

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成18年1月5日(2006.1.5)

【公開番号】特開2003-160575(P2003-160575A)

【公開日】平成15年6月3日(2003.6.3)

【出願番号】特願2002-332243(P2002-332243)

【国際特許分類】

C 0 7 D 309/30 (2006.01)

A 6 1 K 31/366 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

【F I】

C 0 7 D 309/30 D

A 6 1 K 31/366

A 6 1 P 35/00

【手続補正書】

【提出日】平成17年11月14日(2005.11.14)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

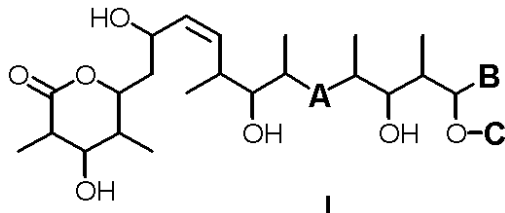
【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式I

【化1】



〔式中、

Aは $-\text{CH}=\text{C}(\text{R}_1)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{R}_2)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{R}_2)\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_2)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CO}_2\text{R}_3)\text{CH}_2-$ または $-\text{CH}_2\text{N}(\text{COR}_2)\text{CH}_2-$ ；

Bは $-\text{CH}(\text{R}_1)\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_2)\text{R}_1$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_1)\text{CH}=\text{CHR}_2$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_1)\text{CH}=\text{CHC}(\text{O})\text{OR}_2$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_1)\text{CH}=\text{CHC}(\text{O})\text{N}(\text{R}_1)\text{R}_2$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_1)\text{CH}_2\text{OR}_2$ またはAr；

CはH、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_1)\text{R}_2$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、または $-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_n-4$ -モルホリノ；

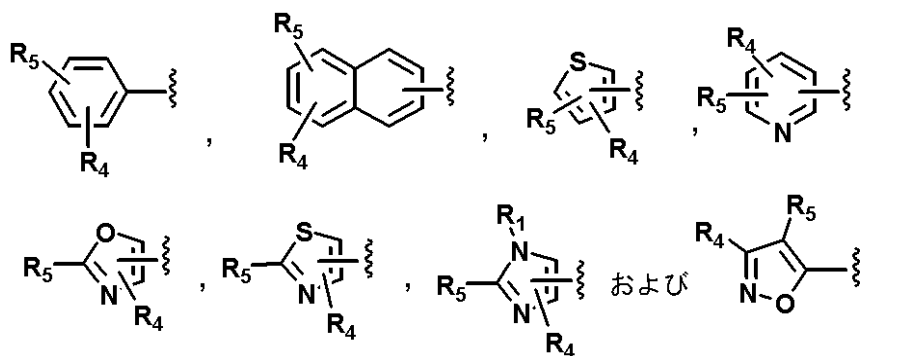
R_1 はHまたは (C_{1-6}) アルキル；

R_2 はH、 (C_{1-6}) アルキル、 (C_{2-6}) アルケニル、 (C_{2-6}) アルキニル、 (C_{1-6}) アルキル-ArまたはAr；

R_3 は (C_{1-6}) アルキル、 (C_{1-6}) アルキル-ArまたはAr；

Arは

【化2】



からなる群から選択される芳香族またはヘテロ芳香族環；

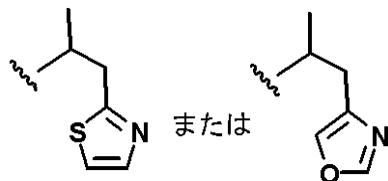
R_4 および R_5 は、

独立して、 H 、 (C_{1-6}) アルキル、 OH 、 $O(C_{1-6})$ アルキル、 $OCH_2(CH_2)_nOH$ 、 $O(CH_2)_nCO_2H$ 、 $OCH_2(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 、 $OCH_2(CH_2)_n-4$ -モルホリノ、 F 、 Cl 、 Br または CF_3 ；および n は1または2；

但し、 A が $-CH=C(CH_3)CH_2-$ または $-CH=CHCH_2-$ である場合；

B は $-CH(CH_3)CH=CHCH=CH_2$ 、 $-CH(CH_3)CH_2Ph$ 、 $-CH(CH_3)Ph$ 、 $-CH(CH_3)-n-Bu$ 、

【化3】



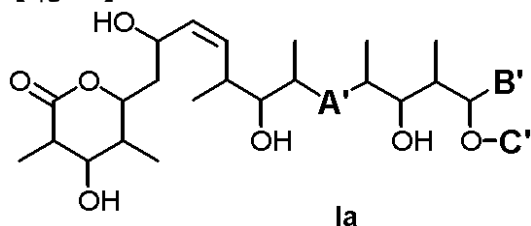
ではない；

または C は $-C(O)N(R_1)R_2$ または H ではない]

で示される化合物、または、可能な場合、その酸または塩基付加塩。

【請求項2】 式1a

【化4】



〔式中、

A' は $-CH=C(R_1')CH_2-$ 、 $-CH_2N(R_2')C(O)-$ 、 $-C(O)N(R_2')CH_2-$ 、 $-CH_2N(CO_2R_3')CH_2-$ または $-CH_2N(COR_2')CH_2-$ ；

B' は $-CH(R_1')CH=CHCH=CH_2$ 、 $-CH(R_2')R_1'$ 、 $-CH(R_1')CH=CHR_2'$ 、 $-CH(R_1')CH_2OR_2'$ または Ar' ；

C' は H 、 $-C(O)N(R_1')R_2'$ 、 $-C(O)NHCH_2(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 、または $-C(O)NHCH_2(CH_2)_n-4$ -モルホリノ；

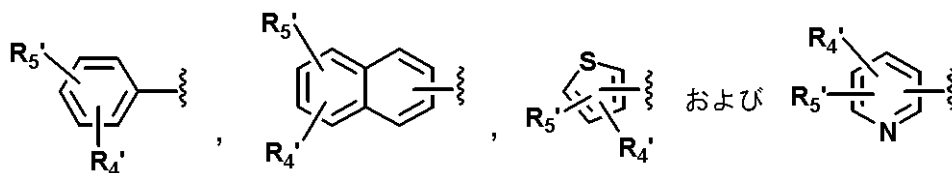
R_1' は H または (C_{1-6}) アルキル；

R_2' は H 、 (C_{1-6}) アルキル、 (C_{2-6}) アルケニル、 (C_{2-6}) アルキニル、 (C_{1-6}) アルキル- Ar' または Ar' ；

R_3' は (C_{1-6}) アルキル、 (C_{1-6}) アルキル- Ar' または Ar' ；

Ar' は

【化5】



からなる群から選択される芳香族またはヘテロ芳香族環；

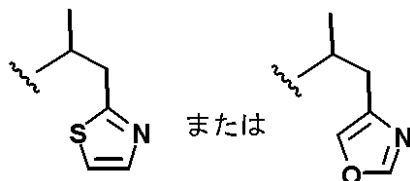
R_4' および R_5' は、

独立して、 H 、 (C_{1-6}) アルキル、 OH 、 $O(C_{1-6})$ アルキル、 $OCH_2(CH_2)_nOH$ 、 $O(CH_2)_nCO_2H$ 、 $OCH_2(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 、 $OCH_2(CH_2)_n$ -4-モルホリノ、 F 、 Cl 、 Br または CF_3 ；および n は1または2；

但し、 A' が $-CH=C(CH_3)CH_2-$ または $-CH=CHCH_2-$ である場合；

B' は $-CH(CH_3)CH=CHCH=CH_2$ 、 $-CH(CH_3)CH_2Ph$ 、 $-CH(CH_3)Ph$ 、 $-CH(CH_3)-n-Bu$ 、

【化6】



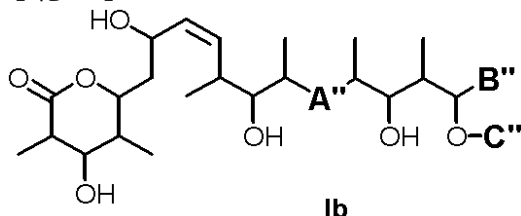
ではない；

または C' は $-C(O)N(R_1')R_2'$ または H ではない]

で示される請求項1に記載の化合物、または、可能な場合、その酸または塩基付加塩。

【請求項3】 式1b

【化7】



〔式中、

A'' は $-CH=C(R_1'')CH_2-$ 、 $-CH_2N(R_2'')C(O)-$ または $-C(O)N(R_2'')CH_2-$ ；

B'' は $-CH(R_1'')CH=CHCH=CH_2$ 、 $-CH(R_2'')R_1''$ 、 $-CH(R_1'')CH=CHR_2''$ 、 $-CH(R_1'')CH_2OR_2''$ または Ar'' ；

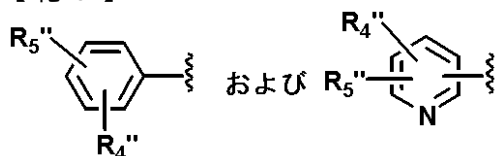
C'' は H 、 $-C(O)N(R_1'')R_2''$ 、 $-C(O)NHCH_2(CH_2)_nN(CH_3)_2$ または $-C(O)NHCH_2(CH_2)_n$ -4-モルホリノ；

R_1'' は H または $-CH_3$ ；

R_2'' は H 、 (C_{1-6}) アルキル、 (C_{2-6}) アルケニル、 (C_{2-6}) アルキニル、 (C_{1-6}) アルキル- Ar'' または Ar'' ；

Ar'' は

【化8】



からなる群から選択される芳香族またはヘテロ芳香族環；

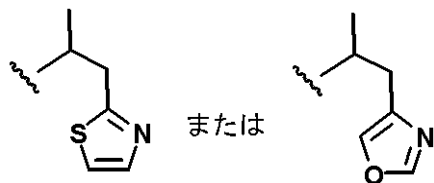
R_4'' および R_5'' は、

独立して、 H 、 (C_{1-6}) アルキル、 OH 、 $O(C_{1-6})$ アルキル、 $OCH_2(CH_2)_nOH$ 、 $O(CH_2)_nCO_2H$ 、 $OCH_2(CH_2)_nN(CH_3)_2$ 、 $OCH_2(CH_2)_n$ -4-モルホリノ、 F 、 Cl 、 Br または CF_3 ；および n は1または2；

但し、A''が $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ または $-\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ である場合：

B''は $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{Ph}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ph}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-n\text{-Bu}$ 、

【化 9】



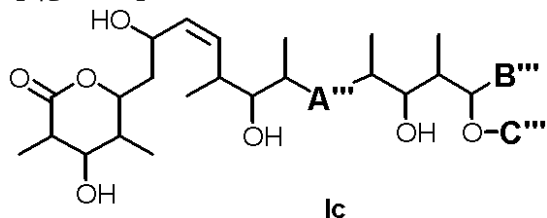
ではない；

またはC''は $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_1'')\text{R}_2''$ またはHではない]

で示される請求項2に記載の化合物、または、可能な場合、その酸または塩基付加塩。

【請求項 4】 式 Ic

【化 10】



〔式中、

A'''は $-\text{CH}=\text{C}(\text{R}_1''')\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{R}_2''')\text{C}(\text{O})-$ または $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_2''')\text{CH}_2-$ ；

B'''は $-\text{CH}(\text{R}_1''')\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_2''')\text{R}_1'''$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_1''')\text{CH}=\text{CH}\text{R}_2'''$ 、 $-\text{CH}(\text{R}_1''')\text{CH}_2\text{OR}_2'''$ または Ar''' ；

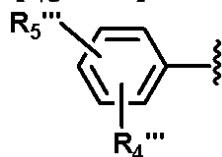
C'''はHまたは $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_1''')\text{R}_2'''$ ；

R₁'''はHまたはCH₃；

R₂'''はH、(C₁₋₆)アルキル、(C₂₋₆)アルケニル、(C₂₋₆)アルキニル、(C₁₋₆)アルキル-Ar''' または Ar'''；

Ar'''は

【化 11】



を有するものから選択する芳香族環；および

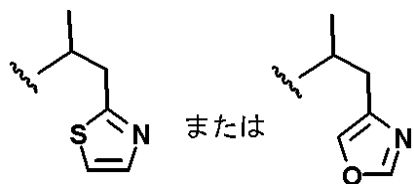
R₄'''およびR₅'''は、

独立して、H、(C₁₋₆)アルキル、OH、O(C₁₋₆)アルキル、F、Cl、BrまたはCF₃；

但し、A''が $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ または $-\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ である場合：

B''は $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{Ph}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ph}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-n\text{-Bu}$ 、

【化 12】



ではない；

またはC'''は $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_1''')\text{R}_2'''$ またはHではない]

で示される請求項3に記載の化合物または、可能な場合、その酸または塩基付加塩。

【請求項 5】 19-[(アミノカルボニル)オキシ]-3,5,7,11,17-ペンタヒドロキシ-2,3,4,10,12,14,16,18,20-ノナメチル-21-(フェニルメトキシ)-8,13-ヘンエイコサジエン酸

-ラクトンおよび

13-[[5-[(アミノカルボニル)オキシ]-3-ヒドロキシ-2,4,6-トリメチル-1-オキソ-7,9-デカジエニル]メチルアミノ]-3,5,7,11-テトラヒドロキシ-2,4,10,12-テトラメチル-8-トリデセン酸 -ラクトン

から選択される化合物、またはそれらの薬学的に許容される酸または塩基付加塩。

【請求項6】 (2R,3S,4S,5S,7S,8Z,10S,11S,12S,13Z,16S,17R,18S,19S,20S)-19-[(アミノカルボニル)オキシ]-3,5,7,11,17-ペンタヒドロキシ-2,3,4,10,12,14,16,18,20-ノナメチル-21-(フェニルメトキシ)-8,13-ヘンエイコサジエン酸 -ラクトンおよび (2R,3S,4R,5S,7S,8Z)-13-[[[(2R,3S,4S,5S,6S,7Z)-5-[(アミノカルボニル)オキシ]-3-ヒドロキシ-2,4,6-トリメチル-1-オキソ-7,9-デカジエニル]メチルアミノ]-3,5,7,11-テトラヒドロキシ-2,4,10,12-テトラメチル-8-トリデセン酸 -ラクトン

から選択される化合物、またはそれらの薬学的に許容される酸または塩基付加塩。

【請求項7】 薬学的に許容される担体または希釈剤と、請求項1から6のいずれかに記載の化合物、または、可能な場合、それらの薬学的に許容される酸または塩基付加塩を含む、医薬組成物。

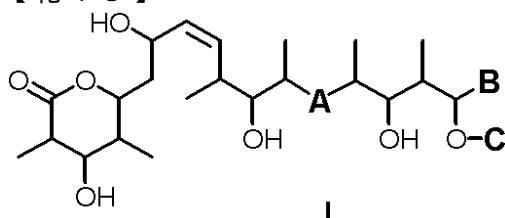
【請求項8】 動物または人体の処置のための、請求項1から6のいずれかに記載の化合物。

【請求項9】 腫瘍疾患の処置のための医薬製剤の製造のための、請求項1から6のいずれかに記載の化合物の使用。

【請求項10】 処置を必要とする哺乳類に、治療的有效量の請求項1から6のいずれかに記載の化合物、または、可能な場合、それらの薬学的に許容される酸または塩基付加塩を投与することを含む、腫瘍の処置法。

【請求項11】 式I

【化13】



〔式中、

Aは-CH=C(R₁)CH₂-、-CH₂N(R₂)CH₂-、-CH₂N(R₂)C(O)-、-C(O)N(R₂)CH₂-、-CH₂N(CO₂R₃)CH₂-または-CH₂N(COR₂)CH₂-；

Bは-CH(R₁)CH=CHCH=CH₂、-CH(R₂)R₁、-CH(R₁)CH=CHR₂、-CH(R₁)CH=CHC(O)OR₂、-CH(R₁)CH=CHC(O)N(R₁)R₂、-CH(R₁)CH₂OR₂またはAr；

CはH、-C(O)N(R₁)R₂、-C(O)NHCH₂(CH₂)_nN(CH₃)₂、または-C(O)NHCH₂(CH₂)_n-4-モルホリノ；

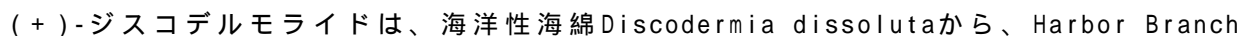
R₁はHまたは(C₁₋₆)アルキル；

R₂はH、(C₁₋₆)アルキル、(C₂₋₆)アルケニル、(C₂₋₆)アルキニル、(C₁₋₆)アルキル-ArまたはAr；

R₃は(C₁₋₆)アルキル、(C₁₋₆)アルキル-ArまたはAr；

Arは

【化14】



Oceanographic Institution(HBOI)の研究者らにより単離された新規ポリケチド類天然産物である(Gunaselera SP、Gunaselera M、Longley RE、Schulte GK. Discodermolide: a new bioactive polyhydroxylated lactone from the marine sponge Discodermia dissoluta.[出版されたJ. Org. Chem. 1991; 56:1346には誤りがある]. J. Org. Chem. 1990; 55:4912-15)。ジスコデルモライドはパクリタキセルとの明白な構造類似性を欠くが、微小管を安定化させる能力はパクリタキセル(医薬タキソールにおける活性物質)と共有する。機構をベースにしたアッセイにおいて、ジスコデルモライドはパクリタキセルよりも有効である。実際、精製チューブリンの重合化を誘導することが知られている少数の化合物の中で、ジスコデルモライドが最も強力である。しかし、細胞における主要な構成成分である微小管はチューブリンの単純な均衡ポリマーではない。それらは および チューブリンのヘテロダイマーの制御された、GTP駆動力的集合として存在する。力学は間期細胞において相対的に遅いが、細胞分裂に入ると、増殖および短縮の速度は、20から100倍増加する - 平均微小管は10秒毎にチューブリンサブユニットの半分をターンオーバーさせる。この速度の変化は、細胞骨格微小管ネットワークが消滅することを助け、微小管の双極性紡錘状アレイを凝集させる。紡錘は染色体に結合し、それらを離す。細胞中の微小管力学の完全な抑制に対する応答は死である。しかし、細胞分裂している細胞はより感受性であり、耐容性域値は細胞タイプ特異的であるように見える。高い親和性で微小管と結合するパクリタキセルのような分子は、チューブリンへの医薬の結合の速度が非常に遅いときでさえ、腫瘍細胞における力学的工程を妨害し、致死をもたらす。ジスコデルモライドはパクリタキセルと競合的にチューブリンに結合する。パクリタキセルがある癌の処置に有用であることが証明されているため、同じ機構のクラスの他の化合物は過増殖性疾患に対して有用性を有し得る。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

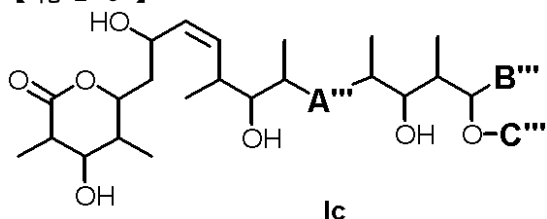
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】

より更に好ましい化合物は、式Ic

【化26】



〔式中、

A'''は-CH=C(R₁''')CH₂-、-CH₂N(R₂''')C(O)-または-C(O)N(R₂''')CH₂-;

B'''は-CH(R₁''')CH=CHCH=CH₂、-CH(R₂''')R₁'''、-CH(R₁''')CH=CH R₂'''、-CH(R₁''')CH₂OR₂'''またはAr''';

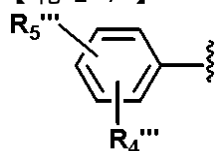
C'''はHまたは-C(O)N(R₁''')R₂''';

R₁'''はHまたはCH₃;

R₂'''はH、(C₁₋₆)アルキル、(C₂₋₆)アルケニル、(C₂₋₆)アルキニル、(C₁₋₆)アルキル-Ar'''またはAr''';

Ar'''は

【化27】



を有するものから選択する芳香族環；および

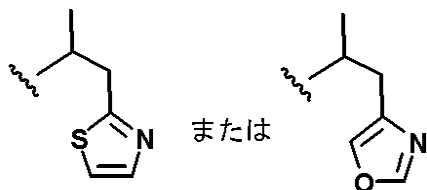
R_4'' および R_5'' は、

独立して、 H 、 (C_{1-6}) アルキル、 OH 、 $O(C_{1-6})$ アルキル、 F 、 Cl 、 Br または CF_3 ；

但し、 A'' が $-CH=C(CH_3)CH_2-$ または $-CH=CHCH_2-$ である場合；

B'' は $-CH(CH_3)CH=CHCH=CH_2$ 、 $-CH(CH_3)CH_2Ph$ 、 $-CH(CH_3)Ph$ 、 $-CH(CH_3)-n-Bu$ 、

【化 2 8】



ではない；

または C'' は $-C(O)N(R_1'')R_2''$ または H ではない]

で示される化合物または、可能な場合、その酸または塩基付加塩である。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 1 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 1 7】

同様に、式Iの化合物の塩基付加塩は薬学的に許容される有機または無機塩基のものであり得る。好ましい塩基付加塩は、薬学的に許容される無機塩基、より好ましくは水酸化アンモニウムまたはアルカリまたはアルカリ土類金属水酸化物、例えば、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウムおよび水酸化マンガンに由来するものである。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 4】

スキーム2の個々の段階において、段階Aは式1のパラ-メトキシベンジルエーテルの式2のジオールへの酸化的加水分解に関する。酸化的加水分解は：1)酸化剤、好ましくは2,3-ジクロロ-5,6-ジシアノ-1,4-ベンゾキノンのようなキノン；2)水；および3)極性有機溶媒、好ましくは塩化メチレンのようなハロゲン化炭化水素の存在下、 -20 および 40 の間、好ましくは 25 の温度で、1時間および72時間の間、好ましくは1時間、行なう。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 7】

段階Dは、式4のオレフィンと式 C^*NCO または $Cl_3C(O)NCO$ のイソシアネートとのカルバモイル化に関し、式5のカルバメートを得る。 C^*NCO を使用する場合、カルバモイル化は $Bu_2Sn(OAc)_2$ のようなルイス酸またはトリエチルアミンのような弱塩基の存在下、極性非プロトン性溶媒、好ましくは塩化メチレンのようなハロゲン化溶媒中、 -20 および 100 の間、好ましくは 0 および 50 の間の温度で、5分および72時間の間、好ましくは1時間および24時間の間行なう。式中 $C=H$ である式Iの置換ポリケチド類を生成する、 $Cl_3C(O)NCO$ を使用する場合、カルバモイル化は極性非プロトン性溶媒、好ましくは塩化メチレンのよう

なハロゲン化溶媒中、-20 および100 の間、好ましくは25 の温度で、5分および72時間の間、好ましくは1時間および8時間の間、行なう；この段階のウォーク・アップはプロトン性有機溶媒、好ましくはメタノールのようなアルコールの存在下、塩基、例えば、炭酸カリウムのようなカーボネートの存在下、0 および100 の間、好ましくは25 の温度で、5分および72時間の間、好ましくは1時間および8時間の間、行なう。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0049

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0049】

スキーム8の個々の段階において、段階Aは式1のアルデヒドの還元的アミノ化に関し、式3のアミンを得る。還元的アミノ化は：1)式2のアミン；2)還元剤、好ましくは水素化物、より好ましくは水素化ホウ素ナトリウムのようなホウ化水素塩；および3)極性有機溶媒、好ましくはエタノールのような低級アルカノールの存在下、0 および40 の間、好ましくは5 から25 の間の温度で、10分および48時間の間、好ましくは16時間、行なう。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0109

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0109】

段階Hは式8のアルデヒドのプロピオネート付加反応に関し、式10のイミドを得る。プロピオネート付加反応は：1)式9のプロパンイミド；2)ルイス酸、好ましくはジブチルボロントリフラートのようなボロン含有ルイス酸；3)弱塩基、好ましくはトリエチルアミンのようなアミン塩基；および4)不活性有機溶媒、好ましくは塩化メチレンのような極性有機溶媒の存在下、-100 および20 の間、好ましくは-78 から0 の間の温度で、10分および48時間の間、好ましくは2時間、行なう。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0126

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0126】

ADGMAは、3日間の試験化合物への暴露後の生存可能細胞の数を、試験化合物を添加した時に存在した細胞数と比較する。細胞生存能は、電子結合剤(PMS；フェナジンメトスルファート)の存在下に、生存細胞により代謝的に還元されて水溶ホルマザン誘導体となるテトラゾリウム誘導体、すなわち、3-[4,5-ジメチルチアゾール-2-イル]-2,5-ジフェニル-テトラゾリウムプロミド(MTT)を使用して測定する。ホルマザン誘導体の540nmでの吸光度(A540)は、生存可能細胞の数と比例する。試験化合物の IC_{50} は、最終コントロール細胞数の50%まで採集細胞数を減少するのに必要な化合物の濃度である。細胞増殖が阻害された場合、本アッセイは更に化合物を細胞増殖抑制性(3日化合物インキュベーション後の細胞数>化合物添加時の細胞数)または細胞毒性(3日化合物インキュベーション後の細胞数<化合物添加時の細胞数)として定義する。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0128

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0128】

細胞をトリブシン処理し、血球計を使用して計数し、細胞濃度を測定する。ついで、細胞を96ウェルプレート中の各維持培地(200 μ L/ウェル)に以下の濃度で平板培養する：MIP-101、2000細胞/ウェル；HCT 116、2000細胞/ウェル；1A9、10000細胞/ウェル；および1A9PTX22、10000細胞/ウェル。細胞/ウェルの数を予備実験で決定し、平板培養4日後に75-90%のコンフルエンスとする。最初の細胞密度は、平板培養後1日目に測定して、培地ブランクよりもおおまかに0.10-0.20 A540吸光度単位大きい。96ウェルプレートに0日目に蒔き、1日目に試験化合物を添加する。行Aに培地のみを、行B-Eに1細胞系/行を投与された“0時”プレートを作った。“0時”プレートを平板培養24時間後(実験プレートに薬剤を添加したとき)、下記のように処理した：5マイクロリットルのMTTストック溶液(0.5mg/mL、PBS中)を各ウェルに添加し、ついで3時間、37 $^{\circ}$ C、5% CO₂で湿潤環境下、インキュベートした。培地をついで注意深く完全に除去した。プレートを暗所で乾燥させた。DMSO(ジメチルスルフォキシド)を各ウェル(100 μ L/ウェル)に添加し、プレートをオービタル・シェーカー上に2時間置いた。プレートを96-ウェルプレートリーダーで、540nmで吸光モード・エンドポイントL-1でSoftmax Version 2.35を使用してMolecular Devicesプレートリーダーで、DMSOをブランクとして使用して読んだ。平板培養1日後、試験化合物を(最終1:10希釈で)試験プレートに添加し、続いて10回連続希釈した。コントロールプレートは1:10希釈の溶媒(10% DMSO/90% RPMI 1640)のみ投与された。試験化合物の添加3日後、全実験プレートおよびコントロールプレートを、上記“0時”プレートに関して記載のように処理した。IC₅₀値を、化合物濃度の関数としての正味の増殖のパーセントのグラフから決定する。パーセント正味増殖は(細胞 + 薬剤A₅₄₀ - 最初の540/細胞 + 薬剤媒体540 - 最初の540)として計算する。

【手続補正 1 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 2 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 2 9】

以下の μ MでのIC₅₀値(2個以上の別の試験の平均)を得た：

【表 1】

化合物	MIP101	HCT116	1A9	1A9PTX22
実施例1	3.8	0.2	0.03	0.18
実施例2	20	13	4	6
パクリタキセル (既知の抗新生物 化合物)	0.2	0.0003	0.047	0.001

【手続補正 1 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 6 1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 6 1】

1) 1,2,4-トリデオキシ-3-0-[(1,1-ジメチルエチル)ジメチルシリル]-1-[[(2R,3S,4R,5S,6S,7Z)-3-[[(1,1-ジメチルエチル)ジメチルシリル]オキシ]-5-[(4-メトキシフェニル)メトキシ]-2,4,6-トリメチル-1-オキソ-7,9-デカジエニル]メチルアミノ]-5-0-[(4-メトキシフェニル)メチル]-2,4-ジメチル-L-アラビニトールの製造。

1,2,4-トリデオキシ-3-0-[(1,1-ジメチルエチル)ジメチルシリル]-5-0-[(4-メトキシフェニル)メチル]-2,4-ジメチル-1-(メチルアミノ)-L-アラビニトール(1.23g、3.1mmol)および(2R,3S,4R,5S,6S,7Z)-3-[[(1,1-ジメチルエチル)ジメチルシリル]オキシ]-5-[(4-メ

トキシフェニル)メトキシ]-2,4,6-トリメチル-7,9-デカジエン酸(1.14g、2.4mmol)のDMF(20mL)溶液に、室温で、ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシル-トリス(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(BOP)(2.12g、4.8mmol)およびDIEA(1.86g、14.4mmol)を添加する。室温で一晩攪拌後、反応混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで、ヘキサン/EtOAc(90/10)で精製し、所望の生成物を青白い粘性油状物として得る。

^1H NMR(CDCl_3 、300 MHz)、7.22-7.17(m、4H)、6.83-6.76(m、4H)、6.70-6.59(m、1H)、5.96(t、 $J = 10.20$ Hz、1H)、5.58-5.45(m、1H)、5.16-5.05(m、2H)、4.57-4.46(m、1H)、4.35-4.34(m、2H)、4.16(dd、 $J = 9.04$ 、4.90 Hz、1H)、3.75(s、3H)、3.74(s、3H)、3.54(t、 $J = 5.65$ Hz、1H)、3.47-3.39(m、3H)、3.25-3.17(m、2H)、3.14-3.03(m、1H)、3.00-2.90(m、2H)、2.55(s、3H)、1.94-1.81(m、2H)、1.78-1.73(m、1H)、1.06(t、 $J = 6.03$ Hz、3H)、0.99(d、 $J = 7.16$ Hz、3H)、0.95-0.88(m、12H)、0.85-0.81(m、12H)、0.72(d、 $J = 6.78$ Hz、3H)、0.11(s、3H)、0.06(s、3H)、0.00(s、3H)、-0.04(s、3H)。