7.97 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (film) 2947, 1747, 1654, 1427, 1205  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -101.0^{\circ}$  ( $c = 0.52$ , MeOH).

(4S)-N-[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-L-プロリン (21f)

淡黄色油状物、収率 84%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.21 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.16-2.23 (m, 1H), 2.45-2.51 (m, 1H), 2.79-2.89 (m, 2H), 3.11-3.20 (m, 2H), 3.22-3.29 (m, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.86-3.90 (m, 1H), 4.50 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.13 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.47 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.60 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.96 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H); IR (film) 2961, 1742, 1658, 1446, 1335, 1207  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -81.6^{\circ}$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

(4S)-N-[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-[2-(4-イソプロピルフェニル)チオ]-L-プロリン (21g)

淡黄色油状物、収率 97%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.23 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.29 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.12-2.21 (m, 1H), 2.51-2.60 (m, 1H), 2.86-3.37 (m, 10H), 4.12 (dd,  $J = 9.5$ , 6.1 Hz, 1H), 4.54 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.09 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.14 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.42 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.57 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (film) 2959, 1744, 1659, 1445, 1206  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -84.0° ( $c = 1.0$ , MeOH).

**(4S)-N[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-[3-(4-イソプロピルフェニル)プロピルチオ]-L-プロリン (21h)**

淡黄色油状物、収率 85%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.23 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.31 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.82-1.89 (m, 2H), 2.19-2.26 (m, 1H), 2.53 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 2.51-2.60 (m, 1H), 2.65 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 2.83-3.00 (m, 2H), 3.15 (dd,  $J = 13.7$ , 6.2 Hz, 1H), 3.25-3.37 (m, 3H), 4.10 (dd,  $J = 9.8$ , 6.2 Hz, 1H), 4.56 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.08 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.14 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.44 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.95 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (film) 2959, 1745, 1659, 1447, 1207  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -70.1° ( $c = 1.0$ , MeOH).

**(4S)-N[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(3-メチルベンジルチオ)-L-プロリン (21i)**

淡黄色油状物、収率 90%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.25 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.21-2.34 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.41-2.50 (m, 1H), 2.80-2.85 (m, 1H), 3.11-3.30 (m, 4H), 3.71 (s, 2H), 3.88 (dd,  $J = 10.0$ , 6.6 Hz, 1H), 4.51 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.03-7.17 (m, 4H), 7.46 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.59 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.96 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (film) 2977, 1740, 1655, 1447, 1207  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -99.3° ( $c = 0.54$ , MeOH).

**(4S)-N[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(2-メチルベンジルチオ)-L-プロリン (21j)**

淡黄色油状物、収率 96%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.25 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.25-2.32 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.42-2.50 (m, 1H), 2.83 (m, 1H), 3.12-3.29 (m, 4H), 3.73 (d,  $J = 13.0$  Hz, 1H), 3.77 (d,  $J = 13.0$  Hz, 1H), 3.81-3.87 (m, 1H), 4.54 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.04-7.08 (m, 1H), 7.13-7.16 (m, 3H), 7.47 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.60 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.97 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (film) 2975, 1740, 1657, 1446, 1207  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -93.3° ( $c = 0.53$ , MeOH).

**(4S)-N[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(4-メチルチオベンジルチオ)-L-プロリン (21k)**

淡黄色油状物、収率 84%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.27 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.38-2.49 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.82-2.91 (m, 1H), 3.11-3.31 (m, 4H), 3.71 (s, 2H), 3.92 (dd,  $J = 6.4$ , 10.3 Hz, 1H), 4.55 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.16 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.21 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H),



7.47 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.60 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.97 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H); IR (film) 2978, 1743, 1657, 1436  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -95.1^\circ$  ( $c = 0.47$ , MeOH).

**(4S)-N[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(4-シクロヘキシルベンジルチオ)-L-プロリン (21m)**

無晶形固体、収率 81%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.20-1.42 (m, 5H), 1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.70-1.85 (m, 5H), 2.31-2.48 (m, 3H), 2.79-2.86 (m, 1H), 3.10-3.30 (m, 4H), 3.71 (s, 2H), 3.83-3.89 (m, 1H), 4.54 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.11 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.17 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.47 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.60 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.97 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H); IR (film) 2924, 1744, 1659, 1447, 1207  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -73.4^\circ$  ( $c = 0.50$ , MeOH).

(4R)-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-L-プロリン (19) および(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) を用い、同様の合成法により以下の化合物を得た。

**(4R)-N[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-L-プロリン (22)**

淡黄色油状物、全収率 11%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.21-1.28 (m, 9H), 1.93-2.01 (m, 1H), 2.67-2.72 (m, 1H), 2.78-2.90 (m, 2H), 3.14 (dd,  $J = 13.5, 6.3$  Hz, 1H), 3.27-3.35 (m, 2H), 3.45-3.53 (m, 2H), 3.70 (d,  $J = 13.3$  Hz, 1H), 3.74 (d,  $J = 13.3$  Hz, 1H), 4.68 (dd,  $J = 8.4, 3.3$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.46 (t,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.96 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H); IR (film) 2961, 1740, 1659, 1620, 1207  $\text{cm}^{-1}$ .

**(4S)-4-(4-tertブチルベンジルチオ)-N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン (3l)**

(4S)-N[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(4-tertブチルベンジルチオ)-L-プロリン (21l) (0.40 g, 0.80 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (10 ml) を加えた後、室温で 1 時間攪拌した。反応液を氷冷下 6 M 塩酸を用い酸性とし、ジエチルエーテルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下除去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=3/1) にて精製することにより標記化合物を無色油状物として得た (0.28 g, 収率 89%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  1.14 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H), 1.32 (s, 9H), 1.51 (t,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 2.38-2.50 (m, 3H), 2.59-2.66 (m, 1H), 2.84 (ddd,  $J = 13.4, 9.5, 8.9$  Hz, 1H), 3.16-3.21 (m, 2H), 3.76-3.79 (m, 3H), 4.57 (dd,  $J = 8.2, 7.3$  Hz, 1H), 7.26 (dd,  $J = 6.4, 1.8$  Hz, 2H), 7.36 (dd,  $J = 6.4, 1.8$  Hz, 2H); IR (Film) 2962, 2564, 1735, 1610, 1464, 1438, 1328, 1199  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -58.5^\circ$  ( $c = 0.48$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 396  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 394  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

化合物 **21a-k**, **21m** を用い、同様の合成法により以下の化合物を得た。

**(4S)-4-ベンジルチオ-N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン (3a)**

淡黄色油状物、収率 38%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.16 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.52 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.28-2.39 (m, 1H), 2.41-2.51 (m, 2H), 2.60-2.69 (m, 1H), 2.80-2.90 (m, 1H), 3.15-3.27 (m, 2H), 3.80 (s, 2H), 3.80-3.83 (m, 1H), 4.54 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.28-7.35 (m, 5H); IR (film) 2932, 2566, 1738, 1605, 1442, 1197 cm<sup>-1</sup>; MS (ESI, Pos.) 340 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 338 [M-H]<sup>-</sup>.

**(4S)-N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-4-(2-フェニルエチル)チオ-L-プロリン (3b)**

淡黄色油状物、収率 48%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.20 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 1.58 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.29-2.37 (m, 1H), 2.45-2.60 (m, 2H), 2.75-2.84 (m, 1H), 2.85-2.95 (m, 5H), 3.25-3.35 (m, 2H), 3.99-4.05 (m, 1H), 4.59 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.21-7.34 (m, 5H); IR (film) 2933, 2565, 1738, 1605, 1435, 1329, 1197 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -61.9 ° (c = 0.42, MeOH); MS (ESI, Pos.) 354 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 352 [M-H]<sup>-</sup>.

**(4S)-N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-4-(3-フェニルプロピルチオ)-L-プロリン (3c)**

淡黄色油状物、収率 72%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.21 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.59 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 1.87-1.97 (m, 2H), 2.14-2.21 (m, 1H), 2.43-2.51 (m, 1H), 2.55-2.85 (m, 6H), 2.86-2.94 (m, 1H), 3.20-3.40 (m, 2H), 4.09 (dd, *J* = 9.8, 5.9 Hz, 1H), 4.55 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.18-7.32 (m, 5H); IR (film) 2933, 2565, 1732, 1613, 1436, 1197 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -58.2 ° (c = 0.51, MeOH); MS (ESI, Pos.) 368 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 366 [M-H]<sup>-</sup>.

**(4S)-N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-4-(1-ナフチルメチルチオ)-L-プロリン (3d)**

無晶形固体、収率 92%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.08 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.49 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 2.33-2.54 (m, 4H), 2.80-2.85 (m, 1H), 3.11-3.16 (m, 1H), 3.22-3.26 (m, 1H), 3.72 (dd, *J* = 10.3, 6.3 Hz, 1H), 4.24 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 4.28 (d, *J* = 13.4 Hz, 1H), 4.53 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.38-7.59 (m, 4H), 7.80-7.82 (m, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 8.13 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H); IR (film) 2933, 2568, 1733, 1635, 1435, 1196 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -45.6 ° (c = 0.48, MeOH); MS (ESI, Pos.) 390 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 388 [M-H]<sup>-</sup>.

**(4S)-N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-4-(2-ナフチルメチルチオ)-L-プロリン (3e)**

無晶形固体、収率 63%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.04 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.39 (t,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 2.32-2.37 (m, 2H), 2.40-2.45 (m, 2H), 2.72-2.77 (m, 1H), 3.15-3.16 (m, 2H), 3.67-3.68 (m, 1H), 3.96 (s, 2H), 4.50-4.54 (m, 1H), 7.48-7.53 (m, 3H), 7.72 (s, 1H), 7.79-7.86 (m, 3H); IR (film) 2933, 2569, 1739, 1601, 1437, 1195  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_D^{20}$   $-86.0^\circ$  ( $c = 0.50$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 390  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 388  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

(4S)-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-N-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン (3f)

淡黄色油状物、収率 64%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.14 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.53 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.19-2.22 (m, 1H), 2.39-2.45 (m, 1H), 2.48-2.55 (m, 1H), 2.59-2.64 (m, 1H), 2.80-2.94 (m, 2H), 3.14-3.24 (m, 2H), 3.72-3.80 (m, 1H), 3.77 (s, 2H), 4.50 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.19 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.25 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (film) 2961, 1739, 1607, 1434, 1329, 1197  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_D^{20}$   $-58.7^\circ$  ( $c = 0.78$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 382  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 380  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

(4S)-4-[2-(4-イソプロピルフェニル)エチルチオ]-N-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン (3g)

淡黄色油状物、収率 91%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.20 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H), 1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.58 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.12-2.30 (m, 1H), 2.44-2.60 (m, 2H), 2.76-2.95 (m, 7H), 3.28-3.39 (m, 2H), 4.05-4.11 (m, 1H), 4.57 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.13 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.17 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (film) 2959, 1739, 1610, 1440, 1329  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_D^{20}$   $-58.6^\circ$  ( $c = 1.0$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 396  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 394  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

(4S)-4-[3-(4-イソプロピルフェニル)プロピルチオ]-N-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン (3h)

淡黄色油状物、収率 88%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.21 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.58 (t,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 1.88-1.95 (m, 2H), 2.25-2.34 (m, 1H), 2.45-2.53 (m, 1H), 2.56-2.63 (m, 1H), 2.60 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 2.70 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 2.77-2.95 (m, 3H), 3.30-3.40 (m, 2H), 4.11 (dd,  $J = 8.8, 5.4$  Hz, 1H), 4.59 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.10 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.16 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (film) 2958, 1740, 1609, 1439, 1193  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_D^{20}$   $-54.2^\circ$  ( $c = 0.97$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 410  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 408  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

(4S)-N-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-4-(3-メチルベンジルチオ)-L-プロリン (3i)

淡黄色油状物、収率 90%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.17 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.52 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.30-2.35 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.42-2.51 (m, 2H), 2.63-2.68 (m, 1H),

2.80-2.90 (m, 1H), 3.15-3.26 (m, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.83 (dd,  $J = 9.8, 5.9$  Hz, 1H), 4.54 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.10-7.15 (m, 3H), 7.22 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H); IR (film) 2932, 1738, 1607, 1464, 1440, 1195  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -74.8^{\circ}$  ( $c = 0.47$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 354  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ , (ESI, Neg.) 352  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ .

(4S)-N-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-4-(2-メチルベンジルチオ)-L-プロリン (3j)

淡黄色油状物、収率 90%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.16 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.54 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.30-2.38 (m, 1H), 2.41 (s, 3H) 2.41-2.55 (m, 2H), 2.60-2.70 (m, 1H), 2.80-2.90 (m, 1H), 3.19-3.28 (m, 2H), 3.81 (s, 2H), 3.76-3.84 (m, 1H), 4.55 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.13-7.21 (m, 4H); IR (film) 2933, 1738, 1608, 1440, 1194  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -65.5^{\circ}$  ( $c = 0.49$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 354  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ , (ESI, Neg.) 352  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ .

(4S)-N-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-4-(4-メチルチオベンジルチオ)-L-プロリン (3k)

淡黄色油状物、収率 94%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.16 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.55 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.23-2.31 (m, 1H), 2.40-2.53, (m, 2H), 2.49 (s, 3H) 2.60-2.70 (m, 1H), 2.81-2.89 (m, 1H), 3.14-3.27 (m, 2H), 3.75 (s, 2H), 3.81 (dd,  $J = 6.4, 10.3$  Hz, 1H), 4.54 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.21-7.25 (m, 4H); IR (film) 2977, 2923, 1738, 1633, 1606, 1435, 1198  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI, Pos.) 386  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ , (ESI, Neg.) 384  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ .

(4S)-4-(4-シクロヘキシルベンジルチオ)-N-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン (3m)

無晶形固体、収率 87%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.14 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.20-1.45 (m, 5H), 1.52 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 1.74-1.91 (m, 5H), 2.25-2.30 (m, 1H), 2.40-2.52 (m, 3H), 2.57-2.66 (m, 1H), 2.80-2.90 (m, 1H), 3.15-3.23 (m, 2H), 3.70-3.80 (m, 1H), 3.76 (s, 2H), 4.52 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.17 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.25 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (Film) 2924, 1736, 1641, 1612, 1463, 1446  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -50.4^{\circ}$  ( $c = 0.50$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 422  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ , (ESI, Neg.) 420  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ .

(4R)-N-[(2S)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-L-プロリン (22) を用い、同様の合成法により以下の化合物を得た。

(4R)-4-(4-イソプロピルベンジルチオ)-N-[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン (4)

淡黄色油状物、収率 73%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.13 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.53 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 1.93-2.09 (m, 1H), 2.43-2.50 (m, 1H), 2.56-2.62 (m,

1H), 2.71-2.75 (m, 1H), 2.82-2.94 (m, 2H), 3.34-3.39 (m, 2H), 3.48-3.51 (m, 1H), 3.78 (s, 2H), 4.70 (dd,  $J = 8.5, 2.7$  Hz, 1H), 7.19 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.24 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR (Film) 2960, 1737, 1620, 1463, 1440, 1202  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -49.0^\circ$  ( $c = 0.10$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 382  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 380  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

**trans-N<sup>tert</sup>ブトキシカルボニル-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-L-プロリンメチルエステル (23)**

水素化ナトリウム (60%, 流動パラフィンに分散させた固体) (0.18g, 4.5 mmol) の無水 *N,N*′ジメチルホルムアミド (2 ml) の懸濁液に氷冷下 *trans-N<sup>tert</sup>ブトキシカルボニル-4-ヒドロキシ-L-プロリンメチルエステル (10)* (1.0 g, 4.1 mmol) の無水 *N,N*′ジメチルホルムアミド (4 ml) 溶液を滴下した。氷冷下で 30 分間攪拌した後、4-イソプロピルベンジルクロリド (0.76g, 4.5 mmol) の無水 *N,N*′ジメチルホルムアミド (2 ml) 溶液を滴下して加えた。反応液を室温で 2.5 時間攪拌した後、氷冷下 5%クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=5/1) にて精製することにより標記化合物を無色油状物として得た (0.63 g, 収率 41%)。

<sup>1</sup>H NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.23, 1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.34-1.47 (m, 9H), 2.06-2.07, 2.32-2.38 (m, 2H), 2.88-2.92 (m, 1H), 3.54-3.74 (m, 5H), 4.08-4.20 (m, 1H), 4.34-4.54 (m, 3H), 7.20-7.25 (m, 4H); IR (film) 2961, 1750, 1703, 1401, 1366, 1202, 1160, 1093  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -19.8^\circ$  ( $c = 0.27$ , MeOH).

**trans-N<sup>tert</sup>ブトキシカルボニル-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-L-プロリン (24)**

*trans-N<sup>tert</sup>ブトキシカルボニル-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-L-プロリンメチルエステル (23)* (1.1 g, 2.9 mmol) のメタノール (2.5 ml) とテトラヒドロフラン (4 ml) の混合溶液に氷冷下、2 M 水酸化リチウム水溶液 (1.6 ml, 3.2 mmol) を加え、室温に戻し 45 分間攪拌した。反応液に 10%クエン酸水溶液を加え pH を 4 とした後、減圧下濃縮した。残留物に 10%クエン酸水溶液および酢酸エチルを加え分配し、有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/1) にて精製することにより標記化合物を無色固体として得た (0.70 g, 収率 66%)。

<sup>1</sup>H NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.42-1.48 (m, 9H), 2.13-2.49 (m, 2H), 2.87-2.94 (m, 1H), 3.45-3.74 (m, 2H), 4.15-4.20 (m, 1H), 4.39-4.49 (m, 3H), 7.20 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.23 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (film) 2960, 1736, 1649, 1423, 1161, 1094  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 84.5-90.5  $^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -39.9^\circ$  ( $c = 0.50$ , MeOH).

**trans-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-L-プロリン塩酸塩 (25)**

*trans-N-tert*ブトキシカルボニル-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-L-プロリン (24)

(0.70 g, 1.9 mmol) に 4 M 塩化水素酢酸エチル溶液 (4.2 ml, 19 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応液を減圧下濃縮することにより標記化合物を無晶形固体として得た (0.55 g, 収率 94%)。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 1.19 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H), 2.07-2.19 (m, 1H), 2.44-2.50 (m, 1H), 2.84-2.91 (m, 1H), 3.29-3.32 (m, 1H), 3.37-3.41 (m, 1H), 4.29-4.40 (m, 2H), 4.50 (s, 2H), 7.21 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 8.97 (br s, 1H), 10.26 (br s, 1H); IR (film) 2959, 1743, 1441, 1253, 1084 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -8.4° (*c* = 0.53, MeOH).

**(4*R*)-N-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-L-プロリン (26)**

*trans*-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-L-プロリン (25) (0.50 g, 1.7 mmol) の無水 *N,N'*-ジメチルホルムアミド (8 ml) 溶液にトリエチルアミン (0.53 ml, 4.2 mmol) および(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) (0.64 g, 1.8 mmol) を氷冷下で加えた後、室温に戻し一晩攪拌した。反応液に 10%クエン酸水溶液および酢酸エチルを加え分配し、有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/3) にて精製することにより標記化合物を無色油状物として得た (0.47 g, 収率 60%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.22 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H), 1.29 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 2.24-2.31 (m, 1H), 2.48-2.55 (m, 1H), 2.84-2.89 (m, 1H), 2.91-2.99 (m, 1H), 3.13 (dd, *J* = 13.7, 6.8 Hz, 1H), 3.33 (dd, *J* = 13.7, 7.8 Hz, 1H), 3.57-3.65 (m, 1H), 3.90-3.93 (m, 1H), 4.23-4.25 (m, 1H), 4.47 (s, 2H), 4.72-4.76 (m, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.16 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.44 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.58 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H); IR (film) 2961, 1744, 1659, 1447, 1208 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -106.5° (*c* = 0.55, MeOH).

**(4*R*)-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-N-[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-プロリン (5)**

(4*R*)-*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-4-(4-イソプロピルベンジルオキシ)-L-プロリン (26) (0.40 mg, 0.85 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (8 ml) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応液に水および酢酸エチルを加え分配した。水層を 2 M 塩酸で酸性とし、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/2) にて精製することにより標記化合物を無色油状物として得た (0.24 g, 収率 77%)。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.19 (d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 1.24 (d,  $J=7.3$  Hz, 6H), 1.56 (t,  $J=8.3$  Hz, 1H), 2.30-2.34 (m, 1H), 2.44-2.51 (m, 2H), 2.75-2.76 (m, 1H), 2.86-2.94 (m, 2H), 3.65 (dd,  $J=10.8, 5.4$  Hz, 1H), 3.78 (dd,  $J=10.8, 4.4$  Hz, 1H), 4.28-4.30 (m, 1H), 4.48 (d,  $J=11.7$  Hz, 1H), 4.54 (d,  $J=11.7$  Hz, 1H), 4.72 (dd,  $J=8.3, 5.9$  Hz, 1H), 7.21 (d,  $J=8.3$  Hz, 2H), 7.24 (d,  $J=8.3$  Hz, 2H); IR (film) 2960, 2566, 1739, 1607, 1464, 1190, 1089  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_D^{20}$  -53.8° ( $c=0.49$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 366  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 364  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

## 生化学実験

### LTA<sub>4</sub>加水分解酵素 (LTA<sub>4</sub>H) 阻害作用の測定

LTA<sub>4</sub>H はモルモット肺より単離精製し、酵素アッセイに用いた。LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は以下の方法により測定した。

前処理として 60 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.8)、3 mM ジチオスレイトール、LTA<sub>4</sub>H および評価化合物からなる反応混合物を 26 °C で 1 分間インキュベーションした。次に 50 mM 未満の水酸化リチウムを含む LTA<sub>4</sub> のエタノール溶液を加え、最終的に 60  $\mu\text{M}$  の濃度とした。この反応混合物を 26 °C で 1 分間インキュベーションした後、酸性アセトニトリル溶液 (アセトニトリル : エタノール : 酢酸 = 150 : 50 : 3, 100  $\mu\text{L}$ ) を加えることにより反応を止め、さらに高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析の内部標準として PGB<sub>2</sub> を加えた。この反応混合物を -20 °C で 30 分間保ち、次いで 4 °C で 5 分間遠心分離 (10000  $\times g$ ) を行った。上清の一定分量 (25  $\mu\text{L}$ ) を HPLC にて分析した (カラム ; TSK ODS-80TS 4.6  $\times$  75 mm, 移動相 ; 0.05% EDTA 含有アセトニトリル : メタノール : 水 : 酢酸 = 900 : 300 : 800 : 1.8 混合溶液 pH 5.6, 流速 ; 1.0 mL / 分, 検出器 ; UV 270 nm)。LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は生成した LTB<sub>4</sub> を定量することにより測定した。また IC<sub>50</sub> 値は各化合物少なくとも独立した 3 濃度における用量反応滴定を 2 回行い、線形回帰分析により算定した。

### アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害作用の測定

アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害作用はウサギ肺より単離された ACE を酵素アッセイに用いた。ACE 阻害作用は以下の方法により測定した。

評価化合物および ACE を 300 mM の塩化ナトリウムおよび 5 mM の合成基質 Hip-His-Leu を含む 100 mM リン酸緩衝液 (pH 8.3) を加え全量 250  $\mu\text{l}$  とした反応混合物を 37 °C で 30 分間インキュベーションした。反応混合物に 3%メタリン酸 0.75 ml を加えることにより反応を停止し、5 分間遠心分離を行った。上清の一定分量 (20  $\mu\text{L}$ ) を HPLC にて分析した (カラム ; 7.5  $\mu\text{m}$  nucleosil 7 C<sub>18</sub>, 4  $\times$  250 mm I.D., 移動相 ; メタノール : 10 mM 第一リン酸カリウム水溶液混合溶液 = 1 : 1 リン酸で pH 3.0 に調整したもの, 流速 ; 1.0 mL / 分, 検出器 ; UV 228 nm)。ACE 阻害作用は生成した馬尿酸 (Hip) を定量することにより測定した。また IC<sub>50</sub> 値は各化合物少なくとも独立した 3 濃度における用量反応滴定を 2 回行い、線形回帰分析により算定した。

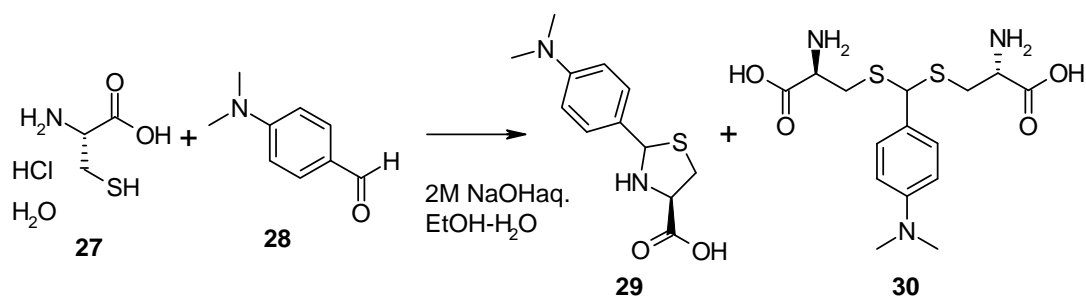
## 第2章 新規 *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 35a の合成と薬理作用

### 第1節 研究の背景 (チオアセタール型ロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害剤の発見)

第1章では弱いながらも LTA<sub>4</sub>加水分解酵素 (LTA<sub>4</sub>H) 阻害作用を示すカプトプリルに着目し、*N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体に対し種々置換基の変換を行った。その結果、*N*-メルカプトアシル-L-プロリンの4位に置換基を導入することにより、強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害する新規 *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体である化合物 **3l** および **3m** を見出した。

一方、(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体チアゾリジン 2 位の変換 (第1章第2節第2項) を行っていた際に、L-システイン塩酸塩一水和物 (**27**) を塩酸塩の中和を目的の1当量 2 M 水酸化ナトリウム水溶液存在下、*p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド (**28**) と水-エタノール (1 : 1) 混合溶液中室温で反応させると、目的物の(2*RS*, 4*R*)-2-(4-ジメチルアミノ)フェニルチアゾリジン-4-カルボン酸 (**29**) とチオアセタール誘導体の(2*R*)-2-アミノ-3-[[ (2*R*)-2-アミノ-2-カルボキシエチルチオ ]-(4-ジメチルアミノフェニル)]メチルチオプロピオン酸 (**30**) の1 : 1の混合物を与えた (Table 4. 実験1)。さらに反応温度を 50 °C に加温すると化合物 **30** のみを与えることを見出した (Table 4. 実験2)。なお実験1および実験4ともに L-システイン塩酸塩一水和物 (**27**) および *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド (**28**) は等モルで反応を行った。

Table 4. チアゾリジン-4-カルボン酸誘導体 (**29**) とチオアセタール誘導体 (**30**) 合成における反応条件の検討-1



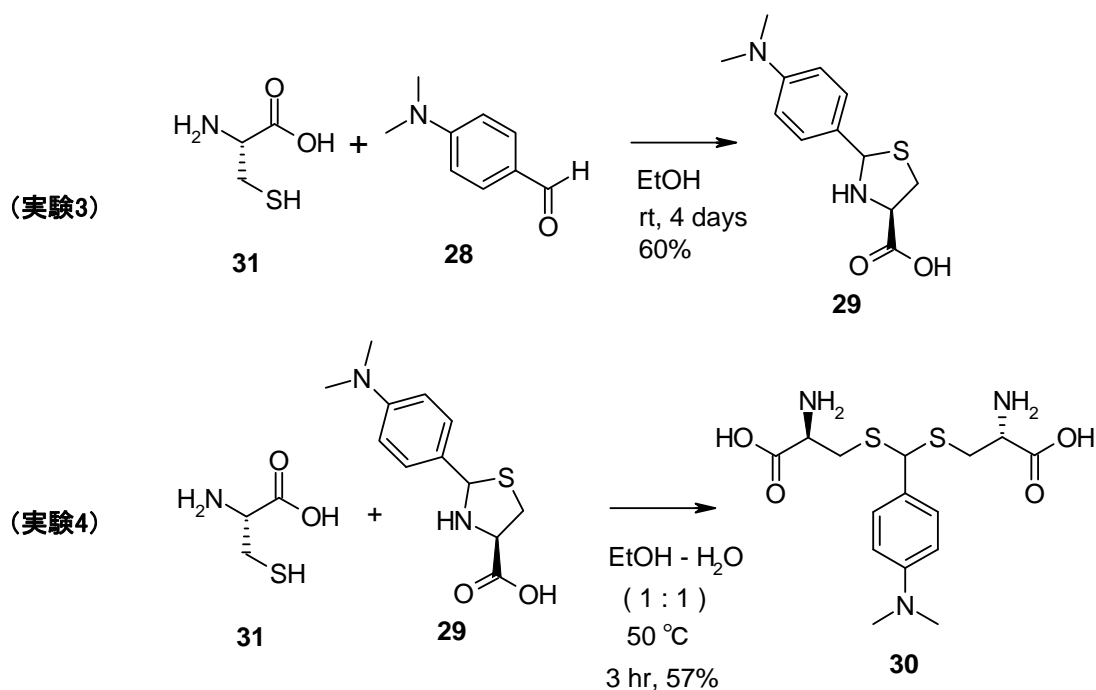
実験	反応条件	反応の経過	収率	生成比 (モル比)
				<b>29 : 30</b>
1	室温	反応開始後、徐々に固体が析出	—	1 : 1
2	50 °C	反応開始 10 分後固体が急に析出	72%	0 : 100

一方、L-システイン (**31**) をエタノール中、等モルの *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド (**28**) と室温で反応させると、チオアセタール誘導体 **30** が生成することなくチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体 **29** のみを与えた<sup>54</sup>。このとき反応の状態は L-システイン (**31**)



のエタノールに対する溶解性がかなり悪く、反応開始から終始懸濁状態であった。また反応 4 日後でも反応は完結していなかった (**Scheme 4**. 実験 3)。

さらにチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体 **29** と L-システイン (**31**) を水-エタノール (1:1) 中、外温 50 °C で 3 時間攪拌したところチオアセタール誘導体 **30** が生成した。このとき反応は開始から終始懸濁状態であった。 (**Scheme 4**. 実験 4)。



**Scheme 4.** チアゾリジン-4-カルボン酸誘導体 (**29**) とチオアセタール誘導体 (**30**) 合成における反応条件の検討-2

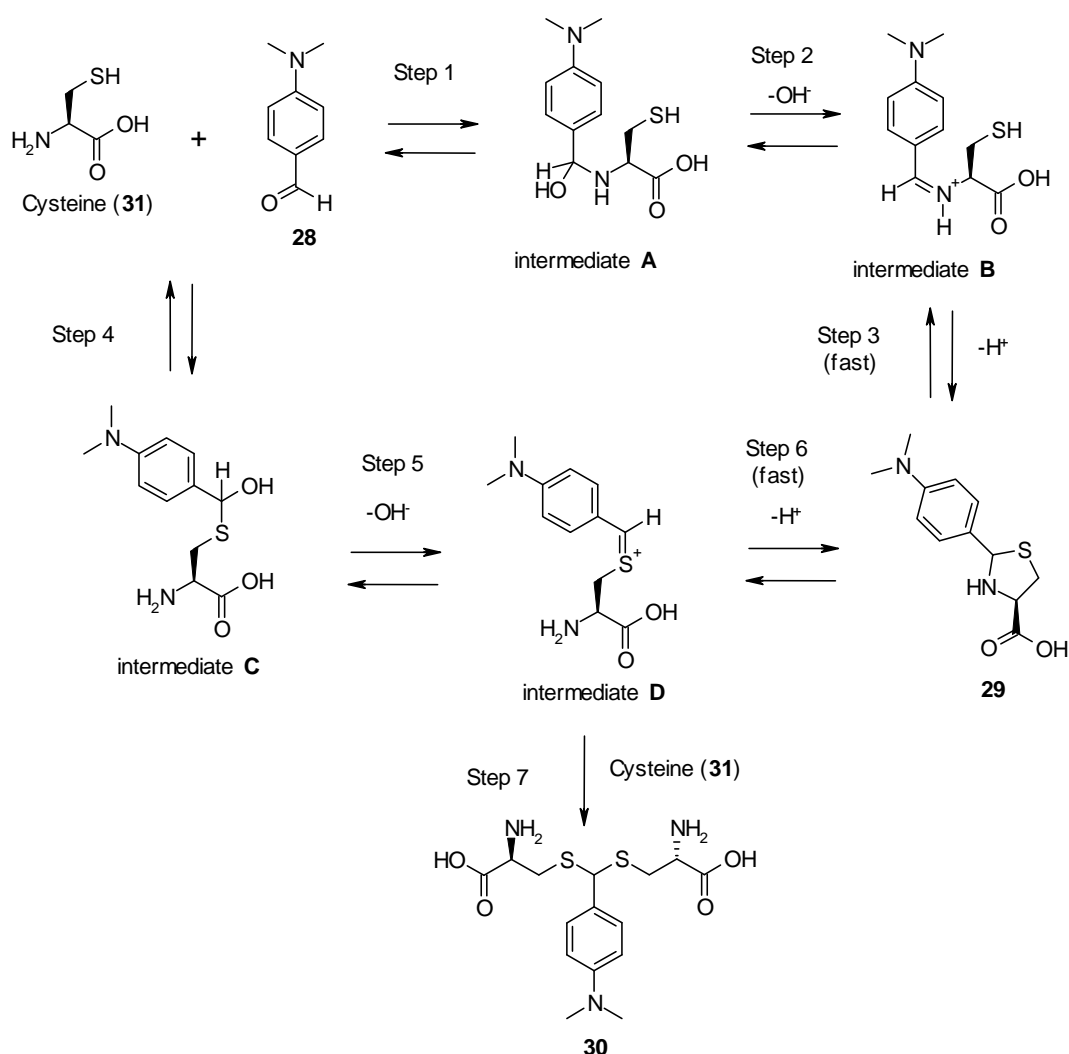
これまでにチアゾリジン-4-カルボン酸合成の反応機構<sup>55,56</sup>および水溶液中での分解<sup>56</sup>についての報告がなされている。これらの文献からチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体 **29** とチオアセタール誘導体 **30** 生成における反応機構は、**Scheme 5** に示すルートにより生成するものと考えられた。

この **Scheme 5** に示す反応機構から、本反応の結果について考察した。実験 1 では化合物 **29** と化合物 **30** がモル比 1:1 の混合物を与えた。本反応は反応開始後、徐々に固体が析出した。このことから、反応溶媒の水-エタノール (1:1) 混合溶液では化合物 **29** および化合物 **30** の溶解度が良くないと考えられた。したがって、生成した化合物 **29** は反応系外に析出し、一部溶解している化合物 **29** がステップ 7 に進行することにより化合物 **30** となり反応系外に析出したものと考えられた。反応開始後約 3 時間で反応を処理したことにより、その生成比が 1:1 の混合物を与えたものと考えられた。反応時間をさらに延長させるとその生成比が変化する可能性も考えられた。

実験 2 では化合物 **30** のみが生成した。本反応では反応開始 10 分後固体が急に析出した。

実験 1 の結果と考え合わせると化合物 **29** は、50 °C では反応溶媒の水-エタノール (1:1) 混合溶液に溶解するものと考えられた。したがって、生成した化合物 **29** は反応系外に析出することなくステップ 7 が進行したものと考えられた。ステップ 7 は不可逆反応のため、すべて化合物 **30** となり、化合物 **30** は 50 °C でも反応溶媒の水-エタノール (1:1) 混合溶液に対する溶解度が悪いため、反応系外に析出したものと考えられた。

一方、実験 3 ではシステイン (**31**) のエタノールに対する溶解度がかなり悪いと考えられた。また本反応は、反応開始から終始懸濁状態であった。このことから、化合物 **29** のエタノールに対する溶解性が悪く、生成した化合物 **29** は析出し反応系外に析出した。一部溶解している化合物 **29** が中間体 **D** となったとしても溶解度の悪いシステインが供給されず、見かけ上ステップ 7 に進行しないものと考えられた。また実験 4 では化合物 **29** から逆の反応が起こり、Step 7 に進行することにより化合物 **30** が生成したものと考えられた。



Scheme 5. チアゾリジン-4-カルボン酸誘導体 (**29**) とチオアセタール誘導体 (**30**) 合成における反応機構

このようにして合成したチオアセタール誘導体 (**30**) は C2 対称性を有する興味深い構造であったため、第 1 章で見出したように化合物 **30** の 2 つのアミノ基にも LTA<sub>4</sub>H 阻害作用発現に有効であった *N*-アシル基として(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオン基 (Figure 26, 破線部分) を導入した化合物 **32** を合成し、その LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を確認することとした。

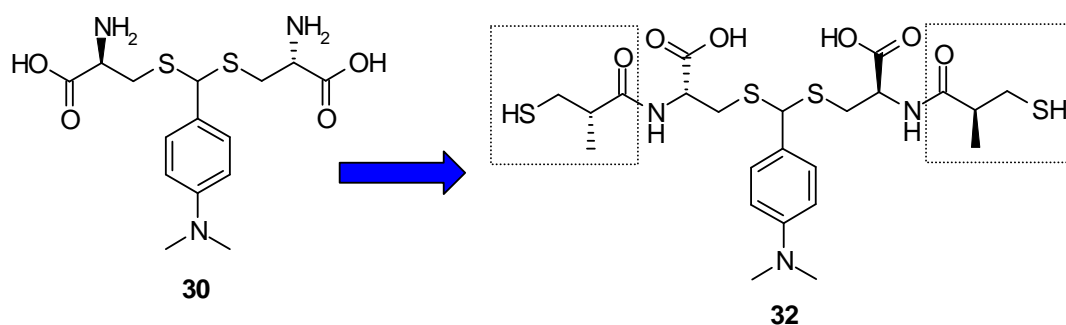
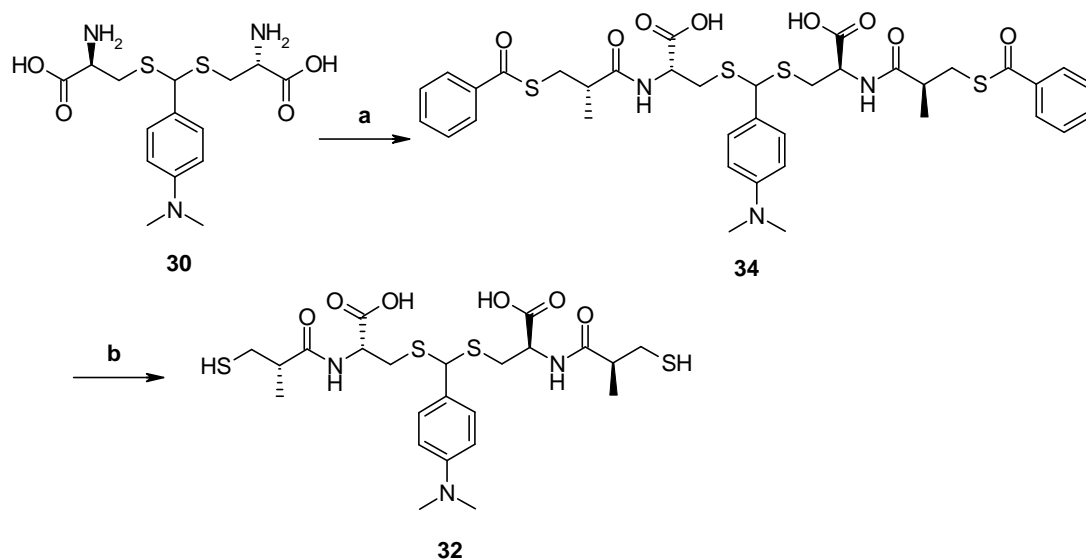


Figure 26. 新規 *N*-メルカプトアシルチオアセタール誘導体 (**32**)

化合物 **32** の合成は Scheme 6 に示す合成ルートに従い合成した。化合物 **30** を 1 M 水酸化ナトリウム水溶液および水中、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸<sup>39)</sup>を塩化チオニルで処理することにより合成した酸クロリド **33** と反応させることにより、化合物 **34** とした。この化合物 **34** を濃アンモニア水溶液で脱 *S*-ベンゾイルを行うことにより、目的物の化合物 **32** とした。



Reagents and conditions: (a) 1 M NaOH aq., H<sub>2</sub>O, (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionyl chloride (**33**), 0 °C- rt, 2 h, 70%; (b) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 2h, 33%.

Scheme 6. 新規 *N*-メルカプトアシルチオアセタール誘導体 (**32**) の合成

合成した新規 *N*-メルカプトアシルチオアセタール誘導体 (**32**) の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用 (測

定方法は第1章第2節第1項に記載)を確認したところ、IC<sub>50</sub>値 1.17 μM で LTA<sub>4</sub>H を阻害した。

## 第2節 研究の目的

前節に示したように、新規 *N*-メルカプトアシルチオアセタール誘導体 **32** の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を確認したところ、IC<sub>50</sub> 値が 1.17 μM であった。本化合物はこれまでに報告がなく、その化学構造も新規であることから非常に興味深い結果であった。しかしながら化合物 **32** は分子内にカルボキシル基を二つ有しており、また分子量が約 580 と比較的大きい。

医薬品の開発を行う上では、化合物(薬物分子)が生体内で利用されるために生体膜を通過して輸送されなければならない。従って膜透過性の低い分子は、望ましくない分子として除外するか又は構造変換により膜透過性の高い分子に変換する必要がある。リピンスキーらは、“薬らしさ(ドラッグライクネス)”に対する一つの基準としてルール・オブ・ファイブ(rule of 5)を提唱している。このルール・オブ・ファイブでは下記のルール(1)~(4)のうちいずれか2つに違反する化合物は経口吸収性が低い可能性が高く、医薬品として開発する上で注意が必要と述べられている<sup>58,59)</sup>。

- (1) 分子量が 500 未満
- (2) 水素結合供与体(OH 又は NH) の数が 5 以下
- (3) 水素結合受容体(N と O) の数が 10 未満
- (4) LogP の計算値が 5.0 未満(ClogP) 又は 4.15 未満(MlogP)
- (5) トランスポーターの基質になる化合物はこのルールから除外する

なお、LogP とは物質の疎水性を表す指標のひとつで、*n*-オクタノール/水からなる二相系における平衡状態での化合物濃度の比(P;分配係数)の常用対数値である。ClogP または MlogP は、それぞれポモナカレッジメディシナルケミストリー(Medicinal Chemistry Project, Pomona College, Claremont, California)、森口(北里大学)らが開発した logP の推定手法により計算された値で、いずれも平面構造式より経験的に計算される。

化合物 **32** は上記 4 つのルールに当てはめてみると(1)分子量 577.80 (2)水素結合供与体の数が 4 (3)水素結合受容体の数が 9 (4)ClogP が 3.09 である。(1)には明らかに違反し、(2)および(3)に対してもかろうじて満たしていた。また近年、ルール・オブ・ファイブ以外にも“薬らしさ(ドラッグライクネス)”に対する基準として幾つかの報告がある<sup>58)</sup>。しかしながら化合物 **32** はいずれの場合においても膜透過性・吸収に問題があると考えられた。そこで化合物 **32** を構造変換によりドラッグライクな化合物に変換することとした。

構造変換するにあたり第1章の研究結果から化合物に LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を発現させるためには、*N*-アシル基として(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基が必要であると考えた。また阻害剤が LTA<sub>4</sub>H の Arg<sup>563</sup> と相互作用することを考慮すると、一つのカルボキシル基が必要であると考えた。そこで経口投与可能な化合物を創出する目的で、分子量が小さ

くまた分子内のカルボキシル基を一つにした化合物 **35a** をデザインした (Figure 27)。なお、化合物 **35a** では (1) 分子量 356.50 (2) 水素結合供与体の数が 2 (3) 水素結合受容体の数が 5 (4) ClogP が 2.83 となり、“薬らしさ (ドラッグライクネス)” に対する基準を十分に満たすことになる。そこでデザインした化合物 **35a** を合成し、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用について確認することとした。

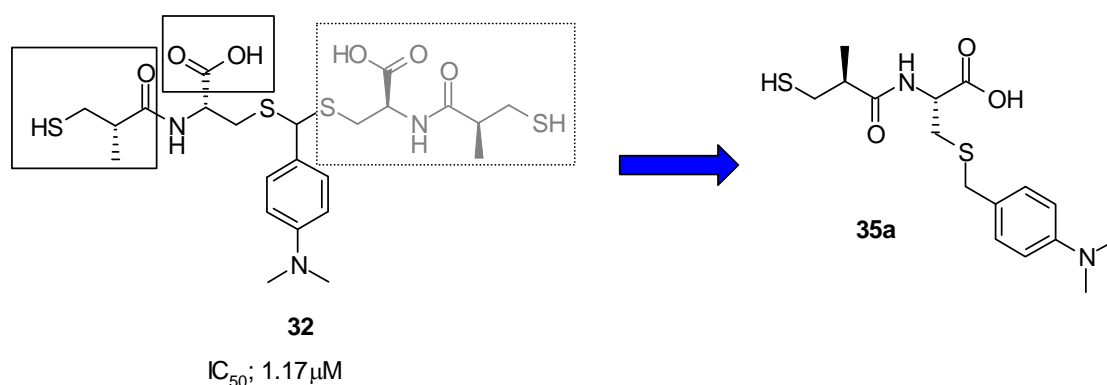


Figure 27. 化合物 **35a** のデザイン (実線部分は必須と考え、破線部分を削除した)

### 第 3 節 新規 *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 **35a** の合成とロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用

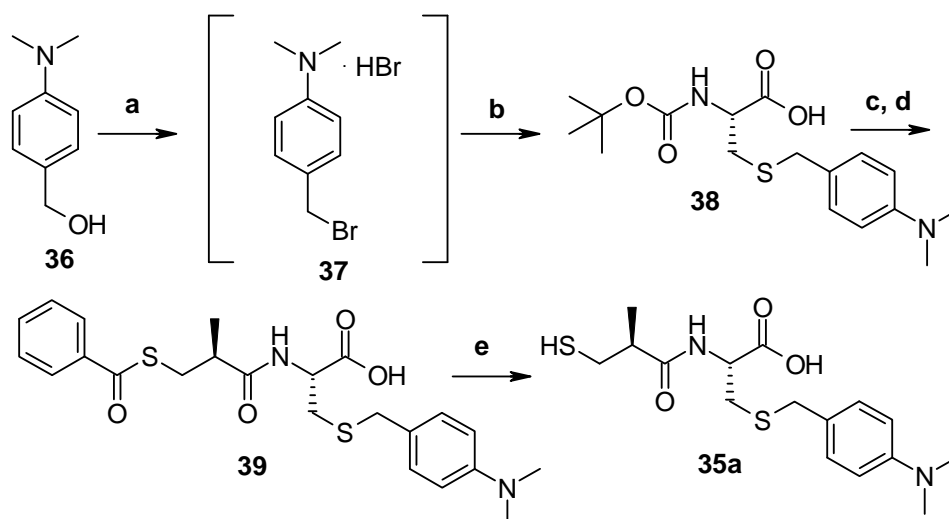
#### 第 1 項 化合物 **35a** の合成

新たにデザインした *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 **35a** の合成は Scheme 7 に示す合成ルートに従って行った。

4-ジメチルアミノベンジルアルコール (**36**) を臭化水素酸で処理することにより臭化物 **37** とし、次に *N,N*-ジイソプロピルエチルアミン存在下 *N*-Boc-L-システイン<sup>60)</sup> と反応させることにより *N*-Boc-*S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン (**38**) とした。化合物 **38** の *N*-Boc 基を酸条件下で脱保護した後、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (**20**) と縮合反応を行うことにより、*N*-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン (**39**) とした。最後に化合物 **39** を濃アンモニア水溶液で処理することにより、目的の *S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-*N*-[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-システイン (**35a**) とした。

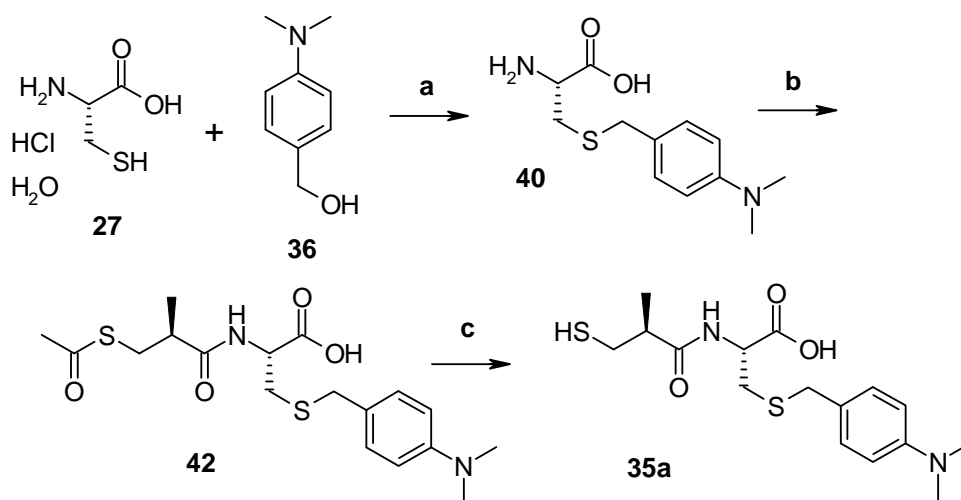
また別法として Scheme 8 に示すように、4-ジメチルアミノベンジルアルコール (**36**) と L-システイン塩酸塩一水和物 (**27**) を 2 M 塩酸中で反応させた後、反応液を中性に調節することにより *S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン (**40**) が固体として得られることを見出した。この化合物 **40** を、市販の(2*S*)-3-アセチルチオ-2-メチルプロピオン酸と *p*-ニトロフェノールの脱水縮合反応より別途合成した(2*S*)-3-アセチルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (**41**) と縮合反応を行い、*N*-[(2*S*)-3-アセチルチオ-2-メチ

ルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン (**42**) とした。最後にこの化合物 **42** を濃アンモニア水溶液で処理することにより化合物 **35a** を合成した。なお化合物 **42** は反応後、反応溶媒の DMF を減圧下留去し得られる残留物を単離精製することなく濃アンモニア水溶液で処理することにより目的物の化合物 **35a** へと導くことができ、比較的簡便な合成法で化合物 **35a** を合成することができた。



Reagents and conditions: (a) 47% HBr aq. 120 °C, 2.5 hr; (b) Boc-L-Cys-OH, *N,N*-diisopropylethylamine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 2.5 hr; (c) 4 M HCl in dioxane, rt 1 hr; (d) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate **20**, triethylamine, DMF, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, overnight; (e) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 1 hr.

**Scheme 7.** 新規 *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 **35a** の合成

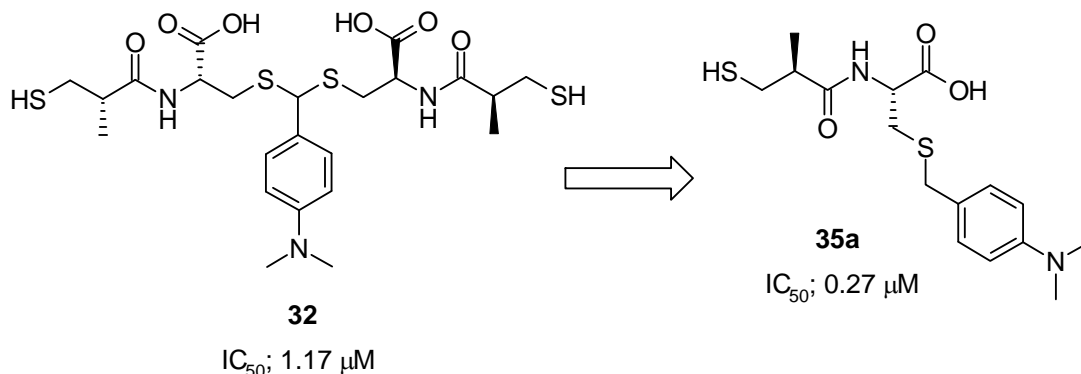


Reagents and conditions: (a) 2 M HCl aq. 60 °C, overnight; (b) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-acetylthio-2-methylpropionate (**41**), triethylamine, DMF, rt, overnight; (c) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 1 hr.

**Scheme 8.** 化合物 **35a** の別合成ルート

第2項 化合物 **35a** のロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用と酵素阻害選択性

合成した *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 **35a** の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用（測定方法は第1章第2節第1項に記載）を確認したところ、IC<sub>50</sub> 値が 0.27 μM であり、*N*-メルカプトアシルチオアセタール誘導体 (**32**) (IC<sub>50</sub>: 1.17 μM) より約4倍 LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が向上した (**Figure 28**)。



**Figure 28.** 化合物 **32** および **35a** の構造式と LTA<sub>4</sub>H 阻害作用

また本化合物の他の酵素に対する酵素選択性を確認した。**Table 5** には LTA<sub>4</sub>H と同属の MA 族に属する代表的な亜鉛含有金属酵素に対する阻害作用を示す。その結果、化合物 **35a** は ACE を除く他の亜鉛含有金属酵素に対して酵素選択性を示した。

**Table 5.** 化合物 **35a** の LTA<sub>4</sub>H および他の亜鉛含有金属酵素に対する阻害作用

Enzyme	Compound <b>35a</b>
	IC <sub>50</sub> or % inhibition at 100 μM
LTA <sub>4</sub> hydrolase (LTA <sub>4</sub> H)	0.27 μM
Angiotensin-converting enzyme (ACE)	0.52 μM
Aminopeptidase M	42%
Endopeptidase 24.11	16%
Endothelin-1 converting enzyme	8%
Type I collagenase	3%
Type III collagenase	NI

NI = no inhibition

## 第4節 化合物 35a のカラゲニン誘発耳介浮腫モデル（マウス）における薬理効果

### 第1項 実験の目的

序章でも述べたが、 $LTB_4$ は炎症性メディエーターの一つとして多形核白血球（好中球）のケモキネシス、化学走性および凝集反応を誘導し、これらの細胞の血管内皮細胞への吸着を促進する。その結果、血管透過性が亢進し浮腫が形成されるなど炎症反応を引き起こす。

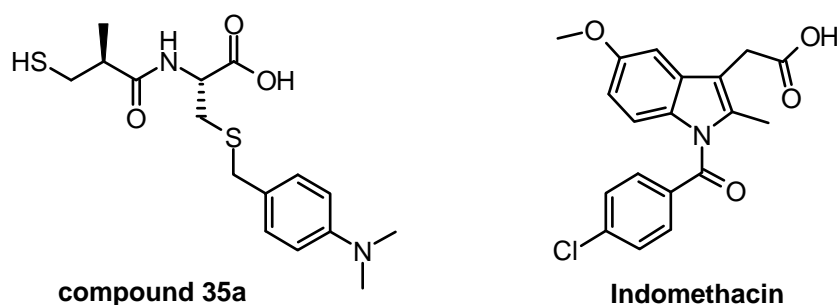
特に、炎症反応の初期にあたる第1期は、局所刺激の加わった部位でケミカルメディエーターの遊離が起こり、血管内皮細胞が変化して血管が拡張し血管の透過性が亢進する（血管透過性亢進期）。さらに第2期では白血球が血管内皮に接着し、血管外へと滲出し病巣へ遊走する（白血球遊走期）（序章 **Figure 1**）。このような時期には  $LTB_4$  の関与が非常に大きいものと考えられる。

そこでカラゲニン誘発マウス皮膚炎モデルの初期相において、 $LTB_4$  のマウス耳介炎症での役割と、新たに見出した化合物 35a の本モデルにおける効果について検討を行った。

また本モデルにおけるケミカルメディエーターの役割について明確にする目的で、アラキドン酸カスケードにおけるもう一方の代謝経路であるシクロオキシゲナーゼの阻害剤であるインドメタシンの効果に対しても検討を行った。さらに臨床応用を想定し、化合物 35a とインドメタシンの併用効果についても検討を行った。

### 第2項 試験方法

評価化合物は  $LTA_4H$  阻害剤として化合物 35a およびシクロオキシゲナーゼ阻害剤としてインドメタシンを使用した。本モデルには同系交配の6-7週齢の雄ICRマウスを使用し、対照群は調製液のみを、また薬物投与群として化合物 35a (100 mg/kg) およびインドメタシン (5 mg/kg) を経口投与した (**Figure 29**)。各化合物経口投与1時間後、カラゲニンをマウス耳に皮内投与した。カラゲニン処置30分後に耳介組織を採取し、 $LTB_4$  産生もしくはプロスタグランジン  $E_2$  ( $PGE_2$ ) 産生を測定した。またカラゲニン処置4時間後に耳介組織を採取し浮腫形成を、8時間後に耳介組織を採取し好中球の集積をミエロペルオキシダーゼ活性にて評価した。実験結果の統計解析はダネットの多重比較検定およびスチューデントの  $t$  検定を用いた。



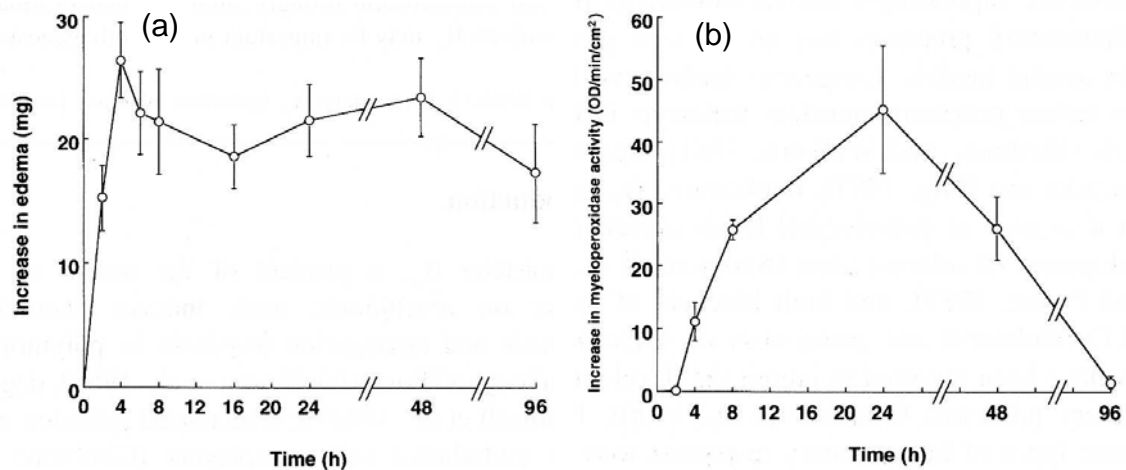
**Figure 29.** 化合物 35a およびインドメタシンの構造式



### 第3項 試験結果

#### カラゲニン誘発炎症

カラゲニン皮内処置後のマウス耳介における浮腫形成の経時変化を **Figure 30a** に示す。カラゲニン投与後 4 時間および約 48 時間にピークに達する浮腫の即時的な増加が認められた。カラゲニン皮内処置後のマウス耳介における好中球蓄積の経時変化を **Figure 30b** に示す。好中球蓄積はカラゲニン投与後およそ 24 時間でピークに達する緩やかな増加があり、96 時間で元の水準に戻った。LTB<sub>4</sub> および PGE<sub>2</sub> 濃度に関しては、予備実験において約 30 分後に最大に達する即時的な増加が認められ、その後 LTB<sub>4</sub> および PGE<sub>2</sub> 濃度は徐々に減少した。

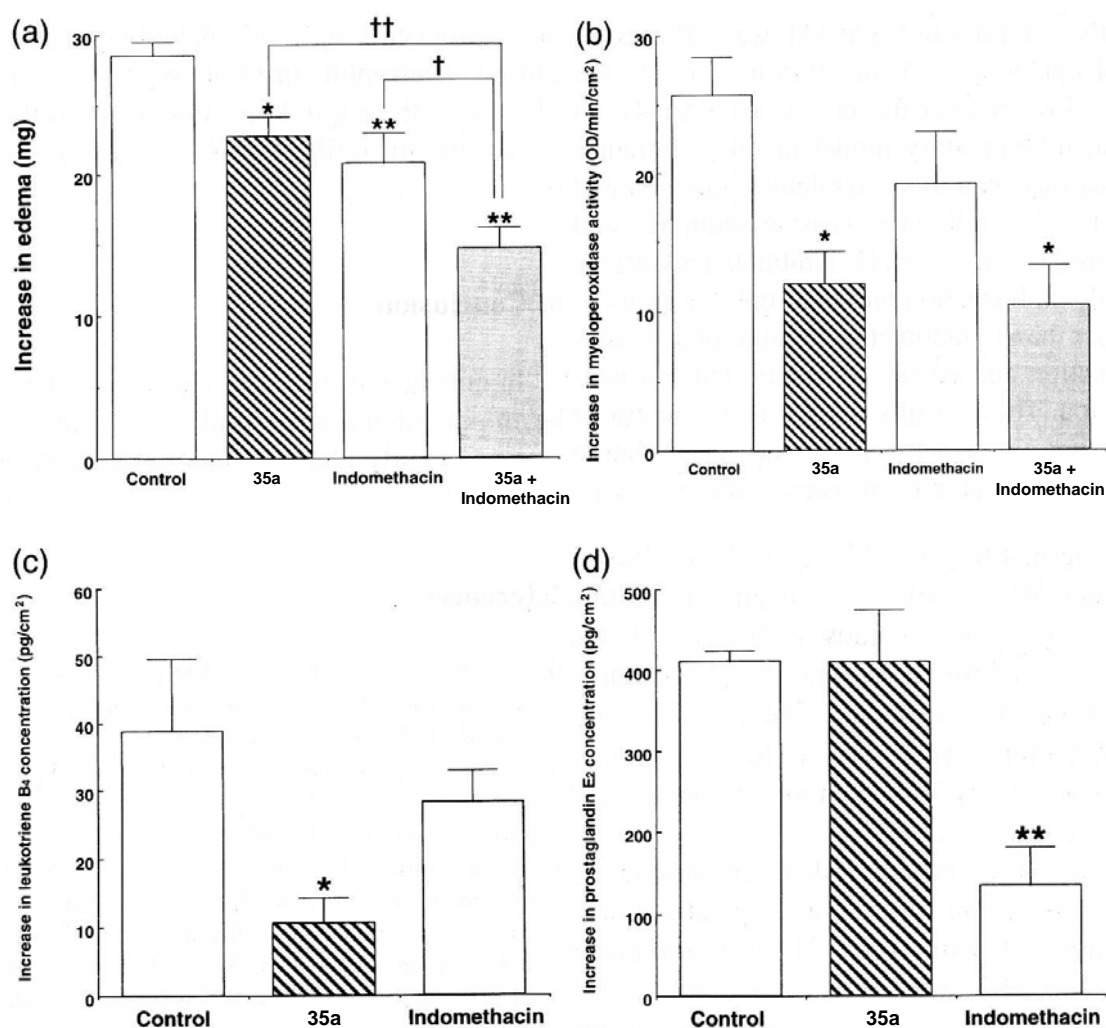


**Figure 30.** Carrageenan-induced mouse ear dermatitis (a: edema formation, b: neutrophil accumulation). The lines with vertical lines represent the means  $\pm$  SE of four animals. (a) Evaluation of edema formation was performed at various time points after carrageenan injection. (b) Myeloperoxidase activity was measured at various time points after carrageenan injection.

#### カラゲニン誘発炎症における化合物 35a およびインドメタシンの効果

カラゲニン誘発耳介浮腫、好中球集積、およびマウス耳介中の LTB<sub>4</sub> もしくは PGE<sub>2</sub> 濃度の上昇に関する化合物 35a の効果を **Figure 31** に示す。化合物 35a (100 mg/kg 経口投与) はカラゲニン処置 4 時間後において浮腫形成を有意に抑制し(約 20%抑制) (**Figure 31a**)、そしてカラゲニン処置 8 時間後において好中球集積を有意に抑制した(約 53%抑制) (**Figure 31b**)。化合物 35a はまたカラゲニン処置 30 分後において LTB<sub>4</sub> 濃度の増加を抑制したが(約 73%抑制) (**Figure 31c**)、それに対して PGE<sub>2</sub> 濃度の増加に関しては何の影響も及ぼさなかった (**Figure 31d**)。一方、インドメタシン (5 mg/kg 経口投与) は浮腫形成を抑制したが(約 27%抑制) (**Figure 31a**)、好中球集積は抑制しなかった (**Figure 31b**)。またインドメタシンは PGE<sub>2</sub> 濃度の増加を抑制したが(約 67%抑制) (**Figure 31d**)、それに対して LTB<sub>4</sub> 濃度の増加に関しては何の影響も及ぼさなかった (**Figure 31c**)。

化合物 **35a** およびインドメタシンはともに浮腫形成を抑制したので、次にカラゲニン誘発浮腫形成における併用治療の効果を確認した。その結果、併用投与はおのこの単独投与よりも強く浮腫形成を抑制した（約 48%抑制）（**Figure 31a**）。併用投与はまた好中球集積を抑制したが（約 59%抑制）、その効果は化合物 **35a** 単独の抑制効果とほぼ同じであった（**Figure 31b**）。



**Figure 31.** Effects of compound **35a** (100 mg/kg) and indomethacin (5 mg/kg) on carrageenan-induced mouse ear dermatitis (a: edema formation, b: neutrophil accumulation, c: leukotriene B<sub>4</sub> concentration, d: prostaglandin E<sub>2</sub> concentration). The bars with vertical lines represent the means ± SE of four to 14 animals. (a) The samples used for evaluation of edema formation were collected 4 h after carrageenan injection. (b) The samples used for measurement of myeloperoxidase activity were collected 8 h after carrageenan injection. (c, d) The samples used for measurement of leukotriene B<sub>4</sub> or prostaglandin E<sub>2</sub> were collected 30 min after carrageenan injection. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs. control group (by Dunnett's multiple comparison test). †  $P < 0.05$ , ††  $P < 0.01$  between two groups (by Student's  $t$  test).

#### 第4項 考察

本モデルにおいてカラゲニンの皮内投与はPGE<sub>2</sub>およびLTB<sub>4</sub>産生に伴う浮腫形成および好中球集積を誘導した。

化合物 **35a** は LTB<sub>4</sub> 産生、浮腫形成および好中球集積を抑制し、一方インドメタシンはPGE<sub>2</sub>産生および浮腫形成を抑制したが好中球集積は抑制しなかった。これらの結果からカラゲニン誘発皮膚炎の炎症初期相において LTB<sub>4</sub> は好中球集積だけでなく浮腫形成に重要な役割を担っていることを示唆していた。また本モデルにおいてプロスタグランジン等のシクロオキシゲナーゼ代謝物は浮腫形成に対してのみ、その役割を果たしていることを示唆していた。さらに化合物 **35a** とインドメタシンの併用療法はおのおのの薬剤単独投与よりも浮腫形成を強く抑制した。これらの結果から、浮腫形成はシクロオキシゲナーゼ代謝物と LTB<sub>4</sub> の相加的な効果によるものであると推定された。

本実験における化合物 **35a** およびインドメタシンの投与量は、それぞれ LTA<sub>4</sub>H およびシクロオキシゲナーゼ阻害においては十分量投与できていると考えられ、それぞれ LTB<sub>4</sub> および PGE<sub>2</sub> 産生を有意に抑制した。しかしながら両薬剤の併用投与においても浮腫を完全に抑制することができず、その約 52%に対して抵抗性を示した。これらの結果は、他のメディエーターが浮腫形成に関与していると考えられた。例えばこれまでにラットにおけるカラゲニン誘発浮腫においてはカリクレイン-キニン系の関連性が報告されている<sup>61)</sup>。したがって浮腫形成に関与する他のメディエーターの一つとしてブラジキニンが考えられた。

また好中球集積の約 41%が両薬剤の併用投与に対して抵抗性を示した。例えば腫瘍壊死因子、インターロイキン-1、インターロイキン-6 およびサイトカイン誘発好中球走化性因子がラットにおけるカラゲニン誘発胸膜炎で検出されており、これらのサイトカインは胸膜腔内投与により好中球集積を引き起こすことが報告されている<sup>62,63)</sup>。したがってこれらのサイトカインも本モデルにおける好中球集積に関与している可能性が考えられた。

#### 第5項 結論

カラゲニン誘発マウス耳介炎症の炎症初期相において LTB<sub>4</sub> が好中球集積と浮腫形成に関して重要な役割を担っていた。また新規 LTA<sub>4</sub>H 阻害剤である化合物 **35a** は、経口投与により LTB<sub>4</sub> 産生を抑制しそれに伴うマウス耳介炎症における浮腫形成および好中球集積を抑制した。さらに化合物 **35a** とシクロオキシゲナーゼ阻害剤インドメタシンの併用投与は強力に浮腫形成を抑制した。

#### 第5節 化合物 **35a** のその他動物モデルにおける薬理効果と安全性

新規 *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体化合物 **35a** は5-ヒドロペルオキシエイコサテトラエン酸 (5-HPETE) 誘発マウス耳介浮腫モデルにおいて、50 mg/kg の経口投与により LTB<sub>4</sub> 産生を有意に抑制した。このとき、LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> の産生には影響を及ぼさなかった。また同モデルにおいて化合物 **35a** の経口投与 (50 mg/kg×2) により組織中の好中球集積を

有意に抑制した。さらにアラキドン酸誘発マウス耳介浮腫モデルにおいても化合物 **35a** の経口投与 (50 mg/kg) で組織中の  $LTB_4$  産生を有意に抑制した。また同モデルにおいて化合物 **35a** の経口投与 (50 mg/kg $\times$ 2) により組織中の好中球集積を有意に抑制した<sup>46)</sup>。

化合物 **35a** はコラーゲン誘発マウス関節炎モデルにおいて 100 mg/kg/day の経口投与により関節炎を抑制し、骨破壊スコアを抑制した。その際、体重減少等の副作用は認められなかった。さらに化合物 **35a** は MDP (ムラミルジペプチド) 誘発マウス関節炎モデルにおいて、滑膜細胞の増殖を有意に抑制した<sup>64)</sup>。

一方、化合物 **35a** のマウスにおける安全性試験を行ったところ、7日間 100 mg/kg の経口投与で特に重篤な障害は認められなかった<sup>65)</sup>。

## 第6節 結果と考察

以上の検討結果から、次のような知見が得られた。

1. (4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体チアゾリジン 2位の変換を行っていた際に見出したチオアセタール誘導体 **30** に、*N*-アシル基として(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基を導入した化合物 **32** を合成したところ、 $IC_{50}$  値が 1.17 $\mu$ M で  $LTA_4H$  を阻害した。しかしながら化合物 **32** は分子量が比較的大きく、分子内に2つのカルボキシル基を持つことから膜透過性・吸収に問題があると推測された。
2. *N*-メルカプトアシルチオアセタール誘導体 **32** から構造変換を行った *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 **35a** の  $LTA_4H$  に対する  $IC_{50}$  値は 0.27  $\mu$ M であった。本化合物は低分子化を行ったにもかかわらず親化合物 **32** ( $IC_{50}$ ; 1.17  $\mu$ M) より約 4 倍  $LTA_4H$  阻害作用が向上した。この結果より、*N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体においても  $LTA_4H$  阻害作用を発現するためには、*N*-アシル基として一つの(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基が有効であると考えられた。また阻害剤が  $LTA_4H$  の Arg<sup>563</sup> と相互作用することを考慮すると、化合物内に一つのカルボキシル基が必要であると考えられた。また化合物 **35a** は化合物 **32** と比べ化合物の物性が改善されていると推測された。
3. カラゲニン誘発マウス耳介浮腫モデルにおいて、マウス耳介炎症の炎症初期相では  $LTB_4$  が炎症の病態形成に関して重要な役割を担っていることが示唆された。
4. カラゲニン誘発マウス耳介浮腫モデルにおいて、新規  $LTA_4H$  阻害剤である化合物 **35a** は経口投与によりマウス耳介炎症における  $LTB_4$  産生を抑制し、それに伴う浮腫形成および好中球集積を抑制した。さらに化合物 **35a** とシクロオキシゲナーゼ阻害剤インドメタシンの併用投与はさらに強力に浮腫形成を抑制した。これらの結果から化合物 **35a** は経口投与が可能であり、膜透過性・吸収性が良いことが推測された。また本化合物は経口投与により炎症部位でその作用を発揮することが確認された。さらに  $LTA_4H$  阻害剤が炎症性疾患に効果を示すことが示唆された。
5. 化合物 **35a** は関節炎モデル等、他の疾患モデルでも経口投与により効果を示した。ま

た数日間の連続投与においても特に重篤な障害が認められなかったことから、*N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体は膜透過性・吸収性が良く、これら誘導体から比較的安全性の高い薬剤が開発できる可能性が示唆された。

## 第7節 結論

(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体チアゾリジン 2 位の変換を行っていた際に見出したチオアセタール誘導体 **30** に、*N*-アシル基として(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基を導入した化合物 **32** を合成したところ、 $IC_{50}$  値が  $1.17\mu M$  で  $LTA_4H$  を阻害した (Figure 32)。しかしながら化合物 (**32**) は分子内にカルボキシル基を二つ有しており、また分子量が約 580 と比較的大きい。そのため膜透過性・吸収に問題があると考えられた。そこで化合物 **32** を構造変換によりドラッグライクな化合物に変換し経口投与可能な化合物を創出する目的で、分子量が小さくまた分子内のカルボキシル基を一つにした *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 **35a** (Figure 32) をデザインし合成を行った。その結果以下の結論を見出した。

1. 新規 *N*-メルカプトアシル-L-システイン化合物 **35a** は  $LTA_4H$  阻害作用 ( $IC_{50}$ ;  $0.27\mu M$ ) を有することを見出した。また本化合物は *N*-メルカプトアシルチオアセタール誘導体 (**32**) ( $IC_{50}$ ;  $1.17\mu M$ ) より約 4 倍  $LTA_4H$  阻害作用が向上した。
2. 化合物 **35a** は他の亜鉛含有金属酵素に対しては阻害作用を示さず酵素選択性を示した。しかしながらアンジオテンシン変換酵素 (ACE) に対しては阻害作用を示した ( $IC_{50}$ ;  $0.52\mu M$ )。
3. カラゲニン誘発耳介浮腫モデルにおいて新規  $LTA_4H$  阻害剤である化合物 **35a** は、経口投与により  $LTB_4$  産生を抑制し、それに伴うマウス耳介炎症における浮腫形成および好中球集積を抑制した。さらに化合物 **35a** とシクロオキシゲナーゼ阻害剤インドメタシンの併用投与はさらに強力に浮腫形成を抑制した。
4. 化合物 **35a** は経口投与により炎症部位でその作用を発揮することが確認され、さらに  $LTA_4H$  阻害剤が炎症性疾患に効果を示す可能性を見出した。

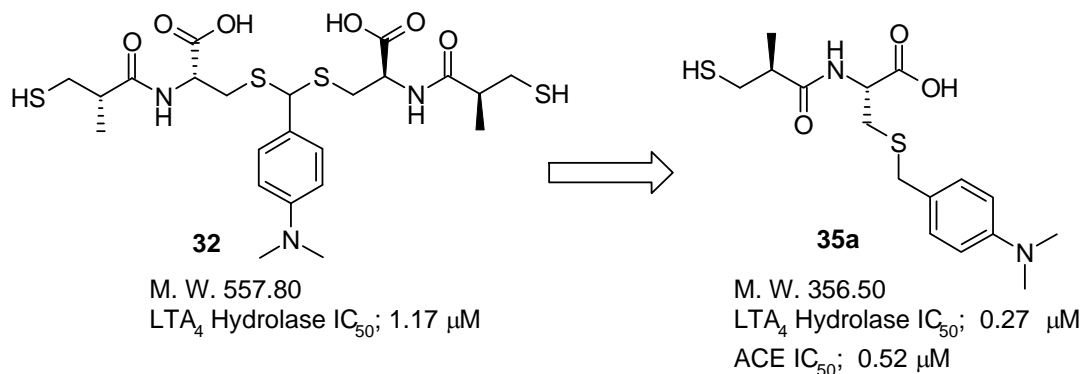


Figure 32. 化合物 **32** および化合物 **35a** の構造式

## 第2章 実験の部

### 合成実験

使用機器、使用試薬および溶媒については第1章実験の部を参照のこと。

#### (2*RS*, 4*R*)-2-(4-ジメチルアミノフェニル)チアゾリジン-4-カルボン酸 (29)

L-システイン (1.0 g, 8.3 mmol) および *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド (1.2 g, 8.3 mmol) にエタノール (30 ml) を加え、この懸濁液を室温で3日間攪拌した。固体を濾取し、エタノール、水で順次洗浄することにより標記化合物を淡黄色固体として得た (1.3 g, 収率 60%)。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 2.88 (s, 3H), 2.89 (s, 3H), 3.04 (dd, *J* = 10.1, 8.5 Hz, 0.5H), 3.16 (dd, *J* = 10.1, 3.8 Hz, 0.5H), 3.27 (dd, *J* = 10.1, 7.3 Hz, 0.5H), 3.35 (dd, *J* = 10.1, 7.3 Hz, 0.5H), 3.83 (dd, *J* = 8.5, 7.3 Hz, 0.5H), 4.27 (dd, *J* = 7.3, 3.8 Hz, 0.5H), 5.40 (s, 0.5H), 5.53 (s, 0.5H), 6.67 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H); IR (KBr) 3434, 2931, 1616, 1536, 1371, 1333 cm<sup>-1</sup>.

#### (2*R*)-2-アミノ-3-[[ (2*R*)-2-アミノ-2-カルボキシエチルチオ ]-(4-ジメチルアミノフェニル)]メチルチオプロピオン酸 (30)

L-システイン塩酸塩一水和物 (27) (26.3 g, 0.15 mol) を水 (45 ml) に溶解し 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 (75 ml, 0.15 mol) を加え、外温 50 °C で攪拌した。この溶液に *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド (22.4 g, 0.15 mmol) の温エタノール (75 ml) 溶液を加え、外温 50 °C で 10 分間攪拌すると固体が析出した。反応液を室温に戻し 30 分間攪拌した後、氷冷下静置した。析出固体を濾取し、水およびエタノールで順次洗浄することにより標記化合物を無色固体として得た (20.3 g, 収率 72%)。

<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O + DCl, 400 MHz) δ 3.10 (dd, *J* = 15.0, 7.0 Hz, 1H), 3.27 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 3.31 (s, 6H), 3.34-3.35 (m, 1H), 4.22 (dd, *J* = 7.0, 4.5 Hz, 1H), 4.32 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 5.39 (s, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.77 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H); IR (KBr) 2938, 1614, 1526, 1362, 1227, 1168, 1054 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +12.9 ° (c = 1.0, 1N-NaOH aq); mp 192.0-192.7 °C; MS (ESI, Neg.) 372 [M-H]<sup>-</sup>.

または、(2*RS*, 4*R*)-2-(4-ジメチルアミノフェニル)チアゾリジン-4-カルボン酸 (29) (0.25g, 1.0 mmol) および L-システイン (31) (0.12 g, 1.0 mmol) に水 (10 ml) およびエタノール (10 ml) を加え、外温 50 °C で 3 時間攪拌した。反応液を減圧濃縮後、析出固体を濾取し水で洗浄することにより標記化合物を淡黄色固体として得た (0.21 g, 収率 57%, Scheme 4 実験 4)。

#### (2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニルクロリド (33)

(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 (13.5 g, 60.2 mol) に塩化チオニル (5.7 ml,

78.3 mmol) を加え、*N,N*-ジメチルメチルホルムアミド (一滴) を加え室温で一晩攪拌した。反応液を減圧下濃縮することにより標記化合物を淡黄色油状物として得た (定量的)。本化合物は精製することなく、次の反応に用いた。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.46 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 3.20-3.32 (m, 2H), 3.39 (dd, *J* = 7.3, 13.7 Hz, 1H), 7.45-7.49 (m, 2H), 7.58-7.62 (m, 1H), 7.96 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H); IR (film) 1768, 1668, 1448, 1209, 1177 cm<sup>-1</sup>.

(2*R*)-2-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニルアミノ]-3-[[2*R*)-2-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニルアミノ]-2-カルボキシエチルチオ]-(4-ジメチルアミノフェニル)]メチルチオプロピオン酸 (34)

(2*R*)-2-アミノ-3-[[2*R*)-2-アミノ-2-カルボキシエチルチオ]-(4-ジメチルアミノフェニル)]メチルチオプロピオン酸 (30) (15.1 g, 40.4 mmol) に 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 (120 ml) および水 (200 ml) を加え氷冷下攪拌し、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニルクロリド (33) (14.6 g, 60.2 mmol) を 10 分間かけて滴下した。反応液を氷冷下 1 時間さらに室温で 1 時間攪拌した。反応後、反応液を酢酸で酸性とした。酢酸エチル (約 1 l) を加え、不溶物を濾去し濾液を分配した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール = 100/9) にて精製を行うことにより標記化合物を淡黄色油状物として得た (22.1 g, 収率 93%)。

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 1.13 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.14 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.61-2.78 (m, 5H), 2.84 (s, 6H), 3.03-3.15 (m, 5H), 4.40-4.51 (m, 2H), 5.15 (s, 1H), 6.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.47-7.58 (m, 4H), 7.63-7.70 (m, 2H), 7.83 (dd, *J* = 8.4, 1.3 Hz, 2H), 7.90 (dd, *J* = 8.4, 1.3 Hz, 2H), 8.31-8.34 (m, 2H), 12.85 (s, 2H); IR (film) 3305, 1732, 1661, 1520, 1208, 1176 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -63.3 ° (c = 1.0, MeOH); MS (ESI, Neg.) 784 [M-H]<sup>-</sup>.

(2*R*)-3-[[2*R*)-2-カルボキシ-2-[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニルアミノ]エチルチオ]-(4-ジメチルアミノフェニル)]メチルチオ-2-[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニルアミノ]プロピオン酸 (32)

(2*R*)-2-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニルアミノ]-3-[[2*R*)-2-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニルアミノ]-2-カルボキシエチルチオ]-(4-ジメチルアミノフェニル)]メチルチオプロピオン酸 (34) (2.3 g, 2.9 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (23 ml) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで洗浄した後、酢酸で酸性とした。この溶液を酢酸エチルで抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール = 100/6) にて精製を行うことにより標記化合物を無色固体として得た (22.1 g, 収率 93%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.20-1.26 (m, 6H), 1.54-1.58 (m, 1H), 1.72-1.76 (m, 1H), 2.51-2.58 (m, 4H), 2.79-2.87 (m, 3H), 2.91-2.96 (m, 1H), 2.98 (s, 6H), 3.00-3.08 (m, 1H), 3.28-3.31 (m, 1H), 4.90-4.94 (m, 1H), 5.00-5.04 (m, 1H), 5.16 (s, 1H), 6.84 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.13 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.41 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H); IR (film) 3305, 2557, 1732, 1651, 1520, 1217 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -66.9 ° (c = 1.0, MeOH); mp 79.0-98.0 °C; MS (ESI, Neg.) 576 [M-H]<sup>-</sup>.

#### *N*-tertブトキシカルボニル-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (38)

4-ジメチルアミノベンジルアルコール (36) (2.0 g, 13 mmol) に 47%臭化水素酸 (14 ml) を加え封管中 120 °C で 2.5 時間攪拌した。反応液を室温まで戻した後、47%臭化水素酸を減圧下留去することにより 4-ジメチルアミノベンジルブロミド (37) (4.8 g) を得た。この化合物 37 (4.8 g) へ *N,N*-ジイソプロピルエチルアミン (4.7 ml, 27 mmol) を含む *N*-Boc-*L*-システイン<sup>60)</sup> (1.3 g, 6.0 mmol) の塩化メチレン (30 ml) 溶液を氷冷下加えた。反応液を 2.5 時間室温で攪拌した後、減圧下濃縮した。残留物に酢酸エチルを加え、5%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/2) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (1.3 g, 2 工程で収率 62%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.46 (s, 9H), 2.88-2.93 (m, 8H), 3.67 (s, 2H), 4.42-4.52 (m, 1H), 5.34 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 6.74 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.17 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H); IR (film) 3415, 2978, 1711, 1613, 1520, 1246, 1166, 1050 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -29.8 ° (c = 1.0, MeOH); MS (ESI, Neg.) 353 [M-H]<sup>-</sup>.

#### *N*-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (39)

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (38) (25 g, 71 mmol) にアニソール (15 ml, 0.14 mol) および 4 M 塩化水素 1,4-ジオキサン溶液 (260 ml) を加えた。この反応液を室温で 1 時間攪拌し、減圧下濃縮した。アニソールを除くため残留物をジエチルエーテルで洗浄し、減圧下乾燥させることにより *S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-*L*-システイン二塩酸塩を得た。この *S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-*L*-システイン二塩酸塩 (18 g, 55 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (100 ml) および塩化メチレン (600 ml) の懸濁液に (2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) (18 g, 55 mmol) およびトリエチルアミン (26 ml, 0.19 mol) を加えた。反応液を室温で終夜攪拌した後、減圧下濃縮した。残留物に酢酸エチルを加え、5%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100



／10)にて精製を行うことにより標記化合物を無色固体として得た (9.3 g, 収率 38%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.27 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 2.61-2.70 (m, 1H), 2.88-3.00 (m, 8H), 3.17 (dd,  $J = 13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.28 (dd,  $J = 13.7, 8.3$  Hz, 1H), 3.62 (s, 2H), 4.70-4.71 (m, 1H), 6.49 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 6.75 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.14 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.41 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3342, 2957, 2935, 2468, 1727, 1675, 1643, 1515, 1309, 1212  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -132.2° ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 112.0-116.0 °C; MS (ESI, Pos.) 461  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 459  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

### *S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (35a)

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (39) (9.1 g, 20 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (91 ml) を加え、この溶液を室温で 1 時間攪拌した。反応液を氷冷下酢酸で酸性とした後、酢酸エチルで抽出した。有機層を水および飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/10) にて精製を行い、2-プロパノール/ジイソプロピルエチルエーテル (1/9) にて再結晶化を行うことにより標記化合物を無色結晶として得た (5.8 g, 収率 81%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.22 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.61 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.37-2.46 (m, 1H), 2.49-2.56 (m, 1H), 2.77-2.84 (m, 1H), 2.91-3.01 (m, 8H), 3.67 (s, 2H), 4.68-4.72 (m, 1H), 6.36 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 6.78 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR (KBr) 3362, 2966, 2929, 2900, 2542, 1707, 1644, 1523, 1217  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -73.7° ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 104.4-105.8 °C; MS (ESI, Pos.) 357  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 355  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ; Anal. Calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$ : C, 53.91; H, 6.79; N, 7.86; S, 17.99. Found: C, 54.07; H, 6.87; N, 7.71; S, 17.91.

### *S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (40)

*L*-システイン塩酸塩一水和物 (27) (11.2 g, 64.0 mmol) および 4-ジメチルアミノベンジルアルコール (36) (9.7 g, 64.0 mmol) に 2 M 塩酸 (320 ml) を加え、この溶液を外温 60 °C で一晩攪拌した。反応液を室温に戻した後、氷冷下 4 M 水酸化ナトリウム水溶液で pH 7 とした。析出した固体を濾取し、水、エタノール、酢酸エチルで順次洗浄することにより標記化合物を無色固体として得た (14.7 g, 収率 91%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  2.94-3.04 (m, 2H), 3.14 (s, 6H), 3.91 (s, 2H), 4.21 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.84 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR (KBr) 2947, 1615, 1579, 1523, 1490, 1420, 1343  $\text{cm}^{-1}$ .

### (2*S*)-3-アセチルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (41)

(2*S*)-3-アセチルチオ-2-メチルプロピオン酸 (50 g, 0.31 mol) および *p*-ニトロフェノール (43 g, 0.31 mol) の塩化メチレン (600 ml) 溶液に *N,N'*-ジシクロヘキシルカルボジイミド (64 g, 0.31 mol) を氷冷下数回に分けて加えた。反応液を氷冷下 1 時間さらに室温で 3 時間攪拌した。不溶物を濾取にて取り除き、濾液を減圧下濃縮した。残留物にジエチルエーテルを加え、有機層を 5%炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) にて精製を行うことにより標記化合物を淡黄色油状物として得た (85 g, 収率 97%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.41 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.98-3.03 (m, 1H), 3.21-3.23 (m, 2H), 7.29 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 8.27 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H); IR (film) 1762, 1694, 1526, 1348, 1206, 1136 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -77.3 ° (c = 0.99, MeOH).

#### *N*[(2*S*)-3-アセチルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (42)

*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (40) (14.0 g, 55.0 mmol) および(2*S*)-3-アセチルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (41) (15.6 g, 55.0 mmol) の *N,N'*-ジメチルホルムアミド (280 ml) 溶液にトリエチルアミン (8.4 ml) を加え、室温で一晩攪拌した。反応液を減圧下濃縮し、粗 *N*[(2*S*)-3-アセチルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (42) を得た。

粗精製物を一部シリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/6) にて精製を行うことにより標記化合物を無色固体として得た。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.21 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 2.31 (s, 3H), 2.49-2.55 (m, 1H), 2.88-3.10 (m, 10H), 3.66 (s, 2H), 4.68-4.73 (m, 1H) 6.49 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.80 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.19 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H); IR (KBr) 3345, 2971, 2925, 1699, 1678, 1645, 1518, 1208, 1136 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -124.3 ° (c = 1.0, MeOH); mp 90.4-94.2 °C.

この粗 *N*[(2*S*)-3-アセチルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (42) に 28%アンモニア水溶液 (200 ml) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで洗浄した後、酢酸を用い pH 7 とした。水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル) にて精製を行うことにより *S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (35a) を無色固体として得た (5.9 g, 2 工程で収率 30%)。

薬理学実験

カラゲニン誘発マウス耳介浮腫モデル

## 1. 使用動物および飼育環境条件

同系交配の 6-7 週齢の雄 ICR マウスを、12 時間の明暗サイクル（7:00 に点灯）で室温  $23 \pm 1$  °C および湿度を  $55 \pm 10\%$  で保ち飼育した。食事と水は自由に与えた。すべての実験はヘルシンキ宣言の提言に従って実施した。

## 2. 被験物質

化合物 **35a** は参天製薬株式会社中央研究所で合成した。シクロオキシゲナーゼ阻害剤であるインドメタシンは和光純薬から購入した。これらの試薬は経口投与のため 1%メチルセルロース溶液に懸濁し投与した。皮膚炎誘発のための  $\lambda$ -カラゲニンシグマ-アルドリッチ社から購入した。この物質は生理食塩水に懸濁させ、投与した。

## 3. カラゲニン誘発マウス耳介浮腫モデル

1%カラゲニンの 25  $\mu$ l を 27-ゲージ針のマイクロシリンジを使用しマウス外耳に皮内投与により処置した。皮内投与処置後各時間で過剰量の麻酔剤により致死させ、処置部位を重量測定用に 8 mm ガスケットパンチで打ち抜き、又はミエロペルオキシダーゼ活性測定用に 6 mm ガスケットパンチで打ち抜いた後、試料を 0.5%ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド/80 mM リン酸緩衝液中に静置した。

## 4. 本モデルにおける化合物 **35a** およびインドメタシンの投与方法

対照群は調製液のみをマウスに経口投与し、化合物 **35a** は 100 mg/kg およびインドメタシンは 5 mg/kg をマウスに経口投与した。経口投与 1 時間後、1%カラゲニン 25  $\mu$ l を 27-ゲージ針のマイクロシリンジを使用しマウス耳に皮内投与により処置した。浮腫形成と好中球集積の測定用に、それぞれ皮内投与処置 4 時間および 8 時間後にマウスを過剰量の麻酔剤により致死させ、カラゲニン処置部位を各ガスケットパンチで打ち抜いた。また  $LTB_4$  産生および  $PGE_2$  産生測定用に、カラゲニン処置 30 分後に処置部位を 6 mm ガスケットパンチで打ち抜き、エタノール 1 ml 中に静置した。

## 5. 浮腫形成の評価

浮腫形成の評価は打ち抜いた耳介組織を重量測定することにより行った。

## 6. ミエロペルオキシダーゼ活性の測定

サンプルをホモジナイズ（均質化）し、2 回凍結と融解を繰り返し行い、次いで 15 分間遠心分離（12000  $\times$  g）を行った。上清の一部（30  $\mu$ l）を 96 穴プレート中にてリン酸緩衝生理食塩水の 100  $\mu$ l および 0.22 M リン酸緩衝液 75  $\mu$ l で希釈し、次にテトラメチルベンジジン/過酸化水素を含む酵素基質（Amersham 社製）35  $\mu$ l と 37 °C で 5 分間混合した。1.0 M 硫酸 30  $\mu$ l を加えることにより反応を止め、各サンプルの吸光度を波長 450

nm にてマイクロタイタープレートリーダーで測定した。活性は打ち抜いた耳介組織 (0.2826 cm<sup>2</sup>) の面積を用い変換することにより OD/min/cm<sup>2</sup> として表した。

#### 7. LTB<sub>4</sub> もしくは PGE<sub>2</sub> の測定

サンプルをホモジナイズ (均質化) し、15 分間遠心分離 (12000×g) を行った。上清を減圧下濃縮し、残留物を 0.1 M クエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 3.0) 3 ml に溶解した。この溶液を C18 SepPak カラム (Waters 社製) に展開し、1%酢酸含有 25%メタノール水溶液で洗浄した。LTB<sub>4</sub> もしくは PGE<sub>2</sub> は 1%酢酸含有 80%メタノール水溶液で溶出し、凍結乾燥を行った。この抽出方法では LTB<sub>4</sub> もしくは PGE<sub>2</sub> の回収率がそれぞれ 89%および 96%であった。LTB<sub>4</sub> もしくは PGE<sub>2</sub> は各酵素免疫アッセイキット (Amersham 社製) を用いることにより定量化した。LTB<sub>4</sub> もしくは PGE<sub>2</sub> 量は打ち抜いた耳介組織 (0.2826cm<sup>2</sup>) の面積を用い変換することにより pg/cm<sup>2</sup> の単位として表した。

#### 8. 統計解析

実験結果の統計解析はダネットの多重比較検定およびスチューデントの *t* 検定を用いた。

### 第3章 *N*-メルカプトアシルアミノ酸誘導体の構造展開とロイコトリエンA<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用

#### 第1節 化合物探索の目的および分子設計

前章で述べたように、新規メルカプトアシル-L-システイン誘導体 **35a** は LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を有し (IC<sub>50</sub>; 270 nM)、ACE を除く他の亜鉛酵素に対して酵素選択性を示すことを見出した。本化合物はマウスの急性炎症モデル (耳介浮腫モデル) において経口投与により LTB<sub>4</sub> の産生を抑制し、それに伴う浮腫形成および好中球集積を抑制することを見出した。またマウスの慢性炎症モデル (関節炎モデル) に対し、経口投与により抗炎症効果を示すことを見出した。さらにメルカプトアシル-L-システイン誘導体に LTA<sub>4</sub>H 阻害作用があることはこれまでに報告されておらず新規性が高いと考えられた。

このように化合物 **35a** は臨床投与経路 (経口投与) において目的とする作用メカニズムで期待する薬効を示し、新規性が高く構造展開の可能性もあると考えられた。そこで本化合物をリード化合物とし構造変換を行うことによりさらに強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害し、ACE に対する酵素選択性が改善された化合物を創出することを目的とし、構造最適化 (リードオプティマイゼーション) を行うこととした。

化合物 **35a** の構造変換は **Figure 33** に示す主に A から D の4つのパートについて行うこととした。まず L-システイン以外のアミノ酸誘導体の可能性及び *p*-ジメチルアミノ基の効果等について検討することとした (Aパートの変換)。また第1章で述べたように、*N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体では(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基が最適であったが、メルカプトアシル-L-システイン誘導体においてもその置換基の効果について精査することとした (Bパートの変換)。同様に第1章で述べたように、*N*-メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体では、プロリン4位の置換基が4-*tert*-ブチルベンジルチオ基 (化合物 **3l**) もしくは4-シクロヘキシルベンジルチオ基 (化合物 **3m**) のようなより大きな置換基を導入した化合物は、さらに強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害した。このことからジメチルアミノ基以外の置換基の効果を確認することとした (Cパートの変換)。さらに、新たに置換基を導入することが可能であると考えられる *S*-ベンジル-L-システイン誘導体β位およびδ位についても置換基導入の効果について確認することとした (Dパートの変換)。

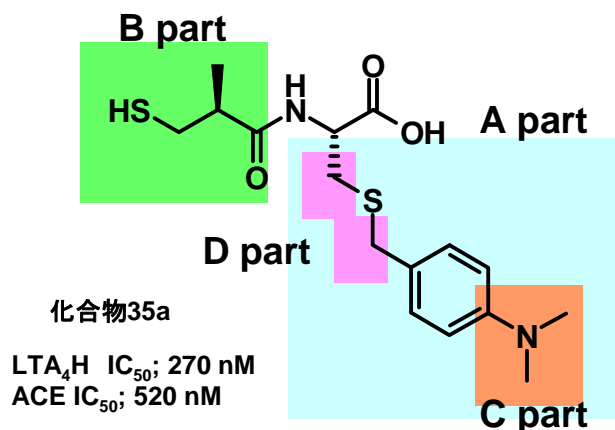
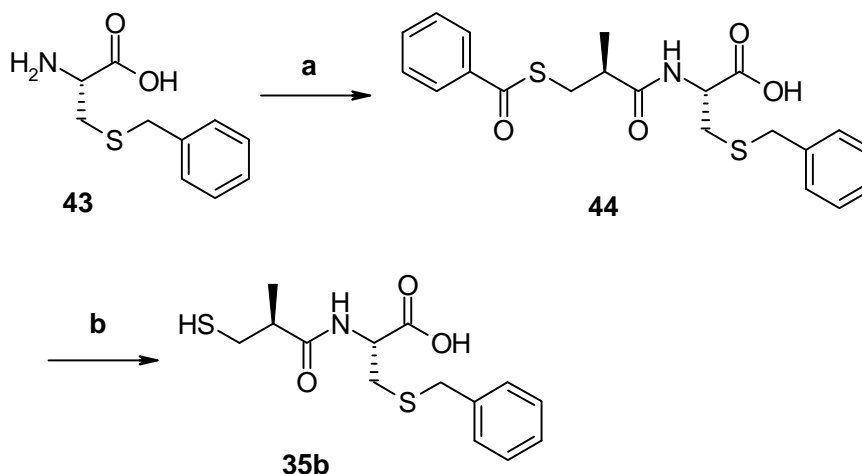


Figure 33. 化合物 35a の構造展開

## 第2節 *N*-メルカプトアシルアミノ酸誘導体の合成

上記 Figure 33 の A パート (Table 6, 化合物 35b–e) および B パート (Table 7, 化合物 61a–g) の構造変換、さらに C パートの変換における化合物 65q (Table 8) は化合物 35a と同様の合成法 (第2章第3節第1項参照) により合成を行った。

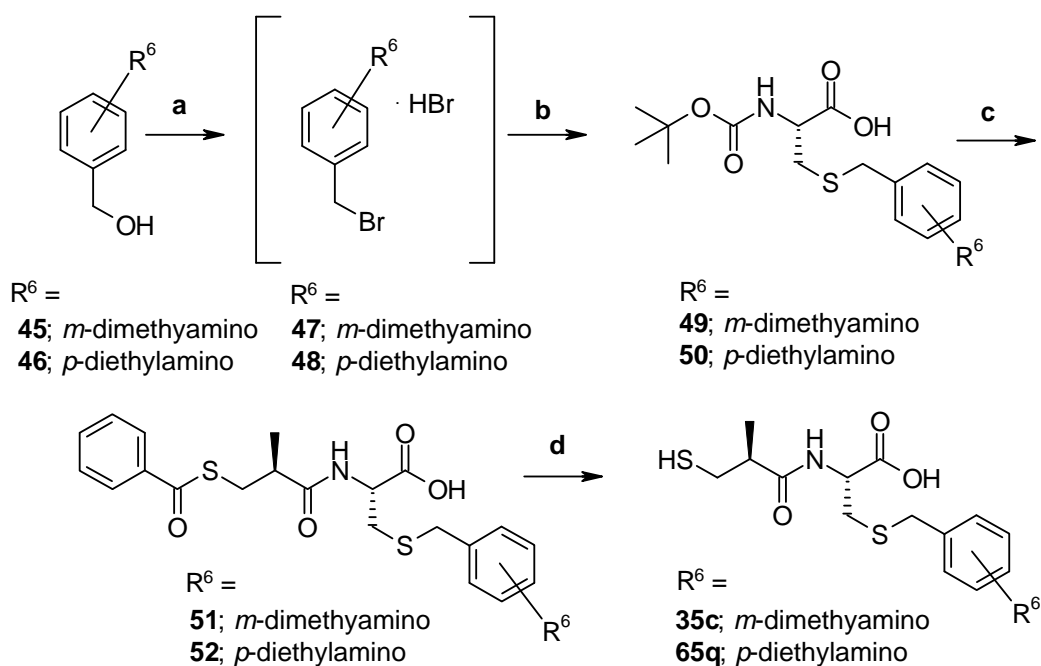
化合物 35b の合成は出発物質として *S*-ベンジル-L-システイン 43 を用い、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル 20 と反応させることにより *N*-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-ベンジル-L-システイン 44 とした。化合物 44 を濃アンモニア水溶液にて脱ベンゾイルを行うことにより目的の化合物 35b とした (Scheme 9)。



Reagents and conditions: (a) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate 20, triethylamine, DMF, dichloromethane, rt, overnight; (b) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 0.5 hr.

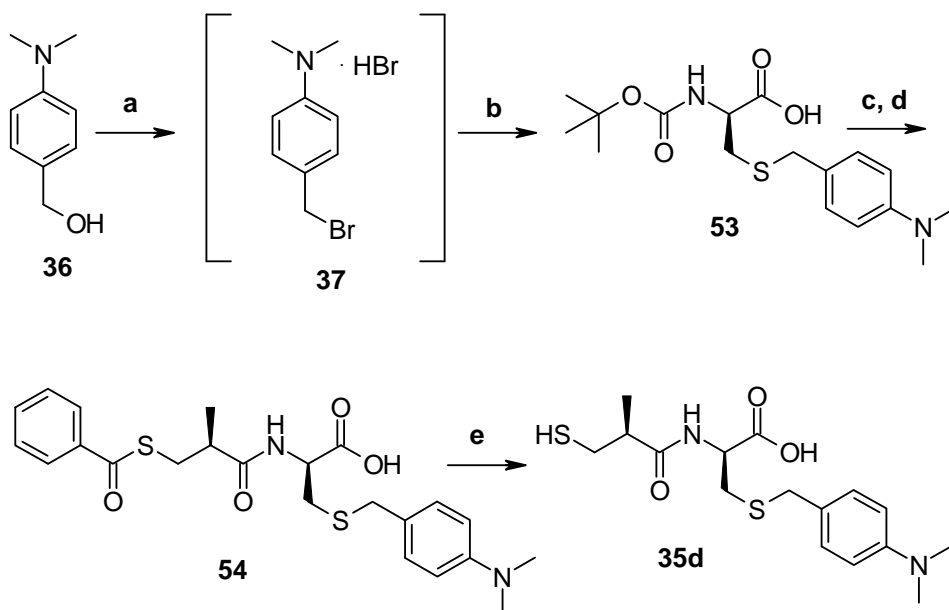
Scheme 9. *S*-ベンジル-L-システイン誘導体 35b の合成

化合物 **35c** および **65q** の合成は出発物質として *m*-ジメチルアミノベンジルアルコール (**45**) または *p*-ジエチルアミノベンジルアルコール (**46**) をそれぞれ用いることにより行った (Scheme 10)。化合物 **45** または化合物 **46** を臭化水素酸で処理することによりそれぞれ臭化物 **47** および **48** とし、次に *N,N*-ジイソプロピルエチルアミン存在下 *N*-Boc-L-システイン<sup>60</sup> と反応させることにより *N*-Boc-*S*-置換ベンジル-L-システイン誘導体 **49** および **50** とした。化合物 **49** および **50** の *N*-Boc 基を酸条件下で脱保護した後、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル **20** と縮合反応を行うことにより、*N*-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-置換ベンジル-L-システイン誘導体 **51** および **52** とした。最後に化合物 **51** および **52** を濃アンモニア水溶液で処理することにより、目的の *S*-置換ベンジル-*N*-[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-システイン誘導体 **35c** および **65q** とした。また化合物 **35d** および **35e** は *N*-Boc-D-システイン (Scheme 11) および *N*-Boc-L-ホモシステイン (Scheme 12) を用いることにより同様の合成法にて合成を行った。



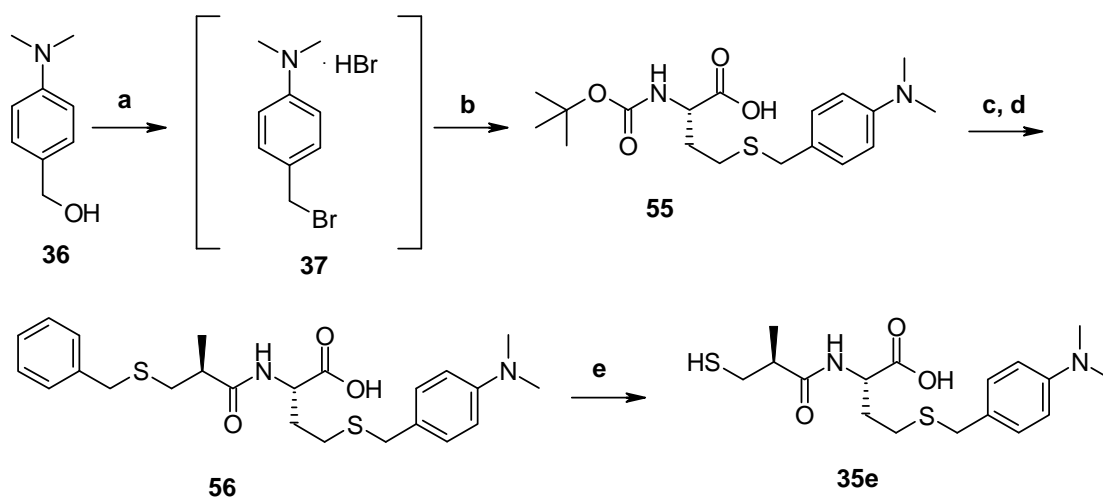
Reagents and conditions: (a) 47% HBr aq., 120 °C, 1 hr; (b) Boc-L-Cys-OH, *N,N*-diisopropylethylamine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, overnight; (c) 4 M HCl in dioxane, rt 1 hr; (d) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate **20**, triethylamine, DMF, dichloromethane, rt, overnight; (e) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 1 hr.

Scheme 10. 化合物 **35c** および **65q** の合成



Reagents and conditions: (a) 47% HBr aq. 120 °C, 1.5 hr; (b) Boc-D-Cys-OH, *N,N*-diisopropylethylamine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 3.5 hr; (c) 4 M HCl in dioxane, rt 1 hr; (d) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate **20**, triethylamine, DMF, dichloromethane, rt, overnight; (e) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 0.5 hr.

**Scheme 11.** D-システイン誘導体 **35d** の合成



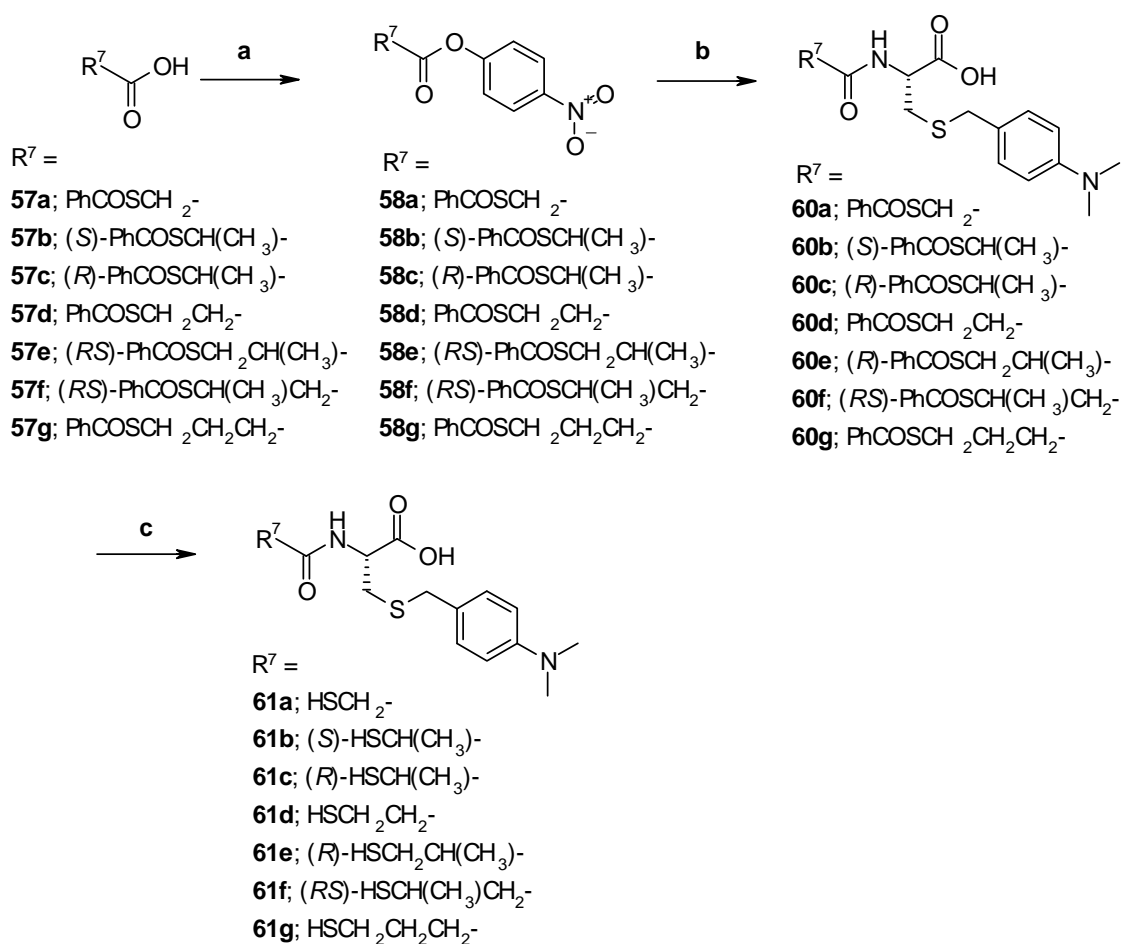
Reagents and conditions: (a) 47% HBr aq. 120 °C, 1 hr; (b) Boc-L-Homocys-OH, *N,N*-diisopropylethylamine, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 2.5 hr; (c) 4 M HCl in dioxane, rt 0.5 hr; (d) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate **20**, triethylamine, DMF, dichloromethane, rt, overnight; (e) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 1 hr.

**Scheme 12.** L-ホモシステイン誘導体 **35e** の合成

化合物 **61a-g** の *N*-アシル部分の導入は、相当する *S*-ベンゾイルチオアルカノイル酸 **57a-g** と 4-ニトロフェノールから合成した活性エステル体 **58a-g** を用いることにより行った。



すなわち、*N-tert*-ブトキシカルボニル-*S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン (**38**, **Scheme 7**)から酸処理により誘導した *S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン二塩酸塩 **59**と活性エステル体 **58a–g**を縮合し相当する *N*-(*S*-ベンゾイルチオ)アルカノイル-*S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン **60a–g**とした。なお、化合物 **60e**はシリカゲルカラムクロマトグラフィーによりジアステレオマーの化合物 **39** (**Scheme 7**)と分離精製することにより単離した。最後に化合物 **60a–g**を濃アンモニア水溶液にて脱ベンゾイルを行うことにより目的の化合物 **61a–g**とした (**Scheme 13**)。

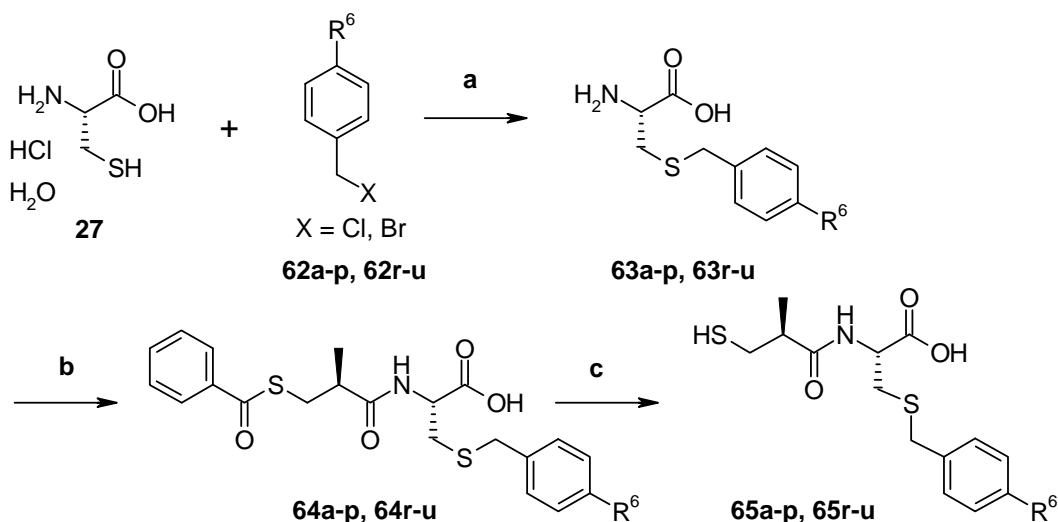


Reagents and conditions: (a) 4-nitrophenol, *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 5.5 hr; (b) *S*-(4-dimethylamino)benzyl-L-cysteine dihydrochloride **59**, triethylamine, DMF, dichloromethane, rt, overnight; (e) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 1 hr.

**Scheme 13.** 化合物 **61a–g** の合成

ベンジルシステインのベンゼン環上 *p* 位に相当する C パート (**Figure 33**) の構造変換 (化合物 **65a–p**, **65r–u**, **Table 8**) は **Scheme 14** に示す合成法により行った。対応する 4-置換ベンジルハライド **62a–p**, **62r–u** を水酸化ナトリウム水溶液中、L-システイン **27** と反応さ

せることにより *S*-(4-置換)ベンジル-L-システイン誘導体 **63a-p**, **63r-u** とした<sup>66)</sup>。これら化合物 **63a-p**, **63r-u** と (2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル **20** とを反応させることにより *N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-置換)ベンジル-L-システイン誘導体 **64a-p**, **64r-u** とした。化合物 **64a-p**, **64r-u** を濃アンモニア水溶液で処理することにより脱ベンゾイルを行い化合物 **65a-p**, **65r-u** とした。



R<sup>6</sup> =

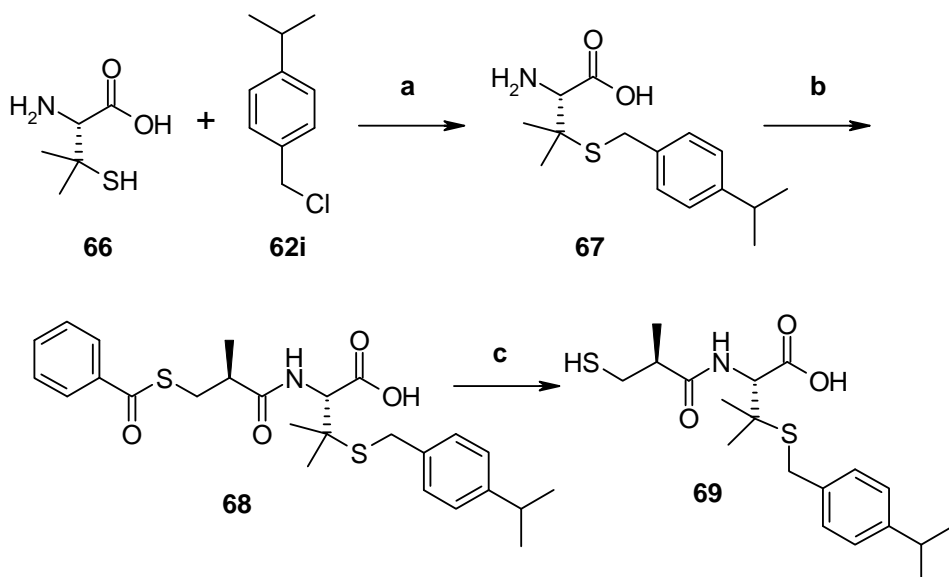
a; F, b; Cl, c; Br, d; I, e; CH<sub>3</sub>, f; CF<sub>3</sub>, g; C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, h; *n*-Pr, i; *i*-Pr, j; *t*-Bu, k; Ph, l; *c*-Hex, m; OCH<sub>3</sub>, n; OCF<sub>3</sub>, o; OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, p; OPh, r; CN, s; NO<sub>2</sub>, t; SCH<sub>3</sub>, u; SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

Reagents and conditions: (a) 2 M NaOH aq., EtOH, CHCl<sub>3</sub>, rt, overnight; (b) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate **20**, triethylamine, DMF, rt, overnight; (c) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 1 hr.

Scheme 14. 化合物 **65a-p**, **65r-u** の合成

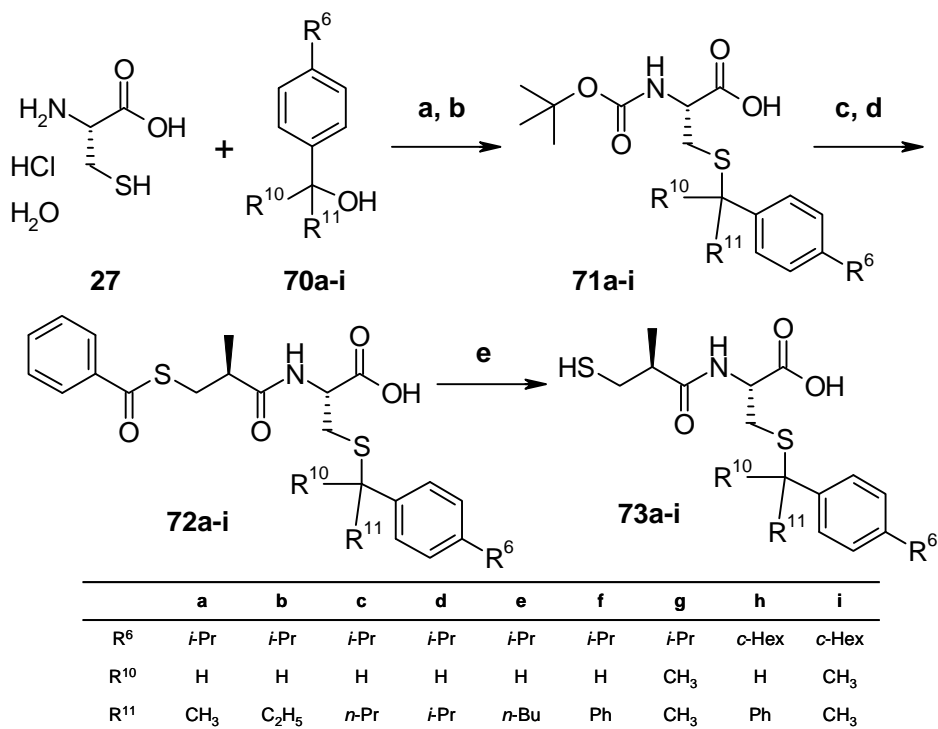
また D パートの変換 (Figure 33) における L-ペニシラミン誘導体 **69** (Table 10) は L-システインの代わりに L-ペニシラミン (**66**) を用いることにより Scheme 14 と同様の合成法にて合成を行った (Scheme 15)。

同じく D パート (Figure 33) の構造変換を行った化合物 **73a-i** (Table 10) は、Scheme 16 に示す合成法により行った。相当するアルコール体 **70a-i** と L-システイン **27** を塩酸中 55-56 °C で反応した。続いて単離精製するために *N*-Boc 保護化を行い、*N*-Boc-*S*-(α-置換-4-置換)ベンジル-L-システイン誘導体 **71a-i** とした。化合物 **71a-i** の *N*-Boc 基を除去した後、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (**20**) と縮合反応を行うことにより、*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(α-置換-4-置換)ベンジル-L-システイン誘導体 **72a-i** とした。化合物 **72a-i** を濃アンモニア水溶液で処理することにより脱ベンゾイルを行い化合物 **73a-i** とした。



Reagents and conditions: (a) 2 M NaOH aq., EtOH, CHCl<sub>3</sub>, rt, overnight; (b) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate **20**, triethylamine, DMF, rt, overnight; (c) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 1.75 hr.

Scheme 15. L-ペニシラミン誘導体 **69** の合成



Reagents and conditions: (a) 2 M HCl aq., dioxane, 55-65 °C, overnight; (b) (Boc)<sub>2</sub>O, triethylamine, THF, rt, 4 hr; (c) 4 M HCl in dioxane, rt, 1 hr; (d) 4-nitrophenyl (2*S*)-3-benzoylthio-2-methylpropionate **20**, triethylamine, DMF, rt; (e) 28% NH<sub>3</sub> aq., rt, 1 hr.

Scheme 16. 化合物 **73a-i** の合成

### 第3節 *N*-メルカプトアシルアミノ酸誘導体のロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用

第1節 (化合物探索の目的および分子設計) で述べたように、化合物 **35a** のリード最適化は **Figure 33** に示す A から D の4つのパートについて行った。各化合物の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用の測定方法は、第1章第2節第1項に記載の方法により行った。また ACE 阻害作用の測定方法は、第1章第3節第2項に記載の方法により行った。

#### 第1項 アミノ酸側鎖 (R<sup>12</sup>) 置換基 (A パート) 変換によるロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用

新規に合成した *N*-メルカプトアシルアミノ酸誘導体のアミノ酸側鎖 (R<sup>12</sup>) 置換基変換 (**Figure 33**, A パート) による LTA<sub>4</sub>H 阻害作用の結果を **Table 6** に示す。

新規 *S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン誘導体の化合物 **35a** は LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示したが (IC<sub>50</sub>; 270 nM)、*S*-ベンジル基が 4-ジメチルアミノ基を持たない化合物 **35b**、および 3-ジメチルアミノ基を導入した化合物 **35c** はその阻害作用を示さなかった (IC<sub>50</sub> > 10000 nM)。また化合物 **35a** のエピマーである D-システイン誘導体 **35d** および L-ホモシステイン誘導体 **35e** もその阻害作用を示さなかった (IC<sub>50</sub> > 10000 nM)。

このようにアミノ酸側鎖 (R<sup>12</sup>) 置換基変換においては化合物 **35a** のみ LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示し、置換基変換の許容性が非常に限定されていた。

Table 6. *N*-メルカプトアシルアミノ酸誘導体のアミノ酸側鎖 (R<sup>12</sup>) 置換基変換

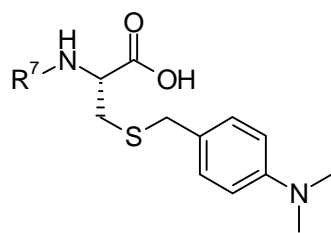
Compounds	-R <sup>12</sup>	IC <sub>50</sub> (nM) LTA <sub>4</sub> hydrolase
35a		270
-----		
35b		>10000
35c		>10000
35d		>10000
35e		>10000

## 第2項 *N*-メルカプトアシル (R<sup>7</sup>) 置換基 (B パート) 変換によるロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用

アミノ酸側鎖 (R<sup>12</sup>) 置換基変換では化合物 **35a** 以外には LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示す化合物を見出すことができなかった。そこで次に化合物 **35a** の *N*-メルカプトアシル部分の効果 (Figure 33. B パート) について検討した。Table 7 にはその結果を示す。メルカプトアセチル基 (化合物 **61a**) を導入すると LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は減弱した。2-メルカプトプロピオニル基 (化合物 **61b**, **61c**) および 3-メルカプトプロピオニル基 (化合物 **61d**) を導入した場合は LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示さなかった (IC<sub>50</sub> > 10000 nM)。化合物 **35a** のエピマーである化合物 **61e** は LTA<sub>4</sub>H に対する阻害作用を著しく減弱した。3-メルカプトブチリル基 (化合物 **61f**) の場合も LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が著しく減弱した。4-メルカプトブチリル基 (化合物 **61g**) に変換するとさらに LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が減弱した (IC<sub>50</sub> > 10000 nM)。

*N*-メルカプトアシル (R<sup>7</sup>) 置換基変換の結果、化合物 **35a** が持つ(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基が最適な置換基であった。この結果は *N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の場合と同様であり (第1章第2節第1項)、阻害剤が酵素と相互作用する際 *N*-メルカプトアシル置換基が相互作用する酵素側の構造は立体的許容性が低く、空間的に制限されていると推定した。

Table 7. *N*-メルカプトアシル (R<sup>7</sup>) 置換基変換による LTA<sub>4</sub>H 阻害作用



Compounds	R <sup>7</sup> -	IC <sub>50</sub> (nM)
		LTA <sub>4</sub> hydrolase
35a		270
61a		470
61b		>10000
61c		>10000
61d		>10000
61e		1500
61f		7400
61g		>10000

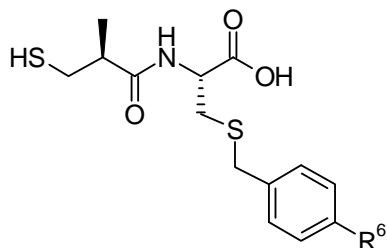
第3項 *S*-ベンジル-L-システイン誘導体ベンゼン環上 *p* 位 ( $R^6$ ) 置換基 (C パート) 変換によるロイコトリエン  $A_4$  加水分解酵素阻害作用ならびにアンジオテンシン変換酵素阻害作用

第1項で述べたように *S*-ベンジル-L-システイン誘導体 **35b** および *S*-(3-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン誘導体 **35c** が  $LTA_4H$  阻害作用を示さなかった ( $IC_{50} > 10000$  nM, **Table 6**)。また *S*-ベンジル-L-システイン誘導体のうち、ベンゼン環上 *p* 位に置換基が導入された化合物 **35a** のみに阻害作用が認められていることから、特に *p* 位での変換が  $LTA_4H$  に対する阻害作用を向上させる上で有効と考えた。そこでベンゼン環上 *p* 位 (**Figure 33**, C パート) の置換基の効果について検討を行った。その結果を **Table 8** に示す。

置換基  $R^6$  がフッ素原子 (化合物 **65a**) の場合は  $LTA_4H$  に対する阻害作用を示さなかった ( $IC_{50} > 10000$  nM) が、その阻害作用は置換基の大きさが増すと共に向上した。置換基  $R^6$  がヨウ素原子 (**65d**) である場合は、一連の誘導体の中で最も強力な  $LTA_4H$  阻害作用を示した。置換基  $R^6$  がメチル基 (**65e**) の場合は  $LTA_4H$  に対して弱い阻害作用を示し、トリフルオロメチル基 (**65f**)、エチル基 (**65g**)、イソプロピル基 (**65i**) およびフェニル基 (**65k**) 基では中程度の  $LTA_4H$  阻害作用を示した。これらは全て ACE に対し、 $10^{-7}M$  オーダーもしくは  $10^{-8}M$  オーダーの  $IC_{50}$  を示した。置換基  $R^6$  が *n*-プロピル基 (**65h**)、*tert*-ブチル基 (**65j**) およびシクロヘキシル基 (**65l**) の場合では  $LTA_4H$  に対する阻害作用が向上し、特に、化合物 **65l** は強い  $LTA_4H$  阻害作用を示す ( $IC_{50}$ ; 79 nM) 一方、ACE に対してはその阻害作用は低下した ( $IC_{50}$ ; 4000 nM)。置換基  $R^6$  にアルコキシ基やフェノキシ基 (**65m-p**)、ジエチルアミノ基 (**65q**)、シアノ基 (**65r**) もしくはニトロ基 (**65s**) を導入した場合は、 $LTA_4H$  に対して弱いか、中程度の阻害作用を示した。メチルチオ基 (**65t**) の導入は強い  $LTA_4H$  阻害作用を示したが、メタンシルホニル基 (**65u**) の場合はその阻害作用が減弱した。



Table 8. *S*-(4-置換ベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチル]プロピオニル-L-システインの LTA<sub>4</sub>H ならびに ACE に対する阻害作用



Compounds	R <sup>6</sup>	IC <sub>50</sub> (nM)	
		LTA <sub>4</sub> hydrolase	ACE
<b>35a</b>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	270	520
<b>35b</b>	H	>10000	34
<b>65a</b>	F	>10000	100
<b>65b</b>	Cl	1700	250
<b>65c</b>	Br	610	280
<b>65d</b>	I	15	140
<b>65e</b>	CH <sub>3</sub>	7200	240
<b>65f</b>	CF <sub>3</sub>	140	340
<b>65g</b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	280	21
<b>65h</b>	<i>n</i> -Pr	72	210
<b>65i</b>	<i>i</i> -Pr	200	300
<b>65j</b>	<i>t</i> -Bu	24	130
<b>65k</b>	Ph	600	280
<b>65l</b>	<i>c</i> -Hex	79	4000
<b>65m</b>	OCH <sub>3</sub>	2400	100
<b>65n</b>	OCF <sub>3</sub>	400	260
<b>65o</b>	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	640	340
<b>65p</b>	OPh	1700	370
<b>65q</b>	N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	900	4600
<b>65r</b>	CN	530	300
<b>65s</b>	NO <sub>2</sub>	4900	320
<b>65t</b>	SCH <sub>3</sub>	46	300
<b>65u</b>	SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	160	300

第4項 *S*-ベンジル-L-システイン誘導体ベンゼン環上 *p* 位 ( $R^6$ ) 置換基 (C パート) の定量的構造活性相関 (QSAR)

新規に合成した *S*-ベンジル-L-システイン誘導体はベンゼン環上 *p* 位置換基 ( $R^6$ ) の変換によりそれらの LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が大きく変化したことから、 $R^6$  の物理化学的性質と阻害作用に何らかの関係があると考えられた。

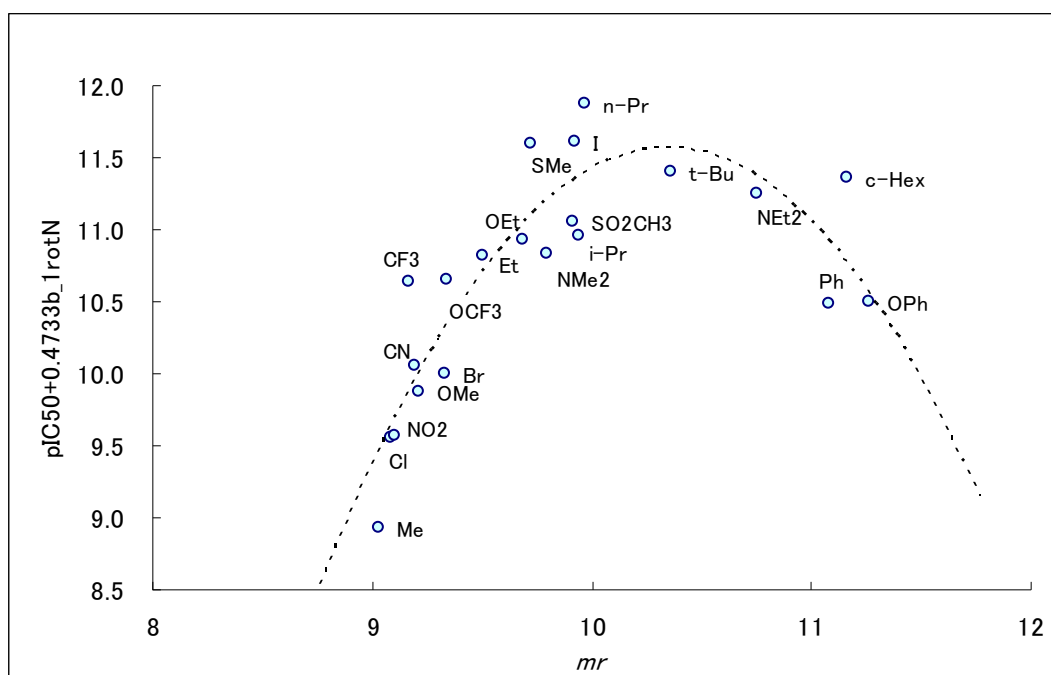


Figure 34. 65b-u の分子屈折 ( $mr$ ) と LTA<sub>4</sub>H 阻害作用 ( $pIC_{50}$ )

そこで化合物 65b-u について Hansch-藤田法による定量的構造活性相関 (QSAR) を検討したところ、 $R^6$  置換基の体積に関係している物理化学的記述子である分子屈折 (molar refractivity;  $mr$ ) と阻害作用 ( $pIC_{50}$ ) との間に二次の相関関係が認められた (Figure 34)。IC<sub>50</sub> 実測値が不明な化合物 35b および 65a について、この式による計算値 ( $pIC_{50}$ ) はそれぞれ 3.99 および 4.29 であり、実測の阻害作用と一致した ( $pIC_{50} < 5$ ) (Table 9)。最大阻害作用を与える分子屈折 ( $mr_{opt}$ ) は 10.36 であり、この値は化合物 65j ( $R^6 = t\text{-Bu}$ ) に相当していた (eq.1)<sup>67</sup>。また eq. 1 は回転可能な結合の数 (rotational bonds;  $b_{1rotN}$ ) が少ないほど阻害作用が強くなることを示唆している。

$$pIC_{50} = 25.113(\pm 8.545) \cdot mr - 1.214(\pm 0.421) \cdot mr^2 - 0.473(\pm 0.264) \cdot b_{1rotN} - 118.360(\pm 42.717) \quad (\text{eq. 1})$$

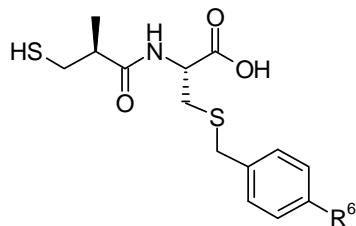
$$(n = 21, r^2 = 0.744, s = 0.394, F^3_{17} = 16.501, q^2 = 0.609, mr_{opt} = 10.36)$$

各項のカッコ内の数値は *t*-検定による 95%信頼限界を示す。n; 例数、 $r^2$ ; 決定係数、s; 標

準偏差、 $F_{3,17}$ ; eq.1 の F 値、3 および 17 は自由度を表す。F 表の  $F_{3,17}$  値 (8.727) よりも大きく、eq. 1 は 99.9%以上の水準で有意なことを表す。 $q^2$ ; leave-one-out 法によって予測した活性と実測活性の相関係数 ( $q$ ) の二乗値、 $mr_{opt}$ ;  $pIC_{50}$  の最大値を与える  $mr$  の最適値を表す。

また ACE 阻害作用についても同様に QSAR を検討したところ、 $mr$  に関して 1 次の弱い負の相関 ( $n = 23, r^2 = 0.321$ ) を示し、この部分の置換基の効果に関しては LTA<sub>4</sub>H の場合とは異なっていることが示された。

Table 9. LTA<sub>4</sub>H阻害作用とHansch-藤田法で用いた物理化学的記述子および計算活性値



Compounds	R <sup>6</sup>	LTA <sub>4</sub> hydrolase		<i>mr</i>	b_1rotN	pIC <sub>50_eq.1</sub> <sup>b</sup>
		IC <sub>50</sub> (nM)	pIC <sub>50</sub> <sup>a</sup>			
<b>35a</b>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	270	6.57	9.80	9	6.94
<b>35b</b>	H	>10000	<5.0	8.58	8	3.99
<b>65a</b>	F	>10000	<5.0	8.65	8	4.29
<b>65b</b>	Cl	1700	5.77	9.08	8	5.84
<b>65c</b>	Br	610	6.21	9.33	8	6.53
<b>65d</b>	I	15	7.82	9.92	8	7.56
<b>65e</b>	CH <sub>3</sub>	7200	5.14	9.03	8	5.66
<b>65f</b>	CF <sub>3</sub>	140	6.85	9.17	8	6.10
<b>65g</b>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	280	6.55	9.50	9	6.44
<b>65h</b>	<i>m</i> -Pr	72	7.14	9.97	10	6.66
<b>65i</b>	<i>i</i> -Pr	200	6.70	9.94	9	7.11
<b>65j</b>	<i>t</i> -Bu	24	7.62	10.36	8	7.78
<b>65k</b>	Ph	600	6.22	11.08	9	6.66
<b>65l</b>	<i>c</i> -Hex	79	7.10	11.16	9	6.51
<b>65m</b>	OCH <sub>3</sub>	2400	5.62	9.22	9	5.76
<b>65n</b>	OCF <sub>3</sub>	400	6.40	9.34	9	6.08
<b>65o</b>	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	640	6.19	9.68	10	6.30
<b>65p</b>	OPh	1700	5.77	11.26	10	5.83
<b>65q</b>	N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	900	6.05	10.75	11	6.17
<b>65r</b>	CN	530	6.28	9.19	8	6.16
<b>65s</b>	NO <sub>2</sub>	4900	5.31	9.10	9	5.43
<b>65t</b>	SCH <sub>3</sub>	46	7.34	9.73	9	6.84
<b>65u</b>	SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	160	6.80	9.91	9	7.08

<sup>a</sup> pIC<sub>50</sub> = -log (IC<sub>50</sub>)

<sup>b</sup> Values are calculated from equation 1.

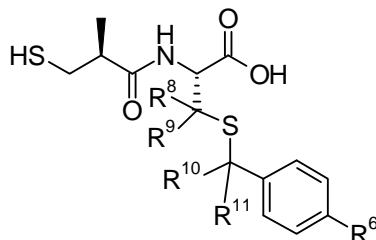
第5項 *S*-ベンジル-L-システイン誘導体β位 (R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>) およびδ位 (R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>) (Dパート) とベンゼン環上 *p*位 (R<sup>6</sup>) 置換基 (Cパート) 変換によるロイコトリエン A<sub>4</sub>加水分解酵素阻害作用ならびにアンジオテンシン変換酵素阻害作用

第4項に示したように、*S*-ベンジル-L-システイン誘導体ベンゼン環上 *p*位 (R<sup>6</sup>) 置換基 (Cパート) 変換により、強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害する化合物を見出した。そこで、次に Dパート (**Figure 33**) の変換である *S*-ベンジル-L-システイン誘導体β位 (R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>)、δ位 (R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>) (Dパート) およびベンゼン環上 *p*位 (R<sup>6</sup>) 置換基 (Cパート) 変換による LTA<sub>4</sub>H 阻害作用について検討を行った。

はじめに化合物 **65i** (R<sup>6</sup> = イソプロピル基, **Table 8**) が中程度の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示したので、ベンゼン環上 *p*位 (R<sup>6</sup>) 置換基にイソプロピル基、*S*-ベンジル-L-システイン誘導体β位 (R<sup>8</sup>および R<sup>9</sup>) に *gem*-ジメチルを導入した *S*-(4-イソプロピル)ベンジル-L-ペニシラミン誘導体 **69** を合成しその LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を確認した。しかしながら、化合物 **69** は阻害作用を示さなかった (IC<sub>50</sub> > 10000 nM, **Table 10**)。そこで次に *S*-ベンジル-L-システイン誘導体のδ位 (R<sup>10</sup>および R<sup>11</sup>) での置換基変換の効果を検討した。

新規に合成した化合物のδ位置換基変換による LTA<sub>4</sub>H 阻害作用の結果を **Table 10** に示す。置換基 R<sup>6</sup> がイソプロピル基の場合、化合物 **73a** (R<sup>10</sup> = H, R<sup>11</sup> = CH<sub>3</sub>)、**73b** (R<sup>10</sup> = H, R<sup>11</sup> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)、**73c** (R<sup>10</sup> = H, R<sup>11</sup> = *n*-Pr)、**73f** (R<sup>10</sup> = H, R<sup>11</sup> = Ph) および **73g** (R<sup>10</sup> = R<sup>11</sup> = CH<sub>3</sub>) は **65i** (R<sup>10</sup> = R<sup>11</sup> = H) よりも強い LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示した。化合物 **73f** は ACE よりも約 19 倍強く LTA<sub>4</sub>H を阻害したが、そのほかの化合物は LTA<sub>4</sub>H 阻害作用と ACE 阻害作用との間に顕著な選択性を示さなかった。化合物 **73d** (R<sup>10</sup> = H, R<sup>11</sup> = *i*-Pr) および **73e** (R<sup>10</sup> = H, R<sup>11</sup> = *n*-Bu) の LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は **65i** と比べて弱かった。置換基 R<sup>6</sup> がシクロヘキシル基の場合、化合物 **65l** (R<sup>10</sup> = R<sup>11</sup> = H, **Table 8**) と比較して化合物 **73h** (R<sup>10</sup> = H, R<sup>11</sup> = Ph) の ACE 阻害作用が顕著に減弱した (IC<sub>50</sub> > 10000 nM) が、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は維持していた。化合物 **73i** (R<sup>10</sup> = R<sup>11</sup> = CH<sub>3</sub>) は強力な LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示し、その阻害作用は ACE 阻害作用に対して約 55 倍強いものであった。化合物 **73i** は化合物 **65l** と同様、LTA<sub>4</sub>H と ACE との酵素選択性が向上した。

Table 10. *S*-ベンジル-L-システイン誘導体の R<sup>6</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> および R<sup>11</sup> 置換基の変換



Compounds	R <sup>6</sup>	R <sup>8</sup>	R <sup>9</sup>	R <sup>10</sup>	R <sup>11</sup>	IC <sub>50</sub> (nM)	
						LTA <sub>4</sub> hydrolase	ACE
<b>65i</b>	<i>i</i> -Pr	H	H	H	H	200	300
<b>69</b>	<i>i</i> -Pr	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	>10000	>10000
<b>73a</b>	<i>i</i> -Pr	H	H	H	CH <sub>3</sub>	55	200
<b>73b</b>	<i>i</i> -Pr	H	H	H	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	67	340
<b>73c</b>	<i>i</i> -Pr	H	H	H	<i>n</i> -Pr	180	420
<b>73d</b>	<i>i</i> -Pr	H	H	H	<i>i</i> -Pr	520	430
<b>73e</b>	<i>i</i> -Pr	H	H	H	<i>n</i> -Bu	510	3600
<b>73f</b>	<i>i</i> -Pr	H	H	H	Ph	91	1700
<b>73g</b>	<i>i</i> -Pr	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	79	260
<b>65l</b>	<i>c</i> -Hex	H	H	H	H	79	4000
<b>73h</b>	<i>c</i> -Hex	H	H	H	Ph	210	>10000
<b>73i</b>	<i>c</i> -Hex	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	55	3000

以上の結果のように *S*-ベンジル-L-システイン誘導体 β 位 (R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>) に *gem*-ジメチルを導入した *S*-(4-イソプロピル)ベンジル-L-ペニシラミン誘導体 **69** は阻害作用を示さなかった (IC<sub>50</sub> > 10000 nM)。一方、*S*-ベンジル-L-システイン誘導体 δ 位 (R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>) に *gem*-ジメチルを導入した化合物 **73g** は *gem*-ジメチルを導入していない化合物 **65i** よりも阻害作用が向上した。

そこで、阻害剤がより強い酵素との親和性を発揮すると考えられるポーズ **a** (後述 第 6 項) を取った場合の化合物 **65i**, **69** および **73g** の側鎖の配座解析 (ε = 80; 水の誘電率 水中での配座解析) を行い、その配座エネルギー (ΔE)<sup>68)</sup> を比較したところ化合物 **69** は他の 2 化合物よりもおよそ 2~4 kcal/mol 高かった (Table 11)。このことは化合物 **69** がポーズ **a** を取りにくく、阻害作用を示さない (IC<sub>50</sub> > 10000 nM) 一つの理由として考えられた。

**Table 11.** 化合物 **65i**, **69** および **73g** の配座エネルギー (ポーズ **a**) の比較

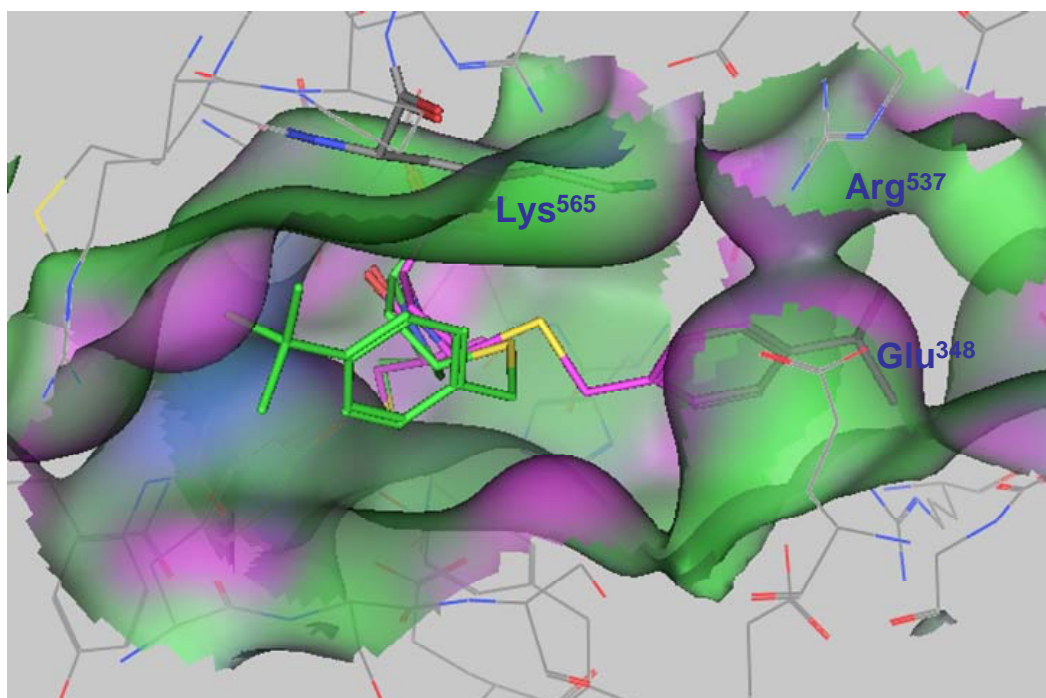
Compounds	$\Delta E$ (kcal / mol)	LTA <sub>4</sub> hydrolase	IC <sub>50</sub> (nM)
<b>65i</b>	3.7	200	
<b>69</b>	5.9	> 10000	
<b>73g</b>	2.0	79	

#### 第 6 項 立体構造に基づく阻害剤結合様式についての考察

第 1 章で述べた *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体および (4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の検討を行ったときと同様、GOLD (Version 3.1) <sup>47)</sup> を使用し *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体と LTA<sub>4</sub>H および ACE とのドッキングシミュレーションを行った。

まず、強い LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示した化合物 **65d**、**65j**、**65l** および **65t** (Table 8) についてその結合様式を検討した。その結果すべての化合物のカルボキシル基が LTA<sub>4</sub>H の Arg<sup>563</sup> のグアニジド基とイオン結合を形成し、またアミドカルボニルの酸素が Gly<sup>268</sup> および Gly<sup>269</sup> のアミド NH 基と水素結合を形成していた。置換ベンジル基は Phe<sup>340</sup> の方向へ向かって伸びており、第 1 章で述べた *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体におけるポーズ **a** と同じ位置を占有していた。また置換ベンジル基が Arg<sup>568</sup> に向かっているポーズ **b** に相当する構造も化合物 **65l** を除く 3 化合物に認められた。

酵素の阻害剤結合位置はポーズ **a** および **b** にかかわらず酵素表面より奥まったところにあったが、ポーズ **a** の場合、置換ベンジルチオ基はイオン結合を形成する Arg<sup>537</sup> と Glu<sup>348</sup> の奥深くに位置し、酵素との接触表面積が大きくなっていると考えられた。また Lys<sup>565</sup> 側鎖先端のアンモニウムイオン部分がポーズ **a** のベンゼン環近くに位置し、カチオン- $\pi$  相互作用により安定化している可能性が考えられた (Figure 35)。



**Figure 35** プロリン誘導体 **3l** の置換ベンジルチオ基の LTA<sub>4</sub>H 結合部位 (ポーズ **a** ; 紫色, ポーズ **b** ; 緑色)

一方、ポーズ **b** の場合、Arg<sup>568</sup> のほうに向いた置換ベンジルチオ基は酵素の溝の奥に位置しているが、ポーズ **a** のように酵素のアミノ酸残基により覆い隠されることはなかった。したがってポーズ **b** の場合、酵素との接触表面積はポーズ **a** よりも少ないと考えられ、また置換ベンジルチオ基に対して、その周辺にポーズ **a** で認められたような相互作用するアミノ酸残基はないように思われた。さらにベンゼン環上 *p* 位の置換基がシクロヘキシル基のプロリン誘導体 **3m** (Table 3) とシステイン誘導体 **65l** について検討したところ、ポーズ **a** のみでドッキングでき、ポーズ **b** ではドッキングが認められなかった。このことは、ポーズ **b** の場合、酵素側阻害剤結合部位の空間が狭すぎるにより結合できない事を示唆している (Figure 35)。

このようにドッキングスタディーの結果からは、*N*-メルカプトアシル-4-置換-L-プロリン誘導体および *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体は共にポーズ **a** およびポーズ **b** を取りうる可能性が考えられたが、これまでの結果を考慮すると本阻害剤の結合様式はポーズ **a** であると推定される。

置換ベンジルチオ基のベンゼン環が無置換のプロリン誘導体 **3a** (IC<sub>50</sub>; 3600 nM, Table 3) が、同様に無置換のシステイン誘導体 **35b** (IC<sub>50</sub>; > 10000 nM, Table 6) よりも強い LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示したことは、プロリン部分 (ピロリジン) と Tyr<sup>383</sup> 側鎖との疎水性相互作用 (序章第 7 節) がある<sup>37)</sup>ためだと推測される。一方、システイン誘導体ではプロリン誘導体で認められた Tyr<sup>383</sup> との疎水性相互作用がピロリジンと比べアルキル鎖では弱いため、



置換ベンジルチオ基のベンゼン環上 *p* 位が無置換の化合物 **35b** および置換基としては立体的に小さいフッ素原子の **65a** (Table 8) 場合では阻害作用が認められなかったと考えられる (いずれも IC<sub>50</sub>; > 10000 nM)。しかしながら Table 3 および Table 8 に示すようにさらにある程度の大きさの置換をベンゼン環上 *p* 位に導入した場合、その置換基がポーズ **a** で認められる酵素の窪み (イオン結合を形成する Arg<sup>537</sup> と Glu<sup>348</sup> の奥) に結合することにより LTA<sub>4</sub>H に対する親和性が向上し、その結果として阻害作用が向上したものと推測された。

また *S*-ベンジル-L-システイン誘導体 β 位 (R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>) に *gem*-ジメチルを導入した化合物 **69**、δ 位 (R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>) に *gem*-ジメチルを導入した化合物 **73g** および **73i** (いずれも Table 10) のドッキングシミュレーションでは、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が認められた化合物 **73g** および **73i** はポーズ **a** および **b** で結合したが、阻害作用が認められなかった (IC<sub>50</sub>; > 10000 nM) 化合物 **69** はポーズ **b** のみであった。

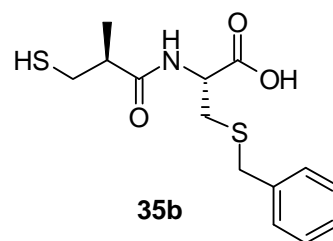
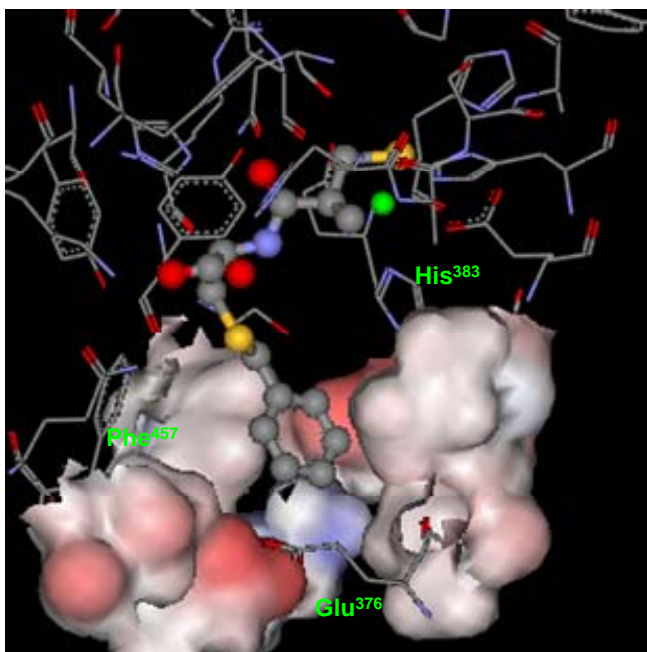
MM/GBSA (Molecular Mechanics Generalized Born with Surface Area) 法を用いて化合物 **65j** の結合自由エネルギーの推定<sup>69)</sup>を行ったところ、二つのポーズ間に明確な優先性は認められなかったが、シミュレーションの運動初期条件の異なる 5 回の計算結果から相対的にポーズ **a** がポーズ **b** よりも LTA<sub>4</sub>H に対する親和性が高いと考えた。この傾向は *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体 **3l** (Table 3) でも認められた (Table 12)。

**Table 12.** MM/GBSA 法による化合物 **65j** および **3l** の結合自由エネルギーの比較

Compound	ΔG (kcal/mol)	
	Pose <b>a</b>	Pose <b>b</b>
<b>65j</b>	40.84 ± 29.23	63.66 ± 8.14
<b>3l</b>	43.49 ± 27.54	64.56 ± 17.90

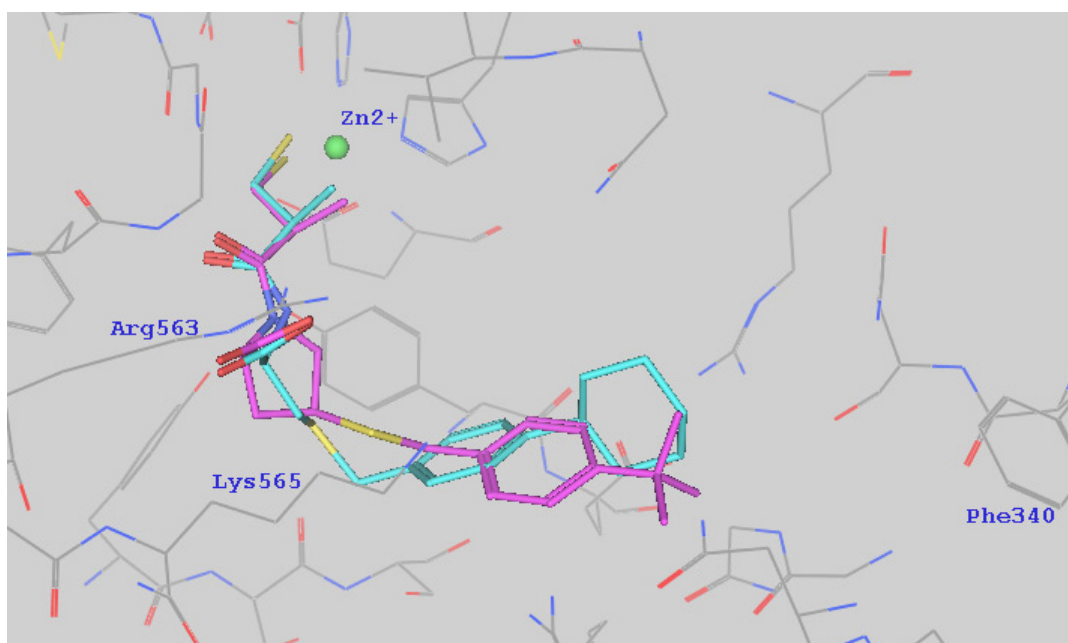
さらに、亜鉛酵素として性質が類似していることが知られている ACE に対するドッキングシミュレーションでは、化合物 **35b** および **65g** (Table 8) は LTA<sub>4</sub>H への結合で見られたポーズ **a** であり (Figure 36)、ポーズ **b** ではなかった。また *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体 **3l** の ACE に対するドッキングシミュレーションにおいても同様の結果が得られた。

以上の結果より、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示す *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体および *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体の酵素活性部位における結合様式は、両誘導体の置換ベンジルチオ基が酵素の Phe<sup>340</sup> に繋がる幅の広い溝に位置し、より強い酵素との親和性が発揮できると考えられるポーズ **a** であると推定した (Figure 37)。



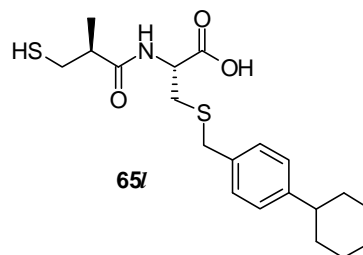
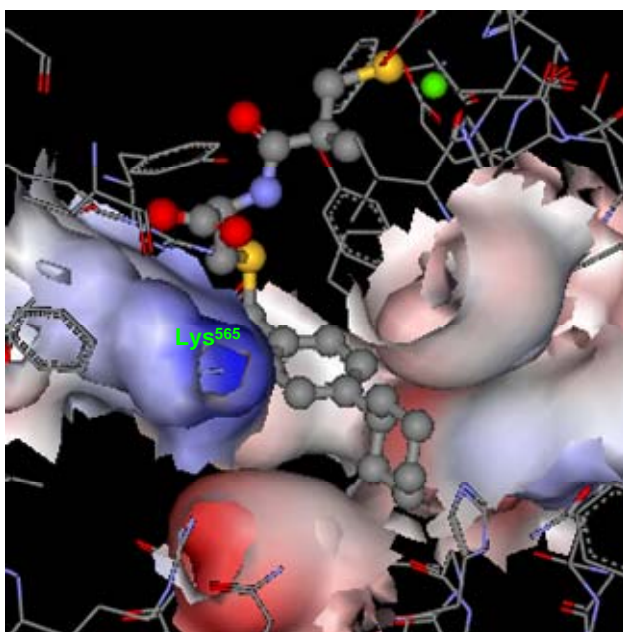
(ベンジルチオ基が取り囲まれた酵素側の部位を壁で示している)

**Figure 36.** ACE 活性部位付近での化合物 35b の結合様式 (緑色は亜鉛原子を表す)



**Figure 37.** *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体 3l (紫色) および *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 65l (水色) の LTA<sub>4</sub>H 活性部位付近の結合様式 (ポーズ a)

ポーズ a における化合物 65l のシクロヘキシルベンジルチオ基周辺の LTA<sub>4</sub>H の溝は大きく広がっており、複数のアミノ酸残基 (Asn<sup>291</sup>, Val<sup>322</sup>, Arg<sup>326</sup>, Glu<sup>348</sup>, Ser<sup>380</sup>, Glu<sup>384</sup>, Arg<sup>537</sup>, Lys<sup>565</sup>) から構成されていた (Figure 38)。



(シクロヘキシルベンジルチオ基が取り囲まれた酵素側の部位を壁で示している。なお先述の Arg<sup>537</sup> と Glu<sup>348</sup> のイオン結合で形成される壁の部分は図を見やすくするために省いている)。

Figure 38. 化合物 65l (ポーズ a) の LTA<sub>4</sub>H 活性部位付近での結合様式 (緑色は亜鉛原子を表す)

しかしながら化合物 35b のベンジルチオ基周辺に対応する ACE の領域 (Thr<sup>282</sup>, Val<sup>379</sup>, Val<sup>380</sup>, Asp<sup>415</sup>, Asp<sup>453</sup>, Lys<sup>454</sup>, Phe<sup>527</sup> から構成) は、狭く制限されていた。特に Glu<sup>376</sup> は側鎖を伸ばし、その空間を制限していた (Figure 36)。

このことは Table 8 から示される。LTA<sub>4</sub>H 阻害作用は、化合物 35b (R<sup>6</sup> = H) から化合物 65j (R<sup>6</sup> = *t*Bu) まで R<sup>6</sup> の嵩だかさが大きくなるに従い向上した。R<sup>6</sup> とその周辺の酵素アミノ酸残基との相互作用の重要性は、化合物 35b が LTA<sub>4</sub>H に対して阻害作用を示さなかった (IC<sub>50</sub> > 10000 nM) ことから示される。一方、ACE 阻害作用は R<sup>6</sup> が小さい化合物 35b および 65g で認められ、その阻害作用は R<sup>6</sup> の大きさが大きくなるに従い徐々に減少し、化合物 65l と 65q で急に減少している。化合物 65l と 65q の R<sup>6</sup> 置換基のように、R<sup>6</sup> の結合軸に関して対称性を持つ大きな置換基では、Glu<sup>376</sup> の側鎖を回避して ACE に結合することができないのかもしれない (Figure 36)。

また LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示さなかった *S*-ベンジル-L-システイン誘導体 β 位 (R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>) に *gem*-ジメチルを導入した化合物 69 (IC<sub>50</sub> > 10000 nM) では、ポーズ a に対する配座エネルギーが高いことに加え、LTA<sub>4</sub>H の Lys<sup>565</sup> がその結合を妨げている可能性が考えられた (Figure 38)。

置換基 R<sup>11</sup> (Table 10) が大きい場合、ACE の His<sup>383</sup> および Phe<sup>457</sup> に対してその置換基がぶつかるかと推測され、このために ACE 阻害作用が減弱すると考えられた (Figure 36)。

#### 第 4 節 結果と考察

化合物 35a をリード化合物とし構造変換を行うことによりさらに強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害し、

ACE に対する酵素選択性が改善された化合物を創出することを目的とし、構造最適化（リードオプティマイゼーション）を行った。その結果から、次のような知見が得られた。

1. 新規 *N*-メルカプトアシルアミノ酸誘導体のアミノ酸側鎖 ( $R^{12}$ ) 置換基 (A パート) 変換を行ったところ、*S*-(4-ジメチルアミノ)ベンジル-L-システイン誘導体の化合物 **35a** のみ  $LTA_4H$  阻害作用を示した ( $IC_{50}$ ; 270 nM)。また *S*-ベンジル部分が無置換の化合物 **35b** および 3-ジメチルアミノ基を導入した化合物 **35c** はその阻害作用を示さなかった ( $IC_{50} > 10000$  nM)。さらに化合物 **35a** のエピマーである D-システイン誘導体 **35d** および L-ホモシステイン誘導体 **35e** もその阻害作用を示さなかった ( $IC_{50} > 10000$  nM)。このことからアミノ酸側鎖 ( $R^{12}$ ) 置換基 (A パート) の変換は非常に限定的であるが、*S*-ベンジル-L-システイン誘導体のベンゼン環上 *p* 位に置換基が導入された化合物 **35a** にのみ阻害作用が認められていることから、特に *p* 位での変換が  $LTA_4H$  に対する阻害作用を向上させるうえで有効であると推測した。
2. 化合物 **35a** の *N*-メルカプトアシル部分 ( $R^7$ ) (B パート) の変換を行ったところ、化合物 **35a** が持つ(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基が最適な置換基であった。この結果は *N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の場合と同様であり (第 1 章第 2 節第 1 項)、阻害剤が酵素と相互作用した際 *N*-メルカプトアシル置換基周辺の酵素側の構造は、立体的許容性が低く空間的に非常に制限されていることを示唆している。またこのことから、*N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体の *N*-メルカプトアシル基は *N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の *N*-メルカプトアシル基と同様の結合様式をとると推測できる。
3. 化合物 **35a** のベンゼン環上 *p* 位の置換基 ( $R^6$ ) (C パート) の効果について検討を行ったところ、 $LTA_4H$  に対する阻害作用が著しく向上した。 $R^6$  がヨウ素原子 (**65d**)、*tert*-ブチル基 (**65j**) およびシクロヘキシル基 (**65l**) の場合、強力な同酵素に対する阻害作用を示した。特に化合物 **65l** は強い阻害作用を示し( $IC_{50}$ ; 79 nM)、ACE に対してはその阻害作用は弱く ( $IC_{50}$ ; 4000 nM)、 $LTA_4H$  に対する選択性が向上した。Hansch-藤田法による定量的構造活性相関を検討した結果、阻害作用は  $R^6$  置換基の体積に関係している分子屈折 (*mr*) と二次の関係があることが示唆された。このように  $R^6$  置換基 (C パート) は  $LTA_4H$  阻害作用の向上および ACE に対する選択性向上に重要な置換基である。
4. 新規 *S*-ベンジル-L-システイン誘導体  $\beta$  位 ( $R^8, R^9$ ) および  $\delta$  位 ( $R^{10}, R^{11}$ ) (D パート) とベンゼン環上 *p* 位 ( $R^6$ ) 置換基変換による  $LTA_4H$  阻害作用について検討を行ったところ、*S*-ベンジル-L-システイン誘導体  $\beta$  位 ( $R^8, R^9$ ) に *gem*-ジメチルを導入した *S*-(4-イソプロピル)ベンジル-L-ペニシラミン誘導体 **69** は阻害作用を示さなかった ( $IC_{50} > 10000$  nM)。一方、*S*-ベンジル-L-システイン誘導体  $\delta$  位 ( $R^{10}, R^{11}$ ) に *gem*-ジメチル

を導入した化合物 **73g** は *gem*-ジメチルを導入していない化合物 **65i** より阻害作用が向上した。阻害剤がより強い酵素との親和性を発揮すると考えられるポーズ **a** を取った場合の配座エネルギー ( $\Delta E$ ) を比較したところ、化合物 **69** は他の 2 化合物よりも高く、化合物 **69** がポーズ **a** を取りにくいために阻害作用を示さない ( $IC_{50} > 10000$  nM) と考えられた。

5. 置換基変換の D パートにおいて、化合物 **73i** ( $R^6 = \textit{c}$ -Hex,  $R^{10} = R^{11} = \text{CH}_3$ ) は強力な  $LTA_4H$  阻害作用を示し、その阻害作用は ACE 阻害作用に対して約 55 倍強いものであった。化合物 **73i** は化合物 **65i** と同様、 $LTA_4H$  と ACE との選択性が向上した。この結果から、 $R^6$  のシクロヘキシル基は、 $LTA_4H$  と ACE との選択性発現に対して有効な置換基であると考えられた。
6. 新規 *N*-メルカプトアシル-*S*-ベンジル-L-システイン誘導体と  $LTA_4H$  又は ACE とのドッキングシミュレーションを行った結果、*N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体と同様、置換ベンジルチオ基が Phe<sup>340</sup> の方向へ向かっているポーズ **a** と置換ベンジルチオ基が Arg<sup>568</sup> に向かっているポーズ **b** に相当するポーズが認められた。しかしながら、阻害作用が認められなかった化合物 **69** ( $IC_{50} > 10000$  nM) はポーズ **b** のみであった。この結果は、より強い酵素との親和性を発揮すると考えられる結合様式はポーズ **a** であることを示唆している。
7. *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 **65j** および *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体 **3l** の MM/GBSA 法による結合自由エネルギーの推定結果は、*N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体および *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体のより強い酵素との親和性を発揮すると考えられる配座がポーズ **a** であることと矛盾しなかった。
8. ポーズ **a** における *N*-メルカプトアシル-*S*-ベンジル-L-システイン誘導体のベンジルチオ基周辺の  $LTA_4H$  の溝は大きく広がっていたが、ACE の対応する部分は狭く限定的であった。ベンゼン環上 *p* 位の置換基 ( $R^6$ ) (C パート) の変換は、これらの結果を反映していた。すなわち、 $R^6$  が水素から  $R^6$  が *tert*-ブチル基まで  $R^6$  の大きさが大きくなるに従い  $LTA_4H$  阻害作用が向上し、一方、ACE 阻害作用は  $R^6$  が比較的小さい化合物で認められた。また化合物 **35b** ( $R^6 = \text{H}$ ) が  $LTA_4H$  に対して阻害作用を示さなかった ( $IC_{50} > 10000$  nM) ため、 $R^6$  とその周辺の酵素アミノ酸残基との相互作用が活性発現に非常に重要であると考えられた。また Hansch-藤田法による定量的構造活性相関 (QSAR) の解析の結果、 $R^6$  置換基の立体的高高さに関係している分子屈折 (*mr*) と二次の相関関係が認められた。これらの理由から、 $R^6$  のシクロヘキシル基は、 $LTA_4H$  と ACE との選択性発現に対して有効な置換基のひとつであることを示唆している。

## 第 5 節 結論

新たに見出した  $LTA_4H$  阻害剤 *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体 **35a** は、ACE を除く他の亜鉛含有金属酵素に対して酵素選択性を示した。さらに本化合物はマウス急性炎

症モデル（耳介浮腫モデル）およびマウス慢性炎症モデル（関節炎モデル）において、経口投与によりその作用メカニズムに基づく抗炎症効果を示した。また新規性が高く構造展開の可能性もあると考えられた。そこで化合物 **35a** をリード化合物とし構造変換を行うことによりさらに強力に  $LTA_4H$  を阻害し、 $ACE$  に対する酵素選択性を改善する化合物の創出を目的に、構造最適化（リードオプティマイゼーション）を行った。その結果以下の結論を導いた。

1. 新規  $N$ -メルカプトアシルアミノ酸誘導体のアミノ酸側鎖 ( $R^{12}$ ) 置換基変換 (A パート、**Figure 39**) を行ったところ、 $S$ -(4-ジメチルアミノ)ベンジル- $L$ -システイン誘導体化合物 **35a** のみ  $LTA_4H$  阻害作用を示した ( $IC_{50}$ ; 270 nM)。アミノ酸側鎖 ( $R^{12}$ ) 置換基の変換 (A パート) は非常に限定的であった。
2. 置換基  $R^7$  として  $N$ -メルカプトアシル部分 (B パート、**Figure 39**) の変換を行ったところ、(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基が最適な置換基であった。この結果は  $N$ -メルカプトアシル- $L$ -プロリンおよび(4*R*)- $N$ -メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体の場合と同様であった。
3. ベンゼン環上  $p$  位の置換基 ( $R^6$ ) (C パート、**Figure 39**) の効果について検討を行ったところ、 $LTA_4H$  に対する阻害作用が著しく向上した。特に  $R^6$  がヨウ素原子 (化合物 **65d**,  $IC_{50}$ ; 15 nM) および *tert*-ブチル基 (化合物 **65j**,  $IC_{50}$ ; 24 nM) の場合、強力な  $LTA_4H$  阻害作用を示した。また  $R^6$  がシクロヘキシル基の化合物 **65l** は強い  $LTA_4H$  阻害作用を示し ( $IC_{50}$ ; 79 nM)、 $ACE$  に対してはその阻害作用は弱く ( $IC_{50}$ ; 4000 nM) 酵素に対する選択性が向上した。
4. 新規  $S$ -ベンジル- $L$ -システイン誘導体  $\beta$  位 ( $R^8$ ,  $R^9$ ) および  $\delta$  位 ( $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ) (D パート、**Figure 39**) とベンゼン環上  $p$  位 ( $R^6$ ) 置換基変換による  $LTA_4H$  阻害作用について検討を行ったところ、 $S$ -ベンジル- $L$ -システイン誘導体  $\beta$  位 ( $R^8$ ,  $R^9$ ) に *gem*-ジメチルを導入した化合物は阻害作用を示さなかった (化合物 **69**,  $IC_{50} > 10000$  nM)。一方、 $S$ -ベンジル- $L$ -システイン誘導体  $\delta$  位 ( $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ) に *gem*-ジメチルを導入した化合物は *gem*-ジメチルを導入していない化合物よりも阻害作用が向上した。その中で  $\delta$  位 ( $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ) に *gem*-ジメチル、 $R^6$  がシクロヘキシル基の化合物 **73i** は強力な  $LTA_4H$  阻害作用を示し、その阻害作用 ( $IC_{50}$ ; 55 nM) は  $ACE$  阻害作用 ( $IC_{50}$ ; 3000 nM) に対して約 55 倍強いものであり、 $ACE$  に対する選択性を示した。
5. 合成した  $N$ -メルカプトアシル- $S$ -ベンジル- $L$ -システイン誘導体のドッキングシミュレーションにおいて、置換ベンジルチオ基が Phe<sup>340</sup> の方向へ向かっているポーズ **a** が、阻害剤がより強い酵素との親和性を発揮する配座であると考えられた。

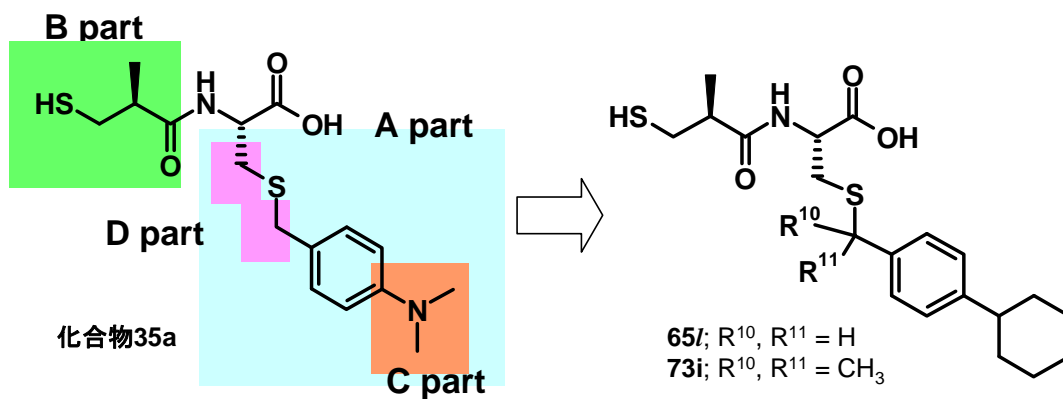


Figure 39. 化合物 35a の構造最適化 (リードオペティマイゼーション)

### 第3章 実験の部

#### 合成実験

使用機器、使用試薬および溶媒については第1章実験の部を参照のこと。

#### *N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-ベンジル-L-システイン (44)

*S*-ベンジル-L-システイン (43) (0.40 g, 1.9 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (8 ml) の懸濁液に、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) (0.78 g, 2.8 mmol) の塩化メチレン (11 ml) 溶液およびトリエチルアミン (0.40 ml, 2.3 mmol) を加えた。反応液を室温で終夜攪拌した後、減圧下濃縮した。残留物へ酢酸エチルを加え、5%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/6) にて精製を行うことにより標記化合物を無色固体として得た (0.44 g, 収率 55%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.29 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 2.59-2.67 (m, 1H), 2.89-2.98 (m, 2H), 3.16 (dd, *J* = 13.7, 6.4 Hz, 1H), 3.29 (dd, *J* = 13.7, 7.8 Hz, 1H), 3.70 (s, 2H), 4.73-4.77 (m, 1H), 6.43 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.21-7.31 (m, 5H), 7.41 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.55 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H); IR (KBr) 3290, 2940, 1726, 1707, 1669, 1660, 1648, 1543 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -124.4 ° (*c* = 0.49, MeOH); mp 126.5-128.0 °C.

#### *S*-ベンジル-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-システイン (35b)

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-ベンジル-L-システイン (44) (0.25 g, 0.60 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (2.5 ml) を加え、この溶液を室温で 30 分間攪拌した。反応液をジエチルエーテルで洗浄した後、氷冷下 6 M 塩酸で pH 2 とした。酢酸エチルで抽出し、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/10) にて精製を行い、標記化合物を無色固体として得た (0.11 g, 収率 60%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.23 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.60 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.42-2.47 (m, 1H), 2.52-2.59 (m, 1H), 2.77-2.85 (m, 1H), 2.91-3.00 (m, 2H), 3.75 (s, 2H), 4.74-4.79 (m, 1H), 6.35 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.24-7.35 (m, 5H); IR (KBr) 3321, 2972, 2931, 2566, 1645, 1528 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -70.4 ° (*c* = 0.51, MeOH); mp 62.4-66.0 °C; MS (ESI, Pos.) 314 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 312 [M-H]<sup>-</sup>.

#### *N*-tert-ブトキシカルボニル-*S*-(3-ジメチルアミノベンジル)-L-システイン (49)

3-ジメチルアミノベンジルアルコール (45) (2.4 g, 16 mmol) に 47%臭化水素酸 (8.2 ml) を加え封管中 120 °C で 1 時間攪拌した。反応液を室温まで戻した後、47%臭化水素酸を減圧下留去することにより 3-ジメチルアミノベンジルブロミド (47) を得た。この 3-ジメチ



ルアミノベンジルブロミド (47) に *N,N*-ジイソプロピルエチルアミン (7.4 ml, 43 mmol) を含む *N*-Boc-*L*-システイン<sup>60</sup> (2.4 g, 11 mmol) の塩化メチレン (50 ml) 溶液を氷冷下加えた。反応液を一晩室温で攪拌した後、減圧下濃縮した。残留物に酢酸エチルを加え、5%クエン酸水溶液、飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/3) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (0.51 g, 2工程で収率 14%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.45 (s, 9H), 2.78-2.94 (m, 2H), 2.96 (s, 6H), 3.68 (d, *J*=13.2 Hz, 1H), 3.72 (d, *J*=13.2 Hz, 1H), 4.45-4.50 (m, 1H), 5.35-5.38 (m, 1H), 6.72-6.74 (m, 1H), 6.77-6.79 (m, 1H), 6.83 (s, 1H), 7.19-7.23 (m, 1H); IR (film) 3332, 1709, 1580, 1392, 1337, 1246 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -38.5° (*c*=0.48, MeOH).

#### *N*-tert-ブトキシカルボニル-*S*-(3-ジエチルアミノベンジル)-*L*-システイン (50)

4-ジエチルアミノベンジルアルコール (46) を用い、化合物 49 と同様の合成法にて合成を行った。

淡黄色油状物、収率 30%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.09 (t, *J*=7.0 Hz, 6H), 1.45 (s, 9H), 2.81-2.88 (m, 1H), 2.93-3.00 (m, 1H), 3.35 (q, *J*=7.0 Hz, 4H), 3.72 (s, 2H), 4.42-4.50 (m, 1H), 5.47-5.52 (m, 1H), 6.90 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 7.27 (d, *J*=8.7 Hz, 2H); IR (film) 3428, 2976, 1710, 1612, 1519, 1368, 1167, 1056, cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -26.6° (*c*=0.47, MeOH).

#### *N*-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(3-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (51)

*N*-tert-ブトキシカルボニル-*S*-(3-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (49) (0.46 g, 1.30 mmol) に 4 M 塩化水素 1,4-ジオキサン溶液 (5 ml) を加えた。この反応液を室温で 45 分間攪拌し、減圧下濃縮した。得られた *S*-(3-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン二塩酸塩 (0.50 g, 1.5 mmol) を *N,N*-ジメチルホルムアミド (6 ml) に懸濁し、氷冷下トリエチルアミン (0.75 ml, 5.4 mol) および(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) (0.61 g, 1.8 mmol) の塩化メチレン (6 ml) 溶液を加えた。反応液を室温で一晩攪拌した後、10%クエン酸水溶液およびジエチルエーテルを加え分配した。有機層を 10%クエン酸水溶液、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/4) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (0.34 g, 収率 48%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.27 (d, *J*=7.3 Hz, 3H), 2.59-2.61 (m, 1H), 2.90-3.00 (m, 2H), 2.93 (s, 6H), 3.17 (dd, *J*=13.4, 5.9 Hz, 1H), 3.28 (dd, *J*=13.4, 7.8 Hz, 1H), 3.66 (s, 2H), 4.69-4.71 (m, 1H), 6.53 (d, *J*=7.3 Hz, 1H), 6.69-6.76 (m, 2H), 6.82 (s, 1H), 7.17 (t, *J*

= 7.8 Hz, 1H), 7.41 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (film) 3306, 2971, 1732, 1661, 1580, 1448  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -10.5^\circ$  ( $c = 0.49$ , MeOH).

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(3-ジエチルアミノベンジル)-*L*-システイン (52)

*N*-*tert*-ブトキシカルボニル-*S*(3-ジエチルアミノベンジル)-*L*-システイン (50)を用い、化合物 49 と同様の合成法にて合成を行った。

淡黄色油状物、収率 78%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.10 (t,  $J = 7.3$  Hz, 6H), 1.28 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 2.63-2.68 (m, 1H), 2.87 (dd,  $J = 13.9, 5.8$  Hz, 1H), 3.02 (dd,  $J = 13.9, 4.4$  Hz, 1H), 3.19 (dd,  $J = 13.9, 6.2$  Hz, 1H), 3.29-3.40 (m, 5H), 3.68 (d,  $J = 13.9$  Hz, 1H), 3.73 (d,  $J = 13.9$  Hz, 1H), 4.70-4.75 (m, 1H), 6.70 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.05 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.31 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.41 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.95 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H); IR (film) 3306, 2973, 1661, 1612, 1519, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -122.0^\circ$  ( $c = 0.45$ , MeOH).

*S*(3-ジメチルアミノベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (35c)

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(3-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (51) (0.28 g, 0.61 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (3 ml) を加え、この溶液を室温で 1 時間攪拌した。反応液をジエチルエーテルで洗浄した後、氷冷下酢酸で pH 4 とした。酢酸エチルで抽出し、有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/4) にて精製を行い、標記化合物を無色油状物として得た (0.15 g, 収率 71%)。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.21 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.60-1.66 (m, 1H), 2.42-2.47 (m, 1H), 2.50-2.55 (m, 1H), 2.75-2.85 (m, 1H), 2.92 (dd,  $J = 14.0, 5.9$  Hz, 1H), 2.96 (s, 6H), 3.02 (dd,  $J = 14.0, 4.9$  Hz, 1H), 3.71 (s, 2H), 4.71-4.75 (m, 1H), 6.58 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 6.77-6.79 (m, 1H), 6.83 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 7.21-7.26 (m, 1H), 8.22 (br s, 1H); IR (film) 3306, 2972, 2557, 1729, 1658, 1603, 1439  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -70.8^\circ$  ( $c = 0.46$ , MeOH); mp 油状物  $^\circ\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 357  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 355  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

*S*(3-ジエチルアミノベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (65q)

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(3-ジエチルアミノベンジル)-*L*-システイン (52)を用い、化合物 35c と同様の合成法にて合成を行った。

淡黄色油状物、収率 58%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  1.04-1.08 (m, 9H), 2.18-2.25 (m, 1H), 2.49-2.90 (m, 5H), 3.26-3.31 (m, 4H), 3.62 (s, 2H), 4.28-4.37 (m, 1H), 6.56 (d,  $J = 8.8$

Hz, 2H), 7.06 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 8.02 (br s, 1H); IR (film) 3307, 2972, 1654, 1612, 1519, 1399, 1267, 1196, 1154  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -54.0^\circ$  ( $c = 0.54$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 385  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 383  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

#### *N*-tert-ブトキシカルボニル-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*D*-システイン (53)

4-ジメチルアミノベンジルアルコール (36) (3.8 g, 25 mmol) に 47%臭化水素酸 (13 ml) を加え封管中 120  $^\circ\text{C}$  で 1.5 時間攪拌した。反応液を室温まで戻した後、47%臭化水素酸を減圧下留去することにより 4-ジメチルアミノベンジルブロミド (37) を得た。この 4-ジメチルアミノベンジルブロミド (37) (4.8 g) に *N,N*-ジイソプロピルエチルアミン (9.3 ml, 53 mmol) を含む *N*-Boc-*D*-システイン (2.7 g, 12 mmol) の塩化メチレン (60 ml) 溶液を氷冷下加えた。反応液を 3.5 時間室温で攪拌した後、減圧下濃縮した。残留物へ酢酸エチルを加え、10%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/4) にて精製を行うことにより標記化合物を無色無晶形固体として得た (1.7 g, 2 工程で収率 39%)。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.45 (s, 9H), 2.83-2.90 (m, 2H), 2.92 (s, 6H), 3.66 (s, 2H), 4.49-4.50 (m, 1H), 5.42 (d  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.79 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.18 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 10.56 (br s, 1H); IR (film) 3322, 2977, 2930, 1713, 1613, 1520, 1392, 1246, 1165, 1056  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +34.1^\circ$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

#### *N*-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*D*-システイン (54)

*N*-tert-ブトキシカルボニル-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*D*-システイン (53) (0.50 g, 1.4 mmol) に 4 M 塩化水素 1,4-ジオキサン溶液 (5 ml) を加えた。この反応液を室温で 1 時間攪拌し、減圧下濃縮した。この *S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*D*-システイン二塩酸塩 (0.50 g, 1.5 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (7 ml) および塩化メチレン (8 ml) の懸濁液に トリエチルアミン (0.75 ml, 5.4 mol) および(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) (0.58 g, 1.7 mmol) を氷冷下加えた。反応液を室温で一晩攪拌した後、減圧下濃縮した。残留物へ酢酸エチルを加え、10%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/3) にて精製を行うことにより標記化合物を無色固体として得た (0.41 g, 収率 58%)。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.27 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.54-2.59 (m, 1H), 2.92-2.97 (m, 8H), 3.15 (dd,  $J = 13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.29 (dd,  $J = 13.7, 7.3$  Hz, 1H), 3.63 (s, 2H), 4.64-4.68 (m, 1H), 6.39 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 6.72 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.15 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.44 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.56 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.96 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3351, 2977,

2933, 1712, 1658, 1515, 1203  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -12.5° ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 93.5-97.5 °C.

*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*N*-[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*D*-システイン (35d)

*N*-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*D*-システイン (54) (0.20 g, 0.43 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (6 ml) を加え、この溶液を室温で 30 分間攪拌した。反応液を氷冷下酢酸で pH 5 とした後、酢酸エチルで抽出した。有機層を 10%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/10) にて精製を行うことにより標記化合物を無色固体として得た (0.08 g, 収率 54%)。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.21 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.64-1.68 (m, 1H), 2.39-2.40 (m, 1H), 2.42-2.52 (m, 1H), 2.78-2.85 (m, 1H), 2.94 (s, 6H), 2.95-2.97 (m, 2H), 3.65 (s, 2H), 4.66-4.70 (m, 1H), 6.39 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.80 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3369, 2976, 2930, 2552, 1709, 1651, 1515, 1455, 1347  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  +42.2° ( $c = 0.47$ , MeOH); mp 89.5-91.5 °C; MS (ESI, Pos.) 357  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 355  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

*N*-tert-ブトキシカルボニル-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-ホモシステイン (55)

4-ジメチルアミノベンジルアルコール (36) (0.87 g, 5.8 mmol) に 47%臭化水素酸 (3 ml) を加え封管中 120 °C で 1 時間攪拌した。反応液を室温まで戻した後、47%臭化水素酸を減圧下留去することにより 4-ジメチルアミノベンジルブロミド (37) を得た。この 4-ジメチルアミノベンジルブロミド (37) に *N,N*-ジイソプロピルエチルアミン (2.2 ml, 12 mmol) を含む *N*-Boc-*L*-ホモシステイン (0.68 g, 2.9 mmol) の塩化メチレン (28 ml) 溶液を氷冷下加えた。反応液を 2.5 時間室温で攪拌した後、減圧下濃縮した。残留物に酢酸エチルを加え、10%クエン酸水溶液、飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧下留去した。残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/1) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (1.7 g, 2 工程で収率 65%)。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.44 (s, 9H), 1.87-1.93 (m, 1H), 2.05-2.15 (m, 1H), 2.44-2.48 (m, 2H), 2.92 (s, 6H), 3.65 (s, 2H), 4.30-4.40 (m, 1H), 5.10-5.15 (m, 1H), 6.72 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.17 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (film) 3325, 2976, 2930, 1709, 1520, 1227, 1165, 1050  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -9.5° ( $c = 0.34$ , MeOH).

*N*-[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-ホモシステイン (56)

*N*-tert-ブトキシカルボニル-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-ホモシステイン (55) (0.63 g,

1.7 mmol) に 4 M 塩化水素 1,4-ジオキサン溶液 (6 ml) を加えた。この反応液を室温で 0.5 時間攪拌し、減圧下濃縮した。この *S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-L-ホモシステイン二塩酸塩 (0.50 g, 1.5 mmol) に *N,N*-ジメチルホルムアミド (3 ml) を加え、氷冷下トリエチルアミン (0.71 ml, 5.1 mol) および(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (**20**) (0.66 g, 1.9 mmol) の塩化メチレン (4 ml) 溶液を加えた。反応液を室温で終夜攪拌した後、反応液にジエチルエーテルおよび 5%クエン酸水溶液を加え分配した。有機層を飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール = 100/1) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (0.39 g, 収率 56%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.24 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.93-1.95 (m, 1H), 2.11-2.13 (m, 1H), 2.40-2.45 (m, 2H), 2.58-2.62 (m, 1H), 2.89 (s, 6H), 3.15 (dd, *J* = 13.5, 5.9 Hz, 1H), 3.23 (dd, *J* = 13.5, 8.3 Hz, 1H), 3.61 (s, 2H), 4.61-4.63 (m, 1H), 6.50 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.73 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.14 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.43 (td, *J* = 7.3, 1.8 Hz, 2H), 7.56 (tt, *J* = 7.3, 1.8 Hz, 1H), 7.95 (dt, *J* = 7.3, 1.8 Hz, 2H); IR (film) 3306, 2931, 1733, 1662, 1521, 1447, 1350, 1208 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -81.6° (*c* = 0.51, MeOH).

#### *S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-ホモシステイン (**35e**)

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-L-ホモシステイン (**56**) (0.33 g, 0.70 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (3 ml) を加え、この溶液を室温で 1 時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで洗浄した後、氷冷下酢酸で pH 5 とし、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール = 100/4) にて精製を行うことにより標記化合物を無色固体として得た (0.18 g, 収率 69%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.18 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.48-1.52 (m, 1H), 1.95-2.00 (m, 1H), 2.12-2.17 (m, 1H), 2.38-2.54 (m, 4H), 2.74-2.77 (m, 1H), 2.93 (s, 6H), 3.67 (s, 2H), 4.60-4.65 (m, 1H), 6.44 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H); IR (KBr) 3302, 2973, 2926, 2556, 1728, 1709, 1647, 1525, 1242 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -36.2° (*c* = 0.49, MeOH); mp 111.5-115.0 °C; MS (ESI, Pos.) 371 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 369 [M-H]<sup>-</sup>.

#### (2*S*)-2-ベンゾイルチオプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (**58b**)

(2*S*)-2-ベンゾイルチオプロピオン酸 (**57b**) (3.0 g, 14 mmol) および 4-ニトロフェニルエステル (2.2 g, 16 mmol) の塩化メチレン (60 ml) 溶液に氷冷下 *N,N*-ジシクロヘキシルカルボジイミド (3.2 g, 16 mmol) の塩化メチレン (10 ml) 溶液を加えた。室温で 5.5 時

間攪拌した後、不溶物を濾去し濾液を減圧下濃縮した。残留物に 5%炭酸水素ナトリウム水溶液および酢酸エチルを加え分配した。有機層を 5%炭酸水素ナトリウム水溶液、水および飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン／酢酸エチル=100／10）にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た（3.4 g, 収率 71%）。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.76 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 4.60 (q,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.49 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.61 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.98 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 8.28 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (film) 3084, 2858, 1767, 1523, 1348  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -78.3^\circ$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

以下、相当する *S*-ベンゾイルチオアルカノイル酸 **57a** および **57c-g** を用い、化合物 **58b** と同様の合成法により合成を行った。

#### **2-ベンゾイルチオ酢酸 4-ニトロフェニルエステル (58a)**

淡黄色固体、収率 64%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  4.11 (s, 2H), 7.35 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H), 7.50 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.63 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.00 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 8.28 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H); IR (KBr) 3082, 2929, 1769, 1659, 1523, 1346, 1210, 1129  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 87.0-88.2  $^\circ\text{C}$ .

#### **(2*R*)-2-ベンゾイルチオプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (58c)**

淡黄色油状物、収率 61%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.76 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 4.60 (q,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.33 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H), 7.49 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.63 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.97 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 8.27 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H); IR (film) 3084, 2857, 1765, 1711, 1524, 1347  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +43.9^\circ$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

#### **3-ベンゾイルチオプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (58d)**

淡黄色固体、収率 87%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  3.05 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 3.43 (t,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 7.31 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H), 7.47 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.60 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.97 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 8.27 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H); IR (film) 3114, 3089, 1765, 1665, 1523, 1347, 1204, 1124  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 79.2-80.5  $^\circ\text{C}$ .

#### **(2*RS*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (58e)**

淡黄色固体、定量的;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.48 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 3.10-3.17 (m, 1H), 3.38-3.47 (m, 2H), 7.30 (d,  $J = 9.3$  Hz, 2H), 7.48 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.61 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.98 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 8.27 (d,  $J = 9.3$  Hz, 2H); IR (KBr) 3076, 2979, 1758, 1661, 1593, 1522, 1346, 1209  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 40.5-42.0  $^\circ\text{C}$ .

#### **(3*RS*)-3-ベンゾイルチオ-3-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (58f)**

淡黄色固体、収率 56%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.58 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.96 (dd,  $J = 16.1, 7.3$  Hz, 1H), 3.10 (dd,  $J = 16.1, 6.4$  Hz, 1H), 4.24-4.30 (m, 1H), 7.30 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.47 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.60 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.95 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 8.27 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR (KBr) 3077, 1763, 1658, 1520, 1461, 1382  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 90.5-93.2  $^{\circ}\text{C}$ .

#### 4-ベンゾイルチオ酪酸 4-ニトロフェニルエステル (58g)

淡黄色固体、収率 83%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  2.12-2.19 (m, 2H), 2.75 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.22 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.31 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H), 7.47 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.59 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.98 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 8.27 (d,  $J = 9.2$  Hz, 2H); IR (film) 3327, 2934, 1766, 1645, 1521, 1358, 1219, 1122  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 104.0-106.5  $^{\circ}\text{C}$ .

#### *N*[(2*S*)-2-ベンゾイルチオプロピオニル]-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (60b)

*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン二塩酸塩 (59) (0.33 g, 1.0 mmol) に *N,N*-ジメチルホルムアミド (10 ml) を加え、氷冷下トリエチルアミン (0.49 ml, 3.5 mmol) および(2*S*)-2-ベンゾイルチオプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (58b) (0.50 g, 1.5 mmol) の塩化メチレン (10 ml) 溶液を加えた。反応液を室温で一晩攪拌した後、反応液にジエチルエーテルおよび 10%クエン酸水溶液を加え分配した。有機層を 10%クエン酸水溶液および飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/3) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (0.13 g, 収率 28%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.58 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 2.82-2.96 (m, 2H), 2.90 (s, 6H), 3.57 (s, 2H), 4.39 (q,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 4.68-4.73 (m, 1H), 6.72 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.08 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.18 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.43 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H); IR (film) 3367, 2930, 1730, 1662, 1581, 1447  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -97.9  $^{\circ}$  ( $c = 0.19$ , MeOH).

以下、*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン二塩酸塩 (59) および化合物 58a, c-g を用い、化合物 60b と同様の合成法により合成を行った。

#### *N*-(2-ベンゾイルチオアセチル)-*S*-(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (60a)

淡黄色油状物、収率 70%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  2.85-2.97 (m, 2H), 2.90 (s, 6H), 3.60 (s, 2H), 3.77 (d,  $J = 14.7$  Hz, 1H), 3.82 (d,  $J = 14.7$  Hz, 1H), 4.66-4.71 (m, 1H), 6.77 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.13 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.44 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.95 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (film) 2919, 1730, 1666, 1521, 1209  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -37.8  $^{\circ}$  ( $c = 0.53$ , MeOH).

***N*[(2*R*)-2-ベンゾイルチオプロピオニル]-*S*(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (60c)**

淡黄色油状物、収率 31%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.57 (d, *J* = 7.3 Hz, 3H), 2.84-2.97 (m, 2H), 2.89 (s, 6H), 3.61 (s, 2H), 4.34 (q, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.65-4.68 (m, 1H), 6.79 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.22 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.42 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.57 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H); IR (film) 3338, 2929, 1731, 1661, 1581, 1447 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +6.5 ° (*c* = 1.0, MeOH).

***N*[(3-ベンゾイルチオプロピオニル)-*S*(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (60d)**

無色固体、収率 51%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 2.57-2.61 (m, 2H), 2.91 (s, 6H), 2.93 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.31 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.62 (s, 2H), 4.68-4.72 (m, 1H), 6.36 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.75 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.15 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.42 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.56 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H); IR (KBr) 3344, 1662, 1517, 1403, 1204 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -66.1 ° (*c* = 0.49, MeOH); mp 98.0-103.0 °C.

***N*[(2*R*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (60e)**

無色固体、収率 11%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.23 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 2.53-2.58 (m, 1H), 2.92 (s, 6H), 2.93-2.96 (m, 2H), 3.15 (dd, *J* = 13.7, 6.3 Hz, 1H), 3.28 (dd, *J* = 13.7, 7.3 Hz, 1H), 3.63 (s, 2H), 4.63-4.67 (m, 1H), 6.35 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.71 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.14 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.45 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.58 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.96 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H); IR (KBr) 3351, 2978, 2933, 1710, 1658, 1515, 1203 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +8.7 ° (*c* = 0.49, MeOH); mp 93.5-95.5 °C.

***N*[(3*RS*)-3-ベンゾイルチオ-3-メチルプロピオニル]-*S*(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (60f)**

淡黄色油状物、収率 44%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.46, 1.47 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 2.44-2.52 (m, 1H), 2.67-2.72 (m, 1H), 2.89-2.98 (m, 8H), 3.64 (s, 2H), 4.07-4.12 (m, 1H), 4.66-4.71 (m, 1H), 6.40, 6.44 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 6.72-6.75 (m, 2H), 7.15-7.18 (m, 2H), 7.41-7.46 (m, 2H), 7.54-7.58 (m, 1H), 7.92-7.94 (m, 2H); IR (film) 3305, 2924, 1728, 1660, 1614, 1521, 1447, 1210 cm<sup>-1</sup>.

***N*[(4-ベンゾイルチオブチリル)-*S*(4-ジメチルアミノベンジル)-*L*-システイン (60g)**

淡黄色油状物、収率 51%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.97-2.04 (m, 2H), 2.34 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.93-2.98 (s, 6H), 2.94 (m, 2H), 3.11 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.64 (s, 2H), 4.69-4.73 (m, 1H), 6.54 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.17 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.43 (t,



$J = 7.5$  Hz, 2H), 7.56 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.95 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (film) 3326, 2924, 1730, 1660, 1612, 1521, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -44.0^\circ$  ( $c = 0.57$ , MeOH).

**S-(4-ジメチルアミノベンジル)-N[(2S)-2-メルカプトプロピオニル]-L-システイン (61b)**

N[(2S)-2-ベンゾイルチオプロピオニル]-S-(4-ジメチルアミノベンジル)-L-システイン (60b) (0.10 g, 0.22 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (1 ml) を加え、この溶液を室温で 1 時間攪拌した。反応液をジエチルエーテルで洗浄した後、氷冷下酢酸で pH 4 とし、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=100/3) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (0.05 g, 収率 65%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.54 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 2.10 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 2.92-3.02 (m, 2H), 2.92 (s, 6H), 3.37-3.41 (m, 1H), 3.69 (s, 2H), 4.61-4.66 (m, 1H), 6.72 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 6.98 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.18 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR (film) 3306, 2926, 2950, 1728, 1659, 1612, 1521  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -53.9^\circ$  ( $c = 0.16$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 343  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 341  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

以下、化合物 60a および 60c-g を用い、化合物 61b と同様の合成法により合成を行った。

**S-(4-ジメチルアミノベンジル)-N(2-メルカプトアセチル)-L-システイン (61a)**

淡黄色油状物、収率 45%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.89-2.00 (m, 1H), 2.94 (s, 6H), 2.96-2.98 (m, 2H), 3.23 (s, 2H), 3.67 (s, 2H), 4.67-4.71 (m, 1H) 6.80 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.30 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H); IR (film) 3305, 2919, 1728, 1651, 1612, 1521, 1349, 1218  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -35.3^\circ$  ( $c = 0.55$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 328  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 327  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

**S-(4-ジメチルアミノベンジル)-N[(2R)-2-メルカプトプロピオニル]-L-システイン (61c)**

淡黄色油状物、収率 69%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.54 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 2.08-2.12 (m, 1H), 2.94-2.97 (m, 2H), 2.94 (s, 6H), 3.42-3.50 (m, 1H), 3.66 (s, 2H), 4.66-4.69 (m, 1H), 6.78 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.10 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.18 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR (film) 3306, 2926, 2552, 1729, 1659, 1612, 1521  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -36.5^\circ$  ( $c = 0.26$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 343  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 341  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

**S-(4-ジメチルアミノベンジル)-N(3-メルカプトプロピオニル)-L-システイン (61d)**

淡黄色油状物、収率 59%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.67 (t,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 2.39-2.56 (m, 2H), 2.75-2.80 (m, 2H), 2.91-3.01 (m, 2H), 2.94 (s, 6H), 3.62-3.70 (m, 2H), 4.65-4.70 (m, 1H), 6.18 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 6.74 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.17 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR

(film) 3305, 2918, 1728, 1650, 1612, 1521, 1350, 1217  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-56.5^{\circ}$  ( $c = 0.50$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 343  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ , (ESI, Neg.) 341  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ .

***S*(4-ジメチルアミノベンジル)-*N*[(2*R*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (61e)**

無色固体、収率 33%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.20 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.59-1.64 (m, 1H), 2.35-2.40 (m, 1H), 2.48-2.52 (m, 1H), 2.77-2.82 (m, 1H), 2.92-3.01 (m, 2H), 2.95 (s, 6H), 3.66 (s, 2H), 4.61-4.66 (m, 1H), 6.23 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 6.74 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.18 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR (KBr) 3368, 2976, 2930, 2557, 1708, 1651, 1515, 1455, 1346  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-43.2^{\circ}$  ( $c = 0.31$ , MeOH); mp 91.5-92.5  $^{\circ}\text{C}$ .

***S*(4-ジメチルアミノベンジル)-*N*[(3*RS*)-3-メルカプト-3-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (61f)**

淡黄色油状物、収率 64%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.35 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.90-1.98 (m, 1H), 2.36-2.42 (m, 1H), 2.46-2.52 (m, 1H), 2.90-2.99 (m, 8H), 3.41-3.48 (m, 1H), 3.65, 3.66 (s, 2H), 4.71-4.73 (m, 1H) 6.46 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.82-6.85 (m, 2H), 7.19-7.21 (m, 2H); IR (film) 3306, 2922, 2554, 1651, 1522, 1446, 1351  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI, Pos.) 357  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ , (ESI, Neg.) 355  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ .

***S*(4-ジメチルアミノベンジル)-*N*(4-メルカプトブチリル)-*L*-システイン (61g)**

淡黄色油状物、定量的;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  1.73-1.80 (m, 3H), 2.24 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 2.31 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 2.44-2.49 (m, 1H), 2.60 (dd,  $J = 13.6, 8.3$  Hz, 1H), 2.79 (dd,  $J = 13.6, 4.8$  Hz, 1H), 2.86 (s, 6H), 3.62 (s, 2H), 4.33-4.38 (m, 1H), 6.65 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.09 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 8.06 (br s, 1H); IR (film) 3306, 2923, 1723, 1612, 1522, 1414, 1350, 1224  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-45.4^{\circ}$  ( $c = 0.48$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 357  $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ , (ESI, Neg.) 355  $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ .

***S*(4-シクロヘキシルベンジル)-*L*-システイン (63l)**

*L*-システイン塩酸塩一水和物 (27) (0.31 g, 1.8 mmol) の 2 M 水酸化ナトリウム (1.8 ml, 3.6 mmol) 水溶液に 4-シクロヘキシルベンジルクロリド (62l) (0.40 g, 1.9 mmol) のエタノール (6 ml) クロロホルム (1 ml) 混合溶液を氷冷下加えた。反応液を室温で一晩攪拌した後、析出物を慮取した。得られた固体を水、エタノール、ジエチルエーテルにて順次洗浄することにより標記化合物を無色固体として得た (0.44 g, 収率 83%)。

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  1.23-1.30 (m, 1H), 1.36-1.45 (m, 4H), 1.67-1.71 (m, 1H), 1.75-1.83 (m, 4H), 2.48-2.52 (m, 1H), 3.01 (d,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.82 (s, 2H), 4.20 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.20 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.28 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H); IR (KBr) 3307, 2924, 2851, 1615,

1516, 1490, 1417, 1389  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 195.6-197.1  $^{\circ}\text{C}$  (dec.); MS (ESI, Pos.) 294  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 292  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

以下、L-システイン塩酸塩一水和物 (27) および対応するベンジルハライドを用い、化合物 63f と同様の合成法にて合成を行った。

**S(4-フルオロベンジル)-L-システイン (63a)**

無色固体、収率 84%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  3.03 (dd,  $J = 14.7, 5.9$  Hz, 2H), 3.85 (d,  $J = 13.9$  Hz, 1H), 3.88 (d,  $J = 13.9$  Hz, 1H), 4.25 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.15-7.20 (m, 2H), 7.40-7.46 (m, 2H); IR (KBr) 2915, 2617, 1621, 1583, 1558, 1491, 1411, 1394  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 210-215  $^{\circ}\text{C}$  (dec.).

**S(4-クロロベンジル)-L-システイン (63b)**

無色固体、収率 92%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  3.03 (d,  $J = 5.1$  Hz, 2H), 3.87 (s, 2H), 4.24 (t,  $J = 5.1$  Hz, 1H), 7.42-7.43 (m, 4H); IR (KBr) 2880, 1619, 1589, 1560, 1491, 1395  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 203.0-206.0  $^{\circ}\text{C}$  (dec.).

**S(4-ブロモベンジル)-L-システイン (63c)**

無色固体、収率 87%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  3.01 (d,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.85 (s, 2H), 4.22 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.36 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.55 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H); IR (KBr) 2919, 1616, 1586, 1488, 1397, 1341, 1072  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 205.0-208.0  $^{\circ}\text{C}$  (dec.).

**S(4-ヨードベンジル)-L-システイン (63d)**

無色固体、収率 88%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  2.99 (d,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.82 (s, 2H), 4.20 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.22 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.72 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 2919, 1615, 1581, 1502, 1416, 1342, 1298, 1059  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 207.0-212.0  $^{\circ}\text{C}$  (dec.).

**S(4-メチルベンジル)-L-システイン (63e)**

無色固体、収率 66%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  2.29 (s, 3H), 2.97 (d,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.80 (s, 2H), 4.18 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.16 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.25 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H); IR (KBr) 2919, 2115, 1618, 1581, 1495, 1421, 1298  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 210.0-211.0  $^{\circ}\text{C}$  (dec.).

**S(4-トリフルオロメチルベンジル)-L-システイン (63f) 塩酸塩**

化合物 63f は塩酸塩として単離した。

無色固体、収率 91%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  2.91-3.01 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 4.18-4.21 (m, 1H), 7.61 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.71 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 8.66 (br s, 3H); IR (KBr) 2898, 1731, 1617, 1583, 1502, 1324, 1130, 1067  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 213.0-214.0  $^{\circ}\text{C}$ .

**S(4-エチルベンジル)-L-システイン (63g)**

無色固体、収率 79%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  1.17, (t,  $J = 7.5$  Hz, 3H), 2.58 (q,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 2.99 (d,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.81 (s, 2H), 4.17-4.20 (m, 1H), 7.24-7.31 (m, 4H); IR (KBr) 2964, 1617, 1580, 1491, 1395, 1343  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 195.0-197.0  $^{\circ}\text{C}$ .

**S(4-プロピルベンジル)-L-システイン (63h)**

無色固体、収率 36%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  0.88 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.54-1.59 (m, 2H), 2.53 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 2.99 (d,  $J = 6.3$  Hz, 2H), 3.81 (s, 2H), 4.18 (t,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 7.16 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 7.27 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H); IR (KBr) 3164, 2956, 2614, 1618, 1562, 1495, 1395  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 210.0-213.0  $^{\circ}\text{C}$  (dec.).

**S(4-イソプロピルベンジル)-L-システイン (63i)**

無色固体、収率 71%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  1.18 (d,  $J = 7.3$  Hz, 6H), 2.66-2.91 (m, 1H), 3.00 (d,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.81 (s, 2H), 4.20 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.21 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H), 7.28 (d,  $J = 7.7$  Hz, 2H); IR (KBr) 2959, 1585, 1491, 1412, 1342  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 200.0-205.0  $^{\circ}\text{C}$  (dec.).

**S(4-tertブチルベンジル)-L-システイン (63j)**

無色固体、収率 12%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  1.27 (s, 9H), 3.05-3.09 (m, 2H), 3.84 (s, 2H), 4.25-4.29 (m, 1H), 7.32 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.40 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (KBr) 1615, 1393, 1268  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 181  $^{\circ}\text{C}$  (dec.).

**S(4-フェニルベンジル)-L-システイン (63k)**

粗精製物のまま次の反応に進んだ。

**S(4-メトキシベンジル)-L-システイン (63m)**

市販品を用いることにより、次の反応に進んだ。

**S(4-トリフルオロメトキシベンジル)-L-システイン (63n)**

無色固体、収率 28%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  3.00 (d,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 3.89 (s, 2H), 4.21 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.34 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.52 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (KBr) 3164, 2908, 1620, 1588, 1563, 1494, 1320  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 206.0-211.0  $^{\circ}\text{C}$  (dec.).

**S(4-エトキシベンジル)-L-システイン (63o)**

無色固体、収率 49%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6 + \text{DCl}$ , 400 MHz)  $\delta$  1.33 (t,  $J = 7.5$  Hz, 3H), 3.02

(d,  $J = 5.5$  Hz, 2H), 3.81 (s, 2H), 4.02 (q,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 4.20 (t,  $J = 5.5$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.30 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H); IR (KBr) 2979, 1613, 1579, 1513, 1420, 1344, 1246  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 210.0-212.0 °C (dec.).

***S***(4-フェノキシベンジル)-***L***-システイン (63p)

無色固体、収率 23%;  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$  + DCl, 400 MHz)  $\delta$  3.07 (d,  $J = 5.1$  Hz, 2H), 3.88 (s, 2H), 4.26 (t,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 6.99-7.04 (m, 4H), 7.21 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.42-7.47 (m, 4H); IR (KBr) 2915, 1579, 1496, 1420, 1258  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 208 °C (dec.).

***S***(4-シアノベンジル)-***L***-システイン (63r)

無色固体、収率 29%;  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$  + DCl, 400 MHz)  $\delta$  2.67 (dd,  $J = 14.2, 7.8$  Hz, 2H), 2.85 (dd,  $J = 14.2, 3.9$  Hz, 2H), 3.34-3.39 (m, 1H), 3.81 (d,  $J = 13.2$  Hz, 1H), 3.88 (d,  $J = 13.2$  Hz, 1H), 7.57 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.79 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (KBr) 2987, 2238, 1609, 1585, 1506  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 185.0-188.5 °C (dec.).

***S***(4-ニトロベンジル)-***L***-システイン (63s)

無色固体、収率 83%;  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$  + DCl, 400 MHz)  $\delta$  3.01 (d,  $J = 5.9$  Hz, 2H), 4.00 (s, 2H), 4.22 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.68 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 8.22 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (KBr) 3300, 3107, 1627, 1539, 1346  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 190.0-192.0 °C (dec.).

***S***(4-メチルチオベンジル)-***L***-システイン (63t)

無色固体、収率 83%;  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$  + DCl, 400 MHz)  $\delta$  2.48 (s, 3H), 3.05 (m, 2H), 3.84 (s, 2H), 4.24-4.28 (m, 1H), 7.26 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.35 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H); IR (KBr) 2918, 1617, 1579, 1492, 1419, 1343  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 210.0-213.0 °C (dec.).

***S***(4-メチルスルホニルベンジル)-***L***-システイン (63u)

粗精製物のまま次の反応に進んだ。

***N***[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-***S***(4-シクロヘキシルベンジル)-***L***-システイン (64)

***S***(4-シクロヘキシルベンジル)-***L***-システイン (63t) (0.40 g, 1.4 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (4.5 ml) 溶液に、氷冷下(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) (0.49 g, 1.4 mmol) およびトリエチルアミン (0.21 ml, 1.5 mmol) を加えた。反応液を室温で一晩攪拌した後、酢酸エチルを加え、有機層を 10%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄し無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=100/50) にて精製を行うことに

より標記化合物を無色油状物として得た (0.59 g, 収率 86%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  1.19-1.27 (m, 1H), 1.30 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H), 1.35-1.42 (m, 4H), 1.72-1.76 (m, 1H), 1.79-1.88 (m, 4H), 2.43-2.49 (m, 1H), 2.58-2.65 (m, 1H), 2.93 (dd,  $J = 14.2$ , 6.7 Hz, 1H), 2.98 (dd,  $J = 14.2$ , 5.2 Hz, 1H), 3.18 (dd,  $J = 13.7$ , 6.1 Hz, 1H), 3.30 (dd,  $J = 13.7$ , 7.8 Hz, 1H), 3.66 (d,  $J = 13.4$  Hz, 1H), 3.69 (d,  $J = 13.4$  Hz, 1H), 4.69 (td,  $J = 6.7$ , 5.2 Hz, 1H), 6.38 (d,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 7.13 (dd,  $J = 6.4$ , 1.8 Hz, 2H), 7.18 (dd,  $J = 6.4$ , 1.8 Hz, 2H), 7.42 (td,  $J = 7.2$ , 1.4 Hz, 2H), 7.57 (tt,  $J = 7.2$ , 1.4 Hz, 1H), 7.95 (dt,  $J = 7.2$ , 1.4 Hz, 2H); IR (film) 3324, 2924, 1737, 1732, 1666, 1514, 1448, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -108.9° ( $c = 0.52$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 500  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 498  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

以下、化合物 **63a-k**, **m-p**, **r-u** および、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (**20**) を用い、化合物 **64i** と同様の合成法にて合成を行った。

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-フルオロベンジル)-*L*-システイン**  
**(64a)**

無色固体、収率 66%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  1.14 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.62-2.73 (m, 2H), 2.79 (dd,  $J = 13.7$ , 4.9 Hz, 1H), 3.15 (d,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 3.75 (s, 2H), 4.43-4.48 (m, 1H), 7.07-7.12 (m, 2H), 7.28-7.34 (m, 2H), 7.52 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.68 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.87 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 8.39 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 12.85 (br s, 1H); IR (KBr) 3292, 3072, 2975, 1711, 1660, 1544, 1233, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -71.6° ( $c = 0.99$ , DMSO); mp 146.0-150.0 °C.

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-クロロベンジル)-*L*-システイン**  
**(64b)**

無色固体、収率 84%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.30 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.65-2.71 (m, 1H), 2.87 (dd,  $J = 14.1$ , 5.8 Hz, 1H), 2.96 (dd,  $J = 14.1$ , 5.3 Hz, 1H), 3.16 (dd,  $J = 13.6$ , 6.3 Hz, 1H), 3.30 (dd,  $J = 13.6$ , 7.8 Hz, 1H), 3.67 (s, 2H), 4.76-4.81 (m, 1H), 6.50 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.19 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.24 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.42 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.57 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.92 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3291, 1706, 1667, 1659, 1651, 1544  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -120.4° ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 162.5-165.0 °C.

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-ブロモベンジル)-*L*-システイン**  
**(64c)**

無色固体、収率 76%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.31 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.65-2.70 (m, 1H), 2.88 (dd,  $J = 14.2$ , 6.4 Hz, 1H), 2.96 (dd,  $J = 14.2$ , 5.4 Hz, 1H), 3.16 (dd,  $J = 13.7$ , 6.4 Hz, 1H), 3.31 (dd,  $J = 13.7$ , 7.8 Hz, 1H), 3.66 (s, 2H), 4.75-4.80 (m, 1H), 6.47 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.14 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.39-7.44 (m, 4H), 7.57 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J =$

7.8 Hz, 2H); IR (KBr) 3292, 2976, 1708, 1659, 1542, 1285, 1242  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -116.9° ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 166.0-168.3 °C.

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-ヨードベンジル)-*L*-システイン  
(64d)

無色固体、収率 82%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.31 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.64-2.69 (m, 1H), 2.88 (dd,  $J = 14.2, 6.4$  Hz, 1H), 2.96 (dd,  $J = 14.2, 5.4$  Hz, 1H), 3.16 (dd,  $J = 13.7, 5.9$  Hz, 1H), 3.31 (dd,  $J = 13.7, 7.8$  Hz, 1H), 3.64 (s, 2H), 4.75-4.77 (m, 1H), 6.46 (d,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 7.01 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.41-7.45 (m, 2H), 7.52-7.62 (m, 3H), 7.93 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H); IR (KBr) 3292, 2976, 1714, 1659, 1542, 1242, 1207, 1060  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -76.5° ( $c = 1.0$ , DMSO); mp 171.0-173.0 °C.

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-メチルベンジル)-*L*-システイン  
(64e)

無色固体、収率 69%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.28 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.61-2.66 (m, 1H), 2.87-2.98 (m, 2H), 3.16 (dd,  $J = 13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.29 (dd,  $J = 13.7, 7.8$  Hz, 1H), 3.66 (s, 2H), 4.75-4.80 (m, 1H), 6.52 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.07 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.14 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.41 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.56 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (KBr) 3309, 2980, 1728, 1708, 1665, 1534  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -123.8° ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 115.0-126.0 °C.

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-トリフルオロメチルベンジル)-*L*-システイン (64f)

無色固体、収率 91%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  1.15 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3H), 2.63-2.73 (m, 2H), 2.81 (dd,  $J = 13.9, 5.1$  Hz, 1H), 3.15 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.84 (s, 2H), 4.45-4.48 (m, 1H), 7.48-7.52 (m, 4H), 7.62-7.68 (m, 3H), 7.85-7.88 (m, 2H), 8.41 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 12.86 (br s, 1H); IR (KBr) 3291, 2974, 1710, 1658, 1543, 1207  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -104.7° ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 180.0-180.7 °C.

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-エチルベンジル)-*L*-システイン  
(64g)

無晶形固体、収率 35%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.20 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.28 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.57-2.67 (m, 3H), 2.88-2.99 (m, 2H), 3.16 (dd,  $J = 5.9, 13.7$  Hz, 1H), 3.29 (dd,  $J = 7.8, 13.7$  Hz, 1H), 3.67 (s, 2H), 4.74-4.78 (m, 1H), 6.50 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.10 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.17 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.41 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (film) 3341, 2967, 2931, 1734, 1662, 1515, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -125.2°

( $c = 0.98$ , MeOH).

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-プロピルベンジル)-*L*-システイン (64h)**

無色固体、収率 73%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.92 (t,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.29 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.56-1.65 (m, 2H), 2.54 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 2.60-2.66 (m, 1H), 2.88-2.99 (m, 2H), 3.16 (dd,  $J = 13.7, 6.6$  Hz, 1H), 3.29 (dd,  $J = 13.7, 7.8$  Hz, 1H), 3.67 (s, 2H), 4.72-4.77 (m, 1H), 6.44 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.08 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.16 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.41 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.56 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (KBr) 3290, 2952, 1725, 1709, 1669, 1648, 1661, 1544, 1209  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-120.6^\circ$  ( $c = 0.51$ , MeOH); mp 119.0-121.0  $^\circ\text{C}$ .

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-イソプロピルベンジル)-*L*-システイン (64i)**

無色固体、収率 61%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.22 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.29 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.61-2.67 (m, 1H), 2.83-3.00 (m, 3H), 3.16 (dd,  $J = 13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.30 (dd,  $J = 13.7, 7.8$  Hz, 1H), 3.67 (s, 2H), 4.73-4.78 (m, 1H), 6.46 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.14 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.18 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.41 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.57 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3856, 3841, 2962, 1725, 1708, 1660, 1541, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-123.5^\circ$  ( $c = 0.98$ , MeOH); mp 92.0-99.7  $^\circ\text{C}$ .

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-*tert*-ブチルベンジル)-*L*-システイン (64j)**

淡黄色油状物、収率 42%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.29 (s, 9H), 1.30 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.63-2.65 (m, 1H), 2.93 (dd,  $J = 14.1, 6.3$  Hz, 1H), 3.00 (dd,  $J = 14.1, 4.8$  Hz, 1H), 3.18 (dd,  $J = 13.6, 5.8$  Hz, 1H), 3.30 (dd,  $J = 13.6, 7.8$  Hz, 1H), 3.68 (s, 2H), 4.76-4.78 (m, 1H), 6.47 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.19 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.29 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.40 (t,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H); IR (film) 1732, 1661, 1414, 1207  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-89.4^\circ$  ( $c = 0.49$ , MeOH).

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-フェニルベンジル)-*L*-システイン (64k)**

粗精製物のまま次の反応に進んだ。

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-メトキシベンジル)-*L*-システイン (64m)**

無色固体、収率 66%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.29 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.62-2.67 (m,



1H), 2.87-2.98 (m, 2H), 3.16 (dd,  $J = 13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.30 (dd,  $J = 13.7, 7.8$  Hz, 1H), 3.66 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 4.75-4.78 (m, 1H), 6.47 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.81 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.18 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.42 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.56 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.93 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3300, 2931, 1726, 1708, 1666, 1535, 1514, 1255, 1242  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -124.5° ( $c = 0.97$ , MeOH); mp 133.0-138.0 °C.

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-トリフルオロメトキシベンジル)-L-システイン (64n)**

無色固体、収率 75%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  1.14 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.63-2.73 (m, 2H), 2.81 (dd,  $J = 13.7, 4.9$  Hz, 1H), 3.15 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 3.79 (s, 2H), 4.44-4.49 (m, 1H), 7.26 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.40 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.50 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.66 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.87 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 8.41 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 12.86 (br s, 1H); IR (KBr) 3291, 2976, 1714, 1661, 1650, 1544, 1314, 1212, 1149  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -65.6° ( $c = 0.97$ , DMSO); mp 167.0-168.2 °C.

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-エトキシベンジル)-L-システイン (64o)**

無色固体、収率 58%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.29 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.39 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.62-2.67 (m, 1H), 2.87-2.98 (m, 2H), 3.16 (dd,  $J = 13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.30 (dd,  $J = 13.7, 7.8$  Hz, 1H), 3.65 (s, 2H), 3.99 (q,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 4.71-4.76 (m, 1H), 6.43 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 6.80 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.16 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.42 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.57 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.94 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3289, 3072, 2974, 2926, 1725, 1707, 1670, 1660, 1545, 1511, 1238, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -123.1° ( $c = 0.99$ , MeOH); mp 117.5-121.0 °C.

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-フェノキシベンジル)-L-システイン (64p)**

無晶形固体、定量的;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.31 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.66-2.71 (m, 1H), 2.91-3.02 (m, 2H), 3.17 (dd,  $J = 13.6, 6.3$  Hz, 1H), 3.30 (dd,  $J = 13.6, 7.8$  Hz, 1H), 3.69 (s, 2H), 4.76-4.79 (m, 1H), 6.54 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.90 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 6.99 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.10 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.22 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.32 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.40 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.55 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.92 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H); IR (KBr) 3285, 1659, 1591, 1240, 1207  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -84.5° ( $c = 0.99$ , MeOH).

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-シアノベンジル)-L-システイン (64r)**

無色固体、収率 84%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.31 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.69-2.74 (m, 1H), 2.86 (dd,  $J = 14.2, 5.9$  Hz, 1H), 2.99 (dd,  $J = 14.2, 5.4$  Hz, 1H), 3.15 (dd,  $J = 13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.32 (dd,  $J = 13.7, 7.8$  Hz, 1H), 3.72 (d,  $J = 13.7$  Hz, 1H), 3.77 (d,  $J = 13.7$  Hz, 1H), 4.80-4.84 (m, 1H), 6.60 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.37-7.44 (m, 4H), 7.55-7.60 (m, 3H), 7.91 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR (KBr) 3295, 2976, 2938, 1711, 1660, 1581, 1542, 1334, 1114  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -127.7° ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 155.1-156.5 °C.

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-ニトロベンジル)-*L*-システイン (64s)

無色固体、収率 77%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.32 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 2.69-2.74 (m, 1H), 2.88 (dd,  $J = 14.2, 5.9$  Hz, 1H), 3.01 (dd,  $J = 14.2, 4.9$  Hz, 1H), 3.15 (dd,  $J = 13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.33 (dd,  $J = 13.7, 7.3$  Hz, 1H), 3.78 (d,  $J = 13.4$  Hz, 1H), 3.82 (d,  $J = 13.4$  Hz, 1H), 4.80-4.84 (m, 1H), 6.57 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.41-7.46 (m, 4H), 7.57 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.92 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 8.13 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (KBr) 3289, 3077, 2976, 2937, 1710, 1658, 1545, 1516, 1354  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -77.8° ( $c = 0.97$ , DMSO); mp 169.0-171.0 °C.

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-メチルチオベンジル)-*L*-システイン (64t)

無色固体、収率 54%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.30 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 2.45 (s, 3H), 2.63-2.68 (m, 1H), 2.90 (dd,  $J = 14.2, 6.4$  Hz, 1H), 2.96 (dd,  $J = 14.2, 4.9$  Hz, 1H), 3.16 (dd,  $J = 13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.30 (dd,  $J = 13.7, 7.8$  Hz, 1H), 3.66 (s, 2H), 4.74-4.79 (m, 1H), 6.47 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.18 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.40-7.44 (m, 2H), 7.57 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.92-7.95 (m, 2H); IR (KBr) 3292, 2975, 2920, 1724, 1707, 1668, 1660, 1650, 1542, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -129.1° ( $c = 0.97$ , MeOH); mp 140.8-146.0 °C.

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-メチルスルホニルベンジル)-*L*-システイン (64u)

無晶形固体、収率 20%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.31 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 2.69-2.74 (m, 1H), 2.86 (dd,  $J = 13.8, 5.8$  Hz, 1H), 3.03 (dd,  $J = 13.8, 5.0$  Hz, 1H), 3.04 (s, 3H), 3.16 (dd,  $J = 13.6, 6.3$  Hz, 1H), 3.33 (dd,  $J = 13.6, 7.8$  Hz, 1H), 3.75 (d,  $J = 13.6$  Hz, 1H), 3.80 (d,  $J = 13.6$  Hz, 1H), 4.78-4.82 (m, 1H), 6.61 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.42 (t,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 7.48 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.57 (t,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 7.86 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.93 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H); IR (KBr) 3294, 1657, 1535, 1404, 1208, 1146  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -102.2° ( $c = 0.12$ , MeOH).

*S*(4-シクロヘキシルベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (65l)

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-シクロヘキシルベンジル)-*L*-システイン (**64**) (0.48 g, 0.96 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (10ml) を加え、反応液を室温で 1 時間攪拌した。反応液を氷冷下 6 M 塩酸で酸性とし、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=100/50) にて精製を行い、ジイソプロピルエーテルにて再結晶化を行うことにより標記化合物を無色固体として得た (0.26 g, 収率 68%)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.23 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.26-1.30 (m, 1H), 1.33-1.45 (m, 4H), 1.59 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 1.73-1.76 (m, 1H), 1.81-1.88 (m, 4H), 2.41-2.44 (m, 1H), 2.45-2.48 (m, 1H), 2.52-2.59 (m, 1H), 2.81 (dt, *J* = 14.2, 8.8 Hz, 1H), 2.94 (dd, *J* = 14.2, 6.1 Hz, 1H), 2.99 (dd, *J* = 14.2, 5.4 Hz, 1H), 3.73 (s, 2H), 4.74 (ddd, *J* = 7.3, 6.1, 5.4 Hz, 1H), 6.32 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.16 (dd, *J* = 6.3, 2.0 Hz, 2H), 7.23 (dd, *J* = 6.3, 2.0 Hz, 2H); IR (KBr) 3318, 2925, 1716, 1655, 1524, 1427, 1266 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -65.2 ° (*c* = 0.36, MeOH); mp 104.0-106.5 °C; MS (ESI, Pos.) 396 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 394 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>3</sub>S<sub>2</sub>: C, 60.73; H, 7.39; N, 3.54; S, 16.21. Found: C, 60.86; H, 7.38; N, 3.44; S, 16.17.

以下、化合物 **64a-k**, **m-p**, **r-u** を用い、化合物 **65l** と同様の合成法にて合成を行った。

*S*(4-フルオロベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (**65a**)

無色固体、収率 67%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.24 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.62 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H), 2.46-2.61 (m, 2H), 2.78-3.00 (m, 3H), 3.73 (s, 2H), 4.78-4.82 (m, 1H), 6.42 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.98-7.03 (m, 2H), 7.25-7.31 (m, 2H); IR (KBr) 3334, 3282, 2972, 2360, 1742, 1716, 1643, 1599, 1544, 1509, 1219 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -72.5 ° (*c* = 1.0, MeOH); mp 66.5-73.0 °C; MS (ESI, Pos.) 332 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 330 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>FNO<sub>3</sub>S<sub>2</sub>: C, 50.74; H, 5.47; F, 5.73; N, 4.23. Found: C, 50.77; H, 5.49; F, 5.65; N, 4.21.

*S*(4-クロロベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (**65b**)

無色固体、収率 72%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.24 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.60 (t, *J* = 8.7 Hz, 1H), 2.45-2.51 (m, 1H), 2.54-2.61 (m, 1H), 2.79-2.86 (m, 1H), 2.90 (dd, *J* = 14.1, 6.3 Hz, 1H), 2.97 (dd, *J* = 14.1, 6.3 Hz, 1H), 3.73 (s, 2H), 4.76-4.81 (m, 1H), 6.33 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.29 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H); IR (KBr) 3283, 2542, 1716, 1643, 1542, 1418 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -69.7 ° (*c* = 0.48, MeOH); mp 79-92 °C; MS (ESI, Pos.) 348, 350 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 346, 348 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>3</sub>S<sub>2</sub>: C, 48.34; H, 5.22; Cl, 10.19; N, 4.03; S, 18.43. Found: C, 48.54; H, 5.17; Cl, 10.09; N, 3.77; S, 18.17.

*S*(4-ブロモベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (**65c**)

無色固体、収率 80%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.24 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.62 (t, *J* = 8.8

Hz, 1H), 2.46-2.50 (m, 1H), 2.54-2.61 (m, 1H), 2.79-2.84 (m, 1H), 2.91 (dd,  $J = 13.7, 7.8$  Hz, 1H), 2.98 (dd,  $J = 13.7, 4.9$  Hz, 1H), 3.71 (s, 2H), 4.78-4.83 (m, 1H), 6.38 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.19 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.44 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3286, 2972, 2934, 1741, 1723, 1703, 1644, 1603, 1542, 1069  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -63.1^\circ$  ( $c = 0.53$ , MeOH); mp 85.0-94.0  $^\circ\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 392, 393  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 390, 392  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

**S(4-ヨードベンジル)-N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-システイン (65d)**

無色固体、収率 54%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.61 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.43-2.49 (m, 1H), 2.54-2.61 (m, 1H), 2.78-2.86 (m, 1H), 2.88-2.99 (m, 2H), 3.69 (s, 2H), 4.75-4.80 (m, 1H), 6.32 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.07 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.66 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (KBr) 3331, 3288, 2972, 2934, 1722, 1644, 1604, 1541, 1414, 1393, 1182, 1058  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -60.6^\circ$  ( $c = 0.52$ , MeOH); mp 109.5-111.5  $^\circ\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 440  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 438  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

**N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-S(4-メチルベンジル)-L-システイン (65e)**

無色固体、収率 62%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.22 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.61 (dd,  $J = 9.3, 8.3$  Hz, 1H), 2.33 (s, 3H), 2.42-2.47 (m, 1H), 2.51-2.58 (m, 1H), 2.77-2.85 (m, 1H), 2.90-3.00 (m, 2H), 3.72 (s, 2H), 4.75-4.80 (m, 1H), 6.39 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.12 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.19 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (KBr) 3458, 3292, 2975, 2935, 1744, 1723, 1643, 1542  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -71.6^\circ$  ( $c = 0.51$ , MeOH); mp 86.0-88.5  $^\circ\text{C}$ .

**N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-S(4-トリフルオロメチルベンジル)-L-システイン (65f)**

無色固体、収率 43%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.62 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.46-2.51 (m, 1H), 2.52-2.61 (m, 1H), 2.78-2.84 (m, 1H), 2.89 (dd,  $J = 14.2, 6.4$  Hz, 1H), 2.99 (dd,  $J = 14.2, 4.9$  Hz, 1H), 3.80 (s, 2H), 4.80-4.85 (m, 1H), 6.44 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.43 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 7.58 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H); IR (KBr) 3314, 2567, 1734, 1654, 1524, 1322, 1170, 1123  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -66.2^\circ$  ( $c = 0.48$ , MeOH); mp 82.0-84.2  $^\circ\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 382  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 380  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

**S(4-エチルベンジル)-N[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-L-システイン (65g)**

無色固体、収率 71%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.20-1.26 (m, 6H), 1.61 (t,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 2.42-2.47 (m, 1H), 2.51-2.58 (m, 1H), 2.62 (q,  $J = 7.8$  Hz, 2H), 2.77-2.85 (m, 1H), 2.93-2.97 (m, 2H), 3.73 (s, 2H), 4.76-4.80 (m, 1H), 6.38 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.14 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H); IR (KBr) 3321, 2964, 2517, 1714, 1643, 1540, 1418, 1198  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -67.5^\circ$  ( $c = 0.99$ , MeOH); mp 49.5-52.5  $^\circ\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 342  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,

(ESI, Neg.) 340 [M-H]<sup>-</sup>.

*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-プロピルベンジル)-*L*-システイン (65h)

無色固体、収率 65%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 0.94 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.23 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.57-1.67 (m, 3H), 2.41-2.46 (m, 1H), 2.52-2.58 (m, 3H), 2.77-2.85 (m, 1H), 2.91-2.97 (m, 2H), 3.73 (s, 2H), 4.72-4.77 (m, 1H), 6.31 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.21 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H); IR (KBr) 3332, 2958, 2930, 1744, 1723, 1644, 1603, 1542, 1416, 1220, 1196 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -70.1 ° (*c* = 0.51, MeOH); mp 87.0-89.5 °C; MS (ESI, Pos.) 356 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 354 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>S<sub>2</sub>: C, 57.44; H, 7.09; N, 3.94; S, 18.04. Found: C, 57.21; H, 7.18; N, 3.97; S, 18.00.

*S*(4-イソプロピルベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (65i)

淡黄色油状物、収率 70%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.22-1.26 (m, 9H), 1.60 (t, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.43-2.46 (m, 1H), 2.51-2.58 (m, 1H), 2.78-2.83 (m, 1H), 2.85-2.96 (m, 1H), 2.97-2.98 (m, 2H), 3.73 (s, 2H), 4.74-4.79 (m, 1H), 6.35 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.18 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H); IR (KBr) 3324, 2961, 2567, 1729, 1648, 1515, 1213 cm<sup>-1</sup>; MS (ESI, Pos.) 356 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 354 [M-H]<sup>-</sup>.

*S*(4-*tert*-ブチルベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (65j)

淡黄色油状物、収率 79%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.23 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.30 (s, 9H), 1.59 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 2.41-2.46 (m, 1H), 2.52-2.59 (m, 1H), 2.78-2.85 (m, 1H), 2.96-2.98 (m, 2H), 3.73 (s, 2H), 4.73-4.77 (m, 1H), 6.42 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.24 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.34 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H); IR (film) 3376, 1725, 1643, 1216 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -52.0 ° (*c* = 0.49, MeOH); MS (ESI, Pos.) 370 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 368 [M-H]<sup>-</sup>.

*S*(4-フェニルベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (65k)

無色固体、全収率 6%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.23 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.59 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H), 2.43-2.41 (m, 1H), 2.51-2.58 (m, 1H), 2.78-2.83 (m, 1H), 3.00-3.05 (m, 2H), 3.80 (s, 2H), 4.78-4.79 (m, 1H), 6.32 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.33-7.48 (m, 5H), 7.53-7.59 (m, 3H), 7.81 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H); IR (KBr) 3304, 1703, 1647 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -66.2 ° (*c* = 0.11, MeOH); mp 92.0-101.0 °C; MS (ESI, Pos.) 390 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 388 [M-H]<sup>-</sup>.

*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-メトキシベンジル)-*L*-システイン (65m)

無色固体、収率 61%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.23 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.61 (t, *J* = 8.8

Hz, 1H), 2.42-2.47 (m, 1H), 2.52-2.59 (m, 1H), 2.78-2.85 (m, 1H), 2.90-2.98 (m, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 4.74-4.79 (m, 1H), 6.36 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.85 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H); IR (KBr) 3294, 2971, 2935, 1722, 1708, 1648, 1540, 1513, 1248  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -73.5^{\circ}$  ( $c = 1.0$ , MeOH); mp 87.0-93.0  $^{\circ}\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 344 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 342 [M-H]<sup>-</sup>; Anal. Calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_4\text{S}_2$ : C, 52.46; H, 6.16; N, 4.08; S, 18.67. Found: C, 52.31; H, 6.16; N, 4.06; S, 18.57.

***N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-トリフルオロメトキシベンジル)-*L*-システイン (65n)**

無色固体、収率 75%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.62 (t,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 2.47-2.49 (m, 1H), 2.50-2.61 (m, 1H), 2.79-2.94 (m, 2H), 3.00 (dd,  $J = 14.2, 4.9$  Hz, 1H), 3.76 (s, 2H), 4.80-4.85 (m, 1H), 6.40-6.45 (m, 1H), 7.16 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.34 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H); IR (KBr) 3331, 2973, 2937, 1725, 1647, 1605, 1542, 1509, 1288  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -58.6^{\circ}$  ( $c = 0.97$ , MeOH); mp 55.0-62.0  $^{\circ}\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 398 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 396 [M-H]<sup>-</sup>.

***S*(4-エトキシベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (65o)**

無色固体、収率 69%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.23 (d,  $J = 7.3$  Hz, 3H), 1.41 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.62 (t,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 2.42-2.47 (m, 1H), 2.51-2.58 (m, 1H), 2.78-2.85 (m, 1H), 2.93-2.96 (m, 2H), 3.71 (s, 2H), 4.01 (q,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 4.74-4.79 (m, 1H), 6.34 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.83 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.21 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3330, 2979, 2934, 2511, 1718, 1697, 1645, 1607, 1542, 1512, 1250  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -68.3^{\circ}$  ( $c = 0.51$ , MeOH); mp 85.0-87.0  $^{\circ}\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 358 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 356 [M-H]<sup>-</sup>.

***N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-フェノキシベンジル)-*L*-システイン (65p)**

淡黄色油状物、収率 43%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.61 (t,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 2.45-2.50 (m, 1H), 2.53-2.60 (m, 1H), 2.79-2.86 (m, 1H), 2.94 (dd,  $J = 14.1, 6.3$  Hz, 1H), 3.00 (dd,  $J = 14.1, 4.8$  Hz, 1H), 3.74 (s, 2H), 4.77-4.80 (m, 1H), 6.36 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 6.95 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.00 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.11 (t,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.27 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 7.34 (t,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 2932, 2568, 1733, 1589, 1236  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -58.4^{\circ}$  ( $c = 0.50$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 406 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 404 [M-H]<sup>-</sup>.

***S*(4-シアノベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (65r)**

淡黄色油状物、定量的;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.25 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.62 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.49-2.64 (m, 2H), 2.79-2.90 (m, 2H), 3.03 (dd,  $J = 13.7, 4.9$  Hz, 1H), 3.79 (d,

$J = 13.7$  Hz, 1H), 3.83 (d,  $J = 13.7$  Hz, 1H), 4.80-4.85 (m, 1H), 6.47 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.44 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.62 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (KBr) 3340, 2972, 2932, 2568, 2229, 1733, 1650, 1533, 1214  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -66.3^{\circ}$  ( $c = 0.59$ , MeOH); MS (ESI, Pos.) 339 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 337 [M-H]<sup>-</sup>.

***N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-ニトロベンジル)-*L*-システイン (65s)**

淡黄色油状物、収率 71%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.25 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.62 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.50-2.63 (m, 2H), 2.79-2.90 (m, 2H), 3.05 (dd,  $J = 14.2, 5.4$  Hz, 1H), 3.83 (d,  $J = 14.0$  Hz, 1H), 3.87 (d,  $J = 14.0$  Hz, 1H), 4.80-4.85 (m, 1H), 6.45 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.50 (dd,  $J = 6.8, 2.0$  Hz, 2H), 8.19 (dd,  $J = 6.8, 2.0$  Hz, 2H); IR (film) 3306, 2932, 2569, 1731, 1632, 1519, 1422, 1346  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -53.0^{\circ}$  ( $c = 0.49$ , DMSO); MS (ESI, Pos.) 359 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 357 [M-H]<sup>-</sup>.

***N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-メチルチオベンジル)-*L*-システイン (65t)**

無色固体、収率 55%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.23 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.62 (t,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 2.42-2.45 (m, 1H), 2.48 (s, 3H), 2.52-2.59 (m, 1H), 2.77-2.85 (m, 1H), 2.90-2.99 (m, 2H), 3.71 (s, 2H), 4.75-4.80 (m, 1H), 6.35 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.20 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.23 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (KBr) 3285, 2967, 2928, 2544, 1723, 1706, 1650, 1537, 1420, 1281, 1255  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -75.2^{\circ}$  ( $c = 0.55$ , MeOH); mp 87.0-92.0  $^{\circ}\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 360 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 358 [M-H]<sup>-</sup>.

***N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*S*(4-メチルスルホニルベンジル)-*L*-システイン (65u)**

無色固体、収率 51%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.61 (t,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 2.51-2.55 (m, 1H), 2.60 (dd,  $J = 13.6, 4.8$  Hz, 1H), 2.79-2.83 (m, 1H), 2.85 (dd,  $J = 13.9, 5.5$  Hz, 1H), 3.07 (s, 3H), 3.08 (dd,  $J = 13.9, 5.0$  Hz, 1H), 3.80 (d,  $J = 13.6$  Hz, 1H), 3.85 (d,  $J = 13.6$  Hz, 1H), 4.79-4.83 (m, 1H), 6.50 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.53 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.90 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (KBr) 3319, 2575, 1708, 1643, 1537, 1233, 1131  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -61.8^{\circ}$  ( $c = 0.099$ , MeOH); mp 121.5-126.5  $^{\circ}\text{C}$ ; MS (ESI, Pos.) 392 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 390 [M-H]<sup>-</sup>.

***S*(4-イソプロピルベンジル)-*L*-ペニシラミン (67)**

*L*-ペニシラミン (66) (1.0 g, 6.7 mmol) の 2 M 水酸化ナトリウム (3.4 ml, 6.7 mmol) 水溶液に 4-イソプロピルベンジルクロリド (62i) (1.2 g, 7.0 mmol) のエタノール (10 ml) -クロロホルム (2 ml) 混合溶液を氷冷下加えた。反応液を室温で一晩攪拌した後、析出している

固体を慮取した。得られた個体をエタノール-ジエチルエーテル混合溶媒 (1 : 1)、ジエチルエーテルにて洗浄することにより標記化合物を無色固体として得た (1.4 g, 収率 74%)。

$^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$  + DCl, 400 MHz)  $\delta$  1.18 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 6H), 1.41 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 2.84-2.88 (m, 1H), 3.82 (d,  $J$  = 11.7 Hz, 1H), 3.88 (d,  $J$  = 11.7 Hz, 1H), 3.98-4.00 (m, 1H), 7.20 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.30 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H); IR (KBr) 3128, 2960, 1637, 1509, 1462, 1378, 1329  $\text{cm}^{-1}$ ; mp 216.5-217.9 °C.

### *N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-イソプロピルベンジル)-*L*-ペニシラミン (68)

*S*-(4-イソプロピルベンジル)-*L*-ペニシラミン (67) (0.30 g, 1.1 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (10 ml) 溶液に、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) (0.37 g, 1.1 mmol) およびトリエチルアミン (0.18 ml, 1.3 mmol) を氷冷下加えた。反応液を室温で終夜攪拌した後、酢酸エチルを加え、有機層を 10%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄し無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール = 100/1) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (0.28 g, 収率 54%)。

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.20 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 6H), 1.30 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.49 (s, 3H), 2.62-2.67 (m, 1H), 2.83-2.89 (m, 1H), 3.17 (dd,  $J$  = 5.9, 13.7 Hz, 1H), 3.31 (dd,  $J$  = 7.8, 13.7 Hz, 1H), 3.74 (d,  $J$  = 11.5 Hz, 1H), 3.79 (dd,  $J$  = 11.5 Hz, 1H), 4.68 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 6.58 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.09 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.19 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.42 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 7.56 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 7.93 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H); IR (film) 3367, 2965, 1732, 1691, 1515, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_D^{20}$  -82.7 ° ( $c$  = 0.48, MeOH).

### *S*-(4-イソプロピルベンジル)-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-ペニシラミン (69)

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*-(4-イソプロピルベンジル)-*L*-ペニシラミン (68) (0.20 g, 0.41 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (6 ml) を加え、反応液を室温で 2 時間攪拌した。反応液を氷冷下 6 M 塩酸で酸性とし、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール = 100/1) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (0.10 g, 収率 66%)。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.22-1.28 (m, 9H), 1.47 (s, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.63 (t,  $J$  = 8.8 Hz, 1H), 2.48-2.60 (m, 2H), 2.79-2.89 (m, 2H), 3.78 (d,  $J$  = 11.7 Hz, 1H), 3.83 (d,  $J$  = 11.7 Hz, 1H), 4.66 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 6.53 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.16 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.24 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H); IR (film) 3361, 2964, 2568, 1727, 1648, 1515, 1217  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_D^{20}$  -23.1 ° ( $c$  =



0.20, MeOH); MS (ESI, Pos.) 384 [M+H]<sup>+</sup>, (ESI, Neg.) 382 [M-H]<sup>-</sup>.

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*[[1-(4-シクロヘキシルフェニル)-1-メチルエチル]-L-システイン (71i)

L-システイン塩酸塩一水和物 (27) (1.7 g, 9.8 mmol) の 2 M 塩酸 (49 ml) および 1,4-ジオキサン (12 ml) 溶液に 1-(4-シクロヘキシルフェニル)-1-メチルエタノール (70i) (2.1 g, 9.8 mmol) を加え、反応液を 55-65 °C で一晩攪拌した。氷冷下、反応液をトリエチルアミン (20 ml) で pH 8 とした。この溶液に二炭酸-ジ-*tert*-ブチル (2.1 g, 9.8 mmol) のテトラヒドロフラン (20 ml) 溶液を加え、室温で 4 時間攪拌した。反応液に酢酸エチルを加え、10%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=100/25) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (1.3 g, 収率 32%)。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 1.21-1.31 (m, 1H), 1.35-1.42 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.70 (s, 6H), 1.73-1.76 (m, 1H), 1.82-1.88 (m, 4H), 2.44-2.50 (m, 1H), 2.65-2.74 (m, 2H), 4.12-4.16 (m, 1H), 5.02 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.16 (dd, *J* = 6.4, 1.8 Hz, 2H), 7.42 (dd, *J* = 6.4, 1.8 Hz, 2H); IR (film) 3433, 2976, 2925, 2852, 1716, 1505, 1165 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -6.7 ° (*c* = 1.0, MeOH); MS (ESI, Neg.) 420 [M-H]<sup>-</sup>.

以下、L-システイン塩酸塩一水和物 (27) および対応するアルコール体 (70 a-h) を用い、化合物 71i と同様の合成法にて合成を行った。

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)エチル]-L-システイン (71a)

淡黄色油状物、収率 30%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.22-1.28 (m, 9H), 1.45, 1.47 (s, 9H), 2.72-2.81 (m, 3H), 3.98-4.01 (m, 1H), 4.35-4.43 (m, 1H), 5.23 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 7.16-7.18 (m, 2H), 7.21-7.25 (m, 2H); IR (film) 3325, 2964, 2929, 1719, 1508, 1457, 1394, 1368, 1248, 1165 cm<sup>-1</sup>.

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)プロピル]-L-システイン (71b)

淡黄色油状物、収率 12%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 0.86-0.92 (m, 3H), 1.24 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H), 1.45, 1.47 (s, 9H), 1.79-1.92 (m, 2H), 2.65-2.92 (m, 3H), 3.67-3.72 (m, 1H), 4.28-4.39 (m, 1H), 5.20 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.15-7.21 (m, 4H); IR (film) 2964, 2932, 1720, 1507, 1368, 1165 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -18.1 ° (*c* = 0.11, MeOH).

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)ブチル]-L-システイン (71c)

淡黄色油状物、収率 11%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.84-0.89 (m, 3H), 1.23-1.37 (m, 8H), 1.44, 1.47 (s, 9H), 1.76-1.83 (m, 2H), 2.65-2.75 (m, 2H), 2.85-2.92 (m, 1H), 3.74-3.82 (m, 1H), 4.33-4.42 (m, 1H), 5.20-5.25 (m, 1H), 7.15-7.24 (m, 4H); IR (film) 2960, 1716, 1504, 1248, 1165  $\text{cm}^{-1}$ .

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*[(1*RS*, 2*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)-2-メチルプロピル]-L-システイン (71d)

粗精製物のまま次の反応に進んだ。

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)ペンチル]-L-システイン (71e)

淡黄色油状物、収率 24%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.82-0.86 (m, 3H), 1.25-1.30 (m, 10H), 1.44, 1.47 (s, 9H), 1.79-1.82 (m, 2H), 2.60-2.93 (m, 3H), 3.77 (dd,  $J = 14.7, 6.4$  Hz, 1H), 4.33-4.42 (m, 1H), 5.21-5.25 (m, 1H), 7.15-7.21 (m, 4H); IR (film) 2960, 1718, 1508, 1247, 1165  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -17.9^\circ$  ( $c = 0.51$ , MeOH).

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*[(*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)フェニルメチル]-L-システイン (71f)

淡黄色油状物、収率 69%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.20 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.46 (s, 9H), 2.80-2.89 (m, 3H), 4.48-4.49 (m, 1H), 5.21 (s, 1H), 5.27-5.28 (m, 1H), 7.13-7.42 (m, 9H); IR (film) 2962, 1718, 1508, 1368, 1164  $\text{cm}^{-1}$ .

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*[1-(4-イソプロピルフェニル)-1-メチルエチル]-L-システイン (71g)

淡黄色油状物、収率 50%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.44 (s, 9H), 1.70 (s, 6H), 2.63-2.71 (m, 2H), 2.85-2.92 (m, 1H), 4.20-4.25 (m, 1H), 5.05 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H), 7.17 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.42 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (film) 2964, 1720, 1506, 1368, 1248, 1165  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -7.0^\circ$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

*N*-tertブトキシカルボニル-*S*[(*RS*)-1-(4-シクロヘキシルフェニル)フェニルメチル]-L-システイン (71h)

淡黄色油状物、収率 36%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.24-1.39 (m, 5H), 1.45 (s, 9H), 1.75-1.83 (m, 5H), 2.40-2.49 (m, 1H), 2.75-2.90 (m, 2H), 4.45-4.49 (m, 1H), 5.19, 5.20 (s, 1H), 5.25-5.30 (m, 1H), 7.11-7.13 (m, 2H), 7.20-7.31 (m, 5H), 7.40-7.43 (m, 5H); IR (film) 2978, 2925, 2851, 1716, 1510, 1247, 1217, 1165  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[1-(4-シクロヘキシルフェニル)-1-メチルエチル]-*L*-システイン (72i)**

氷冷下、*N-tert*ブトキシカルボニル-*S*[1-(4-シクロヘキシルフェニル)-1-メチルエチル]-*L*-システイン (71i) (1.2 g, 2.8 mmol) に 4 M 塩化水素 1,4-ジオキサン溶液 (7 ml) を加えた。この反応液を室温で 1 時間攪拌し、減圧下濃縮した。この *S*[1-(4-シクロヘキシル)フェニル-1-メチル]エチル-*L*-システイン塩酸塩 (0.48 g, 1.4 mmol) の *N,N*-ジメチルホルムアミド (14 ml) 溶液に氷冷下トリエチルアミン (0.45 ml, 3.2 mmol) および (2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) (0.50 g, 1.4 mmol) を加えた。反応液を室温で一晩攪拌した後、10%クエン酸水溶液および酢酸エチルを加え分配した。有機層を 10%クエン酸水溶液、水、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=100/30) にて精製を行うことにより標記化合物を無色無晶形固体として得た (0.71 g, 収率 97%)。

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 1.21-1.25 (m, 1H) 1.26 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 1.33-1.43 (m, 4H), 1.59 (s, 3H), 1.64 (s, 3H), 1.71-1.76 (m, 1H), 1.80-1.87 (m, 4H), 2.44-2.50 (m, 1H), 2.52-2.59 (m, 1H), 2.66 (dd, *J* = 13.6, 7.8 Hz, 1H), 2.82 (dd, *J* = 13.6, 4.7 Hz, 1H), 3.18 (dd, *J* = 13.7, 6.1 Hz, 1H), 3.24 (dd, *J* = 13.7, 7.9 Hz, 1H), 4.28-4.32 (m, 1H), 5.95 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J* = 6.3, 1.8 Hz, 2H), 7.35 (dd, *J* = 6.3, 1.8 Hz, 2H), 7.47 (td, *J* = 7.0, 1.5 Hz, 2H), 7.60 (tt, *J* = 7.0, 1.5 Hz, 1H), 8.01 (dt, *J* = 7.0, 1.5 Hz, 2H); IR (film) 3309, 2972, 2925, 2851, 1738, 1663, 1519, 1448, 1208 cm<sup>-1</sup>; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -6.8 ° (*c* = 1.1, MeOH); MS (ESI, Neg.) 526 [M-H]<sup>-</sup>.

以下、化合物 71a-h および、(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオン酸 4-ニトロフェニルエステル (20) を用い、化合物 72i と同様の合成法にて合成を行った。

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)エチル]-*L*-システイン (72a)**

淡黄色油状物、収率 97%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.21-1.31 (m, 9H), 1.45, 1.50 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 2.58-2.64 (m, 1H), 2.82-2.93 (m, 2H), 3.14-3.33 (m, 2H), 3.91-3.97 (m, 1H), 4.55-4.63 (m, 1H), 6.30-6.33 (m, 1H), 7.14-7.23 (m, 4H), 7.42-7.47 (m, 2H), 7.56-7.60 (m, 1H), 7.95-8.00 (m, 2H); IR (film) 2964, 2929, 1728, 1663, 1593, 1519, 1448, 1337, 1209, 1176, 1111 cm<sup>-1</sup>.

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)プロピル]-*L*-システイン (72b)**

淡黄色油状物、定量的; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 0.80-0.86 (m, 3H), 1.22, 1.23 (d, *J* = 7.0 Hz, 6H), 1.27, 1.29 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.72-1.85 (m, 2H), 2.53-2.67 (m, 2H), 2.76-2.87

(m, 2H), 3.12-3.34 (m, 2H), 3.64-3.68 (m, 1H), 4.54-4.59 (m, 1H), 6.25 (d,  $J=6.8$  Hz, 1H), 7.14 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H), 7.18 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H), 7.43-7.47 (m, 2H), 7.56-7.60 (m, 1H), 7.97 (d,  $J=7.5$  Hz, 2H); IR (film) 2962, 2931, 1734, 1663, 1420, 1207, 1176  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -90.8° ( $c=0.50$ , MeOH).

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)ブチル]-*L*-システイン (72c)**

淡黄色油状物、定量的;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.78-0.84 (m, 3H), 1.19-1.30 (m, 11H), 1.67-1.77 (m, 2H), 2.52-2.88 (m, 4H), 3.13-3.34 (m, 2H), 3.72-3.77 (m, 1H), 4.57-4.64 (m, 1H), 6.27-6.31 (m, 1H), 7.13-7.26 (m, 4H), 7.44 (t,  $J=7.5$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J=7.5$  Hz, 1H), 7.96-8.00 (m, 2H); IR (film) 2959, 1735, 1663, 1518, 1208  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[(1*RS*, 2*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)-2-メチルプロピル]-*L*-システイン (72d)**

粗精製物のまま次の反応に進んだ。

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピル)フェニルペンチル]-*L*-システイン (72e)**

淡黄色油状物、収率 83%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.80 (t,  $J=7.1$  Hz, 3H), 1.10-1.30 (m, 13H), 1.70-1.78 (m, 2H), 2.60-2.91 (m, 4H), 3.18 (dd,  $J=13.7, 6.4$  Hz, 1H), 3.32 (dd,  $J=13.7, 7.8$  Hz, 1H), 3.73 (t,  $J=7.6$  Hz, 1H), 4.57-4.60 (m, 1H), 6.26 (d,  $J=7.3$  Hz, 1H), 7.15-7.20 (m, 4H), 7.45 (t,  $J=8.0$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J=8.0$  Hz, 1H), 7.99 (d,  $J=8.0$  Hz, 2H); IR (film) 3324, 2959, 2931, 1738, 1732, 1666, 1520, 1208  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[(*RS*)-(4-イソプロピルフェニル)フェニルメチル]-*L*-システイン (72f)**

淡黄色油状物、収率 71%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.18-1.24 (m, 6H), 1.29 (d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 2.59-2.65 (m, 1H), 2.80-2.96 (m, 3H), 3.15-3.21 (m, 1H), 3.27-3.33 (m, 1H), 4.71-4.76 (m, 1H), 5.19 (s, 1H), 6.41-6.44 (m, 1H), 7.09-7.13 (m, 2H), 7.17-7.29 (m, 5H), 7.37-7.41 (m, 4H), 7.53-7.57 (m, 1H), 7.93-7.95 (m, 2H); IR (film) 2961, 1732, 1662, 1510, 1208  $\text{cm}^{-1}$ .

***N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[1-(4-イソプロピルフェニル)-1-メチルエチル]-*L*-システイン (72g)**

淡黄色油状物、定量的;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.22 (d,  $J=6.8$  Hz, 6H), 1.25 (d,  $J=6.8$  Hz, 3H), 1.61 (s, 3H), 1.61 (s, 3H), 2.53-2.58 (m, 1H), 2.67 (dd,  $J=13.1, 6.8$  Hz, 1H),

2.78 (dd,  $J = 13.1, 4.8$  Hz, 1H), 2.83-2.87 (m, 1H), 3.16 (dd,  $J = 13.4, 6.8$  Hz, 1H), 3.25 (dd,  $J = 13.4, 7.8$  Hz, 1H), 4.45-4.50 (m, 1H), 6.07 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.15 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.36 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.46 (t,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.58 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.00 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H); IR (film) 3308, 2963, 1732, 1662, 1518, 1208, 1176  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-68.0^{\circ}$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[(*RS*)-(4-シクロヘキシルフェニル)フェニルメチル]-*L*-システイン (72h)

無晶形固体、収率 84%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.24-1.37 (m, 8H), 1.71-1.80 (m, 5H), 2.40-2.47 (m, 1H), 2.57-2.63 (m, 1H), 2.82-2.93 (m, 2H), 3.15-3.20 (m, 1H), 3.27-3.33 (m, 1H), 4.70-4.71 (m, 1H), 5.17 (s, 1H), 6.37-6.40 (m, 1H), 7.07-7.11 (m, 2H), 7.19-7.29 (m, 5H), 7.37-7.41 (m, 4H), 7.54-7.57 (m, 1H), 7.93-7.95 (m, 2H); IR (film) 3306, 2925, 2850, 1735, 1663, 1511, 1208  $\text{cm}^{-1}$ .

*S*[1-(4-シクロヘキシルフェニル)-1-メチルエチル]-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (73i)

*N*[(2*S*)-3-ベンゾイルチオ-2-メチルプロピオニル]-*S*[1-(4-シクロヘキシルフェニル)-1-メチルエチル]-*L*-システイン (72i) (0.62 g, 1.2 mmol) に 28%アンモニア水溶液 (12 ml) を加え、反応液を室温で 1 時間攪拌した。反応液を氷冷下 6 M 塩酸で酸性とし、酢酸エチルで抽出した。有機層を水、飽和食塩水で順次洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去した後、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/酢酸エチル=100/20) にて精製を行うことにより標記化合物を無色油状物として得た (0.40 g, 収率 79%)。

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  1.20 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3H), 1.23-1.29 (m, 1H), 1.35-1.44 (m, 4H), 1.54 (t,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 1.71 (s, 3H), 1.72 (s, 3H), 1.74-1.76 (m, 1H), 1.84-1.87 (m, 4H), 2.33-2.40 (m, 1H), 2.46-2.56 (m, 2H), 2.73-2.80 (m, 3H), 4.41-4.45 (m, 1H), 6.01 (d,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 7.17 (dd,  $J = 6.6, 2.0$  Hz, 2H), 7.43 (dd,  $J = 6.6, 2.0$  Hz, 2H); IR (film) 2924, 1740, 1641, 1610, 1444, 1197  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$   $-56.2^{\circ}$  ( $c = 1.0$ , MeOH); MS (ESI, Neg.) 422  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

以下、化合物 72a-h を用い、化合物 73i と同様の合成法にて合成を行った。

*S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)エチル]-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (73a)

淡黄色油状物、収率 61%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.18-1.28 (m, 9H), 1.50-1.67 (m, 4H), 2.35-2.60 (m, 2H), 2.73-2.96 (m, 4H), 3.96-4.02 (m, 1H), 4.63-4.71 (m, 1H), 6.25-6.29 (m, 1H), 7.19-7.22 (m, 2H), 7.23-7.26 (m, 2H); IR (film) 3307, 2962, 2567, 1732, 1637,

1522, 1217  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI, Pos.) 370  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 368  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

***S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)プロピル]-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (73b)**

淡黄色油状物、収率 78%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.86-0.91 (m, 3H), 1.18-1.26 (m, 9H), 1.51, 1.66 (t,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 1.77-1.91 (m, 2H), 2.32-2.37, 2.44-2.59, 2.68-2.96 (m, 6H), 3.67-3.75 (m, 1H), 4.59-4.67 (m, 1H), 6.23, 6.28 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.16-7.22 (m, 4H); IR (film) 3310, 2962, 2564, 1731, 1646, 1522, 1420, 1208  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -43.5° ( $c = 0.48$ , MeOH).

***S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)ブチル]-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (73c)**

淡黄色油状物、収率 57%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.84-0.89 (m, 3H), 1.19-1.32 (m, 11H), 1.51, 1.66 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 1.76-1.84 (m, 2H), 2.32-2.37 (m, 1H), 2.44-2.60 (m, 1H), 2.66-2.96 (m, 4H), 3.72-3.82 (m, 1H), 4.58-4.66 (m, 1H), 6.22, 6.25 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.16-7.22 (m, 4H); IR (film) 2959, 2570, 1732, 1644, 1522, 1216  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI, Pos.) 398  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , (ESI, Neg.) 396  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

***S*[(1*RS*, 2*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)-2-メチルプロピル]-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (73d)**

淡黄色油状物、全収率 3%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.80-0.82 (m, 3H), 1.06-1.08 (m, 3H), 1.18-1.28 (m, 9H), 1.49, 1.70 (t,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 2.01-2.06 (m, 1H), 2.30-2.32 (m, 1H), 2.47-2.96 (m, 6H), 3.55-3.59 (m, 1H), 4.53-4.57 (m, 1H), 6.17, 6.26 (d,  $J = 7.0$  Hz, 1H), 7.15-7.22 (m, 4H); IR (film) 3318, 2960, 2571, 1732, 1644, 1524, 1215  $\text{cm}^{-1}$ .

***S*[(1*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)ペンチル]-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (73e)**

淡黄色油状物、収率 72%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.84 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.20-1.32 (m, 13H), 1.66 (t,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 1.80-1.86 (m, 2H), 2.44-2.93 (m, 6H), 3.78 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 4.61-4.66 (m, 1H), 6.25 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.17 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.20 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (film) 3314, 2959, 1732, 1642, 1521, 1194  $\text{cm}^{-1}$ .

***S*[(*RS*)-1-(4-イソプロピルフェニル)フェニルメチル]-*N*[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-*L*-システイン (73f)**

淡黄色油状物、収率 53%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.20-1.28 (m, 9H), 1.57-1.62 (m, 1H), 2.42-2.47 (m, 1H), 2.50-2.57 (m, 1H), 2.77-2.95 (m, 4H), 4.75-4.76 (m, 1H), 5.21 (s,

1H), 6.38 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H), 7.14-7.16 (m, 2H), 7.22-7.32 (m, 5H), 7.40-7.46 (m, 2H); IR (film) 3319, 2961, 2568, 1732, 1644, 1514, 1215  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI, Neg.) 430 [M-H] $^{-}$ .

**S**[1-(4-イソプロピルフェニル)-1-メチルエチル]-**N**[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-**L**-システイン (73g)

淡黄色油状物、収率 62%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.19 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.24 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 1.55 (t,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 1.70 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 2.35-2.40 (m, 1H), 2.48-2.55 (m, 1H), 2.74-2.81 (m, 3H), 2.86-2.93 (m, 1H), 4.50-4.54 (m, 1H), 6.06 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H), 7.18 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.42 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H); IR (film) 3318, 2962, 2568, 1731, 1646, 1518, 1383, 1195  $\text{cm}^{-1}$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -24.7^\circ$  ( $c = 0.51$ , MeOH); MS (ESI, Neg.) 382 [M-H] $^{-}$ .

**S**[(*RS*)-(4-シクロヘキシルフェニル)フェニルメチル]-**N**[(2S)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル]-**L**-システイン (73h)

無晶形固体、収率 69%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.22-1.39 (m, 8H), 1.56-1.62 (m, 1H), 1.71-1.83 (m, 5H), 2.43-2.46 (m, 2H), 2.50-2.58 (m, 1H), 2.79-2.82 (m, 1H), 2.88-2.91 (m, 2H), 4.72-4.74 (m, 1H), 5.20 (s, 1H), 6.34 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.12-7.14 (m, 2H), 7.22-7.32 (m, 5H), 7.40-7.43 (m, 2H); IR (film) 3322, 2925, 2572, 1734, 1636, 1511, 1209  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI, Neg.) 470 [M-H] $^{-}$ .

#### 生化学実験

LTA<sub>4</sub>加水分解酵素 (LTA<sub>4</sub>H) 阻害作用の測定およびアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害作用の測定は第 1 章実験の部を参照のこと。

## 第4章 結語

人体に大きな機械的傷害又は起炎物質による刺激を受けると、細胞から様々なケミカルメディエーターが放出され、発熱、腫れ、痛みなどを伴う炎症反応が引き起こされる。炎症性疾患とは、炎症反応によるケミカルメディエーターによって引き起こされる病気の総称であり、関節リウマチ、炎症性大腸炎、乾癬などがある。このような罹患数が多くかつ難治性疾患に対する治療薬を新たに開発することは患者の生活の質 (Quality of Life; QOL) の向上を行い、患者およびその家族に福音をもたらす。また入院治療費、介護等の医療経済上の問題の改善という視点からも社会的意義は非常に大きいものである。

炎症性疾患と密接な関連があるメディエーターの一つで強力な多形核白血球 (好中球) 誘引作用のあるロイコトリエン B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) の生理作用を抑制することは、抗炎症剤開発の有望な手段となりえると考えられる。また LTB<sub>4</sub> の生合成経路の最終工程で作用する LTA<sub>4</sub> 加水分解酵素 (LTA<sub>4</sub>H) を阻害し LTB<sub>4</sub> の産生を抑制することは、LTB<sub>4</sub> 受容体拮抗剤のようにそのレセプターである BLT<sub>1</sub> および BLT<sub>2</sub> の両レセプターに対する親和性を考慮することなくその抗炎症効果が発揮でき、また抗炎症メディエーターであるリポキシシン類 (LXA<sub>4</sub> および LXB<sub>4</sub>) の産生には影響を及ぼさないと考えられた。したがって本酵素阻害剤は LTB<sub>4</sub> レセプター拮抗剤および 5-リポオキシゲナーゼ阻害剤に対する優位性を示す可能性を秘めていると考えた。

そこで新たな抗炎症剤創出を目指し、強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害することにより新規メカニズムに基づく抗炎症効果を有する化合物を創出すること目的として本研究を開始した (Figure 40)。

研究を開始するにあたり、弱いながらも LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を持つアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害剤であるカプトプリルに着目した。ACE は LTA<sub>4</sub>H と同族の亜鉛含有金属酵素 (MA 族) であり、酵素およびその阻害剤に関する情報が豊富であることから、カプトプリルをシード化合物と設定した。そこで強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害し、血圧下降作用等の副作用に繋がる可能性のある ACE 阻害作用が減弱した酵素選択性の高い新規化合物の創出を目的に *N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体に対し種々構造変換を行った結果、*N*-アシル部分は、(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基が LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を発現するために必要であることを見出した。またプロリン 4 位に *S* 配置のベンジルチオ基を導入した化合物は、カプトプリルより強力な LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示すことを見出した。特に *S* 配置のベンジルチオ基が 4-*tert*-ブチルベンジルチオ基 (**3l**) もしくは 4-シクロヘキシルベンジルチオ基 (**3m**) のようなより大きなベンジルチオ基を導入した化合物は、強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害した。特に化合物 **3l** および **3m** はカプトプリルよりも ACE に対する阻害作用が低下し、LTA<sub>4</sub>H に対する選択性が向上することを見出した。またこれらの誘導体と LTA<sub>4</sub>H に対する結合様式をドッキングシミュレーションにより推定した。その結果、ポーズ **a** およびポーズ **b** の 2 つのポーズが推定されたが、両ポーズにおける置換ベンジルチオ基は酵素の溝の内側深くに位置しており、これま



で報告されている LTA<sub>4</sub> の酵素結合部位とは異なる部位を占有していた。

一方、(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアゾリジン-4-カルボン酸誘導体チアゾリジン 2 位の変換を行っていた際に、反応条件により目的物の 2-置換-チアゾリジン-4-カルボン酸化合物ではなくチオアセタール誘導体 **30** が生成することを見出した。このチオアセタール誘導体 **30** は非常にユニークな構造であったため、化合物 **30** の 2 つのアミノ基に LTA<sub>4</sub>H 阻害作用発現に有効であった *N*-アシル基として(2*S*)-3-メルカプト-2-メチルプロピオニル基を導入した化合物 **32** を合成したところ、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を有することを見出した。しかしながら本化合物は分子量が比較的大きく、分子内に 2 つのカルボキシル基を有することから膜透過性・吸収に問題があると考えた。

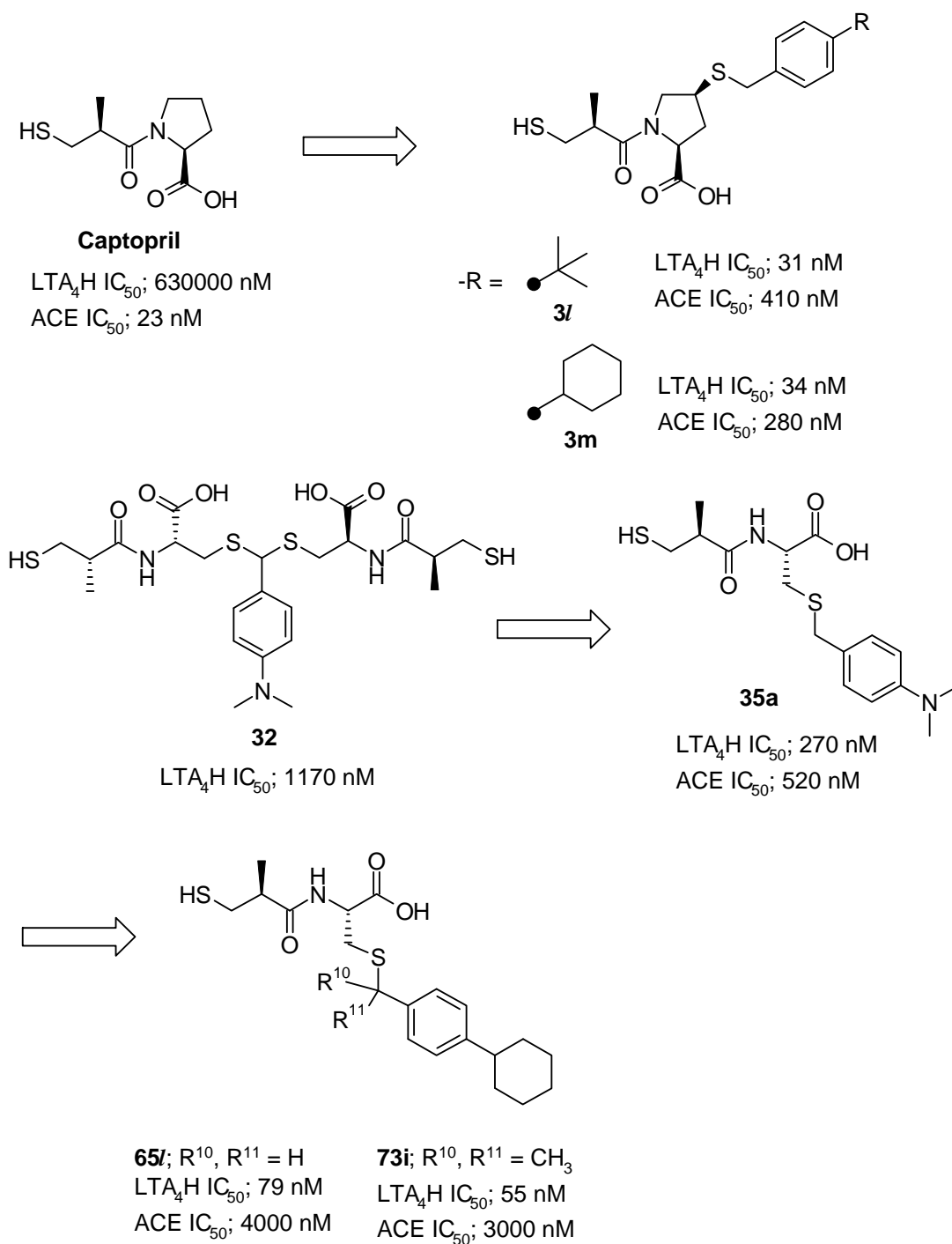
そこで、化合物 **32** の 2 つのカルボキシル基を一つにし、さらに低分子化を行った化合物 **35a** をデザインし合成した。その結果、化合物 **35a** は LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示し (IC<sub>50</sub>; 0.27 μM)、チオアセタール誘導体 **32** (IC<sub>50</sub>; 1.17 μM) より約 4 倍 LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が向上することを見出した。

新規 *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体化合物 **35a** は、他の亜鉛含有金属酵素に対しては阻害作用を示さず酵素選択性を有していたが、ACE に対しては阻害作用を示した (IC<sub>50</sub>; 0.52 μM)。本化合物はカラゲニン誘発マウス耳介浮腫モデルにおいて、経口投与により LTB<sub>4</sub> 産生を抑制しそれに伴う耳介浮腫形成および好中球集積を抑制した。また本化合物とシクロオキシゲナーゼ阻害剤インドメタシンの併用投与はさらに強力に浮腫形成を抑制した。このように化合物 **35a** は経口投与により炎症部位でそのメカニズムに基づく抗炎症作用を発揮し、LTA<sub>4</sub>H 阻害剤が炎症性疾患に効果を示す可能性を見出した。

そこで化合物 **35a** をリード化合物とし構造変換を行うことによりさらに強力に LTA<sub>4</sub>H を阻害し、ACE に対する酵素選択性が改善された化合物を創出することを目的とし、構造最適化 (リードオプティマイゼーション) を行った。

その結果、化合物 **35a** のベンゼン環上 *p* 位の置換基 (R<sup>6</sup>) は LTA<sub>4</sub>H 阻害作用の向上および ACE に対する選択性向上に大きな影響を及ぼした。特に R<sup>6</sup> がシクロヘキシル基である化合物 **65l** および化合物 **73i** は強い阻害作用を示し (IC<sub>50</sub>; 79 nM および 55 nM)、ACE に対してはその阻害作用は弱く (IC<sub>50</sub>; 4000 nM および 3000 nM)、LTA<sub>4</sub>H に対する選択性が向上した。

また LTA<sub>4</sub>H と新規に合成した阻害剤とのドッキングシミュレーションを検討した結果、LTA<sub>4</sub>H 阻害作用を示す *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体および *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体の酵素活性部位における結合様式は、両誘導体の置換ベンジルチオ基が酵素の Phe<sup>340</sup> に繋がる幅の広い溝に位置し、より強い酵素との親和性が発揮できると考えられるポーズ **a** であると推定した。



**Figure 40.** 新規  $LTA_4H$  阻害剤創成の合成展開

以上、本研究の結果は以下のように要約される。

1. 新規 *N*-メルカプトアシル-L-プロリンおよび(4*R*)-*N*-メルカプトアシルチアズリジン-4-カルボン酸誘導体の構造活性相関研究の結果、(4*S*)-4-アリーラルアルキルチオ-*N*-[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチル]プロピオニル-L-プロリン誘導体に強力な  $LTA_4H$  阻害作用を有す

ることを見出した。

2. 新規 *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体化合物 **35a** は経口投与によりその作用メカニズムに基づく抗炎症効果を発揮することを見出し、LTA<sub>4</sub>H 阻害剤が炎症性疾患に効果を示す可能性を見出した。
3. 新規 *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体化合物 **35a** をリード化合物としてリード最適化研究を行った結果、化合物 **35a** のベンゼン環上 *p* 位置置換基の変換により LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が著しく向上することを見出した。その中で、*S*-(4-シクロヘキシルベンジル)-*N*-[(2*S*)-3-メルカプト-2-メチル]プロピオニル-L-システイン誘導体 **65i** および **73i** は強い阻害作用を示し、ACE に対してはその阻害作用は弱く LTA<sub>4</sub>H に対する選択性が向上することを見出した。

本研究は、新たなメカニズムの抗炎症薬開発の研究に資するのみならず、亜鉛含有金属酵素阻害剤をはじめとする酵素阻害剤のドラッグデザイン、リード最適化の分野の発展にも大きく寄与するものと考えられる。

近年報告されている LTA<sub>4</sub>H 阻害剤は基質である LTA<sub>4</sub> の酵素結合部位を占有するようにデザインされている<sup>26,70-72</sup>。一方、本研究により新たに見出した新規 *N*-メルカプトアシル-L-プロリン誘導体および新規 *N*-メルカプトアシル-L-システイン誘導体の置換ベンジルチオ部分は、ドッキングスタディー等の検討結果から LTA<sub>4</sub>H の Phe<sup>340</sup> の方向へ向かって酵素の溝の内側深くに位置しており、これまで報告されている LTA<sub>4</sub> の酵素結合部位とは異なる部位を占有するものと推測された。この部位に相互作用する適切な置換基を導入することにより顕著に LTA<sub>4</sub>H 阻害作用が向上したことから、阻害剤デザインを行う際には非常に有効なポケットであると考えられる。また近年報告されている LTA<sub>4</sub>H 阻害剤は酵素活性部位の亜鉛原子への配位を利用するのではなく、亜鉛原子近傍のアミノ酸残基と相互作用させることや、触媒反応に直接関与するアミノ酸残基と相互作用させるデザインも行われている<sup>26,70-72</sup>。これらの知見と本研究で見出した新たなポケットに相互作用するように化合物のデザインを行うことにより、さらに新規な阻害剤創出の可能性が考えられ、特に ACE との選択性も向上する可能性が考えられる。

以上のように、本研究は新たな LTA<sub>4</sub>H 阻害剤創出の可能性を示唆するものであり、LTA<sub>4</sub>H 阻害剤研究の発展に資するものであると考えられる。

本研究で見出した新規化合物と LTA<sub>4</sub>H の共結晶による X 線結晶構造解析等の手法により、新規阻害剤の酵素活性部位における結合様式を明確にするとともに、これら新規化合物群の中から高次モデルで効果を示し、安全性の高い臨床候補化合物を創出することが今後の課題である。

## 参考文献等

1. 最新薬理学講義 高木敬次郎 監修 亀山 勉, 江田昭英, 高柳一成 編集 改稿版 1刷 廣川書店
2. 臨床例より見る病態生化学 藤井達三, 遠藤治郎 編集 2刷 廣川書店
3. 医薬品の開発 第9巻 医薬品の探索 斉藤 洋, 野村靖幸 編集 初版 廣川書店
4. 株式会社 メルシャン クリントック環境検査センター 食品機能ニューズ 第20号 2006年9月25日発行
5. Brooks, C. D. W.; Summers, J. B. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2629.
6. Ford-Hutchinson, A. W.; Bray, M. A.; Doig, M. V.; Shipley, M. E.; Smith, M. J. H. *Nature* **1980**, *286*, 264.
7. Bray, M. A.; Ford-Hutchinson, A. W.; Shipley, M. E.; Smith, M. J. H. *Br. J. Pharmacol.* **1980**, *71*, 507.
8. Gimbrone, M. A., Jr.; Brock, A. F.; Schafer, A. I. *J. Clin. Invest.* **1984**, *74*, 1552.
9. Ford-Hutchinson, A. W. *Crit. Rev. Immunol.* **1990**, *10*, 1.
10. Klickstein, L. B.; Shapleigh, C.; Goetzl, E. J. *J. Clin. Invest.* **1980**, *66*, 1166.
11. Sharon, P.; Stenson, W. F. *Gastroenterology* **1984**, *86*, 453.
12. Iversen, L.; Kragballe, K.; Ziboh, V. A. *Skin Pharmacol.* **1997**, *10*, 169.
13. Jala, V. R.; Haribabu, B. *Trends Immunol.* **2004**, *25*, 315.
14. Carter, G. W.; Young, P. A.; Albert, D. H.; Bouska, J.; Dyer, R.; Bell, R. L.; Summers, J. B., Brooks, D. W. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1991**, *256*, 929.
15. Hicks, A; Monkarsh, S. P.; Hoffman, A. F.; Goodnow, R., Jr *Expert Opin. Investig. Drugs* **2007**, *16*, 1909.
16. Yokomizo, T.; Izumi, T; Chang, K.; Takuwa, Y.; Shimizu, T. *Nature* **1997**, *387*, 620.
17. Wang, S.; Gustafson, E.; Pang, L.; Qiao, X.; Behan, J.; Maguire, M.; Bayne, M.; Laz, T. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 40686.
18. Tager, A. M.; Luster, A. D. *Prostaglandins, Leukotrienes Essent. Fatty Acids* **2003**, *69*, 123.
19. Serhan, C. N. *Annu. Rev. Immunol.* **2007**, *25*, 101.
20. Penning, T. D. *Curr. Pharm. Design* **2001**, *7*, 163.
21. Labaudiniere, R.; Hilboll, G.; Leon-Lomeli, A.; Lautenschlaeger, H. H.; Parnham, M.; Kuhl, P.; Dereu, N. *J. Med.Chem.* **1992**, *35*, 3156.
22. Orning, L.; Krivi, G.; Fitzpatrick, F. A. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 1375.
23. Penning, T. D.; Askonas, L. J.; Djuric, S. W.; Haack, R. A.; Yu, S. S.; Michener, M. L.; Krivi, G. G; Pyla, E. Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, *5*, 2517.
24. Orning, L.; Krivi, G.; Bild, G.; Gierse, J.; Aykent, S.; Fitzpatrick, F. A. *J. Biol. Chem.*

- 1991, 266, 16507.
25. Penning, T. D.; Russell, M. A.; Chen, B. B.; Chen, H. Y.; Liang, C-D.; Mahoney, M. W.; Malecha, J. W.; Miyashiro, J. M.; Yu, S. S.; Askonas, L. J.; Gierse, J. K.; Harding, E. I.; Highkin, M. K.; Kachur, J. F.; Kim, S. H.; Villani-Price, D.; Pyla, E. Y.; Ghoreishi-Haack, N. S.; Smith, W. G. *J. Med.Chem.* **2002**, 45, 3482.
  26. Grice, C. A.; Tays, K. L.; Savall, B. M.; Wei, J.; Butler, C. R.; Axe, F. U.; Bembenek, S. D.; Fourie, A. M.; Dunford, P. J.; Lundeen, K.; Coles, F.; Xue, X.; Riley, J. P.; Williams, K. N.; Karlsson, L.; Edwards, J. P. *J. Med.Chem.* **2008**, 51, 4150.
  27. Rao, N. L.; Dunford, P. J.; Xue, X.; Jiang, X.; Lundeen, K. A.; Coles, F.; Riley, J. P.; Williams, K. N.; Grice, C. A.; Edwards, J. P.; Karlsson, L.; Fourie, A. M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, 321, 1154
  28. deCODE Genetics 社資料
  29. Haeggström, J. Z. *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 50639.
  30. Barrett, A. J.; Rawlings, N. D.; Woessner, J. F. In *Handbook of Proteolytic Enzymes*; Barrett, A. J.; Rawlings, N. D.; Woessner, J. F., Eds.; Academic Press: San Diego, 1998; pp. 994-996.
  31. Gut, J.; Goldman, D. W.; Jamieson, G. C.; Trudell, J. R. *Arch. Biochem. Biophys.* **1987**, 259, 497.
  32. Brock, T. G.; Maydanski, E.; McNish, R. W.; Peters-Golden, M. *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 35071.
  33. Brock, T. G.; Lee, Y.-J.; Maydanski, E.; Marburger, T. L.; Luo, M.; Paine III, R.; Peters-Golden, M. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **2005**, 289, L224.
  34. Haeggström, J. Z. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **1999**, 17, 111.
  35. Orning, L.; Gierse, J. K.; Fitzpatrick, F. A. *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 11269.
  36. Thunnissen, M. M. G. M.; Nordlund, P.; Haeggström, J. Z. *Nat. Struct. Biol.* **2001**, 8, 131.
  37. Thunnissen, M. M. G. M.; Andersson, B.; Samuelsson, B.; Wong, C.-H.; Haeggström, J. Z. *FASEB J.* **2002**, 16, 1648.
  38. Iso, T.; Yamauchi, H.; Suda, H.; Nakata, K.; Nishimura, K.; Iwao, J. *Jpn. J. Pharmacol.* **1981**, 31, 875.
  39. Oya, M.; Baba, T.; Kato, E.; Kawashima, Y.; Watanabe, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, 30, 440.
  40. Cushman, D. W.; Cheung, H. S.; Sabo, E. F.; Ondetti, M. A. *Biochemistry* **1977**, 16, 5484.
  41. Tsuji, F.; Matsuoka, H.; Aono, H.; Takai, M.; Horiuchi, M.; Nishimura, K.; Mita, S. *Biol. Pharm. Bull.* **2000**, 23, 663.

42. Oya, M.; Matsumoto, J.; Takashina, H.; Iwao, J.; Funae, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 63.
43. Oya, M.; Matsumoto, J.; Takashina, H.; Watanabe, T.; Iwao, J. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 940.
44. Oya, M.; Kato, E.; Matsumoto, J.; Kawashima, Y.; Iwao, J. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 1203.
45. Ohishi, N.; Izumi, T.; Minami, M.; Kitamura, S.; Seyama, Y.; Ohkawa, S.; Terao, S.; Yotsumoto, H.; Takaku, F.; Shimizu, T. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 10200.
46. Tsuji, F.; Miyake, Y.; Horiuchi, M.; Mita, S. *Biochem. Pharmacol.* **1998**, *55*, 297.
47. Jones, G.; Willett P.; Glen, R. C. *J. Mol. Biol.*, **1995**, *245*, 43.  
ドッキングの際、チオール基は亜鉛に結合するよう距離拘束 (1.3 - 3.5 Å, 5 kcal/mol/Å<sup>2</sup>) をかけている。
48. Smith, E. M.; Swiss, G. F.; Neustadt, B. R.; Gold, E. H.; Sommer, J. A.; Brown, A. D.; Chiu, P. J. S.; Moran, R.; Sybertz, E. J.; Baum, T. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 875.
49. Mollica, A.; Paradisi, M. P.; Varani, K.; Spisani, S.; Lucente, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 2253.
50. Eswarakrishnan, V.; Field, L. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4182.
51. Trabocchi, A.; Rolla, M.; Menchi, G.; Guarna, A. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7813.
52. Horiuchi, M.; Fujimura, K.; Terashima, T.; Iso, T. *J. Chromatogr.* **1982**, *233*, 123.
53. Natesh, R.; Schwager, S. L. U.; Evans, H. R.; Sturrock, E. D.; Acharya, K. R., *Biochemistry*, **2004**, *43*, 8718.
54. Gududuru, V.; Hurh, E.; Dalton, J. T.; Miller, D. D. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2584.
55. Kallen, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 6227.
56. Kallen, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 6236.
57. Pesek, J. J.; Frost, J. H. *Tetrahedron* **1975**, *31*, 907.
58. 最新創薬化学上巻 C.G.Wermuth 編集 長瀬 博 監訳 改訂 2刷 テクノミック
59. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy B. W.; Feeney P. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23*, 3.
60. Matsueda, R.; Kimura, T.; Kaiser, E. T.; Matsueda, G. R. *Chem. Lett.* **1981**, 737.
61. Dozen, M.; Yamaki, K.; Oh-ishi, S. *Jpn. J. Pharmacol.* **1989**, *51*, 101.
62. Utsunomiya, I.; Nagai, S.; Oh-ishi, S. *J. Immunol.* **1991**, *147*, 1803.
63. Utsunomiya, I.; Nagai, S.; Oh-ishi, S. *Eur. J. Pharmacol.* **1994**, *252*, 213.
64. Tsuji, F.; Oki, K.; Fujisawa, K.; Okahara, A.; Horiuchi, M.; Mita, S. *Life Sci.* **1999**, *64*, PL51.
65. 参天製薬株式会社社内資料
66. Frankel, M.; Gertner, D.; Jacobson, H.; Zilkha, A. *J. Chem. Soc.* **1960**, 1390.

67. QSAR analysis was performed with a software, Cerius2/QSAR+ (Accelrys Inc., 10188 Telesis Court, Suite 100, San Diego, CA, USA) with descriptors calculated with MOE (Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbrooke Street West, Suite 910, Montreal, Quebec, Canada). Correlation coefficients between the terms are 0.9995 ( $mr - mr^2$ ), 0.507 ( $mr - b\_1rotN$ ) and 0.501 ( $mr^2 - b\_1rotN$ ).
68. Conformational analysis ( $\epsilon = 80$ ) was done within MMFF94 to reach at 100 consecutive failures of stochastic search process with MOE (Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbrooke Street West, Suite 910, Montreal, Quebec, Canada).
69. CHARMM scripts of MM/GBSA calculation was obtained from Accelrys Inc (Accelrys Inc., 10188 Telesis Court, Suite 100, San Diego, CA, USA). Molecular dynamics simulation of 1 ns for protein-ligand complex, protein and ligand with 25 Å water cap or sphere (atoms 16 Å away fixed) around the ligand were performed.
70. Ye, B.; Bauman, J.; Chen, M.; Davey, D.; Khim, S.-K.; King, B.; Kirkland, T.; Kochanny, M.; Liang, A.; Lentz, D.; May, K.; Mendoza, L.; Phillips, G.; Selchau, V.; Schlyer, S.; Tseng, J.-L.; Wei, R. G.; Ye, H.; Parkinson, J.; Guilford, W. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 3891.
71. Khim, S.-K.; Bauman, J.; Evans, J.; Freeman, B.; King, B.; Kirkland, T.; Kochanny, M.; Lentz, D.; Liang, A.; Mendoza, L.; Phillips, G.; Tseng, J.-L.; Wei, R. G.; Ye, H.; Yu, L.; Parkinson, J.; Guilford W. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 3895.
72. Kirkland, T. A.; Adler, M.; Bauman, J. G.; Chen, M.; Haeggström, J. Z.; King, B.; Kochanny, M. J.; Liang, A. M.; Mendoza, L.; Phillips, G. B.; Thunnissen, M.; Trinh, L.; Whitlow, M.; Ye, Bin; Ye, H.; Parkinsonc, J.; Guilford, W. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4963.

## 研究業績リスト

### 主要論文

本論文は下記の論文をもとにまとめたものである。

#### 第1章に関する論文

1. Synthesis and biological evaluation of *N*-mercaptoacylproline and *N*-mercaptoacylthiazolidine-4-carboxylic acid derivatives as leukotriene A<sub>4</sub> hydrolase inhibitors  
Hiroshi Enomoto, Yuko Morikawa, Yurika Miyake, Fumio Tsuji, Maki Mizuchi, Hiroshi Suhara, Ken-ichi Fujimura, Masato Horiuchi, Masakazu Ban, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18*, 4529-4532.

#### 第2章に関する論文

2. Effects of SA6541, a leukotriene A<sub>4</sub> hydrolase inhibitor, and indomethacin on carrageenan-induced murine dermatitis  
Fumio Tsuji, Yurika Miyake, Hiroshi Enomoto, Masato Horiuchi, Shiro Mita, *European Journal of Pharmacology* **1998**, *346*, 81-85.

#### 第3章に関する論文

3. Synthesis and biological evaluation of *N*-mercaptoacylcysteine derivatives as leukotriene A<sub>4</sub> hydrolase inhibitors  
Hiroshi Enomoto, Yuko Morikawa, Yurika Miyake, Fumio Tsuji, Maki Mizuchi, Hiroshi Suhara, Ken-ichi Fujimura, Masato Horiuchi, Masakazu Ban, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2009**, *19*, 442-446.

### 参考論文等

#### 学術論文

1. Kynostatin (KNI)-227 and -272, highly potent anti-HIV agents: conformationally constrained tripeptide inhibitors of HIV protease containing allophenylnorstatine  
Tsutomu Mimoto, Junya Imai, Sumitsugu Kisanuki, Hiroshi Enomoto, Naoko Hattori, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1992**, *40*, 2251-2253.
2. Structure-activity relationship of orally potent tripeptide-based HIV protease inhibitors containing hydroxymethylcarbonyl isostere  
Tsutomu Mimoto, Naoko Hattori, Haruo Takaku, Sumitsugu Kisanuki, Tominaga



Fukazawa, Keisuke Terashima, Ryohei Kato, Satoshi Nojima, Satoru Misawa, Takamasa Ueno, Junya Imai, Hiroshi Enomoto, Shigeki Tanaka, Hiroshi Sakikawa, Makoto Shintani, Hideya Hayashi, Yoshiaki Kiso, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **2000**, *48*, 1310-1326.

3. Leukotriene A<sub>4</sub> hydrolase inhibitors as candidates for anti-inflammation and anti-cancer agents  
Fumio Tsuji, Masato Horiuchi, Hiroshi Enomoto, Hiroyuki Aono, *Current Topics in Pharmacology* **2005**, *9*, 71-79.

#### プロシーディング

1. Structure-activity relationships of HIV protease inhibitors containing allophenylnorstatin as a transition-state mimic  
Sumitsugu Kisanuki, Tsutomu Mimoto, Junya Imai, Hiroshi Enomoto, Naoko Hattori, Osamu Takahashi, Ryohei Katoh, Shigeki Tanaka, Hiroshi Sakikawa, Tooru Kimura, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso, *Peptide Chemistry* *1992*, **1993**, 439-441.
2. Design and activity of protease active site-targeted anti-HIV agents containing allophenylnorstatin  
Tsutomu Mimoto, Sumitsugu Kisanuki, Junya Imai, Hiroshi Enomoto, Naoko Hattori, Seiji Kageyama, Hiroaki Mitsuya, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso, *Peptide Chemistry* *1992*, **1993**, 544-546.
3. Structure-activity relationships of HIV protease inhibitors containing hydroxymethylcarbonyl isostere as a transition state mimic  
Tsutomu Mimoto, Junya Imai, Sumitsugu Kisanuki, Naoko Hattori, Osamu Takahashi, Hiroshi Enomoto, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso, *Peptide* *1992*, **1993**, 631-632.
4. Design of HIV protease inhibitors with effective antiviral activity: use of allophenylnorstatine as a transition-state mimic  
Yoshiaki Kiso, Tsutomu Mimoto, Junya Imai, Sumitsugu Kisanuki, Naoko Hattori, Hiroshi Enomoto, Kenichi Akaji, Seiji Kageyama, Hiroaki Mitsuya, *Peptide* *1992*, **1993**, 805-807.
5. Structure-activity relationships of tripeptide HIV protease inhibitors containing the hydroxymethylcarbonyl isostere  
Hiroshi Enomoto, Tsutomu Mimoto, Sumitsugu Kisanuki, Tooru Kimura, Naoko Hattori, Seiji Kageyama, Hiroaki Mitsuya, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso, *Peptide*

*Chemistry 1993*, **1994**, 181-184.

6. Synthesis of prodrugs of HIV protease inhibitors  
Tooru Kimura, Jun Ohtake, Shingo Nakata, Hiroshi Enomoto, Hiroki Moriwaki, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso, *Peptide Chemistry 1994*, **1995**, 157-160.
7. SAR of HIV protease inhibitors: P2 and P3 structural requirements  
Mahmoud M. Sheha, Shingo Nakata, Hiroshi Enomoto, Tooru Kimura, Tsutomu Mimoto, Naoko Hattori, Nadia M. Mahfouz, Hoda Y. Hassan, Adel F. Youssel, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso, *Peptide Chemistry 1994*, **1995**, 349-352.
8. Small-sized HIV protease inhibitors containing allophenylnorstatine as a substrate transition-state mimic  
Takatoshi Mitoguchi, Shingo Nakata, Hiroshi Enomoto, Tooru Kimura, Kenichi Akaji, Naoko Hattori, Ryohei Kato, Tsutomu Mimoto, Yoshiaki Kiso, *Peptide Chemistry 1995*, **1996**, 373-376.

#### 特許

1. TNF- $\alpha$ 産生阻害物質  
伴 正和, 須原 寛, 堀内正人, 山本悟功, 榎本裕志, 井上博行, **WO2001092229**
2. I $\kappa$ B キナーゼ  $\beta$  阻害活性を有する新規インドール誘導体  
榎本裕志, 川島健二, 工藤一弘, 山本 実, 村井正明, 稲葉隆明, 石坂典子, **WO2008087933**
3. ウレイド基とアミノカルボニル基を置換基として有する新規ピロール誘導体  
川島健二, 榎本裕志, 石坂典子, 山本実, 工藤一弘, 村井正明, 稲葉隆明, 岡本和義, **WO2008105408**

#### 学会発表

1. 基質遷移状態概念に基づく HIV プロテアーゼ阻害剤の P1'-P2' 位構造活性相関. 木佐貫純嗣, 三本勤, 今井順也, 榎本裕志, 服部直子, 高橋治, 加藤良平, 赤路健一, 木曾良明: 日本薬学会第 122 年会 (福岡), 1992.3.
2. プロテアーゼをターゲットとした論理的な抗エイズウイルス (HIV) 薬. 三本勤, 今井順也, 田中茂樹, 木佐貫純嗣, 榎本裕志, 服部直子, 高橋治, 加藤良平, 弓崎琢也, Seiji Kageyama, Hiroaki Mituya, 先川博司, 赤路健一, 高田寛治, 木曾良明: 第 19 回有機反応懇談会 (京都) 1992.8.
3. Structure-activity relationships of HIV protease inhibitors containing hydroxymethylcarbonyl isostere as a transition-state mimic. Tsutomu Mimoto, Junya Imai, Sumitsugu Kisanuki, Naoko Hattori, Osamu Takahashi, Hiroshi Enomoto, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso: 22<sup>nd</sup> Eur. Peptide Symp. (Interlaken,

- Switzerland), 1992.9.
4. Design of HIV protease inhibitors with effective anti-viral activity: Use of allophenylnorstatine as a transition-state mimic. Yoshiaki Kiso, Tsutomu Mimoto, Junya Imai, Sumitsugu Kisanuki, Naoko Hattori, Hiroshi Enomoto, Kenichi Akaji, Seiji Kageyama, Hiroaki Mitsuya: 22<sup>nd</sup> Eur. Peptide Symp. (Interlaken, Switzerland), 1992.9.
  5. Structure-activity relationship of HIV protease inhibitors containing allophenylnorstatine as a transition-state mimic. Sumitsugu Kisanuki, Tsutomu Mimoto, Junya Imai, Hiroshi Enomoto, Naoko Hattori, Osamu Takahashi, Ryohei Katoh, Shigeki Tanaka, Hiroshi Sakikawa, Tooru Kimura, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso: 2<sup>nd</sup> Jpn. Symp. Peptide Chem. (Shizuoka), 1992. 11.
  6. Design and activity of protease active site-targeted anti-HIV agents containing allophenylnorstatine. Tsutomu Mimoto, Sumitsugu Kisanuki, Junya Imai, Hiroshi Enomoto, Naoko Hattori, Seiji Kageyama, Hiroaki Mitsuya, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso: 2<sup>nd</sup> Jpn. Symp. Peptide Chem. (Shizuoka), 1992. 11.
  7. プロテアーゼ活性中心をターゲットとしたallophenylnorstatine含有抗HIV薬のデザインと合成. 三本勤, 木佐貫純嗣, 今井純也, 榎本裕志, 服部直子, 林秀也, Seiji Kageyama, Hiroaki Mitsuya, 赤路健一, 木曾良明: 第13回メディスナルケミストリーシンポジウム/第2回医薬化学部会年会(東京), 1992.12.
  8. 抗エイズウイルス薬として有望なHIVプロテアーゼ阻害剤. 三本勤, 木佐貫純嗣, 今井順也, 榎本裕志, 服部直子, Kageyama Seiji, Mitsuya Hiroaki, 赤路健一, 高田寛治, 木曾良明: 日本薬学会第113年会(大阪), 1993.3.
  9. The promising anti-HIV agent, kynostatin (KNI)-272: a highly selective and super-active HIV protease inhibitor containing allophenylnorstatine. Yoshiaki Kiso, Tsutomu Mimoto, Junya Imai, Sumitsugu Kisanuki, Hiroshi Enomoto, Naoko Hattori, Kanji Takada, Kenichi Akaji, Seiji Kageyama, Hiroaki Mitsuya: 13<sup>th</sup> Amer. Peptide Symp. (Edmonton, Canada). 1993. 6.
  10. Structure-activity relationships of tripeptide HIV protease inhibitors containing the hydroxymethylcarbonyl isostere. Hiroshi Enomoto, Tsutomu Mimoto, Sumitsugu Kisanuki, Tooru Kimura, Naoko Hattori, Seiji Kageyama, Hiroaki Mitsuya, Kenichi Akaji, Yoshiaki Kiso: 31<sup>st</sup> Symposium Peptide Chemistry (Akashi), 1993. 10.
  11. 高活性トリペプチドHIVプロテアーゼ阻害剤キノスタチン(KNI)-272: 経口抗AIDS薬としての可能性. 三本勤, 木佐貫純嗣, 今井順也, 榎本裕志, 服部直子, Seiji Kageyama, Hiroaki Mitsuya, 赤路健一, 高田寛治, 木曾良明: 第7回日本エイズ学会総会(東京), 1993.11.

12. 基質遷移状態概念に基づいてデザインされたHIVプロテアーゼ阻害剤の構造活性相関. 榎本裕志、三本勤、木佐貫純嗣、木村徹、服部直子、景山誠二、満屋裕明、赤路健一、高田寛治、木曾良明：第14回メディシナルケミストリーシンポジウム，第3回医薬化学部会年会（静岡），1993. 12.
13. 経口投与可能な高活性HIVプロテアーゼ阻害剤：キノスタチン(KNI)-272. 榎本裕志、三本勤、木佐貫純嗣、今井順也、森脇浩樹、木村徹、服部直子、林秀也、石田寿昌、小林祐二、景山誠二、満屋裕明、John Erickson、赤路健一、高田寛治、木曾良明：日本薬学会第114年回（東京），1994. 3.
14. Allophenylnorstatine構造を有するジペプチド類HIVプロテアーゼ阻害剤の合成. 中田真悟，水戸口貴俊，榎本裕志，木村徹，赤路健一，服部直子，木佐貫純嗣，三本勤，木曾良明：日本薬学会第114年会（東京）1994.3.
15. ロイコトリエン A<sub>4</sub> 水解酵素 (Leukotriene A<sub>4</sub> hydrolase) 阻害剤の合成研究 (SA6541 をリード化合物としたシステイン誘導体の合成と阻害活性). 榎本裕志，森川裕子，三宅裕理佳，辻文雄，荒木寿久，水地真樹，須原寛，藤村健一，堀内正人，三田四郎：第18回メディシナルケミストリーシンポジウム，第7回医薬化学部会年会(京都)，1998. 11.

## 謝辞

本研究の発表の機会をお与えくださるとともに本論文のご高閲とご指導を賜りました奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科 反応制御科学講座 垣内喜代三教授に深甚なる謝意を表します。

また本論文の審査をお引き受け頂き、数々の有益なご助言を賜りました奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科 伴正和教授、谷原正夫教授、森本積准教授に深く感謝いたします。

本研究を進めるにあたり、終始ご指導とご助言を頂きました参天製薬株式会社研究開発センター主任研究員 藤村健一博士、須原寛氏、堀内正人博士、辻文雄氏に深く感謝いたします。

また、本研究の共同研究者である森川裕子氏、水地真樹博士、三宅裕理佳氏に深く感謝いたします。

本研究の機会を与えてくださり終始ご激励を頂きました、元参天製薬株式会社取締役探索研究本部長（現 株式会社エムズサイエンス代表取締役会長）三田四郎博士に深く感謝いたします。

本研究に関する論文投稿および本論文の作成の機会を与えてくださり、終始ご激励とご支援を頂きました参天製薬株式会社研究開発センター長 笹野稔博士、参天製薬株式会社研究開発センター探索研究グループマネージャー 青野浩之博士に深く感謝いたします。