

(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2006-504753

(P2006-504753A)

(43) 公表日 平成18年2月9日(2006.2.9)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 493/18 (2006.01)	C O 7 D 493/18 C S P	4 C O 7 1
A 6 1 K 31/357 (2006.01)	A 6 1 K 31/357	4 C O 8 6
A 6 1 P 33/02 (2006.01)	A 6 1 P 33/02	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
	C O 7 M 7:00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 22 頁)		

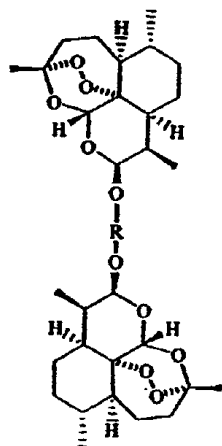
(21) 出願番号	特願2004-544832 (P2004-544832)	(71) 出願人	504215966
(86) (22) 出願日	平成15年10月9日 (2003.10.9)		ユニヴァーシティー オブ ミシシッピ
(85) 翻訳文提出日	平成17年4月15日 (2005.4.15)		アメリカ合衆国 ミシシッピ州 3867
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/032049		7 ユニヴァーシティー ナショナル セ
(87) 国際公開番号	W02004/034976		ンター フォア ナチュラル プロダクツ
(87) 国際公開日	平成16年4月29日 (2004.4.29)		リサーチ 1009 ボックス 184
(31) 優先権主張番号	10/271,960		8
(32) 優先日	平成14年10月15日 (2002.10.15)	(74) 代理人	100082005
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 熊倉 禎男
		(74) 代理人	100084009
			弁理士 小川 信夫
		(74) 代理人	100084663
			弁理士 稲田 篤
		(74) 代理人	100093300
			弁理士 浅井 賢治
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 抗癌剤および抗感染症薬としてのジヒドロアルテミシニンおよびジヒドロアルテミシテンの二量体

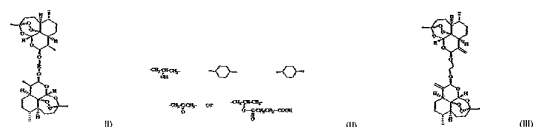
(57) 【要約】

本発明は、下記の式(I)または式(III)を有する化合物(式中、Rは下記の式(II)である)に関する：

【化1】



(I)



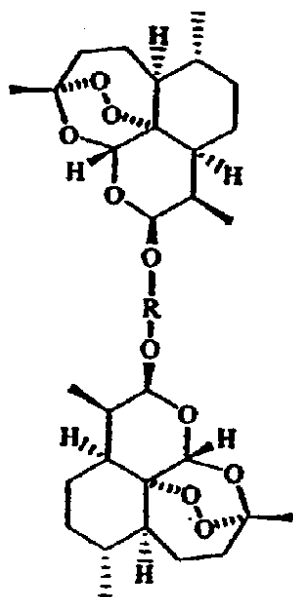
【化2】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

癌を患っている対象者に、有効量の、下記の式：

【化 1】

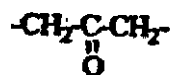
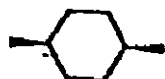
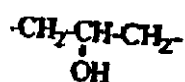


10

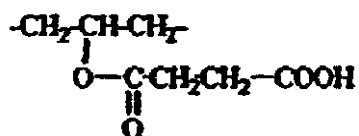
20

(式中、Rは、

【化 2】



又は

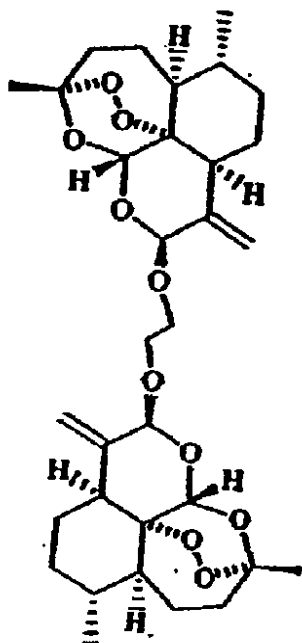


30

である)

を有する少なくとも 1 種の化合物、または下記の式：

【化 3】



10

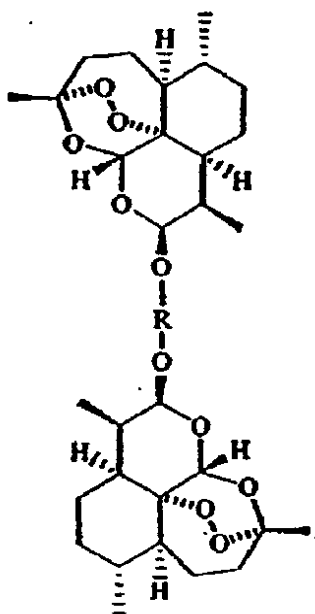
を有する化合物を投与することを特徴とする癌の治療方法。

20

【請求項 2】

原虫感染症を患っている対象者に、有効量の、下記の式：

【化 4】

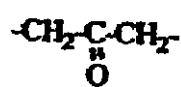
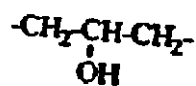


30

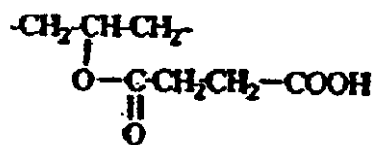
(式中、Rは、

40

【化 5】



又は

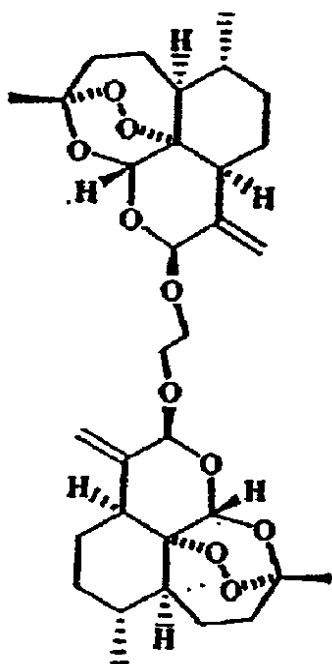


10

である)

を有する少なくとも 1 種の化合物、または下記の式：

【化 6】



20

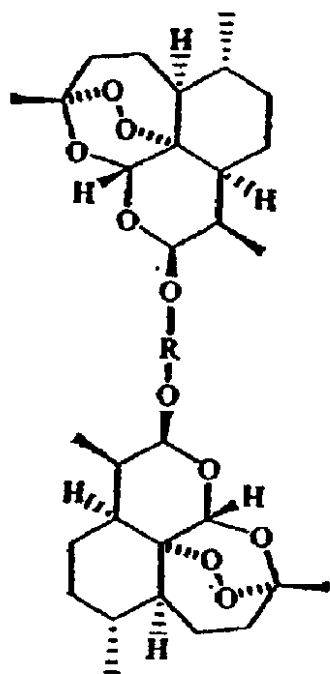
30

を有する化合物を投与することを特徴とする原虫感染症の治療方法。

【請求項 3】

下記の式：

【化 7】

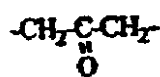
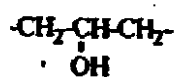


10

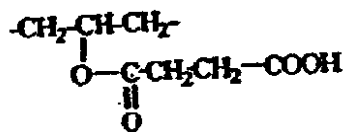
20

(式中、Rは、

【化 8】



又は

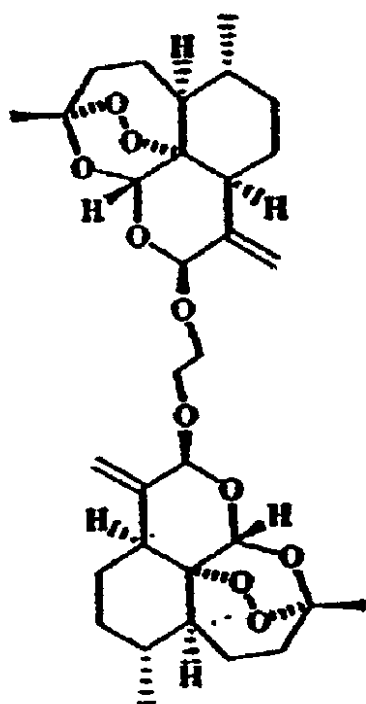


30

である)

または下記の式：

【化 9】



10

20

を有する化合物。

【請求項 4】

少なくとも 1 種の請求項 3 記載の化合物、および製薬上許容し得る担体および/または賦形剤を含む製薬組成物。

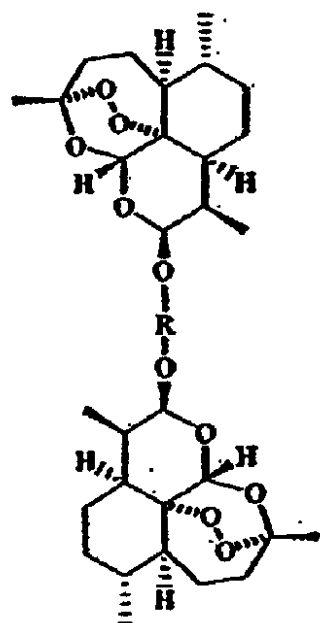
【請求項 5】

ジヒドロアルテミシンまたはジヒドロアルテミシテンを、三フッ化ホウ素エーテル化物の存在下の酸性条件において、適切な必要に応じて置換された 1,2 もしくは 1,3 グリコールまたはジヒドロキシアセトンと反応させることを特徴とする、請求項 3 記載の各式の化合物の製造方法。

【請求項 6】

癌の治療用医薬の製造における、下記の式：

【化 10】

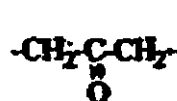
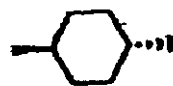
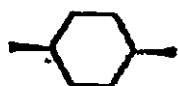
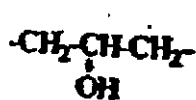


40

(式中、Rは、

50

【化 1 1】



又は

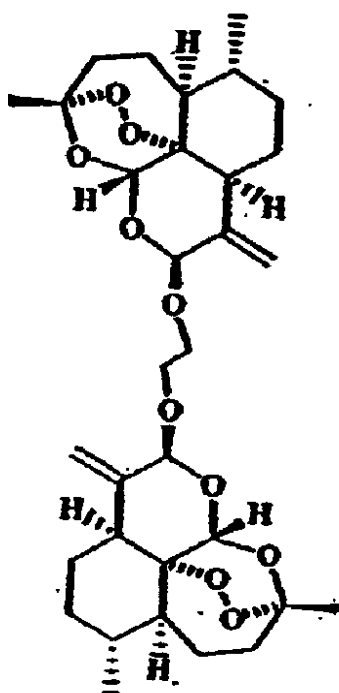


10

である)

を有する少なくとも 1 種の化合物、または下記の式：

【化 1 2】



20

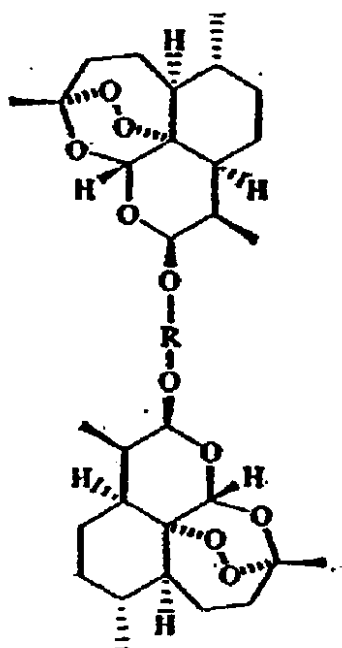
30

を有する化合物の使用。

【請求項 7】

原虫感染症の治療用医薬の製造における、下記の式：

【化 1 3】

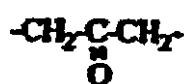
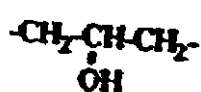


10

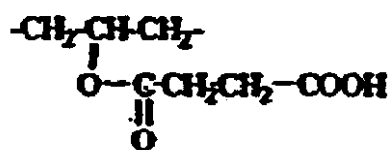
(式中、Rは、

20

【化 1 4】



又は

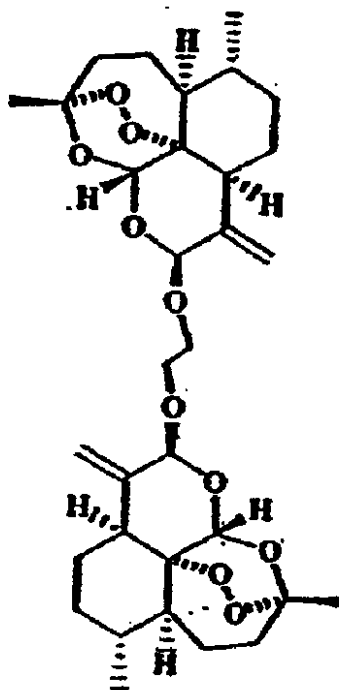


30

である)

を有する少なくとも 1 種の化合物、または下記の式：

【化 15】



10

20

を有する化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

(技術分野)

本発明は、ジヒドロアルテミシニン(dihydroartemisinin)およびジヒドロアルテミシテン(dihydroartemisiten)の二量体、並びにこれらの癌治療におけるおよび抗原虫剤としての使用に関する。

(背景技術)

癌死亡は、米国のみで2001年に500,000人を越えており、多くの進歩にもかかわらず、癌は主要な死因の1つである(文献1)。新たな抗癌剤、とりわけ、新規且つ選択的な作用メカニズムを有する抗癌剤の開発が危機的に求められている。幾つかの非細胞毒性療法の展開が実現され始めているものの(例えば、免疫賦活剤、増殖因子拮抗薬、アンチセンス療法)、殆どの癌治療の主力は、細胞毒性薬によったままである。限られた成功率、毒性の発生率およびそのような薬物に対する耐性の発生を考慮すれば、新たな群のこれら薬物、とりわけ、新しいメカニズムにより作用しまたは利用可能な選択性を示し得る薬物が厳しく求められている。また、治療プロトコルを最適にするための投薬法、計画および併用療法についての良好な理解も求められている。

30

【0002】

天然産生物は、歴史的に、新たな成功裏の先端化合物プロトタイプ群の豊富な源であり、それらからのアナログ類が開発されてきている。最近の論評によれば、成功裏に臨床にまで進んでいる抗感染症薬および抗癌薬の60%は、天然産生物に由来している(文献2)。現在使用されている抗癌剤のうちのこれらの例としては、アントラサイクリン群(例えば、ドキソルビシン)、カタランツス(ニチニチソウ)アルカロイド類、パクリタキセル、並びにボドフィロトキシンおよびカンプトテシンの誘導体がある。最近公表された天然産生物系抗腫瘍剤一覧によれば、現在第I相および第II相にある25種以上の薬剤が示されている(文献3)。このおよび他の最近の論評は、新たな抗腫瘍剤発見の源としての天然産生物の臨床的役割の重要な喚起書である(文献4、5)。

40

天然産生物アルテミシニン(1)は、中国植物のクソニンジン(*Artemisia annua*) (文献6)から1971年に初めて分離されたセスキテルペンエンドパーオキサイドである。本明細書

50

において番号付けした各化合物は、図 1 に示している。上記化合物は、熱帯性マラリア原虫 (*Plasmodium falciparum*) のクロロキン感受性株およびクロロキン耐性株の双方に対して抗マラリア活性を示すことが証明された。

【 0 0 0 3 】

マラリア治療におけるアルテミシニンの臨床効果の重要性故に、多くの誘導体が最も有効で最も毒性の低い抗マラリア剤を開発するために製造された。初期では、単純な誘導体が製造された [例えば、ジヒドロアルテミシニン (DHA、ラクトンカルボニルを還元してヘミアセタルを得ている)、アルテムエーテル (DHA のメチルエーテル)、並びに数種の他のエーテルおよびエステルアナログ類]。ヘミスクシネートエステルのナトリウム塩 (ナトリウムアルテスネート) は、アルテムエーテルよりも高い活性と低い毒性を示すこれらの誘導体の 1 つであり、アルテムエーテルはアルテミシニン自体よりも活性である。アルテミシニンおよび DHA アナログ類の活性における絶え間のない興味は、その後、ジヒドロアルテミシニンと三フッ化ホウ素-エーテル化物との反応によるアルテミシニンアセタル二量体の製造をもたらした。

10

抗マラリア活性以外に、アルテミシニンは、EN-2 腫瘍細胞 (文献 7)、P-388、A549、HT-29、MCF-7 および KB-腫瘍細胞 (文献 8) に対する細胞毒性作用を有することが報告された。さらなるアナログ類が抗腫瘍活性について評価されるにつれ、非対称形二量体 (2) が強い細胞毒活性を示し、シスプラチンよりも強力であったことが報告された (文献 9)。対称形二量体 (3) も明確な細胞毒活性を示した (文献 10)。

この知見は、他のタイプの DHA 二量体における興味を刺激した。Posner 等 (文献 11) は、ポリエチレングリコールスパーサー (3 単位のエチレングリコール)、炭素 8 個のグリコールおよびジチオ誘導体で連結した二量体を調製した。また、これらの著者は、より単純なトリオキサン二量体類も調製した。また、Posner 等は、ジヒドロアルテミシニンの 2 分子間の連結単位が種々のタイプのジカルボン酸である数種の DHA 二量体も調製した (文献 12)。Zhang と Darbie (文献 13、14) も、種々のカップリング剤により連結させる数種のジヒドロアルテミシニン二量体を提案した。これらのアルテミシニン二量体の幾つかおよび上記のより単純なトリオキサン類の幾つかは、抗マラリア作用、抗癌活性および抗増殖作用を有しており、幾つかの化合物は、マウス角化細胞における抗増殖アッセイにおいてカルシトリオールと同等に活性であった。

20

【 0 0 0 4 】

30

(発明の開示)

(発明が解決しようとする課題)

本発明は、抗癌剤並びに抗マラリアおよび抗リーシュマニア特性のような抗原虫剤としての活性を有するジヒドロアルテミシニンおよびジヒドロアルテミシテンの二量体を含む組成物を含む。また、本発明は、これら組成物の製造方法並びに癌および原虫感染症 (マラリアおよびリーシュマニア症のような) の治療におけるそのような組成物の使用方法も開示する。本発明の組成物は、これまでに開示されていない。

本発明の化合物は、可能性のある新たな群の抗癌剤に相当し、そのある種のものは固形癌に対して見込みある活性を示しており、さらに可能性ある新たな作用メカニズムを示唆する選択性像を有する。

40

【 0 0 0 5 】

(課題を解決するための手段)

新たな化学療法剤を開発するという興味において、アルテミシニン二量体を、本発明において、DHA と種々の近隣または非近隣グリコール類との縮合によって調製した。これらの二量体を NCI 抗腫瘍スクリーニングプログラムにおいて評価したところ、全てが 60 種の細胞系スクリーニングに合格した (4~9)。これらの化合物の幾つかは、NCI による更なる試験に進み、中空繊維アッセイ (HFA) プロトコールに進んでいる (化合物 4、5 および 6)。化合物 5 と 6 の追加の供給物を最近調製し、異種移植片腫瘍モデルにおける試験のために NCI に提出した。

これらの DHA 二量体の作用メカニズムは特定中であるが、可能性ある分子ターゲットに

50

関する幾つかの系口が示唆されている。NCI比較分析法の使用により、60種細胞系のアッセイにおけるこれら化合物の細胞感受性プロファイルは白金化合物と同様であることが明らかとなった。これらの化合物は、DNAストランド内架橋を形成することによって細胞複製を抑制する。また、60種細胞系におけるマイクロアレーデータでの相関も、これらの二量体に最も感受性のある細胞は、インテグリンと低酸素症のシグナル伝達に關与するたんぱく質をコード化するmRNAを低レベルでしか含有していないことを示唆している。これらたんぱく質の低レベルの発現は、これらのたんぱく質が直接のターゲットであるかまたはその発現の低下が感受性を増大させる細胞内の条件(例えば、レドックス電位)を反映しているかのいずれかであるので、感受性の増強をもたらす得る。

【0006】

10

本発明の二量体の投与は、任意の通常の投与経路、例えば、経口、皮下、腹腔内、筋肉内、静脈内または直腸内により得る。好ましい実施態様においては、当該化合物は、投与の選択および経路に応じて固形または液体であり得る製薬上許容し得る担体と組合せて投与する。許容し得る担体の例としては、限定するものではないが、澱粉、デキストロース、サクロース、ラクトース、ゼラチン、寒天、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、アカシア、および同様な担体がある。液体の例としては、塩水、水、食用油、例えば、ピーナツおよびコーン油がある。

固体形で投与する場合、当該化合物と希釈担体は、任意の周知の方法により調製した錠剤、カプセル剤、粉末剤、トローチ剤、座薬の形であり得る。液体製剤として投与する場合、活性化合物と液体希釈剤担体との混合物がそのように投与する懸濁液の形であり得る。当該化合物は、増殖を抑制しおよび/または癌を破壊しまたはマラリアおよびリーシュマニアのような原虫生物体を破壊するのに十分な無毒性投与量濃度で投与する。実際の投与量単位は、患者の体重および/または患者が患っている病理症状の重篤度およびタイプのような周知の要因によって決定されるであろう。これらを勘案することにより、特定の患者に対する投与量単位は、医師であれば、医療技術における既知の方法に従い容易に決定し得ることである。

20

【0007】

本発明の化合物は、ジヒドロアルテミシニンまたはジヒドロアルテミスエンを種々の必要に応じて置換された1,2-、1,3-または1,4-グリコールと乾燥エーテル中の酸性条件(三フッ化ホウ素エーテル化物)下に反応させ、その後、反応混合物のクロマトグラフィーを行って所望生成物を単離することによって調製する。必要に応じての置換基としては、例えば、アルコキシまたはアシロキシ基がある。また、本発明の二量体は、例えばジヒドロキシアセトンのようなジヒドロキシケトン類とDHAまたはジヒドロアルテミスエンとの反応、その後のケト基の還元および該ケトンの還元において形成されたヒドロキシ基と酸ハライドまたは酸無水物としてのモノまたはジカルボン酸のようなヒドロキシル反応性化合物との反応によつての調製し得る。出発物質(ジヒドロアルテミシニン)は、天然産生物アルテミシニン(1)の水素化ホウ素ナトリウム還元により調製する。後者の化合物は、以前に開示された手順に従い、クソニンジンの葉から分離する(文献15、16)。本発明の化合物をNCI抗腫瘍スクリーニングおよび抗マラリアおよび抗リーシュマニアスクリーニングにおいて試験した。その活性を、図2A、2B、3A、3B、4A、4B、および図5~9において提示している表1~8に示す。

30

40

【0008】

(発明を実施するための最良の形態)

実施例

各反応は、開放乾燥丸底フラスコ内で行った。ジエチルエーテル(エーテル)は、アルゴン雰囲気下で使用する前に、ナトリウムベンゾフェノンケチルから蒸留した。薬品類は、すべてSigma-Aldrich社から購入し、さらに精製することなく使用したが、ジオール類は使用前に等級Iのアルミナ上で乾燥させた。アルテミシニン(1)は、地場繁殖クソニンジンL.植物体から、文献の手順(文献15、16)を使用して分離し、以前に報告されたようにしてジヒドロアルテミシニンに還元した(文献17)。

50

カラムクロマトグラフィーは、フラッシュクロマトグラフィーを使用し、Merck社から購入したシリカゲル(粒度230~400メッシュ)を使用して実施した。分析用薄層クロマトグラフィー(TLC)は、n-ヘキサン-EtOAc混合物を溶媒系として使用し、シリカゲル60 F₂₅₄プレート(250μm厚; Merck社)により実施した。可視化は、p-アニスアルデヒドスプレー試薬をスプレーし、次いでホットエアガンを使用して加熱することによって実施した(文献18)。

Mpは、Electrothermal 9100計器上で記録した。IRスペクトルは、AATI Mattson Genesis Series FTIRを使用して得た。旋光度は、JASCO, DIP-370デジタル偏光計を使用し、周囲温度で記録した。1Dおよび2D NMRスペクトルは、Bruker Avance DRX 500分光計において500 MHz (¹H)および125 MHz (¹³C)で、或いはBruker DRX 400分光計において溶媒ピークを内部標準として使用して得た。HRESIFTMSは、Bruker Bioapex FT-MSを使用し、ESIモードで得た。低解像MSは、ThermoQuest aQa LC/MSにおいて測定した。

10

【0009】

グリセリンによる1,3-ジヒドロアルテミシニン二量体の調製(化合物4)

実施例 1

乾燥エーテル(10mL)中の丸底フラスコ(50mL)内ジヒドロアルテミシニン(160mg、0.56ミリモル)の攪拌溶液に、乾燥グリセリン(26mg)とBF₃OEt₂ (267μL)を、皮下注射用シリンジを使用して添加した。混合物をアルゴン下に70分攪拌し、次いで、失活させ、通常のようにして処理してガム状残留物(199mg)を残した。エーテルから結晶化させて、4 (52mg)を立方体結晶として得た(28.7%); [α]_D +173° (c0.022, CHCl₃); IR (フィルム) _{max}: 3525 (OH)、2953、2933、2881、1449、1376、1194、1176、1134、1107、1027、991 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃、500 MHz、2つの同一モノマー単位の方において): 5.40 (1H、s、H-5)、4.79 (1H、d、J = 3.9、H-12)、4.78 (1H、d、J = 3.5 Hz、H-12')、3.87 (1H、m、H-16、H-16'、H-17)、3.49 (1H、dd、J = 5.9、4.3 Hz、H-18)、3.42 (1H、q、J = 5.4 Hz、H-18')、2.63 (1H、m、H-11)、2.34 (1H、ddd、J = 14.0、4.0、3.9 Hz、H-3)、2.00 (1H、m、H-3')、1.85 (1H、m、H-2)、1.68 (3H、m、H-2'、H-8、H-9)、1.46 (2H、m、H-7、H-8')、1.39 (3H、s、Me-15)、1.34 (1H、m、H-10)、1.21 (1H、m、H-1)、0.92 (3H、d、J = 6.4 Hz、Me-14)、0.90 (3H、d、J = 7.4 Hz、Me-13)、0.89 (3H、d、J = 7.3 Hz、H-13')、0.87 (1H、m、H-9'); ¹³C NMR (CDCl₃、125 MHz): 104.5 (s、C-4)、103.13 (d、C-12)、103.06 (s、C-12')、88.3 (d、C-5)、81.4 (s、C-6)、70.3 (t、C-16)、70.1 (t、C-18)、70.0 (d、C-17)、52.9 (d、C-1)、44.7 (d、C-7、C-7')、37.7 (d、C-10)、36.8 (t、C-3)、35.0 (t、C-9)、31.27 (d、C-11)、31.25 (d、C-11')、26.5 (q、C-15)、25.0 (t、C-2)、25.0 (t、C-8)、20.7 (q、C-14)、13.4 (q、C-13); HRESIFTMS [m/z] 625.3512 [M+H]⁺ (C₃₃H₅₃O₁₁における計算値、625.3582)。

20

30

【0010】

化合物4の調製における好ましい手順

実施例 2

化合物4を調製する好ましい方法は、先ずケトンプレカーサーをジヒドロキシアセトンとジヒドロアルテミシニンとの三フッ化ホウ素-エーテル化物の存在下での縮合により調製し、次いで、得られたケトンの水素化ホウ素ナトリウム還元を行って化合物4を得ることであった。このことは、以下の実施例において詳述する。

40

ジヒドロキシアセトンによるジヒドロアルテミシニン二量体の調製(化合物7)

実施例 3

ジヒドロアルテミシニン(284mg、1ミリモル)と1,3-ジヒドロキシアセトン二量体(45.05mg、0.25ミリモル)をジエチルエーテル(10mL)中に懸濁させた。その後、混合物(アルゴン下に5℃に冷却した)に、35.5mgのBF₃Et₂O (0.25ミリモル、31μL)を添加し、混合物を5℃で20分、次いで室温で1時間攪拌した。通常のように処理して、319mgの残留物を得た。

残留物をシリカゲル(30g)上でクロマトグラフィー処理し、ヘキサン:EtOAc (95:5)で溶出させ、極性は80:20に上昇した。各画分を集め、TLC類似性に従ってプールして4つの主要画分を得た。最も極性のある画分(140.2mg)を化合物7として同定した(NaBH₄還元時

50

に化合物4に転化する) :

CDCI₃中500 MHzでの¹H-NMR : 5.44 (2H、s、H-5およびH-5')、4.805 (2H、d、J = 3.3 Hz、H-12およびH-12')、4.46および4.285 (H-16およびH-18)を中心した2本の広い二重項 (各々2H、17.59)、2.665 (2H、m、H-11およびH-11')、2.355 (2H、ddd、H-3)、2.025 (2H、m、H-3')、1.88 (2H、m、H-2)、1.81 (4H、m、H-9およびH-9')、1.675 (2H、m、H-8)、1.475 (4H、H-7、H-7'、H-10およびH-10')、1.41 (6H、s、Me-15およびMe-15')、1.255 (2H、m、H-1およびH-1')、0.99-0.95 (12H、Me-14、Me-14'、Me-13およびMe-13')。

CDCI₃中124 MHzでの¹³C-NMR : 204.8 (s、C=O)、104.53 (s、C-4)、102.87 (d、C-12)、88.51 (d、C-5)、81.36 (s、C-6)、72.06 (t、C-16およびC-17)、52.89 (d、C-1)、44.67 (d、C-7)、37.75 (d、C-10)、36.77 (t、C-3)、34.99 (s、C-9)、31.13 (d、C-11)、26.47 (q、C-15)、25.03 (t、C-2)、24.74 (t、C-8)、20.69 (q、C-14)、13.43 (q、C-13)。

【 0 0 1 1 】

実施例 4

エーテル(100mL)中の2.84gのジヒドロアルテミシニン(10ミリモル)と450mg (2.4ミリモル)の1,3-ジヒドロキシアセトン二量体の懸濁液に、127 μLのBF₃Et₂O (142mg、1ミリモル)を5 で添加した。混合物を室温で30分間攪拌し、BF₃Et₂Oの第2部分(127 μL)を添加した。BF₃Et₂Oの第3および第4部分(254 μL)を15分間隔で添加し、全体で4ミリモルとした。攪拌を1.5時間続行した。通常のように処理して油状残留物を得、これを実施例3に記載した方法と同様な方法でクロマトグラフィー処理し、各画分をそのTLC類似性に基づき一緒にした。

実施例3で調製した二量体に相応するR_f値を有する画分と一緒にし溶媒を蒸発させて、真空中で発泡した2.05gの油状残留物を生成させた。この物質は、実施例3において調製した物質(化合物7)と同一であった。

実施例 5

エーテル(100mL)中の3.3gのジヒドロアルテミシニン(11.6ミリモル)と522mg (2.9ミリモル)の1,3-ジヒドロキシアセトン二量体(0.25当量)の懸濁液に、0.88mLのBF₃Et₂O (0.986g、6.9ミリモル、0.6当量)を5 で添加した。その後、混合物を室温で3時間攪拌し、次いで通常のように処理して油状残留物を得た。残留物をシリカゲルカラム(130g)上でクロマトグラフィー処理し、95 : 5 ~ 85 : 15の範囲のヘキサン-EtOAc混合物で溶出させて数個の画分を得、これをTLC類似性に従って一緒にした。所望生成物を含有する画分(実施例3において調製した画分と同一)と一緒にして1.628gの化合物7を得た。

【 0 0 1 2 】

化合物7から出発してのグリセリンの1,3- , -ジヒドロアルテミシニン二量体の調製(化合物4)

実施例 6

ケトン中間体(化合物7) (1.94g、312ミリモル)を、225mLのTHFと水の混合物(2 : 1)中に溶解した。溶液を攪拌し、その後、NBH₄ (474mg、4モル当量)を室温で15分に亘って分割して添加した。その後、混合物を2N HClで中和した。次に、THFを真空下に蒸発させた。沈降物を濾過し、水洗し、風乾させて、実施例1において調製した化合物と同一の1.8g (収率92.5%)の化合物4を得た。

実施例 7

実施例6に記載した同じ手順を、0.778gの化合物7を使用して繰返して、0.73gの化合物4を得た。

シクロヘキサンジオールによる , -ジヒドロアルテミシニン二量体の調製(化合物5および6)

実施例 8

丸底フラスコ(100mL)内にジヒドロアルテミシニン(850mg、3.0ミリモル)と乾燥エーテル(25mL)を導入し、次いで、混合物を、シクロヘキサン-1,4-ジオール(シスとトランス混合物) (170mg)と一緒に室温で攪拌した。その後、攪拌溶液に、BF₃OEt₂ (570 μL)を、皮

下注射用シリンジを使用して添加した。攪拌を80分間続行し、次いで、反応を失活させ、通常のようにして処理してガム状残留物(1.13g)を残した。残留物をSiゲルカラム(170g)上に負荷させn-ヘキサン中増分量のEtOAc (15 : 50%)により溶出させた。5mLの画分を集め、同様な画分をTLCの手引きに従ってプールして化合物5 (238mg、油状物)を得た。早期の画分をプールし、シリカゲルカラム上で再クロマトグラフィー処理して6を得た(70mg、白色非晶質固形物)。

【0013】

化合物5; $[\alpha]_D^{+142}$ (c 0.036, MeOH); IR (フィルム) ν_{\max} : 2938、2872、1448、1375、1227、1194、1122、1099、1029 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz、同一モノマー単位
10
の一方において): 5.42 (1H, s, H-5)、4.90 (1H, d, $J = 3.3$, H-12)、3.78 (1H, brs, H-16), 2.62 (1H, m, H-11), 2.36 (1H, ddd, $J = 14.0, 12.4, 3.8$ Hz, H-3), 2.04 (1H, m, H-3'), 1.88 (2H, m, H-2, H-8), 1.77 (2H, m, H-2', H-8'), 1.71 (2H, m, H-17a, H-17b)、1.65-1.56 (4H, m, H-9, H-9', H-17'a, H-17'b)、1.48 (1H, m, H-7)、1.43 (3H, s, Me-15)、1.32 (1H, m, H-10)、1.25 (1H, m, H-1)、0.95 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Me-14)、0.90 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, Me-13); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): 104.4 (s, C-4)、100.0 (d, C-12)、88.4 (d, C-5)、81.5 (s, C-6)、72.7 (d, C-16)、53.0 (d, C-1)、44.9 (d, C-7)、37.9 (d, C-10)、36.9 (t, C-3)、35.2 (t, C-9)、31.2 (d, C-11)、26.6 (q, C-15)、24.9 (t, C-2)、25.1 (t, C-8)、20.7 (q, C-14)、13.5 (q, C-13); HRESIFTMS $[m/z]$ 647.3445 $[M-1]^-$ ($\text{C}_{36}\text{H}_{55}\text{O}_{10}$ の計算値、647.3510)。

化合物6; R_f 0.42 (n-ヘキサン : EtOAc, 8 : 2)、 $[\alpha]_D^{+114}$ (c. 0.042, CHCl_3); IR (フィルム) OH吸収無し; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 5.41 (1H, s, H-5)、4.88 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-12)、3.75 (1H, brs, H-16)、1.47 (1H, m, H-7)、1.43 (3H, s, Me-15)、1.26 (2H, m, H-1, H-10)、0.95 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, Me-14)、0.87 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, Me-13); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): 104.4 (s, C-4)、100.4 (d, C-12)、88.4 (d, C-5)、81.6 (s, C-6)、73.9 (t, C-16)、53.0 (d, C-1)、44.9 (m, C-7)、37.9 (d, C-10)、36.9 (t, C-3)、35.1 (t, C-9)、31.2 (d, C-11)、30.4 (t, C-17'), 27.5 (t, C-17)、26.6 (q, C-15)、24.9 (t, C-2)、25.1 (t, C-8)、20.8 (q, C-14)、13.5 (q, C-13); HRESIFTMS $[m/z]$ 671.3772 $[M+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{10}\text{Na}$ の計算値、671.3765)。

【0014】

実施例 9

ジヒドロアルテミシニン(372mg、1.31ミリモル)と1,4-シクロヘキサンジオール(シスおよびトランス混合物)(74.4mg、0.64ミリモル)の混合物を10mLの乾燥エーテル中に懸濁させ、0.25mLの $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ (280mg、1.97ミリモル)を0 で添加した。混合物を室温で80分間攪拌し、次いで、重炭酸ナトリウム溶液と一緒に振盪させることによって処理し、エーテル相を分離した。水性相をエーテル(2×10mL)で洗浄した。エーテル相を一緒にし、水および塩水で洗浄し、エーテル相を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させた。エーテルを蒸発させて、油状残留物(429mg)を得、これをシリカゲルカラム(30g)上でクロマトグラフィー処理し、97 : 3 ~ 80 : 20範囲のヘキサンエーテル混合物で溶出させ、各画分をそのTLC類似性に従い一緒にプールした。化合物6 (56mg)を白色固形物として単離し、化合物5 (24mg)を、真空下で発泡した油状物として単離した。これらは、実施例 8 において調製した化合物5
40
および6と同一であることが判明した。

実施例 10

ジヒドロアルテミシニン(744mg、2.62ミリモル)とシスおよびトランス混合物の1,4-シクロヘキサンジオール(149mg、1.28ミリモル)の混合物を、20mLの乾燥エーテル中で5 で攪拌した。混合物に、 $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ (83 μL 、0.655ミリモル)を添加し、攪拌を室温で1時間続けた。第2部分の $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ (83 μL)を添加し、混合物を1時間攪拌し続けた。その後、反応混合物を通常のようにして処理して890mgの油状残留物を得た。シリカゲル(32g)を使用しての残留物のカラムクロマトグラフィーおよびヘキサン : エーテル92 : 2、96 : 4、94 : 6、さらに90 : 10 (各200mL)での溶出により、TLC類似性に従ってプールした数種の画分を得た。化合物6を立方体結晶として単離した(238mg、融点146 ~ 148)。化合物5を後の画
50

分から非晶質発泡体として単離した(184mg、融点93~97)。これらは、実施例8および9において前記で調製した化合物と同一であることが判明した。

【0015】

実施例11

ジヒドロアルテミシニン(10g、35.2ミリモル)と1,4-シクロヘキサンジオール(シスおよびトランス混合物)(2g、17.2ミリモル)の混合物を260mLの乾燥エーテル中に懸濁させ、1.11mLの $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ をアルゴン下に0で添加した。2回の更なる部分の $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ (各1.11mL)を1時間後の間隔で添加した。その後、混合物を室温で最後の $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ 添加後の1時間攪拌し、次いで通常のようにして処理して12gの非晶質残留物を得、これをシリカゲルカラム上でクロマトグラフィー処理して2.69gの化合物5と2.78gの化合物6を生成させた。これらは、実施例8~10において調製した化合物5および6と同一であることが判明した。

10

化合物5のみまたは化合物6のみを所望するならば、シスまたはトランス1,4-シクロヘキサンジオールのみを出発物質として使用して所望の生成物を生成させるべきことに触れなければならない。

化合物4のヘミスクシネートエステルの調製(化合物8)

実施例12

乾燥塩化メチレン(4mL)中の化合物4(200mg、0.32ミリモル)の攪拌溶液に、トリエチルアミン(0.14mL、1.3当量)、ジメチルアミノピリジン(16mg、0.4当量)および無水コハク酸(92mg、3当量)を添加した。得られた溶液を室温で16時間ゆっくり攪拌した。減圧下で溶媒を蒸発させた後、残留物を、ヘキサン：アセトン(6：4)を溶離剤として使用してのシリカゲルカラム上で精製した。反応の生成物を、スペクトルデータ(実施例13における詳細参照)に基づき化合物4のヘミスクシネートエステル(化合物8)として同定した0.68の R_f 値(ヘキサン：アセトン、1：1)を有する白色非晶質固形物(156mg)を単離した。

20

【0016】

実施例13

実施例12の反応を、全ての反応物を比例してスケールアップしたより大規模(550mgの化合物4により出発)において繰返した。同じ方法で反応生成物を精製して、下記のスペクトルを有する355mgの化合物8を非晶質白色粉末として生成させた。

特性：

$^1\text{H-NMR}$ (アセトン- d_6 、500 MHz)： 5.442 (1H、s、H-5)、5.396 (1H、s、H-5')、5.181 (1H、t、 $J = 4.9$ Hz、H-17)、4.755 (1H、d、 $J = 3.4$ Hz、H-12)、4.740 (1H、d、 $J = 3.4$ Hz、H-12')、3.990 (2H、m、H-16)、3.608 (1H、dd、 $J = 4.5$ Hzおよび4.5 Hz、H-18)、3.560 (1H、q、 $J = 5.19$ Hz、H-18)、2.652 (4H、m、 $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-}$)、2.548 (2H、m、H-11およびH-11')、2.304 (2H、ddd、 $J = 3.0$ 、3.89および3.0 Hz、H-3)、2.065 (2H、m、H-3')、1.886 (2H、m、H-2)、1.786 (2H、m、H-2)、1.786 (2H、m、H-9)、1.686 (2H、m、H-8)、1.534 (2H、m、H-2')、1.489 (2H、m、H-7およびH-10)、1.332 (6H、s、Me-15およびMe-15')、1.213 (2H、m、H-1およびH-1')、0.980~0.937 (12H、Me-14、Me-13、Me-14'およびMe-13')。

30

$^{13}\text{CNMR}$ (アセトン- d_6 、125 MHz)： 172.99 (s、 CO-OH)、171.7 (s、 -CO-O-)、103.9 (s、C-4)、102.46 (d、C-12)、102.32 (d、C-12')、88.02 (d、C-5)、87.99 (d、C-5')、80.97 (s、C-6)、71.92 (d、C-17)、66.74 (t、C-16)、66.59 (t、C-18)、53.09 (d、C-1)、44.89 (d、C-7)、37.63 (d、C-10)、36.70 (t、C-3)、34.98 (t、C-8)、31.33 (d、C-11)、31.29 (d、C-11')、29.48および28.78 (t、 $\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}$ のメチレン)、25.72 (q、C-15)、24.98 (t、C-2)、24.7 (t、C-9)、20.23 (q、C-14)、12.81 (q、C-13)。

40

HRESIFTMS (m/z) 723.362 $[\text{M-H}]^+$ 、($\text{C}_{37}\text{H}_{55}\text{O}_{14}$ の計算値)。

【0017】

エチレングリコールによる、ジヒドロアルテミシニン二量体の調製(化合物9)

実施例14

乾燥エーテル(15mL)中のジヒドロアルテミシニン[以前に開示されたようにしてアルテミシニンから調製した(文献19)](75mg)とエチレングリコール(52mg)の攪拌溶液に、BF

50

30Et_2 (18 μL)を添加し、反応混合物を24時間放置し、その後、失活させ、通常のようにして処理した。 n -ヘキサン中でのEtOAc勾配(20% 50%)を使用しての粗反応混合物のカラムクロマトグラフィーにより、化合物9をガム状物として得た(7mg)。

$[\alpha]_D^{25} +181^\circ$ (c 0.022, MeOH); IR (フィルム) ν_{max} : 2937、2875、1681、1449、1376、1191、1102、987 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 5.89 (1H, s, H-5)、5.38 (1H, s, H-12)、5.08 (1H, s, H-13a)、4.94 (1H, s, H-13b)、3.89 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-16a)、3.57 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-16b)、2.31 (1H, m, H-7)、1.44 (3H, s, Me-15)、1.25 (2H, m, H-1、H-10)、0.7 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, Me-14); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz): 143.1 (s, C-11)、114.5 (t, C-13)、103.5 (s, C-4)、101.2 (d, C-12)、88.1 (d, C-5)、80.8 (s, C-6)、66.6 (t, C-16)、51.9 (d, C-1)、48.3 (d, C-7)、37.0 (d, C-10)、36.5 (t, C-3)、34.4 (t, C-9)、31.4 (t, C-8)、24.6 (t, C-2)、25.8 (q, C-15)、20.0 (q, C-13)。

HRESIFTMS $[m/z]$ 613.2943 $[M+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{O}_{10}$ Naの計算値、613.2983)。

【0018】

実施例 15

本発明の化合物を米国立がん研究所(NCI)によってその標準プロトコールに従い60種の癌細胞系に対して実施された抗癌活性スクリーニングに供した。白血病、非小細胞肺癌、結腸癌、CNS癌、黒色腫、卵巣癌、腎臓癌、前立腺癌、および乳癌について選択された細胞系に対する本発明の化合物の活性を、GI50 (表1)、TGI (表2)およびLC50 (表3)濃度に関して測定した。GI50は、細胞増殖の50%を抑制する濃度であり; TGIは、完全増殖抑制を生ずる濃度であり; LC50は、細胞の50%を死滅させる濃度である。

実施例 16

本発明の化合物を生体内活性を評価するNCIの中空繊維アッセイ標準プロトコールにおいてさらに試験した。各化合物は、IPとSCの合計点数が 20であった場合、或いはSC点数が 8であった場合、或いは1種以上の細胞系の正味の細胞死滅があった場合に更なる試験に進むに十分な活性を有するものとみなされる。表4 (図5)は、このアッセイにおける本発明の化合物の試験結果を示す。

実施例 17

本発明の化合物を、その抗血管形成活性を評価する各生体外アッセイに供した。これらのアッセイは、NCIにより、初期生体外試験のためのHUVECアッセイにおけるNCIの標準プロトコールに従い実施された。3つのアッセイは増殖抑制アッセイ、コード形成アッセイおよび細胞移動アッセイである。化合物は、活性が上記アッセイの少なくとも1つにおいて証明された場合に更なる試験について考慮される。表5 (図6)は、これらのアッセイにおける本発明の化合物の活性を示す。

【0019】

実施例 18

本発明の化合物を、ミシシッピ大学のNational Center for Natural Products Research (NCNPR)において、抗マラリアおよび抗リーシュマニア活性を評価するための標準プロトコールに従い、抗原虫症スクリーニングに供した。これら2種の生物体に対する化合物の活性を各生物体に対する標準の薬物の活性と比較した。

表6 (図7)は、マラリア寄生虫(*Plasmodium falciparum*)の2つの株に対する本発明の化合物の活性を示しており、1つはクロロキン感受性(D6クローン)であり、1つはクロロキン耐性(W2クローン)である。各化合物の細胞毒性もベロ細胞を使用して評価した。データは、本発明の化合物が抗マラリア薬としてのクロロキンまたはアルテミシニンよりも活性であることを示している。

表7 (図8)は、マラリア寄生虫に対する本発明の選択された群の化合物の活性を示している。これらの化合物は、表6 (図7)において試験した化合物と異なる合成ロットに由来する。このことは、本発明の化合物の抗マラリア薬としての活性を確認している。

表8 (図9)は、リーシュマニア寄生虫に対する本発明の化合物の活性をペンタミジンの

10

20

30

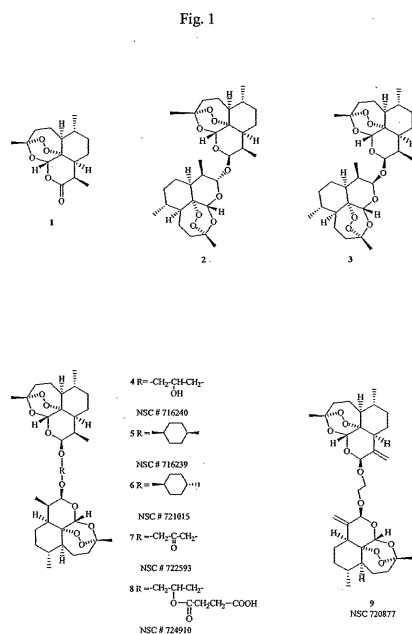
40

50

【図 9】本発明の化合物の抗リーシュマニア活性のデータを示す表 6 である。

10

【图 1】



【 ㄟ 2 A 】

表1:化合物4~9の生体外抗癌試験の結果

CIS0 (nM)						
化合物	4	5	6	7	8	9
NSC #	716240	716239	721015	722593	724910	720877
パネル/細胞系						
白血球						
CCR5-CEM	0.104	<0.005	<0.01		<0.01	0.098
HL-60 (TB)	0.062	0.017	0.032	0.01	<0.01	0.098
K-562	0.06	0.014	0.041	0.01	<0.01	0.050
MCLT-4	0.298	0.02	0.1	0.01	0.98	0.120
RFMI-8226	0.024	<0.005	<0.01	0.01		0.013
SR	0.178	0.014	0.306	0.01		0.028
非小細胞肺癌						
A549/ATCC	0.505	0.02	0.0188	<0.01	13.6	5.370
EKVX	0.307	0.024	0.0277		19.5	0.479
HOP-62	13.3	12.3		11.5	11.3	6.918
HOP-92	0.384	0.017		0.18	0.08	0.741
NCI-H226	61.7	0.347	0.0247	<0.01	18.1	
NCI-H23	0.135	0.022	0.0247	0.01	<0.01	1.072
NCI-H322M	62.5	16.6	0.67	8.42	10.3	11.220
NCI-H460	—	0.017	0.028	<0.01		5.495
NCI-H522	0.52	0.021	0.036	0.01		0.398
結腸癌						
COLO 205	0.04	0.007	<0.01	0.01		0.123
HCC-2998	7.02	0.018	0.018			6.026
HCT-116	0.049	0.016	<0.01	0.01	<0.01	0.027
HCT-15	0.027	0.014	<0.01	0.01	<0.01	0.012
HT29	0.268	0.026	0.011	0.01	<0.01	0.043
KM12	0.166	0.012	0.011	0.01	<0.01	0.093
SW-620	0.099	0.012	0.024	0.01		0.062
CNS癌						
SF-268	13.7	0.034	0.11	11.1	<0.01	6.310
SF-295	9.52	0.028	0.061	2.93		7.586
SF-539	8.64	0.02	0.092		8.3	5.370
SNB-19	27.6	0.099	0.37	0.0213		10.965
SNB-75	8.25	0.03	0.2	6.01	11.7	
U251	—	0.019	0.016	<0.01	<0.01	0.288

Fig. 2A

【図2B】

表1(続き)

GI50 (uM)	4	5	6	7	8	9
化合物	716240	716239	721015	722593	724910	720877
パネル/細胞系						
黒色腫						
LOXIMVJ	0.11	0.017	0.013	0.01		
MALME-3M	14.9	0.027	0.06	0.01	<0.01	0.204
M14	8.82	0.044	0.07	0.01	4.05	7.244
SK-MEL-2	14.2	0.024	0.3	0.031	3.42	3.162
SK-MEL-28	9.39	0.085	98.8	11.7	15.5	6.026
SK-MEL-5			0.49	<0.010		0.501
UACC-257	0.257	0.027	0.074	<0.010	11.0	0.479
UACC-62	0.296	0.022	0.045	<0.010		7.244
卵巣癌						
IGROVI	13.1	6.75	0.055	1.74	14.3	0.617
OVCAR-3	0.171	0.015	0.067	<0.010		0.107
OVCAR-4	0.209	0.024	0.053	0.069		0.072
OVCAR-5	17.7	0.152	0.042	<0.010	0.01	5.012
OVCAR-8	0.252	0.019	0.057	<0.010	17.7	0.372
SK-OV-3	21.4	0.034	0.166			10.965
腎臓癌						
786-0	---	0.031	0.027	<0.010	<0.01	0.347
A498	15.8	0.04	0.37	14.3		50.119
ACHN	---	0.027	0.042	<0.010		6.310
CAKI-1	0.458	0.037	0.33	0.025	0.01	1.778
RXF393	0.213	0.018	0.29	15.4	<0.01	6.457
SN12C	0.303	0.025	0.097	<0.010	8.82	7.244
TK-10	14.1	0.029	0.12	<0.010	<0.01	0.219
UO-31	0.127	0.018	0.12	<0.010	6.95	0.182
前立腺癌						
PC-3	0.0354	0.0105	<0.01	<0.010	<0.01	0.063
DU-145	13.8	0.028	0.34	11.2		7.586
乳癌						
MCF7	0.095	0.0158	0.042	<0.010	<0.01	0.148
NCI/ADR-RES	0.34	0.077	0.13	<0.010	0.29	0.537
MDA-MB-231/ATCC	45.8	0.092	0.52	<0.010	0.01	13.183
HS 578T	12.5	0.049	0.52		17.5	0.074
MDA-MB-435	---	0.028	0.07	<0.010	<0.01	0.447
MDA-N	0.368	0.024	0.077			0.513
BT-549	0.408	0.042		0.05	19.4	7.586
T-47D	0.027	<0.005	<0.01	<0.010		0.014

Fig. 2B

【図3A】

表2: 家具物4~9の生体外抗癌試験の結果

TGI (uM)	4	5	6	7	8	9
化合物	716240	716239	715015	722593	724910	720877
パネル/細胞系						
白血病						
CCRF-CEM	18.3	8.32	>100	<0.01	>100	8.318
HL-60 (TB)	0.18	0.03	0.44	12.4		12.882
K-562	>62.5	7.67	>100	12.1	>100	1.122
MOLT-4	>62.5	9.24	>100	<0.01	>100	11.220
RPMI-8226	11.2	0.276	0.024	<0.01		0.234
SR	6.96	0.762	58.6	4.4		8.318
非小細胞肺癌						
A549/ATCC	19.3	>50	>100	17.4	57.6	16.218
EKVX	>62.5	15.4			72.4	9.772
HOP-62	>62.5	>50		24.0	26.0	14.454
HOP-92	42.2	---		22.9	21.2	13.490
NCI-H226	>62.5	27	38.9	14.8	35.0	
NCI-H226	>62.5	>50	>100	21.2	12.1	25.704
NCI-H322M	>62.5	>50	>100	24.7	37.9	32.359
NCI-H460	27.1	26.1	>100	17.0	16.5	13.490
NCI-H522	>62.5	18.5	0.41	16.1	37.5	10.715
結腸癌						
COLO 205	0.21	0.016	0.012	<0.01		0.501
HCC-2998	19.3	8.86				13.183
HCT-116	>62.5	8.3	0.042	14.2	15.6	8.710
HCT-15	>62.5	>50	0.054	<0.01	10.3	7.413
HT29	>62.5	>50	>100	20.3	>100	8.913
KM12	>62.5	18.6	>100	12.5	<0.01	12.303
SW-620	13.4	>50	>100	16.3		21.878
CNS癌						
SF-268	>62.5	>50	>100	36.6	20.7	17.378
SF-295	>62.5	>50	>100	20.9		21.878
SF-539	19.1	13.8	>100	25.3	38.6	11.482
SNB-19	>62.5	>50	>100	18		50.119
SNB-75	>62.5	42	>100	39.2	35.3	
U251	49.2	>50	>100	17.7	20.2	11.749

Fig. 3A

【図3B】

表2(続き)

TGI (uM)	4	5	6	7	8	9
化合物	716240	716239	721015	722593	724910	720877
パネル/細胞系						
黒色腫						
LOXIMVJ	2.77	2.25	0.099	<0.01		
MALME-3M	>62.5	>50	>100	12.8	10.4	14.791
M14	>62.5	>50	>70.6	15.3	26.9	16.218
SK-MEL-2	>62.5	26.2	2.51	18.6	>100	17.783
SK-MEL-28	>62.5	>50	>100	28.7	>100	13.490
SK-MEL-5	>62.5	0.56	12.7	15.6		21.380
UACC-257	>62.5	21.7	>100	13.6	53.2	22.909
UACC-62	>62.5	11.9	>100	14.8		14.791
卵巣癌						
IGROVI	>62.5	>50	27.4	7.59	>100	2.951
OVCAR-3	20.1	6.15	3.3	17.4		10.233
OVCAR-4	>62.5	>50	>100	27.4		1.288
OVCAR-5	>62.5	>50	>100	24.2	13.4	14.454
OVCAR-8	>62.5	>50	0.242	0.128	63.5	11.220
SK-OV-3	>62.5	>50	>100	23.5		37.154
腎臓癌						
786-0	16.5	>50	0.452	15	18.5	9.333
A498	>62.5	>50	>100	30.1		50.119
ACHN	>62.5	15.8	>100	11.6		12.589
CAKI-1	48.8	7.7	97.3	13.2	0.66	14.791
RXF393	24.8	0.44	>100	34.1	0.21	16.982
SN12C	16	9.37	>100	<0.01	25.7	1.445
TK-10	>62.5	>50	>100		21.2	21.878
UO-31	1.31	0.75	25.8	1.94	>100	0.912
前立腺癌						
PC-3	>62.5	>50	>100	13.2	15.2	31.623
DU-145	>62.5	23.6	>100	23.3		15.488
MCF7	36.8	10.8	>100	22.6	20.6	42.658
NCI/ADR-RES	>62.5	>50	>100	16.6	16.8	8.913
MDA-MB-231/ATCC	>62.5	>50	>100	3.27		24.547
HS 578T	>62.5	>50	>100	19	48.5	9.333
MDA-MB-435	>62.5	23.9	>100	12.3	14.4	12.023
MDA-N	>62.5	>50	>100			13.490
BT-549	>62.5	>50	>100	22.3	40.7	26.303
T-47D	>62.5	0.038	0.091	<0.01		21.878

Fig. 3B

【図4A】

表3: 化合物4~9の生体外抗癌試験の結果

LC50 (uM)	4	5	6	7	8	9
化合物	716240	716239	721015	722593	724910	720877
パネル/細胞系						
白血病						
CCRF-CEM	>62.5	>50.0	>100	19.1	>100	41.687
HL-60 (TB)	0.55	0.17	>100	56.2	>100	50.119
K-562	>62.5	>50.0	>100	50.9	>100	32.359
MOLT-4	>62.5	>50.0	>100	5.2	>100	45.709
RPMI-8226	>62.5	>50.0	58.8	20.7		26.915
SR	>62.5	45.4	>100	33.7		38.019
非小細胞肺癌						
A549/ATCC	>62.5	>50.0	>100	54.6	>100	48.978
EKVX	>62.5	>50.0	>100		>100	25.704
HOP-62	>62.5	>50.0	>100	50.0	59.5	29.512
HOP-92	>62.5	>50.0	>100	67.7	71.0	50.119
NCI-H226	>62.5	>50.0	>100	51.4	67.9	
NCI-H23	>62.5	>50.0	>100	66.8	37.1	50.119
NCI-H322M	>62.5	>50.0	>100	65.0	>100	50.119
NCI-H460	>62.5	>50.0	>100	65.7	50.1	33.113
NCI-H522	>62.5	>50.0	>100	62.1	>100	26.915
結腸癌						
COLO 205	---	0.035	>100	<0.01		7.244
HCC-2998	53.2	>50.0	72.1			28.840
HCT-116	>62.5	44.2	>100	45.8	40.4	21.380
HCT-15	>62.5	>50.0	>100	23.1	40.2	19.953
HT29	>62.5	>50.0	>100	>100.0	>100	21.380
KM12	>62.5	>50.0	>100	43.7	13.2	36.308
SW-620	>62.5	>50.0	>100	44.0		50.119
CNS癌						
SF-268	>62.5	>50.0	>100	>100.0	69.3	47.863
SF-295	>62.5	>50.0	>100	48.2		50.119
SF-539	42.3	>50.0	>100	55.9	>100	24.547
SNB-19	>62.5	>50.0	>100	42.4		50.119
SNB-75	>62.5	>50.0	>100	>100.0	>100	
U251	>62.5	>50.0	>100	42.1	48.1	27.542

Fig. 4A

【図 4 B】

表3(続き)
LC50 (μM)

化合物 NSC #	4 716240	5 716239	6 721015	7 722593	8 724910	9 720877
パネル/細胞系 黒色腫 LOXIMVI MALME-3M						
M14	>62.5	>50	>100	57.0	71.1	35.481
SK-MEL-2	>62.5	>50	>100	73.2	>100	50.119
SK-MEL-28	>62.5	>50	>100	70.1	>100	29.512
SK-MEL-5	>62.5	15.6	>100	39.5		50.119
UACC-257	>62.5	>50	>100	40.7	>100	50.119
UACC-62	>62.5	>50	>100	60.9		30.903
卵巣癌 IGROVI	>62.5	>50	>100	33.7	>100	13.803
OVCAR-3	>62.5	32.5	>100	43.8		36.308
OVCAR-4	>62.5	>50	>100	>100.0		26.303
OVCAR-5	>62.5	>50	>100	74.8	48.0	40.738
OVCAR-8	>62.5	>50	>100	38.8	>100	35.481
SK-OV-3	>62.5	>50	>100	55.4		50.119
腎臓癌 786-0	43.2	>50	>100	39.3	55.8	22.387
A498	>62.5	>50	>100	63.4		50.119
ACHN	>62.5	>50	>100	34.1		25.119
CAKI-1	>62.5	32	>100	37.4	23.2	50.119
RXF 393	>62.5	33.6	>100	75.7	21.8	44.668
SN12C	47	>50	>100	28.2	68.4	28.840
TK-10	>62.5	>50	>100	34.4	>100	50.119
UO-31	11.3	13.8	>100	8.08	>100	2.692
前立腺癌 PC-3	>62.5	>50	>100	63.5	79.3	50.119
DU-145	>62.5	>50	>100	48.5		31.623
乳癌 MCF7	>62.5	>50	>100	>100.0	>100	50.119
NCI/ADR-RES	>62.5	>50	>100	68.1	60.5	26.915
MDA-MB-231/ATCC	>62.5	>50	>100	27.6	39.8	46.774
HS578T	>62.5	>50	>100	78.7	>100	50.119
MDA-MB-435	>62.5	>50	>100	37.7	42.3	34.674
MDA-N	>62.5	>50	>100			43.652
BT-549	>62.5	>50		57.0	85.6	50.119
T-47D	>62.5	>50	>100	36.1		50.119

Fig. 4B

【図 8】

表 7 : 化合物4~6の抗マラリア活性

化合物	熱帯熱マラリア原虫 (D6クローン)		熱帯熱マラリア原虫 (W2クローン)		細胞毒性 (ペロ細胞)
	IC50 (ng/mL)	S.I.	IC50 (ng/mL)	S.I.	
4	0.2	>23,800	0.74	>6,430	>4,760
5	3.0	>1,590	5.2	>920	>4,760
6	3.5	>1,360	8.6	>553	>4,760
7	0.7	>7,000	0.2	>23,800	>4,760
8	1.0	ND	1.5	ND	ND
クロロキン	9.5		>238		
アルテミシニン	2.8		4.5		

IC50 = 細胞の50%の死滅を生ずる濃度

S.I. = 選択性指数(IC50ペロ細胞/IC50熱帯熱マラリア原虫)

TC50 = 細胞の50%に対する毒性濃度

本発明の化合物の試験最高濃度 = 4,760 ng/mL

ND = 測定せず

【図 9】

表 8 : 化合物4~7の抗リシューマニア活性

化合物番号	IC50 (μg/L)	IC90 (μg/mL)
4	3.1	10
5	6.5	>50
6	5.0	>50
7	4.8	12
ペンタミジン	1.18	5
アムホテリシンB	0.08	0.14

IC50 およびIC90は、それぞれ、溶媒対照と比較したときの細胞の50%および90%を死滅させる化合物濃度である。

本発明の化合物の試験最高濃度 = 50 μg/mL

【図 5】

表 4 : 化合物4、5および6における生体内中空繊維アッセイ点数

化合物	NSC番号	IPスコア	SCスコア	合計スコア	細胞死滅
4	716240	12	2	14	有
5	716239	26	10	36	無
6	721015	18	6	24	無

【図 6】

表 5 : 化合物4、5、7および8の生体外抗血管形成活性

化合物	NSC番号	IC ₅₀ (UM)		
		増殖抑制アッセイ	コード形成	走化性
4	716240	0.077	30.79	1.778
4	716239	0.042	38.75	3.33
7	722593	0.057	> 50	28.5
8	724910	0.056	45.8	45.3
対照	タクソール	0.00165	0.05	0.1
対照	TNP 470	0.00316	1.00	0.5

【図 7】

表 6 : 化合物2~6および9の抗マラリア活性

化合物	熱帯熱マラリア原虫 (D6クローン)		熱帯熱マラリア原虫 (W2クローン)		細胞毒性 (ペロ細胞)
	IC50 (ng/mL)	S.I.	IC50 (ng/mL)	S.I.	
アルテミシニン(I)*	6~10	>24	6~10	>24	NC
2*	13	>37	14	>34	NC
3*	6.5	>73	3.8	>125	CN
4	1.0	>47.6	0.74	>64.3	NC
5	19	>25.0	13.0	>37.0	NC
6	24.0	19.9	30.0	>15.7	CN
9	11	>43	3.0	>159	CN

*比較目的で含ませた以前に公表された化合物

IC50 = 細胞の50%の死滅を生ずる濃度

S.I. = 選択性指数(IC50ペロ細胞/IC50熱帯熱マラリア原虫)

TC50 = 細胞の50%に対する毒性濃度

NC = 試験した最高濃度で細胞毒性無し

本発明の化合物の試験最高濃度 = 476 ng/mL

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US03/32049
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 31/357 ; C07D 493/12 US CL : 514/450, 453 ; 549/348, 358 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/450, 453 ; 549/348, 358		
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) STN-Structure search, CAPLUS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5,856,351 A (ZHENG et al.) 05 January 1999 (05.01.1999), whole document.	1-7
<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 "E" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 08 January 2004 (08.01.2004)		Date of mailing of the international search report 04 JUN 2004
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer C. S. AUBAK Telephone No. (703) 308-1235

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,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA, GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,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,M W,MX,MZ,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM ,ZW

(74)代理人 100114007

弁理士 平山 孝二

(72)発明者 エルソーリー マームード エイ

アメリカ合衆国 ミシシッピ州 3 8 6 5 5 オックスフォード クアイエット ヴァリー コー
ヴ 7 0 8

(72)発明者 ロス サミアー エイ

アメリカ合衆国 ミシシッピ州 3 8 6 5 5 オックスフォード ウェッジウッド ドライヴ 5
0 0

(72)発明者 ギャラル アーメッド エム

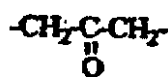
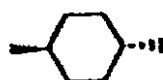
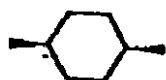
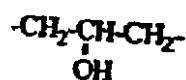
エジプト 1 1 5 6 2 カイロ エル エイニ ストリート カレッジ オブ ファーマシー フ
ァーマコログノシー ケイエスアール

Fターム(参考) 4C071 AA03 AA07 BB02 CC14 DD40 EE07 FF18 GG01 HH04 JJ06

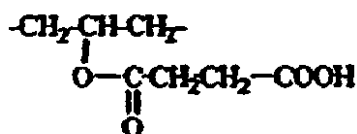
LL01

4C086 AA01 AA03 BA16 NA14 ZB26 ZB38

【要約の続き】

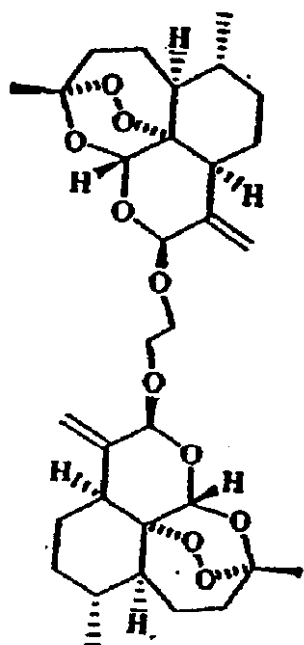


又は



(II)

【化3】



(III)

また、本発明は、これら化合物の抗癌薬および抗感染症薬としての製薬組成物における使用にも関する。