

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4187441号  
(P4187441)

(45) 発行日 平成20年11月26日 (2008.11.26)

(24) 登録日 平成20年9月19日 (2008.9.19)

(51) Int. Cl.

F I

<b>C O 7 D 209/12</b>	<b>(2006.01)</b>	C O 7 D 209/12	
<b>A 6 1 K 31/404</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 31/404	
<b>A 6 1 P 35/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	
<b>A 6 1 P 35/02</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 35/02	
<b>A 6 1 P 43/00</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00	1 1 1

請求項の数 5 (全 25 頁)

(21) 出願番号 特願2001-523374 (P2001-523374)  
 (86) (22) 出願日 平成12年9月15日 (2000.9.15)  
 (65) 公表番号 特表2003-509408 (P2003-509408A)  
 (43) 公表日 平成15年3月11日 (2003.3.11)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2000/025408  
 (87) 国際公開番号 W02001/019794  
 (87) 国際公開日 平成13年3月22日 (2001.3.22)  
 審査請求日 平成15年9月18日 (2003.9.18)  
 (31) 優先権主張番号 60/154,639  
 (32) 優先日 平成11年9月17日 (1999.9.17)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 502090404  
 ベイラー・ユニバーシテイ  
 アメリカ合衆国テキサス州76798-7  
 034ワコ・ピーオーボックス97034  
 (72) 発明者 ビニー, ケビン・ジー  
 アメリカ合衆国テキサス州76643ヒュ  
 ーイット・ラッセルレーン100  
 (72) 発明者 ワング, フェング  
 アメリカ合衆国ペンシルベニア州1940  
 6キングオブブラシア・アパートメントシ  
 ー304・アメリカンアベニュー600  
 (72) 発明者 デル・ピラー・メジア, マリア  
 アメリカ合衆国イリノイ州60016デス  
 プレインズ・アパートメントジーイー・リ  
 ンダレーン9999

最終頁に続く

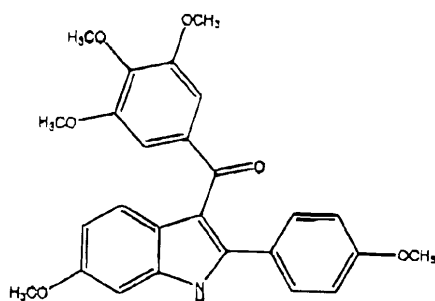
(54) 【発明の名称】 インドール含有およびコンブレタスタチン関連の抗有糸分裂および抗チューブリン重合薬剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

構造:

【化 1】



10

の化合物、またはその製薬学的に許容し得る塩。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の化合物を含有する、製薬学的使用のための調整物。

【請求項 3】

腫瘍血管構造を選択的に標的とし、そして破壊することに使用するための、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

20

腫瘍細胞と請求項 1 に記載の化合物の有効量とを接触させることによる、インビトロでチューブリン重合を阻害する方法。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の化合物と製薬学的に許容しうるキャリアーとを含んでなる製薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の背景

チューブリンは、近年、固形腫瘍の治療のための新しい薬物設計におけるもっとも魅力的な治療上の標的の一つである。<sup>1c</sup> 数種の命名をもつ、コンプレタスタチン A - 4 (C A - 4) プロドラッグおよびドラスタチン 10 の成功見込みとともに、ピンクリスチンおよびタキソールの予告された成功は、がん治療のためのこれらの抗有糸分裂剤の臨床上の効能を堅固たるものとして確立した。

【0002】

固形腫瘍がんの治療に対する積極的な化学療法戦略は、チューブリンとの直接結合性相互作用をとってそれらの効果を仲介する構築上新規な、そして生物学的により強力な抗腫瘍、抗有糸分裂剤の開発に依存することが続いている。強力な細胞毒性と抗腫瘍活性を例証する種々の臨床的に有望な化合物は、それらの主要な作用様式をチューブリン重合の有効な阻害をとって達成することが知られている。<sup>1</sup> この種の化合物は、偏在するタンパク質チューブリンへの最初の相互作用（結合）を経て、これが、順に、細胞の維持と分裂のために必須な成分である微小管へと重合するチューブリンの能力を阻止する。<sup>2</sup> 細胞周期の中期の間、核膜は破壊され、そしてタンパク質チューブリンは中心体（また、微小管形成中心とも呼ばれる）を形成することができ、そしてチューブリンの重合と脱重合をとって、分裂する染色体が分離される。近年、もっとも認識され、臨床的に有用なこの種の抗有糸分裂、抗腫瘍剤のメンバーは、タキソール<sup>4</sup>とともにピンブラスタチンおよびピンクリスチン<sup>3</sup>である。さらに、天然の生産物、リゾキシシン<sup>5</sup>、コンプレタスタチン A - 4 および A - 2<sup>6</sup>、クラシン A<sup>1</sup>、ポドフィロトキシシン<sup>7</sup>、エポチロン A および B<sup>8</sup>、ドラスタチン 10<sup>9</sup> およびウェルウィスタチン<sup>10</sup>（数種の命名をもつ）ならびにフェンスタチン<sup>11</sup>、2 - スチリルキナゾリン - 4 (3 H) - オン (S Q O)<sup>12</sup>を含むある種の合成類似体、およびシス - およびトランス - スチルベンの高酸素化誘導体<sup>13</sup>およびジヒドロスチルベンはすべて、チューブリンとの結合相互作用をとってそれらの細胞傷害性活性を仲介することが知られている。この結合部位相互作用の正確な性質は多くは不明のままであり、そして一連の化合物間で明確に異なる。光親和性標識および他の結合部位解明技術は、チューブリン上の数種のキー結合部位を同定した：コルヒチン部位、ピンカアルカロイド部位、およびタキソールが結合する重合微小管上の部位。<sup>1a, 14</sup>

発明の概要

本研究の重要な基本面的および本質的態様は、チューブリンの両 および サブユニットの「小分子」結合ドメインの、分子レベルにおける詳細な理解を必要とする。 、 チューブリンヘテロ二量体の 3 次構造は、電子結晶学として知られる技術を用いて 3 . 7 の解像度において、Downing および共同研究者らによって本年初期に報告された。<sup>15</sup> この輝かしい業績は、この構造の解明に対向された 10 年間の研究を最高点に達せしめ、そして光親和性および化学的親和性標識のような技術をとって、小分子結合部位、例えばコルヒチン部位の同定を可能にするに違いない。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 3 - (3' , 4' , 5' - トリメトキシベンゾイル) - 2 - (4' - メトキシフェニル) - 6 - メトキシベンゾ [ b ] チオフェンを具体的に説明する。

【図 2】 2 - (3' , 4' , 5' - トリメトキシベンゾイル) - 3 - (4' - メトキシフェニル) - 6 - メトキシベンゾ [ b ] フランを具体的に説明する。

【図 3】 ベンゾ [ b ] チオフェンフェノール (B B T - O H) を具体的に説明する。

【図 4】 ベンゾ [ b ] チオフェンプロドラッグ (B B T - P) を具体的に説明する。

【図 5】 ベンゾ[ b ]チオフェンプロドラッグ( B B T - P ) についてのイン・ピボ生物学的データを具体的に説明する。

【図 6】 フェニルインドール誘導体製造のための合成過程を具体的に説明する。

【図 7】 2 - フェニルインドール( 芳香族領域 ) 化合物 3 1 についての C O S Y N M R を具体的に説明する。

【図 8】 アリール移動なしの環化異性体( その形成についての証拠はない ) を具体的に説明する。

【図 9】 ワンポット反応における 2 - フェニルインドール 3 1 の製造を具体的に説明する。

【図 1 0】 インドールに基づく類似体の製造についての設計された合成過程を具体的に説明する。 10

【図 1 1】 インドールに基づく類似体の製造を具体的に説明する。

【図 1 2】 インドールに基づくジナトリウムプロドラッグ塩の合成を具体的に説明する。

【図 1 3】 インドールに基づくジナトリウムプロドラッグのその他の合成を具体的に説明する。

【図 1 4】 インドールに基づくジナトリウムプロドラッグのその他の合成を具体的に説明する。

【図 1 5】 インドールに基づくホスホルアミデートプロドラッグの合成を具体的に説明する。 20

【図 1 6】 インドールに基づくジナトリウムプロドラッグ塩のその他の合成を具体的に説明する。

【図 1 7 A】 コンプレタスタチン A - 4 プロドラッグを具体的に説明する。

【図 1 7 B】 ホスホルアミデート類似体 1 0 を具体的に説明する。

【図 1 8】 ホスホルアミデート 1 0 の合成を具体的に説明する。

【図 1 9】 ホスホルアミデート合成のために使用されるモデル系を具体的に説明する。

【図 2 0】 ( Z ) - 3 ' - ニトロコンプレタスタチン類似体 7 B からのホスホルアミデート 1 0 の合成を具体的に説明する。

【図 2 1】 置換 4 - メトキシインドールアミンおよび / またはフェノールを具体的に説明する。 30

【図 2 2】 置換 4 - メトキシインドールホスフェートエステル部分およびホスホルアミデートを具体的に説明する。

【図 2 3】 さらなる置換 4 - メトキシインドールホスフェートエステル部分およびホスホルアミデートを具体的に説明する。

【図 2 4】 置換 6 - メトキシインドールアミンおよび / またはフェノールを具体的に説明する。

【図 2 5】 置換 6 - メトキシインドールホスフェートエステル部分およびホスホルアミデートを具体的に説明する。

【図 2 6】 置換 6 - メトキシインドールホスフェートエステル部分およびホスホルアミデートを具体的に説明する。 40

【図 2 7】 置換 4 - メトキシ - 3 - アリールインドールアミンおよび / またはフェノールを具体的に説明する。

【図 2 8】 置換 4 - メトキシ - 3 - アリールインドールホスフェート部分およびホスホルアミデートを具体的に説明する。

【図 2 9】 さらなる置換 4 - メトキシ - 3 - アリールインドールホスフェート部分およびホスホルアミデートを具体的に説明する。

【図 3 0】 2 - ( 4 ' - メトキシフェニル ) - 3 - ( 3 " , 4 " , 5 " - トリメトキシベンゾイル ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 3 1】 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - ( 4 " - メトキシフェニル ) - 6 - メトキシインドールを具体的に説明する。 50

【図 3 2】 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - ( 4 " - メトキシフェニル ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 3 3】 ジナトリウム 2 - ( 3 ' - ホスホルアミデート - 4 ' - メトキシフェニル ) - 3 - ( 3 " , 4 " , 5 " - トリメトキシベンゾイル ) - 6 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 3 4】 2 - ( 3 ' - ヒドロキシ - 4 ' - メトキシフェニル ) - 3 - ( 3 " , 4 " , 5 " - トリメトキシベンゾイル ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 3 5】 2 - ( 3 ' - アミノ - 4 ' - メトキシフェニル ) - 3 - ( 3 " , 4 " , 5 " - トリメトキシベンゾイル ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 3 6】 ジナトリウム 2 - [ ( 4 ' - メトキシフェニル ) - 3 ' - O - ホスフェート ] - 3 - ( 3 " , 4 " , 5 " - トリメトキシベンゾイル ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

10

【図 3 7】 2 - ( 3 ' - ジエチルホスホルアミデート - 4 ' - メトキシフェニル ) - 3 - ( 3 " , 4 " , 5 " - トリメトキシベンゾイル ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 3 8】 ジナトリウム 2 - ( 3 ' - ホスホルアミデート - 4 ' - メトキシフェニル ) - 3 - ( 3 " , 4 " , 5 " - トリメトキシベンゾイル ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 3 9】 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - ( 3 " - ヒドロキシ - 4 " - メトキシフェニル ) - 6 - メトキシインドールを具体的に説明する。

20

【図 4 0】 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - ( 3 " - アミノ - 4 " - メトキシフェニル ) - 6 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 4 1】 ジナトリウム 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - [ ( 4 " - メトキシフェニル - 3 " - O - ホスフェート ) - 6 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 4 2】 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - [ ( 4 " - メトキシフェニル - 3 " - ジエチルホスホルアミデート ) ] - 6 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 4 3】 ジナトリウム 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - [ ( 4 " - メトキシフェニル - 3 " - ホスホルアミデート ) - 6 - メトキシインドールを具体的に説明する。

30

【図 4 4】 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - ( 3 " - ヒドロキシ - 4 " - メトキシフェニル ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 4 5】 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - ( 3 " - アミノ - 4 " - メトキシフェニル ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 4 6】 ジナトリウム 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - [ ( 4 " - メトキシフェニル - 3 " - O - ホスフェート ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 4 7】 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - [ ( 4 " - メトキシフェニル - 3 " - ジエチルホスホルアミデート ) ] - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

40

【図 4 8】 ジナトリウム 2 - ( 3 ' , 4 ' , 5 ' - トリメトキシベンゾイル ) - 3 - [ ( 4 " - メトキシフェニル - 3 " - ホスホルアミデート ) - 4 - メトキシインドールを具体的に説明する。

【図 4 9】 コンプレタスタチン A - 4 の置換 3 - ホスホルアミデート誘導体を具体的に説明する。

【図 5 0】 ジナトリウム ( Z ) - 1 - [ ( 4 ' - メトキシフェニル ) - 3 ' - ホスホルアミデート ] - 2 - ( 3 " , 4 " , 5 " - トリメトキシフェニル ) エテンを具体的に説明する。

【図 5 1】 コンプレタスタチン A - 4 の置換 3 - ホスホルアミデート塩を具体的に説明

50

する。

#### 発明の詳細な記述

本発明者らは、新規な抗有糸分裂剤の発見が、適当に置換された形態（すなわち、フェノール性部分など）において、チューブリン結合のために必須と考えられる構造的特徴（アリールアルコキシ基、ある種のハロゲン置換など）により適当に改変された、エストロゲン受容体（ER）と相互作用する分子鑄型（スカホールド）の妥当な組み合わせ物から生じることを示唆する作業仮説を開発した。メトキシアリール官能基は、ある種の類似体におけるコルヒチン結合部位において相互作用を増強するために特に重要であると考えられる。<sup>16</sup> ER分子鑄型に関するこの仮説の定式化において、本発明者らの最初の設計および合成努力は、ラロキシフェン、Eli Lilly and Co.<sup>17</sup>によって開発された選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）であるラロキシフェンにならって作成されたベンゾ[*b*]チオフェンリガンドに集中した。最初の研究は、非常に活性なベンゾ[*b*]チオフェンに基づく抗チューブリン剤の製造をもたらした。<sup>18-21</sup> 本仮説のさらなる支持において、最近の研究は、構造的に改変されたエストラジオール同族体（例えば、2-メトキシエストラジオール）としてのある種のエストロゲン受容体（ER）結合化合物が、チューブリンと相互作用し、そしてチューブリン重合を阻害することを示した。<sup>22</sup> もちろん、エストラジオールは、多分ヒトにおけるもっとも重要なエストロゲンであり、そしてこの化合物にメトキシアリールモチーフの付加が、それをチューブリンと相互作用性にさせるといことは興味あることであり、そして有益である。また、2-メトキシエストラジオールがエストラジオールの自然の哺乳類代謝物であり、そして特に妊娠中に顕著である細胞成長調節的役割を演じるということは注目されるべきである。伝統的なエストロゲン受容体（ER）結合化合物の分子骨格が、コルヒチンおよびコンプレタスタチンA-4の回想される構造モチーフにより改変されて、チューブリン重合のインヒビターを生成できるという設計前提は、新規な抗有糸分裂剤のベンゾ[*b*]チオフェンおよびベンゾ[*b*]フラン類によって確認された。<sup>18-21</sup> 各シリーズの先導化合物（図1および2）は、種々のヒトのがん細胞系統に対する顕著な生物学的活性を例証した。例えば、3, 4, 5-トリメトキシベンゾ[*b*]チオフェン（図1）は、強い細胞毒性とチューブリン重合の阻害を例証した。NCI 60細胞系統パネル<sup>23</sup>において、この化合物は平均パネルGI<sub>50</sub> = 2.63 × 10<sup>-7</sup> Mを生じる（表I参照）。

3-(3', 4', 5'-トリメトキシベンゾイル)-2-(4'-メトキシフェニル)-6-メトキシベンゾ[*b*]チオフェンによるチューブリン重合の阻害。コンプレタスタチンA-4を用いる1.1 μM薬物の同じアッセイによる最大チューブリン集合速度の50%阻害は0.73 μMの値を示す。

3-(3', 4', 5'-トリメトキシベンゾイル)-2-(4'-メトキシフェニル)-6-メトキシベンゾ[*b*]チオフェンによるヒトのがん細胞系統研究（イン・ピトロ）。

表I. 2-(3', 4', 5'-トリメトキシベンゾイル)-3-(4'-メトキシフェニル)-6-メトキシベンゾ[*b*]フランによるチューブリン重合の阻害。IC<sub>50</sub> = 2.1 pM (4 pMにおいて全くフラット)。

2-(3', 4', 5'-トリメトキシベンゾイル)-3-(4'-メトキシフェニル)-6-メトキシベンゾ[*b*]フランによるヒトのがん細胞系統研究（イン・ピトロ）。

【表1】

10

20

30

40

がん細胞系統のタイプ	がん細胞系	GI <sub>50</sub> (ug/mL)
膵臓	BXPC-3	0.03 8
神経芽細胞	SK-N-SH	0.025
甲状腺	SW1736	0.047
肺	NCI-H460	0.041
咽頭	FADU	0.03 5
前立腺	DU-145	0.062

10

さらに、3, 4, 5 - トリメトキシベンゾ [ b ] チオフェン化合物 ( 図 3 ) のフェノール性誘導体は、宣言された細胞傷害性を有し、そしてチューブリン重合の顕著な阻害を例証し<sup>36</sup>、そしてこの化合物のプロドラッグ・ジナトリウムホスフェート塩型 ( 図 4 ) は、血管ターゲティングおよび破壊 ( d e s t r u c t i o n ) 剤 ( これは、チューブリン結合 ( 薬物のフェノール型 ) <sup>36</sup>, <sup>37</sup> および続くチューブリン重合の阻害の成分を含む ) としてイン・ピトロおよびイン・ピボの細胞傷害性を例証する。

最初のイン・ピボ研究は、非常に励みになるものである ( 図 5 参照 )。メスの s c i d マウスが、M H E C 接種 (  $1 \times 10^{-6}$  / マウス ) の 1 週間後、C A - 4 P およびベンゾ [ b ] チオフェンホスフェートプロドラッグを 4 0 0 m g / k g において単一用量 i p で投与された ( すなわち、C A - 4 P の M D T )。研究は、P r o f e s s o r s R o n a l d W . P e r o a n d K l a u s E d v a r d s e n , U n i v e r s i t y o f L u n d , S w e d e n との共同研究により実施された ( 註 : P b T プロドラッグ 2 0 は、B B T - P と呼ばれる同じ化合物である )。

20

これらの有望な研究結果に基づいて、インドールに基づく抗有糸分裂剤の設計における関心が起き、そして合成経路 ( スキーム 1 - 4 , 図 3 A - D 参照 ) が、ベンゾ [ b ] チオフェン誘導体の合成にしたがって設計された。

構造的にコンプレタスタチン A - 4 に関係する、本明細書に記述される若干の新規なインドールに基づくリガンドは、また、抗血管形成活性を伴うさらなる生物学的機構を介して機能できるという可能性が明らかに存在する。明白なことは、発達する腫瘍細胞への血流を選択的に途絶させる能力は、がんに対する絶えざる骨の折れる戦いにおいて可能性のある突破口である。ある種のフェニルインドールは、チューブリン重合の阻害に関して注目された。<sup>27</sup>

30

インドールに基づくリガンド 3 3 の典型的な合成は図 6、9 および 1 1 において示される。第 2 級アミン 3 0 は、塩基性条件 ( エタノール性水酸化カリウム ) 下 0 における m - アニシジンおよび 2 - プロモ - 4 - メトキシアセトフェノンの処理によって作成された。アミン 3 0 の P P A との処理は、2 種の位置異性体の形成をもたらした。これらの異性体は、E t O A c , C H <sub>2</sub> C l <sub>2</sub> および E t O H 中では乏しい溶解度をもつ。インドール 3 1 はアセトン中での粉碎によって ( インドール 3 2 から ) 精製された。この異性体の構造は N M R 解析によって確認された。C O S Y N M R は、プロトン間のカップリング関係を詳細に研究するために実施された。リガンド 3 1 の芳香族領域についての拡大された C O S Y スペクトルが図 5 に示される。この C O S Y N M R スペクトルは、各々が二重線として現れる H<sup>a</sup> および H<sup>b</sup> 間に強いカップリングを示す。H<sup>c</sup> は、小二重線中に窒素に結合されたプロトンとカップリングした。H<sup>d</sup> は、H<sup>e</sup> によってのみ対応する二重線にカップリングされたが、H<sup>e</sup> は、オルトカップリング ( H<sup>d</sup> ) およびメタカップリング ( H<sup>f</sup> ) の両方によって二重線パターンの二重線にカップリングされた。H<sup>f</sup> は、H<sup>d</sup> によって二重線にカップルされた。2 - フェニルインドール 3 1 形成のさらなる証拠は、窒素を含有する環におけるプロトン H<sup>c</sup> の化学シフトである。コンピューターモデリング ( C h e m D r a w U l t r a 4 . 5 ) により、理論的シフト値 6 . 4 p p m がプロトン H<sup>c</sup> ( 3 位における ) について予測され、これは、6 . 6 p p m における実際の N M R スペクトルに

40

50

において示されるピークに一致する。プロトンが2位に存在する場合には(図8)、化学シフトは7.03 ppmであると予測され、これは、得られたスペクトルにおけるいずれのピークにも一致しない。これらの研究に集合的に基づき、異性体31の形成が確認され、そしてメトキシフェニル系の移動が明らかにされた。他の異性体(インドール32)は、アセトンに可溶であり、そして純粋な形態で得ることははるかに困難である(図6参照)。

あるいはまた、その他の合成方法が、所望の2-フェニルインドールの製造に適用することができる。1984年には、Angererと共同研究者は、内分泌障害の治療のための新しい治療剤開発への経路としてワン・ポット反応系列における2-フェニルインドールの合成(図9)を報告している。<sup>25</sup>

この操作(図9)にしたがって、2種のアリールレジオ異性体が良好な収量で得られた。EtOH中での再結晶化は、白色結晶性物質としての所望の異性体、2-フェニルインドール31を生成した。

インドールに基づく類似体33を合成するために、フリーデル・クラフトのアシル化反応が、ルイス酸 $AlCl_3$ の存在下で塩化3,4,5-トリメトキシベンゾイルによりインドール31を処理することによって実施された(図10)。反応は、通常条件下では働かず、そして出発材料のみが生成後に得られた。反応温度を増大するか、または他のルイス酸、例えば $TiCl_4$ を用いることによって反応条件を改変する試みは、同様に無駄であった。出発材料があらゆる場合において回収された。この結果に関する1つの可能な説明は、窒素原子(孤立電子対と酸性プロトンを含む)がアシル化過程を壊すかもしれないという事実である。この解析にしたがって、フリーデル・クラフトのアシル化段階の前に、グリニャール試薬(臭化エチルマグネシウム)が使用されてこの窒素が保護された。なおも、出発材料のみが反応後に得られた。したがって、新規な合成アプローチがこの研究に持ち込まれた。

1977年には、Inionと共同研究者は、種々のアミノアルコキシ-4-ベンゾイル-3-インドールの合成を報告した。<sup>26</sup> ベンゾエートインドール生成物は、加熱(130-150)しつつ適当な塩化ベンゾイルによりインドールを処理することによって製造された。 $HCl$ がこれらの条件下で発生した。類似の合成アプローチが、所望のトリメトキシベンゾエートインドールリガンド33の合成において使用された(図11)。

前駆物質、インドール31は、塩化トリメトキシベンゾイルとともに混合された。両試薬が固体であるので、高沸点の溶媒が必要であった。1,2-ジクロロベンゼンが、180の沸点をもつのでこの場合に選ばれた。これらの条件下で、インドール33が、フラッシュカラムクロマトグラフィーおよび再結晶化による精製に続いて中等の収量で得られた。NMR分光法は、インドール33の構造が図11において指示された構造であることを示唆している。

ベンゾ[b]チオフェンおよびベンゾフラン類似体を用いて得られた有望な結果に基づいて、ホスフェート塩の製造が図12-14において詳述され、類似体の製造が図15-16において詳述され、そして類似のインドールに基づくホスフェートプロドラッグ塩およびホスホルアミデート誘導体の製造が図21-51に詳述される。

インドールに基づく抗有糸分裂剤に関するこの特許出願において記述されるホスフェートエステルプロドラッグに加えて、本発明者らは、また、コンプレタスタチンA-4(CA-4)の窒素類似体のホスホラスに基づくプロドラッグが、選択的な腫瘍血管系破壊剤として治療上有利であるということを発見した。これ

【外1】

らの化合物は、主に、CA-4の窒素類似体の3位アミノ置換体に組み立てられ

るホスホルアミデート誘導体および関連ホスフェートジアニオンである。本発明者らは、2種の特定の化合物および数種の明白な類似体を記述しているが、3-アミノ-コンプレタスタチンA-4構造から組み立てられ、そして腫瘍血管系の選択的な破壊のためのプロ

10

20

30

40

50

ドラッグとして類似の機能を示すであろう種々の他の置換体ホスホラス結合の設計が存在することは、いずれの当業者にも明らかである。

近年、コンプレタスタチンCA-4が、また抗血管形成活性を例証することが示された<sup>24</sup>ので、さらなる意義は、コルヒチン部位に結合する新規な薬物に与えられる。がん化学療法の明らかになりつつある領域は、発達中の腫瘍の新しい微細血管形成を破壊する抗血管形成薬物ならびに健全な細胞を生存させたまま腫瘍細胞の血管を選択的に標的とする血管ターゲティングおよび破壊剤の両方の開発に集中している。コンプレタスタチンCA-4プロドラッグ(図17A)は、この血管ターゲティングを表す既知の世界的化合物の比較的小さいコレクション中からの先導的な新規候補の1つである。1970年代に南アフリカにおけるヤナギ(willow)の木(コンブレタム・カッフルム(combre tum caffrum))からProfessor George R. Pettit(Arizona State University)によって発見されたこの化合物は、近年、OXIGENE, Inc.によって後援され、そして実施許諾された第1相臨床評価を受けつつある。

コンプレタスタチンA-4(CA-4)は、 $\alpha$ -チューブリン上のコルヒチン部位に結合するチューブリン重合の強力なインヒビターである。興味あることに、CA-4それ自体は腫瘍血管系の破壊を例証しないが、CA-4プロドラッグは、腫瘍血管系破壊に関して非常に活性がある。プロドラッグのホスフェートエステル部分が、亢進した血管形成の部位において選択的に脱リン酸化(多分、内皮アルカリホスファターゼの作用を介して)を受けて強力なCA-4自体を現し、これがチューブリン重合の阻害をとおして腫瘍細胞を破壊することは非常にあり得ることである。腫瘍細胞は多産の血管形成部位を表し、そしてアルカリホスファターゼは腫瘍血管を裏張りする内皮細胞において高い濃度で存在すると考えられるので、脱リン酸化事象は、腫瘍細胞において選択的に起きる。この亢進した血管形成の必要性は、健全な細胞については必要ではない。したがって、この二重様式の反応性プロフィルは、健全な細胞以上に選択的に腫瘍細胞を標的とするためには、明らかに重要である。これは、Professor Ronald Pero(OXIGENE, Inc., University of Lund)によって提出された提案であり、これに対する種々の強い証拠が得られた。

コンプレタスタチンA-4の3'-室素類似体について得られた良好かつ有望な生物学的結果に一部基づいて、ホスホルアミデート類似体が、新規なコンプレタスタチンA-4室素プロドラッグとして製造された(図17B)。

下記のホスホルアミデート10は、関係のないアリアルアミンについてのTaylorおよび共同研究者によって報告された操作にしたがって得られた。<sup>28</sup>アリアルアミン7Bの無水エーテル中ジエチルクロロホスファイトによる処理、続くm-CPBAによる酸化が、中等度の収量においてホスホルアミデート10を生成した(図18)。

ホスホルアミデート類似体10の合成における従来の試みは、Bilha and Larisa Shei hetによって報告された方法を利用した。<sup>29</sup>この方法は、ホスホルアミデート中間体を提供するが、これは、ビフィリック(biphilic)試薬としてジエチルクロロホスファイトを用いる、対応するアリアルアミンへのニトロアリアル化合物の還元から単離できる。(Z)-ニトロコンプレタスタチン類似体7Bは、ホスホルアミデートプロドラッグ10の合成のための効果的な出発材料と考えられた。また、この反応は、モデル系として(Z)-1-(3', 4', 5'-トリメトキシフェニル)-2-(4"-ニトロフェニル)エテン(既に報告された他のコンプレタスタチン含有類似体と類似の方法において合成される)を用いて試みられた(図19)。いずれの場合でも、ホスホルアミデート生成物は観察されなかった。スチルベン系における強力な電子供与置換基としてのメトキシ基の存在が反応には好ましくないと考えられる(図20)。

ホスホルアミデート(例えば10)およびそれらの関連する塩( $-NHPO_3^{-2} 2Na^+$ )を製造するために使用できる種々の他の合成方法があることはホスホルアミデート化学のホスフェートの技術に熟達したいずれの者にとっても明白であろう。

表II.<sup>30</sup> ホスホルアミデート類似体10のイン・ビトロヒトがん細胞系統研究. GI

10

20

30

40

50



$_{50}$ , TGI および  $LC_{50}$  は  $\mu g / ml$  における濃度として報告される ND = 決定不能

【表 2】

細胞タイプ <sup>a</sup>	細胞系統	$GI_{50}$	TGI	$LC_{50}$
膵臓-a	BXPC-3	$1.5 \times 10^{-1}$	$5.7 \times 10^{-1}$	>10
卵巣	OVCAR-3	$1.9 \times 10^{-1}$	$8.6 \times 10^{-1}$	>10
CNS	SF-295	$2.4 \times 10^{-1}$	>10	>10
肺-NSC	NCI-H460	$3.5 \times 10^{-1}$	>10	>10
結腸	KM20L2	$2.8 \times 10^{-1}$	$6.1 \times 10^{-1}$	>10
前立腺	-DU-145	$2.6 \times 10^{-1}$	$2.6 \times 10^{-1}$	>10
白血病	P388	$3.1 \times 10^{-1}$	ND	ND

生物学的評価（イン・ピトロ）は、ホスホルアミデートプロドラッグ 10 が、対応するアミン 8 よりも効果が低いことを示唆する（表 I I）。P e t t i t および共同研究者は、本来の化合物に比較してコンプレタスタチン A - 4 およびフェンスタチンのホスフェートプロドラッグについて、イン・ピトロの生物学的活性における同じような喪失を報告した（表 I I I）。<sup>31</sup> これらの結果は、大きいホスホラス基と結合部位認識に対するその立体的障害とによって説明することがでる。事実、P e t t i t および共同研究者は、コンプレタスタチンプロドラッグによるチューブリン重合の阻害がないが、フェンスタチンプロドラッグについてはフェンスタチンに比較して 40 % の活性が存在することを報告した。チューブリン重合の阻害の  $IC_{50}$  値は、CA - 4 について  $1.2 \pm 0.1 \mu M$ 、CA - 4 プロドラッグについて  $> 80 \mu M$ 、フェンスタチンについて  $1.0 \pm 0.2 \mu M$  およびフェンスタチンプロドラッグについて  $21 \pm 3 \mu M$  である；類似の結果は、アミノ - CA - 4 8 およびホスホルアミデート 10 について期待される。<sup>31</sup> アミノ - CA - 4 8 についての  $IC_{50}$  は  $1.2 \pm 0.02 \mu M$  であり、そしてホスホルアミデート 10 はいかなる活性もほとんどもたない。<sup>32</sup>

表 I I I . アミン - CA - 4 8、アミン - CA - 4 プロドラッグ 10、フェンスタチン、フェンスタチンプロドラッグおよびコンプレタスタチン A - 4 プロドラッグについてのヒトがん細胞系統に対する比較  $GI_{50}$  値。 $GI_{50}$  は、 $\mu g / ml$  における濃度として報告される ND = 決定不能<sup>a</sup> D R . G e o r g e R . P e t t i t と共同して得られたデータ。<sup>30b</sup> フェンスタチンホスフェートの合成から得られたデータ。

【表 3】

細胞タイプ <sup>a</sup>	細胞系統	アミン-CA-4 8 <sup>a</sup>	アミン-CA-4 プロドラッグ <sup>10a</sup>	フェンスタチン	フェンスタチン プロドラッグ <sup>b</sup>	コンプレタスタチン A-4 プロドラッグ <sup>b</sup>
卵巣	OVCAR-3	ND	$1.9 \times 10^{-1}$	$2.3 \times 10^{-3}$	$2.5 \times 10^{-3}$	$2.3 \times 10^{-2}$
CNS	SF-295	ND	$2.4 \times 10^{-1}$	$5.2 \times 10^{-2}$	$1.2 \times 10^{-2}$	$3.6 \times 10^{-2}$
肺-NSC	NCI-H460	$6.8 \times 10^{-4}$	$3.5 \times 10^{-1}$	$5.7 \times 10^{-3}$	$3.5 \times 10^{-2}$	$2.9 \times 10^{-2}$
結腸	KM20L2	ND	$2.8 \times 10^{-1}$	$4.0 \times 10^{-4}$	$2.7 \times 10^{-1}$	$3.4 \times 10^{-1}$

イン・ピボ系に関しては、ホスホルアミデート類似体 10 は、アミン 8 よりも可溶性の化合物を提供するので、それによってその生物学的利用性を増大することができる。イン・ピボの生物学的条件下で、P - N 結合は、血清ホスファターゼによって切断されてアミンを遊離するが、これはコンプレタスタチンと類似の方式でチューブリン重合を阻害できる。

## 抗血管形成

腫瘍の成長は、細胞分裂の間に要求されるすべての代謝産物を提供できる血管の生成に依存している。抗血管形成化合物の開発は、固形腫瘍の治療において特に有用であるが、その理由は、これらの化合物が、健全な細胞を生存状態で残しつつ腫瘍細胞の血管系を選択的に破壊する強い能力をもっているからである。コンプレタスタチン A - 4 プロドラッグは、薬物の小用量が腫瘍血管系に対して毒性があるので抗血管形成活性を例証した。<sup>34</sup> 増強された細胞毒性は、がん性細胞の腫瘍血管系に係わる内皮細胞に対して観察されたが、同じ時点で、腫瘍自体から離れて位置している他の内皮細胞に対しては効果をもたないことが報告された。<sup>34, 35</sup> 血管の発達が固形腫瘍の生存と増殖のためには決定的であるので、がん治療のための抗血管形成薬物としてのコンプレタスタチン A - 4 プロドラッグの作用機構が研究されつつある。抗血管形成に関する 1 つの提案されたメカニズムは、壊死に代わる細胞のアポトーシス（細胞の自殺）の誘導を必要とする。内皮細胞のアポトーシスを誘導するための、構造的に類似の化合物とともに、新規なホスホルアミデート 10 の能力の評価は、近い将来において着手されるであろう。

## ホスホルアミデート類似体の合成

(Z) - 1 - (3' - ジエチルホスホルアミデート - 4' - メトキシフェニル) - 2 - (3", 4", 5" - トリメトキシフェニル) エテン 10

ジエチルクロロホスファイト (0.103 g, 0.66 mmol) を、無水ジエチルエーテル (2.5 ml) に溶解し、そして -78℃ まで冷却した。ジイソプロピルエチルアミン (0.187 g, 1.45 mmol) を、Et<sub>2</sub>O (1.0 ml) に溶解し、そして注射器によって反応混合液に 2 分間にわたって徐々に添加した。アミノ - スチルベン 8 を、Et<sub>2</sub>O (1.0 ml) に溶解し、そして注射器によって反応混合液に徐々に添加した。反応混合液を窒素下 -78℃ で 2 時間攪拌し、続いて室温で 1 時間攪拌した。混合液を濾過し、そして溶媒を減圧下で除去した。黄色オイルを得て、乾燥 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 ml) 中に溶解した。オイルを -40℃ に冷却し、そして CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 ml) 中 m - CPBA (0.193 g, 1.12 mmol) 溶液を添加した。それを室温で 1 時間以上攪拌した。この時間後、反応混合液を -40℃ に冷却し、そして焼結ガラスロートをとおして濾過した。液は、反応を止めるために、亜硫酸ナトリウム (5%) (20 ml) 上に激しく攪拌しながら収集した。生成物は、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で抽出して単離し、そして NaHCO<sub>3</sub> 飽和溶液で洗浄した。得られた黄色オイルを MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥した。フラッシュクロマトグラフィ (70/30, ヘキサン/EtOAc) による精製で黄色オイルとしてのホスホルアミデート 10 (0.130 g, 0.29 mmol, 44%) を得た。

<sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 360MHz) 7.12(d, J=1.9Hz, 1H, ArH), 6.88(dd, J=8.4Hz, 2.0Hz, 1H, ArH), 6.72(dd, J=8.4Hz, 1.7, 1H, ArH), 6.49(s, 2H, ArH), 6.51(d, J=12.1Hz, 1H, vinyl CH), 6.41(d, J=12.1Hz, 1H, vinyl CH), 5.67(d, J=10.0Hz, NH), 4.02(m, 4H, CH<sub>2</sub>), 3.83(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.83(s, 3H, OC<sub>3</sub>), 3.68(s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 1.25(t, 6H, J=7.1Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 90MHz) 152.7, 146.7, 146.6, 137.0, 132.7, 130.3, 129.7, 129.1, 129.0, 122.0, 117.0, 109.9, 106.0, 62.8, 60.7, 55.7, 16.1.

<sup>31</sup>P-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 145MHz) 0.84.

HRMS(EI)M+ C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>7</sub>P についての計算値 451.1760, 実測値 451.1765.

## 実施例 1

## インドールに基づく抗チューブリン剤の合成

## 2 - フェニルインドール 31 の製造

方法 I (2 段階) :

rt において EtOH (18 ml) および H<sub>2</sub>O (9 ml) 中 KOH (0.926 g, 6.5 mmol) の十分な攪拌溶液に、注射器によって m - アニシジン (2.192 g, 17.80 mmol) を添加した。次いで、溶液を 0℃ で攪拌した。10 分後、2 - ブロモ - 4 - メトキシアセトフェノン (0.09 g, 17.80 mmol) 溶液を、40 分間かけて添加ロートによって滴下した。0℃ ~ rt において 20 時間後、水を添加した。生成物を抽出 (IH<sub>2</sub>CHCl, NaHCO<sub>3</sub>, 食塩水、MgSO<sub>4</sub>) によって単離した。生成

物を再結晶化 ( 50 : 50 EtOAc : ヘキサン ) によって精製して、黄色固体として第2級アミン30 ( 2.46 g , 9.07 mmol , 52% ) を得た。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ : 7.98(2H, d,  $J=8.9\text{Hz}$ ), 7.12(1H, t,  $J=8.1\text{Hz}$ ), 6.97(2H, d,  $J=8.9\text{Hz}$ ), 6.30(3H, m), 4.54(2H, s), 3.88(3H, s), 3.79(3H, s)。

ポリリン酸 ( PPA ) を丸底フラスコに加え、そして激しく攪拌しながら温度を 80 まで上げた。このフラスコに先のアミン30 ( 4.0 g , 14.74 mmol ) 30分間かけて6回に分けて添加した。80 ~ 90 において2時間後、水を添加した。生成物を抽出 ( EtOAc ,  $\text{NaHCO}_3$  , 食塩水、 $\text{MgSO}_4$  ) によって単離した。再結晶化 ( アセトン ) による精製で、淡黄色固体としてインドール31 ( 0.544 g , 2.15 mmol , 15% ) を得た。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ : 11.24(1H, br, s), 7.72(2H, d,  $J=8.82\text{Hz}$ ), 7.36(1H, d,  $J=8.57\text{Hz}$ ), 7.00(2H, d,  $J=8.84\text{Hz}$ ), 6.85(1H, d,  $J=2.07\text{Hz}$ ), 6.66(1H, d,  $J=1.66\text{Hz}$ ), 6.63(1H, dd,  $J=8.59, 2.28\text{Hz}$ ), 3.78(3H, s), 3.77(3H, s)。

$^{13}\text{C NMR}(\text{CDCl}_3)$ : 158.15, 155.22, 137.44, 136.33, 125.60, 124.93, 122.82, 120.04, 114.07, 109.00, 96.97, 94.01, 54.93, 54.88。

方法2 ( 1段階 ) :

m - アニシジン ( 1.56 ml , 20.0 mmol ) および N , N - ジメチルアニリン ( 3.5 ml ) の沸騰混合液に、2 - プロモ - 4 - メトキシアセトフェノン ( EtOAc 中 1.37 g , 6.00 mmol ) を、注射器によって徐々に添加した。添加後、混合液を 170 で1時間維持した。反応混合液を室温まで冷却し、そして暗色固体を形成した。HCl ( 2N ) とともに EtOAc を添加した。水層を EtOAc で数回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、そして  $\text{MgSO}_4$  で乾燥した。溶媒を減圧下で除去して、暗褐色固体を得た。EtOH 中での再結晶化による精製で、白色結晶状物質としてインドール31を得た。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ : 11.24(1H, br, s), 7.72(2H, d,  $J=8.82\text{Hz}$ ), 7.36(1H, d,  $J=8.57\text{Hz}$ ), 7.00(2H, d,  $J=8.84\text{Hz}$ ), 6.85(1H, d,  $J=2.07\text{Hz}$ ), 6.66(1H, d,  $J=1.66\text{Hz}$ ), 6.63(1H, dd,  $J=8.59, 2.28\text{Hz}$ ), 3.78(3H, s), 3.77(3H, s)。

$^{13}\text{C NMR}(\text{CDCl}_3)$ : 158.15, 155.22, 137.44, 136.33, 125.60, 124.93, 122.82, 120.04, 114.07, 109.00, 96.97, 94.01, 54.93, 54.88。

融点 : 208-229.5

HRMS(EI)  $\text{M}^+ \text{CH}_{16}\text{NO}_2$  についての計算値 253.3035, 実測値 253.1060。

トリメトキシベンゾエート2 - フェニルインドール33の製造

o - ジクロロベンゼン ( 10 ml ) 中インドール31 ( 0.502 g , 1.98 mmol ) の十分な攪拌溶液に、塩化トリメトキシベンゾイル ( 0.692 g , 3.00 mmol ) を添加した。反応混合液12時間加熱還流した。溶媒を減圧蒸留によって除去した。室温まで冷却後、暗色固体が形成され、これをクロロホルム中に溶解し、そして溶出液としてクロロホルムによるシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製した。回収された混合液を再びカラムクロマトグラフィー ( 50 : 50 ヘキサン : EtOAc ) によって精製して、黄色オイル状ゲルとしてトリメトキシベンジルインドール33 ( 0.744 g , 1.66 mmol , 84% ) を得た。エタノールおよびヘキサンの混合液から再結晶化によって淡黄緑色結晶を得た。

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ : 8.63(1H, br, s), 7.88(1H, d,  $J=9.39\text{Hz}$ ), 7.24(2H, d,  $J=8.78\text{Hz}$ ), 6.95(2H, s), 6.90(2H, m), 6.71(2H, d,  $J=8.79\text{Hz}$ ), 3.86(3H, s), 3.80(3H, s), 3.73(3H, s), 3.68(6H, s);

$^{13}\text{C NMR}(\text{CDCl}_3)$ : 192.23, 159.73, 157.06, 152.42, 142.85, 141.01, 136.41, 134.65, 130.16, 124.28, 122.94, 122.17, 113.67, 112.46, 111.52, 107.24, 94.54, 60.78, 55.92, 55.54, 55.14。

融点 : 153-155

分析 :  $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{NO}_6$  についての計算値 : C, 69.79; H, 5.63; N, 3.13. 実測値 : C, 69.61; H, 5.63; N, 3.01。

## 実施例 2

### チューブリン重合の阻害アッセイ

10

20

30

40

50

チューブリン重合についての  $IC_{50}$  値を、B a i らによって記述された操作にしたがって決定した。精製されたチューブリンは、H a m e l a n d L i n において記述されたようにウシ脳細胞から得られた。種々の量のインヒビターが、精製チューブリンとともに 37 で 15 分間ブレインキュベートされた。インキュベート後、反応液を冷却し、そして G T P を添加してチューブリン重合を誘導した。次いで、重合が、G i f o r d 分光光度計において 350 nm でモニターされた。最終反応混合液 (0.25 ml) は、チューブリン 1.5 mg/ml、微小管結合タンパク質 (M A P) 0.6 mg/ml、0.5 mM G T P、0.5 mM M g C l<sub>2</sub>、4% D M S O および 0.1 M 4 - モルホリンエタンスルホネートバッファー (M E S, pH 6.4) を含有した。 $IC_{50}$  は、インヒビター不在下で起きる阻害量に関してチューブリン重合を 50% 阻害するのに必要なインヒビター量である。3 - (3', 4', 5' - トリメトキシベンゾイル) - 2 - (4' - メトキシフェニル) - 6 - メトキシインドールについて決定された  $IC_{50}$  は 0.5 - 1.5  $\mu$ M であった。

10

### 実施例 3

#### P 388 白血病細胞を用いる細胞毒性アッセイ

新規に製造された化合物の 1 種が、以下および M o n k s らにおいて記述される N a t i o n a l C a n c e r I n s t i t u t e の操作に類似するアッセイ系を用いて、P 388 白血病細胞に対する細胞毒性について評価された。3 - (3', 4', 5' - トリメトキシベンゾイル) - 2 - (4' - メトキシフェニル) - 6 - メトキシインドールの E D<sub>50</sub> 値 (細胞増殖の 50% を阻害するのに必要な有効用量として定義される) は、0.0133  $\mu$ g/ml であることが見い出された。

20

### 実施例 4

#### 他のがん細胞系統に対する増殖阻害活性

3 - (3', 4', 5' - トリメトキシベンゾイル) - 2 - (4' - メトキシフェニル) - 6 - メトキシインドールが、脾臓、卵巣、C N S、肺 - N S C、結腸および前立腺系を含む、数種のヒトがん細胞系統に対する増殖阻害活性に関して評価された。使用されたアッセイは、M o n k s らによって記述されている。簡単に言えば、特定の細胞タイプおよび期待される標的細胞濃度にしたがって希釈された細胞懸濁液 (細胞増殖特性に基づいて 1 ウェル当たり 5,000 - 40,000 細胞) が、96 穴マイクロタイタープレートにピペット (100  $\mu$ l) によって添加された。接種細胞は、安定化のために 37 で 24 - 28 時間ブレインキュベーションさせた。インヒビター化合物とのインキュベーションは、5% C O<sub>2</sub> 雰囲気および 100% 湿度下で 48 時間継続させた。細胞増殖の決定は、細胞のインサイチュー固定と、それに続く細胞高分子の塩基性アミノ酸に結合するタンパク質結合染料、スルホローダミン B (S R B) による染色によって行われた。可溶化された染色が分光光度計によって測定された。これらのアッセイの結果が表 1 において示される。 $GI_{50}$  は、腫瘍細胞増殖を 50% 阻害するのに必要な用量として定義される。

30

表 I V . 選ばれたヒトがん細胞系統に対するインドールリガンドの活性 (イン・ビトロ)

【表 4】

インドールに基づくリガンド <sup>33</sup>		
細胞タイプ	細胞系統	GI <sub>50</sub> (μG/mL)
膵臓-a	BXPC-3	2.0 x 10 <sup>-3</sup>
卵巣	OVCAR-3	2.4 x 10 <sup>-3</sup>
CNS	SF-295	2.4 x 10 <sup>-3</sup>
肺-NSC	NCI-H460	2.6 x 10 <sup>-3</sup>
結腸	KM20L2	1.7 x 10 <sup>-3</sup>
前立腺	DU-145	2.3 x 10 <sup>-3</sup>

10

治療効力をもつインドールおよびインドール含有化合物は、長い間知られていた。本明細書に記述されるインドール化合物に関して真にユニークなことは、これらの化合物が、擬アリール-アリール  $\pi$ - $\pi$  スタッキング (stacking) 相互作用が起きるように適当な分子コンホメーションにおいて配列されたコルヒチンおよびコンブレタスタチン A - 4 を想起させる 3, 4, 5 - トリメトキシアリールモチーフを組み入れている最初の (本発明者の知識の及ぶ限りでは) インドールに基づくリガンドであるという事実である。適当なセントロイド間の (centroid-to-centroid) 距離 (約 4.7 Å) をもつそのようなアリール-アリール相互作用が、 $\alpha$ -チューブリン上のコルヒチン部位への増強される結合親和力のために必須であるということが本発明者らの主張である。最終的に細胞毒性現象としてそれ自体を表現するチューブリン重合の阻害をもたらすのがこの結合である。擬  $\pi$ - $\pi$  スタッキングを受けることができる類似の分子コンホメーションをもたらす方式で、インドール分子骨格の周囲にトリメトキシアリールおよびトリメトキシアロイル基を付加する種々の方法があることは、当該技術分野において熟達したいかなる実施者にとっても直ちに明らかであろう。さらに、トリメトキシアリールモチーフは増強されるチューブリン結合のためには最適であるように見えるけれども、いずれか三置換パターンまたは二置換 (1 種類のアルコキシ部分による) および一置換 (種々のアルコキシ部分による) として、あるいは 3 つの異なる種類のアルコキシ部分をもつアルコキシ置換体 (例えばエトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、アリルオキシなど) のその他の組み合わせが、また良好なチューブリン結合特性をもつことも、また非常に可能性がある。また、アリールアルコキシ基をもつ代わりに、単純にアリール-アルキルおよびアリール-アルケニル部分を置換することもまた可能であり、そしてなお増強された細胞毒性プロファイルを維持することが考えられる。フェノール性基は、また、これらの前記インドールリガンドへの活性をもつであろう。これらの改変されたインドール-リガンドのいずれの合成も、当該技術分野における熟達したいずれの者にとって非常に率直であろうし、そしてその都度、最初の出発材料の異なる選択を必要とするだけであろう。これらの代替リガンドを作成するために、同じ合成スキーム (図 6, 9, 11, 12 - 16)、またはわずかな改変のみをもつ類似のスキームが用いられる。ベンゾ [b] チオフェンリガンドによる従来の研究において、本発明者らは、カルボニル基が酸素と置換されて、チューブリンに対して同じかまたは類似の生物学的効力を維持する新規な化合物が生成できることを例証した。同様にして、前記インドールリガンドにおけるカルボニル基の置換は、酸素原子 (エーテル結合) と置換されて、チューブリンに対して良好な活性をもつことが予測される新規な誘導体を生成するであろう。この化合物は、ベンゾ [b] チオフェン化合物について本発明者らによって記述された求核試薬としてトリメトキシフェノール性アニオンを利用するさらなる脱離反応によって製造することができる。アリール-アリール環の間の他の結合原子はが同様に考えられる。

20

30

40

本明細書に開示され、そして特許請求される組成物および方法のすべては、本開示に照らして過度の実験なしに作成され、そして実施することができる。本発明の組成物および方法は好適な実施態様に関して記述されたが、種々の改変が、本発明の概念、精神および範

50

囲を逸脱することなく、組成物および／または方法に対して、そしてここに記述される方法の段階または段階の配列において適用できることは、当業者にとって明らかである。より具体的には、両化学的および生理学的に関連するある種の薬剤が、同じかまたは類似の結果が達成されつつ、本明細書に記述された薬剤を置換できることは明らかである。当業者にとって明白なそのような類似の置換物および改変物のすべては、付随する請求項によって定義される本発明の精神、範囲および概念内にはいると考えられる。

【表 5】

引用文献

- |    |   |    |
|----|---|----|
| 1) | (a) For a recent review of numerous antitubulin and antimetabolic agents see:<br>Hamel, E., Antimetabolic Natural Products and Their Interactions with Tubulin, <i>Medicinal Research Reviews</i> , 1996, 16, 207.  | 10 |
|    | (b) Gerwick, W. H.; Proteau, P. J.; Nagle, D. G.; Hamel, B.; Blokhin, A.;<br>Slate, D. L., Structure of Curacin A, a Novel Antimetabolic, Antiproliferative, and Brine<br>Shrimp Toxic Natural Product from the Marine Cyanobacterium <i>Lyngbya majuscula</i> , <i>J.</i><br><i>Org. Chem.</i> 1994, 59, 1243. |    |
|    | (c) Gianna Kakou, P.; Sackett, D.; Fojo, T.; Tubulin/Microtubules: Still a<br>promising Target for New Chemotherapeutic Agents, <i>J. Natl Cancer Inst.</i> , 2000, 92, 182.  | 20 |
| 2) | Owells, R. J.; Hartke, C. A.; Kickerson, R. M.; Hams, F. O., Inhibition of<br>Tubulin-Microtubule Polymerization by Drugs of the Vinca Alkaloid Class, <i>Cancer Res.</i> 1976,<br>36, 1499.  |    |
| 3) | Lavielle, G.; Havtefaye, P.; Schaeffer, C.; Boutin, J. A.; Cudenne, C. A.; Pierre,<br>A., New $\alpha$ -Amino Phosphonic Acid Derivatives of Vinblastine: Chemistry and Antitumor<br>Activity, <i>J Med Chem.</i> 1991, 34, 1998.   |    |
| 4) | (a) Kingston, D. G. I.; Samaranayake, G.; Ivey, C. A., The Chemistry of Taxol,<br>a Clinically Useful Anticancer Agent, <i>J. Nat. Prod.</i> 1990, 53, 1.   |    |
|    | (b) Schiff, P. B.; Fant, J.; Horwitz, S. B., Promotion of Microtubule Assembly In<br>Vitro by Taxol, <i>Nature</i> , 1979, 277, 665.  | 30 |
|    | (c) Swindell, C. S.; Krauss, N. B.; Horwitz, S. B.; Ringel, I., Biologically Active<br>Taxol Analogs with Deleted A-ring Side Chain Substituents and Variable C-2 $\beta$ Configurations,<br><i>J. Med Chem.</i> 1991, 34, 1176.  |    |
|    | (d) Parnass, J.; Horwitz, S. B., Taxol Binds to Polymerized Tubulin In Vitro, <i>J.</i><br><i>Cell Biol.</i> 1981, 91, 479.   |    |
| 5) | (a) Nakada, M.; Kobayashi, S.; Iwasaki, S.; Ohno, M., The First Total Synthesis<br>of the Antitumor Macrolide Rhizoxin: Synthesis of the Key Building Blocks, <i>Tetrahedron Lett.</i><br>1993, 34, 1035.   | 40 |
|    | (b) Nakada, M.; Kobayashi, S.; Iwasaki, S.; Ohno, M., The First Total Synthesis<br>of the Antitumor Macrolide Rhizoxin, <i>Tetrahedron Lett.</i> 1993, 34, 1039.  |    |

【表 6】

(c) Boger, D.L.; Curran, T. T., Synthesis of the Lower Subunit of Rhizoxin, *J. Org. Chem.* 1992, 57, 2235.

(d) Rao, A. V. R.; Sharma, G. V. M.; Bhanu, M. N., Radical Mediated Enantioselective Construction of C-1 to C-9 Segment of Rhizoxin, *Tetrahedron Lett.* 1992, 33, 3907.

(e) Kobayashi, S.; Nakada, M.; Ohno, M., Synthetic Study on an Antitumor Antibiotic Rhizoxin by Using an Enzymatic Process on Prochiral betaSubstituted Glutarates, *Pure Appl. Chem.* 1992, 64, 1121.

(f) Kobayashi, S.; Nakada, M.; Ohno, M., Synthetic Study on an Antitumor Antibiotic Rhizoxin by Using an Enzymatic Process on Prochiral betaSubstituted Glutarates *Indian J. Chem., Sect. B.* 1993, 32B, 159.

(g) Rao, A. V. R.; Bhanu, M. N.; Sharma, G. V. M., Studies Directed Towards the Total Synthesis of Rhizoxin: Stereoselective Synthesis of C- 12 to C- 18 Segment, *Tetrahedron Lett.* 1993, 34, 707.

6) (a) Lin, C. M.; Ho, H. H.; Pettit, G. R.; Hamel, E., Antimitotic Natural Products Combretastatin A-4 and Combretastatin A-2: Studies on the Mechanism of Their Inhibition of the Binding of Colchicine to Tubulin, *Biochemistry* 1989, 28, 6984.

(b) Pettit, G. R.; Cragg, G. M.; Singh, S. B., Antineoplastic agents, 122. Constituents of Combretum caffrum, *J. Nat. Prod* 1987, 50, 386.

(c) Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Cragg, G. M., Synthesis of Natural (-)Combretastatin, *J. Org. Chem.* 1985, 50, 3404.

(d) Pettit, G. R.; Cragg, G. M.; Herald, D. L.; Schmidt, J. M.; Lohavanijaya, P., Isolation and Structure of combretastatin, *Can. J. Chem.* 1982, 60, 1374.

(e) Dorr, R. T.; Dvorakova, K.; Snead, K.; Alberts, D. S.; Salmon, S. E.; Pettit, G. R., Antitumor Activity of Combretastatin A4 Phosphate, a Natural Product Tubulin Inhibitor, *Invest. New Drugs*, 1996, 14, 131.

7) (a) Hammonds, T. R.; Denyer, S. P.; Jackson, D. B.; Irving, W. L., Studies To Show That With Podophyllotoxin the Early Replicative Stages of Herpes Simplex Virus Type 1 Depend Upon Functional Cytoplasmic Microtubules, *J. Med. Microbiol.*, 1996, 45, 167.

(b) Cortese, F.; Bhattacharyya, B.; Wolff, J., Podophyllotoxin as a Probe for the Colchicine Binding Site of Tubulin, *J. Biol. Chem.*, 1977, 252, 1134.

【表 7】

- 8) Nicolaou, K. C., Winssinger, N., Pastor, J., Ninkovic, S., Sarabia, F., He, Y., Vourloumis, D., Yang, Z., Oi, T., Giannakakou, P., Hamel, B., Synthesis of Epothilones A and B in Solid and Solution Phase, *Nature*, 1997, 387, 268-272.
- 9) (a) Pettit, G. R., Kamano, Y., Herald, C. L., Tuinman, A. A., Boettner, F. E., Kizu, H., Schmidt, J. M., Baczynskyj, L., Tomer, K. B., Bontems, R. J., The Isolation and Structure of a Remarkable Marine Animal Antineoplastic Constituent: Dolastatin 10, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, 109, 6883-6885.
- (b) Pettit, G. R., Srirangam, J. K., Barkoczy, J., Williams, M. D., Boyd, M. R., Hamel, E., Pettit, R. K., Hogan F., Bai, R., Chapuis, J. C., McAllister, S. C., Schmidt, J. M., Antineoplastic Agents 365: Dolastatin 10 SAR Probes, *Anti-Cancer Drug Des.*, 1998, 13, 243-277. 10
- 10) Zhang, X.; Smith, C. D., Microtubule Effects of Welwistatin, a Cyanobacterial Indolinone that Circumvents Multiple Drug Resistance, *Molecular Pharmacology*, 1996, 49, 288.
- 11) Pettit, G. R., Told, B., Herald, D. L., Verdier-Pinard, P., Boyd, M. R., Hamel, E., Pettit, R. K., Antineoplastic Agents 379. Synthesis of Phenstatin Phosphate, *J. Med Chem.*, 1998, 41, 1688-1695.
- 12) Jiang, J. B.; Hesson, D. P.; Dusak, B. A.; Dexter, D. L.; Kang, G. J.; Hamel, B., Synthesis and Biological Evaluation of 2-Styrylquinazolin-4(3H)-ones, a New Class of Antimitotic Anticancer Agents Which Inhibit Tubulin Polymerization, *J. Med. Chem.* 1990, 33, 1721. 20
- 13) Cushman, M.; Nagarathnam, D.; Gopal, D.; Chakraborti, A. K.; Lin, C. M.; Hamel, E. Synthesis and Evaluation of Stilbene and Dihydrostilbene Derivatives as Potential Anticancer Agents That Inhibit Tubulin Polymerization, *J. Med Chem.* 1991, 34, 2579.
- 14) (a) Sawada, T.; Kato, Y.; Kobayashi, H.; Hashimoto, Y.; Watanabe, T.; Sugiyama, Y.; Iwasaki, S., A Fluorescent Probe and a Photoaffinity Labeling Reagent to Study the Binding Site of Maytansine and Rhizoxin on Tubulin, *Bioconjugate Chem.*, 1993, 4, 284. 30
- (b) Rao, S.; Horwitz, S. B.; Ringel, I., Direct Photoaffinity Labeling of Tubulin with Taxol, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1992, 84, 785.
- (c) Chavan, A. J.; Richardson, S. K.; Kim, H.; Haley, B. E.; Watt, D. S., Forskolin Photoaffinity Probes for the Evaluation of Tubulin Binding Sites, *Bioconjugate Chem.* 1993, 4, 268.



(d) Sawada, T.; Kobayashi, H.; Hashimoto, Y.; Iwasaki, S., Identification of the Fragment Photoaffinity-labeled with Azidodansyl-rhizoxin as Met-363 - Lys-379 on beta-Tubulin, *Biochem. Pharmacol.* 1993, 45, 1387.

(e) Staretz, M. E.; Hastie, S. B., Synthesis, Photochemical Reactions, and Tubulin Binding of Novel Photoaffinity Labeling Derivatives of Colchicine, *J. Org. Chem.* 1993, 58, 1589.

(f) Hahn, K. M.; Hastie, S. B.; Sundberg, R. J., Synthesis and Evaluation of 2-Diazo-3,3-trifluoropropanoyl Derivatives of Colchicine and Podophyllotoxin as Photoaffinity Labels: Reactivity, Photochemistry, and Tubulin Binding, *Photochem. Photobiol.* 1992, 55, 17.

(g) Sawada, T.; Hashimoto, Y.; Li, Y.; Kobayashi, H.; Iwasaki, S., Fluorescent and Photoaffinity Labeling Derivatives of Rhizoxin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991, 178, 558.

(h) Wolff, J.; Jnippling, L.; Cahnmann, H. J.; Palumbo, G., Direct Photoaffinity Labeling of Tubulin with Colchicine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991, 88, 2820.

(i) Floyd, L. J.; Bames, L. D.; Williams, R. F., Photoaffinity Labeling of Tubulin with (2-Nitro-4-azidophenyl)deacetylcolchicine: Direct Evidence for Two Colchicine Binding Sites, *Biochemistry*, 1989, 28, 8515.

(j) Safa, A. R.; Hamel, E.; Felsted, R. L., Photoaffinity Labeling of Tubulin Subunits with a Photoactive Analog of Vinblastine, *Biochemistry* 1987, 26, 97.

(k) Williams, R. F.; Mumford, C. L.; Williams, G. A.; Floyd, L. J.; Aivaliotis, M. J.; Martinez, R. A.; Robinson, A. K.; Bames, L. D., A Photoaffinity Derivative of Colchicine: 6-(4'-Azido-2'-nitrophenylamino)hexanoyldeacetylcolchicine. Photolabeling and Location of the Colchicine-binding Site on the  $\alpha$ -subunit of Tubulin, *J Biol. Chem.* 1985, 260, 13794.

15) Nogales, E., Wolf, S. G., and Downing, K. H., Structure of the  $\alpha\beta$ -Tubulin Dimer by Electron Crystallography, *Nature*, 1998, 391, 199-203.

16) Shirai, R.; Tokuda, K.; Koiso, Y.; Iwasaki, S., Synthesis and Anti-Tubulin Activity of Aza-Combretastatins, *Biomedical Chem. Lett.* 1994, 699.

17) (a) Jones, C. K.; Jevnikar, M. G.; Pike, A. J.; Peters, M. K.; Black, L. J.; Thompson, A. R.; Falcone, J. F.; Clemens, J. A., Antiestrogens. 2. Structure-Activity Studies in a Series of 3-Aroyl-2-arylbenzo[b]thiophene Derivatives Leading to [6-

Hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)benzo[*b*]thien-3-yl][4-[2-(1-piperidinyl) ethoxy] phenylimethanone Hydrochloride (LY156758), a Remarkably Effective Estrogen Antagonist with Only Minimal Intrinsic Estrogenicity, *J. Med Chem.* 1984, 27, 1057.

(b) Grese, T. A.; Cho, S.; Finley, D. R.; Godfrey, A. G.; Jones, C. D.; Lugar III, C. W.; Martin, M. J.; Matsumoto, K.; Pennington, L. D.; Winter, M. A.; Adrian, M. D.; Cole, H. W.; Magee, D. E.; Phillips, D. L.; Rowley, E. R.; Short, L.; Glasebrook, A. L.; Bryant, H. R., Structure-Activity Relationships of Selective Estrogen Receptor Modulators: Modifications to the 2-Arylbenzothiophene Core of Raloxifene, *J Med Chem.*, 1997, 40, 146.

(c) Palkowitz, A. D.; Glasebrook, A. L.; Thrasher, K. J.; Hauser, K. L.; Short, L. L.; Phillips, D. L.; Muehl, B. S.; Sato, M.; Shetler, P. K.; Cullinan, G. J.; Pell, T. R.; Bryant, H. U., Discovery and Synthesis of [6-Hydroxy-3-[4-[2-(1-piperidinyl)ethoxy]phenoxy]-2-(4-hydroxyphenyl)]benzo[*b*]thiophene: A Novel, Highly Potent, Selective Estrogen Receptor Modulator, *J. Med Chem.*, 1997, 40, 1407.

18) Pinney, K.G., Anti-Mitotic Agents Which Inhibit Tubulin Polymerization, Baylor University, Application for United States Letters Patent, Filed, March 6, 1997. Patent Number: 5,886,025. Issued, March 23, 1999.

19) Pinney, K. G.; Mejia, P.; Mocharla, V. P.; Shirlai, A.; Pettit, G. R., Anti-Mitotic Agents Which Inhibit Tubulin Polymerization, PCT Application Pending, filed under the Patent Cooperation Treaty on March 6, 1998 and designating all PCT member states. Filed jointly by Baylor University, Arizona Disease Control Research Commission, and Arizona State University.

20) Mullica, D. F.; Pinney, K. G.; Mocharla, V. P.; Dingeman, K. M.; Bounds, A. D.; Sappenfield, E. L., Characterization and Structural Analyses of Trimethoxy and Triethoxybenzo[*b*]thiophene, *J. Chem. Cryst.*, 1998, 28, 289-295.

21) Pmnney, K. G.; Dingeman, K. D.; Bounds, A. D.; Mocharla, V. P.; Pettit, G. R.; Bai, R.; Hamel, E., A New Anti-Tubulin Agent Containing the Benzo[*b*]thiophene Ring System, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 1081-1086.

22) (a) D'Amato, R. J.; Lin, C. M.; Flynn, E.; Folkman, J.; Hamel, E., 2Methoxyestradiol, an endogenous mamalian metabolite, inhibits tubulin polymerization by interacting at the colchicine site, *Proc. Natl. Acad Sci.* 1994, 91, 3964.

(b) Cushman, M.; He, H.-M.; Katzenellenbogen, J. A.; Lin, C. M.; Hamel, E., Synthesis, Antitubulin and Antimitotic Activity, and Cytotoxicity of Analogs of 2-Methoxyestradiol, an Endogenous Mammalian Metabolite of Estradiol That Inhibits Tubulin Polymerization by Binding to the Colchicine Binding Site, *J. Med. Chem.*, 1995, 38, 2041.

(c) Hamel, E.; Lin, C. M.; Flynn, E.; D'Amato, R. J. D., Interactions of 2-Methoxyestradiol, and Endogenous Mammalian Metabolite, with Unpolymerized Tubulin and with Tubulin Polymers, *Biochemistry*, 1996, 35, 1304.

(d) Cushman, M.; He, H.-M.; Katzenellenbogen, J. A.; Varma, R. K.; Hamel, E.; Lin, C. M.; Ram, S.; Sachdeva, Y. P., Synthesis of Analogs of 2-Methoxyestradiol with Enhanced Inhibitory Effects on Tubulin Polymerization and Cancer Cell Growth, *J. Med. Chem.*, 1997, (in press).

10

23) Boyd, M. R.; Paull, K. D., Some Practical Considerations and Applications of the National Cancer Institute In Vitro Anticancer Drug Discovery Screen, *Drug Development Research*, 1995, 34, 91.

24) Dark, G. G.; Hill, S. A.; Prise, V. G.; Tozer, G. M.; Pettit, G. R.; Chaplin, D. J., Combretastatin A-4, an Agent That Displays Potent and Selective Toxicity Toward Tumor Vasculature, *Cancer Res.*, 1997, 57, 1829-1834.

20

25) Angerer, E.; Prekajac, J.; Strohmeier, J.; *J. Med. Chem.* 1984, 27, 1439-1447.

26) Inion, H.; Vogelaer, H.; Bauthier, J.; Colot, M.; Richard, J.; *Eur. J. Med. Chem.* 1977, 5, 483-487.

27) Gastpar, R.; Goldbrunner, M.; Marko, D.; von Angerer, E., MethoxySubstituted 3-Formyl-2-phenylindoles Inhibit Tubulin Polymerization, *J. Med. Chem.* 1998, 41, 4965-4972.

28) Taylor, S.D.; Chen, M.J.; Dinaut, A.N.; and Batey, R.A., *Tetrahedron* 1998, 54, 4223-4242.

29) Fischer, B.; and Sheihel, L., *J. Org. Chem.* 1998, 63, 393-395.

30) Cell line studies carried out through collaborative efforts with Prof. George R. Pettit; Arizona State University; Tempe; Arizona.

30

31) Pettit, G.R.; Toki, B.; Herald, D.L.; Verdier-Pinard, P.; Boyd, M.R.; Hamel, E.; and Pettit, R.K., *J. Med. Chem.* 1998, 41, 1688-1695.

32) Tubulin polymerization studies carried out through collaborative efforts with Dr Ernest Hamel, National Institute of Health, National Cancer Institute.

33) Pettit, G.R.; and Rhodes, M.R., *Anti-Cancer Drug Des.* 1998, 13, 183-191.

# 【表 1 1】

34) Dark, G.G.; Hill, S.A.; Prise, V.E.; Tozer, G.M.; Pettit, G.R.; and Chaplin, D.J., *Cancer Res.* 1997, 57, 1829-1834.

40

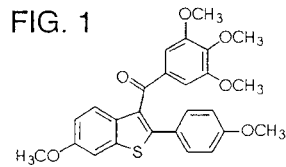
35) Iyer, S.; Chaplin, D.J.; Rosenthal, D.S.; Boulares, A.H.; Li, L.Y.; and Smulson, M.E., *Cancer Res.* 1998, 58, 4510-4514.

36) Pinney et al., Tubulin Binding Ligands and Corresponding Prodrug Constructs, Provisional Patent Application, US Ser. No. 60/188,295, filed on March 10, 2000.

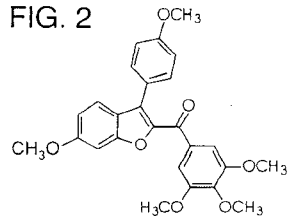
37) Pinney et al., Synthesis of a Benzo[b]thiophene-based Vascular Targeting Prodrug and Related Anti-Tubulin Ligands, *220th American Chemical Society, National Meeting*, Division of Organic Chemistry, Abstract No. 196, Washington, D.C., August 20-24, 2000.

50

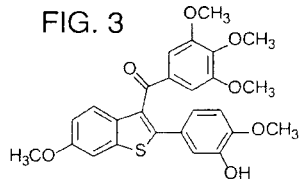
【図 1】



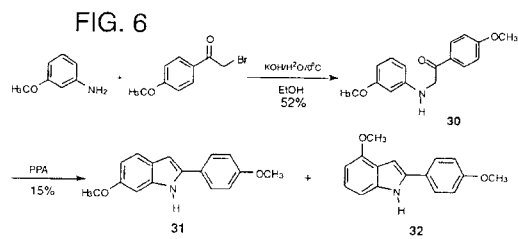
【図 2】



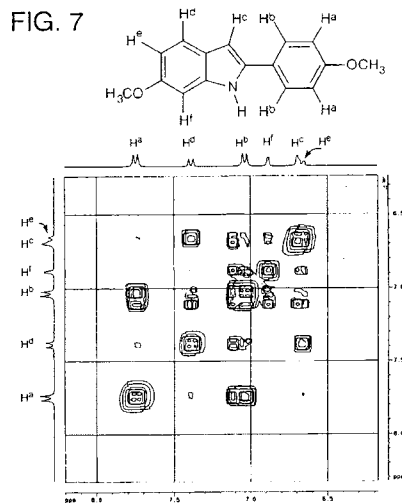
【図 3】



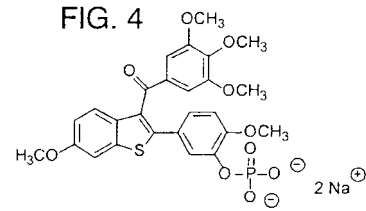
【図 6】



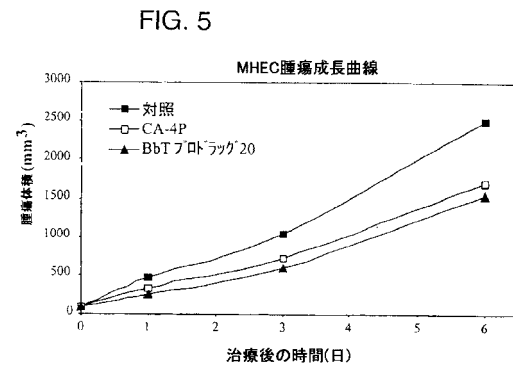
【図 7】



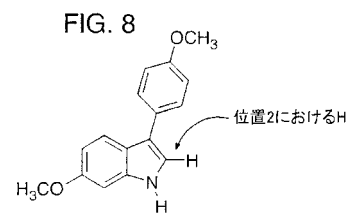
【図 4】



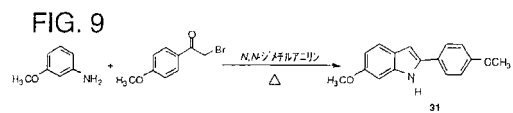
【図 5】



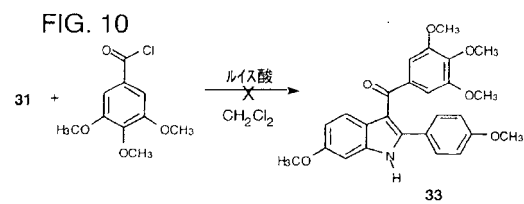
【図 8】



【図 9】

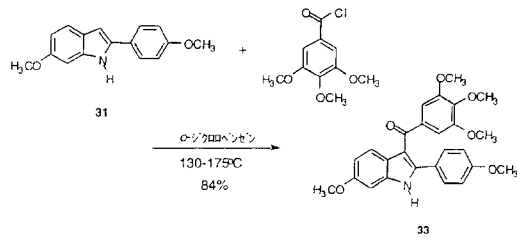


【図 10】



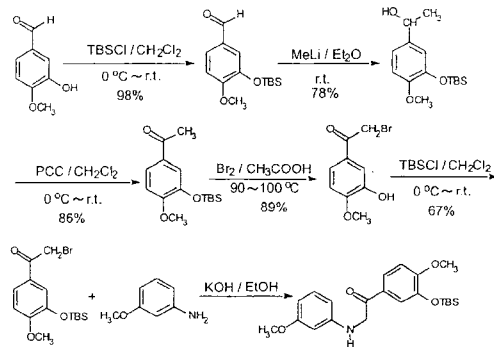
## 【図 1 1】

FIG. 11



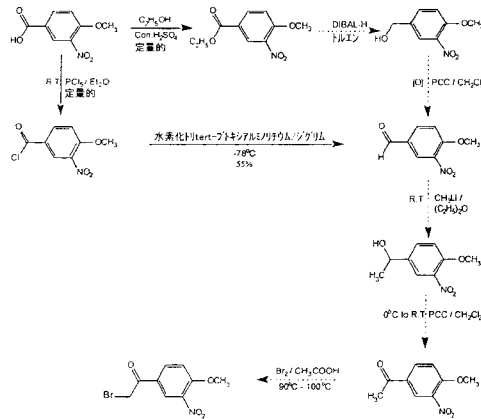
## 【図 1 2】

FIG. 12



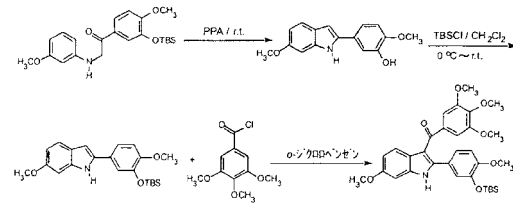
## 【図 1 5】

FIG. 15



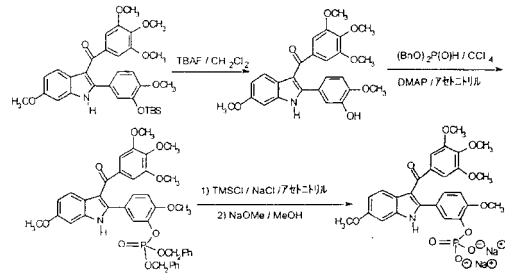
## 【図 1 3】

FIG. 13



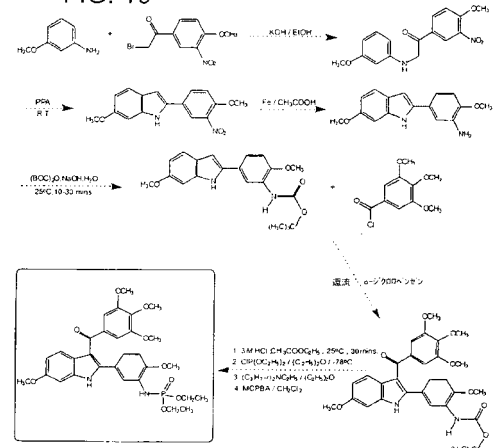
## 【図 1 4】

FIG. 14



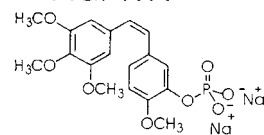
## 【図 1 6】

FIG. 16



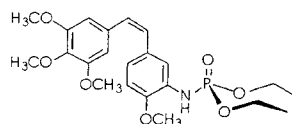
## 【図 1 7 A】

FIG. 17A



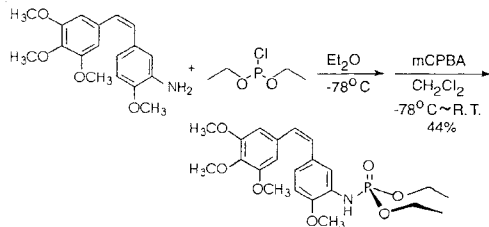
【 図 17 B 】

FIG. 17B



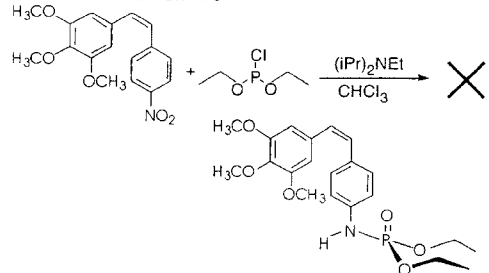
【 図 18 】

FIG. 18



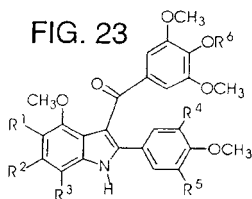
【 図 19 】

FIG. 19



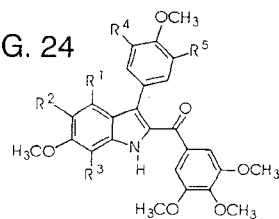
【 図 23 】

FIG. 23



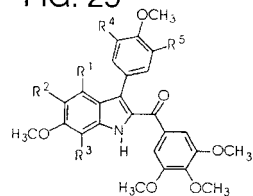
【 図 24 】

FIG. 24



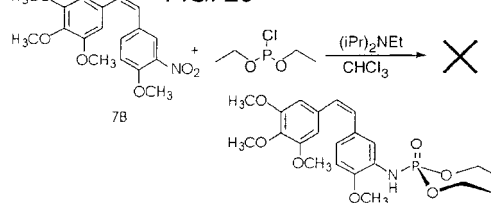
【 図 25 】

FIG. 25



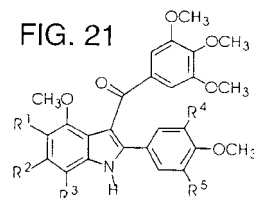
【 図 20 】

FIG. 20



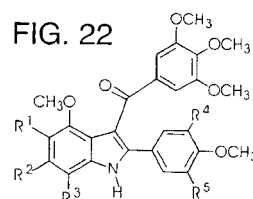
【 図 21 】

FIG. 21



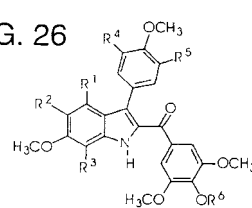
【 図 22 】

FIG. 22



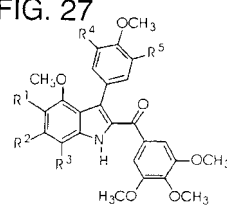
【 図 26 】

FIG. 26



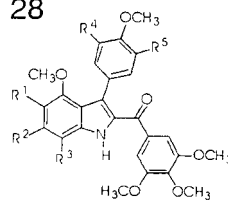
【 図 27 】

FIG. 27



【 図 28 】

FIG. 28



【 図 3 2 】


29

32

COc1ccc(cc1-c2c[nH]c3ccccc23)C(=O)c4cc(OC)c(OC)c(OC)c4

【 図 3 3 】

**G. 30**



The chemical structure of G. 30 is a 3,4,5-trimethoxybenzoyl derivative of 5-methoxy-1H-indole. It features an indole ring with a methoxy group at the 5-position and a hydrogen atom at the 1-position. The 3-position of the indole ring is substituted with a benzoyl group. The benzoyl group consists of a carbonyl group (C=O) attached to a benzene ring. This benzene ring has methoxy groups at the 3, 4, and 5 positions. The indole ring is also substituted with a methoxy group at the 5-position.

FIG. 33

Chemical structure of a phosphonate salt of a 3-aryl-4-methoxy-5-methyl-1H-indole-2-carboxamide derivative. The structure features a central indole ring system. The indole nitrogen is hydrogen-bonded to a carbonyl group (C=O) which is part of a side chain. This side chain includes a benzene ring with a methoxy group (OCH<sub>3</sub>) and a phosphonate group (P(=O)(O<sup>-</sup>)(O<sup>-</sup>)). The phosphonate group is shown as a phosphorus atom double-bonded to an oxygen and single-bonded to two negatively charged oxygens. The side chain also includes a benzene ring with a methoxy group (OCH<sub>3</sub>) and a methyl group (CH<sub>3</sub>). The indole ring has a methoxy group (OCH<sub>3</sub>) at the 4-position and a methyl group (CH<sub>3</sub>) at the 5-position. The overall structure is shown as a salt with Na<sup>+</sup> and O<sup>-</sup> ions.

**FIG. 31**

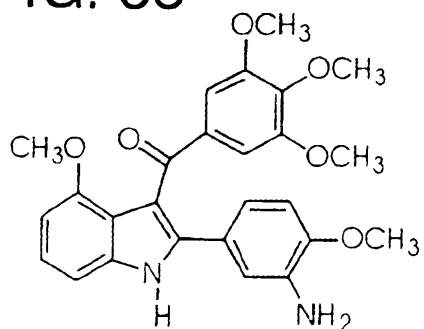
Chemical structure of a substituted benzimidazole derivative. The structure features a benzimidazole core. The benzimidazole ring has a methoxy group ( $\text{H}_3\text{CO}$ ) at the 6-position and a hydrogen atom ( $\text{H}$ ) at the 7-position. The 2-position of the benzimidazole is substituted with a 4-methoxyphenyl group ( $\text{OCH}_3$ ). The 3-position of the benzimidazole is substituted with a 3,4,5-trimethoxybenzoyl group ( $\text{H}_3\text{CO}$ ,  $\text{OCH}_3$ ,  $\text{OCH}_3$ ).

【圖 3 4】

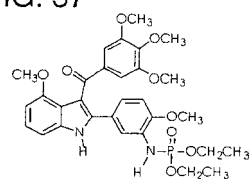
COc1cc(OC)c(OC)c(C(=O)c2c3ccccc3n2C2=CC=C(C=C2)C3=CC(=CC=C3)O)c1

【 図 3 7 】

FIG. 37

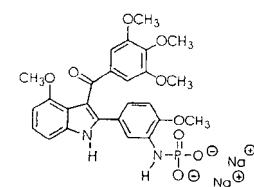


19. 07



【 図 3 8 】

FIG. 38

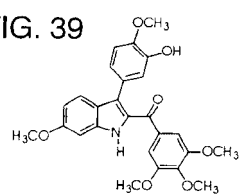


【 図 3 9 】

**FIG. 36**

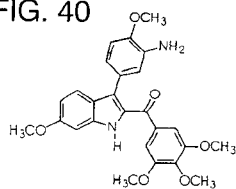
Chemical structure of a sodium salt of a substituted indole derivative. The structure features an indole ring with a methoxy group at position 3 and a carbonyl group at position 2. The carbonyl is linked to a 3,4,5-trimethoxyphenyl group. The indole nitrogen is linked to a 4-methoxyphenyl group, which is further linked to a phosphate group. The phosphate group is shown as a phosphorus atom double-bonded to one oxygen and single-bonded to three others, two of which are negatively charged. Two sodium ions ( $\text{Na}^+$ ) are shown nearby to indicate the salt form.

FIG. 39



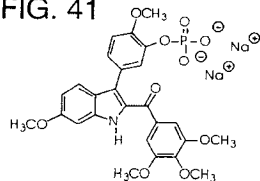
【 図 4 0 】

FIG. 40



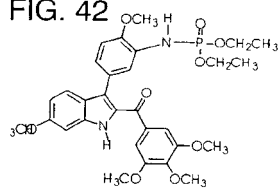
【 図 4 1 】

FIG. 41



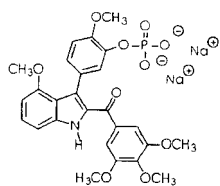
【 図 4 2 】

FIG. 42



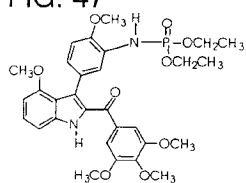
【 図 4 6 】

FIG. 46



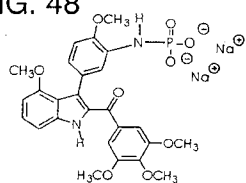
【 図 4 7 】

FIG. 47



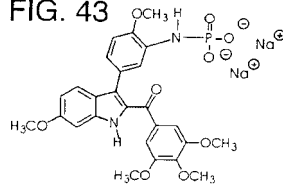
【 図 4 8 】

FIG. 48



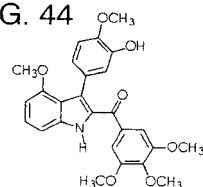
【 図 4 3 】

FIG. 43



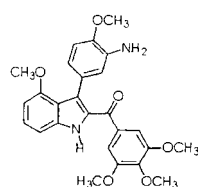
【 図 4 4 】

FIG. 44



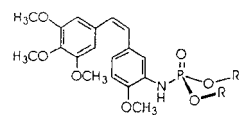
【 図 4 5 】

FIG. 45



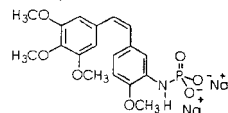
【 図 4 9 】

FIG. 49



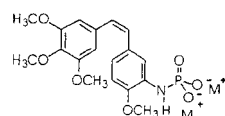
【 図 5 0 】

FIG. 50



【 図 5 1 】

FIG. 51





---

フロントページの続き

審査官 安藤 倫世

- (56)参考文献 国際公開第 9 8 / 0 3 9 3 2 3 ( WO , A 1 )  
国際公開第 9 9 / 0 3 4 7 8 8 ( WO , A 1 )  
国際公開第 9 9 / 0 3 5 1 5 0 ( WO , A 1 )  
米国特許第 0 5 5 6 1 1 2 2 ( US , A )  
国際公開第 0 0 / 4 8 6 0 6 ( WO , A 1 )  
国際公開第 9 9 / 0 5 1 2 4 6 ( WO , A 1 )

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)  
C07D 209/00-209/96  
REGISTRY(STN)  
CA(STN)