

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6442615号
(P6442615)

(45) 発行日 平成30年12月19日(2018.12.19)

(24) 登録日 平成30年11月30日(2018.11.30)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 C 317/44 (2006.01)

C O 7 C 317/44

A 6 1 K 31/216 (2006.01)

A 6 1 K 31/216

C O 7 D 209/26 (2006.01)

C O 7 D 209/26 C S P

A 6 1 K 31/405 (2006.01)

A 6 1 K 31/405

A 6 1 K 33/24 (2006.01)

A 6 1 K 33/24

請求項の数 13 (全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-540779 (P2017-540779)
 (86) (22) 出願日 平成28年1月25日(2016.1.25)
 (65) 公表番号 特表2018-505184 (P2018-505184A)
 (43) 公表日 平成30年2月22日(2018.2.22)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2016/071934
 (87) 国際公開番号 W02016/119643
 (87) 国際公開日 平成28年8月4日(2016.8.4)
 審査請求日 平成29年9月27日(2017.9.27)
 (31) 優先権主張番号 201510040470.5
 (32) 優先日 平成27年1月27日(2015.1.27)
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

(73) 特許権者 517265255

ベイジン アン ジェン シー バイオー
 メディカル テクノロジー カンパニー
 リミテッド

Beijing An Jian Xi
 Bio-Medical Technol
 ogy Co., Ltd

中華人民共和国, 100036 ベイジン
 , ハイディエン ディストリクト, ツイウ
 ェイ ロード, ナンバー 2, インスティ
 チュート フォー プリンティング, ビル
 ディング 5, ルーム X301

(74) 代理人 100139594

弁理士 山口 健次郎

最終頁に続く

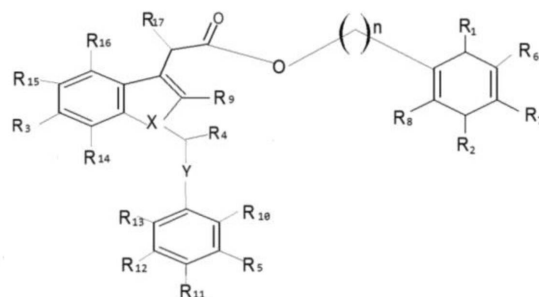
(54) 【発明の名称】 インドール酢酸コア構造を含む化合物とその応用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記の式(1)で表される化合物、及びその薬学的に許容される塩、水和物、有機溶媒和物。

【化 1】



(1)

(式(1)では、 $R_1 \sim R_{17}$ は、それぞれ独立して水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子、炭素数1～8のアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、オキソ基(=O)、ヒドロキシル基、アミノ基、アジド基、カルボキシル基、及び炭素数1～8のアルキルスルフィニル基から選択されるものである。Xは炭素原子または窒素原子である。Yは、単結合、炭素数1～8のアルキレン基、炭素数6～20のアリーレン基、及び炭素数4～20のヘテロアリーレン基から選択されるものである。nは5～20の整数である。Xが炭素原子であり、 R_4 が一価の基である場合、X、 R_4 、Yと同時に結合す

る炭素原子が、Xと二重結合を形成する。)

【請求項2】

R₁ ~ R₄ は、それぞれ独立して水素原子、フッ素原子、塩素原子、炭素数1 ~ 4のアルキル基、炭素数1 ~ 4のアルコキシ基、オキシ基 (= O)、及びヒドロキシル基から選択されるものであり、

R₁₁ は、水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子、アジド基、及び炭素数1 ~ 3のアルキルスルフィニル基から選択されるものであり、

R₆ ~ R₉ は、それぞれ独立して水素原子、炭素数1 ~ 4のアルキル基、及び炭素数1 ~ 4のアルコキシ基から選択されるものであり、

R₅、R₁₀、R₁₂ ~ R₁₇ は、それぞれ独立して水素原子、炭素数1 ~ 4のアルキル基、炭素数1 ~ 4のアルコキシ基、及びアミノ基から選択されるものであり、

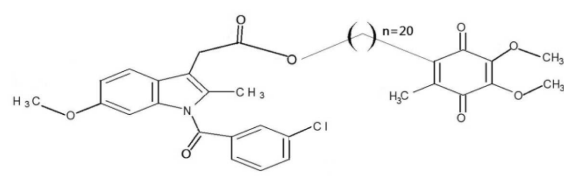
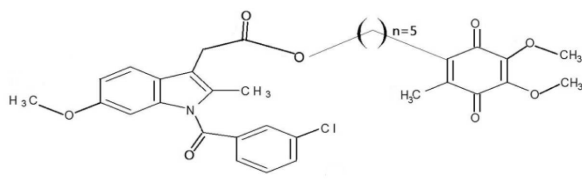
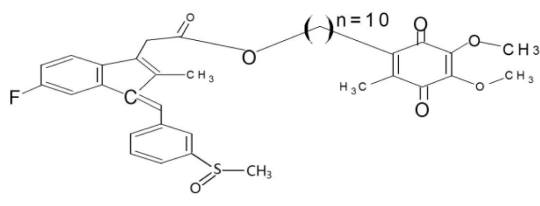
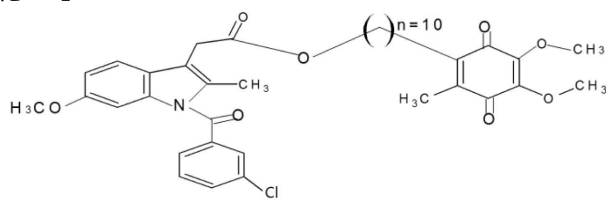
Xは炭素原子または窒素原子であり、

Yは、単結合、炭素数1 ~ 6のアルキレン基、炭素数6 ~ 15のアリーレン基、及び炭素数4 ~ 15のヘテロアリーレン基から選択されるものであることを特徴とする請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

前記化合物は、下記の式a、c、e、及びfのいずれか一つで表される化合物、及びその薬学的に許容される塩、水和物、有機溶媒和物から選択されるものであることを特徴とする請求項1に記載の化合物。

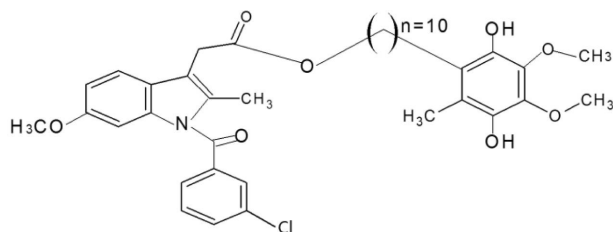
【化2】



【請求項4】

下記の式bで表される化合物、及びその薬学的に許容される塩、水和物、有機溶媒和物

【化 3】



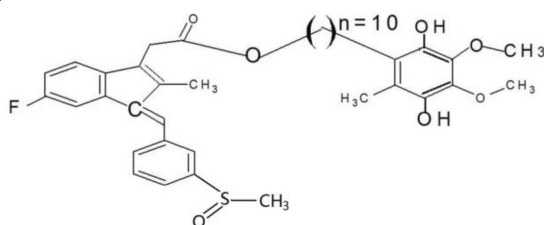
b

【請求項 5】

下記の式 d で表される化合物、及びその薬学的に許容される塩、水和物、有機溶媒和物

10

【化 4】



d

【請求項 6】

20

(i) 上記の請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物、その薬学的に許容される塩、水和物、または有機溶媒和物と、

(i i) 薬学的に許容される任意のフィラー、担体、および希釈剤の中の 1 つ以上と、

(i i i) 成分 (i) と異なる任意の薬学的に活性な成分と、
を含む医薬組成物。

【請求項 7】

前記 (i i i) 成分 (i) と異なる任意の薬学的に活性な成分は、ウラシルマスタード、アミホスチン、クロラムブシル、ナイトロジェンマスタード、シクロホスファミド、パクリタキセル、チオテパ、シスプラチン、プスルファン、ドキシソルピシン、カルムスチン、5 - フルオロウラシル、セレコキシブ、メルカプトプリン、メトトレキサート、テガフルール、ゲフィチニブ、ヒドロキシ尿素、シタラビン、カルボプラチン、イソプロピルプラチナ、プレドニゾン、プレドニゾロン、デキサメタゾン、ジエチルスチルベストロール、エストラジオール、ラロキシフェン、プロピオン酸テストステロン、セムスチン、ロムスチン、チオグアニン、エトポシド、ピンクリスチン、イホスファミド、ビノレルビン、ゲムシタビン、マイトマイシン、ビンデシンの中から選択される一つ以上であることを特徴とする請求項 6 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 8】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物、及びその薬学的に許容される塩、水和物、有機溶媒和物の、抗腫瘍の薬物を製造するための使用。

【請求項 9】

40

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物、及びその薬学的に許容される塩、水和物、有機溶媒和物、または請求項 6 又は 7 に記載の組成物の、治療に対する腫瘍の感受性を増強する薬物を製造するための使用。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物、及びその薬学的に許容される塩、水和物、有機溶媒和物、または請求項 6 又は 7 に記載の組成物の、悪性腫瘍に対する放射線治療や化学治療の毒性を低下させる薬物を製造するための使用。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の化合物、及びその薬学的に許容される塩、水和物、有機溶媒和物、または請求項 6 又は 7 に記載の組成物の、炎症性疾患および退行性疾患

50

を治療する薬物を製造するための使用。

【請求項 1 2】

前記薬物は経口薬であることを特徴とする請求項 8 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 1 3】

前記薬物は、経口、静脈内、経皮吸収、経粘膜吸収、体内移植の中の 1 つ以上の方式により投与されることを特徴とする請求項 8 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0 0 0 1】

本発明は、医学及び薬物化学の分野に属し、治療に対する腫瘍の感受性を増強したり、悪性腫瘍に対する放射線治療や化学治療の毒性を低下したりする化合物及びその製造方法、並びにその用途に関し、具体的に、インドール酢酸コア構造を含む化合物、及びそれが治療に対する腫瘍の感受性を増強したり、悪性腫瘍に対する放射線治療や化学治療の毒性を低下したりすることに用いられる応用を提供する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

化学療法や放射線療法は癌の主な治療法であるが、これらの治療は、臨床で共通の課題、即ち、治療による副作用及び治療に対する癌の感受性がないことに直面している。これら 2 つの治療法は、正常細胞とがん細胞に対する選択性を持たないので、正常な細胞が損傷され、これにより、副作用が産生した。患者が放射線療法と化学療法による合併症で死んでしまう場合が多く、また、生存者の生活の質も非常に悪いである。副作用は、治療量の投与を制限し、大幅に治療効果に影響を与えるようになった。

20

【0 0 0 3】

上記の抗腫瘍治療分野の現状及び現在のボトルネックに基づいて、近年、細胞保護剤の臨床使用及び標的抗がん剤の開発は、治療による副作用をある程度に軽減するように見える。しかし、臨床データによると、新世代の標的抗がん剤が、まだ 1、患者が治療に耐性を生じ易いであり、2、標的抗がん剤が高価で、適応症狭いであるという二つの大きな欠点があることを実証した。よって、95%程度の腫瘍患者に対して、まだ伝統的な治療法を主にする。販売しているアミホスチンのような細胞保護剤は、適応症が非常に狭い、そして治療効果に顕著な干渉が存在する。一方、グルタチオン、ビタミン E という従来の酸化防止剤は、臨床的に効果がないことが証明されている。

30

【0 0 0 4】

もう一つ非常に困難な問題は、腫瘍細胞が治療中に耐性を生成することである。既存の放射線増感剤、例えば、グリシジダゾールナトリウムは、腫瘍の一部の放射線増感治療のみに適し、適応症が狭く、禁忌症が多く、且つ、本身が顕著な心毒性を有し、ならびに正常組織の酸化的損傷を促進するという欠点を存在する。

【0 0 0 5】

既存の製品が増感効果のみ、あるいは副作用を軽減する機能のみを持って、そのため、治療に対する腫瘍の感受性を増強するとともに、副作用を軽減できる新規の薬物を開発することは、臨床的に必要がある。腫瘍が治療に対する耐性の根本原因は、細胞増殖に関する酵素の機能亢進である。研究により、腫瘍細胞の COX 2 過剰発現が、治療に対する腫瘍耐性の理由の一つであり、COX 2 の発現を抑制することが、ある程度に治療に対する腫瘍の感受性を回復させることができることを見出した。しかし、臨床実験の結果により、選択的 COX 2 阻害剤が一定の増感効果を有するが、COX 2 阻害剤による心血管系の副作用がその適用を制限することが示されている。本発明者の最新の研究により、実際には、COX 1 の活性は、治療に対する腫瘍の感受性があるかどうかの決定因数であることを見出した。即ち、COX 1 および COX 2 を同時に抑制することに限り、最大に治療に対する腫瘍の感受性を向上させる目的を達成できる。従来の COX 1 と COX 2 を同時に

40

50

抑制できる薬物は、強い胃腸部出血の副作用と一定の肝毒性を引き起こし、大幅にその実用化を制限してしまう。従って、本野では、COX 1とCOX 2を同時に抑制し、且つ上記の胃腸刺激や肝毒性を克服できる新規の薬物を開発することを切に要する。

【0006】

また、がんの治療中に、抗酸化損傷薬を同時に使用することにより、治療による副作用を軽減するが多いが、肝臓の初回通過効果により、いくつかの慣用の抗酸化損傷薬の経口バイオアベイラビリティが悪いため、生体内での抗酸化効果が不十分である。よって、高いバイオアベイラビリティを持ち、且つ副作用を緩和することを維持することができる薬物の開発にも、非常に望ましいである。

【0007】

本発明が新規な化合物を開発し、がん治療における治療抵抗性（耐性）と副作用との2本の主要な苦境を効果的に一挙解決した。具体的に、本発明によって開発された化合物は、重大な胃腸刺激を引き起こさないことにより、肝毒性を避けしつつ、優れた腫瘍増感効果と癌治療の副作用の影響を受けないように正常細胞を保護する効果を有する。本発明者がこの化合物を用いて結腸癌のマウスに実験的治療を行い、その結果、治療群のマウスの腫瘍の体積が顕著に減少し、正常組織の損傷が大幅に低下した。

【0008】

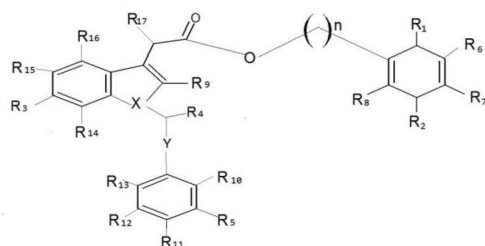
また、出願人は、本発明の化合物が、腫瘍を治療する薬物として、単独で用いてもよいし、その他の薬物と組み合わせて用いてもよいこと、及び、それを腫瘍の治療に用いることで、腫瘍細胞の増殖を抑制し、または腫瘍細胞を死滅する効果を達成することを見出した。

【発明の内容】

【0009】

本発明の第1の態様が、下記の式(1)で表される化合物、及びその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、有機溶媒和物を提供する。

【化1】



(1)

式(1)では、 $R_1 \sim R_{17}$ は、それぞれ独立して水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子、炭素数1～8のアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、カルボニル基、ヒドロキシル基、アミノ基、アジド基、カルボキシル基、及び炭素数1～8のアルキルスルフィニル基から選択されるものであり、Xは炭素原子または窒素原子であり、Yは、単結合、炭素数1～8のアルキレン基、炭素数6～20のアリーレン基、及び炭素数4～20のヘテロアリーレン基から選択されるものであり、nは5～20の整数である。一つの好ましい実施態様では、 $R_1 \sim R_4$ は、それぞれ独立して水素原子、フッ素原子、塩素原子、炭素数1～4のアルキル基、炭素数1～4のアルコキシ基、カルボニル基、及びヒドロキシル基から選択されるものであり、 R_{11} は、水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子、アジド基、及び炭素数1～3のアルキルスルフィニル基から選択されるものであり、 $R_6 \sim R_9$ は、それぞれ独立して水素原子、炭素数1～4のアルキル基、及び炭素数1～4のアルコキシ基から選択されるものであり、 R_5 、 R_{10} 、 $R_{12} \sim R_{17}$ は、それぞれ独立して水素原子、炭素数1～4のアルキル基、炭素数1～4のアルコキシ基、及びアミノ基から選択されるものであり、Xは炭素原子または窒素原子であり、Yは、単結合、炭素数1～6のアルキレン基、炭素数6～15のアリーレン基、及び炭素数4～15のヘテロアリーレン基から選択されるものであり、nは5～20の整数であり、好ましくはn=10である。

【 0 0 1 0 】

本発明の式(1)では、各原子の接続関係を明確に定義したが、一般、化学構造を描く習慣によると、原子の一部が省略されている。例えば、



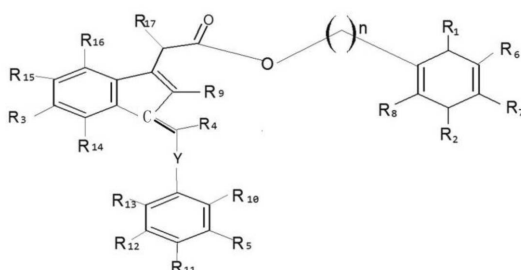
基に、炭素に結合する水素原子を省略しているが、この省略することは、当技術分野で公知の一般的な知識に属する。式(1)中の原子種の変化によると、当業者は、式(1)中の省略された原子と接続方式を明確に確認できる。

【 0 0 1 1 】

具体的に、Xが炭素原子であり、R₄が一価の基である場合、X、R₄、Yと同時に結合する炭素原子が、必ずXと二重結合を形成する。下記式で示される通りである。

10

【化2】

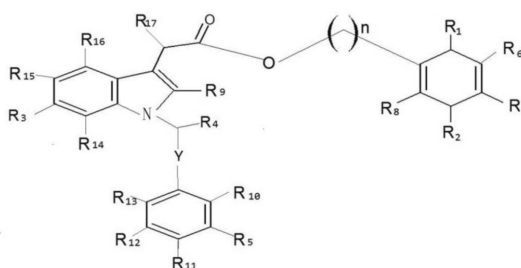


20

【 0 0 1 2 】

Xが窒素原子であり、且つR₄が一価の基である場合、X、R₄、Yと同時に結合する炭素原子が、必ずXと単結合を形成する。下記式で示される通りである。

【化3】



30

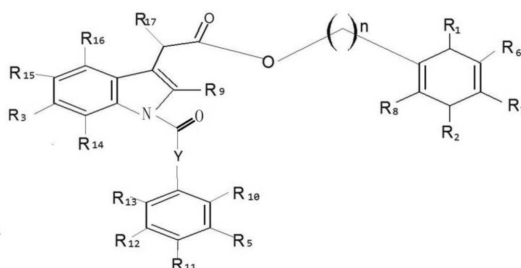
【 0 0 1 3 】

本発明において、「R₄がカルボニル基である」は、R₄がカルボニル基の酸素原子として、それに接続された炭素原子とともにカルボニル基を形成することを表す。

【 0 0 1 4 】

具体的に、Xが窒素原子であり、且つR₄がカルボニル基である場合、式(1)の化合物は、以下の構造を有する。

【化4】



40

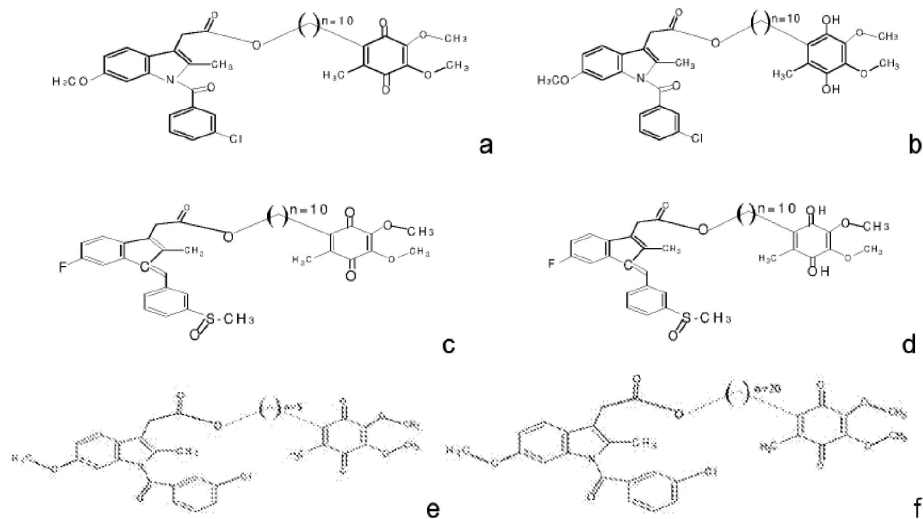
【 0 0 1 5 】

本発明の一つのより好ましい態様では、前記化合物は、下記の式a~fのいずれかで表される化合物、及びその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、有機溶媒和物から選

50

扱われるものである。

【化 5】



【0016】

本発明の第2の態様が、(i)上記の本発明の化合物、その薬学的に許容される塩、エステル、水和物、有機溶媒和物、薬物前駆体、代謝中間体、または代謝産物と、(ii)薬学的に許容される任意のフィラー、担体、および希釈剤の中の1つ以上と、(iii)成分(i)と異なる任意の薬学的に活性な成分とを含む薬学的組成物を提供する。好ましくは、前記成分(i)が、式a~dで表される化合物の一つ、式aで表される化合物と式bで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式cで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式dで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式eで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式fで表される化合物の混合物、式bで表される化合物と式cで表される化合物の混合物、式bで表される化合物と式dで表される化合物の混合物、式bで表される化合物と式eで表される化合物の混合物、式bで表される化合物と式fで表される化合物の混合物、式cで表される化合物と式dで表される化合物の混合物、式cで表される化合物と式eで表される化合物の混合物、式cで表される化合物と式fで表される化合物の混合物、式dで表される化合物と式eで表される化合物の混合物、式dで表される化合物と式fで表される化合物の混合物、式eで表される化合物と式fで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式bで表される化合物と式cで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式cで表される化合物と式dで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式bで表される化合物と式eで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式bで表される化合物と式fで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式dで表される化合物と式eで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式dで表される化合物と式fで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式eで表される化合物と式fで表される化合物の混合物、式bで表される化合物と式cで表される化合物と式dで表される化合物の混合物、式bで表される化合物と式eで表される化合物と式fで表される化合物の混合物、式aで表される化合物と式bで表される化合物と式cで表される化合物と式dで表される化合物の混合物から選択されるものである。本発明の一つの好ましい態様では、前記(iii)に記載の成分(i)と異なる任意の薬学的に活性な成分は、ウラシルマスタード、アミホスチン、クロラムブシル、ナイトロジェンマスタード、シクロホスファミド、パクリタキセル、チオテパ、シスプラチン、ブスルファン、ドキシソルピシン、カルムスチン、5-フルオロウラシル、セレコキシブ、メルカプトプリン、メトトレキサート、テガフル、ゲフィチニブ、ヒドロキシ尿素、シタラピン、カルボプラチン、イソプロピルプラチナ、プレドニゾン、プレドニゾン、デキサメタゾン、ジエチルスチルベストロール、エストラジオール、ラロキシフェン、プロピオン酸テストステロン、セムスチン、ロムスチン、チオグアニン、エトボシド、ピンクリスチン、イホスファミド、ビノレルピン、ゲムシタピン、マイトマ

10

20

30

40

50

イシン、ピンデシンの中から選択される一つ以上である。

【0017】

本発明の第3の態様が、本発明に記載の化合物、及びその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、有機溶媒和物、或いは本発明に記載の組成物は、治療に対する腫瘍の感受性を増強する薬物を製造することに用いられる応用に係る。好ましくは、前記薬物は経口薬である。又は、前記薬物は経口、静脈内、経皮吸収、経粘膜吸収、体内移植の中の1つ以上の方式により投与されることができる。

【0018】

本発明の第4の態様が、本発明に記載の化合物、及びその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、有機溶媒和物、或いは本発明に記載の組成物は、悪性腫瘍に対する放射線治療や化学治療の毒性を低下させる薬物を製造することに用いられる応用に係る。好ましくは、前記薬物は経口薬である。又は、前記薬物は経口、静脈内、経皮吸収、経粘膜吸収、体内移植の中の1つ以上の方式により投与されることができる。

【0019】

本発明の第5の態様が、本発明に記載の化合物、及びその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、有機溶媒和物、或いは本発明に記載の組成物は、炎症性疾患および退行性疾患を治療する薬物を製造することに用いられる応用に係る。好ましくは、前記薬物は経口薬である。又は、前記薬物は経口、静脈内、経皮吸収、経粘膜吸収、体内移植の中の1つ以上の方式により投与されることができる。

【0020】

本発明の第6の態様が、本発明に記載の化合物、及びその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、有機溶媒和物、或いは本発明に記載の組成物は、抗腫瘍の薬物を製造することに用いられる応用に係る。好ましくは、前記薬物は経口薬である。又は、前記薬物は経口、静脈内、経皮吸収、経粘膜吸収、体内移植の中の1つ以上の方式により投与されることができる。

【図面の簡単な説明】

【0021】

以下の詳細な説明が、図面を組み合わせ、より詳細に本発明の内容、特徴、および目的を解釈し、図面の簡単な説明が以下の通りである。

図1aは、胃粘膜COX1活性に対する本発明の化合物の阻害効果を示す図である。

図1bは、心筋COX1活性に対する本発明の化合物の阻害効果を示す図である。

図1cは、COX2の活性に対する本発明の化合物の阻害効果を示す図である。

図2は、本発明の化合物が細胞へ入る効率を示す図である。

図3は、血漿環境および細胞内における本発明の化合物の安定性を示す図である。

図4aは、本発明の化合物が動物体中における代謝動態を示す図である。

図4bは、動物に本発明の化合物を経口投与した後の血漿における完全な中間体IIの含有量を示す図である。

図5は、正常細胞に対して本発明の化合物の毒性を示す図である。

図6aは、本発明の化合物が、選択的に、シスプラチンの腫瘍細胞を殺す効果を増加することを示す図である。

図6bは、本発明の化合物が正常細胞と腫瘍細胞のABCG2とP21の発現に対する影響を示す図である。

図7は、本発明の化合物が、線によるマウスの生存率に対する影響を示す図である。

図8は、本発明の化合物が、タキソールによる動物の末梢白血球の損傷に対する保護作用を示す図である。

図9aは、本発明の化合物が加水分解された活性成分(中間体I、中間体II)は、腫瘍組織および正常な周辺組織における含有量を示す図である。

図9bは、本発明の化合物は、化学療法薬が腫瘍を殺す効果を増加しつつ、化学療法薬が正常組織を殺すことを保護することを示す図である。

図9cは、本発明の化合物と化学療法薬の相乗抗腫瘍効果を示す図である。

10

20

30

40

50

図10は、本発明の化合物が、単独で使用される場合、ヌードマウス腫瘍に対する抑制効果を示す図である。

図11は、本発明の化合物が、ドキソルビシンを組み合わせで使用される場合、ヌードマウス腫瘍に対するドキソルビシンの抑制効果を増強することを示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0022】

以下の内容では、本発明をさらに詳細に説明する。しかし、以下の具体的な実施形態は、単に例として本発明の具体的な動作例が与えられているが、本発明の範囲はこれに限定されないことに留意すべきである。本発明の範囲は、特許請求の範囲のみによって限定される。当業者は、本発明の特許請求の範囲で限定されている範囲で、本発明の実施形態に様々な他の改善または代替が可能であり、且つ、同じな技術的效果を実現でき、本発明の最後の目的を達成できることを明らかに想到できる。

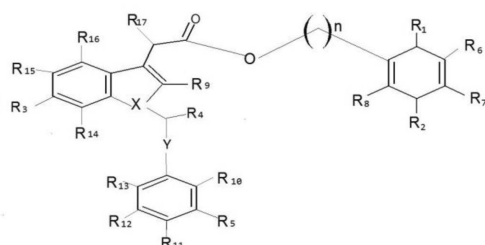
【0023】

本発明において、特に記載のない限り、全ての比率はモル比または重量比であり、全ての百分率は重量百分率であり、温度の単位は摂氏度()であり、圧力の単位はPaである。室温は、実験室での通常的环境温度を指し、季節や位置によって変化し、通常25である。また、本明細書に記載の全ての数値範囲は、エンドバリューを含み、開示された範囲の上限値と下限値を任意に組み合わせることによって得られる新たな数値範囲を含むことができる。

【0024】

本発明の第1の態様が、下記の式(1)で表される化合物、及びその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、有機溶媒和物を提供する。

【化6】



(1)

式(1)では、 $R_1 \sim R_{17}$ は、それぞれ独立して水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子、炭素数1～8のアルキル基、炭素数1～8のアルコキシ基、カルボニル基、ヒドロキシル基、アミノ基、アジド基、カルボキシル基、及び炭素数1～8のアルキルスルフィニル基から選択されるものであり、Xは炭素原子または窒素原子であり、Yは、単結合、炭素数1～8のアルキレン基、炭素数6～20のアリーレン基、及び炭素数4～20のヘテロアリーレン基から選択されるものであり、nは5～20の整数である。好ましくは、 $R_1 \sim R_4$ は、それぞれ独立して水素原子、フッ素原子、塩素原子、炭素数1～4のアルキル基、炭素数1～4のアルコキシ基、カルボニル基、及びヒドロキシル基から選択されるものであり、 R_{11} は、水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子、アジド基、及び炭素数1～3のアルキルスルフィニル基から選択されるものであり、 $R_6 \sim R_9$ は、それぞれ独立して水素原子、炭素数1～4のアルキル基、及び炭素数1～4のアルコキシ基から選択されるものであり、 R_5 、 R_{10} 、 $R_{12} \sim R_{17}$ は、それぞれ独立して水素原子、炭素数1～4のアルキル基、炭素数1～4のアルコキシ基、及びアミノ基から選択されるものであり、Xは炭素原子または窒素原子であり、Yは、単結合、炭素数1～6のアルキレン基、炭素数6～15のアリーレン基、及び炭素数4～15のヘテロアリーレン基から選択されるものであり、nは5～20の整数であり、より好ましくは、 $n = 10$ である。より好ましくは、前記化合物は、上記の式a～fのいずれかで表される化合物、及びその薬学的に許容される塩、エステル、水和物、有機溶媒和物から選択されるものである。

【0025】

本発明において、炭素数 1 ~ 8 のアルキル基は、例えばメチル、エチル、n - プロピル、イソプロピル、n - ブチル、sec - ブチル、イソブチル、t - ブチル、n - ペンチル、イソペンチル、sec - ペンチル、tert - ペンチル、n - ヘキシル、イソヘキシル、sec - ヘキシル、t - ヘキシル、n - ヘプチル、イソヘプチル、sec - ヘプチル、tert - ヘプチル、n - オクチル、イソオクチル、sec - オクチルおよび tert - オクチルから選択される。炭素数 1 ~ 8 のアルコキシ基は、上記アルキル基のいずれかが酸素原子を介して化合物の骨格と結合したものである。前記炭素数 1 ~ 8 のアルキレン基は、メチレン、エチレン、n - プロピレン、イソプロピレン、n - ブチレン、sec - ブチレン、イソブチレン、tert - ブチレン、n - ペンチレン、イソペンチレン、sec - ペンチレン、tert - ペンチレン、n - ヘキシレン、イソヘキシレン、sec - ヘキシレン、tert - ヘキシレン、n - ヘプチレン、イソヘプチレン、sec - ヘプチレン、tert - ヘプチレン、n - オクチレン、イソオクチレン、sec - オクチレン、tert - オクチレンから選択される。好ましくは、炭素数 6 ~ 20 のアリーレン基は、置換もしくは無置換のフェニレン基、置換または無置換のナフチレン基、置換もしくは無置換のアントリレン基、置換もしくは無置換のピフェニレン基、置換もしくは無置換のピナフチレン基から選択される。前記置換のアリーレン基が、水素原子、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子、炭素数 1 ~ 8 のアルキル、炭素数 1 ~ 8 のアルコキシ、カルボニル基、ヒドロキシル基、アミノ基、アジド基、カルボキシ基、および炭素数 1 ~ 8 のアルキルスルフィニルから選択される 1 つ以上で置換されたものである。炭素数 4 ~ 20 のヘテロアリーレン基は、上記アリーレン基の芳香環における任意一つ以上の炭素原子が N、O、S から選択されるヘテロ原子に置換されることで得られる基である。本発明では、Y が「単結合」を示す場合、R₄ に結合する炭素原子は、式 1 における下方のベンゼン環に直接結合し、その間に他の基がなく、例えば、式 a で表される化合物では、R₄ は、「O =」を表し、R₄ 基に結合する炭素原子は、下のクロロフェニルに直接結合し、ここで、Y は単結合を表す。

【0026】

悪性腫瘍に対する放射線治療や化学治療を実施する過程では、本発明の化合物を患者に投与することで、正常な組織細胞、および細胞に選択的に保護を与え、放射線治療や化学治療による副作用を軽減し、且つ治療に対する腫瘍組織の感受性を増強する。高用量の本発明の化合物を化学療法薬として癌患者に投与し、腫瘍の増殖を顕著に阻害することもできる。一般に、本発明の化合物は、任意のタイプの癌患者に使用することができ、前記癌の例として、肝臓癌、胃癌、食道癌、大腸癌、上咽頭癌、乳癌、リンパ腫、腎臓癌、膵臓癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮癌、骨の癌、胆嚢癌、口唇癌、メラノーマ、舌がん、喉頭がん、白血病、前立腺癌、脳腫瘍、血管腫が挙げられるが、これらに限定されない。実際には、放射線治療や化学治療を受けた任意の患者は、本発明の化合物の取り込みによって、放射線療法や化学療法による副作用を軽減し、治療に対する腫瘍の感受性を増強する効果を得ることができる。

【0027】

本発明の化合物は、任意の剤形に調製され、適切な投与方式で放射線治療や化学治療を受けている患者に投与されることができる。例えば、本発明の化合物は、溶液、懸濁剤、乳剤、錠剤、カプセル剤、丸剤、インプラント等の剤型に製造され、放射線治療や化学治療を実施する前、実施中、または実施後に、経口、静脈内注射、経皮吸収、経粘膜吸収、体内移植等の方式により、患者に投与されることができる。当業者は、患者の症状、身体の状態、具体的放射線治療や化学治療の方案に応じて、本発明の製品の用量を適切に選択することができる。毎日の用量は、一度に投与してもよく、複数回に分割し投与してもよい。本発明の一つの好ましい実施形態において、本発明の製剤は、経口投与される。例えば、本発明の一つの具体的な実施形態において、本発明の化合物は、1 日 2 回経口投与し、人間の有効用量換算で 1 ~ 5 mg / kg 体重 / 回を投与される。本発明者は、本発明の化合物が、抗癌剤の前の 12 ~ 24 時間に、最も好ましくは 12 時間に投与された場合、正常組織を選択的に保護する効果および腫瘍細胞の耐性を阻害する効果が大幅に向上

させることができるということを見出した。

【実施例】

【0028】

以下の実施例において、本発明の化合物のいくつかの具体例の合成と生物学的機能検査及び実験的腫瘍治療を具体的に説明するが、本発明の範囲は、これらの実施例に限定されないことを理解すべきである。

【0029】

特に説明しない限り、以下において、実施例に使用された化学試薬が、シグマアルドリッチ社から購入した分析グレードの試薬であった。使用された水は、脱イオン再蒸留水であった。以下の試験において、薄層クロマトグラフィー（シグマ社製TLCプレート）を用いることで、化学反応を監視した。核磁気共鳴装置（アジレント社製400-MR D2）を用いることで、化合物の構造を確認した。高圧液体クロマトグラフィー（アジレント1200、アジレント社）を用いることで、化合物の純度を検査する。液体クロマトグラフィー・質量分析（LC-MS、アジレント6400、アジレント社）を用いることで、化合物の分子量を測定した。

【0030】

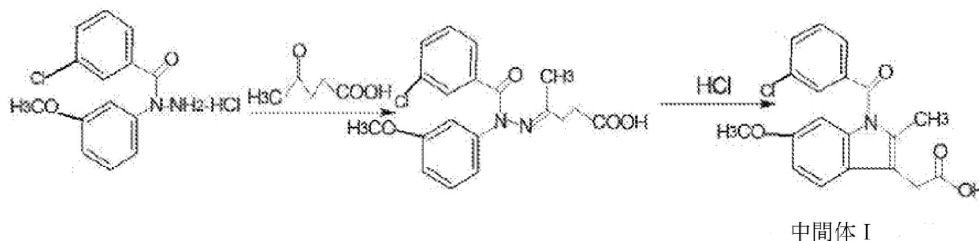
実施例1：本実施例において、式a～fで表される化合物をそれぞれ合成した。

【0031】

式aで表される化合物の合成

中間体Iの合成：

【化7】

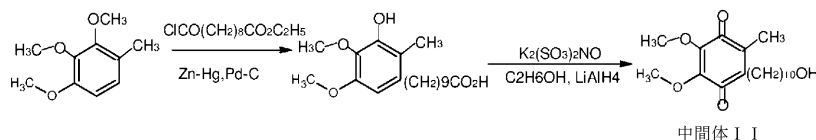


(1) 乾燥した清潔な反応フラスコでは、攪拌しながらエタノール200ml、N-m-クロロベンゾイル-m-メトキシフェニルヒドラジン（2.6g、0.01mol）、及びレブリン酸（2.3g、0.02mol）、塩酸（0.3g、0.01mol）を添加し、窒素ガスを通じる条件で5時間還流反応させ、ジクロロメタンで抽出を行い、2%NaOHで洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、白色固体を得、その収率が51%であった。(2) 上記のように調製された白色固形物（1.8g、0.005mol）をジクロロメタン50mlに溶解させ、塩酸（0.37g、0.01mol）を滴下し、18時間還流反応させ、飽和炭酸ナトリウムで洗浄し、ジクロロメタンで抽出を行い、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、イソプロパノールで再結晶化し、灰色の固体を得、その収率が87%であった。¹H NMR (DMSO-d₆) 8.24 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.39 (s, 1H), 7.19 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.06 (dd, J = 2.4, 8.9 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.73 (s, 2H)。

【0032】

中間体IIの合成：

【化8】



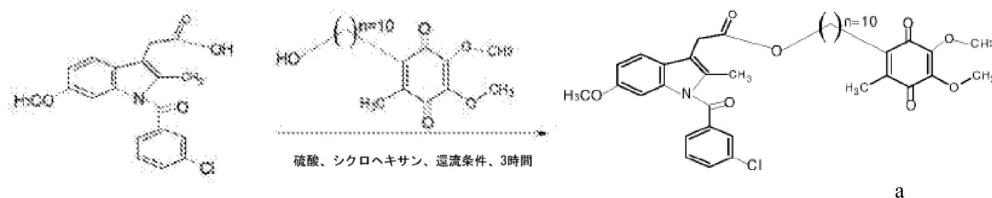
(1) 乾燥した清潔な反応フラスコ中では、攪拌しながらジクロロメタン（20ml）、3,4,5-トリメトキシトルエン（1.82g、0.01mol）、10-アセトキ

シデカノイルクロリド (2.73 g, 0.015 mol) を添加し、後で無水塩化アルミニウム粉末 (3.33 g, 0.025 mol) を添加し、氷水浴で 4 に冷却して反応を開始し、3 日後に、10% のパラジウム - 炭素 0.5 ml を添加し、続けて 25 で 8 時間反応し、反応終了後、氷水 50 ml に注ぎ、ジクロロエタン 20 ml を添加して抽出を行い、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、無色油状物 3.10 g を得、その収率が 83% であった。(2) 上記のように調製された生成物 (3 g, 0.01 mol) を DMF 30 ml に溶解させ、Freremy の塩 (Freremy の塩 / $(K_2[ON(SO_3)_2])$) 2 当量、及びリン酸二水素カリウム 0.1 当量を加え、50 で 8 時間攪拌し、エタノール (0.12 g, 0.025 mol) 及び塩酸 (0.37 g, 0.01 mol) を滴下し、50 で 8 時間反応させ、ジクロロメタンで抽出を行った後、直接に次の反応に入り、ジクロロメタンで抽出した生成物 (1.6 g, 0.005 mol) を DMF 20 ml に溶解させ、水素化アルミニウムリチウム (0.19 g, 0.005 mol) を添加し、80 で 3 時間反応させ、ジクロロメタンで 2 回抽出を行い、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥まで減圧下で蒸留し、n ヘキサン ジエチルエーテル混合溶媒で再結晶させ、オレンジ色の針状の製品 (中間体 II) 2.2 g を得、その収率が 63% であり、HPLC 含有量が 98.10% であった。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm): 1.28 [br, s, 14 H], 1.53 [br, s, 2 H], 2.01 [s, 3 H], 2.44 [t, 2 H], 3.64 [t, 2 H], 3.98 [d, 6 H].

【0033】

この実施例では、以下に示される工程で式 a で表される化合物を合成した。

【化 9】



中間体 II (508 mg, 1.5 mmol) を無水シクロヘキサン 10 ml に溶解させ、攪拌機、冷却器、油水分離器、温度計を備える四つ口フラスコに入れ、加熱 (65) し、それらが十分に溶解するまで攪拌し、激しく攪拌しながら、ゆっくりと硫酸 21 mg (0.21 mmol) を滴下し、濃硫酸を滴下した後、25 に昇温までこの混合物を加熱して、中間体 I (1610 mg, 4.5 mmol) を滴下し、滴下が完了した後、3 ~ 8 時間還流・分水し、反応を TLC でモニターし、中間体 II の信号が検出されない時点から、次の後処理を行う：反応系を室温に冷却し、系に飽和炭酸ナトリウム水溶液を滴下し、水相が中性であるように中和し、静置分液し、有機相を水 (25 ml X 3) で洗浄し、遠心分離または濾過し、次いで遠心分離した沈殿物ケーキをシクロヘキサン 25 ml に溶解させ、次いで、混合液 (メタノール 12.5 ml + 飽和炭酸ナトリウム溶液 12.5 ml) 25 ml と混合させ、有機相を分離し、さらにこの有機相を混合液 (メタノール 12.5 ml + 飽和炭酸ナトリウム溶液 12.5 ml) 25 ml で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで 2 時間乾燥させ、減圧下で回転蒸発させ、赤茶色ゼリー状製品を得た (収率：78%、純度 98.3%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm): 7.68 (2 H, dd, J = 2 Hz, 6.5 Hz), 7.48 (2 H, dd, J = 2 Hz, 6.5 Hz), 6.98 (1 H, d, J = 2 Hz), 6.88 (1 H, d, J = 9 Hz), 6.68 (1 H, dd, J = 2 Hz, 9 Hz), 5.93 (t, 1 H, J = 11.0 Hz); 5.60 (m, 1 H); 5.35 - 5.26 (m, 1 H); 5.20 - 4.94 (2 H, ブロード・ピーク (broad)), 4.63 (2 H, d, J = 6.5 Hz), 3.99 (s, 6 H, 2 x -OCH₃), 3.41 (t, J = 6.8 Hz, 2 H, -CH₂-), 2.45 (t, J = 7.7 Hz, 2 H, ユビキノン (ubiquinone) -CH₂-), 2.02 (s, 3 H, -CH₃), 1.89 (J = 7.4 Hz, 2 H, -CH₂-CH₂-), 1.42 - 1.28 (m, 14 H, -(CH₂)₇-)。LC-MS: C₃

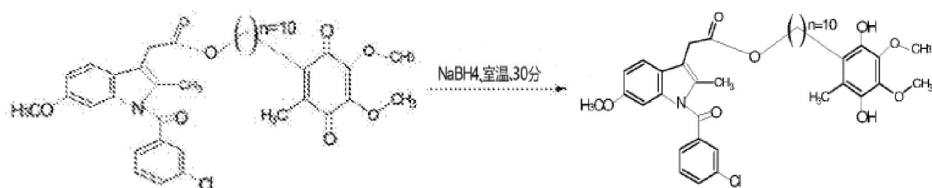
$_{8}H_{44}ClNO_{8}$, $M/Z(M-H)678.23$ 。

【0034】

式bで表される化合物の合成

以下に示される工程により式bの化合物を合成した。

【化10】



中間体 I I I

b

10

合成および精製された化合物 a (1250 mg、1.62 mmol) をジクロロメタン 15 ml に溶解させ、窒素の保護下、ゆっくりと水素化ホウ素ナトリウム / $NaBH_4$ (290 mg, 7.8 mmol) を添加し、室温で 30 分間攪拌して反応させ、反応終了後、5% の塩酸 2 ml を用いて過剰の $NaBH_4$ をクエンチした。ジエチルエーテル 50 ml を反応器に添加し、有機相を順次に 1.2 M の塩酸 (50 ml)、飽和塩化ナトリウム水溶液 (2×50 ml) で洗浄した。有機相を硫酸マグネシウムで乾燥させ、溶媒を減圧下で蒸発させ、黄褐色ゼリー状物を得た (収率: 75%、純度: 97.1%)。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): 7.69 (2H, dd, $J = 2$ Hz, 6.5 Hz), 7.27 (2H, dd, $J = 2$ Hz, 6.5 Hz), 6.86 (1H, d, $J = 2$ Hz), 6.63 (1H, d, $J = 9$ Hz), 6.51 (1H, dd, $J = 2$ Hz, 9 Hz), 5.93 (t, 1H, $J = 11.0$ Hz); 5.60 (m, 1H); 5.35 - 5.26 (m, 1H); 5.31 (s, 1H, -OH), 5.26 (s, 1H, -OH), 3.89 (s, 6H, $2 \times -OCH_3$), 3.41 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, -CH₂-Br), 2.59 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H パンテノール (ubiquinol) -CH₂-), 2.15 (s, 3H , CH₃), 1.85 (quin, $J = 7.4$ Hz, 2H, -CH₂-CH₂-), 1.44 - 1.21 (m, 14H, -(CH₂)₇-)。LC-MS: $C_{38}H_{46}ClNO_8$, $M/Z(M-H)680.23$ 。

20

【0035】

式cで表される化合物の合成

30

中間体 I I I の合成:

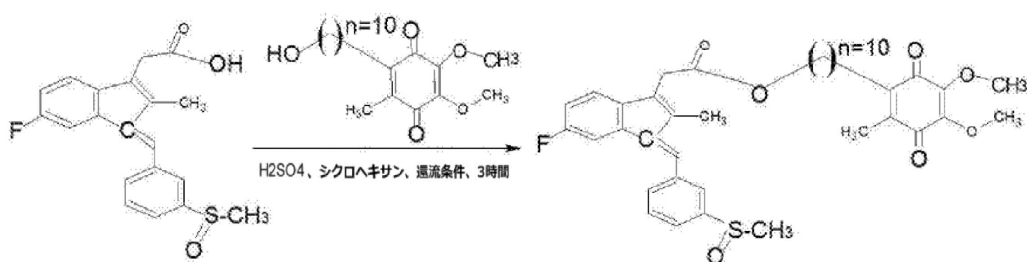
化合物 a において中間体 I を合成するステップで中間体 I I I を合成した。唯一の違いは、中間体 I を合成する時使用された N-p-クロロベンゾイル-p-メトキシフェニルヒドラジンおよびレブリン酸が、それぞれ、フルオロ-2-メチル-3-インデン酢酸エチル及び p-メチルチオベンズアルデヒドに置き換えられることである。再結晶し、淡黄色固体を得、その総収率が 59% であった。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 1.31 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H), 2.20 (s, 3H), 2.97 (s, $J = 6.9$ Hz, 1H), 3.59 (s, 2H), 6.55 - 6.61 (m, 1H), 6.85 - 6.90 (m, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.25 - 7.45 (m, 5)。

【0036】

40

この実施例では、以下に示される工程で式cで表される化合物を合成した。

【化11】



中間体 I I I

c

50

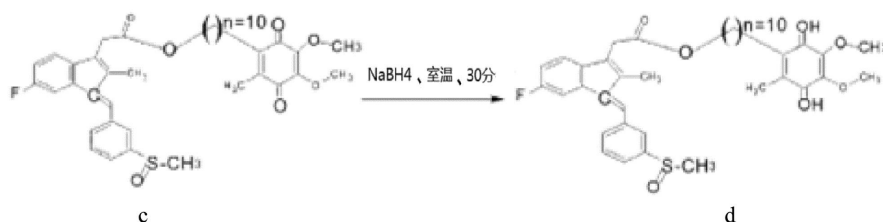
上記のように化合物 a を合成するステップで化合物 c を合成した。唯一の違いは、化合物 a の中間体 I が、中間体 I I I に置き換えられることである。精製した後、赤茶色のゼリー状製品を得た（収率：81%、純度98.3%）。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm): 7.99 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.62 (dd, J = 5.1, 7.8 Hz, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.04 - 6.95 (m, 3H), 6.68 (1H, dd, J = 2 Hz, 9 Hz), 5.93 (t, 1H, J = 11.0 Hz); 5.60 (m, 1H); 5.35 - 5.26 (m, 1H); 5.20 - 4.94 (2H, ブロード・ピーク (broad)), 4.63 (2H, d, J = 6.5 Hz), 3.99 (s, 6H, 2x-OCH₃), 3.41 (t, J = 6.8 Hz, 2H, -CH₂-), 2.45 (t, J = 7.7 Hz, 2H, ユビキノン (ubiquinone) -CH₂-), 2.02, (s, 3H, -CH₃), 1.89 (J = 7.4 Hz, 2H, -CH₂-CH₂-), 1.42 - 1.28 (m, 14H, -(CH₂)₇-)。LC-MS: C₃₉H₄₅FSO₇, M/Z (M-H) 676.85。

【0037】

式 d で表される化合物の合成

この実施例では、以下に示される工程で式 d で表される化合物を合成した。

【化12】

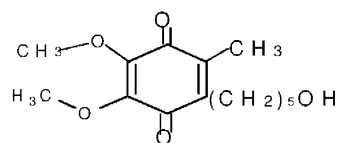


上記のように化合物 b を合成するステップで化合物 d を合成した。唯一の違いは、化合物 b の製造に使用された化合物 a が、化合物 c に置き換えられることである。精製した後、黄褐色のゼリー状製品を得た（収率：73%、純度97.2%）。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm): 7.61 (2H, dd, J = 2 Hz, 6.5 Hz), 7.07 (2H, dd, J = 2 Hz, 6.5 Hz), 6.86 (1H, d, J = 2 Hz), 6.61 (1H, d, J = 9 Hz), 6.51 (1H, dd, J = 2 Hz, 9 Hz), 5.93 (t, 1H, J = 11.0 Hz); 5.60 (m, 1H); 5.35 - 5.26 (m, 1H); 5.31 (s, 1H, -OH), 5.26 (s, 1H, -OH), 3.87 (s, 6H, 2x-OCH₃), 3.41 (t, J = 6.8 Hz, 2H, -CH₂-Br), 2.72 (t, J = 7.7 Hz, 2H, パンテノール (ubiquinol) -CH₂-), 2.25 (s, 3H, CH₃), 1.87 (quin, J = 7.4 Hz, 2H, -CH₂-CH₂-), 1.39 - 1.23 (m, 14H, -(CH₂)₇-)。LC-MS: C₃₉H₄₇FSO₇, M/Z (M-H) 678.85。

【0038】

中間体 I V の合成：

【化13】



中間体 IV

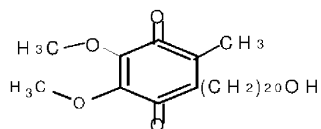
上記のように中間体 I I を合成するステップで中間体 I V を合成した。唯一の違いは、中間体 I I の合成に使用された 10 - アセトキシデカノイルクロリドが、5 - アセトキシアセトキシピバロイルクロリドに置き換えられることである。精製した後、赤の油性液体を得た（総収率：57%、純度98.2%）。¹H NMR (CDCl₃) 4.051 (t, 2H, J = 6.87 Hz); 3.99 (s, 3H); 3.99 (s, 3H); 2.

4.5 (t, 2H, $J = 7.15 \text{ Hz}$); 2.29 (t, 2H, $J = 7.42 \text{ Hz}$); 2.01 (s, 3H); 1.61 - 1.57 (m, 5H); 1.33 - 1.28 (m, 30H); 0.88 (t, 3H, $J = 6.60 \text{ Hz}$).

【0039】

中間体 V の合成：

【化 14】



中間体 V

10

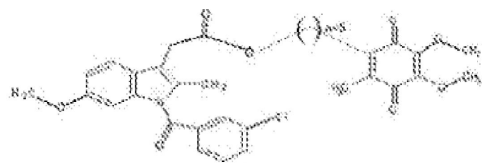
上記のように中間体 I I を合成するステップで中間体 V を合成した。唯一の違いは、中間体 I I の合成に使用された 10 - アセトキシデカノイルクロリドが、20 - アセトキシエイコサノイルクロリドに置き換えられることである。精製した後、薄赤色の固体を得た（総収率：39%、純度97.3%）。 ^1H NMR (CDCl₃) 5.41 - 5.30 (m, 4H); 4.05 (t, 2H, $J = 6.87 \text{ Hz}$); 3.98 (s, 6H); 2.77 (t, 2H, $J = 5.77 \text{ Hz}$); 2.45 (m, 2H); 2.29 (t, 2H, $J = 7.42 \text{ Hz}$); 2.08 - 2.01 (m, 3H); 2.01 (s, 3H); 1.64 - 1.57 (m, 3H); 1.39 - 1.29 (m, 30H); 0.88 (t, 3H, $J = 6.60 \text{ Hz}$).

【0040】

20

式 e で表される化合物の合成

【化 15】



e

上記のように化合物 a を合成するステップで化合物 c を合成した。唯一の違いは、化合物 a の合成に使用された中間体 I I が、中間体 I V に置き換えられることである。精製した後、赤茶色のゼリー状製品を得た（収率：87%、純度98.2%）。 ^1H NMR (400 MHz, CDCl₃, ppm): 7.73 (2H, dd, $J = 2 \text{ Hz}, 6.5 \text{ Hz}$), 7.51 (2H, dd, $J = 2 \text{ Hz}, 6.5 \text{ Hz}$), 6.92 (1H, d, $J = 2 \text{ Hz}$), 6.82 (1H, d, $J = 9 \text{ Hz}$), 6.65 (1H, dd, $J = 2 \text{ Hz}, 9 \text{ Hz}$), 5.93 (t, 1H, $J = 11.0 \text{ Hz}$); 5.61 (m, 1H); 5.21 - 4.96 (2H, broad peak (broad)), 4.63 (2H, d, $J = 6.5 \text{ Hz}$), 3.99 (s, 6H, 2x -OCH₃), 2.45 (t, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 2H, ユビキノン (ubiquinone) -CH₂-), 1.99 (s, 3H, -CH₃), 1.73 ($J = 7.4 \text{ Hz}$, 2H, -CH₂-CH₂-), 1.43 - 1.25 (m, 6H, -(CH₂)₃-).

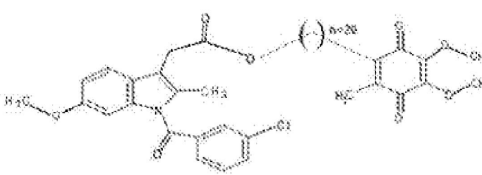
30

【0041】

40

式 f で表される化合物の合成

【化 16】



f

上記のように化合物 a を合成するステップで化合物 f を合成した。唯一の違いは、化合物 a の合成に使用された中間体 I I が、中間体 V に置き換えられることである。精製した後、乾燥の稠物を得た（総収率：69%、純度97.1%）。 ^1H NMR (400 MHz

50

z, CDC1₃, ppm): 7.72 (2H, dd, J = 2 Hz, 6.5 Hz), 7.51 (2H, dd, J = 2 Hz, 6.5 Hz), 6.70 (1H, d, J = 2 Hz), 6.89 (1H, d, J = 9 Hz), 6.71 (1H, dd, J = 2 Hz, 9 Hz), 5.97 (t, 1H, J = 11.0 Hz) 5.66 (m, 1H); 5.38 - 5.29 (m, 1H); 5.22 - 4.97 (2H, ブロード・ピーク (broad)), 4.63 (2H, d, J = 6.5 Hz), 3.40 (s, 6H, 2x-OCH₃), 3.43 (t, J = 6.8 Hz, 2H, -CH₂-), 2.47 (t, J = 7.7 Hz, 2H, ユビキノン (ubiquinone) -CH₂-), 2.05, (s, 3H, -CH₃). 1.91 (J = 7.4 Hz, 2H, -CH₂-CH₂-), 1.43 - 1.31 (m, 34H, -(CH₂)₁₇-)。

10

【0042】

以下の実施例では、実施例1に製造された化合物a～fを増感剤及び保護剤として生物学的実験やそれぞれの生物学的活性および機能解析を行った。また、本分野に知られている保護剤(アミホスチン)、及び上記の実施例1で製造された中間体IおよびIIと他の選択的COX2阻害剤を使用し、比較試験を行った。以下の実施例で使用されたアミホスチン、パクリタキセル、シスプラチン、ドキソルビシン、5-フルオロウラシル、セレコキシブ、EIAキット、末端標識キットなど、及び、すべての関連試薬は、シグマアルドリッチ社とEMDケミカル社(EMD Chemicals Inc)から購入されたものであり、コバルト60放射線療法装置は、カナダの原子力社(Atomic Energy Agency)から購入されたものであり、G50照射パイオ ホープウェルは、米国ホープウェル(HOPWELL)会社から購入されたものであった。SW480細胞(アクセッション番号CCL-228)はアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから購入されたものであり、マウス大腸癌細胞MCA-38は米国国立癌研究所(アクセッション番号BNN-4050)により提供されたものであり、両者の細胞は、本野において通常使用される商用製品に属し、多くの供給源から得ることができる。

20

【0043】

データの統計解析: SPSS 12.0ソフトウェアを使用し、統計分析を行い、データ結果は、 $\bar{x} \pm s$ で示されている。サバイバル実験において、二つのサンプルの比較は、独立サンプルtで検定し、他の実験では、複数のサンプルの平均数の比較は、一元配置分散分析(One-way ANOVA)を用い、末梢血細胞のデータの比較は、反復測定分散分析を用いた。P < 0.05ということは、統計学的に有意な差があると考えられる。

30

【0044】

実施例2

本発明の化合物a～fが生体内のCOX1とCOX2活性に対する影響

(1) COX-1活性の測定: カルシウムイオンベクターA23187(50 mg/kg)で腹腔内注射によりラットに2時間投与した後に、化合物a、b、c、d、e、fを、それぞれ、1、3、9 mg/kg/日の用量で3匹のラットに経口投与(強制経口投与)し、中間体Iを対照薬物として、0.5 mg/kgの用量で3匹のラットに経口投与し、別の3匹のラットに、本発明の化合物ではなく、COX-1活性化剤としてのカルシウムイオンベクターA23187のみを投与した。本発明の化合物を6時間投与した後、動物を殺し、胃粘膜組織と心筋組織をとり、均質化した液に調製され、高速遠心分離(12,000回転/分)し、上清を取っておいた。酵素免疫測定法(EIA)キット(メーカー供給された明細書に従って操作した)を使用して、トロンボキサンB2の量を検出し、COX1の活性に換算した。

40

【0045】

(2) COX-2活性の測定: 測定方法がCOX-1と類似し、その違い点は以下の通りである。本実験で使用されたLPSが2.5 mg/kgの用量で腹腔内注射によりラットに投与し、COX-2を活性化させた。投与後、酵素免疫測定法(EIA)キット(メ

50

ーカー供給された明細書に従って操作した)を使用して、胃粘膜 P G E 2 の含有量を検出し、C O X 2 の活性に換算した。

【 0 0 4 6 】

上記のデータから各試験薬物化合物の C O X - 1 (図 1 a - 胃粘膜、図 1 b - 心筋) 及び C O X - 2 (図 1 c) のパーセント阻害率及び I C ₅₀ 値 (表 1 a - 胃粘膜、図 1 b - 心筋) を算出した。上記のデータは、中間体 I と比較すると、化合物 a、b、c、d、e、f が胃粘膜組織 C O X - 1 に対する阻害は、700 倍近くに減少し、ほとんど胃粘膜 C O X - 1 に対する阻害を失った。これにより、化合物 a、b、c、d、e、f の胃腸毒性が大幅に低減したことがわかった。一方、本発明の化合物が心筋組織 C O X - 1 に対する阻害が増強し、中間体 I の阻害効果と実質的に同等であった。化合物 a、b が C O X - 2 に対する阻害が大幅に増強し、その理由は、化合物 a、b が中間体 I に比較するとより高いバイオアベイラビリティを有するためであると考えられる。もう一つの理由は、本発明の化合物は、中間体 I 及び I I の構造を含むため、同時に示される酸化防止機能が内毒素による C O X - 2 の活性化を有効に阻害するためであると考えられる。図 1 a と図 1 b に示されるデータから、本発明の化合物が中間体 I および中間体 I I の両方の構造を含むので、この二つの構造の組合せが C O X - 2 の阻害に明確な相乗効果を示すことがわかった。化合物 c、d、e、f による C O X - 2 阻害効果は、化合物 a、b より弱いであった。

【 0 0 4 7 】

実施例 3

細胞が化合物を取り込む状況の測定 : S W 4 8 0 細胞を 2 4 ウェル培養皿に播種し、単層培養し、培養皿の 80 % が細胞に覆われている場合には、化合物 a、b (両方とも 10 μ M)、中間体 I (10 μ M) を培養皿に添加し、37 °C で 1、3、6、12 時間培養した。各々の時間点で、細胞を P B S (リン酸塩緩衝液) で十分に洗浄し、その後、細胞を採取し、アセトニトリルで抽出を行い、5 分間高速遠心分離 (12,000 r p m) し、H P L C によってアセトニトリルに溶解された中間体 I の量を測定し、細胞が中間体 I を取り込むレベルに換算し、H P L C 測定するとき、T h e r m o H y p e r s i l B D S C 18 コラム (150 \times 4.6 mm、フィラー粒径 3 μ m) を用いた。移動相はギ酸 : C H ₃ C N : H ₂ O = 0.3 : 4.7 : 95 (v / v / v) の溶液であり、レートは 1 m l / 分であり、結果は、図 2 に示され、化合物 a、b が細胞に進入する能力は、少なくとも中間体 I の 6 倍であることがわかった。これは、中間体 I が効率的に細胞に取り込まれることが困難であるが、化合物 a、b が優れた細胞に取り込まれる性能を有することを示した。

【 0 0 4 8 】

実施例 4

化合物の安定性の測定 : (1) 血漿中の化合物の分解 : D M S O に溶解した化合物 (10 μ M) と 10 % ウシ血清含有培地 (5 m L) を 37 °C で培養し、それぞれ 1、3、6、12、24 時間後に 200 μ L の培地を採取し、等容量のアセトニトリルを加え反応させ、5 分間高速 (13,000 r p m) 遠心分離した。H P L C で化合物の分解のレベルを測定し、結果が図 3 に示す。(2) 化合物が細胞内における分解 : D M S O に溶解した化合物 a を、S W 4 8 0 細胞を含む 6 ウェル培養皿に添加し、最終濃度が 10 μ M であり、炭酸ガスインキュベーター中で培養し、それぞれ 1、3、6、12、24 時間後に細胞を採取し、細胞を十分に洗浄した後、アセトニトリル 0.5 m L を加え、抽出を行い、5 分間高速 (12,000 r p m) 遠心分離した。H P L C により有機相における化合物の分解のレベルを測定し、結果を図 3 に示す。これにより、化合物 a がウシ血清でかなり安定しており、24 時間以内に、わずか 11 % が加水分解されたが、細胞内で加水分解の速度が大幅に増加し、3 時間後にほぼ 80 %、24 時間後に全部加水分解された。

【 0 0 4 9 】

実施例 5

化合物 A がマウス生体内の代謝動態 : 25 M G / K G / 回、12 M G / K G / 回の用量 (等モル濃度) で化合物 A 及び中間体 i i をマウスに強制経口投与し、それぞれ 1、3、

5、9、18、24時間後に相等量体積の血液サンプルを採取し、すぐに遠心分離し、上清（血漿）100 μLを採取し、すぐに、2倍体積のアセトニトリルを加え、血液サンプルを二回抽出を行い、5分間高速（12,000RPM）遠心分離した。hplcにより有機相における中間体IIのレベルを測定し、そしてLC-MSで化合物のフラグメントの含有量を検出し、PHARMACOKINETICS SOLUTIONS 2.0ソフトウェア（SUMMIT RESEARCH SERVICES, MONTROSE, CO, USA）で薬物動態を解析し、結果を図4Aおよび表1に示す。その結果から、化合物Aを経口投与したマウスの血漿において、中間体IIの含有量が、直接中間体IIを経口投与する場合よりも有意に高かったであり、化合物Aを経口投与したマウスの血漿における代謝産物が顕著に低下した（図4B参照）ことがわかった。これにより、化合物Aがかなり初回通過効果を避けるために、効果的に薬物のバイオアベイラビリティを向上させることがわかった。

10

表1 化合物の薬物動態

中間体 II	T_{max} (h)	C_{max} (μ g/mL)	AUC_0 (μ g·hr/mL)	$T_{1/2}$ (h)
	2.50	3.7	10.2	3.8
化合物 a	T_{max} (h)	C_{max} (μ g/mL)	AUC_0 (μ g·hr/mL)	$T_{1/2}$ (h)
	5	19.8	63.2	7.6

【0050】

実施例 6

20

化合物a、b、c、dの毒性作用の分析：（1）異なる濃度（10、30、90 μM）の化合物a、b、c、dおよび対応する濃度の中間体Iと比較化合物Aで、96ウェルプレートに初代培養した腸粘膜細胞（実験室用伝統的なトリプシン消化法で自家製腸粘膜細胞）を処理し、24時間後、乳酸脱水素酵素放出アッセイ（LDH）（メーカー供給された操作手順に従って操作した）によって細胞の損傷の程度を測定し、結果を図5に示す。これにより、中間体Iの濃度が30 μMに達成する時、顕著に細胞死をもたらすが、化合物a、b、c、dの濃度が90 μMに達成する時、まだ顕著に細胞死がないことがわかった。化合物a、b、c、dが正常細胞に対する毒性は、中間体Iより著しく低く、本発明の化合物の低毒性は、化合物における中間体IIの構造による酸化的損傷防止機能から生じるかもしれない。

30

【0051】

（2）ラット（各実験において、6匹のラット）に、異なる濃度（10、30、90 μM）の化合物a、b、中間体Iを、3回強制経口投与し、終回投与の12時間後にラットを屠殺し、胃を外科で取り、胃の大弯に沿って切開し、生理食塩水で洗浄し、5%ホルマリンで15分間固定し、双眼拡大鏡で胃粘膜病変部位を観察し、ラットあたり5個の病変をカウントし、最高量（90 μM）のIND及び化合物群の動物の潰瘍指数（ $= (L1 + W1 + L2 + W2 + L3 + W3 + L4 + W4 + L5 + W5 + L6 + W6) / 6$ ）を計算した。ここで、Lが潰瘍の長さを表し、Wが潰瘍の幅を表し、最長と最も広い病変（mm）を記録し、結果を表2aに示されている。これにより、化合物a群が高濃度である場合、1例のラットのみ軽度の潰瘍を表すが、化合物bが高濃度であっても、潰瘍がなく、同等濃度の中間体I群が、各動物いずれも非常に重度の潰瘍を生じたことがわかった（表2b）。これにより、本発明の化合物aは、中間体I及びIIがエステル化された化合物であり、その毒性が、酸としての中間体Iよりも低いであることがわかった。しかし、本分野において、そのような低潰瘍誘発副作用の中間体Iのエステル化生成物が確認されていないので、本発明における前記生成物の該予想外の技術的特徴について、エステル化作用によるCOX1の活性の喪失のみで解釈できない。それについて、本発明者は、本発明の化合物aとbが中間体IおよびIIから誘導される構造を含み、さらに、エステル化しながら中間体IIが顕著な抗酸化作用をもたらすので、これら二つの効果の組み合わせにより、相乗効果を果たし、上記のように優れた胃腸障害を軽減する効果を実現した。

40

【0052】

50

表 2 a 中間体 I と本発明の化合物による潰瘍副作用の比較実験

化合物	用量 (μ M/kg)	潰瘍指数
溶剤 (DMSO) 対照	90	0
中間体 I	90	72.8 \pm 6.82
化合物 a	90	3.3 \pm 0.12
化合物 b	90	0

表 2 b 中間体 I と本発明の化合物による潰瘍発症率の比較実験

中間体 I (μ M)	潰瘍発症率	a (μ M)	潰瘍発症率	b (μ M)	潰瘍発症率
10	0/6	10	0/6	10	0/6
30	2/6	30	0/6	30	0/6
90	6/6	90	1/6	90	0/6

【 0 0 5 3 】

実施例 7

化学療法薬が腫瘍を殺す効果を増加しつつ、正常組織を保護するメカニズム：マウス結腸癌細胞 (MCA-38) および初代培養したマウス正常腸粘膜細胞を、96 ウェル培養プレートで培養し、24 時間後、異なる濃度 (10、30、90 μ M) の化合物 b を加え、続いて 8 時間培養し、細胞培養培地へシスプラチン (10 μ M) を加え、24 時間培養し、LDH で細胞の損傷を検出しつつ、細胞を取り、タンパク質を抽出し、イムノブロット法 (メーカー供給された操作手順に従って操作した) で ATP 結合カセット輸送体蛋白質 (ABCG2) を検出し、サイクリン依存性キナーゼ (p21) のタンパク質発現レベルの結果を、図 6 a、6 b に示す。化合物 b が測定された濃度でシスプラチンによる大腸癌細胞の死滅を大幅に増加した。驚くべきことに、高濃度の化合物 b に加えて、測定された濃度では、シスプラチンによる正常粘膜細胞の損傷を顕著に阻害した (図 6 a)。化合物 b が腫瘍細胞の ATP 結合カセット輸送体蛋白質 (ABCG2) の発現を顕著に阻害できるが、正常細胞の ABCG2 の発現には影響を及ぼしなかった。ABCG2 は、輸送体蛋白質であり、抗がん薬を細胞の外に輸送できる。したがって、化合物 b は、抗がん薬を腫瘍細胞内に高濃度に蓄積することができ、これにより化学療法薬が腫瘍を殺す効果を強化した。また、化合物 b が正常腸粘膜細胞 p21 の発現を顕著に増強させるが、腫瘍細胞 p21 の発現に影響を及ぼしなかった。p21 の高い発現が細胞を非分裂の静止期に入らせて、よって、細胞が化学療法薬または他の形態の傷害に感受性がなくなった。本発明の化合物は、これらのタンパク質を正常組織および腫瘍組織において相違性発現させることは、正常組織を選択的に保護することや、治療に対する腫瘍の感受性を増強することをもたらす原因の一つである。

【 0 0 5 4 】

実施例 8

化合物 b が保護剤として 線照射したマウスの生存率に対する影響

この実験は、体重が約 20 g である 10 週齢の雄マウス (C57BL/6J) を実験対象として、16 匹のマウスをグループとした。次のグループがあった。1. 線なし + 薬物なし; 2. 線 + 薬物なし; 3. 線 + アミホスチン; 4. 線 + 中間体 I + 中間体 I I; 5. 線 + 化合物 a; 6. 線 + 化合物 b; 7. 線 + 化合物 d。まず、各グループのマウスに保護剤を投与し、具体的な投与量は次のとおりであった。化合物 a、b、d: 6 mg / kg / 日 (8.1 μ M)、アミホスチン: 400 mg / kg / 日 (1.5 mM)、中間体 I + 中間体 I I: それぞれ、3 mg / kg / 日 (8.1 μ M)。アミホスチンが腹腔内注射であることに加えて (アミホスチンを照射前 30 分に投与し)、そのほかの保護剤がすべて強制経口投与された。投与後の 12 時間後に、コバルト 60 線で 8.75 Gy 線量で全身照射し、マウスから放射線源が 80 cm であり、線量率が 0.35 Gy / 分であり、照射時間が 25 分であった。一回照射し、照射後、一日一回で 10 日間連続投与した。生存マウスの数を記録し、生存マウスの数が実験マウスの総数 (16 匹) に対す

るパーセンテージがマウスの生存率であり、結果を図7にまとめる。保護剤を受けなかった対照群マウスが8.75 Gyで照射された後に、第30日まで生存マウス数が4匹あり、生存率が25%であった。化合物a群については、第30日まで生存マウス数が10匹であり、生存率が62.5%であった。化合物b群については、第30日まで生存マウス数が12匹であり、生存率が75%であった。アミホスチン群については、第30日まで生存率が62.5%であった。化合物d群については、第30日まで生存マウス数が11匹であり、生存率は68.75%であった。特に、中間体I + 中間体IIを使用した実験群については、生存マウス数がただ1匹であった。以上の実験データから分かるように、化合物bは有意に放射線による動物の死亡を減少させることができ、特に化合物bの保護効果がアミホスチンにより優れた。

10

【0055】

実施例9

化合物a、bがタキソールによる血液細胞の傷害に対する保護効果

この実験では、約20gの10週齢の雄マウス(C57BL/6J)を実験対象として、6匹のマウスをグループとした。下記のような5つのグループがあった。1. パクリタキセル；2. パクリタキセル + アミホスチン；3. パクリタキセル + 中間体I + 中間体II；4. パクリタキセル + 化合物a；5. パクリタキセル + 化合物b。まず、各グループのマウスに保護剤を投与し、具体的な投与量は次のとおりであった。化合物a、b：それぞれ、6mg/kg/日(8.1μM)、アミホスチン：400mg/kg/日(1.5mM)、中間体I、中間体II：それぞれ、3mg/kg/日(8.1μM)。アミホスチンが腹腔内注射であることに加えて(パクリタキセルを投与する前の30分にアミホスチンを投与し)、そのほかの保護剤がすべて強制経口投与された(1回/日、25回連続投与)。化合物aと対応する保護剤の投与後の12時間後に、パクリタキセルを腹腔内注射し(10mg/kg/日、1回/3日、9回連続投与)、パクリタキセルの注射後の7日目、14日目、21日目、28日目に、マウスから血液を抽出し、白血球数を分析し、結果を図8にまとめる。実験結果からわかるように、シミュレート化学療法の条件では、従来知られるアミホスチンと中間体Iに比べて、化合物a、bを使用することで、大幅に放射線による末梢白血球の傷害を減らし、末梢血液細胞の数を増やすことができる。注目すべきことは、シミュレート化学治療の初期では、アミホスチンが白血球に対する保護効果は、化合物a、bより若干良いが、化学治療の後半では、化合物a、bが白血球に対する保護効果は、アミホスチンより顕著に良かった。化合物bは、最強の保護効果を提供した。

20

30

【0056】

実施例10

本発明の化合物が化学療法薬によるヌードマウスの移植腫瘍の生体内抗腫瘍効果及び正常組織の選択性効果に対する影響(体内実験)

本実施例で化合物aを使用して、実験を行った。無菌条件下で、対数増殖期の結腸癌細胞(SW480)の懸濁液(細胞濃度を 1×10^7 /mLに生理食塩水で調整した)を5~6週齢のbald/c雌ヌードマウスの右後方バック皮下に播種し、各ヌードマウスに0.3mLの量で播種し、すなわち、含まれる細胞の数は、 3×10^6 /匹であった。10日後に100~250mm³の大きさの皮下移植腫瘍が現れた。腫瘍を有するヌードマウスをランダムに下記のグループに分け、6匹/グループとした。(1)対照群；(2)ドキソルビシン群；(3)ドキソルビシン + アミホスチン；(4)ドキソルビシン + セレコキシブ(Celecoxib) + 中間体II；(5)ドキソルビシン + 中間体I + 中間体II；(6)ドキソルビシン + 低用量の化合物a(6mg/kg/日)；(7)ドキソルビシン + 高用量の化合物a(15mg/kg/日)。まず、以下の投与量で腫瘍を有するヌードにそれぞれ以下の化合物、即ち、中間体Iおよび中間体II(それぞれ、3mg/kg/日)、アミホスチン(400mg/kg/日)、セレコキシブ(6mg/kg/日)を投与し、アミホスチン(照射前30分)が皮下注射であることに加えて、そのほかの保護剤がすべて強制経口投与された。これらの薬物は、5週連続で、毎日投与した。

40

50

投与された12時間後、アドリマイシン(2.5 mg/kg)を腹腔内注射し、1回/2日で5週連続で投与した。投与期間、2日毎に精密電子天秤でヌードマウスの体重を測定し、播種後、腫瘍の増殖、腫脹・潰瘍の存在があるかどうかを毎日観察した。腫瘍を形成した後、移植腫瘍の表面形態及び活動度合を検査し、ノギスで腫瘍結節の最長径(a)と最短径(b)を3日毎測定し、式 $V = 0.5ab^2$ で腫瘍の体積を算出し、平均値を求め、腫瘍の成長曲線を描き、腫瘍抑制率を算出し、その中、腫瘍増殖抑制率=(対照群の平均体積-照射群の平均体積)/対照群の平均体積×100%であった。そして、ドキソルビシンの投与後21日で、マウスの尾静脈血を取り、白血球数をカウントし、血液生化学的指標を解析し、結果を表3に示す。治療の最後の日で、腫瘍組織と正常周辺組織を取り、HPLCによって中間体Iの含有量を測定し(図9a)、一方、パラフィン切片

10

を作製し、末端標識法により、アポトーシス細胞の発生(図9b)を検出し、正常組織および腫瘍組織の相対的生存率を算出した(図9bにまとめる)。各群のヌードマウスの腫瘍組織の体積を図9cにまとめる。図9cから見られるように、ドキソルビシンを単独投与する場合、腫瘍に軽度の抑制効果を有し、3匹のマウスが、治療の後半で死亡し、ドキソルビシンによる副作用により死亡したことが考えられる。これはドキソルビシンを投与しなかったマウスが逆に死亡しなかったためである。既知の保護剤としてのアミホスチンに比べて、化合物aは、顕著に化学療法に対する腫瘍細胞の感受性を高めることができ($P < 0.001$)、これにより、腫瘍組織の体積が大幅に減少し、且つ、用量依存的関係になるが、治療群のマウスはいずれも死亡しなく、より顕著な治療効果を得た。アミホスチンが正常組織を効果的に保護したが、ドキソルビシンによる腫瘍の阻害作用を顕著に妨

20

げた。さらに重要なことは、表3および図9bから分かるように、化合物aは、アドリマイシンによる正常な白血球、心筋細胞及び腫瘍周辺正常組織の殺傷効果を効果的に阻害することができる。これは、本発明の化合物aが、腫瘍細胞に対する選択的阻害効果、即ち、腫瘍細胞のみのドキソルビシンに対する感受性が高かったが、中間体Iと中間体IIとの組成物の白血球に対する保護は明らかなかったことを示した。本発明は、腫瘍組織中の活性成分の含有量が周辺正常組織の活性成分よりも顕著に高いことを初めて達成し、化学療法薬に対する腫瘍細胞の感受性を選択的に強化することを実験的根拠を提供した。本研究は、また、COX2選択的阻害剤セレコキシブ(CEL)をコントロールとした結果、COX2選択的阻害剤による化学療法薬の増感効果が本発明の化合物による効果より著しく弱かったことを示した。これは、同時にCOX1、COX2を抑制する限り、非常に

30

顕著な効果を達成することができると証明した。中間体Iを単独に使用することで、ドキソルビシンに対する腫瘍の感度を高めることができるが、胃腸に対して副作用が極大であるため、該群の動物の半分が治療中に胃腸出血で死亡した。

表3 化合物aが白血球の血清の生化学的指標に対する影響

群	ヌードマウスの数	WBC($\times 10^9/L$)	AST(u/L)	CK-MB(u/L)
薬物を投与しない対照群	6	8.2 \pm 0.77	123 \pm 12	329 \pm 33
ドキソルビシン群	6	3.2 \pm 0.31	382 \pm 39	1282 \pm 130
ドキソルビシン+アミホスチン群 ¹	6	7.6 \pm 0.67	198 \pm 21	501 \pm 52
ドキソルビシン+CEL+中間体II群 ²	6	4.9 \pm 0.51	302 \pm 27	588 \pm 60
ドキソルビシン+中間体I+中間体II群 ³	6	4.9 \pm 0.42	712 \pm 32	537 \pm 59
ドキソルビシン+低用量のa群 ⁴	6	6.7 \pm 0.59	239 \pm 58	630 \pm 56
ドキソルビシン+高用量のa群 ⁵	6	7.1 \pm 0.72	203 \pm 23	511 \pm 55

ドキソルビシン群に比べると、¹ $P < 0.05$; ² $P < 0.05$; ³ $P < 0.05$; ⁴ $P < 0.05$; ⁵ $P < 0.05$ 。

【0057】

実施例11

本発明の化合物が単独で使用される時、ヌードマウスの移植腫瘍に対する抑制効果

実施例9に記載された方式および条件で動物腫瘍モデルを構築し、その違いことは、以下の通りである。実施例9に使用されたSW480細胞をA549細胞に置換し、A54

10

20

30

40

50

9細胞をヌードマウスのバック右後肢の外側の皮下に注射し、腫瘍の体積が $100 \sim 250 \text{ mm}^3$ に達したとき、腫瘍を有するマウスをランダムに下記の5つの群(6匹/群)に分けた。(1)溶媒(DMSO)対照群;(2)中間体I + II(それぞれ 12.5 mg/kg/day);(3)シスプラチン(5 mg/kg/week);(4)低用量の化合物a(5 mg/kg/day);(5)高用量の化合物a(25 mg/kg/day)。シスプラチン(腹腔内注射、週に一度)に加えて、すべての化合物は、一日一回、5週連続で強制経口投与された。実施例9に記載されるように、動物の体重及び腫瘍の体積を測定し計算した。各群の腫瘍の体積を図10にまとめる。結果から見られるように、治療用量のシスプラチンが腫瘍に対して軽度の阻害作用だけを有し、この阻害作用が低用量の化合物aより劣った。化合物aは、用量依存性の腫瘍阻害効果を示した。高用量の化合物aが腫瘍に対する阻害効果は60%以上であり、かつ、投与期間で、動物の体重が有意に低減されなかった(結果は図示せず)。これに対して、高用量の中間体が腫瘍に対する阻害は、顕著に減少し、かつ、2匹の動物は死亡した(結果は図示せず)。これにより、本発明は、単剤として腫瘍を効果的に治療することができることがわかった。

10

【0058】

実施例12

本発明の化合物が他の抗がん薬の組み合わせで腫瘍に対する相乗的阻害効果

実施例9に記載された方式および条件で動物腫瘍モデルを構築し、その違いことは、以下の通りである。実施例9に使用されたSW480細胞をHT-29細胞に置換し、腫瘍の体積が $100 \sim 250 \text{ mm}^3$ に達したとき、ランダムに下記の4つの群(6匹/群)に分けた。(1)溶媒(DMSO)対照群;(2)ドキソルビシン(2 mg/kg/week);(3)化合物a(3 mg/kg/day);(4)化合物a + ドキソルビシン(それぞれ、 3 mg/kg/day および 2 mg/kg/week)。化合物aが一日一回、4週連続で強制経口投与され、アドリアマイシンが週一回、4週間で腹腔内注射された。実施例9に記載されるように、動物の体重及び腫瘍の体積を測定し計算した。各群のヌードマウスの腫瘍の体積を図11にまとめる。図11から見られるように、単独で低用量のアドリアマイシンと化合物aを投与するとき、腫瘍に対して軽度の阻害作用だけを有するが、この二つの化合物を組み合わせると、腫瘍に対する阻害効果は60%と高い、かつ、治療期間で、動物の体重が約10%増加した(結果は図示せず)。これは、本発明の製剤は、一般に使用されるそのほかの抗がん剤を併用することで、大幅に癌の治療効果を改善できることを示した。

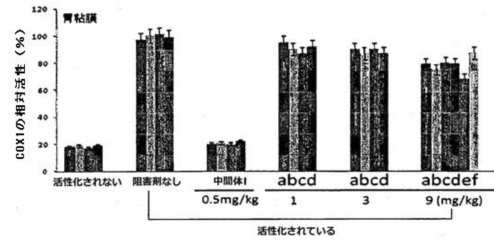
20

30

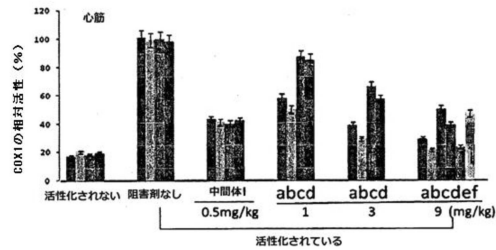
【0059】

よって、本発明は、予想以上の選択性を示すものであり、これにより、化学療法や放射線療法の毒性副作用を軽減しながら、大幅に化学療法や放射線療法に対する腫瘍の感受性を増加することが確実に実現できる。よって、がん治療中における副作用と薬剤耐性との二つのボトルネックを効果的に一挙解決できる。また、本発明により、新規な抗がん剤を開発し、これを単独で使用する場合、優れた腫瘍抑制効果を実現することができ、そして、明らかな副作用がない。

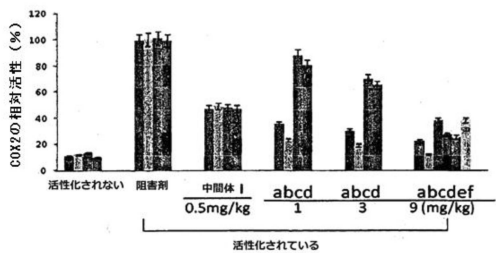
【図 1 a】



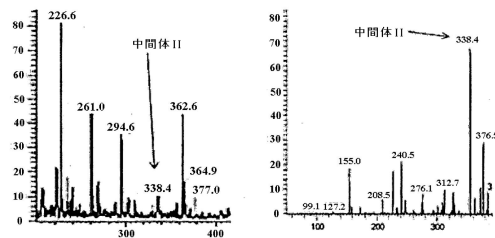
【図 1 b】



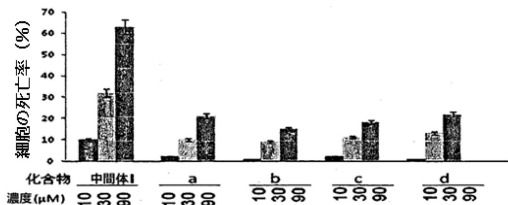
【図 1 c】



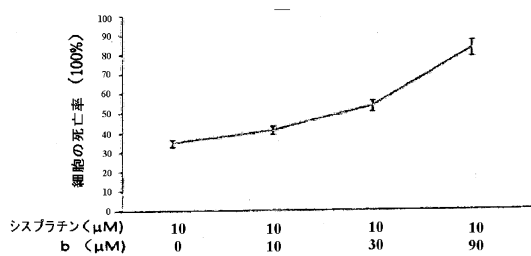
【図 4 b】



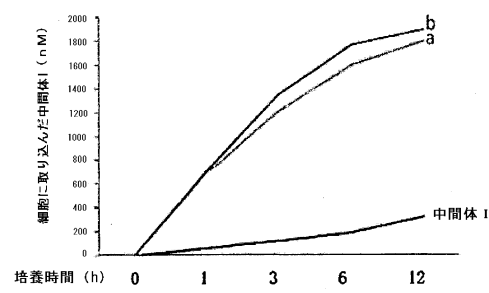
【図 5】



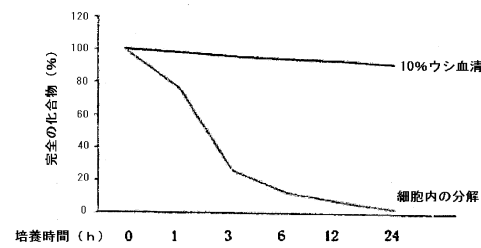
【図 6 a】



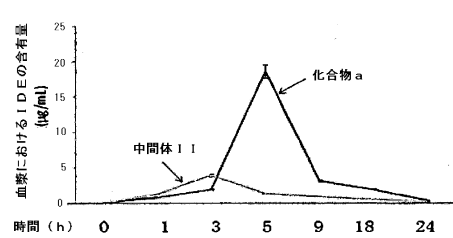
【図 2】



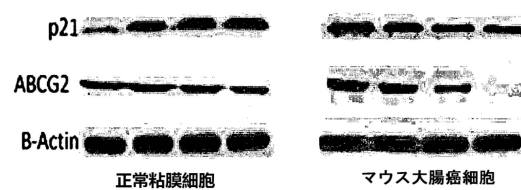
【図 3】



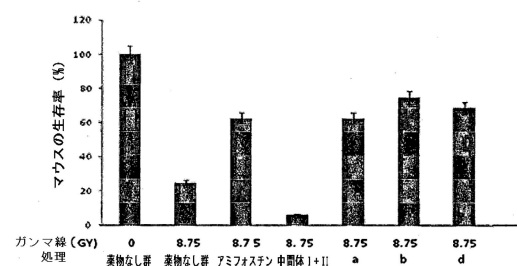
【図 4 a】



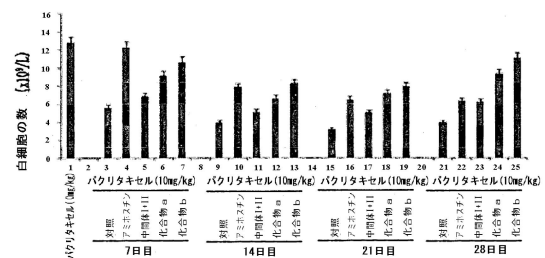
【図 6 b】



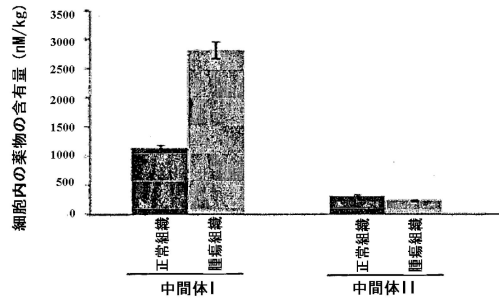
【図 7】



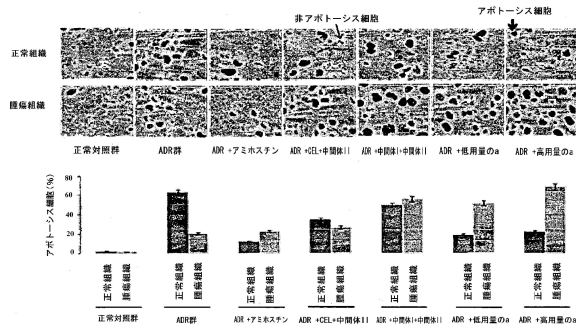
【図 8】



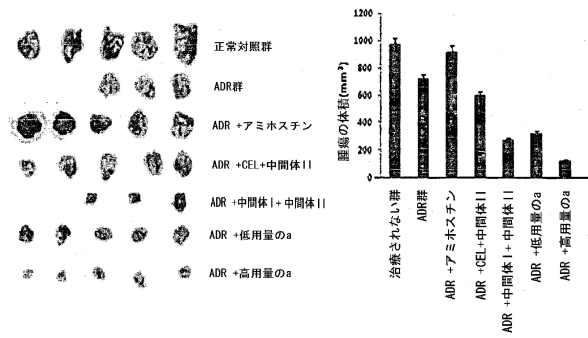
【図 9 a】



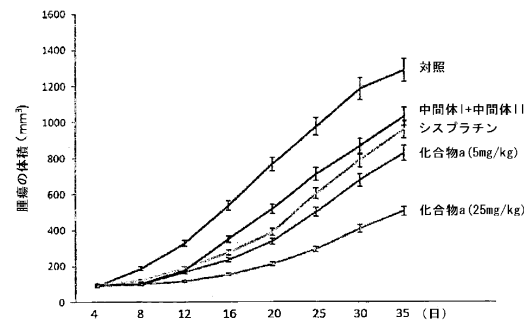
【図 9 b】



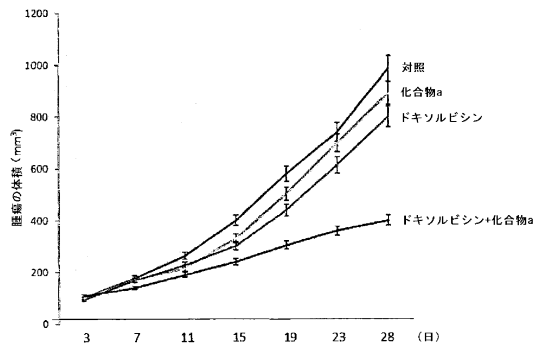
【図 9 c】



【図 10】



【図 11】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 31/337	(2006.01)	A 6 1 K 31/337	
A 6 1 K 31/704	(2006.01)	A 6 1 K 31/704	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1

(74)代理人 100185915

弁理士 長山 弘典

(74)代理人 100090251

弁理士 森田 憲一

(72)発明者 ラン ルイチオン

中華人民共和国, 4 3 0 0 7 4 フーベイ プロヴィンス, ウーハン, ウーハン イースト レイク ハイ - テク ゾーン, ガオシン ロード 6 6 6

審査官 伊佐地 公美

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 6 / 0 9 9 4 1 6 (W O , A 1)

特表 2 0 0 1 - 5 0 4 1 1 8 (J P , A)

米国特許第 0 3 6 5 4 3 4 9 (U S , A)

特表平 1 0 - 5 1 1 6 6 3 (J P , A)

国際公開第 2 0 1 4 / 1 3 8 9 2 2 (W O , A 1)

MACKENZIE, G. G. et al., Gastroenterology, 2 0 1 0 年, Vol. 139, pp. 1320-1332

SAWRAJ, S. et al., Medicinal Chemistry Research, 2 0 1 2 年, Vol. 21, pp. 834-843

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C 0 7 C

C 0 7 D

A 6 1 K

A 6 1 P

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)