

(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2004-502732

(P2004-502732A)

(43) 公表日 平成16年1月29日(2004.1.29)

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

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 31/19

A 6 1 K 31/19

4 C 2 0 6

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 43/00

A 6 1 P 43/00 1 2 3

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 44 頁)

(21) 出願番号 特願2002-508437 (P2002-508437)  
 (86) (22) 出願日 平成13年7月13日 (2001.7.13)  
 (85) 翻訳文提出日 平成15年1月10日 (2003.1.10)  
 (86) 国際出願番号 PCT/N02001/000301  
 (87) 国際公開番号 W02002/003983  
 (87) 国際公開日 平成14年1月17日 (2002.1.17)  
 (31) 優先権主張番号 20003591  
 (32) 優先日 平成12年7月13日 (2000.7.13)  
 (33) 優先権主張国 ノールウェー (N0)

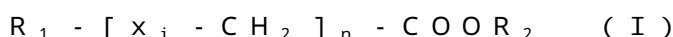
(71) 出願人 502321054  
 ティア、メディカ、アクチスカベット  
 THIA MEDICA AS  
 ノルウェー国ベルゲン、カルファルベイエ  
 ン、57エイ、ケアオブ、シブ、オーケー  
 、エルジェ、モー  
 (74) 代理人 100075812  
 弁理士 吉武 賢次  
 (74) 代理人 100091487  
 弁理士 中村 行孝  
 (74) 代理人 100094640  
 弁理士 紺野 昭男  
 (74) 代理人 100107342  
 弁理士 横田 修孝

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌治療のための脂肪酸類似体

## (57) 【要約】

本発明は、一般式 (I) :



(上記式中、

 $R_1$  は1個以上の二重結合を有するおよび/または1個以上の三重結合を有する $C_1 \sim C_{24}$  アルケン、および/または $C_1 \sim C_{24}$  アルキン、および/または

$C_1 \sim C_{24}$  アルキル、または1または数個の位置においてフルオリド、クロリド、ヒドロキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルコキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルキルチオ、 $C_2 \sim C_5$  アシルオキシまたは $C_1 \sim C_4$  アルキルを含んでなる群から選択された1個以上の化合物で置換されたアルキルであり、

 $R_2$  は水素または $C_1 \sim C_4$  アルキルであり、 $n$  は1~12の整数であり、 $i$  は奇数であり、 $COOR_2$  に対する位置を示し、

互いに独立な $X_i$  はO、S、SO、SO<sub>2</sub>、Se、およびCH<sub>2</sub> をからなる群から選択され、

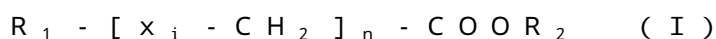
但し、 $X_i$  の少なくとも1個はCH<sub>2</sub> ではない)

の脂肪酸類似体であって、原発性および続発性転移腫瘍の治療および/または抑制に用いることができるものに関する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

原発性および続発性腫瘍の予防および / または抑制のための医薬組成物の調製のための、下記一般式 ( I ) で表される脂肪酸類似体、またはその塩、プロドラッグ若しくは複合体の使用：



( 上記式中、

$R_1$  は 1 個以上の二重結合を有するおよび / または 1 個以上の三重結合を有する

$C_1 \sim C_{24}$  アルケン、および / または

$C_1 \sim C_{24}$  アルキン、および / または

$C_1 \sim C_{24}$  アルキル、または 1 または数個の位置においてフルオリド、クロリド、ヒドロキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルコキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルキルチオ、 $C_2 \sim C_5$  アシルオキシまたは  $C_1 \sim C_4$  アルキルを含んでなる群から選択された 1 個以上の化合物で置換されたアルキルであり、

$R_2$  は水素または  $C_1 \sim C_4$  アルキルであり、

$n$  は 1 ~ 12 の整数であり、

$i$  は奇数であり、 $COOR_2$  に対する位置を示し、

互いに独立な  $X_i$  は、O、S、SO、SO<sub>2</sub>、Se、および  $CH_2$  からなる群から選択され、

但し、 $X_i$  の少なくとも 1 個は  $CH_2$  ではない ) 。

## 【請求項 2】

化合物がテトラデシルチオ酢酸である、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 3】

化合物がテトラデシルセレノ酢酸である、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 4】

腫瘍の成長を抑制するための、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 5】

原発性腫瘍の結合組織への侵襲を抑制するための、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 6】

腫瘍の転移特性の抑制のための、すなわち続発性腫瘍の形成を抑制するための、請求項 1 に記載の使用。

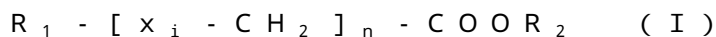
## 【請求項 7】

腫瘍を有する哺乳類の全般的生存率を増加させるための、請求項 1 に記載の使用。

## 【請求項 8】

原発性および続発性の転移腫瘍の治療および / または抑制方法であって、

一般式 ( I ) :



( 上記式中、

$R_1$  は 1 個以上の二重結合を有するおよび / または 1 個以上の三重結合を有する

$C_1 \sim C_{24}$  アルケン、および / または

$C_1 \sim C_{24}$  アルキン、および / または

$C_1 \sim C_{24}$  アルキル、または 1 または数個の位置においてフルオリド、クロリド、ヒドロキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルコキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルキルチオ、 $C_2 \sim C_5$  アシルオキシまたは  $C_1 \sim C_4$  アルキルを含んでなる群から選択された 1 個以上の化合物で置換されたアルキルであり、

$R_2$  は水素または  $C_1 \sim C_4$  アルキルであり、

$n$  は 1 ~ 12 の整数であり、

$i$  は奇数であり、 $COOR_2$  に対する位置を示し、

互いに独立な  $X_i$  は、O、S、SO、SO<sub>2</sub>、Se、および  $CH_2$  をからなる群から選択され、

10

20

30

40

50

但し、 $X_i$  の少なくとも 1 個は  $CH_2$  ではない)

の脂肪酸類似体、または

その塩、プロドラッグ若しくは複合体の有効量を治療および/または抑制を必要とする哺乳類に投与する工程を含んでなる、方法。

【請求項 9】

化合物がテトラデシルチオ酢酸である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

化合物がテトラデシルセレノ酢酸である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

脂肪酸類似体を、その治療上有効濃度がその投与期間中に哺乳類の血液中で実質的に連続的に保持されるように投与する、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項 12】

上記脂肪酸類似体組成物の組成が単位投与形態である、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の分野】

本発明は、癌の治療および/または予防に用いることができる脂肪酸類似体に関する。更に具体的には、本発明は原発性および続発性腫瘍の治療および/または抑制を目的とする脂肪酸類似体の使用に関する。 20

【0002】

【発明の背景】

本発明による修飾脂肪酸による治療は、これらの疾病を治療するための新しい方法を提供する。

【0003】

欧州特許第 345,038 号明細書には、高脂血症性疾患を治療し、哺乳類の血液中のコレステロールおよびトリグリセリドの濃度を減少させるための非 - 酸化性脂肪酸類似体の使用が記載されている。

【0004】

PCT/NO95/00195 号明細書には、LDL の酸化的修飾の抑制および癌細胞の増殖を減少させるためのアルキル - S -  $CH_2COOR$  およびアルキル - Se  $CH_2COOR$  が記載されている。しかしながら、この増殖効果は細胞特異的であり、本発明者らは本発明による化合物が他の細胞系では細胞成長または増殖に全く影響しないことを明らかにしている。 30

【0005】

PCT/NO99/00135 号、00136 号および 00149 号明細書には、肥満、糖尿病および狭窄を治療するための脂肪酸類似体の使用が記載されている。

【0006】

上記の従来技術の公表文献に記載されている類似体、すなわち本発明による非 - 酸化性脂肪酸が、一層広い応用範囲を有することを今般見出した。本発明者らは、本発明による化合物が腫瘍の成長および転移挙動を抑制し、腫瘍を移植した動物の全般的生存率が增加することを明らかにした。 40

【0007】

癌

癌治療用の新規で一層効果的な化学療法薬の開発には、細胞毒性、腫瘍細胞の増殖、侵襲および転移など様々な要因を考慮する必要がある。通常の抗癌剤は、典型的には、それらの細胞毒性のみに基づいて同定されてきた。

【0008】

腫瘍の進行は、選択的な成長特性を有する変異体細胞が腫瘍細胞固体群中に現れるときに起こると考えられ、腫瘍進行の最終段階の一つは転移性表現型の出現である。転移の際に 50

、腫瘍細胞は血管に侵入し、循環している宿主免疫防御機構から生き延びた後、血管外に溢出し、移植し、原発性腫瘍から離れた部位で成長する。隣接組織を侵襲し、他の臓器にコロニー形成するこの腫瘍細胞の能力は、癌による死亡の主な原因である。

#### 【0009】

転移という用語は、癌によりほとんど死亡に至るといふ臨床的問題をともに引き起こす多数の表現型形質を包含する。細胞はそれらの粘着性および組織化された組織内の拘束された位置を喪失し、隣接部位内に移動し、血管を侵襲し且つここから出る能力を発達させ、不自然な位置または環境で増殖することができるようになる。これらの成長パターンの変化は、転移工程を促進する能力を有する生化学的変化の蓄積を伴う。

#### 【0010】

これまでのところ、転移カスケードに伴う本質的機構についてはほとんど知られていない。幾つかの場合には、ある種の腫瘍細胞の転移ポテンシャルの増加は腫瘍遺伝子の発現増加による可能性があり、分化、増殖、細胞運動性および伝達など様々な細胞機能の制御に関与していると思われる。更に、シグナル伝達経路を調節する物質は腫瘍の転移挙動を抑制することができることが示されており、表面関連効果を有する化合物、例えば細胞膜を調節する化合物は転移に至る工程に関与している可能性があるとも推測される。

#### 【0011】

癌は、不適当な組織への蓄積の疾病である。この傷害は、腫瘍組織の嵩が生命の維持に必要な臓器の機能を損なうときに臨床的に最も明らかとなる。一般に考えられているのとは反対に、ヒトの悪性疾患は通常は速やかな細胞増殖の疾患ではない。実際に、ほとんどの普通に見られる癌の細胞は正常組織における多くの細胞よりゆっくりと増殖する。癌で死亡するほとんどの患者にとって致命的であることが明らかになっているのは、生命維持に必要な臓器に腫瘍組織が比較的ゆっくり蓄積されることである。

#### 【0012】

化学療法薬は、一つの特徴、すなわちそれらが通常は正常細胞より悪性細胞を殺しまたは損傷を与えるのに一層有効である、という特徴を共有している。しかしながら、それらが正常細胞を傷付けるという事実は、それらが潜在的に毒性を有することを示している。

#### 【0013】

現在使用されているほとんど総ての化学療法薬は、DNA合成、DNAおよびRNA合成のための前駆体の供給、または有糸分裂を妨げる。これらの薬剤は、循環細胞(cycling cells)に対して極めて有効である。いずれか単独の薬剤または薬剤の組合せを用いて治療した後の細胞死の機構は複雑であり、二以上の工程を包含すると思われる。ほとんどの臨床的に検出可能な腫瘍はほとんどが非循環細胞(non-cycling cells)から構成されているので、化学療法が癌の撲滅に常に有効であるとは限らないことは驚くには当たらない。

#### 【0014】

癌治療の方法は、腫瘍細胞を非循環コンパートメント(non-cycling compartment)から循環コンパートメント(cycling compartment)へ移行させることである。この移行を促進する幾つかの方法は、組合せモダリティー治療の基礎となっている。外科手術は腫瘍の大きさを減少させる目的で極めて一般的に用いられており、従って癌細胞が細胞サイクルへ再度侵入することが容易になる。原発性腫瘍を完全に除去した後、顕微鏡観察では遠隔部位に転移が残ったままである可能性がある。それらの大きさが小さいため、微小転移は主として循環細胞(cycling cells)から構成されている。原発性腫瘍部位に残っている少数の細胞も、細胞サイクルへ再度侵入しているものと思われる。従って、残っている癌細胞は多くの場合化学療法を受けやすい。放射線治療または化学療法を単独で用いて、腫瘍の大きさを減少させることにより、循環細胞(cycling cells)コンパートメントに細胞を補充することもできる。

#### 【0015】

従って、組合せ薬物療法が、現在用いられているほとんどの化学療法の基礎となっている

10

20

30

40

50

。組合せ化学療法では、複数の薬剤の様々な作用機構および細胞毒性の可能性が用いられる。

【 0 0 1 6 】

しかしながら、化学療法薬は正常細胞より悪性細胞を殺しまたは損傷を与えるのに一層有効であるが、それらが正常細胞を傷付けるという事実は潜在的に毒性が高いことを示している。化学療法が有効であるためには、患者の生理条件が良好でなければならないのである。

【 0 0 1 7 】

癌治療では、腫瘍細胞の増殖、癌細胞の身体他の部分への転移伝播、侵襲、腫瘍によって誘発される新血管新生、および宿主の免疫学的応答および細胞毒性の増大など様々な要因を抑制する必要がある。通常、癌化学療法薬は、それらの腫瘍細胞に対する細胞毒性に基づいて選択されることが多かった。しかしながら、幾つかの抗癌剤は、患者の免疫系に不利な効果を有する。不運なことには、通常、抗腫瘍薬のほとんどでは、有効用量と毒性用量との間の限界、すなわち治療指数が極めて低いのである。従って、侵襲性癌の成長、進行および転移を生じる因子に対して細胞毒性なしで防御する癌療法または治療を開発することができれば非常に有利であろう。

【 0 0 1 8 】

本発明は、本発明による脂肪酸類似体を用いて癌に罹っている患者を治療することを含む原発性および転移性腫瘍の予防および/または治療方法に関する。

【 0 0 1 9 】

癌の二つの本質的な特徴は、侵襲および転移である。一つの極端な場合には、基底膜の微小浸潤が新生組織形成から癌への変遷を特徴づけており、他の極端な場合には、転移は一般的には死をもたらす。

【 0 0 2 0 】

原発性腫瘍による下にある結合組織への侵襲は数段階で進行し、腫瘍細胞によって産生される様々なメディエーターによって促進される。基底膜を侵襲せず上皮内に閉じ込められたままの腫瘍細胞は、イン・シテューでは癌と呼ばれる。

【 0 0 2 1 】

一方、粘着性リンパ球および血小板と共に循環している腫瘍細胞が毛細血管にトラップされ、腫瘍細胞膜が毛細血管内皮と相互作用するときに、転移が形成される可能性がある。毛細血管の内皮接合点が収縮し、腫瘍細胞リガンドが内皮および基底膜上の受容体に結合する。次いで、腫瘍細胞がコラゲナーゼⅤを放出し、これが下にある基底膜の主成分であるコラーゲンⅤを破壊するのである。毛細血管下 ( s u b c a p i l l a r y ) の結合組織の侵襲は、糖タンパク質ラミニンおよびフィブロネクチンへの結合、マトリックスを破壊するプロテアーゼの放出、および運動性および走化性因子の分泌によって助長される。次に、腫瘍細胞が増殖して、トロンボキサンおよび凝血原のような血小板集合因子を合成することによって、細胞の周囲のフィブリン保護被膜を沈着させることができる。このような被膜は、宿主の免疫系による攻撃から微小転移巣を保護することができる。

【 0 0 2 2 】

本発明による組成物および方法によって予防および/または治療することができる癌としては、ヒト肉腫および癌、例えば結腸癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、繊維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、骨膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支癌、腎細胞癌、肝癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上衣細胞腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴覚神経腫、乏突起神経膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽腫、網膜芽細胞腫のような癌、急性リンパ性白血病および急性骨髄性白血病 ( 骨髄芽球性、前骨髄球性、骨髄単球性、単球性および赤白血病 ) 、慢性白血病 ( 慢性骨髄性 ( 顆粒球性 ) 白血病および慢性リンパ性白血病 ) 、およ

10

20

30

40

50

び真性赤血球増加症、リンパ腫（ホジキン病および非ホジキン病）、多発性骨髄腫、ヴァルデンストロームマクログロブリン血症および重鎖疾患のような白血病が挙げられるが、これらに限定されない。このような癌の具体例を、下記の節で説明する。

#### 【0023】

本発明者らは、本発明による化合物が、様々なスフェロイドの平均直径を減少させ且つBT4Cn腫瘍の腫瘍体積が減少することを示した。更に、本発明者らは、腫瘍を移植したTTAラットの全般的生存率が実質的に増加することも示した。

#### 【0024】

例えば、本発明による脂肪酸類似体は、腫瘍の成長、侵襲および転移に対して著しい効果を有することが明らかにされた。

10

#### 【0025】

テトラデシルチオ酢酸（TTA）は、極めて詳細に検討された本発明による化合物であり、本発明者らは様々なイン・ピトロおよびイン・ビボ試験系で幾つかの有益な効果を明らかに示した。

#### 【0026】

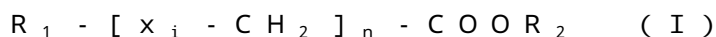
##### 【発明の具体的な説明】

本発明は、非細胞毒性濃度での修飾脂肪酸類似体を癌の治療および／または予防に用いることができることを開示する。

#### 【0027】

本発明は、一般式（I）：

20



（上記式中、

$R_1$  は1個以上の二重結合を有するおよび／または1個以上の三重結合を有する

$C_1 \sim C_{24}$  アルケン、および／または

$C_1 \sim C_{24}$  アルキン、および／または

$C_1 \sim C_{24}$  アルキル、または1または数個の位置においてフルオリド、クロリド、ヒドロキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルコキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルキルチオ、 $C_2 \sim C_5$  アシルオキシまたは $C_1 \sim C_4$  アルキルを含んでなる群から選択された1個以上の化合物で置換されたアルキルであり、

$R_2$  は水素または $C_1 \sim C_4$  アルキルであり、

30

$n$  は1～12の整数であり、

$i$  は奇数であり、 $COOR_2$  に対する位置を示し、

互いに独立な $X_i$  はO、S、SO、SO<sub>2</sub>、Se、およびCH<sub>2</sub>をからなる群から選択され、

但し、 $X_i$  の少なくとも1個はCH<sub>2</sub>ではない）

の脂肪酸類似体、または

その塩、プロドラッグ若しくは複合体を用いる、原発性および続発性転移腫瘍の治療および／または抑制のための医薬組成物の調製に関する。

#### 【0028】

本発明の現在好ましい態様は、化合物テトラデシルチオ酢酸（TTA）およびテトラデシルセレニオ酢酸（TSA）に関する。

40

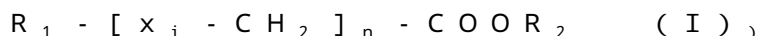
#### 【0029】

更に具体的には、本発明は、腫瘍の成長、侵襲および転移特性を抑制するための化合物の使用に関する。

#### 【0030】

本発明のもう一つの態様は、原発性および続発性の転移腫瘍の治療および／または抑制方法であって、

一般式（I）：



（上記式中、

50

$R_1$  は 1 個以上の二重結合を有するおよび / または 1 個以上の三重結合を有する

$C_1 \sim C_{24}$  アルケン、および / または

$C_1 \sim C_{24}$  アルキン、および / または

$C_1 \sim C_{24}$  アルキル、または 1 または数個の位置においてフルオリド、クロリド、ヒドロキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルコキシ、 $C_1 \sim C_4$  アルキルチオ、 $C_2 \sim C_5$  アシルオキシまたは  $C_1 \sim C_4$  アルキルを含んでなる群から選択された 1 個以上の化合物で置換されたアルキルであり、

$R_2$  は水素または  $C_1 \sim C_4$  アルキルであり、

$n$  は 1 ~ 12 の整数であり、

$i$  は奇数であり、 $COOR_2$  に対する位置を示し、

互いに独立な  $X_i$  は O、S、SO、SO<sub>2</sub>、Se、および CH<sub>2</sub> をからなる群から選択され、

但し、 $X_i$  の少なくとも 1 個は CH<sub>2</sub> ではない )

の脂肪酸類似体、または

その塩、プロドラッグ若しくは複合体の有効量を治療および / または抑制を必要とする哺乳類に投与する工程を含んでなる、方法に関する。

【0031】

治療は、このような治療を必要とする哺乳類に脂肪酸類似体を、その投与期間中に動物の血液中で実質的に連続的に保持される治療有効濃度で投与することを包んでなる。

【0032】

本発明の化合物の投与

医薬品として本発明の化合物は、非経口、鼻内、経口などの任意の適当な手法によってまたは経皮吸収によって哺乳類に直接投与することができる。それらは、局所的にまたは全身的に投与することができる。それぞれの薬剤の特定の投与経路は、例えば、動物の医療履歴によって変化する。

【0033】

非経口投与の例としては、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内および腹腔内投与が挙げられる。

【0034】

一般的提案としては、用量当たりの非経口投与される化合物のそれぞれの薬学上有効な総量は、好ましくは患者体重の約 5 mg / kg / 日 ~ 1000 mg / kg / 日の範囲にあるが、上記のように、これは治療上の裁量によって大きく左右される。TTA については、100 ~ 500 mg / kg / 日の用量が好ましく、TSA については、投薬量は恐らくは 10 ~ 100 mg / kg / 日の範囲にある。

【0035】

本発明の化合物を連続的に投与するときには、それぞれは典型的には 1 日当たり 1 ~ 4 回の注射によってまたは例えばミニポンプを用いて連続的な皮下輸液によって投与する。静脈内バッグ溶液を用いることもできる。

【0036】

非経口投与については、一態様では、本発明の化合物は一般的には、所望な純度で単位投薬量の注射可能な形態 ( 溶液、懸濁液またはエマルション ) で、薬学上許容可能なキャリアー、すなわち用いる投薬量および濃度において患者に毒性がなく且つ処方物の他成分と適合性であるものとそれぞれ混合することによって処方される。

【0037】

一般に、処方物は、本発明の化合物を液体キャリアー、または微細に分割された固形キャリアー、またはその両者とそれぞれ均一且つ十分に接触させることによって調製される。次に、必要ならば、生成物を所望な処方物に成形する。好ましくは、キャリアーは非経口キャリアーであり、更に好ましくは、患者の血液と等張性の溶液である。このようなキャリアービヒクルの例としては、水、食塩水、リンゲル溶液、およびデキストロース溶液が挙げられる。不揮発性油およびオレイン酸エチルのような非水性ビヒクルも、リポソーム

10

20

30

40

50

と同様に本発明で用いられる。

【0038】

キャリアーは、等張性および化学的安定性を増大する物質のような添加剤を少量適当に含むことができる。このような材料は用いる投薬量および濃度において患者にとって毒性がなく、リン酸、クエン酸、コハク酸、酢酸および他の有機酸、またはそれらの塩のような緩衝剤、アスコルビン酸のような酸化防止剤、免疫グロブリン、ポリビニルピロリドンのような親水性ポリマー、グリシン、グルタミン酸、アスパラギン酸またはアルギニンのようなアミノ酸、単糖類、二糖類、およびセルロースまたはその誘導体、グルコース、マンノースまたはデキストリンなどの他の炭水化物、EDTAのようなキレート化剤、マンニトールまたはソルビトールのような糖アルコール、ナトリウムのような対イオン、および/またはポリソルベート、ポロキサマーまたはPEGのような非イオン性界面活性剤が挙げられる。

10

【0039】

経口薬理組成物については、例えば、水、ゼラチン、ゴム、ラクトース、澱粉、ステアリン酸マグネシウム、タルク、油類、ポリアルケングリコール、石油ゼリーなどのようなキャリアー材料を用いることができる。このような医薬製剤は単位投薬量形態であることができ、更に他の治療上重要な物質や通常の薬学アジュバント、例えば、防腐剤、安定剤、乳化剤、緩衝剤などを含むことができる。これらの医薬製剤は、錠剤、カプセル、糖衣錠、アンプルなどのような通常の液体形態、乾燥アンプルのような通常の投薬形態を採ることができ、座薬などとすることもできる。

20

【0040】

更に、本発明の化合物は、癌と戦いまたは予防するための他の治療法と組み合わせて適宜投与される。

【0041】

本発明は、下記の例を参照することによって一層完全に理解されるであろう。しかしながら、それらは発明の範囲を制限するものと解釈すべきではない。

【0042】

【実験例】

例1：化合物の調製および特性決定

3 - 置換脂肪酸類似体の合成

30

本発明に準じて用いられ、置換基  $X_i = 3$  が硫黄原子またはセレン原子である化合物は、下記の一般的手続きに準じて調製することができる。

【0043】

Xが硫黄原子である場合：

本発明によって用いられるチオ置換化合物は、下記の一般化された手法によって合成することができる。

塩基



【0044】

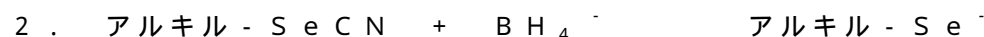
硫黄化合物、すなわちテトラデシルチオ酢酸(TTA)、 $(\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{13} - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{COOH})$ は、欧州特許第345,038号明細書に示されている方法で合成した。

40

【0045】

Xがセレン原子である場合：

本発明によって用いられるセレノ置換化合物は、下記の一般化された手法によって合成することができる。



【0046】

50



この化合物は、エタノールまたはメタノールから慎重に結晶化させることによって精製した。

$BH_4^-$

4. アルキル -  $Se^-$  -  $Se^-$  - アルキル                      2 アルキル -  $Se^-$

5. アルキル -  $Se^-$  +  $Hal - CH_2 - COOH$                       アルキル -  $Se^- - CH_2 - COOH$

【0047】

最終化合物、例えばアルキルがテトラデシルであるときには、 $(CH_3 - (CH_2)_{13} - Se^- - CH_2 - COOH)$  (テトラデシルセリニオ酢酸 (TSA)) は、ジエチルエーテルおよびヘキサンから結晶化することによって精製することができる。

【0048】

本発明による他の化合物は、出願人の特許出願明細書 PCT/NO99/00135 号明細書および NO20001123 号明細書に示されている方法で合成することができる。

【0049】

## 例 2

### T T A の毒性研究

GLP 指針に準じる犬の 28 日間の毒性研究を、Corning Hazleton (Europe), 英国により行った。500 mg/kg/日までの用量水準で T T A を経口投与したところ、一般に良好な抗毒性を示した。幾つかの脂質関連パラメーターは、高投薬量を投与した動物で低下した。これは、T T A の薬理活性と一致した。50 または 500 mg/日/kg の用量水準では、毒性の徴候は見られなかった。

【0050】

英国の Covance Laboratories Limited は、突然変異誘発活性について試験を行った。T T A および TSA は *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* の株では突然変異を誘発しないと結論された。更に、T T A は、マウスリンパ腫細胞および L5178Y で試験したときには、突然変異誘発性でなかった。

【0051】

*S. typhimurium* および *E. coli* で試験した化合物の濃度は、3 ~ 1000 mg/プレート (T T A) および 2 ~ 5000 mg/プレート (TSA) であった。マウスリンパ腫細胞、L5178Y では濃度は 2.5 ~ 50 mg/mL であった。

【0052】

TSA および T T A は、これらの試験では突然変異誘発性でないことが分かった。TSA および T T A を培養したチャニーズハムスターの卵巣細胞での染色体異常について試験したが、試験用量 (12 ~ 140 mg/mL) により異常は誘発されなかった。

【0053】

従って、本発明の化合物は、この点で医薬化合物として潜在的に有用である。

【0054】

## 例 3

### スフェロイド成長に対する T T A の効果

多細胞性腫瘍スフェロイドは、10 mL (KB/KJT = 20 mL) の 0.75% 寒天 D MEM 溶液 (KB/KJT = 3%) でベースコーティングされた 80 cm<sup>2</sup> 組織培養フラスコに  $3 \times 10^6$  個の細胞を播種することによって得た。7 日間インキュベーションした後、直径が 100 - 300  $\mu$ m のスフェロイドを立体顕微鏡下でパストールピペットを用いて選択した。スフェロイドの大きさは、接眼レンズに校正した網目の入った倒立顕微鏡を用いて決定した。

【0055】

腫瘍スフェロイド成長に対する様々な脂肪酸類似体の効果を比較するため、D-54 Mg および Ga Mg スフェロイドを 0.5 mL 0.75% D MEM - 寒天でベースコーティングした 16 mm の 24 穴皿に個別的に移した。D-54 Mg および Ga Mg は、ヒト

10

20

30

40

50

細胞系である。D - 5 4 M g 細胞系は混合した未分化神経腫に由来し、D r . D a r e l l D . B i g n e r , D u k e U n i v e r s i t y , D u r h a m , ノースカロライナの好意により得た。G a M g 細胞系は本発明者らの実験室で確立し、詳細については別に報告した ( B j e r k v i k e t a l . : A n t i c a n c e r r e s e a r c h 1 9 9 8 : v o l 8 , p 7 9 7 - 8 0 3 ) 。スフェロイドを5群に分割し、それぞれの群は4個のスフェロイドを有するようにした。4群を様々な脂肪酸類似体で処理し、最終脂肪酸濃度を100または250  $\mu$  Mとした。5番目の群(コントロール)は、処理を全く行わなかった。オーバーレイ懸濁液の容積は、1.0 mLであった。スフェロイドの大きさを、接眼レンズに校正した網目の入った倒立位相差顕微鏡を用いて2つの直交する直径を測定することによって2日毎に決定した。これを14日間行った。

10

#### 【0056】

これらの実験の結果を、図1~3に示す。図示されているように、脂肪酸をスフェロイドに14日間暴露した。コントロール群には、脂肪酸を補充しなかった(黒三角)。値は平均値 $\pm$ SDとして表している。

#### 【0057】

図1は、D - 5 4 M g スフェロイドの平均スフェロイド直径( $\mu$  m)に対する250  $\mu$  M T T A (黒四角)およびP A (黒ひし形)の効果を示す。

#### 【0058】

図2は、G a M g スフェロイドの平均スフェロイド直径( $\mu$  m)に対する250  $\mu$  M T T A (黒四角)およびP A (黒ひし形)の効果を示す。

20

#### 【0059】

スフェロイド成長に対するT T Aの用量依存性効果を検討するため、両細胞系由来の24個の腫瘍スフェロイドを0、50、100、150、200および250  $\mu$  MのT T Aを含む6群に分割した。この実験はS F - X培地(C o s t a r , M a s s , 米国)で行い、結果を図3に示す。

#### 【0060】

#### 例4

##### 細胞移動

脂肪酸類似体の細胞移動に対する効果を、細胞がプラスチック表面に結合したスフェロイドから移動する能力を測定することによって検討した。直径が200から300  $\mu$  mのG a M gおよびD - 5 4 M g スフェロイドを、個々に16 mmの24穴皿に移した。次に、D M E M 1.5 mLを、様々な濃度の各種脂肪酸類似体と共に加えた。3日間培養した後、標本をP B S上で4%ホルムアルデヒドで固定し、2%クリスタルバイオレット/96%エタノールで染色した。次いで、アウトグロース面積をK o n t r o n形態計測装置(K o n t r o n , E c h i n g , ドイツ)を用いて決定した。本発明者らは、神経腫細胞がS F - X培地中でプラスチック表面に比較的緩く結合しているため本検討では血清補足培地(D M E M)を用いた。G a M gおよびD - 5 4 M G細胞の移動能力は、100  $\mu$  Mの濃度のT T Aによって著しく抑制された。

30

#### 【0061】

#### 例5

##### 皮下移植したB T 4 C n腫瘍の成長に対するT T Aの効果

雄N o r w e g i a n褐色ラットB D I Xは、G a d e s I n s t i t u t e , H a u k e l a n d病院, B e r g e n , ノルウェーから得た。それらを対でケージに入れ、 $20 \pm 3$  の温度で12時間サイクルの明および暗に保持した。実験中、それらの体重は250~400 gであった。それらに市販の標準的なペレット化した食物を与え、水道水を随時供給した。試験群はT T Aを投与し、コントロール群はパルミチン酸および/またはカルボキシメチルセルロース(C M C)を投与した。

40

#### 【0062】

T T Aは、口-胃挿管法によって投与した。T T AおよびP Aを、0.5% (w/v)カルボキシメチルセルロースナトリウムに最終原液が75 mg/mLとなるように懸濁した

50

。動物に、300 mg / kg 体重の用量で1日1回投与した。

【0063】

ラットを0.2 mL Hypnorm - Dormicum / 100 g 体重で麻酔し、 $5 \times 10^6$  個の腫瘍細胞 (1 mL NaCl 中) をラットの頸部に皮下投与することによってイン・ビボで腫瘍を確立した。3～4週後、腫瘍を取り出し、2×2 mmの組織切片に切断した。これらの切片を用いて、脚部に皮下腫瘍を確立した。ラットを0.2 mL Hypnorm - Dormicum / 100 g 体重で麻酔し、皮膚切開を施し、組織切片を入れ、皮膚切開部の約1 cm下に定着させた。腫瘍は2週間成長させた。ラットは、口 - 胃挿管法によってまたは腫瘍への直接注入によって処理した。

【0064】

腫瘍の容積 (脚部) を測定した。

【0065】

図4は、皮下移植したBT4Cn腫瘍の成長に対するPA (黒三角) およびTTA (黒四角) の効果を示す。

【0066】

例6

頭蓋内移植したBT4Cn腫瘍を有するラットの生存率に対するTTAの効果

雄Norwegian褐色ラットBDIXを、例5に記載したのと同様に用いた。TTAは、口 - 胃挿管法によって投与した。

【0067】

腫瘍は、定位移植法によって移植した。ラットを0.4 mL Equithesin / 100 g 体重で麻酔した。皮膚切開を行い、血液をH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>によって除去し、頭蓋骨に歯科用ドリルを用いて穿孔した。

【0068】

バー穴は、冠状縫合の後部3.3 mmであって矢状縫合の横2.5 mmに配置した。

【0069】

細胞を回収し、上記の方法で計数した後 (5.3節)、DPBS中で希釈し、最終濃度20,000個/μLとした。2μLの細胞懸濁液を、先端が円錐形の0.7 mm針を有するHamilton注射器で2.8 mmの深さに投与した。皮膚をスチールステーブルで閉じ、動物をケージに戻した。

【0070】

図5は、頭蓋内移植したBT4Cn腫瘍を有するラットの生存率に対するPAおよびTTAの効果を示す。

【図面の簡単な説明】

【図1】

D-54 Mg スフェロイドのスフェロイド直径に対するTTAの効果。

【図2】

Ga Mg スフェロイドのスフェロイド直径に対するTTAの効果。

【図3】

D-54 Mg スフェロイドのスフェロイド直径に対する様々な濃度のTTAの効果。

【図4】

皮下移植したBT4Cn腫瘍の成長に対するTTAの効果。

【図5】

頭蓋内移植したBT4Cn腫瘍を有するラットの生存率に対するTTAの効果。

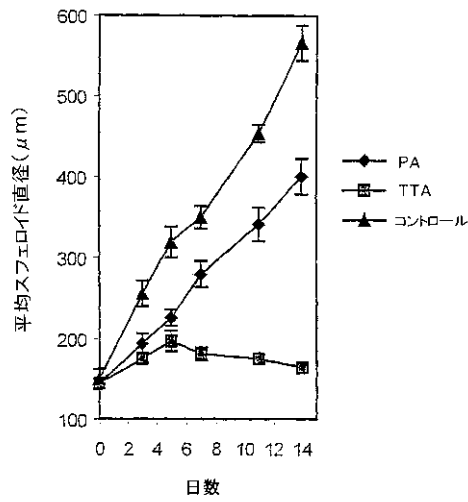
10

20

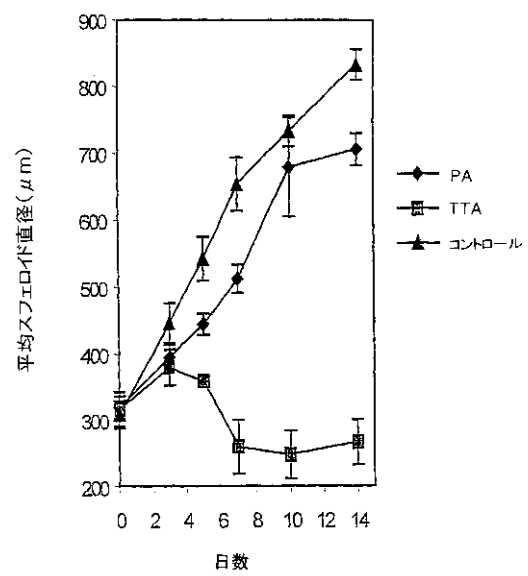
30

40

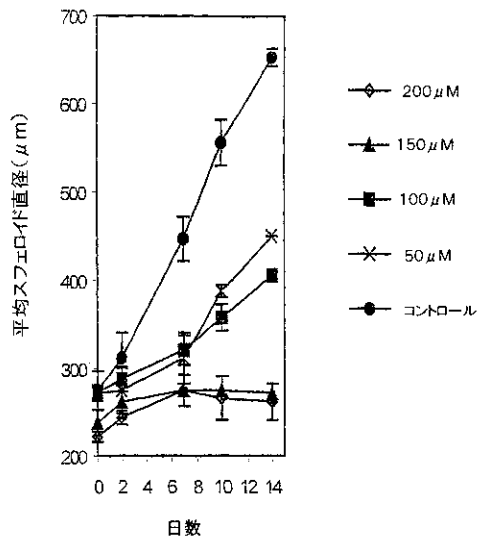
【図 1】



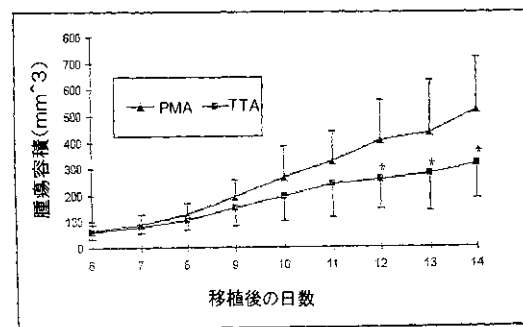
【図 2】



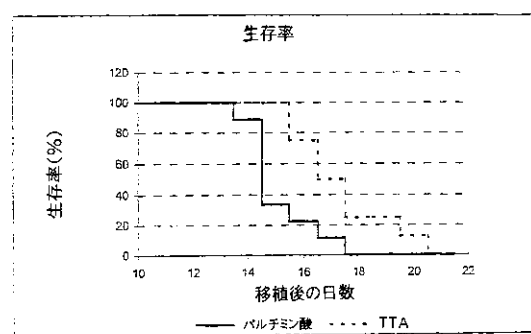
【図 3】



【図 4】



【図 5】



## 【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  
17 January 2002 (17.01.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
**WO 02/03983 A1**(51) International Patent Classification: A61K 31/19;  
31/20, A61P 35/00, 35/04

(21) International Application Number: PCT/NO2001/00301

(22) International Filing Date: 13 July 2001 (13.07.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 20003591 13 July 2000 (13.07.2000) NO

(71) Applicant (for all designated States except US): THIA  
MEDICA AS [NO/NO], c/o Torje Moe, Ballarveien 57A,  
N 5018 Bergen (NO).(72) Inventor; and  
(75) Inventor/Applicant (for US only): BERGE, Rolf  
[NO/NO], Tjørnhøgen 50, N 5152 Bones (NO).(74) Agent: AS BERGEN PATENTKONTOR; C. Sundset,  
36, N 5004 Bergen (NO).(81) Designated States (national): AB, AG, AI, 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, GR,  
GU, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,  
LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,  
MX, MY, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK,  
SL, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,  
KE, LS, MW, MT, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian  
patent (AM, AZ, BY, EG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European  
patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE,  
IT, LU, MC, NL, PL, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF,  
CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, NG, TD, TG).Published:  
with international search report  
before the expiration of the time limit for amending the  
claims and to be republished in the event of receipt of  
amendmentsFor two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-  
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-  
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 02/03983 A1

(54) Title: FATTY ACID ANALOGUES FOR THE TREATMENT OF CANCER

(57) Abstract: The present invention relates to fatty acid analogues of general formula (I):  $R_1-(x-CU)_n-COOR_2$ , wherein  $R_1$  is: a  $C_1-C_{24}$  alkene with one or more double bonds and/or with one or more triple bonds; and/or a  $C_1-C_{24}$  alkyne; and/or a  $C_1-C_{24}$  alkyl, or an alkyl substituted in one or several positions with one or more compounds selected from the group comprising fluoride, chloride, hydroxy,  $C_1-C_4$  alkoxy,  $C_2-C_4$  alkylthio,  $C_2-C_4$  acyloxy or  $C_1-C_4$  alkyl; and wherein  $R_2$  represents hydrogen or  $C_1-C_4$  alkyl; and wherein  $x$  is an integer from 1 to 12, and wherein  $i$  is an odd number and indicates the position relative to  $COOR_2$ ; and wherein  $X$ , independent of each other are selected from the group comprising O, S, SO,  $SO_2$ , Se and  $CH_2$ ; and with the proviso that at least one of the  $X_i$  is not  $CH_2$ , which can be used for the treatment and/or prevention of primary and secondary metastatic neoplasms.

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

## FATTY ACID ANALOGUES FOR THE TREATMENT OF CANCER.

The present invention relates to fatty acid analogues which can be used for the treatment and/or prevention of cancer. More specifically, the invention relates to the use of the fatty acid analogues for the treatment and/or inhibition of primary and secondary neoplasms.

## BACKGROUND OF THE INVENTION

10

Treatment with modified fatty acids of the present invention represents a new way to treat these diseases.

EP 345.038 describes the use of non- $\beta$ -oxidizable fatty acid analogues for the treatment of hyperlipidaemic conditions and for reducing the concentration of cholesterol and triglycerides in the blood of mammals.

PCT/NO95/00195 describes alkyl-S-CH<sub>2</sub>COOR and alkyl-Se-CH<sub>2</sub>COOR for the inhibition of the oxidative modification of LDL, and for the reduction of the proliferation of cancer cells. However, this proliferative effect is cell specific, and we have shown that the compounds of the present invention in other cell systems have no effect on cell growth or proliferation.

PCT/NO99/00135, 00136 and 00149 describe the use of the fatty acid analogues for the treatment of obesity, diabetes and stenosis.

20

It has now been found that the analogues described in the prior art publications mentioned above, i.e. the non- $\beta$ -oxidizable fatty acids in accordance with the present invention have broader area of applications. We have shown

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

that the compounds of the present invention inhibit the growth and metastatic behaviour of tumours, and increase the overall survival of animals with implanted tumours.

5 CANCER

The development of new and more effective chemotherapeutic agents for cancer treatment requires consideration of a variety of factors including cytotoxicity, tumour cell  
10 proliferation, invasion and metastasis. Conventional anticancer agents have typically been identified on the basis of their cytotoxicity alone.

Tumour progression is thought to occur when variant cells  
15 having selective growth properties arise within a tumour cell population, and one of the final stages of tumour progression is the appearance of the metastatic phenotype. During metastasis, the tumour cells invade the blood vessels, survive against circulating host immune defences,  
20 and then extravasate, implant, and grow at sites distant from the primary tumour. This ability of tumour cells to invade neighbouring tissues and to colonise other organs is among the leading causes of cancer related deaths.

25 The term metastasis encompasses a number of phenotypic traits which together result in the clinical problem that most often leads to death from cancer. The cells lose their adherence and restrained position within an organised tissue, move into adjacent sites, develop the capacity both  
30 to invade and to egress from blood vessels, and become capable of proliferating in unnatural locations or environments. These changes in growth patterns are accompanied by an accumulation of biochemical alterations which have the capacity to promote the metastatic process.

35 So far, little is known about the intrinsic mechanism involved in the metastatic cascade. It is likely that in some cases the augmented metastatic potential of certain

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

tumour cells may be due to an increased expression of oncogenes, which normally are responsible for control of various cellular functions, including differentiation, proliferation, cell motility, and communication. Further, it has been shown that substances that modulate signal transduction pathways can inhibit the metastatic behaviour of a tumour, and it is also speculated that compounds with surface related effects, e.g. compounds which modulates the cell membranes, might be involved in the process leading to metastasis.

Cancer is a disease of inappropriate tissue accumulation. This derangement is most evident clinically when tumour tissue bulk compromises the function of vital organs. Contrary to what is generally thought, human malignant disorders are usually not diseases of rapid cell proliferation. In fact, the cells of most common cancers proliferate more slowly than many cells in normal tissues. It is a relatively slow accumulation of tumour tissue within vital organs that proves fatal to most patients who die of cancer.

Chemotherapeutic agents share one characteristic: they are usually more effective in killing or damaging malignant cells than normal cells. However, the fact that they do harm normal cells indicates their potential for toxicity.

Nearly all chemotherapeutic agents currently in use interfere with DNA synthesis, with the provision of precursors for DNA and RNA synthesis, or with mitosis. Such drugs are most effective against cycling cells. The mechanism of cell death after treatment with any single agent or combination of agents is complex and is likely to include more than one process. Because most clinically detectable tumours are composed mostly of non-cycling cells, it is not surprising that chemotherapy is not always effective in eradicating cancer.



WO 02/03983

PCT/NO01/00301

The strategy of cancer treatment is to shift tumour cells from a non-cycling compartment to a cycling compartment. Several methods that promote this shift form the basis for combined-modality treatment. Surgery is most commonly used to reduce tumour size and thus facilitate re-entry of cancer cells into the cell cycle. After the primary tumour is completely removed, microscopic metastases may remain at distant sites. Because of their small size, the micrometastases are composed principally of cycling cells. Small numbers of cells that remain at primary tumour site are also likely to re-enter the cell cycle. Thus, the remaining cancer cells are often susceptible to chemotherapy. Radiation therapy or chemotherapy alone can also be used to reduce tumour bulk and thus recruit cells into the cycling cell compartment.

Combination drug therapy is, therefore, the basis for most chemotherapy employed at present. Combination chemotherapy uses the different mechanisms of action and cytotoxic potentials of multiple drugs.

However, even though the chemotherapeutic agents are more effective in killing or damaging malignant cells than normal cells, the fact that they do harm normal cells indicates their great potential for toxicity. For chemotherapy to be effective, the patient must be in good physiologic condition.

Cancer treatment requires inhibition of a variety of factors including tumour cell proliferation, metastatic dissemination of cancer cells to other parts of the body, invasion, tumour-induced neovascularization, and enhancement of host immunological responses and cytotoxicity. Conventional cancer chemotherapeutic agents have often been selected on the basis of their cytotoxicity to tumour cells. However, some anticancer agents have adverse effects on the patient's immunological system. Unfortunately, for the vast majority of conventional antineoplastic agents the

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

margin between an effective dose and a toxic dose, i.e.,  
the therapeutic index, is extremely low. Thus, it would be  
greatly advantageous if a cancer therapy or treatment could  
be developed that would afford noncytotoxic protection  
5 against factors that might lead to growth, progression and  
metastasis of invasive cancers.

The present invention is directed to a method for the  
prevention and/or treatment of primary and metastatic  
10 neoplasms that involves using a fatty acid analogues of the  
present invention to treat a patient suffering from a  
cancer.

The two essential features of cancer are invasion and  
15 metastasis. At one extreme, microinvasion of the basement  
membrane characterises the transition from neoplasia to  
cancer, and at the other extreme, metastases generally lead  
to death.

20 Invasion into the underlying connective tissue by primary  
tumour proceeds in stages and is facilitated by various  
mediators produced by the tumour cells. Tumour cells that  
have not invaded the basement membrane and remain confined  
within the epithelium are termed carcinoma in situ.

25 Metastases, on the other hand, may form when circulating  
tumour cells with adherent lymphocytes and platelets are  
trapped in capillaries and the tumour cell membrane  
interacts with the capillary endothelium. The capillary  
30 endothelial junctions retract, and tumour cell ligands bind  
to receptors on the endothelial and basement membranes.  
Tumour cells then release collagenase IV, which destroys  
collagen IV, a major component of the underlying basement  
membrane. Invasion of the subcapillary connective tissue is  
35 aided by binding to the glycoproteins laminin and  
fibronectin, by the release of proteases that destroy the  
matrix, and by the secretion of motility and chemotactic  
factors. Tumour cells then may proliferate and synthesise

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

platelet aggregatory factors such as thromboxanes and procoagulants, thereby leading to the deposition of a fibrin cocoon around the cells. Such a cocoon may protect the micrometastasis from attack by the host's immune system.

Cancers that can be prevented and/or treated by the compositions and methods of the present invention include, but are not limited to, human sarcomas and carcinomas, e.g. carcinomas, e.g., colon carcinoma, pancreatic cancer, breast cancer, ovarian cancer, prostate cancer, fibrosarcoma, myxosarcoma, liposarcoma, chondrosarcoma, osteogenic sarcoma, chordoma, angiosarcoma, endotheliosarcoma, lymphangiosarcoma, lymphangioendotheliosarcoma, synovium, mesothelioma, Ewing's tumour, leiomyosarcoma, rhabdomyosarcoma, squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma, adenocarcinoma, sweat gland carcinoma, sebaceous gland carcinoma, papillary carcinoma, papillary adenocarcinomas, cystadenocarcinoma, medullary carcinoma, bronchogenic carcinoma, renal cell carcinoma, hepatoma, bile duct carcinoma, choriocarcinoma, seminoma, embryonal carcinoma, Wilms' tumour, cervical cancer, testicular tumor, lung carcinoma, small cell lung carcinoma, bladder carcinoma, epithelial carcinoma, glioma, astrocytoma, medulloblastoma, craniopharyngioma, ependymoma, pinealoma, hemangioblastoma, acoustic neuroma, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma; leukemias, e.g., acute lymphocytic leukemia and acute myelocytic leukemia (myeloblastic, promyelocytic, myelomonocytic, monocytic and erythroleukemia); chronic leukemia (chronic myelocytic (granulocytic) leukemia and chronic lymphocytic leukemia); and polycythemia vera, lymphoma (Hodgkin's disease and non-Hodgkin's disease), multiple myeloma, Waldenstrom's macroglobulinemia, and heavy chain disease. Specific examples of such cancers are described in the sections below.

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

We have shown that the compound of the present invention decreases the average diameter of various spheroids and that the tumour volume of BT4Cn tumours decreases. Further, we have shown that the overall survival of TTA treated rats with implanted tumours is substantially increased.

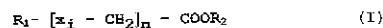
Thus, the fatty acid analogues of the present invention have been proved to have a marked effect on the growth, invasion and metastasis of tumours.

Tetradecylthioacetic acid (TTA) is most thoroughly studied compound of the present invention, and we have shown several beneficial effects in various in vitro and in vivo test systems.

#### DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention discloses that modified fatty acid analogues at non-cytotoxic concentrations can be used for the treatment and/or prevention of cancer.

The present invention relates to the use of fatty acid analogues of the general formula (I):



- wherein  $R_1$  is:

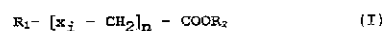
- a  $C_1$ - $C_{24}$  alkene with one or more double bonds and/or with one or more triple bonds, and/or
- a  $C_1$ - $C_{24}$  alkyne, and/or
- a  $C_1$ - $C_{24}$  alkyl, or an alkyl substituted in one or several positions with one or more compounds selected from the group comprising fluoride, chloride, hydroxy,  $C_1$ - $C_6$  alkoxy,  $C_1$ - $C_4$  alkylthio,  $C_2$ - $C_5$  acyloxy or  $C_1$ - $C_4$  alkyl, and

- wherein  $R_2$  represents hydrogen or  $C_1$ - $C_4$  alkyl, and

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

- wherein  $n$  is an integer from 1 to 12, and
  - wherein  $i$  is an odd number and indicates the position relative to  $\text{COOR}_2$ , and
  - wherein  $X_i$  independent of each other are selected from the group comprising O, S, SO,  $\text{SO}_2$ , Se and  $\text{CH}_2$ , and
  - with the proviso that at least one of the  $X_i$  is not  $\text{CH}_2$ ,
- or a salt, prodrug and complex thereof, for the preparation of a pharmaceutical composition for the treatment and/or inhibition of primary and secondary metastatic neoplasms.
- Presently preferred embodiments of the present invention relates to the compounds tetradecythioacetic acid (TTA) and tetradecylselenoacetic acid (TSA).
- More specifically, the invention relates to the use of the compounds for the inhibition of the growth, invasive and metastatic properties of tumours.
- A further aspect of the invention relates to a method for the treatment and/or inhibition of primary and secondary metastatic neoplasms, said method comprising the step of administering to a mammal in need thereof an effective amount of fatty acid analogues of the general formula (I):



- wherein  $\text{R}_1$  is:
  - a  $\text{C}_1\text{-C}_{24}$  alkene with one or more double bonds and/or with one or more triple bonds, and/or

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

- a C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub> alkyne, and/or
- a C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub> alkyl, or an alkyl substituted in one or several positions with one or more compounds selected from the group comprising fluoride, chloride, hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alkylthio, C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub> acyloxy or C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alkyl, and
- wherein R<sub>2</sub> represents hydrogen or C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alkyl, and
- wherein n is an integer from 1 to 12, and
- wherein i is an odd number and indicates the position relative to COOR<sub>2</sub>, and
- wherein X<sub>i</sub> independent of each other are selected from the group comprising O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se and CH<sub>2</sub>, and
- with the proviso that at least one of the X<sub>i</sub> is not CH<sub>2</sub>,

or a salt, prodrug and complex thereof.

The treatment involves administering to a mammal in need of such treatment a therapeutically effective concentration which is maintained substantially continuously in the blood of the animal for the duration of the period of its administration.

#### FIGURE LEGENDS

Figure 1 shows the effect of TTA on the spheroid diameter of D-54Mg spheroids.

Figure 2 shows the effect of TTA on the spheroid diameter of GaMg spheroids.

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

Figure 3 shows the effect of various concentrations of TTA on the spheroid diameter of D-54Mg spheroids.

5 Figure 4 shows the effect of TTA on the growth of subcutaneously implanted BT4Cn tumours.

Figure 5 shows the effect of TTA on the survival of rats with intracranially implanted BT4Cn tumours.

10

#### ADMINISTRATION OF THE COMPOUNDS OF THE PRESENT INVENTION

As a pharmaceutical medicament the compounds of the present invention may be administered directly to the mammal by any  
15 suitable technique, including parenterally, intranasally, orally, or by absorption through the skin. They can be administered locally or systemically. The specific route of administration of each agent will depend, e.g., on the medical history of the animal.

20

Examples of parenteral administration include subcutaneous, intramuscular, intravenous, intraarterial, and intraperitoneal administration

25 As a general proposition, the total pharmaceutically effective amount of each of the compounds administered parenterally per dose will preferably be in the range of about 5 mg/kg/day to 1000 mg/kg/day of patient body weight, although, as noted above, this will be subject to a great  
30 deal of therapeutic discretion. For TTA it is expected that a dose of 100 - 500 mg/kg/day is preferable, and for TSA the dosage could probably in the range of from 10 to 100 mg/kg/day.

35 If given continuously, the compounds of the present invention are each typically administered by 1-4 injections per day or by continuous subcutaneous infusions, for

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

example, using a mini-pump. An intravenous bag solution may also be employed.

For parenteral administration, in one embodiment, the compounds of the present invention are formulated generally by mixing each at the desired degree of purity, in a unit dosage injectable form (solution, suspension, or emulsion), with a pharmaceutically acceptable carrier, i.e., one that is non-toxic to recipients at the dosages and concentrations employed and is compatible with other ingredients of the formulation.

Generally, the formulations are prepared by contacting the compounds of the present invention each uniformly and intimately with liquid carriers or finely divided solid carriers or both. Then, if necessary, the product is shaped into the desired formulation. Preferably the carrier is a parenteral carrier, more preferably a solution that is isotonic with the blood of the recipient. Examples of such carrier vehicles include water, saline, Ringer's solution, and dextrose solution. Non-aqueous vehicles such as fixed oils and ethyl oleate are also useful herein, as well as liposomes.

The carrier may suitably contain minor amounts of additives such as substances that enhance isotonicity and chemical stability. Such materials are non-toxic to recipients at the dosages and concentrations employed, and include buffers such as phosphate, citrate, succinate, acetic acid, and other organic acids or their salts; antioxidants such as ascorbic acid; immunoglobulins; hydrophilic polymers such as polyvinylpyrrolidone; amino acids, such as glycine, glutamic acid, aspartic acid, or arginine; monosaccharides, disaccharides, and other carbohydrates including cellulose or its derivatives, glucose, mannose, or dextrins; chelating agents such as EDTA; sugar alcohols such as mannitol or sorbitol; counterions such as sodium; and/or



WO 02/03983

PCT/NO01/00301

non-ionic surfactants such as polysorbates, poloxamers, or PEG.

For oral pharmacological compositions such carrier material  
as, for example, water, gelatine, gums, lactose, starches,  
5 magnesium-stearate, talc, oils, polyalkene glycol,  
petroleum jelly and the like may be used. Such  
pharmaceutical preparation may be in unit dosage form and  
may additionally contain other therapeutically valuable  
10 substances or conventional pharmaceutical adjuvants such as  
preservatives, stabilising agents, emulsifiers, buffers and  
the like. The pharmaceutical preparations may be in  
conventional liquid forms such as tablets, capsules,  
dragees, ampoules and the like, in conventional dosage  
15 forms, such as dry ampoules, and as suppositories and the  
like.

In addition, the compounds of the present invention are  
appropriately administered in combination with other  
20 treatments for combating or preventing cancer.

The invention will be more fully understood by reference to  
the following examples. They should not, however, be  
construed as limiting the scope of the invention.

25

#### EXPERIMENTAL SECTION

Example 1. Preparation and characterisation of the  
30 compounds

#### The synthesis of 3-substituted fatty acid analogues

The compounds used according to the present invention  
35 wherein the substituent  $X_{j=3}$  is a sulphur atom or selenium  
atom may be prepared according to the following general  
procedure:

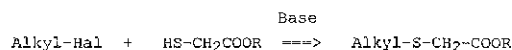
WO 02/03983

PCT/NO01/00301

X is a sulphur atom:

The thio-substituted compound used according to the present invention may be prepared by the general procedure indicated below:

5



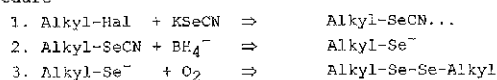
The sulphur-compound, namely, tetradecylthioacetic acid

10 (TTA),  $(\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{13}\text{-S-CH}_2\text{-COOH})$  was prepared as shown in EP-345,038.

X is a selenium atom:

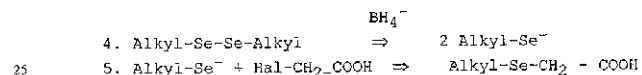
the seleno-substituted compound used according to the present invention may be prepared by the following general procedure

15



20

This compound was purified by carefully crystallisation from ethanol or methanol.



The final compound, e.g. when alkyl is tetradecyl,  $(\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{13}\text{-Se-CH}_2\text{-COOH})$  (tetradecylselenioacetic acid (TSA)) can be purified by crystallisation from diethyl ether and hexane.

30

Other compounds in accordance with the present invention can be synthesised as indicated in applicant patent applications PCT/NO99/00135 and NO 20001123.

35

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

Example 2Toxicity study of TTA

5 A 28 days toxicity study in dogs according to GLP guide-  
lines has been performed by Corning Hazleton (Europe),  
England. Oral administration of TTA at dose levels up to  
500 mg/kg/day was generally well tolerated. Some lipid  
related parameters were lowered in the animals given high  
10 dosages. This is consistent with the pharmacological  
activity of TTA. There was no evidence of toxicity at dose  
levels of 50 or 500 mg/day/kg.

Covance Laboratories Limited, England, has performed tests  
15 for mutagenic activity. It was concluded that TTA and TSA  
did not induce mutations in strains of *Salmonella*  
*typhimurium* and *Escherichia coli*. Furthermore, TTA was not  
mutagenic when tested in mouse lymphoma cells and L5178Y.

20 The concentration of the compounds tested in *S. typhimurium*  
and *E. coli* were 3-1000 mg/plate (TTA) 2-5000 mg/plate  
(TSA). In mouse lymphoma cells, L5178Y, the concentration  
was 2,5 - 50 mg/ml.

25 TSA and TTA were found not to be mutagenic in these tests.  
TSA and TTA have been tested for chromosomal aberrations in  
cultured Chinese hamster ovary cells and no aberrations  
were induced by the doses tested (12-140 mg/ml).

30 The compounds of the present invention are therefore  
potentially useful as pharmaceutical compounds in this  
respect.

Example 3

35

The effect of TTA on the spheroid growth.

Multicellular tumour spheroids were obtained by seeding

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

3x10<sup>6</sup> cells into 80 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks base coated with a 10 ml (KB/KJT=20 ml) 0.75%-agar DMEM solution (KB/KJT=3%). After 7 days incubation, spheroids with diameters between 100 and 300 µm were selected with a Pasteur pipette under a stereomicroscope. The spheroid size was determined by using an inverted microscope with a calibrated reticle in the eyepiece.

To compare the effect of the different fatty acid analogues on tumour spheroid growth, both D-54Mg and GaMg spheroids were transferred individually into 16 mm 24-well dishes base coated with 0.5 ml 0.75% DMEM-agar. D-54Mg and GaMg are human cell lines. The D-54Mg cell line was derived from a mixed anaplastic glioma and was kindly supplied by Dr. Darell D. Bigner, Duke University, Durham, North Carolina. The GaMg cell line was established in our laboratory and has been described in detail elsewhere (Bjerkvik et al.: Anticancer research 1998: vol 8, p 797-803). The spheroids were divided into 5 groups with 4 spheroids in each group. Four groups were treated with the different fatty acid analogues at a final fatty acid concentration of either 100 or 250 µM. The fifth group (control) did not receive any treatment. The volume of the overlay suspension was 1.0 ml. The size of the spheroids were determined every second day by measuring two orthogonal diameters using an inverted phase contrast microscope with a calibrated reticle in the eye-piece. This was done during a 14-day period.

The results of these experiments are shown in figures 1-3. As indicated, the fatty acids were exposed to the spheroids during a 14 day long period. No fatty acids were supplemented to the control group (—▲—). The values are presented as mean ± SD.

Figure 1 shows the effect of 250 µM TTA (—■—) and PA (—◆—) on the average spheroid diameter (µm) of D-54Mg spheroids.

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

Figure 2 shows the effect of 250  $\mu$ M TTA (—■—) and PA (—◆—) on the average spheroid diameter ( $\mu$ m) of GaMg spheroids.

5 To study the dose dependent effect of TTA on spheroid growth, 24 tumour spheroids from both cell lines were divided into 6 groups which received 0, 50, 100, 150, 200 and 250  $\mu$ M of TTA. This experiment was performed in SF-X medium (available from Costar, Mass, USA), and the results  
10 are given in figure 3.

#### Example 4

##### 15 Cell migration.

The effect of the fatty acid analogues on cell migration was studied by measuring the ability of cells to migrate out from spheroids that had attached to a plastic surface.  
20 GaMg and D-54Mg spheroids with diameters between 200 and 300  $\mu$ m were transferred individually into 16 mm 24-well dishes. 1.5 ml of DMEM was then added with various concentrations of the different fatty acid analogues. After 3 days of culture the specimens were fixed with 4%  
25 formaldehyde on PBS and stained with 2% crystal violet in 96% ethanol. The size of the outgrowth area was then determined by using a Kontron morphometry system (Kontron, Echting, Germany). We used a serum supplemented medium (DMEM) in this assay due to a relative loose attachment of  
30 glioma cells to the plastic surface in the SF-X medium. The migratory capacity of the GaMg and D-54MG cells were severely inhibited by TTA at a concentration of 100  $\mu$ M (data not shown).

35

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

Example 5The effect of TTA on the growth of subcutaneously implanted BT4Cn tumours.

5 Mail Norwegian brown rats, BD IX, were obtained from Gades  
Institute, Haukeland hospital, Bergen, Norway. They were  
housed in cages, in pairs, and maintained on a 12 h cycle  
light and dark at a temperature of  $20 \pm 3^\circ\text{C}$ . During the  
10 experiments they weighted 250-400 g. They were fed a  
commercial standard pelleted food and provided tap water *ad*  
*libitum*. Test groups were treated with TTA, and control  
groups treated with palmitate and/or carboxymethyl  
cellulose (CMC).

15 The TTA was administered by oro-gastric intubation. TTA and  
PA were suspended in 0,5% (w/v) sodium carboxymethyl  
cellulose at a final stock solution of 75 mg/ml. The  
animals were administered once a day at a dose of 300 mg/kg  
20 body weight.

The rats were anaesthetised with 0,2 ml Hypnorm-  
Dormicum/100 g body weight and a tumour was established *in*  
*vivo*, by subcutaneously injection of  $5 \times 10^6$  tumour cells (in  
25 1 ml NaCl) in the rat's neck. After 3-4 weeks, the tumour  
was removed and cut into 2\*2 mm tissue pieces. The pieces  
were used for establishment of s.c. tumours in the leg. The  
rats were anaesthetised with 0,2 ml Hypnorm-Dormicum/100 g  
body weight, a skin incision was made, and the tissue piece  
30 was entered and established approximately 1 cm below the  
skin incision. The tumours were grown for 2 weeks. The rats  
were treated either by oro-gastric intubation or by direct  
injection in tumour.

35 The volume of the tumours (at leg) were measured.

Figure 4 shows the effect of PA (—▲—) and TTA (—■—) on  
the growth of subcutaneously implanted BT4Cn tumours.

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

Example 6

5     The effect of TTA on the survival of rats with  
      intracranially implanted BT4Cn tumours.

Male Norwegian brown rats, BD IX, were used as described in  
example 5. The TTA was administered by oro-gastric  
intubation.

10

The tumour was implanted by stereotactical transplantation.  
The rats were anaesthetised with 0,4 ml Equithesin/100 g  
body weight. A skin incision was made, blood was removed by  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and the skull was trephined using a dental drill.

15

The burr hole was localized 3,3 mm posterior to the coronal  
suture and 2,5 mm lateral to the sagittal suture.

Cells were harvested and counted as described above  
20     (Section 5,3), and then diluted in DPBS to a final  
concentration of 20.000 cells/ $\mu$ l. 2  $\mu$ l cell suspension was  
injected with a Hamilton syringe with a cone-tipped 0,7 mm  
needle at a depth of 2,8 mm. The skin was closed with steel  
staples, and the animals were returned to their cages.

25

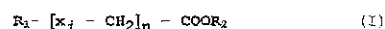
Figure 5 shows the effect of PA and TTA on the survival of  
rats with intracranially implanted BT4Cn tumours.

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

CLAIMS

1. Use of fatty acid analogues of the general formula  
 5 (I):



10 - wherein  $R_1$  is;

- a  $C_1$ - $C_{24}$  alkene with one or more double bonds and/or with one or more triple bonds, and/or
- a  $C_1$ - $C_{24}$  alkyne, and/or
- 15 - a  $C_1$ - $C_{24}$  alkyl, or an alkyl substituted in one or several positions with one or more compounds selected from the group comprising fluoride, chloride, hydroxy,  $C_1$ - $C_4$  alkoxy,  $C_1$ - $C_4$  alkylthio,  $C_2$ - $C_3$  acyloxy or  $C_1$ - $C_4$  alkyl, and

20 - wherein  $R_2$  represents hydrogen or  $C_1$ - $C_4$  alkyl, and

- wherein  $n$  is an integer from 1 to 12, and

25 - wherein  $i$  is an odd number and indicates the position relative to  $COOR_2$ , and

- wherein  $X_i$  independent of each other are selected from the group comprising O, S, SO,  $SO_2$ , Se and  $CH_2$ ,  
 30 and

- with the proviso that at least one of the  $X_i$  is not  $CH_2$

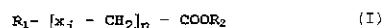
35 or a salt, prodrug or complex thereof, for the preparation of a pharmaceutical composition for the prevention and/or inhibition of primary and secondary neoplasms.



WO 02/03983

PCT/NO01/00301

2. The use according to claim 1, wherein the compound is tetradecylthioacetic acid.
- 5 3. The use according to claim 1, wherein the compounds is tetradecylselenoacetic acid.
4. The use according to claim 1 for the inhibition of the growth of tumours.
- 10 5. The use according to claim 1 for the inhibition of the invasion of a primary tumour into the connective tissue.
6. The use according to claim 1 for the inhibition of the metastatic properties of a tumour, i.e. to inhibit the formation of secondary tumours.
- 15 7. The use according to claim 1, for increasing the overall survival of mammals with tumours.
- 20 8. A method for the treatment and/or inhibition of primary and secondary metastatic neoplasms, said method comprising the step of administering to a mammal in need thereof an effective amount of fatty acid analogues of the general formula (I):
- 25



- 30 - wherein  $R_1$  is;
- a  $C_1$ - $C_{24}$  alkene with one or more double bonds and/or with one or more triple bonds, and/or
  - a  $C_1$ - $C_{24}$  alkyne, and/or
  - a  $C_1$ - $C_{24}$  alkyl, or an alkyl substituted in one or several positions with one or more compounds selected from the group comprising fluoride, chloride, hydroxy,  $C_1$ - $C_4$  alkoxy,  $C_1$ - $C_4$  alkylthio,  $C_2$ - $C_5$  acyloxy or  $C_1$ - $C_4$  alkyl, and
- 35

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

- wherein R2 represents hydrogen or C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alkyl, and
- wherein n is an integer from 1 to 12, and
- 5 - wherein i is an odd number and indicates the position relative to COOR<sub>2</sub>, and
- wherein X<sub>i</sub> independent of each other are selected
- 10 from the group comprising O, S, SO, SO<sub>2</sub>, Se and CH<sub>2</sub>, and
- with the proviso that at least one of the X<sub>i</sub> is not CH<sub>2</sub>,
- 15
- or a salt, prodrug or complex thereof.
9. The method according to claim 8, wherein the compound
- 20 is tetradecylthioacetic acid.
10. The method according to claim 8, wherein the compounds is tetradecylselenoacetic acid.
- 25 11. A method in accordance with one of previous claims, wherein the fatty acid analogues are administrated such that its therapeutically effective concentration is maintained substantially continuously in the blood of the mammal for the duration of the period of its
- 30 administration.
12. A method in accordance with one of the previous claims, wherein the composition of said fatty acid analogues composition is in unit dosage forms.
- 35

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

1/5

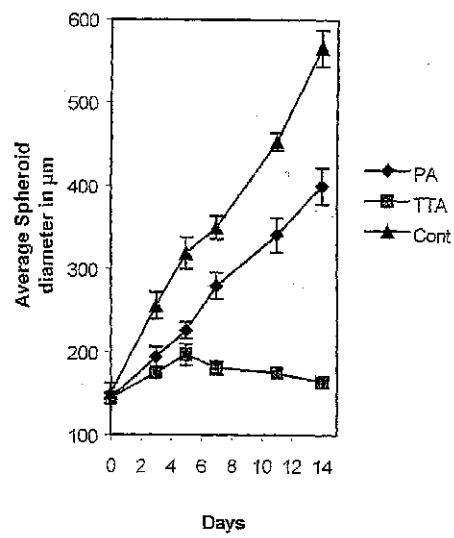


Figure 1

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

2/5

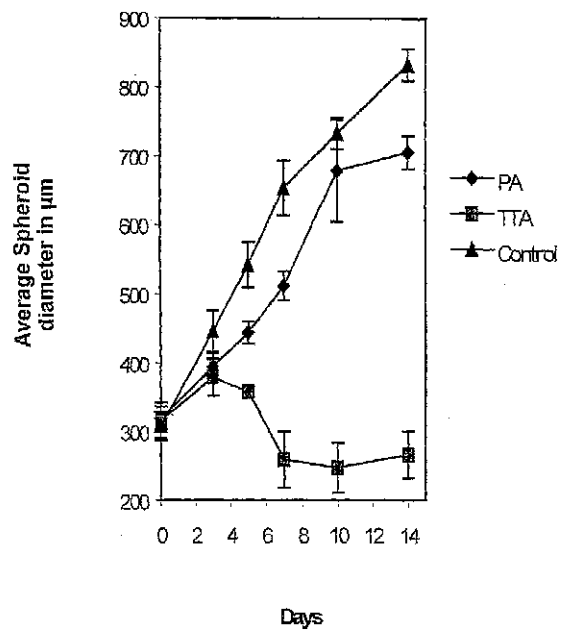


Figure 2

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

3/5

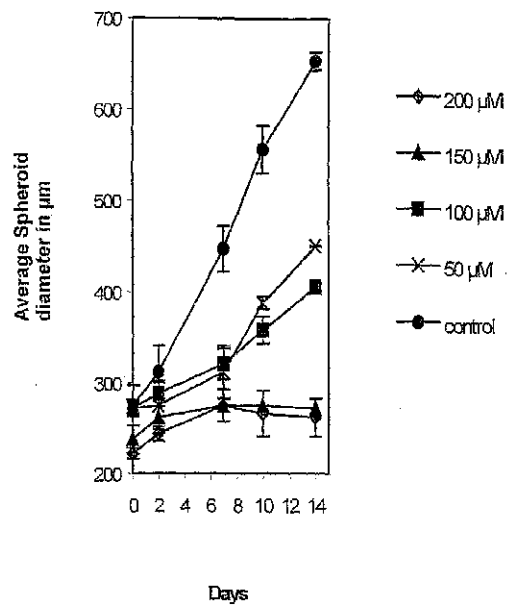


Figure 3

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

4/5

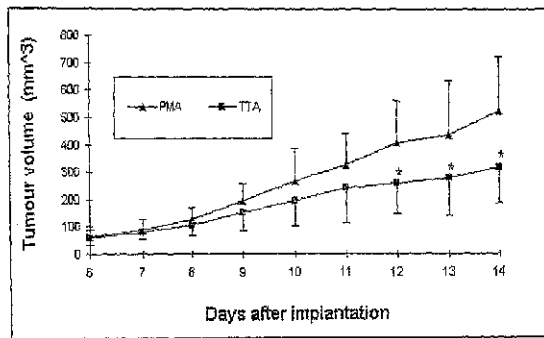


Figure 4

WO 02/03983

PCT/NO01/00301

5/5

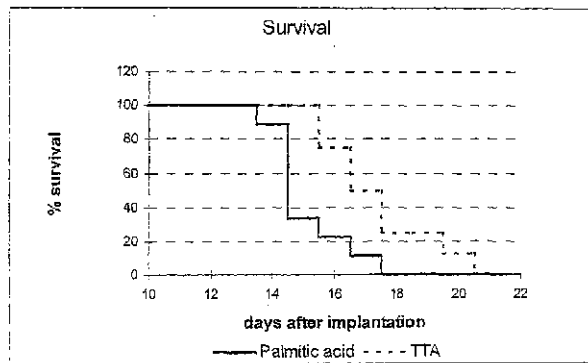


Figure 5

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/NO 03/00301
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC7: A61K 31/19, A61K 31/20, A61P 35/00, A61P 35/04 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)		
IPC7: A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
SE,DK,FI,NO classes as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Breast Cancer Research and Treatment, Volume 45, 1997, Farzaad Abdi-Dezfouli et al: "Eicosapentaenoic acid and sulphur substituted fatty acid analogues inhibit the proliferation of human breast cancer cells in culture", pages 229-239	1-12
X	Biochemical Pharmacology, Volume 46, No. 7, 1993, Erlend Hyattum et al: "The effects of long-term administration of 3-thia fatty acid, a peroxisome proliferator, to Morris 7800 Cl hepatoma cells", pages 1307-1310	1-12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"B" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claimed or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"G" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later documents published after the international filing date or priority date and not in contact with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"A" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
19 November 2001		23 -11- 2001
Name and mailing address of the ISA/ Swedish Patent Office Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. +46 8 666 02 86		Authorized officer Eva Johansson/BS Telephone No. +46 8 782 25 00

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1999)



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/NO 01/00301

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Biochimica et biophysica acta, Volume 1051, 1990, L. Norrheim et al: Synergistic actions of tetradecylthioacetic acid (TTA) and dexamethasone on induction of the peroxisomal Beta-oxidation and on growth inhibition of Morris hepatoma cells. Both effects are counteracted by insulin", pages 319-323 --	1-12
X	WO 9703663 A1 (BERGE, ROLF), 6 February 1997 (06.02.97) --	1-12
X	Advances in experimental medicine and biology, 0065-2598; 466, K. Berge et al: "Poorly oxidizable fatty acid analogues inhibit the proliferation of cancer cells in culture", pages 205-210 -----	1-12

Form PCT/ISA/219 (continuation of second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members				International application No. PCT/NO 01/00301	
Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO	9703663 A1	06/02/97	AU	4272696 A	18/02/97
			CA	2226871 A	06/02/97
			EP	0840604 A	13/05/98
			JP	11514339 T	07/12/99
			NO	952796 D	00/00/00
			US	6046237 A	04/04/00

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Inventor's application No. PCT/NO01/00301
<b>Box I</b>	<b>Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)</b>	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	<input checked="" type="checkbox"/> Claims Nos.: 8-1,2 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: see next sheet	
2.	<input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:	
3.	<input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	
<b>Box II</b>	<b>Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)</b>	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:		
<p>1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.</p> <p>2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.</p> <p>3. <input type="checkbox"/> As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:</p> <p>4. <input type="checkbox"/> No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:</p>		
<b>Remark on Protest</b> <input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. <input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.		

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (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,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,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,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,SM,TR,TT,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 ロルフ、ベルゲ

ノルウェー国ボーンネス、トヨルンハウゲン、50

Fターム(参考) 4C206 AA01 AA02 JA23 JA80 MA01 MA04 NA14 NA15 ZB26 ZB27