

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2011 年 10 月 20 日(20.10.2011)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2011/129365 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/555 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01)
A61K 31/4965 (2006.01) A61P 35/04 (2006.01)
A61K 31/498 (2006.01) C07B 53/00 (2006.01)
A61K 31/66 (2006.01) C07B 57/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07F 1/12 (2006.01)

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2011/059179

(22) 国際出願日:

2011 年 4 月 13 日(13.04.2011)

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ:

特願 2010-093287 2010 年 4 月 14 日(14.04.2010) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本化学工業株式会社 (NIPPON CHEMICAL INDUSTRIAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1368515 東京都江東区亀戸 9 丁目 1 1 番 1 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 大原 宣彦 (OOHARA Nobuhiko) [JP/JP]; 〒1368515 東京都江東区亀戸 9 丁目 1 1 番 1 号 Tokyo (JP). 中對一博 (NAKATSUI Kazuhiro) [JP/JP]; 〒1368515 東京都江東区亀戸 9 丁目 1 1 番 1 号 Tokyo (JP). 間

山 大輔 (MAYAMA Daisuke) [JP/JP]; 〒1368515 東京都江東区亀戸 9 丁目 1 1 番 1 号 Tokyo (JP).

(74) 共通の代表者: 日本化学工業株式会社 (NIPPON CHEMICAL INDUSTRIAL CO., LTD.); 〒1368515 東京都江東区亀戸 9 丁目 1 1 番 1 号 Tokyo (JP).

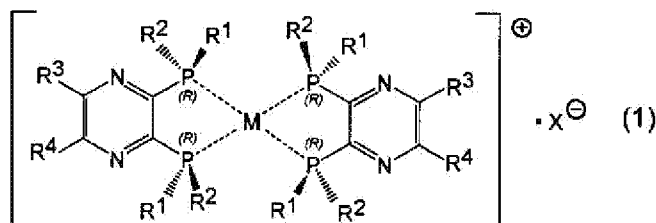
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

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

[続葉有]

(54) Title: ANTITUMOR AGENT

(54) 発明の名称: 抗がん剤



(57) Abstract: Disclosed is an antitumor agent which has higher antitumor activity than conventional antitumor agents, while having low toxicity. Specifically disclosed is an antitumor agent which is characterized by containing a phosphine transition metal complex that is represented by general formula (1). In general formula (1), it is preferable that the phosphine ligand is an (S,S)-2,3-bisphosphinoquinoxaline derivative. It is particularly preferable that the phosphine ligand is an (S,S)-2,3-bis(tert-butylmethylphosphino)quinoxaline. (In the formula, R¹ and R² each represents a linear or branched alkyl group, a cycloalkyl group, a cycloalkyl group having a substituent, an adamantyl group, a phenyl group or a phenyl group having a substituent and has 1-10 carbon atoms; R¹ and R² are different from each other, and R¹ has a higher priority than R² as ranked in accordance with the RS system; R³ and R⁴ each represents a hydrogen atom, or a linear or branched alkyl group and has 1-6 carbon atoms; R³ and R⁴ may be the same groups or different groups; R³ and R⁴ may combine together to form a saturated or unsaturated ring, and the saturated or unsaturated ring may have a substituent; M represents a transition metal atom that is selected from the group consisting of gold, copper and silver; and X⁻ represents an anion.)

(57) 要約: 本発明の目的は、従来よりも高い抗がん活性を有し、かつ毒性の低い抗がん剤を提供すること。本発明の抗がん剤は、下記一般式(1)で表されるホスフィン遷移金属錯体を含むことを特徴とする。式(1)中、ホスフィン配位子は、(S, S)-2, 3-ビスホスフィノキノキサリン誘導体であることが好ましい。特にホスフィン配位子は、(S, S)-2, 3-ビス(tert-ブチルメチルホスフィノ)キノキサリンであることが好ましい。式中、R

[続葉有]

WO 2011/129365 A1



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

¹及び²R²は、直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、シクロアルキル基、置換基を有するシクロアルキル基、アダマンチル基、フェニル基又は置換基を有するフェニル基を表し、炭素数が1～10であり、R¹とR²とは互いに異なり、かつRS表示法に従う順位付けにおいてR¹はR²よりも優先順位が高い。R³及びR⁴は、水素原子又は直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基を表し、炭素数が1～6であり、同一の基であっても異なる基であってもよい。R³及びR⁴は、互いに結合して飽和又は不飽和の環を形成していてもよく、該飽和又は不飽和の環は、置換基を有していてもよい。Mは、金、銅及び銀の群から選ばれる遷移金属原子を表す。X⁻は、アニオンを表す。

明 細 書

発明の名称： 抗がん剤

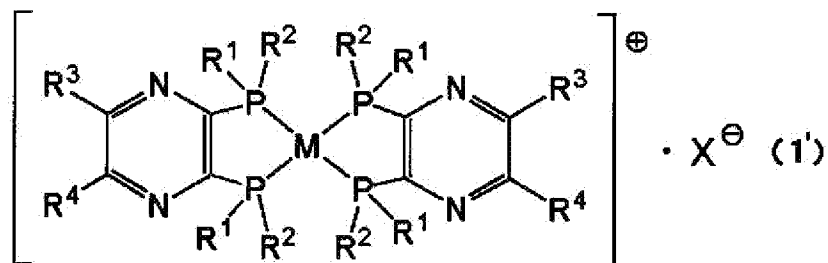
技術分野

[0001] 本発明は、ホスフィン遷移金属錯体を含む抗がん剤に関する。

背景技術

[0002] 本出願人は先に、以下の式（1'）で表されるホスフィン遷移金属錯体を含む抗がん剤を提案した（特許文献1参照）。式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 はアルキル基等である。またMは、金、銅又は銀である。この抗がん剤は、従来用いられてきた抗がん剤であるシスプラチン等の白金製剤やタキソール（登録商標）に比較して、高い抗がん活性を有するものである。

[0003] [化1]



[0004] 前記のホスフィン遷移金属錯体は、不斉なリン原子を4個有するので、数多くの異性体が存在する。特許文献1には、これらの異性体の種類は特に制限されないと記載されており、リン原子上の立体が、例えば（S，S）（S，S）や、（R，R）（R，R）のように、単一のエナンチオマーから構成されていてもよく、また（R，R）（S，S）のように、配位子のラセミ体から構成されていてもよく、更に（R，S）（S，R）のように、お互いにメソ体から構成されていてもよく、（R，R）（S，R）のように、1つのエナンチオマーとそのメソ体から構成されていてもよいと記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開2007-320909号公報

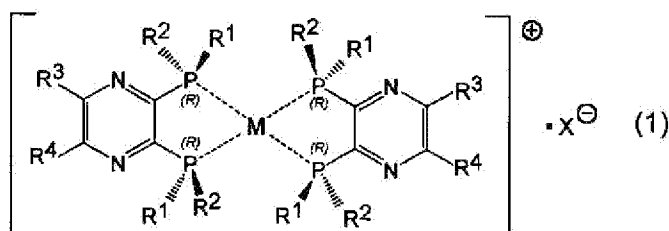
発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0006] 一般に、化合物の抗がん活性と抗がんスペクトルは、その化合物の化学構造に依存し、個人によっても、その効果に差があることが知られている。例えば、上述のタキソール（登録商標）は、高活性を有する抗がん剤として知られているところ、その有効率は30%程度である。そのため、化学構造が異なる種々の新規な抗がん剤の開発が望まれている。また、抗がん活性が高だけでなく、毒性が低いことも抗がん剤に要求される特性である。
- [0007] 上述の現況に鑑み、本発明の課題は、本出願人が提案した前述の抗がん剤の改良にある。

課題を解決するための手段

- [0008] 本発明は、以下の式（1）で表されるホスフィン遷移金属錯体を含有することを特徴とする抗がん剤を提供するものである。
- [0009] [化2]



式中、 R^1 及び R^2 は、直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、シクロアルキル基、置換基を有するシクロアルキル基、アダマンチル基、フェニル基又は置換基を有するフェニル基を表し、炭素数が1～10であり、 R^1 と R^2 とは互いに異なり、かつRS表示法に従う順位付けにおいて R^1 は R^2 よりも優先順位が高い。 R^3 及び R^4 は、水素原子又は直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基を表し、炭素数が1～6であり、同一の基であっても異なる基であってもよい。 R^3 及び R^4 は、互いに結合して飽和又は不飽和の環を形成していてもよく、該飽和又は不飽和の環は、置換基を有していてもよい。 M は、金、銅及び銀の群から選ばれる遷移金属原子を表す。 X^- は、アニオンを表す。

発明の効果

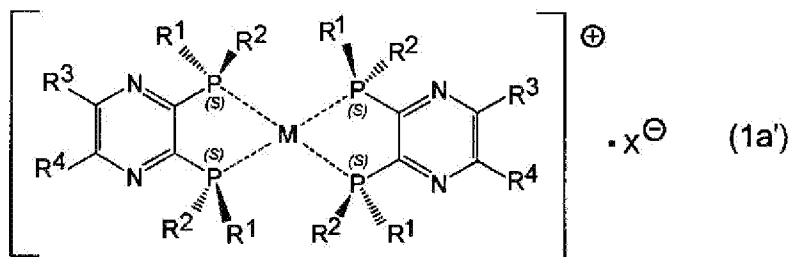
- [0010] 本発明によれば、高い抗がん活性を有しつつ、毒性の低い抗がん剤が提供

される。

発明を実施するための形態

- [0011] 本発明の抗がん剤は、前記の式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体を含有している。このホスフィン遷移金属錯体は、中心金属イオンMに対して、２，３－ビスホスフィノピラジン誘導体からなる配位子が２個配位した構造を有している。２，３－ビスホスフィノピラジン誘導体においては、 R^1 と R^2 が異なる基であることによって、２つのリン原子がキラル中心となる。その結果、この２，３－ビスホスフィノピラジン誘導体は、立体配置の異なる（*R*，*R*）体、（*S*，*S*）体及び（*R*，*S*）体の３種類の異性体が存在する。これら３種の異性体のうち、式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体に含まれている配位子は、（*S*，*S*）体の２，３－ビスホスフィノピラジン誘導体である。これに対して、先に背景技術の項で述べた特許文献１に具体的に記載されているホスフィン遷移金属錯体に含まれている配位子は、（*R*，*R*）体の２，３－ビスホスフィノピラジン誘導体である。本発明者らが鋭意検討した結果、配位子として（*S*，*S*）体の２，３－ビスホスフィノピラジン誘導体を用いたホスフィン遷移金属錯体を含む抗がん剤は、特許文献１に記載の抗がん剤よりも高い抗がん活性を有し、かつ毒性が低くなることが見出された。
- [0012] 式（１）で表される化合物が、抗がん活性が高く、かつ毒性の低い理由については完全に明確になっていないが、抗がん剤の抗がん活性や抗がんスペクトルは、その抗がん剤の化学構造に大きく依存するためではないかと本発明者らは考えている。例えば、以下の（１a'）で表される化合物は、特許文献１に記載の化合物（１'）で表される化合物に包含されるものの、この化合物（１a'）は毒性が相対的に高いことが、本発明者らの検討の結果判明している（後述する比較例１参照）。
- [0013]

[化3]



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 、 M 並びに X^- は、前記と同義である。

[0014] 前記の式(1)において、 R^1 及び R^2 は、直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、シクロアルキル基、置換基を有するシクロアルキル基、アダマンチル基、フェニル基又は置換基を有するフェニル基を表す。 R^1 及び R^2 は、炭素数が1～10である。また、 R^1 及び R^2 は互いに異なる基である。更に、 R^1 及び R^2 は、RS法に従う順位付けにおいて、 R^1 は R^2 よりも優先順位が高い基である。

[0015] R^1 及び R^2 に係るアルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、イソプロピル基、*n*-プロピル基、イソブチル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基、*tert*-ブチル基、イソヘプチル基、*n*-ヘプチル基、イソヘキシル基、*n*-ヘキシル基が挙げられる。 R^1 及び R^2 に係るシクロアルキル基としては、シクロペンチル基、シクロヘキシル基が挙げられる。 R^1 及び R^2 が置換基を有するシクロアルキル基又は置換基を有するフェニル基である場合、該置換基としては、アルキル基、ニトロ基、アミノ基、ヒドロキシル基、フルオロ基、クロロ基、ブロモ基、ヨード基等が挙げられる。特に、 R^1 が*tert*-ブチル基又はアダマンチル基であり、 R^2 がメチル基であることが、抗がん活性が高くなる点で好ましい。

[0016] R^3 及び R^4 は、水素原子又は直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基を表す。 R^3 及び R^4 のアルキル基は炭素数が1～6である。 R^3 及び R^4 は、同一の基であっても異なる基であってもよい。また R^3 及び R^4 が互いに結合して飽和又は不飽和の環を形成する場合、飽和又は不飽和の環は、置換基を有していても

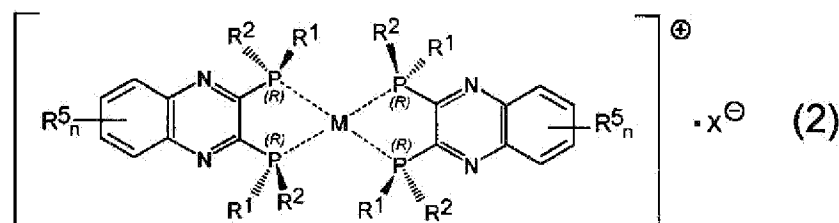
よい。

[0017] R^3 及び R^4 に係るアルキル基としては、例えばエチル基、イソプロピル基、 n -プロピル基、イソブチル基、 n -ブチル基、*sec*-ブチル基、*tert*-ブチル基、イソヘプチル基、 n -ヘプチル基、イソヘキシル基、 n -ヘキシル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基等が挙げられる。

[0018] R^3 及び R^4 は、互いに結合して飽和又は不飽和の環を形成していてもよい。そのような場合、該環としては、飽和又は不飽和の五員環又は六員環が挙げられる。例えば、フェニル基、シクロヘキシル基、シクロペンチル基等が挙げられる。該環は、一価の置換基を有してもよく、その置換基としては、例えば、直鎖状又は分岐鎖状でありかつ炭素数が1～5のアルキル基、ニトロ基、アミノ基、ヒドロキシル基、フルオロ基、クロロ基、ブロモ基、ヨード基が挙げられる。

[0019] 特に R^3 及び R^4 は、これらが互いに結合してベンゼン環を形成していることが、抗がん活性が高くなる点で好ましい。その場合、金属Mに配位している配位子は、キノキサリン誘導体となり、本発明のホスフィン遷移金属錯体は以下の式(2)で表される。このキノキサリン誘導体におけるベンゼン環は、4個の水素原子のうちの少なくとも1個が、置換基 R^5 によって置換されていてもよい。具体的には、 R^5 として、同一の又は異なるアルキル基、ニトロ基、アミノ基、ヒドロキシル基、フルオロ基、クロロ基、ブロモ基、ヨード基等を用いることができる。

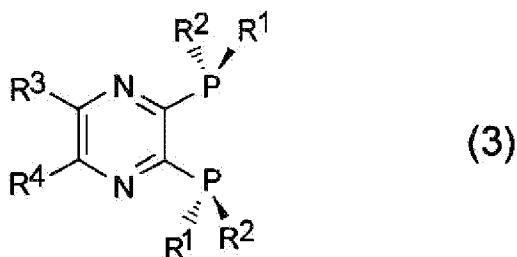
[0020] [化4]



式中、 R^1 及び R^2 並びに X^- 及びMは前記と同義である。

R^5 は同一の又は異なる一価の置換基を表す。 n は0～4の整数を表す。

- [0021] Mは、金、銅及び銀の群から選ばれる遷移金属原子の一価のイオンを表す。特にMが金のイオンであることが、抗がん活性が高くなる点で好ましい。
- [0022] X⁻は、アニオンを表し、例えば、塩素イオン、臭素イオン、ヨウ素イオン、四フッ化ホウ素イオン、六フッ化リン酸イオン、過塩素酸イオン等が挙げられる。これらのうち、X⁻が、塩素イオン、臭素イオン、ヨウ素イオンであることが、抗がん活性が高くなる点で好ましい。
- [0023] 次に、本発明の抗がん剤に含まれるホスフィン遷移金属錯体の好適な製造方法について説明する。このホスフィン遷移金属錯体は、以下の式（3）で表される（S，S）-2，3-ビスホスフィノピラジン誘導体と、金、銅又は銀の塩とを反応させることで得られる。式（3）で表される（S，S）-2，3-ビスホスフィノピラジン誘導体の製造方法については後述する。
- [0024] [化5]



式中、R¹、R²、R³及びR⁴は前記と同義である。

- [0025] 式（3）で表される（S，S）-2，3-ビスホスフィノピラジン誘導体の好ましい化合物の具体例としては、（S，S）-2，3-ビス（*tert*-ブチルメチルホスフィノ）キノキサリン、（S，S）-2，3-ビス（アダマンチルメチルホスフィノ）キノキサリン、（S，S）-2，3-ビス（*tert*-ブチルメチルホスフィノ）ピラジン等が挙げられる。
- [0026] 式（3）で表される（S，S）-2，3-ビスホスフィノピラジン誘導体と反応する金、銅又は銀の塩は、例えば、これらの金属のハロゲン化物、硝酸塩、過塩素酸塩、四フッ化ホウ素酸塩、六フッ化リン酸塩等である。また、これらの金属の価数は、一価である。また、これらの金属の塩は、金属又

はアニオンのいずれか一方又は両方が異なる2種以上の塩であってもよい。

[0027] 好ましい金の塩としては、例えば、塩化金(I)酸、塩化金(I)、あるいはテトラブチルアンモニウムクロリド・塩化金(I)等(「第5版 実験化学講座21」、編者 社団法人日本化学会、発行所 丸善、発行日 平成16年3月30日、p366~380、Aust. J. Chemm., 1997, 50, 775-778頁参照)が挙げられる。好ましい銅の遷移金属塩としては、例えば、塩化銅(I)、臭化銅(I)、ヨウ化銅(I)等(「第5版 実験化学講座21」、編者 社団法人日本化学会、発行所 丸善、発行日 平成16年3月30日、p349~361)が挙げられる。また、好ましい銀の遷移金属塩としては、例えば、塩化銀(I)、臭化銀(I)、ヨウ化銀(I)等(「第5版 実験化学講座21」、編者 社団法人日本化学会、発行所 丸善、発行日 平成16年3月30日、p361~366)が挙げられる。なお、本発明のホスフィン遷移金属錯体の製造方法に係る遷移金属塩は、無水物であっても含水物であってもよい。

[0028] 金、銅又は銀の塩に対する、式(3)で表される(S, S)-2, 3-ビスホスフィノピラジン誘導体のモル比は、金属1モルに対して好ましくは1~5倍モル、更に好ましくは1.8~2.2倍モルとする。反応は、アセトン、アセトニトリル、メタノール、エタノール、テトラヒドロフラン、ジクロロメタン、クロロホルム等の溶媒中で行うことができる。反応温度は好ましくは-20~60℃、更に好ましくは0~25℃であり、反応時間は好ましくは0.5~48時間、更に好ましくは1~3時間である。この反応によって、式(1)で表されるホスフィン遷移金属錯体を得られる。反応終了後は、必要に応じて常法の精製を行うことができる。

[0029] このようにして得られた式(1)で表されるホスフィン遷移金属錯体におけるアニオンを、他の所望のアニオンに変換してもよい。例えば、先ず、上述の製造方法に従い、式(1)中のX⁻が、ハロゲン化物イオンであるホスフィン遷移金属錯体を合成し、次いで、このホスフィン遷移金属錯体と、所望のアニオンを有する無機酸、有機酸又はそれらのアルカリ金属塩とを、適切

な溶媒中で反応させることにより、 X^- が、所望のアニオンであるホスフィン遷移金属錯体を得ることができる。このような方法の詳細は、例えば特開平10-147590号公報、特開平10-114782号公報及び特開昭61-10594号公報等に記載されている。

[0030] このようにして得られたホスフィン遷移金属錯体は、抗がん剤として用いられる。本発明の抗がん剤が適用されるがんの種類は、特に限定されるものではなく、例えば、悪性黒色腫、悪性リンパ腫、消化器癌、肺癌、食道癌、胃癌、大腸癌、直腸癌、結腸癌、尿管腫瘍、胆嚢癌、胆管癌、胆道癌、乳癌、肝臓癌、膵臓癌、睾丸腫瘍、上顎癌、舌癌、口唇癌、口腔癌、咽頭癌、喉頭癌、卵巣癌、子宮癌、前立腺癌、甲状腺癌、脳腫瘍、カポジ肉腫、血管腫、白血病、真性多血症、神経芽腫、網膜芽腫、骨髄腫、膀胱腫、肉腫、骨肉腫、筋肉腫、皮膚癌、基底細胞癌、皮膚付属器癌、皮膚転移癌、皮膚黒色腫等が挙げられる。更に、悪性腫瘍ばかりでなく良性腫瘍にも適用され得る。また、本発明の抗がん剤は、がん転移を抑制するために使用されることができ、特に、術後のがん転移抑制剤としても有用である。

[0031] 本発明の抗がん剤は、溶解性を向上させるため、シクロデキストリン化合物と併用して用いることができる。前記シクロデキストリン化合物としては、例えば α -シクロデキストリン、 β -シクロデキストリン、 γ -シクロデキストリン、メチルー β -シクロデキストリン、ジメチルー β -シクロデキストリン、トリメチルー β -シクロデキストリン、2-ヒドロキシプロピルー β -シクロデキストリン、2-ヒドロキシプロピルー α -シクロデキストリン、ジヒドロキシプロピルー β -シクロデキストリン、ヒドロキシエチルー β -シクロデキストリン、カルボキシメチルー β -シクロデキストリン、モノアセチルー β -シクロデキストリン、2-ヒドロキシプロピルー γ -シクロデキストリン、グルコシルー β -シクロデキストリン、マルトシルー α -シクロデキストリン、マルトシルー β -シクロデキストリン、パーシャリーメチルー β -シクロデキストリン、 α -シクロデキストリンスルフェート、 β -シクロデキストリンスルフェート等が挙げられる。

- [0032] 本発明の抗がん剤の使用においては、種々の形態でヒト又は動物に、本発明の抗がん剤を投与することができる。投与形態としては、経口投与でもよいし、静脈内、筋肉内、皮下又は皮内等への注射、直腸内投与、経粘膜投与等の非経口投与でもよい。経口投与に適する製剤形態としては、例えば錠剤、丸剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤などを挙げることができる。非経口投与に適する医薬組成物としては、例えば、注射剤、点滴剤、点鼻剤、噴霧剤、吸入剤、坐剤、あるいは、軟膏、クリーム、粉状塗布剤、液状塗布剤、貼付剤等の経皮吸収剤等が挙げられる。更に、本発明の抗がん剤の製剤形態として、埋め込み用ペレットや公知の技術を用いた持続性製剤が挙げられる。
- [0033] 上述したうち、好ましい投与形態や製剤形態等は、患者の年齢、性別、体質、症状、処置時期等に応じて、医師によって適宜選択される。
- [0034] 本発明の抗がん剤が、錠剤、丸剤、散剤、粉剤、顆粒剤等の固形製剤の場合、これらの固形製剤は、式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体を、常法に従って適当な添加剤、例えば乳糖、ショ糖、Ｄ－マンニトール、トウモロコシデンプン、合成若しくは天然ガム、結晶セルロース等の賦形剤、デンプン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アラビアゴム、ゼラチン、ポリビニルピロリドン等の結合剤、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、デンプン、コーンスターチ、アルギン酸ナトリウム等の崩壊剤、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸ナトリウム等の滑沢剤、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、リン酸ナトリウム等の充填剤又は希釈剤等と適宜混合して製造される。錠剤等は、必要に応じて、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、白糖、ポリエチレングリコール、酸化チタン等のコーティング剤を用いて、糖衣、ゼラチン、腸溶被覆、フィルムコーティング等が施されても良い。
- [0035] 本発明の抗がん剤が、注射剤、点眼剤、点鼻剤、吸入剤、噴霧剤、ローション剤、シロップ剤、液剤、懸濁剤、乳剤等の液状製剤である場合、これら

の液状製剤は、式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体を、精製水、リン酸緩衝液等の適当な緩衝液、生理的食塩水、リンゲル溶液、ロック溶液等の生理的塩類溶液、カカオバター、ゴマ油、オリーブ油等の植物油、鉱油、高級アルコール、高級脂肪酸、エタノール等の有機溶媒等に溶解して、必要に応じてコレステロール等の乳化剤、アラビアゴム等の懸濁剤、分散助剤、浸潤剤、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油系、ポリエチレングリコール系等の界面活性剤、リン酸ナトリウム等の溶解補助剤、糖、糖アルコール、アルブミン等の安定化剤、パラベン等の保存剤、塩化ナトリウム、ブドウ糖、グリセリン等の等張化剤、緩衝剤、無痛化剤、吸着防止剤、保湿剤、酸化防止剤、着色剤、甘味料、フレーバー、芳香物質等を適宜添加することにより、滅菌された水溶液、非水溶液、懸濁液、リポソーム又はエマルジョン等として調製される。この際、注射剤は、生理学的なpHを有することが好ましく、6～8の範囲内のpHを有することが特に好ましい。

[0036] 本発明の抗がん剤が、ローション剤、クリーム剤、軟膏等の半固形製剤の場合、これらの半固形製剤は、前記式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体を脂肪、脂肪油、ラノリン、ワセリン、パラフィン、蠟、硬膏剤、樹脂、プラスチック、グリコール類、高級アルコール、グリセリン、水、乳化剤、懸濁化剤等と適宜混和することにより製造される。

[0037] 本発明の抗がん剤中の式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体の含有量は、投与形態、重篤度や目的とする投与量などによって様々であるが、一般的には、抗がん剤の全質量に対する式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体の割合が、好ましくは0.001～80質量%、更に好ましくは0.1～50質量%である。

[0038] 本発明の抗がん剤の投与量は、例えば患者の年齢、性別、体重、症状及び投与経路などの条件に応じて適宜医師により決定されるものであるが、一般的には、成人一日あたりの有効成分の量として $1\mu\text{g}/\text{kg}$ から $1,000\text{mg}/\text{kg}$ 程度の範囲であり、好ましくは $10\mu\text{g}/\text{kg}$ から $10\text{mg}/\text{kg}$ 程度の範囲である。この投与量の範囲内において、抗がん剤を一日一回で

投与することができ、あるいは数回（例えば、2～4回程度）に分けて投与することができる。

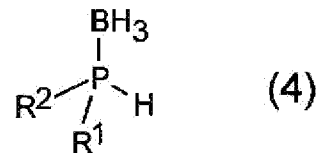
[0039] 本発明の抗がん剤の使用においては、既知の化学療法、外科的治療法、放射線療法、温熱療法や免疫療法などと組み合わせることもできる。

[0040] 最後に、先に述べた式（3）で表される（S，S）-2，3-ビスホスフィノピラジン誘導体の好適な製造方法について説明する。式（3）で表される化合物は、以下の工程Ⅰ、Ⅱ及びⅢを経ることによって好適に製造される。

[0041] [工程Ⅰ]

以下の式（4）で表される水素-ホスフィンボラン化合物と、

[0042] [化6]



式中、 R^1 及び R^2 は前記と同義である。

[0043] 以下の式（5）で表される光学活性イソシアネート化合物とをカップリング反応に付して、

[0044] [化7]

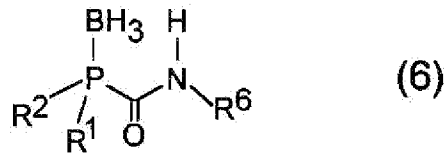


式中、 R^6 は不斉炭化水素基又は置換不斉炭化水素基を表す。

[0045] 以下の式（6）で表されるホスフィンボラン化合物を得た後、

[0046]

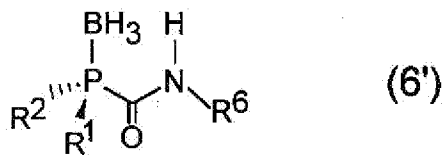
[化8]



式中、 R^1 、 R^2 及び R^6 は前記と同義である。

[0047] 得られた式(6)で表されるホスフィンボラン化合物を光学分割により精製して、以下の式(6')で表される光学活性なホスフィンボラン化合物を得る。

[0048] [化9]

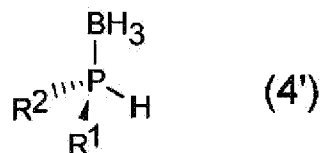


式中、 R^1 、 R^2 及び R^6 は前記と同義である。

[0049] [工程II]

工程Iで得られた式(6')で表されるホスフィンボラン化合物を分解反応に付して、
以下の式(4')で表される光学活性な水素-ホスフィンボラン化合物を得る。

[0050] [化10]



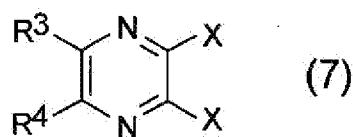
式中、 R^1 及び R^2 は前記と同義である。

[0051] [工程III]

工程IIで得られた式(4')で表される光学活性な水素-ホスフィンボラ

ン化合物と、以下の式（７）で表される２，３－ジハロゲノピラジンとを反応させて、

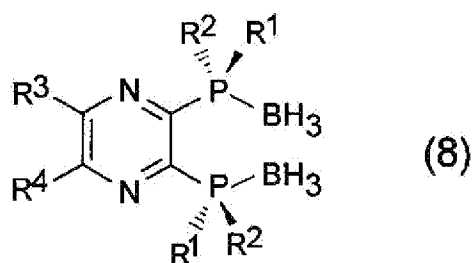
[0052] [化11]



式中、 R^3 及び R^4 は前記と同義であり、 X はハロゲン原子を表す。

[0053] 以下の式（８）で表される光学活性なビス（ホスフィン－ボラン）ピラジン化合物を得た後、

[0054] [化12]



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 は前記と同義である。

[0055] 前記の式（８）で表されるビス（ホスフィン－ボラン）ピラジン化合物の脱ボラン化反応を行って、前記の式（３）で表される（*S*，*S*）－２，３－ビスホスフィノピラジン誘導体を得る。

[0056] 以上の工程Ⅰ～工程Ⅲについて、以下にそれらの詳細を説明する。

[0057] （１）工程Ⅰについて

工程Ⅰにおいては、反応容器中で、式（４）で表される水素－ホスフィンボラン化合物と式（５）で表される光学活性イソシアネート化合物を混合し、カップリング反応を進行させる。その際、反応系に塩基を加えて反応を促進させることが好ましい。このカップリング反応により、式（６）で表されるホスフィンボラン化合物が生成する。式（４）で表される水素－ホスフィ

ンボラン化合物としては、S体とR体との混合物（例えばラセミ体）を用いることができる。式（4）で表される水素－ホスフィンボラン化合物としてS体とR体との混合物を用いると、カップリング反応により生成する式（6）で表されるホスフィンボラン化合物は、S_p体とR_p体との混合物となる（S_p体は不斉リン原子の立体配置がSである化合物を意味し、R_p体は不斉リン原子の立体配置がRである化合物を意味する）。

[0058] カップリング反応時には、適宜溶媒が使用される。この溶媒としては、反応基質を分解しない溶媒が使用され、具体例としては、トルエン、ヘキサン、テトラヒドロフラン（THF）、ジエチルエーテル、ジオキサン、アセトン、酢酸エチル、クロロベンゼン、ジメチルホルムアミド（DMF）、アセトニトリル、メタノール、エタノール、水等が挙げられる。好ましくはトルエン又はTHFである。

[0059] 反応時の溶媒の添加量は、反応時における反応混合物の流動性及び溶媒の反応に与える効果を考慮して、適宜に設定することができる。

[0060] 反応時の原料の仕込み量は、式（5）で表される光学活性イソシアネート化合物を基準として、式（4）で表される水素－ホスフィンボラン化合物が好ましくは0.4～1.5当量である。

[0061] 反応時に塩基を加えると反応が促進する。塩基としては、例えばピリジン、トリエチルアミン、トリブチルアミン、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデセン-7（DBU）、1,5-ジアザビシクロ[4.3.0]ノネン-5（DBN）、4-（N,N-ジメチルアミノ）ピリジン（DMA P）等の有機塩基、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等の無機塩基、n-ブチルリチウム、sec-ブチルリチウム、tert-ブチルリチウム、リチウムジイソプロピルアミド、イソプロピルマグネシウムクロリド、メチルマグネシウムブロミド等の有機金属が挙げられる。好ましい塩基はn-ブチルリチウムである。

[0062] 塩基の仕込量は、必要とされる反応の促進の度合いに応じて適宜に設定することができる。例えば式（5）で表される光学活性イソシアネート化合物

に対し、塩基を通常0.1mol%～150mol%用い、好ましくは1mol%～10mol%用いる。原料及び塩基を仕込む順序は本製造方法において特に臨界的ではなく、作業性等に応じて任意に決定できる。

[0063] 反応温度は、通常-80～50℃であり、特に0～30℃とすることが、反応が促進されかつ副反応及びラセミ化が抑制される点から好ましい。反応時間は、通常1分～24時間であり、特に30分～4時間であれば反応が完結するのに十分であるので好ましい。

[0064] カップリング反応に用いられる式(4)で表される水素-ホスフィンボラン化合物としては、市販品を使用することができる。そのような市販品は例えば日本化学工業(株)から入手可能である。式(5)で表される光学活性イソシアネート化合物も、市販品を使用することができ、例えば東京化成工業(株)から入手可能である。

[0065] 式(5)で表される光学活性イソシアネート化合物において、R⁶は、不斉炭化水素基又は置換不斉炭化水素基を示す。不斉炭化水素基としては、例えば(S)-1-フェニルエチル基、(R)-1-フェニルエチル基、(S)-1-(p-トルイル)エチル基、(R)-1-(p-トルイル)エチル基、(S)-1-(1-ナフチル)エチル基、(R)-1-(1-ナフチル)エチル基、(S)-1-シクロヘキシルエチル基、(R)-1-シクロヘキシルエチル基、(S)-2-(4-メチルフェニル)-1-フェニルエチル基、(R)-2-(4-メチルフェニル)-1-フェニルエチル基等が挙げられる。これらの中でも、工業的に安価に利用できる(S)-1-フェニルエチル基、(R)-1-フェニルエチル基が好ましい。

[0066] R⁶で表される置換不斉炭化水素基としては、前記の不斉炭化水素基の少なくとも1個の水素原子が炭化水素基、アルコキシ基、ハロゲン原子、アミノ基、ニトロ基、保護基を有するアミノ基等の置換基で置換された炭化水素基、又は上記不斉炭化水素基の少なくとも1個の炭素原子が酸素、窒素、硫黄、リン等のヘテロ原子で置換した基等が挙げられる。

[0067] カップリング反応後に、副生塩を除去し、光学分割によって式(6)で表

されるホスフィンボラン化合物の対掌体（S p 体とR p 体）のうち、R p 体、すなわち式（6'）で表されるホスフィンボラン化合物を単離する。式（6'）で表されるホスフィンボラン化合物は、リン原子上又はリン原子を不斉面の一点とする不斉部分、及び光学活性カルバモイル基を有することを特徴とする、不斉点を2点有するジアステレオマーである。光学分割には、分液洗浄、晶析、蒸留、昇華、カラムクロマトグラフィー等を用いることができる。工業的な観点から好ましい光学分割の方法は晶析である。

[0068] 式（6）で表されるホスフィンボラン化合物の対掌体から、式（6'）で表されるホスフィンボラン化合物を首尾よく単離するためには、R⁶で表される基を適切に選択すればよい。例えば式（6'）においてR¹がtert-ブチル基であり、R²がメチル基である場合には、R⁶で表される基として（S）-不斉炭化水素基又は（S）-置換不斉炭化水素基を用いると、晶析によって式（6'）で表されるホスフィンボラン化合物（つまりS p 体）が優先的に沈殿する一方で、R p 体は溶液中にとどまったままとなるので、両者を首尾よく分離することができる。

[0069] （2）工程IIについて

工程Iで得られた式（6'）で表されるホスフィンボラン化合物と塩基とを反応容器中で混合し、該ホスフィンボラン化合物を分解する。分解反応促進のためにアルコールを添加することが好ましい。反応後、副生物を除去し、式（4'）で表される光学活性な水素-ホスフィンボラン化合物を得る。

[0070] 反応時には適宜溶媒が使用される。この溶媒としては、反応基質を分解しない溶媒が使用され、具体例としては、トルエン、ヘキサン、テトラヒドロフラン（THF）、ジエチルエーテル、ジオキサン、アセトン、酢酸エチル、クロロベンゼン、ジメチルホルムアミド（DMF）、アセトニトリル、メタノール、エタノール、水等が挙げられる。特にDMF又はアセトニトリルを用いることが好ましい。

[0071] 反応時の溶媒の添加量は、反応時における反応混合物の流動性及び溶媒の反応に与える効果を考慮して、適宜に設定することができる。

[0072] 前記の塩基としては、例えばピリジン、トリエチルアミン、トリブチルアミン、1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] ウンデセン-7 (DBU)、1, 5-ジアザビシクロ [4. 3. 0] ノネン-5 (DBN)、4-(N, N-ジメチルアミノ) ピリジン (DMAP) 等の有機塩基、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等の無機塩基が挙げられる。均一系又は液-液の二相系で反応させるために、塩基は溶液として供給されることが好ましい。例えば塩基として水酸カリウムを用いる場合には、例えば1~70質量%の水溶液又はメタノール溶液とすることが好ましい。

[0073] 塩基の仕込量は、必要とされる反応の促進の度合いに応じて適宜に設定することができる。例えば式(6')で表されるホスフィンボラン化合物に対し、塩基を通常0.01当量~10当量添加することができ、特に0.1当量~5当量添加することが好ましい。式(6')で表されるホスフィンボラン化合物及び塩基を仕込む順序は本製造方法において特に臨界的ではなく、作業性等に応じて任意に決定できる。

[0074] 反応を促進する目的で、上述のとおりアルコールを加えることが好ましい。このアルコールとしては、例えばメタノールやエタノールを用いることができ、特にメタノールを用いることが好ましい。

[0075] 反応温度は、通常-80~50℃であり、特に0~30℃とすることが、反応が促進されかつ副反応及びラセミ化が抑制される点から好ましい。反応時間は、通常1分~24時間であり、特に3時間~20時間であれば反応が完結するのに十分であるので好ましい。

[0076] 反応後、得られた生成物は、副生塩の除去のみといった簡単な精製作業の後に工程IIIに供することができる。あるいは、分液洗浄、晶析、蒸留、昇華、カラムクロマトグラフィーといった精製作業によって、式(4')で表される光学活性な水素-ホスフィンボラン化合物のみを単離した後に、これを工程IIIに供することもできる。

[0077] (3) 工程IIIについて

本工程において用いられる式（７）で表される化合物において、Xで表されるハロゲン原子としては、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素が挙げられる。

[0078] 式（７）で表される２，３－ジハロゲノピラジン誘導体としては、例えば市販品を使用することができる。そのような市販品としては、例えば東京化成工業（株）から入手可能な化合物である２，３－ジクロロキノキサリンが挙げられる。

[0079] 工程IIIにおいて、工程IIで得られた式（４'）で表される光学活性な水素－ホスフィンボラン化合物と、式（７）で表される２，３－ジハロゲノピラジン誘導体との反応は、例えば塩基の存在下、不活性溶媒中、－７８～３０℃で、１～２４時間行われる。この反応により、式（８）で表されるビス（ホスフィン－ボラン）ピラジン化合物が得られる。

[0080] 反応時の原料の仕込み量は、式（７）で表される２，３－ジハロゲノピラジン誘導体を基準として、式（４'）で表される光学活性な水素－ホスフィンボラン化合物が好ましくは２～１０当量であり、更に好ましくは２～３当量である。

[0081] 本工程において用いられる前記の不活性溶媒としては、例えばテトラヒドロフラン、N，N－ジメチルホルムアミド、ジエチルエーテル、ジブチルエーテル、ジオキサン、ヘキサン、トルエン等が挙げられる。特にテトラヒドロフランを用いることが好ましい。反応時の不活性溶媒の添加量は、反応時における反応混合物の流動性及び溶媒の反応に与える効果を考慮して、適宜に設定することができる。

[0082] 本工程において用いられる前記の塩基としては、例えばn－ブチルリチウム、メチルマグネシウムブロミド、t－ブトキシカリウム、水酸化カリウム、水酸化ナトリウム等が挙げられる。特にn－ブチルリチウムを用いることが好ましい。塩基の仕込量は、必要とされる反応の促進の度合いに応じて適宜に設定することができる。例えば式（７）で表される２，３－ジハロゲノピラジン誘導体に対し、塩基を通常２～１０当量添加することができ、２～３当量添加することが好ましい。本工程において各化合物を仕込む順序は臨界

的でなく、作業性等に応じて任意に決定できる。

[0083] 式(8)で表されるビス(ホスフィン-ボラン)ピラジン化合物の脱ボラン化反応は、例えば、前記反応によって得られた該ビス(ホスフィン-ボラン)ピラジン化合物を含有する反応系に、脱ボラン化剤を添加し、0～100℃で、10分～3時間行われる。この脱ボラン化反応によって、目的物である式(3)で表される光学活性な(S, S)-2, 3-ビスホスフィノピラジン誘導体を得られる。

[0084] 前記の脱ボラン化剤としては、例えばN, N, N', N', -テトラメチルエチレンジアミン(TMEDA)、トリエチレンジアミン(DABCO)、トリエチルアミン等が挙げられる。特にTMEDAを用いることが好ましい。脱ボラン化剤の仕込量は、式(8)で表されるビス(ホスフィン-ボラン)ピラジン化合物を得る際に用いた前記式(7)で表される2, 3-ジハロゲノピラジン誘導体に対し、通常2～20当量であり、好ましくは2～10当量である。

[0085] 脱ボラン化反応により生成した式(3)で表される光学活性な(S, S)-2, 3-ビスホスフィノピラジン誘導体は、必要に応じて分液洗浄、晶析、蒸留、昇華、カラムクロマトグラフィーといった精製作業に付してもよい。

実施例

[0086] 以下に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、かかる実施例はあくまで例示であって、本発明の適用範囲はこれに限定されない。

[0087] すべての合成操作は、よく乾燥させたガラス容器を使って行った。反応は窒素雰囲気下で行った。原料試薬及び溶媒は、一般の試薬を使用した。ラセミのtert-ブチルメチルホスフィンボランは、日本化学工業(株)製のものを使用した。

[0088] NMRスペクトル測定は、JEOL製(¹H; 300MHz、¹³C; 75.4MHz、³¹P; 121.4MHz)NMR装置で行った。内部標準としてテトラメチルシラン(¹H)を使用した。比旋光度測定は、堀場製作所製比旋光度

計SEPA-300で行った。

[0089] 〔実施例1〕

＜工程I＞ (S_P)-tert-ブチル(メチル) [N-((S)-1-フェニルエチル) カルバモイル] ホスフィンボランの製造

3 L四つ口フラスコに、機械攪拌シール、温度計、等圧滴下ろうと及び排気部を備えた。そこへ、ラセミーtert-ブチルメチルホスフィンボラン141.8 g (1202 mmol) 及びTHF600 ccを入れ、ラセミーtert-ブチルメチルホスフィンボランを溶解させ、10℃以下に保持しながら1.59 mol/Lのn-ブチルリチウム-ヘキサン溶液75 cc (119 mmol) を滴下した。続いて、同温度にて(S)-(-)-α-メチルベンジルイソシアネート176.8 g (1201 mmol) を滴下した。その後室温に戻し、一晩攪拌熟成した。5重量%塩酸90 g加えて反応を停止した後、ヘキサン240 cc及び水240 ccを加えて2層に分画した。水層を除去し、有機層を2.5重量%重曹水240 g、続いて水240 ccで洗い、濃縮して、粗生物(白色フレーク状固体)として、一般式(3)で表されるホスフィンボラン化合物を得た(348.3 g)。粗生物を酢酸エチル240 cc+ヘキサン1800 ccで晶析し、ろ過、乾燥して無色粉末を得た。NMR分析により、得られた無色粉末は表題化合物と同定された。NMR分析結果を以下に示す。また、得られた無色粉末は、収量118.6 g (447 mmol)、収率37% (イソシアネートから)、ジアステレオマー過剰率>97% deであった。ジアステレオマー過剰率は、¹H-NMRのSP及びRPの特定部プロトンの面積比から決定した。

[0090] (NMR分析結果)

¹H-NMR (CDCl₃) ;

(S_P)-体(目的物) ; -0.5-1 (3H, m), 1.14 (9H, d, 14.7 Hz), 1.45 (3H, d, 10.5 Hz), 1.53 (3H, d, 6.9 Hz), 5.15 (1H, pent, 6.9 Hz), 7.2-7.4 (6H, m).

(R_P)-体; -0.5-1 (3H, m), 1.25 (9H, d, 14.7 Hz), 1.42 (3H, d, 10.5 Hz), 1.53 (3H, d, 6.9 Hz), 5.15 (1H, pent, 6.9 Hz), 7.2-7.4 (6H, m).

[0091] <工程II> 光学活性水素-ホスフィンボラン化合物 [(R)-tert-ブチルメチルホスフィン-ボラン] の製造

200cc四つ口フラスコに、機械攪拌シール、温度計及び排気部を備え、そこへ、工程Iで得られた(S_P)-tert-ブチル(メチル) [N-(S)-1-フェニルエチル]カルバモイル]ホスフィン-ボラン10.03g (37.8mmol) 及びDMF100ccを入れ、ホスフィン-ボランを溶解させた後、氷水浴にて10℃以下とした。ここに50重量%水酸化カリウム水溶液21.26g (189mmol) とメタノール25ccを添加した。次に、氷水浴をはずして18時間攪拌熟成した。次いで、500cc三角フラスコに冷水100ccと石油エーテル100ccを入れ、ここに反応液を分散させることで反応を停止した。水層と有機層とを分離し、水層を石油エーテル100ccで再抽出し、先に分離した有機層と合わせた後、水50ccで2回洗い、無水硫酸ナトリウムにて乾燥した。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ワコーゲルC200)にて精製し、無色粉末を得た。NMR分析により、得られた無色粉末は表題化合物と同定された。NMR分析結果を以下に示す。また、得られた無色粉末は、収量3.01g (25.5mmol)、収率67%であった。

[0092] (NMR分析結果)

¹H-NMR (CDCl₃);

-0.5-1 (3H, m), 1.22 (9H, d, 14.7 Hz), 1.32 (3H, dd, 10.5 Hz, 6.0 Hz), 4.4 (1H, dm, 35.5 Hz).

[0093] <工程III> (S, S)-2,3-ビス(tert-ブチルメチルホスフィン)キノキサリンの製造

工程IIで得られた(R)-tert-ブチルメチルホスフィン-ボラン3.01 g (25.5 mmol) をフラスコ中で脱水THF 25 cc に溶解し、 -78°C に冷却した。ここに1.65 mol/L のn-ブチルリチウム-ヘキサン溶液 15.5 cc (25.6 mmol) を滴下して加え、同温度で15分攪拌熟成した。続いて2,3-ジクロロキノキサリン 1.703 mg (8.56 mmol) をよく攪拌しながら一度に加えた。添加後、1時間かけて室温に戻し、3時間攪拌した。続いてテトラメチルエチレンジアミン 10.07 g (87 mmol) を添加し、室温(25°C)で2時間攪拌熟成した。1M塩酸を加えて反応停止し、ヘキサンを加えて有機成分を抽出した。有機層を1M塩酸、続いて飽和食塩水で分液洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。溶媒を減圧留去し、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=30/1)で精製し、表題化合物を橙色粉末として得た。更に熱メタノールから再結晶精製して橙色立方晶の結晶を得た。収量は2.149 mg (6.427 mmol)、収率は75%であった。得られた表題化合物の分析結果を以下に示す。

[0094] (分析結果)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) ;

1.02 (18H, t, 6.0 Hz), 1.4 (6H, t, 3.2 Hz), 7.68–7.75 (2H, m), 8.07–8.14 (2H, m).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) ;

4.8 (d), 27.6 (t), 31.9 (t), 129.6 (d), 141.6, 165.1 (d), 165.2 (d).

$^{31}\text{P-NMR}$ (CDCl_3) ;

–16.6.

比旋光度; $+53.5^{\circ}$ ($[\alpha]_{\text{D}_{22}}^{\text{D}} (c=1, \text{CHCl}_3)$; なお、(R, R)体は比旋光度 -54.3° であることが既知である)

融点; $102-103^{\circ}\text{C}$

[0095] <工程IV> (R, R, R, R)-ビス(2,3-ビス(tert-ブチル

メチルホスフィノ)キノキサリン)金(I)クロリドの合成

窒素ガスで置換した500mlニロフラスコに、前記の方法で得られた(S, S)-2, 3-ビス(tert-ブチルメチルホスフィノ)キノキサリン5.50g(16.4mmol)を一般品THF220mlに溶かした。ここにテトラブチルアンモニウム金ジクロリド4.19g(8.2mmol)を加え、室温で5時間攪拌した。生成した褐色沈殿をろ別し、次いでジクロロメタン42mlに溶かして水50mlで洗浄し、更に硫酸ナトリウムで乾燥した。これをろ過したのち溶液を乾固させた。この固体をジクロロメタン50mlに溶解し、ジエチルエーテル270mlを加え、0℃にしたところ固体が析出し、(R, R, R, R)-ビス(2, 3-ビス(tert-ブチルメチルホスフィノ)キノキサリン)金(I)クロリド7.26g(収率98%)を得た。

[0096] (分析結果)

- ・ ^{31}P -NMR (CDCl_3) ; 13.6
- ・HPLC (カラム スミキラル OA-8000 4.6×250mm、移動層 ヘキサン:エタノール:メタノール:トリフルオロ酢酸=930:40:30:1、流速1.0ml/min、温度35℃、UV 254nm、溶離時間; 49.5分

[0097] [比較例1]

(1) <(R, R)-2, 3-ビス(tert-ブチルメチルホスフィノ)キノキサリンの合成>

本出願人の先の出願に係る特開2007-56007号公報における実施例1の記載に従い、(R, R)-2, 3-ビス(tert-ブチルメチルホスフィノ)キノキサリンを得た。

[0098] (2) <(S, S, S, S)-ビス(2, 3-ビス(tert-ブチルメチルホスフィノ)キノキサリン)金(I)クロリドの合成>

(R, R)-2, 3-ビス(tert-ブチルメチルホスフィノ)キノキサリンを用いる以外は、実施例1の工程IVと同様にして、(S, S, S, S

）ービス（2，3ービス（*tert*-ブチルメチルホスフィノ）キノキサリン）金（I）クロリドを得た。この化合物は、式（1a'）で表される化合物に包含されるものである。

・ ^{31}P -NMR（ CDCl_3 ）；13.6

・ $[\alpha]_D^{25} = +195.3$ （ $c = 0.5$ 、メタノール、25℃）

[0099] [評価]

実施例及び比較例で得られたホスフィン遷移金属錯体について、*in vivo*抗腫瘍活性試験及びマウスに経口投与したときの毒性試験を以下の方法で行った。それらの結果を以下の表1に示す。

[0100] [*in vivo*抗腫瘍活性試験]

また、実施例及び比較例で得られたホスフィン遷移金属錯体について、*in vitro*の抗腫瘍活性試験を行った。具体的には、癌細胞としてBGC-823（ヒト胃腺癌）を使用し、10%非働化新生仔ウシ血清、レーグルタミン、ピルビン酸ナトリウム、 $1 \times 10^5 \text{ U/L}$ ペニシリン、 100 mg/L ストレプトマイシンを補足した培地（RPMI-1640又はDEME）中でインキュベータ中、37℃で培養した。細胞は1ウェルあたり 2×10^5 となるように加えた。次にジメチルスルホキシドに溶解したホスフィン遷移金属錯体溶液を加え48時間培養した。48時間培養した後、1ウェルあたり 5 mg/mL の（3，[4，5-dimethylthiazol-2-yl]-2，5-diphenyltetrazolium bromide、MTT）溶液を $20 \mu\text{L}$ 加え、3～4時間培養器で培養した。更に1ウェルあたり溶解液を $100 \mu\text{L}$ 加え生成したホルマザン結晶を完全に可溶化させた。そして、492nmにおける吸光度を測定して IC_{50} を算出した。

[0101] [毒性試験]

実施例及び比較例で得られたホスフィン遷移金属錯体を、マウスに静脈注射したときの毒性試験を行った。具体的には、KMマウスの雄雌を約1週間検疫・馴化飼育した後、選ばれたラット雄雌各10匹計20匹を一群とした。投与前一晩絶食させた体重を記録したラットに、溶媒としてコーンオイル

を用い、実施例及び比較例で得られたホスフィン遷移金属錯体を、 LD_{50} を決定するために十分な死亡例が出る群が含まれるように設定して単回静脈注射した。投与後、10、30分、1、2、4時間及び以後毎日、14日目まで観察しラットの生存率から50%致死量 (LD_{50}) を求めた。

[0102] [表1]

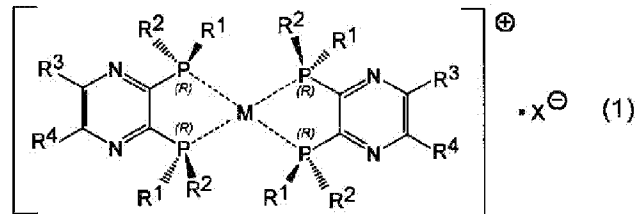
	in vitro抗腫瘍活性 IC50(μ g/ml)	静脈注射
	BGC-823	LD50(mg/kg)
実施例1	0.73	49.5
比較例1	6.54	45.0

[0103] 表1に示す結果から、本発明のホスフィン遷移金属錯体を含む抗がん剤は、従来よりも抗がん活性が高く、かつ毒性の低いものであることが判る。

請求の範囲

[請求項1] 以下の式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体含有することを特徴とする抗がん剤。

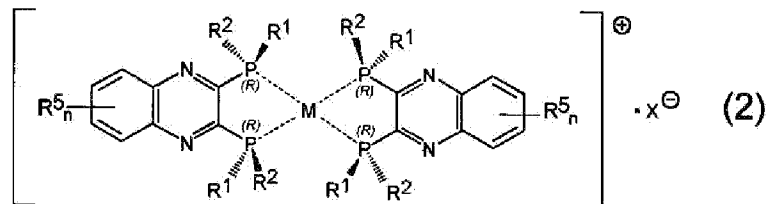
[化1]



式中、 R^1 及び R^2 は、直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、シクロアルキル基、置換基を有するシクロアルキル基、アダマンチル基、フェニル基又は置換基を有するフェニル基を表し、炭素数が1～10であり、 R^1 と R^2 とは互いに異なり、かつRS表示法に従う順位付けにおいて R^1 は R^2 よりも優先順位が高い。 R^3 及び R^4 は、水素原子又は直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基を表し、炭素数が1～6であり、同一の基であっても異なる基であってもよい。 R^3 及び R^4 は、互いに結合して飽和又は不飽和の環を形成していてもよく、該飽和又は不飽和の環は、置換基を有していてもよい。 M は、金、銅及び銀の群から選ばれる遷移金属原子を表す。 X^- は、アニオンを表す。

[請求項2] 以下の式（２）で表されるホスフィン遷移金属錯体含有する請求項１記載の抗がん剤。

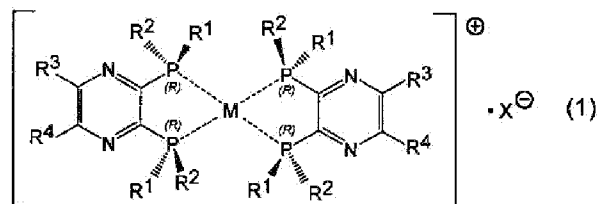
[化2]



式中、 R^1 及び R^2 並びに X^- 及び M は前記と同義である。
 R^5 は同一の又は異なる一価の置換基を表す。 n は0～4の整数を表す。

[請求項3] 以下の工程ⅠないしⅣを有することを特徴とする以下の式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体の製造方法。

[化3]

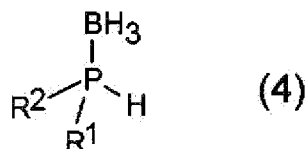


式中、 R^1 及び R^2 は、直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基、シクロアルキル基、置換基を有するシクロアルキル基、アダマンチル基、フェニル基又は置換基を有するフェニル基を表し、炭素数が1～10であり、 R^1 と R^2 とは互いに異なり、かつRS表示法に従う順位付けにおいて R^1 は R^2 よりも優先順位が高い。 R^3 及び R^4 は、水素原子又は直鎖状若しくは分岐鎖状のアルキル基を表し、炭素数が1～6であり、同一の基であっても異なる基であってもよい。 R^3 及び R^4 は、互いに結合して飽和又は不飽和の環を形成していてもよく、該飽和又は不飽和の環は、置換基を有していてもよい。 M は、金、銅及び銀の群から選ばれる遷移金属原子を表す。 X^- は、アニオンを表す。

[工程I]

以下の式（4）で表される水素－ホスフィンボラン化合物と、

[化4]



式中、 R^1 及び R^2 は前記と同義である。

以下の式（5）で表される光学活性イソシアネート化合物とをカップリング反応に付して、

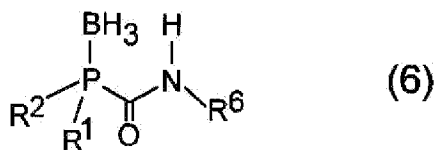
[化5]



式中、 R^6 は不斉炭化水素基又は置換不斉炭化水素基を表す。

以下の式（6）で表されるホスフィンボラン化合物を得た後、

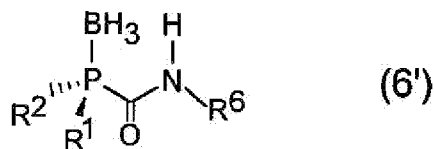
[化6]



式中、 R^1 、 R^2 及び R^6 は前記と同義である。

得られた式(6)で表されるホスフィンボラン化合物を光学分割により精製して、以下の式(6')で表される光学活性なホスフィンボラン化合物を得る。

[化7]



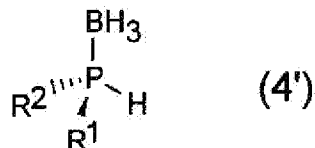
式中、 R^1 、 R^2 及び R^6 は前記と同義である。

[工程II]

工程Iで得られた式(6')で表されるホスフィンボラン化合物を分解反応に付して、

以下の式(4')で表される光学活性な水素－ホスフィンボラン化合物を得る。

[化8]

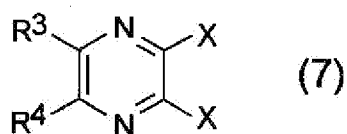


式中、 R^1 及び R^2 は前記と同義である。

[工程III]

工程IIで得られた式(4')で表される光学活性な水素－ホスフィンボラン化合物と、以下の式(7)で表される2, 3－ジハロゲノピラジンとを反応させて、

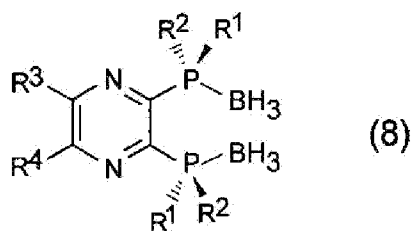
[化9]



式中、 R^3 及び R^4 は前記と同義であり、Xはハロゲン原子を表す。

以下の式（8）で表される光学活性なビス（ホスフィンーボラン）ピラジン化合物を得た後、

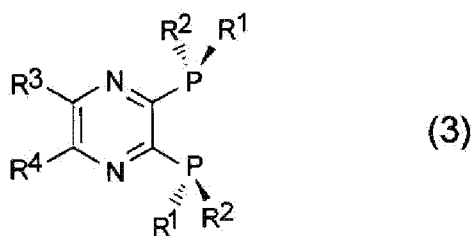
[化10]



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 は前記と同義である。

前記の式（8）で表されるビス（ホスフィンーボラン）ピラジン化合物の脱ボラン化反応を行って、以下の式（3）で表される（S， S）－2， 3－ビスホスフィノピラジン誘導体を得る。

[化11]



式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 は前記と同義である。

[工程IV]

工程IIIで得られた式（3）で表される（S， S）－2， 3－ビスホスフィノピラジン誘導体と、金、銅又は銀の塩とを反応させて前記

の式（１）で表されるホスフィン遷移金属錯体を得る。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/059179

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/555(2006.01)i, A61K31/4965(2006.01)i, A61K31/498(2006.01)i,
 A61K31/66(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P35/02(2006.01)i, A61P35/04
 (2006.01)i, C07B53/00(2006.01)i, C07B57/00(2006.01)i, C07F1/12(2006.01)n
 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/33-33/80, A61P35/00, A61P35/02, A61P35/04, C07B53/00, C07B57/00,
 C07F1/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2007-320909 A (The Nippon Chemical Industrial Co., Ltd.), 13 December 2007 (13.12.2007), claims 1 to 5; paragraphs [0041], [0055]; example 1 & WO 2007/139176 A1 & EP 2030978 A1 & US 2010/0048894 A	1, 2
A	JP 2001-253889 A (The Nippon Chemical Industrial Co., Ltd.), 18 September 2001 (18.09.2001), (Family: none)	3
A	JP 2003-300988 A (The Nippon Chemical Industrial Co., Ltd.), 21 October 2003 (21.10.2003), (Family: none)	3

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
 18 May, 2011 (18.05.11)

Date of mailing of the international search report
 31 May, 2011 (31.05.11)

Name and mailing address of the ISA/
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/059179

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2007-056007 A (National University Corporation Chiba University), 08 March 2007 (08.03.2007), & US 2007/0021610 A1	3
P,A	JP 2010-138136 A (The Nippon Chemical Industrial Co., Ltd.), 24 June 2010 (24.06.2010), & US 2010/0152489 A & GB 2466365 A	3
P,A	IMAMOTO, T. et al, Improved synthetic routes to methylene-bridged P-chiral diphosphine ligands via secondary phosphine-boranes, Tetrahedron: Asymmetry, 2010.06, Vol.21, No.11-12, p.1522-1528	3

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/555(2006.01)i, A61K31/4965(2006.01)i, A61K31/498(2006.01)i, A61K31/66(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P35/02(2006.01)i, A61P35/04(2006.01)i, C07B53/00(2006.01)i, C07B57/00(2006.01)i, C07F1/12(2006.01)n

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/33-33/80, A61P35/00, A61P35/02, A61P35/04, C07B53/00, C07B57/00, C07F1/12

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 1 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 1 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 1 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2007-320909 A (日本化学工業株式会社) 2007. 12. 13, 請求項 1-5, 【0041】, 【0055】, 実施例 1 & WO 2007/139176 A1 & EP 2030978 A1 & US 2010/0048894 A	1, 2
A	JP 2001-253889 A (日本化学工業株式会社) 2001. 09. 18, (ファミリーなし)	3
A	JP 2003-300988 A (日本化学工業株式会社) 2003. 10. 21, (ファミリーなし)	3

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 8 . 0 5 . 2 0 1 1

国際調査報告の発送日

3 1 . 0 5 . 2 0 1 1

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中村 浩

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

4 7 6 4

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2007-056007 A (国立大学法人 千葉大学) 2007. 03. 08, & US 2007/0021610 A1	3
P, A	JP 2010-138136 A (日本化学工業株式会社) 2010. 06. 24, & US 2010/0152489 A & GB 2466365 A	3
P, A	IMAMOTO, T. et al, Improved synthetic routes to methylene-bridged P-chiral diphosphine ligands via secondary phosphine-boranes, Tetrahedron: Asymmetry, 2010. 06, Vol. 21, No. 11-12, p. 1522-1528	3