

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成18年7月27日(2006.7.27)

【公表番号】特表2005-528105(P2005-528105A)

【公表日】平成17年9月22日(2005.9.22)

【年通号数】公開・登録公報2005-037

【出願番号】特願2004-510393(P2004-510393)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/06 (2006.01)

A 6 1 K 31/403 (2006.01)

A 6 1 K 31/416 (2006.01)

A 6 1 K 31/423 (2006.01)

A 6 1 K 31/428 (2006.01)

A 6 1 K 31/48 (2006.01)

A 6 1 K 31/505 (2006.01)

A 6 1 K 35/14 (2006.01)

A 6 1 K 35/26 (2006.01)

A 6 1 K 35/44 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/00 E

A 6 1 K 31/403

A 6 1 K 31/416

A 6 1 K 31/423

A 6 1 K 31/428

A 6 1 K 31/48

A 6 1 K 31/505

A 6 1 K 35/14 Z

A 6 1 K 35/26

A 6 1 K 35/44

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 7/06

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 43/00 1 1 1

【手続補正書】

【提出日】平成18年5月24日(2006.5.24)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

哺乳動物幹細胞の分化をモジュレートする方法であって、該幹細胞の分化に適切な条件下で該幹細胞とJNK又はMKK活性をモジュレートする化合物とを接触させるステップを含む、上記方法。

【請求項2】

化合物がJNK又はMKK活性を阻害する、請求項1記載の方法。

【請求項3】

哺乳動物幹細胞の順化方法であって、該幹細胞とJNK又はMKK活性をモジュレートする化合物とを接触させるステップを含む、上記方法。

【請求項4】

化合物がJNK又はMKK活性を阻害する、請求項3記載の方法。

【請求項5】

哺乳動物幹細胞又は前駆細胞が順化の前に凍結解凍されたものである、請求項3記載の方法。

【請求項6】

必要とする患者へ哺乳動物幹細胞又は前駆細胞を移植するための医薬の製造におけるJNK活性を阻害する化合物の使用であって、該医薬は処理された幹細胞又は前駆細胞を含み、該哺乳動物幹細胞又は前駆細胞とJNK活性を阻害する化合物とを接触させて、該処理幹細胞又は前駆細胞が生成されるものである、上記使用。

【請求項7】

医薬が、処理幹細胞と併せて未処理細胞を含む、請求項6記載の使用。

【請求項8】

未処理細胞が、胚幹細胞、胎盤幹細胞、成体幹細胞、臍帯血細胞、骨髓細胞及び末梢血細胞からなる群より選択されるものである、請求項7記載の使用。

【請求項9】

哺乳動物幹細胞が接触の前に凍結解凍されたものである、請求項7記載の使用。

【請求項10】

造血細胞の作製方法であって、幹細胞の分化に適切な条件下で哺乳動物幹細胞とJNK又はMKK活性を阻害する化合物とを接触させるステップを含み、該分化により造血細胞が生じるものである、上記方法。

【請求項11】

幹細胞が、胚幹細胞、胎盤幹細胞、成体幹細胞、臍帯血細胞、末梢血細胞及び骨髓細胞からなる群より選択されるものである、請求項1、3、6又は10記載の方法。

【請求項12】

幹細胞がヒト幹細胞である、請求項1、3、6又は10記載の方法。

【請求項13】

化合物が、インダゾール、アニリノピリミジン、イソチアゾロアントロン、イソキサゾロアントロン、イソインドールアントロン又はピラゾロアントロンである、請求項1、3、6又は10記載の方法。

【請求項14】

接触ステップが*in vitro*において行われる、請求項1、3、6又は10記載の方法。

【請求項15】

化合物の濃度が $0.005 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 5 \text{mg}/\text{ml}$ である、請求項1、3、6又は10記載の方法。

【請求項16】

化合物の濃度が $1 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 2 \text{mg}/\text{ml}$ である、請求項15記載の方法。

【請求項17】

造血細胞が造血前駆細胞である、請求項10記載の方法。

【請求項18】

哺乳動物幹細胞及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物であって、該幹細胞が、

幹細胞の分化又は増殖をモジュレートするのに十分な時間にわたり J N K 又は M K K 活性を阻害する化合物と接触させたものである、上記医薬組成物。

【請求項 19】

哺乳動物前駆細胞及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物であって、該幹細胞が、前駆細胞の分化又は増殖をモジュレートするのに十分な時間にわたり J N K 又は M K K 活性を阻害する化合物と接触させたものである、上記医薬組成物。

【請求項 20】

幹細胞が、胚幹細胞、成体細胞、臍帯血細胞、胎盤幹細胞又は末梢血幹細胞からなる群より選択されるものである、請求項 18 記載の医薬組成物。

【請求項 21】

化合物がイミド又はアミドである、請求項 18 又は 19 記載の医薬組成物。

【請求項 22】

接触ステップが細胞培養物において行われる、請求項 18 又は 19 記載の医薬組成物。

【請求項 23】

化合物の濃度が約 $0.005 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ 約 $5 \text{mg}/\text{ml}$ である、請求項 18 又は 19 記載の医薬組成物。

【請求項 24】

化合物の濃度が約 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ 約 $2 \text{mg}/\text{ml}$ である、請求項 18 又は 19 記載の医薬組成物。

【請求項 25】

幹細胞がヒト幹細胞である、請求項 18 記載の医薬組成物。

【請求項 26】

前駆細胞がヒト前駆細胞である、請求項 19 記載の医薬組成物。

【請求項 27】

前駆細胞が造血前駆細胞である、請求項 19 記載の医薬組成物。

【請求項 28】

分化が造血細胞への分化である、請求項 18 又は 19 記載の医薬組成物。

【請求項 29】

造血細胞が $\text{CD}34^+$ 又は $\text{CD}38^+$ である、請求項 28 記載の医薬組成物。

【請求項 30】

造血細胞が $\text{CD}11b^+$ である、請求項 28 記載の医薬組成物。

【請求項 31】

薬学的に許容される担体中に単離された臍帯血細胞と単離された白血球集団とを含む医薬組成物であって、前記白血球が、適切な条件下及び J N K 活性又は M K K 活性を阻害する化合物の存在下で幹細胞を分化させるステップと、それによって分化した前記白血球を単離するステップとを含む方法によって生成されるものである、上記医薬組成物。

【請求項 32】

単離された臍帯血細胞と単離された白血球集団とを含む医薬組成物であって、前記白血球が、適切な条件下及び J N K 活性又は M K K 活性を阻害する化合物の存在下で幹細胞を分化させるステップと、それによって分化した前記白血球を単離するステップとを含む方法によって生成されるものである、上記医薬組成物。

【請求項 33】

分化ステップが細胞培養物において行われる、請求項 31 又は 32 記載の医薬組成物。

【請求項 34】

化合物の濃度が $0.005 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $5 \text{mg}/\text{ml}$ である、請求項 31 又は 32 記載の医薬組成物。

【請求項 35】

化合物の濃度が $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ~ $2 \text{mg}/\text{ml}$ である、請求項 31 又は 32 記載の医薬組成物。

【請求項 36】

幹細胞がヒト幹細胞である、請求項 3 1 記載の医薬組成物。

【請求項 3 7】

前駆細胞が造血前駆細胞である、請求項 3 2 記載の医薬組成物。

【請求項 3 8】

白血球を必要とする哺乳動物被験体を治療するための医薬の製造における J N K 活性又は M K K 活性を阻害する化合物の使用であって、該医薬が治療上有効な量の白血球を含み、該白血球が、幹細胞又は前駆細胞を、適切な条件下及び J N K 活性又は M K K 活性を阻害する化合物の存在下で幹細胞を分化させるステップと、それによって分化した前記白血球を単離するステップとを含む方法によって生成されるものである、上記使用。

【請求項 3 9】

幹細胞又は前駆細胞を *in vitro* で分化させる、請求項 3 8 記載の使用。

【請求項 4 0】

幹細胞又は前駆細胞を灌流を行った分娩後胎盤中で分化させる、請求項 3 8 記載の使用。

【請求項 4 1】

白血球を含む医薬が、赤血球を実質的に含まない細胞調製物の形態でレシピエント哺乳動物被験体に投与される、請求項 3 8 記載の使用。

【請求項 4 2】

白血球を含む医薬が、臍帯血細胞を含む細胞調製物の形態でレシピエント哺乳動物被験体に投与される、請求項 3 8 記載の使用。

【請求項 4 3】

白血球を含む医薬が担体と組み合わせてレシピエント哺乳動物被験体に投与される、請求項 3 8 記載の使用。

【請求項 4 4】

白血球を含む医薬が静脈内投与される、請求項 3 8 記載の使用。

【請求項 4 5】

白血球が、組み込まれた目的の遺伝物質を発現する、請求項 3 8 記載の使用。

【請求項 4 6】

哺乳動物被験体がヒトである、請求項 3 8 記載の使用。

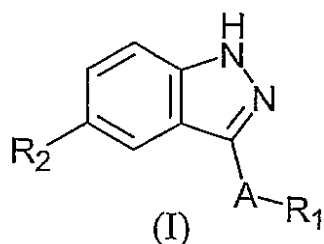
【請求項 4 7】

必要のある患者に骨髓移植するための医薬の製造における J N K 又は M K K 活性の阻害剤の使用であって、該医薬が、臍帯血、臍帯血から得られる幹細胞、末梢血、又は末梢血から得られる幹細胞を含み、該臍帯血、臍帯血から得られる幹細胞、末梢血、又は幹細胞は、J N K 又は M K K 活性の阻害剤と、該幹細胞の分化又は増殖のモジュレーションが生じるのに十分な時間にわたり接触させたものである、上記使用。

【請求項 4 8】

J N K 阻害剤又は M K K 阻害剤が以下の構造 (I) の化合物：

【化 1】



(式中、

A は、直接結合、 $-(CH_2)_a-$ 、 $-(CH_2)_b-CH=CH-(CH_2)_c-$ 、又は

- (CH₂)_bCH-CH(CH₂)_c-であり；

R₁ は、アリール、ヘテロアリール、又はフェニルと縮合した複素環であり、各々は R₃ から独立に選択される 1～4 個の置換基で任意に置換されていてもよく；

R₂ は、-R₃、-R₄、-(CH₂)_bC(=O)R₅、-(CH₂)_bC(=O)OR₅、-(CH₂)_bC(=O)NR₅R₆、-(CH₂)_bC(=O)NR₅(CH₂)_cC(=O)R₆、-(CH₂)_bNR₅C(=O)R₆、-(CH₂)_bNR₅C(=O)NR₆R₇、-(CH₂)_bNR₅R₆、-(CH₂)_bOR₅、-(CH₂)_bSO_dR₅、又は-(CH₂)_bSO₂R₅R₆であり；

a は、1、2、3、4、5 又は 6 であり；

b 及び c は、同じ又は異なるものであって、それぞれが 0、1、2、3 又は 4 から独立に選択され；

d は、それぞれが 0、1 又は 2 であり；

R₃ は、それぞれが独立に、ハロゲン、ヒドロキシ、カルボキシ、アルキル、アルコキシ、ハロアルキル、アシルオキシ、チオアルキル、スルフィニルアルキル、スルホニルアルキル、ヒドロキシアルキル、アリール、アリールアルキル、複素環、ヘテロシクロアルキル、-C(=O)OR₈、-OC(=O)R₈、-C(=O)NR₈R₉、-C(=O)NR₈OR₉、-SO₂NR₈R₉、-NR₈SO₂R₉、-CN、-NO₂、-NR₈R₉、-NR₈C(=O)R₉、-NR₈C(=O)(CH₂)_bOR₉、-NR₈C(=O)(CH₂)_bR₉、-NR₈C(=O)(CH₂)_bNR₈R₉、-O(CH₂)_bNR₈R₉、又はフェニルと縮合した複素環であり；

R₄ は、アルキル、アリール、アリールアルキル、複素環又はヘテロシクロアルキルであり、各々は R₃ から独立に選択される 1～4 個の置換基で任意に置換されていてもよく、あるいは、R₄ はハロゲン又はヒドロキシであり；

R₅、R₆ 及び R₇ は、同じ又は異なるものであって、それぞれが独立に、水素、アルキル、アリール、アリールアルキル、複素環又はヘテロシクロアルキルであり、ここで、R₅、R₆ 及び R₇ の各々は、R₃ から独立に選択される 1～4 個の置換基で任意に置換されていてもよく；

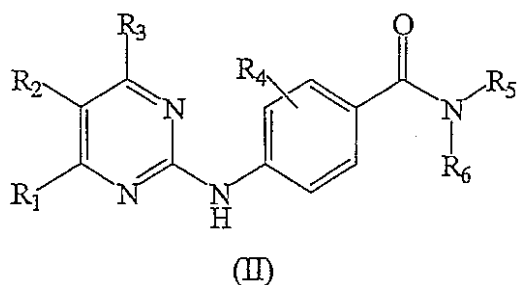
R₈ 及び R₉ は、同じ又は異なるものであって、それぞれが独立に、水素、アルキル、アリール、アリールアルキル、複素環、又はヘテロシクロアルキルであり、あるいは、R₈ 及び R₉ は、それらが結合する原子（1 若しくは複数）と一緒に複素環を形成し、ここで、R₈、R₉ の各々、並びに一緒になって複素環を形成する R₈ 及び R₉ は、R₃ から独立に選択される 1～4 個の置換基で任意に置換されていてもよい）

である、請求項 1、3、6、10、38 又は 47 記載の方法。

【請求項 49】

JNK 阻害剤又は MKK 阻害剤が以下の構造 (II) の化合物：

【化 2】



(式中、

R₁ は、R₇ から独立に選択される 1～4 個の置換基で任意に置換されていてもよいアリール又はヘテロアリールであり；

R₂ は、水素であり；

R_3 は、水素又は低級アルキルであり；

R_4 は、1～4個の任意の置換基を示すが、各置換基は、同じ又は異なるものであり、ハロゲン、ヒドロキシ、低級アルキル及び低級アルコキシから独立に選択され；

R_5 及び R_6 は、同じ又は異なるものであって、独立に、 $-R_8$ 、 $-(CH_2)_a C(=O)R_9$ 、 $-(CH_2)_a C(=O)OR_9$ 、 $-(CH_2)_a C(=O)NR_9 R_{10}$ 、 $-(CH_2)_a C(=O)NR_9 (CH_2)_b C(=O)R_{10}$ 、 $-(CH_2)_a NR_9 C(=O)R_{10}$ 、 $(CH_2)_a NR_{11} C(=O)NR_9 R_{10}$ 、 $-(CH_2)_a NR_9 R_{10}$ 、 $-(CH_2)_a OR_9$ 、 $-(CH_2)_a SO_c R_9$ 、又は $-(CH_2)_a SO_2 NR_9 R_{10}$ であり；

あるいは、 R_5 及び R_6 は、それらが結合する窒素原子と一緒に複素環又は置換された複素環を形成し；

R_7 は、それぞれが独立に、ハロゲン、ヒドロキシ、シアノ、ニトロ、カルボキシ、アルキル、アルコキシ、ハロアルキル、アシルオキシ、チオアルキル、スルフィニルアルキル、スルホニルアルキル、ヒドロキシアルキル、アリール、アリールアルキル、複素環、置換された複素環、ヘテロシクロアルキル、 $-C(=O)OR_8$ 、 $-OC(=O)R_8$ 、 $-C(=O)NR_8 R_9$ 、 $-C(=O)NR_8 OR_9$ 、 $-SO_c R_8$ 、 $-SO_c NR_8 R_9$ 、 $-NR_8 SO_c R_9$ 、 $-NR_8 R_9$ 、 $-NR_8 C(=O)R_9$ 、 $-NR_8 C(=O)(CH_2)_b OR_9$ 、 $-NR_8 C(=O)(CH_2)_b R_9$ 、 $-O(CH_2)_b NR_8 R_9$ 、又はフェニルと縮合した複素環であり；

R_8 、 R_9 、 R_{10} 及び R_{11} は、同じ又は異なるものであって、それぞれが独立に、水素、アルキル、アリール、アリールアルキル、複素環、ヘテロシクロアルキルであり；

あるいは、 R_8 及び R_9 は、それらが結合する原子（1若しくは複数）と一緒に複素環を形成し；

a 及び b は、同じ又は異なるものであって、それぞれが0、1、2、3又は4から独立に選択され；

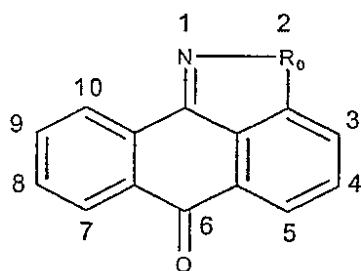
c は、それぞれが0、1又は2である）

である、請求項1、3、6、10、38又は47記載の方法。

【請求項50】

JNK阻害剤又はMKK阻害剤が以下の構造(III)の化合物：

【化3】



(III)

(式中、 R_0 は、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 NH 又は $-CH_2-$ である)

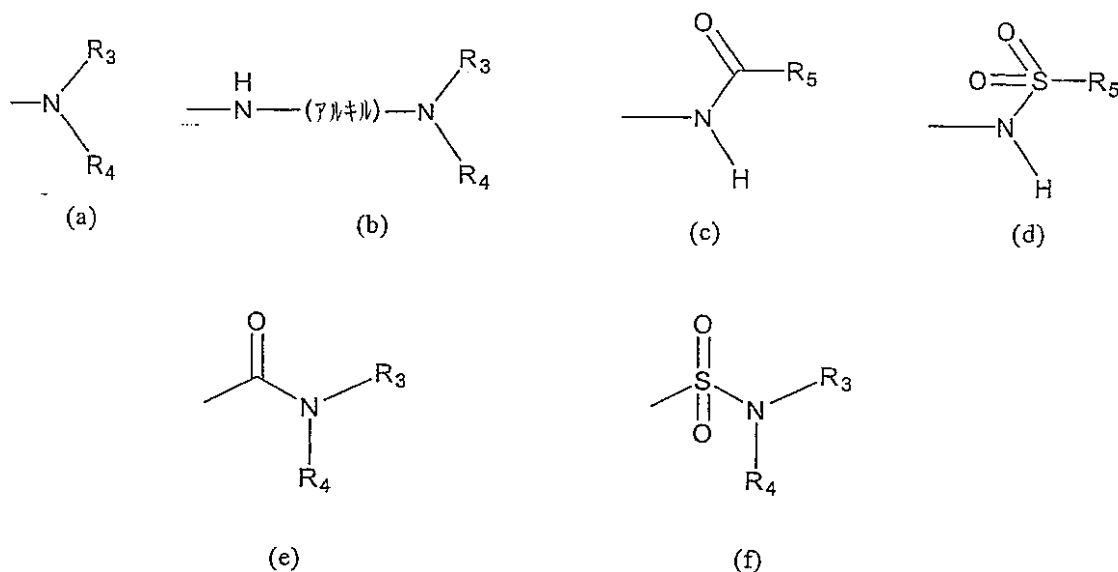
であり、

構造(III)の化合物は、(i)非置換、(ii)一置換で、第1置換基を有する、又は(iii)二置換で、第1置換基及び第2置換基を有し；

第1又は第2置換基は、それらが存在する場合には、3、4、5、7、8、9又は10位にあり、その際、第1及び第2置換基は、それらが存在する場合には、独立に、アルキル、ヒドロキシ、ハロゲン、ニトロ、トリフルオロメチル、スルホニル、カルボキシル、アルコキシカルボニル、アルコキシ、アリール、アリーロキシ、アリールアルキルオキ

シ、アリールアルキル、シクロアルキルアルキルオキシ、シクロアルキルオキシ、アルコキシアルキル、アルコキシアルコキシ、アミノアルコキシ、モノ - アルキルアミノアルコキシ、ジ - アルキルアミノアルコキシ、又は構造 (a)、(b)、(c)、(d)、(e) 若しくは (f) で表される基である：

【化 4】



(式中、 R_3 及び R_4 は、一緒になって、アルキリデン、又はヘテロ原子含有環状アルキリデンであるか、あるいは、 R_3 及び R_4 は、独立に、水素、アルキル、シクロアルキル、アリール、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、アリールオキシアルキル、アルコキシアルキル、アミノアルキル、モノ - アルキルアミノアルキル、又はジ - アルキルアミノアルキルであり；

R_5 は、水素、アルキル、シクロアルキル、アリール、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、アルコキシ、アルコキシアルキル、アルコキシカルボニルアルキル、アミノ、モノ - アルキルアミノ、ジ - アルキルアミノ、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ、シクロアルキルアミノ、シクロアルキルアルキルアミノ、アミノアルキル、モノ - アルキルアミノアルキル、又はジ - アルキルアミノアルキルである）、

請求項 1、3、6、38 又は 47 記載の方法。

【請求項 51】

有効量の JNK 阻害剤又は MKK 阻害剤を含む、骨髄増殖性疾患の治療又は予防のための医薬組成物。

【請求項 52】

骨髄増殖性疾患が、真性一次性赤血球増加、原発性血小板増加、慢性骨髄性白血病、急性若しくは慢性顆粒球性白血病、急性若しくは慢性骨髄単球性白血病、骨髄線維 - 赤白血病、又は原因不明骨髄様化生である、請求項 51 記載の医薬組成物。

【請求項 53】

有効量の JNK 阻害剤又は MKK 阻害剤を含む、骨髄増殖性疾患の症状又はそれに関連する異常を治療又は予防するための医薬組成物。

【請求項 54】

異常が、血液の 1 以上の形成成分の過剰産生を伴う多能性造血前駆細胞のクローン増殖、フィラデルフィア染色体若しくは bcr - abl 遺伝子の存在、末梢血液スミア上の涙滴変形赤血球症、白赤芽球症血液像、巨大異常血小板、網状若しくはコラーゲン線維症を伴う過細胞骨髄、又は低比率の前骨髄球及び芽細胞を含む顕著な左方移動骨髄系である、請求項 53 記載の医薬組成物。

【請求項 5 5】

有効量の J N K 阻害剤又は M K K 阻害剤を含む、骨髓異形成症候群の治療又は予防のための医薬組成物。

【請求項 5 6】

骨髓異形成症候群が、不応性貧血、翼状シデロブラスト (winged sideroblast) を伴う不応性貧血、過剰芽細胞を伴う不応性貧血、形質転換中の過剰芽細胞を伴う不応性貧血、前白血病又は慢性骨髓単球性白血病である、請求項 5 5 記載の医薬組成物。

【請求項 5 7】

有効量の J N K 阻害剤又は M K K 阻害剤を含む、骨髓異形成症候群の症状を治療又は予防するための医薬組成物。

【請求項 5 8】

症状が、貧血、血小板減少、好中球減少、二重血球減少 (bicytopenia) 又は汎血球減少である、請求項 5 7 記載の医薬組成物。