

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

**特表2007-514663****(P2007-514663A)**

(43) 公表日 平成19年6月7日(2007.6.7)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C O 7 C 69/716 (2006.01)</b>	C O 7 C 69/716 C S P A	4 C 2 0 6
<b>A 6 1 K 31/21 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/21	4 H 0 0 6
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	
<b>A 6 1 P 35/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁)

(21) 出願番号 特願2006-542113 (P2006-542113) (86) (22) 出願日 平成16年12月1日 (2004.12.1) (85) 翻訳文提出日 平成18年8月1日 (2006.8.1) (86) 国際出願番号 PCT/IL2004/001098 (87) 国際公開番号 W02005/054172 (87) 国際公開日 平成17年6月16日 (2005.6.16) (31) 優先権主張番号 60/526,081 (32) 優先日 平成15年12月2日 (2003.12.2) (33) 優先権主張国 米国 (US)	(71) 出願人 506186536 ラモト アット テル - アビブ ユニ バーシティー リミテッド イスラエル国 6 1 3 9 2 テルアビブ、 ハイム レバノン ストリート 32、 ビー. オー. ボックス 3 9 2 9 6 (74) 代理人 100066692 弁理士 浅村 皓 (74) 代理人 100072040 弁理士 浅村 肇 (74) 代理人 100102897 弁理士 池田 幸弘 (74) 代理人 100088926 弁理士 長沼 暉夫 <div style="text-align: right;">最終頁に続く</div>
--	--

(54) 【発明の名称】 ジャスモネート誘導体化合物、製薬組成物及びその使用方法

## (57) 【要約】

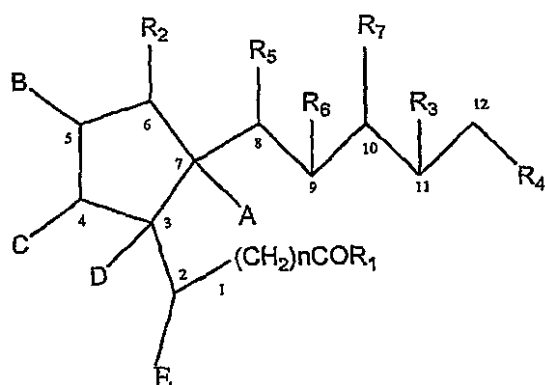
本発明は、新規なジャスモネート誘導体化合物、それらの製造方法、そのような化合物を含む製薬組成物、そして癌、特に哺乳動物の癌の治療のための、特に化学療法薬として、これらの化合物及び組成物を使用する方法を提供する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式 I

## 【化 1】



式 I

10

20

〔式中、 $n$ は0、1又は2であり；

$R_1$ は、OH、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルコキシ、アリールオキシ、O-グルコシル又はイミノであり；

$R_2$ は、OH、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルコキシ、O-グルコシル、オキソ、アルキル又はイミノであり；

$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、A、B、C、D及びEは各々独立して、H、ハロゲン、OH、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルコキシ、アリールオキシ、O-グルコシル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル又は $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルキルであり；

しかも、 $R_1$ と $R_2$ 、又は $R_1$ と $R_4$ は、一緒になって、随意に置換されているラクトンを形成することができ；

30

$C_3 : C_7$ 間、 $C_4 : C_5$ 間、及び $C_9 : C_{10}$ 間、の結合は独立して二重結合又は単結合であることができ；

$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、A、B、C、D及びEの少なくとも1つはハロゲンであることを条件とし；そして

Aが化合物中の唯一のハロゲンである場合は、Aはフルオロではないことを条件とする）の化合物、あるいは前記式の誘導体（但し、この誘導体は、塩、水和物、溶媒和物、多形体（polymorphs）、光学異性体、鏡像異性体、ジアステレオ異性体、及びそれらの混合物を包含する、

$C_3$ での低級アシル側鎖（遊離酸又はエステル又は共役体）、 $C_6$ 炭素でのケト又はヒドロキシ（遊離ヒドロキシ又はエステル）部分又は $C_7$ での $n$ -ペンテニル又は $n$ -ペンチル側鎖；

40

の少なくとも1つを有する）。

## 【請求項 2】

$C_9$ と $C_{10}$ との間の結合が単結合である、請求項1の化合物。

## 【請求項 3】

$R_2$ がオキソである、請求項1の化合物。

## 【請求項 4】

$R_6$ 及び $R_7$ の少なくとも1つがブロモ、ヨード、フルオロ及びクロロから選ばれる、請求項1の化合物。

## 【請求項 5】

50

R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> の両方がプロモ、ヨード、フルオロ及びクロロから選ばれる、請求項 1 の化合物。

【請求項 6】

R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> の両方がプロモである、請求項 1 の化合物。

【請求項 7】

A、B、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> がプロモ、ヨード、フルオロ及びクロロである、請求項 1 の化合物。

【請求項 8】

A、B、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> が、各々プロモである、請求項 1 の化合物。

【請求項 9】

R<sub>1</sub> がアルコキシである、請求項 1 の化合物。

10

【請求項 10】

R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub> 及び R<sub>5</sub> が、各々 H である、請求項 1 の化合物。

【請求項 11】

C、D 及び E が、各々 H である、請求項 1 の化合物。

【請求項 12】

n が 0 であり；C<sub>3</sub>：C<sub>7</sub> 間、C<sub>4</sub>：C<sub>5</sub> 間及び C<sub>9</sub>：C<sub>10</sub> 間の結合が単結合であり；R<sub>1</sub> がメトキシであり；R<sub>2</sub> がオキソであり；R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、A、B、C、D 及び E が各々 H であり；そして R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> が各々プロモである、請求項 1 の化合物。

【請求項 13】

n が 0 であり；C<sub>3</sub>：C<sub>7</sub> 間、C<sub>4</sub>：C<sub>5</sub> 間及び C<sub>9</sub>：C<sub>10</sub> 間の結合が単結合であり；R<sub>1</sub> がメトキシであり；R<sub>2</sub> が位置 6 における炭素への二重結合を介して結合された O であって、それによりカルボニル基を形成し；R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、C、D 及び E は各々 H であり；そして A、B、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> が各々プロモである、請求項 1 の化合物。

20

【請求項 14】

製薬的に許容できる担体及び請求項 1 の化合物を活性成分として含む、製薬組成物。

【請求項 15】

製薬的に許容できる担体及び請求項 12 の化合物を活性成分として含む、製薬組成物。

【請求項 16】

製薬的に許容できる担体及び請求項 13 の化合物を活性成分として含む、製薬組成物。

30

【請求項 17】

活性成分が製薬的に許容出来る脂質担体中に溶解されている、請求項 14 の製薬組成物。

【請求項 18】

治療的に有効な量の請求項 1 の化合物に癌細胞をさらすことを含む、癌細胞の増殖を減少させる方法。

【請求項 19】

癌が哺乳動物の癌である、請求項 18 の方法。

【請求項 20】

哺乳動物がヒトである、請求項 19 の方法。

40

【請求項 21】

化合物が請求項 4 の化合物である、請求項 18 の方法。

【請求項 22】

化合物が請求項 12 の化合物である、請求項 18 の方法。

【請求項 23】

化合物が請求項 13 の化合物である、請求項 18 の方法。

【請求項 24】

癌が、癌腫、肉腫、腺腫、肝臓細胞癌、胚芽細胞腫、横紋筋肉腫、食道癌、甲状腺癌、神経節芽細胞腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、背索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、骨膜腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、ラブドテリオ肉

50

腫 ( r h a b d o t h e l i o s a r c o m a )、結腸肉腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、黒色腫、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、頸部癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、神経膠星状細胞腫、髓芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上皮細胞腫、松果体腫、網膜芽細胞腫、直腸癌、甲状腺の癌、頭及び頸部癌、脳癌、末梢神経系の癌、中枢神経系の癌、神経芽細胞腫、子宮内膜の癌；急性骨髄性白血病、急性骨髄球白血病、急性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球白血病、肥満細胞性白血病、多発性骨髄腫、骨髄球性リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫を包含するすべてのタイプの白血病及びリンパ腫を包含するリンパ球増殖性疾患及び造血性悪性疾患からなる群から選ばれる、請求項 18 の方法。

10

【請求項 25】

癌が前立腺癌、乳癌、皮膚癌、結腸癌、肺癌、膵臓癌、リンパ腫、白血病、頭及び頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、骨癌、肝臓癌及び甲状腺癌からなる群から選ばれる、請求項 18 の方法。

【請求項 26】

癌が白血病、肺癌、黒色腫及び結腸癌から選ばれる、請求項 18 の方法。

【請求項 27】

請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の化合物の治療的に有効な量を活性成分として含有する製薬組成物を、治療を必要としている患者に投与することを含む、癌の治療方法。

【請求項 28】

癌の治療のための医薬の製造のための請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の化合物の使用。

20

【請求項 29】

癌が、癌腫、肉腫、腺腫、肝臓細胞癌、胚芽細胞腫、横紋筋肉腫、食道癌、甲状腺癌、神経節芽細胞腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、背索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、骨膜腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、ラブドテリオ肉腫 ( r h a b d o t h e l i o s a r c o m a )、結腸肉腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、黒色腫、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、頸部癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、神経膠星状細胞腫、髓芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上皮細胞腫、松果体腫、網膜芽細胞腫、直腸癌、甲状腺の癌、頭及び頸部癌、脳癌、末梢神経系の癌、中枢神経系の癌、神経芽細胞腫、子宮内膜の癌；急性骨髄性白血病、急性骨髄球白血病、急性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球白血病、肥満細胞性白血病、多発性骨髄腫、骨髄球性リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、を包含するすべてのタイプの白血病及びリンパ腫を包含するリンパ球増殖性疾患及び造血性悪性疾患、ならびに上記のすべての転移からなる群から選ばれる、請求項 28 に記載の使用。

30

【請求項 30】

癌が前立腺癌、乳癌、皮膚癌、結腸癌、肺癌、膵臓癌、リンパ腫、白血病、頭及び頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、骨癌、肝臓癌及び甲状腺癌からなる群から選ばれる、請求項 28 に記載の使用。

40

【請求項 31】

癌が、白血病、肺癌、黒色腫及び結腸癌から選ばれる、請求項 28 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ジャスモネート ( j a s m o n a t e ) 誘導体化合物、それらの製造方法、そのような化合物を含む製薬組成物、及び癌、特に哺乳動物における癌の治療のための、特に化学療法薬としてこれらの化合物及び組成物を使用する方法の分野に関する。

【背景技術】

50

## 【0002】

ジャスモネート類 (jasmonates) は、オクタデカノイド経路によるリノレン酸から誘導された植物ストレスホルモン類の一族であり、そして多くの食用植物において微量で見いだされる。ジャスモネート族のようなストレスホルモンは植物において生成し、そして極度の紫外線照射、浸透圧ショック、熱ショック、及び病原体侵襲のようなストレスの時に放出されて、適当な応答に終わる種々の一連の作用 (cascades) を開始する。ジャスモネート族の部員の例は、傷に応答しての細胞間信号送りにとって極めて重要なジャスモン酸、及び創傷又は病原体侵襲に応答して低い濃度で蓄積する蛋白分解酵素 (プロティナーゼ) 阻害薬の誘発を起こすジャスモン酸メチルである。ジャスモネート類は、植物成長及び農産物改良における種々の用途のために特許されてきたが、しかし医薬における使用については以前には知られていなかった。哺乳動物の癌の治療のためのジャスモネート類の使用は米国特許第6,469,061号 (この特許を参照することによりその全体において本明細書に組み入れる) に開示された。米国特許第6,469,061号において、乳癌、前立腺癌、皮膚癌及び血液癌から誘導された種々のタイプのヒト癌細胞に対して直接に細胞毒性であったことが示された。ジャスモネート類は、ヒト白血病 Molt-4 細胞の死を誘発したけれども、それらは正常なリンパ球を損傷しなかった。

10

## 【0003】

集められた続くデータは、ジャスモネート類が健康な赤血球を損傷しなかったことを同様に示した (WO 02/080890 参照)。米国特許第6,469,061号において、1種のジャスモネート化合物、特にジャスモン酸メチルは、ネズミにおけるリンパ腫の発生を防止するのに有効であることが示された。Leukemia: 16 第608頁 ~ 第616頁 (2002年) の Fingrut, O. 及び E. Fleisher の “植物ストレスホルモンはヒト癌細胞における増殖を抑制し、そして細胞消滅を誘発する” を参照。

20

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0004】

ジャスモネート化合物の薬理学的活性は癌の治療のための治療薬として、これらを魅力的な候補物にする。ほんの僅かなジャスモネート誘導体のみが報告された (例えば、Leukemia 1-7 (2004年), Ishii 等を参照) だけであるので、悪性細胞に対して高度の特異性を有する強力な化学療法薬であるジャスモネート誘導体化合物を開発することの必要性が、当業界に存在する。

30

本発明は、この必要性に取り組みそして同様に他の利点を提供する。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0005】

発明の概要

本発明は、ジャスモネート (jasmonate) 誘導体化合物、特にハロゲン化されているジャスモネート誘導体化合物に向けられている。そのような化合物は、“ジャスモン酸メチルジブロマイド” (又は “MJDB”)、及び “ジャスモン酸メチルテトラブロマイド” (又は “MJTB”) である。これらの化合物は、米国特許第6,469,061号において開示された最も有効なジャスモネート、即ちジャスモン酸メチルよりも、有意義にいっそう効能がある。以下に示す様に、MJDB 及び MJTB のようなジャスモネート誘導体は、患者から取り出された癌性リンパ球に選択的に細胞毒性を発揮し、その一方では正常なリンパ球に対してはとてもひかえめである。

40

## 【0006】

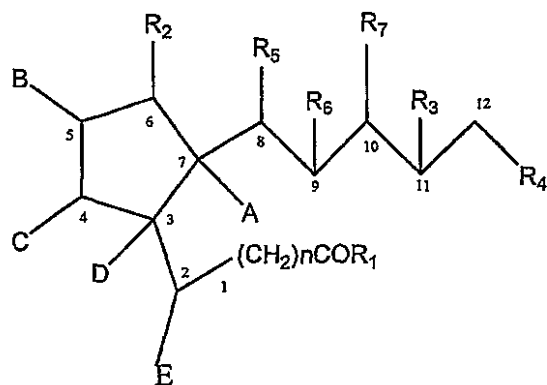
本発明はまた、本発明の化合物、特に MJDB 及び MJTB の、塩、水和物、溶媒和物、多形体 (polymorph)、光学異性体、ジアステレオ異性体、及びそれらの混合物を包含する。

## 【0007】

本発明の化合物は、式 I

50

## 【化 1】



式 I

10

〔式中、 $n$ は0、1又は2であり；

$R_1$ は、OH、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルコキシ、アリールオキシ、O-グルコシル又はイミノであり；

$R_2$ は、OH、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルコキシ、O-グルコシル、オキソ、アルキル又はイミノであり；

$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、A、B、C、D及びEは各々独立して、H、ハロゲン、OH、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルコキシ、アリールオキシ、O-グルコシル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル又は $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルキルであり；しかも、 $R_1$ と $R_2$ 、又は $R_1$ と $R_4$ は、一緒になって、随意に置換されているラクトンを形成することができ；

$C_3 : C_7$ 間、 $C_4 : C_5$ 間、及び $C_9 : C_{10}$ 間、の結合は独立して二重結合又は単結合であることができ；

$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、A、B、C、D及びEの少なくとも1つはハロゲンであることを条件とし；そして

Aが化合物中の唯一のハロゲンである場合は、Aはフルオロではないことを条件とする

〕の化合物、あるいは前記式の誘導体（但し、この誘導体は、塩、水和物、溶媒和物、多形体（polymorphs）、光学異性体、鏡像異性体、ジアステレオ異性体、及びそれらの混合物を包含する、

$C_3$ での低級アシル側鎖（遊離酸又はエステル又は共役体）、 $C_6$ 炭素でのケト又はヒドロキシ（遊離ヒドロキシ又はエステル）部分又は $C_7$ での $n$ -ペンテニル又は $n$ -ペンチル側鎖；

の少なくとも1つを有する）を有する。

## 【0008】

さらに特定的には、本発明（式I）の好ましい化合物は、 $C_9$ と $C_{10}$ との間の結合が単結合である。他の好ましい化合物は、 $R_2$ がオキソである化合物である。その上の他の好ましい化合物は $R_6$ 及び $R_7$ の少なくとも1つがブロモ、ヨード、フルオロ又はクロロである化合物である。 $R_6$ 及び $R_7$ の両方がブロモ、ヨード、フルオロ又はクロロから選ばれる化合物がなおいっそう好ましい。 $R_6$ 及び $R_7$ の両方がブロモである化合物はその上にさらに好ましい。

## 【0009】

本発明のさらに好ましい面は、A、B、 $R_6$ 及び $R_7$ がブロモ、ヨード、フルオロ又はクロロである化合物である。A、B、 $R_6$ 及び $R_7$ が、各々ブロモである化合物がなおいっそう好ましい。

## 【0010】

50

本発明の他の好ましい化合物は  $R_1$  がアルコキシである化合物である。なお他の面において、 $R_3$ 、 $R_4$  及び  $R_5$  が、各々 H（水素）である。その上の他の面において C、D 及び E が各々 H である。

#### 【0011】

本発明の最も好ましい化合物の一方はジャスモン酸メチルジブロマイド（MJDB）である。式 I によれば、MJDB は、 $n$  が 0 であり； $C_3$ ： $C_7$  間、 $C_4$ ： $C_5$  間及び  $C_9$ ： $C_{10}$  間の結合が単結合であり； $R_1$  がメトキシであり； $R_2$  がオキシであり； $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、A、B、C、D 及び E が各々 H であり；そして  $R_6$  及び  $R_7$  が各々ブromoである化合物である。

#### 【0012】

本発明の最も好ましい化合物の他方はジャスモン酸メチルテトラブロマイド（MJTB）である。式 I によれば、MJTB は、 $n$  が 0 であり； $C_3$ ： $C_7$  間、 $C_4$ ： $C_5$  間及び  $C_9$ ： $C_{10}$  間の結合が単結合であり； $R_1$  がメトキシであり； $R_2$  がオキシであり； $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、C、D 及び E は各々 H であり；そして A、B、 $R_6$  及び  $R_7$  が各々ブromoである化合物である。

#### 【0013】

本発明の他の好ましい化合物において、 $n$  は 0 であり； $C_3$ ： $C_7$  間、 $C_4$ ： $C_5$  間及び  $C_9$ ： $C_{10}$  間の結合が単結合であり； $R_1$  がメトキシであり； $R_2$  がオキシであり； $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、A、B、C、D 及び E が各々 H であり；そして：

(e)  $R_6$  及び  $R_7$  が各々フルオロである（化合物 “MJS99” と称する）か；

(b)  $R_6$  及び  $R_7$  が各々ヨードである（化合物 “MJS85f14” と称する）か；

(c)  $R_6$  及び  $R_7$  が各々クロロである（化合物 “MJS81f13” と称する）か；

(d)  $R_6$  及び  $R_7$  の一方がブromoであり、そして他方がヒドロキシである（化合物 “NJ-63” と称する）か；又は

(e)  $R_6$  及び  $R_7$  の一方がヨードであり、他方がメトキシである（化合物 “MJS72f5” と称する）；

のいずれかである。

#### 【0014】

本発明はまた、製薬的に許容できる担体、及び活性成分として、上記のような本発明の化合物を含む製薬組成物を意図している。好ましい組成物は活性成分として MJDB 又は MJTB を有する。好ましくは、製薬組成物において、活性成分を任意の許容できる脂質担体に溶解する。さらに、本発明の好ましい態様に従って、その組成物は少なくとも 1 種の他の化学療法薬をさらに含む。

#### 【0015】

本発明はさらに、本明細書に記載されたような本発明の化合物の治療的に有効な量に、癌細胞をさらすことを含む、癌細胞の増殖を減少させる方法を提供する。

#### 【0016】

さらに本発明は、本明細書に記載されたような本発明の化合物の治療的に有効な量を、活性成分として含有する製薬組成物を患者に投与することを含む、癌の治療方法を提供する。好ましい態様に従えば、癌は、温血脊椎動物、さらに好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトの癌である。

#### 【0017】

癌は、癌腫、肉腫、腺腫、肝臓細胞癌、胚芽細胞腫、横紋筋肉腫、食道癌、甲状腺癌、神経節芽細胞腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、背索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、骨膜腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、ラブドテリオ肉腫（rhabdomyosarcoma）、結腸肉腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、黒色腫、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、頸部癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、神経膠星状細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上皮細胞腫、松果体腫、網膜芽細胞腫、直腸癌、甲状腺の癌、頭及び頸部癌、脳癌、末梢

10

20

30

40

50

神経系の癌、中枢神経系の癌、神経芽細胞腫、子宮内膜の癌；急性骨髄性白血病、急性骨髄球白血病、急性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球白血病、肥満細胞性白血病、多発性骨髄腫、骨髄球性リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫を包含するすべてのタイプの白血病及びリンパ腫を包含するリンパ球増殖性疾患及び造血性悪性疾、ならびに上記のすべての転移を包含する。

【0018】

本発明のこれらの及び追加の特徴は、以下の、図面、詳細な説明及び特許請求の範囲に関連しての記載から、よりよく理解されるだろう。

【0019】

本発明は、添付図面に関して例のためにだけ、本明細書に記載される。

10

図面において、図1は、a) ヒトCLLリンパ球(“患者1”、“患者2”及び“患者3”と標識化)；b) 健康な供与者からのリンパ球(“正常”と標識化)に対するMJD Bの細胞毒性活性を示す。

【0020】

図面において、図2は、4種のヒト悪性細胞系、即ちリンパ芽球白血病(Molt-4)、肺癌(3LL)、黒色腫(B16)及び結腸癌(HCT116)に対してのMJD B及びジャスモン酸メチル(MJ)により作用された毒性の水準の比較を示す。

【0021】

図面において、図3は、野性型又は突然変異体p53のいずれかを発現する細胞に対するMJD Bの細胞毒性活性を示す。

20

図面において、図4は、Molt-4白血病細胞におけるATP水準上へのMJD B及びMJの効果の比較を示す。

【0022】

図面において、図5は、異なる細胞系、即ちMolt-4(白血病)、D122(肺癌)、B16(黒色腫)及びB16MDR(多重薬耐性を示す黒色腫)に対するMJTBの細胞毒性活性を示す。

【0023】

図面において、図6は、MJD B及びMJの細胞毒性を比較する。細胞毒性は対照非処理培養物の%として示される(平均±SE, n=3)。\*\*\*はMJ及びMJTBの効果と比較する $P < 0.001$ を示す。

30

【0024】

図面において、図7は、白血病細胞に対する正常なリンパ球上へのMJTBの効果を比較する。正常なリンパ球に対する白血病細胞上へのMJTBの効果を比較する、\*は $P < 0.05$ を示し、\*\*は $P < 0.01$ を示し、そして\*\*\*は $P < 0.001$ を示す。細胞毒性は対照非処理培養物の%として示された(平均±SE, n=3)。

【0025】

図面において、図8は、白血病細胞に対する本発明の他のMJ誘導体の細胞毒性を示す。

【0026】

発明の詳細な記載

40

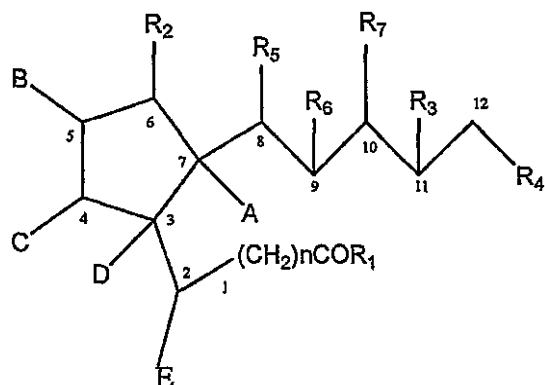
本発明は、新規なジャスモネート(jasmonate)誘導体、これらの化合物を含む組成物及び癌の治療において該組成物を使用する方法を提供する。

【0027】

本発明の化合物は式：



## 【化 2】



式 I

10

〔式中、 $n$ は0、1又は2であり；

$R_1$ は、OH、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルコキシ、アリールオキシ、O-グルコシル又はイミノであり；

20

$R_2$ は、OH、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルコキシ、O-グルコシル、オキソ、アルキル又はイミノであり；

$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、A、B、C、D及びEは各々独立して、H、ハロゲン、OH、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルコキシ、アリールオキシ、O-グルコシル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル又は $C_1 \sim C_{12}$ 置換アルキルであり；しかも、 $R_1$ と $R_2$ 、又は $R_1$ と $R_4$ は、一緒になって、随意に置換されているラクトンを形成することができる；

$C_3 : C_7$ 間、 $C_4 : C_5$ 間、及び $C_9 : C_{10}$ 間、の結合は独立して二重結合又は単結合であることができ；

$R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、A、B、C、D及びEの少なくとも1つはハロゲンであることを条件とし；そして

30

Aが化合物中の唯一のハロゲンである場合は、Aはフルオロではないことを条件とする）の化合物、あるいは前記式の誘導体（但し、この誘導体は、

塩、水和物、溶媒和物、多形体（polymorphs）、光学異性体、鏡像異性体、ジアステレオ異性体、及びそれらの混合物を包含する、

$C_3$ での低級アシル側鎖（遊離酸又はエステル又は共役体）、 $C_6$ 炭素でのケト又はヒドロキシ（遊離ヒドロキシ又はエステル）部分又は $C_7$ での $n$ -ペンテニル又は $n$ -ペンチル側鎖；

の少なくとも1つを有する）を有する。

## 【0028】

40

さらに特定的には、本発明（式I）の好ましい化合物は、 $C_9$ と $C_{10}$ との間の結合が単結合である化合物である。他の好ましい化合物は、 $R_2$ がオキソである化合物である。その上他の好ましい化合物は、 $R_6$ 及び $R_7$ の少なくとも1つがブロモ、ヨード、フルオロ又はクロロである化合物である。 $R_6$ 及び $R_7$ の両方がブロモ、ヨード、フルオロ又はクロロから選ばれる化合物がなおいっそう好ましい。 $R_6$ 及び $R_7$ の両方がブロモである化合物がその上にさらに好ましい。

## 【0029】

本発明のさらに好ましい面は、A、B、 $R_6$ 及び $R_7$ がブロモ、ヨード、フルオロ又はクロロである化合物である。A、B、 $R_6$ 及び $R_7$ が、各々ブロモである化合物がなおいっそう好ましい。

50

## 【0030】

本発明の他の好ましい化合物は $R_1$ がアルコキシである化合物である。なお他の面において、 $R_3$ 、 $R_4$ 及び $R_5$ が、各々H（水素）である。その上の他の面において、C、D及びEが、各々Hである。

## 【0031】

本発明の最も好ましい化合物の一方はジャスモン酸メチルジブロマイド（MJDB）である。式Iによれば、MJDBは、 $n$ が0であり； $C_3$ ： $C_7$ 間、 $C_4$ ： $C_5$ 間及び $C_9$ ： $C_{10}$ 間の結合が単結合であり； $R_1$ がメトキシであり； $R_2$ がオキシであり； $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、A、B、C、D及びEが各々Hであり；そして $R_6$ 及び $R_7$ が各々ブロモである化合物である。

10

## 【0032】

本発明の最も好ましい化合物の他方はジャスモン酸メチルテトラブロマイド（MJTB）である。式Iによれば、MJTBは、 $n$ が0であり； $C_3$ ： $C_7$ 間、 $C_4$ ： $C_5$ 間及び $C_9$ ： $C_{10}$ 間の結合が単結合であり； $R_1$ がメトキシであり； $R_2$ がオキシであり； $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、C、D及びEは各々Hであり；そしてA、B、 $R_6$ 及び $R_7$ が各々ブロモである化合物である。

## 【0033】

本発明の他の好ましい化合物において、 $n$ は0であり； $C_3$ ： $C_7$ 間、 $C_4$ ： $C_5$ 間及び $C_9$ ： $C_{10}$ 間の結合が単結合であり； $R_1$ がメトキシであり； $R_2$ がオキシであり； $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、A、B、C、D及びEが各々Hであり；そして；

20

- a)  $R_6$ 及び $R_7$ が、各々フルオロである（化合物“MJS99”と称する）か；
  - b)  $R_6$ 及び $R_7$ が、各々ヨードである（化合物“MJS85f14”と称する）か；
  - c)  $R_6$ 及び $R_7$ が、各々クロロである（化合物“MJS81f13”と称する）か；
  - d)  $R_6$ 及び $R_7$ の一方がブロモであり、そして他方がヒドロキシである（化合物“NJ-63”と称する）か；又は
  - e)  $R_6$ 及び $R_7$ の一方がヨードであり、そして他方がメトキシである（化合物“MJS72f5”と称する）；
- のいずれかである。

## 【0034】

本発明はまた、製薬的に許容できる担体、及び活性成分として上記のような本発明の化合物を含む製薬組成物を意図している。好ましい組成物は活性成分としてMJDB又はMJTBを有する。好ましくは、製薬組成物において、活性成分を任意の許容できる脂質担体に溶解する。さらに、本発明の好ましい態様に従って、その組成物は少なくとも1種の他の化学療法薬をさらに含む。

30

## 【0035】

本発明は、本明細書において記載されたような本発明の化合物の治療的に有効な量を癌細胞に適用とすることを含む哺乳動物癌細胞の増殖を減少する方法をさらに提供する。

## 【0036】

さらに、本発明は、本明細書において記載されたような本発明の化合物の治療的な有効な量を活性成分として含有する製薬組成物を患者に投与することを含む、温血脊椎動物における癌、特に哺乳動物における癌の治療のための方法を提供する。“哺乳動物”という用語は、ヒトでない哺乳動物及びヒトを包含する。

40

## 【0037】

“悪性細胞増殖性疾患又は障害を治療する又は抑制する”、“非固体性（非中実性：non-solid）癌を治療する又は抑制する”、“腫瘍を治療する又は抑制する”という用語が記載において及び請求項においての本明細書において使用される場合においてはいつでも、それらは腫瘍形成、原発性腫瘍、腫瘍進行又は腫瘍転移を包含することが意図される。

## 【0038】

本発明に関連しての、癌細胞に関する“増殖の減少”という用語は、以下の少なくとも

50

1つにおける減少を称する：対照と比較しての（細胞の死の壊死タイプ、細胞消滅タイプ又は任意の他のタイプ、あるいはそれらの組み合わせである細胞死に起因しての）細胞の数の減少；細胞の増殖速度における減少、即ち細胞の合計数が増加している可能性があるがしかし対照における増加よりも低い水準での又は低い速度での増加；たとえそれらの合計数が変化していなくても対照と比較して（例えば軟寒天定量により測定されるような）細胞の侵襲性における減少；より多く分化した細胞タイプから、より少なく分化した細胞タイプへの進行；新生物形成進行における減速化；又は別の方法として、1つの段階から次の段階への癌細胞の進行の遅延化。

#### 【0039】

癌細胞の増殖の減少は、癌の治療を必要としている個人に、本明細書において記載されたような本発明の化合物の治療的に有効な量を投与することによる癌の治療のために利用することができる。

10

#### 【0040】

好ましい態様において本発明の方法は、 $R_6$ 及び $R_7$ の少なくとも1つがBrである式1の化合物の使用を含む。さらに好ましい態様において、その化合物はMJD B又はMTBである。

#### 【0041】

本発明は、哺乳動物における癌の治療のための医薬を調製するために、上記のような式Iの組成物の使用をさらに開示する。

#### 【0042】

本発明に関連して、“癌の治療”という用語は、以下の少なくとも1つを包含する：癌の増殖の速度における減少（即ち癌は依然として増殖しているが、しかしより遅い速度での増殖）；癌増殖の停止、即ち腫瘍成長の静止、そして好ましい場合において腫瘍が小さくなるか、又は寸法において減少する。その用語はまた、転移の数における減少、形成された新しい転移の数における減少、1つの段階から他の段階への癌の進行の遅延化及び癌により誘導される血管形成における減少を包含する。最も好ましい場合において、腫瘍を全体的に除去する。さらに、治療を受けている患者の生存期間の延長化がこの用語に包含される。この用語はまた、予防的状態のための、そして腫瘍罹患に感受性である個人のための予防手段をまた包含する。本発明の化合物の投与は個人のその病気にかかる恐れを減少させるだろう。好ましい状態において、その化合物を投与されている個人はその病気にかからない。

20

30

#### 【0043】

本発明に関連して“癌”という用語は、すべての起点からの、固体性(solid)腫瘍の形であれ、又は非固体性(non-solid)腫瘍の形であれ、すべてのタイプの新生物を包含し、そして悪性症状及び前悪性(前癌性)症状の両方ならびにそれらの転移を包含する。特にこの用語は、癌腫、肉腫、腺腫、肝臓細胞癌、胚芽細胞腫、横紋筋肉腫、食道癌、甲状腺癌、神経節芽細胞腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、背索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、骨膜腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、ラブドテリオ肉腫(rhabdomyosarcoma)、結腸肉腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、黒色腫、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、頸部癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、神経膠星状細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上皮細胞腫、松果体腫、網膜芽細胞腫、直腸癌、甲状腺の癌、頭及び頸部癌、脳癌、末梢神経系の癌、中枢神経系の癌、神経芽細胞腫、子宮内膜の癌；急性骨髄性白血病、急性骨髄球白血病、急性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ球白血病、肥満細胞性白血病、多発性骨髄腫、骨髄球性リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、を包含するすべてのタイプの白血病及びリンパ腫を包含するリンパ球増殖性疾患及び造血性悪性疾患、ならびに上記のすべての転移を表す。

40

#### 【0044】

さらに好ましくは、癌は、前立腺癌、乳癌、皮膚癌、結腸癌、肺癌、膵臓癌、リンパ腫

50

、白血病、頭及び頸部癌、腎臓癌、卵巣癌、骨癌、肝臓癌及び甲状腺癌からなる群から選ばれる。なおさらに好ましくは、癌は、リンパ芽球白血病を含む白血病、肺癌、黒色種及び結腸癌から選ばれる。さらに本発明の方法の好ましい態様において、本化合物は、 $1 \mu\text{g} / \text{kg}$  体重  $\sim 1000 \text{mg} / \text{kg}$  体重から選ばれた投与量で投与される。

【0045】

医薬調製使用の他の態様において、医薬は式 I の化合物以外に少なくとも 1 種の活性な化学療法薬をさらに含む。或る態様において、本新規な化合物は、有効であるがしかしかなりの副作用を有する伝統的な化学療法薬と一緒に投与されることができる。本発明の化合物と、伝統薬との組み合わせは、伝統薬のより少ない量の投与を可能にすることができる。したがって、それにもかかわらず、十分な化学療法効果を達成させながら、患者が受け

10

【0046】

本発明は、上記のような本発明の化合物を活性成分として含む製薬組成物の治療的に有効な量を、哺乳動物に投与することを含む、癌の治療を必要としている患者における癌の治療方法をさらに開示する。

【0047】

上記のような本発明の化合物の治療的に有効な量を活性成分として含む、哺乳動物における癌の治療のための製薬組成物がまた本発明において提供される。

【0048】

本発明はまた、本明細書において記載されたような、癌細胞の増殖を減少させるための

20

【0049】

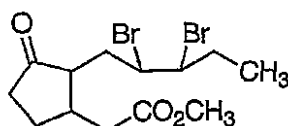
本発明はさらに、

i)  $\text{CCl}_4$  中のジャスモン酸メチルの溶液に臭素を添加し；そして

ii)  $\text{CCl}_4$  を蒸発させる；

ことを含む、M J D B

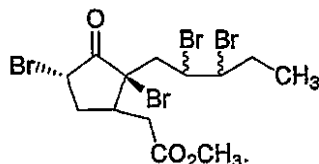
【化 3】



30

又は M J T B

【化 4】



40

の製造方法を開示する。

【0050】

下記の例において記載されているようにして、本発明の他のジャスモネート誘導体を調製することができる。追加の例示として、例えば低い温度でグリニャール試薬を用いることにより、 $R_2$  位置にアルキル部分を加えることができる。

50

## 【 0 0 5 1 】

さらに、ペルオキシ酸を用いてジャスモン酸メチルから、9, 10 - エポキシドを得ることができる。このエポキシドは、式  $R M g X$  の化合物と反応して9及び10位置 ( $R_6$  及び  $R_7$  それぞれ) でヒドロキシル及びアルキルを生ずることができる。同様な様式で、置換アルキルを加えることができる。

## 【 0 0 5 2 】

さらに、このエポキシドを、酸性又は塩基性条件下に、 $R O H$  (但し  $R$  はアルキルである) 又は  $A r O H$  (但し  $A r$  はアリールである) の化合物と反応させて、9及び10位置 ( $R_6$  及び  $R_7$  それぞれ) でヒドロキシ、及びアルキルオキシ又はアリールオキシを生ずることができる。さらに、ジャスモン酸メチルの、5, 6 - エナミンを調製することは、  
10

## 【 0 0 5 3 】

活性成分として、本明細書に記載されているような本発明の化合物の治療的に有効な量、及び製薬的に許容できる担体を含む、哺乳動物における癌の治療のための製薬組成物がまた、本発明において提供される。

## 【 0 0 5 4 】

“ 製薬的に許容できる ” という用語は、連邦政府又は州政府の取り締まり機関により認可されており、又は米国薬局方に挙げられているか、又は動物において及びさらに特定のにはヒトにおいて使用するための他の一般的に認められた薬局方に挙げられていることを  
20

## 【 0 0 5 5 】

“ 担体 ” という用語は、治療化合物と共に投与される希釈剤、補助薬 (アジュバント) 、賦形剤又はビヒクルを表す。そのような製薬担体は、水、そしてピーナッツ油、大豆油、ミネラル油、ごま油、等のような、石油、動物、植物又は合成由来の油を包含する油類、ポリエチレングリコール類、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶媒のような滅菌液体類であることができる。製薬組成物が、静脈内に投与される場合に水は好ましい担体である。食塩水溶液、及びデキストロース及びグリセロール水溶液はまた、特に注射用溶液のための液体担体として使用されることができる。適当な製薬賦形剤はでんぷん、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽 (モルト) 、米、小麦粉、チ  
30

## 【 0 0 5 6 】

所望に応じて、組成物はまた、湿潤剤、乳化剤、あるいは酢酸塩、くえん酸塩又は燐酸塩のよな  $p H$  緩衝剤の少量を含有することができる。ベンジルアルコール又はメチルパラベンのような抗菌剤 ; アルコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウムのような酸化防止剤 ; エチレンジアミン四酢酸のようなキレート化剤 ; そして塩化ナトリウム又はデキストロースのような張性の調節のための薬剤をまた考慮することができる。

## 【 0 0 5 7 】

組成物は、溶液、懸濁液、エマルション、錠剤、丸薬、カプセル、粉末、持続放出性配合物、等の形をとることができる。組成物は、トリグリセリド類、微結晶セルロース、トラガカントガム又はゼラチンのような伝統的な結合剤及び担体を用いて、坐薬として配合されることができる。経口処方物は、製薬級のマンニトール、ラクトース、澱粉、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウム、等のような標準の担体を含むことができる。適当な製薬担体の例は、E . W . M a r t i n による “ R e m i n g t o n ' s P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e s ” に記載されている。そのような組成物は、患者への適当な投与のための形を提供するように適当な量の担体と一緒に好ましくは実質的に純粋な形で本発明の化合物の治療的に有効な量  
40

10

20

30

40

50

## 【 0 0 5 8 】

担体は、折々、所望の形の処方に基づいて選ばれることができる。担体はまた、医薬の安定性を改良するために、クリアランス速度を遅延化させるために、ゆっくりとした放出性を与えるために、望ましくない副作用を減少させるために、等々のため、標的組織への活性成分の送り出し又は浸透を改良することの効果、折々有するだろう。担体はまた、食用香料、等を有する配合物を提供するために、その配合物を安定化させる物質（例えば保存料）であることができる。

## 【 0 0 5 9 】

担体は、慣用的に使用される任意の担体であることができ、そして溶解性及び本発明の化合物との反応性がないような化学 - 物理的考慮によって、そして投与の経路によってのみ限定される。担体の選択は、製薬組成物を投与するために使用される特定の方法によって決定されるだろう。したがって、担体は、添加剤、着色剤、希釈剤、緩衝剤、崩壊剤、湿潤剤、保存料、香料及び薬理学的に和合性の担体を包含することができる。さらに担体は、定義により、予測可能な方法で活性成分の作用に影響する物質である補助剤（アジュバント）であることができる。

10

## 【 0 0 6 0 】

本発明の化合物を含む製薬組成物の導入方法は、局所、皮膚内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、眼及び経口経路を包含するが、しかしそれらに限定されない。本化合物を、任意の都合のよい経路により、例えば注入又はボーラス注射により、上皮内張膜（例えば口腔粘膜及び腸管粘膜、等）を介しての吸収により、投与することができ、そして他の治療的に活性な薬剤と一緒に投与することができる。投与は局所的であるのが好ましいが、しかしそれは全身的であることができる。さらに脳室内及びくも膜下内注射を包含する、任意の適当な経路により、中枢神経系中に、本発明の製薬組成物を導入することが望ましいだろう；脳室内注射は、例えば液貯め（*reservoir*）に結合された、脳室内カテーテルにより容易にされることができる。例えば吸入器またはネブライザーの使用、及びエアゾール剤を有する配合物の使用により、肺投与をまた使用することができる。

20

## 【 0 0 6 1 】

治療を必要としている領域に本発明の製薬組成物を局所的に投与することが望ましいだろう；このことは、例えば限定的な方法によりそして限定的でない方法により、外科手術中の局所注入、例えば外科手術後の創傷包帯巻と協同しての局所的適用のより、注射により、カテーテルの手段により、坐薬の手段により、又は移植片の手段により達成させることができ、この移植片は、多孔質、非多孔質又はゼラチン質の材料である。或る好ましい態様に従えば、投与は、腫瘍又は新生物又は非新生物の組織の部位で、例えば注射器を介して、直接注射によるものであることができる。

30

## 【 0 0 6 2 】

経口投与のために適当な製薬組成物は、a) 水、食塩水、天然ジュース類、アルコール類、シロップ類、等のような希釈液に有効な量の活性物質を溶解している液体溶液；(b) 各々が固体として又は顆粒として活性成分の所定量を含有する、カプセル（例えば、界面活性剤、滑沢剤及び不活性充てん剤を含有する通常の硬質 - 又は軟質 - 外皮ゼラチンタイプ）、錠剤、舐剤（活性物質がスクロース及びアカシア又はトラガカントを用いてのような香味付けされているか、又は活性物質が、ゼラチン及びグリセリンのような不活性基剤中に存在する）、及びトローチ；(c) 粉末類；(d) 適当な液体中の懸濁液；(e) 適当なエマルジョン；(f) リポソーム配合物；その他、からなることができる。

40

## 【 0 0 6 3 】

なお他の態様において、組成物は、局所投与、例えば軟膏、ゲル、滴下液又はクリーム用に調製される。例えばクリーム、ゲル、滴下液、軟膏、等を用いて身体表面に局所適用するために、本発明の化合物は、製薬担体を有するか又は有することなしの生理学的に許容できる希釈剤中で調製され且つ適用されることができる。癌、例えば黒色腫を治療するために、本発明を局所的にまたは経皮的に使用することができる。局所又はゲル基剤形の

50

ためのアジュバントは例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ポリアクリレート類、ポリオキシエチレン - ポリオキシプロピレンブロック共重合体、ポリエチレングリコール及び木ろうアルコール類を包含することができる。

#### 【0064】

統制された内部局所適用のために、以下の任意の成分又は同様な性質の化合物、即ち微結晶セルロース、トラガカントガム又はゼラチンのような結合剤；澱粉又はラクトースのような賦形剤；アルギン酸、プリモゲル（Primogel）又はとうもろこし澱粉のような崩壊剤；ステアリン酸マグネシウム又はステロテス（Sterotes）のような滑沢剤；又はコロイド状二酸化珪素のようなグリダント（glidant）、を含有することができる、錠剤又はカプセルの形にあることができる。投与量単位形がカプセルである場合、上記タイプの材料に加えて、脂肪油のような液体担体を含有することができる。さらに、投与量単位形は、投与量単位の物理的形態を修正する種々の他の材料、例えば、糖、シェラック（shellac）又は他の腸溶性剤のコーティングを含有することができる。

10

#### 【0065】

本発明の化合物は、制御された放出システムで送り出されることができる。1つの態様において、特定の内蔵器官又は腫瘍に化学療法剤を送り出すために使用されるような注入ポンプを、本発明の化合物を投与するために使用することができる（Surgery 88（1980年）第507頁のBuchward, 等；N. Engl. J. Med. 321（1989年）第574頁のSaudek, 等を参照）。好ましい形において、選ばれた部位で制御された時間期間にわたって化合物を放出する、生分解性生体適合性重合体移植片と組み合わせて、本発明の化合物が投与される。好ましい重合体材料の例は、ポリ無水物類（polyanhydrides）、ポリオルトエステル類、ポリグリコール酸、ポリ酢酸、ポリエチレンビニルアセテート、それらの共重合体類及びブレンド類を包含する（フロリダ州、Boca RatonのCRC Press, 発行（1974年）Langer及びWise（編集）のMedical applications of controlled releaseを参照）。なお他の態様において、治療標的の近くに制御された放出システムを置き、このようにして全身投与の1区画のみを必要とすることができる。

20

#### 【0066】

折々、活性化合物は、吸入を介して投与されるべきエアゾール配合物に形成されることができる。これらのエアゾール配合物は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素、等のような加圧化された許容できる噴射剤中に入れられることができる。それらはまた、ネブライザー又はアトマイザーにおけるような非加圧化製剤のための製剤剤として配合されることができる。

30

#### 【0067】

さらに、時により、製剤組成物は、非経口投与（皮下、静脈内、動脈内又は筋肉内注射）のために配合されることができ、そして酸化防止剤、緩衝剤、静菌剤、及び配合物を意図された受容体の血液と等張にする溶質、を含有することができる水性及び非水性等張滅菌注射用溶液、及び懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤及び保存料を含む水性及び非水性滅菌懸濁液を含むことができる。石油、動物油、植物油又は合成油のような油類、脂肪のアルカリ金属、アンモニウム及びトリエタノールアミンの塩のような石けん及び適当な洗浄剤をまた、非経口投与のために使用できる。上記配合物をまた、直接に腫瘍内注射のために使用できる。さらに、注射の部位での刺激を少なくするか又はなくすために、本組成物は1種以上の非イオン性界面活性剤を含有することができる。適当な界面活性剤は、ソルビタンモノオレイン酸エステルのようなポリエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、及びプロピレングリコールとのプロピレンオキシドの縮合により形成される疎水性基剤とのエチレンオキシドの高分子量付加物を包含する。

40

#### 【0068】

アンプル及びバイアル（小びん）のような単位投与量又は多投与量の密封容器中で非経

50

口処方物を提供することができ、そして使用の直前に注射のために滅菌液担体、例えば水の添加のみを必要とする凍結乾燥 ( freeze - dried ( lyophilized ) ) 状態で貯蔵することができる。その場で必要に応じての注射用溶液及び懸濁液を、以前に記載されそして当業界において知られている種類の、滅菌粉末、顆粒及び錠剤から調製することができる。

【 0 0 6 9 】

癌を包含する、特定の病気又は症状の治療において有効である本発明の化合物の量は、その病気又は症状の種類により左右され、そして標準の臨床技術により決定されることができる。また、インビトロアッセイは、最適な投与量範囲を確認するのを助けるために随意に使用できる。処方物において使用されるべき正確な投与量はまた、投与の経路及び病気又は障害の重症度により左右され、そして開業医の判断及び各々の患者の状態によって決定されるべきである。好ましい投与量は、 $0.01 \sim 1000 \text{ mg / 体重の kg}$ 、さらに好ましくは  $0.1 \text{ mg / kg} \sim 100 \text{ mg / kg}$ 、なおさらに好ましくは  $1 \text{ mg / kg} \sim 10 \text{ mg / kg}$  の範囲内であろう。インビトロ又は動物モデル試験の生物学的検定法又はシステムから誘導された投与量 - 応答曲線から有効な投与量を、補外推定することができる。

10

【 0 0 7 0 】

“治療的”療法は、病理学的徴候を減少させるか又は排除させる目的のために、病理学的徴候を示す患者に施される療法である。本発明の化合物の“治療的に有効な量”は、化合物が投与される患者に有益な結果を与えるのに十分である化合物の量である。

20

【 0 0 7 1 】

治療を必要としている患者は、癌のような病気を患っている可能性があるか、又はそのような病気に、より大きな感受性を有すると決定されている可能性がある。したがって、本発明に従う治療の方法は、治療的利用及び予防的利用の両方を包含する。

【 0 0 7 2 】

本発明の化合物は、所望の治療的又は予防的活性について、ならびに治療的に有効な投与量の決定のために、インビボ試験されることができる。例えば、そのような化合物は、ヒトにおける試験の前に、ラット、マウス、にわとり、雌牛、さる、うさぎ、等を包含するが、しかしそれらに限定されない適当な動物モデルシステムにおいて試験されることができる。ヒトへの投与の前の、インビボ試験のために、当業界に知られている任意の動物モデルシステムを使用することができる。

30

【 0 0 7 3 】

上記化合物が、1つ以上のキラル中心を含む場合、そのようなキラル中心の立体化学は独立してR又はS配置又はその両方の混合であることができる。キラル中心は、R又はS、あるいはR、Sあるいは、d、D、l、Lあるいはd、l、D、Lとさらに明示されることができる。

【 0 0 7 4 】

“ $C_1 \sim C_{12}$  アルキル”という用語は、メチル、エチル、n - プロピル、イソプロピル、n - ブチル、イソブチル、sec - ブチル、tert - ブチル、アミル、tert - アミル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、ノニル、デシル、ウンデシル、ドデシル、等のような基を示す。好ましい“ $C_1 \sim C_{12}$  アルキル”基は、メチル、エチル、イソブチル、sec - ブチル及びイソプロピルである。同様に、“ $C_1 \sim C_{12}$  アルキレン”という用語は化合物における2つの他の部分に結合された1 ~ 12個の炭素の基を示す。

40

【 0 0 7 5 】

“ $C_1 \sim C_{12}$  置換アルキル”という用語は、ハロゲン、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、オキソ、保護されたオキソ、 $C_3 \sim C_7$  シクロアルキル、フェニル、置換フェニル、ナフチル、アミノ、保護されたアミノ、(モノ置換)アミノ、保護された(モノ置換)アミノ、(ジ置換)アミノ、グアニジノ、保護されたグアニジノ、複素環式環、置換された複素環式環、イミダゾリル、インドリル、ピロリジニル、 $C_1 \sim C_{12}$  アルコキシ、 $C_1 \sim C_{12}$  アシル、 $C_1 \sim C_{12}$  アシルオキシ、ニトロ、カルボキシ、保護されたカル

50



ボキシ、カルバモイル、カルボキサミド、保護されたカルボキサミド、N - (C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキル)カルボキサミド、保護されたN - (C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキル)カルボキサミド、N, N - ジ(C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキル)カルボキサミド、シアノ、メチルスルホニルアミノ、チオール、C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキルチオ又はC<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキルスルホニル基、から選ばれた1つ以上、好ましくは1つ又は2つの置換基により置換されている基を示す。置換アルキル基は同じ置換基又は異なる置換基で一回以上、好ましくは1回又は2回置換されている。好ましい置換はハロである。

#### 【0076】

“保護されたオキシ”という用語は、炭素原子が2つのアルコキシ基に結合され、それにより非環式又は環式アセタール又はケタール部分を形成していることを示す。本明細書において使用されるものとして“C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルコキシ”という用語は、メトキシ、エトキシ、n - プロポキシ、イソプロポキシ、n - ブトキシ、t - ブトキシ、等の基のような基を示す。好ましいアルコキシはメトキシである。“C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> 置換アルコキシ”という用語は、アルコキシのアルキル部分がC<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> 置換アルキルに関連してと同じ様式で置換されていることができることを意味する。好ましい置換はハロである。同様に本明細書において使用されるものとして“C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> フェニルアルコキシ”という用語は、フェニル基に結合された“C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルコキシ”を意味する。

10

#### 【0077】

“C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アシルオキシ”という用語は、本明細書において、ホルミルオキシ、アセトキシ、プロピオニルオキシ、ブチリルオキシ、ピバロイルオキシ、ペンタノイルオキシ、ヘキサノイルオキシ、ヘプタノイルオキシ、オクタノイルオキシ、ノナノイルオキシ、デカノイルオキシ、ウンデカノイルオキシ、ドデカノイルオキシ、等のような基を示す。

20

#### 【0078】

同様に、“C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アシル”という用語は、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、ヘキサノイル、ヘプタノイル、オクタノイル、ノナノイル、デカノイル、ウンデカノイル、ドデカノイル、ベンゾイル、等のような基を包含する。好ましいアシル基はアセチル及びベンゾイルである。

#### 【0079】

“C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> 置換アシル”という用語は、アルキル基について上に定義された置換基の1つ以上、好ましくは1つ又は2つにより置換されたアシル基を示す。“C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル”という置換基用語は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル又はシクロヘプチル環を包含する。同様に“C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル”であることができる置換基はまた、シクロペンチル、シクロヘキシル又はシクロヘプチル環を包含する“C<sub>5</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルキル”であることができる。

30

#### 【0080】

“C<sub>3</sub> ~ C<sub>7</sub> 置換シクロアルキル”又は“C<sub>5</sub> ~ C<sub>7</sub> 置換シクロアルキル”という置換基用語は、アルキルについて上に定義された置換基の1つ又は2つにより置換された上記シクロアルキル環を示す。“シクロアルキレン”という用語は、シクロアルキル基が2つの部分に結合されて2つの別々の追加の基と一緒に結合している、上に定義されたようなシクロアルキルを意味する。同様に、“置換シクロアルキレン”という用語は、シクロアルキル基が2つの位置に結合されて2つの別々の追加の基と一緒に結合しており、そしてさらに少なくとも1つの追加の置換基を保持するシクロアルキレンを意味する。

40

#### 【0081】

同様に、“置換C<sub>5</sub> ~ C<sub>7</sub> シクロアルケニレン”という用語は、ハロゲン、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキルチオ、C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキルスルホキシド、C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> アルキルスルホニル、C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> 置換アルキルチオ、C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> 置換アルキルスルホキシド、C<sub>1</sub> ~ C<sub>10</sub> 置換アルキルスルホニル、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルキル、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルコキシ、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> 置換アルキル、C<sub>1</sub> ~ C<sub>12</sub> アルコキシ、オキシ、保護されたオキシ、(モノ置換)アミノ、(ジ置換)アミノ、トリフルオロメチル、

50

カルボキシ、保護されたカルボキシ、フェニル、置換フェニル、フェニルチオ、フェニルスルホキシド、フェニルスルホニル、アミノ、又は保護されたアミノ基によりさらに置換されたシクロアルケニレンを意味する。

【0082】

“複素環”又は“複素環式環”という用語は、酸素、硫黄及び／又は窒素、特に単独であるいは硫黄又は酸素環原子と一緒に窒素、のような1～4個のヘテロ原子を有する随意に置換された5員～8員の環を示す。これらの5員～8員の環は、飽和であるか、完全に不飽和であるか又は部分的に不飽和であることができ、完全に飽和された環が好ましい。好ましい複素環式環は、モルホリノ、ピペリジノ、ピペラジニル、2-アミノ-イミダゾリル、テトラヒドロフラノ、ピロロ、テトラヒドロチオフエン-イル、ヘキシルメチレンイミノ及びヘプチルメチレンイミノを包含する。

10

【0083】

“置換複素環”又は“置換複素環式環”という用語は、上記複素環式環が、例えばアルキルについて上に定義された置換基の1つ以上、好ましくは1つ又は2つで置換されていることを意味する。“ヘテロアリール”という用語は、酸素、硫黄及び／又は窒素、特に単独であるいは硫黄又は酸素環原子と一緒に窒素、のような1～4個のヘテロ原子を有する5員又は6員の環システムである、複素環式芳香族誘導体を意味する。ヘテロアリール類の例は、ピリジニル、ピリミジニル及びピラジニル、ピリダジニル、ピロロ、フラノ、オキサゾロ、イソキサゾロ、フタルイミド、チアゾロ、等を包含する。

【0084】

20

“置換ヘテロアリール”という用語は、上記ヘテロアリールが、例えばアルキルについて上に定義された置換基の、同じであるか又は異なる1つ以上、好ましくは1つ又は2つの置換基で置換されていることを意味する。“置換フェニル”という用語は、アルキルについて上に定義された置換基から選ばれた1つ以上、好ましくは1つ又は2つの部分で置換されたフェニル基を特定する。

【0085】

“フェノキシ”という用語は、分子の残りへの結合が酸素原子を介している、酸素原子に結合されたフェニルを示す。“置換フェノキシ”という用語は、アルキルについて上に定義された置換基から選ばれた1つ以上、好ましくは1つ又は2つの部分で置換されたフェノキシ基を特定する。

30

【0086】

“アリール”という用語は、置換されていないかあるいはハロゲン、ハロアルキル、ヒドロキシ、アルコキシカルボニル、アミド、アルキルアミド、ジアルキルアミド、ニトロ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、カルボキシあるいはチオ又はチオアルキルから選ばれた1つ以上の基で置換されていることができる、少なくとも1つの炭素環式芳香族基又は複素環式芳香族基を有する芳香族基を称する。アリール環の非限定的例は、フェニル、ナフチル、ピラニル、ピロリル、ピラジニル、ピリミジニル、ピラゾリル、ピリジニル、フラニル、チオフエニル、チアゾリル、イミダゾリル、イソキサゾリル、等である。“アリールオキシ”という用語は、分子の残りへの結合が酸素原子を介している、酸素原子に結合された“アリール”基を称する。

40

【0087】

“ハロ”及び“ハロゲン”という用語は、フルオロ、クロロ、ブロモ又はヨード原子を称する。同じであるか又は異なる、1つ以上のハロゲンが存在することができる。

“(モノ置換)アミノ”という用語は、フェニル、置換フェニル、 $C_{1 \sim 12}$ アルキル、 $C_{1 \sim 12}$ 置換アルキル、 $C_{1 \sim 12}$ アシル、 $C_{1 \sim 12}$ 置換アシル、 $C_{2 \sim 12}$ アルケニル、 $C_{2 \sim 12}$ 置換アルケニル、 $C_{2 \sim 12}$ アルキニル、 $C_{2 \sim 12}$ 置換アルキニル、 $C_{7 \sim 18}$ フェニルアルキル、 $C_{7 \sim 18}$ 置換フェニルアルキル、複素環式環、置換複素環式環、 $C_{1 \sim 12}$ ヘテロシクロアルキル及び $C_{1 \sim 12}$ 置換ヘテロシクロアルキル基からなる群から選ばれた1つの置換基を有するアミノ基を称する。(モノ置換)アミノは、“保護された(モノ置換)アミノ基”という用語により包含

50

されるものとして、アミノ保護基をさらに有することができる。

【0088】

“(ジ置換)アミノ”という用語は、フェニル、置換フェニル、 $C_1 \sim C_{12}$  アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$  置換アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$  アシル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$  アルキニル、 $C_7 \sim C_{18}$  フェニルアルキル、 $C_7 \sim C_{18}$  置換フェニルアルキル、 $C_1 \sim C_{12}$  ヘテロシクロアルキル及び $C_1 \sim C_{12}$  置換ヘテロシクロアルキルからなる群から選ばれた2つの置換基を有するアミノ基を称する。2つの置換基は同じであることも又は異なることもできる。

【0089】

本明細書において使用されるものとして“アミノ保護基”という用語は、一方ではその分子の他の官能基を反応させながら、そのアミノ基を遮断又は保護するために通常使用される、アミノ基の置換基を称する。“保護された(モノ置換)アミノ基”という用語は、モノ置換されたアミノ窒素原子上にアミノ保護基が存在することを意味する。また、“保護されたカルボキサミド”という用語は、カルボキサミド窒素上にアミノ保護基が存在することを意味する。同様に、“保護されたN-( $C_1 \sim C_{12}$  アルキル)カルボキサミド”という用語は、カルボキサミド窒素上にアミノ保護基が存在することを意味する。

【0090】

誘導されたアミノ基が、後での(1つ又は複数の)反応の条件で安定であり、そしてその化合物の残りを分断することなしに適当な点で除去されることができる限り、使用されるアミノ保護基の種は重要ではない。好ましいアミノ保護基はBoc、Cbz及びFmocである。上記の用語に包含されるアミノ保護基の追加の例は、有機合成及びペプチド業界において周知であり、そして例えば1991年のニューヨーク州、ニューヨークのJohn Wiley and Sons発行の“Protective Groups in Organic Synthesis”第2版第7章におけるT.W. Greene及びP.G.M. Wutsにより；1984年及び1993年の、ニューヨーク州、ニューヨークのSpringer-Verlag発行“Principles of Peptide Synthesis”第1及び第2改定版におけるM. Bodanzskyにより；そして1984年イリノイ州、ロックフォードのPierce Chemical Co.発行“Solid Phase Peptide Synthesis”のStewart及びYoungにより記載されている(これらの文献の各々を参照することにより本明細書に組み入れる)。“保護されたアミノ”という関連用語は、上に記載されたアミノ保護基で置換されているアミノ基と定義される。

【0091】

本明細書において使用されるものとして“保護されたグアニジノ”という用語は、グアニジノ窒素原子の1つ又は2つの上に“アミノ保護基”が存在することを意味する。“保護されたグアニジノ”基の例は、上に記載されたT.W. Greene及びP.G.M. Wutsにより；M. Bodanzskyにより；そしてStewart及びYoungにより記載されている。

【0092】

“チオ”という用語は、-SH、あるいは2つの他の基の間の場合は-S-を称する。 $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンチオ”という用語は、アルキレン鎖に沿って任意の点でチオを有する1~10個の炭素のアルキレン鎖を称する。“ $C_1 \sim C_{10}$  置換アルキレンチオ”という用語は(上記した“置換アルキレン”と同じ様式で)アルキレンの1つ以上の位置で置換されている $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンチオ基を称する。

【0093】

“スルホニル”という用語は、-S(O)<sub>2</sub>-を称する。 $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンスルホニル”という用語は、アルキレン鎖に沿っての任意の点でスルホニルを有する1~10個の炭素のアルキレン鎖を称する。“ $C_1 \sim C_{10}$  置換アルキレンスルホニル”という用語は、(上記した“置換アルキレン”と同じ様式で)アルキレンの1つ以上の位置で置換されている $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンスルホニル基を称する。

10

20

30

40

50

## 【0094】

“スルフィニル”という用語は、 $-S(O)-$ を称する。“ $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンスルフィニル”という用語は、アルキレン鎖に沿っての任意の点でスルフィニルを有する1～10個の炭素のアルキレン鎖を称する。“ $C_1 \sim C_{10}$  置換アルキレンスルフィニル”という用語は、(上記した“置換アルキレン”と同じ様式で)アルキレンの1つ以上の位置で置換されている $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンスルフィニルを称する。

## 【0095】

“オキシ”という用語は $-O-$ を称する。“ $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンオキシ”、“ $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンジオキシ”及び“ $C_1 \sim C_{10}$  アルキレントリオキシ”という用語は、2つの酸素原子が連続していないという条件で、どの2つの酸素原子も少なくとも2つの炭素により分離されているという条件で、アルキレン鎖の任意の点で、それぞれ1つ、2つ又は3つの $-O-$ を有する1～10個の炭素のアルキレン鎖を称する。“ $C_1 \sim C_{10}$  置換アルキレンオキシ”、“ $C_1 \sim C_{10}$  置換アルキレンジオキシ”及び“ $C_1 \sim C_{10}$  置換アルキレントリオキシ”という用語は(上記された“置換アルキレン”と同じ様式で)アルキレンの1つ以上位置で置換されている、それぞれ“ $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンオキシ”、“ $C_1 \sim C_{10}$  アルキレンジオキシ”及び“ $C_1 \sim C_{10}$  アルキレントリオキシ”を称する。

10

## 【0096】

本明細書において使用されるものとして、“カルボキシ保護基”という用語は、反応が化合物上の他の官能基上で行われる一方で、カルボン酸基を遮断するか又は保護するために通常使用される、カルボン酸基のエステル誘導体の1種を言う。これらの基の例は、1973年のニューヨーク州ニューヨークのPlenum Press発行J. G. W. McOmie編集の“Protective Groups in Organic Chemistry”第5章のE. Haslamにおいてそして1991年ニューヨーク州、ニューヨークのJohn Wiley and Sons発行の“Protective Groups in Organic Synthesis”第2版の第5章のT. W. Greene及びP. G. M. Wutsにおいて見い出される(これらの文献の各々を参照することにより本明細書に組み入れる)。関連用語は、上記カルボキシ保護基の1つで置換されたカルボキシ基を称する“保護されたカルボキシ”である。

20

## 【0097】

“ヒドロキシ保護基”という用語はヒドロキシ基に結合された容易に開裂することができ基を称する。誘導されたヒドロキシ基が後での(1つ又は複数の)反応の条件に対して安定であり、そして分子の残りを分断することなしに適当な点で除去されることができる限り、ヒドロキシ保護基の種は重要ではない。ヒドロキシ保護基の例は、1973年ニューヨーク州ニューヨークのPlenum Press発行、J. G. W. McOmie編集“Protective Groups in Organic Chemistry”第3章及び第4章それぞれの、C. B. Reese及びE. Haslamにより;そして1991年、ニューヨーク州ニューヨークのJohn Wiley and Sons発行の“Protective Groups in Organic Synthesis”第2版の第2章及び第3章のT. W. Greene及びP. G. M. Wutsにより記載されている。関連用語は上記ヒドロキシ保護基の1つで置換されたヒドロキシを称する“保護されたヒドロキシ”であり、そして上記ヒドロキシ保護基の1つで置換されたヒドロキシメチルを称する“保護されたヒドロキシメチル”である。

30

40

## 【0098】

“ $C_1 \sim C_{10}$  アルキルチオ”という用語は、メチルチオ、エチルチオ、 $n$ -プロピルチオ、イソプロピルチオ、 $n$ -ブチルチオ、 $t$ -ブチルチオ、等のようなスルフィド基を称する。

“ $C_1 \sim C_{10}$  アルキルスルホキシド”という用語は、メチルスルホキシド、エチルスルホキシド、 $n$ -プロピルスルホキシド、イソプロピルスルホキシド、 $n$ -ブチルスルホキシド、 $sec$ -ブチルスルホキシド、等のようなスルホキシド基を示す。“ $C_1 \sim C_{10}$

50

。アルキルスルホニル”という用語は、メチルスルホニル、エチルスルホニル、*n*-プロピルスルホニル、イソプロピルスルホニル、*n*-ブチルスルホニル、*t*-ブチルスルホニル、等のような基を包含する。上記チオ、スルホキシド又はスルホニル基は、アルキル鎖の任意の点にあることができる（例えば、2-メチルメルカプトエチル）ことがまた理解されるべきである。

【0099】

“ $C_1 \sim C_{10}$  置換アルキルチオ”、“ $C_1 \sim C_{10}$  置換アルキルスルホキシド”及び“ $C_1 \sim C_{10}$  置換アルキルスルホニル”という用語は、これらの基の $C_1 \sim C_{10}$  アルキル部分が“置換アルキル”に関連して上に記載されたように置換されていることができることを示す。

10

【0100】

“フェニルチオ”、“フェニルスルホキシド”及び“フェニルスルホニル”という用語は、フェニル基を含有する、チオール、スルホキシド又はスルホンそれぞれを特定する。“置換フェニルチオ”、“置換フェニルスルホキシド”及び“置換フェニルスルホニル”という用語は、これらの基のフェニルが“置換フェニル基”に関連して上に記載されたように置換されていることができることを意味する。

【0101】

“ $C_1 \sim C_{12}$  アルキルアミノカルボニル”という用語は、アミノカルボニル基の窒素に $C_1 \sim C_{12}$  アルキルが結合していることを意味する。“ $C_1 \sim C_{12}$  アルキルアミノカルボニルの例は、メチルアミノカルボニル、エチルアミノカルボニル、プロピルアミノカルボニル及びブチルアミノカルボニルを包含する。“ $C_1 \sim C_{12}$  置換アルキルアミノカルボニル”という用語は、アルキルが $C_1 \sim C_{12}$  置換アルキルに関連して上記したように置換されていることができる、アミノカルボニル基の窒素に置換アルキルが結合していることを示す。

20

【0102】

“ $C_1 \sim C_{12}$  アルコキシカルボニル”という用語は、カルボニル基に“ $C_1 \sim C_{12}$  アルコキシ”基が結合されていることを意味する。“ $C_1 \sim C_{12}$  置換アルコキシカルボニル”という用語は、アルコキシが“ $C_1 \sim C_{12}$  置換アルキル”に関連して上記したように置換されていることができる、カルボニル基に置換アルコキシ基が結合されていることを示す。

30

【0103】

“フェニルアミノカルボニル”という用語は、フェニル基がアミノカルボニル基の窒素に結合されていることを意味する。“置換フェニルアミノカルボニル”という用語は、フェニルが置換フェニルに関連して上記したように置換されていることができる、アミノカルボニル基の窒素に置換フェニル基が結合されていることを意味する。

“ $C_1 \sim C_{12}$  アルキルアミノチオカルボニル”という用語は、アルキルが上に定義されたと同じ意味を有する、アミノチオカルボニル基に $C_1 \sim C_{12}$  アルキル基が結合されていることを意味する。

【0104】

“ $C_1 \sim C_{12}$  置換アルキルアミノチオカルボニル”という用語は、アルキルが $C_1 \sim C_{12}$  置換アルキルに関連して上記したように置換されていることができる、アミノチオカルボニル基に置換アルキル基が結合されていることを意味する。

40

“フェニルアミノチオカルボニル”という用語は、フェニルが上に定義されたと同じ意味を有する、アミノチオカルボニル基にフェニル基が結合されていることを意味する。

【0105】

“置換フェニルアミノチオカルボニル”という用語は、フェニルが置換フェニルに関連して上に記載されているように置換されていることができる、アミノチオカルボニル基に置換フェニル基が結合されていることを意味する。

【0106】

“置換 $C_1 \sim C_{12}$  アルキレン”という用語は、アルキル基が2つの位置で結合されて

50

2つの別々の追加の基と一緒に接続しており、そして追加の置換基をさらに有する、 $C_1 \sim C_{12}$  アルキル基を意味する。

#### 【0107】

“環式 $C_2 \sim C_7$ アルキレン”、“置換環式 $C_2 \sim C_7$ アルキレン”、“環式 $C_2 \sim C_7$ ヘテロアルキレン”及び“置換環式 $C_2 \sim C_7$ ヘテロアルキレン”と言う用語は、フェニル基に結合されて（縮合されて）二環式環系を生ずる、そのような環式基と定義する。環式基は、飽和されていてもよく、あるいは1つ又は2つの二重結合を含有してもよい。さらに、環式基は、環式 $C_2 \sim C_7$ ヘテロアルキレンである、1つ又は2つの酸素、窒素又は硫黄原子により置き換えられた1つ又は2つのメチレン基又はメチン基を有することができる。

10

#### 【0108】

環式アルキレン又はヘテロアルキレン基は、適当な場合に以下の部分、即ちヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、カルボキシ、保護されたカルボキシ、オキソ、保護されたオキソ、 $C_1 \sim C_4$ アシルオキシ、ホルミル、 $C_1 \sim C_{12}$ アシル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_7$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキルチオ、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキルスルホキシド、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキルスルホニル、ハロ、アミノ、保護されたアミノ、（モノ置換）アミノ、保護された（モノ置換）アミノ、（ジ置換）アミノ、ヒドロキシメチル又は保護されたヒドロキシメチルからなる群から選ばれた、化合物（例えばアルキレン）の他の部分に結合されていることができる、同じ又は異なる置換基により1回又は2回置換されていることができる。

20

#### 【0109】

ベンゼンラジカル上に縮合された環式アルキレン又はヘテロアルキレン基は、2～10の環員を含有することができるが、しかし3～6員を含有するのが好ましい。そのような飽和環式基の例は、得られた二環式環系が2,3-ジヒドロインダニル及びテトラリン環である場合である。環式基が不飽和である場合、その例は、得られた二環式環系がナフチル環又はインドリルである場合に生ずる。各々が1つの窒素原子及び1つ以上の二重結合、好ましくは1つ又は2つの二重結合を含有する縮合環式基の例は、ベンゼンラジカルがピリジノ、ピラノ、ピロロ、ピリジニル、ジヒドロピロロ又はジヒドロピリジニル環に縮合されている場合である。各々が1つの酸素原子及び1つ又は2つの二重結合を含有する縮合環式基の例は、ベンゼンラジカル環が、フロ（furo）、ピラノ、ジヒドロフラノ

30

#### 【0110】

各々が1つの硫黄原子及び1つ又は2つの二重結合を含有する縮合環式基の例は、ベンゼンラジカル環がチエノ（thieno）、チオピラノ、ジヒドロチエノ（dihydrothieno）又はジヒドロチオピラノ環に縮合されている場合である。硫黄及び窒素から選ばれた2つのヘテロ原子及び1つ又は2つの二重結合を含有する環式基の例は、ベンゼンラジカル環がチアゾロ、イソチアゾロ、ジヒドロチアゾロ又はジヒドロイソチアゾロ環上に縮合されている場合である。酸素及び窒素から選ばれた2つのヘテロ原子及び1つ又は2つの二重結合を含有する環式基の例は、ベンゼン環がオキサゾロ、イソキサゾロ、ジヒドロオキサゾロ又はジヒドロイソキサゾロ環に縮合されている場合である。2つの窒素ヘテロ原子及び1つ又は2つの二重結合を含有する環式基の例は、ベンゼン環がピラゾロ、イミダゾロ、ジヒドロピラゾロ又はジヒドロイミダゾロ環又はピラジニルに縮合されている場合に生ずる。

40

#### 【0111】

“カルバモイル”と言う用語は、その基が2つの位置で結合されて2つの別々の追加の基を接続している - NC(O) - 基を意味する。

本発明の1種以上の化合物は塩として存在することができる。“塩”と言う用語は、カルボキシレート陰イオンとアミン窒素とで形成する塩を包含し、そして下記に記載される有機及び無機の、陰イオンと陽イオンとで形成する塩を包含する。

#### 【0112】

50

さらに、その用語は、(アミノ基のような)塩基性基と、有機又は無機酸との標準の酸-塩基反応により形成される塩を包含する。そのような酸は、塩酸、フッ化水素酸、トリフルオロ酢酸、硫酸、燐酸、酢酸、琥珀酸、クエン酸、乳酸、マレイン酸、フマル酸、パルミチン酸、コール酸、パモン酸(pamonic acid)、ムチン酸、D-グルタミン酸、D-カンホル酸、グルタル酸、フタル酸、酒石酸、ラウリン酸、ステアリン酸、サリチル酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ソルビン酸、ピクリン酸、安息香酸、けい皮酸、等の酸を包含する。

#### 【0113】

“有機又は無機陽イオン”という用語は、カルボキシレート塩のカルボキシレート陰イオンに対する対イオンを称する。その対イオンは、(リチウム、ナトリウム、カリウム、バリウム、アルミニウム及びカルシウムのような)アルカリ金属及びアルカリ土類金属；アンモニウム、及びトリメチルアミンのようなモノ-、ジ-及びトリ-アルキルアミン、シクロヘキシルアミン；及びジベンジルアンモニウム、ベンジルアンモニウム、2-ヒドロキシエチルアンモニウム、ビス(2-ヒドロキシエチル)アンモニウム、フェニルエチルベンジルアンモニウム、ジベンジリエチレンジアンモニウム、等の陽イオンから選ばれる。例えばJ. Pharm. Sci., 66:第1頁~第19頁(1977年)のBerge, 等の“Pharmaceutical Salts”を参照(この文献を参照することにより本明細書に組み入れる)。

10

#### 【0114】

上記用語に包含される他の陽イオンは、プロカイン、キニーネ及びN-メチルグルコサミンのプロトン化形及びグリシン、オルニチン、ヒスチジン、フェニルグリシン、リシン及びアルギニンのような塩基性アミノ酸のプロトン化形を包含する。さらにカルボン酸とアミノ基とにより形成される本化合物の任意の双性イオン形はこの用語により言及される。例えばカルボキシレート陰イオンに対する陽イオンは、1つの位置が(四級アンモニウム)メチル基で置換される場合に存在するだろう。カルボキシレート陰イオンに対する好ましい陽イオンはナトリウム陽イオンである。

20

#### 【0115】

本発明の化合物はまた、溶媒和物及び水和物として存在することができる。したがって、これらの化合物は、例えば水和の水、あるいは母液溶媒の分子の1つ又は多数、又はその任意の一部分で結晶化されることができる。そのような化合物の溶媒和物又は水和物は、この発明の範囲内に包含される。

30

#### 【0116】

ライブラリー(library)におけるときでさえ、本発明の1種以上の化合物は非毒性、代謝的に変化しやすいエステル形のような、生物学的に活性なエステルの形にあることができる。そのようなエステル形は、増大された血液水準を誘導し、そして化合物の対応する非エステル形の効能を延長する。用いることができるエステル基は、低級アルコキシメチル基、例えばメトキシメチル、エトキシメチル、イソプロポキシメチル、等；-(C<sub>1</sub>~C<sub>12</sub>)アルコキシエチル基、例えばメトキシエチル、エトキシエチル、プロポキシエチル、イソプロポキシエチル、等；5-メチル-2-オキソ-1,3-ジオキサレン-4-イルメチル、5-フェニル-2-オキソ-1,3-ジオキサレン-4-イルメチル、等のような2-オキソ-1,3-ジオキサレン-4-イルメチル基；C<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキルチオメチル基、例えばメチルチオメチル、エチルチオメチル、イソプロピルチオメチル、等；アシルオキシメチル基、例えばピバロイルオキシメチル、ピバロイルオキシエチル、-アセトキシメチル、等；エトキシカルボニル-1-メチル基；1-(エトキシカルボニルオキシ)エチル基；1-(メチルアミノカルボニルオキシ)エチル基のような1-(C<sub>1</sub>~C<sub>12</sub>アルキルアミノカルボニルオキシ)エチル基を包含する。

40

#### 【0117】

本発明の任意の位置は、3連続までの“置換”を有することが理解されるべきである。例えば“置換アルキル”で置換されている“置換フェニル”で置換されている、ここでの“置換アルキル”は、この場合に、さらにもう1つの基により置換されることができ、そ

50

してそれ以上にはもはや置換されることができない。しかしながら、本発明は、適切な場合に、3つの平行置換以上の置換を意図することがまた理解されるべきである。例えば、適切な場合に、アルキル部分上の3つより多くの水素は、ハロ及びヒドロキシを包含する任意の1種以上の基で置換されていることができる。

#### 【実施例】

#### 【0118】

#### 実験的方法

#### M J D B の合成

黄色い色が5分間維持されるまで、 $-20^{\circ}\text{C}$  で  $\text{CCl}_4$  中のジャスモン酸メチルの溶液を臭素で処理した。次に溶媒を蒸発させ、黄色を帯びた残留物を、 $\text{MeOH}$  で洗浄したシリカゲルカラム (VLC) 上でクロマトグラフィにかけ、そしてヘキサン / 5 ~ 10 %  $\text{EtOAc}$  で溶離した。

2つの可能性あるラセミ化合物の1 : 1の混合物が得られた。

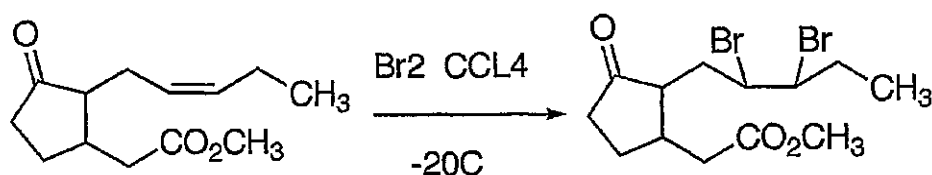
質量スペクトル： $m/z$  384 ( $\text{Br}_2$ )、 $R_f$  = ヘキサン /  $\text{EtOAc}$  (1 : 1) で溶離されて、シリカゲル上 0.8。

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : ( $\text{C}-1 \sim \text{C}-13$ ) : 172.1 / 172.3 ; 37.1 / 37.3 ; 38.0 / 38.3 ; 29.5 / 29.6 ; 38.8 / 39.1 ; 218.4 / 219.1 ; (両方について) 51.7 ; 27.0 / 27.2 ; 57.8 / 55.8 ; 60.7 / 60.2 ; 35.7 / 36.1 ; (両方について) 12.4 ; 51.1 / 51.3 ppm .

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2.39 - 2.41 ( $\text{H}-2$  及び 3) ; 1.94 - 2.14 ( $\text{H}-4$  ,  $\text{H}-7$  及び  $\text{H}-11$ ) ; 2.74 - 2.75 ( $\text{H}-5$ ) ; 1.61 ( $\text{H}-8$ ) ; 4.62 及び 4.89 ( $\text{H}-9$ ) ; 4.14 ( $\text{H}-10$ ) ; 1.12 ( $\text{H}-12$ ) ; 3.75 ( $\text{OMe}$ ) ppm .

#### 【0119】

#### 【化5】



#### 2)クロマトグラフィ

ジャスモン酸メチル

ジャスモン酸メチルジブロマイド

#### 【0120】

#### M J T B の合成

$\text{CCl}_4$  中の M J を一夜、10当量の臭素で処理した。溶媒及び過剰の臭素を真空下に蒸発させた。 $i\text{PrOH}$  から再結晶させて1種のテトラ臭素異性体を得、そして  $\text{EtOH}$  から再結晶化して第2の異性体を得た。NMR、MSによりそれらの化合物を同定確認し、そしてX線回折分析により1種の異性体を同定確認した。

#### 【0121】

#### M J S 7 2 f 5 の合成

0 でメタノール (5 mL) 中の ( $\pm$ ) - M J (111 mg、0.49ミリモル) のかき混ぜた溶液に、メタノール (15 mL) 中の  $\text{I}_2$  (580 mg、2.28ミリモル) の



溶液を滴下して加えた。暗所で0 で0.5時間その混合物をかき混ぜ、放置して室温にまで温め、次にさらに48時間かき混ぜた。次に溶媒を蒸発させ、残留物に飽和水性Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>(10mL)を加え、そしてエーテル(2×10mL)で抽出した。合併した有機層をMgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、そして真空濃縮した。残留物をVLC(EtOAc/石油エーテル(1:4))により精製して、無色油状物として生成物(42mg、22%)を得た。

【0122】

#### MJS99f7の合成

CFCl<sub>3</sub>の250mL、CHCl<sub>3</sub>の200mL及びエタノールの50mL中に溶解された基質(±)-MJ(2.1g、9.37ミリモル)の冷たい(-75)且つ激しくかき混ぜられた溶液中に、ゆっくりとした流れとしてN<sub>2</sub>中3%の濃度でフッ素を通過させた。その反応を3時間行い、次に、その混合物を500mLの水中に注入し、飽和水性NaHCO<sub>3</sub>で洗浄しそしてCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>で抽出した。合併した有機層をMgSO<sub>4</sub>で乾燥し、そして真空濃縮した。残留物をVLC(EtOAc/石油エーテル(1:9))により精製して、赤色油状物としてジアステレオ異性体の混合物(950mg、39%)を得た。

10

【0123】

#### MJS85f4の合成

0 で乾燥THF(6mL)中の(±)-MJ(246mg、1.10ミリモル)のかき混ぜられた溶液に、THF(15mL)中のI<sub>2</sub>(1.97g、4.6ミリモル)の溶液を滴下して加えた。その混合物を暗所で0 で混合物を3時間かき混ぜ、放置して室温にまで温め、次にさらに48時間かき混ぜた。完了後に、飽和水性Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>(10mL)を残留物に加え、エーテル(2×10mL)で抽出した。合併した有機層をMgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、そして真空濃縮した。残留物をVLC(EtOAc/石油エーテル(1:4))により精製してヨウ素化生成物を得た。

20

【0124】

#### MJS81f3の合成

-10 でCCl<sub>4</sub>(5mL)中の(±)-MJ(78mg、0.348ミリモル)のかき混ぜられた溶液中に、濃HCl(5mL)とKMnO<sub>4</sub>(800mg)とからその場で形成されたCl<sub>2</sub>を吹き込んで泡立てた。混合物を2時間、-10 でかき混ぜた。次に溶媒を蒸発させ、そして残留物をVLC(EtOAc/石油エーテル(1:9))により精製して塩素化生成物を得た。

30

【0125】

#### 例において使用された細胞毒性アッセイ

Cell Titer 96 水性非放射性細胞増殖アッセイ(Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay)( Wisconsin州マディソンのPromega)により生存細胞の数における減少の測定を行った。一定の実験の完了の際、333μg/mlでのMTS(テトラゾリウム化合物)+(25μMでの)フェナジンメトサルフェートを、37 で1時間、96-ウェルプレートの各々のウェルに加えた。これは、デヒドロゲナーゼが代謝的に活性な細胞におけるMTSを減少させる呈色反応の発現を可能にした。細胞はMTSの添加前に洗浄されていなかったのも、問題である可能性があった潜在的にゆるく粘着性がある細胞も、非粘着性細胞も存在しなかった。CERES 900 HDI ELISA 読取装置(バーモント州ハイランドパークのBio-Tek Instruments, Inc.製)を用いて490nmの波長で可溶性NTSホルマザン生成物を測定した。光学濃度は培養における生存細胞の数に正比例している。以下の方法で細胞毒性(%)を計算した:

40

[(対照細胞のOD - 薬剤処理細胞のOD) / 対照細胞のOD] × 100

【0126】

例 1

50

M J D B は白血病細胞に対して高度に細胞毒性であり、そして健康なリンパ球に対して非毒性である

ヒト白血病細胞に対する M J D B の毒性を試験するために、慢性リンパ球白血病 (C L L) から、末梢の血液リンパ球を採取した。これらの細胞は、細胞表面上の C D 5 及び C D 1 9 標識 (マーカ) の流動細胞光度測定法的分析により測定したときに事実上 1 0 0 % の癌細胞を含有することが示された。健康な供与者から末梢の血液リンパ球を同様に採取した。9 6 - ウェルプレートにおける  $1.5 \times 10^4$  / ウェルで細胞を接種し、そして図 1 において示される幾つかの濃度で 1 時間 M J D B を加えた。生存可能な細胞を表す光学濃度を C e l l T i t e r 9 6 水性非放射性細胞増殖アッセイ (ウイスコンシン州、マディソンの P r o m e g a) (即ち、生存可能な細胞が、上に記載したように着色生成物を生成するアッセイ) により測定した。このアッセイは生成された色の量が E L I S A 読取装置を用いて読み取られるので、定量的である。細胞毒性を対照の非処理培養物の % として計算した (平均  $\pm$  S D ;  $n = 3$ )。 10

【 0 1 2 7 】

C L L 患者からの末梢の血液リンパ球に関しての M J D B の細胞毒性を、(ダイヤモンド形で示される) 健康な供与者からの末梢の血液リンパ球に関してのその細胞毒性に対してプロットした。図 1 参照。M J D B は、健康な供与者からの末梢の血液リンパ球に対してよりも、慢性リンパ球白血病 (C L L) 患者からの末梢の血液リンパ球に対して明らかに且つ極めて細胞毒性であった ( $P < 0.05$ )。M J D B は C L L 患者からの癌細胞に対して高度に且つ選択的に細胞毒性である一方、健康な供与者からのリンパ球に対して細胞毒性は最小である。 20

【 0 1 2 8 】

#### 例 2

M J D B は 4 種の異なるヒト悪性細胞系に対して示されるように、以前に研究されたジャスモネート類よりもはるかにいっそう細胞毒性である

M J D B の細胞毒性を、米国特許第 6 , 4 6 9 , 0 6 1 号に開示された最も有効なジャスモネートであった以前に研究されたジャスモネートであるジャスモン酸メチル (M J) の細胞毒性と比較した。各々が、リンパ芽球白血病、肺癌、黒色腫又は結腸癌に由来する 4 種のヒト悪性細胞系に適用されたときに分かるように比較された。

【 0 1 2 9 】

(  $1.5 \times 10^4$  / ウェルでの ) M o l t - 4 リンパ芽球白血病細胞、(  $4 \times 10^3$  / ウェルでの ) 3 L L 肺癌細胞、(  $4 \times 10^3$  / ウェルでの ) B 1 6 黒色腫細胞又は (  $4 \times 10^3$  / ウェルでの ) H C T 1 1 6 結腸癌細胞を、9 6 - ウェルプレート中に接種し、そして 0 . 5 m M でジャスモン酸メチル (M J) 又は M J D B を 1 日間加えた。生存可能な細胞を表す光学濃度を、( 上記した ) C e l l T i t e r 9 6 水性非放射性細胞増殖アッセイにより測定した。細胞毒性を、対照非処理培養物の % として計算した (平均  $\pm$  S D .  $n = 3$ )。 30

【 0 1 3 0 】

ジャスモン酸メチル (M J、中白柱) 又は M J D M (中黒柱) の細胞毒性のパーセンテージを例示する。図 2 は、以前に研究されたジャスモン酸メチルと比較したときに、新しく合成された化合物 M J D B が種々の癌細胞系へのその細胞毒性効果において非常に優れていることを明らかに示している (統計的研究は、これらの研究について  $P < 0.05$  を示した)。 40

【 0 1 3 1 】

#### 例 3

M J D B は野性タイプ又は突然変異体 p 5 3 を発現するいずれの細胞に対しても効果がある

前細胞消滅性癌抑制遺伝子の突然変異型、p 5 3 を発現する細胞に対しての M J D B の効果が示された。異型体 p 5 3 発現は、ヒト癌の約 5 0 % において起こり、そして医薬耐性の一因となり、そして癌患者における化学療法及び放射線治療法においての結果として 50

起こる欠陥の一因となる。したがって、突然変異体 p 5 3 - 発現細胞を殺す能力は、臨床的に高い意義ある能力である。

#### 【 0 1 3 2 】

同じ細胞系 ( 2 9 M 4 . 1 ) から由来する 2 種の B リンパ腫クローンのシステムを用いた。これらのクローン類は、野性タイプ対突然変異体 p 5 3 の発現において全く異なっている。さらに特定のには、2 9 M 4 . 1 細胞を 9 6 ウェルプレートにおいて  $2.5 \times 10^4$  / ウェルで接種し、そして M J D B を幾つかの濃度で 1 日間加えた。生存可能である細胞を表す光学濃度を C e l l T i t e r 9 6 水性非放射性細胞増殖アッセイ ( ウィスコンシン州マディソンの P r o m e g a ) により測定した。細胞毒性を対照非処理培養物のパーセンテージとして計算した ( 平均  $\pm$  S D , n = 3 ) 。 M J D B は、野性タイプ又は突然変異体 p 5 3 を発現するいずれの B リンパ腫細胞に対しても等しく細胞毒性であることを示し、医薬耐性腫瘍に対する M J D B の有力な臨床的使用を示唆している。図 3 参照。

10

#### 【 0 1 3 3 】

##### 例 4

##### M J D B は癌細胞における A T P 水準を低下させる

癌細胞における A T P 水準上への M J D B の効果を評価するために、A T P 測定アッセイを使用した。さらに特定のには、9 6 - ウェル不透明壁プレートにおいて (  $1 \times 10^4$  / ウェルで ) M o l t - 4 細胞を接種し、そして 3 m M で M J 又は 1 m M で M J D B を、3 7 °C で 1 0 分、3 0 分又は 6 0 分間加えた。培地でインキュベートされた非処理細胞を対照として使用した。C e l l T i t e r - G l o <sup>T M</sup> 冷光細胞生存能力アッセイ ( 細胞が細胞中の A T P 濃度に等価である冷光シグナルを生成するアッセイ ) により A T P 水準を測定した。A T P 減少を対照非処理培養物の % として計算される ( 平均  $\pm$  S D , n = 3 ) 。

20

#### 【 0 1 3 4 】

図 4 において見ることもできるように、M J D B は、ジャスモン酸メチルにより誘導される A T P 減少よりも、いっそう大きな程度までに M o l t - 4 白血病細胞における迅速且つ強い A T P 減少を誘導した。M J D B は、ジャスモン酸メチルよりも 3 倍も低い濃度で投与されたことを認識することが重要である。したがって、( ジャスモン酸メチルと比較しての ) M J D B の優れた細胞毒性効果と、細胞質 A T P 水準を減少させるその能力との間に、相互関係が存在する。

30

#### 【 0 1 3 5 】

##### 例 5

##### M J T B は 4 種の異なるヒト悪性細胞系に対して細胞毒性である

M o l t - 4 ( 白血病 ;  $2.5 \times 10^4$  / m l で ) 、 D 1 2 2 ( 肺癌 ;  $5 \times 10^3$  / m l で ) 、 B 1 6 ( 黒色腫 ;  $2 \times 10^3$  / m l で ) 及び B 1 6 M D R ( 多重薬耐性を示す黒色腫 ;  $2 \times 10^3$  / m l で ) の細胞を、異なる濃度での M J T B の存在下に、9 6 ウェルプレートにおいて 1 日間インキュベートした。生存可能細胞を表す光学濃度を、上に記載したように、C e l l T i t e r 9 6 水性非放射性細胞増殖アッセイ ( ウィスコンシン州マディソンの P r o m e g a ) により測定した。対照非処理培養物の % として細胞毒性を計算した ( 平均  $\pm$  S E , n = 3 ) 。これらの細胞系に対する M J T B の I C 5 0 水準を下記表に示す :

40

#### 【 0 1 3 6 】

【表 1】

	Molt-4	D122	B16	B16 MDR
IC50 (mM)	0.008	0.05	0.08	0.08

## 【0137】

10

これらの表及び図5から分かるように、MJTBは白血病細胞ならびに種々の固形性（中実性：solid）腫瘍から由来する癌細胞の両方に対して有効であった。また、MJTBは、多重薬耐性を示す細胞を殺すことができ、このことは、首尾の良い化学療法に対して医薬耐性が主要な邪魔となる臨床状態においてMJTBを潜在的に有用なものにする。

## 【0138】

## 例 6

## MJとMJTBとの比較

上記テトラプロモ異性体の1：1の混合物を用いて生物学的アッセイを行なった。より特定のには（ $2.5 \times 10^4$  / mlでの）Molt-4白血病細胞を、MJ又はMJTBのいずれかの異なる濃度の存在下に、96ウェルプレート中で1日間インキュベートした。生存可能である細胞を表す光学濃度を、上記したようにCell Titer 96水性非放射性細胞増殖アッセイ（ウィスコンシン州、マディソンのPromega）により測定した。細胞毒性を対照非処理培養物の%として計算した（平均±SE, n=3）。MJTB及びMJのIC50水準を下記表に示す：

20

## 【0139】

【表 2】

	MJTB	MJ
IC50 (mM)	0.008	0.5

30

## 【0140】

この表及び図5において見る事ができるように、MJTBはMJ（今までの最も有力なジャスモネート誘導体）のIC50よりも約60倍も小さいIC50（50%細胞毒性を示す濃度）を有する。したがってMJTBはその単位の10倍（order of magnitude）より大きい範囲でMJよりいっそう有効である。

## 【0141】

40

## 例 7

## MJTBは癌細胞に対して選択性である

（ $2.5 \times 10^4$  / mlで）Molt-4（白血病）細胞及び正常な末梢血リンパ球（PBL、 $2 \times 10^5$  / ml）を、異なる濃度のMJTBの存在下に1日間96-ウェルプレートにインキュベートした。PBLは、細胞周期に入るのを誘発するために、48時間 $0.8 \mu\text{g} / \text{ml}$ の植物性血球凝集素（フィトヘマグルチニン）+  $5 \text{ ng} / \text{ml}$ のTPAを用いて予備インキュベートされていた。これらの細胞は増殖し、そしてそれ故、癌細胞に関する増殖に類似していて、いっそう正當に比較させる。生存可能である細胞を表す光学濃度を、上記したようにCell Titer 96水性非放射性細胞増殖アッセイ（ウィスコンシン州、マディソンのPromega）により測定した。IC50水準を下記表に

50

示す：

【 0 1 4 2 】

【 表 3 】

	Molt-4	PBL
IC50 (mM)	0.008	0.25

10

【 0 1 4 3 】

この表及び図 7 において見るように、正常なリンパ球に実質的に影響を及ぼすことなしに、白血病細胞を殺すことを M J T B に可能にさせる満足でき且つ安心できる治療濃度域が存在する。事実、正常な末梢の血液リンパ球についての I C 5 0 は、その単位の 1 0 倍の範囲 ( an order of magnitude ) より多くだけ白血病細胞に対する I C 5 0 よりも大きい。P B L の I C 5 0 は図 7 には表れないいっそう高い M J T B 濃度を用いて測定したことが留意されるべきである。

【 0 1 4 4 】

例 8

20

本発明の他の化合物の細胞毒性

(  $1.5 \times 10^4$  / ml での ) M o l t - 4 白血病細胞で、異なる濃度の M J のハロゲン化誘導体の存在下に 1 日間インキュベートした。特定の、これらの誘導体は M J S 7 2 f 5 ( R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> の 1 つがヨードであり、そして他がメトキシである )、M J S 9 9 ( R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> の各々がフルオロである ) 及び N J - 6 3 ( R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> の 1 つがブロモであり、そして他がヒドロキシである ) であった。生存可能である細胞を表す光学濃度を、上記したように C e l l T i t e r 9 6 水性非放射性細胞増殖アッセイ ( ウィスコンシン州、マディソンの P r o m e g a ) により測定した。図 8 において示されるように、これらの誘導体のすべては M J よりも大きい細胞毒性を示した。他の誘導体 M J S 8 1 f 3 はまた、細胞毒性活性を有した。

30

【 0 1 4 5 】

本明細書において引用された参考文献のすべてを、それらの全体において本明細書に組み入れる。本明細書において上記の詳細な記載は、本発明の或る好ましい態様を例示するためにだけ意図される。それらは、特許請求の範囲に示されたような本発明の範囲が限定されることがけっして意図されるものではない。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 4 6 】

【 図 1 】 a ) ヒト C L L リンパ球 ( “ 患者 1 ”、 “ 患者 2 ” 及び “ 患者 3 ” と標識した ) ; 及び b ) 健康な供与者からのリンパ球 ( “ 正常 ” と標識した ) に対する M J D B の細胞毒性活性を示す。

40

【 図 2 】 4 種のヒト悪性細胞系、即ち、リンパ芽球白血病 ( M o l t - 4 )、肺癌 ( 3 L L )、黒色腫 ( B 1 6 ) 及び結腸癌 ( H C T 1 1 6 ) に対して M J D B 及びジャスモン酸メチル ( M J ) により作用された毒性の水準の比較を示す。

【 図 3 】 野性型又は突然変異体 p 5 3 のいずれかを発現する細胞に対する M J D B の細胞毒性活性を示す。

【 図 4 】 M o l t - 4 白血病細胞における A T P 水準上への M J D B 及び M J の効果の比較を示す。

【 図 5 】 異なる細胞系、即ち M o l t - 4 ( 白血病 )、D 1 2 2 ( 肺癌 )、B 1 6 ( 黒色腫 ) 及び B 1 6 M D R ( 多重薬耐性を示す黒色腫 ) に対する M J T B の細胞毒性活性を示す。

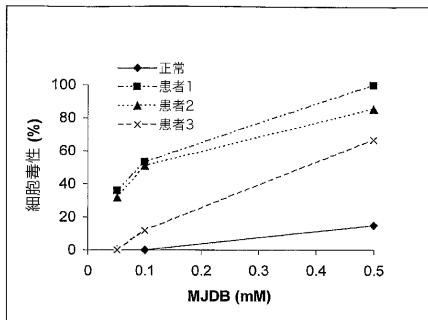
50

【図6】MJTB及びMJの細胞毒性活性を比較する。細胞毒性は対照非処理培養物の%として計算される(平均±SE, n=3)。\*\*\*はMJ及びMJTBの効果と比較する $P < 0.001$ を示す。

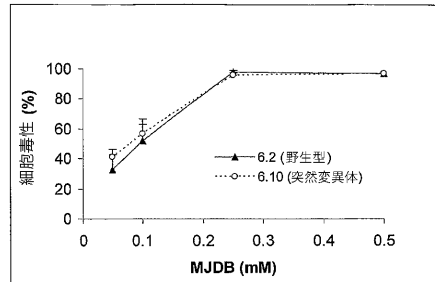
【図7】白血病細胞に対する正常なリンパ球上へのMJTBの作用を比較する。正常なリンパ球に対する白血病細胞上へのMJTBの効果と比較する\*は $P < 0.05$ を示し、\*\*は $P < 0.01$ を示し、\*\*\*は $P < 0.001$ を示す。細胞毒性は、対照非処理培養物の%として計算された(平均±SE, n=3)。

【図8】白血病細胞に対する本発明の他のMJ誘導体の細胞毒性を示す。

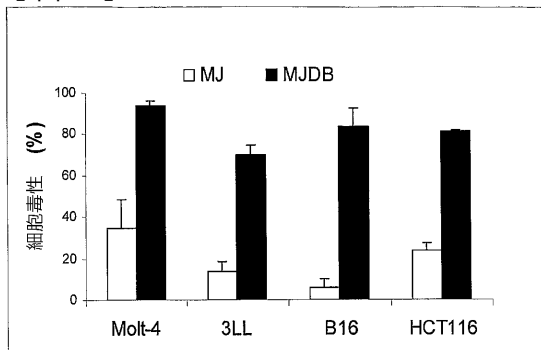
【図1】



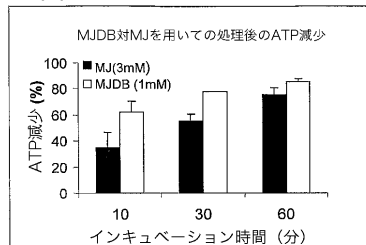
【図3】



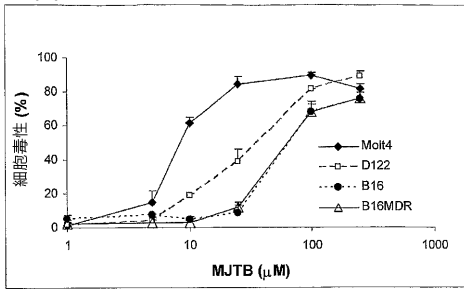
【図2】



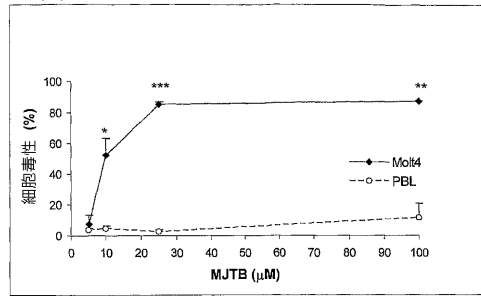
【図4】



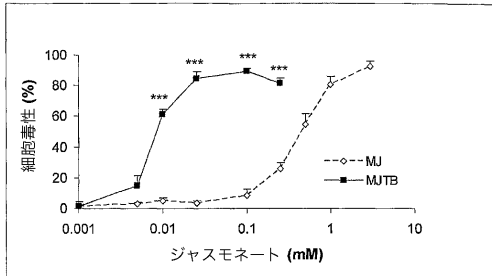
【図 5】



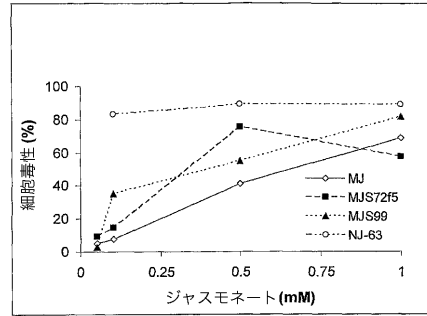
【図 7】



【図 6】



【図 8】



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inta      nal Application No  
PCT/IL2004/001098

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 C07C69/716 A61P35/02 A61K31/215		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07C		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	ISHII, Y. ET AL: "Induction of differentiation of human myeloid leukemia cells by jasmonates , plant hormones" LEUKEMIA , 18(8), 1413-1419 CODEN: LEUKED; ISSN: 0887-6924, 2004, XP002328125 Compounds IIIa and IIIb (page 1414), Figure 6 (page 1417) ----- -/--	1-31
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search  13 May 2005		Date of mailing of the international search report  27/05/2005
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Bueno Torres, M



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/IL2004/001098

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; KIYOTA, HIROMASA ET AL: "(.+-.)-Methyl 11- fluorojasmonate as a designed antimetabolite of methyl jasmonate : synthesis and plant growth regulatory activity" XP002328126 retrieved from STN Database accession no. 2001:162133 Compound RN 343580-97-2 abstract & NIPPON NOYAKU GAKKAISHI , 26(1), 96-99 CODEN: NNGADV; ISSN: 0385-1559, 2001, -----	1,3,9,11
A	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; WARD, KERRY ET AL: "The induction of proteinase inhibitor II by jasmonates" XP002328127 retrieved from STN Database accession no. 1997:608905 Compounds RN: 196956-55-5, 196956-56-6, 196956-57-7 and 196956-58-8 abstract & PROCEEDINGS OF THE PLANT GROWTH REGULATOR SOCIETY OF AMERICA , 23RD, 291-294 CODEN: PPGRDG; ISSN: 0731-1664, 1996, -----	1-31
A	WO 02/080890 A (RAMOT UNIVERSITY AUTHORITY FOR APPLIED RESEARCH AND INDUSTRIAL DEVELOP) 17 October 2002 (2002-10-17) cited in the application the whole document -----	1-31
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; NAKAGUCHI, OSAMU ET AL: "Hair growth stimulants containing dehydrodihydrojasmonic acid lower alkyl esters" XP002328128 retrieved from STN Database accession no. 1992:537415 Compounds RN 143456-81-9 and 143456-82-0 abstract & JP 04 041414 A2 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD., JAPAN; V. MANE FILS JAPAN, LTD.; HA) 12 February 1992 (1992-02-12) -----	1-5,9-11

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/IL2004/001098**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claims 18-27 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/IL2004/001098

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 02080890	A	17-10-2002	US 2002173470 A1	21-11-2002
			CA 2443623 A1	17-10-2002
			EP 1379229 A2	14-01-2004
			WO 02080890 A2	17-10-2002
			JP 2004525163 T	19-08-2004
JP 4041414	A2	12-02-1992	JP 4041414 A	12-02-1992

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 フレッシュャー、エリーザー

イスラエル国、ホド ハシャロン、ハゲウラ ストリート 6

(72)発明者 カシュマン、ヨエル

イスラエル国、テルアビブ、ピンヤミン メトゥデラ ストリート 46

(72)発明者 ライシャー、ドリト

イスラエル国、ラアナナ、ベン グリオン ストリート 17

(72)発明者 シモニー、シリ

イスラエル国、テルアビブ、ベイト ズリ ストリート 30

F ターム(参考) 4C206 AA01 AA02 AA03 DB11 DB43 MA01 MA04 NA14 ZB26 ZB27

4H006 AA01 AA03 AB28 BJ20 BM10 BM20 BM71 BM72 BM73 BM74

KF10 KF21