

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5005532号
(P5005532)

(45) 発行日 平成24年8月22日(2012.8.22)

(24) 登録日 平成24年6月1日(2012.6.1)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 31/519 (2006.01) A 6 1 K 31/519
A 6 1 P 35/00 (2006.01) A 6 1 P 35/00
C O 7 D 475/08 (2006.01) C O 7 D 475/08

請求項の数 18 (全 10 頁)

(21) 出願番号	特願2007-515512 (P2007-515512)	(73) 特許権者	500516056
(86) (22) 出願日	平成17年5月31日 (2005.5.31)		スローン - ケッタリング インスティ チュート フォー キャンサー リサーチ アメリカ合衆国 10021 ニューヨー ク州, ニューヨーク, ヨーク アベニュー 1275
(65) 公表番号	特表2008-501038 (P2008-501038A)	(74) 代理人	100066692
(43) 公表日	平成20年1月17日 (2008.1.17)		弁理士 浅村 皓
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/019169	(74) 代理人	100072040
(87) 国際公開番号	W02005/117891		弁理士 浅村 肇
(87) 国際公開日	平成17年12月15日 (2005.12.15)	(74) 代理人	100088926
審査請求日	平成20年5月8日 (2008.5.8)		弁理士 長沼 暉夫
(31) 優先権主張番号	60/521, 593	(74) 代理人	100102897
(32) 優先日	平成16年5月30日 (2004.5.30)		弁理士 池田 幸弘
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 10-プロパルギル-10-デアザアミノプテリンを用いるT細胞リンパ腫の治療

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

T細胞リンパ腫の治療用医薬組成物の調製における、10-プロパルギル-10-デアザアミノプテリンの使用。

【請求項2】

前記10-プロパルギル-10-デアザアミノプテリンが、10-デアザアミノプテリンを実質的に含んでいない請求項1に記載の使用。

【請求項3】

前記医薬組成物が、1用量当たり10-プロパルギル-10-デアザアミノプテリンを30から275mg/m²の量で投与するように調製される請求項1又は2に記載の使用。

【請求項4】

患者が診断されたT細胞リンパ腫が、
 (a) 胸腺からの原始的リンパ性前駆細胞に悪性腫瘍が生じる、リンパ芽球性リンパ腫、
 (b) T細胞前リンパ球性白血病、T細胞顆粒リンパ球性白血病、活動性NK細胞白血病；菌状息肉腫又はセザリー症候群を含む皮膚T細胞性リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、T細胞型、腸症型T細胞リンパ腫、HTLV-1関連T細胞リンパ腫を含む成人T細胞白血病又はリンパ腫、及び血管免疫芽球性T細胞リンパ腫、及び皮下脂肪織炎性T細胞リンパ腫からなる群から選択される、成熟又は未梢T細胞新生物、並びに
 (c) 最初にリンパ節副皮質を冒し、真の濾胞状パターンに成長することのない、未梢T

細胞リンパ腫

からなる群から選択される、請求項 1 から 3 の何れか 1 項に記載の使用。

【請求項 5】

前記 T 細胞リンパ腫が、前記リンパ芽球性リンパ腫である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 6】

前記 T 細胞リンパ腫が、前記末梢 T 細胞リンパ腫である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 7】

前記 T 細胞リンパ腫が、H T L V - 1 関連 T 細胞リンパ腫である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 8】

前記 T 細胞リンパ腫が、皮下脂肪織炎性 T 細胞リンパ腫である、請求項 4 に記載の使用。

10

【請求項 9】

前記 T 細胞リンパ腫が、セザリー症候群である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 10】

10 - プロパルギル - 10 - デアザアミノプテリンを含む、T 細胞リンパ腫を治療するための医薬組成物。

【請求項 11】

10 - デアザアミノプテリンを実質的に含んでいない請求項 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

1 用量当たり 10 - プロパルギル - 10 - デアザアミノプテリンを 30 から 275 mg / m² の量で投与するように調製される、請求項 10 又は 11 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 13】

患者が診断された T 細胞リンパ腫が、

(a) 胸腺からの原始的リンパ性前駆細胞に悪性腫瘍が生じる、リンパ芽球性リンパ腫、
(b) T 細胞前リンパ球性白血病、T 細胞顆粒リンパ球性白血病、活動性 N K 細胞白血病
; 菌状息肉腫又はセザリー症候群を含む皮膚 T 細胞性リンパ腫、未分化大細胞リンパ腫、
T 細胞型、腸症型 T 細胞リンパ腫、H T L V - 1 関連 T 細胞リンパ腫を含む成人 T 細胞白
血病又はリンパ腫、及び血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫、及び皮下脂肪織炎性 T 細胞リン
パ腫からなる群から選択される、成熟又は末梢 T 細胞新生物、並びに

30

(c) 最初にリンパ節副皮質を冒し、真の濾胞状パターンに成長することのない、末梢 T
細胞リンパ腫

からなる群から選択される、請求項 10 から 12 の何れか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

前記 T 細胞リンパ腫が、リンパ芽球性リンパ腫である、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

前記 T 細胞リンパ腫が、前記末梢 T 細胞リンパ腫である、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

前記 T 細胞リンパ腫が、前記H T L V - 1 関連 T 細胞リンパ腫である、請求項 13 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 17】

前記 T 細胞リンパ腫が、皮下脂肪織炎性 T 細胞リンパ腫である、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

前記 T 細胞リンパ腫が、セザリー症候群である、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

50

本願は、参照により本明細書に組み込まれる、2004年5月30日に出願した米国仮出願第60/521,593号の優先権を主張するものである。

【0002】

本願は、10-プロパルギル-10-デアザアミノプテリンの組合せ、及びT細胞リンパ腫の治療における使用に関する。

【背景技術】

【0003】

10-プロパルギル-10-デアザアミノプテリン(「PDX」又は「10-プロパルギル-10dAM」)は、腫瘍の治療において試験され、あるケースで有用であることが見出されている大きなクラスの化合物の1員である。この化合物は、図1に示す構造式を有し、DeGrawら、「10-プロパルギル-10-デアザアミノプテリンの合成及び抗腫瘍活性」、J. Medical Chem. 36、2228~2231頁(1993年)によって開示され、マウスL1210細胞系における成長阻害剤として、より少ない程度に酵素ジヒドロ葉酸還元酵素(「DHFR」)の阻害剤として、作用することが示されている。加えて、E0771マウス乳房腫瘍モデルを用いた、この化合物の抗腫瘍特性に関する幾つかの結果が提出されている。試験に用いられたマウスが少数であること(投与量当たり3匹)、データの信頼性を定量化する標準偏差情報が無いこと、及び最高投与量が実際にはマウスに有害であったという事実のために、このデータは不確かである。いずれにせよ、このデータが、ヒト腫瘍の治療における薬物の有効性に関する予見的価値をいくらか有するとしても、同レベルの耐性において、メトトレキサートに匹敵しうるか、又はやや良好な特性を有する薬物をせいぜい予測するに過ぎない。

【0004】

PCT公報第WO098/02163は、より高度に精製されたPDX組成物が、ヒト腫瘍に対するこれらの有効性を異種移植モデルにおいて試験した時に、メトトレキサート(「MTX」)よりもはるかに優れており、より最近の臨床候補であるエダトレキサート(「ETX」)に対してさえより優れていることを示した、という驚くべき観察結果を開示している。さらに、10-プロパルギル-10dAMは、腫瘍を治癒した結果、治療中断後の数週間にわたって腫瘍増殖の徴候が認められないという驚くべき能力を示した。よって、10-プロパルギル-10dAMを含有する高度に精製された組成物は、本発明に従って、固形腫瘍及び白血病のいずれをも含む腫瘍を治療するのに用いることができる。この組成物は、ヒト乳房腫瘍及びヒト肺癌の治療における使用が例証されている。

【0005】

PDXに関するその後の試験により、これが、単独でも、また他の治療薬と組合せても、有用であることが示されている。例えば、Sirotnakら、Clinical Cancer Research vol. 6、3705~3712頁(2000年)は、PDXと、cMOAT/MRP様原形質膜ATPアーゼの阻害剤であるプロベネシドとの同時投与が、生体内でのヒト固形腫瘍に対するPDXの有効性を非常に高めることを報告している。PDX、及びPDXと白金を用いた化学療法薬(platinum based chemotherapeutic agents)との組合せは、中皮腫に対して有効であることが示されている(Khokarら、Clin. Cancer Res. 7、3199~3205頁(2001年))。

【0006】

「リンパ腫」の語は、非ホジキンリンパ腫(NHL)；びまん性大B細胞リンパ腫(DLBCL)；濾胞性リンパ腫(FL)；ホジキン病；バーキットリンパ腫；皮膚T細胞性リンパ腫；中枢神経系原発リンパ腫、及びリンパ腫様転移を含む、様々な病状をいう。殆どの場合、リンパ腫は癌性B細胞の存在を特徴とする。しかしながら、T細胞リンパ腫では、病状は癌性Tリンパ球によって特徴づけられる。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0007】

10

20

30

40

50

本発明によれば、T細胞非ホジキンリンパ腫は、PD Xを用いて治療される。よって、本発明の一態様によれば、リンパ腫を患っている患者への、治療上有効な量のPD Xの投与を含む、T細胞非ホジキンリンパ腫の治療のための方法が提供される。ヒトにおける予備的な臨床結果は、この治療が特に有効であり、他の治療方法では難治性であるリンパ腫に対してさえも有効であることを示している。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

本出願は、T細胞リンパ腫の治療における、10 - プロパルギル - 10 - デアザミノプテリンの使用に関する。

【0009】

T細胞リンパ腫は、患者のT細胞が癌性であると判定されたリンパ腫である。T細胞リンパ腫は以下のものを含むが、これらに限定されず様々な状態を包含する：

(a) 胸腺からの原始的リンパ性前駆細胞に悪性腫瘍が生じる、リンパ芽球性リンパ腫；
 (b) T細胞前リンパ球性白血病、T細胞顆粒リンパ球性白血病、活動性NK細胞白血病、皮膚T細胞性リンパ腫（菌状息肉腫セザリー症候群）、未分化大細胞リンパ腫、T細胞型、腸症型T細胞リンパ腫、HTLV - 1に関連するものを含む成人T細胞白血病/リンパ腫、及び血管免疫芽球性T細胞リンパ腫、及び皮下脂肪織炎性T細胞リンパ腫を含む、成熟又は末梢T細胞新生物；並びに

(c) 最初にリンパ節副皮質を冒し、真の濾胞状パターンに成長することのない、末梢T細胞リンパ腫。

【0010】

本発明の実施形態の1つにおいては、組成物は「高度に精製された」PD Xを含む。本明細書と本明細書の請求の範囲に用いる際、「高度に精製された」組成物とは、PD Xの抗腫瘍活性を妨害する可能性のある他の葉酸誘導体、特に10 - デアザミノプテリン、を本質的に含まずにPD Xを含有する。本発明の範囲内の組成物は、PD Xを治療用の適当な投与単位形態に製剤化するための担体又は賦形剤、並びにさらなる非葉酸治療薬を含んでいてもよい。

【0011】

PD Xは、上記のDeGrawの論文、又は参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第5,354,751号の実施例7に開示された方法を用いて合成することができる。この方法によって調製された生成物のHPLC評価は、実質的な量（～4.6%）の不純物Aの存在を示し（図2）、この不純物は10 - デアザミノプテリンと一致する保持時間を有する。よって、この合成アプローチを採用するならば、DeGrawらの論文に開示されている方法を超えるさらなる精製が必要である。このような精製を付加的なHPLC又は結晶化によって実施することができ、これにより存在しているかもしれない10 - デアザミノプテリンと他の葉酸誘導体とを除去することができる。

【0012】

図3は、実施例1に記載した方法を用いて調製された、本質的に本発明による10 - プロパルギル - 10 d AMからなる、高度に精製された製剤のHPLCを示す。この場合においては、PD Xの量（HPLCピーク面積によって測定される）は98%に近く、該当エリアに小さい基線の波が存在するものの、10 - デアザミノプテリンに対応するピークは処理ソフトウェアによっては検出されない。

【0013】

PD Xは、薬物抵抗性T細胞リンパ腫を患っている3人を含む、活動型リンパ腫を患っている患者が参加した、第1相/第2相試験に用いられている。以下のケースサマリーが得られている。これらの患者は、それぞれ、葉酸（毎日1mg/m²を、PD Xを用いた治療の1週間前に開始）とB12（毎月1mg/m²）の補給を伴う治療も受けていた。

【0014】

患者1

診断： 末梢T細胞リンパ腫、ステージIV

10

20

30

40

50

人口統計： 48歳男性
 前治療： CHOP × 4 サイクル (2002年7月～2002年11月) - 難治性
 ICE × 2 サイクル (2002年12月) - 難治性
 キャンパス (2003年3月～2003年6月) - 複合反応

治療前病期診断：広範な疾患、皮膚疾患

試験対象の治療：PDX 135 mg / m² × 1投与

毒性： グレード3の口内炎；グレード3の好中球減少症；敗血症

反応： PETスキャンによる本質的に完全な寛解

コメント： この患者は最終的には、グラム陽性菌による皮膚外傷開口部からの菌血症と敗血症を発症した後に死亡した。

10

【0015】

患者2

診断： リンパ芽球性リンパ腫、T細胞前駆体、ステージIV

人口統計： 65歳女性

前治療： 2002年5月よりL-20複合体併用化学治療が行われ、2年間にわたって投与された。2002年5月から2004年2月までMTXを受けた。2004年12月に再発した。

治療前病期診断：広範囲に広がる再発

試験対象の治療：PDX 30 mg / m² × 3週間、4週間毎。これまでに3サイクルを完了

20

毒性： なし

反応： PET及びCTスキャンによる完全な寛解

コメント： 広範囲の洞に起因する疾患を伴う、本質的にメトキサレート抵抗性の疾患を患っている患者であるが、PDXを1投与後に解消し始めた。

【0016】

患者3

診断： T細胞リンパ腫に関連するHTLV

人口統計： 38歳男性

前治療： EPOCH - 注入投与併用化学治療 2003年10月から2004年2月

30

治療前病期診断：左腋窩疾患

試験対象の治療：PDX 毎週30 mg / m² × 3を4週間毎 × 2サイクル

毒性： なし

反応： 完全な寛解

コメント： 最初のサイクル完了までに臨床的に明白な疾患は完全に消滅、非常に良好に耐受され、毒性なし。

【0017】

患者4

診断： 脂肪織炎性T細胞リンパ腫

人口統計： 25歳男性

40

前治療： Ontak (難治性)、2002年9月～2002年11月；Targretin及びIFN 2003年1月～2003年10月 (永続的な部分的寛解)；CHOP 2004年4月～2004年6月；ICE 2004年6月、CyPen 2004年7月～2004年8月、Targretin / MTX 2004年9月から2005年2月。

試験対象の治療：PDX 毎週30 mg / m² × 4

反応： PETによる臨床的に完全な寛解

毒性： なし

コメント： 皮下傷治癒、多数のためカウント不可、大きな潰瘍性肉芽傷

【0018】

50

これまでにT細胞リンパ腫を患っているたった4人の患者しかPDXによる治療を受けていないが、4人全員が、高感度のPET画像技術に基づいてさえも、完全な寛解の基準を満たしている。興味深いことに、 135 mg/m^2 の治療を受けた患者はただ一度の薬物投与だけで劇的な治療反応を示している一方、他の患者は週毎のスケジュールで少量の投与のみを受けたに過ぎなかった。

【0019】

本発明における使用のため、PDXは製剤の一部として有利に製剤化される。具体的な投与形態は投与方法に依存すると思われるが、錠剤、カプセル、経口液体、及び静脈内、筋肉内若しくは腹腔内投与のための注射可能な溶液を包含しうる。適切な投与スケジュールの1つは、2週間毎に 150 mg/m^2 の投与を含む。個々の患者の耐容性によっては、又はより頻繁な投与が適用される場合には、勿論より低いレベルが示されることもある。例えば、約40から 120 mg/m^2 のレベルが適当である。毎週 30 mg/m^2 で3週間投与した後に1週間の休み、毎週 $30\text{ mg/m}^2 \times 6$ 週間の後に1週間の休み、又は週毎のPDX投与量を徐々に増加 $\times 6$ 週間のスケジュールもまた、適当である。投与頻度がより低い場合には、より高いレベルを用いることができる。よって、一般的な意味では、様々な投与スケジュールで30から 275 mg/m^2 の投与量を適切に用いることができ、例えば隔週の投与では135から 275 mg/m^2 を、毎週投与では30から 150 mg/m^2 を適切に用いることができる。参照によって本明細書に組み込まれる、米国特許第6,323,205号に記載されているものと類似のプロトコルを用いた適切な投与量の決定は、従来技術の範囲内である。

【0020】

PDXは、例えばビンブラスチン、ナベルピン及びビンデシンのようなピンカルカロイド；例えばゲムシタピン、5-フルオロウラシル及びシタラピンのようなプロベニシド、ヌクレオチド類似物；例えばシクロホスファミド又はイホスファミドのようなアルキル化剤；シスプラチン又はカルボプラチン；ロイコボリン；例えばパクリタキセル又はドセタキセルのようなタキサン；放射性同位体を含む又は含まない抗CD20モノクローナル抗体、並びに、ドキシソルピシン及びマイトマイシンのような抗生物質を含む、他の細胞毒性及び抗腫瘍性化合物と組合せて用いてもよい。PDXと、これらの他の抗腫瘍剤の幾つか、又は増殖因子阻害剤及び血管新生阻害剤との組合せを用いてもよい。

【0021】

PDXと他の薬剤とは、同時に投与してもよく、PDXと他の薬剤が異なる時に投与されるような一般的な治療レジメンの一部として組合せて利用してもよい。例えば、PDXの投与に対して、その前、直後、又は一定期間（例えば24時間）後に、他の薬剤を投与してもよい。よって、本出願の目的のために、他に特定しない限り、投与という用語は一般に、薬物の同時投与又は連続投与を意味し、並行治療レジメンにおける順序は何れであっても、薬物間の時間差はあってもなくてもよい。

【0022】

PDXは、治療の副作用を減らすために、葉酸及びビタミンB12補給と組合せて適切に用いることができる。例えば、葉酸（1日当たり 1 mg/m^2 を、PDXを用いた治療に1週間先行して開始）及びB12（1月当たり 1 mg/m^2 ）を用いて患者を治療してもよい。

【実施例】

【0023】

（実施例1）

図4は、本発明による10-プロパルギル-10dAMの調製に有用な合成スキームを示す。 18 mL のシープ乾燥THF中の油分散液における $60\% \text{ NaH}$ （ 1.06 g 、 26.5 mmol ）の混合物を0に冷却した。この低温混合物を、乾燥THF（ 7 mL ）中のホモテレフタル酸ジメチルエステル（ 5.0 g 、 24 mmol 、図4における化合物1）の溶液で処理し、この混合物を0で1時間攪拌した。臭化プロパルギル（ 26.4 mmol ）を加え、混合物を0においてさらに1時間、次いで室温において16時間攪

10

20

30

40

50

拌した。生じた混合物を2.4 mLの50%酢酸で処理し、次いで240 mLの水中に注いだ。この混合物を、エーテル(2 x 150 mL)で抽出した。このエーテル抽出物を混合し、Na₂SO₄上で乾燥させて、橙黄色油状物になるまで濃縮した。シクロヘキサン-EtOAc(8:1)によって溶離させるシリカゲル(600 mLの230~400メッシュ)上でのクロマトグラフィにより、生成物 - プロパルギルホモテレフタル酸ジメチルエステル(化合物2)が白色固体(4.66)として得られ、これはTLC(シクロヘキサン-EtOAc, 3:1)によって均質であるように見受けられた。しかしながら、この生成物の質量スペクトルデータは、これが、目的生成物2とジプロパルギル化合物との混合物であることを示した。出発物質1は検出されなかった。HPLCは、モノプロパルギル化生成物のジプロパルギル化生成物に対する比率が約3:1であることを示している。化合物1とは異なり、ジプロパルギル化生成物は次の工程の反応において好ましくない副産物を生成する可能性がないため、この物質は化合物3への変換のために適切であった。合成を進行させるために用いられる生成物中に出発化合物1が存在しないことは、最終生成物を生じる変換中の10-dAMの逐次形成を避けるために非常に重要であるが、これは10-プロパルギル-1-dAMから10-dAMを完全に除去することが非常に困難であるからである。

【0024】

油分散液における0.36 gの60%NaH(9 mmol)を10 mLの乾燥DMFと混合して混合物を形成し、0~5 に冷却した。この低温混合物を、10 mLの乾燥DMF中の第1反応の生成物(化合物2)(2.94 g, 12 mmol)の溶液を滴下して処理し、次いで0 で30分間攪拌した。 - 25 に冷却した後に、温度を - 25 付近に維持しながら、10 mLの乾燥DMF中の2,4,ジアミノ-6-(プロモメチル)-ブテリジン臭化水素酸塩0.2 2-プロパノール(1.00 g, 2.9 mmol)の溶液を滴下して加えた。攪拌混合物の温度を、2時間にわたって - 10 まで上昇させた。 - 10 にさらに2時間維持した後に、温度を20 まで上昇させ、室温における攪拌を2時間より長く続けた。次いで、固体CO₂の添加によって、反応物をpH7に調整した。真空下で濃縮して溶媒を除去した後に、残渣にジエチルエーテルを加えて攪拌し、エーテル不溶物質を回収して、水によって洗浄し、真空下で乾燥させて1.49 gの粗生成物を得た。この粗生成物を、シリカゲルカラムに供給するために、CHCl₃-MeOH(10:1)中に溶解させた。同溶媒系による溶離は10-プロパルギル-10-カルボメトキシ-4-デオキシ-4-アミノ-10-デアザブテロイン酸メチルエステル(化合物3)を与え、これは40%収率(485 mg)でTLCに対して均質であった。

【0025】

2-メトキシエタノール(5 mL)中の化合物3(400 mg, 0.95 mmol)の攪拌懸濁液を、水(5 mL)で処理し、次いで10%水酸化ナトリウム溶液(3.9 mL)で処理した。この混合物を室温において4時間攪拌すると、この間に溶液が生じた。この溶液を、酢酸を用いてpH8に調整し、高真空下で濃縮した。生じた残渣を、15 mLの水に溶解させ、pH5.5~5.8に酸性化して沈殿を形成させた。この沈殿を回収し、水を用いて洗浄して真空下で乾燥させ、340 mgの化合物4(91%収率)を回収した。HPLC分析は90%の生成物純度を示した。

【0026】

化合物4(330 mg)を、15 mLのDMSO中で10分間115~120 に加熱することによって脱炭酸した。10分間後のHPLCによる試験で、変換が本質的に完了していることを確認した。真空下で蒸留する(40 の浴)ことにより、DMSOを除去した。残渣を0.5N NaOHと共に攪拌し、透明な溶液を得た。1N HClを用いてpH5.0に酸性化すると、10-プロパルギル-4-デオキシ-4-アミノ-10-デアザブテロイン酸(化合物5)が黄色固体として70%収率で得られた。HPLCは、この段階における生成物純度を90%と示した。

【0027】

化合物5(225 mg, 0.65 mmol)を、トリエチルアミン(148 mg, 1.

10

20

30

40

50

46 mmol) を含有する DMF (10 mL) 中の BOP 試薬 (ベンゾトリアゾル - 1 - イルオキシトリス (ジメチルアミノ) ホスホニウムヘキサフルオロリン酸塩 (287 mg、0.65 mmol、Aldrich Chemical Co.)) を用いて、ジメチル L - グルタミン酸塩酸塩 (137 mg、0.65 mmol) とカップリングさせた。この混合物を、20 ~ 25 °C で 3 時間攪拌し、次いで蒸発乾固させた。残渣に水を加えて攪拌し、水に不溶な粗生成物を回収して、真空下で乾燥させた。この粗生成物 (350 mg) を、トリエチルアミン (0.25 容量%) を含有する CHCl₃ - MeOH (10 : 1) によって溶離させるシリカゲルクロマトグラフィによって精製し、165 mg の 10 - プロパルギル - 10 - デアザアミノプテリンジメチルエステル (化合物 6、50% 収率) を回収したが、これは TLC (CHCl₃ : MeOH 5 : 1) に関して均質であった。

10

【0028】

化合物 6 (165 mg、0.326 mmol) を 10 mL の攪拌 MeOH 中に懸濁させて、これに 0.72 mL (0.72 meq) の 1N NaOH を加えた。数時間後に溶液が生じるまで、室温における攪拌を続けた。この溶液を 20 ~ 25 °C に 8 時間維持し、次いで 10 mL の水で希釈した。減圧下での蒸発によってメタノールを除去し、濃縮した水溶液を 20 ~ 25 °C でさらに 24 時間放置した。その後の HPLC は、エステル加水分解が完了したことを示した。透明な水溶液を、酢酸を用いて pH 4.0 に酸性化し、10 - プロパルギル - 10 - デアザアミノプテリンを淡黄色固体として沈殿させた。回収し、水で洗浄し、真空下で乾燥させた生成物は、122 mg (79% 収率) の重量であった。元素分析、プロトン NMR、及び質量分光測定によるアッセイは、割り当てられた構造と完全

20

【図面の簡単な説明】**【0029】**

【図 1】 PDX 及びメトトレキサートの構造を示す図である。

【図 2】 先行技術によって調製された、純粋でない 10 - プロパルギル - 10 d AM 製剤の HPLC を示す図である。

【図 3】 本発明による、高度に精製された PDX 製剤の HPLC を示す図である。

【図 4】 本発明によって化合物を調製するのに有用な合成スキームを示す図である。

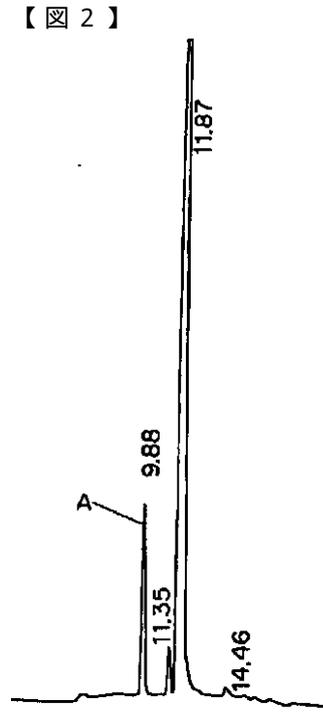
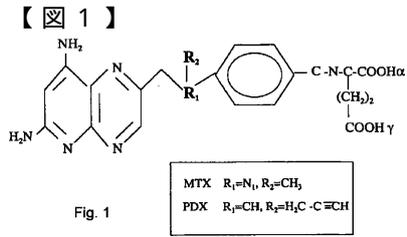


FIG. 2

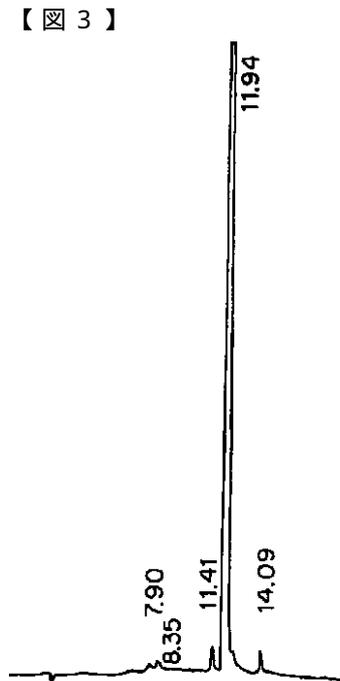
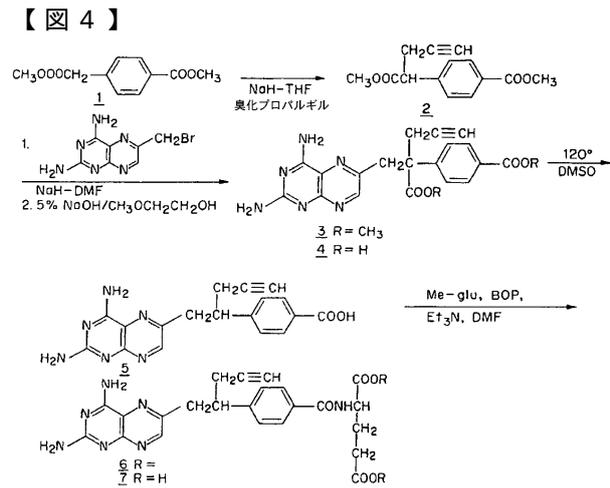


FIG. 3



フロントページの続き

- (72)発明者 オコーナー、オーエン、エー .
アメリカ合衆国、ニューヨーク、スカーズデール、 モンゴメリー ロード 2
- (72)発明者 シロトナック、フランシス
アメリカ合衆国、ニューヨーク、ハンプトンベイズ、 ベイビュー ドライブ ウェスト 2

審査官 富永 保

- (56)参考文献 WANG EUNICE S, BLOOD, 2001年11月16日, V98 N11 PART 1, P.612A, ABSTRACT#2565
WANG E S, LEUKEMIA AND LYMPHOMA, 英国, 2003年 6月 1日, V44 N6, P1027-1035

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
CA/REGISTRY(STN)