

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-517882  
(P2004-517882A)

(43) 公表日 平成16年6月17日(2004.6.17)

(51) Int.C1.<sup>7</sup>

F 1

テーマコード(参考)

**A61K 31/365**

A 61 K 31/365

4 C 071

**A61P 35/00**

A 61 P 35/00

4 C 086

**C07D 493/22**

C 07 D 493/22

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 43 頁)

(21) 出願番号	特願2002-557346 (P2002-557346)	(71) 出願人	501085821 ファーマジエネシス、 インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成14年1月18日 (2002.1.18)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 943 04, パロ アルト, ポーター ドラ イブ 3183
(85) 翻訳文提出日	平成15年7月22日 (2003.7.22)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(86) 國際出願番号	PCT/US2002/001650	(74) 代理人	100062409 弁理士 安村 高明
(87) 國際公開番号	W02002/056835	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 國際公開日	平成14年7月25日 (2002.7.25)		
(31) 優先権主張番号	09/766,156		
(32) 優先日	平成13年1月19日 (2001.1.19)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	09/766,156		
(32) 優先日	平成13年1月19日 (2001.1.19)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】トリプトライドプロドラッグを使用する抗癌処置

## (57) 【要約】

水溶性トリプトライドプロドラッグは、抗癌剤として使用され、そして広範に使用されている化学療法剤5-フルオロウラシルおよびイリノテカンよりも、より少ない用量で、腫瘍サイズの減少において、インビボでより効果的であることが見出された。1つの局面において、本発明は、抗癌処置の方法を提供する。この方法は、そのような処置を必要とする被験体に、以下に示されそして記載される、構造I-I Vのいずれかによって表される、有効量のトリプトライドプロドラッグ、またはその薬学的に受容可能な塩を、薬学的に受容可能なビヒクルにおいて投与する工程を包含する。

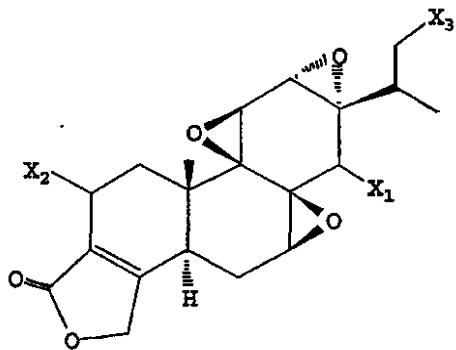
## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

抗癌処置の方法であって、そのような処置を必要とする被験体に、薬学的に受容可能なビヒクルにおいて、有効量のトリプトライドプロドラッグまたはその薬学的に受容可能な塩を投与する工程を包含し、該トリプトライドプロドラッグは、以下から選択される構造を有する、方法：

## 【化 1】

I:



10

ここで、

X<sup>1</sup> は、OH または OR<sup>1</sup> であり、そして X<sup>2</sup> および X<sup>3</sup> は、独立して、OH、OR<sup>1</sup> または H であり、但し、X<sup>1</sup>、X<sup>2</sup> および X<sup>3</sup> の少なくとも 1 つは、OR<sup>1</sup> であり、そして X<sup>2</sup> および X<sup>3</sup> の少なくとも 1 つは、H であり；そして

R<sup>1</sup> は、-C(O)-Y-Z であり、ここで、

Y は、分枝または非分枝の C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> のアルキル鎖またはアルケニル鎖であり；そして Z は、COOR<sup>2</sup>、NR<sup>3</sup>R<sup>3</sup> または + NR<sup>4</sup>R<sup>4</sup>'R<sup>4</sup>'' であり、ここで、

R<sup>2</sup> は、カチオンであり；

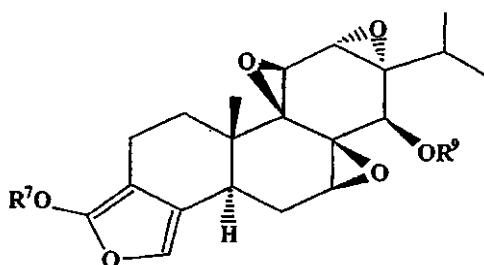
R<sup>3</sup> および R<sup>3</sup>' は、独立して、H、または分枝もしくは非分枝の C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> のアルキル、ヒドロキシアルキル、もしくはアルコキシアルキルであるか、あるいは R<sup>3</sup> および R<sup>3</sup>' は、一緒にになって、5 員 ~ 7 員の複素環式環を形成し、該環の環原子は、炭素、窒素、酸素および硫黄からなる群より選択され、ここで、該環原子は、2 ~ 6 個の炭素原子、1 個以上の窒素原子、および必要に応じて、1 個以上の酸素原子または硫黄原子を含み、そして該環は、置換されていないか、または R<sup>5</sup>、OR<sup>5</sup>、NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>、SR<sup>5</sup>、NO<sub>2</sub>、CN、C(O)R<sup>5</sup>、C(O)NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>、OC(O)R<sup>5</sup>、OC(O)NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>、およびハロゲンから選択される 1 個以上の基で置換されており、ここで、R<sup>5</sup> および R<sup>6</sup> は、独立して、ハロゲン、低級アルキルまたは低級アルケニルであり；そして

R<sup>4</sup>、R<sup>4</sup>' および R<sup>4</sup>'' は、独立して、分枝もしくは非分枝の C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> のアルキル、ヒドロキシアルキル、もしくはアルコキシアルキルである；

## 【化 2】

II:

30



40

ここで、OR<sup>7</sup> は、以下：

50

(i) カルボン酸エステル、カルボネート、または無機エステルであって、炭素、硫黄、リン、窒素、およびホウ素から選択される中心原子を有し、そして形態 - Y - Z' または - O - Y - Z' の少なくとも 1 つの基が該中心原子に結合されており、ここで、Y は、分枝または非分枝の C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> のアルキル鎖またはアルケニル鎖であり、そして Z' は、水素、あるいはケト、アルデヒド、カルボキシレート、カルボン酸エステル、ヒドロキシ、アルコキシ、ポリエーテル、チオール、アルキルチオ、アミノ、シアノ、ニトロ、スルフェート、ニトレート、ホスフェート、または 5 員 ~ 7 員の複素環から選択される極性基であり、該複素環は、炭素、窒素、酸素および硫黄からなる群より選択される環原子、および 3 ~ 6 個の炭素環原子を有する、カルボン酸エステル、カルボネート、または無機エステル、ならびに

10

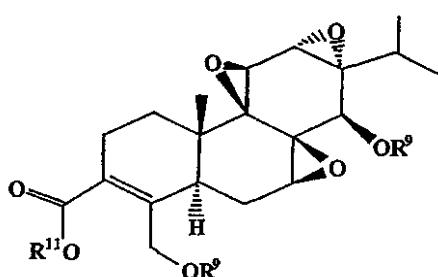
(i i) アノマー中心で C<sub>1</sub> 4 に結合された、モノサッカリド、ジサッカリドまたはトリサッカリド

から選択され、そして

O R<sup>9</sup> は、O H または O - (C = O) R であり、ここで、R は、低級アルキルである；

【化 3】

III:



20

ここで、O R<sup>1</sup> は、以下：

(i) - O - Y - Z または - O - (C = O) - Y - Z であって、ここで、Y は、分枝または非分枝の C<sub>1</sub> ~ C<sub>6</sub> のアルキル鎖またはアルケニル鎖であり、そして Z は、水素、あるいはケト、アルデヒド、カルボキシレート、カルボン酸エステル、アミノ、アルキルアミノ、ヒドロキシ、アルコキシ、ポリエーテル、チオール、アルキルチオ、シアノ、ニトロ、無機エステル、または 5 員 ~ 7 員の複素環式環から選択される極性基であり、該複素環式環の環原子は、炭素、窒素、酸素および硫黄からなる群より選択され、ここで、該環原子は、3 ~ 6 個の炭素を含む、- O - Y - Z または - O - (C = O) - Y - Z、ならびに

30

(i i) アノマー中心で C<sub>1</sub> 4 に結合された、モノサッカリド、ジサッカリドまたはトリサッカリド

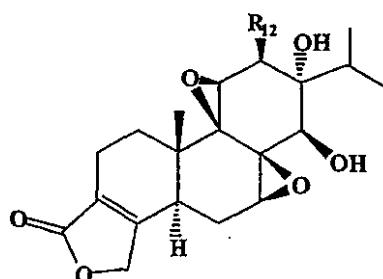
から選択され、そして

O R<sup>9</sup> は、O - (C = O) R であり、ここで、R は、低級アルキルである；および

【化 4】

IV:

40



ここで

R<sup>1</sup> は、アルキルスルホネート、フルオロアルキルスルホネート、アリールスルホネー

50

ト、フルオロスルホネート、ニトレート、アルキルホスフェート、アルキルボレート、トリアルキルアンモニウム、およびジアルキルスルホニウムからなる群より選択される、脱離基である。

**【請求項 2】**

前記トリプトライドプロドラッグが、構造 I のトリプトライドプロドラッグである、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

$X^2 = X^3 = H$  である、請求項 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

Y が、 $-CH_2-CH_2-$  である、請求項 2 に記載の方法。

10

**【請求項 5】**

Z が、 $COOH$  である、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 6】**

Z が、 $COOR^2$  であり、そして  $R^2$  が、金属イオンまたは有機アンモニウムイオンである、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記トリプトライドプロドラッグが、構造 II のトリプトライドプロドラッグである、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

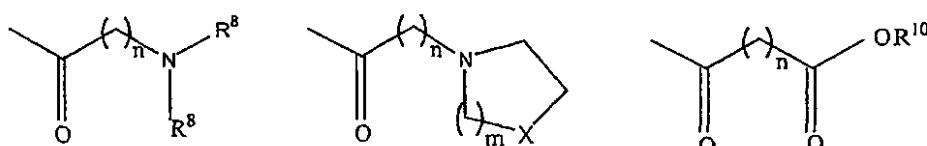
$R^7$  が、群 (i) から選択される、請求項 7 に記載の方法。

20

**【請求項 9】**

請求項 8 に記載の方法であって、 $R^7$  が、以下

**【化 5】**



および

から選択され、ここで、 $R^8$  が、低級アルキルであり、 $R^{10}$  が、H または低級アルキルであり、 $n = 1 \sim 4$ 、 $m = 1 \sim 2$ 、そして  $X = CH_2$ 、O または  $NR^8$  である、方法。

30

**【請求項 10】**

前記トリプトライドプロドラッグが、構造 III のトリプトライドプロドラッグである、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 11】**

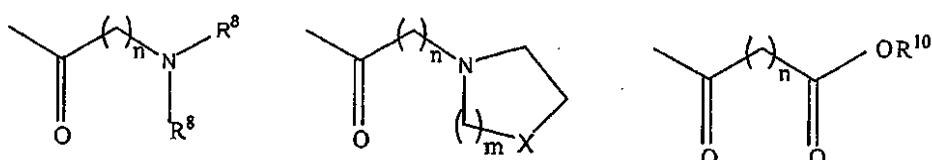
$R^7$  が、群 (i) から選択される、請求項 10 に記載の方法。

**【請求項 12】**

請求項 11 に記載の方法であって、 $R^7$  が、以下

**【化 6】**

40



および

から選択され、ここで、 $R^8$  が、低級アルキルであり、 $R^{10}$  が、H または低級アルキルであり、 $n = 1 \sim 4$ 、 $m = 1 \sim 2$ 、そして  $X = CH_2$ 、O または  $NR^8$  である、方法。

**【請求項 13】**

前記トリプトライドプロドラッグが、構造 IV のトリプトライドプロドラッグである、請

50

求項1に記載の方法。

【請求項14】

請求項13に記載の方法であって、R<sup>1-2</sup>が、ニトレート、トシレート、p-メトキシベンゼンスルホネート、メシレート、フルオロスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、-OP(O)(OR<sup>1-0</sup>)<sub>2</sub>、および-OB(OR<sup>1-0</sup>)<sub>2</sub>から選択され、ここで、R<sup>1-0</sup>が、水素または低級アルキルである、方法。

【請求項15】

前記処置が、結腸癌、乳癌、肺癌または前立腺癌の処置である、請求項1に記載の方法。

【請求項16】

前記処置が、結腸癌の処置である、請求項15に記載の方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、トリプトライドの水溶性プロドラッグまたはその誘導体である化合物を使用する、抗癌処置に関する。

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

多くの癌は、外科的切除によって治癒され得るが、外科治療の補助として、化学療法がしばしば使用され、そしてこれは、主に、手術不能または転移性の悪性疾患の処置に使用される。

【0003】

結腸直腸癌は、初期診断の5年以内に罹患した患者のほぼ半数が死亡する疾患であり、そしておよそ17人に1人の米国人が、彼らの生涯において結腸直腸癌を発症する。外科的介入は、進行性の転移性結腸直腸癌を有するほとんどの患者についての選択肢ではない。フルオロウラシル(5-FU)およびロイコボリンでの初期の化学療法が、第I-II段階の結腸癌を有する患者についての標準となっている(NIH Consensus Conference, 'Adjuvant therapy for patients with colon and rectal cancer', JAMA 264: 1444-50, 1990; Goldberg RMおよびErlichman C, On cology 12: 59-63, 1998)。イリノテカンは、5-FU不応性の進行性結腸直腸癌を有する患者を処置するために、現在使用されている(Van Cutsem EおよびBligham GH, Semin Oncol 26: 13-20, 1999; Cunningham Dら, Lancet 352: 1413-18, 1998)。

20

【0004】

乳癌は、米国の女性において2番目に多い形態の癌であり、女性の癌による第2位の死因である。乳癌の処置において、アジュvant全身療法は、主要な治療(手術および放射線療法)の直後に開始され、再発を遅延し、そして/または、生存を延長する。現在の処置レジメンとしては、シクロホスファミド、メトトレキサートおよび5-フルオロウラシル(CMF)、ならびにアントラサイクリン、ドキソルビシン(アドリアマイシン)およびエピルビシン、および進行性で転移性の癌の処置についての、タキサン、パクリタキセル(Taxol)およびドセタキセル(Taxotere)、の組み合わせレジメンが挙げられる。

40

【0005】

前立腺癌は、男性において最も多い癌であり、1995年の米国において、推定244,000の症例が存在する。前立腺癌は、新形成で死亡する男性の第2位の死因であり、毎年推定44,000人が死亡する。前立腺癌は、従来の細胞傷害性の化学療法に対して比較的耐性であることが見出されており、毒性が、このような治療を、高齢患者に不適切な

50

ものにし得る。前立腺癌が、局在化され、早期に検出され、そして患者の平均余命が10年以上である場合、根治的な前立腺切除術が、この疾患の根治のための最良の機会を提供するが；大きな高度の腫瘍を有する患者、あるいは高齢またはそれほど健常でない患者は、根治的な前立腺切除術によって、首尾よく処置される可能性は高くない。放射線療法は、代替法として使用され得るが、疾患の長期の再発が、問題である。

#### 【0006】

癌による毎年多くの死亡の観点から、抗癌剤として使用するための効果的かつ比較的非毒性の化学療法薬物を同定する必要性が、存在し続けている。

#### 【発明の開示】

##### 【課題を解決するための手段】

#### 【0007】

##### (発明の要旨)

1つの局面において、本発明は、抗癌処置の方法を提供する。この方法は、そのような処置を必要とする被験体に、以下に示されそして記載される、構造I - IVのいずれかによって表される、有効量のトリプトライドプロドラッグ、またはその薬学的に受容可能な塩を、薬学的に受容可能なビヒクルにおいて投与する工程を包含する。好ましい化合物は、構造Iの化合物であり；特に好ましい化合物は、トリプトライド14-スクシネート（本明細書中でPG490-88と称する）である。好ましい実施形態において、この方法は、結腸、肺、胸部または前立腺の癌または腫瘍の処置に使用される。本発明はまた、抗癌処置または抗腫瘍処置のための薬学的組成物を提供し、これは、本質的に、薬学的に受容可能なビヒクルにおける、以下に示されそして記載される、構造I - IVのいずれか1つによって表されるトリプトライドプロドラッグまたはその薬学的に受容可能な塩からなる。これらの組成物は、本明細書中に記載される抗癌処置方法において使用される。

#### 【0008】

本発明のこれらおよび他の目的および特徴は、添付の図面と共に、本発明の以下の詳細な説明を読んだ場合に、より完全に明らかとなる。

#### 【0009】

##### (発明の詳細な説明)

##### (I. 定義)

以下の用語は、他に示されない限り、以下の意味を有する。

#### 【0010】

「アルキル」とは、炭素および水素を含む、完全に飽和した非環式の一価のラジカルをいい、これは、分枝鎖または直鎖であり得る。例は、メチル、エチル、n-ブチル、t-ブチル、n-ヘプチル、およびイソプロピルである。「シクロアルキル」とは、炭素および水素を含む、完全に飽和した環式の一価のラジカルをいい、これは、アルキルでさらに置換され得る。例は、シクロプロピル、メチルシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルおよびシクロヘキシルである。「低級アルキル」とは、1~6個の炭素原子（好ましくは、1~4個の炭素原子）のアルキルラジカルをいい、メチル、エチル、n-ブチル、i-ブチル、t-ブチル、イソアミル、n-ペンチルおよびイソペンチルによって例示される。

#### 【0011】

「アルケニル」とは、炭素および水素を含む、一価または二価の不飽和（好ましくは、一不飽和）のラジカルをいい、そしてこれは、環状、分枝鎖または直鎖であり得る。「低級アルケニル」とは、1~4個の炭素原子を有する、このようなラジカルをいう。

#### 【0012】

「アシル」とは、形態-C(O)Rを有するラジカルをいい、ここで、Rは、アルキル、アリールまたはアラルキル基である。

#### 【0013】

「アリール」とは、1個の環（例えば、ベンゼン）または2個の縮合環（例えば、ナフチル）を有する、置換または非置換の、一価の芳香族ラジカルをいう。この用語には、ヘテ

10

20

30

40

50

ロアリール基が含まれ、これらは、その環中に1個以上の窒素原子、酸素原子または硫黄原子を有する芳香族環基（例えば、フリル、ピロール、ピリジルおよびインドール）である。「置換（された）」とは、アリール基中の1個以上の環水素が、ハライド（例えば、フッ素、塩素または臭素）；1個または2個の炭素原子を含む低級アルキル基；ニトロ、アミノ、メチルアミノ、ジメチルアミノ、メトキシ、ハロメトキシ、ハロメチルあるいはハロエチルで置き換えられることを意味する。

## 【0014】

「アラルキル」とは、アリール基でさらに置換された、アルキル（好ましくは、低級アルキル）置換基をいい；1つの例は、ベンジル基である。

## 【0015】

「複素環」とは、非芳香族環（好ましくは、5～7員環）をいい、その環原子は、炭素、窒素、酸素および硫黄からなる群より選択される。好ましくは、環原子は、3個～6個の炭素原子を含む。このような複素環としては、例えば、ピロリジン、ピペリジン、ピペラジンおよびモルホリンが挙げられる。

## 【0016】

用語「薬学的に受容可能な塩」は、有機カチオンおよび無機カチオンを有する、カルボン酸塩を包含し、このようなカチオンとしては、例えば、アルカリ金属カチオンおよびアルカリ土類金属カチオン（例えば、リチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、バリウムおよびカルシウム）；アンモニウム；または例えば、ジベンジルアンモニウム、ベンジルアンモニウム、2-ヒドロキシエチルアンモニウム、ビス（2-ヒドロキシエチル）アンモニウム、フェニルエチルベンジルアンモニウムなどの有機カチオンが、挙げられる。上記用語に包含される他のカチオンとしては、プロカイン、キニーネおよびN-メチルグルコサミンのプロトン化形態、および塩基性アミノ酸（例えば、グリシン、オルニチン、ヒスチジン、フェニルグリシン、リジン、およびアルギニン）のプロトン化形態が挙げられる。

## 【0017】

この用語はまた、有機酸または無機酸から誘導される対イオンを有する塩基性基（例えば、アミノ基）との標準的な酸-塩基反応によって形成される塩を包含する。このような酸としては、塩酸、硫酸、リン酸、酢酸、コハク酸、クエン酸、乳酸、マレイン酸、フマル酸、パルミチン酸、コール酸、パモ酸、粘液酸、D-グルタミン酸、D-ショウノウ酸、グルタル酸、フタル酸、酒石酸、ラウリン酸、ステアリン酸、サリチル酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ソルビン酸、ピクリン酸、安息香酸、桂皮酸などが挙げられる。

## 【0018】

本明細書中で記載される場合、「トリプトライド誘導体」または「トリプトライドアナログ」とは、トリプトライド、16-ヒドロキシトリプトライドまたはトリプジオライド（2-ヒドロキシトリプトライド）（これは、親化合物の12,13-エポキシ基またはラクトン環で誘導体化される）に基づく化合物をいう。

## 【0019】

本開示の目的のために、トリプトライドおよびトリプトライドアナログについて、以下の番号付け法：

## 【0020】

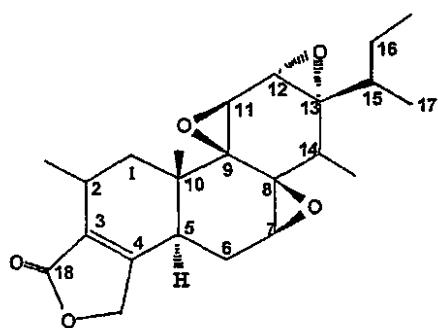
## 【化7】

10

20

30

40



10

を使用する。

【0021】

(I.I. トリプトライドプロドラッグ)

トリプトライドは、中国の薬草 *Tripterygium wilfordii* (TW) の根の木部から得られる。TW植物は、福建省および中国の他の南部の省において見出され；TW植物の材料は、一般に、中国で得られ得るか、または米国の商業的供給源を通して得られ得る。トリプトライドおよびその誘導体を調製するための方法は、当該分野で公知であり、そして例えば、Lipskyら(米国特許第5,294,443号；1994)、Zhangら(Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao 13:391, 1991; Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao 16:24, 1994)、およびMaら(J. Chin. Pharm. Sci. 1:12, 1992)に記載される。これらの化合物は、免疫抑制化合物として広範に報告されており、そしてまた、抗白血病活性を有することも報告されている(Kupchan SMら、J. Am. Chem. Soc. 94:7194, 1972; 米国特許第4,005,108号(1977))。しかし、これらの化合物の投与および治療効果は、それらの低い水溶性によって制限されていた。

【0022】

以下の式I～IVによって示されるような、トリプトライドプロドラッグは、共有に係る米国特許第5,663,335号、同第5,962,516号および同第6,150,539号(これらは、その全体が参考として本明細書によって援用される)に記載されている。これらの化合物は、中国の薬草 *Tripterygium wilfordii* (TW) の根の木部から得られ得るか、または上記の特許に記載されるような、他の公知の供給源から得られるトリプトライドから調製され得る。これらの化合物は、親水性の置換基を有するトリプトライドの誘導体である。これらの化合物は、誘導体化されていない出発化合物よりも高い水溶性を有し、そしてインビボで加水分解し、そして親化合物に変換するのに効果的である。

【0023】

構造I～IVの各々は、トリプトライドの核上の1つの位置で改変された化合物を示し、1より多くのこのような改変を有する化合物もまた、企図される。これらの化合物は、以下に実証されるように、抗癌治療に有用である。

【0024】

(A. 構造Iの化合物)

1つの局面において、本発明は、以下の式Iによって示される構造を有する化合物を使用する、抗癌処置を提供する：

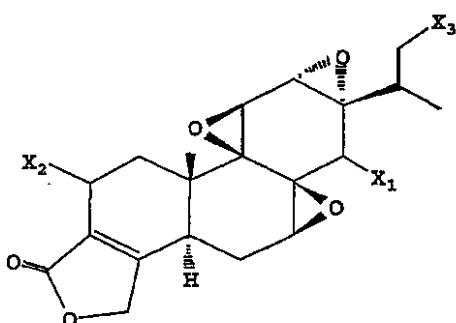
【0025】

【化8】

20

30

40



ここで、 $X^1$  は、 $\text{OH}$  または  $\text{OR}^1$  であり、そして  $X^2$  および  $X^3$  は、独立して、 $\text{OH}$ 、  
10  
 $\text{OR}^1$  または  $\text{H}$  であり、但し、 $X^1$ 、 $X^2$  および  $X^3$  の少なくとも 1 つは、 $\text{OR}^1$  であり、  
そして  $X^2$  および  $X^3$  の少なくとも 1 つは、 $\text{H}$  であり；そして

$R^1$  は、 $-\text{C}(\text{O})-\text{Y}-\text{Z}$  であり、ここで、

$\text{Y}$  は、分枝または非分枝の  $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$  のアルキル鎖またはアルケニル鎖であり；そして  
Z は、 $\text{COOR}^2$ 、 $\text{NR}^3 \text{R}^3'$  または  $^+ \text{NR}^4 \text{R}^4' \text{R}^4''$  であり、ここで、 $\text{R}^2$  は、  
水素またはカチオンであり； $\text{R}^3$  および  $\text{R}^3'$  は、独立して、 $\text{H}$ 、または分枝もしくは  
非分枝の  $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$  のアルキル、ヒドロキシアルキル、もしくはアルコキシアルキルであるか、あるいは  $\text{R}^3$  および  $\text{R}^3'$  は、一緒にになって、5 員～7 員の複素環式環を形成し、該環の環原子は、炭素、窒素、酸素および硫黄からなる群より選択され、ここで、該環原子は、2～6 個の炭素原子、1 個以上の窒素原子、および必要に応じて、1 個以上の酸素  
20  
原子または硫黄原子を含み、そして該環は、置換されていないか、または  $\text{R}^5$ 、 $\text{OR}^5$ 、  
 $\text{NR}^5 \text{R}^6$ 、 $\text{SR}^5$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{CN}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NR}^5 \text{R}^6$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^5$ 、  
 $\text{OC}(\text{O})\text{NR}^5 \text{R}^6$ 、およびハロゲン（フルオロ、クロロ、ブロモ、またはヨード）から選択される 1 個以上の基で置換されており、ここで、 $\text{R}^5$  および  $\text{R}^6$  は、独立して、水素、低級アルキルまたは低級アルケニルであり；そして  $\text{R}^4$ 、 $\text{R}^4'$  および  $\text{R}^4''$  は、独立して、分枝もしくは非分枝の  $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$  のアルキル、ヒドロキシアルキルもしくはアルコキシアルキルである。

#### 【0026】

1 つの一般的な実施形態において、この化合物は、 $X^1$  が、 $\text{OH}$  または上記のような  $\text{OR}^1$  であり、そして  $X^2$  および  $X^3$  が、 $\text{H}$  である、トリプトライドの誘導体である。これには、本明細書中で PG 490 - 88 と称される化合物が含まれ、ここで、 $\text{Y}$  が、 $\text{C}_2$ （すなわち、 $-\text{CH}_2 \text{CH}_2 -$ ）であり、そして  $\text{Z}$  が、 $\text{COOH}$  または  $\text{COOR}^2$  であり、ここで、 $\text{R}^2$  が、カチオンである。第 2 の一般的な実施形態において、この化合物は、16-ヒドロキシルトリプトライドの誘導体であり、ここで、 $X^1$  および  $X^3$  が、 $\text{OH}$  または  $\text{OR}^1$  であり、そして  $X^2$  が、 $\text{H}$  である。第 3 の一般的な実施形態において、この化合物は、トリプジオライド（2-ヒドロキシトリプトライド）の誘導体であり、ここで、 $X^1$  および  $X^2$  が、 $\text{OH}$  または  $\text{OR}^1$  であり、そして  $X^3$  が、 $\text{H}$  である。

#### 【0027】

1 つの好ましい実施形態において、 $\text{Z}$  は、 $\text{COOH}$  または  $\text{COOR}^2$  であり、ここで、 $\text{R}^2$  が、金属イオン（好ましくは、 $\text{Na}^+$  または  $\text{K}^+$ ）である。代替的な実施形態において、 $\text{R}^2$  は、必要な場合にプロトン化された、有機アンモニウムイオンであり、好ましくは、リジン、トリエチルアミンまたはトリス（ヒドロキシメチル）アミノメタンから選択される。好ましくは、 $\text{R}^2$  は、 $\text{Na}^+$ 、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタンまたはリジンであり、そして  $\text{Y}$  は、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$  アルキル鎖である。

#### 【0028】

別的好ましい実施形態において、 $\text{Z}$  は、 $\text{NR}^3 \text{R}^3'$  であり、ここで、 $\text{R}^3$  および  $\text{R}^3'$  が、独立して、 $\text{H}$  または分枝もしくは非分枝の  $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$  のアルキルであるか、あるいは一緒にになって、5 員～7 員の複素環式環を形成し、該複素環式環が、2～6 個の炭素原子、1 個以上の窒素原子、および必要に応じて、1 個以上の酸素原子または硫黄原子を含む。好ましくは、 $\text{Z}$  は、ジメチルアミノ、ジエチルアミノまたは  $\text{N}$ -モルホリノであり、 $\text{Y}$

10

20

30

40

50

は、C<sub>1</sub>～C<sub>4</sub>アルキル鎖である。

【0029】

Zが、第4級アミノ基またはプロトン化された第3級アミノ基である場合、この化合物はまた、アニオン性対イオンを含む。このアニオン性対イオンは、好ましくは、ハライドまたはカルボン酸イオン、スルホン酸イオンもしくは硫黄含有イオンである。より好ましくは、この対イオンは、クロリド、プロミド、アセテート、オキサレート、マレート、フマレート、メタンスルホネートまたはトルエンスルホネートである。

【0030】

これらの化合物の調製は、共有に係る米国特許第5,663,335号に記載される。以下の構造II～IVの調製は、共有に係る米国特許第6,150,539号に記載される。  
10

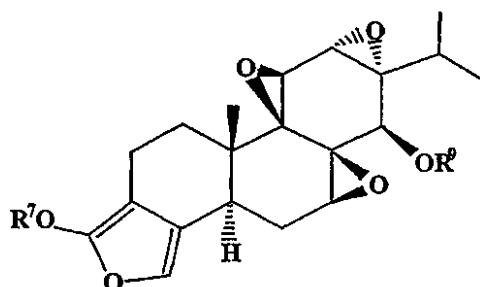
【0031】

(B. 構造IIの化合物)

以下の構造IIの化合物において：

【0032】

【化9】



OR<sup>7</sup>は、加水分解可能な親水性基であり、例えば、カルボン酸エステル、無機エステル、またはアノマー酸素を介して親化合物に結合したモノサッカリド、ジサッカリドもしくはトリサッカリドである。このカルボン酸エステルまたは無機エステルは、炭素、硫黄、リンおよびホウ素から選択される中心原子を有し、その中心原子に、少なくとも1個の酸素原子、および形態-O-Y-Z'の少なくとも1個の基が結合されている。この基において、Yは、分枝または非分枝のC<sub>1</sub>～C<sub>6</sub>のアルキル鎖またはアルケニル鎖を示し、そしてZ'は、水素、あるいは好ましくは、ケト、アルデヒド、カルボキシレート、カルボン酸エステル、ヒドロキシ、アルコキシ、ポリエーテル、チオール、アルキルチオ、アミノ、アルキルアミノ、シアノ、ニトロ、スルフェート、ニトレート、ホスフェート、または5員～7員の複素環から選択される極性基を示し、該環原子は、炭素、窒素、酸素および硫黄からなる群より選択され、ここで、該環原子は、3～6個の炭素環原子を含む。このような複素環としては、例えば、ピリジン、ピロリジン、ピペラジンおよびモルホリノが挙げられる。  
30

【0033】

このような無機エステルの例としては、スルファイト(-O-S(=O)-OR)、スルフィネート(-O-S(=O)-R)、スルフェート(-O-S(=O)<sub>2</sub>-OR)、スルホネート(-O-S(=O)<sub>2</sub>-R)、ホスフェート(-O-P(=O)(OR)<sub>2</sub>)、ホスホネート(-O-P(=O)R(OR))、およびボレート(-O-B(OR)<sub>2</sub>)が挙げられる。  
40

【0034】

Z'が、アニオン種（例えば、カルボキシレート）である場合、正に荷電した対イオンは、好ましくは、無機金属（例えば、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>またはMg<sup>++</sup>）、またはプロトン化された有機アミン（例えば、トロメタミン（トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン））である。Zが、塩基性アミンである場合、この化合物は、負に荷電した対イオン（例えば、クロリド、プロミド、ヨージド、アセテート、オキザレート、マレート、フマレート、メシレートまたはトシレート）を有する、プロトン化された塩の形態を取り得る。  
50

## 【0035】

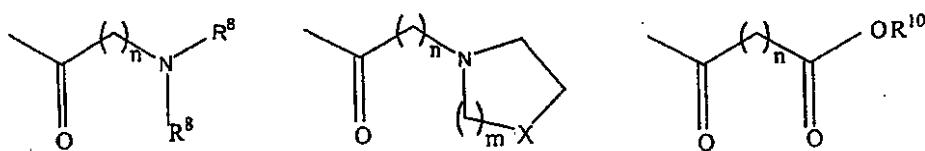
置換基  $OR^9$  は、  $OH$  または  $O - (C = O)R$  であり、ここで、  $R$  は、低級アルキルである。

## 【0036】

好ましくは、  $R^7$  は、以下

## 【0037】

## 【化10】



および

10

から選択され、ここで、  $R^8$  は、低級アルキルであり、  $R^{10}$  は、  $H$  または低級アルキルであり、  $n = 0 \sim 4$  、  $m = 1 \sim 2$  、そして  $X = CH_2$  、  $O$  または  $NR^8$  である。

## 【0038】

これらの置換基の親水性の性質は、これらの化合物の水溶性を増加し、そして  $OR^1$  の加水分解（例えば、インビボでの）は、トリプトライドの不飽和ラクトン（ブテノライド）を再生する。

20

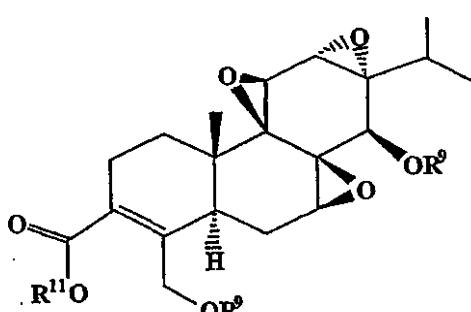
## 【0039】

## (C. 構造IIIの化合物)

別の実施形態において、トリプトライドアナログは、以下：

## 【0040】

## 【化11】



30

に示されるような、構造IIIのトリプトライドアナログである。基  $OR^9$  は、上記に定義されたとおりであり、そして好ましくは、低級アシル（例えば、アセチル）である。基  $OR^{11}$  は、好ましくは、形態  $-O-Y-Z'$  または  $-O-(C=O)-Y-Z'$  であり、ここで、  $Y$  は、分枝または非分枝の  $C_1 \sim C_6$  のアルキル鎖またはアルケニル鎖であり、そして  $Z'$  は、水素、あるいはケト、アルデヒド、カルボキシレート、カルボン酸エステル、アミノ、アルキルアミノ、ヒドロキシ、アルコキシ、ポリエーテル、チオール、アルキルチオ、シアノ、ニトロ、無機エステル、または5員～7員の複素環式環から選択される極性基であり、該複素環式環の環原子は、炭素、窒素、酸素および硫黄からなる群より選択され、ここで、該環原子は、3～6個の炭素を有する。 $R^{11}$  はまた、アノマー中心で  $C_{14}$  に結合された、モノサッカリド、ジサッカリドまたはトリサッカリドであり得る。

40

## 【0041】

さらに、  $Z'$  が、アニオン種（例えば、カルボキシレート）である場合、正に荷電した対イオンは、好ましくは、無機金属（例えば、  $Na^+$  、  $K^+$  または  $Mg^{+2}$  ）、またはプロトン化された有機アミン（例えば、トロメタミン）である。 $Z'$  が、塩基性アミンである場合、この化合物は、負に荷電した対イオン（例えば、クロリド、プロミド、ヨージド、

50

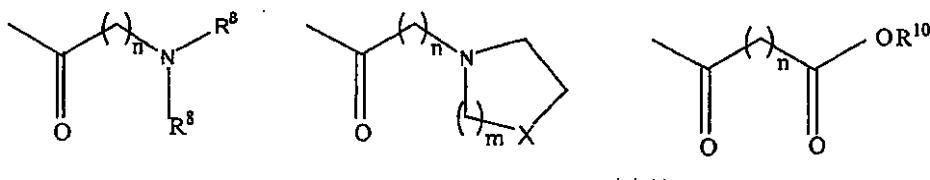
アセテート、オキサレート、マレエート、フマレート、メシレートまたはトシレート)を有する、プロトン化された塩の形態を取り得る。

【0042】

好ましくは、 $R^{1-1}$  は、以下：

【0043】

【化12】



または

10

の形態であり、ここで、 $R^8$  は、低級アルキルであり、 $R^{1-0}$  は、H または低級アルキルであり、 $m = 1 \sim 2$ 、 $n = 1 \sim 4$ 、そして  $X = CH_2$ 、O または  $NR^8$  である。

【0044】

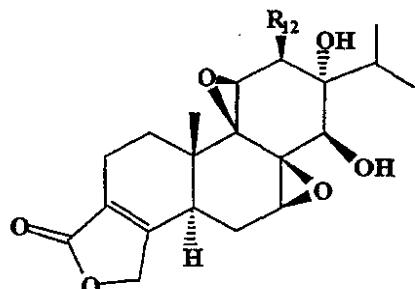
(D. 構造IVの化合物)

さらなる実施形態において、トリプトライドアナログは、以下に示されるような、構造IVを有する：

20

【0045】

【化13】



30

ここで  $R^{1-2}$  は、好ましくは、アルキルスルホネート、フルオロアルキルスルホネート、アリールスルホネート、フルオロスルホネート、ニトレート、アルキルホスフェート、アルキルボレート、トリアルキルアンモニウム、およびジアルキルスルホニウムからなる群より選択される、脱離基である。好ましい脱離基は、トシレート、p-メトキシベンゼンスルホネート、メシレート、フルオロスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、ニトレート、およびアルキルホスフェートまたはボロネート(-OP(O)(OR<sup>1-0</sup>)<sub>2</sub> および -OB(OR<sup>1-0</sup>)<sub>2</sub> (ここで、 $R^{1-0}$  が、水素または低級アルキルである)によって示される)である。

【0046】

さらに好ましい実施形態において、脱離基は、アリールスルホネートであり、ここで、アリール基は、エポキシド形成の速度を調節するように置換され、より好ましい薬物動態を提供し得る。例えば、エポキシドへの環化の速度は、 $R^{1-2} =$  トシレートの場合よりも、 $R^{1-2} = p$ -メトキシベンゼンスルホネートの場合に、有意に遅いことが見出された。

40

【0047】

14-OH基もまた、低級アシリル基、すなわち、-O-(C=O)-R あり得、ここで、R は、低級アルキルである。

【0048】

(III. 治療的組成物)

上記のトリプトライドアナログを含有する処方物は、好ましくは、正確な投薬量の単回投与に適切な単位投薬形態の、固体、半固体、凍結乾燥粉末または液体の投薬形態(例えば

50

、錠剤、カプセル、粉末、徐放性処方物、溶液、懸濁液、エマルジョン、軟膏、ローションまたはエアロゾル）を取り得る。これらの組成物は、代表的には、従来の薬学的キャリアまたは賦形剤を含み、そしてさらに、他の医療用薬剤、キャリアまたはアジュバントを含み得る。好ましくは、組成物は、約0.5重量%～75重量%の本発明の化合物（単数または複数）であり、残りは、適切な薬学的賦形剤からなる。経口投与のために、このような賦形剤としては、薬学的グレードのマンニトール、ラクトース、デンブン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、タルク、セルロース、グルコース、ゼラチン、スクロース、炭酸マグネシウムなどが挙げられる。所望の場合、組成物はまた、少量の非毒性補助物質（例えば、湿潤剤、乳化剤または緩衝剤）を含み得る。

## 【0049】

10

組成物は、例えば、静脈内注射、皮下注射、腹腔内注射または筋内注射によって、経口的、経皮的または非経口的に、被験体に投与され得る。経口液体調製物のために、組成物は、溶液、懸濁液、エマルジョンまたはシロップとして調製され得、これらは、液体形態で供給されるか、または水もしくは通常の生理食塩水での水和に適切な乾燥形態で供給されるかのいずれかである。非経口投与のために、非経口投与のための注射用組成物は、代表的には、適切な静脈内溶液（例えば、滅菌した生理学的塩溶液）にトリプトライドアナログを含む。

## 【0050】

20

液体組成物は、キャリア（例えば、生理食塩水溶液、水性デキストロース、グリセロールまたはエタノールのような）中にトリプトライドアナログ（約0.5%～約20%）および任意の薬学的アジュバントを溶解または分散させて、溶液または懸濁液を形成することによって、調製され得る。本発明の化合物の高い水溶性は、それらを、水溶液での投与（例えば、腹腔内注射による）に特に有利なものにする。水溶液が好ましいが、本発明に従う組成物はまた、脂質（例えば、トリグリセリド、リン脂質、またはポリエトキシ化ヒマシ油（例えば、「CREMOPHORE L」<sup>TM</sup>））の懸濁液として、リポソーム懸濁液、または水性エマルジョンで処方され得る。

## 【0051】

30

化合物はまた、好ましくは、呼吸可能なサイズの、エアロゾル粒子（固体または液体のいずれか）の形態で、吸入によって投与され得る。このような粒子は、吸入時に口および喉頭を通って、そして気管支および肺の肺胞へ通過するのに十分小さい。一般に、約1～10ミクロンの範囲の大きさ（好ましくは、約5ミクロン未満の大きさ）の粒子が、呼吸可能である。吸入のための液体組成物は、水性キャリア（例えば、滅菌した発熱物質フリーの生理食塩水溶液または滅菌した発熱物質フリーの水）に分散させた活性剤を含む。所望の場合、組成物は、噴霧体と混合され、組成物のスプレーおよびエアロゾルの形成を補助し得る。

## 【0052】

40

このような投薬形態を調製するための方法は、当業者に公知であるか、または当業者に明らかである；例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences（第19版、Williams & Wilkins, 1995）を参照のこと。投与される組成物は、被験体において免疫抑制をもたらすための薬学的に有効な量で、一定量の選択された化合物を含む。

## 【0053】

全身投与のために、組成物は、例えば、静脈内注射、皮下注射、腹腔内注射または筋内注射によってか、あるいは吸入によって、経口的、経皮的または非経口的に投与され得る。複数回の静脈内用量、皮下用量および/または筋内用量が可能であり、そして移植可能な処置方法の場合、徐放用に設計された処方物が、特に有用である。患者はまた、移植可能な皮下ポート（porta）、レザバまたはポンプを使用して処置され得る。

## 【0054】

50

局所処置は、特定の器官における癌の処置に有用である。処置は、動脈内注入によって達成され得る。カテーテルは、罹患した器官へ処置を向けるように、外科的または血管造影

によって移植され得る。カテーテルに接続される皮下ポータルは、慢性処置に使用され得るか、または移植可能で、詰め替え可能なポンプもまた、使用され得る。

#### 【0055】

##### (IV. 抗癌処置)

トリプトライドプロドラッグは、以下を含むが、これらに限定されない、種々の癌細胞型の処置に使用され得る：胸部腫瘍、結腸腫瘍、小細胞肺腫瘍、大細胞肺腫瘍、前立腺腫瘍、悪性メラノーマ、肝臓腫瘍、腎臓腫瘍、脾臓腫瘍、食道腫瘍、胃腫瘍、卵巣腫瘍、頸部腫瘍またはリンパ腫の腫瘍。胸部腫瘍、結腸腫瘍、肺腫瘍および前立腺腫瘍の処置が、特に企図される。白血病の処置もまた、企図される。

#### 【0056】

図5～6に示されるデータは、結腸癌についての現在の好ましい2つの処置と比較した、マウス異種移植モデルにおけるHT-29ヒト結腸腫瘍の処置における、トリプトライドプロドラッグであるトリプトライド14-スクシネート（本明細書中でPG490-88と称される）の有効性を示す。これらの研究は、以下の「材料および方法」に記載されるように行った。

#### 【0057】

図5に示されるように、PG490-88は、CPT-11（イリノテカン）に必要とされた用量よりもはるかに少ない用量で、用量依存様式で、HT-29腫瘍増殖を阻害した。16日目までに（下の棒）、0.125mg/kgのPG490-88で処置したマウスにおける腫瘍増殖は、わずかに阻害され、そして平均腫瘍体積は、ビヒクルコントロール群における721%と比較して、462%増加した。0.25mg/kgのPG490-88は、中程度の阻害を生じ、そして平均腫瘍体積は、131%増加した。0.75mg/kgのPG490-88は、強力に、腫瘍増殖を阻害し、そして腫瘍退行を誘導した。16日目まで、平均腫瘍体積は、初期値から54%減少した。

#### 【0058】

一方、22mg/kgのCPT-11による腫瘍増殖阻害は、わずか～中程度に過ぎず、平均腫瘍体積は、初期値から252%増加した。従って、PG490-88は、CPT-11と比較して、予測されない効力を示した。

#### 【0059】

5-FU（5-フルオロウラシル）は、結腸癌を処置するために臨床的に使用される、標準的な従来の化学療法である。5-FUと比較して、PG490-88はまた、HT-29腫瘍を用いて、予測されない優れた効力を示した（図6）。20mg/kgで、5-FUは、腫瘍増殖をわずかにしか阻害せず、そして腫瘍は、一定して増殖した。16日目まで、5-FU群の平均腫瘍体積は、コントロール群における721%と比較して、470%増殖した。この投薬量は、このモデル系における5-FUについて比較的高い量であり；より高用量の5-FU（30mg/kg）は、毒性の徵候を示す。

#### 【0060】

これと比較して、0.25mg/kgのPG490-88で処置したマウスにおける腫瘍増殖は、阻害され、そして抑制効果は、5日目後に特に明らかであった。16日目までに、平均腫瘍体積は、この処置群において、わずか131%増加しただけである。0.75mg/kgのPG490-88は、腫瘍増殖を強力に阻害し、そして5日目から腫瘍サイズを次第に減少させた（図6）。9日目までに、平均腫瘍体積は、5日目の値からほぼ初期値まで減少した。16日目までに、平均腫瘍体積は、元の体積から54%減少した。

#### 【0061】

従って、HT-29ヒト結腸癌細胞株の腫瘍異種移植片を用いたこれらの研究において、トリプトライドプロドラッグは、5-FUおよびCPT-11と比較して、低用量で、予測されない効力を示した。

#### 【0062】

##### (実施例)

ヒト腫瘍異種移植片研究。HT-29ヒト結腸癌細胞株を、ATCC（Manassas

10

20

30

40

50

, Virginia) から購入した。細胞を、L - グルタミンおよびペニシリン / ストレプトマイシンを補充した、10% 胎仔ウシ血清 (FBS) を含む、GIBI O BRL (Grand Island, New York) 製のDMEM (ダルベッコ改変イーグル培地) 中で培養した。培養物が 80 ~ 90% のコンフルエンシーになった時に、腫瘍細胞を収集した。上清を廃棄し、そして細胞ペレットを、FBS を含まない DMEM 培地中に、 $1 \times 10^8$  細胞 / ml に懸濁した。HT - 29 細胞 ( $5 \times 10^6$ ) を、各マウスの背中に、皮内移植した。腫瘍サイズを、各腫瘍の長さ (L)、幅 (W) および高さ (H) を測定し、腫瘍体積を計算することによって (体積 =  $1 / 2 \times 4 / 3 \times (L / 2) \times (W / 2) \times H$ )、モニターした。

#### 【0063】

腫瘍が適切なサイズに到達した時、マウスを、各実験の群において類似の平均腫瘍サイズ (約 100 mm<sup>3</sup>) を構成するように、グループ化し (5 匹のマウス / 群)、そして処置を、0 日目に開始した。

#### 【0064】

ヒト腫瘍細胞異種移植片を保持するマウスを、1週間当たり 5 日間、毎日、PG490 - 88 を IP で処置した。化合物を、ナトリウム塩として投与した。CPT - 11 を、1週間当たり 2 回、IV 投与した。5 - FU を、1週間当たり 5 日間、毎日、IP で与えた。各治療剤のストック溶液を、投薬のために 0.9% NaCl 中に希釈した。これらの薬剤を、10 g のマウス体重当たり 100 μl で、マウスに与えた。マウスに、2 週間投薬し、そして 0.9% NaCl を、ビヒクルコントロールとして使用した。腫瘍体積をモニターし、そして化学療法処置の毒性を、毎日、マウスの体重を測定することによって、モニターした。結果は、上記に記載され、そして図 5 ~ 6 に示される。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0065】

【図 1】図 1A ~ C は、構造 I の特定の実施形態の例を示す。

【図 2】図 2A ~ C は、構造 II の特定の実施形態の例を示す。

【図 3】図 3A ~ C は、構造 III の特定の実施形態の例を示す。

【図 4】図 4A ~ C は、構造 IV の特定の実施形態の例を示す。

【図 5】図 5 は、マウス異種移植モデルにおける HT - 29 ヒト結腸腫瘍の処置における、図 1A に示されるトリプトライドプロドラッグであるトリプトライド 14 - スクシネット (m = 2、本明細書中で PG490 - 88 と称される) の有効性を示す。図 5 において、上の棒は、0 日目の腫瘍体積を示し、下の棒は、処置 16 日目での腫瘍体積を示す。パーセンテージは、16 日目での体積における増加 (または減少) パーセントを示す。

【図 6】図 6 は、マウス異種移植モデルにおける HT - 29 ヒト結腸腫瘍の処置における、図 1A に示されるトリプトライドプロドラッグであるトリプトライド 14 - スクシネット (m = 2、本明細書中で PG490 - 88 と称される) の有効性を示す。

10

20

30

【図5】

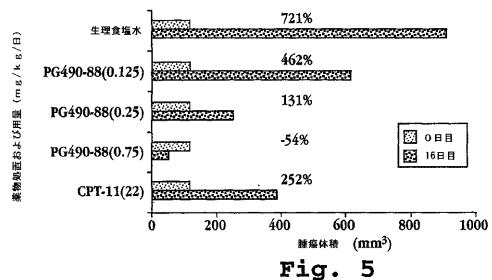


Fig. 5

【図6】

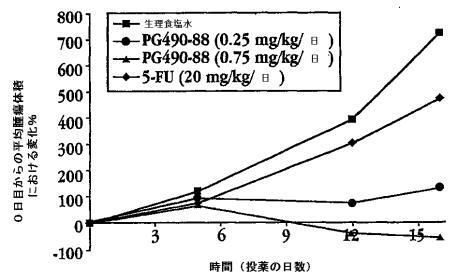


Fig. 6

## 【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
25 July 2002 (25.07.2002)

PCT

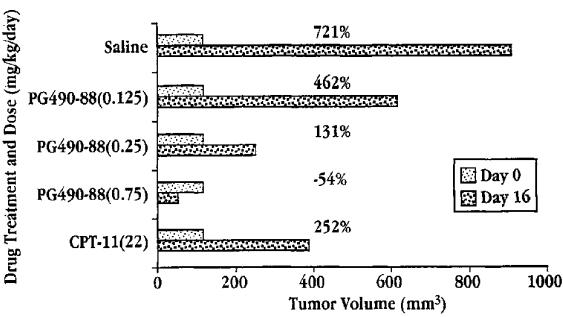
(10) International Publication Number  
WO 02/056835 A2

- (51) International Patent Classification: A61K (81) Designated States (national): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CI, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, IU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) International Application Number: PCT/US02/01650
- (22) International Filing Date: 18 January 2002 (18.01.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:  
09/766,156 19 January 2001 (19.01.2001) US  
09/766,156 19 January 2001 (19.01.2001) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): PHARMAGENESS, INC. [US/US]; 3182 Porter Drive, Palo Alto, CA 94304 (US).
- (72) Inventors; and  
(75) Inventors/Applicants (for US only): FIDLER, John, M. [US/US]; 6399 Girvin Drive, Oakland, CA 94611 (US); LI, Ke [US/US]; 1228 Arlington Lane, San Jose, CA 95129 (US).
- (74) Agents: DEHLINGER, Peter, J. et al.; Perkins Coie LLP, P.O. Box 2168, Menlo Park, CA 94026 (US).
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SI, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:  
without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: ANTICANCER TREATMENT USING TRIPTOLIDE PRODRUGS



WO 02/056835 A2

(57) Abstract: Water soluble triptolide prodrugs are used as anticancer agents, and are found to be more effective *in vivo*, at lower doses, in reducing tumor size than the widely used chemotherapeutic agents 5-fluorouracil and irinotecan.

WO 02/056835

PCT/US02/01650

Anticancer Treatment Using Triptolide ProdrugsField of the Invention

The present invention relates to anticancer treatment using compounds which are  
5 water-soluble prodrugs of triptolide or its derivatives.

Background of the Invention

Although many cancers can be cured by surgical resection, chemotherapy is often used  
as an adjunct to surgical therapy, and is used primarily in the treatment of nonoperable or  
10 metastatic malignancy.

Colorectal cancer is a disease that kills nearly half of those afflicted within 5 years of  
initial diagnosis, and approximately one in 17 Americans develop colorectal cancer during  
their lifetime. Surgical intervention is not an option for most patients with advanced  
metastatic colorectal cancer. Initial chemotherapy with fluorouracil (5-FU) and leucovorin  
15 has become the standard for patients with stage III colon cancer (NIH Consensus  
Conference, "Adjuvant therapy for patients with colon and rectal cancer", *JAMA* **264**:  
1444-50, 1990; Goldberg RM and Erlichman C, *Oncology* **12**: 59-63, 1998). Irinotecan is  
currently used to treat patients with 5-FU-refractory advanced colorectal cancer (Van  
Cutsem E and Bligham GH, *Semin Oncol* **26**: 13-20, 1999; Cunningham D et al., *Lancet*  
20 **352**: 1413-18, 1998).

Breast cancer is the second most common form of cancer among women in the U.S.,  
and the second leading cause of cancer deaths among women. In treatment of breast  
cancer, adjuvant systemic therapy is begun soon after primary therapy (surgery and  
radiation therapy) to delay recurrence and/or to prolong survival. Current treatment  
25 regimens include a combination regimen of cyclophosphamide, methotrexate and 5-  
fluorouracil (CMF), as well as the anthracyclines, doxorubicin (adriamycin) and  
epirubicin, and, for treatment of advanced and metastatic cancers, the taxanes, paclitaxel  
(Taxol) and docetaxel (Taxotere).

Prostate cancer is the most common cancer in men, with an estimated 244,000 cases  
30 in 1995 in the United States. It is the second leading cause among men who die from  
neoplasia, with an estimated 44,000 deaths per year. Prostate cancer has been found to be  
relatively resistant to conventional cytotoxic chemotherapy, and toxicity can make such  
therapy unsuitable for elderly patients. Where prostate cancer is localized, detected early,  
and the patient's life expectancy is 10 years or more, radical prostatectomy offers the best

WO 02/056835

PCT/US02/01650

chance for eradication of the disease; however, patients with bulky, high-grade tumors, or who are older or less healthy, are less likely to be successfully treated by radical prostatectomy. Radiation therapy may be used as an alternative, but long-term recurrence of the disease is a problem.

5 In view of the high number of deaths each year resulting from cancer, a continuing need exists to identify effective and relatively nontoxic chemotherapeutic drugs for use as anticancer agents.

Summary of the Invention

10 In one aspect, the invention provides a method of anticancer treatment. The method comprises administering to a subject in need of such treatment, an effective amount of a triptolide prodrug, as represented by any of structures I-IV, as shown and described below, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in a pharmaceutically acceptable vehicle. Preferred compounds are those of structure I; a particularly preferred compound  
15 is triptolide 14-succinate, designated herein as PG490-88. In preferred embodiments, the method is used for treatment of cancer or tumors of the colon, lung, breast, or prostate. The invention also provides pharmaceutical compositions for anticancer or antitumor treatment, consisting essentially of a triptolide prodrug as represented by any one of structures I-IV, as shown and described below, or a pharmaceutically acceptable salt  
20 thereof, in a pharmaceutically acceptable vehicle. The compositions are employed in anticancer treatment methods as described herein.

These and other objects and features of the invention will become more fully apparent when the following detailed description of the invention is read in conjunction with the accompanying drawings.

25

Brief Description of the Drawings

Figs. 1A-C show examples of specific embodiments of structure I;  
Figs. 2A-C show examples of specific embodiments of structure II;  
Figs. 3A-C show examples of specific embodiments of structure III;  
30 Figs. 4A-C show examples of specific embodiments of structure IV; and  
Figs. 5 and 6 show effectiveness of a triptolide prodrug, triptolide 14-succinate, shown in Fig. 1A where m=2, and designated herein as PG490-88, in treatment of HT-29 human colon tumors in a mouse xenotransplant model. In Fig. 5, upper bars represent tumor volume at day zero, and lower bars represent tumor volume at day 16 of treatment.

WO 02/056835

PCT/US02/01650

Percentages represent percent increase (or decrease) in volume at day 16.

Detailed Description of the Invention

I. Definitions

- 5        The terms below have the following meanings unless indicated otherwise.
- "Alkyl" refers to a fully saturated acyclic monovalent radical containing carbon and hydrogen, which may be branched or a straight chain. Examples are methyl, ethyl, n-butyl, t-butyl, n-heptyl, and isopropyl. "Cycloalkyl" refers to a fully saturated cyclic monovalent radical containing carbon and hydrogen, which may be further substituted
- 10      with alkyl. Examples are cyclopropyl, methyl cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and cyclohexyl. "Lower alkyl" refers to an alkyl radical of one to six carbon atoms, preferably one to four carbon atoms, as exemplified by methyl, ethyl, n-butyl, i-butyl, t-butyl, isoamyl, n-pentyl, and isopentyl.
- "Alkenyl" refers to a monovalent or divalent unsaturated, preferably mono-
- 15      unsaturated, radical containing carbon and hydrogen, and which may be cyclic, branched or a straight chain. "Lower alkenyl" refers to such a radical having one to four carbon atoms.
- "Acyl" refers to a radical having the form -C(O)R, where R is an alkyl, aryl, or an aralkyl group.
- 20      "Aryl" refers to a substituted or unsubstituted monovalent aromatic radical having a single ring (e.g., benzene) or two condensed rings (e.g., naphthyl). This term includes heteroaryl groups, which are aromatic ring groups having one or more nitrogen, oxygen, or sulfur atoms in the ring, such as furyl, pyrrole, pyridyl, and indole. By "substituted" is meant that one or more ring hydrogens in the aryl group is replaced with a halide such as
- 25      fluorine, chlorine, or bromine; with a lower alkyl group containing one or two carbon atoms; nitro, amino, methylimino, dimethylamino, methoxy, halomethoxy, halomethyl, or haloethyl.
- "Aralkyl" refers to an alkyl, preferably lower alkyl, substituent which is further substituted with an aryl group; one example is a benzyl group.
- 30      A "heterocycle" refers to a non-aromatic ring, preferably a 5- to 7-membered ring, whose ring atoms are selected from the group consisting of carbon, nitrogen, oxygen and sulfur. Preferably, the ring atoms include 3 to 6 carbon atoms. Such heterocycles include, for example, pyrrolidine, piperidine, piperazine, and morpholine.

WO 02/056835

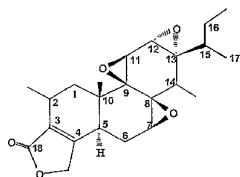
PCT/US02/01650

The term "pharmaceutically acceptable salt" encompasses carboxylate salts having organic and inorganic cations, such as alkali and alkaline earth metal cations (for example, lithium, sodium, potassium, magnesium, barium and calcium); ammonium; or organic cations, for example, dibenzylammonium, benzylammonium, 2-hydroxyethyl ammonium, bis(2-hydroxyethyl)ammonium, phenylethylbenzylammonium, and the like. Other cations encompassed by the above term include the protonated form of procaine, quinine and N-methylglucosamine, and the protonated forms of basic amino acids such as glycine, ornithine, histidine, phenylglycine, lysine, and arginine.

The term also includes salts formed by standard acid-base reactions with basic groups, such as amino groups, having a counterion derived from an organic or inorganic acid. Such acids include hydrochloric, sulfuric, phosphoric, acetic, succinic, citric, lactic, maleic, fumaric, palmitic, cholic, pamoic, mucic, D-glutamic, D-camphoric, glutaric, phthalic, tartaric, lauric, stearic, salicylic, methanesulfonic, benzenesulfonic, sorbic, picric, benzoic, cinnamic, and the like.

A "triptolide derivative" or "triptolide analog," as described herein, refers to a compound based on triptolide, 16-hydroxytriptolide or triptolide (2-hydroxytriptolide) which is derivatized at the 12,13-epoxy group or at the lactone ring of the parent compound.

For the purposes of the current disclosure, the following numbering scheme is used for triptolide and triptolide analogs:



## II. Triptolide Prodrugs

Triptolide is obtained from the root xylem of the Chinese medicinal plant *Tripterygium wilfordii* (TW). The TW plant is found in the Fujiang Province and other southern provinces of China; TW plant material can generally be obtained in China or through commercial sources in the United States. Methods for preparing triptolide and derivatives

WO 02/056835

PCT/US02/01650

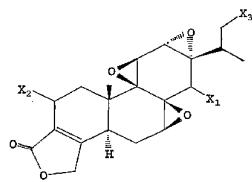
thereof are known in the art and are described, for example, in Lipsky *et al.* (U.S. Patent No. 5,294,443; 1994), Zheng *et al.* (*Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao* 13:391, 1991; *Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao* 16:24, 1994), and Ma *et al.* (*J. Chin. Pharm. Sci.* 1:12, 1992). The compounds are widely reported as immunosuppressive compounds and 5 are also reported to have antileukemic activity (Kupchan SM *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 94:7194, 1972; U.S. Patent No. 4,005,108 (1977)). However, the administration and therapeutic effectiveness of these compounds have been limited by their low water solubility.

10 Triptolide prodrugs, as represented by formulas I-IV below, have been described in co-owned US patents 5,663,335, 5,962,516, and 6,150,539, which are hereby incorporated by reference in their entirety. The compounds may be prepared from triptolide, obtained from the root xylem of the Chinese medicinal plant *Tripterygium wilfordii* (TW) or from other known sources, as described in the above-referenced patents. These compounds, which are derivatives of triptolide having hydrophilic substituents, possess greater water 15 solubility than the non-derivatized starting compound, and are effective to hydrolyze and convert *in vivo* to the parent compound.

Although each of structures I-IV shows a compound modified at one location on the triptolide nucleus, compounds having more than one such modification are also contemplated. The compounds are useful for anticancer therapy, as demonstrated below.

20 A. Compounds of Structure I

In one aspect, the invention provides an anticancer treatment employing a compound having the structure represented by Formula I below:



25 wherein X<sup>1</sup> is OH or OR<sup>1</sup>, and X<sup>2</sup> and X<sup>3</sup> are independently OH, OR<sup>1</sup> or H, with the proviso that at least one of X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup> and X<sup>3</sup> is OR<sup>1</sup>, and at least one of X<sup>2</sup> and X<sup>3</sup> is H; and

R<sup>1</sup> is -C(O)-Y-Z, wherein

Y is a branched or unbranched C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl or alkenyl chain; and

WO 02/056835

PCT/US02/01650

Z is  $\text{COOR}^2$ ,  $\text{NR}^3\text{R}^3'$ , or  $^*\text{NR}^4\text{R}^4'\text{R}^4''$ , where  $\text{R}^2$  is hydrogen or a cation;  $\text{R}^3$  and  $\text{R}^3'$  are independently H or branched or unbranched C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl, hydroxyalkyl, or alkoxyalkyl, or R<sup>3</sup> and R<sup>3'</sup> taken together form a 5- to 7-member heterocyclic ring whose ring atoms are selected from the group consisting of carbon, nitrogen, oxygen and sulfur, wherein the ring atoms include 2 to 6 carbon atoms, one or more nitrogen atoms, and optionally one or more oxygen or sulfur atoms, and wherein the ring is unsubstituted or is substituted with one or more groups selected from R<sup>5</sup>, OR<sup>5</sup>, NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>, SR<sup>5</sup>, NO<sub>2</sub>, CN, C(O)R<sup>5</sup>, C(O)NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>, OC(O)R<sup>5</sup>, OC(O)NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>, and halogen (fluoro, chloro, bromo, or iodo), where R<sup>5</sup> and R<sup>6</sup> are independently hydrogen, lower alkyl or lower alkenyl; and R<sup>4</sup>, R<sup>4'</sup>, and R<sup>4''</sup> are independently branched or unbranched C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl, hydroxyalkyl or alkoxyalkyl.

In one general embodiment, the compound is a derivative of triptolide, wherein X<sub>1</sub> is OH or OR<sub>1</sub> as defined above, and X<sup>2</sup> and X<sup>3</sup> are H. This includes the compound designated herein as PG490-88, where Y is C<sub>2</sub> (i.e. -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), and Z is COOH or COOR<sup>2</sup>, where R<sup>2</sup> is a cation. In a second general embodiment, the compound is a derivative of 16-hydroxyl triptolide, wherein X<sub>1</sub> and X<sub>2</sub> are OH or OR<sub>1</sub>, and X<sub>3</sub> is H. In a third general embodiment, the compound is a derivative of triptolide (2-hydroxytriptolide), wherein X<sub>1</sub> and X<sub>2</sub> are OH or OR<sub>1</sub>, and X<sup>3</sup> is H.

In one preferred embodiment, Z is COOH or COOR<sup>2</sup>, where R<sup>2</sup> is a metal ion, preferably Na<sup>+</sup> or K<sup>+</sup>. In an alternative embodiment, R<sup>2</sup> is an organic ammonium ion, protonated if necessary, preferably selected from lysine, triethylamine, or tris(hydroxymethyl)aminomethane. Preferably, R<sup>2</sup> is Na<sup>+</sup>, tris(hydroxymethyl)aminomethane or lysine, and Y is a C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alkyl chain.

In another preferred embodiment, Z is NR<sup>3</sup>R<sup>3'</sup>, where R<sup>3</sup> and R<sup>3'</sup> are independently H or branched or unbranched C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl, or together form a 5- to 7-member heterocyclic ring containing 2 to 6 carbon atoms, one or more nitrogen atoms, and optionally one or more oxygen or sulfur atoms. Preferably, Z is dimethylamino, diethylamino, or N-morpholino, and Y is a C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alkyl chain.

Where Z is a quaternary or protonated tertiary amino group, the compound also includes an anionic counterion. The anionic counterion is preferably a halide or a carboxylate-, sulfonate-, or sulfate-containing ion. More preferably, the counterion is chloride, bromide, acetate, oxalate, maleate, fumarate, methanesulfonate, or toluenesulfonate.

Preparation of these compounds is described in co-owned U.S. Patent No. 5,663,335.

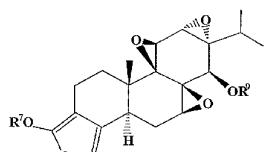
WO 02/056835

PCT/US02/01650

Preparation of compounds of structures **II-IV**, below, is described in co-owned U.S. Patent No. 6, 150,539.

**B. Compounds of Structure **II****

In the compounds of structure **II**, below:



5

OR<sup>7</sup> is a hydrolyzable, hydrophilic group, e.g. a carboxylic ester, an inorganic ester, or a mono-, di- or trisaccharide linked to the parent compound via an anomeric oxygen. The carboxylic or inorganic ester has a central atom selected from carbon, sulfur, phosphorus, and boron, and attached to the central atom, at least one oxygen atom, and at least one group of the form -O-Y-Z'. In this group, Y represents a branched or unbranched C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl or alkenyl chain, and Z' represents hydrogen, or, preferably, a polar group selected from keto, aldehyde, carboxylate, carboxylic ester, hydroxy, alkoxy, polyether, thiol, alkylthio, amino, alkylamino, cyano, nitro, sulfate, nitrate, phosphate, or a 5- to 7-membered heterocyclic ring whose ring atoms are selected from the group consisting of carbon, nitrogen, oxygen and sulfur, where the ring atoms include 3 to 6 carbon atoms. Such heterocycles include, for example, pyridine, pyrrolidine, piperazine, and morpholine.

Examples of such inorganic esters include sulfites (-O-S(=O)-OR), sulfonates (-O-S(=O)<sub>2</sub>-R), sulfates (-O-S(=O)<sub>2</sub>-OR), sulfonates (-O-S(=O)<sub>2</sub>-R), phosphates (-O-P(=O)(OR)<sub>2</sub>), phosphonates (-O-P(=O)R(OR)), and borates (-O-B(OR)<sub>3</sub>).

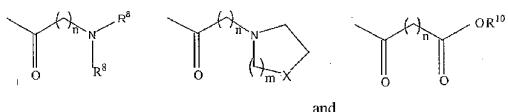
Where Z' is an anionic species such as a carboxylate, the positively charged counterion is preferably an inorganic metal, such as Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, or Mg<sup>2+</sup>, or a protonated organic amine, e.g. tromethamine (tris(hydroxymethyl)aminomethane). Where Z is a basic amine, the compound may take the form of a protonated salt, with a negatively charged counterion such as chloride, bromide, iodide, acetate, oxalate, maleate, fumarate, mesylate or tosylate.

The substituent OR<sup>9</sup> is OH or O-(C=O)R, where R is lower alkyl.

Preferably, R<sup>7</sup> is selected from:

WO 02/056835

PCT/US02/01650

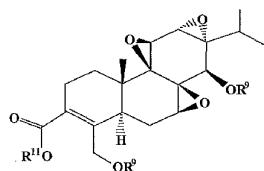


where R<sup>8</sup> is lower alkyl, R<sup>10</sup> is H or lower alkyl, n = 0-4, m = 1-2, and X = CH<sub>2</sub>, O, or NR<sup>8</sup>.

The hydrophilic nature of the substituents increases the aqueous solubility of the compounds, and hydrolysis of OR<sup>1</sup> (e.g. *in vivo*) regenerates the unsaturated lactone (butenolide) of triptolide.

#### C. Compounds of Structure III

In another embodiment, the triptolide analogs are of the structure III, as shown below:



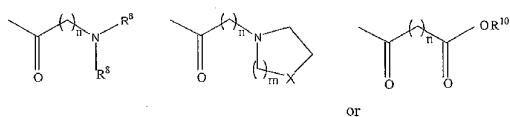
The group OR<sup>9</sup> is as defined above, and is preferably lower acyl, e.g. acetyl. The group OR<sup>11</sup> is preferably of the form -O-Y-Z' or -O-(C=O)-Y-Z', where Y is a branched or unbranched C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl or alkenyl chain, and Z' is hydrogen or a polar group selected from keto, aldehyde, carboxylate, carboxylic ester, amino, alkylamino, hydroxy, alkoxy, polyether, thiol, alkylthio, cyano, nitro, inorganic ester, or a 5- to 7-member heterocyclic ring whose ring atoms are selected from the group consisting of carbon, nitrogen, oxygen and sulfur, where the ring atoms include 3 to 6 carbon atoms. R<sup>11</sup> may also be a mono-, di- or trisaccharide linked to C14 at an anomeric center.

Again, where Z' is an anionic species such as a carboxylate, the positively charged counterion is preferably an inorganic metal, such as Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, or Mg<sup>2+</sup>, or a protonated organic amine, e.g. tromethamine. Where Z' is a basic amine, the compound may take the form of a protonated salt, with a negatively charged counterion such as chloride, bromide, iodide, acetate, oxalate, maleate, fumarate, mesylate or tosylate.

Preferably, R<sup>11</sup> is of the form:

WO 02/056835

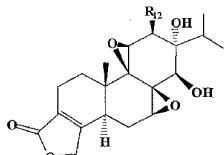
PCT/US02/01650



where R<sup>8</sup> is lower alkyl, R<sup>10</sup> is H or lower alkyl, m = 1-2, n = 1-4, and X = CH<sub>2</sub>, O, or NR<sup>8</sup>.

D. Compounds of Structure IV

In a further embodiment, the triptolide analogs have the structure **IV**, as shown below:



- where R<sup>12</sup> is a leaving group, preferably selected from the group consisting of alkyl sulfonate, fluoroalkyl sulfonate, aryl sulfonate, fluorosulfonate, nitrate, alkyl phosphate, alkyl borate, trialkylammonium, and dialkylsulfonium. Preferred leaving groups are tosylate, p-methoxybenzenesulfonate, mesylate, fluorosulfonate, trifluoromethylsulfonate, nitrate, and alkyl phosphates or boronates, represented by -OP(O)(OR<sup>10</sup>)<sub>2</sub>, and -OB(OR<sup>10</sup>)<sub>2</sub>, where R<sup>10</sup> is hydrogen or lower alkyl.
- In a further preferred embodiment, the leaving group is an aryl sulfonate in which the aryl group is substituted to modulate the rate of epoxide formation, which can provide more favorable pharmacokinetics. For example, the rate of cyclization to the epoxide was found to be significantly slower for R<sup>12</sup> = p-methoxybenzenesulfonate than for R<sup>12</sup> = tosylate.
- The 14-OH group may also be a lower acyl group, i.e. -O-(C=O)-R, where R is lower alkyl.

III. Therapeutic Compositions

- Formulations containing the triptolide analogs described above may take the form of solid, semi-solid, lyophilized powder, or liquid dosage forms, such as tablets, capsules, powders, sustained-release formulations, solutions, suspensions, emulsions, ointments,

WO 02/056835

PCT/US02/01650

lotions, or aerosols, preferably in unit dosage forms suitable for simple administration of precise dosages. The compositions typically include a conventional pharmaceutical carrier or excipient and may additionally include other medicinal agents, carriers, or adjuvants. Preferably, the composition will be about 0.5% to 75% by weight of a compound or 5 compounds of the invention, with the remainder consisting of suitable pharmaceutical excipients. For oral administration, such excipients include pharmaceutical grades of mannitol, lactose, starch, magnesium stearate, sodium saccharine, talcum, cellulose, glucose, gelatin, sucrose, magnesium carbonate, and the like. If desired, the composition may also contain minor amounts of non-toxic auxiliary substances such as wetting agents, 10 emulsifying agents, or buffers.

The composition may be administered to a subject orally, transdermally or parenterally, e.g., by intravenous, subcutaneous, intraperitoneal, or intramuscular injection. For use in oral liquid preparation, the composition may be prepared as a solution, suspension, emulsion, or syrup, being supplied either in liquid form or a dried 15 form suitable for hydration in water or normal saline. For parenteral administration, an injectable composition for parenteral administration will typically contain the triptolide analog in a suitable intravenous solution, such as sterile physiological salt solution.

Liquid compositions can be prepared by dissolving or dispersing the triptolide analog (about 0.5% to about 20%) and optional pharmaceutical adjuvants in a carrier, such as, for 20 example, aqueous saline, aqueous dextrose, glycerol, or ethanol, to form a solution or suspension. The high water solubility of the compounds of the invention make them particularly advantageous for administering in aqueous solution, e.g. by intraperitoneal injection. Although aqueous solutions are preferred, compositions in accordance with the invention may also be formulated as a suspension in a lipid (e.g., a triglyceride, a phospholipid, or a polyethoxylated castor oil such as "CREMOPHOR EL"<sup>TM</sup>), in a 25 liposomal suspension, or in an aqueous emulsion.

The compound may also be administered by inhalation, in the form of aerosol particles, either solid or liquid, preferably of respirable size. Such particles are sufficiently small to pass through the mouth and larynx upon inhalation and into the bronchi and 30 alveoli of the lungs. In general, particles ranging from about 1 to 10 microns in size, and preferably less than about 5 microns in size, are respirable. Liquid compositions for inhalation comprise the active agent dispersed in an aqueous carrier, such as sterile pyrogen free saline solution or sterile pyrogen free water. If desired, the composition may

WO 02/056835

PCT/US02/01650

be mixed with a propellant to assist in spraying the composition and forming an aerosol.

Methods for preparing such dosage forms are known or will be apparent to those skilled in the art; for example, see Remington's Pharmaceutical Sciences (19th Ed., Williams & Wilkins, 1995). The composition to be administered will contain a quantity of the selected compound in a pharmaceutically effective amount for effecting immunosuppression in a subject.

For systemic administration, the composition may be administered orally, transdermally or parenterally, e.g., by intravenous, subcutaneous, intraperitoneal, or intramuscular injection, or by inhalation. Multiple intravenous, subcutaneous and/or intramuscular doses are possible, and in the case of implantable methods for treatment, formulations designed for sustained release are particularly useful. Patients may also be treated using implantable subcutaneous portals, reservoirs, or pumps.

Regional treatment is useful for treatment of cancers in specific organs. Treatment can be accomplished by intraarterial infusion. A catheter can be surgically or angiographically implanted to direct treatment to the affected organ. A subcutaneous portal, connected to the catheter, can be used for chronic treatment, or an implantable, refillable pump may also be employed.

#### IV. Anticancer Treatment

The triptolide prodrugs may be used for treatment of various cancer cell types, including, but not limited to, breast, colon, small cell lung, large cell lung, prostate, malignant melanoma, liver, kidney, pancreatic, esophageal, stomach, ovarian, cervical or lymphoma tumors. Treatment of breast, colon, lung, and prostate tumors is particularly contemplated. Treatment of leukemias is also contemplated.

The data presented in Figs. 5-6 show the effectiveness of a triptolide prodrug, triptolide 14-succinate, designated herein as PG490-88, in treatment of HT-29 human colon tumors in a mouse xenotransplant model, in comparison with two currently preferred treatments for colon cancer. The studies were carried out as described in Materials and Methods, below.

As shown in Figure 5, PG490-88 inhibited HT-29 tumor growth in a dose-dependent manner, at much lower doses than were required for CPT-11 (irinotecan). By day 16 (lower bars), tumor growth in the mice treated with PG490-88 at 0.125 mg/kg was slightly inhibited, and the mean tumor volume had increased by 462%, compared to 721% in the

WO 02/056835

PCT/US02/01650

vehicle control group. PG490-88 at 0.25 mg/kg produced moderate inhibition, and the mean tumor volume increased by 131%. PG490-88 at 0.75 mg/kg strongly inhibited tumor growth and induced tumor regression. By day 16, the mean tumor volume had decreased 54% from the initial value.

5 Meanwhile, the tumor growth inhibition by CPT-11 at 22 mg/kg was only slight to moderate, as the mean tumor volume increased by 252% from the initial value. Thus, PG490-88 showed unexpected efficacy in comparison to CPT-11.

10 5-FU (5-fluorouracil) has been a standard conventional chemotherapy used clinically to treat colon cancer. Compared to 5-FU, PG490-88 also showed unexpectedly superior efficacy with HT-29 tumors (Figure 6). At 20 mg/kg, 5-FU only slightly inhibited tumor growth, and tumors grew steadily. By day 16, the mean tumor volume of the 5-FU group had grown 470%, compared to 721% in the control group. This dosage is relatively high for 5-FU in this model system; a higher dose of 5-FU (30 mg/kg) showed signs of toxicity.

15 In comparison, tumor growth in the mice treated with PG490-88 at 0.25 mg/kg was inhibited, and the suppressive effect was particularly evident after day 5. By day 16, the mean tumor volume had increased by only 131% in this treatment group. PG490-88 at 0.75 mg/kg strongly inhibited tumor growth and progressively reduced tumor size from day 5 (Figure 6). By day 9, the mean tumor volume had decreased from the day 5 value to approximately the initial value. By day 16, the mean tumor volume had decreased by 54% 20 from its original volume.

The triptolide prodrug thus showed unexpected efficacy, at low doses, in comparison to 5-FU and CPT-11 in these studies with tumor xenografts of the HT-29 human colon cancer cell line.

25 EXAMPLES

Human Tumor Xenograft Study. An HT-29 human colon cancer cell line was purchased from ATCC (Manassas, Virginia). Cells were cultured in DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) from GIBCOBRL (Grand Island, New York) with 10% fetal 30 bovine serum (FBS) supplemented with L-glutamine and Penicillin/Streptomycin. The tumor cells were harvested when cultures reached 80-90% confluence. The supernatants were discarded and the cell pellets were suspended to  $1 \times 10^8$  cells/ml in DMEM medium without FBS. HT-29 cells ( $5 \times 10^6$ ) were implanted intradermally on the back of each

WO 02/056835

PCT/US02/01650

mouse. Tumor size was monitored by measuring the length (L), width (W), and height (H) of each tumor and calculating tumor volume (Vol =  $\frac{1}{2} \times 4/3\pi \times (L/2) \times (W/2) \times H$ ).

When the tumors reached an appropriate size, the mice were grouped together (5 mice/group) to constitute a similar mean tumor size in the groups within each experiment 5 (approximately 100 mm<sup>3</sup>), and treatment was initiated at day 0.

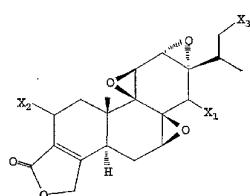
- Mice bearing human tumor cell xenografts were treated with PG490-88 IP daily for 5 days per week. The compound was administered as the sodium salt. CPT-11 was administered IV twice per week. 5-FU was given IP daily for 5 days per week. The stock solutions of each therapeutic agent were diluted in 0.9% NaCl for dosing. The agents 10 were given to mice at 100 µl per 10g of mouse body weight. Mice were dosed for two weeks, and 0.9% NaCl was used as the vehicle control. Tumor volume was monitored, and toxicity of the chemotherapeutic treatment was monitored by weighing the mice every day. Results are described above and illustrated in Figs. 5-6.

WO 02/056835

PCT/US02/01650

## IT IS CLAIMED:

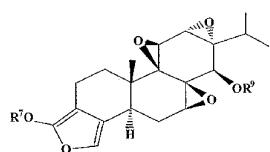
1. A method of anticancer treatment, comprising administering to a subject in need of such treatment, in a pharmaceutically acceptable vehicle, an effective amount of a triptolide prodrug, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, having a structure selected from:

**I:**

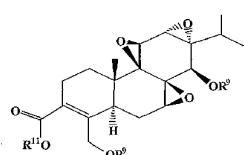
- 10 where
- $X^1$  is OH or  $OR^1$ , and  $X^2$  and  $X^3$  are independently OH,  $OR^1$  or H, with the proviso that at least one of  $X^1$ ,  $X^2$  and  $X^3$  is  $OR^1$ , and at least one of  $X^2$  and  $X^3$  is H; and
- $R^1$  is  $-C(O)-Y-Z$ , wherein
- Y is a branched or unbranched  $C_1-C_6$  alkyl or alkenyl chain; and
- 15 Z is  $COOR^2$ ,  $NR^3R^3'$ , or  $^{+}NR^4R^4'R^4"$ , where
- $R^2$  is a cation;
- $R^3$  and  $R^3'$  are independently H or branched or unbranched  $C_1-C_6$  alkyl, hydroxyalkyl, or alkoxyalkyl, or  $R^3$  and  $R^3'$  taken together form a 5- to 7-member heterocyclic ring whose ring atoms are selected from the group consisting of carbon, nitrogen, oxygen and sulfur,
- 20 wherein said ring atoms include 2 to 6 carbon atoms, one or more nitrogen atoms, and optionally one or more oxygen or sulfur atoms, and said ring is unsubstituted or is substituted with one or more groups selected from  $R^5$ ,  $OR^5$ ,  $NR^5R^6$ ,  $SR^5$ ,  $NO_2$ ,  $CN$ ,  $C(O)R^5$ ,  $C(O)NR^5R^6$ ,  $OC(O)R^5$ ,  $OC(O)NR^5R^6$ , and halogen, where  $R^5$  and  $R^6$  are independently hydrogen, lower alkyl or lower alkenyl; and
- 25  $R^4$ ,  $R^4'$ , and  $R^4"$  are independently branched or unbranched  $C_1-C_6$  alkyl, hydroxyalkyl, or alkoxyalkyl;

WO 02/056835

PCT/US02/01650

**II:**where  $OR^7$  is selected from

- (i) a carboxylic ester, carbonate, or inorganic ester, having a central atom selected  
5 from carbon, sulfur, phosphorus, nitrogen, and boron, and having linked to said central  
atom at least one group of the form -Y-Z' or -O-Y-Z', where Y is a branched or  
unbranched C1-C6 alkyl or alkenyl chain, and Z' is hydrogen or a polar group selected  
from keto, aldehyde, carboxylate, carboxylic ester, hydroxy, alkoxy, polyether, thiol,  
alkylthio, amino, cyano, nitro, sulfate, nitrate, phosphate, or a 5- to 7-membered  
10 heterocycle having ring atoms selected from carbon, nitrogen, oxygen, and sulfur, and  
three to six carbon ring atoms, and  
(ii) a mono-, di- or trisaccharide linked to C14 at an anomeric center;  
and  $OR^9$  is OH or  $O-(C=O)R$ , where R is lower alkyl;

**III:**

15

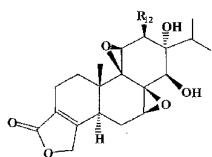
where  $OR^{11}$  is selected from

- (i) -O-Y-Z or -O-(C=O)-Y-Z, where Y is a branched or unbranched C1-C6 alkyl or  
alkenyl chain, and Z is hydrogen or a polar group selected from keto, aldehyde,  
carboxylate, carboxylic ester, amino, alkylamino, hydroxy, alkoxy, polyether, thiol,  
20 alkylthio, cyano, nitro, inorganic ester, or a 5- to 7-member heterocyclic ring whose ring  
atoms are selected from the group consisting of carbon, nitrogen, oxygen and sulfur,  
where the ring atoms include 3 to 6 carbon atoms, and  
(ii) a mono-, di- or trisaccharide linked to C14 at an anomeric center;  
and  $OR^9$  is  $-O-(C=O)R$ , where R is lower alkyl;

WO 02/056835

PCT/US02/01650

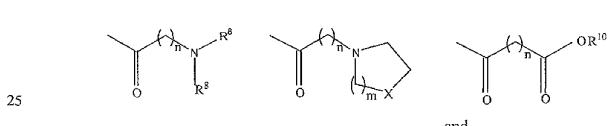
and IV:



where

- $R^{12}$  is a leaving group selected from the group consisting of alkyl sulfonate,  
5 fluoroalkyl sulfonate, aryl sulfonate, fluorosulfonate, nitrate, alkyl phosphate, alkyl borate,  
trialkylammonium, and dialkylsulfonium.

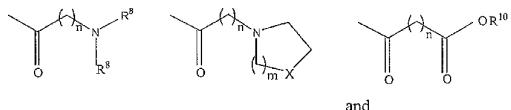
2. The method of claim 1, wherein the triptolide prodrug is of structure I.  
10 3. The method of claim 2, wherein  $X^2 = X^3 = H$ .  
4. The method of claim 2, wherein Y is  $-CH_2CH_2-$ .  
5. The method of claim 4, wherein Z is COOH.  
15 6. The method of claim 4, wherein Z is  $COOR^2$ , and  $R^2$  is a metal ion or an organic ammonium ion.  
7. The method of claim 1, wherein the triptolide prodrug is of structure II.  
20 8. The method of claim 7, wherein  $R^7$  is selected from group (i).  
9. The method of claim 8, wherein  $R^7$  is selected from



where  $R^8$  is lower alkyl,  $R^{10}$  is H or lower alkyl,  $n = 1-4$ ,  $m = 1-2$ , and  $X = CH_2$ , O, or  $NR^8$ .

WO 02/056835

PCT/US02/01650

10. The method of claim 1, wherein the triptolide prodrug is of structure **III**.11. The method of claim 10, wherein R<sup>7</sup> is selected from group (i).5 12. The method of claim 11, wherein R<sup>7</sup> is selected fromwhere R<sup>8</sup> is lower alkyl, R<sup>10</sup> is H or lower alkyl, n = 1-4, m = 1-2, and X = CH<sub>2</sub>, O, or10 NR<sup>8</sup>.13. The method of claim 1, wherein the triptolide prodrug is of structure **IV**.14. The method of claim 13, wherein R<sup>12</sup> is selected from nitrate, tosylate,  
15 p-methoxybenzenesulfonate, mesylate, fluorosulfonate, trifluoromethylsulfonate,  
-OP(O)(OR<sup>10</sup>)<sub>2</sub>, and -OB(OR<sup>10</sup>)<sub>2</sub>, where R<sup>10</sup> is hydrogen or lower alkyl.15. The method of claim 1, wherein said treatment is treatment of colon cancer,  
breast cancer, lung cancer, or prostate cancer.

20 16. The method of claim 15, wherein said treatment is treatment of colon cancer.

WO 02/056835

PCT/US02/01650

1/6

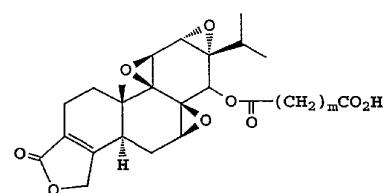


Fig. 1A

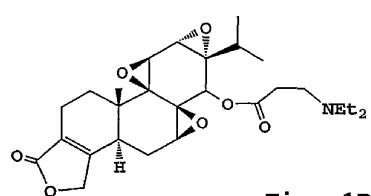


Fig. 1B

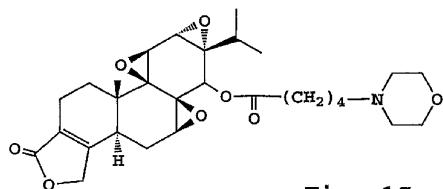
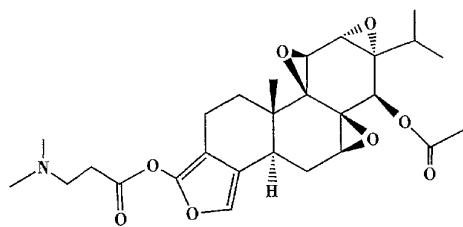
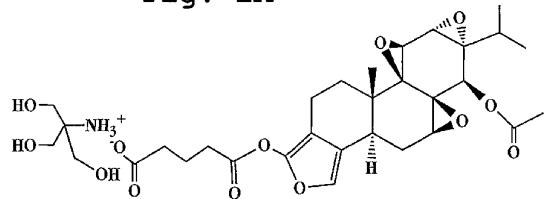
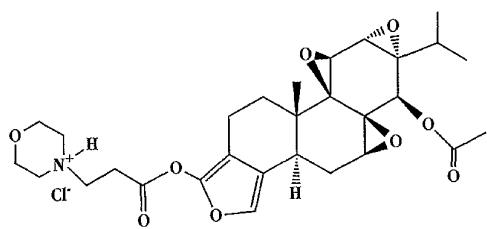


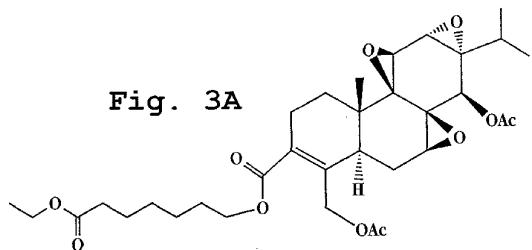
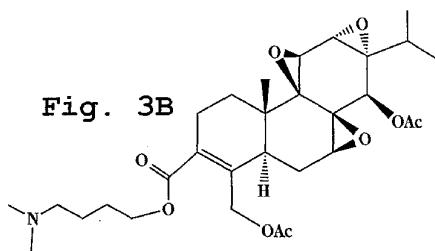
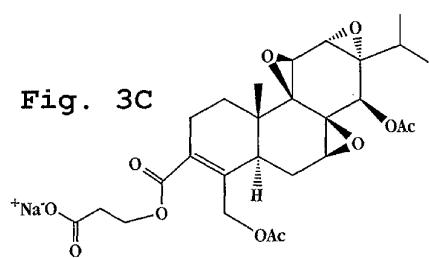
Fig. 1C

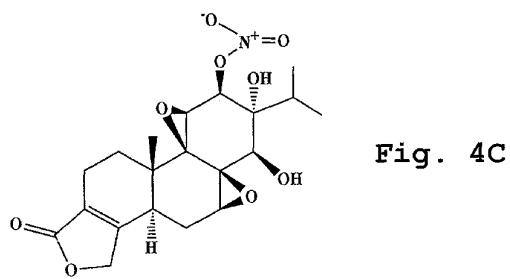
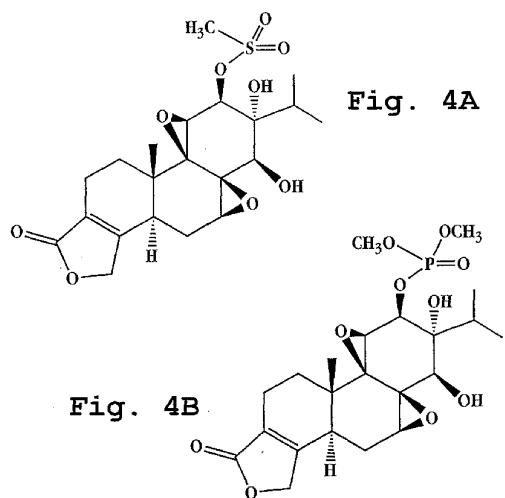
WO 02/056835

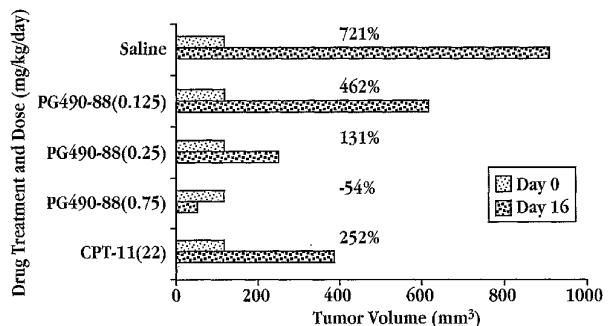
PCT/US02/01650

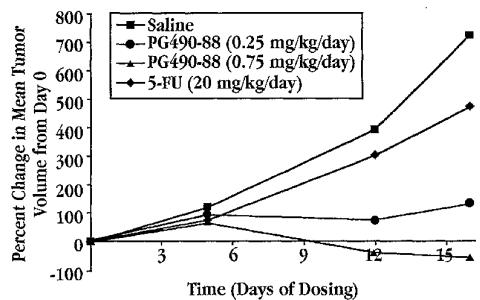
2/6

**Fig. 2A****Fig. 2B****Fig. 2C**

**Fig. 3A****Fig. 3B****Fig. 3C**



**Fig. 5**



**Fig. 6**

## 【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau(43) International Publication Date  
25 July 2002 (25.07.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/056835 A3(51) International Patent Classification<sup>2</sup>: A61K 31/34, 31/56

(21) International Application Number: PCT/US02/01650

(22) International Filing Date: 18 January 2002 (18.01.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:  
09/766,156 19 January 2001 (19.01.2001) US  
09/766,156 19 January 2001 (19.01.2001) US

(71) Applicant (for all designated States except US): PHARMAGENESIS, INC. [US/US]; 3182 Porter Drive, Palo Alto, CA 94304 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): FIDLER, John M. [US/US]; 6399 Girvin Drive, Oakland, CA 94611 (US); LI, Ke [US/US]; 1228 Arlington Lane, San Jose, CA 95129 (US).

(74) Agents: DEHLINGER, Peter, J. et al.; Perkins Coie LLP, P.O. Box 2168, Menlo Park, CA 94026 (US).

(81) Designated States (national): AE, AG, AI, AM, AT, AU,

AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CI, CN, CO, CR, CU,

CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI,

GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KU, KG, KP, KR, KZ, LC,

LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,

MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG,

SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,

VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GL, GM,

KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW);

Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TU, TM);

European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR,

GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR); OAPI patent

(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,

NE, SN, TD, TG).

(88) Date of publication of the international search report:  
27 February 2003

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



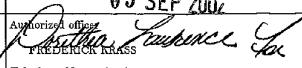
A3

WO 02/056835 A3

(54) Title: ANTICANCER TREATMENT USING TRIPTOLIDE PRODRUGS

(57) Abstract: Water soluble triptolide prodrugs are used as anticancer agents, and are found to be more effective *in vivo*, at lower doses, in reducing tumor size than the widely used chemotherapeutic agents 5-fluorouracil and irinotecan.

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/01650
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
IPC(7): A61K 81/84, 81/66 US CL : 514/172, 170, 177, 178, 468 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
U.S. : 514/172, 170, 177; 178, 468		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 6,150,539 A (MUSSER) 21 November 2000 (21.11.00), see entire document.	1-14
---		---
A		15, 16
Y	US 4,005,108 A (KUPCHAN ET AL) 25 January 1977 (25.01.77), see entire document.	1-14
---		---
A		15, 16
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document published on or after the international filing date which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other specific document (as specified) "D" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
21 JUNE 2002	05 SEP 2002	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer  FREDERICK KRASS Telephone No. (703) 305-1255	

Form PCT/ISA/010 (second sheet) (July 1998)\*

---

フロントページの続き

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

(72)発明者 フィルダー, ジヨン エム.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94611, オークランド, ガービン ドライブ 639  
9

(72)発明者 リ, ケ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 95129, サンノゼ, アーリントン レーン 122  
8

F ターム(参考) 4C071 AA04 AA08 BB03 BB07 CC14 DD40 EE02 FF15 GG01 GG03  
HH09 LL01  
4C086 AA01 AA02 AA03 CA01 MA01 MA04 NA14 ZB26