(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6501123号
(P6501123)
(45)発行日　平成31年4月17日(2019.4.17)　(24)登録日　平成31年3月29日(2019.3.29)

(51)Int.Cl.　F I
A61K 31/122 (2006.01)　A61K 31/122
A61P 35/02 (2006.01)　A61P 35/02
A61K 36/07 (2006.01)　A61K 36/07

請求項の数 14　(全 43 頁)

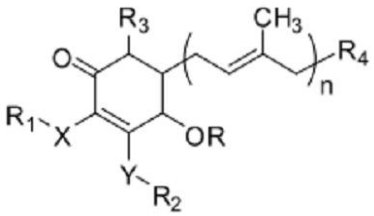
(21)出願番号　特願2015-558939(P2015-558939)
(86)(22)出願日　平成26年2月20日(2014.2.20)
(65)公表番号　特表2016-509058(P2016-509058A)
(43)公表日　平成28年3月24日(2016.3.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2014/017285
(87)国際公開番号　WO2014/130619
(87)国際公開日　平成26年8月28日(2014.8.28)
審査請求日　平成29年2月8日(2017.2.8)
(31)優先権主張番号　61/767,211
(32)優先日　平成25年2月20日(2013.2.20)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　513043570
ゴールデン　バイオテクノロジー　コーポレーション
アメリカ合衆国　０７３０２　ニュージャージー州　ジャージーシティ　スイート　２１００　ハドソン　ストリート　１０１
(74)代理人　100082072
弁理士　清原　義博
(72)発明者　リュー，シェン－ユン
台湾　ニュー・タイペイ・シティ　ダンシュエイ　ジョン－ジェン・イー．ロード　セクション２　ナンバー２７－６　１５階

最終頁に続く

(54)【発明の名称】白血病を治療する方法と組成物

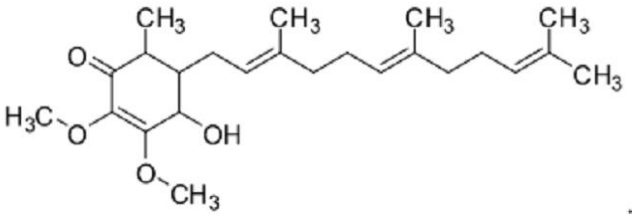
(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下の構造を有する治療上有効な量のシクロヘキセノン化合物、その薬学的に許容可能な塩、またはその溶媒和物を含む、医薬組成物であって：
【化１】



ここで、ＸとＹの各々は独立して酸素または硫黄であり；
Ｒは水素又はＣ（＝Ｏ）Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキルであり；
Ｒ$_1$、Ｒ$_2$およびＲ$_3$の各々は独立して水素、随意に置換されたメチルまたは（ＣＨ$_2$）$_m$－ＣＨ$_3$であり；
Ｒ$_4$は、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、Ｃ$_3$－Ｃ$_8$シクロアルキル、およびＣ$_1$－Ｃ$_8$ハロアルキルから選択された１つ以上の置換基で随意に置換された、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、アリールであり；

ｍ＝１－１２；及び
ｎ＝１－１２である、被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項２】
白血病が急性白血病であることを特徴とする、請求項１記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項３】
白血病が慢性白血病であることを特徴とする、請求項１記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項４】
急性白血病が急性骨髄性白血病、急性赤白血病、急性リンパ芽球性白血病、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、成人Ｔ細胞白血病、前駆体Ｔ急性リンパ芽球性白血病または慢性骨髄性白血病の急性転化であることを特徴とする、請求項２記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項５】
慢性白血病が慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、又はヘアリー・セル白血病であることを特徴とする、請求項３記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項６】
慢性白血病が慢性骨髄性白血病であることを特徴とする、請求項５記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項７】
シクロヘキセノン化合物、又はその薬学的に許容可能な塩、またはその溶媒和物が経口で、非経口で、静脈内で、又は注入によって使用されることを特徴とする、請求項１記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項８】
被験体がヒトであることを特徴とする、請求項１記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項９】
Ｒは、水素、Ｃ（＝Ｏ）C_3H_8、Ｃ（＝Ｏ）C_2H_5またはＣ（＝Ｏ）CH_3であることを特徴とする、請求項１記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項１０】
R_1、R_2およびR_3の各々は、独立して水素、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチルまたはオクチルであることを特徴とする、請求項１記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項１１】
R_1及びR_2の各々は、独立して水素又はメチルであることを特徴とする、請求項１０記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項１２】
R_4は、C_1－C_8アルキル、C_2－C_8アルケニル、C_2－C_8アルキニル、C_3－C_8シクロアルキル、およびC_1－C_8ハロアルキルから選択された１つ以上の置換基で随意に置換されるC_1－C_8アルキルであることを特徴とする、請求項１記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項１３】
R_4は、$CH_2CH=C(CH_3)_2$であることを特徴とする、請求項１２記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。
【請求項１４】
化合物が、以下の構造であることを特徴とする、請求項１記載の被験体の白血病を処置する又はそのリスクを減らすために使用される医薬組成物。

【化２】



【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

白血病（Leukemia）（白血病（leukaemia））は、「芽球」と呼ばれる未熟な白血球の異常な増大が特徴である血液又は骨髄の癌の一種である。白血病は複数の疾患の範囲をカバーする広い用語である。同様に、全て血液腫瘍として知られている血液、骨髄およびリンパ系に影響する疾患のさらに広い群の一部である。

【０００２】

臨床的に及び病理学的に、白血病は様々な大きな群へ細分される。第１の境界は急性及び慢性の形態間にある。急性白血病は、白血病の初期（original）の診断に関する重大な医学的疾病のファミリーである。急性白血病の形態は、急性骨髄性白血病、急性赤白血病、急性リンパ芽球性白血病、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、成人Ｔ細胞白血病／リンパ腫、前駆体Ｔ急性リンパ芽球性白血病／リンパ腫、慢性骨髄性白血病の急性転化を含む。慢性白血病は異常な白血球の増大である。これは急性白血病と異なり、骨髄性又はリンパ球であるものに分類される。慢性白血病は慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、ヘアリー・セル白血病を指し得る。さらに、これらの疾患はどの種類の血球に影響するかに従って細分化される。この分離が白血病をリンパ芽球性又はリンパ球性白血病、及び骨髄性（myeloid）又は骨髄（myelogenous）白血病に分ける。

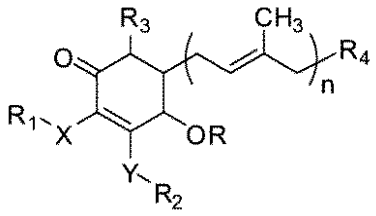
【発明の概要】

【０００３】

本明細書中に提供されている１つの態様では、以下の構造を有する治療上有効な量のシクロヘキセノン化合物、薬学的に許容可能な塩、代謝体、溶媒和物またはそのプロドラッグを投与する工程を含む対象の白血病のリスクを処置する又は減らす方法であって：

【０００４】

【化１】



【０００５】

ここで、ＸとＹの各々は独立して酸素、ＮＲ$_5$または硫黄であり；Ｒは水素又はＣ（＝Ｏ）Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキルであり；Ｒ$_1$、Ｒ$_2$およびＲ$_3$の各々は独立して水素、随意に置換されたメチルまたは（ＣＨ$_2$）$_m$－ＣＨ$_3$であり；Ｒ$_4$は、ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ＯＲ$_5$、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ$_7$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ハロゲン、５または６員環ラクトン、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、アリール又はグルコシルであって、ここで、５又は６員環ラクトン、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、アリールおよびグルコシルは、ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ＯＲ$_5$、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ$_7$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、Ｃ$_3$－Ｃ$_8$シクロアルキルおよびＣ$_1$－Ｃ$_8$ハロアルキルから選択された１つ以上の置換

基と随意に置換され；R_5とR_6の各々は独立して水素又はC_1－C_8アルキルであり；R_7はC_1－C_8アルキル、OR_5またはNR_5R_6であり；ｍ＝１－１２；及びｎ＝１－１２である。

【０００６】

＜参照による組み込み＞

本明細書中で示された全ての出版、特許または特許出願は引用によって、あたかも個々の出版、特許又は特許出願が具体的に及び個別の引用によって本明細書中に引用によって組み込まれているのと同程度に本明細書中に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【０００７】

本発明の新しい特徴はとりわけ添付の請求項に記載される。本発明の特徴および利点のより良い理解は、本発明の原理が用いられる実施形態を説明する以下の詳細な説明と、以下の添付図面とを引用することによって得られるであろう。

【図１】図１は、ＨｅｐＧ２、Ａ５４９およびＨ８３８細胞株におけるＥＲＫリン酸化を刺激する化合物１の典型的な結果を示す。ＨｅｐＧ２、Ａ５４９およびＨ８３８細胞株は一晩血清飢餓にさせ、１時間化合物１の示された濃度で挑戦された。その後、細胞溶解産物全てはリン酸化－ＥＲＫ１／２抗体でイムノブロットされ、β－アクチンに対する抗体で再探査された。複製されたメンブレンは総ＥＲＫ１／２抗体で探査された。β－アクチンへのｐ－ＥＲＫ１／２の相対的な発現レベルはデンシトメトリーによって計測された。実験は３回繰り返して行なわれた。

【図２】図２Ａ－Ｃは、癌細胞株におけるＲａｓ処理を阻害する、典型的な化合物１の有効な結果を示す。（２Ａ）Ａ５４９及びＨ８３８細胞は、化合物１の異なる濃度で処置され、２４時間血清下（１０％ＦＢＳ）又は血清なし（ＦＢＳなし）の条件で増殖させた。（２Ｂ）Ｈ８３８、（２Ｃ）ＨｅｐＧ２およびＫ５６２細胞は、化合物１の異なる濃度で処置され、２４時間血清なし（ＦＢＳなし）の条件で増殖させた。その後、細胞溶解産物全てはＲａｓ抗体でイムノブロットされた。複製されたメンブレンはＧＡＰＤＨ抗体で探査された。Ｒａｓで処理されていない又は処理された相対的な発現レベルは、デンシトメトリーによって量を測定された。実験は、３回行なわれた。棒グラフは平均±ＳＥＭを表わす。＊　Ｐ＜０．０５、＊＊　Ｐ＜０．０１。

【図３】図３Ａ－Ｃは、インビトロのファルネシルトランスフェラーゼのプレニル化活性を抑制し、及び細胞内のＦＰＰと競争する化合物１の有効な結果を示す。（３Ａ）化合物１及びＦＰＰの化学構造。（３Ｂ）２４時間示されるような化合物１又はＦＰＰで刺激されたＨ８３８細胞。その後、細胞溶解産物全てはＲａｓ抗体でイムノブロットされた。複製されたメンブレンはＧＡＰＤＨ抗体で探査された。Ｒａｓで処理されていない又は処理された相対的な発現レベルは、デンシトメトリーによって量を測定された。実験は、３回行なわれた。（３Ｃ）ＦＴａｓｅによって媒介されたＮＢＤ－ＦＰＰを備えたプレニル化の後に蛍光性ラベルが付加されたＨ－Ｒａｓ－ＧＳＴのＳＤＳ－ＰＡＧＥ。下のパネルは、クーマシーブルーで染色された同じゲルを示す。

【図４】図４Ａ－Ｄは、化合物１、ＣＩＦＭから派生したＬ７３９、７５０、ペプチド模倣薬、及びＦＰＰ基質を有する複合体中のヒトＦＴａｓｅのモデル構造を示す。（４Ａ）化合物１と複合体を形成したＦＴａｓｅのリボンカートゥーン。（４Ｂ）ＦＴａｓｅへの化合物１（緑）とＦＰＰ（紫）の同時の結合。（４Ｃ）アントロキノノールと複合体を形成したＦＴａｓｅのリボンカートゥーン。推定上の水素結合は点線によって表わされる。（４Ｄ）化合物１及びＣＩＦＭから派生したＬ７３９，７５０と複合体を形成したＦＴａｓｅのリボンカートゥーン。

【図５】図５Ａ－Ｃは、Ｈ８３８細胞の自食活性を引き起こす化合物１の有効な結果を示す。Ｈ８３８細胞は化合物１の異なる濃度で処置され、血清なしの条件下で増殖させた。（５Ａ）細胞は処置に続き、ベクリン－１抗体を備えたイムノブロットにさらされて、０、２４および４８時間で収穫された。（５Ｂ）細胞溶解産物全ては処置に続き、ＬＣ３Ｂ抗体を備えたイムノブロットにさらされて、２４時間後に調製された。複製されたメンブ

レンはＧＡＰＤＨ抗体で探査された。ＬＣ３Ｂ－ＩＩに対するＬＣ３Ｂ－Ｉの相対的な発現レベルの量は、デンシトメトリーによって計測された。（５Ｃ）オートファゴソーム中の内因性ＬＣ３Ｂの分布は共焦点顕微鏡検査法によって検出された。実験は、３回行なわれた。棒グラフは平均±ＳＥＭを表わす。＊Ｐ＜０．０５および＊＊Ｐ＜０．０１

【図６】図６は、癌細胞株における化合物１の細胞毒性活性及びＲａｓのタンパク質レベルとＥＧＦＲとの相関を示す。細胞溶解産物全てはＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分解され、Ｒａｓ抗体でイムノブロットされた。複製されたメンブレンはＥＧＦＲまたはＧＡＰＤＨに対する抗体で探査された。実験は、３回行なわれた。

【図７】図７は、化合物１の提案された作用機序を例証する典型的なスキーム図を示す。矢印を端に備えた線は、活性及びアップレギュレーションを示す一方、垂直の棒を端に備えた線は阻害とダウンレギュレーションを示す。点の円による灰色は、立証されていない分子を示す。破線の端は、立証されていない相互作用を示す。「Ｐ」はリン酸化を示す。

【図８】図８は、試験化合物で処置されたＴＨＰ－１異種移植片マウスの体重にほとんど変化がなかったことを示す。癌を有するマウスは、ビヒクル（オリーブオイル）又は１２０ｍｇ／ｋｇの化合物１で、４週間、週５日、１日２度、経口の経管栄養によって処置された。体重を週に２度測定した。

【図９】図９は、試験化合物で処置されたＴＨＰ－１異種移植片マウスの腫瘍容量の減少を示す。癌を有するマウスは、ビヒクル（オリーブオイル）又は１２０ｍｇ／ｋｇのアントロキノノールで、４週間、週５日、１日２度、経口の経管栄養によって処置された。腫瘍容量を週に２度測定した。＊＊＊ビヒクル対照と比較して、Ｐ＜０．００５

【図１０】図１０は、試験化合物で処置されたＴＨＰ－１異種移植片マウスの、終了時における、腫瘍量の減少を示す。

【発明を実施するための形態】

【０００８】

Ｒａｓタンパク質は、多数のシグナル経路に従事すると思われる、小さなＧＴＰアーゼであり、複雑で分岐した結果をもたらす。Ｒａｓタンパク質の活性化は、翻訳後修飾によって調節され、それはＲａｓのＦＴａｓｅを媒介としたプレニル化を含む。プレニル化は、Ｒａｓのタンパク質のスーパーファミリーの正常な機能と形質転換活性にとって不可欠である。したがって、Ｒａｓのプレニル化をブロックする薬剤は癌細胞の生存と増殖に干渉するために開発されている。本明細書中に記載されている典型的な化合物１は、牛樟芝（Ａｎｔｒｏｄｉａ　ｃａｍｐｈｏｒａｔａ）から分離された新しいファルネシル化キノン誘導体である。結合試験は、ＦＰＰのファネシル基に類似するＦＴａｓｅ－βサブユニットの中心腔に化合物１のファネシルイソプレン構造の尾部が挿入されることを示した（図５を参照）。ＦＴａｓｅ阻害アッセイは、化合物１がインビトロで用量依存的な方式でＦＴａｓｅを阻害することを明らかにした（実施例１０を参照）。さらに、処理されていないＲａｓの処理されているＲａｓに対する比率は、化合物１の投与後増加した（図２を参照）。

これらのデータ全ては、典型的な化合物１及びその同種のものは、癌細胞内でのＲａｓ処理を防ぐためにＦＴａｓｅと相互作用することを支持する。

【０００９】

本明細書に記載された癌細胞株における化合物１のＩＣ５０値は、Ｒａｓ及び表皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）の発現と関連することを示した。本明細書で記載されたデータは、ＲａｓとＥＧＦＲの遺伝子中の突然変異の存在ではなく、ＲａｓとＥＧＦＲのタンパク質レベルが、癌細胞のアントロキノノールに誘発された細胞毒性の主要な決定因子であることを示唆する。

【００１０】

分子モデリングと結合に基づいたアプローチ（docking-based approaches）は、ＧＧＴａｓｅ－Ｉと化合物１の間の相互作用の可能性を実証するために使用された。先の研究は、ＡＭＰＫ、ＰＩ３ＫおよびｍＴＯＲ（例えばKumar VB, et al., Mutat Res 2011 Feb 10 707(1-2):42-5229;Yu C-C, et al., The Journal of nutritional biochemistry 23 (8

):900-907;Chiang P-C, et al., Biochemical Pharmacology 79 (2):162-171を参照）を含む、いくつかのシグナル分子を介して、化合物１が抗腫瘍活性を引き起こすことを明らかにした。ここで、いくつかの実施形態では、ＦＴａｓｅ活性の阻害を介してＲａｓ処理を阻害する典型的なシクロヘキセノン化合物（例えば、化合物１）を提供する。化合物１－媒介性抗腫瘍活性に寄与する可能性があるシグナル経路は図７に要約される。増殖、運動性、物質代謝および分化に関係しているＲａｓ－ＰＩ３Ｋ－Ａｋｔ－ｍＴＯＲは、化合物１に応じて阻害される。ＥＲＫ１／２及びＡＭＰＫのような他の重要なシグナル分子は、化合物１処置に応じて誘発される。いくつかの研究で、ＥＲＫ１／２とＡＭＰＫがアポトーシス的な及び自食的な細胞死の異なる態様に関係することが分かった。多数のシグナル経路が化合物１による刺激に応じて同時に活性化されることが推論される。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書中に記載されているシクロヘキセノン（例えば、化合物１）は、提供されて、合成する、アポプトーシス及びオートファジーの結果としての複雑なシグナルネットワーク中のクロストークの調節により、抗癌性効果を促進する。

【００１１】

プレニルトランスフェラーゼ活性の阻害は、下流シグナル制御に干渉して、複数のシグナル分子のプレニル化を抑える。Ｒａｓは、正常な細胞増殖と悪性形質転換のいくつかの態様を調節する複雑なネットワーク中の極めて重要なシグナルタンパク質である。Ｒａｓ（特にＫ－Ｒａｓ）における突然変異の活性化が、しばしばヒト癌で生じる。したがって、Ｒａｓをターゲットとすることは、癌を治療するための有望な戦略である。生化学的な特徴づけと分子結合の分析に基づき、本明細書中に提供されているシクロヘキセノン化合物（例えば、化合物１）は、酵素ファネシルトランスフェラーゼの阻害によってＲａｓ処理を阻害し、細胞死に最終的に帰着する。

【００１２】

白血病は骨髄及び血液の悪性癌である。それは、血球の無制限な増殖が特徴である。急性白血病は、骨髄及び血液中の未熟で機能しない細胞の多量の蓄積に帰着する、迅速に進行する疾患である。骨髄はしばしば十分に正常な赤と白血球と血小板をもはや生成ことができない。赤血球の欠失である貧血は、事実上すべての白血病患者において発症する。正常な白血球の不足は、感染と戦う身体の能力を害する。血小板の不足は挫傷と容易な出血に帰着する。一方、慢性白血病はよりゆっくり進行し、無秩序な増殖をもたらし、それ故に成熟した（分化した）細胞の範囲の過剰な拡張を示した。

【００１３】

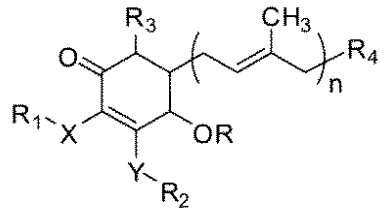
いくつかの実施形態の中で、本明細書中に提供されているのは、本明細書中に記載されたシクロヘキセノン化合物の被験体（例えばヒト）への投与により白血病の被検体の危険を処置する又は減らす方法であるシクロヘキセノン化合物は白血病の治療を受けている被験体に治療的な利益を提供する（実施例１－１３を参照）。シクロヘキセノン化合物は、いくつかの実施形態では、天然物の抽出物から得られ、低減された合併症および／または副作用を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、白血病の危険を処置する又は減らすために典型的なシクロヘキセノン化合物（例えば、化合物１）の治療・予防的な可能性を提供する。

【００１４】

いくつかの実施形態では、以下の構造を有する治療上有効な量のシクロヘキセノン化合物または薬学的に許容可能な塩、代謝体、溶媒和物またはそのプロドラッグを前記被験体に投与する工程を含む白血病の被検体の危険を処置するか減らす方法が提供され：

【００１５】

【化２】



【００１６】

ここで、ＸとＹの各々は独立して酸素、ＮＲ$_5$または硫黄であり；Ｒは水素又はＣ（＝Ｏ）Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキルであり；Ｒ$_1$、Ｒ$_2$およびＲ$_3$の各々は独立して水素、随意に置換されたメチルまたは（ＣＨ$_2$）$_m$－－ＣＨ$_3$であり；Ｒ$_4$は、ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ＯＲ$_5$、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ$_7$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ハロゲン、５または６員環ラクトン、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、アリール及びグルコシルであり、ここで、５つまたは６－員環ラクトン、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、アリールおよびグルコシルは、ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ＯＲ$_5$、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ$_7$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、Ｃ$_3$－Ｃ$_8$シクロアルキルおよびＣ$_1$－Ｃ$_8$ハロアルキルから選ばれた１つ以上の置換基と随意に置換され；Ｒ$_5$とＲ$_6$の各々は独立して水素かＣ$_1$－Ｃ$_8$アルキルであり；Ｒ$_7$はＣ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、ＯＲ$_5$またはＮＲ$_5$Ｒ$_6$であり；ｍ＝１－１２；及びｎ＝１－１２である。

【００１７】

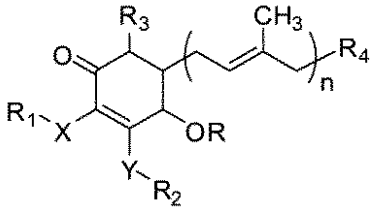
いくつかの実施形態では、白血病は、急性骨髄性白血病、急性赤白血病、急性リンパ芽球性白血病、Ｔ細胞急性リンパ芽球性白血病、成人Ｔ細胞白血病／リンパ腫、前駆体Ｔ急性リンパ芽球性白血病／リンパ腫または慢性骨髄性白血病の急性転化のような急性白血病である。いくつかの実施形態では、白血病は、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、又はヘアリー・セル白血病のような慢性白血病である。特定の実施形態では、慢性白血病は慢性骨髄性白血病である。いくつかの実施形態では、被験体はヒトである。実施例２－１３を参照されたい。

【００１８】

いくつかの実施形態では、以下の構造を有するシクロヘキセノン化合物は、

【００１９】

【化３】

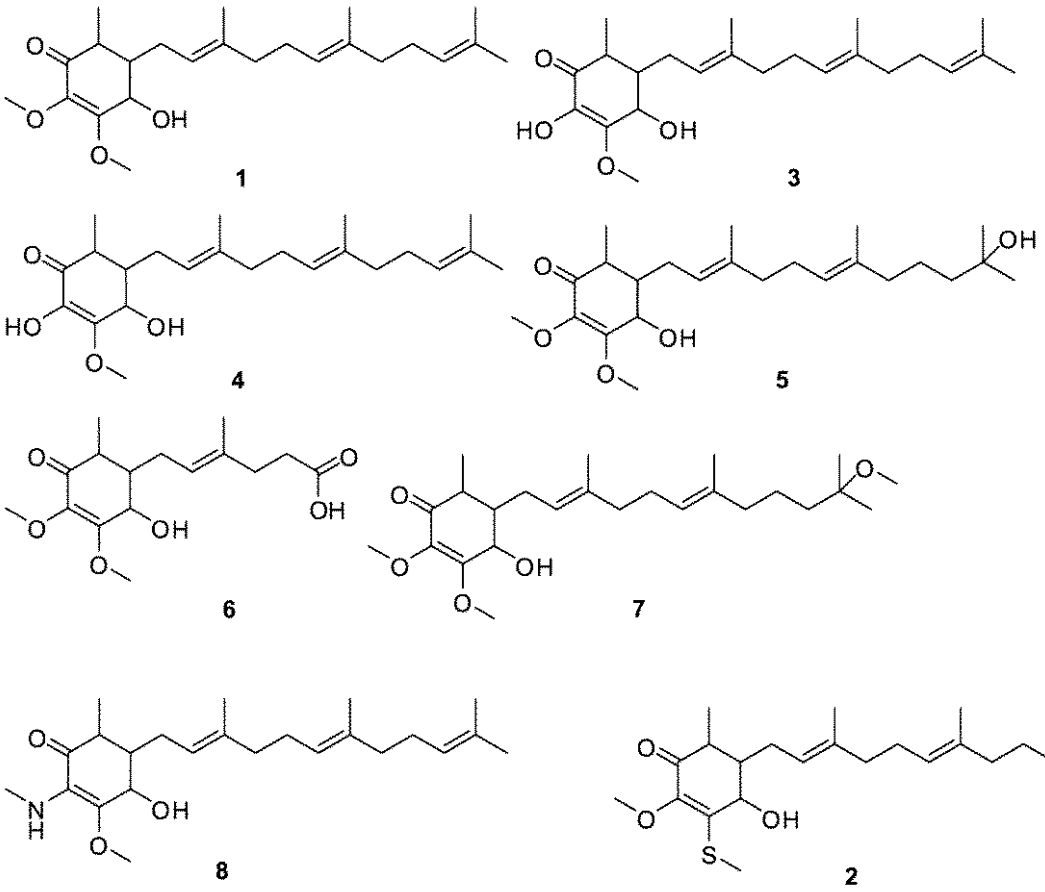


【００２０】

任意の適切な出発材料から合成的にまたは半合成的に調製されている。他の実施形態では、シクロヘキセノン化合物は発酵などによって調製されている。例えば、化合物１及び３－７は有機溶媒抽出物から分離される。制限されない典型的な化合物は以下に例証される。

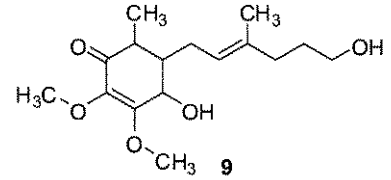
【００２１】

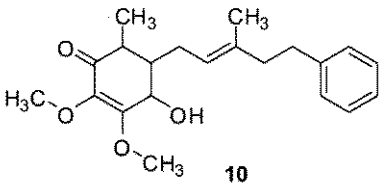
【化４】

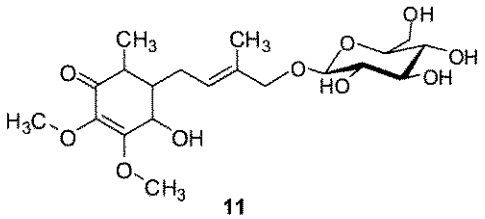


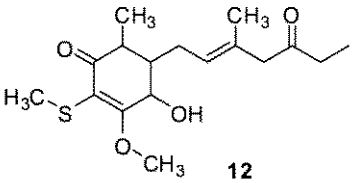
【００２２】

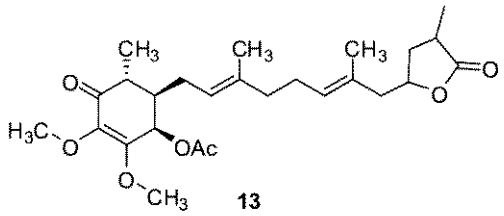
【化５】

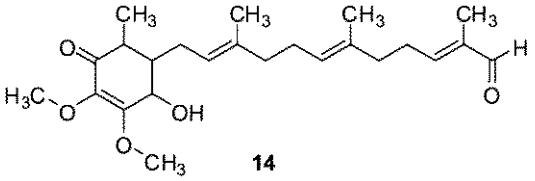

9

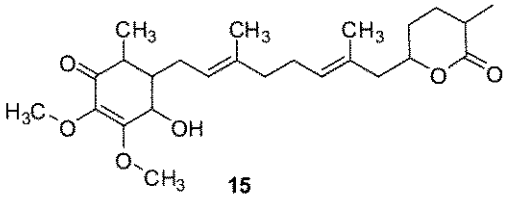

10

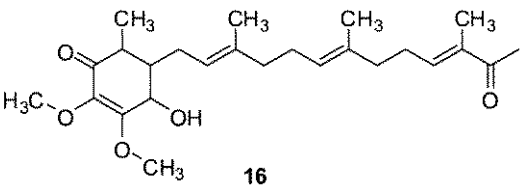

11

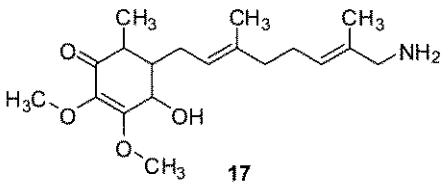

12

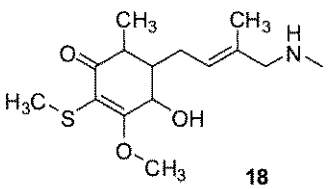

13

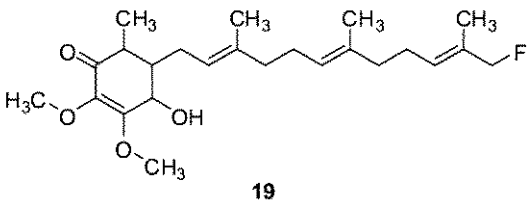

14

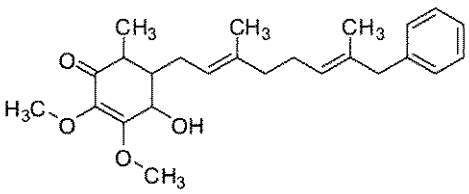

15


16


17

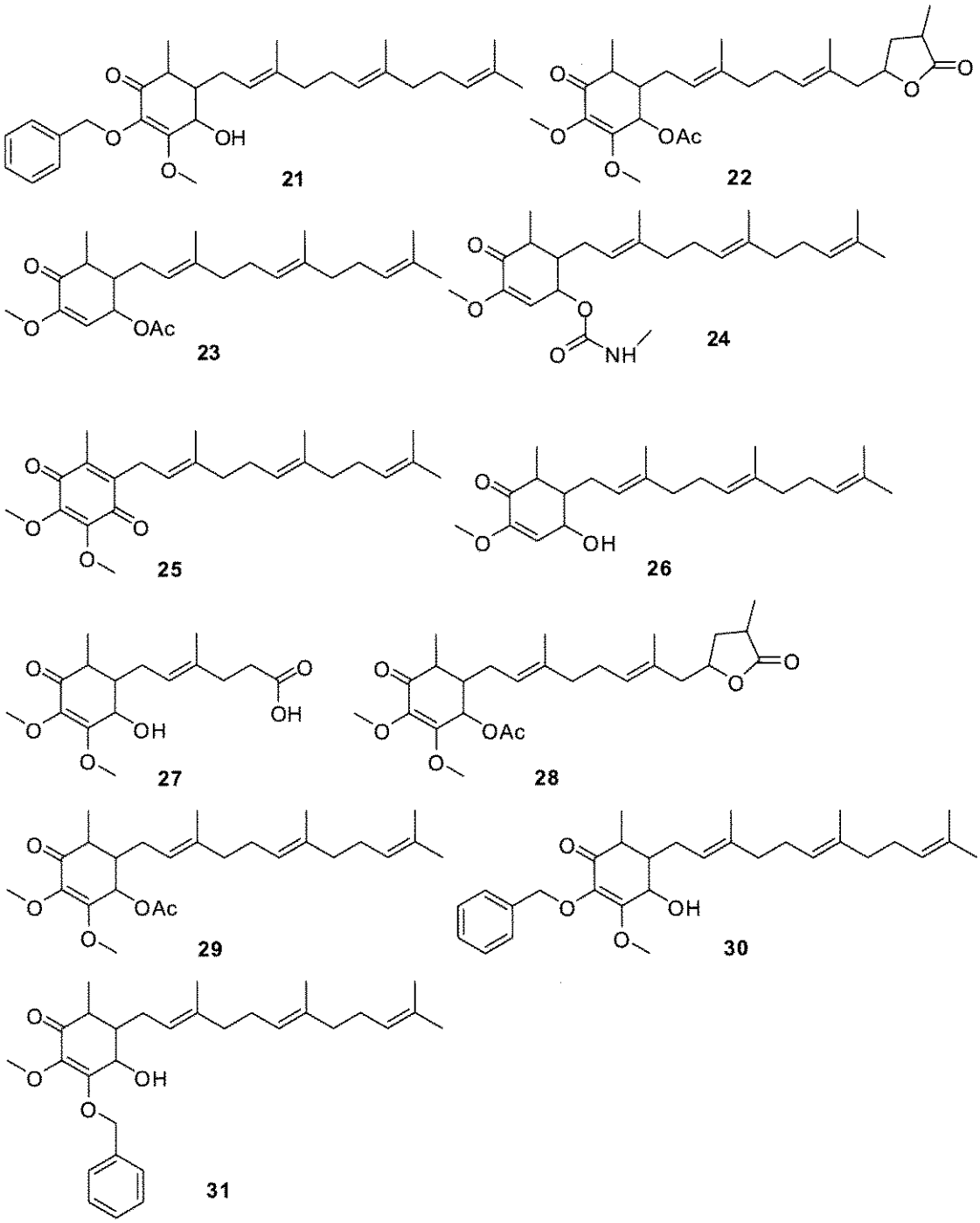

18


19


20

【００２３】

【化６】

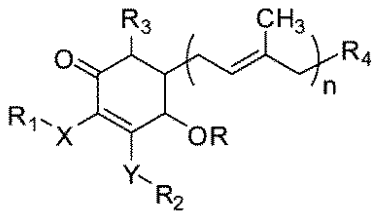


【００２４】

他の実施形態では、以下の構造を有するシクロヘキセノン化合物は、牛樟芝の有機溶媒抽出物から分離される。

【００２５】

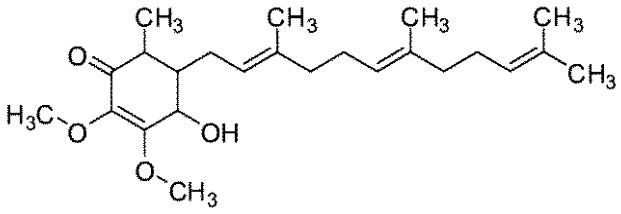
【化７】



【００２６】
いくつかの実施形態では、有機溶媒は、アルコール（例えばメタノール、エタノール、プロパノール）、エステル（例えば酢酸メチル、酢酸エチル）、アルカン（例えばペンタン、ヘキサン、ヘプタン）、ハロゲン化されたアルカンなど（例えばクロロメタン、クロロエタン、クロロホルム、塩化メチレンなど）から選択される。例えば、典型的な化合物１－７は有機溶媒抽出物から分離される。特定の実施形態において、有機溶媒はアルコールである。特定の実施形態において、アルコールはエタノールである。いくつかの実施形態では、シクロヘキセノン化合物は牛樟芝の水性エキスから分離される。

【００２７】
いくつかの実施形態では、Ｒは、水素、Ｃ（＝Ｏ）Ｃ$_3$Ｈ$_8$、Ｃ（＝Ｏ）Ｃ$_2$Ｈ$_5$またはＣ（＝Ｏ）ＣＨ$_3$である。いくつかの実施形態では、Ｒ$_1$は水素又はメチルである。特定の実施形態では、Ｒ$_2$は、水素、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチルまたはヘキシルである。いくつかの実施形態では、Ｒ$_3$は、水素、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチルまたはヘキシルである。いくつかの実施形態では、Ｒ$_4$は、ハロゲン、ＮＨ$_2$、ＮＨＣＨ$_3$、Ｎ（ＣＨ３）$_2$、ＯＣＨ$_3$、ＯＣ$_2$Ｈ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ$_3$、Ｃ（＝Ｏ）Ｃ$_2$Ｈ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＣＨ$_3$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＣ^{2}Ｈ^5、Ｃ（＝Ｏ）ＮＨＣＨ^3、Ｃ（＝Ｏ）ＮＨＣ^{2}Ｈ^5、Ｃ（＝Ｏ）ＮＨ^2、ＯＣ（＝Ｏ）ＣＨ^3、ＯＣ（＝Ｏ）Ｃ^{2}Ｈ^5、
ＯＣ（＝Ｏ）ＯＣＨ^3、ＯＣ（＝Ｏ）ＯＣ^{2}Ｈ^5、ＯＣ（＝Ｏ）ＮＨＣＨ^3、ＯＣ（＝Ｏ）ＮＨＣ^{2}Ｈ^{5}またはＯＣ（＝Ｏ）ＮＨ^{2}である。いくつかの実施形態では、Ｒ^{4}は、Ｃ^{2}Ｈ^{5}Ｃ（ＣＨ^3）^{2}ＯＨ、Ｃ^{2}Ｈ^{5}Ｃ（ＣＨ^3）^{2}ＯＣＨ^3、ＣＨ^{2}ＣＯＯＨ、Ｃ^{2}Ｈ^{5}ＣＯＯＨ、ＣＨ^{2}ＯＨ、Ｃ^{2}Ｈ^{5}ＯＨ、ＣＨ^{2}Ｐｈ、Ｃ^{2}Ｈ^{5}Ｐｈ、ＣＨ^{2}ＣＨ＝Ｃ（ＣＨ^3）（ＣＨＯ）、ＣＨ^{2}ＣＨ＝Ｃ（ＣＨ^3）（Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ^3）、５または６－員環ラクトン、Ｃ^2－Ｃ^{8}アルケニル、Ｃ^2－Ｃ^{8}アルキニル、アリール及びグルコシルであり、ここで、５または６－員環ラクトン、Ｃ^2－Ｃ^{8}アルケニル、Ｃ^2－Ｃ^{8}アルキニル、アリールおよびグルコシルは、ＮＲ^{5}Ｒ^6、ＯＲ^5、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ^7、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ^5、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ^5、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ^{5}Ｒ^6、Ｃ^1－Ｃ^{8}アルキル、Ｃ^2－Ｃ^{8}アルケニル、Ｃ^2－Ｃ^{8}アルキニル、Ｃ^3－Ｃ^{8}シクロアルキルおよびＣ^1－Ｃ^{8}ハロアルキルから選択される１つ以上の置換基と随意に置換される。特定の実施形態では、Ｒ^{4}はＣＨ^{2}ＣＨ＝Ｃ（ＣＨ^3）^{2}である。特定の実施形態では、化合物は以下の通りである。

【００２８】
【化８】



【００２９】
＜特定の薬学的および医学的用語＞
もし他の方法で述べられなかったならば、明細書と請求項を含むこの出願の中で使用される次の用語の定義は、以下に与えられる。明細書および添付の請求項内で用いられる通り、単数形「ａ」、「ａｎ」および「ｔｈｅ」は、その文脈が他に明確に指示していない限り、複数の指示対象を含む。特に指示がない限り、質量分析、ＮＭＲ、ＨＰＣＬ、タンパク質化学、生化学、組換えＤＮＡ技術、および薬理学の従来の方法が使用される。本出願において、「または」、或いは「および」の使用は特に明記しない限り、「および／または」を意味する。更に、用語「含んでいる（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」の使用は、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｅｓ）」、および「含まれる（ｉｎｃｌｕｄｅｄ）」といった他の形態と同じく、制限はない。本明細書で使用された段落の表題は

、組織化する目的だけのためで、記載された主題を制限すると解釈されるものではない。
【００３０】
「アルキル」基は脂肪族炭化水素基を指す。アルキル基は飽和アルキル基（それはそれが炭素－炭素二重結合または炭素－炭素三重結合を含まないことを意味する）又はアルキル基は不飽和アルキル基（それはそれが少なくとも１つの炭素－炭素二重結合または炭素－炭素三重結合を含むことを意味する）であり得る。飽和又は不飽和のアルキル基の部分は、分枝鎖または直鎖であり得る。
【００３１】
「アルキル」基には１～１２の炭素原子を有し得る（本用語が本明細書中に現われる場合は、本定義は「アルキル」という用語の出現が数の範囲を定義しない場合も包含するが、例えば「１～１２は、与えられた範囲における各整数を指す；例えば、「１～１２の炭素原子」のような数の範囲は、１つの炭素原子、２つの炭素原子、３つの炭素原子等、１２以下の炭素原子からなるアルキル基を意味する。本明細書に記載された化合物のアルキル基は「C_1－C_8アルキル」または類似の定義として指定され得る。実施例のみとして、「C_1－C_8アルキル」は、アルキル鎖中に１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つまたは８つの炭素原子が存在することを示す。１つの態様では、アルキルは、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソブチル、sec-ブチルおよびｔ－ブチルからなる群から選択される。典型的なアルキル基は、制限されないが、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、第三ブチル、ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、アリル、ブト－２－エニル、ブト－３－エニル、シクロプロピルメチル、シクロブチルメチル、シクロペンチルメチル、シクロヘキシルメチル、及びその同種のものを含む。１つの態様では、アルキルはC_1－C_8アルキルである。
【００３２】
用語「アルキレン」は二価のアルキルラジカルを指す。上記の言及された一価のアルキル基のうちのどれでも、アルキルからの第二の水素原子の抽出によるアルキレンであり得る。１つの態様では、アルキレンはC_1－C_{12}アルキレンである。別の態様では、アルキレンはC_1－C_8アルキレンである。典型的なアルキレン基は、制限されないが、－CH_2－、－CH（CH_3）－、－C（CH_3）$_2$－、－CH_2CH_2－、－CH_2CH（CH_3）－、－CH_2C（CH_3）$_2$－、－$CH_2CH_2CH_2$－、－$CH_2CH_2CH_2CH_2$－などを含む。
【００３３】
本明細書中に使用されるように、用語「アリール」は環を形成する原子の各々が炭素原子である芳香環を指す。アリール環は、５、６、７、８、９、または９以上炭素原子によって形成される。アリール基は随意に置換される。１つの態様では、アリールはフェニルまたはナフタレニルである。１つの態様では、アリールはフェニルである。１つの態様では、アリールはC_6－C_{10}アリールである。構造によって、アリール基はモノラジカルまたはジラジカル（つまりアリレン基）になりえる。１つの態様では、アリレンはＣ６－C_{10}アリレンである。典型的なアリレンは制限されないが、フェニル－１，２－エン、フェニル－１，３－エン、またフェニル－１，４－エンを含む。
【００３４】
用語「芳香族」は、ｎが整数である場合に、４ｎ＋２π電子を含む、非局在化されたπ－電子系を有する平面の環を指す。芳香環は５、６、７、８、９または１０以上の原子から形成することができる。芳香族は随意に置換される。用語「芳香族」は炭素環式のアリール（「アリール」例えばフェニル）と複素環のアリール（または「ヘテロアリール」または「ヘテロ芳香族」）基（例えばピリジン）の両方を含む。用語は単環式の又は縮合された多環式の（つまり隣接した一対の炭素原子を共有する環）基を含む。
【００３５】
用語「ハロ」または代替的に「ハロゲン」または「ハロゲン化物」は、フルオロ、クロロ、臭素、またはヨードを意味する。
【００３６】

用語「ラクトン」は、同じ分子でアルコール類－ＯＨとカルボン酸基－ＣＯＯＨの縮合生成物と見なすことができる環状エステルを指す。それは、別の酸素に隣接している炭素のうちの１つにおけるケトン基＝Ｏと共に２つ以上の炭素原子と１つの酸素原子からなる、閉じた環が特徴である。

【００３７】

用語「複素環式化合物」または「複素環の」は、環中に１～４のヘテロ原子を含むヘテロ芳香族環（ヘテロアリールとしても知られている）及びヘテロシクロアルキル環（ヘテロ脂環式基としても知られている）であって、ここで環中の各々のヘテロ原子はＯ、ＳおよびＮから選択され、複素環基はその環に４－１０の原子を備え、２つの近接したＯ又はＳ原子をどの環も含まないことを条件とすることを意味する。非芳香族の複素環基（ヘテロシクロアルキルとしても知られている）は、それらの環系にわずか３つの原子しか持っていない基を含むが、芳香族の複素環基はそれらの環系で少なくとも５つの原子を持っている必要がある。複素環基はベンゾ縮合環系を含む。３－員複素環基の一例はアジリジニルである。４－員複素環基の一例はアゼチジニルである。５－員複素環基の一例はチアゾリルである。６－員複素環基の一例はピリジルであり、１０－員複素環基の一例はキノリニルである。非芳香族の複素環基の例は、ピロリジニル、テトラヒドロフラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、オキサゾリジノニル、テトラヒドロピラニル、ジヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、ピペリジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、チオキサニル、ピペラジニル、アジリジニル、アゼチジニル、オキセタニル、チエタニル、ホモピペリジニル、オキセパニル、チエパニル、オキサゼピニル、ジアゼピニル、チアゼピニル、１，２，３，６－テトラヒドロピリジニル、ピロリン－２－イル、ピロリン－３－イル、インドリニル、２Ｈ－ピラニル、４Ｈ－ピラニル、ジオキサニル、１、３－ジオキソラニル、ピラゾリニル、ジチアニル、ジチオラニル、ジヒドロピラニル、ジヒドロチエニル、ジヒドロフラニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、３－アザビシクロ［３．１．０］ヘキサニル、３－アザビシクロ［４．１．０］ヘプタニル、３Ｈインドリルおよびキノリジニルである。芳香族の複素環基の例は、ピリジニル、イミダゾリル、ピリミジニル、ピラゾリル、トリアゾリル、ピラジニル、テトラゾリル、フリル、チエニル、イソキサゾリル、チアゾリル、オキサゾリル、イソチアゾリル、ピロリル、キノリニル、イソキノリニル、インドリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾフラニル、シノリニル、インダゾリル、インドリジニル、フタラジニル、ピリダジニル、トリアジニル、イソインドリル、プテリジニル、プリニル、チアジアゾリル、フラザニル、ベンゾフラザニル、ベンゾチオフェニル、ベンゾチアゾリル、ベンゾキサゾリル、キナゾリニル、キノキサリニル、ナフチリジニルおよびフロピリジニルである。前述の基は可能であればＣ－結合又はＮ－結合であり得る。例えば、ピロールに由来した基は、ピロール－１－イル（Ｎ－結合）またはピロール－３－イル（Ｃ－結合）であり得る。さらに、イミダゾールに由来した基は、イミダゾール－１－イル、イミダゾール－３－イル（両方Ｎ－結合）、又はイミダゾール－２－イル、イミダゾール－４－イルまたはイミダゾール－５－イル（すべてはＣ－結合）であり得る。複素環基はベンゾ縮合環系を含む。非芳香族の複素環式化合物は、ピロリジン－２－オンのような１つまたは２つのオキソの（＝Ｏ）部分と置換され得る。

【００３８】

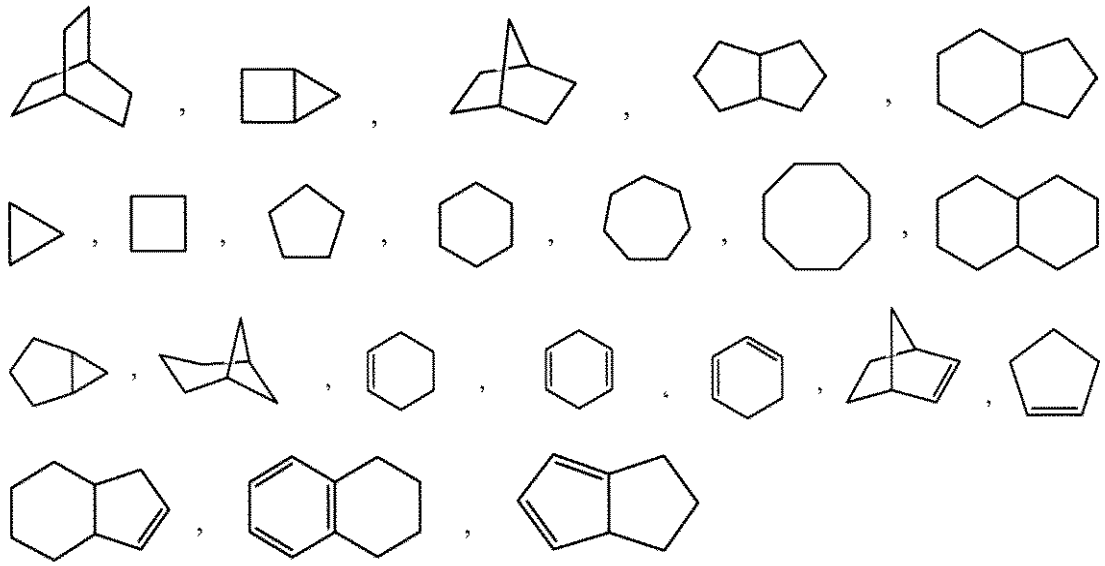
本明細書中に使用されるような用語「アルケニル」は直鎖状、分枝鎖状、または環状（その場合には、それは「シクロアルケニル」としても知られる）の２－１０の炭素を含む炭化水素を含み、２つの水素の除去によって形成された少なくとも１つの炭素－炭素二重結合を含むことを意味する。いくつかの実施形態では、構造に依存して、アルケニル基はモノラジカルまたはジラジカル（つまりアルケニレン基）である。いくつかの実施形態では、アルケニル基は随意に置換される。アルケニルの実例となる例は、制限されないが、エテニル、２－プロペニル、２－メチル－２－プロペニル、３－ブテニル、４－ペンテニル、５－ヘキセニル、２－ヘプテニル、２－メチル－１－ヘプテニル、及び３－セセニルを含む。

【００３９】
本明細書で使用されるような用語「アルキニル」は直鎖、分枝鎖、または環状（その場合には、それは「シクロアルキニル」としても知られる）の２－１０の炭素を含む炭化水素を含んでおり、４つの水素の除去によって形成された少なくとも１つの炭素－炭素三重結合を含んでいることを意味する。いくつかの実施形態では、構造に依存して、アルキニル基はモノラジカルまたはジラジカル（つまりアルキニレン基）である。いくつかの実施形態では、アルキニル基は随意に置換される。アルキニルの実例となる例は、制限されないが、エチニル、プロピニル、ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル、ヘプチニルなどを含む。

【００４０】
本明細書に使用されるように「アルコキシル」の用語は、本明細書中で定義されるように、酸素原子によって親の分子の部分に追加されたアルキル基を意味する。アルコキシルの実例となる例は、限定されないが、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、２－プロポキシ、ブトキシ、ターシャリーブトキシ、ペンチルオキシ、及びヘキシロキシを含む。

【００４１】
本明細書中に使用されるような用語「シクロアルキル」は、炭素と水素のみを含み、飽和、部分的に不飽和又は完全に不飽和なものを含む、単環式又は多環式のラジカルを意味する。シクロアルキル基は、３～１０の環原子を有する基を含む。代表的な例は、制限されないが、次の部分を含む環状のものである：

【００４２】
【化９】



【００４３】
いくつかの実施形態では、構造に依存して、シクロアルキルはモノラジカルまたはジラジカル（例えばシクロアルキルエン）である。

【００４４】
本明細書に使用されているように、用語「ハロアルキル」、「ハロアルケニル」、「ハロアルキニル」と「ハロアルコキシ」は、少なくとも１つの水素がハロゲン原子に取り替えられているアルキル、アルケニル、アルキニル及びアルコキシルの構造を含む。特定の実施形態では、２つ以上の水素原子がハロゲン原子と取り替えられるものにおいて、ハロゲン原子はすべて互いに同じである。２つ以上の水素原子がハロゲン原子に置き換えられる他の実施形態では、ハロゲン原子は、互いにすべてが同じではない。「フルオロアルキル」、「フルオロアルコキシ」という用語はハロアルキルとハロアルコキシ基をそれぞれ含み。その中でハロはフッ素である。特定の実施形態では、ハロアルキルは随意に置換される。

【００４５】

本明細書に使用されるような用語「グルコシル」はＤ－またはＬ－型グルコシルを含み、グルコシル基はその中でグルコース環に任意のヒドロキシル基を介して結合する。

【００４６】

製剤、組成物または成分に関して本明細書中に使用されるように「許容可能な」との用語は、処置されている被験体の公衆衛生において執拗な損傷効果を持たないことを意味する。

【００４７】

シカタケ属は、Ｍｅｒｉｐｉｌａｃｅａｅ科における菌類の属である。シカタケ属の種は、成長表面上で典型的には水平に位置する、又はそこから広がる子実体を有し、子実層は、外側にさらされる；縁は、狭いブラケットを形成するように回転され得る。大半の種は、温暖及び北方の林において見られ、褐色腐朽を引き起こす。

【００４８】

用語「担体」は、本明細書で使用されるように、細胞又は組織への化合物を組み込みを促進する、相対的に無毒な化学化合物又は薬剤を指す。

【００４９】

用語「同時投与」などは、本明細書で使用されるように、１人の患者への選択された治療薬の投与を包含することを意味し、薬剤が同じ又は異なる投与経路によって、或いは同じ又は異なる時間で投与される、処置レジメンを含むように意図される。

【００５０】

用語「希釈剤」は、送達前に対象の化合物を希釈するために使用される化学化合物を指す。希釈剤は、より安定した環境を提供できるため、化合物を安定させるためにも使用され得る。緩衝溶液中で溶解される塩（これは、ｐＨの制御又は維持も提供し得る）は、限定されないが、リン酸緩衝生理食塩溶液を含む、当該技術分野における希釈剤として利用される。

【００５１】

用語「効果的な量」又は「治療上効果的な量」は、本明細書で使用されるように、処置されている疾患又は疾病の１以上の症状をある程度和らげる、投与されている薬剤又は化合物の十分な量を指す。その結果、疾患の徴候、症状、又は原因を、減少及び／又は軽減し、或いは、生体系の任意の他の所望の変化をもたらし得る。例えば、治療上の使用のための「効果的な量」は、疾患の症状を臨床的に有意に減少させるために必要とされる、本明細書に開示されるような化合物を含む組成物の量である。任意の個々の場合において適切な「効果的な」量は、用量漸増試験などの技術を使用して決定され得る。

【００５２】

用語「増強する（ｅｎｈａｎｎｃｅ）」又は「増強すること（ｅｎｈａｎｃｉｎｇ）」は、本明細書で使用されるように、効力又は持続時間のいずれかにおいて、所望の効果を増加させるか、又は延長することを意味する。従って、治療薬の効果を増強することに関して、用語「増強すること」は、効力又は持続時間のいずれかにおいて、系に対する他の治療薬の効果を増加させるか、又は延長する能力を指す。「増強に効果的な量（ｅｎｈａｎｃｉｎｇ－ｅｆｆｅｃｔｉｖｅ　ａｍｏｕｎｔ）」は、本明細書で使用されるように、所望の系において別の治療薬の効果を増強するのに十分な量を指す。

【００５３】

本明細書に開示される化合物の「代謝物質」は、化合物が代謝されるときに形成される、その化合物の誘導体である。用語「活性代謝物」は、化合物が代謝されるときに形成される、化合物の生物学的に活性な誘導体を指す。用語「代謝される（ｍｅｔａｂｏｌｉｚｅｄ）」は、本明細書で使用されるように、特定の物質が生物によって変化されることによる（限定されないが、加水分解反応、及び酵素によって触媒される反応を含む）プロセスの全体を指す。従って、酵素は、化合物への特定の構造的変化をもたらし得る。例えば、シトクロムＰ４５０は、様々な酸化反応及び還元反応を触媒し、一方でウリジン二リン酸グルクロニルトランスフェラーゼは、芳香族アルコール、脂肪族アルコール、カルボン酸、アミン及び遊離スルフィドリル（ｓｕｌｐｈｙｄｒｙｌ）基への、活性化されたグルク

ロン酸分子の移植を触媒する。本明細書に開示された化合物の代謝物質は、宿主への化合物の投与及び宿主からの組織サンプルの分析により、又は、インビトロでの（ｉｎ　ｖｉｔｒｏ）肝細胞による化合物のインキュベーション及び結果として生じる化合物の分析のいずれかにより、随意に識別される。

【００５４】

本明細書で使用されるような用語「薬学的な組み合わせ」は、１より多くの活性成分の混合又は組み合わせから結果として生じる生成物を意味し、活性成分の固定された及び固定されない組み合わせの両方を含む。用語「固定された組み合わせ」は、活性成分、例えば、化合物（即ち、本明細書に記載のシクロヘキセノン化合物）及び助剤の両方が、単一の実体又は用量の形態で患者に同時投与されることを意味する。用語「固定されない組み合わせ」は、活性成分、例えば、化合物（即ち、本明細書に記載のシクロヘキセノン化合物）及び助剤が、具体的な時間制限の介入なく同時に、平行して、又は連続して、別々の実体として患者に投与されることを意味し、前記投与は、患者の身体に効果的なレベルの２つの化合物を提供する。後者は、カクテル療法、例えば、３以上の活性成分の投与にも当てはまる。

【００５５】

用語「医薬組成物」は、化合物（本明細書に記載のシクロヘキセノン化合物）と、担体、安定剤、希釈剤、分散剤、懸濁剤、増粘剤、及び／又は、賦形剤などの他の化学成分との混合物を指す。医薬組成物は、生物への化合物の投与を促進する。化合物を投与する多数の技術は、限定されないが、以下の当該技術分野において存在する：静脈内、経口、エアロゾル、非経口、眼、肺、及び、局所への投与。

【００５６】

用語「被験体」又は「患者」は、哺乳動物を包含する。哺乳動物の例は、限定されないが、哺乳動物綱の任意のメンバー：ヒト、チンパンジーのようなヒト以外の霊長類、及び他の類人猿及びサル種；ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタなどの家畜；ウサギ、イヌ、及び、ネコなどの飼育動物；ラット、マウス及びモルモットなどの、げっ歯類を含む実験動物を含む。１つの実施形態において、哺乳動物はヒトである。

【００５７】

用語「処置する（ｔｒｅａｔ）」、「処置すること（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」、及び「処置（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」は、本明細書で使用されるように、予防的及び／又は治療的に、疾患又は疾病の少なくとも１つの症状を軽減、寛解、又は改善すること、追加の症状を予防すること、疾患又は疾病を阻害すること、例えば、疾患又は疾病の進行を抑止すること、疾患又は疾病を和らげること、疾患又は疾病を退行させること、疾患又は疾病によって引き起こされる状態を和らげること、又は、疾患又は疾病の症状を止めることを含む。

【００５８】

＜投与経路と用量＞

適切な投与経路は、限定されないが、経口投与、静脈内投与、直腸投与、エアロゾル投与、非経口投与、経眼投与、経肺投与、経粘膜投与、経皮投与、膣内投与、経耳投与、経鼻投与、及び、局所投与を含む。更に、ほんの一例ではあるが、非経口送達は、くも膜下腔内、直接脳室内、腹腔内、リンパ内、及び鼻腔内注入だけでなく、筋肉内、皮下、静脈内、髄内注入も含む。

【００５９】

特定の実施形態において、本明細書に記載される化合物は、しばしばデポ製剤又は持続放出性製剤で、例えば、器官への直接的な化合物の注入を介して、全身よりもむしろ局所に投与される。具体的な実施形態において、長期間作用型製剤は、移植（例えば、皮下又は筋肉内に）又は筋肉内注入により投与される。更に、他の実施形態において、薬物は、標的とする薬物送達系において、例えば、臓器特異的抗体に覆われたリポソームにおいて送達される。このような実施形態において、リポソームは臓器に対し標的とされ、臓器により選択的に取り込まれる。また他の実施形態において、本明細書に記載の化合物は、急

速放出製剤の形態、拡張放出製剤の形態、又は、中間放出製剤の形態で提供される。また他の実施形態において、本明細書に記載の化合物は局所的に投与される。

【００６０】

幾つかの実施形態において、シクロヘキセノン化合物、又はその薬学的に許容可能な塩、代謝物質、溶媒和物、或いはプロドラッグは、非経口投与される、又は静脈投与される。他の実施形態において、シクロヘキセノン化合物、又はその薬学的に許容可能な塩、代謝物質、溶媒和物、或いはプロドラッグは、注入によって投与される。幾つかの実施形態において、シクロヘキセノン化合物、又はその薬学的に許容可能な塩、代謝物質、溶媒和物、或いはプロドラッグは、経口投与される。

【００６１】

患者の状態が改善しない場合は、医者の裁量によって、化合物は慢性的に投与され得る。すなわち、患者の疾患又は疾病の症状を改善、そうでなければ制御又は制限するために化合物は患者の生涯にわたる期間を含む長期間にわたって投与され得る。患者の状態が改善する場合は、医者の裁量によって、化合物の投与は、継続的にまたは一時的に特定の期間停止されて与えられ得る（つまり「休薬日」）。

【００６２】

個々の処置レジメンに関する変数の数が大きいように、先の範囲は単に示唆であって、これらの推奨された値からの相当な可動域は珍しくない。そのような用量は、制限されないが、使用される化合物の活性、治療される疾患又は疾病、投与モード、個々の被験体の要求、処置される疾患又は疾病の重症度および医師の判断等の多くの変数に依存して変更され得る。

【００６３】

そのような治療レジメンの毒性及び治療の有効性は、細胞培養または実験動物における標準の製薬の手順によって決定することができる、制限されないが、ＬＤ５０（母集団の５０％まで致死用量）と、ＥＤ５０（母集団の５０％に治療上有効な用量）の決定を含む。毒性及び治療効果の間の用量比は治療指数であり、それはＬＤ５０とＥＤ５０の間の比率として表現することができる。高い治療指数を示す化合物が好まれる。細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータは、ヒトにおいて使用するための用量の範囲を処方するのに使用することができる。そのような化合物用の量は、好ましくは最小の毒性を備えたＥＤ５０を含む、血中濃度の範囲内に位置する。用量は、使用された剤形と利用された投与経路に依存してこの範囲内で変更され得る。

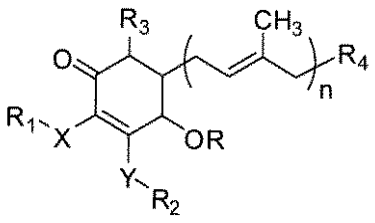
【００６４】

＜医薬製剤＞

幾つかの実施形態において、以下の構造を有する化合物、或いはその薬学的に許容可能な塩、代謝物質、溶媒和物、又はプロドラッグであって：

【００６５】

【化１０】



【００６６】

ここで、ＸとＹの各々は独立して酸素、ＮＲ$_5$または硫黄であり；

Ｒは水素又はＣ（＝Ｏ）Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキルであり；Ｒ$_1$、Ｒ$_2$およびＲ$_3$の各々は独立して水素、随意に置換されたメチルまたは（ＣＨ$_2$）$_m$－－ＣＨ$_3$であり；Ｒ$_4$は、ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ＯＲ$_5$、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ$_7$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ハロゲン、５または６員環ラクトン、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケ

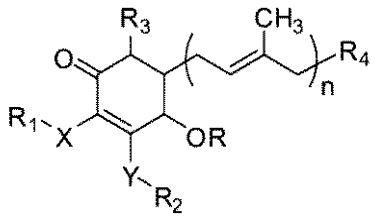
ニル、C_2－C_8アルキニル、アリール、グルコシルであり、ここで、５つまたは６員環ラクトン、C_1－C_8アルキル、C_2－C_8アルケニル、C_2－C_8アルキニル、アリールおよびグルコシルは、NR_5R_6、OR_5、$OC(=O)R_7$、$C(=O)OR_5$、$C(=O)R_5$、$C(=O)NR_5R_6$、C_1－C_8アルキル、C_2－C_8アルケニル、C_2－C_8アルキニル、C_3－C_8シクロアルキルおよびC_1－C_8ハロアルキルから選択される１つ以上の置換基と随意に置換され、R_5とR_6の各々は独立して水素又はC_1－C_8アルキルであり；R_7はC_1－C_8アルキル、OR_5またはNR_5R_6であり；ｍ＝１－１２；またｎ＝１－１２；及び薬学的に許容可能な賦形剤、を含む医薬組成物が提供される。

【００６７】

いくつかの実施形態では、医薬組成物のシクロヘキセノン化合物、その薬学的に許容可能な塩、代謝物質、溶媒和物、又はプロドラッグは以下の構造を有し：

【００６８】

【化１１】



【００６９】

ここで、各々のＸとＹは独立して酸素、NR_5または硫黄であり；Ｒは水素又は$C(=O)C_1$－C_8アルキルであり；各々のR_1、R_2およびR_3は独立して水素、随意に置換されたメチルまたは$(CH_2)_m$－－CH_3であり；R_4は、NR_5R_6、OR_5、$OC(=O)R_7$、$C(=O)OR_5$、$C(=O)R_5$、$C(=O)NR_5R_6$、ハロゲン、５または６員環ラクトン、C_1－C_8アルキル、C_2－C_8アルケニル、C_2－C_8アルキニル、アリール、グルコシルであって、ここで、５つまたは６－員環ラクトン、C_1－C_8アルキル、C_2－C_8アルケニル、C_2－C_8アルキニル、アリールおよびグルコシルは、NR_5R_6、OR_5、$OC(=O)R_7$、$C(=O)OR_5$、$C(=O)R_5$、$C(=O)NR_5R_6$、C_1－C_8アルキル、C_2－C_8アルケニル、C_2－C_8アルキニル、C_3－C_8シクロアルキルおよびC_1－C_8ハロアルキルから選択される１つ以上の置換基と随意に置換され、各々のR_5とR_6は独立して水素又はC_1－C_8アルキルであり；R_7はC_1－C_8アルキル、OR_5またはNR_5R_6であり；ｍ＝１－１２；及びｎ＝１－１２である。

【００７０】

いくつかの実施形態では、Ｒは、水素、$C(=O)C_3H_8$、$C(=O)C_2H_5$または$C(=O)CH_3$である。いくつかの実施形態では、各々のR_1、R_2およびR_3は、独立して水素、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチルまたはオクチルである。特定の実施形態では、R_1は水素又はメチルである。特定の実施形態では、R_2は、水素、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチルまたはヘキシルである。特定の実施形態では、R_3は、水素、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチルまたはヘキシルである。いくつかの実施形態では、R_4は、ハロゲン、NH_2、$NHCH_3$、$N(CH_3)_2$、OCH_3、OC_2H_5、$C(=O)CH_3$、$C(=O)C_2H_5$、$C(=O)OCH_3$、$C(=O)OC_2H_5$、$C(=O)NHCH_3$、$C(=O)NHC_2H_5$、$C(=O)NH_2$、$OC(=O)CH_3$、$OC(=O)C_2H_5$、$OC(=O)OCH_3$、$OC(=O)OC_2H_5$、$OC(=O)NHCH_3$、$OC(=O)NHC_2H_5$または$OC(=O)NH_2$である。特定の実施形態では、R_4は、$C_2H_5C(CH_3)_2OH$、$C_2H_5C(CH_3)_2OCH_3$、CH_2COOH、C_2H_5COOH、CH_2OH、C_2H_5OH、CH_2Ph、C_2H_5Ph、$CH_2CH=C(CH_3)$（CHO

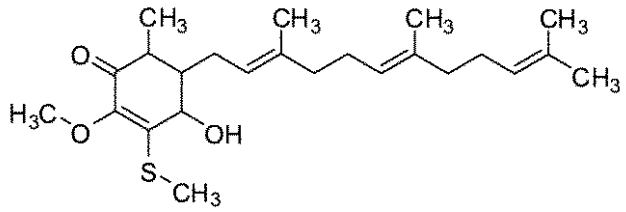
）、ＣＨ$_2$ＣＨ＝Ｃ（ＣＨ$_3$）（Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ$_3$）、５または６－員環ラクトン、アリール又はグルコシルであり、ここで、５つまたは６－員環ラクトン、アリール及びグルコシル、ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ＯＲ$_5$、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ$_7$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、Ｃ$_3$－Ｃ$_8$シクロアルキルおよびＣ$_1$－Ｃ$_8$ハロアルキルから選択された１つ以上の置換基と随意に置換される。特定の実施形態では、Ｒ$_4$は、ＣＨ$_2$ＣＯＯＨ、Ｃ$_2$Ｈ$_5$ＣＯＯＨ、ＣＨ$_2$ＯＨ、Ｃ$_2$Ｈ$_5$ＯＨ、ＣＨ$_2$Ｐｈ、Ｃ$_2$Ｈ$_5$Ｐｈ、ＣＨ$_2$ＣＨ＝Ｃ（ＣＨ$_3$）（ＣＨＯ）、ＣＨ$_2$ＣＨ＝Ｃ（ＣＨ$_3$）（Ｃ（＝Ｏ）ＣＨ$_3$）、５または６－員環ラクトン、アリール、又はグルコシルであり、ここで、５または６－員環ラクトン、アリール及びグルコシルは、ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ＯＲ$_5$、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ$_7$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、Ｃ$_3$－Ｃ$_8$シクロアルキルおよびＣ$_1$－Ｃ$_8$ハロアルキルから選択された１つ以上の置換基と随意に置換される。

【００７１】

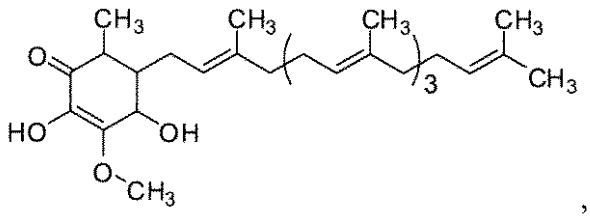
特定の実施形態では、化合物は以下からなる群から選択される；

【００７２】

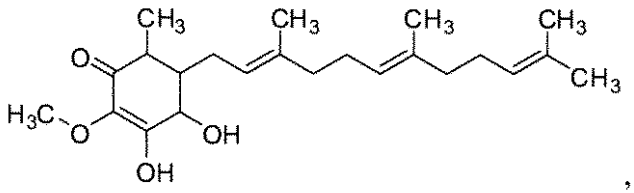
【化１２】



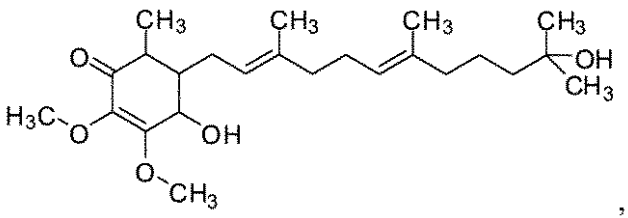
,



,



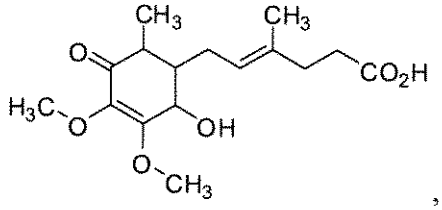
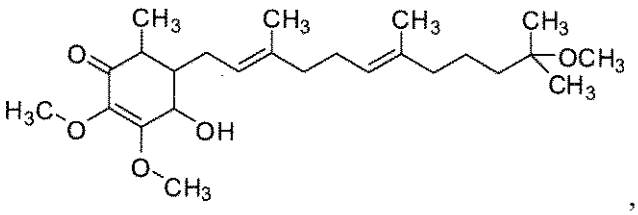
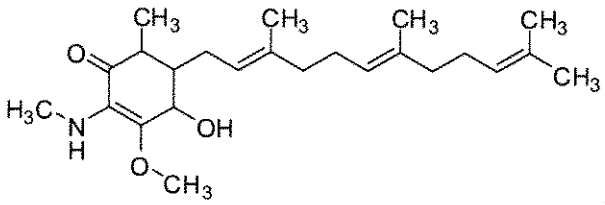
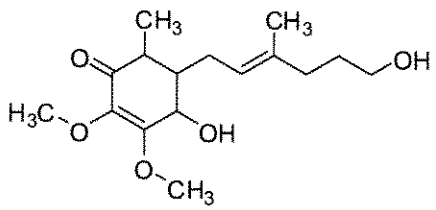
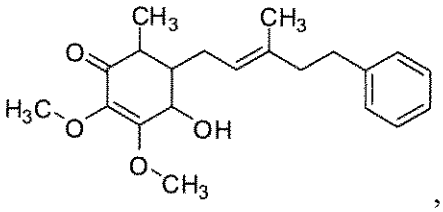
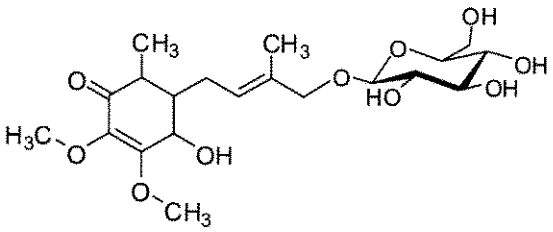
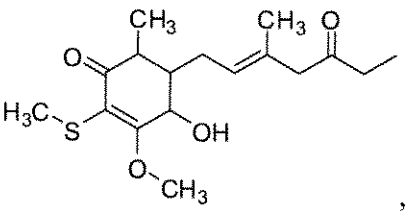
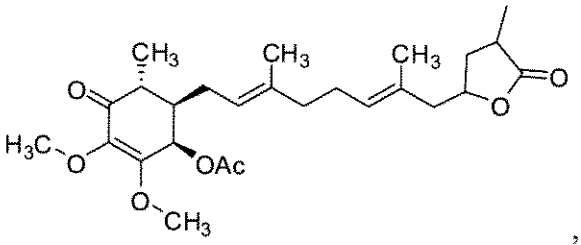
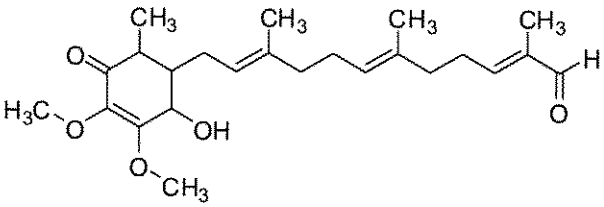
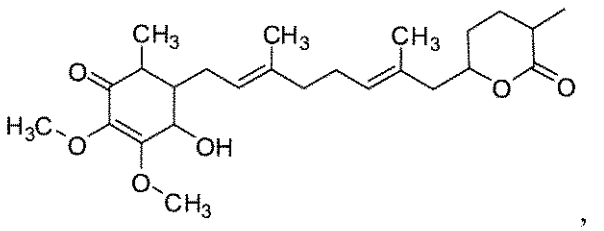
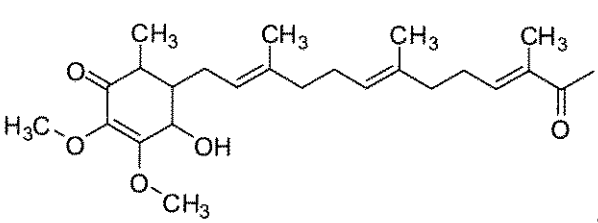
,



,

【００７３】

【化１３】

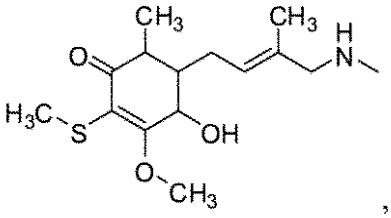
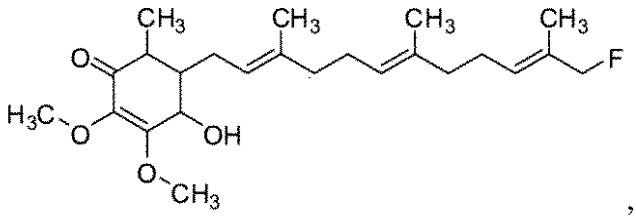
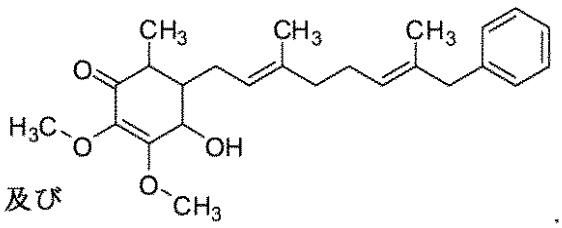

,

,

,.

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

【００７４】

【化１４】

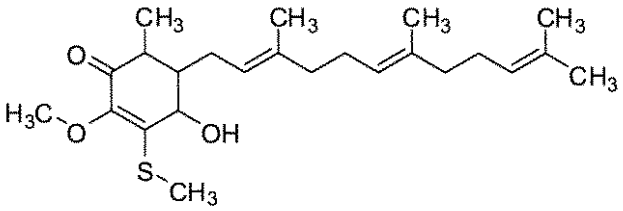
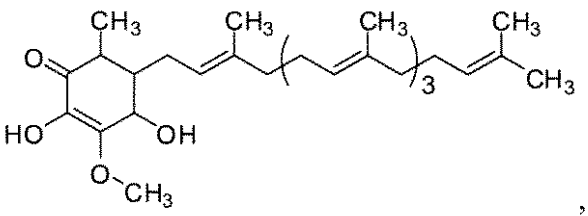
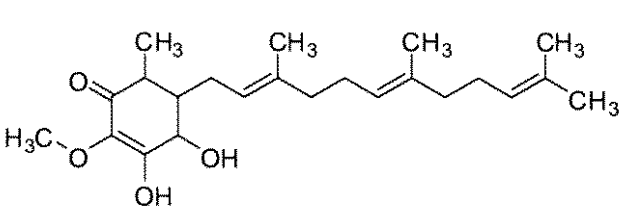
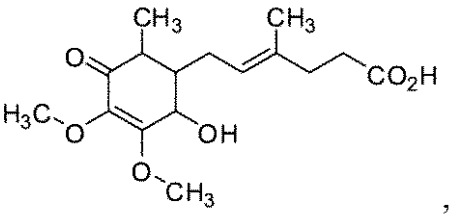
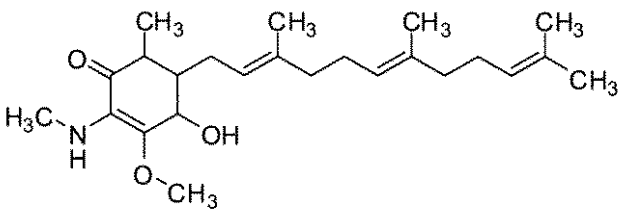
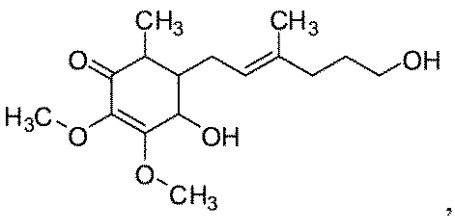
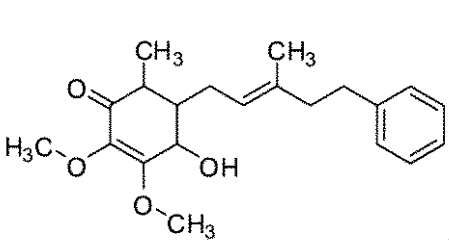
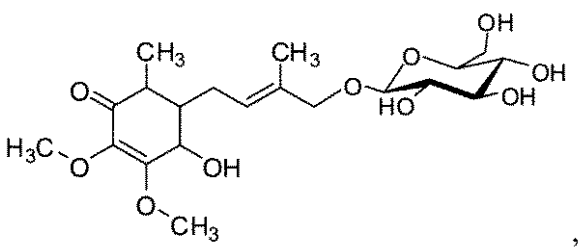

,

,

及び
.

【００７５】

特定の実施形態では、化合物は以下からなる群から選択される；

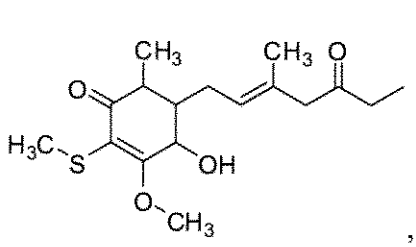
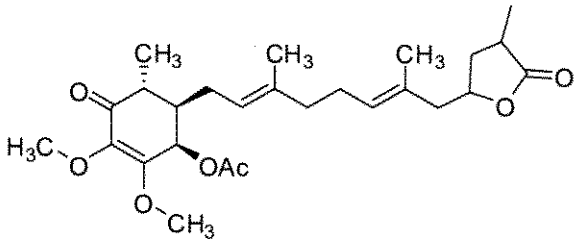
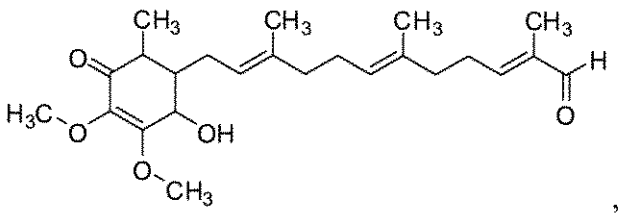
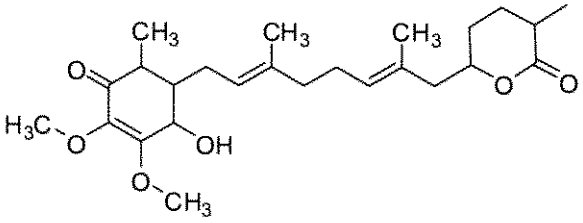
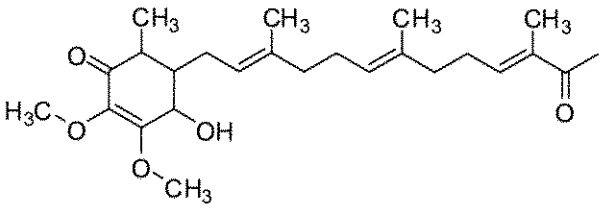
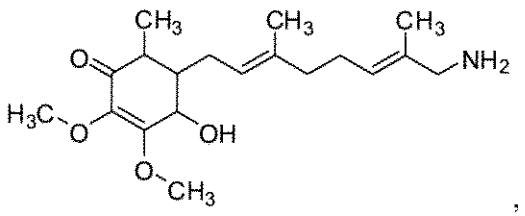
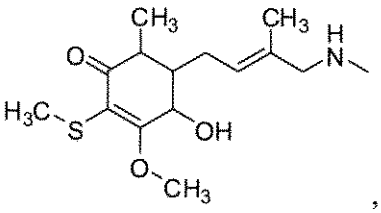
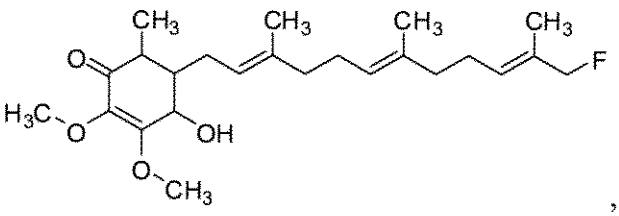
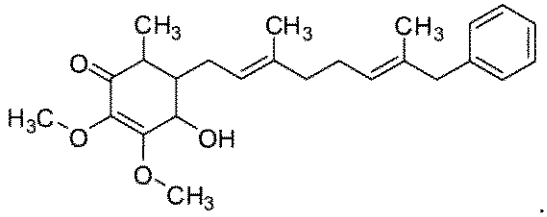
【００７６】

【化１５】


,

,

,

,

,

,

,

,

【００７７】

【化１６】


,

,

,

,

,

,

,

，及び

.

【００７８】

幾つかの実施形態において、本明細書に記載の化合物は、医薬組成物に処方される。具体的な実施形態において、医薬組成物は、活性化合物を薬学的に使用可能な製剤へと処理するのを促進する賦形剤及び助剤を含む、１以上の生理学的に許容可能な担体を用いて、従来の方式で処方される。適切な製剤は、選択される投与の経路に依存する。薬学的に許容可能なあらゆる技術、担体、及び賦形剤は、本明細書に記載の医薬組成物を処方するのに適したものとして使用される。Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ, Ｎｉｎｅｔｅｅｎｔｈ Ｅｄ （Ｅａｓｔｏｎ, Ｐａ.：Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ, １９９５）；Ｈｏｏｖｅｒ, Ｊｏｈｎ Ｅ., Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ, Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ., Ｅａ

ｓｔｏｎ，Ｐｅｎｎｓｙｌｖａｎｉａ１９７５；Ｌｉｂｅｒｍａｎ，Ｈ．Ａ．ａｎｄ Ｌａｃｈｍａｎ，Ｌ．，Ｅｄｓ．，Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｃｋｅｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．，１９８０；及びＰｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｓｅｖｅｎｔｈ Ｅｄ．（Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ１９９９）。

【００７９】

本明細書において、化合物（即ち、本明細書に記載のシクロヘキセノン化合物）及び薬学的に許容可能な希釈剤、賦形剤、又は担体とを含む医薬組成物が、提供される。特定の実施形態において、記載される化合物は、化合物（すなわち、本明細書に記載のシクロヘキセノン化合物）が併用療法におけるように他の活性部分と混合される医薬組成物として投与される。以下のセクションとこの開示の至る所にある併用療法において説明される、活性分子（ａｃｔｉｖｅｓ）の全ての組み合わせが、本明細書に含まれる。具体的な実施形態において、医薬組成物は、１以上の化合物（即ち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）を含む。

【００８０】

医薬組成物は、本明細書で使用されるように、化合物（例えば、本明細書に記載のシクロヘキセノン化合物）と、担体、安定剤、希釈剤、分散剤、懸濁剤、増粘剤、及び／又は、賦形剤などの他の化学成分との混合物を指す。特定の実施形態において、医薬組成物は、生物への化合物の投与を容易にする。幾つかの実施形態において、本明細書で提供される処置又は使用の方法を実行する際に、治療上効果的な量の化合物（即ち、本明細書に記載のシクロヘキセノン化合物）は、処置されるべき疾患又は疾病を有する哺乳動物に対して医薬組成物で投与される。具体的な実施形態において、哺乳動物はヒトである。特定の実施形態において、治療上効果的な量は、被験体の疾患の重症度、年齢、及び、相対的な健康状態、使用される化合物の効力、及び、他の因子に依存して変化する。本明細書に記載される化合物は、単一で、又は、混合物の成分としての１以上の治療薬と組み合わせて、使用される。

【００８１】

１つの実施形態において、化合物（即ち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）は、水溶液中で処方される。具体的な実施形態において、水溶液は、ほんの一例として、ハンクス溶液、リンガー溶液、又は、生理食塩水などの生理的に適合可能な緩衝液から選択される。他の実施形態において、化合物（即ち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）は、経粘膜投与のために処方される。具体的な実施形態において、経粘膜製剤は、浸透されるバリアに適切な浸透剤を含む。本明細書に記載の化合物が、他の非経口注入のために処方されるさらに他の実施形態において、適切な処方は、水溶性又は非水溶性の溶液を含む。具体的な実施形態において、前記溶液は、生理学的に適合可能な緩衝液及び／又は賦形剤を含む。

【００８２】

別の実施形態において、本明細書に記載の化合物は、経口投与のために処方される。化合物（即ち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）を含む、本明細書に記載の化合物は、例えば、薬学的に許容可能な担体又は賦形剤と、活性な化合物を混合させることによって処方される。様々な実施形態において、本明細書に記載の化合物は、ほんの一例であるが、錠剤、粉剤、丸薬、糖衣錠、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、エリキシル剤、スラリー剤、懸濁剤などを含む、経口の投与形態で処方される。

【００８３】

特定の実施形態において、経口使用のための医薬製剤は、１以上の固体の賦形剤を、本明細書中に記載される１以上の化合物と混合することによって、結果として得られた混合物を随意に粉砕することによって、及び、錠剤又は糖衣錠コア（ｄｒａｇｅｅ ｃｏｒｅｓ）を得るために、必要に応じて、適切な助剤を添加した後に、顆粒の混合物を処理することによって、得られる。適切な賦形剤は、特に、ラクトース、スクロース、マンニトー

ル、又はソルビトールを含む砂糖などの、充填剤；次のもののようなセルロース製剤：例えば、トウモロコシデンプン、小麦デンプン、米デンプン、じゃがいもデンプン、ゼラチン、トラガカントゴム、メチルセルロース、微結晶性セルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム；或いは、次のもののような他のもの：ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ又はポビドン）又はリン酸カルシウム、である。具体的な実施形態において、崩壊剤が随意に加えられる。崩壊剤は、ほんの一例として、架橋結合したクロスカルメロースナトリウム、ポリビニルピロリドン、寒天、又はアルギン酸、或いは、アルギン酸ナトリウムなどのその塩を含む。

【００８４】

１つの実施形態において、糖衣錠コアや錠剤などの剤形は、１以上の適切なコーティングで提供される。具体的な実施形態において、濃縮された糖液は、剤形をコーティングするために使用される。糖液は、ほんの一例として、アラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル、ポリエチレングリコール、及び／又は、二酸化チタン、ラッカー溶液、及び、適切な有機溶媒又は混合溶媒などの追加成分を随意に含む。染料及び／又は色素はまた、同定の目的のため、コーティングに随意に加えられる。加えて、染料及び／又は色素は、活性な化合物の投与量の異なる組み合わせを特徴づけるため、随意に利用される。

【００８５】

特定の実施形態において、本明細書に記載される少なくとも１つの治療上効果的な量の化合物は、他の経口剤形で処方される。経口剤形は、ゼラチン製の柔らかい密封されたカプセル剤のみでなく、ゼラチン製の押し込み型のカプセル剤、及び、グリセロールやソルビトールなどの可塑剤を含む。具体的な実施態様において、押し込み型のカプセル剤は、１以上の充填剤と混合させた活性成分を含む。充填剤は、ほんの一例として、ラクトース、デンプンなどの結合剤、及び／又は、タルク若しくはステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤、及び、随意に安定剤を含む。他の実施形態において、軟カプセル剤は、適切な液体中で溶解又は懸濁される、１以上の活性な化合物を含む。適切な液体は、ほんの一例として、１以上の脂肪油、流動パラフィン、又は、液体ポリエチレングリコールを含む。加えて、安定剤が随意に加えられる。

【００８６】

他の実施形態において、治療上効果的な量の本明細書中に記載される少なくとも１つの化合物は、口腔投与又は舌下投与のために処方される。口腔投与又は舌下投与に適した製剤は、ほんの一例ではあるが、錠剤、ロゼンジ剤、又はゲル剤を含む。更に他の実施形態において、本明細書中に記載される化合物は、ボーラス注入又は持続注入に適した製剤を含む、非経口注入のために処方される。具体的な実施形態において、注入用製剤は、単位剤形で（例えば、アンプルで）、又は、複数回用量容器で提供される。保存剤は、注入製剤へ随意に加えられる。更に別の実施形態において、化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）の医薬組成物は、油性ビヒクル又は水性ビヒクル中の、滅菌した懸濁液、溶液、又は、乳濁液のような、非経口注入に適した形態で処方される。非経口注入製剤は、懸濁剤、安定剤、及び／又は、分散剤などの製剤化剤（ｆｏｒｍｕｌａｔｏｒｙ　ａｇｅｎｔ）を随意に含む。具体的な実施形態において、非経口投与のための医薬製剤は、水溶性の形態において活性な化合物の水溶液を含む。追加の実施形態において、活性な化合物の懸濁液は、適切な油性注入懸濁剤として調製される。本明細書中に記載される医薬組成物中で使用されるための適切な親油性溶媒又はビヒクルは、ほんの一例ではあるが、ゴマ油などの脂肪油、又はオレイン酸エチル若しくはトリグリセリドなどの合成脂肪酸エステル、又はリポソームを含む。特定の具体的な実施形態において、水性注入懸濁剤は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、又は、デキストランのような懸濁液の粘度を増加させる物質を含む。随意に、懸濁液は、高濃縮溶液の調製を可能にするため、化合物の溶解度を増加させる適切な安定剤又は薬剤を含む。或いは、他の実施形態において、活性成分は、使用前に、適切なビヒクル（例えば、発熱物質を含まない滅菌水）で構築するための粉末形態である。

【００８７】
１つの態様において、化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）は、本明細書に記載されるような、又は当該技術で既知の非経口注入のための溶液として調製され、自動注入器で投与される。米国特許第４，０３１，８９３号、第５，３５８，４８９号；第５，５４０，６６４号；第５，６６５，０７１号、第５，６９５，４７２号、及び国際公開第２００５／０８７２９７（その各々は、このような開示のための引用によって本明細書に組み込まれる）に開示されるもの等の、自動注入器が知られている。一般に、自動注入器はすべて、注入される化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）を含む大量の溶液を含む。一般に、自動注入器は、溶液の保持のためのリザーバーを含み、それは、患者に注射針を挿入し、患者へ用量を送達する注射針を自動的に展開させるための機構と同様に、薬物を送達するための針との流体連結中にある。典型的な注入器は、１ｍＬの溶液につき化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）の約０．５ｍｇから５０ｍｇの濃度で、約０．３ｍＬ、０．６ｍＬ、１．０ｍＬ又は他の適切な量の溶液を提供する。注入器はそれぞれ、化合物を１回分だけ送達することができる。

【００８８】
さらに他の実施形態において、化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）は、局所投与される。本明細書に記載される化合物は、溶液、懸濁液、ローション剤、ゲル剤、ペースト剤、薬用スティック、バーム、クリーム、又は軟膏といった様々な局所投与が可能な組成物へと処方される。前記医薬組成物は、可溶化剤、安定剤、等張増強剤（ｔｏｎｉｃｉｔｙ　ｅｎｈａｎｃｉｎｇ　ａｇｅｎｔ）、バッファー、及び保存剤を随意に含む。

【００８９】
さらに他の実施形態において、化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）は、経皮投与のために処方される。具体的な実施形態において、経皮製剤は、経皮送達デバイス及び経皮送達パッチを利用し、ポリマー又は粘着剤中で溶解及び／又は分散した、親油性エマルジョン又は緩衝水溶液であってもよい。様々な実施形態において、このようなパッチは、医薬品の連続送達、パルス送達、又は、オンデマンド送達に合わせて構築される。更なる実施形態において、化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）の経皮送達は、イオン泳動性パッチなどの手段により達成される。特定の実施形態において、経皮パッチは、化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）の制御送達を提供する。具体的な実施形態において、吸収速度は、速度制御膜を使用することで、又は、化合物をポリマーマトリックス若しくはゲルの中に捕捉することで、低減される。代替的な実施形態において、吸収促進剤は、吸収性を高めるために使用される。吸収促進剤又は担体は、皮膚を介する通過を補助する、吸収可能である薬学的に許容可能な溶媒を含む。例えば、１つの実施形態において、経皮デバイスは、裏当て部材、任意に担体を有する化合物を含むリザーバー、任意に長期間にわたって制御され、及び予め定められた速度で化合物を宿主の皮膚に送達するための速度制御膜、及びデバイスを皮膚に固定する手段を含む包帯の形態をとっている。

【００９０】
本明細書に記載される経皮製剤は、当該技術分野で記載された様々なデバイスを用いて投与され得る。例えば、前記デバイスは、限定されないが、米国特許第３，５９８，１２２号、第３，５９８，１２３号、第３，７１０，７９５号、第３，７３１，６８３号、第３，７４２，９５１号、第３，８１４，０９７号、第３，９２１，６３６号、第３，９７２，９９５号、第３，９９３，０７２号、第３，９９３，０７３号、第３，９９６，９３４号、第４，０３１，８９４号、第４，０６０，０８４号、第４，０６９，３０７号、第４，０７７，４０７号、第４，２０１，２１１号、第４，２３０，１０５号、第４，２９２，２９９号、第４，２９２，３０３号、第５，３３６，１６８号、第５，６６５，３７８号、第５，８３７，２８０号、第５，８６９，０９０号、第６，９２３，９８３号、第６，９２９，８０１号、及び第６，９４６，１４４号を含む。

【００９１】
本明細書に記載される経皮剤形は、当該技術分野においてありふれた、特定の薬学的に許容可能な賦形剤を組み込み得る。１つの実施形態において、本明細書に記載される経皮製剤は、少なくとも３つの成分を含む：（１）化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）の製剤；（２）浸透促進剤；及び（３）水性のアジュバント。加えて、経皮製剤は、これらに限定されないが、例えば、ゲル化剤、クリーム、及び軟膏基剤などの追加の成分を含み得る。幾つかの実施形態において、経皮製剤はさらに、織り込まれた裏地又は織り込まれていない裏地を含み、それにより吸収を促進するとともに、皮膚からの経皮製剤の除去を防ぐ。他の実施形態において、本明細書に記載される経皮製剤は皮膚への拡散を促進するために飽和状態又は過飽和状態を維持する。

【００９２】
他の実施形態において、化合物（すなわち本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）は吸入投与のために処方される。吸入投与に適した様々な形態は、これらに限定されないが、エアロゾル、霧又は粉末を含む。化合物（すなわち本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）の医薬組成物は、適切な高圧ガス（例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素又はその他適切なガス）を用いた、圧縮パック又は噴霧機からのエアロゾルスプレー投与の形態で都合よく送達される。具体的な実施形態において、加圧エアロゾルの用量単位は、バルブを用いて測定し、計量した量を送達する。特定の実施形態において、ほんの一例ではあるが、吸入器又は注入器で使用するためのゼラチンなどから成るカプセル剤及び薬包は、化合物の粉末混合、及びラクトース又はでん粉などの適切な粉末基剤を含み処方される。

【００９３】
経鼻製剤の剤形は当該技術分野で既知であり、例えば、米国特許第４，４７６，１１６号、米国特許第５，１１６，８１７号、及び米国特許第６，３９１，４５２号に記載されており、特にこれらは、それぞれ、引用によって本明細書に組み込まれる。当該技術分野で周知のこれらの技術及び他の技術に従って調製される、化合物（すなわち本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）を含む製剤は、従来技術で公知のベンジルアルコール又は他の適切な保存剤、フルオロカーボン、及び／又は可溶化剤又は分散剤を用いて、生理食塩水中の溶液として調製される。例えば、Ａｎｓｅｌ，　Ｈ．Ｃ．　ｅｔ　ａｌ．，　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｄｏｓａｇｅ　Ｆｏｒｍｓ　ａｎｄ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，　Ｓｉｘｔｈ　Ｅｄ．（１９９５）を参照されたい。好ましくは、これらの組成物及び製剤は、適切で毒性のない、薬学的に許容可能な成分を用いて調製される。これらの成分は、当該分野における標準的な文献である、ＲＥＭＩＮＧＴＯＮ：ＴＨＥ　ＳＣＩＥＮＣＥ　ＡＮＤ　ＰＲＡＣＴＩＣＥ　ＯＦ　ＰＨＡＲＭＡＣＹ，　２１ｓｔ　ｅｄｉｔｉｏｎ，（２００５）のような情報源において見られる。適切な担体の選択は、例えば、溶液、分散液、軟膏剤、又はゲルのような、所望の鼻腔剤形の正確な性質に大きく依存している。鼻腔剤形は、一般的に活性成分に加えて、大量の水を含有する。ｐＨ調節剤、乳化剤、又は分散剤、保存剤、界面活性剤、ゲル化剤、又は緩衝剤、及び他の安定剤及び可溶化剤などの少量の他の成分も同様に存在してもよい。好ましくは、鼻腔剤形は、鼻からの分泌物に等張である。

【００９４】
吸入による投与のため、本明細書に記載される化合物は、エアロゾル、霧、又は粉末としての形態であってもよい。本明細書に記載される医薬組成物は、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、又は他の適当なガスなどの適切な高圧ガスを用いる、圧縮パック又は噴霧機からエアゾルスプレーの形態で都合よく送達される。加圧したエアロゾルの場合において、投与単位は、計量した量を送達するためのバルブを用いることによって測定されてもよい。ほんの一例として、吸入器又は注入器で用いるためのゼラチンなどのカプセル及び薬包は、本明細書に記載される化合物と、例えば、ラクトース又はでんぷんのような好適な粉末の粉末混合物を含むように処方されてもよい。

【００９５】
更に他の実施形態において、化合物（すなわち本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）は、ポリビニルピロリドン、ＰＥＧなどの合成ポリマーと同様に、ココアバター又は他のグリセリドなどの従来の坐薬用基剤を含む、浣腸剤、直腸用ゲル剤、直腸用気泡剤、直腸用エアロゾル、坐薬、ゼリー状坐薬、又は保持浣腸剤などの直腸組成物として処方される。組成物の坐剤形態において、限定されないが、脂肪酸グリセリドの混合物などの低融点ワックスは、随意にココアバターと組み合わせて、最初に融解される。
【００９６】
特定の実施形態において、医薬組成物は、賦形剤及び補助剤を含む１以上の生理学的に許容可能な担体を用いる任意の従来の様式で処方され、これらの賦形剤及び補助剤により、活性化合物を薬学的に使用され得る調製物へと処理するのが容易となる。適切な製剤は、選択される投与経路に依存する。任意の薬学的に許容可能な技術、担体、及び賦形剤を、適切に、かつ当該技術分野で理解されているように随意に使用する。化合物（すなわち、本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）を含む医薬組成物は、ほんの一例として、従来の混合、溶解、造粒、ドラゼー製法（ｄｒａｇｅｅ－ｍａｋｉｎｇ）、微粒子化、乳化、カプセル化、封入又は圧縮のプロセスといった、従来の方法で製造されてもよい。
【００９７】
医薬組成物は、少なくとも一つの薬学的に許容可能な担体、希釈剤又は賦形剤、及び、活性成分として少なくとも一つの本明細書中に記載の化合物（本明細書中に記載されるシクロヘキセノン化合物）を含む。活性成分は、遊離酸形態若しくは遊離塩基形態、又は薬学的に許容可能な塩の形態である。さらに、本明細書で記載される方法及び医薬組成物は、同様のタイプの活性を有するこれらの化合物の活性代謝物質と同様に、結晶性形状（多形態としても知られる）を含む。本明細書に記載される化合物の互変異性体のすべてが、本明細書に示される化合物の範囲内に含まれる。更に、本明細書中に記載される化合物は、水やエタノールなどの薬学的に許容可能な溶媒を有する溶媒和形態のみでなく、非溶媒和形態も含む。本明細書に示される化合物の溶媒和形態はまた、本明細書に開示されていると考えられる。更に、医薬組成物は、保存剤、安定剤、湿潤剤、若しくは乳化剤、溶解促進剤、浸透圧を調整する塩、バッファー、及び／又は他の治療上効果的な物質などの、他の医薬品又は治療剤、担体、アジュバントを随意に含む。
【００９８】
本明細書に記載される化合物を含む組成物を調製するための方法は、１以上の不活性成分、薬学的に許容可能な賦形剤又は担体を用いて化合物を処方し、固形物、半固形物又は液体を形成する工程を含む。固形の組成物は、限定されないが、粉末、錠剤、分散性顆粒、カプセル剤、カシェ剤、及び坐剤を含む。液体の組成物は、化合物を溶かした溶液、化合物を含む乳剤、又は本明細書で開示されている化合物を含むリポソーム、ミセル、又はナノ粒子を含有する溶液を含む。半固形の組成物は、これらに限定されないが、ゲル、懸濁液及びクリームを含む。本明細書中に記載されている医薬組成物の形態は、液体溶液又は懸濁液、使用前で液体に溶解若しくは懸濁することに適した固形形態、又はエマルジョンを含む。これらの組成物はまた、湿潤剤又は乳化剤、ｐＨ緩衝剤などの微量の非毒性の補助物質を随意に含む。
【００９９】
幾つかの実施形態において、少なくとも化合物（すなわち本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）を含む医薬組成物は、例えば、薬剤が溶液、懸濁液、又はその両方に存在する液体の形態を取る。一般的に組成物を溶液又は懸濁液として投与すると、薬剤の第一の部分は溶液中に存在し、薬剤の第二の部分は液体マトリックス中の懸濁液中に粒子形態で存在する。幾つかの実施形態において、液体組成物はゲル製剤を含む。他の実施形態において、液体組成物は水性である。
【０１００】
特定の実施形態において、医薬品の水溶性懸濁液は、懸濁剤として１以上のポリマーを

含む。ポリマーは、例えばヒドロキシプロピルメチルセルロースといったセルロースポリマーなどの水溶性ポリマー、及び架橋カルボキシル含有ポリマー（ｃｒｏｓｓ－ｌｉｎｋｅｄ　ｃａｒｂｏｘｙｌ－ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ　ｐｏｌｙｍｅｒｓ）などの非水溶性ポリマーを含む。本明細書に記載される特定の医薬組成物は、例えばカルボキシメチルセルロース、カルボマー（アクリル酸ポリマー）、ポリ（メタクリル酸メチル）、ポリアクリルアミド、ポリカルボフィル、アクリル酸／アクリル酸ブチルコポリマー、アルギン酸ナトリウム、及びデキストランから選択された粘膜付着性ポリマーを含む。

【０１０１】

医薬組成物は、また、化合物（すなわち本明細書に記載されているシクロヘキセノン化合物）の溶解度を援助するための可溶化剤を随意に含む。用語「可溶化剤」は、一般的に、ミセル溶液又は薬剤の真溶液の形成をもたらす薬剤を含む。例えばポリソルベート８０のような、特定の許容可能な非イオン性界面活性剤は、可溶化剤として有用であり、眼科用として許容可能なグリコール、ポリグリコール（例えばポリエチレングリコール４００）、及びグリコールエーテルとして有用である。

【０１０２】

更に、医薬品組成物は、酢酸、ホウ酸、クエン酸、乳酸、リン酸及び塩酸などの酸；水酸化ナトリウム、リン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム及びトリスヒドロキシメチルアミノメタンなどの塩基；及びシトラート／デキストロース、重炭酸ナトリウム及び塩化アンモニウムなどのバッファーを含む、１以上のｐＨ調整剤又はバッファーを随意に含む。このような酸、塩基、及びバッファーは、組成物のｐＨを許容可能な範囲で維持するのに必要とされる量で含まれる。

【０１０３】

更に、医薬組成物は、組成物の重量モル浸透圧濃度を許容可能な範囲にするために必要な量の１以上の塩を随意に含む。そのような塩は、ナトリウムカチオン、カリウムカチオン又はアンモニウムカチオン及び塩化物アニオン、クエン酸アニオン、アスコルビン酸アニオン、ホウ酸アニオン、リン酸アニオン、重炭酸アニオン、硫酸アニオン、チオ硫酸アニオン又は亜硫酸水素アニオンを有するものを含む；適切な塩は、塩化ナトリウム、塩化カリウム、チオ硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム及び硫酸アンモニウムを含む。

【０１０４】

他の医薬組成物は、微生物の活性を阻害する１以上の保存剤を随意に含む。適切な保存剤は、マーフェン（ｍｅｒｆｅｎ）及びチオマーサルなどの水銀含有物質；安定した二酸化塩素；及び塩化ベンザルコニウム、臭化セチルトリメチルアンモニウム及び塩化セチルピリジニウムなどの四級アンモニウム化合物を含む。

【０１０５】

更なる他の医薬組成物は、物理的安定性を増幅するため、又は他の目的のために、１以上の界面活性剤を含む。適切な非イオン性界面活性剤は、ポリオキシエチレン脂肪酸グリセリド、及び、例えばポリオキシエチレン（６０）水素化ヒマシ油等の植物油を含む；及びポリオキシエチレンアルキルエーテル、及び、例えばオクトキシノール１０、オクトキシノール４０等のアルキルフェニルエーテルを含む。

【０１０６】

更なる他の医薬組成物は、必要な場合に、化学安定性を増幅させる１若しくはそれ以上の抗酸化剤を含み得る。適切な抗酸化剤は、ほんの一例として、アスコルビン酸及び二亜硫酸ナトリウムを含む。

【０１０７】

特定の実施形態において、医薬品の水性懸濁液組成物は、単回用量用の再密閉できない容器に包装される。あるいは、複数回用量用の再密閉できる容器が使用され、この場合には、組成物中に保存剤を含むのが典型的である。

【０１０８】

代替の実施形態において、疎水性医薬化合物のための他の送達系を利用する。リポソーム及びエマルジョンは、本明細書中の送達用ビヒクル又は担体の例である。特定の実施形

態において、Ｎ－メチルピロリドンなどの有機溶媒も利用される。更なる実施形態において、本明細書に記載される化合物は、治療薬剤を含む固形疎水性ポリマーの半透性マトリックスなどの持続放出系を用いて送達される。様々な持続放出物質が本明細書において有用である。幾つかの実施形態において、徐放性カプセル剤は、数時間から２４時間を超えて、化合物を放出する。治療試薬の化学的性質と生物学的安定性に依存して、タンパク質安定化のための追加方策が用いられ得る。

【０１０９】

特定の実施形態において、本明細書中に記載される製剤は、１以上の抗酸化剤、金属キレート剤、チオール含有化合物、及び／又は他の一般的な安定剤を含む。これら安定剤の例は、限定されないが、次のようなものを含む：（ａ）約０．５％から約２％ｗ／ｖのグリセロール、（ｂ）約０．１％から約１％ｗ／ｖのメチオニン、（ｃ）約０．１％から約２％ｗ／ｖのモノチオグリセロール、（ｄ）約１ｍＭから約１０ｍＭのＥＤＴＡ、（ｅ）約０．０１％から約２％ｗ／ｖのアスコルビン酸、（ｆ）０．００３％から約０．０２％ｗ／ｖのポリソルベート８０、（ｇ）０．００１％から約０．０５％ｗ／ｖのポリソルベート２０、（ｈ）アルギニン、（ｉ）ヘパリン、（ｊ）硫酸デキストラン、（ｋ）シクロデキストリン、（ｌ）ペントサンポリサルフェート及び他のヘパリノイド、（ｍ）マグネシウム及び亜鉛などの二価カチオン；又は（ｎ）それらの組み合わせ。

【０１１０】

＜併用処置＞

一般的に、本明細書で記載される組成物、及び、併用処置が用いられている実施形態において、他の薬剤は同一の医薬組成物中に投与される必要はなく、かつ、幾つかの実施形態において、物理的及び化学的特徴が異なることから、異なる経路で投与される。幾つかの実施形態において、初回投与を、当該分野での実証されたプロトコルに従って行い、その後、観察された効果に基づいて、投与量、投与の形態、及び投与の時間は、熟練した臨床医により修正される。

【０１１１】

幾つかの実施形態において、薬物を併用処置において使用する場合、治療上効果的な投与量は変化する。併用処置は、更に、患者の臨床管理を援助するために、様々な時点で開始及び停止する定期的処置も含む。本明細書中に記載される併用処置に関して、同時投与化合物の投与量は、併用される薬のタイプ、利用される特定の薬、処置される疾患、障害、又は疾病などに依存して変化する。

【０１１２】

幾つかの実施形態において、緩和が求められる疾病を処置、予防、又は改善するための投与レジメンは、様々な要因に従って修正され得ると理解される。これらの要因は、被験者の年齢、体重、性別、食事及び健康状態と同様に、被験者が苦しむ障害も含む。したがって、他の実施形態において、実際に用いられる投与レジメンは幅広く変化し、それゆえに、本明細書に明記される投与レジメンから逸脱する。他の白血病治療薬と化合物（すなわち本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物）の組み合わせがカバーされるように意図されている。幾つかの実施形態において、骨髄の寛解をもたらす白血病治療薬の例はプレドニゾン、Ｌ－アスパラギナーゼ及びビンクリスチンなどを含むが、これらに限定されない。幾つかの実施形態において、残留白血病細胞を除去するための強化療法又は強化白血病治療薬の例はメトトレキセート、６－メルカプトプリン（６－ＭＰ）などを含むが、これらに限定されない。

【０１１３】

本明細書に記載されるシクロヘキセノン化合物及び他の白血病治療薬の組み合わせは、幾つかの実施形態中の他の薬剤を用いた、追加的な治療および処置レジメンを含む。そのような追加的な治療及び処置レジメンは幾つかの実施形態中の別の白血病治療を含み得る。あるいは、他の実施形態において、追加的な治療及び処置レジメンは、併用療法におけるそのような薬剤による副作用又は白血病に関連した付加的な状態を治療するために用いる他の薬剤を含む。さらなる実施形態において、アジュバント又は促進剤は、本明細書に

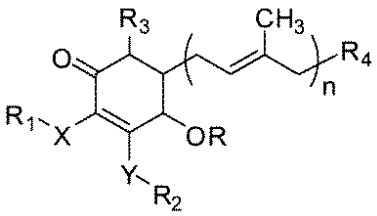
記載される併用両方と共に投与される。

【０１１４】

幾つかの実施形態において、以下の構造を有する治療上効果的な量のシクロヘキセノン化合物、或いは、薬学的に許容可能な塩、代謝産物、溶媒和物又はプロドラッグ；及び１以上の白血病治療薬を含む、白血病の治療又はリスクを減らすための組成物が提供され：

【０１１５】

【化１７】



【０１１６】

ここで、Ｘ及びＹの各々は、独立して、酸素、ＮＲ$_5$又は硫黄であり；Ｒは、水素又はＣ（＝Ｏ）Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキルであり；Ｒ$_1$、Ｒ$_2$及びＲ$_3$の各々は、独立して、水素、メチル又は（ＣＨ$_2$）$_m$－ＣＨ$_3$であり；Ｒ$_4$は、ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ＯＲ$_5$、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ$_7$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ハロゲン、５員環又は６員環のラクトン、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、アリール、グルコシルであり、ここで、５員環又は６員環のラクトン、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、アリール及びグルコシルは、ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、ＯＲ$_5$、ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ$_7$、Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）Ｒ$_5$、Ｃ（＝Ｏ）ＮＲ$_5$Ｒ$_6$、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルケニル、Ｃ$_2$－Ｃ$_8$アルキニル、Ｃ$_3$－Ｃ$_8$シクロアルキル及びＣ$_1$－Ｃ$_8$ハロアルキルから選択された１以上の置換基で随意に置換され；Ｒ$_5$及びＲ$_6$の各々は、独立して、水素又はＣ$_1$－Ｃ$_8$アルキルであり；Ｒ$_7$は、Ｃ$_1$－Ｃ$_8$アルキル、ＯＲ$_5$又はＮＲ$_5$Ｒ$_6$であり；ｍ＝１－１２であり；及びｎ＝ｌ－１２である。

【実施例】

【０１１７】

＜実施例１：典型的なシクロヘキセノン化合物の調製＞

牛樟芝からの１００グラムの菌糸、子実体またはその両方の混合物を、フラスコに入れた。適切な量の水およびアルコール（７０－１００％ のアルコール溶液）を、フラスコへ加え、少なくとも１時間、２０－２５℃で撹拌した。溶液をフィルターと０．４５μｍの膜を介して濾過し、濾液を抽出液として集めた。

【０１１８】

牛樟芝の濾液を、高速液体クロマトグラフィー（Ｈ ＰＬＣ）分析に供した。ＲＰ１８カラム上で分離を実行し、移動相は、メタノール（Ａ）および０．３％の酢酸（Ｂ）から成り、その勾配条件は、１ｍｌ／分の流量で、０－１０分において９５％－２０％のＢ、１０－２０分において２０％－１０％のＢ、２０－３５分において１０％－１０％のＢ、３５－４０分において１０％－９５％のＢであった。カラム流出液を、紫外線可視検出器によってモニタリングした。

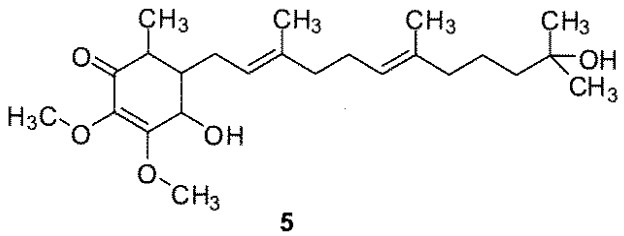
【０１１９】

２１．２～２１．４分で集められた画分を収集し、濃縮し、浅黄色液体の生成物である、化合物５を得た。化合物５を、４０８の分子量を有する、４－ヒドロキシ－５－（１１－ヒドロキシ－３，７，１１－トリメチルドデカ－２，６－ジエニル）－２，３－ジメトキシ－６－メチルシクロヘキサ－２－エノン（分子式：Ｃ$_{24}$ Ｈ$_{40}$Ｏ$_5$）であると分析した。^{1}Ｈ－ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）＝１．２１、１．３６、１．６７、１．７１、１．７５、１．９４、２．０３、２．０７、２．２２、２．２５、３．６８、４．０５、５．７１および５．５６。^{13}Ｃ－ＮＭＲ（ＣＤＣｌ$_3$）δ（ｐｐｍ）

：１２．３１、１６．１、１６．１２、１７．６７、２５．６７、２６．４４、２６．７４、２７．００、３０．１０、４０．２７、４３．３４、５９．２２、６０．５９、７１．８、１２０．９７、１２３．８４、１２４．３０、１３１．３２、１３４．６１、１３５．９２、１３８．０５、１６０．４５および１９７．１１．

【０１２０】

【化１８】



5

【０１２１】

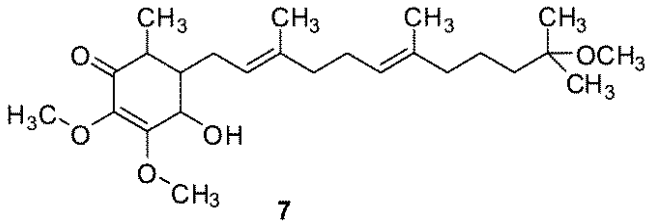
化合物５：４－ヒドロキシ－５－（１１ －ヒドロキシ－３，７，１１－トリメチルドデカ－２，６－ジエニル）－２，３－ジメト キシ－６－メチルシクロヘキサ－２－エノン

【０１２２】

２３．７～２４．０分で集められた画分を収集し、濃縮し、浅黄色液体の生成物である、化合物７を得た。化合物７を４２２の分子量を有する、４－ヒドロキシ－２，３－ジメトキシ－５－（１１－メトキシ－３，７，１１－トリメチルドデカ－２，６－ジエニル）－６－メチルシクロヘキサ－２－エノン（$C_{25}H_{42}O_5$）であると分析した。^{1}Ｈ－ＮＭＲ（$CDCl_3$）δ（ｐｐｍ）＝１．２１、１．３６、１．７１、１．７５、１．９４、２．０３、２．０７、２．２２、２．２５、３．２４、３．６８、４．０５、５．１２、５．５０および５．６１．^{13}Ｃ－ＮＭＲ（$CDCl_3$）δ（ｐｐｍ）：１２．３１、１６．１、１６．１２、１７．６７、２４．４４、２６．４４、２６．７４、２７．００、３７．８１、３９．８１、４０．２７、４３．３４、４９．００、５９．２２、６０．５９、１２０．９７、１２３．８４、１２４．３０、１３５．９２、１３８．０５、１６０，４５および１９７．１２．

【０１２３】

【化１９】



7

【０１２４】

化合物７：４－ヒドロキシ－２，３－ジメトキシ－５－（１１－メトキシ－３，７，１１－トリメチルドデカ－２，６－ジエニル）－６－メチルシクロヘキサ－２－エノン

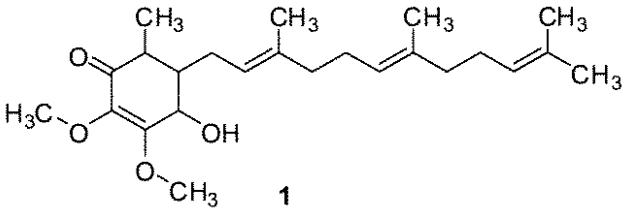
【０１２５】

２５～３０分で集められた画分を収集し、濃縮し、浅黄色の褐色液体の生成物である、４－ヒドロキシ－２，３－ジメトキシ－６－メチル－５－（３，７，１１－トリメチルドデカ－２，６，１０－トリエニル）シクロヘキサ－２－エノン（化合物１）を得た。化合物１の分析から、化合物１は、分子式$C_{24}H_{38}O_4$であって、融点が４８～５２℃、分子量390であることを確認した。ＮＭＲスペクトルは^{1}Ｈ－ＮＭＲ（$CDCl_3$）δ（ｐｐｍ）＝１．５１、１．６７、１．７１、１．７５、１．９４、２．０３、２．０７、２．２２、２．２５、３．６８、４．０５、５．０７および５．１４を示し；^{13}Ｃ－ＮＭＲ（$CDCl_3$）δ（ｐｐｍ）＝１２．３１、１６．１、１６．１２、１７．６７、２５．６７、２６．４４、２６．７４、２７．００、３９．７１、３９．８１、４０．２

７、４３．３４、５９．２２、６０．５９、１２０．９７、１２３．８４、１２４．３０、１３１．３２、１３５．３５、１３５．９２、１３８．０５、１６０．４５および１９７．１２を示した。

【０１２６】

【化２０】



1

【０１２７】

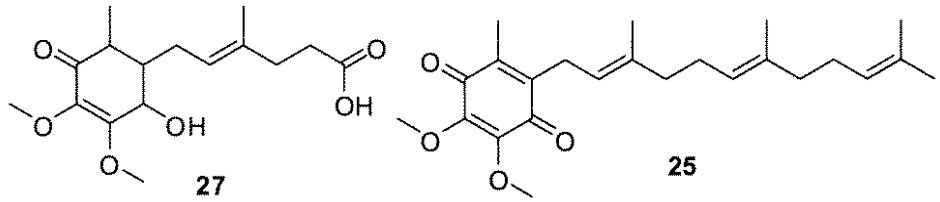
化合物１：４－ヒドロキシ－２，３－ジメトキシ－６－メチル－５－（３，７，１１－トリメチルドデカ－２，６，１０－トリエニル）シクロヘキサ－２－エノン

【０１２８】

化合物１の代謝産物である化合物27を、動物実験において化合物１を与えたラットの尿サンプルから得た。化合物２７を、３１２の分子量を有する、４－ヒドロキシ－２，３－ジメトキシ－６－メチル－５－（３－メチル－２－ヘキセン酸）シクロヘキサ－２－エノン（$C_{16}H_{24}O_6$）であると決定した。２，３－ジメトキシ－５－メチル－６－（（２Ｅ，６Ｅ）－３，７，１１－トリメチルドデカ－２，６，１０－トリエニル）シクロヘキサ－２，５－ジエン－１，４－ジオン（分子量：３８６．５２、$C_{24}H_{34}O_4$）と決定された化合物２５を、精製過程から得た。

【０１２９】

【化２１】



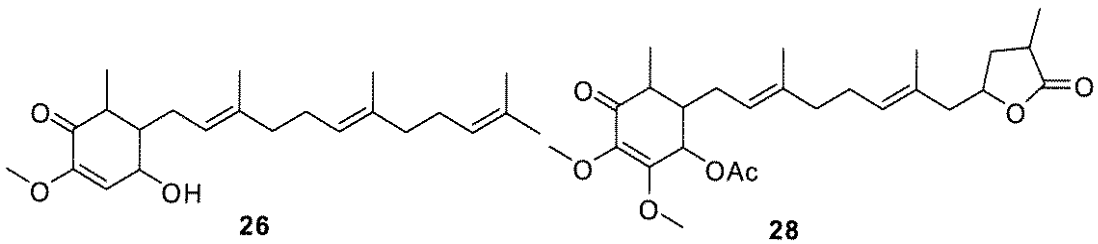
27 25

【０１３０】

３５０．５３の分子量を有する、化合物２６、４－ヒドロキシ－２－メトキシ－６－メチル－５－（（２Ｅ，６Ｅ）－３，７，１１－トリメチルドデカ－２，６，１０－トリエニル）シクロヘキサ－２－エノン（$C_{23}H_{36}O_3$）を精製過程によって調製した。さらに、化合物２８も調製した。

【０１３１】

【化２２】

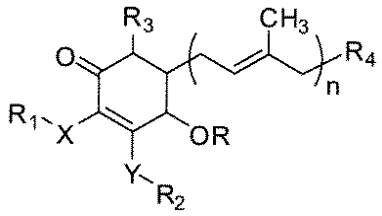


26 28

【０１３２】

あるいは、典型的な化合物は、４－ヒドロキシ－２，３－ジメトキシ－６－メチルシクロヘキサ－２，５－ジエノンなどから調製され得る。同様に、以下の構造を有する他のシクロヘキセノン化合物を、牛樟芝から分離するか、または適切な出発物質から合成的にまたは半合成的に調製した。当業者は、このような合成のための適切な条件を容易に活用するであろう。

【０１３３】
【化２３】



【０１３４】
＜実施例２：細胞株および細胞培養物の調製＞
ヒト肝癌（ＨｅｐＧ２、Ｈｅｐ３Ｂ）、ヒト肺腺癌（Ａ５４９、Ｈ８３８）およびヒト骨髄性白血病（Ｋ５６２）の細胞株は、アメリカ合衆国培養細胞系統保存機関（Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ、ＭＤ、ＵＳＡ）から得た。ヒト前立腺癌（ＬＮＣａＰおよびＤＵ１４５）、ヒト乳癌（ＭＣＦ－７）、ヒト膀胱癌（ＴＳＧＨ　８３０１）およびヒト膵臓腺癌（ＢｘＰＣ－３）の細胞株は、ＢＣＲＣ（生物資源保存研究センター、Ｈｓｉｎｃｈｕ、Ｔａｉｗａｎ）から得た。ＨｅｐＧ２、ＤＵ１４５およびＭＣＦ－７細胞株を、アルファ最小必須培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ／Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ、Ｇｒａｎｄ　Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ、ＵＳＡ）で培養した。Ａ５４９細胞はダルベッコ改変イーグル培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ／Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ）で培養した。Ｈ８３８、ＴＳＧＨ　８３０１、ＢｘＰＣ－３　ＬＮＣａＰおよびＫ５６２細胞株は、ＲＰＭＩ－１６４０培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ／Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ）で培養した。全ての細胞は、１０％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ／Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ）、１００Ｕ／ｍｌストレプトマイシンおよびペニシリン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ／Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ）を添加した培地において３７度、５％CO_2で培養した。処理のため、６．２５×10^5細胞／ウェルで、６－ウェルプレートに細胞を播種した。翌日、培地を無血清培地に変更し、２４時間、細胞を血清欠乏状態にした。化合物１をＤＭＳＯで溶解し、無血清培地中に要求される濃度になるよう希釈した。その後、培地を、前記の希釈した化合物１で処理した。処理後、細胞を、冷却したリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で洗浄し、ホスファターゼおよびプロテアーゼ阻害剤を含むＲＩＰＡ緩衝液を用いて溶解した。
【０１３５】
＜実施例３：イムノブロット分析＞
ブラッドフォード分析（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ、ＵＳＡ）を用いて測定した６０マイクログラムの総タンパク質溶解物を、１２．５％ＳＤＳポリアクリルアミドゲルに供した。電気泳動を５０分間１８０Ｖの定電圧で実施した。ゲルを９０分間２８０ｍＡの定電流でＰＶＤＦ薄膜上に写した。ブロットを３％のウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）でブロックし、ｐｈｏｓｐｈｏ－ｐ４４／４２（ＥＲＫ１／２）（Ｔｈｒ２０２／Ｔｙｒ２０４）（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｄａｎｖｅｒｓ、ＭＡ、ＵＳＡ）、ｐ４４／４２ＭＡＰＫ（ＥＲＫ１／２）、Ｂｅｃｌｉｎ－１（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）、ＬＣ３Ｂ（Ｎｏｖｕｓ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、ＵＫ）、ＥＧＦＲ（Ｅｐｉｔｏｍｉｃｓ　Ｉｎｃ、Ｓａｎｔａ　Ｃｌａｒａ、ＣＡ）Ｒａｓ、ＧＡＰＤＨ又はβ－ａｃｔｉｎ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）に対する抗体の１：１，０００希釈液でプローブした。西洋ワサビペルオキシダーゼに結合した２次抗体を、３，３’－ｄｉａｍｉｎｏｂｅｎｚｉｄｉｎｅ　ｓｕｂｓｔｒａｔｅ　ｋｉｔ（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ、ＣＡ）を用いて検出した。免疫反応性のバンドをＩｍａｇｅ－Ｐｒｏ　Ｐｌｕｓ　ｓｏｆｔｗａｒｅ（Ｍｅｄｉａ　Ｃｙｂｅｒｎｅｔｉｃｓ、Ｓｉｌｖｅｒ　Ｓｐｒｉｎｇ、ＭＤ）を用いた濃度測定法によって定量した。
【０１３６】
＜実施例４：ＣＣＫ－８細胞生存率アッセイ＞
Ｃｅｌｌ　Ｃｏｕｎｔｉｎｇ　Ｋｉｔ－８（ＣＣＫ－８）は、細胞増殖中の細胞生存率

の決定および細胞毒性アッセイのための、高感度の比色測定分析を可能にする。ＣＣＫ－８の検出感度は、ＭＴＴ、ＸＴＴ、ＭＴＳ又はＷＳＴ－１のような他のテトラゾリウム塩より高い。

【０１３７】

細胞生存率を、Ｃｅｌｌ Ｃｏｕｎｔｉｎｇ Ｋｉｔ－８（ＣＣＫ－８、Ｅｎｚｏ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｆａｒｍｉｎｇｄａｌｅ、ＮＹ）を用いて測定した。このアッセイでは、細胞内の脱水素酵素によってＷＳＴ－８が還元され、培地に可溶な黄色の生成物（ホルマザン）を生成する。生成されたホルマザンの量は生細胞の数に正比例する。処理後、ＣＣＫ－８溶液を各ウェルに加え、４時間インキュベートした。ホルマザンの濃度を４５０ｎｍの吸収度波長にて分光光度計で測定した。細胞生存率を、対応する対照との百分率で示した。

【０１３８】

＜実施例５：ＳＤＳ－ＰＡＧＥに基づくプレニルトランスフェラーゼアッセイ＞

インビトロでのプレニル化反応を、様々な濃度のアントロキノノールの存在下又は非存在下で、３μｇ ＦＴａｓｅ（Ｊｅｎａ、Ｇｅｒｍａｎｙ）、２５μＭ ＮＢＤ－ＦＰＰおよび２μｇ Ｈ－Ｒａｓ^{ＧＳＴ}を混合した、２０μｌの反応バッファー（５０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．２、５０ｍＭ ＮａＣｌ、５ｍＭ $MgCl_2$、５ｍＭ ＤＴＴおよび２０μＭ ＧＤＰ）中で行った。反応物を３７度で３時間インキュベートし、２０μｌの２×ＳＤＳ－ＰＡＧＥサンプル・バッファーを加え、９５度で３分間沸騰させることで、反応を停止させた。最後に、混合物を１５％ＳＤＳ－ＰＡＧＥに供した。ゲルをクマシーブルーで染色した後、Ｔｙｐｈｏｏｎ ９４００ ｓｃａｎｎｅｒ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ、ＵＫ）（励起レーザー、４７３ｎｍ； 発光カットオフフィルター、５１０ｎｍ）を用いてスキャンした。蛍光バンドを、Ｉｍａｇｅ－Ｐｒｏ Ｐｌｕｓ ｓｏｆｔｗａｒｅ（Ｍｅｄｉａ Ｃｙｂｅｒｎｅｔｉｃｓ、Ｓｉｌｖｅｒ Ｓｐｒｉｎｇ、ＵＳＡ）を用いて定量した。

【０１３９】

＜実施例６：免疫蛍光とＤＡＰＩ染色＞

細胞を６－ウェルプレートのカバーガラス上に播種した。一晩インキュベートした後、細胞を示した濃度の化合物１で２４時間処理した。処理後、細胞を４％のパラホルムアルデヒドを含むＰＢＳ中にて５分間固定し、０．１％トリトンＸ－１００を含むＰＢＳ中にて５分間透過処理した。細胞をブロッキング剤としての３％ＢＳＡ中にて３０分間インキュベートした。それから、細胞をＬＣ３Ｂ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）に対するウサギポリクローナル抗体と共に９０分間室温にてインキュベートした。０．１％トリトンＸ－１００を含むＰＢＳにて３回連続洗浄した後、細胞を室温にてｆｌｕｏｒｅｓｃｅｉｎ ｉｓｏｔｈｉｏｃｙａｎａｔｅ－ｃｏｎｊｕｇａｔｅｄ ｓｅｃｏｎｄａｒｙ ａｎｔｉｂｏｄｙ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｐａｉｓｌｅｙ，Ｓｃｏｔｌａｎｄ，ＵＫ）と共に６０分間インキュベートした。細胞をＤａｐｉ－Ｆｌｕｏｒｏｍｏｕｎｔ－Ｇ（商標）（ＳｏｕｔｈｅｒｎＢｉｏｔｅｃｈ、Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ、ＡＬ、ＵＳＡ）にマウントし、ＥＬＹＲＡ Ｓ．１とＺｅｉｓｓ ＬＳＭ ７８０を用いた共焦点蛍光顕微鏡により可視化した。

【０１４０】

＜実施例７：化合物１とその誘導体、アナログおよび代謝体の細胞毒性効果の決定＞

化合物１の細胞毒性効果がＲａｓ変異の有無に相関するかどうかを確認するため、野生型Ｒａｓ：Ｈ８３８、Ｈｅｐ３ＢおよびＫ５６２又は変異型Ｒａｓ：Ａ５４９、ＨｅｐＧ２およびＴＨＰ－１を備えた、ヒト肺癌（Ａ５４９およびＨ８３８）、肝臓癌（ＨｅｐＧ２およびＨｅｐ３Ｂ）および白血病（Ｋ５６２およびＴＨＰ－１）に由来する細胞株を用いた。細胞生存率を化合物１で４８時間処理した後、測定した。各細胞株のIC_{50}値は昇順に、ＴＨＰ－１（２．２２μＭ）＜Ａ５４９（３．２４μＭ）＜Ｈ８３８（３．３２μＭ）＜Ｈｅｐ３Ｂ（３．７４μＭ）＜Ｋ５６２（５．１２μＭ）＜ＨｅｐＧ２（６．４２μＭ）であった（表１）。化合物１は本明細書中に記載される全ての細胞株に対して、

優れた細胞毒性活性を示したように、化合物１への感受性はＲａｓ遺伝子の状態と相関しなかった。

【０１４１】

【表１】

ＣＣＫ－８細胞生存率アッセイによって測定された式Ｘの典型的な化合物のＩＣ$_{50}$値

化合物	A549	H838	Hep3B	HepG2	K562	THP-1
1	3.24±0.35	2.96±0.05	3.74±0.35	6.42±0.08	5.12±0.83	2.22±0.03
25	-	22.56±6.45	-	-	-	-
26	-	11.34±4.17	-	-	-	-
27	-	>100	-	-	-	-
28	-	>100	-	-	-	-
29	-	>100	-	-	-	-
30	22.61±2.24	25.56±6.54	9.06±3.03	27.03±6.06	-	-
31	6.68±0.75	3.41±1.43	7.46±7.06	8.98±0.97	-	-

値を平均値±Ｓ．Ｅ．Ｍで示す。

【０１４２】

本結果は、化合物１は全ての細胞株に対して、優れた細胞毒性活性を示したように、典型的な化合物１への感受性はＲａｓ遺伝子の状態に相関しないことを示した。さらに、Ｈ８３８細胞に対する化合物１アナログ（化合物２５～３１）のＩＣ$_{50}$値に基づいて、化合物１の２’－ヒドロキシ基とファルネシル基が細胞毒性効果にとって重要であることを示した。

【０１４３】

＜実施例８：リン酸化ＥＲＫ１／２のレベルへの化合物１の影響の評価＞

ＭＡＰキナーゼシグナル伝達に対する化合物１の影響を評価するため、ＨｅｐＧ２、Ａ５４９およびＨ８３８細胞を幅広い濃度の化合物１で処理し、リン酸化されたＥＲＫ１／２およびＥＲＫ１／２の総量のためにイムノブロット法を行った。化合物１は、ＨｅｐＧ２とＡ５４９細胞のＥＲＫ１／２のリン酸化を誘導したが、ＥＲＫ１／２の総発現量には影響しなかった（図１）。しかしながら、Ｈ８３８細胞では、化合物１による処理後のＥＲＫ１／２リン酸化の増加に伴い、ＥＲＫ１／２の総発現量も増加した。したがって、一般的に、化合物１は、癌細胞株においてＥＲＫ１／２のリン酸化の増加を誘導した。

【０１４４】

＜実施例９：化合物１によるＡ５４９細胞内のＥＲＫ１／２のリン酸化の研究＞

以前の報告で、化合物１はＡ５４９細胞内のＰＩ３Ｋシグナル伝達を阻害することが示された(Ｋｕｍａｒ ＶＢ，ｅｔ ａｌ．，Ｍｕｔａｔ Ｒｅｓ ２０１１ Ｆｅｂ １０；７０７（１－２）：４２－５２）。本明細書中で、典型的な化合物１がＡ５４９細胞のＥＲＫ１／２のリン酸化をアップレギュレートすることを示した。ＲａｓはＰＩ３ＫとＥＲＫ１／２の上流の制御因子である。化合物１を介するがん細胞死の細胞内シグナル経路をより理解し、化合物１のサイトゾル標的をより正確に同定するために、Ｒａｓの寄与を研究した。実験を、異なる濃度の化合物１で２４時間処理されたＡ５４９とＨ８３８細胞を使用して、血清存在下と血清非存在下の条件で実施した。２本の異なるバンドをＲａｓのための免疫ブロットで検出した。移動度が遅いバンドは処理されていないＲａｓに相当し、移動度が早いバンドは完全に処理されたＲａｓであることを示した。化合物１は、血清存在下および血清非存在下の両方の細胞株において、処理されていないＲａｓの蓄積を引き起こした（図２Ａ）。更に、化合物１は、Ｈ８３８、ＨｅｐＧ２およびＫ５６２細胞において、処理されていないＲａｓの用量依存的な蓄積を引き起こした（図２Ｂおよび２Ｃ）。この結果は、化合物１が癌細胞内のＲａｓの処理を阻害することを示す。

【０１４５】

＜実施例１０：細胞培養物中のタンパク質ＦＴａｓｅ活性とＦＰＰ依存Ｒａｓプレニル化に対する化合物１の影響の評価＞

Ｒａｓの翻訳後修飾は活性化にとって不可欠である。Ｒａｓが活性化するための第１工程はＦＴａｓｅによるプレニル化である。化合物１とＲａｓのプレニル基のドナーであるＦＰＰの化学構造の比較は、両化合物が同じＣ１５脂質鎖を有することを示した（図３Ａ）。したがって、細胞培養物中のタンパク質ＦＴａｓｅ活性とＦＰＰ依存Ｒａｓプレニル化に対する化合物１の影響を評価した。結果は、化合物１単独で処理されていないＲａｓの蓄積を著しく増加させることを示した。さらに、ＦＰＰ単独で、Ｈ８３８細胞のＲａｓの処理を強化した。競合アッセイは、１０μＭの低濃度でＦＰＰがＲａｓの処理に対する化合物１の影響を中和したことを示した（図３Ｂ）。加えて、Ｉｎ ｖｉｔｒｏの酵素活性アッセイは、化合物１がＦＴａｓｅ活性の用量依存的抑制を達成することを実証した（図３Ｃ）。この結果は、化合物１が細胞培養物において、タンパク質ＦＴａｓｅ活性を抑制し、ＦＰＰと競合することを示す。

【０１４６】

＜実施例１１：タンパク質ＦＴａｓｅ上での化合物１の分子結合＞

ＦＴａｓｅのアミノ酸配列(Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ ｎｏ.：１ＪＣＱ＿Ａ)は国立生物工学情報センターのタンパク質データベースからダウンロードした。化合物１とＦＴａｓｅ ＣＡＡＸ ｂｏｘ 間の相互作用を予測し、評価するために、ＣＤＯＣＫＥＲ－Ａ ＣＨＡＲＭｍに基づいた分子結合アルゴリズムを適用した （例えば、Ｗｕ Ｇ，ｅｔ ａｌ.，Ｖｉｅｔｈ Ｍ（２００３）Ｄｅｔａｉｌｅｄ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｇｒｉｄ－ｂａｓｅｄ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｄｏｃｋｉｎｇ：Ａ ｃａｓｅ ｓｔｕｄｙ ｏｆ ＣＤＯＣＫＥＲ－－Ａ ＣＨＡＲＭｍ－ｂａｓｅｄ ＭＤ ｄｏｃｋｉｎｇ ａｌｇｏｒｉｔｈｍ. Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｏｍｐｕｔａｔｉｏｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ２４（１３）：１５４９－１５６２を参照されたい）。バイアスを制限するために、使用者に調整可能なパラメータはすべて初期設定を維持した。

【０１４７】

ＦＴａｓｅと本明細書に記載されている典型的なシクロヘキセノン化合物（例えば、化合物１）間の推定上の相互作用を予測するために、分子結合アプローチをＤｏｃｋ Ｌｉｇａｎｄｓ（ＣＤＯＣＫＥＲ）プログラムを使用して実施した。テンプレートとしてＦＴａｓｅの結晶構造（ＰＤＢ ＩＤ １ＪＣＱ）を使用し、化合物１とＦＴａｓｅのＣＡＡＸモチーフ間の相互作用を特徴づけるための結合モデルを構築した。結合研究は、ＦＴａｓｅ活性部位に対して、化合物１とＦＰＰが類似の位置に結合することを示した（図４Ａ－Ｂ）。化合物１のファルネシル基は疎水性のキャビティーに位置し、多数の保存された芳香族残基と相互作用する。化合物１の官能基を持った環状構造とＦＰＰの二リン酸塩部分は、α／β－サブユニット界面近傍に位置する。化合物１アナログの細胞毒性効果は、細胞毒性活性を介する際に、イソプレン単位の長さと２’－ヒドロキシ基が重大な役割を果たすことを示す。

【０１４８】

結合モデルもまた、化合物１アナログの細胞毒性プロファイルの違いに関する説明に用いることができる。イソプレン単位の数がＦＴａｓｅへのイソプレノイドの結合アフィニティーに影響を及ぼすことが示された。化合物１の２’－ヒドロキシ基は、チロシン残基、Ｙ３００ｂを含む、分子間の水素結合を形成し得る（図４Ｃ）。加えて、化合物１の環状構造の空間的配置は、ＦＴａｓｅサブユニット界面近傍の占有されていない空間に３－メトキシ基が位置することを示した。したがって、ジメトキシ－化合物１は、原型である化合物１よりもわずかに低いIC_{50}を示すのみであった。これらの結果は、化合物１の特定の構造とＦＴａｓｅのＣＡＡＸモチーフに対する重要な構造の見識を与え（図４Ｄ）、それは本明細書に記載される活性型のシクロヘキセノン化合物（例えば、化合物１アナログ）の合理的な設計を助ける。

【０１４９】

＜実施例１２：化合物１は、癌細胞の自食活性を高めた＞

以前の研究は、化合物１がヒト癌細胞株において、ＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲ経路経由のアポトーシスおよび／又は自食細胞死を誘導することを示した。ＲａｓはＰＩ３Ｋの上流に位置し、ＲａｓＶａｌ１２変異ＮＩＨ３Ｔ３細胞の自食活性を負に調節することを実証した。本明細書では、肺癌細胞株中の化合物１が誘導した自食作用のレベルをベクリン－１とＬＣ３Ｂのイムノブロット分析により測定した。ＬＣ３Ｂを含むオートファゴソームを共焦点顕微鏡によって可視化した。結果は、ベクリン－１の発現が化合物１処理から２４時間後および４８時間後において増加したことを示した（図５Ａ－Ｂ）。化合物１はまた、ＬＣ３Ｂ－ＩＩへのＬＣ３Ｂ－１の自食転換（ａｕｔｏｐｈａｇｉｃ ｃｏｎｖｅｒｓｉｏｎ）を誘導した。さらに、ＬＣ３Ｂ－ＩＩに関連するオートファゴソーム（緑の蛍光スポット）を、共焦点顕微鏡により観察した（図５Ｃ）。

【０１５０】

＜統計解析＞

実施例の結果を、３つの独立した実験の平均±標準誤差（ＳＥＭ）として示した。有意差を決定するために、単一因子ペアワイズ分散分析統計回析（ａ ｓｉｎｇｌｅ ｆａｃｔｏｒ ｐａｉｒ－ｗｉｓｅ ＡＮＯＶＡ ｓｔａｔｉｓｔｉｃａｌ ａｎａｌｙｓｉｓ）を行った。０．０５未満の両側Ｐ値は、統計的に有意であると考えられた。

【０１５１】

＜実施例１３：白血病癌異種移植片モデルにおける化合物１の有効性試験＞

６～７週齢のＣＢ．１７スキッドマウスの雄をＢｉｏＬａｓｃｏ Ｔａｉｗａｎ Ｃｏ．，ＬＴＤから購入し、１週間検疫（ｑｕａｒａｎｔｉｎｅｄ）した。実験期間中、１つのケージに5匹のマウスを収容する。動物はすべて、１９－２５℃のＤａ－Ｈｕ動物設備の中で、１２時間光を当て１２時間暗転させるサイクルに置かれた。動物は、げっ歯動物用のペレット剤のえさと水を自由に摂取できる。本動物実験の実験プロトコルは国立動物実験委員会（ＤＣＢ）によって調査され承認された。化合物１を、１２ｍｇ／ｍＬの最終濃度へとオリーブオイルで希釈した。

【０１５２】

腫瘍細胞株：ＴＨＰ－１細胞（白血病）をＲＰＭＩ－１６４０培地又は１０％の熱失活させたウシ胎児血清を加えたＤＭＥＭ培地にて培養した。細胞を、加湿されたインキュベータ内の組織培養フラスコにて３７度、５％ＣＯ２と９５％の空気の雰囲気中で培養した。

【０１５３】

＜インビボ移植＞

移植に使用するヒト癌細胞を対数増殖期中に回収し、０．１ ｍＬの５０％マトリゲル溶液(ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，ＭＡ，ＵＳＡ）中にＴＨＰ－１を2×10^{7}細胞／ｍＬの濃度を含むようにリン酸塩緩衝食塩水で再懸濁した。平均腫瘍容量が１５０ mm^{3}に達した時に、マウスを無作為に２つの群に分け、試験物質で処理した。容量は次の式を用いて計算した：

腫瘍容量＝$（w^{2}\times l）／2$

ここでは、ｗ＝腫瘍の幅および ｌ＝腫瘍の直径の長さ（ｍｍ）とする。

【０１５４】

＜処置＞

以下の表は、処置計画の要約を示す。化合物１の処置はすべて、４週間、５日／週、２回／日（ｂＩＤ）、経口の経管栄養（ＰＯ）によって投与した。用量はすべて、１０ｍＬ／ｋｇ（体重）の量で投与した。ビヒクル群には、腫瘍増殖阻害率の計算のための対照群として同量のオリーブオイルを与えた。

【０１５５】

【表２】

群	数	処置レジメン			
		薬剤	用量	投与経路	スケジュール
１	５	ビヒクル （オリーブオイル）	－	ＰＯ	ｂＩＤ×５日 ／週×４週間
２	５	化合物１	１２０ｍｇ／ ｋｇ	ＰＯ	ｂＩＤ×５日 ／週×４週間

【０１５６】

＜腫瘍容量と体重の評価＞

腫瘍を、週に２度、カリパスを用いて測定した。腫瘍増殖阻害（ＴＧＩ）の百分率を、以下の式を用いて計算した：

％ＴＧＩ＝［１－（Ｔ／Ｃ）］×１００％

ここでは、ＴおよびＣはそれぞれ、処置群と対照群の平均腫瘍容量を示す。実験が終了するまで、週に２度、動物の体重を測定した。体重変化を実験開始時の体重と比較して、体重の増加率として計算した。

【０１５７】

＜データ解析＞

データを平均値±ＳＥＭで示した。２つの群の間の比較を、スチューデントｔ検定を用いて行った。ｐ値＜０．０５は統計的に有意であると考えられた。

【０１５８】

＜結果＞

図８は、試験化合物で処置されたＴＨＰ－１異種移植片マウスの体重にほとんど変化がなかったことを示す。癌を有するマウスは、ビヒクル（オリーブオイル）又は１２０ｍｇ／ｋｇの化合物１で、４週間、週５日、１日２度、経口の経管栄養によって処置された。体重を週に２度測定した。

【０１５９】

図９は、試験化合物で処置されたＴＨＰ－１異種移植片マウスの腫瘍容量の減少を示す。癌を有するマウスは、ビヒクル（オリーブオイル）又は１２０ｍｇ／ｋｇのアントロキノノールで、４週間、週５日、１日２度、経口の経管栄養によって処置された。腫瘍容量を週に２度測定した。＊＊＊ビヒクル対照と比較して、Ｐ＜０．００５

【０１６０】

図１０は、試験化合物で処置されたＴＨＰ－１異種移植片マウスの、終了時における、腫瘍量の減少を示す。

【０１６１】

これらの結果は異種移植片モデルに基づく白血病癌の処置において、典型的な発明化合物１の有効性及び効果を明らかに実証する。

【０１６２】

＜実施例１４：急性骨髄性白血病、脊髄形成異常、非ホジキンリンパ腫又は多発性骨髄腫患者を処置するための化合物１の使用＞

急性骨髄性白血病、脊髄形成異常、非ホジキンリンパ腫又は多発性骨髄腫患者の処置において、化合物１のような、本明細書中に記載されるシクロヘキセノン化合物の有効性を検討する治験。

【０１６３】

試験タイプ：介入

【０１６４】

試験デザイン：マスキング：非盲検

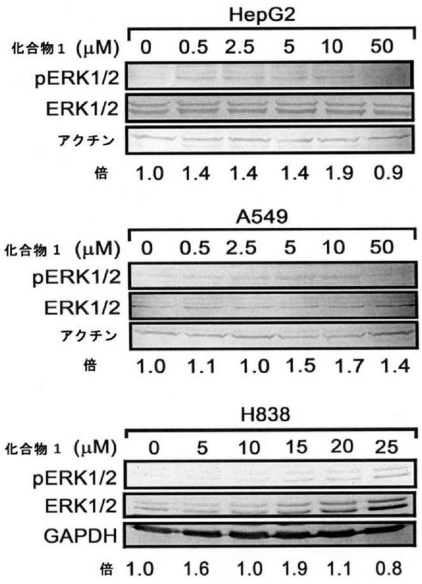
【０１６５】

主要目的：処置

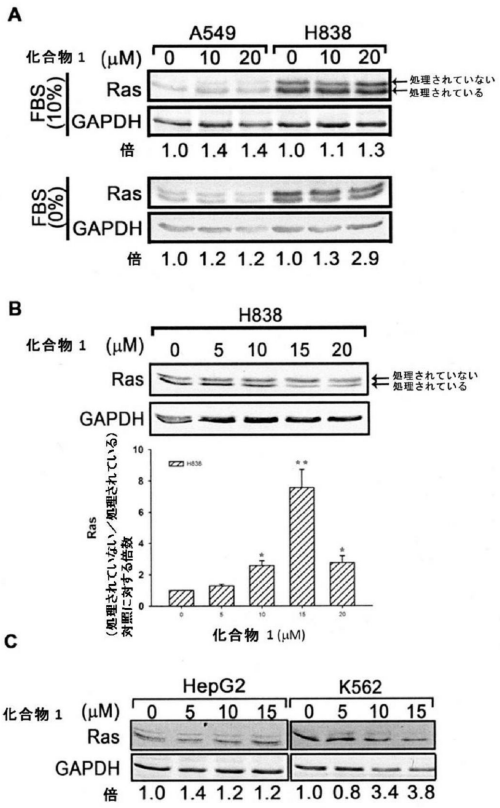
【０１６６】
＜目的＞
急性骨髄性白血病、脊髄形成異常、非ホジキンリンパ腫又は多発性骨髄腫患者の処置において化合物１の効能を決定する。
【０１６７】
これらの患者への本処置レジメンの効果を決定する。
【０１６８】
これらの患者への本処置レジメンの安全性と潜在的な抗腫瘍有効性を決定する。
【０１６９】
概要：患者は、1日目から12日目に、化合物1を経口摂取する。治療に反応を示す急性骨髄性白血病患者は最初のコースの完了後、約10日間の2回目のコースを受けてもよい。これらの患者のその後のコースと、他のすべての患者のすべての追加のコースは、疾患進行又は許容しがたい毒性が発生しない間、２１日から２８日ごとに繰り返される。
【０１７０】
＜適格性＞
試験に適格な年齢：18歳以上
【０１７１】
試験に適格な性別：男女
【０１７２】
予定集積数（ＰＲＯＪＥＣＴＥＤ　ＡＣＣＲＵＡＬ）：合計２０人の患者が本試験に追加される。
【０１７３】
＜基準＞
疾患特性：
次の腫瘍性疾患の内の１つの診断：
急性骨髄性白血病
脊髄形成異常
低悪性度又は中悪性度の非ホジキンリンパ腫
多発性骨髄腫
【０１７４】
前回の従来療法に失敗した及び他の既知の根治治療は存在しない
【０１７５】
非ホジキンリンパ腫患者は、骨髄吸引あるいは穿刺／胸腔穿刺によってアクセス可能な骨髄又は悪性滲出液中に腫瘍細胞を有していなければならない。注意点：成人の非ホジキンリンパ腫の新しい分類スキームがＰＤＱによって採用されている。「低悪性度」、「中悪性度」又は「高悪性度」リンパ腫という以前の用語は、「無痛性の」又は「積極的な」リンパ腫という用語に変更される。しかしながら、このプロトコルは以前の用語を使用する。
【０１７６】
＜患者の特性＞
年齢：１８歳以上
【０１７７】
全身状態：カルノフスキー　６０－１００％
【０１７８】
平均余命：特定しない
【０１７９】
造血性：白血病又は骨髄腫のない患者：
ＷＢＣが２，５００／ｍｍ^{3}以上；血小板数が少なくとも７５，０００／ｍｍ^{3}以上
【０１８０】
肝機能：ビリルビンが２．５ｍｇ／ｄＬ以下

【０１８１】
腎機能：クレアチニンが２．５ｍｇ／ｄＬ以下
【０１８２】
その他：妊婦でない又は授乳していない；妊娠検査陰性；妊娠できる患者は、試験中および試験終了後４週間は適切な避妊方法を使用しなければならない。
【０１８３】
前回の併用療法：
【０１８４】
生物学的療法：特定しない
【０１８５】
化学療法：白血病でない患者：前回の細胞毒性化学療法から少なくとも３週間
【０１８６】
内分泌療法：特定しない
【０１８７】
放射線療法：白血病でない患者：前回の放射線療法から少なくとも３週間
【０１８８】
外科手術：特定しない
【０１８９】
＜実施例１５：経口製剤＞
経口送達のための医薬組成物を調製するために、１００ｍｇの典型的な化合物１を１００ｍｇのトウモロコシ油と混合した。混合物を、経口投与に適するカプセルの経口用量単位に組み込んだ。
【０１９０】
幾つかの例においては、１００ｍｇの本明細書中に記載される化合物を７５０ｍｇのデンプンと混合する。混合物を、経口投与に適する、堅いゼラチンカプセルのような経口用量単位に組み込む。
【０１９１】
＜実施例１６：舌下（堅いロゼンジ）製剤＞
堅いロゼンジのような、口腔送達のための医薬組成物を調製するために、１．６ｍＬのライト・コーンシロップ、２．４ｍＬの蒸留水および０．４２ｍＬのミント抽出物に４２０ｍｇの粉糖を混合し、１００ｍｇの本明細書中に記載される化合物と混合した。混合物を、穏やかに混ぜ合わせ、口腔投与に適したロゼンジを形成するために型に注いだ。
【０１９２】
＜実施例１７：吸入組成物＞
吸入送達のための医薬組成物を調製するために、５０ｍｇの無水クエン酸および１００ｍＬの０．９％塩化ナトリウム水溶液に２０ｍｇの本明細書中に記載される化合物を混合した。混合物を、吸入投与に適した噴霧器のような吸入送達ユニットに組み込んだ。
【０１９３】
本発明の好ましい実施形態が、本明細書に示され記載されているが、このような実施形態が、ほんの一例として提供されることは当業者に明白であろう。本発明から逸脱することなく、多数の変更、変化、および置換が当業者によってなされるであろう。本明細書に記載される本発明の実施形態の様々な代替案が、本発明を実行する際に利用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲が本発明の範囲を定義するものであり、これらの特許請求の範囲およびそれらの同等物の範囲内の方法および構造が、それによって包含されることが意図される。

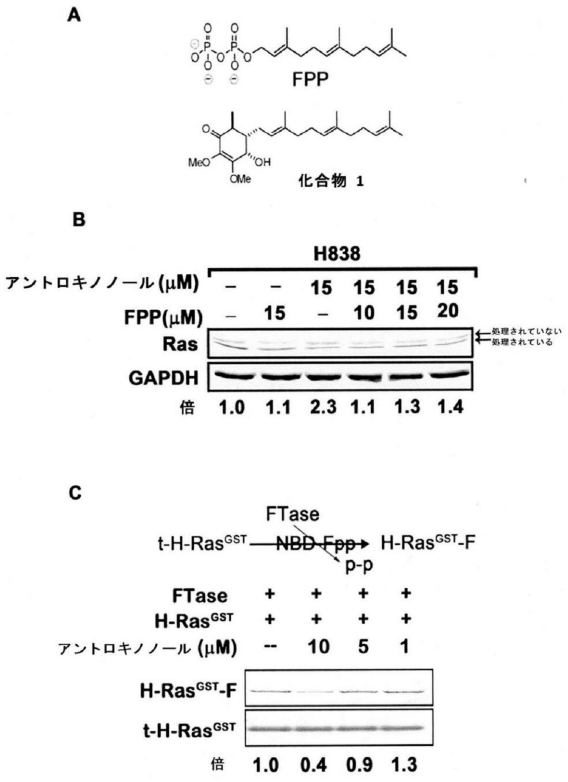
【図１】


HepG2
化合物１ (μM) 0 0.5 2.5 5 10 50
pERK1/2
ERK1/2
アクチン
倍 1.0 1.4 1.4 1.4 1.9 0.9
A549
化合物１ (μM) 0 0.5 2.5 5 10 50
pERK1/2
ERK1/2
アクチン
倍 1.0 1.1 1.0 1.5 1.7 1.4
H838
化合物１ (μM) 0 5 10 15 20 25
pERK1/2
ERK1/2
GAPDH
倍 1.0 1.6 1.0 1.9 1.1 0.8

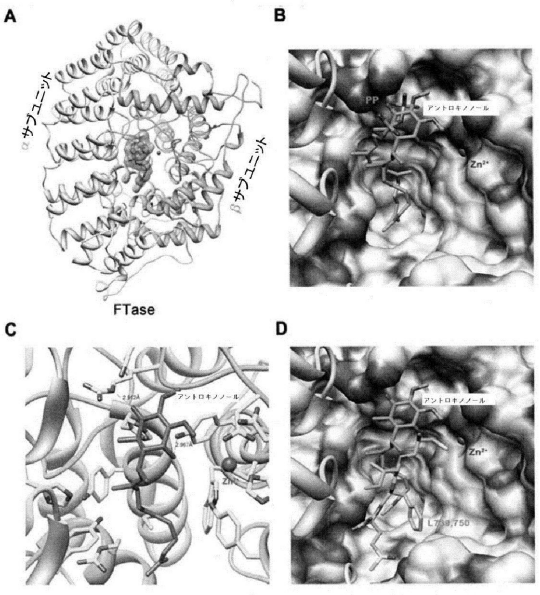
【図２】


A
A549 H838
化合物１ (μM) 0 10 20 0 10 20
FBS (10%)
Ras
GAPDH
処理されていない
処理されている
倍 1.0 1.4 1.4 1.0 1.1 1.3
FBS (0%)
Ras
GAPDH
倍 1.0 1.2 1.2 1.0 1.3 2.9
B
H838
化合物１ (μM) 0 5 10 15 20
Ras
GAPDH
処理されていない
処理されている
Ras (処理されていない／処理されている) 対照に対する倍数
化合物 1 (μM)
C
HepG2 K562
化合物１ (μM) 0 5 10 15 0 5 10 15
Ras
GAPDH
倍 1.0 1.4 1.2 1.2 1.0 0.8 3.4 3.8

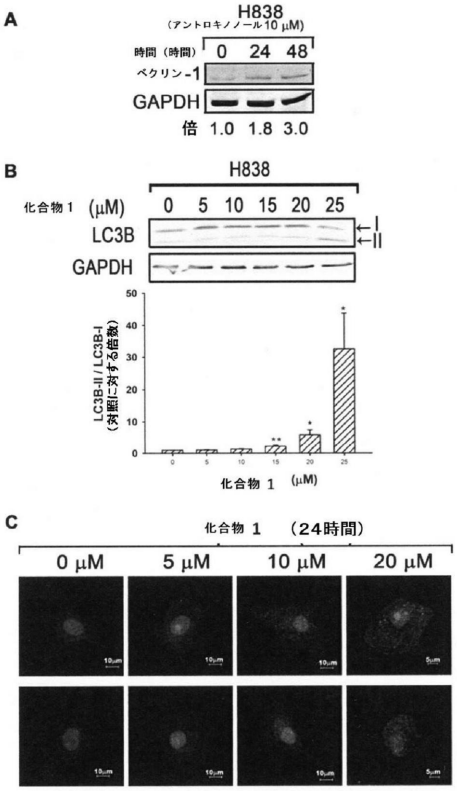
【図３】


A
FPP
MeO
OH
OMe
化合物 1
B
H838
アントロキノノール (μM) – – 15 15 15 15
FPP(μM) – 15 – 10 15 20
Ras
GAPDH
処理されていない
処理されている
倍 1.0 1.1 2.3 1.1 1.3 1.4
C
FTase
t-H-Ras^GST — NBD-Fpp → H-Ras^GST-F
p-p
FTase + + + +
H-Ras^GST + + + +
アントロキノノール (μM) -- 10 5 1
H-Ras^GST-F
t-H-Ras^GST
倍 1.0 0.4 0.9 1.3

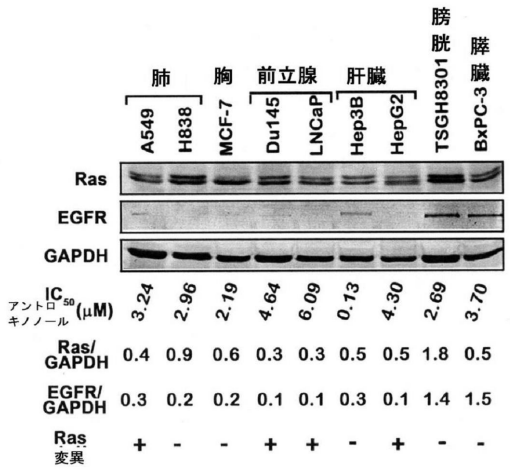
【図４】


A
αサブユニット
βサブユニット
FTase
B
PP
アントロキノノール
Zn2+
C
アントロキノノール
D
アントロキノノール
Zn2+

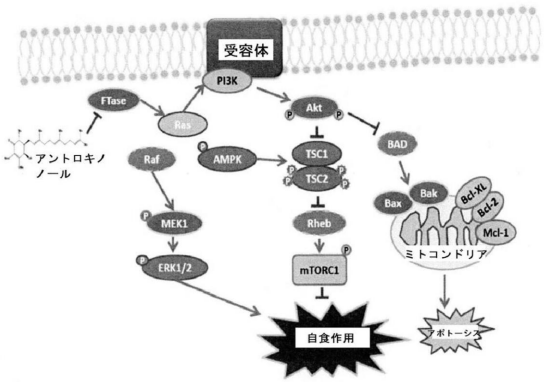
【図５】



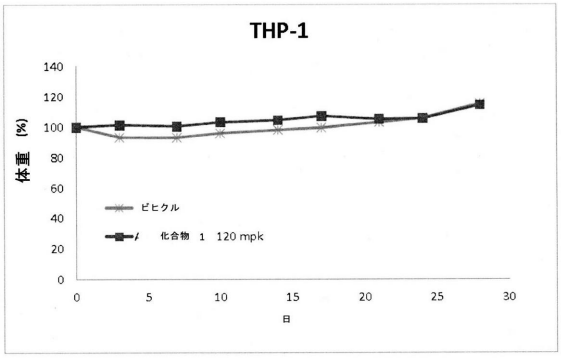
【図６】



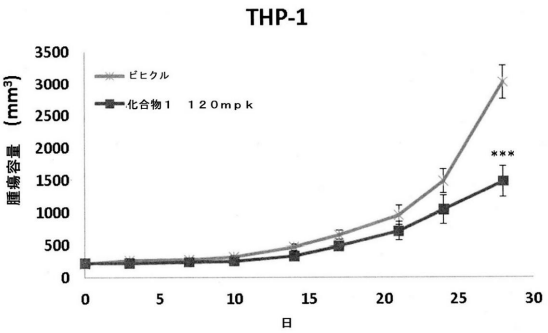
【図７】



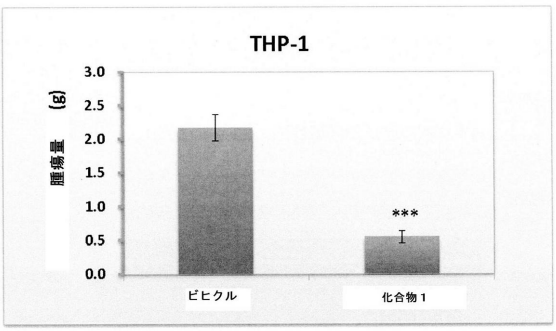
【図８】



【図９】



【図１０】



フロントページの続き

(72)発明者 ウェン，ウーチェ
台湾 ニュー・タイペイ・シティ ダンシュエイ ジョンージェン・イー．ロード セクション２
ナンバー２７－６ １５階
(72)発明者 チェン，チーーミン
台湾 ニュー・タイペイ・シティ ダンシュエイ ジョンージェン・イー．ロード セクション２
ナンバー２７－６ １５階

審査官 六笠 紀子

(56)参考文献 中国特許出願公開第１０２２３２９４２（ＣＮ，Ａ）
国際公開第２０１２／０３９７９３（WO，Ａ１）
国際公開第２０１２／１７０７２０（WO，Ａ１）
米国特許出願公開第２０１１／０００９４９４（ＵＳ，Ａ１）
特開２００９－１０２２８６（ＪＰ，Ａ）
特表２００８－５１４７２１（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１２／０７４８６９（WO，Ａ１）
Antroquinonol displays anticancer potential against human hepatocellular carcinoma cells: a crucial role of AMPK and mTOR pathways, Biochem Pharmacol, ２０１０年, 79 (2), 162-171

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ３１／００－３３／４４
Ａ６１Ｋ ３６／００－３６／９０６８
ＷＰＩ
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）