

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5082102号
(P5082102)

(45) 発行日 平成24年11月28日(2012.11.28)

(24) 登録日 平成24年9月14日(2012.9.14)

(51) Int.Cl. F I
C O 7 F 9/40 (2006.01) C O 7 F 9/40 C S P D
C O 7 F 9/6561 (2006.01) C O 7 F 9/6561
C O 7 B 61/00 (2006.01) C O 7 B 61/00 3 0 0

請求項の数 16 (全 48 頁)

(21) 出願番号	特願2007-549163 (P2007-549163)	(73) 特許権者	504132272 国立大学法人京都大学
(86) (22) 出願日	平成18年11月30日(2006.11.30)		京都府京都市左京区吉田本町36番地1
(86) 国際出願番号	PCT/JP2006/324412	(74) 代理人	110000338 特許業務法人原謙三国際特許事務所
(87) 国際公開番号	W02007/066705	(72) 発明者	平竹 潤 京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学 化学研究所内
(87) 国際公開日	平成19年6月14日(2007.6.14)	(72) 発明者	坂田 完三 京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学 化学研究所内
審査請求日	平成21年10月30日(2009.10.30)	(72) 発明者	韓 立友 京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学 化学研究所内
(31) 優先権主張番号	特願2005-354121 (P2005-354121)		
(32) 優先日	平成17年12月7日(2005.12.7)		
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		
(31) 優先権主張番号	特願2006-188282 (P2006-188282)		
(32) 優先日	平成18年7月7日(2006.7.7)		
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		

最終頁に続く

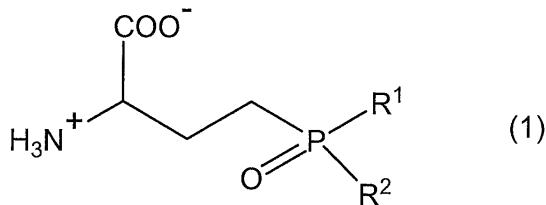
(54) 【発明の名称】 ホスホン酸ジエステル誘導体およびその製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

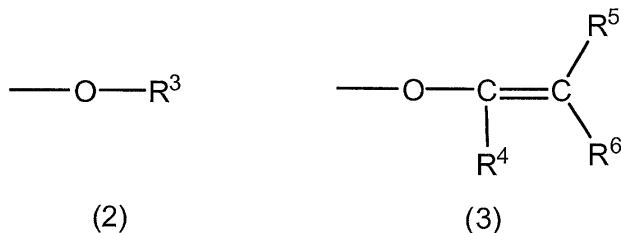
一般式(1)

【化1】



(式中、R¹およびR²がそれぞれ独立して、一般式(2)または一般式(3))

【化2】



(式中、R³が置換基を有していてもよいアリール基、および置換基を有していてもよい

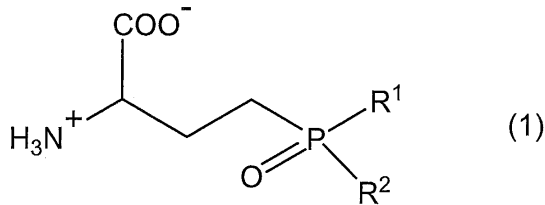
複素環残基のいずれかであり、 R^4 、 R^5 および R^6 のそれぞれが、水素原子、置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基、および電子吸引基からなる群より選択される少なくとも1つの置換基であり、 R^4 、 R^5 および R^6 の置換基のうち隣接する2つの置換基が互いに結合して環を形成してもよい。)を表し、

前記電子吸引基が、ハロゲン原子、 $-COOR'$ 、 $-CONR'_2$ 、 $-COR'$ 、 $-OCOR'$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-SO_2NR'_2$ 、 $-PO(OR')_2$ 、および $-NO_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R' が水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表す。)で示される、ホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項2】

一般式(1)

【化3】



(式中、 R^1 が OR^{10} であり、 R^2 が OR^{11} であり、 R^{10} が、置換基を有していてもよいアルキル基、および置換基を有していてもよいアリール基のいずれかであり、 R^{11} が、置換基を有していてもよいアリール基である。)で示される、ホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項3】

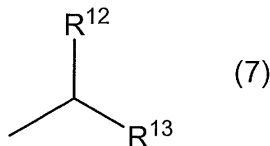
前記置換基を有していてもよいアルキル基の置換基が、置換基を有していてもよいフェニル基、窒素有する複素環残基、アルキルスルファニル基、アリールスルファニル基、ヒドロキシ基、カルバモイル基、アミノ基、グアニジノ基、アルコキシ基、アミド基、カルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、

前記カルボキシ基およびカルボキシ基の等価体が、 $-COOR$ 、 $-CONR_2$ 、 $-COR$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NHCO R$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-OCOR$ 、 $-SO_3R$ 、および $-SO_2NR_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R が水素原子およびアルキル基のいずれかである、請求項2記載のホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項4】

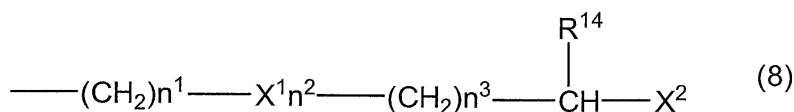
前記 R^{10} の置換基を有していてもよいアルキル基が、一般式(7)

【化4】



(式中、 R^{12} が、置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基、および水素原子のいずれかを表し、 R^{13} が、水素原子、および一般式(8)

【化5】



(式中、 n^1 が0-4の整数を、 n^2 が0および1のいずれかを、 n^3 が0-4の整数を、 X^1 がアミド基およびアルケニル基のいずれかを、 X^2 がカルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体のいずれかを、 R^{14} が水素原子、メチル基およびエチル基のいずれかを表す。)のいずれかを表す。)であり、

10

20

30

40

50

前記カルボキシ基およびカルボキシ基の等価体が、 $-COOR$ 、 $-CONR_2$ 、 $-COR$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NHCOR$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-OCOR$ 、 $-SO_3R$ 、および $-SO_2NR_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、Rが水素原子およびアルキル基のいずれかである、請求項2記載のホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項5】

前記 R^{12} の置換基を有していてもよいアルキル基の置換基が、置換基を有していてもよいフェニル基、窒素を有する複素環残基、アルキルスルファニル基、アリールスルファニル基、ヒドロキシ基、カルボキシ基、カルバモイル基、アミノ基、グアニジノ基、アルコキシ基、およびアミド基からなる群より選択される少なくとも1つの基である、請求項4記載のホスホン酸ジエステル誘導体。

10

【請求項6】

前記置換基を有していてもよいアリール基の置換基が、カルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体のいずれかにより置換されていてもよいアルキル基、電子吸引基、カルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、

前記電子吸引基が、ハロゲン原子、 $-COOR'$ 、 $-CONR'_2$ 、 $-COR'$ 、 $-OCOR'$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-SO_2NR'_2$ 、 $-PO(OR')_2$ 、および $-NO_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R' が水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表し、

前記カルボキシ基およびカルボキシ基の等価体が、 $-COOR''$ 、 $-CONR''_2$ 、 $-COR''$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NHCOR''$ 、 $-OR''$ 、 $-SR''$ 、 $-OCOR''$ 、 $-SO_3R''$ 、および $-SO_2NR''_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R'' が水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかである、請求項2記載のホスホン酸ジエステル誘導体。

20

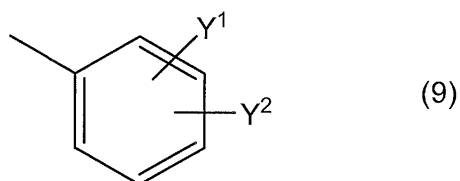
【請求項7】

前記置換基を有してもよいアリール基が、置換基を有してもよいフェニル基である、請求項2記載のホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項8】

前記置換基を有してもよいフェニル基が、一般式(9)

【化6】



30

(式中、 Y^1 が、 $-R'$ 、 $-OR'$ 、および電子吸引基からなる群より選択される1つの基を表し、 Y^2 が、カルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体のいずれかで置換されていてもよく、かつ二重結合を有していてもよいアルキル基、水素原子、カルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体からなる群より選択される1つの基を表し、隣接する2つの置換基 Y^1 と Y^2 とが互いに結合して環を形成してもよく、 R' が、水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表す。)であり、

40

前記電子吸引基が、 $-COOR'$ 、 $-CONR'_2$ 、 $-COR'$ 、 $-OCOR'$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-SO_2NR'_2$ 、 $-PO(OR')_2$ 、および $-NO_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R' が水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表し、

前記カルボキシ基およびカルボキシ基の等価体が、 $-COOR''$ 、 $-CONR''_2$ 、 $-COR''$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NHCOR''$ 、 $-OR''$ 、 $-SR''$ 、 $-OCOR''$ 、 $-SO_3R''$ 、および $-SO_2NR''_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R'' が水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかである、請求項

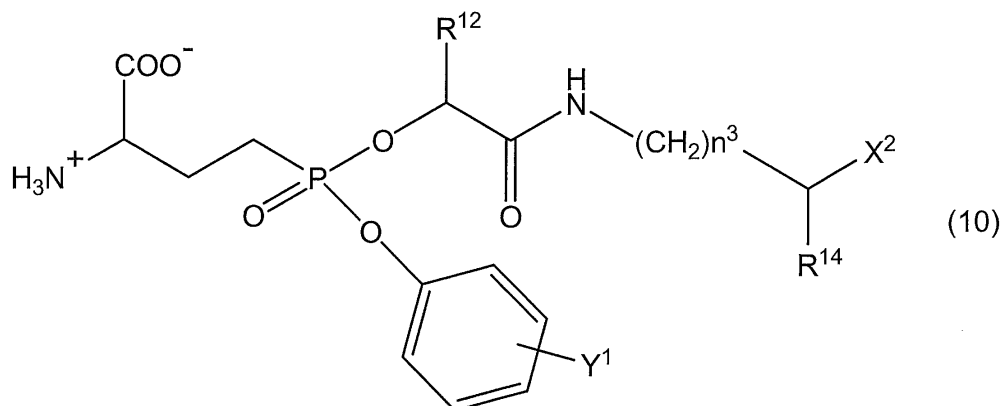
50

7記載のホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項9】

一般式(10)

【化7】



(式中、 R^{12} が置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基、および水素原子のいずれかを表し、 R^{14} が水素原子、メチル基およびエチル基のいずれかを表し、 X^2 がカルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体のいずれかを表し、 Y^1 が $-R'$ 、 $-OR'$ 、および電子吸引基からなる群より選択される1つの基を表し、 R' が、水素原子、および二重結合を有していてもよいアルキル基のいずれかを表し、および n^3 が0-4の整数を表し、

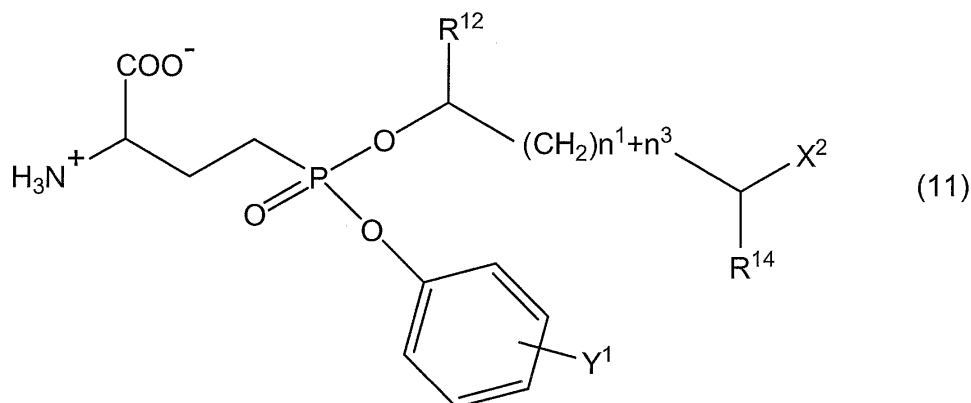
前記カルボキシ基およびカルボキシ基の等価体が、 $-COOR$ 、 $-CONR_2$ 、 $-COR$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NHCOR$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-OCOR$ 、 $-SO_3R$ 、および $-SO_2NR_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R が水素原子およびアルキル基のいずれかであり、

前記電子吸引基が、ハロゲン原子、 $-COOR'$ 、 $-CONR'_2$ 、 $-COR'$ 、 $-OCOR'$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-SO_2NR'_2$ 、 $-PO(OR')_2$ 、および $-NO_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R' が水素原子、および二重結合を有していてもよいアルキル基のいずれかを表す。)で示される、ホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項10】

一般式(11)

【化8】



(式中、 R^{12} が置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基、および水素原子のいずれかを表し、 R^{14} が水素原子、メチル基およびエチル基のいずれかを表し、 X^2 がカルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体のいずれかを表し、 Y^1 が $-R'$ 、 $-OR'$ 、および電子吸引基からなる群より選択される1つの基を表し、 R' が、水素原子、および二重結合を有していてもよいアルキル基のいずれかを表し、 n^1 が0-4の整数を表し、および n^3 が0-4の整数を表し、

10

20

30

40

50

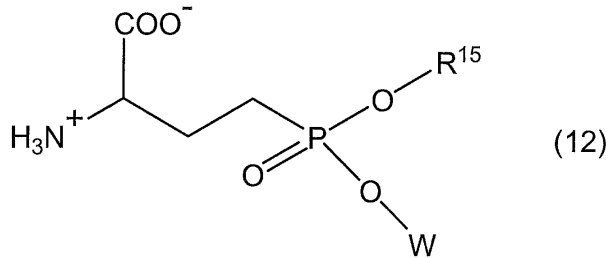
前記カルボキシ基およびカルボキシ基の等価体が、 $-COOR$ 、 $-CONR_2$ 、 $-COR$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NHCO R$ 、 $-OR$ 、 $-SR$ 、 $-OCOR$ 、 $-SO_3R$ 、および $-SO_2NR_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R が水素原子およびアルキル基のいずれかであり、

前記電子吸引基が、ハロゲン原子、 $-COOR'$ 、 $-CONR'_2$ 、 $-COR'$ 、 $-OCOR'$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-SO_2NR'_2$ 、 $-PO(OR')_2$ 、および $-NO_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R' が水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表す。)で示される、ホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項11】

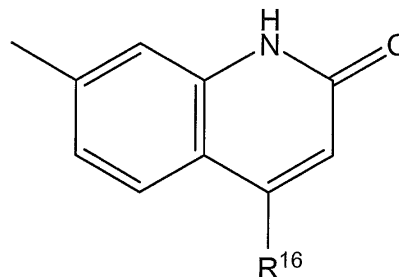
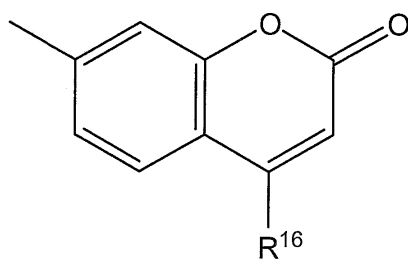
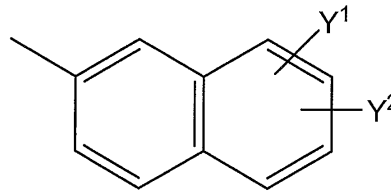
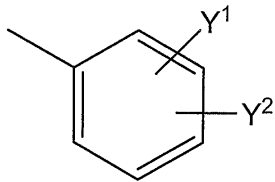
一般式(12)

【化9】



(式中、 R^{15} が、メチル基およびエチル基を表し、 W が、一般式(13) - 一般式(16)

【化10】



のいずれかを表し、 R^{16} が、水素原子、メチル基およびエチル基のいずれかを表し、 Y^1 が、 $-R'$ 、 $-OR'$ 、および電子吸引基からなる群より選択される1つの基を表し、 Y^2 が、カルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体のいずれかで置換されていてもよく、かつ二重結合を有していてもよいアルキル基、水素原子、カルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体からなる群より選択される1つの基を表し、隣接する2つの置換基 Y^1 と Y^2 とが互いに結合して環を形成してもよく、 R' が、水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表し、

10

20

30

40

50

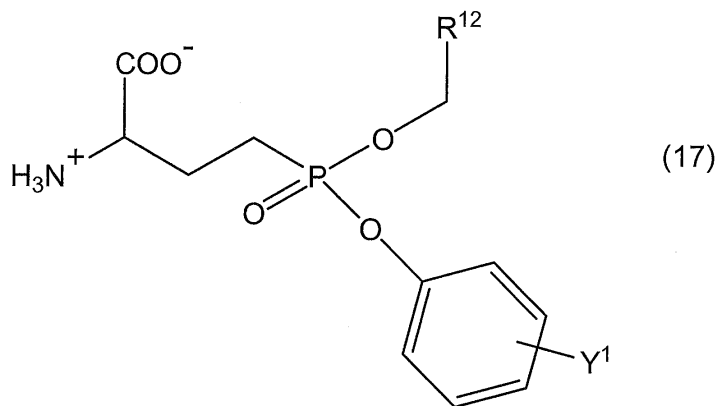
前記電子吸引基が、ハロゲン原子、 $-COOR'$ 、 $-CONR'_2$ 、 $-COR'$ 、 $-OCOR'$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-SO_2NR'_2$ 、 $-PO(OR')_2$ 、および $-NO_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R' が水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表し、

前記カルボキシ基およびカルボキシ基の等価体が、 $-COOR''$ 、 $-CONR''_2$ 、 $-COR''$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NHCOR''$ 、 $-OR''$ 、 $-SR''$ 、 $-OCOR''$ 、 $-SO_3R''$ 、および $-SO_2NR''_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R'' が水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表す。)で示される、ホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項12】

一般式(17)

【化11】



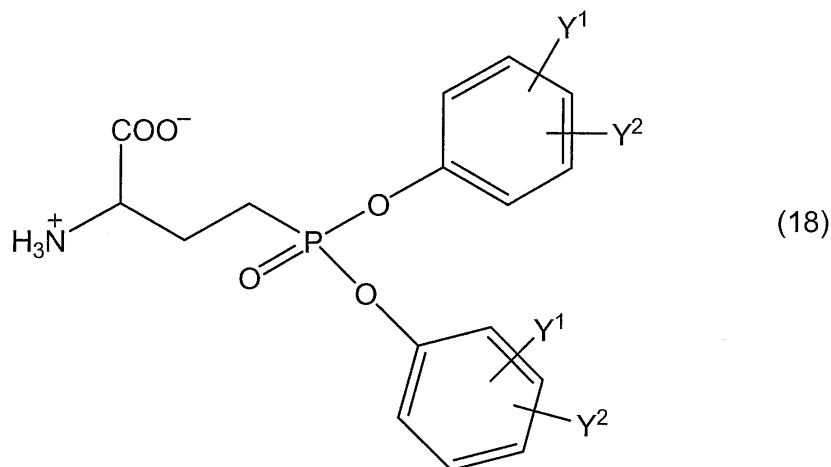
(式中、 R^{12} が置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基、および水素原子のいずれかを表し、 Y^1 が、 $-R'$ 、 $-OR'$ 、および電子吸引基からなる群より選択される1つの基を表し、 R' が、水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表し、

前記電子吸引基が、ハロゲン原子、 $-COOR'$ 、 $-CONR'_2$ 、 $-COR'$ 、 $-OCOR'$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-SO_2NR'_2$ 、 $-PO(OR')_2$ 、および $-NO_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R' が水素原子、および二重結合を有してもよいアルキル基のいずれかを表す。)で示される、ホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項13】

一般式(18)

【化12】



(式中、 Y^1 が、 $-R'$ 、 $-OR'$ 、および電子吸引基からなる群より選択される1つの基を表し、 Y^2 が、カルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体のいずれかで置換されて

いてもよく、かつ二重結合を有していてもよいアルキル基、水素原子、カルボキシ基、およびカルボキシ基の等価体からなる群より選択される1つの基を表し、隣接する2つの置換基 Y^1 と Y^2 とが互いに結合して環を形成してもよく、 R' が、水素原子、および二重結合を有していてもよいアルキル基のいずれかを表し、

前記電子吸引基が、ハロゲン原子、 $-COOR'$ 、 $-CONR'_{2}$ 、 $-COR'$ 、 $-OCOR'$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-SO_2NR'_{2}$ 、 $-PO(OR')_{2}$ 、および $-NO_2$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R' が水素原子、および二重結合を有していてもよいアルキル基のいずれかを表し、

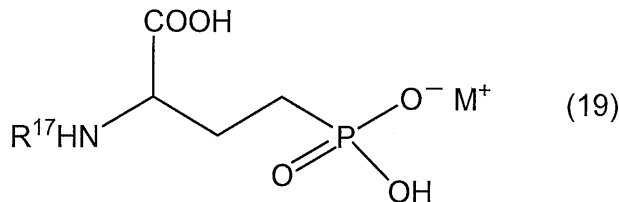
前記カルボキシ基およびカルボキシ基の等価体が、 $-COOR''$ 、 $-CONR''_{2}$ 、 $-COR''$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NHCOR''$ 、 $-OR''$ 、 $-SR''$ 、 $-OCOR''$ 、 $-SO_3R''$ 、および $-SO_2NR''_{2}$ からなる群より選択される少なくとも1つの基であり、 R'' が水素原子、および二重結合を有していてもよいアルキル基のいずれかを表す。)で示される、ホスホン酸ジエステル誘導体。

【請求項14】

請求項1又は2記載の一般式(1)で示されるホスホン酸ジエステル誘導体を2-アミノ-4-ホスホノブタン酸から製造する過程において、

下記一般式(19)で示される2-置換アミノ-4-ホスホノブタン酸の金属塩を結晶として単離することを特徴とする、ホスホン酸ジエステル誘導体の製造方法。

【化13】



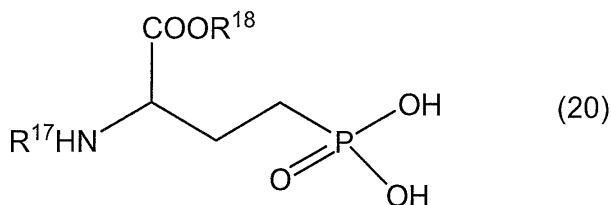
(式中、Mがアルカリ金属を表し、 R^{17} が置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基を含むアルコシキカルボニル基を表す。)

【請求項15】

請求項1又は2記載の一般式(1)で示されるホスホン酸ジエステル誘導体を2-アミノ-4-ホスホノブタン酸から製造する過程において、

下記一般式(20)で示される2-置換アミノ-4-ホスホノブタン酸エステルを結晶として単離することを特徴とする、ホスホン酸ジエステル誘導体の製造方法。

【化14】



(式中、 R^{18} が置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基を表し、 R^{17} が置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基を含むアルコシキカルボニル基を表す。)

【請求項16】

前記一般式(20)で示される2-置換アミノ-4-ホスホノブタン酸エステルを結晶として単離する製造過程において、

エーテル系溶媒を用いることを特徴とする、請求項15記載のホスホン酸ジエステル誘導体の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この発明は、ホスホン酸ジエステル誘導体とその製造方法に関し、特にたとえば、G G

10

20

30

40

50

T (- グルタミルトランスぺプチターゼ (- Glutamyl transpeptidase)) 阻害剤に用いられる、ホスホン酸ジエステル誘導体とその製造方法に関する。

関連技術

本願発明のホスホン酸ジエステル誘導体は、文献未記載の新規な化合物である。

また、GGT阻害剤としてアシピシン (THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY : 1994 by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology , Inc . 269 巻、No . 34、p21435 - 21439、1994年8月26日発行) が一般的に用いられている。このアシピシンは、GGTに対してだけ作用するわけではなく、生体内の他の酵素にも作用することが知られている。

10

別のGGT阻害剤として - ボロノグルタミン酸 (Biochemistry、2001年発行、40巻、p5804 - 5811) も知られている。しかし、 - ボロノグルタミン酸は可逆的阻害剤であるため、 - ボロノグルタミン酸をGGT阻害剤として実用化することは難しい。

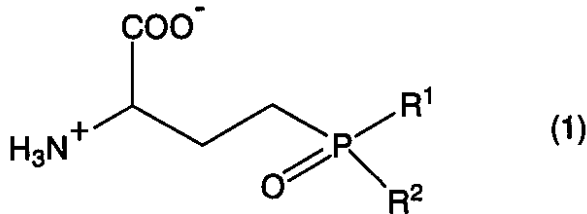
発明の概要

それゆえに、この発明の主たる目的は、新規なホスホン酸ジエステル誘導体およびその製造方法を提供することである。

この発明のその他の目的は、生体内の酵素の中でもGGTに選択的に作用し、GGTを不可逆的に失活させる阻害活性をもったホスホン酸ジエステル誘導体およびその製造方法を提供することである。

20

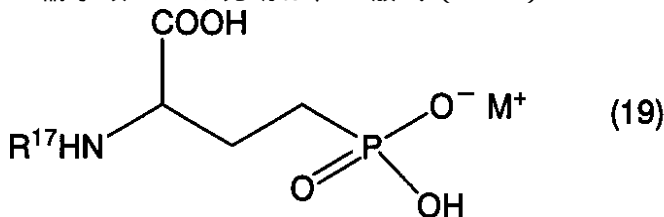
請求項1の発明は、一般式(1)



(式中、R¹およびR²の少なくともいずれか一方が脱離基を表す。)で示される、ホスホン酸ジエステル誘導体である。

30

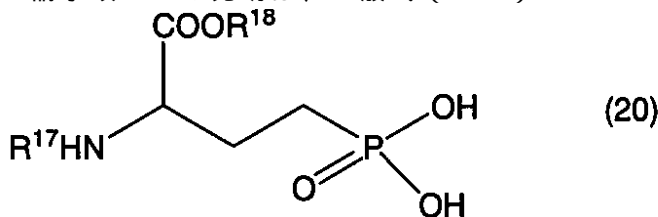
請求項19の発明は、一般式(19)



(式中、Mがアルカリ金属を表し、R¹⁷が置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基を含むアルコシキカルボニル基を表す。)で示される、2-置換アミノ-4-ホスホノブタン酸の金属塩である。

40

請求項20の発明は、一般式(20)



(式中、R¹⁸が置換基を有していてもよい芳香族炭化水素基を表し、R¹⁷が前記と同じ意味を表す。)で示される、2-置換アミノ-4-ホスホノブタン酸エステルである。

請求項21の発明は、請求項1記載の一般式(1)で示されるホスホン酸ジエステル誘

50

導体を 2 - アミノ - 4 - ホスホノブタン酸から製造する過程において、請求項 19 記載の一般式 (19) で示される 2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸の金属塩を結晶として単離することを特徴とする、ホスホン酸ジエステル誘導体の製造方法である。

請求項 22 の発明は、請求項 1 記載の一般式 (1) で示されるホスホン酸ジエステル誘導体を 2 - アミノ - 4 - ホスホノブタン酸から製造する過程において、請求項 20 記載の一般式 (20) で示される 2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸エステルを結晶として単離することを特徴とする、ホスホン酸ジエステル誘導体の製造方法である。

この発明によれば、一般式 (1) で示されるホスホン酸ジエステル誘導体は、生体内の酵素の中でも GGT を選択的に不活性化し、かつ GGT を不可逆的に失活させることができる。

10

この発明の上述の目的、その他の目的、特徴および利点は、図面を参照して行う以下の実施例の詳細な説明から一層明らかとなる。

【図面の簡単な説明】

【0002】

図 1 は、実施例 8 の化合物と大腸菌 GGT とを反応させた場合における、化合物の濃度および反応時間に対する AMC の蛍光強度を示すグラフであり；

図 2 は、実施例 8 の化合物とヒト GGT とを反応させた場合における、化合物の濃度および反応時間に対する AMC の蛍光強度を示すグラフであり；

図 3 は、実施例 1 - 17 の化合物における、各化合物のアリール基の解離定数 K_a と大腸菌 GGT 酵素失活の 2 次反応速度定数 k_{on} との関係を示すグラフであり；

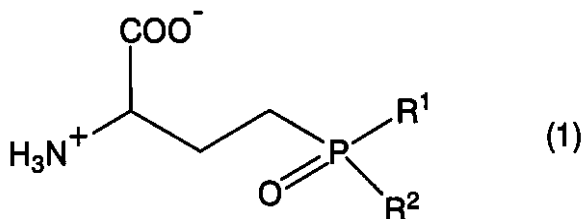
20

図 4 は、実施例 1 - 17 の化合物における、各化合物のアリール基の解離定数 K_a とヒト GGT 酵素失活の 2 次反応速度定数 k_{on} との関係を示すグラフである。

【発明を実施するための最良の形態】

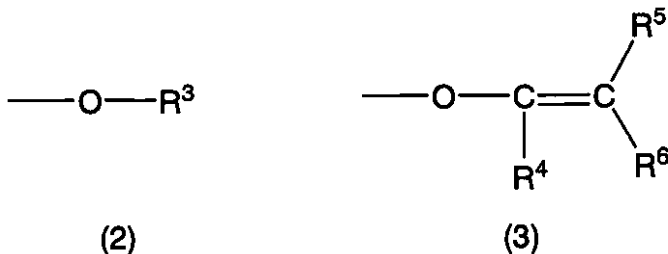
【0003】

本発明のホスホン酸ジエステル誘導体 (1) について、説明する。

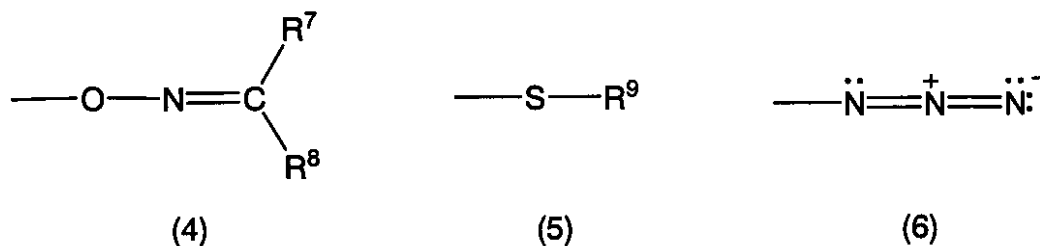


30

R^1 および R^2 の少なくともいずれか一方が脱離基である。脱離基には、その解離定数 pK_a が 12 以下程度のものが用いられる。たとえば、脱離基として、一般式 (2) - 一般式 (6) などが挙げられる。



40

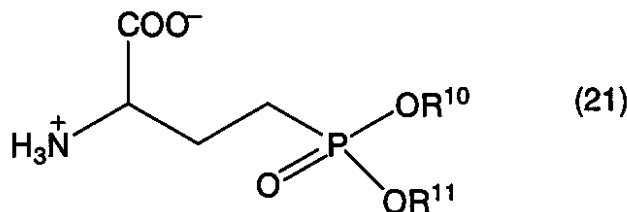


R^3 としては、置換基を有していてもよいアリール基、または置換基を有していてもよ

50

い複素環残基などが挙げられ、アリール基には、フェニル基などが挙げられる。R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸およびR⁹のそれぞれとしては、水素原子、置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基、または電子吸引基などが挙げられ、これらは互いに同一であっても異なってもよい。電子吸引基には、ハロゲン原子、カルバモイル基、カルボニル基、シアノ基、アルキルスルファニル基、アリールスルファニル基、またはカルボキシ基などが挙げられる。なお、R⁴ - R⁸の置換基のうち隣接する2つの置換基が互いに結合して環を形成してもよい。

ホスホン酸ジエステル誘導体(1)のなかでも、R¹がOR¹⁰であり、R²がOR¹¹であるホスホン酸ジエステル誘導体(21)が好ましい。



10

ホスホン酸ジエステル誘導体(21)において、R¹⁰およびR¹¹が水素原子以外であって、OR¹⁰およびOR¹¹の少なくともいずれか一方が脱離基である。脱離基には一般式(2) - 一般式(4)で示される置換基などが挙げられ、なかでも一般式(2)の-O-R³が好ましく、特にR³が置換基を有していてもよいアリール基であることが好ましい。この場合、R¹⁰が、置換基を有していてもよいアルキル基、または置換基を有していてもよいアリール基であり、R¹¹が、置換基を有していてもよいアリール基であることが好ましい。また、OR¹⁰およびOR¹¹の少なくともいずれか一方が、GGTの基質構造と同じまたはそれに近い構造を有することが好ましい。特に、ヒトGGTの場合、末位の炭素原子にカルボキシ基またはその等価体が結合しており、かつリン原子に結合する酸素原子から末端までの原子数であって、水素原子を除いた原子数が6 - 8である構造が好ましい。

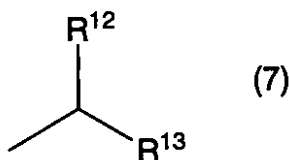
20

次に、R¹⁰における置換基を有していてもよいアルキル基について説明する。

置換基を有していてもよいアルキル基の置換基として、置換基を有していてもよいフェニル基、窒素を有する複素環残基、アルキルスルファニル基、アリールスルファニル基、ヒドロキシ基、カルバモイル基、アミノ基、グアニジノ基、アルコキシ基、アミド基、カルボキシ基、またはカルボキシ基の等価体などが挙げられる。

30

置換基を有していてもよいアルキル基のアルキル鎖としては、直鎖であってもよいし、分岐鎖であってもよい。なかでも、



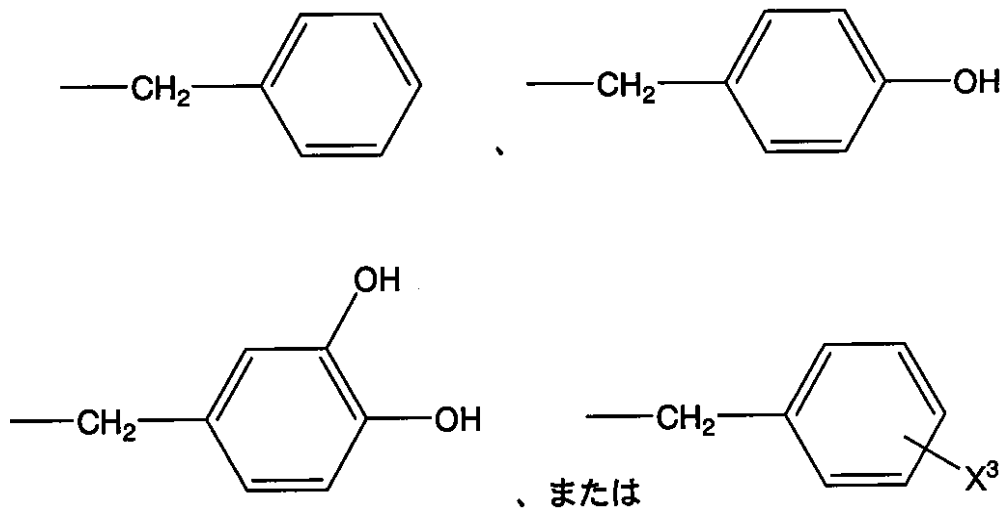
であることが好ましい。

40

R¹²として、置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基、または水素原子などが挙げられる。

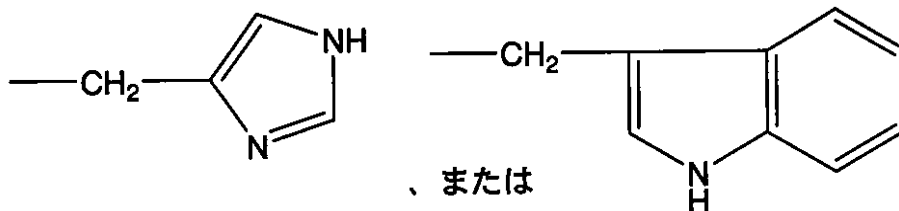
R¹²の置換基を有していてもよいアルキル基の置換基として、置換基を有していてもよいフェニル基、窒素を有する複素環残基、アルキルスルファニル基、アリールスルファニル基、ヒドロキシ基、カルボキシ基、カルバモイル基、アミノ基、グアニジノ基、アルコキシ基、またはアミド基などが挙げられる。

この置換基を有していてもよいフェニル基で置換されたアルキル基として、



などが好ましい。X³としてアルコキシ基または低級アルキル基などが挙げられ、低級アルキル基として、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、またはtert-ブチルなどの炭素数1-4の直鎖または分岐鎖状のアルキル基などが挙げられる。

窒素を有する複素環残基で置換されたアルキル基として、



などが挙げられる。

ヒドロキシ基で置換されているアルキル基として、-CH₂OH、または-CH(CH₃)OHなどが挙げられる。カルボキシ基で置換されているアルキル基として、-CH₂COOH、または-CH₂CH₂COOHなどが挙げられる。カルバモイル基で置換されているアルキル基として、-CH₂CONH₂、または-CH₂CH₂CONH₂などが挙げられる。アミノ基で置換されているアルキル基として、-(CH₂)₄NH₂などが挙げられる。 Guanidino基で置換されているアルキル基として、-(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂などが挙げられる。

30

アルキルスルファニル基、アリールスルファニル基で置換されているアルキル基として、-CH₂CH₂SCH₃、-CH₂SH、-CH₂S) ₂、または-CH₂SR^{1 2}、などが挙げられる。アルコキシ基で置換されているアルキル基として、-CH₂OR^{1 2}、などが挙げられる。アミド基で置換されているアルキル基として、-CH₂NHCOR^{1 2}、などが挙げられる。

R^{1 2}、は、水素原子以外であり、各酵素の基質構造に相当する。なかでも、置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいベンジル基、置換基を有していてもよいフェニル基、または置換基を有していてもよい複素環残基などが挙げられる。なお、R^{1 2}、は、R^{1 2}の下概念であって、R'と異なる。

40

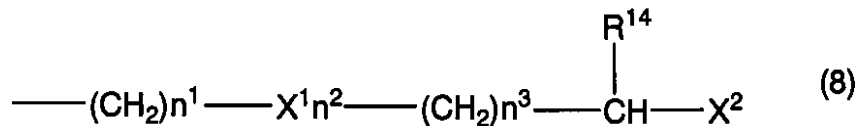
R^{1 2}、の置換基を有していてもよいアルキル基の置換基として、アシル基、アルコシカルボニル基、またはアミド基などが挙げられる。また、R^{1 2}、のアルキル基として、炭素数1-6のアルキル基が好ましい。

また、R^{1 2}のアルキル基として、-CH₃、-CH₂CH₃、-CH₂CH₂CH₃、-CH(CH₃)₂、-CH₂CH₂CH₂CH₃、-CH(CH₃)CH₂CH₃、-CH₂CH(CH₃)₂、-C(CH₃)₃、または-CH₂CH₂R^{1 2}、などが挙げられる。R^{1 2}、は上記と同様である。

50

さらに、 R^{12} のアリール基として、フェニル基などが挙げられる。

R^{13} として、水素原子、または



などが挙げられる。

n^1 が0 - 4の整数であり、 n^2 が0または1であり、 n^3 が0 - 4の整数である。なかでも、 n^3 が0または1であることが好ましい。また、 n^2 が0のとき、 n^1 と n^3 との和が1 - 3であり、 n^2 が1のとき、 n^1 と n^3 との和が0または1であることが好ましい。

10

X^1 として、アミド基またはアルケニル基などが挙げられ、アルケニル基では - CH = CH - などが好ましい。 X^2 として、カルボキシ基、またはカルボキシ基の等価体などが挙げられる。

R^{14} として、水素原子または低級アルキル基などが挙げられ、低級アルキル基には上記と同様のものが挙げられ、なかでも、メチル基およびエチル基が好ましい。

なお、置換基を有していてもよいアルキル基において、上記全てのカルボキシ基およびカルボキシ基の等価体として、- COOR、- CONR₂、- COR、- CN、- NO₂、- NHCOR、- OR、- SR、- OCOR、- SO₃R、または- SO₂NR₂などが挙げられる。このRは水素原子またはアルキル基であり、アルキル基には上記と同様の低級アルキル基が好ましく、特にメチル基が好ましい。

20

次に、 R^{10} および R^{11} における置換基を有していてもよいアリール基について説明する。

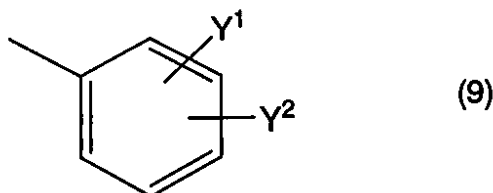
置換基を有していてもよいアリール基の置換基として、カルボキシ基またはカルボキシ基の等価体により置換されていてもよいアルキル基、電子吸引基、カルボキシ基、あるいはカルボキシ基の等価体などが挙げられる。

置換基を有していてもよいアリール基として、アリール基またはそれに置換された置換基における炭素原子にカルボキシ基またはその等価体が結合しており、かつホスホン酸ジエステル誘導体(21)におけるリン原子に結合する酸素原子からカルボキシ基またはその等価体の末端までの原子数であって、水素原子を除いた原子数が6 - 8である構造が好ましい。

30

アリール基として、フェニル基などが挙げられる。

置換基を有してもよいフェニル基は、



で表される。

40

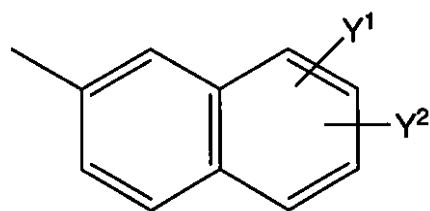
Y^1 として、- R'、- OR'、または電子吸引基などが挙げられ、なかでも電子吸引基が好ましい。R'は、水素原子、または二重結合を有してもよいアルキル基であり、このアルキル基には上記と同様の低級アルキル基が好ましく、特にメチル基またはエチル基が好ましい。

Y^2 として、カルボキシ基およびカルボキシ基の等価体のいずれかで置換されていてもよく、かつ二重結合を有していてもよいアルキル基、水素原子、カルボキシ基、あるいはカルボキシ基の等価体などが挙げられる。このアルキル基には上記と同様の低級アルキル基が好ましく、なかでもメチル基またはエチル基が好ましい。

なお、 Y^1 および Y^2 は、オルト位、メタ位、およびパラ位のいずれでもよいが、なかでもメタ位およびパラ位が好ましく、特にパラ位が好ましい。

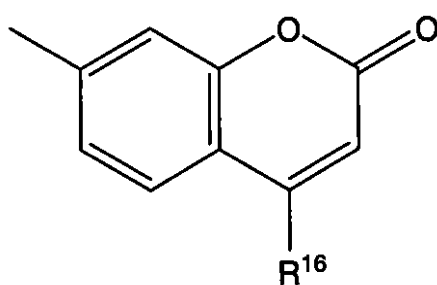
50

また、たとえば、一般式(14) - 一般式(16)に示すように、隣接する2つの置換基 Y^1 と Y^2 とが互いに結合して環を形成してもよい。 R^{16} としては、水素原子または上記と同様の低級アルキル基などが挙げられ、なかでも水素原子、メチル基、またはエチル基が好ましい。

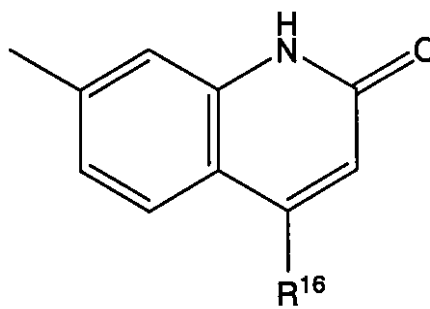


(14)

10



(15)



(16)

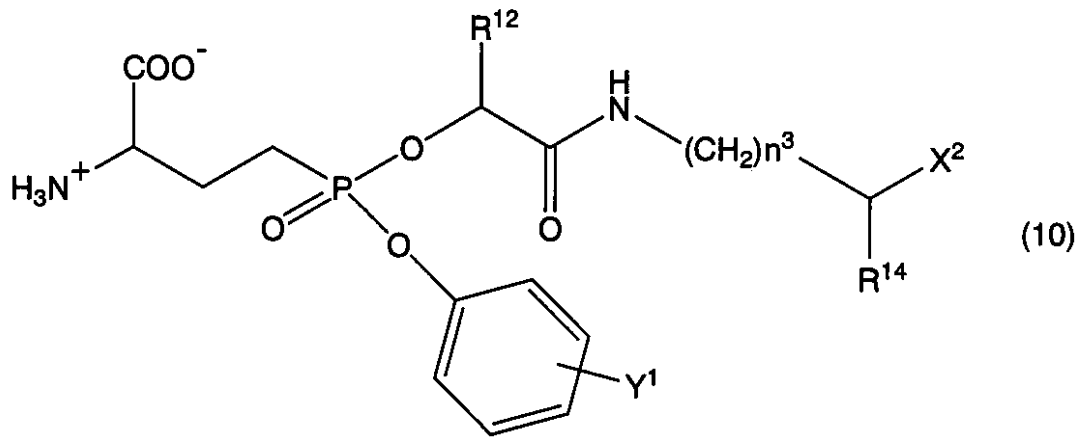
20

なお、置換基を有していてもよいアリール基において、上記全ての電子吸引基として、ハロゲン原子、 $-COOR'$ 、 $-CONR'_2$ 、 $-COR'$ 、 $-OCOR'$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-SR'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-SO_2NR'_2$ 、 $-PO(OR')_2$ 、または $-NO_2$ などが挙げられる。ハロゲン原子として、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素などが挙げられる。 R' は前記と同じ意味を表す。

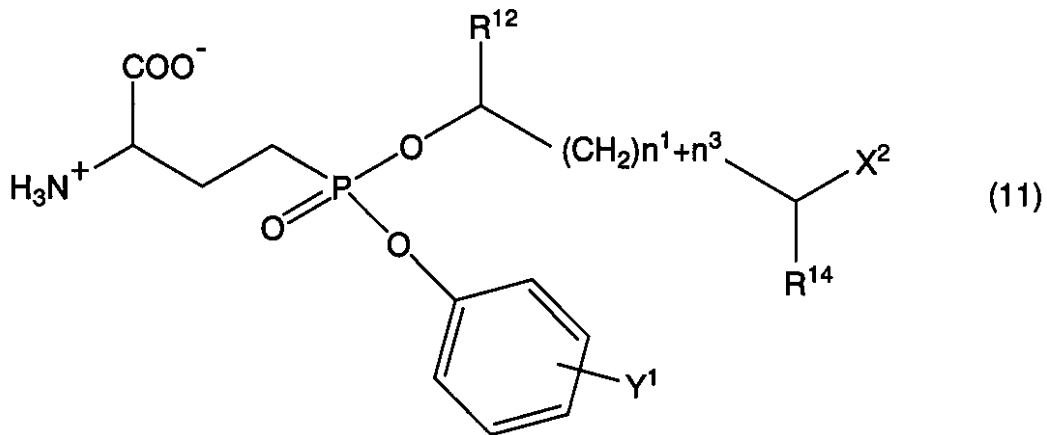
また、置換基を有していてもよいアリール基において、上記全てのカルボキシ基およびカルボキシ基の等価体として、 $-COOR''$ 、 $-CONR''_2$ 、 $-COR''$ 、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NHCO R''$ 、 $-OR''$ 、 $-SR''$ 、 $-OCOR''$ 、 $-SO_3R''$ 、または $-SO_2NR''_2$ などが挙げられる。 R'' は、水素原子、または二重結合を有してもよいアルキル基であり、このアルキル基には上記と同様の低級アルキル基が好ましい。

30

そして、 R^{11} が、 Y^1 で置換されていてもよいフェニル基の場合、ホスホン酸ジエステル誘導体は、

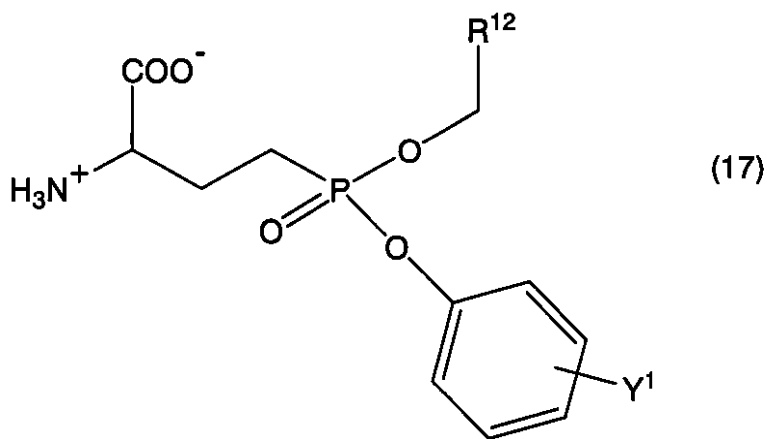


10



20

、または

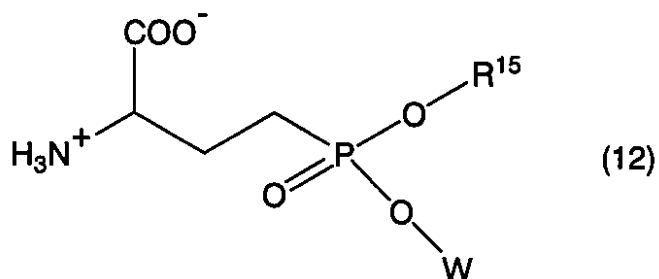


30

であることが好ましい。なお、 R^{12} 、 R^{14} 、 X^2 、 Y^1 、 n^1 、および n^3 が前記と同じ意味を表す。

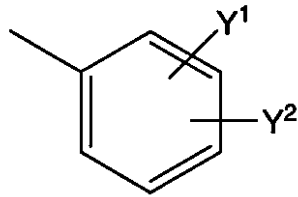
40

また、 R^{11} が、 Y^1 および/または Y^2 で置換されていてもよいフェニル基の場合、ホスホン酸ジエステル誘導体は、

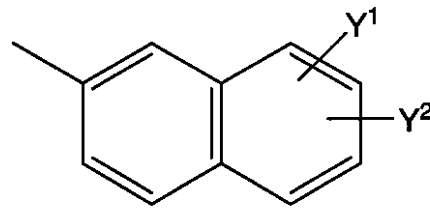


50

であることが好ましい。なお、 R^{15} は上記と同様の低級アルキル基であり、なかでもメチル基またはエチル基が好ましい。Wは、一般式(13) - 一般式(16)などである。 R^{16} 、 Y^1 および Y^2 が前記と同じ意味を表す。この一般式(13)では、 Y^2 は、カルボキシ基またはカルボキシ基の等価体で置換されたアルキル基、カルボキシ基、あるいはカルボキシ基の等価体であることが好ましい。

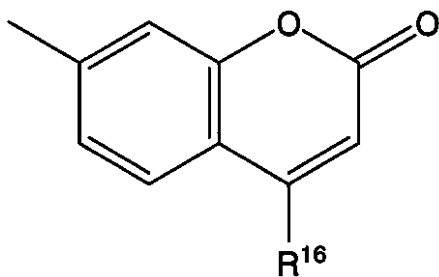


(13)

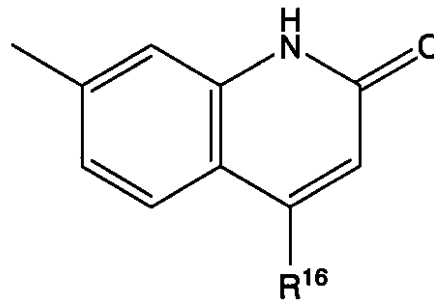


(14)

10



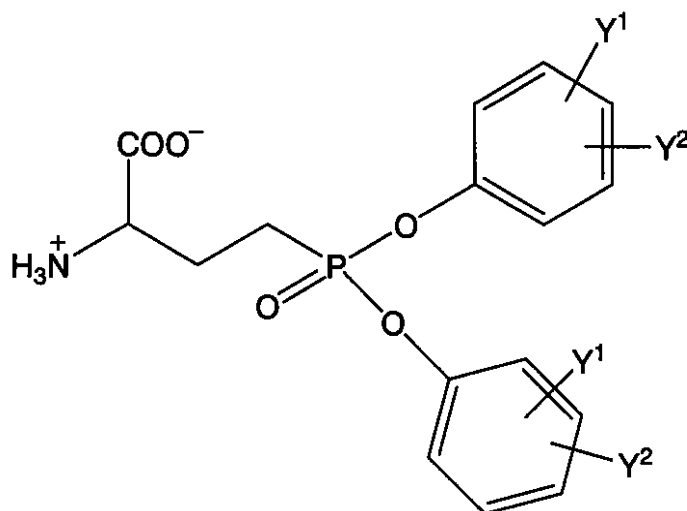
(15)



(16)

20

また、 R^{10} および R^{11} が、 Y^1 および / または Y^2 で置換されていてもよいフェニル基の場合、ホスホン酸ジエステル誘導体は、



(18)

30

であることが好ましい。なお、 Y^1 および Y^2 が前記と同じ意味を表す。

次に、ホスホン酸ジエステル誘導体の中間体である 2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸の金属塩 (19) について説明する。

40

osphonic acid. J. Am. Chem. Soc. 1948, 70, 1971-1972; Chambers, J. R., Isbell, A. F. A new synthesis of amino phosphonic acids. J. Org. Chem. 1964, 29, 832-836) に従って合成され得る。

2 - アミノ - 4 - ホスホノブタン酸 (21) と化合物 (22) の反応では、2 - アミノ - 4 - ホスホノブタン酸 (21) を溶媒に溶解させ、そこへ化合物 (22) および塩基を加えた後、保温する。

溶媒としては、水と、水に混じらない有機溶媒との2層系溶媒などが用いられる。有機溶媒として、ジクロロメタン、クロロホルム、1, 2 - ジクロロエタン、1, 1, 1 - トリクロロエタン、四塩化炭素、ベンゼン、トルエン、キシレン、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、オクタン、シクロペンタン、シクロヘキサン、エーテル系溶媒などが用いられ、なかでもエーテル系溶媒が好ましい。エーテル系溶媒としては、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、tert - ブチルメチルエーテル、ジプロピルエーテル、メチルプロピルエーテル、イソプロピルメチルエーテル、ブチルメチルエーテル、イソブチルメチルエーテル、メチルペンチルエーテル、イソペンチルメチルエーテル、シクロペンチルメチルエーテル、シクロヘキシルメチルエーテル、ジブチルエーテルなどが挙げられる。

化合物 (22) を加える温度は、化合物 (22) の分解を抑えるため、室温付近の温度以下であればよく、なかでも0 付近が好ましい。この温度条件下で、30分 - 2時間程度かけて化合物 (22) を加えた後、反応が終了していることを薄層クロマトグラフ法などの方法によって確認できるまで攪拌しながら保温する。保温は、室温付近の温度、たとえば25 - 30 で、10 - 24時間程度行われる。

塩基としては、アルカリ金属水酸化物、アルカリ金属炭酸塩、アルカリ金属炭酸水素塩などの無機塩基などが用いられる。無機塩基には、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素リチウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウムなどが挙げられる。塩基は、2 - アミノ - 4 - ホスホノブタン酸 (21) を溶媒に溶解させる段階で加えておいてもよいし、化合物 (22) と同時に加えてもよいし、また両方の段階で加えてもよい。

後処理は、反応終了後の水層を取り、必要に応じて水と混じらないエーテル系溶媒にて水層を洗浄した後、酸を加えて酸性化する。酸としては塩酸、臭化水素酸、硫酸などが挙げられる。

ついで、必要に応じて濃縮し、残渣にアセトン等の有機溶媒を加え、有機溶媒に不溶な塩化ナトリウムなどの無機塩をろ過などにより除去した後、濃縮することでアミノ基部分がR¹⁷で保護された遊離のホスホン酸形の生成物を含む油状の粗生成物が得られる。

この得られた粗生成物を中和量のアルカリ金属水酸化物 (23) の水溶液に溶かす。アルカリ金属水酸化物 (23) としては水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等が挙げられる。そして、粗生成物を溶かした水溶液を濃縮し、残渣にアセトンなどの有機溶媒を加え、攪拌することで、2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸のアルカリ金属塩 (19) を結晶として単離することができる。

これにより、化合物 (21) のアミノ基を保護基：R¹⁷で保護することができる。また、この保護した化合物をアルカリ金属塩の形で結晶化することにより、2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸のアルカリ金属塩 (19) を収率よく単離することができる。

次に、反応式 (2) に示すように、反応式 (1) で得た2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸のアルカリ金属塩 (19) を化合物 (24) と反応させることにより、2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸エステル (20) を得る。

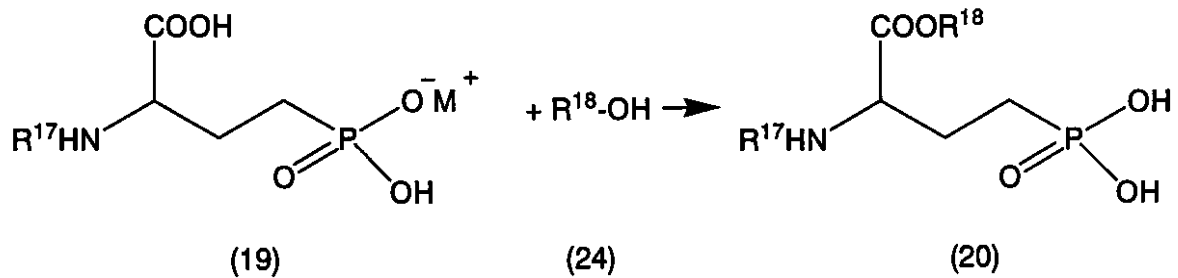
反応式 (2)

10

20

30

40



2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸のアルカリ金属塩 (19) と化合物 (24) との反応は、過剰の酸触媒の存在下で室温付近の温度で行われる。酸触媒には塩化水素などが用いられる。

10

ついで、反応が終了していることが薄層クロマトグラフ法などの方法によって確認できるまで攪拌しながら保温する。保温は、室温付近の温度で12 - 24時間程度行われる。

反応終了後、必要に応じて過剰の化合物 (24) および塩化水素などを濃縮操作等により除去した後、残渣に有機溶媒を加え、有機溶媒に不溶の塩化ナトリウム等の無機塩類をろ過操作等により除去する。有機溶媒としては酢酸エチル、アセトン、エチルメチルケトン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、クロロホルム、ジクロロメタン、1,2 - ジクロロエタン、または1,1,1 - トリクロロエタンなどが用いられる。必要に応じて反応生成物を含む溶液を水で洗浄した後、無水硫酸ナトリウムなどの乾燥剤で乾燥させてもよい。

20

ついで、反応生成物を含む溶液にエーテル系溶媒を加え、種結晶を加え攪拌、保温することにより、2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸エステル (20) を結晶として得ることができる。なお、エーテル系溶媒を加える前に、減圧濃縮等により溶媒を除いておくことが好ましい。

エーテル系溶媒としては、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、tert - ブチルメチルエーテル、ジブチルエーテル、1,2 - ジメトキシエタンメチルプロピルエーテル、イソプロピルメチルエーテル、ブチルメチルエーテル、イソブチルメチルエーテル、メチルペンチルエーテル、イソペンチルメチルエーテル、シクロペンチルメチルエーテル、シクロヘキシルメチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジブチルエーテルまたはテトラヒドロピランなどが挙げられる。

30

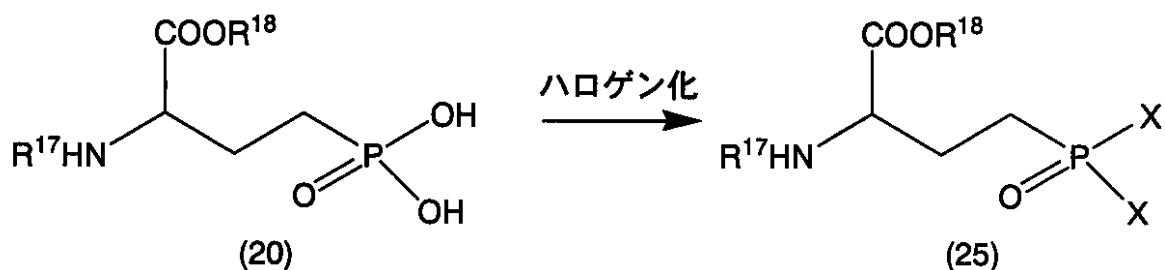
これにより、2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸のアルカリ金属塩 (19) において、ホスホン酸基が遊離のままの状態でカルボキシ基のみを選択的にエステル化して、保護基：R¹⁸ で保護することができる。また、2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸エステル (20) をエーテル系溶媒で結晶化させることにより、2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸エステル (20) を収率よく単離することができる。

なお、2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸エステル (20) の種結晶は、粗生成物に適量の上記と同様のエーテル系溶媒を加え、この沸点近くまで加熱後、冷却することにより得られる。

次に、反応式 (3) に示すように、反応式 (2) で得た2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸エステル (20) をハロゲン化することにより、化合物 (25) を得る。

40

反応式 (3)



2 - 置換アミノ - 4 - ホスホノブタン酸エステル (20) のハロゲン化は、触媒の存在

50

下で、2-置換アミノ-4-ホスホブタン酸エステル(20)とハロゲン化剤とを溶媒の中で反応させる。

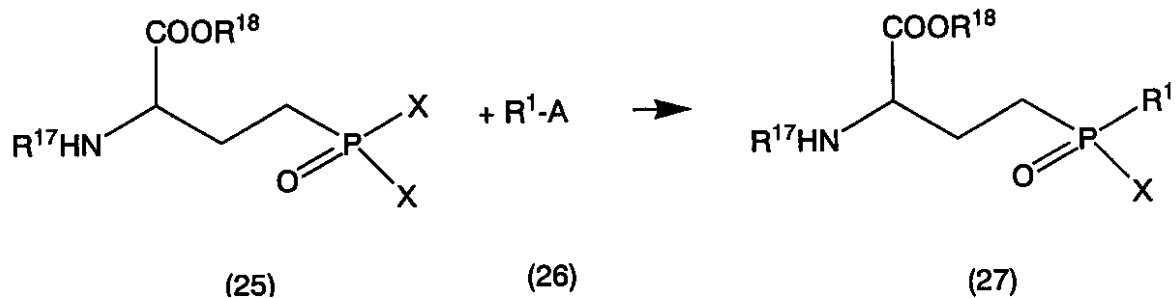
触媒としては、N,N-ジメチルホルムアミドなどが用いられる。溶媒としては、ジクロロメタン、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、1,1,1-トリクロロエタン、四塩化炭素、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、tert-ブチルメチルエーテル、またはテトラヒドロフランなどの乾燥溶媒が用いられる。ハロゲン化剤としては、塩化オキサリル、塩化チオニル、五塩化リン、またはオキシ塩化リンなどが用いられる。反応は、室温付近の温度で1時間程度行われる。

ついで、必要に応じて塩化水素などの副生成物、および余剰のハロゲン化剤を除去すれば、化合物(25)が黄色油状物として得られる。なお、副生成物などの除去方法に、一般に用いられている手法を利用できるが、なかでもアルゴンなどの不活性ガスを室温程度の温度で吹き付けて、副生成物を気化させる方法が好ましい。この除去方法を用いて溶媒とともに副生成物を完全に除去すれば、化合物(25)の収率を上げることができる。

Xとして、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素などのハロゲン原子が挙げられ、なかでも塩素が好ましい。

次に、反応式(4)に示すように、反応式(3)で得た化合物(25)を化合物(26)と反応させることにより、化合物(27)を得る。

反応式(4)

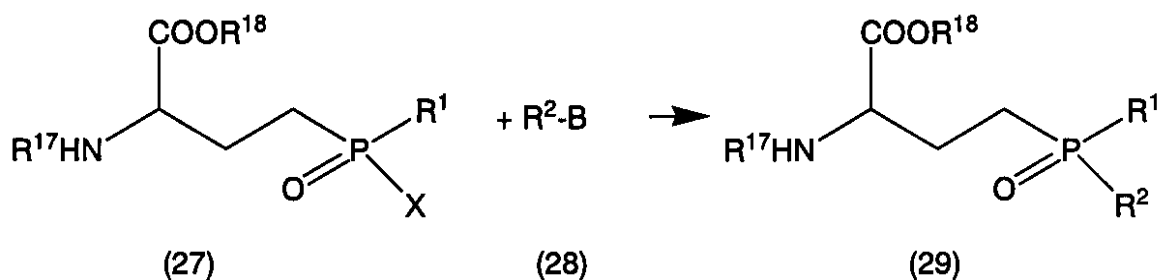


化合物(25)と化合物(26)との反応では、化合物(25)を溶媒に溶解させ、そこへ化合物(26)を加え、必要に応じてアミン塩基の存在下で、反応させる。

化合物(26)のR¹-AのAには、水素原子またはアルカリ金属などが用いられる。このアルカリ金属には、リチウム、ナトリウムまたはカリウムなどが挙げられ、なかでもリチウムが好ましい。アミン塩基には、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルピペリジン、N-メチルモルホリン、ジエチルイソプロピルアミン、N-メチルイミダゾールまたはピリジンなどが用いられ、なかでもトリエチルアミンが好ましい。溶媒には、乾燥ジクロロメタン溶液などが用いられる。反応は、-65℃付近で30分間程度攪拌した後、室温付近の温度までゆっくり温度を上げ、そのまま1-3時間程度攪拌することにより、完結する。これにより、化合物(27)をジアステレオマーの混合物として得られる。

次に、反応式(5)に示すように、反応式(4)で得た化合物(27)を化合物(28)と反応させることにより、化合物(29)を得る。

反応式(5)



化合物(27)を溶媒に溶解させ、そこへ化合物(28)および、必要に応じて塩基を加え、反応させる。

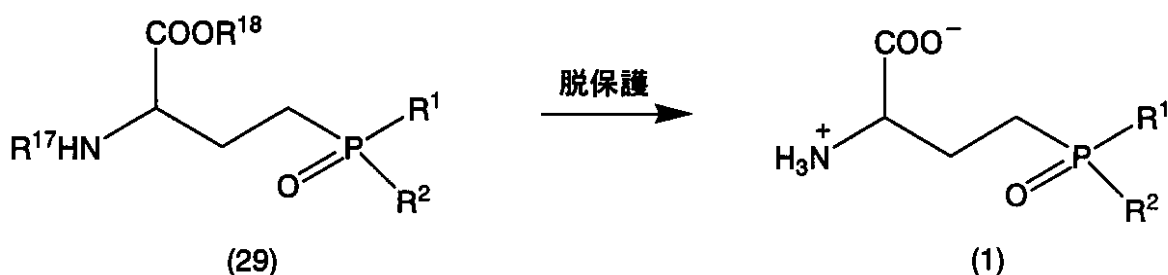
化合物(28)のR²-BのBには、水素原子またはアルカリ金属などが用いられる。このアルカリ金属には、リチウム、ナトリウムまたはカリウムなどが挙げられ、なかでもリチウムが好ましい。溶媒としては、乾燥ジクロロメタン溶液などが挙げられる。塩基としては、反応式(4)におけるアミン塩基と同様のものが用いられる。

化合物(28)および、必要に応じて塩基は、-65 付近の温度で加えられる。加えた後30分程度攪拌してから、室温までゆっくり温度を上げ、反応が終了していることを薄層クロマトグラフ法などで確認できるまで1時間程度反応させる。

反応終了後、必要に応じて有機溶媒を濃縮操作等により除去した後、残渣に有機溶媒を加え、有機溶媒に溶けにくい塩類をろ過操作等により除去する。有機溶媒としては酢酸エチルまたはアセトンなどが好ましい。ついで、カラムクロマトグラフィなどの精製方法を用いて、ジアステレオマー混合物(29)を無色油状物として得る。

最後に、反応式(6)に示すように、反応式(5)で得た化合物(29)を脱保護することにより、ホスホン酸ジエステル誘導体(1)を得る。

反応式(6)



脱保護法としては、限定されないが、接触水素還元法または塩化アルミニウムを用いた脱保護法などが用いられ、なかでも塩化アルミニウムを用いた脱保護法が好ましい。

接触水素還元法による脱保護では、触媒存在下で、化合物(29)と溶媒との混合溶液に水素ガスを2時間程度通すことにより、アミノ基およびカルボキシ基は脱保護される。

触媒には、パラジウム系触媒または白金系触媒などが用いられ、パラジウム系触媒には、パラジウム-炭素、またはパラジウム-硫酸バリウムなどが用いられる。溶媒には、水と酢酸との混合溶液、またはアルコールと水との混合溶媒などが用いられ、アルコールにはメタノールなどが用いられる。

ついで、必要に応じて触媒および溶媒を除いた後、残渣をカラムクロマトグラフィなどにより精製する。その後、必要に応じて、濃縮操作を行い、凍結乾燥することにより、ホスホン酸ジエステル誘導体(1)が得られる。

また、塩化アルミニウムを用いた脱保護法では、三塩化アルミニウムを加えた溶媒で、化合物(29)とアニソールとを反応させることにより、アミノ基およびカルボキシ基は脱保護される。

溶媒には、乾燥ニトロメタンなどの高極性溶媒が用いられる。反応は、室温付近の温度で1時間程度攪拌した後、水を加え、10分程度攪拌して終了する。

後処理は、反応終了後の反応液を分液操作により水層を分取し、必要に応じて水と容易に分液するエーテル系溶媒にて水層を洗浄した後、メタノールを加える。ついで、水酸化アルミニウムを除いた後、必要に応じてカラムクロマトグラフィなどにより精製することにより、ホスホン酸ジエステル誘導体(1)が得られる。

なお、上記反応式(1)および反応式(2)における反応生成物の精製法として結晶化を用いたが、結晶化に代えて、抽出、クロマトグラフィまたは沈殿などを用いることができる。

また、上記反応式(5)および反応式(6)における反応性生物の精製法としてカラムクロマトグラフィを用いたが、カラムクロマトグラフィに代えて、抽出、結晶化または沈殿などを用いることができる。

【実施例】

【0004】

実施例 1 : 2 - アミノ - 4 - [メチル(4 - メチルフェニル)ホスホノ]ブタン酸の合成

水 200 mL およびエーテル 150 mL の 2 層系混合溶媒に水酸化ナトリウム 24.0 g、600 mmol および 2 - アミノ - 4 - ホスホノブタン酸 36.6 g、200 mmol を溶かし、0 にて激しく攪拌しながら、ベンジルクロロギ酸 51.2 g、300 mmol と炭酸水素ナトリウム 25.2 g、300 mmol とを少しずつ 1 時間かけて加えた。混合物を室温で 14 時間激しく攪拌した後、薄層クロマトグラフィ (TLC) (BuOH / AcOH / H₂O = 5 : 2 : 2) のニンヒドリン発色にて 2 - アミノ - 4 - ホスホノブタン酸の消失により、反応が終了していることを確認した。それから、水層を取り、水層をエーテル 200 mL で 3 回洗浄した後、計算量の 6 N の塩酸 140 mL、840 mmol を加えて溶液を酸性化した。水溶液を減圧濃縮し、残渣にアセトン 500 mL を加え、不溶性の塩化ナトリウムをろ過して除いた。ろ液を濃縮し、油状の 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - ホスホノブタン酸を粗生成物として得た。この粗生成物を、中和量の水酸化ナトリウム 7.2 g、180 mmol の水溶液 250 mL に加え、pH 3 程度にし、水溶液を減圧乾固した。得られた油状物にアセトンを加え静置して、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - ホスホノブタン酸のモノナトリウム塩 (51.8 g、収率 76%) を白色粉末状結晶として得た。

¹H - NMR (300 MHz, D₂O) δ 1.6 - 1.8 (m, 2H, PCH₂CH₂), 1.8 - 2.3 (m, 2H, PCH₂CH₂), 4.21 (m, 1H, -CH), 5.13 (s, 2H, OCH₂Ph), 7.43 (m, 5H, Ph); ³¹P NMR (121 MHz, D₂O) δ 25.10.

次に、ベンジルアルコール 226 mL を 0 に冷やし、そこに塩化チオニル 19.5 g、164 mmol を滴下した。15 分攪拌した後、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - ホスホノブタン酸のモノナトリウム塩 21.2 g、62.4 mmol を加え、氷浴を外した後、室温で 20 時間攪拌した。TLC (BuOH / AcOH / H₂O, = 5 : 2 : 2, 254 nm) により、反応が完結したことを確認した。真空ポンプを用いて、70 でベンジルアルコールを減圧溜去した。得られた油状残渣を酢酸エチル 300 mL にて抽出し、不溶性の塩化ナトリウムをろ過して除いた。ろ液を水 50 mL にて 3 回洗浄したあと、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒を減圧溜去した後、ジエチルエーテル 300 mL を加え、種結晶を入れて激しく攪拌すると、生成物がエーテルに一部溶けた状態から結晶化し、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - ホスホノブタン酸ベンジル (21.2 g、収率 84%) を白色粉末状の結晶として得た。

¹H NMR (300 MHz, acetone - d₆) δ 1.7 - 1.9 (m, 2H, PCH₂CH₂), 1.9 - 2.3 (m, 2H, PCH₂CH₂), 4.38 (m, 1H, -CH), 5.08 (s, 2H, OCH₂Ph), 5.18 (s, 2H, OCH₂Ph), 6.9 (d, J = 7.8 Hz, 1H, NH), 6.7 - 7.3 [br s, 2H, P(OH)₂], 7.2 - 7.5 (m, 10H, 2 x Ph); ³¹P NMR (121 MHz, acetone - d₆) δ 29.09. Anal. calcd. for C₁₉H₂₂NO₇P: C 56.02, H 5.44, N 3.44; found: C 56.08, H 5.38, N 3.35. HRMS (FAB, glycerol) calcd for C₁₉H₂₃NO₇P (MH⁺) 408.1212, found 408.1192.

なお、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - ホスホノブタン酸ベンジルの種結晶は、粗生成物に適量のジイソプロピルエーテルを加え、沸点近くまで加熱後、上澄み液を熱時ろ過し、ろ液を室温までゆっくり冷却することにより得た。

次に、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - ホスホノブタン酸ベンジル 2.01 g、4.93 mmol を乾燥ジクロロメタン 10 mL に溶かし、触媒として N, N - ジメチルホルムアミド 1 滴を加えた後、塩化オキサリル 1.41 g、11.1 mmol を室温に加え、そのまま室温で 1 時間反応させた。反応後、アルゴン気流を送り込み、副生する塩化水素を溶媒とともに気化させて完全に除去することにより、ホスホン酸ジク

10

20

30

40

50

ロリドを黄色油状物として得た。

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.1 - 2.7 (m, 4H, PCH_2CH_2), 4.53 (m, 1H, $-\text{CH}$), 5.12 (s, 2H, PhCH_2OCON), 5.18 (d, $J = 12\text{ Hz}$) and 5.24 (d, $J = 12\text{ Hz}$) [2H, PhCH_2O], 5.46 (br d, 1H, $J = 8.1\text{ Hz}$), 7.3 - 7.4 (m, 10H, $2 \times \text{Ph}$); ^3P NMR (121 MHz, CDCl_3) δ 49.0.

ホスホン酸ジクロリドの乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL にメタノール 0.158 g, 4.94 mmol を加え、溶液を -65°C に冷却したのち、トリエチルアミン 0.5 g, 4.94 mmol を加えた。 -65°C にて 30 分攪拌した後、冷却槽を外して室温までゆっくり温度を上げ、そのまま 1 時間攪拌することにより、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジルをジアステレオマーの混合物として得た。

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.7 - 2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.84 (d, 3H, $^3J_{\text{HP}} = 13.2\text{ Hz}$, CH_3OP), 4.52 (m, 1H, $-\text{CH}$), 5.11 (s, 2H, PhCH_2OCON), 5.15 - 5.2 (m, 2H, PhCH_2O), 5.5 (br m, 1H, $J = 8.1\text{ Hz}$), 7.3 - 7.4 (m, 10H, $2 \times \text{Ph}$); ^3P NMR (121 MHz, CDCl_3) δ 44.8.

次に、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 4.93 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL に、室温で 4 - メチルフェノール 0.53 g, 4.93 mmol を加えた。溶液を -65°C に冷却した後、トリエチルアミン 0.50 g, 4.93 mmol を加えた。 -65°C で 30 分攪拌した後、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま 1 時間反応させた。TLC (acetone/hexane = 1:1) で反応の完結を確認した後、減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル 50 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。ろ液を減圧濃縮し、中性シリカゲル 60 N (関東化学、No. 37563-79) にてアセトンとヘキサンとの 1 対 1 の割合で混合した溶剤により粗生成物を精製し、ジアステレオマー混合物の 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [メチル(4 - メチルフェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル (1.01 g, 収率 40%) を無色油状物として得た。

^1H - NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.8 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 2.3 (s, 3H, CH_3), 3.72 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.1\text{ Hz}$, 3H, POCH_3), 4.46 (m, 1H, $-\text{CH}$), 5.10 (s, 2H, OCH_2Ph), 5.16 (s, 2H, OCH_2Ph), 5.6 (br d, $J = 6.9\text{ Hz}$, 1H, NH), 7.0 (d, $J = 8.4\text{ Hz}$, 2H) and 7.1 (d, $J = 8.4\text{ Hz}$, 2H) (4 - methylphenyl), 7.3 (s, 10H, $2 \times \text{Ph}$); ^3P NMR (121 MHz, CDCl_3) δ 29.34. Anal. calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{NO}_7\text{P}$: C 63.40, H 5.91, N 2.74; found: C 63.15, H 5.91, N 2.81. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{NO}_7\text{P}$ (MH^+) 512.1838, found 512.1837.

次に、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [メチル(4 - メチルフェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 0.70 g, 1.37 mmol をメタノールと水とを 2 対 1 の割合で混合した溶媒 30 mL に溶かし、5% のパラジウム - 炭素 270 mg を加えて水素ガスを 2 時間通した。パラジウム - 炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮した。残渣を逆相中圧カラムクロマト ODS - S - 50 B (山善株式会社、大阪) にて精製した。カラムはメタノール 30 - 60% の直線グラジェントで溶出し (流速 6 mL/min)、60% メタノールで溶出する化合物の画分を集めた。TLC (BuOH/AcOH/ H_2O = 5:2:2, ニンヒドリン発色) により化合物の溶出および純度を確認した後、減圧濃縮し、凍結乾燥を行うことにより、2 - アミノ - 4 - [メチル(4 - メチルフェニル)ホスホノ]ブタン酸 (0.20 g, 収率 51%) を無色固体として得た。

IR (KBr) max 3600 - 2300 (br), 1623, 1540, 1508, 1448, 1409, 1365, 1205, 1047, 941, and 833 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, D_2O) H 2.1 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 2.31 (s, 3H, CH_3), 3.81 (m, 1H, -CH), 3.85 (d, $^3\text{J}_{\text{HP}} = 12.3$ Hz, 3H, POCH_3), 7.11 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H,) and 7.27 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H) (4-methylphenyl); ^{31}P NMR (121 MHz, D_2O) p 32.53. Anal. calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{NO}_5\text{P} \cdot 0.3\text{H}_2\text{O}$: C 49.25, H 6.41, N 4.79; found: C 49.28, H 6.32, N 4.77. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NO}_5\text{P}$ (MH^+) 288.2567, found 288.1009.

実施例 2; 2 - アミノ - 4 - [(4 - メトキシフェニル) (メチル) ホスホノ] ブタン酸の合成

実施例 1 と同様の方法により得た 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [クロロ (メチル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル 5.35 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL に、室温で 4 - メトキシフェノール 0.66 g, 5.32 mmol を加えた。溶液を -65 に冷却した後、トリエチルアミン 0.55 g, 5.39 mmol を加えた。-65 で 30 分攪拌した後、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま 1 時間反応させた。TLC (acetone/hexane = 1:1) により反応の完結を確認した後、減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル 50 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。ろ液を減圧濃縮し、中性シリカゲル 60N にアセトンとヘキサンとを 1 対 1 で混合した溶媒により粗生成物を精製し、ジアステレオマー混合物の 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [(4 - メトキシフェニル) (メチル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル (0.90 g, 収率 32%) を無色油状物として得た。

^1H - NMR (300 MHz, CDCl_3) H 1.8 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.72 (d, $^3\text{J}_{\text{HP}} = 10.8$ Hz, 3H, POCH_3), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 4.47 (m, 1H, -CH), 5.10 (s, 2H, OCH_2Ph), 5.17 (s, 2H, OCH_2Ph), 5.50 (br d, $J = 6.9$ Hz, 1H, NH), 6.81 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H) and 7.1 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H) (4-methoxyphenyl), 7.3 (s, 10H, $2 \times \text{Ph}$), ^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3) p 29.56. Anal. calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{NO}_8\text{P}$: C 61.48, H 5.73, N 2.66; found: C 61.47, H 5.82, N 2.72. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{NO}_8\text{P}$ (MH^+) 528.1787, found 528.1777.

次に、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [(4 - メトキシフェニル) (メチル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル 0.60 g, 1.14 mmol をメタノールと水とを 2 対 1 の割合で混合した溶媒 30 mL に溶かし、5% のパラジウム - 炭素 270 mg を加えて、水素ガスを 1 時間通した。その後、パラジウム - 炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮した。残渣を凍結乾燥し、2 - アミノ - 4 - [(4 - メトキシフェニル) (メチル) ホスホノ] ブタン酸 (0.20 g, 収率 58%) を無色固体として得た。

IR (KBr) max 3600 - 2300 (br), 1635, 1597, 1508, 1456, 1409, 1363, 1252, 1207, 1029, 953, and 840 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, D_2O) H 2.1 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.8 - 3.9 (m, 7H, -CH, POCH_3 and PhOCH_3), 7.03 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H) and 7.20 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H) (4-methoxyphenyl); ^{31}P NMR (121 MHz, D_2O) p 32.88; Anal. calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{NO}_6\text{P} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$: C 46.16, H 6.13, N 4.49; found: C 46.15, H 6.20, N 4.45; HRMS (FAB, glycerol) calcd for

$C_{12}H_{19}NO_6P$ (MH^+) 304.0950, found 304.0945.

実施例 3: 2-アミノ-4-[メチル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸の合成

上記実施例 1 で得た 2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジルと同様の方法により、2-(N-4-ニトロベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジルを得た。

2-(N-4-ニトロベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 1.86 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL に、室温でフェノール 0.175 g, 1.86 mmol を加えた。溶液を 0 に冷却した後、トリエチルアミン 0.26 g, 2.6 mmol を加えた。0 で 30 分攪拌した後、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま 1 時間反応させた。TLC (acetone/hexane = 1:1) により反応の完結を確認した後、減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル 50 mL に溶かし、1 N の塩酸および飽和塩化ナトリウム水溶液で順次洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒を減圧溜去し、粗生成物を中性シリカゲル 60 N にアセトンとヘキサンとを 1 対 1 で混合した溶媒により精製し、ジアステレオマー混合物の 2-(N-4-ニトロベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[メチル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル (0.48 g, 収率 48%) を無色油状物として得た。

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1.8 - 2.4 (m, 4H, $POCH_2CH_2$), 3.75 and 3.76 (2x d, $^3J_{HP} = 11.1$ Hz, 3H, $POCH_3$), 4.47 (m, 1H, -CH), 5.20 (m, 4H, 2x OCH_2Ph), 5.7 (2x br d, $J = 7.8$ Hz, 1H, NH), 7.1 - 7.4 (m, 10H, 2x Ph), 7.5 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H) and 8.2 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H) (4-nitrophenyl); ^{31}P -NMR (121 MHz, $CDCl_3$) δ 29.25 and 29.28. Anal. calcd. for $C_{26}H_{27}N_2O_9P$: C 57.57, H 5.02, N 5.16; found: C 57.50, H 4.96, N 5.13.

次に、2-(N-4-ニトロベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[メチル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 0.57 g, 1.05 mmol を酢酸 20 mL に溶かし、10% のパラジウム-炭素 210 mg を加えて水素ガスを 1 時間通した。パラジウム-炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮した。残渣を逆相中圧カラムクロマトグラフィー (DS-S-50B) にて精製した。カラムはアセトニトリル 4-50% の直線グラジエントで溶出し (流速 12 mL/min)、5% のアセトニトリルで溶出される化合物の画分を集め、TLC (BuOH/AcOH/ H_2O = 5:2:2、ニンヒドリン発色) により化合物の溶出および純度を確認した。減圧濃縮の後、凍結乾燥を行い、2-アミノ-4-[メチル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸 (0.14 g, 収率 48%) を無色固体として得た。

IR (KBr) ν_{max} 3600 - 2300 (br) 1634, 1593, 1491, 1455, 1403, 1345, 1208, 1045, 936, and 832 cm^{-1} ; 1H -NMR (300 MHz, D_2O) δ 2.1 - 2.4 (m, 4H, $POCH_2CH_2$), 3.88 (d, $^3J_{HP} = 11.1$ Hz, 3H, $POCH_3$), 3.85 (m, 1H, -CH), 7.25 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.33 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H) and 7.48 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H) (phenyl); ^{31}P -NMR (121 MHz, D_2O) δ 32.55. Anal. calcd. for $C_{11}H_{16}NO_5P \cdot 0.6H_2O$: C 46.32, H 6.10, N 4.93; found: C 46.36, H 5.97, N 5.06. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $C_{11}H_{17}NO_5P$ (MH^+) 274.0844, found 274.0840.

実施例 4: 2-アミノ-4-[(4-クロロフェニル)(メチル)ホスホノ]ブタン酸の合成

実施例 1 と同様の方法により得た 2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-

10

20

30

40

50

[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 4.59 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL に、室温で 4-クロロフェノール 0.59 g, 4.59 mmol を加えた。溶液を -65 に冷却した後、トリエチルアミン 0.46 g, 4.59 mmol を加えた。-65 で 30 分撹拌した後、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま 1 時間反応させた。TLC (acetone/hexane = 1:2) により反応の完結を確認した後、減圧濃縮し、残渣をアセトン 20 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。ろ液を減圧濃縮し、粗生成物を中性シリカゲル 60 N にてアセトンとヘキサンとを 1 対 2 で混合した溶媒により精製し、ジアステレオマー混合物の 2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[(4-クロロフェニル)(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル (1.45 g, 収率 59%) を無色油状物として得た。

10

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.7 - 2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.73 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.1\text{ Hz}$, 3H, POCH_3), 4.47 (m, 1H, -CH), 5.10 (2xs, 2H, OCH_2Ph), 5.17 (s, 2H, OCH_2Ph), 5.5 (br d, $J = 8.4\text{ Hz}$, 1H, NH), 7.09 (d, $J = 8.1\text{ Hz}$, 2H) and 7.26 (d, $J = 8.1\text{ Hz}$, 2H) (4-chlorophenyl), 7.28 - 7.40 (m, 10H, 2xPh); $^31\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3) δ 29.69. Anal. calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{ClNO}_7\text{P}$: C 58.71, H 5.12, N 2.63; found: C 58.68, H 5.10, N 2.61. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{NO}_7\text{ClP}$ (MH^+) 532.1292, found 532.1300.

20

次に、2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[(4-クロロフェニル)(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 0.73 g, 1.37 mmol とアニソール 0.89 g, 8.22 mmol を乾燥ニトロメタン 10 mL に溶かし、三塩化アルミニウム 0.55 g, 4.11 mmol を室温に加えた。室温で 1 時間撹拌した後、水 20 mL を加え、10 分撹拌した。混合物を 50 mL のエーテルで 3 回洗浄し、水層を取って、終濃度 30% になるように水層にメタノールを加えた。溶液を中性シリカゲル 60 N に通し、水酸化アルミニウムを除いた。溶出液は濃縮せず、そのまま逆相中圧カラムクロマト ODS-S-50B にて精製した。カラムは 40% メタノールにより流速 6 mL/min で溶出し、化合物の溶出画分を集め、TLC (BuOH/AcOH/ H_2O = 5:2:2, ニンヒドリン発色) により化合物の溶出および純度を確認した。減圧濃縮の後、凍結乾燥を行い、2-アミノ-4-[(4-クロロフェニル)(メチル)ホスホノ]ブタン酸 (0.24 g, 収率 57%) を無色固体として得た。

30

IR (KBr) ν_{max} 3600 - 2300 (br), 1623, 1595, 1488, 1405, 1358, 1213, 1093, 1045, 928, and 835 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 2.1 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.83 (m, 1H, -CH), 3.86 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.4\text{ Hz}$, 3H, POCH_3), 7.21 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 2H) and 7.46 (d, $J = 8.7\text{ Hz}$, 2H) (4-chlorophenyl); $^31\text{P-NMR}$ (121 MHz, D_2O) δ 32.69. Anal. calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{ClNO}_5\text{P} \cdot 0.4\text{H}_2\text{O}$: C 41.96, H 5.06, N 4.45; found: C 42.17, H 5.03, N 4.53. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{ClNO}_5\text{P}$ (MH^+) 308.0455, found 308.0466.

40

実施例 5: 2-アミノ-4-[メチル(4-トリフルオロメチルフェニル)ホスホノ]ブタン酸の合成

実施例 1 と同様の方法により得た 2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 4.93 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL に、室温で 4-トリフルオロメチルフェノール 0.80 g, 4.93 mmol を加えた。溶液を -65 に冷却した後、トリエチルアミン 0.50 g, 4.93 mmol

50

0.1 を加えた。-65 で30分撹拌した後、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま1時間反応させた。TLC (acetone/hexane = 1:2) により反応の完結を確認した後、減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル50 mLに溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。ろ液を減圧濃縮し、粗生成物を中性シリカゲル60 Nにてアセトンとヘキサンとを1対2で混合した溶媒により精製し、ジアステレオマー混合物の2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[メチル(4-トリフルオロメチルフェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル(1.50 g, 収率54%)を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.8 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.75 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.1$ Hz, 3H, POCH_3), 4.49 (m, 1H, -CH), 5.10 (2xs, 2H, OCH_2Ph), 5.18 (s, 2H, OCH_2Ph), 5.5 (br d, $J = 6.9$ Hz, 1H, NH), 7.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H) and 7.58 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H) (4-trifluoromethylphenyl), 7.3 (s, 10H, 2xPh); $^{31}\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3) δ 29.83. Anal. calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{NO}_7\text{P}$: C 57.35, H 4.81, N 2.48; found: C 57.25, H 4.77, N 2.50. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{NO}_7\text{P}$ (MH^+) 566.1556, found 566.1546.

次に、2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[メチル(4-トリフルオロメチルフェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル1.40 g, 2.48 mmolとアニソール1.61 g, 14.9 mmolを乾燥ニトロメタン10 mLに溶かし、三塩化アルミニウム0.99 g, 7.44 mmolを室温に加えた。室温で1時間撹拌した後、水20 mLを加え、10分撹拌した。混合物を50 mLのエーテルで3回洗浄し、水層を取って、終濃度30%になるように水層にメタノールを加えた。溶液を中性シリカゲル60 Nに通し、水酸化アルミニウムを除いた。溶出液は濃縮せず、そのまま逆相中圧カラムクロマトODS-S-50 Bにて精製した。カラムはメタノール30-60%の直線グラジエントで溶出し(流速6 mL/min)、60%のメタノールで溶出する化合物の画分を集め、TLC (BuOH/AcOH/ H_2O = 5:2:2, ニンヒドリン発色)により化合物の溶出および純度を確認した。減圧濃縮ののち、凍結乾燥を行い、2-アミノ-4-[メチル(4-トリフルオロメチルフェニル)ホスホノ]ブタン酸(0.53 g, 収率63%)を無色固体として得た。

IR (KBr) ν_{max} 3600 - 2300 (br), 1646, 1616, 1516, 1403, 1338, 1225, 1174, 1121, 1070, 1047, 933, and 850 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 2.1 - 2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.85 (m, 1H, -CH), 3.89 (2xd, $^3J_{\text{HP}} = 11.4$ Hz, 3H, POCH_3), 7.41 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H) and 7.80 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H) (4-trifluoromethylphenyl); $^{31}\text{P-NMR}$ (121 MHz, D_2O) δ 32.58. Anal. calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{NO}_5\text{P} \cdot 0.8\text{H}_2\text{O}$: C 40.53, H 4.70, N 3.94; found: C 40.63, H 4.41, N 4.20. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{NO}_5\text{P}$ (MH^+) 342.0178, found 342.0709.

実施例6: 2-アミノ-4-[(4-シアノフェニル)(メチル)ホスホノ]ブタン酸の合成

実施例1と同様の方法により得た2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル5.01 mmolの乾燥ジクロロメタン溶液20 mLに、室温で4-シアノフェノール0.60 g, 5.01 mmolを加えた。溶液を-20 に冷却した後、トリエチルアミン0.51 g, 5.01 mmolを加えた。-20 で30分撹拌したのち、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま一晩反応させた。TLC (acetone/hexane = 2:3) により反応の完結を

10

20

30

40

50

確認した後、減圧濃縮し、残渣をアセトン 20 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。ろ液を減圧濃縮し、粗生成物を中性シリカゲル 60 N にアセトンとヘキサンとを 2 対 3 で混合した溶媒により精製し、ジアステレオマー混合物の 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [(4 - シアノフェニル) (メチル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル (1.0 g, 収率 38%) を淡黄色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.8 - 2.4 (m, 4 H, PCH_2CH_2), 3.76 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.4$ Hz, 3 H, POCH_3), 4.49 (m, 1 H, -CH), 5.10 (2 x s, 2 H, OCH_2Ph), 5.18 (s, 2 H, OCH_2Ph), 5.46 (br d, $J = 6.6$ Hz, 1 H, NH), 7.3 (d, $J = 7.5$ Hz, 2 H) and 7.60 (2 x d, $J = 8.4$ Hz) (4 - cyanophenyl), 7.4 (s, 10 H, 2 x Ph); $^{31}\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3) δ 30.05. Anal. calcd. for $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_7\text{P}$: C 62.07, H 5.21, N 5.36; found: C 61.93, H 5.15, N 5.47.

次に、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [(4 - シアノフェニル) (メチル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル 0.95 g, 1.82 mmol とアニソール 1.18 g, 10.9 mmol を乾燥ニトロメタン 10 mL に溶かし、三塩化アルミニウム 0.73 g, 5.46 mmol を室温で加えた。室温で 1 時間攪拌した後、水 20 mL を加え、10 分攪拌した。混合物を 50 mL のエーテルで 3 回洗浄し、水層を取って、終濃度 30% になるように水層にメタノールを加えた。溶液を中性シリカゲル 60 N に通し、水酸化アルミニウムを除いた。溶出液は濃縮せず、そのまま逆相中圧カラムクロマト ODS - S - 50 B にて精製した。カラムはメタノール 30 - 60% の直線グラジエントにより流速 6 mL/min で溶出し、45% のメタノールで溶出する化合物の溶出画分を集め、TLC (BuOH / AcOH / $\text{H}_2\text{O} = 5 : 2 : 2$, ニンヒドリン発色) により化合物の溶出および純度を確認した。減圧濃縮の後、凍結乾燥を行い、2 - アミノ - 4 - [(4 - シアノフェニル) (メチル) ホスホノ] ブタン酸 (0.38 g, 収率 70%) を無色固体として得た。

IR (KBr) ν_{max} 3600 - 2300 (br), 2231, 1647, 1604, 1500, 1412, 1360, 1225, 1176, 1105, 1045, 926, and 837 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 2.1 - 2.4 (m, 4 H, PCH_2CH_2), 3.82 (m, 1 H, -CH), 3.88 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.4$ Hz, 3 H, POCH_3), 7.39 (d, $J = 8.7$ Hz, 2 H) and 7.83 (d, $J = 8.1$ Hz, 2 H) (4 - cyanophenyl); $^{31}\text{P-NMR}$ (121 MHz, D_2O) δ 32.61. Anal. calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_5\text{P} \cdot 0.3\text{H}_2\text{O}$: C 47.47, H 5.18, N 9.23; found: C 47.56, H 5.09, N 9.24. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$ (MH^+) 299.0797, found 299.0789.

実施例 7 : 2 - アミノ - 4 - [メチル (4 - ニトロフェニル) ホスホノ] ブタン酸の合成

実施例 1 と同様の方法により得た 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [クロロ (メチル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル 4.91 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL に、室温で 4 - ニトロフェノール 0.68 g, 4.91 mmol を加えた。溶液を - 20 に冷却した後、トリエチルアミン 0.50 g, 4.91 mmol を加えた。- 20 で 30 分攪拌したのち、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま一晩反応させた。TLC (acetone / hexane = 1 : 2) により反応の完結を確認した後、減圧濃縮し、残渣をアセトン 20 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。ろ液を減圧濃縮し、粗生成物を中性シリカゲル 60 N にアセトンとヘキサンとを 1 対 2 で混合した溶媒により精製し、ジアステレオマー混合物の 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [メチル (4 - ニトロフェニル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル

(1.2 g、収率45%)を淡黄色油状物として得た。

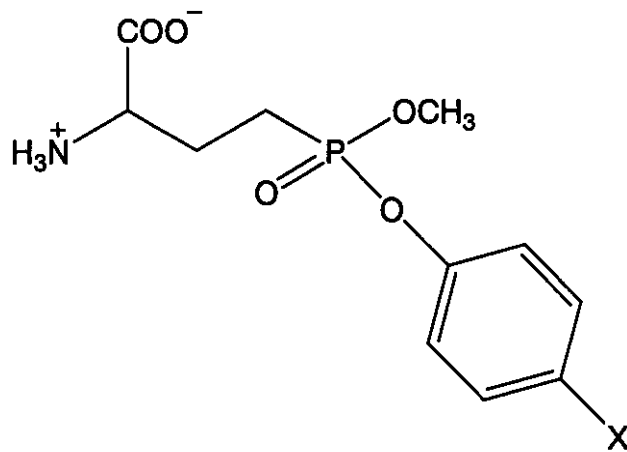
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) H 1.8 - 2.3 (m, 4 H, PCH_2CH_2), 3.77 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.1$ Hz, 3 H, POCH_3), 4.5 (m, 1 H, -CH), 5.10 (m, 2 H) and 5.18 (m, 2 H) ($2 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 5.5 (d, $J = 6.9$ Hz, 1 H, NH), 7.31 (d, $J = 9.3$ Hz, 2 H) and 8.20 (d, $J = 9.0$ Hz, 2 H) (4-nitrophenyl), 7.3 (s, 10 H, $2 \times \text{Ph}$); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3) p 30.20. Anal. calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$: C 57.57, H 5.02, N 5.16; found: C 57.35, H 5.11, N 5.17; HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$ (MH^+) 543.1532, found 543.1537.

次に、2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[メチル(4-ニトロフェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル0.85 g、1.57 mmolおよびアニソール1.02 g、9.42 mmolを乾燥ニトロメタン10 mLに溶かし、三塩化アルミニウム0.63 g、4.71 mmolを室温で加えた。室温で1時間攪拌した後、水20 mLを加え、10分攪拌した。混合物を50 mLのエーテルで3回洗浄し、水層を取って、終濃度30%になるように水層にメタノールを加えた。溶液を中性シリカゲル60 Nに通し、水酸化アルミニウムを除いた。溶出液約30 mLを濃縮せずそのまま逆相中圧カラムクロマトODS-S-50 Bにて精製した。カラムはメタノール30-60%の直線グラジエントにより流速6 mL/minで溶出し、48%のメタノールで溶出する化合物の溶出画分を集め、TLC ($\text{BuOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O} = 5:2:2$, ニンヒドリン発色)により化合物の溶出および純度を確認した。減圧濃縮の後、凍結乾燥を行い、2-アミノ-4-[メチル(4-ニトロフェニル)ホスホノ]ブタン酸(0.35 g、収率70%)を無色固体として得た。

IR (KBr) max 3600 - 2300 (br), 2231, 1629, 1590, 1490, 1411, 1342, 1292, 1223, 1164, 1108, 1045, 931, and 860 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) H 2.1 - 2.4 (m, 4 H, PCH_2CH_2), 3.88 (m, 1 H, -CH), 3.91 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.4$ Hz, 3 H, POCH_3), 7.44 (d, $J = 8.7$ Hz, 2 H) and 8.33 (d, $J = 9.0$ Hz, 2 H) (4-nitrophenyl); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, D_2O) p 32.63. Anal. calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_7\text{P} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$: C 38.27, H 5.26, N 8.11; found: C 38.25, H 5.05, N 8.20. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_7\text{P}$ (MH^+) 319.0695, found 319.0703.

実施例1-7の化合物の構造を表1に示す。

【表 1】

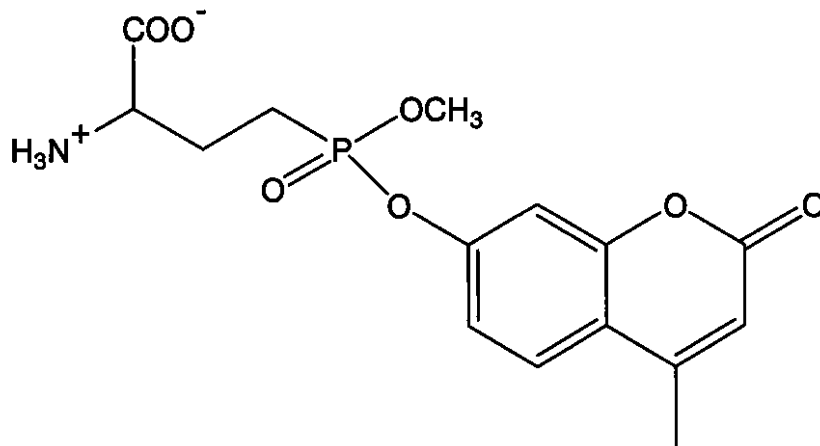


実施例	置換基 : X
1	CH ₃
2	OCH ₃
3	H
4	Cl
5	CF ₃
6	CN
7	NO ₂

10

実施例 8 : 2 - アミノ - 4 - [メチル (4 - メチルウンベリフェリル) ホスホノ] ブタン酸の合成

20



30

実施例 1 と同様の方法により得た 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [クロロ (メチル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル 4 . 93 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL に、室温で 4 - メチルウンベリフェロン 0 . 87 g、4 . 93 mmol を加えた。溶液を - 65 に冷却した後、トリエチルアミン 0 . 49 g、4 . 83 mmol を加えた。- 65 で 30 分撹拌してから、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま 1 時間反応させた。TLC (EtOAc / hexane = 3 : 1) にて反応の完結を確認した後、減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル 50 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して

40

除いた。ろ液を減圧濃縮し、粗生成物を中性シリカゲル 60 N にて酢酸エチルとヘキサンとを 3 対 1 で混合した溶媒により精製し、ジアステレオマー混合物の 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [メチル (4 - メチルウンベリフェリル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル (1 . 30 g、収率 46%) を淡黄色油状物として得た。

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1 . 8 - 2 . 3 (m, 4 H, PCH₂CH₂), 2 . 42 (s, 3 H, CH₃), 3 . 77 (d, ³J_{HP} = 11 . 1 Hz, 3 H, POCH₃), 4 . 49 (m, 1 H, -CH), 5 . 11 (s, 2 H, OCH₂Ph), 5 . 19 (s, 2 H, OCH₂Ph), 5 . 5 (br d, J = 6 . 9 Hz, 1 H, NH), 6 . 25 (s, 1 H, 3' - H), 7 . 14 (s, 1 H, 8' - H), 7 . 16 (d, 1 H, J = 9 Hz, 5' - H), 7 . 3 - 7 . 4 (s, 10 H, 2 x Ph), 7

50

. 53 (d, 1H, J = 8.4 Hz); ³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃)
_p 30.07. Anal. calcd for C₃₀H₃₀NO₉P: C 62.18
, H 5.22, N 2.42; found C 62.09, H 5.25, N 2.
54. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for C₃₀H₃₁NO₉
P (MH⁺) 580.1737, found 580.1727.

次に、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [メチル (4 - メチルウン
ペリフェリル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル 0.70 g、1.21 mmol およびアニソ
ール 0.79 g、7.26 mmol を乾燥ニトロメタン 10 mL に溶かし、三塩化アルミ
ニウム 0.48 g、3.63 mmol を室温で加えた。室温で 1 時間攪拌したのち、水 2
0 mL を加え、10 分攪拌した。混合物を 50 mL のエーテルで 3 回洗浄し、水層を取
り、終濃度 30% になるように水層にメタノールを加えた。溶液を中性シリカゲル 60 N
に通し、水酸化アルミニウムを除いた。溶出液約 30 mL を逆相中圧カラムクロマト OD
S - S - 50 B にて精製した。カラムはメタノール 30 - 60% の直線的グラジエントに
より流速 6 mL/min で溶出し、60% のメタノールで溶出する化合物の溶出画分を集
め、TLC (BuOH / AcOH / H₂O = 5 : 2 : 2, ニンヒドリン発色) により化合
物の溶出および純度を確認した。減圧濃縮ののち、凍結乾燥を行い、2 - アミノ - 4 - [
メチル (4 - メチルウンペリフェリル) ホスホノ] ブタン酸 (0.21 g、収率 49%)
を無色固体として得た。

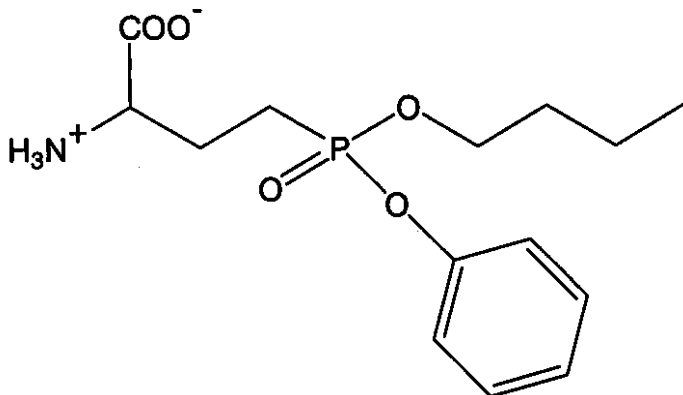
10

IR (KBr) _{max} 3600 - 2300 (br), 1733, 1716, 1612
, 1506, 1446, 1390, 1270, 1230, 1137, 1070, 1043
, 989, 920, and 833 cm⁻¹; ¹H NMR (300 MHz, D₂O)
_H 2.1 - 2.4 (m, 4H, PCH₂CH₂), 2.49 (s, 3H, CH₃), 3.
86 (m, 1H, -CH), 3.91 (2xd, ³J_{H-P} = 11.41 Hz, 3H, P
OCH₃), 6.4 (s, 1H, 3' - H), 7.27 (d, J = 8.1 Hz, 1H, 5'
- H), 7.28 (s, 1H, 8' - H), 7.84 (d, J = 8.1 Hz, 1H, 6'
- H); ³¹P NMR (121 MHz, D₂O) _p 32.69. Anal. cal
cd. for C₁₅H₁₈NO₇P · 0.3H₂O: C 49.95, H 5.20,
N 3.88; found: C 49.86, H 5.14, N 3.84. HRMS (FAB, glycerol) calcd for C₁₅H₁₉NO₇P (MH⁺) 356.0899, found 356.0904.

20

30

実施例 9 : 2 - アミノ - 4 - [ブチル (フェニル) ホスホノ] ブタン酸の合成



40

実施例 1 と同様の方法により得たホスホン酸ジクロリド 4.91 mmol の乾燥ジクロ
ロメタン溶液 20 mL に、室温で 1 - ブタノール 0.35 g、4.72 mmol を加えた
。溶液を - 65 に冷却した後、トリエチルアミン 0.47 g、4.66 mmol を加え
た。- 65 で 30 分攪拌した後、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま
1 時間反応させ、モノブチルモノクロロホスホン酸の粗生成物をジアステレオマー混合物
として得た。

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) _H 0.86 - 0.96 (m, 3H, OC
H₂CH₂CH₂CH₃) _H 1.3 - 2.6 (m, 8H, PCH₂CH₂ and O

50

$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.9 - 4.3 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.5 (m, 1H, -CH), 5.0 - 5.2 (m, 4H, $2 \times \text{PhCH}_2\text{O}$), 5.4 (br m, 1H, NH), 7.2 - 7.4 (m, 10H, $2 \times \text{Ph}$); ^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3) δ 43.1.

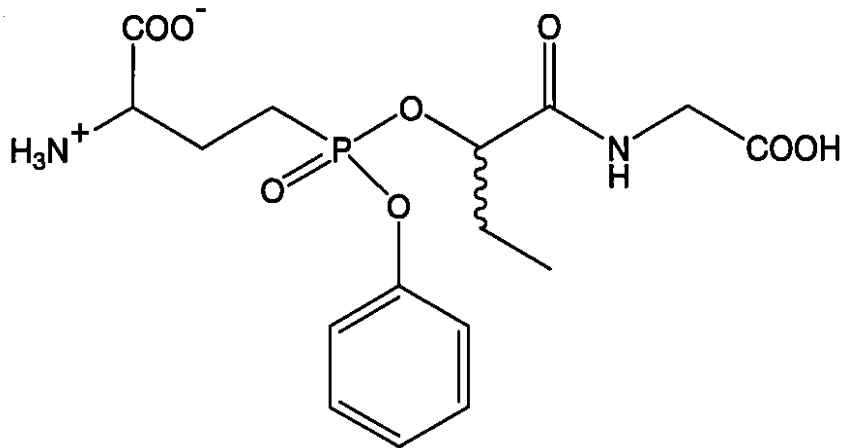
次に、モノブチルモノクロロホスホン酸 4.91 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL に室温でフェノール 0.46 g、4.91 mmol を加え、溶液を -65 に冷却した後、トリエチルアミン 0.50 g、4.91 mmol を加えた。-65 で 30 分撹拌したのち、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま 1 時間反応させた。TLC (EtOAc/hexane = 2:3) により反応の完結を確認したあと減圧濃縮し、残渣をアセトン 30 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。ろ液を減圧濃縮し、中性シリカゲル 60 N にて酢酸エチルとヘキサンとを 2 対 3 で混合した溶媒により粗生成物を精製し、ジアステレオマー混合物の 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [ブチル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル (0.76 g, 収率 29%) を無色油状物として得た。

^1H - NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.2 - 1.4 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.5 - 1.6 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.8 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 4.1 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.5 (m, 1H, -CH), 5.1 (m, 2H, PhCH_2OCON), 5.2 (m, 2H, PhCH_2O), 5.5 (br d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.1 - 7.3 (m, 15H, $3 \times \text{Ph}$); ^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3) δ 28.0. Anal. calcd. for $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{NO}_7\text{P}$: C 64.55, H 6.35, N 2.60; found: C 64.55, H 6.36, N 2.64.

次に、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [ブチル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 0.64 g、1.19 mmol をメタノールと水とを 3 対 1 の割合で混合した溶媒 20 mL に溶かし、5% のパラジウム - 炭素 200 mg を加えて水素ガスを 75 分間通した。パラジウム - 炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮した。残渣を逆相中圧カラムクロマト ODS - S - 50 B にて精製した。カラムがメタノール 30 - 60% の直線グラジエントにより流速 6 mL/min で溶出し、60% のメタノールで溶出する化合物の溶出画分を集め、TLC (BuOH/AcOH/H₂O = 5:2:2, ニンヒドリン発色) により化合物の溶出および純度を確認した。減圧濃縮の後、凍結乾燥を行い、2 - アミノ - 4 - [ブチル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸 (0.28 g, 収率 75%) を無色固体として得た。

IR (KBr) ν_{max} 3600 - 2300 (br), 1623, 1597, 1541, 1491, 1408, 1363, 1290, 1207, 1059, 1024, 939, and 765 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 0.87 (t, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.3 - 1.4 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.6 - 1.7 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.1 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.8 (m, 1H, -CH), 4.2 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 7.23 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.31 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H) and 7.46 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H) (phenyl); ^{31}P NMR (121 MHz, D_2O) δ 31.1. Anal. calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{NO}_5\text{P} \cdot 0.4\text{H}_2\text{O}$: C 52.14, H 7.13, N 4.34; found: C 52.25, H 7.15, N 4.60.

実施例 10: 2 - アミノ - 4 - [1 - [N - (カルボキシメチル)カルバモイル]プロピル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸の合成



10

2 - ヒドロキシブタン酸リチウム 1.50 g、13.6 mmol と、グリシンベンジルエステル p - トルエンスルホン酸塩 4.60 g、13.6 mmol と、1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール 1 水和物 (HOBt) 1.84 g、13.6 mmol とをアセトニトリル 80 mL に加え、室温で 20 分撹拌した。この混合物に 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDC) 2.61 g、13.6 mmol を加え、室温で一晩撹拌した。反応混合物をろ過した後、ろ液を減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル 200 mL に溶かした。1 N の塩酸、および飽和炭酸水素ナトリウム水溶液にて順次洗

20

浄してから、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。溶媒を溜去した後、シリカゲルフラッシュクロマト (Merck, No. 9385) にてヘキサンと酢酸エチルとを 1 対 2 の割合で混合した溶媒により残渣を精製し、N - (2 - ヒドロキシブタノイル) グリシンベンジルエステル (1.67 g、収率 49%) を無色油状物として得た。

¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.99 (t, J = 7.5 Hz, 3H, CH₃CH₂), 1.70 (ddq, J = 7.2, 7.2 and 15 Hz, 1H) and 1.89 (ddt, J = 4.2, 7.2 and 15 Hz, 1H) (CH₃CH₂), 4.08 (dd, J = 5.6 and 18 Hz, 1H, NHCH₂CO), 4.14 (dd, J = 3.9 and 7.5 Hz, 1H, CH), 4.16 (dd, J = 5.7 and 18 Hz, 1H, NHCH₂CO), 7.10 (br t, 1H, NH), 7.3 - 7.4 (s, 5H, Ph). HRMS (FAB, glycerol) calcd. for C₁₃H₁₈NO₄ (MH⁺) 252.1236, found: 252.1232.

30

次に、実施例 1 と同様の方法により得たホスホン酸ジクロリド 4.82 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 20 mL に、フェノール 0.44 g、4.72 mmol を室温に加えた。溶液を -65 に冷却した後、トリエチルアミン 0.49 g、4.82 mmol を加えた。-65 で 30 分撹拌したのち、冷却槽を外し室温までゆっくり温度を上げ、そのまま 1 時間反応させ、モノフェニルモノクロロホスホン酸 (ジアステレオマー混合物、 $p = 39.37$) の溶液を得た。この溶液に N - (2 - ヒドロキシブタノイル) グリシンベンジルエステル 1.21 g、4.82 mmol を加え、-65 に冷却した。トリエチルアミン 0.49 g、4.82 mmol を加え、-65 にて 30 分反応させ、さらに室温にて 1 時間反応させた。TLC (acetone/hexane = 1:2) により反応の完結を確認した後、減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル 40 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。ろ液を減圧濃縮し、中性シリカゲル 60 N にてアセトンとヘキサンとを 1 対 3 で混合した溶媒により粗生成物を精製し、4 種類のジアステレオマー混合物からなる 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [1 - [N - (ベンジルオキシカルボニルメチル) カルバモイル] プロピル (フェニル) ホスホノ] ブタン酸ベンジル (0.52 g、収率 15%) を無色油状物として得た。

40

¹H - NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.81 and 0.92 (2 x t, J = 7.5 Hz, 3H, CH₂CH₃), 1.7 - 2.4 (m, 6H, PCH₂CH₂)

50

and CH_2CH_3), 3.7 - 4.1 (m, 2H, NHCH_2CO), 4.5 (m, 1H, -CH), 4.9 (m, H, POCHCO), 5.1 - 5.2 (m, 6H, $3 \times \text{PhCH}_2\text{O}$), 5.5 (br m, 1H, NH), 5.6 and 5.8 (2 x br m, 1H, NH), 7.1 - 7.4 (m, 20H, $4 \times \text{Ph}$); ^{31}P NMR (121 MHz, CDCl_3) δ 28.05 (24%), 28.31 (17%), 28.47 (25%), 28.66 (34%). Anal. calcd. for $\text{C}_{38}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{P}$: C 63.68, H 5.77, N 3.91; found C 63.66, H 5.85, N 3.86. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{P}$ (MH^+) 717.2577, found 717.2578.

10

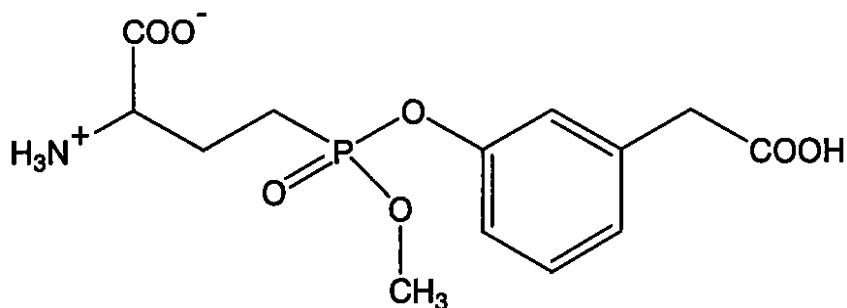
次に、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [1 - [N - (ベンジルオキシカルボニルメチル)カルバモイル]プロピル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 0.25 g, 0.35 mmol をメタノールと水とを 20 対 1 の割合で混合した溶媒 30 mL に溶かし、5% のパラジウム - 炭素 200 mg を加えて水素ガスを 45 分間通した。パラジウム - 炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮した。残渣を逆相中圧カラムクロマト ODS - S - 50 B にて精製した。カラムはメタノール 30 - 60% の直線グラジェントにより流速 6 mL/min で溶出し、60% のメタノールで溶出する化合物の溶出画分を集め、TLC ($\text{BuOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O} = 5:2:2$, ニンヒドリン発色) により化合物の溶出および純度を確認した。減圧濃縮の後、凍結乾燥を行い、2 - アミノ - 4 - [1 - [N - (カルボキシメチル)カルバモイル]プロピル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸 (250 mg、収率 18%) を無色固体として得た。

20

IR (KBr) ν_{max} 3600 - 2300 (br), 1688, 1652, 1593, 1541, 1489, 1455, 1398, 1348, 1205, 1051, 1007, 941, and 769 cm^{-1} ; ^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 0.84 (t, 3H, $J = 7.5 \text{ Hz}$, CH_2CH_3), 1.6 - 1.9 (m, 3H) and 2.2 - 2.4 (m, 3H) (PCH_2CH_2 and CH_2CH_3), 3.8 - 4.0 (m, 3H, -CH and NHCH_2COOH), 4.9 (m, H, POCHCO), 7.26 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 2H), 7.33 (t, $J = 7.3 \text{ Hz}$, 1H) and 7.46 (t, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 2H) (phenyl); ^{31}P NMR (121 MHz, D_2O) δ 30.91. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8\text{P}$ (MH^+) 403.1270, found 403.1275.

30

実施例 11: 2 - アミノ - 4 - { [3 - (カルボキシメチル)フェニル] (メチル)ホスホノ}ブタン酸の合成



40

実施例 1 と同様の方法により得た 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 3.60 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 30 mL に、3 - ヒドロキシフェニル酢酸ベンジル 0.88 g、3.60 mmol を加えた。この溶液を 0 に冷却して、トリエチルアミン 0.51 mL、3.60 mmol を加え、0 にて 15 分攪拌した。その後、温度を上げて 34 で 45 分反応させ、TLC ($\text{EtOAc}/\text{hexane} = 1:1$) で反応の完結を確認してから、反応溶液を減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル 30 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。このろ液を

50

減圧濃縮し、酢酸エチルとヘキサンとを4対3で混合した溶媒により中性シリカゲル60 Nにて粗生成物を精製し、2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-{[3-(ベンジルオキシカルボニルメチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸ベンジル(0.72 g、収率31%)を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.8 - 2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.64 (s, 2H, CH_2COOBn), 3.71 (d, $^3J_{\text{HP}} = 10.8$ Hz, 3H, POCH_3), 4.5 (m, 1H, -CH), 5.10 and 5.12 (2xs, 4H, $2 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 5.17 (s, 2H, $\text{CHCOOCH}_2\text{Ph}$), 5.6 (br m, 1H, NH), 7.06 - 7.11 (m) and 7.22 (m) (4H, POC_6H_4), 7.3 - 7.5 (m, 15H, $3 \times \text{Ph}$); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3) δ 29.31. Anal. calcd. for $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{NO}_9\text{P}$: C 65.11, H 5.62, N 2.17; found: C 65.36, H 5.38, N 2.11. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{NO}_9\text{P}$ (MH^+) 646.2206, found 646.2233.

10

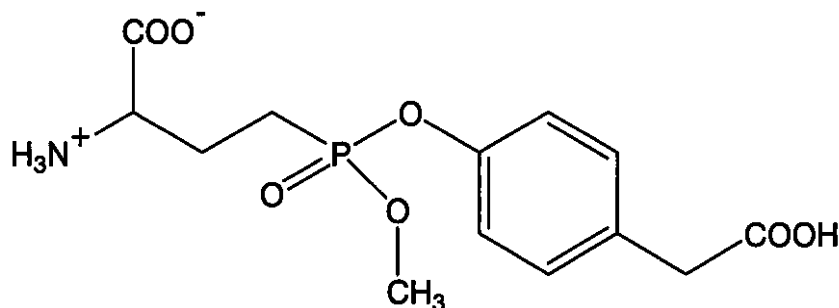
次に、2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-{[3-(ベンジルオキシカルボニルメチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸ベンジル0.72 g、1.12 mmolを、メタノールと水とを5対1で混合した溶媒24 mLに溶かし、これに5%のパラジウム-炭素200 mgを加えて、水素ガスを室温で2.5時間通した。そして、溶液からパラジウム-炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮し、この残渣を水により凍結乾燥し、2-アミノ-4-{[3-(カルボキシメチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸(0.19 g、収率51%)を無色固体として得た。

20

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 2.2 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.68 (s, 2H, PhCH_2COOH), 3.8 - 3.9 (m, 1H, -CH), 3.86 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.1$ Hz) and 3.87 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.1$ Hz) (3H, POCH_3), 7.15 (s, 2H), 7.20 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H) and 7.41 (m, 1H) (phenyl); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, D_2O) δ 32.52. Anal. calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NO}_7\text{P} \cdot 0.6\text{H}_2\text{O}$: C 45.65, H 5.66, N 4.09; found: C 45.56, H 5.43, N 4.04. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_7\text{P}$ (MH^+) 332.0899, found 332.0894.

30

実施例12: 2-アミノ-4-{[4-(カルボキシメチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸の合成



40

実施例1と同様の方法により得た2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル4.82 mmolの乾燥ジクロロメタン溶液30 mLに、4-ヒドロキシフェニル酢酸ベンジル1.28 g、5.28 mmolを加えた。この溶液を0°Cに冷却し、トリエチルアミン1.34 mL、9.45 mmolを加え、0°Cで15分撹拌した。その後、温度を上げて30°Cで50分間反応させ、TLC ($\text{EtOAc}/\text{hexane} = 8:5$)により反応の完結を確認してから、反応溶液を減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル20 mLに溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。そして、

50

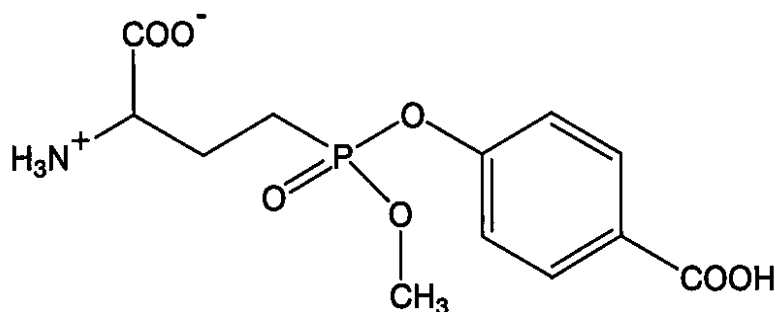
る液を減圧濃縮し、酢酸エチルとヘキサンとを8対5で混合した溶媒により中性シリカゲル60Nにて粗生成物を精製し、ジアステレオマー混合物の2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-{[4-(ベンジルオキシカルボニルメチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸ベンジル(1.25g、収率40%)を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 1.8-2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.62 (s, 2H, CH_2COOBn), 3.73 (d, $^3\text{J}_{\text{HP}} = 11.1\text{ Hz}$, 3H, POCH_3), 4.5 (m, 1H, -CH), 5.10 and 5.12 (2xs, 4H, $2 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 5.17 (s, 2H, $\text{CHCOOCH}_2\text{Ph}$), 5.5 (br m, 1H, NH), 7.10 (d, $\text{J} = 7.8\text{ Hz}$) and 7.22 (d, $\text{J} = 8.4\text{ Hz}$) (4H, POC_6H_4), 7.3-7.4 (m, 15H, $3 \times \text{Ph}$); $^3\text{P-NMR}$ (121MHz, CDCl_3) δ 29.36. Anal. calcd. for $\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{NO}_9\text{P}$: C 65.11, H 5.62, N 2.17; found: C 65.01, H 5.71, N 2.25. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{NO}_9\text{P}$ (MH^+) 646.2206, found 646.2605.

次に、2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-{[4-(ベンジルオキシカルボニルメチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸ベンジル1.25g、1.94mmolを酢酸20mLに溶かし、これに5%のパラジウム-炭素200mgを加えて、水素ガスを室温で3.5時間通した。それから、パラジウム-炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮し、残渣を逆相中圧クロマトグラフィー(ODS-S-50B)にて精製した。このカラムはメタノール30-60%の直線グラジエントにより流速6mL/minで溶出し、60%のメタノールで溶出する化合物の溶出画分を集め、TLC($\text{BuOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O} = 5:2:2$, ニンヒドリン発色)により化合物の溶出および純度を確認した。そして、減圧濃縮した後、水により凍結乾燥し、2-アミノ-4-{[4-(カルボキシメチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸(0.41g、収率64%)を無色固体として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O) δ 2.2-2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.67 (s, 2H, PhCH_2COOH), 3.8-4.0 (m, 1H, -CH), 3.88 (d, $^3\text{J}_{\text{HP}} = 11.4\text{ Hz}$, 3H, POCH_3), 7.21 (d, $\text{J} = 8.1\text{ Hz}$, 2H) and 7.35 (d, $\text{J} = 8.4\text{ Hz}$, 2H) (phenyl); $^3\text{P-NMR}$ (121MHz, D_2O) δ 32.56. Anal. calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NO}_7\text{P} \cdot 1.0\text{ H}_2\text{O}$: C 44.70, H 5.77, N 4.01; found: C 44.42, H 5.43, N 3.83. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_7\text{P}$ (MH^+) 332.0899, found 332.0900.

実施例13: 2-アミノ-4-[4-カルボキシフェニル(メチル)ホスホノ]ブタン酸の合成



実施例1と同様の方法により得たホスホン酸ジクロリド4.82mmolの乾燥ジクロロメタン溶液30mLに、市販の4-ヒドロキシ安息香酸ベンジル1.10g、4.82mmolを加え、-65℃に冷却し、トリエチルアミン0.74mL、5.31mmolを加え、-65℃で10分攪拌した。そして、冷却浴を外して、室温までゆっくりと温度を

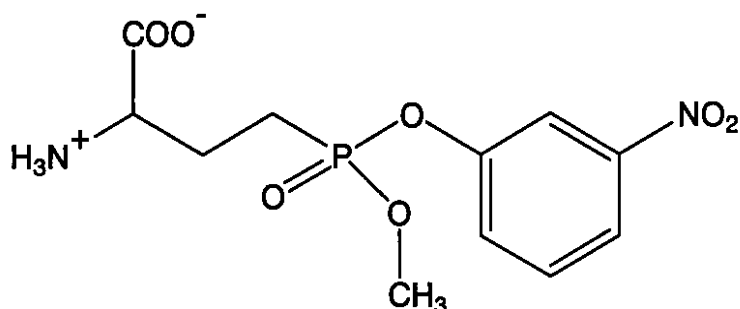
上げ、30℃でさらに30分間反応させ、対応するホスホン酸モノクロリドを得た。この反応溶液に、メタノール0.17g、5.31mmolおよびトリエチルアミン1.34mL、9.64mmolを0℃にて加え、そのまま10分間反応させたのち、30℃に温度を上げてさらに1時間反応させた。TLC (EtOAc/hexane = 4:3)により反応の完結を確認したあと、反応溶液を減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル20mLに溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。ろ液を減圧濃縮し、酢酸エチルとヘキサンとを4対3で混合した溶液を用い中性シリカゲル60Nにて粗生成物を精製し、ジアステレオマー混合物の2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[4-(ベンジルオキシカルボニル)フェニル(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル(1.46g、収率48%)を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 1.7-2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.74 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.1\text{Hz}$, 3H, POCH_3), 4.5 (m, 1H, -CH), 5.10 and 5.17 (2xs, 4H, $\text{CHCOOCH}_2\text{Ph}$ and $\text{NHCOOCH}_2\text{Ph}$), 5.35 (s, 2H, COOCH_2Ph), 5.47 (br d, $J = 7.2\text{Hz}$, 1H, NH), 7.2 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H) and 8.0 (d, $J = 9.0\text{Hz}$, 2H) (POC_6H_4), 7.3-7.5 (m, 15H, 3xPh); $^{31}\text{P-NMR}$ (121MHz, CDCl_3) δ 29.55. Anal. calcd. for $\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{NO}_9\text{P}$: C 64.65, H 5.43, N 2.22; found: C 64.72, H 5.54, N 2.22. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{NO}_9\text{P}$ (MH^+) 632.2050, found 632.2026.

次に、2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[4-(ベンジルオキシカルボニル)フェニル(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル1.40g、2.22mmolを、酢酸と水とを2対1で混合した溶媒28mLに溶かし、これに5%のパラジウム-炭素200mgを加えて、水素ガスを室温で2.2時間通した。それから、パラジウム-炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮した後、残渣を水より凍結乾燥し、2-アミノ-4-[4-カルボキシフェニル(メチル)ホスホノ]ブタン酸(0.62g、収率89%)を無色固体として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O) δ 2.2-2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.8-3.9 (m, 1H, -CH), 3.89 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.4\text{Hz}$, 3H, POCH_3), 7.32 (d, $J = 7.8\text{Hz}$, 2H) and 8.05 (d, $J = 8.4\text{Hz}$, 2H) (phenyl); $^{31}\text{P-NMR}$ (121MHz, D_2O) δ 32.40. Anal. calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NO}_7\text{P} \cdot 0.6\text{H}_2\text{O}$: C 43.94, H 5.28, N 4.27; found: C 44.19, H 5.14, N 3.94. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_7\text{P}$ (MH^+) 318.0743, found 318.0747.

実施例14: 2-アミノ-4-[メチル(3-ニトロフェニル)ホスホノ]ブタン酸の合成



実施例1と同様の方法により得た2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル4.91mmolの乾燥ジクロロメタン溶液20mLに、3-ニトロフェノール0.68g、4.91mmolを加え、-20℃に冷却したのち、トリエチルアミン0.50g、4.91mmolを加え、15分間攪拌

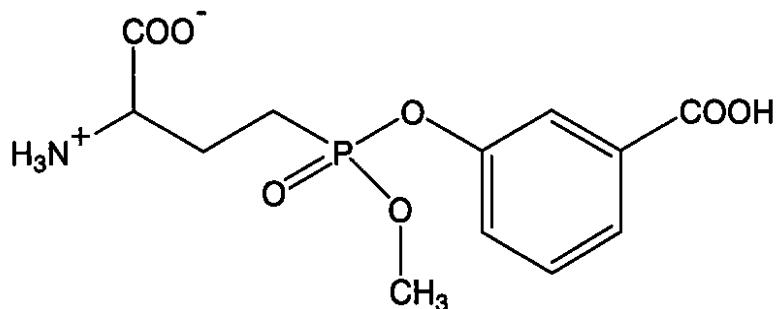
した。それから室温まで温度を上げて、一晚反応させ、TLC (EtOAc/hexane = 1:1) により反応の完結を確認したあと、反応溶液を減圧濃縮し、残渣を酢酸エチル 20 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。このろ液を減圧濃縮し、酢酸エチルとヘキサンとを 1 対 1 で混合した溶液を用い、中性シリカゲル 60 N にて粗生成物を精製し、ジアステレオマー混合物の 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [メチル(3 - ニトロフェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル (1.18 g、収率 44%) を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.8 - 2.3 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.77 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.4$ Hz, 3H, POCH_3), 4.5 (m, 1H, -CH), 5.11 (s, 2H, $\text{NHCOOCH}_2\text{Ph}$), 5.19 (s, 2H, $\text{CHCOOCH}_2\text{Ph}$), 5.5 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, NH), 7.3 - 7.4 (m, 10H, $2 \times \text{Ph}$), 7.5 - 7.6 (m, 2H) and 8.0 - 8.1 (m, 2H) (3-nitrophenyl); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3) δ 30.44. Anal. calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$: C 57.57, H 5.02, N 5.16; found: C 57.48, H 5.05, N 5.03; HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$ (MH^+) 543.1532, found 543.1523.

次に、2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 - [メチル(3 - ニトロフェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 1.09 g、2.01 mmol とアニソール 1.30 g、12.0 mmol とを、乾燥ニトロメタン 10 mL に溶かし、これに三塩化アルミニウム 0.80 g、6.00 mmol を加え、室温で 3 時間反応させたのち、水 20 mL をさらに加えて、10 分間攪拌した。この混合物を 50 mL のエーテルで 3 回洗浄し、水層を取って、この終濃度が 30% になるようにメタノールを加えた。溶液を中性シリカゲル 60 N に通し、水酸化アルミニウムを除いた。そして、約 30 mL の溶出液を濃縮せずに、そのまま逆相中圧カラムクロマト ODS - S - 50 B にて精製した。このカラムはメタノール 30 - 60% の直線グラジエントにより流速 6 mL/min で溶出し、60% のメタノールで溶出する化合物の溶出画分を集め、TLC ($\text{BuOH}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O} = 5:2:2$, ニンヒドリン発色) により化合物の溶出および純度を確認した。そして、減圧濃縮した後、水により凍結乾燥し、2 - アミノ - 4 - [メチル(3 - ニトロフェニル)ホスホノ]ブタン酸 (0.40 g、収率 63%) を無色固体として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 2.1 - 2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.8 - 3.9 (m, 1H, -CH), 3.88 (d, $^3J_{\text{HP}} = 2.0$ Hz, 3H, POCH_3), 7.62 (m, 2H), 8.04 (s, 1H) and 8.13 (m, 1H) (3-nitrophenyl); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, D_2O) δ 32.93. Anal. calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_7\text{P} \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$: C 40.37, H 4.93, N 8.56; found: C 40.56, H 4.95, N 8.68. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_7\text{P}$ (MH^+) 319.0695, found 319.0694.

実施例 15: 2 - アミノ - 4 - [3 - カルボキシフェニル(メチル)ホスホノ]ブタン酸の合成



実施例 1 と同様の方法により得た 2 - (N - ベンジルオキシカルボニルアミノ) - 4 -

10

20

30

40

50

[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 4.82 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 40 mL に、3-ヒドロキシ安息香酸ベンジル 1.21 g、5.30 mmol を加え、0 に冷却したのち、トリエチルアミン 0.81 mL、5.78 mmol を加え、0 のまま溶液を 15 分間攪拌した後、温度を上げて 30 にて 1.5 時間反応させた。TLC (EtOAc/hexane = 8:5) により反応の完結を確認してから、反応溶液を減圧濃縮し、残渣をアセトン 30 mL に溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。このろ液を減圧濃縮し、酢酸エチルとヘキサンとを 8 対 5 で混合した溶液を用いて中性シリカゲル 60 N にて粗生成物を精製し、ジアステレオマー混合物の 2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-{[3-(ベンジルオキシカルボニル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸ベンジル (1.49 g、収率 49%) を無色油状物として得た。

10

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1.8 - 2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 4.5 (m, 1H, -CH), 5.10 (s, 2H, $\text{NHCOOCH}_2\text{Ph}$), 5.17 (s, 2H, $\text{CHCOOCH}_2\text{Ph}$), 5.36 (s, 2H, COOCH_2Ph), 5.5 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, NH), 7.3 - 7.9 (m, 19H, 4 \times Ph); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3) δ 29.75. Anal. calcd. for $\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{NO}_9\text{P}$: C 64.65, H 5.43, N 2.22; found: C 64.26, H 5.50, N 2.28. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{34}\text{H}_{35}\text{NO}_9\text{P}$ (MH^+) 632.2050, found 632.2056.

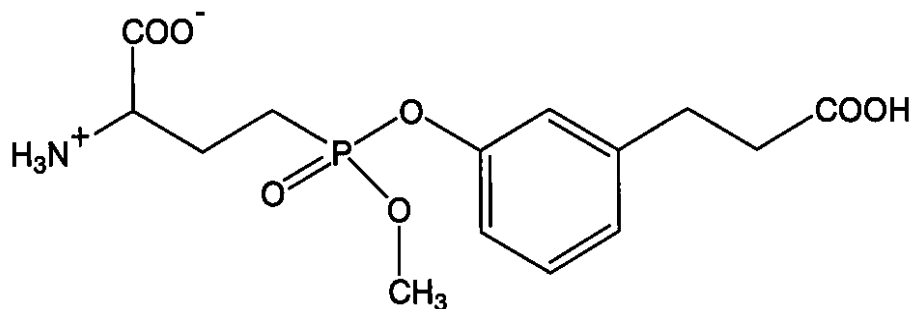
次に、2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-{[3-(ベンジルオキシカルボニル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸ベンジル 1.31 g、2.07 mmol を、酢酸と水とを 3 対 1 で混合した溶媒 28 mL に溶かし、5% のパラジウム-炭素 200 mg を加えて、室温で水素ガスを 3 時間通した。その後、パラジウム-炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮してから、残渣を水より凍結乾燥し、2-アミノ-4-[3-カルボキシフェニル(メチル)ホスホノ]ブタン酸 (0.59 g、収率 90%) を無色固体として得た。

20

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 2.0 - 2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.8 - 3.9 (m, 1H, -CH), 3.88 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.1$ Hz, 3H, POCH_3), 7.46 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.55 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.77 (s, 1H) and 7.89 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H) (phenyl); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, D_2O) δ 32.63. Anal. calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NO}_7\text{P} \cdot 0.6\text{H}_2\text{O}$: C 43.94, H 5.28, N 4.27; found: C 43.74, H 5.11, N 4.25. HRMS (FAB, glycerol) calcd. for $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_7\text{P}$ (MH^+) 318.0743, found 318.0755.

30

実施例 16: 2-アミノ-4-{[3-(2-カルボキシエチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸の合成



40

実施例 1 と同様の方法により得た 2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[クロロ(メチル)ホスホノ]ブタン酸ベンジル 4.82 mmol の乾燥ジクロロメタン溶液 30 mL に、3-(3-ヒドロキシフェニル)プロパン酸ベンジル 1.75 g、6.83 mmol を加え、0 に冷却したのち、トリエチルアミン 1.34 mL、9.64

50

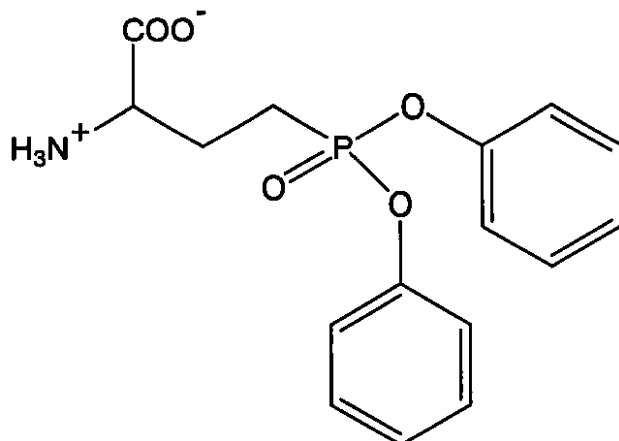
mmolを加え、0 のまま溶液を15分間攪拌し、その後室温にて一晩反応させた。そして、TLC (EtOAc/hexane = 4:3) により反応の完結を確認してから、反応溶液を減圧濃縮し、残渣をアセトン30mLに溶かし、不溶性の塩をろ過して除いた。このろ液を減圧濃縮し、酢酸エチルとヘキサンとを7対5で混合した溶液を用い中性シリカゲル60Nにて粗生成物を精製し、ジアステレオマー混合物の2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-{[3-(2-ベンジルオキシカルボニルエチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸ベンジル(0.82g、収率26%)を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 1.8 - 2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 2.66 (t, $J = 7.8\text{ Hz}$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 2.94 (t, $J = 7.8\text{ Hz}$, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 3.72 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.1\text{ Hz}$, 3H, POCH_3), 4.5 (m, 1H, -CH), 5.10 (s, 4H, COOCH_2Ph and $\text{NHCOOCH}_2\text{Ph}$), 5.17 (s, 2H, CHCOOH_2Ph), 5.5 (br d, $J = 7.5\text{ Hz}$, 1H, NH), 7.0 - 7.4 (m, 19H, $3 \times \text{Ph}$ and C_6H_4); $^3\text{P-NMR}$ (121MHz, CDCl_3) δ 29.21. Anal. calcd. for $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{NO}_9\text{P}$: C 65.55, H 5.81, N 2.12; found: C 65.36, H 5.88, N 2.28. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{NO}_9\text{P}$ (MH^+) 660.2363, found 660.2359.

次に、2-(N-ベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-{[3-(2-ベンジルオキシカルボニルエチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸ベンジル0.68g、1.03mmolを、メタノールと水とを4対1で混合した溶媒50mLに溶かし、これに5%のパラジウム-炭素240mgを加えて、水素ガスを室温で5時間通した。そして、パラジウム-炭素をセライトろ過して除き、このろ液を減圧濃縮し、残渣を水より凍結乾燥して、2-アミノ-4-{[3-(2-カルボキシエチル)フェニル](メチル)ホスホノ}ブタン酸(0.31g、収率86%)を無色固体として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300MHz, D_2O) δ 2.0 - 2.2 (m, 4H, PCH_2CH_2), 2.68 (t, $J = 7.2\text{ Hz}$, 2H, $\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 2.93 (t, $J = 7.2\text{ Hz}$, 2H, $\text{PhCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 3.8 - 3.9 (m, 1H, -CH), 3.84 (d, $^3J_{\text{HP}} = 11.4\text{ Hz}$, 3H, POCH_3), 7.07 (d, $J = 9.3\text{ Hz}$, 2H), 7.17 (d, $J = 7.2\text{ Hz}$, 1H) and 7.36 (t, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H) (phenyl); $^3\text{P-NMR}$ (121MHz, D_2O) δ 32.48. Anal. calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_7\text{P} \cdot 0.6\text{H}_2\text{O}$: C 47.22, H 6.00, N 3.93; found: C 47.32, H 5.88, N 3.99. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_7\text{P}$ (MH^+) 346.1056, found 346.1059.

実施例17: 2-アミノ-4-(ジフェニルホスホノ)ブタン酸の合成



実施例3における2-(N-4-ニトロベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-[メ

チル(フェニル)ホスホノ]ブタン酸ベンジルを合成する際に、2-(N-4-ニトロベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-(ジフェニルホスホノ)ブタン酸ベンジル0.64gを副生成物として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 2.0-2.4 (m, 4H, PCH_2CH_2), 4.51 (m, 1H, -CH), 5.21 (m, 4H, $2 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 5.7 (br d, $J = 7.5$ Hz, 1H, NH), 7.1-7.4 (m, 15H, $3 \times \text{Ph}$), 7.5 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H) and 8.2 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H) (4-nitrophenyl); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, CDCl_3) δ 24.40. Anal. calcd. for $\text{C}_{31}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_9\text{P}$: C 61.59, H 4.84, N 4.63; found: C 61.94, H 4.97, N 4.49.

10

つぎに、2-(N-4-ニトロベンジルオキシカルボニルアミノ)-4-(ジフェニルホスホノ)ブタン酸ベンジル0.64g、1.06mmolを酢酸20mLに溶かし、これに10%のパラジウム-炭素86mgを加えて、水素ガスを室温で2時間通した。その後、パラジウム-炭素をセライトろ過して除き、ろ液を減圧濃縮してから、アセトニトリルと水とを混合した溶媒で残渣を結晶化し、2-アミノ-4-(ジフェニルホスホノ)ブタン酸(0.13g、収率37%)を無色固体として得た。

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 2.3-2.5 (m, 4H, PCH_2CH_2), 3.87 (t, $J = 4.8$ Hz, 1H, -CH), 7.19 (d, $J = 7.8$ Hz, 4H), 7.31 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H) and 7.44 (t, $J = 8.4$ Hz, 4H) (phenyl); $^3\text{P-NMR}$ (121 MHz, D_2O) δ 28.20. Anal. calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_5\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C 54.39, H 5.71, N 3.96; found: C 54.40, H 5.51, N 4.25. HRMS (FAB, glycerol) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_5\text{P}$ (MH^+) 336.1001, found 336.1001.

20

[GGTに対する阻害活性試験]

実験のGGTサンプルには、大腸菌のGGTの精製酵素、およびヒトGGTの粗酵素を用いた。なお、大腸菌のGGTの精製酵素には、その物理化学的性質が、文献(Hideyuki Suzuki, Hidehiko Kumagai, Tatsurokuro Tochikura "gamma-Glutamyltranspeptidase from *Escherichia coli* K-12: Purification and Properties" *Journal of Bacteriology*, Dec. 1986, Vol. 168, No. 3, p. 1325-1331)に記載された酵素を使用した。また、ヒトGGTの粗酵素には、旭化成株式会社製の酵素(HC-GTP(製品番号)、603AA(ロット番号))を使用した。このヒトGGTの粗酵素には多量の牛血清アルブミン(BSA)が添加され、酵素濃度が1%以下にされて、酵素が安定化されている。

30

実験では、まず、大腸菌GGTおよびヒトGGTの加水分解活性試験において、蛍光法[Smith, G.D.; Ding, J.L.; Peters, T.J. *Anal. Biochem.* 100, 136-139 (1979)]を用いて、基質とした7-(L-グルタミルアミノ)-4-メチルクマリンに対するミカエリス定数(K_m)を求めた。

40

大腸菌GGTの加水分解活性試験では、0.42nMの酵素溶液10 μ Lを、2 μ Mの基質水溶液100 μ Lを含む100mMコハク酸-水酸化ナトリウム緩衝液(pH5.5)に加え、全量を1mLとした。酵素反応に伴って放出される生成物7-アミノ-4-メチルアミノクマリン(AMC)を、日立製蛍光分光光度計F-2000を用いて25 $^\circ\text{C}$ にて連続的に追跡した(励起波長: 350nm、測定波長: 440nm)。AMC濃度は、別途、標準溶液を用いて蛍光強度(F)と濃度(C)との関係をあらかじめ検量線より求め、蛍光強度変化(F)と濃度変化(C)との関係式(1)を用いて計算した。

【数 1】

$$\Delta F / \Delta C = 0.11 \text{ nM}^{-1} \quad (1)$$

蛍光強度は A M C 濃度に対して 2.0 μM までの範囲で直線関係を保っていた。この結果、7 - (- L - グルタミルアミノ) - 4 - メチルクマリンに対する K_m は、この条件下で、0.2 μM であった。

ヒト G G T の加水分解活性試験では、基質濃度を 4.0 μM とする以外は、大腸菌 G G T の加水分解活性試験と同様に測定したため、共通する部分について説明は省略する。測定の結果、7 - (- L - グルタミルアミノ) - 4 - メチルクマリンに対する K_m 値は 12.6 μM であった。

なお、タンパク質濃度は、バイオラッド社製タンパク定量用色素を用い、B S A を標準タンパクとして測定した。

次に、連続アッセイ法および非連続アッセイ法により酵素失活の 2 次反応速度定数 k_{on} を求めた。なお、G G T に対する阻害活性は、連続アッセイ法および非連続アッセイ法ともに、擬一次反応速度条件下で行った。

連続アッセイ法においては、温度を 25 に保った状態で、さまざまな濃度の阻害剤を含む 100 mM のコハク酸 - 水酸化ナトリウム緩衝液 (pH 5.5) と基質とを予め平衡化させておいた。ここで、大腸菌 G G T については基質 0.2 μM を用い、また、ヒト G G T については基質 0.4 μM を用いた。そして、ここへ終濃度が 0.04 nM になるように大腸菌 G G T の酵素溶液を加え、また、終濃度が 5 $\mu\text{g} / \text{mL}$ になるようにヒト G G T 粗酵素溶液を加えた。これにより反応をスタートさせ、A M C の放出 (蛍光強度の増加) を 10 分間にわたり連続的に追跡した。得られた蛍光強度データを時間に対してプロットしたものを、図 1 および図 2 に示す。

なお、図 1 には、阻害剤の一例として実施例 8 の化合物と大腸菌 G G T とを反応させた場合の A M C の蛍光強度を示し、図 2 には、阻害剤の一例として実施例 8 の化合物とヒト G G T とを反応させた場合の A M C の蛍光強度を示す。図 1 および 2 の縦軸に蛍光強度をとり、横軸に時間をとる。

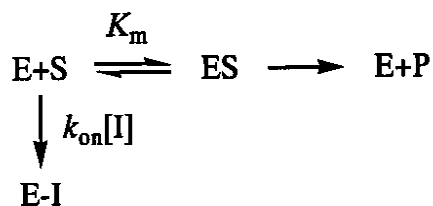
図 1 および 2 に示されるように、阻害曲線は時間とともに傾きが小さくなり、各阻害曲線の曲率は阻害剤濃度に依存して異なる。それぞれの曲線から得られる蛍光強度データを、擬一次反応速度式 (2) にあてはめ [Stein, R. L. et al. Biochemistry 26, 2682 - 2689 (1987)]、非線形回帰により酵素失活の擬一次反応速度定数 (k_{obs}) を求めた。

【数 2】

$$[P] = [P]_{\infty} [1 - \exp(-k_{obs} t)] \quad (2)$$

ここで、 $[P]$ および $[P]_{\infty}$ は、時間 t および無限時間後 ($t = \infty$) の生成物濃度を表す。

そして、 k_{obs} を阻害剤濃度 ($[I]$) に対してプロットしたところ、実験的に可能な最大の阻害剤濃度の範囲まで直線関係が得られた。このため、以下に示す速度論的メカニズムから導かれる式 (3) を用いて、酵素失活の 2 次反応速度定数 k_{on} を計算した。



【数 3】

$$k_{obs} = k_{on} [I] / (1 + [S] / K_m) \quad (3)$$

ここで、S は 7 - (- L - グルタミルアミノ) - 4 - メチルクマリンを表す。大腸菌

10

20

30

40

50

G G T に対して、基質濃度 $[S]$ は $0.2 \mu\text{M}$ であり、 K_m 値は $0.2 \mu\text{M}$ である。ヒト G G T に対して、基質濃度 $[S]$ は $4.0 \mu\text{M}$ であり、 K_m 値は $12.6 \mu\text{M}$ である。速度論的データは、Synergy Software 社製プログラム、カレイダグラフを用いて非線形回帰分析した。

また、非連続アッセイ法においては、さまざまな濃度の阻害剤を 100mM コハク酸 - 水酸化ナトリウム緩衝液 ($\text{pH} 5.5$) に溶かし、この緩衝液に酵素溶液を加えた。ここで、大腸菌 G G T では終濃度が 0.4nM になるように酵素溶液を加え、また、ヒト G G T 粗酵素では終濃度が 0.5mg/mL になるように酵素溶液を加えた。そして、25 にて阻害剤と各 G G T とを反応させ、一定時間ごとに反応溶液 $10 \mu\text{L}$ をサンプリングし、上記の酵素活性法により残存活性を求めた。時間ごとの残存活性を、酵素失活の擬一次反応速度式 (4) を用いて非線形回帰することにより、 k_{obs} の値を求めた。

【数 4】

$$a_t/a_0 = \exp(-k_{obs} t) \quad (4)$$

ここで、 a_t は時間 t における残存活性を、 a_0 は阻害前 ($t = 0$) の酵素活性を表す。そして、非線形回帰分析はカレイダグラフを用いて行った。

k_{obs} を阻害剤濃度 ($[I]$) に対してプロットし、実験的に可能な最大の阻害剤濃度の範囲まで直線関係を得ることにより、得られた k_{obs} の値から、式 (5) により k_{on} を求めた。

【数 5】

$$k_{obs} = k_{on} [I] \quad (5)$$

[G G T に対する阻害活性試験の試験結果]

上記試験により得られた、実施例 1 - 17 の化合物および比較例 1 における G G T 酵素失活の 2 次反応速度定数 k_{on} を表 2 に示す。なお、比較例 1 には、アシビシン ((S、5 S) - a c i v i c i n) を用いた。

10

20

【表 2】

	pK_a	$k_{on}(M^{-1}S^{-1})$	
		大腸菌GGT	ヒトGGT
実施例1	10.26	23	0.24
実施例2	10.10	19.5	0.16
実施例3	9.98	115	0.40
実施例4	9.41	607	5.0
実施例5	8.51	2800	11.5
実施例6	7.95	12000	45.9
実施例7	7.15	35000	125.1
実施例8	8.2	15700	2400
実施例9	9.98	9.0	0.023
実施例10	9.98	80.9	74.5
実施例11	9.71	150	51
実施例12	9.84	200	0.33
実施例13	8.70	3200	5.2
実施例14	8.36	5100	49
実施例15	9.14	450	1.63
実施例16	10.06	71	7.67
実施例17	9.98	28	0.41
比較例1	-6.18	4210±10	0.40±0.02

表 2 に示す試験結果から、実施例 1 - 17 の全ての化合物が大腸菌およびヒト GGT に対する阻害効果を有している。特に、実施例 6 - 8 および 14 の化合物の大腸菌 GGT 酵素失活の 2 次反応速度定数 k_{on} は、比較例 1 のアシピシンの k_{on} より大きいため、これらの化合物による大腸菌 GGT の失活速度はアシピシンによる失活速度より大きい。よって、実施例 6 - 8 および 14 の化合物による大腸菌 GGT に対する阻害効果は、アシピシンの阻害効果より優れる。

また、実施例 4 - 8、10、11 および 13 - 16 の化合物のヒト GGT 酵素失活の 2 次反応速度定数 k_{on} は、比較例 1 のアシピシンの k_{on} より大きいため、これらの化合

10

20

30

40

50

物によるヒトGGTの失活速度はアシピシンによる失活速度より速い。よって、ヒトGGTに対する実施例4-8、10、11および13-16の化合物の阻害効果は、ヒトGGTに対するアシピシンの阻害効果より優れる。

[化合物の安定性とGGTに対する阻害活性との関係]

実施例1-8および10-17の化合物における、各化合物のアリール基の解離定数 K_a と大腸菌GGT酵素失活の2次反応速度定数 k_{on} との関係を図3に示す。図3では、縦軸に化合物の $\log k_{on}$ をとり、横軸に化合物のアリール基の pK_a をとる。

図3に示す試験結果から、実施例1-8および10-17の化合物のプロットは直線状になり、これらの $\log k_{on}$ とアリール基の pK_a とは比例する。一般に、化合物のアリール基の pK_a が小さくなると、アリール基が脱離し易くなり、化合物自体の化学的
10 反応性は大きくなる。このため、図3の結果より、実施例1-8および10-17の化合物は、その化学的反応性に従って、大腸菌GGTに対して作用していることがわかる。

また、実施例1-8および10-17の化合物における、各化合物のアリール基の解離定数 K_a とヒトGGT酵素失活の2次反応速度定数 k_{on} との関係を図4に示す。図4では、縦軸に化合物の $\log k_{on}$ をとり、横軸に化合物のアリール基の pK_a をとる。

図4に示す試験結果から、実施例1-7、12-15および17の化合物のプロットは直線状になり、これらの化合物の $\log k_{on}$ がアリール基の pK_a に比例する。これに対して、実施例8、10、11および16の化合物のプロットは上記の直線から上方に外れ、実施例8、10、11および16の化合物の $\log k_{on}$ が、この直線上の $\log k_{on}$ より大きな値を示す。このため、ヒトGGTに対する実施例8、10、11および1
20 6の化合物の阻害効果は、アリール基の pK_a から見積られる脱離能、つまり化合物自体の化学的反応性から予想されるより高く、実施例1-7、12-15および17の化合物に比べて相対的に高い。

また、実施例8、10、11および16の化合物は、このようにヒトGGTに対しては、化合物自体の化学的反応性から予想されるより高い阻害効果を示す一方、図3に示すように大腸菌GGTに対しては、化合物自体の化学的反応性から予想されるのとほぼ同等の阻害効果を示す。このため、実施例8、10、11および16の化合物は、大腸菌GGT
30 に対するより、ヒトGGTに対して特に高い阻害効果を示す特殊な性質を有することがわかる。

特に、実施例11および12の化合物について、実施例11ではカルボキシメチル基がフェニル基のメタ位に置換しているのに対し、実施例12ではカルボキシメチル基がフェニル基のパラ位に置換しており、カルボキシメチル基の結合位置が異なるだけであって、これらの分子構造は類似する。また、実施例11および12の化合物のアリール基の pK_a および大腸菌GGT酵素失活の2次反応速度定数 k_{on} はほぼ等しく、実施例11および12の化合物はほぼ同等の化学的反応性および大腸菌GGTに対する阻害活性を示す。しかし、実施例11の化合物のヒトGGT酵素失活の k_{on} ： $51 (M^{-1} s^{-1})$ は実施例12の化合物のヒトGGT酵素失活の2次反応速度定数 k_{on} ： $0.33 (M^{-1} s^{-1})$ より約155倍も高く、実施例11の化合物は実施例12の化合物に比べて高いヒトGGTに対する阻害活性を示す。

これは、実施例8、10、11および16の化合物がヒトGGTの基質構造に近い構造
40 を有することにより、この部分が、ヒトGGTの活性中心である基質認識部位に適合して相互作用し、ヒトGGTの速やかな失活を引き起こしたからと考えられる。

このように、化合物の大腸菌GGTに対する阻害活性がその化学的反応性に依存し、化合物のヒトGGTに対する阻害活性がその化学的反応性だけでなく、酵素の基質認識部位への適合性に依存するため、化学的反応性を極力抑え、かつヒトGGTの基質認識部位に適合する構造を組み込むように、分子設計すれば、ヒトGGTに対して選択的に作用する安定な阻害剤を得られる。反対に、化学的反応性を上げ、かつヒトGGTの基質認識部位に適合する構造を組み込まないように、分子設計すれば、大腸菌GGTに対する阻害活性の高い阻害剤を得られる。

[GGTに対する実施例8の化合物の阻害活性]

10

20

30

40

50

上記の図 1 (阻害剤の一例として実施例 8 の化合物と大腸菌 G G T とを反応させた場合の A M C の蛍光強度)、および図 2 (阻害剤の一例として実施例 8 の化合物とヒト G G T とを反応させた場合の A M C の蛍光強度) に示す酵素の活性曲線から、実施例 8 の化合物により大腸菌およびヒト G G T が時間とともに徐々に失活していく特殊な阻害が起こっていることがわかる。

すなわち、一般的な阻害剤の場合、阻害剤の量が多くなるほど、活性曲線の傾きが小さくなるが、その活性曲線は曲がることはなく直線状になる。この場合、G G T と阻害剤とが混ざっている中から何らかの方法で阻害剤を除けば、G G T はすぐに復活してもとの活性を回復する。

これに対して、実施例 8 の化合物による酵素の活性曲線は、時間の経過とともに傾きが小さくなっている。これは、実施例 8 の化合物により G G T が時間の経過とともに失活していき、活性が最終的にゼロになるからである。この場合、一旦、G G T が失活すれば、たとえ阻害剤を取り除いても、G G T の活性は回復しない。このため、実施例 8 の化合物は、G G T を不可逆的に失活させる阻害剤である。G G T を可逆的に失活させる一般的な阻害剤に比べて、高い G G T の阻害効果を有する。

[化学的安定性]

実施例 1 - 1 1 の化合物の加水分解率を表 3 に示す。ここでは、実施例 1 - 1 1 の各化合物を室温で水中に保存した後の各化合物の加水分解率を測定した。なお、実施例 1 0 以外の化合物は 1 2 時間水中に保存し、実施例 1 0 の化合物は 1 1 2 時間水中に保存した。

【表 3】

	加水分解率(%)
実施例1	0
実施例2	0
実施例3	0
実施例4	0
実施例5	0
実施例6	12.3
実施例7	48.6
実施例8	6.0
実施例9	0
実施例10	37.5*
実施例11	0

表 3 に示す試験結果から、実施例 1 - 5、9 および 1 1 の化合物の加水分解率がゼロであることより、これらの化合物が加水分解せず、化学的に安定であることがわかる。特に、実施例 1 1 の化合物は、表 2 に示すように、実施例 6 および 1 0 と同等のヒト G G T に対する高い阻害活性を有しながら、表 3 に示すように、実施例 6 および 1 0 より低い加水

10

20

30

40

50

分解率を示す。これにより、実施例 11 の化合物がヒト GGT に対して高い阻害効果を安定的に発揮する。

また、アルカリ性、中性、または酸性の条件下における、実施例 7 の化合物の加水分解率を表 4 に示す。ここでは、表 4 に示す溶媒の中に実施例 7 の化合物を加えて、23.5 の条件下で保存し、12 時間後の実施例 7 の化合物の加水分解率を測定した。

【表 4】

溶媒	pH	加水分解率(%)
0.1 N Na ₂ CO ₃	11.6	100
0.1 N NaHCO ₃	8.3	100
D ₂ O	7	49
0.1 N CH ₃ COOD	2.9	40
0.1 N CF ₃ COOD	<1	0
0.1 N DCI	<1	0
0.1 N DCI + MeOH	<1	0

表 4 に示す試験結果から、アルカリ性および中性では、実施例 7 の化合物が加水分解し、特に、アルカリ性において実施例 7 の化合物の加水分解率が高い。しかし、酸性では、実施例 7 の化合物の加水分解率は低く、実施例 7 の化合物はほとんど加水分解せず、安定である。このため、酸性条件下では、実施例 7 の化合物は、安定的に保存されて、GGT に対して安定的に阻害効果を発揮すると考えられる。

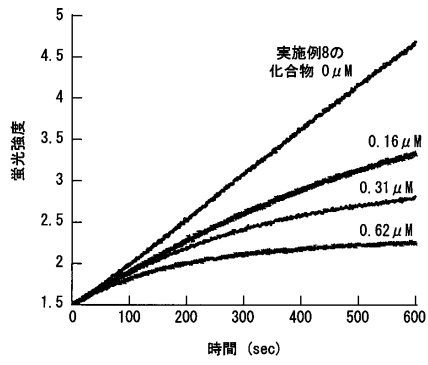
この実施例 7 の化合物は、表 3 に示すように、実施例 1 - 11 の化合物のうちで最も加水分解率が高く、加水分解され易い不安定な化合物である。よって、実施例 7 の化合物が酸性条件下で安定であるため、これ以外の実施例 1 - 6 および 8 - 11 の化合物は、少なくとも酸性条件においては安定であると考えられる。

なお、発明者等の実験により、典型的なグルタミンアミドトランスフェラーゼであるグルタミン依存型アスパラギン合成酵素に実施例 11 の化合物 10 mM を加え 2 時間保存しても、実施例 11 の化合物がグルタミン依存型アスパラギン合成酵素の作用を全く阻害しないことが確認されている。このため、ホスホン酸ジエステル誘導体 (1) は、GGT に対して特異的に作用する。

この発明が詳細に説明され図示されたが、それは単なる図解および一例として用いたものであり、限定であると解されるべきではないことは明らかであり、この発明の精神および範囲は添付されたクレームの文言によってのみ限定される。

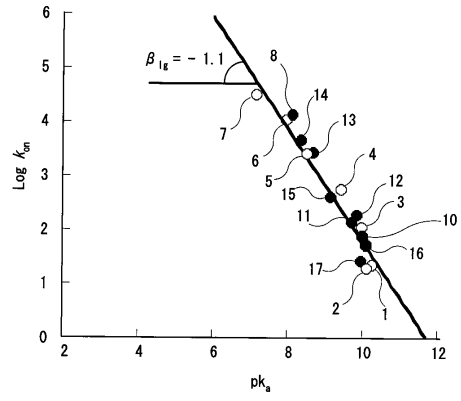
【 図 1 】

図 1



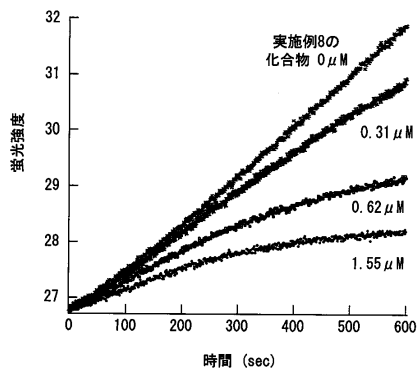
【 図 3 】

図 3



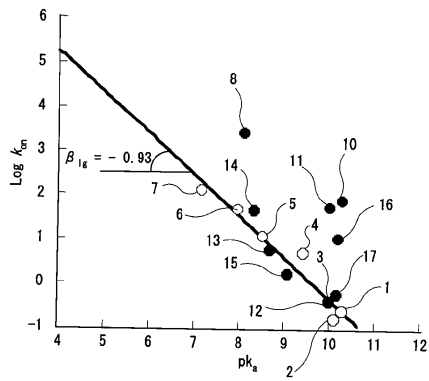
【 図 2 】

図 2



【 図 4 】

図 4



フロントページの続き

審査官 井上 千弥子

(56)参考文献 Organic & Biomolecular Chemistry, 2004年, 2(2), pp. 238-245

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07F 9/02-9/6596

CA/REGISTRY(STN)