

【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17年3月3日(2005.3.3)

【公表番号】特表2004-506738(P2004-506738A)

【公表日】平成16年3月4日(2004.3.4)

【年通号数】公開・登録公報2004-009

【出願番号】特願2002-521468(P2002-521468)

【国際特許分類第7版】

C 0 7 D 498/18

A 6 1 K 31/5383

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/06

A 6 1 P 43/00

【F I】

C 0 7 D 498/18 3 1 1

A 6 1 K 31/5383

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/06

A 6 1 P 43/00 1 0 5

【手続補正書】

【提出日】平成15年4月9日(2003.4.9)

【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】

チオール含有メイタンシノイドの製造方法であって、

(1)水素化リチウムトリメトキシアルミニウム($\text{LiAl}(\text{OMe})_3\text{H}$)、水素化リチウムトリエトキシアルミニウム($\text{LiAl}(\text{OEt})_3\text{H}$)および水素化リチウムトリプロポキシアルミニウム($\text{LiAl}(\text{OPr})_3\text{H}$)からなる群から選択される還元剤でメイタンシノイドC-3エステルの還元的加水分解を行って、メイタンシノールを得る工程；

(2)前記メイタンシノールを精製して、副生成物が存在する場合にはそれを除去する工程；

(3)前記精製メイタンシノールをカルボン酸でエステル化して、メイタンシノールのL-およびD-アミノアシルエステルの反応混合物を得る工程；

(4)メイタンシノールの前記L-アミノアシルエステルを(3)で得られた反応混合物から分離する工程；

(5)メイタンシノールの前記L-アミノアシルエステルを還元して、チオール含有メイタンシノイドを得る工程；ならびに

(6)前記チオール含有メイタンシノイドを精製する工程を含む、製造方法。

【請求項2】

(1)での前記還元剤が、水素化リチウムトリメトキシアルミニウムである請求項1に記載の方法。

【請求項3】

(1)での前記還元剤を、メイタンシノイドC-3エステル1モル当たり約5~100当量の濃度で使用する請求項1に記載の方法。

【請求項4】

(1)での前記還元剤を、メイタンシノイドC-3エステル1モル当たり約7.5~30当量の濃度で使用する請求項1に記載の方法。

【請求項5】

(1)での前記還元剤を、メイタンシノイドC-3エステル1モル当たり約10~20当量の濃度で使用する請求項1に記載の方法。

【請求項6】

(1)での前記還元的加水分解を、約-80 ~ 0 の温度で行う請求項1に記載の方法。

【請求項7】

(1)での前記還元的加水分解を、約-45 ~ -27.5 の温度で行う請求項1に記載の方法。

【請求項8】

(1)での前記還元的加水分解を、約-35 ~ 30 の温度で行う請求項1に記載の方法。

【請求項9】

(1)での前記還元剤を、約5~40分間かけて加える請求項1に記載の方法。

【請求項10】

(1)での前記還元剤を、約7~20分間かけて加える請求項1に記載の方法。

【請求項11】

(1)での前記還元剤を、約8~12分間かけて加える請求項1に記載の方法。

【請求項12】

(2)において前記メイタンシノールを、クロマトグラフィーによって精製する請求項1に記載の方法。

【請求項13】

前記クロマトグラフィーが、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、シリカゲルでの分取薄層クロマトグラフィーまたはシアノ結合シリカHPLCカラムクロマトグラフィーである請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記クロマトグラフィーが、シリカゲルカラムクロマトグラフィーである請求項12に記載の方法。

【請求項15】

前記精製を周囲温度で行う請求項12に記載の方法。

【請求項16】

前記メイタンシノールを約95%の純度まで精製する請求項12に記載の方法。

【請求項17】

(3)における前記カルボン酸が、N-メチル-N-メチルジチオアセチル-L-アラニン、N-メチル-N-(3-メチルジチオ-プロパノイル)-L-アラニン、N-メチル-N-(3-メチルジチオ-ブタノイル)-L-アラニン、N-メチル-N-(4-メチルジチオ-ブタノイル)-L-アラニン、N-メチル-N-(5-メチルジチオ-ペンタノイル)-L-アラニン、N-メチル-N-(3-フェニルジチオ-プロパノイル)-L-アラニン、N-メチル-N-(3-(4-ニトロフェニルジチオ)-プロパノイル)-L-アラニン、N-アセチル-N-メチル-メチルジチオシステインおよびN-アセチル-N-メチル-メチルジチオホモシステインからなる群から選択される請求項1に記載の方法。

【請求項18】

(3)での前記カルボン酸が、N-メチル-N-(3-メチルジチオ-プロパノイル)-L-アラニンである請求項1に記載の方法。

【請求項19】

(3)での前記エステル化を周囲温度で行う請求項1に記載の方法。

【請求項 20】

(3)での前記エステル化が、ジシクロヘキシルカルボジイミドおよび塩化亜鉛の使用をさらに含む請求項 1 に記載の方法。

【請求項 21】

(4)での前記分離を、シアノ結合シリカHPLCカラムに前記反応混合物を通すことで行う請求項 1 に記載の方法。

【請求項 22】

(4)での前記分離を約25 で行う請求項 1 に記載の方法。

【請求項 23】

(5)での前記還元で、前記還元剤としてジチオトレイトールを用いる請求項 1 に記載の方法。

【請求項 24】

(5)での前記還元を、酢酸エチル - メタノール - 緩衝水溶液の混合物であって、緩衝塩、ジチオトレイトール、未還元メイタンシノイド類および還元メイタンシノイド類を溶液の状態に維持できる混合物中で行う請求項 1 に記載の方法。

【請求項 25】

前記酢酸エチル - メタノール - 緩衝水溶液の混合物の酢酸エチル：メタノール：緩衝水溶液の体積比が、1：1.5：1である請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記チオール含有メイタンシノイドの濃度を、そのチオール含有メイタンシノイドが酢酸エチル - メタノール - 緩衝水溶液中に溶解した状態のままであるようなものとする請求項 24 に記載の方法。

【請求項 27】

前記チオール含有メイタンシノイドの濃度が約4g/Lである請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

(5)での前記還元を、酸素を含まない雰囲気下で行う請求項 1 に記載の方法。

【請求項 29】

(5)での前記還元を約25 で行う請求項 1 に記載の方法。

【請求項 30】

(6)での前記チオール含有メイタンシノイドの前記精製を、クロマトグラフィーによって行う請求項 1 に記載の方法。

【請求項 31】

(6)での前記チオール含有メイタンシノイドの前記精製を、シアノ結合HPLCカラムクロマトグラフィーによって行う請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記クロマトグラフィーを、有機溶媒で平衡とし、その溶媒で溶離するシアノ結合HPLCカラムによって行う請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】

前記有機溶媒が、ヘキサン：2-プロパノール：酢酸エチルの混合物である請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

前記有機溶媒のヘキサン：2-プロパノール：酢酸エチルの体積比が78.0：5.5：16.5である請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

メイタンシノイドエステルの還元的加水分解で得られた混合物から、シアノ結合シリカカラムを用いた順相高速液体クロマトグラフィーによりメイタンシノールを分離することでメイタンシノールを製造する方法。

【請求項 36】

メイタンシノイドエステルがメイタンシノイドC-3エステルである、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

請求項 35 に記載の方法により製造されたメイタンシノール。

【請求項 38】

請求項 35 に記載の方法により製造されたメイタンシノールを、細胞結合剤 - メイタンシノイド複合体に変換することで製造された、細胞結合剤 - メイタンシノイド複合体。