

【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】令和3年3月18日(2021.3.18)

【公表番号】特表2018-507175(P2018-507175A)

【公表日】平成30年3月15日(2018.3.15)

【年通号数】公開・登録公報2018-010

【出願番号】特願2017-535086(P2017-535086)

【国際特許分類】

C 0 7 C	49/753	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/22	(2006.01)
A 6 1 P	1/04	(2006.01)
A 6 1 P	1/16	(2006.01)
A 6 1 K	9/08	(2006.01)
A 6 1 K	9/10	(2006.01)
A 6 1 K	9/14	(2006.01)
A 6 1 K	9/20	(2006.01)
A 6 1 K	9/06	(2006.01)
A 6 1 K	9/48	(2006.01)
A 6 1 K	36/07	(2006.01)
A 6 1 K	31/122	(2006.01)
C 0 7 C	45/65	(2006.01)
C 0 7 C	69/16	(2006.01)
C 1 2 P	1/02	(2006.01)
C 1 2 P	7/02	(2006.01)
C 0 7 B	53/00	(2006.01)
C 1 2 R	1/645	(2006.01)

【F I】

C 0 7 C	49/753	C S P A
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	31/22	
A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	1/16	
A 6 1 K	9/08	
A 6 1 K	9/10	
A 6 1 K	9/14	
A 6 1 K	9/20	
A 6 1 K	9/06	
A 6 1 K	9/48	
A 6 1 K	36/07	
A 6 1 K	31/122	
C 0 7 C	45/65	
C 0 7 C	69/16	
C 1 2 P	1/02	Z
C 1 2 P	7/02	
C 0 7 B	53/00	Z
C 1 2 P	1/02	Z
C 1 2 R	1/645	
C 1 2 P	7/02	

C 1 2 R 1:645

【誤訛訂正書】

【提出日】令和3年2月1日(2021.2.1)

【誤訛訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

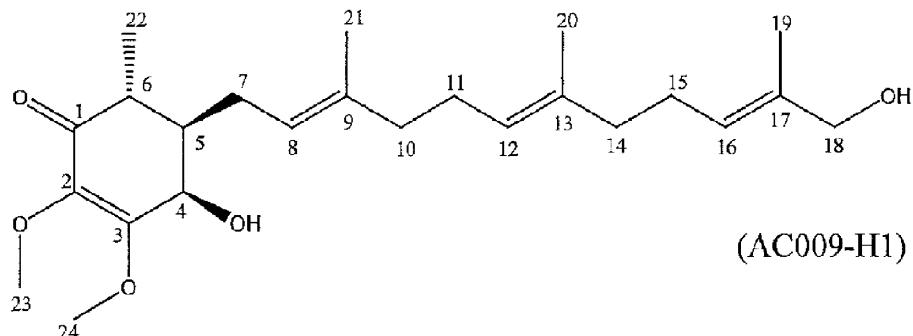
【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(AC009-H1)で表される化合物。

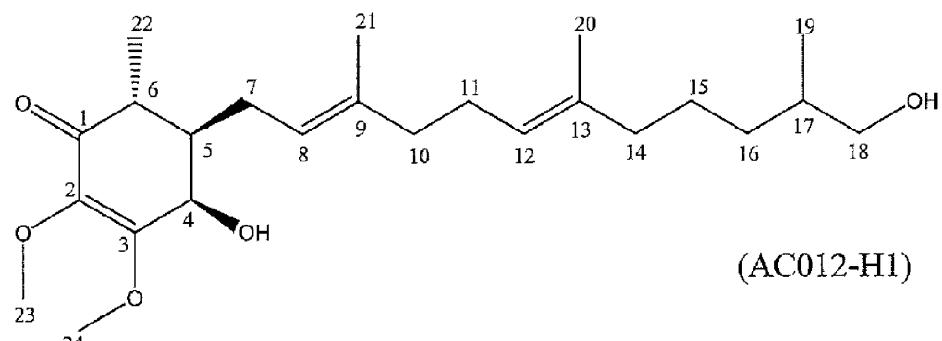
【化1】



【請求項2】

式(AC012-H1)で表される化合物。

【化2】

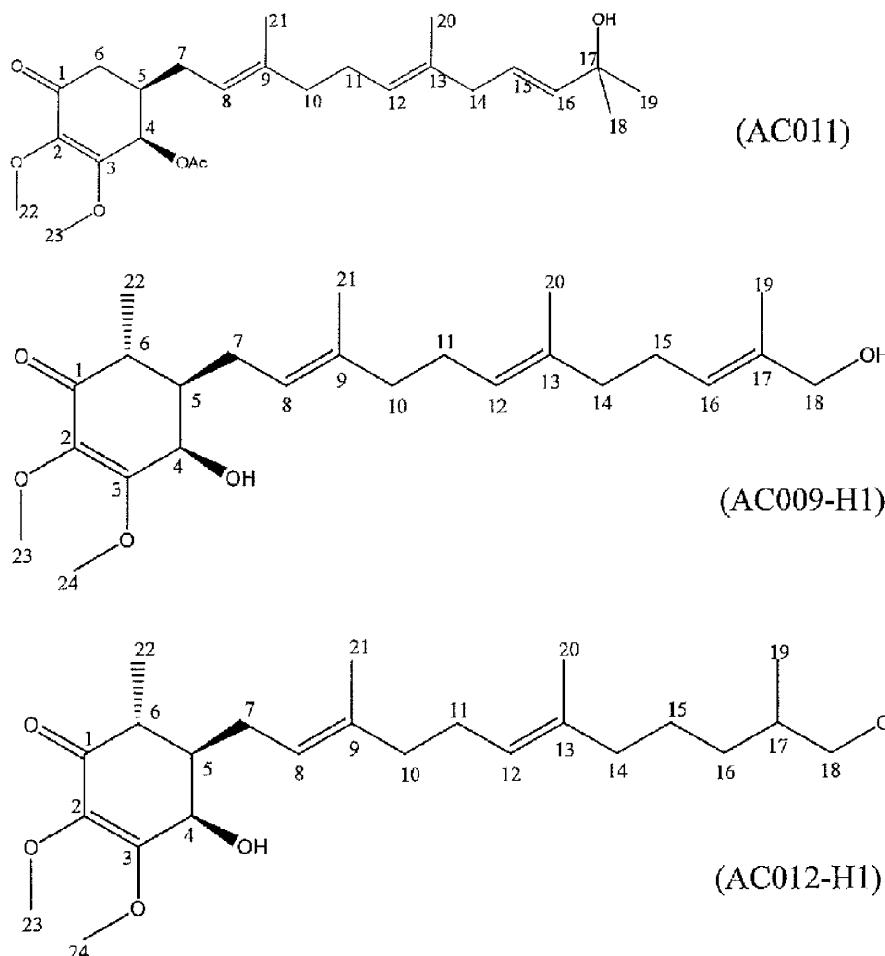


【請求項3】

癌の治療用の医薬組成物であって、該組成物は、治療に有効な量の化合物及び少なくとも一つの薬学的に許容されるキャリアとを含み、

前記化合物は、以下の式で表されるAC011、AC009-H1及びAC012-H1からなる群から選択される少なくとも1種である癌の治療用の医薬組成物。

【化 3】



【請求項 4】

前記キャリアは、賦形剤、希釈剤、増粘剤、充填剤、結合剤、崩壊剤、潤滑剤、油性及び非油性の基剤、界面活性剤、懸濁化剤、ゲル化剤、補助剤、防腐剤、酸化防止剤、安定剤、色素並びに香料の少なくとも1種を含む請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記医薬組成物は、癌細胞の増殖を抑制することにより治療効果を有する請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記医薬組成物は、静脈注射用の製剤、皮下注射用の製剤、経口投与用の製剤又は塗布用の製剤である請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記医薬組成物は、溶液、乳剤、懸濁剤、粉末、錠剤、油剤、軟膏剤又はカプセルの剤形である請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記癌は、前立腺癌、肝癌、黒色腫、脳腫瘍、大腸癌からなる群から選択される少なくとも1種である請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記癌は大腸癌又は肝癌である請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

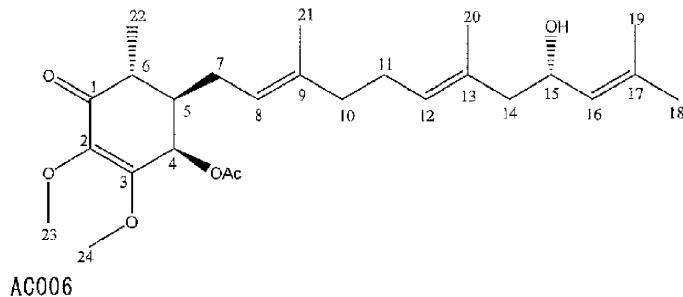
牛樟芝菌糸体の生物活性を有する化合物の製造方法であつて、該方法は、

牛樟芝菌糸体をn-ヘキサンで、それぞれ一時間から三時間、二回還流抽出し、真空濾過した後、二つのヘキサン抽出液を混合し、

シリカゲル (70 - 230 メッシュ) と菌糸体とでカラムを準備し、
n - ヘキサン / 酢酸エチルの勾配溶液で溶出して F1、F2 と F3 の画分を得、勾配は
、それぞれ、17 - 22 % の酢酸エチル、23 - 27 % の酢酸エチル及び 28 - 33 % の
酢酸エチルであり、F3 を保持時間によって三つの画分 F3 - 1、F3 - 2、F3 - 3 に
連続して分離し、

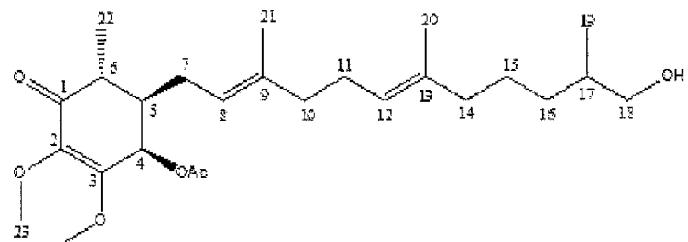
画分 F3 - 1 を、移動相として CH_2Cl_2 / アセトンを用いて、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (50 : 1 から 20 : 1 の勾配溶出) で分離し、 CH_2Cl_2 / アセトン = 40 : 1 - 15 : 1 の画分を採取し、更に順相セミ分取 HPLC カラムにて n - ヘキサン / 酢酸エチル (4 : 1) を用いて精製された下記 AC006 を得、

【化4】



L C C - 18 カラム精製により分離し、水中の 1 % 嘌酸 / メタノール = 28 / 72 - 2 / 78 の画分を取って、移動相として n - ヘキサン / 酢酸エチルの勾配溶出 (80 % : 20 % から 50 % : 50 % まで) を用いて、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、n - ヘキサン / 酢酸エチル (75 % : 25 % - 65 % : 35 %) の溶出溶液で下記 A C 0 1 2 を得、

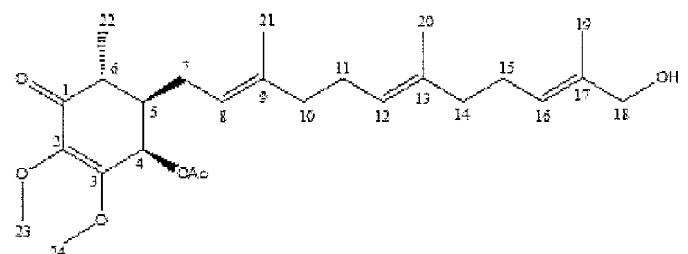
【化 6】



AC012

画分 F 3 - 3 - 5 - 3 を、移動相として水中の 1 % 嘌酸 / メタノール = 25 / 75 の 15 mL / min のイソクラティック溶出を用いた逆相 M P L C C - 18 シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって分離し、さらに、移動相として C H₂ C l₂ / 酢酸エチルを用いてシリカゲル勾配溶液 (100 % : 0 % から 0 % : 100 % まで) で 130 から 170 分の保持時間の画分を精製し、C H₂ C l₂ / 酢酸エチル = 80 / 20 - 60 / 40 の溶出溶液で下記 A C 0 0 9 を採取し、

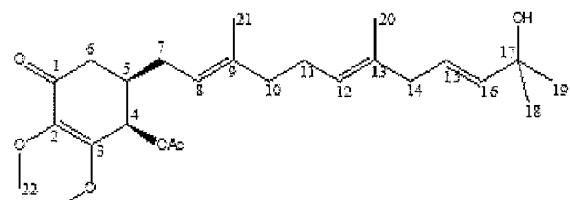
【化 7】



AC009

画分 F 3 - 3 - 5 - 4 (n - ヘキサン / アセトン = 76 / 24) を分離し、移動相として水中の 1 % 嘌酸 / メタノール = 25 % : 75 % 及びイソクラティック溶出を用いた逆相 M P L C C - 18 カラムクロマトグラフィーで精製し、下記 A C 0 1 1 を得、

【化 8】



AC011

前記 A C 0 0 6、A C 0 0 7、A C 0 0 9、A C 0 1 1、A C 0 1 2 は、牛樟芝菌糸体の生物活性を有する化合物である製造方法。

【請求項 1 1】

1 モル当量の N a O M e で前記生物活性を有する化合物を加水分解し、加水分解反応が終わった後、酸性アンバライトを加えて濾紙で濾過し、中間産物を得、

分離樹脂としてシリカゲルを、移動相としてヘキサンと酢酸エチルの勾配溶液を用いたシリカゲルクロマトグラフィーにより該中間産物を溶出し、ヘキサンと酢酸エチルとの溶出勾配を4:1から1:1までとして、勾配溶液が1:1の比率で生成物を溶出し、

C18セミ分取カラムとイソクラティック溶出剤としてメタノール:0.1%FA緩衝液(リン酸緩衝生理食塩水)=75:25の溶液とを用いた逆相HPLCによって前記生成物を精製して、前記生物活性を有する化合物のC4が水酸基である誘導体を製造する請求項10に記載の方法。

【誤訳訂正2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0017

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0017】

本発明は更に牛樟芝菌糸体で生物活性を有する化合物及びその誘導体を製造する方法を提供し、それは以下のステップを含む。

牛樟芝菌糸体をn-ヘキサンで、それぞれ一時間から三時間、二回還流抽出し、真空濾過した後、二つのヘキサン抽出液を混合し、シリカゲル(70-230メッシュ)と菌糸体でカラムを準備し、n-ヘキサン/酢酸エチルの勾配溶液で溶出してF1、F2とF3の画分を得、勾配は、それぞれ、17-22%の酢酸エチル、23-27%の酢酸エチル及び28-33%の酢酸エチルであり、F3を保持時間によって三つの画分F3-1~F3-3に分け、

画分F3-1を、移動相としてCH₂C₁₂/アセトンを用いて、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(50:1から20:1の勾配溶出)で分離し、CH₂C₁₂/アセトン=40:1-15:1の画分を採取し、更に順相セミ分取HPLCカラムにてn-ヘキサン/酢酸エチル(4:1)を用いて精製されたAC006を得、

画分F3-2を順相MPLCシリカゲルカラムで、移動相としてCH₂C₁₂/アセトン勾配溶液(100%:0%から70%:30%)を用いて分離し、95%:5%から85%:15%までの画分を採取してF3-2-1からF3-2-3まで三つの画分に分離し、

画分F3-2-3を、移動相としてn-ヘキサン/酢酸エチル(100%:0%から0%:100%)を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、n-ヘキサン/アセトン=90/10から70/30までの画分を採取し、さらに、移動相としてn-ヘキサン/酢酸エチル(100%:0%から0%:100%)を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して、n-ヘキサン/酢酸エチル=60/40の溶出溶液でAC007を得、

画分F-3-3を、順相MPLCシリカゲルカラムで、CH₂C₁₂/アセトン(100%:0%から0%:100%)勾配溶出を用いて分離し、90%:10%から70%:30%までの画分を採取し、画分F3-3-1からF3-3-5まで五つに分離し、

F-3-3-5(CH₂C₁₂/アセトン=73/27の画分)を、移動相としてn-ヘキサン/アセトン(95%:5%から50%:50%)を用いたシリカゲルカラムで精製して、85%:15%から70%:30%の画分を採取し、画分F3-3-5-1からF3-3-5-5まで五つに分離する。

【誤訳訂正3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0018

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0018】

画分F3-3-5-1(n-ヘキサン/アセトン=90/10-80/20)を、移動相として水中の1%蟻酸/メタノール=35/65~20/80勾配を用いて、逆相MPLC

L C C - 1 8 カラム精製により分離し、水中の 1 % 嘴酸 / メタノール = 2 8 / 7 2 - 2 / 7 8 の画分を取って、移動相として n - ヘキサン / 酢酸エチルで勾配溶出 (8 0 % : 2 0 % から 5 0 % : 5 0 % まで) を用いて、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、 n - ヘキサン / 酢酸エチル (7 5 % : 2 5 % - 6 5 % : 3 5 %) の溶出溶液で A C 0 1 2 を得、

画分 F 3 - 3 - 5 - 3 を、移動相として水中の 1 % 嘴酸 / メタノール = 2 5 / 7 5 の 1 5 m L / m i n のイソクラティック溶出を用いた逆相 M P L C C - 1 8 シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって分離し、さらに、移動相として C H ₂ C l ₂ / 酢酸エチルを用いてシリカゲル勾配溶液 (1 0 0 % : 0 % から 0 % : 1 0 0 % まで) で 1 3 0 から 1 7 0 分の保持時間の画分を精製し、 C H ₂ C l ₂ / 酢酸エチル = 8 0 / 2 0 - 6 0 / 4 0 の溶出溶液で A C 0 0 9 を採取し、

画分 F 3 - 3 - 5 - 4 (n - ヘキサン / アセトン = 7 6 / 2 4) を分離し、移動相として水中の 1 % 嘴酸 / メタノール = 2 5 % : 7 5 % 及びイソクラティック溶出を用いた逆相 M P L C C - 1 8 カラムクロマトグラフィーで精製し、 A C 0 1 1 を得、

前記 A C 0 0 6 、 A C 0 0 7 、 A C 0 0 9 、 A C 0 1 1 、 A C 0 1 2 は、牛樟芝菌糸体の生物活性を有する化合物である。

【誤訛訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 1 9

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 1 9】

好ましい実施様態では、該生物活性を有する化合物を更に C4 がヒドロキシル基である誘導体の製造に用いられ、下記ステップを含む。

1 モル当量のメタノールで前記生物活性を有する化合物を加水分解し、加水分解反応が終わった後、酸性アンバライトを加えて濾紙で濾過し、中間産物を得、分離樹脂としてシリカゲルを、移動相としてヘキサンと酢酸エチルとの勾配を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより該中間産物を溶出し、ヘキサンと酢酸エチルとの溶出勾配を 4 : 1 から 1 : 1 までとして、勾配溶液が 1 : 1 の比率で生成物を溶出し、 C 1 8 セミ分取カラムとイソクラティック溶出剤としてメタノール : 0 . 1 % F A 緩衝液 (リン酸緩衝生理食塩水) = 7 5 : 2 5 の溶液を用いた逆相 H P L C によって前記生成物を精製して、前記生物活性を有する化合物の C 4 が水酸基である誘導体を得ることができる。

また、本発明は血管の新生と癌細胞の増殖を抑制する組成物を提供し、それは上記牛樟芝抗生物質、適當な希釈剤、賦形剤を含み、該組成物は高い増殖能力を持つ細胞の増殖を抑制できる。

【誤訛訂正 5】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 2 4

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 2 4】

実施例 1 : 牛樟芝化合物の製造

牛樟芝の液体発酵菌糸体を n - ヘキサンで、それぞれ一時間から三時間、二回還流抽出し、

真空濾過した後、二つのヘキサン抽出液を混合し、

シリカゲル (7 0 - 2 3 0 メッシュ) と菌糸体とでカラムを準備し、 n - ヘキサン / 酢酸エチルの勾配溶液で溶出して F 1 、 F 2 と F 3 の画分を得、勾配は、それぞれ、 1 7 - 2 2 % の酢酸エチル、 2 3 - 2 7 % の酢酸エチル及び 2 8 - 3 3 % の酢酸エチルであり、 F 3 を保持時間によって三つの画分 F 3 - 1 ~ F 3 - 3 に分ける。

【誤訳訂正6】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0026

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0026】

画分F3-2を順相MPLCシリカゲルカラムで、移動相としてCH₂Cl₂/アセトン勾配溶液(100%:0%から70%:30%)を用いて分離し、95%:5%から85%:15%までの画分を採取してF3-2-1からF3-2-3まで三つの画分に分ける。

画分F3-2-3を、移動相としてn-ヘキサン/酢酸エチル(100%:0%から0%:100%)を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、n-ヘキサン/アセトン=90/10から70/30までの画分を採取し、さらに、移動相としてn-ヘキサン/酢酸エチル(100%:0%から0%:100%)を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製して、n-ヘキサン/酢酸エチル=60/40の溶出溶液でAC007を得る。

【誤訳訂正7】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0027

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0027】

画分F-3-3を、順相MPLCシリカゲルカラムで、CH₂Cl₂/アセトン(100%:0%から0%:100%)勾配溶出を用いて分離し、90%:10%から70%:30%までの画分を採取し、画分F3-3-1からF3-3-5まで五に分離し、さらに、F-3-3-5(CH₂Cl₂/アセトン=73/27の画分)移動相としてn-ヘキサン/アセトン(95%:5%から50%:50%)を用いたシリカゲルカラムで精製して、85%:15%から70%:30%の画分を採取し、画分F3-3-5-1からF3-3-5-5まで五つに分離する。

F3-3-5-1(n-ヘキサン/アセトン=90/10-80/20)を、移動相として水中の1%蟻酸/メタノール=35/65~20/80勾配を用いて、逆相MPLC C-18カラム精製により取る。水中の1%蟻酸/メタノール=28/72-22/78の画分を取って、移動相としてn-ヘキサン/酢酸エチルで勾配溶出(80%:20%から50%:50%まで)を用いて、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、n-ヘキサン/酢酸エチル(75%:25%-65%:35%)の溶出溶液でAC012を得る。

【誤訳訂正8】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0028

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0028】

画分F3-3-5-3を、移動相として水中の1%蟻酸/メタノール=25/75の15mL/minのイソクラティック溶出を用いた逆相MPLC C-18シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって分離し、AC009のほとんどを含有する画分を得、さらに、移動相としてCH₂Cl₂/酢酸エチルを用いてシリカゲル勾配溶液(100%:0%から0%:100%まで)で130から170分の保持時間の画分を精製し、CH₂Cl₂/酢酸エチル=80/20-60/40の溶出溶液でAC009を採取する。

【誤訳訂正9】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】 0 0 2 9

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【0 0 2 9】

F 3 - 1を取り、移動相として水中の1%蟻酸 / メタノール = 25% : 75% イソクラティックを用いた逆相HPLC C - 18カラムクロマトグラフィーで精製し、AC - 05 - 01を得る。